

植物防疫

Plant Protection

5

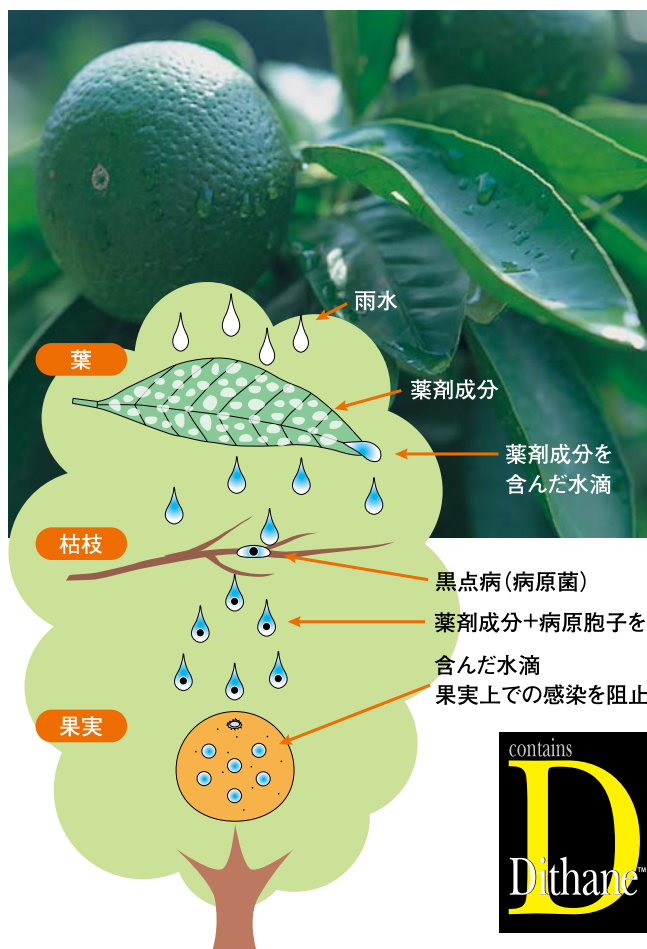
2018
VOL.72

特集：迅速簡易で実践的な残留農薬分析法



一般社団法人 日本植物防疫協会
Japan Plant Protection Association

かんきつを黒点病から守る、製剤技術のヒミツ。



違いが、かんきつの顔に出る 園芸用殺菌剤

ジマンダイセンTM 水和剤

黒点病は枯枝で形成された胞子が雨滴によって流れ出し、果実の上で感染します。ジマンダイセンの製剤は雨の力も利用し、黒点病を防除します。

- 表面張力が高く、たくさんの薬剤を付着させることができます。



- 付着して一度乾いた製剤は耐雨性に優れ、徐々に溶け出すため、効果は持続します。



2時間に50mmの人口降雨

※降雨のたびに薬剤付着量は徐々に減少(黒点病防除期間には、前回散布後の積算降雨量が200~250mmに達したとき、または約30日後の再散布が推奨されています)

かんきつの病害防除に優れた効果

- 使用回数は、4回以内。
- 後期黒点病と褐色腐敗病を同時防除。
- 製剤技術により安定した残効性。



ダウ・アグロサイエンス日本株式会社

本社/〒140-8617 東京都品川区東品川12丁目2番24号 天王洲セントラルタワー

<http://www.dowagro.com/ja-jp/japan>



®TM: ザ・ダウ・ケミカル・カンパニーまたはその関連会社商標



Dow AgroSciences

Solutions for the Growing World

新規殺菌剤

ケンジャフロアブル®

®は登録商標

[イソフェタミド]



**灰色かび病・菌核病に
賢い選択・賢く防除**

ケンジャフロアブルの特長

①優れた予防効果

本剤は、病原菌の生活環の多くのステージに作用します。特に感染前（孢子発芽～付着器形成期）に高い防除効果を発揮します。

②薬剤感受性低下菌に対して有効

本剤は、既存薬剤に対して感受性が低下している病原菌に対しても高い効果を示します。

③優れた浸達性を有し、残効性、耐雨性に優れる

有効成分が速やかに葉表⇒葉裏（葉裏⇒葉表）へ浸達することで、安定した防除効果を発揮します。

④サニテーション効果（次世代菌密度低減効果）により、二次感染を抑える

孢子形成を強く阻害し、孢子飛散による病害の拡大を防ぐことで、次世代の菌密度を効率的に抑えます。

⑤有用生物・天敵に対する安全性

訪花昆虫や天敵に影響がほとんどなく、IPMIに適合した薬剤です。

■サニテーション効果

灰色かび病菌に感染したきゅうり子葉に本剤を処理し、その後の孢子形成を調査した結果、孢子形成を強く阻害した。

ケンジャフロアブル 1,500倍

無処理区



社内試験 石原産業株式会社 中央研究所 (2011)

●使用前にラベルをよく読んでください。●ラベルの記載以外には使用しないでください。●本剤は小児の手の届く所には置かないでください。
●空容器は圃場などに放置せず、3回以上水洗し、適切に処理してください。洗浄水はタンクに入れてください。

**そうか病・灰色かび病・黒点病は
ナティーボで同時に防除！**



新登場

殺菌剤



ナティーボ®

フロアブル

開花期にも、収穫前日にも。
ナティーボなら、できる。

●収穫前日まで使用でき、
後期黒点病防除にも有効です。

●使用前にはラベルをよく読んで下さい。●ラベルの記載以外には使用しないで下さい。●本剤は小児の手の届く所には置かないで下さい。®はバイエルグループの登録商標

バイエル クロップサイエンス株式会社

東京都千代田区丸の内1-6-5 〒100-8262 <https://cropscience.bayer.jp/>

お客様相談室 ☎0120-575-078 9:00~12:00、13:00~17:00
土・日・祝日を除く

植物防疫 バックナンバー公開開始！

4月より「植物防疫」のバックナンバーの全文を当協会WEBサイトからご覧いただくことが出来ます。

当協会ホームページの「植物防疫アーカイブ」をご覧下さい。発行から2年以上経過したものを公開対象として、現在68巻、69巻を収録しており、今後順次これ以前の巻について収録公開をすすめていきます。

〇WEB公開にかかる利用許諾について

本誌電子版の全文公開に当たっては、執筆者の皆様には、順次利用許諾をいただく作業を進めておりますが、何分利用許諾をお願いする著作権者は広範囲に及ぶため、現時点で所在のわからない方もおられます。現住所がわからない執筆者の方には、本誌およびwebサイト内で利用許諾をお願いしております。

なお、ご質問等ございましたら支援事業部までご連絡をお願い致します。

目 次

巻 頭 言

「植物防疫」と私	野村 昌史	1
----------------	-------	---

特集：迅速簡易で実践的な残留農薬分析法

実践的な残留農薬簡易分析法の最近の動向	中村 幸二	2
農作物の生産現場でのイムノアッセイによる残留農薬分析	三宅 司郎	5
FT-IR による農薬簡易スクリーニングとその将来展望	山下正純・山本一樹・向井亜希子・川嶋文人・濱田典明	11
QuEChERS 法を活用した残留農薬一斉分析法	永井雄太郎	16
超臨界流体抽出法を活用した残留農薬マルチ分析法	安藤 孝	22

総 説

農業生物資源ジーンバンクにおける <i>Pseudomonas</i> 属細菌の再同定	澤田宏之・永井利郎・青木孝之	27
---	----------------	----

時事解説

平成30年度植物防疫研究課題の概要	農林水産技術会議事務局 研究開発官室	37
-------------------------	--------------------	----

研究報告

鳥取県におけるマメシクワイガの発消長とジアミド系殺虫剤の防除効果	福田侑記・奥谷恭代	41
--	-----------	----

日植防シンポジウムから

農薬販売業者のスキルアップのための取り組み	宮坂 初男	45
-----------------------------	-------	----

植物防疫講座

病害編 イネ白葉枯病の発生生態と防除	津下 誠治	48
虫害編 ヒメトビウンカの発生生態と防除	平江 雅宏	54
農薬編 キチン合成阻害剤タイプ0 (BPU) —ベンゾイル尿素系—	尾松 正人	59

新農薬の紹介

殺菌剤イソフェタミドの生物特性	荒木 智史	65
-----------------------	-------	----

研究室紹介

農研機構 北海道農業研究センター 生産環境研究領域 線虫害グループ	坂田 至	68
鹿児島県農業開発総合センター 生産環境部	井上 栄明	69

農林水産省プレスリリース (30.3.14～4.11)	44
新しく登録された農薬 (30.3.1～3.31)	9, 10
登録が失効した農薬 (30.3.1～3.31)	21
発生予察情報・特殊報 (30.3.1～3.31)	53

【表紙写真】

上：茨城南部の早稲田

下左：*Pseudomonas syringae* によるキュウリの斑点細菌病

右：ヒメトビウンカ雄成虫と終齢幼虫

発生予察用調査資材幹旋品目一覧表

(価格は平成 30 年 5 月 1 日現在で、消費税別、送料サービスです。)

●性フェロモン等誘引物質

対 象 害 虫	会 社	数 量	期 間 /個	本体価格	対 象 害 虫	会 社	数 量	期 間 /個	本体価格
ニカメイガ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円	チャノコカクモンハマキ	住	12	1 ヶ月	7,700 円
コブノメイガ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円		ア	12	1 ヶ月	7,700 円
アカスジカスミカメ	ア	12	1.5 ヶ月	7,500 円		信	12	1 ヶ月	7,500 円
アカヒゲホソミドリカスミカメ	信	12	1 ヶ月	7,500 円	チャハマキ	住	12	1 ヶ月	7,700 円
	ア	12	1.5 ヶ月	7,500 円		ア	12	1 ヶ月	7,700 円
アワノメイガ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円		信	12	1 ヶ月	7,500 円
フタオビコヤガ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円	チャノホソガ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円
イネヨトウ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円	チャドクガ	サ	2	1 年	10,000 円
マメシンクイガ	信	12	1 ヶ月	7,500 円	モモシンクイガ	住	12	2 ヶ月	10,300 円
ハスモンヨトウ	住	8	1 ヶ月	11,800 円		ア	12	1 ヶ月	7,700 円
	サ	12	1 ヶ月	10,000 円	ナシヒメシンクイ	ア	12	1 ヶ月	7,700 円
シロイチモジヨトウ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円		サ	12	1 ヶ月	7,700 円
ヨトウガ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円	リンゴコカクモンハマキ	住	12	1 ヶ月	7,700 円
オオタバコガ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円		ア	12	1 ヶ月	7,700 円
タバコガ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円	リンゴモンハマキ	ア	12	1 ヶ月	7,700 円
カブラヤガ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円	コスカシバ	ア	12	1 ヶ月	7,700 円
タマナヤガ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円	ヒメコスカシバ	信	12	1 ヶ月	7,500 円
タマナギンウワバ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円	クビアカスカシバ	信	12	1 ヶ月	7,500 円
コナガ	住	12	1 ヶ月	7,700 円	モモハモグリガ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円
	ア	12	1 ヶ月	7,700 円	キンモンホソガ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円
	サ	12	1 ヶ月	7,700 円	モモノゴマダラノメイガ	サ	12	1 ヶ月	10,000 円
ネギコガ	ア	12	1 ヶ月	12,900 円	スモモヒメシンクイ	信	12	1 ヶ月	7,500 円
アリモドキゾウムシ	サ	12	1 ヶ月	7,700 円	ミダレカクモンハマキ	信	12	1 ヶ月	7,500 円
チャバネアオカメムシ	サ	10	1 ヶ月	20,000 円	ヒメボクトウ	信	12	1 ヶ月	7,500 円
	信	5	1 ヶ月	19,000 円	カシノナガキクイムシ	サ	2	—	16,000 円
		+AUトラップ							
ナシマルカイガラムシ 専用粘着板 20 枚付	サ	5	1 ヶ月	12,000 円	シロテンハナムグリ・アシナガ	サ	誘 1	3 ヶ月	4,800 円
アカマルカイガラムシ 専用粘着板 20 枚付	サ	5	1 ヶ月	12,000 円	コガネ・ヒラタアオコガネ				
マメコガネ	サ	誘 1	3 ヶ月	4,800 円	空カップ 3 個付	サ	誘 4	3 週間	5,000 円
《適用：黄色トラップ》					《適用：白色トラップ》				
スギノアカネトラカミキリ	サ	誘 4	—	8,800 円	カミキリ・ゾウムシ・	サ	誘 4	3 週間	5,000 円
《適用：黄色トラップ》					キクイムシ・ハバチなどの				
訪花性昆虫	サ	誘 5	—	11,000 円	針葉樹寄生性昆虫	サ	誘 4	3 週間	5,000 円
《適用：黄色・白色トラップ》					エタノール 4 個付				
					《適用：黒色トラップ》				
コナダニ見張番	サ	誘 30 枚 +	トラップ 10 個		3,500 円	誘 30 枚		2,500 円	

●トラップ等捕獲資材

住化式粘着トラップ<住>	セット (屋根 1 台 + 粘着板 12 枚) : 3,800 円, 屋根のみ 6 台 : 3,600 円, 粘着板のみ 12 枚 : 3,200 円
SE トラップ<サ>	【色指定あり：白色・緑色より選定】セット (屋根 1 台 + 粘着板 12 枚) : 3,800 円, 屋根のみ 6 台 : 3,600 円, 粘着板のみ 12 枚 : 3,200 円, 100 枚 : 26,000 円
1C トラップ<ア>	セット (屋根 3 枚 + 粘着台紙 6 枚) : 2,700 円, 粘着台紙のみ 24 枚 : 6,400 円
小型粘着板 (クワシロカイガラムシ用)<サ>	100 枚入 (1 枚 : 22.5 cm × 12 cm) : 15,000 円
ファネルトラップ<サ>	1 台 : 4,500 円
住化式乾式トラップ<住>	1 台 : 3,500 円
AU トラップ<信>	1 台 : 10,000 円 (チャバネアオカメムシ用)
コガネコール・マダラコール用誘引器<サ>	【色指定あり：黄色・白色・黒色より選定】1 台 : 6,800 円
粘着シート 「IT シート」<サ>	1 箱 10 巻入り (1 巻 : 10 cm × 15 m) 【色指定あり：黄色・青色より選定】 : 14,100 円
「虫取り君」<サ>	1 箱 10 枚入り 10 袋 (1 枚 : 10 cm × 25 cm) : 15,000 円
アカヒゲ・アカスジカスミカメ用トラップ<ア>	粘着ネット (6 枚) : 4,950 円, 粘着ネット用フレーム (6 本) : 3,300 円

(会社名 ア：アース製薬, サ：サンケイ化学, 信：信越化学工業, 住：住友化学)

上記調査資材の申し込み方法と注意事項について

- ◆電話での申し込み受付は行っておりませんので、必ずホームページからお申し込みいただくか、専用申込用紙を FAX でお送り下さい。
- ◆上記品目は防除には利用できません。防除に利用された場合は「農薬取締法」違反となります。
- ◆申込の際には必ず「本調査資材を防除目的には使用しない」ことをご明記下さい。記載がない場合にはお取り扱い出来ません。
- ◆品物はメーカーから直送いたしますが、到着までには 1 週間程度余裕を見て下さい。
- ◆商品の性質上、注文間違いによる返品は出来ませんのでご注意ください。
- ◆個人でのお支払いは、現金書留あるいは郵便振替にて前払いをお願いします。

◎申込先：〒114-0015 東京都北区中里 2-28-10 一般社団法人 日本植物防疫協会 支援事業部 <http://www.jppe.or.jp> FAX (03) 5980-6753

巻頭言

「植物防疫」と私

千葉大学大学院園芸学研究科准教授 **野村 昌史**



「昆虫にかかわる仕事に就くにはどうしたらいいのだろう…」インターネットもパソコンもない時代に高校生だった私にとって、将来の仕事については大好きな昆虫と過ごしながらかつたらなあ…といった夢物語を空想するような感覚しか持っていなかった。「昆虫園の飼育係がいいんじゃないの？」母は実家からほど近いところにある多摩動物公園の昆虫園を勧めてくれたが、そのころから購読し始めた雑誌「インセクトリウム」を読んでも、平易な文章ながら内容は高校生には難しいものが多く、昆虫にかかわる職業へ通じるような記事はなく、どうしたら飼育係になれるのか皆目見当もつかなかった。

その後、高校の先生の話や大学受験関係の書籍で、昆虫にかかわるには理学部の生物か農学部に進めばいいらしいとわかったが、当時の私には「農業の中での昆虫」というイメージが頭に描かれ、迷わず農学部に進んだのは、今から考えると運命的なものを感じる。縁あって入学した玉川大学農学部農学科の応用昆虫学研究室では、細胞質共生微生物によるテントウムシの性比異常に関する研究を行ったので、農業にかかわるものではなかったが、佐々木正巳先生、新島恵子先生には昆虫学はもちろん、研究に関するコモンセンスを基礎から叩き込まれ、私の土台を作っていた。卒論で携わったのは基礎研究であったが、研究室に常備してあった雑誌の一つに「植物防疫」があった。植物防疫…？知らない言葉であり、何で昆虫の研究室にこの雑誌が…と思いながら手に取ったのを覚えているが、開いてみると農業と昆虫という漠然としたイメージが具体的な像として形作られている研究紹介記事に衝撃を受けたと言っても過言ではない。研究室は当時、ミツバチや天敵類等の有用昆虫を扱っていた部屋だったので、害虫や害虫防除という分野に出会えたのは「植物防疫」誌のおかげである。

その後、東京農工大学の植物防疫学科害虫学研究室の大学院に進んだ私であったが、故一瀬太良先生から出されたテーマは、キンウワバ類の分子系統学的な研究であった。材料には害虫を含むもののやはり基礎研究にかかわる内容…。しかし、あちらこちらに材料を採集しに行くのは得難い経験で、キンウワバ類の生き様を知ることができたのは、「どんな研究でも自分の実験材料の自然界での生活を知る」というこれ以降の私の研究スタイルの根幹となった。そしてここでも研究室の書棚には毎月の「植物防疫」誌があった…。以前は私にとっては難解だった研究記事も、年を経るに従ってその多くは理解で

きるようになったし、むしろ最新の研究内容を手軽に知ることができる、頼りになる雑誌となっていた。

博士課程を修了しようとしていたある日、指導教員の三橋 淳先生に呼びだされた。先生は「植物防疫」誌を片手に掲載されていた千葉大学園芸学部の公募情報を指し示し「応募したらどうか」と仰った。公募の内容と私の研究テーマが近かったこともあり、応募してみたところ、縁があったのか採用していただけることになった。当時の研究室は故真梶徳純先生はじめ本山直樹先生、天野 洋先生という大変個性豊かな人たちに囲まれたこともあって、比較的自由に研究することができた。私の研究分野は当初、分子系統学的内容が主であったが、次第に害虫としての昆虫の生活史の研究、そして天野先生の影響を受け天敵類に関する研究に移行するようになり、とうとう私は農業分野の昆虫の研究、植物保護の研究に携わるようになった。また故野村健一先生の代から続いている新農薬実用化試験を担当する研究室だったので、毎週のように害虫を探したり放虫したり、農薬の効果判定を行っていたことがきっかけとなり、害虫防除に対する興味が呼び覚まされたのかもしれない。

こうして私は「植物防疫」によって知った研究分野に大きくかわれるようになった。そしてこのたび、この縁の深い「植物防疫」誌に内側からかわるようになった。私を育ててくれたこの雑誌を、今度はサポートすることができるのは大きな恩返しであると感じる。判やカラー化等大きな「変態」をすませた本誌を、次の段階として大きく成長させるべく微力ながら応援していきたいと思っている。

(「植物防疫」編集委員)

追伸：本誌 71 巻 3 号のエッセイ「草原性のホタル」で紹介させていただいた「空の星と地上の星(ホタル)をコラボさせた写真」については紙面の関係で掲載できなかったが、何人かの読者からそれを見たいとリクエストされたので、本誌のカラー化に乗じて掲載させていただく。



特集

迅速簡易で実践的な残留農薬分析法

実践的な残留農薬簡易分析法の最近の動向

一般社団法人日本植物防疫協会 なか むら こう じ
中 村 幸 二

はじめに

農産物の安全性を確認する手段として、残留農薬分析の需要が高まっている。農産物の残留農薬分析は、残留農薬基準が確保されているかどうかを確認するため、ppm, ppb オーダーの分析精度が要求される。分析法は基本となる公定分析法も高感度な検出器を装備したガスクロマトグラフ (GC)、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 等の分析機器を中心に組み立てられてきたが、残留農薬基準にポジティブリスト制度が導入されて以降、複数成分を同時に分析するマルチ分析に対応する質量分析計を検出器とするガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS(/MS))、液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS(/MS)) が分析機器の中心となっている (日本農薬学会, 2018)。

残留農薬分析法は分析試料から残留農薬を取り出す、いわゆる前処理操作といわれる抽出精製操作と、GC や HPLC に注入測定する定性定量操作で成り立っている。公定分析法は、妥当性、精度を十分に担保された方法であり、一定の残留農薬分析に対する専門的な知識・技術が必要で分析機器もかなり高価である。このため、必要な実験機器、分析機器を装備し、専門的分析スタッフを配置した分析機関で実施されていることが多い。

一方、2000 年ころから都道府県や地域の JA において、地域における農産物認証制度の創設に併せ、農産物中の残留農薬が残留農薬基準値を超えないことが認証基準の一つとなり、出荷前の残留農薬分析が実施されることとなった。出荷前残留農薬分析は、その後発生した無登録農薬使用問題によりさらに定着・拡大し、分析結果がすぐに反映できる農産物の生産地で分析が行われることが多くなった。残留農薬分析法も選択性が高く、短時間の分析が可能なイムノアッセイ法や FT-IR 分析装置を使用した赤外分光法等が採用された。

さらに、地域の JA など従前から分析センターが設定されていて、多成分分析も可能な分析機器を保有しているような所では、安定して効率のよい残留農薬分析を目指して分析操作の中に QuEChERS 法や超臨界流体抽出法を導入し、分析結果が急がれる出荷前分析や安全性が判断できるような分析にも精度よく対応している。

I 残留農薬簡易分析法の特徴

農薬は一般的に脂溶性物質が多く、逆に、分析対象となる農産物は多量の水を含むため、農産物に極微量に含まれる残留農薬の分析は難しい操作を要求される。すなわち農産物から有機溶媒などで残留農薬を取り出し測定を妨害する成分を取り除く抽出精製操作と、分析機器を用いて測定を行う定性定量操作が必要となる。定性定量操作は、以前は、分光光度計のような光分析機器、ポーラログラフのような電気化学的分析機器あるいは滴定操作等も行われていたが、現在は GC や HPLC 等の分離分析機器が主に使用されている。農産物は、それぞれ農産物に由来する成分を多量に含んでおり、通常、入念に抽出精製操作を行っても完全に取り除くことができない。そこで、GC や HPLC で妨害物である農産物由来成分と農薬成分を分離し、測定することになる。また、目的とする農薬成分も単成分とは限らないので複数成分の農薬を分析する際も威力を発揮する (日本農薬学会, 2018)。

農薬の安全性を評価する基準として、残留農薬基準が定められている。農産物の安全性を確保するために、残留農薬基準を超えて残留しているかどうかを判定する必要がある、その手段として残留農薬分析が行われている。この残留農薬分析は定められた分析法 (公定分析法) で行うことが求められている。作物残留分析の公定分析法としては、食品衛生法で定める食品規格としての残留農薬基準の判定のために定められたいわゆる通知法などの公示試験法があるが、ポジティブリスト導入とともに農薬登録保留基準に事実上農薬残留基準が適用されることになってから参照法になっている旧環境省告示試験法も公定分析法として扱われている。分析法は、農薬開発時に用いられた分析法や海外における分析情報等に基づ

Recent Trend of the Practical Pesticide Residue Simple Analysis.
By Kouji NAKAMURA

(キーワード: 残留農薬分析, イムノアッセイ法, FT-IR 分析装置を使用した赤外分光法, QuEChERS 法, 超臨界流体抽出法, 残留農薬簡易分析法)

いて構築され、バリデーションを実施して残留分析法としての適合性が確認されており、精度の高い分析法となっている。測定機器はGCやHPLC等の分離分析機器が主体だが、最近ではポジティブリストに対応した多成分分析を容易とするガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS(/MS)）、液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS(/MS)）が使用されている（図-1）。

一方、農業生産現場では、出荷農産物の安全性を確保して消費者の要求する安全な農産物を出荷し、併せて、農産物のブランドイメージを高めるために、農産物のお荷前に残留農薬分析を実施し、出荷農産物の安全性を確認する必要性があった。また、分析の場所も個別の出荷農産物に対応しなければならないため、集出荷場などの生産圃場に直結した場所になった。分析担当者も残留農薬分析の専任の担当者でないこともあった。このようなことから、生産現場に導入される残留農薬分析法は、①新規に導入、設置する場合は導入コストが公定分析法に比べて安価であり、同様に分析コストも安価である。②分析操作が簡便で専門性を必要としない。③分析結果を得るまで、短時間で、迅速性に優れている。といった特徴を有する必要がある。これに合致する分析法がいわゆる簡易分析法と言われるものである。簡易分析法を適用して、残留農薬基準を超過するような農産物が検出された場合、確認の意味で公定分析法による分析が必要となるが、これは簡易分析法が精度の悪い分析法だからでなく、安全性評価の分析法として公定分析法で行うことになっているためである。簡易分析法は十分に精度の担保された分析法であって、出荷農産物の安全管理のための分析法としては極めて適した方法である。

1 イムノアッセイ法

イムノアッセイ法は生物に特異な免疫反応（抗原抗体反応）を利用して農薬を測定する方法である。免疫反応を利用するため選択性に優れ、高感度分析ができるとい

った特徴がある。分析は抗体をコーティングした試験管（ウェル）や標識抗原の入った農薬酵素標識液等の必要な試薬類がセットになったイムノアッセイキットを使って行われる。したがって、分析者は抽出に必要な有機溶媒や洗浄水、マイクロピペット、マイクロプレートリーダー等の比色計を準備しておけば問題なく残留農薬分析ができる。農産物における残留農薬分析は試料からメタノールやジメチルスルホキシド等で抽出し、イムノアッセイキットの抗体をコーティングした試験管内に抽出液と標識抗原の混液を入れて放置、洗浄後発色液を加えて一定時間反応させ反応停止液を加えて黄色に発色した液を450 nmの吸光度で測定し、定量するという極めて簡単な操作である（生物化学的測定研究会、2014）。分析はマイクロピペットによる操作が主体であるため、ピペット操作に慣れれば問題なく行える。本分析法は地域JAの分析センターや出荷組合等を中心に導入が進んだが、分析に欠かせない新規の抗体開発と供給が進まず、一時に比べると実施場所が減少している。

2 FT-IR 分析装置を使用した赤外分光法

通常の残留農薬分析法では、分析試料を磨碎し、有機溶媒などで農薬を抽出する必要があるが、FT-IR（フーリエ変換赤外分光光度計）分析装置を使用した分析法では試料切片をそのまま測定するため、抽出操作の必要がない非破壊の分析法であることが大きな特徴である。測定は装置内のプリズムに試料切片を設置し、赤外光を放射して得られた反射スペクトルを解析することで行われる。実際の作業は切片を切り出して装置に置くだけなので、特に難しい作業はない。分析時間も短時間であるため、出荷前検査など、生産現場での残留農薬分析には適した方法である。本分析法は長野県のレタスなどの野菜を出荷するJAを中心に導入が図られたが、現在は対象農作物、農薬の拡大にともない、QuEChERS法を主体としたマルチ分析法に移行している。FT-IRによる残留分析は、中四国地方の県を中心に導入が検討され、一部では試行の形で導入されているようである。

3 QuEChERS 法

QuEChERS法は残留農薬の機器分析の前処理法の改良を図ることを目的とし、迅速性に優れた簡易分析法として提案された。名称のアルファベットはQuick（迅速）、Easy（簡単）、Cheep（安価）、Effective（効果的）、Rugged（堅牢）、Safe（安全）の頭文字をつなぎ合わせたもので、キャッチャーズ法ともいわれている。徹底した迅速、簡便化を図るため、抽出溶媒にアセトニトリルを用い、塩析後、固相ミニカラムではなく、分散固相抽出を適用して精製を行うことで、ガラス器具を使用しないで、濃縮操作を



図-1 公定分析法のフローチャート
(LC-MSによる農薬などの一斉試験法Ⅱ)

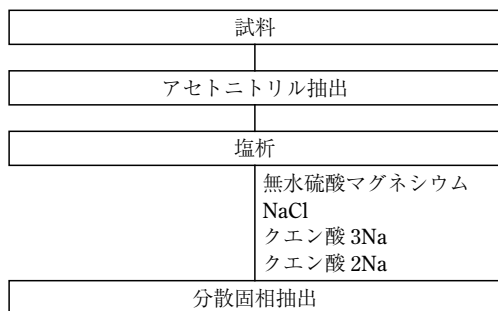


図-2 QuEChERS 法前処理のフローチャート例

省略することが図られている(図-2)(残留農薬分析国際交流会, 2017)。当初は, 分析試料に含まれる, 多様なマトリックスの影響が排除しきれず, また, 抽出操作でも定量的な抽出が可能なのかどうか等, 問題点が指摘されていたが, それらの問題点も改善され, 機器分析で残留農薬分析に対応している分析施設で行われるようになった。

4 超臨界流体抽出法

超臨界流体とは, 臨界点以上の温度, 圧力下に置いた物質の状態のことをいい, 気体と液体の区別がつかない状態といわれ, 気体の拡散性と液体の溶解性をあわせ持っている。このうち, 二酸化炭素は臨界温度が 31℃程度と低いので, 温度に不安定な物質にも適用できる。超臨界流体抽出法は超臨界流体の性質を応用し, 農産物中の残留農薬の分析に適用したもので短時間での抽出, 分析が可能となっている。分析の手順としては超臨界流体抽出装置に分析試料, 超臨界流体および吸水剤を導入するだけであり, 難しい操作は必要ない。装置として, 抽出装置としての超臨界流体抽出装置, 測定装置として LC-MS(/MS)等が必要で, 初期投資は決して安くはないが, 農産物の出荷前分析などには, その迅速性が威力を発揮する。超臨界流体抽出法は当初, 宮崎県の JA を主体に導入されたが, JA の検査センターを中心に他県にも広がっている。

II 残留農薬簡易分析法の今後の展開

現在の残留農薬分析法の傾向は, 農薬の使用履歴が不明である市販農産物を主な対象とすることから同時多成分分析が主流である。特に, ポジティブリスト化以降, その傾向が強くなったといえる。この傾向はイムノアッセイ法や FT-IR 分析装置を使用した赤外分光法等による残留分析に大きな影響を与えた。しかし, これら簡易分析法の目的は当該作物へ使用された農薬の管理や出荷農産物の安全性の確保にあり, 多成分分析の必要性は少ない。

イムノアッセイ法は, 新規抗体の開発が進んでいないため, 必要な農薬の残留分析ができず, 一時に比べると

分析場所が減少しているが, 迅速簡易に精度の高い分析が可能となることを認め, 新たに取り組もうとする動きもある。一つは分析キットの改良である。今までは一つのキットに一つの農薬の抗体がセットされていたが, ウェルのラインごとに別農薬の抗体をセットして, 複数農薬の分析を同時に行おうとするものである。もう一つはイムノクロマト法の導入である(生物化学的測定研究会, 2014)。従来, 分析キットでは慣れの必要なマイクロピペットの操作が必要であったが, イムノクロマト法の分析キットでは, キットへの抽出液の滴下で結果が得られるという極めて簡単な操作で分析が終了する。このように, イムノアッセイ法の測定環境は大きく改善していると言える。ただし, 手法自体の改善はあっても新規の抗体開発が進まなければイムノアッセイ自体の分析も進まないことになるので, 今後の抗体開発と供給に期待したい。

FT-IR 分析装置を使用した赤外分光法は, 分析法が適用できる農産物が葉菜類のような膜状構造をしたものに限られていた。そのため, 最初に導入されたのがレタス産地であった。しかし, 果実などの立体構造を有する作物への本法適用の要望もあり, 現在拭き取り法などによってシートなどに展開し, 測定する方法などが検討されている。対象作物が増えれば本法への取り組みも増加するのではないかと期待される。

QuEChERS 法は最近キットが分析機器メーカー, 試薬メーカー等から販売されてきており, 残留分析の前処理法として取り組みやすくなった。また, 超臨界流体抽出法については宮崎農試のグループが, 超臨界流体抽出(SFE)と超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)を組合せて残留農薬の自動分析(SFE-SFC-MS)システムを構築した。簡易分析法としては安価で初期投資も安いというわけにはいかないが, 今後の生産現場における導入について注目したい。

ところで, 出荷前分析に限らず, 農産物の安全性を確認するために, 残留農薬分析がますます重要となってくる。特に, 結果の判断を迅速に行う必要からスクリーニング分析が行われる機会が増えると推測される。スクリーニング分析では公定分析法で要求される高い精度は必要ではなく, 簡易分析法の適用場面が増えるのではないかと考えられる。

引用文献

- 1) 日本農薬学会 (2018): 残留農薬分析知っておきたい問答あれこれ (改訂 4 版 2018), 日本農薬学会, 東京, p.31~118.
- 2) 残留農薬分析国際交流会 (2017): 2017 残留農薬国際交流会セミナー講演要旨集: 3~38.
- 3) 生物化学的測定研究会 (2014): 免疫測定法 基礎から先端まで, 講談社, 東京, p.276~281.

特

集

迅速簡易で実践的な残留農薬分析法

農作物の生産現場でのイムノアッセイによる
残留農薬分析株式会社 堀場製作所 ^み三 ^や宅 ^し司 ^ろう 郎

はじめに

残留農薬の検査機関は、市場から収去された農作物の分析にガスクロマトグラフィー（GC）や高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に質量分析計を組合せた一斉分析法を使用する。しかし生産者にとっては、高価な装置、高度な専門技術、そして一日以上の検査日数が必要であるため、この方法を簡単に導入することはできない。

一方、イムノアッセイによる残留農薬分析は、高価で精密な測定機器を必要としない廉価な検査方法である。また、マイクロピペットを扱えれば利用できるため、熟練した分析技術者でなくても担当できる。検査に要する時間が2時間程度と迅速であることも大きな特徴である。農業協同組合などの生産者団体では、これらの利点に着目してイムノアッセイによる残留農薬分析を採用している。本稿では、イムノアッセイを用いた残留農薬分析体制をサポートしている「静岡県経済農業協同組合連合会（JA 静岡経済連）」、その管内JAの中でもイムノアッセイを積極的に利用している「南駿農業協同組合（JA なんすん）」を例に、その実際を紹介する。

I イムノアッセイによる残留農薬分析

イムノアッセイは、抗体という特殊なタンパク質が農薬（抗原）と特異的に結合する性質と、ペルオキシダーゼという酵素の着色（酸化）反応により農薬由来の信号を増幅させる性質を利用した分析技術である（三宅，2010）。これらの作製には高度な技術と長い開発期間を要するが、実際の検査では、すべての試薬が最適な条件に整えられたキット（図-1）を使用する。イムノアッセイに必要な試薬は、脱イオン水とメタノールを除いてすべてキットに含まれている。ただし、これらの試薬のほかにもマイクロプレート専用の吸光度計、試験管、農作



図-1 イムノアッセイキットに含まれる試薬の概観

農作物（図-3A, B）
↓ ホモジナイズ（図-3C, D）
↓ 5 g に対して 25 ml のメタノールを添加
↓ 30 分間激しく振盪
↓ ろ紙でろ過
↓ 脱イオン水で 8.5 倍に希釈（図-3E）
測定検体

図-2 農作物前処理のフローチャート

物の前処理に使用するホモジナイザーなどの汎用機器が必要である。

イムノアッセイによる残留農薬分析は、農作物の前処理と、イムノアッセイによる農薬測定の2工程から成り立っている。農作物の前処理は、図-2に示したフローに従って進められる。まず、農作物直売所（図-3A）から収去された農作物は、1束あるいは1袋等の販売単位を1検体（図-3B）とし、ホモジナイザーで磨砕均一化（図-3C）される。磨砕物（5 g；図-3D）は、25 ml のメタノール（特級）と混合して激しく振盪される。農薬は脂溶性物質が多く、農作物は多くの水を含むので、メタノールを用いて振盪抽出する。抽出液はフィルターでろ過され、さらに脱イオン水で8.5倍希釈（図-3E）される。この希釈液が測定検体である。このように、イムノアッセイにおける前処理は、ホモジナイズ、抽出、ろ過、希

Immunoassay for Pesticide Residue Analyses Used in Production Site of Garden Crops. By Shiro MIYAKE

（キーワード：イムノアッセイ，直接競合 ELISA，モノクローナル抗体，残留農薬分析，試薬）



図-3 農作物前処理の実際

A：農作物直売所，B：収去した農作物，C：ホモジナイザーによる農作物の磨砕均一化，
D：磨砕均一化された農作物，E：マイクロピペットによる測定検体の調製。

積のみで成り立っている。農薬のクリーンアップが必要な GC や HPLC と違って迅速かつ簡便に検査できる最大の理由である。

農薬測定は、図-4 に示したフローに従って進められる。まず測定検体は、キットに付属の酵素標識物試薬と混合（図-5A）される。酵素標識物とは、酵素と農薬を共有結合させたもので、農薬と同様に抗体と結合する性質を持つ。その混合液は、抗体があらかじめウェル表面に固相化*されている 96 ウェル-マイクロプレート中に分注される。混合液中の酵素標識物と測定対象農薬は、分注されると同時にウェル表面の抗体と競合的に反応を開始し結合する。そのまま室温で 1 時間静置して完全に

測定検体

- ↓ 酵素標識物試薬と等量混合（図-5A）
- ↓ 抗体を固相化した 96 ウェルマイクロタイタープレートに各ウェルに分注
- ↓ 室温で 1 時間静置
- ↓ 洗浄（3 回）
- ↓ 発色試薬を添加し、発色（10 分）（図-5B）
- ↓ 発色停止試薬を添加し、発色停止（図-5C）
- ↓ マイクロプレート専用の吸光度計で吸光度測定（図-5C）

図-4： イムノアッセイによる農薬測定のプロチャート

反応させたのち、洗浄を 3 回繰り返す**ことによって、抗体と結合しなかった酵素標識物が除去される。結合した酵素標識物の量は、測定検体中の農薬濃度に応じて変化する。キットに付属の発色試薬***をウェルに加えることにより、10 分間発色（図-5B）させる。さらに希硫酸を含んだ発色停止試薬を加えることによりウェル中の試薬が黄色に変化し反応停止するので、この発色の程度

*固相化された抗体は、溶液が分注されてもウェル表面から溶出しない。

**洗浄は、液の吸引除去と洗浄液の分注を 3 回繰り返す。

***発色試薬は透明の溶液であるが、酵素の触媒作用で酸化されると青色になる。



A



B



C

図-5 イムノアッセイによる農薬測定の実際

A: マイクロピペットによる試薬の分注, B: マイクロプレート各ウェルの発色, C: 発色させたマイクロプレートの吸光度測定。

を吸光度計で測定（図-5C）する。競合の際、使用する酵素標識物の量は一定であるため、抗体に結合した農薬量に応じて発色が抑制される。そこで、既知濃度の標準農薬で測定した結果を基に図-6に示すような検量線を描き、比較することによって測定検体中の農薬濃度が求められる。二重測定で行った場合、1キットで約40検体の農薬測定が可能である。

市販のイムノアッセイキットは、表-1に示すように20種類ある。この数は、800種類程度あるといわれる農薬の数と比較して極めて少ない。しかし、実際に国内で使用されている農薬は限られている。生産者が収穫直前

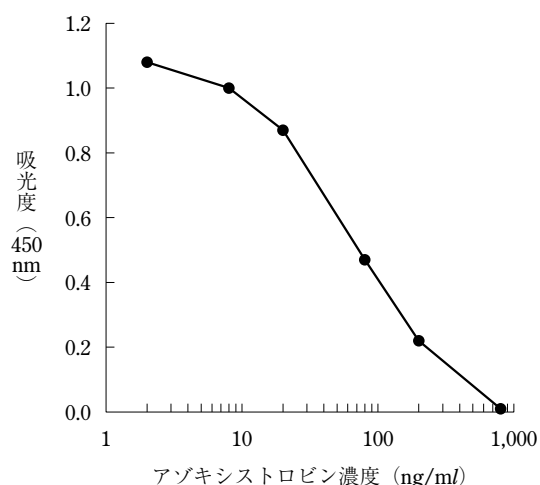


図-6 イムノアッセイによる殺菌剤アゾキシストロビンの検量線

に施用する農薬はさらに限られるので、20種類でも効果的な検査体制を構築することができる。すでにイムノアッセイによる検査実績が10年以上ある「JAなんすん 土壌・農薬分析センター」では、「記帳活動のみで農薬の適正使用を生産者に習慣づけるのは難しく、残留農薬分析を組合せる必要がある。特に、農作物直売所では少量多品種の農作物を扱うので、多検体の同時検査を廉価に実施できるイムノアッセイが欠かせない。検査結果に基づいた継続的な教育によって、管内では着実に生産者の意識が改善している」との声があり、生産現場におけるイムノアッセイの重要性がうかがえる。

II イムノアッセイによる残留農薬分析の実際

「JAなんすん 土壌・農薬分析センター」では、専任者2名が、土壌分析、残留農薬分析および生産者の教育を担当している。イムノアッセイは、管内に9箇所ある農作物直売所の残留農薬分析に利用される。当センターでは、農作物ごとに使用する農薬の種類を把握しており、検査対象となる農薬は、使用する生産者数の多いものから優先順位を付けて選択される。イムノアッセイによる検査は、年間1,000検体の規模で実施されている。

この検体数をGCやHPLCで実施するには、外部検査機関に依頼した場合でも高額のコストが必要である。そのため、生産者当たりの出荷数が多い農作物でなければ適用は難しい。JAなんすんでは、共選出荷する農作物についてはGCやHPLCによる一斉分析を外部検査機関に依頼していた。一方で、管内の農作物直売所に出荷する農作物については、イムノアッセイによる自主検査を選択している。これは、廉価に検査できるという利点のほか、検査する農薬成分数よりも収去検体数が多いほうが

表-1 イムノアッセイキットが市販されている農薬

殺虫剤		殺菌剤	
成分名	商品名	成分名	商品名
アセタミプリド	モスピラン	アゾキシストロビン	アミスター
イソキサチオン	カルホス	イソプロチオラン	フジワン
イミダクロプリド	アドマイヤー	イプロジオン	ロブラール
エマメクチン安息香酸塩	アフファーム	イマザリル	イマザリル
カルバリル	デナボン	クロロタロニル	ダコニール
クロルフェナピル	コテツ	トリフルミゾール	トリフミン
クロチアニジン	ダントツ	フルトラニル	モンカット
ジノテフラン	スタークル	ミクロブタニル	ラリー
チアメトキサム	アクタラ		
ニテンピラム	ベストガード		
フェニトロチオン	スミチオン		
マラチオン	マラソン		

生産者に対する教育効果が高いという面もある。JA なんすんでは、管内農作物の「食の安全・安心」を担保するために、効率のよい検査体制を構築し運営している。

Ⅲ イムノアッセイによる残留農薬分析の 精度管理の実際

「JA 静岡経済連」では、イムノアッセイによる残留農薬分析の精度確認試験を毎年実施している。平成 29 年度は、管内の 4JA の検査担当者 7 名を対象に、同一ロットのフェニトロチオン（農薬製品名：スミチオン）測定キットと国立研究開発法人産業技術総合研究所の認証標準物質である残留農薬分析用キャベツ粉末（NMIJ CRM 7508-a；フェニトロチオン含有量： 2.41 ± 0.40 mg/kg）0.50 g を配布し、精度確認試験を実施した。

測定方法は、基本的に上述の残留農薬分析に準じている。異なる点は、キャベツ粉末が凍結乾燥品であるため、脱イオン水で 10 分間膨潤させる工程が加わることである。また、測定検体を 10% メタノールで希釈（原液、3 倍、6 倍、12 倍）したものを測定することで、希釈による測定誤差も比較している。「ELISA キットによる野菜・果実中残留農薬分析の妥当性評価の試み」と題した論文（山崎ら、2015）では、フェニトロチオン測定用イムノアッセイキットによるキャベツ中のフェニトロチオンの測定結果が妥当であることが示されているが、平成 29 年度の精度確認試験の結果は、この論文の結果と同等といえる成績であった。

さらに当経済連は、各 JA の担当者が精度確認試験測定結果を持ち寄った検討会を開催している。本会では、イムノアッセイによる残留農薬分析の担当者だけでなく機器分析による検査担当者、残留農薬の受託検査機関やキットメーカーの者も参集される。まず全国の残留農薬

分析の動向が報告されたのち、管内の残留農薬分析に関して総合的な議論がなされる。検討会は管内の各 JA の情報が共有される場にもなっており、検査精度の維持と技術・知識の向上に役立てられていた。

静岡県は、園芸作物の主要産地である。JA 静岡経済連は、残留農薬分析を効果的に制度化することにより県産農作物の価値を高めており、イムノアッセイもその一翼を担っていた。

Ⅳ イムノアッセイキットの特徴と注意点

これまで紹介してきたように、イムノアッセイは高価な装置や専門知識、高度な技術を必要としない、廉価で簡便、そして迅速な農薬分析方法である。これらの特徴から、農作物の生産者団体で使用されることが多い。しかし、使用にあたってはいくつかの注意点がある。

まず、イムノアッセイキットは要冷蔵である。これは、農薬の認識素子である抗体や酵素がタンパク質であり、微生物による腐敗の影響を受けるためである。ただし、冷凍は不可である。キットに含まれる試薬には、凍結によって変質するものが含まれている。

またイムノアッセイは簡便とはいえ、マイクロピペット操作の習熟が必要である。この技術が測定精度に影響するので、メーカーなどの技術者から適切な指導を受ける必要がある。

測定結果においては、偽陽性を生じる場合があるため注意する必要がある。陽性となった検体は、再検査するとともに GC や HPLC によって確認試験を行うことが望ましい。あらかじめマニュアル化しておくことによって、適切に対応できる。

おわりに

イムノアッセイキットが残留農薬分析用として製品化されてから15年が経過した。この間、農作物の生産者団体を中心に使用され、その安全性の担保に貢献している。今回、JAなんすんとJA静岡経済連を取材したことで、その効果を再確認することができた。イムノアッセイが、今後も「食の安全・安心」に貢献できれば幸いである。

謝辞 本稿を作成するにあたって、取材と写真の提供を快諾くださったJAなんすんの玉田莉瑛子様と日吉沙奈子様、検討会での取材を快諾くださったJA静岡経済連の谷野文明様、宮崎孝昭様、勝又祐友様に感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 三宅司郎 (2010): 日本農薬学会誌 35(2): 176~180.
- 2) 山崎朋美ら (2015): 食品衛生学会誌 56(6): 240~246.

