

有用天敵生物の機能向上と新害虫防除技術の開発（プロジェクト研究成果シリーズ262）

誌名	有用天敵生物の機能向上と新害虫防除技術の開発
ISSN	
著者名	
発行元	農林水産省農林水産技術会議事務局
巻/号	262号
掲載ページ	p. 1-113
発行年月	1992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



有用天敵生物の機能向上と 新害虫防除技術の開発

農林水産技術会議事務局

研 究 の 要 約

I 研究年次・予算区分

研究年次：昭和63年度～平成2年度

予算区分：農林水産技術会議特別研究

II 主任研究者

主 査：速水昭彦（農業環境技術研究所長）

副主査：桐谷圭治（農業環境技術研究所環境生物
部昆虫管理科長）（昭和63年度）

岡田利承（農業環境技術研究所環境生物
部昆虫管理科長）（平成元年度～2年度）

III 研究場所

農業研究センター，農業環境技術研究所，果樹試験場，野菜・茶業試験場，北海道農業試験場，東北農業試験場，森林総合研究所

IV 研究目的

1. 天敵生物の薬剤耐性等有効遺伝形質の増強

従来から有効性が期待されている各種天敵の利用に当たっては、慣行防除に使用される殺虫剤、殺菌剤の悪影響が実用化の障害となっている。そのため、殺虫剤、殺菌剤に耐性をもつ天敵を作出するとともに、天敵生物の有効性をさらに高めるために増殖力、攻撃性、殺虫能力のすぐれた系統の育成と機能の向上を図る。

2. 新天敵生物利用による害虫防除技術の開発

畑作害虫ヨトウムシ類の病原ウイルス、あるいはコガネムシ幼虫等に強い殺虫力を持つ昆虫寄生性線虫などの有力天敵が発見されている。また、畜産害虫ハエ類の増殖を阻止する糞虫がアメリカから導入され、さらに、これまで積極的な利用が図られなかった捕食性天敵クサカゲロウ類について研究蓄積がなされた。これら有効性が期待される天敵生物について利用上の問題点の解決を図り、利用技術を開発する。

3. 天敵生物の複合利用による総合防除技術の開発

低コスト生産や食品安全性への要求が高まる中で、複数の害虫に対して複数の天敵を組み合わせ使用し、さらに、必要最低限度の殺虫剤の合理的使用を組み込んだ総合防除体系の確立が望まれるようにな

っている。そのため、天敵を利用した施設栽培における総合防除技術の開発を図る。

V 研究方法

1. 天敵生物の薬剤耐性等有効遺伝形質の増強

殺虫剤、殺菌剤に耐性をもつ天敵を作出するとともに、天敵生物の有効性を更に高めるため、増殖法、攻撃性、殺虫能力等のすぐれた系統の育成を図る。具体的には、捕食性のダニについては殺虫剤抵抗性、増殖力及び耐低湿性の強化を図る。天敵糸状菌については殺菌剤による耐性選抜株の病原性を検討するとともに、細胞融合のためのプロトプラスト調製法及び酵素活性による病原力選抜法を開発する。バキエロウイルスについては変異株検定法を開発し感染促進効果を検討する。捕食性天敵クサカゲロウ類については増殖、生存力の向上を図る。昆虫寄生性線虫については低温耐性付与を図る。

2. 新天敵生物利用による害虫防除技術の開発

近年有効性が期待されている新しい天敵生物について、利用上の問題点の解決を図るとともに、それらの利用技術を開発する。具体的には、ヨトウムシ類のウイルスについて病原性強化法、複数害虫の同時防除の可能性及び野外での実用性を検討する。昆虫寄生性線虫クシダネマについては大量増殖法及び長期保存法を開発する。導入糞虫ガゼラエンマコガネについては牛糞分解埋め込み機能を明らかにし、野外放飼試験を行う。クサカゲロウ類については人工飼料の開発と人工卵の試作を行う。

3. 天敵生物の複合利用による総合防除技術の開発

これまでの天敵研究の成果をとりこみ、施設栽培体系における総合防除技術の開発を図る。具体的には、施設栽培のナスにミナミキイロアザミウマ、オンシツコナジラミ、ハダニ類及びアブラムシ類を増殖させ、これら害虫の天敵である *Orius* sp. オンシツヤコバチ、チリカブリダニ及びテントウムシ類を放飼して密度抑制効果を検討する。また、施設栽培のブドウにクワコナカイガラムシ及びハダニ類を増殖させ、天敵のクワコナカイガラヤドリバチとケナガカブリダニについて、併用可能な農薬の種類を検討する。

研究室別年次計画表

()内は昭和63年度実施

課 題 名	課 題 番 号	実 施 年 度			担 当		
		昭63	平 1	2	場 所	部	研 究 室
1. 天敵生物の薬剤耐性等有効遺伝形質の増強	100						
(1) 天敵生物の薬剤耐性の増強	110						
ア. 捕食性ダニの薬剤耐性の増強	111	←	→		野菜茶試	茶栽培部	虫害研
イ. 天敵糸状菌の薬剤耐性の増強	112	←	→		果樹試	保護部	天敵微生物研
(2) 天敵生物の増殖・攻撃・殺虫能力の強化	120						
ア. 捕食性ダニの増殖, 攻撃, 適応能力の比較と有力系統の強化	121a	←	→		野菜茶試	茶栽培部	虫害研
	121b	←	→		果樹試	安芸津支場	虫害研
イ. 天敵糸状菌のキチナーゼ及びアミラーゼ活性による選抜	122	←	→		果樹試	保護部	天敵微生物研
ウ. バキュロウイルスの殺虫性と安定性の向上	123	←	→		農研センター (北海道農試)	病虫害防除部 (畑作部)	水田虫害研 (畑虫害研)
エ. クサカゲロウの増殖, 生存, 捕食能力向上	124	←	→		農環研	環境生物部	天敵生物研
オ. スタイナーネマの耐寒性向上	125	←	→		森林総研	森林生物部	昆虫病理研
2. 新天敵生物利用による害虫防除技術の開発	200						
(1) 新ウイルス利用による畑作害虫の防除技術の開発	210						
ア. 暖地性ヨトウムシ類の天敵ウイルス	211	←	→		農研センター	病虫害防除部	水田虫害研
イ. 寒地性ヨトウムシ類の天敵ウイルス	212	←	→		北海道農試	畑作管理部	畑虫害研
(2) 昆虫寄生性線虫による害虫の防除技術の開発	220	←	→		森林総研	森林生物部	昆虫病理研
(3) 糞虫利用による家畜害虫の防除技術の開発	230	←	→		東北農試	畜産部	家畜虫害研
(4) 多食性天敵昆虫の人工卵等による増殖と害虫の防除技術の開発	240	←	→		農環研	環境生物部	天敵生物研
3. 天敵生物の複合利用による総合防除技術の開発	300						
(1) ハウス栽培ナスにおける総合防除技術の開発	310	←	→		野菜茶試	久留米支場	虫害研
(2) 施設ブドウにおける総合防除技術の開発	320	←	→		果樹試	安芸津支部	虫害研

Ⅶ 研究結果

1. 天敵生物の薬剤耐性等有効遺伝形質の増強

(1) 天敵生物の薬剤耐性の増強

ハダニ類の捕食性天敵ケナガカブリダニについて合成ピレスロイド剤の散布回数が多い茶園を探索したところ、わが国から初めてピレスロイド抵抗性個体群を発見した。果樹園から採集した昆虫寄生性の糸状菌 *Metarhizium anisopliae* の41菌株を用いて、ベノミル剤とトリフルミゾール剤に対する耐性菌の選抜を行なった結果、ベノミル剤3,200 ppm、トリフルミゾール剤200 ppmの両者に耐性を示す菌株を得ることができた。複合薬剤耐性菌の作出を目的に、細胞融合技術の開発を試み、細胞融合実験に役立つ菌株の選抜と、効率よくプロトプラストを分離する方法の開発に成功した。

(2) 天敵生物の増殖・攻撃・適応能力の強化

捕食性天敵ケナガカブリダニは、休眠性に地理的な変異があること、産卵数、性比には合成ピレスロイド剤抵抗性の有無による差がないこと、個体群間に生殖的隔離がないことなどを明らかにし、優良系統の育成の可能性を示した。また、ケナガカブリダニは低湿度に弱いことから耐低湿性の選抜を行い、64% RHで孵化率を若干上昇させることができた。

天敵糸状菌の中から病原力の強い菌株を簡易に選抜にするため、病原力と各種酵素活性との関係を検討したが、両者の相関関係は認めることができなかった。

日本産バキュロウイルスは、これまで正確な種の同定が行われていなかったが、制限酵素切断電気泳動パターン法によって、明確な同定を可能とし、遺伝子変異株の検出も可能であることを明らかにした。ヨトウムシ類の天敵ウイルスについて感染力強化法を検討し、アワヨトウNPV、シロモンヤガNPV、ヨトウガNPV、の感染力は、ほう酸、*Pseudaletia unipuncta* GV、シロモンヤガGVを添加すると強化されることを明らかにした。シロモンヤガGVの顆粒体中のアルカリ可溶部分には、各種NVPの感染性を高める作用物質が存在することを確かめた。

捕食性天敵クサカゲロウ5種について累代飼育法を確立し、ヒメクサカゲロウでは早産、多産系統の育成が可能なことを示した。

昆虫寄生性線虫クンダネマについて、低湿度下で

生存でき、殺虫力を持つ系統が選抜できる可能性を示した。

2. 新天敵生物利用による害虫防除技術の開発

(1) 新ウイルス利用による畑作害虫の防除技術の開発

ヨトウムシ類の同時防除を目的に、各種ウイルスの広宿主性、強病原性系統の検索、残効性強化法、量産法などを検討した。その結果、寒地性ヨトウムシに対しては、シロモンヤガNPV三角株が高い感染力と広い宿主域を持ち、野外試験の結果も良好で、従来知られている天敵ウイルスの中では、特に有望であると考えられた。また、ヨトウガNPV東京株はヨトウガとタバコガの同時防除に利用可能であることが明らかとなった。さらに、ヨトウガ幼虫を用いて複数種のウイルスを大量に増殖することができた。

(2) 昆虫寄生性線虫による害虫の防除技術の開発

クシダネマの大量増殖法を検討し、ペプトン又はペプトンとブタ脂肪を添加したドックフード培地、あるいはペプトンを添加したブタ腸磨碎物培地で大量増殖できることを明らかにした。また、20℃に保存することにより、半年に1回の植え継ぎで継代飼育が可能であること、大量増殖した線虫を0.01%のホルマリン溶液中におくと、2カ月間保存可能であることを明らかにした。

(3) 糞虫利用による家畜害虫の防除技術の開発

牛糞埋め込みによるハエ類の発生抑圧を目的として、アメリカからガゼラエンマコガネを導入した。産卵活動は30℃がピークで、盛岡では、7月から9月にかけて、1対当たり1週間に50~100gの牛糞を埋め込み、在来種のカドマルエンマコガネよりも埋め込み能力、次世代産出量共にすぐれていた。飼育のための軽量培地としてオガクズが利用でき、表面を1~2cm黒ボク土で覆うと、黒ボクの場合に劣らなかった。湿度90%RH以上で培地の深さ5cm以上とすると、給水の必要がなかった。人工餌素材としてはフスマが有望であった。カドマルエンマコガネを鹿児島県の九州本土2カ所及び島3カ所に放飼して、越冬の可能性と繁殖動向を調査した。喜界島では越冬が確認され、本土南部でも蛹越冬の可

能性が得られた。牛糞埋め込み量は在来種の約3倍あり、放飼場所のハエ類相を調査した結果では、導入糞虫の利用の有望性が認められた。

(4) 多食性天敵昆虫の人工卵等による増殖と害虫防除技術の開発

捕食性昆虫を飼育するにあたっては、餌の供給と共食い防止を解決する必要がある。ヒメクサカゲロウについて、ヒラタコクヌストモドキ卵を代替餌とし、共食いの少ない集合飼育法を開発し、大量飼育を可能とした。また、人工飼料を開発し、3齢幼虫以降の飼育に成功した。同餌はカプセルに封入して与えても飼育可能であった。飼育増殖したヒメクサカゲロウ2齢幼虫をビニールハウスのイチゴに放飼し、ワタアブラムシの増殖抑制を確認した。

3. 天敵生物の複合利用による総合防除技術の開発

(1) ハウス栽培ナスにおける総合防除技術の開発

ハウス栽培のナスに発生したミナミキイロアザミウマに対し捕食性のハナカメムシの1種 *Orius* sp. を放飼して分散能力、捕食量等を調査し、株当たり2頭以上放飼するとミナミキイロアザミウマを長期にわたり安定的に抑制することを明らかにした。

施設栽培のナスに発生したミナミキイロアザミウマ、ハダニ類、オンシツコナジラミに対して、*Orius* sp.、チリカブリダニ、オンシツツヤコバチの3種の天敵を放飼した。その結果3種の害虫は天敵のみで約2カ月間低密度に抑制され、天敵の複合利用に成功した。また、アブラムシ類は、自然発生のテントウムシ類に抑制され、薬剤散布を抑えると土着天敵の活動が促進されることを実証した。

(2) 施設ブドウにおける総合防除技術の開発

施設ブドウのカンザワハダニに対してケナガカブリダニを、またクワコナカイガラムシに対してクワコナカイガラヤドリコバチを放飼し、害虫の密度抑制効果を確認した。また、上記2種天敵に対する各種薬剤の影響を調査し、殺菌剤の影響力が少ないことを確認した。

VII 今後の問題点

1. 天敵生物の薬剤耐性等有効遺伝形質の増強

本研究で選抜されたケナガカブリダニと *Metarhizium anisopliae* の薬剤耐性系統を実用化するためには、耐性系統の特性解明と、継代飼育・培養条件下における耐性の維持法を確立する必要がある。

昆虫バキュロウイルスは異宿主分離株であっても同一ウイルスと見なされる例が多かったことから、今後の研究ではこの点に注意する必要がある。顆粒病ウイルスに含まれる核多角体病ウイルスの感染増進物質については、利用研究につなげるために、分離・精製とその作用機作を解明する必要がある。

天敵ウイルスについては、病原力の強化と野外における効力低下防止のための研究をさらに進め、実用化試験につなげる必要がある。

2. 新天敵生物利用による害虫防除技術の開発

クシダネマの実用化にあたっては、大規模に扱うための液体培地による大量増殖法の開発と、効果的施用法の開発が今後の重要な課題である。

ガゼラエンマコガネについては、大面積での放飼を行う場合の人工飼料の開発と大規模飼育システムの開発をする必要がある。また、本研究の成果をもとに北日本において定着可能な糞虫の導入を検討することが望まれる。

ガゼラエンマコガネについては、大面積での放飼を行う場合の人工飼料の開発と大規模飼育システムの開発をする必要がある。また、本研究の成果をもとに北日本において定着可能な糞虫の導入を検討することが望まれる。

3. 天敵生物の複合利用による総合防除技術の開発

ハウス内での天敵による害虫の密度抑制効果が実証されたことから、複数種の天敵と組み合わせ可能な薬剤の種類とその使用条件について検討する必要がある。

現時点で天敵による防除法を実用化して行くためには、殺菌剤及び選択性殺虫剤の使用を含めた総合的な利用体系を確立することと、天敵の供給体制を確立するための研究がぜひとも必要である。

VIII 研究発表

第1章

- 1) 望月雅俊、茶園に生息するケナガカブリダニの薬剤抵抗性 I. 現在の状況について、応動昆33回大会講演要旨、125 (1989)
- 2) 望月雅俊、茶園に生息するケナガカブリダニの薬剤抵抗性 II. 合成ピレスロイド剤 Permethrin 抵抗性系統の探索と発見、応動昆34回大会講演要旨、200 (1990)
- 3) 望月雅俊、チャ園から発見されたケナガカブリ

- ダニの Permethrin 抵抗性系統, 応動昆, 34, 171 ~ 174 (1990)
- 4) 柳沼勝彦, 昆虫寄生菌 *Metarhizium anisopliae* の殺菌剤耐性について, 応動昆33回大会講演要旨, 102 (1989)
 - 5) 柳沼勝彦, モモシンクイガの病原糸状菌の土壌からの検出, 果樹試験場報告, 17, 77 ~ 89 (1990)
 - 6) Goto, C., Minobe, Y. and Iizuka, T., Restriction endonuclease analysis for identification of granulosis viruses isolated from *Xestia c-nigrum* and other noctuid moths, VIII th International Congress of Virology, Abstracts, 157 (1990)
 - 7) 後藤千枝, シロモンヤガ GV の NPV 感染増進作用, 応動昆34回大会講演要旨, 218 (1990)
 - 8) Goto, C., Enhancement of a nuclear polyhedrosis virus (NPV) infected by a granulosis virus (GV) isolated from the spotted cutworm, *Xestia c-nigrum* L., Appl. Ent. Zool., 25 (1), 135 ~ 137 (1990)
- ## 第2章
- 1) 小倉信夫・真宮靖治, *Steinernema feltiae* の繁殖に伴う培地の pH とアンモニア含有量の変化, 応動昆32回大会講演要旨, 47 (1988)
 - 2) Ogura, N. and Mamiya, Y., Artificial culture of an entomogenous nematode; *Steinernema* n. sp., The 5 th international congress of plant pathology (1988)
 - 3) 小倉信夫, *Steinernema kushidai* によるコガネムシ類幼虫防除に関する基礎研究, 応動昆33回大会講演要旨, 213 (1989)
 - 4) 小倉信夫・小坂 肇, 人工培養クシダネマのコガネムシ類幼虫に対する殺虫活性, 応動昆33回大会講演要旨, 48 (1989)
 - 5) 早川博文・山下伸夫, フン虫の利用による放牧牛糞発生のハエ類防除, 植物防疫, 43 (10), 551 ~ 555 (1989)
 - 6) 早川博文・山下伸夫, 放牧草地の生態系におけるフン虫の機能とその利用, 畜産の研究, 43 (6), 706 ~ 712 (1989)
 - 7) 山下伸夫・早川博文, 放牧牛糞の分解消失と, それに伴う甲虫相の変化, 東北農試研報, 84, 印刷中 (1992)
 - 8) 早川博文・山下伸夫, フン虫 *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 2. 土壌に代わる飼育培地, 北日本病虫研報, 40, 176 ~ 177 (1989)
 - 9) 早川博文・山下伸夫, フン虫 *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 3. 飼育培地の深さと羽化数との関係, 北日本病虫研報, 41, 180 ~ 181 (1990)
 - 10) 早川博文・山下伸夫, フン虫 *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 4. 幼虫の人工飼料に関する予備試験, 北日本病虫研報, 41, 182 ~ 183 (1990)
 - 11) 早川博文・山下伸夫, フン虫 *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 6. 大量飼育容器での飼育密度と羽化数との関係, 北日本病虫研報, 42, 173 ~ 174 (1991)
 - 12) 山下伸夫・早川博文, フン虫 *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 1. 育児球形形成活動と土壌条件, 北日本病虫研報, 40, 174 ~ 175 (1989)
 - 13) 山下伸夫・早川博文, フン虫 *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 5. 飼育密度が次世代個体数に及ぼす影響, 北日本病虫研報, 41, 184 ~ 185 (1990)
 - 14) 山下伸夫・早川博文, フン虫 *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 7. 日長時間が産卵数に及ぼす影響, 北日本病虫研報, 42, 175 ~ 176 (1991)
 - 15) 山下伸夫・早川博文, 放牧牛の凍結糞を与えたガゼラエンマコガネ *Onthophagus gazella* の増殖, 衛生動物, 42 (3), 245 ~ 248 (1991)
- ## 第3章
- 1) 河合 章, 練乳を代替餌とした *Orius* sp. の飼育, 応動昆34回大会講演要旨, 139 (1990)
 - 2) 河合 章, 施設栽培ナスにおける *Orius* sp. の分散, 九病虫研会報 36, 205 ~ 206 (1990)
- ## Ⅸ 研究担当者 (。はとりまとめ担当者)
- ### 第1章

- 1-(1) 望月雅俊° (野菜茶試, 茶栽培部, 虫害研)
- (2) 柳沼勝彦° (果樹試, 保護部, 天敵生物研)
- (3) 柳沼勝彦° (果樹試, 保護部, 天敵生物研)
- 2-(1) 望月雅俊° (野菜茶試, 茶栽培部, 虫害研)
- (2) 芦原 亘° (果樹試, 安芸津支場, 虫害研)
- (3) 柳沼勝彦° (果樹試, 保護部, 天敵生物研)
- (4) 後藤千枝° (農研センター, 病虫害防除部, 水田虫害研)
- (5) 後藤千枝° (農研センター, 病虫害防除部, 水田虫害研)
- (6) 志賀正和° (農環研, 環境生物部, 天敵生物研)
- (7) 橋本ほしみ° (森林総研, 森林生物部, 昆虫病理研)

第2章

- 1-(1) 斉藤 修° 後藤千枝 (北海道農試, 畑作管理部, 畑虫研)
- (2) 後藤千枝° (農研センター, 病虫害防除部, 水田虫害研)
- 2-(1) 小倉信夫° (森林総研, 森林生物部, 繭虫研)
- 3-(1) 山下伸夫° 早川博文 (東北農試, 畜産部, 家畜虫害研)
- (2) 山下伸夫° 早川博文 (東北農試, 畜産部, 家畜虫害研)
- (3) 山下伸夫° 早川博文 (東北農試, 畜産部,

家畜虫害研)

- 4-(1) 志賀正和° (農環研, 環境生物部, 天敵生物研)

第3章

- 1-(1) 河合 章° (野菜茶試, 久留米支場, 虫害研)
- (2) 柏尾具俊° (野菜茶試, 久留米支場, 虫害研)
- 2-(1) 芦原 亘・坂神泰輔° (果樹試, 安芸津支場, 虫害研)

X 取りまとめ責任者のあとがき

近年, 天敵を利用した害虫防除技術に関心が向けられ, 個別技術としては多くの研究成果が得られている。しかし, これを化学合成農薬に代わる実用技術として位置づけるためには, 解決すべき多くの問題を抱えている場合が多い。本研究はこれらの, 有望ではあるが実用化されにくい天敵に, さらに何らかの有用性を付与することによって, 実用化を促進することをねらいとして実施された。天敵を実用化するためには是非とも必要な研究ではあるが, 方法についても, 研究勢力からも, 取り組みにくい部分であり, 成果の出にくい部分でもある。しかしながら, 結果としては, 短期間の研究にもかかわらず, 有用形質の選抜や効力増強法において新知見が得られ, 有効な使用法に向けて実証試験が行われるなど, 天敵生物利用への貴重な一歩として評価できる成果が得られた。今後に残された問題点も少なくはないが, 得られた成果を土台として, 今後の研究の一層の推進に期待したい。

(農業環境技術研究所 岡田利承)

第1章 天敵生物の薬剤耐性等有効遺伝形質の増強

1. 天敵生物の薬剤耐性の増強

(1) 捕食性ダニの薬剤耐性

ア. 研究目的

ケナガカブリダニは茶の重要害虫であるカンザワハダニをはじめとするハダニ類の重要な捕食性天敵である。静岡県産地に分布するケナガカブリダニは、有機リン系殺虫剤、カーバマート系殺虫剤に抵抗性を有するため、慣行防除下でもカンザワハダニを低密度に抑制している²⁾。しかし、ケナガカブリダニは、使用量が増加しつつある合成ピレスロイド剤（以下、合ピレ剤と略称）にはきわめて感受性が高いので、合ピレ剤の散布後にはケナガカブリダニの密度低下によるカンザワハダニの多発生が各地で問題となっている。本課題では、合ピレ剤に対して抵抗性を獲得した個体群を探索し、その薬剤抵抗性の状況を調査するとともに、淘汰による薬剤抵抗性の強化を試みる。

イ. 研究方法

(ア) ケナガカブリダニの採集・飼育

採集は静岡県東部（沼津市）および中部（島田市および金谷町）で行なった。東部では、過去に合ピレ剤が散布されたチャ園を、中部ではおもに、過去に合ピレ剤が散布されていないチャ園を対象とした。

採集に際しては、ケナガカブリダニの寄生葉を探して適宜採取する方法と、チャ株の裾部分からカンザワハダニ寄生葉を数百枚ランダムにサンプリングする方法を併用した。採取した葉はプラスチック製容器に収め、クーラーに入れて持ち帰った。

ケナガカブリダニは、インゲンマメ（品種：本金時菜豆）に寄生させたナミハダニ *Tetranychus urticae* Koch を餌として与え、25℃、60～80% R. H.、16L-8D条件の恒温室内で採集地別に累代飼育した。

(イ) 合ピレ剤抵抗性個体群の探索・選抜

検定に用いた薬剤は市販の合成ピレスロイド系殺虫剤ベルメトリン水和剤（20%）（商品名：アディオン水和剤）である。有効成分量の厳密な測定は行わなかった。

防腐剤（クリスタルバイオレット）を加えた0.5

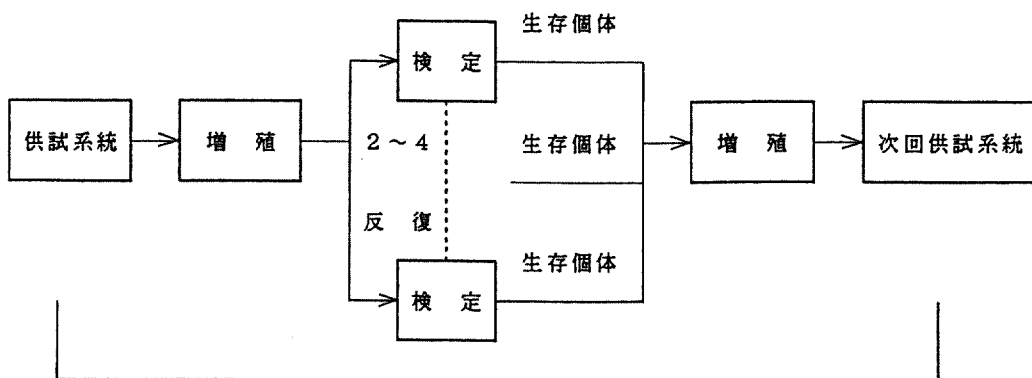
%寒天ゲルを直径9cmのシャーレに注ぎ、固化させた後、ナミハダニの寄生した直径約3cmに切り取ったインゲンマメ葉を、葉裏を上側にして置き、腹部の肥大したケナガカブリダニ雌成虫を10～20個体接種した。寒天ゲルの周囲はあらかじめ切り取って水を張り、カブリダニの逃亡を防いだ。接種24時間後に死亡個体や歩行不能個体を取り除き、回転式薬剤散布塔（みずほ理化製）を用いて薬液を7.5ml（4μg/cm相当量）散布した。散布直前にはハダニの吐糸を細筆で取り除き、虫体に薬液が十分付着するように留意した。さらに、合ピレ剤特有の忌避効果によるカブリダニの逃亡を除ぐため、処理後の被散布葉を、新たに準備した直径約6cmのハダニ寄生葉上に置き、被散布葉片から逃亡する個体を捕捉した。

生死の判定は処理後48時間経過してから行い、これら2枚のハダニ寄生葉を調査して、生存虫、歩行不能虫、死亡虫、水没虫、行方不明虫に分類した。歩行不能虫は死亡虫とみなし、水没虫、行方不明虫は死亡率の計算から除外した。なお、判定までは前述の累代飼育条件に保った。

調査では、まず、20ppm（希釈倍率10000倍）単一濃度で各個体群の死亡率を比較し、この結果をもとに代表的な3個体群について濃度-死亡率プロビット回帰直線を求めた。単一濃度検定の場合は3反復以上、回帰直線算出の場合は4～5濃度区、各濃度3～4反復の処理をおこなった。

(ロ) 淘汰による合ピレ剤抵抗性の増強

前項(イ)でベルメトリン水和剤に最も感受性の低かった平沼(1)個体群を対象に、ベルメトリン水和剤400ppmによる淘汰を1990年2～9月にかけて6回行なった。その手順の概略は図1-1に示した。この際、多数の個体を淘汰できるように、1回の淘汰に2～4反復を設け、合計して500個体以上を供試した。検定方法は前項(イ)と同一方法とした。各反復での生存個体はナミハダニ寄生葉上で増殖し、次の検定に供試した。このような手順を踏んだため、1回の淘汰が予定した供試個体数に達して終了するまでに2～4週間を要した。6回の淘汰終了後は、濃度-死亡率プロビット回帰直線を求め、LC50値



1回の淘汰試験（2～4週間で終了）

図1-1 淘汰試験の手順

を算出し、淘汰による抵抗性の強化が図られたかどうかを調査した。

(エ) 他の合ピレ剤に対する交差抵抗性の検討

ペルメトリン水和剤に対する感受性が最も低かった個体群について、ペルメトリン乳剤、フェンバレート乳剤、フルバリネート水和剤、シペルメトリン水和剤、フェンプロパトリン乳剤（いずれも市販

品）に対する感受性を、前項(イ)と同じ方法で調査した。調査した濃度は、各薬剤とも1000～2000倍であり、実用濃度に相当する。また、調査した時期は、淘汰開始前とペルメトリン水和剤での6回の淘汰が終了した時点の2回とした。

表1-1 ペルメトリン水和剤（20%）に対する各個体群の死亡率

採集地（個体群名）		死 亡 率（％）		
		濃 度		
		20 ppm	100 ppm	200 ppm
静岡県 東 部	沼津市平沼(1)	4.8(84)	17.2(93)	31.0(87)
	沼津市平沼(2)	8.3(60)	20.9(115)	26.5(132)
	沼津市井出(1)	27.9(86)	69.2(52)	81.4(59)
	沼津市井出(2)	62.7(64)		
	沼津市根古屋	38.3(60)		
静岡県 中 部	野菜茶試(1)	93.2(73)		
	野菜茶試(2)	82.5(46)		
	島田市旧初	68.8(48)		
	島田市南原	87.5(40)		
	島田市沼伏	75.8(62)		
	島田市岡田原	59.4(64)		

* Abbottの補正式による補正は行なわなかった。

** ()内は、供試個体数。

ウ. 研究結果

(ア) 合ピレ剤抵抗性個体群の探索・選抜

表1-1はペルメトリン水和剤 20, 100 および 200 ppmでの検定結果を示す。静岡県中部で採集した6個体群の20ppmでの死亡率は59.4～93.2%と高かったが、東部で採集した5個体群の死亡率は相対的に低く、4.8～62.7%であった。特に、沼津市平沼で採集した2個体群(平沼(1), (2))は100 ppm, 200 ppmでの死亡率が低かった。

次に、検定した個体群のうちから死亡率が低、中、高の代表として沼津市平沼(1), 沼津市井出(1), 島田市南原の3個体群をとりあげ、濃度-死亡率プロビ

ット回帰直線式(表1-2), 及び回帰直線(図1-2)を比較した。各個体群のLC50値はそれぞれ301.9 ppm, 66.5 ppm, 8.8 ppmで、南原個体群を1とした場合のR/S比は、平沼(1)個体群が34.3, 井出(1)個体群が7.6であった。

以上から、静岡県東部地域のチャ園にはケナガカブリダニのペルメトリン抵抗性個体群が存在することが明らかになった。

(イ) 淘汰による合ピレ剤抵抗性の増強

淘汰による生存率の変化を図1-3に示した。1回目以降の生存率の平均値は、36.1%, 60.4%, 46.8%, 59.4%, 62.9%であり、3回目以降の

表1-2 ペルメトリン水和剤(20%)に対するLC50値

個体群・系統名	濃度-死亡率 回帰直線式	LC50値 (ppm)	95% 信頼限界	抵抗性比 (R/S)
淘汰終了系統	$y = 5 + 1.546(x - 2.413)$	259.0		29.4
沼津市平沼(1)	$y = 5 + 2.977(x - 2.480)$	301.9		34.3
沼津市井出(1)	$y = 5 + 1.417(x - 1.823)$	66.5	41.8 ... 138.0	7.6
島田市南原	$y = 5 + 2.635(x - 0.942)$	8.8	2.6 ... 27.7	1.0

$X = \log(\text{濃度 (ppm)}), y = \text{プロビット値}$

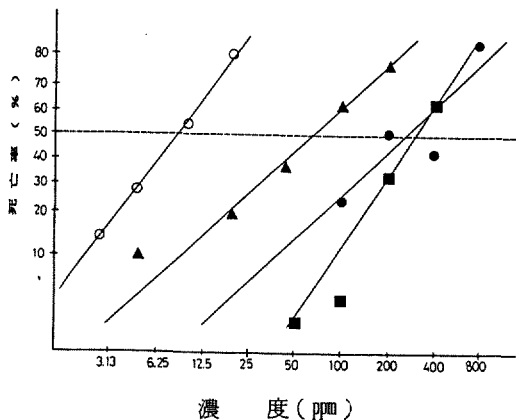


図1-2 チャ園から採集した個体群, 及び合ピレ剤で6回の淘汰を行った個体群の濃度-死亡率回帰直線。

○: 南原個体群, ▲: 井出(1)個体群,
■: 平沼(1)個体群, ●: 6回の淘汰を行
った後の平沼(1)個体群

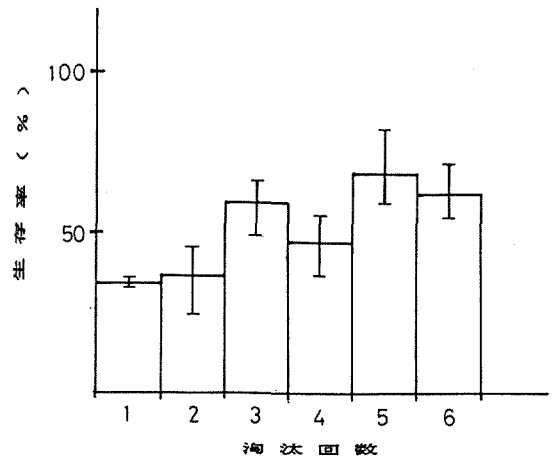


図1-3 ペルメトリン水和剤 400 ppmでの淘汰による生存率の変化。縦軸の値は1回の淘汰試験で設定した反復での生存率の平均値。縦線(1)は値の範囲。Abbottの補正式による補正は行わなかった。

生存率は1, 2回目の淘汰時の値に比べ, 高い値を示した。また, この試験では各淘汰とも2~4反復を設けたが, その変動幅は淘汰の回数が進むほど拡大する傾向がみられた。

一方, 淘汰による抵抗性の変化をLC50値から調査したところ, 6回目の淘汰終了後のペルメトリン水和剤に対するLC50値は259.0ppmであり, この個体群を採集した時点でのLC50値301.9ppmと比較してその比率は0.86であって, 淘汰によるLC50値の上昇は認められなかった(表1-2)。また, 濃度-死亡率プロビット直線を図1-2に示した。採集時の直線と6回淘汰終了後の回帰直線には大きな変

化は認められず, 繰り返して行なった淘汰にも関わらず, LC50値の大幅な変化は確認できなかった。

(ウ) 他の合ピレ剤に対する交差抵抗性の検討

平沼(1)個体群の, ペルメトリン乳剤, フェンバレレート乳剤, シペルメトリン水和剤, フルバリネート水和剤, フェンプロパトリン乳剤に対する検定結果を表1-3に示した。供試した薬剤のうち, フェンバレレート乳剤, フルバリネート水和剤, シペルメトリン水和剤で生存が確認され, この個体群はこれらの合ピレ剤に対して交差抵抗性を示すことが明らかとなった。一方, フェンプロパトリン乳剤では調査した濃度での死亡率がいずれも100%を示し, ペ

表1-3 平沼市平沼(1)個体群の淘汰前後での各種合成ピレスロイド剤に対する感受性

薬剤名・剤型・成分量(%)	濃度(希釈倍率)	死亡率(%)	
		淘汰前	淘汰終了後
シペルメトリン 水和剤 6	1000	36.7(58)...	52.3(92)
	2000	11.7(110)	
フルバリネート 水和剤 20	1000	43.4(103)	36.6(94)
	2000	4.6(86)	
フェンバレレート 乳剤 20	1000	72.7(99)	83.8(117)
	2000	33.7(96)	
ペルメトリン 乳剤 20	1000	100.0(46)	100.0(113)
フェンプロパトリン乳剤 10	1000	100.0(109)	100.0(104)
	2000	100.0(86)	

* Abbottの補正式で補正を行なった。

** ()内は, 供試個体数。

ルメトリン乳剤でも, 同じ濃度の水和剤で示された高い生存率(表1-1)とは対照的に, 死亡率は100%を示した。

また, 平沼(1)個体群をペルメトリン水和剤で6回淘汰した後に, これら数種の薬剤に対する感受性を検討したが, 淘汰前の検定結果と同じ傾向を示し, 他の薬剤に対しても淘汰の効果は見られなかった。

エ. 考 察

わが国からは, 有機リン系, カーバメート系殺虫剤に抵抗性のカブリダニ類が報告されている^{2), 4)}。しかし, 合ピレ剤に対して抵抗性を示すケナガカブリダニの発見は, 本研究が初めてである。薬剤感受性の検定方法や供試薬剤の違いから, 今回の結果を諸

外国の薬剤抵抗性カブリダニでの結果と一概に比較できないが, 平沼(1)個体群のペルメトリン水和剤に対するLC50値301.9ppmは, 北米産*Amblyseius fallacis* Garmannのペルメトリン抵抗性個体群でのLC50値90ppm⁶⁾, また同じ北米産*Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt)のペルメトリン抵抗性個体群でのLC50値38.1ppm³⁾より大きかった。また, この平沼(1)個体群では数種の合ピレ剤に対して交差抵抗性が確認されたが, この結果は, *A. fallacis*のペルメトリン抵抗性個体群が合ピレ剤に対して交差抵抗性を示すと報告されていること¹⁾と一致した。

図1-2で取り上げた3個体群の抵抗性の発達程

度は、南原く井出(1)<平沼(1)となっている。井出(1)個体群では、濃度-死亡率プロビット回帰直線式の傾きが他の2個体群に比べ緩やかで、直線は両者の中間に位置し、この個体群のペルメトリン抵抗性は発達途上と考えられた。

一般に、昆虫やダニ類の薬剤抵抗性の発達程度は薬剤による淘汰の回数を反映する。そこで、これら3個体群を採集したチャ園での合ピレ剤散布歴に注目すると、抵抗性が最も強い平沼(1)個体群を採集したチャ園では1985年頃から合ピレ剤が使用され、特に1987年にはフェンバレート混合剤4回、シペルメトリン1回、フルバリネート混合剤1回、合計6回もの合ピレ剤が散布されていた。また、井出(1)個体群を採集したチャ園では、1984~87年にフェンバレート混合剤が合計5回散布されていた。これに対し、南原個体群を採集したチャ園では合ピレ剤は無散布であった。

ケナガカブリダニの合ピレ剤抵抗性は交差関係を示すことから、ペルメトリン抵抗性は、フェンバレート混合剤などペルメトリン以外の数種の合ピレ剤散布を加えた合計の散布回数を反映していると考えられる。この平沼(1)個体群のペルメトリン抵抗性は、これまでの数種の合ピレ剤散布による淘汰の結果として見るべきである。

本研究ではケナガカブリダニの合ピレ剤抵抗性を上昇させることはできなかった。これまでカブリダニ類の合ピレ剤抵抗性を室内での淘汰試験あるいは半野外での淘汰により強化しようとする試みは、*A. fallacis*、*M. occidentalis*、*Typhlodromus pyri* Scheutenなどで行なわれ、その結果、いずれも淘汰による上昇が認められた。*A. fallacis*では感受性個体群と合ピレ剤に一定程度の抵抗性を有する個体群の混合個体群を淘汰することでLC50値が64倍上昇し⁶⁾、また、*M. occidentalis*では、ペルメトリンに対する感受性が他の個体群よりも低い個体群を淘汰した際に抵抗性の上昇が認められた⁸⁾。このように、抵抗性の強化に成功した事例では、淘汰を行った初期個体群が対象とする薬剤にある程度抵抗性を有していたこと、また薬剤感受性の異なるいくつかの個体群が混合された遺伝的な雑多な集団を淘汰したという2点が成功のポイントと考えられた。一方、同じ*A. fallacis*でも、合ピレ剤が多用された場所で採集され、抵抗性が高い個体群だけを

淘汰した場合、LC50値付近での濃度による10回の淘汰を行ってもその変化は1.3倍にとどまった⁶⁾。

今回のケナガカブリダニの場合は、淘汰を加えた個体群が、1カ所から採集されたものであり、そして、その抵抗性レベルが当初から高く、従って、遺伝的には均一性が高いと見られる個体群であったことが、抵抗性を強化できなかった一因と考えられた。本研究では、時間的、規模的な制約から、淘汰の方法に関する検討を行っていないため、今後、この点に関する研究が望まれる。

今回発見した合ピレ剤抵抗性個体群では、薬剤により感受性に変異がみられ、また同一薬剤でも水和剤と乳剤の剤型の違いにより感受性に変異が見られた。剤型間で薬剤抵抗性の程度が異なることは*T. pyri*でも知られており、同じ種類の合ピレ剤でも乳剤では水和剤に比べ感受性レベルが約20倍高いことが示された⁵⁾。このことは、カブリダニなど微小な動物に対する薬剤の影響が有効成分の性質以外の要因にも左右されることを示唆している。このような例は、今後天敵に対する薬剤の影響調査あるいは実際の防除において留意すべき点である。

オ. 今後の課題点

合ピレ剤抵抗性個体群の発見には成功したが、この抵抗性個体群は、合ピレ剤の種類によって高い感受性を示す欠点を持つ。従って、今後は、この点を克服する抵抗性個体群の探索を続ける必要がある。また、室内での淘汰では合ピレ剤抵抗性を強化することができなかったため、今後は、圃場段階での淘汰など、手法を変えた抵抗性個体群の育成が課題である。

カ. 要 約

合ピレ剤散布後に起こりやすい、ハダニ類のリサージェンスを防止するため、捕食性天敵ケナガカブリダニの合成ピレスロイド剤抵抗性個体群を探索し、その薬剤抵抗性の強化を試みた。その結果、ペルメトリンなど数種の合ピレ剤に抵抗性を示す個体群を静岡県沼津市の一チャ園から発見した。このチャ園では合ピレ剤の使用頻度が高かった。この個体群を材料に、ペルメトリン水和剤を用い室内で、8カ月間で6回の淘汰を行なったが、抵抗性の上昇は確認できなかった。

キ. 引用文献

- 1) Croft, B.A., S.W. Wagner and J.G. Scott,

- Multipie—and Cross—resistance to insecticides in pyrethroid—resistant strains of the predatory mite, *Amblyseius fallacis*, Environ. Entomol., 11, 161—164 (1982)
- 2) 浜村徹三, 薬剤抵抗性ケナガカブリダニによる茶園のカンザワハダニの生物的防除に関する研究, 茶試研報, 21, 122—201 (1986)
- 3) Hoy, M. A. and N. F. Knop, Selection for and genetic analysis of permethrin resistance in *Metaseiulus occidentalis* Genetic improvement of a biological control agent, Ent. & appl., 30, 10—18 (1981)
- 4) 井上晃一・刑部正博・芦原 亘, カンキツ園および施設栽培ブドウにおける薬剤抵抗性カブリダニ類の探索, 応動昆, 31, 398—403 (1987)
- 5) Markwick, N. P.: Detecting variability and selecting for pesticide resistance in two species of phytoseiid mites, Entomophaga, 31, 225—236 (1986)
- 6) Strickler, K. and B. A. Croft, Selection for permethrin resistance in the predatory mite *Amblyseius fallacis*, Ent, exp & appl., 31, 339—345 (1982)

(望月 雅俊)

(2) 天敵糸状菌の薬剤耐性

ア. 研究目的

果樹園においては病害虫及び雑草防除に殺菌剤、殺虫剤、除草剤などの薬剤が頻繁に使用されている。このような状況のなかで天敵糸状菌を果樹害虫の防除に利用するためには、それらの薬剤の悪影響を受けないようにすることが重要である。この問題を解決するため、モモシクイガの天敵糸状菌の薬剤耐性菌の選抜と強化を行った。

イ. 研究方法

(ア) 天敵糸状菌の殺菌剤に対する感受性

果樹の病害防除に使用される13種類の殺菌剤について感受性の検定を行った(表1—4)。菌株は予備試験として、東京農工大学から分譲された *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* の代表的菌株を用い、エルゴステロール生合成阻害剤を除く9種類の殺菌剤に対する感受性を検定した。検定は殺菌剤を添加(有効成分で100 ppm)した Sabouraud dextrose 寒天培地に直径5 mmの菌そうディスクを接種し、生育を調査した。さらに *M. anisopliae* についてはベノミル剤、イプロジオン剤及び最近使用頻度が多くなっているエルゴステロール生合成阻害剤4種類を加えた6種類について最小生育阻止濃度(MIC)を

表1—4 供試した殺菌剤

一般名	商品名	有効成分
イプロジオン水和剤	ロブラール	50%
キャプタン水和剤	オーソサイド	80
ジネブ水和剤	ダイファー	72
ダイホルタン水和剤	ダイホルタン	80
銅水和剤	Zボルドー	58
トリアジン水和剤	トリアジン	50
ピンクロゾリン水和剤	ロニラン	50
ベノミル水和剤	ベンレート	50
TPN水和剤	ダコニール	40
(エルゴステロール生合成阻害剤)		
トリフルミゾール水和剤	トリフミン	30
ビテルタノール水和剤	バイコラル	25
トリアジメホン水和剤	バイレトン	5
トリホリン乳剤	サプロール	15

求めた。なおベノミル剤、イプロジオン剤については10菌株、他は20菌株を供試した。また上記6種類の薬剤の各種濃度（0.1, 1, 10, 100 ppm）における*M.anisopliae*のコロニーの直径を測定し菌糸の生育率を求めた。

(イ) 天敵糸状菌の効果に及ぼす影響

殺菌剤を混合（0.1 g / 土壌 100 g）した土壌をプラスチック容器に入れ、*M.anisopliae*の分生子0.03gを混合した。その容器にモモンクイガの終齢幼虫を放飼した。放飼の方法は、殺菌剤と菌を土壌に施用後直ちに放飼する場合（1区）と、殺菌剤と菌を土壌に施用後そのまま25℃で5日間静置してから放飼した場合（2区）の2通りである。殺菌剤の影響はモモンクイガの羽化率を求めて評価した。供試した殺菌剤はトリフルミゾール剤、ビテルタノール剤、トリアジメホン剤、トリホリン剤、ベノミル剤、イプロジオン剤の6種類であった。

(ウ) 天敵糸状菌の分離収集

影響の大きい殺菌剤に対して耐性を示す菌株を選抜するために、土壌から天敵糸状菌の分離を行った。土壌採集は、殺菌剤の使用の多い果樹園を中心に、畑、水田、森林など35都道府県にわたって行った。分離には*Metarhizium*分離用選択培地及び硬化病菌分離用選択培地を用いた。また、採集した土壌にモモンクイガの幼虫を放飼し、罹病した幼虫から菌を分離する釣り餌法も併せて用いた。

(エ) 分離した菌株の感受性検定

分離した*M.anisopliae*, *B.bassiana*, *P.fumoso-roseus*の3菌種について、10種類の殺菌剤、それぞれ200 ppm濃度における感受性を検定した。

最も影響のあったベノミル剤及びトリフルミゾール剤に関しては、*M.anisopliae*の50菌株を用いて、感受性の程度を検定した。

(オ) 耐性菌の選抜

*M.anisopliae*に関して、ベノミル剤及びトリフルミゾール剤を200 ppmまたは800 ppm添加した培地に分生子懸濁液を接種し、出現したコロニーを分離することによって、耐性菌の選抜を行った。得られた菌は、殺菌剤無添加の培地で培養後、殺菌剤を添加した培地に接種して生育の有無を調べた。

ウ. 研究結果

(ア) 天敵糸状菌の殺菌剤に対する感受性

9種類の殺菌剤に対する3種の菌の感受性を表1-5に示した。3種の菌ともベノミル剤には感受性であった。また、*M.anisopliae*にはイプロジオン剤、*B.bassiana*にはダイホルタン剤、イプロジオン剤及びピンクロゾリン剤でも影響がみられた。*M.anisopliae*に対して影響の大きかったベノミル剤、イプロジオン剤、それに近年果樹園で使用されるようになったエルゴステロール生合成阻害剤4種類の計6種類に対する最小生育阻止濃度を求めた。その結果は表1-6に示した通りである。供試した殺菌剤

表1-5 各種殺菌剤を添加した培地上での天敵糸状菌の生育

殺菌剤	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Paecilomyces fumoso-roseus</i>
ベノミル水和剤	×	×	△
ダイホルタン水和剤	○	△	◎
ジネブ水和剤	◎	○	◎
トリアジン水和剤	◎	○	◎
イプロジオン水和剤	△	△	○
ピンクロゾリン水和剤	◎	△	◎
T P N水和剤	◎	○	◎
キャプタン水和剤	○	○	◎
銅水和剤	◎	◎	◎

◎：無処理区の生育と同程度

○：無処理区の生育よりやや劣る

△：無処理区の生育より著しく劣る

×：生育できない

表 1-6 各種殺菌剤の各濃度で生育が阻止された菌株数

殺 菌 剤	供試菌株数	各最小生育阻止濃度を示した菌株数							
		12.5	25	50	100	200	400	800	> 800 ppm
ベノミル剤	10	9	1	0	0	0	0	0	0
イプロジオン剤	10	0	0	0	0	0	0	0	10
トリフルミゾール剤	20	8	5	0	2	2	1	2	0
トリアジメホン剤	20	0	0	0	0	5	4	0	11
トリホリン剤	20	0	0	1	0	1	4	0	14
ピテルタノール剤	20	0	0	1	0	0	0	0	19

のうち最も菌に影響があったのはベノミル剤で、供試した10菌株のうち9菌株が12.5 ppmの濃度で生育できなかった。次に影響があったのは、トリフルミゾール剤で、20菌株のうち13菌株が25 ppm以下では生育しなかった。しかし400 ppmで生育する菌株もみられ、菌株によるばらつきが大きかった。他の4薬剤についてはM I C が800 ppm以上を示す菌株が多かった。これらの6種類の殺菌剤が菌糸の生育に及ぼす影響

を調べた結果を図1-4に示した。0.1 ppmではほとんど影響はなかったが、1 ppmになるとベノミル剤の影響が著しく大きくなった。ピテルタノール剤、トリフルミゾール剤も影響があった。10 ppmではすべての薬剤で生育に影響があった。100 ppmで特に影響が大きかったのは、ベノミル剤、トリフルミゾール剤、イプロジオン剤であった。

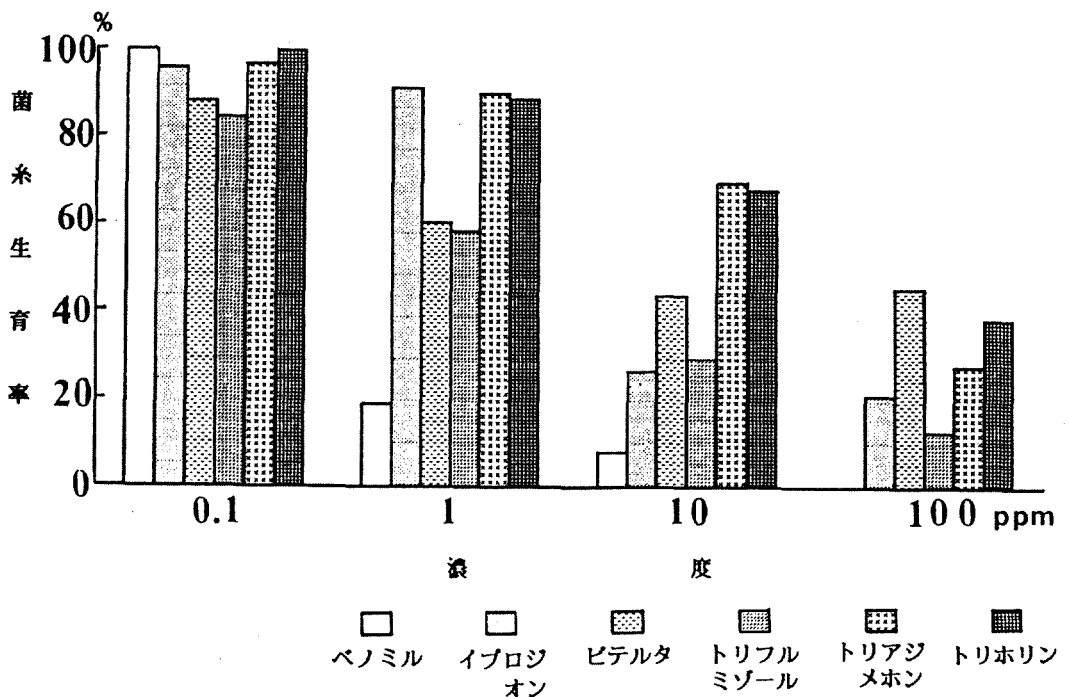


図 1-4 殺菌剤が *Metarhizium anisopliae* の生育に及ぼす影響

(f) 天敵糸状菌の效果に及ぼす影響

図1-5に示したように、殺菌剤と菌を同時に混合したあとすぐに幼虫を放飼した場合、菌だけを混合した対照区の羽化率が17.5%であったのに対し、殺菌剤を混合した場合はいずれも40%以上と有意に高い羽化率となり、菌の效果に悪影響が認められた。殺菌剤と菌を土壌に混合して5日間25℃で静置した場合(2区)、全体的に菌の效果に及ぼす影響は小さく、トリフルミゾール剤とイプロジオン剤は対照区より羽化率は低くなった。

(g) 天敵糸状菌の分離収集

釣り餌法による結果を表1-7に示した。この方法によって、*M. anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. farinosus* が分離された。このうち最も分離頻度が高かったのは *M. anisopliae* であった。次は *P. fumosoroseus* で、土壌サンプルによっては放飼したすべての幼虫がこの菌に罹病した。*B. bassiana* はほとんどこの方法では分離できなかった。2種類の選択培地使った菌

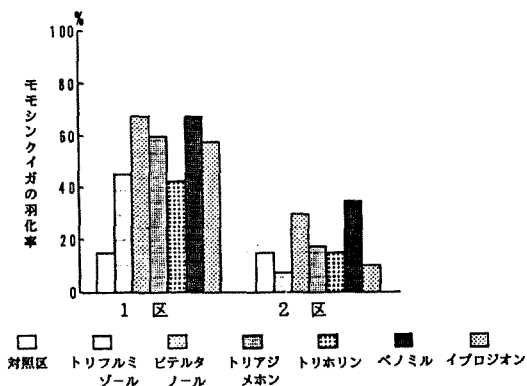


図1-5 殺菌剤が *Metarhizium anisopliae* のモモシクイガに対する效果に及ぼす影響

1区：殺菌剤と分生子を土壌に混合してすぐにモモシクイガの幼虫を放飼

2区：殺菌剤と分生子を土壌に混合して5日間25℃で静置後モモシクイガの幼虫を放飼

表1-7 釣り餌法による天敵糸状菌の土壌からの検出

土壌サンプル数	供試虫数	羽化虫数	り 病 虫 数				不明死虫数
			<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	<i>Paecilomyces farinosus</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	
281	8738	7508	525	49	5	3	648
		(85.9) *	(6.0)	(0.6)	(0.1)	(0.1)	(7.4)

