

Beauveria属糸状菌によるマツノマダラカミキリの防除に関する研究

島津, 光明

<https://doi.org/10.11501/3110948>

出版情報：九州大学, 1995, 博士（農学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：



Beauveria 属糸状菌による
マツノマダラカミキリの防除に関する研究

長 津 光 貞

①

Beauveria属糸状菌による
マツノマダラカミキリの防除に関する研究

島津光明

1995

目次

緒言.....	2
第1章 マツノマダラカミキリの天敵微生物の検索.....	7
第1節 マツノマダラカミキリ死体の収集と微生物の分離.....	7
第2節 マツノマダラカミキリに対する各種糸状菌の病原性.....	12
第3節 天敵微生物のカイコに対する病原性調査.....	23
第2章 <i>Beauveria bassiana</i> の分類学的特性と関連微生物.....	29
第1節 <i>Beauveria</i> 属菌のグルーピング.....	29
第2節 <i>Beauveria brongniartii</i> の2つの型について.....	45
第3節 <i>Beauveria</i> 属の有性世代.....	52
第3章 <i>Beauveria bassiana</i> の培養特性と選択培地の開発.....	63
第1節 殺菌剤等阻害剤に対する <i>Beauveria bassiana</i> の耐性.....	64
第2節 <i>Beauveria bassiana</i> の培養適温, pHの調査.....	65
第3節 <i>Beauveria bassiana</i> の選択的分離のための培地の開発.....	71
第4節 <i>Beauveria bassiana</i> 分生子の寿命.....	88
第4章 天敵微生物によるマツノマダラカミキリの防除試験.....	94
第1節 被害丸太への <i>Beauveria bassiana</i> 分生子の散布による幼虫の防除.....	94
第2節 被害丸太への <i>Beauveria bassiana</i> 分生子の散布による脱出成虫の防除.....	101
第3節 健全マツ樹冠への <i>Beauveria bassiana</i> 分生子の散布による後食成虫の防除.....	108
第4節 種駒に培養した <i>Beauveria bassiana</i> による幼虫の防除.....	114
第5節 不織布帯に培養した <i>Beauveria bassiana</i> の利用.....	122
総合考察.....	133
摘要.....	138
引用文献.....	142

緒言

化学殺虫剤は、その発明以後、害虫防除手段の主流を占め、農林業の生産増大に大きな貢献をしてきた。しかし、化学殺虫剤に頼った害虫防除法は、(1)薬剤やその分解物の残留による環境汚染、(2)リサージェンスや別の昆虫の害虫化、(3)薬剤の連用による殺虫剤抵抗性の害虫の出現、などの問題を起こす可能性があり、農業害虫では現実の問題となっている(Debach & Rosen, 1991)。この反省から天敵微生物を利用した微生物的防除法が見直されている。天敵微生物は、(1)選択性が高く、天敵相に対する悪影響が少ない、(2)人畜に対する安全性が高く、自然物なので環境を汚染しない、(3)害虫が抵抗性を獲得しにくい、などの長所が考えられる。

森林は、永年作物で、環境が余り変わらず、材を直接加害するものを除き害虫の被害許容密度が高い、などの理由から微生物的防除の場としては好適だといえる。このような背景から、微生物的防除に関する多くの研究が、森林害虫についてなされてきた(日高, 1933; 片桐, 1977; Bell et al., 1981; Lewis, 1981; Shapiro et al., 1981; Cunningham, 1982; Morris, 1982; 国見, 1986)。第2次世界大戦以前の日本では、昆虫病理学の中心が蚕病の防除であった中であって、天敵微生物の害虫防除への利用は林業試験場において精力的に研究がなされていた。林野庁は、そうした成果をもとに、1950年代初頭、苗畑のコガネムシ対策に寄生菌を100トン単位で量産するという大事業を行った。不幸にしてちょうどその頃、価格や即効性などの点で優れた有機合成農薬が導入されはじめ、この事業は中止されてしまった(下島, 1957a, b; 1958a, b, c; 浜, 1959)。また、マツカレハ *Dendrolimus spectabilis* の防除に細胞質多角体病ウイルス(CPV)を利用する方法が研究され、わが国初のウイルス製剤として登録された(Katagiri, 1981)。

欧米における森林害虫の多くは鱗翅目やハバチなどの食葉性害虫であり、これらを寄主とするバキュロウイルスや *Bacillus thuringiensis* などが森

林害虫の主要な微生物的防除剤として研究されている (Lewis, 1981; Morris, 1982)。このため穿孔性害虫に対する微生物的防除法の研究はあまり行われてこなかった。これに比較して、日本ではマツカレハ、マイマイガ、ブナアオシャチホコ、カラマツハラアカハバチなどが主要食葉害虫であるが、最近では、これらよりもカミキリムシ類を中心とする穿孔性害虫が経済的に重要な被害をもたらしている (小林, 1993)。そこで、森林害虫の微生物的防除法の研究としてもマツノマダラカミキリ (Shimazu et al., 1995)、スギカミキリ (Shibata et al., 1991)、ヒノキカワモグリガ (Mitsubishi et al., 1992)、スギザイノタマバエ (安藤, 1985) など穿孔性害虫類に多くの報文がある。このほかに、林木ではないが、カミキリムシ類の微生物的防除法はクワやイチジクを加害するキボシカミキリ (米山・渡辺, 1993)、柑橘を加害するゴマダラカミキリ (橋元ら, 1991) で大きな成果が上がっている。

ここ数十年の間に日本のマツ類、とくにアカマツ、クロマツ、リュウキウマツに急速な萎凋から枯損を引き起こすマツ材線虫病, pine wilt disease が多発し、社会的問題にまで発展している。日本における本病によると思われる被害は、岸 (1988) によると1905年に長崎市で発生したのが記録の最初で (矢野, 1913)、同様の被害は、1930年代までに西日本を中心に拡大し (佐多, 1942; 西口, 1975)、とくに戦後の混乱期である1940年代後半から被害が急増した。その後、伐倒・剥皮・焼却による被害木の駆除を中心とするファーニス勧告 (Furniss, 1950) で一時被害は減少したが、1970年代に入り再び大きく増加・拡大し、現在では、北海道と青森県を除くすべての都府県で本病が発生している。

この病気は俗に「松くい虫」による被害と呼ばれているが、真の病原は、マツノザイセンチュウ Bursaphelenchus xylophilus Nickle である (清原・徳重, 1971; Mamiya & Kiyohara, 1972; Nickle et al., 1981)。この線虫は、枯損マツの樹皮下に生息する穿孔虫類によって媒介されるが、中でも、マツノマダラカミキリ Monochamus alternatus Hope が最も重要な媒介者で

ある(森本・岩崎, 1971)。この線虫は, 北米大陸起源と考えられ, 日本土着のマツ類がこの線虫に高い感受性をもつこと, 近年になって病害の分布が拡大していることから, 日本にとっては侵入者であると考えられている(二井・古野, 1978, 1979; 古野, 1982)。一方, マツノマダラカミキリは日本の土着種と考えられているが, 国外でも中国, 韓国, 台湾, ベトナム, ラオスで確認されている(岸, 1988)。後述するマツノザイセンチュウと関係した生活環が成立する以前は被圧木や枯枝などで細々と生活していたと考えられ, 比較的希少種であった。マツノザイセンチュウが侵入し, マツノマダラカミキリの生活環と結びつきができるとマツノマダラカミキリの個体数も増え, 日本国内の分布地も北部へと拡大した。

マツノザイセンチュウは, 6月頃枯死木の中でマツノマダラカミキリが羽化した直後に気管に入り込み, 脱出したマツノマダラカミキリが健全マツの枝を後食するときにカミキリから離脱してマツの枝に入り込む(遠田, 1972)。マツノザイセンチュウの侵入を受けたマツは樹脂の流出を停止し, 同時に α ピネンとエタノールを主成分とする匂い物質が放出され, 成熟したマツノマダラカミキリ成虫は7から8月頃この匂いに誘引されて線虫被害木に集中的に産卵する(Ikeda & Oda, 1980; Ikeda et al., 1980; 池田, 1981)。ふ化幼虫は, マツノザイセンチュウによって枯死したマツの樹皮下を摂食して成長しながら9月頃から材に穴を掘って蛹室を作り始め, 11月頃に蛹室の中に入って材入孔に木屑を詰め, 越冬に入る。越冬後の幼虫は, 4月頃に蛹化する。その頃には, 材内で増殖したマツノザイセンチュウが蛹室の周辺に集まり, 羽化した成虫に乗り移る(真宮, 1972; 森本・岩崎, 1973)。

マツノザイセンチュウは, このように枯死木からマツノマダラカミキリによって伝搬する。そこで, 材線虫病の防除のためには, 被害木を伐倒して焼却するのが最も確実な防除法である。一般に実用的に行われている防除法は, (1)マツノマダラカミキリの後食を防止するために健全マツに殺虫剤を散布する(予防散布), (2)線虫を保持したマツノマダラカミキリが羽

化脱出しないように枯損木に殺虫剤を散布する，(3)後食を受けた健全マツ中で線虫が増殖しないように殺線虫剤を樹幹に注入する，などの方法である(真宮,1992)。ただし，(3)の方法は単価が非常に高いため，使用は特別な名木やゴルフ場などに限られている。このように，本病の防除法はほとんどは，媒介者のマツノマダラカミキリの薬剤防除によっている。

しかし，予防散布が可能なマツ林は限られているうえ，化学殺虫剤の使用は前述したような問題の発生の可能性がある。マツノマダラカミキリ防除で今のところこのような問題は現実にはまだ知られていないが，本虫の防除に使用される化学農薬，とくに予防散布に対して疑問や懸念も唱えられている(西口,1980)。また，こうした殺虫剤の散布を行っても，現実にはマツノマダラカミキリを必ずしも確実に防除できているわけではない。このため，マツノマダラカミキリに対しても新しい防除法を開発する必要があり，薬剤の使用軽減につながる微生物的防除法の開発は社会的にも強く望まれている。

