

育苗における生物農薬の使用法

育苗における生物農薬の使用法

I 試験担当者

保護部昆虫科

天敵微生物研究室 片桐一正

串田保

島津光明

昆虫第一研究室 萩原実

II 試験目的

本研究の前課題として「育苗における生物農薬の開発」が3か年間研究され、根切虫類の天敵微生物の検索、有力天敵微生物の選定、その微生物の性質の解明等が行なわれてきたが、これらの基礎的な諸知見を統合し、苗畑における育苗の実際面に役立たせることが必要である。すなわち前課題のとりまとめ部分を形成する研究であり、根切虫による苗木の被害を防ぐために、糸状菌 *Beauveria tenella*, または *Metarrhizium anisopliae*, および、ウイルス *Entomopoxvirus sp.*, リケツチヤの1種等を主要素材とする総合的防除のための技術面の発展・確立を計ることを目的とする。

III 試験の経過と得られた成果

1. 前課題成果の概要

根切虫類の天敵微生物として糸状菌類、細菌類、ウイルスその他等広範囲にわたる微生物が検索され、その中から、有力天敵微生物として糸状菌 *Beauveria tenella*, *Metarrhizium anisopliae* およびウイルス *Entomopoxvirus sp.* がとり上げられた。これらのうち糸状菌は蚕蛹煎汁や Sabouraud 培地で培養が容易であり、これによって菌学的な基礎的諸特性が研究され知見が得られた。また特に *B. tenella* については、実用に関連して、土壤中に混入した胞子の活性が長期間残ること、土壤施用の慣行農薬の中では、M E P, D E P, M P P 等の殺虫剤は併用しても菌の活性をあまり阻害しないこと等が判明した。

実用上最も問題となる大量培養については施用態との関係で解決できる場合もあることがわ

かった。すなわち苗床施用にあたって、パーク堆肥を施用できる場合は、この堆肥に菌を繁殖させ、いわば天敵微生物を大量に含んだ堆肥をつくり施用すると有効である。パーク堆肥に菌を繁殖させる方法が研究され蚕蛹に培養した菌をその培体である蚕蛹とともに堆肥に混入し、25℃に保つ方法が考案された。この方法はポリバケツ、ビニール袋等を用いて現場でも可能な方法なので、実用化が容易である。

糸状菌のほかに *Entomopoxvirus* の1種も有力な天敵微生物であり、病死幼虫体の1,000倍液を土壤に噴霧することによって、伝染させることができる。しかしウイルスでは、人工培地による増殖ができないので、ウイルスを大量に得る方法が実用的に解決されなければならない重要な事項である。

2. *Beauveria tenella* の利用

(1) 施用形態試験(その1)

供試菌 *B. tenella*：研究室保存菌F-77すなわちオオスジコガネ幼虫の病死体より分離し継代保存した分離株を用いた。以下特に記さない限り *B. tenella* はこの株を用いた。
施用のための培養法：次のような材料を用いた。すなわち、ホワイトカーボン(カーブレックス)，木炭，米ぬか，蚕蛹粉末，蚕蛹丸のまま，魚粉，大豆等である。これらのそれぞれに水を加えて120℃30分間滅菌し培地とした。これにあらかじめ蚕蛹煎汁を用いて約3日間振とう培養した *B. tenella* の培養物を、種菌として、原料500gから調製した培地に200mlの割合で混入し、25℃で5日間培養した。ここまでは大型三角フラスコを用いたが、5日間培養後内容物を発泡スチロールの箱に移し、さらに25℃で保存して菌を発育させた。菌が十分発育した後培養物を風乾し粉末または粒状にした。またこのほかに振とう培養物をホワイトカーボンに混入し、直ちに風乾し粉末状にしたものも供試した。

試験方法と施用量：試験には素焼きの鉢(直径内径約30cm)を用いた。鉢にヒノキ1年生苗3本/鉢植え、これに上記各材料を培地とした培養物を施用した。施用量は供試各培養物を100g/m²、および500g/m²の割合であり、これらそれぞれに殺虫剤(有機リン剤)イソフェンホスを10g/m²の割合で併用したいわば併用区ももうけた。

各単用区にはそれぞれ5鉢、併用区には3鉢を割り当てた。

これらの鉢はすべてカンレイシヤの袋を用いて1つづつ覆い、自然のコガネムシの産卵を防ぎ、供試虫はすべて室内飼育のドウガネブイブイ孵化後7～10日の幼虫を鉢当たり5頭放飼した。

