

ハスモンヨトウ防除に有効な *Nomuraea rileyi* 新株の作出

宇賀博之*・畠山修一**・佐藤加奈巳***・根本 久****

Microbial Control of the Fabricius, *Spodoptera litura*, by an Entomogenous Fungi, *Nomuraea rileyi*

Hiroyuki UGA, Shuichi HATAKEYAMA, Kanami SATO and Hisashi NEMOTO

要約 自然感染個体から選抜した *Nomuraea rileyi* 9-29-5 株は、ハスモンヨトウに対する殺虫効果が高く、3 齢幼虫の虫体浸漬法による LC_{50} は、 3.5×10^4 conidia/ml であった。ほ場試験における効果は、化学薬剤と比較して遅行性ではあるが、同等以上であった。本菌株の特性としては、継代培養による殺虫活性に影響はほとんどない、60%程度の湿度環境においても感染性がみられる、暗黒低温条件下では1年程度の保存が可能、ハスモンヨトウ以外にオオタバコガおよびヨモギエダシヤクにも感染性が認められる、などである。また、増殖方法としては、SMY 培地等を用いて液体培養を行い、これを種菌としてフスマペレットの固形培地で約2週間培養することにより、培地 100g あたりおよそ 1×10^{12} conidia が回収でき、ほ場 10a に散布するために必要な分生子量が得られた。

埼玉県における2012年産イチゴの作付面積は132 ha (全国第11位)、生産量は3790 t (同10位) となっており(農林水産省作況調査(野菜), 2012)、県全体の約3割が比企地域の川島町および吉見町で作付けされている。この地域では、イチゴ栽培農家の多くがエコファーマーに認定されており、施設イチゴ栽培において天敵等を積極的に利用している。しかし、育苗期から収穫期におけるハスモンヨトウには有力な天敵がなく防除に苦慮している。そのうえ、ハスモンヨトウ防除のために殺虫剤を散布すると、ハダニなどの害虫防除のために使用した天敵類は死滅してしまうことから、天敵利用が不安視されている。

ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura Fabricius*) は関東以西の暖地に発生し、各種野菜、ダイズ、花き類の難防除害虫である(片山・佐野, 1989, 菖蒲ら, 1995, 樋口, 1991, 広瀬, 1998, 宮下・青木, 1983)。イチゴにおいては、葉だけでなく果実を加

害するため、直接的な被害が大きい。このハスモンヨトウは、化学農薬に対する抵抗性が強い(広瀬, 1997)、効率的に防除することが望まれている。生物的防除に関する研究は、核多角体病ウイルス(岡田, 1977)、*Bacillus thuringiensis* (Bt) 毒素(浅野ら, 1999)、緑きょう病菌(*Nomuraea rileyi*) (浅山・大石, 1980) 等が報告されている。Bt 毒素を成分とする製剤は多く開発されており、近年では、核多角体ウイルスを成分とする「ハスモン天敵」(農林水産省登録第21924号) および「ハスモンキラール」(農林水産省登録第23056号) が製品化されている。

本研究では、イチゴ栽培におけるハスモンヨトウに対する天敵微生物の実用化を目指し、効果的な菌株が得られたことから、その概要を報告する。本技術は、イチゴ栽培のみならず、広くハスモンヨトウ防除に適応できることから、2013年4月19日に特許登録された(特許第5245140号)。

*病害虫防除技術担当, **病害虫防除技術担当(現春日部農林振興センター), ***大里農林振興センター, ****元水田農業研究所

材料および方法

1 天敵微生物の探索

埼玉県内に自然発生していたチョウ目幼虫と思われる死亡個体を収集し、島津(1993)の手法を参考に一連の操作を行い、糸状菌の分離を行った。分離に成功した菌株は、根本の培地(根本, 1975)上で分生子の形成を促した。一次選抜のために、まず、得られた分生子を希釈液(0.3mmol リン酸二カリウム溶液, pH7.2, 0.02% TritonX-100 添加)を用いて 10^5 conidia/ml に調整した。この懸濁液にハスモンヨトウ3齢幼虫を10秒間浸漬処理した後に余滴を取り除き、温室下のブロッコリー葉上で2日間集団飼育後、ブロッコリー葉を餌に個体飼育を行った。供試個体数は1区15~30頭, 2反復で行い, 接種後25°Cで8~14日間経時的に死亡個体を計測した。以下の殺虫活性評価は、いずれも上記手法により行った。また、適宜ほ場試験を行い選抜の指標とした。試験方法は以下の所内ほ場試験に準じた。

