

コナガの顆粒病ウイルスについて

阿久津 喜作

A Granulosis Virus of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella*
(LEPIDOPTERA : PLUTELLIDAE)

Kisaku AKUTSU

Summary

In June, 1976, many larvae of the diamond back moth, *Plutella xylostella* were found infected with a granulosis virus at a cabbage plantation in Edogawa Branch of Tokyo Agricultural Experiment Station. The infected larvae became sluggish and its collar became whitish yellow. The segments of larval body were unusually swollen. The capsules of the virus which were obtained from the diseased larvae had a size of $346 \pm 30\text{nm}$ in length and $221 \pm 21\text{nm}$ in width. Bioassay tests with different concentrations of the virus inoculum showed that this virus has very strong pathogenicity to first- and second-instar larvae, when the virus was administered to fifth-instar larvae, the disease rarely appeared after pupation. The period from exposure to the virus until death depended on the temperature, and all infected larvae were killed within 6 days at 28°C and 10 days at 20°C . The granulosis virus of the diamondback moth was not infectious to the beet worm, *Autographa nigrisigna*, cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* and common cabbage worm, *Pieris rapae crucivora*. Spray of the virus inoculum on cabbage field caused a highly mortality. Therefore, number of healthy larvae and pupae per cabbage plant in the virus treated plots were reduced as compared with the non-treated plots.

緒 言

近年コナガ *Plutella xylostella* の発生が全国的に増大し、キャベツ、カリフラワー、ハクサイ、ダイコンなどアブラナ科野菜に大きな被害を与えるようになった。また、本種の防除に広く使われてきた有機りん剤、とくに D D V P に対し、抵抗性と思われる結果が報告される(1), (2)など、防除対策が問題となっている。

著者は1975年から都下における本種の発生消長調査を行ってきたが、1976年6月に東京都農業試験場江戸川分場内のキャベツ畑に発生したコナガ終令幼虫に体節が異常に肥大し、体色が黄白色を呈して死亡する多数の個体が発見された。それらの体液を検鏡したところ、無数のコロイド状粒子が観察されたので、この性状から顆粒病ウイルス感染虫であると診断した。

顆粒病ウイルス（以下 G V と略す）については既に愛知県下で発見され(5), 病理組織学的研究が行なわれてきた(4), (2), (3)。しかし、本ウイルスの感染病理学的研究はほとんど行われていない。著者はコナガに対する

本ウイルスの防除利用を目的に、ナタネの芽ばえによる方法で飼育したコナガ幼虫でウイルスを継代し、病徵の観察と若干の感染実験を行ったので、その結果の概要をここに報告する。本文に入るに先だち、走査電顕の写真撮影をご指導いただいた日本電子株式会社応用 I 研の小倉一道氏ならびにキャベツの育苗、ほ場管理にご協力いただいた当場病理昆虫研究担当の諸氏に厚くお礼申し上げる。

材 料 と 方 法

供試した G V は前述の経緯により発見されたものである。G V 接種液の調整は次のように行った。すなわち、ボリボットに植えたキャベツの幼苗を飼育箱に入れ、野外から採集したコナガ成虫の雌雄を 5 対づつ放飼して産卵させ、ふ化後 5 日目に G V り病死虫の懸濁液を散布した。経口感染した老熟り病死虫は 1 頭づつ管びんに入れ、冷蔵保存した。これを接種時にとり出し、蒸溜水を加えて懸濁したものを接種原とした。

接種方法は 10mℓ当たり 1 老熟り病死虫当量含むように

調整した懸濁液にToriton X-100を500 ppm加用し、これに長さ5 cm、巾1 cmのたんざく形に切ったキャベツ葉を30秒間浸漬して風乾し、それを直径5 cm、長さ6 cmの綿栓をしたガラス管に1枚づつ入れ、コナガ幼虫を放飼した。供試したコナガは腰原・山田(7)の方法によって飼育したものである。接種後は25°C条件下で3日間葉を摂食させ、その後は普通のキャベツ葉を与え、毎日観察を行った。

また、病徵の明らかな老熟り病死虫5個体を乳鉢ですりつぶし、蒸留水を加えたのち、4層のガーゼで濾過し、2,000 rpm 10分間遠心分離を行った。さらに、その上澄液を4,000 rpm 30分間遠心分離して得た沈殿物に蒸留水を加え、懸濁させた。この遠心操作を3回反復して封入体を回収した。これらの封入体はアルミ製資料台にのせ、

