

# 新規いもち病防除剤 イソチアニル(スタウト®)の開発

住友化学株式会社

健康・農業関連事業研究所

小川 正 臣

門 脇 敦

生物環境科学研究所

山 田 智 也

門 岡 織 江

## Applied Development of a Novel Fungicide Isotianil (STOUT®)

Sumitomo Chemical Co., Ltd.

Health & Crop Sciences Research Laboratory

Masaomi OGAWA

Atsushi KADOWAKI

Environmental Health Science Laboratory

Tomoya YAMADA

Orie KADOOKA

Isotianil (STOUT®) is a novel fungicide which induces systemic acquired resistance in plants. It has excellent preventive effects at low dosages against rice blast which is one of the most serious diseases in rice. We started a study on its mixture formulation in 2005 with our insecticide, clothianidin, and in May 2010 acquired pesticide registration approval for Stout® Dantotsu® box granule and Stout® Dantotsu® box granule 08 which have excellent efficacy against rice pests and leaf blast in paddy fields. Its low phytotoxicity to rice provides us with a wide range of application timing from seeding to transplanting. These properties enable rice farmers to distribute work and to improve work efficiency. The basic property of efficacy against rice blast, granule formulation properties, and safety evaluations on animals and the environment of isotianil are reviewed in this report.

### はじめに

我が国の稲作において、いもち病 (*Magnaporthe grisea*) はイネに発生する最重要病害であり、古来より大幅な減収を度々招いてきた。いもち病の防除薬剤として、今日までに病原菌の特異作用点阻害作用を有する各種薬剤が開発されてきたが、これら薬剤は普及の拡大に伴う耐性菌発生／発達の恐れを抱えている。このため、病原菌への直接的な抗菌作用を示さず、寄主植物 (イネ) に全身獲得抵抗性 (systemic acquired resistance, SAR) を与えることで病害の発生を防除する薬剤が、近年「植物病害抵抗性誘導剤」として注目を浴びている。

今日までに国内で開発／農薬登録されたイネいもち病に対する植物病害抵抗性誘導剤として、プロベナゾール、アシベンゾラル-S-メチルおよびチアジニルが挙げられる。これら化合物はイネいもち病菌に対して直接的な抗菌作用を示さないが、処理された植物

の感染特異的タンパク質 (PR-タンパク質) の活性化およびそれらをコードする遺伝子 (PR-gene) の mRNA 増幅惹起など植物の各種抵抗性反応を誘導することが知られている<sup>1)</sup>。

このような状況を踏まえ、イネのいもち病防除剤として新たに開発された新規植物病害抵抗性誘導剤がイソチアニル (スタウト®) であり、既存の植物病害抵抗性誘導剤に比べ低薬量で長期間にわたり効果が持続し、種々の処理方法にも適応できることが大きな特長である。本稿では、その基本的性質、防除特性、製剤物性、安全性、動植物代謝および環境挙動などについて紹介する。

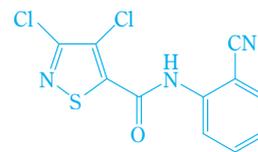
### 開発の経緯

イソチアニル (isotianil) は、ドイツ・Bayer AG (現 Bayer CropScience AG) により一連のイソチアゾール系化合物の検索から創製された化合物である。既知の

イネいもち病に対する植物病害抵抗性誘導剤と同様に、植物病原糸状菌および細菌に対して直接的な抗菌作用は無く、植物自身を持ついもち病菌に対する防御機能を活性化作用（植物病害抵抗性誘導）を示すと推定している。我が国では、2003年より住友化学(株)およびBayer CropScience AGの日本法人バイエルクロップサイエンス(株)がそれぞれイソチアニルのイネいもち病に対する薬量、施用方法および製剤化に関する社内検討を開始し、既存の植物病害抵抗性誘導剤と比較して低薬量で同等以上の防除効果があることを解明した。また施用方法として、稲体への散布処理および経根処理（種子処理、育苗箱処理および本田での湛水散布）の検討を行った結果、経根処理でより薬量（環境負荷）の低減が図れることが明らかとなった。その後、両社（住友化学(株)およびBayer CropScience社グループ）は2005年にイソチアニルの農薬登録に向けた共同開発に合意し、それぞれS-2310（住友化学(株)）およびBYF1047（バイエルクロップサイエンス(株)）の有効成分開発コードを用いて各種安全性評価および薬効・薬害試験を進めてきた。

### 物理化学的性状

イソチアニルは既存の植物病害抵抗性誘導剤であるプロベナゾール、アシベンゾラルーS-メチルおよびチアジニルのいずれとも異なり、イソチアゾール環を持つことが構造的な特徴である（Fig. 1）。浸透移行性を有する剤としては、LogPowが比較的高く、水溶解度も低い。この性質により低薬量で処理しても環境中に失われる成分のロスが少なく、安定した防除効果を持続することを可能としている。

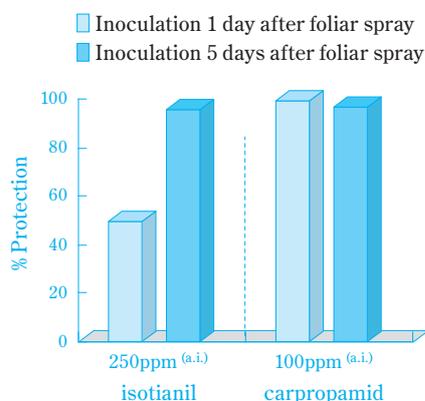


Common name : isotianil  
 IUPAC name : 3,4-dichloro-2'-cyano-1,2-thiazole-5-carboxanilide  
 Molecular formula : C<sub>11</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>OS  
 Molecular weight : 298.15  
 Appearance : White powder  
 LogPow : 2.96 (25°C)  
 Solubility in water : 0.5 mg/L (20°C)  
 Vapor pressure : 2.36×10<sup>-7</sup>Pa (25°C)

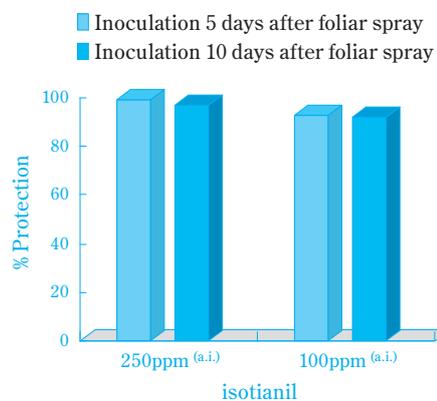
Fig. 1 Chemical and physical properties of isotianil

### 作用機作

イソチアニルは *in vitro* で培地を用いた試験において、イネいもち病菌、白葉枯病菌を始めとする病原糸状菌および細菌に対する抗菌活性を示さなかった（Table 1）。しかし、ポットおよび圃場試験においては、寄主植物を介することによってこれら病害に防除効果を示した<sup>2),3)</sup>（Table 2）。散布試験において、イソチアニルは散布1日後よりも5日後接種の方が防除効果は高く、効果の発現までには数日が必要と考えられた<sup>2),3)</sup>（Fig. 2）。イソチアニル処理は、いもち病菌接種の有無に関わらず、イネ葉身内の植物病害抵抗性関連酵素であるリポキシゲナーゼ、フェニルアラニンアンモニリアーゼ、キチナーゼ活性を亢進させた<sup>4)</sup>（Table 3）。遺伝子レベルの研究も徐々に進み、WRKY45を始めとする病害抵抗性関連遺伝子を誘導することも解明されつつある。以上のことから、イソチアニルの病害防除作用機作は植物病害抵抗性誘導剤であると考えられた。



Plant: Rice plant (2-3 leaf stage) cv. Koshihikari  
 Rice plants were inoculated with a spore suspension of *M. grisea* 1 or 5 days after foliar spray. Disease area was observed 7 days after inoculation.