新しく登録された農薬 (30.3.1~3.31)

掲載は、**種類名**、登録番号：**商品名**（製造者又は輸入者）登録年月日、有効成分：含有量、**対象作物**：対象病害虫：使用時期等。ただし、除草剤・植物成長調整剤については、**適用作物**、**適用雑草**等を記載。

「殺虫剤」

- 脂肪酸グリセリド・スピノサド水和剤**
24054：サンケイダブルシューター SE（サンケイ化学）18/3/14
24055：ダブルシューター SE（ダウ・アグロサイエンス日本）18/3/14
脂肪酸グリセリド：75.0%
スピノサド：5.0%
なす：ハダニ類、コナジラミ類：収穫前日まで
トマト・ミニトマト：ハダニ類、コナジラミ類・ハモグリバエ類：収穫前日まで
ばら：ハダニ類：発生初期
- アバメクチン・エトキサゾール水和剤**
24068：メビウスフロアブル（協友アグリ）18/3/30
アバメクチン：1.8%
エトキサゾール：7.5%
かんぎつ（みかんを除く）：ミカンハダニ、ミカンサビダニ、チャノホコリダニ、チャノキイロアザミウマ、ミカンハモグリガ：収穫14日前まで
みかん：ミカンハダニ、ミカンサビダニ、チャノホコリダニ、チャノキイロアザミウマ、ミカンハモグリガ：収穫7日前まで
- フロメトキン水和剤**
24069：明治ファインセーブフロアブル（Meiji Seika ファルマ）18/3/30
24070：ファインセーブフロアブル（日本化薬）18/3/30
フロメトキン：10.0%
かんぎつ：アザミウマ類、ミカンサビダニ：収穫7日前まで
なす：タバココナジラミ類（シルバーリーフコナジラミを含む）、アザミウマ類：収穫前日まで
トマト：タバココナジラミ類（シルバーリーフコナジラ

- ミを含む）、アザミウマ類、トマトサビダニ：収穫前日まで
ピーマン・すいか・いちご：アザミウマ類：収穫前日まで
はくさい：アオムシ・コナガ：収穫7日前まで
キャベツ：アオムシ・コナガ・アザミウマ類：収穫3日前まで
だいこん：コナガ：収穫14日前まで
ねぎ：ネギハモグリバエ・アザミウマ類：収穫3日前まで
たまねぎ：アザミウマ類：収穫3日前まで
ほうれんそう：アザミウマ類：収穫14日前まで
茶：チャノホソガ、チャノキイロアザミウマ：摘採14日前まで

「殺菌剤」

- ピラジフルミド・フルトラニル水和剤**
24064：シバテクトフロアブル（日本農薬）18/3/28
ピラジフルミド：5.0%
フルトラニル：30.0%
日本芝：葉腐病（ラージパッチ）：発病初期
- ホルベット水和剤**
24065：リナセル顆粒水和剤（アリスライフサイエンス）18/3/30
24066：アダマ・リナセル顆粒水和剤（アダマ・ジャパン）18/3/30
24067：ホクコー・リナセル顆粒水和剤（北興化学工業）18/3/30
ホルベット：80.0%
あずき：茎疫病：収穫7日前まで
きゅうり：べと病、褐斑病、炭疽病：収穫前日まで
トマト：疫病：収穫前日まで
メロン・たまねぎ：べと病：収穫3日前まで
(10 ページに続く)

(新しく登録された農薬 9 ページからの続き)

●ピラジフルミド水和剤

24071: パレード 20 フロアブル (日本農薬) 18/3/30

ピラジフルミド: 20.0%

あずき・いんげんまめ・豆類 (未成熟): 菌核病, 灰色かび病: 収穫前日まで

トマト・ミニトマト: 灰色かび病, 葉かび病, うどんこ病: 収穫前日まで

なす: 灰色かび病, すすかび病, 菌核病: 収穫前日まで
きゅうり: 灰色かび病, 菌核病, うどんこ病, 褐斑病: 収穫前日まで

にがうり: うどんこ病: 収穫前日まで

すいか: 菌核病, うどんこ病: 収穫前日まで

メロン: つる枯病, うどんこ病: 収穫前日まで

はくさい: 黒斑病, 白斑病: 収穫前日まで

キャベツ: 菌核病, 株腐病: 収穫前日まで

ブロッコリー: 菌核病: 収穫前日まで

レタス・非結球レタス: 菌核病, 灰色かび病, すそ枯病: 収穫前日まで

たまねぎ: 灰色かび病, 灰色腐敗病: 収穫前日まで

ねぎ: 黒斑病, 葉枯病, さび病: 収穫前日まで

いちご: うどんこ病, 灰色かび病: 収穫前日まで

ピーマン: うどんこ病: 収穫前日まで

きく: 白さび病, うどんこ病: 発病初期

ばら: うどんこ病, 黒星病: 発病初期

花き類・観葉植物 (ばら, きくを除く): うどんこ病: 発病初期

●ピラジフルミド水和剤

24072: パレード 15 フロアブル (日本農薬) 18/3/30

ピラジフルミド: 15.0%

りんご: 黒星病, 斑点落葉病, 輪紋病, すす点病, すす斑病, うどんこ病, 褐斑病, 黒点病, 赤星病: 収穫前日まで

おうとう: 灰星病: 収穫前日まで

なし: 黒星病, 輪紋病, うどんこ病, 赤星病, 黒斑病: 収穫前日まで

もも, ネクタリン, すもも: 灰星病, 黒星病: 収穫前日まで

小粒核果類 (すももを除く): 黒星病: 収穫前日まで

ぶどう: 黒とう病, さび病, 灰色かび病, 褐斑病: 収穫 7 日前まで

かき: うどんこ病: 収穫前日まで

かんきつ: 灰色かび病, そうか病: 収穫 7 日前まで

「除草剤」

●クロメプロップ・ピラゾレート・プロピリスルフロ水和剤

24053: パディガード Z フロアブル (ホクサン) 18/3/14

クロメプロップ: 7.0%

ピラゾレート: 29.5%

プロピリスルフロ: 1.5%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ

●トリアファモン・フェンキノトリオン・フェントラザミド粒剤

24056: カウンシルエナジー ジャンボ (バイエルクロップサイエンス) 18/3/28

24057: アバンティジャンボ (クミアイ化学工業) 18/3/28

24058: カウントダウン ジャンボ (全農グリーンリソース) 18/3/28

トリアファモン: 1.2%

フェンキノトリオン: 7.5%

フェントラザミド: 7.5%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, クログワイ, オモダカ, コウキヤガラ

●トリアファモン・フェンキノトリオン・フェントラザミド粒剤

24059: カウンシルエナジー 1 キロ粒剤 (バイエルクロップサイエンス) 18/3/28

24060: アバンティ 1 キロ粒剤 (クミアイ化学工業)

18/3/28

24061: カウントダウン 1 キロ粒剤 (全農グリーンリソース) 18/3/28

トリアファモン: 0.50%

フェンキノトリオン: 3.0%

フェントラザミド: 3.0%

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, クログワイ, オモダカ, コウキヤガラ

●ピリミノバックメチル・フェンキノトリオン粒剤

24062: ベルーガ 1 キロ粒剤 (クミアイ化学工業) 18/3/28

ピリミノバックメチル: 0.90%

フェンキノトリオン: 3.0%

直播水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, アオミドロ・藻類による表層はく離

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, オモダカ, コウキヤガラ, アオミドロ・藻類による表層はく離

●ピラクロニル・ピリミノバックメチル・フェンキノトリオン粒剤

24063: エンペラー 1 キロ粒剤 (クミアイ化学工業)

18/3/28

ピラクロニル: 2.0%

ピリミノバックメチル: 0.75%

フェンキノトリオン: 3.0%

直播水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ

移植水稻: 水田一年生雑草, マツバイ, ホタルイ, ヘラオモダカ, ミズガヤツリ, ウリカワ, ヒルムシロ, セリ, オモダカ, クログワイ, コウキヤガラ, アオミドロ・藻類による表層はく離

「植物成長調整剤」

●ウニコナゾール P 複合肥料

24050: 楽一 28W (住友化学) 18/3/12

24051: 登熟一番 28W (住化アグロソリューションズ) 18/3/12

24052: ダブルショット A28W (レインボー薬品) 18/3/12

ウニコナゾール P: 0.0030%

水稻: 節間短縮による倒伏軽減

特

集

迅速簡易で実践的な残留農薬分析法

FT-IR による農薬簡易スクリーニングと
その将来展望

三浦工業株式会社 RD センター やま 山 した 下 まさ 正 ずみ 純
 三浦工業株式会社 科学分析センター やま 山 もと 本 かず 一 き 樹
 愛媛大学農学部 環境産業科学 むかい 向井 あきこ 亜希子・川嶋 かわしま 文人・濱田 あやと のりあき はまだ 典明

はじめに

本稿にて取り扱う農産物あるいは農薬といった分野とは異なるものの、筆者らのグループは、一つの大命題としてダイオキシン類やPCBといった環境中の微量汚染物質を対象とした簡易分析法の確立という課題に多く取り組んできた。その多くは、測定系を替えるものではなく、測定に至る前処理法を確立し、さらにその前段の採取法を見直すものであった。対して本稿では、信州大の石澤広明先生が実用化された農産物中の残留農薬の測定系としてFT-IRを活用する方法を発展させるべく、FT-IRの測定上の課題や制約条件を順次検討し考案したものであり、質量分析計を搭載する各種精密分析機器での精密分析とは大きく体を異にするものである。

本稿では、一度定量モデルを確立すれば操作上は原則として専門知識を要せず、かつ溶媒や本格的な化学試験設備も必要としない生産現場向けの方法として、以下のFT-IRを活用する手法を紹介・提案するものである。

今回は紙面の都合上、各論ではなく概論に終始するが、前半では原理的な点を含めFT-IRを用いた汚染物質の検査法そのものについて、後半ではその検査法の具体的な適応先について将来展望も含めて、その概念を図で示すことで、できる限りそのイメージが伝わるよう簡易な表現にて概説できればと思う。

I 農産物における農薬の検査

1 検査法としてのFT-IRの特徴について

一般に近赤外線は被測定物への透過性に優れるため、

例えば果物の糖度測定のように被測定物内部の成分測定に適応されるのに対して、FT-IRにて検出対象とされる中赤外線は被測定物への透過性に乏しいため、FT-IRの用途としては主に被測定物の表面近傍の情報検出に向いているといえる。また得られる情報も、吸収スペクトルを解析することにより、被測定物の主成分について官能基情報からおおよその物質特定、いわゆる定性分析が可能であることから、食品分野における異物検査など未知汚染物質の1次スクリーニングの手段として多用されている。その最大の特徴としては、多くの場合被測定物を非破壊で、かつステージにセットし短時間で測定結果が得られる非常に簡便な方法である点にある。しかしその一方で、被測定領域が微小なことから低感度でばらつきが大きいなど定量性には限界があり、定量分析の手段としてはその適応先が限定的となっているのが現状である。

2 中赤外による農薬の検査

農薬を測定対象としてFT-IRを用いた検査としては、製剤の異同識別を目的とした確認試験（石原・豊留，2012）などがあるが、定性的な使用が一般的（ARMENTA et al., 2005）である。しかし有機溶媒や専用のガス等を必要としないFT-IRは、取り扱いの容易さや装置価格が質量分析計と比較すると安価であることから、農産物流通過程での利用が可能な検査装置として有望であると考えられる。

残留農薬の残留挙動についての研究事例は少ないものの、トマトやリンゴをはじめ、多くの農作物において残留農薬の大半は作物表面に存在するとの報告例がある（吉田ら，1992；ABOU-ARAB, 1999）ことから、農産物流通過程での残留農薬の簡易検査手法として、農作物に直接赤外を照射するもっとも簡便な方法（以下、直接測定法と呼ぶ）（石澤ら，2000）をはじめ、その感度向上のため農産物表面の残留農薬をシートに拭き取り転写する方法（以下、拭き取り転写法）と、さらに精度向上のた

The Screening Inspection of Pesticide by FT-IR and its Prospects for the Future. By Masazumi YAMASHITA, Kazuki YAMAMOTO, Akiko MUKAI, Ayato KAWASHIMA and Noriaki HAMADA

（キーワード：簡易分析，FT-IR，農薬，ジチオカーバメート，ドリフト）

め後工程として拭き取った農薬を溶媒中に分散ろ過する操作を加えた方法(以下、拭き取り分散ろ過法)(山本ら, 2016; 2017)が開発され、実用化あるいは現場での検討が進められている。実践的には、検査の目的に応じて要求される定量精度や適応先において許容される操作内容に応じて、これらを適宜選択する必要があることから、以下に、これら各法について基本原理と操作法および特徴を中心に概説しておきたい。

なお、ここでは紙面の関係上、対象農産物や対象農薬別に詳細に検討された結果については、個々の報文に譲ることとしたい。

(1) 直接測定法

図-1の測定フローのように、試料の一部をカットし(工程①)、それを赤外分光の測定ステージに密着させ全反射法で測定し(工程②)、そこで得られたスペクトルをPLSなど定量モデル作成ソフトであらかじめ作成しておいた定量モデルで解析し、試料中の農薬濃度を定量(工程③)するものである。その際に、プリズムとして複数回赤外線を反射させる多段反射式のプリズムを用いることで、精度向上が図られている。

この操作手順のように、専門的な知識を要する操作はなく生産現場に適応可能な大変簡便な方法である。精度的には、例えば葉菜類の場合、葉菜表面の葉脈に由来する複雑な形状や表面から浸出する水分の影響等がプリズムに試料を密着させる際に発生する測定の際のばらつきにつながることから、農産物の表面形状や水分量の影響を受

けやすく、個々の農産物にてその点を考慮した検査手法の確立が必要とされる。

(2) 拭き取り転写法

図-2の測定フローのように、この方法では先にあげた直接測定法で問題とされる測定時における試料の表面形状からの影響を回避しつつ、試料表面のより広範囲を測定対象としてカバーするために「拭き取り」という工程を設けている。その手順は、ペン先にシートを装着させたペンで農産物表面を拭き取ることでシートへ表面の残留農薬を転写濃縮し(工程①)、そのシートを赤外分光の測定ステージに密着させ全反射法で測定し(工程②)、そこで得られたスペクトルをPLS(部分最小二乗法)など定量モデル作成ソフトであらかじめ作成しておいた定量モデルで解析し、試料中の農薬濃度を定量(工程③)するものである。原則として農産物自身を破壊抽出しないため精製や分析で問題となる農産物由来の夾雑物の混入がほとんどないことから、本稿の主旨からは外れるが、場合によっては本来必要な精製工程を簡略化ないし省略し測定系のみ精密分析同様の分析機器を用いる、という選択肢もありうる。

図-2に挙げた操作手順についても、先の直接測定法同様に専門的な知識を要する操作はなく生産現場にも適応可能な大変簡便な方法といえる。精度的にも、拭き取り面積の加減によって個々の農産物種と農薬種によって定められた基準に応じた検査手法とできる利点がある。その半面、農産物の表面形状があまりに複雑であると、

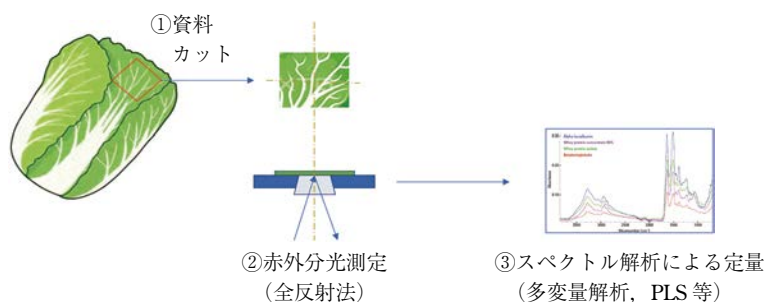


図-1 直接測定法の測定フロー

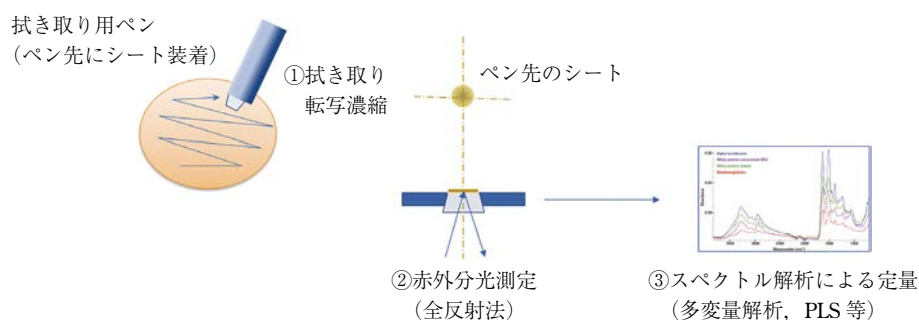


図-2 拭き取り転写法の測定フロー

平らなシートではうまく拭き取れないことから、適応可能な農産物に制限（比較的硬度があり、なめらかな形状のもの）がある。

また、シートには試料表面の被回収物が順次重ねて積層されていく形となるため、後に拭き取られた部位ほど測定結果により影響する傾向が避けられない。したがってそういったばらつきを考慮した検査手法の確立が必要とされる。具体的には、サンプル数を増やして、検定によって基準超過の判定を行うといった方法である。

（３） 拭き取り分散ろ過法

図-3の測定フローのように、この方法では先にあげた平らなシートで拭き取る場合に起きるいくつかの問題点を克服するために、拭き取り（工程①）の後に、拭き取られた被回収物を溶媒中に分散することによりいったん均一化し（工程②）、その後ろ過によりろ紙上に均一に再濃縮して（工程③）、そのろ紙を赤外分光の透過法にて測定し（工程④）、そこで得られたスペクトルをPLSなど定量モデル作成ソフトであらかじめ作成しておいた定量モデルで解析し、試料中の農薬濃度を定量（工程⑤）するものである。また本法の起点となる拭き取り材の改良点として、農産物表面の微細な凹凸に対応できるよう少し柔軟性がある素材を選定し、工程②で溶媒に溶解可能な素材（例えば水溶性のポリビニルアルコールなど）を用いている点である。

ポイントとしては、若干工程は煩雑とはなるものの、工程②と工程③（図-3 赤枠部分）で被回収物をろ紙上に均一化し、さらに透過法の適応で全反射法に比べてより感度を向上することにより、ばらつきの少なく高精度な定量分析を実現した点である。

II 農産物流通における簡易迅速検査法としてのFT-IR活用

1 残留農薬出荷前検査に向けた取り組み

農作物における残留農薬分析は、厚生労働省による試

験法（通知法）や自主検査を中心に QuEChERS 法などが用いられており、主に GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS, LC-MS/MS 等の質量分析計が測定に使用されている。しかし、煩雑な前処理、抽出、精製といった工程を要するため、出荷から消費までの流通期間が短い青果物においては、残留農薬の出荷前検査が事実上難しく、現に流通段階で基準超過が発覚し回収困難といった事態も多く発生している。そして超過事例の原因としては、散布農薬の調合ミスもしくは調合タンクの洗浄不備等の知識不足に由来するものからドリフトや汚染土壌からの影響といった非意図的なものまで多岐に渡っており、その発生を完全に回避することは困難といえる。しかしながら、流通段階で基準超過が発覚した場合、その影響は、その農作物を原料として加工された末端の加工食品にまで及ぶため、食の安全安心の信頼失墜と経済的損失等社会に及ぼす影響は多大である。したがってこういったリスク回避のためには、流通前検査を可能とする簡易迅速分析法や農作物中の残留農薬の低減除去法等を組合せた総合的な食の安全安心システムを早急に確立する必要があると考えられる。

以下では、本稿で取り上げた FT-IR による農薬の簡易迅速検査法を含めて、残留農薬出荷前検査に向けた取り組みについて紹介したい。

（１）生産者団体での取り組み

JA 長野八ヶ岳では、社団法人長野県農村工業研究所が測定器メーカーの島津製作所と共同開発した FT-IR を用いた上記直接測定法により、主力農産物であるレタスにて残留農薬検査の実績がある。検査時間が 10 分程度であり、出荷前検査に適した手法といえる。

（２）農業試験場での取り組み

筆者らは、本稿で紹介の FT-IR での農薬簡易検査技術を核として、その現場への普及を目指し、四国四県を中心とした複数県（愛媛県、高知県、香川県、徳島県、兵庫県、奈良県、島根県ほか）の農業試験場（四国四県および近畿中四国農薬分析担当者会）と連携して、各地方の主要特産品別に施用農薬種を対象として各種検討を行い、その成果の一部は既に各種関連学会や有機化学物質研究会（独立行政法人農業環境技術研究所主催）等の場で報告している（山下ら、2014 a ; 2014 b）。

愛媛県では 2002 年より愛媛県農薬適正使用推進協議会を設置し、愛媛県農林水産研究所にて地元生産者団体からの農産物について残留農薬の出荷前検査が可能な体制を整え、2003 年より年間約 450 検体の県内農産物の

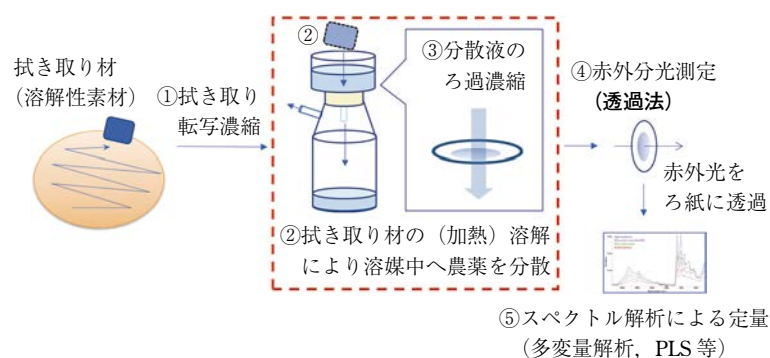


図-3 拭き取り分散ろ過法の測定フロー

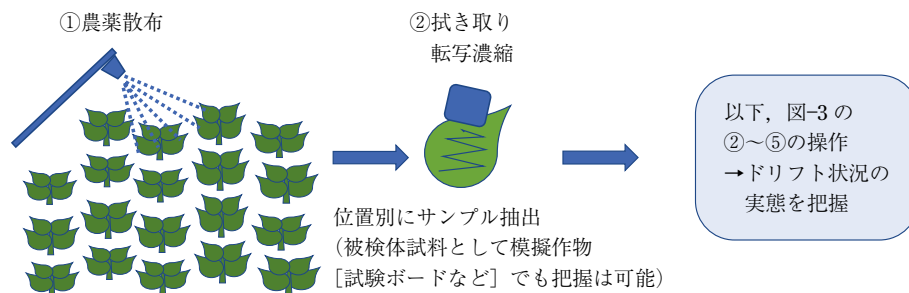


図-4 ドリフト確認試験（スクリーニング）の測定フロー

残留農薬分析を実施している。愛媛県農林水産研究所での取り組みとしては、柑橘の栽培において多用されているマンゼブを含むジチオカーバメート剤について数種の代表的な柑橘を用いて、拭き取り転写法により得られた定量値と機器分析で得られた定量値との間で高い相関性が得られることを確認している（山下ら，2014 c）。

ジチオカーバメート剤は、平成26年の日本国内出荷量で4,000トン以上（殺菌剤の出荷量の9%）と使用量が多く、農薬の検査対象としても欠くことのできないものである。しかしながら多成分一斉試験法での分析法は確立されておらず、非常に工程が煩雑であることから高い回収率が得られないものの個別試験法に頼らざるをえない現状にあり、効果的な簡易スクリーニング法の確立が急務とされている対象農薬の一つである。

2 農場、生産加工現場への適応

残留農薬の出荷前検査以外の分野で、FT-IRの特徴が活かせる適応先として以下に例を挙げる。

（1）農薬散布によるドリフト管理

徳竹らは軟質ポリエチレンシートを樹脂板に貼り付けた捕集材を使用し、前記FT-IRでの直接測定法にて、各所に配置された捕集材上の農薬付着濃度が簡易かつ迅速（測定時間1分）に推定可能なドリフト試験方法について提案している（徳竹ら，2012）。この例では樹脂板を直接FT-IRにて測定する方法であるが、徳竹らの方法をさらに発展させた方法として、図-4のように被検体試料として作物自体あるいは模擬作物として配置した試験ボードなどを拭き取り濃縮することで、さらに高精度での定量（ごく微量の農薬飛散量の把握）が可能になると考えられる。

（2）二次的な農薬汚染予防管理

多くの輸出あるいは輸入農産物において、日本国内での農薬の残留基準と海外対象国での残留基準が異なることから、日本への輸入品の場合には、国内基準への適合性について、輸出品の場合には輸出対象国の基準への適合性について、慎重な管理・対応が必要になってくる。

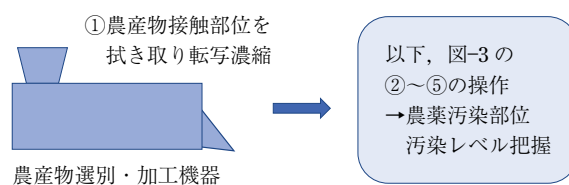


図-5 農薬汚染検査（スクリーニング）の測定フロー

特に、ポジティブリスト制によって海外では農薬登録がなく一律基準の厳しい残留基準が適応される場合に要注意である。

一例として、国内向け流通品と輸出品が同じ選別ないし加工機器で取扱いされる場合には、二次的な農薬汚染がないようにその予防管理が必要となってくる。管理の徹底が難しくデリケートな問題であるため、具体的な農産物を例に挙げて、ここで議論することは避けたいが、今後考えられる有効な管理手法として、図-5のように、二次汚染の可能性のある機器について、機器での処理農産物の履歴管理や定期洗浄を行うとともに、機器内の農産物が接触する部位について拭き取り検査を行い汚染レベル（接触面積当たり残留農薬量）の把握をすることが有効と考えられる。

3 安全・安心認証による付加価値向上に向けて

（1）輸出農産物

昨今、農産物の輸出輸入の自由化が進められる中で、国内農産物の衰退が懸念されている。しかしながら、その一方で、日本ブランドの持つ安全・安心のイメージから輸出の好調な農産物が数多く存在するのも事実である。いずれにしても品質面あるいは安全・安心面で差別化を図り、付加価値の高い商品としていかなければならない。そのことが今後も変わらず要求されることは間違いないものと思われる。その際に、どのような形で付加価値を確保するか様々な方法が検討されなければならないが、安全・安心を簡便に低コストで提供できるようなくみを作り、言わば実効性の高い安全・安心認証と、その認証による付加価値向上という命題があるものと思う。

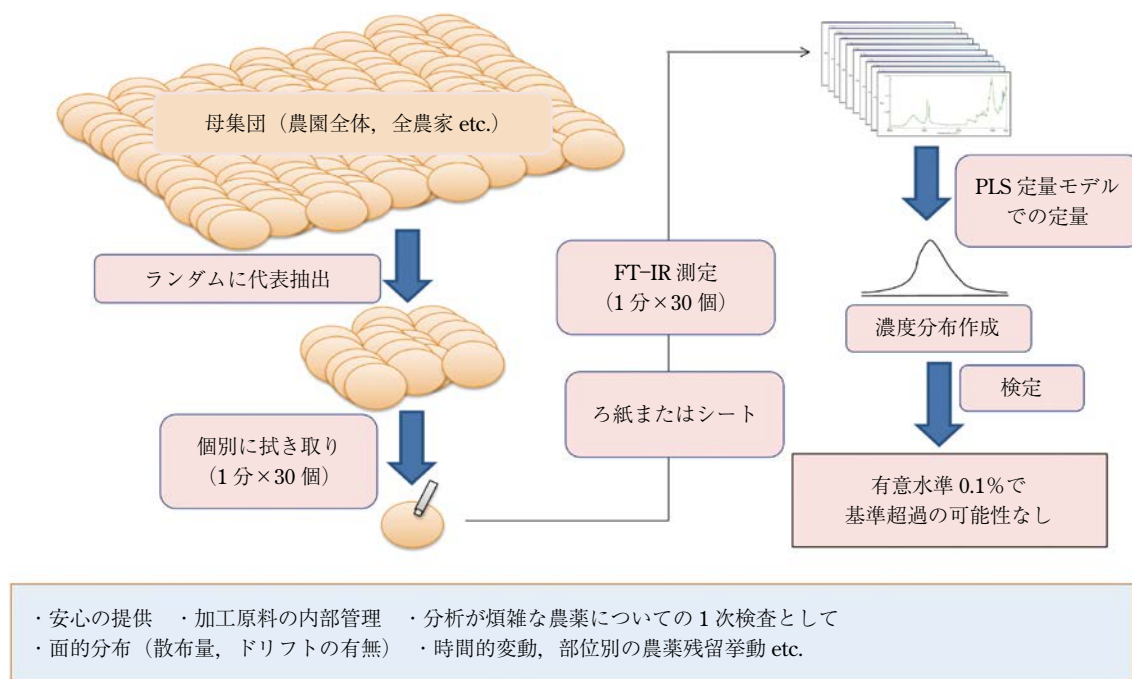


図-6 新しい農産物検査、流通体制（検査実施例とその適応先）

図-6 に、これまで述べてきた FT-IR での農薬検査を活用した場合の安全・安心認証の例を示す。繰り返しになるがここでも、FT-IR の特徴である簡易・迅速性、したがって安価に数多くの農産物検査を現場サイドで実施可能な面が最大限活かせるものと考えられる。

（2）輸入農産物

図-6 に示す検査は、当然のことながら輸入農産物の水際検査においても有効な手段となりうる。しかしながら、輸入農産物の安全・安心をより安定的なものとするには、流通の上流に位置する海外農場での生産管理、GAP（農業生産工程管理）の中に安全・安心にかかわる現場実効性のある手法を確立していく必要がある。これまで挙げたように FT-IR による検査手法は、農場での農薬散布の際のドリフト管理から出荷品の農薬検査まで適応場面が多岐に渡ることから、これらをうまく組合せることにより農場という現場サイドで取り扱い可能な管理手法の確立が今後期待される。

おわりに

本稿では、FT-IR の特徴を活かした検査手法として、農薬の検査を中心に話を進めた。FT-IR で得られる定量値について、その検証の多くは従来機器による精密分析（GC-MS, LC-MS, GC-MS/MS, LC-MS/MS 等）を真値として対比が行われているため、適用農産物や農薬種、

適用場面や目的を限定した場合、得られた値の有効性や信頼性の面で遜色はないものの、本稿で扱った FT-IR での検査手法は、原理的には、農産物の表面情報を対象とする点から、原則としてそれら精密分析と同列のものとして扱うよりは、有効な一次スクリーニングの手段と位置づけて考えたほうが、無理がないように考える。そのため、従来からある精密分析の代替手段（分析法）という位置づけではなく、あくまでも検査手法として、その可能性について各方面にて今後検討が進められることを期待している。端的には精密分析との間で互助的な補完関係を築くことによって、農産物の安全・安心の検査網が飛躍的に広がっていくことを願ってやまない。

引用文献

- 1) ABOU-ARAB, A. A. K. (1999): Food Chemistry **65**: 509~514.
- 2) ARMENTA, S. et al. (2005): Talanta **67**: 634~639.
- 3) 石澤広明ら (2000): 農業機械 **62**: 136.
- 4) 石原 悟・豊留夏紀 (2012): 日本農薬学会 **37**: 190~195.
- 5) 徳竹翔太ら (2012): 照明学会 **96**: 272~278.
- 6) 山下正純ら (2014 a): 第 37 回農薬残留分析研究会講演要旨集: 112~118.
- 7) ————ら (2014 b): 農業環境技術研究所編 第 14 回有機化学物質研究会資料: 69~76.
- 8) ————ら (2014 c): 日本農薬学会第 39 回大会講演要旨集: 99.
- 9) 山本一樹ら (2016): 環境化学 **26**: 211~217.
- 10) ————ら (2017): 同上 **27**: 153~162.
- 11) 吉田精作ら (1992): 日本農芸化学会誌 **66**: 1007~1011.

