

令和4年度

生産資材安全確保対策委託事業  
(蜜蜂への新たな影響評価の充実のためのデータ収集)

報 告 書

2023年3月8日

一般社団法人日本植物防疫協会

# 目次

I.	仕様書	1
II.	業務の概要	5
III.	調査結果	
	1. 試験場所	8
	2. 供試作物および耕種概要	8
	3. 調査期間	9
	4. 調査内容	9
	5. 分析の方法	13
	6. 試験結果および考察	14
IV.	資料	
	1. 試験期間中の気温	30
	2. 分析方法の詳細	32
V.	関連試験成績（日本植物防疫協会自主研究）	
	・野菜類の花粉・花蜜残留試験－だいず－（2021年）	68
	・野菜類の花粉・花蜜残留試験－かぼちゃ－（2020年2021年）	83
	・野菜類の花粉・花蜜残留試験－なす－（2021年）	94
	・野菜類の花粉・花蜜残留試験－ピーマン－（2021年）	104
	・果樹類の花粉・花蜜残留試験－うめ・もも・すもも－（2022年）	112
	・総合考察	157

# I. 仕様書

## 1 名称

令和4年度生産資材安全確保対策委託事業（蜜蜂への新たな影響評価の充実のためのデータ収集）

## 2 事業の目的

欧米において、ミツバチ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ミツバチへの暴露の影響や、巣に持ち帰った花粉や花蜜を通じた幼虫を含む蜂群への暴露の影響を評価するため、新たに成虫での反復毒性試験や、幼虫での試験の要求が始まっている。国際的にも、経済協力開発機構

（OECD）において、ミツバチに対しての、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やガイダンスの策定が進められている。

我が国においても、農薬登録に係るミツバチへの影響評価を、農薬の暴露経路を考慮し、幼虫への影響や成虫への反復影響、蜂群への影響を評価するための、段階制の評価法とデータ要求の導入を行うこととしている。導入する評価法の第1段階においては、花粉・花蜜残留試験のデータによる評価の精緻化の過程があるが、当該試験は、国際的なガイドラインが存在せず、手法が確立していない。

そのため、花粉・花蜜残留試験に資する効率的な手法の検討・検証を行う。

## 3 事業の実施期間

契約締結日から令和5年3月14日（火）までとする。

## 4 事業の概要

欧米のガイダンス（指針）及び論文における農薬のミツバチへのリスク評価に用いる花粉・花蜜残留試験の我が国での効率的な実施のため、試験法の検討・検証を行う。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。

また、本事業においては、次の5～6に掲げる内容を実施すること。

## 5 事業推進検討委員会の設置

事業の実施にあたり、農薬のミツバチへの影響に関する知見等を有する3名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。）等からなる20名程度の事業推進検討委員会（以下「検討会」という。）を東京近郊（港区、千代田区等）で2回以上開催（WEB形式による開催も可能）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。

## 6 花粉・花蜜残留試験法の検討・残留傾向の検証

農薬のミツバチへの影響を評価するため、マメ科作物の花粉・花蜜残留試験に係る手法の検討・検証及び残留傾向を検証する。

下記の採取手法および試験法の検討・検証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。

### (1) 花粉・花蜜の効率的な採取手法の検討

花粉・花蜜採取の効率化に係る手法を検討する。手法には以下を含むものとする。

- ・効率的な花粉・花蜜の採取手法（花で代替する手法も含む）
- ・採取可能量と必要な花数

### (2) 花粉・花蜜残留試験

#### 1. 供試農薬

農薬（殺虫剤）2種類以上を対象とする（浸透移行性を有するものを1種類必ず含むものとする）。

#### 2. 供試植物

広く栽培されており、露地栽培のあるマメ科作物から、2種類以内を選定する。

#### 3. 試験方法

試験は、供試植物を栽培し\*1、慣行の使用量で農薬（殺虫剤）を茎葉散布し、経時的に\*2 花粉・花蜜を採取する。

採取手法の検討の結果、花粉・花蜜の採取が困難な場合は花で代替しても可とする。

試験は供試植物・農薬毎に3反復（3カ所）以上行うものとする。

なお、処理区間における農薬の飛散が生じないように十分注意すること。

\*1 施設でも可。

\*2 4回程度。散布当日は必ず含むものとする。

#### 4. 分析

3. の試験で採取した花粉・花蜜あるいは花の残留農薬成分濃度を分析する。  
分析は2連で、供試植物及び農薬毎に行い、農産安全管理課が指定する方法に従うこと。

#### 5. 結果の解析

作物毎の花粉・花蜜あるいは花の経時的な農薬の分析結果について、残留濃度傾向の比較解析を行う。

### 7 報告

検討会及び調査の結果を取りまとめた事業報告書を、令和5年3月14日（火）までに農産安全管理課宛て10部提出（うち3部は電子媒体とする）すること。

事業の推進状況については、四半期毎を目処に農産安全管理課に報告すること。

なお、電子媒体については、CD-R 又は DVD-R のいずれかとし、ウイルスチェックを行った上で、ウイルス対策に関する情報（ウイルス対策ソフト名、ウイルス定義及びチェック年月日）を記載したラベルを添付すること。

### 8 事業実績報告書

受託者は、本事業が終了したとき（本事業を中止したとき、又は廃止した時を含む。）は、事業実績報告書1部を提出すること。

提出期限は、令和5年3月14日（火）までとする。

### 9 応札者の条件

本事業を受託しようとする者は以下に掲げる事項を証明する書類等を農産安全管理課へ提出し、確認を受けた後、入札説明書の6に示す場所へ期限までに提出すること

受託者は、農薬 GLP 基準（生態毒性等に関する試験分野）に適合した試験施設を有している者であること。（証明する書類の例：農林水産省による GLP 適合確認結果通知）

### 10 その他

(1) 受託者が、本仕様書から逸脱した方法を採用又は農産安全管理課による指示に反する等の明らかな欠陥があり、再実行の必要が認められる場合には、農産安全管理課と協議を行った上で、再実行することとする。なお、これに係る経費は受託者の負担とする。

- (2) 契約締結後、受託者は速やかに、業務実施体制表（担当者氏名、役割及び連絡先等）を農産安全管理課に提出すること。
- (3) 本仕様書に記載のない事項及び疑義が生じた事項については、農産安全管理課と受託者が協議の上処理すること。
- (4) 報告に際しては、受託者が、必要に応じ本事業外の成果・知見を加え考察することも可能とするが、内容については農産安全管理課と協議すること。
- (5) 本事業の実施に当たり対象となる経費は、別紙1に掲げるものとする。
- (6) 本事業における人件費の算定等に当たっては、別紙2の「委託事業における人件費の算定等の適正化について」（平成22年9月27日付け22経第961号農林水産省大臣官房経理課長通知）によるものとする。
- (7) 複数の団体が本委託事業の受託のために組織した共同事業体（民法（明治29年法律第89号）上の組合に該当するもの。以下同じ。）による参加も可とする。共同事業体を構成する場合は、代表者を決め、他のものは構成員として参加するものとし、代表者及び構成員は令和4・5・6年度農林水産省競争参加資格（全省庁統一資格）の「役務の提供等」の「A」、「B」、「C」、「D」等級に格付けされた競争参加資格を有している者であること。  
また、代表者は入札参加申込書（共同事業体）（入札説明書別紙様式第4号）を提出し、共同事業体として本入札に参加し、落札した場合は、共同事業体の業務分担及び実施体制等について明確にした結成・運営等に関する協定書（又はこれに準ずる書類）等を契約締結前までにする必要がある。  
なお、共同事業体に参加する者は、本入札において他の共同事業体の構成員となること又は単独で参加することはできない。

## II. 業務の概要

### 1. 目的

農薬登録に係るミツバチへの影響評価の精緻化を目的として、マメ科作物の花粉・花蜜残留試験に係る手法の検討・検証及び残留傾向を検証する。

### 2. 事業推進検討委員会の設置

本事業の実施に当たり、農薬のミツバチへの影響に関する知見等を有する3名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等からなる20名程度の事業推進検討委員会を都内で2回（5月および翌2月頃）開催する。

<検討委員（五十音順、敬称略）>

- ・稲生 圭哉（農研機構 農業環境研究部門 化学物質リスク研究領域 有機化学物質グループ 主席研究員）
- ・中村 純（玉川大学 農学部 先端食農学科 食品科学領域 教授）
- ・細谷 和重（茨城県県南農林事務所 稲敷地域農業改良普及センター センター長）

### 3. 事業の実施体制

本事業は、一般社団法人日本植物防疫協会 本部が中核となり、同茨城研究所（茨城県牛久市）、同高知試験場（高知県香南市）および同宮崎試験場（宮崎県宮崎市）の3場所で圃場試験を実施し、同茨城研究所において残留分析を実施する。

### 4. 試験計画

#### （1）供試植物

仕様書に基づき、代表的なマメ科作物としてえんどうを選定し供試する。降雨による影響を避けるため、試験は施設栽培で実施する。

#### （2）供試農薬

浸透移行性の高い農薬としてジノテフラン水溶剤、浸透移行性の低い農薬としてペルメトリン乳剤を選定し、それぞれを所定濃度で混用し、慣行の方法により処理を行う。2成分はそれぞれに残留分析を行う。

#### （3）調査方法

1) 効率的な採取方法の検討

茨城研究所において検討する。十分な面積の試験区を準備し、花粉の採取方法は、葯に振動を与え花粉を落とし回収する方法等、最適な手法を検討する。花蜜の採取方法は、シリンジを使用して採取する方法等、最適な手法を検討する。また、複数品種を比較し、花粉・花蜜の採取に適した品種を検討する。

2) 農薬の残留傾向の検討

茨城研究所、高知試験場および宮崎試験場において検討する。十分な面積の試験区を準備し、処理区に供試農薬を処理したのち、経時的に花粉および花蜜を採取する。散布は開花期に行い、散布当日から数日おきに4回（散布当日、3日後、7日後、14日後）採取することを目標とする。採取方法は、1)の試験において適切な方法を検討したうえで決定する。検討の結果、花粉・花蜜の採取が困難な場合は、花を代替試料とする。残留分析は、各試料と供試農薬の組合せ毎に十分な回収率と精度が確保できる方法を予め確立し、各2連で実施する。

(4) 結果の整理

えんどうの花粉・花蜜（又は花）における農薬ごとの残留濃度の経時的な推移を整理する。また、効率的な採取方法、花あたり採取量および必要な花数等についても考察する。その際、必要に応じて他作物の知見も交えて考察を行う。

5. 工程表

	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
	第1回 検討会									第2回 検討会	最終 報告
採取方法の検討	←→ 茨城										
残留試験 (試料採取)						←→ 茨城	←→ 高知	←→ 宮崎			
分析						←→ 茨城					



業務実施体制（主たる担当者）

役割	所属	氏名・連絡先	分担内容
事業責任者	調査企画部	富田 恭範 03(5980)2182 tomita@jppa.or.jp	事業計画 ・取りまとめ
試験責任者	調査企画部	舟木 勇樹 03(5980)2182 funaki@jppa.or.jp	取りまとめ ・結果解析
試験担当者	茨城研究所	荒井 雄太 029(872)5172 arai@jppa.or.jp	残留分析
試験担当者	茨城研究所	柑本 俊樹 029(872)5172 kohjimot@jppa.or.jp	試料調製
試験担当者	高知試験場	松村 栄一 0887(56)1414 matsumura@jppa.or.jp	試料調製
試験担当者	宮崎試験場	福元 義人 0985(73)4198 fukumoto@jppa.or.jp	試料調製

### Ⅲ. 調査結果

マメ科のえんどうについて、供試作物の品種検討、花粉花蜜の採取方法の検討および花粉花蜜での残留調査を行った。

#### 1. 試験場所および担当者

##### (1) とりまとめ

一般社団法人 日本植物防疫協会 調査企画部  
舟木勇樹、冨田恭範

##### (2) 圃場試験

同茨城研究所 (以下、茨城) : 品種、採取方法の検討、残留調査 (試料調製)

柑本俊樹、川北充彦、河野敏郎、宮川直也、宮本由子、大久保薫、横島悟、天野昭子

同高知試験場 (以下、高知) : 残留調査 (試料調製)

松村栄一、高芝和明、内藤覚、谷山頼清、守田航馬、浜田拓弥、長岡広行

同宮崎試験場 (以下、宮崎) : 残留調査 (試料調製)

福元義人、日高正浩、八丁昭龍、和田倉誠也、小川和己、生田目直樹、伊藤拓摩

##### (3) 残留分析

同茨城研究所

荒井雄太、六原智子、島崎祐樹

#### 2. 供試作物および耕種概要

試験場所ごとの供試作物および耕種概要を表 1 に示した。なお、調査期間中の施設内気温は「Ⅳ. 資料」に掲載した。

表 1. 供試作物および耕種概要

試験場所	品種	播種日	面積 (畝間×畝長×畝数)	株間 (cm)	株数	開花始め
茨城 (春)	成駒三十日	2022年3月9日	8.4 m <sup>2</sup> (1.2m×7.0m×1)	10	70	4月21日
	ニムラ赤花 きぬさや2号		8.4 m <sup>2</sup> (1.2m×7.0m×1)	10	70	4月19日
	グルメ		8.4 m <sup>2</sup> (1.2m×7.0m×1)	10	70	4月21日
	ニムラサラダ スナップ		8.4 m <sup>2</sup> (1.2m×7.0m×1)	10	70	4月21日

茨城 (秋)	ニムラ赤花 きぬさや2号	2022年9月9日	76.8 m <sup>2</sup> (1.6m×16.0m×3)	10	480	10月5日
高知		2022年9月26日	121.5 m <sup>2</sup> (1.5m×27.0m×3)	10	810	10月20 日
宮崎		2022年9月29日	106.6 m <sup>2</sup> (1.2m×22.2m×4)	15	592	11月上旬

### 3. 調査期間

茨城：春作：2022年4月27日～5月23日（品種、採取方法の検討）

秋作：2022年10月7日～11月21日（残留調査）

高知：2022年11月28日～12月14日（残留調査）

宮崎：2022年12月5日～12月23日（残留調査）

### 4. 調査内容

#### (1) 品種の検討および花粉・花蜜の採取方法

##### ①開花数の調査

茨城の春作で栽培した成駒三十日、ニムラ赤花きぬさや2号、グルメおよびニムラサラダスナップを対象に、2022年4月27日から5月23日まで、特定の10株について開花している花の数を2～4日間隔で計測した。また、9月に播種した茨城のニムラ赤花きぬさや2号についても10月7日から11月20日まで同様の調査を行った。

##### ②花の構造

茨城の春作で栽培した成駒三十日、ニムラ赤花きぬさや2号、グルメおよびニムラサラダスナップを対象に、花の大きさを比較するため各々10花の旗弁の幅を定規で計測した。また、ニムラ赤花きぬさや2号は花を解体し、花の構造を調査した。

##### ③開花の経過観察

茨城の春作で栽培した4品種と、残留調査用に栽培した茨城、高知、宮崎のニムラ赤花きぬさや2号について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。

##### ④採取方法の検討

さやえんどうは図1に示した通り開花前に開葯していたが、花粉採取は開花した花を採取し、ピンセット等で舟弁を開いて採取する方法を検討した。花蜜は子房に溜まることから目視で確認出来たため、注射針等で吸引し採取する方法を検討した。



図 1. ニムラ赤花きぬさや 2 号の開葯時期

#### ⑤花粉・花蜜の採取量

成駒三十日、ニムラ赤花きぬさや 2 号、グルメおよびニムラサラダスナップを対象に、前述の採取方法を用いて花粉花蜜を採取し、採取量を調査した。調査回数と調査花数は表 2 に示したとおりである。なお、花蜜の分泌を促すため採取日前日もしくは採取前に灌水を実施した。

表 2. 調査回数と調査花数

品種	花粉		花蜜	
	調査期間※ (調査回数)	調査花数	調査期間※ (調査回数)	調査花数
ニムラ赤花きぬさや 2 号	4/27～ 5/17(11)	30～113	5/2～5/17(9)	60～113
成駒三十日	5/6～5/13(6)	40～51	5/6～5/13(6)	41～61
ニムラサラダスナップ	4/28～5/19(5)	15～39	5/16～5/19(3)	26～36
グルメ	5/11～5/19(4)	34～44	5/16～5/19(3)	34～41

#### (2) 花粉花蜜の残留調査

##### ①薬剤処理方法

ジノテフラン 20%顆粒水溶剤（アルバリン顆粒水溶剤、Lot No. AAC162）およびペルメトリン 20%乳剤（アディオオン乳剤、Lot No. 17S50025）をそれぞれ 2000 倍希釈で混用し、狭角コーンノズルを装着した背負式電動噴霧機で散布した。表 3 に処理条件を示した。また、図 2, 3 および 4 に 3 場所における散布時の作物体の状況と図 5 に茨城の散布作業時の様子および散布後の作物体の状況を示した。

表 3. 薬剤処理条件

試験場所	散布日	散布時刻	散布量	天候	散布時草丈
茨城	2022年11月7日	7:02	150L/10a	晴	約80cm
高知	2022年11月30日	7:10	150L/10a	曇	100-120cm
宮崎	2022年12月9日	7:14	159L/10a	晴	110-120cm



図 2. 薬剤処理時のさやえんどう（茨城）の状況



図 3. 薬剤処理時のさやえんどう（高知）の状況



図 4. 薬剤処理時のさやえんどう（宮崎）の状況



図 5. 薬剤処理と薬剤処理後のさやえんどう（茨城）の状況

## ②試料採取および送付方法

花粉と花蜜試料は検討した方法によりそれぞれ採取した。茨城、高知および宮崎ともに、花粉と花蜜はコンタミを避けるため、それぞれ別の花から採取を行った。高知は花蜜の採取量が目標量に達しなかった時のみ花粉採取後試料から花蜜を追加で採取した。また、3場所ともに各採取日の前日に灌水を実施した。なお、調査期間中に摘花作業を行った（表 5）。

花粉試料は、清浄な葉包紙に包んでアルミ袋に入れ、これを保冷ボックスに収容し、ボックス内を $-20^{\circ}\text{C}$ に保冷できる保冷剤（アイスバッテリー）を同梱して冷凍便で分析場所に送付した。発送まで時間を要する場合は、冷凍庫で保管した。花蜜試料はエッペンドルフチューブに採取し、これをアルミ袋に入れ、ダンボール箱に収容して採取当日に冷蔵便で分析場所に送付した。なお、茨城は花粉試料、花蜜試料ともに採取当日に分析担当者に直接手渡した。表 4 に試料採取日程を、表 5 に実際に花を採取した日を示し

た。

表 4. 試料採取日程と試料番号

試験区名	処理薬剤	採取時期	採取部位 試料番号		採取量
			花粉 Pollen	花蜜 Nectar	
処理区 A	アルバリン 顆粒水溶剤 アディオ ン 乳剤	処理当日	P-A-1	N-A-1	各 400mg 以上
		処理 3 日後	P-A-2	N-A-2	
		処理 7 日後	P-A-3	N-A-3	
		処理 14 日後	P-A-4	N-A-4	
無処理区 B	—	A-1 採取と同 日かそれ以前	P-B	N-B	各 400mg 以上

表 5. 3 場所における花の採取日

採取時期	採取日		
	茨城	高知	宮崎
処理前（無処理）	2022/11/4	2022/11/29	2022/12/ 5
処理当日	11/7	11/30	12/ 9
処理 3 日後	11/10	12/ 3	12/12
処理 7 日後	11/14	12/ 8	12/16
処理 14 日後	11/21	12/15	12/23

## 5. 分析の方法

各試料と供試農薬の組み合わせごとに十分な回収率と精度が確保できる方法を事前に確立した後、各 2 連で分析を実施した。

### (1) 磨砕均一化

#### ①花粉試料

試料に超純水を加え、約 1,000rpm に設定したイボ付き仕様の攪拌ぼうを取り付けた攪拌機で 3 分間磨砕した。磨砕後、ボルテックスで試料をよく攪拌してから 50mL 容遠心管必要量を分取した。なお、試料は有姿で保管し、分析直前に磨砕均一化を行った。

#### ②花蜜試料

磨砕均一化操作は実施せず、試料受領後にボルテックスでよく攪拌してから 50mL 容 PP 製遠心管に必要量を分取し、抽出操作を行うまで冷凍保管した。

## (2) 抽出・精製・定量操作

花粉、花蜜ともに以下の方法を用いた。なお、詳細な分析法および回収率等の結果は「IV. 資料」に示した。

### ①ジノテフラン（花粉試料）

秤量した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、およ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 0.005mg/kg とした。

### ②ペルメトリン（花粉試料）

秤量した試料に含水アセトニトリルを加え振とう抽出した。塩析、フロリジル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 0.005mg/kg とした。

### ③ジノテフラン・ペルメトリン（花蜜試料）

秤量した試料に含水アセトニトリルを加え振とう抽出した。塩析およ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. 試験結果および考察

### (1) 品種比較と花粉花蜜の採取方法

#### ①開花数調査

成駒三十日、ニムラ赤花きぬさや 2 号、グルメおよびニムラサラダスナップの 4 品種間における開花数調査の結果を図 6 に、茨城で秋に実施したニムラ赤花きぬさや 2 号の開花数調査の結果を図 7 に示した。4 品種間の比較では、ニムラ赤花きぬさや 2 号が最も早く開花し、開花数も最も多かった。ニムラサラダスナップはニムラ赤花きぬさや 2 号と比較すると、1、2 日遅れて開花し、花数もやや少なかった。成駒三十日とグルメは前述の 2 品種と比較して節間が徒長し、開花数は少なかったが、成駒三十日においては側枝からの開花が見られた。秋作は春作と比較して開花数で劣ったが、試験実施には十分な花数が得られた。また春作と同様に開花期間は 1 ヶ月程度継続した。



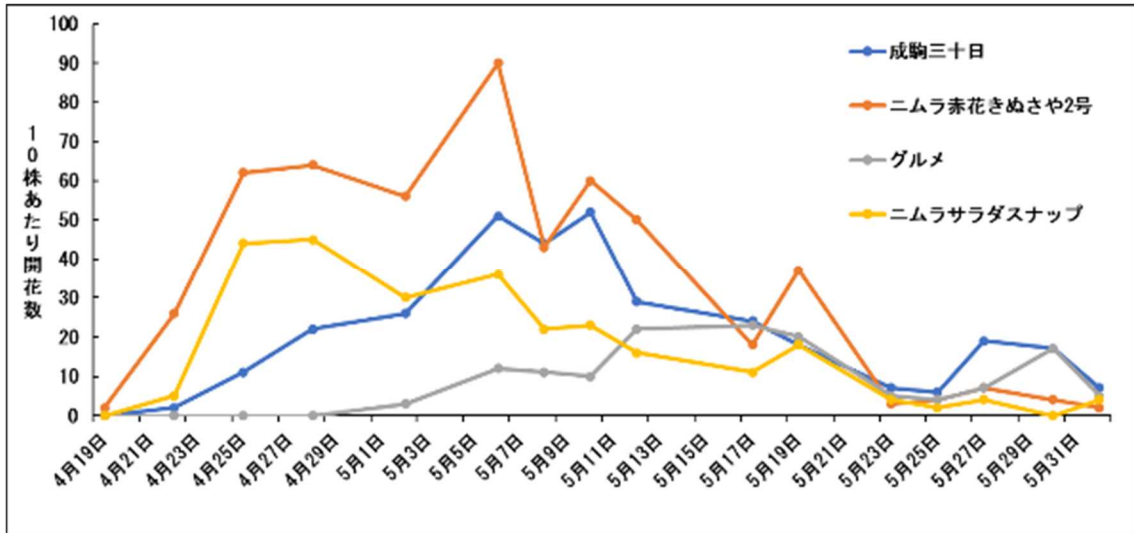


図 6. 各品種の開花数の推移(10株あたりの開花数)

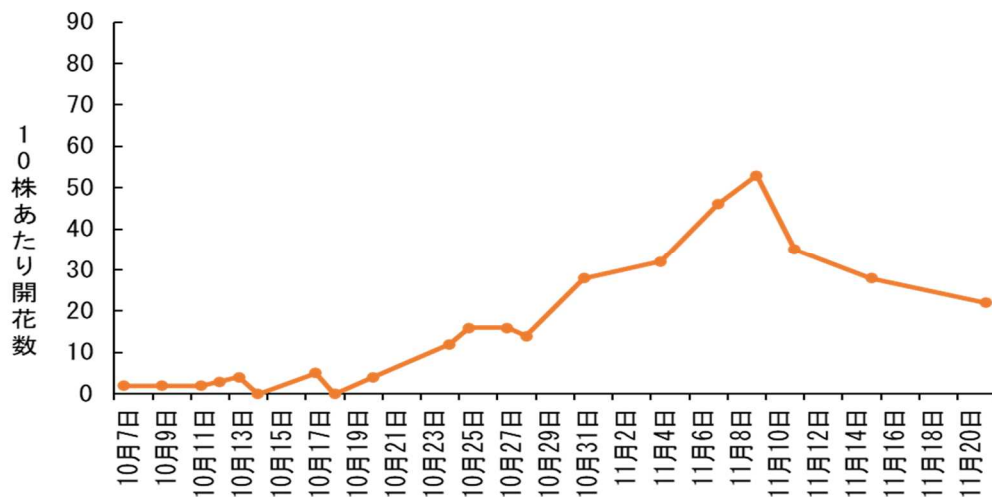


図 7. ニムラ赤花きぬさや2号の開花数推移(10株あたりの開花数)

## ②花の構造

表 6 に各品種の花の大きさを、図 8 に各品種の開花時の花の状態を示した。同品種でも個体により差があったが、平均的な大きさの花を比較した結果、旗弁幅は 4 品種間で大差はなかった。1 花あたりの重量についてはニムラサラダスナップが最も重く、ニムラ赤花きぬさや 2 号が最も軽くなったがその差は 2 倍程度であった。

また、ニムラ赤花きぬさや 2 号の花の形態について図 9 に、葯および花蜜について図 10 に示した。花は両性で雄蕊・雌蕊を持ち、雄蕊は花柱を取り囲むようになっていた。他の多くのマメ類と同様、開花時に花弁がすべて開いても雌雄蕊が露出することは無かった。

開葯は旗弁内で起こり、花粉はめしべに付着するか舟弁内にこぼれ落ちていた。花蜜は子房の根元に溜まっているのが確認された。

表 6. 各品種の花の大きさ(品種ごと 5 花調査)

品種	旗弁幅(mm)	1 花あたり重量(mg)
成駒三十日	27.32±1.31	226.7
ニムラ赤花きぬさや 2 号	23.57±1.56	160.6
グルメ	26.89±1.30	307.9
ニムラサラダスナップ	29.92±1.33	341.3



成駒三十日



ニムラ赤花きぬさや 2 号



グルメ



ニムラサラダスナップ

図 8. 各品種の開花時の写真



開花直後 (翼弁は開ききっていない)



翼弁と舟弁

図9. ニムラ赤花きぬさや2号の花の形状

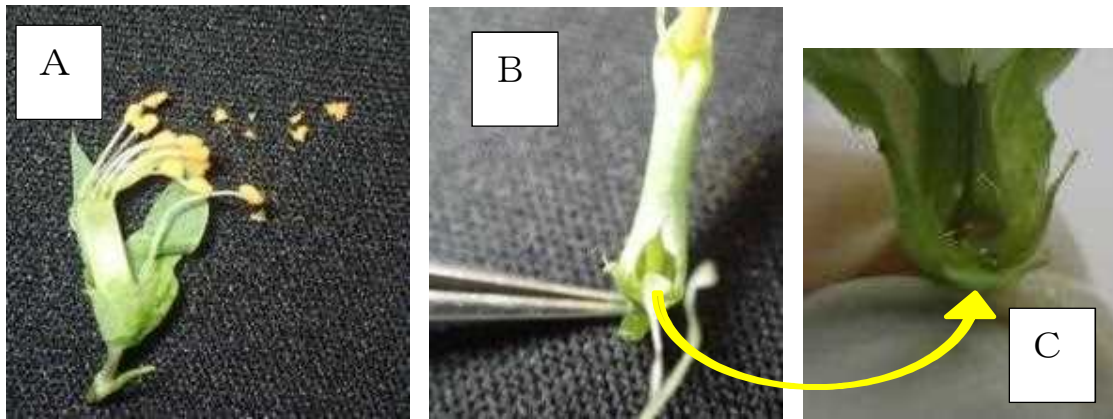


図10. 葯 (A) と花蜜 (B、C)

### ③開花の経過観察

茨城の春作で実施した成駒三十日は概ね2日、ニムラ赤花きぬさや2号は概ね2日、グルメは概ね2日、ニムラサラダスナップは概ね2日開花状態を保った。茨城の秋作で調査したニムラ赤花きぬさや2号は概ね2日、高知で概ね3~4日、宮崎で概ね2日開花状態を保った。各々の開花状態を図11~17に示した。



図11. 茨城 成駒三十日の開花経過の一例



図 12. 茨城 ニムラ赤花きぬさや 2 号の開花経過の一例

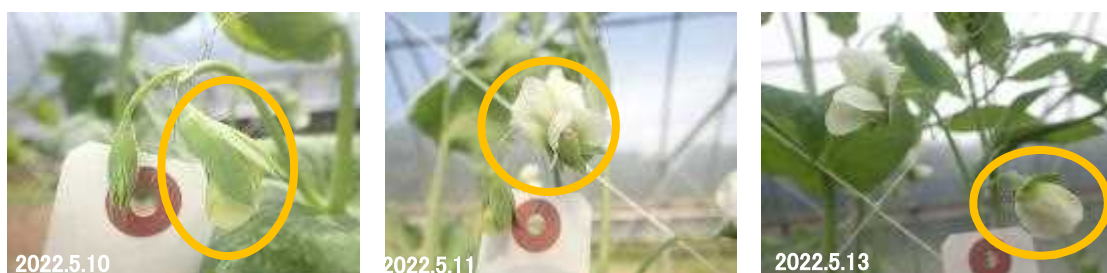


図 13. 茨城 グルメの開花経過の一例

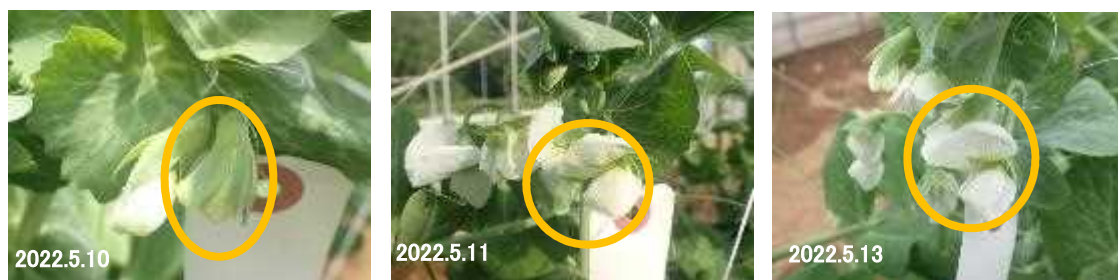


図 14. 茨城 ニムラサラダスナップの開花経過の一例



図 15. 茨城 (秋) ニムラ赤花きぬさや 2 号の開花経過の一例

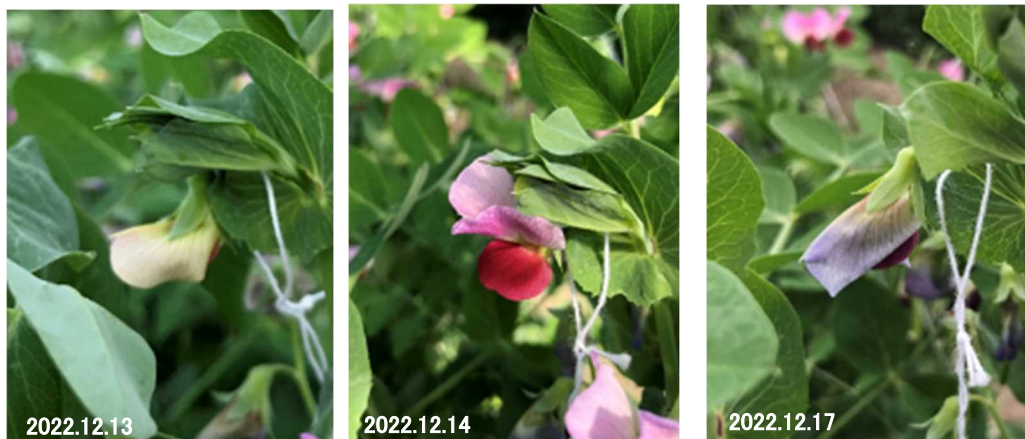


図 16. 高知 ニムラ赤花きぬさや2号の開花経過の一例



図 17. 宮崎 ニムラ赤花きぬさや2号の開花経過の一例

#### ④花粉・花蜜採取方法の検討

花粉の採取はピンセットを用いて閉じている舟弁を開き舟弁内から取り出した。  
また、花蜜の採取は子房の元に溜まっている花蜜を図 18 に示した注射器と注射針を用いて採取した。



図 18. 注射器と注射針（内径 0.20mm, 針長 13mm）

花粉と花蜜の採取方法について、一連の操作を図 19-1 および図 19-2 に図解して示す。

図 19-1 花粉の採取方法

	<p>&lt;花の採取&gt;          清浄なピンセットを用いて、花柄ごと花を採取する。          ※花柄を長めに残して採取した方が採取作業時に持ちやすい。</p>
	<p>清浄な手袋を装着して、手または清浄なピンセットを用いて旗弁・翼弁を取り外す。取り外す際は子房側から斜め上に取り外す。上方から子房側に取り外すと舟弁まで外れるため注意する。</p>
	<p>舟弁の隙間に清浄なピンセットを入れ半開きにする。ここで使用するピンセットは旗弁と翼弁を取り外したものは使用しないように注意する。この過程で花粉がこぼれ落ちるため、作業は清浄な薬包紙の上で行う。</p>
	<p>葯に花粉がついている場合は、清浄なピンセットを用いて静かに落とす。</p>
<div style="text-align: center;">  <p>開花終わり      開花      開花始め</p> </div> <p>開花始めの花(図右)は、花粉は出来ているが、舟弁の中にはあまりこぼれ落ちておらず、葯についでいる花粉をピンセット等で落とす作業が多い。開花した花(図中央)は葯から花粉が落ちている割合が多く、一番花粉が採取出来る。開花終わりの花(図左)は子房が伸長しており、花粉は採取できるが質が悪い。</p>	

図 19-2 花蜜の採取方法

	<p>花粉と同様の方法で旗弁・翼弁を取り外す。</p>
	<p>清浄なハサミで雄蕊・雌蕊を含む舟弁ごと切り取る。</p>
	<p>清浄なピンセットを用いて子房の根元を開く。</p>
	<p>子房部分に注射針を入れ花蜜採取する。この際注射針を植物体に突き刺さないように注意する。</p>

⑤花粉花蜜採取量の調査

各品種における1花当たりの花粉採取重量を表7に示した。加えて1花当たりの花粉採取重量を基に、残留分析に最低限必要な400mgを採取するのに必要な花数と、1人で作業した場合の作業時間も示した。1花当たりの花粉重量はニムラサラダスナップが最も多く、グルメが最も少なかった。

また、各品種における1花当たりの花蜜採取重量を表8に示した。加えて1花当たり

の花蜜採取重量から、残留分析に最低限必要な 400mg を採取するのに必要な花数と、1 人で作業した際の作業時間も示した。1 花当たりの花蜜重量は、成駒三十日が最も多くなった。ニムラサラダスナップとグルメは今回の調査では花蜜が極めて微量のため十分量を採取できなかった。

表 7. 花粉採取量と 400mg 採取する場合の花数および採取時間

品種	1 花あたり 花粉重量(mg)	花粉 400mg 採取 に必要な花数(花)	花粉 400mg 採取に 必要な時間 (1 人の場合)
ニムラ赤花きぬさや 2 号	0.79±0.17	506	5 時間
成駒三十日	0.60±0.14	667	6 時間半
ニムラサラダスナップ	1.08±0.13	370	3 時間
グルメ	0.56±0.02	714	7 時間

表 8. 花蜜採取量と 400mg 採取する場合の花数および採取時間

品種	1 花あたり 花蜜重量(mg)	花蜜 400mg 採取 に必要な花数(花)	花蜜 400mg 採取に 必要な時間 (1 人の場合)
ニムラ赤花きぬさや 2 号	1.40±0.39	286	3 時間
成駒三十日	3.24±1.04	123	1 時間半
ニムラサラダスナップ	-	-	-
グルメ	0.09	-	-

#### ⑥残留試験のための品種の選定

前述のとおり花粉と花蜜の両試料が採取出来たのは成駒三十日とニムラ赤花きぬさや 2 号であり、花数が多く安定して確保できるのはニムラ赤花きぬさや 2 号であった。また、花粉が多く採取出来たのはニムラ赤花きぬさや 2 号、花蜜は成駒三十日であった (表 7,8)。農薬の付着が影響する花の大きさは両品種に大きな差はなかった (表 6)。このことから、残留試験にはニムラ赤花きぬさや 2 号を供試品種とすることとした。

#### ⑦残留試験のための栽培株数

ニムラ赤花きぬさや 2 号を供試した場合、花粉および花蜜を 400mg 採取するのに必要な花数は花粉が約 600 花、花蜜が約 300 花であった。花蜜への花粉のコンタミを避けるために別々の花から採取するため、1 回の採取に約 900 花以上が必要と試算される。ニムラ赤



花きぬさや 2 号は定植 1 ヶ月後から開花が始まり、定植 2 ヶ月以降には 1 ヶ月間安定した開花（10 株当たり 20 花以上）が確認された。このことから、残留試験実施にあたって栽培株数は 1 区 450 株以上が必要であると試算された。

## （2）花粉花蜜の残留調査

### ①試料採取量

残留調査用に栽培したニムラ赤花きぬさや 2 号を対象に、採取花数、作業人数および作業時間を実施場所別に表 9、12、15 に示した。また、それぞれの花粉・花蜜の採取量、採取した人員、作業時間について茨城は表 10、11 に、高知は表 13、14 に、宮崎は表 16、17 に示した。

1 花当たりの花粉採取重量は 0.318～1.043mg、1 花当たりの花蜜採取重量は 0.316～2.167mg であった。

1 花当たりの花の採取時間は 2.9～11.0 秒、花粉の採取は 13.7～85.4 秒、花蜜の採取は 17.5～76.2 秒であった。

1 花当たりの花粉および花蜜の採取重量を場所間で比較すると、花粉は 3 倍、花蜜は 7 倍の差がみられた。調査期間内の施設内平均温度は場所間で大きな差はなく、日照時間などが影響した可能性もあるが原因は定かではない。また、花粉花蜜ともに本調査で検討した採取方法により、コンタミなく十分量が採取できたが、採取の回を重ねるごとに作業時間が短縮されたことから、効率的に採取作業を行うには事前に十分な訓練を要すると思われる。

なお、残留調査期間中、花粉試料を餌とするアザミウマ、訪花昆虫による被害は 3 場所とも認められなかった。

表 9. 茨城の採取花数、作業人員数および作業時間

時期	採取日	天候	花採取時間		採取 花数	作業 人員	作業時間 (分)	1 花当た り(秒)
処理前	11 月 4 日	晴	9:17	9:40	600	4	75	7.5
処理 0 日後	11 月 7 日	晴	10:46	11:53	900	3	165	11.0
処理 3 日後	11 月 10 日	晴	9:07	9:27	900	4	69	4.6
処理 7 日後	11 月 14 日	晴	9:08	9:40	900	4	81	5.4
処理 14 日後	11 月 21 日	雨	9:05	9:52	900	3	80	5.3

表 10. 茨城の花粉採取量、作業人員数および作業時間

時期	採取日	花粉採取時間		花粉採取 量(g)	花粉採 取 花数	1花当たり 花粉量(mg)	作業 人員	作業時 間(分)	1花当た り(秒)
処理前	11月4日	9:47	11:35	0.477	600	0.795	4	388	38.8
処理0日後	11月7日	13:10	15:09	0.418	556	0.752	4	312	33.7
処理3日後	11月10日	9:36	11:15	0.587	605	0.970	4	257	25.5
処理7日後	11月14日	9:34	11:20	0.586	562	1.043	2	158	16.9
処理14日後	11月21日	9:30	11:15	0.416	657	0.633	3	150	13.7

表 11. 茨城の花蜜採取量、作業人員数および作業時間

時期	採取日	花蜜採取時間		花蜜採取 量(g)	花蜜採取 花数	1花当たり 花蜜量(mg)	作業 人員	作業時 間(分)	1花当た り(秒)
処理前	11月4日	13:15	14:28	0.954	600	1.590	4	260	26.0
処理0日後	11月7日	13:00	14:15	0.580	297	1.953	2	150	30.3
処理3日後	11月10日	9:39	10:32	0.512	295	1.736	2	100	20.3
処理7日後	11月14日	9:34	11:20	0.700	330	2.121	2	146	26.5
処理14日後	11月21日	9:30	10:24	0.649	357	1.818	2	104	17.5

処理前、処理14日後は花粉採取した花からも花蜜採取を行った。

表 12. 高知の採取花数、作業人員数および作業時間

時期	採取日	天候	花採取時間		採取花数	作業 人員	作業時間 (分)	1花当た り(秒)
処理前	11月28日	晴	10:10	10:25	1100	8	120	6.5
処理0日後	11月30日	曇	13:05	13:20	1200	9	135	6.8
処理3日後	12月3日	曇	13:00	13:15	1200	7	105	5.3
処理7日後	12月7日	晴	13:10	13:25	1200	10	150	7.5
処理14日後	12月14日	晴	13:15	13:35	1200	9	180	9.0

表 13. 高知の花粉採取量、作業人員数および作業時間

時期	採取日	花粉採取時間		花粉採取 量(g)	花粉採取 花数	1花当たり 花粉量(mg)	作業 人員	作業時間 (分)	1花当た り(秒)
処理前	11月28日	10:35	12:25	0.420	850	0.494	11	1210	85.4
処理0日後	11月30日	13:30	15:10	0.430	800	0.538	11	1100	82.5
処理3日後	12月3日	13:25	15:10	0.420	800	0.525	8	840	63.0
処理7日後	12月7日	13:30	15:00	0.450	900	0.500	10	900	60.0
処理14日後	12月14日	13:45	15:00	0.460	900	0.511	10	750	50.0

表 14. 高知の花蜜採取量、作業人員数および作業時間

時期	採取日	花蜜採取時間		花蜜採取 量(g)	花蜜採取 花数	1花当たり 花蜜量(mg)	作業 人員	作業時間 (分)	1花当た り(秒)
処理前	11月28日	13:05	14:20	0.460	650	0.708	11	825	76.2
処理0日後	11月30日	15:20	16:00	0.520	500	1.040	11	440	52.8
処理3日後	12月3日	15:20	16:40	0.450	1200	0.375	9	720	36.0
処理7日後	12月7日	15:10	15:30	0.650	300	2.167	10	200	40.0
処理14日後	12月14日	15:10	15:30	0.570	300	1.900	10	200	40.0