風乾後Pt-Pd蒸着によって影付けし、走査電顕によって形状を観察した。使用した走査電顕はJSM-35Cである。

結果と考察

病徵

病徵は他のりん翅目昆虫のGVと同じ特徴を示し(6), A SAYAMA and O SAKI (5)の記載とほぼ一致していた。すなわち、病徵発現は幼虫の体色が緑色から黄色味をおびることに始まり、次第に黄白色化した。個体によって皮膚に光沢をおびるものも観察された。第1図Bに示したように、体色の黄化とともに体節がいちぢるしく肥大し、歩行、摂食活動が次第に鈍化した。り病虫は這いまわったのち、病徵の進展とともに腹脚でぶら

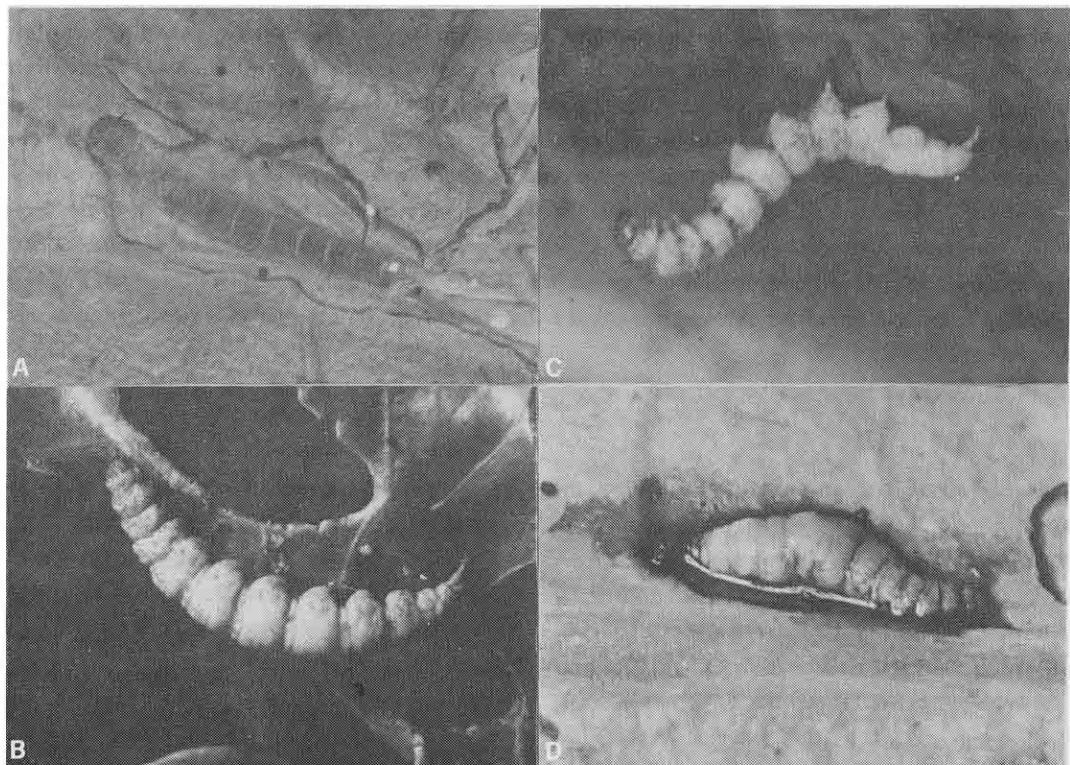


Fig 1. Larvae of *Plutella xylostella* infected with granulosis virus.

A : Normal fifth-instar larva.

B : Infected larva at same stage. The segments of the body were abnormally swollen.

C : Larva which died of granulosis, hanging by its caudal prolegs from the side of cabbage leaf.

D : Dead larva discharged a milky white fluid from broken integument.

下ったままくの字状で死亡したり(第1図C), 食害部位で皮膚が破れ、乳白色の体液が流れ出て死亡するのが

観察された(第1図D)。死亡後は体色が黄白色から黄褐色、灰黒色へと変化し、やがて体がかゆ状に崩壊した。

このようにり病虫の病徵は他の微生物による感染と明らかに区別できるので、外部病徵から容易に診断することができた。

封入体の形状

り病死虫の磨碎液から得たウイルス封入体の電顕像による形態は第2図に示したように顆粒状を呈し、大部分が橢円体であった。しかし、1部には細長いものや結合

したと考えられるものも観察された（第2図B）。これらは既に他のりん翅目昆虫のGVで云う異状な封入体、(10), (11)と考えられ、コナガの場合ではウイルス粒子も異常であることが報告されている(3)。大きさは正常なもので長径が $346 \pm 30\text{ nm}$ 、短径 $222 \pm 21\text{ nm}$ であった。これは、ASAYAMA and OSAKI (5)の記載より小さかった。

