

天敵糸状菌 *Metarhizium anisopliae* のアリモドキゾウムシに対する殺虫活性とサツマイモほ場における防除効果

鳥越 博明¹⁾・和泉 勝一²⁾・山口 卓宏¹⁾
(¹⁾ 鹿児島県農業試験場大島支場・²⁾ 鹿児島県農業試験場)

Pathogenicity and control effects of an entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, to the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius), in sweet potato fields. Hiroaki Torigoe¹⁾, Shoichi Izumi²⁾ and Takuhiro Yamaguchi¹⁾ (¹⁾ Ohshima Branch, Kagoshima Prefectural Agricultural Experiment Station, Naze, Kagoshima 894-0068, Japan. ²⁾ Kagoshima Prefectural Agricultural Experiment Station, Kagoshima 891-0116, Japan)

Key words: *Cylas formicarius*, entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, pathogenicity, sweet potato

鹿児島県の奄美群島では1915年にアリモドキゾウムシ *Cylas formicarius* の発生が初確認され、以後1940年までに奄美群島全域に分布するに至った。1953年奄美群島の日本復帰にともない、本種は植物防疫法に基づく有害動植物に指定され、サツマイモ等の寄主植物の未発生地域への移動は禁止されている。現在、サツマイモほ場ではアリモドキゾウムシの防除対策として、サツマイモ植え付け時、植え付け45日後、さらにその後20日おきに2～3回の薬剤散布が行われている。

このような深刻な状況の下で、南西諸島からの本種の根絶を目的とした国庫事業が開始され、その一環として1994年から喜界島の一部で不妊虫放飼法による根絶実証事業が行われている。この実証事業では、不妊虫放飼前の密度抑圧対策として、寄主植物の除去、殺虫剤の散布および合成性フェロモン剤の施用が行われている。しかし、抑圧防除地域は広域にわたるため、作業労力面や環境への配慮から生物的防除法の開発が求められている。

これまで本種の生物的防除法として、昆虫寄生性線虫 *Steinernema carpocapsae* 等 (Jansson et al., 1989; 山口ら, 1998) や天敵糸状菌 *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces lilacinus* (Khan et al., 1990; 安田, 1997) 等の利用が試みられている。筆者らはサツマイモほ場における防除対策に加え、特に根絶事業における不妊虫放飼前の密度抑圧防除の一手法として、コガネムシ類やアルファルファタコゾウムシに対する防除効果が知られている (Yokoyama et al., 1993; 藤家, 1998; 櫻井, 1998) 天敵糸状菌 *Metarhizium anisopliae* について、その利用

の可能性を検討してきた。ここでは、本菌の生育適温、アリモドキゾウムシに対する処理量や温度による殺虫活性の違い、さらにサツマイモほ場での防除効果について検討したので、その概要を報告する。

本論に先立ち、本報告をまとめるに当たり御指導を頂いた鹿児島県農業試験場大島支場長の瀬戸口脩博士、菌株を分譲して頂いた岐阜大学教授の櫻井宏紀博士に厚くお礼申しあげる。

材料および方法

1. 供試菌

岐阜大学櫻井宏紀教授から分譲頂いた *Metarhizium anisopliae* (山1菌株) を用いた。

2. *Metarhizium anisopliae* の生育適温

酵母エキス加用 Sabouraud 系寒天培地 (新田, 1993) を流し込んだシャーレ (直径9 cm) に、本菌を置床し、5℃～40℃下で20日間培養し、定期的に菌糸長を計測した。20日間培養後、本菌はすべて27.5℃条件で15日間培養し、菌糸長を測定した。試験は5反復で行った。

3. 噴霧接種による *M. anisopliae* のアリモドキゾウムシ殺虫活性に及ぼす温度と接種孢子量の影響

飼育容器 (内径9 cm × 深さ15 cm, フタ孔ゴース張り) に湿った砂土を1.5 cmの深さに入れ、アリモドキゾウムシ成虫を放飼して、本菌の孢子懸濁液をハンドスプレーで噴霧接種した。孢子懸濁液は、本菌を酵母エキス加用 Sabouraud 系斜面寒天培地上で25℃, 32日間培養して形成した分生孢子を手水道水で洗い落とし懸濁し、血球計算盤にて孢子数を計数して1 ml 当たり 1.1×10^8

