

平成 29 年度

農薬の影響評価に向けた試験委託事業
(①有用生物の水稻花粉を経由した暴露影響調査)

水稻花粉の農薬残留量調査

報告書

平成 30 年 3 月 16 日

一般社団法人日本植物防疫協会

目次

I. 仕様書	1
II. 事業検討委員会	3
III. 調査報告	
調査1：水稻花粉の採取方法の検討	5
調査2：水稻花粉の農薬残留量調査	10
(別紙) 分析法の詳細	

I. 仕様書（抜粋）

1 名称

平成 29 年度農薬の影響評価に向けた試験委託事業（①有用生物の水稻花粉を経由した暴露影響調査）

2 事業の目的

欧米において、蜜蜂をはじめとする花粉媒介者の減少が報告されており、その要因解明と減少を抑える取組が進められている。

要因として、ダニ等の寄生虫や害虫、病気、栄養不足等が挙げられているがその一つに農薬がある。

米国や欧州等においては、農薬による被害を軽減することを目的に、急性影響だけでなく、農薬使用現場での実態を反映した蜜蜂への長期的な暴露の影響や、巣に持ち帰った花粉や蜜を通じた幼虫を含む蜜蜂群への暴露の影響を評価するため、新たに成虫での慢性毒性試験や、幼虫での急性・慢性毒性試験の要求が始まっている。国際的にも、OECD において、蜜蜂に対しての、各国の農薬の登録審査のための要求試験のもとになるガイドラインの策定が進められている。

我が国で被害が多く生じているのは水稻であるが、水稻での花粉への農薬の移行についての知見は国際的にも存在しない。農業現場での農薬による蜜蜂被害の更なる軽減を図るため、花粉への農薬の移行の程度を調査するための手法を検討するとともに、農薬の種類・剤型毎の花粉への移行の状況を調査する。

3 事業の実施期間

契約締結の日から平成 30 年 3 月 16 日までとする。

4 事業の概要

我が国において農薬によると考えられる蜜蜂の被害が報告されている水稻のカメムシ防除に用いられる農薬（殺虫剤）を水稻に散布し、花粉の農薬成分の分析を行う。この成果をもとに農薬毎の花粉への移行性の違い等についての総合的解析を実施する。また、事業推進検討委員会を開催するとともに、事業の成果を報告書に取りまとめる。

5 事業推進検討委員会の設置

事業を進めるにあたり、蜜蜂への農薬暴露の知見等を有する 3 名以上の外部機関の専門家及び農林水産省消費・安全局農産安全管理課（以下、「農産安全管理課」という。）等 20 名程度からなる事業推進検討委員会（以下「検討会」という。）を東京近郊で 2 回以上開催すること。専門家の選定に当たっては、農産安全管理課と協議の上、選定すること。なお、検討会に要する費用（会場借料、謝金、旅費等、一切の経費を含む。）は、受託者が負担すること。

なお、本検討会は別途農産安全管理課が実施する「平成 29 年度農薬の影響評価に向け

た試験委託事業（②有用生物に関する文献調査）」の検討会を兼ねるものとする。

6 水稻花粉を経由した暴露影響調査

水稻における花粉への農薬の移行の程度を調査するための手法を検討するとともに、農薬の種類・剤型毎の花粉への移行量を測定する。

（１）供試農薬

水稻のカメムシ防除に散布剤として用いられる以下の系統の殺虫剤から各１種以上を用いる（計４種以上）。

ネオニコチノイド系
フェニルピラゾール系
合成ピレスロイド系
有機リン系

（２）試験区

農薬毎に以下の散布区を設ける。

- ① 粒剤散布区（地上散布慣行濃度）
- ② 液剤散布区（無人ヘリ散布慣行濃度）
- ③ 液剤散布区（地上散布慣行濃度）
- ④ 無処理区

試験は閉鎖施設内（ビニールハウス等）ないし半閉鎖施設内で行い、施設を区切れるようであれば１施設内で複数試験区を設けてもかまわない。なお区間における農薬の飛散には十分注意すること。

各区において３例以上を実施するものとする。

（３）調査方法

- ① 各試験区において、水稻をポット等で２０株程度を湛水状態で栽培し、慣行の使用量に換算して農薬散布するものとし、液剤は出穂（開花）１日前、粒剤は開花７日前を目安に散布する。
- ② 各散布区毎に、開花日から開花終了日までの間、日を変えて３回花粉を採取するものとする。

（例）

出穂（開花）１日後に花粉採取
出穂（開花）３日後に花粉採取
出穂（開花）５日後に花粉採取

また、効率的な花粉の採取方法についても手法毎の比較試験を行うなどにより検討する。

（４）花粉の分析

（３）の調査で採取した花粉の農薬成分濃度を分析する。

分析は２連で、試験区毎に行い、農産安全管理課が指定する方法に従うこと。分析が可能な量の花粉を採取すること。

- （５）上記の水稻花粉を経由した暴露影響調査に関する具体的な実施方法等については、必ず農産安全管理課と協議すること。

(6) 調査結果の取りまとめ

結果を取りまとめるとともに解析を行う。調査結果は、検討会に諮ること。

II. 事業検討委員会

1. 下記専門家に検討委員を委嘱し、調査計画の検討並びに調査結果の検討を行った。

氏 名	所 属・職 名
石 原 悟	独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部 生態毒性検査課 主任調査官
木 村 澄	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門 家畜育種繁殖研究領域有用遺伝子ユニット 主席研究員
中 村 純	玉川大学農学部農学部先端食農学科 ミツバチ科学研究センター 教授

第1回 事業検討委員会

開催日時：平成29年6月27日（月）13:30～15:00

開催場所：一般社団法人日本植物防疫協会地下会議室

出席者

検討委員、農林水産省消費・安全局農産安全管理課農薬対策室、環境省水・大気環境局土壌環境課農薬環境管理室、独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部生態毒性検査課

