

育苗における生物農薬の開発

育苗における生物農薬の開発

I 試験担当者

保護部昆虫科天敵微生物研究室 片桐一正 岩田善三 串田 保 島津光明
 保護部昆虫科昆虫第一研究室 萩原 実
 木曾分場保護研究室 小沢孝弘

II 試験目的

育苗における根切虫（コガネムシ類の幼虫）については、従来BHCを使用して駆除が行なわれてきていたが、昭和46年度からのBHC等の使用禁止にともない代替農薬をもって駆除を行なっている。しかし効果の面、環境保全の面等からこれら農薬使用にともなうマイナス面の問題提起がなされてきている。これらの背景の下に、新しい、安全な根切虫防除法の開発が強く求められている。その1つとして、天敵微生物による、いわゆる生物的防除法の開発がとりあげられた。すなわち本研究ではコガネムシからみ出される病原微生物を増殖施用し、根切虫防除技術を開発することを目的とする。

III 試験の経過と得られた成果

1. 天敵微生物の検索と有力種の選定

(1) 検索された微生物

東京都下浅川実験林苗畑、静岡県下苗畑、大門山国有林カラマツ造林地等に発生したコガネムシ類幼虫から検索、分離された病原微生物は表1のとおりである。

表-1 根切虫から分離された微生物

(a) 糸状菌

Beauveria bassiana
B. tenella
Metarrhizium anisopliae
Isaria fumosorosea
Paecilomyces sp.
Synnematium jonesii

Fusarium sp.

(b) 細菌

Milky disease (*Bacillus popilliae*?)

(c) ウイルス

Entomopoxvirus sp.1. (Ac - Epv)

" " 2. (Mc - Epv)

(2) 有力糸状菌の選定

室内および苗畑における接種試験により使用するに適した菌を選定した。

室内試験ではドウガネブイブイ、ナガチャコガネ、アカビロードコガネの3種類について終齢幼虫を対象に行なった。供試菌はそれぞれ蚕蛹煎汁液体培地で7日間静置培養したものから菌糸および分生胞子の浮遊液を調製し、浸漬法によって接種した。

結果を表2に示す。総体的に罹病率の高かったのは *Beauveria tenella* であった。また虫種別にみるとドウガネブイブイが比較的感染性が強く、いずれの菌にも高い感染率を示した。

表-2 オオスジコガネから分離した菌の各種コガネムシ幼虫に対する病原性
(死亡頭数)

供試苗	接種方法 供試虫	浸 漬			蚕蛹培養菌接触		
		アカビロード	ナガチャ	ドウガネ	アカビロード	ナガチャ	ドウガネ
<i>B. bassiana</i>		0	1	3	2	1	5
<i>B. tenella</i>		1	2	3	2	2	5
<i>M. anisopliae</i>		0	2	4	1	1	1
<i>Paecilomyces</i> sp.		0	1	2	1	2	1
<i>I. fumosorosea</i>		0	1	3	3	3	4
cont.		0	0	0	1	0	1

注 各5頭供試, 接種月日 1973.4.28

野外試験は、ドウガネブイブイの被害大発生地域である静岡県林試の協力を得て、同試構内の苗畑において行なった。

供試菌は *Beauveria tenella*, *B. bassiana*, *Metarrhizium anisopliae*, *Paecilomyces* sp. 等を用い、これらを蚕蛹培養したものを苗床に鋤き込む方法および

ヒノキ苗木の根本に鋤き込む方法によって防除効果をみた。

この結果、苗木被害率は10月調査でいずれも90%以上と高く処理間に差は認められなかったが、幼虫生存率で *B. tenella* および *M. anisopliae* の両区が多少低かった。

この結果に基づいて *B. tenella* と *M. anisopliae* 両菌の施用方法をかえた試験を行なった。すなわち、蚕蛹に培養したこれらの菌を、さらにバーク堆肥に増量培養し(後述)、その施用効果をみた。

表-3に結果を示す。

表-3 *B. tenella* および *M. anisopliae* の施用効果

(a) 糸状菌処理による苗木の被害率 (単位: %)

処 理 区	小 苗 区				大 苗 区			
	激 害	中 害	微 害	実被害	激 害	中 害	微 害	実被害
<i>B. tenella</i> 菌+バーク堆肥	4.1	9.2	36.6	13.3	0.0	2.9	28.6	2.9
<i>B. tenella</i> 菌単用	2.6	9.2	37.9	11.8	0.0	7.1	35.7	7.1
<i>M. anisopliae</i> 菌+バーク堆肥	66.2	19.2	9.8	85.4	2.4	15.3	59.0	17.7
<i>M. anisopliae</i> 単用	49.0	35.3	11.8	84.3	14.3	30.0	44.3	44.3
バーク堆肥(対照区)	96.1	3.9	0.0	100.0	20.0	30.0	41.4	50.0
ワラ堆肥(対照区)	98.0	2.0	0.0	100.0	77.1	22.9	0.0	100.0

(b) 糸状菌処理による幼虫の生息数(4㎡当り) (単位: 頭)

処 理 区	小 苗 区				大 苗 区			
	大型幼虫	中型幼虫	小型幼虫	計	大型幼虫	中型幼虫	小型幼虫	計
<i>B. tenella</i> 菌+バーク堆肥	1.8	0.7	0.0	2.0	0.8	1.0	0.7	2.0
<i>B. tenella</i> 菌単用	1	0	1	1	0	1	0	1
<i>M. anisopliae</i> 菌+バーク堆肥	7.3	2.3	0.3	9.9	7.7	1.7	0.0	9.4
<i>M. anisopliae</i> 単用	5	4	1	10	2.0	4	0	24
バーク堆肥(対照区)	12	11	2	25	26	7	1	34
ワラ堆肥(対照区)	14	7	0	21	21	8	1	30

(c) 糸状菌処理による幼虫の罹病数(4㎡当り) (単位: 頭)

処 理 区	小 苗 区				大 苗 区			
	大型幼虫	中型幼虫	小型幼虫	計	大型幼虫	中型幼虫	小型幼虫	計
<i>B. tenella</i> 菌+バーク堆肥	4.0	1.3	0.0	5.3	6.0	0.7	0.0	6.7
<i>B. tenella</i> 菌単用	3	0	0	3	2	2	0	4
<i>M. anisopliae</i> 菌+バーク堆肥	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.7
<i>M. anisopliae</i> 単用	0	0	0	0	0	0	0	0
バーク堆肥(対照区)	0	0	0	0	0	0	0	0
ワラ堆肥(対照区)	0	0	0	0	0	0	0	0

この結果、*B.tenella* 菌、*M.anisopliae* 菌ともに施用効果があることが判った。特に *B.tenella* は、苗木被害率、幼虫生息率、施用菌による罹病率ともに有効さを示す結果であった。

以上のことから、根切虫防除に、主として、*B.tenella* 菌、および *M.anisopliae* 菌を利用する技術を開発することにした。

(3) Entomopoxvirus (EPV) の伝染性

ドウガネブイブイ幼虫から検索された EPV について、防除利用の可能性を探るための基礎試験として、幼虫齢期別接種試験を行なった。接種の方法は、虫体浸漬、添食、土壤汚染、流行地土壤利用などによった。EPV としては前年発病した 3 齢幼虫を冷蔵保存したものをを用いた。

