

第5章 殺虫活性を有する分離2菌株による 施設栽培キュウリのワタアブラムシ防除

第1節 緒 論

HS870031 菌株および HP890972 菌株について、実用的な微生物防除剤として利用するために、これらの菌株を用いた施設栽培のキュウリに発生するワタアブラムシの防除を試みた。本分離2菌株を有効利用するためには、ワタアブラムシに対する防除効果の確認はもとより、同時に標的以外の生物に及ぼす影響を把握することが重要となる。そこで、本分離2菌株の培養液散布が施設栽培キュウリにおいて発生するアブラムシの天敵類、また、キュウリの主要害虫の一つであるナミハダニ *Tetranychus urticae*、さらにはナミハダニに対する防除手段として導入したチリカブリダニ *Phytoseiulus persimilis* などに及ぼす影響を調査した。

また、実際の生産現場では施設栽培キュウリにおいて発生する各種の病害虫を対象とした農薬の使用が想定される。特に殺菌剤は微生物防除資材に対して強い抗菌活性を有する場合があるので予め本分離2菌株に対して影響の少ない農薬を選抜することが重要となる。そこで、代表的な農薬について、本分離2菌株の生育に及ぼす影響を室内実験で調査した。

本分離2菌株の内、HS870031 菌株は噴霧処理によって殺虫活性を示すので、アブラムシ防除においては培養液散布という方法での利用が考えられるが、

HP890972 菌株は噴霧処理では殺虫活性を示さないもので、散布という方法ではアブラムシ防除に利用することが困難であると推定される。そこで、経口接種によって殺虫活性を示す細菌のアブラムシ防除における利用上の可能性を広げるために、本分離2菌株の培養液によるキュウリの浸根接種および浸種接種を行って、植物体中に接種細菌を取り込ませ、アブラムシにキュウリを吸汁させることにより経口的に接種する方法を考案した。浸根接種および浸種接種を行って、接種細菌の植物体での動態を調査し、さらに、細菌接種後のキュウリ葉に放飼したアブラムシからの接種細菌の再分離を試みた。本章ではこれらの結果から本分離2菌株の微生物防除剤としての可能性を検討する。

第2節 材料および方法

1. 殺虫活性を有する分離2菌株培養液散布による施設

栽培キュウリのワタアブラムシ防除効果と標的外生物に及ぼす影響

1) ワタアブラムシに対する防除効果とアブラムシの天敵類に及ぼす影響

HS870031 菌株および HP890972 菌株を用い、キングB液体培地（プロテオーゼペプトン 20 g, グリセリン 10 g, K_2HPO_4 1.5 g, $MgSO_4$ 1.5 g, 蒸留水 1,000 ml）で、24時間、30℃で振とう培養した培養液（生菌数： 10^9 cfu/ml レベル）を供試散布液とした。

1994年から1996年にかけて、北海道立中央農業試験場内のビニールハウス栽培キュウリ（品種：さちなり、15～20葉期）において自然発生したワタアブラムシおよびアブラムシの天敵類に対して、本分離2菌株培養液を肩掛け式手動噴霧機で1～2回散布した。1回の散布量はキュウリ1株当たり500mlとした。試験は2株を1区とし3区設定して行い、予めマークした同一葉（3葉/株）におけるワタアブラムシおよびアブラムシの天敵類密度を第1回散布20～29日後まで調査した。試験は延べ7回行い、すべてに対照区として殺虫剤散布区を設けた。7回の内3回には半翅目昆虫に選択的に活性を示す選択的殺虫剤（ピメトロジン水和剤3,000倍）を供試し、他の4回には非選択的殺虫剤（トラロメトリン乳剤3,000倍、またはシペルメトリン乳剤2,000倍）を供試した。なお、殺虫剤は1回散布とした。

2) ナミハダニおよびチリカブリダニに及ぼす影響

1995年から1996年にかけて北海道立中央農業試験場内ビニールハウス栽培キュウリ（品種：さちなり、15～20葉期）に、ナミハダニとチリカブリダニ（北海道立中央農業試験場中尾弘志氏より分与されたDAS系統）を菌培養液散布予定日の14日前に予め放飼して本試験を行った。放飼は、ナミハダニ対チリカブリダニの密度がおおよそ10対1となるように行った（中尾ら、1987；中尾、1992）。散布にはHS870031菌株およびHP890972菌株培養液（キングB液体培地、24時間、30℃で浸とう培養、生菌数： 10^9 cfu/ml レベル）を使用し、肩掛け式手動噴霧機で株当たり500ml散布した。散布は1～2回行い、2株を1区とし3区設定して行った。予めマークした同一葉（3葉/株）のナミハダニ雌成虫およびチリカブリダニ（成虫、幼虫）の寄生密度を第1回散布23～29日後まで調査

した。試験は延べ5回行い、すべてに殺虫剤散布区を設けた。5回の内3回には半翅目昆虫に選択的に活性を示す選択的殺虫剤（ピメトロジン水和剤 3,000 倍）を供試し、他の2回には非選択的殺虫剤（トラロメトリン乳剤 3,000 倍、またはシペルメトリン乳剤 2,000 倍）を供試した。なお、殺虫剤はすべての試験で1回散布とした。

2. 殺虫活性を有する分離2菌株に及ぼす各種農薬の影響

オートクレーブ殺菌後のキングB平板培地が固化する直前に、キュウリの施設栽培で実際に使用される代表的な農薬を農薬登録上の実用濃度になるように混和して農薬添加培地を作成した。農薬はいずれも市販品を使用した。農薬添加培地に HS870031 菌株 および HP890972 菌株の培養希釈液を1シャーレ当たり 0.2 ml (生菌数： 10^2 cfu レベル/シャーレ) 滴下した。滴下後は 22 °C で培養し、2日後、4日後、6日後に農薬添加培地に生育する供試2菌株のコロニー数をカウントした。1農薬につき各菌株ごとに6枚のシャーレを使用した。

3. 殺虫活性を有する分離2菌株培養液の浸根接種および浸種接種によるワタアブラムシ防除の可能性

1) 浸根接種

リファンピシンおよびナリジキシン酸耐性（橋本, 1991）とした HS870031 菌株および HP890972 菌株をキングB平板培地を用い 25 °C で 24 時間培養し、培養後滅菌水による希釈によって生菌数が 10^6 、 10^7 、 10^8 cfu/ml の3段階になるように調整し接種菌液とした。バーミキュライトを用いて育苗した本葉1葉期のキュウリの根部を各濃度の接種菌液に約 20 時間浸漬した。接種後直ちに園芸培土を詰めた径 15 cm ポリポットに鉢上げした。鉢上げ後は 25 °C、16L-8D の恒温室において管理した。接種後 22 日まで、キュウリ各部位からの接種細菌の再分離を試みた。再分離は1回に各接種菌液についてキュウリ1ポットずつ行った。また、浸根接種を行っている間にワタアブラムシ成虫を本葉第1葉に 18～21 頭放飼した。接種後放飼虫を回収し、細菌非接種のキュウリ葉で 20 日間飼育して生存状況を調査し、アブラムシが死亡した場合には死亡個体からの接種細菌の再分離を試みた。なお、キュウリおよびアブラムシからの接種細菌の再分離を行う際には、予め表面殺菌を目的として供試植物および供試虫を 70 %エタノール溶液に 30 秒間、さらに 1 %アンチホ

ルミン溶液に 1 分間浸漬した。接種菌の再分離は、表面殺菌した試料をリファンピシンおよびナリジキシン酸を含むキングB平板培地上に置き、25 °C で培養する方法で行った。

2) 浸種接種

供試接種菌液は浸根接種における菌液と同様に調整した。すなわち、リファンピシンおよびナリジキシン酸耐性とした HS870031 菌株および HP890972 菌株をキングB平板培地を用い 25 °C で 24 時間培養し、培養後滅菌水によって生菌数が 10^8 cfu/ml レベルになるように調整した。菌液に 15 分間キュウリ種子を浸漬し、接種後直ちに園芸培土を詰めた径 20 cm ポリポットに1粒ずつ播種した。播種後 53 日までキュウリ各部位からの接種細菌の再分離を試みた。再分離は1回に各接種菌液についてキュウリ1ポットずつ行った。なお、キュウリ各部位から接種細菌を再分離する際には、予め 70 %エタノール溶液に 30 秒間、さらに 1 %アンチホルミン溶液に 1 分間浸漬することで表面殺菌をおこなった。接種菌の再分離は、表面殺菌した試料をリファンピシンおよびナリジキシン酸を含むキングB平板培地上に置き、25 °C で培養する方法で行った。

3) 減圧浸種接種

減圧条件下で浸種接種を行った。供試接種菌液は浸根接種における菌液と同様に、リファンピシンおよびナリジキシン酸耐性とした HS870031 菌株および HP890972 菌株をキングB平板培地を用い 25 °C で 24 時間培養し、培養後滅菌水によって生菌数が 10^8 cfu/ml レベルになるように調整した。菌液に種子を浸漬し、真空デシケータ中に容器ごと入れ、真空ポンプで吸引する減圧処理を3回、各 30 分間ずつ行った。接種後直ちに園芸培土を詰めた径 20 cm ポリポットに1粒ずつ播種し、キュウリが発芽してから接種後 25 日まで各部位における接種細菌の再分離を試みた。再分離は1回に各接種菌液についてキュウリ1ポットずつ行った。また、キュウリ各部位から接種細菌を再分離する5日前に、予めワタアブラムシ成虫をキュウリ本葉第1葉に 54～64 頭放飼しておき、キュウリから接種細菌を再分離する際に、放飼虫からの接種細菌の再分離を試みた。なお、キュウリ各部位および放飼虫から接種細菌を再分離する際には、予め 70 %エタノール溶液に 30 秒間、さらに 1 %アンチホルミン溶液に 1 分間浸漬することで表面殺菌をおこなった。接種菌の再分離は、表面殺菌した試料をリファンピシンおよびナリジキシン酸を含むキングB平板培地上に置き、25 °C で培養する方法で行った。

第3節 結果

1. 殺虫活性を有する分離2菌株培養液散布によるワタアブラムシに対する防除効果とアブラムシの天敵類に及ぼす影響

1) ワタアブラムシに対する防除効果

HS870031 菌株培養液散布は、散布直後にアブラムシ密度が減少し防除効果が認められた。しかし、即効的ではあるものの殺虫剤と比較すると明らかに残効期間は短く (Table 18, 20, 21, 23)、特に寄生密度が高い場合 (Table 18) は散布後1週間ほどでアブラムシ密

