卵接種前の人工飼料の粉碎加工による イモゾウムシの生存率向上の試み

大野 豪^{1,2,*}・佐々木 智基²・浦崎 貴美子²

小濱 継雄^{1,2}

¹ 沖縄県農業研究センター

² 沖縄県病害虫防除技術センター (旧沖縄県ミバエ対策事業所)

A Trial to Improve Survival of the West Indian Sweetpotato Weevil, *Euscepes postfasciatus* (Coleoptera: Curculionidae), by Breaking up Artificial Diet before Egg Seeding on the Diet. Suguru OHNO,^{1,2,*} Tomonori SASAKI,² Kimiko URASAKI² and Tsuguo KOHAMA^{1,2} ¹Okinawa Prefectural Agricultural Research Center, Itoman, Okinawa 901-0336, Japan. ²Okinawa Prefectural Plant Protection Center (former Fruit Fly Eradication Project Office, Okinawa Prefectural Government); Naha, Okinawa 902-0072, Japan. *Jpn J. Appl. Entomol. Zool.* 53: 105-107 (2009)

Abstract: The effect of breaking up the artificial diet of *Euscepes postfasciatus* into small pieces before egg seeding on the diet was examined as a possible method for improving larval survival rate in the mass rearing of the species. Breaking up the diet realized a 10-fold increase in number of emerging adults compared to the use of a non-broken up diet. Although the air permeability of the rearing tray was previously shown to affect survival of the species in a rearing method with a non-broken up diet, it did not significantly affect the survival rate when a broken up diet was used in the present study; therefore, a broken up diet is considered to be effective for ensuring good survival of the species, particularly in terms of a stable survival rate irrespective of the air permeability of the rearing tray.

Key words: Diet processing; furcellaran; Okinawa; quarantine pest; sterile insect release

沖縄県で進められている、サツマイモの害虫イモゾウムシ *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (コウチュウ目: ゾウムシ科) を不妊虫放飼法によって根絶する試みの中で、我々は、本種の人工飼育法を不妊虫放飼に寄与する大量増殖法に拡張するために、従来の卵接種方法、すなわち、乾燥させた卵を飼料表面に並べるか振りかける方法 (下地, 2004) にかわって、卵を海草由来の増粘安定剤の一種であるファーセラン (furcellaran) の水溶液と混合してから人工飼料表面に滴下するという簡便な方法の導入を検討してきた (大野ら, 2006)。Ohno et al. (2009) では、卵接種後の飼料表面にファーセラン水溶液を吸収させるための紙を置き、さらに飼育容器の通気性を確保して水溶液の水分の揮発を促進させることにより、孵化後の生存率が顕著に上昇した。本研究では、本種の生存率向上のためのより簡便な方法を検討する目的で、固形状の飼料を小片に粉碎してから卵を接種し、ファーセラン水

溶液を飼育容器下部に流下させることを試みた。さらに、粉碎飼料使用下における本種の生存・発育を、飼育容器の通気性とも関連させて調べ、得られたデータを従来の粉碎飼料を使用しない方法によって得られたデータ (Ohno et al., 2009) と比較し、粉碎飼料を用いた飼育法の有用性を議論した。

材料および方法

1994年8月に沖縄県読谷村のサツマイモ圃場から採集され、沖縄県ミバエ対策事業所において、25±1°C, 14L10Dの条件下でサツマイモ塊根を用いて累代飼育されたイモゾウムシを用い、以下の試験1においては2003年10月に、試験2においては2004年1月に採卵した。採卵からファーセラン水溶液と卵の混合液の調製までの手順は Ohno et al. (2009) と同様である。人工飼料 (Shimaji and Kohama, 1996) の調製後、ガラスシャーレ (直径9cm, 高さ2cm) に、試験1においては飼料を40gずつ、試験2においては25gずつ分注して底面にすき間なく延ばし、羊羹状に硬化するまで室温で放熱させた。飼料を粉碎する場合は、硬化した飼料をシャーレから取り出し、家庭用フードプロセッサ (MK-K77, 松下電器産業) を用いて外見上幅3mm以下の小片に粉碎したのちシャーレに戻し、40gの場合では飼料の深さが1cm程度、25gの場合では6mm程度になるように均一に詰め込んだ。