株式会社三菱ケミカルリサーチ、一般社団法人日本植物防疫協会（本部および茨城研究所）

3. 議事内容

(1) 事業の目的について

(2) 調査計画について

① 有用生物の水稻花粉を経由した暴露影響調査

② 有用生物に関する文献調査

(3) その他

第2回 事業検討委員会

開催日時：平成30年2月27日（月）14:00～16:00

開催場所：一般社団法人日本植物防疫協会地下会議室

出席者

検討委員、農林水産省消費・安全局農産安全管理課農薬対策室、環境省水・大気環境

局土壌環境課農薬環境管理室、独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部生態毒性検査課

株式会社三菱ケミカルリサーチ、一般社団法人日本植物防疫協会（本部および茨城研究所）

3. 議事内容

（1）調査報告

- ① 有用生物の水稻花粉を経由した暴露影響調査
- ② 有用生物に関する文献調査

Ⅲ. 調査報告

調査 1：水稻花粉の採取方法の検討

1. 目的

水稻の花粉における農薬残留農度を調査するために、花粉の合理的な採取方法を検討する。

2. 実施機関・担当者

一般社団法人日本植物防疫協会茨城研究所：長岡広行、荒井雄太、六原智子、富田恭範

一般社団法人日本植物防疫協会高知試験場：飯干浩美（検討 1）

一般社団法人日本植物防疫協会：高木 豊

3. 検討 1：本田水稻における調査（予備調査）

一般社団法人日本植物防疫協会 高知試験場において高知県南国市の本田で栽培された水稻（品種：南国そだち、移植日：平成 29 年 3 月 16 日）を用いて開花からの花粉採取状況を調査した。

出穂日（6 月 16 日）の翌日より 5 日後（6 月 21 日）までに、あらかじめマークした 5 株についてポリエチレン製の袋内に穂を入れ軽く揺らして花粉を採取した。採取した花粉はふるい（0.15mm 目合）を用いて葯等を取り除いた後、重量を測定した（表 1）。ただし、4 日後の 6 月 20 日の天候が悪く調査ができなかったため 4 日後は出穂が遅れたマーク以外の 5 株を調査した。

表 1 出穂後の花粉採取量

出穂後日数	月日	穂数／5 株	花粉量（mg）／5 株
1 日後	6 月 17 日	50 穂	0.5
3 日後	6 月 19 日	65 穂	0.8
4 日後*	6 月 21 日	97 穂	4.4
5 日後	6 月 21 日	93 穂	1.5

* 6 月 20 日の天候が不順であったために 4 日後調査は同一水田内の出穂が遅れたマーク株以外を調査した。

水稻は出穂後直ちに開花が始まった。日数経過とともに出穂数および開花数は増加し、本調査における開花および花粉採取量のピークは、出穂 4 日後であった。

4. 検討 2：コンテナ栽培水稻における調査

1) 調査方法

(1) 試験場所および試験区

一般社団法人日本植物防疫協会茨城研究所のガラス室に、プラスチック製角形コンテナ（内寸：間口 0.6m × 奥行 0.4m × 高さ 0.3m）を設置し水稻の栽培を行った（図 1）。コンテナには、牛久市農家水田土壌（多湿黒ボク土）を充填（深さ 15cm）した。

花粉採取の条件検討として、①袋内で穂を振り花粉を落とす区（以下袋区）、②紙上に

花粉をたたき落とす区（以下紙区）、③開花した葯をピンセット又はハサミ等で切り取り篩で花粉を分離する区（以下切り取り区）の3試験区を設けた。

各試験区は、3 コンテナとし、1 コンテナに水稻を4株を栽培した。

図 1.コンテナ栽培の水稻

(2) 供試作物および栽培概要

水稻（品種：コシヒカリ）、移植日：平成 29 年 5 月 2 日

移植前日の 5 月 1 日に元肥としてコシー発カントン君 13g (60kg/10a) を入れ、手で代掻きを行い、1 コンテナに 4 株（1 株 4 本苗）を移植した。移植間隔は、条間 0.3m 間隔で 2 列、株間 0.18m 間隔で 2 列とした。移植 1 週間後（5 月 12 日）に除草剤（エリジャン乳剤 500mL/10a）を処理した。試験期間中は、田面水の高さが 5cm になるように適宜給水を行った。

(3) 花粉の採取方法

本調査における出穂始めは 7 月 9 日、出穂日は 7 月 14 日であった。花粉採取は、7 月 12 日（移植 71 日後）から 18 日まで行った。採取時は、花粉の飛散を防ぐためガラス室のサイドを閉めた。

①袋区の方法

ポリエチレン製の袋（商品名：ジップロック）の内側にハترون紙を裏打ちしたものを採取袋として使用した。袋の口を開け、この上で穂を振り花粉を採取した（図 2）。採取後に 0.15mm 目合いのふるいをうい異物を取り除いた。



図 2. 採取用の袋と採取状況

②紙区の方法

ハترون紙を用いて箱を作成し、この上で穂を振り花粉を採取した（図 3）。採取後に 0.15mm 目合いのふるいをを用い異物を取り除いた。



図 3. 採取用の箱と採取状況

③切り取り区の方法

ピンセットもしくはハサミを用いて、開花している葯を袋区の袋に切り取り採集し、0.15mm 目合いのふるいをを用い花粉を分離した（図 4）。



図 4. 用いたピンセット、ハサミと採取状況

2) 調査結果

花粉の採取は、出穂始め（7月9日）の3日後となる7月12日より開始した。採取された花粉量は、袋区と紙区はほぼ同等の量となり、切り取り区は少なくなった。各区における問題点として、切り取り区は、開花を確認しながら蒴を切り取るため非常に時間を要するとともに、蒴に採取器具が触れた際に花粉が飛散した。紙区は、採取した花粉が飛散しないように、また箱が濡れないように取扱に注意をする必要があった。このため、花粉の採集及び採取花粉の回収が確実にできる袋区の方法が適切であると判断した。なお、採取の際は、袋内に裏打ちしたハترون紙に稲体が直接当たらないように留意した。

水稻の開花時間については、晴天時は出穂が終わった穂から 9:30 頃に順次開花が始まり、開いた顎は 12:00 頃に全て閉じた。曇天時や早朝に降雨があった日は、開花が始まる時間が遅れるものの、開花は全体が一斉に進む印象を受けた。また、十分な花粉量を採取するためには、出穂率が 20%を超えた時期より採取を始めるのが適切と考えられた。