2 選抜株の特性評価

選抜した *N. rileyi* (9-29-5 株) を用いて検討した。

(1) ほ場における効果検証

現地ほ場

埼玉県吉見町農家ハウス(800 m²) 1棟において1区40 m², 2反復の試験を行った。2006年10月25日, 散布直前に全株において, ハスモンヨトウ幼虫の生息個体数を調査した。自然発生個体数の少ない試験区には, 人工飼育した3齢幼虫を1区あたり50頭放虫した。9-29-5株の散布濃度は, 2×10^7 conidia/ml とした。対照薬剤として IGR 剤(フルフェノクスロン乳剤), BT 剤(デルフィン顆粒水和剤)を使用し, いずれも120L/10a 相当量を葉裏まで十分に薬液がかかるように散布した。なお, 展着剤としてリノー5,000倍を加用した。調査は, 散布7日後に死亡虫および生存個体を回収し, 生存個体については25°Cにおいてブロッコリー葉を用いて8日間個体飼育し, 死亡個体数を調査した。補正密度指数により各薬剤の効果を判定した。

所内ほ場

園芸研究所内ガラス温室のコンクリート枠にイチゴ(品種, とちおとめ)を2008年9月18日に定植した。施肥その他一般管理は慣行に準じた。1区

あたり5.4 m²(1.2×4.5m), 36株とし, 2連制で試験を行った。同年10月8日に, 1.5×10^6 conidia/ml の薬液を10aあたり150L相当量分を葉の表裏が十分濡れるよう散布した。対照薬剤として, デルフィン顆粒水和剤およびピリダリルフロアブルを使用した。なお, 展着剤は使用しなかった。散布は夕方に行ったが, 湿度を保つためのハウスのしめ切り処理は行わなかった。ハスモンヨトウは所内自然発生幼虫を飼育し, 次世代の3齢幼虫を株あたり7~8頭を薬剤処理前日の10月7日に放虫した。調査は, 処理前, 2日後, 7日後, 14日後に各区全株について生息する幼虫数および死亡虫を調査した。

(2) 保存安定性評価

- ① 保存期限を明らかにするために, 表6の条件で保存後, 殺虫活性を評価した。
- ② 人工培地上での継代の影響を明らかにするために, 酵母エキス加用 Sabouraud マルトース(SMY)培地(マルトース4%, ペプトン1%, 粉末酵母エキス1%)で6回継代した後の殺虫活性を評価した。

(3) 環境の薬効に対する影響評価

湿度条件の違いによる効果を確認するために, 空間湿度60~100%における殺虫活性を評価した。本試験では, 個体飼育は行わず最後まで集団飼育し, 死亡虫は適宜取り除いた。

(4) 選抜株の殺虫スペクトラム

選抜株の感染可能な害虫種とその殺虫活性を評価した。供試害虫は, オオタバコガ, コナガ, アオムシ, イネツトムシ, ヨモギエダシヤク, チャノコカクモンハマキ, チャハマキ, チャバネアオカメムシ, クサギカメムシのそれぞれ幼虫およびオンシツコナジラミ, タバココナジラミ, ミナミキイロアザミウマ, ネギアザミウマのそれぞれ成虫を用いた。接種濃度は, 実用的濃度と思われる 1×10^7 conidia/ml とし, 幼虫は浸漬接種, 成虫は噴霧接種とした。

(5) 天敵等への影響

選抜株の天敵に対する影響評価を行った。供試天敵は, コレマンアブラバチ(アフィパール:アリストライフサイエンス)の羽化直後成虫を使用した。

- ① 前述の希釈液で 1×10^7 conidia/ml に調整した懸濁液をアブラバチに直接噴霧した。
- ② ①と同濃度で, 展着剤としてリノー(5,000倍)を加用した懸濁液を散布後風乾したイチゴ苗

上にアブラバチを放飼し、影響を調査した。放飼数は1試験区あたり20頭とし、対照として無接種区およびハスモンヨトウ(2齢幼虫)への接種区を設けた。23°C, 16時間日長で飼育し、接種13日後までワタアブラムシの繁殖した新しい葉を追加し、継時的にコレマンアブラバチの生存数と死亡数を計数した。

3 増殖方法の確立

増殖は一般的な二段階培養法を想定し、液体培地および固形培地のそれぞれを検討した。

(1) 液体培養

SMY培地における増殖は良好であったが、粉末酵母エキスが高価であることから安価な代替物を検討した。供試材料として、10%レッドホース(サカト産業)水抽出液およびビールを用い、マルトースおよびペプトンを所定量加用した(表11)。対照としてSMY培地および10%ふすまペレット水抽出液を用いた。121°C, 15分間滅菌処理を行い、12mlプラスチック製試験管で25°C, 16時間日長, 100回転/分の振とう培養を行った。対照としたSMY培地での増殖がほぼ飽和に達した4日後に目視および顕微鏡により増殖度合いを調べた。その後、この液体培