度が回復した。培養液散布を2回行った試験においても同様の傾向を示し、2回目の散布までにある程度アブラムシ密度が回復し、2回目散布直後は再び密度が減少した (Table 17, 19, 22)。本菌株培養液散布はいわゆる殺虫剤的な防除効果の特徴を示した。

HP890972 菌株培養液散布では散布直後から無散布区と同様にワタアブラムシの増殖が認められ、防除効果は認められなかった (Table 17~23)。

なお、本分離2菌株の培養液散布によってキュウリの生育に及ぼす影響は認められなかった。

Table 17. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)} of *Aphis gossypii* and predators in greenhouse

Bacterial isolates	Aphid, Predators	Days after spraying ^{b)}					
		0 ^{c)}	3	7 ^{d)}	13	21	27
HS870031	<i>Aphis gossypii</i>	87	19	45	9	62	120
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L ^{e)}	0	0	0	0	0	0.1
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	0	0.3
	Salticidae spp. : A ^{f)}	0	0	0.1	0	0.1	0.1
HP890972	<i>Aphis gossypii</i>	60	105	321	992	1270	826
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0	0	0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0.1	0.1	0.4
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0	0
Tralo-methrin ^{g)}	<i>Aphis gossypii</i>	71	4	9	22	23	17
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0	0	0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0	0
Control	<i>Aphis gossypii</i>	46	107	311	1022	2283	1437
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0.1	0	0.1	0.2
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	1.3	0.1	1.9
	Salticidae spp. : A	0	0	0.1	0.1	0	0

a) Numbers per a cucumber leaf.

b) Spraying were treated two times.

c) Just before the first spraying.

d) Just before the second spraying.

e) L : larva.

f) A : adult.

g) Tralomethrin (dilution : × 3,000) was sprayed only one time.

2) アブラムシの天敵類に及ぼす影響

無散布区では低密度であるがアブラムシの捕食性天敵であるヒラタアブ *Epistorophe balteatus*、ヤマトクサカゲロウ *Chrysoperla carnea*、シヨクガタマバエ *Aphidoletes aphidimyza*、ハエトリグモ類 (ハエトリグモ科) Salticidae の存在が認められ、また、寄生性天

敵としてアブラバチ類 (アブラバチ亜科) Aphidiinae、疫病菌類 (ハエカビ目) Entomophthorales が確認された。

シヨクガタマバエ幼虫に及ぼす影響は散布前の密度が低く判然としなかったが、Table 19 で示したように、非選択的殺虫剤散布区では散布後発生が認められな

Table 18. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)} of *Aphis gossypii* and natural enemies in greenhouse

Bacterial isolates	Aphid. Predators, Parasites	Days after spraying					
		0 ^{b)}	2	6	13	20	27
HS870031	<i>Aphis gossypii</i>	337	111	208	1080	1744	1770
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L ^{c)}	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A ^{d)}	0	0	0	0	0	0
	Aphidiinae sp. : M ^{e)}	0	0	0	0.8	1.0	1.0
	Entomophthorales spp.	2.8	1.3	0.7	2.0	0.8	0
HP890972	<i>Aphis gossypii</i>	127	228	472	1185	1716	1901
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0.2	0	0.2	0.3	0.2	0.3
	Aphidiinae sp. : M	0	0	0	0	0.2	0.2
	Entomophthorales spp.	5.5	6.3	4.5	3.5	2.2	2.2
Cyper-methrin ^{f)}	<i>Aphis gossypii</i>	342	10	1	0	1	1
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0.2	0
	Aphidiinae sp. : M	0	0.2	0.2	0	0.2	0.2
	Entomophthorales spp.	8.3	0	5.2	0	2.3	4.5
Control	<i>Aphis gossypii</i>	124	158	278	515	897	1188
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	1.7	0.2	0.2	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2
	Aphidiinae sp. : M	0	0	0.2	0.2	0.2	0.4
	Entomophthorales spp.	4.8	6.2	5.0	4.8	8.8	3.6

- a) Numbers per a cucumber leaf.
 b) Just before the spraying.
 c) L : larva.
 d) A : adult.
 e) M : mummy.
 f) Dilution : × 2,000.

かったのに対し、HS870031 菌株および HP890972 菌株培養液の散布3日後には無散布区と同様に幼虫が認められることから、影響はそれほど大きくないと推察された。

ヒラタアブ幼虫については HS870031 菌株培養液散布の影響は大きく、散布直後には発生を認めることはできなかった (Table 20)。しかし、選択的殺虫剤と同様に散布から 12 日後の調査では再び幼虫が確認された (Table 23)。HP890972 菌株培養液散布についてはほとんど影響が認められず、無散布区と同様の発生状況で散布後にも密度が高くなった (Table 20, 23)。

ヤマトクサカゲロウ幼虫については散布前密度が低く判然としなかったが、Table 17 で示したように、HP890972 菌株培養液散布区では、無散布区と同様の発生状況を示し、影響は大きくないと推察された。

HS870031 菌株培養液散布区では、無散布区および

HP890972 菌株培養液散布区と比較して、その発生時期が遅れ非選択的殺虫剤よりは影響が少ないと思わ

れるが、ある程度の影響はあると推察された (Table 17)。

ハエトリグモ類成虫に関しては菌株によって異なったが培養液散布後に密度が低下した試験結果 (Table 19, 23) と無散布区と同様な発生状況を示す試験結果 (Table 17, 18, 20, 21, 22) とがあり、その影響に関しては判然としなかった。

寄生性天敵であるアブラバチ類のマミー (寄生によりミイラ状になったアブラムシを指し、内部に寄生幼虫が存在する) に対しては、散布前の密度が低く判然としなかったが、Table 18 で示したように、発生時期はやや遅れたものの無散布区と同様の発生状況を示し、影響は大きくないと推察された。

疫病菌類 (ハエカビ目) については、HP890972 菌株培養液散布区では無散布区と同様の発生状況を示し (Table 19, 20, 22, 23) 影響は少ないと推察された。一方、HS870031 菌株培養液散布区は、無散布区に比べると発病個体数が少なくなった (Table 19, 22, 23)。

Table 19. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}
of *Aphis gossypii* and natural enemies in greenhouse

Bacterial isolates	Aphid, Predators, Parasites	Days after spraying ^{b)}					
		0 ^{c)}	3	7 ^{d)}	14	19	27
HS870031	<i>Aphis gossypii</i> : A ^{e)}	96	22	165	298	797	149
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L ^{f)}	0	0	0	0	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0.7	1.7	0	0	0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	1	0	0	7	70	687
HP890972	<i>Aphis gossypii</i> : A	73	151	600	1013	337	289
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0.3	0	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	1.7	1.3	0	0.3	0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0.3	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	1	2	13	228	1167	1200
Tralo-methrin ^{g)}	<i>Aphis gossypii</i> : A	219	0	1	1	12	16
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0.3	0.3	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0	0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0	0.3
	Entomophthorales spp.	6	7	3	0	30	26
Control	<i>Aphis gossypii</i> : A	35	80	169	952	760	292
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0.3	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0.8	1.3	0	0	1.0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	2.3	0
	Salticidae spp. : A	0.3	0.3	0.3	0	0.5	0.5
	Entomophthorales spp.	1	3	13	10	462	1950

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Spraying were treated two times.

c) Just before the first spraying. d) Just before the second spraying.

e) A : adult. f) L : larva.

g) Tralomethrin (dilution : × 3,000) was sprayed only one time.

Table 20. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}
of *Aphis gossypii* and natural enemies in greenhouse

Bacterial isolates	Aphid, Predators, Parasites	Days after spraying				
		0 ^{b)}	5	11	16	20
HS870031	<i>Aphis gossypii</i> : A ^{c)}	30	5	15	37	58
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L ^{d)}	0.5	0	0	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0.3	0.3	0	0
	Entomophthorales spp.	1.0	0.3	2.7	2.3	2.7
	<i>Aphis gossypii</i> : A	23	54	117	338	332
HP890972	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0.3	1.0	0	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0.3	0.5	0	0	0
	Entomophthorales spp.	7.6	24.7	44.0	82.3	120
	<i>Aphis gossypii</i> : A	272	0	0	0	0
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0	0
Tralo-methrin ^{e)}	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0.3	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	148	509	429	435	435
	<i>Aphis gossypii</i> : A	22	76	150	381	426
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0
Control	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	1.0	9.0	39.3	119	184

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Just before the spraying.

c) A : adult. d) L : larva. e) Dilution : × 3,000.

Table 21. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}
of *Aphis gossypii* and natural enemies in greenhouse

Bacterial isolates	Aphid, Predators, Parasites	Days after spraying					
		0 ^{b)}	3	9	14	20	29
HS870031	<i>Aphis gossypii</i> : A ^{c)}	4	0	1	2	7	1
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L ^{d)}	0	0	0	0	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	1.3	0	0.7	1.0	0.7	0.7
HP890972	<i>Aphis gossypii</i> : A	6	15	10	28	41	188
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0.3	0.3	1.0	0.3	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0.3	0.3	0.3	0.3	0	0
	Entomophthorales spp.	2.0	1.7	1.3	1.7	0.7	11.3
Pymetrozine ^{e)}	<i>Aphis gossypii</i> : A	56	4	0	0	0	2
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0.3	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0.3	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	5.7	0.3	10.7	8.3	3.7	6.0
Control	<i>Aphis gossypii</i> : A	13	34	109	284	388	211
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0	0	0	0	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0.3	0.3	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0.3	0.3	0
	Entomophthorales spp.	1.3	1.7	7.0	24	190	479

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Just before the spraying .
c) A : adult. d) L : larva. e) Dilution : × 3,000.