Plant: Rice plant (2-3 leaf stage) cv. Koshihikari  
 Rice plants were inoculated with a spore suspension of *M. grisea* 5 or 10 days after foliar spray. Disease area was observed 7 days after inoculation.

Fig. 2 Efficacy against leaf blast on rice by foliar spray/Pot test<sup>3)</sup>

(C) Pesticide Science Society of Japan, reproduced with the permission. (Further reproduction is prohibited without permission.)

**Table 1** Antimicrobial spectrum

Filamentous fungus	Antifungal activity	Bacteria	Antibacterial activity
<i>Alternaria mali</i>	-	<i>Acidovorax avenae avenae</i>	-
<i>Aspergillus niger</i>	-	<i>Burkholderia glumae</i>	-
<i>Botrytis cinerea</i>	-	<i>Clavibacter michiganensis michiganensis</i>	-
<i>Gibberella zeae</i>	-	<i>Erwinia carotovora carotovora</i>	-
<i>Phytophthora cryptogea</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Magnaporthe grisea</i>	-	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachlymans</i>	-
<i>Pythium aphanidermatum</i>	-	<i>Xanthomonas campestris</i>	-
<i>Rhizoctonia solani</i>	-	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>citri</i>	-
<i>Septoria tritici</i>	-	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>pruni</i>	-
<i>Ustilago avenae</i>	-	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	-

Spore suspension of fungi except for hyphal fragments of *P. cryptogea*, *P. aphanidermatum* or *R. solani* was inoculated to potato dextrose broth containing isotianil at 0.1-100 ppm. Two days after incubation, light transmittance of the medium was measured for evaluation of antifungal activity.

Bacteria were incubated on potato dextrose agar containing isotianil at 500 ppm and incubated for 2 days. The diameter of colony was measured and an antibacterial activity was evaluated.

Efficacy +++ : 100-80% control ++ : 79-70% + : 69-50% (Virus : 69-20%) - : 50% >

**Table 2** Efficacy against plant diseases<sup>3)</sup>

(C) Pesticide Science Society of Japan, reproduced with the permission. (Further reproduction is prohibited without permission.)

Target crops	Target Diseases	Pathogen	Efficacy
Rice	Rice blast	<i>Magnaporthe grisea</i>	+++
	Sheath blight	<i>Rhizoctonia solani</i>	-
	Bacterial leaf blight	<i>Xanthomonas. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	+++
	Brown spot	<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	-
	Seedling blight	<i>Rhizopus chinensis</i>	-
Wheat	Powdery mildew	<i>Blumeria graminis</i> f.sp <i>tritici</i>	+++
	Yellow spot	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	-
Potato	Late blight	<i>Phytophthora infestans</i>	-
Cucumber	Downy mildew	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	-
	Anthracoise	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	+++
	Bacterial spot	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachlymans</i>	+++
Pumpkin	Powdery mildew	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	++
Strawberry	Anthracoise	<i>Glomerella cingulata</i>	++
	Powdery mildew	<i>Sphaerotheca aphansis</i>	+
Eggplant	Powdery mildew	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	+
Tomato	Powdery mildew	<i>Oidiopsis sicula</i>	+
	Late blight	<i>Phytophthora infestans</i>	+
Soybean	Purple stain	<i>Cercospora kikuchii</i>	-
Chinese cabbage	Alternaria leaf spot	<i>Alternaria brassicae</i>	++
	Bacterial soft rot	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	-
Citrus	Melanose	<i>Diaporthe citri</i>	-
Tobacco	Spotted wilt	TSWV (tomato spotted wilt virus)	+

Foliar spray to a plant in a pot or a field. Spray concentration : 100-250ppm

Efficacy +++ : 100-80% control ++ : 79-70% + : 69-50% (Virus : 69-20%) - : 50% >

**Table 3** Effect of isotianil and pathogen infection on enzyme activities

Chemicals	With/without inoculation of <i>M. grisea</i>	POX*	LOX	PPO	PAL	CHT
isotianil	No	-	↑↑	-	↗	↗
	Yes	-	↑↑	-	-	-
probenazole	No	-	↗	-	↑	-
	Yes	-	↗	-	↗	-
untreated	Yes	-	↗	-	↓	-

Ratio to untreated and no-inoculation control < 0.5; ↓, 0.5-1.9; -, 2-3.9; ↗, 4-7.9; ↑, 8 <; ↑↑

\* POX : Peroxidase, LOX : Lipoxygenase, PPO : Polyphenol oxidase, PAL : Phenylalanine ammonia-lyase, CHT : Chitinase

Isotianil was mixed with water culture medium at 5 ppm.

A spore suspension of *M. grisea* was sprayed to the foliage of rice 5 days after application.

Leaves were collected and assess enzyme activity over time.

## イソチアニルの特長

### 1. 低薬量で高い防除効果を発現

育苗箱施用の模擬ポット試験により、イソチアニルの葉いもちに対する防除効果を処理薬量別に検討した結果、単位面積当たりの有効成分量が0.5~2.0g a.i./箱（育苗箱20枚/10a換算で10~40g a.i./10a）で既存の植物病害抵抗性誘導剤12.0g a.i./箱（同左：240g a.i./10a）と同等の防除効果を示した（Fig. 3）。実用場面における試験例では、イソチアニル1.0~1.5g a.i./箱の育苗箱施用により、対照の植物病害抵抗性誘導剤（12g a.i./箱）と同等の高い葉いもち防除効果を示した（Fig. 4）。

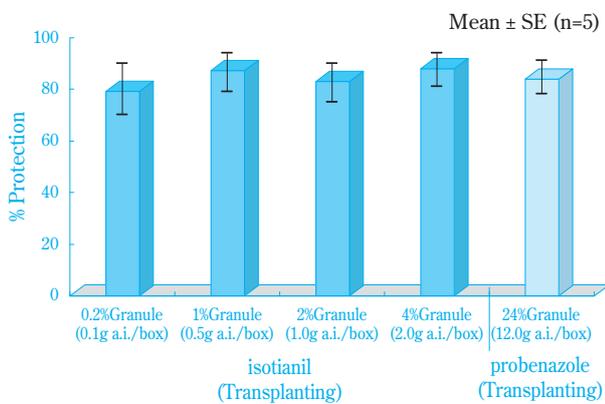


Fig. 3 Efficacy against leaf blast on rice in pots

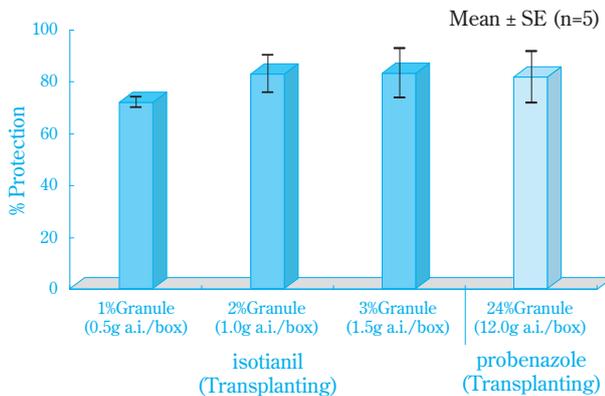


Fig. 4 Efficacy against leaf blast on rice in paddy field<sup>3)</sup>

(C) Pesticide Science Society of Japan, reproduced with the permission. (Further reproduction is prohibited without permission.)