* () の数字は割合 (%) を示す。

の検出の結果は表1-8に示した通りである。*M. anisopliae* がもっとも多く検出され、検出率はおおよそ79%であった。海岸付近の砂地および高山地帯の土壌を除きリンゴ、ナシ、モモ、カンキツ、クリ、カキなど、殺菌剤が多く使用されている果樹園、さらに畑地、水田、森林及び非耕地等の様々な環境の土壌からこの菌が検出された。採集地を大きく分類した場合、果樹園、畑地、水田など耕地の土壌サンプルからの検出率は80%を超えたのに対して森林及び非耕地のサンプルについてはそれより低かった。

土壌中の生息密度は $3.2 \times 10^3 \sim 7.6 \times 10^5$ colony forming unit / 乾土 1 g であった。耕地では 10^3 あるいは 10^4 の生息密度が多く、非耕地では生息密度が低い傾向がみられた。*B. bassiana* は *M. anisopliae* に比べ検出頻度ははるかに低く、検出率は約5%であった。*P. fumosoroseus* は、2サンプルでしか検出されなかった。

(h) 分離した菌株の感受性検定

土壌から分離した *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* の各種殺菌剤に対する耐性の検定

表1-8 選択培地による天敵糸状菌の土壌からの検出

採集地の形態	土壌サンプル数	<i>Metarhizium anisopliae</i>		<i>Beauveria bassiana</i>		<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	
		検出されたサンプル数	検出率	検出されたサンプル数	検出率	検出されたサンプル数	検出率
果樹園	294	242	82.3 %	6	2.0 %	0	0 %
水 田	35	33	94.3	3	8.6	0	0
畑 地	186	163	87.6	9	5.5	0	0
森 林	74	42	56.8	12	16.2	2	2.7
非耕地	123	79	64.2	5	4.1	0	0
計	712	559	78.5	35	4.9	2	0.3

表1-9 各種殺菌剤に対する感受性

殺 菌 剤*	<i>Beauveria bassiana</i>		<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>		<i>Metarhizium anisopliae</i>	
	供 試 菌株数	生 育 菌株数	供 試 菌株数	生 育 菌株数	供 試 菌株数	生 育 菌株数
ベノミル	65	0	24	0	32	0
イプロジオン	65	30	24	10	32	28
ジネブ	65	63	24	24	32	32
マンゼブ	65	45	24	24	32	31
ピンクロゾリン	65	63	24	23	32	31
キャプタン	65	58	24	24	32	31
トリフルミゾール	65	20	24	0	32	4
ビテルタノール	65	37	24	20	32	20
トリアジメホン	65	22	24	0	32	6
トリホリン	65	48	24	23	32	23

*濃度は200 ppm。

の結果を表1-9に示した。*B. bassiana* のすべての菌株がベノミル剤を添加した培地では生育できなかった。次に影響の大きかった薬剤はトリフルミゾール剤、トリアジメホン剤及びイプロジオン剤であった。*P. fumosoroseus* はすべての菌株がベノミル剤、トリフルミゾール剤及びトリアジメホン剤を200 ppm添加した培地で生育できなかった。*M. anisopliae* はベノミル剤に最も感受性でその他にトリフルミゾール

剤及びトリアジメホン剤にも感受性であった。結局、この3菌種に共通して影響の大きかった薬剤はベノミル剤、トリフルミゾール剤及びトリアジメホン剤の3種類であった。

M. anisopliae の50菌株についてベノミル剤及びトリフルミゾール剤に対する感受性を検定した結果を表1-10に示した。ベノミル剤に関してはほとんどの菌株が12.5 ppmで生育できなかった。25ppmでも

表1-10 ベノミル剤およびトリフルミゾール剤に対する感受性 (ppm)

菌 株 名	ベ ノ ミ ル		トリフルミゾール		菌 株 名	ベ ノ ミ ル		トリフルミゾール	
	12.5	25	100	200		12.5	25	100	200
F R M- 6	×	×	○	○	F R M- 56	×	×	○	×
7	×	×	○	○	57	×	×	×	×
8	×	×	○	○	58	×	×	○	○
9	×	×	○	○	59	○	○	×	×
10	×	×	×	×	60	×	×	×	×
16	○	×	○	○	67	×	×	×	×
17	×	×	○	×	68	×	×	×	×
18	×	×	×	×	69	×	×	×	×
19	×	×	×	×	70	×	×	×	×
20	○	○	×	×	76	×	×	○	○
26	○	○	×	×	77	×	×	○	○
27	×	×	×	×	78	×	×	○	×
28	×	×	○	×	79	×	×	○	○
29	×	×	○	○	80	×	×	○	○
30	×	×	×	×	86	×	×	×	×
36	×	×	○	○	87	×	×	○	○
37	×	×	×	×	88	×	×	○	○
38	×	×	×	×	89	×	×	○	○
39	×	×	×	×	90	×	×	×	×
40	×	×	○	○	96	×	×	×	×
46	×	×	○	×	97	×	×	×	×
47	×	×	×	×	98	○	○	○	×
48	×	×	○	○	99	○	×	○	×
49	×	×	○	○	100	×	×	×	×
50	×	×	○	○	101	×	×	×	×

○：生育できる ×：生育できない

生育できたのはわずかに4菌株にすぎなかった。この菌株はいずれも農耕地の土壌から分離されたものであった。トリフルミゾール剤では、200 ppmで生育できたのは19菌株であった。このうち7菌株は薬剤散布がなかったと思われる非農耕地の土壌から分離された菌株であった。ベノミル剤とトリフルミゾール剤に同時に耐性を示す菌株は発見できなかった。

(4) 耐性菌の選抜

影響の大きい2種類の殺菌剤を200 ppm添加した培地に、分離した多数の菌株の分生子懸濁液を接種した場合、ベノミル剤に関しては多くのコロニーを得ることができたが、トリフルミゾール剤に関しては、

培地全体が黒く変色し、コロニーを分離することができなかった。そこで、この方法による耐性菌の選抜はベノミル剤のみで行い、選抜濃度も800 ppmに高めて行った。その結果、800 ppmでも多くのコロニーが得られた。分離したコロニーのうち、分生子形成が良好な41菌株についてベノミル剤、トリフルミゾール剤についての耐性程度を検定した。その結果を表1-11に示した。ベノミル剤に関しては、3,200 ppmという極めて高い濃度にも耐性を示す菌株が41菌株中38菌株あった。トリフルミゾール剤に関しては、200 ppmの濃度に耐性を示す菌株が22菌株あった。この結果、両殺菌剤に耐性を示す菌株が21菌株得られた。

表1-11 ペノミル剤で選抜した菌株のペノミル剤及び
トリフルミゾール剤に対する感受性

菌 株	採 集 地	ペ ノ ミ ル 剤		トリフルミゾール剤	
		1,600 ppm	3,200 ppm	100 ppm	200 ppm
FRM 20	福岡県 果樹園	×	×	×	×
FRM 32	佐賀県 果樹園	○	○	×	×
FRM 70	京都府 畑	○	○	×	×
FRM 112	鳥取県 果樹園	○	○	×	×
FRM 119	熊本県 果樹園	○	○	×	×
FRM 301	山梨県 果樹園	○	○	○	○
FRM 305	山梨県 果樹園	○	○	○	○
FRM 308	山梨県 果樹園	○	○	○	○
FRM 311	山梨県 果樹園	○	○	×	×
FRM 313	山梨県 果樹園	○	○	○	○
FRM 315	山梨県 果樹園	○	○	○	○
FRM 316	山梨県 果樹園	○	○	○	○
FRM 320	山梨県 果樹園	○	○	○	○
FRM 326	長野県 森林	○	○	×	×
FRM 345	高知県 畑	○	○	×	×
FRM 356	福島県 水田	×	×	○	○
FRM 361	福島県 水田	○	○	×	×
FRM 364	長野県 森林	×	×	×	×
FRM 412	茨城県 畑	○	○	○	○
FRM 437	福岡県 果樹園	○	○	×	×
FRM 453	大分県 庭園	○	○	○	○
FRM 455	大分県 庭園	○	○	○	○
FRM 456	大分県 庭園	○	○	○	○
FRM 457	大分県 庭園	○	○	○	○
FRM 462	宮崎県 水田	○	○	○	○
FRM 463	宮崎県 水田	○	○	×	×
FRM 470	熊本県 果樹園	○	○	×	×
FRM 473	熊本県 果樹園	○	○	×	×
FRM 486	熊本県 果樹園	○	○	×	×
FRM 488	熊本県 庭園	○	○	×	×
FRM 495	熊本県 水田	○	○	×	×
FRM 520	茨城県 畑	○	○	○	○
FRM 524	茨城県 畑	○	○	○	○
FRM 532	茨城県 畑	○	○	○	○
FRM 535	茨城県 畑	○	○	○	○
FRM 552	山形県 畑	○	○	×	×
FRM 566	福島県 水田	○	○	×	×
FRM 567	福島県 水田	○	○	○	○
FRM 568	福島県 水田	○	○	○	○
FRM 577	沖縄県 畑	○	○	○	○
FRM 578	沖縄県 畑	○	○	○	○

○ 生育できる × 生育できない

エ. 考 察

天敵糸状菌を害虫防除に利用する場合その効果に影響を及ぼす要因として気温、湿度、紫外線、殺菌剤、殺虫剤、除草剤などの農薬、化学肥料、土壌中の拮抗微生物などいろいろの要因が考えられる。本研究においては、その中の一つである殺菌剤に視点を置き、その影響を明らかにし、さらに防除に役立てるため、耐性菌の選抜を行った。その結果、数種類の殺菌剤が天敵糸状菌に影響を与えることを明らかにした。しかしすべての菌株が一様に殺菌剤に対して感受性であるわけではなく、ある程度耐性を示す菌株が存在することが明らかとなった。現在までも、天敵糸状菌に及ぼす殺菌剤の影響についての報告はあるが¹⁾、多くの菌株を用いて感受性を検定した例はなく、本研究の結果は興味深い新知見となった。

感受性が高い殺菌剤について、耐性菌の選抜を行った結果、ベノミル剤に対して3,200 ppmという高濃度で耐性を示し、さらにトリフルミゾール剤にも200 ppmの濃度で耐性を示す菌株を21菌株得た。これまで植物病原糸状菌からは多数のベノミル剤耐性菌が発見され、問題となっているから、耐性菌の獲得は比較的容易であると予想される。本実験ではベノミル剤が従来から使用されてきた、果樹園や畑地の土壌から多数の菌を分離したため長い年月の間に耐性菌に変化した菌株を分離した可能性が十分にある。トリフルミゾール剤に関しては最近使用され始めた殺菌剤であり、また作用機作から耐性菌がでにくい薬剤とされているため、植物病原糸状菌においても耐性菌の報告はほとんどない。現在果樹園で散布されている濃度はそれぞれ有効成分で250 ppm～150 ppmであることから考えると、本研究で得られた耐性菌が示す耐性濃度から、これらの耐性菌は果樹園において有効に利用できるのではないかと考えられる。

オ. 今後の問題点

トリフルミゾール剤に関しては、実用的には問題がないと思われるが、完全な耐性菌ではないので、今後もこの殺菌剤についての選抜を続ける必要がある。また、これらの菌株の病原力、分生子形成などの諸性質についても調査する必要がある。

カ. 要 約

天敵糸状菌の殺菌剤に対する感受性を検定した。検定した3菌種は、いずれもベノミル剤、トリフル

ミゾール剤に感受性であることが明らかとなった。*Metarhizium anisopliae* を用いて、殺菌剤の耐性菌の選抜を行った結果、ベノミル剤に対して3,200 ppmという高濃度で耐性を示し、しかもトリフルミゾール剤に対しても200 ppmの濃度で耐性を示す菌株を21菌株得た。

キ. 引用文献

- 1) 西東 力, *Beauveria bassiana* の発芽、発育に及ぼす農薬の影響, 応動昆, 28, 87-89 (1984) (柳沼 勝彦)

(3) 耐性菌作出のための細胞融合技術

ア. 研究目的

害虫防除に利用される天敵糸状菌は大部分が有性世代が存在しないか、あるいはわかっている不完全菌類に分類されている。そのため人為的にある有用な形質を他の菌株に導入するには、菌糸融合や細胞融合といった技術を使わざるをえない。天敵糸状菌の場合、細胞融合はまだ確立されたものではなく、優良な融合体が作出された例はまだない。本課題では、薬剤耐性菌の作出のため、細胞融合の技術を開発する。

イ. 研究方法

(ア) 菌株の選定

天敵糸状菌 *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumosoroseus* 及び *Beauveria bassiana* について、細胞融合の実験において有用なマーカーとなる形質を検討した。*M. anisopliae* は、分生子の大きさから2つの亜種に分類されている。分生子の大きさの違いを利用するために、小型分生子の var. *anisopliae*, 大型分生子の var. *majus* の2亜種を供試した。大きさだけではマーカーとして不十分なので、殺菌剤に対する感受性、分生子の色の変異などの項目についても調査した。また *P. fumosoroseus*, *B. bassiana* については殺菌剤耐性菌株の選抜を行った。

(イ) プロトプラストの分離

清水ら^{2), 3)}及び Kawamoto and Aizawa¹⁾ の報告を参考に、プロトプラスト分離用酵素には Zymolyase - 20 T 及び Driselase を選んだ。

ア) 分生子からの分離

分生子懸濁液 (0.1 % Tween40) を作り、分生子の懸濁性を良くするために超音波処理後、滅菌ガー

ぜで分生子の塊を取り除き、3,000rpmで10分間遠心した。次に0.5% 2-メルカプトエタノールで30℃、10分間ゆっくり振盪し、0.7MKC1で3回遠心洗浄した。また前処理として、分生子をSaborand 液体培地で発芽直前まで振盪し、同様な処理をした。遠心洗浄した分生子に各濃度に調整した各酵素液（0.7MKC1を含む0.01Mリン酸衝液pH6.0）を加え、30℃あるいは35℃で1時間から2時間ゆっくり振盪した。処理後、血球計算盤でプロトプラスト数を算定した。

イ) 短菌糸からの分離

P. fumosoroseus (FRP47), *B. bassiana* (FRB47)はSabouraud 液体培地で振盪培養し、短菌糸を形成させた。遠心して培地を取り除き、滅菌ガーゼで塊を取り除き、0.7MKC1で3回遠心洗浄した。そのあとは分生子からの分離と同様に酵素を処理してプロトプラストを得た。

ウ. 研究結果

ア) 菌株の選定

小型分生子の var. *anisopliae* (FRM119) に関して、色の変異株を選抜したところ、この菌種の特徴である緑色とは明らかに区別できるピンク灰色の変異株を得た。また、この菌株は殺菌剤であるベノミル剤に高度の耐性を示した。さらにモモシンクイガに対する病原力も強かった。大型分生子の var. *majus* (1946, 京都工繊大より分譲) は分生子の大きさが14μmで、色も典型的な緑色であった。また、ベノミル剤に感受性で最小生育阻止濃度は12.5ppmであった。さらにモモシンクイガに対する病原力は弱かった。このふたつの菌株は以上のように、明らかに違う特徴をもち区別が容易に可能であった。

B. bassiana と *P. fumosoroseus* については数種類の殺菌剤に耐性を示し、さらにコロニーの形態が他の菌株と明らかに違う菌株を得た。

イ) プロトプラストの分離

M. anisopliae は、分生子を培養せずにすぐに酵素処理した場合、プロトプラストは分離されなかった。そこで、液体培地で発芽直前まで、振盪培養した場合、プロトプラストが分離された。さらに処理温度を報告にあった30℃にしたところ、酵素濃度を変えても、処理時間を長くしても、プロトプラストの分離はうまくいかなかった。そこで処理温度を35℃にして、2時間処理するとプロトプラストが効率よく分離された。プロトプラストの分離に及ぼす酵素の種類と濃度の影響は表1-12に示した通りである。FRM119の場合、 10^6 個の分生子から約 2×10^5 個のプロトプラストが得られた。酵素はDriselaseの方がZymolyase-20Tよりも効率が良かった。酵素濃度は濃度が高い程、効率が良くなる傾向があった。

分離されたプロトプラストの大きさは比較的均一であった。表1-13に示したように、*M. anisopliae* では、大型分生子をもつ亜種から分離されたプロトプラストの直径が小型分生子から分離されたものより約1.6 μm大きかった。

イ) 短菌糸からの分離

P. fumosoroseus の短菌糸からは、どちらの酵素でも、30℃で2時間処理することによって多くのプロトプラストが得られた。プロトプラストの直径は5μmで、*B. bassiana* よりも大きかった(表1-13)。

B. bassiana の短菌糸からもプロトプラストが分離されたが、Zymolyase-20Tでは濃度を15mg/

表1-12 プロトプラストの分離に及ぼす酵素濃度の影響

菌 株	Zymolyase 20-T (mg/ml)			Driselase (mg/ml)		
	5	10	15	5	10	15
FRM119 *	1.12×10^5	1.45×10^5	1.99×10^5	2.12×10^5	2.22×10^5	2.96×10^5
1946 *	—	—	1.97×10^5	—	—	1.71×10^5
FRP47 **	4.13×10^5	4.69×10^5	5.24×10^5	5.56×10^5	7.11×10^5	9.61×10^5
FRB47 **	2.82×10^4	3.17×10^4	5.18×10^4	8.00×10^4	1.48×10^5	1.67×10^5

* 分生子 10^6 個当たりのプロトプラスト数

**短菌糸 10^6 個当たりのプロトプラスト数

表1-13 プロトプラストの大きさの比較

菌 株	直径 (μm)
<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>	4.72
<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>majus</i>	6.30
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	5.07
<i>Beauveria bassiana</i>	3.86

mlにしても効率は悪かった。酵素をDriselaseにした場合、分離する効率が多少良くなったが、*P. fumosoroseus* に比べ効率が悪かった。分離されたプロトプラストの大きさは $3.9\mu\text{m}$ で最も小さかった。

エ. 考 察

細胞融合は特定の栄養、たとえば必須アミノ酸などを要求する変異株を用いて行うのが普通であるが、栄養要求株は概して生育が悪かったり、有用な形質が欠如するといった不利なことが多い。そこで、本実験においては他のマーカーを持つ菌株を見だし、その菌株に関して、プロトプラストの分離法を検討した。その結果、*M. anisopliae* に関しては分生子の大きさ、分生子の色、殺菌剤耐性、病原力などの点で、明らかに区別が可能な菌株を得ることができた。また、この2つの菌株の分生子から分離されたプロトプラストは大きさが違い、融合したどうかを顕微鏡下で確認するのが可能であると考えられる。このようにマーカーとして利用可能な多くの特徴を持つ菌株は、今後の細胞融合の実験に有用であると考えられる。

モモンクイガの天敵糸状菌は液体培地で振盪培養した場合分生子と菌糸の中間の性質をもつ短菌糸とよばれる特殊な形態で増殖する。従来の報告ではプロトプラストを分離するのは、この短菌糸を用いるのが普通であった。短菌糸からの分離は比較的容易であるが、短菌糸は大きさや形態がふぞろいで、分離されるプロトプラストも大きさにばらつきがある。本実験においては分生子からの分離を試みたが、分生子から分離されたプロトプラストは、大きさが比較的均一で、大きい分生子から分離されたプロトプラストは小さい分生子からのそれより直径が大きかった。つまり分生子の大きさがプロトプラストの大きさに反映していた。このことは融合したかどうか

かを判断するには有利であると考えられる。

本実験に使った酵素は、どちらもプロトプラストを分離することが可能であったが、効率、さらに非常に安価であるという点から、Driselaseがより有効であると考えられる。

オ. 今後の問題点

天敵糸状菌の細胞融合に関する報告はまだ少なく、有用な融合体が得られた例はまだない。今後も引き続きこれらの菌株を用いて細胞融合を行う。

カ. 要 約

モモンクイガの天敵糸状菌の細胞融合実験に有用な特徴を持つ菌株を得た。これらの菌株を使い、プロトプラストの分離について検討した。プロトプラストの分離には、Driselaseが有効で、濃度は 15mg/ml が最も効率が良かった。*M. anisopliae* の分生子から分離する場合には、発芽直前まで液体培地で振盪すると、効率よく分離された。短菌糸から分離した場合、*P. fumosoroseus* は効率良く分離されたが、*B. bassiana* は効率が悪かった。

キ. 引用文献

- 1) Kawamoto, H., and Aizawa, K., Formation and regeneration of protoplasts from blastospores of an entomogenous fungus, *Beauveria bassiana*, Appl. Ent. Zool., 21, 531 - 538 (1986)
- 2) 清水 進・栗栖式彦, 数種の昆虫病原性糸状菌からのプロトプラストの分離, 日蚕雑, 57, 81 - 82 (1988)
- 3) 清水 進・加藤正人・松本継男・栗栖式彦, 昆虫病原糸状菌 *Paecilomyces fumosoroseus* のプロトプラストの分離と復帰, 応動昆, 33, 47 - 50 (1989)

(柳 昭 勝彦)

2. 天敵生物の増殖・攻撃・適応能力の強化

(1) 捕食性ダニの増殖・攻撃・適応能力の比較

ア. 研究目的

ケナガカブリダニは日本全土に分布するハダニ類の捕食性天敵である。その増殖能力、捕食能力、環境条件適応能力などに優れた系統を、選抜や淘汰、あるいは交雑により育成できれば、天敵としての有用性が向上できる。本課題では、ケナガカブリダニ

の優良系統育成の基礎的知見を得るため、地域個体群間で休眠性の比較、薬剤抵抗性個体群間での増殖力の比較を行い、選抜や淘汰が可能な変異がケナガカブリダニに存在するかを検討した。また、有力系統の育成には様々な個体群間での交雑も想定されるが、その際、生殖的隔離の存在は育成の障害となるので、個体群間で交雑実験を行い生殖的隔離の有無についても検討した。

イ. 研究方法

(ア) 供試個体群の採集と飼育

ケナガカブリダニの分布は全国的なので、より多

くの生態的変異を期待できるように、北から南まで各地のチャ園、果樹園などを対象にしてケナガカブリダニを採集した。採集記録は(表1-14)に示した。採集したケナガカブリダニはナミハダニを餌に採集地別に累代飼育し、実験に供した。

(イ) ケナガカブリダニの休眠性の地理的変異

ケナガカブリダニの休眠のステージは雌成虫であり、野外では産卵を停止した状態で越冬する。実験的には、20℃、9L-15Dの短日条件下で卵から成虫まで発育させ、交尾後は個体別に飼育し休眠雌の出現をはかった。成虫化後10日間、産卵の有無を定

表1-14 供試個体群の採集記録

採集地(寄主植物, 捕食対象ハダニ)	採集年月日
北海道長沼(ダイズ畑)	1988年8月15日
岩手県盛岡(リンゴ園, オウトウハダニ)	1988年9月8日
静岡県沼津(チャ園, カンザワハダニ)	1988年6月27日
静岡県金谷(チャ園, カンザワハダニ)	1988年6月23日
鹿児島県枕崎(チャ園, カンザワハダニ)	1988年6月1日

期的に調査し、この間、腹部が肥大せず、産卵しなかった個体を休眠雌と判断した。なお供試した個体群は、北海道、岩手、静岡(金谷)、鹿児島の4個体群である。

(ウ) 合ピレ剤抵抗性個体群の増殖能力

「第1章1-(1)捕食性ダニの薬剤耐性」で示したように、合成ピレスロイド剤抵抗性個体群を静岡県沼津市のチャ園から発見できた。薬剤抵抗性個体群を利用する場合には、その増殖能力が感受性個体群に比較して同等であることが望ましいので、産卵数及び性比を調査した。

腹部の肥大したケナガカブリダニ10個体を累代飼育中のカルチャーから任意に取り出し、ハダニの寄生した直径約3cmのリーフディスク上に接種した。これを塩化カリウム飽和溶液で湿度87%に調節したデシケーターにいれ、25℃、16時間日長条件下で48時間の総産卵数を調査した。さらに、産下卵を引き続き同条件で成虫まで発育させ、性比(雌比)を調査した。供試個体群・系統は、合成ピレスロイド剤(以下:合ピレ剤と略称)感受性個体群(野菜茶試(金谷)産)、合ピレ剤抵抗性個体群(沼津市平沼(1)産)、及び左記を合ピレ剤で6回淘汰した系統の

3つとした。産卵数調査は各個体群・系統とも4~5反復とし、性比はまとめて算出した。

(エ) 個体群間の生殖的隔離

ケナガカブリダニ有力系統の育成を行なう場合、様々な個体群同士の交雑が想定される。その際、個体群に生殖的隔離が存在すれば、系統育成の障害となる。そこで、個体群間で交雑実験を行い生殖的隔離の有無について検討した。

供試個体群は、ナミハダニを寄生させた葉上で卵から個体別に飼育し、処女雌を得た後に雄を導入した。この際、数例の交尾行動については、交尾時間を実態顕微鏡下で直接測定した。交尾後の雌成虫が産下した卵(F_1)の発育を調査するため、交尾後の雌成虫を3日度産卵させ、産下卵のふ化率、幼若虫の生存率、得られた成虫の性比(雌比)を調査した。

ウ. 研究結果

(ア) ケナガカブリダニの休眠性の地理的変異

20℃、9L-15Dの条件では、静岡、鹿児島個体群では発育した雌成虫の多くが産卵し、休眠誘起された個体はほとんどなかった。一方、北海道、岩手個体群では、産卵しない雌成虫、即ち休眠雌の出現率が高く、休眠率はそれぞれ、78.6%、52.0%で

表1-15 ケナガカブリダニの休眠率 (20℃, 9L-15D)

個体群	産卵個体数 (A)	未産卵個体数 (B)	死亡個体数	休眠率(%) (B/(A+B))
北海道	6	22	7	78.6
岩手	12	13	1	52.0
静岡(金谷)	28	1	0	3.4
鹿児島	27	1	4	3.5

表1-16 合成ピレスロイド剤感受性個体群と抵抗性個体群の産卵数および性比

	感受性個体群	抵抗性個体群	6回淘汰終了系統
産卵数(平均±標準誤差)*	19.8 ± 1.3	17.4 ± 1.6	17.8 ± 1.7
(n=反復数)	(n=4)	(n=5)	(n=5)
性比(♀/(♀+♂))	0.73(78)**	0.73(48)	0.77(91)

* 48時間での10個体の総産卵数

** ()内は供試個体数

表1-17 個体群間交尾の後産下された卵の発育状況

交尾組合せ	3日間産卵数 ()内供試♀数	ふ化率 (%)	幼若虫生存率	雌比率
枕崎♀×金谷♂	26 (8)	100.0	96.2	0.52
金谷♀×枕崎♂	32 (5)	96.9	83.9	0.73
沼津♀×金谷♂	25 (9)	92.0	87.0	0.60
金谷♀×沼津♂	17 (9)	76.4	85.0	0.73

表1-18 ケナガカブリダニの交尾時間

観察例	交尾組合せ	交尾時間(分)
1	金谷♀×金谷♂	150
2	金谷♀×金谷♂	230
3	金谷♀×金谷♂	120
4	沼津♀×金谷♂	210
5	沼津♀×金谷♂	150

あった。北海道個体群が最も休眠率が高くなった(表1-15)。

(f) 合ピレ剤抵抗性個体群の増殖能力

48時間での10個体の総産卵数は各区平均17.4～19.7で、個体群間に有意差は見られなかった。また、性比も0.73～0.77でほぼ同じであった(表1-16)。この結果は、ケナガカブリダニの合ピレ剤感受性個体群と抵抗性個体群及びこれを淘汰した系統の間に、増殖に関して差がないことを示していた。

(g) 個体群間の生殖的隔離

静岡、鹿児島県産の両個体群間での交雑実験では、交尾後産下された卵のふ化率、幼若虫の生存率は高かった(表1-17)。性比(雌比)はカブリダニ類で一般的に知られるように雌に偏り、この実験からは両個体群間に生殖的隔離の存在は認められなかった(表1-17)。また、合ピレ剤に対して抵抗性を

示した沼津市産個体群と感受性の金谷個体群との組合せ（金谷♀×沼津♂）では、交尾後に産下された卵のふ化率は76.4%と若干低かったが、その後の生存率、性比には他の組合せとの違いはなかったため、生殖的隔離はないと判断した（表1-17）。5例測定した交尾時間は、150分から230分であった（表1-18）が、観察数が少ないため交尾組合せごとの交尾時間についての検討はできなかった。

エ. 考 察

調査した個体群の中では、北日本の個体群の休眠率が高く、地理的変異が確認された。しかし、北日本の個体群の休眠率は、設定した実験条件では100%に達しておらず、さらに、静岡、鹿児島県産の両個体群の休眠率がきわめて低かったことは、冬季にはケナガカブリダニの発生が見られないという観察事実と矛盾する。浜村²⁾は、広島県安芸津産個体群を用いケナガカブリダニの休眠性を調査し、20℃、8L-16Dの条件では安定した高い休眠率が得られず、野外の温度日長条件の網室内で高い休眠率が得られることを示した。また、Van Houten and Veerman³⁾は、カブリダニの1種 *Amblyseius potetillae* で、短日条件と、暗期の低温によって休眠率が高まることを示した。これらの例は、本実験での休眠誘起の条件にさらに検討が必要なることを示唆している。特に、短日条件と暗期の低温を組み合わせた休眠誘起条件での休眠率を静岡、鹿児島県の両個体群で再調査する必要がある。

今回設定した実験条件では、合ピレ剤抵抗性個体群と感受性個体群との間に増殖能力に大きな違いが見られなかった。このことは、今後合ピレ剤抵抗性ケナガカブリダニの利用に際し、増殖力には問題点がないことを示唆するものである。ところで、産卵数など量的形質の変異を調査するためには、飼育条件の厳密な統一、飼育法や実験手法の改良による供試数の増加によって精度の高いデータを得る必要がある。この点、本研究では、不十分な点が多く、改善の余地が多い。

カブリダニ類の個体群間の生殖的隔離について、Croft¹⁾は北米の各地から採集したカブリダニの1種 *Typhlodromus occidentalis* の個体群間で交雑実験を行い、組合せによっては萎びた卵 (shriveled egg) が産卵されることを示した。一方、ケナガカブリダニの個体群間には、調査したかぎりでは、上

記のような萎びた卵や、幼若虫の発育不良のような、生殖的隔離の存在を示す例は認められなかった。調査する個体群の数をさらに増やす必要はあろうが、1000 Km以上遠く離れた個体群間でも生殖的隔離が存在しないということは、交雑により個体群間で様々な特性のやりとりが可能なことを示している。

以上から、ケナガカブリダニでは個体群の組合せにより様々な性質を兼ね備えた優良系統を選抜・育成できることが示唆された。例としては、①北日本の果樹園に分布する個体群にチャ園で選抜された薬剤抵抗性個体群の性質を導入し、果樹園でのハダニの生物的防除に利用可能な薬剤抵抗性系統の育成。②短日条件下でも休眠による活動抑制が起きずに、冬季施設栽培でのハダニの生物的防除に利用可能な、非休眠性系統の育成などが考えられる。

オ. 今後の問題点

ケナガカブリダニの優良系統の育成を行なう場合に、選抜や淘汰の対象とする性質は、薬剤抵抗性と休眠性が現時点では妥当と思われる。今後、これら性質の遺伝様式の解明などと合わせ、優良系統の育成を図っていく必要がある。

カ. 要 約

本研究では、①休眠性に地理的な変異があること、②一定期間内の産卵数、性比には合ピレ剤抵抗性の有無による差が見られないこと、③個体群間に生殖的隔離が見られないことが示され、様々な性質を兼ね備えたケナガカブリダニの優良系統を育成できることが示唆された。しかし、捕食能力の変異の調査や、特定の形質の選抜までは及ばなかった。

キ. 参考文献

- 1) Croft, B.A., Comparative studies on four strains of *Typhlodromus occidentalis* (Acarina: phytoseiidae). I. Hybridization and reproductive isolation studies, J. Econ. Entomol., 63, 1558 - 1563 (1970)
- 2) 浜村徹三, ケナガカブリダニの休眠に関する研究, 果樹試報 E 4, 77 - 89 (1982)
- 3) van Houten, Y.M. and A. Veerman, photoperiodism and thermoperiodism in the predatory mite *Amblyseius potentillae* are probably based on the same mechanism, J. Comp. physiol., A 167, 201 - 209 (1990)

(望月 雅俊)

(2) 捕食性ダニの耐低湿性の強化

ア. 研究目的

ケナガカブリダニは土着の捕食性ダニのうち、捕食・増殖力が最も大きいことから、チャや野菜に寄生するハダニの天敵として重要視されている。しかし、本種はハダニに比べて低湿度でのふ化率が低下する傾向が強く²⁾、降雨の影響が少ない施設栽培ブドウではハダニに対する密度抑制効果が低下することがある。そこで、低湿度でも発育が可能な系統の育成を試みた。

耐低湿性系統の育成に先だて、ふ化に及ぼす温湿度や低湿保持時間の影響を調べるとともに、各地から採集した個体群のふ化と湿度の関係を調査した。また、選抜を行ったケナガカブリダニとブドウに発生が認められるハダニ類及びチリカブリダニのふ化に及ぼす湿度の影響を比較した。

イ. 研究方法

採集あるいは選抜したケナガカブリダニにはインゲンマメに寄生した *Tetranychus* 属のハダニ（おもにカンザワハダニとナミハダニ）を与え、25℃、16 L : 8 D の条件下で増殖した。このインゲンマメの葉柄を、底に水を張ったプラスチック容器内に逆さまに置いた網かごに挿し、ガラス板で蓋をした。

カブリダニの雌成虫を、寒天ゲルにのせたハダニ寄生のインゲンマメ葉片に接種し産卵させた。1日後に葉片上に産下された卵を約15×15mmのガラス小板に接種し、湿度を調節した容器に収容してふ化率を調べた。卵が収縮し、明らかに死亡と判定されるまで調査を継続した。湿度の調節はおもに腰高シャーレまたはデシケータに入れた無機塩の過飽和溶液で行った（ZnCl₂ : 8% R.H., CH₃COOK : 20% R.H., CaCl₂・6H₂O : 30% R.H., KNO₃ : 50% R.H., Ca(NO₃)₂・4H₂O : 53% R.H., MnCl₂・4H₂O : 55~57% R.H., NaNO₂ : 64~67% R.H., NaNO₃ : 69~71% R.H., NaCl : 77% R.H., KCl : 81% R.H.）。40% R.H.での調査は恒温恒湿器で行った。湿度はハンディタイプセンサー HN-L08（チノー製）で測定した。各容器内の湿度は±1%程度に保たれた。

ウ. ふ化に及ぼす温度と湿度の影響

産下後1日以内の卵（静岡県金谷町個体群：チャ寄生）を20、25、30℃と53~81% R.H.を組み合

わせた条件下におき、ふ化率を調査した。

(イ) ふ化に及ぼす低湿保持期間の影響

産下後1日以内の卵（金谷個体群）を20℃/57% R.H., 20℃/64% R.H.または25℃/64% R.H.の条件下に1~5日間保持した後、25℃/77% R.H.の条件に移し、ふ化率を調べた。

(ウ) 各地から採集した個体群のふ化に及ぼす湿度の影響

新潟県新発田市（クズ、サトイモ：ガラス室内）、静岡県金谷市（チャ）、鳥取県大栄町（ナシ）、島根県出雲市（ハウスブドウ）、広島県安芸津町（インゲンマメ：ガラス室内）、愛媛県菊間町（クズ）から採集したケナガカブリダニを増殖し、25℃/55~77% R.H.におけるふ化率を比較した。

(エ) 耐低湿性系統の選抜

金谷町と安芸津町個体群について耐低湿性系統の選抜を行った。産下後1日以内の卵をガラス小板に接種し、25℃/64% R.H.の条件下に移した。2日後にカブリダニの卵をガラス板ごとハダニが寄生したインゲンマメ葉片に移し、増殖した。その後同様の方法で選抜を繰り返した。

(オ) ハダニ類とカブリダニ類のふ化に及ぼす湿度の影響

ケナガカブリダニ（金谷個体群：チャ寄生）、チリカブリダニ（有機りん剤抵抗性、Darmstadt系）、ナミハダニ、ニセナミハダニ、カンザワハダニ、スミスハダニのふ化に及ぼす湿度の影響を比較した。カブリダニの卵はガラス小板に接種し、ハダニの場合は卵の周辺の葉片をできるだけ取り除き、スライドガラスに張った両面テープに張り付けた。これを湿度調節した容器に移し、ふ化率を調べた。

ウ. 研究結果

(ア) ふ化に及ぼす温度と湿度の影響

20℃では25、30℃よりも低湿条件でふ化する傾向を示した。すなわち、20℃においては57% R.H.で2%が、64% R.H.で34%がふ化したが、25℃と30℃の場合64% R.H.以下の湿度ではふ化しなかった（表1-19）。

(イ) ふ化に及ぼす低湿保持期間の影響

低湿条件においた期間によってふ化率は0~100%の値を示した。20℃/57% R.H.に2日間、20℃/64% R.H.に4日間、25℃/64% R.H.に

表1-19 ケナガカブリダニのふ化に及ぼす温湿度の影響

	20℃			25℃			30℃		
	湿度	N	ふ化率	湿度	N	ふ化率	湿度	N	ふ化率
	%RH		%	%RH		%	%RH		%
Ca(NO ₃) ₂ ・4H ₂ O	53	25	0	—	—	—	—	—	—
MnCl ₂ ・4H ₂ O	57	50	2	55	25	0	—	—	—
NaNO ₂	64	50	34	64	20	0	64	25	0
NaNO ₃	71	25	92	70	38	86	69	25	88
NaCl	77	25	100	77	45	97	77	25	84
KCl	81	—	—	—	—	—	81	25	96

表1-20 ケナガカブリダニのふ化に及ぼす低湿(57又は、64% R. H.) 保持期間の影響

温度	塩 類	相対湿度	低湿保持期間(日)											
			0		1		2		3		4		5	
			ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N
℃		%	%		%		%		%		%		%	
20	MnCl ₂ ・4H ₂ O	57	25	96	25	80	25	48	25	16	25	0	—	—
	NaNO ₂	64	25	100	25	92	25	84	25	76	25	44	25	20
25	NaNO ₂	64	25	96	25	96	25	44	25	0	—	—	—	—

表1-21 各地から採集したケナガカブリダニのふ化に及ぼす湿度の影響(25℃)

塩 類	相対湿度	新発田 (ブドウ)		新発田 (サトイモ)		金谷 (チャ)		出雲 (ブドウ)		大栄 (ナシ)		安芸津 (インゲン)		菊間 (クズ)	
		ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N	ふ化率	N
		%		%		%		%		%		%		%	
MnCl ₂ ・4aq	55	—	—	—	—	25	0	17	0	25	0	24	0	17	0
NaNO ₂	64	52	0	17	0	20	0	30	3	50	0	21	5	25	0
NaNO ₃	70	56	34	18	56	38	86	38	85	50	76	20	100	25	84
NaCl	77	55	62	—	—	45	97	—	—	—	—	—	—	—	—

2日間保持し、77% R. H. に移した場合のふ化率はそれぞれ、48, 44, 44%であった(表1-20)。

㍷) 各地から採集した個体群のふ化に及ぼす湿度の影響

各地から採集した個体群のふ化に及ぼす湿度の影響を比較したところ、顕著な差は認められなかったが、出雲と安芸津から採集した個体群は低湿条件に対する耐性が高く、新発田から採集したものは低

い傾向が示された(表1-21)。

(c) 耐低湿性系統の選抜

金谷個体群について選抜を行ったところ6回目の淘汰以降64% R. H.でのふ化率が15%前後に安定した。しかし、11回目からコンタミネーションによると思われるふ化率の低下がみられ、その後のふ化率は10~15%の間を変動した(図1-6)。

安芸津個体群についても選抜を試みたが、64% R. H.でのふ化率の上昇が認められず、選抜の効果がほとんど認められなかった。

(d) ハダニ類とカブリダニ類のふ化に及ぼす湿度の影響

カンザワハダニとスミスハダニは25℃/20~40% R. H.で60~80%が、50% R. H.以上では80%以上がふ化した。ナミハダニとニセナミハダニは8% R. H.でもほとんどがふ化した。チリカブリダニは58% R. H.で一部が、64% R. H.で半数以上がふ化した。ケナガカブリダニの低湿度で選抜した系統は非選抜個体群と同様に58% R. H.でもふ化するものが認められなかった(図1-7)。

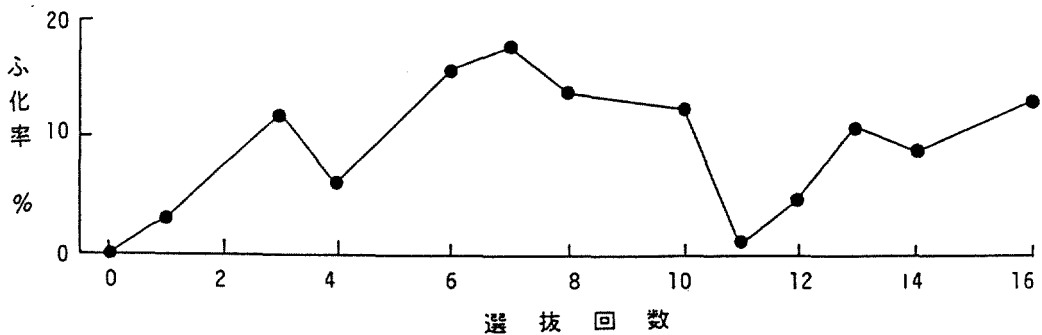


図1-6 ケナガカブリダニの耐低湿性系統の選抜の経過
(金谷個体群, 25℃/64% R. H. でのふ化率を示す)

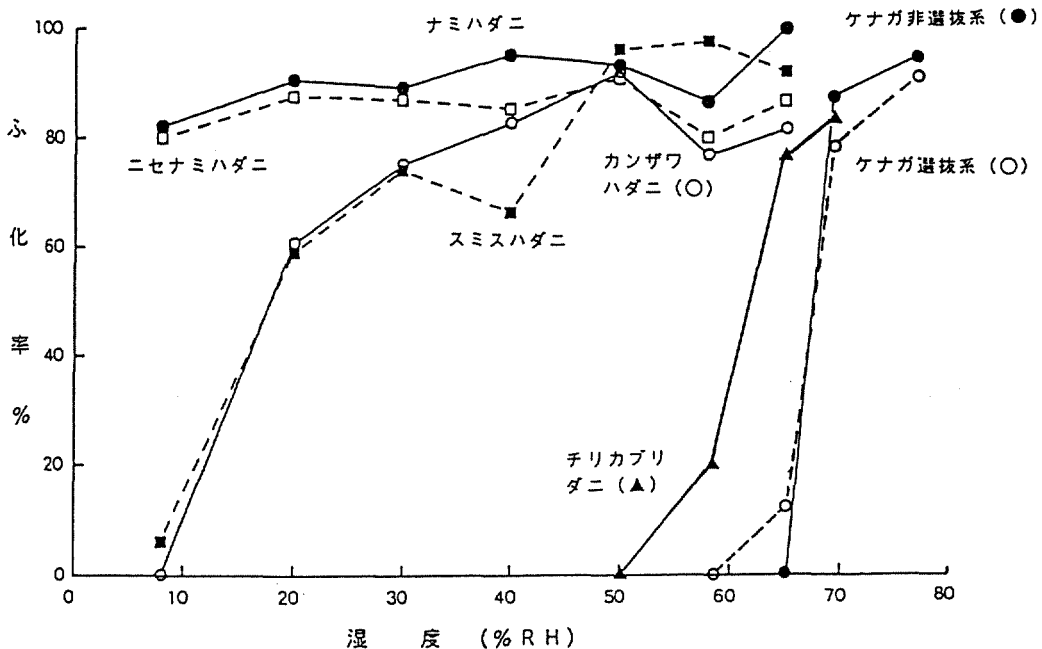


図1-7 ハダニとカブリダニのふ化に及ぼす湿度の影響(25℃)

エ. 考 察

ケナガカブリダニの金谷個体群は、低湿度でのふ化率が高温条件で低下し、25℃以上では湿度が70% R. H. 程度でなければ正常に発育出来なかった。各地から採集したケナガカブリダニの25℃/64% R. H. 以下でのふ化率はいずれも低い値を示し、10%以上ふ化するものは認められなかった。したがって、高温乾燥条件は本種による生物的防除効果を阻害する重要な要因になっていると考えられる。

金谷個体群を低湿条件で選抜したところ、4～6回目の淘汰で64% R. H. でのふ化率が10～15%程度に上昇した。しかし、ブドウに寄生が認められている4種のハダニのすべてが20% R. H. の低湿条件で50%以上のふ化率を示したのに対し、ケナガカブリダニの選抜系統は58% R. H. でもふ化しなかった。ケナガカブリダニより低湿条件でのふ化率が高い値を示したチリカブリダニの施設ブドウでの放飼効果は梅雨期に高く、夏期に著しく低下する。したがって、ケナガカブリダニを夏期に放飼して十分な防除効果をあげるには、少なくともチリカブリダニ以上の耐低湿性を備えた系統を育成する必要があると考えられる。

カブリダニ類のなかには *Euseius scutalis* のように19% R. H. でもふ化する種¹⁾、*Amblyseius potentillae* の Italian stock ように55% R. H. で50%がふ化する系統が見いだされている³⁾。わが国のケナガカブリダニや他のカブリダニ類についても、耐低湿性の系統や種の探索、選抜をさらに試みる必要がある。

耐低湿性系統の選抜に当たっては、葉片上の湿度調節が困難なため、卵をいったんガラス板に接種して一定期間低湿条件に保持し、その後恒湿条件下に置いた葉片に移すという方法をとった。この方法では労力の点から1回の選抜に多くの個体を扱うことができないので、さらに効率的な選抜方法を作出する必要がある。

オ. 今後の問題点

もとの個体群よりも耐低湿性の系統を選抜できたが、低湿度条件でのふ化率はハダニはもちろんチリカブリダニと比較しても高いとはいえない。選抜方法や選抜の対象となる個体群について更に検討する必要がある。

カ. 要 約

ケナガカブリダニの金谷個体群は20℃においては、64% R. H. で34%がふ化したが、25℃と30℃の場合64% R. H. 以下の湿度ではふ化しなかった。同個体群は20℃/57% R. H. に2日、20℃/64% R. H. に4日間または25℃/64% R. H. に2日間保持し、高湿条件に移すと40～50%がふ化した。この結果から、25℃/64% R. H. に2日間保持して高湿条件下に移し、対低湿性の選抜を進めることにした。各地から採集した個体群のふ化に及ぼす湿度の影響を比較したところ、顕著な差は認められなかったが、出雲と安芸津から採集した個体群は低湿条件に対する耐性が高く、新発田より採集したものは低い傾向が示された。金谷個体群を低湿条件で選抜したところ、64% R. H. でのふ化率が10～15%に上昇した。ブドウに寄生が認められているハダニ類とケナガカブリダニならびにチリカブリダニのふ化に及ぼす湿度の影響を比較したところ、ハダニ類は30% R. H. 以下でも50%以上がふ化したのに対し、カブリダニ類の60～70% R. H. 以下でのふ化率は極めて低かった。

キ. 引用文献

- 1) Bounfour, M. and McMurtry, J. A., Biology of *Euseius scutalis* (Athias-Henriot) (Acarina: Phytoseiidae), *Hilgardia*, 55(5), 1 - 23 (1987)
- 2) 浜村徹三, 薬剤抵抗性ケナガカブリダニによる茶園のカンザワハダニの生物的防除に関する研究, 茶試研報, 21, 121 - 201 (1986)
- 3) McMurtry, J. A., Mahr, D. L. and Johnson, H. G., Geographic races in the predacious mite, *Amblyseius potentillae* (Acarina: Phytoseiidae), *Intern. J. Acarology*, 2 (1), 23 - 29 (1976)

(芦原 亘)

(3) 天敵糸状菌の酵素活性による選抜

ア. 研究目的

天敵糸状菌を害虫の微生物防除に利用する場合、病原力が強い菌を選抜する必要があるが、対象となる害虫を用いて病原力を検定するには検定数に限界がある。本課題では直接対象害虫を用いる代わりに、天敵糸状菌の分泌するキチナーゼやアミラーゼなどの酵素活性を測定することによって、病原力を間接

的に検定する方法を開発する。

イ. 研究方法

(ア) 病原力の検定

供試したのはモモシクイガに病原性のある *Metarhizium anisopliae* 8 菌株, *Paecilomyces fumosoroseus* 7 菌株を供試し, 幼虫に対する病原力を検定した。病原力の検定は土壌中に菌の分生子を接種後, モモシクイガの終令幼虫を放飼し, 羽化数を調べた。また, *M. anisopliae* に関しては, カイコの幼虫及び蛹に対する病原力も検定した。接種は一定の濃度に調整した分生子懸濁液を 4 令幼虫あるいは蛹に 1 頭当たり 5 μ l を注射して行った。

(イ) 酵素活性の検定

各種酵素活性の検定は Hankin and Anagnos-takis²⁾ の方法に準じて行った。それぞれの基質を添加した寒天培地に菌を接種し, 5 日間培養後調査した。アミラーゼ活性は可溶性デンプンを用い, ヨード・ヨードカリ溶液で反応させ, 黄色に発色した部分を含むコロニーの直径を測定して求めた。プロテアーゼ活性はゼラチン及びリトマスミルクあるい

はスキムミルクを用い, コロニーの周囲にできた透明化した部分を含む円の直径を測定して求めた。リパーゼ活性は Tween20 を用い, コロニーの周囲の沈殿物が認められる部分を含む直径を測定して求めた。キチナーゼ活性はコロイド状に精製したキチンを用い, 透明化した部分を測定して求めた。なお, キチンのコロイド化は, 1 N 塩酸および 1 N 水酸化ナトリウムを交互に処理して行った。

また, キチナーゼ活性は基質として精製されたキチン, Remazol Brilliant Violet 5 R で染色したキチン (Sigma 製), 及び p-nitrophenol-2-acetamid-2-deoxy- β -D-glucopyranoside (pNADG) を用い, 各菌株の培養上清を加え 37℃ で所定時間培養後, 吸光度を測定し, エンド型及びエキソ型キチナーゼ活性を求めた。

また, 市販の酵素活性半定量システムキット (商品名 アピザイム) を使って, 19 種類の酵素活性を検定した。

(ウ) 生育量の検定

M. anisopliae に関して液体培地での生育を調べた。Sabouraud dextrose 及び Czapeck の液体培地

表 1-22 *Metarhizium anisopliae* のモモシクイガに対する病原力と各種酵素活性

菌株名	LC50*	アミラーゼ	プロテアーゼ		リパーゼ
			ゼラチン	リトマスミルク	
FRM1	1.28×10^6	1.11 a**	1.65 a	1.00 a	1.24 a
FRM10	8.61×10^7	1.38 c	2.96 d	1.79 c	1.41 b
FRM22	4.63×10^7	1.24 b	2.85 d	1.50 b	1.87 c
FRM119	9.05×10^5	1.12 a	2.41 c	1.00 a	1.46 b
FRM243	1.09×10^9	1.23 b	1.75 a	1.38 b	1.83 c
FRM326	1.22×10^7	1.16 a	2.07 b	1.00 a	1.39 b
FRM353	4.80×10^7	1.24 b	1.63 a	1.00 a	1.12 a
FR306***	1.69×10^6	1.21 b	1.64 a	1.00 a	1.24 a

酵素活性の値は, (コロニーの周囲にできた発色または透明化した部分を含む直径) / (コロニーの直径) で表した。

* : モモシクイガに対する病原力, 土壌 1 g 当たりの分生子数で示した。

** : 同一文字間には有意な差はない。

*** : 森林総合研究所より分譲

100 ml に 10^6 個 / ml の分生子懸濁液を 1 ml 接種し, 25℃ で 7 日間振盪培養した。ろ紙で濾過したあと, 菌の乾物重を測定した。

ウ. 研究結果

(ア) 病原力の検定

モモシクイガに対する病原力の検定の結果は表

表1-23 *Paecilomyces fumosoroseus* のモモシクイガに対する病原力と各種酵素活性

菌株名	LC50*	アミラーゼ	プロテアーゼ		リパーゼ
			ゼラチン	スキムミルク	
FRP 5	2.98×10^6	2.08 b**	2.74 c	1.64 a	2.32 b
FRP 11	1.44×10^6	1.79 a	2.35 b	1.56 a	2.08 a
FRP 15	2.44×10^5	1.97 a	2.59 c	1.65 a	2.07 a
FRP 18	2.03×10^7	1.78 a	2.13 a	1.58 a	2.12 a
FRM21	2.59×10^6	2.29 c	3.16 e	2.49 c	3.11 c
FRP 29	7.88×10^5	2.10 b	2.37 b	1.54 a	2.24 b
522***	2.35×10^6	2.25 b	2.83 d	1.86 b	2.41 b

酵素活性の値は、(コロニーの周囲にできた発色または透明化した部分を含む直径) / (コロニーの直径) で表した。

* : モモシクイガに対する病原力, 土壌 1 g 当たりの分生子数で示した。

** : 同一文字間には有意な差はない。

*** : 蚕糸・昆虫農業技術研究所より分譲

表1-24 カイコの幼虫に対する *M. anisopliae* の病原力 (注射後の累積死亡数)

菌 株	5 *				5 0 **			5 0 0 ***		
	4 日	5 日	6 日	****	4 日	5 日	6 日	4 日	5 日	6 日
FRM1	0	1	4		0	5	—	5	—	—
FRM10	0	0	2		0	3	4	1	5	—
FRM22	0	2	3		2	5	—	5	—	—
FRM119	0	0	0		0	0	3	0	4	5
FRM243	0	0	1		0	0	1	0	4	5
FRM326	0	1	1		0	4	4	4	5	—
FRM353	0	3	3		2	5	—	5	—	—
F 306	0	1	4		0	4	5	4	5	—

供試蛹数はいずれも 5 頭

* 分生子 5 個/頭 (10^3 個/mL の分生子懸濁液を 5 μ l / 幼虫注射)

** 分生子 50 個/頭 (10^4 個/mL の分生子懸濁液を 5 μ l / 幼虫注射)

*** 分生子 500 個/頭 (10^5 個/mL の分生子懸濁液を 5 μ l / 幼虫注射)

**** 注射後の日数。

1-22 及び表 1-23 に示した通りである。*M. anisopliae* の LC50 値は、 $9.05 \times 10^5 \sim 1.09 \times 10^9$ 分生子/土壌 1 g であった。病原力が強かったのは FRM119, FRM1 及び F306 で、最も弱い菌株は FRM243 であり菌株間に大きな差が認められた。

P. fumosoroseus の LC50 値は $2.44 \times 10^5 \sim 2.03 \times 10^7$ 分生子/土壌 1 g であった。病原力が強い菌株は FRP15 及び FRP29 で、弱い菌株は FRP18 であった。菌株間に差がみられたが、*M. anisopliae* に比べると差は小さかった。

表 1-25 カイコの蛹に対する *M. anisopliae* の病原力 (注射後の累積死亡数)