このような，マツノマダラカミキリの害虫としての重要性と，新しい防除法開発の必要性から，著者は，マツノマダラカミキリの微生物的防除，とくに寄生性の糸状菌の利用法の開発を試みた。これまで，マツノマダラカミキリの微生物的防除法は体系的に研究されておらず，天敵微生物のリストアップさえなされていなかったため，著者は天敵微生物の検索から始め，菌の検索の中でとくに有望と考えられた *Beauveria bassiana* については，類縁菌とともに分類学的考察を含めた基礎的研究も行った。さらにこの菌を利用した防除試験も並行して行った。

本研究は，次の4章から構成される。第1章では，野外におけるマツノマダラカミキリ死体を収集し，微生物を分離し，病原力の検定により微生物的防除に利用する菌株を選定した。第2章では，第1章でとくに病原力が強かった *Beauveria bassiana* とその類縁菌の分類学上の位置づけに新たな考察を加え，さらに，有性世代の可能性を述べた。第3章では *B. bassiana* の培養特性を調査し，これを利用した選択培地を開発し，野外での菌の

動向を追跡するための基礎技術を開発した。第4章では、実際に *B. bassiana* を各種方法で野外に施用し、マツノマダラカミキリの防除試験を行った結果を記した。

本研究のとりまとめにあたっては、ご指導、論文のご校閲を賜った九州大学農学部教授 河原畑 勇博士に深甚の謝意を表す。本稿は、同農学部教授 森本 桂博士、松山宣明博士、同農学部助教授 大庭道夫博士の各位にもご校閲いただいた。ここに深く感謝の意を表す。

著者が林業試験場天敵微生物研究室に勤務するようになって以来、本研究を遂行するにあたっては、研究課題を頂き、室長であった時期から終始ご鞭撻いただいた元森林総合研究所企画調整部長片桐一正博士にはとくにお世話になった。ここに改めて厚くお礼申し上げる。著者の所属は天敵微生物研究室から組織改編で昆虫病理研究室に変わったが、前室長であった東京農工大学農学部教授三橋 淳博士をはじめ当時同室の岩田善三技官、串田 保技官、小泉 力技官、また、現在は蚕糸昆虫農業技術研究所の三橋 渡技官、森林総合研究所線虫研究室橋本ほしみ技官、同昆虫病理研究室佐藤大樹博士には研究遂行上の数々の示唆を頂いたのみならず、室内、野外の実験で多大のご協力を頂いた。これらの皆様にも厚くお礼申し上げる。

東京都労働経済局農林水産部林務課林業専門技術員の土屋大二氏には、その東京都林業試験場時代に伊豆大島における共同研究者として大変お世話になった。また、標本の採集、散布試験については、宮城県林業試験場、福島県林業試験場、栃木県林業試験場、茨城県林業試験場、石川県林業試験場、兵庫県林業試験場、岡山県林業試験場、広島県林業試験場、島根県林業試験場、徳島県林業総合技術センター、福岡県林業試験場、熊本県林業研究指導所、宮崎県林業試験場、鹿児島県林業試験場、の各研究機関の保護担当の方々のご協力を得たおかげで遂行できた。改めてお礼申し上げる。

第1章 マツノマダラカミキリの天敵微生物の検索

マツノマダラカミキリの微生物的防除を行うにあたり、その素材として利用する天敵微生物を選定する必要がある。わが国ではこの虫の天敵微生物について積極的に調査した事例はなかった。そこで本虫の病死体を収集して天敵微生物の検索を行った。その中の有望なものと、保存中の他の昆虫からの分離菌をマツノマダラカミキリに接種し、病原力を明らかにした。さらに養蚕業への影響を考え、マツノマダラカミキリからの分離菌のカイコ、*Bombyx mori*に対する病原力と、ほかのカミキリムシ科昆虫から分離されたカイコに低毒性の菌のマツノマダラカミキリに対する病原力を明らかにし、防除への利用の可能性のある菌株を選定した。

第1節 マツノマダラカミキリ死体の収集と微生物の分離

マツノマダラカミキリ類縁虫の天敵微生物について、アメリカ合衆国では、Soper and Olson (1963)により *Monochamus* 属カミキリムシの天敵の検索が行われ、数種の天敵微生物が発見されているが、もちろんマツノマダラカミキリ、*M. alternatus* は北米に分布しないので含まれていない。一方、日本では、マツノマダラカミキリの天敵微生物についての組織的な研究はなく、わずかに、長谷川・小山(1937, 1941)による採集記録があるのみである。そこで、日本の自然界においていかなる微生物が本虫の病原として重要であるかを知るため、県林業試験研究機関、国立林業試験場支所の協力を得て、全国各地のマツノマダラカミキリ大発生地から病気によると思われる死体を収集し、微生物を分離した。

材料と方法

宮城県，福島県，栃木県，茨城県，石川県，岡山県，広島県，島根県，徳島県，福岡県，熊本県，宮崎県，鹿児島県の各林業試験研究機関および農林水産省林業試験場の四国支場と九州支場から，病気によると思われるマツノマダラカミキリの死体の送付を受けた。これらのうち県林試からのものの多くは，林野庁大型プロジェクト研究「マツ枯損防止」の調査の際に得られた死体である。これらは，生きたアカマツまたはクロマツを丸太にして野外に置き自然界のマツノマダラカミキリ成虫に産卵させたもの，網室内に置いて強制産卵させたもの，または自然枯死木を割材して得られたものである。

送付された死体のうち，体外に菌糸の伸長がみられるものと体外菌糸伸長はみられなくても硬化しているものは，糸状菌による死体と判断して糸状菌の分離を試みた。体表に分生子の形成がみられるものはそのまま，また，分生子の形成がみられないものは，滅菌ペトリ皿に滅菌水で湿らせた滅菌濾紙を入れた中に約1週間置き，分生子を形成させた後，分離操作を行った。分離は，9cmのペトリ皿に固めた1%酵母エキス加用Sabouraudブドウ糖培地（ペプトン10g，酵母エキス10g，ブドウ糖10g，寒天15g，水1000ml，以下SDY培地と略）の平板に分生子を画線し，25℃で約1週間培養し，得られたコロニーを釣菌して行った。

また，送付された死体のうち，体外菌糸がみられず軟化または腐敗しているものは，細菌の分離操作を行った。分離は，9cmペトリ皿に作った普通寒天培地（極東）の平板に，体内容物を画線塗抹し，25℃で約3日間培養し，得られたコロニーを釣菌して行った。

糸状菌の同定は，培地上で分生子の形成状態が分かるものはそのまま検鏡し，また，分生子形成構造の分かりにくいものは，スライド培養法で検鏡し，分生子形成構造と分生子の形態と大きさで同定した。

細菌は，普通寒天上の菌について，コロニーの色，グラム染色性，菌の

形態，芽胞の有無などを調べた。しかし，一部の菌以外の同定は行わなかった。

結果と考察

各地のマツノマダラカミキリ死体から分離した微生物を表-1に示す。送付された死亡虫は，いくつかの時期別の標本もあったが，県によって時期が異なり，また時期ごとに分けられていない標本もあったので，ここでは，一括して県ごとに示す。標本は，確実に病気と思われるものは少なく，別の原因で死亡したのちに腐生的に生じたと思われる菌が多かった。

細菌では，グラム陰性の桿菌が多かったが，中でも，赤色色素を産生する短桿菌が多かった。これらはその特徴から *Serratia marcescens* であると考えられた。この細菌は普通は腐生菌であるが，宿主の生理状態ではかなりの頻度で敗血症を起こし，通性病原体と潜勢病原体の境界的存在といわれている(福原，1979)。著者の経験でも，糸状菌を接種した昆虫が接種菌ではなくこの細菌で死亡する場合があります，糸状菌の接種で生理的な異常が引き起こされ，この菌の増殖を許すと思われる。その他の細菌で *Bacillus* 属も検出されたが，芽胞形成時にたんぱく結晶を産生するもの，すなわち *Bacillus thuringiensis* とと思われるものは全くなかった。

真菌類の中で，酵母は比較的多くの標本から検出されたが，酵母は昆虫寄生菌とは考えられない。健全なカミキリムシ類でも体内，体表にもしばしば酵母をもっており(島津，未発表)こうした菌が，死後も残存していた可能性がある。

標本のうち，体外に糸状菌の菌糸が伸長しているものは全体の10%もなかった。また，それらの中でも，腐生的に生じたと思われる *Acremonium*，*Penicillium* などが半数以上であり，昆虫寄生菌として知られている菌は，*B. bassiana* と *Paecilomyces* 属，*Verticillium* 属だけが検出された。これらの中では，平均して *B. bassiana* が最も多く検出された。

