

非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 生物農薬評価書 (案)

2024年5月23日
農業資材審議会農薬分科会
生物農薬評価部会

目次

	頁
<経緯>	2
<生物農薬評価部会委員名簿>	2
I 評価対象農薬の概要	3
1 有効成分の概要	3
2 製剤の概要	6
II 安全性に係る試験の概要	8
1 人に対する影響	8
2 家畜（蜜蜂等）に対する影響	15
3 その他の生物に対する影響	16
別添 1 用語及び略語	20
別添 2 評価資料一覧	21

<経緯>

令和6年（2024年）	2月13日	農業資材審議会への諮問
令和6年（2024年）	5月23日	農業資材審議会農薬分科会生物農薬評価部会 (第9回)

<生物農薬評価部会委員名簿>

(委員)

有江 力

小西 良子

(臨時委員)

山本 幸洋

(専門委員)

小坂 忠司

後藤 千枝

中村 純

I 評価対象農薬の概要

1 有効成分の概要

- 1.1 申請者 クミアイ化学工業株式会社
- 1.2 登録名 非病原性リゾビウム ビティス
- 1.3 一般名 非病原性リゾビウム ビティス ARK-1
英名: *Rhizobium vitis* strain ARK-1
和名: リゾビウム ビティス ARK-1

1.4 学名及び分類学上の位置 (資料1-1)

- (1) 学名 *Rhizobium vitis* ARK-1

- (2) 分類学上の位置:

門: Proteobacteria (プロテオバクテリア門)
綱: Alphaproteobacteria (アルファプロテオバクテリア綱)
目: Rhizobiales (リゾビウム目)
科: Rhizobiaceae (リゾビウム科)
属: *Rhizobium* (リゾビウム属)
種: *vitis* (ビティス)
株: ARK-1

- (3) 由来、分離、同定 (資料1-2、1-3)

本菌株は、岡山県内で栽培したぶどうから分離された。分離した菌株は、病原性を有する*Rhizobium vitis* (Ti) と非病原性*R.vitis*の各菌株をそれぞれ等量で混合し、播種1か月後のトマト苗及びぶどう1年生実生苗の茎に単刺有傷接種し、がんしゅ形成の有無及び程度を調べ選抜した。

分離菌株の細菌学的性質をもとに、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 及び International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 2001 年 51 号を参照して近縁菌種を検索した結果、本菌株は *R. vitis* の特徴と一致した。また、16SrRNA の塩基配列 1473 ベースペアを解読し、国立遺伝学研究所 (DDBJ) のホームページ上の検索サイト「ブラスト (BLAST)」で近縁菌種の相同性検索を行った結果、登録されている *R. vitis* の 16SrRNA の塩基配列と 100 %一致した。以上より、本菌株は *R.vitis* と同定された。分離された菌株は、「*Rhizobium vitis* ARK-1」として2010年(平成22年)10月14日に独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センター(現、独立行政法人製品評価技術基盤機構)に寄託した(受託番号; FERM BP-11426)。

1.5 生物学的性質（資料 1-1）

（1）生育条件

至適生育温度は 25～30 °C、至適生育 pH は 6～8 である。

資化可能な糖は、グルコース、サッカロース、デンプン、デンプン糖化液、糖蜜等の糖類及びクエン酸等の有機酸がある。また、資化可能な窒素源はアンモニア、硫酸アンモニウム、リン酸アンモニウム、塩酸アンモニウム、硝酸アンモニウム等のナトリウム塩や硝酸塩及び肉エキス、大豆ペプチド等のタンパク分解物がある。

（2）宿主城

リゾビウム属菌のうち、Ti (tumor-inducing) プラスミドを保有する株は、りんご、なし等の仁果類、おうとう、あんず等の核果類、ぶどう、ラズベリー、アーモンド、くるみ等堅果類、バラ、マーガレット、きく等の花き類等、宿主範囲は非常に広く、93 科 643 種以上の双子葉植物に寄生性があるとされている。

非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 は Ti プラスミドを持たないが、同属であり、ぶどう等の果樹やバラへの定着性が確認されていることから宿主城は同様であると考えられる。

（3）作用機作（資料 1-4～1-6）

非病原性リゾビウム ビティス ARK-1（以下本項において「ARK-1」という。）をオートクレーブで滅菌すると防除効果を示さないことから、防除には生きた菌体そのものが必要である。

ARK-1 と *R.vitis* (Ti) をブドウに等量混合接種すると、接種部位において、接種 1～5 日後までは両菌株とも同じように増殖するが、その後 *R.vitis* (Ti) の菌数は ARK-1 の 1/10 程度に減少していくことが明らかになった。また、ARK-1 と *R.vitis* (Ti) をブドウ実生苗の主幹部に等量混合接種し、接種部位における *R.vitis* (Ti) の病原性関連遺伝子群の領域 (*vir* 領域) の発現量を測定した。接種部位のブドウ主幹部の組織から抽出した全 RNA を鋳型とし、RT-qPCR によって *vir* 領域内の *virD2* と *virE2* の発現量を定量した結果、ARK-1 を混合した接種部位の発現量は *R.vitis* (Ti) 単独接種における発現量の 1/3～1/7 まで低下していた。

以上のことから、ARK-1 の拮抗作用の機構は、短期的には *R.vitis* (Ti) の *vir* 領域の発現抑制が、長期的には *R.vitis* (Ti) の増殖抑制が関与すると考えられる。

