

イモゾウムシ卵の保管中の明暗条件および 保管後のファーセラン水溶液への浸漬が孵化に及ぼす影響

大野 豪・佐々木智基・小濱 継雄
(沖縄県ミバエ対策事業所)

Neither light/dark conditions during egg incubation nor submersion of eggs in the furcellaran solution after incubation affect hatching of the West Indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae). Suguru Ohno, Tomonori Sasaki and Tsuguo Kohama (Fruit Fly Eradication Project Office, Okinawa Prefectural Government, Naha, Okinawa 902-0072, Japan)

To improve the mass-rearing of the West Indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus*, on artificial diet, we tested whether either of two environmental factors affected egg hatching of this species. The first factor was the light/dark condition during egg incubation. The second was submersion of eggs in furcellaran solution, a viscous liquid that is used to scatter eggs evenly on the diet surface in mass-rearing of other weevil species. *E. postfasciatus* eggs were divided into two groups: those kept in a clear Petri dish and those kept in a light-tight Petri dish. Both were incubated for six days at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ in 14-h light : 10-h dark. After incubation, eggs from each dish were divided into two subgroups: one was submerged in 0.6% furcellaran solution and the other was not. There was no significant difference among the four treatments in hatchability, mean egg period (days from oviposition to hatching), or coefficients of variation of egg period. We conclude that neither of the light/dark condition nor submersion in the furcellaran solution has any effects on egg hatch of *E. postfasciatus*. These results suggest that the furcellaran solution can be used as an egg-seeding agent in the mass-rearing of *E. postfasciatus*.

Key words : artificial rearing, egg development time, egg hatch rate, moisture, photoperiod, quarantine pest

緒 言

沖縄県では、サツマイモの大害虫イモゾウムシ *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (甲虫目:ゾウムシ科)の不妊虫放飼法による根絶防除のため、人工飼料を用いた本種の大量増殖法の開発が進められている(山岸・下地, 2000)。本種の人工飼育法の基礎となる採卵法と幼虫用人工飼料はShimoji and Kohama (1996a, b)によって開発され、Shimoji and Yamagishi (2002, 2004)によって採卵の効率化や飼料原料の低コスト化が図られた。沖縄県ミバエ対策事業所が目標とする、成虫数にして週あたり100万頭以上の生産が可能な大量増殖法(下地, 2004)の確立のためには、これらに加え、採卵後孵化までの卵保管法、人工飼料の調整法、飼料への卵の接種法、接種から羽化までの飼育法、羽化成虫の回収法等の、大量増殖に必要な各ステップを、飼育虫の生

存・発育に大きな悪影響を及ぼさない、あるいは好ましい効果を及ぼすように簡易化・効率化し、増殖虫の生産と維持にかかる手間とコストをさらに低減させる必要がある。現在ミバエ対策事業所において、週あたり約16万頭のイモゾウムシ成虫を用いて回収されている卵の孵化率は平均70%前後であり(ミバエ対策事業所, 未発表)、小規模な飼育により回収した卵の孵化率(平均90%以上; 下地, 2004)と比較してかなり低い。このため、孵化率低下の要因の特定と、孵化率向上のための飼育法の改良が求められている。さらに、大量増殖の実現のためには、簡便な卵接種法の導入が必要である。そこで今回は、卵保管時の光条件と卵接種作業の効率化に関連した卵の取扱いが、イモゾウムシ卵の孵化に及ぼす影響を検討した。

本文に入るに先立ち、イモゾウムシの飼育と採卵に協力して下さった琉球産経(株)の皆様、および実験を手

伝って下さった沖縄県ミバエ対策事業所の新里真紀子氏に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

1. 供試虫

供試したイモゾウムシは、1994年8月に沖縄県読谷村のサツマイモ圃場から採集し、沖縄県ミバエ対策事業所(那覇市)において、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、14L:10Dの条件下でサツマイモ塊根を用いて累代飼育したものである(年当たり5世代)。2003年9月から11月にかけて塊根から自然脱出した成虫を用い、大野ら(2004)に記述した方法で採卵を行った。

