

## 野菜類の花粉・花蜜残留試験（2021年 自主研究） －なすの花粉・花蜜－

### 1. 目的

ナス科野菜における花粉花蜜残留試験方法を検討する。

### 2. 試験概要

茨城研究所の施設において、なすの生育状況と花の構造を調査し、花粉・花蜜の採取の可否、採取方法及び残留試験方法と残留濃度を調査、検討した。

### 3. 試験場所および試験担当者

試験場所：一般社団法人 日本植物防疫協会 茨城研究所

試験担当者：川北充彦、宮本由子、宮川直也、荒井雄太、島崎祐樹、天野昭子、林直人

### 4. 調査内容

#### (1) 開花数の調査

##### ①栽培概要

供試品種：千両 定植日：2021年9月3日

栽培方法：施設栽培、1条植主枝3本仕立て

栽植密度：畝間1.6m、株間0.5m

##### ②調査方法

2021年9月10日から10月25日まで、特定の40株（連続10株×4連）について開花している花の数を区画毎に毎日計数した。

#### (2) 花の構造の調査

##### ①栽培概要

供試品種：あのみのもり2号 定植日：2020年9月17日

栽培方法：施設栽培、1条植主枝3本仕立て

栽植密度：畝間1.8m、株間0.5m

##### ②調査方法

開花中の花を採取して実体顕微鏡下で解体し、花の構造を調査した。

#### (3) 開花後の経過観察

##### ①栽培概要(春作)

供試品種：あのみのもり2号 定植日：2020年9月17日

栽培方法：施設栽培、1条植主枝3本仕立て

栽植密度：畝間 1.8m、株間 0.5m

#### ②栽培概要(秋作)

供試品種：千両 定植日：2021年9月3日

栽培方法：施設栽培、1条植主枝3本仕立て

栽植密度：畝間 1.6m、株間 0.5m

#### ③調査方法

春作：特定の蕾にマーキングを行い、経過日数ごとに開花の状況を記録した。

調査は2021年6月18日から6月25日まで行った。

秋作：特定の蕾にマーキングを行い、開花後の花粉放出期間を調査した。

調査は2021年9月28日から10月5日（開花初期）、及び10月20日～29日（開花盛期）に行った。

#### (4) 花粉の採取方法の検討

##### ①栽培概要

供試品種：千両二号 定植日：2021年9月9日

栽培方法：施設栽培、1条植主枝3本仕立て

栽植密度：畝間 1.8m 株間 0.5m

##### ②調査方法

花に振動を与えると葯先端の開口部から花粉が落下することが確認できたため、一定強度の振動を与えて開口部から落下した花粉を回収する方法を検討した。具体的には、電動歯ブラシのヘッドを除いた先端部分を花柄もしくは萼に押し当てて振動させ、落下した花粉をエッペンドルフチューブで受ける形で採取を試みた（図1）。

また、天候により採取量が変わるかを確認するため、雨天日と晴天日に採取を行った。

雨天日：2021年10月26日 9:00 採取開始

晴天日：2021年10月28日 13:00 採取開始

なお、なすは花蜜を分泌しないため、花蜜の採取方法の検討は行わなかった。



図1. 採取に使用した電動歯ブラシと花粉採取の様子

## (5) 農薬残留量の調査

### ①栽培概要

供試品種：千両 定植日：2021年9月3日

栽培方法：施設栽培、1条植主枝3本仕立て

栽植密度：畝間1.6m 株間0.5m、畝長：20m、4畝

区制：無処理区および処理区（128 m<sup>2</sup>、160株）

無処理試料を採取後、薬剤を施用し処理後試料を採取した。

### ②薬剤の処理

供試薬剤：ジノテフラン 20%顆粒水和剤（アルバリン顆粒水溶剤）

ペルメトリン 20%乳剤（アディオン乳剤）

処理方法：両薬剤とも2000倍希釈し、薬液を混用して220L/10aの割合で背負い式電動散布機を用い、十分量を均一に散布した。

散布日：2021年10月18日 AM7時46分

散布日の草丈：約140cm

### ③試料採取および調製

花粉採取は前項で検討した方法で行った。なお、処理直後の採取は薬液が十分乾いたことを確認してから行った。

採取日：2021年10月15日（無処理）、10月18日（処理直後、散布の約5時間30分後）、10月21日（処理3日後）、10月25日（処理7日後）、10月29日（処理11日後）