処理前、処理0日後、処理3日後は花粉採取した花からも花蜜採取を行った。

表 15. 宮崎の採取花数、作業人員数および作業時間

時期	採取日	天候	花採取時間		採取花数	作業 人員	作業時間 (分)	1花当た り(秒)
処理前	12月5日	曇	8:32	10:51	1500	4	105	4.2
処理前(花蜜のみ)	12月7日	晴	8:40	8:59	800	4	47	3.5
処理0日後	12月9日	晴	10:34	10:58	1600	4	94	3.5
処理3日後	12月12日	晴	9:07	9:41	1600	4	82	3.1
処理7日後	12月16日	曇	8:40	9:08	1600	4	78	2.9
処理14日後	12月23日	晴	8:40	11:30	2300	4	121	3.2

表 16. 宮崎の花蜜採取量、作業人員数および作業時間

時期	採取日	花粉採取時間		花粉採取 量(g)	花粉採取 花数	1花当たり 花粉量(mg)	作業 人員	作業時 間(分)	1花当た り(秒)
処理前	12月5日	9:13	12:00	0.404	815	0.496	4	643	47.3
処理0日後	12月9日	11:04	14:38	0.512	942	0.544	4	546	34.8
処理3日後	12月12日	9:35	12:02	0.483	1108	0.436	5	730	39.5
処理7日後	12月16日	9:11	11:15	0.430	1118	0.385	5	612	32.8
処理14日後	12月23日	9:10	12:15	0.397	1248	0.318	5	800	38.5

表 17. 宮崎の花蜜採取量、作業人員数および作業時間

時期	採取日	花蜜採取時間		花蜜採取 量(g)	花蜜採取 花数	1花当たり 花蜜量(mg)	作業 人員	作業時 間(分)	1花当た り(秒)
処理前1	12月5日	9:30	13:50	0.194	614	0.316	2	347	33.9
処理前2	12月7日	9:30	12:00	0.448	728	0.615	3	409	33.7
処理0日後	12月9日	11:05	13:53	0.469	350	1.340	2	185	31.7
処理3日後	12月12日	9:38	11:45	0.635	400	1.588	2	249	37.4
処理7日後	12月16日	9:10	11:14	0.498	364	1.368	2	226	37.3
処理14日後	12月23日	9:11	14:00	0.483	784	0.616	3	393	30.1

## ②分析結果

### 1) 回収率および保存安定性

回収率と併行再現性の試験結果を「IV. 資料」に示した。各試料からの各農薬の回収率は70-120%の範囲にあり、検量線の直線性は良好であった。また、保存安定性の結果は「IV. 資料 2. (8)」に示した。ジノテフランは最長70日(花粉)、ペルメトリンは最長73日(花粉)の保存後において良好な回収率が得られた。

### 2) 花粉の残留濃度

3場所におけるジノテフランおよびペルメトリンの花粉試料の分析結果を表18、19および20に示した。

ジノテフランおよびペルメトリンともに3場所の試料すべてで処理直後の濃度が最も高く、ジノテフランは茨城0.500mg/kg、高知0.343mg/kg、宮崎0.138mg/kgであり、ペルメトリンは茨城0.117mg/kg、高知0.062mg/kg、宮崎0.068mg/kgであった。ジノテフランおよびペルメトリンともに処理直後の濃度における3場所間でのばらつきは、一般の作物残留試験で示される程度の範囲であり大きな差ではなかった。ジノテフランおよびペルメトリンともにいずれの場所も処理3日後以降は濃度の減衰が示された。なおいずれの試料もペルメトリンよりジノテフランの方が高い濃度を示した。

えんどうの葯は舟弁に包まれ、この中で開葯するため花粉が外部へ露出することはない。このため、散布薬剤が直接花粉に暴露する可能性は低く、分析において検出される可能性は低いと予測していたが、結果は3場所全ての試料から供試薬剤が検出された。この要因として、開花後に露出している舟弁に薬液が付着し、浸達又は浸透移行したと考えられる。特に、浸透移行性を有するジノテフランの濃度がペルメトリンよりも高いことからこの点がうかがえる。薬剤濃度の推移は、ジノテフランおよびペルメトリンともに処理3日以降は減衰を示した。えんどうの花の開花期間は2~4日であり、処理3日後の試料は、薬剤処理時に開花していた花と開花してない蕾の状態であった花が混在しており、舟弁に薬液が直接かかった花が少なかったことが要因と考えられる。処理7および14日以降の試料は、薬剤処理時には蕾もしくは蕾が抽出する前の状態であったため、さらに薬液浸達の影響は低く、その分残留濃度が低くなったと推測される。このため、浸透移行性が無いペルメトリンでは、処理7日後の濃度が定量限界未満(<0.005mg/kg)になる試料も認められた。浸透移行性を有するジノテフランは、処理14日後まで検出されたが、処理直後からは大きく減衰を示した。

表 18. 花粉の残留濃度（茨城）

花数	受領重量 (g)	経過日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
			分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)	分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)
600	0.477	処理前	<0.005	<0.005	—	<0.005	<0.005	<0.005	—	<0.005
556	0.418	0	0.501	0.498	0.003	0.500	0.118	0.116	0.002	0.117
605	0.512	3	0.033	0.031	0.002	0.032	0.015	0.015	0.000	0.015
562	0.586	7	0.065	0.063	0.002	0.064	<0.005	<0.005	—	<0.005
657	0.649	14	0.017	0.016	0.001	0.016	<0.005	<0.005	—	<0.005

表 19. 花粉の残留濃度（高知）

花数	受領重量 (g)	経過日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
			分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)	分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)
850	0.414	処理前	<0.005	<0.005	—	<0.005	<0.005	<0.005	—	<0.005
800	0.415	0	0.344	0.342	0.002	0.343	0.063	0.062	0.001	0.062
800	0.412	3	0.144	0.142	0.002	0.143	0.017	0.016	0.001	0.016
800	0.450	7	0.027	0.027	0.000	0.027	0.008	0.007	0.001	0.008
900	0.456	14	0.007	0.006	0.001	0.006	<0.005	<0.005	—	<0.005

表 20. 花粉の残留濃度（宮崎）

花数	受領重量 (g)	経過日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
			分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)	分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)
815	0.404	処理前	<0.005	<0.005	—	<0.005	<0.005	<0.005	—	<0.005
942	0.512	0	0.140	0.136	0.004	0.138	0.071	0.065	0.006	0.068
1108	0.483	3	0.038	0.038	0.000	0.038	0.009	0.009	0.000	0.009
1118	0.439	7	0.017	0.017	0.000	0.017	<0.005	<0.005	—	<0.005
1248	0.397	14	0.015	0.015	0.000	0.015	<0.005	<0.005	—	<0.005

### 3) 花蜜の残留濃度

3 場所におけるジノテフランおよびペルメトリンの花蜜試料の分析結果を表 21、22 および 23 に示した。

ジノテフランは 3 場所ともに処理 3 日後の濃度が最も高くなり、茨城 1.32mg/kg、高知 0.239mg/kg、宮崎 0.552mg/kg であった。茨城の濃度がやや高くなったが、処理 3 日後濃度の 3 場所間でのばらつきは、一般の作物残留試験で示される程度の範囲であり大きな差はなかった。ジノテフランは、処理 7 日後以降、いずれの場所の試料も減衰が示された。ペル

メトリンは、3場所ともにいずれの試料も定量限界未満 (<0.001mg/kg) となった。なお、ジノテフランは花粉よりも花蜜の方が残留濃度は高い傾向にあった。

えんどうの花蜜は顎の内側にある子房の根元に分泌され、花粉よりも散布した薬液が直接暴露する可能性は低いと予測とした。しかしながらジノテフランのみ検出が認められ、先の花粉と同様に浸透移行によるものと推測された。ペルメトリンは処理直後の試料でも検出されず、花蜜が存在する子房の根元までは浸達しなかったためと考えられた。また、本試験では花蜜の分泌を促すために試料採取前日に灌水を行った。このため、水溶性の高いジノテフランはより移行しやすい状態だったと推察される。

表 21. 花蜜の残留濃度 (茨城)

花数	受領重量 (g)	経過日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
			分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)	分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)
600	0.954	処理前	<0.001	<0.001	—	<0.001	<0.001	<0.001	—	<0.001
297	0.580	0	0.025	0.020	0.005	0.022	<0.001	<0.001	—	<0.001
295	0.587	3	1.32	1.31	0.01	1.32	<0.001	<0.001	—	<0.001
330	0.700	7	0.301	0.283	0.018	0.292	<0.001	<0.001	—	<0.001
357	0.416	14	0.057	0.051	0.006	0.054	<0.001	<0.001	—	<0.001

表 22. 花蜜の残留濃度 (高知)

花数	受領重量 (g)	経過日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
			分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)	分析値①	分析値②	差	平均値 (mg/kg)
650	0.446	処理前	<0.001	<0.001	—	<0.001	<0.001	<0.001	—	<0.001
500	0.489	0	0.061	0.057	0.004	0.059	<0.001	<0.001	—	<0.001
1200	0.391	3	0.245	0.233	0.012	0.239	<0.001	<0.001	—	<0.001
300	0.634	7	0.246	0.222	0.024	0.234	<0.001	<0.001	—	<0.001
300	0.535	14	0.027	0.023	0.004	0.025	<0.001	<0.001	—	<0.001

表 23. 花蜜の残留濃度 (宮崎)

花数	受領重量 (g)	経過日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
			分析値 ①	分析値 ②	差	平均値 (mg/kg)	分析値 ①	分析値 ②	差	平均値 (mg/kg)
614	0.194	処理前	<0.001	<0.001	—	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
350	0.469	0	0.010	0.010	0.000	0.010	<0.001	<0.001	—	<0.001
400	0.635	3	0.552	0.551	0.001	0.552	<0.001	<0.001	—	<0.001
364	0.498	7	0.063	0.063	0.000	0.063	<0.001	<0.001	—	<0.001
784	0.483	14	0.010	0.010	0.000	0.010	<0.001	<0.001	—	<0.001

## IV. 資料

### 1. 試験期間中の気温

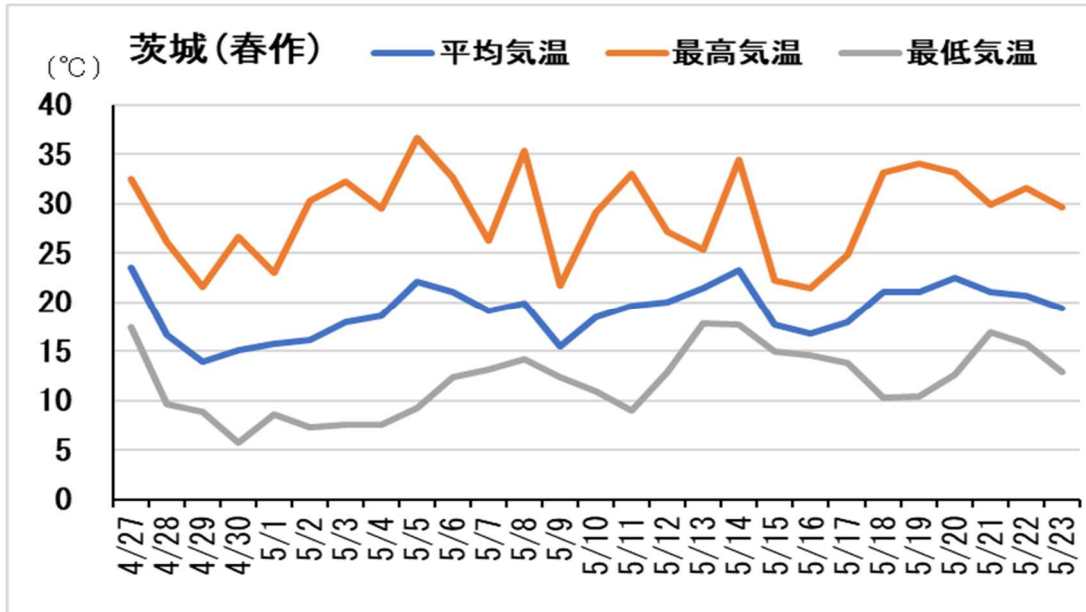


図1. 品種、採取方法検討中の施設内気温（茨城）

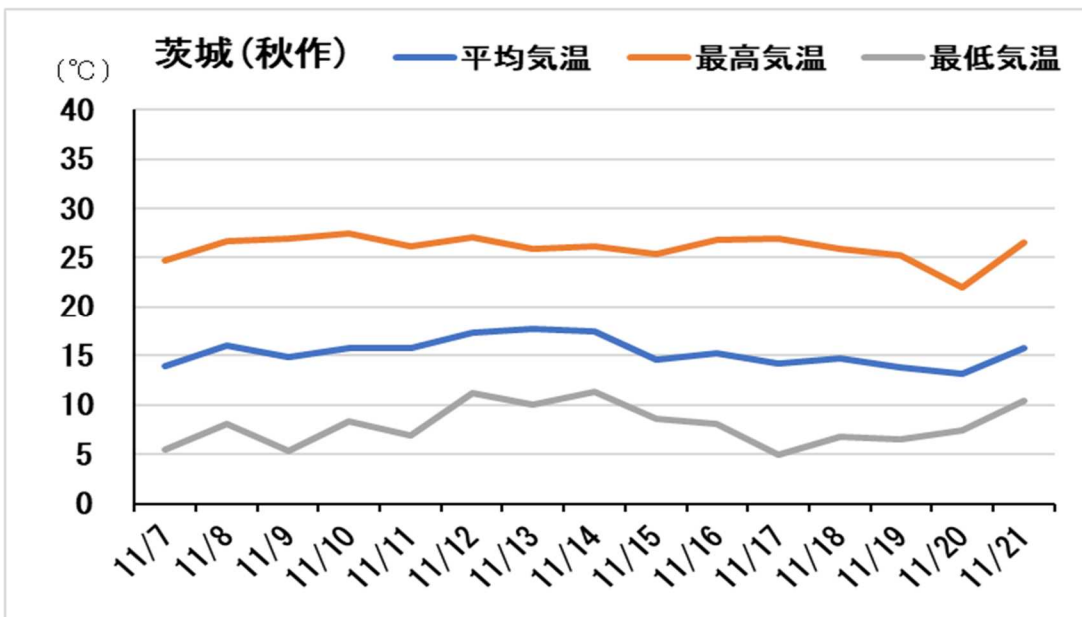


図2. 残留調査期間中の施設内気温（茨城）



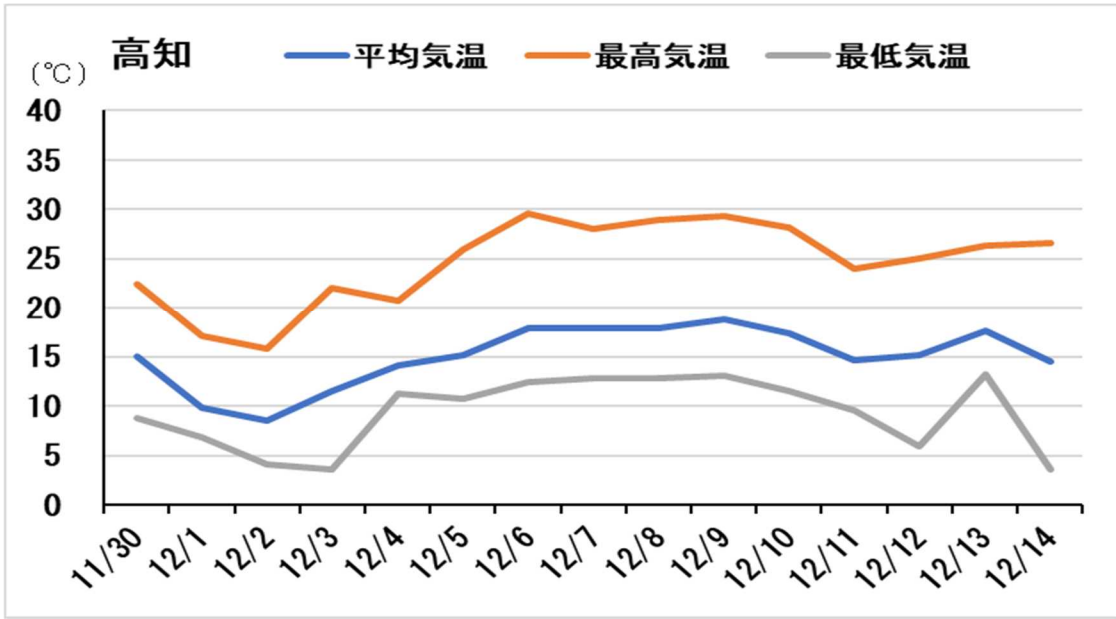


図 3. 残留調査期間中の施設内気温 (高知)

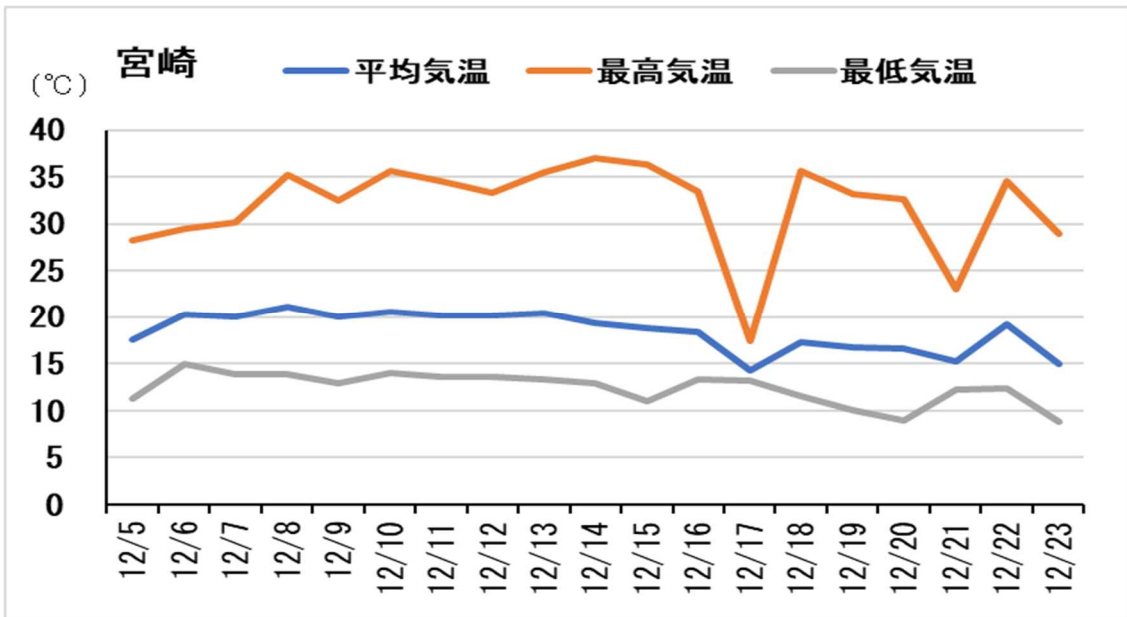
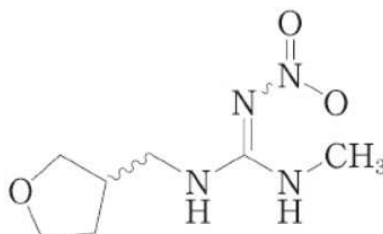


図 4. 残留調査期間中の施設内気温 (宮崎)

## 2. 分析方法の詳細

(1) 分析対象化合物の構造式、化学名および物理化学的性状  
<ジノテフラン>



化学名：(RS)-1-methyl-2-nitro-3-(tetrahydro-3-furylmethyl)guanidine

化学式：C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

分子量：202.21

色 調：白色

形 状：結晶、

臭 気：無臭

融 点：107.5℃

沸 点：208℃ (100.2kPa) で分解のため測定不能

蒸気圧：<1.7×10<sup>-6</sup>Pa(30℃)

解離定数 (pKa)：12.6 (20.0℃)

溶解性(20.0℃)：水;40g/L (pH 6.98) , アセトン;58g/L, エタノール;19g/L,  
キシレン;72mg/L, ジクロロメタン;61g/L, 酢酸エチル;5.2g/L,  
トルエン150mg/L, ヘキサン;0.009mg/L, ヘプタン;0.011mg/L,  
メタノール;57g/L

オクタノール／水分配係数：log Pow =-0.549 (25℃)

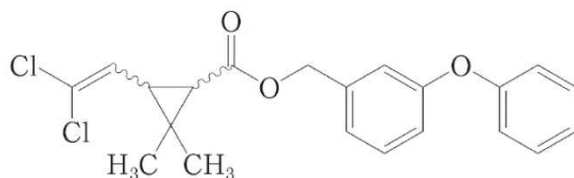
安定性：熱；安定 (150℃)

加水分解性半減期 (25℃)；>1年 (pH 4, pH 7, pH 9)

水中光分解性半減期 (25℃, 300～800 nm)；3.8時間(滅菌蒸留水, 400 W/m<sup>2</sup>)  
3.8時間(自然水, 400 W/m<sup>2</sup>)

(出典：農薬ハンドブック 2021)

<ペルメトリン>



化学名： 3-phenoxybenzyl(1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

化学式： C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

分子量： 391.3

色 調：白色

形 状：結晶性粉末性

臭 気：無臭

融 点：43.8～46.1℃

沸 点：分解のため測定不能

蒸気圧：6.82×10<sup>-7</sup> Pa (25℃)

解離定数：—

溶解性：水;11.1 μg/l (20℃), トルエン・ヘキサン >1000g/L, , メタノール 51.7 g/l (25℃)

オクタノール/水分配係数：log P<sub>ow</sub> = 6.36 (室温)

土壌吸着性：測定不能

安定性：熱に安定 (50℃で2年以上安定)

加水分解性半減期;>1年 (25℃, pH 4, pH 7), 43.5日 (20℃, pH 9)

水中光分解性半減期 (25℃); 約30日 (河川水) .

(出典：農薬ハンドブック 2021)

(2) 試薬および機器

ジノテフラン標準品：純度 100.0% (関東化学製) 有効期限 2023年9月末

*cis*-ペルメトリン標準品：純度 99.8% (富士フィルム和光純薬製) 有効期限 2023年9月

*trans*-ペルメトリン標準品：純度 99.4% (富士フィルム和光純薬製) 有効期限 2026年1月

アセトニトリル、ヘキサン、ジエチルエーテル：残留農薬試験用 (関東化学製)

メタノール：LC/MS用 (関東化学製)

1mol/L 酢酸アンモニウム：高速液体クロマトグラフィー用 (関東化学製)

超純水 ピュアライト (オルガノ製) とピューリック ZII (オルガノ製) で精製した水  
塩析用試薬：「Q-sep」抽出塩キット (Restek 製)

ポリマー系ミニカラム：InertSep PLS-2 500mg/6mL (ジーエルサイエンス社製)

陰イオン交換ミニカラム：Bond Elut Jr PSA 500mg (Agilent 製)  
 フロリジルミニカラム：Sep-pak plus 960mg (Waters 製)  
 電子天秤：XSR205 (メトラー・トレド製)  
 電子天秤：ML54T/00 (メトラー・トレド製)  
 電子天秤：Excellence XS4002S (メトラー・トレド製)  
 攪拌機：NZ-1100 型 (EYELA 製)  
 ホモジナイザー：ガラスイボ付ペストル (三商製)  
 遠心機：CF7D2 (工機ホールディングス株式会社)  
 減圧濃縮器：ロータリー・エバポレーター R-134 型 (柴田科学器械工業製)  
 真空ポンプ：PTFE ダイアフラム真空ポンプ V-700 (BUCHI 製)  
 冷却機：クールエース CA-1310 型 (EYELA 製)  
 液体クロマトグラフ／タンデム質量分析計：Xevo-TQ-S micro (Waters 製)  
 データ処理ソフトウェア：MassLynx (Waters 製)

(3) 分析機器の操作条件

高速液体クロマトグラフの操作条件

カラム：ACQUITY UPLC HSS T3 (Waters 製)

内径：2.1mm 長さ：100mm, 粒径：1.8 $\mu$ m

移動相：

<ジノテフラン>

移動相：A 液；2mM 酢酸アンモニウム水溶液

B 液；2mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液

時間 (分)	A 液 (%)	D 液 (%)
0	80	20
0.5	80	20
5	40	60
8	5	95
10	5	95
12	80	20
17	80	20

<ペルメトリン>

移動相：A液；2mM 酢酸アンモニウム水溶液

B液；2mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液

時間 (分)	A液 (%)	D液 (%)
0	15	85
10	15	85

流量：0.3mL/min

カラム温度：40℃

注入量：8μL

保持時間：ジノテフラン 2.2min

*trans*-ペルメトリン 4.7min

*cis*-ペルメトリン 5.6min

質量分析計の操作条件

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) , 正モード

コーンガス流量：50L/h (N<sub>2</sub>)

脱溶媒ガス流量：1000L/h (N<sub>2</sub>)

ソースブロック温度：150℃

キャピラリー電圧：1.0kV

イオン抽出方法：MRM 法

	ジノテ フラン	<i>cis</i> - ペルメトリン	<i>trans</i> - ペルメトリン
コーン電圧 (V)	12	34	34
コリジョンエネルギー (eV)	8	18	18
モニタリングイオン ( <i>m/z</i> )			
プリカーサーイオン	203.1	408.1	408.1
プロダクトイオン	157.1	183.0	183.0

(4) 検討線の作成

ジノテフラン

ジノテフランの分析標準物質 20.0mg (純品 20mg 相当) を 20mL 容メスフラスコに精秤し、アセトンで定容して 1000mg/L 標準原液を調製する。この標準原液をアセトンで、希釈して 20 mg/L 標準溶液を調製し、さらにアセトンで希釈して 0.01mg/L 標準溶液を

調製する。この溶液をメタノール/水（20:80, v/v）混液で希釈して 0.0000125, 0.000025, 0.00005, 0.00025 および 0.0005 mg/L の標準溶液を調製する。これらの標準溶液を前記条件の LC-MS/MS 注入して、データ処理装置を用いてジノテフランのピーク面積を測定し、横軸に重量、縦軸にピーク面積をとり Microsoft Excel 2019 を用いて一次回帰式および相関係数の二乗（ $r^2$ ）を求め検量線を作成する。

#### cis-ペルメトリン及び trans-ペルメトリン

cis-ペルメトリン標準品 20.0mg（純品 20mg 相当）および trans-ペルメトリン標準品 20.1mg（純品 20mg 相当）をはかりとりアセトンに溶解し、それぞれ 20mL 定容とし各々 1000mg/L 溶液を調製した。これらの溶液より各 0.5mL 分取し、合わせアセトンで 25mL 定容とし、20mg/L 混合溶液を調製した。さらにアセトンで希釈して 0.01 mg/L 標準溶液を調製する。この溶液をメタノール/水（85:15, v/v）混液で順次希釈して 0.0000125, 0.000025, 0.00005, 0.00025 および 0.0005mg/L 混合溶液を調製した。これらの標準溶液を前記条件の LC-MS/MS 注入して、データ処理装置を用いて cis-ペルメトリン及び trans-ペルメトリンのピーク面積を測定し、横軸に重量、縦軸にピーク面積をとり Microsoft Excel 2019 を用いて一次回帰式および相関係数の二乗（ $r^2$ ）を求め検量線を作成する。

#### (5) 分析操作

##### (5) -1. 試料の前処理

##### (5) -1-1. 花粉試料の前処理

試料に試料重量の 10 倍量の超純水を加えた後、ホモジナイザーをつけた攪拌機で磨砕均一化した。分取の際はボルテックスでよく攪拌してから 50mL 容 PP 製遠心管に必要量をうつした。

##### (5) -1-2. 花蜜試料の前処理

磨砕均一化操作は実施せず、試料受領後にボルテックスでよく攪拌してから 50mL 容 PP 製遠心管に必要量を分取し、抽出操作を行うまで冷凍保管した。

#### (5) -2. 分析操作

<ジノテフラン・花粉>

##### ① 抽出

50mL 容 PP 製遠心管に分取した試料にアセトニトリル/水（80 : 20, v/v）混液 10mL を加え、振とう器を用いて 1 分間振とうした。

##### ② 塩析

抽出液に塩析用試薬適量を加え振とう器で 1 分間振とうする。振とう後遠心分離機（回転数 3000rpm, 温度 10℃設定）で 1 分間遠心分離を行った。

### ③精製

[ヘキサン-アセトニトリル分配]

上清液を 100mL 容の分液ロートにうつした。ヘキサン飽和アセトニトリル 20mL, 次いでアセトニトリル飽和ヘキサン 30mL を 100mL 容分液ロートに加えた。振とう機で 5 分間振とうした。暫時放置しアセトニトリル層を分取し、ヘキサン層は捨てた。アセトニトリル層を再度 100mL 容の分液ロートにうつし、アセトニトリル飽和ヘキサン 30mL を加え振とう機で 5 分間振とうした。暫時放置しアセトニトリル層を分取する。アセトニトリル層を 40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去した。

[PLS-2+PSA ミニカラム]

PLS-2+PSA ミニカラムにアセトニトリル 5 mL を流下して前処理を行った。乾固物をアセトニトリル 10mL で溶解しカラムに流下した。同溶媒で同様の操作を繰り返す。これらの流出液をとり溶出液とした。溶出液を 40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去した。

### ③ 定量

乾固物をメタノール/水 (20:80,v/v) 混液 10mL で溶解した。前記条件の LC-MS/MS に注入してピーク面積を求めた。その値から、検量線により対象物質重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。なお、測定溶液のピーク面積が検量線の範囲を超えた場合は、同混合溶液で希釈し、再測定した。

<ペルメトリン・花粉>

抽出

①50mL 容 PP 製遠心管に分取した試料にアセトニトリル/水 (80 : 20, v/v) 混液 10mL を加え、振とう器を用いて 1 分間振とうした。

②塩析

抽出液に塩析用試薬適量を加え振とう器で 1 分間振とうする。振とう後遠心分離機 (回転数 3000rpm, 温度 10°C 設定) で 1 分間遠心分離を行った。

③精製

[フロリジルミニカラム]

フロリジルミニカラムにヘキサン 10 mL を流下して前処理を行った。乾固物をヘキサン 5mL で溶解しカラムに流下した。同溶媒で同様の操作を後 2 回繰り返し、これらの流出液は捨てた。次いでヘキサン/ジエチルエーテル (95:5,v/v) 混液 10mL を流下し溶出液を取った。この溶出液を 40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去した。

④定量

乾固物メタノール/水 (85:15,v/v) 混液 10mL で溶解した。前記条件の LC-MS/MS に注入してピーク面積を求めた。その値から、検量線により対象物質重量を求め、試料中の残

留濃度を算出した。なお、測定溶液のピーク面積が検量線の範囲を超えた場合は、同混合溶液で希釈し、再測定した。

<ジノテフラン, ペルメトリン・花蜜>

抽出

①50mL 容 PP 製遠心管に分取した試料にアセトニトリル/水 (80:20, v/v) 混液 10mL を加え、振とう器を用いて 1 分間振とうした。

②塩析

抽出液に塩析用試薬適量を加え振とう器で 1 分間振とうする。振とう後遠心分離機 (回転数 3000rpm, 温度 10℃設定) で 1 分間遠心分離を行った。

③精製

PLS-2+PSA ミニカラムに 0.01% ぎ酸含有アセトニトリル/メタノール (80:20, v/v) 5 mL を流下して前処理を行った。乾固物を 0.01% ぎ酸含有アセトニトリル/メタノール (80:20, v/v) 10mL で溶解しカラムに流下した。同溶媒で同様の操作を繰り返し、これらの流出液をとり溶出液とした。溶出液を 40℃ 以下の水浴中で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去した。

④定量

乾固物メタノール 2mL で溶解した。この溶液から 0.5mL を 2 つのフラスコに取り窒素ガスで乾固させた後、片方はメタノール/水 (20:80, v/v)、もう一方はメタノール/水 (85:15, v/v) で溶解した。前記条件の LC-MS/MS に注入してピーク面積を求めた。その値から、検量線により対象物質重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。なお、測定溶液のピーク面積が検量線の範囲を超えた場合は、それぞれの混合溶液で希釈し、再測定した。

## (6) 定量限界および検出限界

試料	試料量 (g)	注入量 ( $\mu$ L)	最終液量 (mL)	最小検出量 (ng)	検出限界 (mg/kg)	定量限界相当量 (ng)	定量限界 (mg/kg)
花粉	0.05	8	10	0.0001	0.003	0.0002	0.005
花蜜	0.05	8	2	0.0001	0.0005	0.0002	0.001



(7) 回収率と併行再現性

分析対象物質	分析試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)	平均回収率 (%)	相対標準偏差 (%)
ジノテフラン	花粉	1	99, 98, 97, 97, 93	97	2
		0.05	115, 113, 112, 112, 88	108	10
		0.005	94, 90, 84, 84, 74	85	9
	花蜜	2	96, 94, 93, 89, 81	91	6
		0.01	87, 86, 86, 74, 73	81	10
		0.001	100, 80, 80, 60, 60	76	22
ペルメトリン	花粉	1	91, 89, 81, 80, 77	84	7
		0.05	94, 91, 89, 88, 88	90	3
		0.005	94, 92, 88, 78, 76	86	10
	花蜜	2	109, 91, 89, 87, 87	93	10
		0.01	79, 78, 77, 77, 66	75	7
		0.001	120, 100, 90, 90, 80	94	18

花粉 茨城で採取した花粉試料を使用。

花蜜 0.001 および 0.01mg/kg はスクロース、グルコース、フルクトースを 1:1:1 の割合で超純水に溶解した溶液を使用。2mg/kg は茨城で採取した花蜜試料を使用。

(8) 保存安定性の確認

分析対象物質	分析試料	保管期間 (日)	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
ジノテフラン	花粉	69	0.5	83, 82	83
	花蜜	73	0.5	85, 85	85
ペルメトリン	花粉	70	0.5	72, 72	72
	花蜜	73	0.5	86, 86	86

最長保管期間 ジノテフラン：花粉 48 日間、花蜜 38 日間

ペルメトリン：花粉 47 日間、花蜜 38 日間

(9) 内部精度管理

抽出日 (年月日)	分析 試料	分析対象 物質	無処理 試料 (mg/kg)	回収率 (%)	対象となる分析試料
2022/12/12	花蜜	ジノテフラン	<0.001	79	茨城, 高知, 宮崎 無処理
		ペルメトリン	<0.001	94	
12/13	花蜜	ジノテフラン	<0.001	79	茨城 処理直後, 3, 7, 14 日後 高知, 宮崎 処理直後
		ペルメトリン	<0.001	73	
12/16	花蜜	ジノテフラン	<0.001	85	高知 処理 3, 7, 14 日後
		ペルメトリン	<0.001	79	
12/21	花粉	ペルメトリン	<0.005	83	茨城, 高知 無処理, 処理直後, 3, 7, 14 日後
12/22	花粉	ジノテフラン	<0.005	99	茨城 無処理, 処理直後, 3, 7, 14 日後
12/23	花粉	ジノテフラン	<0.005	97	高知 無処理, 処理直後, 3, 7, 14 日後 宮崎 無処理, 処理直後, 3, 7 日後
12/26	花粉	ジノテフラン	<0.005	102	宮崎 処理 14 日後
		ペルメトリン	<0.005	77	宮崎 無処理, 処理直後, 3, 7, 14 日後
12/27	花蜜	ジノテフラン	<0.001	83	宮崎 処理直後, 3, 7, 14 日後
		ペルメトリン	<0.001	90	
2023/1/12	花粉	ジノテフラン	<0.005	110	保存安定性の確認試料
1/13	花粉	ペルメトリン	<0.005	107	
1/16	花蜜	ジノテフラン	<0.001	85	
		ペルメトリン	<0.001	86	

回収率は定量限界量の 10 倍量で実施した

花蜜はスクロース、グルコース、フルクトースを 1:1:1 の割合で超純水に溶解した溶液を使用。

(10) 添付資料

- ・受領試料写真
- ・クロマトグラムの一例

・花粉



茨城 無処理



茨城 散布直後



茨城 散布3日後



茨城 散布7日後



茨城 散布14日後



高知 無処理



高知 散布直後



高知 散布3日後



高知 散布7日後



高知 散布14日後



宮崎 無処理



宮崎 散布直後



宮崎 散布 3 日後



宮崎 散布 7 日後

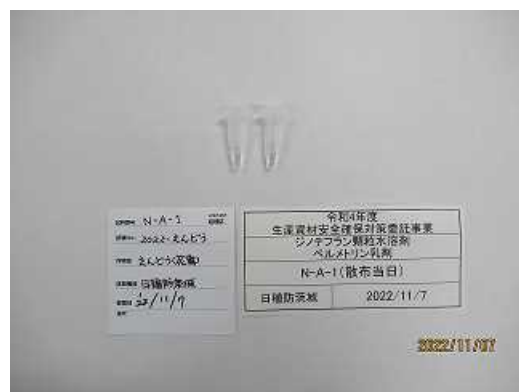


宮崎 散布 14 日後

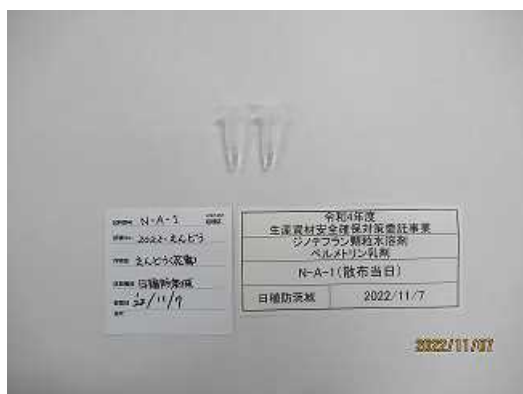
・花蜜



茨城 無処理



茨城 散布直後



茨城 散布3日後



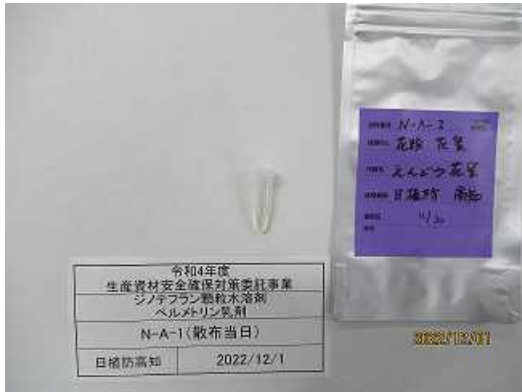
茨城 散布7日後



茨城 散布14日後



高知 無処理



高知 散布直後



高知 散布3日後



高知 散布7日後



高知 散布14日後



宮崎 無処理



宮崎 散布当日



宮崎 散布 3 日後



宮崎 散布 7 日後

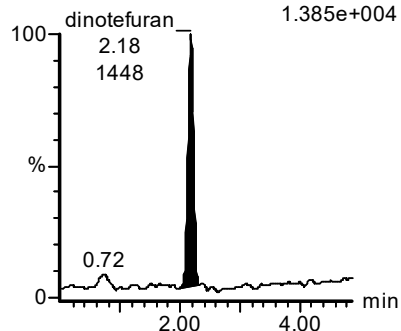


宮崎 散布 14 日後



ジノテフランクロマトグラムの一例

221208\_04 MRM of 3 channels,ES+  
STD0.0002ng 203.139 > 157.103  
1.385e+004

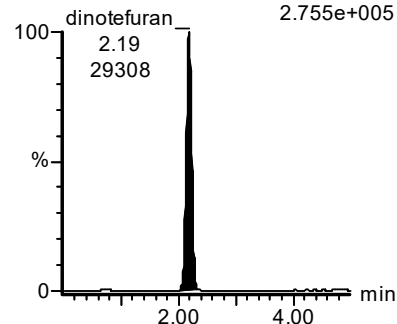


標準溶液 0.0002ng(定量限界相当量)

(8 $\mu$ L/-/-)

(注入量/最終液量/試料量)

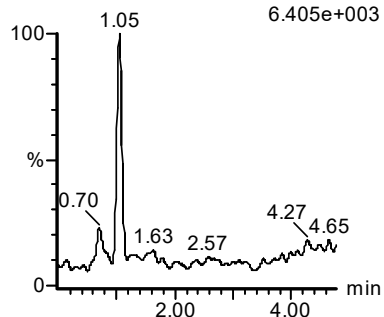
221208\_06 MRM of 3 channels,ES+  
STD0.004ng 203.139 > 157.103  
2.755e+005



標準溶液 0.004ng

(4 $\mu$ L/-/-)

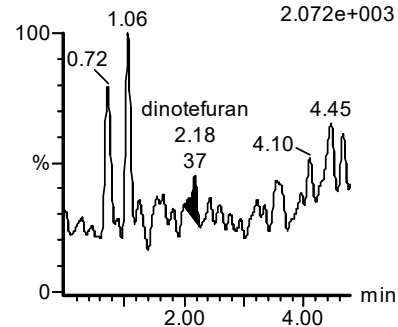
221220\_08 MRM of 3 channels,ES+  
90PT 203.139 > 157.103  
6.405e+003



全操作試薬ブランク

(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

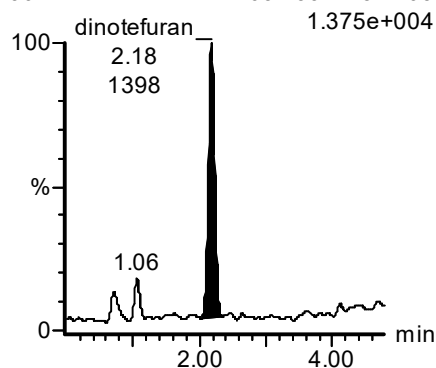
221220\_09 MRM of 3 channels,ES+  
90PZ 203.139 > 157.103  
2.072e+003



選択性確認花粉

(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

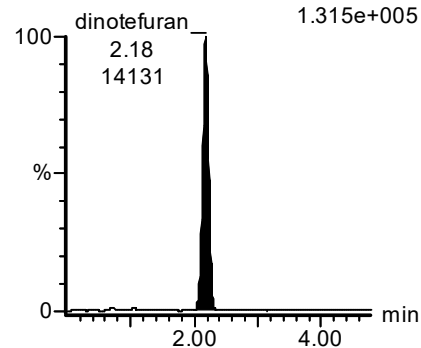
221220\_10 MRM of 3 channels,ES+  
90PS-1 203.139 > 157.103  
1.375e+004



0.005mg/kg 添加回収

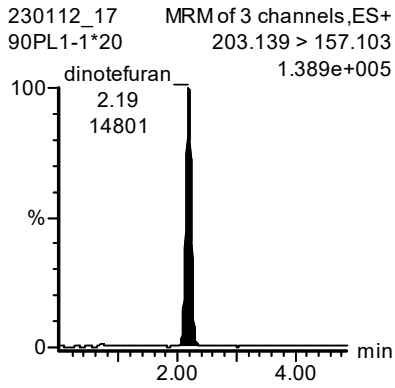
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