Table 22. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}
of *Aphis gossypii* and natural enemies in greenhouse

Bacterial isolates	Aphid, Predators, Parasites	Days after spraying ^{b)}					
		0 ^{c)}	3	7	14 ^{d)}	18	23
HS870031	<i>Aphis gossypii</i> : A ^{e)}	22	4	13	131	37	260
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L ^{f)}	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0.5	0.3	0.5
	Entomophthorales spp.	2.7	0	2.0	2.3	2.7	3.0
HP890972	<i>Aphis gossypii</i> : A	22	21	52	398	487	370
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	3.7	1.7	19.0	57.0	50.0	110
Pymetrozine ^{g)}	<i>Aphis gossypii</i> : A	36	6	0	0	2	6
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0.7	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0.2	0	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	3.7	0.3	0.3	1.3	1.7	1.0
Control	<i>Aphis gossypii</i> : A	4	6	14	128	399	496
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0.6	0.8	1.2
	Entomophthorales spp.	0.2	0.3	5.2	18.0	50.0	180

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Spraying were treated two times.
c) Just before the first spraying. d) Just before the second spraying .
e) A : adult. f) L : larva .
g) Pymetrozine (dilution : × 3,000) was sprayed only one time.

Table 23. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}
of *Aphis gossypii* and natural enemies in greenhouse

Bacterial isolates	Aphid, Predators, Parasites	Days after spraying			
		0 ^{b)}	6	12	28
HS870031	<i>Aphis gossypii</i> : A ^{c)}	100	8	25	54
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L ^{d)}	0	0	0	0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0.3	0	0.5	0.5
	Salticidae spp. : A	0.3	0	0	0
	Aphidiinae sp. : M ^{e)}	0	0	0	0
	Entomophthorales spp.	134	713	986	695
HP890972	<i>Aphis gossypii</i> : A	258	84	25	7
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0.8	0	0.3
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0.8	1.0	0	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0
	Aphidiinae sp. : M	0	0	0.3	0
	Entomophthorales spp.	115	1358	2168	1100
Pymetrozine ^{f)}	<i>Aphis gossypii</i> : A	210	4	0	0
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0	0	0.3
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0	0	0
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	0.5	0	0.3	0
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0.3
	Aphidiinae sp. : M	0	0	0.3	0
	Entomophthorales spp.	427	1170	1623	553
Control	<i>Aphis gossypii</i> : A	353	67	23	14
	<i>Aphidoletes aphidimyza</i> : L	0	0.3	0	0
	<i>Chrysoperla carnea</i> : L	0	0.5	0.3	0
	<i>Epistorophe balteatus</i> : L	1.3	1.0	2.3	2.3
	Salticidae spp. : A	0	0	0	0
	Aphidiinae sp. : M	0	0	1.0	0
	Entomophthorales spp.	318	2465	2865	890

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Just before the spraying.
c) A : adult. d) L : larva. e) M : mummy. f) Dilution : × 3,000.

2. ナミハダニおよびチリカブリダニに及ぼす影響

無散布区ではチリカブリダニが増殖し、それにともなってナミハダニの密度が低下する傾向が認められた (Table 25, 27)。また、非選択的殺虫剤はチリカブリダニに及ぼす影響が大きく、密度が著しく低下し、結果的にナミハダニのリサーチエンスを引き起こした (Table 24, 25)。一方、選択的殺虫剤のチリカブリダニに及ぼす影響は少なく、チリカブリダニはある程度

防除効果を示した (Table 27, 28)。また、本分離2菌株培養液散布は非選択的殺虫剤よりは影響力が大きいものの、チリカブリダニに及ぼす影響も認められた (Table 24, 25, 26)。チリカブリダニに及ぼす影響は少なくとも散布直後は HP890972 菌株よりも HS870031 菌株培養液散布の方が大きく、散布直後に発生が認められないこともあったが、散布後日数が経過すると再び成虫および幼虫が確認された (Table 24, 25)。

Table 24. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}
of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* in greenhouse

Bacterial isolates	<i>T. urticae</i> , <i>P. persimilis</i>	Days after spraying					
		0 ^{b)}	2	6	13	20	27
HS870031	<i>T. urticae</i> : F ^{c)}	44.5	6.2	1.2	2.2	4.0	6.3
	<i>P. persimilis</i> : A ^{d)}	3.8	0	0.2	0	0.5	0.2
	<i>P. persimilis</i> : N ^{e)}	4.0	0	0.3	0	0.2	0.2
HP890972	<i>T. urticae</i> : F	29.3	11.0	4.3	8.7	14.3	7.2
	<i>P. persimilis</i> : A	2.5	0.3	1.0	0.5	0.7	3.0
	<i>P. persimilis</i> : N	2.0	0.7	2.2	0.2	2.7	1.7
Cyper- methrin ^{f)}	<i>T. urticae</i> : F	26.2	12.8	13.7	20.3	102	206
	<i>P. persimilis</i> : A	1.7	0	0	0	0	0
	<i>P. persimilis</i> : N	3.3	0	0	0	0	0
Control	<i>T. urticae</i> : F	42.5	57.2	70.7	117	130	71.6
	<i>P. persimilis</i> : A	5.8	4.2	3.7	12.7	7.5	3.4
	<i>P. persimilis</i> : N	4.3	6.8	6.0	1.5	21.3	13.4

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Just before the spraying.
c) F : female adult. d) A : adult. e) N : nymph. f) Dilution : × 2,000.

Table 25. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}
of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* in greenhouse

Bacterial isolates	<i>T. urticae</i> , <i>P. persimilis</i>	Days after spraying ^{b)}					
		0 ^{c)}	3	7 ^{d)}	14	19	27
HS870031	<i>T. urticae</i> : F ^{e)}	104	55.0	26.7	13.3	2.3	0.3
	<i>P. persimilis</i> : A ^{f)}	7.0	4.3	16.3	0.3	0	0.3
	<i>P. persimilis</i> : N ^{g)}	2.3	9.7	10.0	2.3	0	0
HP890972	<i>T. urticae</i> : F	126	85.3	29.7	18.7	3.3	7.7
	<i>P. persimilis</i> : A	7.3	6.3	13.7	3.0	7.3	10.0
	<i>P. persimilis</i> : N	1.7	13.0	22.0	4.3	5.7	7.7
Tralo- methrin ^{h)}	<i>T. urticae</i> : F	76.3	79.0	103	312	433	1260
	<i>P. persimilis</i> : A	6.7	0	0	0	0	0
	<i>P. persimilis</i> : N	5.0	0	0	0	0	0
Control	<i>T. urticae</i> : F	57.8	46.3	28.8	75.0	9.3	5.0
	<i>P. persimilis</i> : A	2.8	3.3	16.0	9.8	2.0	0
	<i>P. persimilis</i> : N	0.3	7.0	11.3	23.5	5.7	0

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Spraying were treated two times.
c) Just before the first spraying. d) Just before the second spraying.
e) F : female adult. f) A : adult. g) N : nymph.
h) Tralomethrin(dilution : × 3,000) was sprayed only one time.

Table 26. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* in greenhouse

Bacterial isolates	<i>T. urticae</i> , <i>P. persimilis</i>	Days after spraying			
		0 ^{b)}	6	12	28
HS870031	<i>T. urticae</i> : F ^{c)}	48.3	1.8	16.3	147
	<i>P. persimilis</i> : A ^{d)}	12.0	0	0.3	0.8
	<i>P. persimilis</i> : N ^{e)}	13.0	0	0.3	0.8
HP890972	<i>T. urticae</i> : F	47.8	0.5	5.8	43.3
	<i>P. persimilis</i> : A	13.0	0	0	0.3
	<i>P. persimilis</i> : N	18.0	0	0	0
Pyme-troazine ^{f)}	<i>T. urticae</i> : F	36.0	12.8	32.3	90.3
	<i>P. persimilis</i> : A	8.3	1.3	1.0	10.0
	<i>P. persimilis</i> : N	13.0	0.3	0.5	10.0
Control	<i>T. urticae</i> : F	35.8	12.3	11.0	38.0
	<i>P. persimilis</i> : A	8.0	1.5	0.8	2.7
	<i>P. persimilis</i> : N	13.0	1.3	0.3	1.3

a) Numbers per a cucumber leaf . b) Just before the spraying .
 c) F : female adult . d) A : adult . e) N : nymph . f) Dilution : × 3,000.

Table 27. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* in greenhouse

Bacterial isolates	<i>T. urticae</i> , <i>P. persimilis</i>	Days after spraying					
		0 ^{b)}	3	9	14	20	29
HS870031	<i>T. urticae</i> : F ^{c)}	320	27.3	38.7	102	14.0	4.3
	<i>P. persimilis</i> : A ^{d)}	8.0	0.3	2.0	4.0	1.7	0
	<i>P. persimilis</i> : N ^{e)}	2.3	0	5.3	0.3	3.7	42.0
HP890972	<i>T. urticae</i> : F	216	109	23.7	10.3	2.3	0
	<i>P. persimilis</i> : A	7.3	3.0	2.3	5.3	0.7	0
	<i>P. persimilis</i> : N	2.0	7.3	18.0	3.0	0.3	0
Pyme-troazine ^{f)}	<i>T. urticae</i> : F	169	146	88.0	30.3	3.3	0.3
	<i>P. persimilis</i> : A	3.7	1.7	10.0	3.3	0.3	0.3
	<i>P. persimilis</i> : N	1.0	0	8.7	4.3	0.7	0
Control	<i>T. urticae</i> : F	150	142	34.7	8.0	1.3	3.3
	<i>P. persimilis</i> : A	5.7	5.0	6.3	1.7	0	0
	<i>P. persimilis</i> : N	0.3	9.3	18.0	6.7	0.3	0.7

a) Numbers per a cucumber leaf . b) Just before the spraying .
 c) F : female adult . d) A : adult . e) N : nymph . f) Dilution : × 3,000.