表-1 各地から送付されたマツノマダラカミキリ死体から分離された微生物

	宮 城	福 島	栃 木	茨 城	石 川	岡 山	広 島	島 根	徳 島	福 岡	熊 本	宮 崎	鹿 児 島	四 国 支 所	九 州 支 所	平 均
標本組数	8	12	1	12	9	5	5	3	6	2	3	5	7	4	1	6
1組の標本数平均	15.5	31.6	9.0	52.8	17.3	44.2	32.0	15.0	41.7	83.5	92.7	3.4	20.3	54.3	104.0	41.1
<u>Bacillus</u> 属	3.9	2.5	0.0	3.0	0.4	2.4	5.1	4.8	3.6	8.6	2.3	5.0	7.7	2.6	1.0	3.5
その他のグラム陽性桿菌	2.9	12.1	0.0	9.0	9.1	12.2	11.2	0.0	12.1	18.7	15.0	10.0	7.6	7.2	2.9	8.7
グラム陽性球菌	0.0	0.1	0.0	0.3	1.5	0.0	1.5	0.0	0.2	0.8	1.2	0.0	0.5	0.9	0.0	0.5
双球菌	0.0	0.0		0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<u>Serratia</u> 属	17.5	33.6	66.7	27.6	24.8	6.8	23.6	12.6	17.1	2.5	8.9	10.0	11.3	10.4	13.5	19.1
その他のグラム陰性桿菌	15.1	27.4	0.0	34.0	29.3	25.6	22.5	8.7	27.3	24.4	22.5	3.3	25.8	17.2	57.7	22.7
放線菌	0.0	0.6	0.0	0.0	1.0	1.7	0.9	0.0	0.2	0.9	1.2	0.0	0.0	0.4	0.0	0.5
酵母	4.2	4.8	0.0	1.5	0.0	3.6	10.8	0.0	3.7	0.8	3.3	0.0	3.3	12.9	2.9	3.5
<u>Beauveria bassiana</u>	13.8	6.4	11.1	1.5	0.7	1.9	0.4	0.0	0.2	0.0	3.8	16.7	1.4	5.0	1.0	4.3
<u>Verticillium</u> 属	5.3	0.3	0.0	1.9	0.3	0.6	0.0	15.7	0.0	0.5	1.2	3.3	0.0	0.0	4.8	2.3
<u>Paecilomyces</u> 属	2.0	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
非病原菌と思われるもの計	13.3	4.4	11.1	3.7	3.3	5.1	1.8	15.8	6.3	0.5	11.3	45.0	8.6	10.4	13.5	10.3
菌なし	22.3	7.4	11.1	16.9	29.5	39.2	20.9	40.1	26.2	41.2	29.4	6.7	33.7	29.8	2.9	23.8
生存	0.0	0.1	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	0.2
分離失敗	1.2	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
寄生・捕食による	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.9	1.3	2.4	3.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.4	0.0	0.6

長谷川・小山(1937)は黄きょう病 Isaria farinosa に罹病したマツノトビイロカミキリ(現マツノマダラカミキリ)を採集している。I. farinosaは、Brown and Smith(1957)により属を編入され、今日では Paecilomyces farinosusと呼ばれている。この菌は、Paecilomyces属としては普通種であるが、野外においてB. bassianaほど寄主範囲、寄生率は高くはない。今回の著者の調査でも、Paecilomyces属はほとんど検出されなかった。しかし当時の日本では、黄きょう病症状をもたらす、すなわち黄白色の分生子を形成する昆虫寄生性不完全菌類の学名は、Isaria farinosaと呼ばれていたのに対し、Beauveria bassianaはカイコに特異的に病原性をもつ白きょう病菌の学名であり、これは野外昆虫には寄生しないと考えられていた(青木, 1957)。この呼び名は1970年代まで続いていた。これに対し、青木(1971)は、日本で黄きょう病菌と呼ばれている菌の分生子形成構造を調べた結果、ほとんどが白きょう病菌と同じB. bassianaであることを指摘した。このことから考え、長谷川・小山(1937)がマツノマダラカミキリから採集した菌はおそらくB. bassianaであったと考えられる。しかし、小山(1959)が森林害虫の流行病の病原のリストとして後年発行した論文では、マツノマダラカミキリの記述はなく、前報のマツノマダラカミキリの菌も多発したものではないと考えられる。富樫(1989)は、マツノマダラカミキリの生命表作成の過程で、Beauveria bassiana, Serratia marcescens, Verticillium sp.を発見した。しかし、それらの寄生率はいずれも死亡虫数に対して数%であり、やはり非常に低いものであった。

アメリカでも、Soper and Olson(1963)がマツノマダラカミキリと同じ Monochamus属からB. bassianaとI. farinosa, Verticillium sp., Aspergillus flavus, Fusarium sp.を記録している。ここではI. farinosaはB. bassianaと区別されており、当時、欧米では、すでにB. bassianaが野外昆虫にふつうに寄生する菌であるとの認識があったことを考えると、現在の P. farinosusであろうと考えられる。本研究においても、Soper and Olson(1963)と同じく、Beauveria, Verticillium, Paecilomycesが検出さ

れ、中でも *B. bassiana* がほとんどの調査地から検出された。

このように、本研究の結果でも、過去の調査例の報告でも、マツノマダラカミキリには、特定の病気が大流行する傾向はみられなかった。分離し微生物で病原体として知られているものは、*S. marcescens* と *B. bassiana*、および *Verticillium* 属と *Paecilomyces* 属であった。なお、著者の研究興味から検索した微生物は糸状菌が多く、また用いた手法上、今回はウイルスは検出できなかった。

第2節 マツノマダラカミキリに対する各種糸状菌の病原性

1. 分離菌・保存菌のスクリーニング

マツノマダラカミキリの微生物的防除に利用する病原菌を選抜する場合に考慮されるべき最も重要な特性の一つとして、強い病原力が要求される。前節の調査で分離されたいくつかの代表的な特性を持つ株と、さらに、他の寄主から分離されたいくつかの研究室保存菌を、マツノマダラカミキリ幼虫および成虫に接種して各株の病原力を比較した。

材料と方法

供試した菌は *Beauveria* 属 5 種と *Metarhizium* の 6 種計 18 株で、詳細は表 - 2 に示すとおりである。菌の種名については第 2 章に詳しく述べるが、*Beauveria brongniartii* はカミキリムシ寄生型 (C) とコガネムシ寄生型 (S) の 2 つの型に分けた。また、*Beauveria* sp. 1 はマツ樹皮上の昆虫から分離された株で、分生子は円筒形から弱いまゆ形で大きさ $3.3 \times 1.6 \mu\text{m}$ である。F-264 は原株は他の試験にも供試した F-77 であるが、マツノマダラカミキリ幼虫への接種再分離を繰り返し、病原力の強化を図ったものである。これらの菌を RS 培地 (酵母エキス 5g, しょ糖 10g, KH_2PO_4 1g, Na_2HPO_4 1g,

表-2 供試菌株と分離源

菌株番号	種	分離源	産地
F-235	<u>Beauveria</u> sp.1	マツノシラホシゾウムシ (<u>Shirahoshizo insidiosus</u>)	埼玉県鳩山村
F-237	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> C	ハラアカコブカミキリ (<u>Moechotypa diphysis</u>)	長崎県対馬
F-263	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	熊本県
F-264	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> S	オオスジコガネ (<u>Anomala costata</u>)	長野県大門山
F-277	<u>Beauveria</u> sp.1	サビカミキリ (<u>Arhopalus coreanus</u>)	埼玉県鳩山村
F-300	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> C	ビロードカミキリ (<u>Acalolepta fraudatrix</u>)	長野県上田市
F-305	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	石川県
F-306	<u>Metarhizium</u> <u>anisopliae</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	茨城県 (飼育虫)
F-313	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> C	キボシカミキリ (<u>Psacotha hilaris</u>)	東京都高尾山
F-315	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> C	トガリシロオビサビカミキリ (<u>Pterolophia caudata</u>)	東京都八王子市
R-47	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> S	コフキコガネの一種 (<u>Melolontha melolontha</u>)	フランス
Fks-54-39	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	福島県
Toch-81-10	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	栃木県
Ish-E16-1	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	石川県
Shim-B-2-5	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	島根県
Kag-353	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	鹿児島県
10-S-3-2	<u>Beauveria</u> <u>amorpha</u>	ドウガネブイブイ (<u>Anomala cuprea</u>)	長野県西岳国有林
10-W-4-1	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	ドウガネブイブイ (<u>Anomala cuprea</u>)	長野県西岳国有林

MgSO₄·7H₂O 0.6g, NaNO₃ 0.7g, 寒天 10g, 水 1000ml) 上で24°C 6日間培養して分生子を得た。これを100ppmのTween80を添加した蒸留水に懸濁して1×10⁵および1×10⁶/mlの分生子濃度とした。供試虫には茨城県新治村(当時)産のアカマツ枯損木から得た幼虫と、同県牛久町(当時)産のアカマツ枯損木を網室に置いて羽化させた成虫を用いた。1区あたりの供試虫数は1981年幼虫20頭, 1982年幼虫25頭, 1982年成虫10頭である。接種は分生子懸濁液に供試虫を10~30秒浸漬して行った。幼虫に対しては10⁶/ml液の接種は行わなかった。対照区にはTween80添加蒸留水を接種した。接種後の幼虫は濾紙片を入れた管びんで, また成虫はアカマツの枝を餌としてプラスチックカップで, 24°Cで個体飼育した。これら供試虫を毎日観察して死亡虫は検鏡により死因を同定した。

結果と考察

接種菌による病死率を表-3, 4, および5に示す。病死率はAbbott(1925)の式で補正した値で示した。表-3の幼虫に対する試験(実験1, 1981年実施)では病原力はB. bassiana Shim-B-2株が最も強く, その他のB. bassiana株もこれに近い強さを示し, B. brongniartii F-264がこれに次いだ。表-4の実験2(1982年実施)ではB. bassiana Kag-353が最も病原力が強く, ドウガネブイブイ, *Anomara cuprea* から分離したB. bassiana 10-W-4-1を除く他のB. bassiana(いずれもマツノマダラカミキリから分離)およびM. anisopliae F-306もこれに近い強さであった。B. brongniartii F-264による死亡率は実験1と実験2でかなり異なった。B. bassiana F-263は両年とも非常に強い病原力を示した。B. amorpha 10-S-3-2はF-264と同程度の病原力を有した。B. brongniartii (C)はカミキリムシ科昆虫から分離された菌であるが, いずれの分離株もマツノマダラカミキリ幼虫に対する病原力は弱く, 死亡率は5~10%であった。Beauveria sp.1も病原力は弱く, 10%以下の病死率しか得られなかった。