（4）自然界における存在及び地理的分布

Rhizobium vitis は土壌、植物体等に、地理的には広範囲に存在していると考えられる。

（5）人及び家畜（牛、豚等）に対する有害性に関する情報（資料 1-7～1-9）

近縁種であるダイズ根粒菌 *Bradyrhizobium elkanii* は、エチレン生合成阻害作用を有す

るリゾビトキシンを産生することが報告されているが、リゾビウム属菌についてはそのような報告はなく、人に対する毒素の産生も報告されていない。

また、リゾビウム属菌のうち、主に *Rhizobium radiobacter* において、免疫力が低下したヒトへの日和見感染事例の報告があるが、Web of Science で検索語を「*Rhizobium vitis*」として検索した結果、2022 年 5 月時点で 90 件の文献がヒットし、この中に人及び哺乳類動物に有害となるような記述はなかった。

2 製剤の概要

2.1 種類及び名称

種類：非病原性リゾビウム ビティス水和剤

名称：エコアーク

2.2 用途

殺菌剤

2.3 組成

非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 2.5×10^{11} CFU/g 以上

2.4 適用病害虫の範囲及び使用方法

・非病原性リゾビウム ビティス水和剤（エコアーク）

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	非病原性リゾビウム ビティスを含む農薬の 総使用回数
果樹類（ぶどう を除く）	根頭がん しゅ病	5000 倍	—	移植時又は 定植時	—	苗の根部を希釈液 に 1～24 時間 浸漬する。	—
ぶどう				挿し木時		挿し穂基部を希釈 液に 1～24 時間 浸漬する。	
ばら				移植時又は 定植時		苗の根部を希釈液 に 1～24 時間 浸漬する。	

2.5 諸外国における登録に関する情報

令和 6 年 5 月現在、諸外国での登録はない。

2.6 製剤の物理的・化学的性状（資料 2-1）

本剤の代表的ロットを用いた試験結果を表 1 に示す。

表 1 エコアークの物理的・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	平成 31 年 3 月 29 日 30 消安第 6278 号	淡黄赤色塊
希釈液安定性	昭和 35 年 2 月 3 日 農林省告示第 71 号に準じた方法	沈殿・分離は認められない。
水和性	*	2 回
懸垂性	CIPAC MT 184 に準じた方法	105 %

* 製剤の容器中に 20 °C の水道水 8 mL を駒込ビペットで加え、10 秒間振とうする。5 分間静置後、容器を傾け速やかに内容物を排出する。内容物が排出されるまで、20 °C の水道水 8 mL を加え 10 秒間振とう後直ちに内容物を排出する操作を繰り返し、排出操作の実施回数を計測する。

2.7 経時安定性（資料 2-2）

本剤を用いて実施した経時安定性試験（試験温度 $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ）の結果から、6 か月間の保存において有効成分含有濃度及び物理的・化学的性状は問題なく、本剤の使用期限を 6 か月（保存温度 4°C ）とすることは妥当と判断した。

II 安全性に係る試験の概要

1 人に対する影響

1.1 毒性試験の結果概要

原体（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 2 から表 9 に示す。

なお、本農薬は、原体と製剤が同一のため、被験物質の表記は、「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「5090 号局長通知」という。）」で要求される被験物質に合わせて記載した。

1.1.1 単回経口投与試験（資料 3-1）

原体を用いた単回経口投与試験が実施された。試験の概要（表 2）及び試験結果を以下に示す。

表 2 単回経口投与試験の概要

報告年・テストガイドライン・GLP	2022 年、5090 号局長通知、US EPA OPPTS 885.3050, EPA 712-C-96-315、GLP
被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)
試験動物	Sprague-Dawley 系ラット(Crl:CD(SD))、5 週齢、体重：雄 133.3-148.8 g、雌 98.8-116.5 g 投与群：1 群雌雄各 14 匹 溶媒対照群：1 群雌雄各 2 匹 非投与群：1 群雌雄各 4 匹（非投与群の雌雄各 2 匹は、投与群と同じケージで飼育）
試験期間	21 日間
投与経路	経口
投与量	雄： 3.5×10^8 CFU/動物、雌： 2.6×10^8 CFU/動物
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無：投与後 1、3、5 時間後、その後は 1 日 1 回観察 体重測定：投与前(0 日)、投与 3、7、14、21 日後 体外への排出状況：投与 1、3、7、14 日後 剖検：投与 3、7、14、21 日後 体内における生残状況：投与 3、7、14、21 日後 血液、脾臓、肝臓、腎臓、肺、脳、腸間膜リンパ節、胃、小腸（十二指腸）、大腸（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、非投与群で、いずれも正常に増加した。

剖検：肉眼的な異常は認められなかった。

体外への排出状況：試験期間を通じて、糞中に微生物の検出はなかった。

体内における生残状況：試験期間を通じて、臓器及び血液に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。

1.1.2 単回経気道投与試験（資料 3-2）

原体を用いた単回経気道投与試験が実施された。試験の概要（表 3）及び試験結果を以下に示す。

表 3 単回経気道投与試験の概要

報告年・テストガイドライン・GLP	2022 年、5090 号局長通知、US EPA OPPTS 885.3150, EPA 712-C-96-318、GLP
被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)
試験動物	Sprague-Dawley 系ラット(Crl:CD(SD))、5 週齢、体重：雄 121.3-137.2 g、雌 106.8-128.1 g 投与群：1 群雌雄各 17 匹 溶媒対照群：1 群雌雄各 2 匹 非投与群：1 群雌雄各 4 匹（非投与群の雌雄各 2 匹は、投与群と同じケージで飼育）
試験期間	21 日間
投与経路	経気道
投与量	雄： 5.15×10^8 CFU/動物、雌： 5.00×10^8 CFU/動物
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無：投与後 1、3、5 時間後、その後は 1 日 1 回観察 体重測定：投与前(0 日)、投与 3、7、14、21 日後 剖検：投与直後、投与 3、7、14、21 日後 体内における生残状況：投与直後、投与 3、7、14、21 日後 血液、脾臓、肝臓、腎臓、脳、気管支リンパ節、肺、気管、鼻腔

