

昆虫寄生性 *Lecanicillium* spp. を用いた ビニールハウス栽培における オンシツコナジラミ (*Trialeurodes vaporariorum*) の防除

相内大吾^{1), 2)}・堀江早弥佳¹⁾・渡邊敏弘¹⁾・谷 昌幸¹⁾・
山中 聡³⁾・小池正徳¹⁾

¹⁾ 帯広畜産大学畜産学部, ²⁾ 岩手大学大学院連合農学研究科, ³⁾ (株) アリスタライフサイエンス
(2008年11月25日受付; 2009年2月4日受理)

Biological Control of Greenhouse Whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* by Entomopathogenic Fungus *Lecanicillium* spp. in Greenhouse

DAIGO AIUCHI, SAYAKA HORIE, TOSHIHIRO WATANABE, MASAYUKI TANI, SATOSHI YAMANAKA and MASANORI KOIKE

The utility of *Lecanicillium* sp. hybrid strain 2aF43 which shown to have high control potential at *in vitro*, to control greenhouse whitefly on tomato and cucumber foliage in greenhouse were investigated. The fungal persistence on the leaf surface was simultaneously evaluated. On tomato foliage, the number of adult whitefly in control plot significantly increased to 130 adults/leaf during 12 weeks. Whereas in 2aF43 and Mycotol-formulation plots, adult density was remained extremely low level (0 to 2 adults/leaf) for 10 weeks. Also on cucumber foliage, both fungal strains application resulted in lower density of adults (under 2 adults/leaf) compared to control plot for 5 weeks. The density of 2aF43 propagules on both plant foliages was significantly higher than formulated Mycotol. Especially, 2aF43 was detected in high density (6.6×10^4 cfu/cm²) on tomato foliage, indicating possibility that not only persisting, this strain also growing on foliage under given conditions. Evidence suggested that hybrid strain 2aF43 has the potential for controlling early emergence of greenhouse whitefly and the possibility for long term effect in greenhouse use.

Key words : Biological control, Fungal persistence, Greenhouse whitefly, *Lecanicillium* spp., *Trialeurodes vaporariorum*, *Verticillium lecanii*

緒 言

Lecanicillium spp.は、アブラムシやコナジラミをはじめとする様々な節足動物に対する寄生性を示す。日本では北沢ら (1984) によって初めて分離され、その後アブラムシ類 (西東, 1988) やコナジラミ類 (増田・菊地, 1993) の防除試験が報告されている。現在、日本ではオランダの Koppert Biological Systems よりアブラムシ類防除用に Vertalec[®], コナジラミ類およびアザミウマ類防除用に Mycotol[®]が販売されている。また、帯広畜産大学構内より分離された系統である B-2 は低湿度条件下でも葉面で高い生存能力を持つことがわかった (KOIKE et al., 2004)。これまで著者らは微生物防除資材としてより効果的な系統を作出する事を目的として Vertalec[®], Mycotol[®], B-2 の3系統間でプロトプラスト融合を行い、有用系統の選抜を行った (相内ら, 2007; AIUCHI et al., 2008)。その後の室内実験により Mycotol[®]と B-2 の融合株である 2aF43 がオンシツコナジラミの各生育ステージに対し高い病原性を示す事が確認された (相内ら, 未発表)。本研究では室内レベルで高い効果を示した融合株 2aF43 を用い、野外のビニールハウスにおいてトマトとキュウリで発生したオンシツコナジラミに対する防除試験を実施し、その実用性を

評価すると共に葉面上での菌密度について評価した。

材料と方法

供試菌株および供試昆虫: 供試した *Lecanicillium* spp. は上述の融合株である 2aF43 とオランダの Koppert Biological Systems (Netherlands) の Mycotol[®] 製剤を用いた。2aF43 はジャガイモブドウ糖液体培地を用い、25 °C で 14 日間振とう培養した。採取した blastospore は血球計算盤を用いて 1.0×10^7 blastospore/ml に調整し、0.05% Tween 20 を加用した。Mycotol[®] は市販されているものを用い、1,000 倍希釈して 3.0×10^6 spore/ml に調整した。いずれの菌株も散布前に少量の水に懸濁し 3 時間程度放置してから、最終濃度に調整している。対照区は水道水に 0.05% Tween20 を加用したものをを用いた。供試昆虫は 2006 年に帯広畜産大学構内のビニールハウスより採取し、同ガラス室 (25 °C) 内に設置したスクリーンケージ (1 m × 1 m × 1 m) 内でインゲン (耐病モロッコ, タキイ種苗) を用い累代飼育したオンシツコナジラミ成虫を用いた。