### ④試料の送付

試料は清浄な薬包紙に包み、アルミ袋に入れて、分析担当者に速やかに手渡した。

## 5. 分析方法

試料の分析は各2連で実施した。試料の採取量に限りがあったため、無処理区試料の分析値は内部精度管理に使用したブランク試料の結果を用いた。

### ①磨砕均一化

試料に超純水を加え、約1,000rpmに設定した攪拌機で3分間磨砕した。磨砕後、ボルトエクスで試料をよく攪拌してから50mL容遠心管に必要量を分取した。

### ②抽出・精製・定量操作

以下の方法で行った。分析法の詳細は「7. 参考資料」に示した。

#### 1. ジノテフラン

試料に含水アセトニトリルを加え振とう抽出した。塩析、アセトニトリル/ヘキサン分配、及び連結ミニカラムによる精製を行った後、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。定量限界は0.001mg/kgとした。

## 2. ペルメトリン

試料に含水アセトニトリルを加え振とう抽出した。塩析及び連結ミニカラムによる精製を行った後、LC-MS/MS を用いて定量した。定量限界は 0.001mg/kg とした。

## 6. 結果と考察

### (1) 開花数の調査

1 株当たりの開花数の推移を図 2 に示した。定植 3 日後（2021 年 9 月 6 日）から開花が認められ、経過日数毎に開花数は増加した。定植 40 日頃になると 1 株あたり約 4 花（主枝あたり約 1.4 花）となり、以降は横ばいの傾向を示した。

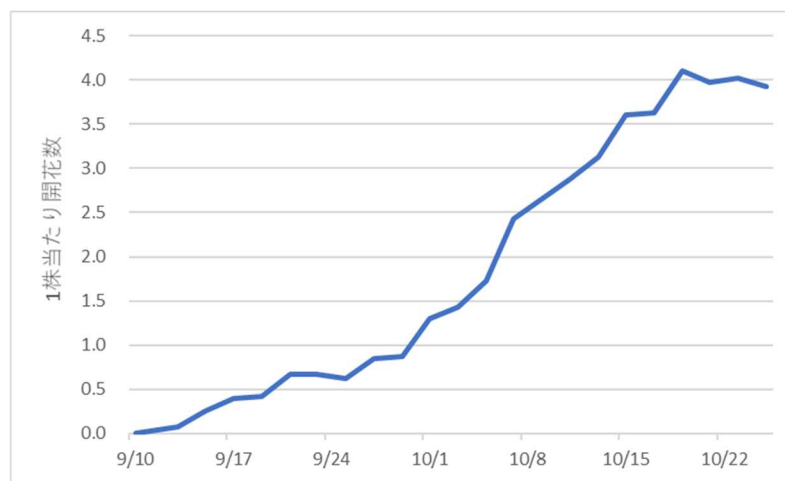


図 2. なすの着花状況（2021 年 9 月 3 日定植）

### (2) 花の構造の調査

花と葯の断面写真を図 3 に示した。花は両性で雄蕊・雌蕊を有し、葯が長大で花柱を取り囲んでいた。また、花は多くが下向きに開花し、振動を与えると葯の先端の開口部から粘着性のない花粉が落下した。また、蜜腺がないため花蜜は得られなかった。



図 3. 花 (左) と 葯 (右) の断面写真

(3) 開花後の経過観察

開花した花は 6 日間開花状態を保った後に萎んで落花した (図 4)。また、開花直後は振動を与えても花粉は殆ど落下せず、開花から数時間が経過した花では花粉の落下が認められた。花粉の落下は花が萎むまで確認されたため、開花期間が花粉の得られる期間に相当すると思われた。また、開花初期よりも開花盛期に開花した花の方が平均開花期間はやや長い傾向を示した(表 1)。



図 4. 開花後の経過

表 1. なすの平均開花期間 (花粉が得られる期間)

	調査花数	平均開花期間
開花初期 (9月28日～10月5日)	33花	5.0日
開花盛期 (10月20日～10月29日)	24花	7.7日

#### (4) 試料の採取方法の検討

電動歯ブラシを使用する方法を検討した結果、条件が良い時は葯先端の開口部から流れ落ちるように多くの花粉が落下し、本手法での採取は有効であった。

表2に異なる天候条件での採取結果を示した。天候に関係なく採取は可能だったが、晴天時の採取量は1花あたり平均2.17mgであったのに対し、雨の日は平均1.28mgと晴天時の採取量がやや多かった。