菌 株	5*			50**			500***		
	5 日	6 日	7 日 ****	5 日	6 日	7 日	5 日	6 日	7 日
FRM1	8	9	9	10	—	—	10	—	—
FRM10	6	8	8	10	—	—	10	—	—
FRM22	10	—	—	10	—	—	10	—	—
FRM119	9	9	9	10	—	—	10	—	—
FRM243	1	6	6	9	10	—	10	—	—
FRM326	8	8	8	9	9	9	10	—	—
FRM353	10	—	—	10	—	—	10	—	—
F 306	9	9	9	10	—	—	10	—	—

供試蛹数はいずれも10頭

* 分生子 5 個/頭 (10^3 個/mL の分生子懸濁液を 5 μ l / 蛹注射

** 分生子 50 個/頭 (10^4 個/mL の分生子懸濁液を 5 μ l / 蛹注射

*** 分生子 500 個/頭 (10^5 個/mL の分生子懸濁液を 5 μ l / 蛹注射

**** 注射後の日数。

M. anisopliae のカイコに対する病原力検定の結果は表 1-24, 表 1-25 に示した通りである。幼虫に注射した場合, 注射して 4 日後に死亡虫がみられ, 1 頭当たり 500 個の分生子を注射した場合, 6 日後までにすべての菌株で供試した全幼虫が死亡した。病原力が強かったのは FRM1, FRM22, FRM353 及び F 306 であった。また, 蛹の場合, 1 頭当たり 500 個の分生子では, 5 日後までに供試した蛹が全部死亡した。分生子量が少ない場合でも大部分の供試蛹が死亡したが, FRM243 だけは, 死亡する蛹が少なかった。最も病原力が強かったのは FRM22 と FRM353 であった。結局, カイコの幼虫と蛹の両方に病原力が強かったのは FRM22 と FRM353 であった。この菌株はモモシクイガに対する病原力が弱く, 逆にモモシクイガに最も病原力が強かった FRM119 はカイコに対しては病原力が弱かった。

(イ) 酵素活性の検定

M. anisopliae の酵素活性を表 1-22 に示した。それぞれの酵素活性は, 菌株間で有意な差がみられた。アミラーゼ活性が最も高かったのは FRM10 で, 低かったのは FRM1, FRM119, FRM326 であった。しかし, モモシクイガ及びカイコに対する病原力との相関は見られなかった。プロテアーゼ

活性が最も高かったのは FRM10, FRM22 であった。しかし, この菌株はモモシクイガに対する病原力は弱く, 逆に病原力の強い FRM119 の活性は中程度, FRM1, F 306 は活性が低かった。また FRM22 はカイコに対して病原力が強いが, 同様に病原力が強い FRM353 はアミラーゼ活性が低かった。この酵素に関しても病原力との相関はみられなかった。リパーゼ活性は FRM22, FRM243 が高かった。活性が低かったのは FRM1, FRM353, F 306 で病原力が強い菌株が, 活性が低い傾向があったが, 病原力の最も強い FRM119 の活性は中程度であり, 病原力との相関はみられなかった。カイコに対する病原力との間にも相関はなかった。

P. fumosoroseus の酵素活性を表 1-23 に示した。それぞれの酵素活性は *M. anisopliae* のそれよりも高く, 菌株間に有意な差がみられた。アミラーゼ活性は, 最も高かったのは FRP21 で, 低かったのは FRP11, FRP15, FRP18 であった。病原力の最も強い FRP15 と最も弱い FRP18 の活性が低いことから, 病原力との相関はなかった。プロテアーゼ活性が最も高かったのはゼラチン, スキムミルクとも FRP21 であった。この菌株の病原力は中程度であり, 病原力との相関はみられなかった。リパーゼ活性はプロテアーゼ活性同様, FRP21 が活

表1-26 *M. anisopliae* の病原力とキチナーゼ活性

菌 株	L C 50	キチナーゼ活性		
		endo chitinaae*	exo chitinase**	chitin azure***
FRM1	1.28×10^6	6.0	55.46	0
FRM10	8.61×10^7	100.0	144.04	0.77
FRM22	4.63×10^7	17.0	37.75	1.11
FRM119	9.05×10^5	16.7	191.88	0
FRM243	1.09×10^9	7.6	29.47	0.55
FRM326	1.22×10^7	5.0	197.84	0.90
FRM353	4.80×10^7	26.6	29.30	0
F306	1.69×10^6	8.0	2.43	0.10

L C 50はモモシクイガに対する病原力, 土壌1 g当たりの分生子数で示した。

* 基質は精製したキチン 単位は基質より遊離してくるN-acetylglucosamineの量 (μmol)

** 基質はp-nitrophenol-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranoside 単位は基質より遊離してくるp-nitrophenolの量 (μmol)

*** 基質はRemazol Brilliant Violet 5 Rで染色したキチン
キチンからN-acetyl-D-glucosamine が1 mg遊離する活性を1 unit とした。

性が高かったが, 病原力の強いFRP15はこの活性は低く, FRP29は活性が中程度であったことから, 病原力との相関はみられなかった。

キチナーゼ活性は, 基質を培地に添加して調べる簡便な検定法では検出されなかった。そこで, 別の定量法を用いて活性を調べた。その結果を表1-26に示した。エンド型及びエキソ型キチナーゼ活性は菌株により大きな差がみられた。最も病原力の強かったFRM119はエキソ型キチナーゼ活性は高かったが, エンド型の活性はそれほど高くはなかった。病原力が強いF306は, 両型の活性とも低かった。最も病原力の弱いFRM243においてもキチナーゼ活性が高くはないが検出された。chitin azure で調べたキチナーゼ活性はFRM22が最も高く, FRM1, FRM119, FRM353では活性が認められなかった。以上よりキチナーゼ活性とモモシクイガに対する病原力との間に相関関係はみられなかった。

アピザイムで19種類の酵素活性を調べた結果を表1-27に示した。*M. anisopliae* の場合共通して活性が高かったのは酸性フォスファターゼだけであった。フォスフォアミダーゼ, β -グルクロニダーゼ, β -ガラクトシダーゼ, β -グルコシダーゼ, N-ア

セチルグルコサミニダーゼなどの酵素は菌株により活性に差がみられた。しかし, 病原力との間に相関関係はみられなかった。

P. fumosoroseus の場合, 共通して活性が高かったのは酸性フォスファターゼ, β -ガラクトシダーゼであった。菌株間に大きな差が見られた酵素はアルカリフォスファターゼ, フォスフォアミダーゼであったが, 病原力との間には相関関係がみられなかった。

(ウ) 生育量の検定

表1-28に示したように, Sabouraud 液体培地の場合, 菌の乾物重に菌株によって違いがみられた。FRM1, FRM326, FRM243などが生育量が大きかったが, 病原力との相関はみられなかった。

エ. 考 察

天敵糸状菌の病原力の強さがどのような要因によるものであるかは, まだ明らかにされていない。しかし, 蚊に対して病原力が強い*M. anisopliae* の菌株はアミラーゼ活性が高い⁴⁾, ある種の鱗翅目昆虫に対して病原力が強い*Beauveria bassiana* の菌株はキチナーゼ活性が高い³⁾, *B. bassiana* の病原力とプロテアーゼには相関の関係がある¹⁾などの報告が

表1-27 アピザイムによる *M. anisopliae* (上段) 及び *P. fumosoroseus* (下段) の酵素活性

菌 株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
FRM 1	1	2	1	0	1	0	0	0	0	5	4	1	5	0	0	4	4	0	1
FRM 10	0	2	1	0	0	0	0	0	0	5	4	1	1	2	0	0	1	0	1
FRM 22	1	2	1	0	1	0	0	0	0	5	4	1	1	3	0	2	1	0	3
FRM 119	0	2	1	0	1	1	1	1	1	4	5	1	2	0	0	1	1	0	1
FRM 243	0	2	3	0	0	0	0	0	0	5	3	0	5	0	0	1	1	0	2
FRM 326	1	2	2	1	1	1	1	1	1	4	4	1	5	0	0	2	1	0	2
FRM 353	0	2	2	0	1	1	0	0	0	4	4	1	3	0	0	3	1	0	0
F306	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	1	1	0	0	4	0	0
FRP 5	3	3	3	1	0	0	0	1	0	5	3	0	5	0	1	0	1	0	0
FRP 11	2	3	2	1	0	0	0	0	0	5	3	0	3	0	1	0	1	0	0
FRP 15	1	2	2	0	0	0	0	1	0	4	2	0	4	0	0	0	1	0	0
FRP 18	3	3	2	1	0	0	0	0	0	3	3	0	5	0	1	0	1	0	0
FRP 21	1	2	1	0	0	0	0	0	0	4	1	0	5	0	0	0	0	0	0
FRP 29	3	3	3	0	0	0	0	0	0	4	4	0	4	0	0	1	0	0	0
522	0	2	0	0	0	0	0	1	1	4	3	1	4	0	1	1	1	0	0

1 : phosphatase alkaline 2 : Esterase(C4) 3 : Esterase Lipase (C8) 4 : Lipase
 5 : Leucine arylamidase 6 : Valine arylamidase 7 : Cystine arylamidase 8 : Trypsin
 9 : Chymotrypsin 10 : Phosphatase acid 11 : Phosphoamidase 12 : α -galactosidase
 13 : β -galactosidase 14 : β -glucuronidase 15 : α -glucosidase 16 : β -glucosidase
 17 : N-acetyl-glucosaminidase 18 : α -mannosidase 19 : α -fucosidase
 0 : 陰性 1 : 5nmol 2 : 10nmol 3 : 20nmol 4 : 30nmol 5 : 40nmol

表1-28 *Metarhizium anisopliae* の液体培地での生育

菌 株	生育量 (g) *	
	Sabouraud	Czapeck
FRM1	0.61	0.26
FRM 10	0.34	0.26
FRM 22	0.50	0.28
FRM 119	0.39	0.26
FRM 243	0.54	0.28
FRM 326	0.58	0.34
FRM 353	0.48	0.30
F306	0.45	0.30

* 10^6 個の分生子を27℃で、7日間振盪培養後乾物重を計測した。

ある。天敵糸状菌が昆虫を侵すには次のような過程を経る。つまり、キチン質とタンパク質及び脂質の複合体からなる昆虫表皮を各種の酵素で化学的に分解し、さらに発芽管による物理的な力で昆虫体内に侵入する。さらに第2段階として、昆虫の体液中で短菌糸と呼ばれる特殊な形態で増殖を始め、体液中に充満する。この際、菌によっては毒素を分泌する。さらに内部組織に侵入し、死に至らしめる。このようなことから、侵入の可否によってまず病原性が決定され、さらに侵入の速さによって病原力がある程度決まる。つまり表皮を分解する能力が大きい菌は病原力が強いと考えられる。本実験において、これら報告のあった酵素の活性とモモシクイガ及びカイコに対する病原力の関係を調べたが、関連のある酵素を見いだすには至らなかった。これは病原力を表わす指標が単に酵素活性だけではないことを示唆するものである。病原力の指標として各種酵素活性

も重要なひとつの要因ではあるがその他に、昆虫体液中で分泌する毒素の質的量的な差異、あるいは体液中での増殖能力の違いなども重要な要因であると考えられる。

オ. 今後の問題点

天敵糸状菌の病原力は、酵素活性だけではうまく説明できないので、他の要因として考えられる毒素の質的、量的な調査が必要である。また、昆虫の体液中での生育についても調べる必要がある。

カ. 要 約

モモンクイガの天敵糸状菌 *Metarhizium anisopliae* 8 菌株及び *Paecilomyces fumosoroseus* 7 菌株を用いて、病原力と各種酵素活性の関係について検討した。その結果、病原力及びアミラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ、キチナーゼなどの酵素活性は、各菌株間に有意な差がみられた。しかし、病原力と各種酵素活性の間に相関関係はみられなかった。

キ. 引用文献

- 1) Cheung, P. Y., and Grula, E. A. J., In vivo events associated with entomopathology of *Beauveria bassiana* for the corn earworm (*Heliothis zea*), J. Invertebrate Pathology, 39, 303 - 313 (1982)
- 2) Hankin, L., and Anagnostakis, S. L., The use of solid media for detection of enzyme production by fungi, Mycologia, 67, 597 - 607 (1975)
- 3) Pekrul, S. P., and Grula, E. A., Mode of infection of the corn earworm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy, J. Invertebrate Pathology, 34, 238 - 247 (1979)
- 4) Robert, A., and Al - aidroos, K. M., Acid production by *Metarhizium anisopliae*: effects on virulence against mosquitoes and on detection of in vitro amylase, protease, and lipase activity, J. Invertebrate Pathology, 45, 9 - 15 (1985)

(柳 沼 勝彦)

(4) 昆虫バキュロウイルスの変異と病原性の比較

ア. 研究目的

昆虫ウイルス DNA の制限酵素切断パターンの比

較を行い、バキュロウイルスを分類する。同様の手法を用いて、各種バキュロウイルスの遺伝子変異株を検出するとともにその変異株間の病原性を比較し、感染特性の異なるウイルス株を得る。

イ. 研究方法

(ア) ウイルス DNA の抽出

供試した核多角体病ウイルス (NPV) と顆粒病ウイルス (GV) の由来を表 1-29 に示す。各ウイルスの封入体 (NPV: 多角体; GV: 顆粒体) は、感染死亡幼虫をガラスホモジナイザーで磨砕後、磨砕液をガーゼと脱脂綿で濾過し、濾液を分別遠心法で簡易精製した。NPV の場合、4℃、500 g 5 分遠心後上澄を 2,000 g で 30 分遠心し、沈澱を蒸留水に懸濁して、3~5 回遠心洗浄し多角体の沈澱を得た。GV は、4℃、500 g で 5 分遠心後上澄を 10,000 g で 30 分遠心し、沈澱を蒸留水に懸濁し、3 回遠心洗浄したのち再度懸濁し、1,000 g で 10 分遠心後上澄を 10,000 g で 30 分遠心し顆粒体の沈澱を得た。なお、夾雑物の多い場合は、45~60% (W/W) 1% 糖密度勾配遠心法を併用した。精製封入体からのウイルス DNA の抽出は、以下の手順にしたがって行った。

- ① 封入体 (乾燥重で 5mg 程度) を 1 mL アルカリ溶液 (0.02 M NaOH) で、室温、30~60 分溶解する。
- ② 卓上小型超遠心機を用いて 50,000 rpm. で 15 分遠心し、上澄を捨てる。
- ③ 沈澱を 1/2 × TE バッファー (TE バッファー: 10mM トリス, 1mM EDTA, pH 8.0) に懸濁し、プロティネース K を 250 µg/mL, ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を最終濃度 0.5% になるように加え、37℃ で 1 時間反応させる。
- ④ TE バッファーで飽和させたフェノール溶液で DNA を抽出 (3 回) 後、エーテル抽出を行いフェノールを除去する。
- ⑤ エタノール沈澱ならびに 70% 冷エタノール洗浄後、吸引乾燥する。得られた DNA を、RNase を 20 µg/mL 添加した TE バッファーに溶解し、37℃ で 30 分反応させ RNA を分解する。得られた DNA 溶液は必要に応じてエタノール沈澱を行い、TE バッファーで溶解し 4℃ あるいは -20℃ で保存する。制限酵素切断を行う場合は、DNA 濃度を 0.5~1.0 µg/µl 程度に調整する。ウイ

表1-29 供試ウイルスの由来

ウイルス	分離宿主	分離地域と参考文献*
Ca NPV	エゾギクキンウワバ	九州 10)
Xc NPV (Tr)	シロモンヤガ	十勝 三角型多角体 4), 7)
Xc NPV (Te)	シロモンヤガ	十勝 四角型多角体 4), 7)
Au NPV	ショウブヨトウ	十勝
Mb NPV (T)	ヨトウガ	東京 1), 9)
Mb NPV (G)	ヨトウガ	芸北 14)
Ps NPV (F)	アワヨトウ	福山 14)
Ps NPV (G)	アワヨトウ	芸北 14)
Ps NPV (K)	アワヨトウ	九州 14)
Sl NPV (F)	ハスモンヨトウ	福山 12), 14)
Ha NPV	<i>Heliothis armigera</i>	タイ国
Hs NPV	<i>Heliothis zea</i>	サント社 ELCAR® 3)
Xc GV	シロモンヤガ	十勝 4)
Ag GV	ガンマキンウワバ	十勝
Ap GV	タンポキヨトウ	十勝
Ha GV	フキヨトウ	十勝
Cl GV	ショウブオオヨトウ	十勝
Pu GV	アワヨトウ	ハワイ 5)

*番号は、引用文献を示す。

ルスDNA濃度は、分光光度計で測定(波長:

260 nm)するか、臭化エチジウムを加えたTEバッファーで階段希釈しトランスイルミネーションを用いて蛍光による比較測定をする¹⁵⁾。

注: 超速心機が使えない場合は封入体を溶解後、TEバッファーを等量加え次の操作に移る。このとき、プロティネースKの濃度を高くするとよい。

(i) DNAの制限酵素による切断

DNA 1 µgに対し制限酵素を5~10単位加え、反応液を調整し37℃で2~4時間反応させた。

(ii) アガロースゲル電気泳動

電気泳動には、臭化エチジウム(0.5 µg/ℓ)を加えたトリスほう酸バッファー(TBE)を用い、アガロース濃度0.5%~1.5%、室温条件下、6~25mAで4~20時間泳動した。泳動パターンはポロイドカメラで撮影し解析した。

(iii) ハイブリダイゼーションによる遺伝子変異の

解析

アガロースゲル電気泳動後、サザンブロッティング法によりDNA切断片をナイロンメンブレンに移行させた。トランスファー溶液には、アルカリブロッティング溶液(0.25M NaOH+1.5 M NaCl)を用いた。

ウイルスDNAをニックトランスレーションキット(宝酒造KK)または、ランダムプライマーラベリングキット(宝酒造KK)を用いて³²Pで標識したプローブを作成し、ラビッドハイブリダイゼーションバッファー(アマシャム)中で65℃条件下、2~3時間メンブレンとのハイブリダイゼーションを行った。メンブレンの洗浄条件は、2×SSC(SSC: 150mM NaCl+15mM Na₂HC₆H₅O₇) + 0.1% SDS溶液中15分振とうを2回(室温)、1×SSC+0.1% SDS溶液中10分振とう(65℃)1回、0.1×SSC+0.1% SDS溶液中10分振とう(65℃)1回とした。洗浄後メンブレンを

風乾し、サランラップでおおった後、X線フィルムと増感紙を重ねてオートラジオグラフィーを行った。

(付) 病原性の比較

精製封入体を所定の濃度に希釈し、人工飼料に混入、あるいは食草（ピーマン、タバコガ；オーチャードグラス、アワヨトウ）に塗抹して供試幼虫に24～48時間摂食させた後、個体飼育し、12日または14日後のウイルス感染死亡率を調べた。

ウ. 研究結果

(ア) ウイルスDNAの抽出

一部のウイルスを除き、封入体の精製は、糖密度勾配遠心を省略した冷却高速遠心機による分別遠心洗浄のみで行ったが、制限酵素切断に供試する程度の精製度のDNAを抽出することができた。なお、DNA抽出量は、5～15 μg/mg封入体程度であった。

(イ) DNAの制限酵素による切断とアガロースゲル

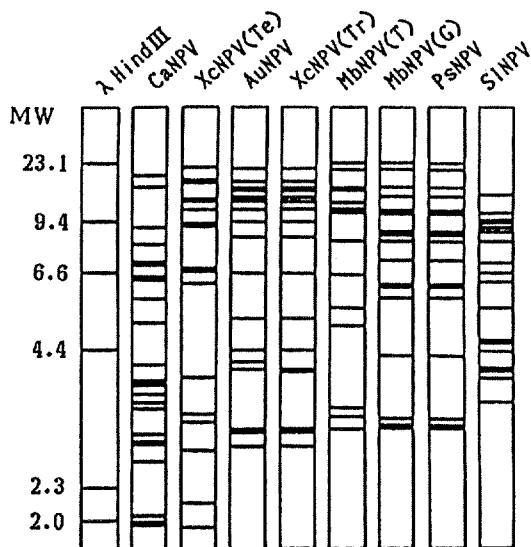


図1-8 各種NPVのDNA *Eco* RI切断片電気泳動パターン（0.7%アガロースゲル写真よりトレース）

λ *Hind* III: DNA分子量マーカー, Ca: エゾギクキンウワバ, Xc: シロモンヤガ, Au: ショウブヨトウ, Mb: ヨトウガ, Ps: アワヨトウ, Sl: ハスモンヨトウ, (Te): 四角型株, (Tr): 三角型株, (T): 東京株, (G): 芸北株

ル電気泳動

a 各種NPVの制限酵素切断パターンの比較

供試ウイルスDNAの制限酵素切断は、おもに *Eco* RI を用いて行った。

図1-8に各種NPVDNAの *Eco* RI 切断片電気泳動パターンを模式的に示した。シロモンヤガNPV三角型株とショウブヨトウNPV、ならびにヨトウガNPV芸北株とアワヨトウNPV油木株は、泳動パターンにほとんど差がないことから、それぞれ同一ウイルスあるいは同一ウイルスの遺伝子変異株であると考えられた。また、ヨトウガNPV東京株と芸北株は、パターンに明らかな違いがあるが、同じ分子量を持つ切断片が多いことから、その近縁性は高いと考えられた。なお、エゾギクキンウワバNPV、シロモンヤガNPV四角型株、ハスモンヨトウNPVは、供試ウイルス中に類似のパターンを示すウイルスが見られなかったことからそれぞれ別個のウイルスであると考えられた。

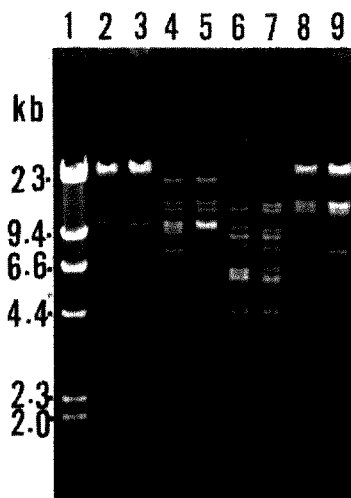


図1-9 タバコガの近縁種2種から分離されたNPVのDNA制限酵素切断片電気泳動パターン

1: λ *Hind* III分子量マーカー, 2, 4, 6, 8: *Heliothis zea* NPV, 3, 5, 7, 9: *Heliothis armigera* NPV, 2, 3は *Pst* I; 4, 5は *Hind* III; 6, 7は *Bam* HI; 8, 9は *Eco* RI で切断。

タバコガの近縁種である *Heliothis armigera* と *Heliothis zea* の2種からそれぞれ分離された HaNPV (タイ系統), HzNPV (Elcar[®], サンド社), をタバコガ幼虫で増殖しウイルスDNAを4種類の制限酵素で切断したところ, これら2株はパターン類似性が高く同一ウイルスの遺伝子変異株であると考えられた (図1-9)。HzNPVのパターンは Gettig & MaCarthy の報告³⁾の HzNPV のパターンと一致した。HaNPVのパターンは, *Heliothis* 類のSNPVに類似していたが, 同報告のウイルス株には, HaNPV (タイ系統) と同一パターンのもはなかった。以上から, これら2株は, *Heliothis* 類のSNPVの遺伝子変異株であると考えられた。

分離地点の異なるアヲトウNPV福山株, 芸北株, 九州株¹⁴⁾のウイルスDNAを3種の制限酵素で

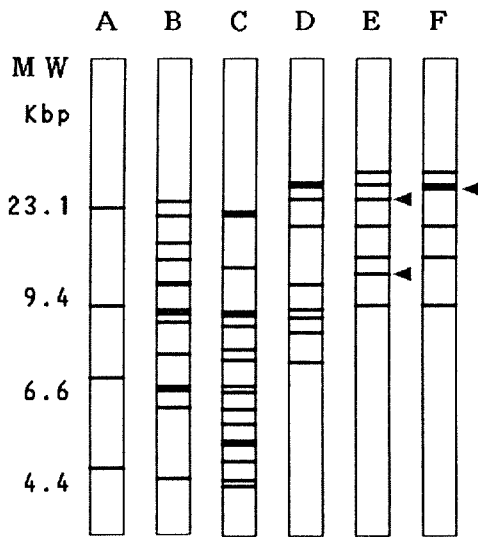


図1-10 アヲトウNPVのDNA制限酵素切断片電気泳動パターン (0.7%アガロースゲル写真よりトレース)

A: λ Hind III 分子量マーカー, B: EcoRI 切断, (福山, 芸北, 九州株), C: Hind III 切断, (福山, 芸北, 九州株), D: Pst I 切断 (福山, 芸北, 九州株), E: BamHI 切断 (福山, 芸北株), F: BamHI 切断 (九州株)

切断し泳動パターンを比較したところ, EcoRI, PstI 切断では3株ともパターンは一致したが, BamHI 切断では九州株と他の2株との間に明瞭な差異が認められた (図1-10)。

また, EcoRI 切断片電気泳動パターンからシロモンヤガNPV草地試系統として保存していたウイルスのうち少なくとも1株が, ハスモンヨトウ幼虫での増殖過程でハスモンヨトウNPVと入れ替わっていることが明らかになった。

なお, ハスモンヨトウNPVの日本各地からの分離株の比較は, 前田ら¹²⁾による報告があるので今回の試験からは除外した。

b 各種GVの制限酵素切断パターンの比較

シロモンヤガ, ガンマキンウワバ, タンポキヨトウ, ショウブオオヨトウ, フキヨトウ, アヲトウから分離されたGVのウイルスDNAをEcoRI, BamHI, Bgl II の3種の制限酵素で切断したところ, すべての分離株がほとんど同一の泳動パターンを示した (図1-11)。部分的な差異によって個々の株の識別は可能であるもののこれらの分離株は遺伝的にはごく近縁であると考えられた。なお, 野外のシロモンヤガから個体別に分離したGV株間にも, 上記の異なる宿主から分離された株間でみられたものと同程度の変異が見られた。

なお, ハワイ産の *Pseudaletia unipuncta* GV のパターン⁵⁾は, 上記の北海道産GVとは明らかに異なっており共通の分子量を持つ切断片の数も非常に少なかった。

(ウ) ハイブリダイゼーションによる遺伝子変異の解析

シロモンヤガGVのEcoRI切断片のうち, 他の北海道産GVの泳動パターンで欠失が確認されたものを³²Pラベルしてそれぞれサザンブロットハイブリダイゼーションを行った結果, これらの欠失切断片は付加切断片に含まれることが明らかになった。このことは, 北海道GV株間の泳動パターンの変異が制限酵素切断部位の変異によって生じたものであることを示しており, これらの分離株は, 同一ウイルスの遺伝子変異株として位置づけられた (図1-12)。また, 制限酵素切断パターン間に共通のバンドがほとんど見いだされない *Pseudaletia unipuncta* GV とシロモンヤガGV間にも, 相同性の高い領域が少なからず存在することが示唆された。

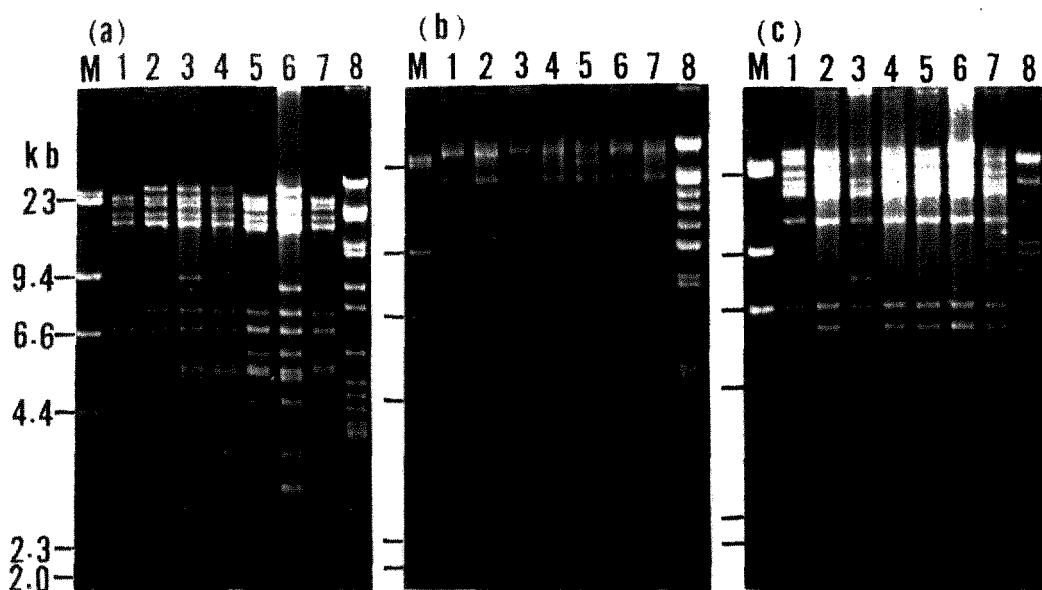


図1-11 各種GVのDNA制限酵素切断片アガロースゲル電気泳動パターン

(a) *Eco* RI, (b) *Bam* HI, (c) *Bgl* II

1: λ *Hind* III 分子量マーカー, 2: シロモンヤガGV α , 3: シロモンヤガGV β , 4: ガンマキンウバGV, 5: タンボキヨトウGV, 6: フキヨトウGV, 7: ショウブオオヨトウGV, 8: アワヨトウGV, 9: *Pseudaletia unipuncta* GV。

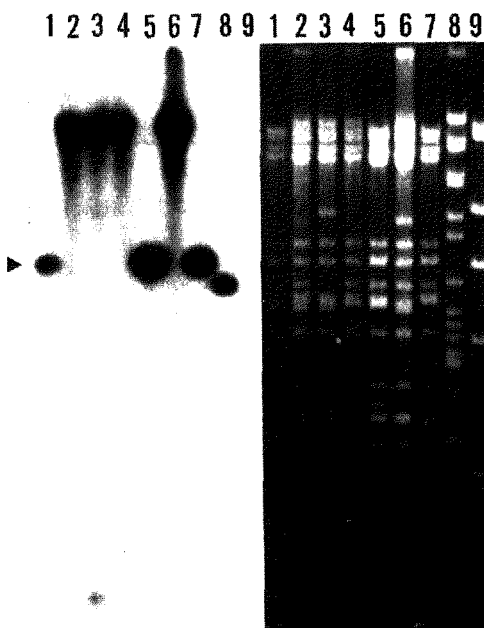


図1-12 各種GVのDNA *Eco* RI 切断片アガロースゲル電気泳動パターンとシロモンヤ

ガGV α 株の6.9 kbp 切断片 (矢印) をプローブとしたサザンブロットハイブリダイゼーションのオートラジオグラム

1: シロモンヤガGV α , 2: シロモンヤガGV β , 3: ガンマキンウバGV, 4: タンボキヨトウGV, 5: フキヨトウGV, 6: ショウブオオヨトウGV, 7: アワヨトウGV, 8: *Pseudaletia unipuncta* GV, 9: λ *Hind* III 分子量マーカー

ヨトウガNPV芸北株のDNAを 32 Pでラベルして、ヨトウガNPV (芸北株と東京株) とシロモンヤガGVの制限酵素切断片とサザンブロットハイブリダイゼーションを行った結果、ヨトウガNPV 2株のオートラジオグラフィーのシグナルはほぼ同等の強さでありこれらのDNAの相同性は高いものと推定された。他方、シロモンヤガGVのシグナルはほとんど検出されなかったことからヨトウガNPVとシロモンヤガGVの相同性は低いものと考えられ

た。

エ) 病原性の比較

分離地点の異なるアワヨトウ NPV (福山株、芸北株、九州株) のアワヨトウ 2 齢幼虫に対する病原性を比較したところ LD_{50} (ウイルス濃度) には大きな差はなかった。

Heliothis armigera NPV と *H. zea* NPV のタバコガ幼虫に対する病原性は、後者がやや高い傾向が見られたが、いずれの齢期においてもほとんど差がなかった (表 1-30)。

表 1-30 タバコガの近縁種から分離された NPV 2 株のタバコガ各齢幼虫に対する病原性 (LD_{50})

幼虫齢	Ha NPV	H _z NPV
1 齢	3.8×10^3	2.3×10^3
2 齢	2.1×10^4	1.9×10^3
3 齢	1.4×10^4	1.9×10^4
4 齢	1.8×10^4	6.7×10^3
5 齢	2.7×10^7	1.1×10^6

Ha : *Heliothis armigera*

H_z : *Heliothis zea*

ピーマン、葉面塗抹法。30 個体/区。

LD_{50} (接種 12 日後) の単位は多角体数/ml。

シロモンヤガとガンマキンウワバから分離された GV 株のガンマキンウワバ幼虫に対する病原性は、3 齢幼虫でそれぞれ 0.07 と 0.02 μ g 顆粒体/個体、4 齢幼虫で 0.14 と 0.09 μ g 顆粒体/個体であり大きな差は見られなかった。なお、5 齢幼虫では、100 μ g 顆粒体/個体接種しても双方とも感染個体は観察されなかった。

エ. 考 察

(ア) ウイルス DNA の抽出

制限酵素切断法に用いるウイルス DNA は一般に、封入体を密度勾配超遠心で精製した後アルカリ溶解し、さらに超遠心により精製したウイルス粒子から抽出されている。しかし、超遠心機は高価なため実験施設に設置できない場合も多い。本課題では、高速遠心機のみを使用し封入体から DNA の抽出を試みた。その結果、高速遠心のみでも制限酵素切断法

に供試可能な程度まで精製された DNA の抽出が可能であることが実証された。

(イ) DNA の制限酵素による切断とアガロースゲル電気泳動

昆虫ウイルスは、従来、分離宿主の学名をつけて命名され、分離宿主が異なる場合は別のウイルスと見なされてきた。1980 年代に入り、分子生物学的手法を導入した昆虫ウイルスの分類法が試みられ^{2), 3), 5), 6), 7), 11), 12), 16), 17)}異なる宿主から分離された株であっても同一ウイルスである場合があること、またウイルス株間に遺伝子変異が存在することなどが明らかにされた。DNA の制限酵素切断片のアガロースゲル電気泳動パターンによる比較は、バキュロウイルスの同定法として認められつつあるが、日本産バキュロウイルスの制限酵素パターンによる同定の報告例^{6), 7), 11), 12)}は非常に少なく、現在も分類は分離宿主によって行われている。今回の試験結果から、ヨトウガとアワヨトウの NPV をはじめ、異なる宿主から分離され今までは異種ウイルスとして扱われていたいくつかの NPV が実は同一種のウイルスであることが明らかにされた。また、宿主域が狭いと言われてきた GV にも北海道産 GV のようにシロモンヤガ、ガンマキンウワバをはじめ多種類の宿主に交差感染するものがあることも明らかになった。今後、制限酵素切断法を利用してさらに多くの日本産ウイルスの解析を行い、分類の明確化を図る必要がある。

ウイルス DNA の抽出と制限酵素切断片電気泳動は、高速遠心機を除けばトランスイルミネーター、恒温器、電源、泳動槽など比較的安価な装置で実験可能である。試薬が高価でありランニングコストがやや高いことが問題であるが、透過型電子顕微鏡がない場合や宿主昆虫が手に入らない場合でも、また、病原性や宿主域を調べる手間もなく確実に分類できることは利点と言える。世界的な視野で考えれば、*H. zea* NPV (Elcar®) のように均質で比較的收入しやすいウイルスをいくつか指標に定め、それをマーカーとともに同時に泳動するような方式がとられることが望ましい。

(ウ) ハイブリダイゼーションによる遺伝子変異の解析

Pseudaletia unipuncta GV とシロモンヤガ GV のハイブリダイゼーションの結果から、制限酵素

切断片のパターンが異なるウイルス間においても、DNA内には遺伝子的に相同性の高い部分が少なからず存在することが示唆された。ウイルス間の近縁性や、感染、増殖等の特性にかかわる遺伝子の比較解析を進めるためには、制限酵素切断電気泳動パターンに加えて、相同性の分析をはじめ遺伝子レベルでの詳細な解析を行う必要がある。

(c) 病原性の比較

遺伝子変異株は、ウイルスDNA制限酵素切断片電気泳動パターンの比較から容易に検出可能となったが、感染特性に関わる遺伝子の特定は、進んでいない。シロチョウ類のGVで、感染特性に大きな差がある遺伝子変異株の例が報告されている²⁾が、遺伝子変異と感染特性の関連は不明である。本課題は、感染性の高い変異株の検出を目的としていたが、切断片パターンに若干の変異が存在する程度の遺伝子変異株間では病原性には大きな差は見られなかった。感染特性の異なる株を検出するには、より変異の大きい株を入手して比較検討する必要があるものと思われる。

オ. 今後の問題点

制限酵素切断片電気泳動パターンは、分子量マーカをもとに文献などと比較することも可能だが、ウイルス内にも遺伝子変異が存在するので、文献のみによる同定は容易とは言えない。世界共通のウイルスを数種類定めて、比較の基準として供試サンプルと同時に泳動する方式が確立されることが望まれる。

今回は、主にEcoRI切断パターンで比較を行ったが、詳細な分類を行うためには各ウイルス株について3～5種類の制限酵素による切断パターンを記載し、さらに切断片の分子量測定を行う必要がある。

今回の試験結果で、異宿主分離株が同一ウイルスと見なされる例が多数あった。各研究機関で分離保存されているウイルス株について、今後改めて分類同定をする必要があるものと考えられる。

野外からの分離株は、異なる遺伝子変異株の混合である場合が多い¹⁶⁾。変異株の混合は、制限酵素切断パターン中に現れる薄いバンド(submolar band)によって検出されるが今回の試験に供試したNPVとGV株では、この薄いバンドはシロモンヤガGVの一部の株で見られたほかは、ほとんど検出されな

かった。今回の供試ウイルスは室内で継代増殖されたものがほとんどであり、パターンからは単一の遺伝子株であると推定されるが、株中に低い割合で変異株を含んでいる可能性は否定できない。今後、培養細胞系を用いたプラーク純化、あるいは限界希釈によるin Vivoでのクローニングを行うことが望まれる。

カ. 要 約

バキュロウイルスは、制限酵素切断電気泳動パターンの比較により明確に同定でき、遺伝子変異株の検出も可能であった。一部の遺伝子変異株について感染特性の比較を行ったが株間の差異は見いだされなかった。

キ. 引用文献

- 1) 阿久津喜作, 天敵ウイルスによる野菜害虫の防除, 植物防疫 26, 19 - 23 (1972)
- 2) Crook, N.E., A comparison of granulosis viruses from *Pieris brassicae* and *Pieris rapae*, Virology, 115, 173 - 181 (1981)
- 3) Gettig, R.R. and W.J. McCarthy, Genotypic variation among wild isolates of *Heliothis* spp nuclear polyhedrosis viruses from different geographical regions, Virology, 117, 245 - 252 (1982)
- 4) 後藤千枝・筒井 等・本間健平・飯塚敏彦・中島敏夫, シロモンヤガの核多角体病ウイルスおよび顆粒病ウイルスとその形態, 応動昆, 29, 102 - 106, (1985)
- 5) Harvey, J. and Y. Tanada, Characterization of the DNAs of five baculoviruses pathogenic for the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*, J. Invertebr. Pathol., 46, 174 - 179 (1985)
- 6) Hartfield, P.R. and P.F. Entwistle, Biological and biochemical comparison of nuclear polyhedrosis virus isolates pathogenic for the oriental armyworm, *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae), J. Invertebr. Pathol., 52, 168 - 176 (1988)
- 7) Iizuka, T., S. Aoki and C. Goto, Identification of two nuclear polyhed -

- rosis virus from the spotted cutworm, *Xestia c-nigrum* (Lepidoptera, Noctuidae), J. Fac. Agr. Hokkaido Univ., 63, 104 - 113 (1986)
- 8) 河原畑 勇, 昆虫核多角体病ウイルス, ウイルス, 34, 73 - 78 (1984)
- 9) 河原畑 勇, 岡田斉夫, ヨトウガ核多角体病ウイルス精製法の再検討, 九病虫研会報, 24, 118 - 120 (1978)
- 10) 河原畑 勇, 植松秀男, エゾギクキンウワバの核多角体病ウイルス, 九病虫研会報, 20, 44 - 46 (1974)
- 11) Maeda, S. and K. Majima, Molecular cloning and physical mapping of the genome of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus, J. General Virology, 71, 1851 - 1855 (1990)
- 12) Maeda, S., Y. Mukohara and A. Kondo, Characteristically distinct isolates of the nuclear polyhedrosis virus from *Spodoptera litura*, J. General Virology, 71, 2631 - 2639 (1990)
- 13) 松井武彦, NPV 6 種のタバコガ幼虫に対する病原性, 関東東山病害虫研報, 36, 145 - 146 (1989)
- 14) 岡田斉夫, 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 (1977)
- 15) Schleif, R. F. and P. C. Wensink, 分子生物学実験マニュアル, 260 p., 講談社 (1986)
- 16) Smith, G. E. and M. D. Summers, DNA homology among subgroup A, B, and C baculoviruses, Virology, 123, 393 - 406 (1982)
- 17) Smith, I. R. L. and N. E. Crook, In Vivo isolation of baculovirus genotypes, Virology, 166, 240 - 244 (1988)
- (後藤 千枝)
- (5) 昆虫バキュロウイルスの感染促進作用
- ア. 研究目的
- これまでに, 各種の害虫から病原ウイルスが分離されているが実用化されたものは少ない。ウイルスの感染から死亡まで日数がかかること, 幼虫の感受性が成長につれ低下し防除効果が安定しないことが昆虫病原ウイルス利用による防除が普及しない要因となっている。
- これらの問題解決のため, 昆虫病原ウイルス, 特に核多角体病ウイルス (NPV) の害虫に対する感染力を高める作用を持つ物質 (感染促進物質) の探索を行うとともに, その利用による殺虫効果の増進を図る。
- イ. 研究方法
- (7) 感染促進質の探索と効果の判定
- 文献^{4), 5), 6), 7), 8)}等から感染促進物質として効果の期待される顆粒病ウイルス (GV) 2 種, 薬品 4 剤を選定し, アワヨトウ NPV にそれぞれを添加してオーチャードグラス葉に塗りアワヨトウ幼虫に摂食させて, NPV の病原性の変化を調査した。
- Pseudaletia unipuncta* GV 及びシロモンヤガ GV はアワヨトウ幼虫で増殖した。病死虫体をガラスモジナイザーで磨砕し, 磨砕液をガーゼと脱脂綿で濾過した後, 遠心洗浄により精製した。500 g で 5 分遠心後上澄を 10,000 g で 30 分遠心し, 沈澱を蒸留水に懸濁した。3 回遠心洗浄を行った後, 再度懸濁し 1,000 g で 10 分遠心した上澄を 10,000 g で 30 分遠心し顆粒体の沈澱を得た。なお, 夾雑物の多い場合は, 45~60% (W/W) しょ糖密度勾配遠心法を併用した。
- (4) シロモンヤガ GV の NPV 感染促進作用
- これまでに NPV 感染促進作用が明らかになった GV は, 世界で 3 種類しかない^{1), 2), 6)}。そのうち日本産ウイルスはシロモンヤガ GV のみである。そこで, シロモンヤガ GV に対象を絞って, NPV 感染促進作用の特性について調べた。
- a GV 顆粒体の調整
- 顆粒体はシロモンヤガ幼虫で増殖し, 前述の通り遠心洗浄を繰り返し精製したものをを用いた。精製した顆粒体を以下の通り調整し, 所定の濃度になるようにそれぞれの NPV 多角体懸濁液と混合した。①滅菌水で懸濁。②滅菌水で懸濁後加温処理。③アルカリ処理 (0.02M NaOH で 30 分 ~ 1 時間溶解) 後ウイルス粒子を超遠心で除去し上澄をトリス塩酸バッファー (pH 7.5) で中和。
- b 接種方法
- NPV 多角体懸濁液に GV 顆粒体懸濁液あるいは

各薬品の水溶液を混合し、食草に塗抹あるいは人工飼料に混入して、若齢～中齢幼虫では集団で、老齢幼虫では個別で24～48時間摂食させた。供試虫は人工飼料を与え試験管で個別に飼育し、毎日死亡状況を観察した。死亡個体は、必要に応じて光学顕微鏡で観察した。

(ウ) 顆粒体の構成タンパク質の分析

Pseudaletia unipuncta GVについては、NPV感染促進物質が顆粒体中に存在することが明らかにされ、感染促進物質の分離精製が行われているほか、分子量等についても報告がある^{6), 8), 9)}。そこで、*Pseudaletia unipuncta* GVとシロモンヤガGVの顆粒体構成タンパク質の比較を行うことにした。

シロモンヤガGVはシロモンヤガ幼虫で、*Pseudaletia unipuncta* GVはアワヨトウ幼虫で増殖したものを用いた。精製した顆粒体あるいはそのアルカリ溶解上澄(0.02M NaOHで30分～1時間顆粒体を溶解後ウイルス粒子を超速心で除去した上澄を、トリス塩酸バッファーで中和したもの)のSDS-アクリルアミドゲル電気泳動を行い、クマジーブリリアントブルーで染色して構成タンパク質の比較を行った。

ウ. 研究結果

(ア) 感染促進物質の探索

アワヨトウNPVのアワヨトウ幼虫に対する感染性は、ほう酸、シロモンヤガGV、*Pseudaletia unipuncta* GVの添加により高まったが、hylamine, dodecylamine 及びキチナーゼを添加した場合は感染性の変化は見られなかった。ほう酸を添加した場合、NPVの病原性(LD₅₀値比較)は、2齢幼虫では0.5%添加で18倍、1.0%添加で73倍に、5齢幼虫では0.5%添加で639倍に上昇した(表1-31)。*Pseudaletia unipuncta* GVを添加した場合、2齢幼虫では感染性の変化は見られなかったが5齢幼虫ではNPVの感染性は最大で453倍に上昇した(表1-32)。シロモンヤガGVを添加した場合、2齢幼虫では感染性の変化ははっきりしなかったが、5齢幼虫ではGV濃度が高まるにつれGV感染率が高くなる傾向が見られ、感染力はID₅₀比で最大で69倍となった(表1-32)。

(イ) シロモンヤガGVのNPV感染促進作用

a NPV感染促進効果とGV感染による干渉
シロモンヤガGVとシロモンヤガNPV四角型株の混合接種による、シロモンヤガ5齢幼虫のNPV

表1-31 ホウ酸の添加によるNPV*のアワヨトウ幼虫に対する病原性(LD₅₀)の変化

幼虫齢	ホウ酸濃度(%)					
	0	0.063	0.125	0.250	0.500	1.000
2 齢	1.6×10^5		5.9×10^4	9.0×10^4	9.0×10^3	2.2×10^3
5 齢	2.3×10^7	2.6×10^7	2.6×10^7	2.2×10^7	3.6×10^4	

*アワヨトウNPV

感染率の変化を表1-33に示す。シロモンヤガGVの添加によりNPV感染率は明らかに高くなったが、ID₅₀の差は最大で240倍程度であった。GVの量を0.5μg/個体から5.0μg/個体に増加するとNPV感染の上昇はやや抑えられる結果となった。なお、シロモンヤガGVの添加によりシロモンヤガNPV三角型株の感染も同様に促進された。

アワヨトウ5齢幼虫におけるシロモンヤガGVとヨトウガNPV東京株の混合接種の結果を表1-34に示す。NPV単独接種では20%以下の感染率であった 1.6×10^5 多角体数/個体の場合、シロモンヤ

ガGVを10μg/個体添加すると感染率は著しく上昇し95%以上となった。GVを10μg/個体添加した場合のNPVのID₅₀は、NPV単独接種に比べ3桁以上低い $10^2 \sim 10^3$ 多角体数/個体と推定された。つぎに、シロモンヤガNPV三角型株を用いシロモンヤガGVを0～40μg/個体の範囲で添加したところ、NPV感染率はGV量の増加にともなって上昇し、NPV単独接種では4.2%であったNPV感染率は、GV接種量が20μg/個体の場合82.6%となった。しかし、GV接種量が30μg/個体以上になるとGVのみに感染する個体が増加し、NPV

表1-32 GV添加によるNPVのアワヨトウ幼虫に対する病原性の変化

GV 濃度	2 齢 幼 虫		5 齢 幼 虫	
	GV+PsNPV接種 におけるLD ₅₀ 値	GV単独接種 における死亡率	GV+PsNPV接種 におけるLD ₅₀ 値	GV単独接種 における死亡率
0	1.3×10^5	0.0 %	1.1×10^7	0.0
10^{-4}	4.1×10^5	3.3	4.6×10^6	3.3
XcGV 10^{-8}	$10^5 \sim 10^6$ 1)	20.0	1.6×10^5	50.0
10^{-2}	1.8×10^6	40.0	*** 2)	100.0
10^{-1}	*** 2)	90.0	*** 2)	100.0
0	1.2×10^5	0.0 %	7.3×10^6	0.0
10^{-4}	$10^4 \sim 10^5$ 1)	3.3	3.9×10^6	6.7
PuGV 10^{-8}	1.0×10^5	0.0	1.3×10^6	6.7
10^{-2}	$10^4 \sim 10^5$ 1)	10.0	4.7×10^4	3.3
10^{-1}	$10^4 \sim 10^5$ 1)	0.0	8.6×10^8	13.3

NPV：アワヨトウNPV，XcGV：シロモンヤガGV，PuGV：*Pseudaletia unipuncta* GV

GV濃度は，1病死虫/ml，GV+NPV接種のLD₅₀値は，多角体/mlで示した。

1) LD₅₀ 値を求めるための十分なプロビットが得られなかった

2) XcGVによる死亡率が高かったために，NPVのLD₅₀値を求めることができなかった。

表1-33 GV添加によるシロモンヤガNPV四角型株のシロモンヤガ5齢幼虫に対する病原性の変化

NPV(PIBs/個体)	N P V 死 亡 率 (%)					ID ₅₀ (PIBs/個体)
	2.2×10^2	2.2×10^3	2.2×10^4	2.2×10^5	2.2×10^6	
GV	0.0	0.0	6.7	33.3	80.0	4.6×10^5
(μ g/個体)	0.5	20.0	66.7	66.7	93.3	1.9×10^3
	5.0	13.3	46.7	60.6	60.6	1.5×10^4
	0.0		18.2	9.1	45.5	3.5×10^5
	5.0	9.1	27.3	54.6	63.6	3.0×10^4

感染率はGV接種量が20 μ g/個体の場合に比べ低下した(図1-13)。

ヨトウガ5齢幼虫でもシロモンヤガ，アワヨトウと同様にシロモンヤガGVの添加によりNPV感染率が100倍程度に上昇することが確認された。しかし，ヨトウガ3齢幼虫ではGVを添加してもNPV感染率の上昇は見られなかった。

b GV添加効果の熱安定性

PuGVのNPV感染促進物質は，熱に対する安定

性が強い⁶⁾ことが明らかにされている。比較のため，シロモンヤガGVの顆粒体を加熱処理しNPV促進効果に対する影響を調べてみた。アワヨトウ5齢幼虫でシロモンヤガNPV三角型株を用いて感染率を調べたところ74~75℃10分間処理したシロモンヤガGVでは，NPV感染率は無処理のGVを加えた時と同様に上昇したが，77℃10分間処理したGVでは，感染率の上昇は小さかった。したがって，NPV感染促進物質は，75℃までは安定だがそれ以上の熱処

表1-34 シロモンヤガGV添加によるヨトウガNPV東京株の感染率の変化
(アワヨトウ5齢幼虫)

NPV接種量 (多角体数/個体)	GV接種量 ($\mu\text{g}/\text{個体}$)			
	0	10	0	10
1.6×10^4	12.5	95.8	4.4	75.0
$\times 10^5$	16.7	95.7	12.5	95.7
$\times 10^6$	25.0	100.0	55.0	100.0
$\times 10^7$	65.2	100.0	79.2	100.0
ID_{50}	7.7×10^6		1.7×10^6	

供試個体数は、各処理とも21~24個体。

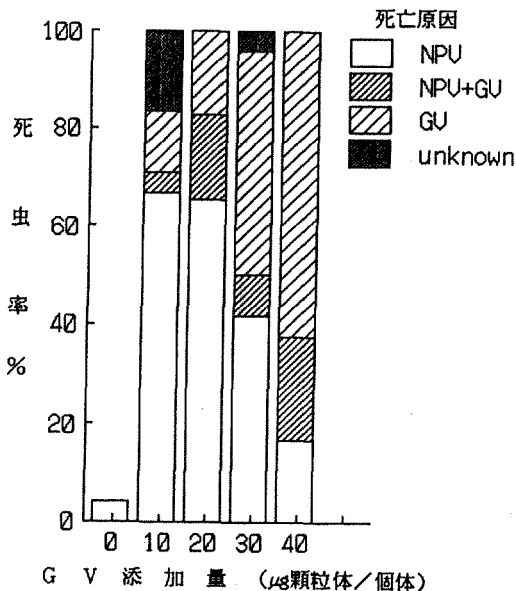


図1-13 シロモンヤガGV添加によるシロモンヤガNPV三角型株の感染性の変化
(アワヨトウ5齢幼虫)
NPV接種量は、 1.9×10^5 多角体数/個体。

理では活性が低下するものと思われた。

c アルカリ上澄の感染促進効果

Pseudaletia unipuncta GVのNPV感染促進物質は、顆粒体に存在しアルカリ可溶性であることが確認されている^{6), 8), 9)}。そこでシロモンヤガG

Vについても、顆粒体のアルカリ上澄の添加によるNPVの感染率の変化を調べた。アワヨトウ、ヨトウガの5齢幼虫における、GVアルカリ上澄添加によるヨトウガNPV東京株の感染率の変化を表1-35に示す。NPV接種量が 1.0×10^4 多角体数/個体の場合、NPV単独接種では、アワヨトウで4.2%、ヨトウガで15.0%であった感染率はシロモンヤガGV封入体液の添加により上昇し、それぞれ87.5%と70.0%になった。

GVアルカリ上澄を添加したときのタバコガ幼虫に対するヨトウガNPV東京株の感染性の変化を図1-14に示す。2齢、3齢、4齢のいずれの齢期においてもNPV感染率はGV添加によって上昇した。GV量が $4 \mu\text{g}/\text{g}$ 飼料と少ない場合でも感染率は明らかに上昇したが、GV量が多いほど感染率が高くなる傾向が見られた。

(ウ) 顆粒体の構成タンパク質の分析

Pseudaletia unipuncta GVならびにシロモンヤガGVの顆粒体のSDS-アクリルアミドゲル電気泳動の結果を図1-15に示す。顆粒体をアルカリ溶解せずに電気泳動した場合は、*Pseudaletia unipuncta* GV、シロモンヤガGVともに約30 kDaのタンパク質(封入体タンパク質)が主な構成成分として検出されたが、アルカリ溶解後の電気泳動では、封入体タンパク質以外のバンドも多数観察された。*Pseudaletia unipuncta* GVでは、NPV感染に対する共働因子(SF)として報告されている⁹⁾ 約100 kDaのバンドが検出されたが、シロモンヤガG

表1-35 シロモンヤガGV封入体アルカリ可溶性分画添加によるNPV感染率(%)の変化

NPV接種量	アヲヨトウ 5 齡		ヨトウガ 5 齡	
	NPV+対照液	NPV+GV封入体液	NPV+対照液	NPV+GV封入体液
1.0×10^4	4.2	87.5	15.0	70.0
1.0×10^5	16.7	95.8		
1.0×10^6	37.5	95.8	89.5	100.0