表 1. 袋区の花粉採取量

調査日	7月11日	7月12日	7月13日	7月14日	7月15日	7月16日
出穂率 (%) *	15	22	37	56	70	79
花粉採取量 (mg)	—	41	78	146	136	184
天候	—	晴	晴	晴	晴	晴
開花時間	—	9:50	9:50- 12:30	9:40- 12:00	9:30- 11:00	9:30- 12:00
調査日	7月17日	7月18日				
出穂率 (%) *	90	100				
花粉採取量 (mg)	174.3	137.2				
天候	晴(朝方雨)	曇				
開花時間	10:30- 12:00	10:50- 12:00				

最終出穂数：225 穂、合計花粉採取量：887.3mg

—：7月11日は出穂数調査のみ

*出穂率：各調査日の全株について出穂した穂数を最終出穂数で除した値

表 2. 紙区の花粉採取量

調査日	7月11日	7月12日	7月13日	7月14日	7月15日	7月16日
出穂率 (%) *	11	19	33	47	60	68
花粉採取量 (mg)	—	22	64	224	71	174
調査日	7月17日	7月18日				
出穂率 (%) *	80	95				
花粉採取量 (mg)	120	223				

最終出穂数：282 穂、合計花粉採取量：898.6mg、

ー：7月11日は出穂数調査のみ

天候・開花時間は表1と同様。

*出穂率：各調査日の全株について出穂した穂数を最終出穂数で除した値

表3. 切り取り区の花粉採取量

調査日	7月11日	7月12日	7月13日	7月14日
出穂率 (%)	12	18	34	52
花粉採取量 (mg)	ー	6	11	4

最終出穂数：232穂、合計花粉採取量：20.6mg、

ー：7月11日は出穂数調査のみ

7月15日以降の調査は打ち切った。天候・開花時間は表1と同じ。

*出穂率：各調査日の全株について出穂した穂数を最終出穂数で除した値

調査 2. 水稻花粉の農薬残留量調査

1. 目的

水稻における花粉への農薬の移行程度を調査するための手法を検討するとともに、農薬の種類・剤型ごとの花粉への移行量を測定する。

2. 実施機関・担当者

一般社団法人日本植物防疫協会茨城研究所：長岡広行、荒井雄太、六原智子、富田恭範
一般社団法人日本植物防疫協会：高木 豊

3. 試験方法

(1) 試験圃場および試験区

一般社団法人日本植物防疫協会茨城研究所内のガラスハウスに大型 P P 製角形コンテナ容器（内寸：間口 0.99m × 奥行 0.65m × 高さ 0.30m、面積 0.6435 m²）を設置して水稻栽培を行った。コンテナには、牛久市農家水田土壌（多湿黒ボク土）を充填（深さ 15cm）した。

試験区は、① 粒剤散布区（以下粒剤区）、② 無人ヘリ散布慣行濃度区（以下空散区）、③ 地上散布慣行濃度（以下通常区）、④ 無処理区の計 4 区を設けた。各区は、1 区 4 コンテナ（12 株 × 4 コンテナ：48 株、面積計 2.6 m²）として、3 反復を設けた。なお、無処理区は 7 コンテナ、無反復とした。



図 1. 大型 P P 製角形コンテナ容器と栽培水稻

表 1. 供試した土壌の特性

土壌分類	: 多湿黒ボク土
土性	: 埴壌土
主要粘土鉱物	: アロフェン
有機炭素含量	: 52.3g/kg
水素イオン濃度	: 6.3 (H ₂ O), 5.2 (KCl)
陽イオン交換容量	: 32.3cmol/kg
リン酸吸収係数	: 20.1g/kg

(2) 供試作物および栽培概要

水稻（品種：コシヒカリ）

栽培概要：5 月 25 日に播種、6 月 12 日に元肥（コシー発カントン君、1 コンテナ当たり 46g(72kg/10a)）施用及び手で代掻きを行った。移植は 6 月 14 日に行い、移植時に一般防除（いもち病およびイネツトムシ対象）として Dr.オリゼフェルテラ粒剤を処理した。また、6 月 21 日に除草剤であるエリジャン乳剤を処理した。1 コンテナ当たりの移植株数は 12 株（5 本苗）とし、栽植密度は慣行の条間 30cm、株間 18cm（3 列、4 条）とした。

栽培コンテナにおける水管理は、移植直後に水深 5cm になるように入水した。その後、7 月上旬までは、水深 3 ～ 5cm になるように適宜給水を行い、7 月中旬以降は、2 ～ 3 日ごとに水深を確認して水深 5cm を保つように適宜給水した。農薬処理後に給水する際は、水のはね上がりによる稲体の農薬汚染を防ぐために水面にプラスチック製の板を浮かべ、その上に蓮口をつけたホースで静かに水をあてて行った。

表 2. 水稻の生育状況

調査日	経過日数 (移植後)	草丈 (cm)	分げつ 数	生育 ステージ	備考
2017/6/14	0	—	—	—	移植後、入水（水深 5cm）
6/28	14	31-35	8-9	有効	水深 3 ～ 5cm 管理(7 月上旬まで)
7/ 7	23	49-55	13-15	分げつ期	
7/17	33	75-82	18-20		水深 5cm 管理(7 月中旬以降)
7/24	40	—	—		幼穂形成なし
7/28	44	103-110	20-25		
7/31	47	—	—	幼穂形成期	幼穂 10mm
8/ 7	54	—	—		幼穂 10mm-150mm
8/ 9	56	120-125	—		
8/14	61	—	—	穂ばらみ期	出穂を確認、出穂率 0.1-1.1%
8/15	62	—	—		出穂率 0.1-2.2%, 花粉採取できず
8/16	63	—	—		出穂率 0.5-5.5%, 花粉量 1.4-3.0mg
8/17	64	—	—		出穂率 2.2-9.2%, 花粉量 21.5-95.0mg
8/21-23	68-70	—	—	出穂期	



6月28日



7月7日



7月17日



7月28日



8月9日



出穂始め



開花

図 2. 水稻の生育状況

(4) 供試農薬

水稻のカメムシ防除に用いられる農薬として、ネオニコチノイド系のクロチアニジン、フェニルピラゾール系のエチプロール、合成ピレスロイド系のエトフェンプロックス及び有機リン系のME Pの4農薬を供試した。