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、非投与群で、いずれも正常に増加した。

剖検：投与直後；肺の暗赤色化（雄 1/3 匹、雌 2/3 匹）

肺の赤色斑（雌 2/3 匹）

投与 3 日後；肺の暗赤色化（雌 2/3 匹）、肺の赤色化（雄 1/3 匹）

投与 7 日以降、異常は認められなかった。

体内における生残性：臓器、血液、気管及び鼻腔内の菌数（組織 1 g、血液 1 mL 又は気管・鼻腔の拭い液 1 mL 当たりの数（CFU/g 又は CFU/mL）で示す。）を表 4 に示す。

感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。

表 4 臓器、血液、気管及び鼻腔内の菌数

性別	分析試料	菌数	投与後日数				
			投与直後	3 日	7 日	14 日	21 日
雄	肺	CFU/g	$>10^7$	$1.0 \times 10^2 \sim 6.0 \times 10^2$	ND	ND	ND
	肝臓	CFU/g	$1.0 \times 10^2 \sim 6.0 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND
	腎臓	CFU/g	ND	ND	ND	ND	ND
	脾臓	CFU/g	$3.0 \times 10^2 \sim 3.3 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
	脳	CFU/g	ND	ND	ND	ND	ND
	気管支リンパ節	CFU/g	$2.0 \times 10^3 \sim 2.5 \times 10^4$	ND	ND	ND	ND
	気管	CFU/mL	$1.9 \times 10^4 \sim 4.7 \times 10^5$	ND	ND	ND	ND
	鼻腔	CFU/mL	$1.2 \times 10^3 \sim 2.2 \times 10^6$	ND	ND	ND	ND
	血液	CFU/mL	$2.0 \times 10 \sim 7.0 \times 10$	ND	ND	ND	ND
雌	肺	CFU/g	$>10^7$	$ND \sim 5.0 \times 10^2$	ND	ND	ND
	肝臓	CFU/g	$4.0 \times 10^2 \sim 3.7 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
	腎臓	CFU/g	$ND \sim 2.0 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND
	脾臓	CFU/g	$3.0 \times 10^2 \sim 5.5 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
	脳	CFU/g	ND	ND	ND	ND	ND
	気管支リンパ節	CFU/g	$ND \sim 2.5 \times 10^5$	$ND \sim 1.0 \times 10^3$	ND	ND	ND

	気管	CFU/mL	$3.0 \times 10^4 \sim 1.3 \times 10^5$	ND	ND	ND	ND
	鼻腔	CFU/mL	$ND \sim 8.7 \times 10^5$	ND	ND	ND	ND
	血液	CFU/mL	$1.0 \times 10 \sim 8.0 \times 10$	ND	ND	ND	ND

ND：コロニーは検出されなかった。

1.1.3 単回静脈内投与試験（資料 3-3）

原体を用いた単回静脈内投与試験が実施された。試験の概要（表 5）及び試験結果を以下に示す。

表 5 単回静脈内投与試験の概要

報告年・テストガイドライン・GLP	2022 年、5090 号局長通知、US EPA OPPTS 885.3200, EPA 712-C-96-318、GLP
被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)
試験動物	Sprague-Dawley 系ラット (CrI:CD(SD))、5 週齢、 体重：雄；110.7-124.3 g、雌；111.1-129.3 g 投与群；1 群雌雄各 17 匹、溶媒対照群；1 群雌雄各 2 匹
試験期間	21 日間
投与経路	静脈内
投与量	雄： 5.15×10^7 CFU/動物、雌： 8.80×10^7 CFU/動物
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無：投与後 1、3、5 時間後、その後は 1 日 1 回観察 体重測定：投与前(0 日)、投与 3、7、14、21 日後 剖検：投与直後、投与 3、7、14、21 日後 体内における生残状況：投与直後、投与 3、7、14、21 日後 血液、鼠径リンパ節、脾臓、肝臓、腎臓、脳、 小腸（十二指腸）、大腸（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、非投与群で、いずれも正常に増加した。

剖検：肉眼的な異常は認められなかった。

体内における生残性：臓器及び血液の菌数（組織 1 g 又は血液 1 mL 当たりの数（CFU/g 又は CFU/mL）で示す。）を表 6 に示す。

感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。

表 6 臓器及び血液の菌数

性別	分析試料	菌数	投与後日数				
			投与直後	3 日	7 日	14 日	21 日
雄	肝臓	CFU/g	$8.7 \times 10^5 \sim 4.3 \times 10^6$	ND	ND	ND	ND
	腎臓	CFU/g	$4.0 \times 10^2 \sim 4.6 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
	脾臓	CFU/g	$5.1 \times 10^5 \sim 1.4 \times 10^6$	ND	ND	ND	ND
	十二指腸	CFU/g	$2.0 \times 10^2 \sim 7.0 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND
	盲腸	CFU/g	$1.0 \times 10^2 \sim 1.0 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
	脳	CFU/g	$ND \sim 1.0 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
	鼠径リンパ節	CFU/g	$ND \sim 2.0 \times 10^3$	ND	ND	ND	ND
	血液	CFU/mL	$2.2 \times 10^3 \sim 2.9 \times 10^4$	ND	ND	ND	ND
雌	肝臓	CFU/g	$5.8 \times 10^5 \sim 1.3 \times 10^6$	ND	ND	ND	ND
	腎臓	CFU/g	$3.0 \times 10^2 \sim 7.0 \times 10^2$	ND	ND	ND	ND
	脾臓	CFU/g	$2.8 \times 10^5 \sim 1.1 \times 10^6$	ND	ND	ND	ND