NPV: ヨトウガNPV東京株

- 1) NPV接種量は、多角体数/個体、GV封入体液は、顆粒体 $8.7 \mu\text{g}$ /個体相当を 0.02M NaOHで溶解後、HClで中和し、 25mM Tris-Naacetate (pH 8.2)となるよう調整した。
- 2) 対照液には、 25mM Tris-Naacetate (pH 8.2)を用いた。
- 3) 各処理24個体供試。

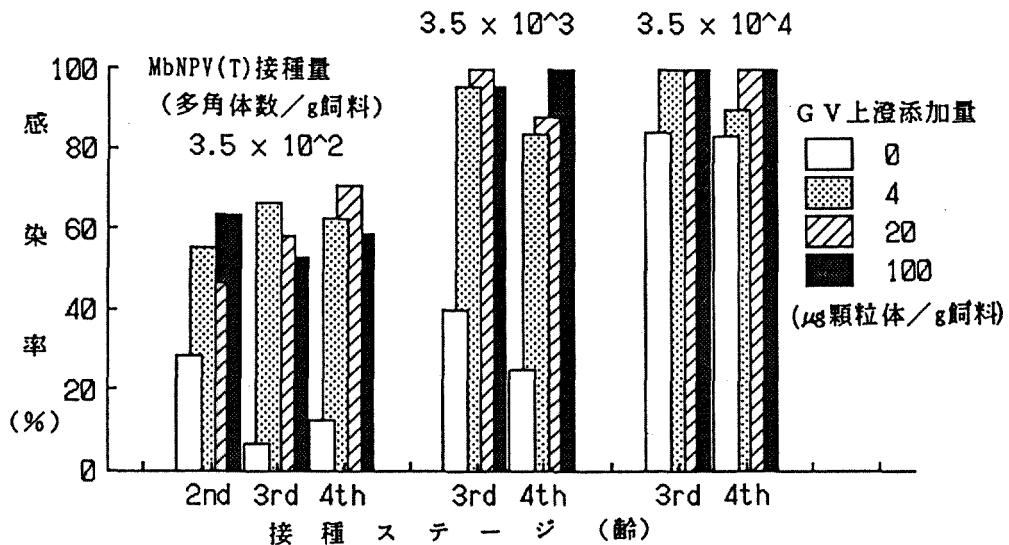


図1-14 シロモンヤガGVアルカリ上澄添加によるヨトウガNPV東京株のタバコガ幼虫に対する感染性の変化

Vでもほぼ同じ分子量のタンパク質が存在することが確認された。*Pseudaletia unipuncta* GV, シロモンヤガGVともに、2% SDS中で20分間室温処理してもこれらのタンパク質の電気泳動像には変化はなかった。

エ. 考 察

これまでに、各種の害虫から多数の病原ウイルスが分離されてはいるが、実験段階を経て実用化された例は、マツケミン, Elcar® 等少数であり、これらの製剤も現在ほとんど使用されていない。ウ

イルスの大量増殖には宿主昆虫を用いなければならぬためコストが高く、感染から死亡まで日数がかかり、また、幼虫の感受性が成長につれ低下するため防除効果が安定しないことなどがウイルス防除の普及を妨げる要因となっている。

これらの問題解決のため、ウイルスの感染性の向上と致死日数の短縮を目的に様々な研究が行われてきた。タバコガの近縁種*Heliothis armigera* 幼虫を用いた実験で大豆レシチンの添加により*Heliothis zea* NPV (Elcar®) の感染率が上昇し致死日数

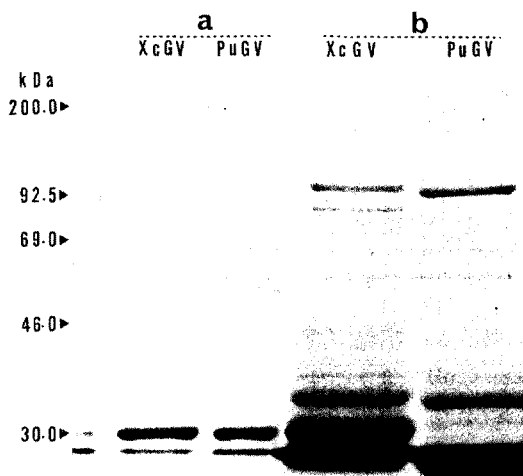


図1-15 *Pseudaleitia unipuncta* GVとシロモンヤガGVのSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動による比較
a : 無処理顆粒体 ; b : 0.02M NaOHで溶解した顆粒体。Pu : *Pseudaleitia unipuncta* ; Xc : シロモンヤガ。

が短縮したことが報告されている⁷⁾。また、薬品としては、マイマイガを用いた実験でほう酸がNPV感染促進効果を示すことが報告されている⁴⁾。本課題においても、アワヨトウ幼虫でほう酸の添加によるNPV感染率の上昇が確認された。ほう酸は、安価であり実験に用いた1%程度の濃度では、薬害等の危険はないものと思われることから、その利用価値は高いと考えられる。感染上昇効果は、5齢幼虫で600倍に達したが、2齢幼虫ではほう酸濃度1%で最大70倍と低く(表1-31)、若齢期の効果を高める必要がある。

アワヨトウの近縁種である*Pseudaleitia unipuncta* 幼虫で、GVとNPVの混合接種によってNPVの感染が促進されることが1956年に報告された⁵⁾が、その後これ以外のウイルスでは感染促進効果は確認されないまま30年が経過した。1985年に*Trichoplusia ni* GVが同様の作用を示すことが報告され¹⁾、ついで日本産のウイルスであるシロモンヤガGVがNPV感染促進作用があることが確認された²⁾。*Pseudaleitia unipuncta* GVは、アワヨト

ウ幼虫では最大で1万倍ものNPV感染促進効果を示すが、ハスモンヨトウ、カイコではその効果はほとんどないことが報告されている³⁾。一方、シロモンヤガGVのNPV感染促進作用はシロモンヤガ幼虫の他ヨトウガ、アワヨトウ、タバコガで確認されており、また、シロモンヤガNPV四角型株と三角型株の2種NPVのほかにアワヨトウNPV、ヨトウガNPV東京株も感染促進されることが明らかになった。このように、シロモンヤガGVは少なくとも4種の害虫で感染促進効果を示すことからその実用性は高いものと考えられる。しかし、顆粒体そのものをNPVに混合して接種すると、若〜中齢幼虫で促進効果が見られない場合があり、また、GVそのものの感染力が強いため顆粒体添加量を増加するとNPV感染が促進されずほとんどの個体がGVのみに感染する可能性もある。従って、安定したNPV感染促進効果を得るためには顆粒体と多角体の混合散布といった単純な方法では不十分であると思われる。タバコガ幼虫での試験結果から、顆粒体のアルカリ溶解上澄の添加により若齢・中齢幼虫でもNPV感染促進効果が確認されたことから、活性成分を分離精製しその特性を解析して、安定した効果を持つ添加剤を開発することは可能であると考えられた。

顆粒体の加熱処理、アルカリ溶解などによる感染促進効果の変化を調べたところ、シロモンヤガGVと*Pseudaleitia unipuncta* GVのNPV感染促進物質には、共通する性質があることが明らかになった。SDS-アクリルアミドゲル電気泳動像を調べた結果、シロモンヤガGVの顆粒体アルカリ溶解上澄には、*Pseudaleitia unipuncta* GVのNPV感染促進物質である約100kDaのタンパク質とほぼ同じ分子量を持つタンパク質が存在していたことから、このタンパク質がシロモンヤガGVの感染促進物質である可能性は大きい。SDS-アクリルアミドゲル電気泳動で検出されたシロモンヤガGVのタンパク質は、分子量が*Pseudaleitia unipuncta* GVに比べやや大きいことから*Pseudaleitia unipuncta* GVの感染促進物質とは異なる構造を持つ可能性もあるが、*Pseudaleitia unipuncta* GVの感染促進物質^{6), 8)}と同様に熱処理やSDS処理に対する安定性は比較的高いものと考えられた。双方のGVを比較検討するためにも、このタンパク質を分離精製し、NPV

感染促進効果を確認する必要がある。

オ. 今後の問題点

シロモンヤガGVのNPV感染促進効果を害虫防除に活用するためには、NPV感染増進物質を分離精製し、その作用機作を明らかにする必要がある。また、促進作用の対象害虫ならびにウイルスの種類を調査し、その活用範囲を明らかにする必要がある。

また、ほう酸等薬品の利用については、幼虫のステージや添加量と効果の関係等について詳細に検討し、実用化を図る必要がある。

カ. 要 約

ほう酸, *Pseudaletia unipuncta* GV, シロモンヤガGVそれぞれを添加することにより、ヨトウムシ類に対するNPVの感染が促進されることが明らかになった。シロモンヤガGVのNPV感染促進作用物質は、顆粒体のアルカリ可溶部分に存在し、シロモンヤガ、ヨトウガ、タバコガ、アワヨトウに対する各種NPVの感染性を高める作用を持つことが確認された。

キ. 引用文献

- 1) Derksen, A. C. G. and R. R. Granados, Alteration of a lepidopteran peritrophic membrane by baculoviruses and enhancement of viral infectivity, *Virology*, 167, 242 - 250 (1988)
- 2) Goto, C., Enhancement of a nuclear polyhedrosis virus infection by a granulosis virus isolated from the spotted cutworm, *Xestia c-nigrum* L. (Lepidoptera: Noctuidae), *Appl. Ent. Zool.*, 25, 135 - 137 (1990)
- 3) Hukuhara, T., K. Tamura, Y. Zhu, H. Abe and Y. Tanada, Synergistic factor shows specificity in enhancing nuclear polyhedrosis virus infections, *Appl. Ent. Zool.*, 22, 235 - 236 (1987)
- 4) Shapiro, M. and R. A. Bell, Enhanced effectiveness of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Noctuidae) nucleopolyhedrosis virus formulated with bolic acid, *Ann. Ent. Soc. Am.*, 75, 346 - 349 (1982)
- 5) Tanada, Y., Some factors affecting the armyworm to virus infection, *J. Econ. Ent.*, 49, 52 - 57 (1956)
- 6) Tanada, Y., A synopsis of studies on the synergistic property of an insect baculovirus, A tribute to Edward A. Steinhaus, *J. Invertebr. Pathol.*, (1985)
- 7) Tuan, S. and R. F. Hou, Enhancement of nuclear polyhedrosis virus infection by lecithin in the corn earworm, *Heliothis armigera*, *J. Invertebr. Pathol.*, 52, 180 - 182 (1988)
- 8) 山本敬司・棚田義式, Synergistic Factor: 昆虫ウイルスにおける感染促進物質, 蛋白質 核酸 酵素, 25, 133 - 142 (1980)
- 9) Zhu, Y., T. Hukuhara and K. Tamura, Location of a synergistic factor in the capsule of a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*, *J. Invertebr. Pathol.*, 54, 49 - 56 (1989)

(後藤 千枝)

(6) クサカゲロウの増殖・生存・捕食能力の向上 ア. 研究目的

アブラムシ等の捕食性天敵クサカゲロウ類の有力種を選定し、有力系統の育成を図る。このため、クサカゲロウ類各種について、まず累代飼育法を確立し、ついで累代飼育集団について特性評価、有力種選定、有用系統育成を行なう。

イ. 研究方法

以下の5種のクサカゲロウについて検討した。

- ① *Chrysoperla carnea* ヒメクサカゲロウ
② *Chrysopa septempunctata* ヨツボシクサカゲロウ
③ *C. formosa* クモンクサカゲロウ
④ *Mallada formosana* タイワンクサカゲロウ
⑤ *M. alcestes*

これらのうち①～④は茨城県つくば市産、⑤は沖縄県那覇市産である。

(7) 成虫の飼育・採卵法の確立

蛋白加水分解物(アンバーBYF 100[®])と蜂蜜の2:3混合物と水、または、それらとチューリップヒゲナガアブラムシを増殖させたバレイショ芽出しを与えてクサカゲロウ羽化成虫を飼育・採卵した。飼育は25℃, 16L 8Dで、直径150 mmのポリスチロール容器(図1-16)に雌雄10個体程度を入れて行なった。バレイショ芽出しで増殖させたチューリップ

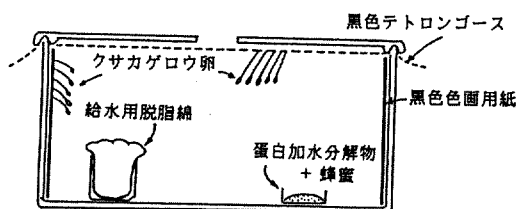


図1-16 クサカゲロウ幼虫の飼育・採卵容器（増殖用）
（150 mm ϕ , 90 mm H）

プヒゲナガアブラムシを与える場合は、25×30×28 cm（内寸）のウナカ飼育用アクリルケージを用いた。

(イ) 成虫の寿命、産卵前期間及び産卵数の評価法の開発

(ア) で用いたのと同型のポリスチロール小型容器（直径150 mm、高さ30 mm）に、約6カ月間累代飼育したヒメクサカゲロウ羽化成虫雌雄1対ずつを収容し、蛋白加水分解物と蜂蜜の2：3混合物と水を与えて25℃、16L 8Dで飼育し、産卵前期間及び産卵数を調べた。さらに、同じ累代飼育系統について、1年後（累代飼育開始後約1年6カ月経過）に、特性の変化を調べるために同様の調査を行なった。また、産卵前期間と産卵数の関係を求めるために、上記累代飼育集団の個体、及び1990年夏につくば市で採集した成虫から採卵し、幼虫を室内でヒラコクヌストモドキ卵で飼育して得た成虫について、同様の方法で対飼育して産卵数を調べた。何れの場合も雄が途中で死亡した場合は、新たな個体を補った。

さらに、成虫期にもアブラムシを捕食するヨツボシクサカゲロウの羽化成虫を羽化日ごとに耐水性インクで前翅にマークを施し、ウナカ飼育用アクリルケージ内で、蛋白加水分解物と蜂蜜の3：2混合物、水、及びチューリップヒゲナガアブラムシを繁殖させたバレイシヨ芽出しを与えて25℃、16L 8Dで飼育し寿命を調べた。

(ウ) 性比が偏った系統の存在

ヒメクサカゲロウの累代飼育集団中から取り出した雌成虫や、野外で採集した雌成虫を対飼育すると、時折、子世代の性比が著しく雌に偏ることがあった。そこで、このような特性を持つ雌の子世代性比の偏りを検定するとともに、累代飼育集団から任意に取り出した雄を交配して子世代の性比を検討した。成虫、幼虫とも25℃、16L 8Dで飼育、幼虫にはヒラ

タコクヌストモドキ卵を与えた。

ウ. 研究結果

(ア) 成虫の飼育・採卵法の確立

ヒメクサカゲロウ、タイワンクサカゲロウ、及び *M. alcestes* の成虫は、図1-16の飼育容器で、蛋白加水分解物と蜂蜜3：2混合物と水を与えて良好に飼育でき、よく産卵した。産卵は容器上部の黒色テトロン（またはナイロン）ゴース、及び器壁の黒色画用紙に行なわれた。タイワンクサカゲロウは野外では複数の卵の卵柄をより合わせて房状の卵塊を形成することが知られているが⁸⁾、上記の飼育条件では1卵ずつ産下し、卵塊を形成しなかった。しかし、累代飼育に十分な量の卵が容易に得られた。

成虫期にもアブラムシを捕食するヨツボシクサカゲロウ及びクモンクサカゲロウの成虫は、蛋白加水分解物と蜂蜜の混合物と水を与えたところ、長期間生存したが産卵は起こらなかった。この2種に関しては、チューリップヒゲナガアブラムシを繁殖させたバレイシヨ芽出しを飼育容器内に置くことによって採卵が可能となった。

以上の成虫飼育・採卵法と別項で述べる代替餌による幼虫飼育法を組み合わせることで上記5種のクサカゲロウの累代飼育法が確立され、累代飼育集団を長期間維持することができた。

(イ) 成虫の寿命、産卵前期間及び産卵数の評価法の開発

小型のポリスチロール容器中で、蛋白加水分解物と蜂蜜の混合物及び水を与えて雌雄成虫を対飼育した場合、25℃、16L 8Dにおけるヒメクサカゲロウの産卵前期間は平均5～6日（レンジ：4日～8日）、総産卵数は平均505（同：80～968）、雌成虫の寿命は平均50日（同：21～77日）であった（表1-36）。これらの値のうち、総産卵数は個体による変動がやや大きかったが、産卵前期間は変動が小さく、小型ポリスチロール容器を用いた対飼育で成虫の生存と繁殖にかかわる特性を評価しうることが示された。

ヒメクサカゲロウ雌成虫の産卵前期間と産卵開始後10日間の産卵数の間には有意な負の相関が認められ（ $r = -0.412$, $P < 0.05$, 図1-17）、産卵前期間が短い個体産卵数が多い傾向が見出された。

ヨツボシクサカゲロウは25℃、16L 8Dでチューリップヒゲナガアブラムシ及び蛋白加水分解物と蜂蜜の混合物を摂食して、約50日間（最大値：雄41日、

表1-36 ヒメクサカゲロウ (Cc) 累代飼育集団の
産卵前期間と産卵数 (平均値±S.E.)^a

観察時期	1988年 11~12月	89年12月 ~ '90年1月
産卵前期間 (日)	6.33 ± 0.42 (6) ^b	5.12 ± 0.40 (8)
産卵開始後10日 前後の産卵数 (♀/日)	8.60 ± 0.71 (6)	13.71 ± 3.21 (7)
平均寿命 (日)	—	50.1 ± 7.7 (7)
総産卵数	—	505.1 ± 114.4 (7)

a: 25℃, 16L 8D: 餌: アンバーBYF-100と
蜂蜜の3:2混合物。

b: カッコ内の数字は観察数。

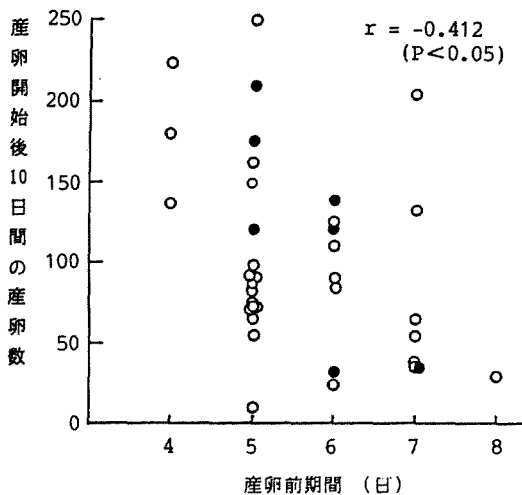


図1-17 ヒメクサカゲロウの産卵前期間と産卵数
(産卵開始後10日間の産卵数)。アンバー
BYF-100, 蜂蜜2:3混合物給餌, 対
飼育, 25℃, 16L 8D, ○野外で採集した
成虫から採卵, 1世代ヒラタコヌストモ
ドキ卵で飼育, ●1988年導入累代飼育系
統。

雌53日)生存した(図1-18)。

飼育開始後約1年6カ月を経たヒメクサカゲロウ
の累代飼育集団中の雌成虫について, 再度, 産卵前

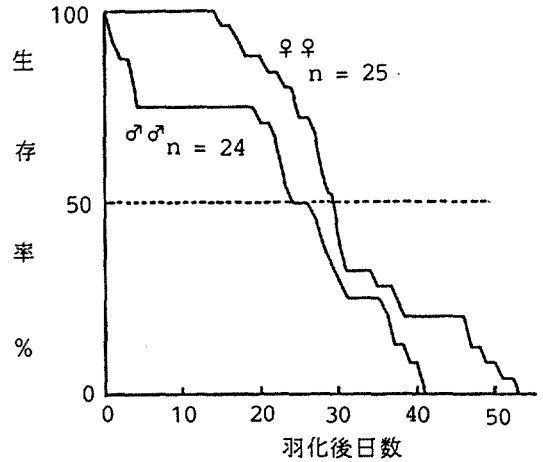


図1-18 ヨツボシクサカゲロウ (Cs) 成虫の生
存曲線 (25℃, 16L 8D)。

期間, 産卵数などを前期の方法で調査した。その結
果産卵前期間は1年前の値に比べて短縮し, 産卵開
始後10日間の産卵数は増加する傾向が認められた
(表1-36)。ただし, これらの差は有意ではなか
った。

ウ) 性比が偏った系統の存在

ヒメクサカゲロウの累代飼育集団から得た孵化幼
虫10個体をヒラタコヌストモドキ卵と与えて25℃,
16L 8D飼育したところ, 9個の繭が得られ, 羽化
した成虫8個体はすべて雌であった。このうち4個
体の雌を累代飼育集団中から任意に取った雄成虫と
対飼育して採卵し, 幼虫をヒラタコヌストモドキ
卵と与えて25℃, 16L 8Dで飼育, 64個体の成虫を
得た。この成虫の性比(雌百分率)は64.1%で, 雌
雄同数の場合に比べて有為な偏りが見出された(二
項検定, $P < 0.05$)。一方, 累代飼育集団から任意
に卵を取り幼虫を飼育して得た成虫61個体の雌百分
率は45.9%となり, これは性比1:1の仮定から有
意な偏りは認められなかった(二項検定, $P < 0.05$)。
さらに, この性比に偏りが認められる集団と対照集
団の性比は有意に異なっていた(2×2 分割表によ
る χ^2 検定, $\chi^2 = 4.165$, $P < 0.05$)(表1-37)。
以上からヒメクサカゲロウには性比が雌に偏る系統
が存在する可能性が高い。このような性比の偏りは,
野外で採集した雌成虫を対飼育して採卵・飼育した
場合にも時折見出された。なお, 他の4種のクサカ
ゲロウの累代飼育集団中には, このような性比の偏

表1-37 ヒメクサカゲロウ累代飼育集団に見出された性比が雌に偏る系統(SRD)の子世代の性比

	子世代個体数		♀%
	♂	♀	
SRD ^a	23	41	64.1
対 照 ^b	33	28	45.9

a: SRD ♀ × 対照 ♂

b: 累代飼育集団

りは観察されなかった。

エ. 考 察

(ア) 成虫の代替餌の開発と累代飼育法の確立

ヒメクサカゲロウ、タイワンクサカゲロウ及び *Mallada* sp. の成虫は、蛋白加水分解物と蜂蜜の2:1混合物と水を与えると長期間生存し、多数の卵を産下した。この餌は従来使用されてきた蛋白加水分解物と蔗糖の混合物など¹⁾に比べて、カビや腐敗による変質が起こり難く、餌の交換に手間が省けるなど成虫の飼育に適している。ただし高温多湿の飼育条件下ではカビが生じ易いほか、予め調合した餌を室温に長期間放置すると、産卵数が減少することがあり、冷蔵が必要である。この餌ではその後上記3種のほか、カオマダラクサカゲロウ *Mallada boninensis* の成虫の飼育・採卵も可能なことが確認されている⁴⁾。

成虫の飼育には図1-16の容器が簡便である。但し、この容器では壁面の黒色画用紙に産下された卵の取り出しは、成虫の逃亡を避けるために、5~10℃の低温室内で行う必要があった。

成虫もアブラムシを捕食するヨツボシクサカゲロウやクモンクサカゲロウの成虫は上記の餌で長期間生存しうるが、産卵にはアブラムシを与える必要があった。バレイショ芽出し上でチューリップヒゲナガアブラムシを繁殖させる方法は、鉢植えの植物²⁾などを用いるのに比べてアブラムシを室内で長期間容易に維持できて便利である。

これらの成虫の飼育・採卵法と別項で述べる幼虫飼育法を組み合わせることによって、今回試みた5種のクサカゲロウの全ての累代飼育が可能となった。

さらに、その後カオマダラクサカゲロウの累代飼

育にも同様の方法で成功しており⁴⁾、クサカゲロウ類のさらに多くの種の飼育に上記の方法を適用できるものと思われる。但し、クサカゲロウの中にも特定のアブラムシを特異的に捕食する種もあり⁸⁾、そのような種では全く別な代替餌や飼育法の開発が必要かも知れない。

(イ) 有力種の選定

クサカゲロウはアブラムシや鱗翅目害虫の捕食性天敵として利用されている。近年、ヨーロッパでは、施設栽培のアブラムシ類の防除にヒメクサカゲロウの利用が普及しつつあり、同種の増殖、販売もされている⁸⁾。またアメリカ、カナダでも同種を増殖、販売している企業が数社ある⁸⁾。一方、中国では「中華草蛉」の増殖配布が行なわれ、ワタの害虫などの防除に使われているという⁷⁾。国内では、大型で成虫もアブラムシを捕食するヨツボシクサカゲロウが注目され²⁾、⁶⁾、代替餌や人工飼料の研究⁶⁾や施設栽培における利用の可能性に関する研究²⁾がなされてきた。

本研究では、将来可能性の高いクサカゲロウの利用場面として、イチゴなども含めた施設栽培野菜における卵、幼虫の大量放飼を想定する。そのような利用場面では、大量増殖の容易さと捕食量が大きいたことが重要な条件となる。このうち大量増殖の容易さについては、入手し易い代替餌による効率的な大量増殖技術の開発が前提であり、増殖にかかわる形質、とくに、发育速度が早いこと、単位時間当りの産卵数が大きいこと、飼育条件下での幼期生存率が高いことに注目すべきである。以上の諸条件を考慮して、当面最も利用の可能性が高い種として、ヒメクサカゲロウを選んだ。

(ウ) 有用系統選抜の可能性

大量増殖、大量放飼を前提とするとき、安定的かつ効率的な生産に適した特性を備えた大量増殖系統の確立が必要となる。安定した効率的な昆虫の大量増殖が絶対的な前提条件となるウリミバエの不妊虫放飼法による根絶事業では、選抜による早産、多産系統の確立が計画的になされてきた⁵⁾。この場合、目標とされた産卵量を安定して確保しうる系統の確立には1年余の累代飼育と選抜が必要であった。

ヒメクサカゲロウについては、累代飼育法と、産卵前期間、寿命、産卵数の評価法が確立され、累代飼育を継続することによる早産化、多産化の可能性

が示唆された。累代飼育では、50日に及ぶ雌成虫の平均寿命の中で、ほぼ羽化後2週間から1カ月以内の若い時期に産下された卵を次世代としたが、意図的により強い選択圧を加えることによって目的になった大量増殖系統の確立が可能であろう。ウリミバエでも累代飼育をくり返している集団では意図的に選択圧を加えなくとも、早産・多産化が進行し易いことが知られている⁵⁾。一方、累代飼育を繰り返すことによって、生産される昆虫の「品質」が低下することも知られている⁵⁾。これは、累代飼育による近親交配の効果及び人工的な飼育条件下で適応価が高い形質をもった個体が非意図的に選抜されることによって、飼育条件に過度に適応した系統が確立されてしまうことによると考えられ、不妊虫放飼法では後者が不妊虫の野外における野生雄に対する性的競争力の低下をもたらしうることが問題にされている。ヒメクサカゲロウの累代飼育では近親交配を繰り返すことによって孵化率が低下し、4世代目で飼育集団が絶滅したこと、この孵化率低下は循環交配によってある程度軽減されることが示されている⁶⁾。当初導入すべき個体数、栄養的には十分でない代替餌による累代飼育の経代的な悪影響の有無や、行動的な特性の変化の有無なども含めて、大量増殖技術の確立のためには、さらに検討が必要である。ただし本研究の過程では雌成虫数匹〜30匹程度の比較的小さい個体から出発しても、1年程度は近親交配の致命的な影響は認められなかった。

ヒメクサカゲロウの累代飼育集団及び野外で採集した個体の一部に、子世代の性比が有意に雌に偏るものが見出された。性比の偏りがとくに著しい場合このような系統の維持は難しいが、この遺伝的な特性を解明できれば、効率的な大量増殖に有用な系統として利用できる可能性がある。

オ. 今後の問題点

早産・多産形質、性比が雌に偏る形質の遺伝学的解明、近親交配の影響の解明とその回避方法の確立によって系統の確立・維持の方策が明らかになる。

また、本研究では捕食能力の向上については、その遺伝的背景の有無について明らかにできなかったため進展しなかった。捕食能力の種内変異の安定した評価法を確立し、遺伝的背景を解明することが必要である。

なお、ヨーロッパ、アメリカ等で利用されている

ヒメクサカゲロウと日本産の同種を、別種とする見解が古くからあり、分類学的な再検討が必要であるとともに、両者の特性比較を行なうべきである。

カ. 要 約

クサカゲロウ5種について、特性を比較し、有用系統育成の前提となる累代飼育法を確立した。この方法は他のクサカゲロウ類にも広く適用できるものと思われた。ヒメクサカゲロウを有用種として選定し、産卵前期間を指標として、大量増殖に適し、増殖率が高い早産・多産系統を育成しうることを示した。また、性比が雌に偏る系統の存在が示唆された。

キ. 引用文献

- 1) Canard, M., Y. Sémeria and T. R. New, *Biology of Chrysopidae*. Dr. W. Junk, Publ., The Hague, x+294 pp. (1984)
- 2) 北海道農業試験場虫害第1研究室, アブラムシ(ヤサイ)に対するクサカゲロウの利用, 生物学的手法による病虫害新防除技術の開発に関する総合研究, 研究成果, 189, 農林水産技術会議事務局, 57-59 (1987)
- 3) Hussey, N. W. and N. Scopes (eds.), *Biological Pest Control, The Glass-house Experience*, Blandford press, Poole, 240 pp. (1985)
- 4) 窪田敬士・志賀正和, クサカゲロウ類6種の累代飼育と増殖法, 日本昆虫学会51回・応動昆35回合同大会講演要旨, (1991)
- 5) 仲盛広明, ウリミバエの大量増殖における性的競争力に関する行動学的・生態学的研究, 沖縄農試特別研究報告, 2, 1-64 (1988)
- 6) Nijima, K. and M. Matsuka, Artificial diets for mass production of chrysopids (Neuroptera), In: *The Use of Natural Enemies to Control Agricultural Pests*, FFTC Book Ser., 190-198 (1990)
- 7) 蒲 鰲竜(主編), 害虫生物防治の原理和方法, 科学出版社, 北京, 261 pp., 6 pls., (1978)
- 8) 塚口茂彦, クサカゲロウの生活と飼育, インセクタリウム, 14, 180-184 (1977)

(志賀 正和)

(7) スタイナーネマの耐寒性向上

ア. 研究目的

昆虫寄生性線虫 *Steinernema kushidai* は、コガネムシ類幼虫に対し既知種よりも強い殺虫力をもつため、コガネムシ類に対する新しい防除手段として期待されている。しかし本線虫は低温に弱いとされていることから、本線虫を寒冷地でも防除に使用できるように、耐寒性を向上させる。

イ. 研究方法

(ア) 低温下での生存率の向上

蒸留水 100 ml に懸濁した感染態幼虫 1～2 万頭を、角型プラスチック培養容器 (11.5×15×5 cm) に入れ、7 日間 2℃ の低温で処理し、その生存線虫をドウガネブイブイ幼虫に感染させて増殖することを繰り返した。こうして得られた線虫と、低温処理しない線虫とを、上記と同様の低温処理をして生存率を比較した。

(イ) 紫外線照射による耐寒性線虫の作出

感染態幼虫 4～5 万頭を 200 ml の蒸留水に懸濁させ、17×23cm のふたなしプラスチック容器内でクリーンベンチの殺菌灯で紫外線を照射した。生存線虫をドウガネブイブイの 3 齢幼虫に接種し、その死体から得られた感染態幼虫を蒸留水に懸濁させ、5℃ で選抜した。

(ウ) 感染下限温度域での感染率の向上

感染の下限温度域である 15～17℃ 下で、感染態幼虫 3000 頭を混入した土壌のプラスチック容器に、ドウガネブイブイ幼虫を 1 頭ずつ入れ、早期に死亡

した虫体を 25℃ に移して感染態幼虫を増殖させることを繰り返した。こうして得られた線虫と、無処理線虫とで、その温度域における殺虫力を比較した。

ウ. 研究結果

(ア) 低温下での生存率の向上

2℃ の低温処理が 1 回目、6 回目のもの (処理線虫) 及び、無処理線虫の 7 日後の生存率は、それぞれ 10.6 %, 10.8 %, 4.8 % であった (表 1-38)。また、生存している処理線虫は無処理線虫に比べて体長が長く、活動性が高い傾向にあった。

表 1-38 線虫を 2℃ で 1 週間処理したときの生存率比較

処 理	反復数	生存率 (%)
		平均±標準誤差
1 回目	5	10.6 ± 2.1
6 回目	5	10.8 ± 1.9
無処理	5	4.8 ± 1.6

(イ) 紫外線照射による耐寒性線虫の作出

蒸留水に懸濁した感染態幼虫に紫外線を 5 分間照射し、生存線虫をドウガネブイブイ幼虫に接種して、増殖させたが、低温下で生存できる突然変異系統は得られなかった。

(ウ) 感染下限温度域での感染率の向上

15～17℃ における接種試験が 1 回目のものと、4 回目のものとの、殺虫力の比較をした (表 1-39)。ドウガネブイブイ死亡までの最小日数は、いずれも

表 1-39 15-17℃ における線虫の殺虫力比較

処 理	供試虫数	死亡虫数	ドウガネブイブイが死亡するまでの日数		
			最小	最大	平均±標準誤差
1 回目	10	9	13	191	50.2 ± 20.2
4 回目	10	10	13	73	25.3 ± 5.7

表 1-40 15-17℃ における線虫の殺虫力比較

	供試虫数	10 日目までの	
		死亡数	生存数
5 回目	10	3	7
無処理	10	2	8

13 日であったが、最大日数は 191 日と 73 日であった。また、死亡までの平均日数は、それぞれ 50.2 日、25.3 日であった。さらに、4 回処理後の線虫を増殖し (5 回目)、それと無処理線虫とで、15～17℃ における殺虫力を比較した (表 1-40)。10 頭ずつ供試したうち、接種から 10 日目までのドウガネブイブイの死亡数は、処理線虫、無処理線虫それぞれ 3 頭と 2 頭であった。

エ. 考 察

耐寒性線虫は得られなかったが、低温処理後の生存線虫の状態がよかったことなどから、耐寒性系統選抜は期待できると考えられる。

オ. 今後の問題点

低温下で生存する性質と、低温でも殺虫力をもつ

性質とをあわせもつ系統を作出する。

カ. 要 約

低温下で生存できる系統、及び低温下で殺虫力をもつ系統の選抜が期待できた。紫外線照射処理による耐寒性突然変異系統の作出はできなかった。

(橋本 ほしみ)

第2章 新天敵生物利用による害虫防除技術の開発

1. 新ウイルス利用による畑作害虫の防除技術の開発

(1) 寒地性ヨトウムシ類の天敵ウイルスの病原性

ア. 研究目的

害虫に流行病を発生させる各種の天敵ウイルスは、特定の害虫に選択的に病原性を持つことから、圃場の生態系を攪乱することなしに害虫防除を可能にする。このような特性から、天敵ウイルスは総合的害虫管理体系へ組み込む技術素材として有望視されている。しかしその反面、複数種害虫の同時防除を目的とするような実際の使用にあたっては不便な性質も併せ持っている。そこで、寒地性ヨトウムシ類の同時防除に利用し得る生物素材を開発することを目的として、ヨトウムシ類に対して広い宿主域を示し、高い感染性を持つウイルスを検索した。また、これら天敵ウイルスの感染性を増強させる異種ウイルス間の相互作用を解明するための調査及び試験を行った。これを基礎として、圃場での実用化試験を実施してその効果を確認した。

イ. 研究方法

(ア) 広宿主域性ウイルスの検索

ネキリムシとして知られるシロモンヤガと、てん菜をはじめとする各種作物の重要害虫であるヨトウガ、及び新たに害虫としての勢力を拡大してきているガンマキンウワバの3種を寒地性ヨトウムシ類の代表として選定し、これらの害虫に対する天敵ウイルスの効果を確認した。収集した数種のバキュロウイルス¹⁾について、寒地性ヨトウムシ類の中～老齢幼虫に対する感染性を調査して、目的とするウイルスを選出した。試験は人工飼料によって飼育したヨトウムシ類の3齢幼虫を用い、脱皮当日の各齢期幼虫に部分精製したウイルス封入体を経口接種し、感染死亡率を調査した。接種は、各濃度のウイルス液2～6 μ lを人工飼料の薄片に滴下し、摂食させる方法で行った。接種飼料は24～48時間で食いつくす量とし、その後はウイルス無添加の人工飼料を与えて飼育・観察を行った。中央感染価 (ID_{50})はプロビット法(一部、REED & MUENCH法)によって算出した。

(イ) 寒地性ヨトウムシ類に対する天敵ウイルスの感染性の検定

上記の試験で選定した2種類のバキュロウイルスを用い、寒地性ヨトウムシ類に対する感染性の検定を行った。これ以降の試験では天敵ウイルスの実用化を念頭におき、ウイルスの供試方法を葉面散布法にした。すなわち、10倍希釈したウイルス封入体をつてん菜葉の両面が均一に濡れる程度に噴霧し、これを風乾した後に供試虫を同一齢期の間(2日または3日間)摂食させ、その後はウイルス無添加の人工飼料を与えて飼育し、発病経過を観察した。なお、幼虫に外部病徴の認められたものとこれによって死亡したものを合わせて発病とした。供試幼虫は害虫発生初期からの施用を考慮し、1、2齢幼虫とした。以下、特にことわらない限り1処理につき、20頭、3反復の試験を行った。中央感染価の算出はすべてプロビット法により、3反復の平均値を示した。また、試験を複数回行ったものについては各結果の平均値を示した。

(ロ) 異種ウイルス間の相互干渉・共力作用

アワヨトウ顆粒病ウイルスがアワヨトウ近似種(*Pseudaletia unipuncta*)核多角体病ウイルスの病原性を増進することが知られている²⁾ことから、同様の現象が供試ウイルス、ヨトウムシ類でもみられるかどうかについて試験を行った。試験はシロモンヤガとガンマキンウワバの2齢幼虫を用い、XcNPV(Tr)、XcGVともに単独接種では低い発病率を示すような濃度で実施した。すなわち、XcNPV(Tr)は 2.5×10^5 多角体/mlとし、これにXcGVを各々0.1 μ g/ml、0.5 μ g/ml、1.0 μ g/ml添加して接種した。また、これらの対照としてXcNPV(Tr) 2.5×10^5 多角体/ml単独接種、XcGV 0.1 μ g/ml、1.0 μ g/ml単独接種、無接種の各区を設定した。

(ハ) シロモンヤガ顆粒病ウイルスの新殺虫効果

上記(ア)、(イ)の試験の中で、シロモンヤガ顆粒病ウイルスの感染性とその評価を行う際に、本来、ヨトウガには感染性を持たないXcGVを、この種の孵化幼虫に摂食させると、本来の発病とは異なり、

数日以内に幼虫が死亡する事例が観察された。そこで、幼虫の取扱いを特に慎重に行い、幼虫取扱い中の事故を最小限度にするとともに、接種直後から2齢に脱皮するまでの4日間の観察を行った。また、この現象がXcGVに起因することを確認するため、同一希釈倍率のウイルス液を蒸気加圧殺菌（0.9 kg/cm², 20分）し、これらの殺菌液についても通常のXcGV希釈液と同様の試験を行った。

(4) 野外における天敵ウイルスの効果持続と圃場における実用化試験

供試ウイルスの圃場における実用化試験を実施するにあたり、これらのウイルスの野外での感染性の持続時間を知るための予備試験を実施した。はじめにシロモンヤガ核多角体病ウイルスとシロモンヤガ顆粒病ウイルスをポット植えしたてん菜葉に散布し、野外に放置して一定時間ごとに72時間まで散布葉を取り込み、ヨトウムシ類に対する発病率の推移を調査した。なお、調査期間中の降雨量は0mm、日照時間は合計13.3時間であった。ウイルス散布濃度はXcNPV(Tr)で 2.5×10^8 個/mL、XcGVで100 µg/mLとした。次に、圃場のてん菜葉に同様の散布を行い、2日ごとに10日まで散布葉を取り込んで発病率の推移を調査した。この期間内には散布当日に1mm、6日目2mm、7日目8mm、10日目31mmの降雨があった。日照時間は合計50.1時間であった。両

試験ともシロモンヤガ2齢幼虫を検定に使用した。

てん菜圃場における天敵ウイルスのヨトウムシ類に対する防除試験を行った。圃場でのヨトウムシ類の自然発生は少なく、ヨトウガ第2世代幼虫のみ自然発生個体群を試験に使用したが、それ以外は孵化幼虫を圃場に放飼し、定着後、試験を実施した。ウイルス散布濃度は自然発生個体群ではXcNPV(Tr)は 2.5×10^8 個/mL、XcGVは100 µg/mLとし、100 ℓ/10a相当を散布した。放飼個体群では散布濃度をこの1/10とした。1区2m²、3反復。

ウ. 研究結果

(ア) 広宿主域性ウイルスの検索

収集したバキュロウイルスのうち、シロモンヤガ、ヨトウガ、ガンマキンウワバの3種すべてに感染性を持つウイルスは、シロモンヤガ核多角体病(NPV)三角型株、ヨトウガNPV東京株、同・芸北株、アワヨトウNPV、ホシミミヨトウNPV、ショウブヨトウNPVであった。シロモンヤガ、ガンマキンウワバ、タンポキヨトウ、アワヨトウからそれぞれ分離された顆粒病ウイルス(GV)がシロモンヤガとガンマキンウワバの2種に感染性を持つことが判明したが、ヨトウガに感染性を持つGVは見出されなかった。

各種のバキュロウイルスの寒地性ヨトウムシ類に対する感染価を表2-1に示した。これらの中でシ

表2-1 寒地性ヨトウムシ類3種の中～老齢幼虫に対するバキュロウイルスの感染価(ID₅₀)*

供試幼虫	齢期	XcNPV (4角型株)	XcNPV (3角型株)	MbNPV (東京株)	MbNPV (芸北株)	XcGV
シロモンヤガ	3 齢	3.58×10^4	4.21×10^5			
	4 齢	3.82×10^4	2.86×10^5			
	5 齢	2.62×10^5	6.39×10^5	$6.13 \times 10^7 <$		3.36
ヨトウガ	3 齢	(—)		2.54×10^4		(—)
	4 齢	(—)	1.64×10^5	5.44×10^4	1.41×10^5	(—)
	5 齢	(—)	$1.44 \times 10^7 >$	1.16×10^6	5.98×10^5	(—)
ガンマキンウワバ	3 齢	2.17×10^6	2.32×10^4	1.91×10^4	1.87×10^4	0.07
	4 齢		4.20×10^4	0.92×10^5	4.17×10^4	0.14
	5 齢					100 <

* ID₅₀の単位はNPV:多角体数/個体, GV:µg/個体。n<, n>は予備試験からID₅₀の値がnより大きい, または小さいと判断された。(—)は感染が認められないことを示す。

ロモンヤガ核多角体病ウイルス三角型株 (XcNPV (Tr)) がヨトウムシ類 3 種に対してほぼ同等の高い感染性を持ち、同時防除の素材として有望視された。その他のバキュロウイルスは感染性が低いか、または無いことから、素材として不適当と考えられた。

以上の結果から、シロモンヤガ核多角体病ウイルス三角型株 (XcNPV (Tr)) をこれ以降の試験に使用することにした。また、ヨトウガには感染性を持たないが、シロモンヤガとガンマキンウワバに感染性を持つシロモンヤガ顆粒病ウイルス (XcGV) も同様に試験に供することとした。

(4) 寒地性ヨトウムシ類に対する天敵ウイルスの感染性の検定

広い宿主域を持ち、感染性が高いウイルスとして選定したシロモンヤガ核多角体病ウイルス三角型株 (XcNPV (Tr)) とシロモンヤガ顆粒病ウイルス (XcGV) の寒地性ヨトウムシ類 3 種に対する中央感染価を表 2-2 に示した。葉面散布法による検定で

表 2-2 寒地性ヨトウムシ類 3 種の若齢期におけるウイルスの感染価 (ID₅₀) *

供試虫	齢期	XcNPV(Tr)	XcGV
シロモンヤガ	1 齢	2.98×10^8	1.33
	2 齢	5.78×10^8	19.65
ヨトウガ	1 齢	1.79×10^8	(-)
	2 齢	1.57×10^8	(-)
ガンマキンウワバ	1 齢	1.71×10^8	1.75
	2 齢	9.52×10^8	0.78

* 単位: NPV は多角体数/μl, GV は μg/ml。

は、XcNPV(Tr) は原宿主のシロモンヤガよりもヨトウガとガンマキンウワバに対してより高い感染価を示した。この傾向は 1 齢幼虫、2 齢幼虫ともに同様であった。XcGV は原宿主のシロモンヤガとガンマキンウワバにはほぼ同等の感染価を示したが、ガンマキンウワバでは 2 齢幼虫でも高い感染価を示した。このウイルスはヨトウガには感染性がなかった。

核多角体病ウイルスは感染後、比較的短い日数で発病するが、顆粒病ウイルスでは感染から発病まで日数がかかり、実用的には問題があると思われる。そこで、ウイルス接種濃度によって発病までの経過

にどのような違いがあるか検討した。試験は室温 (20 ~ 25℃) で行い、対照無接種の幼虫が蛹化するまで観察したので、試験群によって観察日および発病経過に若干の差があった。各濃度で接種した XcNPV (Tr) の、各種 1 齢幼虫、2 齢幼虫に対する発病率の推移を図 2-1、図 2-2 に示した。XcNPV(Tr)

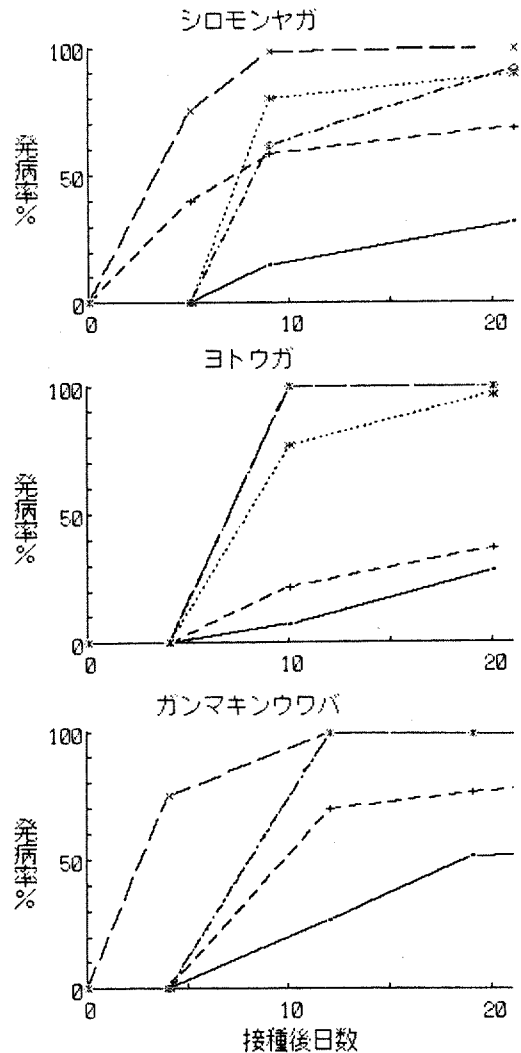


図 2-1 XcNPV(Tr) 各種濃度の接種によるヨトウムシ類 1 齢幼虫の発病経過

実線: 2.5×10^4 多角体/μl (以下、同単位),
破線: 2.5×10^5 , 点線: 2.5×10^6 ,
一点鎖線: 2.5×10^7 , 長破線: 2.5×10^8

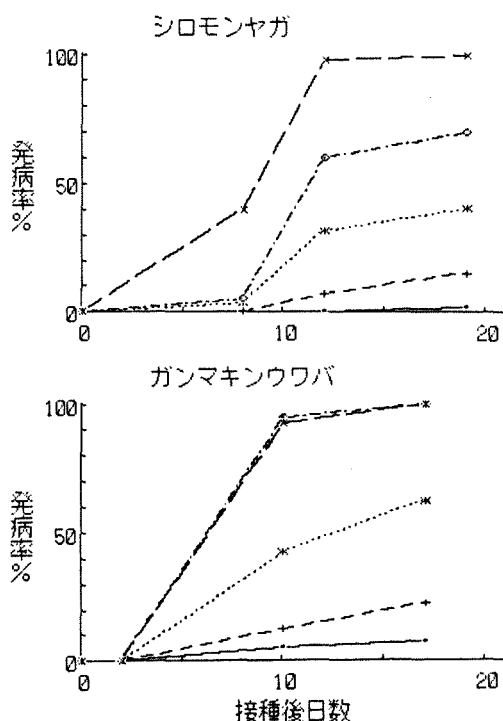


図 2-2 XcNPV(Tr)各種濃度の接種によるヨトウムシ類 2 齢幼虫の発病経過

実線: 2.5×10^4 多角体/ml (以下, 同単位),
破線: 2.5×10^5 , 点線: 2.5×10^6 ,
一点鎖線: 2.5×10^7 , 長破線: 2.5×10^8

では, いずれの場合も10日前後で発病し, 接種濃度が高いほど早く発病することが判明した。XcGVを接種した場合の発病経過を図 2-3, 図 2-4 に示した。XcGVでもXcNPV(Tr)の場合と同様に接種後10日程度で発病するが, その後も発病率は上昇する。また, 接種濃度が高いと早く発病するのもXcNPV(Tr)と同様であった。

(ウ) 異種ウイルス間の相互干渉・共力作用

シロモンヤガ核多角体病ウイルス三角型株

(XcNPV(Tr)とシロモンヤガ顆粒病ウイルス(XcGV)の混合接種試験の結果をシロモンヤガについて表 2-3 に, ガンマキンウワバについて表 2-4 に示した。シロモンヤガに対するXcNPV(Tr)とXcGV $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の混合接種ではXcNPV(Tr)の発病率は単独接種と同等であったが, XcGVの発病率は低下した。XcNPV(Tr)とXcGV $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$,

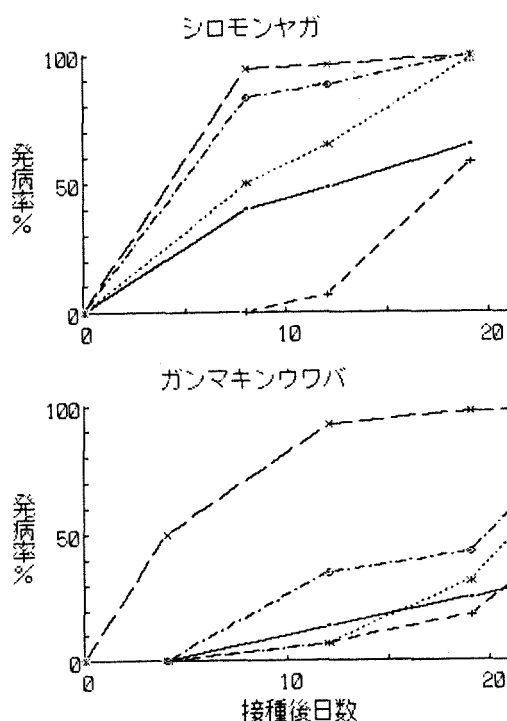


図 2-3 XcGV各種濃度の接種によるヨトウムシ類 1 齢幼虫の発病経過

実線: $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ (以下, 同単位),
破線: 0.1 , 点線: 1.0 , 一点鎖線: 10 ,
長破線: 100

$1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ の混合接種ではXcNPV(Tr)の発病は単独接種と同等であったがXcGVの発病が低下した。

ガンマキンウワバに対する混合接種ではXcGV $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の混合でXcNPV(Tr)の発病率が増進された。XcGV $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ あるいは $1.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ の混合接種ではXcGVの発病率がやや抑制されたが, XcNPV(Tr)の発病率は単独接種と同程度かやや増進された。

(エ) シロモンヤガ顆粒病ウイルスの新殺虫効果

試験に供したヨトウガ孵化幼虫は, 試験開始 4 日目には 2 齢に発育した。この時の死亡率を表 2-5 に示した。XcGVを接種された幼虫は必ずしも接種濃度に比例して死亡率が高まる訳ではなく, $0.01 \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の接種で $1/4$ 程度の死亡率を示し, $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ の高濃度では $3/4$ の幼虫が死亡した。これに対して, 蒸気加圧殺菌したウイルス液を用いると幼虫の死亡率は10%程度で, 無処理の場合と有意差

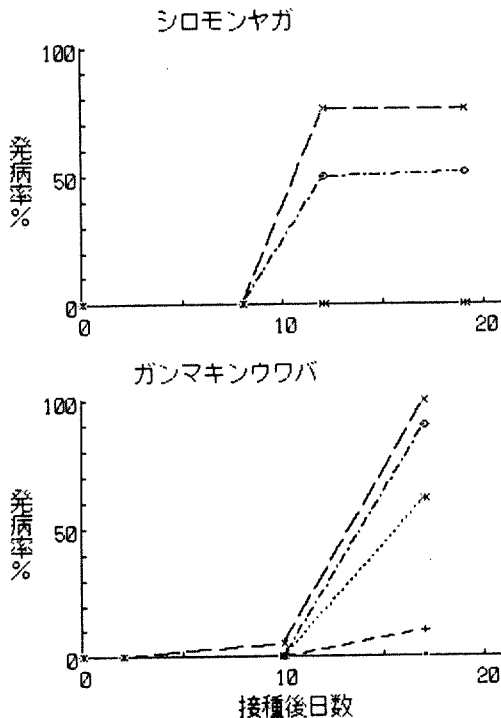


図 2-4 XcGV各種濃度の接種によるヨトウムシ類 2 齢幼虫の発病経過
 実線：0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (以下、同単位)，
 破線：0.1，点線：1.0，一点鎖線：10，
 長破線：100

は無かった。なお、2 齢まで发育した幼虫はその後にも健全に发育を継続し、XcGVの発病はみられなかった。このように、XcGVが本来の感染・発病経過とは異なる致死作用を持つことがみいだされた。

(4) 野外における天敵ウイルスの効果持続と圃場における実用化試験

天敵ウイルスを野外に散布した場合に、紫外線によってウイルスが不活化されたり、降雨によって葉の表面から流失して効果が低下することが考えられる。今回の予備試験からも、紫外線に曝されることによってXcGVの発病率が急速に低下することが示唆された(図 2-5)。XcNPV(Tr)の発病率は紫外線によってそれほど影響を受けないように思われたが(図 2-5)，降雨と日照の双方の影響がある場合にはその活性は急速に低下するものと思われる、この傾向はXcGVでも同様であった(図 2-6)。

圃場における天敵ウイルスのヨトウムシ類に対する防除効果の実証試験結果を表 2-6 に示した。ガンマキンウバは放飼密度が低かったのでこの結果から除いたが、シロモンヤガ、ヨトウガの第 1 世代、第 2 世代に相当する時期の試験で、これらのウイルスは有意な防除効果を示した。ただし、ヨトウガ第 1 世代のように幼虫の発生が高密度になると十分な防除効果が得られない場合があった。