表2. 採取量と気象条件

採取日時	天気	採取時の気温	採取時間の降水量(mm/hr)	採取花数	花粉量(g)	1花あたり花粉量(mg)
10月26日 9:00~	雨	13.1℃	0.5mm	156花	0.20g	1.28mg
10月29日 10:00~	晴れ	12.3℃	—	65花	0.14g	2.17mg

#### (5) 農薬残留量の調査

##### ① 試料採取量

各採取日の採取結果を表3に示した。採取日により1花あたりの採取量はやや異なり、事前調査のとおり晴天時の方が採取量は多くなったが、採取期間を通して十分な量の採取が可能であった。

表3. 各採取日の花粉採取量

採取日	処理後経過日数	採取時の天気	採取花数	採取花粉量(g)	1花あたり花粉量(mg)
10月15日	無処理	晴れ	349花	1.250g	3.58mg
10月18日	処理直後	晴れ	120花	0.677g	5.64mg
10月21日	処理3日後	曇り	210花	0.447g	2.13mg
10月25日	処理7日後	曇り	394花	0.643g	1.63mg
10月29日	処理11日後	晴れ	160花	0.467g	2.92mg

##### ② 分析結果

花粉試料の分析結果を表4に示した。ジノテフランは処理3日後に0.370mg/kgで濃

度が最大となり、その後は緩やかに減衰した。ペルメトリンは処理直後の濃度が0.068mg/kgで最大となり、処理7日後以降は大きく減衰した。この残留傾向の違いは浸透移行性の有無が強く影響していると考えられた。

すなわちジノテフランでは、処理直後より処理3日後以降の方が濃度が高かったことから、なすの花粉におけるジノテフランの残留量は薬液の直接暴露量よりも浸透移行による移行量の方が大きい傾向が示された。なすの花粉は落下の直前まで葯の中にあり、散布剤の直接暴露の影響が比較的小さくなる構造的特徴を有しているため、浸透移行性を有するジノテフランで3日後以降の残留が高くなったと考えられる。逆に、浸透移行性のないペルメトリンでは処理直後が最も高く、その後の減衰傾向から、処理3日後までは散布時に開花していた花が残っていたと推測される。処理3日後以降に急激にペルメトリン濃度が減衰したのは、処理7日後では散布後に開花した花が多く割合を占めており、かつペルメトリンが浸透移行しなかったためと思われる。この傾向は表1で示した平均開花期間とも一致していた。

表4. なす花粉の分析結果

経過 日数	ジノテフラン			ペルメトリン		
	分析値 ①	分析値 ②	平均値	分析値 ①	分析値 ②	平均値
無処理	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
処理直後	0.085	0.084	0.084	0.069	0.066	0.068
同3日後	0.372	0.368	0.370	0.059	0.057	0.058
同7日後	0.292	0.286	0.289	0.004	0.003	0.004
同11日後	0.156	0.153	0.154	0.002	0.002	0.002

※表中の分析値の単位は mg/kg

## 7.まとめ

ナス科であるなすの花は両性で雄蕊・雌蕊を持ち、花粉は開花期間（5～7日）中ほぼ継続して採取可能であった。一方、蜜腺はなく花蜜は得られなかった。花粉採取は、電動歯ブラシを用いて振動を与える方法で葯の先端から容易に採取できた。1花当たりの花粉採取量は約3mgで、分析の必要量を2gとすると栽培時の必要株数は開花最盛期の株当たり開花数から試算して約160株となる。また農薬残留濃度は花の形状から花粉への直接暴露は少なく、浸透移行性の高い薬剤で散布3日後から高い濃度が認められた。