	十二指腸	CFU/g	ND $\sim$ 3.0 $\times$ 10 ²	ND	ND	ND	ND
	盲腸	CFU/g	ND $\sim$ 2.0 $\times$ 10 ²	ND	ND	ND	ND
	脳	CFU/g	ND $\sim$ 1.0 $\times$ 10 ²	ND	ND	ND	ND
	鼠径リンパ節	CFU/g	ND $\sim$ 1.0 $\times$ 10 ³	ND	ND	ND	ND
	血液	CFU/mL	6.0 $\times$ 10 ² $\sim$ 1.4 $\times$ 10 ⁴	ND	ND	ND	ND

ND：コロニーは検出されなかった。

1.1.4 単回経皮投与試験（資料 3-4）

製剤を用いた単回経皮投与試験が実施された。試験の概要（表 7）及び試験結果を以下に示す。

表 7 単回経皮投与試験の概要

報告年・テストガイドライン・GLP	2021 年、5090 号局長通知、US EPA OPPTS 885.3100, EPA 712-C-96-316、GLP
被験物質	製剤
試験動物	日本白色種ウサギ、10 週齢、体重：1986.2-2333.7 g 投与群：雌雄各 5 匹
試験期間	14 日間
投与経路・投与量	経皮
投与量	2000 mg/体重（9.9 $\times$ 10 ¹¹ -1.2 $\times$ 10 ¹² CFU/動物）
検査項目	一般状態観察及び死亡の有無：投与後 14 日間 体重測定：投与前(0 日)、投与 7、14 日後 皮膚刺激性：投与開始 24、48、72 時間後、その後は 1 日 1 回

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。紅斑（雌雄各 2 例）
 体重：投与群、非投与群で、いずれも正常に増加した。
 皮膚刺激性：軽度の刺激性、GHS 区分外
 毒性は認められなかった。

1.1.5 眼刺激性試験（資料 3-5）

製剤を用いた眼刺激性試験が実施された。試験の概要及び結果を表 8 に示す。

表 8 眼刺激性試験の概要

報告年・テストガイドライン・GLP	2021 年、5090 号局長通知、US EPA OPPTS 885.3100, EPA 712-C-96-316、GLP
被験物質	製剤
試験動物	日本白色種ウサギ、雄、10 週齢、体重；1894.7-2065.8 g 投与群：6 匹
試験期間	7 日間
投与量	0.1g
結果の概要	角膜及び虹彩の変化は、いずれの動物にも認められなかった。結膜の変化は、発赤（評点 1）及び分泌物（評点 1）が 6 例全てに、浮腫（評点 1）が 3 例に認められたが、投与後 4 日までに全て消失した。 眼刺激性：軽度の刺激性、GHS 区分外

1.1.6 皮膚感作性試験（資料 3-6）

製剤を用いた皮膚感作性試験が実施された。試験の概要及び結果を表 9 に示す。

表 9 皮膚感作性試験の概要

報告年・テストガイドライン・GLP	2022 年、5090 号局長通知、US EPA OPPTS 885.3400, EPA 712-C-96-320、GLP
被験物質	製剤
試験動物	Hartley 系モルモット、雄、5 週齢、体重；331-376 g 投与群：10 匹、陰性対照群：10 匹
観察期間	惹起後 48 時間
投与量	2.0×10 ⁵ CFU/mL 初回感作及び惹起時：0.05ml/動物、感作 2 回目から 10 回目：0.1mL/動物
結果の概要	全ての動物において体重の変化及び皮膚反応は認められなかった。 皮膚感作性：陰性、GHS 区分外

1.2 毒性試験の結果及び考察

各毒性試験の結果の概要を表 10 に示す。非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 を用いた単回投与試験において、死亡例はなく、体重変化及び一般状態に異常は認められなかった。

単回経口投与試験において、剖検に異常はなく、投与直後から臓器、血液及び糞中に微生物は検出されなかった。

単回経気道投与試験において、投与直後及び投与 3 日後に肺に暗赤色化、赤色化又は赤色、斑が認められ、肺の炎症が示唆された。肺において、投与直後に微生物が検出されたが、投与 3 日後から検出される微生物数は減少し、投与 7 日後以降、肺から微生物は検出されなかった。その他の臓器、血液、気管及び鼻腔内においても、投与直後に微生物が検出されたが、投与 3 日後から検出される微生物数は減少し、投与 7 日後以降、微生物は検出されなかった。このことから、肺での所見は投与による影響と考えられるが、感染によるものではないと考えられた。

単回静脈内投与試験において、剖検に異常はなかった。臓器、血液及び鼠径リンパ節において、投与直後に微生物が検出されたが、投与 3 日後以降、微生物は検出されなかった。