現在、農薬登録されたイソチアニル剤は、単位面積当たりの有効成分量が20~30g a.i./10aであるのに対し、既存抵抗性誘導剤であるプロベナゾール、チアジニルではそれぞれ100~240g a.i./10a、120~180g a.i./10aである。このように、イソチアニルは低薬量で優れた葉いもち防除効果を示すと同時に、環境中へ

の負荷が既存剤に比べて少ない<sup>5)</sup>。

### 2. 各種処理方法に対応可能

現在、開発が進められている多くの水稲箱処理剤は、田植え間際の繁忙期（畦畔の除草作業、代掻き、施肥管理、トラクターや田植え機等のメンテナンス、育苗箱や本田の水管理など）での作業を分散化することを目的に、その処理適期を従来の移植3日前から緑化期あるいは播種時処理へ拡大される傾向にある。イソチアニルについても、これら多くの処理方法に対応すべく、移植当日処理に加え、播種時覆土前処理、播種前の培土（床土・覆土）混和処理による適用性について検討を加えた結果、いずれの処理方法においても高い葉いもち防除効果を示すことが明らかとなった（Fig. 5）。また、育苗期間中および移植後のイネの生育にも悪影響を及ぼすことなく、一製剤で播種前から移植当日までの幅広い処理適期幅で使用が可能となり、労力の分散に寄与できるものと考えている。また、近年では播種作業と同時に育苗箱施用が可能となる施薬機が多くの機械メーカーより開発・上市されており、これら施薬機との併用により、一連の播種作業工程の中で薬剤処理が可能となり、大幅な省力化が図れる<sup>6)</sup>。

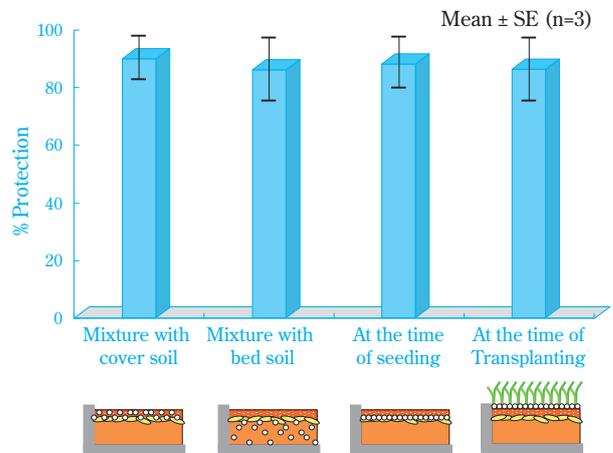
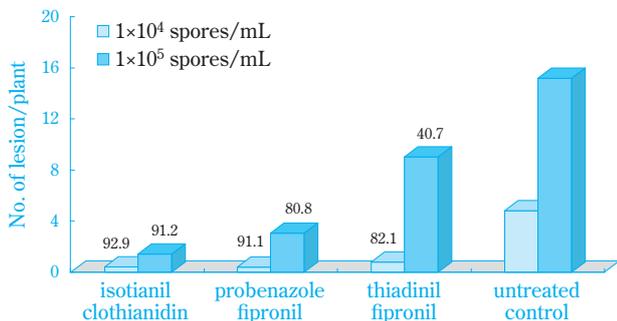


Fig. 5 Efficacy of isotianil against leaf blast with different application timings

### 3. 防除効果の安定性

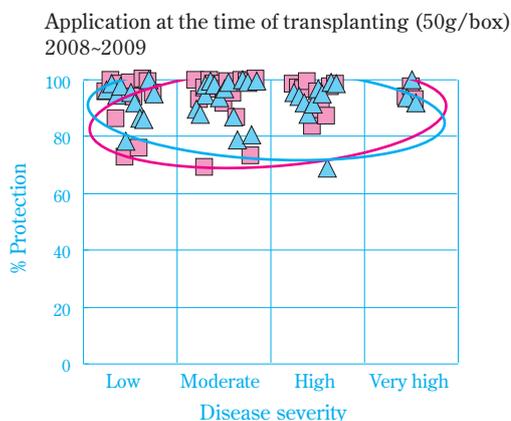
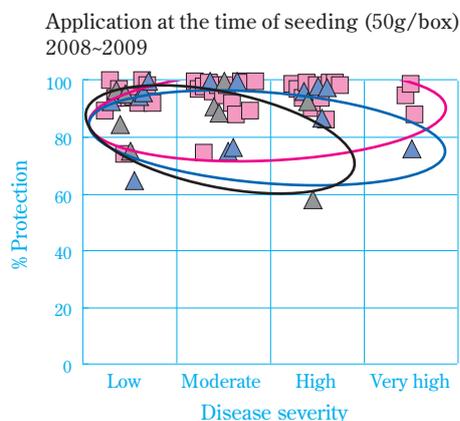
いもち病の発生は、外的要因（気象要因、環境要因、肥培管理など）に大きく左右される。葉いもちの発病条件によりイソチアニルの効果が左右されるか否かを検証するため、圃場試験により感染圧と葉いもち防除効果の関係について検討を行った。移植30日後のイネに $1 \times 10^4$ 個から $1 \times 10^5$ 個/mLのいもち病胞子懸濁液を噴霧接種した結果、イソチアニルが処理されたイネでは両接種圧ともに株当たりの病斑数が低く抑制され、高い防除効果が確認された（Fig. 6）。また、

2008年から2009年にかけて実施されたイソチアニル粒剤に関する特別連絡試験のデータを解析すると、北海道から九州までの試験結果より播種時、移植時処理と



The number above each bar indicates the protection value

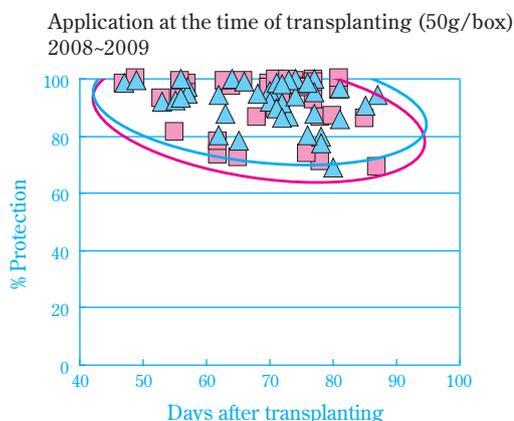
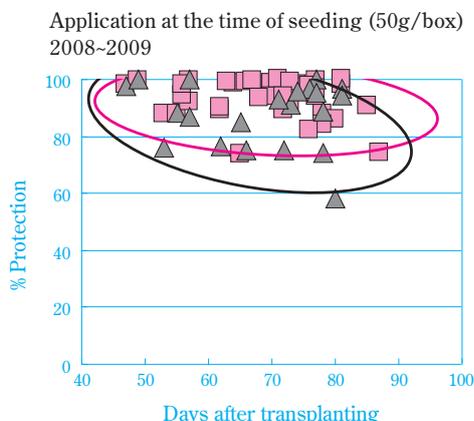
**Fig. 6** Efficacy against leaf blast with different inoculation pressure



The contour in each graph is bivariate density ellipse ( $p=0.95$ ). All statistical analyses were carried out with JMP software version 5.0.1J (SAS Institute, Tokyo, Japan).

