

微生物農薬の製造技術



企業レポート

森下 康行*

Production technology for biopesticides

Key Words : biopesticide, biocontrol, fermentation

1. はじめに

人口増加に伴う食糧危機が叫ばれて久しい。今世紀半ばには人口が100億人に到達すると予想されているが、仮に100億人の人類が40年間食べていくには、過去1万年間に生産されてきた食糧の累積量よりも多くの食糧を生産しなければならないと言われている¹⁾。

人類の食糧生産性の維持・向上には、もはや農薬による病虫害防除は切っても切り離せない必須の技術であるが、化学農薬に耐性を示す病原菌・害虫の出現や、欧米諸国に特筆される化学農薬への規制強化、消費者の食の安全に対する関心の高まりといった背景から、近年では生物・天然物を利用した農薬にますます注目が集まっている。

米国の生物農薬業界団体である Biopesticide Industry Alliance の報告によると、2014年の農薬全体の世界市場規模843億ドルのうち、生物・天然物系は22億ドルを占め、成長率は年率で10%を超える。さらにそのうち約6億ドルが、生きた微生物を有効成分とする『微生物農薬』の世界市場規模とされる。一方、日本における微生物農薬の市場規模は約23億円(平成25農薬年度、出荷ベース)、成長率は前年比5%増と、海外での急速な伸びを考えるとやや見劣りのする数字である²⁾。

日本での市場拡大が遅れている原因はいくつか考

えられるが、効果面、コスト面で化学剤に対抗できる製剤を開発・製造する難度が高いことがそのひとつと思われる。当社ではこれまでに、複数の微生物農薬の開発・製造を手がけてきた。今後日本での新規微生物農薬の登録が増えることを祈りつつ、本レポートでは開発および製造の流れと、考慮されるべきポイントについて、簡単に紹介したい。

2. 原体の選定

農薬の有効成分、いわゆる「原体」となる微生物菌株の選定が、最初にして最大のハードルである。優れた微生物菌株の取得には、優れたスクリーニング系の構築が必須である。

一般に、微生物農薬の防除効果は、微生物による空間や栄養分の占有、病原菌の細胞壁を分解する酵素の分泌、抗生物質の生産、病原菌や害虫への寄生、作物の生育促進および抵抗性誘導等に依っているとされる³⁾。スクリーニングの初期段階ではこれらの特性比較が有効であろう。より高次の段階では化学農薬同様、ターゲットとなる病害と作物を用いて、実際の施用に近い形での評価を行うこととなる。

注意すべき点は、製品化の成否には活性本体(微生物そのものや、その代謝物等)の培養生産性と保存安定性が強く影響することである。効果は非常に優れていながら生産性や保存安定性の問題で開発を断念したシーズを、これまでに数多く目の当たりにしてきた。効率的な開発には、あらかじめこれらの評価を組み込んだスクリーニング系の構築を行うべきだろう⁴⁾。

3. 製剤の開発

基本的に微生物の死滅に繋がるような製剤組成や製剤化工程が使用できないという制限はあるが、化学農薬同様、用途に応じて様々な剤形を検討する余



* Yasuyuki MORISHITA

1980年10月生
大阪大学大学院 工学研究科 (2006年)
現在、出光興産株式会社 アグリバイオ
事業部 アグリバイオ技術課
修士 培養生産
TEL : 029-847-0513
FAX : 029-847-0514
E-mail : yasuyuki.morishita@idemitsu.com

地がある。

微生物が複数の形態を取りうる場合、製剤に含有させる微生物の形態選定も重要だ。糸状菌であれば一般に菌糸の状態よりも有性胞子や分生子、厚膜胞子等の方が生存性に優れるため、これらが利用されるケースが多い。細菌の場合では、Bacillus 属等の芽胞菌が利用される例が非常に多い。芽胞を使えば非常に高い保存安定性が得られる上、製造工程に熱のかかる工程を組み込むこともできる。最初から芽胞菌に絞ったスクリーニングを行うという選択肢も十分あるだろう。

製剤組成による効果やその安定性の底上げも検討されるべき要素だ。施用直後に菌の発芽・増殖を促進するような物質を、製剤中に予め含有させるのも有効な手段と考えられる。その一方で、製剤中での微生物の発芽・増殖は早期の死滅に繋がるケースが多いため、乾燥剤を加えて水分を除去したり、逆に微生物の活動を抑制する物質を含有させたりといった手段も考えられる。

4. 製造用種菌の維持・管理

製品化を目指す上で、大規模に安定製造できる工程の設計が必須である。

微生物の大規模製造において注意すべき点は、培養行為そのものがある種の選択圧となりうることだ。仮に、有用な性質（たとえば抗生物質の生産能）を失った結果増殖に関わるエネルギー効率が向上した変異個体が発生した場合、大規模培養において野生型を駆逐して増殖するような現象が起こりうる。

このような問題の発生を最小限とするには、菌株自体の安定性も重要だが、製造に用いる種菌の作成法（培養・後処理・保管条件）の検討や、作成した種菌の品質管理（培養安定性・生産性、効果の確認等）、さらには培養工程の各段階での品質検査の徹底が必要となる。