2. 卵保管時の明暗処理

採卵後、イモゾウムシの卵保管時の明暗条件が孵化に及ぼす影響を調べるための処理を行った。イモゾウムシの卵は 25°C 下で産卵から7日後に孵化を開始するため(Shimoji and Kohama, 1996a)、飼料への卵接種は採卵から最長6日間保管した後にしている(大野ら, 2004)。これまでイモゾウムシの卵保管は明期14時間:暗期10時間(14L:10D)の明暗サイクルの下で行われてきたが(例えば、大野ら, 2004)、本種卵の孵化に対する明暗条件の影響は明らかでない。イモゾウムシは野外では寄主植物に卵を産み込んだのち糞状の物質で蓋をするため(Sherman and Tamashiro, 1954; 下地・小濱, 1994)、卵は光を遮った状態で保管したほうが、孵化に好ましい可能性がある。そこで我々は、卵保管時の光条件が孵化に影響するかどうかを検討するため、以下に記述する方法で、本種の卵を14L:10Dと全暗の条件下で保管した。

保管には透明プラスチックシャーレ(直径90mm、高さ15mm)を塗装したものをを用いた。同一の恒温器内で明暗条件が異なる状態を再現するため、遮光のために塗装したシャーレ(以下、遮光シャーレ)を作製した。これは、上記シャーレの身とフタ双方の外側に、合成樹脂エナメル塗料の黒色をまんべんなく塗布し、乾燥後にその上から白色を塗布したものである。孵化への塗装の影響を排除するため、色をつけていないシャーレ(以下、透明シャーレ)も、同じエナメル塗料の透明色(クリアー)を2回塗布してから用いた。

メスピペットを用いた卵数推定法(大野 豪ら, 未発表)により、7,800~8,600個の0日齢(採卵直後)の卵を量りとり、これを2等分して別々の黒色ナイロンゴース(6cm×6cm)上で水切りした。これらの卵はそれぞれ、底に乾いたろ紙を敷いた遮光シャーレと透明シャーレにゴースごと入れ、シャーレの身とフタにすき

間が開かないようにビニールテープで止めた。これらのシャーレはともに、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、14L:10Dの条件に設定された同一の恒温器中に6日間保管した。保管期間中は毎日、恒温器中のシャーレの配置をランダムに入れ替えた。

3. 保管後の卵の取扱いと孵化調査

続いて、卵保管後、卵を飼料表面に均一に散布するために用いる、粘度の高い液体への浸漬が孵化へ及ぼす影響を調べるための処理を行った。従来、イモゾウムシ卵の飼料への接種は、乾燥させた卵を互にくっつき合わないよう筆でほぐした後、筆で1卵ずつ飼料表面に並べるか、あるいは飼料表面に振りかけることによって行われてきた(下地, 2004)。これらの方法は、卵をほぐす作業と筆で並べる作業に多大な人手を要するため、週あたり100万個以上の卵を扱う場合には現実的手法ではない。このため我々は、ワタミゾウムシ *Anthonomus grandis* (Boheman) の大量増殖で用いられてきた、海草由来の増粘多糖類の1種であるファーセレランの水溶液中に卵を均一に分布させ、水溶液ごと飼料表面に滴下する方法(Sikorowski et al., 1984)をイモゾウムシの大量増殖へ導入することを検討している(大野ら, 2005)。ファーセレラン水溶液は、バクテリア等による飼料汚染防止のために加熱滅菌しても粘性が変化しないため、卵接種液として好適な物性をもつ。今回は手始めに、この水溶液へのイモゾウムシ卵の浸漬が孵化へ及ぼす影響を調べるため、上記の遮光シャーレと透明シャーレで6日間保管した卵をそれぞれ、以下の手順を経て、ファーセレラン水溶液へ浸漬する区としない区に分けた。