表 2-3 シロモンヤガに対するXcNPVとXcGVの混合感染試験

	接種濃度*		発 病 率 (%)		
	XcNPV	XcGV	NPV発病	GV発病	合 計
試験区 1	2.5×10^5	0.1	18.5	4.9	23.5
試験区 2	2.5×10^5	0.5	28.7	37.8	66.5
試験区 3	2.5×10^5	1.0	19.1	33.1	52.2
NPV対照	2.5×10^5	0	18.9	0	18.9
GV対照 1	0	0.1	0	41.9	41.9
GV対照 2	0	1.0	0	50.0	50.0
無 接 種	0	0	0	0	0

*単位：NPVは多角体数/ ml ，GVは $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

表 2-4 ガンマキンウワバに対する XcNPV と XcGV の混合感染試験

	接種濃度 *		発 病 率 (%)		
	XcNPV	XcGV	NPV発病	GV発病	合 計
試験区 1	2.5×10^5	0.1	64.3	16.7	81.0
試験区 2	2.5×10^5	0.5	28.3	33.3	61.7
試験区 3	2.5×10^5	1.0	25.0	45.0	70.0
NPV対照	2.5×10^5	0	22.5	0	22.5
GV対照 1	0	0.1	0	10.0	10.0
GV対照 2	0	1.0	0	61.7	61.7
無 接 種	0	0	0	0	0

* 単位: NPV は多角体数/μl, GV は μg/ml

表 2-5 ヨトウガ 1 齢幼虫に対する XcGV の殺虫効果 *

GV濃度	0	0.01	0.1	1	10	100 μg/ml
1 日 目	0	0	0	0	0	0
4 日 目	1.7 a	20.0 b	26.7 b	13.3 a	26.7 b	78.3 b
蒸気加圧殺菌処理をしたウイルス液を使用						
1 日 目		0	0	0	0	0
4 日 目		8.3 a	11.7 a	6.7 a	8.3 a	1.7 a

* 各調査日の死亡率で示した。死亡率を $\text{Arcsin } \sqrt{P}$ 変換して分散分析し, LSD法で多重検定した。異なる文字間には 5%水準で有意差あり。

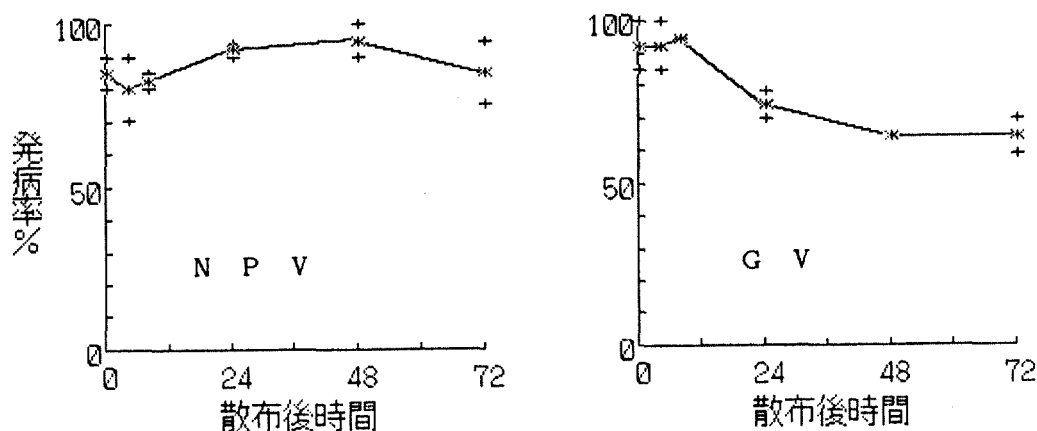


図 2-5 野外条件下における XcNPV(Tr) と XcGV の不活化の程度 (ポット植え)

エ. 考 察

病原ウイルスは一般に, 感染から死亡まで10日以上の日数がかかることから, 死亡率を指標とする評

価方法では速効性を特徴とする殺虫剤等の化学的防除法に劣る場合が多い。しかし, 天敵利用による防除は殺虫スペクトルが狭いことや自己増殖できるな

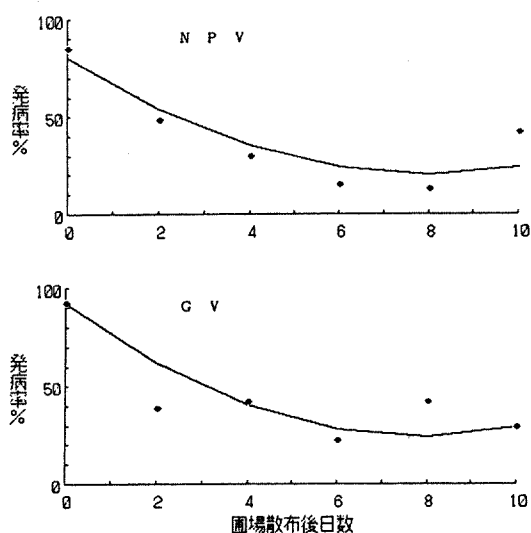


図 2-6 野外条件下における XcNPV(Tr) と XcGV の不活化の程度 (圃場)

ど、多くの長所を備えている。本試験では寒地性ヨトウムシの 1 種、シロモンヤガから分離されたシロモンヤガ核多角体病ウイルス三角型株 XcNPV(Tr) が高い感染性と広い宿主域を持ち、従来知られていた天敵ウイルスの中でも、特に有用なウイルスであることが判明した。また、防除効果の速効性という面では高濃度施用によって発病を早め、死亡率を高めることが可能と思われた。圃場における実用化試験では害虫が多発性している場合に、有意ではあるが不十分な防除効果を示すことが観察された。このような場合にも殺虫剤散布の場合と同様に、高濃度で複数回の施用が有効であろうと考えられた。

異種ウイルス間の干涉・共力作用では、若齢幼虫ではそれほど顕著な作用はみられなかった。混合するシロモンヤガ顆粒病ウイルス (XcGV) の添加濃度の適正範囲はかなり狭いものと思われた。

一連の試験の中で、シロモンヤガ顆粒病ウイルス

表 2-6 ウイルスの圃場散布による効果実証試験

対象害虫・世代	平均生存虫数 *		
	XcNPV(Tr) 散布	XcGV 散布	対照無散布
ヨトウガ・第 1 世代 **	6.0 a	9.4 a	13.6 b
・第 2 世代 ***	0.0 a	0.1 a	0.8 b
シロモンヤガ・第 1 世代 ****	0.0 a	0.4 a	1.6 b
・第 2 世代 *****	1.6 a	2.4 a	6.0 b

- * 1 株当たり虫数, 1 区 5 株 3 反復の平均値を示した。生存虫数を $\sqrt{(N+0.5)}$ 変換して分散分析し, LSD 法で多重検定した。異なる文字間には 5% 水準で有意差あり。
- ** 孵化幼虫放飼, 定着後ウイルス液散布 (7/7)。調査 (7/23)。
- *** 自然発生幼虫 (3~5 齢), 散布 (9/5)。調査 (9/19)。
- **** 孵化幼虫放飼, 定着後ウイルス液散布 (7/23)。調査 (8/8)。
- ***** 孵化幼虫放飼, 定着後ウイルス液散布 (9/7, 8)。調査 (9/26)。
- ウイルスは *** のみ XcNPV(Tr) (2.5×10^8 個/ml), XcGV ($100 \mu\text{g}$ /ml) を, その他はその 1/10 の濃度を, $100 \text{ g}/10 \text{ a}$ 相当散布した。

のヨトウガに対する特異な殺虫性がみいだされた。今後はこのような現象の発現機作の解明と利用法の開発が望まれる。

オ. 今後の問題点

本試験では天敵ウイルスの自己増殖についてはまったくふれなかったが、圃場での散布によって発病した個体は次の感染源になる。これを考慮すると、

今後、圃場での天敵ウイルスの有効な利用には、流行病学的な解析が必要となろう。

カ. 要 約

各種の寒地性ヨトウムシ類から天敵ウイルスの収集を行い、広い宿主域と高い感染性を持つウイルスの検出を行った。これらのウイルスの感染価を調査し、圃場における実用性を検討した。収集された天

敵ウイルスの中で、シロモンヤガ核多角体病ウイルス三角型株(XcNPV(Tr))が宿主域が広く、寒地性ヨトウムシ類幼虫に対して高い感染性を示した。これにシロモンヤガ顆粒病ウイルス(XcGV)を混合接種すると、XcNPV(Tr)の感染力が単独接種の場合の3倍程度に上昇し、XcGVには感染力を倍増させる作用があった。また、XcGVはヨトウガ幼虫に対して従来の感染とは異なる殺虫効果を持つことが判明した。圃場において、これらウイルスの実用性を調査したところ、ウイルスの散布によってヨトウムシ類の密度を低下させることができ、その効果は10日で半減することを確認した。

キ. 引用文献

- 1) 後藤千枝・筒井等・本間健平・飯塚敏彦・中島敏夫：シロモンヤガの核多角体病ウイルスおよび顆粒病ウイルスとその形態，応動昆，29，102-106(1985)
- 2) Tanada, Y., A synopsis of studies on the synergistic property of an insect baculovirus. A tribute to Edward A. Steinhaus. J. Invertebr. Pathol., (1985)

(斉藤 修)

(2) 暖地性ヨトウムシ類の天敵ウイルスの病原性

ア. 研究目的

各種畑作物はタバコガ、ハスモンヨトウ、シロイチモジヨトウ、アワヨトウ、ヨトウガなど多種類のヨトウムシ類によって大きな被害を受ける。これらの害虫からは多種類の天敵ウイルスが発見されているが、個々の宿主範囲、圃場における安定性、量産法など未解決の問題が多い。そこで、広宿主・強病原性ウイルスの検索、残効性強化法、量産法、複数種の同時防除などについて研究し、ウイルスの有効利用を図る。

イ. 研究方法

(ア) 各種ウイルスの宿主域調査とヨトウムシ類幼虫に対する強病原性ウイルスの検索

a. 核多角体病ウイルス(NPV)の病原性

各種NPVの封入体懸濁液を食草葉両面に塗抹あるいは人工飼料に混合してヨトウムシ類幼虫に48時間摂食させることにより経口接種した。ウイルス接種後、供試虫は人工飼料を入れたガラス試験管で個体飼育して、接種12日あるいは14日後まで感染死亡

状況を調査した。

b. 顆粒病ウイルス(GV)の若齢幼虫致死作用

シロモンヤガGVの顆粒体懸濁液を人工飼料に混入し、ハスモンヨトウ、ヨトウガ、アワヨトウのふ化幼虫ならびに2齢幼虫に摂食させ、通常のGV感染によって幼虫が死亡する時期以前(接種7日まで)における死亡状況を観察した。

(イ) 残効性強化法の検討

ハスモンヨトウNPVの多角体懸濁液に各種紫外線防御剤を添加し製剤化した。ポット栽培のダイズ葉に①走行式散布装置②ラジコンヘリ、を用いて上記製剤を散布し、太陽光線下に置いて感染性の低下を調べた。散布量は、 3×10^{12} 多角体/haとした。散布後ダイズ葉を経日的に採集してハスモンヨトウ2齢幼虫に2日間摂食させた後人工飼料で個別飼育し、ウイルス感染死亡率を調査し製剤間の残効性を比較した。

また、ハスモンヨトウNPV多角体を紫外線防御物質製のマイクロカプセルで製剤化したものを人工飼料に添加し、ハスモンヨトウに経口接種して病原性を調査した。

(ウ) 量産法の検討

各種ヨトウムシ類の人工飼料による大量飼育の難易性を比較するとともに、ウイルス生産性の検討を行った。ウイルス生産性は、ヨトウガ5齢幼虫に各種NPVを経口接種し、ウイルス接種量と6齢病死率の関係を調べるとともに病死虫1個体当たりの多角体生産量を血球計算盤を用いて算定した。

(エ) 複数種のヨトウムシ類同時防除試験

圃場で採培したタバコの上部を刈り取り三角フラスコの水にさして、所定濃度のウイルス製剤(ヨトウガNPV東京株、ホワイトカーボン・スキムミルク各1%添加)を散布し、太陽光線下で約1時間風乾した後、塩ビ製円筒容器内に納めた。この容器にヨトウガとタバコガの2齢幼虫を放飼して48あるいは72時間摂食させた後、人工飼料で個体飼育し、感染、死亡状況を調査した。また、同様の製剤をオーチャードグラス葉に塗布し、アワヨトウ2齢幼虫に摂餌接種し、感染死亡状況を調査した。

ウ. 研究結果

(ア) 各種ウイルスの宿主域調査とヨトウムシ類幼虫に対する強病原性ウイルスの検索

a. NPVの病原性

各種NPVのハスモンヨトウ、シロイチモジヨトウ、アワヨトウ、ヨトウガ、タバコガに対する病原性を表2-7に示した。供試したウイルスの中で、アワヨトウNPV、ヨトウガNPV、イネヨトウNPV、ハチミツガNPVは宿主域が比較的広く、上記5種すべてに病原性を示すことが明らかになった。

ハスモンヨトウでは、交差感染の場合感受性が著しく低く、他種昆虫から分離されたウイルスの病原性はハスモンヨトウNPVに比べLC₅₀が2桁高い値であった。なお、シロモンヤガNPV三角型株はハスモンヨトウに病原性を示したが、シロモンヤガNPV四角型株は病原性を示さなかった。

アワヨトウ2齢幼虫に対する病原性は、アワヨトウNPV各地分離株、イネヨトウNPV、ヨトウガNPV東京株がほぼ同等で、ハチミツガNPV、ヨトウガNPV芸北株がやや低い傾向にあった⁴⁾。

シロイチモジヨトウではシロイチモジヨトウNPVの病原性が最も高く、同ウイルスとのLC₅₀の差はヨトウガNPVが一桁であったが他のウイルスでは2桁以上となり、交差感染の場合感受性は低かった。

ヨトウガには、どのウイルスもほぼ同等の病原性を示したが、ヨトウガのウイルス感受性は他のヨトウムシ類に比べ低かった。

タバコガでは、近縁種からの分離ウイルスの病原性が高かった。*Heliothis armigera* NPVと*H. zea* NPVのLC₅₀は1~4齢幼虫では10⁵~10⁴多角体/ml、5齢幼虫では10⁶~10⁷多角体/mlの範囲であった³⁾。また、シロモンヤガNPV三角型株とヨトウガNPV(T)のタバコガ3齢幼虫に対するLC₅₀は、それぞれ2×10²多角体/g飼料と5×10³多角体/g飼料であった。タバコガは、ハスモンヨトウNPVとシロイチモジヨトウNPVには感染しないが、各種ウイルスに対する感受性は他のヨトウムシ類よりも高い傾向が見られた。

b. GVの若齢幼虫致死作用

ハスモンヨトウ、ヨトウガ、アワヨトウの若齢幼虫にシロモンヤガGV顆粒体を混合した人工飼料を与えると発育の停止や死亡率の上昇が観察された。ハスモンヨトウ、ヨトウガのふ化幼虫では、顆粒体の添加量を500μg/g飼料にした場合2日後の死亡率は90%以上であった。ヨトウガでは、顆粒体を100μg/g飼料に減らした場合でも死亡率は100%となったが、ハスモンヨトウでは顆粒体添加量の減少に従い死亡率は徐々に低下した(図2-7)。死亡個体は、接種開始時とほぼ同じ大きさであり、発育(あるいは摂食)が阻害されたものと考えられた。

表2-7 各種ウイルスのヨトウムシ類幼虫に対する病原性

供 試 ウイルス	感 染 価 (LC ₅₀)				
	ハスモンヨトウ	シロイチモジヨトウ	アワヨトウ	ヨトウガ	タバコガ
SiNPV	2.9 × 10 ⁵	3.2 × 10 ⁶	...	...	...
SeNPV		1.6 × 10 ⁴		1.7 × 10 ⁶	...
PsNPV	3.0 × 10 ⁷	1.6 × 10 ⁶	1.6 × 10 ⁵	1.3 × 10 ⁶	○
MbNPV(T)	○	○	○	4.1 × 10 ⁵	《7.8 × 10 ⁴ 》
MbNPV(G)	1.1 × 10 ⁷	2.0 × 10 ⁵	○	2.7 × 10 ⁶	○
HaNPV		...		2.4 × 10 ⁶	2.1 × 10 ⁴
H _z NPV		...			1.9 × 10 ³
SiNPV	6.7 × 10 ⁷	2.0 × 10 ⁶	○	1.0 × 10 ⁶	○
GmNPV	4.3 × 10 ⁷	1.0 × 10 ⁶	○	8.8 × 10 ⁶	○

注) LC₅₀(接種12または14日後)は、接種濃度で示した。単位は、ハスモンヨトウのみ多角体数/g飼料、他は多角体数/ml。○は病原性あり、...は病原性なしを示す。

Si:ハスモンヨトウ, Se:シロイチモジヨトウ, Ps:アワヨトウ, Mb:ヨトウガ, Ha:オオタバコガ, H_z:*Heliothis zea*, Si:イネヨトウ, Gm:ハチミツガ, (T):東京系, (G):芸北系。

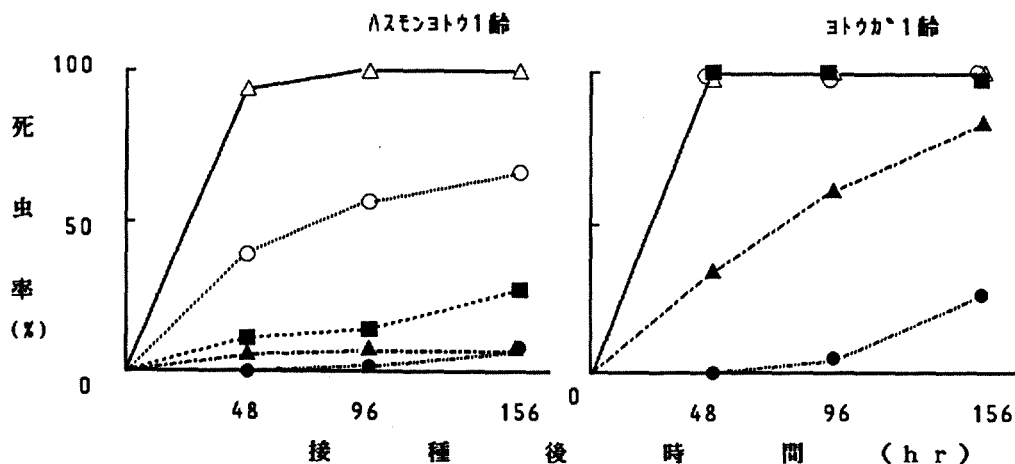


図2-7 シロモンヤガGV顆粒体経口接種によるヨトウムシ類
幼虫の死亡

顆粒体接種量

△: 500 µg/g 飼料; ○: 100 µg/g 飼料; ■: 20 µg/g 飼料;
▲: 4 µg/g 飼料; ●: 無処理

2齢以降の幼虫を用いた試験では、死亡率は低かったが、顆粒体の量に応じて生育の遅れが目だった。アワヨトウではふ化幼虫でも、上記2種幼虫に比べ死亡率は低かったが、顆粒体添加区では無添加区に比べ発育の遅れが観察された。

(4) 残効性強化法の検討

紫外線防御処理を施したハスモンヨトウNPV製剤"HV-68"と"HV-79"(北興化学製)について、走行式散布装置を用いて処理したときのNPVの残効性の変化を表2-8に示す。試験期間中は、雨天あるいは曇天日が多かったため(雨天、曇天日は、ポットを屋内に搬送した)、日照8~10時間で

野外1日とした。野外0日の感染性は高く、いずれの剤でも死亡率はほぼ100%に達した。日照時間が長くなるにつれ死亡率は低下したが、カーボン添加製剤が野外5日でも50%の死亡率を保ったのに対し、HV-68, 79製剤ではともに野外3日で死亡率が30%台に下がった。これらの供試剤の残効性は、散布後に新しく発生する幼虫を防除するには不十分と思われた。

さらに改良を加えた"HV-112"製剤(北興化学製)を用いて残効性の変化を調べた結果を表2-9に示す。この試験では、今後薬剤散布法として普及が見込まれるラジコンベリ散布法を用いた。HV-

表2-8 紫外線防御剤処理を施したハスモンヨトウNPVの残効性

供試製剤	接種15日後の死亡率(%)					
	野外0日	野外1日	野外2日	野外3日	野外4日	野外5日
HV-68	97	70	67	30	12	0
HV-79	100	80	70	33	10	0
カーボン	100	87	87	70	63	50
無添加	100	63	27	23	7	0

1) 太陽光線下に8~10時間置いたものを野外1日とした。

2) 走行式散布装置を用い、NPV散布量は各供試製剤ともに 3×10^{12} 多角体/haとした。

3) カーボン製剤は、カーボンブラック1.0%, スキムミルク1.0%, 新グラミン0.1%添加。

表 2-9 紫外線防御剤処理を施したハスモンヨトウ NPV の
ラジコンヘリ散布効果と残効性 (NPV 感染死亡率: %)

供試製剤	散布量 (ℓ/ha)	散布後日数			
		0	1	3	5
HV-112	8	100	100	100	98
カーボン	8	100	100	96	82
無処理	0	2	0	0	0
日射量 (cal/cm ²)		0	246	1,098	1,623

1) NPV 散布量は各供試製剤ともに 3×10^{12} 多角体/ha とした。

2) カーボン製剤は、カーボンブラック 1.0%, スキムミルク 1.0%, 新グラミン 0.1% 添加。

112 製剤は、散布 5 日後でもほぼ 100% の死亡率を保っており、ウイルス活性の保持効果はカーボン製剤と同等かそれ以上であると考えられた。

他方、マイクロカプセル化は製剤過程でウイルス感染性が大きく低下することが明らかになり、現在の方法はウイルス剤開発には利用できないことが明らかになった。

(ウ) 量産法の検討

今回供試したヨトウムシ類 5 種は、いずれもハスモンヨトウ用人工飼料による全齢飼育が可能であった。しかし、タバコガは採卵にタバコ葉やピーマン果実などの植物を必要とする他、中～老齢幼虫で共食いが激しく、ウイルス量産用の大量飼育には適していなかった。ハスモンヨトウは、ハスモンヨトウ NPV 以外のウイルスに対する感受性が低いことから他種ウイルスの生産には適さないと考えられた。ヨトウガは、感染するウイルスの種類も多く、飼育も比較的容易で、5 種ヨトウムシ類の中で虫体が最も大きくなることからウイルス生産用昆虫として適していると考えられた。そこで、ヨトウガを用いてウイルス生産量の検討を行った。ヨトウガ 5 齢幼虫に約 10^7 多角体/g 飼料のヨトウガ NPV 東京株またはシロモンヤガ NPV 三角型株を 24 時間接種すると供試個体の 70% 程度が 6 齢で死亡した。シロモンヤガ NPV 三角型株の場合個体当たりの多角体生産量は 3.4×10^9 個であった。

(エ) 複数種のヨトウムシ類同時防除試験

タバコ葉を用いた同時防除試験での、ヨトウガ NPV 東京株によるタバコガの死亡率は、散布濃度 7.8×10^4 多角体/ml で 90% 以上となった。他方、

ヨトウガの感染死亡率は、同濃度で 23~61%, 7.8×10^5 多角体/ml で 46~85% と試験により差があり、 7.8×10^6 多角体/ml で 80% 台になった (表 2-10)。

表 2-10 ヨトウガ NPV (東京株) 多角体散布の殺虫効果 (接種 15 日後の感染死亡率 (%))

散布濃度 (多角体数/ml)	ヨトウガ		タバコガ	
	A	B	A	B
0	7.7	0.0	3.1	6.7
7.8×10^4	67.9	23.3	96.8	100.0
7.8×10^5	100.0	65.4	100.0	100.0
7.8×10^6	90.0	100.0	100.0	100.0

各区とも 2 齢幼虫約 30 個体を供試。

A: 48 時間添食, B: 72 時間添食。

この他にオーチャードグラスを用いて、アワヨトウに対する防除試験を行った。予備試験で 2 齢幼虫を用いた室内試験でヨトウガ NPV 芸北株と同等かやや高い病原性を示した⁴⁾ ヨトウガ NPV 東京株を供試したが、 10^6 多角体/ml レベルの濃度では感染率が低く防除は困難であると考えられた。

エ. 考 察

(ア) 各種ウイルスのヨトウムシ類幼虫に対する病原性の調査

NPV の病原性は、交差感染の場合低いことが多いが、タバコガ、ハスモンヨトウ、シロイチモジヨトウ、アワヨトウ、ヨトウガの 5 種ヨトウムシ類幼虫においても、それぞれの種 (あるいは近縁種) か

ら分離されたNPVの病原性が最も高い傾向が見られた。タバコガでは、数種のNPVが比較的強い病原性を示したが、他の4種幼虫では、異種宿主から分離されたウイルスは病原性が低い傾向が強かった。アワヨトウNPV、ヨトウガNPV、イネヨトウNPV、ハチミツガNPVは宿主域が比較的広く上記5種全てに病原性を示し、同時防除素材としての条件のひとつである「広い宿主域」を満たしていたが病原力は十分ではなかった。

タバコガは、いくつかのウイルスに対し他の供試害虫よりも高い感受性を示したことから、1種類のウイルスによる複数害虫の同時防除を考える場合では、対象にしやすい害虫であると考えられた。他方、ハスモンヨトウはハスモンヨトウNPV以外のウイルスに対する感受性が非常に低く、またハスモンヨトウNPVは異種宿主にほとんど病原性を示さないことから同時防除の対象にすることは難しいと考えられた。

以上のことから、今までに供試したNPVでは、対象の5種ヨトムシ類すべてを対象にした同時防除は困難であると思われる。しかし、本課題で試みたヨトウガNPV東京株によるヨトウガとタバコガの防除のように、2種から3種の害虫を対象とする場合は、効果の高いウイルス株を選定し実用化を図ることも可能であると考えられる。

今回、ウイルスの分類は分離宿主を基準にしたが、制限酵素切断パターンによる分類同定並びに遺伝子変異株の検出が可能となったので、今後はウイルス株間の近縁性を考慮して感染特性の比較を行うことが望ましい。また、宿主域の拡大や病原性の向上を目指して新しいウイルスを育成していくためには、培養細胞系を利用したウイルスの純化を行い、遺伝的に均一な株を得る必要があると考えられる。

宿主域の調査過程で、若齢幼虫に大量のシロモンヤガGVを接種した場合に早期に死亡する個体が多数観察された。このことから、シロモンヤガGVが本来感染性を示さないと考えられるヨトウガとハスモンヨトウに対し何らかの阻害作用を持つことが示唆された。顆粒体を添加した人工飼料をふ化幼虫に摂食させると、成育阻害が生じ、通常の感染発病期よりも早い時期に幼虫が高率で死亡することが明らかになったが、この現象は、GVの感染そのものとは異なる可能性もあり、作用機作の解析が期待され

る。

(i) 残効性強化法の検討

新素材を用いた各種の遮光剤についてその効果を検討した結果、今回用いた新剤3つのうち2つは、以前から用いられているカーボン・スキムミルク各1%添加剤よりも効果が低く、残り1剤が同等あるいはややそれを上回る程度の効果であった。残効性の高い剤を得るために各種の色素や添加剤が使われてきたが、化学合成薬品の安全性が厳しく問われる今日、剤化のコストや、剤の保存性のみならず、添加素材の安全性・環境への影響を考慮することも重要であると思われ、カーボン・スキムミルクの様な素材を見直す必要がある。

(ii) 量産法の検討

ヨトウガ幼虫は、大量増殖法が確立しており、虫体も大きく、累代飼育も可能であることから、ウイルス増殖用昆虫として適していると考えられる。ヨトウガ6齢幼虫病死体中に形成される多角体数は、シロモンヤガNPV三角型株の場合 3.4×10^9 個であり、ヨトウガNPV東京株¹⁾はほぼ同じであった。ヨトウガに病原性を示すウイルスは多数あり(表2-7)これらのウイルスを分離宿主の代わりにヨトウガを用いて生産することも可能と考えられた。また、NPV感染促進物質が実用化されれば、ウイルス生産時のNPV接種量を大幅に節約することが可能であると考えられる。

(iii) 複数種のヨトムシ類同時防除試験

ヨトムシ類に対する各種ウイルスの感染性を調べた結果、現時点では、目標とした5種ヨトムシ類を1種のウイルスで防除することは不可能と考えられた。5種すべての防除は困難であるが、ヨトウガNPV東京株を用いた試験の結果からヨトウガとタバコガのように対象害虫を2~3種に限定すれば、ウイルス1種での同時防除の実用化の可能は高いと思われる。アワヨトウの近縁種 *Pseudaletia unipuncta* GV²⁾ならびに、シロモンヤガGV²⁾で報告されているNPV感染促進作用が多数種の害虫に対し利用可能になれば、交差感染による病原性の低下を補うことができ、多数害虫の同時防除の実現に大きく寄与するものと思われる。

オ. 今後の問題点

宿主域の広いウイルスは見つかっているが、分離宿主以外の昆虫に対する病原性は、低い場合が多い

ため、多数種害虫の同時防除は困難である。感染促進物質や病原性強化剤の実用化研究に加え、高い殺虫力を持つウイルスを育成する必要もある。

カ. 要 約

タバコガ、ハスモンヨトウ、シロイチモジヨトウ、アワヨトウ、ヨトウガなど複種類のヨトウムシ類の同時防除を目的に、各種ウイルス病原性の調査を行い、広宿主・強病原性ウイルスの検索、残効性強化法、量産法などを検討した。対象5種ヨトウムシ類すべてを防除し得る広宿主・強病原性ウイルスは、発見されなかったが、ヨトウガNPV東京株を用いたヨトウガとタバコガの同時防除は可能であると考えられた。新規のウイルス製剤の残効性は、既存のカーボン・スキムミルク添加剤と同等程度で大きな向上は見られなかった。また、ヨトウガ幼虫を用いて複数種のウイルスを大量増殖できることが明らかになった。

キ. 引用文献

- 1) 阿久津喜作：天敵ウイルスによる野菜害虫の防除，植物防疫，26，19—23（1972）
- 2) Goto, C., Enhancement of a nuclear polyhedrosis virus infection by a granulosis virus isolated from the spotted cutworm, *Xestia c-nigum* L. (Lepidoptera: Noctuidae), Appl. Ent. Zool., 25, 135—137（1990）
- 3) 松井武彦：NPV 6種のタバコガ幼虫に対する病原性，関東東山病虫害研報，36，145—146（1989）
- 4) Park, S. D. and M. Okada：Cross infectivity of nuclear polyhedrosis viruses to the common armyworm, *Pseudaletia separata*, Korean J. Appl. Ent., 28, 10—15（1989）
- 5) Tanada, Y.：Some factors affecting the armyworm to virus infection, J. Econ. Ent., 49, 52—57（1956）

（後藤千枝）

2. 昆虫寄生性線虫による害虫の防除技術の開発

(1) スタイナーネマの大量増殖法

ア. 研究目的

静岡県下で発見され、*Steinernema kushidai* と命名された昆虫寄生性線虫は、従来の線虫培養法で

は増殖せず、大量生産が困難である。そこで、本線虫の増殖を可能とする大量増殖法を開発するとともに、長期保存のための最適条件を明らかにして、コガネムシ類幼虫等の土壌害虫の新防除法を開発する。

イ. 研究方法

(ア) ドッグフード培地による *S. kushidai* と *S. feltiae* の増殖の比較

半流動性のドッグフード培地（ドッグフード10g・寒天0.2g・蒸留水100ml・120℃20分間高圧滅菌）を作製し、この培地を5mlずつ角型培養瓶（底面積30cm²）に分注した。これに本線虫または *S. feltiae* の感染態幼虫を500頭ずつ接種して、25℃で培養し感染態幼虫数の変化を調べた。

(イ) 線虫培養中の培地アンモニア量の比較

Steinernema 属線虫の増殖の過程で発生するアンモニアに着目して、本線虫と *S. feltiae* を培養中の培地のアンモニア量を比較した。各培養瓶に蒸留水を加えて30mlにし、その一部とネスラー試薬との反応を比色定量してアンモニア量を算出した。

(ウ) ペプトン添加ドッグフード培地による

S. kushidai の培養

ドッグフード・寒天・ペプトン及びリン酸緩衝液を表2—11に示す比率で混合して5mlずつ角型培養

表2—11 クシダマネの培養に用いたドッグフード培地の組成

培地略号	ドッグ フード	寒 天	組成(g) ペプトン	緩衝液
A	10.0	0.2	0	100.0
B	9.5	0.2	0.5	100.0
C	9.0	0.2	1.0	100.0
D	8.0	0.2	2.0	100.0
E	6.0	0.2	4.0	100.0
F	0	0.2	1.5	98.3
G	4.5	0.2	1.5	93.8
H	6.5	0.2	1.5	91.8
I	8.5	0.2	1.5	89.8

ドッグフード：味の素ゼネラルフーズ・ゲインズハーティ

緩衝液：1/30 M Sørensen リン酸緩衝液
（ph 6.47）

滅菌：120℃20分間高圧滅菌

瓶に分注し、高圧滅菌した。これに本線虫の感染態幼虫500頭を接種して培養開始から10・15・20・30及び40日後の感染態幼虫数を計数した。

(イ) ペプトン及びブタ脂肪(ラード)添加ドッグフード培地による *S. kushidai* の培養
ドッグフード・ペプトン・寒天・ブタ脂肪(ラード)・リン酸緩衝液を表2-12の比率で混合し、5

mlずつ角型培養瓶に分注して高圧滅菌した。これに本線虫の感染態幼虫を1,000頭ずつ接種して15日後の感染態幼虫数を計数した。

(ロ) ブタ腸・ペプトン培地による *S. kushidai* の培養
ブタ腸磨砕物・ペプトン・寒天・リン酸緩衝液を表2-13の比率で混合した培地を作成した。これら

表2-12 ブタ脂肪を添加したドッグフード・ペプトン培地(5ml)で得られた *S. kushidai* 感染態幼虫数

培地組成					感染態幼虫数*
ドッグフード	ペプトン	ブタ脂肪	寒天	リン酸緩衝液	
8.8 g	1.2	0	0.2	89.8 ml	154,833 ± 31,671
8.8	1.2	1	0.2	88.8	206,350 ± 50,220
8.8	1.2	2	0.2	87.8	225,400 ± 55,006
8.8	1.2	4	0.2	85.8	228,350 ± 38,550
8.8	1.2	8	0.2	81.8	186,700 ± 33,369

*平均±SD, N = 10

表2-13 ブタ腸・ペプトン培地(5ml)で得られた *S. kushidai* 感染態幼虫数

培地組成				感染態幼虫数*
ブタ腸磨砕物	ペプトン	寒天	リン酸緩衝液	
8.8 g	1.2	0.3	89.7 ml	116,000 ± 31,974
17.6	1.2	0.3	80.9	168,666 ± 22,598
26.4	1.2	0.3	72.1	244,000 ± 43,385
36.2	1.2	0.3	62.3	234,116 ± 18,356
17.6	2.4	0.3	79.7	197,833 ± 31,940
26.4	3.6	0.3	69.7	314,500 ± 42,060
35.2	4.8	0.3	59.7	334,833 ± 16,690
28.0	2.0	0.3	69.7	345,333 ± 25,366

*平均±SD, N = 5

を5mlずつ角型培養瓶に分注して、高圧滅菌した。これに本線虫の感染態幼虫を1,000頭ずつ接種して15日後の感染態幼虫数を計数した。

(カ) 人工培養 *S. kushidai* の様々な温度での保存試験

ブタ腸磨砕物・ペプトン・寒天・リン酸緩衝液(混合比, 8.8 : 1.2 : 0.3 : 89.7)から成る培地5ml入りの角型培養瓶に本線虫感染態幼虫500頭を

接種した。培養15日後に培養瓶を8本ずつ5・10・15・20及び25℃に移して6ヶ月後及び12ヶ月後に線虫を分離回収して生存線虫を計数した。

(キ) 人工培養 *S. kushidai* のホルマリン懸濁液による保存試験

人工培地で大量増殖した本線虫感染態幼虫200万頭を30mlの蒸留水及びホルマリン溶液(0.001%・0.01%及び0.1%)に懸濁させ、穴(径5mm)を

約50個開けた円盤状スポンジ（径8 cm高さ1 cm）にしみこませて、ペトリ皿に入れた。これを10℃に2ヶ月間置き、生存線虫の割合を調べた。

ウ. 研究結果

(ア) ドッグフード培地による *S. kushidai* と *S. feltiae* の増殖の比較

本線虫（*S. kushidai*）は接種後20日間はまったく発育せず、それ以後に一部が成虫になり産卵したが、*S. feltiae*は10日以内に大部分が成虫になり旺盛に増殖した。40日後には、培養瓶1本当たり本線虫では3万頭、*S. feltiae*では約48万頭の感染態幼虫が得られた（図2-8）。従来のドッグフード

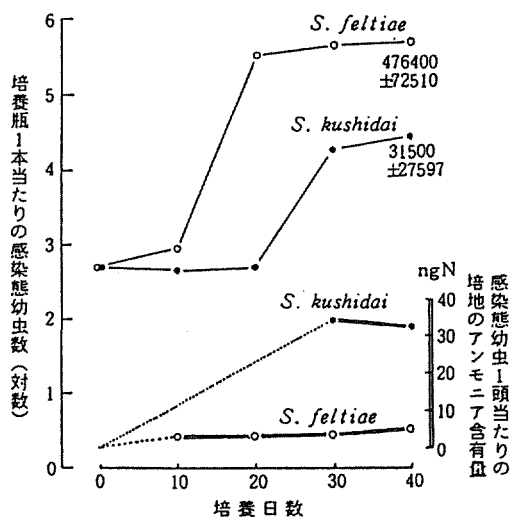


図2-8 ドッグフード培地で *S. kushidai* と *S. feltiae* を培養した際の感染態幼虫数の変化及び培地のアンモニア含有量の変化（培地5 mlに500頭の線虫を接種した。）

培地は本線虫の培養に適さないことが確認された。

(イ) 線虫培養中の培地アンモニア量の比較

新しく生じた感染態幼虫1頭当りに換算した培地のアンモニア含有量を比較した。本線虫では接種30日、40日後の値はそれぞれ34.8、32.6 ngであったが、*S. feltiae*では全期間を通じて10 ng以下であった（図2-8）。この結果から、本線虫あるいはその共生細菌は、増殖の過程で特にタンパク質のある種の代謝産物を多量に必要とするので、タンパク

質が盛んに代謝されて培地中にアンモニアが増加するという可能性が示唆された。

(ウ) ペプトン添加ドッグフード培地による *S. kushidai* の培養

本線虫はペプトンを含まない培地Aでは殆ど増殖しなかったが、ペプトンを添加した培地では盛んに増殖した。特にペプトンを1.8%あるいは3.6%含んだ培地D・Eでは約16万頭の感染態幼虫が得られた。この数値は同組成の培地で *S. feltiae* を培養して得られた感染態幼虫数に匹敵した（図2-9）。

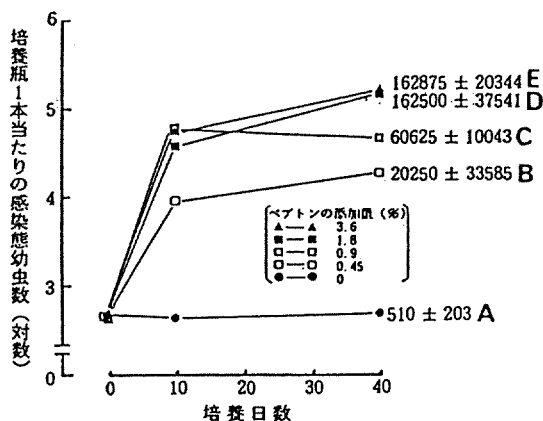


図2-9 ペプトンの添加量の異なるドッグフード培地(A)(B)(C)(D)(E)でクシダネマを培養した際の感染態幼虫数の変化

本線虫はドッグフードを全く含まずペプトン1.5%を含む培地Fでは全く増殖しなかった。ドッグフード6.5%～8.5%とペプトン1.5%を含む培地H・Iでは盛んに増殖して18万頭前後の感染態幼虫が得られた（図2-10）。

本線虫は従来のドッグフード培地にペプトンを添加した培地で安定した増殖が可能ながことが判明した。

(エ) ペプトン及びブタ脂肪（ラード）添加ドッグフード培地による *S. kushidai* の培養

ドッグフードとペプトンを栄養成分とする培地5 mlで得られた感染態幼虫は約15万頭であったが、ブタ脂肪（ラード）を2%あるいは4%添加した培地5 mlでは約23万頭が得られた（表2-12）。

この結果から、本線虫はタンパク質の代謝産物とともに脂肪の要求性も高いことが判明した。

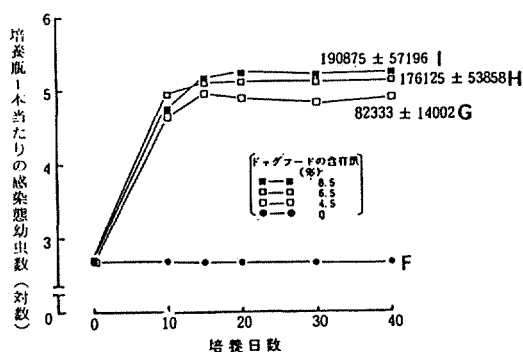


図 2-10 ドッグフード含有量の異なる培地(F)(G)(H)でクシダネマを培養した際の感染態幼虫数の変化

(d) ブタ腸・ペプトン培地による *S. kushidai* の培養

ペプトンの混合比を 1.2% に固定して、ブタ腸磨碎物の混合比を変化させた培地では、ブタ腸磨碎物が増加するにしたがって感染態幼虫数が増加した。ブタ腸磨碎物 26.4% の培地 5 ml では約 24 万頭が得られた。

ブタ腸磨碎物とペプトンの混合比をとともに高めた培地では、それぞれが 28% と 2% の混合比の培地 5 ml で約 34 万頭の感染態幼虫が得られた (表 2-13)。

この結果からドッグフードを家畜の廃肉に代えても本線虫の安定した増殖が可能なが判明した。

(e) 人工培養 *S. kushidai* の様々な温度での保存試験

培養線虫を培養瓶ごと 5℃ で 6 ヶ月保存したものからは生存線虫は得られなかった。10 及び 15℃ での保存では、それぞれ 8 本中 2 本から生存線虫が得られたが頭数は非常に少なかった。20℃ での保存では、全ての培養瓶から平均 12,650 頭の生存線虫 (感染態幼虫) が得られた。これは保存開始時の感染態幼虫のおおよそ 22% に相当した。25℃ の保存では、8 本中 6 本から生存線虫が得られたが、25 頭から 3,750 頭の範囲であった (表 2-14)。

12 ヶ月間の保存では、20℃ に置いた培養瓶 8 本中 4 本から 6～10 頭の生存線虫が回収された。この結果から、本線虫は 20℃ での保存期間を挟むことによって、半年に 1 回の植え継ぎで継代維持できることが判明した。

表 2-14 様々な温度下で 6 ヶ月間保存した培養瓶中の生存線虫数

保存温度 (℃)	5	10	15	20	25
生存線虫の得られた培養瓶数 *	0	2	2	8	6
平均生存線虫数 (培養瓶 8 本の平均)	0	62	34	12,650	1,006

* 供試培養瓶数は 8 本

(f) 人工培養 *S. kushidai* のホルマリン懸濁液による保存試験

本線虫感染態幼虫の 10℃ 2 ヶ月間の保存では、0.01% ホルマリン溶液に懸濁してスポンジにしみこませた場合に 94.9% の生存率であった (表 2-15)。

人工培地で大量増殖した本線虫を、分離回収後に水道水に懸濁させて保存した場合に、液の腐敗が原因となって全滅することがしばしばある。0.01% ホルマリン溶液に懸濁させることによって本線虫 200 万頭の 10℃ 2 ヶ月間の保存が可能であることが判明した。

エ. 考 察

Steinernema kushidai Mamiya は静岡県浜北市のサツマイモ畑土壌から発見された昆虫寄生性線虫で、コガネムシ類幼虫に対して極めて強い殺虫力を

表 2-15 各種溶液に懸濁させて 10℃ 2 ヶ月間保存したクシダネマ感染態幼虫の生存率

	生存率 (平均 : 範囲)
蒸留水	63.5% : 23.5 - 91.6%
0.001% ホルマリン	69.3% : 65.1 - 77.2%
0.01% ホルマリン	94.9% : 94.4 - 95.5%
0.1% ホルマリン	65.7% : 57.2 - 71.7%

注) 線虫懸濁液をスポンジにしみこませてペトリ皿に入れた。

線虫 200 万頭を 1 ペトリ皿に入れた。

示す¹⁾ ²⁾ 本線虫をコガネムシ類幼虫などの土壌生息性害虫の防除に利用するためには、本線虫の人工培

地による大量増殖が不可欠である。しかし、本線虫は従来の *Steinernema* 属用のドッグフード培地では容易に増殖しない。この原因として本線虫あるいはその共生細菌の繁殖には従来のドッグフード培地に含まれる量よりもはるかに多量のタンパク質代謝産物が必要であることが本研究で明かとなった。本線虫は従来のドッグフード培地にペプトンを 0.8 % から 1.5 % の範囲で添加した培地で安定して増殖したが³⁾、さらにブタ脂肪(ラード)を 2 % から 4 % の範囲で添加した培地で感染態幼虫がより多く得られた。このことからタンパク質はもとより脂肪を多量に含むブタ腸を原料とする人工培地を試験した。その結果、ブタ腸磨砕物にペプトンを添加した培地でも本線虫を安定して増殖することができ、この場合の最適な混合比はブタ腸磨砕物 28 % ペプトン 2 % であることが示された⁴⁾。

Steinernema 属線虫は低温で長期間生存すると言われているが、コガネムシ類幼虫から分離回収した本線虫は低温に弱く、5℃(家庭用冷蔵庫)で 20 日以上は生存できない⁵⁾。本研究でも培養した状態では 5・10 及び 15℃での長期生存は不可能であった。しかし、本線虫は 20℃では 6 ヶ月間以上生存することが示され、半年に 1 回の植え継ぎで継代維持できることが判明した。このことは、種維持の労力を省くという面からだけではなく、継代維持を繰り返すことによる殺虫活性の低下を防ぐという面からも重要である。

大量増殖して分離回収した *S. feltiae* の場合、0.1 % のホルマリン溶液に懸濁させて保存することができた⁶⁾。本線虫 200 万頭を 30 ml の 0.1 % ホルマリン溶液に懸濁させてスポンジにしみこませた場合は、10℃下 2 ヶ月間の保存で 65.7 % が生存していた。0.01 % ホルマリン溶液を用いた場合は、94.9 % が生存していた。したがって、0.01 % ホルマリン溶液を使用することにより大量増殖した本線虫の 2 ヶ月間程度の保存は可能である。保存後の線虫の殺虫活性については今後明らかにされなければならない。

オ. 今後の問題点

本研究で、*S. kushidai* の増殖用固体培地が開発された。しかし、本線虫を生物農薬として利用するためには液体培地による増殖が作業の合理化のうえで望ましい。そのためには本線虫及びその共生細菌の栄養要求性に合致した水溶性成分からなる培地の

開発が必要である。また、本研究では大量に人工増殖した線虫の施用前の保存法及び有効な施用法が十分に検討されていない。今後、この点の研究の積み重ねが必要である。

本線虫はサツマイモ畑のコガネムシ類幼虫の防除に有効なことが明らかにされつつある⁷⁾。また、ゴルフ場の芝生を加害する土壌害虫を防除する「環境にやさしい農薬」としても期待が持たれている。したがって、本研究を土台としてさらに実用化を目指した基礎から応用までの均衡のとれた研究が緊要である。

カ. 要 約

昆虫寄生性線虫 *Steinernema kushidai* は従来のドッグフード培地では容易に増殖しないが、ペプトンを添加したドッグフード培地で盛んに増殖した。ペプトンの他にブタ脂肪(ラード)を添加したドッグフード培地では、さらに増殖してより多くの感染態幼虫が得られた。*S. kushidai* は、ブタ腸磨砕物にペプトンを添加した培地でも増殖した。

S. kushidai は 20℃での保存期間を挟むことによって、半年に 1 回の植え継ぎで継代維持できた。人工増殖した *S. kushidai* を 0.01 % ホルマリン溶液に懸濁させてスポンジにしみこませた場合、10℃で 2 ヶ月間保存できた。

キ. 引用文献

- 1) 串田 保・真宮靖治・三橋 淳：静岡県下畑土壌から検出された昆虫寄生性線虫 *Steinernema* sp. のコガネムシ類幼虫に対する殺虫性、応動昆, 31(2), 144-149 (1987)
- 2) Mamiya, Y., *Steinernema kushidai* n. sp. (Nematoda: Steinernematidae) associated with Scarabaeid beetle larvae from Shizuoka, Japan, Appl. Ent. Zool., 23(3), 313-320 (1989)
- 3) Ogura, N. and Mamiya, Y., Artificial culture of an entomogenous nematode, *Steinernema kushidai* (Nematoda: Steinernematidae), Appl. Ent. Zool., 24(1), 112-116 (1989)
- 4) 小倉信夫：コガネムシ類幼虫の天敵クシダネマの実験法, 森林防疫, 39(2), 27-12 (1990)
- 5) 大矢慎吾・上和田秀美：クシダネマによるサツマイモコガネムシ類防除の試み, 九病虫研会報,

36, 126—128 (1990)

- 6) Poinar, G. O. Jr., *Entomogenous Nematodes*, p. 20, E. J. Brill, Leiden (1975)

(小倉信夫)

3. 糞虫利用による家畜害虫の防除技術の開発

(1) ガゼラエンマコガネの生態特性の解明

ア. 研究目的

ガゼラエンマコガネ (*Onthophagus gazella*) のハエ類抑圧機能のメカニズムである牛糞埋め込み活動の放飼後の動態を予測するため、牛糞埋め込み量の季節的消長や個体群の増殖能力、低温耐性、発育生態、種間関係を明らかにする。

イ. 研究方法

(ア) ガゼラエンマコガネの個体群パラメーターと牛糞埋め込み量

試験には5ℓ容量のポリエチレン容器を用い、これに黒ボク土を4ℓ詰め、その表面に放牧地より採取した新鮮牛糞を200g置いた。これに供試虫として羽化直後の *Onthophagus gazella* の成虫を1対放し、サランネットで覆った。試験は、気温と日長条件が自然に近い屋外網室で行った。毎週、成虫の生死を確認し、土中の育児球数と地表に残された牛糞の重量を調べ、土と牛糞は調査毎に新しいものと取り替えた。6月18日と9月3日の2回、試験を設定し、試験期間中の気温を自記記録計で測定した。対照区としては、30℃恒温、明期16時間暗期8時間条件(以下、16L:8Dと記する)で同様な試験を行った。6月と9月の試験区の供試虫はそれぞれ20対と10対で、対照区は20対であった。

(イ) 低温耐性

a. 越冬ステージの確認

ガゼラエンマコガネの育児球内における各発育ステージ(卵, 1齢, 2齢, 及び3齢幼虫, 前蛹, 蛹, 新成虫)と既に育児球から出て1週間たった成虫を、5ℓ容量のポリエチレン容器に詰めた黒ボク土表面下10cmに埋め、牛糞を300g与えた。これを、12℃, 16L:8D条件下に2週間置いた後、個体の体色や弾力性、光沢等を観察し生死を判定した。対照区として、各発育段階の個体を27℃, 16L:8D条件下に置いた。

b. 育児球内の蛹と新成虫の低温耐性

育児球内の蛹と新成虫を越冬ステージ試験と同様に地中に埋め込み、16L:8D条件下で12, 9, 6℃の各温度に置いた。生死の判定も同様にした。

(ウ) 次世代出現時期の推測

a. 発育ゼロ点と有効温度

放牧牛の新鮮糞を餌として、30℃, 16L:8D条件下において産ませたガゼラエンマコガネの卵を、19.5℃から36℃までの10段階に設定した一定温度条件下に置き、卵から成虫に至るまでの発育期間を調べ、有効温度と発育ゼロ点を求めた。

b. 準自然環境下での予測値の検証

6月から9月までの毎週、卵コホートを5ℓ容量のポリエチレン容器に詰めた黒ボク土の中に埋め込み、気温、日長とも自然に近い屋外網室に置いて、その羽化消長を毎日調査した。毎日の気温と有効温度及び発育ゼロ点から求めた次世代出現時期と比較した。

(エ) 在来フン虫カドマルエンマコガネとの種間競争

5ℓ容量のポリエチレン容器に黒ボク土を4ℓ詰め、その表面に放牧地より採取した新鮮牛糞1kgを置いた。これにガゼラエンマコガネの成熟虫と当場の草地より採集したカドマルエンマコガネをそれぞれ1, 2, 4, 8, 16対放し、1週間摂食及び産卵させた。(ウ)の試験と同じ準自然環境で次世代羽化数を調査した。試験はカドマルエンマコガネの産卵活動の盛んな7月中旬に行い、それぞれの反復回数は、1対区より16対区まで順に、7, 6, 5, 4, 3回とした。

ウ. 研究結果

(ア) ガゼラエンマコガネの個体群パラメーターと牛糞埋め込み量

a. 6月試験区

ガゼラエンマコガネの産卵及び牛糞の埋め込み活動は、試験開始2週目の6月末より始まり、気温の上昇と共に盛んになり、7, 8週目の7月末から8月上旬にピークとなった。その後、産卵と埋め込みは徐々に減衰したが、10月上旬まで3カ月間に渡り続いた(図2-11, 12)。ピーク時の1週1雌当り産卵数は15前後で、1雌当りの平均総産卵数(純繁殖率: R_0)は78であった。成虫の死亡は産卵のピークの後に増加し、50%生存日数は10週目の70日であった。牛糞の埋め込み量は産卵の盛んな7月から9月にかけて、1対当り1週間に50gから100gであ

