

2. 植物代謝に関する試験

グリホサート酸の水稻における代謝試験

(資料 No.M08)

試験機関：

報告書作成年：2002年

[GLP 対応]

供試化合物：

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|---------|-----|------|---------|
| グリホサート酸 | | | |

処理濃度： 設定最大施用量相当の 2.5 kg/ha

供試植物： 水稻（品種：きらら）

方法：

処理； 41×26.5cm の容器に Boughton 土壌を深さ約 20cm になるように入れ、処理溶液を各容器に処

理した。処理 5 日後に耕起し、さらに 7 日後に深さ 1cm になるよう湛水した。

Boughton 土壌の特性を下表に示す。

| | |
|-------------|---|
| 土壤 pH | 7.1 |
| 有機物含量 | 2.8 % w/w |
| 容水量 | 12.1 % w/w (0.33 Bar) 5.9 % w/w (15 Bar) |
| 陽イオン置換容量 | 7.9 (meq/100g) |
| 利用可能栄養物 | P (19.8) , K (98.0) , Mg (42.0) |
| 総窒素含量 | 0.143 % w/w |
| 土性区分 (USDA) | 壤質砂土／砂壤土 |
| 砂質 | 79 % w/w |
| シルト質 | 12 % w/w |
| 粘土質 | 9 % w/w |

移植； 2~3葉期（約 3 週）水稻を処理後 17 日に処理容器に移植した。水深を約 2cm に増加させ、さらに 2 日後に水深を 4~5cm にした。対照区の水稻も同様な条件下で生育させた。

試料の採取； 处理後の試料採取時期及び採取部位は以下の表に示した。

| 処理後日数〔日〕 () 内は移植後日数 | 植物の部位 |
|-------------------------|------------|
| 31 (14) | 地上部全体 |
| 47 (30) | 地上部全体 |
| 73 (56) | 穂部、茎部 |
| 122 (105) | 穀粒、穂殻、稻わら部 |

未成熟試料は、水稻茎部の田面水上約1cmの位置を切断し採取した。処理73日の試料は穂部と茎部に分別した。処理122日の成熟期試料は、穀粒全体とわら部に分別した。後日、穀粒と穂殻を分別した。採取後秤量し、分析まで冷凍保存した。

試料前処理；

抽出及び分画；

放射能の測定； 放射能は、
定した。

液体シンチレーションカウンター (LSC) で測

放射性物の同定；
フィー (TLC) のコクロマトグラフィーにより実施した。

薄層クロマトグラ

結果：

残留および植物体内的分布； 各採取部位の総残留放射能 (TRR) を以下に示す。

表 1. 水稻中の総残留放射能 (TRR)

| 処理後日数 ()内は移植後日数 | 部位 | TRR (PMG 換算量、mg/kg) | |
|---------------------|-------|---------------------|-----------|
| | | 試料の直接定量 | 抽出液と残渣の合計 |
| 31 (14) | 地上部全体 | 0.554 | 0.542 |
| 47 (30) | 地上部全体 | 0.179 | 0.172 |
| 73 (56) | 穂部 | 0.172 | 0.160 |
| | 茎部 | 0.180 | 0.160 |
| 122 (105) | 穀粒 | 0.337 | 0.343 |
| | わら部 | 0.229 | 0.205 |
| | 糊殻 | 0.357 | 0.338 |

全ての処理部位中に PMG 換算量で 0.01 mg/kg 以上の総残留放射能(TRR)が認められたので、
残留の性質についての特徴付けを行うためにさらに検討した。対照区の植物中には無視でき
る程度の残留放射能しか認められなかった。

表 2. 抽出及び非抽出画分の残留放射能量

| 処理後日数[日] ()内は 移植後日数 | 部位 | 抽出画分 | | 非抽出画分 | |
|----------------------------|-------|------|--------------------|-------|--------------------|
| | | %TRR | PMG 換算量 (mg/kg) | %TRR | PMG 換算量 (mg/kg) |
| 31 (14) | 地上部全体 | 31.6 | 0.171 | 68.4 | 0.371 |
| 47 (30) | 地上部全体 | 27.1 | 0.047 | 72.9 | 0.125 |
| 73 (56) | 穂部 | 21.3 | 0.034 | 78.7 | 0.126 |
| | 茎部 | 17.6 | 0.028 | 82.4 | 0.132 |
| 122 (105) | 穀粒 | 7.8 | 0.027 | 92.3 | 0.316 |
| | 糊殻 | 12.0 | 0.041 | 88.0 | 0.163 |
| | わら部 | 20.6 | 0.042 | 79.5 | 0.298 |

残留物質の特徴付け及び同定は、表 3 に示した。

親化合物のグリホサート酸 (PMG) は、処理後 31 日の地上部全体の水性抽出液中のみに少量検出された (3.5%TRR、0.019 mg/kg)。代謝物の

は、処理後 31 日の地上部全体

、処理後 47 日の地上部全体

、処理後 73 日の穂部

及び処理後 122 日の穀粒

に検出された。

結論： 本試験の結果、グリホサート酸（PMG）は
が判明した。

グリホサート酸を 2.5 kg a.i./ha の処理量で発芽前土壤処理すると、処理後 31 日の地上部全体中の TRR は 0.543 mg/kg であり、処理後 122 日の穀粒、糊殻及びわら部ではそれぞれ 0.342、0.339 及び 0.205 mg/kg であった。抽出液のクロマトグラフィー分析の結果は、仮に存在したとしても PMG は極めて低レベルでのみ検出されることを示した。

表3. 水稻における分析及び同定

| 試料 | TRR (ppm) | 単位 | クロマトグラフ | | 合計 |
|------|--------------|-------|---------|----|-------|
| | | | PMG | | |
| 31日 | 0.554 | %TRR | 3.5 | | 100.0 |
| | | ppm | 0.019 | | 0.542 |
| 47日 | 0.179 | %TRR | ND | | 100.0 |
| | | ppm | ND | | 0.169 |
| 73日 | 茎部 | 0.172 | %TRR | ND | 99.9 |
| | | ppm | ND | | 0.159 |
| | 穂部 | 0.180 | %TRR | ND | 99.9 |
| | | ppm | ND | | 0.161 |
| 122日 | 穀粒部 | 0.337 | %TRR | ND | 100.2 |
| | | ppm | ND | | 0.343 |
| | 糊殻部 | 0.357 | %TRR | ND | 100.1 |
| | | ppm | ND | | 0.337 |
| | わら部 | 0.229 | %TRR | ND | 100.1 |
| | | ppm | ND | | 0.205 |

ND：検出せず

表4. 非抽出分画の分析および同定（処理後 122 日における分析及び同定）

| 試料 | 単位 | 非抽出分 画総量 | |
|-----|------|-------------|--|
| 穀粒部 | %TRR | 92.3 | |
| | ppm | 0.316 | |
| 糊殻部 | %TRR | 88.0 | |
| | ppm | 0.298 | |
| わら部 | %TRR | 79.5 | |
| | ppm | 0.163 | |

標識グリホサートトリメシウム塩のトウモロコシにおける代謝試験

(資料 No.M09)

試験機関：

報告書作成年：1989年

供試化合物：

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

処理溶液の調製： 標識グリホサートトリメシウム塩を非標識グリホサートトリメシウム塩で希釈 (0.113GBq/mmol) 後、精製水に溶解させ溶液を調製した。

処理濃度： 5.13 kg/ha に相当した。

供試植物： トウモロコシ (De Kalb XL 25A)

方法：

処理； 容器に Keeton 土壤を入れ、トウモロコシ種子を播種した。播種直後に処理溶液を土壤処理した。

Keeton 土壤の特性を下表に示す。

| | |
|-------------|------------------------|
| 土壤 pH | 7.6 |
| 有機物含量 | 0.5 % w/w |
| ½容水量 | 15% |
| ECe (25°C) | 0.8 mmhos/cm |
| 陽イオン交換容量 | 9.1 meq/100 g |
| 密度 | 1.46 g/cm ² |
| 土性区分 (USDA) | 砂壤土 |
| 礫質 | 0.3 % w/w |
| 粗砂質 | 1.1 % w/w |
| 砂分質 | 66.5 % w/w |
| シルト質 | 24.9 % w/w |
| 粘土質 | 7.2 % w/w |

栽培； ポットは野外で 14 週間栽培した後、室内で 8 週間栽培した。施肥を 2 週間毎に行い、毎日水を供給した。

試料の採取； 处理後の試料採取時期及び採取部位は以下の表に示した。

| 処理後日数（日） | 植物の部位 |
|----------|---------------------|
| 33 | 茎、葉 |
| 48 | 茎、葉 |
| 154 | 茎、葉・雄穂、殻・毛、穀粒、穂軸・葉柄 |

処理後 33 日及び 48 日の未成熟植物は、土壤表面から 2 cm 上で切断し、茎と葉に分けた。
処理 154 日の成熟植物試料は、茎、葉及び雄穂、殻及び毛、穀粒、穂軸及び葉柄にそれぞれ分別した。採取後分析まで冷凍保存した。

穀粒の抽出・分画・同定；

葉の抽出・分画・同定；

放射能の測定； 放射能は、
測定した。

液体シンチレーションカウンター (LSC) で

トウモロコシの水耕栽培試験；湿らせたペーパータオル上で発芽させたトウモロコシを（室温、4日間）、1個ずつポリウレタン発砲体の栓の中に入れ、50%希釈 Miracle Gro 培養液 (Scotts Miracle-Gro 社、米国) で満たされている 100-mL ポリプロピレン瓶に移した。8 日間培養液中で生育させた後（室温）、100 mL 培養液を 2.6 ppm グリホサートトリメシウム塩処理溶液 50 mL+ 培養液 50 mL に交換して引き続き培養を行った。グリホサートトリメシウム塩溶液処理 14 日後に根を除去し、芽は LSC ならびに TLC 分析試料として用いるためにナイフで細かく刻み、残りの部位はホモジナイザー (Polytron PT 20 OD, Kinematica GMBH, Luzern, Switzerland) 中で 75 mL の水で 3 回抽出した。抽出液は遠心分離および濾過により抽出残渣から取り出し、各抽出液は LSC ならびに TLC により分析し、抽出残渣は燃焼法により LSC で分析した。

結果：

残留および植物体内の分布； LSC 分析によって測定した グリホサートトリメシウム塩を処理したトウモロコシ植物試料重量を表 1-1、組織中の総残留放射能 (TRR) を表 1-2 に示す。33 から 48 日にかけては生長初期の重量増加により 0.30 ppm から 0.10 ppm への減少が認められた。また 154 日後に見られた植物体中の残留放射能濃度の増加については、本抄録 m-80～m-83 頁に記載されている好気的土壤中運命試験ならびに Melvin らの報告(引用 1)と合わせて以下のように推察する。

