

昆虫寄生性線虫クシダネマによるコガネムシ類の生物的防除

大橋 章博

Biological control of Scarabeid beetle larvae by entomopathogenic nematode *Steinernema kushidai*

Akihiro OHASHI

クシダネマ *Steinernema kushidai* (MAMIYA) のコガネムシ類幼虫に対する防除効果を明らかにするため、室内での殺虫性試験と野外施用試験を行った。室内における殺虫性試験では、クシダネマの殺虫力は20℃から30℃の温度域で高かったが、15℃以下および35℃では十分な殺虫力が得られなかった。この原因として、寄主昆虫の摂食活動の低下や、クシダネマの死亡が考えられた。ヒノキ苗畑における野外施用試験では、感染態3期幼虫100万頭/m²、50万頭/m²処理はMP P処理と同等の防除効果が認められた。また、クシダネマは処理4ヶ月後においても土壤中で生存し、殺虫活性も保持していたことから、その防除効果は長期間維持されると考えられた。

キーワード：生物的防除、クシダネマ、*Steinernema kushidai*、コガネムシ類、圃場試験

I はじめに

コガネムシ類の幼虫はスギ、ヒノキの苗の根を食害し、時に壊滅的な被害を与えるため、これら幼虫による被害は苗木生産上大きな問題となっている。コガネムシ類幼虫の防除には化学農薬が使われているが、幼虫が土壤中で加害するため、処理した薬剤が虫体に直接かからず、難防除害虫の一つとなっている。また、近年、化学農薬による環境汚染や標的外生物への悪影響、病害虫における抵抗性の獲得などの弊害が認められるようになり、化学農薬を大量に使用しない防除方法の開発が望まれている。

こうした中、天敵微生物を利用する生物的防除は、環境負荷の小さい防除技術として期待されている。なかでも、昆虫寄生性線虫の一種であるクシダネマ *Steinernema kushidai* (MAMIYA) は、コガネムシ類の幼虫に対して高い感染力と殺虫力を有することが知られている(串田ら, 1987; MAMIYA, 1989)。室内試験におけるクシダネマの殺虫性に関する報告は多く、温度や湿度、紫外線、化学農薬などがクシダネマにおよぼす影響についてはすでに明らかにされている(藤家ら, 1993; FUJIE *et al.*, 1995; FUJIE *et al.*, 1996)。しかし、圃場における防除試験は大矢・上和田(1990)によるサツマイモ畑の一例のみで、ほかにヒノキ苗(KOIZUMI *et al.*, 1983)、サツマイモ(上田ら, 1989)での報告はみられるが、いずれも1の枠試験にとどまっている。

そこで今回、クシダネマの殺虫性について検討する

とともに、ヒノキ苗畑における防除効果について検討したので報告する。

なお、試験を実施するに当たり、クシダネマを分与していただいた株式会社クボタの鈴木伸和氏と苗畑を提供していただいた加茂山林種苗生産組合副組合長の酒向康夫氏に感謝する。

II 材料および方法

1. 供試線虫

試験に使用したクシダネマは、株式会社クボタより分与された感染態3期幼虫(以下JⅢ)を用いた。

2. 室内における殺虫性試験

(1) 接種頭数と殺虫率

プラスチックカップ(直径9 cm, 高さ4 cm; 以下同じカップを用いた)に腐葉土を入れ、1 ml 当たり10頭、50頭、100頭、500頭、1,000頭、5,000頭に調整したJⅢ懸濁液を1 ml 接種した。同時に、JⅢを接種しない無処理区も設けた。ここにドウガネブイブイ3齢幼虫を1頭ずつ入れ、25℃に設定した恒温器内で飼育し、その後の死亡状況を20日間調査した。死亡した幼虫は滅菌水を満たしたペトリ皿に入れ、クシダネマの増殖を確認して、クシダネマによる死亡が否かを判定した。なお、各処理数は30とし、これを4反復おこなった。

