

- 28) Brown, N. C., D. T. Hollinshead, R. F. Phipers and M. C. Wood: *Pyrethrum Post*, 4(2), 13 (1957).
- 29) Elliott, M.: *J. Chem. Soc.*, 1961, 888.
- 30) Crombie, L., P. Hemesley and G. Pattenden: *J. Chem. Soc. (c)*, 1969, 1024.
- 31) Goldberg, A. A., S. Head and P. Johnston: *J. Sci. Food Agric.*, 16, 43 (1965).

**The Fundamental Research to the Application of Systemic Insecticides. (IV) Residues and Half-life of Vamidothion in Spinach.** Takeo ISHIGURO (Aburahi Laboratories, Shionogi & Co. Shiga Pref.) Ichiro TOYODA (Fourth Laboratory, Basic Research Division, Aichi Agricultural Research Center, Yazako, Nagakute, Aichi) Tetsuo SAITO (Laboratory of Applied Entomology and Nematology, Faculty of Agriculture, Nagoya University, Nagoya) Received July 10, 1972. *Botyu-Kagaku*, 37, 111, 1972. (with English Summary 115).

16. 浸透殺虫剤の施用法に関する基礎的研究 IV. ホウレンソウにおける vamidothion の残留とその半減期について 石黒丈雄 (塩野義製薬株式会社, 油日ラボラトリーズ) 豊田一郎 (愛知県総合農業試験場 基礎研究部) 斎藤哲夫 (名古屋大学農学部 害虫学教室) 47. 7. 10 受理

$^{14}\text{C}$ -標識 vamidothion を用いてホウレンソウにおける残留とその半減期を求めた。

生育の盛んな時期のホウレンソウに茎葉散布し、主として、作物の肥大生長による薬物の濃度の減少についてしらべた。

クロロフォルムおよび水可溶物は散布後日数の経過によって次第に低下した。しかし、この残留量の低下は作物の肥大生長が最も強く影響を与えていると思われる。

クロロフォルム可溶物 (殺虫有効成分) の半減期は最少自乗法により直線回帰式より求め、ほぼ 11.9 日であり、同様に可溶性物質 (クロロフォルム可溶性物質および水溶性物質) のそれは 20.2 日であった。

そして、作物体中の分解消失と肥大生長による希釈の相乗効果として示される実際上の残留半減期は 5.4 日であった。

## 緒 論

有機合成農薬は病害虫に対する強力な防除効果を発揮し、農産物の増産と安定生産のため、農薬を散布する作物の範囲が拡大すると共にその使用量も急速に増大した。

しかし、有機塩素系殺虫剤や金属腐殺菌剤のように化学的に安定であり、しかも持続性の高い化合物を使用し続けると農産物はもとより、土壌、水、大気などの環境中に残留し、自然生態系の汚染をひきおこし、食物連鎖によって人間の健康にも有害であることが次第に認識されてきている。

そのため、使用される農薬は作物の保護の面より見れば安定性の高いことが望ましいが、残留性の面からは早く分解し、消失することが必要である。

しかし、作物体上の農薬残留の経時的変化を規制する要因は極めて多岐にわたり、化合物の種類、施用法、植物の種類やその生育状態、更に、光線や気温など外的因子が相互に関連し合い極めて複雑な様相を示す。

化合物のうちには、一般に、茎葉散布後、付着した場所にとどまったままであるものと植物体中に浸透移行するものがあり、前者は揮散による消失や紫外線

による光分解を受けて消失するものが多い。後者は植物組織内にとり込まれ、植物体内の酵素系により代謝分解をうける。

この外にも、生育の盛んな作物では、相対的なものであるが、肥大生長によって体内の薬物濃度の希釈も考えられる。

Gunther and Blinn (1956) は植物体における農薬の残留について詳細に調べ、種々の殺虫剤の作物体の残留は施用された殺虫剤の半減期 half life time を求めることによって予想できる。即ち、薬剤施用後、揮散、希釈、分解などの多くの要因によって作物体から消失し、最初の残留の $\frac{1}{2}$ までになるに要する時間を求めることによって農薬残留可能性の指標となると述べている。

以上のような観点より、浸透殺虫剤である vamidothion の残留性を明らかにする意味からも、ホウレンソウに  $^{14}\text{C}$ -標識 vamidothion を葉面散布し、生物学の半減期を求めた。

## 実験材料および方法

供試した  $^{14}\text{C}$ -vamidothion は石黒ら (1970)<sup>9)</sup> が用いたと同じ  $^{14}\text{CH}_2\text{OH}$  から合成した 40% 乳剤であり、