表1 ハスモンヨトウ幼虫に対する収集菌株の病原性検定

分離株名	供試 個体 数	死亡 率 (%)	死亡ま での平 均日数	LC ₅₀	保存 性	総合 評価
09-29-05	18	78	7.3	3.67×10 ⁴	○	○
10-07-03	26	65	6.5		△	△
10-07-07	31	74	6.8		×	×
10-07-09	28	64	6.1	5.68×10 ⁴	○	△
10-07-31	56	61	7.2		△	△
10-07-22	30	70	6.6	8.32×10 ⁴	△	△
10-08-01	30	77	6.7		△	△
10-12-11	22	73	7.0		×	×
10-12-12	26	88	7.4	4.42×10 ⁴	×	△
10-12-29	31	90	6.8		×	△
10-12-42	32	63	7.1		×	×
10-12-60	32	75	7.2		×	×
10-12-69	30	63	7.0		△	×
10-13-01	24	63	6.8		×	×
10-13-10	32	97	7.0		×	△
10-13-22	24	63	7.0		×	×
10-13-23	25	80	7.2		×	△
10-13-42	29	83	6.2		△	△

分生子数10⁵個/mlにおける3齢幼虫に対する病原性

養した種菌1mlを9cmプラスチックシャーレ内の滅菌済ふすまペレット培地25mlに接種し、25°C, 連続照明, 静置培養を行った。固形培地への種菌接種後20日間, 継時的に目視による観察を行った。

(2) 個体培養

使用した固形培地は表12に示した。培養方法は9cmプラスチックシャーレに滅菌済みの培地を25ml入れ, SMY培地で液体培養した種菌を1ml加え, 25°C, 連続照明, 静置培養を行った。

大量増殖を目的として, きのか栽培用菌床袋S-40TおよびSC-35ES(いずれもサカト産業株式会社)の1kg用袋を用い, ふすまペレットと水を100gずつ入れて滅菌した。これに, 液体培養した種菌を20ml添加し, 上記条件で培養した。3kg用の袋では固形培地および水をそれぞれ300gとした。種菌接種20日後に形成された分生子を回収した。

結果

1 天敵微生物の探索

ダイズやサツマイモなど, ハスモンヨトウが被害する作物を中心に収集を行い, 合計259個体を得た。PDA培地を用いて分離を行った結果, *N. rileyi*を174株, *Beauveria*属菌(種は未同定)を3株得た。予備試験の結果から, *N. rileyi*のハスモンヨトウ3齢幼虫に対するLC₅₀は約1×10⁵ conidia/mlであったことから, この濃度による殺虫活性の評価を行い, 活性の高かった18株を一次選抜した(表1)。その後, ほ場試験(表2), 保存安定性および人工培地上で

表2 現地ほ場試験結果(2005年)

菌株	ハウス 番号	処理前 虫数	処理1週 間後生 存虫数	処理2週 間後死 虫数	死虫率 (%)	評価
9-29-5	No.1	81	44	36	82	○
9-29-5	No.2	70	36	30	83	
10-12-12	No.1	44	26	8	31	△
10-12-12	No.2	19	8	8	100	
10-12-69	No.1	32	20	14	70	×
10-12-69	No.2	93	41	16	38	
10-7-31	No.3	34	20	14	70	△
10-8-1	No.3	18	10	9	90	○
対照	No.4	53	38	8	21	

2005年10月24日に分生子を1×10⁷/mlの濃度で120L/10a相当分を散布

表3 現地ほ場試験結果(2006年)

薬剤	処理量	処理前発生状況			放虫数	放虫後 個体数	処理7日 後生存 虫数	回収後生存虫数(日後)						処理14日 後補正密 度指数	
		1~3 齢	4齢 以上	合計				8	9	10	11	12	13		14
<i>N.rileyi</i> 9-29-5株	2×10 ⁷ /ml	15	11	25	200	225	41	33	23	9	5	2	2	2	2.5
フルフェノクスロン乳剤	3,000倍	54	11	65	50	115	27	27	20	9	8	7	3	3	7.3
デルフィン顆粒水和剤	800倍	18	7	25	100	125	26	25	24	20	18	14	14	14	31.4
無処理		46	27	73	0	73	35	33	33	31	30	26	26	26	100

の増殖程度により最終的に 9-29-5 株を選抜した。9-29-5 株のハスモンヨトウ 3 齢幼虫に対する LC₅₀ は、虫体浸漬処理、ブロッコリー葉処理後濡れた状態で放飼および風乾後に放飼した場合、それぞれ 3.5×10⁴, 1.1×10⁶ および 8.0×10⁶ conidia/ml であった。