1. TRR はいずれの時期においても葉の組織で最も高かった。
ほとんどの 残留物は、植物成分への同化によるものであることが明らかになった。
3. PMG は、成熟した葉で微量ながら検出されたが、いずれも検出限界である 0.01 ppm 以下であり、正確な定量はできなかった。
4. 試験開始 154 日後の植物体は乾燥過程であった。
5. 非滅菌土壤（大規模試験：砂壤土、小規模試験：壤土）に 30 ppm の グリホサートトリメシウム塩を処理した好気的土壤中運命試験（本抄録 m-80～m-83 頁）では、大規模農場では処理 5 日目に 、9 日目には 、30 日目には がそれぞれ認められ、処理 150 日以降には の発生が認められた。また小規模農場でも処理 4 日目 、9 日目 、21 日目に がそれぞれ認められた。
6. Melvin らによると、土壤あるいは水中の微生物存在下では、滅菌された土壤あるいは水中と比較すると、グリホサートは非常に速やかに CO₂ に分解されることが報告されている（引用文献）。

以上のことから、154日後に見られた植物体中残留放射能濃度の増加は、土壤中で分解されて空気中に放出された が経時的に葉から取り込まれことによる濃度上昇、あるいは植物体の乾燥による見かけ上の濃度上昇が、その要因として考えられる。

表 1-1 試料重量（1植物体当たりの平均値：g/植物*）

| 経過日数 | 部位 | 対照群 | 処理群 |
|---------------|----|-------|--------|
| 33日 | 葉 | 1.71 | 5.72 |
| | 茎 | 1.62 | 5.62 |
| | 合計 | 3.33 | 11.34 |
| 48日 | 葉 | 10.52 | 19.39 |
| | 茎 | 11.06 | 22.61 |
| | 合計 | 21.58 | 42.00 |
| 154日 (成熟期) | 葉 | 15.46 | 21.67 |
| | 茎 | 20.9 | 118.11 |
| | 殻 | 6.5 | 10.24 |
| | 穂軸 | 10.0 | 45.96 |
| | 穀粒 | 45.14 | 87.65 |
| | 合計 | 98.00 | 285.52 |

* : 試料重量結果から、1植物体当たりの平均値を申請者が算出した。

表 1-2 試料中の総残留放射能 (TRR)

| 経過日数 | 部位 | TRR ppm (PMG イオン換算量) | 分布割合 (%) |
|------|---------|-------------------------|----------|
| 33日 | 葉 | 0.38 | 62.97 |
| | 茎 | 0.23 | 37.03 |
| | 全植物体地上部 | 0.30 | 100.00 |
| 48日 | 葉 | 0.15 | 65.07 |
| | 茎 | 0.066 | 34.93 |
| | 全植物体地上部 | 0.10 | 100.00 |
| 154日 | 葉・雄穂 | 0.67 | 18.70 |
| | 茎 | 0.13 | 19.81 |
| | 殻・毛 | 0.52 | 6.84 |
| | 穂軸・葉柄 | 0.17 | 9.96 |
| | 穀粒 | 0.39 | 44.69 |
| | 全植物体地上部 | 0.27 | 100.00 |

穀粒の残留物；

表 2 穀粒中残留放射能の分布

| (単位) | 計 (回収率) |
|------------------|------------|
| %TRR | 102.4 |
| ppm ^c | 0.397 |

c: PMG 換算量。

抽出可能な葉中残留物；

非抽出性葉の残留物；

表 3 葉中残留放射能の分布

| 試料 | 単位 | 抽出 | | |
|-------|------------------|-------|-------|--|
| | | 抽出 | 非抽出 | |
| 33 日 | %TRR | 46 | 58 | |
| | ppm ^b | 0.17 | 0.22 | |
| 48 日 | %TRR | 32 | 51 | |
| | ppm | 0.047 | 0.076 | |
| 154 日 | %TRR | 63 | 37 | |
| | ppm | 0.42 | 0.25 | |

b: PMG 換算量。

葉中 PMG の分析；

葉組織中 PMG は 0.9ppb、
であった。

水耕栽培試験； 14 日後、植物から苗条を採取し、TLC 分析した。

抽出液の
TLC 分析では、水溶性残留物の少なくとも 88%が PMG であることが示唆された。

このことは、PMG が根によって容易に吸
収され、植物全体に移行したことを示す。しかし、水耕栽培の実験は短期間であったので、
代謝を十分調べられなかった。

結論：本試験の結果、グリホサート酸（PMG）は広範に代謝され、
が判明した。

グリホサートトリメシウム塩を発芽前に処理し、植物中に吸収された大部分の放射能は、
天然構成成分に組み込まれることが示された。成熟期には、
(穀粒) 及び
(葉の組織) の に組み込まれた。PMG は、0.01 ppm 以下の濃度で成熟した植
物に検出された。

一方水耕栽培試験では、PMG は グリホサートトリメシウム塩を処理したトウモロコシ植
物によって吸収されることが判明したが、14 日間の暴露で水耕栽培した植物を TLC で分
析した結果、少なくとも 88%TRR が PMG であることが認められ、
と考えられる。

また、非滅菌土壌（大規模試験：砂壌土、小規模試験：壤土）に 30 ppm の グリホサート
トリメシウム塩を処理した好気的土壌中運命試験では (Stauffer Chemical Company, Mountain View
Research Center 米国, 1985 年 : 本抄録 m-80~m-83 頁)、大規模農場では処理 5 日目に 30.9%TAR、9
日目には 41.7%TAR、30 日目には 60.5%TAR の がそれぞれ認められ、処理 150 日以降には 75%TAR
以上の の発生が認められた。また小規模農場でも処理 4 日目に 22.1%TAR、9 日目に 34.3%TAR、
21 日目に 37.2%TAR の がそれぞれ認められた。

また、Melvin らによると、土壌あるいは水中の微生物存在下では、滅菌された土壌あるいは水中と
比較すると、グリホサートは非常に速やかに に分解されることが報告されている（引用 1）。
以上のことから、 グリホサートトリメシウム塩を発芽前に処理した植物により吸収された
大部分の放射能は、土壌微生物による分解によって派生した に由来する可能性が高いと推察さ
れる。

(引用文献)

グリホサートトリメシウム塩の小麦における代謝試験

(資料 No.M10)

試験機関：

報告書作成年：1989年

[GLP 対応]

供試化合物：

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

処理溶液の調製： 下表のように調製した。

| 処理溶液 | グリホサートトリメシウム塩 | グリホサートトリメシウム塩 |
|---------------------------|---|---|
| 標識化合物 | 119.6 MBq in 4.6 mL H ₂ O | 240.2 MBq in 7.8 mL H ₂ O |
| 非標識グリホサート トリメシウム塩 | 195.9 mg | 211.8 mg |
| 界面活性剤 | 75.3 mg | 75.8 mg |
| 水 | 5.4 mL | 2.2 mL |
| 処理量 (グリホサートトリメシウム塩換算量) | 5.64 kg/ha | 7.20 kg/ha |

供試植物： 春小麦（品種；Broom 種）

方法 :

処理 ; 処理区画は、木製ケージで囲み、さらにポリエチレンシートで覆った。その区画内の 0.25 m² に処理溶液をそれぞれ茎葉処理した。処理日は、収穫前 7 日とし、収穫適期は小麦の含水量（20%以下）で決定した。試験地の土性は、砂質埴壌土であった。

試料の採取 ; 小麦は地上から 5 cm の部分で切り取った。試料は、穀粒、糊殻、わらに分別した。

抽出・分画・同定 ;

放射能の測定 ; 放射能は、測定した。

液体シンチレーションカウンター (LSC) で

結果 :

残留および植物体内の分布 ; 表 1 に残留濃度をまとめた。各部位における残留放射能は、グリホサートトリメシウム塩を散布した小麦よりも、グリホサートトリメシウム塩を散布した小麦の方が高い傾向が認められた。

表 1 試料中の総残留放射能 (TRR)

| 部位 | TRR (親化合物換算量 ; mg/kg) | |
|----|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | [¹⁴ C-PMG]グリホサートトリメシウム塩 | [¹⁴ C-TMS]グリホサートトリメシウム塩 |
| 穀粒 | 2.68 | 8.22 |
| 糊殻 | 327.5 | 363.9 |
| わら | 124.2 | 151.2 |

表2及び表3に、残留物質の特徴付けおよび同定を示した。

グリホサートトリメシウム塩を処理した場合、全ての試料に80%以上の割合で、
グリホサート酸（PMG）が検出された。また、全ての試料で
が検出された。さらに、
、穀粒では^{*}、
及び茎では^{*}が確認された。

グリホサートトリメシウム塩を処理した場合、全ての試料に75%以上の割合で、
トリメシウム（TMS）が検出された。また、
、
が確認された。

表2 グリホサートトリメシウム塩処理試料中残留物の特徴付け (%TRR)

| 試料 | | | |
|----|------|--|--|
| | PMG | | |
| 穀粒 | 90.8 | | |
| 穀殻 | 85.0 | | |
| わら | 82.6 | | |

PMG：グリホサート酸

表3 グリホサートトリメシウム塩処理試料中残留物の特徴付け (%TRR)

| 試料 | | | |
|----|------|--|--|
| | TMS | | |
| 穀粒 | 95.3 | | |
| 穀殻 | 76.2 | | |
| わら | 77.0 | | |

* : 括弧内の数字は未同定物質数

TMS：トリメシウム

結論： 小麦の収穫前7日にグリホサートトリメリウム塩を小麦に直接散布したところ、検査した全ての試料で標識物質であるグリホサート酸（PMG）あるいはトリメシウム（TMS）が75%TRR以上の高割合で検出された。

グリホサートトリメシウム塩のぶどうにおける代謝試験 (資料 No.M11)

試験機関:

報告書作成年: 1990 年

[GLP 対応]

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

処理溶液の調製: 下表のように調製した。

| 処理溶液 | グリホサートトリメシウム塩 | グリホサートトリメシウム塩 |
|-------------------------------|---------------|---------------|
| 標識化合物 | | |
| 非標識グリホサート トリメシウム塩 | 10.2630 g | 10.2616 g |
| 界面活性剤 | 2.9988 g | 2.9988 g |
| 水 | 400 mL | 400 mL |
| 処理量 (グリホサートトリメシ ウム塩換算量) | 8kg a.i. /ha | |

供試植物: ぶどう (Muller Thurgau 種)、樹齢 10 年

方法 :

処理 ; 試験区画は、木製ケージで囲み ($4.5\text{ m} \times 2.5\text{ m} \times 2.5\text{ m}$; 11.25 m^2)、ナイロンネットで覆った。処理区画はその区画内の 2.5 m^2 ($2.5\text{ m} \times 1.0\text{ m}$) とし、2種の標識化合物の処理溶液は区画別に土壌灌注処理した。

