

茶園土壤に散布した昆虫病原性糸状菌 *Beauveria amorphae* の ナガチャコガネ幼虫に対する殺虫活性

吉岡 哲也¹⁾・安藤 幸夫²⁾・小倉 紀人²⁾
(¹⁾ 福岡県農業総合試験場八女分場・²⁾ 野菜茶業研究所)

Insecticidal activity of an entomopathogenic fungus (*Beauveria amorphae*) on larvae of the yellowish elongate chafer *Heptophylla picea* (Motschulsky) (Coleoptera: Scarabaeidae) grown on tea field soil. Tetsuya Yoshioka¹⁾, Yukio Andou²⁾ and Norihito Ogura²⁾ (¹⁾ Yame Branch Station, Fukuoka Agricultural Research Center, Kurogi, Fukuoka 834-1213, Japan. ²⁾ National Institute of Vegetable and Tea Science, Shimada, Shizuoka, 428-8501, Japan)

Beauveria amorphae HpBa-1 株の分生子懸濁液を茶園に散布し、採取した土壤でナガチャコガネ幼虫を飼育し、感染死虫率に及ぼす分生子散布量、散布後日数、土壤深度の影響を調査した。2.2×10¹⁰分生子/m²の散布量では感染死虫率は低かったが、1.1×10¹¹分生子/m²では高かった。散布9日後と24日後の土壤では感染死虫率に有意な差はみられなかった。土壤を採取した深さにより感染死虫率には差がみられ、深さ0-5 cmの土壤では56.7%、5-10cmと10-15cmの土壤では26.7%、15-20cmの土壤では6.7%であった。継続的に調査した土壤中の*Beauveria* 菌密度は、散布後50日間は大きな密度変動がみられなかった。以上のことから、*B. amorphae* は防除資材として有効であることが確認された。

Key words : entomopathogenic fungus, infection mortality, microbial control, soil

緒 言

ナガチャコガネ *Heptophylla picea* (Motschulsky) (Coleoptera: Scarabaeidae) はチャ *Camellia sinensis* (L.) O. KUNTZE の重要な害虫であり、近年その発生が増加している。本種幼虫による根の食害は一番茶収量を大幅に減少させることから、生産現場で大きな問題となっている (刑部・小泊, 1984)。現在、茶園における本害虫の防除は、幼虫を対象とした MEP 乳剤の土壤灌注により行われている。しかし、本害虫は潜土性であるため十分な防除効果が得られず難防除害虫となっている。また、環境負荷、残留農薬の問題からも化学薬剤以外の防除対策が望まれている。

昆虫病原性糸状菌を利用したコガネムシ類幼虫防除の研究は数多く行われており (例えば, Poprawski and Yule, 1991; Shimazu et al., 1993; Villani et al., 1994; Yokoyama et al., 1998)、ナガチャコガネ幼虫に対しても防除資材としての利用が期待できる。柳沼ら (2004a) によれば、*Beauveria amorphae* (HpBa-1 株) の分生子は、ナガチャコガネ幼虫の表皮に対して強い付着能力を持ち、処理後時間が経過しても表皮から離脱せず、96時

間後には発芽して強い殺虫活性を示す。さらに Hiromori et al. (2004) は、HpBa-1 が15℃および20℃条件下においてナガチャコガネ幼虫に対し非常に強い殺虫活性を示し、生物防除素材として有望であると報告している。ナガチャコガネ幼虫は3齢となる10月下旬頃に地中深くから地表面近く (0-20cm) に移動する (刑部・小泊, 1984)。この習性を利用し、この時期に HpBa-1 を地表面に散布することでナガチャコガネ幼虫を比較的容易に防除できる可能性が考えられる (Hiromori et al., 2004)。さらに柳沼ら (2004b) は HpBa-1 の温度別分生子形成能や発芽率調査の結果から、本菌株を10月に処理し、10-11月にナガチャコガネ幼虫を防除することが最も効率的な防除であると提案している。

HpBa-1 を利用した防除法を確立するには、地表面に散布した本菌株がナガチャコガネ幼虫の生息する土壤深度に到達できるかを明らかにする必要がある。また、昆虫病原性糸状菌の土壤中での生存期間や感染性には、温度や湿度といった環境要因が大きく影響する (Ling and Donaldson, 1981; Kessler et al., 2003)。このため、土壤に散布した HpBa-1 がどのくらいの期間、感染力を保持できるのかを検討する必要がある。