調査：11月に鉢から苗木を堀りとり、根部の被害程度を記録した。さらに鉢の土中の幼

表-1 *B. tenella* の施用効果

処理区		ヒノキ苗被害本数					ドウガネブイブイ		ヒメコ ガネ	その他	備考
		激	中	微	無	計	健全虫	罹病虫			
A ホワイト カーボン	100	11	1	1	2	15	5	0	2	1	シオヤアブ1
	500	4	2	0	9	15	2	1	0	0	
	100+イン	0	0	1	8	9	0	0	0	0	
	500+イン	0	0	0	9	9	0	0	1	0	
B 木炭	100	4	2	0	9	15	2	1	0	0	# 1
	500	7	1	1	6	15	3	2	0	0	
	100+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
	500+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
C 米ぬか	100	1	0	1	13	15	0	1	1	0	胞子形成 良好
	500	0	0	1	14	15	0	6	1	1	
	100+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
	500+イン	0	0	0	9	9	0	4	0	0	
D 蚕蛹粉	100	0	0	5	10	15	0	4	0	0	同上
	500	0	0	2	13	15	0	0	0	0	
	100+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
	500+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
E 蚕蛹丸	100	0	0	4	11	15	1	1	0	0	シオヤアブ1
	500	8	1	4	2	15	4	0	1	0	
	100+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
	500+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
F 魚粉	100	0	0	3	12	15	0	1	0	0	胞子形成 やや良
	500	5	1	0	9	15	0	5	1	0	
	100+イン	0	0	0	9	9	0	1	0	0	
	500+イン	0	0	0	9	9	0	2	0	0	
G 大豆粉	100	2	1	0	12	15	1	2	0	0	
	500	3	0	3	9	15	1	3	0	0	
	100+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
	500+イン	0	0	0	9	9	0	0	0	0	
Cont 無処理		6	1	2	6	15	3	0	3	1	シオヤアブ1
イソフェンホス		0	0	0	9	9	0	0	0	0	

注：ヒノキ苗 2年生 5月31日施用

虫数を調べた。

結果：調査結果は表-1の通りであった。

全体的にみて、施用培養物を粉末状にした場合が良い結果をもたらしているようである。特に米ぬかおよび蚕蛹粉末を施用した区が、得苗率、ドウガネブイブイ生存率からみても効果が大きかったと思われる。

鉢を用いるようなポット試験であったためか施用量による効果の差は判然とせず 100g 区と 500g 区の差はみ出せなかった。

殺虫剤イソフエンホスについてみると、ポットを用いた場合 $10\text{g}/m^2$ では 100% 殺虫が行なわれてしまい、菌に対する作用等影響のほどは不明であった。

(2) 施用形態試験（その2）と施用方法

供試菌 *B. tenella* : 研究室保存F-77菌

施用のための培養法：基本的には前項(1)の場合と同じ方法で培養した。培養に用いた材料は米、米ぬか、蚕蛹、ホワイトカーボン、蚕蛹煎汁等で、このうち蚕蛹は培養、風乾後粉末状にしたもの用いた。またホワイトカーボンは、種菌液を混合した後 25°C で培養したものと、液体培養後混合して直に風乾し、施用したものとの2通りを用いた。

施用方法：これらの培養物（菌）の施用をポット（直径 30cm 素焼き植木鉢）および実用苗畑の苗床を用いて行ない、苗木被害防除効果を調べた。

施用は床全面に 10cm の深さまで混和する方法、植穴のみに集中して施用する方法および表面全面に散布する方法の3通りによって行なった。

苗木はヒノキ1年生を用いた。ポット試験では苗木を各5本ポットに植え、菌を上記3通りの方法で施用後、ドウガネブイブイ孵化後10日目の幼虫を、ポット当たり各3頭放飼した。

菌の施用量は各培養物とも $200\text{g}/m^2$ とし、液培養物は $200\text{ml}/m^2$ の割合で施用した。各施用態とも5ポットを用いた。

各ポットともカンレイシヤ袋で覆い、供試虫以外の個体の混入を防いだ。

苗床を用いた試験では、菌の施用量、方法ともポット試験と同じであるが、1施用区の面積は $1\text{m} \times 1\text{m}$ の正方形区で、ここに36本のヒノキ1年生苗を植えた。

調査：調査は11月に行なった。苗木を堀り取り、根部の被害程度を1本ごとに調査して記録した。また土壌を堀り出し、生息しているコガネムシ類幼虫その他の個体数を調べた。

