

天敵ウイルスを用いたハスモンヨトウに対する微生物農薬の開発

神谷 克巳・鈴木郁子・松尾尚典・河村 敏

Development of a microbial pesticide for common cutworm, *Spodoptera litura* by the use of entomopathogenic viruses.

Katsumi Kamiya, Ikuko Suzuki, Naonori Matsuo and Satoshi Kawamura

要約 ハスモンヨトウに対する生物的防除資材を開発するために、自然界よりハスモンヨトウ核多角体病ウイルス (SpltNPV) を多数分離し、遺伝子解析及び生物学的特性評価を行うことにより、SpltNPV には遺伝的な多様性があり、殺虫効果をはじめとした特性の異なる様々なウイルス株が存在していることを明らかにした。そして、分離したウイルス株の中から病原性が高く、防除効果の向上につながる 2 種類のウイルス株を選抜し、それらを有効成分として利用した微生物農薬 [SpltNPV 製剤 (商品名：ハスモンキラー)] を、揖斐川工業株式会社との共同研究により開発した。本製剤で利用している新たに発見したウイルス株の 1 つは、幼虫が感染してから致死するまでの時間が短い特徴があり、このウイルス株と殺虫力が強いウイルス株の 2 種類のウイルス株を組み合わせることで、高い防除効果が得られた。

キーワード：ハスモンヨトウ、微生物農薬、天敵ウイルス、核多角体病ウイルス

緒言

ハスモンヨトウの幼虫は、雑食性でダイズやイチゴをはじめとした野菜類、花卉類など 80 種類以上の広範囲の作物を加害する害虫で、中齢以降の成育の進んだ幼虫では殺虫剤に対する感受性が低下するため防除が難しい。主に関東以西の暖地で発生し、もともと耐寒性が低いため露地での越冬は困難であったが、ハウスなどの施設内では越冬可能なため、施設の普及とともに被害が増大したと考えられている。本県のハスモンヨトウは、露地では 7 月下旬から 11 月初旬にかけて発生し、特に 8 月から 9 月にかけて発生が最も多くなり、甚大な被害をもたらすことがある。また、ハウス栽培では 11 月下旬まで被害が認められる。最近 10 年間における発生量は、年によるバラツキはあるが、特に平成 16 年および 22 年は、発生予察注意報が発令されるなど大きな被害を受けた。ハスモンヨトウは、梅雨明け後の天候が高温少雨であることが発生の好適条件と考えられており、昨今の温暖化の影響も受け、発生が多くなると予想される。

核多角体病ウイルス (NPV) は、バキュロウイルス科に属する昆虫固有のウイルスであり、ウイルス粒子が多数包埋されている多角体と呼ばれる粒子を形成し、多角体を植物とともに幼虫が摂食することで感染する。ハス

モンヨトウの天敵ウイルスである SpltNPV は、約 40 年前から微生物農薬として実用化が検討されてきたが、化学合成農薬に比べ遅効性であることや安定した大量生産技術が確立されていないなどの問題点から実用化には至らなかった¹⁾。しかし、近年の環境保全型農業に対する関心の高まりにより、天敵ウイルスは再び注目されつつある。本県では「ぎふクリーン農業」に貢献する生物的防除資材を開発する目的で、この SpltNPV を用いたハスモンヨトウに対する新しい微生物農薬の開発を進め、「ハスモンキラー」という商品名で揖斐川工業株式会社 (本社、岐阜県大垣市) が農薬登録を申請し、平成 24 年 4 月を目処に登録認可される予定である。

本報告では、ハスモンキラーの開発にあたり、自然界より分離した SpltNPV 株の中から防除効果の高い株を選抜して微生物農薬として実用化するまでの経過と、圃場での防除効果および防除効果に影響を与える要因の解析について報告する。

1. 自然界からの SpltNPV の分離と遺伝的分類

[目的]