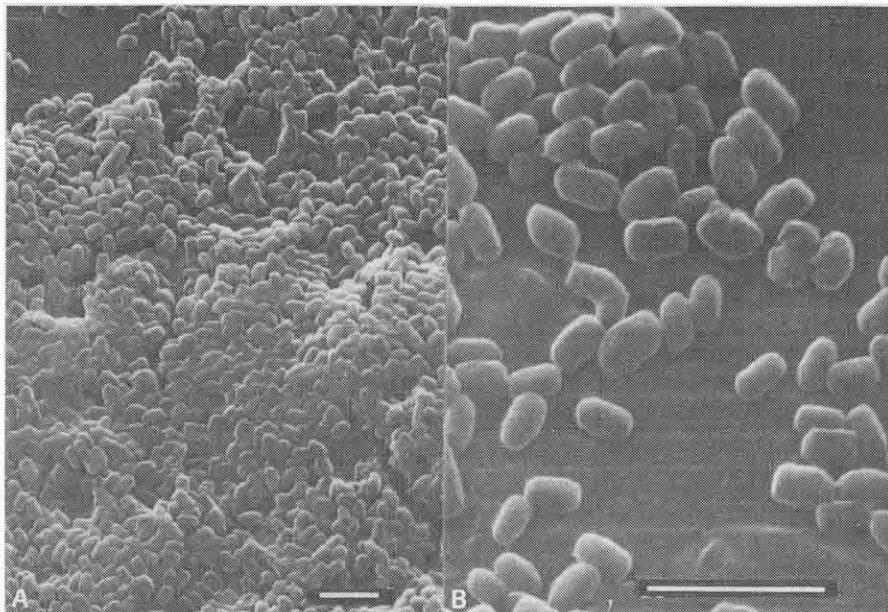


Fig 2. Scanning electronmicrographs of the capsules of a granulosis virus of *Plutella xylostella*.
A : Capsules were obtained from diseased larvae,
B : Capsules similar to plate A at a higher magnification.

幼虫、蛹に対する病原性

若令および老令幼虫に対する病原性については第1表に示した通りである。すなわち、若令ほど感受性が高く、1令と2令幼虫の間では中央致死濃度の値に差がみられなかった。しかし、4令および5令では感受性が低下し、特に5令幼虫に対する中央致死濃度の値は原液より小さかった。これらはリンゴモンハマキに対するGVの病原性試験の結果、佐藤・於保、(8)と同様な傾向であり、SMITH (9)の指摘を肯定するものであろう。

5令幼虫にGVを食下させ、それが蛹化した後の発病について試験した結果を第2表に示した。蛹期間における発病はきわめて低く、第1回の接種で8.3%、第2回では4.2%であった。また、GV感染以外の死蛹も対照区のそれより少なかった。羽化は齊一で遅れがみられず、羽化率も対照区と顕著な差がなかった。他のりん翅目昆

虫ではGVに感染しても多くは発病せず、蛹化し、成虫になるという(6)。コナガでも感染の有無は明らかでないが、同じ傾向をもつものと考えられる。

環境温度と感染致死との関係

GVの懸濁液に浸漬したキャベツ葉を2令幼虫に室温条件下で1日食下させ、その後20°C, 25°C, 28°Cの恒温器で飼育し、り病状況を観察した。その結果は第3表に示した通りである。処理後の環境温度は高温ほど感染致死時期が早く、低温では感染後致死までの期間が長かった。すなわち、28°Cでは接種3日後に感染致死虫が出現し、7日後には全滅した。25°Cでは4日後に17%が致死し、7日後にはほぼ全滅した。20°Cでは5日目に致死が起り、全滅に10日かかった。したがって、本病は高温、低温いずれの条件でも感染率に差がみられず、病状の進展による致死期間のみに相違のあることがわかった。以上

Table 1. Susceptibility of larvae of *Plutella xylostella* to a granulosis virus of *P. xylostella*^a

Larval instar	Conc. of inoculum	No. tested	Mortality (%)	LC (-log)
1	10 ⁻⁰	25	100	
	10 ⁻¹	25	96	
	10 ⁻²	25	76	2.5
	10 ⁻³	25	36	
	10 ⁻⁴	25	8	
	cont.	25	0	
2	10 ⁻⁰	25	96	
	10 ⁻¹	25	88	
	10 ⁻²	25	64	2.5
	10 ⁻³	25	36	
	10 ⁻⁴	25	12	
	cont.	25	0	
4	10 ⁻⁰	20	85	
	10 ⁻¹	20	75	
	10 ⁻²	20	45	1.6
	10 ⁻³	20	20	
	10 ⁻⁴	20	5	
	cont.	20	0	
5	10 ⁻⁰	20	30	
	10 ⁻¹	20	15	
	10 ⁻²	20	10	< 0
	10 ⁻³	20	0	
	10 ⁻⁴	20	0	
	cont.	20	0	

a The concentration of the original inoculum was adjusted to one infected matured larva per 10mℓ distilled water.