個および 1.1×10^7 個の濃度に調整した。菌接種後、供試虫をサツマイモ片を餌として25℃および15℃条件で飼育し、8、12、15および18日後の死亡虫数を調査した。死亡虫は加湿したろ紙を敷いたシャーレ内に置いて、25℃4日間後の菌糸発生と分生孢子形成の有無によって感染による死亡を確認した。試験には飼育容器当たり雄雌15頭ずつ計30頭を供試し、3反復で行った。それぞれ無接種対照区を設けた。

4. *M. anisopliae* 増殖固形培地施用によるアリモドキゾウムシ殺虫活性に及ぼす温度の影響

上記3.と同様に砂土を入れた飼育容器（内径9cm×深さ15cm、フタ孔ゴース張り）の片隅に1g当たり孢子濃度 1.5×10^9 個の菌培養固形培地を0.2g施用し、アリモドキゾウムシ成虫を放飼した後、サツマイモ片を餌として27℃、20℃及び15℃の3条件で飼育した。菌培養固形培地は供試菌の菌糸片を固形培地（もみがら1kg、米ぬか2kg、蒸留水2l）で培養して作成した。固形培地の孢子濃度は菌培養培地に蒸留水を注入し、これを試験管ミキサーで5分間処理懸濁させ、孢子数を血球計算盤で計数して求めた。試験は飼育容器当たり雄雌15頭ずつ計30頭放飼の1反復で行った。なお、それぞれ無接種対照区を設けた。供試虫の死亡は菌施用1日後から毎日調査し、菌感染による死亡は前記と同じ方法で確認した。

5. サツマイモほ場における *M. anisopliae* のアリモドキゾウムシ防除効果

サツマイモに対する本菌の防除効果を1998年と1999年の2回、鹿児島農試大島支場内ほ場で検討した。

試験1

1998年5月13日にサツマイモ（品種ベニオトメ）を3.7a植え付け、1区20.3m²3反復で試験を行った。試験区の構成は第1表に示した。各試験区にはアリモドキゾウムシの発生を促すために、7月15日と8月3日に雄雌それぞれ15頭の計30頭の累代飼育しているアリモドキ

第1表 サツマイモほ場における *Metarhizium anisopliae* によるアリモドキゾウムシ防除試験区の構成（1998年）

試験区	菌培養固形培地施用量 ^{a)}	施用日	施用回数
1	4g/m ²	7月6日（植付54日後）	1回
2	25g/m ²	7月6日（植付54日後）	1回
3	25g/m ²	7月6、24日（植付54、73日後）	2回
4	25g/m ²	7月24日（植付73日後）	1回
5	6kg/10a	7月6、24日（植付54、73日後）	2回
6	無処理	-	-

a) 施用日毎の施用量で試験区5はカルボスルファン粒剤。

ゾウムシ成虫を放飼した。*M. anisopliae* 施用区には、7月6日（植え付け54日後）と7月24日（植え付け73日後）に前記4.の方法で培養した菌培養固形培地を、区の中央3畦のサツマイモ株元に所定量ずつ施用した。それぞれ施用した固形培地の孢子濃度は1g当たり 10^7 個であった。なお、7月6日に施用した培養菌の殺虫活性は、給餌用のサツマイモ片を入れた飼育容器に、アリモドキゾウムシ成虫を雄雌それぞれ15頭ずつ計30頭を放飼し、菌培養固形培地0.2gを容器片隅に置いて25℃で飼育し、感染死亡虫数を調査することにより検定した。その結果8日後に70%、13日後に87%の死亡が認められた。またこの試験では、対照薬剤としてカルボスルファン粒剤を7月6日（植え付け54日後）と7月24日（植え付け73日後）に6kg/10aずつサツマイモ株元に手まき散布した。

被害調査は10月19日に行い、各試験区5畦の中央3畦から連続5株ずつ計15株のサツマイモを掘り取り、最大直径1cm以上の塊根を1株5個ずつ、スライサーを用いて3mm幅に輪切りにし、切り口の加害孔数を計数した。被害度は下記の式により算出した。なお、加害孔数が11以上の場合は加害孔がつながり、計数が困難であったため、加害孔数15として取り扱った。

$$\text{被害度} = \frac{\sum (\text{加害孔数} \times \text{該当スライス数})}{\text{調査スライス数} \times 15} \times 100$$

