

昆虫病原糸状菌 *Beauveria brongniartii* の培養担体の検討

橋元 祥一¹⁾・坂口 徳光・柏尾 具俊^{2,3)}・行徳 裕⁴⁾
甲斐 一平⁵⁾・楢原 稔⁶⁾

(鹿児島県果樹試験場・²⁾果樹試験場口之津支場・⁴⁾熊本県農業研究センター果樹研究所・
⁵⁾大分県柑橘試験場・⁶⁾大分県柑橘試験場津久見分場)

A carrier for cultures of the entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii*, for the biological control of the whitespotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca*.
Syoichi HASHIMOTO¹⁾, Norimitu SAKAGUCHI, Tomotoshi KASHIO^{2,3)}, Yutaka GYOUTOKU⁴⁾,
Ipei KAI⁵⁾ and Minoru NARAHARA⁶⁾ (Kagoshima Fruit Tree Experiment Station, Taru-
mizu, Kagoshima 891-21. ²⁾Kuchinotsu Branch, Fruit Tree Research Station, Minami-
takaki-gun, Nagasaki 859-25. ⁴⁾Fruit Tree Laboratory, Kumamoto Prefectural Agri-
cultural Research Center, Shimomashiki-gun, Kumamoto 869-05. ⁵⁾Oita Citrus Tree
Experiment Station, Higashikunisaki-gun, Oita 873-05. ⁶⁾Tsukumi Branch, Oita Citrus
Tree Experiment Station, Tsukumi, Oita 879-24)

著者らは、昆虫病原糸状菌 *Beauveria brongniartii* によるカンキツのゴマダラカミキリの生物的防除の可能性が、極めて高いことを明らかにした(柏尾・氏家, 1988; 橋元ら, 1989; 柏尾・堤, 1990; 堤ら, 1990)。しかし、本菌の培養担体として用いられたフスマはカンキツ樹の根元に散布すると降雨で流亡することが、一方、ウレタンフォームは腐食しないことが難点であり、実用化に当たって、これらの改善が必要と考えられた。今回、新たな培養担体の素材としてパルプ不織布を用いて、*B. brongniartii* のゴマダラカミキリ成虫に対する病原性を検討したので、結果を報告する。

なお、本文に先立ち、種々ご指導賜った蚕糸・昆虫農業技術研究所の河上 清企画連絡室長と果樹試験場口之津支場の氏家 武虫害研究室長に深く感謝の意を表す。また、本菌の培養担体を提供して頂いた日東電工株式会社にお礼申し上げる。

材料および方法

1. 供試菌と培養担体の素材

供試した *B. brongniartii* は、キボシカミキリ分離菌株(日東電工株式会社提供)である。

本菌の培養担体として、不織布(パルプ不織布にグルコース等の培地成分を含ませたもの; 厚さ5mm, 幅5cm, 長さ50cm)とウレタンフォーム(橋元ら, 1989)に、蚕蛹エキスを培地で3~4日間振とう培養した菌液を

塗布し、25℃の恒温条件下で培養したものを供試菌とした。本報告では、菌培養直後で不織布が湿潤状態のものを不織布湿潤製剤、培養後に不織布を乾燥させたものを不織布乾燥製剤、ウレタンフォームで培養直後の湿潤状態のものをウレタン製剤とする。

2. 各製剤のゴマダラカミキリに対する病原性の検定

各製剤を、第1表に示した要領で、圃場に植栽されたウンシュウミカンの成木に1本ずつ施用しておき、これらを検体としてゴマダラカミキリ成虫に対する病原性を検定した。

1) 供試虫

B. brongniartii が施用された圃場から少なくとも1km以上離れた場所で採取されたゴマダラカミキリ成虫を、個体飼育しておき、試験に供した。

2) 処理方法

圃場に施用されてから所定の日数が経過した時点で、以下のいずれかの方法で、製剤に供試虫を接触させた。

第1の方法は、2m立法体の網ケージ内に製剤が施用された供試樹を1本ずつ収容し、供試虫を雌雄ほぼ同数ずつ放飼した。放飼時間は、試験1では72時間、試験3では48時間とした。

第2は、試験2と4に用いた方法で、製剤の一部(5×5cm)をランダムに10か所ずつ切り取り、プラスチック容器(径8cm, 高さ5cm)内に1片ずつ投入し、この中に供試虫を1頭ずつ収容して、室内で24時間接触させた。