特

集

迅速簡易で実践的な残留農薬分析法

QuEChERS 法を活用した残留農薬一斉分析法

JA あいち経済連 営農支援センター ^{なが}永 ^い井 ^{ゆう}雄 ^た太 ^{ろう}郎

はじめに

JA グループ愛知では、消費者に安全・安心な農作物を提供するため、工程管理である生産履歴記帳や GAP、結果管理としての残留農薬分析に取り組んでいる。これらを組合せた安全・安心の取り組みについては、以前本誌などに寄稿しているため（原，2012）、詳細についてはそちらをご参照いただきたい。JA あいち経済連（以下、本会）は、残留農薬分析を担当しており、本稿では、残留農薬分析の分析法として採用している QuEChERS 法について、その手法を中心に紹介する。

I 安全・安心対策における残留農薬分析

農薬は、その使用方法が農薬取締法で、残留基準値が食品衛生法で定められており、使用基準を守って適切に使用すれば、収穫物で残留基準を超過することがないようになっている。そのため、消費者に安全・安心な農産物を届けるためには、産地で正しく農薬が使われている状態を維持することが重要になる。JA グループ愛知では、生産履歴記帳のチェックと残留農薬分析により、農

薬が適正に使用されていることを確認している（図-1）。生産履歴記帳では、生産者が日々の栽培管理を記録した生産履歴を、出荷時に JA に提出する。生産履歴をチェックすることで、すべての出荷物において、農薬が適正に使用されていたかどうかを確認することができる。しかし、記帳忘れやドリフト、散布器具の洗浄不足等、記録されていない汚染については確認することができない。一方、残留農薬分析では、記録されていない農薬の残留も見つけることができるが、抜き取り検査になるため、出荷物すべてを検査することはできない。生産履歴記帳による全出荷物の管理を主とし、その短所を残留農薬分析が補うことで、安全・安心対策の取り組みが実効性を増すと考えられる。具体的には、「検査結果と生産履歴を照合して、生産履歴が正しく記録されているのかを確認する」、「基準値超過や適用外農薬の検出等の問題があった場合に、原因究明を行い、同様の原因で問題が発生しないよう、再発防止対策を行う」等の対応を通じて、すべての生産者に、「正しく農薬を使用し、正確に記録する」という意識を持ってもらうことが重要である。

そして、その際の残留農薬分析法としては、できるだ



生産履歴記帳と自主検査(残留農薬分析)によって、
農薬の適正使用を確認しています。

図-1 JA グループ愛知の安全・安心対策

Multi Analysis of Pesticides Using QuEChERS Method. By
Yutaro NAGAI
(キーワード: 農薬, 残留, 一斉分析, QuEChERS, 自主検査)

け多くの農薬を迅速に測定できるスクリーニング的な方法が望ましいと考えられる。不適切な農薬の使用やドリフトの可能性を見つけることができるのであれば、定性的な手法でも有効なものになりうる。QuEChERS 法は、その簡便性、迅速性、分析対象成分の広さから、本会の目的に適した分析方法であると考えられる。

II QuEChERS 法について

QuEChERS 法は 2003 年に発表された一斉分析法で、その特長である Quick (迅速), Easy (簡易), Cheap (安価), Effective (効率的), Rugged (堅牢), Safe (安全) を組合せて命名されている。その後、多数の改良法が報告されているが、本会では代表的な二つの報告事例を参考として、最適な自主検査法の開発を進めた。改良法では、アルカリ性側で分解されやすい TPN や N-trihalomethylthio 系殺菌剤 (キャプタン、ジクロフルアニド等) の回収率を安定化させることを目的として、緩衝力のある塩を用いて抽出時の pH を酸性側に調整しており、クエン酸塩を用いる EN 法 (European Committee for Standardization Standard Method EN 15662, 記事末参照) と、酢酸塩を用いる AOAC 法 (Association of Official Analytical Chemists International Official Method 2017. 1, 記事末参照) がある。本会では、EN 法を採用している。

III 分析手法について

QuEChERS 法を導入する前は、厚生労働省通知法の GC-MS による農薬などの一斉試験法 (農産物) (<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000075497.html>) に近い手順で試料調製を行っていた。そのときと比較して、試料調製にかかる時間が大幅に短縮され、

溶媒使用量も大きく減っている。図-2 は、従来法と QuEChERS 法で使用する器具をそれぞれ並べたものである。従来法では、大量のガラス器具を使用していたが、QuEChERS 法で使うのは、50 ml 容ポリプロピレン製遠心管と 1.5 ml 容ポリプロピレン製マイクロチューブ、後はマイクロピペットのチップだけである。この遠心管の中で抽出から塩析による抽出液の分離まで行い、マイクロチューブの中で精製を行う。残留農薬の分析にはつきものであった、ろ過や濃縮の操作もなく、ミニカラムも使わない。ほとんどが使い捨てのポリプロピレン (PP; polypropylene) 製品を使用するため、器具を洗浄する手間も大幅に削減することができた。

本会における QuEChERS 法の操作手順 (図-3) は、以下の通りである。

【抽出、塩析】

凍結状態で粉碎した試料 10 g を 50 ml 容遠心管に採取し (図-4)、アセトニトリル 10 ml を加え手で 1 分間振とうする。そこに無水硫酸マグネシウム 4 g、塩化ナトリウム 1 g クエン酸水素二ナトリウム 0.5 g およびクエン酸三ナトリウム 1 g を添加し、1 分間手で振とうし、遠心分離する。

【精製】

液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) 用は、遠心分離後のアセトニトリル層 1 ml を固相混合物 (表-1) を入れた 1.5 ml 容マイクロチューブに採取し (図-5)、1 分間振とう後、遠心分離する。ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS/MS) 用は、固相混合物に無水硫酸マグネシウム 150 mg、2% 硝酸銀 10 μ l を加え、同様に操作する。



図-2 残留農薬分析に使用する器具
左：従来法，右：QuEChERS 法。

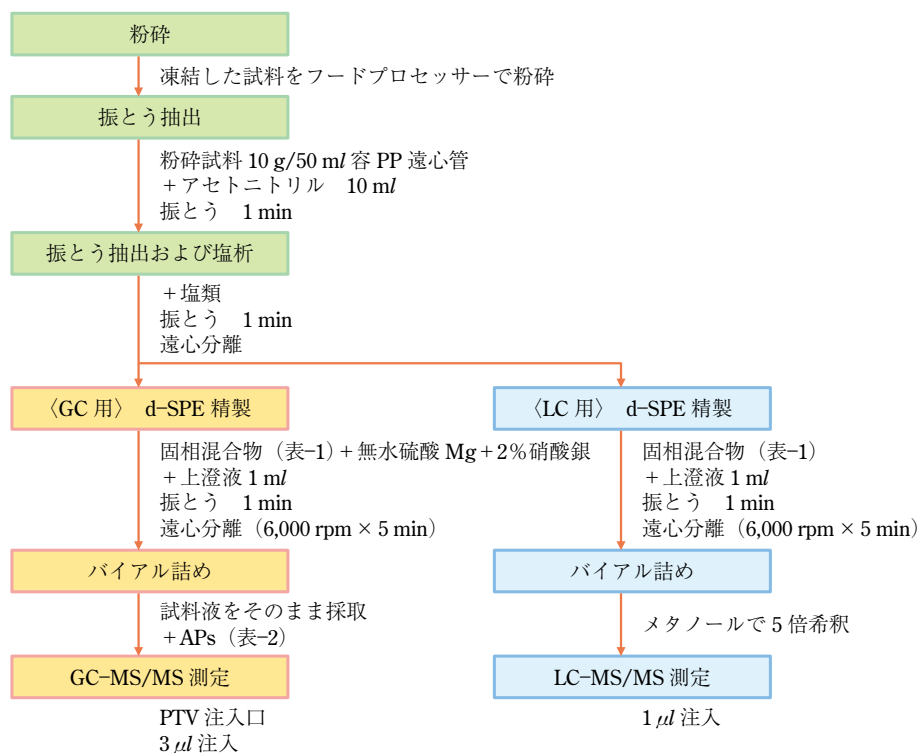


図-3 分析法フローチャート



図-4 粉碎試料の秤量

表-1 固相混合物 (各固相を下表の重量比で混合したもの)

用途	PSA : C18 : GCB	使用量 (mg/ml 試料液)
色素の少ないもの	25 : 25 : 1	51
色素の多いもの	25 : 25 : 5	55

【測定】

遠心分離後の試料液を、LC 用は、メタノールで 5 倍希釈する。GC 用はそのままバイアルに移し、分析対象成分保護剤の混合液（以下、APs : Analyte Protectants, 表-2 参照）を添加する。GC-MS/MS, LC-MS/MS (図-6) を用いて測定する。



図-5 塩析後の試料 (左側) と d-SPE 精製後の試料 (右側) 抽出液は塩の作用により、遠心管内でアセトニトリル層 (上層) と水層 (下層) に分離する。アセトニトリル層をマイクロチューブに採取し、精製を行う。

IV 各ステップの留意点

QuEChERS 法を有効に使うためには、押さえておかなければならないポイントがあるため、ステップごとに説明していく（詳細については、永井 (2012) 参照）。

1 粉碎

QuEChERS 法は供試量が 10 g と少なく、短時間の振とう抽出であることから、均一性と抽出効率を上げるため、できるだけ細かく粉碎することが求められる。そのために、試料を凍結させた状態で粉碎している。粉碎作



図-6 測定装置

左：GC-MS/MS（ブルカー・ダルトニクス製 Sciex），右：LC-MS/MS（ABSciex 製 QTRAP5500）。

表-2 Analyte Protectants (APs) 添加量

化合物	mg/ml 試料液
エチルグリセロール	1.5
グルコノ- δ -ラクトン	0.5
ソルビトール	0.075
シキミ酸	0.25

これらの混合液を調製しておき、一定量添加。

業の間、試料を凍結した状態で維持するため、フードプロセッサのボトルと刃を -10°C に冷やしておき、必要に応じてドライアイス製造装置から、液化炭酸ガスの冷気を直接試料に吹き付けている（図-7）。

2 抽出

1 回目の抽出は、粉碎試料中や抽出時に無水硫酸マグネシウムの溶解熱による温度上昇で農薬が分解されることを防ぐため、試料を凍結した状態で開始する。

QuEChERS 法の主要な開発者の一人である ANASTASSIADES et al. (2003) は、抽出時間について、1 分間 $\times$ 2 回の手振りでは、実残留試料からの抽出効率が不十分であり、凍結試料から抽出を始める場合、1 回目の振とう時間を振とう機を用いて 15 分間（トマトについては 30 分間）に延ばす必要があることを報告している。（<http://www.flworkshop.com/2013/presentations/08-Anastassiades.pdf> を参照）

3 精製

精製には、試料液とミニカラムの充てん材としても使われている固相の粉末などを振り混ぜるバッチ法を用いる（図-5）。この精製法は分散固相抽出（Dispersive Solid Phase Extraction, d-SPE）と呼ばれ、QuEChERS 法の特徴の一つである。固相としては、通常 PSA が用いられるが、それに加え脂質の多い試料では C18 が、色素の多い試料では、グラファイトカーボンブラック（以下、



図-7 ドライアイス製造装置による冷気の吹き付け

GCB）が追加されることがある。我々は、PSA, C18 および GCB を表-1 の比率で混合したものを使用している。また、特にユリ科やアブラナ科作物では、d-SPE の段階で PSA と作物体成分との作用により、TPN などが分解されてしまうことから、その分解を抑制するため、GC 用の試料のみ、硝酸銀水溶液を添加している（永井ら、2016）（図-8）。

4 測定

精製が十分でない QuEChERS 法の試料を用いて、一律基準（0.01 ppm レベル）の農薬の残留を測定するためには、分析装置には高い感度と選択性が求められる。本会では、高感度、高選択を兼ね備えた GC-MS/MS, LC-MS/MS を導入している。マトリックスの影響を少しでも小さくするため、装置への試料の負荷量をできるだけ少なくしている（GC は、等倍試料 $3\mu\text{l}$ 注入、LC は、

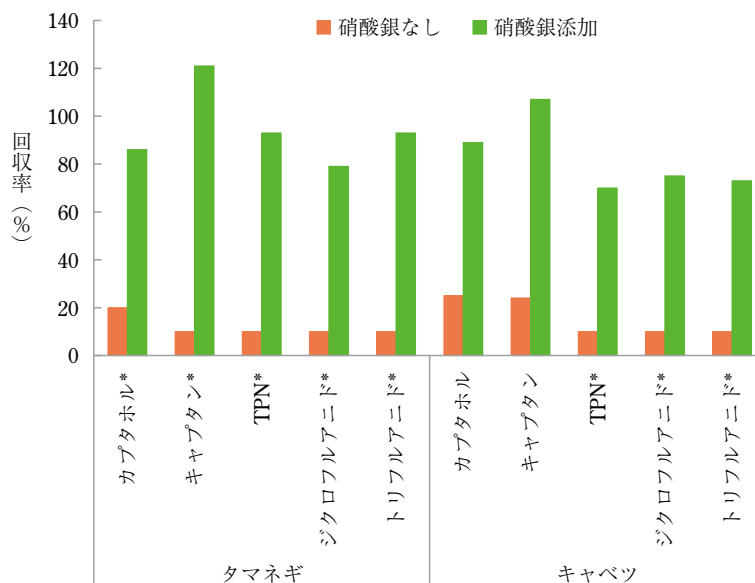


図-8 タマネギおよびキャベツ添加回収試験における硝酸銀の効果
(*硝酸銀なしは定量限界 (10%) 未満, ただしカプタホルは検出限界 (20%) 未満)

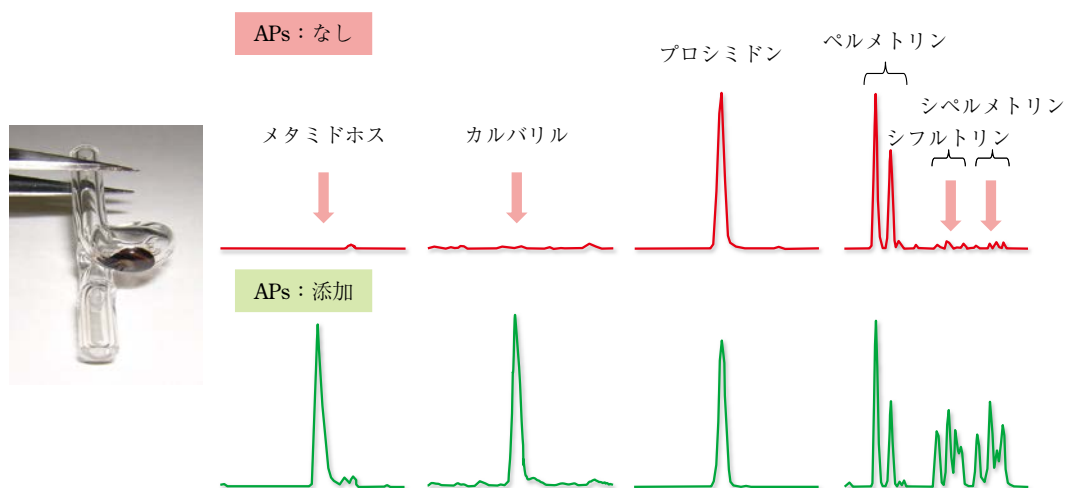


図-9 汚染ライナーでの測定における APs の効果
汚染した状態のライナー (左写真) での測定した標準溶液のクロマトグラム. APs なし (上段) では, 赤矢印の農薬は検出できないが, APs 添加では (下段), 感度が回復し, 測定できるようになる。

5 倍希釈試料 1 μ l 注入)。

GC の測定には, PTV 注入口 (LVI-S200, アイスティサイエンス製) を用い, 高沸点・不揮発性夾雑成分を注入口のライナー (試料液を加熱気化する部分) に残すようにしている。精製が十分でない d-SPE 精製試料を測定すると, ライナーが不揮発性夾雑物で汚染され, そのままでは測定できない成分がでてくる。そこで, ライナー内の分解や吸着を起こす活性点を塞ぐ効果を持つ化合物 (APs) をすべての試料と標準溶液に添加している (図-9)。

GC-MS/MS における増感効果や, LC-MS/MS にお

けるイオン化抑制の解決は難しい。そのため, 適用外農薬検出や基準値超過の判定を行う際には, 標準添加法やマトリックス検量線を用いている。

V 分析対象

我々は主に野菜類を対象として測定を行っているが, 穀類などの水分含量の低いものについても, 水を添加することで分析ができる。また, アボカドや食用油等に対応するための手法も提案されている (<http://quechers.cvua-stuttgart.de/>)。

通常の一斉分析法の対象となる農薬であれば, 分析は

可能である。また、d-SPE 精製は精製効果がミニカラムに比べて落ちるが、ミニカラムでは、分解や吸着により失われてしまう農薬が、検出できる場合がある。例えば、酸性農薬は、一般によく用いられる陰イオン交換系のミニカラムでは、吸着されて回収できないが、PSA を用いた d-SPE 精製では、検出できるものがある。ただし、定量的な測定は、d-SPE に使う固相の種類をかえたり (C18 だけにするなど)、元々の EN 法でオプションとして提案されているように精製なしで測定する必要がある。また、ミニカラムによる精製や濃縮の際に分解してしまうチオファネートメチルも、濃縮なしの d-SPE 精製であれば、そのものを測定できる。

EN 法は抽出時に酸性になるが、塩基性農薬のアセトニトリルへの分配効率には影響しない。酸性であることで回収率が低下する農薬として、ピメトロジンがあげられる。

通常の一斉分析では測定が難しい TPN などについては、QuEChERS 改良法でも安定した回収率は得られていない。しかし、前述したように、d-SPE 精製時に硝酸銀を添加することで、ユリ科や多くのアブラナ科作物でも TPN などの測定が可能となる。

おわりに

自主検査としての残留農薬分析は、産地で農薬が適正に使用されている状態を維持するための取り組みの一環であり、その目的に対して QuEChERS は有効な手法であると考えている。今後、GAP の普及や HACCP の義務化、農産物輸出の増大により、自主検査を行う分析機関に対しても、高い信頼性保証体制が求められる可能性がある。QuEChERS 法で ISO/IEC17025 認定を取得している事例もあることから、QuEChERS 法のメリットを生かしながら、信頼性を上げていくことも検討していきたい。

引用文献

- 1) ANASTASSIADES, M. et al. (2003): J. AOAC Int. **86**: 412~431.
 - 2) 原 広志 (2012): 植物防疫 **66**(1): 55~60.
 - 3) 永井雄太郎 (2012): 日本農薬学会誌 **37**(4): 362~371.
 - 4) ————ら (2016): 第 39 回農薬残留分析研究会講演要旨集: 111~128.
- EN 法: https://www.en-standard.eu/csn-en-15662-foods-of-plant-origin-determination-of-pesticide-residues-using-gc-ms-and-or-lc-ms-ms-following-acetonitrile-extraction-partitioning-and-clean-up-by-dispersive-spe-quechers-method/?gclid=EAlaIqobChMluaCM2aWd2gIVFwoqCh288AecEAMYASAEGJSd_D_BwE 参照
- AOAC 法: LEHOTAY, S. J. (2007): J. AOAC Int. **90**: 485~520. 参照

登録が失効した農薬 (30.3.1~3.31)

掲載は、**種類名**，登録番号： **商品名**（製造者又は輸入者）登録失効年月日。

「殺虫剤」

- カルボスルファン・フィプロニル粒剤
19560：ギャング粒剤（BASF ジャパン）18/3/24
- MEP 乳剤
19591：家庭園芸用キングスミチオン乳剤（白元アース）18/3/27
- マラソン乳剤
19602：家庭園芸用キングマラソン乳剤 50（白元アース）18/3/27
- ベルメトリン乳剤
19961：金鳥アディオオン乳剤（大日本除虫菊）18/3/28

「殺菌剤」

- トリシクラゾール・メプロニル水和剤
18642：ビームエイトバシタックエアー（クミアイ化学工業）18/3/22

「殺虫殺菌剤」

- クロチアニジン・ジクロシメット・フェリムゾン水和剤
21654：ブラストッパダントツフロアブル（住友化学）18/3/8
- クロチアニジン・ジクロシメット粒剤
21657：デラウスダントツ L 箱粒剤（住友化学）18/3/8

●ジノテフラン・ジクロシメット粒剤

21036：デラウススタークル箱粒剤（三井化学アグロ）18/3/10

●チアクロプリド・フィプロニル・チアジニル粒剤

21661：ブイゲットプリンスバリアード L 粒剤（日本農薬）18/3/22

「除草剤」

●オキサジクロメホン・クロメプロップ・シメトリン・ベンスルフロンメチル粒剤

22351：ホクコーキメワザ 1 キロ粒剤 51（北興化学工業）18/3/4

●グリホサートカリウム塩液剤

23064：東日本大震災により津波被害を受けた農地専用タッチダウン iQ（シンジェンタジャパン）18/3/21

●エスプロカルブ・ベンスルフロンメチル粒剤

17026：フジグラス粒剤 17（デュポン・プロダクション・アグリサイエンス）18/3/24

●シハロホップブチル・ダイムロン・ベンスルフロンメチル・メフェナセット粒剤

19579：イネグリーン D1 キロ粒剤 51（デュポン・プロダクション・アグリサイエンス）18/3/27

特集

迅速簡易で実践的な残留農薬分析法

超臨界流体抽出法を活用した残留農薬マルチ分析法

一般社団法人 食の安全分析センター あん 安

どう 藤

たかし 孝

はじめに

2002年に全国各地で起きた無登録農薬問題や、輸入農産物の相次ぐ残留農薬基準超過を機に、残留農薬に対する消費者の関心が高まり、安全性を科学的根拠で求める動きがでてきた。また、生産者サイドでも、農産物ブランドを掲げる産地間競争や急増する輸入農産物への対応として、自主的な残留農薬検査体制を望む声が上がった。

宮崎では、こうした問題が起きる前の1999年から生産者団体が自主検査に取り組んでおり、その積極的な姿勢が、各方面から高い評価を受けている。それが、JA宮崎経済連・JA宮崎中央・JA西都（2008年からJA宮崎経済連の検査に発展統合）・宮崎県青果市場連合会・宮崎県冷凍野菜加工事業者協議会等で実施している「宮崎方式」と呼ばれる出荷前に結果がわかる残留農薬自主検査である。

Ⅰ 生産現場が望む農薬分析技術

宮崎では、温暖な気候を生かした施設園芸を積極的に取り入れ、1960年に全国30位だった農業産出額を、50年かけて5位とし、農業県としての地位を築き上げた。施設園芸の振興は、生産者と関係機関が一体となって取り組んできた植物防疫あつてのことだ。高温多湿ゆえに多発する病害虫と向き合ってきた生産者の適正防除に対する研鑽は、相当なものであったと思う。

この適正防除の確認として期待される残留農薬自主検査は、当時、多くの工程を手作業で行うために、検査に2週間近くかかってしまうほか、コストも1検体当たり数十万円と高額であった。これでは、せっかく生産者が適正に農薬を使用した安全な農産物であるにもかかわらず、生産者は検査に高額の経費を負担し、消費者は食べた後には検査の結果がわからない。

そこで、農産物生産の立場から独自の農薬分析技術を開発するにあたり、①出荷前判定が可能なら分析時間を短縮する。②生産者団体などが運営可能な低コストにする。③県内流通農薬を主体に分析対象農薬を選定する。④技術移転しやすいよう分析操作を簡便にする。⑤検査員の健康に配慮し有機溶剤使用量を低減する。⑥公定法と同等の分析精度を確保する。これらをコンセプトとし、コーヒー豆から短時間でカフェインを抽出する超臨界流体抽出（以下、SFE）にヒントを得て、1996年、新しい残留農薬分析技術の開発に取り組みはじめた。

超臨界流体状態とは、物質が、ある温度と圧力を超えると、液体の溶解能と気体の拡散能を併せ持つ状態になることを言い、二酸化炭素だと31℃、7.1 MPaを超えると超臨界流体状態になり、有機溶剤ヘキサンに似た溶解能を持つことがわかっている。

この性質を利用して、農産物中の農薬を超臨界流体二酸化炭素で溶解して抽出するのだが、本来、米や大豆等乾燥物を想定した装置であったため、ピーマンやトマト等水分の多い農産物では、装置内で目詰まりが発生して、実用に耐えなかった。そこで、脱水剤によって農産物中の水分をあらかじめ吸水し、さらさらの状態装置に充てんすれば、目詰まりが発生しないのではないかという発想で試行錯誤した結果、パルプ質のMiyazaki Hydro-Protect（2005年特許3645552）にたどり着き（図-1）、



図-1 脱水剤 Miyazaki Hydro-Protect

Multi Analysis Method of Residual Pesticides Using Supercritical Fluid Extraction. By Takashi ANDO

（キーワード：残留農薬，超臨界流体，分析装置開発，農産物ブランド，GAP，輸出促進）

水分の多い農産物でも残留農薬を短時間で検査できる迅速分析法を確立した（安藤，2007）。

また、油性の農薬は、SFEで抽出後、ガスクロマトグラフ質量分析計（以下、GC-MS）で測定することとし、水性の農薬は、有機溶剤で抽出し、物理フィルターを通すだけの前処理後、定性に優れた液体クロマトグラフ飛行時間型精密質量分析計（以下、LC-TOF/MS）で農薬検出判定を行い、検出された農薬だけを液体クロマトグラフ四重極型質量分析計（以下、LC-MS/MS）で定量することとした。

この分析体系の構築により、県内流通農薬を主体に、過去に問題のあった農薬など約400成分を2時間、約3万円で検査できるようになった。

II 次の栽培に生かす自主検査

「他の県がどこも取り組んだことのない出荷前検査を始めて、もし基準超過があったらどうするんだ？」という声をよそに、「これからの宮崎の農業は安全・安心がキーワードだ」と、県内JAグループが、この技術による全国初となる出荷前残留農薬自主検査に乗り出し、生産者もこれについてきた。

自主検査開始からほどなくして基準超過が見つかった。生産者は、びっくりはしたものの「出荷前にわかってよかった」と自主的に農産物を廃棄し、原因を探した。そしてすぐその情報を生産グループと共有し、栽培法を改善した。以後、15年以上たった今まで、そのグループから基準超過は起きていない。

このように、もし基準超過があっても迅速な対応がとれることから、生産者の特定・原因の究明・関係者への説明・対象外生産者の出荷再開・対象生産者の対処・再発防止策等、問題の早期解決が図れる。

最も大きな効果は、検査の結果を次の栽培に生かす生産指導体制が確立され、検査合格率が、農産物検体ベースで99.9%、検査農薬点数ベースで99.999%（2014年度実績）にまで年々向上していったことだ。すぐに農薬残留が判明する検査体制が、生産者や関係機関の農薬適正使用に対する意識向上につながっている。

次いで、県内の青果市場連合会や、冷凍野菜加工事業者協議会、道の駅、農業法人等も検査に乗り出した。

生産者は自信を持って出荷し、消費者は宮崎の農産物に信頼を寄せる。現場ニーズに沿った残留農薬分析技術の確立によって、生産者と消費者にWin-Winの関係をもたらすことができた（図-2）。残留農薬検査をするから安全なのではない。次の栽培に生かす生産改善、土づくり、生物農薬、太陽熱消毒等総合的な栽培技術に取り

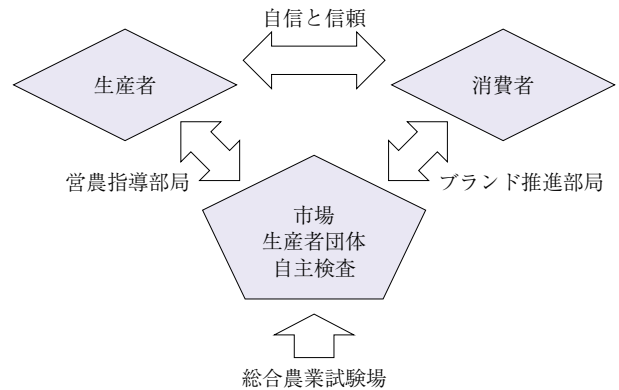


図-2 生産者と関係機関が一体となった検査体制

組んでいるから安全な農産物ができる。検査は、そういった生産者の努力を目に見えるようにするものと位置づけている。

III 次世代型残留農薬分析装置の開発

2012年、宮崎県総合農業試験場は、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）による先端計測分析技術・機器開発プログラムとして、大阪大学大学院工学研究科の馬場健史准教授（現九州大学生体防御医学研究所教授）、神戸大学大学院医学研究科の吉田優分野長、株式会社島津製作所との開発チームに加わり、多成分を一斉に高速かつ全自動で測定する画期的な分析システムの開発に着手した。

食品など複雑で多くの成分を含む試料を分析する際には、抽出や精製といった前処理が必要だが、自動化が困難なうえに熟練を要する手作業であるため、人為的な結果のばらつきが起きやすい。

また、当時の超臨界流体クロマトグラフ（以下、SFC）は、圧力調整弁の開閉動作により発生するノイズのために微量成分の測定が困難であった。加えて、SFCで使用される超臨界流体状態の二酸化炭素は、ヘキサン様の低極性であるが、農薬には、低極性から高極性までの幅広い極性の化合物が存在する。そこで、まず、石橋らが、SFCの残留農薬分析への適応を探るために、GC-MSで分析されている農薬、LC-MS/MSで分析されている農薬、イオンペア試薬またはイオンクロマトグラフといった特殊な分析を必要とする農薬等17成分について、SFCによる農薬分離を研究した。その結果、極性基内包逆相カラム ODS-EP を用いることで、様々な特性の農薬成分を一斉に分析できることを明らかにした（図-3）（ISHIBASHI et al., 2012）。

従来、低極性成分はGC-MSで、高極性成分はLC-MS/MSでと、別々の装置で分析されてきた農薬が、

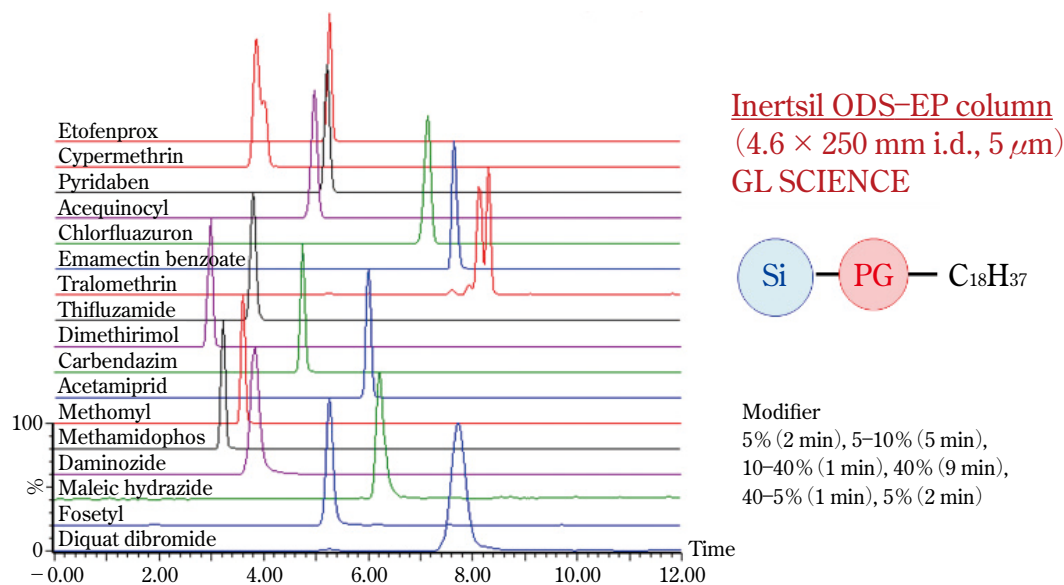


図-3 低極性から高極性まで一斉に計れる技術

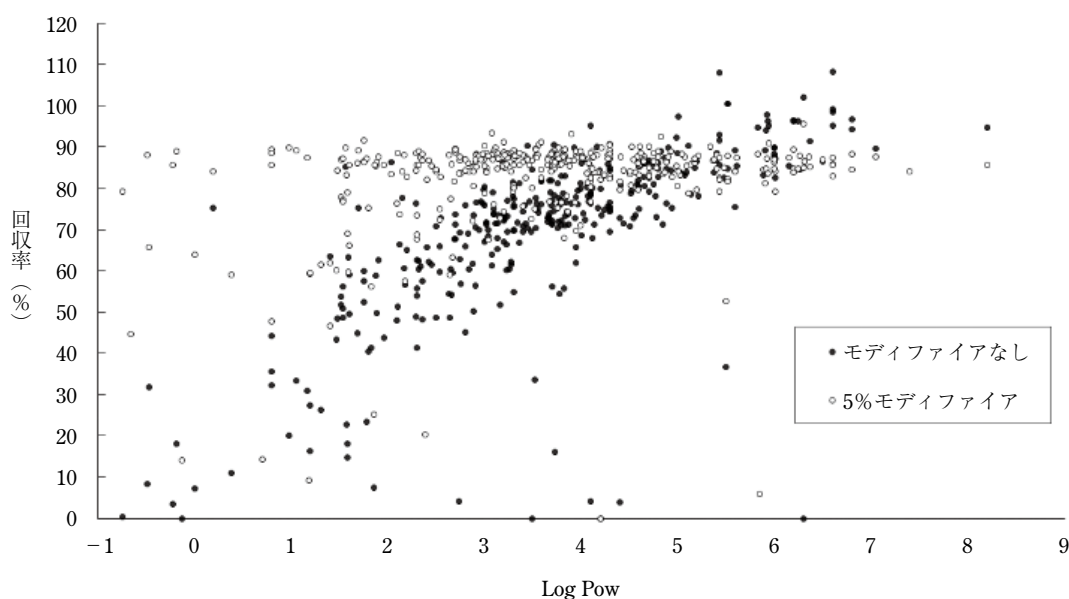


図-4 モディファイア添加による抽出能の向上

SFC-MS を用いることで一斉に分析でき、さらに、イオンペア蛍光誘導体化分析法あるいはイオンクロマトグラフィー法といった特殊な分析法を必要とするジクワットジブロミドも同時に分析できたことは、SFC が移動相に極性溶媒を添加することで溶出力を大きく変化できるという特性によるものであると考えられる。

また、市来らは、SFE を用いて極性溶媒をモディファイアとして添加した場合の農薬抽出能を調べたところ、超臨界流体二酸化炭素だけの抽出に比べ、高極性成分の抽出能が上昇することを確認した(図-4)(市来ら、2015)。



図-5 SFE-SFC-MS システム

このような研究成果とともに 2015 年に製品化された世界初のオンライン SFE-SFC-MS システム(図-5)は、一体型となったことで、熟練の技術を要せずに抽出、分離および計測を高感度・高速かつ自動で行うことができるようになった。

また、島津製作所が開発した新設計の圧力調整弁のおかげでノイズが抑えられ、微量農薬分析用として十分な装置性能に至った。

この装置を用いた残留農薬検査で、検査員の手作業は、粉砕した農産物をあらかじめ脱水剤 Miyazaki Hydro-Protect と混和して抽出管に充てんし、ラックに装てんするところまで。あとは、装置が、農薬の抽出、分離、計測を全自動で行うので、人為的な結果のばらつきも抑えられる。

そして、これまで、液化二酸化炭素を加圧して超臨界流体状態にすることは、高压ガス保安法の規制対象であったが、2016年の法改正で対象外になり、装置導入が比較的容易になった。

IV 分析の信頼性確保—外部精度管理

農産物中の農薬以外の成分を精製除去して絶対検量線で定量することと、農薬以外の成分の影響を相殺する標準添加法で定量することには、それぞれ一長一短あるが、現時点の装置構造上、絶対検量線法が不可能な

SFE-SFC-MS では、世界中の分析機関で同一の試料を測定する FAPAS などの外部技能試験を用いて、装置性能を評価していくことが肝要である。

2016年からの2年間で計3回の外部技能試験に参加したが、いずれも良好な装置性能であった。例えば、FAPAS 技能試験のラウンド 09103（玄米）では、アセフェートやトリアゾホスなど7成分が z -score 2 以内に収まる良好な成績であった（図-6、図-7）。

食品の安全性を確認するという目的に対して、結果を出すまでのスピードは重要であり、試験工程の簡略化を可能にする標準添加法の有効性が確認できた意義は大きい。

V 分析の信頼性確保—ISO/IEC 17025

食品の安全性や機能性、おいしさを科学的根拠で示し、農産物のブランド強化や輸出拡大を支援する一般社団法人食の安全分析センターが2015年に設立された（図-8）。

製品化された SFE-SFC-MS の世界第一号機を導入し、残留農薬受託試験を主な事業として、機能性表示食品化に必要な成分分析やおいしさ成分を探索するケモメトリ

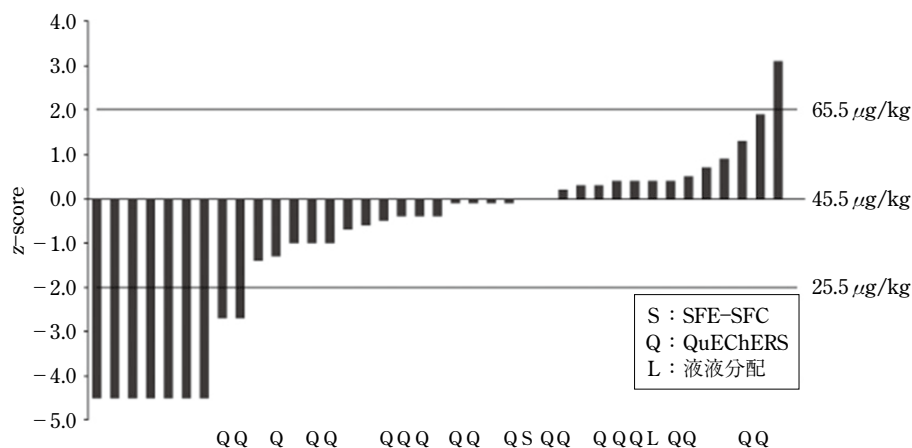


図-6 アセフェートの z -score

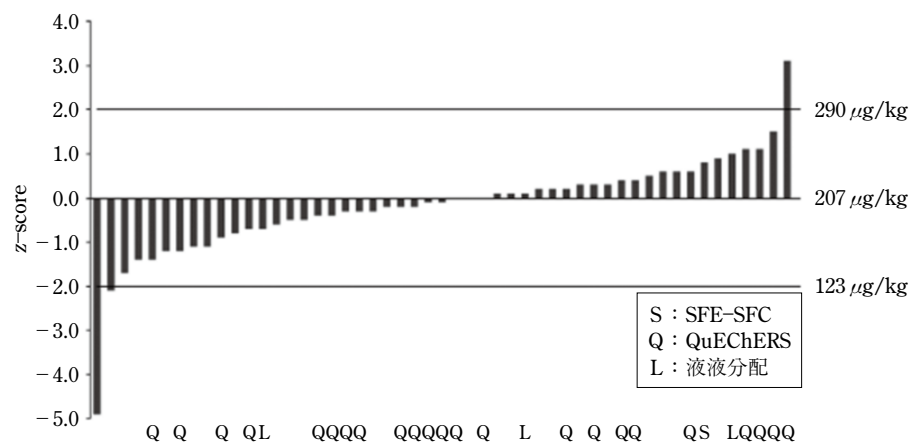


図-7 トリアゾホスの z -score



図-8 センター開所式の様子

ックス解析も行っている。試験に関する国際規格 ISO/IEC 17025 は、「管理上の要求事項」と「試験所が請け負う試験の技術能力に関する要求事項」の二つから構成されている。宮崎県総合農業試験場が装置の開発段階からかわっており、同試験場から技術移転を受けた当センターは、その高い品質管理能力と技術力から、二つの要求事項を満たす試験体制をすぐに構築することができ、法人設立後1年経たずして試験所認定を受けることができた。また、SFE-SFC-MSを用いた試験法で認定を受けたのは、当センターが世界初となる（図-9）。

GAP（農業規範）やEUへの食品輸出においては、認定試験所での残留農薬検査が求められる。当センターでは、認定試験所になったことで、県内にとどまらず、広く九州、全国の農業へのGAP普及や食品輸出の促進に貢献できると考え、今後の展開として、これまでの“受けの検査”に加え、輸出口ロジスティクスに積極的にかかわっていく“攻めの検査”に乗り出す。

おわりに

これほど分析装置の性能が飛躍的に向上すると、得られた結果（数値）を盲信してしまいがちだが、装置の原理を正しく理解し、従来法における抽出・精製・分離・計測・解析との比較検証を怠ることなく、何のために自

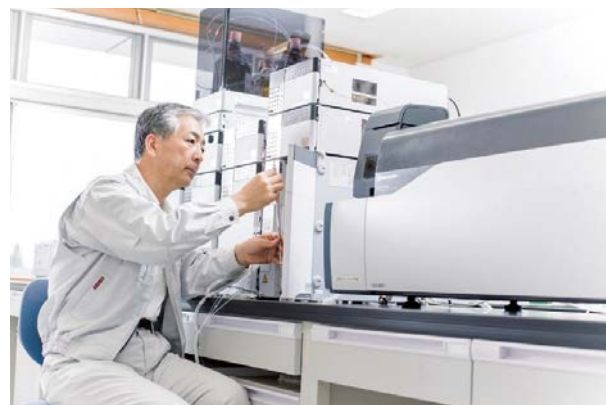


図-9 SFE-SFC-MS システム世界第1号機

主検査としての農薬分析を行うのかをしっかりと明確にし、ニーズに応じた検査体制を構築しながら、適切な精度管理や運用方針を定めることが、一層重要になってくる。適正な外部精度管理と ISO/IEC 17025 による品質管理の中で検査を運用していくことで、1,000 検体中1検体程度の残留農薬基準超過を素早く見つけ、その定量を法律に則った試験法で行うというシステムを構築することが可能となり、大きな社会的成果を生み出すことができる。

当センターでは、JGAP 指導員・審査員資格の取得を進め、農業現場に寄り添った検査を進めるとともに、特に検疫が厳しいとされる台湾輸出向け残留農薬検査をメニュー化し、全国からの依頼に対応していく。さらには、この技術にとどまらず、今後、食品の安全性・機能性・嗜好性に関する共同研究に取り組んでいく。

常に新しい技術を開発し、効果的に実用化を図っていくことが、農業の厳しい状況を乗り越え、食品産業を発展させ、ひいては国民の食の健康につながると考える。

引用文献

- 1) 安藤 孝 (2007): 日本農薬学会誌 32(3):317.
- 2) 市来弥生ら (2015): 日本食品衛生学会講演会要旨集:34.
- 3) ISHIBASHI, M. et al. (2012): J. chromatogr. A 1266: 143~148.