結果：調査の結果は表-2、表-3に示す通りである。

表-2 *B. tenella* 施用法と施用効果

A: ポットを用いた試験

処理区	苗木被害程度						幼虫		
	枯	激	中	微	無	計	生	罹	計
a 米 穴	全	0	0	0	5	25	30	1	3
	表	0	0	0	2	28	30	2	4
b 米ぬか 穴	全	0	4	0	6	20	30	4	4
	表	0	1	4	5	20	30	7	1
c 蚕蛹 穴	全	0	0	1	2	27	30	3	5
	表	0	2	1	4	23	30	11	1
d ホワイトカーボン 穴	全	0	0	0	10	20	30	5	2
	表	1	0	1	5	23	30	4	1
e ブイヨン ホワイトカーボン 穴	全	0	0	0	5	25	30	2	3
	表	0	2	2	3	23	30	7	3
f ブイヨン 表	全	0	0	2	0	28	30	2	1
cont	0	3	0	3	24	30	6	1	7

注： a : 米を用いて培養したもの

b : 米ぬかを用いて培養したもの

c : 蚕蛹に培養した後粉末にしたもの

d : ホワイトカーボンを用いて培養したもの

e : 蚕蛹煎汁で培養し、ホワイトカーボンに混入したもの

f : 蚕蛹煎汁液培養のもの

表-3 *B.tenella* 施用法と施用効果

B: 苗床を用いた試験

処理	苗木被害程度						幼虫			
	枯	激	中	微	無	計	ドウガ ネ生	ヒメ 生	罹病	
							B.ten.	他		
B.tenella a 米穴表	全	1	2	6	5	3	1	3	6	
	米穴	1	1	8	4	7	5	3	5	☆
	表	0	2	4	7	3	2	3	6	
b 米ぬか穴表	全	1	3	4	1	0	0	3	6	
	米ぬか穴	1	3	0	2	1	2	3	6	☆
	表	0	7	2	1	6	1	0	3	5
e ブイヨン ホワイトカーボン	全	0	2	5	8	3	0	3	6	☆
	穴	1	1	8	7	0	4	3	6	
	表	3	2	7	6	0	0	3	6	☆
f ブイヨン	表	1	1	9	5	7	3	3	6	☆
cont		2	5	2	8	1	8	3	5	☆

注: ☆シオヤアブのいた区

ポットを用いた試験では、施用態間、施用方法間に大差はなかったが、米を用いた培養物の施用が大いに有効である可能性が示錯された。また、施用方法でも一定の傾向がみられず、施用態を粉態にした場合は土壌中に混和してもしなくても良く、表面散布の場合でも混和したものと差がなかった。

苗畑試験では全体として効果が良くなかった。表-3を苗木の得苗率でみると、くず米を用いた場合、土壤混和区11%，植穴区33%，表面散布区19%，米ヌカを用いた場合、同じく混和区0%，植穴8%，表面7.4%と表面散布区が特に優れた効果がみられた。ホワイトカーボンを用いた場合は混合8%，植穴28%，表面0%，またホワイトカーボンを蚕蛹煎汁培養液培養物に混和し風乾したものを用いた場合は方法別にそれぞれ17, 19, 94%と、表面散布がよく効いていた。液培養だけの場合は表面施用で29%であった。

これらのことから、*B.tenella*の施用には、処理方法のちがいが大きく現われた区も認められたが、全体としては表面散布で十分であることがわかった。

施用態としては粉剤または粒剤態のものがよいことがこれまでの試験で明らかになってい

るが、これは菌の分生胞子の量と分散の程度に関係があることが推察された。特に供試した*B.tenella*は、胞子形成前に施用したため富栄養の培地を用いた場合の方が効果が良い傾向がみられた。