表-3 接種菌によるマツノマダラカミキリ幼虫の病死率 (実験1)

菌株番号	種	死亡率 (%)	死亡までの日数 (最短-平均-最長)
R-47	<i>Beauveria brongniartii</i> S	10	(49)-50.5-(52)
F-264	<i>Beauveria brongniartii</i> S	70	(27)-36.5-(60)
F-235	<i>Beauveria</i> sp.1	0	-
F-277	<i>Beauveria</i> sp.1	10	(48)-55.5-(63)
F-237	<i>Beauveria brongniartii</i> C	5	9.0
F-300	<i>Beauveria brongniartii</i> C	5	39.0
Fks-54-39	<i>Beauveria bassiana</i>	84	(11)-26.9-(39)
Shim-B-2-5	<i>Beauveria bassiana</i>	100	(10)-18.8-(33)
Ish-E16-1	<i>Beauveria bassiana</i>	89	(11)-15.4-(26)
F-263	<i>Beauveria bassiana</i>	95	(17)-24.4-(46)
F-305	<i>Beauveria bassiana</i>	89	(18)-33.8-(54)

表-4 接種菌によるマツノマダラカミキリ幼虫の病死率（実験2）

菌株番号	種	死亡率 (%)	死亡までの日数 (最短-平均-最長)
F-306	<u>Metarhizium anisopliae</u>	88	(6)-8.6-(21)
F-264	<u>Beauveria brongniartii</u> S	32	(8)-16.5-(33)
10-S-3-2	<u>Beauveria amorpha</u>	32	(7)-29.0-(57)
F-313	<u>Beauveria brongniartii</u> C	4	9
F-315	<u>Beauveria brongniartii</u> C	8	(26)-41.5-(57)
10-W-4-1	<u>Beauveria bassiana</u>	14	(10)-33.5-(48)
Toch-81-10	<u>Beauveria bassiana</u>	91	(5)-7.3-(12)
Kag-353	<u>Beauveria bassiana</u>	100	(5)-7.8-(10)
F-263	<u>Beauveria bassiana</u>	96	(6)-9.6-(15)

表-5 接種菌によるマツノマダラカミキリ成虫の病死率

菌株番号	種	濃度 /ml	死亡率 (%)	死亡までの日数 (最短-平均-最長)
F-264	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> S	10 ⁵	0	-
		10 ⁶	20	(31)-32.0-(33)
10-S-3-2	<u>Beauveria</u> <u>amorpha</u>	10 ⁵	0	-
		10 ⁶	0	-
F-277	<u>Beauveria</u> sp.1	10 ⁵	0	-
		10 ⁶	0	-
F-237	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> C	10 ⁵	0	-
		10 ⁶	0	-
F-315	<u>Beauveria</u> <u>brongniartii</u> C	10 ⁵	0	-
		10 ⁶	0	-
F-305	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	10 ⁵	0	-
		10 ⁶	30	(31)-37.8-(46)
Toch-8-10	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	10 ⁵	10	17
		10 ⁶	0	-
F-263	<u>Beauveria</u> <u>bassiana</u>	10 ⁵	50	(17)-37.0-(58)
		10 ⁶	100	(5)-24.7-(46)

成虫に対する病原力を表-5に示す。供試菌の中ではF-263が最も強かった。しかし、 10^5 /mlの分生子濃度では、50%の病死率であり、幼虫ではこの濃度で大部分が死亡することを考えると、成虫の方がこの菌に対する感受性が幼虫より低いと思われた。その他のB. bassiana F-305とToch-81-10も幼虫に対する病原力はF-263に近い強さをもっていたが、成虫に対する病原力は弱かった。カミキリムシ寄生型B. brongniartiiとBeauveria sp.1はこの実験では成虫に対して病原性がみられなかった。

Beauveria属の中には培地に赤色素を出す株があるが、供試した菌の赤色素産生能と病原力には相関はみられなかった。

以上の結果から、マツノマダラカミキリに対する病原力は、供試菌の中では一般的にB. bassianaが最も強く、コガネムシ寄生型B. brongniartiiがこれに次ぎ、Beauveria sp.1とカミキリムシ寄生型B. brongniartiiが最も弱いことが分かった。またM. anisopliaeとB. amorphaは1株ずつの供試であったが、病原力は前者がB. bassianaと、また、後者がコガネムシ寄生型B. brongniartiiと同程度の強さであった。同一菌株に対しては幼虫は成虫より高感受性であった。

2. カミキリムシ寄生型Beauveria brongniartiiのマツノマダラカミキリ防除への利用の可能性

B. bassianaはカイコに対しても病原性があり、養蚕地帯での使用に懸念も考えられるのに対し、カミキリムシ寄生型Beauveria brongniartiiはカイコに対する病原力はきわめて低く(河上, 1978; 島根・河上, 1993), キボシカミキリ, Psacotha hilaris の防除のため桑園にさえ利用が試みられているほどである。このため、同じフトカミキリ亜科に属するマツノマダラカミキリに対しても、隣接養蚕地帯に対する危被害を回避するためこの菌の使用を期待する声がある。前節では、濃度を一定にした分生子懸濁液への幼虫の浸漬により病原力を比較したが、利用への可能性を評価する

には病原力をより正確に判定する必要がある。そこで、濃度段階を変えた接種により LC_{50} 値を求め、B. bassianaのそれと比較した。

材料と方法

茨城県産の成虫から採卵した卵をKosaka & Ogura(1990)の人工飼料を用いて $25^{\circ}C$ 、長日でガラス製管びんの中で老熟幼虫まで飼育した。

供試したカミキリムシ寄生型B. brongniartiiは、キボシカミキリから分離され元蚕糸昆虫農業技術研究所所長河上 清博士から供与された#879株と、実験室内で偶発的に汚染したマツノマダラカミキリから著者が分離したF-877の2株である。また、B. bassiana F-263を病原力の比較のために用いた。

菌は1%酵母エキス加用Sabouraudしよ糖培地（以下SSYと略）を用い、 16×23 cmのプラスチック箱で3週間培養し、分生子をTween80を200ppm加えた水に懸濁した。2株のB. brongniartiiの分生子濃度は $1 \times 10^5 \sim 10^9 / ml$ に、またF-263のそれは $1 \times 10^4 \sim 10^8 / ml$ に調製した。しかし、最初の実験でF-263接種区は最低濃度でもほとんどの幼虫が死亡したので、2回目の実験では $1 \times 10^1 \sim 10^4 / ml$ の分生子濃度で行った。

供試虫を上記の分生子懸濁液に10～30秒浸漬して接種した。無菌のTween 80溶液を対照に用いた。各菌各濃度区あたり15から20頭の幼虫を用いた。

接種後の幼虫は濾紙を入れた 70×20 mmのガラス製管びんに1頭ずつ入れ、 $25^{\circ}C$ で16L-8Dに保った。死亡率は毎日調査し、死亡虫は湿った濾紙片を入れた管びんに入れ、生存虫と同様の条件下に置いて菌に分生子を形成させた。各死亡虫上の菌は顕微鏡で菌種を同定した。

日毎の死亡率は必要に応じてAbbott(1925)の式で補正し、 LC_{50} 値はプロビット法で求めた。

結果と考察

死亡率と半数致死日数を表-6に示す。B. brongniartiiを接種した幼虫のかなり多くが典型的な硬化病症状を示さなかった。体外への菌糸伸長が見られず、幼虫は最終的には黒化し保温後軟化腐敗した。このような死体は対照区には見られず、それらの割合は接種量の増加とともに増加した。これらの幼虫の斃死は、接種源にその原因があると考えられるが、それが糸状菌によるという根拠がないので、これらは接種菌による死亡とは区別して数えた。B. brongniartiiは2株とも 10^9 分生子/mlでもマツノマダラカミキリ幼虫に対し100%の死亡は達成しなかった。従って、#879とF-877の LC_{50} 値は純死亡率（完全な硬化、体外菌糸伸長を伴う死亡の率）で計算した場合それぞれ 2.9×10^7 と 7.7×10^8 分生子/mlであった。総死亡率（軟化して体外菌糸伸長のない死体をも含む死亡の率）から計算したそれは、#879とF-877ではそれぞれ 8.4×10^4 および 2.7×10^5 /mlであった。

他方、B. bassianaの分生子を $10^4 \sim 10^8$ /ml接種された幼虫は大部分が硬化し、保湿後体外菌糸を成長させる硬化病の典型的症状を示した。F-263の最初の接種実験では死亡率が高すぎたので、 LC_{50} 値は計算できなかった。F-263による死亡率はより低濃度の分生子懸濁液を使用した2回目の接種のものである。2回目の実験の純死亡率による LC_{50} 値は 2.0×10^3 分生子/mlで、総死亡率による値は 1.1×10^3 分生子/mlであった。

これらの菌の病原力はまた、寄主昆虫を殺すまでの時間によっても評価できた。半数致死時間(LT_{50})値は累積死亡率から計算し、表-6に示す。B. bassianaはB. brongniartiiに比べ、より低濃度で短い LT_{50} を達成した。

今回の実験の LC_{50} の比較によって得られたマツノマダラカミキリに対するB. brongniartiiとB. bassianaの病原力の比は純死亡率では1 : 14,500、総死亡率では1 : 76であった。これはすなわち、もしマツノマダラカミキリの防除にB. bassianaの代わりにB. brongniartiiを使えば同じ効果を得