■ isotianil2% GR (at the time of seeding or transplanting)  
 ▲ probenazole · fipronil GR (at the time of transplanting)  
 ▲ probenazole · fipronil GR10H (at the time of seeding)  
 ▲ probenazole · fipronil GR6 (at the time of seeding)

**Fig. 7** Efficacy against leaf blast on rice after transplanting to the paddy field (Efficacy and disease severities of untreated control)



The contour in each graph is bivariate density ellipse ( $p=0.95$ ). All statistical analyses were carried out with JMP software version 5.0.1J (SAS Institute, Tokyo, Japan).

■ isotianil2% GR (at the time of seeding or transplanting)  
 ▲ probenazole · fipronil GR (at the time of transplanting)  
 ▲ probenazole · fipronil GR6 (at the time of seeding)

**Fig. 8** Long-lasting efficacy against leaf blast on rice after transplanting to the paddy field.

もに少発生から甚発生へのいずれの発病条件においても安定した葉いもち防除効果が確認されている (Fig. 7)。これらの結果より、イソチアニルはいもち病の発生様相に大きく左右されることなく、安定した葉いもち防除効果を有する薬剤であると考えられる。

#### 4. 防除効果の持続性

いもち病は、それぞれの地域における栽培環境の違いにより、イネの生育や進展状況が異なるため、必要とされる防除効果の持続性は地域により大きく異なる。

しかしながら、2008年から2009年にかけて日本国内各地で実施されたイソチアニル粒剤に関する特別連絡試験の結果からは、播種時、移植時処理ともに地域を問わず優れた葉いもち防除効果が得られることが明らかとなっている (Fig. 8)。従って、イソチアニルを育

苗箱処理した場合、通常のいもち病発生年であれば、日本全土を通じて、葉いもちの感染期間をほぼカバーする防除効果の持続性があるものと考えられる。

5. イネに対する安全性

イネに使用される既存の植物病害抵抗性誘導剤は、過剰に投与した場合や極端な気候条件下において、下位葉の黄化や生育抑制などの薬害を引き起こすことが知られている。

イソチアニルは2003年から2010年の8年間に亘り、住友化学(株)およびバイエルクロップサイエンス(株)の両社で多くの諸条件を想定した薬害試験を積み重ねてきた。主要品種（コシヒカリ、ヒノヒカリ、あきたこまち等）、主要培土（ゼオライト培土、びわこ培土、ノバテロン等）との相性、省力化や軽量化に向けた育苗方法（プール育苗、ロックウール育苗等）、健苗育苗に向けた種子消毒剤（プロクロラズ・オキシロニック酸SE、チウラム・ベノミル水和剤等）や灌漑処理剤（ベノミル水和剤、ベノミル・TPN水和剤等）との体系または併用処理など、種々の条件について検討を繰り返した結果、実用的に問題となり得る薬害症状は認められなかった<sup>7-9)</sup> (Table 4)。稀に黄化や早期出穂、葉身の褐色斑点など、老化が促進されたような症状が認められることがあるが、そのような場合においてもイネの生育および収量に悪影響は認められない。2003年から2006年までに各地で行った、病害虫の影響を排除した条件での収量調査においても、褐色斑点などが認められた事例が含まれているが、いずれの試験においても無処理区と収量に有意差は認められなかった<sup>5)</sup>。

6. いもち病以外のイネ主要病害に対する防除効果

イソチアニルは白葉枯病 (*Xanthomonas campestris* P.v. *oryzae*)、ごま葉枯病菌 (*Cochliobolus miyabeanus*) による穂枯れ、もみ枯細菌病 (*Pseudomonas glumae*) に対しては多くの圃場試験実績があり既に農薬登録を

Table 5 Efficacy of isotianil against diseases on rice

Target Diseases	Efficacy	Developmental status
Bacterial leaf blight	Excellent	Registered (May 19, 2010)
<i>Helminthosporium blight</i> (Panicle)	Good-Excellent	Registered (Nov. 10, 2010)
Bacterial grain rot ( <i>P.glumae</i> )	Good-Excellent	Registered (Nov. 10, 2010)
Bacterial seedling rot ( <i>P.glumae</i> )	Good	Under evaluation
Bacterial seedling blight	Good	Under evaluation
Bacterial palea browning	Good	Under evaluation
Bacterial foot rot	Poor	None
Sheath blight	Poor	None

取得している。本剤の植物病害抵抗性誘導作用は、これら病害の他、もみ枯細菌病による苗腐敗症、苗立枯細菌病 (*Pseudomonas plantarii*) および内穎褐変病 (*Erwinia herbicola*) などの難防除病害と位置付けられている細菌性病害に対しても防除効果を示し、適用拡大に向けた開発検討を進めている (Table 5)。

7. 育苗期に発生するいもち病に対する効果

育苗期に発生するいもち病は、種子伝染性の苗いもちと空気感染による葉いもちに分類される。植物病害抵抗性誘導剤は薬剤処理から植物に病害抵抗性が発現するまでに数日を要することが知られている。イソチアニルを播種時処理した場合、これら育苗期のいもち病に対しても時間の経過とともに防除効果を発現し、その程度は既存の植物病害抵抗性誘導剤には優るものの、ジクロシメットや種子消毒剤などの基幹防除剤には劣る (Fig. 9, Fig. 10)。従って、育苗期でのいもち病を防除するためには、①種子更新の徹底、②罹病していない健全種子の使用、③塩水選の実施、④育苗時に育苗ハウス内やその周辺に伝染源となる被害藁や殻殻を放置しないことが重要である<sup>10)</sup>。

Table 4 Phytotoxicity on rice plant

Chemicals	Application timing	Application weight	Results of several trials			
			Germination	Nursery box Foliage	Nursery box Root growth	Paddy field Foliage
isotianil 2% granule	Sowing*2	50g/box	-*1	-	-	-
		100g/box	-	-	- ~ ±	- ~ ±
	Transplanting	50g/box		Not Tested		-
		100g/box				- ~ ±

\*1 -: No phytotoxicity, ±: Slight phytotoxicity, +: Severe

Rice cultivar: Koshihikari, Hinohikari, Kinuhikari, Nihonbare, Akitakomachi

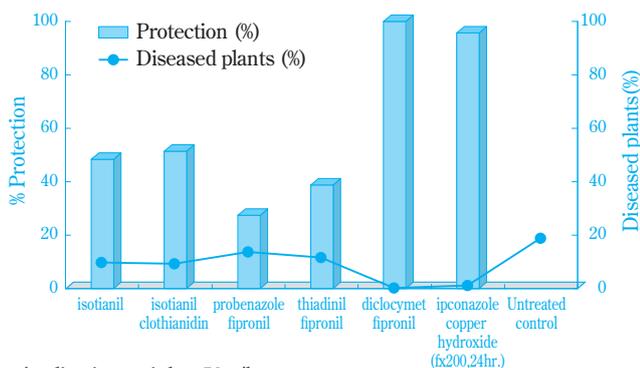
Bed soil : zeolite soil, biwako-baido2, Nobateron, Inaho-baido, Honen-baido, Biosumi

Seeding : Nursery box, Nursery box on a tray filled with water, rock wool used as a bed soil, Karukaru-new-line

Additional treatment : Seed treatment (Prochloraz · oxolinic acid, Ipconazole-C, Benomyl · thiuram)