(2) 温度と殺虫率

プラスチックカップに腐葉土を入れ、1,000頭/ml に調整したJⅢ懸濁液を1 ml 接種した。ここにドウ

ガネブイブイ3齢幼虫を1頭ずつ入れ、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃の恒温器内で飼育した。また、同時にJⅢを接種しない無処理区も設けた。処理後20日間、毎日幼虫の死亡状況について調べた。また、死亡した幼虫は滅菌水を満たしたペトリ皿に入れ、クシダネマの増殖を確認して、クシダネマによる死亡か否かを判定した。各処理数は30とし、これを4反復行った。

(3) 温度とクシダネマ生存率

100ml三角フラスコにクシダネマ1,000頭を懸濁させた脱イオン水30mlを入れ、これを10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃の恒温器に入れた。10日経過後、クシダネマの生存率を調べた。また、ペトリ皿に畑土を入れ、オートクレーブで120℃、40分高圧滅菌した後、一昼夜放置し、ここにクシダネマを1,000頭接種した。これを、同様に10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃の恒温器に入れ、10日経過後にペールマン氏法でクシダネマを分離し、生存率を調べた。

(4) 温度と幼虫体重増加量

プラスチックカップに腐葉土を入れ、ここにあらかじめ個体重を測定したドウガネブイブイ3齢幼虫を1頭ずつ入れた。このカップを10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃の恒温器に入れ飼育した。各処理数は10とし、これを3反復行った。10日経過後、再び幼虫の個体重を測定した。

3. 野外施用試験

(1) 枠試験

枠試験における防除効果について検討するため、岐阜県森林科学研究所の構内に縦1m×横1m×深さ0.4mのコンクリートブロック枠を設置し、ヒノキ2年生苗木を25本ずつ植栽した後、網箱で被覆した。処理区はJⅢ10万頭/m²施用区、ダイアジノン粒剤9g/m²施用区、MPP粒剤9g/施用区、無処理区の4種である。このうち、JⅢ施用区は500頭/mlに調整した懸濁液を2000mlジョロで土壌表面に散布し、粒剤施用区は所定量を苗間に土壌混和した。これらの処理はいずれも平成8年7月10日に行い、1週間後の7月17日にドウガネブイブイ2齢幼虫を各処理区とも30頭ずつ放虫した。4ヶ月後の11月8日に、各処理区の苗を掘り起こしてドウガネブイブイ幼虫の生存率、根の食害状況を調査した。

なお、根の食害状況は、竹谷(1990)にしたがって、次のように区別した。

- 0 : 健全 (根の食害は全然なし)
- I : 微害 (細根がわずかに食害)
- II : 中害 (微害と激害の間)

III : 激害 (主軸だけ残して側根はすべて食害)

IV : 枯死

(2) 圃場試験

野外におけるクシダネマの防除効果について検討するため、加茂郡富加町の苗畑に試験区を設置した。この試験区は作畝時にMPP粒剤(12kg/10a)を土壌混和した後、畝間80cm、幅100cmの畝を作り、苗間15cmでヒノキ1年生苗を植栽した。この畝を10mおよび5mの長さに区切り処理区を設けた。処理区はJⅢ100万頭/m²施用区、50万頭/m²施用区、25万頭/m²施用区、MPP乳剤1000倍液1000ml/m²施用区、無処理区の5種で、これらの配置は図-1に示すとおりである。このうちJⅢはあらかじめ1m²当たり1000mlの水に設定頭数になるよう懸濁液を調整した。畝の中心を浅く溝切りし、ここに懸濁液をジョロで散布した後、土を埋め戻した。その後、1m²当たり1000mlの水をさらにジョロで散布した。なお、これらの処理はMPP乳剤の散布を1998年7月31日に、JⅢ散布を8月20日午後6時に行った。同年12月14日に各処理区の苗を掘り取り、枠試験と同じ方法で根の食害状況について調査した。処理後から掘り取り調査までの気温、降水量の経過は図-2に示すとおりである。

