

## Steinernema 属昆虫寄生性線虫のハスモンヨトウ およびハチミツガ幼虫に対する感染性と増殖比較

近藤 栄造・石橋 信義 (佐賀大学農学部)

Comparison of infectivity and propagation of steinernematid nematodes on the lepidopterous insect larvae, *Galleria mellonella* and *Spodoptera litura*. Eizo KONDO and Nobuyoshi ISHIBASHI (Department of Applied Biological Sciences, Saga University, Saga 840)

The infectivity of the nematodes *Steinernema feltiae* (DD-136), *S. bibionis* and *S. glaseri* to the last instar larvae of *G. mellonella* and *S. litura* was higher in this order of nematodes. As the body size of the *S. litura* larva increased, the three species of nematodes required a longer time to kill the host. However, such tendency was not observed in the *G. mellonella* larva which was highly susceptible to the three species of nematodes. Based on the fresh weight of the host insect, the number of *S. feltiae* and *S. glaseri* nematodes which were recovered 14 days after the inoculation of ca. 1,000 infective juveniles from *G. mellonella* larvae was 2.5 or 3.1 times larger than that from *S. litura* ones, respectively. Similarly, the number of *S. feltiae* and *S. glaseri* nematodes recovered from *G. mellonella* larvae was large and 7.7 and 9.2 times as large as that from *S. litura* larvae, respectively. The highest infectivity and propagation of *S. feltiae* on *S. litura* larvae were observed at temperatures ranging from 24 to 27°C. At temperatures higher or lower than this range, the insect cadavers were readily colonized by fungi, mainly *Aspergillus oryzae*, and produced fewer nematodes. The propagation and establishment of the nematodes appear to be difficult in moist soil containing a large number of fungi and other saprophytic microorganisms.

ハチミツガは飼育が容易で、しかもその幼虫は各種の昆虫寄生性線虫に感受性が高いため、土壤中から線虫を検出する際のトラップ (BEDDING and AKHURST, 1975) や線虫増殖用の寄主 (DUTKYら, 1964) として利用されている。各種野菜の重要な害虫であるハスモンヨトウ幼虫も昆虫寄生性線虫 *Steinernema feltiae*, *S. bibionis* および *S. glaseri* に感染する (近藤・石橋, 1986; KONDO and ISHIBASHI, 1986)。前報 (KONDO and ISHIBASHI, 1987) で、これら3種線虫の昆虫体内への侵入数は、ハチミツガ幼虫よりハスモンヨトウ幼虫の方がやや少ないかほぼ等しかったが、ハチミツガ幼虫は線虫に対する防御反応がほとんどない (DUNPHY and WEBSTER, 1985; LYSenko and Webster, 1974; MATHA and MRACEK, 1984) ため侵入した線虫は早く発育した。本実験では、

*Steinernema* 属昆虫寄生性線虫のハチミツガ幼虫およびハスモンヨトウ幼虫に対する感染性と昆虫体内での増殖を比較調査するとともに、線虫の増殖に及ぼす温度および糸状菌による二次感染の影響について検討した。

### 実験材料および方法

供試線虫：線虫接種後20~30日にニワトリ内臓培地 (近藤ら, 1985) より分離した *Steinernema feltiae* (DD-136系統), *S. bibionis* および *S. glaseri* の感染態幼虫を実験に供した。

供試昆虫：ハチミツガ *Galleria mellonella* およびハスモンヨトウ *Spodoptera litura* の終齢幼虫を実験に供した (第1図)。

殺虫試験法：線虫の感染性試験は濾紙接種法 (近藤・石

橋, 1984; KONDO and ISHIBASHI, 1986) で行った。内径5.3cmのプラスチック製ペトリ皿の底に直径5.5cmの滤紙を1枚敷き、その上に0.4mlの0.1%ホルマリン液に懸濁した感染態幼虫を約1,000頭ずつ接種した。接種約30

分後にハスモンヨトウあるいはハチミツガの終齢幼虫を1頭ずつ放飼して25°Cに保ち、昆虫の死亡率を24時間間隔で5日間調査した。線虫感染に及ぼす温度の影響を調べる実験では、ハスモンヨトウ幼虫1匹当たり約1,000頭の *S. feltiae* を接種後、13, 21, 24, 27, 30あるいは33°Cに保ち、接種48時間後に死亡率を調査した。