結果は表-4 のとおりである。

表からも判るように、幼虫は 1, 2 齢期とも感受性であるが、3 齢期は感受性が劣る。発病死は 3 齢期になってから起る場合が多い。流行個体群では若齢のうちに感染していると考えられる。EPV 量の多い程発病率は高くなる。土壤中に EPV を混入する方法が比較的発病率が高い。この場合、土壤 1 g 当り EPV 封入体 10^4 個以上が良い。最も接種液が節減されるのは注入である、等の結果が得られた。

この結果から大量培養の点で困難があるが、効果の点では EPV も有力微生物の 1 つであることが判明した。

表-4 ドウガネブイブイの EPV 感染性

(1) 卵, 1 令, 常温, 個体別飼育

処 理	令	供試頭数	EPV 死 (死亡までの日数)	その他死	生 残
③ 9 月 14 日 卵		39	3 (44, 63, 87)	12	24
Cont.	"	4	0	0	4
① 9 16 1 令		27	6 (39, 90, 97, 116, 116, 116)	13	8
② 9 14 "		17	0	14	3
③ 9 16 "		18	0	8	10
Cont.	"	4	0	1	3

処理 ① EPV 10^{-2} 50 ml を 7,500 g のバーク堆肥に混入しこれをさらに 2,000 g の赤土に混合したものを用いて Cup 当り 50 g 用いて飼育した。

② EPV 10^{-2} 液に人参 (細刻したもの) を浸漬風乾して給餌

③ EPV 10^{-2} 液に卵又は虫体を浸漬

(2) 1 令, 孵化後 1~3 日, 大型飼育ビン集団飼育

処理 ④	(EPV 10^{-2} 50 ml + 600 g バーク) ... 1 飼育ビン当り EPV バーク 160 g + 砂 384 g
⑤	(EPV 10^{-2} 50 ml + 4.6 Kg 砂) ... 1 飼育ビン当り EPV 砂 0.9 g + 普通砂 31 Kg
Cont.	は④, ⑤の EPV のないもの
EPV の発生を認めた飼育ビン	
④ 処理区	5 ビン中 3 ビン (15 日後に 2 頭, 44 日後に 4 頭)
⑤ "	5 ビン中 2 ビン (15 日後に 1 頭, 44 日後に 1 頭)

(3) 2, 3 令, 常温, 個体別飼育

処 理	令	供試頭数	EPV 死 (死亡までの日数)	その他死	生 残	羽 化
経口注入	3	51	0	8	20	23
25 μ l/頭	{	2	5	1 (142)	1	3
人参添食	2	5	3 (27, 118, 142)	1	1	
土壤散布 (4 ml/cup)	2	2	2 (104, 104)	0	0	
Cont.	2	5	0	0	5	

接種液 精製 Spheroid 4.6×10^{-6} /ml 液, 5 月 18 日接種

(4) 2, 3 令, 23~25℃, 個体別飼育

処 理	令	供試頭数	EPV死（死亡までの日数）	その他死	生 残
虫体浸漬	2	25	1（42）	6	18
人参添食	{ 2	32	2（9，42）	7	23
	3	10	0	1	9
土壤表面	{ 2	20	0	3	17
フ ン ム	3	10	0	2	8
経口注入	{ 2	5	1（62）	0	4
	3	15	0	1	14
肛門注入	3	7	0	1	6
Cont.	3	10	0	0	10

接種液 精製 Spheroid 4.6×10^{-7} /ml 11 月 9 日接種

(5) EPV 流行地土壤による飼育, 供試虫採集地瀬戸市 22~25℃ 個体別飼育

土 壤	供試頭数	EPV 死 (死亡までの日数)	継続中
下善さつま床堆肥土	35	1 (33)	
中瀬 "	23	1 (33)	

2 *Beauveria tenella* 菌の特質

有力天敵微生物としてとり上げる *B. tenella* について、形態上、培養上の特徴も加味して菌の性質を調べた。

B. tenella (和名赤色黄きょう病菌ともいう) は、野外昆虫病原菌として最もよく知られている黄きょう病菌 (*Beauveria bassiana*) と極めて近く、形態的には *B. bassiana* の分生胞子が球形であるのに対して、*B. tenella* は楕球形をしている。*Beauveria* 属の形態的特徴を備え、分生胞子の大きさは $2.5 \sim 4.0 \times 2.3 \sim 2.7 \mu$ である。胞子の色は無色であるが菌叢上に集まっている時には白色ないし淡黄色に見える。

(1) 培養上の特性

湿度条件と菌糸の発育との関係を知るために蚕蛹煎汁寒天平板培地に直径 2 mm のコロニーを植え、温度を変えて発育状況を調べた。次に光の条件の影響を知るため、上述と同様の平板上のコロニーを 23℃ に保ち、20 W 蛍光灯を 50 cm の距離から常時照射したものと、黒布で完全に光を遮断したものについて発育を比較した。pH と菌糸の発育は、上述培地の pH を HCl と Na_2CO_3 を用いて調製し、滅菌後の pH が 4.0, 5.0, 6.0, 6.2 (無補正), 7.0, 8.0, 8.8 となる培地で発育状態をみた。湿度については、蚕蛹に菌を培養し、これを塩類を用いた湿度階 20~30%, 40~50%, 70~80%, 90~100% に保存し、発育状況をみた。

結果は次のとおりである。

(a) 温度と発育

5~25℃ の範囲では温度の高い程発育良好、0℃, 30℃ では発育が抑えられる。35℃ では全く発育しない。このうち 0℃ では発育抑制だけで生存していたが、35℃ では菌が死滅した (表-5)。

表-5 *Beauveria tenella* の温度条件と発育 (コロニーの直径/mm)

温度 (℃)	5 日後 $\bar{x} \pm SD$	10 日後 $\bar{x} \pm SD$
0	0	0
5	+	5.5 \pm 0.87
10	6.7 \pm 0.29	15.0 \pm 0
15	11.2 \pm 0.29	26.3 \pm 0.29
20	15.5 \pm 1.32	32.0 \pm 2.78
25	21.5 \pm 0.50	41.3 \pm 1.76
30	18.0 \pm 0.50	19.2 \pm 1.61
35	0	0
常温	2.8 \pm 0.58	8.0 \pm 0.50

(b) 光と発育

光をあてた方が菌糸の発育が劣り、菌叢も扁平、黄色化する。胞子形成は光をあてた方が早い。暗黒下では菌糸の発育がきわめて良好である。

(c) pH と発育

pH 4.0~8.8 の範囲では、pH が大きい程発育が良く、5.0 以下の酸性では抑制される。また培地の色が菌糸の発育とともに変わり、pH 6.0 以上ではピンクに染色され、pH が大きい程濃くなる。(表-6)

表-6 *Beauveria tenella* の培地 pH 条件と発育 (コロニーの直径/mm)

pH	5 日後 $\bar{x} \pm SD$	10 日後 $\bar{x} \pm SD$
4.0	16.0 \pm 0.82	30.3 \pm 8.64
5.0	21.3 \pm 0.87	42.0 \pm 1.35
6.0	23.6 \pm 0.63	47.1 \pm 0.48
6.2	22.3 \pm 0.29	43.1 \pm 2.67
7.0	25.3 \pm 1.04	49.6 \pm 0.75
8.0	26.5 \pm 0.82	49.3 \pm 1.50
8.8	26.4 \pm 0.63	50.0 \pm 1.69