農業生物資源ジーンバンクにおける *Pseudomonas* 属細菌の再同定

農研機構 遺伝資源センター さわだ ひろゆき ながい としろう あおき たかゆき
澤田 宏之・永井 利郎・青木 孝之

はじめに

Pseudomonas 属細菌は幅広い自然環境に生息し、多様な機能を有していることが知られている。しかも、極めて変異に富んでおり、これまでに属内に 200 を超す菌種が記載されてきている (PARTE, 2014)。ただし、その中には系統的に異質なものも含まれているため、「狭義の *Pseudomonas*」に相当する種・亜種は 170 余りに絞られると考えられている (ANZAI et al., 1997; PARTE, 2014, 等)。属内には植物の病害や霜害の原因菌だけでなく、生物防除や植物の成長促進への利用が期待される菌群も含まれていることから、本属を対象とした研究は植物病理学分野で盛んに行われてきた。そのため、農業生物資源ジーンバンクでも、本属菌の収集・特性評価には力を入れてきており、現時点 (2018 年 3 月) で 1,129 株を公開・配布しているところである。

なお、本属の分類体系は、近年の遺伝子・ゲノムに基づいた研究の進展に伴って大きく変遷しつつある。その結果、それ以前に同定され、ジーンバンクに登録されていた菌株の中には、ジーンバンクにおける学名の表記 (表示学名) を見直す必要が生じているものも存在する。そこでジーンバンクでは、前報 (青木ら, 2018) でも紹介したように、各種表現型・遺伝型の情報を利用して登録菌株を再同定したうえで、現時点で最も適切と思われる分類体系に基づいて表示学名を更新する作業を進めている。ただし、本属の分類体系がこれまでにたどってきた変遷が極めて激しいものであったこと、それにもかかわらず依然として数多くの問題が残されていること等が障害となり、種レベルの所属を特定できない事例が多数見いだされてきた。また、再同定を進めるにしたがって、本属の分類体系には新たな問題がさらに潜んでいる可能

性も浮き彫りになってきた。

本稿では、*Pseudomonas* 属を対象としてジーンバンクが実施してきた学名管理作業について紹介するとともに、新たに見いだされてきた分類上の問題に関しても簡単に報告したい。登録菌株の表示学名がどのような根拠のもとで更新されたのかをご理解いただくうえで、あるいは、残された分類上の問題に対して我々が今後、どのように対処すべきかを考えるうえで、本稿が少しでもお役に立てば幸甚である。

I 再同定の方法

主に分子系統解析に基づいて、所蔵する *Pseudomonas* 属細菌の「種レベルにおける表示学名」の妥当性について検証を試みてきた。そのためにまず、本属菌で指標として用いられることの多い 16S rRNA 遺伝子と *rpoD* について、各登録菌株の配列を決定した。次に、比較のために、「狭義の *Pseudomonas* 属」 (ANZAI et al., 1997; PARTE, 2014) に属すると考えられる 171 の既知種・亜種の基準株を対象として、16S rRNA 遺伝子については EzBioCloud (YOON et al., 2017)、*rpoD* については GenBank より配列データを収集した。そして、二つの遺伝子のデータを連結し、近隣結合法、あるいは最尤法によって系統樹を構築した。そのうえで、各登録菌株と基準株の位置関係に基づいて再同定を行い、必要に応じてその表示学名を修正・更新した。したがって、本解析に基づく検証作業は、16S rRNA 遺伝子と *rpoD* のいずれについても配列が決定できた登録菌株のみを対象としている。なお、学名の表記は、原則として List of prokaryotic names with standing in nomenclature (<http://www.bacterio.net/>) に収録されているものを基準とした。

また、分子系統解析に基づく再同定の妥当性をクロスチェックするために、あるいは、配列決定ができなかった菌株の再同定を行うために、必要に応じて以下の解析も併用している (青木ら, 2018)。すなわち、MALDI-TOF MS (マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置) によるリボソームタンパク質のマススペクトルの分析、ゲノム配列から算出した Average

Re-identification of Strains Belonging to the Genus *Pseudomonas* Preserved in the Genebank Project, NARO. By Hiroyuki SAWADA, Toshiro NAGAI and Takayuki AOKI

(キーワード: *Pseudomonas marginalis*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fuscovaginae*, 分子系統, MALDI-TOF MS, ゲノム, 分類, 学名)

Nucleotide Identity (ANI 値；ゲノム類似度の指標であり、95～96%が種レベルの閾値とされる)の比較、特異的プライマーを用いたPCR検定等も実施している。なお、MALDI-TOF MS分析については、登録菌株の再同定だけでなく、新たに作製した配布標品（凍結乾燥アンプル）を対象とした品質管理業務にも導入し、菌株の取り違いやコンタミ等のトラブルを未然に防止することにも利用している。このように、再同定と品質管理という二つの段階でMALDI-TOF MS分析によるダブルチェックを行うことによって、表示学名と配布標品のいずれに関しても信頼性が飛躍的に向上するものと期待している。

II 各分類群における再同定結果の紹介

1 *Pseudomonas marginalis*

P. marginalis はいわゆる「腐敗性シュードモナス」として知られている土壌細菌であり、アブラナ科、キク科をはじめとする様々な植物に腐敗症状を引き起こすことが報告されている（日本植物病理学会，2017）。ジーンバンクが所蔵する127株の*P. marginalis*を対象として、分子系統解析を行った結果の全体像を図-1Aに示した。また、*P. marginalis*の基準株（ATCC 10844）の近傍領域（▲で圧縮表示してある）については、その詳細を図-1Bとして別枠で表示してある。

解析の結果、所蔵する127株の*P. marginalis*（図-1の●と▲）は、驚くべきことに、*Pseudomonas*属の広い範囲にわたって散在してしまうことが判明した。この結果をもとに、各登録菌株の表示学名は*P. marginalis*のままでもいいのか、あるいは、いずれかに変更すべきなのかについて考えてみたい。まず、登録菌株のうち、図-1Bにおいて、*P. marginalis*の基準株とともに単系統群（黄色で示した領域）を構成している5株に関しては、現在の表示学名のまま、*P. marginalis*のメンバーとして取り扱うことに問題はないと判断することができた。

一方、*P. panacis*の基準株（図-1B）と同じ単系統群に含まれている8株については、今回の解析結果のみに基づいて分類上の位置づけを確定することはできなかった。すなわち、*P. panacis*は、チョウセンニンジンの根圏に由来する、いわゆる「環境細菌（environmental bacteria）」であり、その記載（PARK et al., 2005）には植物病原性にかかわる情報が一切含まれていないのである。したがって、これら8株の所属を確定するには、*P. panacis*や*P. marginalis*をはじめとする近縁菌種の基準株との多相的な比較や、各基準株の病原性（腐敗症状を誘導するか否か）の確認を行うことが必要であろう。以上のことを踏まえ、これら8株の表示学名は、現時点で

は暫定的に「*Pseudomonas* sp.」とすることが適当と判断した。

*P. grimmontii*の基準株と同じ単系統群に含まれている6株の登録菌株（図-1B）についても、前段の*P. panacis*近縁株と同じ扱いが必要と考えている。すなわち、*P. grimmontii*の記載（BAIDA et al., 2002）にも植物病原性にかかわる記述が全く含まれていないことから、接種試験を含む直接比較によって十分な情報が得られるまでは、これら6株は暫定的に「*Pseudomonas* sp.」として扱うことにしたい。さらに、*P. rhodesiae*, *P. orientalis*, *P. veronii*, *P. extremaustralis*, *P. poae*, *P. trivialis*等の、「*P. marginalis*に比較的近縁な菌種」の周囲にも多くの登録菌株が位置づけられたが（図-1A）、これらに関しても同様な措置が必要と考えている。

ところで、「*P. marginalis*」と同定されてきた菌株から、何故、前段までに紹介したような大きな変異が見いだされたのであろうか？それに関して、少なくとも以下の(1)～(3)に示したような要因が関与しているのではないかと推測しているところである。

(1) 前段までに「*P. marginalis*に比較的近縁な菌種」として名前を挙げたものは、いずれも「環境細菌」と考えられており、植物病理学とは異なる分野の研究者によって記載がなされている（BAIDA et al., 2002；BEHRENDT et al., 2003；PARK et al., 2005；PARTE, 2014，等）。このことから、以下の可能性を指摘しておきたい。すなわち、植物病理学分野で「*P. marginalis*」として認識されていた比較的大きなまとまりが、最近になり、病原性の確認試験や病原性菌株との直接比較がなされないまま、他分野の研究者によって細分化された結果、両分野における種レベルの認識に齟齬が生じてしまっているのではないだろうか。*P. marginalis*とのDNA-DNA相同性が56%という比較的高い値となる*P. grimmontii*（BAIDA et al., 2002）は、その典型的な事例なのかもしれない。すなわち、*P. grimmontii*のクラスター（図-1B）に位置づけられるような菌株は、植物病理学分野では今でも「*P. marginalis*」と同定されているのに対し、細菌分類学の世界では我々が知らない間に*P. grimmontii*という学名が用いられるようになっていた、というのが実情ではないかと考えている。

(2) 植物病理学分野では、蛍光色素を産生する植物病原性*Pseudomonas*属細菌を同定する場合、伝統的にLOPAT試験（LELLIOTT et al., 1966）が重要視されてきている。5項目という極めて少数の検査に基づく本試験が、植物病原性*Pseudomonas*属細菌を迅速に同定するうえで重要な役割を果たしてきたことは今さらいうまでもない。しかし、一方で、本属（狭義）には170を超す菌種

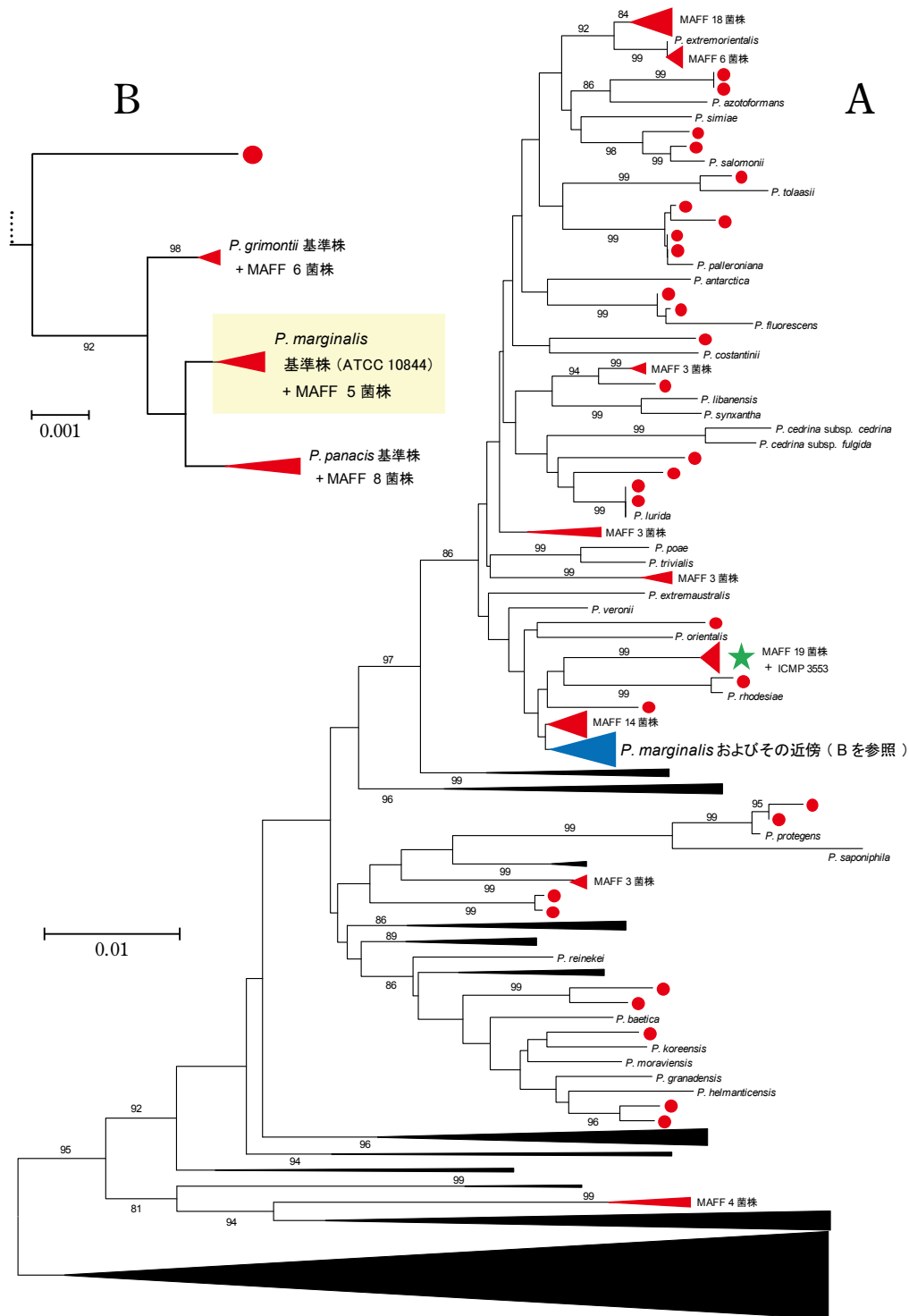


図-1 *P. marginalis* として登録された所蔵菌株の分子系統樹

狭義の *Pseudomonas* 属に属する 171 の既知菌種・亜種の基準株、および、データベース所蔵の 127 株の *P. marginalis* を対象として、16S rRNA 遺伝子と *rpoD* の連結配列を用いて構築した系統樹の全体像を A に示した。また、*P. marginalis* の基準株 (ATCC 10844) の近傍領域 (A の▲で示した部分) を A から切り出し、拡大表示したものを B とした。これらの図では、これまでに *P. marginalis* としてデータベースに登録されてきた所蔵菌株の位置を●で示してあるが、3 株以上の所蔵菌株が集中している場合は▲で圧縮表示したうえで、そこに含まれている菌株数を右脇に記した。また、所蔵菌株の再同定に直接かわらないと思われる既知菌種のまともは、▲で圧縮表示したうえで、学名の表示は省略した。ブートストラップ確率は 80% 以上の値のみを表示してある。なお、ATCC 10844 とともに本種の“基準株”として扱われている ICMP 3553 は、★を付したクラスター内に位置づけられた。

が記載されており (ANZAI et al., 1997 ; PARTE, 2014, 等), その中には基本的な表現型が互いに類似しているものも多いという現実もある。そのために, 「LOPAT 試験によって “*P. marginalis*” と同定された菌株」が, 本属の広い範囲にわたって散在してしまうという結果 (図-1) がもたらされた可能性が考えられる。

(3) 「*P. marginalis* の基準株」として扱われている菌株は, 世界各地の微生物保存機関に合計 10 株以上存在するが, これらは必ずしも同一の菌株とはいえないようである。本解析 (図-1) を行うにあたり, 基準株として扱われているこれらの菌株の系譜 (機関間での菌株の授受関係; StrainInfo で参照できる) や配列を確認したところ, ATCC 10844 や NCPPB 667 に由来する菌株と, ICMP 3553 に由来する菌株とでは, 必須遺伝子の配列がかなり異なることが判明したのである。ただし, Approved Lists (SKERMAN et al., 1980) では ATCC 10844 が基準株として指定されていること, ATCC や NCPPB は基準株の分離者から直接, 菌株を受け入れていること, ATCC 由来株と NCPPB 由来株の配列は同一であること等を考慮し, 本解析では「ATCC 10844」を基準株として扱うことにした (図-1B)。一方, ICMP 3553 に関しては, 本解析では★を付したクラスター内に位置づけられること (図-1A), MALDI-TOF MS 分析でも ATCC・NCPPB 系統の菌株とは異なるマススペクトルデータが得られること (澤田, 未発表) が確認できている。このように複数の異なる “基準株” が存在していることも, *P. marginalis* の同定が混乱する一因になっているのは間違いないであろう。なお, 「*P. marginalis* のゲノムデータ」として GenBank や *Pseudomonas* Genome Database で公開されているのは ICMP 3553 由来であることから, このデータを利用する場合は注意が必要である。

上記の (1)~(3) 以外にも, 様々な要因が同定試験に悪影響を与えている可能性が考えられる。いずれにせよ, そのような要因に影響され, 「現在の分類では *P. marginalis* から外れるような菌株」が “*P. marginalis*” と同定されてしまった場合, その後の情報の取り扱いによってはさらに事態の悪化を招いてしまう危険がある。すなわち, その配列が公共データベースに登録されてしまうと, 相同性検索に基づいて新たな分離株が同定されることを通じて, 「不適切な “*P. marginalis*”」の拡大再生産が加速度的に進んでしまうことが考えられるのである。そのため, 同定試験の際に, 16S rRNA 遺伝子の配列が対照データとして必要な場合は, EzBioCloud のような信頼できるデータベースを利用するなどの自衛策が必要であろう。また, LOPAT のような限られた検査データ

のみを根拠として結論を出すことは控え, 視点の異なる複数の検査でクロスチェックするような慎重さが, 今後は求められるようになるのかもしれない。

2 *Pseudomonas syringae* 群細菌 (*P. syringae* species complex)

P. syringae 群細菌は病原性や宿主範囲に関して多様性に富んでいることから, その違いに基づき, 変種レベルの分類階級である pathovar (病原型) として類別する措置がとられている。これまでに 60 以上の pathovar が記載されており, その数はさらに増えつつある。その多くは植物の葉圏で表生しており, 斑点, 葉枯, かいよう, がんしゅ等の症状を植物に引き起こすことが知られている (日本植物病理学会, 2017)。

また, *P. syringae* 群細菌は, 遺伝的な変異幅が大きい集団であることも指摘されている (GARDAN et al., 1999 ; SAWADA et al., 1999 ; 角田ら, 2004, 等)。GARDAN et al. (1999) は, DNA-DNA 相同性に基づいて *P. syringae* 群内の細菌を比較し, 種に相当すると思われるまとまりが *P. syringae* 群内に 9 個存在することを認めたとえ, それぞれのまとまりを「genomospecies 1~9」と暫定的に命名している。なお, 九つの genomospecies のうち, genomospecies 5 の設定は疑問であること (角田ら, 2004 ; 澤田, 未発表) と, genomospecies 6 は *P. viridiflava* に相当すること (GARDAN et al., 1999 ; 角田ら, 2004, 等) が判明している。図-2 に, *P. syringae* 群に属する 67 株の基準株/pathotype strain (pathovar の基準株) を用いて構築した MLSA 系統樹 (角田ら, 2004 ; 澤田, 未発表) を示した。この系統樹に認められる七つの単系統群が, それぞれ, genomospecies 5 と 6 を除いた七つの genomospecies に対応している (各単系統群の右脇に, genomospecies の通し番号を丸数字で示してある)。

ところで, 近年になり, もともと *P. syringae* として扱われていた pathovar の中の一部を, *P. syringae* から分割し, 新たな種として独立させるという提案がいくつか出されている。ただし, このようにして提案された種の中には, それ以前から記載されていた他の種とシノニム (異名) の関係になってしまうものも見いだされている。例えば, 新たに提案された *P. savastanoi* や *P. tremiae* は, 既存の菌種 (*P. amygdali*, *P. ficuserectae*, *P. meliae*) のシノニムと考えられている (GARDAN et al., 1999 ; 角田ら, 2004 ; PARTE, 2014)。実際に, これらのゲノム配列間で ANI 値を求めたところ, 98% 前後という高い値が得られている (澤田, 未発表)。

なお, 本稿では, このように *P. syringae* から分割されて新たに設けられた菌種 (*P. avellanae*, *P. cannabina*, *P.*

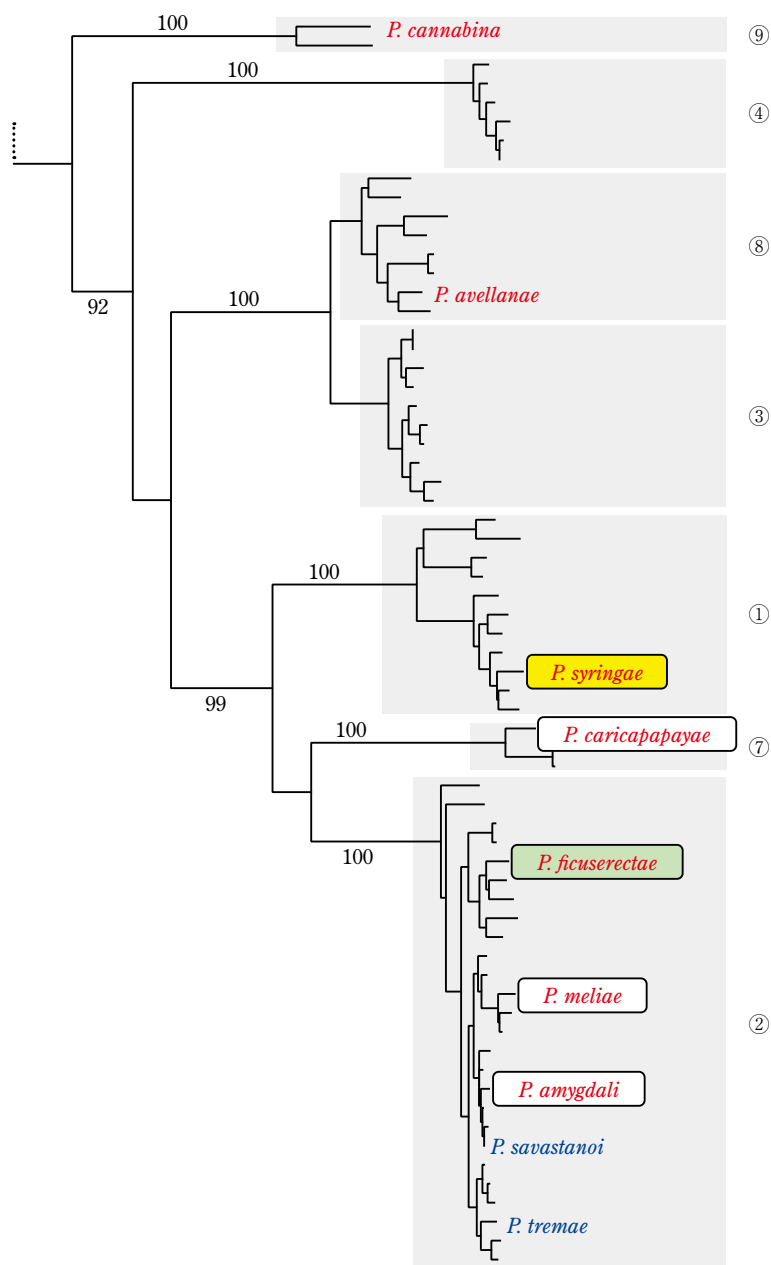


図-2 *P. syringae* 群に属する基準株/pathotype strain の MLSA 系統樹

P. syringae 群に属する 67 株の基準株/pathotype strain を対象として、*accD*, *atpD*, *gltB*, *recA*, *rpoD* の連結配列を用いて構築した最尤系統樹を示した (角田ら, 2004; 澤田, 未発表). なお, GARDAN et al. (1999) が定義した「genomospecies」に相当する単系統群の範囲を、それぞれグレーで色づけして示したうえで、右側にその *genomospecies* の通し番号を丸数字で表示した。また、*P. syringae* 群細菌の範疇に含まれることが後になってから判明した既存の菌種は、その学名を枠で囲って示してある。一方、学名が枠で囲まれていないのは、*P. syringae* の pathovar を種レベルへと格上げすることによって、新たに提案された菌種である。さらに、以上の学名のうち、今回の検証作業で表示学名として採用したものは赤字、用いないことにしたものは青字で表記してある。ブートストラップ確率は 80% 以上の値のみを表示した。

savastanoi, *P. tremae*; 図-2 において、枠で囲まれていない学名) や、もともと *P. syringae* とは別の種として記載されていたものの、*P. syringae* と系統的に同じグループに入ることが後になってから判明した菌種 (*P. amygdali*, *P. caricapapayae*, *P. ficuserectae*, *P. meliae*; 図-2 において、枠で囲まれた学名) を、*P. syringae* (図-2 で黄色で示した) とともに一つにまとめ、便宜的に「*P. syringae* 群細菌」と表記している。すなわち、図-2 の系統樹全体が、「*P. syringae* 群細菌」に相当する。

ジーンバンクでは、前段までに示したような分類・命名上の問題を踏まえたうえで、混乱を最小限に抑えるために、*P. syringae* 群細菌における種レベルの表示学名を、当面、以下のような方針 (A~D) に従って整理したいと考えている (学名表記の基準)。

(A) もともと *P. syringae* とは別の種として設けられていたものについては、仮に分類・命名上の問題 (他の種とシノニム関係にある, など) を抱えていたとしても、それが正式に解消されるまでの間はその学名を用いる (例: *P. amygdali*, *P. caricapapayae*, *P. ficuserectae*, *P. meliae*; 図-2 において、学名が枠で囲まれ、赤字で示されている)。

(B) *P. syringae* から新たに分割されて設けられた種のうち、分類・命名上、問題がないと思われるものについては、その学名を用いる (例: *P. avellanae*, *P. cannabina*; 図-2 において、学名が枠で囲まれておらず、赤字で示されている)。

(C) *P. syringae* から新たに分割されて設けられた種のうち、分類・命名上、問題があるものについては、その学名を使うことは避け、これまで通り *P. syringae* の pathovar として表記する (すなわち、*P. savastanoi* と *P. tremae* は用いない; 図-2 において、学名を青字で示した)。

(D) 上記の (A)~(C) のいずれにも該当しない *P. syringae* 群細菌については、これまで通り *P. syringae* の pathovar として表記する (多くがこれに該当する)。

そして、以上のような学名表記の基準の下で、「*P. syringae* 群細菌」として登録されている 505 株の表示学名を整理するために、以下のようにして分類学的な検証を試みた。すなわち、まず、*P. syringae* 群細菌に関する既報の解析結果 (GARDAN et al., 1999; SAWADA et al., 1999; 角田ら, 2004, 等) において、各 pathovar の「pathotype strain, あるいは, pathotype strain 以外の信頼できる菌株」が、いずれの genomospecies に位置づけられているかを確認し、その情報を判定の目安として利用することにした。次に、登録菌株に対して I 章に記したような

分子系統解析を行い、各菌株がいずれの genomospecies に属するのかを明らかにした。そのうえで、ジーンバンク登録時に各菌株に付与されていた「pathovar 名」を手がかりにして、以下の判定基準 (a~c) に従って分類学的な検証を試みた (分類検証の判定基準)。

(a) 登録菌株の genomospecies レベルの位置づけが、当該 pathovar の「pathotype strain」の位置づけと一致する場合は、分類検証を合格としたうえで、上記の学名表記の基準 (A~D) に従って学名を調整する。

(b) 登録菌株の genomospecies レベルの位置づけが、当該 pathovar の「pathotype strain」とは異なっているものの、「pathotype strain 以外の信頼できる菌株」と一致する場合は、分類検証を暫定的に合格とし、学名の調整を行う。

(c) 登録菌株の位置づけが、「pathotype strain, あるいは, pathotype strain 以外の信頼できる菌株」のいずれとも異なっている場合は、分類検証にかかわる判断を保留し、作業を中止する。

検証作業の結果の一部を図-3 に示した。ここには、登録菌株を用いて構築した巨大な系統樹のうち、genomospecies 2 の中の、*P. ficuserectae* の基準株 (図-3 において緑で示した) の近傍領域のみを切り出して示してある。図-3 に含まれている登録菌株のうち、pv. *tabaci*, pv. *mori*, pv. *sesami*, pv. *broussonetiae* (図-3 において、いずれも赤字で示してある) については、いずれも上記の分類検証の判定基準 (a) に合致することから、学名表記の基準 (D) に従って、現行の表示学名 (*P. syringae* の pathovar) を用いて各菌株を表示することに問題はない、と判断することができた。

一方、pv. *lachrymans* と pv. *morsprunorum* (図-3 において黄色で示した) に関しては、それぞれの pathotype strain は genomospecies 2 ではなく、genomospecies 3 と 8 に属することが明らかになっている (SAWADA et al., 1999; 角田ら, 2004)。ただし、pathotype strain 以外の菌株の中には、genomospecies 2 に含まれるものも存在することから (GARDAN et al., 1999; SAWADA et al., 1999; 角田ら, 2004, 等), 判定基準 (b) に基づき、図-3 に含まれる両 pathovar の登録菌株を暫定的に合格として扱うことにした。

以上のように、*P. syringae* 群細菌に関しては、「ジーンバンク登録時に各菌株に付与されていた pathovar 名」を拠り所として、種レベルの検証を行っていることに留意いただきたいと考えている。将来的には、各菌株の「pathovar レベルの所属」に関して再確認することも、課題として取り上げるべきであろう。特に、pv. *broussonetiae*

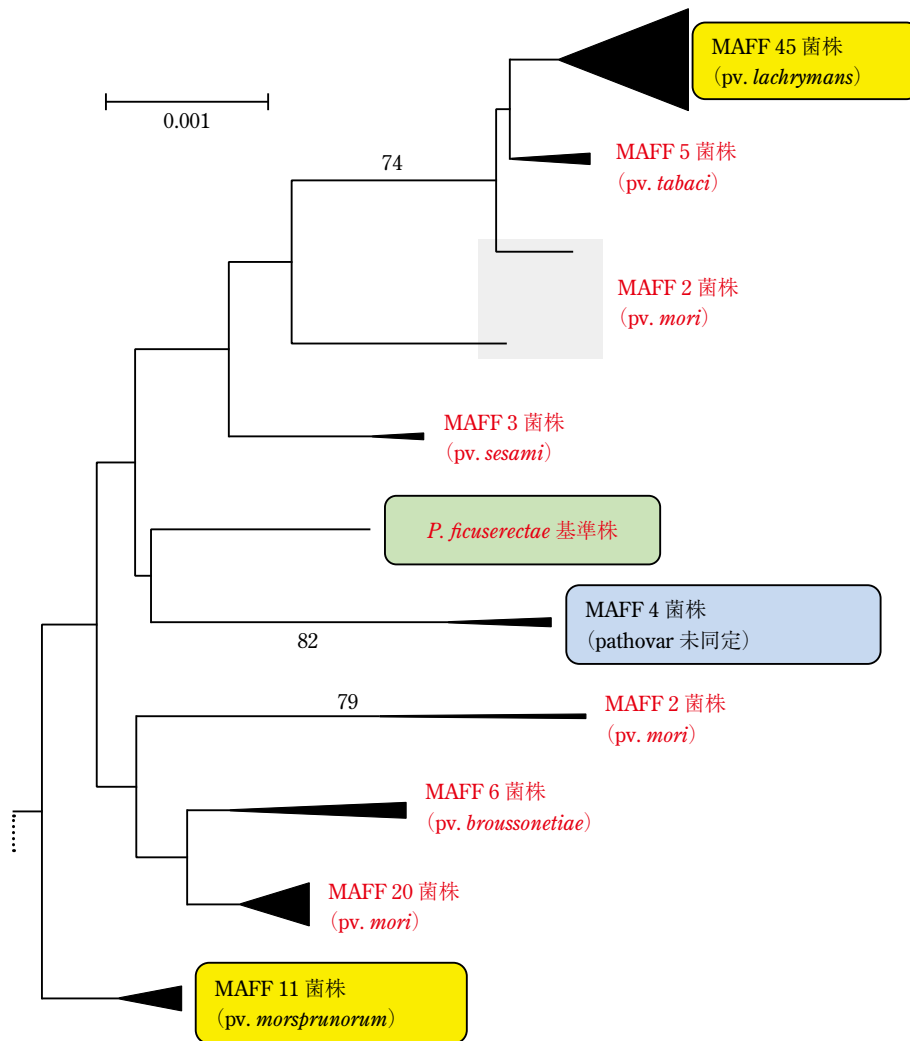


図-3 *P. syringae* 群細菌として登録された所蔵菌株の分子系統樹 (抜粋)

ジーンバンク所蔵の 505 株の *P. syringae* 群細菌を対象として、図-1 と同様にして構築した系統樹から、*P. ficuserectae* の基準株 (緑で示した) の近傍領域のみを切り出して示した。なお、2 株以上の所蔵菌株が集中している領域は、▲で圧縮したうえで菌株数を示してある。ブートストラップ確率は 70% 以上の値のみを表示した。

sonetiae, *pv. lachrymans*, *pv. maculicola*, *pv. syringae*, *pv. tomato* として登録された菌株からは、判定基準(c)に該当するものが見いだされており (結果は示していない)、検証作業を完結することができなかった。そのため、今後は *pathotype strain* だけでなく、多様な来歴の菌株との多相的な比較を行うことにより、(b)や(c)に該当するような「複数の *genomospecies* に分散してしまう *pathovar*」をいかに扱うべきかについて、分類学的に評価する必要があるだろう。また、ジーンバンクには、「*pathovar* 未同定」として登録された *P. syringae* 群細菌が 76 株も所蔵されているので (その一部を図-3 に青色づけして示した)、これらを対象として、*pathovar* レベルの所属を確定するための研究にも取り組みたいと考えている。

3 *Pseudomonas fuscovaginae*

ジーンバンクにはイネ葉鞘褐変病の病原として、8 株の *P. fuscovaginae* が登録されている。これらを対象として分子系統解析を行ったところ、*P. fuscovaginae* や *P. asplenii* の基準株とともに一つの単系統群としてまとまり、他の菌種からは独立することが判明した (図-4A の黄色で示した領域)。ただし、この密にまとまった単系統群の中で、二つの基準株と登録菌株は不規則に混在してしまい、菌種ごとに分かれるような傾向は認められなかった。MALDI-TOF MS 分析の結果をクラスター分析した場合でも、分子系統解析と同様な傾向が確認できている (図-4B)。さらに、これら二つの基準株のゲノム配列間で ANI 値を算出したところ、97.1% という高い値が得られた (澤田, 未発表)。

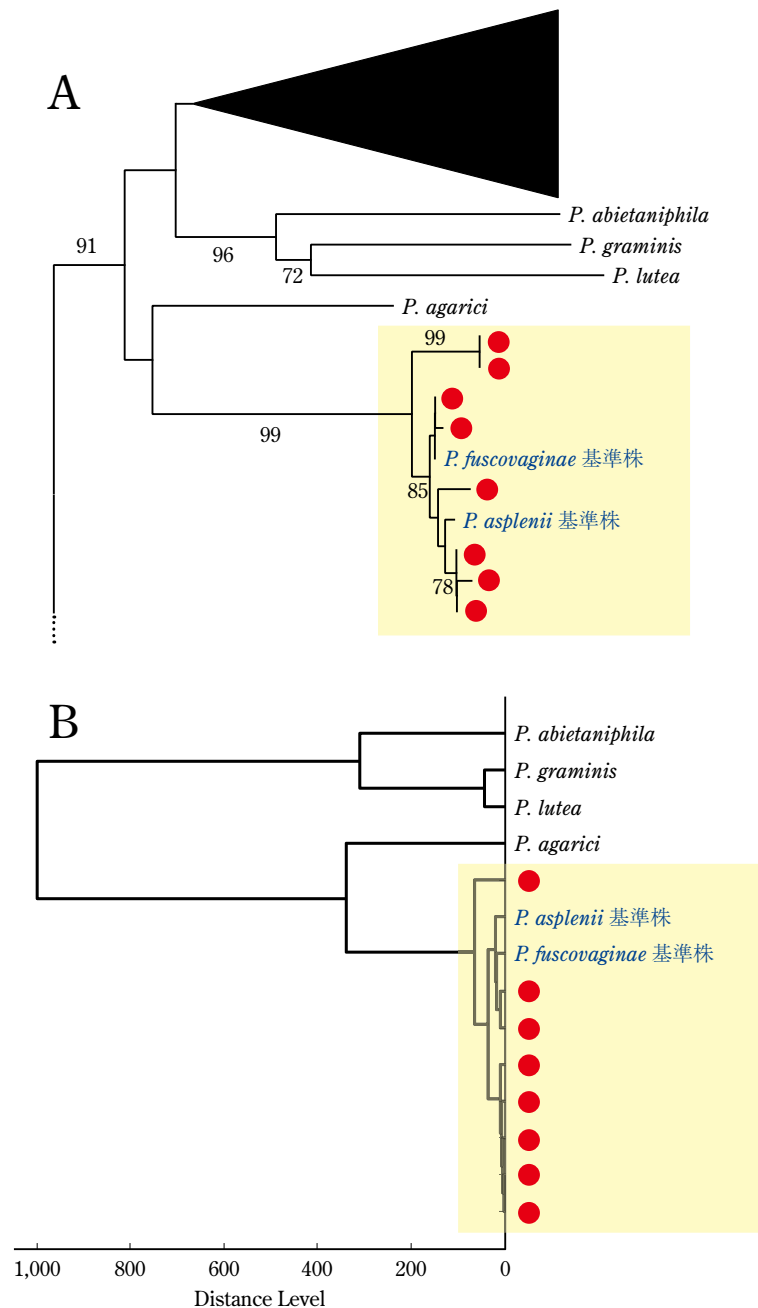


図-4 *P. fuscovaginae* として登録された所蔵菌株の分子系統樹(A)と MALDI-TOF MS 分析の結果に基づくデンドログラム(B)

A : ジーンバンク所蔵の 8 株の *P. fuscovaginae* を対象として、図-1 と同様にして構築した系統樹から、*P. fuscovaginae* の基準株の近傍領域のみを切り出して示した。 *P. fuscovaginae* としてジーンバンク登録されている菌株の位置は ● で表示してある。なお、所蔵菌株の再同定に直接かわらないと思われる既知菌種のみは、▲ で圧縮表示したうえで学名の表示を省略した。ブートストラップ確率は 70% 以上の値のみを表示した。

B : ジーンバンク所蔵の 8 株の *P. fuscovaginae* と近縁菌種を対象として MALDI-TOF MS 分析を実施し、マススペクトルデータ (約 2,000~20,000 ダルトンの範囲のタンパク質成分の質量電荷比) を取得した。さらに、そのデータをもとにクラスター分析を行うことによって、菌株間におけるデータのバラツキの程度を視覚的に評価した。 *P. fuscovaginae* の所蔵菌株は ● で示してある。

なお、*P. asplenii* は、シダの 1 種であるシマオオタニワタリに leaf blight を引き起こす病原細菌であるが (ARK and TOMPKINS, 1946)、我が国における分布は未確認とされている。これまでに、*P. asplenii* と *P. fuscovaginae* の異同について分類学的に検討されたことはなかったが、前段に示した解析結果は、両者がシノニムの関係にあることを示唆している。ただし、この点を明確にするには、各種の表現型や遺伝型に基づいてさらに詳細に直接比較する必要がある。そこで、そのような解析によって問題が正式に解決するまでは、登録菌株はこれまで通り「*P. fuscovaginae*」と表記したいと考えている。

4 *Pseudomonas corrugata* と *Pseudomonas mediterranea*

P. corrugata はトマト茎えそ細菌病の病原の一つであり、データベースには 21 株が所蔵されている。しかし、分子系統解析を行ったところ、これら 21 株は系統樹上で三つの単系統群に分かれてしまうことが判明した（結果は示していない）。そこで、これら三つの単系統群を、MALDI-TOF MS 分析や PCR 検定等を含む様々な視点に基づいて詳細に比較したところ、一つは *P. corrugata*、もう一つは *P. mediterranea* に相当することが明らかになった（澤田・瀧川, 2018）。なお、後者の *P. mediterranea* は、諸外国において、*P. corrugata* とともにトマト茎えそ細菌病の原因菌として警戒されている菌種であるが (CATARA et al., 2002)、我が国ではこれまで未確認とされていたものである。一方、三つ目の単系統群を構成する 8 株の登録菌株に関しては、分類上、いかに扱うべきかについて結論が出せなかった（澤田・瀧川, 2018）。したがって、今後、分類研究によってその位置づけが明確にできるまでは、これら 8 株は暫定的に「*Pseudomonas* sp.」と表示することにしたい。

5 *Pseudomonas fluorescens* と *Pseudomonas putida*

データベースに登録されている 53 株の *P. fluorescens* と 6 株の *P. putida* を解析したところ、系統樹上でこれらは本属の広い範囲にわたって散在してしまうことが判明した（結果は示していない）。しかも、それぞれの菌種の基準株近傍に位置づけられるような所蔵菌株は存在しないという、驚くべき事実が明らかとなった。いずれの菌種に関しても、種としての定義・範囲が長らく曖昧であったために、このような混乱が生じたものと思われる。

このうち、*P. fluorescens* として登録されていた 1 株と、*P. putida* と考えられていた 2 株に関しては、それぞれ、*P. protegens* と *P. umsongensis* の基準株と配列が完全に一致することから、表示学名をこれらに変更するのが妥当と判断した。一方、それ以外の 56 株については、既知菌

種の位置づけと一致するものが見いだせないことから、新種、あるいは既知菌種の新亜種に相当する可能性が示唆された。ただし、今回の解析結果のみで明確な結論は出せないことから、暫定的に表示学名を「*Pseudomonas* sp.」としたうえで、今後の研究に委ねたいと考えている。なお、これら 56 株の中には、イネ種子の発芽・発根を抑制する菌株（植松・岩波, 1986）や、イネにもみ枯症状を誘導する菌株（後藤ら, 1987）が含まれている。

6 その他の菌種

前段までに紹介してきた菌種では、分類体系に何らかの問題を抱えていることが改めて明らかとなり、種レベルの所属が特定できない事例が多数、見いだされてきた。それに対し、*P. cichorii*, *P. viridiflava*, *P. tolaasii*, *P. chlororaphis* に属する植物病原細菌・植物関連細菌では、表示学名の検証を比較的順調に進めることができた。すなわち、これらの菌種に関しては、多くの場合、表示学名の変更は不要であることが確認できた。また、見直しが必要な場合であっても、その系統樹上における位置づけに基づいて、学名の修正・更新を容易に行うことができた。

7 *Pseudomonas* sp.