自然界に存在する SpltNPV を分離して、遺伝的な多様性を明らかにする。

【材料および方法】

自然界の核多角体病ウイルス罹病幼虫には遺伝的に異なるクローンが混在し、殺虫力にも差があることが明らかになっている⁴⁾。そこで、日本各地で採集・保存されていた株の分譲を受けるとともに、新たに野外罹病虫の採集を行い、それぞれについて培養細胞を用いたブランク純化により遺伝的に純粋なウイルス株（クローン）の分離を行った。野外罹病虫由来サンプルから合計 189 クローンを分離し、各クローンのゲノム DNA を抽出して、各種制限酵素によって切断されたフラグメントのパターンを比較した。

【結果】

分離したクローンは、ゲノム DNA の制限酵素による切断の類似性から、大きく 3 つのグループ（A、B、C タイプ）に分類可能であった。A タイプはハスモンヨトウの近縁種である *Spodoptera littoralis* から分離された核多角体病ウイルス（NPV）の一種と類似し⁵⁾（図 1）、B タイプは国内外でこれまでに分離・報告されている NPV と一致した⁶⁾。また、C タイプは、岐阜県内で新たに採集した罹病虫からのみ分離できたタイプで、これまでに報告された NPV とはまったく類似性のない新規なパターンを示した（図 1）。

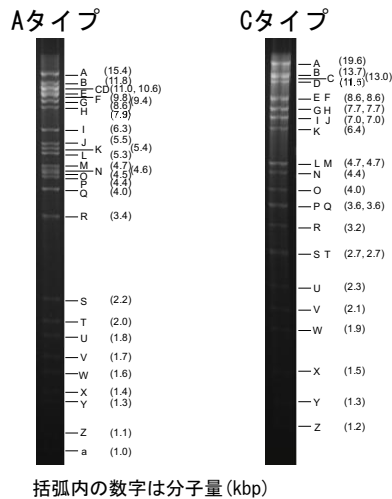


図1 SpltNPV クローンゲノム DNA の酵素切断パターン

表1 SpltNPVクローンの殺虫力の比較

クローン	LC ₅₀ (多角体 / ml)	95%信頼限界	
		下値	上値
A1	70,200	36,400	120,000
A9	43,700	22,400	75,600
B1	1,940,000	1,400,000	2,750,000
B9	1,800,000	1,080,000	3,420,000
C3	732,000	343,000	1,360,000

2. SpltNPV クローンの選抜と利用法の開発

(1) SpltNPV クローンの殺虫特性の比較

【目的】

SpltNPV 遺伝子タイプそれぞれの殺虫特性を明らかにすることにより優良クローンを選抜し、微生物農薬として最適なクローンを決定する。

【材料および方法】

遺伝的な多様性の中から殺虫力の強いクローンのみを選抜して利用することにより防除効果や大量生産時の遺伝的な安定性が高まると考えられる。そこで、各タイプの代表株 2 株についてハスモンヨトウ 3 齢幼虫を用いた生物検定により殺虫力を比較した。ドロップレットフィーディング法により、濃度の異なる多角体液を幼虫に飲下させた。試験は 3 連制で行い、感染後 14 日間の死亡率から、半数致死濃度（LC₅₀）を算出した。また、1 × 10⁸ 多角体 / ml の濃度で感染させ、死亡率を毎日調査し、半数致死時間（LT₅₀）を算出した。

【結果】

LC₅₀ 値から、殺虫力はタイプ間で大きく異なっており、B タイプが最も弱く、ついで C タイプ、A タイプは最も強かった（表 1）。一方、LT₅₀ 値に関しては、C タイプのクローンが致死までの時間が最も短かった³⁾。A および B タイプは接種後 6~9 日目にかけて死亡するのに対して、C タイプは接種後 3 日目から死亡個体が出現し、7 日目までに感染虫のほとんどが死亡した（図 2）。以上ことから、A タイプは殺虫力が強い強殺虫性の特長を有し、C タイプは致死時間が短いため遅効性を改善可能な特性を有することが明らかとなった。そこで、A タイプのクローンと C タイプのクローンを混合して用いる新規の微生物農薬を考案し、特許を取得した（特許第 4109146 号）。