221220\_13 MRM of 3 channels,ES+  
90PL0.05-1 203.139 > 157.103  
1.315e+005

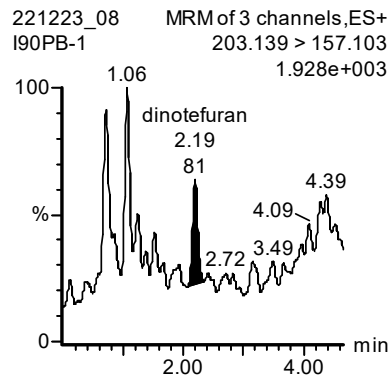


0.05mg/kg 添加回収

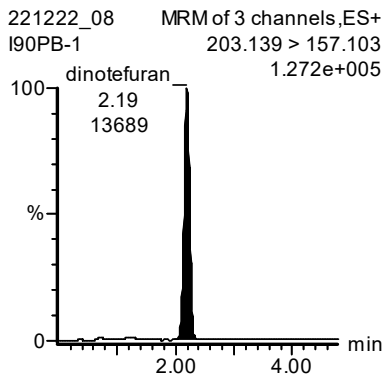
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



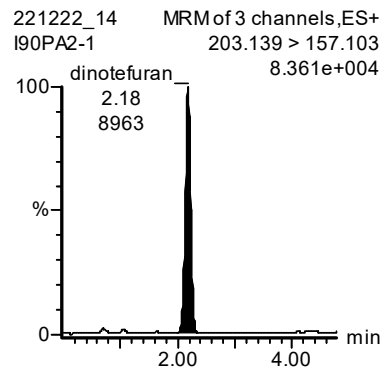
1mg/kg 添加回収  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



茨城花粉無処理  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

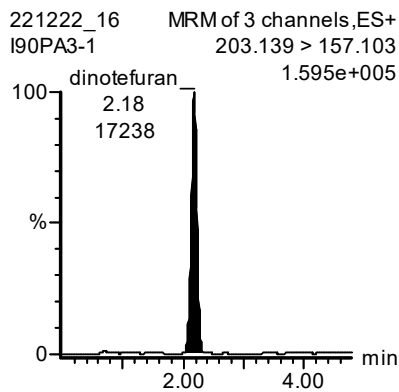


茨城花粉散布当日  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

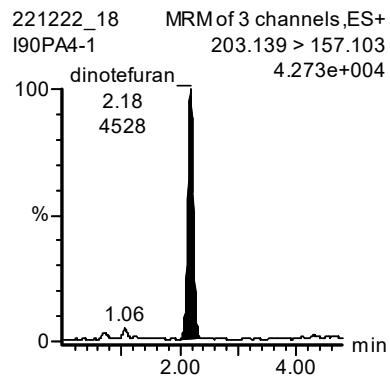


茨城花粉散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

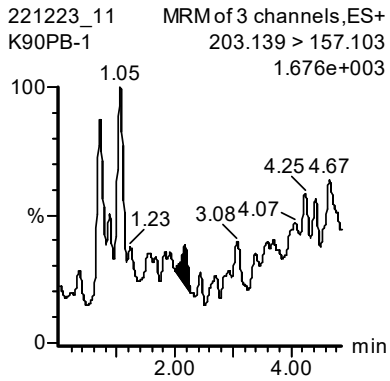
I90PB-1 は誤りで I90PA1-1\*10



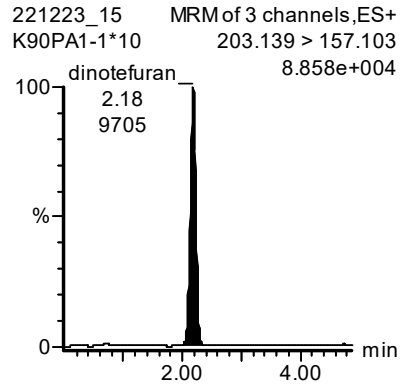
茨城花粉散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



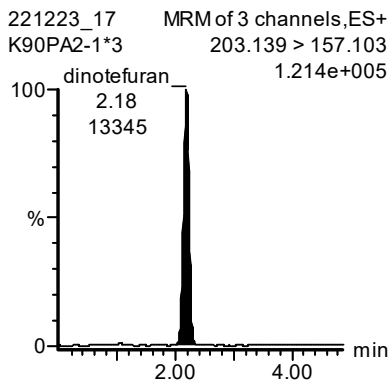
茨城花粉散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



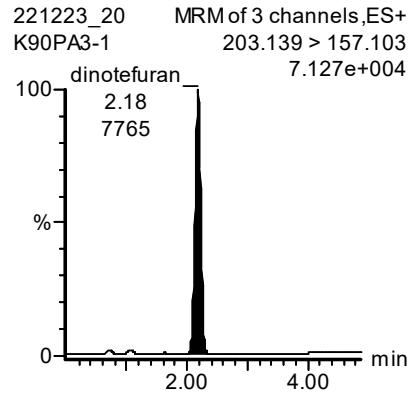
高知花粉無処理  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



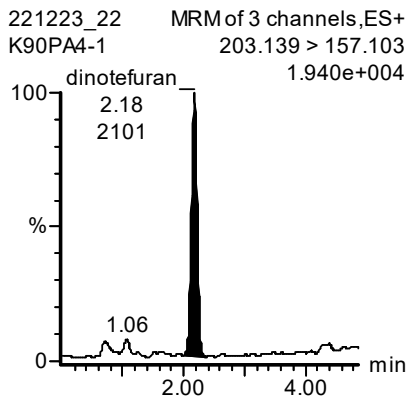
高知花粉散布当日  
(8 $\mu$ L/100mL/0.05g)



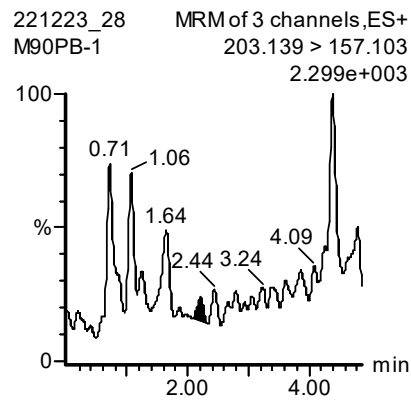
高知花粉散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/30mL/0.05g)



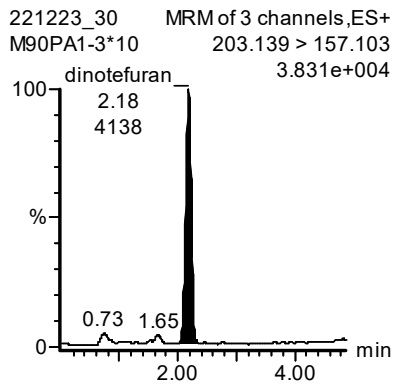
高知花粉散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



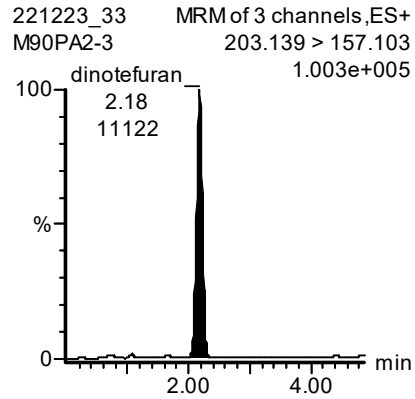
高知花粉散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



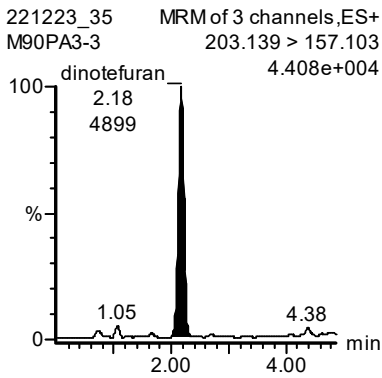
宮崎花粉無処理  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



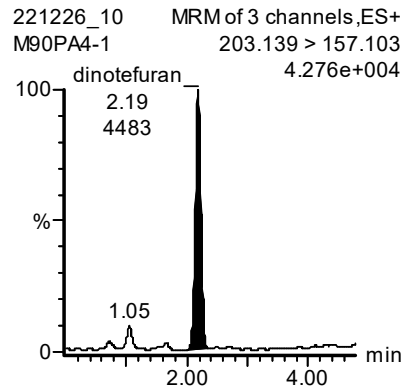
宮崎花粉散布当日  
(8 $\mu$ L/100mL/0.05g)



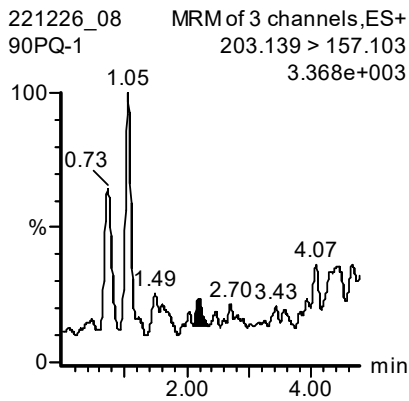
宮崎花粉散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



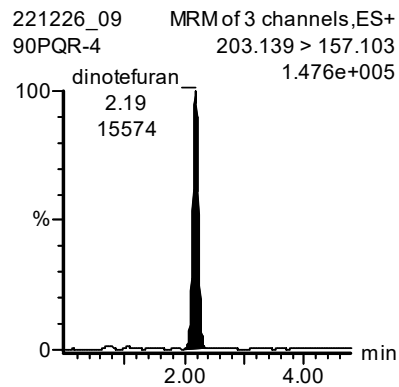
宮崎花粉散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



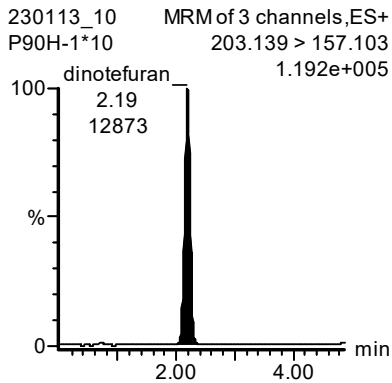
宮崎花粉散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



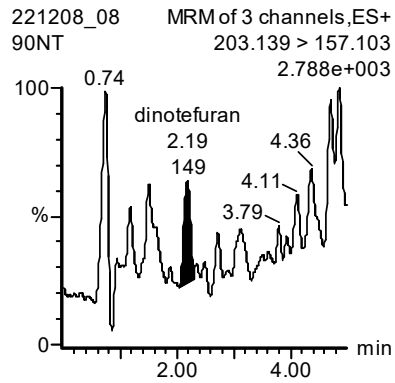
内部精度管理花粉無処理  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



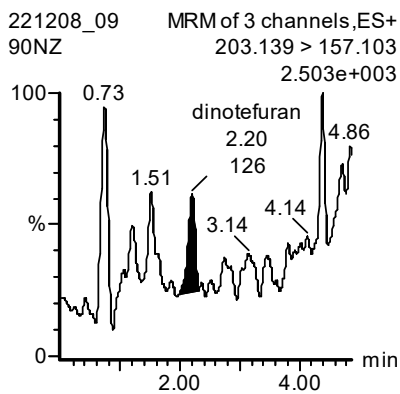
内部精度管理花粉 0.05mg/kg 添加回収  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



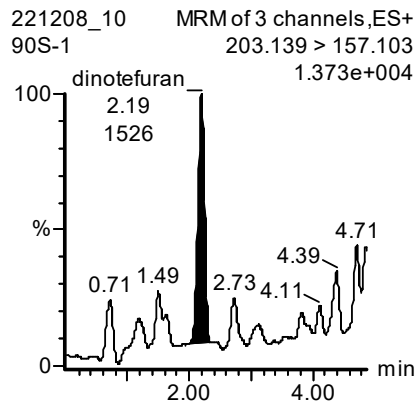
保存安定性確認花粉  
(8 $\mu$ L/100mL/0.05g)



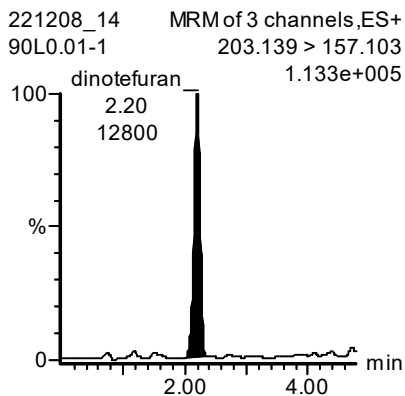
全操作試薬ブランク  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



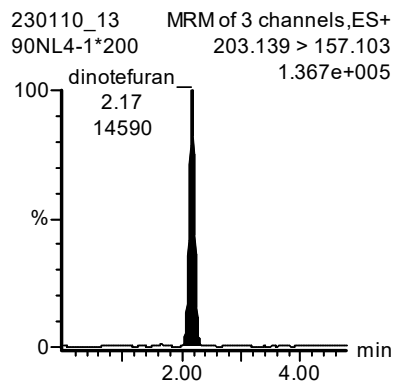
選択性確認花蜜  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



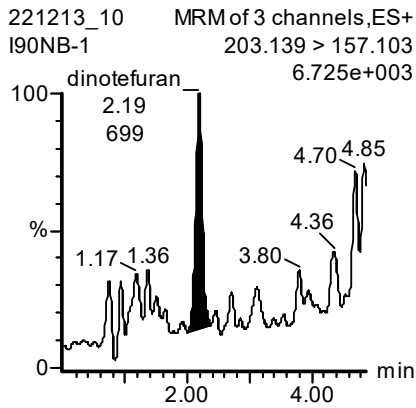
0.001mg/kg 添加回収  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



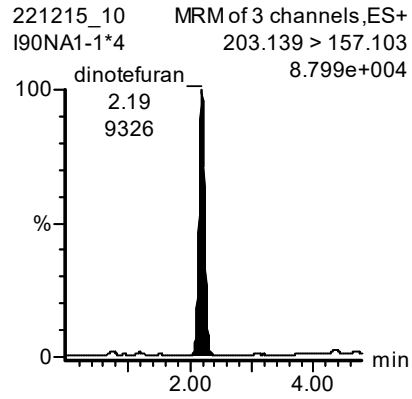
0.01mg/kg 添加回収  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



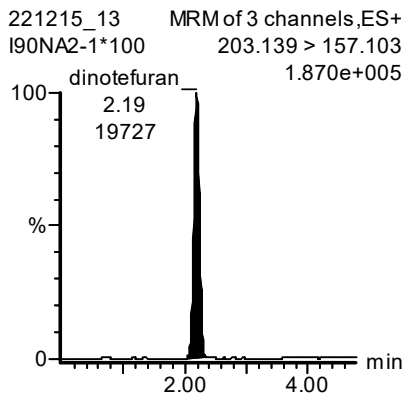
2mg/kg 添加回収  
(8 $\mu$ L/400mL/0.05g)



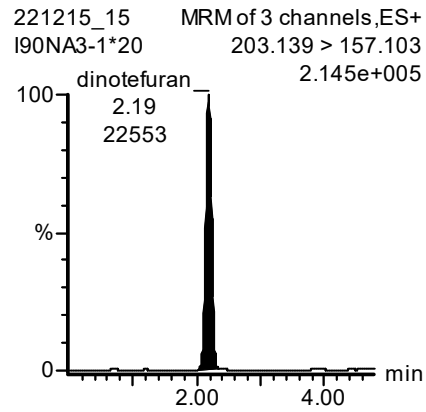
茨城花蜜無处理  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



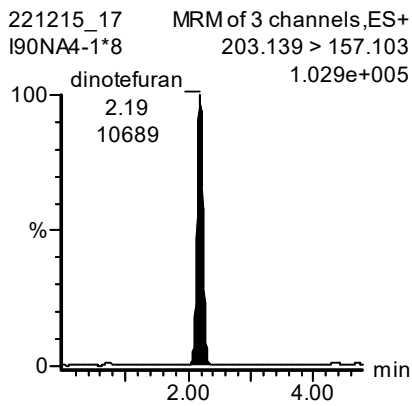
茨城花蜜散布当日  
(8 $\mu$ L/8mL/0.05g)



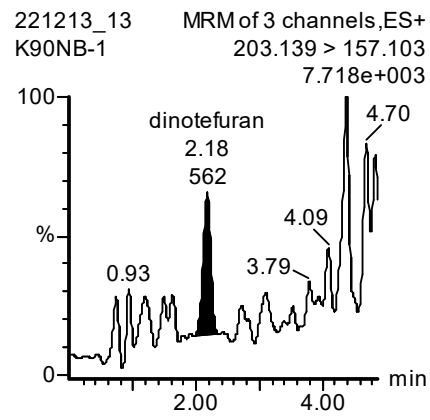
茨城花蜜散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/200mL/0.05g)



茨城花蜜散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/40mL/0.05g)

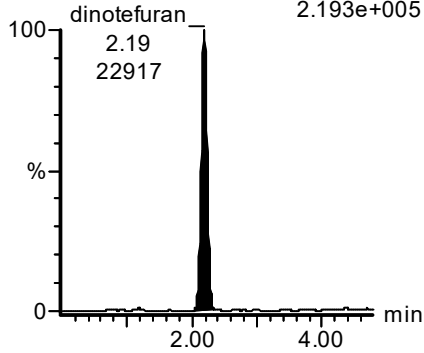


茨城花蜜散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/16mL/0.05g)



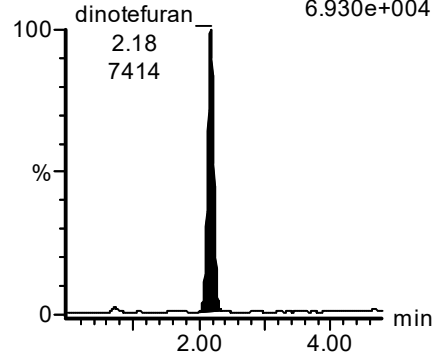
高知花蜜無处理  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)

221215\_20 MRM of 3 channels,ES+  
K90NA1-1\*4 203.139 > 157.103  
2.193e+005



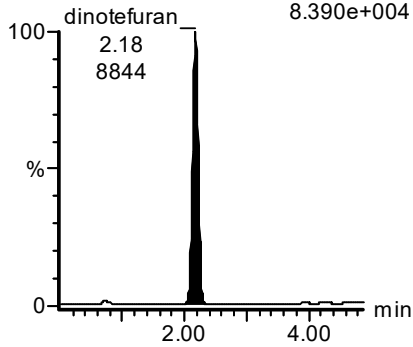
高知花蜜散布当日  
(8 $\mu$ L/8mL/0.05g)

221219\_11 MRM of 3 channels,ES+  
RK90NA2-1\*50 203.139 > 157.103  
6.930e+004



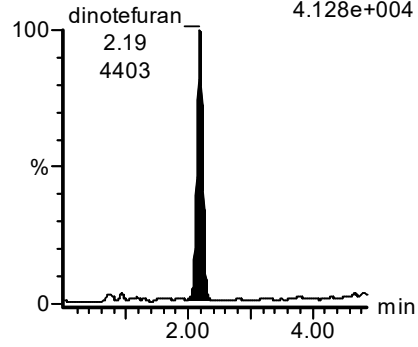
高知花蜜散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/100mL/0.05g)

221216\_13 MRM of 3 channels,ES+  
K90NA3-1\*40 203.139 > 157.103  
8.390e+004



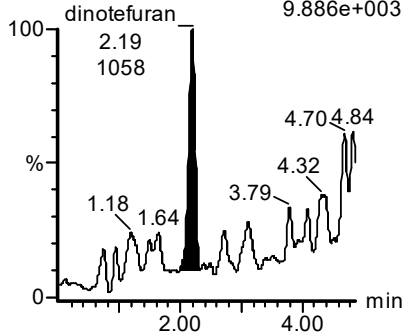
高知花蜜散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/80mL/0.05g)

221216\_15 MRM of 3 channels,ES+  
K90NA4-1\*10 203.139 > 157.103  
4.128e+004



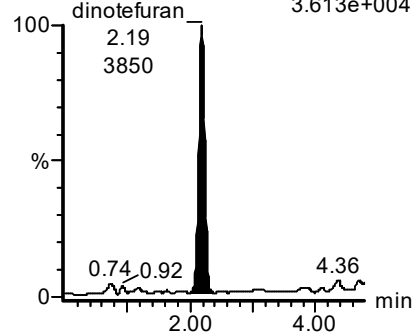
高知花蜜散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/20mL/0.05g)

221213\_15 MRM of 3 channels,ES+  
M90NB-1 203.139 > 157.103  
9.886e+003

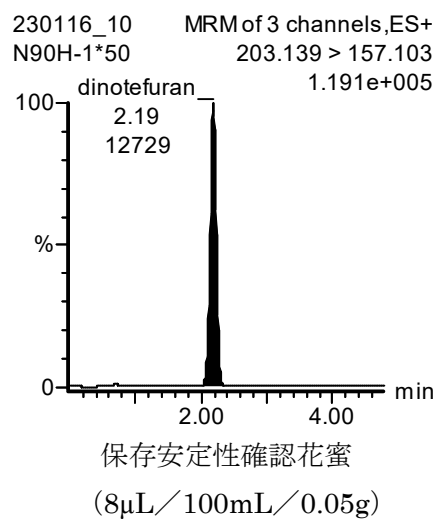
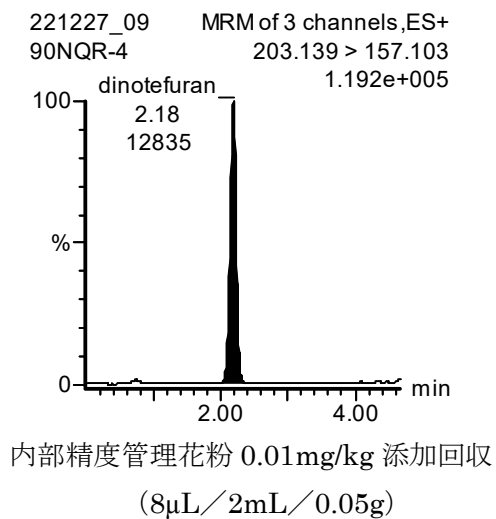
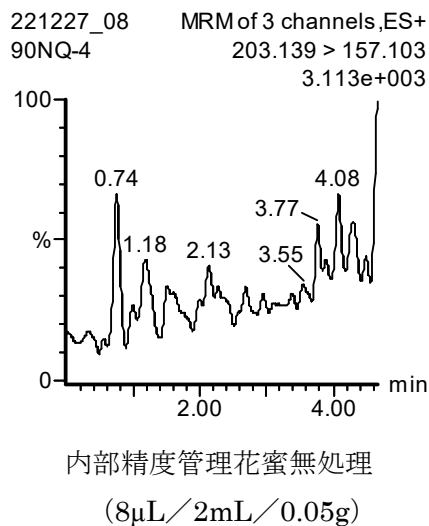
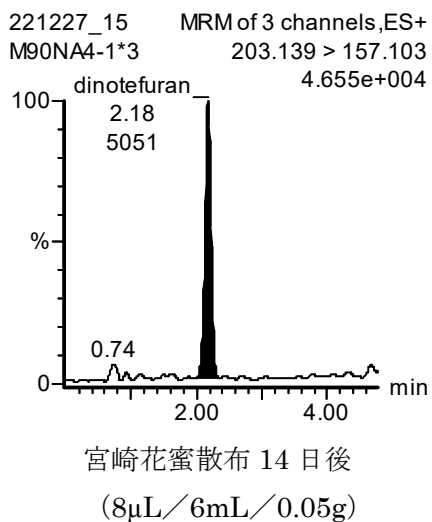
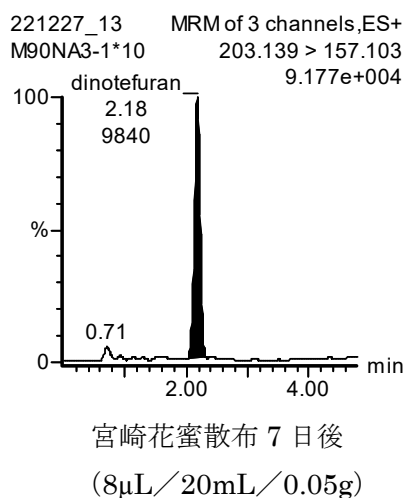
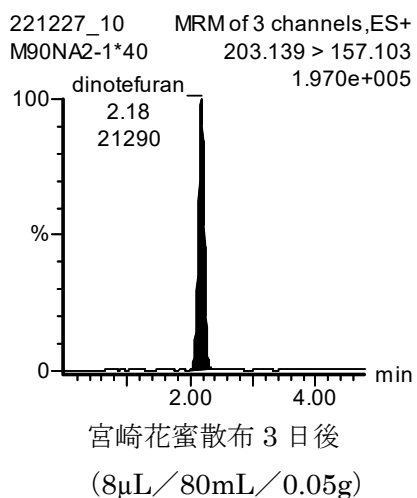


宮崎花蜜無处理  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)

221215\_22 MRM of 3 channels,ES+  
M90NA1-1\*4 203.139 > 157.103  
3.613e+004

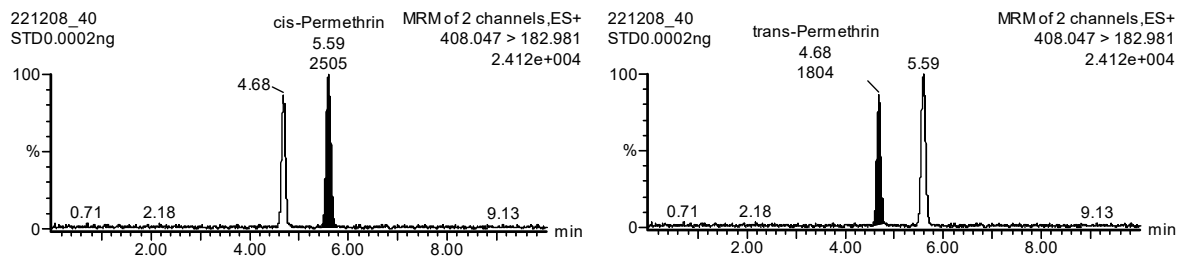


宮崎花蜜散布当日  
(8 $\mu$ L/8mL/0.05g)

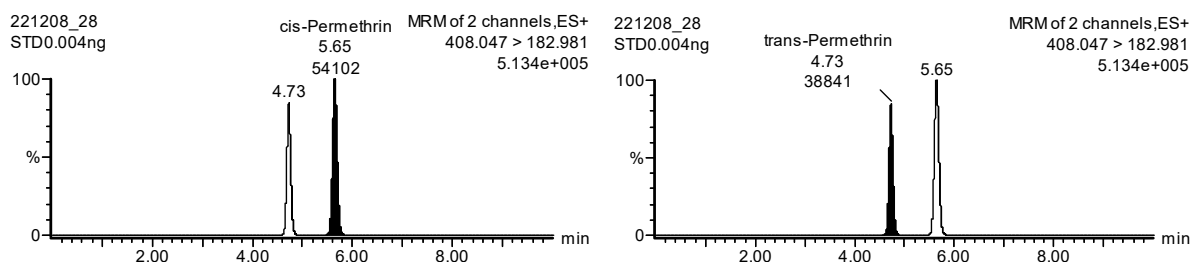




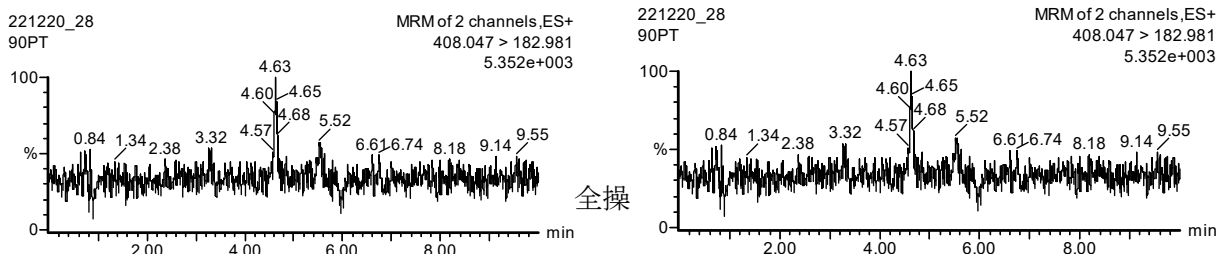
ペルメトリンクロマトグラムの一例 (左: *cis*-ペルメトリン, 右; *trans*-ペルメトリン)



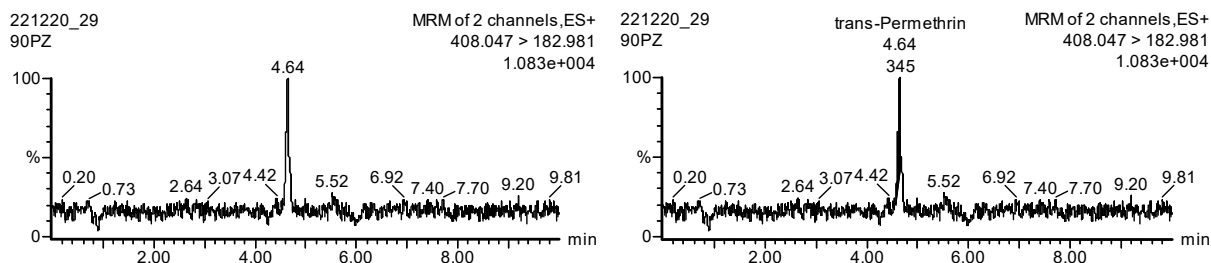
標準溶液 0.00002ng  
(8 $\mu$ L / - / -)



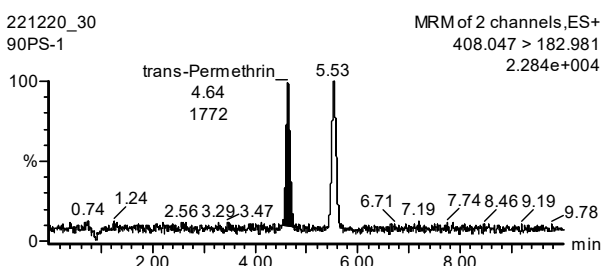
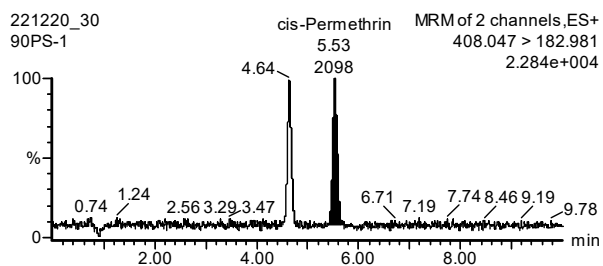
標準溶液 0.004ng  
(8 $\mu$ L / - / -)



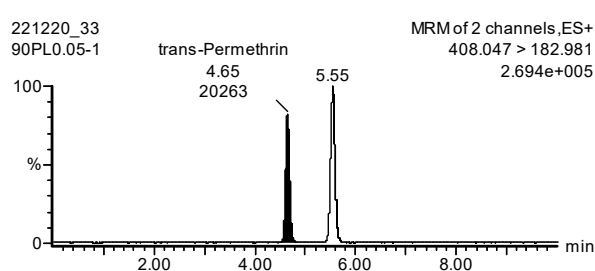
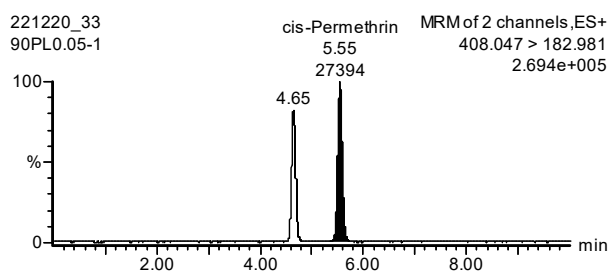
作試薬ブランク  
(8 $\mu$ L / 10mL / 0.05g)



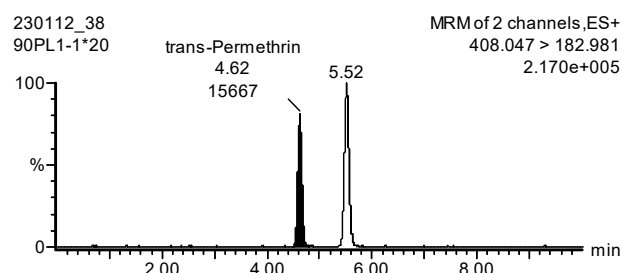
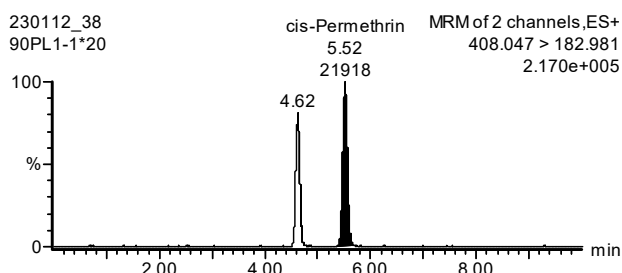
選択性確認花粉  
(8 $\mu$ L / 10mL / 0.05g)



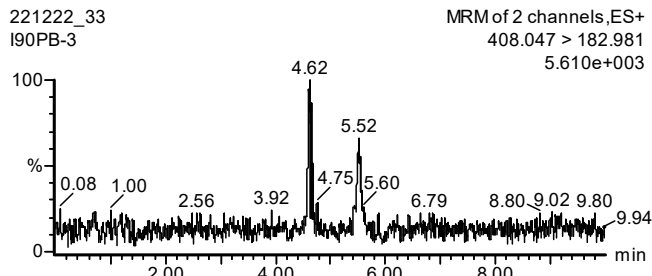
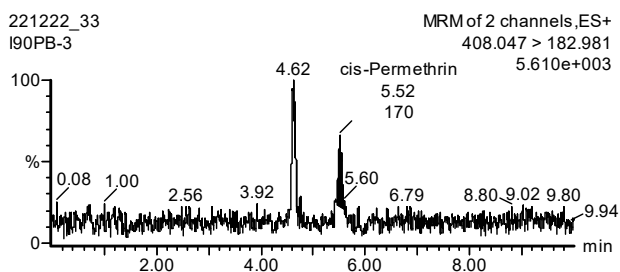
0.005mg/kg 添加回收  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



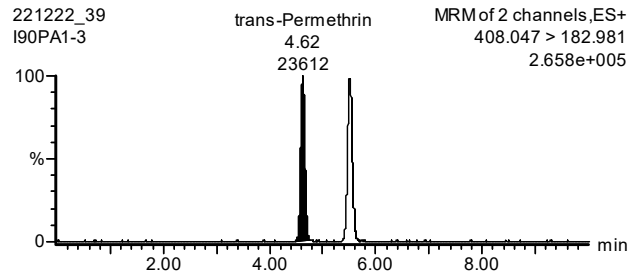
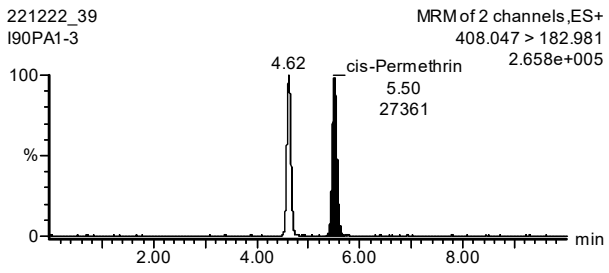
0.05mg/kg 添加回收  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



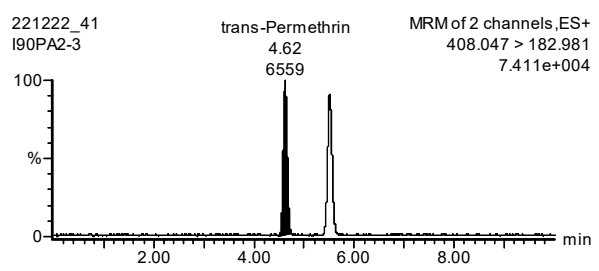
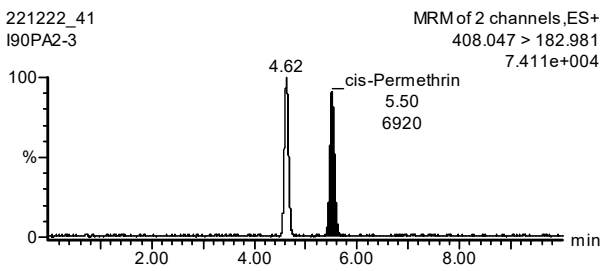
1mg/kg 添加回收  
(8 $\mu$ L/200mL/0.05g)



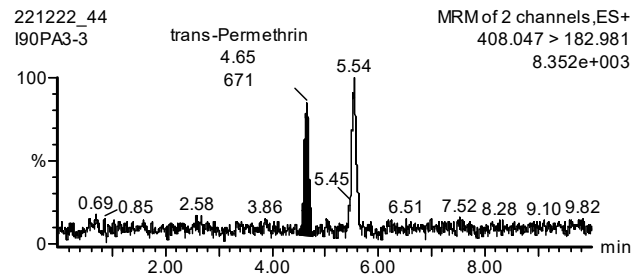
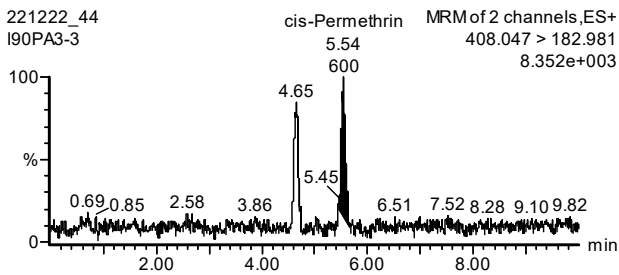
茨城花粉無处理  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



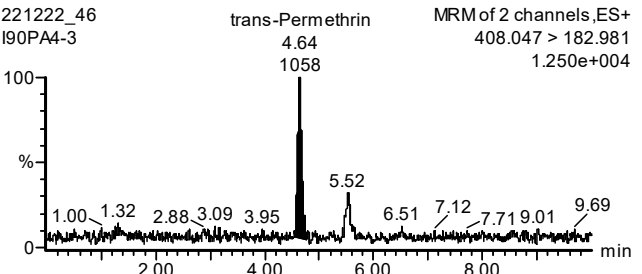
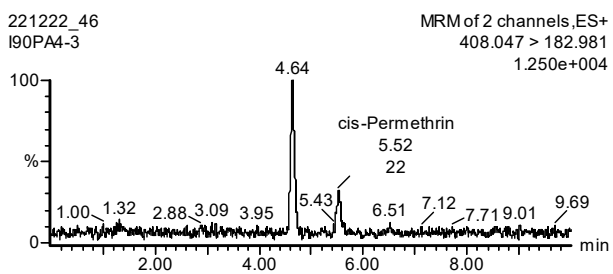
茨城花粉散布当日  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



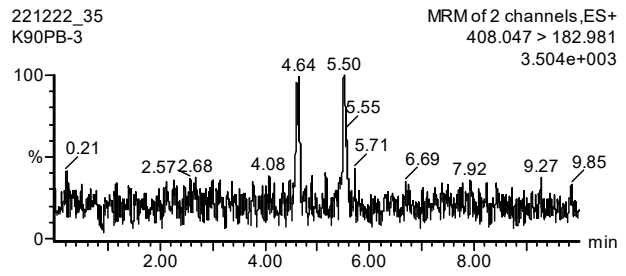
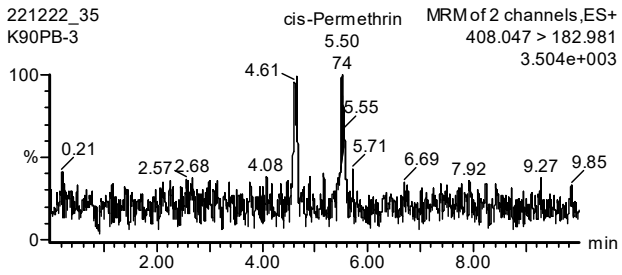
茨城花粉散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



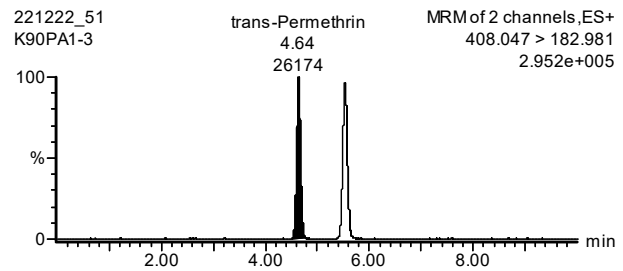
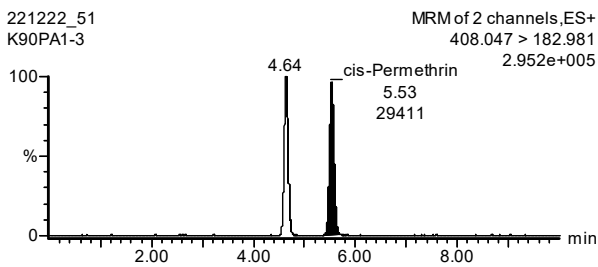
茨城花粉散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



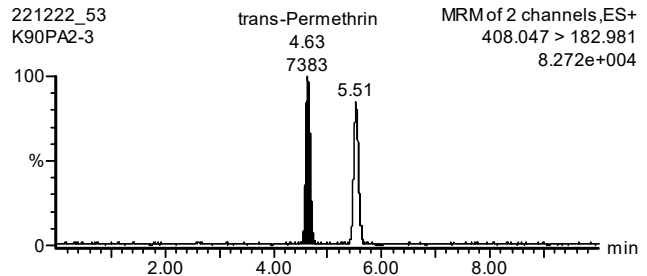
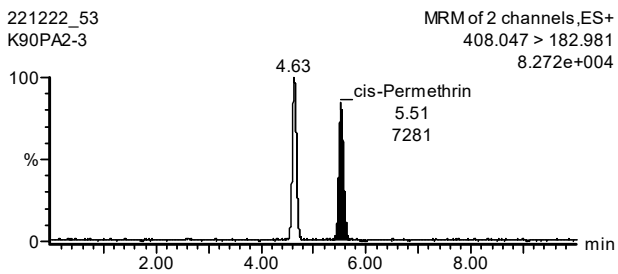
茨城花粉散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



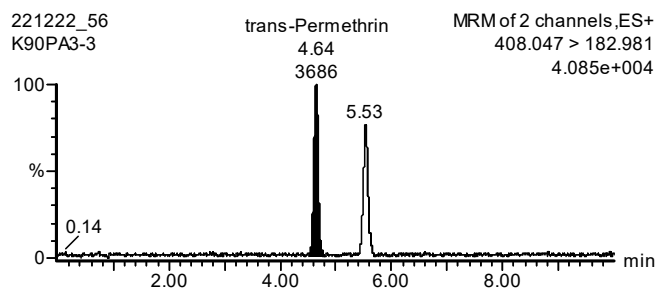
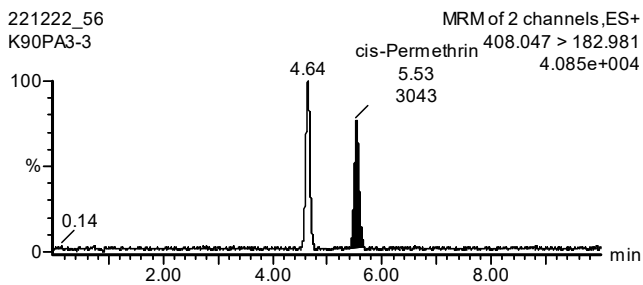
高知花粉無処理  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