データベースには、植物体の葉圏・根圏や土壌等から分離され、「*Pseudomonas* sp.」として登録された植物関連細菌・環境細菌が 74 株所蔵されている。これらは登録前に実施された同定試験において、その当時の既知菌種のいずれにも該当しなかったか、あるいは、明確な判定ができなかったと思われる菌株である。これら 74 株を対象として検証を行ったところ、このうちの 8 株に関しては、葉圏・根圏や土壌に生息するとされている既知菌種 (*P. syringae*, *P. rhodesiae*, *P. stutzeri*, *P. umsongensis*) と一致することが判明したので、表示学名をそれに合わせて更新することができた。しかし、それ以外の 66 株では、いずれの既知菌種とも位置づけが一致しないことが改めて確認できたため、今のところは *Pseudomonas* sp. として扱わざるを得ないと判断した。

おわりに

これまでに実施してきた検証作業によって、データベースが公開している 1,129 株の *Pseudomonas* 属細菌のうち、981 株については、その「種レベルの表示学名」の妥当性を確認し、必要に応じて修正・更新することができた。なお、既知菌種と一致することが証明できなかったことから、そのことを明示するために、敢えて「*Pseudomonas* sp.」と表記することにした 255 株も、この検証済みの数の中に含まれている。

本稿で紹介してきたように、本属菌の表示学名に関しては、未解決の問題が山積している状態である。検証作業が完結できなかった登録菌株が148株も残されていることもその一つである。この中には、二つの配列データ(16S rRNA 遺伝子と *rpoD*) が揃わなかったことが原因で、検証が未完結となっているものが多く含まれている。したがって、今後は配列決定にかかわる条件を見直し、そのような配列未整備の菌株を減らすとともに、MALDI-TOF MS 分析やPCR検定等の検証方法も活用したいと考えている。また、「*Pseudomonas* sp.」として扱わざるを得ない登録菌株が255株も残ってしまったことも、深刻な問題と捉えている。なお、これらの多くは、新種・新亜種に相当する可能性があると考えている。環境中には我々の知らない膨大な数の未記載種が生息していることを改めて思い知らされる結果となり、分類研究をさらに進めるべく、決意を新たにした次第である。

P. syringae 群細菌の項に記したように、登録菌株の「pathovar 名」を検証することも重要な課題と考えている。ただし、前報(青木ら, 2018)でも述べたように、ジーンバンクの施設・マンパワーのもとで、多数の菌株を対象とした大規模な接種試験を実施することは難しいため、外部の専門家のご協力をいただくことができればと考えている次第である。また、これも同じ項で紹介したことであるが、*P. syringae* 群では、種と pathovar という二つのレベルにまたがって、分類・命名上の問題が複雑に入り組んだ形で残されている。この難問を解消するには、接種試験だけでなく、比較ゲノムをはじめとする遺伝学的な解析も併行して進めることが必要不可欠であろう。比較ゲノムに関しては、現在、藤川貴史博士(農研機構 果樹茶業研究部門)にご協力いただきながら、キウイフルーツかいよう病菌 (*P. syringae* pv. *actinidiae*) やその近縁細菌を含む、genomospecies 8 の菌群を対象として実施しており(FUJIKAWA and SAWADA, 2016, 投稿中)、その成果をジーンバンクの推奨菌株ページ(http://www.gene.affrc.go.jp/?mc_aprv)で公開するために準備を進めているところである。

最後に、解析手法の進歩や考え方の変化に伴って、本属の分類体系は今後も変遷し続けるであろうということを強調しておきたい。そのため今後も、検証作業を何度も繰り返すことが求められるであろう。その際は、新たな分類上の提案の妥当性について慎重に吟味したうえで、解析手法の進歩も積極的に取り込みながら、表示学名のさらなる信頼性向上に寄与していきたいと考えている。

謝辞 今回の検証作業に供試した登録菌株は、多くの研究者の方々から農業生物資源ジーンバンクへご提供いただいたものである。また、農研機構 遺伝資源センターの皆様には、検証作業を進めるうえで多大なるご支援・ご協力をいただいた。中島比呂美氏、青柳千佳氏、井垣善美氏、金澤智恵子氏には、膨大な数の菌株を扱う品質管理業務をご担当いただいた。ここに記して深く感謝の意を表したい。

引用文献

- 1) ANZAI, Y. et al. (1997): Int. J. Syst. Bacteriol. **47**: 249~251.
- 2) 青木孝之ら (2018): 植物防疫 **72**: 72~84.
- 3) ARK, P. A. and C. M. TOMPKINS (1946): Phytopathology **36**: 758~761.
- 4) BAIDA, N. et al. (2002): Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **52**: 1497~1503.
- 5) BEHRENDT, U. et al. (2003): ibid. **53**: 1461~1469.
- 6) CATARA, V. et al. (2002): ibid. **52**: 1749~1758.
- 7) FUJIKAWA, T. and H. SAWADA (2016): Sci. Rep. **6**: 21399; doi: 21310.21038/srep21399.
- 8) GARDAN, L. et al. (1999): Int. J. Syst. Bacteriol. **49** Pt 2: 469~478.
- 9) 後藤孝雄ら (1987): 日本植物病理学会報 **53**: 141~149.
- 10) LELLIOTT, R. A. et al. (1966): J. Appl. Bacteriol. **29**: 470~489.
- 11) 日本植物病理学会 (2017): 日本植物病名目録 (2017 年版), 日本植物病理学会, 東京.
- 12) PARK, Y. D. et al. (2005): Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **55**: 1721~1724.
- 13) PARTE, A. C. (2014): Nucleic Acids Res. **42**: D613~616.
- 14) SAWADA, H. et al. (1999): J. Mol. Evol. **49**: 627~644.
- 15) 澤田宏之・瀧川雄一 (2018): 日本植物病理学会報 **84**(2): 印刷中.
- 16) SKERMAN, V. B. D. et al. (1980): Int. J. Syst. Bacteriol. **30**: 225~420.
- 17) 角田 淳ら (2004): 日本植物病理学会報 **70**: 289 (講要).
- 18) 植松 勉・岩波節夫 (1986): 関東東山病害虫研究会年報 **33**: 33~35.
- 19) YOON, S. H. et al. (2017): Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **67**: 1613~1617.

時 事 解 説

平成 30 年度植物防疫研究課題の概要

農林水産省 農林水産技術会議事務局
研究開発官(基礎・基盤, 環境)室

はじめに

農林水産省所管の国立研究開発法人（以後「国研」と略）の財源としては、主に「運営費交付金」と各種の「委託費」等の外部資金とがあり、それぞれの性格は異なっている。主たる財源の「運営費交付金」は「渡し切り」資金であり、農林水産大臣が定めた「中長期目標」の枠組みの中であれば、国研が柔軟に運用できる。これに対して、「委託費」は農林水産省や他省庁等からの委託で実施する研究資金であり、農林水産省の「委託費」の場合は、農林水産省が提示する研究内容に対して研究機関からの公募を募り、採択された課題に対して支払われる。

農林水産省が委託する研究資金の大枠としては、「委託プロジェクト研究」と「競争的資金」がある。いずれも、農林水産省が研究推進にも深く関与するため、研究に参画する全機関で構成される研究コンソーシアムと農林水産省が契約を結んだうえで研究が実施される。両者の違いとして、「委託プロジェクト研究」では農林水産省が求める研究の達成目標や技術開発が明確に提示されるのに対し、「競争的資金」では応募者が自ら設定した研究課題を解決するための研究を提案できるため、前者よりも後者で応募者側の自由度が大きいといえる。なお、「委託プロジェクト研究」は平成 30 年度から装いを新たに「戦略的プロジェクト研究推進事業」において実施される。以下に、まず平成 30 年度の農林水産試験研究費予算概算決定の概要を述べ、次に植物防疫関係の主なプロジェクト研究について紹介する。

I 農林水産技術会議事務局関係の平成 30 年度予算概算決定および平成 29 年度補正予算の重点事項

平成 30 年度の予算要求のポイントとしては、新たな国際環境の下において「強くて豊かな農林水産業」と「美しく活力ある農山漁村」を実現するため、農林水産業に夢と希望を持って、経営の発展に積極果敢に取り組む生

産者を技術面から応援するため実施する。

以下に、主な研究項目と事業名を挙げる。事業名だけでは内容がわかりにくい場合には、主な研究・事業内容を記した。

平成 30 年度予算概算決定の重点事項

[1] 戦略的プロジェクト研究推進事業（33 億 9 千 5 百万円）

1 基礎的・先導的研究

中長期的な視点から農林水産政策上、特に重要な研究課題について、民間と連携しながら近年進歩が著しい最新技術を駆使してイノベーションを創出する研究開発を推進する。

（1）人工知能未来農業創造プロジェクト

人工知能（AI）や IoT 等の最新技術を活用して、農林水産業における飛躍的な生産性の向上を実現する技術開発を推進する。このため、

① AI を活用した食品における効率的な生産流通に向けた研究開発

② AI を活用した病害虫早期診断技術の開発（後掲）

③ AI を活用した栽培・労務管理の最適化技術の開発を実施する。

（2）作物育種プロジェクト

ゲノム情報や形質評価データ等のビッグデータと新たな育種技術を融合し、最適な掛け合わせを正確かつ迅速に判断するスマート育種システムやゲノム編集技術等の最先端技術を活用して世界をリードする育種を推進する。このため、

① 民間事業者などの種苗開発を支える「スマート育種システム」の開発

② 海外植物遺伝資源の民間などへの提供促進

③ 広域・大規模生産に対応する業務・加工用作物品種の開発

を実施する。

（3）次世代バイオ農業創造プロジェクト

バイオテクノロジーを新たに活用して農産物や医薬品等の有用物質を効率的に生産するための基盤技術の開

Government Research Projects on Crop Protection in 2018.

（キーワード：平成 30 年度予算要求、植物防疫研究課題、農林水産技術会議事務局）

発、および農林水産物・食品の新たな機能性の解明等を推進するため、

- ①地域の農林水産物・食品の機能性発掘のための研究開発
- ②蚕業革命による新産業創出プロジェクト
- ③ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発（後掲）
- ④薬用作物の国内生産拡大に向けた技術の開発

を実施する。

2 現場ニーズ対応型研究

農林水産食品業者のニーズを踏まえた明確な目標の下、農林漁業者を含む共同研究チームが取り組むことにより、農林水産現場への実装までを視野に入れた技術開発を推進する。

（１）現場ニーズ対応プロジェクト枠

農林水産・食品産業現場のニーズに対応して社会実装を見据えた研究を推進するため、

- ①青果用かんしょの省力機械移植栽培体系の確立
- ②茶葉の低温保管システムの開発と作期拡大を可能とする新品種の育成
- ③ドローンや圃場設置型気象データセンター等センシング技術を活用した栽培管理効率化・安定生産技術の開発
- ④総合的な悪臭低減、臭気拡散防止技術の開発
- ⑤成長に優れた苗木を活用した施業モデルの開発
- ⑥クロマグロ養殖の人工種苗への転換促進のための早期採卵・人工種苗育成技術や低環境負荷養殖技術の開発
- ⑦国際連携による農業分野における温室効果ガス削減技術の開発
- ⑧ドローンなどを活用した農地・作物情報の広域収集・可視化および利活用技術の開発
- ⑨有害化学物質・微生物の動態解明によるリスク管理技術の開発
- ⑩家畜の伝染病の国内侵入と野生動物由来リスクの管理技術の開発

を実施する。

（２）持続的水産業推進プロジェクト

水産物輸出戦略において重点品目であるブリ類について、生産基盤を強化するため、

- ①養殖ブリ類の輸出促進のための低コスト・安定生産技術の開発

を実施する。

（３）農林水産分野における気候変動・環境対応プロジェクト

環境変化などの影響に対応し、農林水産業の持続的发展を図る研究を推進するため、

- ①農業分野における気候変動緩和技術の開発
- ②農業における花粉媒介昆虫等の積極的利活用技術の開発
- ③農業分野における気候変動適応技術の開発
- ④森林・林業、水産業分野における気候変動適応技術の開発
- ⑤野生鳥獣および病害虫被害対応技術の開発（後掲）

を実施する。

（４）生産現場強化プロジェクト

生産コスト低減や収量の高位安定化等の収益力強化により、農林水産業の成長産業化を図り、強い農林水産業を実現するため、

- ①収益力向上のための研究開発
- ②生産システム革新のための研究開発
- ③森林資源を最適に利用するための技術開発

を実施する。

（５）食品安全・動物衛生対応プロジェクト

動物用抗菌剤の過剰使用によるリスクを低減し、家畜生産性の低下を抑制するため、

- ①薬剤耐性問題に対応した家畜疾病防除技術の開発

を実施する。

[2] 「知」の集積と活用によるイノベーション創出推進事業（43 億 9 千万円）

後掲

[3] 安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリサイエンス研究（9 千 7 百万円）

後掲

[4] 食料生産地域再生のための先端技術展開事業（9 億 3 百万円）

被災産地の復興・創生のため、状況変化などに起因して新たに現場が直面している課題を対象に先端技術の現場への実装に向けた現地実証を行うとともに、被災地に設置する社会実装拠点を核として組織的な技術導入を行い、実用化された技術体系の迅速かつ広範な社会実装を図る。

平成 29 年度補正予算の概要

[1] 生産性革命に向けた革新的技術開発事業（10 億円）

農林水産業における生産性革命を推進するため、人工知能（AI）やドローン等の最先端技術を活用することにより、省力化・低コスト化等に資する技術開発を通して

生産現場への実装を早急に進める。

【2】革新的技術開発・緊急展開事業（60 億円）

（1）経営体強化プロジェクト

農林漁業経営体の技術力強化のため、テーマごとに、農林漁業者、企業（ベンチャー企業など）、大学、研究機関がチームを組んで、明確な開発目標の下で現場への実装までを視野に入れた技術開発を支援。

（2）地域戦略プロジェクト

各地域の競争力強化のため、地域戦略に基づき、研究機関と関係者（農林漁業者、民間企業、地方公共団体等）が共同で取り組む、先端技術を組合せた生産現場における革新的技術体系の実証研究を支援。

（3）先導プロジェクト

将来に向けて競争力の飛躍的な向上を図るため、新たな価値や需要を生み出す品種、輸出促進につながる新たな生産・流通・加工技術等、次世代の技術体系を生み出す研究開発を実施。

II 植物防疫関係の研究概要

次に、技術会議事務局が実施中の研究事業の中で、植物防疫関係の課題が含まれる主要なものの概要を述べる。

1 戦略的プロジェクト研究推進事業「人工知能未来農業創造プロジェクト」のうち「AIを活用した病害虫早期診断技術の開発」（平成 29～33 年度、継続、2 億 18 百万円）

「日本再興戦略 2016」（平成 28 年 6 月閣議決定）では、人工知能（AI）や IoT、ビッグデータ、ロボットを活用した第 4 次産業革命を推進することとしており、既に他産業で活用が進んでいるこうした最新技術を農業分野にも活用することで、生産性の飛躍的な向上などを実現し、農業の成長産業化に結びつくことが期待されている。病害虫の発生は農業生産に大きな損害を与える恐れがあることから、農産物の安定生産のためには、適期に的確な防除を行い、まん延を防止する必要がある。しかし、経験の浅い新規就農者などにとって、病害虫を正確に判別し、適切に対策を講じることは容易ではない。そこで AI を活用して早期に病害虫を診断し、その被害対策を支援する技術の開発を推進するための研究課題「AI を活用した病害虫早期診断技術の開発」が実施されている。

本課題は二つの中課題から構成されており、中課題 1「AI を活用した病害虫診断技術の開発」では、新規就農者や普及指導員等が、農業現場で自らタブレット端末などを用いて病害虫を診断し、対策を講ずることを支援するための技術を開発する。そのため、①農作物において問題となる病害虫やその被害を受けた作物等の画像情報

などを蓄積してデータベースを構築するとともに、②それらを AI に学習させて病害虫を同定する技術を開発し、③最終的に、このような病害虫診断技術による安価なサービスを利用者に提供するため、使いやすく汎用性の高いアプリケーションなどを含むシステムを開発することとしている。また、中課題 2「AI を活用した土壌病害診断技術の開発」では、土壌微生物の遺伝子情報などを用い、発病リスクを栽培前に AI によって判断することを可能とし、輪作の導入、抵抗性品種の利用や土壌消毒剤の使用等の適切な対策を講じることにより、土壌病害の発生を未然に防ぎ被害を最小化する技術を開発することとしている。

2 戦略的プロジェクト研究推進事業「次世代バイオ農業創造プロジェクト」のうち「ゲノム情報を活用した農産物の次世代生産基盤技術の開発」（平成 25～30 年度、継続、37 百万円）

我が国農産物の競争力強化に向け、地域の特性に合わせて収量、品質等を飛躍的に向上させた画期的新品種を短期間で開発するなど、最新のゲノム技術を活用した新しい生産基盤技術を確立するため、①稲、麦、大豆、園芸作物等の DNA マーカーの開発や DNA マーカー選抜育種技術の全国の育種機関への展開、② DNA マーカー選抜育種では困難な、収量など多数の遺伝子が関与する形質を改良する新しい育種技術および新たな遺伝子組換え生物の生物多様性影響評価・管理技術の開発、③地域特性に最適化した新品種を効率的に開発するため遺伝資源から有用遺伝子を効率的に特定する技術や遺伝資源の保存技術の開発を推進している。

植物防除に関連する研究としては、④近年稲、麦、大豆、果樹等において問題となっている薬剤抵抗性害虫や薬剤耐性菌について、薬剤抵抗性にかかわる遺伝子の同定や遺伝子診断技術等の開発を実施している。また、薬剤抵抗性の発達・拡散を予測するためのシミュレーションモデルを開発し、これらの技術の現場での実用性を検証したうえで、地域の栽培体系に応じた薬剤抵抗性管理体系の構築に必要な、薬剤抵抗性管理ガイドライン（薬剤の使用基準）案を策定することとしている。

3 戦略的プロジェクト研究推進事業「農林水産分野における気候変動・環境対応プロジェクト」のうち「野生鳥獣および病害虫被害対応技術の開発」（平成 22～31 年度、継続、94 百万円）

農林水産分野においては、農林水産業に起因する温室効果ガスの排出削減と森林や農地土壌の吸収機能の向上とともに、地球温暖化の進行に伴う高温障害などの発生および集中豪雨や干ばつ等の極端現象の増加に的確に対

応するため、気候変動の農林水産業へ与える影響を高精度で評価するとともに、地球温暖化の進行に対応して農林水産物の生産を持続的に可能とする体制を早急に確立することが求められている。

このため、IPCCをはじめとする最新の温暖化予測、「委託プロジェクト（気候変動対応関連）の推進方針とりまとめ」（平成 27 年 12 月）および「農林水産省気候変動適応計画」（平成 27 年 8 月）等に基づき、森林・林業、水産業分野における気候変動適応技術および野生鳥獣被害対応技術について、さらに強化するとともに、気候変動が農林水産分野に与える影響の評価並びにこれに基づく中長期的視点を踏まえた農業分野における適応品種・育種素材や生産安定技術、病虫害被害対応技術を開発する。

植物防疫に関連する研究としては、気候変動による海外からの有害動植物侵入リスクの増加に対応するため、侵入が危惧される有害動植物種を特定し、その迅速な診断を可能とする検出・同定技術を開発するための研究課題「有害動植物の検出・同定技術の開発」が平成 27 年度から 31 年度までの予定で実施されている。

4 「知」の集積と活用によるイノベーション創出推進事業（競争的資金：43 億 9 千万円）

「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業（農食事業）」は平成 29 年度で終了し、平成 30 年度から装いを新たに「「知」の集積と活用によるイノベーション創出推進事業」がスタートする。我が国の農林水産・食品分野の競争力を強化し飛躍的に成長させていくためには、従来の常識を覆す革新的な技術・商品・サービスを生み出す研究開発が必要なことから、農林水産省では、様々な分野の産学官連携研究を促進する『「知」の集積と活用』を平成 28 年 4 月に創設し、オープンイノベーションの取組を進めている。（「知」の集積と活用 産学官連携協議会への入会および研究開発プラットフォームの届出等の手続きについては、ウェブサイト（<https://www.knowledge.maff.go.jp/>）を参照されたい。）本事業では、農林水産業・食品産業の発展、新たなビジネス分野の創出につながる基礎・応用段階の研究開発から実用化段階までの研究開発を対象としており、革新的なシーズを創出する独創的でチャレンジングな基礎段階の研究開発を行う「基礎研究ステージ」、基礎研究で創出された研究シーズを基にした応用段階の研究開発を行う「応用研究ステージ」、応用研究などの成果を社会実装するための実用化段階の研究開発を行う「開発研究ステージ」を設定している。農食事業と同様に、研

究実施課題において優れた成果や有望な将来性が見込める成果を創出した場合、「基礎研究ステージ」から「応用研究ステージ」または「開発研究ステージ」へ、「応用研究ステージ」から「開発研究ステージ」へと次の研究ステージへ公募を介さずに移行できるシームレスの仕組みを導入している。農食事業での継続課題やステージ移行課題は、これらに組み込まれて継続される。農食事業とは異なる新たな特色としては、『「知」の集積と活用』における研究開発プラットフォームからの提案に対し、①研究委託費上限額の拡大、②研究期間の延長（開発研究ステージのみ）、③採択審査時に加算ポイント、等の優遇が設けられている。また、開発研究ステージでは、研究グループに民間企業などが参画する場合、民間企業などに支出する委託費の 1/2 以上を自己資金として当該民間企業などに負担を求めている（マッチングファンド方式）。

農食事業の実用技術開発ステージでは、「年度途中で不測の事態が発生し、緊急対応を要する研究課題」について年度途中で公募でき、平成 29 年度の植物防疫に関する課題として、「エンドウ萎凋病菌の特異検出法および緊急対策に関する研究」および「テンサイシストセンチュウの特性解明および対策マニュアル暫定版の作成」が実施された。

5 「安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究」（平成 28～32 年度、継続、9 千 7 百万円）

安全な農林水産物を安定的に供給し、食の安全および消費者の信頼を確保するためには、食品中に含まれる有害化学物質・有害微生物、動物の伝染性疾病や植物の病虫害に関するリスク管理を、科学的知見に基づいて効果的、効率的に実施することが重要である。本事業は、食品安全、動物衛生、植物防疫等の分野において、適切なリスク管理措置などを講じるため、法令・基準・規則等の行政施策・措置の決定に必要な科学的知見を得るための研究（レギュラトリーサイエンスに属する研究）を行政部局の発注に基づき実施するものである。（*レギュラトリーサイエンスの詳細は「レギュラトリーサイエンス研究推進計画」（平成 27 年 6 月 19 日付け消費・安全局長および農林水産技術会議事務局長通知）を参照のこと。）

植物防疫に関する課題として、「ジャガイモシロシストセンチュウの効果的な防除法の開発」が平成 28～30 年度、「クロバネキノコバエ科の一種の総合的防除体系の確立と実証」が平成 29～31 年度に、それぞれ実施されている。

研究 報告

鳥取県におけるマメシクイガの発消長と ジアミド系殺虫剤の防除効果

鳥取県農業試験場 福田 佑記・奥谷 恭代

はじめに

マメシクイガ *Leguminivora glycinivorella* は、幼虫がダイズ莢内に食入し、内部の子実を食害する害虫である（図-1 a, b）。本種は九州以北の日本全土に分布するが、比較的寒冷な地域での発生が多い北方系の害虫であり、北海道から北陸にかけてのダイズ主要害虫とされている。一方、西日本における本種の発生程度は極めて少なく、山間地を中心に試験研究記録がいくつかあるものの、防除対象外の害虫として扱われている（内藤・正木, 1962；小林, 1979）。しかし、近年、鳥取県内各地で本種による被害が急増し、大きな問題となっている。前述の通り、本種は西日本において防除対象外の害虫であったため、本県における基礎的な生態、薬剤の効果、散布適期等の知見は皆無である。

そこで、鳥取県におけるマメシクイガの分布状況ならびに発消長を調査するとともに、ジアミド系殺虫剤を利用した本種の防除対策を検討したので報告する。

Ⅰ 鳥取県におけるマメシクイガの発生状況

1 マメシクイガの分布状況

鳥取県内のダイズ圃場におけるマメシクイガの分布状況を把握するため、県内各地のダイズ圃場から、子実を採取してマメシクイガによる被害粒の有無を調査した。

調査の結果、平坦から山間地域（図-2）までのいずれの地域においてもマメシクイガによる被害粒が確認され、本種は県内全域に分布することがわかった。また、本種は連作により被害が増加することが知られており（内藤・正木, 1962；小林, 1979）、本県においても同様に、連作圃場で被害粒が多い傾向が認められた。なお、マメシクイガによる被害粒のほかに、シロイチモジマダラメイガの幼虫およびその被害粒も確認されたことから、県内にはマメシクイガとシロイチモジマダラメイ



図-1 a マメシクイガ成虫（鳥取大学 中 秀司氏原図）



図-1 b ダイズ莢から脱出するマメシクイガ幼虫

ガの2種が混在して分布することも明らかとなった。2種による被害粒の優占程度は調査圃場によって異なったが、今回の結果からは優占種を決定する要因を解明できなかった。

2 発消長調査

鳥取県におけるマメシクイガの発消長を明らかにするため、雌の合成性フェロモンを誘引源としたトラップへの誘殺数を調査した。調査は2014～16年にマメシクイガによる被害粒が確認された県内各地のダイズ圃

Seasonal Prevalence of Soybean Pod Borer, *Leguminivora glycinivorella* in Tottori Prefecture and Effect of Diamide Insecticides.

By Yuki FUKUDA and Yasuyo OKUTANI-AKAMATSU

（キーワード：マメシクイガ，発消長，防除対策，ダイズ）

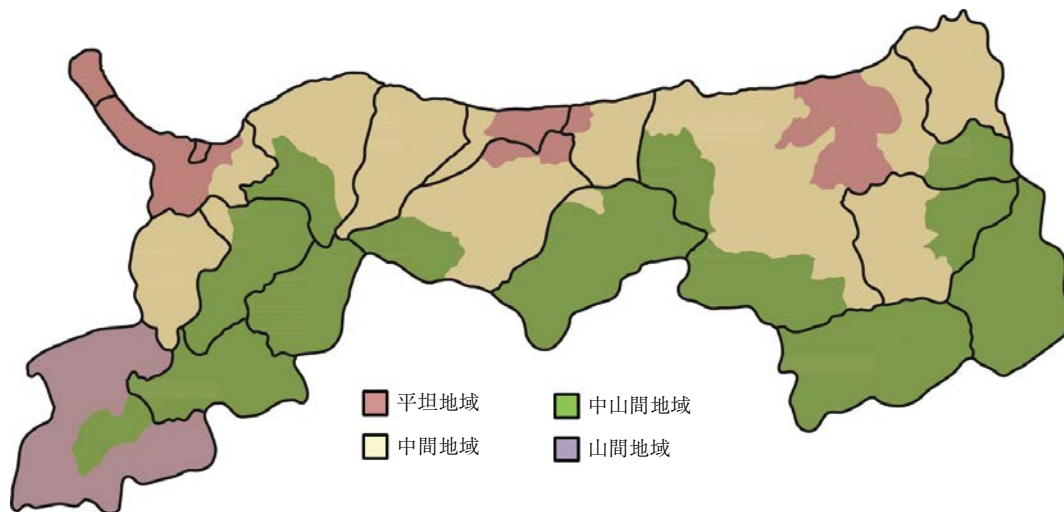


図-2 鳥取県稲作地域区分

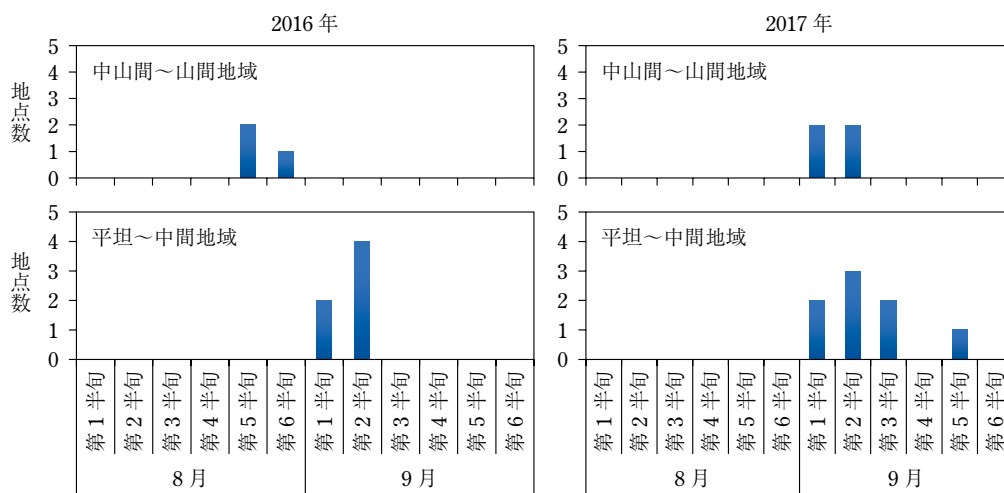


図-3 鳥取県におけるマメシクイガ成虫発生盛期分布

場で行った。トラップはSE粘着トラップを用い、粘着板の中央にフェロモン剤を取り付けた。トラップを圃場の入り口付近のダイズ草冠部に設置し、設置期間はダイズ作付け期間中の7～10月上旬までとした。約7日ごとにマメシクイガ雄成虫の誘殺数を調査し、半旬ごとの誘殺数に換算した。

その結果、すべての調査圃場においてマメシクイガの誘殺が確認された。標高差による誘殺数の多少は認められず、平坦地および山間地を問わず誘殺数の多い圃場が散見された。一方、ダイズ圃場における成虫の発生期間および消長は中山間地域と平坦および中間地域で異なり、中山間および山間地域の発生期間は8月上旬～9月下旬、発蛾盛期は8月下旬～9月上旬、平坦および中間地域の発生期間は8月中旬～10月上旬、発蛾盛期は9月上旬～中旬であった(図-3)。北海道での本種の発生期間は7月下旬～9月上旬、発蛾盛期が8月上旬～下旬

(松本・黒沢, 1954; 小野寺ら, 2011), 東北および北陸では8月中旬～9月下旬に発生し、発蛾盛期は8月下旬～9月上旬であるとされる(遠藤, 1967; 飯村, 1982; 成瀬ら, 1986; 土門ら, 2010; 加進ら, 2010; 樋口・望月, 2011)。以上より、本県の中山間および山間地域における発生活動は東北および北陸に近く、平坦および中間地域では東北および北陸よりやや遅れて発生することが明らかとなった。また本種は、北海道、東北、北陸では年1世代、関東では一部の個体が年2世代となるが(二宮ら, 1957; 内藤, 1960)、今回の調査期間は7～10月であったため、県内における本種の世代数については今後追加調査が必要である。

II 鳥取県におけるクロラントラニリプロール水和剤のマメシクイガに対する防除効果

マメシクイガの防除対策として、薬剤による防除が

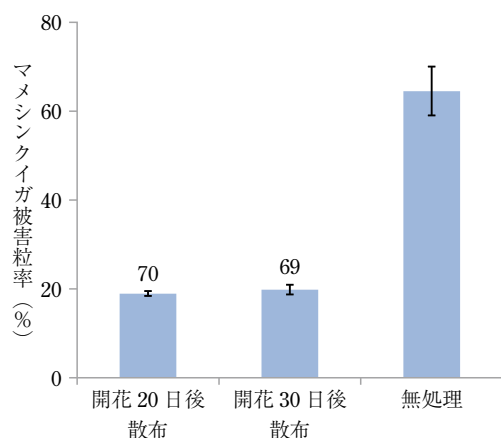


図-4 クロラントラニプロール水和剤のマメシクイガ被害率抑制効果 (2015 年)
エラーバーは標準誤差を示す (図-4~6 共通)。
カラム上の数字は防除値を示す (図-4~6 共通)。

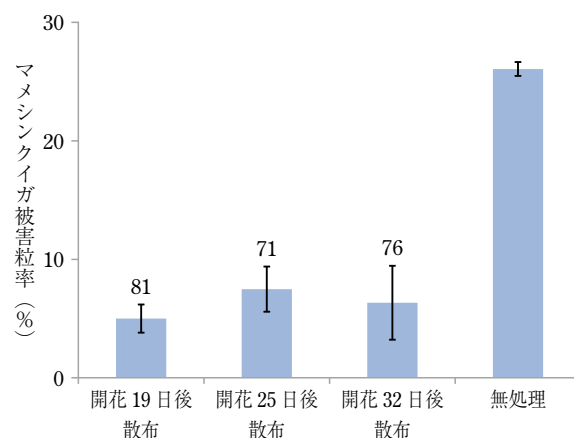


図-5 クロラントラニプロール水和剤のマメシクイガ被害率抑制効果 (2016 年)

広く知られており、これまで、有機リン系、ピレスロイド系等の各殺虫剤による試験事例がある (松本・黒沢, 1955; 遠藤, 1967; 木村・石谷, 2009)。また、チョウ目害虫に対して高い効果と長い残効性を示すジアミド系薬剤のクロラントラニプロール水和剤が、2012 年にマメシクイガへ適用拡大され、北日本を中心に薬剤試験が行われている。これらの試験において、本剤はマメシクイガに対して防除効果が高く既存剤より散布適期幅が長いことが明らかとなった (久保田・横田, 2015; 對馬ら, 2017)。そこで、鳥取県においてもジアミド系殺虫剤の散布時期別の防除効果を検討し、マメシクイガの防除対策の確立を試みた。

試験は 2015~17 年にマメシクイガの多発地域である鳥取県三朝町の現地ダイズ圃場において行った。栽培品種は三朝町在来由来品種の^{みみさかんのくら}‘三朝神倉’ (生態型: IV c) で、2015 年および 16 年の開花日は 8 月 14 日、2017 年は 8 月 16 日であった。供試薬剤はクロラントラニプロール水和剤 (4,000 倍) とし、展着剤としてグラミン®S (3 ml/散布液 10 l) を添加した。

2015 年の散布時期は開花 20 日後および開花 30 日後、2016 年は開花 19 日後、開花 25 日後および開花 32 日後、2017 年は開花 15 日後、開花 22 日後、開花 29 日後および開花 36 日後とし、それぞれの時期に 1 回、背負い式動力噴霧器を用いて薬液を 200 l/10 a 相当散布し、ダイズ収穫期に被害粒調査を行った。さらに、試験圃場の入り口付近に合成性フェロモントラップを設置し、散布時の成虫発生状況についても併せて調査した。その結果、2015 年および 16 年の成虫初発時期は 8 月上旬、発蛾盛期は 8 月下旬~9 月上旬、2017 年の初発時期は 8 月中旬、

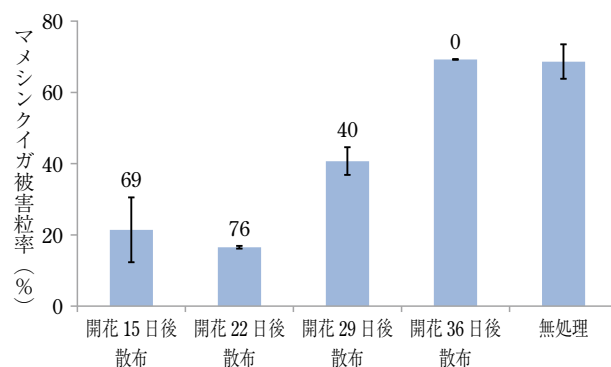


図-6 クロラントラニプロール水和剤のマメシクイガ被害率抑制効果 (2017 年)

発蛾盛期は 9 月中旬であった。

2015 年および 16 年の試験の結果、クロラントラニプロール水和剤の開花 20~30 日後ころ (発蛾盛期~10 日後) の散布は、マメシクイガに対して実用的な防除効果を示した。また、いずれの処理時期とも、防除効果はほぼ同等であった (図-4, 5)。しかし、2017 年は傾向が異なり、開花 15~20 日後ころ (発蛾盛期前~発蛾盛期) の散布は実用的な防除効果 (防除値 70 程度) を示したが、開花 29 日後 (発蛾盛期の 7 日後) の散布は効果を示すがその程度は低く、開花 36 日後 (発蛾盛期の 14 日後) では防除効果が認められなかった (図-6)。

これらの結果より、鳥取県においてもクロラントラニプロール水和剤は、マメシクイガ多発地域において実用的な防除効果を示すことがわかった。発蛾盛期まで (開花 15~20 日後ころ) の散布は、いずれの調査年においても安定した防除効果を示すのに対し、発蛾盛期の 7 日後 (開花 30 日後ころ) 以降の散布は、調査年によって効果が変動した。その要因として、成虫発生時におけるダイズ生育ステージの差が考えられた。前述の通

り、2017 年の本種の発生活動は 2015 年および 16 年と比較してやや遅かった。一方、ダイズの開花期はいずれの年においても 8 月 14～16 日であり、本種の初発～発蛾盛期におけるダイズ莢伸長程度に差が生じていたと考えられる。本種の産卵は莢長が 4 cm 以上となる莢に集中する傾向があるとされている（遠藤，1967）。2017 年は初発および発蛾盛期が遅くなったことから、2015 年および 16 年と比較して産卵に好適な大きさの莢が増え、このことが、マメシクイガの莢への産卵数および幼虫のふ化数に影響し、防除効果に差が生じた可能性が示唆される。ダイズ莢伸長程度と散布適期の関連性については、今後より詳細な検討が必要である。

III 現地における防除の取り組み

試験結果より、マメシクイガによる被害が特に多い圃場においては、開花 15～20 日後ころ（発蛾盛期前～発蛾盛期）のクロラントラニリプロール水和剤散布が、安定的な防除効果が得られると考えられた。

一方、鳥取県のダイズ栽培では子実吸汁性カメムシ類が最重要害虫であり、基幹防除の対象として開花 25～30 日後とその 10 日後の 2 回防除が行われている。そのため、マメシクイガによる被害も散見されるが被害の主体はダイズカメムシ類である圃場においては、開花 25～30 日後（カメムシ類の 1 回目防除時期、発蛾盛期～その 7～10 日後ころ）にクロラントラニリプロール水和剤とカメムシ類防除剤を混用して散布することが省力的かつ効果的であると考えられた。しかし、開花 30 日後以降の散布は年次によって効果が不安定となることから、マメシクイガが多発圃場においては、カメムシ類防除とは別途に開花 15～20 日後ころまでの防除を行う必要がある。

これらの結果をもとに、JA などが作成する防除暦にクロラントラニリプロール水和剤が採用され、マメシクイガ防除技術として普及が進められている。

おわりに

鳥取県において、北方系のダイズ害虫であるマメシクイガの発生量と被害が急激に増加した要因については不明な点が多い。また、県内の発生状況の特徴として、同一地域においても少発生圃場および多発生圃場が混在しており、長期間の連作圃場でも発生が少ない地区や、数年の連作で急激に発生量が増加する地区がある。さらに、薬剤による防除は効果的ではあるが、少発生時における過剰防除などのリスクが生じる。今後、耕種概要や周辺環境等も考慮した発生要因の解明に加え、輪作による耕種の防除法およびフェロモントラップ誘殺数を用いた防除要否判断法について、より詳細に検討を行う必要がある。

引用文献

- 1) 土門 清ら (2010): 北日本病虫研報 61: 137～140.
- 2) 遠藤 正 (1967): 福島農試研報 3: 85～96.
- 3) 樋口博也・望月文昭 (2011): 植物防疫 65: 225～228.
- 4) 飯村茂之 (1982): 北日本病虫研報 33: 93～95.
- 5) 加進丈二ら (2010): 同上 61: 133～136.
- 6) 木村勇司・石谷正博 (2009): 同上 60: 180～185.
- 7) 小林 尚 (1979): 植物防疫 33: 98～103.
- 8) 久保田真衣・横田 啓 (2015): 北日本病虫研報 66: 129～131.
- 9) 松本 蕃・黒沢 強 (1954): 北海道農試彙報 67: 18～27.
- 10) ——— (1955): 北農 22: 251～259.
- 11) 内藤 篤 (1960): 応動昆 4: 77～82.
- 12) ———・正木十二郎 (1962): 農事試研報 2: 145～228.
- 13) 成瀬博行ら (1986): 北陸病虫研報 34: 56～60.
- 14) 二宮 融ら (1957): 関東病虫研報 4: 31～32.
- 15) 小野寺鶴将ら (2011): 北日本病虫研報 62: 216.
- 16) 對馬佑介ら (2017): 同上 68: 237～241.