試験ほ場でのアリモドキゾウムシの発生状況は、10月28日に各無処理区から2株ずつ計6株掘り取ったサツマイモを株毎にタッパー（網付き）に入れ、27℃35日間静置後の羽化脱出虫により調査した。

試験2

1999年5月12日にサツマイモ（品種ベニオトメ）を3.8a植え付け、1区15.8m²3反復で試験を行った。試験区の構成は第2表に示した。試験区内には試験1と同様に、6月22日と8月6日にアリモドキゾウムシ成虫を放飼した。菌処理区は6月1日（植え付け20日後）、6月21日（植え付け40日後）、7月12日（植え付け61日後）に前記の方法で培養した菌培養固形培地を、区の中央3畦のサツマイモ株元に所定量ずつ施用した。また、マルチ（黒）栽培する区も設けた。それぞれの固形培地の孢子濃度は1g当たり6月1日施用が 4.3×10^8 個、6月21日施用が 1.5×10^9 個、7月12日施用は 1.3×10^9 個であった。これら施用培養菌の殺虫活性も、アリモドキゾウムシ雄雌それぞれ30頭を供試し、試験1の方法に準じて検定した。これにより感染死亡虫83～90%の高い殺虫活性を有することが確認された。対照薬剤のカルボスルファン粒剤は6月21日（植え付け40日後）と7月12日（植え付け61日

第2表 サツマイモほ場における *Metarhizium anisopliae* によるアリモドキゾウムシ防除試験区の構成 (1999年)

試験区	菌培養固形培地施用量 ^{a)}	施用日	施用回数
1	30g / m ²	6月1日, 21日 (植付20, 40日後)	2回
2	30g / m ²	6月21日, 7月12日 (植付40, 61日後)	2回
3	6kg / 10a 30g / m ²	6月21日 (植付40日後) 7月12日 (植付61日後)	1回 1回
4	6kg / 10a	6月21日, 7月12日 (植付40, 61日後)	2回
5	30g / m ²	6月1日 (植付20日後)	1回
6	30g / m ²	6月21日 (植付40日後)	1回
7	—	—	—
8	無処理	—	—

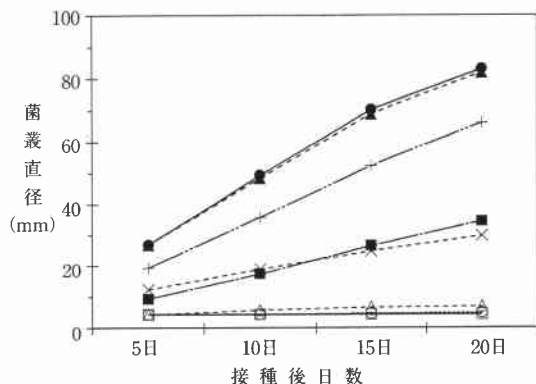
a) 試験区3はカルボスルファン粒剤との併用, 試験区4はカルボスルファン粒剤, 試験区5, 6, 7はポリフィルムマルチ栽培。施用量は各施用日当たり。

後)に6kg/10aずつサツマイモ株元に手まき散布した。各区の被害調査は試験1に準じて10月18日に行った。試験ほ場でのアリモドキゾウムシの発生状況は, 10月18日に無処理区から掘り取った各5株計15株のサツマイモを試験1に準じて27℃で53日間静置し, 羽化脱出虫を調査することにより把握した。

結果および考察

1. *M. anisopliae* の生育適温

20日間の培養期間中, *M. anisopliae* の生育が最も速かった温度は, 25℃~30℃で, 次いで20℃であった。15℃, 35℃では生育が遅く, 10℃での生育はわずかで, 5℃と40℃ではほとんど生育しなかった (第1図)。培養15日間後の菌の生育量は, 25℃~30℃に生育ピークがみられ (第2図), さらに培養温度22.5℃~32.5℃の