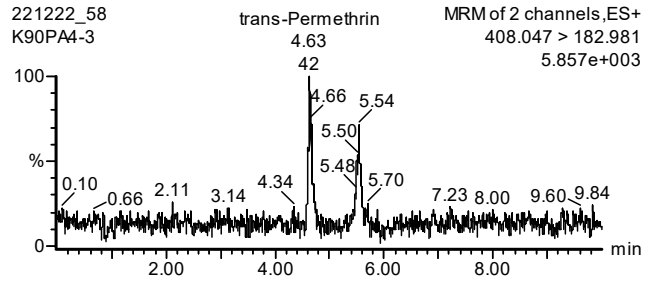
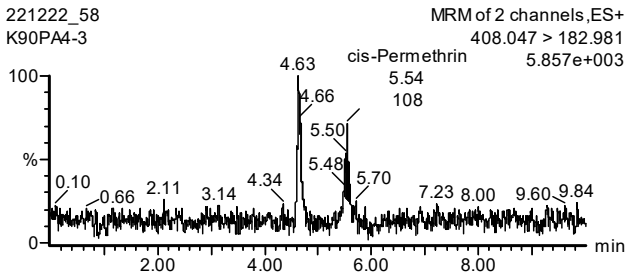
高知花粉散布当日  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



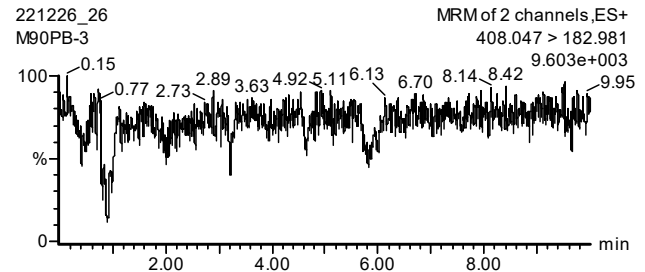
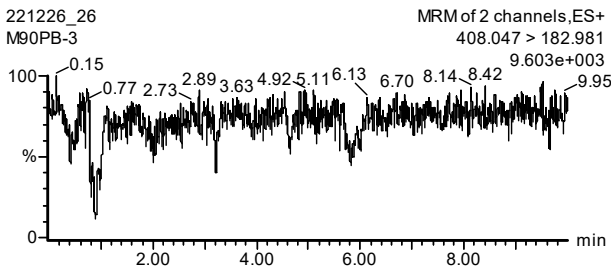
高知花粉散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



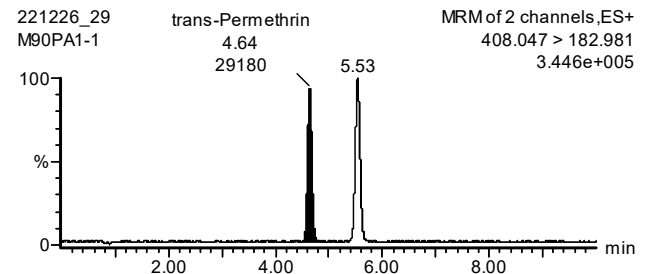
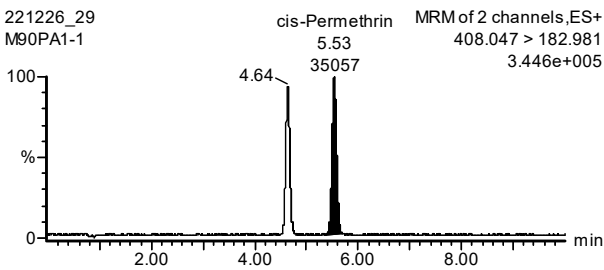
高知花粉散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



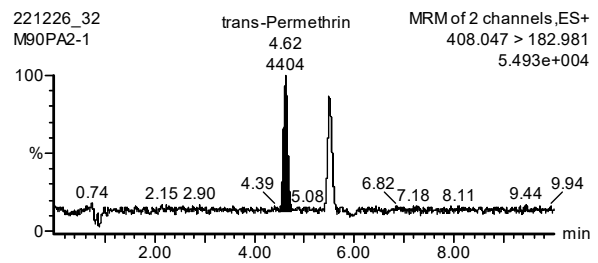
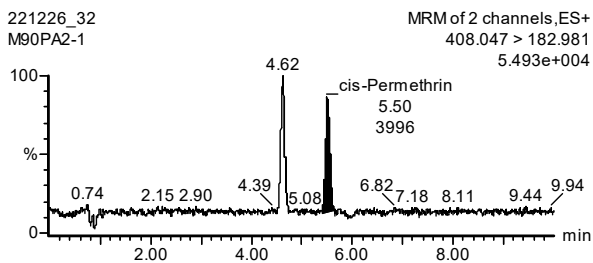
高知花粉散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



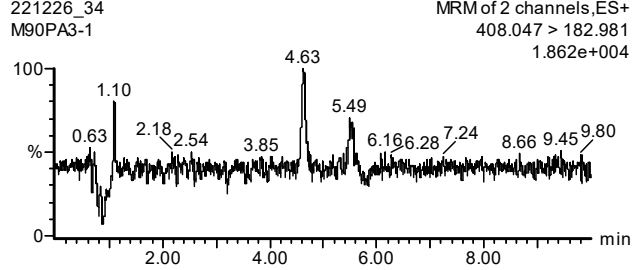
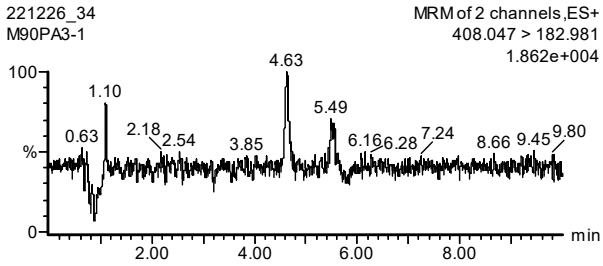
宮崎花粉無処理  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



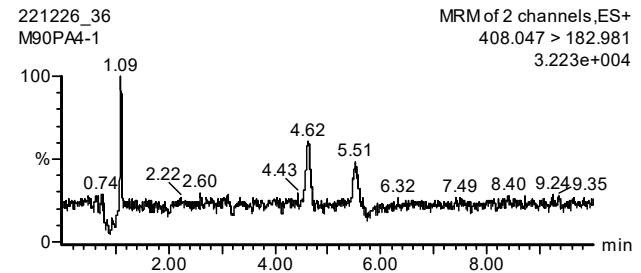
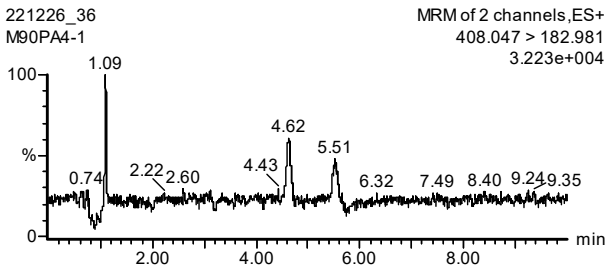
宮崎花粉散布当日  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



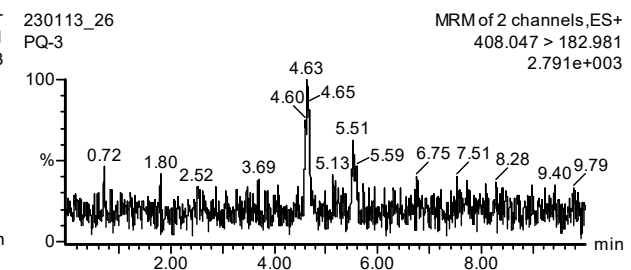
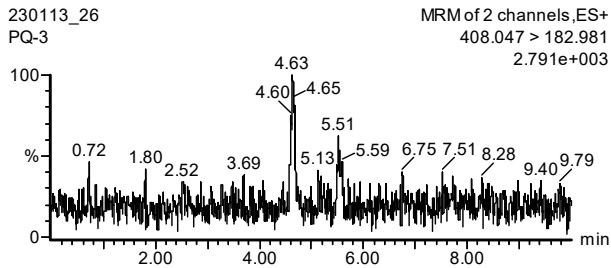
宮崎花粉散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



宮崎花粉散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

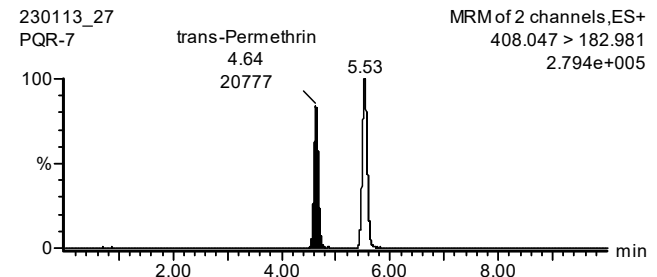
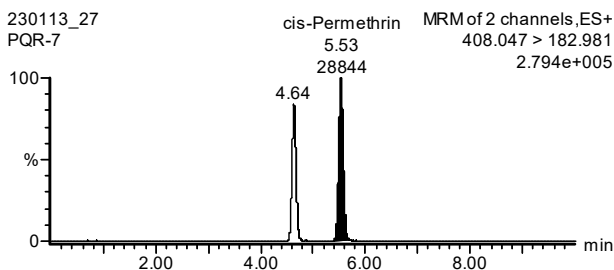


宮崎花粉散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



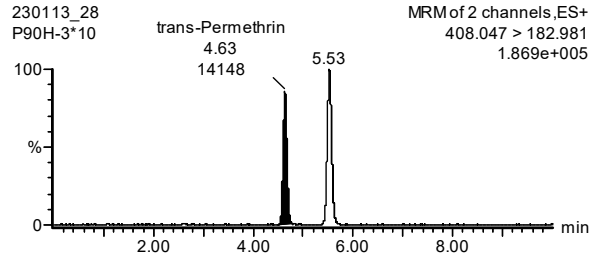
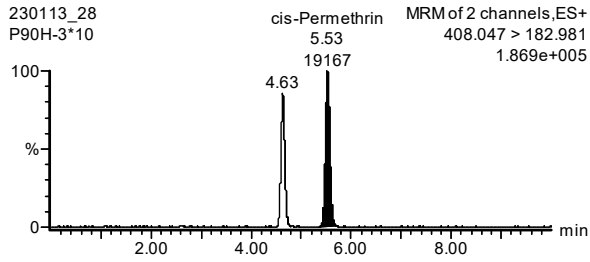
内部精度管理  
花粉無処理

(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)

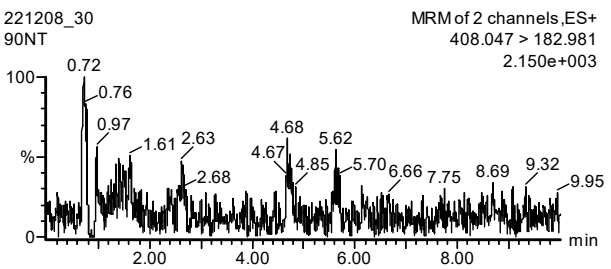
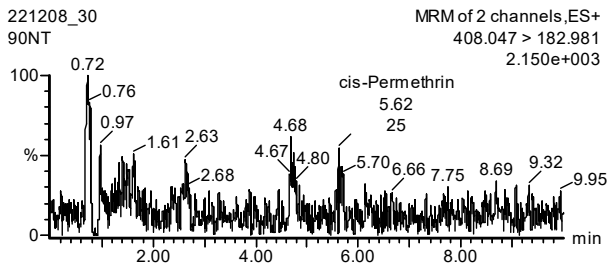


内部精度管理花粉 0.05mg/kg 添加回収

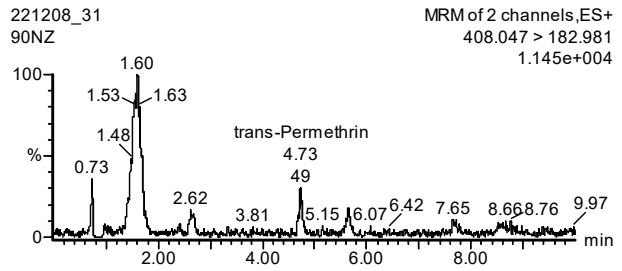
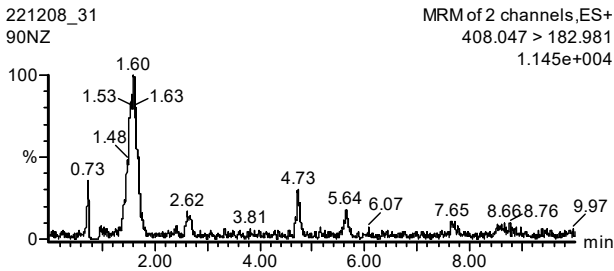
(8 $\mu$ L/10mL/0.05g)



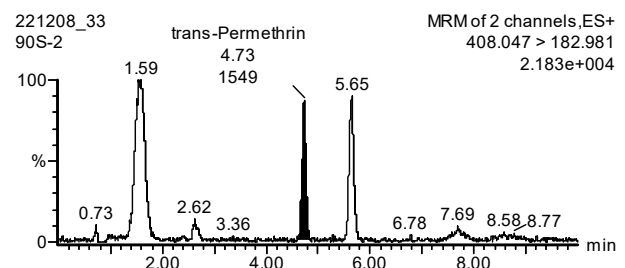
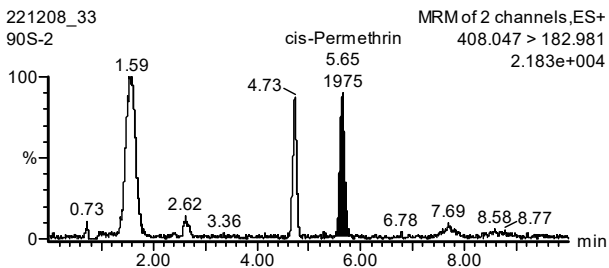
保存安定性確認花粉  
(8 $\mu$ L/100mL/0.05g)



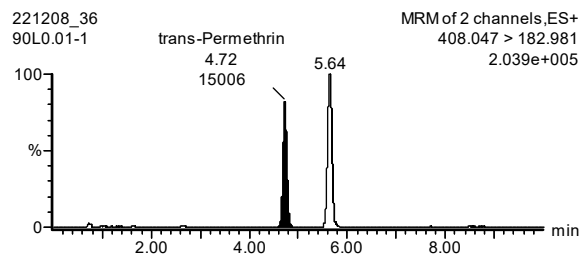
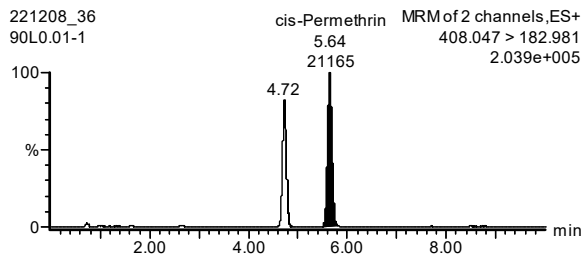
全操作試薬ブランク  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



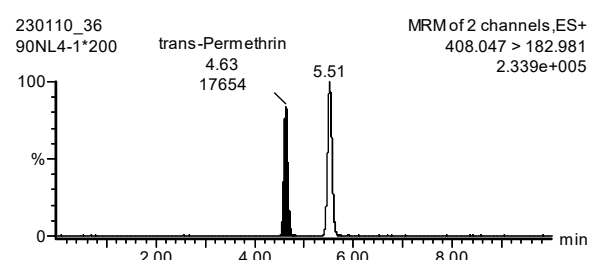
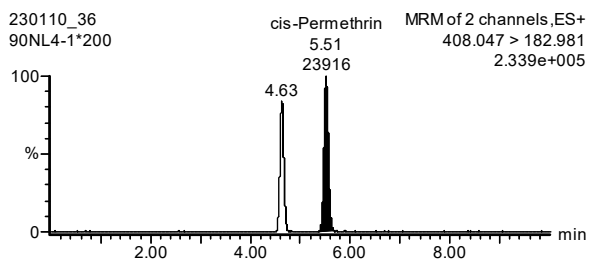
選択性確認花蜜  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



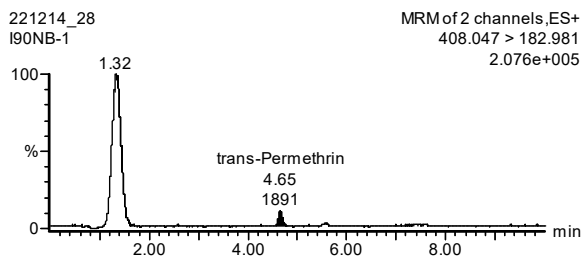
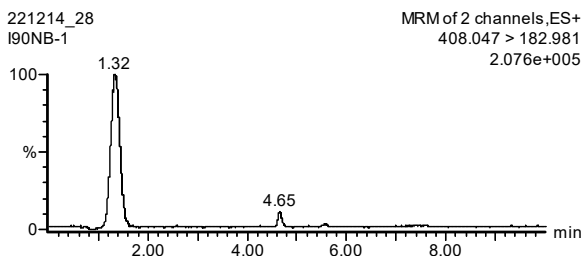
0.001mg/kg 添加回収  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



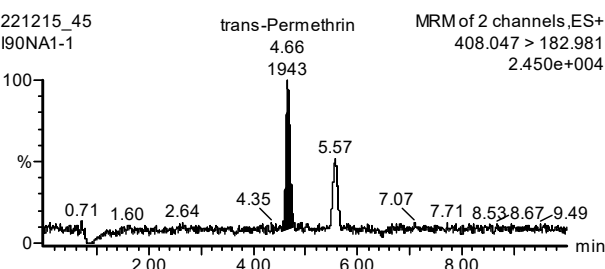
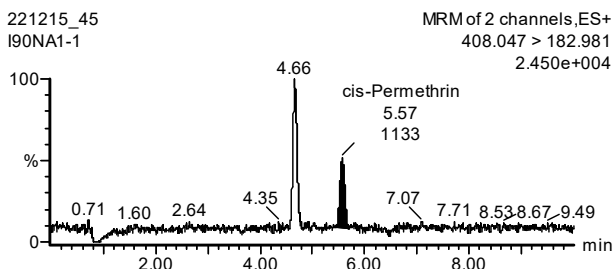
0.01mg/kg 添加回收  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



2mg/kg 添加回收  
(8 $\mu$ L/400mL/0.05g)

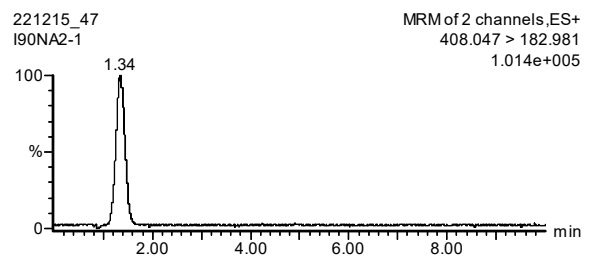
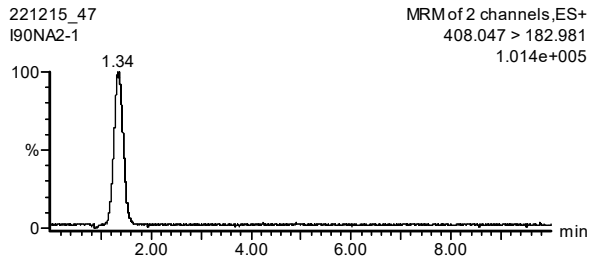


茨城花蜜無处理  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)

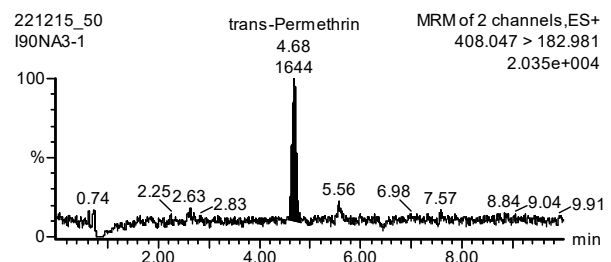
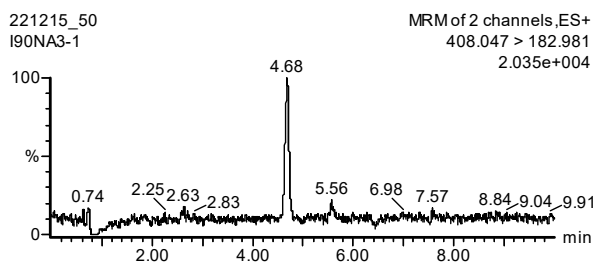


茨城花蜜散布当日  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)

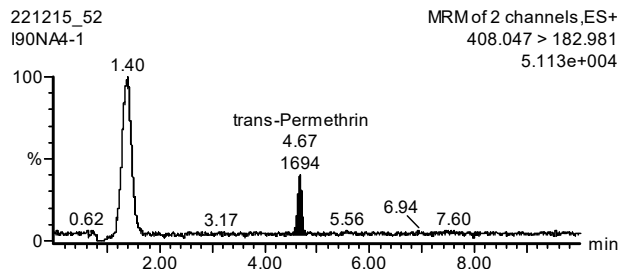
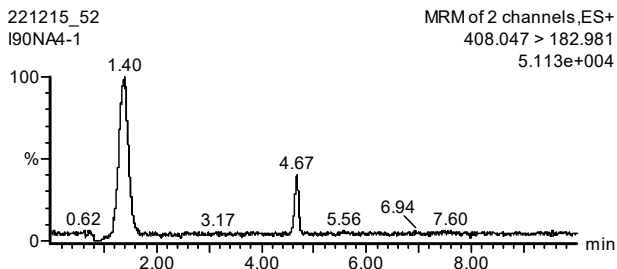




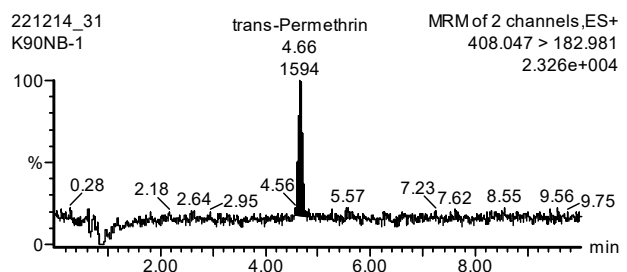
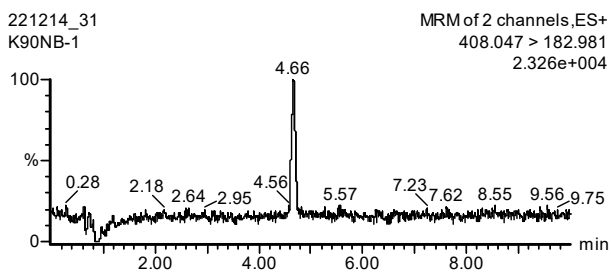
茨城花蜜散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



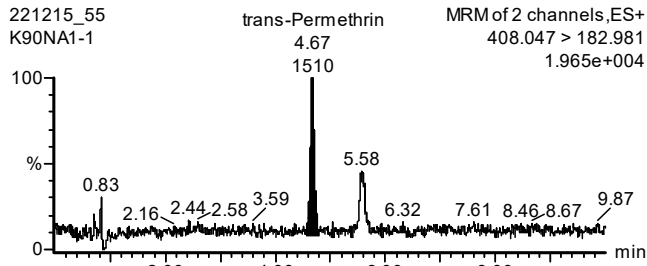
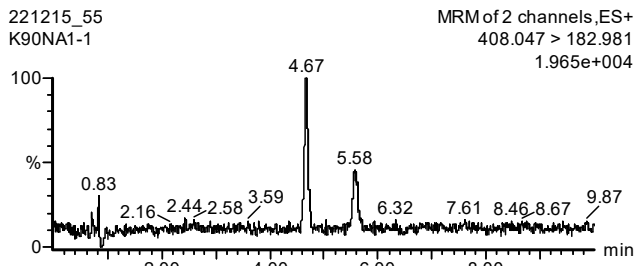
茨城花蜜散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



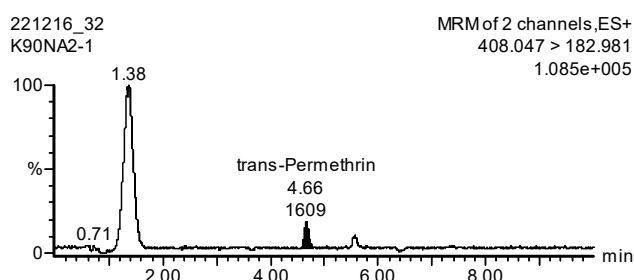
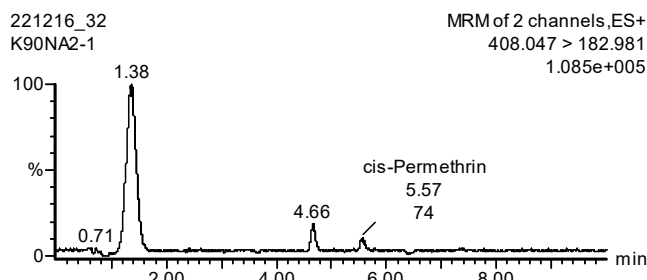
茨城花蜜散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



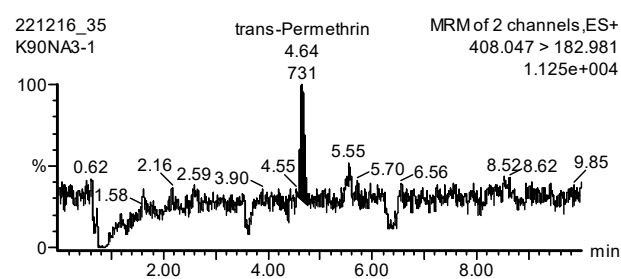
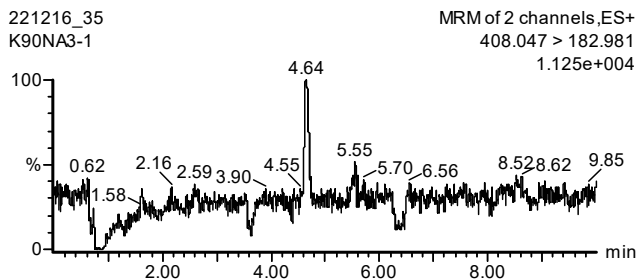
高知花蜜無处理  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



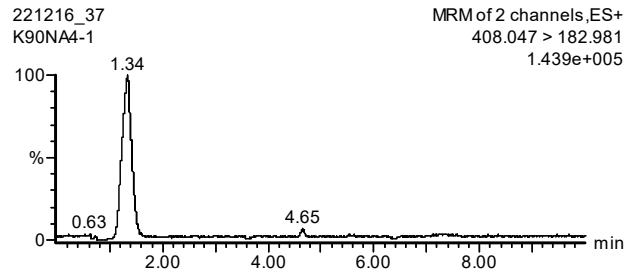
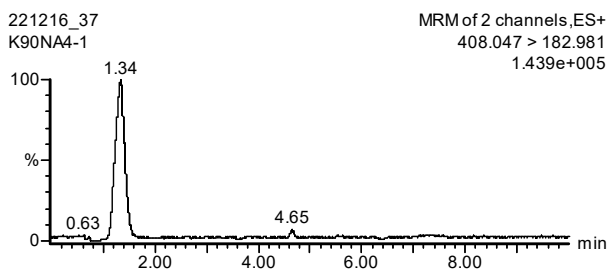
高知花蜜散布当日  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



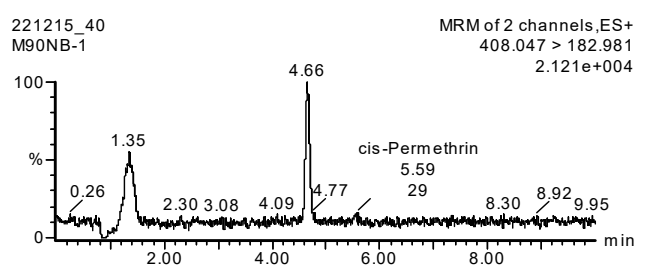
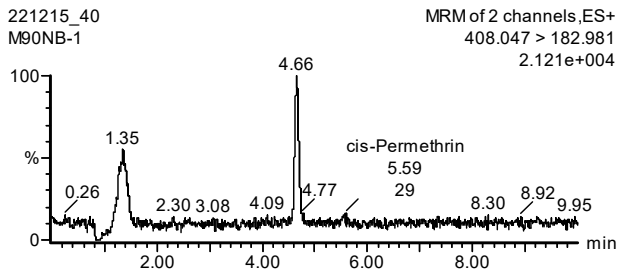
高知花蜜散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



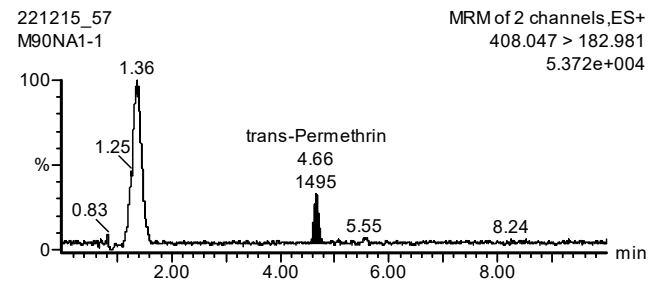
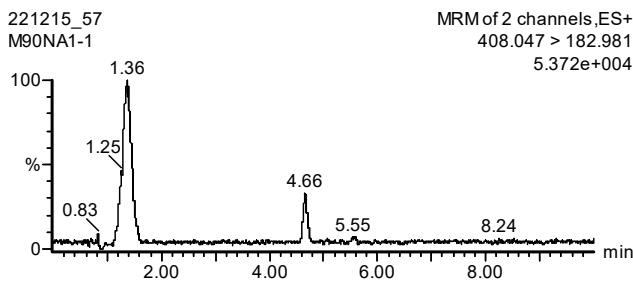
高知花蜜散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



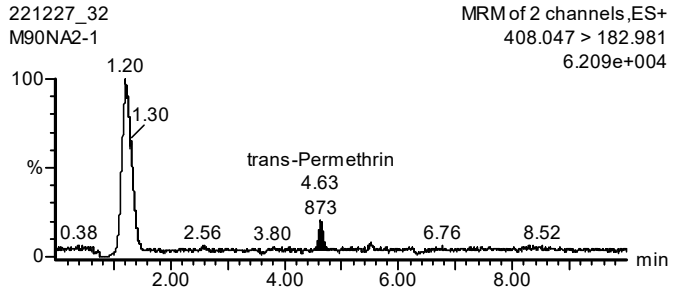
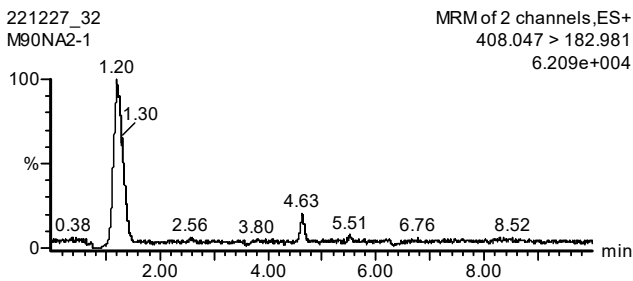
高知花蜜散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



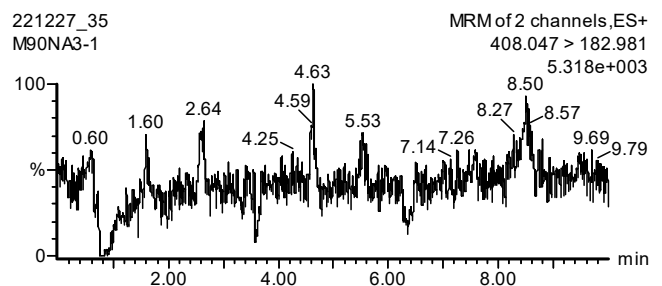
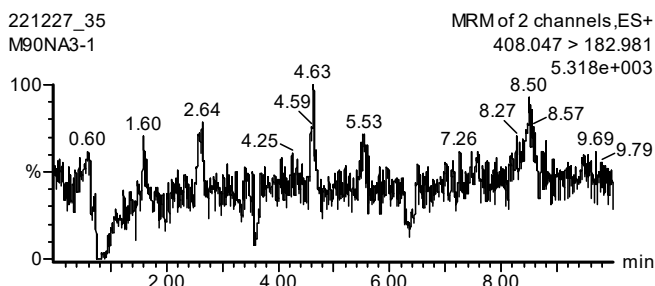
宮崎花蜜無処理  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



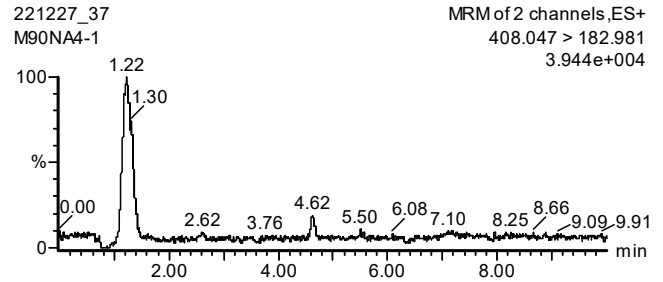
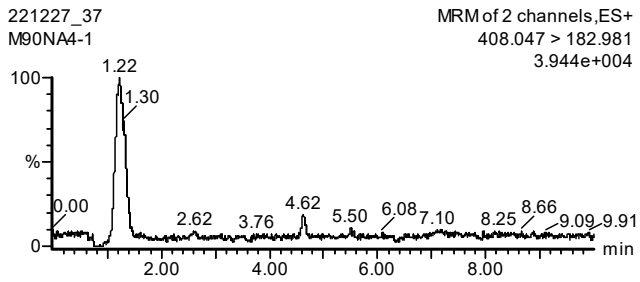
宮崎花蜜散布当日  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



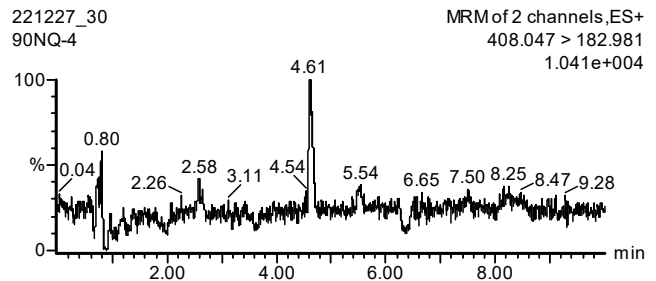
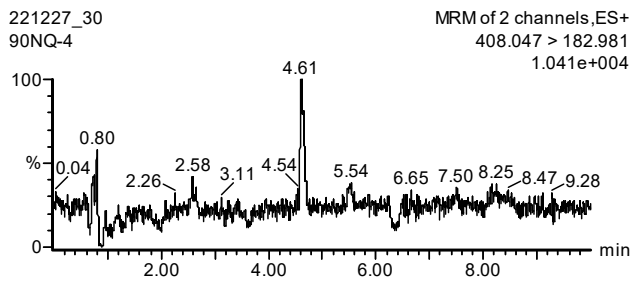
宮崎花蜜散布 3 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



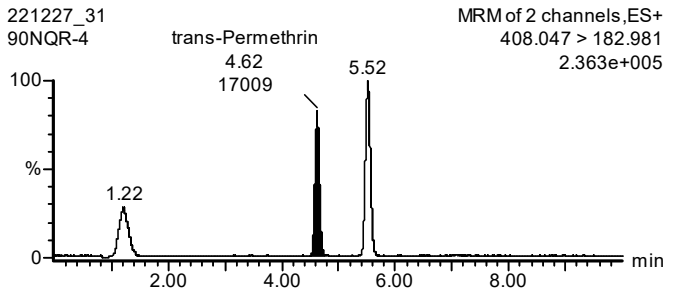
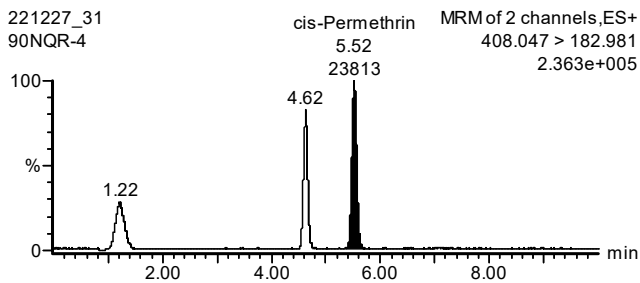
宮崎花蜜散布 7 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



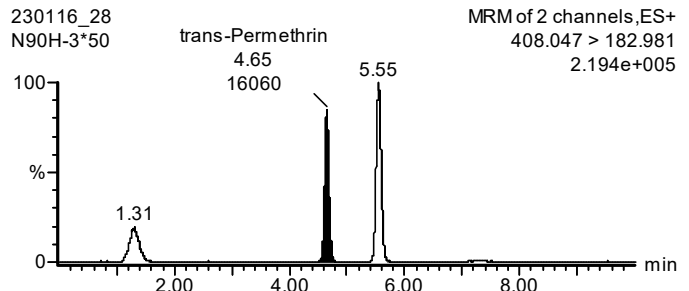
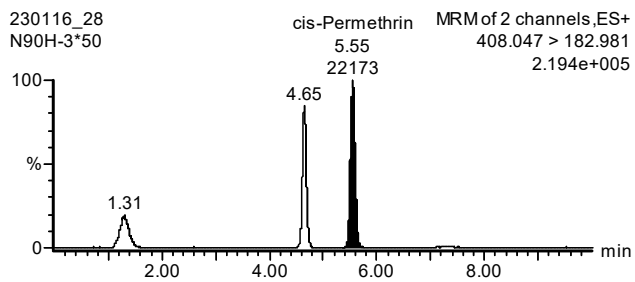
宮崎花蜜散布 14 日後  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



内部精度管理花蜜無処理  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



内部精度管理花蜜 0.01mg/kg 添加回収  
(8 $\mu$ L/2mL/0.05g)



保存安定性確認花蜜  
(8 $\mu$ L/100mL/0.05g)

## V. 関連試験成績

(日本植物防疫協会自主研究)

## 野菜類の花粉・花蜜残留試験（2021年自主研究） —だいたいの花粉・花蜜—

### 1. 目的

マメ科における花粉花蜜残留試験方法を検討する。

### 2. 試験概要

茨城研究所内のビニールハウスにおいて、だいたいの生育状況、花の構造を調査し、花粉・花蜜の採取の可否と採取方法、およ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、島崎祐樹、荒井雄太、天野昭子、林直人

### 4. 調査内容

#### 1) 生育調査

供試品種 枝豆品種：いきなまる、おつな姫、あじみのり、富貴、鶴の子大豆  
子実大豆品種：タチナガハ、フクユタカ、エンレイ、里のほほえみ

播種日 2021年5月14日

定植日 2021年5月26日

栽培方法 露地栽培、2条植え、畝間140cm 株間20cm 条間50cm  
各品種とも40株定植（ただし里のほほえみのみ24株）

調査項目 ①6月15日より品種ごとに開花がある株数を全株について調査し、開花株率を求めた。  
②花の大きさを比較するため、開花期間中に各品種5花について旗弁の幅を計測した。

#### 2) 花の構造

上記生育調査時にタチナガハの花について、切断・分解して花の構造を調査した。

#### 3) 開花の経過

上記生育調査時にいきなまるについて、6月17日から特定の花を毎日観察して経過を調査した。

#### 4) 分析試料の採取

生育調査等により選定した品種について、採取部位や採取方法および採取作業について調査、検討した。

## 5) 農薬残留試験

### ①栽培概要

供試品種：いきなまる

播種日：2021年8月31日

施設栽培：2条点播

栽植密度：畝幅：1.4m 株間：0.2m 条間：0.6m 畝長：18m、畝数：4畝

区制：無処理区および処理区（1区100.8m<sup>2</sup>、714株：各区ハウス1棟）

### ②薬剤処理

供試薬剤：ペルメトリン20%乳剤（アディオン乳剤）

ジノテフラン20%水溶剤（アルバリン顆粒水溶剤）

処理方法：10月8日 7時25分からペルメトリン20%乳剤2000倍およびジノテフラン20%水溶剤2000倍希釈液を作物全体が十分濡れるよう、150ℓ/10a背負い式電動散布機で散布した。対象作物は草丈40cm、7割程度の株で開花が見られる状態であった。

### ③試料採取及び調製

無処理区は10月6日に花の採取を実施した。処理区は10月8日の薬剤散布2時間30分後に薬液が乾いたことを確認したのちに処理当日の花の採取を行った。以後10月11日および15日の午前中に処理3日後、7日後試料として花の採取を行った。

### ④試料の送付

採取した試料は清浄なガラスシャーレに入れ、これを分析担当者に手渡しした。

## 5. 分析の方法

各試料の分析を各2連で実施した。なお、試料量に限りがあったため、無処理区の分析結果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、ボルテッ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

以下の方法を用いて行った。

#### 1. ジノテフラン

秤量した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0.1mg/kgとした。

## 2. ペルメトリン

秤量した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. 検討結果と考察

### (1) 生育調査

品種の選定を兼ねて、枝豆品種5種・子実大豆品種4種を2021年5月26日に定植し、露地栽培で開花株率を調査した（図1, 2）。

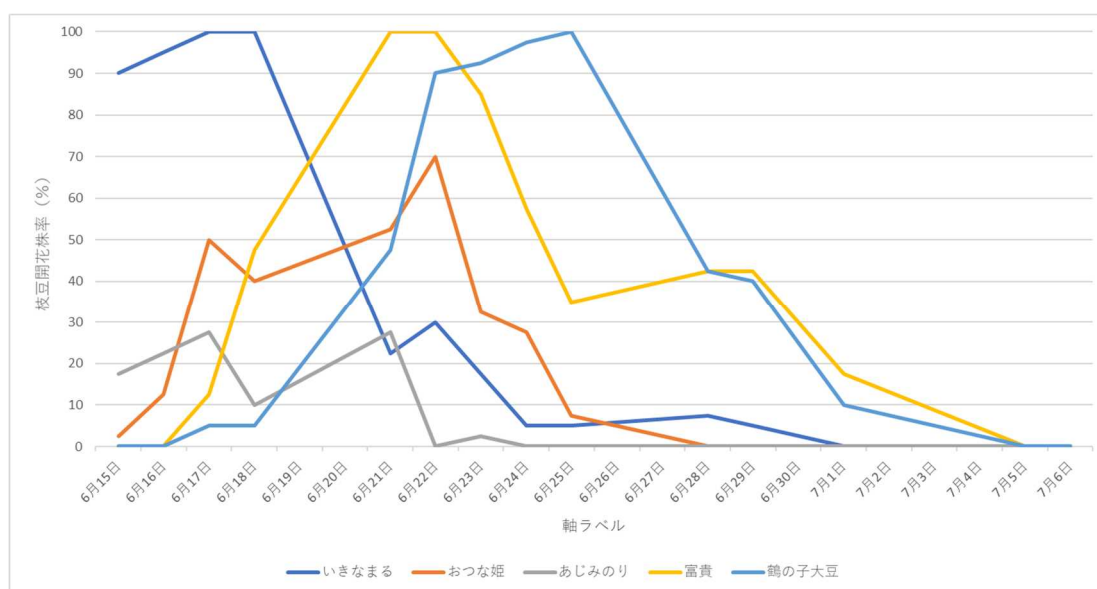


図1 枝豆品種5種の開花株率の経緯（2021年5月26日定植）各品種40株調査





図2 子実大豆品種5種の開花株率の経緯 (2021年5月26日定植)  
各品種40株調査 (里のほほえみのみ24株)