## 8. 参考資料

### 7-1. 分析フローシート

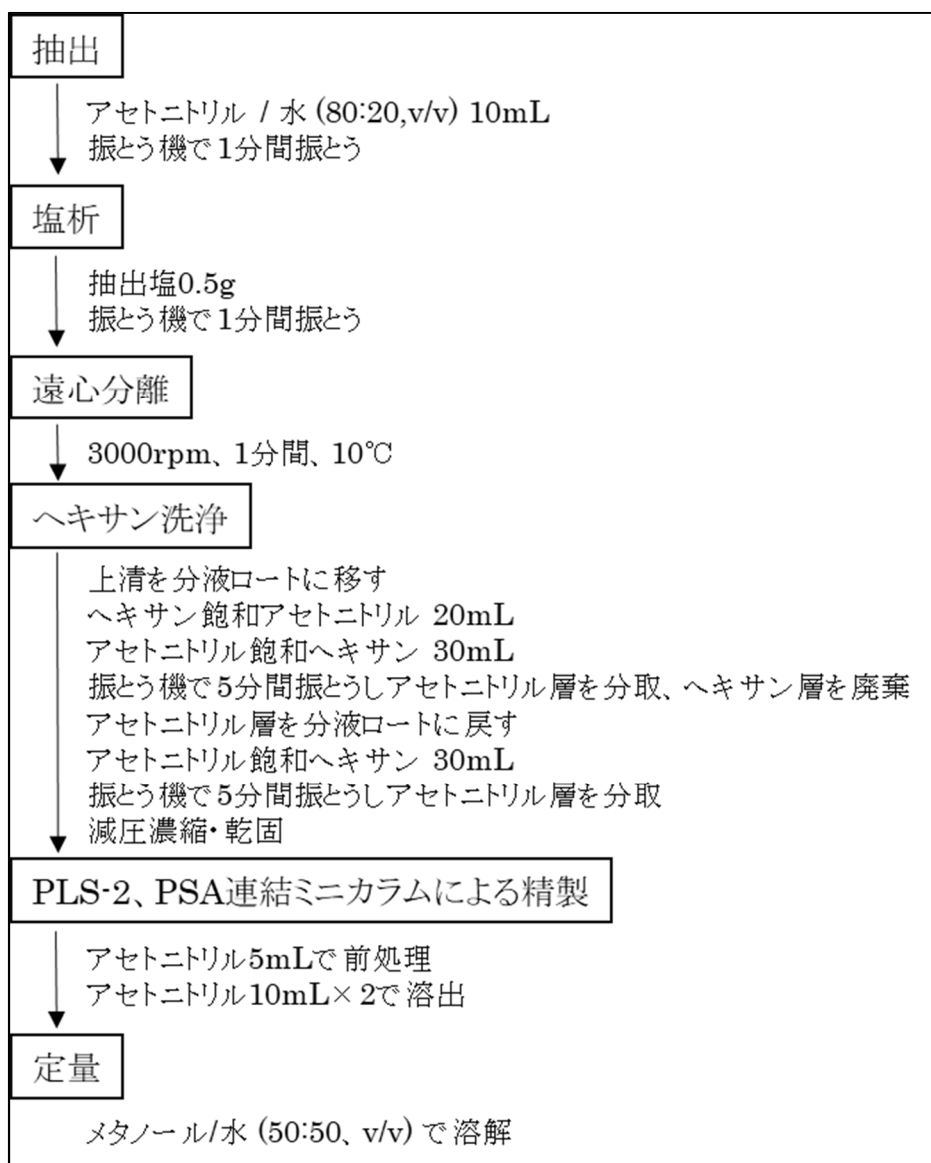


図 5. ジノテフランの分析フローシート



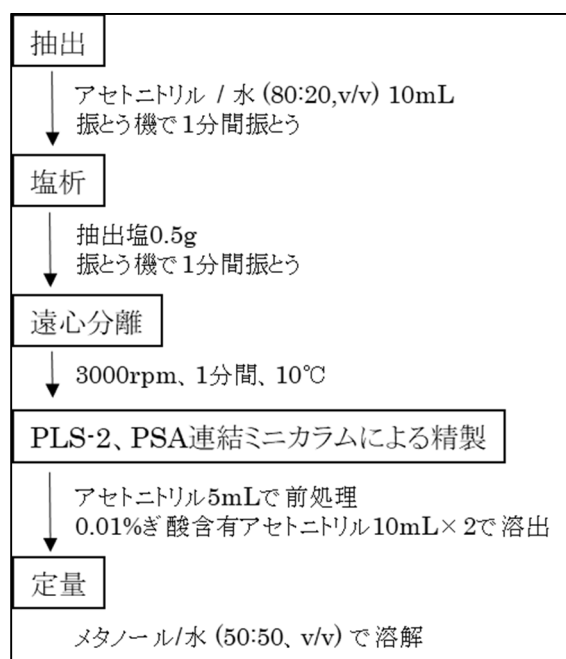


図 6. ペルメトリンの分析フローシート

## 7-2. 添加回収試験の結果

表 5. ジノテフランの添加回収試験の結果

添加濃度 (mg / kg)	回収率 (%)			平均 回収率 (%)
	連制 1	連制 2	連制 3	
1.0	101	100	—	101
0.1	92	88	84	88
0.001	100	100	—	100