まず、シャーレを開けて卵に蒸留水をかけ、面相筆を用いて丁寧にほぐし、70%エタノールと5%ホルマリンを用いた殺菌法(前者に5分浸漬後、後者に20分浸漬;大野 豪ら, 未発表)により卵表面の殺菌を行った。次に、底に軽く湿らせたろ紙を敷き、その上から上記と同様のゴースを敷いたシャーレ2個(保管時と同じ塗装のもの)を用意し、片方のシャーレには、高圧蒸気滅菌(121°C 、40分)済みの0.6%ファーセレラン水溶液(蒸留水とファーセレラン粉末(伊那食品工業)を重量比500:3で混合したもの)を3ml、ゴース上に滴下した。表面殺菌後の卵から100個をランダムに選び、これらのシャーレそれぞれのゴース上に50卵ずつ、面相筆を用いて卵が互いに接しないように並べた。ファーセレラン水溶液を滴下したシャーレでは、水溶液と卵を混合してから飼料表面に滴下した場合と同様な状態を再現するため、卵が完全に水溶液に包まれるように並べた。シャーレは保管時と同様にテープで止め、2.と同一の恒温器に収容した。翌日から8日後(採卵から14日後)まで毎日、

恒温器からシャーレを取り出してフタを開け、孵化幼虫を計数・除去した。得られたデータから、処理区ごとの孵化率、平均卵期間、および孵化日のばらつきの指標として、卵期間の変動係数 (CV, 標準偏差÷平均値) を算出した。

以上の卵保管から孵化幼虫計数に至る一連の作業を、2003年11月から12月の間に、採卵日が異なる卵を用いて10回繰り返した。

結果および考察

4 処理区の孵化率・平均卵期間・卵期間 CV を Table 1 に示した。「透明シャーレ保管・ファーセラン水溶液なし」の区を対照区とし、これと他の3区をそれぞれ対して Wilcoxon の符号付順位検定で比較したところ、孵化率・平均卵期間・卵期間 CV のいずれについても、5%水準で対照区と有意に異なった処理区はなかった。

上で述べたとおり、イモゾウムシの卵は野外では糞状の物質と寄主に覆われているため (Sherman and Tamashiro, 1954; 下地・小濱, 1994)、自然条件下で直接光にさらされる機会は少ないと思われるが、今回行った卵保管中の遮光は、本種の卵の生存・発育に影響しないことが示唆された。イモゾウムシ卵の孵化率低下の原因は、保管時の光条件ではなく、採卵に用いる成虫の飼育条件や卵回収の作業行程の影響が大きいのではないかと考えられる。

保管後のファーセラン水溶液への浸漬に関しては、14L:10D 保管卵および遮光保管卵のいずれにおいても、

孵化への悪影響が検出されなかった。この結果は、イモゾウムシ人工飼料への卵接種にも、ワタミゾウムシの場合と同様に、ファーセラン水溶液が使用可能であることを示唆する。

これまでに、イモゾウムシ卵を湿らせたろ紙上で6日間保管すると、乾いたろ紙で同様に保管した場合よりも有意に孵化率が低下し、卵期間が延長し、孵化日のばらつきが大きくなることが明らかにされている (大野 豪ら, 未発表)。一方、本研究では、卵を6日間保管した後に、ファーセラン水溶液への浸漬という極端に湿った条件に置いても、孵化への影響が認められなかった。これらの結果の不一致が、卵の日齢によって湿り気に対する感受性が異なるためなのか、あるいは水とファーセラン水溶液の物性の差に起因するのかは現時点では明らかでない。

摘 要

イモゾウムシ卵の孵化に対する、25℃で6日間保管時の明暗条件 (14L:10D と全暗) および保管後のファーセラン (海草由来の増粘多糖類) 水溶液への浸漬の影響を調べた。明暗条件とファーセラン水溶液の浸漬のどちらも、本種の孵化率・平均卵期間・孵化日のばらつきに有意な変化をもたらさなかった。これらの結果から、イモゾウムシ卵の人工飼料への接種にファーセラン水溶液を使用することで、イモゾウムシの増殖作業の効率化がねらえる可能性が示唆された。

Table 1. Comparisons of hatchability, mean egg period (days from oviposition to hatching), and coefficient of variation (CV, standard deviation divided by mean) of egg period between *Eusepes postfasciatus* eggs incubated in clear or opaque Petri dishes^{a)}

