

(案)

ボーベリア バシアーナ
ATCC 74040
生物農薬評価書

2022年10月7日

農業資材審議会農薬分科会
生物農薬評価部会

目次

	頁
1. 有効成分の概要.....	3
2. 製剤の概要.....	7
3. 物理的・化学的性状.....	8
4. 安全性に係る試験の概要.....	9
4.1 毒性試験の結果概要.....	9
4.2 農薬使用者暴露許容量（AOEL）・急性農薬使用者暴露許容量（AAOEL）.....	15
5. 家畜に対する影響.....	16
5.1 ミツバチに対する影響.....	16
5.1.1 ミツバチに対する影響試験.....	16
5.1.2 ミツバチへの影響の有無から付される注意事項.....	20
5.1.3 評価結果.....	20
5.2 蚕に対する影響.....	21
6. その他の生物に対する影響.....	22
6.1 植物.....	22
6.2 標的外昆虫.....	24
6.3 土壌微生物.....	27
別添1 用語及び略語.....	28
別添2 評価資料一覧.....	29

<経緯>

令和4年（2022年）6月16日	農業資材審議会への諮問
令和4年（2022年）10月7日	農業資材審議会農薬分科会生物農薬評価部 会（第1回）

<生物農薬評価部会委員名簿>

（委員）

有江 力

小西 良子

（専門委員）

小坂 忠司

後藤 千枝

中村 純

西 亜由美

1. 有効成分の概要

1.1 申請者

CBC 株式会社

1.2 有効成分

1.2.1 登録名

ボーベリア バシアーナ

1.2.2 一般名

ボーベリア バシアーナ ATCC 74040

英名 : White muscardine fungus

和名 : 白きょう病菌、黄きょう病菌

1.2.3 学名及び分類学上の位置

(1) 学名

Beauveria bassiana strain ATCC 74040

シノニム

Beauveria densa, *Beauveria doryphorae*, *Beauveria effuse*, *Beauveria globulifera*, *Beauveria shiotae*, *Beauveria stephanoderis*, *Beauveria sulfurescens*, *Botrytis bassiana*, *Botrytis bassiana* var. *lunzinensis*, *Botrytis effuse*, *Botrytis stephanoderis*, *Botrytis stephanoderis* f. *macroconidiana*, *Isaria densa*, *Isaria shiotae*, *Penicillium bassianum*, *Penicillium densus*, *Spicaria bassiana*, *Spicaria densa*, *Sporotrichum densus*, *Sporotrichum epigaeum* var. *terrestre*, *Sporotrichum globuliferum*, *Sporotrichum sulfurescens*, *Tritirachium shiotae*

(2) 分類学上の位置

門 : *Ascomycota* (子囊菌門)

亜門 : *Pezizomycotina* (チャワソウタケ亜門)

綱 : *Sordariomycetes* (フンタマカビ綱)

亜綱 : *Hypocreomycetidae* (ボタソウタケ亜綱)

目 : *Hypocreales* (ボタソウタケ目)

科 : *Cordycipitaceae* (ノムシタケ菌科)

属 : *Beauveria* (ボーベリア属)

種 : *bassiana* (バシアーナ)

株 : ATCC 74040 (= ARSEF 3097)

(3) 分離・同定方法

コロニーの特徴 : コロニーの生長はかなり急速で、羊毛状から粉状を呈し、初期は白色、後に淡黄色となる。

形態学的特徴：分生子は直径 2~3 μm の球状または亜球状、灰色、表面は平滑である。
分生子形成細胞は 3~6 \times 2.5~3.5 μm 、腫脹した亜球状またはアンプル状、先端はジグザグ状である。

遺伝子解析：マイクロサテライト法により ATCC 74040 株と他株とを区別可能な 4 つの領域が特徴づけられている。また、DNA リアーゼの遺伝子に ATCC 74040 株に特徴的な配列が示されている。

(4) 由来

米国テキサス州 Lower Rio Grande valley において採取したワタミハナゾウムシ *Anthonomus grandis* (Boheman) から分離

1.2.4 農薬原体の規格

農薬原体の規格を表 1-1 に示す。

表 1-1：農薬原体の規格

	名称	含有濃度
有効成分	ボーベリア バシアーナ ATCC 74040	1.5 \times 10 ¹¹ CFU/g以上、3.0 \times 10 ¹¹ CFU/g以下
不純物	ボーベリシン	5 $\mu\text{g/g}$ 以下

(有効成分の分析法)

農薬原体を滅菌脱イオン水で溶解・希釈後、Potato Dextrose Agar 培地を用いて培養し、形成したコロニー数から濃度 (CFU/g) を算出する。

(ボーベリシンの分析法)

農薬原体に 5%ギ酸メタノール溶液を加えて振とう抽出し、遠心分離後、フィルターろ過し、液体クロマトグラフタンデム型質量分析 (LC-MS-MS) により同定及び定量を行う。定量には絶対検量線法を用いる。

1.2.5 生物学的性質

(1) 生育条件

本菌は、至る所に低密度で存在するが、宿主昆虫体内で増殖し、分生子を形成する。

最適温度：本菌の分生子の発芽、生育温度は、25~28 $^{\circ}\text{C}$ が最適であり、33 $^{\circ}\text{C}$ でわずかに生育し、36 $^{\circ}\text{C}$ では、発芽、生育しない。

最適湿度：高湿度条件下で分生子は形成される。

生育可能 pH：本菌は、pH 5、7 及び 9 では、48 時間菌糸の生存が確認されている。

紫外線：短波長では 7 秒程度、中長波長では 15 分程度で分生子は不活性化され

る。

(2) 宿主城

ボーベリア バシアーナは約 700 種の広範な宿主を持つ昆虫病原性糸状菌であり、カメムシ目、チョウ目、コウチュウ目、ハチ目、ハエ目 及びダニ目に属する種が宿主となることが確認されている。

系統によって活性が異なり、本株の系統における標的害虫はコナジラミ類、アザミウマ類、アブラムシ類及びハダニ類等である。

(3) 生活史

本菌は至る所に低密度で存在し、土壌や水中の雑菌として他の細菌や糸状菌と競合して存在する。本菌の昆虫への感染は、昆虫と分生子との接触によって起こる。対象害虫の表皮上に到達した分生子は、クチクラに付着する。その後、分生子が発芽し、クチクラ層より侵入する。虫体の血体腔で短菌糸、あるいは酵母様細胞として増殖し、宿主は死亡する。宿主の死後、孢子芽細胞は菌糸体に変化し、クチクラを貫いて分生子を形成し、風等により分散する。低湿度及び温度条件が不適であれば、菌糸の生育が止まる。

(4) 作用機作

ボーベリア バシアーナの分生子は孢子壁と昆虫クチクラ脂質間の疎水的な交互作用により昆虫のクチクラ層に付着する。その後、分生子が発芽し、脂質、蛋白及びキチン質を分解する特殊な酵素により発芽管がクチクラ層を貫く。虫体の血体腔で短菌糸、あるいは酵母様細胞として増殖し、酵素活性により宿主の内部構造を破壊し、36~72 時間後には感染状態となり、急速に摂食が阻害され、動かなくなる、そして感染後 4~10 日以内に死亡する。死ぬまでの時間は、分生子の濃度と昆虫の体調に依存する。宿主の死後、孢子芽細胞は菌糸体に変化し、クチクラを貫いて分生子を形成する。

(5) 毒素の存在又は産生及びその性質

ボーベリア バシアーナは毒素として非ペプチド性色素 (Oosporein、Bassianin、Tenellin)、シクロデプシペプチド (Beauvericin、Bassianolides、Beauveriolides、Beauverolides) 等を産生することが知られている。

非ペプチド性色素は、複数のボーベリア バシアーナ株において、標的宿主との相互作用あるいは特殊な培地により産生されることの報告はあるが、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 において非ペプチド性色素の産生については、報告されていない。

ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 では、シクロデプシペプチドのうち Beauvericin が産生されることが知られている。Beauvericin は、Na⁺及び K⁺錯体を形成し、細胞膜の透過性を増加させること、グラム陽性及びグラム陰性細菌に対する抗生物質様の活性、特定の昆虫群に対する中程度の殺虫活性、数種のエビ種に対する毒性、マウス及びヒト