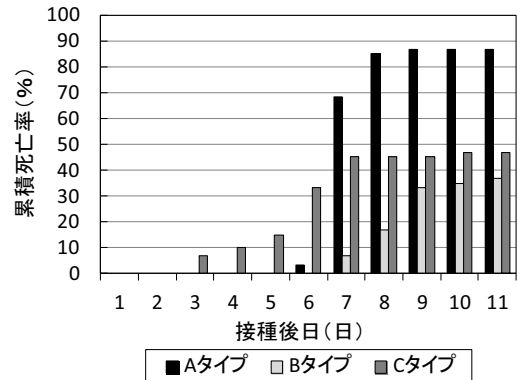
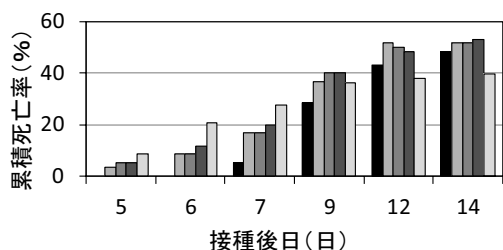


図2 SpltNPV クローンのタイプ別殺虫特性の比較



Cタイプの割合 ■0% □10% ▨20% ▩50% □100%

図3 2種クローンの混合比率による殺虫特性の比較

(2) 2クローン混合効果の検討

[目的]

AタイプとCタイプを混合することによる殺虫効果を明らかにする。

[材料および方法]

葉長約15cmのダイズ葉(フクユタカ、播種55日後)を採集し、ハサミで半分に切り多角体溶液に浸漬し水滴が無くなるまで風乾した。多角体溶液は、 1×10^8 多角体/mlの濃度で、Cタイプの割合を0、10、20、50および100%の5段階に調製した。展着剤として、アプローチを1,000倍濃度で加用した。直径60mmのプラスチックカップにダイズ葉1片を入れ、室内累代飼育した3齢ハスモンヨトウ幼虫を1匹入れた。各濃度60匹の幼虫を用いた。25°C、16L-8D条件で2日間摂食させた後、清浄な人工飼料(インセクタLFS)に交換し、その後の死亡率を処理後14日後まで調査した。

[結果]

処理後7日目までは、Aタイプ単独に比べCタイプを加えることで早く死亡する個体が出現した(図3)。最終的な死亡率は、Cタイプ単独に比べAタイプが10%以上存在している場合で死亡率が高まった。以上の結果から、AタイプとCタイプの混合により殺虫性能が高まる事が明らかとなった。2タイプの混合による悪影響は認められなかった。

3. ダイズ圃場における防除効果

[目的]

ダイズ圃場におけるハスモンヨトウに対する防除効果を明らかにする。また、高濃度少量散布により、ウイルスの残効性が高まり、防除効果を改良できるかを確認する。

[材料および方法]

農業技術センター内のダイズ圃場(品種:フクユタカ、播種:2004年7月12日、条間75cm×株間15cm)を

表2 ダイズ圃場における防除効果

散布方法	補正密度指数*			
	4日後	5日後	6日後	7日後
普通散布	79.6	36.9	21.4	8.2
高濃度少量散布	48.4	21.3	17.9	11.3

*:無処理区の幼虫密度を100とした相対値

用いて、1区15m²の3連制で試験を実施した。野外採集1齢ハスモンヨトウ幼虫を、8月18日に各試験区内に設定した調査株10株の中央部分に放虫して、2日後に薬剤散布した。バッテリー式背負動噴により試作製剤1,000倍希釈液(通常散布)を、エンジン式背負動噴に散布ノズルとしてパンクルスプレーノズルを用いて125倍液(高濃度少量散布)をそれぞれ10aあたり200L量散布した。

[結果]

補正密度指数は、散布処理5日後から急激に低下し、7日後には普通散布区で8.2、高濃度少量散布区で11.3となり、高い防除効果が認められた(表2)。普通散布に比べ高濃度少量散布で防除効果が早く現れた。散布2日後に各試験区から採集した幼虫を室内で飼育したところ、90%以上の死亡率が確認された。試験期間中の平均気温は、概ね25°C以上で推移した。

4. 微生物農薬の防除効果に影響を与える要因解析

(1) 幼虫齢期による感受性の比較

[目的]

ハスモンヨトウの発育齢による製剤に対する感受性の違いを明らかにする。

[材料および方法]