Table 28. Effect of spraying by bacterial cultures against numbers^{a)}of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* in greenhouse

Bacterial isolates	<i>T. urticae</i> , <i>P. persimilis</i>	Days after spraying ^{b)}					
		0 ^{c)}	3	7	14 ^{d)}	18	23
HS870031	<i>T. urticae</i> : F ^{e)}	11.0	1.7	2.0	2.7	0	0
	<i>P. persimilis</i> : A ^{f)}	5.3	0.7	0	0.3	0	0
	<i>P. persimilis</i> : N ^{g)}	5.7	0	0.7	0	0	0
HP890972	<i>T. urticae</i> : F	12.0	2.3	4.0	1.0	0	0
	<i>P. persimilis</i> : A	9.0	1.7	0.3	0	0	0
Pyme-trozine ^{h)}	<i>P. persimilis</i> : N	18.0	1.0	0.3	0	0	0
	<i>T. urticae</i> : F	11.0	5.3	3.3	2.7	0.3	0.3
	<i>P. persimilis</i> : A	4.0	2.0	0.3	0.3	0.3	0.3
Control	<i>P. persimilis</i> : N	7.0	5.3	2.3	0	0	0.3
	<i>T. urticae</i> : F	26.0	10.0	11.0	4.7	2.6	0.6
	<i>P. persimilis</i> : A	5.7	4.5	2.5	1.2	0.4	0.8
	<i>P. persimilis</i> : N	10.0	8.3	5.5	0.2	1.4	0.4

a) Numbers per a cucumber leaf. b) Spraying were treated two times.

c) Just before the first spraying. d) Just before the second spraying.

e) F : female adult. f) A : adult. g) N : nymph.

h) Pymetrozine (dilution : × 3,000) was sprayed only one time.

3. 殺虫活性を有する分離2菌株に及ぼす各種農薬の影響

殺菌剤 18 種および殺虫剤 9 種について本分離 2 菌株の生育に及ぼす影響を調べた (Table 29)。

糸状菌対象殺菌剤の場合は、マンゼブ、マンゼブ・メタラキシル、ジクロフルアニド、クロロタロニル、イミノクタジン三酢酸塩およびホセチルが HS870031 菌株に対し強い抗菌活性を示し、HP890972 菌株に対しては、さらにプロシミドン、トリフルミゾールおよびキノメチオネートが強い抗菌活性を示した。細菌対象殺菌剤の場合は水酸化第二銅および オキサジキシル・銅が HP890972 菌株に対して強い抗菌活性を示し、HS870031 菌株に対しては、さらに銅・有機銅、塩基性硫酸銅および有機銅が強い抗菌活性を示した。また、ヒメキサゾールやキノメチオネートのように HS870031 菌株の生育スピードを遅延させる剤もみられた。

殺虫剤および殺ダニ剤の場合は、ジクロルボスが本分離 2 菌株に対して強い抗菌活性を示し、酸化フェンブタズは HP890972 菌株に対して抗菌活性を示した。

4. 殺虫活性を有する分離2菌株培養液の浸根接種および浸種接種によるワタアブラムシ防除の可能性

1) 浸根接種

浸根接種後のキュウリ各部位からの接種細菌再分離状況を Table 30 に示した。供試した分離 2 菌株ともに接種 2 日後から接種部位 (根部) とは異なる地上部から接種細菌を再分離することができた。試験を行った接種菌液濃度の範囲ではその濃度に関係なくキュウリの各部位から接種細菌を再分離できた。浸根接種 18 日後には接種細菌が再分離されるキュウリ部位が少なくなる傾向が認められたが、接種 22 日後には再び各部位から接種細菌が再分離された。また、本分離 2 菌株ともに、浸根接種によってキュウリの生育に及ぼす影響は認められなかった。

浸根接種を行っている間に、キュウリ本葉第 1 葉に放飼したワタアブラムシの飼育中における死亡個体数と死亡個体からの接種細菌再分離の有無を Table 31 に示した。死亡個体は飼育 2 日後から認められたが、接種細菌は再分離されず、接種細菌が再分離された個体は、本分離 2 菌株とも飼育 5 日後から認められた。HP890972 菌株においては、浸根接種における接種菌液濃度が高いほど接種細菌が再分離される個体が早く出現し、また、接種細菌が再分離される死亡個体数も多かった。HS870031 菌株においても 10^7 および 10^6 cfu/ml 濃度の接種菌液の場合は同様の傾向が認められたが、 10^8 cfu/ml 濃度の接種菌液では、接種細菌

Table 29. Percentage inhibition ^{a)} of growth of HS870031 and HP890972

by practical concentration of pesticides on agar

Pesticide	Formulation ^{b)} , % AI	Dilution	HS870031			HP890972		
			2 ^{c)}	4	6	2	4	6
Fungicide								
Mancozeb	W, 75	600	100	100	100	100	100	100
Mancozeb·metalaxyl	W, 55·10	1,000	100	100	100	100	100	100
Procymidone	W, 50	1,000	11	0	0	95	88	89
Thiophanate-methyl	W, 70	1,500	0	0	0	34	25	35
Dichlofluanid	W, 50	600	100	100	100	100	100	100
Chlorothalonil	F, 40	1,000	71	66	68	88	87	89
Fosetyl	W, 80	800	100	100	100	100	100	100
Triflumizole	L, 30	500	0	0	0	97	97	97
Iminoctadine·triacetate	W, 5·15	1,000	76	75	76	100	100	100
Hymexazol	L, 30	500	100	45	40	100	100	100
Chinomethionat	W, 25	3,000	100	0	0	91	92	93
Bactericide								
Kasugamycin·copper	W, 5·55	1,000	0	0	0	0	0	0
Copper·oxine-copper	W, 10·30	500	100	100	100	0	0	0
Copper hydroxide	W, 50	1,000	100	100	100	100	100	100
Copper oxychloride	W, 50	500	0	0	0	1	1	1
Copper sulfate, basic	W, 32	500	100	100	100	1	1	4
Oxine-copper	W, 40	800	100	93	88	0	0	0
Oxodixyl·copper	W, 10·40	750	94	77	74	85	85	85
Insecticide								
Ethofenprox	E, 20	1,000	8	15	16	32	31	31
Cypermethrin	W, 6	1,000	16	21	21	0	0	0
Tralomethrin	E, 1.6	3,000	29	28	29	0	0	0
Dichlorvos	E, 75	1,000	61	63	63	100	91	91
Imidacloprid	W, 10	1,000	25	20	21	0	0	0
Miticide								
Dicofol·tetradifon	E, 9·4	500	42	36	34	17	16	15
Fenbutatin oxide	W, 25	1,000	32	39	41	48	47	47
Tetradifon	W, 18	500	8	21	24	23	23	23
Pyridaben	F, 20	1,000	40	22	22	39	37	37

a) % Inhibition = [(Numbers of colony in control - Numbers of colony with pesticide) / Numbers of colony in control] × 100

b) W :Wettable powder; F :Flowable; E :Emulsifiable concentrate; L :Liquid formulation.

c) Days after inoculation on agar.

が再分離される死亡個体は認められなかった。接種細菌が再分離された個体における細菌数は $10^2 \sim 10^6$ cfu / 個体で、菌株の違いや死亡時期の違いによる一定の傾向は認められなかった。

2) 浸種接種

浸種接種後のキュウリ各部位からの接種細菌の再分離状況を Table 32 に示した。供試した分離2菌株ともにキュウリの地上部から接種細菌を再分離することが

できた。接種後 50 日以上たっても接種細菌を再分離することができ、HS870031 菌株については根からのみの再分離であったが、HP890972 菌株については地上部の本葉第1葉および第3葉からも接種細菌を再分離することができた。供試した分離2菌株ともに浸種接種によってキュウリ生育に及ぼす影響は認められなかった。

Table 30. Recovery of inoculated bacteria from cucumber root-soaking inoculated in cultures of the strain HS870031 and the strain HP890972.

Concentration of soaking-inoculation	A part of cucumber	Days after root-soaking inoculation in bacterial cultures								
		2	3	4	5	8	11	13	18	22
HS870031 10 ⁸ cfu / ml	1st leaf	+ ^{a)}	+	+	- ^{b)}	+	-	+	-	+
	Petiole	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	Cotyledon	+	+	+	-	-	+	+	-	-
	Stem	+	+	+	+	-	+	+	-	-
	Root	+	+	-	+	+	+	+	-	+
10 ⁷ cfu / ml	1st leaf	+	+	+	+	-	+	+	-	+
	Petiole	+	+	+	+	-	-	+	-	-
	Cotyledon	+	+	-	+	-	-	+	-	-
	Stem	+	+	+	-	-	-	+	-	-
	Root	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁶ cfu / ml	1st leaf	+	+	+	-	+	+	+	+	+
	Petiole	+	-	-	-	+	-	+	-	-
	Cotyledon	+	+	-	-	+	+	+	+	+
	Stem	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Root	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HP890972 10 ⁸ cfu / ml	1st leaf	+	+	+	-	-	-	-	+	-
	Petiole	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	Cotyledon	+	+	+	-	+	-	+	-	+
	Stem	+	-	+	+	-	+	+	-	-
	Root	+	+	+	+	+	-	+	-	-
10 ⁷ cfu / ml	1st leaf	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Petiole	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Cotyledon	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Stem	+	+	-	+	-	+	-	-	-
	Root	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁶ cfu / ml	1st leaf	+	-	+	+	-	+	+	-	-
	Petiole	+	-	+	+	-	-	-	-	+
	Cotyledon	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	Stem	+	+	-	-	+	+	+	-	-
	Root	+	+	+	-	+	+	+	-	+

a) Inoculated bacterium was recovered. b) Inoculated bacterium was not recovered.

Table 31. Mortality of *Aphis gossypii* fed on the leaf of cucumber root-soaking inoculated in cultures of the strain HS870031 and the strain HP890972 and recovery of viable cells from cadavers of *Aphis gossypii*.

Concentration of sorking inoculation	No. of aphids ^{a)} released	No. of mortality													Total
		Days after releasing													
		1	2	3	4	5	8	9	10	11	12	14	18	20	
HS870031															
10 ⁸ cfu / ml	18	0	0	0	1	0	6	1	0	2	0	1	1	0	12(0) ^{b)}
10 ⁷ cfu / ml	20	0	0	0	0	2(2)	5(2)	0	0	0	0	2	5(2)	1	15(4)
10 ⁶ cfu / ml	21	0	2	0	0	0	8	0	2(1)	2	1	3	0	1	19(1)
HP890972															
10 ⁸ cfu / ml	20	0	4	1	1	1(1)	10(5)	0	0	2	0	0	1	-	20(6)
10 ⁷ cfu / ml	20	0	0	0	0	0	4(1)	0	2(1)	4(1)	0	2	2	0	14(3)
10 ⁶ cfu / ml	19	0	2	0	0	0	7	0	1	0	0	4(1)	1	1	16(1)

a) Aphids were released on the 1st leaf of cucumber for while the roots were soaking inoculated in cultures of the strain HS870031 and the strain HP890972 for 20h.

b) Numbers in parentheses indicates numbers of aphids from which viable cells of the bacterial strains soaking inoculated were recovered.