枝豆品種では開花が早く開花期間が短い傾向、大豆品種では開花が遅く開花期間が長い傾向であった。

並行して花の大きさを比較するため、旗弁の幅を各品種任意に5花採取して計測した(表1)。

表1 旗弁幅 (5花平均)

分類	品種	平均値(mm)
枝豆	いきなまる	7.51
	おつな姫	5.89
	あじみのり	5.92
	富貴	6.91
	鶴の子	6.94
大豆	タチナガハ	4.94
	フクユタカ	7.44
	エンレイ	5.73
	里のほほえみ	5.93

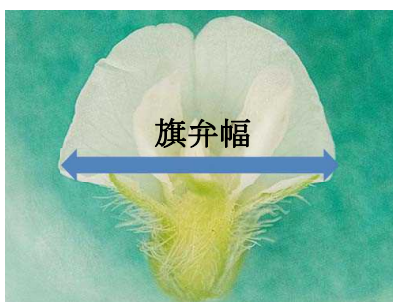


図3 旗弁幅の定義



図4 開かない花

品種により花の大きさは1.5倍以上の差があった。また、同じ品種でも条件によっては完全に開花せず、図4の状態が開花が終了し、その後花卉の間から子実が伸長してくるものが趨勢を占めることがある。なお、農薬残留試験用の試料採取時は、完全開花しないものが多かった。

枝豆品種のいきなまるは早生品種であり、早い作型の栽培や秋収穫(抑制栽培)にも適し、ハウス作型でも安定して着莢する品種特性がある。試験時期や施設栽培での実施となること、栽培暦に適応できること、また旗弁幅の大きさから分析試料としての取り扱いやすさを勘案し、だいたいの花粉花蜜残留試験には枝豆品種のいきなまるを供試することが妥当であると考えられた。

## (2) 花の構造

花は両性で雄蕊・雌蕊を持ち、雄蕊は花柱を取り囲むようになっており、開花前に花粉を出して既に受粉しているとされる<sup>1)</sup>。子房の元に蜜腺があるが、蜜量が微量であることと、花器の奥まった部分に存在するため構造上正確に花蜜のみを採取しにくく、十分量を採蜜するのは困難である。また花粉は粘着性があるうえ非常に微量であることから、花粉だけをコンタミなく十分量収集することは困難である。

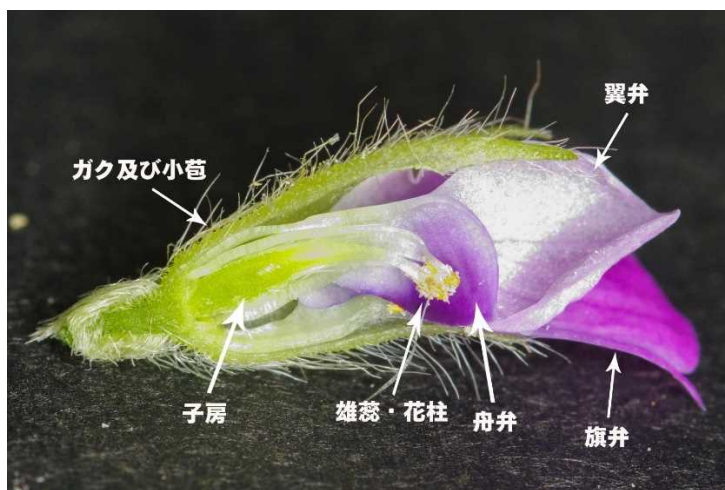


図5 花の断面

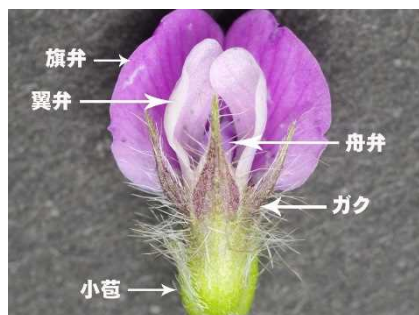


図6 花の外観



図7 旗弁を切除



図8 翼弁・舟弁の片側を切除

### (3) 開花の経過

開花は、先に述べたように旗弁が展開していわゆる「開花」する状態（図3）になる場合と、図4の状態のまま進行する場合がある。前者の場合は図9のように2-3日「開花」状態を保つ。

一方後者のように「閉花」状態を保つ場合は、ガクの間から花弁が見えるようになり徐々に伸長するが、図4右の状態の花弁の状態は停止し、数日後図4左のように花弁が白いまま間から子実が伸長し、やがて花弁は褐変する。

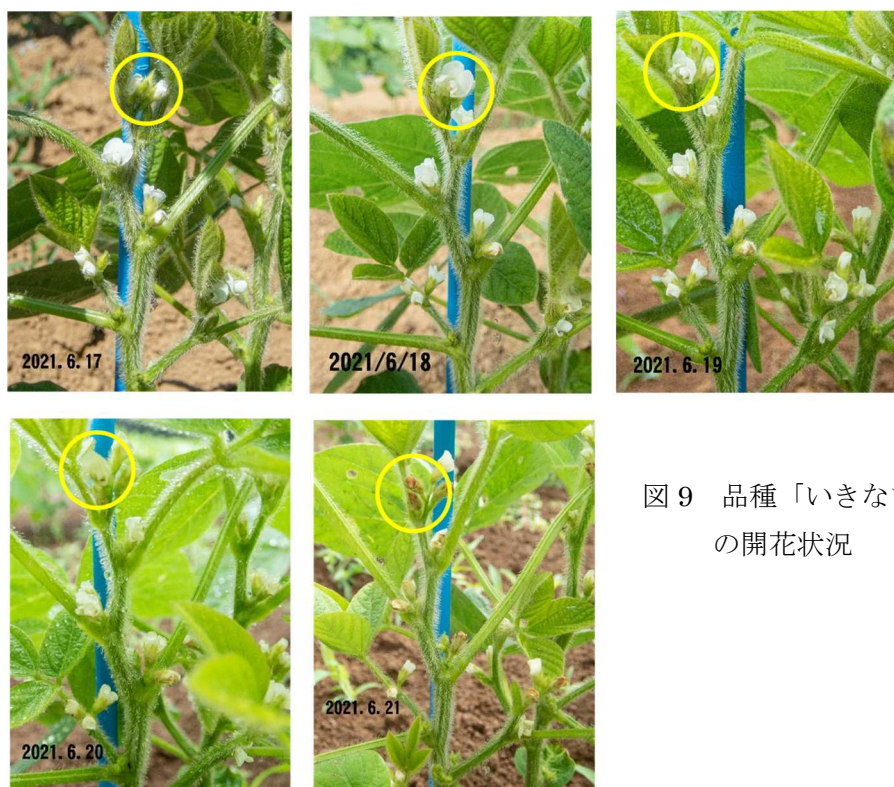


図9 品種「いきなまる」  
の開花状況

### (4) 分析試料の採取

品種によって開花時に舟弁も開き雄蕊と花柱が外部から観察できるものもあるが、今回供試した主要品種ではいずれも「開花」した状態でも舟弁は閉じていた。

残留試験を実施した際は、「開花」に至る花が少なく、多くは「閉花」の状態では採取せざるを得なかった。また選定した品種いきなまるは、花のサイズが最も大きいものであるが、花粉および花蜜を採取するのは困難であったため分析部位は花とすることが妥当と考えられた。

採取した試料（花）は、十分な大きさになったと判断できるサイズのうち、子実ができていないものを選び、精密ピンセットでガクの下部から摘み取り、ガラスシャーレに回収

した。4回の採取の平均から、1花当たりの採取時間は0.24分、花の重量は1花当たり7.35mgであった(表2)。

表2 採取に要する時間と得られる重量

採取日	採取時間	採取花数	試料重量	花当り時間	花当り重量
10月6日	58分3名	686花	5.374g	0.25分	7.83mg
10月8日	30分3名	298花	2.015g	0.3分	6.76mg
10月11日	14分3名	221花	1.709g	0.19分	7.73mg
10月15日	16分3名	213花	1.504g	0.23分	7.06mg
平均				0.24分	7.35mg

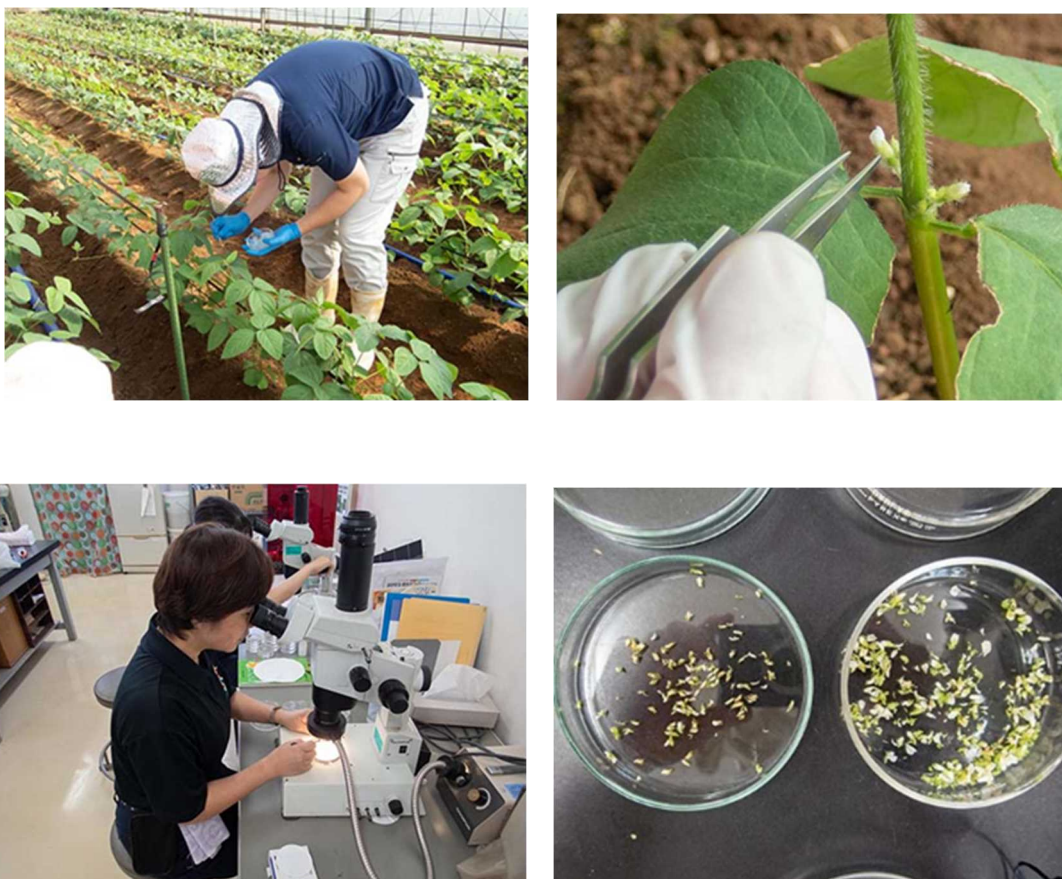


図 10. 採取・調製の様子

前述のとおり、花蜜・花粉のみを採取することは困難であったが、花弁やガクなどの農薬が直接暴露する部分は残留量が高くなると推測される。そこで、花を実体顕微鏡下で解

体し、ガク・旗弁・翼弁を取り除いた残りを「花粉・花蜜を含む試料」として残留量の調査を試みた。分析はこの「花粉・花蜜を含む試料」のほか、採取した花全体を分析試料とした。閉花の状態では採取した解体用試料のうち、解体の際に子実ができていたものは試料から除き、試料重量を測定した(表 3)。花を解体して試料を調製するのに要する時間は1花当たり 1.37 分、得られる試料は 2.24mg であった。

表 3. 調製に要する時間と解体後に得られた試料重量

採取日	調製時間	調製花数	重量	花当たり時間	花当たり重量
10月6日	145分3名	339花	0.601g	1.28分	1.77mg
10月8日	80分3名	164花	0.442g	1.46分	2.70mg
<b>平均</b>				<b>1.37分</b>	<b>2.24mg</b>

#### (5) 農薬残留量の調査

##### 1) 試料採取量

試料は無処理区 B と処理区 A の散布当日のみ花を解体した花粉・花蜜を含む試料(解体用)と、花全体を分析する試料(ホール分析用)とに分けて調製し、散布 3 日および 7 日後についてはホール分析用試料のみ採取した(表 4)。なお、散布当日の採取は植物体上の薬液が十分乾いた状態であることを確認した上で採取を行った。

表4 分析試料の採取

採取日	試験区名	散布後日数	採取花数	試料重量
10月6日	無処理区B	-	解体用:371花 ホール分析用:315花	解体用:2.824g ホール分析用:2.550g
10月8日	処理区A	0 (散布2時間30分後)	解体用:198花 ホール分析用:100花	解体用:未計測 ホール分析用:0.983g
10月11日	処理区A	3	221花	ホール分析用:1.709g
10月15日	処理区A	7	213花	ホール分析用:1.504g

##### 2) 回収率及び保存安定性

各農薬の添加回収試験の回収率は 70-120%の範囲にあり、検量線の直線性も良好であった。また、保存安定性の結果はジノテフランが最長 146 日、ペルメトリンが最長 165 日の保存後においても良好な回収率が得られた。なお、詳細な結果については備考に示した。

### 3) 分析結果

分析結果を表 5-1~表 5-3 に示した。

ジノテフランの花全体の残留濃度は処理直後が最大で、以降は減少傾向を示した。花外側（がく+旗弁+翼弁）の処理直後の値は 63.4mg/kg、花内側（子房+雄蕊+雌蕊+竜骨弁+花基部）は 5.66mg/kg であり、残留濃度は「花外側 > 花全体 > 花内側」という傾向が示された。また、この結果を用いて 1 花当たりの農薬量を算出した結果、花全体が 0.251μg/花、花外側が 0.228μg/花、花内側が 0.015μg/花となった（表 6-1）。花外側と花内側の農薬量を合計すると 0.243μg/花で花全体の農薬量とほぼ同量であるため、本試験における調製（解体）作業によるロスはほとんど無かったと考えられる。花全体の残留量の 90% 以上が花外側の残留であった。本試験では無処理区試料から 0.010~0.013mg/kg 相当（妥当性確認ができないため参考値）の妨害ピークが検出されたが、処理区試料の残留濃度がいずれも非常に高いため、分析結果への影響はほとんどないと考えられる。

ペルメトリンの結果もジノテフランと同様に、処理直後の値が最大となり、以降は減衰傾向が示された。また、1 花当たりの農薬量の約 86% が花外側に残留しており、この結果もジノテフランと同様の傾向であった。

表 5-1. だいち花（ホール分析）の分析結果（mg/kg）

経過 日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
	分析値①	分析値②	差	平均値	分析値①	分析値②	差	平均値
無処理	<0.1	<0.1	—	<0.1 <sup>*</sup>	<0.001	<0.001	—	<0.001
処理直後	25.5	25.5	0.0	25.5	10.3	9.52	0.78	9.91
同 3 日後	16.6	16.5	0.1	16.6	5.75	5.74	0.01	5.74
同 7 日後	10.5	10.0	0.5	10.2	3.78	3.58	0.20	3.68

※ジノテフラン無処理区試料の分析値：0.011mg/kg（妥当性確認ができないため参考値）

表 5-2. だいち花（花外側（がく+旗弁+翼弁））の分析結果（mg/kg）

経過 日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
	分析値①	分析値②	差	平均値	分析値①	分析値②	差	平均値
無処理	<0.1	<0.1	—	<0.1※	<0.001	<0.001	—	<0.001
処理直後	63.5	63.2	0.3	63.4	23.5	22.9	0.6	23.2

※ジノテフラン無処理区試料の分析値：0.013mg/kg（妥当性確認ができないため参考値）

表 5-3. だいち花（花粉花蜜を含む試料（解体用））の分析結果（mg/kg）

経過 日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
	分析値①	分析値②	差	平均値	分析値①	分析値②	差	平均値
無処理	<0.1	<0.1	—	<0.1※	<0.001	<0.001	—	<0.001
処理直後	5.68	5.63	0.05	5.66	2.67	2.62	0.05	2.64

※ジノテフラン無処理区試料の分析値：0.010mg/kg（妥当性確認ができないため参考値）

表 6-1. ジノテフランの 1 花あたりの農薬量

分析 部位	経過日数	調製 花数	受領量 (g)	分析値 (mg/kg)	農薬量 (μg)	1 花あたりの 農薬量(μg)
花全体	処理直後	100	0.983	25.5	25.1	0.251
	処理 3 日後	221	1.709	16.6	28.4	0.128
	処理 7 日後	213	1.504	10.2	15.3	0.072
花外側	処理直後	164	0.590	63.4	37.4	0.228
花内側	処理直後	164	0.442	5.66	2.5	0.015

表 6-2. ペルメトリンの 1 花あたりの農薬量

分析部位	経過日数	調製花数	受領量 (g)	分析値 (mg/kg)	農薬量 (μg)	1 花あたりの農薬量(μg)
花全体	処理直後	100	0.983	9.91	9.7	0.097
	処理 3 日後	221	1.709	5.74	9.8	0.044
	処理 7 日後	213	1.504	3.68	5.5	0.026
花外側	処理直後	164	0.590	23.2	13.7	0.083
花内側	処理直後	164	0.442	2.64	1.2	0.007

## 7. まとめ

マメ科であるだいたいの花は、両性で雄蕊・雌蕊を持ち、雄蕊が花柱を取り囲むように位置しているため、開花前に花粉を出し、一部には開花しないまま子実が出来ているものも見られた。さらに、花粉は粘着性があるうえ非常に微量であることから、花粉だけをコンタミなく十分量収集することは困難であった。また蜜腺は子房の元にあり、蜜量が微量であることと、花器の奥まった部分に存在することから花蜜のみを採取しにくく、十分量を採蜜するのも困難であった。また実体顕微鏡下で花の外側（ガク、旗弁、翼弁）を取り除く調整作業も試みたが、作業時間や作業性からみて現実的ではないと思われる。

部位別の残留量調査では、花の外側にあたるがく、旗弁、翼弁における残留量が花全体の 90%近くを占めており、このことから、だいたいを対象とした花粉花蜜残留試験では花全体を分析対象としても過小評価になる恐れはなく妥当と思われる。



## 8. 備考

### 7-1. 分析フローシート

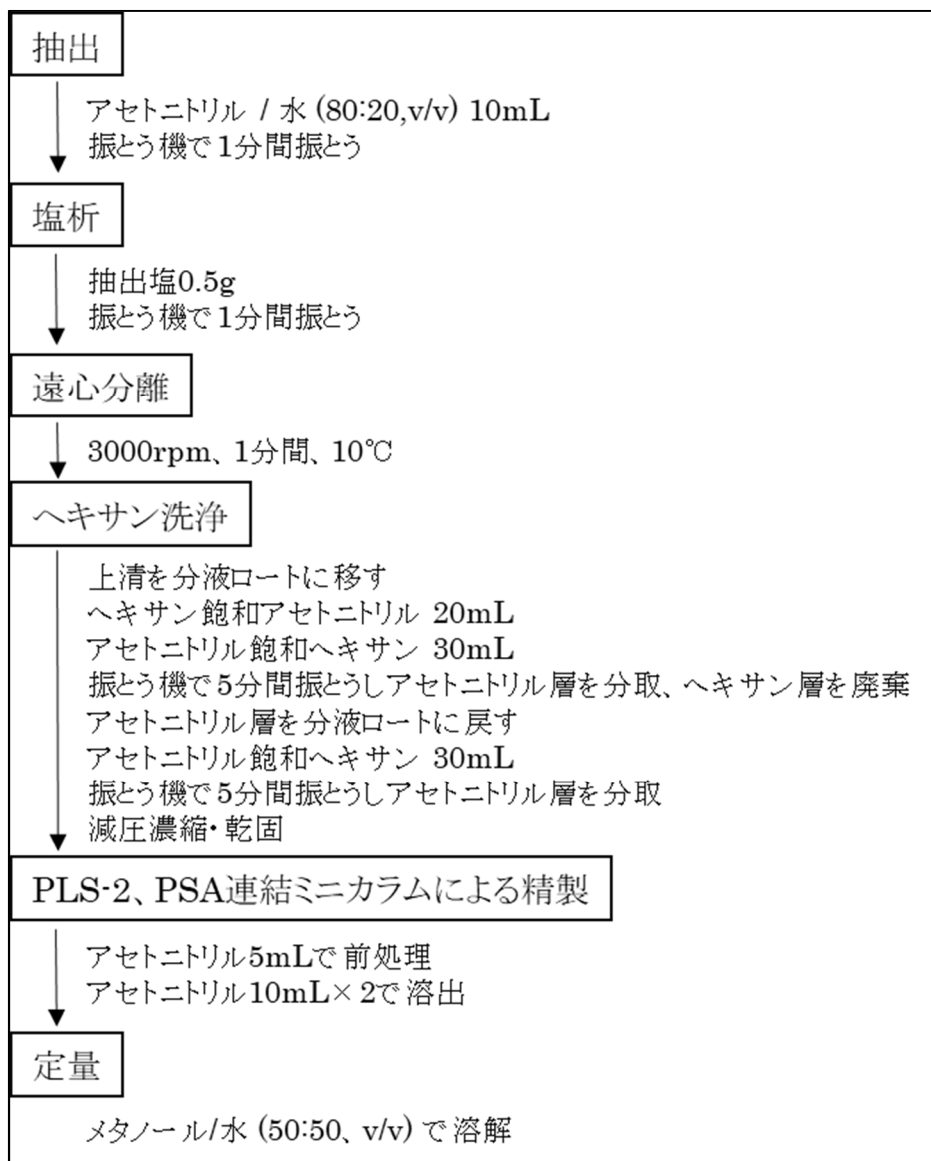


図 11. ジノテフランの分析フローシート

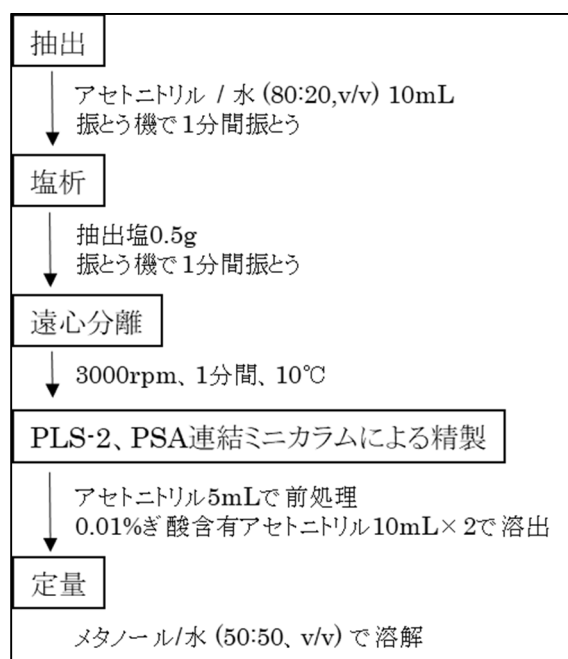


図 12. ペルメトリンの分析フローシート

## 7-2. 添加回収試験の結果

表 7-1. 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 (%)	RSDr (%)
	連制 1	連制 2	連制 3	連制 4	連制 5		
100	92	92	92	90	87	91	2
0.1	115*	107	105	103	95*	105	6

※試料量に限りがあったため、内部精度管理として実施した添加回収の結果を記載

表 7-2. 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 (%)	RSDr (%)
	連制 1	連制 2	連制 3	連制 4	連制 5		
40	93	93	91	89	86	90	3
0.1	102*	98	98	97	85*	96	6
0.001	110	110	100	100	90	102	8

※試料量に限りがあったため、内部精度管理として実施した添加回収の結果を記載

7-3. 保存安定性の確認結果

表 8. 保存安定性の確認結果

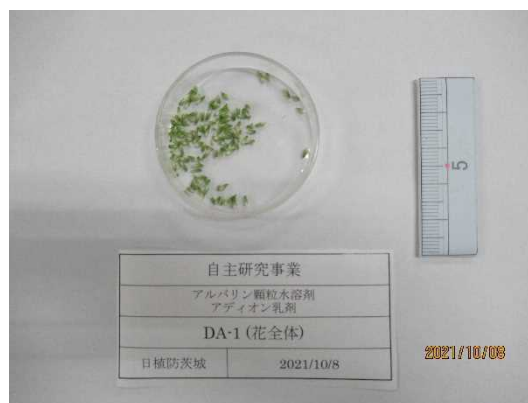
有効成分	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
ジノテフラン	0.5	146 (2021/10/8 - 2022/3/3)	102, 98	100
ペルメトリン	0.5	165 (2021/10/8 - 2022/3/22)	88,86	87

実試料最長保存日数：ジノテフラン 143 日間，ペルメトリン 154 日間

7-4. 受領試料の写真



無処理（花全体）



処理直後（花全体）



処理 3 日後（花全体）



処理 7 日後（花全体）



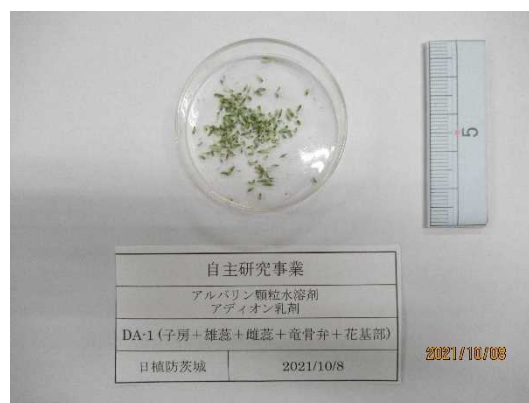
無処理（花外側）



処理直後（花外側）



無処理（花内側）



処理直後（花内側）

図 13. だいず花試料の受領時写真

## 8. 引用文献

- 1) 農業技術体系 作物編 6<だいず>基礎編 55P

## 野菜類の花粉・花蜜残留試験（2021,2022年 自主研究）

### —かぼちゃの花粉・花蜜—

#### 1. 目的

2019年の国庫事業において、かぼちゃにおける花粉花蜜残留試験（施設・地這栽培）を茨城研究所、高知試験場、宮崎試験場の3場所で実施した。残留濃度の再現性を確認するため再度、茨城研究所で残留試験を実施した。

#### 2. 試験概要

茨城研究所内の施設栽培において、2021年と2022年にかぼちゃ花粉花蜜残留濃度を調査した。

#### 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、六原智子、島崎祐樹、荒井雄太、天野昭子、林直人

#### 4. 調査内容

##### (1) 農薬残留試験

###### ①栽培概要

###### <2021年>

供試品種：えびす

播種日：2021年8月17日

仕立て：1条植（施設栽培）

栽植密度：畝間：2.5m 株間：0.3m 畝長：18m、畝数：2畝

区制：無処理区および処理区（90.0 m<sup>2</sup>、120株）

無処理試料採取後に処理区として使用した。

###### <2022年>

供試品種：えびす

播種日：2022年7月11日

仕立て：1条植（施設栽培）

栽植密度：畝間：2.5m 株間：0.3m 畝長：15m、畝数：2畝

区制：無処理区および処理区（75.0 m<sup>2</sup>、100株）

無処理試料採取後に処理区として使用した。

###### ②薬剤処理

供試薬剤：ペルメトリン 20%乳剤（アディオン乳剤）

ジノテフラン 20%水溶剤（アルバリン顆粒水溶剤）

## 処理方法

2021年10月4日

5時58分からペルメトリン20%乳剤2000倍およびジノテフラン20%水溶剤20倍混用希釈液を作物全体が十分濡れるよう、200ℓ/10a背負い式電動散布機で散布した。対象作物は草丈約2.5m、開花が見られる状態であった。

2022年9月6日

5時8分からペルメトリン20%乳剤2000倍およびジノテフラン20%水溶剤2000倍混用希釈液を作物全体が十分濡れるよう、200ℓ/10a背負い式電動散布機で散布した。

対象作物は草丈約3.0m、開花が見られる状態であった。

## ③試料採取及び調製

<2021年>

無処理区は10月1日に花粉花蜜の採取を実施した。処理区は10月4日の薬剤散布2時間後に薬液が乾いたことを確認したのちに処理当日の花粉花蜜の採取を行った。以後10月7日および11日の午前中に処理3日後、7日後試料として花粉花蜜の採取を行った。

<2022年>

無処理区は9月2日に花粉花蜜の採取を実施した。処理区は9月6日の薬剤散布2時間後に薬液が乾いたことを確認したのちに処理当日の花の採取を行った。以後9月7日、9日および13日の午前中に処理1日後、3日後および7日後試料として花粉花蜜の採取を行った。

## ④試料の送付

花粉試料は清浄な薬包紙で包んでアルミ袋に入れた。花蜜は15mL容PP製の遠心管に入れた。いずれの試料も分析担当者に速やかに手渡した。

## 5. 分析の方法

各試料の分析を各2連で実施した。なお、分析は2019年に妥当性確認を行った方法で実施した。

### (1) 磨砕均一化

#### ①花粉

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、ボルテッ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花蜜

磨砕均一化操作は実施せず、試料受領後にボルテックスでよく攪拌してから 50mL 容 PP 製遠心管に必要量を分取し、抽出操作を行うまで冷凍保管した。

### (2) 抽出・精製・定量操作

以下の方法を用いて行った。

#### ①ジノテフラン

秤量した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。定量限界は表 1 に示した。

#### ②ペルメトリン

秤量した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。定量限界は表 1 に示した。

表 1 設定した定量限界値

	2021 年		2022 年	
	ジノテフラン	ペルメトリン	ジノテフラン	ペルメトリン
花粉	0.01mg/kg	0.001 mg/kg	0.004mg/kg	0.001 mg/kg
花蜜	0.001 mg/kg			

## 6. 結果と考察

### (1) 試料受領重量

2021 年および 2022 年に受領した花粉花蜜試料の重量を表 2 に示した。なお、2022 年の処理 7 日後花粉試料は訪花昆虫の影響により採取量が少なくなった。また、表 3 に 2019 年に実施した試験での受領重量も参考として記載した。

表 4 に 2019、2021 及び 2022 年の栽培および散布概要を、表 5、6 に過去 3 回の調査における 1 花当たりの花粉と花蜜重量をしめした。いずれも採取量に大きな差はなく、試験場所、試験年度を変えても安定して花粉花蜜残留試験を実施できた。

表 2 2021 年および 2022 年の花粉花蜜試料の受領量 (g)

経過日数	2021 年		2022 年	
	花粉	花蜜	花粉	花蜜
無処理	0.674(49)	2.714(49)	0.624(50)	2.153(50)
処理当日	0.665(50)	2.245(50)	0.355(49)	1.275(49)
処理 1 日後	—	—	0.440(51)	0.625(51)
処理 3 日後	0.854(50)	1.719(50)	0.831(52)	2.468(52)
処理 7 日後	0.851(50)	2.412(50)	0.049(50)	1.444(69)

注 ( ) 内は採取した花の数

表 3 2019 年の花粉花蜜試料の受領受領

経過日数	2019 年					
	茨城		高知		宮崎	
	花粉	花蜜	花粉	花蜜	花粉	花蜜
無処理	0.93(60)	4.70(60)	0.81(60)	1.51(60)	—	—
処理当日	1.02(53)	3.12(53)	0.83(56)	1.07(56)	0.43(30)	2.11(30)
同 3 日後	0.83(60)	3.08(60)	0.93(56)	0.93(56)	0.53(30)	2.16(30)
同 7 日後	0.60(60)	2.25(60)	1.00(61)	0.47(61)	0.51(30)	1.62(30)
同 14 日後	0.53(60)	2.07(60)	0.88(60)	2.72(60)	0.54(30)	2.18(30)

表 4 過去 3 回の調査における栽培および散布の概要

実施年度	2019 年			2021 年	2022 年
作物名	かぼちゃ (品種 えびす)				
栽培条件	施設・地這栽培				
試験場所	茨城	高知	宮崎	茨城	茨城
散布日	2019/7/30 晴	2019/10/15 晴	2019/11/6 晴	2021/10/4 晴	2022/9/6 晴
散布時の ステージ	開花期 つる長 約 2.8m	開花期 つる長 約 4.0m	開花期 つる長 約 2.7m	開花期 つる長 約 2.5m	開花期 つる長 約 3.0m
定植数 (株)	198	180	60	120	100
仕立て法	1 条植・1 本仕立		1 条植・ 2 本仕立	1 条植・1 本仕立	
散布量	210L/10a			200L/10a	



表 5 過去 3 回の調査における 1 花当たりの花粉重量

経過 日数	花粉 (mg/花)				
	2019年			2021年	2022年
	茨城	高知	宮崎	茨城	茨城
無処理	15.5	13.5	—	13.8	12.5
処理当日	19.2	14.8	14.3	13.3	7.2
処理1日後	—	—	—	—	8.6
処理3日後	13.8	16.6	17.7	17.1	16.0
処理7日後	10.0	16.4	17.0	17.0	1.0
処理14日後	8.8	14.7	18.0	—	—

表 6 過去 3 回の調査における 1 花当たりの花蜜重量

経過 日数	花蜜 (mg/花)				
	2019年			2021年	2022年
	茨城	高知	宮崎	茨城	茨城
無処理	78.3	25.2	—	55.4	43.1
処理当日	58.9	19.1	70.3	44.9	26.0
処理1日後	—	—	—	—	12.3
処理3日後	51.3	16.6	72.0	34.4	47.5
処理7日後	37.5	7.7	54.0	48.2	28.9
処理14日後	34.5	45.3	72.7	—	—

(2) 分析結果

分析結果を表 7、8、9 および 10 に示した。なお、2022 年の処理 7 日後花粉試料の分析は採取できた試料が少なかったためジノテフランを 1 連のみ実施した。また、過去 3 回の調査結果について表 11 および 12 に示した。

過去 3 回の調査結果のばらつきは一般の作物残留試験で示される程度の範囲にあり、両剤の減衰傾向も場所間、実施年間で同じ傾向が認められた。これらのことから、かぼちやを用いた花粉花蜜残留試験は再現性が得られる方法であると考えられる。

表 7 2021 年の花粉試料分析結果 (mg/kg)

経過 日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
	分析値①	分析値②	差	平均値	分析値①	分析値②	差	平均値
無処理	<0.01	<0.01	—	<0.01	<0.001	<0.001	—	<0.001
処理直後	1.88	1.78	0.10	1.83	1.27	1.24	0.03	1.26
同 3 日後	0.045	0.045	0.000	0.045	0.006	0.006	0.000	0.006
同 7 日後	0.053	0.052	0.001	0.052	0.001	0.001	0.000	0.001

表 8 2021 年の花蜜試料分析結果 (mg/kg)

経過 日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
	分析値①	分析値②	差	平均値	分析値①	分析値②	差	平均値
無処理	<0.001	<0.001	—	<0.001	<0.001	<0.001	—	<0.001
処理直後	0.012	0.011	0.001	0.012	<0.001	<0.001	—	<0.001
同 3 日後	0.069	0.069	0.000	0.069	<0.001	<0.001	—	<0.001
同 7 日後	0.023	0.023	0.000	0.023	<0.001	<0.001	—	<0.001

表 9 2022 年の花粉試料分析結果 (mg/kg)

経過 日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
	分析値①	分析値②	差	平均値	分析値①	分析値②	差	平均値
無処理	<0.004	<0.004	—	<0.004	<0.004	<0.004	—	<0.004
処理直後	3.11	3.01	0.10	3.06	1.46	1.38	0.08	1.42
同 1 日後	0.015	0.014	0.001	0.014	0.010	0.009	0.001	0.010
同 3 日後	0.010	0.010	0.000	0.010	0.001	0.001	0.000	0.001
同 7 日後	0.030	—	—	0.030	—	—	—	—

表 10 2022 年の花蜜試料分析結果 (mg/kg)

経過 日数	ジノテフラン				ペルメトリン			
	分析値①	分析値②	差	平均値	分析値①	分析値②	差	平均値
無処理	<0.001	<0.001	—	<0.001	<0.001	<0.001	—	<0.001
処理直後	0.020	0.017	0.003	0.018	0.001	0.001	—	0.001
同 1 日後	0.010	0.009	0.001	0.010	<0.001	<0.001	—	<0.001
同 3 日後	0.018	0.017	0.001	0.018	<0.001	<0.001	—	<0.001
同 7 日後	0.009	0.009	0.000	0.009	<0.001	<0.001	—	<0.001

表 11 過去 3 回の調査における花粉残留農度

経過日数	花粉残留濃度 (mg/kg)									
	ジノテフラン					ペルメトリン				
	2019年			2021年	2022年	2019年			2021年	2022年
	茨城	高知	宮崎	茨城	茨城	茨城	高知	宮崎	茨城	茨城
無処理	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01	<0.004	0.002	<0.001	—	<0.001	<0.004
処理直後	2.19	2.16	2.67	1.83	3.06	2.98	0.991	1.26	1.26	1.42
処理1日後	—	—	—	—	0.014	—	—	—	—	0.010
処理3日後	0.068	0.012	0.038	0.045	0.010	0.015	0.005	0.014	0.006	0.001
処理7日後	0.090	0.032	0.038	0.052	0.030	0.011	0.002	0.004	0.001	—
処理14日後	0.019	0.062	0.058	—	—	0.007	0.005	0.003	—	—
処理直後	1	1.0	1.2	0.8	1.4	1	0.3	0.4	0.4	0.5
処理3日後	1	0.2	0.6	0.7	0.1	1	0.3	0.9	0.4	0.1
処理7日後	1	0.4	0.4	0.6	0.3	1	0.2	0.4	0.1	—
処理14日後	1	3.3	3.1	—	—	1	0.7	0.4	—	—
平均	1	1.2	1.3	0.7	0.6	1	0.4	0.5	0.3	0.3

塗りつぶしたセルは2019年茨城の残留農度を1とした時の比

表 12 過去3回の調査における花蜜残留農度

経過日数	花蜜残留農度 (mg/kg)									
	ジノテフラン					ペルメトリン				
	2019年			2021年	2022年	2019年			2021年	2022年
	茨城	高知	宮崎	茨城	茨城	茨城	高知	宮崎	茨城	茨城
無処理	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
処理直後	0.359	0.032	0.610	0.012	0.018	0.130	0.001	0.095	<0.001	0.001
処理1日後	-	-	-	-	0.010	-	-	-	-	<0.001
処理3日後	0.072	0.018	0.025	0.069	0.018	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
処理7日後	0.016	0.016	0.013	0.023	0.009	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
処理14日後	0.003	0.010	0.007	-	-	0.002	<0.001	<0.001	-	-
処理直後	1	0.1	1.7	0.0	0.1	1	0.01	0.7	-	0.01
処理3日後	1	0.3	0.3	1.0	0.3	1	-	-	-	-
処理7日後	1	1.0	0.8	1.4	0.6	1	-	-	-	-
処理14日後	1	3.3	2.3	-	-	1	-	-	-	-
平均	1	1.2	1.3	0.8	0.3	1	0.01	0.7	-	0.01