室内累代飼育したハスモンヨトウ幼虫を用いた。感染は、飼料混入法により行った。人工飼料にAタイプとCタイプの混合した試作製剤(混合比非公開)を 1×10^8 多角体/g飼料の濃度で混入し、25°C、16L-8D条件で各齢60匹以上の幼虫に2日間摂食させた。その後、清浄な人工飼料を与えてプラスチックカップ内で個別飼育して死亡率を毎日調査した。

[結果]

幼虫の発育が進むにつれて感受性は低下した(図4)。25°C条件下では、1齢と2齢幼虫はそれぞれ処理後4、5日目から死亡虫が出現し、6日目までに90%以上の死亡率が得られた。3齢および4齢幼虫は、6日目から効果が現れ、80%以上の死亡率が得られるには約9日間要した。

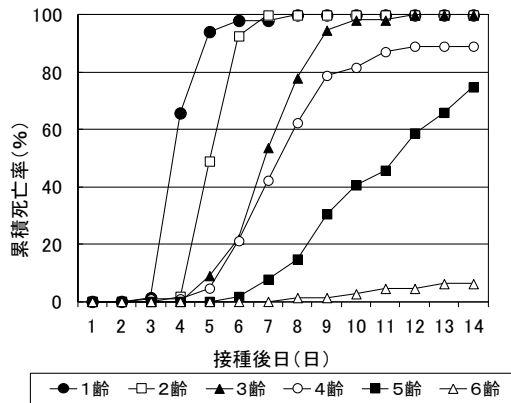


図4 幼虫齢別の殺虫効果

(2) 温度による殺虫効果の違い

[目的]

温度による製剤の殺虫効果の違いを明らかにする。

[材料および方法]

室内累代飼育した2齢および3齢ハスモンヨトウ幼虫を用いた。感染は、AタイプとCタイプの混合製剤を 5×10^7 多角体/g飼料の濃度で前述の飼料混入法により行った。製剤を混入した人工飼料を2日間摂食させた後、17、20、25、30および35℃の各温度条件下で清浄な飼料を与えて個別飼育し、死亡率を毎日調査した。

[結果]

温度が高いほど幼虫の致死に要する時間が短く、最終的な死虫率は高くなり、効果が高かった(図5)。20℃以下の温度では幼虫の致死に要する時間が長く、17℃条件では、24日後に生存していた幼虫はすべて蛹化したが死亡率は20%にとどまった。一方、2齢幼虫であれば、7日後から効果が現れ、17日後には累積死亡率が100%に達したことから、低温条件下で十分な効果を得るには、2齢までに処理するのが効果的であると考えられた。

(3) 太陽光線が残効性に与える影響

[目的]

NPVは紫外線に曝されることにより活性が低下することが分かっているため、試作製剤の散布後の残効性を明らかにする。

[材料および方法]

農業技術センター内ダイズ圃場において、2004年8月20日正午にダイズ(フクユタカ、7月12日播種、草丈約50cm)に、前述の方法で試作製剤1,000倍希釈液(1×10^7 多角体/ml)および125倍液(8×10^7 多角体/ml)を散布した。散布3時間後に上位葉(株元から

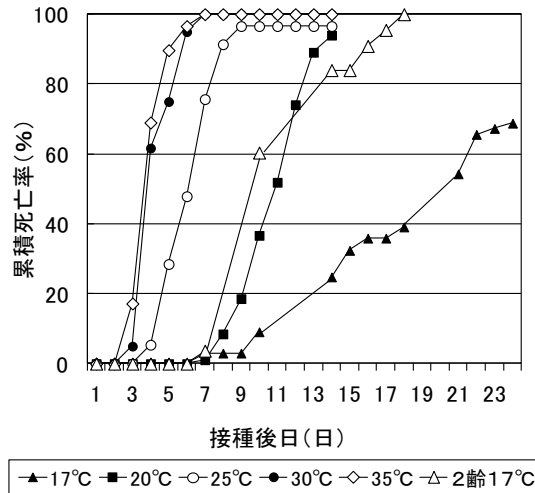


図5 ハスモンヨトウに対する温度別殺虫効果

約45cm)、中位葉(株元から約30cm)または下位葉(株元から約15cmまで)に分けて採取し、半分に切断したダイズ葉をプラスチックカップ内で3齢幼虫1匹に2日間個別で食下させた後、人工飼料を与えて14日間飼育し、死亡率を調査した。同様の感染方法により、散布後3、5、7、10および20日目に試験圃場から採集したダイズ葉について殺虫活性を調査した。