そこで本研究では、HpBa-1の分生子懸濁液を茶園のうね間に散布し、土壌中の*Beauveria*菌密度の変動を深度別に調査した。また、分生子懸濁液の散布量や散布後日数の異なる土壌を供して、ナガチャコガネ幼虫に対する殺虫活性を室内で検討した。

本文に入るに先立ち、*B. amorphae* (HpBa-1株)を分譲していただき、かつ試験を行うにあたり有益なご助言をいただいた国立大学法人静岡大学の廣森創博士、柳沼大博士に感謝の意を表する。

材料および方法

1. 供試虫

供試したナガチャコガネ幼虫は、静岡県榛原郡相良町(現・牧之原市)内の茶園で2004年11月に採取し、改変した本間ら(1994)の方法で飼育した。すなわち、2齢および3齢幼虫に餌としてニンジン片を与え、プラスチックカップ(直径60mm、高さ40mm)を用いて17℃±1℃、全暗条件下で個体飼育したものを供試した。以下、供試虫は全て3齢幼虫を示す。

2. 供試糸状菌および分生子懸濁液の作成

静岡大学より分譲していただいたナガチャコガネ幼虫由来の*B. amorphae* (HpBa-1株)を供試糸状菌として用いた。本菌株を1%酵母エキス加用Sabouraud dextrose寒天培地平板(φ90プラスチックシャーレ)で培養(25℃、約1カ月間)し、分生子を形成させた。その後、培地平板に蒸留水(0.2% Tween20を含む)を注ぎ、筆で軽く表面をなでて分生子を回収し、分生子懸濁液(9.3×10^6 分生子/ml)を作成した。懸濁液中の分生子数はトーマの血球計算盤を用いて計数した。

3. HpBa-1分生子懸濁液の土壌散布

静岡県榛原郡金谷町(現・島田市金谷)の野菜茶業研究所内の茶園(赤黄色土、うね幅180cm、うね間30cm)において、2004年11月2日に上記の懸濁液を2.4 l/m²、12 l/m²の割合でうね間にジョウロを用いて散布した。また、懸濁液を散布しない無散布区を設けた。試験は1区1.95m²(6.5m×0.3m)の3反復で行った。

4. *Beauveria*菌密度の変動

散布したHpBa-1の土壌深度別生存密度を調査するために、分生子懸濁液を2.4 l/m²および12 l/m²散布した区(それぞれ3反復)から土壌を採取した。土壌は、2004年11月5日、11日、16日、26日、12月21日、2005年1月20日、2月20日、3月30日(それぞれ散布3, 9, 14, 24, 49, 79, 110, 148日後)の8回、採取した。土壌は毎回、うね間表層の有機物を取り除き、その下の土壌を深度別に5 cm毎に深さ20cmまで、各区1

カ所から約0.5 lずつ採取した(以下、採取した土壌をそれぞれ0-5 cm土壌、5-10cm土壌、10-15cm土壌、15-20cm土壌とする)。これらの土壌を滅菌蒸留水で10倍段階に希釈後、*Beauveria*菌の選択培地(ドサイン10mg、ストレプトマイシン60mg、ペニシリンG60mg加用 Veen and Ferron (1966)の培地)で培養(25℃、5日間)した。その後*Beauveria*菌のコロニーを計数し、希釈倍率を補正して土壌中の*Beauveria*菌密度を算出した。

5. HpBa-1散布土壌のナガチャコガネ幼虫に対する殺虫活性

HpBa-1分生子懸濁液の散布後日数がナガチャコガネへの感染に及ぼす影響を調査するため、懸濁液の2.4 l/m²および12 l/m²散布区と無散布区から、散布9日後(2004年11月11日)と24日後(同11月26日)に土壌を採取した。うね間表層の有機物を取り除き、表層から10cmまでの土壌(0-10cm土壌)を各区2カ所からそれぞれ1 l程度採取した。この後、土壌をよく混和し、土壌80mlとナガチャコガネ幼虫1頭を前述のプラスチックカップに入れ、2005年1月28日まで個体飼育した。ナガチャコガネは各区9-10頭を供試した。

また、HpBa-1を12 l/m²散布した土壌における深度別殺虫活性を調査した。分生子懸濁液散布9日後に、うね間表層の有機物を取り除き、5 cmの深度別に深さ20cmまでの土壌を各区3カ所からそれぞれ0.5 l程度採取した。この後、土壌をよく混和し、土壌80mlとナガチャコガネ幼虫1頭をプラスチックカップに入れ、2005年1月28日まで個体飼育した。ナガチャコガネは各区10頭を供試した。