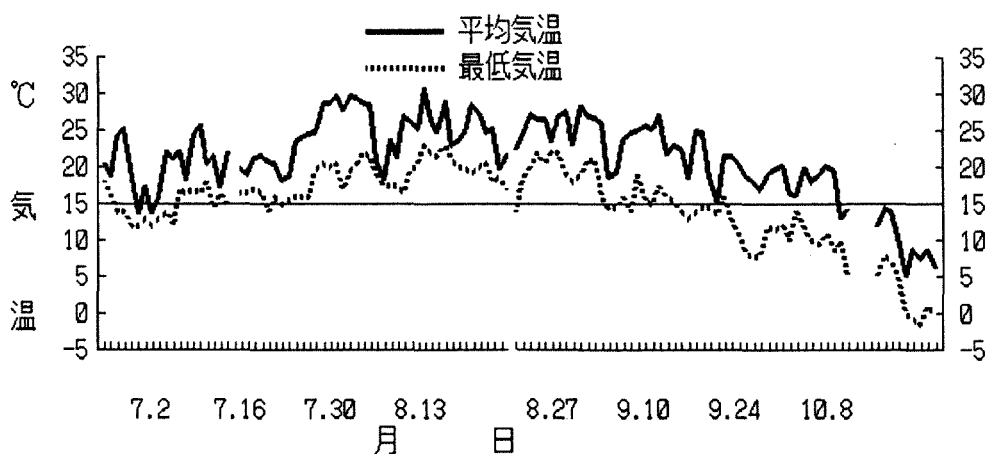


図 2-11 試験期間の平均気温と最低気温

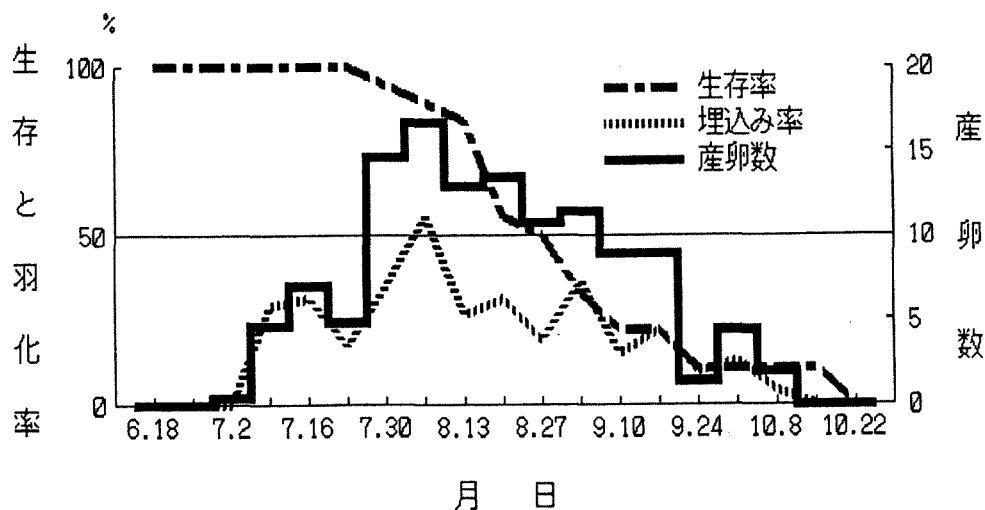


図 2-12 *O. gazella* の累積生存率及び週当りの埋め込み率と産卵数（6月設定）

り、産卵数との間に有意な正の相関があった（ $P < 0.001$ ）。

b. 9月試験区

ガゼラエンマコガネにおける産卵及び糞の埋め込みは、試験開始1週目より始まり、6月試験区と同じく10月上旬まで続いた。成虫の死亡はこの時までみられなかったが、平均気温が5℃（最低気温は0℃）以下となった7週目の10月下旬に一斉に死亡した（図2-13）。1雌当り平均総産卵数は13卵であった。埋め込み量と産卵数の間には正の相関が見られたが（ $P < 0.01$ ）、埋め込み量は6月試験区より少なかった。

c. 対照区（30℃恒温，16L：8D日長条件）

産卵及び糞の埋め込み活動は、試験開始1週目より始まり、2，3週目にピークとなった後、徐々に減衰したが、死亡する直前まで行われた（図2-14）。1雌当り平均総産卵数は104.7卵であり、成虫の50%生存日数は49日であった。埋め込み量と産卵数の間には正の相関が見られた（ $P < 0.001$ ）。

(i) 低温耐性

a. 越冬ステージ

卵，1齢，2齢，及び3齢幼虫，前蛹では，生存個体は確認できなかった。育児球外の成虫では，4%と低かったが（表2-16），蛹，新成虫でそれぞ

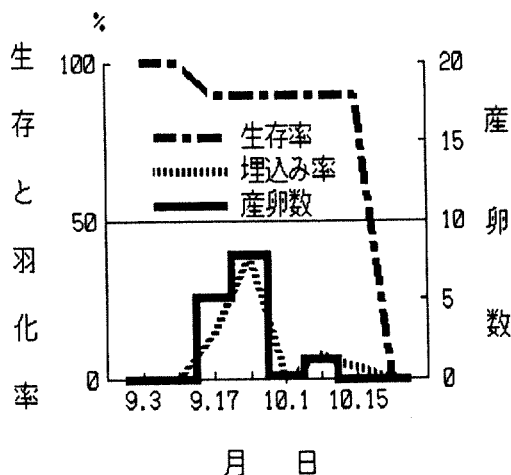


図 2-13 *O. gazella* の累積生存率及び週当りの埋め込み率と産卵数（9月設定）

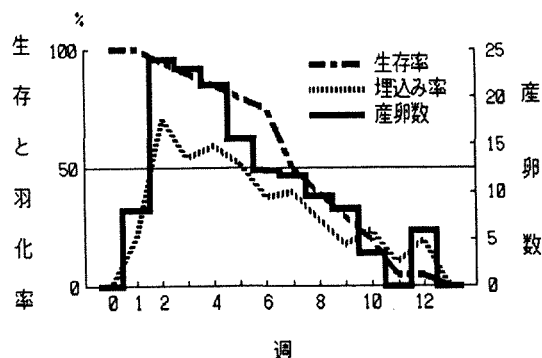


図 2-14 *O. gazella* の累積生存率及び週当りの埋め込み率と産卵数（30℃恒温）

表 2-16 卵、幼虫、前蛹及び成虫*における低温耐性（12℃，2週間暴露）

発育ステージ	卵	1 齢幼虫	2 齢幼虫	3 齢幼虫	前 蛹	成 虫
生存率(%)	0	0	0	0	0	4
供試個体数	65	67	63	83	14	24

* 羽化後，育児球から脱出した個体

表 2-17 蛹及び育児球内新成虫の低温耐性（12，9 及び 6℃で 2 週間暴露）

処理温度	発育ステージ	蛹	育児球内新成虫
12℃	生存率 (%)	93	100
	供試個体数	97	37
9℃	生存率 (%)	90*	86
	供試個体数	31	28
6℃	生存率 (%)	97*	66
	供試個体数	30	32

* 27℃条件においても活動性が戻らない。

b. 蛹と育児球内の新成虫の低温耐性

蛹においては体色が，赤褐色に変色し，弾力性やつやが失われ，腐敗が起っていた個体を死亡と見なした。9℃，6℃共に，90%以上の個体が，体色や表皮の弾力性等の観察からは生存しているようであったが，27℃条件下に置いても活動性が殆ど見られなかった。育児球内の新成虫のうち9℃条件下に

置いたもので83%，6℃条件下に置いたもので66%の個体で，27℃条件下に置くと脚を動かして始めて生存が確認された（表 2-17）。

(ウ) 次世代出現時期の推測

a. 発育ゼロ点と有効温量

ガゼラエンマコガネの各温度における発育速度を図 2-15に示す。これにより発育ゼロ点は15.3℃で，有効温量は328.2日度と算出された。

羽化率は，22.5℃から34.5℃までにおいて60%を越えた。特に27℃から31.5℃までの比較的湿度の高い条件下では約80%と高い値を示した。また21℃以下と36℃においては羽化率は50%以下に低下し，鞘翅が萎縮した奇形虫の出現割合が高くなった（表 2-18）。

b. 準自然環境下での予測値の検証

上記の数値から求めた予測羽化日と実際の準自然環境下での羽化日とは近似し，放飼時期設定の基礎資料として有効であることが明らかになった（図 2-16）。

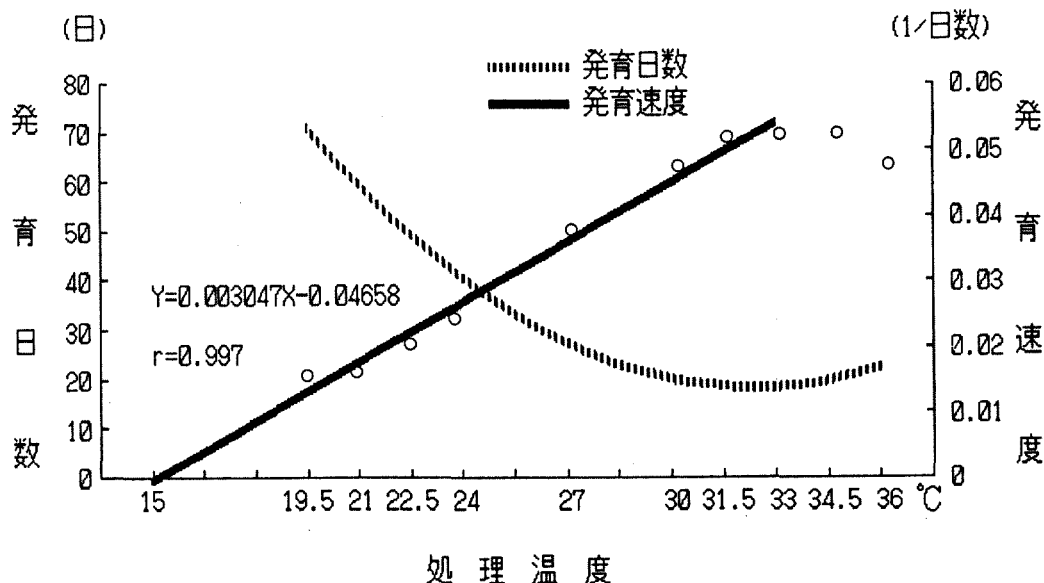


図 2-15 *O. gazella* の発育と温度との関係

表 2-18 飼育温度と *O. gazella* の羽化との関係

飼育温度	羽化率 (総羽化数/卵数)	奇形率 (奇形羽化数/総羽化数)	供試卵数
19.5 °C	5.2 %	0.0 %	(58)
21.0	35.8	21.0	(53)
22.5	68.4	7.7	(57)
24.0	63.0	32.4	(54)
27.0	87.3	4.2	(55)
30.0	91.2	1.9	(57)
31.5	78.0	4.4	(59)
33.0	70.2	5.0	(57)
34.5	62.7	7.1	(67)
36.0	45.5	36.7	(66)

(c) 在来フン虫カドマルエンマコガネとの種間競合

ガゼラエンマコガネは、カドマルエンマコガネとの競合条件下において、羽化数で抑圧の影響を受けたものの、各密度レベルでカドマルエンマコガネより多くの次世代成虫を産出した。カドマルエンマコガネも同様に、ガゼラエンマコガネとの競合により、羽化数を減少させた。両種とも他種との競合条件による羽化抑圧は高密度ほど強く表れる傾向があった(図 2-17)。

エ 考 察

ガゼラエンマコガネの牛糞埋め込みやそれに伴う産卵活動は、6月試験区においてすぐに盛んになるのではなく、徐々に活発になり試験開始1カ月以上経過した7月下旬から8月上旬にピークをむかえた。30°C恒温条件に置いた対照区では、これらの活動は2週目にピークとなった後、徐々に減衰するパターンを示し、両者で大きく異なった。9月試験区では、試験期間を通じて産卵及び埋め込み活動が極端に減衰した。この原因としては、準自然環境下で

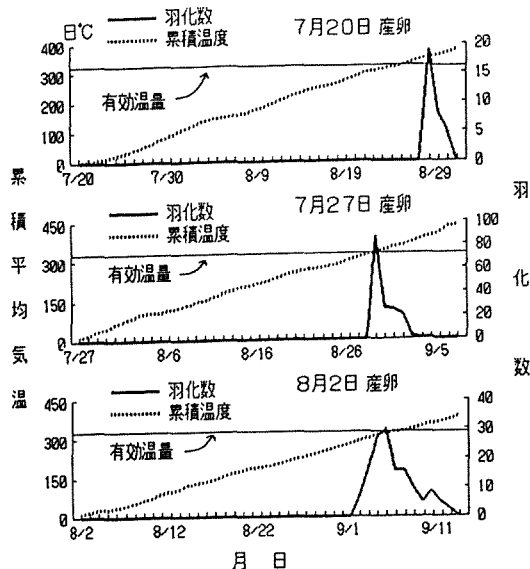


図 2-16 準自然環境下での羽化消長と有効温度量

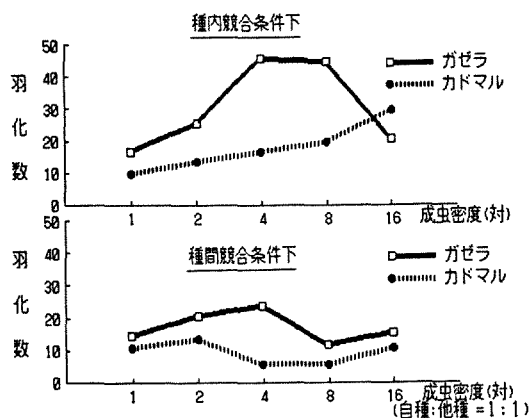


図 2-17 種内及び種間競合条件下における両種の次世代羽化数

の低温による産卵前期の延長と、産卵期の活動が温度により敏感に影響を受けたことが考えられる。ガゼラエンマコガネの産卵前期は平均21℃で10日、27℃では5日⁵⁾であり、6月、9月試験区と30℃対照区での産卵開始までの期間とはほぼ一致している。秋期においては、対照区や6月試験区に比べ、きわめて早期に死亡が一斉に起こったことから、平均5℃、最低0℃の低温が成虫の死亡を引き起こしたことが示唆された。これらより、自然環境下における産卵や牛糞埋め込み消長は、温度によって大きく変動す

ることが明らかになった。

ガゼラエンマコガネの越冬態は、オーストラリアでは3齢幼虫と蛹、米国では育児球内の新成虫である^{2) 3)}。ガゼラエンマコガネはアフリカや南アジアの熱帯から亜熱帯原産の種であり¹⁾、もともと越冬に対しては休眠でなく発育停止で対応していたことが予想されるため、導入された環境条件によって越冬態が異なることが考えられる。本試験では越冬における低温耐性だけを調べたが、その結果、育児球内の新成虫が低温に最も強く、これに蛹が続く、幼虫と卵は弱かった。米国本土におけるガゼラエンマコガネの定着状況を見ると、その分布北限は1月の平均気温が4℃と8℃ラインのほぼ中央に相当している⁴⁾。日本でのそのような気温の地域は房総半島以南の本州、四国、九州の海岸沿いに広く存在し、これらの地域では育児球内新成虫での越冬が期待できる。このためには、晩夏から秋にかけて既に多くの産卵がなされ、冬までに育児球内で成虫態に発育が進んでいることが重要と考えられる。

本研究で求めた発育ゼロ点と有効温度量の値による羽化日予測が準自然条件下でも当てはまることが実証された。これらの値から、ガゼラエンマコガネ成虫を本邦各地域の放牧地に放飼すると、その世代数は、北海道では0～1となり次世代の羽化が困難であるが、東北中北部では1～2、東南北部から中部・山陰は2～3、東海以南では年3～4世代の発生が予測できる(図2-18)。ガゼラエンマコガネの放飼利用については、越冬可能な場所では定着利用が望ましいが、それが不可能な地域でも、世代数や1雌当り総産卵数の多いことから、接種的放飼利用も考えられる。

発育温度については、発育日数が30℃以上においてはほとんど短縮されないこと、羽化率は27～31.5℃までで約80%ときわめて高いことから、約30℃付近がガゼラエンマコガネの生育の最適温度条件と考えられた。

ガゼラエンマコガネを放飼した場合、牛糞や産卵場所をめぐる最も強く競合しあうと考えられるのは、在来種でガゼラエンマコガネと生態的にも良く似ているカドマルエンマコガネである。このカドマルエンマコガネは、これと同じく牛糞を埋め込むタイプのフン虫ツノコガネの産卵数を抑圧し、低密度に抑えているのに対し、それ自身はツノコガネ

世代数



0 - 1



1 - 2



2 - 3



3 - 4



4 -

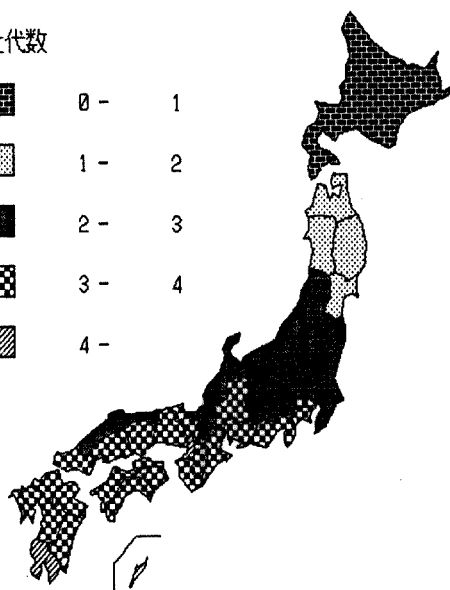


図2-18 *O. gazella* の発育ゼロ点と有効温度から予測された世代数

からは影響を受けていない⁶⁾。本研究ではガゼラエンマコガネは、カドマルエンマコガネと競合条件下におかれることで、羽化数を幾分抑圧されるものの、各密度区で羽化数において優れた。これより、ガゼラエンマコガネはカドマルエンマコガネと競合する場所においても、増殖し定着していくものと考えられる。

オ. 今後の問題点

ガゼラエンマコガネの定着利用を図るためには、温度以外の越冬条件、すなわち土壌含水量や植生等についても解明する必要がある。また、定着利用地域を広げるためには、低温耐性系統の育種的作出や、人為的に越冬させるための技術開発が必要である。他種との競合関係については、糞は埋め込まないが個体数的に圧倒的多数を占めるマグソコガネ類との関係も明らかにすることが重要である。

カ. 要 約

準自然環境下においたガゼラエンマコガネの新成虫の1雌当たり平均総産卵数は78卵、50%生存日数は70日であり、7月から9月にかけて1対当たり1週間に50~100gの牛糞を埋め込んだ。9月に設置した新成虫は、産卵及び牛糞の埋め込み量が激減し、平均気温が5℃、最低気温が0℃になった10月下旬

に全て死亡した。

低温耐性は、育児球内の新成虫が最も強く、蛹がこれに続き、卵や幼虫は弱かった。これより、冬までに育児球内で成虫にまで発育しておく必要性を指摘した。

ガゼラエンマコガネの発育ゼロ点は15.3℃、有効温度量は328.2℃日度であった。これらの値から求めた羽化日と準自然条件下での実際の羽化日とは近似し、放飼時の個体群動態予測の基礎資料として有効であることが明らかになった。

ガゼラエンマコガネはカドマルエンマコガネとの競合条件下において、カドマルエンマコガネより多くの次世代を産出した。

キ. 引用文献

- 1) Blume, R. R., Matter, J. J. and Eschle, J. L., *Onthophagus gazella* : Effect on survival of horn flies in the laboratory, *Environ. Entomol.*, 2(5), 811~813 (1973)
- 2) Division of Entomology CSIRO, Biological control of dung, Annual Report 1977-1978, 84~92 (1979)
- 3) Fincher, G. T. and Hunter II, J. S., Overwintering studies on *Onthophagus gazella* (F.) and *Onthophagus bonasus* (F.) in two different textural classes of soil in east-central Texas. *Southwestern Entomologist*, 14 (2), 133~138 (1989)
- 4) 早川博文・山下伸夫：放牧草地の生態系におけるフン虫の機能とその利用、畜産の研究, 43 (6), 26~32 (1989)
- 5) Lopez - Guerrero, Y. and Blume, R. R., *Onthophagus gazella* F. (Coleoptera : Scarabaeidae - Scarabaeinae) microstructure of the ovary from pupal stage to maturation of the first egg, *Environ. Entomol.*, 12 (1), 117~123 (1983)
- 6) 安田弘法：食糞性コガネムシ類群集の構造と動態に関する研究, 名古屋大学博士論文, 80~90 (1988)

(山下伸夫)

(2) ガゼラエンマコガネの大量増殖法

ア. 研究目的

本種の放飼利用において必要な大量個体の増殖飼育法を開発する。

イ. 研究方法

(ア) 飼育温度

5ℓ容量（口径20cm，底径16cm，深さ20cm）のポリエチレン容器に，飼育培地として黒ボク土を4ℓ詰め，その表面に放牧地より採取した新鮮牛糞を200g置いた。これに供試虫として，27℃，明期16時間暗期8時間条件（以下16L：8Dと記する）で飼育し，羽化後2，3週間経過した本種の成熟虫を2対放し，サランネットで覆った。牛糞は4日後にも200gを与え，7日後に産卵数（土中に埋め込まれた育児球を割って卵を確認）を調べた。設定温度は，12，15，18，21，24，27，30，33及び36℃の9水準で，反復はそれぞれの条件で10回行った。

(イ) 飼育日長

使用した容器，培地，餌及び供試虫はアの試験と同じである。但し供試虫数は1対とし，7日後に産卵数を調べた。日長条件は，1)暗期24時間，2)明期8時間：暗期16時間，3)明期12時間：暗期12時間，4)明期16時間：暗期8時間，5)明期24時間の5水準を設定し，24℃及び30℃の温度条件下で試験を行った。反復はそれぞれ8回行った。

(ウ) 飼育培地

a. 黒ボク土と川砂の混合土

105℃で24時間乾燥した黒ボク土と川砂について，1)黒ボク土のみ，2)黒ボク土3：川砂1，3)同2：1，4)同1：1，5)同1：2，6)同1：3及び7)川砂のみの計7水準の体積比率で混合し，含水量が圃場容水量(Field moisture capacity)の50%になるよう調整した(表2-19)。これらを上記試験と同じポリエチレン容器に4ℓ詰め，この表面に新鮮放牧牛糞を300g置いて，本種の成熟個体を1対ずつ放した。試験環境条件は30℃，16L：8Dで，試験開始から1週間後に土中に造られた育児球数を調査した。反復はそれぞれの水準で5回行った。

b. 土壌に代わる培地素材

容器，餌と供試虫は，上記の試験と同じ条件のものを用いた。但し，供試虫密度は，一容器当たり2対とした。含水量は，黒ボク土を対照として，各素材の湿り気が手で握った感触でほぼ同様になるように調

表2-19 供試混合土の圃場容水量，含水量及び4ℓ当り重量

混合比		圃場容水量	含水量(%)	重量(kg)
黒ボク土のみ		51.3	34.2	4.4
黒ボク土：川砂				
3	1	37.5	23.5	4.5
2	1	35.9	22.0	4.6
1	1	31.0	19.3	5.1
1	2	27.4	15.6	5.5
1	3	24.5	14.0	6.0
川砂のみ		22.1	12.4	6.1

整した。特に，オガクズについては水及び黒ボク土を混合する重量比率を4水準設けて比較し，さらに黒ボク土でオガクズ培地の表面を被覆した処理も行った。30℃条件下で2週間摂食と産卵をさせたあと，培地中に埋め込んだ育児球数とその中で発育した幼虫数を調べた。

(エ) 飼育培地の深さ

7ℓ容量で底部内径20cmのポリエチレン容器に，培地として黒ボク土を3cmから25cmまでの計10水準の深さで詰め，その表面に新鮮放牧牛糞を400g置いた。これに本種の成熟虫を2対放飼した。飼育条件は30℃，14L：10Dで，とくに今回は湿度条件をRH90%以上とし，これまでRH60～70%条件下の飼育で適宜行っていた給水を省いた。試験開始から約1ヶ月後に，新成虫の羽化数を調査して結果を判定した。なお，まだ蛹でも正常に羽化すると思われた個体は羽化数に入れた。反復は各水準で2～4回行った。

(オ) 人工餌の素材

試験容器，培地，供試虫，温度，日長条件は培地素材試験と同じである。人工餌として，フスマ，乾草粉，米ヌカ，小麦粉，マウス用固形飼料，市販の昆虫用人工餌に魚粉，納豆，チーズ，エビオスのいずれかを混合し，牛糞の搾出液を加えて練り餅状に成形したものを200g与えた。特にフスマと乾草粉においては牛糞の置き換え率を変えて検討した。結果判定も培地素材試験と同様に行った。

(カ) 飼育密度

a. 生息空間

5ℓ容量（口径20cm，底径16cm，深さ20cm）と10

ℓ容量（口径25cm，底径20cm，深さ25cm）のポリエチレン容器に，黒ボク土をそれぞれに4ℓと8ℓ詰めた。これに本種の成熟成虫を1，2，4，8及び16対ずつ放し，餌量不足による産卵抑圧効果が起こらないよう，新鮮放牧牛糞1,500gを2日毎に3回に分けて与えた。放飼7日後に産卵数を調べた。

b. 餌量と産卵数

10ℓ容量のポリエチレン容器に，上と同様の混合土を8ℓ詰め，本種の成熟成虫を1，2，4，8及び16対ずつ放した。新鮮放牧牛糞300gを1回与えたものと，2回与えて600gとした区を設けた。これらの量は，8対や16対密度において完全に餌や育児球造りに利用され尽くしてしまう量であった。放飼7日目に土中に埋め込まれた育児球数を調べ，十分に餌を与えた区（1500g区）と比べた。

試験a.，b.とも，環境条件は気温が30℃，日長は16L：8Dであった。繰り返し数はa.，b.両試験の1，2，4，8及び16対においてそれぞれ，6，5，4，3及び3回とした。

ウ. 研究結果

(イ) 飼育温度

産卵は18℃より認められ，21℃で急増した。その後30℃までは温度が高くなるにつれ産卵は活発にな

り，30℃と33℃でピークを，36℃では減少傾向を示した。産卵ピーク時の1対当たり7日間の産卵数は33.3卵であった（表2-20）。

(ロ) 飼育日長

30℃における明期24時間条件では，産卵数は約13卵であり，明期8時間，12時間及び16時間条件での産卵数と比べて有意に減少した（表2-21）。同様な傾向は24℃でも見られることから，この明期24時間条件は本種の産卵活動に不適であることが明らかになった。一方，暗期24時間条件では，30℃でやや減少傾向は見られたものの，両温度条件下で有意な産卵数の減少は認められなかった。8時間，12時間及び16時間照明では，24℃でいずれも約18～22卵，30℃では約23～25卵であり，各日長条件下での産卵数に差は認められなかった。

(ハ) 飼育培地

a. 黒ボク土と川砂の混合比

試験した全ての土壌条件で30個前後の育児球が造られた。各水準の育児球数を5%の有意水準で，Kruskal-Wallis検定とそれに基づくScheffe法による多重比較を用い検定したが，それらの間には有意な差は見られなかった。平均育児球数は混合比率が黒ボク土2：川砂1のときに35個で最大となり，比

表2-20 飼育温度と適当り産卵数との関係

飼育温度(℃)	12	15	18	21	24	27	30	33	36
2対当り育児球数 (標準偏差)	0 (0)	0 (0)	1.9 (1.5)	15.4 (9.1)	36.7 (11.5)	53.7 (9.8)	66.6 (10.1)	62.5 (11.9)	48.5 (11.6)

表2-21 異なる日長条件下における適当り産卵数*

日長条件**	飼 育 温 度	
	24℃	30℃
	平均値 ± 標準偏差	平均値 ± 標準偏差
0 L - 24 D	20.6 ± 4.31 a ***	16.1 ± 2.64 ab
8 L - 16 D	21.1 ± 6.47 a	23.9 ± 4.58 b
12 L - 12 D	21.9 ± 4.91 a	24.9 ± 4.02 b
16 L - 8 D	18.6 ± 4.50 a	22.5 ± 3.02 b
24 L - 0 D	12.6 ± 6.32 a	13.3 ± 2.60 a

* 各処理とも反復は8回

** L：明期時間 D：暗期時間

*** 各飼育日長条件下において異符号間に有意差（ $P < 0.05$ ）。

全般的にみると、川砂ではその比率が75%以上のときに育児球が少なくなる傾向が見られたが、黒ボク土ではこれを単独で用いた場合でも平均33.5個の育児球が土中に造られ、これと砂とを混合した場合と同様な結果が認められた(表2-22)。

混 合 比	育 兒 球 數	
	平 均 值	± 標 準 偏 差

育児球が造られた素材はオガクズ、モミガラだけであった。育児球数は黒ボク土21.5個、オガクズ18.0個、モミガラ2.0個で、オガクズで対照の黒ボク土に近い値が得られた。しかし発育虫数は黒ボク土17.0個体に対し、オガクズ1.5個体とごく僅かであった(表2-23)。オガクズにおける発育虫数の減少

培地素材	反復数	育児球数	発育幼虫数
黒ボク土	2	21.5	17.0
破碎軽石	2	0	0
オガクズ	2	18.0	1.5
バーミキュライト	2	0	0
モミガラ	2	2.0	0
人工水苔	2	0	0
水 苔	2	0	0
木材チップ	2	0	0
合成樹脂チップ	2	0	0

は、容器底部に造られた育児球が、給水過剰のため、高含水量となり幼虫の発育に不適な状態になっていたからと判断された。オガクズでの発育幼虫数を多くするために給水を行わなかった場合の含水率、黒ボク土との混合割合等について試験した結果を表2-24に示す。含水量は50.0%で育児球数、発育幼虫数とも最も多く、57.0%以上では発育幼虫数が著しく減少した。黒ボク土の混合割合は10%から70%の範囲では育児球数、発育幼虫数とも大きな違いは見られなかった。水分の蒸散を抑える目的で、オガクズの表面を黒ボク土で1ないし2cmの厚さに覆った場合には、黒ボク土とほぼ同様の育児球数、発育幼虫数が得られた。

処 理 法	育 児 球 数	発 育 幼 虫 数
黒ボク土単体 含水率 25.0 %	21.5	19.5
オガクズ単体 含水率 50.0 %	16.0	12.0
57.0	18.0	1.0
62.0	5.0	0.0
66.0	0.0	0.0
オガクズ 9 + 黒ボク土 1	24.0	21.0
7 3	23.0	18.5
5 5	18.0	16.0
3 7	23.0	20.0
オガクズ + 黒ボク土被覆 1 cm	20.0	15.5
2	24.0	21.5

表 2-25 フン虫飼育培地の深さと羽化数の関係

深 さ	羽 化 数				
	No. 1	2	3	4	平均
3 cm	2	4	16	24	12.0
4	2	13	15	22	13.0
5	14	16	28	37	23.8
6	16	38	45	49	37.0
7	13	42	46		32.3
9	24	24	31		26.3
12	10	22			16.0
16	16	19			17.5
20	15	23			19.0
25	22	30			27.0

(イ) 飼育培地の深さ

いずれの深さの培地でも、成虫が羽化してきた（表 2-25）。しかし、その数は同じ深さの培地でも、変動が大きかった。培地の深さ 3 cm と 4 cm での羽化数は、平均 11.5 個体と 13.0 個体であり、深さ 5 cm 以上の培地での羽化数の平均 16.0~37.0 個体に比べると少なかった。最も多い羽化数は、6 cm の培地での平均 37.0 個体であった。いずれにしても、深さ 5 cm 以上の培地間では、羽化数に有意差は認められなかった。

(ロ) 人工餌の素材

フスマでは、牛糞の 75% を置き換えても、ほぼ牛

糞に近い育児球数と発育幼虫数を示した（表 2-26）。牛糞搾出液を加えたフスマのみでも、育児球数においては牛糞と同様の結果が得られたが、幼虫の発育は著しく劣った。乾草粉、米ヌカ、小麦粉、マウス用固形飼料、市販の昆虫用人工餌については、どれも好結果は得られなかった。

(カ) 飼育密度

a. 生息空間

産卵数は、8 ℓ 区では 8 対まで供試成虫密度が増加するとともに増え、1, 2, 4 及び 8 対でそれぞれ 34.0, 78.2, 113.5 及び 166.0 であった。また、1 対当たりでは約 20~40 の産卵が見られた（表 2-27）。16 対では産卵数は 137.7 であり減少傾向を示した。4 ℓ 区では 4 対まで供試親密度が増加するとともに増え、1, 2 及び 4 対ではそれぞれ 37.0, 82.8 及び 119.8 であり、1 対当たりの産卵数も約 20~40 であり 8 ℓ 区と同様であった。8 と 16 対では、産卵数はそれぞれ 106.0 と 57.0 に減少した。

b. 餌 量

餌を十分に与えた区では、8 対まで産卵数は増加し続け 166.0 となり、16 対でも 137.7 個形成された（表 2-27）。餌量を増加することにより最適密度や産卵数も大きくなった。600 g に制限した区においては各密度で産卵数は減少し、特に 8 と 16 対の高密度区で半減し、次世代生産は 4 対において 82.0 と最多となった。餌量をさらに 300 g に制限すると、産卵数は 1 対から 4 対までは 50~60 前後で、親密度が増えても変わらないが 8 対と 16 対では 35 近くまで減

表 2-26 フン虫飼育用人工餌としての素材処理法試験

処 理 法	試験回数	育児球数	発育幼虫数
牛 糞 10	4	20.5	16.0
牛 糞 5 + フスマ 5	2	16.5	14.0
牛 糞 2.5 + フスマ 7.5	1	17.0	14.0
牛 糞 1 + フスマ 9	2	14.0	6.0
フスマ 10	3	19.5	4.3
フスマ 9 + ペクチン 1	1	13.0	4.0
フスマ 9 + エビオス 1	2	8.5	0
フスマ 7 + 小麦粉 3	1	3.0	0
フスマ 7.5 + 昆虫用人工餌 2.5	1	6.0	0
乾草粉 10	1	2.0	0
乾草粉 5 + 牛 糞 5	1	14.0	8.0

表 2-27 培地と餌の量的条件を変えた場合の各成虫密度における総産卵数

培地量	餌量	成虫密度 (対)				
		1	2	4	8	16
8 ℓ	1.5 kg	34.0 ± 5.1*	78.2 ± 17.0 (39.1)**	113.5 ± 15.3 (28.4)	166.0 ± 49.7 (20.8)	137.7 ± 23.7 (8.6)
	0.6	48.8 ± 10.0	56.6 ± 1.5 (28.3)	82.0 ± 8.3 (20.5)	73.3 ± 2.5 (9.2)	56.7 ± 11.8 (3.5)
	0.3	48.5 ± 6.5	52.4 ± 4.5 (26.2)	59.8 ± 4.2 (15.0)	36.0 ± 6.6 (4.5)	36.7 ± 9.0 (2.3)
4 ℓ	1.5	37.0 ± 8.3	82.8 ± 10.1 (41.4)	119.8 ± 7.3 (29.8)	106.0 ± 4.0 (13.3)	57.0 ± 30.4 (3.6)

* 平均値 ± 標準偏差

** 1 対当り産卵数

少した。

エ. 考 察

産卵に関しての最適温度は、本種がアフリカと南アジアの熱帯原産種であること³⁾から予想できるように30℃と高温であった。しかし同時に、21℃から27℃までも、7日当り1対で約10～25卵と比較的多くの産卵がみられ、本種の温度適応能力の高さが示された。このことが、すでに放飼が進められているオーストラリアやアメリカ合衆国においては、亜熱帯のみならず温帯地域にまで分布を拡大している⁴⁾要因の一つと考えられた。

産卵は明期24時間条件においては抑圧された。フン虫の産卵数を急激に減少させる要因としては、夜間採餌性のフン虫の1種 *Euoniticellus intermedius* における絶食の効果が報告されている⁹⁾。これによると、3日間の絶食により卵の50%以上が体液中に再吸収される。本種と同様、夜間に繁殖のための採餌活動を行う *Onitis caffer* でも、その産卵数は、全明のような極端な飼育条件下では、5日以内の短い処理期間でも抑制される¹⁾⁶⁾。本種や *Onitis caffer* においては、全明条件で採餌活動が抑制されて栄養条件が悪化し、これが産卵数に影響した可能性が考えられる。しかし、日長と産卵数との関連を明らかにするためには、本種の明期と暗期における採餌活動や産卵活動及び卵管内外における卵吸収の実態を解明する必要がある。

飼育土壌としては、黒ボク土と川砂の混合土の場合、その混合比率によって産卵数に差は見られず、本

種が土壌に関して比較的広い適性を持っていることが示唆された。土壌に代わる培地としては、オガクズが最も適していることが判明した。本素材は重量が黒ボク土の約半分と軽く、黄色を呈していて黒褐色の育児球と区別しやすい利点があった。また、水洗いも可能で、数回繰り返して使用することができた。しかし、オガクズは黒ボク土に比べて水分の蒸散が大きかった。それを補うため、表面を黒ボク土で1～2cmの厚さに覆うことにより、卵から成虫の羽化する期間、当初の含水比をほぼ安定して維持することが可能となった。これによりオガクズは、ほぼ黒ボク土と同様の育児球と発育幼虫数を示すと考えられた。オガクズと水との混合率はフン虫の造巢活動に影響し、水が62%以上になると育児球数が減り、発育幼虫数も激減した。また育児球はできても、その中に水が浸透して幼虫が溺れ死んでいる例が多数見られた。このことは、放飼地における土壌含水量が本種の産卵と発育に大きく影響することを示唆している。

培地は浅いほどフン虫が牛糞の埋め込みに費やすエネルギー量が少なくて済み、産卵数や生存率へ好影響が期待される。また、飼育作業も大幅に軽減される。Blume and Aga²⁾は、*Onthophagus gazella* の室内での大量飼育に深さ25cmの培地を用いている。また、本種の草地における糞埋め込みの深さは5cm～33cmまでの間で見られ、大部分の育児球は13cm～15cmの間に埋め込まれている⁷⁾。このことを参考にして、著者らは培地の深さを約16cmにして本種の室内飼育

を行って、満足すべき結果を得ている¹⁰⁾。本研究では飼育培地の深さは、それが5 cm以上であれば羽化数にあまり影響しないことが明らかになった。しかしこれは湿度RH90%条件下での飼育結果であり、従来の飼育での湿度RH60~70%前後の条件では変動することも予想される。本種と同様に地中に育児球を造り産卵するPhanaeus属では、同一土壌でも、湿度が高ければ地表近くに、反対に乾燥地では相対的に地中深く産卵する⁵⁾。これより、最適な培地の深さは、湿度もしくは含水量に関係していると考えられ、培地を浅くするには環境条件を高湿にすることが重要であると示唆された。

人工餌については、世界的においても開発されていない。本研究では育児球を造る素材としてフスマが有望と考えられたが、幼虫発育の点で牛糞に劣り、栄養的に問題があることが示唆された。

最も多く次世代個体が得られる成虫密度は、培地量8ℓに8対、同じく4ℓでは4対と考えられ、生息空間の大きさによって異なった。これらの結果より産卵に効率的な飼育成虫密度は1ℓの土壌に1対であることが示唆されるが、これについては、容量の大きさや培地の深さを変えた試験でさらに検討してみる必要がある。培地量4ℓと8ℓ区において、1及び2対放飼で共にほぼ同数の産卵数が得られたことより、これらの密度では生息空間における密度効果が働かなかったことが示唆される。培地量が少なければ、餌が豊富にあっても成虫密度が高くなると産卵数が減少することは、大量飼育の培地量決定において重要な意味がある。産卵は牛糞を培地に埋め込んでつくった育児球1個に1卵ずつ行われるので、この育児球を埋め込む空間をめぐる競争が起き、それが密度効果として表われたものと考えられた。培地量4ℓと8ℓの区において1及び2対放飼では生息空間に対する密度効果が働かなかったことが示唆されることは先に述べたが、餌量300g区では、この密度レベルにおいても産卵数の抑圧が見られ、これは餌量における密度効果によることが考えられた。空間に関する試験結果より、8と16対では餌量の他に空間に対する密度効果も重なって働いたものと考えられた。Blume²⁾は、90ℓの飼育土壌に10対の成熟虫を10日間放し2000ccの糞を与え、新成虫を約165個体得ている。本試験結果では、8ℓの土壌に8対の成熟虫を7日間放し1500g(約1800cc)の糞

を与え166.0卵得ていることより、さらに飼育培地の効率の利用の可能性が示唆された。

オ. 今後の問題点

本種の大量飼育における温度、培地等の個別の環境条件の検討についてはほぼ終わったが、実用化においては、これらの総合化と機械化が必要とされる。また、本種は大量の餌を消費し、その安定確保が不可欠であるので、人工飼料の開発が望まれる。

カ. 要 約

ガゼラエンマコガネの産卵活動は18℃より始まり、30℃でピークを示した。全明条件では産卵数が減少した。黒ボク土と川砂との混合土では、どの混合比率でも産卵数に差はなかった。飼育用軽量培地としてオガクズが利用できた。特に黒ボク土で表面を1から2 cm被覆すると、黒ボク土と同様の発育幼虫数が得られた。湿度RH90%以上の条件下では、培地の深さは5 cm以上あれば増殖に適しており、給水が省けた。人工餌素材としてはフスマが有望である。産卵数に及ぼす放飼成虫の密度効果は、餌量だけでなく、培地量を通して働いた。

キ. 参考文献

- 1) Aschenborn, H. H. A., Problems associated with mass rearing of dung beetles, Report of an Australian Meat Research Committee Workshop, 128~151 (1982)
- 2) Blume, R. R. and Aga, A., *Onthophagus gazella*: Mass rearing and laboratory biology, *Environ. Entomol.*, 4 (5), 735~736 (1975)
- 3) Blume, R. R., Matter, J. J. and Eschle, J. L., *Onthophagus gazella*: Effect on survival of horn flies in the laboratory, *Environ. Entomol.*, 2(5), 811~813 (1973)
- 4) Division of Entomology CSIRO, Biological control of dung, Annual Report 1978 - 1979, 54~59 (1980)
- 5) Fincher, G. T., Nidification and reproduction of *Phanaeus* spp. in three textural classes of soil (Coleoptera: Scarabaeidae), *The Coleopterist Bulletin*, 27 (1), 33~37 (1973)
- 6) Fincher, G. T., Blume, R. R., Hunter, M.

- J. S. and Beerwinkle, K. R., Seasonal distribution and diel flight activity of dung-feeding Scarabs in open and wooded pasture in east-central Texas. South-western Entomologist Suppl. No 10, 1~35 (1986)
- 7) Houston, R. S., Craig, T. M. and Fincher, G. T., Effects of *Onthophagus gazella* F (Coleoptera: Scarabaeidae) on freeliving strongyloids of equids, Am. J. Vet. Res., 45 (3), 572~574 (1983)
- 8) Hunter III, J. S. and Fincher, G. T., Five new state records for the Afro-Asian dung beetle *Onthophagus gazella* (Coleoptera: Scarabaeidae), J. Entomol. Sci., 20 (1), 24~25 (1985)
- 9) Tyndale-Biscoe, M. and Watson, J. A. L., Extra-ovariolar egg resorption in a dung beetle, *Euoniticellus intermedius*, J. Insect Physiol., 23, 1163~1167 (1977)
- 10) 山下伸夫・早川博文: *Onthophagus gazella* の大量飼育法に関する研究, 1. 育児球形成活動と土壤条件, 北日本病虫研報, 40, 174~175 (1989) (山下伸夫)
- (3) ガゼラエンマコガネの定着利用を目的とした現地実証試験
- ア. 研究目的
- わが国における本種の定着性を明らかにするため, 海外の放飼状況から定着可能境界域と判断された鹿児島県本土と離島の放牧地において, 成虫放飼とその後の追跡調査を行うとともに, 牛糞埋め込み能力や越冬可能性について現地試験を行った。同時に, 本種の放飼が在来フン虫やハエ類相に及ぼす効果を
- 評価するため, 定着前における放飼地の在来フン虫やハエ類の発生調査を行った。
- イ. 研究方法
- (7) 成虫放飼試験
- 室内試験で得られた導入種ガゼラエンマコガネの越冬臨界温度約6℃を考慮して, 鹿児島県下における本種の放飼場所として5ヶ所を選定した(表2-28)。それぞれにおける1990年の放飼日と個体数を図2-19に示す。
- 入来, 徳永, 上屋久牧場では放飼後, 翌年1月まで, 毎月1回草地と林地にポリエチレン製のトラップ²⁾を6個設置し, 本種の個体数の消長を調査した。上屋久, 口永良部, 百之台牧場では1991年6~7月に設置したトラップを30ヶ設置し, 同時に放牧牛糞塊の観察を行って本種の生息を調査した。
- (i) 放飼場所におけるガゼラエンマコガネの牛糞埋め込み能力
- 徳永牧場において, 9月17日に, ポリエチレン製網バスケット(内容量12ℓ, 蓋付き)に8分目ほど土を入れ, 牛糞を置いてフン虫を放飼し, それを地表面に埋設する方法で試験した。1容器当たり牛糞は200g, フン虫はガゼラエンマコガネ, カドマルエンマコガネをそれぞれ別容器に無放飼, 2, 4, 6対とし, 2反復で行った。牛糞埋め込み量は, 10月31日に調査した。
- (ii) 放飼場所におけるガゼラエンマコガネの越冬状況
- 放飼場所での本種の越冬可能な発育ステージを明らかにするため, 上記と同様に供試虫を埋設する方法を用いて, 入来牧場, 徳永牧場, 頴娃町農業改良普及所, 上屋久牧場で行った。前者2ヶ所では1990年11月中旬に, 後者2ヶ所では1991年1月中旬に, 3齢幼虫, 蛹及び成虫別に, 各容器に30~60個体を供試した。1990年12月, 1991年1月, 同4月に生死

表2-28 ガゼラエンマコガネの鹿児島県下における放飼場所

場 所 名	所 在 地	標 高	放牧地面積	放牧牛頭数
入来牧場	薩摩郡入来町	500~600 m	90 ha	200
徳永牧場	頴娃町揖宿郡	200	30	100
上屋久牧場	熊毛郡上屋久町	100	60	40
口永良部牧場	熊毛郡上屋久町	50	100	100
百之台牧場	大島郡喜界町	100	80	110

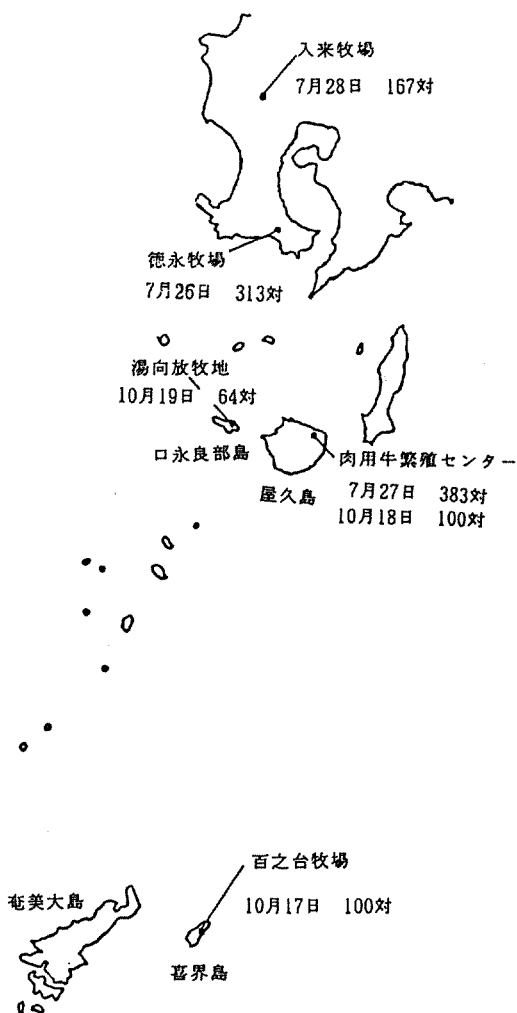


図 2-19 ガゼラエンマコガネの放飼地点と放飼日及び放飼個体数 (1990年)

と発育状況を調査した。生死は個体の体色や弾力性、光沢等を観察し判定した。

(c) 放飼場所における在来フン虫相の調査

a. 入来牧場、徳永牧場におけるフン虫の種構成
ざるトラップ法により、1990年6月から翌年1月まで1回、草地と林地にそれぞれトラップを6個設置し、牛糞に飛来するフン虫の種構成を調査した。

b. その他の牧場におけるフン虫の種構成

口永良部牧場と百之台牧場で、1990年9月下旬に1回、上記と同様に草地と林地にトラップを各5個設置して、フン虫の種構成を調査した。

(d) 放飼場所におけるハエ類の発生状況

a. 入来牧場、徳永牧場におけるハエ類の牛体飛来消長

黒毛和種放牧牛(成牛)1頭を調査牛として、6月～12月に毎月1回、牛体に飛来するハエ、アブ類を、捕虫網を用いて10分間採集した。

b. その他の牧場におけるハエ類の発生状況

上屋久牧場、口永良部牧場、百之台牧場で、10月下旬に、放牧牛体から無作為に10分間、捕虫網でハエ類を採集した。

ウ. 研究結果

(ア) 成虫放飼試験

入来、徳永、上屋久、口永良部では越冬後において本種の生存が確認できなかった。しかし、喜界島では牛糞塊の見取り調査より生存成虫が、放飼した翌年に2個体確認でき、本島での定着増殖に期待がもてた。

放飼場所に近いアメダス観測地点における月平均気温(図2-20、昭和54～63年までの10年間平均)は、夏季7、8月には26～29℃の範囲にあって、地点間であまり差がないが、最低となる冬季1月には宮之城5.0℃、指宿7.8℃、屋久島11.0℃、名瀬14.3℃となっており、地点間で大きな開きがある。月降雨量は、3月～6月には屋久島では他の3地点より著しく多く、特に6月には600mmを越えている。

(イ) 放飼場所におけるガゼラエンマコガネの牛糞埋め込み能力

導入種ガゼラエンマコガネの牛糞埋め込み率は、在来種カドマルエンマコガネに比べていずれの放飼密度でもきわめて高く、6対では後種の3倍以上となっていた(表2-29)。

(ロ) 放飼場所におけるガゼラエンマコガネの越冬状況

11月に3齢幼虫で供試した個体は、12月には蛹にまで発育して生存していたが、1月には全て死亡していた(表2-30)。成虫で供試した個体も1月には全て死亡していた。しかし、蛹で供試した個体は発育は止まっていたものの、入来と徳永の両牧場ともそれぞれ1個体生存していた。しかし、4月の調査では全ての個体が死亡していた。この期間における設置深での最低地温と最高土壌含水率は、それぞれ入来牧場で3℃、74%、徳永牧場で9℃、55%であった(図2-21、2-22)。顕娃町農業改良普及

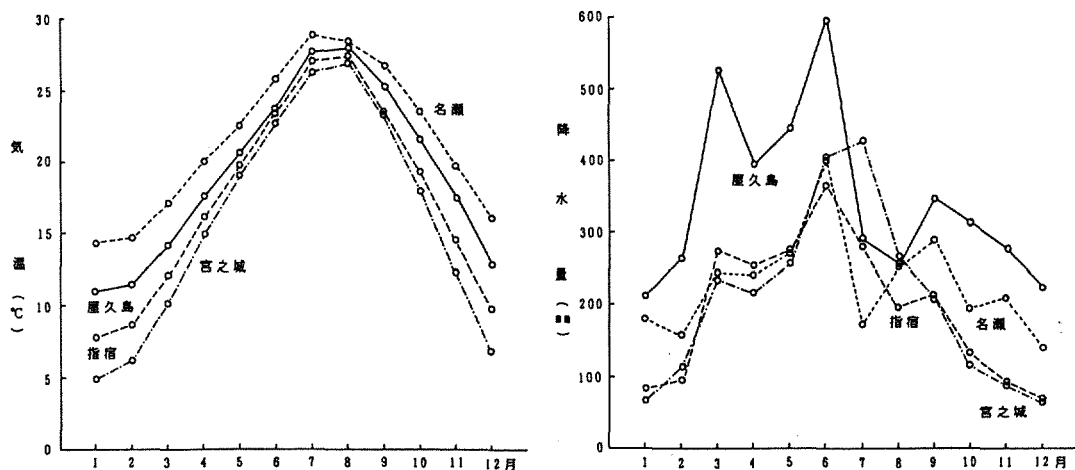


図 2-20 放飼場所の近接地点におけるアメダスデータ

表 2-29 放飼場所（徳永牧場）におけるガゼラエンマコガネと
カドマルエンマコガネの牛糞埋め込み能力の比較

供試虫数	ガゼラエンマコガネ		カドマルエンマコガネ	
	地上残糞量	埋め込み率	地上残糞量	埋め込み率
無放飼	24.5 g	0 %	24.5 g	0 %
2 対	18.5	24.5	21.5	14.3
4 対	19.0	22.4	24.5	0
6 対	7.5	69.4	20.0	18.4

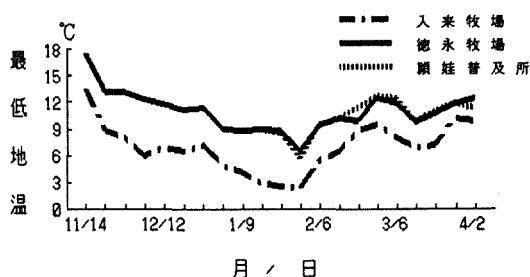


図 2-21 越冬試験地における最低地温

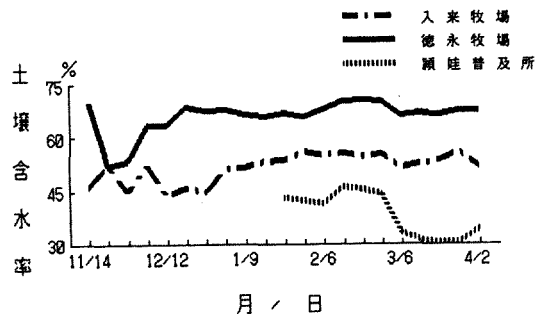


図 2-22 越冬試験地における土壌含水率

所では、1月に供試した蛹で、活動性は殆ど認められないものの、個体の色、つや及び弾力性から判断し生存していると思われる個体があった。ここでは、気温は徳永牧場と同様であったが、土壌含水率は比較的低かった。上屋久牧場では供試虫の総てが死亡していた。

(イ) 放飼場所における在来フン虫相の調査

a. 入来牧場、徳永牧場におけるフン虫の種構成
採集されたフン虫は入来牧場 2 科 4 属 18 種 4376 個体、徳永牧場 2 科 3 属 16 種 4961 個体で、両牧場とも種数、個体数が多かった。そのなかで糞を地下に埋め込む種は、入来牧場 10 種 1258 個体、徳永牧

表 2-30 越冬試験におけるガゼラエンマコガネの发育ステージ別生存(死亡)個体数

調査時期	設置時发育 ステージ	設置場所	調査時发育ステージ			消失個体数
			成 虫	蛹	3 齡幼虫	
12月	3 齡幼虫	入来牧場	0 (1)	6 (7)	1 (34)	
		徳永牧場	0	4 (1)	1 (54)	
	成 虫	入来牧場	0 (57)			
		徳永牧場	0 (60)			
1 月	蛹	入来牧場	0 (19)	1 (10)		
		徳永牧場	0 (19)	1 (11)		
	3 齡幼虫	入来牧場		0 (5)	0 (25)	
		徳永牧場			0 (30)	
	成 虫	入来牧場	0 (39)			21
		徳永牧場	0 (32)			28
		額娃普及所	0 (21)			39
		上屋久牧場	0 (52)			8
4 月	蛹	入来牧場	0 (20)	0 (2)		8
		徳永牧場	0 (15)	0 (5)		10
		額娃普及所	0 (4)	7 (14)		5
		上屋久牧場	0 (10)	0 (20)		0
	3 齡幼虫			2		
		入来牧場	0 (1)	0 (2)	0 (22)	5
		徳永牧場			0 (30)	0
		額娃普及所			0 (27)	3
		上屋久牧場			0 (27)	3

