

昆虫病原性糸状菌Beauveria brongniartii(Saccardo)PETCH のキボシカミキリに対する病原性と菌学的特性

誌名	蚕糸・昆虫農業技術研究所研究報告
ISSN	09152652
著者名	島根,孝典 河上,清
発行元	農林水産省蚕糸・昆虫農業技術研究所
巻/号	10号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-36
発行年月	1994年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



昆虫病原性糸状菌 *Beauveria brongniartii* (SACCARDO) PETCH の キボシカミキリに対する病原性と菌学的特性

島 根 孝 典¹・河 上 清

(1993年 4月1日 受理)

Takanori SHIMANE and Kiyoshi KAWAKAMI : Pathogenicity of an entomogenous fungus *Beauveria brongniartii* (SACCARDO) PETCH against the yellow-spotted longicorn beetle *Psacotha hilaris* PASCOE and mycological characteristics of the fungus

キボシカミキリ *Psacotha hilaris* PASCOE は鞘翅目 (Coleoptera) のカミキリムシ科・フトカミキリ亜科 (Cerambycidae : Lamiinae) に属する穿孔性害虫で、クワ、イチジクを主な寄主としている。近年、本種が各地の桑園に大発生して桑樹に大きな被害を与えており、桑園の生産性を低下させる要因の一つとなっている。本種の殺虫剤防除は、樹皮下に生活する幼虫に薬液が浸透し難いこと、成虫防除においてはカイコ飼育とくに多回育との関係で殺虫剤の使用が著しく制約されることなどの理由から、困難な場合が多い。

一方、キボシカミキリの硬化病病死虫からの分離頻度が高い昆虫病原性糸状菌 *Beauveria brongniartii* (SACC.) PETCH (= *B. tenella*) はキボシカミキリに強い病原性を示すが、カイコ幼虫に対する病原性は微弱で、とくに4齢および5齢のカイコ幼虫に対する病原性が認められないことから、微生物殺虫剤としての利用の可能性が示唆された (河上, 1978)。

その後、*B. brongniartii* を用いたキボシカミキリの微生物的防除における基本技術が確立され (河上・島根, 1986)、本菌のキボシカミキリに対する高い殺虫効果が、網枠内小規模圃場試験や一般圃場試験で示されている (河上・島根, 1986; 石々川ら, 1988; 仁科ら, 1988; 宍田ら, 1989; 渡辺ら, 1991; 吉井, 1991; 米山・渡辺, 1992)。本菌を用いてキボシカミキリを効果的に効率よく防除するには、菌の病原性が強いことはいうまでもなく、その生存と病原性の発現に不適な環境条件を可能な限り回避して活性の維持を図るなど、本菌の環境条件に対する生育特性を踏まえた使用が重要である。しかし、このことに関する知見は必ずしも十分とは言えない。

そこで本報においては、キボシカミキリの微生物的防除における昆虫病原性糸状菌 *B. brongniartii* の効果的・効率的利用を図るため、本菌のキボシカミキリに対する病原性、温度反応性並びに生存における安定性について検討した。

なお、本報は、「鞘翅目昆虫病原性糸状菌を利用した桑害虫キボシカミキリの生物的防除に関する研究」の一部として実施したものである。

また、本菌の学名について、河上 (1978) は MAC LEOD (1954) の分類に基づき *B. tenella* (DELACROIX) SIEMASZKO の種名を使用した。本報では DE HOOG (1972) の分類様式に基

づき *B. brongniartii* (SACC.) PETCH の種名を採用した。

本文に入るに先立ち、本研究のとりまとめに関してご指導とご助言を賜った九州大学農学部教授河原畑勇博士、同教授松山宣明博士、同助教授大庭道夫博士、並びに京都工芸繊維大学繊維学部助教授清水進博士に深甚の謝意を表する。さらに、キボシカミキリの採集や菌の分離に種々のご便宜とご協力をいただいた群馬県蚕業試験場山口孝根元場長、柳沢靖浩氏(現群馬県庁)、山梨県蚕業試験場米山光郎氏、神奈川県蚕業センター古郡義夫氏(現神奈川県庁)ほかの方々、そして種々の試験と調査に蚕糸試験場在任中多大のご援助をいただいた農林水産省農蚕園芸局蚕業課三國辰男氏、キボシカミキリの大量人工飼料育にご協力いただいた岩阪慶子氏、本稿のご校閲をいただいた蚕糸・昆虫農業技術研究所生産技術部長村上毅博士に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

1. 供試菌

Beauveria brongniartii は各地の桑園で採取したキボシカミキリ病死虫から分離、収集し、試験にはこれら収集菌株から無作為に抽出した菌株を供した。なお、比較対照菌として、蚕糸・昆虫農業技術研究所保存の昆虫病原糸状菌 *Beauveria bassiana* (No.32, No.893), *Metarhizium anisopliae* (No. 205), *Paecilomyces fumosoroseus* (No.396), *Nomuraea rileyi* (No.789, No.892) および *Aspergillus flavus* (S85) を用いた。各菌の菌株番号は当研究所独自の保存菌株番号である。菌の培養は蚕蛹エキスを寒天培地 (PEA) または酵母エキスを添加サブロー麦芽寒天 (SMYA) 培地による 25°C, 15~20 日間の静置平板培養で行い、分生子懸濁液の調製は菌叢上に形成された分生子を Tween 40 の 0.02% 添加滅菌水に懸濁、攪拌したのち、分生子の分散を良くするためにこれを超音波で短時間処理する方法によった。分生子懸濁液の分生子濃度はトーマ血球計算盤を用いて決定した。

2. 供試虫

生物検定用キボシカミキリは、主に島根・河上 (1991) の方法で幼虫期を人工飼料 (河上・島根, 1985) で飼育した成虫および幼虫を供し、一部試験では桑園で採集した成虫を使用した。

3. *Beauveria brongniartii* のキボシカミキリに対する病原性

1) 分離菌株の成虫に対する病原性

B. brongniartii の有力菌株を選抜するため、分離収集菌株から無作為に選出した菌株のキボシカミキリ成虫に対する病原性を調べた。菌の接種は、成虫を分生子懸濁液に浸漬する方法によって行い、菌接種後の成虫はプラスチックカップに一頭ずつ収容し、切断桑葉を飼料として 25°C の室内で飼育した。接種菌の病原性は病死虫数の多少または BEHRENS-KÄRBER の法 (松本, 1972) により算出される LC₅₀ 分生子懸濁液濃度により判定した。なお、死亡個体における本菌感染の確認は、死亡個体を表面殺菌後に湿らせた濾紙を敷いたペトリ皿内に収容して、各死亡虫から伸長する糸状菌を検鏡して行った。*B. bassiana* (No.

32), *M. anisopliae* (No.205) のキボシカミキリ成虫に対する病原性についても同様の調査を行い、*B. brongniartii* の病原性と比較した。

2) 成虫の感受性

キボシカミキリ成虫の成熟度、性別、大きさと *B. brongniartii* に対する感受性との関係を知るため、接種菌に *B. brongniartii* の菌株 No.879または菌株 No. 793 を用い、成熟度については羽化5日後の若い成虫と羽化45日後の成熟成虫との間で、性別では雌雄間、大きさについては体重が400mg以下の軽量成虫と400mg以上の重量成虫との間で本菌感受性の差異の有無を病死虫数の多少および LC_{50} 分生子懸濁液濃度から調べた。

3) 幼虫に対する病原性

B. brongniartii ほか昆虫病原糸状菌のキボシカミキリ幼虫に対する病原性の調査は、接種菌に *B. brongniartii* の菌株 No.894と比較対照の昆虫病原糸状菌としての *B. bassiana* (No. 32), *M. anisopliae* (No. 205), *P. fumosoroseus* (No. 396) および *N. rileyi* (No. 789, No. 892) を用いて以下のように行った。すなわち、孵化後人工飼料で20～26日間飼育したキボシカミキリ幼虫に各供試菌の分生子懸濁液を接種し、接種後の3日間は濾紙片を飼料として幼虫を飼育したのちに通常の人工飼料で飼育した。各病原糸状菌の病原性は病死虫数の多少および LC_{50} 分生子懸濁液濃度により判定した。

また、これとは別に、スライドガラス上に滴下したキボシカミキリ幼虫の体液とカイコ幼虫の体液に *B. brongniartii* (No. 769) および *B. bassiana* (No. 893) の分生子を加え、それぞれの体液中における両菌の発芽発育程度を調べた。分生子発芽率は1,500個の分生子を調査し、発芽管長は発芽分生子50個を対象に調査した。

4) 成虫に対する *B. brongniartii* の感染所要時間

本種成虫における *B. brongniartii* の経皮感染に要する時間を知るため、羽化5日内の若い成虫と羽化30日内の成熟成虫を用いて、菌接種後のホルマリンによる虫体消毒法により調査した。すなわち、*B. brongniartii* 接種後の成虫を菌接種直後、12時間後、24時間後に3%ホルマリンに浸漬して虫体表面を殺菌したのちにこれを洗浄した。菌接種後の虫体表面殺菌までの時間と病死虫率との関係から、本菌の経皮感染が成立する時間を推定した。

4. *Beauveria brongniartii* の発芽・発育と感染に及ぼす温度および湿度の影響

1) 発芽・発育に及ぼす温度の影響

B. brongniartii No. 769 および No. 879 の2菌株と *B. bassiana* (No. 32) を供試し、発芽・発育に及ぼす温度の影響を10～30℃の温度条件下における寒天培地上での分生子発芽率の良否および菌叢直径により判定した。寒天培地は主に蚕蛹エキスを寒天 (PEA) 培地を用い、一部は対照としてツアベック寒天培地を用いた。発芽率の調査は、上記寒天培地10mlを直径9cmのペトリ皿に流し込んで作成した平板培地の表面3ヵ所に分生子懸濁液を白金耳を用いて接種し、所定温度に12～30時間保護したのちに光学顕微鏡下で行った。なお、各温度保護区とも3連制で試験を行い、総数で約1,500個の分生子を検鏡して発芽率を求めた。

菌発育の良否は、分生子懸濁液を接種した円形濾紙 (東洋濾紙 No. 2, 直径6mm) を上記と同様にして作成した平板培地の中央部に置き、所定温度下で発育進展する菌叢の直径

を経時的に測定して判定した。なお、本試験は5連制で行った。

2) 感染に対する温度および湿度の影響

温度試験では、菌接種後のキボシカミキリ成虫を10~30°Cの範囲内で設定した各所定温度下で飼育して病死虫数を調査した。湿度試験では、温度を25°Cとし、湿度60~90% R. H.の範囲内で設置した所定の湿度条件下で菌接種後の成虫を1週間飼育し、菌接種後25日間以上飼育して病死虫数を調査した。さらに、本菌の感染における変温条件の影響を知るため、菌接種後の成虫を、20°Cと30°Cで12時間ごとに交互に変温する温度条件下で飼育し、その後の病死虫数を調査した。なお、死亡虫は湿らせた濾紙を敷いたペトリ皿内に保護して虫体内から菌を生育させ、これを検鏡して本菌感染の確認を行った。

5. *Beauveria brongniartii* の安定性

供試菌は *B. brongniartii* の5菌株 (No. 465, No. 490, No. 769, No. 800) および対照菌としての昆虫病原性糸状菌 *B. bassiana* (No. 32), *M. anisopliae* (No. 205), *A. flavus* (S85) の3種である。