農業技術センター内ダイズ圃場において、2005年8月26日午前11時にダイズ(フクユタカ、7月19日播種、草丈約40cm)に試作製剤1,000倍希釈液の散布を行った。太陽光線を受けている頂部葉を数時間おきに採取し、上述方法によりハスモンヨトウ幼虫へ感染処理を行った後、14日間の死亡率を調査した。また、散布後6時間、1日目、2日目に2齢および3齢幼虫を採集して、室内にて人工飼料を与えて死亡率を調査した。

[結果]

製剤散布3日後までにダイズ株全体で殺虫活性が低下した(表3)。しかし、3日目以降の活性の低下は緩やかで、中位葉以下では20日後でも20%程度の死亡率が得られるウイルスが生残していた。散布方法による残効性の違いは認められなかった。

ダイズ株頂部葉では太陽光線の影響を受け、2時間後から殺虫力が低下し始め、6時間後には死亡率が半減した(図6)。一方、採集した幼虫は、散布後6時間の摂食で、3齢幼虫では80%の死亡率が、2齢幼虫では60%の死亡率が得られた(図7)。また、1日間摂食すれば2齢、3齢ともに90%以上の死亡率が得られた。

表3 圃場におけるSpliNPVの散布後残効性の葉位別推移

処理区	葉位	ハスモンヨトウ幼虫死亡率(%)					
		0日後	3日後	5日後	7日後	10日後	20日後
普通散布	上	67.5	20.0	5.3	15.0	55.6	0
	中	82.1	25.0	30.8	20.0	25.0	26.3
	下	59.0	25.0	35.0	29.4	31.3	5.9
高濃度少量散布	上	47.5	17.5	16.2	10.5	29.4	10.0
	中	50.0	5.0	15.4	8.0	40.0	0
	下	77.5	12.5	22.5	31.3	11.8	47.1

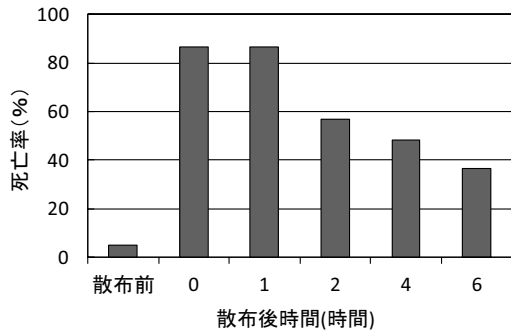


図6 ダイズ上位葉における SpliNPV の残効性の変化

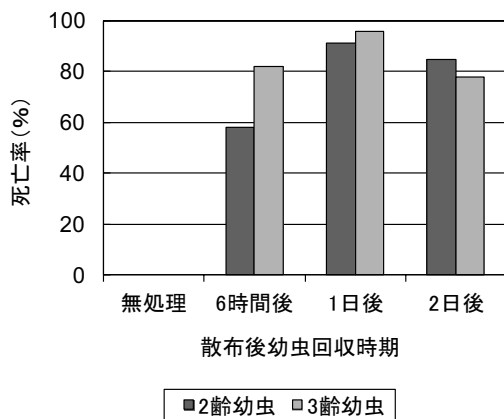


図7 圃場における摂食時間の長さとの死亡率の関係

(4) 降雨の影響と土壌中のウイルスの残効性

[目的]

NPV は紫外線による影響を受けにくい土壌中では比較的活性が安定している⁷⁾と考えられることから、製剤散布後の降雨による影響と同時に起こる土壌の跳ね上がりによる残効性を明らかにする。

[材料および方法]