(d) 湿度と発育

80% 以下では発育に差がみられず、全体として発育はよくなかったが、90~100% では旺盛に発育し、菌糸束の発育もきわめて盛んであった。

(2) 各種昆虫に対する病原性

わが国では害虫防除に病原微生物を利用するに当たって、養蚕業への影響を常に考慮しなければならない。そのためカイコに対する微生物の病原性は各微生物とも調べられていなければならない。*B. tenella* は幸にしてカイコに対して、黄きょう病菌 *B. bassiana* 等他の野外昆虫寄生菌に比較して病原性の低い方である。したがってこの点では利用可能な菌である。

B. tenella がどのような範囲の昆虫にどの程度の病原性を示すかについて調べた結果について以下に示す。

供試したコガネムシは、ドウガネブイブイの卵および各齢幼虫、オオスジコガネ老熟幼虫、マメコガネ老熟幼虫、ナガチャコガネ 3 齢、老熟幼虫および蛹、クロコガネ 3 齢幼虫、ビロードコガネ 3 齢幼虫等である。また鱗翅目幼虫としてヨトウおよびマツケムシを供試した。コ

メツキムシ、シオヤアブに対する病原性についても調べた。

B. tenella は、蚕蛹煎汁寒天培地で継代培養した種菌を大量培養し、分生孢子やいわゆる blastospore を得て供試した。

接種は、孢子浮遊液への浸漬、孢子の虫体表面への塗布、飼育土壌混和等によった。

結果は表-7に示すとおりである。

(a) ドウガネブイブイに対する感染性

卵に接種しても感染する。菌が卵殻を通して侵入し感染する。ふ化幼虫に対して感染力は強い。中央致死濃度は 10^6 spores/ml 前後で、 10^7 spores/ml では高率に発病する。

幼虫が死亡するまでの期間は高濃度接種ほど短かく4~9日である。

液培養のものでは3~5日間培養物が比較的強い病原性を示した。

表-7 各種昆虫に対する病原性

A ドウガネブイブイ

(1) 卵Dippingによる接種(主として13日間培養したもの)						(2) ふ化幼虫, Dippingによる接種((1)に同じ)		
Conidia 濃度	供試数	感染死		その他死	健全	供試数	感染死	補正死亡率
		卵	ふ化後死					
10^7 /ml	10	0	4	3	3	10	7	78%
10^6	10	1	3	1	5	10	6	50
10^5	10	1	0	3	6	10	1	44
10^4	10	0	0	4	6	10	0	0
cont.	10	0	0	8	2	10	0	0

(3) 1齢幼虫, 土壌混入(100gの土に2頭に形成されたConidiaを混入原体とする)				
混入土の倍率	供試数	感染死亡	その他の死亡	20日後までの死亡(死亡までの日数)
× 2	10	7	3	8(7,12,20,20,20,25,28)
× 4	10	4	5	6(7,7,32,67)
× 8	10	7	3	3(7,20,28,49,51,57,97)
× 16	10	4	5	4(28,57,75,97)
cont.	10	0	4	0

(4) 老熟幼虫, Dippingによる接種(4.24-5.12 18日間培養のもの)				
Conidia 濃度	供試数	感染死	その他死	羽化成虫(死亡までの日数)
10^7 /ml	10	9(3)	0	1(7,9,9,12,12,22,22,44,52)
10^6	10	4(1)	1	5(12,12,12,22)
10^5	10	2(1)	3	5(12,13)
10^4	10	3(2)	2	5(26,26,26)
cont.	10	0	4	()内は蛹化後の発病死

(5) 老熟幼虫, 平板上コロガシによる塗布(42日間培養した平板)				
供試数	5頭	感染死亡	5頭	死亡までの日数 12~22 平均17日
cont.	5頭	羽化	5頭	

B オオスジコガネ老熟幼虫

菌態・濃度	老熟幼虫10頭中			前蛹10頭中の		
	感染死(A,B,C)	その他死	羽化	感染死(A,B,C)	その他死	羽化
Blasto- ×1	9(4,7,9/9)	1	0	7(3,7,7/7)	3	0
spore ×10	7(7,7,6/7)	2	1	7(7,7,7/7)	3	0
(20日培養)×100	1(14)	3	6(1)	6(9,14,6/6)	4	0
Conidia 10^7 /ml	9(4,7,7/9)	1	0			
(52日培養)体表塗布	0	2	8(1)	9(7,9,9/9)	1	0
cont.	1	3	6(1)	0	2	8

A, B, C: 死亡までの日数 A: 死亡の始まるまでの日数, B: 死亡が最も多く起った日までの日数, C: 2W以内の死亡の全死亡に対する割合

C マメコガネ老熟幼虫

菌態・濃度	10頭中の感染死	寄生バエ	その他	羽化
Blasto- ×1	1	6	0	3
spore ×10	0	4	0	6
(35日培養)×100	1	4	0	5
Conidia 10^7 /ml	2	4	2	2
(67日培養) 10^6	1	3	2	4
10^5	0	5	3	2
cont.	0	8	0	2

D ナガチャコガネ老熟・前蛹

菌態と接種法	10頭中の感染死	その他死	羽化	(成虫感染)
Conidia 塗布(コロガシ)	0	3	7	(2)
" 土壌混入	0	0	10	(5)
Mycel(平板)土中埋め込み	1	4	5	(0)
培養蛹(127日)土中埋め込み	0	4	6	(2)
Blastospore dipping	6	1	3	(1)
" 土壌混和30ml	3	1	6	(2)
" " 50ml	0	1	9	(5)
Mycel(平板菌糸)土中埋め込み	0	0	10	(7)
(寒天とも) "	0	1	9	(6)
" (液体培地)土壌混和*	0	1	4	(0)
cont.	0	4	6	(0)

* 5頭供試

E ナガチャコガネ 3 齢

ナガチャコガネ 3 齢				
Conidia 塗布 (コロガシ) (41 日平板)				
回	感染死	その他死	羽化 (成虫感染)	
1	2	2	6	(5)
2	1	3	6	(5)
cont.	0	0	10	(1)

F その他のコガネ虫類

接種方法	クロガネ 3 齢 5 頭中			ビロードコガネ 3 齢 5 頭中		
	感染死	その他死	羽化	感染死	その他死	羽化
Conidia $85 \times 10^6 / \text{ml}$ 液 dip.	3	1	1	0	1	4(1)
(20 日培養) 平板塗布 (コロガシ)	1	1	3(1)	0	3	2(2)
平板培養 1 cm 土中混入				2	1	2(2)
Blasto- $85 \times 10^6 / \text{ml}$ 液 dip.				0	2	3
spore 塗布				0	3	2
0.5 g を 100 g 土壌へ混入				1	1	3(2)
cont.	0	1	2	0	1	4

() 内は成虫羽化後発病 (感染) 死したもの

G ヨトウガ

B. tenella による死亡率 (5.18)		
接種方法	供試虫数	感染率
平板胞子上をはい回らせる	8	12.5%
液培養物中に浸漬	8	87.5%
対 照	8	0

H コメツキムシ, シオヤアブ, Conidia $10^7 / \text{ml}$ 液 dipping

種 名	供試頭数	感染死	その他死	備 考
コメツキムシ老熟幼虫	7	1	0	
" 中型 "	1	0	0	
" 小型 "	2	0	0	
計	10	1	0	
Cont.	1	0	0	
シオヤアブ老熟幼虫	5	1	2	羽化後成虫 1 感染
" 小計 "	5	0	1	(ハエ)
計	10	1	3	
Cont.	2	0	1	(不明)