保存試料には、供試菌の分生子懸濁液 (10^7 /ml 程度) の1白金耳量を直径6 mmの滅菌円形濾紙に接種、風乾したものを作成して供した。風乾後の試料は直ちに小形プラスチックペトリ皿 (直径60mm) または試験管 (直径10mm, 100mm 長) に5枚ずつ収め、各種所定条件下に保護した。各条件下に保護した試料における分生子の生存調査は、所定期間ごとに回収した試料を蚕蛹エキス液体培地で2週間培養し、菌叢形成の有無から分生子の生死を判定する方法によった。なお、上記のほか分生子懸濁液で保存した場合の生存調査もあわせて実施し、*B. brongniartii* 分生子の安定性を対照菌のそれと比較した。

以上は単離分生子を用いた試験であるが、*B. brongniartii* の分生子形成が進んだキボシカミキリ病死虫をそのままの状態でペトリ皿内に収めて各種所定条件下に保護した場合についても菌の生存調査を行った。菌の生死判定は、この場合、所定期間保存後の病死虫を粉碎して蚕蛹エキス液体培地で培養し、菌叢形成の有無により行った。

結 果

1. *Beauveria brongniartii* のキボシカミキリに対する病原性

1) 分離菌株の成虫に対する病原性

関東地方を中心に8県の各地桑園で採集したキボシカミキリ成虫病死体から分離した *B. brongniartii* は合計72菌株で、そのうちの大半は、山梨県、神奈川県、群馬県および長野県から採取された病死虫によるものであった(第1表)。これら分離72菌株のうちから任意に選んだ25菌株では、キボシカミキリ成虫に対し接種分生子懸濁液の濃度が 10^6 /ml 程度であれば、いずれも90%以上の高い病死率を示し強い病原性を認めた。

B. brongniartii 分離菌株から無作為に選出した5菌株について、*B. bassiana* および *M. anisopliae* を対照菌として、そのキボシカミキリ病原性を比較した結果が第2表である。*B. brongniartii* および *M. anisopliae* では病死虫の発生がみられたが、*B. bassiana* による感染、病死は全く認められなかった。とりわけ、*B. brongniartii* の病原性は強く、分生

第1表 *Beauveria brogniartii* 分離菌株Table 1 *Beauveria brongniartii* isolated from the diseased beetles collected in various local mulberry fields

採集地 Locality of collection	菌 株 番 号 Isolate No.	菌株数 Total no. of isolates
群馬県総社町 Sohjya, Gunma	725, <u>782</u> , 874, 875, <u>876</u> , <u>877</u>	
勢多郡 Seta, Gunma	871, 872, 873	
太田市 Ohta, Gunma	870	10
茨城県つくば市 Tsukuba, Ibaraki	860, <u>866</u> , 867, 891	4
神奈川県海老名市 Ebina, Kanagawa	465, 671, 672, 760, 762, 763, 764, <u>793</u> , <u>800</u> , <u>807</u> , 869, 896, 897	
津久井郡 Tsukui, Kanagawa	<u>808</u>	
相模原市 Sagamihara, Kanagawa	<u>810</u>	16
山梨県韮崎市 Nirasaki, Yamanashi	663, <u>769</u> , <u>770</u> , <u>771</u> , <u>772</u> , <u>774</u> , <u>775</u> , <u>791</u> , <u>798</u> , 868, <u>879</u> , 907, 908, 909, <u>910</u> , 911, 912, 914, 940, 941, 942, 943	22
長野県上田市 Ueda, Nagano	862, <u>863</u> , 864	
飯田市 Iida, Nagano	853, 854, 855, 856, 857, 858	9
岐阜県 Gifu	<u>614</u> , 676, <u>677</u> , <u>678</u>	4
兵庫県 Hyogo	887, 888, 889	3
鳥取県 Tottori	898, <u>899</u> , 900, 901	4
計 Total		72

キボシカミキリ成虫に対する病原性を確認した菌株にアンダーラインを付した。他の菌株については未調査である。

Isolates underlined showed pathogenicity to *Psacotha hilaris* adults markedly, other isolates had not been investigated their pathogenicity yet.

第2表 昆虫病原糸状菌のキボシカミキリ成虫に対する病原性

Table 2 Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Psacotheta hilaris* adults

供試菌 Fungi used	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	供試 虫数 No. of adults inoculated	累積病死率%				LC ₅₀
			% of cumulative mortalities				(分生子/ml) (conidia/ml)
			5	10	15	20日 days	
<i>Beauveria</i>	1.4×10 ⁸	20	0	0	0	0	>1.4×10 ⁸
<i>bassiana</i>	×10 ⁷	20	0	0	0	0	
No. 32	×10 ⁶	20	0	0	0	0	
	×10 ⁵	20	0	0	0	0	
<i>Metarhizium</i>	8.8×10 ⁶	20	0	5	10	10	≥2.2×10 ⁷
<i>anisopliae</i>	×10 ⁵	20	0	0	0	0	
No. 205	×10 ⁴	20	0	0	0	0	
<i>B. brongniartii</i>	1.8×10 ⁷	20	0	100			≤3.2×10 ⁵
No. 769	×10 ⁶	20	0	80	95	95	
	×10 ⁵	20	0	20	25	25	
	×10 ⁴	20	0	5	5	5	
No. 879	1.9×10 ⁷	20	0	100			≤1.9×10 ⁵
	×10 ⁶	20	0	70	90	90	
	×10 ⁵	20	0	25	50	55	
	×10 ⁴	20	0	5	5	5	
No. 465	1.6×10 ⁶	20	0	100			
No. 876	1.9×10 ⁶	20	0	85	100		
No. 877	4.0×10 ⁵	20	0	45	90	95	
対照 (無接種) Cont.		20	0	0	0	0	

子濃度が 10^6 /ml 程度の分生子懸濁液を用いて接種した場合の病死率は90%あるいはそれ以上に達した。

つぎに、*B. brongniartii* の6菌株を用いた接種試験の結果を第3表に示した。これら6菌株のキボシカミキリ成虫に対する病原力はやはり強く、接種分生子懸濁液の濃度が 10^6 /ml 程度の場合、ほぼ100%に近い病死率が得られた。なお、接種25日後の病死率から算出されたLC₅₀分生子懸濁液濃度は $10^4 \sim 10^5$ /ml であった。

2) 成虫の感受性

(1) 羽化後日数と感受性

羽化5日後の若い成虫と羽化45日後の成熟成虫の*B. brongniartii* に対する感受性には差が認められた(第4表)。すなわち、 10^7 分生子/ml 濃度の分生子懸濁液接種区においては若い成虫の死亡率が接種15日後に100%に達したが、成熟成虫の死亡率は20日後に至りほぼ100

第3表 *Beauveria brongniartii* 菌株のキボシカミキリ成虫に対する病原力Table 3 Pathogenicity of *Beauveria brongniartii* isolates to *Psacotha hilaris* adults

供試菌株 Isolates used	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	供試虫数 No. of adults inoculated	累積病死率% % of cumulative mortalities			LC ₅₀ (分生子/ml) (conidia/ml)
			10	15	25日 days	
<i>Beauveria brongniartii</i> No. 899	9.1×10^6	20	100			$\leq 1.6 \times 10^4$
	$\times 10^5$	20	65	95	100	
	$\times 10^4$	20	45	85	90	
	$\times 10^3$	20	10	15	35	
No. 910	9.4×10^6	20	100			$\leq 2.6 \times 10^4$
	$\times 10^5$	20	65	100		
	$\times 10^4$	20	25	60	75	
	$\times 10^3$	20	0	15	30	
No. 879	3.5×10^7	20	100			$\leq 5.5 \times 10^4$
	$\times 10^6$	20	85	100		
	$\times 10^5$	20	15	65	80	
	$\times 10^4$	20	10	30	50	
No. 677	4.0×10^7	20	15	100		$\leq 4.5 \times 10^5$
	$\times 10^6$	20	10	80	95	
	$\times 10^5$	20	0	15	30	
	$\times 10^4$	20	5	5	20	
No. 866	1.0×10^8	20	100			$\leq 1.4 \times 10^5$
	$\times 10^7$	20	90	100		
	$\times 10^6$	20	60	90	95	
	$\times 10^5$	20	5	15	40	
No. 863	6.5×10^7	20	60	100		$\leq 2.9 \times 10^4$
	$\times 10^6$	20	45	95	100	
	$\times 10^5$	20	20	80	95	
	$\times 10^4$	20	5	45	90	

%に達した。そして、LC₅₀分生子懸濁液濃度の差は接種15日後および20日後の何れの時期においても10倍程度あり、羽化後間もない若い成虫の方が感染をうけ易いことが明らかになった。

(2) 性別と感受性

圃場において採集される本種成虫では、通常雌は雄に比べて大きく、体重も重い。そこ

第4表 キボシカミキリ成虫の羽化後日数と *Beauveria brongniartii* No. 879に対する感受性との関係

Table 4 Susceptibility of young adults and matured adults of *Psacotha hilaris* to *Beauveria brongniartii* isolate No. 879

供試虫の 羽化後日数 Days after emergence of adults used	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	供試 虫数 No. of adults inoculated	累積病死率%				LC ₅₀ (分生子/ml) (conidia/ml)
			% of cumulative mortalities				
			10	15	20	25日 days	
5	1.86×10 ⁷	20	65	100			≥2.29×10 ⁵
	×10 ⁶	20	15	35	70	75	
	×10 ⁵	20	15	40	50	50	
	×10 ⁴	20	5	5	5	5	
45	1.86×10 ⁷	20	35	80	95	95	≥1.86×10 ⁶
	×10 ⁶	20	0	0	25	35	
	×10 ⁵	20	0	5	15	20	
	×10 ⁴	20	0	0	0	0	
Cont.		20	0	0	0	0	

第5表 キボシカミキリ成虫の雌雄と *Beauveria brongniartii* No. 879に対する感受性との関係

Table 5 Susceptibility of male and female of *Psacotha hilaris* adults to *Beauveria brongniartii* isolate No. 879

試験 Repetition	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	40日後の死亡率% % of mortalities at 40th day after inoculation		LC ₅₀ (分生子/ml) (conidia/ml)
		雌 Female	雄 Male	
I	4.0×10 ⁷	100	100	
	×10 ⁶	87	91	雌 4.3×10 ⁵
	×10 ⁵	47	50	female
	×10 ⁴	13	8	雄 4.0×10 ⁵
	×10 ³	0	0	male
	Cont.	0	0	
II	4.0×10 ⁷	100	100	
	×10 ⁶	89	86	雌 5.4×10 ⁵
	×10 ⁵	42	71	female
	×10 ⁴	5	14	雄 1.8×10 ⁵
	×10 ³	0	0	male

第6表 キボシカミキリ成虫体重の軽重と *Beauveria brongniartii* No. 793に対する感受性との関係Table 6 Susceptibility of weighty adults and light adults of *Psacothaea hilaris* to *Beauveria brogniartii* isolate No. 793

試験区	供試成虫	接種菌液濃度	供試	累積死亡率%				LC ₅₀
	体重 mg	(分生子/ml)	虫数					
	Body weight	Conc. of	No. of	% of cumulative				(分生子/ml)
Adults used	(mg) of	conidial	adults used	mortalities				(conidia/ml)
	adults used	suspension		5	10	15	25日	
		(conidia/ml)					days	
重量	477±66 ¹⁾	1.6×10 ⁷	20	0	60	90	90	≥1.0×10 ⁶
成虫区	(400—720)	×10 ⁶	20	0	35	55	60	
Weighty		×10 ⁵	20	0	10	20	20	
adults		×10 ⁴	20	0	0	0	0	
軽量	300±57	1.6×10 ⁷	20	0	75	85	85	≥8.0×10 ⁵
成虫区	(140—390)	×10 ⁶	20	0	25	50	75	
Light		×10 ⁵	20	0	0	10	20	
adults		×10 ⁴	20	0	0	0	0	

1) 平均±偏差値。() 内には最大—最小値を示した。

1) Mean±standerd deviation; Min. and Max. were showed in the parentheses.