単回経皮投与試験において、死亡例はなく、体重変化及び一般状態に異常は認められなかった。

リゾビウム属菌のうち、主に *Rhizobium radiobacter* において、免疫力が低下したヒトへの日和見感染事例の報告があるが、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 は *Rhizobium radiobacter* と種が異なること、Web of Science で検索語を「*Rhizobium vitis*」として検索した結果、人に対して有害となるような記述はなかった（資料 1-9）。ただし、根部の浸漬処理時に、薬液に直接接触れるおそれがあることから、薬剤調製及び浸漬処理の際に不浸透性手袋を着用するものとする。

以上の結果、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 に感染性、病原性、毒性及び生残性はないと考えられた。

製剤を用いた単回経皮投与試験に基づく皮膚刺激性の結果は GHS 区分外であったことから、皮膚刺激性に係る注意事項の記載は必要ないと判断した。

製剤を用いた眼刺激性試験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。

製剤を用いた皮膚感作性試験の結果は区分外であったことから、皮膚感作性に係る注意事項の記載は必要ないと判断した。また、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 について、製造、使用に際して発生した過敏性反応等の事例は報告されていない（資料 3-7）。ただし、微生物の経皮及び経気道感作性を評価する試験方法が確立されていないため、微生物には潜在的に感作性があるものとみなし、「アレルギー性反応を起こすおそれがある。」の注意事項を記載するものとする。

以上の結果、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は以下のとおり。

（１）毒性情報

アレルギー性反応を起こすおそれがある。

（２）使用に際して講ずべき被害防止方法

① 農薬使用者に係る被害防止方法

１）防護装備

[薬剤調製者]

果樹類（ぶどうを除く）、ぶどう、ばら：不浸透性手袋

[浸漬処理者]

果樹類（ぶどうを除く）、ぶどう、ばら：不浸透性手袋

２）その他の被害防止方法

該当しない。

表 10 各毒性試験の結果の概要

試験	試験系	投与量 (CFU/動物)	結果概要
単回経口	原体 ラット	雄 3.5×10^8 雌 2.6×10^8	死亡例なし。体重変化、一般状態及び剖検に異常なし。 投与直後から臓器、血液及び糞中に微生物の検出なし。 感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。
単回経気道	原体 ラット	雄 5.15×10^8 雌 5.00×10^8	死亡例なし。体重変化及び一般状態に異常なし。 投与直後：肺の暗赤色化又は赤色斑。 肺、肝臓、腎臓、脾臓、気管支リンパ節、気管、鼻腔内及び血液で微生物検出

			投与3日後：肺の暗赤色化又は赤色化 肺及び気管支リンパ節で微生物検出 感染性、病原性、毒性及び生残性は認められなかった。
単回静脈内	原体 ラット	雄 5.15×10^7 雌 8.80×10^7	死亡例なし。体重変化、一般状態及び剖検に異常なし。 投与直後：肝臓、腎臓、脾臓、十二指腸、盲腸、 脳、鼠径リンパ節及び血液で微生物 検出 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	製剤 ウサギ	9.9×10^{11} - 1.2×10^{12}	死亡例なし。体重変化及び一般状態に異常なし。 毒性は認められなかった。 軽度の刺激性が認められた。GHS区分外
眼刺激性	製剤 ウサギ	2.5×10^{10}	軽度の刺激性が認められた。GHS区分外
皮膚感作性	製剤 モルモット	1.0×10^4 （感作1回目、惹起） 2.0×10^4 （感作2～10回目）	皮膚感作性なし。GHS区分外

1.3 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、人に対する毒素の産生の報告はなく、人及び哺乳類動物に有害となるような記述はなかった（資料 1-9）。また、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 は、第一段階試験の単回経口投与試験、単回経気道投与試験、単回静脈内投与試験及び単回経皮投与試験において、感染性、病原性、毒性及び生残性は認められず、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た。

以上より、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。

2 家畜（蜜蜂等）に対する影響

2.1 ミツバチに対する影響

2.1.1 ミツバチに対する影響試験（資料 4-1）

原体を用いたミツバチ影響試験が実施された。試験結果を表 11 に示す。

20 日後の死亡率は対照区で 28.9 %、処理区で 16.7 %であった。対照区と処理区の死亡率に差は認められず、異常行動及び感染性は認められなかった。

表 11 原体を用いたミツバチ影響試験の概要

被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)																
供試生物	セイヨウミツバチ (<i>Apis mellifera</i>) 羽化後 3 日齢の成虫																
試験区	全ての処理区の溶液は 25 %ショ糖液で調製した。 処理区： 5.0×10^9 CFU/mL（最大使用濃度の 100 倍濃度） 対照区：25 %ショ糖液 1 区 30 頭、3 反復																
暴露方法	給餌投与：供試液 1 mL を入れた給餌用チップを実験用容器に設置し、自由摂取させた。 暴露開始 24 時間後には新たに調製した供試液を入れた給餌用チップと交換した。暴露開始 48 時間後に 25 %ショ糖液のみを入れた給餌用チップと交換した。																
試験期間	20 日間																
検査項目	死亡、異常行動を暴露開始 4 時間後及び毎日観察。死亡個体は希釈平板法による病理検査により農薬微生物の生存数を計測。																
結果の概要	症状観察：20 日後の死亡率は対照区で 28.9 %、処理区で 16.7 %であった。 対照区および処理区において異常行動は観察されなかった。 病理検査：被験試料摂取量 (2.8×10^8 CFU/頭) に対して農薬微生物の検出率は 0.0～5.0 %であった。 <table><tr><th rowspan="2">試験区</th><th rowspan="2">供試数 (頭)</th><th>死亡数 (頭)</th><th>死亡率 (%)</th></tr><tr><th>20 日</th><th>20 日</th></tr><tr><td>処理区</td><td>90</td><td>15</td><td>16.7</td></tr><tr><td>対照区</td><td>90</td><td>26</td><td>28.9</td></tr></table>			試験区	供試数 (頭)	死亡数 (頭)	死亡率 (%)	20 日	20 日	処理区	90	15	16.7	対照区	90	26	28.9
試験区	供試数 (頭)	死亡数 (頭)	死亡率 (%)														
		20 日	20 日														
処理区	90	15	16.7														
対照区	90	26	28.9														