試料の採取 ; 処理日は収穫前 7 日とし、7 日間暴露後、ぶどうの幹に付着している茎からぶどうを採取した。採取後、ぶどうの果実、葉柄、葉および蔓茎を分離した。採取後分析まで冷凍保存した。

抽出・分画・放射能の測定 ;

LSC により放射能を測定した。

結果 :

被験物質処理 ; 残留放射能は、いずれの標識体、また、いずれの組織においても極めて微量が検出された。各部位での総残留放射能 (TRR) を表 1 に示す。

表 1 試料中の総残留放射能 (TRR)

| 部位 | TRR (親化合物換算量 ; mg/kg) | |
|-------|-----------------------|---------------|
| | グリホサートトリメシウム塩 | グリホサートトリメシウム塩 |
| ぶどう果実 | <0.006 | <0.003 |
| 葉柄 | <0.023 | <0.009 |
| 葉 | ≤ 0.023 | 0.031 |
| 蔓茎 | <0.023 | 0.010 |

結論 : 本試験の結果、収穫 7 日前に土壌に処理したグリホサートトリメシウム塩は、ほとんどぶどうの植物体内に吸収されなかった。

グリホサートトリメシウム塩のぶどうにおける代謝試験 (資料 No.M12)

試験機関:

報告書作成年: 1991 年

[GLP 対応]

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

供試植物: ぶどう (Chenin Blanc 種)、試験開始時樹齢 15 年

方法 :

土壤処理; 土壤処理は 2 回、各標識体について実施した。試験区画は、柵で囲み ($1\text{ m} \times 2\text{ m}; 2\text{ m}^2$)、雑草は用手的に除去した。散布 1 時間前までに土壤は加湿し、処理溶液が土壤に浸透しやすくした。さらにポリエチレンシートで木の根元を覆った。散布は早朝、ガラスフラスコに取り付けた散布装置で行い、処理溶液を散布後、容器を水でリーンスしてその液も散布した。散布後、木の根元を覆ったシートははずした。

1 回目土壤処理: 1989 年 5 月 19 日 (開花初期から中期、葉は繁茂)

2 回目土壤処理: 1989 年 8 月 25 日 (結実期、葉は繁茂)

試験を行った Visalia 土壤の特性は、pH 7.5 で砂壌土であった。

直接散布; 土壤処理とは別の木で、ぶどうの房への直接散布を標識体毎に実施した。直接散布は 2 回目の土壤処理と同時に実施した。木につき 10 房の実を選択し、20 分ごとに 3 回散布した。実以外の植物体及び土壤を汚染しないように、シートで覆った。

散布した処理溶液は次表にまとめた。

| 処理溶液 | グリホサートトリメシウム塩 | | | グリホサートトリメシウム塩 | | |
|--------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| | 土壤処理 1回目 | 土壤処理 2回目 | 直接散布 | 土壤処理 1回目 | 土壤処理 2回目 | 直接散布 |
| 放射活性 | 728.3 MBq (23.9 mL) | 696.0 MBq (46.5 mL) | 60.0 MBq (9.67 mL) | 544.6 MBq (49.8 mg) | 510.9 MBq (41.6 mL) | 57.2 MBq (4.71 mL) |
| 非標識グリホサートトリメシウム塩 | 3.3667 g | 3.3671 g | 7.11 mg (12.35 mL) | 3.3915 g | 3.3913 g | 7.18 mg (12.46 mL) |
| 界面活性剤 | 1.729 g | 1.726 g | 34.0 mg (5.67 mL) | 1.726 g | 1.726 g | 34.0 mg (5.67 mL) |
| 水 | 493.2 mL | 470.6 mL | 6.31 mL | 467.3 mL | 475.5 mL | 11.17 mL |
| 処理量 (グリホサートトリメシウム塩当量) | 8.1 kg a.i./ha | | 14.3 mg/10 房 | 7.8 kg a.i./ha | | 13.2 mg/10 房 |

(申請者注 :

)

試料の採取 ; 土壤処理の場合、ぶどうの子実は 2 年に亘って収穫した。収穫は、各ぶどうの成熟度に応じて、7 日から 10 日の期間内に採取した。採取開始時期は以下に示した。

1 年目収穫 : 1989 年 9 月 8 日開始

2 年目収穫 : 1990 年 8 月 28 日開始

直接散布の場合、散布後収穫前期間を 14 日間とし、同様に収穫した。

ぶどうは、房ごと切り取り、実および茎に分け、子実を分析対象とした。

抽出・分画・同定 ;

放射能の測定 ; 放射能は、直接または燃焼法により液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。

結果 :

残留および植物体内的分布；各散布における総残留放射能（TRR）とその特性を表1に示す。残留放射能は、土壌散布の場合、両標識体において、無処理対照区と同レベルの極めて微量しか検出されなかった為、代謝物の同定は行わなかった。

表1 各散布における総残留放射能（TRR）とその特性

| 収穫年 | 処理 | 処理溶液 | (単位) | 抽出物 | 非抽出物 | 計 (TRR) |
|--------------|----------|-----------|--------------------|----------------|----------------|----------------|
| 1989年 1年目 | 土壌 散布 | グリホサ | mg/kg ^a | 0.0050 | 0.0022 | 0.0072 |
| | | ートトリメシウム塩 | %TRR | 69.1 | 30.9 | (100) |
| | | グリホサ | mg/kg ^b | 0.0022 | 0.0007 | 0.0029 |
| | | ートトリメシウム塩 | %TRR | 75.5 | 24.5 | (100) |
| | 無処理 | | mg/kg ^c | <0.0012-0.0020 | <0.0012-0.0020 | <0.0032-0.0055 |
| | | | %TRR | 63.3 | 36.7 | (100) |
| | 直接 散布 | グリホサ | mg/kg ^a | 1.20 | 0.05 | 1.25 |
| | | ートトリメシウム塩 | %TRR | 96.4 | 3.6 | (100) |
| | | グリホサ | mg/kg ^b | 1.01 | 0.14 | 1.15 |
| | | ートトリメシウム塩 | %TRR | 87.5 | 12.5 | (100) |
| 1990年 2年目 | 土壌 散布 | グリホサ | mg/kg ^a | 0.0044 | 0.0026 | 0.0070 |
| | | ートトリメシウム塩 | %TRR | 62.6 | 37.4 | (100) |
| | | グリホサ | mg/kg ^b | 0.0008 | 0.0005 | 0.0013 |
| | | ートトリメシウム塩 | %TRR | 57.7 | 42.3 | (100) |
| | 無処理 | | mg/kg ^c | <0.0004-0.0006 | <0.0003-0.0006 | <0.0007-0.0012 |
| | | | %TRR | 50.3 | 49.7 | (100) |

直接散布の試料に関して実施した TLC による代謝物同定結果を、表2に示した。

表2 直接散布試料中の残留放射能量

| 処理溶液 | 物質名 | TRR (mg/kg) | %TRR | 残留量* (mg/kg) |
|-------------------|------|----------------|------|-----------------|
| グリホサ ートトリメシウム塩 | PMG | 1.25 | 77.1 | 0.964 |
| | AMPA | | 2.5 | 0.031 |
| グリホサ ートトリメシウム塩 | TMS | 1.15 | 83.4 | 0.959 |

結論： 土壤散布では1年目および2年目ともに、非常に低値であった。放射能残留量は、
標識体を散布した場合、1年目が0.0072 mg/kg、2年目が0.0070 mg/kg
であり、 標識体の場合、1年目が0.0029 mg/kg、2年目が0.0013 mg/kg（
であった。また、無処置対照区のぶどうからも、1年目が<0.0032-0.0055 mg/kg、2年目
が<0.0007-0.0012 mg/kg 検出された。無処置対照区のぶどう子実からも放射活性が検出されたことから、代謝され生じた 標識の
そのため、各標識体を土壤処理したぶどうから検出された残留量には、
と考えられる。
また、直接ぶどうに散布しても 標識体の場合、有意に検出された物質は、 とその
代謝物 であり、また、 標識体の場合、 であった。この結果から、グリホサ
ートトリメシウム塩が直接ぶどうに散布されたとしても、この3種類の物質のみが検出されると
考えられる。
本試験の結果、グリホサートトリメシウム塩を土壤に散布しても、ぶどう子実にはほとんど残留
しないことが示された。

グリホサートトリメシウム塩のだいすにおける代謝試験

(資料 No.M13)

試験機関：

報告書作成年：1992年

[GLP 対応]

供試化合物：

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

処理溶液の調製： 標識グリホサートトリメシウム塩を非標識グリホサートトリメシウム塩で希釈 (0.42GBq/mmol) 後、水に溶解させ処理溶液を調製した。

処理量： 8.4 kg/ha 相当

供試植物： だいす (品種；Corsoy 種)

方法：

処理； 処理区と対照区が接触しないように設置した容器に Visalia 土壌を入れ、大豆種子を播種した。播種後 2 時間以内に、各ポットに処理溶液 49.75 mL を処理した。

Visalia 土壌の特性を下表に示す。

| | |
|--------------|--------------|
| 土壤 pH | 7.8 |
| 有機物含量 | 0.8 % w/w |
| ½最大容水量* | 14% |
| ECe** (25°C) | 2.3 mmhos/cm |
| 土性区分 (USDA) | 壤土 |
| 礫質 | 0.3 % w/w |
| 砂分質 | 51.0 % w/w |
| シルト質 | 37.8 % w/w |
| 粘土質 | 11.2 % w/w |

* : 近似的に圃場容水量

** : 土壌水飽和抽出液の電気伝導度

栽培； ポットは収穫するまで室内に置いた。播種直後及び月1回施肥を行った。室温は18~42°Cであり、必要に応じて1日20時間の日照を人工照明で補った。

試料の採取； 処理後の試料採取時期及び採取部位は以下の表に示した。

| 処理後日数（日） | 植物の部位 |
|----------|--------------------|
| 31 | 未成熟植物体（茎葉飼料） |
| 97 | 緑色種子、黄色種子、 茎葉、莢 |

処理31日の試料は、土壤表面の直近部を切断し採取した。処理97日の試料は茎、莢、種子に分別した。採取後分析まで冷凍保存した。

抽出・分画・同定；

放射能の測定； 放射能は、
測定した。

液体シンチレーションカウンター（LSC）で

オートラジオグラフィー； 放射能分布を調べるために、処理後31日に1本の未成熟植物のオートラジオグラフィーを行った。

結果 :

残留および植物体内の分布 ; 31 日後の植物体全体のオートラジオグラムから、放射能の分布は植物全体にわたってかなり均一であり、また、根は処理土壌に直接接触していることから放射能の濃度は高かった。さらに、各部位における総残留放射能 (TRR) を表 1-1 ならびに 1-2 に示す。対照区の植物には、処理植物の約 10% (0.05~0.15 ppm) の ^{14}C が含まれており、の吸収によるものと考えられた。