また、苗畑におけるクシダネマの生存状況を調査するため、JⅢ処理後、1998年9月2日、10月8日、11月11日、12月14日にそれぞれの処理区から各2カ所の土壌を約100cm²ずつ採取した。持ち帰った土を200mlプラスチックカップに入れ、その中にドウガネブイブイ3齢幼虫を1頭ずつ放飼し、25℃下におき、クシダネマの感染による幼虫の死亡を調査した。

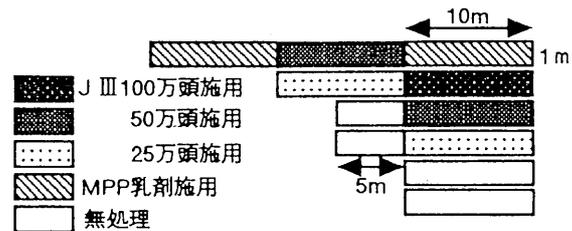


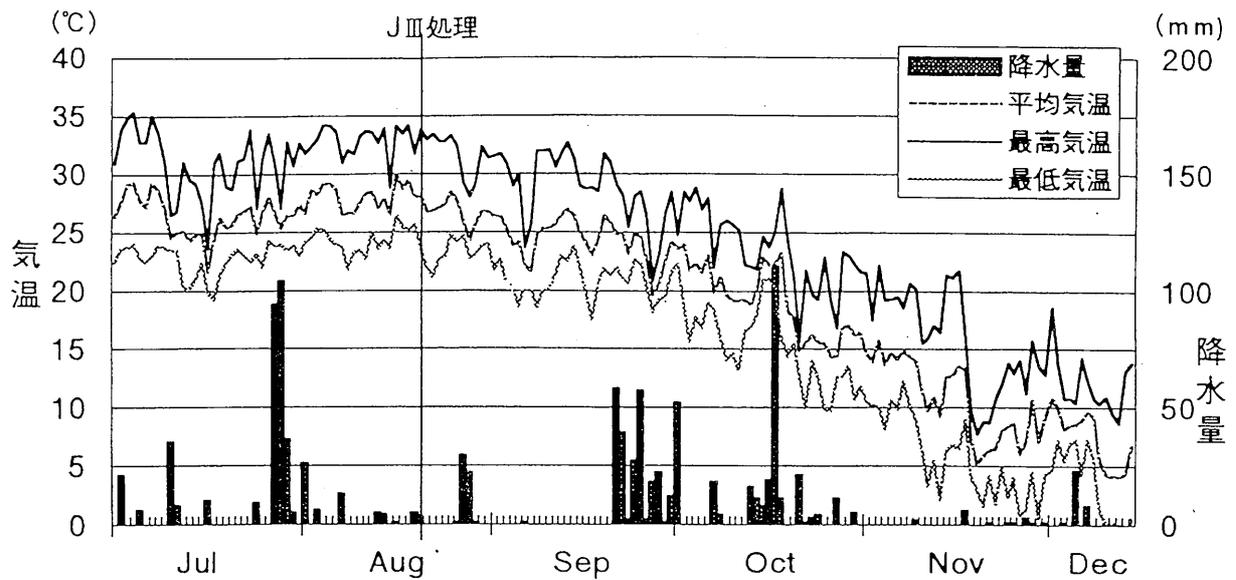
図-1. 防除試験処理区

III 結果および考察

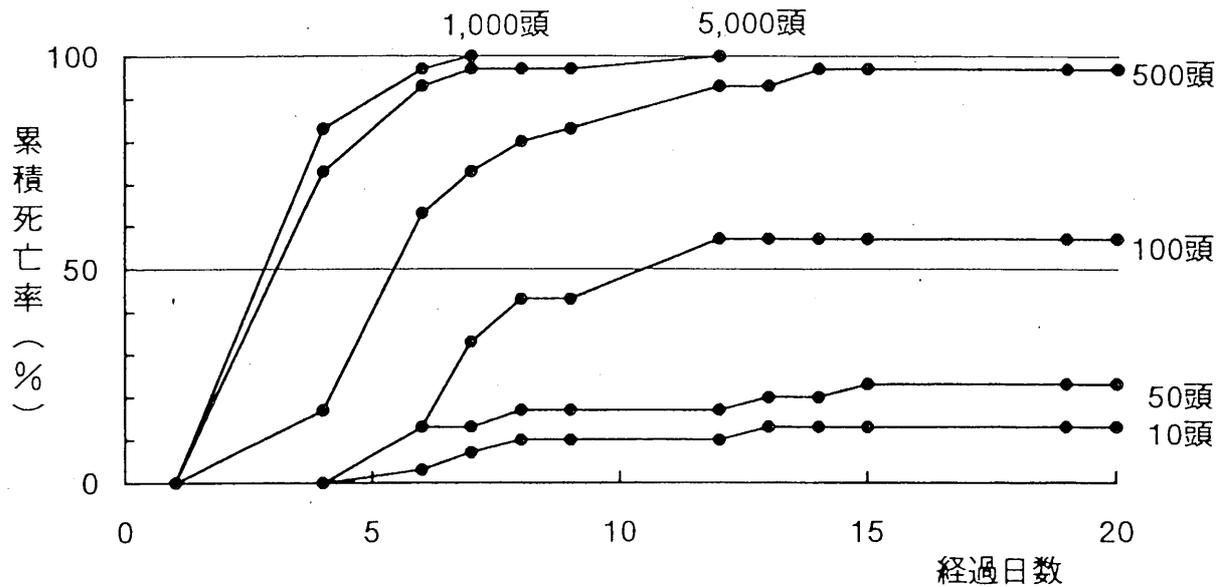
1. 室内における殺虫性試験

(1) 接種頭数と殺虫率

接種頭数別のドウガネブイブイ幼虫の死亡率を示したのが図-3である。クシダネマの接種頭数が多いほど死亡率は高くなり、1カップ当たり500頭以上接種した場合、ほとんどの供試虫が死亡した。また、死亡



図一2 試験地の気温および降水量(美濃加茂, 1998)
岐阜県気象月報(岐阜地方気象台, 1998~99)より作成



図一3 接種頭数別死亡率