試験1. 粉碎飼料の生存率向上効果の検討

粉碎した飼料としていない飼料 (対照区) それぞれ9シャーレずつ用意し、すべてのシャーレの飼料表面に、上記の卵と0.6%ファーセラン水溶液の混合液を2mlずつ、1mlプラスチックチップ (卵が詰まらないよう先端から2mm程度を切り落としたもの) を装着したマイクロピペットを用いて、飼料表面にできるだけ均一に滴下した。シャーレには蓋をし、身と蓋のすき間をセロファンテープで目張りしたうえで、25±1°C, 14L10Dに設定された恒温器中に保管した。飼料へ滴下した卵混合液中に含まれる卵数の決定のため、卵接種作業と並行して、卵混合液から同一のマイクロピペットで1mlをとり、湿らせたろ紙と黒色ナイロンゴースを敷いたプラスチックシャーレ (直径9cm, 高さ1.5cm) 内に滴下し、実体顕微鏡下で卵を計数する作業を10回繰り返した。混合液1mlあたりの平均卵数は38個であり、したがって上記の飼料入りシャーレあたり平均76卵が接種されたものとみなした。さらに、孵化率を調べるため、卵計数後のシャーレに蓋をして上記と同一の恒温器中に保管し、翌日から8日後まで、前半は毎日、後半は1日おきに、シャーレ内の孵化幼虫を計数・除去した。10シャーレのデータをひとまとめにして算出した孵化率は78.9%だった。卵接種済みの飼料入りシャーレについては、恒温器中の配置を少なくとも週1回ランダムに入れ替え、卵接種から66日後に、飼料を取り出してシャーレごとに羽化成虫を計数して処理区間で

比較した。さらに、羽化成虫数と上記の孵化率を用い、孵化後羽化までの生存率（羽化成虫数/（合計接種卵数×孵化率））を処理区ごとに推定した。

試験 2. 飼育容器の通気性と生存率との関連の検討および Ohno et al. (2009) の結果との比較

ここでは、飼料量を Ohno et al. (2009) と同一の 25 g とし、卵混合液も同一のものをを用い、同時期に試験を行った。用いた卵混合液 1 ml あたりの卵数と孵化率は、試験 1 と同様な方法で Ohno et al. (2009) によって決定されており、それぞれ 56 個と 84.8% である。なお、ここで言う従来法とは、粉碎していない飼料に卵混合液を滴下したのち、吸収紙として 5 cm×6 cm の長方形に切ったキムワイプ®（日本製紙クレシア）を 1 枚飼料表面に置き、シャーレ周囲の目張りを行わず、身と蓋を 2 cm 幅のセロファンテープで 2 箇所止めるだけとすることによって通気性を確保する方法である。この通気性確保法がシャーレ内容物の乾燥に有効であることは、内容物重量の経時的変化の測定によって確かめられている（Ohno et al., 2009）。

粉碎飼料入りシャーレは 12 個用意し、試験 1 と同様に卵混合液を 2 ml ずつ滴下して蓋をした。うち 6 個は試験 1 と同様に身と蓋の隙間を 2 cm 幅のセロファンテープで目張りし（通気性なし区）、6 個は身と蓋をセロファンテープで 2 箇所止めるだけとした（通気性確保区）。これらのシャーレは試験 1 と同一の恒温器中に保管し、飼育終了まで少なくとも週 1 回、ランダムに配置を入れ替えた。ここでは、生存率の指標となる羽化成虫数だけでなく、以下に述べる発育期間と成虫サイズの指標も測定した。卵接種後 7 日に 1 回、すべてのシャーレについて、シャーレ外部から観察できる羽化個体を計数し、接種から羽化確認までの週数を発育期間の指標とした。シャーレ外部から観察可能な蛹の羽化が終了した時点（接種後 77 日目）で、シャーレ内容物を取り出し、羽化虫数（シャーレ外部から羽化が観察できた個体とできなかった個体の合計数）を計数した。試験 1 と同様、孵化率と羽化成虫数をもとに孵化後の生存率を推定した。各シャーレから雌雄それぞれ 3 頭をランダムに選び、双眼実体顕微鏡に設置した接眼マイクロメーターによって左上翅長を計測し、これを体サイズの指標とした。このようにして得られた 2 処理区分のデータと、Ohno et al. (2009) の従来法のデータ（6 シャーレ分）の合計 3 群間で、生存率・発育期間・体サイズの指標を比較した。羽化成虫数については、シャーレごとのデータを平方根変換したのち統計検定した。接種から羽化までの週数と上翅長については、異なるシャーレ由来のデータを各群内でひとまとめにして、データを常用対数に変換したのちに検定した。上翅長には雌雄差があるため（Ohno et al., 2009）、雌雄別に比較した。また、異なるシャーレ由来のデータを各群内でひとまとめにして、性比（全羽化虫数に対する雄成虫の比率）および全羽化虫数に対するシャーレ外部から羽化が観察できた成虫数（発育期間を測定することができた個体数）の比率も算出し、処理区間で比較した。