各試験における飼育条件は20℃、16L:8Dとし、餌としてニンジン片を与えて経過を観察した。死亡したナガチャコガネ幼虫のうち、虫体表面に*Beauveria*菌と同一の菌糸および分生子を形成しているものを*Beauveria*菌感染虫とした。

結 果

1. 茶園に散布したHpBa-1密度の経時変化

*B. amorphae*の分生子懸濁液を12 l/m²の割合で茶園土壌に散布し、土壌中の*Beauveria*菌密度(cfu/g土壌)を深度別に調査した。散布9日後の*Beauveria*菌密度は、0-5 cm土壌で $81 \times 10^4 \pm 63 \times 10^4$ cfu/g、5-10cm土壌で $17 \times 10^4 \pm 12 \times 10^4$ cfu/g、10-15cm土壌で $8.3 \times 10^4 \pm 4.0 \times 10^4$ cfu/g、15-20cm土壌で $4.1 \times 10^4 \pm 1.9 \times 10^4$ cfu/gであった(第1図A)。一方、懸濁液を2.4 l/m²の割合で土壌に散布し、同様に調査したところ、散布9

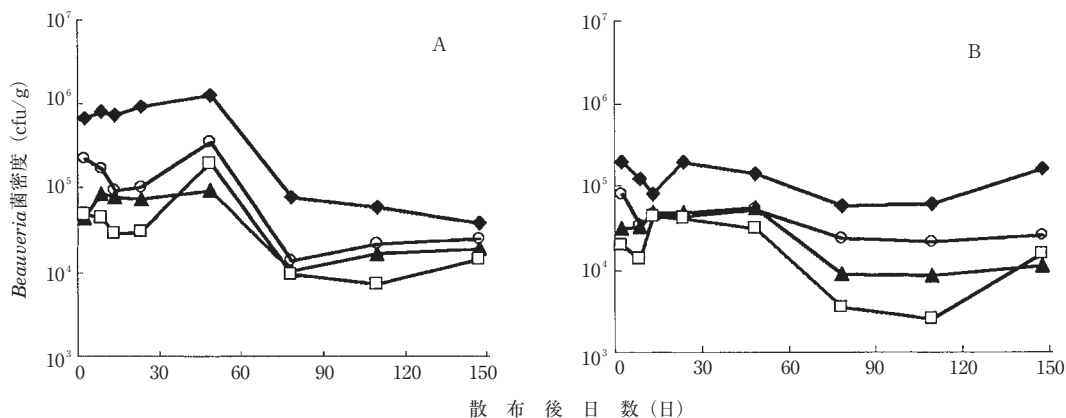
日後では0-5 cm 土壌で $12 \times 10^4 \pm 5.6 \times 10^4$ cfu/g, 5-10cm 土壌で $3.4 \times 10^4 \pm 0.7 \times 10^4$ cfu/g, 10-15cm 土壌で $3.3 \times 10^4 \pm 1.2 \times 10^4$ cfu/g, 15-20cm 土壌で $1.3 \times 10^4 \pm 0.1 \times 10^4$ cfu/gであった(第1図B)。散布9日後の*Beauveria* 菌密度を散布量 12 l/m^2 と 2.4 l/m^2 で比較すると, 0-5 cm 土壌で約6.8倍, 5-10cm 土壌で約4.9倍, 10-15cm 土壌で約2.5倍, 15-20cm 土壌で約3.1倍であった。

土壌中の*Beauveria* 菌密度は, 懸濁液の散布量, 土壌採取深度, 調査時期のいずれにも有意な差が認められた(three-way ANOVA, $p < 0.01$)。散布量と調査時期には交互作用が認められ($p < 0.01$)、散布量による土壌中菌密度の差は時間の経過とともに小さくなった。 12 l/m^2 散布土壌での*Beauveria* 菌密度は0-5 cm 土壌がそれ