5. 菌体の形態形成と大量培養方法

微生物の培養には、大きく液体培養と固体培養に分けられるが、目的とする微生物およびその形態に応じた選択が求められる。

糸状菌の有性胞子、分生子の形成には、一般に固体培養が有利である⁵⁾。固体培養に重要な要素として、培養容器、培養基質、培養基質の厚さ、培地の

水分量、温度、種培養の条件等が挙げられる。培養基質については、コスト抑制のため、食品系やその他のバイオマス系原料を主とするケースが多い。米、麦、大豆、糠、ふすま等が代表例だろう。栄養組成、水分の保持性、通気性、価格、加工性等の面を考慮して選抜されるべきであるが、複数の基質を組み合わせや、糖、有機酸、窒素源、ミネラル等の添加によって、生産性を大幅に改善させられる場合がある。菌株に応じた最適化が重要である。培養容器、培養基質の厚さは通気性、水分の保持性に影響するだけでなく、発酵熱の発散性にも大きく影響する。生産効率を考えるとできるだけ培養容器を大きく、培地を厚くしたいところではあるが、基質温度が増殖や形態形成の悪影響とならない範囲に調整する必要がある。冷却パイプや強制通気等により、培地中の温度を管理する手法もあるだろう。

細菌の培養は、液体培養が主流と考えられる。液体培養の利点は培養環境をほぼ均一に、比較的容易に制御できる点だろう。培養装置の大型化による製造効率の向上も期待しやすい。芽胞菌の場合には、菌体の増殖だけでなく、効率よく芽胞形成させるための条件についても検討が必要となる⁶⁾。一般に、栄養源の枯渇やオートインデューサーの蓄積が芽胞形成のトリガーとなりうるが、各種ミネラルの濃度や培地中のC/N比、溶存酸素濃度等も芽胞形成率に大きく影響しうる。あくまでも菌株に応じた最適化が必要である。

6. 菌体の回収

固体培養物や培養液等をそのまま製剤に用いることができれば効率的だが、製剤設計上、培養担体からの菌体の分離・濃縮が必要となるケースがある。

糸状菌の固体培養物から胞子を回収する手法として、湿式または乾式での篩別処理が考えられる。湿式の中でも、水系での回収は、胞子に発芽誘導がかかって歩留まりが低下したり、保存安定性が低下したりといった影響が懸念される。油脂回収の場合は、胞子の吸水によるダメージを防げるが、油脂からの胞子の分離が難しくなるため、製剤組成に制限が生じる可能性がある。乾式での回収では、たとえば振動篩を使う方法が考えられるが、胞子が非常に軽いために飛散し、回収効率が低下することが懸念される。以上のような課題を解決するために、当社では

円筒式の攪拌篩を用いることで非常に効率的に胞子を回収する方法を確立している⁷⁾。

液体培養物から菌体を回収する場合は、遠心分離や濾過膜などでの濃縮や、凍結乾燥、スプレードライなどでの乾燥が有効な手段となりうる。

7. 製剤加工

目的とする剤形に応じ、混合、粉碎、造粒、懸濁等の工程を組み合わせることで工程を組むことになるが、微生物農薬において注意すべき点は、加工による微生物への悪影響をできるだけ排除することである。熱や圧力、剪断力だけでなく、各種物質や水分等による生理的な刺激が、有効成分である微生物の歩留まりを悪化させる要因となりうる。

8. 品質管理

培養から製剤化までの工程の中で、適宜検査を行い、品質に異常がないことを確認する必要がある。検査項目としては、目的とする防除活性、生菌濃度、雑菌・病原菌・ファージ等による汚染の有無、その他の物理化学的性状等となる。

生菌濃度に関しては、希釈平板法を用いるケースが多い。ただし高濃度の胞子や芽胞等は、凝集により分散が非常に難しくなるケースがあるため、精度向上には微生物やその製剤に適した希釈法の調整が必要である。希釈液への界面活性剤の添加や、超音波処理による凝集物の解砕などが例として挙げられる。

9. おわりに

冒頭に述べた通り、世界的な微生物農薬開発の盛り上がりと比べると、日本における微生物農薬の開発はまだまだ盛んとは言いがたい。今後、微生物農薬がより広く認知され、使用されるようになるためにも、より多くのメーカーにより、より優れた、より多くの新規剤が開発されることが期待される。

- 1) スティーブン・エモット, “世界がもし 100 億人になったなら”, 2013
- 2) (社)日本植物防疫協会, “農薬要覧— 2014 —”, 2014
- 3) J. M. Junaid, N. A. Dar, T. A. Bhat, A. H. Bhat, M. A. Bhat, *International Journal of Modern Plant & Animal Sciences*, 1, 2, 39-57 (2013)
- 4) P. Slininger, R. Behle, M. Jackson, D. Schisler, *Neotropical Entomology*, 32, 2, 183-195 (2003)
- 5) S. Bhargav, B. P. Panda, M. Ali, S. Javed, *Chemical & Biochemical Engineering Quarterly*, 22, 1, 49 – 70 (2008)
- 6) S. M. S. Monteiro, J. J. Clemente, M. J. T. Carrondo, A. E. Cunha, *Advances in Microbiology*, 4, 444-454 (2014)
- 7) 特開 2013-42742