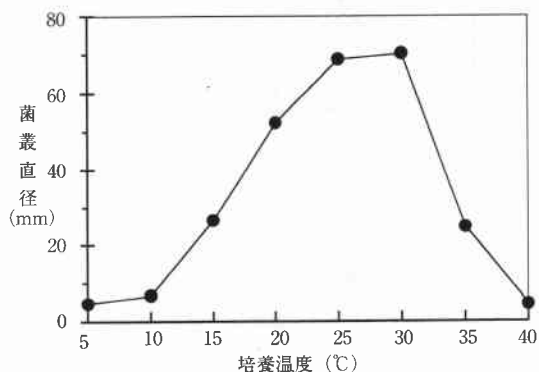
第1図 *Metarhizium anisopliae* の生育に及ぼす温度の影響

培養温度 ○: 5℃, △: 10℃, ■: 15℃, +: 20℃, ▲: 25℃, ●: 30℃, ×: 35℃, □: 40℃

2.5℃間隔での調査では27.5℃が最も生育が良かった (第3図)。これらのことから生育温度域は15℃~35℃, 最適生育温度は27.5℃付近にあると考えられた。これらは Yokoyama et al. (1993) が報告した結果とほぼ一致した。また, 5℃~40℃下で前培養し, その後27.5℃下で15日間培養したところ, 5℃~35℃下で培養した菌が順調に生育したのに対し, 40℃下の菌では全く生育しなかった (第4図)。このことから本菌は40℃以上では死滅するものと思われる。

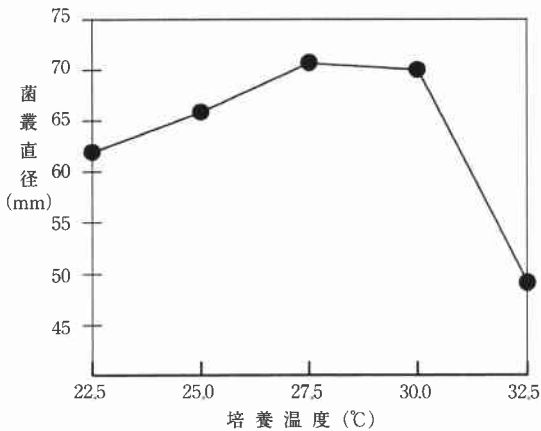
2. 噴霧接種による *M. anisopliae* のアリモドキゾウムシ殺虫活性に及ぼす温度と接種孢子量の影響

M. anisopliae 孢子接種後アリモドキゾウムシを25℃下で飼育した場合, 10⁸孢子接種では接種8日後に74%が感染死亡し, 10⁷孢子接種でも8日後で57%, 18日後には70%が感染死亡した。飼育温度15℃下では感染死亡は遅れ, 12日後から死亡がみられ始めたが, 18日後には10⁸孢子接種で81%, 10⁷孢子接種でも54%が感染死亡し

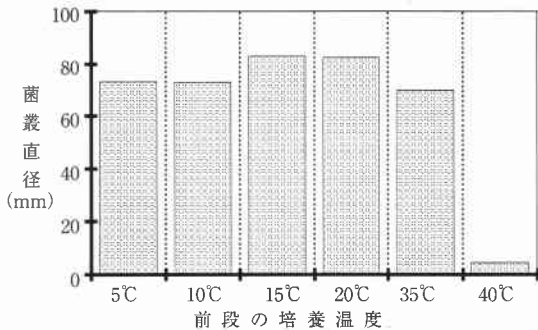


第2図 培養温度による *Metarhizium anisopliae* の生育量の違い

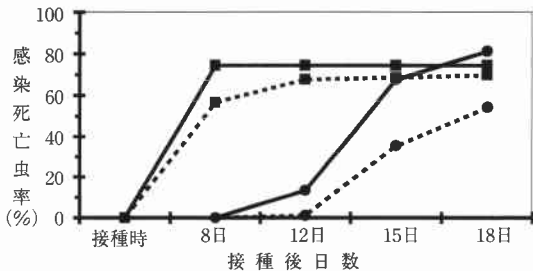
15日間培養後の菌叢直径を示す。



第3図 培養適温内 *Metarhizium anisopliae* の生育量 15日間培養後の菌叢直径を示す。



第4図 前段の培養温度が27.5°Cでの *Metarhizium anisopliae* の生育に及ぼす影響 各温度で20日間培養後27.5°Cでさらに15日間培養。