Table 32. Recovery of inoculated bacteria from cucumber seed-sorking inoculated in cultures of the strain HS870031 and the strain HP890972.

Bacterial isolates	A part of cucumber	Days after seed-soaking inoculation in bacterial cultures							
		7	13	21	28	35	39	47	53
HS870031	5th leaf							+	- ^{b)}
	3rd leaf					-	+	-	-
	2nd leaf			-	-	+	+	NT ^{c)}	NT
	1st leaf		-	-	+	+	+	+	-
	Cotyledon	-	-	+	-	NT	NT	NT	NT
	Stem	-	-	-	+	-	+	-	-
	Root	+	+	+	+	+	-	+	+
HP890972	5th leaf							-	-
	3rd leaf					-	-	+	+
	2nd leaf			-	-	+	-	NT	NT
	1st leaf		+	-	-	+	+	-	+
	Cotyledon	-	+	-	-	NT	NT	NT	NT
	Stem	-	+	-	+	+	-	+	+
	Root	+	+	+	+	+	+	+	+

a) Inoculated bacterium was recovered. b) Inoculated bacterium was not recovered. c) No test.

3) 減圧浸種接種

減圧条件下で浸種接種を行った場合のキュウリ各部位からの接種細菌の再分離状況を Table 33 に示した。接種細菌の再分離調査は接種後 8 日目、18 日目、25 日目の 3 回行ったが、本分離 2 菌株ともに根部、茎および子葉からは安定して接種細菌が再分離された。また、HS870031 菌株においては、本葉第 1 葉からも接種細菌を再分離することができた。減圧浸種接種法は減圧条件から常圧に戻す時に接種細菌を種子内部まで注入する方法 (太田, 1992) であるが、接種細菌の再分離においては減圧により接種細菌を種子内部

に注入した効果は判然としなかった。なお、減圧条件下での浸種接種によってもキュウリの生育に及ぼす影響は認められなかった。

キュウリの各部位から接種細菌を再分離する 5 日前に、予めキュウリの本葉第 1 葉に放飼しておいたワタアブラムシから接種細菌再分離を試みた (Table 34)。HS870031 菌株においてはアブラムシから接種細菌を再分離できなかったが、HP890972 菌株においてはわずかに 1 頭ではあるがアブラムシから接種細菌が再分離された。

Table 33. Recovery of inoculated bacteria from cucumber seed-vaccum sorking inoculated in cultures of the strain HS870031 and the strain HP890972.

Bacterial isolates	A part of cucumber	Days after seed-vaccum soaking inoculation in bacterial cultures		
		8	18	25
HS870031	1st leaf		+	- ^{b)}
	Petiole		-	-
	Cotyledon	-	+	+
	Stem	+	+	+
	Root	+	+	+
HP890972	1st leaf		-	-
	Petiole		-	-
	Cotyledon	+	+	+
	Stem	+	+	+
	Root	+	+	+

a) Inoculated bacterium was recovered. b) Inoculated bacterium was not recovered.

Table 34. Recovery of inoculated bacterium from *Aphis gossypii* fed on the leaf of cucumber seed-vaccum soaking inoculated in cultures of the strain HS870031 and the strain HP890972 .

Bacterial isolates of seed-vaccum soaking inoculation	No. of aphids ^{a)} released	No. of aphids recovered inoculated bacterium
HS870031	58 ^{b)}	0
	60 ^{c)}	0
HP890972	54 ^{b)}	1
	64 ^{c)}	0

a) Aphids were released on the 1st leaf of cucumber for 5 days .

b) Aphids were released from the 14th day to the 18th day after seed-vaccum soaking inoculation.

c) Aphids were released from the 21th day to the 25th day after seed-vaccum soaking inoculation.

第4節 考 察

殺虫活性を有する HS870031 菌株と HP890972 菌株をアブラムシ防除における実用的な微生物防除資材として利用するために、実際の施設栽培キュウリにおいてそれら菌株の培養液を散布してワタアブラムシに対する防除効果を検討した。HS870031 菌株培養液は即効的な殺虫活性を示したが、その残効は短かった。この特徴は本菌株の殺虫特性に起因するものと思われる。前章で明らかにしたように、本菌株の殺虫活性には viscosin と考えられる物質が関わっており、その物質は散布などによって直接アブラムシに対して接触しなければ殺虫活性を示さなかった。そのため、本菌株の培養液散布においても、培養液に直接接触したアブラムシに対しては活性が高かったが、新たに増殖した個体に対しては活性が認められなかったものと思われる。HP890972 菌株培養液散布に関しては殺虫活性が認められなかったが、本菌株は経口接種によって選抜された菌株なので、散布という方法ではアブラムシ体内に菌体を取り込まれる機会が少なく、殺虫活性を示さなかったものと考えられる。

微生物防除資材が抱える課題の一つに、天敵類などの有用昆虫に及ぼす影響を把握することがあげられる。微生物防除資材の使用場面で発生する様々な標的の外生物に対する影響を把握しておくことが実際の利用上の重要な情報となる。例えば、*Aschersonia aleyrodis* はコナジラミ類とカイガラムシ類を特異的に侵す糸状菌で（青木, 1957）、オンシツコナジラミ *Trialeurodes vaporariorum* の防除資材として有望視されているが、コナジラミ類の生物的防除に用いられてい

るオンシツヤコバチ *Encarsia formosa* に感染しないとされている。また、アブラムシ類に病原性が強く（Hall, 1981, 1985; Hall and Burges, 1979; 北沢ら, 1984; 増田・菊地, 1992; 西東, 1988）、微生物防除資材として市販されている *Verticillium lecanii* はオンシツヤコバチに感染するが、この寄生蜂の効果を低下させるほどの病原性はないとされている。さらに、これらの糸状菌はアブラムシ類の寄生蜂、ハダニ類を捕食するチリカブリダニ、あるいは受粉昆虫（マルハナバチ）に対してもほとんど影響がないとされている。こうしたことから、*A. aleyrodis* と *V. lecanii* は他の有用昆虫との併用が可能であり、ヨーロッパでは実際にそうした利用法がとられている（西東, 1994）。

そこで、本分離2菌株に関しても標的外生物に対してどのような影響力があるのかを調査した。アブラムシの捕食性天敵に関しては発生密度が少なく明瞭な判断を下すのは困難と思われるが、HS870031 菌株は非選択的殺虫剤に比較するとその程度は軽いもののヒラタアブ幼虫に対しては影響が認められた。その他の天敵類に対してもある程度影響は認められたが、アブラムシに対する活性と同様、影響を及ぼす期間は短いと推察され、散布直後は密度が低下するものの、時間の経過とともに各種天敵類密度が回復するものと思われる。HP890972 菌株に関しては、HS870031 菌株に比較すると影響の程度は軽く、捕食性天敵類に対しては大きな影響はないと思われる。しかし、これらの結果はあくまでも自然発生での低密度条件における試験結果なので、室内試験により天敵類に対する本分離2菌株の活性を確認しておく必要があると思われる。寄生性天敵類のアブラバチ類や疫病菌類（ハエカビ目）に関

しては影響が少ないと判断されたが、HS870031 菌株培養液散布区は無散布区に比較すると疫病菌（ハエカビ目）による発病個体数が少ない傾向にあった。Viscosin は抗菌活性物質として発見されており、HS870031 菌株培養液に含まれる殺虫活性物質が viscosin であれば疫病菌類に対しても何らかの影響があったことが推測される。また、HS870031 菌株培養液散布がキュウリうどんこ病に対しても抗菌活性を有することが観察されており、昆虫類のみならず微生物を含めた中での HS870031 菌株の活性スペクトラムを調べる必要があると思われる。

施設栽培キュウリにおいてナミハダニは重要な害虫の一つであり、薬剤抵抗性を獲得しやすいことなどから天敵による生物防除が検討され、チリカブリダニが生物農薬として市販されている。そこで、施設栽培キュウリにおいてアブラムシと同時に発生するナミハダニに対してチリカブリダニを導入した場面を想定し、ナミハダニとチリカブリダニに及ぼす本分離2菌株培養液散布の影響を調査した。ナミハダニ密度のおおよそ1/10のチリカブリダニを導入することによりチリカブリダニのナミハダニに対する防除効果が認められた。非選択的殺虫剤はチリカブリダニに対して大きな影響を及ぼし、ナミハダニのリサージェンスを引き起こした。本分離2菌株培養液散布にもナミハダニおよびチリカブリダニに対して影響が認められたが、非選択的殺虫剤ほど大きな影響力はなかった。チリカブリダニに対する影響は HS870031 菌株の方が大きかったが、影響を及ぼす期間はごく短く、さらに散布時に存在した卵から幼虫がふ化して密度が回復したことからチリカブリダニの卵に対する活性は低いと推察される。

次に、殺菌剤の多くは微生物防除資材に対しても抗菌活性を有していることから、本分離2菌株をアブラムシ防除に利用する上で、あらかじめ本分離菌株に対して影響の少ない農薬を選抜しておくことは重要である。アブラムシの微生物防除資材の *Verticillium lecanii* についても農薬の影響が調べられており

(Ledieu, 1985; 西東, 1988; 西東・藪田, 1996; 菊地・佐藤, 1998)、プロシミドン水和剤やポリオキシシン水溶剤は影響が認められないなど、実際の使用場面では重要な情報となっている。施設栽培キュウリにおいて使用される代表的な農薬について、本分離2菌株に対する抗菌活性を検討したが、菌株によって農薬に対する感受性が異なった。糸状菌対象殺菌剤については HS870031 菌株に比べ HP890972 菌株に対して抗菌活性

を示す農薬が多かったが、細菌対象殺菌剤については逆に HS870031 菌株に抗菌活性を示す剤が多かった。両菌株に対して活性が認められない殺菌剤はごくわずかであったが、糸状菌対象殺菌剤ではチオファネートメチル、細菌対象殺菌剤でもカスガマイシン・銅および塩基性塩化銅などの銅剤が使用に当たっては影響が少ないと思われた。