3) 供試虫の飼育方法と病死の判定

1) 現在 鹿児島県高山農業改良普及所

3) 現在 野菜・茶業試験場久留米支場

供試虫は、処理後、新しいプラスチック容器（径12cm、高さ10cm）に移して、餌として与えたカンキツやセンダンの緑枝を3日毎に交換して、ほぼ25℃に調整された室内で20日間個体飼育した。

この間、供試虫の死亡状況を毎日調べた。死亡の原因が *B. brongniartii* によることの判定は、死亡後、虫体に白色菌糸が叢生するか否かによった。また、菌糸の叢生がみられない場合でも、餌として与えた緑枝を抱き込んで死亡した個体は病死虫と判定した。

3. 各製剤上の分生子数と生菌率の経時変化

ゴマダラカミキリに対する病原性の検定時に、製剤の一部（5×5cm）をランダムに10か所ずつ切り取り、検体とした。これを Tween40 を加えた蒸留水に入れてミキシングし、ゴース布で濾して分生子懸濁液を調整した。この懸濁液を希釈して血球計算盤で分生子数を計数し、培養担体 1 cm² 当たり分生子数を推定した。次に、分生子懸濁液を 10⁻³~10⁻⁶ の範囲で希釈し、径 9 cm のシャーレを用いた PDA 培地に 1 cc ずつ滴下して、20℃の恒温条件下で5日間静置し、この間に形成されたコロニー数を計数した。生菌率は、下式によって求めた。

$$\text{生菌率} = \frac{\text{PDA 培地上のコロニー数}}{\text{希釈液 1 cc の推定分生子数}} \times 100$$

4. 各製剤の圃場における防除効果

鹿児島県鹿屋市のボンカン成木園を供試した。まず、試験開始前の1990年6月7日に、前年までのゴマダラカミキリの羽化脱出孔を黄色ペイントでマークした。その後、3種類の *B. brongniartii* 製剤を枝かけ法で施用し、施用後75日経過した8月21日に、当年の羽化脱出孔と食入幼虫数を調べた。

結 果

1. 各製剤のゴマダラカミキリに対する病原性

不織布湿潤製剤とウレタン製剤が施用された網ケージ内に72時間放飼されたゴマダラカミキリ成虫は、第2表に示したように、いずれも10日前後ですべて死亡した。さらに、プラスチック容器内で製剤にゴマダラカミキリを24時間接触させた場合の病死率の経時変化を、第3表に示した。圃場に施用した時点の培養担体 1 cm² 当たり分生子数は、不織布湿潤製剤が 7.1×10⁷ 個、ウレタン製剤が 1.4×10⁸ 個であった。病死率は、施用後20日目までは90~100%であったが、35日目には40~50%まで低下した。試験期間中の降水量は、6~11日目までに60mm（降雨日数3日）、21~30日目に282mm（同7日）で、試験の後半にかなり集中的な降雨がみられた。

第1表 試験の実施要領

	試験1	試験2	試験3	試験4
試験実施場所	長崎県南高来郡口之津町	長崎県南高来郡口之津町	鹿児島県垂水市	熊本県下益城郡松橋町
試験期間 ¹⁾	始め 1989年8月8日 終り 1989年8月11日	1989年8月8日 1989年9月12日	1990年7月17日 1990年8月16日	1990年7月16日 1990年8月22日
供試製剤の種類				
不織布乾燥製剤			○	○
不織布湿潤製剤	○	○	○	
ウレタン製剤	○	○	○	○
製剤の施用方法 ²⁾				
枝かけ法	○	○	○	○
枝吊り下げ法				○
バンド法	○	○		
供試虫の処理方法 ³⁾				
網ケージ	○		○	○
プラスチック容器		○		
供試虫の処理時間 ⁴⁾	72時間	24時間	48時間	24時間
対応する試験成績	第2表	第3表	第1図	第2図

