

アグロケア原体（バチルス ズブチリスHAI-0404株生芽胞）および水和剤の毒性学的安全性

日本曹達株式会社 農業化学品事業部 農業化学品登録グループ
Nippon Soda Co., Ltd. Agro Products Division. Regulatory Affairs Department

はじめに

バチルス ズブチリスHAI-0404株は2002年に静岡県牧之原市の日本曹達株式会社榛原フィールドリサーチセンター内の茶圃場の茶葉から分離された菌株で、特に灰色かび病に対して高い防除効果を示す細菌である。

他のバチルス剤と異なる点は、一般的にバチルスズブチリスの生育が劣る15℃以下での生育に優れることであり、その特徴が果菜類の灰色かび病の防除効果に結び付くことが証明された。

培養検討により、効率良く内生孢子を形成させる方法を見出し、バチルス ズブチリスHAI-0404株原体中の生芽胞含有量を高められたことから、作物に対する汚れが非常に少ない水和剤の開発に成功し、2009年（平成21年）11月18日付けで農薬名アグロケア水和剤として新規登録を取得した。

H16年度より日本植物防疫協会で薬効薬害試験を開始し、H18年度にイチゴの灰色かび病、H19年度にトマト葉かび病に対して、実用性有の判定が得られた。薬効薬害試験は今後も継続し、更なる適用拡大を目指している。

作用機構としては、菌体が栄養・生息場所競合等の物理的要因により、灰色かび病等の病害を防除している可能性が最も高いことが確認されている。また、多くの化学農薬との混用や体系防除も可能であり、環境保全型農業を担う中核的資材として期待できる。

安全性研究において得られた毒性学的知見、すなわち単回経口投与毒性、単回経皮投与毒性、単回経気道投与毒性、単回静脈内投与毒性、眼刺激性、皮膚感作

性に関する試験成績の概要を報告する。

微生物の名称および分類学上の位置

1. 微生物の名称

学名：Bacillus subtilis

和名：枯草菌

2. 微生物の分類学上の位置

綱：Bacilli

目：Bacillales

科：Bacillaceae

属：Bacillus

種：Bacillus subtilis

株：Bacillus subtilis HAI-0404

3. 分離・同定方法

茶葉の葉面常在菌の中から灰色かび病に対して防除活性があり、且つ10℃で生育可能であり、14℃に於いても灰色かび病に対して防除効果を有する菌株として分離した。本菌は、グラム陽性桿菌であり、コロニーの色調はクリーム、不規則状の形態を示す。培養条件や生理的状态により変化することがある。

菌株の同定は、16SrDNA遺伝子配列解析を実施し、その結果に基づいて系統樹を作成した。また、API50CHも含めた生化学的手法による同定検討を実施し、それらの結果を元に判断した。

毒性試験

1. 単回投与毒性

ラットに対して原体（バチルス ズブチリス

HAI-0404株の生芽胞)を経口、経気道、あるいは静脈内に動物1匹あたり 1×10^8 cfuを単回投与した時の毒性を下表に要約した。

いずれの投与経路においても、特記すべき中毒症状は認められなかった。

検体	動物	投与経路	性	動物数	所見	試験機関 (報告年)
原体	ラット	経口	雄	14	感染性、病原性、体内生残性、毒性なし	三菱化学安全科学研究所 (2007年)
			雌	14		
	ラット	経気道	雄	17		
			雌	17		
	ラット	静脈内	雄	17		
			雌	17		

2. 刺激性及び感作性

アグロケア水和剤の毒性を下表に要約した。

1) 単回経皮投与試験

日本白色種ウサギの雌雄各5匹の背部を刈毛し、5 mLの水で湿らせた検体2 gを24時間塗布した結果、塗布開始24時間後から評点2の紅斑および評点1～2の浮腫が全動物に見られた。これらは速やかに回復し、投与後4日目以降は鱗屑のみとなった

以上の結果から、検体は軽度の皮膚刺激反応を起こすが、全身性の毒性は有さないと考えられる。

(三菱化学安全科学研究所, 2007年)

2) 眼一次刺激性試験

日本白色種ウサギの雄9匹の片眼に検体0.1 gを点眼し、3匹は30秒後に微温湯で30秒間洗眼し、6匹は24時間放置した。その結果、非洗眼群では全動物で投与1時間後から結膜の充血、腫脹、分泌物が見られ、24時間目には虹彩の充血、眼瞼の内反、角膜の血管新生が一過性に見られた。その後結膜の変化、分泌物は徐々に軽減し、13日目には6匹中5匹で消失した。角膜の部分的損傷と結膜の白色化についても回復性が見られた。洗眼群では全動物で投与1時間目から結膜の充血、腫脹、分泌物が見られたが、投与7日目にはすべて消失した。角膜の部分的損傷が24時間目に全動物にみられたが、48時間目には回復した。

以上の結果から、中程度から強度の刺激性を有するものの、洗眼により軽減することが確認された。

(三菱化学安全科学研究所, 2007年)

3) 皮膚感作性試験

試験にはハートレー系モルモットの雄を用いた。試験群の10匹には滅菌生理食塩水で0.05% w/vに調製した検体を、陽性対照群の5匹にはプロピレングリコールを2% v/v含む生理食塩水で0.01% w/vに調製したジニトロクロロベンゼンを、隔日で10回皮内投与して感作を行い、10回目の投与の14日後に再度皮内投与して惹起を行った。投与容量は、初回感作および惹起では0.05 mLとし、それ以外は0.1 mLとした。惹起24時間および48時間後に皮膚反応を、体重を初回感作直前

群		試験動物数	投与物質		感作反応動物数								平均評点		陽性動物数	感作陽性率%
			感作時	誘発時	24時間				48時間				24時間	48時間		
					皮膚反応評点											
					0	1	2	3	0	1	2	3				
検体	感作群	10	検体	検体	0	10	0	0	0	10	0	0	1	1	10	100
	対照群	10	生理食塩水	検体	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
陽性対照	感作群	5	DNCB	DNCB	0	5	0	0	0	5	0	0	1	1	5	100
	対照群	4*	溶媒	DNCB	4	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0

(三菱化学安全科学研究所, 2007年)

および初回感作の7、14、21および28日目、惹起直前および惹起48時間後に測定した。

その結果、検体群、陽性対照群ともにすべての動物に評点+（明らかな発赤）の皮膚反応が見られた。一般状態については、初回感作30日後に偶発と考えられる死亡1例を除いて異常は見られなかった。

3. 要約

原体のラットに対する経口、経気道、あるいは静脈内投与での急性毒性は弱い。アグロケア水和剤は皮膚に対して軽度な刺激性を、眼粘膜に対して中程度～強度の刺激性を有し、皮膚感作性を示した。

以上のように、原体であるバチルス ズブチリス HAI-0404株生芽胞は、経口、経気道、静脈内に所定の量を投与した結果、感染性、病原性、体内生残性、毒性を示さず、安全性が高いことが確認された。製剤であるアグロケア水和剤は皮膚および眼に対する刺激性および皮膚感作性を有するので、使用にあたっては所定の保護具を着用し、注意事項を遵守することが大切である。

問合わせ先

日本曹達株式会社 農業化学品事業部
農業化学品登録グループ