一方、殺虫剤の中にも本分離2菌株に対して抗菌活性を示す剤が認められた。これは、殺虫剤といえども本分離2菌株の防除効果を低下させる可能性のあることを示唆している。

本実験結果は、本分離2菌株と併用できる農薬を選定する際の目安となるものであり、実際の使用の可否やその施用方法については圃場試験によるさらなる検討が必要である。例えば、本分離2菌株に対して抗菌活性が認められなかったトリファネートメチルはチリカブリダニに対して産卵抑制効果があることが知られており（森, 1993）、実際の生物防除資材あるいは微生物防除資材の使用場面では個々の防除資材に関する情報を元に総合的な判断が必要になるとと思われる。

HP890972 菌株のような経口接種によって殺虫活性を示す細菌のアブラムシ防除における利用の可能性を広げるために、本分離2菌株培養液を使ったキュウリ浸根接種および浸種接種を試みた。浸根接種によって接種細菌は植物体内に取り込まれ、キュウリ葉を吸汁したアブラムシからも接種細菌が再分離された。アブラムシは浸根接種時のみ放飼したので、浸根接種時には既にアブラムシを放飼した本葉部分に接種細菌が存在していたことが推察できる。一般に根からの水分の上昇は道管を利用して行われる（桜井ら, 1994）が、アブラムシの吸汁部位は養分が運ばれる篩管部なので、根から入り込んだ接種細菌がどのような経路でアブラムシに到達するのか今後の検討が必要と思われる。また、アブラムシからの接種細菌の再分離濃度が $10^2 \sim 10^6$ cfu/個体と様々であったこと、さらに、接種細菌を再分離できなかった個体があることなどから、接種細菌の増殖が死因であるという特定はできないが、HP890972 菌株においては接種菌濃度が高いほど死亡個体数が多く、さらに死亡時期が早まるという関係がみられたので、接種細菌がアブラムシ体内で増殖し、死亡させる何らかの要因にはなっている可能性が考えられる。

浸種接種によってもキュウリ植物体内に接種細菌が取り込まれることが判明した。これはキュウリ種子が出芽して根部がある程度伸長するまで、接種細菌が種

子周辺部あるいは土壤中で生存していることを意味している。さらに、接種後 50 日以上経っても接種細菌が再分離されるので、増殖の有無は不明であるが、植物体あるいは土壤中で長期間生存しているものと思われる。また、本葉第 1 葉に放飼したワタアブラムシから接種細菌を再分離できたが、浸根接種における再分離個体数よりは少なかった。これは、アブラムシを放飼するキュウリ部位の接種細菌の存在の有無に関わっており、浸根接種の場合は放飼時に本葉第 1 葉から高率に接種細菌を再分離できたが、浸根接種の場合は本葉第 1 葉から接種細菌が再分離されなかったので、接種細菌が存在しないかあるいは極微量であったためと推察される。

以上のことから殺虫活性を有する細菌分離菌株の施設栽培キュウリに発生するアブラムシ防除における有効な利用方法をまとめてみると、HS870031 菌株のように噴霧処理によって殺虫活性を示す菌株については培養液の散布が考えられる。即効性はあるが、残効期間が短いと思われるので、アブラムシの発生初期段階の低密度時に使用するのが望ましいと思われる。また、チリカブリダニなどの有用昆虫に及ぼす影響も認められるので、生物的防除資材として有用昆虫を導入する場合には時間的な隔離が必要で、有用昆虫の導入以前に分離菌株培養液の散布をしておくことが望ましいと思われる。ただし、影響を及ぼす期間はごく短いので、隔離する期間もごく短期間でよいと思われる。

また、HP890972 菌株のように経口接種によって殺虫活性を示す菌株については、培養液の浸根接種および浸種接種が考えられる。本実験においては、これらの方法は防除効果を示すレベルには至らなかった。しかし、接種細菌が根部から植物体に取り込まれ、その植物体を吸汁したアブラムシからも低率ではあるが接種細菌が再分離されたことから、経口接種によって殺虫活性を示す細菌のアブラムシ防除における利用の可能性が示唆された。

第5節 要約

施設栽培キュウリに発生するワタアブラムシの防除手段として殺虫活性を有する分離 2 菌株を利用するために、ワタアブラムシに対する防除効果の確認、標的外生物に及ぼす影響の把握、本分離 2 菌株に及ぼす農薬の影響の把握、本分離 2 菌株培養液による浸根接種および浸種接種などを行い次のような結果を得た。

- 1) HS870031 菌株培養液散布はワタアブラムシに対して防除効果が認められたが、残効期間は短かった。
- 2) HP890972 菌株培養液散布はワタアブラムシに対して防除効果は認められなかった。
- 3) HS870031 菌株培養液散布はアブラムの天敵類、ナミハダニ、チリカブリダニなどに及ぼす影響が認められたが、影響を及ぼす期間は非選択的殺虫剤と比較すると短かった。
- 4) HP890972 菌株培養液散布にもアブラムの天敵類、ナミハダニ、チリカブリダニなどに及ぼす影響が認められたが、HS870031 菌株培養液散布に比較するとその影響は少なかった。
- 5) 糸状菌対象殺菌剤のなかでは HS870031 菌株に比べ HP890972 菌株に対して抗菌活性を示す農薬が多かったが、細菌対象殺菌剤の中では逆に HS870031 菌株に抗菌活性を示す農薬が多かった。また、殺虫剤の中にも両菌株に対して抗菌活性を示す農薬が認められた。
- 6) 両菌株培養液のキュウリの浸根接種により、接種細菌は植物体に取り込まれ、キュウリ葉を吸汁したワタアブラムシからも接種細菌が再分離された。
- 7) 両菌株培養液のキュウリの浸種接種により、接種細菌は植物体に取り込まれ、キュウリ葉を吸汁したワタアブラムシからも低率ではあるが接種細菌が再分離された。

第6章 総括

1. 1986～1990年に北海道十勝支庁管内の18市町村でアブラムシ類、他の昆虫およびアブラムシ類の寄主植物など617個体のサンプルを採集した。採集したサンプルを個体ごとに滅菌水中ですりつぶし、その磨砕液を肉エキス平板培地に流し込み、優勢に増殖してくる1,100菌株の細菌を分離した。
2. 植物を吸汁するというアブラムシの生態を考えて、分離菌株培養液をスプレーする噴霧処理、あるいはパラフィルムを通して分離菌株培養液を吸汁させる経口接種による生物検定法を開発しアブラムシ病原細菌の探索を行った。
3. 1,100菌株中1986～1988年に採集したサンプルから分離した582菌株を対象に、肉エキスペプトン平板培地で培養し滅菌水で生菌数を $10^8 \sim 10^9$ cells/mlに調整した菌液の噴霧処理による殺虫活性菌株の選抜を行った。その結果、ジャガイモヒゲナガアブラムシ (*Aulacorthum solani*) およびモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) に対して強い殺虫活性を示す6菌株を選抜した (HS菌株)。
4. 1,100菌株中1989～1990年に採集したサンプルから分離した518菌株を対象に、噴霧処理における培養法と同様に培養・調整した菌液を経口接種とジャガイモ塊茎腐敗試験により選抜を行った。その結果、ジャガイモに対して病原性がなくジャガイモヒゲナガアブラムシに対して強い殺虫活性を示す6菌株を選抜した (HP菌株)。
5. 選抜された12菌株中9菌株がジャガイモヒゲナガアブラムシから、また残り3菌株はクローバー葉と菜豆葉から分離された菌株であった。
6. 噴霧処理におけるHS菌株の殺虫活性は短期間 (処理後2～4日後) で発現したが、経口接種におけるHP菌株の殺虫活性の発現には接種後8～10日間を要した。噴霧処理によるジャガイモヒゲナガアブラムシの死亡個体の体色は、死亡直後は生存時の緑黄色のままであったが、時間が経過するにつれて薄い茶褐色に変化した。また、経口接種では死亡直後から緑黄色から茶褐色に変化していた。
7. HS菌株とHP菌株を温室内のキュウリに寄生するワタアブラムシ (*Aphis gossypii*) に対して噴霧処理した結果、HS菌株はワタアブラムシに対して強い殺虫活性を示したが、HP菌株はほとんど殺虫活性を示さなかった。噴霧処理によって死亡したワタアブラムシの体色は濃緑色から黒褐色に変化しており、キュウリ葉に付着したまま死亡している個体が多かった。
8. HS菌株はグラム陰性の桿菌で *Pseudomonas* 属細菌と同定された。また、PHBを蓄積せず、蛍光色素を産生し、アルギニンジヒドロラーゼ活性が陽性で、鞭毛が1～4本あり、レバンを産生し、炭素源としてサッカロースとキシロースを利用するなどの性状からHS菌株の6菌株はすべて *Pseudomonas fluorescens* と同定された。
9. HP菌株の3菌株 (HP890972, HP891941, HP892182) は、グラム陰性の桿菌で *Pantoea* 属細菌であると同定された。また、フェニルアラニンジアミナーゼ陽性、マロン酸塩・サリシンを利用し、エスクリンを加水分解することからこの3菌株を *Pantoea agglomerans* と同定した。HP菌株の他の3菌株 (HP891192, HP891592, HP891632) は、グラム陰性の桿菌で *Xanthomonas* 属細菌と同定された。また、鞭毛が2本以上あり、黄色色素を産生せず、リシンデカルボキシラーゼ陽性であることからこの3菌株を *Xanthomonas maltophilia* と同定した。*P. agglomerans* および *X. maltophilia* については昆虫病原細菌としての報告は今までにない。
10. HS870031菌株の肉エキスペプトン液体培地培養液を上清および沈殿に遠心分離し、ジャガイモヒゲナガアブラムシに対して噴霧処理を行った。供試虫に対して強い殺虫活性を示したのは培養上清であり、処理2日後にはすでに死虫率が100%に達した。上清に菌体は含まれないので、この結果から菌体外に産生される殺虫活性物質が存在することが強く示唆された。一方沈殿部の殺虫活性は低く、処理8日後までは死亡する個体が認められなかった。
11. HS870031菌株培養上清の噴霧処理によるジャガイモヒゲナガアブラムシに対する殺虫活性は、幼虫に対しては肉エキスペプトン液体培地を用い25℃の培養で16時間以後に、成虫に対しては20時間以後に認められた。
12. HP890972菌株の肉エキスペプトン平板培地培養液をジャガイモヒゲナガアブラムシ成虫に経口接種したところ、接種菌液濃度が高いほど、また接種時間が長いほど虫体内から再分離される生菌数は多くなった。また、接種菌液濃度が高くなるほどジャガイモヒゲナガアブラムシの死亡までに要する日数は短くなった。また、死亡個体中の生菌数は、死亡時期や接種菌