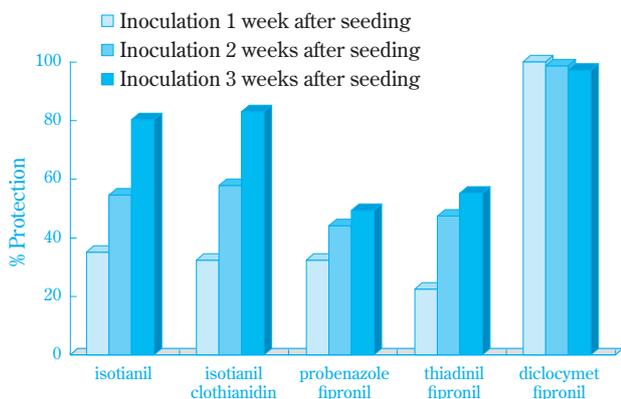
: Soil drench in a nursery box (Benomyl, Benomyl · TPN, Hymexazol · metalaxyl)

\*2 Application at the time of seeding before cover with soil, Mixture with bed soil, Mixture with cover soil



Application weight : 50g/box

**Fig. 9** Efficacy against seed-borne leaf blast in nursery box



Application weight : 50g/box

**Fig. 10** Efficacy against leaf blast in nursery box with an application at the time of seeding

### 8. 穂いもちに対する効果

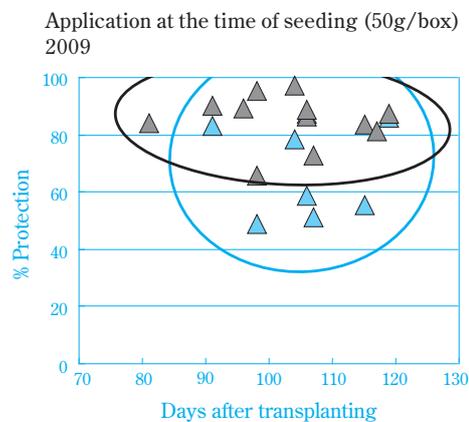
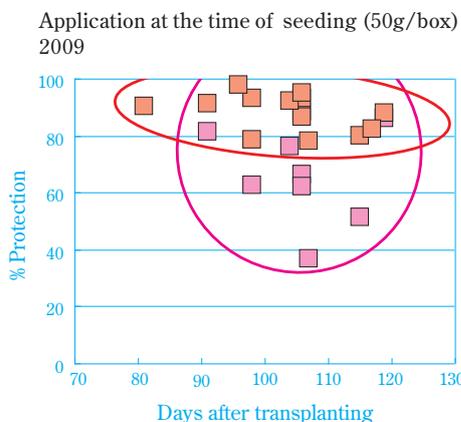
過去に実施した住友化学(株)およびバイエルクロップサイエンス(株)による社内試験および社団法人日本植物防疫協会主催の新農薬実用化試験を見る限り、イソチ

アニルを含めた植物病害抵抗性誘導剤は、穂いもちに十分な防除効果を示すとは言えない。これは穂の組織内では病害抵抗性誘導の系が十分に働いていないためと推測される。2009年に実施したイソチアニル粒剤に関する特別連絡試験の結果を見る限り、イソチアニルの箱処理により多くの試験例で防除効果が認められているが、これは葉いもち防除により穂への感染源を減少させた結果により得られた効果であると推定される。イソチアニルと穂いもち防除剤を体系処理することにより、優れた穂いもち防除効果が認められた (Fig. 11)。葉いもちが多く発生した年には隣接圃場からの病原菌の飛び込みも多くなることから、穂いもちの罹病率も上がる懸念がある。このような場合には、穂いもちを対象とする薬剤との体系防除が必要であると考えられる<sup>11)</sup>。

### 適用病害と使用方法

スタウト®ダントツ® (イソチアニル2.0%・クロチアニジン1.5%) 箱粒剤およびスタウト®ダントツ® (イソチアニル2.0%・クロチアニジン0.8%) 箱粒剤08の適用病害虫と使用方法をTable 6、Table 7に示した。

混合箱粒剤の軸であるスタウト®ダントツ®剤については、ダントツ® (クロチアニジン<sup>12), 13)</sup> の含量の違いによりスタウト®ダントツ®箱粒剤とスタウト®ダントツ®箱粒剤08の2種類があり、対象となる害虫種により使い分けができる。共に2010年5月19日付けで農薬登録 (50g/育苗箱、播種時覆土前~移植当日) を取得した後、2010年5月20日付けの追加申請により、同年11月10日付けで適用病害虫の拡大および播種前の培土混和 (床土・覆土) 処理の登録も取得した。両剤ともに水稻の主要病害であるいもち病、白葉枯病および広範囲の主要害虫を対象に、播種前から移植直前のど



The contour in each graph is bivariate density ellipse ( $p=0.95$ ). All statistical analyses were carried out with JMP software version 5.0.1J (SAS Institute, Tokyo, Japan).

■ isotianil 2%GR  
 ■ isotianil GR + Foliar spray  
 ▲ probenazole 24% or 20%GR  
 ▲ probenazole GR + Foliar spray

**Fig. 11** Efficacy against panicle blast with nursery box application and foliar spray

**Table 6** Directions for use (isotnil 2.0% · clothianidin 1.5%GR)

Target crops	Target Pests & Diseases	Application weight	Application timing	Number of application	Application method
rice (nursery box)	rice blast	50g/box	Sowing (before cover with a soil) ~ Transplanting	1	Drop granule uniformly from above in a nursery box
	bacterial leaf blight				
	rice water weevil		Before Sowing		Mixture with bed soil or cover soil in a nursery box.
	rice leaf beetle				
planthoppers	Three days before transplanting ~ Transplanting	Drop granule uniformly from above in a nursery box			
green rice leafhopper					
	green rice caterpillar				
	rice stem borer				
	rice leafminer				

Registration situation as of Nov. 10, 2010.

**Table 7** Directions for use (isotnil 2.0% · clothianidin 0.8%GR08)

Target crops	Target Pests & Diseases	Spray volume	Application timing	Number of application	Application method
rice (nursery box)	rice blast	50g/box	Sowing (before cover with a soil) ~ Transplanting	1	Drop granule uniformly from above in a nursery box
	bacterial leaf blight				
	rice water weevil		Before Sowing		Mixture with bed soil or cover soil in a nursery box.
	rice leaf beetle				
	planthoppers				

Registration situation as of Nov. 10, 2010.