表 3. 供試農薬

系統	商品名・剤型	有効成分名	含有率(%)
ネオニコチノイド系	ダントツ粒剤	クロチアニジン	0.5
	ダントツフロアブル		20
フェニルピラゾール系	キラップ粒剤	エチプロール	2
	キラップフロアブル		10
合成ピレスロイド系	トレボン粒剤	エトフェンプロックス	1.5
	トレボンエア		10
	トレボン乳剤		20
有機リン系	スミチオン微粒剤 F	ME P	3
	スミチオン乳剤		50

(4) 処理方法

①供試農薬の処理日

水稻の栽培状況を観察し7月31日に幼穂形成、8月7日に最大幼穂長150mmを確認した。これより粒剤区の処理は8月10日としたが、8月18日が開花始めとなったために粒剤処理は開花始め8日前となった。空散区と通常区の処理は、開花始めの8月18日に行った。

②粒剤区の処理

ダントツ（クロチアニジン）粒剤およびキラップ（エチプロール）粒剤の2農薬処理をA区、トレボン（エトフェンプロックス）粒剤およびスミチオン（ME P）微粒剤Fの2農薬処理をB区とした。ダントツ粒剤、キラップ粒剤およびトレボン粒剤の3kg/10a処理は、1コンテナを3分割（1分割0.65g）し、その分割ごとに所定の処理量を均一になるように湛水散布した。スミチオン微粒剤F 4kg/10aの処理は1コンテナを4分割（1分割0.65g）し、その分割ごとに所定の処理量を均一になるように湛水散布した。湛水散布の際は、稲株の上部に農薬がかからないように慎重に行った。処理日の天候は雨、処理は8月10日の9時45分から開始した。

表 4. 粒剤区の処理量および成分投下量

試験区	試験薬剤名 (Lot. No.)	処理量 (10a)	成分投下量 (g/10a)	実処理量* (試験区)
A 区	ダントツ粒剤 (20.10 BAB146)	3kg	15	7.8g
	キラップ粒剤 (18.10 PD14G0016001173A)	3kg	60	7.8g
B 区	トレボン粒剤 (19.10 58S90022)	3kg	45	7.8g
	スミチオン微粒剤 F (19.10 9D2581K)	4kg	120	10.4g

*実処理量は1試験区（4コンテナ）あたり



図 3. 粒剤区の処理状況

③空散区の処理

無人ヘリによる散布が困難であることから、農薬散布塔に装着されているノズル（ST-6 扶桑精機工業製）を用いて散布した。あらかじめ散布機の校正を行い吐出量を2mL/分に調整し、散布時間を定め正確な量を各区のコンテナに均一に散布した。実処理量および散布時間を下表に示した。

ダントツ（クロチアニジン）フロアブルおよびキラップ（エチプロール）フロアブルの2農薬を所定濃度に混用処理するA区、トレボン（エトフェンプロックス）エアーおよびスミチオン（ME P）乳剤の2農薬を所定濃度に混用処理するB区を設けた。散布は、8月18日（天候：晴）の午前8時30分（開花前）に行った。散布の際は、農薬の飛散防止のために高さ180cmのポリエチレンフィルムを各コンテナの周囲に設置した。

表 5. 空散区の処理量、希釈倍数および実散布量

試験区名	試験薬剤名 (Lot. No.)	処理量 (10a) 希釈倍数	成分投下量 (g/10a)	実処理量* (試験区)	散布時間 (試験区)
空散 A 区	ダントツフロアブル (18.10 6706N)	0.8L、24 倍	6.7	2.08mL	60 秒
	キラップフロアブル (20.10 NA7052)	0.8L、8 倍	10		
空散 B 区	トレボンエアー (17.10 54F70003)	0.8L、8 倍	10	2.08mL	60 秒
	スミチオン乳剤 (19.10 5403N)	0.8L、8 倍	50		

*実処理量は 1 試験区 (4 コンテナ) あたり



図 4. 空散区の散布状況

④通常区の処理

バッテリー式噴霧機 (MSB-1500Li 丸山製作所製) に狭角コーンノズル (丸山製作所製) を取り付け、散布を行った。あらかじめ散布機の校正を行い吐出量を調整し、散布時間を定め正確な量を各区のコンテナに均一に散布した。実処理量および散布時間を下表に示した。

ダントツ (クロチアニジン) フロアブルおよびキラップ (エチプロール) フロアブルの 2 農薬を所定濃度に混用処理する A 区、トレボン (エトフェンプロックス) 乳剤およびスミチオン (ME P) 乳剤の 2 農薬を所定濃度に混用処理する B 区を設けた。散布は、8 月 18 日 (天候 : 晴) の午前 8 時 00 分 (開花前) に行った。散布の際は、農薬の飛散防止のために高さ 180cm のポリエチレンフィルムを各コンテナの周囲に設置した。

表 6. 通常区の処理量、希釈倍数および実散布量

試験区名	試験薬剤名 (Lot. No.)	処理量 (10a) 希釈倍数	成分投下量 (g/10a))	実処理量* (試験区)	散布時間 (試験区)
通常 A	ダントツフロアブル (18.10 6706N)	150L、5000 倍	6	0.39L	25 秒
	キラップフロアブル (20.10 NA7052)	150L、2000 倍	7.5		
通常 B	トレボン乳剤 (19.10 58S90022)	150L、1000 倍	30	0.39L	25 秒
	スミチオン乳剤 (19.10 5403N)	150L、800 倍	93.75		

*実処理量は 1 試験区 (4 コンテナ) あたり



図 5. 通常区の散布状況

(5) 試料の採取

①花粉

各区より 1 反復ごとに、調査 1 で検討したポリエチレン製の袋（商品名：ジップロック）の内側にハترون紙を裏打ちした採取袋を用いて、8 月 19 日～ 25 日までの 7 日間毎日採取した。

②稲体

各区より花粉採集最終日の 8 月 25 日の花粉採取終了後に、12 株の稲体を水面から出ている位置（地表面から約 5cm）で切り取った。採取した稲体は、土壌等の付着がないことを確認し冷凍保管した。

(6) 残留分析

①花粉

i) 試料の前処理

採取した試料は、0.15mm 目合いのふるいで葯等の異物を取り除いた後、-20℃設定の冷凍庫内に分析まで保管した。採取試料は、開花始め 1,2 日後、同 3～5 日後、同 6,7