試験方法: 帯広畜産大学構内のトマト (桃太郎ファイト) およびキュウリ (夏すずみ) を定植したビニールハウス内で防除試験を実施した (それ

^{1), 2)} 〒080-8555 帯広市稲田町西 2 線 11 番地
連絡先: koike@obihiro.ac.jp

ぞれ 7.4 m×17.0 m, 5.7 m×17.0 m)。トマトとキュウリは 2008 年 5 月 30 日に畝幅 100 cm, それぞれ 2 条千鳥 (株間 80 cm) と単条 (株間 50 cm) で定植し, 主枝 1 本に仕立てた。

試験区は対照区, Mycotal[®] の 1,000 倍希釈液散布区および 2aF43 の 1.0×10^7 blastospore/ml 散布区の 3 区を設置し, それぞれ 1 処理区につき 10 株, 4 反復で実施した。最初の散布から 1 週前の 6 月 27 日および 3 度目の散布後の 7 月 21 日に 1 処理区につき 120 頭と 40 頭の成虫をそれぞれ放飼した。散布は肩掛け噴霧器を用いて 7 月 4 日, 7 月 11 日, 7 月 18 日, 7 月 25 日 (いずれも夕方) の 4 回行った。散布量は 1 処理区あたり 1.6 l, 株がまだ小さかった 7 月 4 日のみ 1.0 l とした。なお, 使用したビニールハウスは試験期間中側窓を開放し, 散布日のみ夜間側窓を閉じた。試験期間中の気温および湿度はデータロガー記憶計 SK-L200TH II α (株式会社佐藤計量器製作所) を用い, 1 時間間隔で記録した。成虫密度の調査方法は各処理区 10 株の内, 中 4 株を調査株とし上位 3 葉と下位 3 葉に寄生しているオンシツコナジラミ成虫数を調査した。調査はトマトで 7 月 4 日から 9 月 19 日まで, キュウリでは 7 月 4 日から 8 月 8 日までの毎週行った。

葉面の菌密度の評価は, 以下の通り行った。調査株 4 株の接種葉 1 枚からそれぞれ 0.5×1.0 cm のリーフディスクを回収し, 滅菌水中に懸濁した。適切な濃度に希釈した懸濁液を糸状菌用ローズベンガル培地に塗付することで生じた *Lecanicillium* spp. のコロニー数を倒立顕微鏡下で計数し, その値を 1 cm^2 あたりの Colony forming units (cfu) に換算した。サンプリングはトマトとキュウリの成虫数調査の最終日に行った。

データ解析: 成虫密度のデータは対数変換 ($\text{Log}(x+1)$) した後, 葉面菌密度のデータは平方根変換 ($\text{Sqr}(x+0.5)$) した後, 調査日のデータごと

に一元配置分散分析処理した上で Tukey の HSD 検定により多重比較した。なお, 変数変換前のデータを文中および図中に記載している。

結 果

試験期間中のビニールハウス内の平均気温は $21.1 \text{ }^\circ\text{C}$ (最高 $43 \text{ }^\circ\text{C}$, 最低 $10 \text{ }^\circ\text{C}$), 平均湿度は 81.4% (最高 100%, 最低 24%) となった。時間ごとでは, 23 時~9 時にかけて平均湿度が 90% を超えた。

Fig. 1 にトマトでのオンシツコナジラミ防除効果を示した。最終散布日の 7 月 25 日を境に対照区上位葉で成虫密度が上昇し, 8 月 15 日に 1 度目の発生のピークを迎え, 8 月 29 日以降成虫個体数は著しく上昇した。それに対し, Mycotal[®] および 2aF43 処理区の上位葉は 9 月 5 日 (最終散布から 6 週間) まで一葉あたりそれぞれ 0.2~2.4 頭, 0.02~2.0 頭と極めて低い密度で推移し, その後上昇傾向を示した。両処理区の上位葉は 8 月 1 日以降対照区に対し有意に低い成虫密度 ($p < 0.01$) を維持した。なお, 試験期間を通じて Mycotal[®] および 2aF43 処理区の上位葉間に成虫個体数の有意な差は認められなかった。対照区の下位葉は上位葉における成虫密度の 1 度目のピーク形成および 8 月 29 日以降の上昇に連動して密度が上昇した。それに対し Mycotal[®] と 2aF43 は低い成虫密度を維持した。