液の濃度とは関係なくほぼ一定のレベル (10^7 cfu/成虫) であった。この濃度レベルが本分離菌株のジャガイモヒゲナガアブラムシ成虫体内での増殖限界濃度と考えられた。

13. HS870031 菌株培養液上清に硫酸を添加し、遠心して得られた画分をワタアブラムシ成虫に対する殺虫活性検定に供したところ 0-30 %硫酸沈殿画分が強い殺虫活性を示した。同様に、アセトン添加して得られた画分では 80%アセトン処理上清画分が殺虫活性を示した。アセトン処理上清を逆相カラムに供し、メタノールで溶出して得られた画分では 60-80 %メタノール溶出画分が高い殺虫活性を示した。60-80 %メタノール溶出サンプルの濃度別殺虫活性の検定結果は、サンプル濃度が 400ppm から高い殺虫活性を示した。

14. 60-80 %メタノール溶液溶出画分を HPLC (High Performance Liquid Chromatography) 分析した結果、8つのピークが認められたが、殺虫活性を示したのは最大成分の No.18 のピークに対応する成分であった。分取した No.18 成分の濃度別の殺虫活性検定では 200 ppm から高い殺虫活性が認められた。No.18 の成分を MS (Mass Spectrum) 分析した結果、分子量 1125.7 (MH⁺: 1126.7) に最大質量のピークが認められ、これは viscosin の分子量と一致した。m/z1126.7 の分子イオン (実際には MH⁺) を MS/MS 分析した結果、主要ピークがいくつか認められ、それらは viscosin の構成アミノ酸の開裂にともなって生成したフラグメントに一致した。よって、HS870031 菌株培養液上清に含まれる殺虫活性物質を viscosin と推定した。Viscosin は *Pseudomonas fluorescens* の産生する抗菌性物質として知られていたが、殺虫活性を示すという報告はいままでされていない。

15. 殺虫活性を有する分離 2 菌株の実際の圃場における防除効果を確認するために、施設栽培キュウリに発生するワタアブラムシに対して HS870031 菌株培養液を散布した。散布直後はアブラムシ密度が減少し防除効果は認められたが、残効期間が短く、一週間ほどでアブラムシ密度は回復した。一方、HP890972 菌株培養液散布にはワタアブラムシに対する防除効果は認められなかった。

16. 本分離 2 菌株を施設栽培キュウリに発生するワタアブラムシの防除手段として利用するためにアブラムシ以外のいわゆる標的外生物に及ぼす影響を調査した。HS870031 菌株培養液散布はアブラムシの天敵類や

チリカブリダニ (*Phytoseiulus persimilis*) などに影響を及ぼすと考えられたが、影響を及ぼす期間は合成ピレスロイド系殺虫剤のような非選択的殺虫剤と比較するとかかり短かった。

HP890972 菌株培養液散布にもアブラムシの天敵類やチリカブリダニなどに対する影響が認められたが、HS870031 菌株培養液散布と比較するとその影響は少なかった。これらのことから、本分離 2 菌株培養液散布をアブラムシ防除に利用する場合には、チリカブリダニとの時間的・空間的隔離が必要と思われる。

17. 実際の生産現場では施設栽培キュウリにおいて発生する各種病害虫を対象とした農薬の使用が想定されるので、施設栽培キュウリにおいて使用される代表的な農薬について本分離 2 菌株の生育に及ぼす影響を室内実験で調査した。糸状菌対象殺菌剤のなかでは HS870031 菌株に比べ HP890972 菌株に対して抗菌活性を示す農薬が多かったが、細菌対象殺菌剤の中では逆に HS870031 菌株に抗菌活性を示す農薬が多かった。また、殺虫剤の中にも本分離 2 菌株に対して抗菌活性を示す農薬が認められた。

18. 経口接種によって殺虫活性を示す菌株のアブラムシ防除における利用の可能性を広げるため、本分離 2 菌株培養液によるキュウリの浸根接種および浸種接種を行って、植物体に接種細菌を取り込ませ、そのキュウリを吸汁させることにより接種細菌を経口的にアブラムシに接種する方法を考案した。浸根接種により、接種細菌は植物体に取り込まれ、接種部位以外からも再分離された。さらに浸根接種時にそのキュウリ葉を吸汁したワタアブラムシの死亡個体からも高濃度の接種細菌が再分離された。また、浸種接種によっても接種細菌は植物体に取り込まれ、キュウリの各部位から再分離された。さらに、浸種接種後キュウリ葉を吸汁したワタアブラムシからも、個体数はごくわずかではあるが接種細菌が再分離された。これらの結果は、浸根接種および浸種接種によって接種細菌は植物体に取り込まれ、かなりの期間植物体の各部位で生存し、アブラムシの吸汁時にアブラムシ体内に経口的に取り込まれ、かつ増殖していることを示している。これらの結果から、本接種方法を発展させることにより HP890972 菌株のような経口接種で殺虫活性を示す菌株についてもアブラムシ防除に利用できる可能性が示唆された。

引用文献

- 青木 清 (1957) 昆虫病理学. 技報堂. 東京. 467 pp.
- 秋元信一 (1991) 虫こぶをつくるアブラムシの寄主植物に対する適応. *インセクトリウム* 28 : 20-29.
- Bucher, G. E. (1960) Potential bacteria pathogens of insects and their characteristics. *J. Insect Pathol.* 2 : 172-195.
- Bucher, G. E. (1981) Identification of bacteria found in insects. In : *Microbiale Control of Pests and Plants Diseases 1970-1980.* (H. D. Burges ed.), New York : Academic Press, pp.7-33.
- Darcy, C., P. A. Burnett and A. D. Heurings (1981) Detection, biological effects, and transmission of a virus of the aphid *Rhopalosiphum padi*. *Virology* 114 : 268-272.
- Debach, P. and D. Rosen (1991) Biological control by natural enemies. 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge, 440pp.
- 土岐克之・大島 孝 (1954) Viscosin の構造に就いて (第2報). *農化* 29 : 370-376.
- 福原敏彦 (1991) 昆虫病理学 増補版. 学会出版センター. 東京. 234 pp.
- Gavini, F., J. Mergaert, A. Beji, C. Mielcarek, D. Izard, K. Kersters and J. De Ley. (1989) Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and Description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 39 : 337-345.
- 萩田孝志 (1995) 北海道病害虫防除提要. 土屋貞夫ら編. 北海道植物防疫協会. 札幌. 769pp.
- Hall, R. A. (1981) Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980 (H. D. Burges ed.) Academic Press, London, pp.483-498.
- Hall, R. A. (1985) Biological pest control. The glasshouse experience (N. W. Hussey and N. Scopes eds.), Blandford Press, Dorset, pp.116-118.
- Hall, R. A. and H. D. Burges (1979) Control of aphids in glasshouses with the fungus, *Verticillium lecanii*. *Ann. Appl. Biol.* 93 : 235-246.
- 浜 弘司 (1987) アブラムシの薬剤抵抗性. *植物防疫* 41 : 159-164.
- 橋本庸三 (1991) ジャガイモヒゲナガアブラムシより分離された細菌 *Pseudomonas fluorescens* H86299 株について. *応動昆* 35 : 255-258.
- 橋本庸三 (1996) アブラムシ類に殺虫活性を示す細菌に関する研究 I. 細菌の分離と殺虫活性の生物検定. *応動昆* 40:287-292.
- Heinrichs, E. A. (1994) *Planthoppaers-Their Ecology and Management-* (ed. R.F.Denno and T. J. Perffect), Chapman & Hall, New York, pp571-598.
- Herbert, D. A. and J. D. Harper (1986) Bioassay of a beta-exotoxin of *Bacillus thuringiensis* against *Geocoris punctipes* (Hemiptera:Lygaeidae). *J. Econ. Entomol.* 79 : 592-595.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* Ninth Edition, Baltimore : Williams & Wilkins, pp.93-184.
- 伊藤清光・中田唯文 (1999) 殺虫剤の連続散布によるジャガイモのアブラムシのリサージェンス. *北日本病害虫研報* 50 : 208-211.
- 菊地 修・佐藤 郁 (1998) *Verticillium lecanii* に対する殺菌剤の影響. *応動昆* 42 : 107-113.
- 北沢健治・藤沢一郎・今林俊一 (1984) アブラムシおよびオンシツコナジラミの天敵糸状菌 *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas の分離. *日植病報* 50 : 574-581.
- 東風隆之 (1951) 抗菌性物質の製造法. 特許公報昭 26-7747.
- Latge, J. P. and B. Parierok (1988) Aphid pathogens. In : *World Crop Pests, 2B Aphids Their Biology, Natural Enemies and Control.* (A. K. Minks and P. Harrewijn eds.), Amsterdam : Elsevier Science Publishers B.V., pp.323-335.
- Laycock, M. V. , P. D. Hildebrand, P. Thibault, J. A. Walter and J. L. C. Wright (1991) Viscosin, a potent peptidolipid biosurfactant and mediator produced by a pectolytic strain of *Pseudomonas fluorescens*. *J. Agric. Food Chem.* 39 : 483-489.
- Ledieu, M (1986) The glasshouse experience. In : *Biological pest control.* (N. W. Hussey and N. Scopes eds.), Blandford Press, Dorset, pp. 153-161.
- Mackauer, M. and L. J. Albright (1973) The susceptibility of the pea aphid to intrahemocoelic infection by *Serratia marcescens*. *J. Invertebr. Pathol.* 22 : 418-423.
- Mackauer, M. and M. J. Way (1976) *Myzus persicae* Sulz. an aphid of world importance. In : *Studies in Biological*