**線虫の増殖調査:** 両種昆虫体内での増殖比較は *S. feltiae* および *S. glaseri* を用いて行った。感染死亡した終齢幼虫を0.1%ホルマリン液で湿らした滤紙を敷いた試験管内に個体別に収容した。以後25°Cに保ち、線虫接種21後日に死亡昆虫の体内より遊出した線虫を0.1%ホルマリン液で洗い出して計数した。実験に供した幼虫の大きさによる増殖数の違いによる誤差を除くため、両種昆虫における増殖線虫数は昆虫の生体重1mg当たりの線虫数で比較した。

ハスモンヨトウ幼虫体内での *S. feltiae* の増殖に及ぼす温度の影響を、線虫接種14日後に線虫を分離して調査した。その際、線虫の増殖適温を外れると死亡昆虫個体上で糸状菌が繁殖する傾向を示したので、菌糸で覆われたハスモンヨトウの体表面積と増殖線虫数との関係を調べた。すなわち、糸状菌の菌糸によって覆われた昆虫の体表面積の割合を100%, 50%以上99%以下, 1%以上49%以下, 0%の4段階に便宜的に分け、それぞれに100, 50, 25および0のスコアを与えて温度別の平均被覆度を算出し、増殖線虫数との関係を検討した。

## 結 果

### 1. 感染性

ハチミツガおよびハスモンヨトウ幼虫に対する殺虫力は、線虫の種類によって著しく異なる (第1表)。両種昆虫に対する感染性は *S. feltiae* が最も高く、線虫接種後48時間以内にすべての昆虫が死亡した。殺虫所要時間

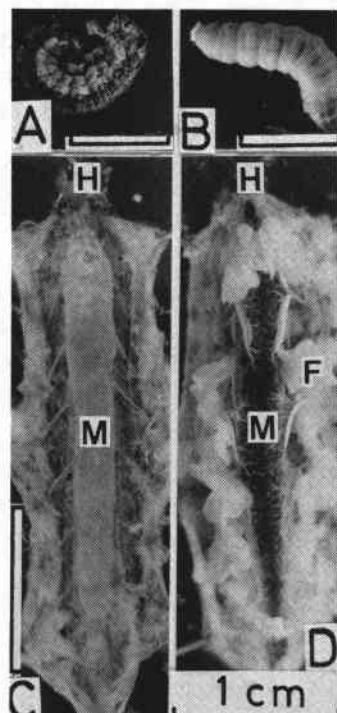


Fig 1. Morphology of last instar larvae of *Spodoptera litura* (A, C) and *Galleria mellonella* (B, D). H, head; M, midgut; F, fat body. Length of bar indicates 1 cm for all pictures.

Table 1. Body weights of larvae of *Spodoptera litura* and *Galleria mellonella* killed in 24 to 120 hr after inoculation with ca. 1,000 infective juveniles of steiner nematid nematodes per larva.

Nematodes inoculated	Host insects <sup>1)</sup>	Body weights (mg) of insect larvae killed <sup>2)</sup>				
		24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	120 hr
<i>S. feltiae</i>	<i>S. litura</i>	235 ± 150	282 ± 144	—	—	—
	<i>G. mellonella</i>	156 ± 38	116 ± 5	—	—	—
<i>S. bibionis</i>	<i>S. litura</i>	151 ± 51	283 ± 48	283 ± 88	563 ± 48	—
	<i>G. mellonella</i>	150 ± 40	160 ± 31	—	—	—
<i>S. glaseri</i>	<i>S. litura</i>	—	197 ± 33	207 ± 67	203 ± 55	318 ± 202
	<i>G. mellonella</i>	—	148 ± 36	176 ± 45	136 ± 37	—

1) Numbers of insects used were 37 to 38 for each nematode-insect combinations.

2) Body weights of insects killed in 24, 48, 72, 96 and 120 hr after inoculation.

は *S. feltiae* より *S. bibionis* および *S. glaseri* の方が長く、この傾向はハチミツガ幼虫を寄主とした場合よりハスモンヨトウ幼虫を寄主とした場合の方が顕著であった。いずれの種類の線虫を接種した場合でも、ハスモンヨトウ幼虫は大型のものより小型のものが早く死亡した。しかし、線虫に対する感受性が高いハチミツガ幼虫では、生体重と死亡所要時間との間に一定の傾向は認められなかった。

ハスモンヨトウ幼虫に対して最も高い感染性を示した *S. feltiae* の感染性に及ぼす温度の影響を調べた結果、24°C および 27°C で昆虫の死亡率は高く、この温度範囲よ

Table 2. Effect of temperature on the infectivity of *S. feltiae* to the last instar larvae of common cutworm, *Spodoptera litura*.

Temperature (°C)	Number of insects	
	used	infected <sup>a)</sup>
13	15	0.0
21	15	40.0
24	15	76.9
27	15	100.0
30	15	30.8
33	15	11.1

1) Infectivity was examined 48 hr after inoculation.