日後の3試料を分析試料とした。各分析試料は、採取花粉を薬包紙の上で薬さじを用いてよく混ぜ合わせた後、50mg ずつ分取して分析試料とした。また、50mg に満たない試料は全量とした。

ii) 分析方法

分析法の詳細は別紙に示した。

分取した試料を QuEChERS 法で抽出・精製した後、液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)を用いて定量した。本分析法により添加回収試験を行った結果、クロチアニジン 87 ～ 94% (1.0,0.01ppm 添加)、エチプロール 93 ～ 101% (1.0,0.01ppm 添加)、エトフェンプロックス 84 ～ 92% (4.0,1.0,0.01ppm 添加)、ME P 88 ～ 92% (4.0,1.0,0.01ppm 添加) となり妥当であった。定量限界は各 0.01ppm (検出限界は各 0.005ppm) とした。なお、事前にホモジナイザーを用いることで花粉が破碎されることを顕微鏡で確認できたことから抽出方法として採用した。

②稲体

稲体については、花粉における農薬濃度が低かった粒剤区試料についてのみ行った。

i) 試料の前処理

冷凍保管(−20℃設定)していた稲体試料を分析直前に細切した。

ii) 分析方法

分析法の詳細は別紙に示した。

細切した試料 10g をはかりとり、アセトン 100mL を加えポリトンホモジナイザーで粉砕してから、30 分間振とう抽出した。抽出液から 4mL とり、多孔性ケイソウ土カラム、ヘキサン-アセトニトリル分配およびシリカゲルミニカラムで精製を行った後、液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)を用いて定量した。本分析法により添加回収試験(1.0,0.01ppm 添加)を行った結果、クロチアニジン 89 ～ 90%、エチプロール 93 ～ 117%、エトフェンプロックス 73 ～ 105%、ME P 86 ～ 88% となり妥当であった。定量限界は各 0.01ppm (検出限界は各 0.005ppm) とした。

(7) 試験期間中の気温

試験期間中ガラス室内の気温は、データロガー(おんどとり、T&D 製)を設置して観測した(表 7)。

表 7. 試験期間中のガラス室内の平均気温

日付	平均気温 (℃)	備考	日付	平均気温 (℃)	天気	備考 (開花時間)
6/14	18.7	移植	7/21	29.8		
6/15	22.9		7/22	30.0		
6/16	23.8		7/23	27.0		
6/17	22.9		7/24	28.6		
6/18	19.7		7/25	29.1		
6/19	22.5		7/26	23.7		
6/20	25.6		7/27	23.0		
6/21	22.6		7/28	27.1		
6/22	25.2		7/29	27.1		
6/23	26.0		7/30	26.4		
6/24	25.6		7/31	29.3		
6/25	24.6		8/1	25.4		
6/26	24.0		8/2	22.7		
6/27	23.4		8/3	24.6		
6/28	23.2		8/4	25.5		
6/29	26.7		8/5	27.7		
6/30	24.8		8/6	29.0		
7/1	23.4		8/7	30.5		
7/2	28.1		8/8	30.1		
7/3	29.0		8/9	30.2		
7/4	26.5		8/10	24.5	雨	粒剤処理
7/5	27.8		8/11	23.1		
7/6	27.0		8/12	24.4		
7/7	28.2		8/13	27.2		
7/8	29.2		8/14	24.0		出穂
7/9	29.4		8/15	23.4		
7/10	29.4		8/16	22.6		
7/11	29.5		8/17	25.8		
7/12	30.0	検討2開始	8/18	27.5	晴	液剤処理
7/13	29.9		8/19	25.5	曇	花粉採取開始 12:00-12:30
7/14	30.3		8/20	26.3	曇	10:00-12:00 (盛期 11:00)
7/15	29.7		8/21	27.6	曇	11:00-12:30 (盛期 12:00)
7/16	30.0		8/22	29.0	曇後晴	11:00-12:30 (盛期 12:00)
7/17	29.1		8/23	30.2	晴	10:30-12:00 (盛期 11:00)
7/18	26.7		8/24	30.6	晴	10:30-12:00 (盛期 11:00)
7/19	26.0		8/25	29.6	晴	11:00-12:15 (盛期 11:00)
7/20	29.2					

4. 試験結果

(1) 試験の状況

試験に供試した水稻は、いずれの試験区も本田栽培での水稻と同程度に正常な生育であった。最高分けつ期 7 月 28 日頃は、平均分けつ数は 20 であった。出穂始めは 8 月 14 日であったが、その後の出穂および開花は、試験区によりばらつきが見られ出穂日（50%が出穂した日）は 8 月 21 日～23 日の期間となった。本年は、8 月上旬まで高温で推移したが、中旬以降は天候不順が続き気温が下がった。このために稲の開花時期が予測しづらい状況となった。結果的に開花始めは、試験区により異なったが、概ね 8 月 18 日頃（以下 8 月 18 日を開花日とする）となり、空散区と通常区の薬液散布は 8 月 18 日に行った。粒剤区は、8 月 10 日に処理を行ったことから、開花 8 日前処理となった。

粒剤区の湛水散布は、散布時の水深 5cm として田面水に向けて均一に粒剤を静かに手散布した。このため、稲株上部に粒剤が付着することはなかった。空散区の茎葉散布は、コンテナごとに周囲をポリエチレンフィルムで遮蔽して散布したために周辺への薬液飛散はなかった。散布液の稲株への付着状況は、散布直後に極小さな薬滴が稲表面に付着しているのが観察され速やかに乾いた。通常区の茎葉散布は、空散区と同様に遮蔽措置を行ったため周辺への薬液飛散はなかった。散布液は、稲穂が十分濡れる程度の付着となった。

開花日翌日（散布 1 日後）の 8 月 19 日から各区の花粉を採取した。採取開始日（8 月 19 日）は、曇天のために気温が上昇せず昼頃より開花が始まり午後まで続いた。開花 2 日後および 3 日後は、比較的気温が低く涼しい条件であったことから、開花した花はあまり多くなかった。その後は、気温が上がり開花量が増え、採取された花粉量も増加した。開花 2 日後以降の開花のピークは 11 時から 12 時までの間であった。花粉を採取する際は、採取袋内に直接穂が触れないよう袋の口を大きく開けて振り落としたが、葯の脱落や埃の混入を防ぐことはできなかった。