前述の2004年度に防除効果確認試験を行った農業センター内ダイズ圃場の畝土(pH6.8)を供試した。普通散布区、高濃度少量散布区および無処理区の各2条の畦から深さ約3cmまで土壌を採取し、40℃にて48時間乾燥した。粉碎した乾燥土壌を0.02% Tween80溶液に懸濁し、4℃にて90分間静置した後600rpm遠心分離にて

比較的大きい夾雑物を除き、上清を3,500rpm遠心分離を繰り返して多角体を含む沈殿を得た。精製当日に精製溶液を3齢ハスモンヨトウ幼虫にドロップレットフィーディング法により直接飲下させた。処理幼虫を個別飼育し、顕微鏡を用いて死亡虫内の多角体の有無を確認し、NPVによる死亡率を調査した。同様の方法を用いて、無処理区の土壌に対して既知の濃度のAタイプとCタイプを混合した多角体液を加えてアッセイを行い、死亡率から多角体濃度を算出するための検量線を作成した。

土壌の跳ね返りの影響を明らかにするために、2005年7月25日に、生物工学研究所圃場(岐阜県美濃加茂市)においてダイズ(フクユタカ、6月9日播種、草丈約55cm)畦に試作製剤1,000倍または250倍希釈液を10a当たり200Lを直接散布した。散布後2、7および14日後に上位葉(株元から上20cm~30cmまで)と下位葉(株元から20cm上まで)を採集し、前述の方法により3齢幼虫を用いて死亡率を調査した。また、降雨の影響を調べるために、同ダイズ圃場にて7月28日に製剤1,000倍希釈液(展着剤としてアプローチ1,000倍を加用)を散布して薬液が十分乾いた後、一部の株に水道水を株上から1株当たり2L撒いた。ダイズ葉を回収し、3齢幼虫を用いて死亡率を調査した。

[結果]

作成した検量線(図8)により土壌中多角体濃度を算出した結果、散布直後の土壌には、普通散布区、高濃度少量散布区それぞれ 2.14×10^5 、 4.90×10^5 多角体/g

表4 土壌中の多角体濃度の推移

散布方法	多角体濃度(個/乾燥土壌g)			
	散布直後	3日後	10日後	20日後
普通散布	213,667	1,731	906	345
高濃度少量散布	490,396	-	985	-

-:測定値なし

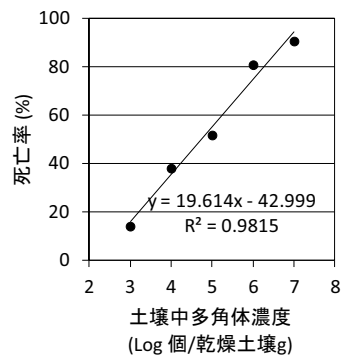


図8 土壌中多角体濃度と死亡率の関係

土壌の濃度で多角体が存在していた。3日後には約200分の1に減少したが、その後の減少は緩やかで、散布10日後まで約 1×10^3 多角体/g土壌の濃度で多角体が検出された(表4)。試験期間中は、散布2日後に32.0mm、3日後に58.0mmの降水量があった。

つぎに、薬剤を土壌に直接散布して、降雨による土壌中多角体の跳ね返り効果を調査した。散布1日後に14mm、6日後に41mm、11日後に9mmの降水量があり、土壌の跳ね上がりが認められた。ダイズ下葉で散布後2週間以上わずかな殺虫効果が得られたが、10%前後の死亡率にとどまり防除効果は期待できなかった(表5)。また、人工的な降雨による殺虫効果への影響を調査したところ、ダイズ葉に散布した製剤は一度乾燥すれば、その後の降雨による効果の低下は、約20%にとどまった(図9)。

総合考察

微生物農薬の特長として環境や人体にやさしい、抵抗性害虫出現の可能性が低いといった長所がある。そのため、減農薬栽培におけるIPMの防除体系に組み入れて利用できる資材として期待されている。ハスモンヨトウは、鱗翅目昆虫に効果の高いBT剤による防除効果が十分でないため、微生物農薬としては、NPVをはじめとした天敵ウイルスの利用が最も期待できる。今回開発した「ハスモンキラー」の主成分であるSplNPVは自然界より分離して選抜した株であり、致死時間が早いいため、これまで問題となっていた遅効性が改善され、また殺虫力も高くなっている。