表 1-1 処理区試料中の総残留放射能 (TRR)

| 経過日数 | 作物部位 | TRR (ppm) | 分布割合 (%) |
|------|-----------|-----------|----------|
| 31 | 茎葉飼料 | 1.76 | 100.0 |
| 97 | 茎 | 0.859 | 35.0 |
| | 莢 | 0.487 | 12.8 |
| | 黄色種子 | 1.31 | 32.6 |
| | 緑色種子 | 0.772 | 19.7 |
| | 地上部全体 (計) | 0.8537 | 100.0 |

表 1-2 対照区試料中の総残留放射能 (TRR)

| 経過日数 | 作物部位 | TRR (ppm) | 分布割合 (%) |
|------|-----------|-----------|----------|
| 31 | 茎葉飼料 | 0.145 | 100.0 |
| 97 | 茎 | 0.0732 | 18.7 |
| | 莢 | 0.0516 | 32.9 |
| | 黄色種子 | 0.105 | 23.0 |
| | 緑色種子 | 0.0665 | 25.4 |
| | 地上部全体 (計) | 0.06685 | 100.0 |

表 2 に、大豆における代謝物の特徴付けを示した。

抽出相からは、PMG (0.57~4.10%TRR)、

が同定された。

また、種子の蛋白質からは、24%TRR が検出された。一般に、大豆種子中には約 40% の蛋白が含まれている事から、計算上 29%TRR が蛋白質に取り込まれるので、計算値と良く一致していた。

結論 : 本試験の結果、グリホサート酸は広範に代謝され、
が示された。

大豆の葉面、ならびに水耕液中の根部に グリホサートを処理した植物代謝試験 (Stauffer Chemical Company, Mountain View Research Center 米国, 1986 年 : 本抄録 m-61~m-64-2 頁) では、グリホサートは大豆植物体中に吸収されるが、代謝物としては

であった。

また、Melvin らによると、土壤中の微生物存在下では滅菌土壤中と比較すると、グリホサートは非常に速やかに分解されることが報告されている（引用文献）。本試験における対照区地上部から認められている については、グリホサートトリメシウム塩が揮発性でないこと、対照区の大豆植物が処理区の土壤と接触していないこと、前述の代謝試験結果から、処理区植物体中では CO₂ の供給源となるような状態にまでグリホサートは無機化され難いことから、処理区土壤中の微生物によって グリホサートが分解され、土壤から放出した が各試験区の植物体に再吸収されていると考えられる。また、呼吸による植物体からの 放出も並行して生じていると考えられるが、本試験設計からは植物体と気体中の の往来を判断することは困難である。

(引用文献)

1. Melvin K. Rueppel, Blanche B. Brightwell, Jacob Schaefer and John T. Marvel. "Metabolism and Degradation of Glyphosate in Soil and Water", J. Agric. Food Chem., Vol. 25 No. 3, 1977

表2 大豆における代謝物の特徴付け

| 試料 | TRR (ppm) | 単位 | 水により抽出 | | 非抽出物の分析・同定 | 総回収率 |
|-----|--------------|------|--------|--|------------|-------|
| | | | PMG | | | |
| 31日 | 1.76 | %TRR | 3.30 | | | 104.7 |
| | | ppm | 0.058 | | | — |
| 97日 | 0.859 | %TRR | 0.57 | | | 95.3 |
| | | ppm | 0.005 | | | — |
| | 0.487 | %TRR | 4.10 | | | 93.6 |
| | | ppm | 0.020 | | | — |
| | 0.772 | %TRR | 2.60 | | | 99.9 |
| | | ppm | 0.020 | | | — |
| | 1.31 | %TRR | 2.60 | | | 99.9 |
| | | ppm | 0.034 | | | — |
| | 0.8537 | %TRR | 2.08 | | | 98.4 |
| | | ppm | 0.02 | | | — |

グリホサートトリメシウム塩のだいすにおける代謝試験

(資料 No.M14)

試験機関：

報告書作成年：1986年

供試化合物：

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|---|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 (グリホサート トリメシウム塩) | | | |

供試植物：だいす（品種；Corsoy 種）

方法：

1. 葉面処理試験

処理；ハイポネックスを用いて調製した水耕液で2週間栽培しただいすの本葉(中心葉)を界面活性剤の入った水で軽く拭き、マイクロピペットを用いてグリホサートトリメシウム塩保存液5μLを処理し、14日間栽培した。

試料の採取；処理0、6時間、1、2、5、7および14日後に各2本の植物を採取し、1本はオートラジオグラム作成用、もう1本は分析用とした。分析用試料は、根、茎、葉および子葉部に分けた。根部は蒸留水で洗浄した。

放射能の測定；

液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

オートラジオグラムの作成；大豆をろ紙上に広げ水分を除去し、静電気防止剤を処理した。これをX線フィルムの下に置き、オートラジオグラムを作成した。

2. 発芽前土壤処理試験

処理；500μmのふるいを通した土壤(Mountain View Research Center 内で採取したSorrento 土壤)を直径18cmのポットに入れ、だいすを播種した。これに非標識化合物で希釈調製した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

標識化合物溶液を 4.375 ポン度/エーカー噴霧処理した(申請者注: 4.9kg/ha に相当)。処理後同量の水を噴霧し、温室内で生育させた。

試料の採取; 収穫期に大豆地上部を採取し、種子、莢および茎葉部に分けた。また、土壤試料も採土器より採取し、表層から 0~2.5cm、2.5~7.5cm および 7.5~15cm の部分に分けた。

放射能の測定 ; より測定した。

3. 根部処理試験

処理 ; 発芽させた大豆苗を水耕液とガラスピーズの入ったフラスコに移植し、2週間生育後、標識化合物で希釀・調製した 標識化合物溶液 110 ml を水耕液に加えた。
処理濃度は 4.4ppm 相当とした。

試料の採取 ; 処理 9 日後に大豆を採取し、根および茎葉部に分けた。根部は、蒸留水で洗浄した。

放射能の測定 ; LSC により測定した。

代謝物の分析 ;

LSC により測定した。

結果 :

1. 葉面処理試験

残留および植物体内の分布 ; 処理量に対する割合で見た場合、処理葉の放射能は 7 日後で 80.1% に減少し、22.5% の放射能が非処理部（根、茎および他の葉部）に移行した。しかもオートラジオグラムから、その大部分が処理後新しく成長した領域、即ち、根および子葉部に移行していることが明らかであった。

表1 葉面処理後の部位別の放射能の推移（処理量に対する割合、%）

| 経過時間 | 処理葉 | 非処理葉 | 根 | 茎 | 子葉 | 合計 |
|------|--------|------|-------|------|------|--------|
| 0 時間 | 76.50 | 0.09 | 0.37 | — | — | 76.95 |
| 6 時間 | 92.80 | 2.20 | 1.30 | 3.90 | — | 100.20 |
| 1 日 | 102.60 | 2.70 | 4.20 | 4.90 | — | 114.40 |
| 2 日 | 83.80 | 5.40 | 5.80 | 8.00 | 0.08 | 103.10 |
| 5 日 | 104.00 | 3.60 | 3.60 | 2.10 | 0.04 | 113.30 |
| 7 日 | 80.10 | 7.60 | 11.20 | 3.70 | 0.20 | 102.80 |
| 14 日 | 62.60 | 5.20 | 4.30 | 2.20 | — | 74.30 |

—：検出限界以下

残留放射能中の割合で放射能の分布を見た割合、非処理葉と根部の放射能の分布は処理後 1 ～7 日においては、葉部より根部に多かったが、処理後 14 日には逆転し、根部より葉部に多く分布していた。根部における放射能の減少は水耕液へ分泌されたためと考えられる。

表2 葉面処理後の部位別の放射能の推移（残留放射能中の割合、%）

| 経過時間 | 処理葉 | 非処理葉 | 根 | 茎 | 子葉 | 水耕液 | 洗浄液 |
|------|-------|------|-------|------|------|------|------|
| 0 時間 | 99.40 | 0.11 | 0.40 | — | — | 1.70 | 0.08 |
| 6 時間 | 92.60 | 2.20 | 1.30 | 3.90 | — | 0.22 | 0.02 |
| 1 日 | 89.70 | 2.40 | 3.70 | 4.30 | — | 0.17 | 0.20 |
| 2 日 | 81.30 | 5.20 | 5.60 | 7.80 | 0.08 | 0.62 | 3.60 |
| 5 日 | 91.80 | 3.20 | 3.20 | 1.90 | 0.04 | 2.90 | 0.04 |
| 7 日 | 77.90 | 7.40 | 10.90 | 3.60 | 0.20 | 0.37 | 0.10 |
| 14 日 | 84.30 | 7.00 | 5.80 | 3.00 | — | 0.90 | 1.20 |

—：検出限界以下

2. 発芽前土壌処理試験

植物体内への吸収； 土壌処理された 標識化合物の は根部から吸収され、茎葉部を経て種子中にまで移行することが分かった。移行量の最も多かった部位は莢部 (1.4%) であった。

表3 土壌処理における放射能の植物体内への吸収移行

| 部位 | PMG 換算量としての濃度(ppm) | 処理量に対する割合(%) |
|----|--------------------|--------------|
| 種子 | 0.296 | 0.14 |
| 莢 | 3.630 | 1.4 |
| 茎葉 | 0.438 | 0.55 |

土壌中の分布； 以下の表の通り、収穫期における土壌中放射能は、ほとんどが表層から 2.5cm までの部分に局在しており、本化合物の は比較的移動し難いことが明らかであった。

表 4. 土壌処理における収穫期の土壌中放射能の分布

| ポット No | 部位 (cm) | 濃度 (ppm) |
|--------|---------|----------|
| 1 | 0~2.5 | 0.676 |
| | 2.5~7.5 | 0.321 |
| | 7.5~15 | 0.285 |
| 2 | 0~2.5 | 2.14 |
| | 2.5~7.5 | 0.028 |
| | 7.5~15 | 0.035 |
| 3 | 0~2.5 | 1.45 |
| | 2.5~7.5 | 0.206 |
| | 7.5~15 | 0.393 |
| 4 | 0~2.5 | 3.70 |
| | 2.5~7.5 | 0.268 |
| | 7.5~15 | 0.239 |

3. 根部処理試験

移行および植物体内の分布；水耕液中の 標識化合物は、根部から吸収され、植物体内に移行した。
処理 9 日目で茎葉部には処理量の 1.7%、根部には 5.6% の放射能が検出された。

表 5. 根部処理における放射能の分布(処理 9 日)

| 試料 | 処理量に対する割合(%) |
|-------|--------------|
| 根部洗浄液 | 8.0 |
| 水耕液 | 74.0 |
| 茎 葉 | 1.7 |
| 根 | 5.6 |