2 選抜株の特性評価

(1) ほ場における効果検証

現地ほ場

散布後 1 週間の気象条件は、アメダスデータによると平均気温が 15.6~17.6℃、最高気温 18.0~23.6℃、最低気温 9.8~15.1℃で推移した。殺虫効果については、散布 7 日後より死亡する個体が認められ、散布 12 日後の補正密度指数は 2.5 であった。対照として用いたフルフェノクスロン乳剤およびデルフィン顆粒水和剤散布区においては、それぞれ同 7.3 および 31.4 であった(表 3)。

2007 年にも同様の試験を行ったところ、散布 15 日後の補正密度指数は 4.7 であり、その効果は高く

安定していることが明らかとなった(表 4)。

所内ほ場

結果を表 5 に示した。9-29-5 株は散布 7 日後には感染死虫が確認され、14 日後の補正密度指数は 4.3 となった。対照のピリダリルフロアブルは、散布 2 日後にはほとんどの個体の死亡が確認されたが、デルフィン顆粒水和剤は、本試験では効果は認められなかった。試験期間中の施設内温度は天候による高低差は見られるが、おおむね、13~29℃で推移した。

表4 現地ほ場試験結果(2007年)

薬剤	処理9 日後 生存 虫数	回収後生存虫数(日後)					処理15 日後補 正密度 指数
		11	12	13	14	15日	
<i>N.rileyi</i> 9-29-5株	246	216 (7)	124 (10)	62 (11)	15 (11)	5 (11)	4.7
無処理	179	171 (3)	148 (25)	116 (46)	88 (72)	77 (83)	100

下段()内は9-29-5株区では対象菌以外による累積死虫数、無処理区はすべて緑きょう病菌による

表5 所内ほ場試験結果(2008年)

供試薬剤	希釈 倍数	区	生存虫数(補正密度指数)				薬害	確認死虫数(累計)		
			散布前 (10/8)	2日後 (10/10)	7日後 (10/15)	14日後 (10/22)		2日後	7日後	14日後
<i>N.rileyi</i> 9-29-5株 1.5×10 ⁹ 個/mL	1000	I 区	121	76	32	2		0	4	25
		II 区	81	74	13	0	—	0	11	31
		計	202	150 (99.2)	45 (46.0)	2 (4.3)		0	15	56
デルフィン顆粒水和剤	1000	I 区	95	31	52	27		0	0	0
		II 区	81	67	52	18	—	0	0	0
		計	176	98 (97.1)	104 (122.0)	45 (111.8)		0	0	0
ピリダリルフロアブル	1000	I 区	119	5	0	0		64	68	68
		II 区	83	0	0	0	—	44	46	46
		計	202	5 (3.3)	0 (0)	0 (0)		108	114	114
無処理		I 区	135	106	63	40		0	0	0
		II 区	88	61	45	11		0	0	0
		計	223	167 (100)	108 (100)	51 (100)		0	0	0

(2) 保存安定性評価

① 結果を表6に示した。比較的高温で1か月間保存した場合の殺虫活性は、明条件で著しく低くなり、30℃では全く認められず、25℃においても死虫率は46%であった。一方、25℃、暗条件では最終死虫率は100%に達したが、死に至るまでの時間がやや長かった。4℃、暗条件においては、6か月後では死に至るまでの期間が1日程度長く、やや活性の低下が認められた。18か月後では、効果はかなり劣った。

② 継代培養による殺虫活性への影響について LC₅₀を調査した結果、継代前は 3.5×10^4 conidia

/mlであったのに対し、6回の継代後は 3.8×10^4 conidia/mlであり、わずかに殺虫活性の低下が認められた(表7)。

(3) 環境の薬効に対する影響評価

空間湿度が低いほど殺虫活性は低くなり、湿度60%における死虫率は68%であった(表8)。

(4) 選抜株の殺虫スペクトラム

ハスモンヨトウ以外にオオタバコガおよびヨモギエダシャクに感染が認められたが、ハスモンヨトウに対する場合と比較して死虫率はやや低く、また、死に至るまでの期間が長かった(表9)。

表6 保存状態別の殺虫活性

保存温度	光条件	保存月数	供試虫数	累計死虫数(日後)					死虫率(%)
				5	6	7	8	9	
30℃	明	1か月	11	0	0	0	0	0	0
25℃	明		13	0	0	6	6	6	46
	暗		15	0	11	15	15	15	100
4℃	暗	1か月	23	6	21	23	23	23	100
		6か月	32	0	10	24	30	32	100
		18か月	23	0	0	0	1	12	52

ハスモンヨトウ3齢幼虫に対する 1×10^7 個/ml浸漬処理による検定

表8 各湿度における殺虫活性

湿度(%)	供試虫数	累計死虫数(日後)						死虫率(%)
		6	7	8	9	10	11	
100	22	18	22	22	22	22	22	100
80	24	14	20	20	20	20	20	83
70	27	3	15	21	21	21	21	78
60	22	0	5	12	15	15	15	68

