

3. 天敵微生物実用化試験

(1) 不織布上における *Beauveria bassiana* 菌の簡易培養法の開発 中村健一・陳野好之¹⁾

〔目的〕

これまで実施してきた *Beauveria bassiana* (以下、*B. bassiana*) 菌を培養した不織布によるマツノマダラカミキリ (以下、カミキリ) 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* 菌は糸状菌の一種で、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。このため、これまでの現地試験では *B. bassiana* 菌の胞子を形成させた不織布を慎重に取り扱い、胞子の活性の維持に注意してきた。今後、この防除方法を事業化 (大量施用) するためには、簡易な方法で *B. bassiana* 菌を培養し、その活性を保持した状態で保存し、現地に輸送しなければならない。

そこで、これらの方法を確立し、*B. bassiana* 菌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、野外において *B. bassiana* 菌の胞子を片面及び両面に形成させた不織布及び培養室内において片面のみ培養した不織布上の *B. bassiana* 菌の活性度を調査した。

なお、この試験は大島支庁産業課大室秀実氏にご協力いただいた。

〔方法〕

これまでの方法では *B. bassiana* 菌の胞子を形成させた不織布を試験地に持ち込んで施用していた。しかし、胞子が形成される前の状態、つまり不織布に菌糸が繁殖した状態の方が保存や輸送が容易であると考えた。そこで、大島支庁管内大島町北部の薄暗い林内に、ビニール被覆、鉄線製の亀甲金網で組み立てた簡易培養装置 (800 × 200 × 910mm) (以下、装置) を設置した。そして、培養室内で *B. bassiana* 菌を不織布の片面及び両面に菌糸の状態まで培養し、この状態で大島町に冷蔵輸送し、装置に取り付けた (写真-1)。取り付けたのち装置は寒冷紗で覆った。さらに、簡易に胞子を形成させるため、野外に設置してある既存の物置内にも菌糸状態の不織布を取り付けて胞子形成を試みた (写真-2)。取り付けは1997年9月11日に行い、6日間培養し胞子を形成させた。

つぎに、輸送を容易にするために、培養室内で不織布の片面のみに *B. bassiana* 菌を培養した。そして、胞子を形成させた状態で大島町に冷蔵輸送した。対照として、培養室内で *B. bassiana* 菌を胞子の状態まで両面に培養した不織布 (従来の培養方法) も輸送した。

これらの不織布は、薄暗い林内に設置したカミキリの幼虫が生息しているクロマツの幹丸太 (L=100cm) に固定した。さらに、不織布施用地の環境条件を変えるため、胞子の状態で輸送した不織布は日の良く当たる林外にも置いた。施用日は1997年9月17日である。

胞子の活性力は、不織布上における胞子の形成数と発芽率により判定した。胞子形成数は、不織布の表面 1.0 × 1.0 cm から白金ループにより胞子を採集し、Tween80 を加えた滅菌水 1 ml が入った管ビンに入れ、よく攪拌してから血球計算盤により数えた。胞子の発芽率は、白金耳で不織布上の胞子をかきとり、シャーレ内の S D Y 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℃ で約 20 時間培養した後、発芽胞子及び不発芽胞子を数え発芽率を求めた。

1) (財) 林業科学技術振興所多摩事務所

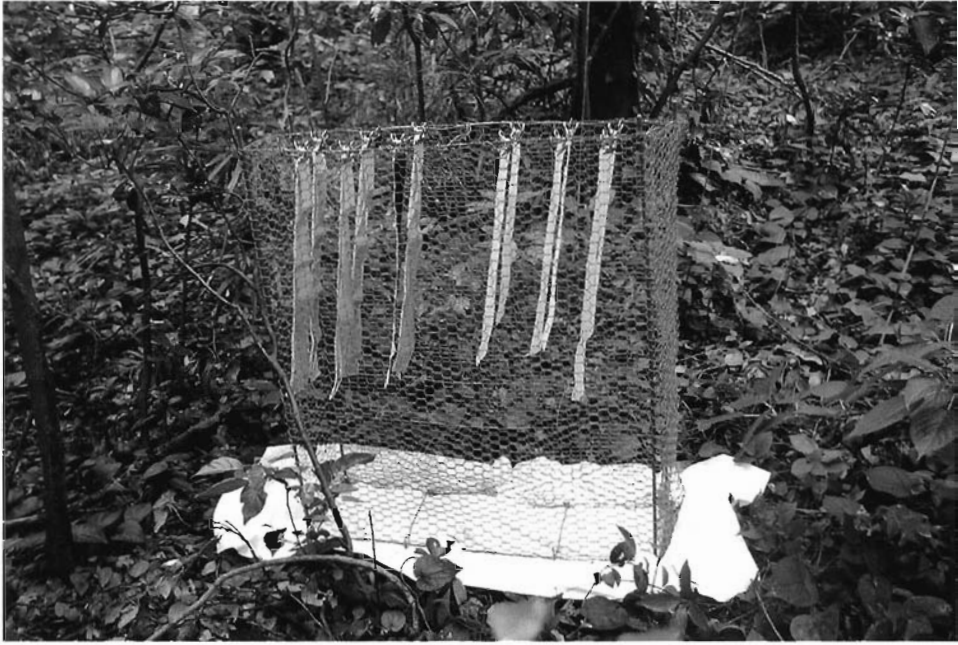


写真-1 簡易培養装置で培養中の不織布



写真-2 物置内で培養中の不織布

調査は、施用日（1997年9月17日）及び施用後7日目（9月24日）、14日目（10月1日）、21日目（10月8日）、41日目（10月28日）、75日目（12月1日）に行った。