代謝： 茎葉部からの抽出液の TLC による分析の結果、代謝物として が同定された。しかし、
の量は茎葉部では抽出液中の であり、
た。なお、根部洗浄液および水耕液中に が検
出された

結論： 以上のように、本化合物は葉面あるいは根部から吸収され、ある程度は植物体内へ移行する。
代謝物として が存在するが、 考えられた。

グリホサートトリメシウム塩のレモン樹における代謝試験 (資料 No.M15)
試験機関:

報告書作成年: 1987 年

[GLP 対応]

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

試験植物 : レモン樹 (品種; 矮性 Lisbon 種)

方法:

処理および栽培 ; ポットに移植したレモン樹周囲の土壌表面に非標識化合物で希釀・調製した標識化合物溶液を処理した。処理量はいずれも約 0.4 g/m² (4kg/ha 相当) であった。レモン樹は処理 3 日後以降、収穫期まで室外で栽培した。

試料の採取 ; 果実は 3、75 および 136 日後に採取した。処理 3 日後については、葉も採取した。土壌は 0、3、10、75 および 136 日後に採取した。また、ポット底からの漏水についても 75、111 および 144 日後に採取した。

放射能の抽出および測定 ;

LSC により放射能を測定した。

結果：

1. グリホサートトリメシウム塩処理試験

植物体中の残留；処理3日後の果実中の親化合物換算量としての残留量は0.016 ppm、収穫期(136日後)における残留量は果皮で平均0.013 ppm、果肉で0.015 ppm、そして果汁で0.002 ppmであり、土壤から植物体への吸収移行は認められるものの、移行量は少なかった。

表1 グリホサートトリメシウム塩土壤処理におけるレモン中の残留量

| 試 料 | | 親化合物換算量としての残留濃度(ppm) | | |
|-----|----|----------------------|-------|-------|
| | | 3日 | 75日 | 136日 |
| 果実 | 果皮 | 0.016 | 0.014 | 0.013 |
| | 果肉 | | 0.009 | 0.015 |
| | 果汁 | | 0.006 | 0.002 |
| 葉 | | 0.005 | 0.054 | 0.046 |

土壤中の残留；土壤中の残留濃度は経時的に急速に減少し、収穫期には処理量の1/6～1/7に減少した。なお、漏水中には微量（処理量の2%以下）の放射能が検出されたのみであった。

表2 グリホサートトリメシウム塩処理における土壤中の残留量

| 経過日数 | 土壤(ppm) ^{a)} | 漏水(%) ^{b)} |
|------|-----------------------|---------------------|
| 0日 | 47.708 | 1.19 |
| 3日 | 32.796 | |
| 10日 | 29.397 | |
| 75日 | 17.130 | 0.08 |
| 111日 | — | |
| 136日 | 7.106 | 0.09 |
| 144日 | — | |

—：採取せず

a)：親化合物換算量としての濃度

b)：処理量に対する割合

2. グリホサートトリメシウム塩処理試験

植物体中の残留；

表3 グリホサートトリメシウム塩処理におけるレモン中の残留量

| 試 料 | | 親化合物換算量としての残留濃度(ppm) | | |
|-----|----|----------------------|-------|-------|
| | | 3日 | 75日 | 136日 |
| 果実 | 果皮 | 0.032 | 0.022 | 0.016 |
| | 果肉 | | 0.020 | 0.008 |
| | 果汁 | | 0.013 | 0.005 |
| 葉 | | 0.001 | 0.626 | 0.108 |

土壤中の残留；
した。

土壤中の残留濃度は経時的に急速に減少

表4 グリホサートトリメシウム塩処理における土壤中の残留量

| 経過日数 | 土壤(ppm) ^{a)} | 漏水(%) ^{b)} |
|------|-----------------------|---------------------|
| 0日 | 83.131 | 0.55 |
| 3日 | 49.016 | |
| 10日 | 33.019 | |
| 75日 | 5.659 | 0.12 |
| 111日 | — | |
| 136日 | 1.576 | 0.03 |
| 144日 | — | |

—：採取せず

a)：親化合物換算量としての濃度

b)：処理量に対する割合

結論： 以上のように、本化合物土壤処理におけるレモン果実中の残留濃度は低く、蓄積性は認められなかった。

グリホサートトリメシウム塩の後作物における残留試験(参考)

(資料 No.M16)

試験機関:

報告書作成年: 1987年

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

供試植物: 小麦およびかぶ

供試土壤: Keeton 土壤 土壤の特性は次表の通りである。

表1 供試土壤の特性

| 土性 | 粗砂 (%) | 微砂 (%) | 粘土 (%) | 有機物 (%) | pH | ECE ^{a)} | 1/2容水量 (%) | 仮比重 (g/cc) |
|-----|-----------|-----------|-----------|------------|-----|-------------------|---------------|---------------|
| 砂壌土 | 79.9 | 13.9 | 6.2 | 0.6 | 6.9 | 12.2 | 17.0 | 1.39 |

a) : Na+mg 当量/100g 土壌

方法:

処理および栽培; 肥料を加え、2 mm のふるいを通して Keeton 土壌に非標識化合物で希釈して調整した 標識化合物溶液を土壌当たり 6 ppm となる様に処理した。これは 6 kg/ha 処理に相当する。土壌をよく混和し、屋外に設置したポットに入れた。処理 35、90 および 370 日後にかぶおよび小麦をそれぞれ移植し、収穫期まで栽培した。散水は必要に応じて行った。

試料採取; 収穫期に、小麦の穂部および茎葉部(地上部)を採取した。穂部はさらに種子および穀粒に分けた。かぶは葉部および根部に採取した。なお、根部は蒸留水で洗浄した。土壌は処理時、作物移植時および作物採取後に採取した。

放射能の測定;

液体シンチレーションカウンター(LSC)を用いた。

代謝物の分析；

結果：

土壌中の残留； 親化合物換算量としての移植時の土壌中平均残留量は、平均濃度で見た場合、作物移植時で濃度の 84% (35 日後)、83% (90 日後) および 51% (370 日後) に減少し、さらに作物収穫時ではそれぞれ 47、55 および 34% に減少した。

表 2 土壌中の残留

| 試料 | | | 土壌中濃度 (ppm) ^{a)} | | | 処理時濃度に対する割合 (%) |
|-----|----------------------|----|---------------------------|----------|-------|-----------------|
| | | | 0~7.5cm | 7.5~15cm | 混合 | |
| 処理時 | 0 日後 | 作物 | 3.15 | — | 1.575 | 100 |
| 移植時 | 35 日後 ^{b)} | 小麦 | 2.04 | 0.45 | 1.43 | |
| | | かぶ | 2.76 | 0.566 | 1.23 | |
| | | 平均 | 2.4 | 0.508 | 1.33 | 84 |
| | 90 日後 ^{b)} | 小麦 | 1.91 | 1.73 | 1.33 | |
| | | かぶ | 1.84 | 0.534 | 1.34 | |
| | | 平均 | 1.89 | 1.13 | 1.35 | 83 |
| | 370 日後 ^{b)} | 小麦 | 1.43 | 0.23 | 0.878 | |
| | | かぶ | 1.46 | 0.0912 | 0.727 | |
| | | 平均 | 1.45 | 0.161 | 0.803 | 51 |
| 収穫時 | 35 日後 ^{b)} | 小麦 | | | 0.96 | 61 |
| | | かぶ | | | 0.52 | 33 |
| | | 平均 | | | 0.741 | 47 |
| | 90 日後 ^{b)} | 小麦 | | | 1.1 | 70 |
| | | かぶ | | | 0.64 | 41 |
| | | 平均 | | | 0.869 | 55 |
| | 370 日後 ^{b)} | 小麦 | | | 0.36 | 23 |
| | | かぶ | | | 0.71 | 45 |
| | | 平均 | | | 0.54 | 34 |

a)：親化合物換算量としての濃度

b)：処理後移植時までの土壌インキュベーション日数

[処理時濃度に対する割合は申請者が算出した]

土壌中代謝物；

他に親化合物であるグ

リホサート酸 (PMG)
トが検出された。

と思われるスポット

作物中の残留； 親化合物換算量としての作物中残留量は、最高で小麦の種子に 0.28 ppm、茎葉部に 0.51 ppm、かぶの根部に 0.03 ppm、茎葉部に 0.09 ppm が検出された。

表 3 種々処理時期における作物中の残留

| 作物 | 部位 | 総残留放射能 (ppm) ^{a)} | | | 処理量に対する割合 (%) | | |
|----|----|----------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| | | ^{b)} 35日後 | ^{b)} 90日後 | ^{b)} 370日後 | ^{b)} 35日後 | ^{b)} 90日後 | ^{b)} 370日後 |
| 小麦 | 穀殻 | 0.29 | 0.25 | 0.1 | 0.008 | 0.004 | 0.003 |
| | 種子 | 0.25 | 0.28 | 0.06 | 0.020 | 0.013 | 0.005 |
| | 茎葉 | 0.46 | 0.51 | 0.11 | 0.064 | 0.025 | 0.017 |
| かぶ | 茎葉 | 0.02 | 0.09 | 0.03 | 0.011 | 0.023 | 0.064 |
| | 根 | 0.02 | 0.03 | 0.02 | 0.016 | 0.015 | 0.026 |

a) : 親化合物換算量としての濃度

b) : 処理後移植時までの土壌インキュベーション日数

結論： 小麦、かぶを用いて後作残留を検討した。両作物共、いずれの時期においても処理量の 0.1% 以下であるが若干の残留が認められた。[申請者注：

]。

3. 土壤中動態に関する試験

(1) グリホサートトリメシウム塩を用いた自然河川水/底質土壤系における代謝試験

(資料 No.M17)

試験機関:

報告書作成年: 1999 年

[GLP 対応]

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

供試水: 以下の特性の自然水を用いた。

| 由来 | 米国カリフォルニア州サクラメント北西部河川 | |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 名称 | “Cache” | “Putah” |
| pH | 8.2 | 8.4 |
| 伝導度 | 0.30 mmhos/cm | 0.69 mmhos/cm |
| CaCO ₃ 換算のアルカリ度 | 121 mg/L | 161 mg/L |
| 有機炭素総量 | 12.7 mg/L | 2.9 mg/L |
| 不溶物総量 | 124 mg/L | 396 mg/L |
| 濁度 (NTU) | 1.75 | 2.35 |
| 硬度 | 123 mg CaCO ₃ /L | 357 mg CaCO ₃ /L |
| 総窒素含量 | 1.9 mg/L | 2.5 mg/L |
| 総リン酸含量 | 0.6 mg/L | 0.3 mg/L |
| ナトリウム含量 | 12 mg/L | 14 mg/L |
| 塩吸収率 (SAR) | 0.48 | 0.32 |
| カルシウム含量 | 20 mg/L | 59 mg/L |
| マグネシウム含量 | 17 mg/L | 50 mg/L |
| 化学的酸素要求量 | 0 mg/L O ₂ | 33.3 mg/L O ₂ |