この1000倍稀釈の水溶液 ( $7 \times 10^{-2} \mu\text{Ci/g}$ ) を調製した。

供試植物としてのホウレンソウは愛知県総合農業試験場内のアイソトープガラス室内で播種育成した。播種46日後の1/5000アールワグネルポット植えのホウレンソウ (品種: 次郎丸) にポットあたり4ml (10アールあたり200l 相当量,  $0.28 \mu\text{Ci/pot}$ ) を小型手動圧力式噴霧器を用いて葉上50cmよりできるだけ均一に葉面散布した。施用後は更にアイソトープガラス室に保ち、施用当日は10g, 施用3, 6, 12および24日後はおのおの20gのホウレンソウ葉を残留量測定試料として採取した。試料は細断し、300ml容量のフラスコに入れ、これに10%含水アセトンの150mlを加えた後、激しく振とうし、これを冷蔵庫 ( $4^\circ\text{C}$ ) に3~5日間保存した。その後、浸出液を東洋沱紙 No. 2 で濾過し、残渣は少量のアセトンを更に加えて洗い出した。本操作によって得たアセトン抽出液をロータリーエバポレーターを用いて減圧下で濃縮した。濃縮液は少量の蒸留水、次いで、少量のクロロフォルムを加えて洗い出し、共栓のスピッツグラスに集めた後、激しく振とうし、2000r. p. m で5分間遠心分離し、クロロフォルム層を取り出した。その後、蒸留水と同様に行ない、クロロフォルム可溶物 (未分解物) および水可溶物 (分解物) を得た。

両可溶物はおのおのロータリーエバポレーターを用いて減圧下で濃縮し、ほぼ乾固状態にした後に2mlのクロロフォルムまたは蒸留水を加えて定容とした。本液の一定量を試料皿にとり、5% KOH-メタノール溶液を2~3滴加え、赤外線ランプ下で乾固させた。更に、2%アセトン-セメダイン溶液を少量加えて表面を被覆した後、各試料の放射能を Aloka 2 $\pi$  低バックグラウンド無窓ガスフローカウンター (LBC 型) により測定した。

#### 実験結果および考察

農薬の作物上の残留量は化合物と植物の組合せが一

定であっても種々の要因によって影響され一義的に定まらないのが普通である。

同じ植物においても品種の違いや栽培時期によって残留量は異なり、また、肥大生長の過程で施用した場合、単位重量あたりの残留量は急速に低下するものと思われる。

茎葉散布の場合、農薬の作物体に対する最初の付着量を厳密に規定することは困難であるが、農薬の残留性の指標となる半減期は作物の表皮に付着した薬剤が物理的現象の影響で濃度が半減するまでに要する期間としている (Gunther and Blinn 1956)<sup>9)</sup>。

本実験に用いたホウレンソウは第1表に示した如く、旺盛な生育を示すので肥大生長による薬物濃度の希釈について調べた。

前記の実験操作により得た放射能のカウント数を残留量として換算した結果を第1表に示した。本表に示されたクロロフォルムおよび水可溶物の放射能濃度はホウレンソウの生育状態を考えると肥大生長による影響を強く受けているものと推察できる。そこで、これらの放射能濃度をホウレンソウの生育比で割って補正した濃度を求め、第2表に示した。この数値は作物体中において加水分解、酸化などの酵素的分解を主とする消失速度を与えるものと考えた。そして、クロロフォルム可溶物の消長についてみると単調な減少過程がみられ、一方、水可溶物では散布後6日までは漸増し、以後減少する過程を示している。

また、クロロフォルムおよび水可溶物の濃度の合計したものを可溶性物質の量とすれば、これはピークのない減少過程を示す。このような現象は作物体中において可溶性物質から不溶性物質またはガスに変化して消失してゆくことを示唆するものと思われる。このような経過は散布当日を100とした指数値においても明らかである。また、クロロフォルム可溶物: 水可溶物の比についても施用後日数の経過と共に漸減し、分解の進行を示す指標となっている。

第2表に示した両可溶物の補正濃度を自然対数値に

Table 1. The growth of spinach and residue amounts of chloroform and water extractable metabolites of  $^{14}\text{C}$ -vamidothion at intervals of time after foliar spray.