- Control. Chap.4. (V. L. Delucchi ed.), London : Cambridge University Press, pp.51-286.
- 増田俊雄・菊地 修 (1992) : 異なった寄主より分離された *Verticillium lecanii* のオンシツコナジラミおよびアブラムシ類に対する病原性について. 応動昆 36 : 239-245.
- 松崎征美 (1974) ハウスにおけるアブラムシ類の発生とその問題点. 植物防疫 28 : 23-28.
- 森 樊須・斎藤 裕・古橋嘉一・中尾弘志・芦原 亘 (1993) 天敵農薬—チリカブリダニその生態と応用—. 日本植物防疫協会. 東京. 130pp.
- 森下正彦・東 勝千代 (1990) 合成ピレスロイド剤に対するモモアカアブラムシの感受性低下. 応動昆 34 : 163-165.
- 中尾弘志 (1992) 薬剤抵抗性チリカブリダニ (DAS 系統) 利用による施設野菜ハダニ類の生物的防除に関する研究. 北海道立農業試験場報告 78 : 1-75.
- 中尾弘志・斎藤 裕・森 繁須 (1987) 薬剤散布環境下における薬剤抵抗性カブリダニによるハダニの生物的防除 I. 西ドイツ系チリカブリダニによる防除試験およびそのシミュレーション. 応動昆 31 : 359-368.
- 根本 久 (1995) 天敵利用と害虫管理. 農山漁村文化協会. 東京. 181pp.
- Heins, S., D. Manker, D. Jimenez, R. McCoy (1998) A novel strain of *Bacillus* for controlling plant diseases and corn rootworm. PCT/US98/09471.
- Neu, T. R., T. Hartner, K. Poralla (1990) Surface active properties of viscosin : a peptidolipid antibiotic. Appl. Microbiol. Biotechnol. 32 : 518-520.
- 新山徳光 (1997) ジャガイモヒゲナガアブラムシによるキュウリ果実の吸汁害. 北日本病虫害研報 48 : 175-177.
- 大島 孝・田島 滋・土岐克之 (1953) Viscosin の構造に就いて (第1報). 農化 27 : 665-669.
- 太田光輝 (1995) 真空浸漬法によるイネもみ枯細菌病・苗腐敗症の防除. 日植病報 61 : 259.
- Puterka, G. J., and R. J. Severson (1995) Activity of sugar esters isolated from leaf trichomes of *Nicotiana glauca* to pear psylla (Homoptera:Psyllidae). J. Econ. Entomol. 88 : 615-619.
- 西東 力 (1988) *Verticillium lecanii* 製剤によるワタアブラムシの防除と農薬の影響. 応動昆 32 : 224-227.
- 西東 力 (1989) ワタアブラムシ *Aphis gossypii* Glover の薬剤抵抗性 I. 静岡県における薬剤感受性低下の実態とエステラーゼ活性. 応動昆 33 : 204-210.
- 西東 力 (1990) ワタアブラムシ *Aphis gossypii* Glover の薬剤抵抗性 III. 合成ピレスロイド剤抵抗性個体群の発生. 応動昆 34 : 174-176.
- 西東 力 (1994) 施設害虫の微生物的防除. 植物防疫 48 : 465-468.
- 西東 力・藪田実男 (1996) *Verticillium lecanii* の感染および病死体上の菌系発育に対する各種殺菌剤の影響. 応動昆 40 : 71-76.
- 佐古宣道 (1983) 植物ウイルス辞典. 與良 清ら編. 朝倉書店. 東京. 632pp.
- 佐藤力郎・田口明広・大沢守一・佐藤利郎 (1993) 夏秋キュウリにおけるワタアブラムシの被害解析. 北日本病虫害研報 44 : 220.
- Swings, J., P. De Vos, M. Van den Mooter and J. De Ley (1983) Transfer of *Pseudomonas maltophilia* Hugh 1981 to the Genus *Xanthomonas* as *Xanthomonas maltophilia* (Hugh 1981) comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 33 : 409-413.
- Tanada, Y. and H. K. Kaya (1993) Bacteria infection : *Bacillaceae*. In : Insect Pathology. San Diego : Academic Press, pp83-146.
- 田中 正 (1976) 野菜のアブラムシ. 日本植物防疫協会. 東京. 220pp.
- 鳥倉英徳・兼平 修・奥田裕志 (1989) アセフェート剤散布によるジャガイモのワタアブラムシの異常多発. 北日本病虫害研報 40 : 128-131.
- 鳥倉英徳 (1994) ワタアブラムシの吸汁によるジャガイモの減収. 北日本病虫害研報 45 : 153-155.

謝 辞

本論文の御校閲を賜った北海道大学大学院農学研究科教授伴戸久徳博士、同 諏訪正明博士、同 田原哲士博士に厚く御礼申し上げます。また、本研究をとりまとめるについてのご指導ならびにご助言を頂き、さらに本論文の御校閲を賜った北海道大学名誉教授飯塚敏彦博士に厚く御礼申し上げます。

本研究を遂行するにあたりご指導および適切なお助言を頂きました元道立道南農業試験場主任研究員故・谷井昭夫博士、元道立十勝農業試験場主任専門技術員花田 勉氏（現道立花野菜技術センター技術普及部長）、同病虫科水越 亨氏（現道立十勝農業試験場主任専門技術員）、同大久保利道氏（現北海道病害虫防除所予察課長）、同堀田治邦氏（現道立花野菜技術センター）、同竹内 徹氏（現道立中央農業試験場農産工学部遺伝子工学科長）、また、元道立中央農業試験場病虫部害虫科長梶野洋一博士（現道立十勝農業試験場場長）、同科長兼平 修氏（現道立花野菜技術センター技術普及部次長）、同土壌微生物科西脇由恵氏（現道立上川農業試験場）に心より感謝申し上げます。

本研究を開始するにあたり昆虫病理学の基本をご指導いただきました元農林水産省果樹試験場保護部天敵微生物研究室長高木一夫氏（現日本植物防疫協会牛久研究所顧問）、同主任研究官佐藤 威博士（現独立行政法人農業技術研究機構果樹研究所生産環境部天敵機能研究室長）、同柳沼勝彦氏（現独立行政法人農業技術研究機構果樹研究所リンゴ研究部主任研究官）に心より感謝申し上げます。

本研究の取りまとめに際しご指導とご助言を賜った住友化学工業株式会社農業化学品研究所光田 賢博士、また、御激励を賜るとともに御便宜を賜った道立中央農業試験場クリーン農業部長尾崎政春博士、同主任研究員中尾弘志博士に心より感謝申し上げます。

本研究における実験遂行上数々のご協力をいただいた、元道立十勝農業試験場臨時農業技能員橋本和子氏、同太田光子氏、同武田律子氏、同浅川幸枝氏、また元道立中央農業試験場臨時農業技能員今井滋子氏、同山めぐみ氏に心より御礼申し上げます。

Summary

1,100 new bacterial isolates obtained from 617 samples (aphids: 437, other insects: 5, plants: 175) collected for the Tokachi district of Hokkaido from 1986 to 1990 were examined in insecticidal activity against aphids. Six of 582 isolates examined in the first setout showed insecticidal activity in a spray test against the foxglove aphid, *Aulacorthum solani* and the green peach aphid, *Myzus persicae* (HS isolate). On the other hand, six of the remaining 518 isolates showed insecticidal activity by peroral inoculation against the foxglove aphid (HP isolate) which did not cause root rot in potatoes. The expression of insecticidal activity by spraying the HS isolates appeared within a few days, while that in peroral inoculation of the HP isolates took about eight days. The mortality of the cotton aphid, *Aphis gossypii*, sprayed with HS isolates in a greenhouse was high, but in spraying HP isolates, mortality was low.

The results of taxonomic characterization tests indicated that of the HS isolates, three of the HP isolates (HP890972, HP891941, HP892182) and the others (HP891192, HP891592, HP891632) should be classified into *Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea agglomerans* and *Xanthomonas maltophilia*, respectively. This is the first report on *P. agglomerans* and *X. maltophilia* with insecticidal activity.

The characteristic features of insecticidal activity of the two bacterial isolates (HS870031 and HP890972) were analyzed. Almost all the insecticidal activity against aphids in the liquid culture of HS870031 was recovered in a centrifuge supernatant. *Aulacorthum solani* nymphs sprayed with the supernatant of HS870031 cultured for 16 h exhibited high mortality and spraying a 20 h-cultured supernatant resulted in high mortality in adults.

On the other hand, as for HP strains, the more sucking time and concentration of inoculum in the peroral inoculation of HP890972 were increased, the more bacterial cells recovered from inoculated aphids and the mortality of aphids were increased. In addition, HP890972 cells were constantly recovered from dead aphids at approximately 10^7 cfu / aphid in any dose examined in this study.

An insecticidal molecule in the culture supernatant of HS870031, *Pseudomonas fluorescens* was characterized by using HPLC (high performance liquid chromatography) followed by ion spray mass spectrometry (MS). Chromatographic separation using HPLC resulted in purification of the insecticidal molecule as a single peak. An intense ion signal of the protonated insecticidal molecule was observed at m/z 1126 which was in accordance with that of viscosin. Fragmentation pathways on the formation of the major product ions, which appear in the range m/z 71.8 - 1069.6, also matched viscosin. Viscosin has been reported as an anti-mycobacterial and antiviral substance isolated from *Pseudomonas viscosa* (*P. fluorescens* biovar). This is the first report of insecticidal activity for viscosin.

The effects of spraying against numbers of *Aphis gossypii*, natural enemies of aphids, *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* on cucumbers were examined in a greenhouse. A fall in the population of *A. gossypii* was observed immediately after spraying HS870031, though the residual effect was low. On the other hand, HP890972 showed no effect on the population of *A. gossypii*. Spraying these bacterial isolates also had a moderate effect on the population of the natural enemies of aphids, *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis*, but the residual

effect was very low compared with non-selective insecticides.

The effects of 27 chemicals on the growth of bacterial isolates (HS870031 and HP890972) were evaluated on agar plates in the laboratory. The results emphasized the non-toxicity of thiophanate-methyl, kasugamycin·copper and copper oxychloride, and toxicity of dichlorvos on both isolates.

The cucumber root-soaking method was adapted for the inoculation of bacteria (HS870031 and HP890972) into the suckling pest insect, the aphid. Bacteria inoculated by the root-soaking method were recovered not only from the 1st cucumber leaf even at 22

days after inoculation, but also from *A. gossypii* released on the 1st cucumber leaf during inoculation. The use of the seed-soaking method in bacteria inoculation was also examined. The inoculated bacteria were recovered from cucumber leaves 47 days after inoculation. Transfer of the bacteria from the cucumber to aphids was observed only when the seed-soaking inoculation was performed under vacuum conditions. These results suggested the possibility of using the root- and seed-soaking methods in the peroral inoculation of bacteria into suckling pest insects.