農林水産省プレスリリース (30.3.14～30.4.11)

農林水産省プレスリリースから、病虫害関連の情報を紹介します。

<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan> の後にそれぞれ該当のアドレスを追加してご覧下さい。

- ◆国内産農産物における農薬の使用状況および残留状況調査の結果について（平成 27 年度および 28 年度）
(3/28) /nouyaku/180328.html

{ 日植防シンポジウムから }

農薬販売業者のスキルアップのための取り組み

全国農薬協同組合 みや 宮 さか 坂 はつ 初 お 男

はじめに

全国農薬協同組合（以下、全農薬）は、中小企業等協同組合法に基づく農薬の共同購買事業を目的とした団体で、昭和40年に設立された。農薬の流通には大きく分けて全国農薬協同組合連合会（以下、全農）が展開するいわゆる系統流通と、全農薬などの農薬卸売り業者による商系と呼ばれるものとの二つの経路がある。全農薬は全農の対抗軸としてよく比較されるが、植物防疫専門家養成にあっては、系統団体の全農（全購連）が昭和42年から防除指導員の養成に着手しているのに対し、商系団体の全農薬が養成に着手したのは昭和48年で、同時期に全農はすでに5,000名を超える防除指導員が活動していた。

全農薬では昭和45年から組合員研修会を毎年実施していたが、植物防疫全般を系統立てて研修する状況にはなかった。このため、昭和49年10月に、当時の社団法人日本植物防疫協会にお願いし、年2回の植物防疫研修会の開催を開始した。また、平成25年から、農薬コンサルタントを対象としたレベルアップ研修である「農薬コンサルタントリーダー研修会」の開催を開始した。以下に「植物防疫研修会」と「農薬コンサルタントリーダー研修」について概要を紹介する。

本稿は平成30年1月に開催された日本植物防疫協会シンポジウム「植物防疫をどう教えるか」での講演内容をまとめたものである。

I 植物防疫研修会

組合員のスキルアップ研修の一つは、現在、一般社団法人日本植物防疫協会（以下、日植防）が主催している「植物防疫研修会」で、当初は全農薬が日植防に委託して東京の代々木にある「オリンピック記念青少年総合セ

ンター」において、昭和49年10月から平成9年まで実施してきた。研修会の運営、講師、カリキュラム作成は日植防が担当、生活面を全農薬が担当した。研修期間は当初12日間の合宿制で2月と10月の年2回開催した（図-1）。

毎回50名から80名の参加があり盛況だったが、回を重ね15回を超えるころから研修希望者も減少傾向が見えてきたため、以前から受講希望のあった農薬工業会に呼びかけ、昭和58年の第18回研修会から農薬工業会が参加することとなった。平成9年からは、植物防疫研修終了者（試験合格者）に対し公益社団法人緑の安全推進協会の「緑の安全管理士（農耕地分野）」が交付されるようになった。平成10年からは主催者が全農薬から日植防に変わり、受講対象者を県・市町村、関係団体の職員（農家を含む）にまで拡大、公益事業として実施され現在に至っている（日本植物防疫協会、2013）。

全農薬では、植物防疫研修会を修了し、試験に合格した者を独自に理事長名で「農薬安全コンサルタント」として認定している。現在その数は延べ人数で3,579名を超えている。有資格者の退職、他部門への配置転換等により、現在、実際に活動している「農薬安全コンサルタント」は1,304名となっている。このため、全農薬としては、農薬コンサルタントの数を増やそうと、日植防に働きかけ、必要に応じて年3回の研修をお願いし、実施している。

II 農薬安全コンサルタントリーダー研修

もう一つのレベルアップ研修は、「農薬安全コンサルタントリーダー研修」である。植物防疫の基礎を網羅している「植物防疫研修会」は、現場で活動する「農薬安全コンサルタント」の根幹となっている。しかし、「植物防疫の基礎」のみでは現場での問題に速やかに答えることができないことから、現場で求められている技術や現場に則した技術を取り入れたレベルアップ研修が必要となってきた。

一方、TPPの議論や欧州連合（EU）の農薬登録制度

Skill Up Training Program on Plant Protection by National Agricultural Chemicals Wholesalers Union (Zennohyaku). By Hatuo MIYASAKA

（キーワード：全国農薬協同組合、植物防疫、研修）



図-1 第1回植物防疫研修会

改革が契機となり、平成24年、当時全農薬の理事長であった青木邦夫氏が、「農薬を取り巻く昨今の情勢を見ると、これからの我が国の農薬状況も欧州連合（EU）のようにますます規制が厳しくなり、登録農薬も少なくなることが想定される。我々も現場で対応できる病害虫・雑草診断技術をしっかり身につけ、少ない農薬でも病害虫・雑草に対し効率的な防除指導ができる“人間のお医者さん”のような専門家の養成が急務である。“病害虫・雑草防除の処方箋”を書ける専門家を育てなければ、農薬の卸業はつぶれるか、単なる“配送屋”になってしまう。その対策として、現在の「農薬コンサルタント」のレベルアップを図り、“植物のお医者さん”といかないまでも、病害虫・雑草に対する防除の“処方箋”を書けるぐらいの専門家を養成したい」と、9月の全農薬理事会に提案した。理事会としても自分達の置かれている立場を理解し、この提案を満場一致で採択し、レベルアップ研修「農薬安全コンサルタントリーダー研修」を平成25年2月の全農薬地区会議から開始した。

1 農薬安全コンサルタントリーダーの受験資格と認定

受験資格は、「農薬安全コンサルタント」であって毒物劇物取扱責任者の資格を有する者とし、「農薬安全コンサルタント」誰でもが受講しやすいようハードルを低く設定している。

本部研修を受講して試験に合格し、研修ポイントが合計10ポイント以上有する者が「農薬安全コンサルタン

トリーダー」として認定される。農薬安全コンサルタントリーダー研修は、地域研修「現場で役立つ技術研修」と本部研修に分けられ、現地研修を講義受講した者は、1講義で1ポイント、2講義で2ポイントを獲得できる。本部研修を受講して試験に合格した者は6ポイントを獲得できる。本部研修を受講したが試験に不合格の者は2ポイント獲得できる。

2 具体的な研修内容について

農薬安全コンサルタントリーダー研修は、植物の病害虫・雑草の防除方法について、“処方箋”を書けることを目標に、地域研修「現場で役立つ技術研修」と本部研修を実施している。

(1) 地域研修

全農薬の地域区分である北海道、東北、関東・甲信越、東海、北陸、中国・四国、九州の7地域で、毎年2月の全農薬地区会議に合わせ、「地域研修」を実施している。現場（地域）で問題となっている病害虫・雑草防除に対応できるよう現場で実際役立つ身近な技術的テーマに焦点を当て、道府県の試験場や、団体の専門家を講師に2テーマの講義を実施している。

(2) 本部研修

本部研修は、現場で役立つ病害虫・雑草の見分け方や対処法（防除法）、農薬の毒性評価と安全性評価方法、農薬関係法令についての講義を受けたいとの農薬安全コンサルタントからのアンケート結果を基に、事務局で主



図-2 農薬安全コンサルタントリーダー研修
実物を使用した害虫診断。

要作物を中心とした病害虫・雑草防除技術について研修カリキュラムを組み、2泊3日で実施できるプログラムを作成、それに基づき講師の選定を行っている。農林水産省本省の担当官にお願いして「植物防疫行政と関係法規」、「農薬行政と関係法規」の講義を、技術関係の「水稻害虫と防除」、「水稻病害と防除」、「水稻雑草と防除」、「果樹の害虫と防除」、「果樹の病害と防除」、「現場に役立つ害虫診断」、「現場に役立つ野菜・花きの病害診断」、「農薬の毒性と安全性評価について」の研修をそれぞれ国内で活躍中の講師が講義を実施している（図-2）。

3 農薬安全コンサルタントリーダーの役割

今年で研修5年目、ようやく全国に約109名の農薬安全コンサルタントリーダーが誕生した。農薬安全コンサルタントリーダーの役割は、

- ・地域における農薬の適正使用の指導の中核的存在となり、全国農薬安全指導者協議会（安全協）リーダーとして、農薬の適正使用につながる地域の安全協活動をリードする役割を担う。
- ・農薬の「出前講座」などの講師として活動する。
- ・農産物の輸出サポーターとして活動する。

としている。

4 その他（活動を手助けするツール）

全農薬では、全農薬のホームページ上に、賛助会員（農

薬メーカー）の技術資料とパンフレットを公開し、農薬の特性や適正使用に関する情報を入手する手助けをしている。また、「農薬安全コンサルタントリーダー」が農業現場でタブレット端末を介して指導できる体制を順次整備している。

おわりに

農薬取締法の一部改正により農薬の再評価制度導入や、作業員への被害防止対策、生活環境動植物への対策等新たな項目導入が検討され、これから全農薬を取り巻く状況はまさに大きな転換期を迎えようとしている。

全農薬は植物防疫研修会、農薬安全コンサルタントリーダー研修会を通じて組合員のスキルアップを図り、最終的には、植物の病害虫・雑草の防除方法について「処方箋」の書ける生産現場で通用する技術を身につけた人材を育成し、様変わりするであろう日本農業に貢献したいと考えている。

引用文献

- 1) 日本植物防疫協会（2013）：日本植物防疫協会設立60周年記念誌、p.29.

植物防疫講座

病害編-5

イネ白葉枯病の発生生態と防除

京都府立大学 生命環境科学研究科 津 下 せい じ 治

はじめに

イネ白葉枯病菌 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* によって引き起こされる白葉枯病は、イネの重要病害の一つであり、熱帯・温帯アジアだけでなく西アフリカやオーストラリア、中南米といった世界の稲作地帯でその発生が認められる。我が国においても 1950 年代半ばから 70 年代半ばにかけては、毎年 20~40 万ヘクタール（全体の 7~13%）の水田で発生が認められ、その被害は 25,000~45,000 トンに及んでいたが、その後徐々に発生は減少し、現在では西南暖地を中心に常発地は残るものの被害はそれほど多くない。しかし、平成 5 年の異常気象時には本病の多発生が見られており、今後も警戒が必要である。一方、熱帯地域では現在でも本病による被害は深刻であり、本病による減収が 60~75% におよぶ場合もあるとされるイネ最重要病害の一つである。ここではイネ白葉枯病の発生・生態とその原因細菌の病原性機構を中心に概説する。

I 発生生態

イネ白葉枯病菌は一本の鞭毛をもつ桿状の細菌であり、*xanthomonadin* と呼ばれる黄色色素を生産するため、培地上では黄色のコロニーを形成する（図-1）。また、本細菌は菌体周辺に多量の多糖（菌体外多糖質）を生産するため、そのコロニーは粘ちょう性に富んでいる。本細菌はイネの葉縁に存在する排水装置である水孔、あるいは葉が擦れあった際に生じる傷口から侵入し、導管でのみ増殖する。増殖した細菌とその周りに存在する菌体外多糖質によって導管は充満する。そのためイネ葉内の水の移動が阻害され、それが白葉枯病に特徴的な葉縁や維管束系に沿った黄化、さらには萎凋や枯れといった症状の主要因になると考えられている（図-2）。

イネ葉導管内で十分に増殖した白葉枯病菌は水孔や傷



図-1 イネ白葉枯病菌のコロニー

口から浸出して、いわゆる菌泥を生じる。この菌泥が風や雨により飛散し、直接、あるいは水田水を介して他のイネ葉に付着し、さらに葉の内部に侵入することで病害が広がっていくことになる。したがって、イネ葉に傷を付けることで本細菌の侵入が容易になるだけでなく、細菌の拡散も容易になる台風などの暴風、あるいは白葉枯病菌を含む水田水が直接水孔や傷口に達する冠水の後には、一気に本病害が広がることになるため注意が必要である。

白葉枯病菌の宿主範囲はイネとサヤヌカグサのような数種のイネ科植物に限られている。1 年に 1 期の稲作が主流の我が国において、本細菌は収穫後のイネの切株や根、あるいはイネ科雑草の根圏で越冬すると考えられているがその詳細は不明である。土壌中での一定期間の生存も知られているが、その期間は通常、1~3 か月と短く、これが主要な第一次伝染源になるとは考えにくい。また、海外では初での越冬についても報告されているが、本細菌が初上でどの程度生存しうなのか、また、これが主要な伝染源となり得るのかについては明らかでない。

本病原細菌は比較的高温を好む。培養時の最適温度は 28℃ 前後であり、最高気温が 40℃ を超えるようなガラス温室内でも十分な増殖力や病原力を維持する。したがって、我が国において、比較的低温期に行われる移植直後のイネ苗に白葉枯病菌が感染し、病害をもたらしことはまれである。圃場内で徐々に個体数を増した白葉枯病

Ecology and Control of Bacterial Leaf Blight of Rice. By Seiji TSUGE

（キーワード：イネ白葉枯病，発生生態，防除，病原性，*hrp*, type III 分泌装置，エフェクター）

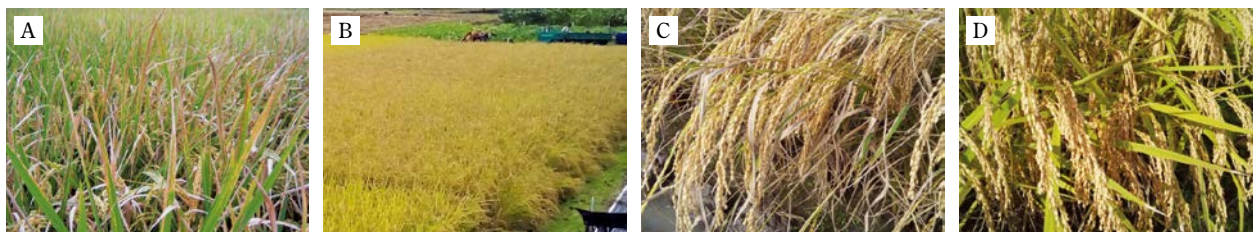


図-2 イネ白葉枯病の発生

白葉枯病菌はイネ葉緑の水孔や傷口から侵入し、導管内で増殖移行するため、維管束系に沿って病徴が現れる (A)。甚発生の際には病名の通り水田一面が白く枯れ上がったように見える (B：収穫期)。 (B) のとき、それぞれのイネでは止葉のほぼ全体まで枯死が進展していた (C)。あわせて同時期の健全イネを示す (D)。

菌が梅雨明け以降の高温期に一気に増殖速度をあげ、感染が広がっていくことになる。

現在我が国で栽培されているイネ品種の大部分は白葉枯病菌に感受性である。それにもかかわらず、本細菌による病害が減少している理由として次のことが考えられる。①かつては圃場周辺で多く見られたサヤヌカグサなどの白葉枯病菌の越冬源となり得るイネ科雑草が、現在では除草や圃場整備により、ほとんど見られなくなってきたおり、これにより第一次伝染源が減少している。②かつてに比べてイネの栽培時期が早まったことにより、収穫が、圃場内の白葉枯病菌密度が十分に上がって発病やその拡大が起こる前に行われる (それにより越冬源もさらに減少し、翌年の白葉枯病の発生も起こりにくくなる)。さらに、③圃場整備が進みかつてほど冠水が起きなくなった。これらのことが総合的に作用しているのではないだろうか。

一方、熱帯地域では1年に複数回の稲作が行われており、常に感染に十分な白葉枯病菌が水田中に存在できると考えられる。また、本細菌の生育適温、あるいはそれに近い温度にあり、細菌にとっては常に感染に適した条件が維持されている。そのため、この地域では成稲への感染だけでなく、我が国では見られないような移植直後のイネ苗への感染も起こることがある。その場合、クレセック (kressek) と呼ばれる全身萎凋とその後の枯死が起こり、被害は特に甚大となる。

II イネ白葉枯病菌の検出

多くの植物病原細菌でその種、あるいは病原型 (pathovar) に特異的な DNA 配列を指標とした PCR (Polymerase Chain Reaction) を用いた検出法が開発されてきている。本法により、極めて簡便かつ短時間に、また、ごく微量の目的病原細菌しか存在しないサンプルから、その目的細菌を検出することが可能になっている。ADACHI and OKU (2000) は、イネ白葉枯病菌のゲノ

ム中の 16S-23S リボゾーム DNA スペーサー領域に、他の細菌とは異なり、なおかつ白葉枯病菌に普遍的に存在する配列を見つけ、それをターゲットとするプライマーを用いた PCR を行うことで、 4×10^1 cfu/ml というごくわずかな白葉枯病菌懸濁液から、本細菌を特異的に検出することができることを報告している。

III イネ白葉枯病菌の多様性

これまでにイネ、およびイネ科植物から 30 種類以上の白葉枯病菌に対する抵抗性遺伝子が同定されている。しかし一方で、白葉枯病菌もイネの多様な抵抗性遺伝子に対抗するかのように、それぞれの抵抗性遺伝子をもつイネ品種に対して感染できるもの、あるいはできないものに多様化している。それぞれ異なる抵抗性遺伝子をもつ品種 (判別品種) に対する感染の有無のパターンによってグループ分けされたものをレース (race) と呼ぶ。我が国においては表-1 に示したように、八つの判別品種を用いることにより、八つのレースが存在することが報告されている (NODA and OHUCHI, 1989)。

一方、ADHIKARI et al. (1995) は白葉枯病菌のゲノム中に複数存在する insertion sequence と呼ばれる配列を指標とした解析 (RFLP 解析) を行うことによって、本細菌の多様性を調べている。その結果から、アジアの各地域から分離された 300 以上の菌株は大きく五つのグループに分かれ、そのグループと分離された地域やレースとの間に一定の関連があることを明らかにしている。

IV イネ白葉枯病菌の病原因子

イネ白葉枯病菌の病原力にかかわる様々な因子が報告されてきているが、その中でも特に、菌体外多糖質は重要である。これは先にも述べたように、イネ葉導管内で大量に生産され、導管閉塞による萎凋や枯れといった症状を引き起こす直接的な病原力因子として機能していると考えられている。実際に、菌体外多糖質の生産を減少

表-1 我が国における白葉枯病菌のレース判別体系 (NODA and OHUCHI, 1989)

判別品種	白葉枯病菌レース							
	IA	IB	II	IIIA	IIIB	IV	V	VII
金南風	S	S	S	S	S	S	S	S
黄玉	R	R	S	S	S	S	R	S
Rantai Emas	R	R	R	S	S	S	R	R
早生愛国	R	R	R	R	R	S	S	S
Java	R	R	R	R	R	S	R	S
Elwee	S	NT	R	R	NT	S	R	NT
Heen Dikwee	S	NT	R	R	NT	S	S	NT
IR8	S	R	R	R	S	S	R	R

Sは罹病性反応を、Rは抵抗性反応が見られることを示す。NTは未検定。

九つのレースのうち、IBとIIが我が国の主要レースである。IIIBはおもに九州地方からのみ分離されている。

レースVIはインドネシア産菌株で報告されており、我が国分離株で本レースの報告はないため記載しない。

させた変異株では、その病原力が著しく低下することが報告されている。また、本細菌が生産する菌体外酵素も病原力に重要であり、その分泌経路を欠損させた変異株や細胞壁成分であるセルロースやキシランの分解酵素をコードする遺伝子を欠損させた変異株は、病原力を失う、あるいはそれが著しく低下することがわかっている。

これらの病原力因子は植物細胞内で一定量の細菌数まで増殖し、十分に分泌された際に初めて宿主であるイネに影響を及ぼすと考えられる。また実際に、菌体外多糖質や菌体外酵素を生産するための遺伝子群は、細菌密度が高まったときに発現するように制御されている。

一方、植物には本来、外来微生物の侵入やそれらの植物体内での増殖を抑制する作用がある（自然免疫、植物免疫、あるいは基礎的抵抗性と呼ばれる）(JONES and DANGL, 2006)。この作用をもつがゆえに、植物は環境中に無数に存在する微生物の植物体内への侵入を許さない、あるいはその後の増殖を許さない。逆に言えば、ある植物の自然免疫を打ち破ることができる微生物のみが、その植物を宿主にしうるわけである。その自然免疫を打ち破るための遺伝子として、白葉枯病菌をはじめ、多くの植物病原細菌は *hrp* 遺伝子群と呼ばれる 20 数個から成る一連の遺伝子群をもっており、これを失った変異株では病原力を完全に失う (ALFANO and COLLMER, 1997)。本遺伝子群はグラム陰性細菌に特有で、大腸菌やサルモネラ菌等の動物病原細菌にも共通する type III 分泌装置と呼ばれる特殊なタンパク質分泌装置の構築にかかわる (BÜTTNER and BONAS, 2002)。この分泌装置は、細菌細胞質と宿主の細胞質を一つのトンネルでつなぐ構造をしており、この分泌装置を通して細菌は直接植物細胞内にタンパク質（エフェクター）を送り込む。送り込

まれるエフェクターの種類は細菌によって異なるが、一般に数十種に及ぶとされており、白葉枯病菌の場合、少なくとも 40 種類前後のエフェクターが type III 分泌装置を介して植物細胞内に送り込まれることが知られている。これらのエフェクターは、主として宿主植物の自然免疫にかかわるシグナル伝達経路をターゲットとし、これらを阻害することで、本抵抗性を弱め、細菌の感染成立およびその後の増殖を可能にする。

植物病原細菌の *hrp* 遺伝子群の発現は多くの制御因子により厳密に制御されており、植物体、あるいは窒素源の乏しい低栄養の培地でのみ見られる。また、先に述べた菌体外多糖質や菌体外酵素の生産にかかわる遺伝子とは逆に、細菌密度の低い感染初期に強く発現することが報告されている。

一般に植物病原細菌は植物細胞の中に侵入することではなく、導管や細胞間隙といった栄養の乏しい環境に存在する。したがって、白葉枯病菌を含め植物病原細菌は植物への侵入直後に、何らかの植物シグナルや低栄養等の環境シグナルを感知して *hrp* 遺伝子群を発現することで植物の自然免疫機構を抑制して感染を成立させているようである。そして一定の細菌密度まで増殖した後は、植物体からの各種ストレスから細菌自身を守るための菌体外多糖質、および植物細胞壁から栄養を獲得するための菌体外酵素の生産・分泌を活発に行うようになり、これが直接的な病害の原因となると考えられる。近年、様々な病原因子の発現が相互に関連しあった複雑な制御ネットワークにより調節されており、その切り替えスイッチとして細菌に特有の密度感知機構（クオラムセンシング）が介在していることも明らかになりつつある (図-3) (津下ら, 2014)。

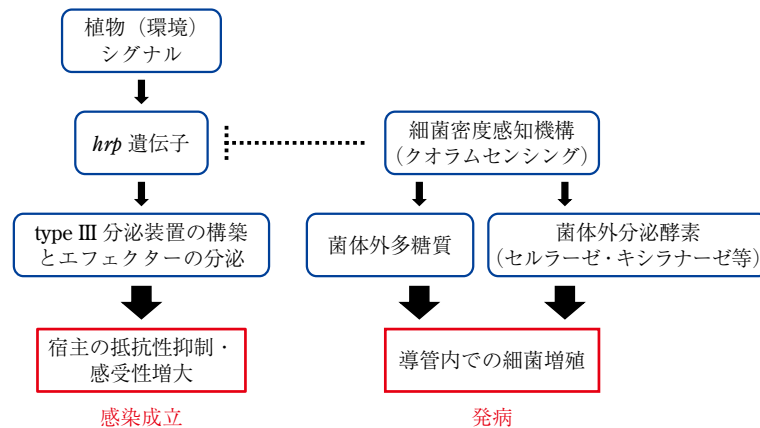


図-3 イネ白葉枯病菌の主要な病原因子と病原性機構

感染直後は、主として *hrp* 遺伝子群の働きにより宿主の抵抗性を抑制、あるいは感受性を増大させることで感染成立を可能にする。その後一定密度まで細菌数が増加すると、菌体外多糖質や菌体外分泌酵素の生産にかかわる遺伝子群の発現へとスイッチが切り替わり、これらの因子により活発な細菌増殖を可能にするとともに、感染イネを発病に至らしめると考えられている。

V 病原因子としてのエフェクター

一般に type III 分泌装置から分泌されるエフェクターの構造には共通性がなく、植物の抵抗性にかかわる様々なシグナル伝達経路を阻害することがわかってきている。また、多くの場合、ある一つのエフェクターを欠損させた変異株は野生株とほぼ同程度の病原力を保持することから、植物病原細菌の分泌する多数のエフェクターは宿主植物の抵抗性にかかわるシグナル伝達経路に対して多面的に、そして相加・相乗的に作用することで病原力に関与しているようである。

一方、イネ白葉枯病菌や他のいくつかの *Xanthomonas* 属細菌は、TAL (Transcriptional Activator-Like) エフェクターと呼ばれる共通した構造をもつエフェクターをもつ (Doyle et al., 2013)。これは内部に 34 アミノ酸を一つの単位とする十数回の反復からなる領域と植物細胞内で機能する転写活性化領域をもつ。各 TAL エフェクターの構造はほぼ同一であるが、反復領域における反復回数と各反復単位の一部のアミノ酸（可変部位）に違いがある。この反復領域は DNA に結合する能力をもち、各反復単位が DNA の一つの塩基に対応する。また、可変部位のアミノ酸の違いにより結合する塩基が異なる。つまり、どのような可変部位をもつ反復単位が並ぶかによって、どのような DNA 配列に結合するかが決定されるわけである。それぞれの TAL エフェクターは type III 分泌装置を介して宿主植物細胞内に分泌された後、核に移行し、そこで反復配列領域によって決定づけられる特定の宿主遺伝子のプロモーターに結合する。そして転写活性

化領域により、その遺伝子の発現を誘導することになる。

各白葉枯病菌は一般に、十数種の TAL エフェクターをもち、各菌株がもつ TAL エフェクターにはバリエーションが見られる。各 TAL エフェクターがターゲットとする宿主遺伝子の解明が精力的に進められているがそのすべてはいまだ明らかでない。しかし、いくつかの TAL エフェクターによって、イネのシュクロース排出ポンプ（細胞内から細胞外へのシュクロースの排出を促進する）遺伝子 (*SWEET* と名付けられている) の発現が活性化されることが明らかにされた。筆者の研究室で扱う菌株は *SWEET* 遺伝子をターゲットとする TAL エフェクターを少なくとも二つもつが、これら二つの遺伝子を破壊した変異株ではその病原力がほぼ完全に失われ、それらの病原力における重要性が確認されている (図-4)。細胞外へのシュクロースの排出がどのように白葉枯病菌の病原力にかかわるのかについての詳細は明らかでないが、本細菌が栄養として利用し、その増殖に寄与する可能性が考えられている。

VI 非病原因子としてのエフェクター

宿主植物の中にも、ある特定の細菌系統に対して抵抗性を示す場合がある。いわゆる品種特異的抵抗性である。遺伝子対遺伝子説によれば、そのときその細菌系統は品種のもつ抵抗性遺伝子に対応する非病原因子遺伝子をもつことになる。近年、本来病原力の発揮に必要とされるエフェクターが非病原因子として機能する例が次々と蓄積されてきている (Jones and Dangl, 2006)。宿主植物の中には、その進化の過程でそれぞれのエフェクタ

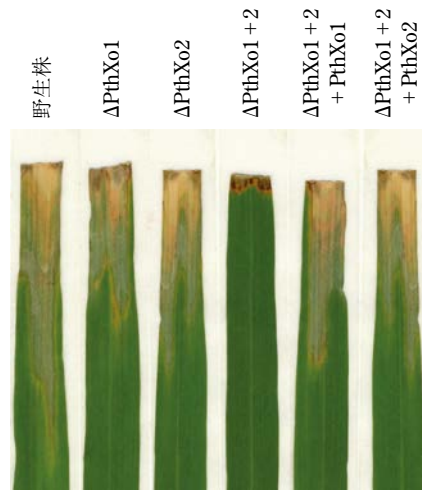


図-4 イネシュクロース排出ポンプ遺伝子を活性化する TAL エフェクターの白葉枯病菌病原性への関与
PthXo1 および PthXo2 はそれぞれイネのシュクロース排出ポンプ遺伝子 *OsSWEET11* および *OsSWEET13* の発現を活性化する TAL エフェクターである。これらをそれぞれ欠損させた変異株 (Δ PthXo1, Δ PthXo2) は、いずれも野生株 (MAFF311018) と同程度の病原性を保持するが、その両方を欠損させた二重変異株 (Δ PthXo1 + 2) は病原性を失う。また、この二重変異株にそれぞれの遺伝子を再導入すると病原性は復帰する。

ーやその機能を感じし、それにより、より強い抵抗性を発動するシステムを獲得することがある。このシステムにかかわる遺伝子がいわゆる抵抗性遺伝子であり、これを獲得した植物個体から抵抗性品種が生まれるわけである。一方、ここで生じた強い抵抗性を打破し、再度病原性を獲得する細菌系統も見つかっており、植物と細菌は共進化の過程で、抵抗性の獲得と病原性の獲得をいたちごっこのように繰り返しているようである。

白葉枯病菌においてはこれまでに、非 TAL 型のエフェクターが非病原因子として機能する例は見つかっていない。しかし TAL エフェクターに関しては、これが発現誘導するイネ遺伝子が抵抗性因子として機能する例が見つかってきている (Gu et al., 2005)。興味深いことにこのとき、この TAL エフェクターがターゲットとする遺伝子は抵抗性・感受性のいずれのイネ品種にも存在する。しかし、両品種ではその遺伝子上流にあるプロモーター部分の一部の配列に違いが見られる。つまり、抵抗性イネ品種の場合のみ、この TAL エフェクターが結合可能な配列になっており、それによって抵抗性遺伝子の発現が誘導される。一方、罹病性品種では、その結合、さらには遺伝子発現の誘導が起らないのである。この場合、抵抗性遺伝子上流のプロモーター配列に TAL エフェクターが結合するような改変が起こり、その結果として新たな抵抗性品種が生まれたと考えられる。

他の植物—病原細菌と同様、イネ—白葉枯病菌においても両者の共進化において、様々な抵抗性遺伝子の獲得とそれを打破する系統の発生が繰り返されているようであり、それが上で述べた白葉枯病菌の多様性の一因になっていると考えられる。

VII 白葉枯病の防除

イネ白葉枯病は他の多くの細菌病と同じく、卓効を示す防除薬剤がいまだ開発されておらず、難防除病害の一つにあげられる。その被害が深刻な熱帯アジアにおいては、抵抗性品種の育成・栽培がほぼ唯一の防除手段となっている。しかし、多様性に富んだ白葉枯病菌については、その抵抗性品種を侵すレースの新たな出現や他の地域からの侵入が常に問題となっている。

白葉枯病菌に対する多種の抵抗性遺伝子の中でも、イネ科植物 *Oryza longistaminata* から単離された抵抗性遺伝子 *Xa21* は幅広いレースの白葉枯病菌に対して有効である (ただし、我が国の白葉枯病菌の多くに対しては効果を示さない)。したがって、熱帯アジア諸国などでは、本抵抗性遺伝子を導入したイネ品種を土台として、さらにその地域に分布するレースに効果的な抵抗性遺伝子をピラミッド状に導入することで、より耐病性の高いイネ品種を育成することが試みられ、一定の成果をあげているようである。

また、一般に個々のエフェクターは単独での病原性作用は低いとされるが、中には比較的強い作用をもち、それを欠損した変異株では病原性が大きく低下するものもある。その一例として白葉枯病菌の TAL エフェクターの一つである PthXo1 (AvrXa7 と呼ばれる) がある。PthXo1 は本来イネの *SWEET* 遺伝子の一つの発現を誘導するが、白葉枯病抵抗性遺伝子 *Xa7* の発現誘導もする。したがって、*Xa7* をもつイネ品種に対し PthXo1 をもつ白葉枯病菌はその抵抗性の誘導により感染できない。また、その抵抗性誘導を回避するために自然突然変異により *PthXo1* 遺伝子を欠損させた場合、本来のターゲットであるイネの *SWEET* 遺伝子を活性化できないため、やはり強い病原性を示すことができない。VERA CRUZ et al. (2000) は、実際に圃場を用いた試験において、*Xa7* をもつイネ品種が他の抵抗性遺伝子をもつ品種に比べて、白葉枯病菌に対して持続的な防除効果を示したことを報告している。

我が国において、イネの最重要糸状菌病害であるいもち病の防除薬剤としてプロベナゾールやイソチアニル、チアジニルといった化合物が広く利用されるようになってきた。これらはいずれもそれ自体に殺菌効果はないが、

植物の病原微生物に対する抵抗性を誘導することによって、いもち病菌による感染やその拡大を抑制する作用がある。これらの化合物による防除効果は、糸状菌病害であるいもち病だけにとどまらず、白葉枯病やもみ枯細菌病等の細菌病害に対しても発揮される。ただし、これらの細菌病害に対する防除効果はいもち病に対する効果ほど高くはない。しかし、難防除病害であり、他に卓効を示す薬剤が存在しない現状において、これらの抵抗性誘導作用をもつ化合物は白葉枯病を含むイネ細菌病防除のための貴重な資材であり、これらの化合物やそれを含む混合剤が次々と農薬登録、あるいは白葉枯病菌ならびに他の細菌病防除剤としての適用拡大がなされている。

おわりに

上記のように、白葉枯病の発病メカニズムに関して多くの知見が蓄積されてきており、また、蓄積されつつある。今後それらを基盤とした新防除資材の開発も期待される。その際、感染の確立に必須の *hrp* 遺伝子の発現やそれに伴う *type III* 分泌装置の構築の阻害、あるいは、感染過程に応じた病原力遺伝子の切り替えスイッチとして機能する細菌密度感知機構の阻害といったものが、防除にむけての格好のターゲットになるのではないだろうか。また、TAL エフェクターによる *SWEET* 遺伝子の活性化が本病害に必須であることから、現時点での実際の利用は難しいが、同遺伝子プロモーター配列の一部改変

により、TAL エフェクター機能の無効化を図ったイネの開発も有望である。実際に、米国の研究者らは、このようなイネが白葉枯病菌に強い抵抗性を示すことを明らかにしている。

現在我が国における白葉枯病の発生はそれほど多くないが、先述のように栽培されている大部分のイネ品種は本病原細菌に対して感受性が高く、実際に平成 5 年の異常気象時には本病の多発生が見られている。温暖化を含めた今後の気象変動により、警戒が必要な病害であることは間違いない。また、世界規模で見れば本病は熱帯アジアを中心にいまだ甚大な被害をもたらしており、新しい有効な防除資材の開発や防除技術の開発が望まれる。

引用文献

- 1) ADACHI, N. and T. OKU (2000): J. Gen. Plant Pathol. **66**: 303~309.
- 2) ADHIKARI, T. B. et al. (1995): Appl. Environ. Microbiol. **61**: 966~971.
- 3) ALFANO, J. R. and A. COLLMER (1997): J. Bacteriol. **179**: 5655~5662.
- 4) BÜTTNER, D. and U. BONAS (2002): EMBO J. **21**: 5313~5322.
- 5) DOYLE, E. L. et al. (2013): Trends Cell Biol. **23**: 390~398.
- 6) GU, K. et al. (2005): Nature **435**: 1122~1125.
- 7) JONES, J. D. G. and J. L. DANGL (2006): Nature **444**: 323~329.
- 8) NODA, T. and A. OHUCHI (1989): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. **55**: 201~207.
- 9) 津下誠治ら (2014): 日本植物病理学会報 **80**(特集号): 118~123.
- 10) VERA CRUZ, C. M. et al. (2000): Proc. Natl. Acad. Sci. USA **97**: 13500~13505.



発生予察情報・特殊報 (30.3.1~3.31)

各都道府県から発表された病害虫発生予察情報のうち、特殊報のみ紹介。発生作物：発生病害虫（発表都道府県）
発表月日。都道府県名の後の「初」は当該都道府県で初発生の病害虫。

※詳しくは各県病害虫防除所のホームページまたは JPP-NET (<http://web1.jppn.ne.jp/>) でご確認ください。

- トマト：茎えそ病（愛知県）3/2
- ナス：クロテンコナカイガラムシ（高知県：初）3/7
- トルコギキョウ：白さび病（仮称）（山口県：初）3/22
- ニガウリ：チャノキイロアザミウマ（沖縄県）3/23
- アスパラガス：疫病（長崎県：初）3/26
- オリーブ：立枯病（仮称）（香川県：初）3/27

- トマト：ホモプシス茎枯病（仮称）（高知県）3/29
- ガーベラ：茎えそ病（仮称）（静岡県）3/29
- ヤマノイモ：ジャガイモクロバネキノコバエ（神奈川県：初）3/29
- イチジク：ラシオディプロディア落葉病（仮称）（福岡県：初）3/30

植	物	
	防	疫
講	座	

虫害編-5

ヒメトビウンカの発生生態と防除

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構
中央農業研究センター

ひら え まさ ひろ
平 江 雅 宏

はじめに

ヒメトビウンカ *Laodelphax striatellus* (Fallén) (カメムシ目：ウンカ科) は、日本全土を含むアジアに分布する。成虫の体長(翅端まで)は、長翅型の雌は約4 mm、雄は約3.5 mm、短翅型の雌は約2.5 mm、雄は約2.3 mmである(図-1)。本種はイネ、コムギ、ヒエ、アワ、トウモロコシ、スーダングラス、ブロームグラス、クサヨシ、イタリアンライグラス、オーチャードグラス、フェスク類等多くのイネ科植物を吸汁加害する(梅谷・岡田編, 2003)。イネでは、本種の吸汁による直接的な被害よりも、イネ縞葉枯ウイルス(*Rice stripe virus*, RSV)によって引き起こされるイネ縞葉枯病や、イネ黒すじ萎縮ウイルス(*Rice black streaked dwarf virus*, RBSDV)によって引き起こされるイネ黒すじ萎縮病による被害のほ

うが重要視される。このうち、イネ縞葉枯ウイルスは永続的かつ高率に経卵伝染する媒介様式であり、ウイルスを獲得し伝染能力を持った媒介虫(保毒虫)は、死亡するまでウイルスを媒介し続けるだけでなく、次世代以降も高率な経卵伝染により媒介能力を持ち続ける。このため、いったんイネ縞葉枯病が流行に入ると早期の終息は難しく、過去2回の流行時においても流行開始から終息までに10年以上の時間を要している(図-2)(柴, 2016)。近年、関東、近畿、九州地方の一部の地域でイネ縞葉枯病の発生面積が増大していることから(図-2)、今後の発生推移に注意を要する。

I ヒメトビウンカの発生生態と ウイルスの伝染環

ヒメトビウンカは休眠性を持ち、寒冷地や降雪地帯で



図-1 ヒメトビウンカ
左：左より雌成虫，雄成虫，短翅型雌成虫。
右：越冬幼虫。

Ecology and Management of Small Brown Planthopper, *Laodelphax striatellus*. By Masahiro HIRAE

(キーワード：水稻害虫，ヒメトビウンカ，発生生態，発生予察，管理法)

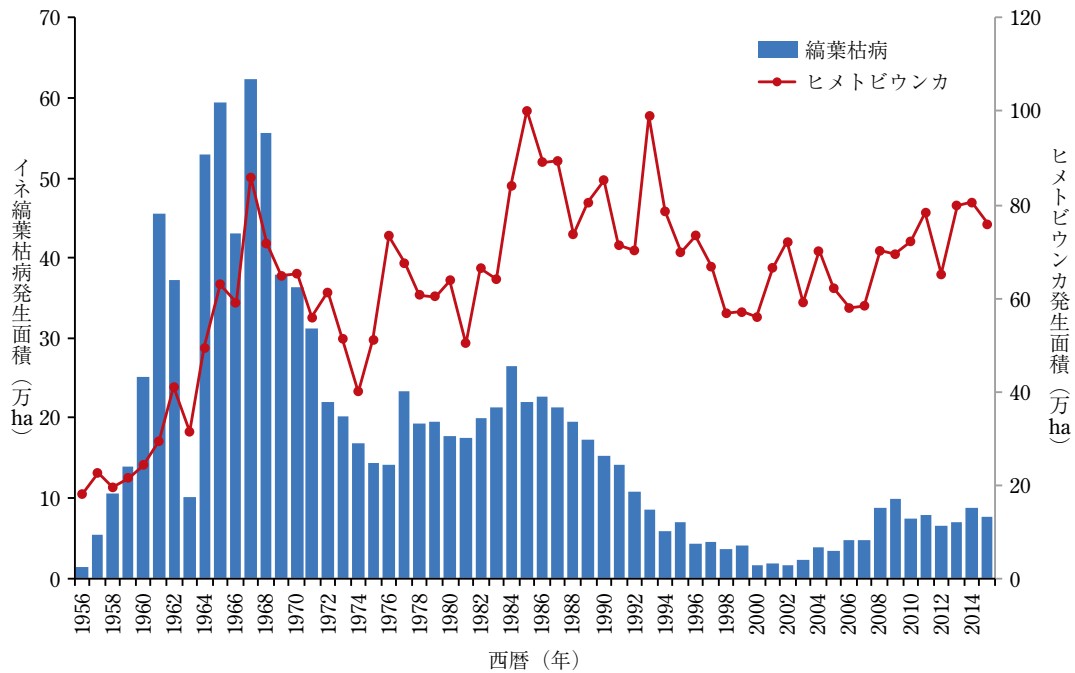


図-2 ヒメトビウンカとイネ縞葉枯病の発生面積の推移（日本植物防疫協会，農業要覧より作図）

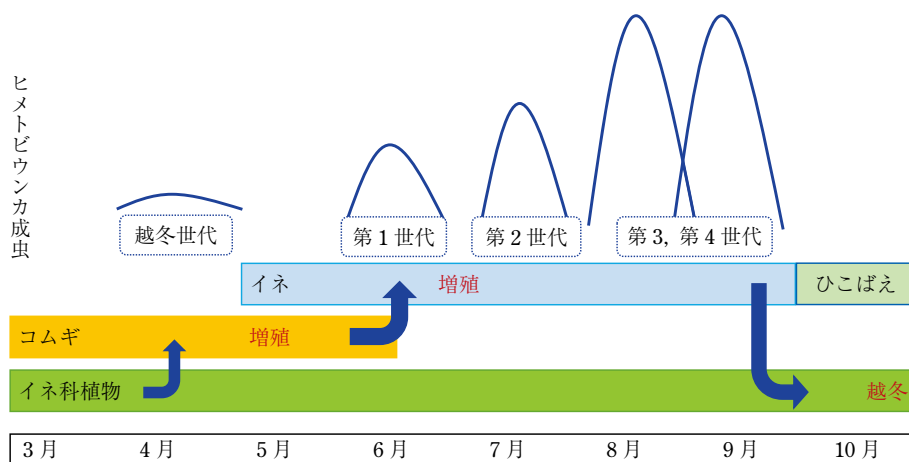


図-3 北関東におけるヒメトビウンカの発生活消長と主な生息場所
矢印はヒメトビウンカの移動を示す。

も越冬可能なため、日本全国に生息している。北海道では年2～3回、関東では年4～5回、西日本では年5～6回の発生が見られる。越冬態は幼虫で、主に4齢幼虫が水田畦畔や雑草地、河川敷等にあるイネ科植物や牧草地等で越冬する（図-1）。