設置時期：入来，徳永牧場は11月中旬；額娃普及所，上屋久牧場は1月中旬。

場 8 種 1253 個体で，全採集個体数に占める割合はそれぞれ 28.7% 及び 25.3% であった。最優位種は，入来牧場では草地でオビマグソコガネ，林地でフチケマグソコガネ，徳永牧場では草地，林地ともフチケマグソコガネとなっており，いずれも牛糞の埋め込みに関与しない種であった。牛糞を埋め込む種のなかでは，両牧場ともカドマルエンマコガネが最優位種となっており，全採集個体数に占める割合は入来牧場 16.1%，徳永牧場 22.1% であった(表 2-31)。

b. その他の牧場におけるフン虫の種構成

採集されたフン虫は，口永良部牧場では 3 属 5 種 229 個体であったに対し，百之台牧場ではわずか 1 属 1 種 4 個体に過ぎなかった。しかも，百之台牧場での牛糞埋め込み種はマルエンマコガネのみであり，在来種で能力が優れているカドマルエンマコガネは全く分布していなかった(表 2-32)。このことは

百之台牧場においては，導入種ガゼラエンマコガネの放飼定着化による牛糞埋め込みの期待が特に大きいことを示唆している。

(4) 放飼場所におけるハエ類の発生状況

a. 入来牧場，徳永牧場におけるハエ類の牛体飛来消長

両牧場ともアブ類の発生はきわめて少なかった。しかし，吸血性ハエ類のサシバエは多く，特に徳永牧場では 10 月に顕著な発生のピークがみられた。同じ吸血性ハエ類でもミナミサシバエは少なかった。非吸血性ハエ類のイエバエ類は，入来牧場では 6～9 月に，徳永牧場では 9 月に多かった(図 2-23)。イエバエ類では，南西諸島における沖縄糸状虫症の媒介者として重要なウスイロイエバエが最優位種で，その他ノイエバエ，コイエバエが含まれていた。サシバエ，イエバエ類とも，気温が低下した 12 月には

表 2-31 入来牧場、徳永牧場におけるフン虫の種構成

種 類	入 来 牧 場		徳 永 牧 場	
	個体数 (%)		個体数 (%)	
☆ゴホンダイコクコガネ	42	(1.0)	0	
☆オオセンチコガネ	59	(1.3)	5	(0.1)
☆センチコガネ	63	(1.4)	19	(0.4)
☆カドマルエンマコガネ	703	(16.1)	1097	(22.1)
☆クロマルエンマコガネ	114	(2.6)	18	(0.4)
☆コブマルエンマコガネ	17	(0.4)	67	(1.4)
☆ツヤエンマコガネ	3	(0.1)	0	
☆フトカドエンマコガネ	245	(5.6)	31	(0.6)
ウスイロマグソコガネ	147	(3.4)	35	(0.7)
エゾマグソコガネ	75	(1.7)	23	(0.5)
☆オオフタホシマグソコガネ	3	(0.1)	13	(0.3)
☆オオマグソコガネ	9	(0.2)	3	(0.1)
オビマグソコガネ	1343	(30.7)	525	(10.6)
コマグソコガネ	21	(0.5)	205	(4.1)
フチケマグソコガネ	1256	(28.7)	2739	(55.2)
ヌバタママグソコガネ	41	(0.9)	124	(2.5)
ネグロマグソコガネ	118	(2.7)	5	(0.1)
合 計	4376	(100.1)	4961	(100.2)

☆牛糞を地下に埋め込む種。

表 2-32 口永良部牧場、百之台牧場におけるフン虫の採集数

種 類	口 永 良 部 牧 場		百 之 台 牧 場	
	草 地	林 地	草 地	林 地
☆カドマルエンマコガネ	162	44	0	0
☆マルエンマコガネ	0	0	3	0
☆ヒメコエンマコガネ	1	2	0	0
ヨツボシマグソコガネ	9	0	0	0
ウスイロマグソコガネ	9	1	1	0
コマグソコガネ	1	0	0	0
計	182	47	4	0

☆牛糞を地下に埋め込む種。

発生が激減した。

b. その他の牧場におけるハエ類の発生状況

牛体で採集されたハエ類は、上屋久牧場 3 属 4 種 46 個体、口永良部牧場 2 属 3 種 86 個体と、両牧場とも種数、個体数が多く、ウスイロイエバエが優位種であった。それに比べ口永良部牧場でのハエ類は 1

属 2 種 6 個体ときわめて少なかった(表 2-33)。

エ. 考 察

ガゼラエンマコガネの育児球は地表面下 10~20 cm に作られるので³⁾、本種の越冬においては、その深さ付近の地温や土壌含水率が実際には問題になる。気象条件からみて、放飼場所における本種の越冬定

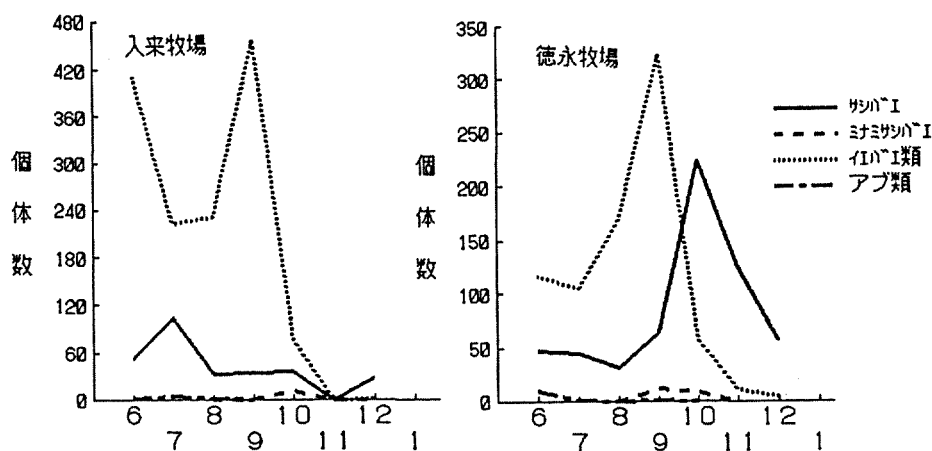


図 2-23 入来牧場、徳永牧場における牛に飛来のハエ類消長

表 2-33 上屋久牧場、口永良部牧場、百之台牧場におけるハエ類の採集数

種 類	上屋久牧場	口永良部牧場	百之台牧場
サシバエ	3	0	0
ミナミサシバエ	0	13	0
ウスイロイエバエ	20	52	0
イエバエ	19	0	1
フタスジイエバエ	4	21	0
リュウキュウミドリハナバエ	0	0	5
計	46	86	6

着の可能性は入来牧場では低く、喜界島百之台牧場では高く、徳永牧場、上屋久牧場、口永良部牧場ではほぼその中間にあるものと予想される。1991年7月における百之台牧場での成虫生存個体の確認は、この予想を裏付けるものである。各発育ステージを用いた現地試験から、本種の越冬性は、地温の他にも土壌含水率に大きく影響を受ける事が考えられた。今後、放飼地域の設定には、これも十分に考慮すべきであろう。

ザルトラップ等でのモニターリングで本種の個体を捕獲するためには、放飼個体が越冬し大量に繁殖していることが必要である。オーストラリアで放飼され定着した導入フン虫では、多くの場合、定着は放飼後2～3年の継続的調査で確認されている¹⁾。今回、放飼したガゼラエンマコガネのうち耐寒性個体が越冬すれば、本種の発育ゼロ点や有効温度から次の年からは年4回以上の世代交替が可能と思われる。しかし、今回は、どの地点においても放飼個体

数が少なく、喜界島を除けば、越冬の可能性も不明のままなので、今後、放飼地の定期的なフン虫の調査を行うと共に、再度、ガゼラエンマコガネの大量放飼を行う必要があると思われる。

埋め込み能力の試験では、ウスイロイエバエの卵を各容器当り50個接種してハエ成虫の羽化数をみることにしていたが、容器の隙間からアリが侵入してハエを捕食してしまったために、その調査はできなかった。しかし、これまでの室内試験の結果から、この程度の牛糞埋め込み率があれば、ハエ類に対する抑圧効果は十分に発揮されたものと推定される⁴⁾。

百之台牧場ではハエ類の発生がきわめて少なかった。その原因としては、1991年当初よりハエ、マダニ類の駆除のために、殺虫剤含有イヤタッグを放牧牛に装着し、さらに定期的に殺虫剤のポアオン法を畜体に施用していたことがあげられる。百之台牧場でも、このような殺虫剤の施用以前には、ハエ類の発生はきわめて多く、また、それに起因した乳房

炎の発生も多かったとのことである。しかし、放牧牛の排泄糞が、それを摂食するハエ類の発生が少ないことによって分解されずに長期間草地上に残り、牛糞下の牧草生育が抑圧されるという弊害が一部伺われた。この牧場での牛糞分解者としては、貧弱なフン虫相やハエ類以外には在来種のコキブリ類しかないで、この面からも、糞分解能力に優れた導入種ガゼラエンマコガネの放飼利用が期待できる。

オ. 今後の問題点

分布北限近くと思われる試験地域にフン虫の定着を図るためには継続して多量の放飼を行う必要がある。また、このためには大量飼育システムの開発が不可欠である。

フン虫利用においては、定着利用がコスト的にも最も理想的と考えられるので、北日本に定着可能な種の導入が望まれる。特に、ハエと同様に昼行性で、有機物の分散に役立つフンコロガシ類の利用が望ましい。

九 要 約

1990年、7月と10月にガゼラエンマコガネ成虫を九州本土2か所、屋久島1か所、口永良部島1か所、喜界島1か所の計5か所に、1か所当り60～400対放飼し、越冬の可能性と繁殖動向について追跡調査を行った。1991年7月現在、喜界島で生存個体を確認し、定着利用の期待がもたれた。放飼場所では、導入種のガゼラエンマコガネは、在来種では最も優れたカドマルエンマコガネの約3倍の牛糞埋め込み能力を示し、現地におけるハエ類防除に有効と考えられた。鹿児島県本土の南部で、導入種が蛹で越冬する可能性がうかがわれた。放飼場所における在来フン虫と放牧牛に寄生するハエ類相を明らかにし、導入フン虫利用の有望性と必要性を指摘した。本種の定着と増殖、ハエ類に対する抑圧効果の発現を確認する上で、次年度にも調査を継続する必要がある。

キ. 引用文献

- 1) Australian meat research committee, The biological control of dung in Australia, A report of an AMRC Workshop, Appendix, (1982)
- 2) 早川博文, 放牧家畜の糞公害とフン虫利用によるその対策, 畜産の研究, 26(12), 1490～1492(1977)
- 3) Houston, R.S., Craig, T.M. and Fincher, G.T., Effects of *Onthophagus gazella* F (Coleoptera: Scarabaeidae) on freeliving strongyloids of equids, Am. J. Vet. Res., 45(3), 572～574(1983)
- 4) 山下伸夫・長谷川勉・安田壮平: 海外導入ふん虫 *Onthophagus gazella* の牛糞埋め込み行動を利用したノイエバエ *Musca hervei* の発生制御, 北日本病虫研報, 38, 177～179(1987)
(山下伸夫)
4. 多食性天敵昆虫の人工卵等による増殖と害虫防除技術の開発
 - (1) クサカゲロウの代替餌及び人工卵による飼育
 - ア. 研究目的
捕食性天敵クサカゲロウ類の利用に当たっては、餌アブラムシ類の安定大量飼育に労力を要すること、幼虫が共食いを起こし易いことなど、大量増殖にかかわる問題が溢路となっている。そこで、代替餌昆虫の探索、さらには液体人工飼料をカプセル化した人工卵の試作を行ない本天敵の安定的大量増殖技術の確立を図る。
 - イ. 研究方法
 - (ア) 代替餌の探索
ヒメクサカゲロウ (Ce), ヨツボシクサカゲロウ (Cs), クモンクサカゲロウ (Cf), タイワンクサカゲロウ (Mf), (以上茨城県つくば市産) 及び *Mallada alcestes* (Ma) (沖縄県那覇市産) の5種のクサカゲロウの幼虫について検討した。ユキヤナギアブラムシ, マメアブラムシ, *Acyrtosiphon argus* など野外で採集したアブラムシ類(A), バレイショ芽出しで増殖したチューリップヒゲナガアブラムシ(M), スジコナマダラメイガ卵(Ee), 同幼虫(E1), ノシメマダラメイガ幼虫(P1), ヒラタチャタテムシ成・幼虫, チャバネアオカメムシ及びホソヘリカメムシ初齢幼虫, マダラショウジョウバエとキイロショウジョウバエの幼虫(D1)または60℃で殺した同幼虫(Dd)を与えてMaを除く4種のクサカゲロウ幼虫を25℃, 16L8D飼育した。また, ヒラタコクヌストモドキ卵(Te)または幼虫(T1)でMaを含む5種のクサカゲロウの幼虫を飼育した。飼育は25℃, 16L8Dで行なった。
 - (イ) 人工卵の開発
液体飼料をカプセル化した「人工卵」を開発し, クサカゲロウ幼虫の餌とするために, 虫体成分を含

まない人工飼料の開発とカプセル化の方法を検討し、試作した人工卵によるCcの飼育を試みた。

人工飼料の開発：人工卵中の餌成分としてVandersantの人工飼料¹⁰⁾、鶏卵を主体とする人工飼料を用いてCc幼虫の飼育を試みた。さらにイースト抽出物、大豆たんぱく加水分解物、卵黄、蜂蜜、牛乳などを含む人工飼料を調製し、Cc、Ma及びMf幼虫の飼育を行なった。これらの人工飼料には摂食を確認するために微量のエオシンを加えた。摂食された場合は、消化管内への餌の取り込みがこの色素によって容易に確認された。人工飼料は脱脂綿小片またはクッキングペーパー小片にしみこませて与えた。

カプセル化：人工飼料にアルギン酸ナトリウム水溶液を加え、塩化ナトリウムまたは乳酸ナトリウム水溶液中に滴下してゲルカプセルを作製し、Cc幼虫に与えた。また、カプセル自動製造機（アクアカプセラー、不二パウダル社製）を用いて人工飼料を芯液とするアルギン酸ナトリウムのアクアカプセルを試作した。

(ウ) 幼虫の大量飼育

クサカゲロウの大量増殖に際して幼虫の共食いによる生存数の減少が課題とされており⁹⁾、効率的な個体飼育のための特殊な飼育容器も考案されている⁹⁾。本研究では個体飼育に細胞培養プレートの使用を検討するとともに、Teを与えたCcの集合飼育を試みた。集合飼育は90mLプラスチックカップに折り曲げた濾紙片を置きCc卵5～30個を入れてTeをCc 1卵当たり20mg与え、25℃、16L8Dで行なった。

(エ) 放飼実験

埼玉県久喜市埼玉県園芸試験場のワタアブラムシが発生しているビニールハウスのイチゴ800株にTeで増殖したCcまたはMa 2齢幼虫、各40匹（0.05匹/株）を放飼した。定植10月2日、ハウス内温度は夜間5℃、日中25～30℃に保った。12月3日（放飼前）、21日、27日及び1月8日にそれぞれ80株についてアブラムシ数を調査し、密度指数を求めた。密度指数は、各株のアブラムシ数を0（無）、1（1～29/株）、2（30～59/株）、3（60以上）で記録し、 $100 \left(\sum_{i=1}^N Fi / 3N \right)$ で表わした（Fiは各株の階級値、Nは調査株数、80）。本調査は埼玉県園芸試験場根本久技師の協力の下に実施した。

ウ. 研究結果

(ア) 代替餌の探索

Cc、Cs、Cfの3齢幼虫に各種代替餌を与えたところ、いずれもよく摂食した。但し、Dl、Ddは腐敗し易く飼育餌としては不適であったが、他の代替餌ではクサカゲロウ成虫が得られた。

この結果から、フスマ、小麦粉、米糠等で増殖が容易な鱗翅目貯穀害虫（スジコナマダラメイガ、シメダラメイガ）に注目し、若齢幼虫には卵を、3齢幼虫には幼虫を与えて飼育し、アブラムシ類による飼育結果と比較した。また共食いの影響をみるために個体飼育と集合飼育の生存率の差異についても検討した。また野外で採集した1卵塊に由来するMf孵化幼虫に、1、2齢期はEe、3齢期はP1を与えて集合飼育した（表2-34）。この結果、いずれの種でも1、2齢期にEeを与えて、アブラムシ（M）と同等かそれ以上の生存率で3齢幼虫を得た。また、CsではEeのほうがMより優れていた。

5種のクサカゲロウの3齢幼虫期を鱗翅目幼虫で飼育して成虫が得られた。とくにCcの個体飼育では孵化幼虫の73.5%が羽化し、全期間アブラムシを与えて個体飼育した場合よりも明らかに羽化率が高かった。CsのE1、P1による個体飼育では営繭までの生存率が約40%であったが、この場合も3齢期のみの生存率は60%である。Cfの生存率は全般に低く本種の飼育が他種に比べて難しいことが示唆されるが、P1を与えた場合のほうがAよりもやや生存率が高くなった。

1、2齢期には、Eeで集合飼育していずれも70%以上が3齢となり、若齢期には餌が十分であれば共食いの影響は少ないことが示唆されている。一方、3齢幼虫期には、鱗翅目幼虫を与えた場合、Ccは個体飼育では3齢幼虫の全てが営繭したが、集合飼育では約半数に減少した。CsでもE1、P1を与えた個体飼育では3齢期のみの生存率は60%で集合飼育より10%程高くなっている。また、Cfでも3齢期の生存率は集合飼育では約10%低下した。以上のように3齢脱皮から営繭までの生存率についての、集合飼育と個体飼育の差は種によって異なるが、何れも集合飼育では個体飼育の場合より低くなり、この傾向はCcで特に顕著であった。すなわちCc 3齢期には集合飼育することによって共食いの影響が強く現れることがある。なお、Mfは若齢幼虫をEeで、

表 2-34 各種の餌によるクサカゲロウ 4 種の幼虫の飼育 (25℃, 16L8D)

種 名 ^a	供試ふ化 幼虫数	餌と飼育条件 ^b		生 存 率 (%) ^c		
		I・II 齢期	III 齢期	III 齢幼虫	繭	成 虫
Cc	18	A, S	A, S	— ^d	55.6	38.9
	34	M, G	E1, P1, S	82.4	82.4	73.5
	15	Ee, G	P1, G	86.7	46.7	26.7
Cs	35	A, S	A, S	— ^d	74.3	51.4
	53	M, G	E1, P1, S	66.0	39.6	26.4
	25	Ee, G	E1, G	100.0	48.0	40.0
Cf	27	A, S	A, S	— ^d	33.3	3.0
	16	M, G	P1, S	68.8	31.3	12.5
	15	Ee, G	P1, G	73.3	26.7	6.7
Mf	12	Ee, G	P1, G	100.0	91.7	58.3

a Cc: ヒメクサカゲロウ; Cs: ヨツボシクサカゲロウ; Cf: クモンクサカゲロウ;
Mf: タイワンクサカゲロウ。

b A: アブラムシ類; M: チューリップヒゲナガアブラムシ (バレイシヨ芽出し);
Ee: スジコナマダラメイガ卵; E1: 同幼虫; P1: ノシメマダラメイガ幼虫。
S: 個体飼育; G: 集合飼育。

c 供試幼虫数に対する各ステージはじめの生存率。

d III 齢はじめの生存数は調査していない。

3 齢幼虫を P1 で集合飼育して良好な結果を得た。

以上によって、鱗翅目貯穀害虫の卵、幼虫が各種クサカゲロウの代替餌として適していることがわかった。しかし Ee は分離収集のさいに成虫の扱いが厄介なこと、成虫寿命が短く採卵期間が限られること、E1 や P1 は齢期が進むと攻撃性があるためにクサカゲロウの繭を食害し易いこと、また、幼虫が吐糸しクサカゲロウ幼虫の行動を阻害する場合があることが大量飼育では障害になりうるので、同様に小麦粉で飼育でき、成虫は飛翔し難く、また長命で、かつ幼虫がほとんど吐糸しないヒラタコクヌストモドキを増殖し、卵と幼虫を Ma を含む 5 種のクサカゲロウ幼虫に与えて飼育を試みた。T1 の収集は濾紙上に幼虫を含む小麦粉をうすく広げ、数分後に小麦粉を軽くはらい落とすと幼虫が濾紙上に残ることを利用すると容易であった。クサカゲロウ幼虫の飼育には、すべて、3 cm × 6 cm × 1.5 cm のポリスチロール箱を用い、Te はクサカゲロウ幼虫 1 個体当たり約 20mg, T1 は若・中齢幼虫を毎日数匹与えた。

飼育結果を表 2-35 に示す。Cc は 1, 2 齢幼虫

を Te で飼育すると集合飼育でやや生存率が低いが、3 齢幼虫は T1 を与えて集合飼育でも死亡がなく全個体が営繭し、孵化幼虫に対する成虫の羽化率が約 70~80% に達した。Cs では各ステージの生存率がやや低くなったが、個体飼育では前記 A (表 2-34) とほぼ等しく営繭率が 75%, 集合飼育でも孵化幼虫の半数が営繭した。Cf, Mf, Ma の 3 種は Te のみで飼ったが、Cf は集合飼育で Cs と同程度に生育した。Mf, Ma は個体飼育で成虫羽化率が 75~89% に達したが、集合飼育では生存率が低下し、とくに Mf で表 2-34 と異なり低下が著しかった。

以上のように生存率はクサカゲロウの種や、個体飼育か集合飼育かで異なるが、Te, T1 はクサカゲロウ幼虫の代替餌として有用で、とくに Cc の飼育には優れていた。

(i) 人工卵の開発

人工飼料の開発: Vandersant の人工飼料¹⁰⁾、及び鶏卵を主体とする人工飼料 (鶏卵 1 個=約 50g, フラクトース 10g, ソルビン酸 2g, 蒸留水 100ml), を脱脂綿にしみこませて Cc 孵化幼虫各 6 個体に与

表 2-35 ヒラタコクヌストモドキ卵, 幼虫によるクサカゲロウ
幼虫の飼育 (25℃, 16L8D)

種 名 ^a	餌と飼育条件 ^b		供試虫数	各ステージの生存率 (%) ^c		
	I・II 齢	III 齢		III 齢幼虫	蛹	成 虫
Cc	Te, S	Te, S	57	96.5	94.7	82.5
	Te, S	T1, S	34	100	97.1	70.6
	Te, G	T1, G	19	84.2	84.2	68.4
Cs	Te, S	T1, S	8	87.5	75.0	57.1
	Te, G	T1, G	6	66.7	50.0	33.3
Cf	Te, G	Te, G	17	100	41.2	35.3
Mf	Te, S	Te, S	12	100	100	75.0
	Te, G	Te, G	25	60.0	24.0	12.0
Ma	Te, S	Te, S	18	100	94.4	88.8
	Te, G	Te, G	20	55.0	50.0	40.0

a Cc: ヒメクサカゲロウ; Cs: ヨツボシクサカゲロウ; Cf: クモンクサカゲロウ;

Mf: タイワンクサカゲロウ; Ma: *Mallada alcestes*

b Te: ヒラタコクヌストモドキ卵, T1: 同幼虫, S: 個体飼育, G: 集合飼育 (3~5 個体 / 容器)

c 供試幼虫数に対する各ステージはじめの生存率

えたところ, よく摂食し, 8~17日間生存したが, いずれでも1個体が2齢になったにすぎなかった (餌は2~3日おきに交換)。ついで, 表2-36の飼料Aを一辺8mmのクッキングペーパー小片にしみこませて, 3×6×1.5cmポリスチロール容器の蓋下面に付着させ, 20℃, 16L8DでCc, Mf及びMa幼虫に与えたところ, 3種の各齢幼虫とも盛んに摂

食した。Ccでは, 孵化幼虫はほとんど脱皮せずに死んだが, 初齢後期以降の幼虫は3齢に至り, 3齢脱皮直後の幼虫では営巣, 羽化も認められた。Mf, Maは孵化幼虫でも一部個体が3齢まで成育したが営巣は起こらなかった (表2-37)。この餌は防腐剤を含んでいないため腐敗し易かった (餌は1日おきに交換)。そこで防腐剤を添加するとともに, 牛乳を加えた飼料B (表2-36) を作り, Teで飼育した3齢脱皮直後, 及び脱皮1日後の3齢幼虫に上記と同じ方法で与えて飼育した (20℃, 16L8D, 餌は24~36時間ごとに交換) (表2-38)。Ccの脱皮直後の3齢幼虫は20℃, 25℃でこの人工飼料の原液で50%が羽化し, 脱皮後1日の3齢幼虫では2倍希釈液でも50%が羽化した。20℃では3齢期間はTe給餌と差がない。20℃, 2倍希釈液飼育では営巣率は高いが羽化数が減少し, 齢期間の延長がみられた。この人工飼料は餌濃度が高ければ, 少なくともCc幼虫の3齢全期間を良好に飼育しうる。

カプセル化: Hassan and Hagen の人工飼料²⁾ にアルギン酸ナトリウム0.05%液を加え, マイクロチューブポンプで吸引し, ガラス細管を通して3%塩化カルシウム溶液に滴下することによって粒径1.3

表 2-36 人工飼料の組成^a

	A	B
イースト抽出物	20 g	40 g
大豆蛋白加水分解物	5 g	10 g
卵 黄	5 g	5 g
蜂 蜜	10 g	5 g
牛 乳	—	25 ml
ネオマイシン	—	90 mg
フォルマリン	—	0.5 ml
水		
総 量	150 ml	150 ml

a ほかに摂食確認のために少量のエオシンを加えた。

表 2-37 クサカゲロウ幼虫の人工飼料 (A) による飼育 (20°C, 16L8D)

種 名 ^a	供試虫の ステージ	生 存 数				
		I 齢幼虫	II 齢幼虫	III 齢幼虫	蛹	成 虫
Cs	ふ化幼虫	10	1	0	0	0
	I 齢後期幼虫	14	9	5	0	0
	II 齢初期幼虫	—	10	7	0	0
	III 齢初期幼虫	—	—	15	5	1 ♀
Mf	ふ化幼虫	5	5	2	0	0
	ふ化幼虫 ^b	15	5	2	0	0
Ma	ふ化幼虫	11	7	6	0	0

a. 表 2-35 脚注参照

b. 5 個体ずつ集合飼育 (他はすべて個体飼育)

表 2-38 人工飼料 (B) 及びそのゲルカプセルによるヒメクサカゲロウ 3 齢幼虫の飼育 (16L8D)

飼育温度	餌 ^a	供試幼虫 齢 期 ^b	供試個体数	営 菌 数 (不完全菌)	3 齢期間(日) $\bar{x} \pm s.e.$	羽 化 数
20 °C	AD1	III (0)	10	9 (4)	5.78 ± 0.32	5
	AD1/2	III (0)	10	8 (3)	8.00 ± 0.53	2
	AD1/2	III (1)	8	8 (0)	4.00 ± 0.19	5
	GCAP	III (0)	10	2 (0)	8.10 ± 2.00	1
	Te	III (0)	83	75	5.65 ± 0.37	
25 °C	AD1	III (0)	10	10 (4)	4.80 ± 0.29	5
	Te	III (0)	79	78	3.88 ± 0.08	

a AD1: 人工飼料原液; AD1/2: 同 2 倍希釈液

GCAP: ゲルカプセル, 餌濃度は 2 倍希釈液相当

b () は 3 齢脱皮後の日齢, Te: ヒラタコクヌストモドキ卵

～2.5 mm のゲルカプセル (ビーズ) が得られた。これを Cc 孵化幼虫に与えたところ摂食が確認されたが 2 齢には至らなかった。また, カプセル自動製造機 (アクアカプセラー) によって, アクアカプセルを試作したところ最小径 3 mm が限界であったが, 1 mm のアルギン酸ナトリウムカプセルが得られた。これはクサカゲロウ幼虫が摂食可能な大きさである。

Cc 幼虫が飼育可能なことが確認された人工飼料 B (表 2-36) とアルギン酸ナトリウム 2% 溶液の混合液に増粘剤キサンタンガム 1% を加え, 1% 乳酸カルシウム液中に滴下して作製したゲルカプセルを, 毎日 2-3 個与えて Cc の脱皮直後の幼虫を個体飼育したところ, 営菌し, 成虫が得られた。この

場合, 餌濃度は人工飼料 2 倍希釈液に相当し, 3 齢期間はカプセル化しない同濃度飼料の場合とほぼ等しかったことから, 餌濃度を高くすればより良好に飼育できるものと期待される (表 2-38)。

(ウ) 幼虫の大量飼育

共食いを避ける効率的な個体飼育を行なうために, 細胞培養プレートを使用し, 5 種のクサカゲロウ幼虫全てが飼育可能なことを確認した。Cc では孵化幼虫 1 個体当たり約 20 mg の Te 卵を与えれば, 餌の補給, 交換は不用であった。

Te を与えて共食いの影響が少ない Cc 幼虫の集合飼育が可能なが確認されたので, 折り曲げた濾紙片を入れた 90 ml プラスチックカップで, Te 卵を

表 2-39 ヒラタコクスストモドキ卵を用いたヒメクサカゲロウ
の集合飼育 (25℃, 16L8D)

卵 数	給餌量(mg)	反復	生存率 (%)					性比 (♀%)	カップ当たり羽化数 ($\bar{X} \pm S.E.$)
			I 齢	II 齢	III 齢	繭	成虫		
5	100	3	80.0	73.3	73.3	73.3	76.7	70.0	3.33 $\pm$ 0.33
10	200	3	93.3	86.7	86.7	86.7	56.7	50.0	8.67 $\pm$ 0.88
20	400	5	95.0	93.0	92.0	66.0	68.0	61.8	11.00 $\pm$ 0.95
10 + 10 ^a	400	5	94.0	91.0	89.0	66.0	58.0	51.7	11.60 $\pm$ 0.98
30	600	1	96.7	93.3	93.3	66.7	56.7	50.0	20.00

a 異なる成虫ペアから得た10卵ずつを集めて飼育

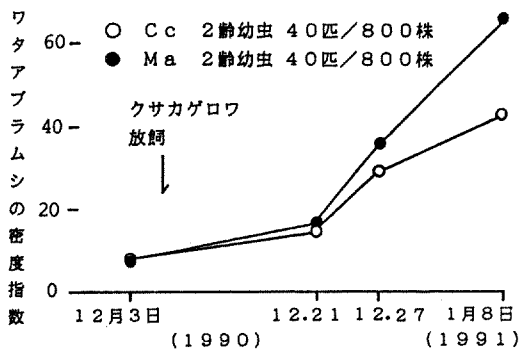


図 2-24 ビニールハウスのイチゴに発生した
ワタアブラムシに対するヒメクサカ
ゲロウ (Cc), *Mallada alcestes*
(Ma) の放飼実験

与えて Cc 幼虫の集合飼育を行なった (表 2-39)。この容器で Cc 20~30 卵を入れ、1 卵当たり約 20mg の Te を与えれば、餌の補給、交換なしに 10~20 匹の成虫が安定して得られる。Ma も同様にして大量飼育が可能であった。

(イ) 放飼実験

ビニールハウスのイチゴに発生しているワタアブラムシに対して、Te で増殖した Cc, Ma 2 齢幼虫を放した (図 2-24)。比較可能な無放飼区が設定できなかったため、Ma の効果は評価できなかったが、放飼密度が株当たり 0.05 匹ときわめて低かったにもかかわらず、Cc 放飼区ではワタアブラムシの増殖を抑制した。

エ. 考 察

天敵の大量放飼による害虫の生物的防除の前提は

安定的で簡便な大量増殖法の確立にある。クサカゲロウ類の大量増殖については、代替餌の探索と共食いの悪影響の回避が重要である⁹⁾。代替餌については貯穀害虫、とくにバクガヤスジコナマダラメイガの卵の利用¹⁰⁾など多くの試みがなされており、また、日本でも、ミツバチ雄幼虫粉末で数種のクサカゲロウ幼虫が飼育可能なのことが確かめられている⁹⁾。

本研究では 5 種のクサカゲロウ幼虫が種々の昆虫を代替餌として飼育できることが明らかにされたが、とりわけ、ヒラタコクスストモドキの卵 (Te)、幼虫 (T1) を与えて飼育した場合、アブラムシを餌とした場合と同程度か、より高い生存率を得られることが確かめられた。ヒラタコクスストモドキは小麦粉で長期間容易に個体群を維持でき、また成虫が長命なので随時卵や幼虫が得られること、取扱が容易なことなどの利点をもつ。その後、カオマダラクサカゲロウ幼虫も Te で飼育可能なのことが確かめられ、多種類のクサカゲロウの飼育に Te が利用できる可能性が高い。

当面生物的防除の素材として最も利用し易いと思われるヒメクサカゲロウ (Cc) の 3 齢幼虫は Te, T1 で集合飼育しても共食いが少なかった。クサカゲロウの大量飼育では古くから共食いが問題にされ、個体飼育用の特殊な容器も考案されているが⁹⁾、取扱に手間がかかる。細胞培養プレートを使う個体飼育は小規模飼育や実験に便利である。さらに、90ml プラスチックカップに 20~30 の Cc 卵と 1 卵当たり 20 mg の Te を入れ、10~20 匹の成虫を得ることができた。この方法を基本にして、より大規模な大量飼育法の開発が可能である。

クサカゲロウ幼虫の人工飼料の開発は、ヒメクサカゲロウ、ヨツボシクサカゲロウ、中華草蛉などで広く試みられてきた^{5), 6), 7)}。とくに、アメリカや中国では液体人工飼料をパラフィンに封じ込めてカプセル化した「人工卵」による飼育も試みられ、「人工卵製造機」も作られている^{5), 7)}。

本研究では、Cc幼虫を飼育可能な液体人工飼料を開発するとともに、アルギン酸ナトリウムによってゲルカプセル化して3齢幼虫に与え、成虫を得た。今後餌濃度等を詳しく検討することによって生存率をさらに高めうる。また、カプセルの乾燥や腐敗を防ぐための被膜化、無菌的製造、防腐剤の検討によって、実用的な人工卵の作製も可能である。なお、クサカゲロウの餌としては、球状のカプセルである必要はなく、人工飼料を含む紐状のアルギン酸ナトリウムゲルでも十分Ccが摂食する事が確かめられた。人工飼料による幼虫全齢期飼育の検討には至らなかったが、飼料Aによる飼育結果(表2-37)との比較から可能性は高い。ただし、摂食量が大幅に増える3齢期については人工飼料飼育の必要性はとくに大きい。

イチゴのビニールハウスにおける放飼実験によってCcの有効性が示唆された。今後さらに、放飼数を増やした実験や他の害虫の防除との組合せの検討が計画されている。ヨツボシクサカゲロウの施設野菜での放飼実験でアリの除去が効果を高めることも報告されており³⁾、植物、害虫、天敵及び他の生物の相互間の関係を考慮した研究が不可欠である。

オ. 今後の問題点

ヒラタコクヌストモドキ卵(Te)は、カオマダラクサカゲロウを含めてこれまで飼育が試みられた6種のクサカゲロウの全てで幼虫の代替餌として有効であった。さらに他の種についても広く検討する価値がある。ただし代替餌探索の過程でクサカゲロウ類の潜在的な食性がかかなり広いことが示唆されており、さらに好適な代替餌が見つかる可能性もある。

Ccの大量増殖はTeを用いた共食いの少ない集合飼育が可能になったことによって基本が確立された。Teの生産とCcの増殖をより大規模に、かつ組織的に行なうための研究、及び品質管理法の研究へと発展が望まれる。

人工卵による飼育は、アルギン酸ナトリウムのゲルカプセルを用いて可能であることが示され、餌濃

度、乾燥防止、防腐の検討によって実用化を導きうる。人工餌については、全齢期飼育の可能性を検討する必要がある。

一応の増殖法が確立されたことによって、施設栽培における害虫防除の試みが可能となった。植物、害虫、天敵、及び関連する他の生物からなる生活系(life system)の中での相互作用に注目した研究を進めることによって害虫個体群管理素材としてのクサカゲロウの評価と利用技術の確立が可能となる。

九. 要 約

1) クサカゲロウ類幼虫の好適な代替餌として、ヒラタコクヌストモドキ卵を見出し、共食いの影響が少ない集合飼育法を確立して、ヒメクサカゲロウの大量飼育を可能とした。

2) ヒメクサカゲロウの少なくとも3齢幼虫全期間を飼育できる人工飼料が開発され、同餌を用いたアルギン酸ナトリウムゲルカプセルでも飼育可能であった。

3) ヒメクサカゲロウ2齢幼虫をビニールハウスのイチゴに放飼して、ワタアブラムシの増殖抑制を確認した。

キ. 引用文献

- 1) 古橋嘉一：捕食性天敵の大量増殖、植物防疫、35, 41-44 (1981)
- 2) Hassan, S. A. and Hagen, K. S.: A new artificial diet for rearing *Chrysopa carnea* (Neuroptera, Chrysopidae), Z. angew. Ent., 86, 315-320 (1978)
- 3) 北海道農業試験場虫害第1研究室：アブラムシ(ヤサイ)に対するクサカゲロウの利用、生物学的手法による病虫害新防除技術の開発に関する総合研究、研究成果、189, 農林水産技術会議、57-59 (1987)
- 4) 窪田敬士・志賀正和：クサカゲロウ類6種の累代飼育と増殖法、第51回日本昆虫学会、第35回応動昆合同大会講演要旨、176 (1991)
- 5) 松香光夫：食虫性昆虫の人工食餌による飼育と問題点、植物防疫、29, 15-20 (1975)
- 6) Nijima, K. and Matsuka, M.: Artificial diets for mass production of chrysopids (Neuroptera). In: The Use of Natural Enemies to Control Agricultural Pests. FFTC Book Ser., 190-198 (1990)

- 7) 岡田利承・志賀正和・石谷孝佑：中国における
天敵利用の現状，植物防疫， 37, 27—33 (1983)
- 8) 蒲 蟹竜（主編）：害虫生物防治的原理和方法，
化学出版社，北京，261pp., 6 pls. (1978)
- 9) Tulisalo, U.: Mass rearing techniques,
In: M. Canard, Y. Semeria and T. R. New
(edn.). Biology of Chrysopidae,
Dr. W. Junk Publ., The Hague, pp. 213—
220 (1984)
- 10) Vandersant, E. S.: An artificial diet
for larvae and adults of *Chrysopa carnea*,
an insect predator of crop pests., J. Econ.
Entomol., 62, 256—257 (1969)

（志賀正和）

第3章 天敵生物の複合利用による 総合防除技術の開発

1. ハウス栽培ナスにおける総合防除技術の開発

(1) *Orius* sp.によるミナミキイロアザミウマの密度抑制効果

ア. 研究目的

ハウス栽培のナスでは、ミナミキイロアザミウマ、オンシツコナジラミ、ハダニ類等が重要な害虫である。オンシツコナジラミにはオンシツツヤコバチ⁵⁾、ハダニ類にはチリカブリダニ³⁾を用いた天敵による個別防除技術の研究がわが国においても進められているが、ミナミキイロアザミウマの生物的防除に関する研究は極めて少ない。

ここでは、ハウス栽培ナスにおける天敵の複合利用を基幹とした総合防除技術確立のための素材として、*Orius* sp.によるミナミキイロアザミウマの密度抑制効果を明らかにするため、放飼密度と密度抑制効果の関係、分散能力、捕食に及ぼす温度の影響、大量飼育のための代替餌としての練乳の利用について検討した。

イ. 研究方法

(ア) 放飼密度と密度抑制効果(I)

1988年9月2日にミナミキイロアザミウマの寄生したナス“新長崎長”を、小型ガラス網室(各10m²)6棟に8株ずつ定植した。定植8日後の9月10日に*Orius* sp.の老齢幼虫を放飼した。株当たり放飼数は、①0頭、②0.5頭、③1頭、④2頭、⑤3頭、⑥5頭の6区とし、各々の試験区に1棟のガラス網室を用い、反復は設けなかった。

定植後、原則として7日間隔で全株を対象に、各株より展開直後の葉10葉を抽出し、ミナミキイロアザミウマ及び*Orius* sp.の成幼虫数を数えた。

(イ) 放飼密度と密度抑制効果(II)

ビニルハウス(20×5.4m)を白寒冷紗により4区に区切り、1989年7月3日にナス“新長崎長”を、各区に24株定植し、定植16日後にミナミキイロアザミウマを放飼した。その12日後の7月31日に*Orius* sp.の終齢幼虫を放飼した。株当たり放飼数は、①0頭、②2頭、③3頭、④5頭の4区とし、反復は設けなかった。

放飼後、原則として7日間隔で全株を対象に、各株より展開直後の葉10葉を抽出し、ミナミキイロアザミウマ及び*Orius* sp.の成幼虫数を数えた。

(ウ) ハウス栽培ナスにおける分散

1989年7月10日にナス“新長崎長”を、ビニルハウス(20×5.4m)に株間36cmの1条植えて3畝定植した。定植14日後にミナミキイロアザミウマを放飼した。その12日後の8月5日に*Orius* sp.の中齢幼虫100頭を入口付近の1株に放飼した。

調査は*Orius* sp.の放飼直前、3日後、13日後、20日後、27日後に行い、全株を対象に、各株より展開直後の葉10葉を抽出し、ミナミキイロアザミウマ及び*Orius* sp.の成幼虫数を数えた。

(エ) 捕食に及ぼす温度の影響

直径55mmのプラスチック容器内に湿った木綿布を敷き、その上に所定数のミナミキイロアザミウマ2齢幼虫を寄生させたナスの葉片(1辺約1cm)を置いたものを用い、*Orius* sp.を1頭入れた。各温度段階・各齢につき20~30頭を供試した。

飼育容器は24時間後に取り出し、ミナミキイロアザミウマの生存幼虫数を数えた。なお、調査期間中に脱皮した個体及び死亡した個体のデータは計算から除いた。また、*Orius* sp.による捕食率をミナミキイロアザミウマ幼虫の生存率で補正した。

(オ) 練乳による飼育

長さ5mmに切ったストローの側面に10ヶ所程度の小さな穴を開け、中に脱脂綿をつめた。水で1.5倍に薄めた練乳を、その脱脂綿にしみこませたものを餌として用い、直径55mmのプラスチック容器内に餌のしみこんだストローを1本入れたものを、飼育容器とした。飼育はすべて25℃、14時間日長に制御された恒温器内で行った。

個体飼育：ふ化後24時間以内の1齢幼虫1頭を飼育容器内に入れ、羽化するまで毎日、餌と容器をかえて飼育した。

集団飼育：脱皮後24時間以内の各齢幼虫10頭を同一の飼育容器に入れ、共食い防止の目的でナスの葉片1枚(3×3cm)を入れ、葉片の乾燥防止のために湿った黒木綿布(3×3cm)1枚を入れた。次齢

への脱皮まで、毎日、餌、容器、葉片をかえて飼育した。なお、次齢に脱皮した虫は除去した。

成虫飼育：羽化後24時間以内の雌雄成虫各1頭を同一の容器に入れ、産卵場所としてナスの葉片1枚（2×2cm）を入れ、葉片の乾燥防止のために湿った黒木綿布（3×3cm）1枚を入れた。毎日、餌、容器、葉片をかえ、葉片に産まれた卵数を数えた。反復数は80とした。

ウ. 研究結果

(ア) 放飼密度と密度抑制効果(I)

各区におけるミナミキイロアザミウマ成幼虫合計数の変動を図3-1に示した。0頭区では定植後指

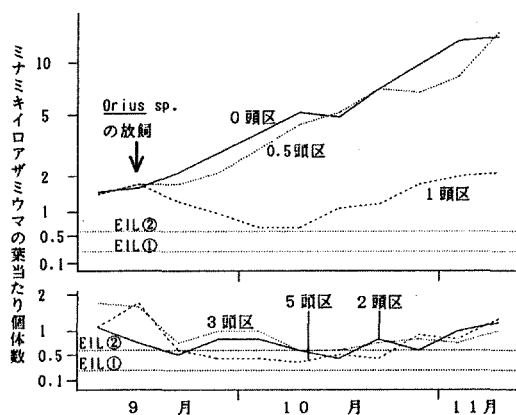


図3-1 *Orius* sp.の放飼密度とミナミキイロアザミウマの密度抑制効果(I)
EIL ①, EIL ②は本文の考察参照,
縦軸は対数

数的に増加し、試験終了時には成幼虫合計で葉当たり13.8頭に達した。0.5頭区でも、0頭区とほぼ同様に指数的に増加し、試験終了時には成幼虫合計で葉当たり14.9頭に達した。1頭区では密度は*Orius* sp.の放飼後徐々に低下し、10月上旬には成幼虫合計で葉当たり0.7頭まで低下したが、その後再び増加した。2, 3, 5頭区の3区での変動はほぼ同様の傾向であり、密度は*Orius* sp.の放飼後急速に低下し、9月下旬から10月中旬には成幼虫合計で葉当たり0.6頭前後で推移し、その後徐々に増加した。

(イ) 放飼密度と密度抑制効果(II)

各区におけるミナミキイロアザミウマの成幼虫合計数の変動を図3-2に示した。0頭区では放飼後

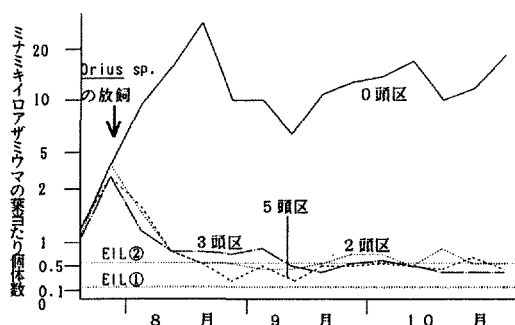


図3-2 *Orius* sp.の放飼密度とミナミキイロアザミウマの密度抑制効果(II)
EIL ①, EIL ②は本文の考察参照,
縦軸は対数

指数的に増加し、放飼4週間後には成幼虫合計で葉当たり26.6頭に達した。その後はミナミキイロアザミウマの寄生により葉が悪化し、成幼虫合計で葉当たり10~20頭で推移した。2頭区, 3頭区, 5頭区では,*Orius* sp.の放飼後徐々に低下し、放飼2~4週間後には成幼虫合計で葉当たり0.6頭まで低下し、その後は試験終了時まで葉当たり0.6頭前後で推移した。

一方,*Orius* sp.は、放飼数の最も多い5頭区では放飼翌週には最大密度の葉当たり0.4頭に達し、その後3週間はその密度を保ち、その後減少し葉当たり0.1頭前後で安定した。放飼数の少ない2, 3頭区では放飼翌週から試験終了時まで葉当たり0.1頭前後で推移した。

(ウ) ハウス栽培ナスにおける分散

各調査日での*Orius* sp.の成幼虫合計の株当たり個体数を図3-3に示した。放飼3日後には、すべてが老齢幼虫であった。株毎にみると放飼株が8頭と最も多く、周辺の株にも3~5頭と多く見られた。また、最も遠い個体は放飼株から4.3m移動しており、分布状態から計算した平均移動距離は0.72mであった。放飼株のある畝以外への移動も多く、全体の48%が他の畝の株に見られた。*Orius* sp.の放飼株付近の8株ではミナミキイロアザミウマの密度がすでに低下しており、その内の5株では寄生が見られなかった。ミナミキイロアザミウマの密度が低下した株と、3頭以上の*Orius* sp.が寄生していた株とはほぼ一致していた。

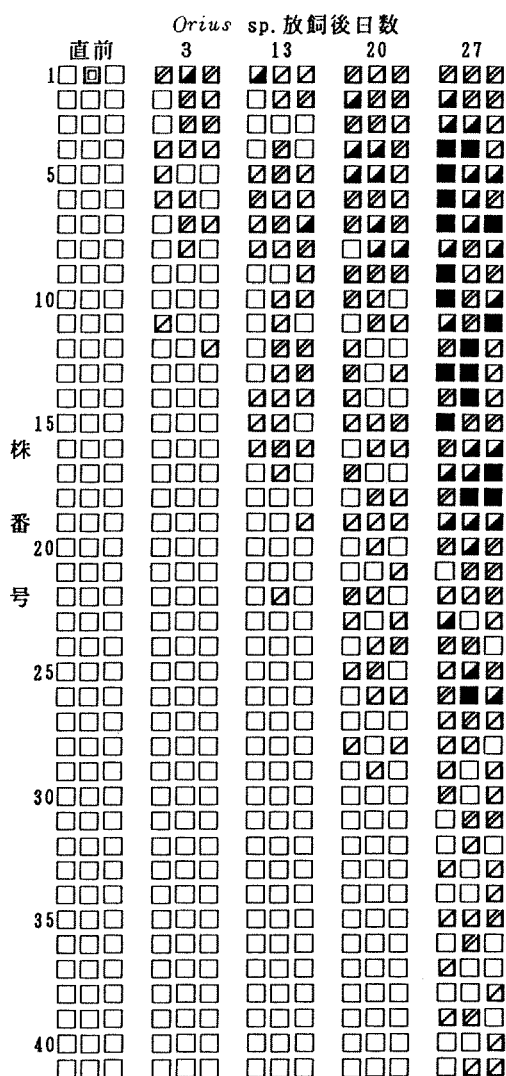


図 3-3 Orius sp. の分散

□は株, □は放飼株

株当たり個体数

□: 0, □: 1~2, □: 3~5,

■: 6~10, ■: 11以上

放飼13日後には、成虫及び若齢幼虫が主体であった。放飼株には1頭しか見られず、個体数の多い株は1~15番の株までの広い範囲に及び、最も速い個体は放飼株から7.6 mの株で見られた。1~16番の株では前回の調査でOrius sp.の多かった株とミナミキイロアザミウマの密度の高い株にOrius sp.の

密度も高い傾向であったが、17番以後の株ではミナミキイロアザミウマの密度が高くてOrius sp.は少なかった。

放飼20日後には、全ての態が見られた。個体数の多い株は前回調査時の個体数の多い株とほぼ一致していたが、分布は更に広まり、最も速い個体は放飼株から10.4 mの株で見られた。ミナミキイロアザミウマは、大部分の株で前回調査時より増加していたが、5~10番の株では減少している株も多かった。

放飼27日後には、個体数の多い株は1~25番の株までの広い範囲にわたり、放飼株から最も速い株まで寄生が見られた。ミナミキイロアザミウマは、20~41番の株では大部分の株で前回調査時より密度が増加していたが、1~20番の株では減少している株が多かった。

(イ) 捕食に及ぼす温度の影響

各温度段階におけるOrius sp.によるミナミキイロアザミウマ2齢幼虫の24時間あたりの捕食数と温度の関係を図3-4に示した。供試した範囲では各齢とも高温区ほど捕食数が増加し、各温度区とも温度と捕食数の間には有為な正の相関が見られた。温度と捕食数の関係から推定した捕食の停止する温度は各齢とも8~10℃の間であった。10℃区では1, 2齢を除きわずかな捕食が認められており、10℃よりやや低い温度で捕食が完全に停止するものと考えられた。

齢毎の捕食数を比較すると、幼虫期では齢がすすむほど捕食数が増加しており、雌成虫の捕食数は5齢幼虫よりやや多かった。

(ロ) 練乳による飼育

若虫期での飼育結果を表3-1に示した。個体飼育では、齢期別の死亡率は1齢期が62%と高かったが、2齢期は21%, 3~5齢期はそれぞれ約10%と低かった。若虫期全体では死亡率が78%であった。齢期間は、1齢が約3日, 2~4齢が約2日であり、5齢が約4日と長く、全若虫期間は約12日であった。集団飼育では、齢期別の死亡率は1齢期が64%と高く、2齢期が31%と最も低く、個体飼育と異なり3, 4, 5齢期もそれぞれ58, 64, 76%と高かった。齢期間は1~4齢では個体飼育とほぼ同じであったが、5齢期が個体飼育よりやや短く、全若虫期間でもやや短かった。

成虫期の生存、産卵曲線を図3-5に示した。雌

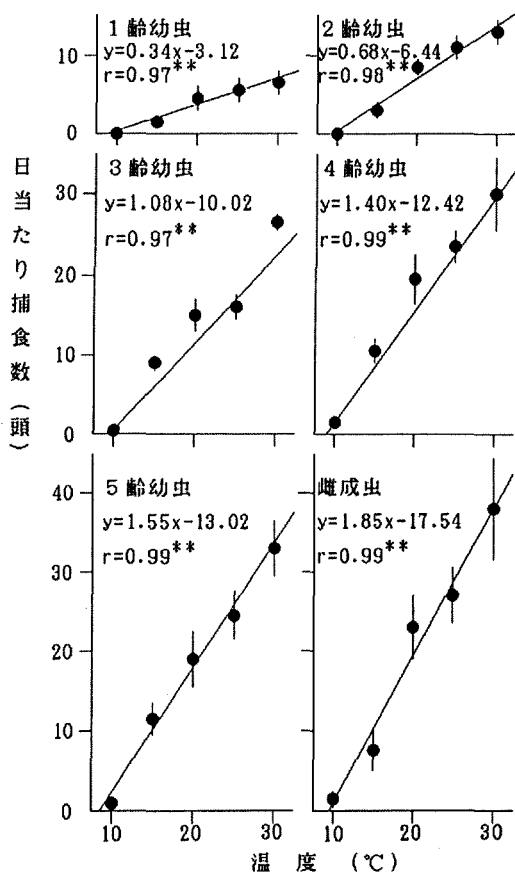


図3-4 *Orius* sp.によるミナミキイロアザミウマ2齢幼虫の捕食数と温度の関係

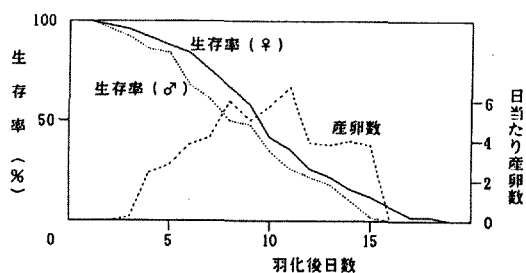


図3-5 練乳を餌とした場合の *Orius* sp. 成虫の生存及び産卵

雄とも特に死亡率の高い日齢はみられず、平均成虫期間は雌が9.2日、雄が7.9日であった。また、産卵は羽化3日後から始まり、日当たり産卵数は羽化7日後まで徐々に増加し、その後は日当たり4～7卵で推移した。1雌当たりの産卵数は 22.8 ± 18.7 であった。

卵のふ化率は97%であり、卵期間は 3.81 ± 0.61 日であった。

卵、若虫の发育、成虫の生存・産卵の結果から、練乳を餌とした時の *Orius* sp.の増殖のパラメーターを計算すると(性比は0.5とする)、純繁殖率が2.4、1世代平均期間が22.6日、内的自然増加率が日当たり0.039であった。

エ. 考 察

(ア) 放飼密度と密度抑制効果

試験Ⅰでは各区とも10月下旬には *Orius* sp.の密

表3-1 練乳を餌とした場合の *Orius* sp.の发育と生存

齢	個 体 飼 育				集 団 飼 育			
	供試数	死亡率	发育期間	死亡率 ²⁾	供試数	死亡率	共食い率 ³⁾	发育期間
		%	日	%		%	%	日
1 齢	280	61.8	2.8 ± 0.7 ¹⁾	58.1	400	64.5	2.7	2.6 ± 0.6 ¹⁾
2 齢	107	20.6	1.6 ± 0.6	7.7	200	31.5	10.9	1.7 ± 0.5
3 齢	85	12.9	2.2 ± 0.5	0	100	58.0	45.1	2.1 ± 0.4
4 齢	74	8.1	2.2 ± 0.7	0	100	64.0	55.9	2.0 ± 0.6
5 齢	68	10.3	3.7 ± 0.9	16.6	100	76.0	65.7	3.2 ± 0.5
全期間	280	78.2	12.3 ± 1.7	67.5		99.1 ⁴⁾	88.8 ⁴⁾	11.7 ⁴⁾