3. *Metarhizium anisopliae*の利用

(1) 施用形態試験

供試菌*M.anisopliae*：林試本場構内で罹病死したドウガネブイブイ幼虫から分離した株を用いた。

試験材料と方法は*B.tenella*の場合と同じである。即ち菌の施用態は次の通りである。

A: ホワイトカーボンに種菌液を混入し培養したもの

B: 木炭粉に種菌液を混入し培養したもの

C: 米ぬかを用いて培養したもの

D: 蚕蛹に培養し粉碎したもの

E: 蚕蛹に培養したもの

F: 魚粉で培養したもの

G: 大豆粉で培養したもの

これらを100g/m²又は500g/m²の割合で施用した。

試験は素焼きの植木鉢(内径約30cm)を用い、1鉢当たりヒノキ1年生苗3本を植え、各区5鉢、ほかにイソフエンホスを併用したものを3鉢割り当てた。

結果：表-4に結果を示す。

表-4 *M.anisopliae*の施用形態と効果

	ヒノキ苗被害本数						ドウガネブイブイ		ヒメコ ガ ネ	その他の 考
	激	中	微	無	計	健全虫	罹病虫			
A 500 500+イン	6 0	0 0	0 0	9 9	15 9	1 0	1 0	0 0	0 0	
B 500 500+イン	2 0	0 0	2 0	11 9	15 9	1 0	0 0	1 0	0 0	
C 500 500+イン	0 0	0 0	1 0	14 9	15 9	0 0	1 1	0 0	0 0	
D 500 500+イン	0 0	1 0	4 0	10 9	15 9	1 0	1 0	0 0	0 0	
E 500 500+イン	0 0	1 0	4 0	10 9	15 9	1 0	1 0	0 0	0 0	
F 500 500+イン	0 0	0 0	1 0	14 9	15 9	0 0	0 0	0 0	0 0	
G 500 500+イン	9 0	0 0	0 0	6 9	15 9	2 0	2 0	0 0	0 0	シオヤアブ1

イソフェンホス併用区はイソフェンホスの殺虫力が強力であったため菌への影響をみるとできなかった。

施用態としてはC,D,E,F等がよく、中でもC, F等粉末状の施用態の区の得苗率がよかつた。

(2) 施用形態と施用方法

施用菌株は(1)項の場合と同じ。また培養方法、試験方法等*B. tenella*の場合と同様である。

供試した菌の施用態

a : 米(くず米)に培養したもの

b : 米ヌカに培養したもの

c : 蚕蛹に培養し粉末にしたもの

d : ホワイトカーボンに培養したもの

e : 液体培養したものとホワイトカーボンに混入粉末状にしたもの

f : 液体培養したもの

これらを $200\text{ mg}/\text{m}^2$ または $200\text{ ml}/\text{m}^2$ の割合で施用した。施用方法は深さ 10 cm までの土壤中に混和、植穴のみに施用、表面全面散布の3通りで、1区 $1\text{ m} \times 1\text{ m}$ を単位とした。

被害程度を調べるためにヒノキ1年生苗を 1 m^2 当たり3.6本植えた。

調査は11月に行なった。

ヒノキ苗1本ごとに被害度を調査し得苗数を求めるとともに、各区ごとに土壤中の幼虫その他の生息動物数を調べた。

結果：表-5に調査結果を示す。

施用態	方法	苗木被害程度						幼虫				
		枯	激	中	微	無	計	シオヤ アブ	ドウガ ネ生	ヒメ 生	罹病虫 <i>B. ten.</i>	
米 培 養	全混和	1	6	7	7	15	36	有	1	2	1	1
	植穴	0	3	4	4	25	36	有	0	1	1	0
	表面	0	3	6	16	11	36	有	1	0	0	1
ホワイトカーボン培養	全和	4	24	2	6	0	36	有	0	1	0	0
	植穴	1	28	0	3	4	36		0	3	0	1
	表面	1	0	1	5	29	36	有	0	3	0	0
液培養+ホワイトカーボン	全和	0	0	1	6	29	36		0	6	0	1
	植穴	0	4	1	2	29	36	有	2	4	0	1
	表面	0	0	0	7	29	36	有	0	7	0	0
無処理		2	5	2	8	18	35	有	1	2	0	1

4. *Entomopoxvirus*等の利用

昆虫ボックスウイルス*Entomopoxvirus* (EPV)の1種がドウガネブイブイ幼虫で検索されて以来その利用について検討を続けているが、その一環としてEPVの濃度別、幼虫齢別の接種試験を行ない利用のための基礎資料を得た。供試したEPVは静岡県下善で採集したドウガネブイブイ老熟幼虫の病死体から分離したものである。

また長野県広原国有林に発生したオオスジコガネ幼虫から、わが国では初めてであるが、リケッチャ (R-Mc) が分離検索された。これを実験室内でオオスジコガネ幼虫に接種して増殖したもの用いて、EPVの場合と同様に、濃度別幼虫齢別の接種試験を行ない、防除利用の可能性について検討する資料を得た。