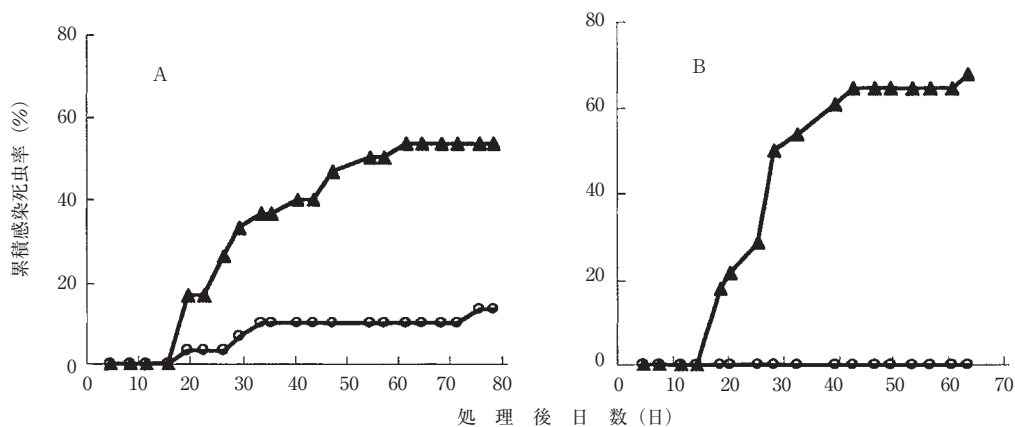
以下の深度より高い傾向が認められ, 15-20cm 土壌とは散布148日の調査まで有意な差が認められた(Scheffe's multiple range test, $p < 0.05$)。さらに 2.4 l/m^2 散布土壌での*Beauveria* 菌密度も, 0-5 cm 土壌がそれ以下の深度より高い傾向が認められ, 10-15cm 土壌や15-20cm 土壌とは散布14日後と24日後の調査を除き, 散布148日の調査まで有意な差が認められた(Scheffe's multiple range test, $p < 0.05$)。

2. HpBa-1 散布量, 散布後日数が感染死虫率に及ぼす影響

HpBa-1 分生子懸濁液の散布9日後と24日後に0-10cm 土壌を採取し, これらの土壌におけるナガチャコガネ幼虫累積感染死虫率の推移を第2図に, 調査終了時の累積死虫率, 累積感染死虫率を第1表に示した。



第1図 *B. amorphia* (HpBa-1株) 分生子懸濁液散布土壌における深度別*Beauveria* 菌密度の変動。A, 12 l/m^2 散布土壌; B, 2.4 l/m^2 散布土壌。◆: 0-5 cm 土壌, ○: 5-10cm 土壌, ▲: 10-15cm 土壌, □: 15-20cm 土壌。



第2図 *B. amorphia* (HpBa-1株) 分生子懸濁液散布土壌(深さ0-10cm)におけるナガチャコガネ幼虫の累積感染死虫率の推移。A, 散布9日後土壌; B, 散布24日後土壌。○: 2.4 l/m^2 散布土壌, ▲: 12 l/m^2 散布土壌。

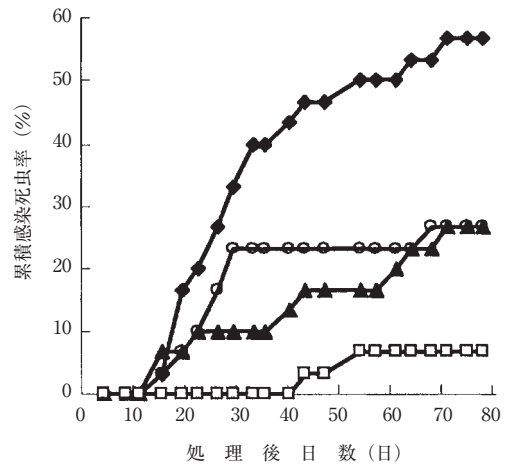
Beauveria に感染して死亡したナガチャコガネは、散布9日後の土壌では処理19日後から確認された。12 l/m² 散布9日後の土壌では、処理33日後までに36.7%の幼虫が感染死亡した。処理78日後の累積感染死虫率は、2.4 l/m² 散布では13.3%，12 l/m² 散布では53.3%であった。12 l/m² 散布24日後の土壌では処理18日後から感染死虫が確認され、処理20日後では22.2%，処理28日後には51.9%と累積感染死虫率は急激に増加した。処理63日後の累積感染死虫率は、12 l/m² 散布では70.4%であったが、2.4 l/m² 散布では感染死虫は確認できなかった。