細胞株に対する毒性等が報告されている。

(6) 自然界における存在及び地理的分布

ボーベリア バシアーナは、日本を含む世界中の土壌から検出されている。

2. 製剤の概要

2.1 種類及び名称

種類：ボーベリア バシアーナ水和剤

名称：センテヒッショウ

2.2 用途

殺虫剤

2.3 組成

ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 分生子 2.3×10^7 個/mL (0.0185%)

界面活性剤等 99.9815%

2.4 適用病害虫の範囲及び使用方法

・ボーベリア バシアーナ水和剤 (センテヒッショウ)

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	ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 を含む農薬の総使用回数
いちご (施設栽培)	ハダニ類	1,000 倍	100~300L /10a	発生初期	—	散布	—

2.5 諸外国における登録に関する情報

米国、欧州の各国で登録されている。

3. 物理的・化学的性状

3.1 製剤の物理的・化学的性状

本剤の代表的ロットを用いた試験結果を表 2-1 に示す。

表 2-1：センテヒッシュウの物理的・化学的性状試験の結果概要

試験項目	試験方法	試験結果
外観	FIFRA 63.2 官能検査	黄赤色懸濁液体
原液安定性	昭和 35 年 2 月 3 日 農林省告示第 71 号	室温、1 時間放置後、沈殿・分離は認められない -5℃の保管は有効成分である微生物に悪影響を与え るため実施しなかった
希釈液安定性	昭和 35 年 2 月 3 日 農林省告示第 71 号	沈殿・分離は認められない
密度	CIPAC MT 3.3.2	0.97
粘度	CIPAC MT 114	482.97 cPs
引火性	JIS K 2265-2	300℃以上
懸垂性	CIPAC MT 184	97.6%
pH	CIPAC MT 75.3	6.25

3.2 経時安定性

本剤を用いて実施した経時安定性試験の結果、4℃で 12 か月保存、25℃で 4 か月保存、5℃（±1℃）で 24 か月保存において生存分子数及び外観に問題はなかった。

この結果から、本剤の使用期限を 4 か月（25℃保存）、2 年（5℃（±1℃）保存）とすることが妥当と判断した。

4. 安全性に係る試験の概要

4.1 毒性試験の結果概要

原体及び製剤を用いた人に対する影響に関する試験の結果概要を表4に示す。

表 4-1.1：単回経口投与試験の概要（資料 T-01）

報告年・テストガイドライン・GLP	1992年、US EPA OPP152A-10、GLP
被験物質	原体
試験動物	Sprague-Dawley系ラット(HSD:SD)、約8週齢、 体重；雄187.9-217.7g、雌143.3-166.0g 投与群；1群雌雄各12匹、非投与群；1群雌雄各4匹、同室非投与群雌雄各2匹
試験期間	14日間
投与経路・投与量	経口、 1.9×10^8 CFU/動物
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無 体重測定（投与前(0日)・投与後4・7・10・14日） 体外への排出状況（投与後3・4・7・14日） 剖検（投与後4・7・14日） 体内における生残状況（投与後4・7・14日） 血液、腎臓、脾臓、肝臓、肺、盲腸
結果の概要	一般状態観察及び死亡：死亡例なし、毒性徴候なし。 体重：投与群と非投与群で有意差なし。 剖検：試験4日（処理後3日目）に投与群の雄1匹に右肺葉に赤色病巣が認められ、この動物の肺組織から試験微生物が認められたことと関連すると考えられた。しかし、肺組織から認められた試験微生物は、試験微生物の逆流又は吸入に起因すると考察しており投与による影響であると考えられた。14試験日に投与群の雌2匹にも同様の剖検所見が認められ、1匹は左葉に1個の赤色病巣、他の1匹には複数の赤色病巣が認められた。これらの雌には試験微生物は認められず、試験微生物に関連したものではないと考えられた。 体外への排出状況：糞中には、投与3日目に 6.7×10^5 CFU/g（5/6匹）検出され、14日目に450 CFU/g（2/4匹）に減少。 体内における生残状況：投与4日目に脾臓に最大 2.4×10^4 CFU/g（2/6匹）、肺に 1.8×10^4 CFU/g（1/6匹）検出されたが、いずれも投与7日目は検出なし。 血液、腎臓及び肝臓では微生物の検出なし。 試験期間中に完全に体内から排出されず、糞中に450 CFU/g残留したが、回帰分析の結果、投与23日後には排出が終了することが想定された。 感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。

表 4-1.2：単回経口投与試験の概要（資料 T-07）

報告年・テストガイドライン・GLP	1995年、US EPA OPP152A-10、GLP
被験物質	製剤
試験動物	Sprague-Dawley系ラット(HSD:SD)雌雄、約8週齢、 体重；雄226.3-285.0g、雌171.5-200.7g 投与群；雌雄各15匹、Blank製剤群（溶媒対照群）；雌雄各5匹、 非投与群；雌雄各4匹、同室非投与群；雌雄各2匹
試験期間	21日間

投与経路・投与量	経口、 1.0×10^8 CFU/動物
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無 体重測定（投与前(0日)・投与後 4・7・14・21日） 剖検（投与後 1時間・3・7・14・21日） 体内における生残状況（投与後 1時間・3・7・14・21日） 血液、腸間膜リンパ節、腎臓、脾臓、肝臓、肺、脳
結果の概要	一般状態観察及び死亡：死亡例なし、毒性徴候なし。 体重：投与群と非投与群で有意差なし。 剖検：肉眼的異常は認められない。 体内における生残状況：全ての器官、組織において微生物の検出なし。 感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。

表 4-2.1：単回経皮投与試験の概要（資料 T-02）

報告年・テストガイドライン・GLP	1994年、US EPA OPP152A-11・OECD402、GLP
被験物質	製剤
試験動物	ニュージーランド白色ウサギ、約 10 週齢、 体重；処理群 2.5-3.1 kg、Blank 対照群 2.4-2.5 kg、 投与群雌雄各 5 匹、Blank 対照群（有効成分を含有しない製剤）雌 3 匹
試験期間	14 日間
投与経路・投与量	経皮、2 g 被験菌/体重 (4.2×10^9 CFU/mL)
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無 体重測定（投与前(0日)・投与後 7・14日） 剖検（投与後 14日） 皮膚刺激性（投与前(0日)・投与後 1・3時間・1~14日）
結果の概要	一般状態観察及び死亡：死亡例なし。 雌雄：被毛の黄褐色の汚れ（投与後 1~2日）、異常発声（投与日、投与 1日後、投与 3日後）。 体重：投与群と非投与群で有意差なし。 剖検：肉眼的異常は認められない。 皮膚刺激性：皮膚刺激性あり。 毒性は認められなかった。

表 4-2.2：単回経皮投与試験の概要（資料 T-08）

報告年・テストガイドライン・GLP	1994年、US EPA OPP152A-11・OECD402、GLP
被験物質	原体
試験動物	ニュージーランド白色ウサギ、約 12-13 週齢、体重；2.4-2.6 kg 投与群；雌雄各 5 匹
試験期間	14 日間
投与経路・投与量	経皮、2 g 被験菌/体重 (5.4×10^9 CFU/g)
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無 体重測定（投与前(0日)・投与後 7・14日） 剖検（投与後 14日）
結果の概要	一般状態観察及び死亡：死亡例なし。 雌雄：紅斑、浮腫。 体重：全ての投与群で正常な体重増加。