次に, キュウリでのオンシツコナジラミ防除効果を Fig. 2 に示す。キュウリにおいても対照区上位葉は最終散布日以降から成虫密度が上昇したのに対し, Mycotal[®] と 2aF43 処理区は 7 月 25 日以降対照区に比べ有意に低い成虫密度を維持した ($p < 0.01$)。対照区下位葉では 8 月 1 日に成虫密度が増加したが, 翌週には減少に転じた。また, 最終散布日以降 Mycotal[®] と 2aF43 処理区の下位葉は対照区に対し有意に低い成虫密度を維持した。

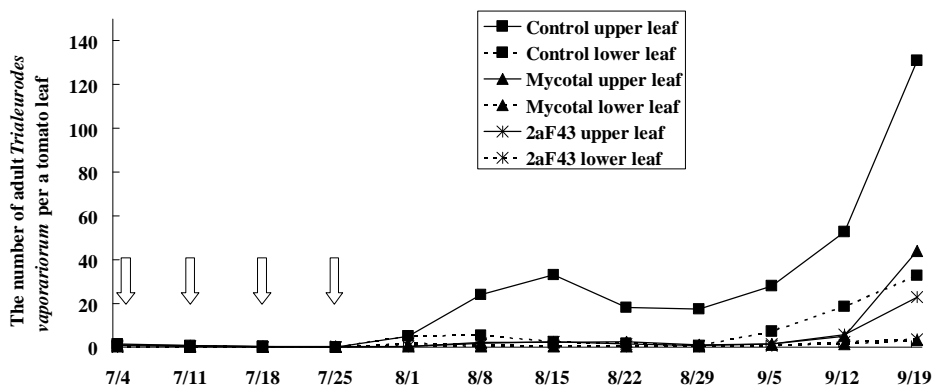


Fig. 1. Effect of 4 times application of *Lecanicillium* spp. hybrid strain 2aF43 and Mycotal-formulation on tomato foliage in greenhouse. Arrows indicates the days of fungal application.

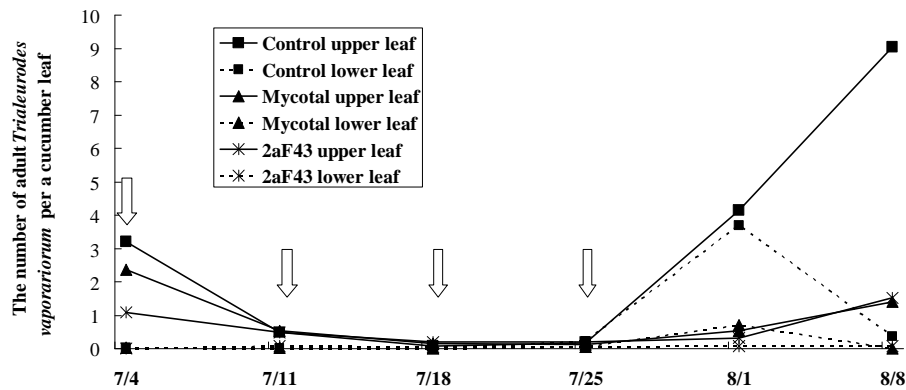


Fig. 2. Effect of 4 times application of *Lecanicillium* spp. hybrid strain 2aF43 and Mycotal-formulation on cucumber foliage in greenhouse. Arrows indicates the days of fungal application.

($p < 0.05$).

葉面菌密度の評価結果を Fig. 3 に示す。トマトおよびキュウリ葉面上の菌密度は共に 2aF43 が他の処理区に対し有意に高い菌密度を示した ($p < 0.05$)。Mycotal®処理区に比べ 2aF43 処理区はトマトで 2.2 倍、キュウリで 2.7 倍高い菌密度を示した。なお、トマトの対照区から 2.1×10^2 cfu/cm² の *Lecanicillium* spp. が検出された。

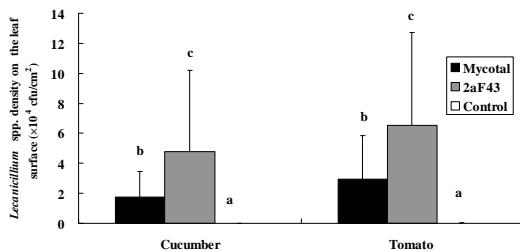


Fig. 3. Density of *Lecanicillium* spp. propagules on tomato and cucumber foliage in greenhouse. Error bars represent standard deviation. Mean *Lecanicillium* spp. densities were square root transformed prior to being analysed. Bars followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$) from each other according to one-way ANOVA followed by Tukey's HSD test.