までの日数は接種頭数が多いほど短くなる傾向がみられた。このうち1,000頭接種と5,000頭接種では殺虫率、即効性に差がみられなかったことから、1カップ当たりの接種頭数は1,000頭が最も効果的であると考えられた。これを単純に面積換算すると当たり約15万頭の接種頭数となるが、これは室内試験の結果であり、紫外線、高温、乾燥などのクシダネマにおよぼす影響を考慮すると(藤家ら, 1993)、野外においては、これ以上の接種頭数が必要と考えられる。

(2) 温度と殺虫率

クシダネマの殺虫力に対する温度の影響を示したのが図一4である。幼虫死亡率は20℃, 25℃, 30℃処理

区でそれぞれ88%, 100%, 77%と高く、特に25℃処理区でクシダネマの高い殺虫力が認められた。これに対し、10℃, 15℃, 35℃処理区の死亡率は8%, 0%, 7%と低かった。特に、15℃処理区では、死亡虫が全く認められなかった。

すべての死亡個体からクシダネマが確認できたことから幼虫の死亡は、同時に設けた無処理区ではいずれの温度条件でも死亡虫は見られなかった。

次に、死亡率が高かった20℃, 25℃, 30℃処理区について、即効性の面から検討してみると、25℃処理区では処理後3日目には幼虫の死亡が認められ、5日後には死亡率は50%に達し、13日後には死亡率100%に