塗りつぶしたセルは2019年茨城の残留農度を1とした時の比

## 7. 添付資料

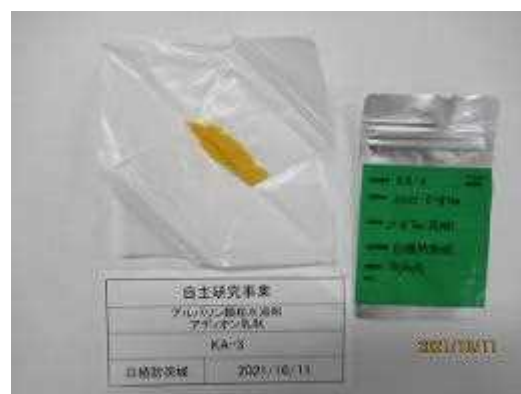




図 1. 2021 年の花粉花蜜受領時写真





図 2. 2022 年の花粉花蜜受領時写真

## 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、ボルテッ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。

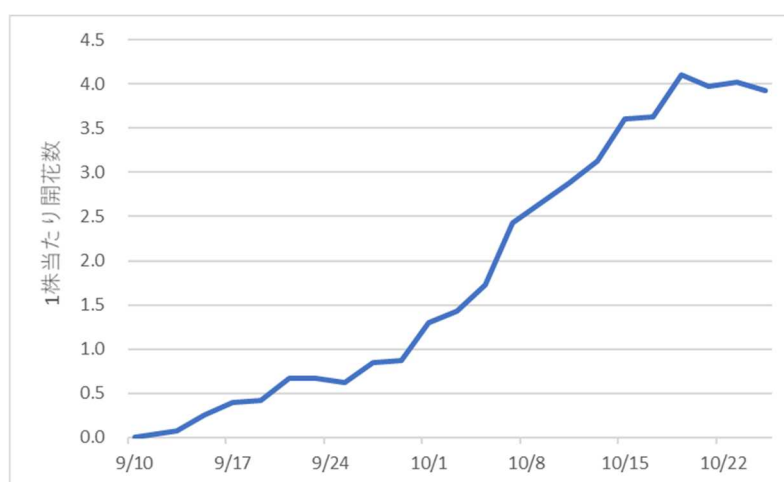


図 2. なすの着花状況（2021 年 9 月 3 日定植）

### (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

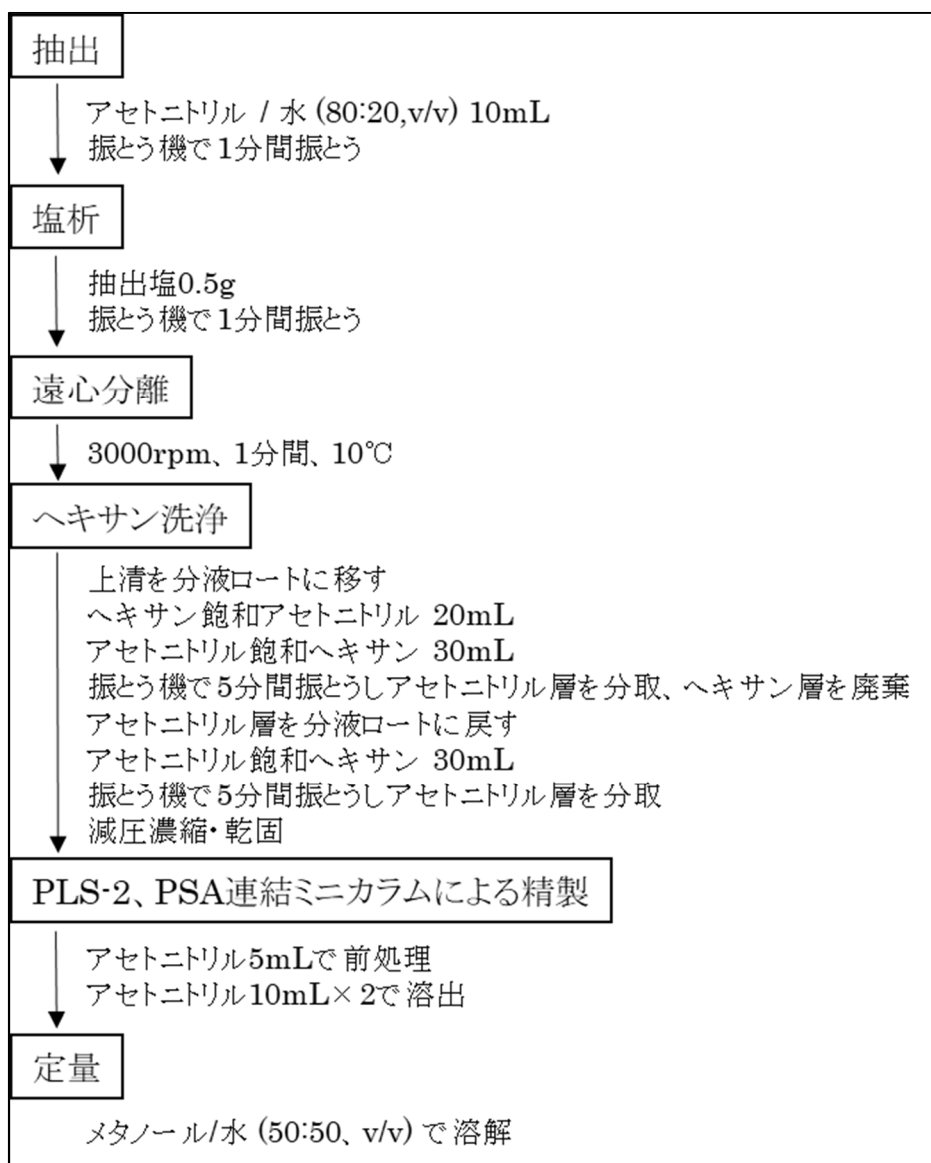


図 5. ジノテフランの分析フローシート

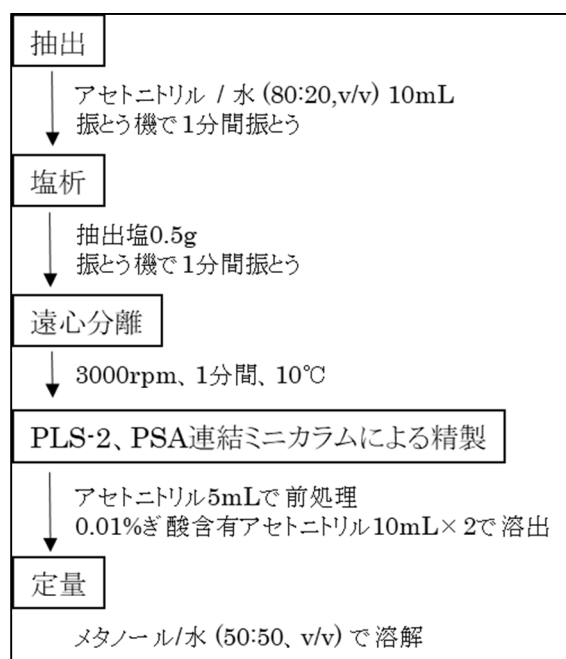


図 6. ペルメトリンの分析フローシート

## 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



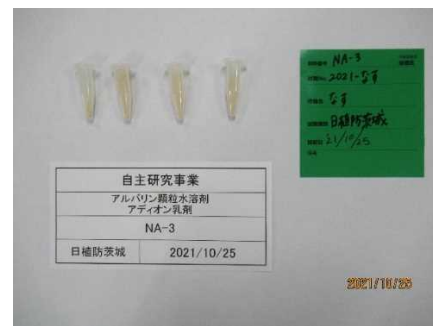
無処理



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。

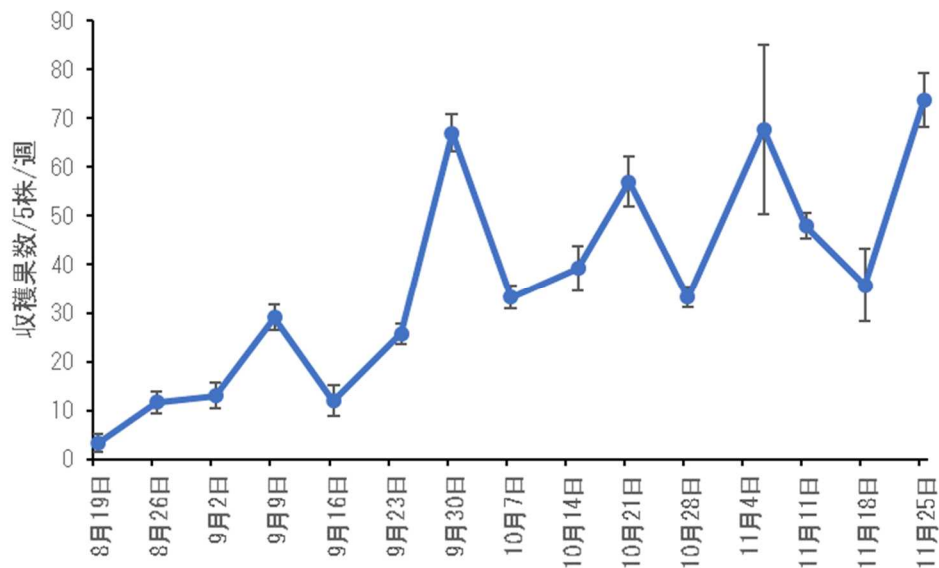


図 1 神栖市で栽培される主枝 4 本仕立て（側枝 3 節止）での収穫果の実測結果(沼田私信)

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

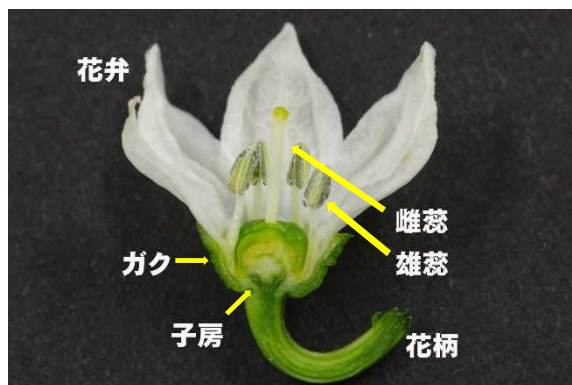
枝の状況に伴い3～10.8花/株の範囲で変動した。開花から収穫までは2～3週間であり、花は咲いている状態を3日程度維持するので、図1の神栖市の抑制栽培のデータとほぼ一致した。



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



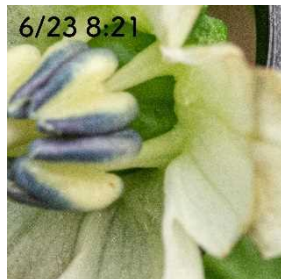
3日目：花粉は多い



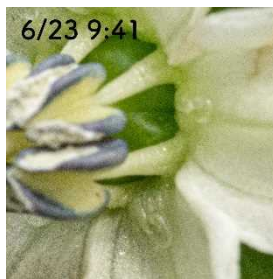
4日目：花粉は殆どない。子房がせり出し花弁が落ちる場合もある

#### 4) 花蜜の状況

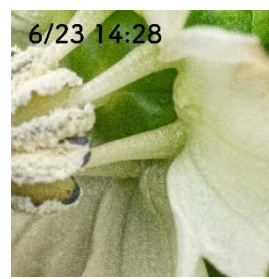
花蜜は開花当日に多く認められ、翌日も認められるが、3日目以降はほとんど確認されなかった。また、降雨日と晴天日では前者が明らかに多く、天候により大きく変動するようである。これが本質的な抽出量の差なのか、蒸発して減少しているのかは不明である。1日の中では午前中に抽出が始まり、午後は蒸発やアリ等の持ち去りにより消失し、翌日再び抽出するようである。



開花直後 抽出なし



抽出している



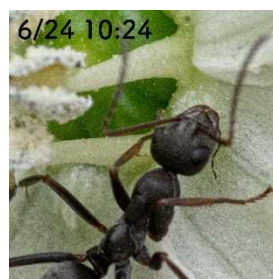
午後にはなくなる



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。

## 果樹類の花粉・花蜜残留試験（2022年 自主研究） —うめ、すもも、ももの花粉・花蜜—

### 1. 目的

果樹（核果類）の花粉花蜜残留試験方法を検討する。

### 2. 試験概要

山梨試験場において、うめ、すもも、ももを対象に、それぞれの花の形状や開花状況、花粉・花蜜の採取可否と採取方法、および残留試験方法と残留濃度を調査検討した。

### 3. 試験場所及び試験担当者

#### （1）生育調査及び残留試験

試験場所：一般社団法人日本植物防疫協会山梨試験場

試験担当者：森田久孝、後藤直人、丸山直哉、秋山空隆、中西秀明

#### （2）残留分析

試験場所：茨城研究所

試験担当：荒井雄太、島崎祐樹、六原智子

### 3. 供試作物及び栽培条件

（1）うめ（品種：南高、14年生）、露地栽培、開心自然形（主枝3本仕立て）、

樹高：約2.3m、樹間：5m×6m

（2）すもも（品種：ソルダム、14年生）、露地栽培、開心自然形（主枝2本仕立て）、

樹高：約2.3m、樹間：5m×5m

（3）もも（品種：白鳳、14年生）、露地栽培、開心自然形（主枝3本仕立て）、

樹高：約2.3m、樹間：5m×6m

### 4. 試験期間

（1）うめ：2022年3月10日～3月17日

（2）すもも：2022年3月28日～4月4日

（3）もも：2022年4月7日～4月14日

### 5. 試験区構成

各樹種ともに、薬剤処理区と無処理区を設け、下記の規模を設定した。なお、栽植密度から求めた1樹当たりの面積は、うめとももは各30.0㎡、すももは25.0㎡であるが、試験開始時の樹の大きさ（枝の張りだし程度）から、うめとももは各16.0㎡、すももは22.5㎡とした。

（1）うめ：薬剤処理区112.0㎡・7樹、無処理区48.0㎡・3樹

（2）すもも：薬剤処理区67.5㎡・3樹、無処理区45.0㎡・2樹

(3) もも : 薬剤処理区 48.0 m<sup>2</sup>・3 樹、無処理区 32.0 m<sup>2</sup>・2 樹

試験区は、訪花昆虫の侵入を防ぐため、うめは試験開始 7 日前（開花中）、すももとももは開花前より試験区全体を 5mm 目合いの白色ネットで覆った（図 1）。



図 1.試験区の被覆と散布状況

## 6. 開花率、開花状況及び花の構造

各樹種ともに、開花始めから試料採取を終了するまでの開花の推移を調べるため、1 樹から任意に 2 垂主枝を選び、着生する全花数と開花数を計数して開花率を求めた。また、蕾の開き始めから落弁が始まるまでの状況と花の構造を画像で記録した。

## 7. 試験薬剤の散布

### (1) 供試薬剤

ジノテフラン 20.0%顆粒水和剤（アルバリン顆粒水溶剤）

ペルメトリン 20.0%乳剤（アディオオン乳剤）

### (2) 処理方法

両薬剤の 2000 倍希釈液混用液を作製した。各樹種ともに、エコシャワー H10（2 頭口）ノズルを装着した背負い式バッテリー動噴（丸山製作所 MSB1500Li）で、時間計測法により樹全体に均一に混用液を散布した。

散布時の試験区（うめ及びももは処理区、すももは無処理区）の開花率は、うめが 22.4%、すももが 86.8%、ももでは 45.9%で、特にすももでは満開に近い状態であった。

表 1. 各樹種の散布状況

作物名	散布月日	散布時刻	天候	風速	散布量(/10a)	開花率(%)*
うめ	2022年3月10日	15:00~15:30	晴れ	無風	347L	22.4
すもも	2022年3月28日	15:35~16:05	曇	弱風	350L	86.8
もも	2022年4月7日	14:07~14:20	晴れ	弱風	352L	45.9
*うめとももは処理区の開花率、すももは無処理区の開花率						

## 8. 試料の採取

### (1) 試料の採取時期及び採取部位

各樹種ともに、無処理区は散布当日の散布前に、薬剤処理区は、処理直後（処理翌日午前中の処理後 24 時間以内）と、採取が可能な期間内に 2 回又は 3 回採取した。採取部位は、うめとすももは花粉、花蜜及び葯を、ももは花粉及び花蜜とした。

表 2. 各樹種の採取状況

作物名	採取年月日	採取時期	天候	採取部位	開花率(%)
うめ	2022年3月10日	処理前（無処理）	曇り	花粉、花蜜、葯	30.1
	2022年3月11日	処理直後（24時間以内）	晴れ	花粉、花蜜、葯	27.6
	2022年3月13日	処理3日後	晴れ	花粉、花蜜、葯	64.0
	2022年3月17日	処理7日後	曇り	花粉、花蜜、葯	91.5
すもも	2022年3月28日	処理前（無処理）	晴れのち曇り	花粉、花蜜、葯	86.8
	2022年3月29日	処理直後（24時間以内）	曇り	花粉、花蜜、葯	95.4
	2022年3月31日	処理3日後	晴れのち曇り	花粉、花蜜、葯	99.3
	2022年4月2日	処理5日後	晴れ	花粉、花蜜、葯	99.9
	2022年4月5日	処理8日後	晴れ	花蜜、葯	100
もも	2022年4月7日	処理前（無処理）	晴れ	花粉、花蜜	57.1
	2022年4月8日	処理直後（24時間以内）	晴れ	花粉、花蜜	70.9
	2022年4月10日	処理3日後	晴れ	花粉、花蜜	94.4
	2022年4月13日	処理6日後	晴れ	花粉、花蜜	99.7

### (2) 採取器具

#### 1) 花粉

クリーナー（メーカー名及び型式：いずれも不明）に接続チューブ（軟質ビニール、外径 14mm）をつなぎ、その先端に吸引チューブを装着した花粉吸引装置を使用した

(図2)。先端の吸引チューブは、採取中、花卉に触れない大きさとして外径9mmの軟質ビニールチューブを用い、花粉捕集用の内部フィルター、その上に葯等の異物混入防止用の外部フィルターを被せ、外れないように輪ゴムで留めて作製した(図2)。

内部フィルターには3層マスクの中間層の不織布を用い、外部フィルターは、うめとすももは吸引時に葯等が入らない目合いのトリコットニット(ポリエステル製)を、ももでは葯等が入らず、かつ花粉が目詰まりしにくい0.25mm目合いの白色ネット(ポリエチレン製)を使用した(図2)。



図2.花粉の採取に用いた器具

## 2) 花蜜

注射針を装着したシリンジ(1ml)を使用した(図3)。

## 3) 葯

ハサミを使用した(図3)。



図3.花蜜及び葯の採取に用いた器具

### (3) 採取方法

#### 1) 花粉

樹上の開花後の開葯が進んだ花から、吸引チューブの先端部分を花卉に触れないように葯に軽く当てて花粉を吸い取った。その際には、外部フィルターの目詰まりを防ぐため、フィルター1枚につき、うめでは100花又は120花、すももでは200花、300花又は500花、ももでは50花又は75花でフィルターを交換しながら目標量を採取した。採取後は、クリーナーから接続チューブ（吸引チューブ付き）を外し、ポリ袋を被せて試験場内の室内に持ち運んだ（図4）。

室内で吸引チューブから内部フィルターを取り出し、スパーテルで掻いて又は清浄な手袋をした指で軽く叩いて薬包紙に花粉を落とし、電子天秤で重量を測定した。なお、うめの無処理区では、外部フィルターの内側に付着した花粉も採取した。



図4.各樹種の花粉の採取状況

#### 2) 花蜜

花粉採取作業前に、樹上から開花した花をピンセットで採取し、その場で花粉が蜜溜まりに落ちないように花を下又は横に向けた状態で花糸を切り落とし、ポリ袋に入れて試験場内の室内に持ち運んだ。花をポリ袋に入れたまま室内で1時間又は2時間保管後、シリンジで蜜溜まりから花蜜を吸い取り、エッペンドルフチューブに入れ、電子天秤で重量を測定した（図5）。



図 5.各樹種の花蜜の採取状況

### 3) 葯

花粉採取作業前に、開花後の開葯が始まっている花をピンセットで採取し、蓋付きのプラスチックケースに入れて室内に持ち運んだ。そこでハサミを用い、うめは葯に花糸がややついた状態で、すももでは極力葯のみを切り取ってプラスチック容器に入れ、それを葉包紙に集めて電子天秤で重量を測定した（図 6）。

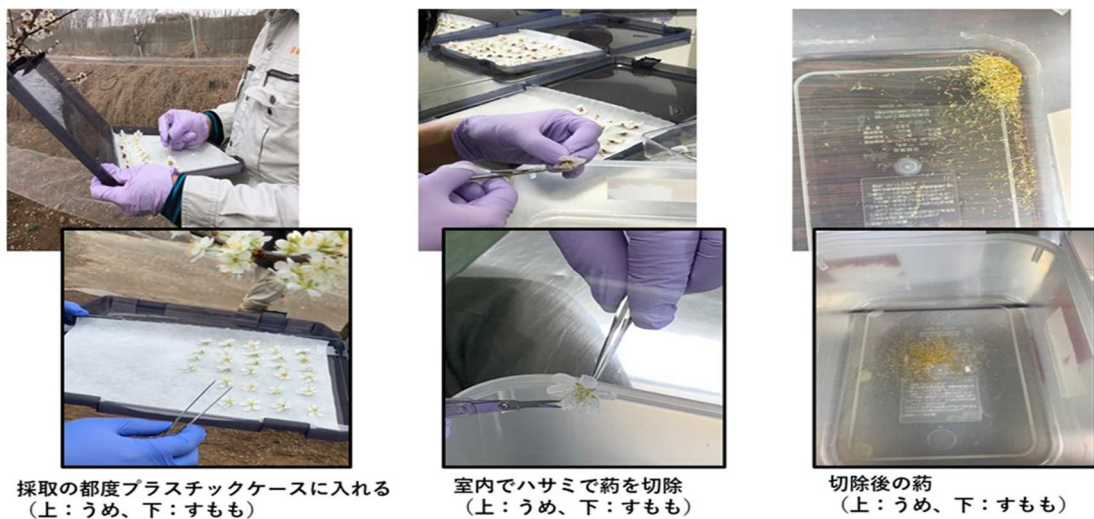


図 6.各樹種の葯の採取状況

### (4) 試料の梱包及び送付方法

各試料はアルミ製のチャック付き袋に入れ、試料の識別ラベルを貼り付けた。花粉試料と葯試料は、ボックス内を $-20^{\circ}\text{C}$ に保冷できる保冷剤（アイスバッテリー）と共に専用の保冷ボックスに収容し、ヤマト運輸の冷凍便で翌日着で送付、又は直接

分析場所へ持ち運んだ。花蜜試料はダンボール箱に入れ、ヤマト運輸の冷蔵便で翌日着で送付、又は保冷剤と共に保冷容器に入れて直接分析場所へ持ち運んだ。

## 9. 分析の方法

各試料と供試農薬の組み合わせごとに十分な回収率と精度が確保できる方法を事前に確立した後、各2連で分析を実施した。

### (1) 磨砕均一化

#### 1) 花粉試料（うめ、すもも、もも）及び蒞試料（うめ、すもも）

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、ボルテッ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。試料は有姿で保管し、分析直前に磨砕均一化を行った。

なお、蒞試料は通常の攪拌棒を用いて磨砕均一化が出来なかったため、イボ付き仕様の攪拌棒を使用した。

#### 2) 花蜜試料（うめ、すもも、もも）

磨砕均一化操作は実施せず、試料受領後にボルテックスでよく攪拌してから 50mL 容遠心管に必要量を分取し、抽出操作を行うまで冷凍保管した。

### (2) 抽出・精製・定量操作

以下の方法を用いて各操作を行った。なお、詳細な分析法及び回収率等の結果は別添資料に示した。

#### 1) ジノテフラン（花粉、蒞試料）

秤量した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を（LC-MS/MS）を用いて定量した。定量限界は 0.01mg/kg とした。

#### 2) ジノテフラン（花蜜試料）

秤量した試料に含水アセトニトリルを加え振とう抽出した。塩析、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を（LC-MS/MS）を用いて定量した。定量限界は 0.01mg/kg とした。

#### 3) ペルメトリン（全分析試料）

秤量した試料に含水アセトニトリルを加え振とう抽出した。塩析、フロリジル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を（LC-MS/MS）を用いて定量した。定量限界は 0.001mg/kg とした。



## 10. 結果及び考察

### (1) 開花期間、採取期間及び開花率

各樹種の開花期間（開花始め～開花終わり）と試料の採取が可能な期間を表3に、開花率の推移を表4に示した。また、開花の状況を経時的に記録した画像と、花の構造の画像を図7～図12に示した。

#### 1) うめ

試験樹全体での開花期間は31日間であった。低温が影響してか、開花率は3月8日まではやや緩慢に推移したが、以降は気温の上昇と共に徐々に高くなった。3月8日以降、蕾が開き始めてから花粉が採取出来るまでは3～4日を要し、その後花粉、花蜜及び葯のいずれも7～8日間採取が可能であった。

花には30個前後の雄ずいがあり、先端に葯を形成していた。葯は黄色で、開葯が進むに従い色が濃くなり、大きさがやや小さくなった。花蜜は子房内部の周囲に溜まっており、目視により花蜜の有無が確認できた。

#### 2) すもも

試験樹全体での開花期間は9日と短く、蕾が開き始めてから花粉が採取出来るまでは4～5日を要し、その後花粉は約5日間、花蜜と葯は約6日間、採取が可能であった。開花は3月26日を境に急激に進み、開花率は3月26日には13.1%だったのが、翌日（3月27）日には74.0%に達し、その2日後（3月29日）には95%を超えた。開花が一気に進むことに加え、1花あたりの開花期間もうめ、ももに比べて短いことから、花粉、花蜜の採取可能な期間は3樹種の中で最も短かった。

1花叢に多くの花を有し、花には20個程度の雄ずいがあり、その先端に葯を形成していた。葯は黄色で、開葯が進むに従い色が濃くなり、大きさがやや小さくなった。花蜜は子房内部の周囲に溜まっており、目視により花蜜の有無が確認できた。

#### 3) もも

試験樹全体での開花期間は15日と、うめとすもものほぼ中間であった。蕾が開き始めてから花粉が採取出来るまでは7～8日を要し、その後花粉、花蜜は5～6日間採取が可能であった。開花は4月4日までは緩慢に推移したが、4月5日以降急に進んだものの、すももほど急激ではなかった。

花には30個前後の雄ずいがあり、先端に葯を形成していた。葯は開葯前は赤みを帯びており、開葯が進むに従い黄色くなった。花蜜は子房内部の周囲に溜まっていたが、花糸の根元で子房内部が塞がれて内部が見えないため、目視による確認はできなかった。

表 3. 開花期間と採取期間

作物名	品種名	供試樹全体の開花状況			1花の開花状況 (日数)		1花での採取可能期間 (日数)		
		開花始め (月日)	開花終り (月日)	開花期間 (日数)	蕾→開花*	開花→ 落弁始め	花粉	花蜜	葯
うめ	南高	2月21日	3月23日	31日	3~4日	7~9日	7~8日	7~8日	7~8日
すもも	ソルダム	3月24日	4月3日	9日	4~5日	約5日	約5日	約6日	約6日
もも	白鳳	4月3日	4月19日	15日	7~8日	7~8日	5~6日	5~6日	-

\*蕾は花弁が開き始めた状態、開花は花粉の採取が可能な状態

表 4. 開花率の推移

うめ			すもも			もも		
調査月日	処理区	無処理区	調査月日	処理区※	無処理区	調査月日	処理区	無処理区
3月4日	3.4	5.2	3月21日	-	0.0	3月30日	0.0	0.0
3月5日	4.0	5.6	3月22日	-	0.0	3月31日	0.9	1.6
3月6日	6.5	7.4	3月23日	-	0.0	4月1日	1.0	1.8
3月7日	8.1	10.3	3月24日	-	0.7	4月2日	1.6	2.6
3月8日	11.1	15.8	3月25日	-	2.1	4月3日	2.8	5.0
3月9日	15.7	21.2	3月26日	-	13.1	4月4日	3.5	5.1
3月10日	22.4	30.1	3月27日	-	74.0	4月5日	16.1	23.2
3月11日	27.6	-	3月28日	-	86.8	4月6日	24.2	34.1
3月12日	48.1	-	3月29日	-	95.4	4月7日	45.9	57.1
3月13日	64.0	-	3月30日	-	97.9	4月8日	70.9	-
3月14日	73.4	-	3月31日	-	99.3	4月9日	91.4	-
3月15日	80.1	-	4月1日	-	99.9	4月10日	94.4	-
3月16日	89.2	-	4月2日	-	99.9	4月11日	97.4	-
3月17日	91.5	-	4月3日	-	100	4月12日	98.9	-
3月20日	98.5	-	※処理区には調査箇所は設けていないが開花状況は無処理区と同様の状況であった。			4月13日	99.7	-
3月23日	99.8	-				4月14日	99.9	-
3月25日	99.8	-						
2月21日に試験樹全体で8花開花								

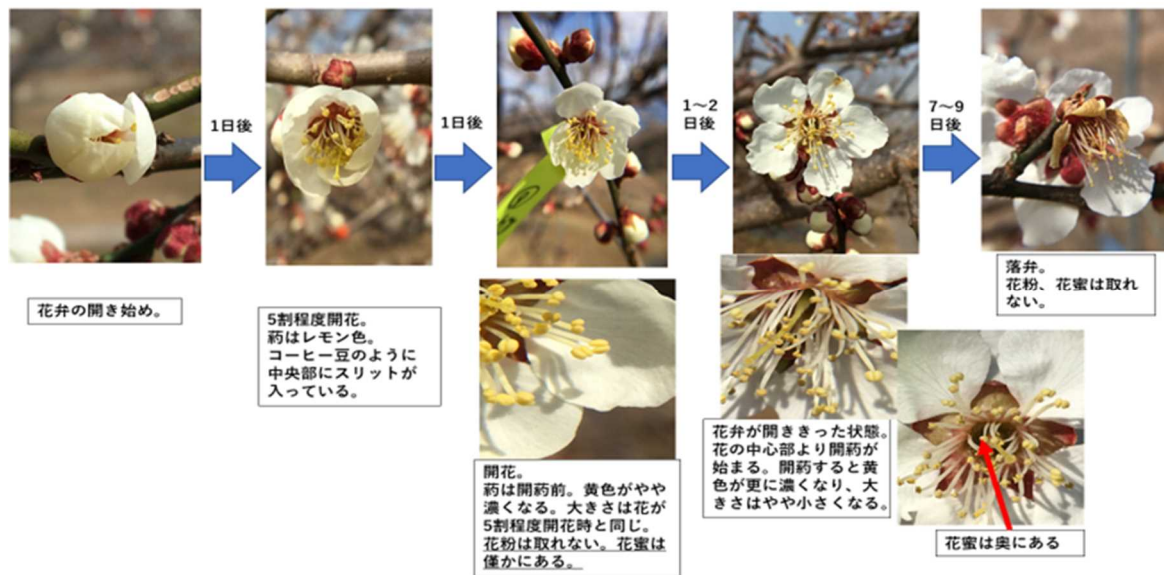


図 7.うめの開花状況

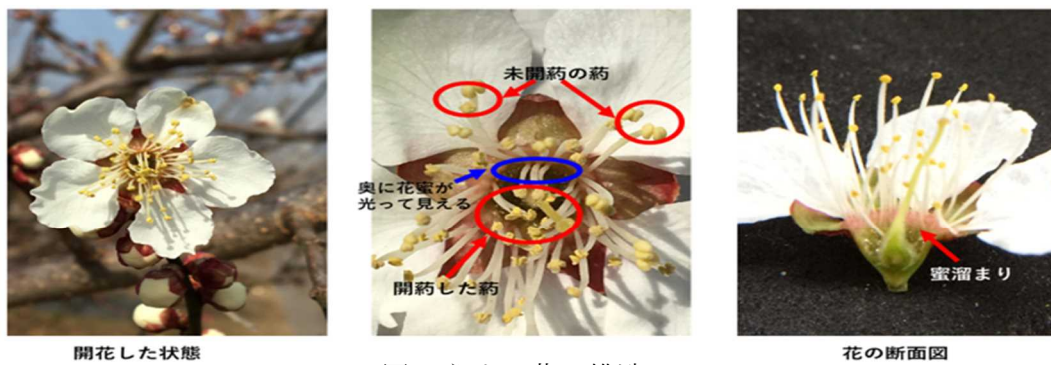


図 8.うめの花の構造

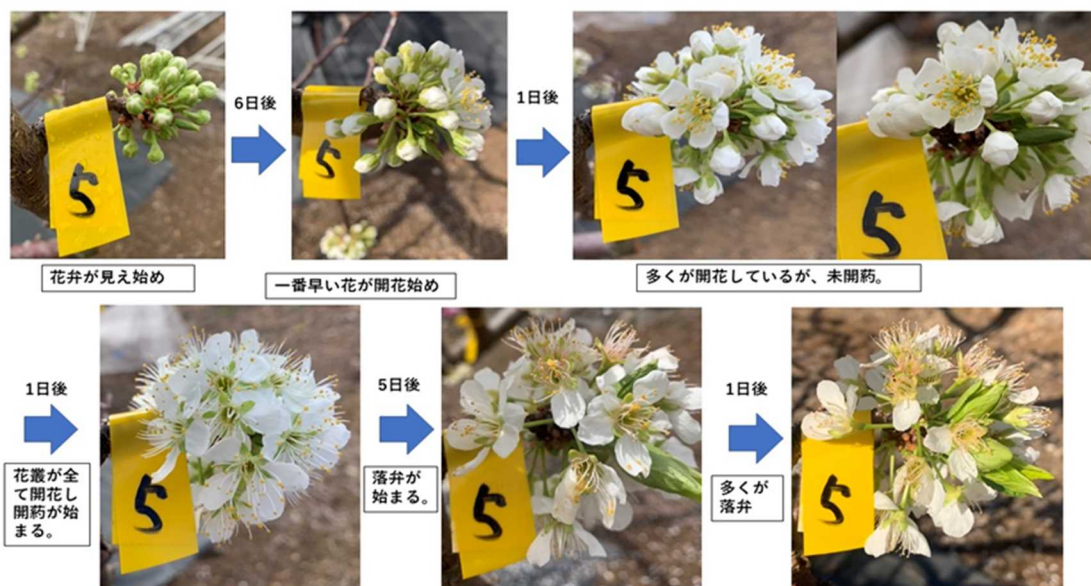


図 9.すももの開花状況



図 10.すももの花の構造

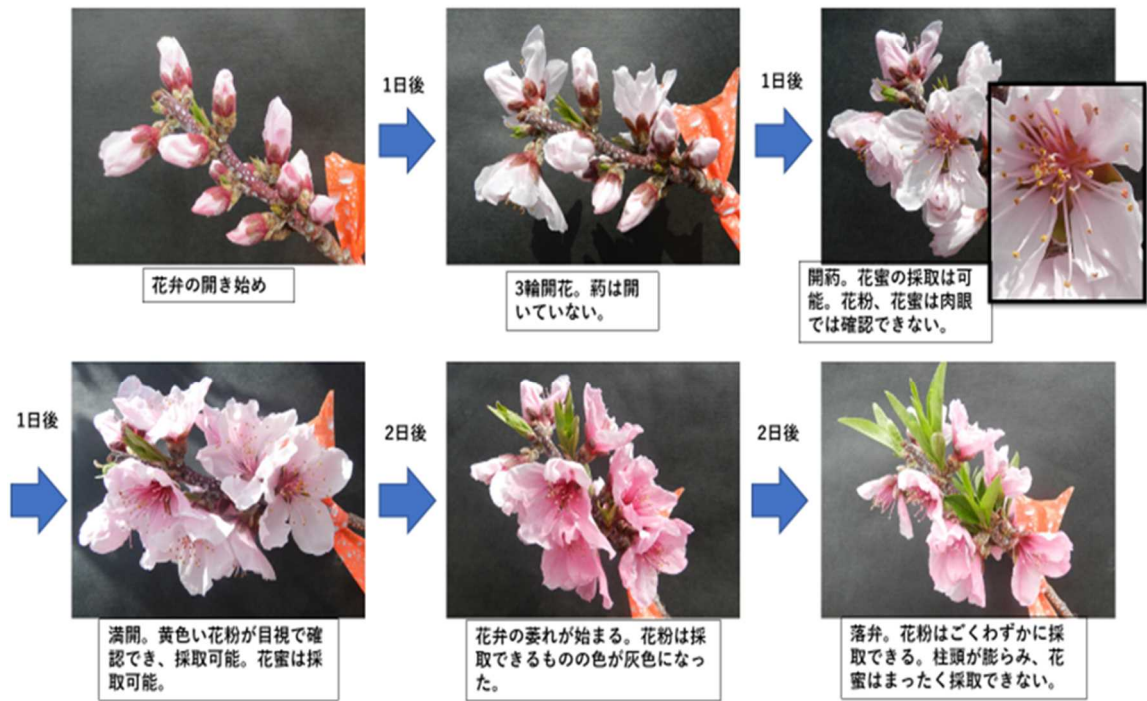


図 11.ももの開花状況



図 12.ももの花の構造

## (2) 各試料の採取量

各樹種の部位別採取量及び採取時の開花率を表5～表7に示した。

### 1) うめ

花粉は、最少で1800花、最多で2800花から採取した。それらからの花粉の採取量は326mg～504mgで、1花あたりは0.116mg～0.253mgであった。1花あたり概ね0.2mgを採取出来たが、処理直後は他の採取日と比べ半分に留まった。その要因としては、採取時の開花率が27.6%と最も低く、開葯が十分に進んでなかった可能性があると考えられた。

花蜜は、最少で150花、最多で434花から採取した。それらからの花蜜の採取量は546mg～2428mgで、1花あたりは2.99mg～5.59mgであった。花蜜は、花粉と比べ1花あたりの採取量が多く、花粉で採取した1/10程度の花数で250mg以上の採取が可能と考えられた。

葯は、最少で61花、最多で320花から採取した。それらからの葯の採取量は300mg～2158mgで、1花あたりは2.70mg～6.74mgであった。開花率が高くなるにつれて採取量が減る傾向にあったが、開葯が進み花粉が放出され、葯が軽くなったためと考えられた。

参考として、採取した花のポリ袋内での保管(1～2時間)の有無による花蜜採取量の違いを、処理直後の試料を用いて調べた。その結果、保管せずに採取した場合は、50花から35mgの花蜜が採取され、1花あたり採取量は0.70mgとなり、保管有りの20%程度に止まった(データ非掲載)。このことから、花を採取後に一定時間ポリ袋内で保管することは、効率的に花蜜を採取する有効な手段と考えられた。また、葯について、花糸を極力排除した葯のみとした場合と、花糸付きの葯との採取量を、処理直後の試料で比較した(表5は花糸付き試料の結果)。その結果、葯のみの場合は140花から479mgが採取され、1花あたりの採取量は3.42mgとなり、花糸付きに対して約30%減となった(データ非掲載)。

表5. うめにおける部位別採取量

採取時期(月日)	花粉*			花蜜			葯			開花率(%)
	採取花数(個)	採取量(mg)	1花あたり採取量(mg)	採取花数(個)	採取量(mg)	1花あたり採取量(mg)	採取花数(個)	採取量(mg)	1花あたり採取量(mg)	
無処理(3/10)	2060	504	0.245	434	2428	5.59	320	2158	6.74	30.1
処理直後(3/11)	2800	326	0.116	150	546	3.64	61	300	4.92	27.6
処理3日後(3/13)	1800	455	0.253	304	1445	4.75	185	504	2.72	64.0
処理7日後(3/17)	2000	402	0.201	271	811	2.99	246	664	2.70	91.5

\* 無処理の花粉の採取量及び1花あたり採取量は、外部フィルターの内側に付着した花粉を含んだ量。

2) すもも

花粉は、最少で 6000 花、最多で 10800 花から採取した。それらからの花粉の採取量は 229mg～349mg で、1 花当たりの採取量は 0.022mg～0.048mg であった。うめやももに比べて多くの花を必要としたこと、また外部フィルターが目詰まりしにくかったことから、花粉は小さくて軽いと考えられた。フィルター上の花粉は比較的さらさらしており、粘性は低かった。処理直後と処理 3 日後の採取量に差はなかったが、処理 5 日後になると半減した。これは、処理直後の開花率が既に 95.4%と高く、処理 5 日後には花粉の多くが飛散していたこと、また、前回までに採取した花からの再採取の割合が高かったことが考えられた。なお、処理 8 日後に採取を試みたが、500 花を採取した時点で、外部フィルターへの付着がほとんど確認できなかったことから、規定量の採取が困難と判断し、採取を取り止めた。

花蜜は最少で 100 花、最多で 242 花から採取した。それらからの花蜜の採取量は 417mg～616mg で、1 花あたりは 2.06mg～6.16mg であった。試験期間を通して大きく減少することはなかったが、処理 3 日後は他と比べ 3 倍程度の量となった。これは、前日から採取当日にかけて、比較的湿度が高かったことが花蜜の分泌量に影響したと考えられた。

葯は、最少で 298 花、最多で 560 花から採取した。それらからの葯の採取量は 423mg～812mg、1 花あたりは 1.41mg～1.82mg であった。花粉の採取量が減少傾向にあったのに対し、葯の採取量が変わらなかったのは、花粉が非常に軽く、葯の重量に対する花粉重量の割合が低いため推察された。

参考として、花蜜採取前に花をポリ袋に保管する効果を検証するために、処理 2 日後(3 月 30 日)に、採取した花をポリ袋に保管せずに花蜜の採取を行った。その結果、50 花から 80mg の花蜜が採取され、1 花あたりの採取量は 1.6mg となった(データ非掲載)。同日にポリ袋に保管した条件での調査は行っていないため、同日での比較は出来ないが、試験期間を通して採取量は最も少なく、うめと同様にこの方法は効率的に花蜜を採取する有効な手段と考えられた。

表 6. すももにおける部位別採取量

採取時期(月日)	花粉*			花蜜			葯			開花率(%)
	採取花数(個)	採取量(mg)	1花当たり採取量(mg)	採取花数(個)	採取量(mg)	1花当たり採取量(mg)	採取花数(個)	採取量(mg)	1花当たり採取量(mg)	
無処理(3/28)	10800	349	0.032	242	551	2.28	560	812	1.45	86.8
処理直後(3/29)	6000	275	0.046	202	417	2.06	316	538	1.70	95.4
処理3日後(3/31)	6000	285	0.048	100	616	6.16	298	543	1.82	99.3
処理5日後(4/2)	10300	229	0.022	150	438	2.92	305	432	1.42	99.9
処理8日後(4/5)	-	-	-	196	534	2.72	300	423	1.41	100

\*処理5日後の採取花数は、のべ花数(同日に2回採取した花を含む)。処理8日後は規定量の花粉が取れないと判断し、採取しなかった。

### 3) もも

花粉は、最少で 1125 花、最多で 3775 花から採取した。それらからの花粉の採取量は 349mg～738mg、1 花あたりは 0.145mg～0.584mg で、開花率が高くなるに従い採取量が増える傾向にあった。これは、開花初期の花粉は比較的粘性があり、外部フィルターの裏側に付着してややロスが生じたが、開花が進むにつれて乾燥気味となり、ロスが少なくなったことが要因と考えられた。なお、処理 3 日後までの花粉は黄色であったが、処理 6 日後には灰色にくすみ始めた。その後、開花終期には多くが灰色となり、花粉の質が変わったと感じられた。

花蜜は最少で 110 花、最多で 125 花から採取し、それらからの花蜜の採取量は 925mg～1334mg で、1 花あたりは 7.40mg～12.13mg であった。うめとすももの花蜜に比べて色が濃く、粘性があった。

参考として、うめやすももと同様に、花のポリ袋内での保管の有無による花蜜量を、無処理採取時に調べた。その結果、保管無し条件では 100 花から 413mg の花蜜が採取され、1 花あたりの採取量は 4.13mg となり、保管有り条件と比較して 1 花あたりの重量は半減した（データ非掲載）。このことから、うめやすももと同様に、ももにおいても、この方法は効率的に花蜜を採取する有効な手段と考えられた。

表 7. ももにおける部位別採取量

採取時期（月日）	花粉			花蜜			開花率(%)
	採取花数 (個)	採取量 (mg)	1花あたり 採取量(mg)	採取花数 (個)	採取量 (mg)	1花あたり採 取量(mg)	
無処理(4/7)	3775	738	0.195	112	1012	9.04	45.9
処理直後(4/8)	2400	349	0.145	120	1148	9.57	70.9
処理3日後(4/10)	1275	369	0.289	110	1334	12.13	94.4
処理6日後(4/13)	1125	657	0.584	125	925	7.40	99.7

### 4) 樹種間における 1 花あたりの採取量の比較

花粉は、うめとももはほぼ同量で、すももは他の 1/5 以下であった。

花蜜はももが最も多く、次いでうめ、すももの順であった。ももの花蜜はうめに比べて 2 倍程度、すももと比べては 3 倍程度であった。

薬はうめが多く、すももはうめの半分以下であった。うめの薬には花糸が含まれており、すももの薬は花糸を極力除去したことから、厳密な比較はできないが参考調査結果から、うめの花糸を除去した場合の薬の重量を 7 割としても、うめの方が多く採取出来ると考えられる。

3 樹種の中で、すももはいずれの部位も採取量が最も少なかった。

### (3) 各試料の採取に要する作業時間

各樹種における部位別の採取に要する作業時間を表 8～表 15 に示した。

#### 1) うめ

花粉は、250mg を 1 人で採取するのに最短で 1 時間 45 分、最長で 3 時間 22 分を要した。最長となった処理当日は、開葯が進んでない花が多かったためか、採取花数が最も多く、作業時間の長さに影響した。

花蜜採取は、圃場での花の採取及び花糸の切除作業と、室内での花蜜吸引作業があり、合わせて最短で 41 分、最長で 1 時間 20 分を要した。圃場と室内の作業作業は、ほぼ同じ割合であった。花蜜採取では、採取方法の項で述べたように、採取した花から花蜜を吸引する前に 1 時間又は 2 時間室内で保管した。この時間は作業時間に含まれていないが、その時間は花粉又は葯の採取等に当てたため、待ち時間は生じなかった。

