

BT 剤の殺虫活性に及ぼす紫外線の影響とその軽減方法について

元株式会社クボタ ^{あさ}浅野 ^{しよ}昌 ^し司
 農業生物資源研究所 ^{みや}宮本 ^{かず}和 ^{ひさ}久

はじめに

昆虫病原微生物（ウイルス、細菌、カビ、微胞子虫、線虫）は、その種によっても異なるが、それらの生存および生物活性に及ぼす太陽光線、特に紫外線（UV）の影響の大きいことが知られている（IGNOFFO, 1992）。昆虫病原細菌の一種 *Bacillus thuringiensis* (Bt) が生産する結晶性蛋白トキシシン（以下、Bt トキシシン）を有効成分とする、いわゆる BT 剤（鮎沢, 1986）は、UV によって Bt トキシシンの生物活性が消失しやすく、実際に BT 剤の利用場面では残留活性の短い点が問題になる。その欠点を補う目的で、種々の UV 保護剤の利用が報告されているが（浅野・宮本, 2007）、実用化されたものはほとんどない。

BT 剤に対する UV の影響を野外条件で評価する場合は、季節や、天候、時刻等の変動要因が大きく、野外試験では再現性のある結果を得るのが難しい。それに代わる室内照射試験について、筆者らは、光源の種類、照射検体の形状、検体との照射距離および照射時間、照射前および照射後の検体の生物活性の検定とその評価方法等について検討した（浅野ら, 2008）。現在、この方法を用いて BT 剤に対する UV の影響を軽減できる物質の探索を進めている（浅野ら, 2007; 2008; 2009）。今回は室内照射試験と野外試験の結果をもとに、BT 剤に対する UV の影響とその軽減方法について考えてみたい。

I 室内照射方法による BT 剤に対する UV の影響評価

BT 剤に対する UV の影響を室内で評価する方法について検討する際、筆者らは、その方法が、①簡便であること、②再現性があること、③結果が数値で比較できること、を念頭に置いた。検討の結果、光源は市販の UVB 蛍光ランプ（波長 290 ~ 360 nm, ピーク 306 nm）、照射検体は懸濁液（1 l）、検体表面と光源との距離は

5 cm、照射時間は 2 ~ 96 時間、生物検定昆虫はカイコ 2 齢幼虫とした。そして UV の影響評価は検体投与 2 ~ 3 日後の幼虫体重増加量から算定した発育阻害率をもとに照射前の活性に対する相対活性を求めた。すなわち、照射時間との関係から計算した半減期、および一定時間後の相対活性比の比較により実施した（浅野・宮本, 2007; 浅野ら, 2007）。以下、この方法を用いて行った結果をもとに議論を進める。

II 市販 BT 剤の製品間における紫外線に対する安定性の比較

I 章で述べた室内照射方法を用いて、市販 BT 剤 6 製品について、紫外線に対する安定性を比較した（浅野ら, 2009）。横軸に照射時間を、縦軸に相対活性の対数値をプロットすると、傾きは異なるが、いずれの製品も直線回帰が得られた（図-1）。そしてその傾きが大きい製品ほど UV に対する安定性が低いことが示された。この回帰直線式から求めた各製品の半減期および照射 4 日後の相対活性（表-1）をもとに紫外線に対する安定性を比較すると、UV に対する安定性が低い順から、トアロー水和剤 CT、バシレックス水和剤、ダイポール水和剤、デルフィン顆粒水和剤、エスマルク DF およびゼンターリ顆粒水和剤となり、安定性の最も低いトアロー水和剤 CT と安定性の最も高いゼンターリ顆粒水和剤の間には、半減期で約 7 倍、照射 4 日後の相対活性で約 100