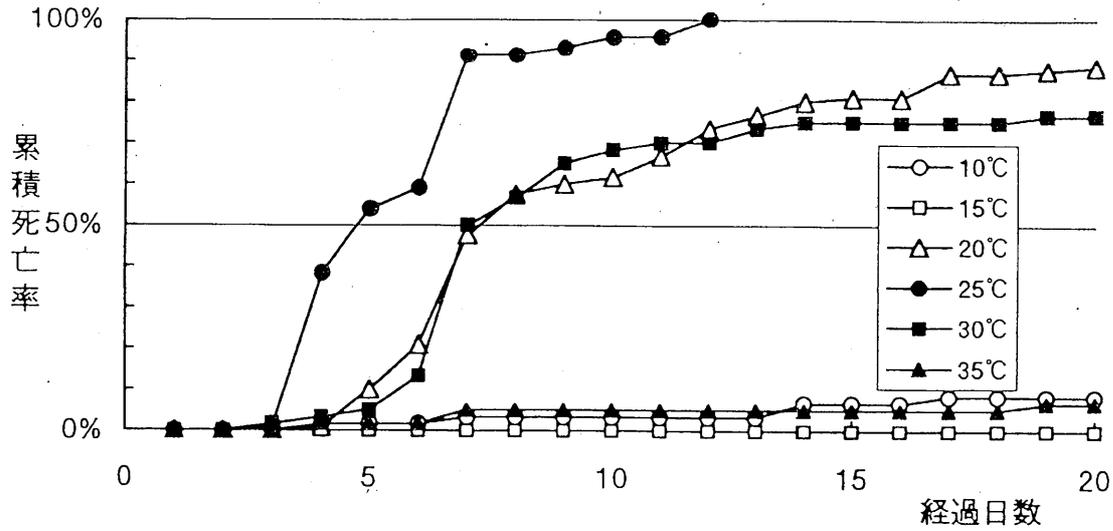


図-4 ドブガネブイブイ幼虫の死亡率に及ぼす温度の影響

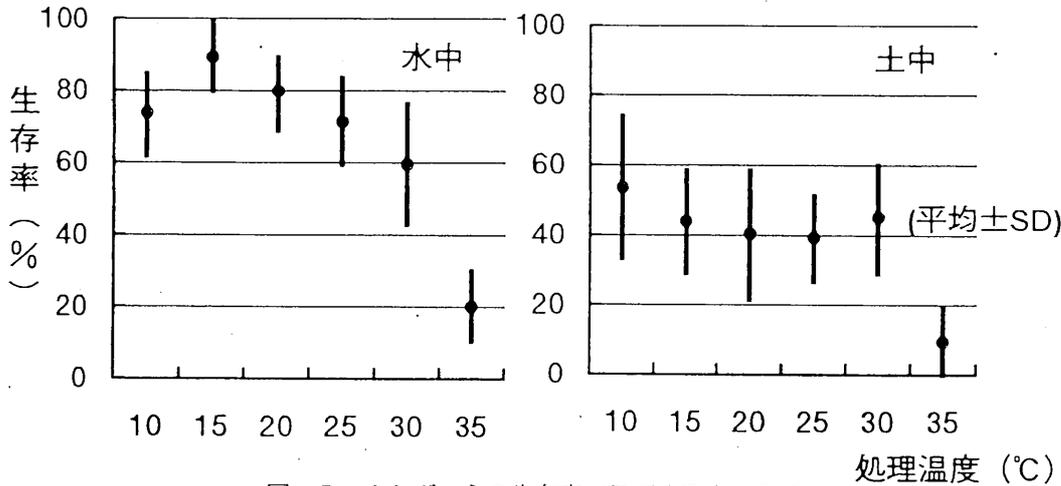


図-5 クシダネマの生存率に及ぼす温度の影響

達した。これに対し、20℃、30℃処理区では25℃に比べ、やや遅れて死亡個体が見られ、7日後には死亡率が50%に達した。

また、試験期間中に死亡がみられなかった10℃、15℃、35℃処理区の幼虫を25℃条件下に移して飼育したところ、10℃、15℃処理した幼虫は全て死亡し、35℃処理区の幼虫は死亡しなかった。このことから、クシダネマは10℃、15℃処理下では殺虫活性を保持しているが、35℃では殺虫活性を失うことがわかった。

(3) 温度とクシダネマ生存率

各温度別のクシダネマの生存率を示したのが図-5である。水中での生存率は10℃から30℃では、いずれも60%以上と高かったが、35℃では生存率が20%と低くなった。土中での生存率についても同様で、10℃から30℃ではおよそ40%の生存率であったが、35℃では9%と低い生存率だった。このように水中、土中とも