Table 2. Susceptibility of fifth-instar larvae of *Plutella xylostella* to a granulosis virus^a

No. of larvae tested	Per cent of pupae dead of :			Adult emergence
	Granulosis	Other diseases		
Test 1 ^b	24	8.3 %	4.2 %	87.5 %
Test 2 ^b	24	4.2	4.2	91.6
Control ^c	20	0	10.0	90.0

a Death occurred in the pupal stage.

b The inoculum was adjusted to one infected matured larva per 10mℓ of water.

c No virus fed.

は株当たり 2.2 頭、2.4 頭の死虫が認められ、生存幼虫も対照区の 5.3 頭に比較し、2.5 頭、1.8 頭と高濃度の散布を行った区ほど少なく、明らかに密度の低下を引き起した。一方、蛹数も対照区よりいちぢるしく少くなり、低濃度の散布では対照区のそれのほぼ半、高濃度では半に低下し、明らかに GV の散布による効果と判断された。12日目の調査では幼虫、蛹数ともいちぢるしく増加した。

の結果から本病の利用を考慮した場合、季節的配慮の必要が少なく、有利であると考えられた。

異種昆虫に対する病原性

コナガ GV の他のりん翅目昆蟲に対する病原性についての結果を第4表に示した。すなわち、同じキャベツ害虫であるタマナギンウバ、ヨトウガ、モシロチョウの1令および2令幼虫に対し、いずれにも病原性を示さなかった。この結果は ASAYAMA and OSAKI (5) の報告と一致していた。HUGER (6) は GV は一般に寄主特異性がきわめて高いと指摘したが、これらはその考えを裏付けるものであろう。

キャベツ畑における散布効果

キャベツ畑にコナガ GV の散布を行った結果は第5表の通りである。試験は定植1カ月後のキャベツ畑を28株、7m²づつに3等分して行なった。GV の散布液は老熟り病死虫1頭または10頭を100mℓの蒸留水に懸濁し、これにToriton X-100を1,000倍の割合で加え、調整したものである。散布は小型手動スプレーを用い、1978年6月10日に行った。散布後株ごとに生存幼虫数(3~5令幼虫を対象とした)、蛹数、り病死虫数の調査を行った。り病死虫は記録後株からすべてをとり除いた。散布当日の各試験区の株当たり幼虫数は3.4~3.7頭で、主に芯部を食害していた。蛹数は0.5~0.7頭であった。その後徐々に多くなり、散布後12日目の調査時には株当たりの幼虫数が最高に達した。り病虫は散布5目目にかなりの数が出現し、体色の黄化した中にはすでに死亡した幼虫も認められた。その後、急激にり病虫が増加し、9目目に

これは GV の散布時期に、集中したコナガの産卵が行なわれたため、後の幼虫密度が徐々に高まつた結果であろう。この増加にもかかわらず、GV 敷布区の幼虫数は対照区より少なく、特に高濃度の散布区では $\frac{1}{2}$ 以下であり、蛹数は $\frac{1}{2}$ であった。しかし、り病死虫の増加は認められず、14日目には株当たりの蛹数も増加した。この原因については6月22日から連日の降雨によって、り病死虫が流

Table 3. Effect of temperature on the period of lethal infection of a granulosis virus in larvae of *Plutella xylostella*.

Treatment	Temperature	No. of larvae tested ^a	Cumulative mortality on day—							
			3	4	5	6	7	8	9	10
Inoculated ^b	20 °C	30	0 %	0 %	3 %	17 %	37 %	60 %	80 %	99 %
	25 °C	30	0	17	40	80	93	—	—	—
	28 °C	28	7	29	68	93	96	—	—	—
Control ^c	20 °C	25	0	0	0	0	0	0	0	0
	25 °C	25	0	0	0	0	0	0	0	0
	28 °C	25	0	0	0	4	—	—	—	—

a Second-instar larvae.

b The inoculum was adjusted to one infected matured larva per 100ml water.

c No virus fed.