	Clear Petri dish ^{b)}		Opaque Petri dish ^{c)}	
	Eggs submerged in the furcellaran solution ^{d)}	Unsubmerged eggs	Eggs submerged in the furcellaran solution ^{d)}	Unsubmerged eggs
No. of replications	10	10	10	10
Hatchability (%) ^{e)}	70.0 ± 2.0 [62-78]	66.4 ± 2.8 [54-78]	68.8 ± 2.5 [54-78]	67.4 ± 2.5 [56-80]
Mean egg period (days) ^{e),f)}	9.01 ± 0.09 [8.54-9.49]	9.04 ± 0.11 [8.62-9.54]	9.21 ± 0.11 [8.78-10.03]	9.16 ± 0.13 [8.78-10.19]
CV of egg period (%) ^{e),f)}	7.83 ± 0.57 [5.22-10.23]	10.91 ± 1.42 [4.73-18.92]	10.96 ± 0.80 [6.75-14.02]	10.71 ± 1.04 [5.42-17.26]

a) Approximately 4,000 eggs placed on a filter paper were incubated in each Petri dishes for 6 days (25 °C, 14L:10D). b) Clear plastic Petri dish (90 mm in diameter, 15 mm in height), the outside of which was painted twice with a clear enamel coating. c) Clear plastic Petri dish, the outside of which was painted once with a black enamel coating and once with a white coating. d) Gelling agent used for seeding *E. postfasciatus* eggs on the surface of the artificial diet. After the 6-day incubation, 100 eggs were randomly chosen from each Petri dish and were further divided into two 50-egg groups, one submerged in the solution, the other not, and egg hatching was checked daily starting the next day. e) Mean ± S.E. [range]. f) Calculated based on hatched eggs among the 50 eggs; thus, the number of samples for each replication ranged from 27 to 40.

引用文献

- 大野 豪・佐々木智基・浦崎貴美子・小濱継雄 (2004) エタノールによる卵表面処理がイモゾウムシの孵化後の生存・発育に及ぼす影響. 九病虫研会報 50 : 40-43.
- 大野 豪・佐々木智基・小濱継雄 (2005) イモゾウムシ卵のエタノール浸漬による人工飼料のバクテリア汚染抑制 : 卵をファーセララン水溶液とともに飼料に接種した場合. 九病虫研会報 51 : 41-44.
- Sherman, M. and M. Tamashiro (1954) The sweetpotato weevils in Hawaii: their biology and control. Hawaii Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 23 : 1-36.
- 下地幸夫 (2004) サツマイモ害虫イモゾウムシの人工飼育法. 沖縄県特殊病害虫特別防除事業特別研究報告第3号. 沖縄県ミバエ対策事業所 (那覇), pp. 73.
- 下地幸夫・小濱継雄 (1994) イモゾウムシの産卵行動. 応動昆 38 : 43-46.
- Shimoji, Y. and T. Kohama (1996a) A simple method for collecting eggs of the West Indian sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae). Appl. Entomol. Zool. 31 : 37-42.
- Shimoji, Y. and T. Kohama (1996b) An artificial larval diet for the West Indian sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae). Appl. Entomol. Zool. 31 : 152-154.
- Shimoji, Y. and M. Yamagishi (2002) Improvement of egg collection method in West Indian sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae) by feeding on a smaller cubic piece of sweet potato root. Appl. Entomol. Zool. 37 : 313-318.
- Shimoji, Y. and M. Yamagishi (2004) Reducing rearing cost and increasing survival rate of West Indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae) on artificial larval diet. Appl. Entomol. Zool. 39 : 41-47.
- Sikorowski, P. P., J. G. Griffin, J. Roberson and O. H. Lindig (1984) Boll Weevil Mass Rearing Technology. University Press of Mississippi (Jackson), pp. 172.
- 山岸正明・下地幸夫 (2000) 不妊虫放飼法によるゾウムシ類の根絶 (7) イモゾウムシの大量増殖・不妊化・マーキング・輸送・放飼. 植物防疫 54 : 476-478.
(2005年4月14日受領; 7月20日受理)