〔結果〕

装置及び物置内の温湿度を表-1に示す。どちらの場所においても胞子の形成に適した温湿度を示したが、胞子形成後の不織布は乾燥した状態であった。

つぎに、*B. bassiana*菌の胞子形成数及び発芽率を表-2に示す。装置及び物置内で胞子を形成させた場合、培養室内に比べ形成数は半分から数分の1と少なかった。また、これらの不織布をカミキリの幼虫が生息しているクロマツの幹丸太に固定して胞子の消長を調べた結果をみると、調査開始後日数の経過とともに、胞子を形成させた場所にかかわらず胞子形成数は減少した。とくに表面の胞子は、14日目以降物置内で胞子を形成させた場合を除いて、ほとんど認められなくなった。さらに、物置内で胞子を形成させた場合を除いて、表面における発芽率は21日目には失われていた。しかし、裏面では発芽率の低下はみられたものの、調査終了時までその活性は持続した。

なお、胞子形成場所による活性度に傾向はみられなかった。

表-1 胞子形成期間中の温湿度 (97/9/11 14:00~97/9/17 16:30)

| 調査場所 | 項目 | 最大 | 最小 | 平均 |
|---------|--------|------|------|------|
| 簡易培養装置内 | 温度(°C) | 29.4 | 21.4 | 23.6 |
| | 湿度(%) | 99.0 | 80.0 | 94.2 |
| 物置内 | 温度(°C) | 33.5 | 19.6 | 24.4 |
| | 湿度(%) | 76.0 | 62.0 | 72.9 |

注) 簡易培養装置内に設置した温湿度センサーが計測の途中に故障したため、簡易培養装置内の温湿度の記録は9月15日16:45までのものである。

表-2 B. bassiana 菌の孢子形成数及び発芽率

| 孢子形成場所 | 施用地 | 培養形態 | 面 | 不織布施用日 | | 7 日 目 | | 14 日 目 | |
|--------|-----|------|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | | | 形成数 個 | 発芽率 % | 形成数 個 | 発芽率 % | 形成数 個 | 発芽率 % |
| 実 験 室 | 林内 | 片面 | 裏 | 1,536 | 80.9 | 686 | 94.0 | 129 | 87.8 |
| | | 両面 | 表 | 1,605 | 90.3 | 34 | 90.1 | 1 | 66.3 |
| | | 両面 | 裏 | 2,463 | — | 493 | 96.3 | 84 | 90.4 |
| | 林外 | 片面 | 裏 | 1,249 | 90.3 | 691 | 84.4 | 81 | 93.5 |
| | | 両面 | 表 | 779 | 78.0 | 2 | 89.1 | 0 | * 38.2 |
| | | 両面 | 裏 | 805 | — | 31 | 90.3 | 42 | 35.7 |
| 簡易培養装置 | 林内 | 片面 | 裏 | 366 | 74.8 | 118 | 96.0 | 76 | 89.9 |
| | | 両面 | 表 | 328 | 84.4 | 10 | 0 | 0 | * 71.0 |
| | | 両面 | 裏 | — | — | 12 | 84.0 | 31 | 83.4 |
| 物 置 | 林内 | 片面 | 裏 | 304 | 89.7 | 78 | 93.4 | 67 | 87.6 |
| | | 両面 | 表 | 560 | 89.8 | 42 | 92.2 | 3 | 73.6 |
| | | 両面 | 裏 | 494 | — | 144 | 89.3 | 175 | 97.6 |

| 孢子形成場所 | 施用地 | 培養形態 | 面 | 21 日 目 | | 41 日 目 | | 75 日 目 | |
|--------|-----|------|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | | | 形成数 個 | 発芽率 % | 形成数 個 | 発芽率 % | 形成数 個 | 発芽率 % |
| 実 験 室 | 林内 | 片面 | 裏 | 147 | 67.2 | 47 | 87.4 | 3 | 24.5 |
| | | 両面 | 表 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 両面 | 裏 | 54 | 84.6 | 15 | 61.6 | 81 | 63.1 |
| | 林外 | 片面 | 裏 | 51 | 85.6 | 182 | 75.4 | 11 | 19.1 |
| | | 両面 | 表 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 両面 | 裏 | 6 | 70.2 | 9 | 80.6 | 11 | 31.8 |
| 簡易培養装置 | 林内 | 片面 | 裏 | 27 | 27.3 | 1 | 35.2 | 27 | 38.9 |
| | | 両面 | 表 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 両面 | 裏 | 38 | 69.1 | 18 | 68.5 | 9 | 42.9 |
| 物 置 | 林内 | 片面 | 裏 | 43 | 81.9 | 163 | 75.2 | 135 | 80.9 |
| | | 両面 | 表 | 14 | 50.8 | 12 | 50.8 | 1 | 31.6 |
| | | 両面 | 裏 | 73 | 84.3 | 44 | 84.3 | 41 | 21.3 |

注) 形成数 : $\times 10000$

* : 分生子の形成が認められなかったので、不織布の広い範囲から採集した。