前処理 (水): 採取した水は、0.2 mm の篩にかけた後、実験開始まで 4°Cで保管した (採取から実験開始まで約 5 週間)。

供試底質土壌：以下の特性の底質土壌を用いた。

| 由来 | 米国カリフォルニア州サクラメント北西部河川底質 | |
|------------------|-------------------------|-----------------|
| 名称 | “Cache” | “Putah” |
| 色 | 暗灰色 | 砂色/灰色 |
| pH | 8.1 | 7.5 |
| 有機質 | 0.6 % | 2.1 % |
| 土性区分 (USDA 法) * | 壤質砂土 | 微砂質壤土 |
| 砂 | 76 % | 26 % |
| シルト | 22 % | 54 % |
| 粘土 | 2 % | 20 % |
| 陽イオン交換容量 | 11.7 meq/100g | 22.0 meq/100g |
| 総窒素含量 | 0.04 % | 0.114 % |
| バイオマス (試験開始前) ** | 20.3 mg/100g 土壌 | 29.7 mg/100g 土壌 |
| バイオマス (試験終了後) ** | 15.1 mg/100g 土壌 | 13.9 mg/100g 土壌 |

* : 比重計法による測定

** : 標識化合物は添加せず、同条件で培養した結果

前処理（底質土壌）：採取した底質土壌は、2 mm の篩にかけて、植物由来あるいは石等の夾雑物を除去した。底質土壌は、実験開始まで 4°C で保管した（採取から実験開始まで約 5 週間）。

実験ユニット：Cache 湿土壌を 75.7 g (乾重量換算) および水を 120 mL、Putah 湿土壌を 58.9 g (乾重量換算) および水を 130 mL、それぞれ円筒形ガラス容器に入れた。この実験ユニットを Cache および Putah 両系ともに各 22 本準備した。両系とともに、水層は 6.0 cm、土壌層は 3.0 cm であった。

プレインキュベーション：土壌および水の入った実験ユニットをデシケーター内に入れ、室温 20±2 °C および遮光条件下で Cache 系は 20 日間、Putah 系は 19 日間、それぞれプレインキュベーションを行った。実験ユニットの容器は蒸留水および 1M NaOH 水溶液の CO₂ 捕集装置を接続し、加湿酸素を通気させた。

標識化合物の添加：標識グリホサートトリメシウム塩は純水に溶解し、濃度 0.286 mg/100 μL に調製した。全実験ユニットをデシケーターから取り出し、調製した 標識グリホサートトリメシウム塩を、3.3 ppm の濃度で (Cache 系には 0.396 mg (138.7 μL)、Putah 系には 0.429 mg (150.2 μL)) それぞれ添加した。添加後、土壌を攪拌しないように実験ユニットを緩やかに攪拌し、試験水中に分散させ、デシケーター内に戻した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

インキュベーション： 標識グリホサートトリメシウム塩を添加後、プレインキュベーションと同条件（温度 20 ± 2 °C、遮光、空気調節）下でインキュベーションを行った。排気は 1M NaOH 水溶液を通し揮発性物質を捕集した。また、プレインキュベーションおよびインキュベーション期間を通じて、定期的に酸化還元電位、pH、溶存酸素量を測定した。

試料採取： 添加直後、0.25、1、2、3、7、14、30、58 および 100 日後に、実験ユニットを 2 本ずつ採取した。各試料採取時点で、NaOH 捕集液を分析用として採取した。

水試料分析：

放射能を液体シンチレーションカウンターで測定し、また、HPLC で分析し、TLC で確認した。

底質土壌試料分析：

放射能を液体シンチレーションカウンターで測定し、また、HPLC で分析し、TLC で確認した。

非抽出残留物質の放射能測定：

液体シンチレーションカウンターにて放射能を測定した。

結果

水および土壌の状態： 表 1 に Cache 系および Putah 系の水および土壌の試験期間中の状態を示す。インキュベーション期間中の水及び土壌の状態は、非標識化合物を添加し、同条件で培養したユニットで確認した。両系ともに、処理前のプレインキュベーション期間内に水および土壌は平衡状態に達し、土壌は還元状態であることを確認した。また、試験開始前の両系のバイオマスには、活性微生物群が存在していることを確認した。

表1 水および土壤の溶存酸素濃度、酸化還元電位およびpH

| 日数 | Cache | | | | Putah | | | |
|-----|-------------|--------------|-----------------|------|-------------|--------------|-----------------|------|
| | 水の溶存酸素濃度(%) | 水の酸化還元電位(mV) | 底質土壤の酸化還元電位(mV) | 水 pH | 水の溶存酸素濃度(%) | 水の酸化還元電位(mV) | 底質土壤の酸化還元電位(mV) | 水 pH |
| -14 | 70.4 | 244 | 205 | 7.9 | 61.6 | 245 | 169.7 | 7.7 |
| -13 | 70.4 | 200 | 185 | 7.7 | 59.4 | 275 | 190 | 7.5 |
| -12 | 70.4 | 260 | 195 | 7.7 | 52.8 | 210 | 94 | 7.5 |
| -11 | 66.1 | 135 | 137 | 8.0 | 46.2 | 193 | 94 | 7.6 |
| -7 | 62.7 | 74 | 95 | 8.5 | 56.1 | 145 | -8 | 7.5 |
| -5 | 57.2 | 144 | 76 | 8.7 | 62.7 | 164 | 25 | 7.7 |
| -1 | 52.8 | 103 | 147 | 8.7 | 40.7 | 174 | -26 | 7.5 |
| 0 | 59.4 | 112 | 86 | 8.4 | 48.4 | 155 | 1 | 7.5 |
| 1 | 58.3 | 126 | 57 | 8.5 | 45.1 | 158 | 7 | 7.7 |
| 3 | 64.9 | 146 | 88 | 8.5 | 46.2 | 160 | -25 | 7.7 |
| 7 | 72.6 | 105 | 85 | 8.6 | 46.2 | 158 | -15 | 7.7 |
| 15 | 50.6 | 115 | 69 | 8.9 | 36.3 | 161 | -6 | 7.3 |
| 30 | 75.9 | 198 | 183 | 8.7 | 48.4 | 282 | 14 | 7.3 |
| 51 | 72.6 | 55 | 149 | 8.9 | 33.0 | 140 | -102 | 7.4 |
| 59 | 77.0 | 110 | 185 | 8.3 | 40.7 | 157 | -89 | 7.5 |
| 87 | 83.6 | 114 | 187 | 8.3 | 40.4 | 175 | -56 | 7.3 |
| 101 | 79.2 | 158 | 169 | 8.0 | 48.4 | 210 | -132 | 7.5 |

処理放射能の分布：表2に処理後日数に伴う物質収支を示す。処置期間を通した放射能物質の平均回収率は、Cache系で93.8%、並びにPutah系で97.7%であった。

Cache及びPutah両系の水中の分布および底質土壤の非抽出物質中の分布は、いずれも類似した動態を示した。水相における両系の放射能含量は処置後日数に伴い漸減し、処置後100日では、Cache系で5.1%、並びにPutah系で5.6%であった。

両系の顕著な違いは、土壤抽出物および捕集されたCO₂の動態であった。1M NaOH水溶液に捕集された¹⁴CO₂の集積値は、Cache系で48.0%、並びにPutah系で5.9%であった。

表2 物質収支（処理放射能に対する割合；%）

| 系 | 分画 | 処理後日数 | | | | | | | | | |
|-------|---------------------------|-------|-------|------|------|------|------|------|-------|-------|------|
| | | 0 | 0.25 | 1 | 2 | 3 | 7 | 14 | 30 | 58 | 100 |
| Cache | CO ₂ (NaOH 捕集) | 0.0 | 0.0 | 2.3 | 5.2 | 6.5 | 15.3 | 24.6 | 27.5 | 37.9 | 48.0 |
| | 水相 | 99.6 | 88.2 | 74.3 | 68.6 | 62.9 | 44.9 | 30.8 | 18.6 | 10.3 | 5.1 |
| | 土壤抽出物 | 0.50 | 7.7 | 13.4 | 16.2 | 18.9 | 21.4 | 22.5 | 27.9 | 23.9 | 23.7 |
| | アセトン抽出物 | <0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.6 | 0.7 | 0.7 |
| | 非抽出残留物 | 0.2 | 2.2 | 6.7 | 7.1 | 8.9 | 12.0 | 12.1 | 12.1 | 13.5 | 13.5 |
| | 合計 | 100.4 | 98.2 | 96.9 | 97.3 | 97.4 | 94.0 | 90.6 | 86.7 | 86.3 | 91.0 |
| Putah | CO ₂ (NaOH 捕集) | 0.0 | <0.1 | 3.8 | 0.8 | 2.2 | 2.0 | 3.9 | 5.2 | 5.7 | 5.9 |
| | 水相 | 101.5 | 92.4 | 70.8 | 77.1 | 64.2 | 61.5 | 34.3 | 21.3 | 11.7 | 5.6 |
| | 土壤抽出物 | 0.7 | 5.7 | 13.6 | 13.4 | 20.7 | 22.1 | 37.0 | 58.9 | 62.2 | 62.3 |
| | アセトン抽出物 | <0.1 | <0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.2 | 0.2 | 0.3 |
| | 非抽出残留物 | 0.5 | 2.9 | 8.4 | 6.7 | 11.0 | 11.2 | 16.7 | 15.2 | 20.3 | 16.7 |
| | 合計 | 102.7 | 101.0 | 96.7 | 98.1 | 98.2 | 97.0 | 92.2 | 100.8 | 100.1 | 91.1 |

HPLC 定量： 表3にHPLCにより定量したPMGおよび主要代謝物の変化を示す。

PMG の主要代謝物は

される。 は Cache および Putah 両系で検出された。 Cache 系において PMG の主要代謝物は CO₂(NaOH 捕集) である。 Putah 系でも PMG の主要代謝物は CO₂(NaOH 捕集) であるが、その値は 91.1% であり、 100.0% にまで達した。