ハスモンヨトウ3齢幼虫に対する 1.5×10^6 個/ml浸漬処理による検定

表7 人工培地継代6回後の殺虫活性

濃度(個/ml)	供試虫数	累計死虫数(日後)					死虫率(%)
		5	6	7	8	9	
1×10^4	19	0	0	5	5	5	26
1×10^5	19	0	0	14	14	14	74
1×10^6	17	1	13	14	14	14	82
1×10^7	21	7	15	21	21	21	100

表9 *N.rileyi* 9-25-5株の殺虫スペクトラム

供試害虫	供試虫数	累計死虫数(日後)										死虫率(%)
		5	6	7	8	9	10	11	12			
ハスモンヨトウ	31	10	21	30	31	31	31	31	31	31	31	100
オオタバコガ	21	0	0	0	2	2	8	14	15			71
ヨモギエダシャク	37	0	0	0	0	19	28	31	35			95

いずれも3齢幼虫に対する 1×10^7 個/ml浸漬処理による検定

表10 *N.rileyi* 9-29-5株のコレマンアブラバチに対する影響

供試生物	接種方法	接種微生物	供試個体数	接種後累積死亡個体数(日後)							
				1	3	5	7	9	11	13	
コレマンアブラバチ	直接噴霧	9-29-5株	20	2	2	4	5	5	5	7	
		対照	20	0	1	1	3	3	4	5	
	葉面散布	9-29-5株	20	0	1	1	2	3	3	3	
		対照	20	0	1	1	2	2	2	2	
ハスモンヨトウ	直接噴霧	9-29-5株	20	0	0	8	19	20	20	20	
		対照	20	0	0	0	1	1	1	1	
	葉面散布	9-29-5株	20	0	0	3	14	19	20	20	
		対照	20	0	0	0	0	1	1	1	

9-29-5株は、希釈液で 1×10^7 個/mlに調整した薬液を、対照は希釈液を使用した

(5) 天敵等への影響

結果を表10に示した。コレマンアブラバチへの直接噴霧接種では、接種直後から死虫個体が認められ、最終的な死虫率は3割程度となったが、対照とした希釈液の噴霧接種区においても同程度であった。イチゴへの葉面散布では、死虫個体は対照区も含めてほとんど認められなかった。

3 増殖方法の確立

(1) 液体培養

培地の低コスト化を目指し、SMY 培地で使用される粉末酵母エキスの代用品として 10% レッドホース抽出液およびビールを使用した。その結果、全般にレッドホース抽出液よりビールを用いた場合に短菌糸の増殖効率が高かった（表 11, 図 1 上段試験管）。ペプトンおよびマルトースの添加量別における増殖率は、いずれも添加量が多いほど高い傾向にあった。液体培養を行った種菌をそれぞれふすまペレット培地に接種したところ、液体培養で増殖効率が悪かった培地は分生子の形成がやや遅れる傾向にあったが、最終的にはいずれも遜色がない程度まで増殖した（図 1 下段シャーレ）。

表 11 液体培地の組成と *N.rileyi* 9-29-5 株の増殖量

番号	溶液	ペプトン (%)	マルトース (%)	液体培養4日後の短菌糸量	WBPへ接種7日後の菌糸増殖量	WBPへ接種14日後の分生子量
1	ビール	0	0	1	2	4
2		0	0.8	1	2	4
3		0	4.0	2	3	4
4		0.2	0	4	3	5
5		0.2	0.8	3	3	4
6		0.2	4.0	3	4	5
7		1.0	0	4	4	4
8		1.0	0.8	4	4	5
9		1.0	4.0	4	4	5
10		0	0	1	1	4
11	10% レッドホース	0	0.8	1	2	4
12	抽出液	0	4.0	2	4	5
13		0.2	0	1	2	5
14		0.2	0.8	1	3	4
15		0.2	4.0	1	4	5
16		1.0	0	2	4	4
17		1.0	0.8	2	5	5
18		1.0	4.0	3	5	5
19	10%ふすま抽出液	0	0	2	2	4
20	SMY培地(対照)			5	4	5