り高温あるいは低温になるにしたがって死亡率は低下した(第2表)。

## 2. 増殖比較

ハチミツガおよびハスモンヨトウ幼虫での *S. feltiae* および *S. glaseri* の増殖を調べた結果を第2図に示した。生体重1mg当たりの増殖線虫数はハチミツガ幼虫の方がハスモンヨトウ幼虫より著しく多く、*S. feltiae* の場合で約2.5倍、*S. glaseri* の場合で約3.1倍であった。また、寄主昆虫の違いによる両種線虫の増殖数を比較したところ、ハチミツガ幼虫を寄主とした場合には *S. feltiae* (685頭)の方が *S. glaseri* (93頭) より約7.7倍多く、ハスモンヨトウ幼虫では *S. feltiae* (275頭)の方が *S. glaseri* (30頭) より約9.2倍多かった。

## 3. 増殖に及ぼす温度と糸状菌の影響

*S. feltiae* および糸状菌(主に *Aspergillus oryzae*)のハスモンヨトウ死亡個体上での増殖は温度によって大差があった(第3表)。実験した温度範囲では、線虫の増殖は27°Cで最も多く、糸状菌で昆虫体が二次汚染された割合は最も低かった。21°Cから30°Cの温度範囲での増殖線虫数は、幼虫1頭当たり10<sup>4</sup>頭の水準となり、生体重1mg当たり113~172頭であった。この時に分離された線虫の99%以上は感染態幼虫であった。13°Cでは線虫の数は幼虫1頭当たり20頭ほどに激減し、33°Cでは線虫の

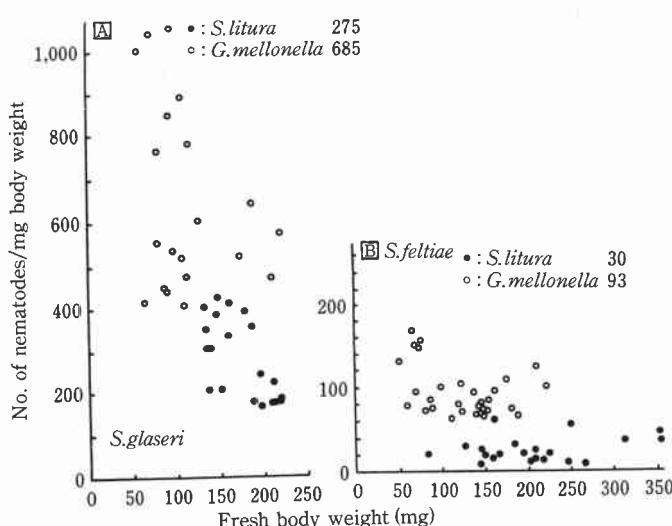


Fig. 2. Comparative propagation of *Steinernema feltiae* (A) and *S. glaseri* (B) in the larvae of *S. litura* (solid circle) and *G. mellonella* (open circle). Numerals in the graphs indicate the average number of nematodes recovered per mg body weight of insect.

Table 3. Propagation of *Steinernema feltiae* in the cadavers of the last instar larvae of common cutworm, *Spodoptera litura*, incubated at different temperatures<sup>1)</sup>.

Temperature (°C)	No. of insects		Scores of fungal growth <sup>2)</sup>	No. of nematodes recovered per		Infective juvenile (%)
	used	releasing nematodes		Insect	mg body weight	
13	13	12	19.2	$2.1 \times 10^1$	0	0.0
21	13	13	2.1	$4.1 \times 10^4$	166	100.0
24	13	13	3.8	$3.7 \times 10^4$	144	99.9
27	13	13	1.8	$4.4 \times 10^4$	172	100.0
30	13	13	5.8	$2.8 \times 10^4$	113	100.0
33	13	0	48.1	0	0	—

1) Nematodes were recovered 14 days after inoculation with ca. 1,000 infective juveniles per insect.

2) Average area of insect body surface covered with hyphae of *Aspergillus oryzae*.