ナガチャコガネの累積感染死虫率には、分生子懸濁液の散布量により有意な差が認められた (two-way ANOVA, $p < 0.01$)。12 l/m² 散布では、2.4 l/m² 散布より有意に累積感染死虫率が高かった (Fisher's LSD, $p < 0.01$)。しかし、散布後日数には有意な差は認められなかった (two-way ANOVA, $p > 0.05$)。

3. HpBa-1 散布土壌の深度別殺虫活性

HpBa-1 分生子懸濁液散布9日後に深度の異なる土壌を採取し、これらの土壌で飼育したナガチャコガネの累積感染死虫率の推移を第3図に、処理78日後の累積死虫率と累積感染死虫率を第2表に示した。*Beauveria* 感染死虫は15-20cm 土壌では処理43日後から、それ以外

の土壌では処理15日後から確認された。0-5 cm 土壌における累積感染死虫率は、処理15日後では3.3%であったが^a、処理20日後では20.0%，処理30日後には40.0%と急激に増加した。処理78日後の累積感染死虫率



第3図 *B. amorphia* (HpBa-1 株) 分生子懸濁液 (12 l/m²) 散布9日後土壌における深度別累積感染死虫率の推移。◆：0-5 cm 土壌，○：5-10 cm 土壌，▲：10-15 cm 土壌，□：15-20 cm 土壌。

第1表 *B. amorphia* (HpBa-1 株) 分生子懸濁液の散布後日数と散布量が異なる土壌 (深さ 0-10 cm) のナガチャコガネ幼虫に対する殺虫活性^{a)}

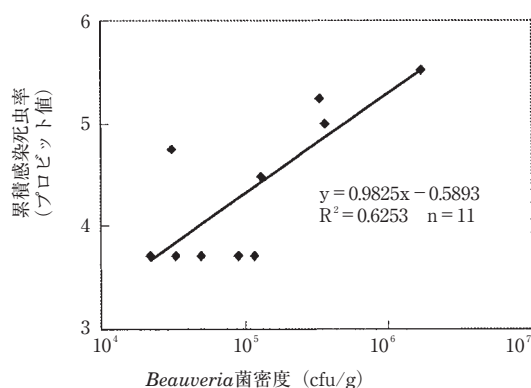
供試土壌	散布量	n	供試虫数 ^{b)} (頭)	累積死虫数 (頭)	累積死虫率 ^{c)} (%)	累積感染死虫数 (頭)	累積感染死虫率 ^{c)} (%)
散布9日後 土壌	無散布	3	30	7	23.3a	0	0a
	2.4 l/m ²	3	30	13	43.3a	4	13.3ab
	12 l/m ²	3	30	26	86.7b	16	53.3bc
散布24日後 土壌	無散布	3	28	2	7.0a	0	0a
	2.4 l/m ²	3	27	4	14.8a	0	0a
	12 l/m ²	3	27	24	88.9b	19	70.4c

a) 分生子懸濁液は2004年11月2日に散布し、2005年1月28日までの結果をとりまとめた。b) 3反復合計の供試虫数。c) 異なる英文字間には角変換後の値に5%水準で有意差あり (Tukeyの多重検定)。

第2表 深度別に採取した *B. amorphia* (HpBa-1 株) 分生子懸濁液散布土壌^{a)} のナガチャコガネ幼虫に対する殺虫活性^{b)}

土壌深度	n	供試虫数 ^{c)} (頭)	累積死虫数 (頭)	累積死虫率 (%)	累積感染死虫数 (頭)	累積感染死虫率 ^{d)} (%)
0-5 cm	3	30	23	76.7	17	56.7a
5-10cm	3	30	15	50.0	8	26.7ab
10-15cm	3	30	16	53.3	8	26.7ab
15-20cm	3	30	9	30.0	2	6.7b

a) 分生子散布量は12 l/m²。b) 処理78日後までの累積死虫率。c) 3反復合計の供試虫数。d) 異なる英文字間には角変換後の値に5%水準で有意差あり (Tukeyの多重検定)。



第4図 *B. amorphae* (HpBa-1株) 分生子懸濁液散布 (12 l/m²) 9日後に採取した土壌での処理78日後のナガチャコガネ幼虫累積感染死虫率と土壌中 *Beauveria* 菌密度の関係。累積感染死虫率はプロビット変換して解析した。累積感染死虫率0%のデータは除いて解析した。