第5図 *Metarhizium anisopliae* のアリモドキゾウムシに対する殺虫活性に及ぼす温度と接種胞子量の影響
 ■: 25°C, ●: 15°C, 実線は 1.1×10^8 胞子接種, 破線は 1.1×10^7 胞子接種
 殺虫活性は胞子懸濁液噴霧接種により検定した。

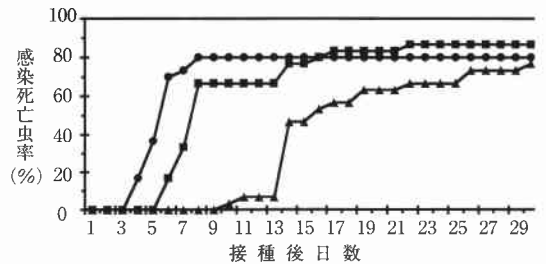
た(第5図)。安田(1997)の試験では、供試した *M. anisopliae* (Bio1020 系統) は他の天敵糸状菌 *B. bassiana* に比べて効果が低かったとしているが、本試

験に供試した *M. anisopliae* (山1菌株) はアリモドキゾウムシに対し強い殺虫活性を示した。

3. *M. anisopliae* 増殖固形培地施用によるアリモドキゾウムシ殺虫活性に及ぼす温度の影響

アリモドキゾウムシの本菌の感染による死亡は、27°Cでは施用4日後に始まり、施用6日後から増加し、施用8日後までに80%に達した。20°Cでは施用6日後に感染死亡が見られはじめ、施用8日後には67%と増加し、その後施用22日後までに87%に達した。15°Cでは感染死亡は施用10日後に始まり、徐々に増加して施用30日後までに77%が感染死亡した(第6図)。

このように飼育温度の低下とともに殺虫効果の発現が遅れ、感染死亡が緩やかに続くのは、本菌の生育最適温度が27.5°C付近であることから、低温による菌の活性低下が考えられるが、温度低下によってアリモドキゾウムシの活動が抑制され、施用した培養菌との接触の機会が減少したことも感染の遅れに関係していると推察された。本菌を低温期に効果的に利用するためには、低温活性の高い菌を探索する必要があり、また、両者を接触しやすくする工夫も必要と思われる。



第6図 *Metarhizium anisopliae* 増殖固形培地施用(胞子濃度 1.5×10^8 /g)がアリモドキゾウムシの感染死亡に及ぼす温度の影響
 ●: 27°C, ■: 20°C, ▲: 15°C

4. サツマイモほ場における *M. anisopliae* のアリモドキゾウムシ防除効果

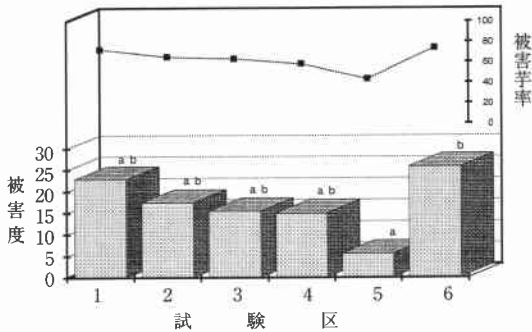
試験1

試験ほ場でのアリモドキゾウムシとイモゾウムシの発生状況を調査した結果、芋からの羽化脱出虫153頭すべてがアリモドキゾウムシで、試験ほ場ではアリモドキゾウムシが主体に発生していたと推察された。サツマイモの被害は無処理区の被害度が25.8、被害芋率73.8%で、比較的発生量が多かった。*M. anisopliae* を施用した7月の平均気温は24°Cから30°C内で推移しており、施用した培養菌の適温範囲であった。菌培養固形培地4g/m²の植え付け54日後1回施用では、被害芋率72.2%、被害度22.8とともに高く、防除効果は認められなかった。菌