表 6. ペルメトリンの添加回収試験の結果

添加濃度 (mg / kg)	回収率 (%)			平均 回収率 (%)
	連制 1	連制 2	連制 3	
0.1	101	98	84	94
0.001	110	100	—	105

※試料量に限りがあったため、両成分の 0.1mg/kg 添加回収試験の結果は、実試料および保存安定性確認の際に内部精度管理として用いた添加試料の結果を示した。

7-3. 保存安定性の確認結果

表 7. 保存安定性の確認結果

有効成分	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
ジノテフラン	0.5	12 (2021/10/15 - 2021/10/27)	87, 79	83
ペルメトリン	0.5	146 (2021/10/15 - 2022/3/10)	97, 95	96

実試料最長保存日数：ジノテフラン 8 日間，ペルメトリン 135 日間

7-4. 受領試料の写真



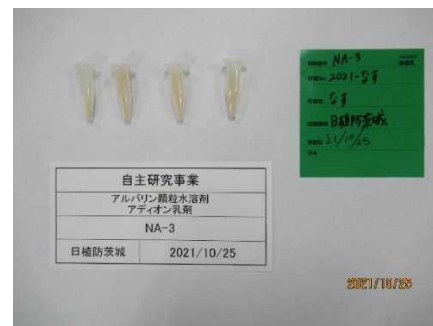
無処理



処理直後



処理 3 日後



処理 7 日後



処理 11 日後

図 7. 花粉試料の受領時写真

## 野菜類の花粉・花蜜残留試験（2021年自主研究） －ピーマンの花粉・花蜜－

### 1. 目的

ナス科野菜における花粉花蜜残留試験方法を検討する。

### 2. 試験概要

茨城研究所において、ピーマンの施設栽培を用いて生育状況、花の構造を調査し、花粉・花蜜の採取の可否、採取方法を検討した。

### 3. 試験場所および試験担当者

試験場所：一般社団法人 日本植物防疫協会 茨城研究所

試験担当者：宮本由子、天野昭子、林直人、沼田慎一

### 4. 調査内容

#### 1) 生育調査

品種：京ひかり

定植：2021年5月6日 1条植え主枝4本仕立て

所内施設（施設サイドに赤色ネットを展張）

栽植密度：畝間1.8m 株間0.5m

調査項目：着花が目立ち始めた6月3日より7月12日までおよそ1週間おきに、特定の50株について着花数を計数した。

#### 2) 花の構造

生育調査で用いたピーマンから花を採取し、切断して構造を調べるとともに、花蜜の分泌の様子を観察した。

#### 3) 開花の経過

研究所内のほ場において栽培されていたピーマンを用い、特定の蕾にマークして、開花の経過を観察した。耕種概要は以下の通り。

供試品種：京鈴

定植：2020年9月15日 1条植え4本仕立て 所内施設

栽植密度：畝間1.8m 株間0.5m

#### 4) 花蜜の状況

生育調査のほ場において、花蜜の分泌について観察するとともに、特定の花について開

花日から翌日にかけて継時的に写真撮影を行い、花蜜の分泌の経緯を記録した。

### 5) 花粉の採取方法

開花している状態で花を揺らすと花粉は落ち始める。そのため花を採取して室内で花粉を採取するのは困難であり、また、雄蕊が外側に飛び出しているため、採取した花を輸送する際に汚染する可能性が高い。

ほ場で採取するには、電動歯ブラシで花を振動させ落下する花粉をエッペンドルフチューブに落とし込む方法と、スイカで用いた空気吸引ポンプ（卓上 USB クリーナー）でフィルターに捕集する方法が考えられた。そこで、生育調査を行ったほ場において 7 月 13 日にそれぞれの方法で花粉の採取を実施し比較した。