両病原とも、検索された地域では宿主の自然個体群中にかなり高率で流行していたもので、いずれも有力な病原である。

(1) コガネムシ幼虫に対するEPV-Ac, R-Mcの病原性について

試験方法：土壤にそれぞれの病原液を散布混和し、その土壤でコガネムシ幼虫を飼育し、死亡発生の経過、発病率、死亡率をみた。

混和は、病原液 1 ml を 100 ml の土壤に噴霧し、十分にかきませた後フルイにかけて混和をさらに十分にする方法によった。

供試虫はドウガネブイブイ、ヒメコガネ、オオスジコガネで、いずれも室内飼育により採卵した卵から孵化したものである。

飼育は個体別に、 250 ml のポリカップを用いて行ない、餌としてニンジンを与えた。

結果：表-6に結果を示す。ドウガネブイブイに対してEPV, R-Mcとも 10^{-3} 液すなわち病死体の重量1000倍液ではほぼ100%の死亡をもたらすことが判った。

表-6(a) ドウガネブイブイに対するEPV-Ac, R-Mcの病原性

病原	接種令	濃度	供試虫数	接種病原による死亡	その率	その他の死亡	備考
(Anomala) cuprea ドウガネブイブイ EPV-Ac	卵	0	25	1	4	14	8月4日接種
		10 ⁻⁵	25	7	28	9	
		10 ⁻⁴	25	19	76	4	
		10 ⁻³	25	25	100	0	
		10 ⁻²	25	25	100	0	
	1齢	0	25	0	0	18	同上
		10 ⁻⁵	25	4	16	12	
		10 ⁻⁴	25	18	72	6	
		10 ⁻³	25	25	100	0	
		10 ⁻²	25	25	100	0	
R-Mc	卵	0	25	0	0	9	8月7日接種
		10 ⁻⁵	25	5	20	10	
		10 ⁻⁴	25	10	40	3	
		10 ⁻³	25	14	56	3	
		10 ⁻²	25	25	100	0	
	1齢	0	25	0	0	8	同上
		10 ⁻⁵	25	3	12	3	
		10 ⁻⁴	25	5	20	6	
		10 ⁻³	25	19	76	1	
		10 ⁻²	25	25	100	0	

表-6(b) ヒメコガネ, オオスジコガネに対するEPV-Ac, R-Mcの病原性

病原	接種令	濃度	供試虫数	接種病原による死亡	その率	その他の死亡	備考
(A.rufocuprea) ヒメコガネ EPV-Ac	卵	0	25	0	0	17	8月8日接種
		10 ⁻⁵	25	0	0	11	
		10 ⁻⁴	25	1	4	5	
		10 ⁻³	25	0	0	9	
		10 ⁻²	25	1	4	12	
	1齢	0	25	0	0	17	9月14日接種
		10 ⁻⁵	25	0	0	13	
		10 ⁻⁴	25	1	4	4	
		10 ⁻³	25	1	4	11	
		10 ⁻²	25	8	32	5	
(Mimela costata) オオスジコガネ EPV-Ac	卵	0	25	0	0	25	8月22日接種
		10 ⁻⁵	25	1	4	22	M.anisopliae等の死亡多し
		10 ⁻⁴	25	1	4	24	
		10 ⁻³	25	6	24	19	
		10 ⁻²	25	15	60	7	
	1齢	0	25	0	0	24	8月31日接種
		10 ⁻⁵	25	0	0	25	
		10 ⁻⁴	25	4	16	21	同上
		10 ⁻³	25	8	32	16	
		10 ⁻²	25	14	56	10	

注：個体飼育, 1 ml susp/100 ml soil/cup

(2) 汚染土壤によるコガネムシ幼虫の発病

長野県諏訪營林署広原国有林カラマツ造林地に発生したオオスジコガネの幼虫間に、リケッチャ病が流行していることがわかったため、土壤の病原伝染性について調べた。この造林地は3年前にB.tenellaを、コガネムシ防除のために定着増殖させるべく、点状に導入した地域である。

試験方法：上記地域から土壤を採取し実験室に持ち帰り、ボリカップを用いてこの土壤で、室内採取の卵から孵化した幼虫を飼育した。餌としてニンジンを与えた。

また上記地域から採集したオオスジコガネ幼虫を実験室内で新鮮な土壤を用いて飼育し、採集時点における幼虫の感染状況について調べた。飼育方法は個体別、ニンジンを給餌して、ボリカップを用いて行なった。