で、雌雄の *B. brongniartii* に対する感受性の差異について調べた結果を第5表に示した。2回の調査に用いた成虫は何れも野外から同一時期に採集した成虫であるが、接種40日後の死亡率に違いはみられず、したがって、当然ながら LC₅₀分生子懸濁液濃度においても全く差異はなかった。すなわち、本種成虫の *B. brongniartii* に対する感受性には雌雄による差異が認められなかった。

(3) 体重と感受性

成虫の雌雄差および大きさを加味してその感受性を再度調べた結果を第6表に示した。大型成虫区(雌区)の体重は、小型成虫区(雄区)の体重よりも約1.5倍、最大体重では約2倍の差があるが、両試験区の本菌による病死虫数には差異が認められなかった。分生子濃度で示した懸濁液の LC₅₀値についても15日後は10⁶/ml程度の値を示し、25日後においてもほぼ10⁶/mlに近い値を示し、差異が認められなかった。

3) 幼虫に対する病原性

B. brongniartii およびその他の昆虫病原糸状菌4種を用いて本種幼虫に接種した試験の結果を第7表および第8表に示した。本種幼虫に対しては、*B. brongniartii* の他、*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus* の合計4菌種が病原性を示し、*N. rileyi* は非病原性であった。しかも、各菌の LC₅₀値から分かるように、*M. anisopliae* の病原力は *B. brongniartii* よりもやや強く、*B. bassiana* および *P. fumosoroseus* の病原力は、*B. brongniartii* とほぼ同様であった。

第 7 表 昆虫病原糸状菌のキボシカミキリ幼虫に対する病原性

Table 7 Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Psacotheta hilaris* larvae

供試菌 Fungi used	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	供試 虫数 No. of adults used	累積死亡率% % of cumulative mortalities					LC ₅₀ (分生子/ml) (conidia/ml) days
			5	10	15	20	25日	
<i>Beauveria</i>	1.5×10^8	20	0	0	95	95	95	$\geq 2.1 \times 10^6$
<i>brongniartii</i>	$\times 10^7$	20	0	0	50	85	85	
No. 894	$\times 10^6$	20	0	0	10	35	35	
	$\times 10^5$	20	0	0	5	10	20	
<i>B. bassiana</i>	5.3×10^7	22	0	50	86	100		6.5×10^6
No. 32	$\times 10^6$	22	0	0	0	36	36	
	$\times 10^5$	22	0	0	0	5	5	
	$\times 10^4$	22	0	0	0	0	0	
<i>Metarhizium</i>	7.1×10^8	22	0	100				$\leq 2.8 \times 10^5$
<i>anisopliae</i>	$\times 10^7$	22	0	80	100			
No. 205	$\times 10^6$	22	0	55	91	96	96	
	$\times 10^5$	22	0	0	32	68	72	
	$\times 10^4$	22	0	0	0	18	23	
<i>Nomuraea</i>	1.5×10^8	22	0	0	0	0	0	$> 1.5 \times 10^8$
<i>rileyi</i>	$\times 10^7$	22	0	0	0	0	0	
No. 892	$\times 10^6$	22	0	0	0	0	0	
	$\times 10^5$	22	0	0	0	0	0	

供試幼虫は、孵化後人工飼料で25°C、24~26日間飼育した日野系統幼虫である。

菌接種後の幼虫は3日間濾紙上で飼育し、その後は人工飼料で飼育した。

Larvae of Hino strain, reared on an artificial diet for 24-26 days at 25°C, were used for fungus inoculation.

After the fungus inoculation, larvae were reared on filter paper for three days and then they were reared on an artificial diet subsequently.

第8表 *Paecilomyces fumosoroseus* および *Nomuraea rileyi* のキボシカミキリ幼虫に対する病原性

Table 8 Pathogenicity of entomopathogenic fungi, *Paecilomyces fumosoroseus* and *Nomuraea rileyi*, to *Psacotheta hilaris* larvae

供試菌 Fungi used	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	供試 虫数 No. of adults used	累積死亡率%						LC ₅₀
			% of cumulative mortalities						(分生子/ml) (conidia/ml)
			5	10	15	20	25	30日 days	
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> No. 396	3.7×10^8 $\times 10^7$ $\times 10^6$ $\times 10^5$	15 15 15 15	93 40 7 0	100 60 7 13	 60 7 13	 60 7 13	 60 13 13	$\leq 7.4 \times 10^6$	
<i>Nomuraea rileyi</i> No. 789	1.1×10^8 $\times 10^7$ $\times 10^6$ $\times 10^5$	15 15 15 15	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	0 0 0 0	$> 1.1 \times 10^8$	
無接種 (Cont.)		15	0	0	0	0	0	0	

供試幼虫は、孵化後人工飼料で25°C、20日間飼育された日野系統幼虫である。

菌接種後の幼虫は3日間濾紙上で飼育し、その後は人工飼料で飼育した。

Larvae of Hino strain, reared on an artificial diet for 20 days at 25°C, were used for fungus inoculation.

After the fungus inoculation, larvae were reared on filter paper for three days and then they were reared on an artificial diet subsequently.

B. brongniartii および *B. bassiana* の分生子がカイコ幼虫およびキボシカミキリ幼虫から採取した体液中で発芽発育するか否かを調べた(第9表)。これによると、両菌種ともカイコ幼虫の体液およびキボシカミキリ幼虫体液中でよく発芽し、発芽管を伸長させた。しかし、いずれの幼虫体液の場合も、*B. brongniartii* の発芽率は *B. bassiana* よりも低い傾向を示し、両菌種の発芽率の差は16時間後の発芽率において顕著であったが、20時間後にはほぼ近似する発芽率を示した。また、発芽管長の比較による両菌種の発芽伸長にも大差がなかった。

4) 成虫に対する *B. brongniartii* の感染所要時間

キボシカミキリ成虫が本菌と接触したのち、経皮侵入が成立するにはどの程度の時間を必要とするかを調査した結果を第10表に示した。菌接種成虫の表面殺菌法による調査結果から本菌の経皮侵入と感染の成立に要する時間を推定すると、羽化後間もない若い成虫では菌接触後12時間ではほぼ70%の成虫で感染が成立し、24時間後には100%に近い成虫で感染が成立することが分かる。一方、成熟成虫においても、その感染に必要な時間は上記の若い成虫の場合と大差なく、菌接触後12~24時間であった。

第 9 表 *Beauveria brongniartii* および *Beauveria bassiana* 分生子の昆虫体液中の発芽発育

Table 9 Germination of conidia of *Beauveria brongniartii* and *Beauveria bassiana* in larval haemolymph of *Bombyx mori* and *Psacotha hilaris*

供試菌 Fungi used	発芽率%および発芽管長 μm % of conidial germination and length(μm) of germ tubes in larval haemolymph of the insects			
	16時間後(16hr later)		20時間後(20hr later)	
	カイコ <i>B. mori</i>	キボシカミキリ <i>P. hilaris</i>	カイコ <i>B. mori</i>	キボシカミキリ <i>P. hilaris</i>
<i>B. brongniartii</i>	13.4%		82.2%	
No. 769	$6.5 \pm 5.8 \mu\text{m}$		$20.1 \pm 14.8 \mu\text{m}$	
<i>B. bassiana</i>	47.5%		91.1%	
No. 893	$11.3 \pm 7.6 \mu\text{m}$		$28.8 \pm 15.5 \mu\text{m}$	
<i>B. brongniartii</i>			75.7%	
No. 769			$27.3 \pm 14.5 \mu\text{m}$	
<i>B. bassiana</i>			75.9%	
No. 893			$35.9 \pm 21.2 \mu\text{m}$	
<i>B. brongniartii</i>	36.6%	48.2%	72.4%	84.4%
No. 769	$7.4 \pm 4.7 \mu\text{m}$	$6.5 \pm 3.5 \mu\text{m}$	$21.5 \pm 16.7 \mu\text{m}$	$29.5 \pm 12.9 \mu\text{m}$
<i>B. bassiana</i>	51.4%	60.8%	76.0%	88.1%
No. 893	$11.3 \pm 6.5 \mu\text{m}$	$12.4 \pm 6.1 \mu\text{m}$	$29.6 \pm 15.5 \mu\text{m}$	$27.2 \pm 12.1 \mu\text{m}$

2. *Beauveria brongniartii* の発芽・発育と感染に及ぼす温度および湿度の影響

1) 発芽・発育に及ぼす温度の影響

B. brongniartii, *B. bassiana* の分生子発芽率を蚕蛹エキス寒天培地およびツァベック寒天培地を用いて25°C および27°C の両温度条件下で予備的に調査した結果が第11表である。*B. brongniartii* 分生子は蚕蛹エキス寒天培地上で *B. bassiana* と同様に24時間で高い発芽率を示した。しかし、ツァベック寒天培地での発芽は *B. bassiana* に比べ不良であり、28時間後においても発芽率は40%前後であった。

B. brongniartii 2菌株の分生子を18~30°C の範囲で5段階の温度条件下に置いた場合の各平均発芽率を第12表に示した。分生子の発芽は、18°C では不良であったが、21~30°C の温度下ではいずれも良好で高い発芽率が得られた。とりわけ24°C および27°C の温度下における発芽率が高く、21°C および30°C での発芽率は僅かに低下する傾向がみられた。なお、30°C に置いた分生子の発芽管では形態異常が観察された。すなわち、他の温度区に分生子発芽管は直線的に伸長するのに対して、30°C に置いた分生子から伸長する発芽管は湾曲するとともに、伸長の程度も劣っていた。(第1図)。

B. brongniartii の2菌株を用い10°C~30°C の間で5°C 間隔にとった各温度下で7~22日

第10表 *Beauveria brongniartii* のキボシカミキリ成虫への侵入感染時間Table 10 Hours required for fungus infection of *Beauveria brongniartii* to *Psacotheta hiralis* adults

供試成虫 Adults used	菌接種後表面 殺菌までの時間 Hours after inoculation for surface disinfection	供試虫数 No. of adults used	病死率% (3週間後) % of mortalities (3 weeks later fungus inoculation)
羽化1—5日後 の若い成虫 Young adults (1—5 days after emergence)	0時間 (接種直後) (just after inoculation)	20	35.0
	12	20	75.0
	24	42	92.9
	48	22	100.0
	無殺菌 no disinfection	48	100.0
	無接種 no inoculation	22	0.0
羽化7—30日後 の成熟成虫 Matured adults (7—30days after emergence)	0	48	12.5
	12	47	42.6
	24	45	82.2
	36	21	76.2
	無殺菌 no disinfection	64	98.4

成虫飼育温度は25°C, 菌接種後の成虫表面殺菌には3%ホルマリンを用いた。
Adults were reared at 25°C and they were dipped into a 3% solution of formalin.

第11表 *Beauveria brongniartii* および *Beauveria bassiana* 分生子の発芽率Table 11 Germinate rate of conidia of *Beauveria brongniartii* and *Beauveria bassiana* on agar media

供試菌 Fungi and isolates used		培養温度 Temp.	分生子発芽率 % % of germinated conidia			
			蚕蛹エキス 寒天培地 Silkworm pupae decoction agar		ツアベックドクス 寒天培地 Czapek Dox agar	
			20	24	20	24 (hours)
<i>B. brongniartii</i>	No. 793	25°C	65.5	72.7	35.3	36.3
	No. 800	25	47.0	70.0	31.6	34.6
	No. 677	27	71.0	88.1	10.1	
<i>B. bassiana</i>	No. 616	27	73.6	89.8*	76.5	
	No. 625	27			74.6	
	No. 725	27			90.3	

発芽率は1,000~1,500個の分生子の顕微鏡観察による。

* 30時間後の発芽率

Percentages of germinated conidia were determined by microscopic observation against 1,000-1,500 conidia.