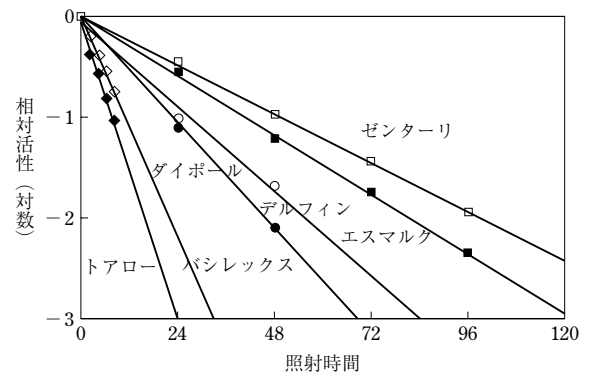


図-1 UV 照射による各種 BT 剤の生物活性の低下

Influence of Ultraviolet (UV) on the Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* Product and Some Proposals for Reducing the Inactivation by UV. By Shoji ASANO and Kazuhisa MIYAMOTO

(キーワード: BT 剤, 殺虫活性, 紫外線 (UV))

表-1 市販 BT 剤 6 製品のカイコに対する生物活性と紫外線に対する安定性の比較

BT 剤	生物活性 ^{a)}	紫外線に対する安定性	
	EC ₅₀ (ppm)	半減期 (日)	照射 4 日後の相対活性
トアロー水和剤 CT	11	2.2	< 0.0001
バシレックス水和剤	11	3.2	< 0.0001
ダイポール水和剤	4.3	6.5	< 0.0001
デルフィン顆粒水和剤	1.8	8.7	0.00047
エスマルク DF 水和剤	1.7	13	0.0045
ゼンターリ顆粒水和剤	1.2	15	

^{a)} カイコ 2 齢幼虫に対する発育阻害活性。

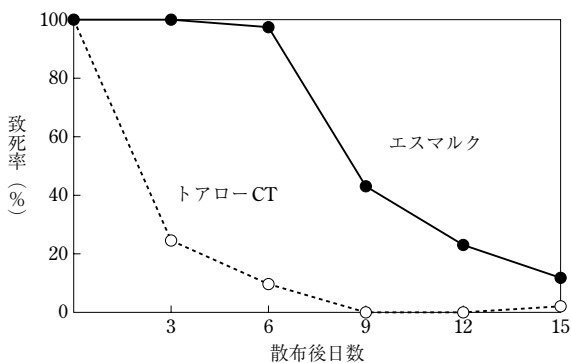


図-2 BT 剤を散布した桑葉のカイコに対する残留活性

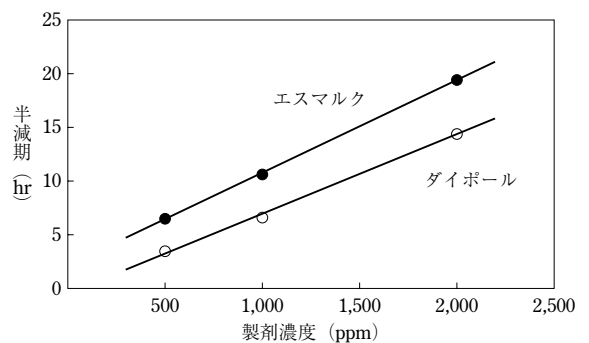


図-3 BT 剤懸濁液中の製剤濃度と半減期の関係

倍以上の差があった。実際に野外条件でも同様なことがあるかどうかを確かめるため、トアロー水和剤 CT およびエスマルク DF を鉢植えの桑に散布して、散布後の残留活性をカイコ 2 齢幼虫の致死率で調べた結果 (図-2)、室内試験と同様な傾向が得られたので、他の製剤についても同様であると予想される。また、表-1 には検定した BT 剤 6 製品のカイコに対する 50% 発育阻害濃度 (EC₅₀) を示したが、EC₅₀ と半減期の関係は EC₅₀ が小さいほど半減期が長くなる傾向を示した。

III BT 剤に対する UV の影響を軽減する方法

UV の影響を軽減する方法について、既存の BT 剤と今後開発される新規 BT 剤に分けて考えてみる。

(1) 既存の BT 剤について

1) 散布時の気象

BT 剤の散布は、UV の少ない時期や、時刻を考慮することにより、UV による影響をある程度軽減することができる。天候のよい日の UV は午前 10 時～午後 2 時ごろに最も強いので、BT 剤の散布はこの時間帯を外し、