	毒性は認められなかった。
--	--------------

表 4-3：単回経気道投与試験の概要（資料 T-03）

報告年・テストガイドライン・GLP	1994年、US EPA OPP152A-12、GLP
被験物質	原体
試験動物	Sprague-Dawley 系ラット(HSD:SD)雌雄、約9週齢、 体重；雄 221.2-282.2 g、雌 169.2-211.9 g 投与群；処理群雌雄各 57 匹、非投与群雌雄各 4 匹、同室非投与群雌雄各 2 匹
試験期間	28 日間
投与経路・投与量	経気道、 2.5×10^9 CFU/動物
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無 体重測定（投与前(0日)・投与後 7・14・21・28日） 剖検（投与後 1 時間・3・7・14・21・28日） 体内における生残状況（投与後 3・7・14・21日） 腸間膜リンパ節、腎臓、脾臓、肝臓、肺、脳、盲腸
結果の概要	一般状態観察及び死亡：死亡例なし。 投与後 1 及び 4 時間に嗜眠及び麻痺が認められたが、これらは麻酔によるもので、試験微生物によるものではなかった。また、観察期間中に鼻あるいは膣からの分泌物及び下痢が認められた。これらは偶発的なもので処理による影響とは考えなかった。 体重：投与群の体重は、29 試験日の雌における有意な増加及び 15 試験日の雄において非投与群と比較して統計学的に有意な増加が認められたが、非投与群の動物数が少なく、また、試験期間中の体重増に雌雄ともに統計学的に有意な差がないため、生物学的には有意なものとは考えなかった。 剖検：雌雄で肺全葉褐色病巣 （投与後 3~28 日、9/10~10/10 匹、多巣性の亜急性から慢性的な炎症） 体内における生残状況： 肺において投与後 3 日に $2.8 \times 10^4 \sim 1.7 \times 10^6$ CFU/g（雄 10/10 匹、雌 10/10 匹）、投与後 7 日に 4.3~6.0 CFU/g（雄 1/10 匹、雌 2/10 匹）検出されたが、投与後 14 日目以降検出されなかった。 腎臓及び肝臓において、1/10 例でコロニーが認められたが、突発的であり投与に関連するものではないと考えられた。 脳、腸間膜リンパ節、血液及び盲腸では微生物の検出はなかった。 感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。

表 4-4：単回腹腔内投与試験の概要（資料 T-09）

報告年・テストガイドライン・GLP	1994年、GL 未記載、GLP
被験物質	原体
試験動物	Sprague-Dawley 系ラット(HSD:SD)、約9週齢、 体重；雄 231.9-281.8 g、雌 147.0-204.8 g 投与群；処理群雌雄各 18 匹、非投与群雌雄各 7 匹
試験期間	28 日間
投与経路・投与量	腹腔内、 2.0×10^7 CFU/動物
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無 体重測定（投与前(0日)・投与後 7・14・21・28日） 剖検（投与後 1・7・14・21・28日）

	体内における生残状況（投与後 1・7・14・21・28 日） 血液
結果の概要	<p>一般状態観察及び死亡：死亡例なし。 鼻からの分泌物が 1 試験日に雄では 6/18 匹、雌では 5/18 匹に、2 試験日には雄では 1/18 匹、雌では 1/18 匹と、散発的に認められた。そのほかには異常は認められなかった。</p> <p>体重：投与群と非投与群で有意差なし。 剖検：肉眼的異常は認められない。 体内における生残状況：血液中に微生物の検出なし。</p> <p>病原性及び毒性は認められなかった。</p>

ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 を用いた単回経口投与試験において、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 が試験期間中に完全に体内から排出されず、糞中に 450 CFU/g 残留したが、投与後 3、7、14 日のデータを用いた回帰分析の結果、投与 23 日後には排出が終了することが想定された。その他試験においても生残性及び感染性は認められず、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 に生残性及び感染性はないと考えられた。

ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 を用いた単回経気道投与試験において、試験期間中、肺全葉褐色病巣（多巣性の亜急性から慢性的な炎症）が認められた。しかし、肺切片のいずれにおいても線維化は認められず、肺実質の破壊を伴っていないため、時間の経過とともに炎症は回復すると考えられる。また、投与後 3 日からコロニーは減少し、投与後 14 日以降、肺からコロニーが検出されなかったことから、肺での所見は投与による影響と考えられるが病原性によるものではないと考えられる。その他試験において認められた影響は軽微であり、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 に毒性及び病原性はないと考えられた。

各種毒性試験結果から感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。

表 4-5：各毒性試験の結果概要

試験	試験系	投与量 (CFU/動物)	結果概要
単回経口 (資料T-01,07)	原体 ラット	1.9×10^8	感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった
	製剤* ラット	1.0×10^8	感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった
単回経皮 (資料T-02,08)	原体* ウサギ	5.4×10^9	毒性は認められなかった
	製剤 ウサギ	4.2×10^9	毒性は認められなかった 皮膚刺激性あり（区分2）
単回経気道 (資料T-03)	原体 ラット	2.5×10^9	感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった
単回腹腔内* (資料T-09)	原体 ラット	2.0×10^7	病原性及び毒性は認められなかった
皮膚刺激性* (資料T-10)	製剤 ウサギ	1.1×10^8	ごく軽度な紅斑が認められた

眼刺激性 (資料T-05)	製剤 ウサギ	5.6×10 ⁸	軽度の刺激性が認められた。(区分外)
皮膚感作性 (Buehler法) (資料T-06.1)	製剤 ウサギ	1.6×10 ⁸	陽性(区分1)
皮膚感作性 (Maximization法) (資料T-06.2,11)	製剤 モルモット	2.3×10 ⁷	陰性
	原体* モルモット	2.5×10 ¹¹	陰性

*：微生物農薬の登録申請に係る安全性評価に関する試験成績の取扱いについて（平成9年8月29日付け9農産第5090号農林水産省農産園芸局植物防疫課長通知）（以下「微生物指針」という。）では要求されていない試験

製剤を用いた単回経皮投与試験（ウサギ）に基づく皮膚刺激性の結果はGHS区分2であり、GHS加成方式より最高濃度の希釈液は区分外であることから、薬剤調製者について不浸透性手袋の着用、原液の皮膚に対する毒性情報、衣服が汚染された場合の処置（脱衣・洗濯）、原液が皮膚に付着した場合の応急処置（よく洗う）、皮膚刺激が生じた場合の応急処置（医師の手当）についての注意事項の記載が必要であると判断した。

製剤を用いた眼刺激性試験（ウサギ）の結果は区分外であったことから、眼刺激性に係る注意事項の記載は必要ないと判断した。

ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 原体及び製剤を用いた皮膚感作性試験（モルモット、Maximization法）の結果は区分外であった。製剤を用いた皮膚感作性試験（モルモット、Buehler法）の結果は区分1であったことから、薬剤調製者について不浸透性手袋、散布者については農薬用マスク、不浸透性手袋及び不浸透性防除衣の着用、皮膚感作性についての毒性情報、吸入しないこと、かぶれやすい体質の人への注意喚起、作業後の処置（身体を洗う、うがい、脱衣、衣服の交換、洗濯）、皮膚に付着した場合の応急処置（よく洗う）、皮膚刺激が生じた場合の応急処置（医師の手当）についての注意事項の記載が必要であると判断した。なお、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 について、製造、使用に際して発生した過敏性反応等事例は報告されていない。

人畜に有毒な農薬については、その旨、使用に際して講ずべき被害防止方法及び解毒方法は以下のとおり。

(1) 人畜に有毒な農薬については、その旨及び解毒方法

① 毒性情報

- 1) 原液は皮膚に対して刺激性がある。
- 2) アレルギー性反応を起こすおそれがある。

② 解毒方法

該当しない。

③ 安全上の注意

- 1) ミストを吸入しないこと。
- 2) かぶれやすい体質の人は作業に従事しないようにし、施用した作物等との接触をさけること。
- 3) 汚染された衣服は脱ぐこと。
- 4) 作業後は身体を洗い流し、うがいをするとともに衣服を交換すること。
- 5) 作業時に着用していた衣服等は他のものとは分けて洗濯すること。

④ 応急処置

- 1) 皮膚に付着した場合、直ちによく洗い落とすこと。皮膚刺激または発疹が生じた場合、医師の手当を受けること。

(2) 使用に際して講ずべき被害防止方法

① 使用者への被害防止方法

1) 防護装備

[薬剤調製者]

：不浸透性手袋

[散布者]

：農薬用マスク、不浸透性手袋、不浸透性防除衣

2) その他の被害防止方法

該当しない。

4.2 農薬使用者暴露許容量 (AOEL) ・急性農薬使用者暴露許容量 (AAOEL)

文献調査の結果、動物または人への病原性の発生についての言及はなかった。また、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 は、第一段階試験の単回経口投与試験、単回経皮投与試験及び単回経気道投与試験において、感染性、病原性、毒性及び生残性は認められず (表 4)、人に対する安全性は問題ないと考えられるため、第二段階以降の試験は不要と判断し、農薬使用者暴露許容量 (AOEL) 及び急性農薬使用者暴露許容量 (AAOEL) の設定は不要とした。