表3 PMG および主要代謝物の変化（処理放射能に対する割合；%）

| 系 | 分画 | 処理後日数 | | | | | | | | | |
|-------|---------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | 0 | 0.25 | 1 | 2 | 3 | 7 | 14 | 30 | 58 | 100 |
| Cache | PMG : 水 | 98.8 | 87.3 | 72.9 | 66.7 | 60.6 | 39.7 | 22.1 | 7.8 | 1.6 | 0.8 |
| | PMG : 土壌 | 0.5 | 7.1 | 12.5 | 14.1 | 15.9 | 14.2 | 11.8 | 9.9 | 3.4 | 3.7 |
| | PMG 合計 | 99.4 | 94.4 | 85.4 | 80.7 | 76.5 | 53.9 | 33.9 | 17.7 | 5.0 | 4.5 |
| | CO ₂ (NaOH 捕集) | 0.0 | 0.0 | 2.3 | 5.2 | 6.5 | 15.3 | 24.6 | 27.5 | 37.9 | 48.0 |
| | PMG : 水 | 100.6 | 91.2 | 69.9 | 76.0 | 63.4 | 60.5 | 33.2 | 20.4 | 10.2 | 5.1 |
| Putah | PMG : 土壌 | 0.7 | 5.7 | 12.7 | 13.2 | 19.5 | 20.9 | 35.4 | 55.0 | 57.2 | 58.2 |
| | PMG 合計 | 101.3 | 96.9 | 82.6 | 89.2 | 82.9 | 81.4 | 68.7 | 75.4 | 67.5 | 63.3 |
| | CO ₂ (NaOH 捕集) | 0.0 | <0.1 | 3.8 | 0.8 | 2.2 | 2.0 | 3.9 | 5.2 | 5.7 | 5.9 |

半減期： 本試験条件下で PMG の水相中、および水・底質土壌を含む実験ユニット全体における DT₅₀ および DT₉₀ (推定値も含む) を下表に示す。DT₅₀ および DT₉₀ の算出は、一次動態、および Gustafson および Holden による一次多区画モデルを併用した方法を用いた。

| 系 | 水相 | | 水/土壌系全体 | |
|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | DT ₅₀ | DT ₉₀ | DT ₅₀ | DT ₉₀ |
| Cache | 5.3 日 | 25 日 | 7.2 日 | 45 日 |
| Putah | 9.9 日 | 64 日 | 186 日 | 619 日 * |

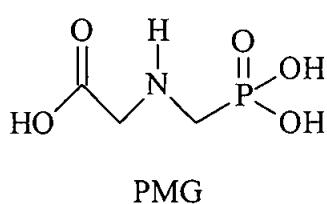
* : 試験期間を超過 (推定日数)

20°C および暗所でのインキュベート条件下で、PMG は自然水—底質土壌系の水相から土壌相に比較的迅速に移動した。DT₅₀ 値は Cache 系では 5.3 日、Putah 系では 9.9 日であった。添加後早期に水中から PMG が消失するのは、主に底質土壌へ結合したためと考えられる。PMG は土壌吸着性が高いことが判明している。水に溶解した PMG が底質土壌へ移行する速度は Cache 系と Putah 系で同程度であるが、Putah 系では底質土壌中での分解が Cache 系に比べると遅い。Putah 系底質土壌は有機物含量が高く、そのため土壌への結合が強いと考えられる。すなわち、Putah 系では土壌吸着が強いために微生物による分解が阻害され、PMG の分解時間が延長したと推察された。

以上の結果から、20°C、暗所条件下で PMG を自然水—底質土壌でインキュベートした場合、PMG はと推察された。分解速度を左右させる主要な要因としては、底質土壌の有機物含量が考えられた。

本実験から推定された自然水および底質土壌系における推定代謝経路を下図に示す。

図 1 推定代謝経路



(2) グリホサート酸を用いた好気的土壤代謝試験

(資料 No.M18)

試験機関:

報告書作成年: 1996 年

[GLP 対応]

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|---------|-----|------|---------|
| グリホサート酸 | | | |

供試土壤: 供試土壤は、1994 年 5 月 12 日に ZENECA の Western Regional Technical Center (カリフォルニア州、Visalia) で採取した。特性は、以下に示す通りである。

| 分類 (USDA) | 砂壤土 |
|-----------------------|---------------|
| 砂 | 71.2 % |
| シルト | 20.0 % |
| 粘土 | 8.8 % |
| 有機質 | 0.60 % |
| pH (H ₂ O) | 8.3 |
| 塩基置換容量 | 6.14 meq/100g |
| 容水量 (0.33bar) | 11.92 % |
| 比重 | 1.46 |

土壤への添加: 乾燥重量 50g の土壤試料に検体水溶液を添加して、検体濃度を 4.74 ppm とした。これは 4.48kg/ha に相当する。

土壤インキュベーション: 土壤を収容したフラスコに、揮発性有機化合物捕集用のフォームプラグ及び二酸化炭素捕集用の 10% KOH 溶液を入れたトラップを取り付けた。土壤インキュベーションは遮光条件下 24.9°C で実施した。土壤フラスコ中水分は、1/3 バール下容水量の 75% に調整した。尚、微生物代謝により酸素が消費される為、僅かに酸素を加圧して好気条件に維持した。

試料採取: 添加直後、0、1、2、3、4、8、11、14、18、24 及び 31 日目に、各土壤試料を採取した。各サンプリング時点で、フォームプラグのジクロロメタン抽出液の一部、10% KOH 溶液、土壤のリン酸塩緩衝液(約 pH 2)による抽出液及び残渣の土壤について、放射能を測定した。

分析：

射能の LSC 測定により行った。

放

結果：

物質収支および代謝物の変化を下表に示す。

物質収支；総放射能回収率は、14 日目を除いて添加量の 90%以上であった。僅かな損失は、揮発性 CO₂の漏出によるものであった。回収率は全試料について、処理放射能量の平均 93.1%であった。土壌抽出放射能は、0 日目の 94.8%から、31 日目の 22.8%に減少した。

8 日目に
は、非抽出性放射能は 7.5%に達し、試験終了時点までに 5.9%に減少した。処理放射能の大部分
は、10%KOH 溶液に捕集されたとして回収された。は、24 日目で処理量の最大 %
に達した。

物質収支および代謝物の変化 (表中の数値は、処理量に対する割合、%)

| 経過 日数 | 抽出液中放射能および代謝分解生成物 | | | 総回 収率 |
|----------|-------------------|------|--|----------|
| | 抽出液中放射能 | PMG | | |
| 0 | 94.8 | 93.0 | | 96.8 |
| 1 | 61.9 | 50.0 | | 92.5 |
| 2 | 46.1 | 26.7 | | 90.5 |
| 3 | 43.4 | 21.2 | | 91.7 |
| 4 | 38.7 | 14.7 | | 95.6 |
| 8 | 31.0 | 7.2 | | 93.6 |
| 11 | 34.7 | 9.2 | | 96.1 |
| 14 | 28.0 | 5.9 | | 85.8 |
| 18 | 22.8 | 2.0 | | 93.2 |
| 24 | 24.6 | 1.8 | | 96.4 |
| 31 | 22.8 | 1.3 | | 93.0 |

グリホサート酸の半減期；-グリホサート酸は、砂壌土中において微生物的過程の結果として急速に分解した。分解速度を、土壤抽出液から HPLC によって検出した PMG の対処理量%に基づいて計算した。算出された砂壌土中におけるグリホサート酸の半減期は、擬似一次カイネティクスを用いて 5.4 日であった。

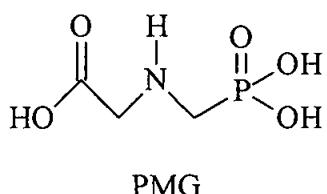
結論： グリホサート酸の好気的土壤代謝試験を 31 日間にわたって実施した。

物質収支は、14 日目の試料採取時期を除いて、平均 90~100% であった。

グリホサート酸の好気的条件下での半減期は、5.4 日であった。

推定代謝経路を以下に示す。

図1 推定代謝経路



(3) グリホサートトリメシウム塩の好気的土壤における代謝・分解試験 (資料 No.M19)
試験機関:

報告書作成年: 1985年

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサー トトリメシウム塩 | | | |

供試土壤: Sorrento 土壤 (カリフォルニア州)

供試した土壤の特性は次表に示した。

表 1. 供試土壤の特性

| 試験区 | 土性 (USDA) | 粗砂 (%) | 微砂 (%) | 粘土 (%) | 有機物 (%) | pH | CEC ^a) | ½最大容 水量(%) | 仮比重 (g/cc) |
|-------|--------------|-----------|-----------|-----------|------------|-----|--------------------|---------------|---------------|
| 大規模試験 | 砂壌土 | 55.2 | 31.0 | 13.8 | 3.1 | 6.8 | 17.4 | 20 | 1.27 |
| 小規模試験 | 壤土 | 50.8 | 31.0 | 18.4 | 2.0 | 7.0 | 15.4 | 16 | 1.25 |

a) Na⁺ mg 当量/100g 土壤

方法:

1. 大規模試験

処理: 風乾し、3mm のふるいを通した土壤 203.4g をフラスコに入れ、これに 標識化合物を非標識化合物で希釈して調整した溶液 6mg/10ml を土壤表面全体に均一に処理した。処理濃度は約 30ppm とした (土壤湿度は圃場容水量をもとに調整した)。

処理後、揮散性 ¹⁴C 捕集のため、フラスコの首の部分にポリウレタンフォームを詰め、トラップの部分に 5%NaOH 水溶液を加え、遮光条件で 23°C の恒温槽でインキュベートした。フラスコには一定流量の酸素を通気した。

試料採取; 処理 2、5、9、16、23、30、43、58、93、150、219、268、310、および 376 日後に土壤を取り出し、分析に供した。

放射能の抽出および測定;

放射能の測定には液体シンチレーションカウンターを用いた。

2. 小規模試験

処理；風乾し、0.2mm のふるいを通した土壌 50g をフラスコに入れ、CO₂ トランプ用 KOH 捕集液を接続した。これに 標識化合物で希釈し調製した ¹⁴C 標識化合物溶液を 30ppm の濃度になるように処理し、酸素通気下に昼間 26.7°C、夜間 18°C でインキュベートした。なお、揮散性 ¹⁴CO₂ 捕集のため、10%KOH を入れた細管をフラスコ内に設置した。

試料の採取；処理 0、4、9 および 21 日後にフラスコを取り出し、分析に供した。

放射能の抽出および測定；

代謝物の分析；

結果：

1. 大規模試験

画分中の放射能は経時的に減少し(0 日後 57.6%、150 日後 6.9%)、それとともに CO₂ の発生量が増加した(0 日後検出限界以下、150 日後 75%)。CO₂ 以外に揮散性の成分は認められなかつた。

PMG の土壌中半減期は 2~3 日以内と算出された。

非抽出画分中の放射能は経時的に減少しており、
とが分かつた。

こ

表 2. 大規模試験における物質収支

| 経過日数 (日) | 処理量に対する割合(%) | | | |
|-------------|-----------------------|------|-------------------------------|-------|
| | NH ₄ OH 抽出 | 非抽出 | CO ₂ ^{a)} | 合計 |
| 0 | 57.6 | 40.3 | | 97.8 |
| 5 | 37.2 | 28.7 | 30.9 | 96.8 |
| 9 | 30.2 | 18.9 | 41.7 | 90.8 |
| 30 | 14.0 | 18.2 | 60.5 | 92.2 |
| 76 | 7.8 | 17.9 | 70.0 | 95.7 |
| 150 | 6.9 | 20.0 | 75.0 | 101.9 |
| 310 | — | 17.4 | 82.0 | 99.1 |
| 344 | — | 16.4 | 82.0 | 98.4 |
| 376 | — | 16.6 | 83.1 | 99.3 |