表-6 *Beauveria* spp.の濃度別接種によるマツノマダラカミキリ幼虫の死亡率と死亡日数

菌株番号	濃度/ml	供試虫数	純死亡率 ^a		総死亡率 ^b	
			%	LT ₅₀	%	LT ₅₀
#879	10 ⁵	20	15	>125	45.5	71.5
	10 ⁶	20	20	>125	90.9	36.5
	10 ⁷	20	30	>125	72.7	45.3
	10 ⁸	20	85	9.3	100	7.9
	10 ⁹	20	65	6.3	100	4.4
F-877	10 ⁵	20	35	>125	54.5	78.5
	10 ⁶	20	15	>125	36.4	>125
	10 ⁷	20	45	>125	90.9	26.5
	10 ⁸	20	55	44.4	81.8	10.8
	10 ⁹	20	45	>125	100	6.2
F-263	10 ¹	16	0	>110	0	>110
	10 ²	16	0	>110	12.5	>110
	10 ³	17	47.1	>110	58.8	43.5
	10 ⁴	16	75	19	75	19
	(10 ⁵	20	100	7.6	100	7.6) ^d

a: 体外菌糸を伸長したものの率。

b: 体外菌糸伸長のないものも含む死亡率。

c: 累積死亡率から算出した半数致死日数。

d: 10⁵/mlは1回目の反復による結果(本文参照)。

るためには76~14,500倍の分生子の使用が必要ということになる。後に述べるように、*B. bassiana*の 10^7 /mlの分生子懸濁液を被害マツの樹幹1mあたり600ml直接散布するとマツノマダラカミキリの約70%の感染をもたらす。また*B. bassiana*を培養したふすまペレットを被害マツ樹幹2mあたり5~10個施用するとほぼ80%の感染が起こる。計算上、もし*B. bassiana*の代わりに*B. brongniartii*を使うとすると、純死亡率で同じ死亡率を得るためには 10^{11} /mlの分生子懸濁液、あるいは70,000個/2mのふすまペレットが必要になる。このような高い分生子濃度、あるいは過大なふすまペレットの使用は、実用的ではなく、マツノマダラカミキリの防除に*B. brongniartii*を使うことは、現実的ではないと結論できる。

カミキリムシ寄生型の*B. brongniartii*はカイコに病原性が弱く培養も容易であるため、この型の*B. brongniartii*は、クワを加害するキボシカミキリ(河上・島根, 1986; 石々川ら, 1988)と同様、各種果樹や緑化木を加害するゴマダラカミキリ(柏尾・氏家, 1988; 橋元ら, 1989; 柏尾・堤, 1990; 堤ら, 1990)、および各種針葉樹を加害するスギカミキリ(Shibata et al., 1991)などの各種カミキリムシ科害虫の微生物的防除の素材として広く研究されている。*B. brongniartii*を使ったこれらの実験はすべて成虫を殺虫対象としており、かなり良い結果が得られているが、これに対し、本研究の対象は幼虫である。一般に成虫は病原菌に対し幼虫より抵抗性が強い。前節の接種実験で、マツノマダラカミキリでも成虫は*Beauveria* spp.に対して幼虫より感受性が低く、また、*B. bassiana*による斃死までの時間も成虫は幼虫より長いことが判明している。さらに、たとえ菌により成虫を殺し得たとしても、殺虫時間が長いために、後食に伴うマツノザイセンチュウの媒介や産卵を許してしまう可能性がある。こうした理由から、成虫をこの菌の防除対象とすることは不適當であるといえよう。

第3節 天敵微生物のカイコに対する病原性調査

マツノマダラカミキリの天敵微生物を野外に施用する場合，カイコなどの有用昆虫に対する影響を調べておく必要がある。Beauveria bassianaは昔からカイコの白きょう病または黄きょう病の病原菌として知られてきた。昆虫に対する病原糸状菌の病原力は，同一種においても菌株により差があることは，前節のマツノマダラカミキリに対する各種菌株の病原力の研究において明らかにした。同様な現象はカイコについても知られているが(河上，1973；河上・仲，1979)，本研究では防除試験に使用する菌株のカイコに対する病原力を調査するため，分生子懸濁液にカイコを浸漬接種して病原力を調べた。

材料と方法

供試菌としては，オオスジコガネ，Anomala costata から分離したB. brongniartii F-77とマツノマダラカミキリから分離したB. bassiana F-263を用いた。このB. brongniartii F-77は，青木ら(1975)がカイコに対する病原性を調査した菌と同一菌株である。F-77はRS培地を，F-263はSSY培地を用いてプラスチック箱で3週間培養して得られた分生子を，Tween 80を100ppm加えた蒸留水に懸濁し，分生子濃度を 1×10^4 ， 1×10^5 ， 1×10^6 ， 1×10^7 ， 7.8×10^7 (F-77)，および 7.9×10^7 (F-263)に調製して接種液とした。

供試虫は，蚕糸・昆虫農業技術研究所から分譲を受けた日137×支146の1齢，2齢，および5齢の各起蚕を用いた。1処理区あたりの供試頭数は1齢は10頭，2齢と5齢は20頭を用いた。

接種は供試幼虫を接種液に約10秒浸漬した後，濾紙で余剰水分を吸収して行った。対照区には100 ppmのTween 80溶液を用いた。接種後の幼虫はペトリ皿またはプラスチックカップで，桑葉を与えて，25°Cで16L-8Dで飼育

し、毎日死亡率を調べた。死亡後の幼虫は、湿らせた濾紙を入れたペトリ皿に入れて生存中と同様の条件下において菌に分生子を形成させ、接種菌による死亡か否かを同定した。

結果と考察

接種して死亡したカイコ幼虫は硬化し、後に表面に菌糸を伸長するものもあったが、軟化してその後の菌の成長のみられないものも多かった。この傾向は幼虫の齢が高くなるにしたがってより顕著になった。対照区にはこのような死亡虫はなかったため、接種区における軟化死は、菌の接種に起因するが、何らかの原因によって細菌等が繁殖したものと解釈し、カイコへの影響を調べるという意味から以下の結果は原因の如何によらない単純死亡率で処理した。このような糸状菌接種による軟化死は、前節において *Beauveria* を接種したマツノマダラカミキリ幼虫でも観察されたが、カイコにおけるこのような現象は青木ら(1975)によっても報告されている。

表-7に示したとおり、両供試菌ともに、1齢幼虫に対しては比較的高い死亡率をもたらした。1齢幼虫は、接種20日以降は集合飼育したため、濃度別の死亡率は求められなかったが、しかし、2齢幼虫では無処理との差がなかった。これは、 10^7 という高濃度でも死亡がみられなかったことから、接種菌または接種方法に問題があった可能性がある。5齢幼虫に対しては、死亡までの時間はふ化幼虫より長くかかったものの、かなりの死亡率がみられた。接種から死亡までの日数は高濃度では短くなる傾向があったが、低濃度では無処理と差がなかった。このことから両菌ともカイコのふ化幼虫と5齢には病原性があることが分かった。

得られた死亡率から、接種後20日における1齢と5齢に対する50%致死濃度をプロビット法で求めると、表-8のようであった。F-263はF-77より1桁高い病原力をもっていた。

死亡した幼虫について、接種から死亡までの日数を求めると、表-9の

表-7 *Beauveria* spp. を接種されたカイコ幼虫の死亡率^a

齢	菌株名	濃度 (/ml)	接種後日数						
			10	20	25	30	38	40	44
1	Control	0	0	0		0		(10)	(40)
		F-263	10 ³	0	0				
			10 ⁴	0	0				
			10 ⁵	50	50		38	70(73)	71(83)
			10 ⁶	100	100				
	F-77		10 ³	0	0				
			10 ⁴	0	0				
			10 ⁵	10	10		38	78(80)	78(80)
		10 ⁶	100	100					
2	Control	0	0	(5)		(40)		(90)	
		F-263	10 ³	5	0(5)		0(21)	0(26)	
			10 ⁴	0	0(0)		0(26)	0(52)	
			10 ⁵	0	0(5)		0(15)	0(27)	
			10 ⁶	0	0(0)		17(50)	0(70)	
			10 ⁷	0	0(0)		0(11)	0(22)	
	F-77		10 ³	0	0(0)		0(20)	0(64)	
			10 ⁴	0	5(10)		17(50)	0(70)	
			10 ⁵	0	0(5)		0(21)	0(41)	
			10 ⁶	0	0(5)		0(30)	0(75)	
			10 ⁷	20	21(25)		0(30)	0(60)	
5	Control	0	(5)	(23)	(40)				
		F-263	10 ⁵	0(0)	40(54)	38(63)			
			10 ⁶	0(0)	10(31)	0(31)			
			10 ⁷	0(5)	96(97)	100(100)			
			7.9 × 10 ⁷	15(19)	100(100)	100(100)			
	F-77		10 ⁵	0(5)	0(24)	8(45)			
			10 ⁶	0(5)	0(24)	8(45)			
			10 ⁷	5(9)	71(78)	79(88)			
		7.8 × 10 ⁷	0(5)	100(100)	100(100)				

a: 接種菌による死亡率。()内は総死亡率。

表-8 カイコ幼虫に対する *Beauveria* spp. の病原性

菌株番号	LC ₅₀	
	1 齡	5 齡
F-263	9.8×10^4	8.9×10^5
F-77	2.1×10^5	6.9×10^6

表-9 カイコ幼虫の死亡までの日数

菌株番号	濃度(/ml)	1 齡 ^a		2 齡	5 齡
		20日まで	21日以降		
対照	0	— ^b	40.8	31	18.5
F-263	10 ³	—	17.3	23.9	N ^c
	10 ⁴	—		29.2	N
	10 ⁵	7.6		29.8	17.1
	10 ⁶	4.4		28.9	15.9
	10 ⁷	N		30.4	16.1
	7.9×10 ⁷	N	N	11.4	
F-77	10 ³	—	25.3	32.4	N
	10 ⁴	—		28.3	N
	10 ⁵	10.0		26.4	19.2
	10 ⁶	5.1		29.5	19.1
	10 ⁷	N		22	16.9
	7.8×10 ⁷	N	N	15.5	