結 果

試験 1. 粉碎飼料の生存率向上効果

飼料を粉碎していない対照区におけるシャーレあたりの平均羽化虫数（±SE）は 1.9 ± 0.6 頭（孵化後の生存率に換算して 3.2%）であったのに対し、粉碎飼料区では 19.4 ± 1.8 頭（同、32.5%）と対照区の 10 倍以上に達し、処理区間で有意な差がみられた（Mann-Whitney の U 検定、 $p < 0.001$ ）。

試験 2. 通気性と生存率との関連および Ohno et al. (2009) との比較

通気性確保区において、1 個のシャーレがバクテリアに汚染されたため、分析から除外した。結果は Table 1 に要約した。羽化成虫数に関しては、通気性なし区（平均 27 頭、孵化後の生存率に換算して 28%）と通気性確保区（同 24 頭、25%）の間に有意差はなく、後者の値だけが Ohno et al. (2009) の値（同 38 頭、39%）より有意に小さかった。性比については 3 群間に有意差はなかった（ χ^2 検定、 $p = 0.79$ ）。発育期間の指標として用いた羽化までの週数については、粉碎飼料の通気性なし区（平均 6.0 週）と通気性確保区（5.7 週）の間に有意差はなく、双方の値とも従来法区の値（6.4 週）より有意に短かった。全成虫に占める発育期間を測定できた個体の割合は、従来法区において 78.3% であったのに対し、粉碎飼料を用いた 2 区では 40% 前後（通気性なし区：41.0%；通気性確保区：38.6%）であった。これらの値は 3 群間で有意に異なったが（ χ^2 検定、 $p < 0.001$ ）、従来法区を除いて 2 群間で比較した場合には有意差はなかった（ $p = 0.68$ ）。この結果は、粉碎飼料を用いた場合において、シャーレ外部から観察できない飼料内で蛹化・羽化した個体がより多いことを示す。体サイズの指標として用いた左上翅長に関しては、雌雄ともに粉碎飼料区で短くなる傾向が認められた。すなわち、雄では粉碎飼料の通気性確保区の値が従来法区の値より有意に小さく、粉碎飼料の通気性なし区の値はそれらの中間であった。雌では粉碎飼料の 2 群の値が双方とも従来法区の値より有意に小さかった。

考 察

本研究では、イモゾウムシの大量増殖法の確立に向けた生存率向上を目的として、卵接種前の人工飼料の粉碎加工が虫の生存・発育に及ぼす影響を調べた。粉碎飼料を用いた場合の羽化虫数は、粉碎していない場合の 10 倍に達したことから、飼料の粉碎によって、ファーセララン水溶液による幼虫の生存への悪影響が防止できたものと推測される。従来法では、飼育容器の通気性はファーセララン水溶液の水分の揮発促進のために必要とされていたが、粉碎飼料を用いた場合には通気性の有無は生存率に有意な影響を及ぼさなかった。このため、粉碎飼料を用いる方法は、Ohno et al. (2009) の方法で必要とされる、飼料上に紙を置く作業や飼育容器の通気性を確保する作業が不要であるという点で、より大量増殖に適しているかもしれない。さらに、シャーレ外部からの羽化の観察に基づき、粉碎飼料を用いた場合、発育期間が短縮される可能性も示唆された。発育期間の短縮ができれば、単位時間当たりの飼育世代数を増加させられるため、間接的に成虫生産数の増加

Table 1. Relationship between air permeability of Petri dishes and survival and development of *E. postfasciatus* when broken up diets were used, and comparisons of the present data and those of the refined rearing method in which a non-broken up diet was used