は、0-5 cm 土壌で56.7%, 5-10cm 土壌と10-15cm 土壌では26.7%, 15-20cm 土壌では6.7%であり、0-5 cm 土壌と15-20cm 土壌には有意な差が認められた (Tukey の多重検定, $p < 0.05$)。

散布9日後土壌での深度別累積感染死虫率と土壌中 *Beauveria* 菌密度の関係を第4図に示した。深度別累積感染死虫率の調査に用いた土壌中の *Beauveria* 菌密度に対する累積感染死虫率 (プロビット変換値) の回帰直線の決定係数は高く ($R^2 = 0.63$), 回帰係数は0より有意に大きかった ($p < 0.01$)。

考 察

本試験では, *B. amorphae* (HpBa-1株) の分生子懸濁液を茶園のうね間に散布してナガチャコガネ幼虫に対する殺虫活性を調査した。分生子散布量を, 懸濁液中の分生子数および散布液量から算出すると, 12 l/m²散布で 1.1×10^{11} 分生子 / m², 2.4 l/m²散布では 2.2×10^{10} 分生子 / m²であった。懸濁液を12 l/m²散布した土壌を採取し, ナガチャコガネの累積感染死虫率を調査したところ, 散布9日後土壌では53%, 散布24日後で70%であった。しかし, 2.4 l/m²散布では散布9日後土壌で13%, 散布24日後土壌で0%と感染死虫率は低かった (第1表)。このことから, 茶園におけるナガチャコガネ幼虫の防除には, 2.2×10^{10} 個 / m²程度の分生子では十分な効果は得られないと推察された。

ナガチャコガネ幼虫の感染死虫率には土壌深度による差がみられ, 表土に近いほど死虫率が高くなる傾向を示した (第2表)。深度別殺虫活性試験に供した土壌中の

Beauveria 菌密度に対するナガチャコガネの累積感染死虫率の回帰直線の決定係数は高かった (第4図)。求めた回帰式から, *B. amorphae* を用いて50%程度の累積感染死虫率を得るには, 土壌中に10⁶ cfu/g 前後の *Beauveria* 菌密度が必要と思われた。また, 12 l/m²散布した場合の各深度の *Beauveria* 菌密度は, 2.4 l/m²散布の6.8倍 (0-5 cm 土壌), 4.9倍 (5-10cm 土壌), 2.5倍 (10-15cm 土壌), 3.4倍 (15-20cm 土壌) であった (第1図)。このことから, 分生子散布量を多くすれば下層における *Beauveria* 菌密度も増加すると考えられ, 分生子散布量を多くすることで感染死虫率が上昇する可能性が示唆された。

本試験ではジョウロを用いて分生子懸濁液を散布した。12 l/m²をうね間に散布した場合, 15-20cm 土壌からも HpBa-1 が検出され (第1図), 6.7%とわずかなではあるが感染死虫率が認められた (第2表)。このことから, 水懸濁液として散布することで, 少なくとも15cm 程度の深さまで菌を到達させることができると思われた。しかし, 懸濁液散布9日後の土壌における *Beauveria* 菌密度は, 深度が深くなるに従って減少した。2水準の散布量 (2.4 l/m², 12 l/m²) を設定して試験を行ったが, 5-10cm 土壌から検出される *Beauveria* 菌密度は0-5 cm 土壌の約1/5であった (第1図)。このことから, 水懸濁液として散布した分生子の多くは土壌の表層にとどまることが明らかとなった。但し, ナガチャコガネ幼虫が地表面へと上昇してくる10月下旬頃 (刑部・小泊, 1984) に *B. amorphae* を地表面に散布すれば, ナガチャコガネ幼虫への効率的な感染が期待できると思われる。*B. amorphae* の散布にあたっては, かん水や施肥を目的として茶園に設置されているスプリンクラーや点滴チューブを利用することで, 防除作業が効率的に行えるものと考えられる。

B. amorphae は散布後約50日間は密度変動が比較的小さく (第1図), 散布24日後の土壌においても高い殺虫活性を示した (第1表)。*B. amorphae* の近縁種である *Beauveria bassiana* の分生子を森林土壌に混合して密度変動を調査したところ, 1年後でも当初の約1/10の密度が維持されていたという報告 (Shimazu et al., 2002) があることから, *B. amorphae* は土壌中での生存能力をある程度保持していると推察される。分生子散布土壌にナガチャコガネ幼虫を接種して, 死亡が確認されるのは概ね処理15-19日後からであり, 処理30日後頃までは急速に累積感染死虫率が上昇する (第2図, 第3図)。また, 感染死亡した幼虫は新たな伝染源 (二次感染源) として有効に機能する (Sun et al., 2002)。ナガチャコガ