関東地方の米麦二毛作地域では、越冬世代成虫が3月上中旬ころから発生し、4月上～中旬ころをピークにムギ圃場などに侵入し産卵し、5月上中旬ころから第1世代幼虫が発生する（図-3）。ヒメトビウンカはムギ類で増殖しやすく、ムギ類が栽培される地域では発生量が多くなる傾向がある。第1世代成虫は5月下旬から6月上旬に水田に侵入し、イネを吸汁加害する。イネの葉鞘

の隙間や葉身の中肋に産卵し、ふ化した幼虫は5齢まで発育して成虫となる。水田で3世代から4世代を繰り返して増殖した後、秋期に越冬場所の水田畦畔や道路法面等のイネ科雑草に移動する。北海道では越冬世代成虫は5月中旬ころから現れ、イネが移植されると水田に侵入し増殖する。九州地域では越冬成虫はコムギ、オオムギ、イタリアンライグラス、エンバク、イネ科植物等に、第1世代成虫は早期栽培イネやトウモロコシ等に移動し増殖する。ヒメトビウンカはトビイロウンカやセジロウンカのような長距離移動する種と比べると連続して飛翔する能力が低く、あまり長距離は移動しないとされる。海外飛来の可能性はたびたび指摘されてきたが、実際に

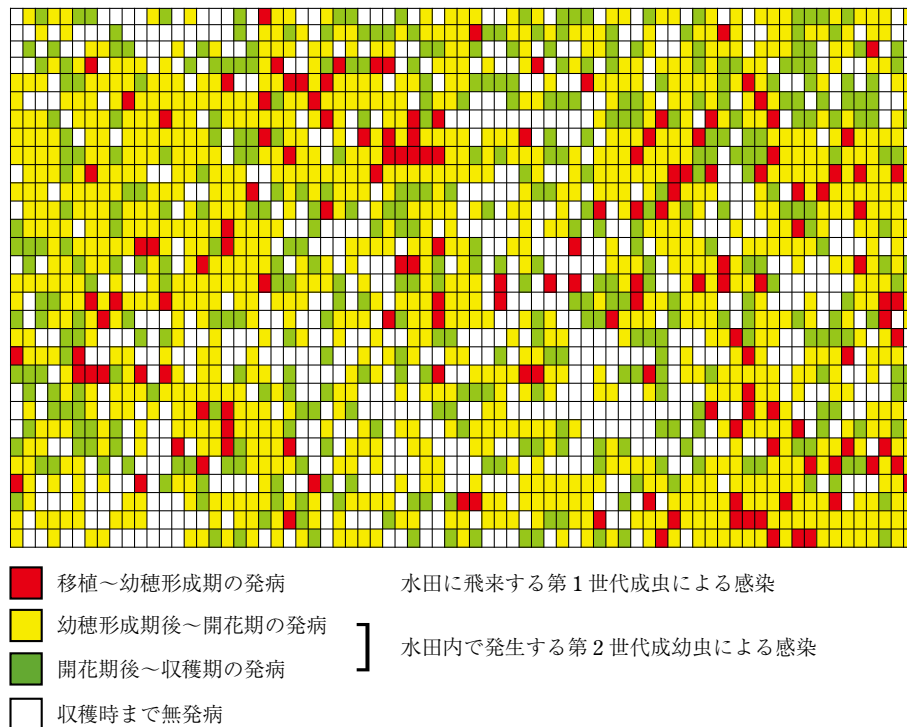


図-4 茨城県筑西市の水田におけるイネ縞葉枯病のまん延過程 (SHIBA et al., 2018 を改変)

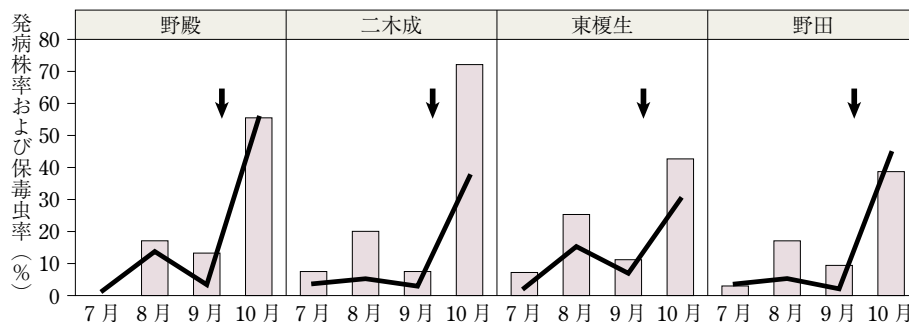


図-5 茨城県筑西市の水田におけるイネ縞葉枯病発病株率(棒グラフ)とヒメトビウンカのイネ縞葉枯ウイルス保毒虫率(折れ線グラフ) (SHIBA et al., 2016 を改変)

矢印はイネの収穫時期。

2008年と2017年に中国東部からの飛来が認められており (OTSUKA et al., 2010; 松倉ら, 2018), 条件によっては海外から飛来することが明らかになっている。

水田内におけるイネ縞葉枯病の発生の広がり方は図-4のような経過をたどる (SHIBA et al., 2018)。移植後間もない水田にウイルスを保毒した成虫が飛来し、生育初期のイネにウイルスを感染させる。飛来世代の成虫による初めの感染はまばらに点在して発生し、その後経卵伝染によってウイルスを保毒した次世代成幼虫が周辺イネに次々とウイルスを媒介し、感染イネが急激に広がる。移植後の生育初期に感染すると葉に黄緑色～黄白色の斑紋が縞状に生じたり新葉が巻いて垂れ下がって枯死することにより茎数が減少する。また、生育中期に感染すると

穂が奇形となり粒数減少などの被害が出る。

水田内にイネ縞葉枯病に感染・発病したイネが増加すると、非保毒虫が感染イネを吸汁することにより新たにウイルスを獲得する機会が増加する。新たにウイルスを獲得した保毒虫は、一定の潜伏期間の後にウイルスを媒介する能力を得る。また、イネ収穫後のひこばえにおいてイネ縞葉枯病発病株率が急激に上昇すると、感染イネへ吸汁する機会が増え、保毒虫率も急激に上昇する (図-5) (SHIBA et al., 2016)。ひこばえからウイルスを獲得した保毒虫は、水田やその周辺の畦畔などの雑草で越冬し、翌年の感染源となる。保毒虫の割合が高まるとイネ縞葉枯病の伝染が容易に起こり、感染するイネ個体も次々と増えイネ縞葉枯病の大流行につながる (鳥山,

2010)。

II 発生予察

ヒメトビウンカの発生量調査法としては、予察灯、黄色水盤、粘着板による払い落とし法、捕虫網によるすくい取り法、見取り法等が知られており、調査の目的にあわせて選択可能である。黄色粘着トラップを用いたヒメトビウンカの発生活動調査法 (MATSUKURA et al., 2011) は、水田やコムギ圃場、雑草地においてヒメトビウンカの発生時期を把握することが可能であり (図-6)、特に水田への第1世代成虫の侵入時期の把握に有効な調査法である (平江・柴, 2016)。

発生予察情報の活用に関し、気象条件などのデータと組合せることにより発生予察技術の高精度化が図られている。例えば、日本植物防疫協会のインターネットサービス JPP-NET の有効積算温度計算シミュレーションによって第1世代成虫および第2世代成虫の発生時期を高い精度で予測できる (平江・柴, 2016)。また、同じく JPP-NET では、「ヒメトビウンカ飛来予測システム」が運用されており、中国でのヒメトビウンカの有効積算温度から第1世代の移出時期を推定し、虫の飛び立ち時間や風向風速データ等を用いて飛来予測が可能である。飛来が予測されると、県などの単位で利用者に電子メールで通知され、予測図から飛来時期と飛来地域の情報が提供される (大塚, 2016)。これらの情報を得ることで、より高精度な発生予察とそれに基づく的確な防除対策が可能となる。

媒介者であるヒメトビウンカの発生量が多く、イネ縞葉枯ウイルスの保毒虫の割合が高いとイネ縞葉枯病の発病リスクが高まる。このため、都道府県の病害虫防除所

などでは、イネ縞葉枯病の発生量を予測するため、媒介者であるヒメトビウンカからウイルスを検出して保毒虫率を把握する調査法が用いられている。保毒虫率調査手法として、近年は簡易 ELISA 法により迅速・簡便なイネ縞葉枯ウイルス保毒虫検定が可能となっている (杉山ら, 2015)。

III 管理方法

1 薬剤による防除

イネ縞葉枯ウイルスに感染したイネからウイルスを取り除くことはできない。このため、媒介者であるヒメトビウンカの本田への侵入およびその後の増殖を抑制し、イネへのウイルス感染を未然に防ぐことが重要である。薬剤防除が必要な時期は、イネの移植から幼穂形成期までの間であり、育苗期に薬剤を処理する育苗箱施薬や水和剤や粒剤等の本田散布を行うことにより、イネ縞葉枯病の被害の軽減が期待できる。育苗箱施薬では、長期間効果の持続する箱施薬剤を使用し、1箱当たりの施薬量をしっかり守る。地域によっては、早期移植のイネではヒメトビウンカ成虫飛来前に育苗箱施薬剤の効果が低下する場合があるため、必要に応じて薬剤の本田散布を実施する。本田散布では、幼虫発生開始期から幼虫発生盛期の始期にあわせて散布すると効果が高い (岡部・杉山, 2016; 諏訪ら, 2017)。

ヒメトビウンカ薬剤抵抗性については、2000年代中ごろに九州地域でフィプロニル剤に対し感受性が低下したヒメトビウンカが確認され (松村, 2009)、その後関東地域でも感受性の低下が認められている (小倉ら, 2015)。2008年にイミダクロプリド剤に感受性低下を示すヒメトビウンカが海外から主に九州地方や中国地方の

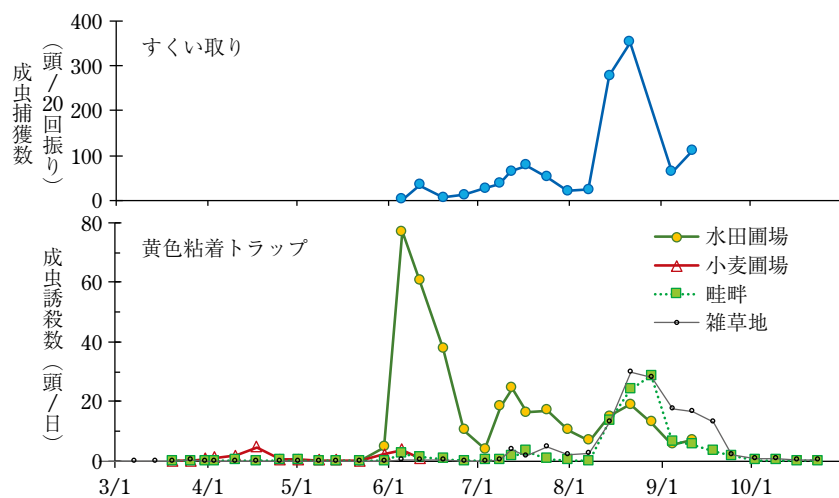


図-6 黄色粘着トラップとすくい取りによるヒメトビウンカ成虫捕獲数の推移 (平江・柴, 2016 を改変)

表-1 主なイネ縞葉枯病抵抗性品種（うるち米品種）

品種名	奨励品種などに指定している自治体
あいちのかおり SBL	静岡県, 愛知県
朝の光	群馬県（認定）
あさひの夢	栃木県, 群馬県, 山梨県, 愛知県, 岐阜県, 長崎県
こいごころ	愛媛県
ゴロピカリ	群馬県
彩のかがやき	埼玉県
彩のきずな	埼玉県
彩のみり	埼玉県（準奨励）
さとじまん	神奈川県
大地の風	愛知県（特定）
つやおとめ	福岡県（準奨励）
とちぎの星	栃木県（認定）
ハツシモ岐阜 SL	岐阜県
兵庫夢錦（酒米）	兵庫県
まいひかり	宮崎県
祭り晴	神奈川県（特定）, 京都府, 大阪府
ゆめまつり	群馬県, 愛知県

農林水産省「水陸稲・麦類・大豆奨励品種特性表 平成 25 年度版」より作成。

日本海側の地域に飛来し、これら個体群のイネ縞葉枯ウイルスの保毒虫率も高かったことから、それがもとになってイネ縞葉枯病の多発生が見られた。また、これら異なる薬剤に対し感受性が低下した虫同士が混在し交雑することで、両方の薬剤に対し感受性が低下したヒメトビウンカの存在も観察されている（真田・松村，2016）。このように地域によって有効な薬剤が異なる可能性があるため、その地域のヒメトビウンカ個体群の薬剤感受性を把握し、適切な薬剤を選定する必要がある。また、ヒメトビウンカの海外飛来は今後も起こる可能性があることから、薬剤抵抗性の動向や保毒虫率の継続的なモニタリングを行うとともに、海外飛来に対応した防除対策が重要となる。

2 抵抗性品種の利用

イネ縞葉枯病抵抗性品種の利用はイネ縞葉枯病の常発地域では被害回避に有効な方法である。国内では 1960 年代以降、イネ縞葉枯病抵抗性品種の育成が進められ、

これまで多数の実用品種が育成されてきた（表-1）。近年では、埼玉県で‘彩のかがやき’‘彩のきずな’、岐阜県で‘ハツシモ岐阜 SL’、愛知県で‘祭り晴’、農研機構で‘コシヒカリ近中四 SBL1 号’、‘恋の予感’等縞葉枯病抵抗性が付与された良食味品種も多く育成されている。また、飼料用イネなど新規需要米品種でも、‘なつあおば’、‘ホシアオバ’、‘クサノホシ’、‘もちだわら’等の縞葉枯病抵抗性品種が育成されている。抵抗性品種のイネ縞葉枯病発病抑制効果は極めて高いが、抵抗性品種はヒメトビウンカの密度を減少させる効果はない（酒井ら，2017）。このため、抵抗性品種と感受性品種が混在して作付けされている地域では、抵抗性品種が媒介虫の潜在的な発生源となり周辺の感受性品種でイネ縞葉枯病の被害が発生したり、ヒメトビウンカが媒介するイネ黒すじ萎縮病が発生するリスクが生じるため、抵抗性品種においても適切な防除が必要となる場合がある。

3 耕種的防除法

イネ縞葉枯病の防除を効果的に行うためには、イネ収穫後の圃場管理も重要である。前述の通り、イネ収穫後のひこばえはヒメトビウンカのウイルス獲得源になりやすい。また、ひこばえからウイルスを獲得した保毒虫は水田やその周辺の畦畔等の雑草で越冬し翌年の感染源となる。そのため、秋から冬期間に水田の耕起や畦畔の雑草管理を行い、越冬場所となるイネ科雑草を除去してヒメトビウンカの個体数を減少させることで、翌年の保毒虫密度を低下させることができる。

引用文献

- 1) 平江雅宏・柴 卓也 (2016): 植物防疫 70: 79~83.
- 2) MATSUKURA, K. et al. (2011): Appl. Entomol. Zool. 46: 585~591.
- 3) 松倉啓一郎ら (2018): 九州病害虫研究会第 95 回研究発表会 講要 (虫害): 4.
- 4) 松村正哉 (2009): 植物防疫 63: 745~748.
- 5) 小倉愉利子ら (2015): 関東東山病虫研報 62: 116~118.
- 6) 岡部 克・杉山恵乃 (2016): 植物防疫 70: 89~95.
- 7) 大塚 彰 (2016): 植物防疫 70: 116~120.
- 8) OTSUKA, A. et al. (2010): Appl. Entomol. Zool. 45: 259~266.
- 9) 酒井和彦ら (2017): 関東東山病虫研報 64: 10~14.
- 10) 真田幸代・松村正哉 (2016): 植物防疫 70: 112~113.
- 11) 柴 卓也 (2016): 植物防疫 70: 77~78.
- 12) SHIBA, T. et al. (2016): J. Econ. Entomol. 109: 1041~1046.
- 13) ——— et al. (2018): Field Crops Res. 217: 211~217.
- 14) 杉山恵乃ら (2015): 植物防疫 69: 23~27.
- 15) 諏訪順子ら (2017): 関東東山病虫研報 64: 73~76.
- 16) 鳥山重光 (2010): 水稲を襲ったウイルス病—縞葉枯病の媒介昆虫と病原ウイルスの実像を探る, 創風社, 東京, 306 pp.
- 17) 梅谷献二・岡田利承 編 (2003): 日本農業害虫大事典, 全国農村教育協会, 東京, 1203 pp.

植物
防疫
講座

農薬編-5

キチン合成阻害剤タイプ0 (BPU)

ーベンゾイル尿素系ー

石原産業株式会社 お 尾 まつ まさ と

はじめに

本報では、IRACの作用機構分類15、キチン生合成阻害剤タイプ0、ベンゾイル尿素系殺虫剤（ベンゾイル（フェニル）ウレア系殺虫剤；BPU）について解説する（表-1、農薬工業会ホームページ）。BPUは昆虫の脱皮やふ化を阻害することにより、殺虫活性を発揮する薬剤であり、昆虫成長制御剤（Insect Growth Regulator, IGR剤）の1種である。これまでに開発されたすべてのBPUは、一方の端にベンゾイル部位、もう一方の端にフェニル部位があり、その間をウレア部位でつないだ構造を持っている（図-1）。

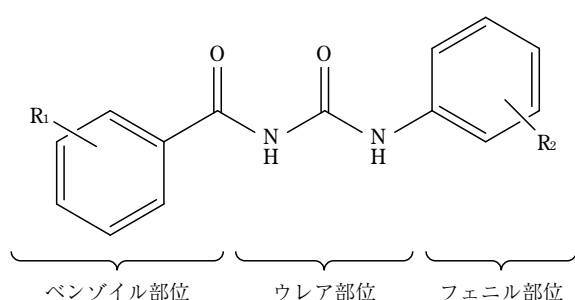


図-1 ベンゾイル尿素系殺虫剤の共通構造

I 発見の経緯

1970年代になり、Philips-Duphar B.V.Co.の研究者によって、除草剤の創製研究の過程で偶然に殺虫性化合物が発見された。最初のBPUであるジフルベンズロン（DFB、デミリン®）（図-2、①）は、その構造類似物を探索することにより見いだされ、1975年に開発された。それ以降、多くの企業や大学等研究機関において1万個以上のBPU化合物が合成され、15の薬剤が開発された（図-2）（SUN et al., 2015）。現在、国内では農薬として6化合物が登録されている。国内では、唯一クロルフルアズロン（アタブロン®）（図-2、⑩）が開発され、1988年に登録された（芳賀ら，1992）。本系統において、2000年代に入ってから開発されたビストリフルロンやノバフルムロン以降に新たな薬剤はなく、世界における開発研究はほぼ終了していると思われる。ただし、中国においてはまだまだ開発研究が続けられているようであり（SUN et al., 2015）、特許の出願もなされている。

II 開発剤の特徴

BPUの一般的な特徴としては、①成長の過程における脱皮、変態の時期や卵に効果を示すことから遅効的で

表-1 IRAC 殺虫剤作用機構分類（一部抜粋，加筆）

主要グループと一次作用部位	サブグループ あるいは代表的有効成分	有効成分	農薬名（例） （剤型省略）	標的 生理機能
15 キチン生合成阻害剤，タイプ0 成長調節	15 ベンゾイル尿素系	クロルフルアズロン	アタブロン	生育 および 発達
		ジフルベンズロン	デミリン	
		フルフェノクスロン	カスケード	
		ルフエスロン	マッチ	
		ノバルロン	カウンター	
		テフルベンズロン	ノーモルト	

Benzoylurea Insecticides (BPU) as Chitin Biosynthesis Inhibitors,
Type 0. By Masato OMATSU

（キーワード：ベンゾイルウレア，ベンゾイル尿素，昆虫成長制御，キチン，キチン合成酵素，作用機構，殺虫剤）

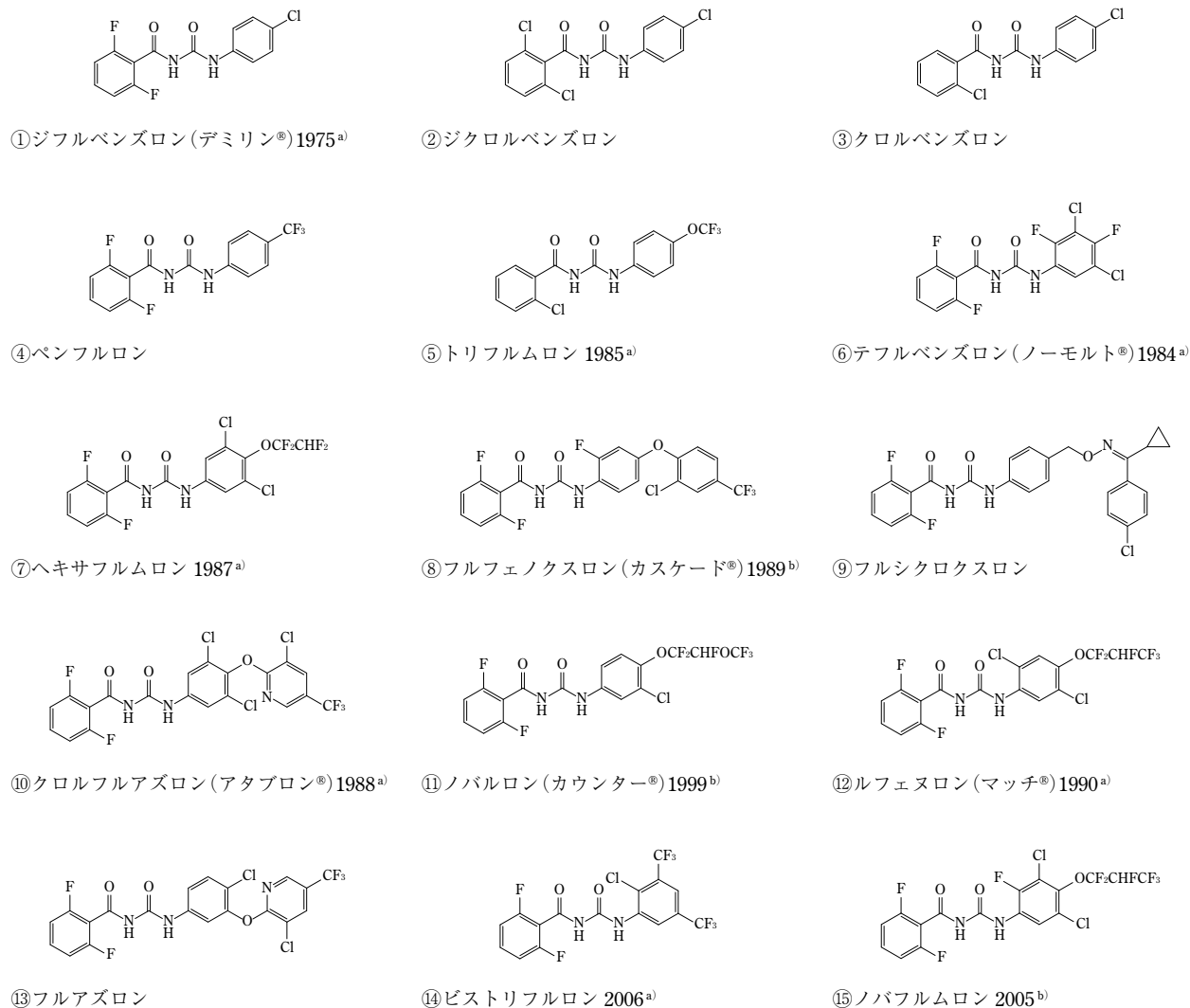


図-2 ベンゾイル尿素系殺虫剤 (BPU) の構造

()内は登録商標, 年号は開発年: ^{a)} TURNER, 2015; ^{b)} Phillips McDougall, 2017.

あり, ②幼虫期のなるべく早い時期の散布が望まれること, ③成虫には殺虫性を示さないこと, ④主に食毒として作用すること, ⑤残効が長いこと, ⑥多くのものは浸透移行性を示さないこと, ⑦哺乳類などが持っていないキチン合成能を阻害することから人畜への安全性が高いこと, ⑧魚毒性は低いが生甲殻類に強く作用することがある。すべてのBPUはチョウ目幼虫に効果を示すが, 有効なチョウ目の範囲や効果の高さは薬剤によって異なる。また, カ, シロアリ, ハダニ, ハエ, キノコバエ, ハモグリバエ, タマネギバエ, バッタ, コオロギ, ゴキブリ, アザミウマ, コナジラミ, ノミ, マダニ等にも, 薬剤によって効果差はあるが有効である (DOUCET and RETNAKARAN, 2012)。

以下に主要な薬剤の適用, 使用範囲等について概略を記載する (TURNER, 2015; 開発会社, 販売会社ホームペー

ジ; Phillips McDougall, 2017; クミアイ農業総覧, 2017)。

DFBは, 主にダイズ, 果樹, 野菜, トウモロコシ, 花きで使用される。シハロトリンとの混剤も開発されている。国内では, 果樹, 野菜, 茶, 樹木等のチョウ目害虫, アザミウマやタマネギバエ等で登録されている (FAMIC ホームページ)。米国では森林害虫であるマイマイガ *Lymantria dispar* にも多く使用されており (HAJEK and van FRANKENHUYZEN, 2017), 東欧や米国ではバッタやコオロギ等にも使われる。また, ヨーロッパにおける主要なカの殺幼虫剤であり (DOURIS et al., 2016), ブラジルにおいてもカに対して使用されている。2003年には, WHOがDFBの飲料水への使用を推薦している (BELINATO and VALLE, 2015)。国内でもカやハエの幼虫に加えて, ユスリカなどの不快害虫を対象に販売されている。

テフルベンズロン (ノーモルト®) (1984) (図-2, ⑥)

は、野菜、コーヒー、花きの分野でチョウ目、コウチュウ目、ハエ目、カメムシ目対象に販売されており、 α -シベルメトリンとの混合剤も開発されている。昆虫種によって、殺卵効果や産下卵のふ化阻害効果も示す。カやバッタにも使われ、養殖サケのサケジラミでも使用されている (DOUCET and RETNAKARAN, 2012; SHEET, 2012)。国内ではチョウ目幼虫やコナジラミ等を対象に果樹、野菜、花き、茶、樹木で登録されている。

クロルフルアズロン (アタブロン®) (1988) (図-2, ⑩) は、オオタバコガ、ハスモンヨトウ等大型のチョウ目幼虫に高い効果を示し、アザミウマ、キスジノミハムシ、コナジラミにも有効である。主にダイズ、ワタ、果樹、野菜、ジャガイモ、花きで使用される。国内では野菜、茶、花き用の乳剤、果樹、樹木用の水和剤 (SC) の2剤型で販売されており、チョウ目幼虫、アザミウマ、コナジラミ、キスジノミハムシに使用される。また、シロアリの駆除にも使用される。

フルフェノクスロン (カスケード®) (1989) (図-2, ⑧) は、果樹、ワタ、ダイズ、トウモロコシ、茶、野菜、花き等で使用され、チョウ目害虫に加え、アザミウマ、ヨコバイ、ハモグリバエに有効であり、ハダニにも実用的効果を示す (高橋ら, 1987)。また、処理された雌成虫からの産下卵のふ化阻害効果を持っている。国内で果樹、野菜、茶、花きでチョウ目幼虫、ハダニ、サビダニ、アザミウマ、ハモグリバエ、コナジラミ、カメムシ等に使用される。

ルフェヌロン (マッチ®) (1990) (図-2, ⑫) は、大型チョウ目害虫に優れた効果を示し、甲虫、サビダニ、アザミウマ、クロバネキノコバエ等に、ダイズ、ワタ、野菜、マッシュルーム等で使用されている (DOUCET and RETNAKARAN, 2012)。昆虫種によって、殺卵効果や産下卵のふ化阻害効果も示す。プロフェノフォスとの混合剤も開発されている。国内では果樹、野菜、茶、花き等でチョウ目幼虫、アザミウマ、コナジラミ、ハモグリバエ、サビダニ等に登録されている。シロアリにも有効である。本剤はノミに高い効果を示し、イヌ、ネコ用の動物用医薬品が主要な販路となっている (高橋ら, 1997)。また、一部動物の真菌症にも有効とされている (串田ら, 2003)。

ノバルロン (カウンター®) (1999) (図-2, ⑪) は、チョウ目、コウチュウ目、ハチ目、ハエ目害虫に有効であり、エジプトヨトウ *Spodoptera littoralis* やコロラドハムシ *Leptinotarsa decemlineata* に高い効果を示す (SHEET, 2012)。主にダイズ、ワタで使用され、果樹、野菜、花きでも使われる。昆虫種によって、殺卵効果や産下卵の

ふ化阻害効果も示す。メソミルとの混合剤も開発されている。国内では野菜、花き用に販売されており、チョウ目害虫、カメノコハムシ、ハモグリバエ、コナジラミ、アザミウマに有効である。ブラジルではカの制御にも使われている (DOUCET and RETNAKARAN, 2012)。

国内で登録されていないが、トリフルムロン (1985) (図-2, ⑤) は、ダイズ、サトウキビ、トウモロコシ、果樹、野菜でチョウ目、キジラミ、ハエ目、コウチュウ目害虫に使用される。DFBやテフルベンズロンが効かないオオタバコガ *Helicoverpa armigera* に有効である (SUN et al., 2015)。家畜のハエやノミ、ゴキブリやシロアリにも使われる。ヘキサフルムロン (図-2, ⑦) は、主にシロアリ用に使用されていたが、ノバフルムロンに置き換えられた (SHEET, 2012)。ワタのチョウ目害虫に高い効果を示し (高橋ら, 1997)、ワタ、ジャガイモ、果樹、野菜に使用される。フルシクロクスロン (図-2, ⑨) は、殺虫活性に加えて高い殺ダニ活性を持ち、殺卵効果や産下卵のふ化阻害効果も示す (DOUCET and RETNAKARAN, 2012)。

フルアズロン (図-2, ⑬) は、海外で肉用牛のマダニ用に使用されている (高橋ら, 1997; DOUCET and RETNAKARAN, 2012)。ノバフルムロン (2005) (図-2, ⑮) は、シロアリ防除用の有効成分として使用されている (SHEET, 2012)。ビストリフルロン (2006) (図-2, ⑭) は、韓国で主にハクサイ、トマト等のコナジラミ、チョウ目幼虫用に開発された。国内ではユスリカなどの駆除、シロアリやアリのベイト剤として開発されている。

III 作用機構

BPUが昆虫の表皮におけるキチンの合成を阻害することは、初期の研究で明らかにされている (Post et al., 1974; van Eck, 1979)。すなわち、表皮の重要な構成成分であるキチンを十分に作ることができないため、脱皮の過程で新しい表皮を上手く形成することができずに死亡する (図-3)。これまでにBPUによるキチン合成阻害のメカニズムについて多くの研究がなされ、いくつか仮説も報告されたが決定的なものには至っていなかった (中川, 1996; DOUCET and RETNAKARAN, 2012)。しかし、最近になって新たな知見が加わり、標的タンパク質が明らかにされようとしている。

キチンは *N*-アセチル-*D*-グルコサミン (GlcNAc) が β -1,4 結合によって重合したポリマー (多糖) であり、糸状菌、藻類、原生動物や甲殻類、昆虫等の節足動物に広く分布している。昆虫においては、表皮や消化管に多く含まれている。キチンの生合成は、トレハロースから数段階を経て合成された UDP-GlcNAc がキチン合成酵

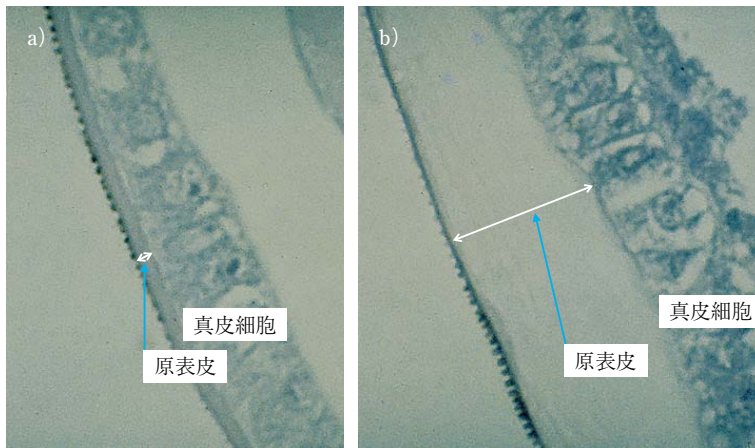


図-3 BPU 処理 24 時間後のハスモンヨトウ 5 齢幼虫表皮 (脱皮直後経口処理)
a) クロルフルアズロン 10 µg/頭, b) 無処理.

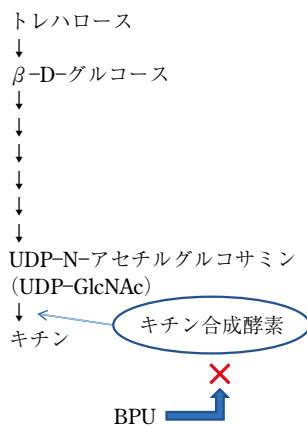


図-4 昆虫のキチン合成経路と BPU の作用点

素によってキチンに取り込まれ、糖鎖が延長することによって行われる (図-4)。また、多くの昆虫種においてキチン合成酵素は 2 種あり、表皮などのキチン合成酵素 1 と、消化管の中腸のキチン合成酵素 2 とは異なる (DOUCET and RETNAKARAN, 2012; MERZENDORFER, 2013)。

DFB を処理した昆虫において、キチンの重合の阻害、キチン繊維の蓄積の阻害が認められていること (中川, 1996)、DFB を処理した昆虫 (ヨトガ *Mamestra brassicae*, イエバエ *Musca domestica* 等) においてキチン合成酵素の基質である UDP-GlcNAc が蓄積することが示されている (MITSUI et al., 1981; 満井, 1985)。そのため、BPU によるキチン合成酵素の阻害が疑われた。しかし、アルテミア (brine shrimp) *Artemia salina* の無細胞系で DFB がキチン合成を阻害することが報告されていたものの (HORST, 1981)、当時、ほとんどの無細胞系での酵素阻害試験において、BPU がキチン合成を阻害しないことが確かめられたことから、一般にはキチン合成酵素を直接に阻害するものではないと考えられてきた

(MATSUMURA, 2010)。

その後、DFB が、ゴキブリ表皮から調製された無細胞系において、タンパク質のリン酸化を促進すること、そのリン酸化が細胞内小胞のイオンバランスの攪乱によること、この細胞内小胞におけるカルシウムの輸送を阻害することが示された (中川, 1996)。さらに昆虫にもスルフォニルウレア (SU) 受容体 (SUR, SU 系除草剤ではなく SU 系糖尿病薬の作用点) が存在し (NASONKIN et al., 1999)、チャバネゴキブリ *Blattella germanica* の表皮から調製された小胞において、DFB が SU 系糖尿病治療薬で SUR に結合し作用するグリベンクラミドの結合を阻害することから、

DFB が SUR に作用することが示唆された。実際、グリベンクラミドはチャバネゴキブリの単離された表皮においてキチン合成を低濃度で阻害した (ABO-ELGHAR et al., 2004)。これらの知見を合わせて、BPU の主要な作用点が昆虫の SUR であり、表皮細胞内で BPU が小胞上の SUR に作用することにより、短いキチンやキチン合成酵素の小胞による輸送が阻害され、順次表皮におけるキチン合成が阻害されるという説が提唱された (中川, 1996; ABO-ELGHAR et al., 2004; MATSUMURA, 2010; DOUCET and RETNAKARAN, 2012)。

しかし、最近になって、ゲノムマッピングや生化学的データによる解析の結果、ナミハダニ *Tetranychus urticae* のハダニ成長調節剤エトキサゾール抵抗性が、キチン合成酵素 1 における I1017F (1017 番目のイソロイシンがフェニルアラニンになる) 変異に起因することが示された (van LEEUWEN et al., 2012)。エトキサゾールについては、BPU と類似の中毒症状を示すこと、チョウ目幼虫の単離された表皮でキチン合成を阻害することから、同じ作用機構であるという説が出されていた (NAUEN, 2006)。また、ハダニ成長調節剤クロフェンテジンとヘキシチアゾクスに抵抗性のミカンハダニ *Panonychus citri* が、ハダニに有効な BPU であるフルシクロクロンやフルフェノクロンにも抵抗性を示すことが報告され (YAMAMOTO et al., 1995)、そしてクロフェンテジンとヘキシチアゾクスに対するハダニの抵抗性が、キチン合成酵素 1 の変異に起因することが明らかになったことから、BPU がキチン合成阻害酵素 1 阻害剤であることが推測された (DEMAEGHT et al., 2014)。

さらに、BPU 抵抗性コナガ *Plutella xylostella* のキチン合成酵素 1 においても、I1042 M (ナミハダニの I1017 に相当する部位) 変異が見いだされた。そして、コナガ

のキチン合成酵素1のI1042 M 変異とBPU (トリフルムロン) 抵抗性とは高い相関関係 ($R^2 = 0.9779$, $P = 0.0002$) にあることが示された。また、フィリピンで野外採取した後に、淘汰により高い抵抗性を獲得したコナガでは、該当の変異が100%検出され、抵抗性が発達している中国、インドでの野外採取種においても該当の変異が比較的高い頻度で見いだされた。加えてゲノム編集技術により、キチン合成酵素1のハダニの変異部位に相当する部位を人為的に変異させたキイロショウジョウバエ (I1056 M/F) は、DFB で抵抗性比 15,000 倍以上、ルフェヌロンで 100 倍以上、エトキサゾールで 1,000 倍以上、ブプロフェジンで 20 倍程度以上の抵抗性を示した (Douris et al., 2016)。野外採取した BPU 低感受性のミカンキイロアザミウマのキチン合成酵素1においても、ナミハダニ、コナガの抵抗性種に認められる変異部位に相当する箇所にはイソロイシンからメチオニンへの変異が認められた (Suzuki et al., 2017)。また、前述の無細胞系でキチン合成酵素が阻害されることから (中川, 1996)、測定環境が阻害活性に影響した可能性も考えられる。SUR を介する説については、SUR の欠損が表皮構造やキチン合成に影響しないことなどが報告されている (Mayer et al., 2013)。これらの研究結果から、現在、BPU の作用機構はキチン合成酵素1 阻害と考えられている (Douris et al., 2016) (図-4)。

DFB が創製されてから、大よそ 40 年の歳月を経て、初期に否定された作用機構が改めて真の作用機構と考えられるという劇的な展開となった。この間に著しく進展したゲノム科学などの技術が、新たな発見を導いたと思われる。

IV 抵抗性の機構と管理

BPU については、圃場や実験室のレベルで多くの抵抗性発現の報告がなされている。タイにおいて、BPU が導入されて 2~3 年後にはコナガが抵抗性を獲得したことが、非公式ながら報告されている (田中ら, 1992)。国内においても、鹿児島県で、クロルフルアズロンのコナガに対する使用開始 2 年後に防除効果の低下があり、その次の年には明らかにクロルフルアズロン、テフルベンズロンに抵抗性が発達したと考えられた (田中ら, 1992)。

BPU 抵抗性の多くは、昆虫の薬剤代謝の亢進によるとされている (Kotze et al., 1997 ; van Leeuwen et al., 2012)。DFB 選抜抵抗性イエバエにおいて、酸化酵素阻害剤ジペロニルブトキシド (PB) により、大きな共力効果が得られることから、ミクロゾーム酸化酵素が重要な役割を果