2.1.2 毒性及び感染性の有無から付される注意事項

該当なし。

2.1.3 評価結果

本剤の使用方法は苗の根部又は挿し穂基部の浸漬であること、またミツバチに対する影響試験の結果からみて、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 はミツバチに対して影響を及ぼすおそれはないと判断した。

2.2 蚕に対する影響（資料 4-2）

原体を用いた蚕影響試験が実施された。試験結果を表 12 に示す。

対照区、処理区ともに実験期間中の死亡及び異常個体は認められなかった。4～5 齢経過日数、結繭蚕数、化蛹歩合、蔽重及び繭層重は処理区と対照区に差は認められず、影響は確認されなかったことから、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 は蚕に対して影響を及ぼすお

それはないと判断した。

表 12 原体を用いた蚕影響試験の概要

被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)
供試生物	蚕 (<i>Bombyx mori</i>) : 錦秋×鐘和 4 齢起蚕
試験区	供試液はイオン交換水で調製した。 処理区 : 5.0×10^8 CFU/mL (最大使用濃度の 10 倍濃度) 対照区 : イオン交換水 1 区 50 頭、2 反復
暴露方法	供試液に桑葉を浸漬処理して風乾したものを 4 齢起蚕に 24 時間摂食させ、その後は無処理葉を与え 20 日間飼育。
試験期間	20 日間
検査項目	暴露後、死亡、一般状態 (中毒症状等)、齢構成を毎日観察。暴露 20 日後に結繭蚕数、化蛹歩合、繭重、繭層重を調査。
結果の概要	4、5 齢経過日数、結繭蚕数、化蛹歩合、繭重、繭層重について処理区と対照区に差は認められなかった。対照区及び処理区において異常個体は認められなかった。 20 日後死亡率 処理区 : 0 % 対照区 : 0 %

3 その他の生物に対する影響

3.1 植物影響試験 (資料 4-3、4-4)

単子葉植物 2 科 4 種、双子葉植物 5 科 6 種を用いた試験の他、本剤の有効成分は植物病原微生物に近縁な微生物であることから、当該植物病原微生物に感受性を有する植物としてばら及びぶどうを用いた試験が実施された。

被験物質 : 原体 (2.5×10^{11} CFU/g)

供試植物 : 単子葉植物 : 小麦、たまねぎ、とうもろこし、ねぎ

双子葉植物 : かぼちゃ、キャベツ、だいず、にんじん、はくさい、ほうれんそう

植物病原微生物に感受性を有する植物 : ばら、ぶどう

試験区 : 試験物質処理区 (5.0×10^7 CFU/mL、 5.0×10^8 CFU/mL (最大使用濃度の 10 倍量) 及び対照区各区 3 反復 (3 ポット/区)

暴露方法 : 水道水で調整した供試液に根部を 24 時間浸漬処理した。

検査項目 : 処理 8 日後又は 9 日後及び 22~25 日後のいずれかに供試生物の茎葉部の影響の有無を観察した。

結果 : 植物影響試験の結果を表 13 に示す。いずれの作物においても影響は認められなかった。

表 13 植物影響試験の概要

供試作物		試験場所 実施年度	試験条件				結果
科名	種名		希釈倍数 (倍)	処理濃度* (10^7 CFU/g)	処理 時期	使用方法	
ウリ	かぼちゃ	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
アブラナ	キャベツ	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
イネ	小麦	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
マメ	だいず	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
ヒガンバナ	たまねぎ	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
イネ	とうもろこ し	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
セリ	にんじん	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
ヒガンバナ	ねぎ	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
アブラナ	はくさい	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
ヒユ	ほうれんそ う	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
バラ	ばら	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。
ブドウ	ぶどう	静岡 R3	500 5000	50 5.0	定植時	24 時間 根部浸漬	影響は認められ なかった。

3.2 昆虫に対する影響（資料 4-5～4-7）

原体を用いた昆虫影響試験が実施された。試験結果を表 14 から表 16 に示す。

供試した昆虫に死亡、異常行動は認められず、蛹化率、羽化率等への影響は認められなかった。非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 は、標的外昆虫に対して影響を及ぼすおそれはないと判断した。

表 14 原体を用いた標的外昆虫影響試験（ヤマトクサカゲロウ）の結果概要

被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)
供試生物	ヤマトクサカゲロウ (<i>Chrysoperla nipponensis</i>) 2 齢幼虫
試験区	供試液はイオン交換水で調製した。 処理区： 5.0×10^8 CFU/mL（最大使用濃度の 10 倍濃度） 対照区：イオン交換水 1 区 10 頭、3 反復
暴露方法	供試液に供試虫を約 3 秒間浸し、ペーパータオルで余分な供試液を取り除いた後、実験容器内で飼育。
試験期間	16 日間
検査項目	暴露後、死亡、異常行動、蛹化率を毎日観察。