Beauvericin には毒性情報が確認されているが、「当該微生物の産生する毒素や毒物あるいは当該微生物の増殖に用いた基材が当該供試動物に対し有害な反応を起こさせた場合」には毒性が認められると判断している^(※) ところ、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 (原体及び製剤) の単回経口投与試験、単回経皮投与試験及び単回経気道投与試験において有害な反応は見られなかったため、毒性はなく第三段階試験は不要と判断した。

(※) 「微生物指針」別添 I の 5 (3)

5. 家畜に対する影響

5.1 ミツバチに対する影響

5.1.1 ミツバチに対する影響試験

原体を用いて実施した蜜蜂影響試験が4試験実施された。試験結果を表5-1~5-4に示す。

試験1:セイヨウミツバチ成虫を用いた原体接触暴露試験が実施され、処理区において対照区より死亡率が高い傾向が認められ(有意差検定なし)、10日目までに死亡した個体に感染が確認された。

表5-1: 原体を用いた接触暴露試験結果(試験1、資料E-09)

被験物質	原体(1.5×10^{11} CFU/g)						
供試生物	セイヨウミツバチ(<i>Apis mellifera</i>) 100頭/試験区(25頭/容器×4反復)						
暴露方法	希釈液をハンドスプレーで供試生物を入れた各試験容器に十分量噴霧。その後、恒温器(28±1℃、暗黒下)で20日間管理。						
試験期間	20日間						
試験区	処理区(微生物指針で規定されている最大使用濃度(2.3×10^4 CFU/g)の倍量区) 1/10倍量区: 2.3×10^3 CFU/g 1倍量区: 2.3×10^4 CFU/g 10倍量区: 2.3×10^5 CFU/g 100倍量区: 2.3×10^6 CFU/g 対照区						
結果の概要	症状観察: 16日目の死亡率は、1/10倍量区、1倍量区、10倍量区、100倍量区及び対照区で、それぞれ、26%、41%、41%、48%及び10%であった。20日目の死亡率は、1/10倍量区、1倍量区、10倍量区、100倍量区及び対照区で、それぞれ、90%、89%、84%、78%及び58%であった。						
			死亡率(%)				
	試験区	供試数(頭)	3日	5日	10日	16日	20日
	1/10倍量区	100	7	11	19	26	90
	1倍量区	100	18	23	34	41	89
	10倍量区	100	9	14	33	41	84
	100倍量区	100	7	22	43	48	78
対照区	100	1	2	6	10	58	
病理検査: 処理区では、暴露10日後までの死亡個体は全て感染が確認されたが、暴露11日後以後の死亡個体は感染が確認されなかった。 なお、本試験においては、死亡個体は次亜塩素酸で消毒後、湿潤なペトリ皿上に置き、目視で菌そうの発生を確認した。その結果、処理区でのみ菌そうが認められた。							

試験 2: セイヨウミツバチ成虫を用いた原体接触及び経口暴露試験が実施され、処理区と対照区の死亡率に有意差は認められなかったが、処理区の個体に感染が確認された。

表 5-2: 原体を用いた接触及び経口暴露試験結果 (試験 2、資料 E-10)

被験物質	原体(2.7×10^{10} CFU/g)																																	
供試生物	セイヨウミツバチ(<i>Apis mellifera</i>) 50 頭/試験区(10 頭/容器×5 反復)																																	
暴露方法	供試生物に希釈液を噴霧処理。その後供試生物は 32 ± 1 °C、暗黒下におき、被験物質濃度 1.8×10^6 spores/L のシヨ糖液を 30 日間与えて飼育。																																	
試験期間	30 日間																																	
試験区	処理区: 噴霧処理: 2.5×10^4 spores/cm ² 、混餌投与: 1.8×10^6 spores/L 弱毒区: 被験物質を 121 °C、1 時間滅菌 対照区																																	
結果の概要	<p>症状観察: 予備試験 (10 日間) の結果、100 倍区の処理 10 日後の死亡率が 7% であり、対照区及び 10 倍以下の処理区で死亡が認められなかったことから、本試験の処理区は 100 倍濃度で実施した。なお、予備試験では感染性の調査は行っていない。</p> <p>本試験における 30 日目の死亡率は、処理区、弱毒区及び対照区で、それぞれ、22%、22% 及び 8% であった。対照区と弱毒区の死亡率間に有意差は認められなかったため、対照区及び弱毒区をプールしたデータと処理区データの比較を行い、双方の死亡率間に有意差は認められなかった (Student t 検定)。</p> <p>病理検査: 処理区の死亡個体から菌糸の成長が確認された。確認された菌糸を染色し、顕微鏡で観察した結果、生育可能なボージェリア バシアーナ孢子が確認された。</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">試験区</th> <th rowspan="2">供試数 (頭)</th> <th colspan="5">死亡率(%)</th> </tr> <tr> <th>6 日</th> <th>10 日</th> <th>16 日</th> <th>20 日</th> <th>30 日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>処理区</td> <td>50</td> <td>0</td> <td>4</td> <td>16</td> <td>20</td> <td>22</td> </tr> <tr> <td>弱毒区</td> <td>50</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>6</td> <td>22</td> </tr> <tr> <td>対照区</td> <td>50</td> <td>2</td> <td>2</td> <td>4</td> <td>6</td> <td>8</td> </tr> </tbody> </table>	試験区	供試数 (頭)	死亡率(%)					6 日	10 日	16 日	20 日	30 日	処理区	50	0	4	16	20	22	弱毒区	50	0	0	0	6	22	対照区	50	2	2	4	6	8
試験区	供試数 (頭)			死亡率(%)																														
		6 日	10 日	16 日	20 日	30 日																												
処理区	50	0	4	16	20	22																												
弱毒区	50	0	0	0	6	22																												
対照区	50	2	2	4	6	8																												

試験 3: セイヨウミツバチ成虫を用いた原体接触暴露試験が実施され、処理区の死亡率は対照区より有意に高かった。なお、本試験では感染性は調査していない。

表 5-3: 原体を用いた接触暴露試験結果 (試験 3、資料 E-11)

被験物質	原体(2.5×10^{10} CFU/g)	
供試生物	セイヨウミツバチ(<i>Apis mellifera</i>) 50 頭/試験区(10 頭/容器×5 反復)	
暴露方法	供試生物の胸部背面に処理溶液を 5 μ L 滴下処理した。供試生物は 33°C、暗黒下におき、50%ショ糖液と花粉を与えた。	
暴露期間	21 日間	
試験区	処理区: 5.0×10^6 CFU/mL 弱毒区: 処理区溶液を 121 °C、15 分間滅菌 濾過除菌区: 処理区溶液を 0.2 μ m pore size フィルターで濾過 対照区: 無菌脱イオン水	
結果の概要	症状観察: 処理 21 日目の死亡率は、処理区、弱毒区、濾過除菌区及び対照区で、それぞれ、40%、6%、12%及び18%であった。 行動異常: 苦悶 (Knocked down) 個体が処理区で 1 頭、躓き (Stumbling) 個体が濾過除菌区で 1 頭観察された。	
	試験区	死亡率(%)
		21 日
	処理区	40
	弱毒区	6
	濾過除菌区	12
対照区	18	
病理検査: 本試験では感染性は調査していない。		

試験 4: セイヨウミツバチ成虫を用いた原体経口暴露試験が実施され、処理区及び対照区の死亡率には有意差は認められなかった。なお、本試験では感染性は調査していない。

表 5-4: 原体を用いた経口暴露試験結果 (試験 4、資料 E-12)

被験物質	原体(2.5×10^{10} CFU/g)	
供試生物	セイヨウミツバチ(<i>Apis mellifera</i>) 50 頭/試験区(10 頭/容器×5 反復)	
暴露方法	混餌投与: 処理の 1 時間前に給餌を止め、被験物質を含むシヨ糖液を給餌管で 4 時間与えた。経口摂取量は給餌管の前後の重量変化で求めた。供試生物は 33°C、暗黒下におき、50%シヨ糖液と花粉を与えた。	
暴露期間	22 日間	
試験区	<p>全ての区の溶液は 50%シヨ糖液で調製した。</p> <p>処理区: 5.0×10^6 CFU/mL</p> <p>弱毒区: 処理区溶液を 121°C、15 分間滅菌</p> <p>濾過除菌区: 処理区溶液を 0.2 µm pore size フィルターで濾過</p> <p>対照区: 無菌脱イオン水</p>	
結果の概要	<p>症状観察: 21 日目の死亡率は、処理区、弱毒区、濾過除菌区及び対照区で、それぞれ、20%、42%、14%及び 20%であった。</p> <p>行動異常: 苦悶 (Knocked down) 個体が処理区で 1 頭観察された。</p>	
	試験区	死亡率(%)
		21 日
	処理区	20
	弱毒区	42
	濾過除菌区	14
対照区	20	
<p>病理検査: 本試験で感染性は調査されていない。</p>		