1) 製剤が圃場に施用された期間を示す。

2) 製剤の施用方法は、柏尾・堤（1990）によった。

3) ゴマダラカミキリ成虫と各製剤との接触方法を示し、網ケージ内への放飼か、小型プラスチック容器へ投入する方法によった。

4) 供試虫と各製剤との接触時間を示す。

第2表 網ケージ内で処理されたゴマダラカミキリに対する不織布湿潤剤の殺虫効果

供試製剤	施用方法	放飼虫数	回収虫数 ¹⁾	病死率 (%)
不織布湿潤剤	枝かけ法	14	13	100
不織布湿潤剤	バンド法	14	14	100
ウレタン製剤	枝かけ法	14	12	100
ウレタン製剤	バンド法	14	14	100
無処理	—	14	13	0

1) 供試虫は、網ケージ内に放飼後3日目に回収した。

第3表 プラスチック容器内で処理されたゴマダラカミキリに対する不織布湿潤剤の殺虫力の経時変化

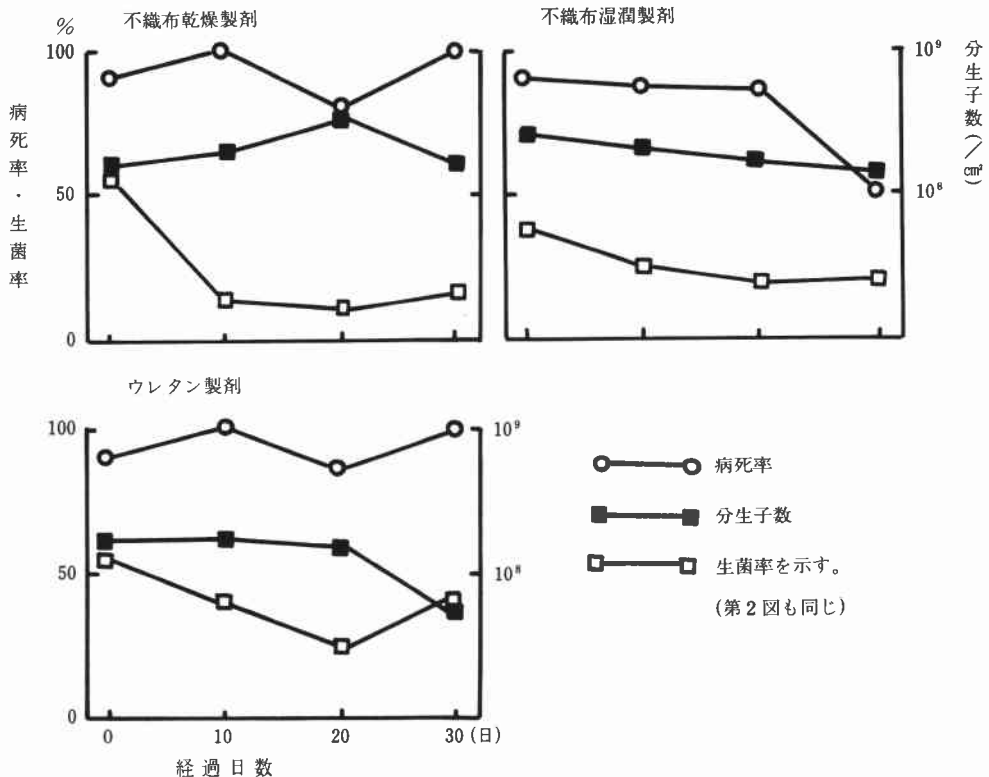
圃場に 施用後の 経過日数	供試菌の種類・施用方法と病死率			
	不織布湿潤剤		ウレタン製剤	
	枝かけ法	バンド法	枝かけ法	バンド法
0日	100	—	100	—
10日	90	100	100	100
20日	100	100	90	90
35日	50	50	50	40

3種類の製剤が枝かけ法で施用された網ケージ内に48時間放飼されたゴマダラカミキリ成虫の病死率は、第1図に示したように、不織布湿潤剤の30日目が50%と低い値であったが、この点を除くと、いずれの製剤も施用後30日までの範囲では80~100%の高い値が示された。試験期間中の降水量は、12~19日目に45mm(降雨日数3日)、23~28日目に13mm(同2日)であり、全体の降水量は少なかったが、20日目と30日目の生物検定を行なった1~2日前に5mmの降雨がみられた。