a: 1 令は0日まで濃度別に飼育, 21以降接種菌ごとに集合飼育。

b: —は死亡がみられなかった区。

c: Nは試験を行わなかった区。

ようになった。1 齢では接種区と無処理区との差がみられたが、2 齢と5 齢では差がみられなかった。

青木ら(1975)は黄きょう病菌とその類似菌をカイコに接種試験を行った。この実験では、分生子濃度が $1200/\text{mm}^3$ 、すなわち $1.2 \times 10^6/\text{ml}$ の1段階で死亡率をみている。その結果、死亡率はB. bassiana (黄きょう型) では1 齢が100%、5 齢が86%、また、B. brongniartiiでは1 齢が91%、5 齢が25%であった。本研究とはカイコの品種がちがうので直接比較はできないが、死亡率は同程度であるといえよう。また、河上(1973)も各種糸状菌をカイコに接種し、その病原力を調査している。この論文中では白きょう病菌の学名として B. tenella、また黄きょう病菌の学名としてB. bassianaが用いられ、従って和名も前者はテネラ白きょう病菌、後者は白きょう病菌と呼ばれている。本論文中でこの呼称を用いることは混乱をひきおこすので、ここでは、これを引用する場合にもB. bassiana (白きょう型) およびB. bassiana (黄きょう型) とする。得られた結果の半数致死濃度をmlあたりに換算すると、B. bassiana (白きょう型) で2 齢起蚕に対し $8.1 \times 10^3/\text{ml}$ 、また4 齢起蚕に対し $9.8 \times 10^5/\text{ml}$ 、B. bassiana (黄きょう型) で2 齢起蚕に対し、 $2.9 \times 10^6/\text{ml}$ 、4 齢起蚕に対し、 $8.7 \times 10^6/\text{ml}$ であった。本実験で供試したB. bassiana F-263はいわゆる通常の黄きょう菌と比較して、カイコに対する病原力は同程度であると考えられる。また、B. brongniartii F-77は、カイコに対する病原性は認められたが、B. bassianaよりも弱く、青木ら(1975)の結果と一致した。河上(1978)はキボシカミキリから分離したB. brongniartiiとオランダCBS保存のB. brongniartiiをカイコに接種し、キボシカミキリ由来のB. brongniartiiはほとんど病原性を示さなかったのに対し、CBS株では蟻蚕には比較的強い病原性が、また3 齢起蚕にも病原性があることを報告しており、本研究で供試したF-77は病原性の点からはCBS株に類似していると思われた。

第2章 Beauveria bassianaの分類学的特性と関連微生物

前章でマツノマダラカミキリに対して、B. bassianaが有力な天敵微生物である一方、カイコに対し病原力の異なる2系統のB. brongniartiiがマツノマダラカミキリに対しても病原力が異なることを示した。そこでこの章ではBeauveria属に属する保存菌を形態、培養的性質に基づいてグループ分けし、2系統のB. brongniartiiについての記述を行った。さらに、コガネムシ寄生型B. brongniartiiには有性世代としてCordyceps brongniartiiがあることを見出した。

第1節 Beauveria属菌のグループ分け

研究室保存菌のBeauveria bassianaをはじめとするBeauveria属菌には、分生子の形状が球形のものから、円筒形のものまで幅広くある。そこで、これらの形態と培養的性質を調査してグループ分けを行い、これまでいわれているようなMacLeod(1954)が始めた、球形の分生子はB. bassiana、長円形の分生子はB. brongniartiiという分け方でよいかどうかを見直した。本研究の中で、B. brongniartiiのうちコガネムシから分離される系統とカミキリムシから分離される系統は、形態的に区別が可能なが判明したので、これらの菌の位置づけを明確にした。

材料と方法

森林総合研究所昆虫病理研究室保存のBeauveria属菌から表-10に示す50株を選び、供試菌株とした。

供試菌株の中に、通常の昆虫寄生菌用培地として使用しているSDY培地上では気中菌糸ばかりのびて分生子を形成しにくい菌株があった。これはとくに土壌生息性の昆虫から分離された株に多く、かつ、これらの株は赤色

表-10 供試菌株の分離源と産地

菌株番号	分離源	産地
F-15	コガネムシ類 (Scarabaeidae)	フランス
F-16	コガネムシ類 (Scarabaeidae)	フランス
F-18	マツカレハ (<u>Dendrolimus spectabilis</u>)	東京都
F-56	マツノシンマダラメイガ (<u>Dioryctria sylvestrella</u>)	神奈川県
F-76	オオスジコガネ (<u>Anomala costata</u>)	長野県
F-77	オオスジコガネ (<u>Anomala costata</u>)	長野県大門山
F-145	ニセヨコモンヒメハナカミキリ (<u>Pidonia simillima</u>)	滋賀県御池谷
F-185	マツカレハ (<u>Dendrolimus spectabilis</u>)	(飼育)
F-204	ヤノナミガタチピタマムシ (<u>Trachys yanoi</u>)	京都府嵐山
F-237	ハラアカコブカミキリ (<u>Moechotypa diphysis</u>)	長崎県対馬
F-240	サビカミキリ (<u>Arhopalus coreanus</u>)	東京都八王子市
F-257	スケバハゴロモ (<u>Euricania facialis</u>)	茨城県千代田村
F-261	マツノシラホシゾウムシ (<u>Shirahoshizo insidiosus</u>)	埼玉県鳩山村
F-263	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	熊本県
F-268	サビカミキリ (<u>Arhopalus coreanus</u>)	茨城県基崎村
F-272	コガネムシ類 (Scarabaeidae)	北海道手塩
F-277	サビカミキリ (<u>Arhopalus coreanus</u>)	埼玉県鳩山村
F-281	マツノシラホシゾウムシ (<u>Shirahoshizo insidiosus</u>)	埼玉県鳩山村
F-286	テングスケバ (<u>Pseudophana patruelis</u>)	埼玉県鳩山村
F-296	ココマキリ (<u>Statilia maculata</u>)	埼玉県鳩山村
F-300	ビロードカミキリ (<u>Acalolepta fraudatrix</u>)	長野県上田市
F-305	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	石川県
F-313	キボシカミキリ (<u>Psacotha hilaris</u>)	東京都高尾山
F-315	トガリシロオビサビカミキリ (<u>Pterolophia caudata</u>)	東京都高尾山
F-320	カイコ (<u>Bombyx mori</u>)	埼玉県秩父郡
F-333	マツノシラホシゾウムシ (<u>Shirahoshizo insidiosus</u>)	東京都八王子市
F-357-1~16	ドウガネブイブイ (<u>Anomala cuprea</u>)	長野県西岳国有林
F-359-1~22	ドウガネブイブイ (<u>Anomala cuprea</u>)	長野県西岳国有林
F-365	マツノマダラカミキリ (<u>Monochamus alternatus</u>)	栃木県
大7	ハラアカコブカミキリ (<u>Moechotypa diphysis</u>)	大分県
R-47	コフキコガネの一種 (<u>Melolontha melolontha</u>)	フランス

色素を産生するという共通点があった。そこで、これらの代表として *B. brongniartii* F-77 を使用して、後述する形態測定のための分生子を形成させるのに最適の培地を選定するため、表-11 に示す4種の培地上での分生子の産生を調査した。この表中、SDYは通常昆虫寄生菌の培養にしばしば用いる1%酵母エキス加用Sabouraudブドウ糖培地である。種菌として F-77号菌を表-11のSSYから寒天を除いた液体培地で4日間振盪培養した。この培養物のpHを10%Na₂CO₃で6.5に調整したものを種菌液とした。供試するそれぞれの培地を高圧滅菌後45°Cに冷却したところに、種菌液を供試する培地の量の20%だけ加えて混合し、寒天が固まらないうちに16.5×23cmのふたの透明なプラスチック箱のふたと身にそれぞれ流し、固化させた。これを25°C蛍光灯照明下に置き、20日間培養した後、室温で寒天を乾燥し、分生子を毛筆で収穫した。収穫した分生子は、50mg前後を計量し、Tween 80を300ppm、エタノールを約30%含有する水に懸濁した後、適当に希釈し、トーマ氏の血球計算盤で計数し、グラムあたりの分生子量を求め、分生子の収量を算出した。1回の培養で、4~18個の箱を用い、これを2~4回反復した。

こうして、分生子を形成しにくい株でも分生子形成させる培地を選定し、全供試菌株の分生子の形と大きさを調査した。前記の予備実験の結果最も分生子量の多かったRS培地を用い、9cmのペトリ皿で3週間培養して分生子を形成させ、これを、縦横の長さに歪みのないよう調整した顕微鏡テレビ装置のモニター上に投影し、画面上の分生子の長径と短径をノギスで計測し、別に計測した対物マイクロメータの寸法により分生子の実寸法に換算した。

全供試菌株を培養し、外観と色を調査した。Sabouraudブドウ糖培地の平板培地(9cmペトリ皿による)と斜面培地(18mm×18cm)、およびRS平板培地(9cmペトリ皿による)に各菌を植え、25°C全明および全暗条件下で培養し、外観と色を調査した。これらは、培地の種類、培地の形態(平板・斜面)、照明の有無の各条件それぞれにおいて、1、2、3週間後における

