

マンネブの毒性試験の概要

クミアイ化学工業株式会社研究開発部登録課
東京有機化学工業株式会社農薬技術センター

薬剤の概要

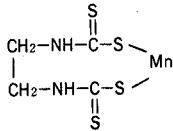
マンネブは米国のデュポン社およびローム・アンド・ハース社により開発されたジチオカーバメート系殺菌剤で、果樹、野菜、豆類、花きなどの多種の病害防除に安定した効果を有することから、世界的に広く使用されている。日本では柑橘を中心とした果樹およびばれいしょなどに不可欠な農薬として利用されている。

本剤の化学構造および物理化学的性質は以下に示すとおりである。

一般名：マンネブ (maneb)

化学名：manganese ethylenebis (dithiocarbamate)

構造式：



分子式：C₄H₆MnN₂S₄

分子量：265.3

外 観：淡黄色粉末

比 重：1.92

分解点：130℃

溶解度：有機溶媒、水に不溶

安定性：強酸、強アルカリ、熱により分解する。酸分解により二硫化炭素、エチレンジアミンを発生する。

解放状態で空气中に放置した場合、発熱反応を伴い分解する。

急性毒性試験

マンネブ原体およびその製剤の急性毒性試験結果の概要を以下に示す。

検 体	動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)		試験機関 (報告書作成年)
			雄	雌	
原 体	ラット	経 口	7,950	8,780	千葉大学 (1974年)
		皮 下	204	244	
		腹腔内	434	390	
	マウス	経 口	6,950	9,450	
		皮 下	167	173	
		腹腔内	535	328	
ラット	経 皮	>5,000	>5,000	静岡薬科大学 (1977年)	
ラット	吸 入	LC ₅₀ >3.83mg/ℓ	LC ₅₀ >3.83mg/ℓ	Gewerbe Hygiene und Toxikologie (1979年)	
75%水和剤	ラット	経 口	>5,000	>5,000	新日本科学 (1988年)
		経 皮	>5,000	>5,000	慶応大学、日本実験医学研究所 (1982年)
	マウス	経 口	>5,000	>5,000	新日本科学 (1988年)

刺激性試験

眼一次刺激性試験

マンネブ75%水和剤の眼に対する一次刺激性試験をニュージーランドホワイト系ウサギ (雄) を用いて実施した。検体0.1gを下眼瞼の粘膜面に投与し角膜、虹

彩および結膜にみられた刺激性変化を8日間、毎日観察した。動物数は洗浄群3匹、非洗浄群6匹とした。

その結果、非洗浄群の1例に24時間後、び慢性角膜混濁が認められたほかは、両試験群とも角膜、虹彩に刺激性変化はみられなかった。

結膜では非洗浄群で発赤や浮腫が24時間後に全例でみられ、び慢性充血や眼瞼の外反を伴った腫脹が陽性

反応として発現したが、48時間後では消失し、6日後にはすべての反応が消失した。一方、洗浄群では発赤や浮腫が全例にみられたがそれぞれ2日後および8日後にすべて消失した。

以上の結果から、マンネブ水和剤は眼に対して刺激性を有すると考えられた。

(化学品検査協会、化学品安全センター日田研究所 1985年)

亜急性毒性試験

1. ddy-S系マウス3か月亜急性毒性試験

1群雌雄各30匹のマウスを用い、マンネブを0、100、250、500、1250および5000ppm含有する飼料を13週間摂食させた。

その結果、検体投与による影響として高用量群での高総コレステロール血症、高ビリルビン血症の傾向がみられ、特に1250ppm以上の群で甲状腺の小胞内コロイド増加、小胞上皮腫大変性などの組織学的変化を示し、最大無作用量は500ppm (雄86mg/kg/day、雌97mg/kg/day) と判断された。(東邦大学 1974年)

2. ウィスター系ラット3か月亜急性毒性試験

1群雌雄各30匹のラットを用い、マンネブを0、100、250、1250および5000ppm含有する飼料を13週間摂食させた。

その結果、5000ppm群の雌で立毛、食欲不振、行動緩慢がみられ投与終了時の死亡率は80%であった。また、5000ppm群の雌雄、1250ppm群の雌では体重増加抑制がみられ、5000ppm群では雌雄とも摂餌量の軽度な減少と食餌効率の著しい低下も認めた。臓器重量検査では、雌雄とも1250ppm群および/またはそれ以上の群で甲状腺や肝重量の増加がみられ、相対重量で見ると250ppm以上の群でいくつかの臓器に有意な増加を認めた。肉眼的病理検査では、5000ppm群の雌雄全例に甲状腺腫大を認め、組織学的には250ppm以上の群で腎の尿細管上皮変性や甲状腺の小胞内コロイド増加を認めた。

以上のことから、最大無作用量は100ppm(雄11mg/kg/day、雌13mg/kg/day)と判断された。

(東邦大学 1974年)

3. マウス3か月亜急性毒性試験

1群雌雄25匹のマウスを用い、マンネブを0、100、

250、500、1250および5000ppm含有する飼料を13週間摂食させた。

その結果、5000ppm群の雄の体重増加抑制と摂餌量の減少以外、検体投与によると考えられる変化は認められず最大無作用量は1250ppm(雄261mg/kg/day、雌329mg/kg/day)と判断された。