(b) オオスジコガネに対する感染性

10^7 spores/ml 液ではほぼ 100% 感染する。特に蛹に対して感染力が強かった。死亡までの期間は 4~7 日が最も多く、90% 以上が 14 日以内に死亡した。

(c) マメコガネに対する感染性

高濃度接種で感染性は強くない。

(d) その他のコガネムシ類に対する感染性

ナガチャコガネ幼虫に対しては感染力が弱い。分生胞子の高濃度接種でも感染率は低い。成虫には感染しやすい。クロコガネ幼虫にはよく感染する。ビロードコガネ幼虫に対しては感染しにくい。しかし土壌混入ではわずかの感染を認める。

(e) ヨトウガおよびマツカレハ幼虫に対する感染性

液培養を接種源とした場合、浸漬法によって強い感染力が示された。マツケムシに対しては、近縁種の *B. bassiana* が高い感染性を示し、分生胞子 $10^5 / \text{ml}$ 濃度で 90~100% の感染率であるのに対し、 $10^6 / \text{ml}$ で 40% 以下の感染率しか示さず、マツカレハに対して感染力が弱いことが判った。

(f) コメツキムシ, シオヤアブに対する病原性

コガネムシ類の天敵であるコメツキムシ, シオヤアブ等に対する病原性をみると

B. tenella はこれらに対して全く病原性がないとはいえない。高濃度の conidia 接種により発病する個体がみられる。シオヤアブは成虫も感受性である。

(3) 2, 3 の農薬による影響

実際の苗畑では各種農薬, 化学肥料等合成化学物質の影響を受けないところは無いといってよく、また従来の防除体系の中に新技術を組み込み、適用していく上にも、天敵微生物が農薬を中心とする化学物質によって受ける影響を調査しておくことは必要である。このため *B. tenella* について、2, 3 の農薬による発育阻害の程度について調べた。

供試薬剤: 殺虫剤 MEP (50%), MPP (50%), DEP (50%), ダイアジノン (40%);

殺菌剤: ダイファー (72%), ダイセン (65%),

除草剤: 塩素酸ナトリウム (95%), スルファミン酸アンモン (75%), 2,4-Dソーダ塩 (95%), グラモキソン (24%)。

以上の薬剤を、殺虫剤については 500, 1000, 2000 倍液, 殺菌剤と除草剤は 250, 500, 1000 倍液として、菌を培養した蚕蛹を処理し、その後の菌糸の発育状況をみた。

菌培養の各濃度液による処理時間は5分、30分、60分、24時間とし、所定時間後水洗してから、ろ紙を敷いたシャーレに入れ、湿度を充分保つようにした上で25℃に保存し、その2日後より3日ないし4日間菌糸の発育を観察記録した。

結果を表-8に示す。

表-8 農薬が *B. tenella* 発育に及ぼす影響

(a) 殺虫剤による影響(6日後)

濃度 時間 薬剤	500				1000				2000				cont.			
	5	30	60	24	5	30	60	24	5	30	60	24	5	30	60	24
MEP	16	12	16	1	13	14	18	7	17	20	18	10	19	20	20	18
MPP	13	13	17	5	14	15	19	7	15	20	18	10				
DEP	11	17	18	11	15	19	20	15	17	20	20	20				
ダイア	15	6	10	4	14	17	15	3	18	19	19	4				

注：数値は菌糸の発育しないもの0、旺盛な発育4、その中間を1、2、3として表示、時間は5、30、60分、24時間

(b) 除草剤および殺菌剤の影響(5日後)

濃度 時間 薬剤	250				500				1000				cont.			
	5	30	60	24	5	30	60	24	5	30	60	24	5	30	60	24
ダイファ	16	13	15	15	17	16	17	15	19	16	17	12	17	11	16	19
ダイセン	17	13	16	13	14	13	14	12	12	11	15	16				
グラモキ	12	10	6	1	17	12	6	3	18	16	15	3				
塩素酸ナトリウム	17	16	13	17	17	17	14	13	16	16	16	16				
スルファ	17	16	17	14	17	17	19	18	12	18	17	17	16	14	13	18
2,4-D	17	15	15	12	18	14	16	12	16	14	13	18				

注：上に同じ

殺虫剤では、処理時間別にはいずれの場合も5分、30分、60分の間にほとんど差がなく、24時間になると発育が阻害される傾向がみられた。濃度別ではいずれも高濃度ほど影響が大きい。前述したように60分以下ではその差は顕著でなかった。薬種ではダイアジノンの影響が大きく、次いでMEP、MPPの順となりDEPは菌の発育にほとんど影響を与えなかった。5分間浸漬した後水洗しなかったものも水洗区との差はみられなかった。

除草剤および殺菌剤は、処理時間、濃度別にはあまり差がなく、影響も少なかったが、グ

ラモキソンによって菌の発育が阻害されることが判った。殺菌剤でも濃度間の差は明らかでないが、24時間浸漬処理では多少影響を受ける傾向がみられた。

このように、農薬による菌の発育阻害が、薬種によってはほとんどみられないことが判ったが、これは本種を農薬と併用しうることを示すものと考えられる。

(4) 土壌混和した分生胞子の感染性

B. tenella 菌は分生胞子によって伝播する。土中の病死体あるいは有機質媒体等で形成された、または散布等によって導入された胞子のコガネムシ幼虫に対する感染性について調べた。

供試した菌はドウガネブイブイ病死体より分離し蚕蛹煎汁寒天培地で培養したものである。また供試虫にはオオスジコガネ1齢幼虫を用いた。

土壌混和では、50gの土壌に 10^7 この分生胞子を混和した場合は、それで飼育した幼虫の感染率は30~40%であり、発病までの期間も長く100日以上にわたるものも多かった。これに対し、オオスジコガネ老熟幼虫を発病させ、その体表面に形成された分生胞子1頭分全部を21Kgの土壌に混和させた場合は、100%の死亡率となり、50%死亡までの期間も1か月以内と短かった。この率での混和は胞子の混和率が土壌1Kg当り 2×10^8 この分生胞子量よりもはるかに多量であることが推測される。

この混和率よりもさらに高濃度になるように混和した土壌を、22℃、自然室温、野外(風雨、日光にさらされた状態、いずれも10月~11月の間)の各状態に保ち、経時的な感染性の変化を調べると、いずれの状態に置いた場合でもはじめの20日間にはほとんど活性減退がみられなかった。30日目ではやや感染率が低下しはじめ、活性の減退はその後も続いているが、50日後でもなお活性が残る。室内保存のもの40日以降の活性減退は他の条件のものよりも著しかった。野外と22℃では大きな差がみられなかった。

土壌中で50日後でもなお胞子の活性が残っていることは注目値する。土壌中で分生胞子がどのような状態で活性をとどめているかについてはさらに調査が必要である。

3 *Beauveria tenella* 菌の大量増殖法

大量増殖法は野外施用態との関連で考えなければならない。たとえば分生胞子を直接施用する場合は、分生胞子を大量に得る方法を探らなければならない。本菌の施用態は後述(4項)するように、分生胞子の場合もその1方法として試験されているが、今までのところ最も効果が安定しているのは、増殖菌を媒体とともに土壌中に混入(鋤き込み)をすることである。したがって、それに適した増殖法が必要となる。