WBPはふすまペレットを表す
菌糸及び分生子量は0～5までの6段階評価

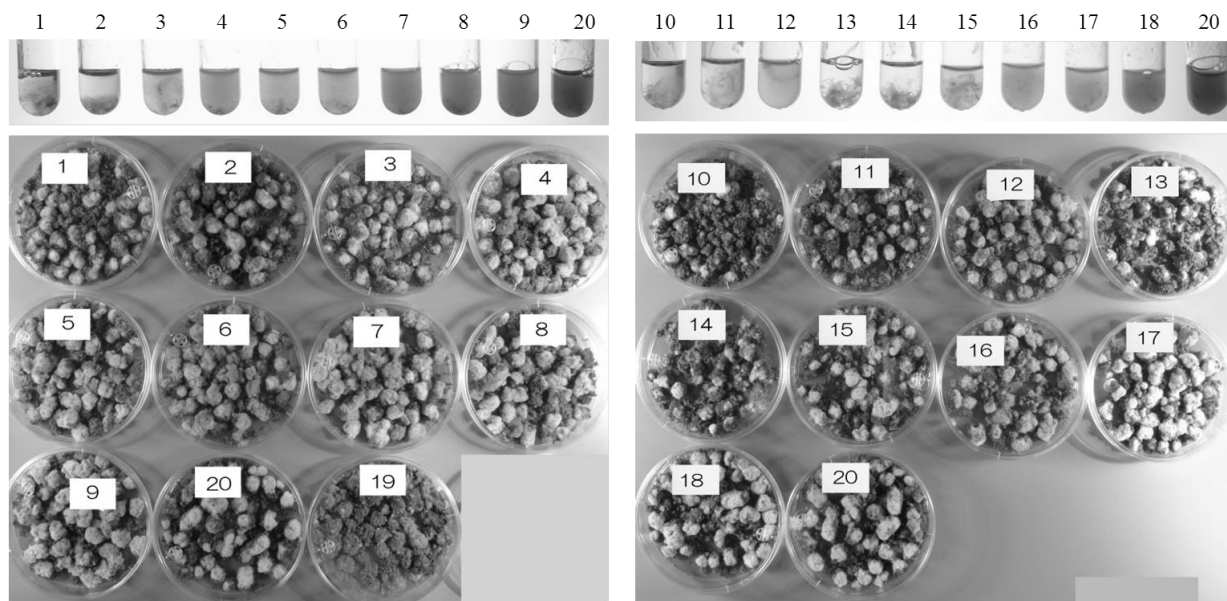


図 1 液体培地における組成と *N.rileyi* 9-29-5 株の増殖

各番号は表 11 の培地を表す

上段は培養 4 日後の状況、下段は上段液体培地をフスマペレットに接種した 4 日後の様子

(2) 個体培養

固形培地にビートパルプペレットおよびアルファルファペレットを用いた場合、菌糸の伸長は全く認められなかった。グレインスクリーニングペレットではわずかな繁殖にとどまった。一方ふすまペレットおよび籾殻と米ぬかの等量混合培地では、接種2日目より菌糸の繁殖が認められ、最終的に培地上一面に分生子が形成された(表12, 図2)。

菌床袋の種類により、増殖量に有意な差異は認められなかった。回収できた分生子量は、固形培地100gあたり $0.7\sim 1.5\times 10^{12}$ 個であった。

表12 固形培地の種類と*N.rileyi* 9-29-5株の増殖量

番号	固形培地	接種7日 後の菌糸 増殖量	接種20日 後の分生 子量
1	ビートパルプペレット	0	0
2	アルファルファペレット	0	0
3	グレインスクリーニングペレット	1	2
4	ふすまペレット	5	5
5	籾殻と米ぬか等量混合(w/w)	4	5

水分量はすべて固形培地と等量(w/w)

菌糸及び分生子量は0~5までの6段階評価

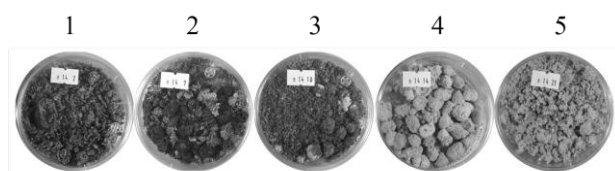


図2 培養20日後における*N.rileyi* 9-29-5株の分生子形成の様子

シャーレ上段番号は表12の培地の種類を示す

考 察

1 天敵微生物の探索

ダイズほ場を中心に県内各地から採取できた天敵微生物の多くは糸状菌であり、そのほとんどが緑きょう病菌(*N. rileyi*)で、ほかに黄きょう病菌(*Beauveria* 属)が得られた。*Beauveria* 属菌は、これまで、ボタニガードES、ボタニガード水和剤(いずれも有効成分*B. bassiana*)およびバイオリサ・カミキリ(同*B. Brongniartii*)が生物農薬として登録さ