Days after treatment	Growth of spinach		Residue amounts	
	Average weight per stump	Ratio of growth	Chloroform extractable metabolites	Water extractable metabolites
0	1.26g	1.00	0.887ppm	0.295ppm
3	2.00	1.59	0.519	0.216
6	2.75	2.18	0.198	0.178
12	2.92	2.31	0.129	0.119
24	5.10	4.05	0.057	0.081

Table 2. The values corrected by growth dilution of chloroform and water extractable metabolites at intervals of the time after foliar spray of <sup>14</sup>C-vamidothion.

Days after treatment	Chloroform extractable metabolites		Water extractable metabolites		Total	
	c. v.*	index	c. v.	index	c. v.	index
0	1064	100	354	100	1418	100
3	990.6	93.1	411.8	116.3	1402.4	98.9
6	518.8	48.7	464.3	131.3	983.1	69.3
12	355.7	33.4	330.3	93.3	686.0	48.4
24	275.4	25.9	392.9	110.9	668.3	47.1

\* c. v.—The values corrected by the growth dilution.

Table 3. Natural logarithms in corrected values of chloroform and water extractable metabolites of <sup>14</sup>C-vamidothion.

Days after treatment	Values of natural logarithms		
	Chloroform extracts	Water extracts	Total
0	6.970	5.869	5.257
3	6.898	6.019	7.246
6	6.232	6.141	6.891
12	5.874	5.800	6.531
24	5.618	5.974	6.505

変換すると第3表の結果が得られる。クロロフォルム可溶物の濃度対数値について最少自乗法により直線回帰式を求めると次式を得ることができる。

$$Y = 6.8483 - 0.058t \quad (t = \text{経過日数})$$

同様に、可溶性物質についてもその対数値の直線回帰式は、

$$Y = 7.1944 - 0.0342t$$

であり、おのおのの分散分析の結果は第4表に示した。

以上の結果より、これらはいずれも負の指数曲線で近似される減少過程を示し、

$$T = -0.693/\lambda \quad (\lambda = \text{減少係数})$$

によって残留半減期が計算できる。

その結果はクロロフォルム可溶物については11.9日、クロロフォルムおよび水可溶物の合計である可溶性物質については20.2日となる。

次に、残留半減期に統計的検討を加えるため次の計算を行なった。即ち、減少係数 $\lambda$ の標準偏差 $S_\lambda$ を計算する。この標準偏差 $S_\lambda$ は分散分析表の残差分散を $\Sigma d^2 (d = t - \bar{t})$ で割り、平方に開いたものであり、これによるとクロロフォルム可溶物については0.0239、可溶性物質については0.0104となり、信頼区間 $\lambda \pm tS_\lambda$ より半減期は以下の数式が成立する。

$$0.693/(\lambda - tS_\lambda) > T > 0.693/(\lambda + tS_\lambda)$$

Table 4. Analysis of variance for regression lines of concentration in chloroform extractable metabolites and extractable metabolites.

A. Chloroform extractable metabolites

Factor	Degree of freedom	Sam of squares	Variance	F-distribution
regression	1	1.2157	1.2157	5.890*
residual	3	0.6192	0.2064	—
total	4	1.8349		

\* F(0.10) = 5.54

B. Extractable metabolites

Factor	Degree of freedom	Sam of squares	Variance	F-distribution
regression	1	0.4210	0.4210	10.79**
residual	3	0.1180	0.039	
total	4	0.5390		

\*\* F(0.05) = 10.1

$t(\alpha=0.2, n=3) = 1.638$ とすると、クロロフォルム可溶物については、

$0.0971 > \lambda > 0.0189$  即ち、 $7.1 \text{日} < T < 36.6 \text{日}$  同様に、可溶性物質については、

$0.0512 > \lambda > 0.0172$  即ち、 $13.5 \text{日} < T < 40.3 \text{日}$  となる。

以上の如く、区間の推定値の中は $\alpha = 0.2$ としても非常に大きいので、本実験の測定値は残留半減期を求めるにはまだ不十分さが残っていると考えられる。しかし、作物体中の殺虫剤の消長に負の指数関数的な傾向がみられ、半減期 $T$ の計算が残留量の予測に有効であることは本実験の結果から明らかである。

そして、また、第1表より第2表への計算経過に示した如く、作物の生育による希釈の影響と作物体中の

分解消失の両者を区別する手続きも残留過程の解析に欠くことはできないものである。

もし、生育に複利性があり、指数関数で示すことができれば補正因子はその逆数で示すことができるので負の指数型となる。この場合、2倍に作物が生育する日数が肥大による薬物濃度の希釈効果を示す半減期  $T'$  となる。従って、作物中の分解消失と肥大生長による希釈の相乗効果として示される実際上の残留半減期 (有効半減期  $T''$ ) は次の数式によって計算できる。

$$1/T'' = 1/T + 1/T'$$

本実験におけるハウレンソウの生育は第1表で示した如く、約10日間で2倍となっているので、 $T' = 10$ 日と仮定すると有効半減期はほぼ5.4日と計算できる。また、その範囲は4.1日  $< T'' < 7.8$ 日である。この数値は *vamidothion* の殺虫有効成分であるクロロフォルム可溶物の肥大生長による希釈作用を含めた実際の半減期である。