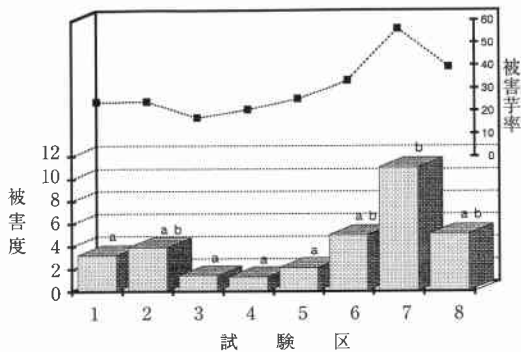
培養固形培地 $25\text{g}/\text{m}^2$ の植え付け54日後、73日後の1回又は2回施用区での防除効果は、被害芋率58~64.8%、被害度14.9~17.4となり、カルボスルファン粒剤散布区の被害芋率43.2%、被害度5.6に劣り、その程度は低かった(第7図)。供試菌の施用量との関係では、 $4\text{g}/\text{m}^2$ 施用区より $25\text{g}/\text{m}^2$ 施用区が被害芋率、被害度とも低く、防除効果は高い傾向がみられた。

試験2

試験ほ場でのアリモドキゾウムシ、イモゾウムシの発生状況を調査した結果では、羽化した86頭中アリモドキゾウムシが84頭を占め、試験ほ場での被害は主にアリモドキゾウムシによるものと推察された。サツマイモでの



第7図 サツマイモほ場のアリモドキゾウムシに対する *Metarhizium anisopliae* の防除効果(1998年)
試験区は第1表を参照、被害度及び被害芋率は本文参照。
同一英文字を付した被害度には処理間に Tukey の方法による有意差(5%)がないことを示す。



第8図 サツマイモほ場のアリモドキゾウムシに対する *Metarhizium anisopliae* の防除効果(1999年)
試験区は第2表を参照、被害度及び被害芋率は本文参照。
同一英文字を付した被害度には処理間に Tukey の方法による有意差(5%)がないことを示す。

被害は、無処理区の被害度が5.1、被害芋率39.1%で、全体的に少発生であった。*M. anisopliae*を施用した6月から7月の平均気温は 23°C から 29°C 内で推移しており、施用した培養菌の適温範囲であった。

各区の防除効果を第8図に示した。菌培養固形培地 $30\text{g}/\text{m}^2$ の植え付け20日後および40日後、又は40日後および61日後の2回施用は、被害芋率ではそれぞれ23.7%および23.8%、被害度では3.2および3.9となり、ともに無処理区より低い傾向を示した。この結果から防除効果は認められるが、カルボスルファン粒剤散布区の被害芋率20.4%、被害度1.3に劣り、その程度は低かった。カルボスルファン粒剤散布後、菌培養固形培地 $30\text{g}/\text{m}^2$ を植え付け61日後に施用した組み合わせ区では被害芋率は16.7%、被害度は1.4でともに低く、高い防除効果が認められた。

ポリフィルムマルチ栽培の影響については、無処理区では被害芋率、被害度ともに最も高く、逆に被害が助長される結果となった。ところが、菌培養固形培地 $30\text{g}/\text{m}^2$ を植え付け20日後に施用した組み合わせ区では被害芋率25.1%、被害度2.1とともに低い傾向を示し、防除効果が認められた。ただし、植え付け40日後に施用した組み合わせ区では、無処理マルチ栽培に対しては被害を抑えたが、無マルチの無処理区に対しては被害芋率、被害度ともに殆ど変わらなかった。ポリフィルムマルチ栽培では畦を被覆するため、畦の亀裂等からのアリモドキゾウムシの塊根への加害が抑えられ、さらに植え付け後あまり日数が経過していない20日後のサツマイモ株元への培養菌施用により、株元からの侵入が防がれ、防除効果が高まったものと考えられた。しかし、培養菌の施用時期が遅れると効果が認められなくなった。また、ポリフィルムマルチ栽培はサツマイモ株元から内部に侵入した後のアリモドキゾウムシにとっては好条件であるのか、裸地状態よりも被害が助長された結果となった。

以上のように供試した *M. anisopliae* (山1菌株) は、実験的にはアリモドキゾウムシに対する殺虫活性が高く、また、比較的低温の 15°C でも遅効的ではあるがかなり高い活性を持っていた。サツマイモほ場での試験によっても、施用量や施用回数が増加すると防除効果が高まる傾向が認められた。しかし、サツマイモほ場での単独処理での防除効果は、薬剤処理区に比較すると十分でなかった。この原因として、①アリモドキゾウムシが施用された本菌と接触する機会が少なかった、②適温で施用量も十分であったが、乾燥による湿度不足等により施用後活性が低下した、③サツマイモ塊根から脱出した雌成虫はすぐ交尾し、4~5日後には産卵を開始できる(杉本、