の時期でも処理が可能であり、処理時期に関わらず優れた病害虫防除効果を発揮する。

尚、既存の植物病害抵抗性誘導剤の中では、播種前から田植えまでの期間に同じ製剤が使用できる初めての剤であり、農作業の省力化・効率化に貢献できると考えている。

## 分析法・製剤

### 1. 分析法

イソチアニル原体の有効成分は、カラムに ODS 系カラム、移動相に水・アセトニトリル・リン酸（500：500：1）を用いる液体クロマトグラフィー内部標準法で正確に精度よく分析できる。また、原体中の不純物は、同じカラムを用いる液体クロマトグラフ法等により分析が可能である。

### 2. 製剤

処方検討におけるポイントは、朝露によるイネの汚れや薬剤の過剰溶出によって引き起こされる薬害を避けるため、水中に投下しても粒の形状が変化しない、非崩壊型の粒剤とすること、および、最も薬害の出やすい施用場面である播種時処理においても、イネに対して安全性が高く、且つ、長期の持続性を担保できる製剤原料を選抜して粒剤化することであった。これらについては、

実験室と圃場によるスクリーニング評価を実施し、上述した性能を有する製剤処方を確認することができた。また、確立した処方の製剤につき保存安定性を確認したところ、有効成分、物理性ともに問題ないことがわかった。なお、イソチアニルについては、水に対する溶解度が低いことから、薬効・薬害面および製造面を考慮し、数 $\mu\text{m}$ 程度に微粉碎したものをを用いることとした。

工業化検討においては、効率よく製造できる製造プロセスを確認することが重要ではあるが、得られた製品が全て目標とした品質を有するものでなければならない。今回開発した箱粒剤に求められる主要な物理的特性として、施用時のハンドリング性能が挙げられる。箱粒剤は、特に農家の規模によって施用方法が異なり、手で撒く場合もあれば、市販の施薬機を用いて撒くケースもある。手撒きの場合は、ある程度以上の粒数と容量があれば見た目の均一性を確保できるが、施薬機を用いる場合は、これに加えて、ホッパーから製剤を滞ることなく連続的に供給する必要がある。これらの状況から、施薬機内での流動性も考慮せねばならないため、特に粒の形状を制御することが重要となる。今回開発した箱粒剤は押し出し造粒により製造しているので、粒長の制御、特に、長粒の混入比率をできるだけ少なくなるように製造プロセスを仕上げる必要がある。参考までに、以下に施用手段の違いについて説明する。水稻箱粒剤の散布は、Fig. 12のように、30cm×60cmの育苗箱に50gの農

薬製剤を田植え間際に処理するのが一般的である。しかしながら、中～大規模農家にとっては数百～数千枚の育苗箱に処理する必要がある、田植え間際の繁忙期には極めて重労働となる。Fig. 13に、全自動播種機による一般的な播種作業工程の写真を示した。育苗箱を写真左側から挿入し、順に、床土、施肥、灌水、播種、覆土の5つの行程をへて育苗箱が完成する。育苗箱は連続的に挿入され、機種毎にスピードは異なるが、概ね200～1500箱／時間でセットすることができる。Fig. 14に、一般的に使用されているホッパー部の拡大写真、Fig. 15に施肥時の写真を示した。ここに事前に一定量計量された箱粒剤が投入され、ホッパー出口に備え付けられた開口部（開口度は調節可能）から粒が自然落下



Fig. 12 Application to nursery box

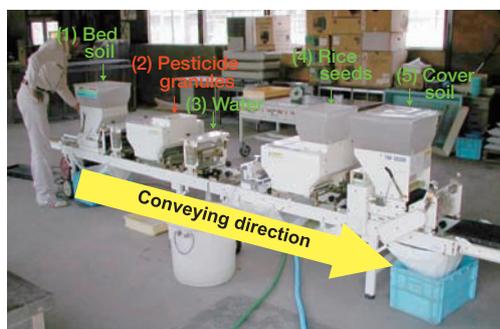


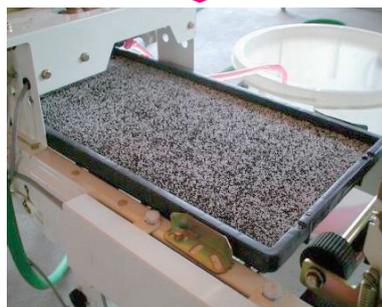
Fig. 13 Automatic sowing system for nursery box



Fig. 14 Feed hopper unit for applying pesticide granules onto nursery box



Granules falling from the feed hopper unit onto bed soil.



Granules applied uniformly on bed soil.

Fig. 15 Granular application part of automatic sowing system for nursery box (STOUT®DANTOTSU® box granule was used)

する仕組みになっている。問題になりやすいのがホッパー内でのブリッジングや開口部での排出不良であり、この原因のほとんどが長粒の多量混入によるものである。そもそも粒剤は、粉剤や水和剤と異なり、使用者等が粉塵に暴露されることを低減させる狙いも併せ持つことから、押し出し造粒の場合、その前工程の練合工程では、十分な硬度を付与すること、および、工程内での微粉の発生を抑制することを目的とし、よく練合した上で造粒することが多い。しかしながら、練合しすぎると長粒の生成率は高くなってしまいうことから、添加する練合水と練合時間の最適化が製造プロセスの重要なポイントの一つとなる。また、整粒工程においても長粒の制御は可能であるが、整粒強度を高くしすぎると、粒が破碎される際に発生する微粉が増加してしまうので、品質が劣化するだけでなく、工程での製品収率も低下してしまう。これらのことを踏まえた上で、製造工程内で考えられるパラメーターをそれぞれ調整して最適化することにより、これら箱粒剤については、高い製造効率および製品収率の製造プロセスを確立することができた。この製造プロセスで得られた製品の代表的な物理化学的性状をTable 8に示した。硬度（ボールミルによる微粉発生率）はいずれの製剤も1%以下と硬く、1190 $\mu\text{m}$ 以上の粒も存在しなかった。Fig. 15の通り、粒は均一に散布されており、連続稼働も実施したが、ホッパーにてブリッジングや詰まりが発生することはなかった。社団法人

**Table 8** Physical properties of STOUT®DANTOTSU® box granule and STOUT®DANTOTSU® box granule 08

Properties	STOUT®DANTOTSU® Box Granule	STOUT®DANTOTSU® Box Granule 08
clothianidin content	1.5%	0.80%
isotianil content	2.0%	2.0%
Appearance	Whitish fine granule	Whitish fine granule
Bulk Density	0.92	0.91
Moisture	0.6%	0.5%
Hardness	0.6%	0.6%
pH	9.4	9.4
Disintegrability in Water	No disintegration	No disintegration
Granule Number	984/g	974/g
Granulometry		
> 1190µm	0%	0%
500~1190µm	99.8%	99.8%
< 500µm	0.2%	0.2%

人日本植物防疫協会主催の新農薬実用化試験においてもハンドリング面で特に問題はなく、薬効および薬害防止の面においても良好な結果が得られている。

以上のように、新規殺菌剤のイソチアニルを含有する箱粒剤の開発にあたっては種々の課題があったものの、いずれも解決し、良好な品質を有し、且つ、安定供給できる箱粒剤の処方および工業化プロセスを確立することができた。

## 毒性・代謝・残留

### 1. 哺乳動物毒性

#### (1) 急性毒性、刺激性および皮膚感作性

イソチアニル原体ならびに3%粒剤の急性経口、経皮、吸入毒性試験において、用いた投与量で死亡や毒性症状の発現はなく、急性毒性はいずれも弱かった（Table 9）。ウサギの目に対する刺激性を調べたところ、

イソチアニル原体では実際上刺激性はなく、3%粒剤ではごく軽度の刺激性を示した。一方、皮膚に対しては原体・3%粒剤ともに刺激性はなかった。イソチアニル原体はMaximization法で皮膚感作性を示したが、3%粒剤はBuehler法で陰性であった。

#### (2) 亜急性、慢性毒性および発癌性

亜急性および慢性毒性試験の結果（Table 10）、イソチアニル原体の投与により体重の増加抑制が認められたものの神経症状など特記すべき毒性症状の発現はなく、毒性影響は主に胃、肝臓および腎臓に認められた。ラットにおいて前胃の境界部における粘膜上皮の過形成が観察され、別途検討の結果、本剤は当該粘膜上皮細胞に対する細胞増殖亢進作用を有することが明らかになった。しかしながら、その影響には閾値が存在し、また腫瘍性変化に至るものではなかった。ヒトには前胃がないこと、ヒトやイヌの食道はラットの前胃と類