	Broken up diet		Refined rearing method with non-broken up diet ^a
	Not air permeable	Air permeable	
No. Petri dishes tested	5	6	6
No. emerging adults per Petri dish ^b	26.8±1.9 ab	24.2±2.5 a	37.7±4.1 b
Estimated post-hatching survival rate (%) ^c	28.1	25.3	39.4
Adult male ratio (%)	48.5	51.7	48.2
Weeks from egg-seeding to adult eclosion ^{de}	5.95±0.07 (55) a	5.73±0.08 (56) a	6.37±0.06 (177) b
Left elytron length in mm ^e			
Male	2.34±0.01 (15) ab	2.29±0.03 (18) a	2.39±0.02 (18) b
Female	2.38±0.03 (15) a	2.37±0.02 (18) a	2.47±0.01 (18) b

An average of 112 eggs was seeded on a Petri dish containing 25 g of broken up or non-broken up Shimoji and Kohama's (1996) diet. Air permeability was controlled by sealing the gap between the lid and the body of the Petri dish with cellophane tape.

^aData were obtained and calculated from the experiment conducted by Ohno et al. (2009). In this method, one piece of absorbent paper (Kimwipes®, Nippon Paper Crexia, Tokyo) was placed on the diet surface of each Petri dish after egg seeding, and the gap between the lid and the body of the Petri dish were left open.

^bMean±SE (*n*). Same letters indicate no significant difference (Tukey-Kramer HSD test on square root-transformed data, *p*=0.05).

^cEstimate based on a common egg hatchability (84.8%) measured for eggs that were not seeded on the diet (Ohno et al., 2009).

^dAn indicator of developmental period.

^eMean±SE (*n*). Same letters indicate no significant difference (Tukey-Kramer HSD test on log₁₀-transformed data, *p*=0.05).

につながる。したがって、粉碎飼料の使用はこのような利点をもたらす可能性もある。しかし、本研究においては、粉碎飼料を用いた場合のほうが、シャーレ外部から羽化が観察できた個体の比率が有意に低く 40% 前後であったため、羽化が観察できなかった残りの個体の発育期間も同様に短かったかどうかは明らかでない。

一方で、粉碎飼料法による飼育は、Ohno et al. (2009) の従来法に比べて劣りうる部分があることもわかった。ひとつは生存率である。粉碎飼料を用いた場合の羽化虫数は、飼育容器の通気性を確保しない場合、従来法の値と同等であったが、通気性を確保した場合では従来法より有意に少なくなった (Table 1)。この結果は、今回試みた粉碎飼料の使用は、イモゾウムシの生存に好ましい効果を及ぼすものの、その程度は Ohno et al. (2009) の従来法と同等かあるいは低いものであることを示している。このため、粉碎飼料を用いた飼育法には、生存率上昇のためのさらなる改良の余地がある。もうひとつは成虫の体サイズの小型化である。体サイズの指標として用いた左上翅長は、粉碎飼料を用いた場合には、Ohno et al. (2009) の従来法に比べ、雌では飼育容器の通気性の有無にかかわらず短くなり、雄では通気性を確保した場合に短くなった (Table 1)。体サイズの小型化が、本種の大量増殖および

不妊虫放飼を行う上で不都合な点をもたらすかどうかは現時点では明らかではないため、体サイズと増殖特性、寿命、移動分散や交尾競争力といった虫の質にかかわる諸形質との関連を明らかにする必要がある。粉碎飼料法と Ohno et al. (2009) の従来法のどちらをイモゾウムシの大量増殖に採用するか決定には、生産される虫の数や質と、作業の自動化・機械化のための技術的な難易度や必要なコストの双方が考慮される必要があり、これは今後の検討課題である。

引用文献

- 大野 豪・原口 大・浦崎貴美子・小濱継雄 (2006) 昆虫と自然 41(14): 25–30. [Ohno, S., D. Haraguchi, K. Urasaki and T. Kohama (2006) *Nat. Insects* 41(14): 25–30.]
- Ohno, S., T. Sasaki, K. Urasaki and T. Kohama (2009) *Appl. Entomol. Zool.* 44: 13–22.
- 下地幸夫 (2004) 沖縄県特殊病害虫特別防除事業特別研究報告 3: 1–73. [Shimoji, Y. (2004) *Bull. Okinawa Pref. Fruit Fly Eradication Project Office, Suppl.* 3: 1–73.]
- Shimoji, Y. and T. Kohama (1996) *Appl. Entomol. Zool.* 31: 152–154.