5.1.2 ミツバチへの影響の有無から付される注意事項

ミツバチへの影響に基づく以下の注意事項を記載する。

ミツバチに対して影響があるので、以下のことに注意すること。

- ・ミツバチの巣箱及びその周辺にかからないようにすること。
- ・受粉促進を目的としてミツバチ等を放飼中の施設では使用を避けること。

5.1.3 評価結果

本剤の適用方法は、いちご（施設栽培）への散布であり、ミツバチが本剤に暴露する経路としては、接触暴露及び経口暴露が該当する。

原体を用いたミツバチ成虫接触暴露試験（試験1）及びミツバチ成虫接触及び経口暴露試験（試験2）から、ミツバチに対する感染性が認められた。

また、原体を用いたミツバチ成虫接触暴露試験結果（試験3）における処理区の死亡率は対照区より有意に高かった。

以上の試験結果より、ポーベリア バシアーナ ATCC 74040 は申請された使用方法において、被害防止方法として、接触及び経口暴露を避け得る閉鎖系施設での使用に限定することで、ミツバチの群の維持に支障を及ぼすおそれはないと考えられる。

また、施設の開口部等から外へ漏れ出し影響を与える危険は無いかとの懸念に関しては、

- ・紫外線で分生子が不活性化する
- ・外へ漏れ出しても少量であり空気中で拡散する
- ・自然界に存在する菌である

これらのことから、たとえ外に漏れ出しても影響はほとんど認められないものと考えられる。

※（参考）「令和3年12月1日 農業資材審議会農薬分科会農薬蜜蜂影響評価部会（第2回）決定事項」及び「令和3年12月24日 農業資材審議会農薬分科会（第29回）了承事項」

（ミツバチへのリスク管理の観点から、ミツバチへの影響評価における評価が不要なリスク管理措置「施設栽培」の定義を以下とする。

＜閉鎖系施設栽培＞

定義：側面及び上面がミツバチが通り抜けられない資材で被覆されており、密閉可能な施設（被覆資材はネット等でも可）であって、原則栽培終了まで作物が施設内に留まるもの。

5.2 蚕に対する影響

蚕影響試験（資料 E-13）

原体を用いて実施した蚕影響試験の結果を表 5-5 に示す。

2.3×10^5 CFU/mL 処理区において死亡した蚕 2 頭にボーベリア バシアーナ菌糸が認められたが、 2.3×10^4 CFU/mL 以下の濃度区で蚕に対し感染は確認されなかった。死亡率は 10 日目までは全ての処理区で対照区と同程度であったが、11 日目以降は全ての処理区において対照区と比べ死亡率が高い傾向が認められたが、有意差は認められなかった。また、処理区の 4~5 齢経過日数、結繭蚕数、健蛹歩合等は対照区と同程度で、影響は確認されなかったことから、蚕に対して影響を及ぼすおそれはないと判断した。

表 5-5：原体を用いた蚕影響試験の結果概要

被験物質	原体(1.54×10^{11} CFU/g)																																																																		
供試生物	蚕 (<i>Bombyx mori</i> , 朝日×東海)、1 群 100 頭 (50 頭×2 反復)、4 齢起蚕、試験機関でふ化、25℃の恒温器内																																																																		
暴露方法	所定の被験物質を含む溶液を入れた供試生物を 10 頭ずつ茶こしに入れ、浸漬処理した。																																																																		
試験期間	20 日間																																																																		
試験区	処理区 10 倍量区： 2.3×10^5 CFU/g (微生物指針で規定されている最大使用濃度(2.3×10^4 CFU/g)の 10 倍量区) 1 倍量区： 2.3×10^4 CFU/g 1/10 倍量区： 2.3×10^3 CFU/g 対照区(蒸留水)																																																																		
検査項目	<p>症状観察：処理後毎日生死、苦悶個体数を調査し、処理 4 日後までの死亡率を求めた。刺激を与えても動かない個体は死亡、体は動かすものの足場につかまることができず転倒している個体は苦悶と見なした。処理前及び処理 4 日後に体重を測定し、体重増加量を計算した。4 から 5 齢への経過日数、繭重、繭層重、繭層歩合を雌雄別に求めた。</p> <p>病理検査：試験期間中、死亡が認められた個体について、農業微生物の感染の有無等を調べた。その他行動異常は供試動物を記録した。</p>																																																																		
結果の概要	<p>症状観察：2.3×10^3 CFU/g 処理区において処理 4 日目までに 1 頭の死亡が認められたのみであった。処理後 4 日間の体重増加、処理 7 日後の 5 齢脱皮率、4 から 5 齢への経過日数に処理による影響は認められなかった。処理 11 日目から処理区及び対照区の両方で死亡率が高まったが、試験系の高湿度の影響と考えられた。繭調査において、反復あたりの結繭蚕数は、無処理区と比較して有意差は認められず、繭層歩合も各區で顕著な差は認められず、処理による影響は認められなかった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">濃度</th> <th colspan="2">死亡率(%)</th> <th>経過日数(日)</th> <th rowspan="2">結繭蚕数(/反復)</th> <th rowspan="2">健蛹歩合(%)</th> <th colspan="2">繭重(g)/頭</th> <th colspan="2">繭層重(mg)/頭</th> </tr> <tr> <th>4 日後</th> <th>16 日後</th> <th>4-5 齢</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2.3×10^5</td> <td>0</td> <td>27.0</td> <td>14.5</td> <td>36.5</td> <td>56.0</td> <td>1.50</td> <td>1.88</td> <td>379</td> <td>423</td> </tr> <tr> <td>2.3×10^4</td> <td>0</td> <td>17.0</td> <td>14.9</td> <td>41.5</td> <td>73.0</td> <td>1.51</td> <td>1.97</td> <td>405</td> <td>450</td> </tr> <tr> <td>2.3×10^3</td> <td>1.0</td> <td>23.0</td> <td>14.8</td> <td>38.5</td> <td>66.0</td> <td>1.66</td> <td>2.06</td> <td>432</td> <td>474</td> </tr> <tr> <td>対照区</td> <td>0</td> <td>12.0</td> <td>14.6</td> <td>44.0</td> <td>84.0</td> <td>1.53</td> <td>1.91</td> <td>405</td> <td>436</td> </tr> </tbody> </table> <p>病理検査：5 齢脱皮後の最高濃度処理区の 2 頭において検体菌の菌糸が認められたが、最高濃度区(実用濃度の 100 倍濃度)でごく少数認められたのみであり、その影響は極めて弱いものと考えられた。</p>										濃度	死亡率(%)		経過日数(日)	結繭蚕数(/反復)	健蛹歩合(%)	繭重(g)/頭		繭層重(mg)/頭		4 日後	16 日後	4-5 齢	雄	雌	雄	雌	2.3×10^5	0	27.0	14.5	36.5	56.0	1.50	1.88	379	423	2.3×10^4	0	17.0	14.9	41.5	73.0	1.51	1.97	405	450	2.3×10^3	1.0	23.0	14.8	38.5	66.0	1.66	2.06	432	474	対照区	0	12.0	14.6	44.0	84.0	1.53	1.91	405	436
濃度	死亡率(%)		経過日数(日)	結繭蚕数(/反復)	健蛹歩合(%)	繭重(g)/頭		繭層重(mg)/頭																																																											
	4 日後	16 日後	4-5 齢			雄	雌	雄	雌																																																										
2.3×10^5	0	27.0	14.5	36.5	56.0	1.50	1.88	379	423																																																										
2.3×10^4	0	17.0	14.9	41.5	73.0	1.51	1.97	405	450																																																										
2.3×10^3	1.0	23.0	14.8	38.5	66.0	1.66	2.06	432	474																																																										
対照区	0	12.0	14.6	44.0	84.0	1.53	1.91	405	436																																																										