結果の概要

処理区及び対照区において、死亡及び異常行動は認められなかった。
暴露後から蛹化までの平均日数は、処理区では 7.9 日、対照区では 7.6 日であり、処理区において発育日数に有意な延長は認められなかった（t 検定 $p>0.05$ ）。
以上のことから、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 はヤマトクサカゲロウ幼虫の生存、発育に影響を及ぼさず、病原性及び毒性を示さなかった。

試験区	供試個体数 (頭)	累積死亡率 (%)	蛹化率 (%)	蛹化までの 平均日数 (日)	観察された 異常行動
		16日間			
処理区	30	0	100	7.9	なし
対照区	30	0	100	7.6	なし

表 15 原体を用いた標的外昆虫影響試験（ウヅキコモリグモ）の結果概要

被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)
供試生物	ウヅキコモリグモ (<i>Pardosa astrigera</i>) 幼体
試験区	供試液はイオン交換水で調製した。 処理区： 5.0×10^8 CFU/mL（最大使用濃度の 10 倍濃度） 対照区：イオン交換水 1 区 10 頭、3 反復
暴露方法	供試液に供試虫を約 3 秒間浸し、ペーパータオルで余分な供試液を取り除いた後、実験容器内で飼育。
試験期間	14 日間
検査項目	暴露後、死亡、異常行動、給餌後の餌の捕食の有無を毎日観察。
結果の概要	処理区及び対照区において死亡及び異常行動は認められなかった。 餌のショウジョウバエを給餌後、処理区、対照区ともに給餌後 2 日までに全ての個体が餌を捕食した。 以上のことから、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 はウヅキコモリグモの幼体の生存、発育に影響を及ぼさず、病原性及び毒性を示さなかった。

表 16 原体を用いた標的外昆虫影響試験（ナミテントウ）の結果概要

被験物質	原体 (2.5×10^{11} CFU/g)
供試生物	ナミテントウ (<i>Harmonia axyridis</i>) 2 齢幼虫
試験区	供試液はイオン交換水で調製した。 処理区： 5.0×10^8 CFU/mL（最大使用濃度の 10 倍濃度） 対照区：イオン交換水 1 区 10 頭、3 反復
暴露方法	原体希釈液又はイオン交換水に供試虫を約 3 秒間浸し、ペーパータオルで余分な希釈液を取り除いた後、実験容器内で飼育。
試験期間	14 日間
検査項目	暴露後、死亡、異常行動、蛹化率を毎日観察。

結果の概要

処理区及び対照区において死亡及び異常行動は認められなかった。

供試虫は、対照区、処理区ともに暴露後 1 日から 2 日に全て 3 齢化し、暴露後 4 日に揃って 4 齢化した。その後、対照区では暴露後 8 日から 10 日にかけて、処理区では 8 日から 9 日にかけて全てが蛹化し、両区とも暴露後 13 日から 14 日にかけて 30 頭全てが成虫となった。

以上のことから、非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 はナミテントウ幼虫の生存、発育に影響を及ぼさず、病原性及び毒性を示さなかった。

試験区	供試個体数 (頭)	累積死亡率 (%)	蛹化率 (%)	羽化率 (%)	観察された 異常行動
		14日間			
処理区	30	0	100 (暴露後8～9日)	100 (暴露後13～14日)	なし
対照区	30	0	100 (暴露後8～10日)	100 (暴露後13～14日)	なし

3.3 土壌微生物への影響（資料 4-8）

原体を用い土壌微生物影響試験が実施された。試験結果を表 17 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。非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 は、土壌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 17 原体を用いた土壌微生物影響試験の概要

被験物質	原体 (2.5×10 ¹¹ CFU/g)					
供試土壌	畑地土壌					
試験区	処理区：3.0×10 ⁹ CFU/m ² (最大使用量の 10 倍量) 対照区：無添加 1 区 1 コンテナ、3 反復					
試験方法	120×74×20 cm のコンテナに土壌を充填し、1 区当たりの薬剤希釈液 3 L を土壌灌注し、処理後土壌混和した。					
試験期間	90 日間					
土壌のサンプリング	処理当日、処理 10、30、90 日後に、1 区当たり 4 箇所から 100 mL の土壌を採取し、それを 1 つにまとめたものを分析試料とした。					
結果の概要	細菌、放線菌及び真菌のいずれも処理区と対照区で菌数に差は認められなかった。 非病原性リゾビウム ビティス ARK-1 の菌数は、処理当日から徐々に減衰し、処理 90 日後には検出限界未満であった。					
	供試生物	試験区	処理当日	処理10日後	処理30日後	処理90日後
	細菌 (CFU/土壌mL)	処理区	3.30×10 ⁶	4.42×10 ⁶	2.87×10 ⁶	4.00×10 ⁶
		対照区	3.02×10 ⁶	4.53×10 ⁶	2.98×10 ⁶	4.27×10 ⁶
	放線菌 (CFU/土壌mL)	処理区	1.68×10 ⁶	2.26×10 ⁶	2.92×10 ⁶	2.91×10 ⁶
		対照区	1.64×10 ⁶	2.79×10 ⁶	2.87×10 ⁶	3.11×10 ⁶
	真菌 (CFU/土壌mL)	処理区	2.88×10 ⁵	2.97×10 ⁵	2.17×10 ⁵	2.37×10 ⁵
		対照区	2.33×10 ⁵	2.60×10 ⁵	2.36×10 ⁵	1.99×10 ⁵
	非病原性リゾビウム ビティス ARK-1	処理区	6.56×10 ⁴	2.44×10 ⁴	1.00×10 ⁴	ND
		対照区	ND	ND	ND	ND
ND：コロニーは検出されなかった。						