結果：表-7に飼育結果を示す、R-Mc、すなわち新しく検索されたリケッチャが現地土壤に生息し、かなり強い起病力を示すことが判明した。

表-7 汚染土壤によるコガネムシ幼虫飼育結果

土 壤	供試虫各25頭	死 亡 因 别 死 亡 数					健全
		B.tenella	R-Mc	R-Mc + B.tenella	R-Mc M.a	M.anisopla.	
第1区 土 壤	ドウガネ オオスジ	0	12	12	0	0	1
		4	12	5	0	1	3
第2区 土 壤	ドウガネ オオスジ	1	10	2	0	1	10
		3	4	2	0	3	2
構 内 土 壤 (Cont)	ドウガネ オオスジ	1	0	0	6	2	20
		0	0	0	0	15	5

一方現地生息のオオスジコガネ幼虫について発病状況をみると、全90頭採集し飼育したもののうち、B.tenellaの寄生を受けていたもの14(15.5%), R-Mcの感染していたもの29(23.3%), 両者併発していたもの35(38.9%)であった。すなわち、B.tenellaの発病は併発まで加えると54%, R-Mcのそれは、71%となった。R-Mcすなわちリケッチャ病の発病率が高いことが注目される。また導入したB.tenellaがこの地域にかなり広がっており、この菌が定着していることが認められた。

5. 微生物の組み合せによる利用

(1) *B. tenella* と *M. anisopliae* の併用

供試菌：それぞれ 2, 3 節で述べた菌と同じ菌株、培養法も同じ。

施用方法：両菌の培養物とも各 $200\text{g}/\text{m}^2$ の割合で等量混合したものを、全面に深さ 1.0 cm までの土壌と混和、植穴のみ施用、全表面に散布の 3 通りの方法で施用した。

結果：結果を表-8 に示す。すなわち米に培養したものと併用した場合植穴でも全面散布でも 80% 以上の得苗率が得られている。またホワイトカーボンに液培養したものと混合した区でも混和区、植穴区、表面散布区で、それぞれ 83, 80, 53% の得苗率であった。

分生胞子の状態で施用する場合には必ずしも土に混和しなくてもよく。床表面に施用しても植穴に施用しても大きな差はない。

表-8 *B. tenella* および *M. anisopliae* の各施用態併用による効果

処理	苗木被害程度						幼虫				
	枯	激	中	微	無	計	ドウガネ生	ヒメ生	罹病		
a 全	1	20	7	4	4	36	☆	2	2	0	2
穴	0	0	2	2	32	36		0	3	0	0
表	0	4	3	18	11	36	☆	0	2	2	0
b 全	0	29	4	3	0	36		0	3	0	0
穴	1	24	7	4	0	36		0	1	0	0
表	0	24	7	5	0	36	☆	0	8	1	0
e 全	0	5	1	9	21	36		1	2	0	0
穴	0	3	4	5	23	35		0	1	0	0
表	0	8	9	16	3	36		1	3	0	0
<i>B. tenella</i> f 表	1	19	5	7	3	36	☆	1	0	0	0
<i>B. tenella</i> + <i>M. a</i> f 表	1	20	8	1	6	36	☆	2	5	0	0
<i>M. anisopliae</i> f 表	2	11	7	2	14	36	☆	2	2	2	0
EPV 植穴 + <i>B. tenella</i>	0	24	8	4	0	36	☆	0	1	5	0
EPV 植穴 + <i>B. tenella</i> + <i>M. a</i>	1	1	1	15	18	36	☆	0	2	4	0
EPV 植穴 + <i>M. a</i>	1	0	3	4	28	36	☆	0	5	0	0
EPV 穴	0	5	1	15	15	36		1	1	0	0
cont	2	5	2	8	18	35	☆	1	2	0	1