この比較により適した手法を用い、実際の採取業務を想定して同一のエリアから 0, 1, 3, 7 日後の花粉採取を行い、作業性を調査した。

### 6) 花蜜の採取方法

花蜜は、花弁上に微量な水滴状態で確認される。そのため、花を採取し室内に搬入するのは汚染等の恐れが高い。したがって、ほ場内で注射針を用いて採取する方法を用いることとし、花粉採取と合わせて経時的に採取を行い、作業性を調査した。



1ml シリンジに 27G(0.41mm 径)の平針を装着



蜜滴を目視で吸引

## 5. 検討結果

### 1) 生育調査

ピーマンの主産地である茨城県神栖市では一般的に主枝 4 本仕立て（側枝 3 節止）で栽培されており、7 月下旬定植の抑制栽培では図 1 のように収穫される。定植 2 か月頃から週当たり 30～70 果／5 株の収穫となるが、結果率は 60～70%程度とされるので、それに相当する日当りの開花数は株当たり 1～3 花程度と予想される。

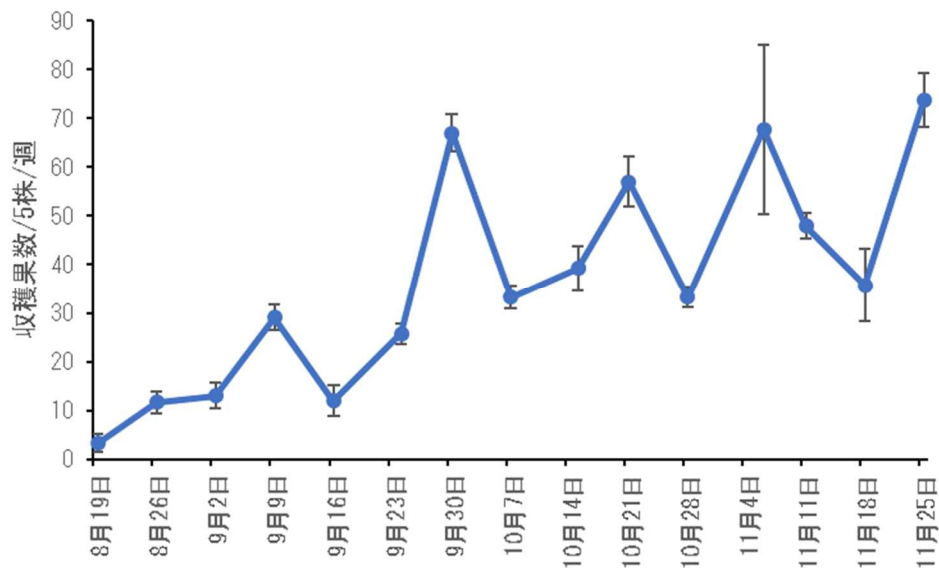


図 1 神栖市で栽培される主枝 4 本仕立て（側枝 3 節止）での収穫果の実測結果(沼田私信)

2013 年 7 月 24 日定植 品種：みおぎ

2021 年 5 月 6 日定植の京ひかりを用いて、上記と同じ方法で栽培を行い、経時的に着花数を調査した（図 2）。定植 1 ヶ月を過ぎると株あたり 10.8 花となったが、実着き・整

枝の状況に伴い3～10.8花/株の範囲で変動した。開花から収穫までは2～3週間であり、花は咲いている状態を3日程度維持するので、図1の神栖市の抑制栽培のデータとほぼ一致した。