35℃の温度では、クシダネマの生存率の急激な低下が認められた。また、FUJIE *et al.* (1995) はクシダネマの共生細菌が10℃~35℃の温度域で生存率に変化は見られないことを報告していることから、35℃の温度域で殺虫率が低い原因は、クシダネマの死亡によるためと考えられる。

(4) 温度と幼虫の体重増加量

各温度条件下におけるドウガネブイブイ幼虫の体重増加量を示したのが図-6である。処理温度が20℃、25℃、30℃では大きな体重増加を示したものの、10℃、15℃ではあまり体重増加がみられなかった。このことから、10℃、15℃では幼虫の摂食活動が低下するため、クシダネマと幼虫が遭遇する機会が減ったことが原因と考えられる。また、*Steinernema*属の線虫は寄主探索能力を有し、寄主が発散する炭酸ガスや体臭、排泄物などを特異的に感じ、寄主を識別するといわれてい

る。したがって、10℃、15℃では幼虫の摂食活動が低下し、これにともなって、クシダネマの寄主探査機能が低下したことも、低温域で殺虫率が低下した原因の一つと考えられる。今後は、温度条件が共生細菌に及ぼす影響についても検討し、低温域で殺虫率が低下する原因を把握する必要がある。

2. 野外施用試験

(1) 枠試験

各処理区の根の食害状況および幼虫死亡率を示したのが表-1である。幼虫死亡率は無処理区が17%であるのに対して、JⅢ施用区、ダイアジノン施用区が

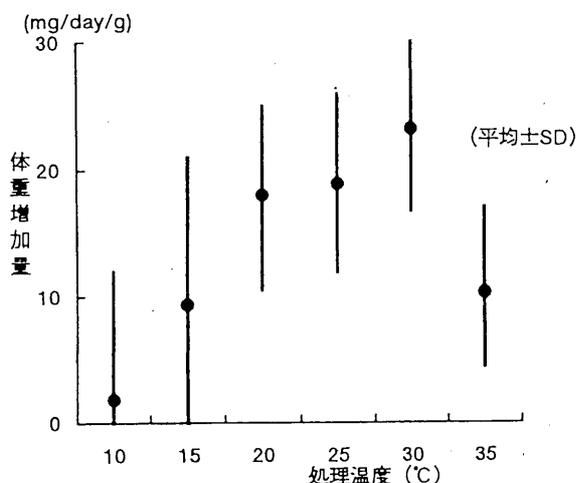


図-6 ドブガネブイブイ幼虫の体重増加量に及ぼす温度の影響

100%, MPP施用区が97%であり、いずれの処理も高い殺虫率を示した。苗木被害率は無処理区が84%に対し、JⅢ施用区が56%、ダイアジノン施用区が48%、MPP施用区が52%といずれの処理も無処理区を下回った。これら処理区の根の食害状況についてBONFERRONIの多重比較法を用いて解析したところ、いずれの施用区も無処理区との間に有意な差が認められたが、施用区間に差は認められなかった ($p < 0.05$)。

(2) 圃場試験

各処理区の根の食害状況および得苗率を示したのが表-2である。ヒノキ苗木の被害率は、無処理区が54%であるのに対してMPP施用区が10%、JⅢ100万頭施用区が7%、50万頭施用区が10%、25万頭施用区が18%で、いずれの施用区も無処理区を下回った。同様に、得苗率は無処理区が52%であるのに対し、MPP施用区が90%、JⅢ100万頭施用区が99%、50万頭施用区が98%、25万頭施用区が92%であった。これら処理区の根の食害状況についてBONFERRONIの多重比較法を用いて解析したところ、いずれの施用区も無処理区との間に有意な差が認められた ($p < 0.05$)。また、施用区間ではJⅢ100万頭、50万頭、MPP施用区とJⅢ25万頭施用区とに有意差が認められた ($p < 0.05$)。