表-11 分生子生産のため供試した培地の組成

成分	培地の種類			
	RD	RS	SDY	SSY
ペプトン	—	—	10g	10g
酵母エキス	5g	5g	10g	10g
ブドウ糖	10g	—	20g	—
しょ糖	—	10g	—	20g
KH ₂ PO ₄	1g	1g	—	—
Na ₂ HPO ₄	1g	1g	—	—
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.6g	0.6g	—	—
NaNO ₃	0.7g	0.7g	—	—
寒天	10g	10g	10g	10g
水	1000ml	1000ml	1000ml	1000ml

状態を，菌糸の色（白，淡黄，黄色），気中菌糸の状態（平坦，綿状，菌糸束），培地の着色（なし，淡黄，淡桃，淡褐），分生子の色（白，淡黄，淡褐），分生子の形成状態（なし，中央，菌糸の先，全面）に類型化して記録した。

供試菌株のうち，長円形の分生子をもつカミキリムシ科からの分離菌についてはすべて，また，その他の寄主から分離された菌は球形の分生子をもつものと長円ないし円筒形の分生子をもつものそれぞれ数株ずつ，スライド培養を行い，分生子形成細胞（sympodula）の形態，分生子形成細胞先端への分生子着生状態，クラスタの有無を調査した。スライド培養は，Sabouraudブドウ糖培地上の若い菌糸を培地ごと約 2×2 mm，厚さ約0.5mmに切り取り滅菌したスライドガラスの中央に置き，滅菌したカバーガラスをのせ，湿した濾紙を入れたペトリ皿にU字形のガラス棒の台とともに入れ， 25°C で7日間培養することにより行った。

結果と考察

F-77菌の各種培地上での単位面積当たりの分生子形成量を表-12に示す。Sabouraud系の培地（SDY，SSY）では菌糸がよくのび，綿毛上になったが，分生子の形成はよくなかった。これに対し，半合成系の培地（RD，RS）では菌糸はあまりのびず，培地表面は形成された分生子の塊で粒状になった。分生子形成はSabouraud系より優れていた。また，糖が異なる同系の培地同士の比較ではしょ糖を使用したものの方が，ブドウ糖を使用したものより分生子形成量が多かった。結論として，供試した培地の中ではRS培地が最も分生子形成量が多かった。

分生子の大きさ，長径と短径の比（以下縦横比と略）を一覧表にすると表-13のようになった。分生子の形態は，その形状，大きさ，縦横比により，大別して5つのグループに分けることができた（表-14）。第1のグループは分生子が垂球形ないし短い卵形のもので，縦横比はいずれも

表-12 各種培地上のF-77の分生子形成量

培地の種類	反復数	分生子数/cm ²		
		平均	範囲	
RD	2	4.5×10^5	1.6×10^5	7.4×10^5
RS	4	1.4×10^6	8.7×10^5	1.8×10^6
SDY	3	2.1×10^5	4.5×10^4	4.2×10^5
SSY	3	6.9×10^5	6.9×10^4	1.4×10^6

表-13 各菌株の分生子の大きさと縦横比 (平均±95%信頼限界)

菌株番号	長径 (μm)	短径 (μm)	比
F-15	2.26 ± 0.04	2.00 ± 0.04	1.13 ± 0.02
F-16	3.13 ± 0.05	1.91 ± 0.04	1.65 ± 0.04
F-18	3.76 ± 0.07	2.97 ± 0.06	1.27 ± 0.03
F-56	2.61 ± 0.04	2.30 ± 0.04	1.14 ± 0.02
F-76	2.36 ± 0.03	2.06 ± 0.03	1.15 ± 0.02
F-77	2.77 ± 0.03	1.74 ± 0.03	1.60 ± 0.03
F-145	2.48 ± 0.05	2.14 ± 0.04	1.16 ± 0.02
F-185	2.94 ± 0.06	2.42 ± 0.05	1.22 ± 0.03
F-204	2.35 ± 0.04	2.12 ± 0.04	1.11 ± 0.02
F-209	2.36 ± 0.04	1.99 ± 0.04	1.19 ± 0.02
F-237	2.91 ± 0.07	2.20 ± 0.03	1.33 ± 0.03
F-240	2.43 ± 0.04	2.06 ± 0.03	1.18 ± 0.02
F-257	2.50 ± 0.05	2.18 ± 0.04	1.15 ± 0.02
F-261	2.57 ± 0.04	2.18 ± 0.03	1.18 ± 0.02
F-263	2.21 ± 0.03	1.95 ± 0.03	1.14 ± 0.02
F-268	2.47 ± 0.05	2.10 ± 0.03	1.18 ± 0.02
F-272	2.86 ± 0.05	1.83 ± 0.04	1.57 ± 0.04
F-277	3.22 ± 0.05	1.62 ± 0.02	2.00 ± 0.05
F-281	2.98 ± 0.05	1.61 ± 0.03	1.86 ± 0.05
F-286	2.44 ± 0.04	2.10 ± 0.04	1.16 ± 0.02
F-296	2.53 ± 0.05	2.25 ± 0.04	1.13 ± 0.02
F-300	3.79 ± 0.10	2.40 ± 0.06	1.59 ± 0.06
F-305	2.31 ± 0.04	2.04 ± 0.03	1.13 ± 0.02
F-313	3.34 ± 0.08	2.35 ± 0.07	1.43 ± 0.03
F-315	3.04 ± 0.05	2.25 ± 0.04	1.35 ± 0.03
F-320	2.55 ± 0.06	2.19 ± 0.05	1.17 ± 0.03
F-333	3.02 ± 0.07	1.73 ± 0.04	1.76 ± 0.06
F-357-1	3.09 ± 0.06	1.57 ± 0.04	1.98 ± 0.06
F-357-10	3.49 ± 0.08	1.59 ± 0.03	2.21 ± 0.07
F-357-11	3.65 ± 0.08	1.53 ± 0.03	2.40 ± 0.07
F-357-12	3.80 ± 0.09	1.59 ± 0.04	2.40 ± 0.08
F-357-13	2.82 ± 0.05	1.74 ± 0.03	1.63 ± 0.04
F-357-14	3.76 ± 0.08	1.47 ± 0.03	2.57 ± 0.08
F-357-15	3.92 ± 0.10	1.80 ± 0.05	2.20 ± 0.08
F-357-16	3.67 ± 0.11	1.51 ± 0.03	2.44 ± 0.09
F-357-2	3.48 ± 0.07	1.56 ± 0.03	2.24 ± 0.08
F-357-3	4.02 ± 0.11	1.60 ± 0.04	2.53 ± 0.09
F-357-4	3.78 ± 0.08	1.63 ± 0.04	2.34 ± 0.09
F-357-7	3.85 ± 0.08	1.60 ± 0.03	2.42 ± 0.08
F-359-1	2.07 ± 0.03	1.85 ± 0.03	1.12 ± 0.02
F-359-14	2.17 ± 0.03	1.95 ± 0.03	1.11 ± 0.02
F-359-16	2.18 ± 0.03	1.97 ± 0.03	1.11 ± 0.02
F-359-19	2.22 ± 0.03	1.93 ± 0.03	1.15 ± 0.02
F-359-21	2.33 ± 0.04	2.04 ± 0.03	1.14 ± 0.01
F-359-22	2.25 ± 0.03	2.03 ± 0.03	1.11 ± 0.01
F-359-7	2.12 ± 0.04	1.93 ± 0.03	1.10 ± 0.02
F-359-8	2.18 ± 0.04	1.93 ± 0.04	1.13 ± 0.01
F-365	2.48 ± 0.06	2.15 ± 0.05	1.16 ± 0.03
O-7	3.03 ± 0.04	2.15 ± 0.04	1.41 ± 0.02
R-47	3.11 ± 0.06	1.93 ± 0.04	1.62 ± 0.04

表-14 分生子形態のグルーピング

グループ	形態	縦横比	菌株番号					
1	壺球形	1.2	F-15	F-18	F-56	F-76	F-145	F-185
			F-204	F-209	F-240	F-257	F-261	F-263
			F-268	F-286	F-296	F-305	F-320	F-359-1
			F-359-14	F-359-16	F-359-19	F-359-21	F-359-22	F-359-7
			F-359-8	F-365				
2	長円形	1.4	F-237	F-300	F-313	F-315	0-7	
3	長円形	1.6	F-16	F-77	F-272	F-357-13	R-47	
4	円筒形	1.8	F-277	F-281	F-333			
5	円筒形	>2	F-357-1	F-357-2	F-357-3	F-357-4	F-357-7	F-357-10
			F-357-11	F-357-12	F-357-14	F-357-15	F-357-16	

1.1~1.2程度で大きさはかなり近似しており、約 $2\sim 2.6\times 1.8\sim 2.3\mu\text{m}$ のものが大部分であった（図-1A）。ただし、マツカレハから分離した2株（F-18とF-185）は異常に大きく縦横比もやや大きかった。第2のグループは分生子が卵形から長円形で $2.9\sim 3.8\times 2.2\sim 2.4\mu\text{m}$ 、縦横比は1.4前後で、すべてカミキリムシ科成虫から分離されたものであった（図-1B）。第3のグループは分生子が長円形、 $2.8\sim 3.2\times 1.6\sim 2\mu\text{m}$ 、縦横比は1.6前後のもので、すべてコガネムシ類幼虫から分離されたものであった（図-1C）。第4のグループは、分生子の大きさは第3のグループに近かったが、形状は側面の膨らみがほとんどないかあるいは逆に軽くへこんでおり、円筒形から棍棒形といえるものであった（図-1D）。これらは、すべてマツの樹幹上の甲虫類から分離されたものであった。第5のグループは、分生子の形状は第4グループに類似するが、より長く、縦横比が2.0以上あった（図-1E）。これらは、すべてコガネムシ類幼虫から分離されたものであった。