注① ☆印はシオヤアブ幼虫がいた区

② *M. anisopliae* の培養も *B. tenella* と同様な施用態とした。

(2) *B. tenella* と *Entomopoxvirus* (EPV-Ac) の併用

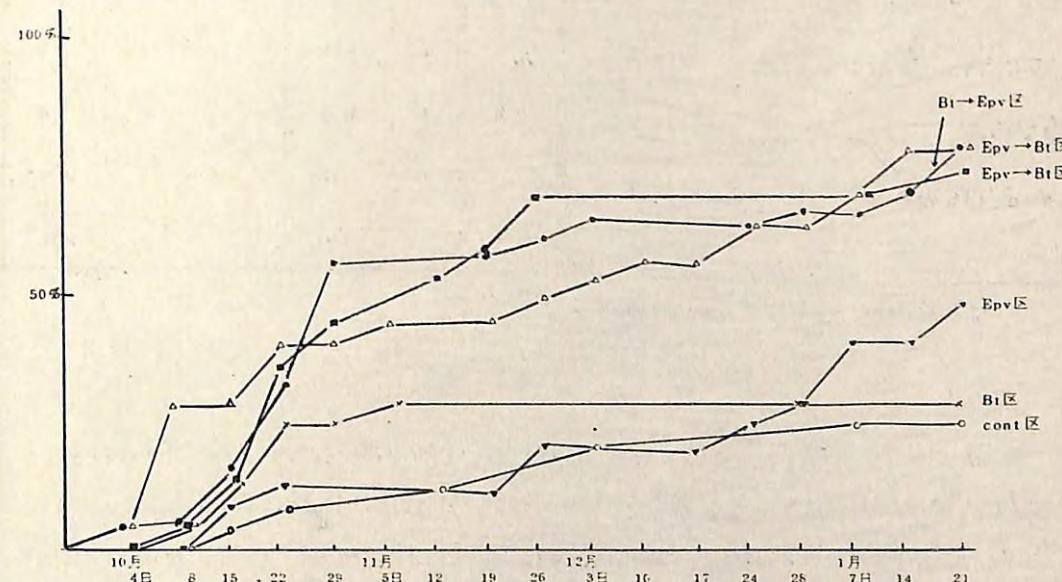
EPV と *B. tenella* を同時に接種した場合、またはいづれかが先に感染していた場合、両者の間に協力作用、干渉作用等相互作用が認められるか否かについて調べた。

試験材料と方法：EPV-Ac は病死虫の 10^{-3} 液を用いた。また *B. tenella* は研究室保存の F-77 で、胞子濃度 $10^7/\text{ml}$ 液を用いた。EPV-Ac は土壌に容積比 1 : 100 で散布混和し、この土壌をポリカップにとり、幼虫を個体別飼育した。*B. tenella* の接種は幼虫を胞子液に約 1.0 秒間浸漬することによって行なった。

処理区は、EPV-Ac と *B. tenella* の同時接種区いづれか一方の 1 週間先行区、および各単独区の 5 処理区と無接種区で、各区 25 カップを供試した。

飼育はニンジンを餌として用い、25℃恒温室で行なった。

結果：図-1 に結果を示す。*B. tenella* を用いた区では、*B. tenella* による死亡は 11～32 日後にみられ、特に 25 日前後の死亡発生が多い。これに対し EPV による死亡はそれよりも後で発生するようになり、以後漸増する。しかし *B. tenella* との共同感染による死亡は 25～32 日後に多くみられる。



第1図 *B. tenella* と EPV-Ac の複合作用

EPV, *B. tenella*をそれぞれ単独で接種した区よりも、両者を併用した区で死亡が高い。しかも死亡するまでの時間も両者の存在下で短かい。すなわち両者を併用した場合のLT₅₀は約30日で、単独の場合はその時点では25%にもみたない。

成虫発生期まで(7月)飼育した最終結果を表-9に示す。これによると両者の併用区はほぼ100%死亡しているが、*B. tenella*のみの区は死亡率がその後上らず、50%弱のものが成虫にまでなった。またEPV-Acのみの区は老熟期に発病するものが多く、最終的には、80%以上のものが発病して死んだ。

両者の併用の場合1週間の処理時間の差があっても、死亡発生経過や死亡率に大きな差を認めることはできなかった。

以上のことから、EPV-Acと*B. tenella*の併用は、ドウガネブイブイの防除に有効であることが示錯された。

表-9 *B. tenella*とEPVの複合作用実験最終結果

処理	<i>B. tenella</i>	EPV	併発	EPV率	<i>B. tenella</i> 率	羽化率
EPV・ <i>B. tenella</i> 同時	8	☆ 12	2	56%	40%	4%
EPV ^{1W} → <i>B. tenella</i>	5	10	2	48%	28%	0
<i>B. tenella</i> ^{1W} → EPV	10	10	4	56%	56%	0
EPVのみ	0	21	0	84%	0	4%
<i>B. tenella</i> のみ	4	2	0	8%	16%	44%
Cont	0	0	0	0	0	28%

注☆ 成虫のEPV罹病虫が1個体みられた。

6. 論議とまとめ

育苗時における主要害虫であるコガネムシ類幼虫いわゆる根切虫の被害防除に利用するべく検索した数種類の天敵微生物のうち、有力種としてとり上げられた*Beauveria tenella*, *Metarrhizium anisopliae*, *Entomopoxvirus*等の利用方法について、苗畑やポットを用いた適用試験を行なうとともに、新しく検索され有望視されるリケッチャの1種についても室内接種試験を行ない利用のための基礎資料を得た。