(1) 培養法

蚕蛹煎汁液体培地 10 ml で種菌を培養 (10 日間) した。3 l 三角フラスコに乾燥蚕蛹 500 g, 水 600 ml を加え綿栓をし、これをオートクレーブで 120℃ 15 分間滅菌し、その中に前記培養液を入れ、25℃ 20 日間培養した。さらに、この菌の繁殖した蚕蛹をとり出し、増量する目的で、その 400 g を 80 kg のパーク堆肥 (日本産広葉樹) に混合し、ポリバケツ (15 l) に入れ、蒸散を防ぐため蓋をして 25℃ に保った。その結果、*B. tenella* 菌は蚕蛹を核として菌糸を堆肥内に伸長させ、15~20 日間でパーク堆肥内全体に菌糸がよく繁殖した。同様の方法で *M. anisopliae* の増殖も行なったが、この場合は菌糸の繁殖は少なく、濃緑色胞子を全面に形成した。

B. tenella の最終的な増殖法は上述した手順を標準とする。

(2) 媒体と容器

上述のようにパーク堆肥 (完熟したもの) で、*B. tenella* はよく繁殖し、これが増殖の媒体として有効であるが、パーク堆肥に代るものとして、マッシュルーム堆肥、稲わら堆肥、乾燥豚ふん、オガクズ堆肥等を用いて増殖実験を行なった。この結果次のことが判明した。

菌糸の発育は、マッシュルーム堆肥が最もよく、次いで稲わら堆肥であったが、マッシュルーム堆肥よりもはるかに劣る。牛ふんを混入したオガクズ堆肥では菌糸の繁殖はみられなかった。オガクズのみ堆肥ではパーク堆肥以上に良く繁殖する。乾燥豚ふんは未醗酵であったためか菌糸の繁殖はみられなかった。またサトウキビのしほり粕の完熟した堆肥では菌の繁殖は良い。

容器はビニール袋、フルコン袋等ポリバケツに代るものが試みられ、いずれも使用できるが、フルコン袋のような空気の通しの比較的良いものが良好であった。

(3) 岐阜営林署緑ヶ丘苗畑での大量増殖

苗畑で適用試験を実施するため、必要量の菌増量を現地で行なうことを試みた。本試験は当時同苗畑事業所主任神出技官と同所職員の協力で行なわれた。

神出氏等が設置した増殖装置は、同所堆肥舎内に、縦 1 m 横 3.8 m 深さ 0.22 m の木箱 (蓋なし) を置き、温床線を張って保温するようにしたものである。これに 420 kg のパーク堆肥を入れ、菌培養した蚕蛹約 11 kg を加えて混和し 21℃~24℃ の間の温度に保った。サーモスタットは 200 V 50 W のものを用いた。堆肥を入れるに当たっては箱の内壁にビニール (有孔) を敷いた。また上面も同じビニールで覆った。

緑ヶ丘苗畑ではこのような木箱の装置を 8 と製作し、苗の大量培養に供した。

冬期約 40 日間この状態で放置しておいた結果、菌の発育はきわめて良好で、雑菌の発育もみられず、増殖は成功した。ポリバケツでの発育結果よりも菌の発育は良好であった。ただし温床線に触れる部分は乾燥して菌の発育も他の部分と比較すると劣った。

なお同時に米ぬかを混合した部分も試験的につくり、菌の発育をみたが、途中醗酵が起こり、発熱したため、菌が発育しなかった。

4. *Beauveria tenella* 菌施用効果

(1) 緑ヶ丘苗畑における試験

B. tenella をパーク堆肥で増殖し、十分に菌の繁殖したパークを苗畑に、苗植付け前に鋤き込む方法で菌を施用した。

試験区

- A : 菌培養パーク堆肥 (以下菌パークと略称する) $2 \text{ Kg}/\text{m}^2 + \text{MPP } 5\% \text{ 粒剤 } 6 \text{ g}/\text{m}^2$
B-b : ワラ堆肥 $2 \text{ Kg}/\text{m}^2$
B-1 : 菌量少ないパーク $2 \text{ Kg}/\text{m}^2$
B-2 : 米ぬか菌パーク $2 \text{ Kg}/\text{m}^2$
B-3 : 菌パーク $4 \text{ Kg}/\text{m}^2$
C : 菌パーク $1 \text{ Kg} +$ 無菌パーク $1 \text{ Kg} + \text{MPP } 6 \text{ g}/\text{m}^2$
D : 無菌パーク $2 \text{ Kg}/\text{m}^2$
E : 菌パーク $1 \text{ Kg} +$ 無菌パーク $1 \text{ Kg}/\text{m}^2$
F : 無菌パーク $2 \text{ Kg} + \text{MPP } 6 \text{ g}/\text{m}^2$
G : 菌パーク $2 \text{ Kg}/\text{m}^2$
H : 無処理

各区 $12 \text{ m} \times 27 \text{ m}$

結果を表一 9 に示す。これは 10 月 27 日に掘り取り調査をした結果である。

ドウガネブイブイ 幼虫による被害は、7 月中旬の薬剤処理の結果防止されていることから、7、8 月の新幼虫によるものが大きいと考えられる。この頃の幼虫への菌の寄生力が今回の試験では無かったか少なかった。菌のみでは被害防止が困難であることを思わせた。

しかし菌を導入した区にのみ菌による死亡が、いずれも 50% 以上みられた。このことは菌による防除の可能性があることを示している。

表からもわかるが、枯死苗数、健全苗数、と菌の有無、採集時の幼虫密度とは相関が認め

られなかった。

一方バイジット (MPP) を入れた区は、全体に幼虫密度が少なかった。軟化病症状のものは密度の高い部分程高率である傾向であったが、病因は不明である。

表一 菌施用畑掘取り結果

採集 (調査) 時の幼虫数, $\frac{1}{2}m^2$ 平均 \pm S. E.

区	生 幼 虫	B. ten.	死 軟	計
A	0.25 \pm 0.16	0.25 \pm 0.16	0	0.50 \pm 0.19
B			B-b B-1 B-2	1.40 \pm 0.24 1.0 0, B-3 1 \pm 0.58
C	0.20 \pm 0.13	0.20 \pm 0.13	0.10	0.50 \pm 0.22
D	1.00 \pm 0.30	0	0.60 \pm 0.27	1.60 \pm 0.40
E	0.50 \pm 0.22	0.80 \pm 0.33	0.10	1.40 \pm 0.34
F	0.60 \pm 0.40	0	0.30 \pm 0.21	0.90 \pm 0.55
G	0.30 \pm 0.15	1.10 \pm 0.41	0.10	1.50 \pm 0.50
H	1.40 \pm 0.27	0	0.90 \pm 0.23	2.30 \pm 0.42
A 3 \times 3	1.33 \pm 0.88	3.00 \pm 0.58	0.33	4.67 \pm 0.88 ($\sqrt{m^2}$)
G 3 \times 3	0.67 \pm 0.33	1.67 \pm 0.67	0.33	2.67 \pm 0.33 ($\sqrt{m^2}$)

枯死苗数 $\frac{1}{2}m^2 = 30$ 株当り \pm S. E.