Table 4. Pathogenicity of a granulosis virus of *Plutella xylostella* to some lepidopterous insects^a

Insect species	Instar	No. of larvae tested	No. of larvae infected
<i>Autographa nigropunctata</i>	1	25	0
<i>Mamestra brassicae</i>	1	115	0
	2	82	0
<i>Pieris rapae crucivora</i>	1	30	0
	2	30	0
<i>Plutella xylostella</i>	2	36	32

a The inoculum was adjusted to one infected matured larva per 10ml distilled water.

Table 5. Changes in the number of healthy larvae and pupae per cabbage plant in plots treated with a granulosis virus^a

Days after application	Treatment ^b						Control		
	1 infected matured larvae per 100ml			10 infected matured larvae per 100ml			No. of healthy larvae	No. of pupae	No. of infected larvae
	No. of healthy larvae	No. of infected larvae	Larvae	No. of healthy larvae	No. of infected larvae	Pupae			
	Larvae	Pupae	Larvae	Larvae	Pupae	Larvae			
0	3.4	0.7	0	3.5	0.5	0	3.7	0.7	0
5	2.4	0.4	0.1	2.2	0.4	0.6	2.6	1.1	0
9	2.5	0.3	2.4	1.8	0.2	2.2	5.3	1.6	0
12	10.0	0.9	2.1	7.1	0.1	2.7	14.9	2.0	0
14	4.9	1.2	1.2	5.9	1.1	2.3	7.3	3.1	0.1

a There were 28 cabbage plants in each test plot.

b The virus suspension was spray with a hand sprayer.

失し、調査時の死亡数が実際の死亡数より過少評価にな
ったことと、キャベツに付着したGVが散布後2日と3

日目の降雨によって流失し、幼虫への感染が低下したた
めと考えられる。14日目以降は梅雨あけの高温のためか

キャベツ畑の幼虫、蛹とも激減し、調査を打ち切った。コナガは発生回数も多く、他のりん翅目害虫に比較して1世代の所要日数も著しく短かい。したがって、発生の最盛時には次々と産卵され、ふ化してくる幼虫にGVを高率で経口感染させが必要である。そのためにはさらに散布方法、回数の検討が必要であろう。

摘要

1976年6月、都農試江戸川分場のキャベツ畑に発生したコナガ幼虫にGVのり病虫が多数発見された。り病虫は体色が黄白色を呈し、体節が異常に膨らんでいた。

り病死虫から分離したGVの封入体の大きさは $346 \pm 30\text{ nm}$ 、巾が $221 \pm 21\text{ nm}$ であった。

GVの幼虫に対する濃度別感染では1令および2令幼虫に強い病原性を示した。また、5令幼虫にGVを経口接種した場合、それが蛹化してからの発病はきわめて低率であった。

環境温度と感染致死期間の関係では高温ほど発病が早く、 28°C で6日、 20°C では10であった。

コナガのGVはタマナギンウワバ、ヨトウガ、モンシロチョウに感染しなかった。

キャベツ畑におけるGV懸濁液の散布は、コナガ幼虫に高い感染を引き起した。その結果、キャベツ1株当たりの幼虫、蛹数は対照のそれよりいちぢるしく減少した。

引用文献

- 浅川勝（1975）農業害虫の殺虫剤抵抗性の実態、植物防疫29：257～261。
- 浅山哲（1975）顆粒病ウイルスに感染したコナガ脂肪体における管状構造の発達、応動昆19：216～217。
- 浅山哲（1976）コナガ顆粒病ウイルスの封入体の形態、応動昆20：44～45。
- 浅山哲・稻垣育雄（1975）コナガ顆粒病ウイルス感染に伴なう細胞の変化とnucleocapsidの出現部位、応動昆19：79～78。
- Asayama, T. and N. Osaki(1970) A granulosis of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. J. Invertebrate Pathol., 15 : 284～286.
- Huger(1963) Granulosis of insect. In "Insect pathology" (Steinhaus, E. A. ed) Academic press New York. 1 : 531～575。
- 腰原達雄・山田偉雄（1976）ナタネ芽ばえによるコナガの簡易大量飼育法、応動昆20：110～114。
- 佐藤威・山田偉雄・於保信彦（1977）リンゴモンハマキの顆粒病ウイルス、応動昆21：174～176。
- Smith, K. M. (1967) Insect Virology, Academic Press, New York, 256pp。
- Steinhaus, E. A. (1949) and K. M. Hughes, and H. B. Wasser(1949) Demonstration of the granulosis virus of the variegated cutworm, Jour Bact., 57 : 219～224.
- Tanada, Y. (1953) Description and characteristics of a granulosis virus of the imported cabbageworm. Proc. Hawaii Ent. Soc., 5 : 235～260.
- 東海林修・野村健一（1975）コナガ系統に対するDDVPおよびBT剤の効果比較、応動昆19：298～299。