6. その他の生物に対する影響

6.1 植物

植物影響試験（資料 E-02）

- 被験物質 : 原体 (1.54×10^{11} CFU/g)
- 供試植物 : 単子葉植物 : 稲、小麦、とうもろこし、ねぎ
 双子葉植物 : なす、トマト、きゅうり、だいず、こまつな、レタス
- 試験区 : 試験物質処理区及び対照区各区 3 反復 (1 区 10~15 株)
- 暴露方法 : 最高使用量 (2.3×10^4 CFU/mL) の 10 倍量 (2.3×10^5 CFU/mL) に調製した被験物質を使用。対照区として、展着剤のマイリノー (ポリアルキレングリコールアルキルエーテル 27.0%) を 5000 倍希釈 (溶媒:水道水) で処理。試験物質溶液をハンドスプレーヤーに入れ、植物全体に十分量を散布した。稲、小麦については展着剤マイリノーを 5000 倍希釈添加して散布した。
- 検査項目 : 各植物の生育状況について、処理前 (0 日)、処理後 1、3、7、14 及び 21 日に、草丈 (または葉長) 及び葉数 (または葉齢) を測定した。また、葉害症状の有無を肉眼で観察した。
- 結果 : 原体を用いて実施した植物影響試験の結果を表 6-1 に示す。5 科 6 種の双子葉植物、2 科 4 種の単子葉植物において、無処理区と比較して草丈及び葉数に被験微生物の影響は見られなかった。

コマツナにおいては処理後日数ごとの生育において、最大葉長の処理後 7 日に有意差が認められたが、実測値として差は小さく、最終調査の処理後 21 日には有意差は認められなかったことから、処理の影響はないと考えられた。また、各試験区に葉害症状は認められなかった。なお、本微生物は、標的昆虫に対して感染性及び病原性を示すものであり、本微生物が植物に対して病原性を示し、生育不良を起こす等の影響を及ぼす可能性は低いと判断した。

表 6-1 : 原体を用いた植物影響試験の結果概要

作物	調査項目	試験区	処理後日数 (日)					
			0	1	3	7	14	21
ナス	草丈 (cm)	処理区	4.2(±0.2)	4.4(±0.2)	4.8(±0.2)	6.3(±0.2)	10.8(±0.1)	20.0(±0.2)
		対照区	4.2(±0.2)	4.4(±0.1)	4.9(±0.1)	6.5(±0.2)	11.1(±0.4)	19.9(±0.6)
	葉数	処理区	3.2	3.5	3.7	4.3	6.6	7.9
		対照区	3.1	3.2	3.9	4.3	6.6	8.0
トマト	草丈 (cm)	処理区	14.4(±0.8)	15.1(±0.7)	18.3(±0.9)	26.0(±1.3)	41.1(±1.1)	56.5(±0.7)
		対照区	15.0(±0.6)	15.7(±0.5)	18.8(±0.7)	26.0(±0.6)	40.6(±0.2)	55.6(±0.8)
	葉数	処理区	4.0	4.1	5.0	5.9	8.1	10.0
		対照区	4.0	4.0	4.9	5.9	8.0	9.6
キュウリ	草丈 (cm)	処理区	7.4(±0.1)	8.4(±0.2)	11.0(±0.3)	15.6(±0.7)	30.4(±2.0)	51.7(±2.4)
		対照区	7.6(±0.1)	8.3(±0.3)	11.2(±0.2)	15.5(±0.2)	30.4(±0.8)	52.2(±0.8)

	葉数	処理区	1.0	1.5	2.0	2.8	4.1	6.2
		対照区	1.0	1.3	2.0	2.6	4.0	6.2
ダイズ	草丈 (cm)	処理区	21.8(±0.3)	24.4(±0.5)	28.2(±0.6)	44.9(±0.8)	91.7(±2.4)	106.8(±2.0)
		対照区	22.6(±0.4)	25.0(±0.1)	29.5(±0.5)	47.6(±0.7)	92.8(±0.6)	108.6(±0.6)
	葉数	処理区	2.0	2.2	3.1	4.3	6.5	8.2
		対照区	2.0	2.6	3.2	4.4	6.4	8.3
コマツナ	最大葉長 (cm)	処理区	5.0(±0.1)	6.5(±0.2)	8.3(±0.2)	11.8(±0.1)*	21.2(±0.5)	24.7(±0.1)
		対照区	4.7(±0.1)	6.4(±0.1)	8.3(±0.3)	11.3(±0.03)	20.9(±0.4)	24.7(±0.2)
	葉数	処理区	2.0	2.2	2.9	3.9	5.8	7.2
		対照区	2.0	2.2	2.9	3.9	5.7	7.6
レタス	最大葉長 (cm)	処理区	5.0(±0.3)	5.5(±0.1)	6.1(±0.2)	7.1(±0.2)	9.8(±0.7)	12.6(±0.5)
		対照区	4.8(±0.2)	5.2(±0.2)	5.7(±0.1)	7.2(±0.5)	9.7(±0.6)	12.7(±0.6)
	葉数	処理区	2.0	2.2	2.8	3.6	5.1	6.8
		対照区	2.0	2.2	2.8	3.7	5.1	6.8
イネ	草丈 (cm)	処理区	18.2(±0.2)	19.9(±0.1)	25.0(±0.2)	31.5(±0.9)	41.1(±1.1)	56.1(±2.2)
		対照区	18.4(±0.4)	20.4(±0.2)	25.1(±0.1)	33.4(±1.0)	41.5(±0.6)	51.9(±0.7)
	葉齢	処理区	2.7	2.8	3.1	4.0	5.6	6.8
		対照区	2.7	2.9	3.2	4.2	5.7	7.0
コムギ	草丈 (cm)	処理区	13.7(±0.3)	14.3(±0.2)	20.4(±0.05)	24.8(±0.3)	32.9(±0.3)	35.7(±0.5)
		対照区	13.9(±0.2)	14.5(±0.2)	20.7(±0.3)	24.6(±0.1)	32.6(±0.5)	35.5(±0.6)
	葉数	処理区	2.0	2.0	2.0	3.0	4.0	8.6
		対照区	2.0	2.0	2.0	3.0	4.0	9.1
トウモロコシ	草丈 (cm)	処理区	17.6(±1.4)	21.4(±1.4)	24.7(±1.1)	35.3(±1.2)	57.6(±1.8)	76.7(±2.0)
		対照区	16.4(±2.5)	20.2(±2.7)	24.2(±2.2)	34.0(±3.1)	55.9(±3.5)	77.8(±4.3)
	葉齢	処理区	2.8	3.0	3.5	4.5	6.3	8.0
		対照区	2.8	3.0	3.4	4.3	6.4	7.8
ネギ	草丈 (cm)	処理区	7.0(±0.3)	7.5(±0.3)	8.7(±0.4)	11.7(±0.5)	16.1(±0.2)	21.9(±0.6)
		対照区	6.3(±0.3)	7.0(±0.3)	8.4(±0.4)	11.8(±0.6)	16.0(±0.6)	21.0(±1.3)
	葉数	処理区	1.0	1.0	1.0	1.4	3.0	3.0
		対照区	1.0	1.0	1.0	1.2	2.8	2.9

表中の数値は 3 反復の平均値。 () 内の数値は標準偏差。

* : t 検定 5% 水準の有意差あり

6.2 標的外昆虫

原体を用いて実施した標的外昆虫影響試験の結果を表 6-2.1～6-2.3 に示す。

タイリクヒメハナカメムシ幼虫に対する直接接触暴露試験では、対照区と処理区の死亡率に差は認められず、感染性も認められなかった。キイロタマゴバチ成虫を対象とした接触暴露試験では、対照区と処理区の死亡率に差は認められず、感染性も認められなかった。スワルスキーカブリダニ若虫に対する散布試験では、対照区と処理区の死亡率に差は認められず、感染性も認められなかった。3 目 3 種の昆虫に対し試験を行った結果、影響は確認されなかったことから、ボーベリア バシアーナ ATCC 74040 に標的外昆虫への影響はないと考えられた。