1990) ことから、感染虫が死亡するまでに産卵し、後世代が加害した、④奄美大島においては3月中旬頃から産卵が開始され、6月中旬以降発生が上昇の一途をたどり(瀬戸口, 1990)、周辺ほ場からのアリモドキゾウムシの侵入が予想されることから、培養菌の施用適期を逸した、等が考えられる。

今後これらの問題点を明らかにし、培地素材の改良や低温時でも防除効果が得られる工夫、さらに施用時期等を検討していく必要がある。また、本試験により薬剤との組み合わせ処理の防除効果が高いことが明らかになったが、こうした体系的利用やフェロモン剤との併用も今後の検討課題と考えられる。

摘 要

Metarhizium anisopliae (山1菌株) を供試して、本菌の生育適温、アリモドキゾウムシに対する接種量、温度別殺虫活性、さらにサツマイモほ場における防除効果について検討した。

1. 本菌の生育温度は15℃～35℃で、最適生育温度は27.5℃付近にあり、40℃以上では死滅した。

2. 本菌の 10^7 または 10^8 孢子/mlの菌液をアリモドキゾウムシに噴霧接種したところ、強い殺虫活性が認められ、孢子濃度 10^8 個および 10^7 個接種区とも25℃では接種8日後には50%以上が感染死亡し、15℃でも18日後には同様な感染死亡を認めた。また、孢子濃度が1g当たり 1.5×10^9 個の菌培養固形培地を施用したところ、27℃では施用4日後に感染死亡が見られはじめ、施用8日後までに80%が感染死亡した。20℃では施用6日後から施用8日後までに67%、施用22日後までに87%が感染死亡した。15℃では施用10日後から19日後までに63%、施用30日後までに77%が感染死亡した。

3. 孢子濃度1g当たり $10^7 \sim 10^9$ 個の菌培養固形培地を、サツマイモ植え付け後20日～73日後に m^2 当たり4g～30g、株元に1～2回施用したところ、施用量、施用回数が多い程防除効果が高まる傾向が認められた。しかし、薬剤防除と比較してその効果の程度は低かった。薬剤との組み合わせ処理やポリフィルムマルチ栽培での処理は防除効果が期待できると思われるが、さらに検討を要する。

引用文献

- 藤家 梓 (1998) 芝草におけるコガネムシ類の生物的防除法. 植物防疫 52: 444-447.
- Jansson, R. K., S. H. Lechrone, R. R. Gaugler, and G. C. Smart (1989) Potential of entomopathogenic nematodes as biological control agents of sweet potato weevil (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Economic Entomology 83 (5): 1818-1826.
- Khan, H. k., S. Jayaraj, and R. J. Rabinra (1990) Evaluation of mycopathogens against sweet potato weevil *Cylas formicarius* (Fabricius). Journal of Biological Control 4 (2): 109-111.
- 櫻井宏紀・高橋絵里・浅野貴博・井上敦夫 (1998) 土壌より分離された糸状菌のアルファルファタコゾウムシに対する生物的防除効果. 岐阜大学農学部研究報告 63: 25-30.
- 瀬戸口脩 (1990) 奄美群島におけるアリモドキゾウムシの発生生態と防除対策. 植物防疫44: 111-114.
- 新田 朗 (1993) 天敵微生物の大量増殖方法. 天敵微生物の研究手法. 植物防疫特別増刊 2: 116-121.
- 杉本 毅 (1990) アリモドキゾウムシの生物学. 植物防疫 44: 107-110.
- 山口卓宏・和泉勝一・川添幸治・杉本 毅 (1998) *Steinernema* 属線虫4種のアリモドキゾウムシに対する病原性. 第42回応動昆虫大会 (講要): 187.
- 安田慶次 (1997) イモゾウムシ・アリモドキゾウムシの総合的管理に関する研究. 沖縄県農業試験場研究報告 21: 1-80.
- Yokoyama, T., M. Fujikata, and A. Fujiie (1993) Improvement of infectivity of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to *Anomala cuprea* Hope (Coleoptera: Scarabaeidae) by ultraviolet irradiation of protoplasts. Appl. Entomol. Zool. 28: 451-461.

(2000年4月30日 受領)