低温と各種ガスにより麻酔されたウリミバエ 不妊化成虫の覚醒速度

棚原 朗・桐原成元

沖縄県ミバエ対策事業所

Recovery Speed of Sterilized Adults of the Melon Fly, *Dacus cucurbitae* COQUILLET (Diptera: Tephritidae), Anesthetized by Chilling and Various Gases. Akira TANAHARA and Shigemoto KIRIHARA (Okinawa Prefectural Fruit Fly Eradication Project Office, Naha, Okinawa 902, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* 33: 99-101 (1989)

Abstract: To establish the method for transportation of sterilized adults of the melon fly, *Dacus cucurbitae* COQUILLET, recovery speed of adult flies anesthetized by chilling and various gases were investigated. Adult flies anesthetized by chilling recovered in a short time after transfer to normal temperatures, regardless of duration chilling period. A much longer time was needed for recovery from anesthetization with CO₂ and N₂, depending on the period of exposure. The flight ability of adults anesthetized with CO₂ gas was retarded more severely than that of adults which were anesthetized with N₂ gas or chilled.

CO₂, N₂ ガスあるいは低温を用いた麻酔は昆虫の成虫の一時的な麻酔方法としてよく用いられている。しかし、麻酔方法と昆虫の種類によって覚醒後の成虫に悪影響を及ぼすことが報告されており (HOOPER, 1970), ミバエ類についても生存率, 孵化率等の低下が認められている (KEISER et al., 1982; 久場ら, 1982)。本論文では、ウリミバエ *Dacus cucurbitae* COQUILLET の不妊虫放飼法において、成虫を大量輸送する際の最適な麻酔方法を開発するために、CO₂, N₂ 空気および低温処理による麻酔方法と麻酔後の覚醒速度について検討したので報告する。

本文に先立ち、原稿のご校閲をいただいた四国農業試験場小山重郎博士、沖縄県ミバエ対策事業所垣花廣幸氏にお礼申し上げる。

材 料 と 方 法

試験に用いた成虫は、沖縄県のウリミバエ大量増殖施設において NAKAMORI and KAKINOHANA (1980) の方法によって大量増殖されたものである。蛹は、仲盛ら (1978) の方法により羽化日を調整し、羽化予定日の3日前に 70 Gy の γ 線を照射することによって不妊化した。羽化予定日の前後3日間にわたって羽化が起こったため、麻酔処理時の成虫は1~3日齢であった。成虫を3~5°Cに約10分間低温麻酔した後すぐに約80g (約1万頭) を秤量し、通気性のないビニール袋 (厚さ0.02 mm, 縦30 cm, 横20 cm) に入れた。CO₂, N₂ および空気を流し込み、押し出す操作を3回繰り返してガス置換を行い、密封した後インキュペータを用いて27°Cで保存した。また、低温麻酔処理区として、密封せずに3~5°Cの低温のみで保存した成虫を用いた。保存時間は、各ガス区および低温処理区ともそれぞれ1, 2.5, 3, 4.5時間とした。覚醒速度測定装置の概略をFig. 1に示した。各保存時間を経過した後にビニール袋を開封し、成虫を網皿 (縦25 cm, 横19.5 cm, 深さ3 cm) に移した。別にプラスチック製のコンテナ (縦54.5 cm, 横84.5 cm, 深さ19 cm) を用意し、その中に電子天秤 (メトラー社製, PM-2000) を置いた。天秤の測定皿の上に成虫の入った網皿を乗せ、5分ごとに100分間、重量を測定した。成虫が覚醒し天秤から飛び出たり、はい出たときを覚醒した時間とみなし、その重量の時間変化から覚醒曲線を得た。また麻酔が成虫の飛翔能力に及ぼす影響を調べるため、コンテナの内壁にタルク (滑石粉) を塗布して歩行によって這い出さないようにし、成虫に飛翔能力がなければ外に出られないようにした。供試した成虫の重量とコンテナから飛び出した成虫 (コンテナ内に残った成虫の重量を供試成虫の重量から差し引いて求める) の重量比 (飛出虫率と略す) を求めた。測定は、室外

Fig. 1. The testing apparatus for recovery speed and flight ability of the melon fly after anesthesia. The number of recovered flies was judged from the decrease in weight of flies on an electric balance. The inside wall of the plastic container was covered with talcum powder to prevent flies from crawling out. Only flies having flight ability can fly out from the container.

Fig. 2. Relationship between accumulated percentages of recovered flies and time after transfer to normal condition from anesthesia. About 10,000 adults were tested for each treatment. ○: Chilling, ●: Air, △: N₂, □: CO₂.

