

2. 天敵微生物実用化試験

(1) 不織布に培養した *Beauveria bassiana* の保存方法の開発

中村健一・陳野好之¹⁾・串田 保¹⁾

〔目的〕

これまで実施してきた *Beauveria bassiana* (以下、*B. bassiana*) を培養した不織布によるマツノマダラカミキリ (*Monochamus alternatus* Hope) 防除試験によって、この防除方法に一定の効果があることが認められた。しかし、*B. bassiana* は糸状菌の一種で、その活性は温度や湿度等の環境条件の変化に大きな影響を受ける。今後、この防除方法を事業化 (大量施用) するためには、その活性を保持した状態で保存しなければならない。

そこで、これらの方法を確立し、*B. bassiana* を培養した不織布による防除の事業化を目指す。ここでは、*B. bassiana* を培養した不織布の保存法による活性度 (孢子形成数、発芽率) の推移を調査した。

〔方法〕

はじめに、試験管培養した *B. bassiana* を 1% 酵母エキス加用 Sabourand しょ糖液体培地 (SSY 培地) で振とう培養した。そして、この培地 (接種源) を 1% 酵母エキス加用ブドウ糖寒天培地 (SDY 寒天培地) の寒天が溶けた状態 (約 70°C) の中に 20% 混合し、よく攪拌して、43×5 cm の不織布に含浸させた。この不織布を恒温恒湿槽内 (25°C、関係湿度 80%) に設置したステンレス製の棚に、両面に *B. bassiana* を培養した不織布は棚の上段に洗濯ばさみで固定して吊るし、片面培養の不織布は塩化ビニール製の板の上に置いた。また、棚の中を保湿するため棚全体をビニールシートで覆った。培養日は 1999 年 3 月 30 日から 4 月 6 日までの 7 日間とした。これによって、棚に吊した不織布では両面に、塩化ビニール製の板の上ではその上面に *B. bassiana* の孢子が多数形成された。

培養後は、ビニールパック (家庭用真空パック) に封入する方法およびブラカップ (ふた付きプラスチック製カップ、φ110mm×50mm) に丸めて入れる方法により 5°C および 10°C の暗黒下で保存した。そして、*B. bassiana* の発芽が認められなくなるまで孢子形成数とその発芽率を調査した。

孢子形成数は、不織布の表面 1.0×1.0cm から白金ループにより孢子を採集し、Tween80 を加えた滅菌水 1ml が入った管ビンに入れ、よく攪拌してからエルマー血球計算盤により数えた。孢子の発芽率は、白金耳で不織布上の孢子をかきとり、シャーレ内の SDY 寒天培地に擦りつけ、コンラージ棒で拡散させた。そして、25°C で約 20 時間培養した後、発芽孢子および不発芽孢子を数え発芽率を求めた。

〔結果〕

保存中における孢子の形成数ならびに発芽率を表-1 に示す。

形成孢子数は保存中もとくに減少することはなかった。これは、培養時に形成された孢子がそのまま不織布に残っていたものと考えられる。次に孢子の発芽率は、保存 62 日目においてビニールパックの 10°C 区の発芽率が低下し、90 日目には 10°C 区のすべてにおいて発芽率は 20% 以下となった。さらに、119 日目以降はすべての区において、ほとんど発芽がみられなくなった。

これらの結果から、*B. bassiana* を培養した不織布は 5°C で保存し、保存後 2 ヶ月以内に施用するのが望ましいと考えられる。

¹⁾ (財) 林業科学技術振興所多摩事務所

表-1 保存中における *Beauveria bassiana* の活性度調査

保存方法	培養方法	保存温度 (°C)	培養時 (4/6)		保存30日目		保存62日目		保存90日目	
			形成数 個	発芽率 %	形成数 個	発芽率 %	形成数 個	発芽率 %	形成数 個	発芽率 %
ビニールパック	両面	5	—	—	3,870	94.6	5,370	95.8	12,680	67.8
		10	3,080	91.7	6,280	98.3	2,780	42.6	6,420	18.7
	片面	5	—	—	5,990	96.1	7,390	84.7	10,160	68.0
		10	17,030	96.3	10,880	98.9	20,600	50.2	12,660	14.4
プラカップ	両面	5	—	—	7,020	98.7	11,600	78.7	11,800	25.3
		10	3,080	91.7	13,330	97.0	18,100	70.4	16,580	18.0
	片面	5	—	—	7,240	97.2	14,810	93.8	20,340	85.1
		10	17,030	96.3	10,500	96.4	22,120	73.8	15,250	19.2

保存方法	培養方法	保存温度 (°C)	保存 119日目		保存 150日目		保存 178日目		保存 213日目	
			形成数 個	発芽率 %	形成数 個	発芽率 %	形成数 個	発芽率 %	形成数 個	発芽率 %
ビニールパック	両面	5	10,340	11.4	8,920	0	7,270	0	8,580	0
		10	9,110	6.2	3,680	0.4	5,880	1.1	9,630	0.7
	片面	5	7,530	1.1	9,140	0	17,710	0	7,130	0
		10	14,880	3.8	5,230	1.1	18,210	0	17,590	1.3
プラカップ	両面	5	13,970	1.5	9,570	0	12,510	0	10,140	0
		10	18,220	1.5	14,960	0.4	9,670	0	12,540	1.1
	片面	5	16,960	0	9,640	0	9,100	0	11,530	0
		10	14,230	1.5	15,050	0.2	14,760	0	18,350	6.0

注) 形成数 × 10⁴ 個