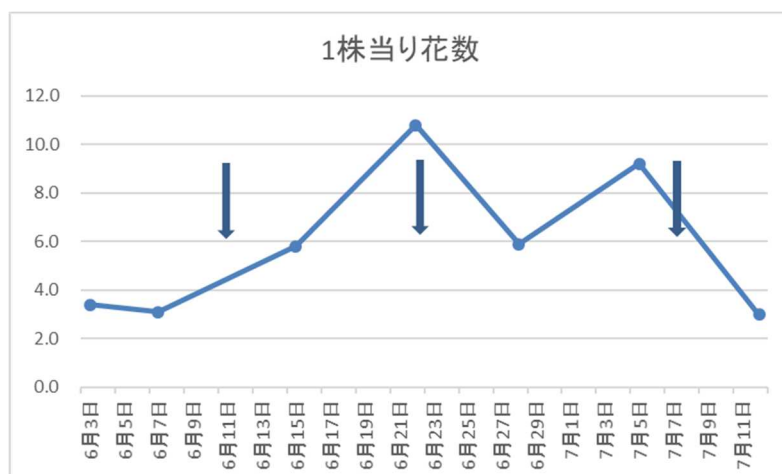
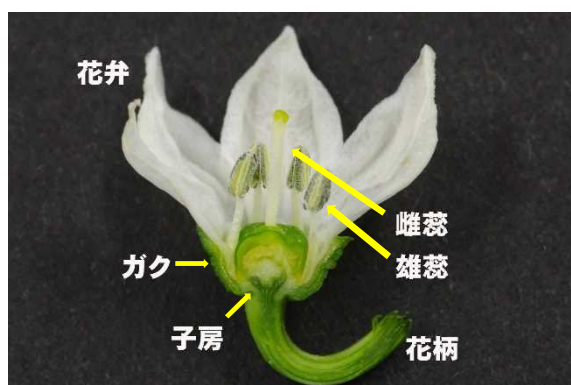


図2 2021年5月6日定植の京ひかりでの開花数の推移（矢印は整枝）

## 2) 花の構造

花は両性で雄蕊・雌蕊を持ち、雌蕊の元は子房になっており、蜜だまりの構造はない。蜜は花卉の子房との接点付近に開口部があり、そこから抽出され、水滴の状態で見える。



花の断面



花蜜の様子

## 3) 開花の経過

午前中に開花が観察され、半日から一日おいて開葯する。夕方花卉が少し閉じるが完全に閉じることはなく、翌朝また全開となる。花粉は3日間程度採取が可能であった。日の経過とともに子房がせり出してきて、4日目以降雄蕊と共に花卉が離脱する。



開花始まり

午後に開き切るがまだ花粉は少ない



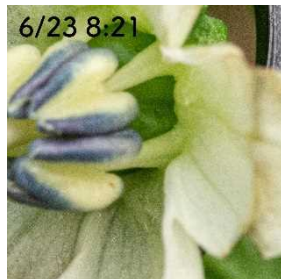
3日目：花粉は多い



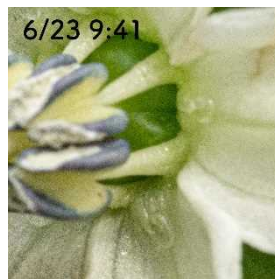
4日目：花粉は殆どない。子房がせり出し花弁が落ちる場合もある

#### 4) 花蜜の状況

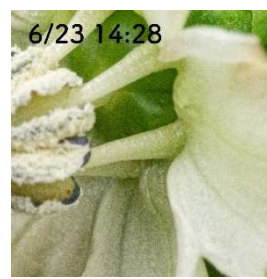
花蜜は開花当日に多く認められ、翌日も認められるが、3日目以降はほとんど確認されなかった。また、降雨日と晴天日では前者が明らかに多く、天候により大きく変動するようである。これが本質的な抽出量の差なのか、蒸発して減少しているのかは不明である。1日の中では午前中に抽出が始まり、午後は蒸発やアリ等の持ち去りにより消失し、翌日再び抽出するようである。



開花直後 抽出なし



抽出している



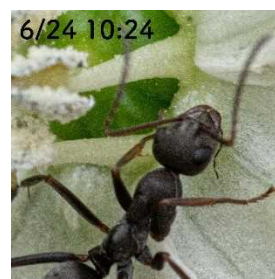
午後にはなくなる



翌早朝は無い



この時間抽出してくる



アリによる持ち去り



これ以降は抽出しなかった



## 5) 花粉の採取方法

花粉の採取法について2つの方法を比較したところ、電動歯ブラシの使用では葯が破壊され取れてしまうことがあった。また採取効率も低かったため、空気吸引ポンプを用いた採取法が適していると考えられた(表1)。

表1 採取法による花粉の採取量(40株の畝の片側を1区として3連制で実施)

電動ハブラシ						空気吸引ポンプ					
区	花数	時間(分)	1花当り時間(分)	花粉量(mg)	1花当り量(mg)	区	花数	時間(分)	1花当り時間(分)	花粉量(mg)	1花当り量(mg)
I	32	25	0.8	1.9	0.1	I	55	24	0.4	17.0	0.3
II	40	39	1.0	14.8	*0.4	II	44	18	0.4	9.5	0.2
III	53	34	0.6	5.3	0.1	III	58	28	0.5	24.4	0.4
平均	41.7	32.7	0.8	7.3	0.2	平均	52.3	23.3	0.4	17.0	0.3