増殖は認められなかった。全体に、線虫の増殖適温より高温あるいは低温になるにつれて糸状菌による二次汚染の程度は高くなり、増殖線虫数は減少した。

### 考 索

*Steinernema*属昆虫寄生性線虫の共生細菌 (*Xenorhabdus* spp.) は殺虫力 (POINAR and THOMAS, 1967; POINAR and HIMSWORTH, 1967) ばかりでなく線虫の発育・増殖と密接な関係 (POINAR, 1979; POINAR and THOMAS, 1966) にあり、動物質のたんぱく質や脂質含量の高い培地上で共生細菌が増殖しさえすれば線虫もよく増殖する (HARA ら, 1981)。昆虫体内での線虫の増殖も同様に、共生細菌および線虫に利用される昆虫体の量的・質的栄養レベルによって増殖線虫数は決定されると考えられる。

線虫の発育・増殖に実際に利用される昆虫体の量は、線虫に対する昆虫の感受性によってかなり異なる。すなわち、線虫に感染された昆虫の幼虫は摂食を停止し、その体重は死亡するまでは減少するが、体重の減少量は線虫の種類・接種数や昆虫の種類・発育ステージによって異なる。例えば、ハスモンヨトウ幼虫の場合、大きい幼虫を供試したり接種線虫数を少なくすると、昆虫の死亡所要時間は長くなり、線虫が増殖を開始する前に昆虫の体重がかなり減少する (KONDO, 1988)。本実験の結果、*Steinernema*属昆虫寄生性線虫3種に対して、ハチミツガ幼虫はハスモンヨトウ幼虫より感受性が高く早く死亡し、*S. feltiae*および*S. glaseri*はハスモンヨトウ幼虫よりハチミツガ幼虫で多く増殖した。両種昆虫体内で線虫の増殖数が著しく異なった一因は、線虫に対する感受性がハチミツガ幼虫の方が高く体重減少量が少なかったことに加えて、供試したハチミツガ老熟幼虫の方がたん白質および脂質含量の多い脂肪体を著しく多く含んでいた

ためと考えられる。

線虫の増殖は、線虫と昆虫の直接的関係ばかりでなく、物理化学的・生物学的環境条件によっても大きく影響される。とりわけ温度は、線虫の発育・増殖に直接的に影響する (KAYA, 1977; MILSTEAD, 1981; PYE and BURMAN, 1978) とともに、感染死した昆虫を利用して発育・繁殖する他の生物にも同時に影響する。本実験の結果 *S. feltiae* の感染性および増殖は、KAYA (1977) の報告と同様に25°C前後が最適であったが、増殖適温より高温あるいは低温になるにつれて糸状菌による二次感染が増加し線虫の増殖数は減少した。土壤中など自然環境下では、線虫の感染による昆虫の死亡個体は、感染態幼虫まで線虫が発育する前に昆虫や微生物によって摂食ないし分解されることが多いので、*S. glaseri*など発育・感染態幼虫の出現が早い種類を除いて線虫の増殖・定着はかなり困難と推察される。

### 引 用 文 献

- BEDDING, R. A. and AKHURST, R. J. (1975) *Nematologica* **21**: 109-110.
- DUNPHY, G. B. and WEBSTER, J. M. (1985) *Parasitology* **91**: 369-380.
- DUTKY, S. R., THOMPSON, J. V. and CANTWELL, G. E. (1964) *J. Insect Pathol.* **6**: 417-422.
- HARA, A. H., LINDEGREN, J. E. and KAYA, H. K. (1981) *Adv. Agri. Technol. Western Series USDA No. 16*, 8 pp.
- KAYA, H. K. (1977) *J. Nematol.* **9**: 346-349.
- KONDO, E. (1988) *Appl. Ent. Zool.* **22**: 560-569.
- 近藤栄造・石橋信義 (1984) 応動昆 **28**: 229-236.
- KONDO, E. and ISHIBASHI, N. (1986) *Appl. Ent. Zool.* **21**: 95-108.
- KONDO, E. and ISHIBASHI, N. (1987) *Jpn. J. Nematol.* **17**: 35-41.
- 近藤栄造・木多鈴美・石橋信義 (1985) 日線虫研誌 **15**: 1-10.
- LYSENKO, O. and WEBSTER, J. M. (1974) *J. Invertebr. Pathol.* **24**: 332-336.
- MATHA, V. and MRACEK, Z. (1984) *Nematologica* **30**: 86-89.
- MILSTEAD, J. E. (1981) *Nematologica* **27**

: 167 - 171. 14) POINAR, G. O., Jr. (1979) Nematodes for biological control of insects. CRC Press. Boca Raton, Florida, 277 pp. 15) POINAR, G. O., Jr. and THOMAS, G. M. (1966) Parasitology **56** : 385 - 390. 16) POINAR, G. O., Jr. and THOMAS, G. M. (1967) J. Invertebr. Pathol. **9** : 510 - 514. 17) POINAR, G. O., Jr. and

HIMSWORTH, P. T. (1967) J. Invertebr. Pathol. **9** : 241 - 246. 18) PYE, A. E. and BURMAN, M. (1978) Exp. Parasitol. **46** : 1 - 11.

(1988年4月23日 受領)