1) 平均値±標準偏差

2) ミナミキイロアザミウマを餌とした場合の死亡率(永井, 1989)⁴⁾

3) 共食い率 = (個体飼育での生存率) - (集団飼育での生存率)

4) 各齢での結果より計算

度が低下し、ミナミキイロアザミウマの密度が上昇している。これは *Orius* sp. が短日条件下で成虫休眠に入り、産卵を停止したことによると考えられる。このため、試験Ⅰでは10月中旬以前の結果で考察することとした。また、*Orius* sp. の冬季の施設内での利用にあたっては、電照等により休眠をおこさないようにするかあるいは休眠性のない種を利用することが必要である。

2回の試験でのミナミキイロアザミウマの密度をナスにおける被害許容密度²⁾と比較した(図3-1, 3-2)。被害許容密度は、全ての傷を許容しない条件での健全果の収穫量の5%減少に対する被害許容密度(EIL①)と、細い線状の傷3本以内を許容する条件での健全果の収穫量の5%減少に対する被害許容密度(EIL②)の2つについて示した。なお、EIL②では、全ての傷を許容しない条件では健全果の収穫量は約10%減少する。試験Ⅰの1頭区では、EIL②よりやや高い密度までしか低下しなかった。放飼数の多い3区(2, 3, 5頭区)では9月下旬から10月中旬には平衡密度に達し、この密度はほぼEIL②と同じであった。試験Ⅱの5頭区では放飼2週間後から、2, 3頭区では放飼3~4週間後から平衡密度に達し、この密度も試験Ⅰにおける平衡密度と同様にほぼEIL②と同じであった。更に、両試験とも株当たり2頭以上の区での平衡密度がほぼ同じであることから、更に放飼数を増加しても平衡密度は低下しないものと考えられた。

試験Ⅱで放飼が行われた時点でのミナミキイロアザミウマの密度は成虫合計で葉当たり約4頭の高密度であり、高密度のミナミキイロアザミウマに対しても株当たり2頭の放飼で防除は可能と考えられた。また、試験Ⅱでは試験終了まで約3ヶ月間にわたり、*Orius* sp. はミナミキイロアザミウマの密度を抑制しており、定着した場合には長期間にわたり有効な防除が可能と考えられた。

すなわち、*Orius* sp. を用いて施設栽培ナスのミナミキイロアザミウマの防除を行う場合にはミナミキイロアザミウマの寄生した定植直後の株に株当たり2頭の放飼を行えば、長期にわたり安定的な防除が可能であり、全ての傷を許容しない条件では約10%の被害果率となり、小さな傷を許容すれば被害果率は約5%に抑えることができる。また、更に被害を少なくするためには、被害の少ない品種を開発す

るか、平衡密度が低くなるような環境の改変、平衡密度の低い種あるいは系統の導入が必要と考えられる。

(i) ハウス栽培ナスにおける分散

Orius sp. は放飼3日後には放飼株のミナミキイロアザミウマを食いつくし、周辺の株に分散しており、他の畝への移動も見られた。放飼3日後の調査でも全ての個体がまだ老齢幼虫であり、この移動は幼虫の歩行によるものと考えられ、餌のない条件では *Orius* sp. の老齢幼虫の分散能力は高いものと考えられた。

放飼13日後の調査では *Orius* sp. は大部分が成虫と若齢幼虫であり、放飼した幼虫が放飼3日後から13日後の間に羽化し、この間の分散の主体は成虫によるものと考えられた。1~16番の株では放飼3日後の調査で *Orius* sp. の多かった株とミナミキイロアザミウマの密度の高かった株に *Orius* sp. の密度が高い傾向があったが、放飼3日後の調査で *Orius* sp. の多かった株には若齢幼虫が多く、ミナミキイロアザミウマの密度の高かった株には成虫が多い傾向であり、羽化した幼虫が餌密度の高い株へ移動したことを示している。しかしながら、17番以後の株ではミナミキイロアザミウマの密度が高くて *Orius* sp. は少なく、近くに餌密度の高い株があれば速くへは移動しないものと考えられる。また、若齢幼虫は餌密度が低下しても移動しない傾向が強い。

同一の株番号の3株を単位とし、*Orius* sp. の放飼前と放飼27日後のミナミキイロアザミウマの密度の変化を図3-6に示した。放飼前は株番号の若い

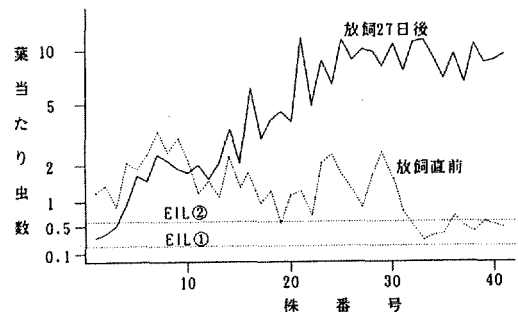


図3-6 *Orius* sp. の放飼前と放飼27日後のミナミキイロアザミウマの個体数の変化 EIL①, EIL②は本文の考察参照, 縦軸は対数

株ほど密度が高い傾向であったが、*Orius* sp.の捕食により放飼27日後には逆に株番号の若い株ほど密度の低い傾向となった。21番以後の株では、放飼27日後の密度が放飼前の密度の10倍を越えているのに対し、1～10番の株では放飼後の密度が放飼前の密度を下回り、とりわけ1～3番の株では1/2以下に低下した。全ての株でEIL①を上回ったが、1～3番の株(合計9株)でEIL②と同等あるいはこれをやや下回っており、これらの株では有効な防除が行われたものと判断される。

これらのことから、*Orius* sp.の若齢幼虫の分散能力は低いが、老齢幼虫・成虫の分散能力は高く、数株に1ヶ所の放飼で有効な防除が可能と考えられる。

(ウ) 捕食に及ぼす温度の影響

低温により*Orius* sp.が捕食を停止する温度は10℃よりやや低い温度と推定された。ナスの施設栽培においては厳冬期には夜温が10℃を下回る管理をする場合も見られるが、ミナミキイロアザミウマの発育零点は11.6℃であり¹⁾、*Orius* sp.が捕食を停止する温度はこれより高い。

本試験に用いた温度範囲では温度と捕食数の間に正の相関があり、高温により捕食を停止または抑制される温度は推定出来なかったが、いずれも30℃以上である。当然のことながら、ナスの施設栽培においては、高温時には施設内の温度が30℃を上回ることもある。しかしながら、ミナミキイロアザミウマでは幼虫の発育は27.5℃以上で、蛹の発育は30℃以上では抑制される。また、産卵数が30℃では高温により減少するため、30℃での増殖率は25℃よりやや高い値にとどまり¹⁾、より高温では増殖率が低下するものと思われ、高温時でも十分な捕食能力と考えられる。

本試験は*Orius* sp.の捕食数のみを調べたものであり、産卵数、諸行動に及ぼす温度の影響は検討していないが、捕食数からみると*Orius* sp.の捕食の適温はミナミキイロアザミウマの増殖の適温に比べ低温側でも高温側でもより広く、施設においてナスが栽培される場合のほぼ全温度段階をカバーしており、施設栽培ナスにおいてはどの温度段階でもミナミキイロアザミウマをよく捕食するものと考えられる。

(エ) 練乳による飼育

個体飼育での全若虫期間の死亡率は78.2%であり、ミナミキイロアザミウマを餌とした場合⁴⁾の67.5%に比べやや高かった。齢期毎に比較しても、全ての齢期で死亡率が高い傾向であった。死因については不明のことが多いが、穴からしみでた餌の練乳に溺れるような形で死亡が多く見られ、特に若齢期に多かった。穴の大きさ等、練乳の給餌法の検討が必要と考えられた。ミナミキイロアザミウマを餌とした場合の全若虫期間は11.4日であり⁴⁾、本試験の結果はこれよりやや長かった。

集団飼育での全若虫期間の死亡率は99.1%であり、個体飼育の78.2%に比べ高かった。齢期毎に比較すると、若齢期は差が小さいが、3齢以後に差が大きくなった。3齢以後の集団飼育での死亡個体の大部分は死体に吸汁された痕跡があり、共食いによる死亡と考えられた。個体飼育と集団飼育での死亡率の差が共食いによるものと考え、共食い率を計算した(表3-1)。1齢期は3%、2齢期は11%と低いが、加齢とともに増加し、3、4、5齢ではそれぞれ45、56、66%に達し、若虫全期間では89%が共食いによる死亡であった。ナスの葉片を入れずに集団飼育を行った予備試験では、共食い率が更に高かったことから、さらに効率的な隠れ場所を用いることにより共食い率を減らすことが可能と考えられた。集団飼育では個体飼育に比べ、5齢期の発育期間が短く、その変異も小さかったが、これは発育の遅れた個体が共食いされた結果と考えられた。

成虫の生存・産卵については、本来の餌を用いた飼育試験がなく、練乳の餌としての好適度の検討はできないが、1雌当たり23卵が得られており、飼育のためには十分な産卵数と考えられる。

従来、*Orius* sp.は本来の餌であるアザミウマ、ハダニ等を用いて飼育されていたため、大量の飼育が困難であり、それが天敵としての本種の利用のための一つの問題点となっている。本試験では常に大量に供給が可能な練乳のみを餌として*Orius* sp.の飼育を試みた。個体飼育では死亡率はやや高いものの、供試した1齢若虫の20%以上の成虫が得られ、練乳が餌としてかなり好適であることが示された。しかしながら、集団飼育では共食いによる死亡率が高く、各齢の生存率から推定した1齢若虫から成虫までの生存率はわずか0.9%であった。天敵としての利用にあたっては、個体飼育ではなく集団飼育が

不可欠であり、共食い率を減らすことにより集団飼育での生存率を高める方法の開発が必要と考えられる。

オ. 今後の問題点

Orius sp.の放飼方法、短日条件下での防除方法の検討、大量増殖法の確立。

カ. 要 約

(ア) 施設栽培ナスに *Orius* sp. を株当たり2頭以上放飼すると、*Orius* sp. はミナミキイロアザミウマの密度を長期にわたり安定的に成幼虫合計で葉当たり0.6頭前後に抑制する。

(イ) *Orius* sp. の若齢幼虫の分散能力は低い、老齢幼虫・成虫の分散能力は高い。1株に放飼した *Orius* sp. の幼虫は、放飼株付近の数株のミナミキイロアザミウマを有効に防除する。

(ウ) *Orius* sp. によるミナミキイロアザミウマの捕食量と温度との間に正の相関が見られる。また、捕食量は幼虫では齢期がすすむほど増加し、雌成虫の捕食量は終齢幼虫より多い。

(エ) 練乳を餌としてミナミキイロアザミウマの個体飼育は可能であるが、集団飼育では共食いによる死亡が中齢以後多い。

キ. 引用文献

- 1) 河合章, ミナミキイロアザミウマ個体群の生態学的研究 7. 増殖能力に及ぼす温度の影響, 応動昆, 29, 140-143 (1985)
- 2) 河合章, ミナミキイロアザミウマ個体群の生態学的研究 12. ナスおよびピーマンにおける被害解析, 応動昆, 30, 179-187 (1986)
- 3) 森樊須・真梶徳純(編), チリカブリダニによるハダニ類の生物的防除, 日本植物防疫協会, 89 p. (1977)
- 4) 永井一哉, ミナミキイロアザミウマで飼育したハナカメムシ *Orius* sp. の発育期間, 応動昆, 33, 260-262 (1989)
- 5) 矢野栄二, オンシツコナジラミとその寄生蜂 *Encarsia formosa* GAHAN の個体群動態に関する研究, 野菜茶試研報, A 2, 143-200 (1988)
(河合 章)

(2) 天敵の複合利用による害虫の密度抑制効果

ア. 研究目的

ハウス栽培のナスではミナミキイロアザミウマ、オンシツコナジラミ、ハダニ類等の主要害虫のい

ずれもが増殖能力が大きく殺虫剤のみでは防除が困難であることから、これらの害虫を制御するために複数種の有用天敵の同時利用法を検討し、それらの複合利用による防除体系の確立を図る必要がある。ここでは、ミナミキイロアザミウマ、オンシツコナジラミ、ハダニ類に対してハナカメムシの1種 *Orius* sp., オンシツツヤコバチ, チリカブリダニの3種の天敵を利用した総合防除の可能性を検討する。

イ. 研究方法

1990年8月4日にナス“新長崎長”(6月20日播種)をビニルハウス(5.4×20m)に84株(3畝×28株)定植し寒冷紗で2区に区切り、天敵放飼区(60株)と無放飼区(24株)を設けた。定植5日後の8月9日にミナミキイロアザミウマとオンシツコナジラミを試験区のナスに放飼した。放飼はこれらの害虫の寄生しているナス及びキュウリの葉を各株の株元へ静置する方法により行った。

天敵放飼区には、*Orius* sp. の成虫(2頭/株; 8月23日), オンシツツヤコバチのマミー(20頭/5株; 8月26日, 9月2日, 9月9日の計3回), チリカブリダニ♀成虫(10頭/株; 8月26日)を放飼した。放飼は、*Orius* sp. とチリカブリダニの場合は、細い筆を用い、直接ナス葉上に接種する方法によった。オンシツコナジラミの場合は、マミーを厚紙に張り、ナスの中位部の枝にぶら下げた。なお、無放飼区に天敵類が侵入した場合には、NAC剤(1000倍)を散布した。

調査はナスの定植後原則として7日間隔で実施し、全株を対象として各株より展開直後の葉を2葉抽出し害虫及び天敵数を数えた。なお、天敵類のうちオンシツツヤコバチの寄生率とチリカブリダニについては、各株より抽出した展開直後の葉5~10葉を対象に調査を行った。

ウ. 研究結果

天敵放飼区と無放飼区における害虫と天敵の個体数変動を図3-7に示した。

ミナミキイロアザミウマは、無放飼区では放飼後指数的に増加し、4週間後には成幼虫合計で葉当たり17.8頭に達した。その後、ミナミキイロアザミウマの密度はやや低下したが、試験終了時まで葉当たり10頭前後の高密度で推移した。天敵放飼区でもミナミキイロアザミウマは無放飼区とほぼ同様に増加し、3週間後には16.4頭に達した。しかし、*Orius*

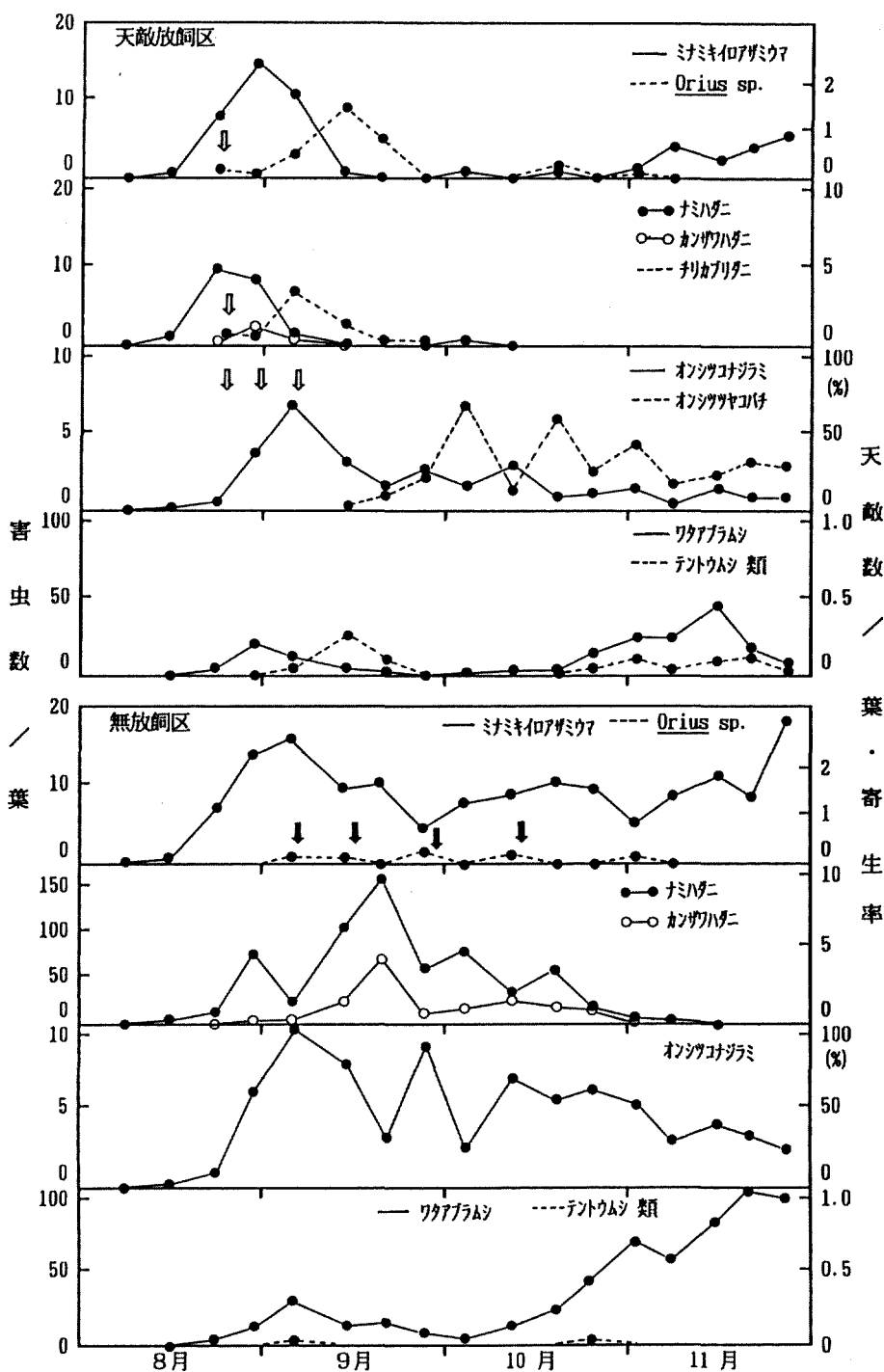


図 3-7 3 種の天敵を放飼した施設栽培ナスにおける
各種害虫と天敵の個体数変動
↑は天敵の放飼, ↓はNAC剤の散布を示す

sp.の放飼後2週間目からミナミキイロアザミウマの密度は低下傾向を示し、3週間目には葉当たり、0.4頭となり、その後、10月までの約2カ月間にわたって葉当たり0.1～1頭の低密度に抑制された。しかし、11月上旬以降になると*Orius* sp.が認められなくなり、ミナミキイロアザミウマの密度の回復が見られた。*Orius* sp.は放飼後徐々に増加し、3週間目には成幼虫合計で葉当たり1.8頭に達した。その後はミナミキイロアザミウマの密度の低下とともに減少したが、10月下旬まで葉当たり0.1頭前後で推移した。なお、無放飼区では*Orius* sp.の放飼は行っていないが侵入虫が見られ、NAC剤の散布を4回行ったが完全には除去できなかった。

ハダニ類としてはナミハダニとカンザワハダニの2種が見られた。無放飼区では、ナミハダニは8月下旬から急増し10月下旬まで葉当たり40～160頭の高密度で推移した。カンザワハダニは9月中旬から急増し、10月下旬まで葉当たり20～70頭の密度で推移した。天敵放飼区では、ナミハダニは無放飼区と同様に8月下旬から増加傾向を示したが、チリカブリダニ放飼前の8月23日の葉当たり8.8頭を最高に減少し、その後はほとんど認められなくなった。天敵放飼区ではカンザワハダニの発生はほとんど見られなかった。チリカブリダニは放飼2週間後に成幼虫合計で葉当たり3.8頭まで増加した。その後はハダニ類の密度低下につれて減少し、9月下旬以降には見られなくなった。

オンシツコナジラミは、無放飼区では放飼後指数的に増加し放飼4週間後の9月上旬に終齢幼虫で葉当たり10頭となった。しかし、その後は葉当たり5頭前後で推移し、多発には至らなかった。天敵放飼区においても無放飼区とはほぼ同様の発生経過が見られたが、9月中旬以降の密度は葉当たり2～3頭で推移し、無放飼区に比べてやや低目であった。天敵放飼区では、オンシツツヤコバチのマミーは第1回目の天敵放飼の3週間後から見られた。その後、寄生率は20～60%で推移した。無放飼区では、オンシツツヤコバチの寄生は見られなかった。

以上の3害虫の外、本試験ではアブラムシ類とハスモンヨトウの発生が見られた。アブラムシ類としてはワタアブラムシとモモアカアブラムシの2種の発生が見られたが、大部分はワタアブラムシであった。無放飼区では、ワタアブラムシは8月下旬～9

月中旬と10月下旬以降の2回発生の山を示した。8月下旬～9月中旬の発生は比較的小さかったが、10月下旬からの発生は激発となった。天敵放飼区においても同様に2回の発生の山が見られたが、いずれの場合もアブラムシ類の発生にやや遅れてヒメカメノコテントウ、ナミテントウ、ナナホシテントウが発生し、アブラムシ類は抑制され、多発には至らなかった。ハスモンヨトウについては天敵放飼区の2株で若齢幼虫のコロニーが9月中旬に見られ、その後、周辺の数株に分散し、葉がかなり食害された。しかし、次世代の発生は見られず、10月中旬には終息した。

エ. 考 察

本試験では、施設栽培のナスの重要害虫であるミナミキイロアザミウマ、ハダニ類、オンシツコナジラミに対して*Orius* sp., チリカブリダニ、オンシツツヤコバチの3種天敵を組み合わせた複合利用の可能性を検討した。その結果、3種の天敵はミナミキイロアザミウマ、ハダニ類、オンシツコナジラミの3種害虫を一定期間低密度に抑制し、天敵の複合利用の可能性が実証された。ミナミキイロアザミウマは*Orius* sp.の放飼後3週間で抑制され、その後2カ月間にわたって0.1～1頭の低密度で安定した。この密度はナスにおいてミナミキイロアザミウマによる果実の傷をすべて許容しない条件での健全果の収量減を10%とした場合の被害許容密度(葉当たり成虫0.17頭)¹⁾とほぼ一致するものであり、安定的な防除の可能性を示している。しかし、*Orius* sp.はミナミキイロアザミウマに対して10月下旬までは有効であったが、11月以降は餌が存在するにもかかわらず見られなくなり、ミナミキイロアザミウマの密度の回復が見られた。これは、*Orius* sp.が低温短日の条件下では成虫休眠し、捕食活動を停止し越冬場所へ移動してしまうことによるものと考えられる。したがって、晩秋期～冬期に*Orius* sp.を利用するには長日・高温条件を維持し休眠を誘起させないようにするため、電照や加温等の対策を講じる必要があると考えられる。

ハダニ類はチリカブリダニの放飼によりほぼ完全に抑圧され、問題はほとんどなかった。しかし、河合(未発表)はミナミキイロアザミウマの天敵として放飼された*Orius* sp.について、この種はハダニ類も捕食し密度抑制に強く働いている可能性がある

ことを指摘している。したがって、本試験におけるハダニの密度抑制にはチリカブリダニだけではなく *Orius* sp. の働きも加わっていた可能性も考えられるので、今後、*Orius* sp. のハダニ類に対する役割を明らかにするとともにチリカブリダニの放飼比率を低くした場合の効果についても検討を行って見る必要がある。

オンシツコナジラミは天敵放飼区では低密度に維持され、オンシツツヤコバチの放飼効果が見られ低密度に維持された。しかし、本試験では、無放飼区においてもオンシツコナジラミの密度はそれほど高くなり、天敵放飼区との差異が判然としない面も残った。無放飼区においてオンシツコナジラミが多発しなかった原因ははっきりしないが、無放飼ではハダニ類やミナミキイロアザミウマが多発し、ナスの葉が著しく損傷を受け枯死葉もかなりみられるような状態となったことがオンシツコナジラミの増殖を阻害した一因ではないかと考えられる。

また、本試験では当初試験の対象とした3種の害虫の他アブラムシ類とハスモンヨトウの発生が見られた。アブラムシ類については人為的な天敵の放飼を行わなかったが、天敵放飼区ではテントウムシ類が自然発生し、アブラムシ類は多発には至らなかった。このことは、重要害虫に対する天敵の利用により薬剤の散布回数が減少すると、土着の天敵類の活動が促されその他の害虫についても総合的な防除が可能となることを示唆するものである。しかし、ハスモンヨトウは一部の株で多発し、それらの株では葉がかなり食害されるという状況も観察された。したがって、施設栽培ナスの害虫に対する天敵類の総合利用を進めるにあたっては、今後、マイナーな害虫も含めた総合的な対策を講じる必要がある。

オ. 今後の問題点

冬季加温・電照条件下における防除効果の検討、選択的農薬等他の防除手段との総合化の検討。

カ. 要 約

施設栽培のナスの重要害虫であるミナミキイロアザミウマ、ハダニ類、オンシツコナジラミに対して *Orius* sp., チリカブリダニ、オンシツツヤコバチの3種天敵を放飼し、天敵の複合利用の可能性を検討した。ミナミキイロアザミウマ、ハダニ類、オンシツコナジラミの3種害虫は天敵のみにより約2カ月間低密度に抑制され、3種天敵の複合利用に成功

した。併せて、アブラムシ類は自然発生のテントウムシ類により抑制され、重要害虫に対する天敵の利用による薬剤散布の低減が土着天敵の活動を促進し、総合防除を可能にすることが実証された。

キ. 引用文献

- 1) 河合章, ミナミキイロアザミウマ個体群の生態学的研究 12. ナスおよびピーマンにおける被害解析, 応動昆, 30, 179 - 187 (1986)

(柏尾具俊)

2. 施設ブドウにおける総合防除技術の開発

(1) 天敵と薬剤の併用による害虫防除効果

ア. 研究目的

施設ブドウに発生するカンザワハダニとクワコナカイガラムシには捕食性カブリダニ類、捕食性昆虫、寄生蜂等の天敵が見出されているが、これらを有効に利用するためには、天敵の利用法とハダニ、カイガラムシ以外の病害虫の防除法を含めた合理的な防除体系の開発が必要である。そこで、ケナガカブリダニとクワコナカイガラヤドリバチに対する農薬の影響と両天敵の放飼効果、クワコナカイガラムシの越冬虫に対するIGR剤の効果を明らかにする。

イ. 研究方法

(ア) ケナガカブリダニに対する農薬の影響

うどんこ病防除薬剤(ベノミル, チオファネートメチル, トリフルミゾール, トーパス(未登録)), チャノキイロアザミウマ防除薬剤(マンゼブ, カルタップ)のケナガカブリダニ(静岡県金谷町個体群; チャ寄生, 有機りん剤抵抗性)の発育に及ぼす影響を25℃の条件下で調査した。ハダニが寄生したインゲンマメ葉片にカブリダニの雌成虫を接種し産卵させた。1日後に雌成虫を取り除き、葉片を薬液に5秒間浸漬し、風乾した。この処理葉を寒天ゲルにのせ、処理後3~5日目にはふ化率を、6~9日目に発育率を調べた。カルタップ剤については雌成虫への影響についても調査した。すなわち、ハダニの寄生葉片を寒天ゲルにのせ、ふ化後7~10日のカブリダニ雌成虫を接種した。これらに回転式薬剤散布塔で薬液を7.5 ml ずつ散布し(薬液付着量約4 mg/cm²), 1日後に生存率と産卵数を調査した。

(イ) クワコナカイガラムシに対するIGR剤の効果

クワコナカイガラムシのふ化直前の越冬卵嚢とふ化直後の幼虫に対するFlufenoxuron（キチン合成阻害剤）液剤とフェノキシカーブ（幼若ホルモン活性剤）水和剤の防除効果を調べた。

クワコナカイガラムシの越冬卵嚢をふ化直前の4月30日に薬液に浸漬して6日後にふ化率を調査した。また、ふ化直後のクワコナカイガラムシ寄生枝に薬剤を散布し（5月8日）、22日後に防除効果を調べた。

(ウ) クワコナカイガラヤドリバチ成虫に対する農薬の影響

ブドウに登録がある4種の殺虫剤、2種の殺ダニ剤、5種の殺菌剤のクワコナカイガラヤドリバチ成虫に対する影響を調べた。クワコナカイガラムシの増殖は30℃に調節した飼育器で暗黒条件下でジャガイモの芽だしを用い、これにヤドリバチを寄生させ増殖した。

薬剤試験は、回転式薬剤散布塔で4mg/cm²の薬剤を葉包紙に散布し、風乾後管瓶の内壁に密着させたもので行った。この管瓶にヤドリバチの雌成虫約40個体を収容し、約24時間後に生死を判定した。瓶の開口部は通気のため針で穴をあけたパラフィルムでふたをし、管瓶の内側上部に10%蜂蜜液を薄く塗った。

(エ) ケナガカブリダニの放飼効果

ガラス室ブドウ（マスカット・オブ・アレキサンドリア）にケナガカブリダニの雌成虫（金谷個体群）を放飼し、カンザワハダニに対する防除効果を調べた。カンザワハダニの発生が少ない場合はインゲンマメで増殖したハダニを放飼前に接種し増殖した。放飼比率はハダニの寄生量をもとに決定した。寄生量は、放飼当日に調査枝の全葉に寄生しているハダニの雌成虫数と調査葉以外から採集した5葉に寄生しているハダニの発育ステージ構成を調査し、次式により換算した。

$$\text{ハダニ寄生量} = \text{調査枝での寄生雌成虫数} \times \left\{ 1 + \left(\frac{\text{発育ステージ調査での卵数}}{5} + \frac{\text{幼若虫数}}{3} \right) \right\} / \text{雌成虫数}$$

1988年：ガラス室内西側の南北に植え付けた6本のブドウ（短梢，平棚仕立て，2年生）を試験樹とした。ケナガカブリダニ放飼A区（放飼比率（ハダニ寄生量：カブリダニ雌成虫数）＝10：1），放飼B区（放飼比率＝20：1），無放飼区（C）の3区

を設定し，1区につき南側と北側の計2樹供試した。各樹から3本の結果枝を選び，1枝当たり5葉を調査葉に定めた。放飼は8月19日に行った。

1989年：試験方法は'88年と同様である。6月7日にサリチオン水和剤2000倍＋トリアジメホン水和剤2000倍，6月27日にアセフェート水和剤5000倍を散布した。放飼は7月18日に行った。

1990年：クワコナカイガラヤドリバチの放飼試験で使用したガラス室ブドウを用いた。ガラス室内の北側と南側に1本ずつ植え付けられたブドウ（パルメット仕立て，18年生）を試験樹とした。各樹から2本の亜主枝を選び，各々をケナガカブリダニ放飼区（A），無放飼区（C）とした。1区につき3本の新梢を選び，新梢当たり5葉を調査葉に定めた。ケナガカブリダニの放飼は10月15日に行った。放飼比率は20：1とした。

(オ) クワコナカイガラヤドリバチの放飼効果

クワコナカイガラムシが寄生しているガラス室ブドウにクワコナカイガラヤドリバチ成虫を1990年6月25日に雌150，雄50個体，7月2日に雌150，雄50個体，7月9日に雌250，雄100個体，合計750個体を放飼した。寄生密度の調査は6月22日（放飼前），8月10日（放飼後46日目）ならびに越冬期（1991年1月16日）と萌芽期（1991年5月2日）に行った。

放飼前及び放飼後46日目の調査は，亜主枝8本の上段，中段及び下段の3部位について果房及び茎葉をランダムに選び，越冬期は同部位の残存葉41枚，結果枝41本，亜主枝10本（計276カ所）について同様に行った。萌芽期は同様に亜主枝8本の3部位からそれぞれ25本の芽（平均葉数5）の全葉について幼虫寄生数を調査した。

90年6月6日にトリアジメホン水和剤1,000倍をブドウへ，7月4日にパルメトリン水和剤2,000倍をブドウガラス室周辺のサンゴジュに散布した。

ウ. 研究結果

(ア) ケナガカブリダニに対する農薬の影響

ベノミル，チオファネートメチル，トーバス剤はケナガカブリダニのふ化に悪影響がほとんどなく，半数以上が成虫に発育した。また，発育した雌成虫の胴体部は肥大し，産下卵も多数観察された。トリフルミゾールとカルタップ剤処理ではふ化率は高かったが，発育率が低かった。マンゼブ剤ではふ化率

表3-2 ケナガカブリダニに対する数種薬剤の影響

薬 剤 名*	含有量	希釈倍数	供試卵数	ふ化率	発育率
	%			%	%
ベ ノ ミ ル	50	2,000	61	100	70
チ オ フ ァ ネ ー ト	50	1,500	58	100	64
メ チ ル	30	2,000	50	100	0
トリフルミゾール	5	2,000	50	100	78
ト ー パ ス**	75	800	50	34	0
マ ン ゼ ブ	50	1,000	50	90	0
カルタップ					

* すべて水和剤

** 1-[2-(2, 4-dichlorophenyl)-pentyl]-1H-1, 2, 4-triazole

が低く、成虫に発育するものが認められなかった（表3-2）。カブリダニの雌成虫にカルタップ剤の2,000～8,000倍液を散布した場合、ほとんどが死亡するか葉片から逃亡した（表3-3）。

(イ) クワコナカイガラムシに対するIGR剤の効果

Flufenoxuron 剤のふ化直前の卵囊浸漬処理は、対照のサリチオンよりも高い殺卵効果を示したが、ふ化直後の幼虫に対する散布では効果が劣った。ふ化直前とふ化直後処理のいずれにおいても展着剤加

表3-3 ケナガカブリダニ雌成虫に及ぼすカルタップ剤の影響

希釈倍数	供試雌成虫数	生存率*	死亡率	逃亡虫率
		%	%	%
2,000	28	7	39	54
4,000	25	12	44	44
8,000	28	0	61	39
対照(水散布)	28	100	0	0

* 処理葉に残存していた割合

用の効果はほとんど認められなかった。

フェノキシカーブ水和剤のふ化直前の卵囊浸漬処理は、サリチオンより効果が高かった。展着剤加用の効果は認められなかった。ふ化直後の幼虫に対する散布処理では効果が劣ったが、展着剤を加えると顕著に効果が高くなった（表3-4）。

(ウ) クワコナカイガラヤドリバチ成虫に対する農薬の影響

4種の殺虫剤のうち、サリチオン、カルタップ、ペルメトリン剤ではヤドリバチはすべてが死亡した。ブプロフェジン剤処理では死亡率が低かったが、32%が死亡し、何らかの悪影響があると思われる。殺ダニ剤2種とベノミル等の5種の殺菌剤処理では6～18%の死亡率で悪影響が少ないものと考えられる（表3-5）。

表3-4 IGR剤のクワコナカイガラムシのふ化直前期及び幼虫発生初期における効果

供 試 薬 剤	希釈倍数	ふ化直前卵囊浸漬	1 齢幼虫散布
		ふ化率%	発育率%
Flufenoxuron 液剤 10 %	×1000	7.3	9.8
〃 + 展着剤A	+1000	9.6	13.2
〃 + 展着剤B	+1000	11.2	—
フェノキシカーブ水和剤25%	×1000	4.9	21.5
〃 + 展着剤A	+1000	8.2	0.7
〃 + 展着剤B	+1000	96.4	—
サリチオン乳剤 25 %	×1000	23.2	0.2
〃 + 展着剤A	+1000	—	0
展着剤A	×1000	38.9	8.4
無 散 布		88.5	30.1

表3-5 クワコナカイガラヤドリバチに
対する薬剤の影響

供 試 薬 剤 *	希釈倍数	補正死虫率 ** %
サ リ チ オ ン	1,000	100
カ ル タ ッ プ	1,000	100
ベ ル メ ト リ ン	2,000	100
ケ ル セ ン	1,500	9.9
ヘキシチアゾクス	2,000	15.7
ブプロフェジン	1,000	31.7
ベ ノ ミ ル	2,000	13.7
チオファネートメチル	1,500	5.8
イ プロ ジ オ ン	1,000	15.3
マ ン ネ ブ	800	9.4
ホ セ チ ル	800	17.1
水 処 理	—	(3.4)

* すべて水和剤

** 処理24時間後

(c) ケナガカブリダニの放飼効果

1988年：放飼区では放飼直後～7日目よりカンザワハダニの密度が低下し始め、A区南側樹では14日目に寄生密度（雌成虫数／葉）は5となった。その他の放飼区では14日目に3以下となった。これに対して無放飼北側樹でのハダニの密度は7日目より低下しはじめたが、14日目の寄生密度は11で、21日目に2となった。無放飼南側樹では28日目まで密度がほとんど減少しなかった。放飼期間中にハダニアザミウマ、タマバエの一種、オオヒメグモ等の天敵類も発生したが、その密度は放飼区よりも無放飼区の方で高かった（図3-8、表3-6）。

1989年：カブリダニ放飼当初は無放飼区に比べハダニの増殖を抑制する傾向を示したが、その後のハダニが増殖し、A区南側樹を除いて放飼効果がほとんど認められなかった（図3-9）。なお、収穫果にはチャノキイロアザミウマ等の病害虫による被害がほとんど認められなかった。

1990年：放飼区では放飼7日目よりカンザワハダ

表3-6 ケナガカブリダニ放飼試験におけるカブリダニ以外の
ハダニ捕食性天敵の1葉当たり延べ発生数

調査年	延べ 観察 回数	区	1 葉当たり延べ発生数 (%)			
			ハネカクシ の 1 種	ハ ダ ニ アザミウマ	タマバエ の 1 種	オオヒメ グモ
1988	8	北A	0.0(0)	0.5(67)	0.2(25)	0.1(8)
		B	0.0(0)	0.9(56)	0.1(8)	0.6(36)
		C	0.0(0)	3.8(77)	0.7(14)	0.5(9)
		南A	0.0(0)	0.9(41)	0.1(3)	1.2(56)
		B	0.2(9)	1.1(49)	0.3(11)	0.7(31)
		C	0.1(3)	1.3(57)	0.5(20)	0.5(20)
1989	6	北A	0.0(0)	3.2(73)	1.2(27)	0.0(0)
		B	0.1(3)	1.6(53)	1.3(43)	0.0(0)
		C	0.2(4)	1.6(34)	2.9(62)	0.0(0)
		南A	0.2(6)	1.3(39)	1.7(52)	0.1(3)
		B	0.1(2)	4.0(63)	2.3(36)	0.0(0)
		C	0.0(0)	2.6(57)	2.0(43)	0.0(0)
1990	7	北A	0.0(0)	0.0(0)	0.1(10)	0.6(90)
		C	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)	0.4(100)
		南A	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)	0.7(100)
		C	0.0(0)	0.1(13)	0.0(0)	0.5(88)

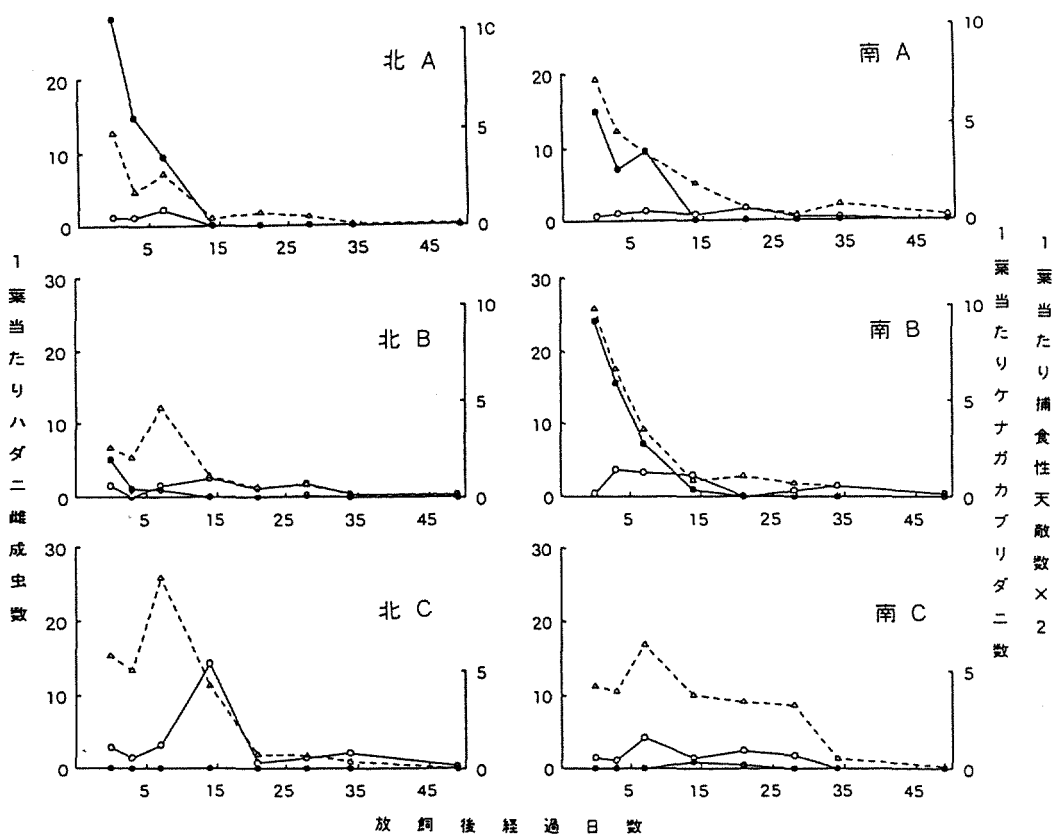


図3-8 ケナガカブリダニ放飼試験におけるカンザワハダニ(△), ケナガカブリダニ(●), カブリダニ以外の捕食性天敵(○)の個体数変動(1988年)

ニの密度が低下し始め、北側樹では放飼前密度(雌成虫数/葉)が11であったものが14日目に3となり、南側樹では放飼前密度が26であったものが14日目で2となった。21日目には両区とも寄生がほとんど認められなくなった。無放飼北側樹でのハダニの寄生密度の変動が少なく、21日目までの密度は北側、南側樹ともに10を越えていた(図3-10)。オヒメグモ以外の捕食性天敵は発生しなかった(表3-6)。また、収穫果にはチャノキイロアザミウマ、うどんこ病による被害がほとんど認められなかった。

(イ) クワコナカイガラヤドリバチの放飼効果

最初の放飼後46日目(クワコナカイガラシ第1世代成虫)の調査では、寄生蜂の寄生率は低く、第2世代幼虫の発生が見られた。そのため収穫果は60%以上がカイガラシのハニーデューによって汚染

されていた。しかし、越冬期の調査ではカイガラシ(第2世代成虫)のほとんどが寄生蜂によって死亡しており、越冬卵は1卵塊しか発見されなかった。寄生蜂の越冬個体も発見できなかった。これは、第2世代が死亡した結果、越冬卵を産む寄主(第3世代)が少なくなり、容易に発見できるだけのマミーができなかったものと思われる(表3-7)。

放飼当年内では、放飼虫数が少なかったこともあり、クワコナカイガラシによる果実被害を回避することはできなかった。しかし、越冬卵囊はきわめて少なく、翌年萌芽期の幼虫寄生調査では寄生が全く見られなかった。

エ. 考 察

ガラス室ブドウの主要病害であるうどんこ病防除薬剤のベノミル、チオファネートメチル、トールパス

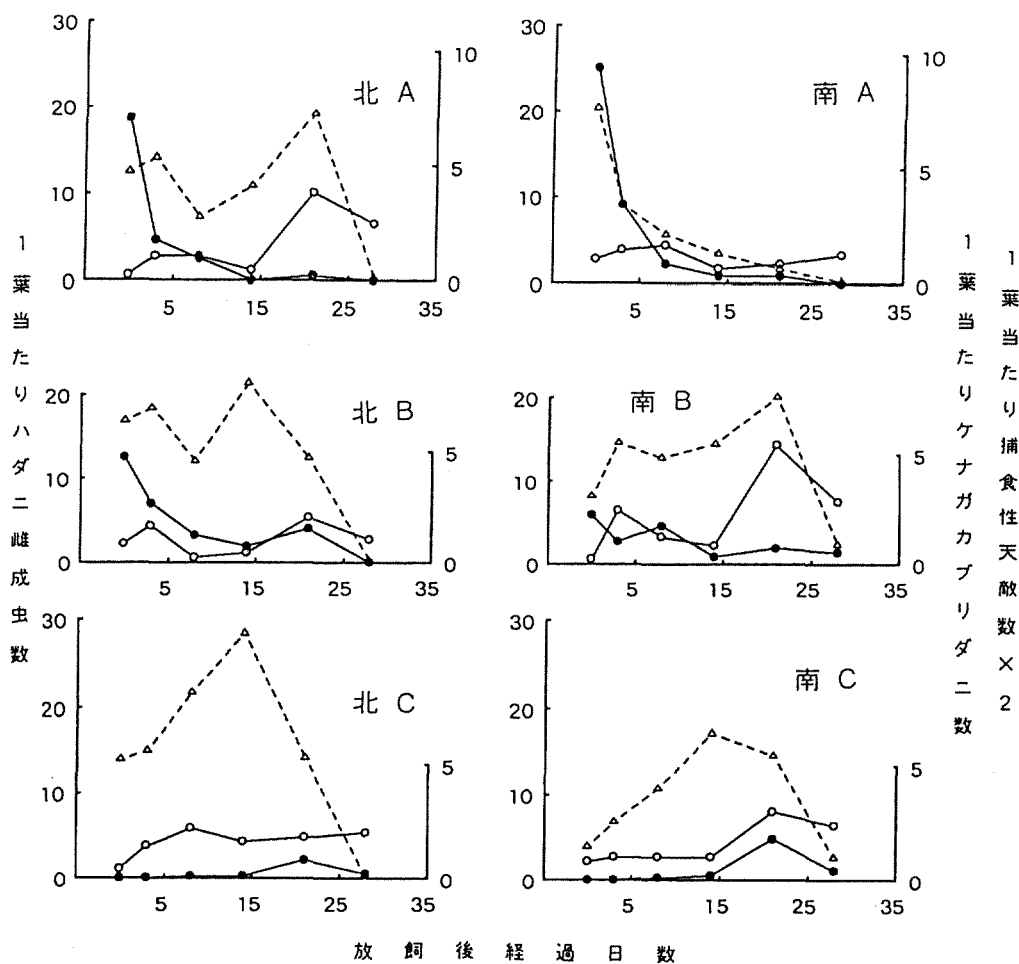


図3-9 ケナガカブリダニ放飼試験におけるカンザワハダニ(△), ケナガカブリダニ(●), カブリダニ以外の捕食性天敵(○)の個体数変動(1989年)

表3-7 クワコナカイガラヤドリバチの放飼効果

調査 時期	調査 場所 (亜主枝)	果 房				茎 葉			
		* 果房数	成幼虫数	** 卵囊数	*** マミー数	* 茎葉数	成幼虫数	** 卵囊数	*** マミー数
放飼前	上 段	10.4	0	0		15.0	0	0.2	
	中 段	13.6	0	0.03		30.0	0	0.1	
	下 段	9.3	0	0		15.0	0	0	
放飼 46日後	上 段	9.0	5.6	0.4	0.1	11.1	5.5	0.2	0.2
	中 段	8.0	3.6	0.2	0.2	10.9	4.5	0.1	0.2
	下 段	8.6	2.4	0.1	0.2	10.1	1.4	0.03	0.0

* 8 枝平均の果房, 茎葉数

** 卵囊を形成した成虫は死亡虫として数えていない。

*** クワコナカイガラヤドリバチ以外のマミーは含まない。

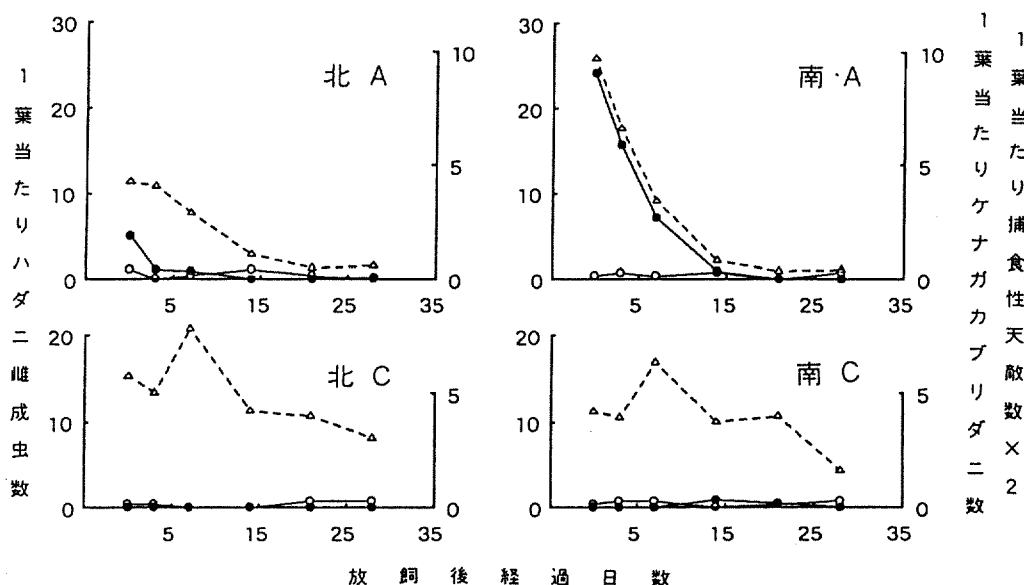


図3-10 ケナガカブリダニ放飼試験におけるカンザワハダニ(△), ケナガカブリダニ(●), カブリダニ以外の捕食性天敵(○)の個体数変動(1990年)

剤のケナガカブリダニの発育や産卵に対する悪影響はほとんど認められなかった。灰色かび病などの防除薬剤のイプロジオン¹⁾、ブドウに未登録ではあるがうどんこ病防除剤のトリアジメホンも悪影響がないことが知られているので、ケナガカブリダニの放飼と殺菌剤の散布とは十分併用可能と考えられる。チャノキイロアザミウマに効果があるマンゼブ、カルタップ剤は悪影響が認められ、カルタップ剤は忌避作用も認められた。チャノキイロアザミウマの防除とカブリダニの利用については今後さらに検討する必要がある。

クワコナカイガラムシ卵の休眠は12月中頃には覚醒していることが知られている。また、一般に休眠が発達している時期には各種の抵抗性が強く、薬剤に対しても抵抗性がある。したがって IGR 剤のような生理活性物質を処理するには、休眠覚醒後の方が効果が高くなると考えられる。そこで12月中旬、1月中旬(休眠覚醒後約1カ月)、3月初、4月末(ふ化約10日前)に卵嚢を Fenoxycarb に浸漬処理した。1月、3月の処理ではやや効果があったが、全ての時期を通じて実用的な効果は見られなかった。

また、卵嚢に対する薬液の浸透性を改善するために各種の展着剤を用いたが、効果は一定でなく薬剤によって異なった。

以上のとおり顕著な効果は見られなかったものの、従来から有機リン剤などを用いた越冬期防除は効果が低いとされており、ブドウでは越冬期の防除がされていないが、薬液の浸透性を高めればかなりの効果があり、ふ化幼虫密度を下げる効果はあると思われる。

ケナガカブリダニの放飼試験のうち、1988と'90年では放飼区のアダニの密度が無放飼区よりも早く低下した。カブリダニ以外の天敵の発生は'88年は無放飼区の方が多く、'90年は放飼、無放飼区共に少なかった。したがって、両年はケナガカブリダニの放飼効果が発揮されたものと思われる。これに対して7月中旬に放飼した'89年では調査開始21日後でもアダニは高密度に保たれ、ほとんど放飼効果が認められなかった。本研究に先立って、'86年と'87年の6月下旬にもケナガカブリダニの放飼試験を行っているが、'86年は高い放飼効果が認められた。'87年は放飼、無放飼区ともアダニアザミ

ウマが多発してハダニの密度が早期に減少したため、放飼効果は不明であった。'86～'90年にわたる放飼試験のうち'89年を除くと、カブリダニの雌成虫の放飼後1～2週間目にほとんどの場合幼若虫が1葉平均1個体以上寄生しているが、'89年ではこれよりも少なかった。したがって、'89年にカブリダニの放飼効果が低かったのは、試験期間中晴天の日が続き、高温乾燥条件がカブリダニの発育に悪影響を及ぼしたものと考えられる。

クワコナカイガラヤドリバチの放飼は、増殖計画が1年遅れたこともあり、クワコナカイガラムシの密度に対して十分な数であったとはいえ、そのため果実に対する被害を防ぐことはできなかった。しかし、越冬卵嚢数はきわめて少なく、また寄生蜂のマミーも発見できなかった。翌年の萌芽期のクワコナカイガラムシ幼虫寄生は、約600の芽（平均葉数5）でまったく見られず、放飼効果は十分あったと思われる。さらに放飼1年後の6月には、幼虫寄生果房はなかったが、8月には若干の寄生が見られた。これは91年7月中旬に、チャノキロアザミウマの防除に合成ピレスロイド剤を散布したため、羽化時期のヤドリバチが影響を受けたためと思われる。

オ. 今後の問題点

ケナガカブリダニとクワコナカイガラヤドリバチの利用に当たっては、チャノキロアザミウマ防除薬剤との組み合わせ方が今後の問題となる。施設周辺のアザミウマの発生源の防除や、カブリダニでは合成ピレスロイド剤抵抗性系統の利用等を、ヤドリバチではマミーのように比較的影響を受けにくいと思われるステージでの薬剤感受性や薬剤の残効を検討する必要がある。さらに、クワコナカイガラヤドリバチの放飼に当たっては、当初から十分な数を放

飼すること、ケナガカブリダニは高温低湿期ではハダニの密度抑制効果が劣るので、利用可能な時期を明らかにしておく必要がある。また、複合利用の実用化試験のためには、多数の天敵を常時供給できるような体制を作ることも必要である。

カ. 要 約

ベノミル、チオファネートメチル、トールパス剤のケナガカブリダニの発育に対する悪影響はほとんど認められなかった。トリフルミゾール、マンゼブ、カルタップ剤ではふ化または発育に悪影響があり、カルタップ剤は忌避作用が認められた。フェノキシカーブ、Flufenoxuron 剤のクワコナカイガラムシのふ化直前の卵嚢に対する浸漬処理は効果が認められたが、ふ化直後の幼虫に対する散布処理では実用的な効果は見られなかった。展着剤を加用した場合、効果は一定でなく薬剤によって異なった。クワコナカイガラヤドリバチ成虫の殺菌剤、殺ダニ剤に対する感受性は低かった。殺虫剤のうち、サリチオン、カルタップ、ペルメトリン剤ではヤドリバチはすべてが死亡した。プロフェジン剤も悪影響が認められた。ケナガカブリダニの放飼効果は1988年と'90年は認められたが、'89年は高温乾燥のため効果が明らかでなかった。クワコナカイガラヤドリバチの放飼試験では、当初ヤドリバチの寄生率が低かったが、越冬期になるとクワコナカイガラムシのほとんどが寄生蜂によって死亡した。

キ. 引用文献

- 1) 浜村徹三・井上晃一・芦原亘、チリカブリダニとケナガカブリダニに対する農薬の影響、応動昆虫学会報, 23, 25-30 (1981)

(坂神泰輔)