できれば午後 2 時以降～夕方までの間に行うか、UV が弱い曇天に行くことが望ましい。これは消極的な方法ではあるが、実際にすぐ利用できるものである。

2) 希釈時の BT 剤の濃度

上記の室内照射方法を用いてダイポール水和剤およびエスマルク DF の希釈濃度と半減期の関係について調べた (図-3)。その結果、希釈液の BT 剤濃度が高いほど半減期が長くなる傾向が示された。それ故、BT 剤の散布にあたっては希釈倍数の少ない、つまり BT 剤の濃度が高いほうを選ぶと UV に対する安定性は増大することが示唆された。無論 BT 剤の使用における希釈と散布量はあらかじめ製品ラベルに記載された使用基準に従うことになるので、農家の判断で勝手に変更することは許されないが、希釈倍数に幅がある場合にはこの点を留意して、高いほうの濃度を選び、散布量を減らすことにより、UV の影響の軽減ができると考えられる。

3) 展着剤の選択

同様な室内照射試験を用いて、市販の展着剤 16 種について、UV の BT 剤に対する影響を軽減できるかどうかを調べた結果、3 種類の展着剤に保護効果のあること

表-2 数種展着剤のUV保護効果

展着剤	添加濃度 (%) と相対活性比 ^{a)}	
	0.1	0.01
スプレースチッカー	6.4 ± 2.0 (3)	1.4 ± 0.3 (3)
新グラミン	3.8 ± 1.0 (3)	1.5 ± 0.7 (3)
ニーズ	4.1 ± 0.7 (3)	0.36 ± 0.09 (3)

^{a)} 相対活性比 = BT 剤 (エスマルク DF, 500 ppm) ・展着剤混合物の相対活性/BT 剤単独の相対活性, 平均値 ± 標準偏差 (反復数).

が認められた (表-2)。表中の相対活性比は展着剤を添加しない場合と、添加した場合との比で、添加しないものに比べて UV による活性低下が何倍抑制されたかを示しており、数値が高いほど抑制効果が高い。これらの展着剤については今後野外での十分な検証が必要と考えているが、有用性が確かめられればすぐに利用できる方法になると考えている。また、同じ試験で用いた展着剤の中には、添加しない場合に比べ、添加することにより BT 剤に対する UV 線の影響を増大させるものがあるので、BT 剤使用時に用いる展着剤の選択には十分な配慮が必要である。

(2) 新規 BT 剤の開発について

1) 製剤処方改良

図-3 に示すように、ダイポール水和剤とエスマルク DF を比較すると、後者のほうが UV 紫外線に対する安定性が半減期で約 2 倍高い。両製品は同一企業で製造されているが、製剤中の *Bt* トキシン量は後者のほうが約 2 倍高いといわれている。このことは、製剤中の有効成分である *Bt* トキシン濃度が高いほど UV に対する安定性が増すことを示唆しており、今後開発される BT 剤の UV に対する安定性をより高くするための一手法として、製剤中の *Bt* トキシンの含有量をできるだけ多くすることが考えられる。

さらには、マイクロカプセルのような、新しい製剤技術により、UV に対する安定性の高い製剤が開発されることを期待したい。

2) 濃厚少量散布

濃厚少量散布用に新しい BT 製剤の開発ができると、上記の項と同様に既存の BT 剤より UV の影響が軽減されることが期待される。これには製剤の技術のほかに、散布器具の開発も同時に必要になるが、実用化されれば UV の影響軽減のほかに簡便でかつ防除効果も高くなることが期待される。