れている。その他の糸状菌では、*Verticillium* 属菌(バータレック、マイコタール)、*Paecilomyces* 属菌(ゴッツA、プリファード水和剤)などがある。一方、天敵ウイルスを有効成分とする生物農薬は、*Alphabaculovirus* 属の核多角体ウイルスが有名であり、ハスモンヨトウに対してはハスモン天敵およびハスモンキラー(同*Spodoptera litura Nucleopolyhedrovirus*)がある。その他にも、*Betabaculovirus* 属の顆粒病ウイルス(*Granulovirus*: GV)があり、ハマキ天敵(同*Adoxophyes honmai* GVと*Homona magnanima* GVの混合物)として登録されている。さらに、*Steinernema* 属の天敵線虫(パイオセーフ、パイオトピア)もある。本研究では、日本ではこれまでに試験例はある(本林隆ら, 1993, 沼沢・小谷野, 2004, 江波ら 2005)が生物農薬として登録されておらず、また、各地から数多く採取できた*N. rileyi*の中から選抜を行った。虫体浸漬法による9-29-5株の LC_{50} は約 3.5×10^4 conidia/mlであり、江波ら(2005)の報告した菌株より病原性が高かった。また、廣森・廿日出(2000)の用いた菌株の 1×10^7 conidia/mlの処理による死虫率は70%、死虫個体の確認は処理5日目からであったとしており、効果が現れるまでの日数は同等であったが、病原性においてはやはり9-29-5株が高かった。老齢幼虫に対する殺虫効果について詳しい検討は行っていないが、終齢では蛹化する個体があり、防除効果はあまり高くないことが推測された。

ほ場における効果は、所内および2か年の現地試験とも散布約2週間後の補正密度指数が2.5~4.7であり、杉田ら(2003)のガラス室内における試験結果と同等以上の効果を示した。微生物農薬として登録されているボタニガードESなど、天敵糸状菌の実用的な散布濃度は 1×10^7 conidia/mlである。9-29-5株では処理直後の濡れた状態および風乾後に放飼した場合の LC_{50} は、それぞれ 1.1×10^6 および 8.0×10^6 conidia/mlであったことから、散布時に虫体に直接薬液がかからなかった場合でも、散布された葉上を行動している間に感染が成立する可能性が高いと考えられる。

2 9-29-5株の特性

*N. rileyi*の保存性については、河上(1990)に多くの文献が掲載されているが、高温での保存は

実用的ではなく、製剤化した場合には低温保存が必要と考えられた。保存期間は、実用上問題とならないのは6か月程度と思われるが、剤型によっては、これらの条件は大きく異なることが予想される。また、昆虫疫病菌などの人工培地上での継代は、回数を増すごとに宿主への感染性が落ちることが知られている(河上, 1960)が、本菌株では6回目まではほとんど問題がなかったが、さらに詳細な検討が必要と思われる。

生産現場における環境の影響についてみると、*N.rileyi* の生育適温は20~25℃と比較的低温で、30℃以上では生育しないとされているが、本菌株では、夏期の屋外においても感染が確認された(データ省略)。また、一般に昆虫糸状菌の分生子の発芽には、90%以上の湿度が必要とされる(河上, 1990)が、60%程度の比較的低湿度環境においても感染が認められた。これは、夏期でも夜温は25℃前後となるほか、植物葉面上(葉裏)の微気象条件は、空間測定値よりも感染成立には好適であると推察される。イチゴ栽培におけるハスモンヨトウによる被害が顕著になる時期は低温期に向かい、また、実害は開花期以降であるため、本病菌の特性が十分に発揮できることが解った。

ハスモンヨトウ以外の害虫への効果について、*N. rileyi* の感染性は、バッタ目、カメムシ目、コウチュウ目のそれぞれ1種およびチョウ目の30種が報告されている(国見, 1993)。本研究では、オオタバコガおよびヨモギエダシャクへの感染は認められたが、アオムシやコナガ、イネツトム



図3 きこの袋を用いた *N.rileyi* 9-29-5 株大量増殖
写真の袋は SC-35ES (サカト産業) を用いた

シ、チャハマキなどのチョウ目害虫には感染せず、選抜した9-29-5株の感染性は広くないと考えられた。

イチゴ栽培で使用される天敵としてはコレマンアブラバチがあるが、選抜した本菌株の影響は極めて小さいと考えられた。また、詳細な調査は行っていないが、ほ場試験において訪花昆虫としてマルハナバチが利用されていたが、顕著な影響は見られなかった。今後、ハダニの天敵生物であるチリカブリダニおよびミヤコカブリダニなどへの影響も調査する必要があると思われる。

3 増殖技術の確立

天敵糸状菌の大量増殖技術は、新田(1993)に詳しく記載されている。本研究では、実用性を第一に考え、液体培養における簡易法を検討したところ、ビールおよびレッドホース抽出液のいずれも粉末酵母エキスを用いた場合より短菌糸の増殖量は少なかった。しかし、WBP培地への接種後の菌糸増殖量および分生子形成量には、大きな影響を及ぼさなかった。一方、マルトースとペプトンの添加量についてみると、短菌糸の増殖量はマルトースよりペプトンの添加量により大きく依存しており、ペプトンの添加量によってはマルトースは必ずしも必要でないと思われた。