以上の如く、*vamidothion* のハウレンソウへの葉面散布による本実験結果から推察すると薬剤施用により作物体上に残留する薬物濃度は作物の肥大生長による希釈が相当大きな影響を与えるものであると考えられる。

残留量の経時変化は作物の肥大生長以外にも極めて多くの因子によって影響を受け易いので、化合物の半減期については、個々の作物と化合物の組合せによってかなり調べられている。

phosphamidon (Bull *et al.* 1967)<sup>1)</sup>, Bidrin, Azodrin (Lindquist and Bull, 1967)<sup>2)</sup>, butonate (Dedek, 1968)<sup>3)</sup>, trichlorofon (Dedek, 1968)<sup>4)</sup>, methyl parathion (David and Aldridge, 1957)<sup>5)</sup>, parathion (El-Refai and Hopkins, 1966)<sup>6)</sup>, supracide (Cassidy *et al.* 1969)<sup>7)</sup>, malathion (Smith *et al.* 1969)<sup>8)</sup> など多くの殺虫剤の  $t_{1/2}$  が報告されている。

Miles (1963)<sup>9)</sup> はアルファルファ上の殺虫剤の残留が生育によって希釈を受ける割合を調べ、methoxychlor と toxaphene の理論的にみた生育希釈は最初のレベルの  $1/2$  であるが、実際はその  $1/4 \sim 1/2$  であることを報じている。また、Sloan *et al.* (1951)<sup>10)</sup> はレタス上の DDT の消失のうちで73%が生育によるものであり、残りは気象要因によると述べている。

施用法によっても残留が異なるのは当然であるが、特に、茎葉散布では散布対象とする植物への付着量も他の施用法にくらべて一般的に低く、また、施用後の茎葉からの揮散も高いので化合物の物理化学的性質や散布時の環境条件も問題となる。

Gunther and Blinn (1956)<sup>11)</sup> によれば、茎葉散布後の植物に対する残留量の減少曲線は2つの phase に

分けることができ、散布後日数の短い部分は勾配が急であり、また、減退速度が最も早く (degradation curve)、その後は、勾配が緩やかであり、植物体内における分解速度を示す (persistence curve) としている。

*vamidothion* についても同様のことがいえる。即ち、残留濃度を Y 軸に、散布後の経過日数を X 軸にとり、減退曲線を描くと2本の直線がえられた。急な勾配の直線はハウレンソウの葉の表面に付着した *vamidothion* が紫外線などの物理的因子による逸脱する過程であり、他の直線は表皮に固着している wax や oil などに溶解したり、植物組織に浸透したものが植物の呼吸作用による気孔からの揮散や酵素的分解による過程であると想像される。

一般に、有機燐化合物は動植物その他自然環境下で比較的容易に分解し、毒性の低いものに変化するところに特徴があるが、柑橘類について種々の殺虫剤の半減期を調べた結果 (Gunther 1969)<sup>12)</sup> は、分解代謝が早いと考えられた有機燐化合物も、parathion や EPN のような *p*-nitrophenol 系のもは dieldrin や *p, p'*-DDT と匹敵すべき半減期を有していると報告された事柄からも農薬の残留は化合物と作物の組合せによっては高い残留性を示す可能性のあることを示唆していることから作物体の残留には詳細な調査が必要となるであろう。