表-3 室内照射試験における検定物質のUV保護効果

検定物質	添加濃度 (%) と相対活性比 ^{a)}	
	0.1	0.01
三酸化二鉄	7.5 ± 1.2 (3)	3.3 ± 0.5 (3)
四酸化三鉄	3.9 ± 0.4 (4)	1.9 ± 0.3 (4)
酸化チタン (ルチル型)	8.4 ± 1.5 (3)	3.4 ± 0.3 (3)
酸化チタン (アナターゼ型)	9.0 ± 2.1 (3)	4.8 ± 0.7 (3)
パラ-安息香酸メチル	2.6 ± 0.3 (3)	1.2 ± 0.4 (3)
活性炭	8.4 ± 1.3 (3)	1.8 ± 0.5 (3)
墨汁	14.1 ± 1.6 (3)	5.7 ± 1.7 (3)
食紅	9.6 ± 2.2 (3)	3.6 ± 0.4 (3)
クチナン (黄色)	5.4 ± 1.1 (3)	0.95 ± 0.08 (3)

^{a)} 相対活性比 = BT 剤 (エスマルク DF, 500 ppm) ・検定物質混合物の相対活性/BT 剤単独の相対活性, 平均値 ± 標準偏差 (反復数).

3) 殺虫活性の高い *Bt* トキシンの選抜

表-1 に示したように、BT 剤のカイコに対する EC₅₀ と半減期の関係を見ると、EC₅₀ が小さいほど半減期が大きくなる傾向を示す。つまり、生物活性が高いほど半減期が長くなることを示唆する。このことは対象害虫に対する殺虫活性が高い BT 剤ほど散布した作物上での残効性が長くなることになり、UV の影響を軽減すると同じ結果になることが期待される。

4) UV に安定性の高い *Bt* トキシンの選抜

図-1 および表-2 に示したように、BT 剤の UV に対する安定性は製品によっても異なる。その理由は有効成分である *Bt* トキシンの含有量が製品間で差があること以外に、*Bt* トキシンの種類による相違が考えられる。UV に対して安定性のより高い *Bt* トキシンを探索して、それを利用することにより、UV の影響を少なくできる新規 BT 剤の創成が可能と考えられる。

5) UV 保護物質の利用

上記の室内照射方法を用いて、筆者らが現在進めている、BT 剤の UV に対する保護物質の探索試験の結果の一部を表-2 に示した。表中の相対活性比は表-3 と同様、検定物質を添加しない場合と添加した場合との比で、添加しないものに比べて UV による活性低下が何倍抑制されたかを示す。

酸化鉄や酸化チタンは UV 保護の目的で化粧品などに広く用いられているが、ほかに活性炭や墨汁、食紅、食黄等にも同様な UV 紫外線保護効果が認められる。三酸化二鉄を用いた試験では、図-1 に用いた BT 剤の 6 製品のすべてに同様な UV 保護効果が認められたので、UV 保護剤は BT 剤に共通して利用できると思われる。

しかし、実際に利用する場合には UV 保護剤の濃度や、添加方法、経済性について多くの解決すべき課題が残っている。

おわりに

我が国で BT 剤の開発が本格的に始まった 1971 年以後、BT 剤は化学農薬に比べて安全性が高く、作物残留や残留毒性の心配のない、優れた微生物農薬の代表と考えられていたが、同時に、欠点としては適用害虫がチョウ目に限られること、UV による影響が大きく、残効日数の短いことが上げられていた。そのころ、筆者の一人、浅野は BT 剤が UV に弱いという性質は昆虫病原性細菌 *Bt* の宿命的な性質だと考えていた。そして、もっぱら種々の害虫に対する BT 剤の防除効果を調べることに専念していた。当時 BT 剤は殺虫成分として結晶性蛋白トキシンと芽胞の両方を含んでいた。芽胞単独での殺虫活性はなく、殺虫活性の主成分は結晶性蛋白トキシンにあるとされていたが、両者は共存するほうが殺虫活性は高くなると報告されていた (MIYASONO et al., 1994)。その観点から UV に耐性のある *Bt* 菌の選抜が行われ、その結果が報告されている (宮園ら, 1998)。それ故、この *Bt* 菌の選抜による UV に強い BT 剤の創成の可能性はある。近年 *Bt* トキシンの遺伝子がクローニングされると、それを植物や他の微生物へ導入することができるようになった。実際 *Bt* トキシン遺伝子を *Pseudomonas fluorescense* に導入し、培養終了時に死滅させた菌体内にトキシンを包み込むことにより、UV に