\*: 葯が多数混入

実際の採取業務を想定して、同一のエリアを対象に0, 1, 3, 7日後に、空気吸引ポンプを用いた花粉採取を実施した。畝片側の連続した40株を1区とした3連制で、全着花について採取を行った結果を表2に示す。想定としては0日目の採取により、翌日(1日後)は開花している花のうち2/3から3/4程度は前日花粉を取り去られた花であることから、1日後の採取量はかなり落ち込むことが予想された。しかし結果は0日後の採取量が1日後の半分以下で最も少なくなった。これは、0日後の採取時に降雨があり、湿度が影響していると推測される。すなわち、降雨日は湿度が高く花粉の落下が起こりにくいことと、吸引装置の外部フィルター(ゴース)部分に湿った花粉が大量に固着してしまい、回収できずに破棄することが大きな原因と考えられた。これについては、後日降雨時に30花の3連制で再現試験を行った(表3)ところ、同様に採取量は少なく、外部フィルターへの固着も多く認められた。3日後、7日後は対象となる花が更新しており、あまり変動はないと想定していたが、天候がいずれも晴れであったこともあり、採取量はほぼ一定であった。

空気吸引ポンプによる1花あたり採取量は0.3~0.8mgであり、分析用の必要量を2gとすると、生育調査における株あたりの花数の結果と併せて考えれば230~2220株が必要となり、天候により花粉の採取量は大きく左右されると考えられた。

表2 花粉採取量の経時的推移

月日	天候	花数	1花当り所要時間(分)	1花当り採取量(mg)
7月13日	雨	52.3	0.4	0.3
7月14日	薄曇り	48.7	0.2	0.8
7月16日	晴れ	57.7	0.2	0.7
7月20日	晴れ	39.0	0.2	0.8

40株の畝の片側を1区として3連制で実施した平均値



表 3 雨天時の採取量

区	1花当り所要時間(分)	1花当り採取量(mg)
I	0.7	0.4
II	0.2	0.4
III	0.2	0.3
平均	0.4	0.4

7/27：調査4時間前から連続降雨あり．湿度92%．



降雨日の外部フィルタ



晴天日の外部フィルタ

#### 6) 花蜜の採取方法

花粉と同じ日に同じハウスの異なる畝で経時的に花蜜採取を実施した(表4)。先の調査4)のとおり開花の数日後はもう蜜が抽出しないため、開花している花のうち、花蜜が採取できるものを選別して採取した。開花している花のうち花蜜が採取できる(目視で花蜜が確認できる)花の割合は23~83%と変動が大きかったが、概ね半数程度の花から採取できた。極めて精密な作業のため、所要時間は個人差が大きかった。採取量については、初日は雨天のため花あたり2.1mgと多かったが、翌日は0.0mg、3日後は0.3mg、7日後は0.2mgと微量であった(いずれも晴れもしくは薄曇り)。4)の観察から、ある日に蜜を採取しても翌日の採取量に大きな影響は考えられないため、採取量は気温や湿度に大きな影響を受けると考えられる。条件が悪い場合殆ど採取できないことから、一定量の花蜜を確実に採取することは困難と考えられる。

表4 花蜜採取量の経時的推移

月日	天候	花数	1花当り所要時間(分)	1花当り採取量(mg)
7月13日	雨	34.7	1.0	2.1
7月14日	薄曇り	18.0	1.3	0.0
7月16日	晴れ	18.7	0.6	0.3
7月20日	晴れ	21.0	1.7	0.2

40株の畝の片側を1区として3連制で実施した平均値

## 6. まとめ

ピーマンの花粉は、空気吸引ポンプによる採取が可能であるが、花のサイズが小さいことと、天候により採取量が大きく左右されることから、必要量を 2 g とすると必要株数は 230～2220 株となり、確実に採取量を確保するためにはかなりの栽培面積が必要となる。

花蜜についてはさらに気温・湿度に大きな影響を受け、ほとんど採取できない日もあることから、安定して分析に必要な採取量を確保するのは難しいと考えられた。