表5 土壌散布SplNPVによるダイズ葉への跳ね返り効果

希釈倍率	葉位	ハスモンヨトウ幼虫死亡率(%)			
		0日後	2日後	7日後	14日後
1000倍	上	0	11.5	7.4	7.1
	下	3.3	10.7	10.3	6.7
250倍	上	0	7.4	3.6	7.4
	下	3.3	12.0	12.5	10.0

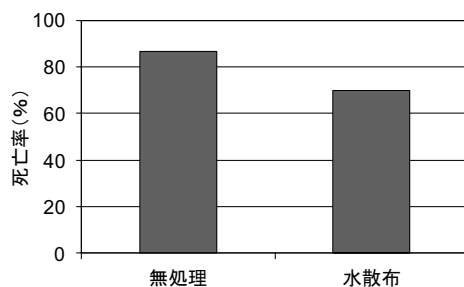


図9 降雨による影響

本剤は、ハスモンヨトウ若齢幼虫に対する殺虫効果は高いが、中齢期以降で殺虫効果は低下するため、摂食量の点からも若齢期に散布防除する必要がある。また、幼虫の発育適温で殺虫効果が高くなることから、ハスモンヨトウに対しては平均25°C以上の気温の高い時期に使用すると効果が高くなる。冬期の温室内で使用する場合など、設定温度17°Cの加温条件下で十分な効果を得るためには、2齢幼虫期までに薬剤散布を行う必要がある。

NPVの効果の持続性には様々な環境要因が影響する。多角体は紫外線に弱く、紫外線に曝されると失活し、殺虫力を失う。そのため圃場に散布された多角体は、急速に殺虫力が低下する。本剤についても、4時間の太陽光線照射で上位葉では殺虫効果が半減したが、散布後の異なる時期に圃場より回収した幼虫の死亡率から、本剤は散布直後から6時間の摂食で十分な死亡率が得られる多角体濃度であることが分かった。そのため、薬剤散布を夕方に行うことと、薬剤を葉裏面散布することで十分な効果が得られる。

ダイズ下位葉では散布した多角体による弱い残効性が20日間持続したが、土壌の跳ね上がりによる効果も弱く、防除効果を得るには十分でなかった。そのため、薬剤を散布した圃場において、散布後の異なる時期に孵化した幼虫の死虫率を調べ、防除効果の持続期間を検討した結果、散布後2日目までは高い防除効果が得られるが、3日目以降効果は低下し、孵化幼虫に対する効果の持続期間は1週間程度だった(データ未掲載)。

NPVは作物上で死亡した幼虫から多角体が放出され、二次感染の効果により散布したときと同じ効果が期待できる。しかし、2~3歳の時期に薬剤を散布し、その16日後に放虫したところ、幼虫の死虫率は30%程度であった(データ未掲載)。死亡幼虫1個体当たりの多角体放出量は感染時の発育齢によって異なり、3齢幼虫に比べ4齢幼虫で3.4倍、5齢幼虫で7.5倍であったことから、中齢期以降に感染すれば二次感染効果は高まる可能性があるが、食害量や感受性を考慮した防除適期である2~3齢幼虫に薬剤散布をした場合には、死亡幼虫による二次感染の効果は低く、残効に乏しい。このため、幼虫の発生が継続して認められる場合には、散布を繰り返す必要があると考えられる。

本剤は、揖斐川工業(株)により商品化が進められてきたが、圃場における防除効果を評価するため、当企業による日本植物防疫協会への委託試験として、2004年から2008年まで全国の公的農業試験研究機関において、ダイズ、イチゴ、レタス、シソおよびバジルの5作物、計21例の薬効薬害圃場試験が実施された(表6)。試験

結果より、ダイズをはじめ他の作物でもA判定が数多く得られており、防除効果の高さが認められている。試験場所は露地または施設において実施されたが、ともに高い防除効果が得られ、作目、気温、天敵の有無などの条件が異なっても防除効果は安定していた。気温が低下する秋以降の散布では薬効の低下が懸念されたが、夏季(7～9月)の試験が多かったダイズと比較して、秋季(9～10月)の試験が多かったレタス、イチゴでも十分な防除効果が確認できた。一方、対照として使用したBT剤に関しては、ハスモンヨトウに対する殺虫効果が高いとされる薬剤(ゼンターリ顆粒水和剤、フローバックDFおよびレピタームフロアブル)を用いたが、薬効の発現は早いものの、防除効果は本剤が優れていることが確認された。