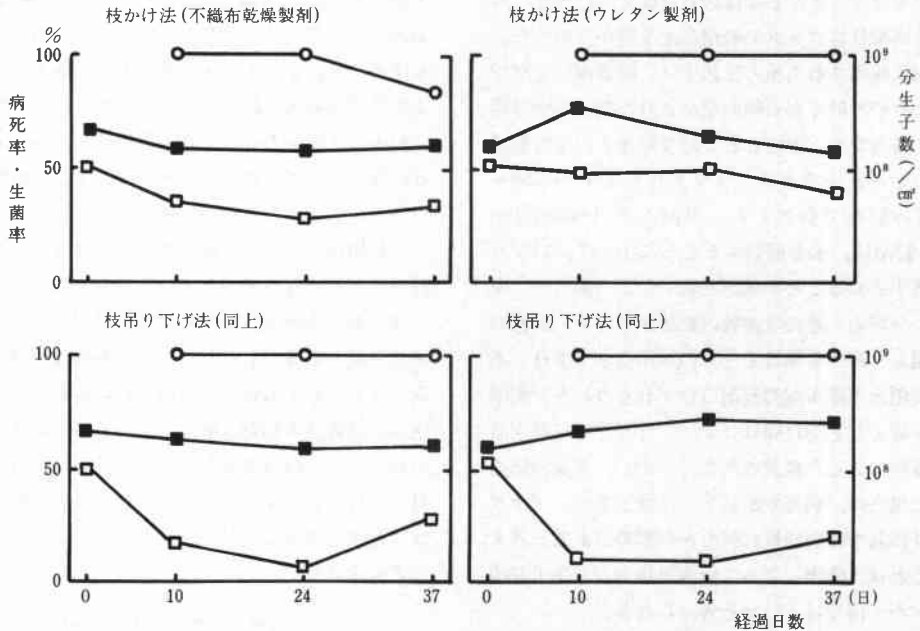
不織布乾燥剤とウレタン製剤を枝かけ法と枝吊り下げ法で施用しておき、プラスチック容器内で各製剤の切片に24時間接触させた場合のゴマダラカミキリの病死率は、第2図に示したように、いずれもほぼ100%の高い値が示された。試験期間中の降水量は、21日目まではほとんど降雨がなく乾燥状態であったが、22日以降は断続的な降雨があり、製剤は適度に保湿されていた。

2. 各製剤上の分生子数と生菌率の経時変化

3種類の製剤を枝かけ法で施用した場合の培養担体1cm²当たり *B. brongniartii* の分生子数は、第1図に示したように、いずれの製剤も施用後30日目まで10⁸のオー



第1図 ゴマダラカミキリに対する *B. brongniartii* の病原性と分生子数の推移

第2図 *B. brongniartii* 菌の施用方法が分生子の生存とゴマダラカミキリに対する病原性に及ぼす影響

ダーであった。一方、施用時の生菌率はいずれも50%前後と推測されたが、施用後10~30日目については、不織布乾燥剤で13~18%、不織布湿潤剤で20~25%、ウレタン剤で25~39%の範囲であった。このように本菌の培養担体をパルプ不織布に変更した場合、圃場に施用後の分生子の生存率がウレタンフォームよりわずかに低くなる傾向が示されたが、培養担体1cm²当たり分生子数と生菌率から推定された生菌数は、いずれも10⁷のオーダーであり、製剤間の差は認められなかった。

次に、不織布乾燥剤とウレタン剤を枝かけ法と枝吊り下げ法で施用した場合の分生子数の推移を、第2図に示した。培養担体1cm²当たりの分生子数は、施用後37日目までいずれも10⁸個、また、生菌率から推定された生菌数も10⁷個のオーダーであり、製剤や施用法の違い

による差は認められなかった。しかし、枝かけ法と枝吊り下げ法の生菌率を比較すると、不織布製剤とウレタン製剤のいずれも枝かけ法が枝吊り下げ法より20~40%の範囲で高かった。

3. 各製剤の圃場における防除効果

3種類の *B. brongniartii* 製剤が枝かけ法で施用された圃場におけるゴマダラカミキリの発生状況を、第4表に示した。1樹当たり羽化脱出孔数は試験区間でかなり差があり、この点が問題ではあるが、施用後75日経過した時点の食入幼虫数をみると、処理区は無処理区の1/8~1/6の範囲にあり、いずれも高い防除効果が期待できると思われた。