		根量少+枯死	根 量 多
A	2.32 \pm 0.34	9.89 \pm 1.56	1.000 \pm 1.40
B	B-b: 7.70 \pm 1.26, B-1: 1.000 \pm 2.01 B-2: 8.80 \pm 2.21, B-3: 9.50 \pm 1.22		
C	2.86 \pm 0.34	9.30 \pm 2.04	1.050 \pm 1.86
D	3.30 \pm 0.39	1.010 \pm 1.49	7.60 \pm 1.09
E	6.46 \pm 0.36	1.370 \pm 1.03	7.90 \pm 0.62
F	3.80 \pm 0.57	5.80 \pm 1.67	1.310 \pm 1.45
G	3.56 \pm 0.47	7.40 \pm 1.26	8.10 \pm 1.29
H	3.16 \pm 0.28	6.70 \pm 0.92	1.080 \pm 0.96
A 3 \times 3	2.100 \pm 0.82	—	0
G 3 \times 3	2.620 \pm 0.20	—	0

採集虫の飼育結果

	A	B	C	D	E	F	G	H
		B-b B-1 B-3 協-4						
加温	$\frac{2}{4}$ Bt	$\frac{1}{2}$ 軟	$\frac{1}{1}$ 軟	$\frac{1}{1}$ 軟	0	$\frac{1}{2}$ Bt	$\frac{1}{3}$ 軟	$\frac{1}{3}$ Bt
~1211								0
常温	$\frac{1}{3}$ Bt	0	$\frac{1}{1}$ 軟	$\frac{1}{1}$ Bt	$\frac{1}{1}$ 軟	$\frac{1}{1}$ 軟	0	$\frac{1}{3}$ 軟
		$\frac{0}{2}$	$\frac{1}{1}$ 軟	$\frac{1}{1}$ 軟	$\frac{1}{2}$	$\frac{0}{2}$	$\frac{1}{3}$ 軟	$\frac{2}{3}$ Bt
								$\frac{1}{3}$ 軟
								$\frac{3}{4}$ 軟

注 A 3 \times 3, G 3 \times 3 は夏期 (7.19) ダイアジノン, EDB 処理を行なわなかった部分, 他は全面的に処理。

(2) 松本営林署塩尻苗畑における試験

試験区

A: 蚕蛹培養した *B. tenella* をポリバケツを用いてパーク堆肥に培養したもの 160 Kg をトラクターで 50 m^2 に鋤き込む。

B: パークで増殖した *B. tenella* 208 Kg を 100 m^2 にトラクターで鋤き込む。

C: 対照区, 菌を施用しないだけで他の施業は各区と共通。

D: 蚕蛹培養菌約 4 Kg を約 40 m^2 に, ヒノキ 2 年生床にすじ状に施用。単用。

E: 蚕蛹培養菌 1.3 Kg, クローバの畦畔に 1 列に溝を掘り, ここに施用, 単用。

F: *B. tenella* 及び *Metarrhizium anisopliae* を大豆, 蚕蛹に培養し, これをヒノキ植穴に 4~5 こづつ入れる。

G: 深さ 10 cm の位置に *M. anisopliae* 蚕蛹培養菌をサンドウィッチ状に植穴へ施用。

H: 同上のように *B. tenella* の大豆培養菌を植穴へサンドウィッチ状に施用。

I: G 区と同じ。

J: 無処理, 対照区。

K: *B. tenella* 蚕蛹培養 5.5 Kg 20 m \times 3 列 = 60 m に列条施用

" 大豆 " 5.4 "

M. anisopliae 蚕蛹培養 5.3 "

" 大豆 5.0 "

各区のうち A, B, C は夫々 5 m \times 10 m, 5 m \times 10 m, 10 m \times 10 m の大きさ, F 区は 1 m \times 10 m の小区が 12 区すなわち F-1~F-12 まで, G 区 1 m \times 3 m, H 区 1 m \times 2 m, I 区 1 m \times 3 m, J 区 1 m \times 3 m, このうち F-1, 6, 11 は F 区の対照区である。

試験区設定時の根切虫掘取り調査結果は次のとおりであった。

調査区 0.5 m \times 1.0 m 深さ 50 cm まで

区数 15

採集根切虫数 生存虫 661 頭 平均 44 頭/区

死亡虫 4 頭

(*M. anisopliae* 菌分離)

平均 1 m^2 当り 88 頭であったが, 実際には分布は集中的であり, 0 頭~346 頭までの範囲であった。根切虫以外の昆虫として, ヤガ幼虫, ヨトウ, ゴミムシ, ハネカクシ, テント

ウ、それにヤスデもみられた。

表-10 幼虫密度調査結果(塩尻苗畑)

		(アカビロードコガネ数 平均頭/0.5m ²)			
		調査月日			
区	虫 態	52. 3.29	52. 6.30	52.10.26	53.11.16
A	幼 虫	1.0		1.0	5.7
	計	1.0		1.0	5.7
B	成 虫	0	0.7	0	0
	幼 虫	4.0	0	2.0	8.8
	計	4.0	0.7	2.0	8.8
C	成 虫	0	1.0	0	0
	幼 虫	7.0	1.0(蛹)	0	7.3
	計	7.0	2.0	0	7.3
D	成 虫	—	1.0	0	—
	幼 虫	—	0.8(蛹)	3.3	—
	計	—	1.8	3.3	—
D' (Dのcont.)	成 虫	—	2.0	0	—
	幼 虫	—	1.8(蛹)	8.0	—
	計	—	3.8	8.0	—
K1.2(Bt蚕蛹)	幼 虫	0	0	1.5	6.0
	計	0	0	1.5	6.0
5.6(Bt大豆)	幼 虫	0	0	0	6.0
	計	0	0	0	6.0
3.4(Ma大豆)	幼 虫	0	0	0.5	20.0
	計	0	0	0.5	20.0
7.8(Ma蚕蛹)	幼 虫	0	0	1.0	9.0
	計	0	0	1.0	9.0
9.10(cont.)	幼 虫	0	0	2.5	18.5
	計	0	0	2.5	18.5
F(Bt大豆)	成 虫	—	23.0±5.0		
	蛹	—	14.0±2.7		
	幼 虫	—	2.0±0.6	5.7±0.8	19.3±3.2
	計	—	39.0		
(Ma大豆)	成 虫	—	10.0±1.9		
	蛹	—	5.0±2.1		
	幼 虫	—	0.5±0.2	7.0±3.5	15.0±3.5
	計	—	15.5		
(Ma蚕蛹)	成 虫	—	10.5±2.6		
	蛹	—	4.5±2.0		
	幼 虫	—	1.7±0.6	9.7±4.8	14.7±3.3
	計	—	16.7		
(cont.)	成 虫	—	23.8±6.8		
	蛹	—	14.5±4.7		
	幼 虫	—	4.1±2.3	5.3±1.7	25.0±4.0
	計	—	42.4		

(3) 林試構内苗畑における試験

Beauveria tenella 菌の供試形態別の効果をみるため、林試構内で施用試験を行なった。

供試形態

A:大豆に培養したもの。

B:蚕蛹 "

C:Aをバーク堆肥で増殖したもの。

D:B "

E:Aを粉末にし、セラチンカプセルに詰めたもの。

F:B "

G:Aを乾燥せず練り団子にしたもの。

H:Aの粉末

I:B "

これらを1m×1mの床に施用し、ドウガネブイブイ1齢幼虫を各20頭放飼して、秋までの幼虫残存率を調べた。各1m²区はハッポースチロール枠を埋めて仕切った。また各処理は3繰返して、A、Bは施用量の異なる2処理区をそれぞれ設けた。