葯採取も花蜜採取と同様に圃場と室内での採取作業があり、合わせた作業時間は最短で 40 分、最長で 1 時間 56 分を要した。作業時間の大部分を室内での葯の切除作業が占め、圃場での花採取作業の 4 倍程度を要した。はさみでの葯の切除は時間がかかり、より効率的な採取方法の検討が必要と思われた。

表 8. うめ花粉の採取に要する作業時間

採取時期	採取花数 (個)	作業時間*	採取量 (mg)	1花当たり 重量(mg)	250mg採取 に要する花数	250mg採取に 要する時間(1人 当たり)**
無処理	2060	3:35	504	0.245	1020	1:46
処理直後	2800	4:22	326	0.116	2155	3:22
処理3日後	1800	3:12	455	0.253	988	1:45
処理7日後	2000	3:19	402	0.201	1244	2:04
* 複数の採取者によるのべ時間						
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数						

表 9. うめ花蜜の採取に要する作業時間

採取時期	圃場		室内		採取量(mg)	1花当たり 重量(mg)	250mg採 取に要する 花数(個)	250mg採取に要する時間 (1人当たり)		
	採取花数 (個)	作業時間*	採取花数 (個)	作業時間*				花** (圃場)	花蜜** (室内)	合計
無処理	1062	7:47	434	3:24	2428	5.59	45	0:20	0:21	0:41
処理直後	165	2:00	150	1:28	546	3.64	69	0:50	0:40	1:20
処理3日後	321	1:58	304	2:18	1445	4.75	53	0:19	0:24	0:43
処理7日後	300	1:47	271	2:15	811	2.99	84	0:30	0:42	1:12
* 複数の採取者によるのべ時間										
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数										



表 10. うめ蒨の採取に要する作業時間

採取時期	圃場		室内		採取量(mg)	1花当たり重量(mg)	250mg採取に要する花数(個)	250mg採取に要する時間(1人当たり)		
	採取花数(個)	作業時間*	採取花数(個)	作業時間*				花** (圃場)	蒨** (室内)	合計
無処理	320	0:44	320	5:03	2158	6.74	37	0:05	0:35	0:40
処理直後	216	1:39	61	1:29	300	4.92	51	0:23	1:14	1:37
処理3日後	185	0:54	185	2:59	504	2.72	92	0:27	1:29	1:56
処理7日後	323	1:25	246	3:03	64	2.70	93	0:24	1:09	1:33
* 複数の採取者によるのべ時間										
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数										

2) すもも

花粉は、250mg を 1 人で採取するのに最短で 4 時間 58 分、最長で 11 時間 04 分を要した。処理 5 日後では要した時間が突出したが、1 花あたりの採取量が少なく 250mg 採取に要する花数が多いことが影響した。

花蜜採取は、うめと同様に圃場と室内での採取作業があり、合わせた作業時間は最短で 24 分、最長で 2 時間 8 分であった。圃場と室内での作業時間の割合はほぼ同等であったが、1 花あたりの花蜜採取量が少ない日には室内作業に時間を要した。

蒨採取も花蜜と同様に圃場と室内での採取作業があり、合わせた作業時間は最短で 1 時間 56 分、最長で 2 時間 26 分であった。作業時間は圧倒的に室内での蒨の切除作業が占め、圃場での花採取の 4 倍以上を要し、うめと同様により効率的な採取方法の検討が必要と思われた。

表 11. すもも花粉の採取に要する作業時間

採取時期	採取花数(個)	作業時間*	採取量(mg)	1花当たり重量(mg)	250mg採取に要する花数	250mg採取に要する時間(1人当たり)**
無処理	10800	11:24	349	0.03	8333	8:48
処理直後	6000	6:44	275	0.05	5000	5:37
処理3日後	6000	5:57	275	0.05	5000	4:58
処理5日後	10300	9:07	229	0.02	12500	11:04
* 複数の採取者によるのべ時間						
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数						

表 12. すもも花蜜の採取に要する作業時間

採取時期	圃場		室内		採取量(mg)	1花当たり重量(mg)	250mg採取に要する花数(個)	250mg採取に要する時間(1人当たり)		
	採取花数(個)	作業時間*	採取花数(個)	作業時間*				花** (圃場)	花蜜** (室内)	合計
無処理	474	1:58	242	1:36	551	2.28	110	0:27	0:44	1:11
処理直後	208	1:30	202	2:07	417	2.06	121	0:52	1:16	2:08
処理3日後	200	1:00	100	0:30	616	6.16	41	0:12	0:12	0:24
処理5日後	200	1:07	150	0:43	438	2.92	86	0:29	0:25	0:54
処理8日後	205	1:21	196	1:00	534	2.72	92	0:36	0:28	1:04
* 複数の採取者によるのべ時間										
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数										

表 13. すもも葯の採取に要する作業時間

採取時期	圃場		室内		採取量(mg)	1花当たり重量(mg)	250mg採取に要する花数(個)	250mg採取に要する時間(1人当たり)		
	採取花数(個)	作業時間*	採取花数(個)	作業時間*				花** (圃場)	葯** (室内)	合計
無処理	560	0:48	560	5:29	812	1.45	172	0:15	1:41	1:56
処理直後	320	0:48	316	3:43	528	1.67	150	0:23	1:46	2:09
処理3日後	302	0:54	298	3:39	543	1.82	137	0:24	1:41	2:05
処理5日後	305	0:40	305	3:00	432	1.42	177	0:23	1:44	2:07
処理8日後	300	0:39	300	3:28	423	1.41	177	0:23	2:03	2:26
* 複数の採取者によるのべ時間										
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数										

### 3) もも

花粉は、250mg を 1 人で採取するのに最短で 56 分、最長で 3 時間 11 分を要し、開花が進むに従い作業時間が短くなる傾向にあった。

花蜜採取は、うめやすももと同様に圃場と室内での採取作業があり、合わせた作業時間は最短で 18 分、最長で 31 分で 3 樹種の中で最も短く時間効率が良かった。これは、うめやすももに比べて 1 花当たりの採取量が多いためである。

表 14. ももの花粉の採取に要する作業時間

採取時期	採取花数(個)	作業時間*	採取量(mg)	1花当たり重量(mg)	250mg採取に要する花数	250mg採取に要する時間(1人当たり)**
無処理	3775	8:06	738	0.20	1279	2:45
処理直後	2400	4:27	349	0.15	1719	3:11
処理3日後	1275	2:28	369	0.29	864	1:40
処理6日後	1125	2:26	657	0.58	428	0:56
* 複数の採取者によるのべ時間						
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数						

表 15. ももの花蜜の採取に要する作業時間

採取時期	圃場		室内		採取量(mg)	1花当たり重量(mg)	250mg採取に要する花数(個)	250mg採取に要する時間(1人当たり)		
	採取花数(個)	作業時間*	採取花数(個)	作業時間*				花** (圃場)	花蜜** (室内)	合計
無処理	3775	8:06	112	1:32	1012	9.04	28	0:04	0:23	0:27
処理直後	2400	4:27	120	1:56	1148	9.57	26	0:03	0:25	0:28
処理3日後	1275	2:28	110	1:23	1334	12.13	21	0:02	0:16	0:18
処理6日後	1125	2:26	125	1:40	925	7.40	34	0:04	0:27	0:31
* 複数の採取者によるのべ時間										
**作業時間/採取花数×250mg採取に要する花数										

#### 4) 1人当たりの採取に要する作業時間の比較

1人で250mgを採取する場合の作業時間は、花粉採取ではうめとももはほぼ同程度で、すももはうめ及びももに比べ平均で3倍以上の時間を要した。花蜜採取（圃場と室内の合計）ではももの作業時間が最も短く、うめとすももはほぼ同程度で、ももに比べて平均で2倍以上の時間を要した。葯採取（圃場と室内の合計）では、うめの作業時間がやや短かった。

#### (4) 各試料の農薬残留濃度

##### 1) うめ

農薬残留濃度は、各分析部位のいずれにおいても、ジノテフラン、ペルメトリン共に処理直後に最大を示し、葯>花粉>花蜜の順に高かった（表 16）。その後、日数の経過とともに急激に減衰し、処理7日後には処理直後に比べジノテフランの花粉と葯で約1%、花蜜で約4%、ペルメトリンはいずれにおいても1%以下に低下した。これは農薬の消失に加え、試料を採取した花に占める農薬の曝露状況が影響したと考えられた。すなわち、処理直後は開花状態で散布液に直接曝露した花から試料を採取したが、その後次々と新たな花が開花し、それらは花内部の直接曝露が少なく、それらからの採取割合が増えたため、採取試料の曝露量自体が減ったためと考えられる。

ジノテフランとペルメトリンを比較すると、処理直後の花粉と葯では約2倍、花蜜では約10倍、ジノテフランの残留濃度が高かった。また、日数経過に伴う残留濃度の低下率はペルメトリンが高く、特に花蜜で顕著であった。これは、ジノテフランの水溶解度及び浸透移行性が高いことによるものと考えられた。

なお、うめの約試料では作業効率化のために花糸をやや残して切除したが、参考調査として花糸を極力残さず葯のみを切除した試料との残留濃度の比較を、処理直後の試料を用いて行った。その結果、花糸付きの葯の残留濃度は、葯のみと比較しジノテフランは約1.6倍、ペルメトリンは約1.2倍高い値を示した。但し、処理直後のみのデータのため参考に留める。

表 16.うめの分析結果

作物名	分析対象物質	処理後 経過日数	農薬残留濃度(mg/kg)*			
			花粉	薬		花蜜
				花糸付き	薬のみ	
うめ	ジノテフラン	無処理	< 0.01	< 0.01	—	< 0.01
		処理直後	32.2	51.0	32.0	11.9
		処理3日後	8.96	24.4	—	2.87
		処理7日後	0.16	0.78	—	0.48
	ペルメトリン	無処理	< 0.001	< 0.001	—	< 0.001
		処理直後	15.2	20.4	17.2	1.22
		処理3日後	4.22	9.26	—	0.101
		処理7日後	0.045	0.016	—	< 0.001

\*農薬残留濃度は、2連分析値の平均値

2) すもも

農薬残留濃度は、各分析部位のいずれにおいても、ジノテフラン、ペルメトリン共に処理直後に最大を示した（表 17）。両成分ともに花粉と薬の残留濃度はほぼ同程度で、花蜜はそれに比べて低濃度であった。その後、日数の経過とともに減衰し、処理 5 日後では処理直後に比べ、ジノテフランは花粉で約 24%、花蜜で約 40%（処理 8 日後では約 15%）、薬で約 45%（同約 29%）に低下し、ペルメトリンは花粉で約 15%、花蜜で約 8%（処理 8 日後では約 2%）、薬で約 34%（同約 19%）に低下し、うめに比べてその程度はやや緩やかであった。この要因の一つとしては、すももでは散布時の開花率が 86.8% に達していたため、散布後に新たに開花した花が少なく、採取した試料の多くは開花状態で散布液に曝露した花から採取したためと考えられた。

ジノテフランとペルメトリンの残留濃度を比較すると、うめと同様の傾向が見られ、特に処理直後の花蜜ではジノテフランが約 30 倍高かった。また、日数経過に伴う残留濃度の低下率はペルメトリンが高かった。

表 17.すももの分析結果

作物名	分析対象物質	処理後 経過日数	農薬残留濃度(mg/kg)*		
			花粉	薬	花蜜
すもも	ジノテフラン	無処理	< 0.01	< 0.01	< 0.01
		処理直後	88.4	100.2	19.0
		処理3日後	43.0	74.2	5.41
		処理5日後	20.8	45.6	7.58
		処理8日後	—	29.0	2.86
	ペルメトリン	無処理	< 0.001	< 0.001	< 0.001
		処理直後	47.1	45.4	0.571
		処理3日後	17.3	41.0	0.048
		処理5日後	7.26	15.6	0.043
		処理8日後	—	8.70	0.011

\*農薬残留濃度は、2連分析値の平均値

3) もも

農薬残留濃度は、各分析部位のいずれにおいてもジノテフラン、ペルメトリン共に処

理直後に最大を示した（表 18）。処理直後の花蜜における残留濃度は、花粉に比べてジノテフランで 1/100、ペルメトリンでは 1/1000 程度と低く、その差は 3 樹種の中で最も大きかった。これは、他の樹種に比べて花蜜の量が多かったこと、花蜜の溜まる場所が花糸の根元によってやや塞がれているような構造のため、薬剤が到達しにくかったこと等が影響したと考えられた。その後、いずれも日数の経過とともに減衰し、処理 6 日後には処理直後と比べてジノテフランは花粉で約 14%、花蜜で約 20%に低下し、ペルメトリンは花粉で約 16%、花蜜で約 5%に低下した。日数経過に伴う残留濃度低下の程度は、うめとすももの中間であった。一方、散布時の開花率は 45.9%で、これもうめとすももの中間であった。

ジノテフランとペルメトリンの残留濃度を比較すると、うめ、すももと同様にジノテフランが高かった。また、日数経過に伴う残留濃度の低下率はペルメトリンが高かった。

表 18. ももの分析結果

作物名	分析対象物質	処理後 経過日数	農薬残留濃度 (mg/kg)*	
			花粉	花蜜
もも	ジノテフラン	無処理	< 0.01	< 0.01
		処理直後	68.8	0.65
		処理3日後	22.8	0.34
		処理6日後	9.85	0.13
	ペルメトリン	無処理	< 0.001	< 0.001
		処理直後	32.6	0.041
		処理3日後	8.78	0.008
		処理6日後	5.18	0.002

\*農薬残留濃度は、2連分析値の平均値

### 1 1. 開花期間中の訪花昆虫

うめの試験圃場ではヒラタアブ、すももとももの試験圃場ではヒラタアブ、シロスジヒゲナガハナバチが、またすももの隣接圃場にある受粉樹（すもも用）ではニホンミツバチの訪花が確認された（図 13）。6 項で述べたように、各樹種のいずれも試験区全体を白色ネットで覆ったため、試験期間中に試験区への進入はなかった。



図 13. 開花期間中の訪花昆虫

## 1.2. 試験期間中の気象

試験期間中の気温及び降水量を表 19 に示した。本年の気温は、例年に比べ 2 月はやや低かったが、試験を開始した 3 月中旬以降は同じかやや高かった。降水量はほぼ同じであった。試験期間中の平均気温と積算の降水量は、うめが 12.5℃、2.5mm、ももが 17.0℃、0.0mm、すももが 9.9℃、66.0mm で、うめとももは試験前半が低温であったが、すももでは逆の傾向にあり、降水量も多かった。

表 19. 試験期間中の気温及び降水量（観測場所：日本植物防疫協会山梨試験場）

年月日	平均気温 (°C)	最高気温 (°C)	最低気温 (°C)	降水量 (mm)	年月日	平均気温 (°C)	最高気温 (°C)	最低気温 (°C)	降水量 (mm)	年月日	平均気温 (°C)	最高気温 (°C)	最低気温 (°C)	降水量 (mm)
2022年2月1日	2.8	10.6	-4.3	0.0	2022年3月1日	7.0	14.4	0.2	0.0	2022年4月1日	6.2	12.3	1.1	14.0
2022年2月2日	3.7	9.9	-2.4	0.0	2022年3月2日	8.5	16.2	2.6	0.0	2022年4月2日	6.5	14.4	-0.5	0.0
2022年2月3日	3.1	11.8	-3.9	0.0	2022年3月3日	7.2	16.0	0.9	0.0	2022年4月3日	5.3	6.6	4.1	23.5
2022年2月4日	2.9	9.3	-2.3	0.0	2022年3月4日	6.0	12.5	-0.6	0.0	2022年4月4日	5.4	8.7	3.0	23.0
2022年2月5日	1.8	7.2	-3.4	0.0	2022年3月5日	8.5	17.7	0.7	0.0	2022年4月5日	12.4	21.4	3.8	0.0
2022年2月6日	0.0	7.5	-6.0	0.0	2022年3月6日	4.6	10.3	-0.9	0.0	2022年4月6日	14.2	22.3	8.5	0.0
2022年2月7日	1.0	8.4	-6.2	0.0	2022年3月7日	5.3	12.5	-2.0	0.0	2022年4月7日	13.5	19.8	7.4	0.0
2022年2月8日	3.0	9.9	-1.2	0.0	2022年3月8日	6.3	13.6	0.5	0.0	2022年4月8日	15.2	23.5	8.9	0.0
2022年2月9日	3.9	12.0	-2.6	0.0	2022年3月9日	7.4	15.1	3.7	0.0	2022年4月9日	15.0	23.2	6.3	0.0
2022年2月10日	0.6	2.4	-0.4	3.0	2022年3月10日	7.2	15.0	0.9	0.0	2022年4月10日	17.5	27.1	9.1	0.0
2022年2月11日	2.4	8.5	-2.2	13.0	2022年3月11日	9.3	17.4	1.8	0.0	2022年4月11日	17.9	27.5	11.3	0.0
2022年2月12日	1.7	10.3	-4.0	0.0	2022年3月12日	12.0	21.7	3.2	0.0	2022年4月12日	19.8	28.6	13.8	0.0
2022年2月13日	1.0	5.3	-3.0	2.5	2022年3月13日	13.1	21.7	6.1	0.0	2022年4月13日	20.3	29.0	13.0	0.0
2022年2月14日	2.5	9.1	-1.2	9.0	2022年3月14日	15.8	24.4	8.6	2.0	2022年4月14日	15.8	18.6	12.4	2.0
2022年2月15日	3.6	9.8	-1.4	0.0	2022年3月15日	15.0	24.3	8.3	0.5	2022年4月15日	14.7	18.3	11.9	5.5
2022年2月16日	3.1	9.8	-2.4	0.0	2022年3月16日	13.6	22.6	5.1	0.0	2022年4月16日	13.1	20.2	5.4	1.0
2022年2月17日	0.0	6.3	-5.0	0.0	2022年3月17日	13.9	20.1	8.6	0.0	2022年4月17日	10.4	15.8	5.3	1.5
2022年2月18日	1.9	11.0	-5.2	0.0	2022年3月18日	7.7	10.8	4.8	29.5	2022年4月18日	11.7	14.4	10.0	17.0
2022年2月19日	4.2	12.6	-3.4	7.5	2022年3月19日	9.5	18.4	4.8	2.5	2022年4月19日	14.3	21.1	8.6	1.0
2022年2月20日	5.0	14.4	-0.9	2.0	2022年3月20日	7.5	15.4	1.4	1.5	2022年4月20日	14.5	20.3	11.0	0.0
2022年2月21日	1.0	6.0	-2.6	0.0	2022年3月21日	8.7	14.9	4.6	0.0	2022年4月21日	14.2	20.7	9.4	16.0
2022年2月22日	1.3	8.8	-4.3	0.0	2022年3月22日	4.0	7.4	0.0	11.0	2022年4月22日	18.0	27.7	10.3	6.0
2022年2月23日	1.9	9.6	-3.9	0.0	2022年3月23日	4.5	9.3	-0.3	0.0	2022年4月23日	20.7	28.8	14.7	0.0
2022年2月24日	1.4	9.9	-4.3	0.0	2022年3月24日	8.5	17.6	0.6	0.0	2022年4月24日	17.0	19.4	14.5	1.5
2022年2月25日	2.8	11.5	-6.0	0.0	2022年3月25日	10.1	18.3	2.4	0.0	2022年4月25日	19.7	28.6	13.4	0.0
2022年2月26日	4.6	13.2	-2.5	0.0	2022年3月26日	12.8	16.9	8.3	9.5	2022年4月26日	18.6	23.8	13.6	3.0
2022年2月27日	5.2	13.5	-1.3	0.0	2022年3月27日	16.7	25.4	12.0	0.0	2022年4月27日	21.2	26.2	16.6	1.0
2022年2月28日	6.4	15.1	-0.6	0.0	2022年3月28日	13.0	20.5	8.3	0.0	2022年4月28日	16.3	21.1	13.6	0.0
					2022年3月29日	10.6	13.3	8.3	0.0	2022年4月29日	12.9	16.7	10.5	32.0
					2022年3月30日	14.2	22.1	8.1	0.0	2022年4月30日	13.2	20.8	6.4	0.0
					2022年3月31日	15.4	23.2	9.1	5.5					

     うめの試験期間、
     すももの試験期間、
     ももの試験期間

## 1.3. まとめ

### (1) 試料の採取

2020 年に日本植物防疫協会山梨試験場で実施した花粉花蜜の採取試験（もも、なし、りんご、温州みかん）において得られた結果より、本試験では、花粉はクリーナー、花蜜はシリンジによる採取を採用した。葯については、圃場から花を採取し、室内におい

てはさみで分離した。いずれの樹種においてもこれらの方法で試料を適切に採取することができた。ただし、ももの花粉は比較的粘性があるため、外部フィルターを他樹種よりも目の粗いものにする必要があり、0.25mm 目合いの外部フィルターが葯等を吸い込まず、かつ目詰まりしにくく最適であった。

樹種により開花の様子が異なり、すもも、もも、うめの順で開花速度が速かった。徐々に開花が進むうめは散布時期を判断しやすいが、すももはほぼ一斉に開花し、かつ1花の開花期間は5日程度と短いため、試料採取可能な期間が短く、散布時期を見極めることが難しいと考えられた。

1花あたりの花粉採取量は、うめとももは0.2mg程度でほぼ同等で、すももは0.04mg程度と少なかった。1花あたりの花蜜採取量は、ももが9.5mg程度、うめが4.2mg程度、すももが3.2mg程度であり、ももは花蜜が多く採取が容易であった。

花粉・花蜜採取にかかる作業時間は、もも（花粉・花蜜各250mg採取にかかる1人当たりの時間：約1.5～3.5時間）、うめ（同：2.5～4.5時間）、すもも（同：5.5～12時間）の順に短く、特にすももは多大な労力を要した。

花粉の代替としてうめとすももの葯の採取を検討したところ、試料を250mg採取するのに必要な花数は、花粉と比較してうめでは約5%、すももでは約2%の数で充足した。作業時間は、花粉と比較してうめでは約64%、すももでは約28%であった。

## (2) 試料の農薬残留濃度

花粉と花蜜の農薬残留濃度を比較すると、いずれの樹種においても、ジノテフラン、ペルメトリン共に花粉での残留濃度が高かった。

花粉における両成分の残留濃度は、ももとすももでは処理直後の濃度及びその後の減少程度ともに比較的近い値を示し、若干すももの方が高い程度であった。うめでは処理直後の濃度がももとすももに比較して1/3～1/2程度とやや低く、その後の濃度低下が顕著であった。この要因のひとつとして、散布時の開花率が関係していると考えられる。処理時の開花率が高いと採取期間中の農薬残留濃度も高く、両者は比例していたことから、処理後の日数経過にともなう残留濃度は、散布時の開花率、言い換えれば散布後に新たに開花する花の数に大きく影響を受けることが推察された。

花蜜における両成分の残留濃度は、うめとすももでは処理直後の濃度は比較的近い値を示し、ももは顕著に低かった。その後の濃度は花粉と同様にうめで顕著に低下した。ももの花蜜の農薬残留濃度が低い要因は、前述したように、薬剤が蜜溜まりまで到達しにくい花の構造と、1花あたりの花蜜量が多く希釈されるためと推察された。

葯における両成分の処理直後の残留濃度は、花粉の96～158%と比較的近い値を示したが、減衰傾向は花粉に比べると同程度かやや緩慢であった。

## (3) 花粉及び花蜜の採取に適した樹種

本試験で供試した3樹種のうち、すももは開花期間が非常に短く、花粉・花蜜の農薬残留試験には不適であった。

3 樹種のなかでは、ももは花蜜が比較的多く試料採取が容易であり、7 日程度は採取可能であることから、供試樹種として適していると考えられた。但し、1 花あたりの花蜜が多い分、花蜜の少ない樹種に比べると残留濃度が低くなる。とはいえ、ワーストケースを想定しようとするとは花蜜の少ない樹種を選ぶこととなり、採取が困難となるため現実的ではない。その特性を考慮したうえで試験に供試する必要があると考える。

うめはももに比べて花粉と花蜜の採取作業時間がかかり、また必要な花数も多いことからやや不向きである。しかし、薬と花粉における農薬残留濃度は近い傾向を示したことから、薬を花粉の代替とすれば、大幅に必要な花数を減らすことができ、作業時間は短縮され、ももとほぼ同程度となる。また、うめは開花が徐々に進むため、開花の様子を観察しながら散布の適期を判断しやすいメリットはある。



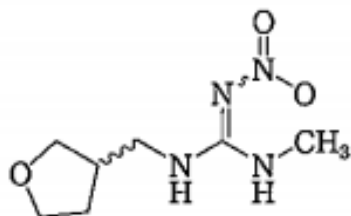
## 別添 1. 分析方法の詳細

### (1) ジノテフラン

#### 1. 分析対象物質

分析対象物質：ジノテフラン

化学構造式：



化学名：(RS)-1-methyl-2-nitro-3-(tetrahydro-3-furylmethyl) guanidine

化学式：C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

分子量：288.8

性状：白色結晶，無臭

融点：107.5℃

蒸気圧：<1.7×10<sup>-6</sup>Pa (30℃)

オクタノール／水分配係数：log Pow = -0.549 (25℃)

溶解性：水；40g/L (pH6.98)

アセトン；58g/L，エタノール；19g/L，キシレン；72mg/L，ジクロロメタン；  
61g/L，酢酸エチル；5.2g/L，トルエン；150mg/L，ヘキサン；0.009mg/L，ヘ  
プタン；0.011mg/L，メタノール；57g/L (以上 20℃)

安定性：熱；安定 (150℃)

加水分解性半減期 (25℃)；>1年 (pH4, pH7, pH9)

水中光分解性半減期 (25℃, 300~800nm)；3.8時間 (滅菌蒸留水, 400W/m<sup>2</sup>)  
3.8時間 (自然水, 416W/m<sup>2</sup>)

出典：農薬ハンドブック 2021年版

#### 2. 分析試料及び分析部位

分析試料：うめ，すもも，もも

分析部位：花粉 (うめ，すもも，もも)，葯 (うめ，すもも)，  
花蜜 (うめ，すもも，もも)

#### 3. 標準品及び試薬

ジノテフラン標準品：純度 100.0% (関東化学製)

アセトン，アセトニトリル，ヘキサン：残留農薬試験用 (関東化学製)

メタノール：LC/MS用 (関東化学製)

1mol/L 酢酸アンモニウム：高速液体クロマトグラフィー用 (関東化学製)

超純水：ピュアライト（オルガノ製）及びピューリック ZII（オルガノ製）で精製した水

塩析用試薬：「Q-sep」抽出塩キット（Restek 製）

ポリマー系ミニカラム：InertSep PLS-2 500mg/6mL（ジーエルサイエンス製）

陰イオン交換ミニカラム：Bond Elut Jr PSA 500mg（Agilent 製）

#### 4. 装置及び機器

電子天秤：Excellence XS4002S, XSR205, ML54T/00（メラー・トレド製）

振とう機：エルビス（スギヤマゲン製），TS-Shaker（池田理化製）

減圧濃縮装置：ロータリー・エバポレーター R-134 型（柴田科学製）

小型冷却遠心分離機：CF6RN（エッペンドルフ・ハイマック・テクノロジーズ製）

攪拌機：NZ-1100, ZZ-1000（東京理化器械製）

ボルテックスミキサー：LABO-MIXER NS-8（iuchi 製）

ミニポンプ：DA-30S（アルバック機工製）

液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）：

ACUITY UPLC H-Class / Xevo TQ-S micro（Waters 製）

データ処理ソフトウェア：MassLynx（Waters 製）

#### 5. 測定機器の操作条件

##### 5-1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム：ACUITY UPLC BEH C18（Waters 製）

径 2.1mm，長さ 100mm，粒径 1.7 $\mu$ m

溶離液：A 液；2mM 酢酸アンモニウム水溶液

B 液；2mM 酢酸アンモニウムメタノール

[グラジエントテーブル]

時間（分）	A 液（%）	B 液（%）
0	70	30
3	70	30
5	15	85
10	15	85
12	70	30
18	70	30

流量：0.2mL/min

カラム温度：40°C

注入量：4  $\mu$ L

保持時間：約 1.7 分

##### 5-2. 質量分析計の操作条件

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法（ESI），正モード

コーンガス流量：50L/hr (N<sub>2</sub>)  
脱溶媒ガス流量：1000L/hr (N<sub>2</sub>)  
ソースブロック温度：500℃  
キャピラリー電圧：1.00kV  
イオン抽出方法：MRM 法  
コーン電圧：26V  
コリジョン電圧：6V  
モニタリングイオン(m/z)：プリカーサーイオン；203.27  
プロダクトイオン；157.22

## 6. 検量線の作成

ジノテフラン標準品 20.0mg を精秤後アセトンで溶解し、20mL 定容とし 1000mg/L 標準原液を調製した。この原液をアセトンで希釈して 20mg/L 標準溶液を調製し、さらにこの標準溶液をメタノール/水 (50 : 50, v/v) で順次希釈して 0.0005, 0.00025, 0.00005, 0.000025 及び 0.0000125mg/L の検量線用標準溶液を調製した。この溶液を前記条件の液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計に注入し、データ処理装置を用いてジノテフランのピーク面積を測定し、横軸に重量 (ng) , 縦軸にピーク面積をとって検量線を作成した。

## 7. 分析試料の受領

### 7-1. 花粉

受領した試料が当該試料であるか梱包シールから確認した後に、試料を取り出し写真撮影を行った。その後、清浄なスパーテルを用いて薬包紙に花粉を移し重量を計測した。重量計測後、無処理区試料と処理区試料を区別して薬包紙に包み、清浄なアルミ袋に入れて冷凍保存 (-20℃設定) した。

### 7-2. 薬

受領した試料が当該試料であるか梱包シールから確認した後に、試料を取り出し写真撮影を行った。その後、薬包紙に薬を移し重量を計測した。重量計測後、無処理区試料と処理区試料を区別して薬包紙に包み、清浄なアルミ袋に入れて冷凍保存 (-20℃設定) した。

### 7-3. 花蜜

受領した試料が当該試料であるか梱包シールから確認した後に、試料を取り出し写真撮影を行った。その後、パストゥールピペットを用いてエッペンドルフチューブに花蜜を移し重量を計測した。重量計測後、ボルテックスミキサーで 10 秒以上攪拌した後に、50mL 容遠心管に 0.050g 分取した。試料は無処理区試料と処理区試料を区別して清浄なアルミ袋に入れて冷凍保存 (-20℃設定) した。

## 8. 分析操作

### 8-1. 試料の磨砕均一化及び分取

試料全量に試料重量の 10 倍量(w/w)の超純水を加えた後、約 1000rpm に設定した攪拌機で 3 分間磨砕し均一化を行った。均一化試料をボルテックスミキサーで 10 秒以上攪拌した後に、50mL 容遠心管に 0.550g ( $\pm 0.001$ g, 試料 0.050g 相当量) 分取した。本操作は花粉と葯で実施し、花蜜は試料受領時に分取を行った(「7-3. 花蜜」)。

### 8-2. 抽出

アセトニトリル/水 (80:20, v/v) 混液 10mL を加え、振とう機を用いて 1 分間振とう抽出を行った。

### 8-3. 塩析

抽出液に塩析用試薬を 0.5g 加え、振とう機で 1 分間振とうした。振とう後に遠心分離機(回転数 3000rpm, 設定温度 10°C) で 1 分間遠心分離を行った。

### 8-4. ヘキサン洗浄

遠心分離後の上澄み液を 100mL 用の分液ロートに移し、ヘキサン飽和アセトニトリル 20mL, 次いでアセトニトリル飽和ヘキサン 30mL を加え、振とう機で 5 分間振とうした。暫時放置後にアセトニトリル層を分取しヘキサン層を捨てた。その後アセトニトリル層を分液ロートに戻し、アセトニトリル飽和ヘキサン 30mL を加え振とう機で 5 分間振とうした。暫時放置後に再度アセトニトリル層を分取し、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮を行い窒素気流下で溶媒を留去した。本操作は花粉と葯で実施した。

花蜜試料はヘキサン洗浄を実施せず、遠心分離後の上澄み液にアセトニトリルを適量加え、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮を行い窒素気流下で溶媒を留去した。

### 8-5. PLS-2, PSA 連結ミニカラムによる精製

PSA ミニカラムの上に PLS-2 ミニカラムを連結して、アセトニトリル 5mL を流化して前処理を行った。その後、乾固物をアセトニトリル 10mL で溶解し連結ミニカラムに流下した。同溶媒で同様の操作を行い、これらの流出液をとり溶出液とした。溶出液を 40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去した。

### 8-6. 定量

残留物をメタノール/水 (50:50, v/v) 混液 20mL で溶解し、前記条件の LC-MS/MS に注入してピーク面積を求めた。その値から検量線によりジノテフラン重量(ng)を求め、試料中の残留濃度 (mg/kg) を算出した。なお、測定溶液のピーク面積が検量線の範囲を超えた場合は、メタノール/水 (50:50, v/v) 混液で希釈し再測定を行った。

## 9. 定量限界値 (LOQ) 及び検出限界値 (LOD)

### 定量限界値 (LOQ)

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 ( $\mu$ L)	定量限界 (mg/kg)
0.0001	0.05	20	4	0.01

### 検出限界値 (LOD)

最小検出量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 ( $\mu$ L)	検出限界 (mg/kg)
0.00005	0.05	20	4	0.005

## 10. 回収率

分析法確認のため、既知添加濃度における回収試験を5連分析で実施した。回収率の算出結果を下表に示す。

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)					平均回収率 (%)	RSDr (%)
花粉 (購入もも花粉)	100	95	94	93	90	90	92	2
	0.1	102	100	95	95	93	97	4
	0.01	90	80	70	70	70	76	12
葯 (うめ葯)	100	109	105	105	104	101	105	3
	0.01	100	100	100	100	100	100	0
花蜜 (人工花蜜)	20	95	89	88	85	79	87	7
	0.01	94	93	91	90	89	91	2
花蜜 (うめ花蜜)	0.01	120	110	100	100	100	106	8

## 1 1. 試料分析結果

### 1 1 - 1. うめ

試料	経過日数	分析結果			RSDr (%)
		分析値① (mg/kg)	分析値② (mg/kg)	平均分析値 (mg/kg)	
花粉	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	32.3	32.1	32.2	1
	処理 3 日後	9.02	8.89	8.96	1
	処理 7 日後	0.16	0.16	0.16	0
葯	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	51.8	50.2	51.0	3
	処理 3 日後	24.9	23.8	24.4	4
	処理 7 日後	0.79	0.78	0.78	1
花蜜	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	12.1	11.7	11.9	3
	処理 3 日後	2.89	2.85	2.87	1
	処理 7 日後	0.48	0.48	0.48	0

※RSDr (併行相対標準偏差) = 個々の分析値の差 / 平均分析値 × 100 × 0.89

### 1 1 - 2. すもも

試料	経過日数	分析結果			RSDr (%)
		分析値① (mg/kg)	分析値② (mg/kg)	平均分析値 (mg/kg)	
花粉	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	88.9	88.0	88.4	1
	処理 3 日後	43.4	42.7	43.0	1
	処理 5 日後	21.1	20.6	20.8	2
葯	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	101.2	99.1	100.2	2
	処理 3 日後	74.9	73.6	74.2	2
	処理 5 日後	45.8	45.3	45.6	1
	処理 8 日後	29.3	28.8	29.0	2

	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	19.0	19.0	19.0	0
花蜜	処理 3 日後	5.48	5.34	5.41	2
	処理 5 日後	7.72	7.45	7.58	3
	処理 8 日後	2.87	2.86	2.86	0

※RSDr (併行相対標準偏差) = 個々の分析値の差 / 平均分析値 × 100 × 0.89

### 11-3. もも

試料	経過日数	分析結果			RSDr (%)
		分析値① (mg/kg)	分析値② (mg/kg)	平均分析値 (mg/kg)	
	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	69.5	68.0	68.8	2
花粉	処理 3 日後	23.1	22.5	22.8	2
	処理 6 日後	10.2	9.50	9.85	6
	処理前	< 0.01	< 0.01	< 0.01	—
	処理直後	0.66	0.64	0.65	3
花蜜	処理 3 日後	0.35	0.34	0.34	3
	処理 6 日後	0.13	0.13	0.13	0

※RSDr (併行相対標準偏差) = 個々の分析値の差 / 平均分析値 × 100 × 0.89

## 12. 精度管理

「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」（平成9年4月1日付け衛食第117号厚生省生活衛生局食品保健課長通知）に基づき、内部精度管理を行った。

管理基準：各調製場所の実試料分析と保存安定性試験を行うごとに、各1検体の未検出試料及びジノテフラン 0.1mg/kg 添加試料（クオリティーコントロール試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

また、2021年6月実施の食品衛生精度管理比較調査（一般財団法人食品薬品安全センター）における結果は良好であった。

分析日 (抽出日)	回収率 (%)	未検出試料 の分析値 (mg/kg)	使用した 未検出試料	分析試料
2022/3/30	88	<0.01	人工花蜜	うめ花蜜
2022/4/1	90	<0.01	人工花蜜	うめ花蜜（保存安定）
2022/4/6	86	<0.01	購入もも花粉	うめ花粉
2022/4/7	92	<0.01	人工花蜜	すもも花蜜
2022/4/8	94	<0.01	購入もも花粉	うめ花粉（保存安定）
2022/4/12	97	<0.01	うめ薬	うめ薬
2022/4/14	90	<0.01	うめ薬	うめ薬（保存安定）
2022/4/18	87	<0.01	人工花蜜	すもも花蜜
2022/4/19	82	<0.01	購入もも花粉	すもも花粉
2022/4/19	94	<0.01	人工花蜜	すもも花蜜（保存安定）
2022/4/20	89	<0.01	購入もも花粉	すもも花粉
2022/4/21	76	<0.01	うめ薬	すもも薬
2022/4/22	79	<0.01	うめ薬	すもも薬
2022/4/25	98	<0.01	人工花蜜	もも花蜜
2022/4/26	91	<0.01	購入もも花粉	もも花粉
2022/4/27	70	<0.01	人工花蜜	もも花蜜（保存安定） もも花粉（保存安定）
2022/4/28	85	<0.01	購入もも花粉	すもも花粉（保存安定） すもも薬（保存安定）



### 1.3. 保存安定性

均一化した未検出試料（各処理前試料）にジノテフランを添加し、冷凍暗所（-20℃設定）に凍結保存した。一定期間保存した後、実試料の分析と同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を以下に示す。

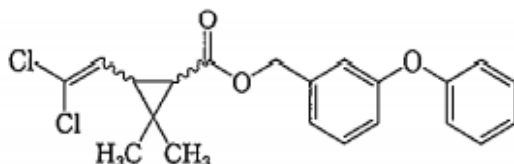
試料	添加濃度 (mg/kg)	実試料 最長保存期間 (日)	保存期間 (日)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
うめ花粉	0.5	27	28 (2022/3/11-4/8)	88, 80	84
うめ蒨	0.5	33	34 (2022/3/11-4/14)	98, 94	96
うめ花蜜	0.5	19	21 (2022/3/11-4/1)	99, 95	97
すもも花粉	0.5	22	30 (2022/3/29-4/28)	104, 96	100
すもも蒨	0.5	24	30 (2022/3/29-4/28)	74, 74	74
すもも花蜜	0.5	19	21 (2022/3/29-4/19)	103, 95	99
もも花粉	0.5	19	20 (2022/4/8-4/28)	86, 82	84
もも花蜜	0.5	17	19 (2022/4/8-4/27)	90, 84	87

## (2) ペルメトリン

### 1. 分析対象物質

分析対象物質：ペルメトリン

化学構造式：



化学名：3-phenoxybenzyl

(1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

化学式：C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

分子量：391.3

性状：白色結晶性粉末，無臭

融点：43.8~46.1°C

蒸気圧：6.82×10<sup>-7</sup>Pa (25°C)

オクタノール／水分配係数：log Pow = 6.36 (室温)

溶解性：水；11.1µg/L (20°C)

トルエン・ヘキサン；>1,000g/L (25°C)，メタノール；51.7g/L (25°C)

安定性：熱；安定

加水分解性半減期；>1年 (25°C, pH4, pH7)，43.5日 (20°C, pH9)

水中光分解性半減期 (25°C)；約30日 (河川水)

出典：農薬ハンドブック 2021年版

### 2. 分析試料及び分析部位

分析試料：うめ，すもも，もも

分析部位：花粉 (うめ，すもも，もも)，蒴 (うめ，すもも)，  
花蜜 (うめ，すもも，もも)

### 3. 標準品及び試薬

cis-ペルメトリン標準品：純度 99.8% (富士フイルム和光純薬製)

trans-ペルメトリン標準品：純度 99.4% (富士フイルム和光純薬製)

アセトン，アセトニトリル，ヘキサン，ジエチルエーテル

：残留農薬試験用 (関東化学製)

メタノール：LC/MS用 (関東化学製)

1mol/L 酢酸アンモニウム：高速液体クロマトグラフィー用 (関東化学製)

超純水：ピュアライト (オルガノ製) 及びピューリック ZII (オルガノ製) で精

製した水  
塩析用試薬：「Q-sep」抽出塩キット（Restek 製）  
フロリジルミニカラム：Sep-Pak Florisil Plus Long Cartridge, 910 mg  
（Waters 製）

#### 4. 装置及び機器

電子天秤：Excellence XS4002S, XSR205, ML54T/00（メラー・トレド製）  
振とう機：エルビス（スギヤマゲン製），TS-Shaker（池田理化製）  
減圧濃縮装置：ロータリー・エバポレーター R-134 型（柴田科学製）  
小型冷却遠心分離機：CF6RN（エッペンドルフ・ハイマック・テクノロジーズ製）  
攪拌機：NZ-1100, ZZ-1000（東京理化学器械製）  
ボルテックスミキサー：LABO-MIXER NS-8（iuchi 製）  
ミニポンプ：DA-30S（アルバック機工製）  
液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）：  
ACUITY UPLC H-Class / Xevo TQ-S micro（Waters 製）  
データ処理ソフトウェア：MassLynx（Waters 製）

#### 5. 測定機器の操作条件

##### 5-1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム：ACUITY UPLC BEH C18（Waters 製）  
径 2.1mm，長さ 100mm，粒径 1.7 $\mu$ m