— : 検出限界以下

a) : 累積値

[本表は報告書中の値から申請者が平均値を算出し掲載した]

2. 小規模試験

大規模試験と同様に、小規模試験においても
にともなって　　の発生量が増加した。

表 3. 小規模試験における物質収支

| 経過日数 (日) | 処理量に対する割合(%) | | | |
|-------------|--------------|--|------|------|
| | 抽 出 | | | 合 計 |
| 0 | 80.8 | | | 98.1 |
| 4 | 50.8 | | 22.1 | 99.9 |
| 9 | 28.8 | | 34.3 | 91.6 |
| 21 | 27.3 | | 37.2 | 96.0 |

PMG の半減期は約 3 日であった。

表 4. 抽出画分中放射能の TLC による分析

| 代謝物 | 処理量に対する割合(%) | | | |
|-----|--------------|-------------|-------------|------------|
| | 0 日 | 4 日 | 9 日 | 21 日 |
| PMG | 78.0 (96.5) | 40.6 (79.9) | 16.8 (58.3) | 8.2 (30.1) |
| 合計 | 80.8 (100) | 50.8 (100) | 28.8 (100) | 27.2 (100) |

カッコ内は抽出画分中の割合 [申請者が算出した]

結論 : 本化合物の _____ は 最終的には
を生成すると考えられた。

(4) グリホサートトリメシウム塩の嫌気的土壤における代謝・分解試験 (資料 No.M20)
試験機関:

報告書作成年: 1987年

供試化合物:

| 略称 | 構造式 | 比放射能 | 放射化学的純度 |
|-------------------|-----|------|---------|
| グリホサート トリメシウム塩 | | | |

供試土壤: Sorrento 土壤 (カリフォルニア州)

用いた土壤の特性は次表の通りである。

表 1. 供試土壤の特性

| 土性 (USDA) | 粗砂(%) | 微砂(%) | 粘土(%) | 有機物 (%) | pH | CEC ^a) | 1/2圃場容 水量(%) | 仮比重 (g/cc) |
|--------------|-------|-------|-------|------------|-----|--------------------|-----------------|---------------|
| 砂壤土 | 53.2 | 34.4 | 12.4 | 2.2 | 6.9 | 17.6 | 21 | 1.43 |

a) Na+ mg 当量/100g 土壤

方法:

処理; 風乾し 2 mm のふるいを通した土壤 200g をバイオメータフラスコに入れ、¹⁴C 標識化合物を非標識化合物で希釈して調製した溶液を、処理濃度が土壤当たり 30 ppm となるように土壤表面全体に均一に処理した (土壤湿度は圃場容水量の 75% に調整)。処理後、揮散性 ¹⁴C 捕集のため、フラスコの首の部分にポリウレタンフォームを詰め、トラップの部分に 1N NaOH 水溶液を加え、遮光した 23°C の恒温槽でインキュベートした。フラスコには最初の 3 日間、一定流量の酸素を通気し好気的条件でインキュベートした後、フラスコに水を加え、さらに窒素を通気して嫌気条件とし、66 日までインキュベートした。

試料の採取; 処理 0、3、33 および 66 日後にフラスコを取り出し、分析に供した。33 および 66 日後の試料は、遠心により水と土壤に分けた。

放射能の抽出および測定；

水は、土壌抽出液は
液体シンチレーションカウンターで (LSC) 放射能を測定した。ポリウレタンフォームにトラップされた放射能は LSC で測定した。
CO₂ はにより測定した。

代謝物の分析；

結果：

物質収支； 抽出画分中の放射能は経時的に減少 (0 日後で処理量の 67%、3 日後で 38%、66 日後で 16%) し、それに伴って CO₂ の発生量が増加した (66 日後で 43%)。

表 2. 物質収支

| 画分 | 処理量に対する割合(%)および親化合物換算量としての残量濃度(ppm a)) | | | | | | | |
|------------------------|--|-------|------------|-------|--------------|-------|--------------|-------|
| | 0 日 | | 3 日 (0 日*) | | 33 日 (30 日*) | | 66 日 (63 日*) | |
| | % | ppm | % | ppm | % | ppm | % | ppm |
| NH ₄ OH 抽出液 | 66.70 | 18.60 | 37.78 | 10.54 | 15.82 | 4.41 | 16.02 | 4.47 |
| | | | | | | | | |
| CO ₂ | — | — | 23.86 | 6.65 | 39.53 | 11.02 | 43.21 | 12.05 |
| 水相 | — | — | — | — | 2.72 | 0.76 | 2.45 | 0.68 |
| 合計 | 100.0 | 27.89 | 91.47 | 25.51 | 88.06 | 24.56 | 85.27 | 23.78 |

a) : 乾土重量当たりの親化合物換算量の濃度、 * : () 内は嫌気的条件下での培養日数

— : 検出限界以下

土壌中の代謝物；

PMG の半減期は 3 日で
あった。

表 3. NH₄OH 抽出画分中放射能の TLC による分析

| 代謝物 | 処理量に対する割合 (%) | | | |
|-----|---------------|------------|--------------|--------------|
| | 0 日 | 3 日 (0 日*) | 33 日 (30 日*) | 66 日 (63 日*) |
| PMG | 65.81 | 37.34 | 15.26 | 15.97 |
| | | | | |
| 合計 | 66.70 | 37.78 | 15.82 | 16.02 |

- : 検出限界以下

* : () 内は嫌気的条件下での培養日数

水相中の代謝物も土壤と同様であり、代謝物として _____ が同定された。

表 4. 水相中放射能の TLC による分析

| 代謝物 | 処理量に対する割合(%) | |
|-----|--------------|--------------|
| | 33 日 (30 日*) | 66 日 (63 日*) |
| PMG | 1.73 | 1.38 |
| | | |
| 合計 | 2.72 | 2.45 |

- : 検出限界以下

* : () 内は嫌気的条件下での培養日数

結論 : 以上のように、本化合物は本試験における嫌気的条件土壤においても代謝され、好気的条件と同様、最終的には CO₂ を生成する。尚、嫌気的条件下での半減期は 3 日であった。

(5) グリホサートトリメシウム塩を用いた土壤処理における光分解試験

(資料 No.M21)

試験機関：

報告書作成年：1983年

検体純度：非標識グリホサートトリメシウム塩 95.7%

供試土壤：Felton 土壤（カリフォルニア州）

用いた土壤の特性は次表の通りである。

表 1. 供試土壤の特性

| 土性 (USDA) | 粗砂(%) | | | 微砂 (%) | 粘土 (%) | 有機物 (%) | pH | CEC ^a (meq/100g) | 1/2最大容 水量(%) |
|--------------|---------------|---------------|----------------|-----------|-----------|------------|-----|--------------------------------|-----------------|
| | 1.0～ 2.0mm | 1.0～ 0.5mm | 0.5～ 0.05mm | | | | | | |
| 壤質砂土 | 0.1 | 16.0 | 72.0 | 6.8 | 5.1 | 2.6 | 5.4 | 10.9 | 15 |

a) : Na⁺ mg 当量/100g 土壤

方法：

処理； 500 μm のふるいを通した土壤をシャーレに各々5gずつ入れ乾燥させた。これに本化合物水溶液を、土壤中濃度が 30 ppm になるように土壤表面に均一に噴霧した。光照射時間は、太陽光に暴露した総時間として表わし、各光照射時間について 4 つの光照射時間および 4 つの暗所対照試料を設けた。日中、光照射試料は戸外で太陽光に暴露し、暗所対照試料はアルミ箔で覆った。夜間はいずれも覆いをして-20°Cで凍結保存した。

試料の採取； 処理後、総光照射時間 0、6、12、18、36、48、96、144 および 192 時間の各時期に、光照射試料および暗所対照試料を採取し、カルボキシメチルアミノメチルホスホナートイオン(PMG) の分析用、はトリメチルスルホニウムイオン (TMS) の分析用とした。

分析：

結果：土壌中の PMG

の分析結果を表 2 に示す。

表 2. 土壌中 PMG の経時的推移

| 光照射時間 (時間) | 光照射試料 | | 暗所対照試料 | |
|---------------|------------|--|------------|--|
| | PMG (%) a) | | PMG (%) a) | |
| 0 | 98.8 | | 93.2 | |
| 6 | 92.8 | | 93.2 | |
| 12 | 92.0 | | 93.2 c) | |
| 18 | 83.1 | | 85.3 | |
| 36 | 74.9 | | 91.6 | |
| 48 | 75.9 | | 91.1 | |
| 96 | 64.3 | | 87.0 c) | |
| 144 | 62.6 | | 89.4 | |
| 192 | 59.7 | | 84.1 | |

a) : 処理濃度に対する割合

c) : 数値は 1 試料の値、他の数値は 2 試料の平均値

光照射群では、土壌中の PMG 濃度は経時的に減少し、
一方暗所対照群ではこのような PMG の減少はみられず、
が認められた。一
であった。光照射による PMG の減少には二相性がみられ、0~約 60 時間まではやや急速に減少（半減
期 92.6 時間）し、その後は緩慢な速度となった。このことは、最初の相では土壌表面で本化合物の
分解がおこり、次の相では土壌粒子上あるいは粒子中に吸着され保護された化合物の分解がおこる
ためと考えられる。

土壌中の TMS の分析結果を表 3 に示した。

表 3. 土壌中 TMS の経時的推移

| 光照射時間 (時間) | TMS (%) ^{a)} | |
|---------------|-----------------------|---------|
| | 光照射試料 | 暗所対照試料 |
| 0 | 69.9 | 64.0 |
| 6 | 63.5 | 61.2 |
| 12 | 67.2 | 65.1 |
| 18 | 66.7 | 62.4 |
| 36 | 64.5 | 69.4 |
| 48 | 62.9 | 54.8 |
| 96 | 77.4 b) | 82.8 b) |
| 144 | 50.5 b) | 47.3 b) |
| 192 | 63.5 | 56.5 |

a) : 処理濃度に対する割合

b) : 数値は 1 試料の値、他の数値は 2 試料の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社にある。

TMS は、いずれの光照射時間においても、光照射群および暗所対照群で差はなく、TMS は土壌処理直後から光により全く分解されなかった。尚、照射区、暗所対照区で 0 時間における TMS% がそ
各々 69.9%、64% であるが、加水分解によるものと考えられる。

結論 : 以上のように、本化合物の光分解試験において、PMG は、光によって分解され
た。一方、TMS の光による分解は認められなかった。