(Industrial Bio-Test Laboratories, Inc. 1974年)

4. ラット3か月亜急性毒性試験

1群雌雄各15匹(但し、対照群と最高用量群は各30匹)のラットを用い、マンネブを0、100、250、500、1250および5000ppm含有する飼料を13週間摂食させた。

その結果、5000ppm群では雌雄とも瘦衰や後肢の麻痺がみられ、投与終了時の死亡率はそれぞれ雄で50%、雌で87%に達した。また、体重増加抑制が雌では500ppm以上、雌では1250ppm以上の群でそれぞれみられ、摂餌量も5000ppm群で雌雄とも有意な低下を示した。甲状腺重量は5000ppm群で雌雄とも有意な高値を示したが、肉眼的病理変化は認めなかった。一方、組織学的所見としては1250ppm以上の群で甲状腺の胞上皮の肥大および過形成や濾胞内コロイドの減少など、および下垂体の腺前部における好塩基性細胞の巣状または多巣状増殖などがみられた。

以上のことから、最大無作用量は250ppm(雄19.5mg/kg/day、雌21.6mg/kg/day)と判断された。

(Industrial Bio-Test Laboratories, Inc. 1975年)

5. ウィスター系ラット1か月亜急性吸入毒性試験

1群雌雄各10匹のラットを用い、マンネブを0、1、10および100mg/m³の設定濃度で1日4時間、週6日間で30日間、全身暴露を行った。

その結果、100mg/m³群では雌雄とも一般状態に異常を認めた(雄で鼻出血、流涎、閉眼、眼出血、呼吸困難、雌は軽度で鼻先、眼周囲の汚れ程度)ほか、体重増加抑制や雄のみ摂餌量の減少なども認めた。血液学的検査では100mg/m³群で白血球数、血小板数の減少が雄のみ認められ、血清生化学検査では100mg/m³群の雌雄でグロブリン量などの低下を認めた。肉眼的病理検査の結果、100mg/m³群の雌雄で胸腺の縮小を認めたが、組織学検査を含め、その他検体投与に起因する変化はみられなかった。

以上のことから、最大無作用量は10mg/m³と判断された。

(野村総合研究所 1979年)

慢性毒性および発がん性試験

1. ddN系マウス21か月慢性毒性試験

1群雌雄各25匹のマウスを用い、マンネブを0、25、250、1250および2500ppm含有する飼料を21か月間摂取させた。

その結果、2500ppm群の雌で体重増加抑制がみられ、1250ppm以上の群で雌雄とも甲状腺重量の増加が、また、組織学的には高濃度群の雌で肝細胞腫大や結節状病変の形成が高頻度に、甲状腺の濾胞の大型化が1例、それぞれ認められた。

以上から最大無作用量は250ppm(雄43.8mg/kg/day、雌42.4mg/kg/day)と判断された。

(千葉大学 1978年)

2. SD系ラット24か月慢性毒性試験

1群雌雄各25匹のラットを用い、マンネブを0、25、250、1250および2500ppm含有する飼料を24か月間にわたって摂取させた。

その結果、1250ppm以上の群の雌雄で体重増加抑制が認められ、2500ppm群の雄で摂餌量の低下が、1250ppm以上の群の雌雄で食餌効率の低下がそれぞれみられた。臓器重量検査では1250ppm以上の群で雌雄とも甲状腺重量が増加し、組織学的所見として2500ppm群では甲状腺腫と癌腫の発生が、また、1250ppm群では腺腫様甲状腺腫の発生がそれぞれみられた。

以上のことから、最大無作用量は250ppm(雄9.8mg/kg/day、雌11.6mg/kg/day)と判断された。

(千葉大学 1978年)

繁殖および催奇形性試験

1. ウィスター系ラット繁殖・催奇形性試験

1群雄20匹、雌40匹のラットを用い、マンネブを0、100、250、および1250ppm含有する飼料を2世代にわたって摂取させた。次世代への継続は各交配毎に第2産仔を用い、各世代の一部の胎仔についての催奇形性試験を含め繁殖性に及ぼす影響を検討した。

その結果、繁殖性については1250ppm群の親動物で体重増加の抑制がみられ、F₂世代で水頭症仔がみられたが発現率に有意差はなかった。また、F₁およびF₂世代において肝および腎重量の増加あるいは副腎重量の減

少がみられた。

以上のことから、最大無作用量は250ppm(雄21~24mg/kg/day、雌21~25mg/kg/day)と判断された。

(東邦大学 1976年)

2. ニュージーランド・ホワイト系ウサギ催奇形性試験

1群17匹の交尾確認雌ウサギを用い、マンネブを0.5% CMC水溶液に懸濁して0、2、10および50mg/kg体重の投与量で妊娠6日から18日の13日間、経口投与した。妊娠28日にエーテル麻酔下で母動物を帝王切開し胎仔について催奇形性を調べた。また、母動物に体する影響も同時に調べた。