考 察

まず、トマトでのオンシツコナジラミ防除試験で最終散布日の 7 月 25 日を境に対照区上位、下位葉の成虫密度が上昇した。これは放飼した個体群の次世代の成虫の羽化が始まったものと考えられる。さらに、8 月 29 日以降の著しい成虫密度の上昇は 3 世代目の成虫の羽化によるものである。それに対し、Mycotal®と 2aF43 処理区で 2 世代目の成虫密度が上昇しなかったのは、両菌株の散布により放飼した成虫およびその次世代の卵から 4 齢幼虫期までの個体が感染を受け死滅したことを示している。さらに、本試験の注目すべき点は両菌

株の最終散布後 6 週間に亘って成虫密度が上昇しない事である。しばしば対照区において成虫の感染個体が見られたことから、対照区一菌処理区間である程度の株間移動が起きていると推察される。よってこの長期間の密度抑制効果は直接的な初期発生の抑制によるものだけでなく、飛来した成虫のコロニー形成も抑制した可能性を示唆している。また、9 月 19 日における菌処理区の成虫密度の上昇は、対照区でのすす病の激発と葉上のオンシツコナジラミ密度の飽和により生息環境が悪化したため株からの離脱個体が増加し、成虫の株間移動が活発化したものと思われる。

次に、キュウリでのオンシツコナジラミ防除試験においても最終散布日の 7 月 25 日以降、対照区で成虫密度が上昇した。トマトにおける対照区の密度上昇具合に比べると低い密度ではあるが、キュウリでのすす病発生の限界成虫密度が 2~10 頭とされていることから (山田ら, 1979) 既に要防除水準に達しているものと考えられる。両菌株処理区は成虫数が増加することなく 2 頭以下の密度に抑えられた。しかし、次々と新たなつるを展開するキュウリの場合、感染を逃れた成虫は未接種の新葉へと移動するため (山田ら, 1979)、繰り返し散布が不可欠であるとされている (HALL, 1981; HALL, 1982; KANAGARATNAM et al., 1982)。また、今回トマトでは 11 週に亘って調査を行ったのに対し、キュウリでは 5 週間のみの調査となった。これはビニールハウス内にキュウリ褐斑病 (*Corynespora cassiicola*) が蔓延し、試験の続行が困難となったためである。今後、2aF43 を実用レベルで用いることを想定すれば、各種殺菌剤との親和性を調査する必要があると思われる (西東・藪田, 1996)。

植物体上における菌体の残存・生育は標的害虫への間接的感染源として重要である (INGLIS et al., 2000)。葉面上で *Lecanicillium* spp. は単独でも植物体からの滲出物を腐生的に利用する事で生存する

ことが可能である (VERHAAR et al., 1997)。さらに、融合株 2aF43 はビニールハウス条件下のキュウリ葉面上で分生子形成に至るまで生育することが確認されている (GOETTEL et al., 2008)。両植物体上で展着剤のみを添加した 2aF43 は製剤化されている Mycotal® に比べ高い菌密度を示した。特にトマトでは最終散布日から 8 週経過しているにもかかわらず 2aF43 は 6.6×10^4 cfu/cm² と高密度で検出されたことは、単純に残存しただけでなく、与えられた条件下で抑制的に生育している可能性を示唆している。糸状菌による生物防除では散布した感染源による防除効果だけでなく、昆虫の移動や接触によって害虫の個体群内に感染が拡大していくことが期待される (HALL, 1981; HALL, 1984; ROY and PELL, 2000)。また、二次感染以降の伝播の拡大は、添加剤の保護なしに、その菌に内在する残存・生育能力を基に引き起こされる。よってこの様な 2aF43 の能力は、感染の拡大という点から非常に重要な特性であると考えられる。

一般にオンシツコナジラミを防除する際、初期発生を抑える事が最も重要である。本研究では 4 回の *Lecanicillium* sp. プロトプラスト融合株 2aF43 の散布によってその初期発生を Mycotal® 製剤と同等に抑制できる事を証明した。今後は、どこまで散布回数を減らせるか、散布濃度を落とせるか調査する必要がある。また、2aF43 の最たる特徴である葉面での残存・生育能力を活かした散布方法 (例えば予防的な施用や未散布葉・健全個体への拡散) も検討を要する。