根の食害状況は試験地の虫密度によって変わるため、これらの比較だけでは薬剤の防除効果を判定するには不十分である。そこで竹谷(1990)の方法に従って根の食害状況を数量化し被害減少率を求めた(表-2)。この被害減少率と得苗率との関係を示したのが図-7

表-1 各処理区における防除効果(枠試験)

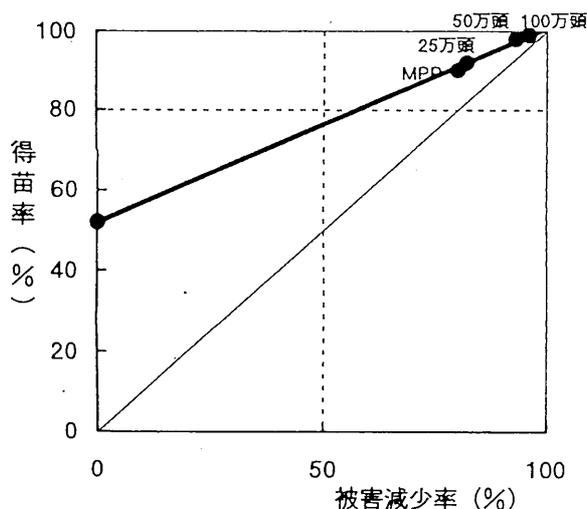
処理区	0	I	II	III	IV	被害率	得苗率	死亡率
JⅢ10万頭	11	11	3	0	0	56% ^a	88%	100%
ダイアジノン粒剤	13	9	3	0	0	48% ^a	88%	100%
MPP粒剤	12	11	2	0	0	52% ^a	92%	97%
無処理	4	13	8	0	0	84% ^b	68%	17%

a,b: 符号が異なる処理間に有意差があることを示す (Bonferroniの多重比較, $p < 0.05$)

表-2 各処理区における防除効果(圃場試験)

処理区	0	I	II	III	IV	被害率	得苗率	ポイント	被害減少率
JⅢ100万頭	327	20	4	0	0	7% ^a	99%	0.10	96%
JⅢ50万頭	593	48	15	0	0	10% ^a	98%	0.16	93%
JⅢ25万頭	542	71	45	5	1	18% ^b	92%	0.43	82%
MPP乳剤	362	0	25	17	0	10% ^a	90%	0.50	80%
無処理	349	43	190	155	21	54% ^c	52%	2.45	0%

a,b: 符号が異なる処理間に有意差があることを示す (Bonferroniの多重比較, $p < 0.05$)



図一七 被害減少率と得苗率

である。ここで防除効果基準を竹谷(1990)に習い、得苗率80%以上、被害減少率50%以上とすると、JⅢ施用区はいずれもこの基準をクリアした。

これらの結果から、JⅢを1㎡当たり50万頭以上施用することで、現在コガネムシ防除で行われているMPP施用と同等の防除効果が得られることが明らかになった。

次に、クシダネマの生存状況を検討するため、各処理区から採取した土壌で飼育したドウガネブイブイ幼虫の死亡率を示したのが表一3である。JⅢ施用区の幼虫死亡率は全期間を通して50~100%であった。採取した土の量は100ccと少なく、サンプル数も少なかつたにもかかわらず、クシダネマの感染による死亡が認められたことから、クシダネマは処理4か月後においても土壌中で生存しており、殺虫活性も保持していると考えられた。Koizumi *et al.* (1988)は1㎡の枠試験において、JⅢを1㎡当たり10万頭、50万頭、100万頭施用し、2年間は感染力が持続すると述べている。また、大矢ら(1990)はサツマイモ圃場で1㎡当たり5万頭、10万頭、20万頭施用したところ、その5か月

後に20万頭施用区では感染による死亡が認められたが、他の施用区では感染による死亡は認められなかったと述べている。このように、野外におけるクシダネマの防除効果の持続性については結果に違いがみられるが、クシダネマの施用数が多ければ防除効果は数ヶ月持続すると考えられる。このことより、春、作畝時にクシダネマを施用することによって、一年を通じた防除の可能性が示唆された。