各区の花粉採取量および出穂率を表 8 に示した。採取開始時の出穂率は 20%以上であったが、採取量は各区各反復ごとに差があり、粒剤 B 区、空散 A 区、通常 B 区の開花が他の区より遅れ、採取量が少なくなった。その後は順調に開花し、殆どの区において気温が高くなった開花 4 日後および 5 日後に開花および花粉採取量のピークを迎えた。各試験区の 1 日あたりの花粉採取量の平均は 73.9 ～ 98.7mg となり、各試験区ともに同程度の花粉量が採取された。

表 8. 各区の花粉採取量および出穂率

試験区	反復	採取量 (mg)							
		開花 1 日後 8/19	2 日後 8/20	3 日後 8/21	4 日後 8/22	5 日後 8/23	6 日後 8/24	7 日後 8/25	平均 (/日)
粒剤 A 区	i	32.1	10.9	71.6	128.2	387.3	38.3	37.1	100.8
	ii	23.7	68.1	55.3	188.1	245.4	64.5	54.9	100.0
	iii	24.4	96.9	83.1	93.3	205.7	103.6	40.9	92.6
	平均	—	—	—	—	—	—	—	97.8
	出穂率*	25%		75%			87%		

粒剤 B 区	i	4.2	13.5	44.0	144.5	169.1	37.1	75.4	69.7
	ii	14.1	55.6	20.5	102.8	93.6	127.1	64.6	68.3
	iii	0.9	44.0	48.2	171.3	124.9	146.4	73.7	87.1
	平均	—	—	—	—	—	—	—	75.0
	出穂率*	27%		66%			90%		
空散 A 区	i	4.3	20.3	25.4	59.4	37.7	43.0	135.2	46.5
	ii	微量	29.2	75.0	110.2	76.2	40.5	48.4	63.3
	iii	6.4	37.9	54.0	118.6	473.6	59.2	34.1	112.0
	平均	—	—	—	—	—	—	—	73.9
	出穂率*	33%		66%			86%		
空散 B 区	i	23.5	36.2	48.6	61.3	148.9	12.4	179.0	72.8
	ii	48.3	119.7	56.1	114.0	136.7	25.6	110.0	87.2
	iii	34.0	47.3	33.5	129.7	254.3	103.4	261.7	123.4
	平均	—	—	—	—	—	—	—	94.5
	出穂率*	22%		61%			81%		
通常 A 区	i	20.1	33.0	71.3	114.5	204.7	28.8	18.1	70.1
	ii	80.0	55.0	51.7	167.8	198.1	61.4	31.3	92.2
	iii	17.9	15.0	82.8	157.6	135.3	57.0	62.2	75.4
	平均	—	—	—	—	—	—	—	79.2
	出穂率*	25%		59%			79%		
通常 B 区	i	3.5	51.3	44.2	125.3	230.0	29.5	30.3	73.4
	ii	19.0	97.8	75.1	232.7	327.9	38.3	53.3	120.6
	iii	2.2	58.8	73.3	317.4	165.0	53.1	44.5	102.0
	平均	—	—	—	—	—	—	—	98.7
	出穂率*	27%		59%			74%		
無処理区**		26.8	211	380.2	728.2	216.1	122.4	255	
出穂率*		25%		71%			88%		

**7 コンテナあたり

*出穂率：全株について出穂した穂数を最終出穂数で除した値

(2) 水稻花粉の農薬残留濃度

各区における花粉の1日あたり採取量は、試験区および反復ごとにばらつきが大きくかつ採取量が少ない採取日が見られた。このため採取試料は、各反復ごとに開花 1,2 日後、同 3,4,5 日後、同 6,7 日後をまとめて3つの分析試料として、農薬残留量を調査した。各分析試料は、よく混ぜ合わせた後 50mg ずつ分取し分析を行った（表 10）。

各試験区の農薬残留濃度を表 9 に示した。無処理区は、クロチアニジン、エチプロール、エトフェンプロックスおよび ME P いずれも定量限界未満（<0.01ppm）となった。

① 粒剤区（粒剤処理区）（表 9）

クロチアニジンの残留濃度は、開花 6,7 日後の反復 iii において 0.01ppm が検出された

以外は定量限界未満 (< 0.01ppm) となった。

エチプロールの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.01ppm、同 3-5 日後に 0.01ppm、同 6,7 日後に 0.02ppm となった。

エトフェンプロックスの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.02ppm を示し、その後は定量限界未満 (<0.01ppm) となった。

MEP は、開花 1,2 日後に 0.08ppm を示し、同 3-5 日後に 0.02ppm、同 6,7 日に定量限界未満 (<0.01ppm) と低下した。

②空散区（無人ヘリ散布区）（表 9）

クロチアニジンの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.08ppm、同 3-5 日後に 0.13ppm、同 6,7 日後に 0.11ppm となり、3-5 日後の濃度が最も高くなった。

エチプロールの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.07ppm、同 3-5 日後に 0.11ppm、同 6,7 日後に 0.10ppm となり、3-5 日後の濃度が最も高くなった。

エトフェンプロックスの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.21ppm、同 3-5 日後に 0.23ppm とほぼ同等の残留濃度となり、同 6,7 日後に低下し 0.10ppm となった。

MEP の平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.49ppm と最も高く、同 3-5 日後に 0.02ppm、同 6,7 日後に定量限界未満 (<0.01ppm) と低下した。

③通常区（通常散布区）（表 9）

クロチアニジンの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.47ppm と最も高くなり、同 3-5 日後に 0.05ppm、同 6,7 日後に 0.05ppm と低下した。

エチプロールの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 0.55ppm と最も高くなり、同 3-5 日後に 0.06ppm、処理 6,7 日後に 0.06ppm と低下した。

エトフェンプロックスの平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 2.14ppm と最も高くなり、同 3-5 日後に 0.30ppm、同 6,7 日後に 0.09ppm と低下した。

MEP の平均残留濃度は、開花 1,2 日後に 3.15ppm と最も高くなり、同 3-5 日後に 0.11ppm、同 6,7 日後に 0.01ppm と低下した。