* The percentage at 30 hours after the seeding was shown.

第12表 *Beauveria brongniartii* 分生子の発芽に及ぼす温度の影響Table 12 Effect of temperature on conidial germination of *Beauveria brongniartii*

供試菌株 Isolates used	培養時間 Hours for incubation	各温度区における発芽率 % % of germinated conidia at each temperature				
		18	21	24	27	30°C
769	20時間	33.3	80.2	84.6	84.7	81.3
	24	65.9	85.2	87.4	90.4	84.1
879	20	8.6	64.3	78.6	80.7	77.2
	24	35.2	76.8	79.8	84.9	78.2

発芽率は1,500個の分生子の顕微鏡観察による。

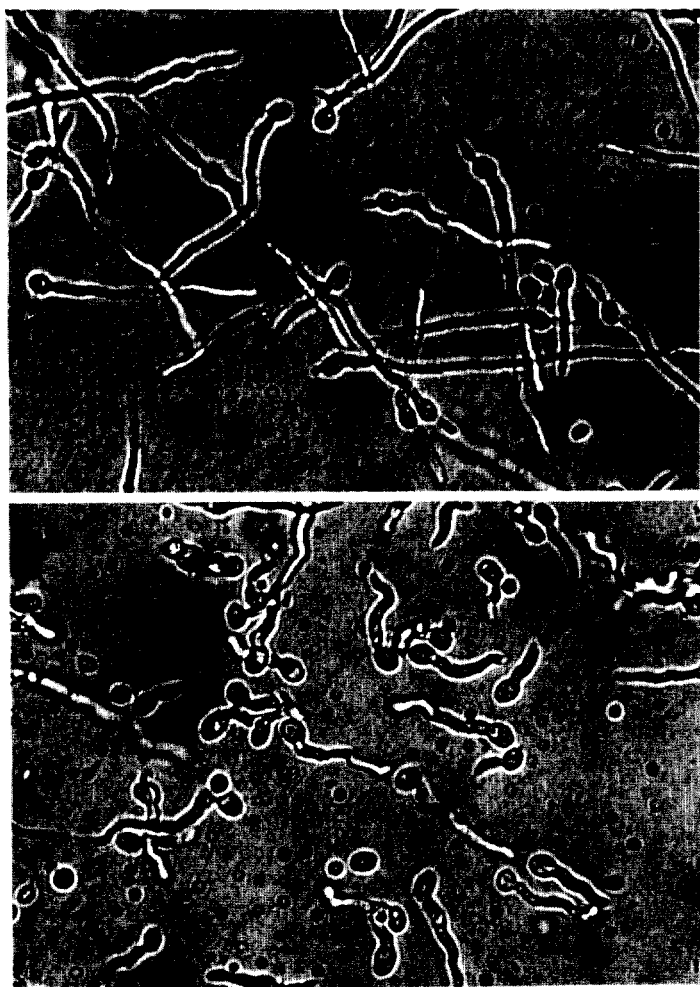
Percentages of germinated conidia were determined by microscopic observation against 1,500 conidia.

第13表 *Beauveria brongniartii* の発育に及ぼす温度の影響Table 13 Effect of temperature on mycelial growth of *Beauveria brongniartii*

供試菌株 Isolates used	培養温度 Temperature	菌叢直径 (mm) Diameter (mm) of fungus colonies			
		7	12	17	22日 days
769	10°C	6.0	8.3	12.6	16.5
	15°C	11.1	19.5	22.5	36.5
	20°C	18.9	35.6	52.3	69.0
	25°C	25.0	45.0	68.7	83.8
	30°C	12.8	22.6	32.4	43.0
879	10°C	6.0	7.7	11.2	13.8
	15°C	10.3	19.2	28.1	38.4
	20°C	19.4	36.6	54.3	69.9
	25°C	21.9	44.0	62.0	77.1
	30°C	12.7	23.6	33.8	43.8

試験は5連制で行い、菌叢直径はその平均値で示した。

Data were shown with mean value of 5 colonies.



第1図 *Beauveria brongniartii* 分生子の25°C(上図)および30°C(下図)における発芽の伸長

Fig. 1 Conidial germination and the development of germ tubes of *Beauveria brongniartii* at 25°C (upper) and 30°C (lower)

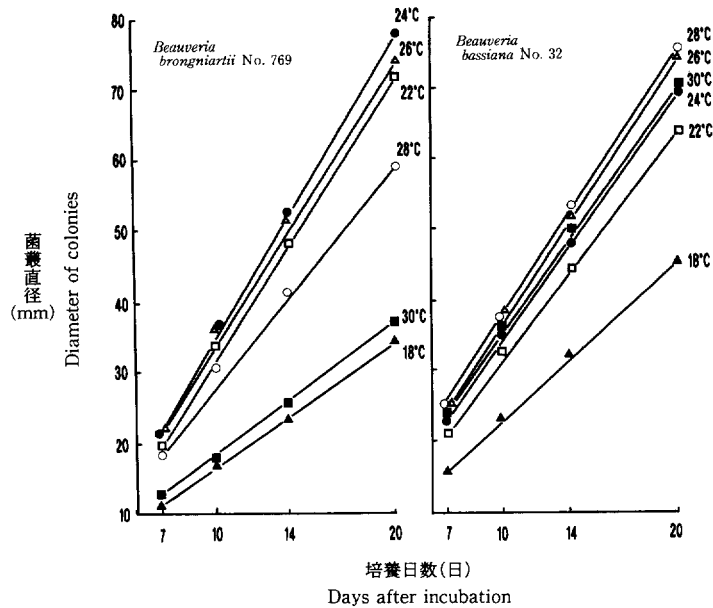
間培養したときの菌叢発育経過を菌叢直径で示したのが第13表である。菌叢発育が最も良好である温度区は25°C区で、ついで20°C区であった。30°C区ではこれら両温度区に比べて発育が劣り、この結果は30°Cで分生子発芽管の伸長が劣ることと一致した。なお、本菌は、10°Cおよび15°Cの低温区においても生育が可能であった。

つぎに、*B. brongniartii* の培養温度と生育との関係について *B. bassiana* のそれと比較した結果を第14表、および第2図に示した。*B. bassiana* の生育適温は22~30°Cの広い範囲にあるが、*B. brongniartii* の生育適温は30°Cよりやや低い22~27°Cの範囲内にあった。

第14表 *Beauveria brongniartii* と *Beauveria bassiana* の発育に及ぼす温度の影響
 Table 14 Effect of temperature on mycelial growth of *Beauveria brongniartii* and *Beauveria bassiana*

供試菌 Fungi used	培養温度 Temperature	菌叢直径 (mm) Diameter(mm) of fungus colonies			
		7	10	14	20日 days
<i>B. brongniartii</i> No. 769	22°C	19.4	33.6	48.0	71.7
	24°C	21.4	36.0	52.5	78.3
	26°C	22.0	36.3	51.3	74.3
	28°C	18.3	30.6	41.4	59.0
	30°C	12.2	18.0	25.2	36.8
<i>B. bassiana</i> No. 32	22°C	21.4	32.4	44.4	64.0
	24°C	23.0	35.0	47.8	69.4
	26°C	25.6	38.6	52.0	74.2
	28°C	25.2	38.3	53.2	75.7
	30°C	24.8	36.3	50.2	70.7

試験は5連制で行い、菌叢直径はその平均値で示した。
 Data were shown with mean value of 5 colonies.



第2図 *Beauveria brongniartii* および *Beauveria bassiana* における培養温度とカイコ蛹エキスを寒天培地上での菌叢発育

Fig. 2 Mycelial growth of *Beauveria brongniartii* and *Beauveria bassiana* at various temperatures on the silkworm pupae decoction agar medium

2) *Beauveria brongniartii* の虫体感染に及ぼす温度・湿度の影響

(1) 温度の影響

菌株 No. 879 接種後の成虫を10°C～30°Cの温度下で飼育した場合、20°Cおよび25°Cでは早い時期に病死虫率が100%に達したが、15°Cでは病死時期が遅れた(第15表)。また、30°Cでは死亡虫が発生したものの菌の検出が不可能であり、本菌による病死と確認できなかった。すなわち、20°Cおよび25°Cで菌接種後15日以内に大多数の供試成虫が病死したが、30°Cでは虫の死亡原因を明らかにすることができなかった。15°Cでは病死時期が遅れたが、病死率は高かった。

つぎに、同じ菌株 No. 879 の分生子懸濁液の10倍階段希釈液を用いて接種したキボシカミキリ成虫の病死虫率を各温度別、菌液濃度別に経時的に調査した結果を第16表に示し、その結果から算出された分生子懸濁液の LC_{50} 値を第17表に示した。本試験では、菌の感染が20°Cおよび25°Cで著しく、 LC_{50} 値は 10^5 分生子/ml程度であった。接種に用いた分生子懸濁液の濃度が高い場合には、30°Cにおいても病死虫が認められたが、30°Cでの病死虫数は15°Cに比べて遙かに少なかった。

第15表 *Beauveria brongniartii* No. 879のキボシカミキリへの感染に対する温度の影響

Table 15 Effect of temperature on the infection of *Beauveria brongniartii* isolate No. 879 to *Psacotheta hilaris* adults

温度 Temp.	供試虫数 No. of adults used	<i>B. brongniartii</i> 感染病死成虫数 No. of adults killed by <i>B. brongniartii</i> in each day after inoculation									総数 Total
		7	9	11	15	18	20	26	28	34日 days	
10°C	22	•	•	•	•	•	•	(1)	•	1	1(1)
15°C	22	•	•	•	•	5(1)	4	7	3	1	20(1)
20°C	22	•	11	10	1						22
25°C	22	6	12	1	1	1	1				22
30°C	22	(1)	•	•	(4)	(5)	(3)	(6)	•	•	0(19)

キボシカミキリは幼虫期を人工飼料で飼育し、羽化後7～13日が経過した成虫を供試した。菌の接種は 10^7 /ml濃度の分生子懸濁液を用いた浸漬法によった。

()内数値は *B. brongniartii* が検出されなかった死亡虫数である。

The adults used were 7-13 days old adults after the emergence and they had been reared on an artificial diet through their larval stage.

The fungus was inoculated to the adults by dipping them into a conidial suspension of which concentration was 10^7 /ml.

The number in the parentheses is the number of dead adults from which *B. brongniartii* was not recovered.

第16表 *Beauveria brongniartii* No. 879のキボシカミキリへの感染に対する接種菌液濃度と温度の影響

Table 16 Effect of the concentration of inoculum and temperature on the infection of *Beauveria brongniartii* isolate No. 879 to *Psacotha hilaris* adults

温 度 Temp. °C	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	累積死亡率 % % of cumulative mortalities			
		10	15	20	25日 days
10	1.86×10^7	0	0	0	0
	$\times 10^6$	0	0	0	0
	$\times 10^5$	0	0	0	0
	$\times 10^4$	0	0	0	0
15	1.86×10^7	0	5	40	80
	$\times 10^6$	0	0	30	70
	$\times 10^5$	0	0	0	15
	$\times 10^4$	0	0	0	0
20	1.86×10^7	100			
	$\times 10^6$	55	100		
	$\times 10^5$	5	35	50	55
	$\times 10^4$	0	0	0	0
25	1.86×10^7	100			
	$\times 10^6$	55	70	75	75
	$\times 10^5$	5	10	10	10
	$\times 10^4$	0	0	0	0
30	1.86×10^7	0	0	20	35
	$\times 10^6$	0	0	5	5
	$\times 10^5$	0	0	0	5
	$\times 10^4$	0	0	0	0

キボシカミキリは幼虫期を人工飼料で飼育し、羽化後10日が経過した成虫を20頭ずつ供試した。菌の接種は浸漬法によった。

The adults which had been reared on an artificial diet through their larval stage was used and they were infected the fungus at 10 days after emergence.