**Table 9** Acute toxicity summary of isotianil

Study	Species	Dose	Result
<i>isotianil TG</i>			
Acute oral	rat	2000 mg/kg	LD <sub>50</sub> > 2000 mg/kg
Acute dermal	rat	2000 mg/kg	LD <sub>50</sub> > 2000 mg/kg
Inhalation	rat	5000 mg/m <sup>3</sup>	LC <sub>50</sub> > 4750 mg/m <sup>3</sup> of air (4-hour, nose only exposure)
Eye irritation	rabbit	0.043g (0.1mL)/eye	Practically non-irritant
Skin irritation	rabbit	0.5g/skin	Non-irritant
Skin sensitization	guinea pig		Sensitizer
<i>isotianil granule (3.0%)</i>			
Acute oral	rat	2000 mg/kg	LD <sub>50</sub> > 2000 mg/kg
Acute dermal	rat	2000 mg/kg	LD <sub>50</sub> > 2000 mg/kg
Eye irritation	rabbit	0.1g /eye	Minimally irritant
Skin irritation	rabbit	0.5g/skin	Non-irritant
Skin sensitization	guinea pig		Non-sensitizer

**Table 10** Subacute and chronic toxicity summary of isotianil TG

Species	Administration route and duration	Dose (ppm)	NOAEL (mg/kg/day)
Rat	Oral (in diet), 13 weeks	20, 500, 2500, 20000	500ppm (Male: 29.7, Female: 35.1)
Rat	Oral (in diet), 12 months	60, 600, 6000, 20000	60ppm (Male: 2.83, Female: 3.70) < 2000ppm
Rat	Oral (in diet), 24 months	2000, 6000, 20000	(Male: < 79.2, Female: < 105) No carcinogenicity
Dog	Oral (in diet), 13 weeks	500, 2000, 8000	500ppm (Male: 12.2, Female: 13.4)
Dog	Oral (in diet), 12 months	200, 1000, 5000/3000	200ppm (Male: 5.22, Female: 5.33)
Mouse	Oral (in diet), 18 months	70, 700, 7000	7000ppm (Male: 706, Female: 667) No carcinogenicity

似の組織学的構造を有すると言われており<sup>14)</sup>、イソチアニル原体の投与によりイヌの食道では影響がなかったことから、ヒトで同様の所見が見られる懸念は実質上ないと考えられた。また肝臓への影響として、イヌ及びラットともに、肝臓重量の増加や肝機能異常を示唆する血中パラメーターの変動が認められ、組織学的には小葉中心性あるいはびまん性の肝細胞肥大、イヌでは加えて胆管増生が見られた。しかし、肝細胞の変性や壊死、腫瘍性変化は見られなかった。腎臓への影響として、腎臓重量の増加や尿細管腔拡張がイヌ及びラットにおいて認められた。これらの肝臓及び腎臓への影響については閾値が認められた。発癌性に関しては、ラット及びマウスにおいて諸器官組織に腫瘍の発生頻度の有意な増加は認められず、発癌性はなかった。

(3) 生殖・発生毒性

ラットではガイドラインの上限投与量（1000 mg/kg/day）で、ウサギでは母動物に対して体重増加抑制が認

められた同用量で、いずれも胚・児致死作用及び催奇形性は認められなかった。尚、ウサギでは母動物への1000 mg/kg/dayの投与で胎児に体重増加抑制が認められた。ラットを用いた繁殖試験では、1000ppm以上のF1児動物において体重増加抑制が認められたが、繁殖能に対する影響は認められなかった（Table 11）。

(4) 遺伝毒性

ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来細胞を用いた*in vitro*染色体異常試験およびマウス小核試験を実施した結果、いずれも陰性であった（Table 12）。

2. 動物・植物代謝

(1) 動物代謝

イソチアニルは、ラット体内で速やかに代謝され、<sup>14</sup>Cを指標にした各組織中の半減期は10～100時間であり、特定の組織に残留する傾向は認められなかった。

**Table 11** Developmental and reproductive toxicity summary of isotianil TG

Study	Species	Administration route and duration	Dose	NOAEL (mg/kg/day)	
Developmental toxicology	Rat	Oral (gavage) Days 6-19 of gestation	100, 300, 1000 (mg/kg/day)	Maternal Fetal	Systemic NOAEL: 1000 Developmental NOAEL: 1000
		Oral (gavage) Days 6-27 of gestation		Maternal Fetal	Systemic NOAEL: 300 Developmental NOAEL: 1000 300
Two-generation reproductive toxicology	Rat	Oral (in diet) Male: 10 week before mating to termination (18 weeks) Female: 10 week before mating to weaning (18weeks)	50, 1000,10000 (ppm)	Parental Offsprings	Systemic NOAEL: 50 ppm (Male: 3.35, Female: 4.16) Reproductive NOAEL:10000 ppm (Male: 662, Female: 831) Systemic NOAEL:50 ppm (Male: 3.35, Female: 4.16)

**Table 12** Mutagenicity summary of isotianil TG

Study	Study design	Results
Reverse mutation (Ames test)	<i>S. typhimurium</i> : TA98, TA100, TA102, TA1535 and TA1537 -/ +S9 mix: 16–5000 µg/plate	Negative
<i>In vitro</i> chromosomal aberration	Chinese hamster V79 cells -/ +S9 mix: 7–28 µg/mL	Negative
Micronucleus	CD-1 mice (8-week old) 500, 1000, 2000 mg/kg (orally twice)	Negative

イソチアニル及び代謝物の体外への排泄は投与後48時間目までにほぼ完了し、主要排泄経路は糞であった。主な代謝反応は以下の通り：①フェニル基の水酸化、②アミド結合の開裂、③抱合反応（グルクロン酸抱合及び硫酸抱合）。代謝及び体内動態に性差は認められなかった。胆汁排泄試験の結果から、経口投与されたイソチアニルのラットにおける体内吸収率は72.5～85.9%であった。

## (2) 植物における代謝

<sup>14</sup>C標識イソチアニルをイネに1回育苗処理し、引き続き2回田面水処理すると、稲体においてアミド結合の開裂を受け、生成した代謝物は広範囲に渡る代謝を受けて低分子化合物またはCO<sub>2</sub>となってグルコース分子に取り込まれ、さらにセルロースや澱粉などの植物構成成分に取込まれると推定された。

## 3. 環境挙動および残留

### (1) 水中における分解

<sup>14</sup>C標識イソチアニルは滅菌緩衝液中pH 4で安定であったが、pH 7およびpH 9ではアミド結合の開裂により、それぞれ半減期60.8～71.4日及び53.7～55.0日で分解した。また、光照射下、自然水及び蒸留水に<sup>14</sup>C標識イソチアニルを添加すると、それぞれ半減期7.4～9.4日及び7.9日（東京春の太陽光換算値）で速やかに消失し、アミド結合の開裂を含め広範囲に光分解を受け（半減期：1.8～2.3日）、最終的には<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>まで無機化された。

### (2) 土壌中における代謝

<sup>14</sup>C標識イソチアニルを好気湛水条件下の水田土壌に処理して25℃暗条件で保存すると、水層及び土壌層でそれぞれ半減期0.3～3.3日及び69.3～92.4日で消失し、系全体では半減期61.9～73.7日で消失した。イソチアニルはアミド結合の開裂を経て脱塩素化された後、さらに分解を受け、最終的には<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>まで無機化されるか、残渣として土壌に強固に結合すると考えられた。