また、ダイズ圃場において、本剤の幼虫齢別の防除効果について試験した結果、実際の使用で想定している基本濃度(製剤の1,000倍希釈)で使用する場合は3齢幼虫まで十分な防除効果が認められた。また、2齢幼虫の防除には半分濃度(2,000倍希釈)で使用しても十分な効果が認められており(データ未掲載)、幼虫の早期発見による防除がコストの軽減にも繋がると考えられる。

表6 薬効薬害圃場試験結果

作目名	試験地	判定(例数)		
		A	B	C
ダイズ	茨城、岐阜、滋賀、徳島	5	1	1
イチゴ	茨城、岐阜、徳島、山口、福岡	1	4	2
レタス	兵庫、香川、広島	2	1	0
シソ	茨城、愛知	2	0	0
バジル	愛知	1	1	0

希釈倍率:1,000倍

謝辞

本研究を実施するにあたり、元揖斐川工業株式会社のご祖父江勇気氏には、ウイルスの製剤化、大量生産など多大なる協力を頂いた。ここに深く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 浅山 哲, 天野隆, 滝本雅章, 青木弘二, 濱田千裕, 岡田齊夫 (1987) 核多角体病ウイルスによるハスモンヨトウの防除 愛知農総試研報 17 : 133-144
- 2) 岡田齊夫 (1977) 核多角体病ウイルスによるハスモンヨトウの防除に関する研究 中国農試報 E12 : 1-66
- 3) Kamiya, K., J. Zhu, M. Murata, B. A. Lavina-Caoili, M. Ikeda, M. Kobayashi and S. Kawamura (2004) Cloning and comparative characterization of three distinct nucleopolyhedroviruses isolated from the common

cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Japan. *Biol. Control* 31 : 38-48

- 4) Gettig, R.R. and W.J. McCarthy (1982) Genotypic variation among wild isolates of *Heliothis* spp. nuclear polyhedrosis viruses from different geographical regions. *Virology* 117 : 245-252
- 5) Cherry, C.L. and M.D. Summers (1985) Genotypic variation among wild isolates of two nuclear polyhedrosis viruses isolated from *Spodoptera littoralis*. *J. Invertebr. Pathol* 46 : 289-295
- 6) Maeda, S., Y. Mukohara and A. Kondo (1990) Characteristically distinct isolates of the nuclear polyhedrosis virus from *Spodoptera litura*. *J. Gen. Virol.* 71 : 2631-2639
- 7) Cory, S.J., R.S. Hails and M. Sait (1997) Baculovirus ecology. In *The Baculoviruses* (Miller, K. L., ed.), 301-339, Plenum, New York.

Abstract

We developed a microbial pesticide, 'Hasumon Killer (Ibigawa Kogyo Co., Ltd)' for common cutworm, *Spodoptera litura*. Nucleopolyhedrovirus (NPV) clones were isolated from *S. litura* larvae collected in Japan. Restriction endonuclease (REN) patterns of these clones were classified into three types designated as type A, type B and type C SpltNPV. REN analysis showed that type C SpltNPVs (SpltNPV-C) were distinct from NPVs previously identified from *S. litura* in Asia. SpltNPV-C caused rapid mortality of *S. litura* and SpltNPV-A showed highest virulence for *S. litura* larvae. We obtained a patent for idea on that blending of SpltNPV-A clone with SpltNPV-C clone improved the potential of NPVs for biological control of *S. litura* as compared with preparation containing single clone from SpltNPV-A. 'Hasumon Killer' containing these two clones is scheduled to be registered as a biopesticide for *S. litura* by April, 2012. Field testing showed that this product was effective as a microbial pesticide for *S. litura*.

Key words

Spodoptera litura, NPV, Hasumon Killer, microbial pesticide