④ 粒剤区の稲体残留濃度

粒剤区の花粉残留濃度が低い結果となったため、花粉採集終了後（粒剤処理 15 日後、8 月 25 日）に採取し冷凍保管した稲体試料の分析を行った。その結果、平均残留濃度はクロチアニジンが 0.02ppm、エチプロールが 0.13ppm、エトフェンプロックスが 0.03ppm、MEP が 0.01ppm となった（表 11）。いずれの農薬についても処理 15 日後に農薬残留が認められており、湛水処理後に各農薬が稲体に取り込まれていることが確認された。

この結果は、クロチアニジンとエチプロールにおいて湛水処理粒剤が、稲体に比べて花粉に移行しにくいことを示しているとも考えられる。ただし、開花と処理のタイミングにより異なる結果となる可能性もある。なお、MEP については稲体濃度に比べて花粉濃度が高い傾向を示している。しかし、本剤は他の試験農薬に比べて分解消失が早いことが知られており、稲体濃度が低いのは花粉採取タイミングよりも時間が経過していることが原因と考えられる。

表 9 各区における花粉の農薬残留濃度

試験区	試験農薬	反復	処理月日	花粉濃度(ppm)		
				開花1、2日後	同3-5日後	同6、7日後
				8/19、20	8/21-23	8/24、25
粒剤A区	クロチアニジン	i	8月10日	<0.01	<0.01	<0.01
		ii		<0.01	<0.01	<0.01
		iii		<0.01	<0.01	0.01
		平均		<0.01	<0.01	<0.01
	エチプロール	i	8月10日	0.01	0.01	0.02
		ii		0.01	0.01	0.02
		iii		0.01	0.01	0.02
		平均		0.01	0.01	0.02
粒剤B区	エトフェンプロックス	i	8月10日	0.02	<0.01	<0.01
		ii		0.01	0.02	<0.01
		iii		0.03	<0.01	<0.01
		平均		0.02	<0.01	<0.01
	MEP	i	8月10日	0.12	0.02	<0.01
		ii		0.06	0.02	<0.01
		iii		0.09	0.02	<0.01
		平均		0.08	0.02	<0.01
空散A区	クロチアニジン	i	8月18日	0.07	0.43	0.07
		ii		0.19	0.28	0.11
		iii		0.02	0.02	0.16
		平均		0.08	0.13	0.11
	エチプロール	i	8月18日	0.06	0.45	0.07
		ii		0.16	0.22	0.13
		iii		0.02	0.01	0.11
		平均		0.07	0.12	0.10
空散B区	エトフェンプロックス	i	8月18日	0.06	0.04	0.13
		ii		0.20	0.50	0.18
		iii		0.36	0.16	0.05
		平均		0.21	0.23	0.10
	MEP	i	8月18日	0.09	0.01	<0.01
		ii		0.28	0.03	0.01
		iii		1.19	0.02	<0.01
		平均		0.49	0.02	<0.01
通常A区	クロチアニジン	i	8月18日	0.57	0.05	0.17
		ii		0.33	0.05	0.02
		iii		0.73	0.05	0.03
		平均		0.47	0.05	0.05
	エチプロール	i	8月18日	0.52	0.05	0.21
		ii		0.45	0.06	0.02
		iii		0.91	0.07	0.03
		平均		0.55	0.06	0.06
通常B区	エトフェンプロックス	i	8月18日	2.32	0.54	0.09
		ii		2.16	0.17	0.05
		iii		1.96	0.28	0.14
		平均		2.14	0.30	0.09
	MEP	i	8月18日	2.42	0.13	<0.01
		ii		2.96	0.07	0.01
		iii		4.11	0.16	0.01
		平均		3.15	0.12	0.01
無処理区	クロチアニジン			<0.01		
	エチプロール			<0.01		
	エトフェンプロックス			<0.01		
	MEP			<0.01		

注) 平均濃度：3 区の農薬検出量を花粉分析重量で除した値

表 10. 各区の分析試料量

試験区	反復	分析試料花粉量(mg)		
		開花1,2日後	開花3-5日後	開花6,7日後
粒剤A区	i	43	587.1	75.4
	ii	91.8	488.8	119.4
	iii	121.3	382.1	144.5
粒剤B区	i	17.7	357.6	112.5
	ii	69.7	216.9	191.7
	iii	44.9	344.4	220.1
空散A区	i	24.6	122.5	178.2
	ii	29.2	261.4	88.9
	iii	44.3	646.2	93.3
空散B区	i	59.7	258.8	191.4
	ii	168	306.8	135.6
	iii	81.3	417.5	365.1
通常A区	i	53.1	390.5	46.9
	ii	135.0	417.6	92.7
	iii	32.9	375.7	119.2
通常B区	i	54.8	399.5	59.8
	ii	116.8	635.7	91.6
	iii	61	555.7	97.6
無処理		237.8	1324.5	377.4

表 11. 粒剤区の稲体試料の残留濃度

試験農薬	薬剤処理日	採取日	経過 日数	残留濃度 (ppm) *			
				反復 i	反復 ii	反復 iii	平均
クロチアニジン	2017/8/10	8/25	15	0.02	0.02	0.03	0.02
エチプロール	8/10	8/25	15	0.18	0.11	0.11	0.13
エトフェンプロックス	8/10	8/25	15	0.06	0.01	0.02	0.03
ME P	8/10	8/25	15	<0.01	<0.01	0.02	0.01

*2 連分析の平均値

(3) まとめ

本試験は、カメムシ防除に用いられる殺虫剤の稲花粉における残留量を明らかにするために、コンテナ栽培稲を用いた水田モデルにより検討を行った。稲の開花前または開花時に処理した 4 農薬は、いずれも花粉での残留が認められた。その残留濃度は、処理時期および農薬成分投下量が方法により異なるために単純な比較はできないものの、処理方法により大きな差が認められた。本試験における各農薬および処理法ごとの成分投

下量を表 12、各農薬の物理化学性等を表 13 に示した。

表 12 各農薬・処理方法における成分投下量

農 薬 名	10a あたり成分投下量 (g)		
	粒剤	無人ヘリ散布	通常散布
クロチアニジン	15 (1)	6.7(1)	6(1)
エチプロール	60 (4)	10(1.5)	7.5(1.3)
エトフェンプロックス	45 (3)	10(1.5)	30(5)
ME P	120 (8)	50(7.5)	93.75(15.6)