表 6-2.1：原体を用いた標的外昆虫影響試験の結果概要（資料 E-03）

被験物質	原体(1.54×10 ¹¹ CFU/g)							
供試生物	タイリクヒメハナカメムシ <i>Orius strigicollis</i> 、2 齢幼虫、1 用量 29 頭							
暴露方法	ガラスシャーレ(直径 9cm)の内壁面にタルクをふり、そこへ供試生物を移し入れた。調製した被験物質溶液を、エアブラシを用いて十分量散布し、供試生物に直接暴露させた。							
試験期間	22 日間							
試験区	処理区(Tween20 0.2 %添加水溶液) 2.3×10 ⁵ CFU/mL(微生物指針で規定されている最大使用濃度(2.3×10 ⁴ CFU/L)の 10 倍量区) 対照区(Tween20 0.2 %添加水溶液)							
検査項目	症状観察：処理後 3、7、12 及び 22 日に生存、苦悶、死亡の各個体数を調査した。実体顕微鏡下で観察し、全く動きの見られない個体を死亡とした。供試個体数に対する死亡個体数の割合を死亡率として求めた。12 日後、22 日後は成虫となった個体数も分けて調査した。死亡個体は調査後に試験容器から取り除き、個別に収容して感染の有無を調査した。							
結果の概要	症状観察：処理区では、処理後 12 日までに 6 頭が死亡し、死亡率は 20.7%であったのに対し、対照区（無処理区）では 11 頭が死亡し、死亡率が 37.9%であった。処理 12 及び 22 日後における死亡率において、処理区及び対照区の値に有意差は認められなかった。死亡した個体について、試験物質に感染した個体は処理区及び対照区ともに認められなかった。対照区で生存した供試生物が成虫となった処理後 12 日において、処理区でも同様に生存した供試生物の全てが成虫となり、発育に対する影響は認められなかった。							
	試験区	供試個体数	累積死亡個体数				死亡率(%)	
			3日後	7日後	12日後	22日後	12日後	22日後
	処理区	29	0	5	6	14	20.7	48.3
	対照区	29	1	8	11	11	37.9	37.9
試験区	供試個体数	感染個体数	感染率 (%)	12日後 成虫数/生存虫数		生存虫の成虫化率 (%)		
処理区	29	0	0	23/23		100		
対照区	29	0	0	18/18		100		

表 6-2.2：原体を用いた標的外昆虫影響試験の結果概要（資料 E-04）

被験物質	原体(1.54×10 ¹¹ CFU/g)
供試生物	キイロタマゴバチ <i>Trichogramma dendrolimi</i> 、羽化 24 時間以内の成虫 1 用量 49 または 59 頭
暴露方法	調製した被験物質溶液を、エアブラシを用いて試験容器に十分量散布した。
試験期間	14 日間

試験区	処理区(Tween20 0.2 %添加水溶液) 2.3×10 ⁵ CFU/g(微生物指針で規定されている最大使用濃度(2.3×10 ⁴ CFU/L)の 10 倍量区) 対照区(Tween20 0.2 %添加水溶液)						
検査項目	症状観察：処理後 1 から 4 日まで生死個体数を調査した。実体顕微鏡下で観察し、全く動きの見られない個体を死亡とした。供試個体数に対する死亡個体数の割合を死亡率として求めた。死亡個体は個別に収容して感染の有無を調べた。無処理区に死亡が認められた場合は、Abbott の補正式を用いて補正死亡率を求めた。処理 1 日後にスジコナマダラメイガ卵を容器内に入れ、処理後 7 日に寄生卵数を計数し、処理後 14 日に羽化数を計数した。						
結果の概要	症状観察：処理 4 日後までに処理区では 3 頭の死亡が認められ、死亡率は 5.1 %であり、対照区（無処理区）では、8 頭の死亡が認められ、死亡率が 16.3%であり、試験物質処理による影響は認められず、また死亡した個体の試験物質による感染は処理区、対照区ともに認められなかった。産卵及び羽化について、処理区では寄生卵数は 2006 個、1 雌あたりの産卵数は 34.6 卵、羽化卵数が 1621 個となり羽化率は 80.8 %であり、対照区では寄生卵数が 1917 個、1 雌あたりの産卵数は 43.5 卵、羽化卵数が 1636 個となり羽化率は 85.3%となり、両区間で顕著な差は認められなかった。						
	試験区	供試個体数	死亡個体数				感染個体数
			1日後	2日後	3日後	4日後	
	処理区	59	0	1	2	3	0
	死亡率	0%	1.7%	3.4%	5.1%		
対照区	49	0	2	6	8	0	
	死亡率	0%	4.1%	12.2%	16.3%		
試験区	供試個体数	性比 ♂：♀	寄生卵数	1雌当たり 産卵数	羽化数	羽化率 (%)	
処理区	59	1：58	2006	34.6	1621	80.8	
対照区	49	5：44	1917	43.5	1636	85.3	

表 6-2.3：原体を用いた標的外昆虫影響試験の結果概要（資料 E-05）

被験物質	原体(1.54×10 ¹¹ CFU/g)
供試生物	スワルスキーカブリダニ <i>Amblyseius swirskii</i> 、第一若虫 1 用量 21 または 25 頭
暴露方法	ガラスシャーレ（直径 6.5 cm x 高さ 2 cm）に 0.1%寒天水溶液を入れてそこへインゲンマメ葉を、葉裏を上にして浮かべて 2-4 匹の供試ダニを移し入れ、調製した被験物質溶液を、エアブラシを用いてガラスシャーレに十分量散布した。
試験期間	6 日間
試験区	処理区(Tween20 0.2 %添加水溶液) 2.3×10 ⁵ CFU/mL(微生物指針で規定されている最大使用濃度(2.3×10 ⁴ CFU/L)の 10 倍量区) 対照区(Tween20 0.2 %添加水溶液)
検査項目	症状観察：処理後 1~6 日の間、毎日生死の各個体数を調査した。実体顕微鏡下で観察し、全く動きの見られない個体を死亡とした。各調査時点で死亡個体は除去し感染の有無を調査した。供試個体数に対する苦悶、死亡個体数の割合を死亡率とした。6 日後の生存個体については、成虫となった個体数を合わせて調査した。処理後 6 日に成虫になった一部の個体を試験区別に分けて飼育し、産卵数とふ化数を調査した。

結果の概要	<p>症状観察：処理後 6 日までに処理区では 2 頭の死亡が認められ、死亡率が 9.5%であり、対照区（無処理区）では 3 頭の死亡が認められ、死亡率が 12.0%であった。また、処理後 6 日に成虫となった個体は、処理区と対照区でそれぞれ 10 頭と 18 頭であった。死亡した個体に試験物質に感染した個体は、処理区、対照区ともに認められなかった。産卵及びふ化において、処理区では産卵数が 9 個、1 雌あたりの産卵数は 1.8 卵、ふ化卵数が 9 個、ふ化率は 100%であり、対照区では、産卵数が 21 個、1 雌あたりの産卵数は 1.6 個、ふ化卵数が 21 個、ふ化率は 100%で、両区間で顕著な差は認められなかった。</p>							
	試験区	供試個体数	死亡個体数				6日後成虫数	感染個体数
			1日後	2日後	3日後	6日後		
	処理区	21	0	0	0	2	10	0
	死亡率	0%	0%	0%	9.5%			
対照区	25	0	1	1	3	18	0	
	死亡率	0%	4.0%	4.0%	12.0%			

試験区	供試個体数	性比 ♂ : ♀	総産卵数	1雌あたり 産卵数	ふ化数	ふ化率 (%)
処理区	9	4:5	9	1.8	9	100
対照区	16	3:13	21	1.6	21	100

6.3 土壤微生物

土壤微生物影響試験（資料 E-14）

原体を用いて実施した土壤微生物影響試験の結果を表 6-3 に示す。

処理区における細菌、放線菌数及び真菌はそれぞれの対照区の菌数と同程度であった。ポタバリア バシアーナ ATCC 74040 は、土壤微生物に対して影響を及ぼすおそれはないと判断した。