Each number of 20 of adults were infected the fungus by dipping into a conidial suspension.

第17表 *Beauveria brongniartii* No. 879のキボシカ
ミキリに対する病原力 LC_{50} 値と温度の関係

Table 17 Value of LC_{50} of *Beauveria brongniartii* isolate No. 879 to *Psacothia hilaris* at various temperature

温 度 Temp.	LC_{50} (分生子/ml) (conidia/ml)		
	10	15	25日 days
10°C	$>1.9 \times 10^7$	$>1.9 \times 10^7$	$>1.9 \times 10^7$
15	$>1.9 \times 10^7$	$\geq 5.2 \times 10^7$	$\geq 1.3 \times 10^6$
20	1.5×10^6	2.6×10^5	1.7×10^5
25	1.5×10^6	9.3×10^5	8.3×10^5
30	$>1.9 \times 10^7$	$>1.9 \times 10^7$	$\geq 2.1 \times 10^7$

LC_{50} 値は第16表に示した死亡率から算出した。

LC_{50} was calculated from mortalities showed in Table 16.

同様の試験を菌株 No. 769 を用いて実施した結果が第18表である。この場合も、成虫の病死虫率は20°C および25°C で高く、15°C および30°C では病死虫の発生は著しく少なかった。

さらに、虫体感染に対する変温の影響を調査した結果を第19表に示した。菌接種後の成虫を25°C の一定温度下で飼育した場合における病死虫は9～11日後に多く発生した。一方、平均温度を25°C として20°C と30°C との間で温度を変えた変温条件下での病死虫発生数は13～17日後に多く、25°C の一定温度に比べて病死虫の発生時期がわずかに遅くなった。しかも、変温処理に際して菌接種直後の12時間を30°C に設定した場合には、20°C に設定した場合に比べて死亡時期が遅れるばかりでなく、病死虫率も低下した。

(2) 湿度の影響

本菌接種後の成虫を所定の温湿度条件下で1週間飼育し、その後室内で飼育した場合の病死虫数とその結果から算出された分生子懸濁液の LC_{50} 値をそれぞれ第20表、第21表に示した。温度を25°C とした湿度60% R. H.の場合と80% R. H.の場合とでは、病死虫数に大差がなかった。すなわち、いずれの湿度条件の場合も LC_{50} 値は10日後に 10^7 /ml、25日後に 10^6 /ml 程度であり、湿度による差異は認められなかった。

湿度をこれより高い85% R. H.および90% R. H.として病死虫の発生状況を比較したところ、90% R. H.の多湿条件では病死虫が早期にしかも多数発生した。この場合の LC_{50} 値は10日後に 10^6 /ml、25日後に 10^5 /ml 程度で、他の湿度区とは約10倍の差が認められた。

3. *Beauveria brongniartii* の安定性

1) 分生子の生存力

B. brongniartii の6菌株を用い、5°C、15°C および25°C の温度条件下に15～100日間保

第18表 *Beauveria brongniartii* No. 769のキボシカミキリへの感染に対する接種菌液濃度と温度の影響

Table 18 Effect of the concentration of inoculum and temperature on the infection of *Beauveria brongniartii* isolate No. 769 to *Psacotha hilaris* adults

温 度 Temp.	接種菌液濃度 (分生子/ml) Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	累積死亡率 % % of cumulative mortalities			
		10	15	20	25日 days
10°C	9.4×10^6	0	0	0	0
	$\times 10^5$	0	0	0	0
	$\times 10^4$	0	0	0	0
	$\times 10^3$	0	0	0	0
15°C	9.4×10^6	0	0	0	15
	$\times 10^5$	0	0	0	0
	$\times 10^4$	0	0	0	0
	$\times 10^3$	0	0	0	0
20°C	9.4×10^6	40	80	95	100
	$\times 10^5$	5	15	35	35
	$\times 10^4$	0	0	5	5
	$\times 10^3$	0	0	0	0
25°C	9.4×10^6	50	70	80	80
	$\times 10^5$	10	15	20	20
	$\times 10^4$	0	0	10	10
	$\times 10^3$	0	0	0	0
30°C	9.4×10^6	0	0	20	20
	$\times 10^5$	0	0	0	0
	$\times 10^4$	0	0	0	0
	$\times 10^3$	0	0	0	0

キボシカミキリは幼虫期を人工飼料で飼育し、羽化後10日が経過した成虫を20頭ずつ供試した。菌の接種は浸漬法によった。

The adults which had been reared on an artificial diet through their larval stage was used and they were infected the fungus at 10 days after emergence.

Each 20 of adults was infected the fungus by dipping into a conidial suspension.

第19表 *Beauveria brongniartii* No. 879のキボシカミキリへの感染に対する変温の影響

Table 19 Effect of inconstant temperature on the infection of *Beauveria brongniartii* isolate No. 879 to *Psacotha hilaris* adults

温度条件 Temp.	供試虫数 No. of adults used	<i>B. brongniartii</i> による感染病死虫数 No. of adults killed by <i>B. brongniartii</i>							
		7	9	11	13	15	17	20days	Total
20↔30°C	28	•	•	1	8	14	3	2	28
30↔20	29	•	•	2	1	11	7	1	22
25	26	•	10	13	3				26
25 (無接種) (no inoculation)	30	•	•	•	•	•	•	•	0

キボシカミキリは幼虫期を人工飼料で飼育し，羽化後11日が経過した成虫を供試した。

菌の接種は 2.4×10^7 /ml 濃度の分生子懸濁液を用いた浸漬法によった。

変温条件は，始め20°C および30°C としたのち，12時間周期で両温度間を交互に変更した。

Adult beetles, which had been reared on an artificial diet through their larval stage, were used and they were infected the fungus at 11 days after emergence.

The adults were inoculated with the fungus by dipping into conidial suspension of 2.4×10^7 /ml.

Initial temperature of 20°C and 30°C was alternated with 30°C and 20°C at intervals of 12 hours periodically.

第20表 *Beauveria brongniartii* 菌株のキボシカミキリへの感染に及ぼす湿度の影響Table 20 Effect of relative humidity on the infection of *Beauveria brongniartii* isolates to *Psacothaea hilaris* adults

供試菌株	温湿度条件	接種菌液濃度 (分生子／ml)	供試 虫数	累積病死虫率 %			LC ₅₀
Isolates No. of used fungus	Temperature and humidity	Concentration of conidial suspension (conidia／ml)	No. of adults used	% of cumulative mortalities			(分生子／ml) (conidia/ml)
				10	15	25days	
No. 879	25°C, 80% R.H.	1.86×10 ⁷	25	48	61	92	≥1.62×10 ⁶
		×10 ⁶	25	16	24	56	
		×10 ⁵	25	8	8	8	
		×10 ⁴	25	0	0	0	
	25°C, 60% R.H.	1.86×10 ⁷	25	40	54	92	≥4.46×10 ⁶
		×10 ⁶	25	8	12	12	
		×10 ⁵	25	0	4	8	
		×10 ⁴	25	0	0	0	
No. 769	25°C, 80% R.H.	9.4×10 ⁶	20	20	55	70	≥2.4×10 ⁶
		×10 ⁵	20	5	25	40	
		×10 ⁴	20	0	0	0	
	25°C, 60% R.H.	9.4×10 ⁶	20	20	25	40	≥9.4×10 ⁶
		×10 ⁵	20	5	5	10	
		×10 ⁴	20	0	0	0	

キボシカミキリは菌接種7～8日後に次亜塩素酸ナトリウム溶液で表面殺菌した。

After rearing of the inoculated adults in the definite condition for 7-8 days, the insects were disinfected externally by dipping into a solution of NaClO and they were reared at room condition.

第21表 *Beauveria brongniartii* No. 769のキボシカミキリへの感染に及ぼす高湿度の影響Table 21 Effect of higher relative humidity on the infection of *Beauveria brongniartii* isolate No. 769 to *Psacotha hilaris* adults

温湿度条件	接種菌液濃度 (分生子/ml)	供試 虫数	累積病死虫率 %			LC ₅₀
Temperature and humidity	Concentration of conidial suspension (conidia/ml)	No. of adults used	% of cumulative mortalities			(分生子/ml) (conidia/ml)
			10	15	25日 days	
25°C, 80% R.H.	9.4×10^7	20	35	60	60	$\geq 1.2 \times 10^7$
	$\times 10^6$	20	0	5	5	
	$\times 10^5$	20	5	5	5	
	$\times 10^4$	20	0	0	0	
25°C, 85% R.H.	9.4×10^7	20	25	60	70	$\geq 5.9 \times 10^6$
	$\times 10^6$	20	15	20	30	
	$\times 10^5$	20	0	0	0	
	$\times 10^4$	20	0	0	0	
25°C, 90% R.H.	9.4×10^7	20	90	95	95	$\geq 5.9 \times 10^5$
	$\times 10^6$	20	60	75	85	
	$\times 10^5$	20	0	10	15	
	$\times 10^4$	20	0	5	5	

キボシカミキリは菌接種8日後に次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸漬して表面殺菌した。

After 8 days of rearing in the definite condition, the inoculated insects were disinfected externally by dipping into a solution of NaClO and they were reared at room condition.

存した場合の分生子の生存状況を示したのが第22表である。5°Cおよび15°Cの一定の温度下では、本菌分生子は70～100日の比較的長期間にわたって生存できるが、25°Cにおいては、ほぼ30日程度の生存日数であった。なお、本菌と近縁の *B. bassiana* の生存日数は45日で、本菌の生存期間はこれに比べて明らかに短かった。また、供試した本菌ほか4種類の昆虫病原糸状菌のうち、最も生存力が強かったのは *A. falvus* であり、25°Cでは100日後においてもなお供試した5枚の円形濾紙のいずれから菌糸が発育し、分生子の生存が確認された。他の3種類の供試菌の生存力については、*B. bassiana* が優れていた。

つぎに、菌を接種した円形濾紙を冬期から翌年の夏期まで272日間、室内、建物北側軒下および南側軒下の土中等3ヵ所に置いた場合における分生子の生死状況を第23表に示した。室内に置いた分生子の生存期間は75日程度で、11月から2月上旬までの間にすぎなかったが、土中に3～5 cm程度埋没した状態で建物の南側軒下に置いた分生子は138日間(11月

第22表 *Beauveria brongniartii* 分生子の生存期間Table 22 Survival days of *Beauveria brongniartii* conidia placed on filter papers

供試菌 Fungi used	保護 温度 Temp.	5 試料当たりの分生子生存試料数 No. of samples detected conidia survived in five samples				
		15	30	45	70	100日days
<i>B. brongniartii</i> No. 465	25°C	5	5	1	0	0
	15	5	5	5	5	4
	5	5	5	5	5	5
No. 490	25	5	5	1	1	0
	15	5	5	5	3	0
	5	5	5	5	5	5
No. 769	25	5	3	1	1	0
	15	5	5	5	5	3
	5	5	5	5	5	5
No. 793	25	5	5	1	0	0
	15	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
No. 800	25	5	5	0	0	0
	15	5	5	5	5	4
	5	5	5	5	5	5
No. 879	25	5	5	0	0	0
	15	5	5	5	5	4
	5	5	5	5	5	5
<i>B. bassiana</i> No. 32	25	5	5	5	0	0
	15	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5
<i>M. anisopliae</i> No. 205	25	0	0	0	0	0
	15	5	5	4	0	0
	5	5	5	5	5	5
<i>A. flavus</i> S 85	25	5	5	5	5	5
	15	5	5	5	5	5
	5	5	5	5	5	5

25°C および15°C 保護区では、円盤状濾紙に分生子懸濁液を滴下したものを試料とし、5°C 保護区では分生子懸濁液を試料とした。

Conidia, stored at 25°C and 15°C, were in the form of placing on filter paper disks prepared by placement a droplet of conidial suspension.