摘 要

室内実験において微生物防除資材としての有用性を示した *Lecanicillium* spp. プロトプラスト融合株 2aF43 を用いてビニールハウス内のトマトおよびキュウリにおいてオンシツコナジラミに対する防除効果を調査した。同時に両植物体の葉面における残存能力も評価した。トマトでは対照区でオンシツコナジラミ成虫密度が 12 週間に 1 葉あたり 130 頭にまで増加したのに対し、2aF43 および Mycotal® 製剤処理区では 10 週間極めて低い密度を維持した (1 葉あたり 0~2 頭)。同様にキュウリにおいても両菌株処理区の成虫密度は対照区に比べ低値を示した (1 葉あたり 2 頭以下)。両植物体葉面上の 2aF43 の密度は Mycotal® 製剤に比べ有意に高い値を示した。以上の結果からプロトプラスト融合株 2aF43 はビニールハウスにおけるオンシツコナジラミの初期発生を抑制し、長期に亘る防除効果を示す可能性が示された。

文 献

相内大吾・馬場ゆき子・稲見圭吾・新屋良治・谷昌幸・倉持勝久・堀江早弥佳・小池正徳 (2007) ワタアブラムシ、オンシツコナジラミに対する病

原性と葉面上での生存能力に基づいた *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) プロトプラスト融合株の選抜. 応動昆, **51**, 205-212.

AIUCHI, D., INAMI, K., SUGIMOTO, M., SHINYA, R., TANI, M., KURAMOCHI, K. and KOIKE, M. (2008) A new method for producing hybrid strains of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) through protoplast fusion by using nitrate non-utilizing (*nit*) mutants. *Micol. Apl. Int.*, **20**, 1-16.

GOETTEL, M. S., KOIKE, M., KIM, J. J., AIUCHI, D., SHINYA, R. and BRODEUR, J. (2008) Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *J. Invertebr. Pathol.*, **98**, 256-261.

HALL, R. A. (1981) The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. In: Burges, H. (Ed.), *Microbial Control of Pests and Plant Disease*. Academic Press Inc., London, pp. 483-498.

HALL, R. A. (1982) Control of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid, *Aphis gossypii* in glasshouse by two isolates of the fungus, *Verticillium lecanii*. *Ann. appl. Biol.*, **101**, 1-11.

HALL, R. A. (1984) Epizootic potential for aphids of different isolates of fungus *Verticillium lecanii*. *Entomophaga*, **29**, 311-321.

INGLIS, G. D., IVIE, T. J., DUKE, G. M. and GOETTEL, M. S. (2000) Influence of rain and conidial formulation on persistence of *Beauveria bassiana* on potato leaves and colorado potato beetle larvae. *Biol. Control*, **18**, 55-64.

KANAGARATNAM, P., HALL, R. A. and BURGESS, H. D. (1982) Control of glasshouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, by an 'aphid' strain of the fungus *Verticillium lecanii*. *Ann. appl. Biol.*, **100**, 213-219.

北沢健治・藤沢一郎・今林俊一 (1984) アブラムシおよびオンシツコナジラミの天敵糸状菌 *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas の分離. 日植病報, **50**, 574-581.

KOIKE, M., HIGASHIO, T., KOMORI, A., AKIYAMA, K., KISHIMOTO, N., MASUDA, E., SASAKI, M., YOSHIDA, S., TANI, M., KURAMOCHI, K., SUGIMOTO, M. and NAGAO, H. (2004) *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) as epiphyte and their application to biological control of pest and disease in a glasshouse and a field. *IOBC/warp Bulletin*, **27**, 41-44.

増田俊雄・菊地 修 (1993) 昆虫病原菌 (*Verticillium lecanii*) 製剤によるオンシツコナジラミの防除. 北日本病害虫研報, **44**, 191-193.

ROY, H. E. and PELL, J. K. (2000) Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: Implications for biological control. *Biocontrol Sci. Technol.*, **10**, 737-752.

西東 力 (1988) *Verticillium lecanii* 製剤によるワタアブラムシの防除と農薬の影響. 応動昆, **32**,

224-227.

西東 力・藪田実男 (1996) *Verticillium lecanii* の感染および病死体上の菌糸発育に対する各種殺菌剤の影響. 応動昆, **40**, 71-76.

VERHAAR, M. A., OSTERGAARD, K. K., HIJWEGEN, T. and ZADOKS, J. C. (1997) Preventive and curative

applications of *Verticillium lecanii* for biological control of cucumber powdery mildew. *Biocontrol Sci. Technol.*, **7**, 543-551.

山田偉雄・腰原達雄・田中 清 (1979) 施設栽培のキュウリにおけるオンシツコナジラミの発生動態. 野菜試験場報告, **A.5**, 191-199.