考 察

ゴマダラカミキリの羽化脱出は、初期から15~20日で盛期に達し、この間に約80%が脱出する。また、カンキツ園内への移入虫も相当数あると推測され、これらを含めた園内の生息数は、成虫の脱出初期から20~30日目にピークに達することが多い。これらのことから、本虫に対する *B. brongniartii* 製剤の有効期間は少なくとも30日程度は必要と考えられるので、これを一応の目安として、パルプ不織布を培養担体の素材として用いた場合のゴマダラカミキリに対する病原性を検討した。

不織布乾燥剤や不織布湿潤剤のいずれも、初期の

第4表 ゴマダラカミキリに対する *B. brongniartii* 菌の各種製剤の圃場における防除効果

供試製剤	調査樹数	1樹当たり		B/A
		脱出孔(A) ¹⁾	幼虫(B) ²⁾	
不織布乾燥剤	22	1.09	1.23	1.13
不織布湿潤剤	37	0.20	1.41	7.05
ウレタン製剤	29	0.03	1.62	54.00
無処理	16	2.63	9.31	3.54

1) 成虫の脱出孔数, 2) 食入幼虫数を示す。

分生子数は 10^6 個/cm²のオーダーで、生菌率は50%程度であり、ゴマダラカミキリをほぼ10日前後で死亡させ、本虫に対する病原性はウレタン製剤と全く差がなかった。一方、圃場に施用された後の生菌率は、両製剤ともウレタン製剤よりやや低くなる傾向が示されたが、1か月程度経過した時点でも、推定された培養担体上の生菌数は 10^7 個/cm²のオーダーであり、ゴマダラカミキリも80~100%の高い割合で病死した。供試した3種類の *B. brongniartii* 製剤は、水を補給することによって、いずれも生菌が再生されることが確認されている（樋口ら、未発表）が、今回の一連の生菌数の推移からみて、同様のことが圃場レベルでも期待できるのは明らかであり、不織布乾燥製剤と不織布湿潤製剤のいずれもウレタン製剤と同様に少なくとも30日間はゴマダラカミキリに対する殺虫力を維持できると推測された。しかし、多量の降雨がみられた場合は、病死率が低下した例があり、ゴマダラカミキリに対する病原性に何らかの影響があると考えられた。これは、降雨によって培養担体上の分生子が流亡することが一因ではないかと考えられる。

B. brongniartii をカンキツ樹の主幹部（枝かけ法）と枝梢部（枝吊り下げ法）に施用した場合、施用後37日目でもゴマダラカミキリはほぼ100%の高い割合で病死したが、培養担体上の分生子の生菌率は、製剤の種類にかかわらず、枝梢部の方が低くなる傾向が示された。カンキツ樹の枝梢部の気温は、主幹部より約1℃高目に経過し、特に35℃以上の高温に遭遇する時間が長く（橋元・行徳、未発表）、このことが分生子の生存に影響する可能性が

高いと考えられた。このようにカンキツ樹の枝梢部（地上約1 m）は、本菌の施用部位として主幹部（地上約30 cm）より悪いようであるが、直射や降雨を避ける工夫をすることによって、病原性をあまり低下させることなく施用できる可能性のあることが明らかにされた。

以上のことから、パルプ不織布は、*B. brongniartii* の培養担体としてゴマダラカミキリに対する病原性を従来のウレタンフォームと同等に維持することが可能で、さらに、施用後2か月程度経過すると腐食してしまうために後始末が不要な点が優れていると考えられた。また、ウレタン製剤や不織布湿潤製剤は培養担体を1枚ずつ隔離する必要があるのに対して、不織布乾燥製剤は束ねてコンパクトにして輸送できる点が特に優れており、実用化後の大量輸送の問題は解決できたものと考えられる。したがって、不織布乾燥製剤が最も実用性は高いようであり、今後はゴマダラカミキリに対する病原性に影響を及ぼす要因を解明し、効果をさらに安定させる必要があると考えられる。

引用文献

- 1) 橋元祥一・柏尾具俊・堤 隆文 (1989) 九病虫研究会報 35 : 129-133.
- 2) 柏尾具俊・氏家 武 (1988) 九病虫研究会報 34 : 190-193.
- 3) 柏尾具俊・堤 隆文 (1990) 九病虫研究会報 36 : 169-172.
- 4) 堤 隆文・柏尾具俊・橋元祥一・行徳 裕・甲斐一平・橋原 稔 (1990) 九病虫研究会報 36 : 173-176.

(1991年6月13日 受領)