Conidia, stored at 5°C, were in the form of conidial suspension.

第23表 室内外の環境条件下に置いた昆虫病原糸状菌分生子の生存力

Table 23 Viability of conidia of some entomogenous fungi placed indoors and outdoors

保存場所 Places stored conidia	供試菌 Fungi used	分生子の生存 Viability of conidia in each preserved period				
		75	138	168	230	272 days
実験室内 In room	B. brongniartii No. 800	+	—	—	—	—
	No. 793	+	—	—	—	—
	B. bassiana No. 32	+	—	—	—	—
	M. anisopliae No. 205	±	—	—	—	—
	A. flavus S85	+	+	+	+	—
屋外北軒下 Under north eaves	B. brongniartii No. 800	+	+	+	±	—
	No. 793	+	+	+	+	—
	B. bassiana No. 32	+	+	+	+	—
	M. anisopliae No. 205	+	—	—	—	—
	A. flavus S85	+	+	+	—	—
屋外南軒下 Under south eaves	B. brongniartii No. 800	+	+	—	—	—
	No. 793	+	+	—	—	—
	B. bassiana No. 32	+	+	+	—	—
	M. anisopliae No. 205	—	—	—	—	—
	A. flavus S85	+	+	—	—	—

円盤状濾紙に分生子懸濁液を滴下したものを試料とした。

試験の実施時期は11月13日から翌年の8月12日までの272日間。

Samples were prepared by dropping a droplet of conidial suspension on a filter paper disk.

Samples were placed on the places for 272 days from Nov. 13 to Aug. 12.

から3月下旬)、北側軒下に置いた分生子では230日間（11月から7月）の生存がそれぞれ認められ、単離分生子は土中に埋没した場合に比較的長期間の生存が可能であった。なお、これら室外の場合、いずれも日光が直接当たる場所ではなかった。

2) 病死虫体での菌の生存力

単離分生子ではなく、病死虫体のまま置いた時の虫体内外にある菌体の生存を調査した結果が第24表である。供試した10個の病死虫から採取した分生子およびこれら病死虫体内の菌の生存期間は90～150日間であった。すなわち、25℃の場合、本菌単離分生子の生存期間が30日であったのに対して、病死虫体の状態ではその生存期間が3～5倍に達した。

つぎに、病死虫をポット内土壌に3～5 cm 程度埋没した状態と室内および建物南側軒下に吊るした状態で自然の温度条件下に11月8日から143日間および203日間置いて、それぞれの虫体から採取した分生子についてその生存を調査した結果が第25表である。本調査に

第24表 キボシカミキリ病死体に形成された *Bauveria brongniartii* 分生子の25°C における生存力

Table 24 Viability of *Bauveria brongniartii* conidia stored with the infected cadavers of *Psacotha hilaris* adults at 25°C

供試個体番号 Sample no. of cadavers	菌の生存 Viability of conidia in each period					
	30	90	120	150	190	270日 days
1	+	+	—	—	—	—
2	+	+	—	—	—	—
3	+	+	+	+	—	—
4	+	+	+	+	—	—
5	+	+	—	±	—	—
6	+	+	+	±	—	—
7	+	+	+	±	—	—
8	+	±	±	—	—	—
9	±	±	+	—	—	—
10	+	+	+	—	—	—

第25表 キボシカミキリ病死体内 *Bauveria brongniartii* の生存力

Table 25 Viability of *Bauveria brongniartii* stored under various conditions in the form with the infected cadavers of *Psacotha hilaris* adults

保存形態 Places of storage		菌生存個体数／供試個体数 No. of samples detected fungus／Total no. of samples stored					
		143日 days			203日 days		
		I	II	III	I	II	III
ポット内土壌	A	4／5	4／5	5／5	6／7	4／7	3／7
3～5cm埋没	B	4／5	4／5	5／5	6／8	4／8	6／8
Buried in soil							
建物南軒下吊下		5／5	2／5	5／5	4／7	0／7	5／7
Hung under south eaves							
実験室内		4／5	4／5	2／5	2／7	0／7	3／7
In room							

試験の実施時期は11月8日から翌年の5月30日までの203日間。

I：キボシカミキリ病死体に形成された分生子の生存調査による。

II：CRCC寒天培地（河上・仲，1979）を用いた生存調査。

III：キボシカミキリ病死体からの菌生育の有無で判定。

Samples were placed at the places for 203 days from Nov. 8 to May. 30.

I：Data based on the survival of conidia which had been formed on the cadavers.

II：Data based on the isolation of the fungus from the cadavers using the CRCC agar medium (KAWAKAMI and NAKA, 1979).

III：Data based on the appearance of the fungus developed externally from the cadavers.

よると、11月から冬期間を経て翌春に至る143日後において、土中に埋没した虫体での菌生存個体率は80～100%であり、そのほかの場合では40～100%であった。さらに、11月から翌春5月末までの203日後の結果においてもその傾向は同様で、土中埋没虫体での生存割合が高いが、生存割合は43～86%に低下した。なお、土中に埋没しない虫体での菌生存個体の割合は著しく低下し、0～71%であった。

昆虫病原糸状菌4種について、菌液の状態で保存した時の生存力をすでに示した円形濾紙上に置いた単離分生子の低温保存時における生存力（第22表）と対比して示したのが第26表である。菌を接種した円形濾紙を低温に保存した場合、*M. anisopliae*を除く他の3菌種の生存期間は室温保存に比べて著しく長い結果であった。しかし、菌液の状態で5℃の低温下に置いた分生子の生存期間は、菌液を円形濾紙に含ませて保存した場合の分生子よりも遙かに安定し、300日後においても供試菌種の全てが生存していた。

第26表 昆虫病原糸状菌分生子の保存形態と生存力

Table 26 Viability of conidia of some entomogenous fungi stored in refrigerator or placed in room

保存形態 Places and form of storage	供試菌 Fungi used	菌の生存 Viability of conidia in each period					
		75	138	168	230	272	300日 days
冷蔵庫・ 円盤状濾紙 In refrigerator・ on paper disks	<i>B. brongniartii</i> No. 800	+	+	+	+	±	
	No. 793	+	+	+	±	—	
	<i>B. bassiana</i> No. 32	+	+	+	+	±	
	<i>M. anisopliae</i> No. 205	±	—	—	—	—	
	<i>A. flavus</i> S85	+	+	+	+	+	
冷蔵庫・ 懸濁液 In refrigerator・ conidial sus- pension	<i>B. brongniartii</i> No. 800	+	+	+	+	+	+
	No. 793	+	+	+	+	+	+
	<i>B. bassiana</i> No. 32	+	+	+	+	+	+
	<i>M. anisopliae</i> No. 205	+	+	+	+	+	+
	<i>A. flavus</i> S85	+	+	+	+	+	+
実験室内・ 円盤状濾紙 In room・ on paper disks	<i>B. brongniartii</i> No. 800	+	—	—	—	—	—
	No. 793	+	—	—	—	—	—
	<i>B. bassiana</i> No. 32	+	—	—	—	—	—
	<i>M. anisopliae</i> No. 205	±	—	—	—	—	—
	<i>A. flavus</i> S85	+	+	+	+	—	—

試験の実施時期は11月13日からの272～300日間。

Samples were stored at the places for 272-300 days from Nov. 13.

考 察

各地桑園から採集したキボシカミキリの病死体から分離された72菌株のうちから任意に選んだ25菌株のキボシカミキリ成虫に対する病原性は何れも強く、接種分生子懸濁液の濃度が 10^5 /ml程度であれば90%以上の病死率が得られた。すなわち、これら供試菌株間にはキボシカミキリ成虫に対する病原力に大差なく、いずれも強い病原性を有する有力菌株であると判断される。

一般に、虫の体重（大きさ）は幼虫期間の長短で違ってくる。キボシカミキリの幼虫期間には著しい個体差がある（米山・小沢，1980；島根・河上，1991）。そのため、圃場に生息する成虫の大きさには個体差があり、また、雌雄別の平均体重でも、雌に比べて雄は軽い傾向にある。しかし、成虫の *B. brongniartii* に対する感受性は雌雄および体重（大きさ）による差異が認められず、本菌による殺虫効果は、通常観察される範囲では成虫の大きさや性別とは無関係に様に発揮されるものと思われる。

B. brongniartii のキボシカミキリ幼虫に対する病原性は、成虫に対する病原性と同様に強いものであった。欧州においては、*B. brongniartii* を土壌に処理して土壌中のコガネムシ類幼虫を対象とした微生物殺虫剤としての利用研究が古くから実施されているが（FERRON, 1978）、桑樹幹内に生活しているキボシカミキリ幼虫に病原糸状菌を感染させることは容易でない。昆虫病原糸状菌を樹皮下のカミキリムシ幼虫に処理する方法として、島津ら（1992）は、*B. bassiana* によるマツノマダラカミキリ幼虫の微生物的防除において、被害マツ樹に穴をあけて菌を培養したふすまペレットを挿入する処理方法を報告している。しかし、本処理法による桑樹のキボシカミキリ幼虫に対する *B. brongniartii* の接種は、桑園でのクワの栽植密度が高く、しかも幼虫の生活の場であるクワの主幹部が低位置にあることから処理作業の困難性が容易に推察され、労力的にも難しいと思われる。クワの樹幹内に生活しているキボシカミキリ幼虫に対する本菌の簡便で効果的な接種方法は今後の検討課題であり、*B. brongniartii* を用いた桑園害虫キボシカミキリの微生物防除は、当面、成虫を防除対象に行うのが適当と思われる。

キボシカミキリ幼虫に対しては、*B. brongniartii* 以外にも、*M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* の各菌種が病原性を示した。しかし、これら昆虫病原性糸状菌の本種成虫に対する病原性は極めて弱く、成虫にも病原性を示したのは *M. anisopliae* であるがその病原力は弱いものであり、*B. bassiana* では成虫に対する病原性が認められなかった。この結果は、これら昆虫病原性糸状菌のキボシカミキリに対する病原性、すなわち、キボシカミキリの昆虫病原性糸状菌に対する感受性が幼虫期と成虫期とでは大きく異なることを示している。このことは昆虫における糸状菌病の感染生理の観点からも興味深い事象であり、今後その原因を究明する必要がある重要な問題である。

昆虫の病原糸状菌に対する感受性は、昆虫体液中で病原菌分生子の発芽発育の良否と並行関係にあり（青木ら，1951）、この昆虫体液を培地とした分生子の発芽試験法は、家蚕硬化病の罹病性検定や（荒武，1961）、家蚕翹かび病の感受性検定（河上，1975）、さらには人工飼料育蚕の硬化病感受性の検定（河上・三国，1984）に用いられている。*B. brongniartii*