ネの幼虫期間は7月～翌年4月と非常に長いため（刑部・小泊，1984），茶園において *B. amorpha* に感染死亡した幼虫は二次感染源として十分期待できると思われる。チャ栽培においては地表面に堆積した整枝屑や土壌の酸度矯正のための資材を土壌に鍍込む深耕作業を8月中旬から9月上旬に行う。そこで，この時に *B. amorpha* を地表面に散布して土壌混和する方法も有効であろう。

今回供試した *B. amorpha* の分生子は，茶園（赤黄色土）の地表面に水懸濁液として散布しても15cm程度の深さまで到達できた。さらに，表層の土壌においては散布24日後でもナガチャコガネ幼虫に対して強い殺虫活性を維持していた。これらのことから，*B. amorpha* は防除資材として有効であることが確認された。今後は様々な土壌や気象条件下における *B. amorpha* の殺虫効果を確認し，実用性を検討する必要がある。

引用文献

- Hiromori, H., D. Yaginuma, K. Kajino and M. Hatsukade (2004) The effects of temperature on the insecticidal activity of *Beauveria amorpha* to *Heptophylla picea*. Appl. Entomol. Zool. 39 : 389-392.
- 本間健平・多田茂男・中筋房夫（1994）ナガチャコガネ幼虫の飼育法の検討。茶研報 79 : 37-39.
- Kessler, P., H. Matzke and S. Keller (2003) The effect of application time and soil factors on the occurrence of *Beauveria brongniartii* applied as a biological control agent in soil. J. Invertebr. Pathol. 84 : 15-23.
- Lingg, A. J. and M. D. Donaldson (1981) Biotic and abiotic factors affecting stability of *Beauveria bassiana* conidia in soil. J. Invertebr. Pathol. 38 : 191-200.
- 刑部 勝・小泊重洋（1984）チャを加害するナガチャコガネの生態。茶業技術研究 66 : 15-21.
- Poprawski, T. J. and W. N. Yule (1991) Incidence of fungi in natural populations of *Phyllophaga* spp. and susceptibility of *Phyllophaga anxia* (LeConte) (Col., Scarabaeidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina). J. Appl. Entomol. 112 : 359-365.
- Shimazu, M., N. Maehara and H. Sato (2002) Density dynamics of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) introduced into forest soil, and its influence on other soil microorganisms. Appl. Entomol. Zool. 37 : 263-269.
- Shimazu, M., W. Mitsunashi, H. Hashimoto and T. Ozawa (1993) Persistence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a control agent of *Anomala cuprea* (Coleoptera: Scarabaeidae) in a forestry nursery. Appl. Entomol. Zool. 28 : 103-105.
- Sun, J., J. R. Fuxa and G. Henderson (2002) Sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Coptotermes formosanus* and in vitro. J. Invertebr. Pathol. 81 : 78-85.
- Veen, K. H. and P. Ferron (1966) A selective medium for the isolation of *Beauveria tenella* and *Metarhizium anisopliae*. J. Invertebr. Pathol. 8 : 268-269.
- Villani, M. G., S. R. Kueger, P. C. Schroeder, F. Consolie, N. H. Consolie, L. M. Preston-Wilsey and D. W. Roberts (1994) Soil application effects of *Metarhizium anisopliae* on Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) behavior and survival in turfgrass microcosms. Environ. Entomol. 23 : 502-513.
- 柳沼 大・廣森 創・廿日出正美（2004a）昆虫病原性糸状菌 *Beauveria amorpha* のナガチャコガネ幼虫に対する殺虫活性と付着能力の関係。応動昆 48 : 101-108.
- 柳沼 大・桑原一郎・廣森 創・廿日出正美（2004b）ナガチャコガネ幼虫に強い殺虫活性を示す昆虫病原性糸状菌 *Beauveria amorpha* の感染特性および本菌株を用いた防除法の検討。応動昆 48 : 297-306.
- Yokoyama, T., M. Hasegawa, A. Fujiie, M. Sawada and K. Noguchi (1998) Microbial control of scarab beetle larvae by a formulation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in a sweet potato field. Appl. Entomol. Zool. 33 : 215-218.

（2006年4月7日受領；8月21日受理）