で天秤が風によって影響を受けない日陰で行った。測定中の外気温は 24.5~26.6°C であった。

結果と考察

CO₂, N₂, 空気あるいは低温のみで 1~4.5 時間処理した成虫の覚醒曲線を Fig. 2 に示した。低温のみによる麻酔では、1~4.5 時間処理のいずれも外気温に戻すとすぐに覚醒が始まり、そ

Table 1. Flight ability (%)^{a)} of melon flies after anesthesia^{b)}

Duration of anesthesia (hr)	Chilling	N ₂	CO ₂	Air
1	88	90	87	75
2.5	89	87	81	72
3	89	80	—	—
4.5	85	72	53	61

^{a)} Flight ability = $\frac{\text{Weight of flying adults}}{\text{Weight of adults tested}} \times 100$.

^{b)} About 10,000 adults were tested for each treatment.

の後 30~40 分で約 90% の成虫が覚醒した。これに対し CO₂, N₂ および空気での処理区は、処理時間が長くなるほど覚醒の始まる時間が遅くなり、約 90% の成虫が覚醒する時間も長くなった。この現象は、とくに CO₂ 処理区において顕著であり、4.5 時間処理区では覚醒開始までに 50 分もの時間を要し、覚醒曲線もなだらかであった。また N₂ と空気処理区ではほぼ同様な覚醒曲線を示した。

ガス置換後インキュベータ内で保存する際、CO₂, N₂ 処理区ではビニール袋内での成虫の覚醒は観察されなかった。一方、空気処理区では成虫が一度覚醒し、しばらく動き回っていた後再び麻酔された状態になった。これは覚醒した成虫がビニール袋内部の O₂ を消費した結果 CO₂ 濃度が上昇し、これによって再び麻酔されたと考えられる。しかし、このときの覚醒速度は、CO₂ のそれよりむしろ N₂ に近かった。HOOPER (1970) はチュウカイミバエ *Ceratitis capitata* に対して CO₂ 麻酔試験を行い、CO₂ 中にある程度の O₂ が存在した場合、CO₂ で単独処理した場合より成虫の生存等に対する影響が少ないことを報告している。今回の試験で空気処理区の覚醒開始時間が CO₂ 処理区のそれより早いことは、HOOPER (1970) の報告同様、O₂ の存在が覚醒速度にも影響した可能性がある。もしそうであるなら、空気処理区では覚醒した成虫はビニール袋内の O₂ を 100% 消費した後麻酔されたのではなく、O₂ を消費しながら CO₂ がある濃度に達したときに再び麻酔されたものと考えられる。この場合の O₂ と CO₂ 量の関係については今後検討を要するものと思われる。

コンテナから飛び出した成虫の飛出虫率は低温麻酔区を除いて、処理時間とともに低下する傾向がみられた (Table 1)。空気処理区が比較的低い値を示したのは、ビニール袋内で一度覚醒した成虫が動き回りを考えると、翅等になんらかの障害を受けるものと推測される。

4.5 時間程度の低温による麻酔処理では、覚醒速度や飛出虫率には影響がなかった。しかしながら、CO₂, N₂ 処理区において、処理時間が長くなるとともに覚醒開始までの時間が延長する現象についての原因は不明である。また、空気処理区で見られたように、麻酔ガス中の O₂ の存在が成虫の覚醒時間を短縮するという緩衝的な効果についても、今後定量的な試験が必要であろう。

不妊虫放飼法によるウリミバエ防除の現場において、麻酔された成虫は放飼後できるだけ早く正常な状態に回復することが要求される。このことを考えると、3~5°Cの低温処理がガス麻酔による方法に比べ、成虫の覚醒速度に対する障害は少なく、望ましい方法であると考えられる。

引用文献

HOOPER, G.H.S. (1970) *J. Econ. Entomol.* **63**: 1962—1963.

KEISER, I., M. ASHRAF, J.A. SILVA and E.J. HARRIS (1982) *J. Environ. Sci. Health* **A17** (1): 137—149.

久場洋之・淵野英治・小山重郎 (1982) 沖縄農試研究報告 **7**: 101—108.

仲盛広明・垣花廣幸・添盛 浩 (1978) 応動昆 **22**: 115—117.

NAKAMORI, H. and H. KAKINOHANA (1980) *Rev. Plant Prot. Res.* **13**: 37—53.