糸状菌*B. tenella*および*M. anisopliae*については、これらを米、米ぬか、木炭、魚粉、

大豆、蚕蛹、カーブレックス等に培養したものをカーブレックスと混和し、風乾したもの等を調製し、最終的にはこれら培養物の粉状または粒状のものを施用態とした。これらに培養することは困難ではなく、大量増殖の面では問題のない施用態である。

施用試験の結果を総合すると次のようなことが言える。胞子形成が十分に行なわれるまで培養したものを施用した場合には、培養基の材料にあまり関わりなく全体として良い効果を期待できる。しかし菌を十分繁殖させた後胞子形成はまだ十分ではない状態のものを施用すると、一般に富栄養の培養基材を用いた場合の方が効果が良好であった。これは施用後の胞子形成の良否に關係があると推論された。感染は胞子によって行なわれる。したがって、胞子形成が十分に行なわれるような方法をとれば、カーブレックスや木炭粉等も利用できることが判明した。

施用方法について、土壤表面10cm深さぐらいまでの全面に培養物を混和する方法、植穴の部分だけに施用する方法および土壤表面全体に散布するだけで特に土中に混和しない方法等を試みたが、いずれの方法も同様な効果を示しているので、このような粉態または粒態の培養物を施用するには、敢えて土壤中に混入する必要もなく、実状に応じた適用方法で良いといえる。

*B. tenella*と*M. anisopliae*の効果を比較すると、今回の諸実験からは*B. tenella*がいく分劣るようにみられる場合多かった。しかしこのことは*B. tenella*が利用微生物として劣るということではないようと思われる。地域すなわち温度、湿度や根切虫の種構成にもよると思われる。一般に南の暖かい地域程*M. anisopliae*の効果が高い、すなわち有効に働いている場合が多くなることが予想される。

*Entomopoxvirus*すなわち昆虫ボックス病ウイルスは、幼虫病死体の1,000倍を調製して土壤に散布することによって利用できることがわかった。このボックスウイルスの場合、幼虫がなるべく若い時期程感染率が高いことが判明しているので、当面の問題としてはウイルス適用の時期を成虫産卵期から若齢幼虫期に行なうことになろうが、ウイルスは土壤中に長期間残存し、起病力のある土壤となるのであまり厳密に時期を限定しなくてもよい。ただしウイルスであるので大量増殖が難しくコガネムシ幼虫を大量に飼育して発病させ、これを用いるより他に今のところ方法はない。

新しく検索されたリケッチャについても、前述のボックスウイルスと同様のことが言える。すなわち病死体の1,000倍液を土壤に散布することによって幼虫を発病死させる。しかしこの場合も大量増殖が困難であるため、実用化を計るにはこの点が解決されなければならない。

微生物を単独でなく、併用して複合的に使うために*B. tenella*と*M. anisopliae*を混用したが、*M. anisopliae*の効果が強くて、複合による協同作用の確認はできなかった。し

かし、*B.tenella*よりは勿論、*M.anisopliae*単独よりも良い結果が得られる場合もあり、両者が干渉し合うことはないと思われる所以種構成や地域性を考慮すると、両者を混用することは、むしろ望ましいといえる。

*B.tenella*と昆虫ボックスウイルスの併用は、実験室的には強い協同作用が認められ、実際に当たっては両者の併用こそ望ましいといえるが、ボックスウイルスの増殖が困難なことから、特殊な場合にだけ限られた使用になるであろう。

以上のように、*B.tenella*、*M.anisopliae*等の糸状菌は培養が比較的容易であることから、実用化が可能であると考える。苗畑作業の育苗施業の一環として、土壌中の根部害虫の防除のための微生物施用が実行されることが望ましい。

報告された成果

- 1 片桐一正・岩田善三・串田保・島津光明・萩原実・小沢孝弘：育苗における生物農薬の開発技術開発試験成績報告書昭和53年度 1979.10
- 2 串田保・片桐一正・島津光明：育苗における根切虫防除のための天敵微生物使用形態について 第92回日林大会発表 1981.4
- 3 片桐一正・串田保・島津光明：こがねむし*Entomopoxvirus*の伝染性および新しく検索されたリケッチャ様体について 日本応用動物昆虫学会大会発表 1981.4
- 4 林業試験場保護部天敵微生物研究室業務資料（昭和54、55年度）