表 6-3：原体を用いた土壤微生物影響試験の結果概要

被験物質	原体(1.54×10 ¹¹ CFU/g)						
供試土壤	火山灰土壤 (淡色黒ボク土、軽埴土)						
暴露方法	散布濃度は、登録申請予定である製剤濃度 2.3×10 ⁷ CFU/mL の 1000 倍希釈の 2.3×10 ⁴ CFU/mL とした。散布量は、野菜類を対象とした単位面積当たりの最大施用量である 0.3 L/m ² (300L/10a 相当量) の 10 倍量 (3L/m ²) を土壤に 20 cm 混和した。						
試験期間	90 日間						
試験区	処理区、対照区(溶媒：水道水)を設け、各 1.0 m ² (1.0 m x 1.0 m)の 3 反復とした。緩衝帯は各区间で 1.0 m とした。						
検査項目	菌数測定：コロニー数計測後、生土重量/乾土重量を元に、乾土 1 g あたりの生菌数 (CFU) を算出した。乾土重量は、適量の検定用土壤試料をガラスシャーレーに量り取り、生土重量を測定後、80℃の高温オープン中で 3 日間乾燥後、乾土重量を測定した。						
結果の概要	<p>土壤細菌への影響：処理区及び対照区ともに菌数の季節変動は認められたが、試験物質散布処理による菌数推移への影響は認められなかった。散布処理後 1 日では、処理区と対照区で有意差が認められたが、菌数はほぼ同等であり、また処理後 10、30、90 日の土壤試料では有意差が認められなかったことから土壤細菌に対する試験物質の影響はないと考えられた。</p> <p>土壤放線菌への影響：処理区及び対照区ともに菌数の季節変動は認められたが、試験物質散布処理による菌数推移への影響は認められなかった。散布処理後 1 日では、処理区と対照区で有意差が認められたが、菌数はほぼ同等であり、また処理後 10、30、90 日の土壤試料では有意差が認められなかったことから土壤放線菌に対する試験物質の影響はないと考えられた。</p> <p>土壤真菌への影響：処理区及び対照区ともに菌数の季節変動は認められたが、試験物質散布処理による菌数推移への影響は認められなかった。散布処理後 10 日では、処理区と対照区で有意差が認められたが、菌数はほぼ同等であり、また処理後 1、30、90 日の土壤試料では有意差が認められなかったことから土壤真菌に対する試験物質の影響はないと考えられた。</p>						
	菌種	供試土壤	菌数 (log CFU/g 乾土)				
			処理直前	処理1日後	処理10日後	処理30日後	処理90日後
	細菌	処理区	7.15±0.02	7.29±0.01*	7.03±0.02	6.90±0.01	6.95±0.05
		対照区	7.14±0.03	7.23±0.01	7.03±0.03	6.89±0.01	6.99±0.04
	放線菌	処理区	6.96±0.01	7.04±0.01*	6.92±0.03	6.94±0.02	7.06±0.03
		対照区	6.93±0.01	6.95±0.01	6.93±0.02	6.95±0.00	7.01±0.01
	真菌	処理区	5.03±0.01	5.12±0.01	5.01±0.03*	4.97±0.02	5.05±0.03
		対照区	4.99±0.01	5.17±0.01	5.19±0.02	4.90±0.00	4.93±0.01
	表中の数値は平均値±標準偏差 * : Student t-test, p<0.05						

別添 1 用語及び略語

AAOEL	acute acceptable operator exposure level	急性農薬使用者暴露許容量
AOEL	acceptable operator exposure level	農薬使用者暴露許容量
CFU	colony forming unit	コロニー形成単位

別添 2 評価資料一覧

1. 基本情報

資料番号	報告年	表題、出典（試験施設以外の場合） 試験施設、報告書番号 GLP 適合状況（必要な場合）、公表の有無	提出者
L-01-37	2020	農薬の規格性状に関する資料 CBC 株式会社 未公表	CBC(株)

3. 物理的・化学的性状

資料番号	報告年	表題、出典（試験施設以外の場合） 試験施設、報告書番号 GLP 適合状況（必要な場合）、公表の有無	提出者
3 3.1	2020	農薬の物理的・化学的性状に関する試験結果報告書 CBC株式会社 未公表	CBC(株)
4.1 4.2 4.3	2020	農薬の経時安定性に関する検査結果報告書 CBC株式会社 未公表	CBC(株)

4. 安全性に係る試験の概要

資料番号	報告年	表題、出典（試験施設以外の場合） GLP 適合状況（必要な場合）、公表の有無	提出者
T-01	1992	ACUTE ORAL TOXICITY/PATHOGENICITY STUDY OF <i>Beauveria bassiana</i> IN RATS GLP、未公表	CBC(株)
T-07	1995	ACUTE ORAL TOXICITY/PATHOGENICITY STUDY OF Naturalis L (225) IN RATS GLP、未公表	CBC(株)
T-02	1994	ACUTE DERMAL TOXICITY STUDY OF Naturalis-L (225) IN RABBITS GLP、未公表	CBC(株)
T-08	1994	ACUTE DERMAL TOXICITY STUDY OF Fermone Boverin IN RABBITS GLP、未公表	CBC(株)
T-03	1994	ACUTE PULMONARY TOXICITY/PATHOGENICITY STUDY OF FERMONE BOVERIN (<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040) IN RATS GLP、未公表	CBC(株)
T-09	1994	ACUTE INTRAPERITONEAL TOXICITY/PATHOGENICITY STUDY OF FERMONE BOVERIN (<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040) IN RATS GLP、未公表	CBC(株)
T-10	1995	PRIMARY DERMAL IRRITATION TEST OF Naturalis-L (225) IN RABBITS GLP、未公表	CBC(株)
T-05	1994	PRIMARY EYE IRRITATION TEST OF Naturalis-L (225) IN ALBINO RABBITS GLP、未公表	CBC(株)

資料番号	報告年	表題、出典（試験施設以外の場合） GLP 適合状況（必要な場合）、公表の有無	提出者
T-06.1	1997	Dermal Sensitization Test - Buehler Method GLP、未公表	CBC(株)
T-06.2	2005	Naturalis (<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040) : Skin sensitisation in the Guinea pig GLP、未公表	CBC(株)
T-11	2005	<i>Beauveria bassiana</i> ATCC 74040 : Skin sensitisation in the Guinea pig GLP、未公表	CBC(株)

5. 家畜に対する影響

資料番号	報告年	表題、出典（試験施設以外の場合） 試験施設、報告書番号 GLP 適合状況（必要な場合）、公表の有無	提出者
E-09	2019	<i>Beauveria bassiana</i> Strain ATCC 74040 原体のセイヨウミツバチに対する影響試験 一般社団法人日本植物防疫協会 未公表	CBC(株)
E-10	1993	<i>Beauveria bassiana</i> (ATCC 74040) INFECTIVITY AND PATHOGENICITY TO HONEYBEES (<i>Apis mellifera</i>) DURING A 30-DAY TEST Springborn Laboratories, Inc., 93-11-5054 未公表	CBC(株)
E-11	2019	Effects of the Microbial Pest Control Agent <i>Beauveria bassiana</i> strain ATCC 74040 on the honeybee, <i>Apis mellifera</i> , in a contact toxicity test APIS、APIS-016-025 未公表	CBC(株)
E-12	2019	Effects of the Microbial Pest Control Agent <i>Beauveria bassiana</i> strain ATCC 74040 on the honeybee, <i>Apis mellifera</i> , in an oral toxicity test APIS、APIS-016-024 未公表	CBC(株)
E-13	2019	<i>Beauveria bassiana</i> Strain ATCC 74040 原体のカイコに対する影響試験 一般社団法人日本植物防疫協会 未公表	CBC(株)

6. その他の生物への影響

資料番号	報告年	表題、出典（試験施設以外の場合） 試験施設、報告書番号 GLP 適合状況（必要な場合）、公表の有無	提出者
E-02	2018	<i>Beauveria bassiana</i> Strain ATCC 74040 原体の植物に対する影響試験 一般社団法人日本植物防疫協会 未公表	CBC(株)
E-03	2018	<i>Beauveria bassiana</i> Strain ATCC 74040 原体のタイリクヒメハナカメムシに対する影響試験 一般社団法人日本植物防疫協会 未公表	CBC(株)
E-04	2018	<i>Beauveria bassiana</i> Strain ATCC 74040 原体のキイロタマゴバチに対する影響試験 一般社団法人日本植物防疫協会 未公表	CBC(株)
E-05	2018	<i>Beauveria bassiana</i> Strain ATCC 74040 原体のスワルスキーカブリダニに対する影響試験 一般社団法人日本植物防疫協会 未公表	CBC(株)
E-14	2019	<i>Beauveria bassiana</i> Strain ATCC 74040 原体の土壌微生物に対する影響試験 一般社団法人日本植物防疫協会 未公表	CBC(株)