IV おわりに

本試験の結果から、クシダネマは圃場においてコガネムシ類幼虫に対して実用的な防除効果を持つことが認められた。特にJⅢ100万頭/㎡、50万頭/㎡施用は既存薬剤のMPP乳剤と同等の防除効果が得られた。しかし一方で、クシダネマは高温や乾燥に弱いといった問題も明らかになった。また、今回は言及しなかったが、クシダネマ製剤は化学農薬に比べ高価であるといった問題もある。今後この技術を普及させるには、取り扱い易さを考慮した製剤化技術の改良や安価な培養技術の開発が重要なポイントとなる。

線虫類を利用する防除法には、①宿主探索能力がある、②農薬との混合施用が可能である等の利点がある。とりわけ、クシダネマは一部の殺虫剤を除き混用散布、近接散布できることが知られている(橋ら, 1999)。こうした特徴は、現行の施業体系にクシダネマを容易に組み込むことができる点で優れており、総合的な防除技術を確立するための有望な素材であると思われる。

引用文献

藤家 梓・横山とも子・藤方正浩・澤田正明・長谷川誠 (1993) 昆虫寄生性線虫 *Steinernema kushidai* MAMIYAのドウガネブイブイに対する殺虫性. 応動昆. 37: 53~60.

FUJIE, A., TACHIBANA, M., TAKATA, Y.,

表一3 各処理区から採取した土壌で飼育したドウガネブイブイ幼虫の死亡率

処理区	9月2日	10月8日	11月11日	12月14日
JⅢ100万頭	100%	100%	100%	50%
JⅢ50万頭	75%	100%	75%	50%
JⅢ25万頭	75%	50%	75%	50%
MPP乳剤	50%*	0%	0%	0%
無処理	0%	0%	0%	0%

*死亡虫からクシダネマは検出されず。

- YOKOYAMA, T., SUZUKI, N. (1995) Effects of temperature on insecticidal activity of an entomopathogenic nematode, *Steinernema kushidai*, against *Anomala cuprea* larvae. Appl. Entomol. Zool. 30 : 23~30.
- FUJIE, A., TAKATA, Y., TACHIBANA, M., YOKOYAMA, T. (1996) Insecticidal activity of an entomopathogenic nematode, *Steinernema kushidai* against *Anomala cuprea* larvae under different soil moisture. Appl. Entomol. Zool. 31 : 453~455.
- 岐阜地方気象台 (1998-1999) 岐阜県気象月報. 日本気象協会岐阜支部, 岐阜.
- KOIZUMI, C., KUSHIDA, T., MITSUHASHI, J. (1988) Preliminary field tests on White-grub control by an entomogenous nematode, *Steinernema* sp. J. Jpn. For. Soc. 70 : 417~419.
- 串田 保・真宮靖治・三橋 淳 (1987) 静岡県下畑土壌から検出された昆虫寄生性線虫 *Steinernema* sp. のコガネムシ類幼虫に対する殺虫性. 応動昆. 31 : 144~149.
- MAMIYA, Y. (1989) Comparison of the infectivity of *Steinernema kushidai* and other Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes for three different insects. Appl. Entomol. Zool. 24 : 302~308.
- 大橋章博 (1999) 温度条件がクシダネマの殺虫性に及ぼす影響. 中森研. 47 : 97~98.
- 大矢慎吾・上和田秀美 (1990) クシダネマによるサツマイモコガネムシ類防除の試み. 九病虫研会報. 36 : 126~128.
- 橋 峰生・植地俊二・鈴木伸和 (1999) 昆虫寄生性線虫スタイナーネマ・クシダイによる芝草害虫の生物的防除. 農業技術54 : 206~209.
- 竹谷昭彦 (1990) ネキリムシ薬剤試験防除効果判定方法. 林業と薬剤. 113 : 11~15.
- 上田康郎・橋本ほしみ・島津光明 (1989) *Steinernema kushida* 感染態 3 期幼虫の土壌中での密度推移およびドウガネブイブイ幼虫に対する殺虫効果. 日線虫研誌. 19 : 59~61.