結果は表-11のとおりである。

これらの結果を総合すると、大豆に培養したものよりも、蚕蛹に培養したものの方が、全体として好結果がみられる。またBすなわち蚕蛹に培養したものを大量に施用した区とIすなわち蚕蛹に培養してからこれを粉末にしたものを施用した区とが総合的に最も有効であったが、I区のような粉末状のものが有効であることが確認されれば、本菌を実用的に施用する場合の剤形の開発に有益なヒントとなると考えられる。

表-11 施用態別施用試験結果

処理区	ドウガネ数 (3令老熟)	ヒメコガネ数	ヒメ× $\frac{1}{3}$ +ドウガ ネ数	掘り取り後の死亡 数(P.t.による もののみ)	60本中 の被害激 苗数
A	7, 1, 5 = 13	8, 5, 5 = 18	19	4, 1, 5 = 10	56
A	1, 2, 6 = 9	9, 14, 13 = 36	21	3, 7, 6 = 16	54
B	2, 0, 1 = 3	23, 13, 4 = 40	16	10, 10, 5 = 25	17
B	3, 1, 0 = 4	5, 7, 6 = 18	10	3, 5, 5 = 13	16
C	3, 6, 5 = 14	35, 25, 6 = 66	47	12, 5, 1 = 18	21
D	1, 8, 5 = 14	20, 72, 4 = 51	31	7, 4, 9 = 20	45
E	2, 2, 3 = 7	0, 1, 4 = 5	9	0, 2, 0 = 2	30
F	5, 8, 6 = 19	4, 8, 4 = 16	24	0, 0, 1 = 1	30
G	0, 0, 0 = 0	4, 26, 16 = 48	14	0, 0, 0 = 0	31
H	2, 1, 4 = 7	7, 31, 9 = 29	17	0, 2, 5 = 7	41
I	4, 3, 1 = 8	0, 9, 6 = 15	13	2, 10, 6 = 18	18
cont.1	2, 4, 5 = 11	2, 0, 2, 0 = 22	18	1, 0, 1 = 2	50
2	1, 2, 1 = 4	13, 72, 6 = 46	19	0, 0, 0 = 0	16
3	4, 2, 4 = 10	3, 15, 21 = 30	20	0, 7, 9 = 16	59
4	2, 3, 4 = 9	2, 4, 9 = 18	15	0, 0, 1 = 1	5

5 *Beauveria tenella* 以外の微生物の利用(1) *Metarrhizium anisopliae* の利用

黒きろう病菌 *M. anisopliae* は, *B. tenella* の各種試験中にも同時に供試されてきており, *B. tenella* と同様に利用できることは, 上述のとおりである。さらに, *B. tenella* の感染性が弱い根切虫に対して強い感染力をもつ場合がある。塩尻苗畑の場合のようにピロートコガネ類の優占する地域では *B. tenella* の効果は低いことが多い。そのため本菌の利用を併行することによってピロートコガネ防除の効果を上げることについて検討をした。

M. anisopliae の分生孢子または液体培養物の濃度段階液を調製し, 幼虫の浸漬法によって接種をした。結果は表-12 に示した。

これによるとピロートコガネは *M. anisopliae* に対してきわめて感受性であり, 特に本菌の分生孢子の感染力が強いようであった。死亡までの日数も11日前後が多く, 3週間以

内に全部死亡した。

表-12 *M. anisopliae* のピロートコガネに対する病原性

ピロートコガネ3令, 個体別飼育

菌 態	濃 度	10頭中 の感染死	その他死	(死亡までの日数)
Conidia	10^7 / ml	9 (8)	0	(11-11)
	10^6	5 (5)	0	(7-17)
	10^5	3 (1)	2	(14-)
	10^4	1 (1)	1	(17-)
Conidia	10^7	7 (5)	1	(11-11)
+ ママレモン	10^6	5 (3)	0	(11-11)
	10^5	4 (2)	3	(11-)
	10^4	3 (0)	2	(38-)
Conidia	塗 布 (コロガシ)	10 (8)	0	(11-11)
Blastospore	× 1	2 (1)	0	(11-)
	× 10	5 (3)	1	(7-)
	× 10 ²	1	1	(38-)
Cont. 無 接 種		0	0	
// ママレモン液		2	3	

日数は死亡が始まるまでの期間と最も多く死亡が起った日までの期間を示す。

() 内は22日以内の死亡

これらのことから, 根切虫の種構成によっては *B. tenella* と *M. anisopliae* は併用するのが有効である場合が推察される。

(2) ウイルスの病原性

ドウガネブイブイ大発生地域の静岡県浜北地方の個体群に流行した Entomopoxvirus 病を人為的に流行せしめるための基礎調査として室内において伝染性の実験を行なった。ドウガネブイブイの EPV (EPV-Ac) のほか, オオスジコガネ幼虫からもボックス様ウイルスが検索された。このウイルス (Mc-Virus) も同時に供試し, 伝染力を調べた。

表-13 に結果を示す。

これらの表から, 両ウイルスともドウガネブイブイやオオスジコガネに対して高い病原性

を示し、病死体の1000倍液を土壌に散布混和すると高い死亡率が得られることが判明した。

この利用も大量増殖に困難がある点を除けば効果の面からみれば有効である。

表-13 ウイルスの病原性

(1) ドウガネブイブイに対するEPV-Acの病原性

	供 試 虫					
	卵			1 令 幼 虫		
	供 試 数	病 死 数	その他の死	供 試 数	病 死 数	その他の死
接種液濃度 0	25	1	6	25	0	3
10 ⁻⁵	25	7	3	25	6	2
10 ⁻⁴	25	19	2	25	17	1
10 ⁻³	25	25	0	25	25	0
10 ⁻²	25	25	0	25	25	0

(2) ドウガネブイブイに対するMc-Virusの病原性

	供 試 虫					
	卵			1 令 幼 虫		
	供 試 数	病 死 数	その他の死	供 試 数	病 死 数	その他の死
接種液濃度 0	25	0	3	25	0	3
10 ⁻⁵	25	6	2	25	3	0
10 ⁻⁴	25	10	1	25	5	1
10 ⁻³	25	14	1	25	19	0
10 ⁻²	25	24	0	25	25	0

(3) ヒメコガネに対するEPV-AcおよびMc-Virusの病原性

	EPV-Ac 接種			Mc-Virus 接種		
	供試数(卵を供試)	病 死 数	その他の死	供試数(1令供試)	病 死 数	その他の死
接種液濃度 0	25	0	4	25	0	8
10 ⁻⁵	25	0	4	25	0	9
10 ⁻⁴	25	1	0	25	1	8
10 ⁻³	25	0	0	25	1	9
10 ⁻²	25	1	2	25	5	11

(4) オオスジコガネに対するMc-Virusの病原性

	供 試 虫					
	卵			1 令 幼 虫		
	供 試 数	病 死 数	その他の死	供 試 数	病 死 数	その他の死
接種液濃度 0	25	0	14	25	0	9
10 ⁻⁵	25	2	9	25	0	8
10 ⁻⁴	25	1	10	25	3	9
10 ⁻³	25	5	5	25	8	5
10 ⁻²	25	12	4	25	14	4

(3) *Bacillus popilliae* (乳化病菌)の伝染性

乳化病菌は既に米国ではマメコガネの防除剤として開発、実用化されているものであるが、本研究開始以前にシロスジコガネから本病原が検索されたので、これのマメコガネ等への病原性について調べた。