オンシツコナジラミより分離した糸状菌 *Verticillium lecanii* の病原性¹⁾

増田俊雄・前田正孝
宮城県園芸試験場

Pathogenicity of a Fungus *Verticillium lecanii* to the Whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, in Various Stages. Toshio MASUDA and Masataka MAEDA (Miyagi Prefecture Horticultural Experiment Station, Natori, Miyagi 981-12, Japan). *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **33**: 101-104 (1989)

1986年9月に、宮城県園芸試験場内のキュウリ葉面上で死亡していたオンシツコナジラミ成虫より、*Verticillium lecanii* (ZIMMERMANN) VIEGAS を分離した。*V. lecanii* は、昆虫病原菌としてよく知られており、オンシツコナジラミをはじめアブラムシ類、キクイムシ等で防除試験がなされている (KANAGARATNAM et al., 1982; HALL, 1976, 1977; HALL and BURGESS, 1979; BARSON, 1976)。HALL (1982) は、温室内で本菌による防除試験を行い、オンシツコナジラミに対して有効であると報告した。わが国では、北沢ら (1984) がアブラムシ類とオンシツコナジラミより初めて本菌を分離し、防除利用の可能性を示唆した。また、西東 (1988) は *V. lecanii* 製剤の Vertalec® を用いてワタアブラムシの防除試験を行い、本菌がアブラムシ類の防除にとって有力な素材となりうると述べている。

これまで、本菌を用いたオンシツコナジラミに関する試験は防除試験を中心に行われており、オンシツコナジラミの各生育ステージに対する詳しい接種試験の報告はなかった。著者らは、分離した *V. lecanii* を用い、オンシツコナジラミの防除における本菌利用の可能性を検討する立場から、その病原性を確認するために各生育ステージに対し室内での接種試験およびビニールハウス内でのポット試験を行ったので報告する。

本研究を進めるに当たり、数々のご助言をいただき、本菌の同定と本稿の御校閲を賜った東京農工大学青木襄児教授、岩花秀典助教授に厚く御礼申し上げます。

材料および方法

1986年9月に宮城県園芸試験場内のハウス栽培キュウリの葉面上で死亡していたオンシツコナジラミ成虫から分離した *V. lecanii* を供試した。本菌を 0.2% 酵母エキス加用 SABOURAUD ブドウ糖寒天培地上で培養し、形成された分生子を 0.01% Tween 20 を加えた滅菌水に懸濁して接種液とした。

成虫に対する接種試験は以下のとおりに行った。オンシツコナジラミ成虫を放飼したケージ (容積 20 l のプラスチック製コンテナ、開口部はテロンゴースで覆った) に、50 cc コルペンに水挿ししたイチゴ葉を入れて 24 時間置き、成虫を葉上に定着させた。その後、 1.3×10^7 個/ml に調整した分生子懸濁液をネブライザーで静かに噴霧し、イチゴ葉ごと腰高シャーレ (径 14 cm, 高さ 12 cm) に入れ、25°C, 16L-8D の条件下に置いた。対照には、0.01% Tween 20 加用の滅菌水を用い同様に処理した。両処理とも 5 反復で行った。生死の判別は 5 日後に行い、*V. lecanii* の分生子懸濁液を接種した区については総死虫数のほぼ 45%、対照区ではすべての死虫を再分離し、本菌の寄生による死亡か否かを判定した。

卵、幼虫、蛹に対する接種試験は、リーフディスク法で行った。直径 6.5 cm の塩化ビニール製アイスクリームカップのフタに穴を空け、舌状に切り込んだろ紙を挿入し、カップに入れた水を吸い上げさせた。場内のイチゴ栽培ハウスでオンシツコナジラミが寄生しているイチゴ葉 (品種は女峰) を持ち帰り、便宜上、卵 (白色のもの)、徘徊期 (1 齢幼虫)、定着期 (3 齢幼虫 ~ 厚さ 0.2 mm 以下の蛹)、厚さ 0.3 mm 以上の蛹に分け、それらの寄生している部分を直径 2 cm のコルクボーラーで打ち抜いて、ろ紙上に静置した。なお、打ち抜いたイチゴ葉に他のステージが寄生している場合には、あらかじめ実体顕微鏡下で極細の柄付針を用いて取り除いた。接種は、 2.7×10^7 個/ml に

1) 本報の要旨の一部は日本応用動物昆虫学会第 32 回大会 (1988 年 4 月, 高知) で発表した。
日本応用動物昆虫学会誌 (応動昆) 第 33 巻 第 2 号: 101—104 (1989)
1988 年 10 月 19 日受領 (Received October 19, 1988)