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
CIPAC	Collaborative International Pesticides Analytical Council Limited	国際農薬分析法協議会
EPA	Environmental Protection Agency	米国環境保護庁
GHS	globally harmonized system of classification and labelling of chemicals	化学品の分類および表示に関する世界調和システム
GLP	good laboratory practice	優良試験所規範
MT	miscellaneous technique	一般検査法
OPPTS	Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances	米国環境保護庁汚染防止農薬有害物質局
PCR-RFLP	Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism	ポリメラーゼ連鎖反応-制限酵素断片長多型
RT-qPCR	Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction	定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応

別添 2 評価資料一覧

1 有効成分の概要

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
1-1	2022	微生物農薬の規格性状に関する資料 クミアイ化学工業株式会社 未公表	クミアイ化学工業(株)
1-2	2005	Systematic Bacteriology Second Edition Volume Two Introductory Essays BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology Second Edition vol 2 公表	クミアイ化学工業(株)
1-3	2001	A revision of <i>Rhizobium</i> Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of <i>Agrobacterium</i> Conn 1942 and <i>Allorhizobium undicola</i> de Lajudie <i>et al.</i> 1998 as new combinations: <i>Rhizobium radiobacter</i> , <i>R. rhizogenes</i> , <i>R. rubi</i> , <i>R. undicola</i> and <i>R. vitis</i> International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 公表	クミアイ化学工業(株)
1-4	2012	New Antagonistic Strains of Non-Pathogenic <i>Agrobacterium vitis</i> to Control Grapevine Crown Gall Journal of Phytopathology	クミアイ化学工業(株)
1-5	2014	Reduction in Pathogen Populations at Grapevine Wound Sites is Associated with the Mechanism Underlying the Biological Control of Crown Gall by <i>Rhizobium vitis</i> Strain ARK-1 Microbes and Environments 公表	クミアイ化学工業(株)
1-6	2015	Biological control agent <i>Agrobacterium vitis</i> strain ARK-1 suppresses expression of the <i>virD2</i> and <i>virE2</i> genes in tumorigenic <i>A. vitis</i> Eur. J. Pl. Pathol. 公表	クミアイ化学工業(株)
1-7	1987	Determination of Rhizobitoxine and Dihydrorhizobitoxine in Soybean Plants by Amino Acid Analyzer Soil Science and Plant Nutrition 公表	クミアイ化学工業(株)
1-8	2004	Clinical and Microbiological Characteristics of <i>Rhizobium radiobacter</i> Infections Clinical Infectious Diseases. 公表	クミアイ化学工業(株)
1-9	2022	別添資料 文献検索結果 未公表	クミアイ化学工業(株)

2 製剤の概要

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
2-1	2022	物理的・化学的性状に関する試験結果報告書 クミアイ化学工業株式会社 未公表	クミアイ化学工業(株)
2-2	2022	経時安定性に関する検査結果報告書 クミアイ化学工業株式会社 未公表	クミアイ化学工業(株)

3 人に対する影響試験

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
3-1	2022	Single Oral Dose Study of KUF-1511 in Rats GLP、未公表	クミアイ化学 工業(株)
3-2	2022	Single Intratracheal Dose Study of KUF-1511 in Rats GLP、未公表	クミアイ化学 工業(株)
3-3	2022	Single Intravenous Dose Study of KUF-1511 in Rats GLP、未公表	クミアイ化学 工業(株)
3-4	2021	Single Dermal Dose Study of KUF-1511 in Rabbits GLP、未公表	クミアイ化学 工業(株)
3-5	2021	Primary Eye Irritation Study of KUF-1511 in Rabbits GLP、未公表	クミアイ化学 工業(株)
3-6	2022	Skin Sensitization Study of KUF-1511 in Guinea Pigs GLP、未公表	クミアイ化学 工業(株)
3-7	2022	製造、使用に際して発生した過敏性反応等事例に関する資料 未公表	クミアイ化学 工業(株)

4 家畜（蜜蜂等）及びその他の生物に対する影響試験

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
4-1	2021	<i>Rhizobium vitis</i> ARK-1 株の蜜蜂影響試験 株式会社エスコ 未公表	クミアイ化学工業(株)
4-2	2021	<i>Rhizobium vitis</i> ARK-1 株の蚕影響試験 株式会社エスコ 未公表	クミアイ化学工業(株)
4-3	2021	植物影響試験 クミアイ化学工業株式会社 未公表	クミアイ化学工業(株)
4-4	2021	植物影響試験 クミアイ化学工業株式会社 未公表	クミアイ化学工業(株)
4-5	2021	<i>Rhizobium vitis</i> ARK-1 株の標的外昆虫影響試験（ヤマトクサカゲロウ） 株式会社エスコ 未公表	クミアイ化学工業(株)
4-6	2021	<i>Rhizobium vitis</i> ARK-1 株の標的外昆虫影響試験（ウツキコモリグモ） 株式会社エスコ 未公表	クミアイ化学工業(株)
4-7	2021	<i>Rhizobium vitis</i> ARK-1 株の標的外昆虫影響試験（ナミテントウ） 株式会社エスコ 未公表	クミアイ化学工業(株)
4-8	2022	非病原性 <i>Rhizobiumu vitis</i> ARK-1 株 凍結乾燥製剤（KUF-1511）の土壤微生物におよぼす影響（コンテナ試験） クミアイ化学工業株式会社 未公表	クミアイ化学工業(株)