対する安定性が增大できると報告された (SOARES and QUICK, 1990)。その BT 剤は我が国でも既に農薬登録され、多く使用された実績があるが、この生物的マイクロカプセル技術による UV 耐性は導入する *Bt* トキシンの種類にも左右されることがわかり、万能な方法ではない。また、*Bt* 遺伝子が導入されたトウモロコシや大豆など多くの作物 (GM 作物) がアメリカをはじめ、多くの国で大面積栽培され、現在、それらの収穫物は日本にも輸入されている (白井, 2003)。この場合は散布用の BT 剤と異なり、植物体内でトキシンが産生されるので、UV の影響は全く考えなくてよくなる。そうすると UV の影響は、BT 剤を散布剤として用いている国においてのみ問題になり、その対策を考えなければならなくなる。しかし、見方を変えれば、UV の影響は BT 剤に限らず、生物農薬に共通する問題であるので、BT 剤に対する UV の影響を軽減できる方法が見つければ、他の生物農薬にも広く利用できる技術になると考える。

引用文献

- 1) 鮎沢啓夫 (1986): 生物に学ぶ農薬の創成, ソフトサイエンス社, 東京, p. 125 ~ 128.
- 2) 浅野昌司・宮本和久 (2007): 応動昆 51: 121 ~ 127.
- 3) ———ら (2007): 同上 52: 31 ~ 33.
- 4) ———ら (2008): 茨城病虫研報 47: 9 ~ 15.
- 5) ———ら (2009): 同上 48: 14 ~ 20.
- 6) IGNOFFO, C. M. (1992): Fla. Entomol. 75: 9 ~ 15.
- 7) MIYASONO, M. et al. (1994): J. Invertebr. Pathol. 63: 111 ~ 112.
- 8) 宮園 稔ら (1998): 応動昆 42: 15 ~ 20.
- 9) 白井洋一 (2003): 同上 47: 1 ~ 11.
- 10) SOARES, G. G. and T. C. QUICK (1990): *Plutella Xylostella*. Proc. 2nd Int. Workshop "Diamondback moth and other crucifer pest", Tainan, Taiwan, p. 129 ~ 137.

発生予察情報・特殊報 (22.9.28 ~ 10.31)

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://www.jpnp.ne.jp/>) でご確認ください。

- 水稲：イネ南方黒すじ萎縮病 (仮称) (鹿児島県：初) 9/28
- イネ：イネ南方黒すじ萎縮病 (仮称) (広島県：初) 10/1
- オクラ：半身萎凋病 (沖縄県：初) 10/1
- タバコ：クロメンガタズメ (茨城県：初) 10/4
- 水稲：イネ南方黒すじ萎縮病 (仮称) (長崎県：初) 10/5
- サザンカ・ツバキ類：ミカントゲコナジラミ (チャ系統) (愛知県：初) 10/14
- 水稲：イネ南方黒すじ萎縮病 (仮称) (宮崎県：初) 10/14
- イネ科牧草, サトウキビ：アフリカシロナヨトウ (鹿児島県：初) 10/15
- ナス (施設栽培)：ミツユビナミハダニ (高知県：初) 10/18
- 水稲：イネ南方黒すじ萎縮病 (仮称) (山口県：初) 10/18
- 水稲：イネ南方黒すじ萎縮病 (仮称) (佐賀県：初) 10/18
- イチジク：イチジクヒトリモドキ (愛知県：初) 10/19
- キュウリ：キュウリホモブシス根腐病 (愛知県：初) 10/19
- 甘長とうがらし：ナスコナカイガラムシ (岐阜県：初) 10/25
- チャ：ミカントゲコナジラミ (チャ系統) (静岡県：初) 10/27