### (3) 土壌残留

茨城および高知の2ヵ所の水田圃場にイソチアニル

3%粒剤を1 kg/10 aの割合で計3回水面施用したところ、最高残留値は0.38～2.30 mg/kgであり、消失半減期は0.5～13日であった。

### (4) 土壌移行性

フロイントリッヒ吸着等温式をもとに求めたイソチアニルの土壌有機炭素吸着係数K<sub>Foc(ads)</sub>は497～1596 mL/gであった。

### (5) 水中残留

イソチアニル3%粒剤を1 kg/10 aの割合で水田ライシメーターに1回水面処理したところ、最高残留値は0.036～0.042 mg/Lであり、消失半減期0.8～3.3日で速やかに減少した。

### (6) 作物残留

イソチアニル3%粒剤を50 g/箱の割合で育苗箱処理1回、および1 kg/10 aの割合で本田水面処理を1週間間隔で2回実施した時の玄米中のイソチアニルの最高残留濃度は0.08 ppmであった。また、稲藁中の最高残留濃度は0.84 ppmであった。

### (7) 乳汁への移行性

乳牛にイソチアニルを27 mg/頭/日の割合で連続7日間経口投与したところ、投与中及び最終投与5日後までの乳汁中のイソチアニル濃度は、全期間中、定量限界未満（<0.01 ppm）であった。

## 4. 非標的生物に対する影響

水生生物、鳥類における試験結果をTable 13に要約した。

### (1) 水生生物に対する影響

水生生物に対するイソチアニル原体の急性毒性は弱く、コイ96時間LC<sub>50</sub>、オオミジンコ48時間EC<sub>50</sub>および淡水緑藻72時間EC<sub>50</sub>はいずれも>1.0 mg/L（水溶解度を踏まえた試験最高濃度）であった。

また、イソチアニル3%粒剤の急性毒性も弱く、コイ96時間LC<sub>50</sub>、オオミジンコ48時間EC<sub>50</sub>および淡水緑藻72時間EC<sub>50</sub>はいずれも>1000 mg/Lであった。

### (2) 鳥類に対する影響

イソチアニル原体のコリンウズラにおける強制経口投与での急性LD<sub>50</sub>は、>2250 mg/kgであった。

以上より、イソチアニルは哺乳動物に低毒性であり、長期にわたって摂取したとしても発癌性・催奇形性および繁殖性など次世代への悪影響はないと考えられる。また、環境中での挙動および非標的生物に対する影響の弱さから、安全な使用が可能であると考えられる。

**Table 13** Eco-toxicological summary of isotianil on non-target organisms

Test substance	Test species	Test type	Results
isotianil TG	Carp	Acute (96 hr)	LC <sub>50</sub> > 1.0 mg/L
	<i>Daphnia magna</i>	Acute (48 hr)	EC <sub>50</sub> > 1.0 mg/L
	Green alga*	Acute (72 hr)	EC <sub>50</sub> > 1.0 mg/L
	Bobwhite quail	Acute oral	LD <sub>50</sub> > 2250 mg/kg
isotianil granule (3.0%)	Carp	Acute (96 hr)	LC <sub>50</sub> > 1000 mg/L
	<i>Daphnia magna</i>	Acute (48 hr)	EC <sub>50</sub> > 1000 mg/L
	Green alga*	Acute (72 hr)	EC <sub>50</sub> > 1000 mg/L

\*: *Pseudokirchneriella subcapitata*

## おわりに

イソチアニルはその原体特性から、種々の処理方法、処理時期にも適応できる利便性の高い薬剤である。また、植物病害抵抗性誘導剤としては非常に低薬量（有効成分量として20~30g/10a）でイネいもち病に対し長期間の防除効果を持続し、土壌残留や非標的生物に対する影響も問題がないことから、環境負荷の少ない薬剤といえる。

本稿の内容は、住友化学(株)とバイエルクロップサイエンス(株)の共同開発の過程で得られた知見に基づいてとりまとめたものである。2010年5月19日付けで農薬登録を取得した、2製剤（スタウト®ダントツ®箱粒剤、スタウト®ダントツ®箱粒剤08）はいずれも、上記の利点を最大限に活かした汎用性の高い製剤であり、効率的・省力的ないもち病防除資材として、広く、長く愛用されることを我々は期待している。少子・高齢化や後継者不足の問題が山積する中で、我が国の稲作は益々厳しさを増していくものと考えられるが、農家の作業実態や栽培技術の変遷、水稲病害虫の発生動向を見据えながら、より稲作栽培に貢献できるよう更なるイソチアニル含有製品の開発を続けていきたいと考えている。

## 謝辞

イソチアニル剤の実用性評価および多くのご助言を頂いた社団法人日本植物防疫協会、各道府県・独立行政法人、大学等の試験研究機関の方々には深く感謝するとともに、なお一層のご指導とご鞭撻をお願いしたい。

## 引用文献

- 1) 有江 力, 仲下 英雄, 植物防疫, **61** (10), 531 (2007).
- 2) 佐久間 晴彦, 新木 康夫, 田中 桂子, 金原 太郎, 今西 欣也, 執行 拓宇, 久地 井 豊, 小川 正臣, 石川 亮, 沢田 治子, 日本植物病理学会報, **74**, 267 (2008).
- 3) 佐久間 晴彦, 第26回農薬生物活性研究会シンポジウム講演要旨, **1** (2009).
- 4) 久池 井 豊, 新木 康夫, 佐久間 晴彦, 日本植物病理学会報, **75**, 216 (2009).
- 5) 沢田 治子, 2008年度(社)日本植物防疫協会主催シンポジウム「農薬による病害虫防除対策の新たな展開」講演要旨別冊 (2008).
- 6) 小川 正臣, 浦川 素良, 住友化学, **2004-I**, 31 (2004).
- 7) 小川 正臣, 佐久間 晴彦, 沢田 治子, 石川 亮, 日本植物病理学会報, **74**, 267 (2008).
- 8) 小川 正臣, 久池 井 豊, 石川 亮, 北日本病害虫研究会報, **61**, 261 (2010).
- 9) 小川 正臣, 久池 井 豊, 木村 教男, 石川 亮, 第62回北陸病害虫研究会 講演要旨 (2010).
- 10) 小川 正臣, 石川 亮, 平成23年度日本植物病理学会大会 プログラム・講演要旨予稿集, **62** (講演番号: 134) (2011).
- 11) 石川 亮, EBC (Evidence-based-Control) 研究会誌, **6**, (2010).
- 12) 采女 英樹, 高延 雅人, 赤山 敦夫, 横田 篤宜, 水田 浩司, 住友化学, **2006-II**, 20 (2006).
- 13) Y. Ohkawara, A. Akayama, K. Matsuda and W. Andersch, *British Crop Protection Council Conference-Pests and Diseases*, **51** (2002).
- 14) D. Proctor, N. Gatto, S. Hong and K. Allamneni. *Toxicol. Sci.*, **98**, 313 (2007).

PROFILE



小川 正臣  
*Masaomi OGAWA*

住友化学株式会社  
健康・農業関連事業研究所  
主席研究員



山田 智也  
*Tomoya YAMADA*

住友化学株式会社  
生物環境科学研究所  
上席研究員  
獣医学博士



門脇 敦  
*Atsushi KADOWAKI*

住友化学株式会社  
健康・農業関連事業研究所  
主席研究員



門岡 織江  
*Orië KADOOKA*

住友化学株式会社  
生物環境科学研究所  
主席研究員