() 処理方法ごとの成分投下量が最も低い農薬に対する比

表 13 供試農薬の物理化学性等

農薬名	物理化学性・蜜蜂毒性
クロチアニジン	蒸気圧： 1.3×10^{-10} Pa(25℃)、水溶解度：327mg/L(20℃) オクタノール／水分配係数：logPow = 0.7(25℃) セイヨウミツバチ (LD ₅₀)：0.00379 μg/頭 (48 時間経口) 0.04426 μg/頭 (48 時間接触)
エチプロール	蒸気圧： 9.1×10^{-8} Pa(25℃)、水溶解度：9.2mg/L (20℃) オクタノール／水分配係数：logPow = 2.9(20℃) セイヨウミツバチ (LD ₅₀)：0.0334 μg/頭 (3 日間経口) 0.011 μg/頭 (3 日間接触)
エトフェンプロックス	蒸気圧： 8.13×10^{-7} Pa(25℃)、水溶解度：0.0225mg/L オクタノール／水分配係数：logPow = 6.9(20℃) セイヨウミツバチ (LD ₅₀)：0.031 μg/頭 (48 時間接触)
ME P	蒸気圧： 1.57×10^{-3} Pa(25℃)、水溶解度：19.0mg/L (20℃) オクタノール／水分配係数：logPow = 3.43(20℃) セイヨウミツバチ (LD ₅₀)：約 0.16 μg/頭 (24 時間接触)

農薬ハンドブック(2016 年版)

粒剤の慣行量処理は、いずれの農薬も他の処理方法と比べて成分投下量が多いが、花粉の残留濃度は低くなった。各農薬の最高濃度は、クロチアニジンが定量限界未満 (< 0.01ppm)、エチプロールが 0.02ppm (開花 6,7 日後)、エトフェンプロックスが 0.02ppm (開花 1,2 日後)、ME P が 0.08ppm (開花 1.2 日後) となり、各農薬の成分投下量の比をほぼ反映した結果となった (表 9、表 12)。なお、本試験では、各粒剤の処理が開花 8 日前あったが、処理時期が異なると花粉の残留濃度も異なる結果となる可能性が考えられる。ただし、いずれの農薬も残留濃度が低下していることから、今回の濃度を大きくこえる可能性は低いと思われる。

液剤散布の無人ヘリ散布と通常散布は、面積当たりの農薬成分投下量に差があることから、無人ヘリ散布区 (空散区) 残留濃度を通常散布区 (通常区) の農薬成分投下量で補正した結果を表 14 に示した。初期の補正残留濃度は、いずれの農薬も通常区の濃度

が空散区よりも 3.0 ～ 9.2 倍高く、花粉採取量が増えた開花 3-5 日後は、MEP を除いて空散区の濃度が通常区よりも 1.5 ～ 2.6 倍高くなった。開花 6,7 日後ではいずれの処理区および農薬も残留濃度は低下した。このように無人ヘリ散布と通常散布では、花粉における 残留傾向に違いが認められ、通常散布は処理 1,2 日後（開花 1,2 日後）に残留濃度が最大となり、その後は急激に低下した。これは、散布時に出穂している花は、直接散布液が付着して農薬暴露を受けるが、その後に出てくる穂は農薬暴露量が少ないために農薬が残留しない花粉が増えることで、結果的に残留濃度が低下することを示唆していると考えられた（図 5）。一方、無人ヘリ散布では、MEP を除き、処理 3 日～ 5 日後（開花 3 日～ 5 日後）に最高残留濃度を示しており、稲体に付着したクロチアニジン、エチプロールは、花粉に移行するまでに時間を要し、かつ残留濃度は低下しにくいと考えられた。エトフェンプロックスは、処理 1 日後～ 5 日後まで大きな差は無いことが示された（表 9、表 14）。

表 14 無人ヘリ散布・通常散布の花粉補正残留濃度

農薬名	試験区	花粉残留濃度(ppm)*		
		開花1,2日後	同3-5日後	同6,7日後
クロチアニジン	空散	0.07	0.12	0.10
	通常	0.47	0.05	0.05
エチプロール	空散	0.06	0.09	0.07
	通常	0.55	0.06	0.06
エトフェンプロックス	空散	0.71	0.78	0.34
	通常	2.14	0.30	0.09
MEP	空散	0.98	0.04	<0.01
	通常	3.15	0.12	0.01

*空散区残留濃度は通常区成分投下量からの補正值

通常散布の花粉初期残留濃度（開花および処理 1,2 日後）が、無人ヘリ散布よりも高くなった原因として、散布液が穂に十分量付着していることが観察されており、この薬液が顎の隙間より花の内部に浸透したことによる可能性が考えられる。また、この初期濃度はクロチアニジンを 1 とした場合、エチプロールは 1.2 倍、エトフェンプロックス 4.6 倍、MEP 6.7 倍となり成分投下量の比（表 12）と類似した結果であり、初期濃度は農薬の性質よりも十分な付着による差を反映していると考えられる。一方、時間経過とともに無人ヘリ散布のクロチアニジンおよびエチプロールで濃度が上昇したのは、無人ヘリ散布の方が通常散布よりも散布ロスが少なく、より多くの農薬が穂全体に付着した結果、花粉への移動（移行）が進んだと考えられる。ただし、本調査における無人ヘリ散布方法は、実際の無人ヘリ散布よりも細かい霧状の散布となっていることから穂への付着量が実際より均一、かつより多く穂にばく露している可能性がある。

本調査において、農薬散布時に開花している稲では、花粉に農薬残留が認められた。このことから、開花中に農薬が散布された場合は、農薬の種類にかかわらず花粉への残留が生ずる可能性があると考えられた。

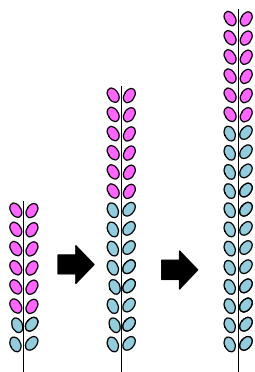


図 6 出穂始めから花への農薬暴露イメージ