および *B. bassiana* の分生子はカイコ幼虫の体液およびキボシカミキリ幼虫体液中で発芽したが、*B. brongniartii* のカイコ幼虫の体液中での発芽率は *B. bassiana* よりも低い傾向を示した。*B. brongniartii* のカイコ幼虫に対する病原性は極めて弱いこと（河上，1978）を併せ考えれば、カイコ幼虫の *B. brongniartii* と *B. bassiana* に対する感受性は、体液中での分生子の発芽・発育の良否と並行関係にあるといえる。両菌種のカイコ幼虫に対する病原性は顕著に異なり、*B. brongniartii* はカイコ幼虫に殆ど病原性を示さない（河上，1978；島根・河上，1993）。しかし、カイコ幼虫体液中における両菌種の発芽率の差は小さく、20時間後の発芽率はほぼ近似した。したがって、*B. brongniartii* がカイコ幼虫に殆ど病原性を示さない原因は、カイコ幼虫体内に侵入した本菌に対する体液の影響によるものではなく、幼虫皮膚の物理化学的要因による病原菌の侵入阻害による可能性が高いと推察される。その原因を解明するには、カイコ幼虫体皮における *B. brongniartii* の動態を組織化学的に究明する必要がある。

宿主昆虫が病原菌の感染をうけるには、まず、病原菌との接触が必要である。一般に昆虫病原糸状菌は経皮感染を行い、昆虫体表での分生子等繁殖体の発芽伸長、外皮貫通、体内増殖などの過程を経て宿主を死に至らしめ、病原性が発現される。昆虫病原糸状菌の経皮感染では、特定の侵入部位はないとされるが、*Melolontha melolontha* に対する *B. brongniartii* の侵入は口器部（buccal appendages）や肛門（anus）からも容易に行われ、土壤中に生活する幼虫においては体節間膜が本菌の主要侵入部と考えられている（FERRON, 1981；HALL and PAPIEROK, 1982）。キボシカミキリ成虫に対する *B. brongniartii* の感染は、本菌の接触が成虫の全身に及ぶ場合に限らず、脚や触角など体の一部が接触しても十分に感染が成立する（河上，1978）。本菌の25℃におけるキボシカミキリ成虫に対する経皮侵入と感染は分生子接触後12～24時間で成立すると推定される。

感染時における温度条件は、菌の繁殖から感染の成立に至る一連の過程に大きな影響を及ぼす一要因である。不完全菌類亜門（Deuteromycetes）昆虫病原糸状菌の生育適温は菌種により異なり、生育適温が20～25℃付近にある菌種と25～30℃付近にある菌種に大別される（FERRON, 1981；HALL and PAPIEROK, 1982）。*B. brongniartii* の生育適温は30℃よりやや低い22～27℃であり、*B. bassiana* に比べると適温帯温度が僅かに低いのが特徴的である。また、本菌では、30℃に置いた分生子から伸長する発芽管は湾曲するとともに、伸長の程度も20～25℃の場合より劣っていた。本菌の分生子にみられる30℃での発芽管の形態異常は昆虫病原性不完全菌類では極めて珍しく、キボシカミキリ成虫の発生と感染時期との関係および分生子の産生にもかなり影響するものと考えられる。

昆虫病原糸状菌における分生子発芽、菌糸生育、分生子形成の好適温度は感染適温と近似する場合が多い（HALL and PAPIEROK, 1982）。*B. brongniartii* のキボシカミキリ成虫に対する感染率は20～25℃で高く、15℃がこれにつぎ、30℃では著しく低下することが明らかになった。この結果は、本菌の発芽・発育における温度特性と良く一致している。30℃における感染率低下の原因としては、本菌分生子を30℃に置いたときにみられた発芽管の形態異常と菌の伸長不良が影響しているものと考えられる。さらに、20℃と30℃の間での変温試験結果から、感染に対する30℃の影響は接種直後に大きいことが示唆された。このことは、接種後の温度を30℃定温条件とした場合が本菌のキボシカミキリ成虫への感染

に最も不適である結果とも一致し、本菌による微生物製剤の有効利用上重要な意味を持つと判断される。すなわち、本菌の使用により高い殺虫効果を得るには、夏期の高湿時を避け、使用の時期並びに時刻に関しても可能な限り高温の影響を受けない時期および時刻を選択する必要があることを示唆するものである。

不完全菌類亜門昆虫病原糸状菌の分生子の発芽下限湿度は92~93%とされ (WALSTAD et al., 1970 ; FERRON, 1981), また、自然界における昆虫糸状菌病の流行は、雨期のような多湿期間の持続と関係する場合が多いことから (ROBERTS and YENDOL, 1971 ; HALL and PAPIEROK, 1982), 湿度は感染成立に影響する環境要因の一つと考えられる。

本菌の感染に及ぼす湿度の影響については、25°C の温度条件下の場合、90%といった多湿条件で高率に死亡虫が発生するが、60%の低い湿度条件においても相当数の病死虫の発生が認められ、温度条件による影響に比べると少ないと思われる。低湿度条件下での感染には、感染成立の場である昆虫体表における水分の発散などの微気象が関係していると推察されるが、不明な点が多い。

B. brongniartii などの昆虫病原微生物を用いて害虫を効率的に防除するには、微生物が長期にわたって害虫に感染し、これを死に至らしめる作用の持続性、すなわち、微生物密度の維持が重要である。理想的には、昆虫病原微生物が自然界で増殖することにより密度を維持し、永続的に害虫密度を低下させることにある。糸状菌は、一般にその構造が耐久体でないため、その生存力は温度、湿度、光（主に紫外線）などの環境条件の影響を受ける。昆虫病原糸状菌のうち、硬化病菌とよばれる不完全糸状菌綱 (Hyphomycetes) の分生子は中間湿度で不安定な菌もみられる (河上, 1960)。さらに、短菌糸は分生子よりも不安定である (FERRON, 1978)。これらの菌で比較的安定しているのは分生子であり、通常、糸状菌の有力な繁殖体となっている分生子は、置かれた条件によりかなり長期間生存する場合もある。すなわち、STEINHAUS (1960) はスライドグラス上で4°C 下に置いた *B. bassiana* の分生子が2.5年(128週)の長期間生存することを報告している。また、CLERK and MADELIN (1965) は、*B. bassiana*, *P. farinosus*, *M. anisopliae* 分生子に対する様々な物理的要因の影響を人工条件下で調査し、暗黒下での低温や低湿度条件が分生子の生存に最も適することを明らかにした。一方、気象環境条件が日変化し、季節的にも変化する野外の自然条件下にあっては、分生子の生存力はさほど強くないと考えられている (MADELIN, 1963)。

円形濾紙上に置いた *B. brongniartii* 単離分生子の25°C での生存日数は *B. bassiana* よりもやや短くほぼ30日程度であるが、低温下では比較的長期間生存する。さらに、菌液の状態で5°C の低温下に置いた分生子の生存は、円形濾紙上に置いた分生子よりも安定していた。一方、室内外の冬期から翌年の夏期までの間の直射日光があたらない場所に自然の温度条件下に置いた円形濾紙上の単離分生子および病死虫体の状態での菌体は、いずれも室内より野外での生存期間が長く、建物南側よりも北側で、しかも軒下に吊した状態よりも土中に埋没した状態で長期間生存した。*B. brongniartii* は古くから土壤中のコガネムシ類幼虫に対する病原微生物として土壌処理による防除試験が行われてきたことを併せ考えれば、本菌の土中での生存期間が比較的長く、菌の極度の乾燥に起因する死滅が土壌中では起こりにくいためと推察される。さらに、本菌が病死虫体内にある状態では、単離分生子よりも生存期間において勝っていた。これは、一般に知られるように、単離分生子よりも

分生子梗に付着した状態にある分生子の方が安定性が高いことによるものと推定される。

B. brongniartii 単離分生子の25℃における生存期間は30日で、桑園でのキボシカミキリ成虫の発生期間に比べると短い。したがって、本菌をキボシカミキリに対する微生物農薬として利用する場合、1回のみ処理ではキボシカミキリ成虫の発生期間中継続的に高い防除効果は期待できず、最盛期を中心に30日程度の間隔で複数回処理する必要があるだろう。

硬化病菌の自然界での生存と恒常的な病気の発生には、病死虫体が重要な役割を果たしている (MADELIN, 1963)。本菌においても晩秋に土中に埋没した病死虫体内にある菌体は冬期に死滅することなく、その生存が翌春まで確認された。しかし、病死虫体内で冬期間を過ごした *B. brongniartii* 菌体の翌春以降の分生子形成能、すなわち、キボシカミキリ成虫への感染と糸状菌病の発生における役割は不明で今後の検討課題である。

Beauveria 属菌の分類については、MACLEOD (1954) は多数の菌株を対象に調査を行い、分生子の形状が主に球形である *B. bassiana* と卵円形～楕円形である *B. tenella* の2種にまとめ、一方、DE HOOG (1972) は分生子形成細胞の形態と分生子着生法、クラスターの有無、分生子の形状などを指標として *B. alba*, *B. bassiana*, *B. brongniartii* の3種に分ける提案を行った。キボシカミキリ病死虫から分離された本菌の学名について、河上 (1978) はその菌学的諸特性および CBS 分譲菌株との比較に基づき、本菌の学名は MACLEOD (1954) の分類方式によれば *B. tenella* となり、DE HOOG (1972) の分類基準によれば *B. brongniartii* となるが、当時は MACLEOD (1954) の分類方式が広く採用されていたことと、DE HOOG (1972) が示した *Beauveria* 属菌の分類にクラスターの有無を重要な基準とすることへの疑問などの理由を示した上で、最終的には *B. brongniartii* の同意語として *B. tenella* (DELACROIX) SIEMASZKO を採用して報告した。しかし、近年では DE HOOG (1972) の分類方式が広く採用され、*B. tenella* は不適当とされていることから、本報では *B. brongniartii* (SACCARDO) PETCH を使用した。

最近、SHIMAZU et al. (1988) は、*B. brongniartii* の完全世代として本菌に感染したドウガネブイブイ幼虫の死体から子座、子のう殻、子のう胞子の形成を認め、*Cordyceps brongniartii* の学名を与えている。しかし、著者らが扱ってきたキボシカミキリから分離された *B. brongniartii* では、この約10年間の総数で数千頭に及ぶキボシカミキリの感染病死虫の観察においては、このような完全世代が形成される例はまったくみられなかった。これには宿主昆虫の違いや菌株の違いなども考えられ、本菌の学名としての完全世代名の採用についての妥当性については今後の研究の進展を待ちたい。

本菌の学名についての経過は以上であるが、本菌に対する和名は未だ付されていない。本菌はキボシカミキリのほかにもクワカミキリ、ゴマダラカミキリ、スギカミキリ、ブドウトラカミキリなどに対して強い病原性が認められており (滝口, 1981; 柏尾・氏家, 1988; 堤・山田, 1989, 1992; SHIBATA et. al., 1991), とくに鞘翅目のカミキリムシ類に対する寄生性が高いことが示されている。そこで、今後 *B. bassiana* による昆虫疾病との区別を明確にするため *B. brongniartii* の和名を「カミキリヤドリカビ」と称し、本菌による病気の名称には既に使用されている糸状菌病の一般名である「硬化病」または「黄きょう病」を充てることを提案する。

摘 要

昆虫病原糸状菌 *Beauveria brongniartii* を利用したキボシカミキリの微生物的防除法開発のため、*Beauveria brongniartii* 分離菌株のキボシカミキリに対する病原性と本菌の発芽・発育と感染における温度等の影響および安定性を調査した。