溶離液：A 液；2mM 酢酸アンモニウム水溶液

B 液；2mM 酢酸アンモニウムメタノール  
〔グラジエントテーブル〕

時間（分）	A 液（%）	B 液（%）
0	15	85
10	15	85

流量：0.3mL/min

カラム温度：40°C

注入量：4 $\mu$ L

保持時間：cis-ペルメトリン；約 3.6 分，trans-ペルメトリン；約 3.1 分

##### 5-2. 質量分析計の操作条件

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法（ESI），正モード

コーンガス流量：50L/hr（N<sub>2</sub>）

脱溶媒ガス流量：1000L/hr（N<sub>2</sub>）

ソースブロック温度：500°C

キャピラリー電圧：1.00kV

イオン抽出方法：MRM 法

コーン電圧：34V

コリジョン電圧：18V

モニタリングイオン(m/z)：プリカーサーイオン；408.05

プロダクトイオン；182.98

## 6. 検量線の作成

ペルメトリン標準品 20.0mg を精秤後アセトンで溶解し、20mL 定容とし 1000mg/L 標準原液を調製した。この原液をアセトンで希釈して 20mg/L 標準溶液を調製し、さらにこの標準溶液をメタノール/水 (85 : 15, v/v) で順次希釈して 0.0005, 0.00025, 0.00005, 0.000025 及び 0.0000125mg/L の検量線用標準溶液を調製した。この溶液を前記条件の液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計に注入し、データ処理装置を用いてペルメトリンのピーク面積を測定し、横軸に重量 (ng) , 縦軸にピーク面積をとって検量線を作成した。

## 7. 分析試料の受領

### 7-1. 花粉

受領した試料が当該試料であるか梱包シールから確認した後に、試料を取り出し写真撮影を行った。その後、清浄なスパーテルを用いて薬包紙に花粉を移し重量を計測した。重量計測後、無処理区試料と処理区試料を区別して薬包紙に包み、清浄なアルミ袋に入れて冷凍保存 (-20℃設定) した。

### 7-2. 薬

受領した試料が当該試料であるか梱包シールから確認した後に、試料を取り出し写真撮影を行った。その後、薬包紙に薬を移し重量を計測した。重量計測後、無処理区試料と処理区試料を区別して薬包紙に包み、清浄なアルミ袋に入れて冷凍保存 (-20℃設定) した。

### 7-3. 花蜜

受領した試料が当該試料であるか梱包シールから確認した後に、試料を取り出し写真撮影を行った。その後、パスツールピペットを用いてエッペンドルフチューブに花蜜を移し重量を計測した。重量計測後、ボルテックスミキサーで 10 秒以上攪拌した後に、50mL 容遠心管に 0.050g 分取した。試料は無処理区試料と処理区試料を区別して清浄なアルミ袋に入れて冷凍保存 (-20℃設定) した。

## 8. 分析操作

### 8-1. 試料の磨砕均一化及び分取

試料全量に試料重量の 10 倍量(w/w)の超純水を加えた後、約 1000rpm に設定した攪拌機で 3 分間磨砕し均一化を行った。均一化試料をボルテックスミキサーで 10 秒以上攪拌した後に、50mL 容遠心管に 0.550g (±0.001g, 試料 0.050g 相当量) 分取した。本操作は

花粉と葯で実施し、花蜜は試料受領時に分取を行った（「7-3. 花蜜」）。

## 8-2. 抽出

アセトニトリル/水（80:20, v/v）混液 10mL を加え、振とう機を用いて 1 分間振とう抽出を行った。

## 8-3. 塩析

抽出液に塩析用試薬を 0.5g 加え、振とう機で 1 分間振とうした。振とう後に遠心分離機（回転数 3000rpm, 設定温度 10℃）で 1 分間遠心分離を行った。

## 8-4. フロリジルミニカラムによる精製

フロリジルミニカラムにヘキサン 10mL を流して前処理を行った。その後、乾固物をヘキサン 5mL で溶解し、フロリジルミニカラムに流下し流下液を捨てた。同溶媒で同様の操作を合計で 3 回行った。その後、ヘキサン/ジエチルエーテル（95:5, v/v）10mL を流下し、この流出液をとり溶出液とした。溶出液を 40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去した。

## 8-5. 定量

残留物をメタノール/水（85:15, v/v）混液 2mL で溶解し、前記条件の LC-MS/MS に注入してピーク面積を求めた。ピーク面積値は両異性体の合計値とした。その値から検量線によりペルメトリン重量（ng）を求め、試料中の残留濃度（mg/kg）を算出した。なお、測定溶液のピーク面積が検量線の範囲を超えた場合は、メタノール/水（85:15, v/v）混液で希釈し再測定を行った。

## 9. 定量限界値（LOQ）及び検出限界値（LOD）

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 ( $\mu$ L)	定量限界 (mg/kg)
0.0001	0.05	2	4	0.001

最小検出量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 ( $\mu$ L)	検出限界 (mg/kg)
0.00005	0.05	2	4	0.0005

## 10. 回収率

分析法確認のため、既知添加濃度における回収試験を5連分析で実施した。回収率の算出結果を下表に示す。

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)					平均回収率 (%)	RSDr (%)
花粉 (購入もも花粉)	50	105	102	95	94	94	98	5
	0.01	88	88	81	73	66	79	12
	0.001	120	110	110	100	100	108	8
葯 (すもも葯)	50	98	98	98	97	93	97	2
葯 (うめ葯)	0.001	90	90	90	90	70	86	10
花蜜 (人工花蜜)	5.0	97	96	96	93	91	95	3
	0.01	76	75	71	69	64	71	7
	0.001	80	80	70	70	70	74	7

## 11. 試料分析結果

### 11-1. うめ

試料	経過日数	分析結果			RSDr (%)
		分析値① (mg/kg)	分析値② (mg/kg)	平均分析値 (mg/kg)	
花粉	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	15.6	14.9	15.2	4
	処理3日後	4.26	4.18	4.22	2
	処理7日後	0.046	0.044	0.045	4
葯	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	20.6	20.3	20.4	1
	処理3日後	9.33	9.19	9.26	1
	処理7日後	0.016	0.015	0.016	6

花蜜	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	1.22	1.21	1.22	1
	処理 3 日後	0.106	0.096	0.101	9
	処理 7 日後	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—

※RSDr (併行相対標準偏差) = 個々の分析値の差 / 平均分析値 ×100 × 0.89

### 1 1 - 2. すもも

試料	経過日数	分析結果			RSDr (%)
		分析値① (mg/kg)	分析値② (mg/kg)	平均分析値 (mg/kg)	
花粉	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	47.2	47.0	47.1	0
	処理 3 日後	17.7	16.9	17.3	4
	処理 5 日後	7.28	7.25	7.26	0
葯	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	45.5	45.4	45.4	0
	処理 3 日後	41.7	40.2	41.0	3
	処理 5 日後	15.9	15.4	15.6	3
花蜜	処理 8 日後	8.71	8.68	8.70	0
	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	0.585	0.557	0.571	4
	処理 3 日後	0.049	0.047	0.048	4
	処理 5 日後	0.044	0.042	0.043	4
処理 8 日後	0.011	0.011	0.011	0	

※RSDr (併行相対標準偏差) = 個々の分析値の差 / 平均分析値 ×100 × 0.89

### 1 1 - 3. もも

試料	経過日数	分析結果			RSDr (%)
		分析値① (mg/kg)	分析値② (mg/kg)	平均分析値 (mg/kg)	
花粉	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	32.9	32.4	32.6	1
	処理 3 日後	8.85	8.70	8.78	2
	処理 6 日後	5.23	5.13	5.18	2

花蜜	処理前	< 0.001	< 0.001	< 0.001	—
	処理直後	0.041	0.041	0.041	0
	処理 3 日後	0.008	0.008	0.008	0
	処理 6 日後	0.002	0.002	0.002	0

※RSDr (併行相対標準偏差) = 個々の分析値の差 / 平均分析値 ×100 × 0.89

## 1 2. 精度管理

「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」（平成 9 年 4 月 1 日付け衛食第 117 号厚生省生活衛生局食品保健課長通知）に基づき、内部精度管理を行った。

管理基準：各調製場所の実試料分析と保存安定性試験を行うごとに、各 1 検体の未検出試料及びペルメトリン 0.01mg/kg 添加試料（クオリティーコントロール試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

また、2021 年 6 月実施の食品衛生精度管理比較調査（一般財団法人食品薬品安全センター）における結果は良好であった。

分析日 (抽出日)	回収率 (%)	未検出試料 の分析値 (mg/kg)	使用した 未検出試料	分析試料
2022/4/18	77	< 0.001	人工花蜜	うめ花蜜
2022/4/21	72	< 0.001	人工花蜜	うめ花蜜 (保存安定)
2022/5/2	77	< 0.001	購入もも花粉	うめ花粉
2022/5/6	95	< 0.001	うめ葯	うめ葯
2022/5/9	89	< 0.001	購入もも花粉	すもも花粉
2022/5/10	91	< 0.001	うめ葯	すもも葯
2022/5/12	83	< 0.001	人工花蜜	すもも花蜜
2022/5/13	84	< 0.001	購入もも花粉	もも花粉
2022/5/16	84	< 0.001	人工花蜜	もも花蜜
2022/5/18	70	< 0.001	人工花蜜	うめ花蜜 (保存安定) すもも花蜜 (保存安定) もも花粉 (保存安定) うめ花粉 (保存安定)
2022/5/20	112	< 0.001	購入 もも花粉※	うめ葯 (保存安定) すもも花粉 (保存安定) すもも葯 (保存安定)



※薬の未検出試料量に限りがあったため、購入もも花粉試料を薬の内部精度管理試料として代用した。

### 1 3. 保存安定性

均一化した未検出試料（各処理前試料）にペルメトリンを添加し、冷凍暗所（-20℃設定）に凍結保存した。一定期間保存した後、実試料の分析と同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を以下に示す。

試料	添加濃度 (mg/kg)	実試料 最長保存期間 (日)	保存期間 (日)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
うめ花粉	0.5	53	70 (2022/3/11－5/20)	84, 82	83
うめ薬	0.5	57	70 (2022/3/11－5/20)	82, 82	82
うめ花蜜	0.5	38	41 (2022/3/11－4/21)	76, 74	75
すもも花粉	0.5	42	52 (2022/3/29－5/20)	84, 80	82
すもも薬	0.5	43	52 (2022/3/29－5/20)	90, 74	82
すもも花蜜	0.5	44	50 (2022/3/29－5/18)	74, 74	74
もも花粉	0.5	36	42 (2022/4/8－5/20)	92, 78	85
もも花蜜	0.5	38	40 (2022/4/8－5/18)	74, 72	73

別添2. 試料受領時の写真



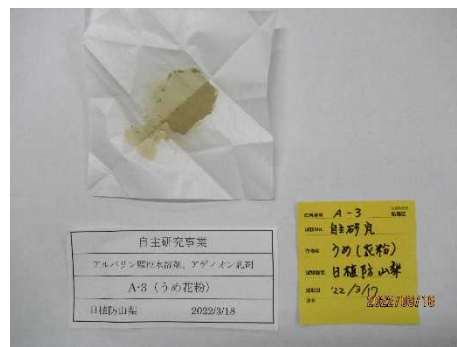
処理前



処理直後



処理3日後



処理7日後

図1. うめ花粉



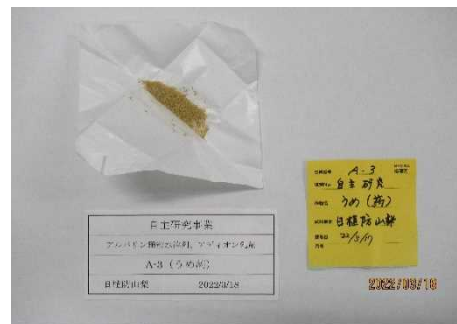
処理前



処理直後



処理3日後

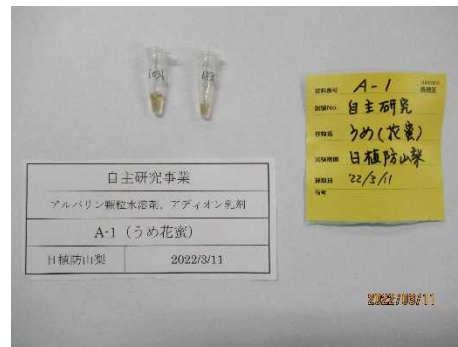


処理7日後

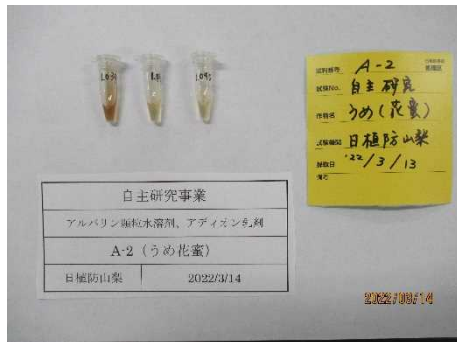
図2. うめ薬



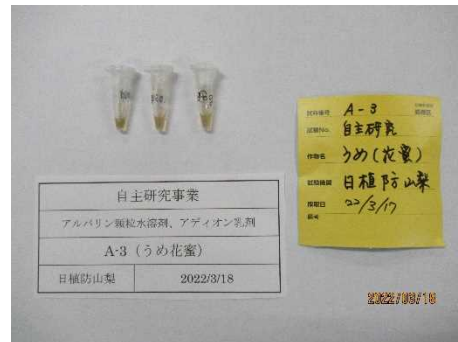
処理前



処理直後



処理 3 日後

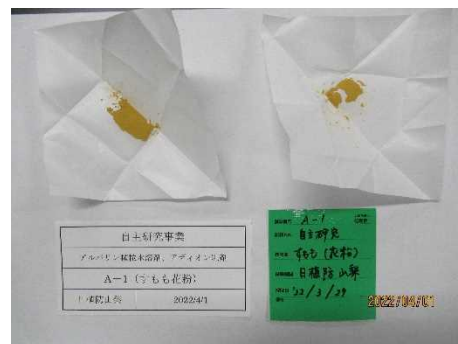


処理 7 日後

図 3. うめ花蜜



処理前



処理直後

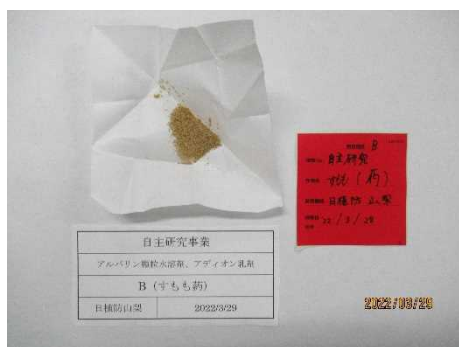


処理 3 日後

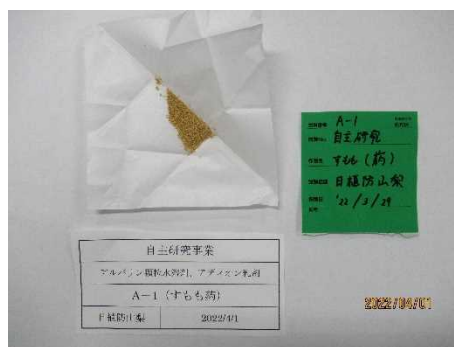


処理 5 日後

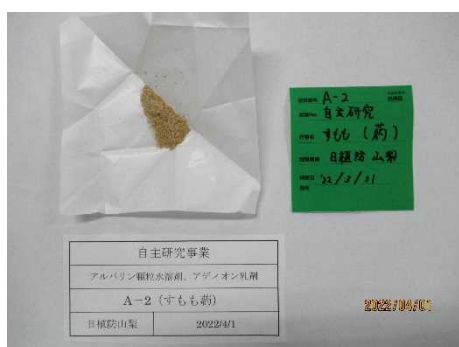
図 4. すもも花粉



処理前



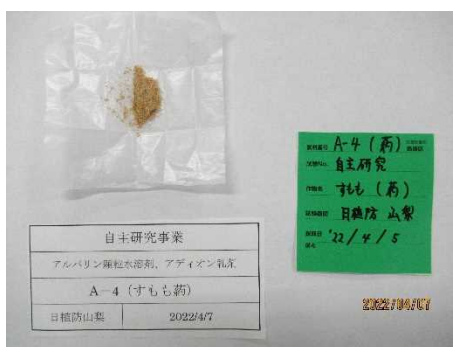
処理直後



処理 3 日後

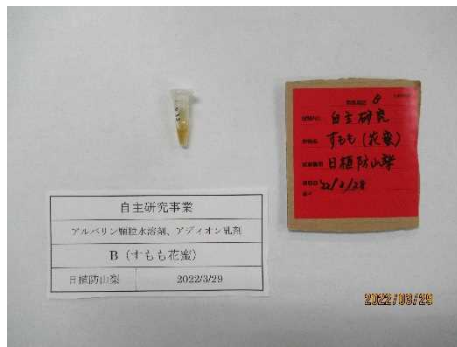


処理 5 日後

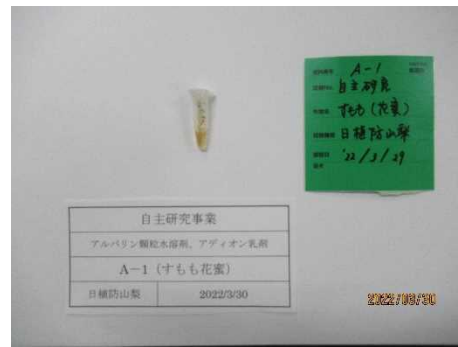


処理 8 日後

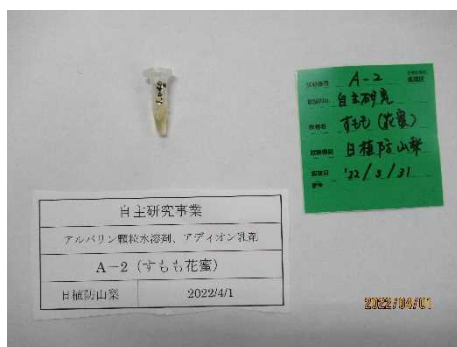
図 5. すもも薬



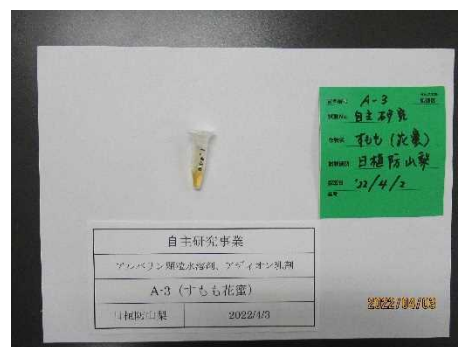
処理前



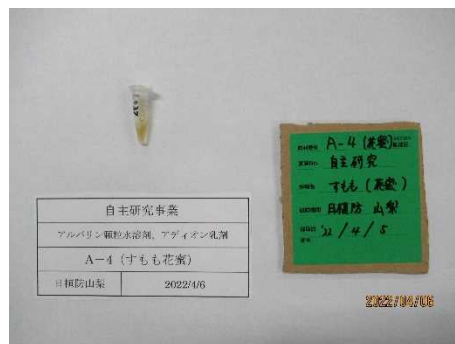
処理直後



処理 3 日後



処理 5 日後



処理 8 日後

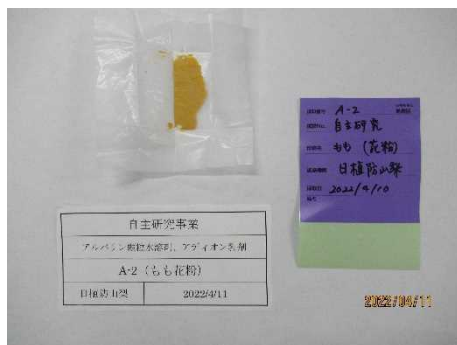
図 6. すもも花蜜



処理前



処理直後

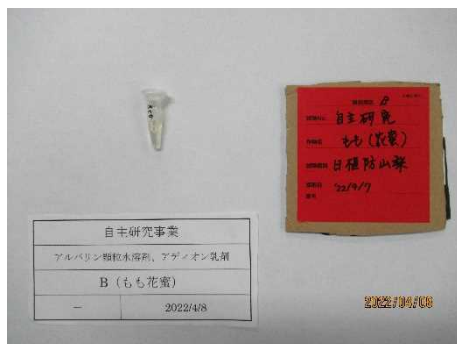


処理3日後

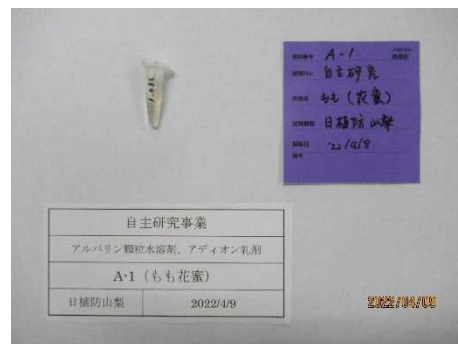


処理6日後

図7. もも花粉



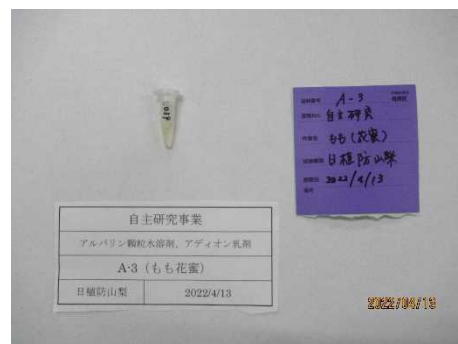
処理前



処理直後



処理3日後



処理6日後

図8. もも花蜜

## 総合考察

花粉・花蜜の農薬残留調査について、本年度実施したえんどうの試験の他に、農林水産省委託事業として 2019 年にかぼちゃ、すいか、メロン、2021 年にりんご、温州みかん、日向夏、不知火について試験を実施した。さらに当協会の自主研究として、だいず、かぼちゃ、なす、ピーマン、うめ、もも、すももについて試験を実施した。これらの試験結果より、作物ごとの花粉と花蜜に関する特性、試料採取の効率性、ならびに農薬残留濃度の傾向等を比較し、花粉・花蜜の農薬残留調査への適性について考察した。

なお、各表に示す数値は平均値を示す。

### 1. 野菜類

ウリ科のかぼちゃ・すいか・メロン、ナス科のピーマン・なす、マメ科のだいず・えんどうを対象に検討を行った。

#### 1) 花粉・花蜜の採取

各作物の花粉・花蜜採取量と、1 回の採取に必要な花粉・花蜜の最大量を各 2g とした時の必要な花数、株数および圃場面積を表 1 に示した。また、試料 2g 採取にかかる作業時間を表 2 に示した。

##### ① ウリ科作物

ウリ科のすいか・メロンは花が小さく、1 花当たりの花粉・花蜜採取量は共に少量で、採取には多大な花数と労力を要した。

メロンの花粉は粘稠性が高く、掻き取るような所作が必要で、他の部位からの農薬のコンタミが起こりやすく、農薬のコンタミの少ない試料を多量に採取するのは極めて困難と考えられる。また、すいかは株あたりの開花数が少なく、花数を確保するためには非常に多くの株数が必要であった。

すいか・メロンの花では、蜜だまりが奥まっておき、花蜜の採取にあたって、花粉や組織液が混入する可能性が高かった。

一方、かぼちゃの花蜜採取量はすいか・メロンの 14~144 倍、花蜜採取量はすいか・メロンの 10~24 倍と少ない花数で多量の花蜜採取することが可能であった。また、1 つの花が大きいこと作業性がよく農薬のコンタミが起きにくいこと、作付け期間中の開花数が安定して確保できること等から、花粉・花蜜残留試験の供試作物として適性があると考えられた。

## ② ナス科作物

ナス科のピーマンは、花粉・花蜜ともに採取量が少なく、十分な株あたりの開花数を確保するにはかなり大きく生育した株を準備しなければならないことから、一定の採取量を確保するのは困難であった。一方、なすの花粉は花の構造上、農薬のコンタミが起きにくいというえ、一定量を確保することは可能であった。1花あたりの花粉採取量はピーマンに比べると多かったが、1花あたり 3mg 程度であった。なお、なすの花蜜は存在しないため採取できなかった。

## ③ マメ科作物

マメ科のだいずは、花粉の粘稠性が高いうえに花あたり採取量が極めて微量であること、さらには花自体が小さく作業性が悪いことから、一定量の花粉を農薬のコンタミがなく採取することは困難であった。また、花蜜についても、花器の奥まった部分に存在し、花の構造上正確に花蜜のみを採取することは困難で、蜜量もごく微量であることから一定量を確保することは難しかった。

一方、えんどうの花粉は開葯後舟弁内に留まっており、農薬のコンタミがなく採取することが出来たものの、1花あたりの採取量は 0.8mg と極わずかであった。また花蜜も採取は可能であったがその量は少なく、かつ、農薬のコンタミを避けて採取するためには花蜜採取用の花を花粉採取用とは別に用意する必要があり、多量の花数を必要とした。

## ④ 作物別花粉・花蜜の採取効率

花粉・花蜜残留試験において必要な採取量をいかに効率的に採取できるかは、無用な農薬のコンタミを避け、採取試料の乾燥を抑え、ならびに適正な分析を実施するために重要となる。

作物ごとの花粉・花蜜を比較すると、1花当りの花粉および花蜜採取量が最も多く、試験に必要な株数および圃場面積が最も少なかったのはかぼちゃであった。また、2g の花粉および花蜜を採取するのにかかる時間が最も少なかったのはかぼちゃであった(表2)。



表1 花粉・花蜜採取量および必要な花数

分類	作物名	1花当り採取量 (mg)		各試料2g採取に必要な花数(個)		各試料2g採取に必要な株数(株)	各試料2g採取に必要な圃場面積(m <sup>2</sup> )
		花粉	花蜜	花粉	花蜜		
ウリ科	かぼちゃ	14.4	42.8	140	47	140	105
	すいか	1.0	4.0	2000	500	667	1000
	メロン	0.1	1.8	20000	1111	1667	1600
ナス科	ピーマン*	0.8	2.0	2500	1000	313	282
	なす	3.0	—	667	—	160	144
マメ科	だいず	—	—	—	—	—	—
	えんどう	0.8	1.4	2500	1500	1250	150

\*採取量の日による振れ幅が大きいため最大値を記載

表2 試料2g採取にかかる作業時間

分類	作物名	試料2g採取にかかる作業時間(時間)*		
		花粉	花蜜	合計
ウリ科	かぼちゃ	5.0	1.0	6.0
	すいか	12.2	3.5	15.7
	メロン	134.5	16.4	150.9
ナス科	ピーマン	14.8	38.3	53.1
	なす	—	—	—
マメ科	だいず	—	—	—
	えんどう	34.6	16.7	51.3

\*1人で作業した場合の時間

## 2) 花粉・花蜜残留試験

### ① 花の構造から見た農薬散布液暴露の状況

野菜類の花は、その構造によって花粉、花蜜に散布薬液がかかりやすいものとかかりにくいものがあった(表3)。1)の検討で花粉および花蜜が採取可能であった作物を比較すると、かぼちゃ、すいか、メロン、ピーマンは開花時に花粉、花蜜が露出しており、散布薬液が直接かかりやすい構造であった。これに対し、なすの花粉は筒状の葯の中にあるため散布薬液が直接かかりにくい構造であった。

また、えんどうの葯は舟弁に包まれ、この中で開葯するため花粉が外部へ露出することはなく、花蜜も顎の内側にある子房の根元に分泌されるため、いずれも散布薬液がかかりにくい構造と考えられる。

表3 花粉・花蜜の薬液暴露の状況

採取の可否	薬液の暴露状況	花粉	花蜜
可	かかりやすい	かぼちゃ、すいか、メロン、ピーマン	かぼちゃ、すいか、メロン、ピーマン
	かかりにくい	なす、えんどう	えんどう
不可	—	だいず	なす、だいず

### ② 花粉・花蜜における農薬残留濃度の消長

各試料における農薬残留濃度を表4に示した。

花粉における農薬残留濃度は、各作物とも処理直後に最大値を示し、その後減少した。ただし、なすではジノテフランの残留濃度が処理3日後に最大値を示した。これは前述のとおり、なすの花粉は散布薬液がかかりにくいいため、直後の付着量はあまり多くなく、浸透移行性を持つ本剤が移行により農薬量が増えたことが要因として考えられる。

花蜜における農薬残留濃度は各作物とも花粉と同様に、処理直後に最大値を示し、その後減少した。ただし、えんどうではジノテフランの残留濃度が処理3日後に最大値を示した。これはなすの花粉と同様に花の構造が理由と考えられるが、えんどうの花粉ではなすの花粉のような残留濃度の推移を示すことはなかった。

これらのことから、花粉・花蜜の農薬残留濃度は散布液が直接かかりやすい場合には処理直後の濃度が最も高く時間経過とともに減衰するが、花の構造から花粉・花蜜に散布薬液がかかりにくい作物は、処理直後の残留濃度が最も高いとは限らず浸透移行性の高い農薬の場合は、処理後1日以上経過してから残留濃度が高くなる場合があることが示唆された。

試験の再現性の確認のため、かぼちゃについては2019年に3場所、2021年に1場所、2022年に1場所で計5試験を行ったところ、農薬残留濃度はおおむね同等の傾向を示した。このことから、かぼちゃを用いた花粉花蜜残留試験は安定した試験方法であると考えられた(表5)。

### ③ 花粉・花蜜・花全体における農薬残留濃度

ガイドンスでは花粉・花蜜の代替として、花全体を分析対象にすることを認めている。そこで、すいか・メロン・かぼちゃを対象に、処理直後の農薬残留濃度を、花全体、花粉、花蜜で比較したところ、花全体>花粉>花蜜の順で高く、花全体の残留濃度は花粉の数倍、花粉は花蜜の5~100倍であった。花全体を花粉の代替とすることは可能で、花蜜の残留濃度としては実際よりかなり高濃度となった。

花粉・花蜜の採取が作業的に難しいだいずでは、花全体を試料とすることがありえるが、

部位別の残留量調査では、花の外側にあたるがく、旗弁、翼弁における残留量が花全体の90%近くを占めており、だいずを対象とした花粉花蜜残留試験では花全体を分析対象としても過小評価になる恐れはなく妥当と思われる（データ省略）。

表4 野菜類の各試料における農薬残留濃度

分類	作物名	農薬残留濃度 (mg/kg)											
		花粉				花蜜				花全体			
		ジノテフラン		ペルメトリン		ジノテフラン		ペルメトリン		ジノテフラン		ペルメトリン	
		処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後
ウリ科	かぼちゃ	2.34	0.04	1.75	0.01	0.33	0.04	0.08	0.001	9.12	0.46	3.28	0.06
	すいか	10.3	0.84	5.56	0.32	2.16	0.35	0.32	0.02	22.6	2.44	7.67	0.39
	メロン	7.24	3.02	2.89	0.65	0.74	0.71	0.02	0.01	20.9	2.90	10.5	0.47
ナス科	ピーマン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	なす	0.08	0.37	0.07	0.06	—	—	—	—	—	—	—	—
マメ科	だいず	—	—	—	—	—	—	—	—	25.5	16.6	9.91	5.74
	えんどう	0.33	0.07	0.08	0.01	0.03	0.70	<0.001	<0.001	—	—	—	—

表5 かぼちゃの各試料における農薬残留濃度（3か年5試験の結果）

実施年度	試験場所	農薬残留濃度 (mg/kg)							
		花粉				花蜜			
		ジノテフラン		ペルメトリン		ジノテフラン		ペルメトリン	
		処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後
2019	茨城	2.19	0.068	2.98	0.015	0.359	0.072	0.013	0.002
	高知	2.16	0.012	0.99	0.005	0.032	0.018	0.001	<0.001
	宮崎	2.67	0.038	1.26	0.014	0.610	0.025	0.095	<0.001
2020	茨城	1.83	0.045	1.26	0.006	0.012	0.059	<0.001	<0.001
2021	茨城	3.06	0.010	1.42	0.001	0.018	0.018	0.001	<0.001

### 3) 野菜類のまとめ

今回調査した各種作物における農薬の花粉・花蜜残留調査は、作物ごとで花粉あるいは花蜜の採取作業で難しさが異なり、困難であるほど作業上の農薬のコンタミを防止することが難しい。一連の試料採取作業は極力コンタミを避けるため手作業で行ったが、手法による限界があるとも言える。それらを踏まえたうえで、花粉・花蜜における農薬残留濃度は、花粉はウリ科>マメ科>ナス科となり、花蜜はウリ科>マメ科、花全体はマメ科>ウリ科となった。ウリ科の中では、かぼちゃは花が他種より大きく作業効率がよく農薬のコンタミを避けられることもあり、すいかやメロンと比べて最大残留濃度はやや抑えられたが総じて残留濃度は同程度となり、本試験における供試作物としての適性が認められる。

## 2. 果樹類

核果類のうめ・もも・すもも、仁果類のりんご、かんきつの温州みかん・日向夏・不知火を用いて検討を行った。

### 1) 花粉花蜜の採取

各樹種の花粉・花蜜採取量と、1回の採取に必要な花粉・花蜜の最大量を各2gとした時の必要な花数および樹数を表6に示した。なお、必要な樹数は、試験に供試した樹をもとに示したが、品種や仕立て、樹の大きさによって着花数は大きく異なることから、あくまで参考値であることに留意されたい。また、試料採取にかかる時間を表7に示した。

#### ① 仁果類

りんごは花粉、花蜜ともに1花あたりの採取量が少なく多量の花を必要とし、採取作業にも多くの時間を要した。また日によっては花蜜をほとんど採取できないこともあった。さらに季節的に開花時期が早いため霜害により全く採取できないこともあり、天候により影響を受けやすい樹種と考えられた。

#### ② 核果類

核果類のうち、すももは花粉量、花蜜量ともに最も少なく花粉・花蜜の農薬残留試験には不適であった。うめとももの花粉採取量は概ね同程度で、花蜜採取量は、ももはうめの2倍以上であった。採取作業時間はももの方が短く効率性は優った。

#### ③ かんきつ

かんきつのうち温州みかん、不知火では花蜜は一定量採取できたものの、花粉はほとんど採取できず、花粉の残留試験の供試樹種としては難しいと考えられる。花粉、花蜜ともに日向夏の採取量が最も多く、今回供試した樹種の中では、本試験での適性が認められた。

#### ④ 樹種別の花粉・花蜜の採取効率

各樹種の1花あたり花粉・花蜜採取量を比較すると、花粉・花蜜ともに日向夏が最も多く採取できた。

農薬残留試験に必要な花粉量を2gとした場合、日向夏は約900花を必要とするが、その他の樹種はおよそ7000花以上と多量の花が必要であった。

必要な樹数は日向夏が2樹と極めて少なかった。試験の実施にあたっては訪花昆虫を避けるために防虫ネットの展張が必要であり、樹数が多いとその作業は容易ではない。

採取にかかる時間においても、日向夏が最も短かった。

必要な花数や樹数、作業時間などから、試料採取においては、日向夏がもっとも効率

的であった。また、薬を花粉の代替試料とすることができれば、日向夏以外の樹種でも必要な花数は大幅に削減されるが、その場合でも試料採取においては、日向夏がもっとも効率的であった。

表6 果樹類の花粉・花蜜採取量、試料2g採取に必要な花数および樹数

分類	作物名	1花当り採取量(mg)			試料2g採取に必要な花数(個)			花粉・花蜜各2g採取に必要な樹数*	
		花粉	花蜜	薬	花粉	花蜜	薬	樹数	栽培条件
仁果類	りんご	0.2	1.6	—	10000	1250	—	20-30	品種:ふじ わい化栽培 樹高2.5~3.5m
核果類	もも	0.3	9.5	—	7000	211	—	10	品種:白鳳 開心自然形(主 枝3本仕立て) 樹高約2.3m
	うめ	0.2	4.2	4.3	10000	476	465	20	品種:南高 開心自然形(主 枝3本仕立て) 樹高約2.3m
	すもも	0.04	3.2	1.6	50000	625	1282	17	品種:ソルダム 開心自然形(主 枝2本仕立て) 樹高約2.3m
かんきつ	温州みかん	0.00	11.3	8.5	—	177	235	—	—
	日向夏	2.2	30.8	11.5	910	65	174	2	品種:在来種 樹高2.8m
	不知火	0.00	4.5	19.9	—	444	101	—	—

\*試験に供試した樹をもとに算出

表7 試料2g採取にかかる作業時間

分類	作物名	試料2g採取にかかる作業時間(時間)*				
		花粉	花蜜	薬	花粉+花蜜	薬+花蜜
仁果類	りんご	24.3	16.0	—	40.3	—
核果類	もも	17.1	3.5	—	20.6	—
	うめ	17.9	7.9	18.0	25.8	25.9
	すもも	60.9	9.1	17.0	70.0	26.1
かんきつ	温州みかん	—	6.7	9.3	—	16.0
	日向夏	9.5	1.3	5.8	10.8	7.1
	不知火	—	12.0	2.3	—	14.3

\*1人で作業した場合の時間

⑤ 採取可能な期間

試料として十分な量の花粉・花蜜を採取可能な期間を表 8 に示した。

農薬残留濃度の減衰の調査には一定の開花期間が必要である。開花期間はうめが最も長く 1 か月程度あるが、開花初期は開花数が少なく十分な花数が確保できないため、花粉、花蜜の採取可能な期間は実質 2 週間程度であった。一方、りんごとももの採取可能な期間は 1 週間程度と短く、天候等の影響で農薬処理のタイミングがずれると試料採取ができない危険性がある。今回供試した仁果類、核果類の開花時期は気象条件に影響を受けやすく、年次変動も大きく、的確な開花予想が難しい。一方、かんきつの日向夏では、花粉・花蜜の採取可能な期間は 2 週間程度であり、りんご、ももよりも試験可能な期間が長い。

表 8 試料として十分な量の花粉・花蜜を採取可能な期間

分類	作物名	十分量の花粉・花蜜を採取可能な期間*
仁果類	りんご	約7日間
核果類	もも	約8日間
	うめ	約14日間
	すもも	約7日間
かんきつ	温州みかん	約10日間
	日向夏	約14日間
	不知火	約10日間

\*温州みかん、不知火の花粉は採取不可

2) 花粉・花蜜残留試験

① 花の構造から見た農薬散布液暴露の状況

果樹類の花は、多くの樹種が花粉、花蜜に散布薬液が直接かかりやすい形状であったが、ももの花蜜は蜜溜まりが花糸の根元によりやや塞がれているような構造のため、薬液がかかりにくいと考えられた。

② 花粉・花蜜における農薬残留濃度の消長

各試料における農薬残留濃度を表 9 に示した。

花粉・花蜜における農薬残留濃度は、各樹種とも処理直後に最大値を示し、その後低下した。

③ 各樹種の花粉・花蜜・葯の農薬残留濃度

樹種ごとの花粉における処理直後の農薬残留濃度は、すもも、ももが高く、日向夏は

低かった。

温州みかん及び不知火では花粉を採取できなかったが、代替として葯の農薬残留濃度を調べたところ、日向夏の葯とほぼ同程度であった。

花蜜における処理直後の農薬残留濃度は、不知火のペルメトリンが他樹種に比べて高くなったが、不知火のジノテフランはさほど高い濃度を示してはおらず、ペルメトリン濃度が高い原因は判然としなかった。これを除くとうめ、すもも、りんごは高い濃度を示す傾向にあった。これは、樹種ごとに1花あたりの花蜜量が異なることが関係している可能性がある。つまり、花蜜量が多い時は残留濃度が低く、少ない時は残留濃度が高くなる傾向を示しているとも考えられる。今回の検討においては1花あたりの花蜜量はかんきつ類>核果類>仁果類となったが、花蜜量は採取時の天候によっても変化する可能性があるため、普遍的であるかは現時点では不明である。

#### ④ 花粉・花蜜・葯における農薬残留濃度

花粉・花蜜の処理直後農薬残留濃度は、野菜類と同様で、花粉は花蜜より高い濃度を示す傾向にあった。うめ、すもも、日向夏それぞれの花粉と葯を比較すると、比較的近い値を示し、葯を花粉の代替試料にできる可能性が示唆された。

表9 果樹類の各試料における農薬残留濃度

分類	作物名	農薬残留濃度 (mg/kg)											
		花粉				花蜜				葯			
		ジノテフラン		ペルメトリン		ジノテフラン		ペルメトリン		ジノテフラン		ペルメトリン	
		処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後	処理直後	3日後
仁果類	りんご	14.1	3.79	20.4	6.03	3.16	1.15	0.85	0.47	—	—	—	—
核果類	もも	68.8	22.8	32.6	8.78	0.65	0.34	0.04	0.01	—	—	—	—
	うめ	32.2	8.96	15.2	4.22	11.9	2.87	1.22	0.10	51.0	24.4	20.4	9.26
	すもも	88.4	43.0	47.1	17.3	19.0	5.41	0.57	0.05	100.2	74.2	45.4	41.0
かんきつ	温州みかん	—	—	—	—	1.15	0.67	0.10	0.00	7.58	1.07	8.21	1.20
	日向夏	8.08	0.83	15.6	0.39	0.21	0.19	0.01	0.01	6.13	1.12	7.55	0.17
	不知火	—	—	—	—	7.22	2.22	10.6	0.41	10.4	1.51	13.8	1.99

### 3) 果樹類のまとめ

野菜類において述べたとおり果樹においても作業上の困難さが農薬のコンタミ防止を難しくしており、さらに果樹類では開花期間が短いことからかなりの樹数を確保しても試料採取が困難となり、無理な採取をしなければいけない状況が起こりえる。果樹類の花粉・花蜜の農薬残留濃度は、花粉は核果類>仁果類>かんきつ類、花蜜は核果類>仁果類>かんきつ類のような傾向はあるが明確ではなく、葯は核果類>かんきつ類となっ

た。農薬の残留傾向を見ると核果類の残留濃度が高いことが示されているが、果樹類としては総じて同程度の残留濃度を示していると考えられる。なお、今回の検討では処理直後の試料採取を優先しているために開花盛期直前を狙って農薬散布を行っている。各農薬の散布時期を勘案すると、開花前散布を行った場合の残留濃度調査が必要になる場合があることを留意する必要がある。

果樹類の花粉・花蜜残留調査では、試験のしやすさも重要な要素となる。これを考慮した場合には日向夏は供試樹種として適性があると考えられる。特に葯を試料とする場合においては作業効率が高く効率性は向上すると思われる。

### 3. まとめ

農薬の蜜蜂影響評価に資する花粉・花蜜残留試験は、開花前、開花初期、開花中のいずれに農薬処理を行うのが実際には重要となる。今回の一連の検討では開花初期に処理した場合の各樹種での試験手法を検討し、樹種ごとの本試験への適性について考察した。また、樹種ごとに試料採取の方法は若干異なるが、基本的には処理後の花を採取して花粉あるいは花蜜を慎重に採取したが、作業上の農薬のコンタミを完全に防止することは手法として限界があると考え。樹種によっては葯を採取後に室内で開葯させ花粉を採取する試験が行われていると聞いており（私信）、一部その採取手法も検討したところ可能な樹種も確認されている。なお、理論的には働きバチが実圃場で採取した花粉・花蜜を分析試料とすることも可能性はあるが、実際にその手法での採取は困難であろう。

今回の一連の調査では残留濃度の傾向と試験成立の条件等を鑑みて、供試樹種として野菜類ではかぼちゃ、果樹類ではかんきつの日向夏を提案している。一方、登録の適用樹種の範囲が限られる等の理由から、樹種ごとの残留濃度の精緻化が必要なケースがあるとも考えられる。

また、今後は実際の農薬処理時期に合わせた花粉・花蜜残留試験を行い、より現実的なミツバチ暴露量の推計をすすめる必要があると考え。