たしていることが報告された (Pimprikar and Georgiou, 1979)。ヒツジキンバエ (sheep blowfly) *Lucilia cuprina* の DFB 抵抗性においても、酸化酵素の亢進の関与が示された (Kotze and Sales, 2001)。テフルベンズロン処理により選抜された抵抗性コナガの幼虫・卵に対するテフルベンズロンの効果が、PB で回復することから、ミクロゾーム酸化酵素の亢進の寄与が示された (Perng et al., 1988)。また、クロルフルアズロン抵抗性コナガにおいてカルボキシアミダーゼやグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) の関与が示された (Sonoda and Tsumuki, 2005)。シロイチモジヨトウ *Spodoptera exigua* において、DFB とテフルベンズロンの解毒に加水分解と GST による抱合が重要な役割を果たしていることが示唆されている (van Laecke and Degheele, 1991) なお、表皮からの薬剤の浸透量の低下の報告もある (Pimprikar and Georgiou, 1979)。

代謝亢進と並び、重要な抵抗性メカニズムである作用点での変異については、作用点が不明であったことから、これまで明確な言及はなかったが、前章で記載したようにキチン合成酵素1における変異は高い抵抗性を誘導している。フィリピンの圃場で採取後にトリフルムロンで淘汰し 100%変異が認められるコナガの系統では、感受性系統の LC_{50} 値が 5.3 ppm に対し 1,000 ppm を超えていた。ゲノム編集技術によって、キチン合成酵素の相当する部分に変異を入れたショウジョウバエは、DFB やルフェヌロンに対して高度な抵抗性を示した (Douris et al., 2016)。また、アカイエカ *Culex pipiens* においても、同様の変異による高い抵抗性が報告されている (Grigoraki et al., 2017)。国内でもキチン合成酵素の変異によるミカンキイロアザミウマに対する感受性低下が報告されている (Suzuki et al., 2017)。したがって、抵抗性は、キチン合成酵素における変異と代謝の亢進が、各種 BPU の構造と昆虫種に依存して異なる比率で組み合わせたものと考えられる。

コナガのように、ある種の BPU に速やかに抵抗性を獲得した昆虫種もあることから、現時点で抵抗性が発現していない昆虫種、地域、抵抗性未報告 BPU においても、高頻度で使用すれば抵抗性が発達する可能性は高いと思われる。ローテーション散布を厳格に実施するなど、抵抗性獲得を遅らせる取り扱いが必要である。

おわりに

BPU の市場については、2016 年において U.S.\$554 million、殺虫剤世界市場に占める比率は 3.4% と評価されている。5 年前の 2011 年と比較すると 3.5% の増加と

なっている。売上上位からルフェヌロン、テフルベンズロン、ノバルロンであり、3化合物でおよそBPU全体の66%を占める(Phillips McDougall, 2017)。また、2013年のBPU14薬剤の市場がU.S.\$441millionという評価もなされている(SPARKS and NAUEN, 2015)。殺虫剤市場における低い占有率の理由としては、神経作用性の殺虫剤に比べて効果の発現が遅く処理時期に注意が必要であることや、世界各地の農業現場で抵抗性が発達し効果が低下していることが考えられる(LIN et al., 1989)。

しかし、BPUは、脊椎動物や高等植物に存在しないキチンの合成阻害剤であることから、多くの適用外生物に安全な薬剤であり、哺乳類に対する安全性は非常に高い。キチンを持つ生物においても、水生甲殻類(ミジンコなど)を除いて比較的安全性が高く、ミツバチに対する毒性も低い(TASEI, 2001; 開発会社, 販売会社ホームページ)。そのため、IPM(総合的病害虫管理)での使用に適しているといえる。また、人畜に近い環境において、農薬としてではなく、衛生害虫、不快害虫等を対象に用途が拡大している。今後も、抵抗性を発達させていない地域や害虫種、衛生害虫、シロアリ等、IPMやIRM(殺虫剤抵抗性管理)において使用されていくものと思われる。殺虫剤の選択肢の一つとして、将来も使い続けることができるように慎重な取り扱いが望まれる。

引用文献

- 1) ABO-ELGHAR, G. E. et al. (2004): *Insect Biochem. Mol. Biol.* **34**: 743~752.
- 2) BELINATO, T. A. and D. VALLE (2015): *PLoS ONE* **10**: e0130719.
- 3) DEMAEGHT, P. et al. (2014): *Insect Biochem. Mol. Biol.* **51**: 52~61.
- 4) DOUCET, D. and A. RETNAKARAN (2012): *Adv. Insect Phys.* **43**: 438~511.
- 5) DOURIS, V. et al. (2016): *PNAS* **113**: 14692~14697.
- 6) FAMIC ホームページ: https://www.acis.famic.go.jp/index_kensaku.htm
- 7) GRIGORAKI, L. et al. (2017): *Scientific Reports* **7**: 11699.
- 8) 芳賀隆弘ら (1992): *日本農薬学会誌* **17**: S103~S113.
- 9) HAJEK, A. E. and K. van FRANKENHUYZEN (2017): *Microbial Control of Insect and Mite Pests*, Academic Press, San Diego, p.321.
- 10) HORST, M. N. (1981): *J. Biol. Chem.* **256**: 1412~1419.
- 11) 開発会社, 販売会社ホームページ: アース・バイオケミカル(株)ホームページ: https://www.earth-bio.co.jp/business_02d.html
——: BASF ホームページ: <https://agriculture.basf.com/ke/en/Crop-Protection/Nomolt-SC.html>
——: Dow AgroSciences ホームページ: <http://www.dowagro.com/ja-jp/japan/ppm/safety>
——: グリーンジャパンホームページ: http://www.greenjapan.co.jp/nomoruto_n.htm
——: イカリ消毒(株)ホームページ: <https://www.ikari.co.jp/products/insect/siroarihunter.html>
——: 石原バイオサイエンス(株)ホームページ: <http://ibj.iskweb.co.jp/product/index.cgi?c=zoom&pk=54>
——: 三井化学アグロ(株)ホームページ: <http://www.mitsui-agro.com/product/amenicare/tabid/192/Default.aspx>
——: シンジェンタジャパンホームページ: <http://www.syngenta.co.jp/cp/items/matchec/view/>
- 12) KOTZE, A. C. et al. (1997): *J. Econ. Entomol.* **90**: 15~20.
- 13) ——— and N. SALES (2001): *ibid.* **94**: 1243~1248.
- 14) 串田壽明ら (2003): *獣医臨床皮膚科* **9**: 121~125.
- 15) クミアイ農薬総覧2018 (2017): (株)全国農村教育協会, 東京, p.35~37, p.144~145, p.146~147, p.459~461.
- 16) LIN, J.-G. et al. (1989): *Pestic. Biochem. Physiol.* **35**: 20~25.
- 17) MATSUMURA, F. (2010): *ibid.* **97**: 133~139.
- 18) MERZENDORFER, H. (2013): *Insect Science* **20**: 121~138.
- 19) MITSUI, T. et al. (1981): *J. Pestic. Sci.* **6**: 155~161.
- 20) 満井 喬 (1985): *日本農薬学会誌* **10**: 289~299.
- 21) MEYER, F. et al. (2013): *Pest Manag. Sci.* **69**: 1136~1140.
- 22) NASONKIN, I. et al. (1999): *J. Biol. Chem.* **274**: 29420~29425.
- 23) NAUEN, R. (2006): *Pest Manag. Sci.* **62**: 379~382.
- 24) 中川好秋 (1996): *日本農薬学会誌* **21**: 460~467.
- 25) 農薬工業会ホームページ: <http://www.jcpa.or.jp/labo/mechanism.html>
- 26) PERNG, F. S. et al. (1988): *J. Econ. Entomol.* **81**: 1277~1281.
- 27) Phillips McDougall (2017): *AgriService Products Section-2016 Market*, p.196~201.
- 28) PIMPRIKAR, G. D. and G. P. GEORGHIOU (1979): *Pestic. Biochem. Physiol.* **12**: 10~22.
- 29) POST, L. C. et al. (1974): *ibid.* **4**: 473~483.
- 30) SHEET, J. J. (2012): *Modern Crop Protection Compounds 2nd Edition*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, p.999~1011.
- 31) SONODA, S. and H. TSUMUKI (2005): *Pestic. Biochem. Physiol.* **82**: 94~101.
- 32) SPARKS, T. C. and R. NAUEN (2015): *ibid.* **121**: 122~128.
- 33) SUN, R. et al. (2015): *J. Agric. Food Chem.* **63**: 6847~6865.
- 34) SUZUKI, Y. et al. (2017): *J. Pestic. Sci.* **42**: 93~96.
- 35) TASEI, J.-N. (2001): *Apidologie* **32**: 527~545.
- 36) 高橋英光ら (1987): *新農薬の開発と市場展望*, シーエムシー, 東京, p.93~97.
- 37) ———ら (1997): *新農薬の開発展望*, シーエムシー, 東京, p.84~87.
- 38) TURNER, J. A. ed. (2015): *The Pesticide Manual 17th edition*, BPC publications, Hampshire, p.506~507, p.600~601, p.683~684, p.1155~1156.
- 39) 田中 章ら (1992): *九病虫研会報* **38**: 127~128.
- 40) van ECK, W. H. (1979): *Insect Biochem.* **9**: 295~300.
- 41) van LAECKE, K. and D. DEGREELE (1991): *Pestic. Biochem. Physiol.* **40**: 181~190.
- 42) van LEEUWEN, T. et al. (2012): *PNAS* **109**: 4407~4412.
- 43) YAMAMOTO, A. et al. (1995): *J. Pestic. Sci.* **20**: 493~501.

新農薬の紹介

殺菌剤イソフェタミドの生物特性

石原産業株式会社 あら 荒 き 木 さと 智 し 史

はじめに

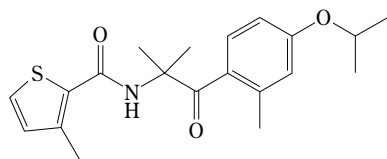
イソフェタミド（商品名：ケンジャ）はフェナシルアミド構造を有する新規殺菌剤であり、子のう菌類、不完全菌類、特に灰色かび病菌、菌核病菌に高い効果を示す。2010年より「IKF-5411 SC400」の開発コードで一般社団法人日本植物防疫協会での委託試験を開始し、2017年にぶどう、豆類、きゅうり、たまねぎ、レタスで登録を取得し（表-3）、2018年5月より「ケンジャフロアブル」の商品名で販売を開始した。以下に、本剤の特徴、作用機構を紹介する。本稿がイソフェタミドの特徴と正しい使用法の理解につながれば幸いである。

一般名：イソフェタミド

CAS 登録番号：875915-78-9

化学名（IUPAC）：*N*-[1,1-ジメチル-2-(4-イソプロポキシ-*o*-トリル)-2-オキシエチル]-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミド

構造式：



分子式：C₂₀H₂₅NO₃S 分子量：359.48

溶解度：水（20℃）5.33 mg/l, 有機溶媒（アセトン, 20℃）> 250 g/l

分配係数（*n*-オクタノール/水）logP_{ow} = (2.5)

商品名：ケンジャフロアブル（イソフェタミド 36.0% (w/w)）

農林水産省登録：23993 号

試験名：「IKF-5411 SC400」

種類名：イソフェタミド水和剤

性状：類白色水和性粘稠懸濁液体

有効年限：3 年

イソフェタミドの作用機構

イソフェタミドはミトコンドリア電子伝達系複合体 II のコハク酸脱水素酵素に結合し、内膜での電子伝達過程を阻害する SDHI 剤（Succinate DeHydrogenase Inhibitors）である。イソフェタミドは灰色かび病菌（*Botrytis cinerea*）やきゅうり褐斑病菌（*Corynespora cassicola*）のコハク酸脱水素酵素を非常に低濃度で阻害する一方で、植物（ジャガイモ塊茎）や哺乳類（ラット肝臓）では阻害が認められず、作用点レベルでの高い選択性を有している。これまでに多くの SDHI 剤耐性菌が報告されているが（ACHOUR et al., 2014）、その多くは標的酵素のサブユニット B をコードする *SdhB* 遺伝子の塩基置換が原因となっている（表-1）。既報の SDHI 耐性菌に対するイソフェタミドの効果を確認したところ *SdhB* H272R 株、H272Y 株に対しては、野生株よりも感受性が向上していた。また、*SdhB* N230I 変異株でもイソフェタミドの感受性低下は認められなかった。H272R 株、H272Y 株、N230I 変異株に対して効果を示すのは本剤のみである（阿部ら, 2017）。本効果は他 SDHI 剤とは異なるフェナシルアミド構造を有するイソフェタミドの特徴であり（中村ら, 2016）、アミノ酸置換によって構造変化した薬剤結合部位に柔軟に分子構造が変化し結合するためであると考えられる（図-1, 図-2）。一方で国内未検出の P225F 株、H272L 株ではイソフェタミド感受性は低下していた。ドイツのイチゴ圃場でのモニタリングでは両株の菌密度が低いことが報告されており、これは両株のフィットネスが低いことが原因であることを示唆するデータが得られている（KAWAI et al., 2015）。適切なローテーション防除を行うことにより P225F 株、H272L 株の拡散は抑制可能と考えられる。

表-1 *SdhB* 遺伝子に変異を有する *B. cinerea* に対するイソフェタミドの胞子発芽阻害効果

	感受性	SDHI 耐性				
	野生株	H272R株	H272Y株	N230I株	P225F株	H272L株
EC ₅₀ (ppm)	0.11	0.02	< 0.01	0.17	> 10	1.09

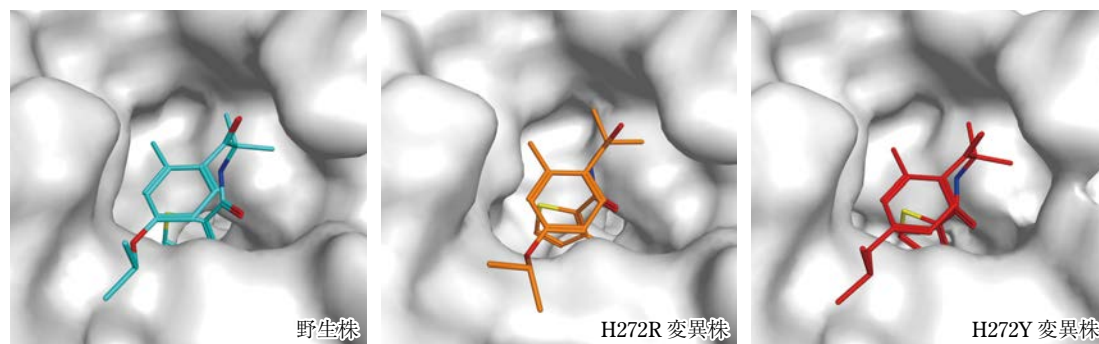


図-1 イソフェタミドと標的たんぱく質の結合シミュレーション

イソフェタミドとSDHたんぱく質との結合シミュレーション。野生株（SDHI感受性）とH272R変異株、H272Y変異株ではアミノ酸置換により、基質結合部位（薬剤結合部位）の形状が異なっているが、イソフェタミドはほぼ同じ結合様式を保っている。標的たんぱく質の立体構造はモノクロで、各種たんぱく質に結合したイソフェタミド分子の立体構造は水色（野生株）、オレンジ色（H272R変異株）、赤色（H272Y変異株）で示している。

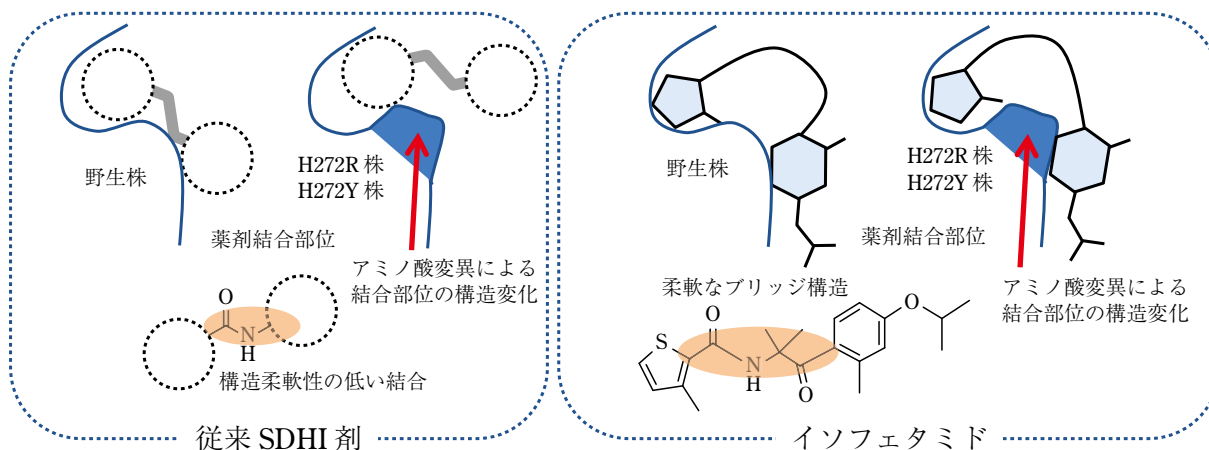


図-2 変異たんぱく質とイソフェタミドの結合モデル

SDHI剤と標的たんぱく質の結合シミュレーションから想定される結合モデル。従来SDHI剤の多くは強固なアミドブリッジを有しており、アミノ酸変異により立体構造が変化した結合部位には野生型（SDHI感受性）と同様の結合を保つことができないと考えられる。一方、イソフェタミドでは柔軟なフェナシルアミド構造を有しており、H272RやH272Yといった結合部位に構造変化が起こった場合にも、野生型と同様の結合を維持することが可能であると考えられる。

イソフェタミドの作用特性

イソフェタミドは、病原菌の生活環における多くの場面に作用し、特に感染前（孢子発芽～付着器形成期）や孢子形成に高い阻害活性を示す。孢子形成を強く阻害することにより、圃場や施設内での病原菌の密度を低下させる効果が期待される（図-3、サニテーション効果）。また、優れた残効性、耐雨性に加えて浸達性も有していることから、様々な環境条件でも安定した効果を発揮する。

イソフェタミドのスペクトラム

イソフェタミドのスペクトラムはPSA（ジャガイモシヨ糖寒天）培地上での菌糸伸長阻害効果やポット試験で評価した結果、幅広い殺菌スペクトラムを有していることが確認された。菌糸伸長の阻害効果は、灰色かび病

〈サニテーション効果〉



ケンジャ 1,500 倍

無処理

図-3 イソフェタミドによる *B. cinerea* の孢子形成阻害

菌（*B. cinerea*）や菌核病菌（*Sclerotinia sclerotiorum*）、子囊菌類である *Monilinia* 属菌や *Venturia* 属菌に対して EC_{50} 値が 1 ppm 未満の低濃度で高い阻害を示した。さらに不完全菌類である *Alternaria* 属菌や *Mycovellosiella* 属菌等に対しても菌糸伸長を強く阻害することが確認さ

表-2 イソフェタミドの菌糸伸長阻害活性

病原菌	EC ₅₀ (μg/ml)	病原菌	EC ₅₀ (μg/ml)
子囊菌類		不完全菌類	
<i>Botrytis allii</i>	0.22	<i>Alternaria alternata</i>	0.99
<i>Botrytis cinerea</i>	0.1	<i>Alternaria brassicicola</i>	0.51
<i>Botrytis squamosa</i>	0.74	<i>Alternaria solani</i>	0.023
<i>Botrytis tulipae</i>	0.36	<i>Mycovellosiella nattrassii</i>	0.66
<i>Claviceps virens</i>	0.12	<i>Phoma lingam</i>	0.067
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	0.79	<i>Rhynchosporium secalis</i>	0.91
<i>Monilinia mali</i>	0.19	<i>Trichoderma</i> sp.	0.41
<i>Mycosphaerella melonis</i>	0.65	担子菌類	
<i>Pyrenophora graminea</i>	0.26	<i>Cercospora kikuchii</i>	> 50
<i>Sclerotinia cepivorum</i>	0.009	<i>Corticium rolfsii</i>	> 50
<i>Sclerotinia minor</i>	0.027	<i>Helicobasidium mompa</i>	> 50
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0.01	卵菌類	
<i>Sclerotinia trifoliorum</i>	0.01	<i>Pythium spinosum</i>	> 50
<i>Sphaerulina oryzae</i>	0.45		
<i>Venturia inaequalis</i>	0.79		

表-3 ケンジャの適用病害と使用方法

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソフェタミドを含む 農薬の総使用回数
ぶどう	黒とう病, 灰色かび病	1,500 倍	200～ 700 l/10 a	収穫 7 日前まで	3 回以内	散布	3 回以内
豆類（種実、ただし、 らっかせいを除く）	菌核病, 灰色かび病	1,500 倍	100～ 300 l/10 a	収穫 14 日前まで	2 回以内		2 回以内
さやえんどう	灰色かび病	1,500 倍		収穫前日まで	4 回以内		4 回以内
きゅうり	菌核病, 灰色かび病	1,000～1,500 倍					
たまねぎ	灰色かび病	1,000～1,500 倍		収穫 3 日前まで	3 回以内		3 回以内
レタス、非結球レタス	菌核病	1,500 倍		収穫 14 日前まで			

2017 年 11 月 20 日付の登録内容に基づく。

れている（表-2）（佃，2014）。また，ポット試験では各種うどんこ病に対しても，ポット試験で低濃度処理により防除価 90 以上の高い防除効果を示すことが確認された。一方で，さび病やリゾクトニア病害等の担子菌類や，他の SDHI 剤同様にべと病や疫病に対しては防除活性を示さない。

お わ り に

新規 SDHI 剤であるケンジャフロアブル（有効成分イソフェタミド）は，既存 SDHI 剤の耐性菌にも高い効果を示す。本剤は圃場において病原菌密度を低下させる効果があり，有用生物や天敵（ミツバチ，カブリダニ，寄生蜂，タイリクヒメハナカメムシ，タバコカスミカメで確認），適用作物に対する高い安全性，を示すことから，IPM 防除場面や既存剤に対する耐性菌が発達した圃場

におけるローテーション防除の基幹剤として使用していただけることを希望している。FRAC の提唱する SDHI 剤耐性菌リスクは中～高であることから，推奨する使用方法である予防的防除，ローテーション防除についてご理解いただき，末永く防除に貢献できるように本剤の普及を図っていきたい。このためにも，各地域の指導機関の皆様には，引き続きご指導とご助言をお願い申し上げたい。

引 用 文 献

- 1) 阿部ゆずから（2017）：日本植物病理学会大会口頭発表番号 352.
- 2) ACHOUR, A. et al. (2014) : Plant Disease **98** : 532～539.
- 3) KAWAI, Y. et al. (2015) : American Phytopathological Society Potomac Division Meeting Abstracts (PHYTOPATHOLOGY Vol.105 (Supplement 3), No.9, 2015 S3.3).
- 4) 中村裕治ら（2016）：ファインケミカル **5** : 18～25.
- 5) 佃 晋太郎（2014）：日本農業学会誌 **39** : 89～95.

研究室紹介

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 北海道農業研究センター 生産環境研究領域 線虫害グループ

北海道農業研究センター線虫害グループ（北海道札幌市）は、昭和25年に線虫の研究組織が初めて設置されて以来、何度か名称の変更や組織の再編を重ねたものの、現在まで継続的に線虫研究を行っています。

まずは研究グループの概要を紹介します。当グループには現在、奈良部 孝（グループ長）・串田篤彦・伊藤賢治・坂田 至・酒井啓充の5名の研究職員と4名の契約職員が在籍し（平成30年4月時点）、線虫専門の研究組織としてはかなり大規模です。施設としては、居室・実験室・通常の温室のほかに隔離温室が2棟あります。そのうち1棟は排水滅菌処理設備を備えた閉鎖型の温室であり、線虫が外に出ないよう特に厳重に管理しています（図-1）。

次に当グループで行っている研究内容について紹介します。昭和47年にジャガイモシストセンチュウ（*Globodera rostochiensis*, 以下 Gr）、平成27年にジャガイモシストセンチュウ（*G. pallida*, 以下 Gp）がそれぞれ初めて日本で確認されました。これらはナス科植物を加害し、特にバレイショに大きな被害を与える難防除害虫です。これ以外にネグサレセンチュウやダイスシストセンチュウも主な研究対象ですが、近年は Gp・Gr の総合的管理技術開発に特化して研究を進めています。

ジャガイモシストセンチュウ類の効果的な防除法の開



図-1 閉鎖型の隔離温室の外観



図-2 現地圃場にて防除資材を散布している様子

発（図-2）：Gp 発生圃場にて D-D 灌注と対抗植物の栽培を組合せた防除を行い、その効果を検証しています。また、適切な根絶確認手法の確立のため、土壌サンプリング法、生存線虫の検出法等を検討しています。また新しい防除技術として、Gp・Gr 卵のふ化を促す効果を持ち、低コストで合成可能な物質を探索・活用して、ふ化幼虫を餓死に導き、防除を図る技術の開発にも取り組んでいます。

Gp 抵抗性バレイショの検定および密度低減効果の評価：Gp 抵抗性バレイショの育成が開始されたことに伴い、その抵抗性を定量的に評価する手法を確立して、導入品種や新規交配系統について検定を行っています。優良系統については、現地 Gp 発生圃場において密度低減効果を評価しています。

ジャガイモシストセンチュウ類の検出・診断法の高精度化：研究および行政対応上、シストセンチュウの迅速な同定識別が求められます。そこで、Gr・Gp の種特異的プライマーを設計し、診断プロトコルを作成しました。現在、これを用いて圃場内のジャガイモシストセンチュウ類の分布特性を調査しています。また、他種シストセンチュウの診断法と組合せた一連のプロトコルも開発中です。

当グループの前身は長く2～3名の研究室でありましたが、ここ数年で倍増され、一気に賑やかになりました。線虫研究の一大勢力となったことでプレッシャーを感じていますが、今後も成果を出し続けられるよう努めたいと思います。

（研究員 坂田 至）

研究室紹介

鹿児島県農業開発総合センター 生産環境部

鹿児島県農業開発総合センターは、「農業技術と担い手育成の拠点」として平成18年4月に農業大学校と農業試験場、果樹試験場、茶業試験場、畜産試験場を統合・開設されました。

生産環境部は、病理昆虫研究室、土壌環境研究室、病害虫防除室で構成され、部長は病害虫防除所長兼任で病害虫防除室員が病害虫防除所職員を兼ねています。病理昆虫研究室は、病害虫の生態と防除（管理）技術開発を担い、土壌環境研究室は、県内土壌の状態把握と土壌の適正管理技術開発を、病害虫防除室は、主要病害虫の発生状況を面的に捉えそれに対応する技術的情報発信（時に特殊害虫防除対策）に取り組んでいます。

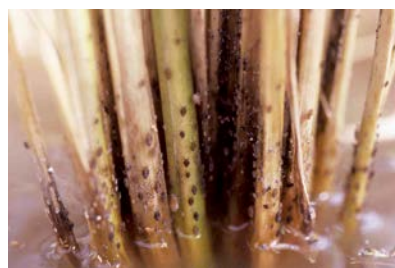
三つの研究室はそれぞれ特性を発揮しながら連携し、部としての総合力の向上を図っています。「キャベツ根こぶ病」、「ジャガイモそうか病」、「サトイモ疫病」、「施設ピーマン IPM」、「露地オクラ・マメ類 IPM」、普通作での「イネごま葉枯病」対策等は、なかなか上手く分担・協力できていると考えています。平成29年度からは果樹の環境分野の取り組みも始まり「カンキツ」、「マンゴー」、「アボカド」といった品目に対する病害虫防除、その基盤としての土壌肥料適正管理技術開発も進んでいく



イネごま葉枯病多発
水田の土壌調査



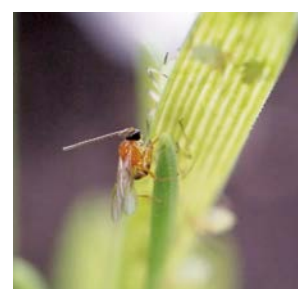
サトイモ疫病
甚発生圃場



水際に生息する
トビイロウンカ



平成29年9月、果樹園に飛来
したカメムシ類



ギフアブラバチ（対ジャガイモ
ヒガナガアブラムシ）

ことが期待されています。同年9月に病害虫防除所から「カンキツ」のカメムシ類注意報を発信したところ、望外のマスコミ反応をいただきました。今後、緑肥植物の再評価による新たな視点での農耕地生産環境管理技術開発を目論んでおり、その技術開発に対しても取材を受けられるようにありたいと思っています。

直近では、日本応用動物昆虫学会鹿児島大会が催され当県にお越しいただいた方々も多いことと思います。2年後には日本植物病理学会の鹿児島大会も予定されており、そのような機会に「ぜひ、鹿児島県農業開発総合センター生産環境部を訪ねてみたい」とお申出をいただけるよう今後も技術研鑽と本誌、学会誌等を通じた情報発信を重ねていきたいと考えています。これまで各種研究事業でご一緒させていただいた方々をはじめ皆様方からのご助言ご指導をお願い申し上げます。

（病害虫防除所長兼生産環境部長 井上栄明）

人 事 異 動

関係者抜粋, [] 内は前職

○農林水産省 (4月1日付)

荒木 智行氏 (生産局園芸作物課課長補佐) 消費・安全局植物防疫課課長補佐 (総括及び総務班担当)

小野 泰樹氏 (中国四国農政局消費・安全部安全管理課課長補佐) 消費・安全局植物防疫課課長補佐 (輸出検疫班担当)

堀部 敦子氏 (消費・安全局食品安全政策課企画官) 消費安全局食品安全政策課課長補佐

兒嶋 玲史氏 (横浜植物防疫所調査研究部次席調査官) 消費・安全局植物防疫課生産安全専門官

中西 靖裕氏 (環境省水・大気環境局水環境課閉鎖性海域対策室総量規制係長) 消費・安全局植物防疫課生産安全専門官

○植物防疫所 (4月1日付)

大友 哲也氏 (大臣官房参事官) 横浜植物防疫所長

田中 太郎氏 (消費・安全局植物防疫課国内防除第1斑国内防除第2係長) 横浜植物防疫所業務部次席植物検疫官 (国内検疫)

金武 智也氏 (消費・安全局植物防疫課生産安全専門官) 横浜植物防疫所調査研究部次席調査官 (企画調整)

森本 信吾氏 (消費・安全局植物防疫課課長補佐) 神戸植物防疫所業務部次席植物検疫官 (種苗検疫)

○植物防疫所 (3月31日付)

小野 仁氏 (横浜植物防疫所長) 定年退職

広告掲載会社一覧 (掲載順)

ダウ・アグロサイエンス日本(株)

……………ジマundaiセン

石原産業(株)……………ケンジャ

バイエルクロップサイエンス(株)……………ナティーボ

日本曹達(株)……………ピシロック

日本農薬(株)……………フェニックス

日産化学工業(株)……………スターマイト

石原産業(株)……………生物農薬

クミアイ化学工業(株)……………フルピカ

サンケイ化学(株)……………主要品目

学 会 だ よ り

○農林害虫防除研究会広島大会

日時:平成30年6月4日(月)~5日(火)

会場:広島県民文化センター

〒730-0051 広島市中区大手町 1-5-3

《シンポジウム》「新しい技術で害虫防除を目指す」

大会事務局:農研機構 西日本農業研究センター虫害管理グループ (三浦, 世古)

〒721-8514 広島県福山市西深津町 6-12-1

E-mail: sekot@affrc.go.jp

次号予告

次号 30 年 6 月号の主な予定記事は次のとおりです。

山形県における斑点米カメムシ類の発生実態と本田薬剤散布後の除草による防除対策 上野 清

春掘りニンジンに発生する雪腐小粒菌核病と耕種防除法 池田幸子

CAA 系薬剤耐性菌と薬剤使用ガイドライン 石井英夫

DMI 剤耐性菌と薬剤使用ガイドライン 稲田 稔

青森県で発生したリンゴ黒星病の QoI 剤耐性菌とその分布 平山和幸

種子伝染性病害をめぐる最近の国際動向 2018(1)
International Seed Health Initiative (ISHI) の活動を通じて 木戸一孝

福岡県におけるナシ黒星病 DMI 剤感受性低下と防除対策 菊原賢次

シンポジウムから

農業普及組織における植物防疫分野の人材育成の実態と課題 伊藤博祐

指導機関に寄せられる相談と対応の現状について 天野昭子

植物防疫講座 病害編 イネ粉枯細菌病 曳地康史

植物防疫講座 虫害編 イネ ツマグロヨコバイ 平江雅宏

植物防疫講座 農薬編 スピノシン系 大上 恵

研究室紹介:農研機構果樹茶業研究部門リンゴ研究領域 リンゴ病害虫ユニット

富山県農林水産総合技術センター農業研究所 病理昆虫課

植物防疫

平成 30 年
5 月 号

(毎月 1 回 1 日発行)

第 72 巻 平成 30 年 4 月 25 日印刷

第 5 号 平成 30 年 5 月 1 日発行
(通算 857 号)

編集発行人 上路 雅子

印刷所 三美印刷(株)
東京都荒川区西日暮里 5-9-8

定価 947 円

本体 877 円

平成 30 年分購読料
前払 10,800 円, 後払 11,364 円
(送料サービス, 消費税込み)

—— 発 行 所 ——

〒114-0015 東京都北区中里2丁目28番10号
一般社団法人 日本植物防疫協会

電話 (03) 5980-2181 (代)

FAX (03) 5980-6753 (支援事業部)

振替 00110-7-177867番

本誌掲載記事の無断転載を禁じます。また, 無断複写・複製 (コピー等) は著作権法上の例外を除き禁じられています。

べと病、疫病、白さび病を ピシッとロック!

農林水産省登録 第23952号

殺菌剤

ピカルブトラゾクス水和剤

新発売

ピシロック® フロアブル



新規有効成分ピカルブトラゾクス配合!(FRACコード U 17)

収穫前日まで使える!(はくさいは収穫3日前まで)

【登録作物】

キャベツ、はくさい、ブロッコリー、レタス
非結球レタス、ほうれんそう、きゅうり、メロン
すいか、ミニトマト、たまねぎ、だいこん

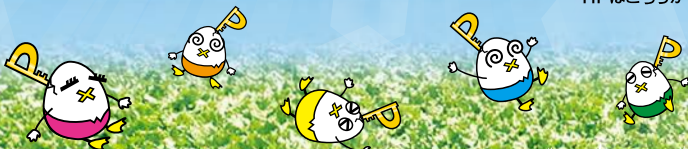


HPはこちらから



日本曹達株式会社

東京都千代田区大手町2丁目2番1号
☎(03)3245-6178 FAX(03)3245-6084
<http://www.nippon-soda.co.jp/nougyo/>



®は日本曹達(株)の登録商標

●使用前にはラベルをよく読んでください。●ラベルの記載以外には使用しないでください。●小児の手の届く所には置かないでください。●使用後の空容器等は圃場などに放置せず、適切に処理してください。

チョウ目害虫防除に!

殺虫剤

フェニックス®

®は登録商標

顆粒水和剤

68作物に登録。
幅広く使えて、効きめが長く続く!

フロアブル

果樹・茶のチョウ目害虫、
枝幹害虫の防除にも(ヒメボクトウ、フタモンマダラメイガ等)



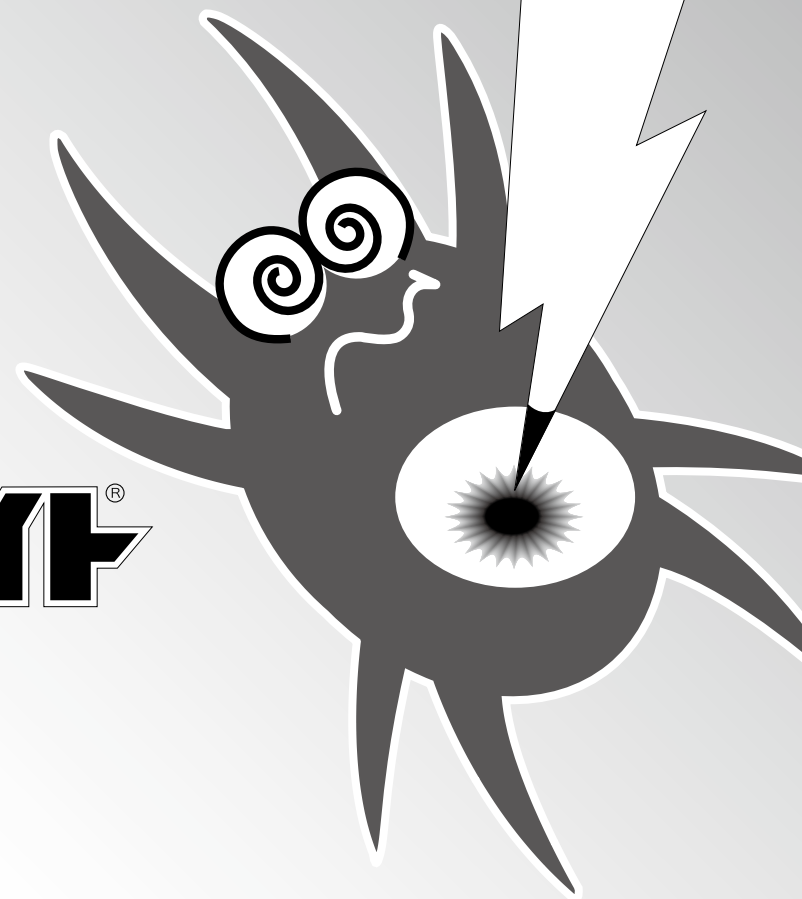
日本農薬株式会社

東京都中央区京橋1丁目19番8号
ホームページアドレス <http://www.nichino.co.jp/>

●使用前にはラベルをよく読んでください。
●ラベルの記載以外には使用しないでください。
●本剤は小児の手の届く所には置かないでください。
●使用後の空容器・空袋等は圃場などに放置せず、適切に処理してください。

作用点まで しっかり届く!

殺ダニ剤
スターマイト[®]
フロアブル



殺ダニ成分「シエノピラフェン」配合

だから…

● 抵抗性ハダニにもきちんと効く

殺ダニ成分「シエノピラフェン」が、ハダニ体内にある「電子伝達系複合体Ⅱ」にしっかり届き、その働きを阻害するので抵抗性ハダニにも優れた効果を発揮します。

● 卵から成虫まで、 ハダニの全ステージにしっかり効く

卵・幼虫・若虫・成虫とあらゆる生育ステージが混在して発生するハダニ類。全ステージに効くので、ハダニの様々な発生状況に対応できます。

●ラベルの記載以外には使用しないでください。●使用前にはラベルをよく読んでください。●本剤は小児の手の届くところには置かないでください。

 **日産化学工業株式会社**

商品に関する問い合わせは
農業化学品事業部 **03-3296-8141**

〒101-0054 東京都千代田区神田錦町3-7-1
<http://www.nissan-agro.net/>

ミヤコバンカー®

(セット販売製品愛称)

スワルバンカー®

(セット販売製品愛称)



ミヤコカブリダニ

+



スワルスキーカブリダニ

+



天敵機能を最大限に発揮! 簡単で、環境にやさしく、低コストを実現

バンカーシート®は農研機構・中央農研を中心とした農食事業(実用開発ステージ26070C)で実用化技術を確立。

ハダニ類に

石原の 生物農薬

アザミウマ、
コナジラミなどに

アザミウマ類に



アカメガシワダアザミウマ剤

**難防除のヒラズハナアザミウマ等の
アザミウマ類に!!**



アカメガシワダ
アザミウマ成虫



ハダニ類に



チリカブリダニ剤

**高い捕食能力と増殖能力を
持ち合わせています。**



チリカブリダニ



®は登録商標

自然に学び 自然を守る
フルヒカ
フロアブル
農林水産省登録 第19100号

作物をきれいに守る!

灰色かび病、うどんこ病に

JAグループ 農協 全農 経済連

クミアイ化学工業株式会社
本社:東京都台東区池之端1-4-26 〒110-8782 TEL03-3822-5036
ホームページ <http://www.kumiai-chem.co.jp>

●使用前にはラベルをよく読んでください。
●ラベルの記載以外には使用しないでください。
●本剤は小児の手の届く所には置かないでください。
●防除日誌を記載しましょう。

SANKEI ECO PRODUCTS

植物油脂パワー!
サンクリスタル乳剤

チョウ目害虫退治の生物農薬!
サンケイ サブリナフロアブル

植物保護薬!
サンケイ ジーファイン水和剤

硫黄の力でうどんこ病防除!
サンケイ クムラス

安定した銅の効果!
サンボルドー

キュウリ・カボチャのうどんこ病に!
ハツパ乳剤

硫黄と銅の強力タッグ!
園芸ボルドー

サンケイ化学株式会社
本社 〒891-0122 鹿児島市南栄 2 丁目 9 ☎(099) 268-7588
東京本社 〒110-0005 東京都台東区上野 7-6-11 ☎(03) 3845-7951