その結果、母動物所見として10および50mg/kg群で各1例の死亡が、50mg/kg群で4例の流産がそれぞれ認められ、一般状態では10mg/kg以上の群で軟便、流涙、脱毛などの変化が認められた。また、50mg/kg群では体重増加抑制や副腎重量の増加が、10mg/kg以上の群で摂餌量の減少がみられた。胎仔所見としては、10mg/kg以上の群で前肢手根部の異常屈曲を認めたが発現例数が極めて少ないため、被験物質の影響か否かは不明であった。

以上のことから、無作用量は2mg/kgと判断された。

(日本実験医学研究所 1989年)

変異原性試験

1. 細菌によるDNA損傷誘発性試験

Bacillus subtilis の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、rec-assay法によりDNA損傷誘発性を検定した。マンネブの処理濃度は0、1、2、5、10、15および20 μ g/ディスクとした。

その結果、マンネブは両菌株に有意な生育阻止を認めなかったことからDNA損傷誘発性はないものと判断された。

(残留農薬研究所 1975年)

2. 復帰変異性試験

ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* 5株(TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA1538)およびトリプトファン要求性の *Escherichia coli* WP2hcr(*uvrA*)株を用い代謝活性化および非活性化のもとAmesらの方法により変異原性を検定した。マンネブの濃度は代謝活性化の場合、0.1、0.5、1、5、10、25、

50、100および250 μg /プレート、非活性化の場合は0.1~50 μg /プレートとした。

その結果、いずれの試験条件下でも復帰変異コロニー数の増加は認められず、マンネブは復帰変異誘発性は有しないものと判断された。

(残留農薬研究所 1983年)

3. 染色体異常誘発試験

チャイニーズハムスターの継代培養した肺線維芽細胞を用い、代謝活性化法および直接法により *in vitro* 染色体異常誘発性を検討した。マンネブの濃度は代謝活性化法では最高40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、直接法では同じく32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、いずれも公比2の5段階を設定した。

その結果、直接法24時間処理では4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で構造異常細胞の出現率が増加し、ギャップ、切断、交換などの異常が認められ、直接法48時間処理では8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で疑陽性、代謝活性化法では陰性であった。

以上のことから、マンネブは本試験の直接法では、構造的染色体異常を誘発すると判断された。

(相互生物医学研究所 1987年)

一般薬理試験

マンネブを0.5% CMC 生理食塩溶液に懸濁し、マウス、ラットには経口投与で、ウサギでは静脈投与で、または摘出臓器を用いて、生体機能に及ぼす影響の試験を実施した。

1. ICR 系雄マウスによる中枢神経系に対する作用

0、800および5000 mg/kg 投与の結果、2000 mg/kg 以上の群で自発運動の抑制、うずくまり、うとうと状態、閉眼がみられ、24時間後には正常に復した。

2. 日本白色種雄ウサギによる呼吸・循環器系に対する作用

0、0.01、0.04、0.2および1.0 mg/kg 投与の結果、1.0 mg/kg 群で軽度でかつ一過性の呼吸数および心拍数増加を、0.04 mg/kg 以上の群で一過性の血圧下降をみとめた。

3. 平滑筋に対する作用

雄モルモットから摘出した回腸をマグヌス装置に懸垂した試験では、 10^{-4} g/ml で1/3例にヒスタミン収縮

反応に対して抑制的に作用した。一方、雌ラット摘出子宮では 10^{-4} g/ml でアセチルコリンおよびオキシトシンによる収縮反応に対し抑制的に作用した。

4. 血液系に対する作用

雄ラットに0、2000および5000 mg/kg を投与した結果、血液凝固への影響は認められず、また、 10^{-6} ~ 10^{-4} g/ml で溶血作用も示さなかった。

(薬効開発研究会東松山研究所 1989年)

要約

マンネブ製剤は眼に対して刺激性を有する。げっ歯類による亜急性経口および/また吸入毒性試験では、甲状腺が標的臓器であり組織学的に著明な変化を認め、マウスよりラットの方が高感受性であった。慢性毒性試験でも甲状腺の組織学的変化は明らかで、重量増加も判い、高用量群(ラット)では甲状腺腫と癌腫の発生もみたが、ヒトおよび他の生物がこの様な高濃度のマンネブに長期間暴露される可能性は極めて少ない。繁殖および催奇形性試験では特記すべきマンネブの特異的变化は認められなかった。変異原性試験では、*in vitro* で構造的染色体異常を誘発した。

これらの毒性試験結果および他の安全性評価試験結果によって設定された農薬登録保留基準値は果実(夏みかんの外果皮を除く)0.5ppm、野菜(きゅうりおよびトマトを除く)0.4ppm、きゅうり2ppm、トマト2ppm、いも類0.2ppm、豆類0.1ppm、夏みかんの外果皮10ppmである。

マンネブ製剤は定められた使用基準や注意事項を厳守して用いれば、安全性が確保されかつ農薬として極めて有用であると考えられる。

問合せ

クミアイ化学工業株式会社研究開発部登録課
〒110 東京都台東区池之端1-4-26

東京有機化学工業株式会社農業技術センター
〒114 東京都北区豊島5-2-1