個体培養において、使用するきのこ栽培用菌床袋の種類によって増殖率に差は見られなかったが、SC-35ESは透明で分生子の形成の様子が観察しやすかった(図3)。本手法による大量増殖方法は、100gの培地で10a相当分が得られたことから、実用的な増殖量であったと思われる。剤型については、分生子を回収、精製して油に懸濁するほか、ベイト剤のようにふすまペレット培地のまま使用するなどの方法が考えられるが、今後の検討が必要である。

引用文献

浅野真一郎・佐原 健・Pujiastuti, Y. (1999) : *Bacillus thuringiensis* subsp. *wuhanensis* 結晶タンパク質のカイコとハスモンヨトウに対する殺虫活性. 蚕学雑. 68, 195-199.

宇賀ら：ハスモンヨトウ防除に有効な *Nomuraea rileyi* 新株の作出

- 浅山 哲・大石一史 (1980) : 緑きょう病菌によるハスモンヨトウのほ場感染と死亡個体に発育した菌の形態. 応動昆. 24, 105-107.
- 江波義成・川村容子・保積直史・富家和典・湯浅和宏 (2005). 滋賀県産 *Nomuraea rileyi* のハスモンヨトウ幼虫に対する殺虫活性と野外での防除効果, 関西病虫害研報. 47,137-139.
- 平成 24 年産野菜生産出荷統計 (2012), 農林水産省作況調査 (野菜)
- 樋口博也 (1991) : ハスモンヨトウによるダイズの被害解析 (1) 加害時期と被害の関係. 応動昆. 35, 131-135.
- 廣森創・廿日出正美 (2000) : 昆虫病原性糸状菌 *Nomuraea rileyi* と各種薬剤のハスモンヨトウに対する協力効果. 44 回応動昆大会講要 p40.
- 広瀬拓也 (1997) : 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル (14) 野菜・花き害虫 : ハスモンヨトウ・シロイチモジヨトウ. 植物防疫. 51, 483-487.
- 広瀬拓也 (1998) : 高知県の施設栽培葉ジソに発生する主要害虫の生態と防除 I. 抑制栽培葉ジソにおける主要害虫の発生消長. 四国植防. 33, 57-64.
- 片山 順・佐野康二 (1989) : ハスモンヨトウによるアズキの被害解析. 応動昆. 33, 57-62.
- 河上清 (1960) : 硬化病菌の継代培養による性状の変化について. 蚕糸報告. 16, 83-99.
- 河上清 (1990) : 農業有用微生物—その利用と展望— (梅谷献二・加藤肇共編) 250-263, 養賢堂, 東京.
- 国見裕久 (1993) : 天敵微生物の研究手法 (岡田斉夫編) 192-222, 植物防疫特別増刊号(No.2), 日本植物防疫協会.
- 宮下武則・青木 敏 (1983) : 子実肥大期のダイズにおけるハスモンヨトウの被害. 四国植防. 18, 61-65.
- 本林隆・沼沢健一・遠藤佳成・土生和毅・新井茂 (1993) : アブラナ科作物鱗翅目害虫の微生物的防除 (2) 天敵糸状菌 *Beauveria bassiana* (TAES-Bb-1 株) および *Nomuraea rileyi* (TAES-Nr-1 株) のモンシロチョウ, コナガ, ヨトウガおよびカイコ幼虫に対する病原性. 37 回応動昆大会講要 p145.
- 根本久 (1975) : 19 回応動昆大会講要 p504.
- 新田朗 (1993) : 天敵微生物の研究手法 (岡田斉夫編) 116-121, 植物防疫特別増刊号(No.2), 日本植物防疫協会.
- 沼沢健一・小谷野伸二 (2004) : 昆虫病原性糸状菌 *Beauveria bassiana* と *Nomuraea rileyi*, および BT 剤によるキャベツ鱗翅目害虫の野外防除試験. 東京農試研報. 32,109-119.
- 岡田斉夫 (1977) : 核多角体ウイルスによるハスモンヨトウの防除に関する研究. 中国農試報 E.12, 1-66.
- 島津光明 (1993) : 天敵微生物の研究手法 (岡田斉夫編) 24-42, 植物防疫特別増刊号(No.2), 日本植物防疫協会.
- 杉田花菜子・廣森創・廿日出正美 (2003) : 野外における昆虫病原性糸状菌 *Nomuraea rileyi* のハスモンヨトウに対する殺虫効果. 関西病虫害研報. 45, 37-38.
- 菖蒲信一郎・松崎正文・馬場崎一俊 (1995) : ハスモンヨトウによる大豆の被害の年次変動とその要因解析. 佐賀農研セ研報. 29, 39-45.