#### 参 考 文 献

- 1) Bull, D.L., D.A. Lindquist and R.R. Grabbe: *J. Econ. Entomol.*, 60, 332 (1967).
- 2) Cassidy, J.E., D.P. Ryskiewich and R.T. Murphy: *J. Agr. Food Chem.*, 17, 558 (1969).
- 3) David, W.A.L. and W.N. Aldridge: *Ann. Appl. Entomol.*, 45, 332 (1951).
- 4) Dedek, W.: *Z. Naturforsch.*, 23 B, 504 (1968).
- 5) El-Refai, A. and T.L. Hopkins: *J. Agr. Food Chem.*, 14, 588 (1966).
- 6) Gunther, A.: *Residue Reviews*, 17, 105 (1969).
- 7) Gunther, F.A. and R.C. Blinn: *Analysis of insecticides and acaricides*. Interscience publishers. Inc. New York (1956).
- 8) 石黒文雄・斎藤哲夫・豊田一郎: *防虫科学*, 36, 105 (1971).
- 9) Lindquist, D.A. and D.L. Bull: *J. Agr. Food Chem.*, 15, 267 (1967).
- 10) Miles, J.R.W.: Private communication (1963).
- 11) 宮本純之・佐藤香重: *防虫科学*, 30, 45 (1965).
- 12) Sloan, M.J., W.A. Rawlins and L.B. Norton: *J. Econ. Entomol.*, 44, 701 (1951).

- 13) Smith, G. N., B. S. Watson and F. S. Fischer: *J. Agr. Food Chem.*, 15, 127 (1967).  
 14) Stiasni, M., W. Deckers, K. Schmidt and H. Simmon: *J. Agr. Food Chem.*, 17, 1017 (1969).

### Summary

The residues and biological half-life time of vamidothion in spinach were studied.

$C^{14}$ -labeled vamidothion was sprayed on foliage of spinach seedling in a green house.

Chloroform and water extractable metabolites of vamidothion were decreased gradually with the lapse of time after treatment. It is apparent

that the decrease of residues of vamidothion was affected remarkably by dilution resulting from the plant growth.

Half-life time ( $t_{1/2}$ ) of chloroform extractable metabolites in spinach was calculated from regression line by using method of least squares and revealed about 11.9 days when only diluted by the plant growth.

However, practical half-life time which influenced by dilution resulting from the plant growth and by the degradation resulting plant metabolism was about 5.4 days by statistical observation.

## 抄 録

キクイムシの音の発生: Douglas-fir beetle の摩擦音による化学刺激の発現

Sound Production in Scolytidae: Chemostimulus of Sonic Signal by the Douglas-Fir Beetle. J. A. Rudinsky, R. R. Michael, *Science*, 175, 1386 (1971).

キクイムシは、鞘翅と後肢を摩擦して音を発する。雄の発音器官は、第七腹節の後縁にある二つの突起でこれを弦部として左の鞘翅がこれをこする。そこには、約100の歯のあるヤスリがある。

*Dendroctonus pseudotsugae* による研究では、孔の中にいる雌のフェロモンを感じた雄は、孔の入口で音を発し到着を知らせる。その時、孔の中の雌は、フェロモンによる誘引を打消してしまう。このように、音による交信と化学物質による交信の混った行動のみられるのは珍しい。従って *D. pseudotsugae* は、はじめに雌の化学物質で刺激して、それに答えて雄が音をたて、もう一度化学的交信が始まるといえる。一般に、鞘翅目の昆虫は、いろいろな場合に音をたてる。穿孔する時、身の危険を感じた時、求愛の時などがあるが、摩擦する時の速度に違いがある。採集した *D. pseudotsuga* の雄の胸を指でつまみ、コンデンサー・マイクロホンの 1cm 前において、音を録音した。交尾前の音は、雌の食入孔の入口 1cm 前においた雄の発するのを録音した。また性フェロモン生物検定用

の嗅覚通路のフェロモンによって刺激された雄の発する音も録音した。

雄の摩擦音で雌は刺激され、masking が始まる。雄はその時、単にそこにとどまり立ち去らずにいるだけで、孔を掘る動作も傾斜走向性もおこさない。誘引性ある雌の近くで雄の発した音の録音を再生しても雄の進行は、同じように止まる。しかし、雄を手でつかんで発した音の録音を再生しても masking はおこらない。

雄の摩擦音が2~3分つづくと、数分後に雌の誘引の止んだのがわかる。これは、つづいてきた雄が止まらずに立ちさることからもわかる。録音したのをかけるのを止めても、9~14分間は、masking がつづくが、突然誘引が開始される。観察した45分間に、雄は音をだしては、やめるということをくりかえした。

以上の研究から次の二点が明らかになった。

- (i) 嗅覚刺激への反応としての雄の摩擦音が雌のフェロモンの生物検定の判定に使えるが、集合誘引によるのか性誘引によるのかの違いはわからない。
- (ii) キクイムシでは、柔い摩擦音が近距離の交信に使われ、遠距離には、化学物質による交信が効力を発揮している。しかし、誘引性の制御即ちフェロモン生産、発散、masking の開始等はみな、音による伝達であり、キクイムシでは重要な手段となっているのであろう。

(高橋正三)