シロスジコガネ病死体より採取した*B. popilliae* 菌(細菌:大桿菌の1種)をスライドグラスに塗布し、3年5か月冷蔵保存しておいたものを殺菌水で再浮遊させ、供試虫に注入または添食接種した。

表-14に結果を示す。

シロスジコガネで増殖された*B. popilliae* の1種がマメコガネの幼虫に病原性を示し、経口的に伝染する菌であることが判った。マメコガネに対しては若齢の方により強い病原性を示すかもしれない。コフキコガネ幼虫も注入すれば感染することが判明した。

表-14 乳化病菌の感染性

(1) マメコガネ(終令)幼虫・注射

供試数	死 亡 要 因	死 亡 数	死 亡 率
28頭	<i>B. popilliae</i>	2頭	7.1%
	クチナガハリバエ寄生	11	39.3
	Bacteria	4	14.3
	ダニ寄生	1	3.6
	線虫寄生	5	17.9
	不明死	2	7.1
	羽 化	3	10.7
			<u>100</u>

(2) マメコガネ(2令)幼虫・添食

供試数	死 亡 要 因	死 亡 数	死 亡 率
10頭	<i>B. popilliae</i>	6頭	60%
	Bacteria	2	20
	不明死	1	10
	羽 化	1	10

(3) コフキコガネ(終令)幼虫・注射

供試数	死 亡 要 因	死 亡 数
2頭	<i>B. popilliae</i>	1頭
	羽 化	1

IV まとめ

苗畑における根切虫被害防除のための生物農薬の開発研究に当たって、先づコガネムシ類の天敵微生物が検索された。糸状菌(カビ類)、細菌類、ウイルス等広範囲にわたる多くの天敵微生物が検索されたが、有力微生物として糸状菌 *Beauveria tenella* 及び *Metarrhizium anisopliae* が、感染実験や観察の結果、とり上げられた。このうち、*B. tenella* は最有力であり、これについて、種々の面から調査、試験が行なわれた。

B. tenella は蚕蛹煎汁や Sabouraud 寒天等普通の培地で簡単に培養できる。温度は 25℃ 前後も最適であり pH はアルカリ側がより良い、光は菌糸の発育を阻害するが、胞子の形成を促進する。湿度は高い程発育が良い。

ドウガネブイブイ、オオスジコガネ、クロコガネ等に対しては病原性が強く示されるが、ナガチャコガネ、ヒメコガネ、マメコガネ等には病原性が弱い。これらの幼虫は *B. tenella* よりもむしろ *M. anisopliae* により感受性である。したがって、実用に当たっては根切虫の種構成を調べた上で、菌の選択を行えば良い。

B. tenella は、MEP、DEP、MPP、等の殺虫剤と併用できるが、ダイアジノンでは多少発育阻害が認められた。殺菌剤、除草剤等も 24 時間処理では *B. tenella* の発育を阻害するが、これらの実用上の影響については未調査である。ただし除草剤の中には強い発育阻害をもたらすものがある。

土中に *B. tenella* の胞子を入れると、約 30 日後から活性の減退がはじまるが、50 日後でも活性が残る。伝播、感染が分生胞子によって行なわれるので、土中での分生胞子の活力の接続が比較的長いことは、利用に当たって有利である。

B. tenella の施用実験の結果、本菌をバーク堆肥に増量増殖させて、これを苗床に鋤き込むことによって、根切虫の被害防止ができることがわかった。このため、バーク堆肥を用いて菌を培養する方法が考案された。すなわち、種菌を先ず蚕蛹に培養し、ついでその蚕蛹を完熟したバーク堆肥に混和し(重量比 5% 位が最も有効) 約 25℃ で 2、3 週間以上保つと、堆肥に菌糸が充分に繁殖し、施用できるようになる。バーク堆肥の外、トウキビカス堆肥、ワラ堆肥、マッシュルーム堆肥等も利用できるが、いずれにしても十分に熟したものをを用いないと増殖途中で酸酵、発熱して菌が繁殖しなくなる。

増殖はポリバケツ、ビニール袋、等を用いても良く、また大量には温床式に行なっても良い。

この方法は *B. tenella* のみでなく、*M. anisopliae* にも適用できる。

バーク堆肥を用いる方法は有効であるが、施用時期や方法が限られてしまうので、できれば施

用し易い剤態に加工することが望ましい。そのため、蚕蛹を中心としたもの、大豆を中心としたもの、それに他の媒体を用いるもの等を、粒状、粉末状、固形体等に加工・製剤し、その効果を検討したが、剤態と効果との間に一定の関係がみ出せない。この点は残された大きな問題点の一つである。

病原性、あるいは伝染力という点からは、Virus 類が最も有力である。しかし、この実用のためには、ウイルスの大量増殖の困難性が克服されなければならない。若し大量増殖が容易にできるようになれば、最も有力な微生物となると思われる。また *Bacillus* sp. の利用も更に検討される可きであろう。この *Bacillus* は時に流行病となって、すなわち強い伝播力と起病力をもって、根切虫(宿主) 個体群の密度抑制に大きな役割を果たすであろうからである。

V 関連業績

1. 青木襄児, 片桐一正, 串田 保: コガネムシに寄生する 3 種糸状菌, 応動昆, 19, 17~22, 1975.
2. 串田 保, 片桐一正, 藤下章男: 糸状菌による苗畑コガネムシの防除 I. 日林講 85, 214~215, 1974.
3. 藤下章男, 串田 保, 片桐一正: 糸状菌による苗畑コガネムシの防除 II. 日林講 85, 215~217, 1974.
4. 片桐一正: 糸状菌によるコガネムシの防除 今月の農薬 6 月, 86~89, 1975.
5. 串田 保, 久保園正昭: コガネむし幼虫の防除に利用する *Beauveria tenella* 菌について. 森林防疫 24, 93~96, 1975.
6. 藤下章男, 串田 保, 片桐一正: 糸状菌による苗畑コガネムシの防除 III. — 土壌全面混和による実用化試験 —. 日林講 86, 374~375, 1975.
7. 串田 保, 片桐一正, 青木襄児: コガネムシから分離された *Beauveria tenella* 菌, 日林講 86, 372~373, 1975.
8. 青木襄児, 柳瀬久良子, 串田 保: 黄きょう病症状を現わす数種昆虫病原糸状菌の蚕に対する病原性とその和名. 日蚕雑 44, 365~370, 1975.
9. 藤下章男, 串田 保: 糸状菌による土壌害虫の防除試験(1) *Beauveria tenella* 菌のドウガネブイブイ幼虫に対する野外施用効果, 静岡林試研報(8), 1~13, 1976.
10. 片桐一正, 串田 保, 春日三平, 大庭道夫: ドウガネブイブイの昆虫ボックスウイルス病, 応動昆 19, 243~252, 1975.

11. 串田 保, 片桐一正: 糸状菌 Beauveria tenella のコガネムシに対する感染性. 日林論 88, 325~327, 1977.
12. 串田 保, 片桐一正, 福泉ヤス: 土壌混和した Beauveria tenella 菌胞子の感染性. 日林論89, 303~304, 1978.
13. 片桐一正, 岩田善三: 近年における森林害虫の天敵微生物に関する試験研究 I. 森林防疫 27, 60~64, 1978.
14. 片桐一正, 岩田善三: 近年における森林害虫の天敵微生物に関する試験研究 II. 森林防疫 27, 72~75, 1978.
15. 天敵微生物研究室業試資料1975~1978年度.