結果の概要は以下のとおりである。

1. *Beauveria brongniartii* のキボシカミキリ成虫に対する病原性は *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* よりも強く、*B. brongniartii* の病原性に顕著な菌株間差異が認められなかった。
2. キボシカミキリ成虫の *B. brongniartii* に対する感受性は成熟成虫よりも羽化後間もない成虫で高いが、雌雄間および体重の軽重による感受性の差異はなかった。
3. *B. brongniartii* はキボシカミキリ幼虫にも病原性を示した。*B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Peacilomyces fumosoroseus* も本種幼虫に病原性を示したが、*Nomuraea rileyi* による発病は認められなかった。カイコ幼虫の体液およびキボシカミキリ幼虫体液中での *B. brongniartii* 分生子の発芽率には著しい差が認められなかった。
4. *B. brongniartii* のキボシカミキリ成虫に対する感染は分生子接触後12~24時間で成立すると推定された。
5. *B. brongniartii* の分生子発芽、菌叢発育および虫体感染における適温域はそれぞれ 24~27°C, 22~27°C, 20~25°C であり、30°C では分生子発芽管の形態異常、菌叢発育の遅延を認めたほか病死虫率も低下した。
6. 湿度90% R. H.の多湿条件下はキボシカミキリの発病時期の短縮に有効であった。
7. *B. brongniartii* 分生子の生存は低温下で比較的長い、25°C ではほぼ30日程度であった。土中に埋めた分生子は室内よりも長期間生存した。
8. 病死虫体内の *B. brongniartii* は単離分生子の状態よりも長期間生存し、菌の生存率は土中に埋没した病死虫体で高かった。
9. 分生子の長期保存には低温保存が有効で、保存形態としては分生子を円形濾紙に含ませた状態よりも分生子懸濁液の状態が勝った。
10. キボシカミキリ病死虫から分離された *B. brongniartii* に対する和名として「カミキリヤドリカビ」を提案した。

引 用 文 献

- 青木 清・中里泰夫・藤本 勲 (1951) 糸状菌と昆虫との関係に就いて. (II) 二, 三硬化病菌の病原性及び昆虫体液中に於ける発芽発育 (1). 日蚕雑, 20: 431~438.
- 荒武義信 (1961) 家蚕硬化病罹病性の遺伝学的解析. I. 白きょう病罹病性の染色体分析. 蚕試報, 17: 155~165.
- CLERK, G. C. and MADELIN, M. F. (1965) The longevity of conidia of three insect-parasitizing Hyphomycetes. Trans. Brit. Mycol. Soc., 48: 193~209.

- DE HOOG, G. S. (1972) The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium* gen. nov., Studies in Mycology, (1), 1~41.
- FERRON, P. (1978) Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Annu. Rev. Entomol., **23** : 409~442.
- FERRON, P. (1981) Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In "Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980" (Ed. BURGESS, H. D.), pp. 465~482, Academic Press, London and New York.
- HALL, R. A. and PAPIEROK, B. (1982) Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. Parasitology, **84** : 205~240.
- 石々川英樹・蜜田和彦・河上 清 (1988) 天敵糸状菌 *Beauveria tenella* によるキボシカミキリ防除試験. 応動昆, **32** : 230~231.
- 柏尾具俊・氏家 武 (1988) キボシカミキリ由来の天敵糸状菌 *Beauveria tenella* のゴマダラカミキリに対する病原性と殺虫効果. 九病虫研会報, (34) : 190~193.
- 河上 清 (1960) 各種硬化病菌分生胞子の生存力と湿度との関係. 蚕糸研究, (33) : 43~47.
- 河上 清 (1975) 麴かび病感受性の蚕品種間差異と採取体液中での分生胞子の発芽. 日蚕雑, **44** : 39~44.
- 河上 清 (1978) キボシカミキリに寄生する *Beauveria tenella* (DELACROIX) SIEMASZKO について. 蚕試報, **27** : 445~467.
- 河上 清・三国辰男 (1984) 人工飼料育蚕の硬化病菌に対する感受性. 日蚕雑, **53** : 245~249.
- 河上 清・仲 昭年 (1979) 黒きょう病菌 *Metarhizium anisopliae* (METCHNIKOFF) SOROKIN の桑園土壌からの検出とそのカイコに対する病原性. 日蚕雑, **48** : 43~52.
- 河上 清・島根孝典 (1985) キボシカミキリの大量飼育用人工飼料の改善. 日蚕雑, **54** : 315~320.
- 河上 清・島根孝典 (1986) 昆虫病原糸状菌 *Beauveria tenella* を利用したキボシカミキリの微生物的防除. 日蚕雑, **55** : 227~234.
- MACLEOD, D. M. (1954) Investigations on the genera *Beauveria* VUILL. and *Tritirachium* LIMBER. Can. J. Bot., **32** : 818~890.
- MADELIN, M. F. (1963) Diseases caused by Hyphomycetes fungi. In "Insect Pathology, An Advanced Treatise" (Ed. STEINHAUS, E. A.), Vol. 2, pp. 233~271. Academic Press, New York.
- 松本 稔 (1972) 新ウイルス学II (東 昇・石田名香雄編) pp. 86~109, 朝倉書店, 東京.
- 仁科祥次郎・横山隆雄・清水 剛 (1988) 昆虫病原糸状菌 *Beauveria tenella* によるキボシカミキリ成虫の防除. 長野蚕試要報, (24) : 1~10.
- ROBERTS, D. W. and YENDOL, W. G. (1971) Use of fungi for microbial control of insects. In "Microbial Control of Insects and Mites" (Ed. BURGESS, H. D. and HUSSEY, N. W.), pp. 125~149, Academic Press, London and New York.
- SHIBATA, E., YONEDA, Y., HIGUCHI, T. and ICHINOSE, H. (1991) Control method of the

- adult sugi bark borer, *Semanotus japonicus* LACORDAIRE (Coleoptera : Cerambycidae), using the nonwoven fabric sheet with an entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii* (SACC.) PETCH, in Japanese cedar, *Dryopteris japonica* D. DON, stand. Appl. Ent. Zool., **26** : 587~590.
- 島根孝典・河上 清 (1991) 人工飼料によるキボシカミキリの大量累代飼育法. 蚕糸昆虫研報, (2) : 65~112.
- 島根孝典・河上 清 (1993) 昆虫病原糸状菌 *Beauveria brongniartii* の蚕およびマウスに対する安全性について. 日蚕雑, **62** : 30~37.
- SHIMAZU, M., MITSUHASHI W. and HASHIMOTO, H. (1988) *Cordyceps brongniartii* sp. nov., the teleomorph of *Beauveria brongniartii*. Trans. mycol. Soc. Japan, **29** : 323~330.
- 島津光明・串田 保・土屋大二・三橋 渡 (1992) ふすまペレットに培養した *Beauveria bassiana* 種菌によるマツノマダラカミキリの微生物的防除. 日林誌, **74** : 325~330.
- 穴田幸男・柳沢靖浩・田村利行・高橋章夫 (1989) キボシカミキリの天敵糸状菌 *Beauveria brongniartii* の大量培養と桑園での殺虫試験. 群馬農業研究 B 蚕業, (6) : 55~60.
- STEINHAUS, E. A. (1960) The duration of viability and infectivity of certain insect pathogens. J. Insect Pathol., **2** : 225~229.
- 滝口義夫 (1981) 4 種のカミキリムシ成虫に対する *Beauveria tenella* (DELACROIX) SIEMASZKO の病原性について. 応動昆, **25** : 194~195.
- 堤 隆文・山田 健一 (1989) *Beauveria brongniartii* によるイチヂクのクワカミキリ, キボシカミキリの防除法. 九州農業研究, (52) : 118.
- 堤 隆文・山田健一 (1992) *Beauveria brongniartii* のブドウトラカミキリに対する病原性. 九州農業研究, (54) : 115.
- WALSTAD, J. D., ANDERSON, R. F. and STAMBAUCH, W. J. (1970) Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). J. Inverteb. Pathol., **16** : 221~226.
- 渡辺浩久・中里 茂・中村弘男・荒川七郎 (1991) 桑園害虫キボシカミキリの新防除法確立試験 (第 1 報). *Beauveria brongniartii* (= *B. tenella*) 製剤の殺虫効果試験. 栃木蚕セ要報, (33) : 5~7.
- 米山光郎・小沢和茂 (1980) キボシカミキリの発生実態と防除法に関する試験. 第 2 報 産卵時期別による次世代成虫の羽化時期. 山梨蚕試要報, (20) : 94~98.
- 米山光郎・渡辺常富 (1992) 天敵糸状菌 *Beauveria brongniartii* (= *B. tenella*) シート剤のキボシカミキリへの防除効果. 山梨蚕試要報, (31) : 30~34.
- 吉井幸子 (1991) 昆虫病原糸状菌 *Beauveria brongniartii* によるキボシカミキリの防除. 千葉蚕セ要報, (10) : 46~51.

Summary

Pathogenicity of an Entomogenous Fungus *Beauveria Brongniartii* (SACCARDO) PETCH Against the Yellow-Spotted Longicorn Beetle *Psacotha Hilaris* PASCOE and Mycological Characteristics of the Fungus

by

Takanori SHIMANE and Kiyoshi KAWAKAMI

In order to use the entomogenous fungus *Beauveria brongniartii* (SACCARDO) PETCH as a microbial control agent against the yellow-spotted longicorn beetle *Psacotha hilaris* PASCOE, which severely damages mulberry trees in Japan, the pathogenicity of the isolates of the fungus against the beetle, the effects of the temperature on conidial germination, mycelial growth and infection, and the stability of this fungus were investigated. The results obtained were as follows.

1. *B. brongniartii* was more virulent against *P. hilaris* adults than *B. bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. The pathogenicity among the isolates of *B. brongniartii* was not significantly different.

2. Young adults, reared for 5 days after emergence, were more susceptible to the infection of the fungus than mature adults, reared for 45 days after emergence. However, there were no remarkable differences between male and female, and between large adults weighing more than 400mg and small adults weighing less than 400mg.

3. *B. brongniartii* was virulent against the larvae of this insect. In other tested entomogenous fungi, *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* were pathogenic against the larvae, unlike *Nomuraea rileyi*.

4. *B. brongniartii* conidia germinated and developed a germ tube both in the haemolymph of the yellow-spotted longicorn beetle larvae and in the haemolymph of silkworm larvae. There were no remarkable differences in the percentage of germinated conidia and the length of the germ tube in the haemolymph of both insects.

5. Based on the mortality of adults which were disinfected with formaldehyde for various hours (0-36 hours) after inoculation, it was assumed that *B. brongniartii* infected the adults of the beetle within 24 hours of initial exposure to conidia.

6. The range of suitable temperatures for conidial germination, mycelial growth and infection was 24-27°C, 22-27°C and 20-25°C, respectively. At 30°C, the germ tubes showed an abnormal development in their form and the mycelial growth

was retarded. Also the mortality of the beetles decreased.

7 . A relative humidity condition of 90 % R. H. was effective in reducing the number of days required for killing the beetles after fungal infection.

8 . The *B. brongniartii* conidia survived for a long period of time at a low temperature, but only for 30 days at 25°C. Conidia, which were buried in the soil superficially, survived for a longer period of time than the conidia exposed to room temperature.

9 . *B. brongniartii* in the cadavers survived for a longer period of time than the conidia detached from conidiophores. When the mummified beetles, which were killed by *B. brongniartii*, were buried in the soil superficially, the survival rate of the fungus was higher than that of the unburied mummies.

10. For the preservation of *B. brongniartii* conidia, it was preferable to store them in the form of a suspension at a low temperature than in the form of naked conidia placed on a filter paper.

11. The strain of *B. brongniartii*, which had been isolated from wild cadavers of *P. hilaris* and showed a high pathogenicity against the beetle, was designated as “kamikiri-yadori-kabi” (Japanese name) by the authors.

(*National Institute of Sericultural and Entomological Science, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan*)

Key words : *Beauveria brongniartii*, *Psacotha hilaris*, pathogenicity, microbial agent, mycological characteristics