分生子形成細胞は、調査した菌株の中では、R-47を除くすべての株でクラスターの形成がみられた。De Hoog (1972)によれば、*B. bassiana*はよくクラスターを形成し、*B. brongniartii*は滅多に形成しない、とされ、分生子の形態と並んでクラスター形成の有無が種の同定の重要な基準にされている。しかし、本研究の結果では、クラスター形成の有無は、分生子の形態とは必ずしも関係がなかった。むしろ、クラスター形成の有無は、同一の菌株の内でも、スライド培養の培地に近い部分ではクラスターを形成し、菌糸の先端に近い部分ではクラスターを形成しにくい傾向がみられた。河上(1978)も、キボシカミキリから分離した*B. brongniartii*でクラスター形成が必ずしも希ではないという観察結果を示している。しかし、クラスターの分布あるいは形成しやすい部分についての記載はない。

分生子形成細胞の形態は、いずれの菌株でも球形から円筒形、そしてその中間のフラスコ形といえるものがあった（図-2A, B）。分生子形成細胞の形態もDe Hoog (1972)が*B. brongniartii*と*B. bassiana*を分ける重

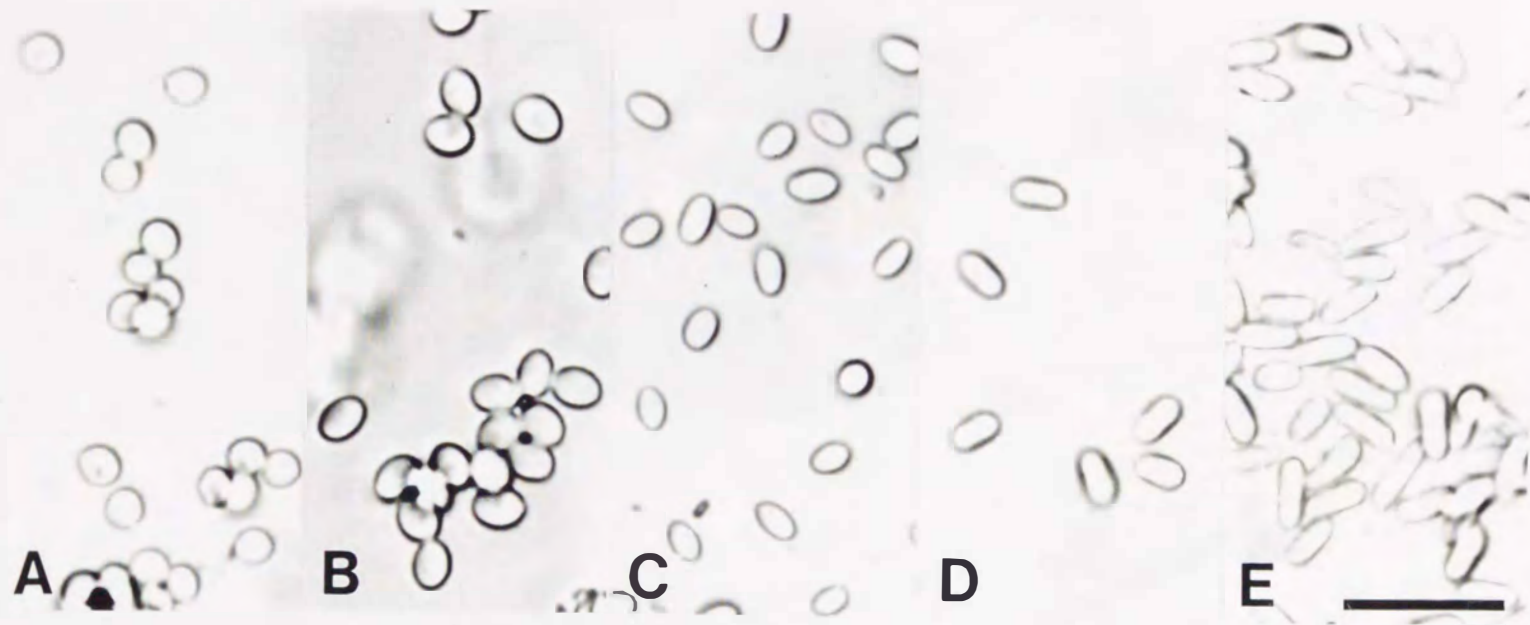


図-1 Beauveria属の分生子。A：グループ1（F-365），
B：グループ2（F-315），C：グループ3（F-77），
D：グループ4（F-333），E：グループ5（F-357-4）。
倍率共通，棒線 = 10 μ m。

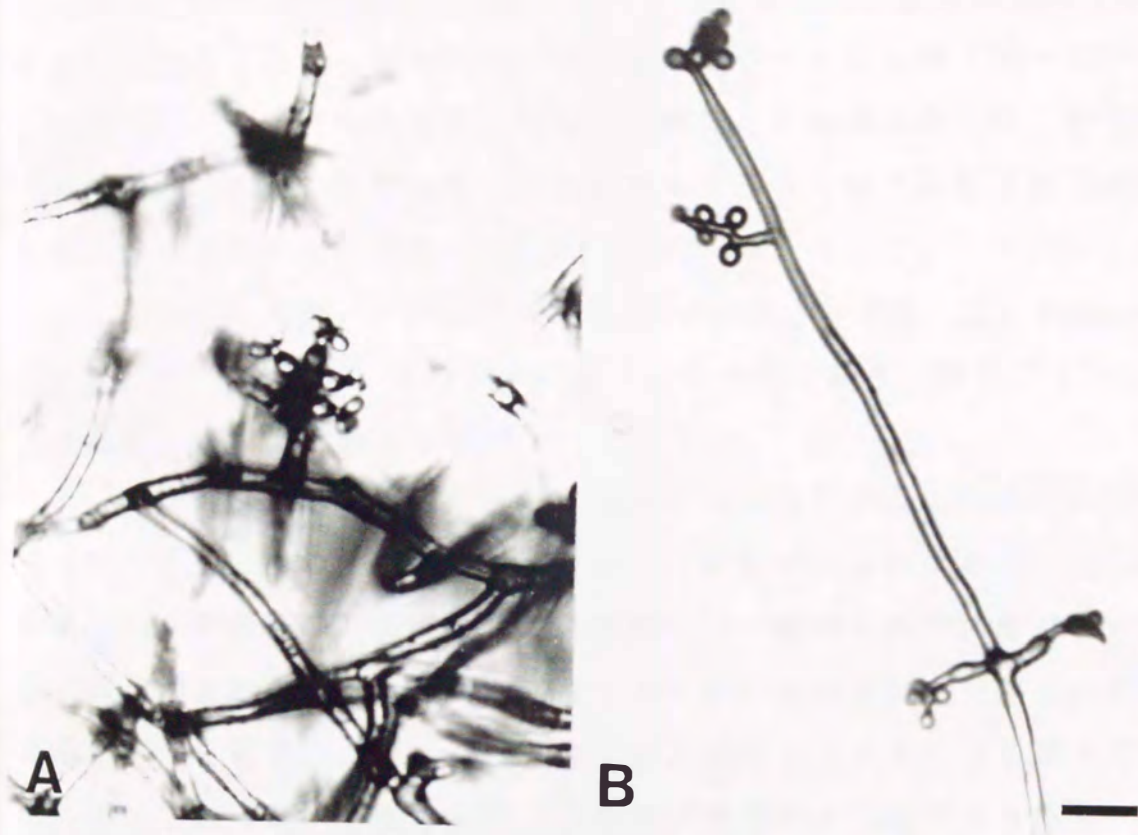


図-2 Beauveria属の分生子形成細胞の形態。

A：球形（F-16），B：円筒形（F-15）。倍率共通，棒線 = 10 μ m。

要な形質としているが、本研究の結果では、分生子の形態と直接関係はみられなかった。しかし、分生子形成細胞がクラスターの中にあるか否かということとその形態は強い相関があり、同一菌株の単一の培養においても、クラスターの中にある細胞は球形に近く、独立してあるものは円筒形に近いという傾向があった。分生子形成細胞先端への分生子の形成方法は、*Beauveria*属の特徴であるジグザグ形（図-3A）がいずれの菌株でも主な形成様式であった。このほかに、その変形といえる多叉形（図-3B）や一方形（図-3C）もほとんどの株に比較的高い頻度で見られ、分生子形成細胞の形態を属の分類形質とするにはもちろん、種の分類形質にするにも変異が多すぎるといえる。DeHoog（1972）は、ここでいう多叉形のものを *Isaria*属としたが、これは、のちにCarmichael（1980）により *Beauveria*属に吸収された。本研究の結果は、この属の統合が当を得ているということをサポートする結果となった。

培養的性質は、培養条件ごとの各調査項目を合計すると91項目になった。菌株相互で各項目の性状を比較し、全項目数に対する性状が同じ項目の数の率を相互の菌株の類似度とした。菌株間での類似度を10%単位とした指数で表示すると表-15のようになった。表中では菌株を分生子の縦横比の順に並べてある。これらは、分生子の形態によるグループを越えて類似する場合もあった。分類の基準には形態が最優先されるべきであり、これを越えて類似するものを含めて類縁関係を論ずるのは無意味であると考えられるため、樹形図を書くことはしなかった。これによると同じ分生子形態グループに属する菌株同士では、培養的性質の類似度も高い傾向があるように思われたので、これら異なる方法によるグループ分けの関係をみるために、表-15の分生子の形態グループごとの類似度を平均してみると表-16のようになった。この結果ではグループ2, 4, 5で同一グループとの類似度が他のグループとの類似度より高かった。つまり、形態的に類似すると同時に培養的性質も類似していた。一方、分生子がほぼ球形のもの（グループ1）は形態的にはよくまとまっているが、その培養的性質

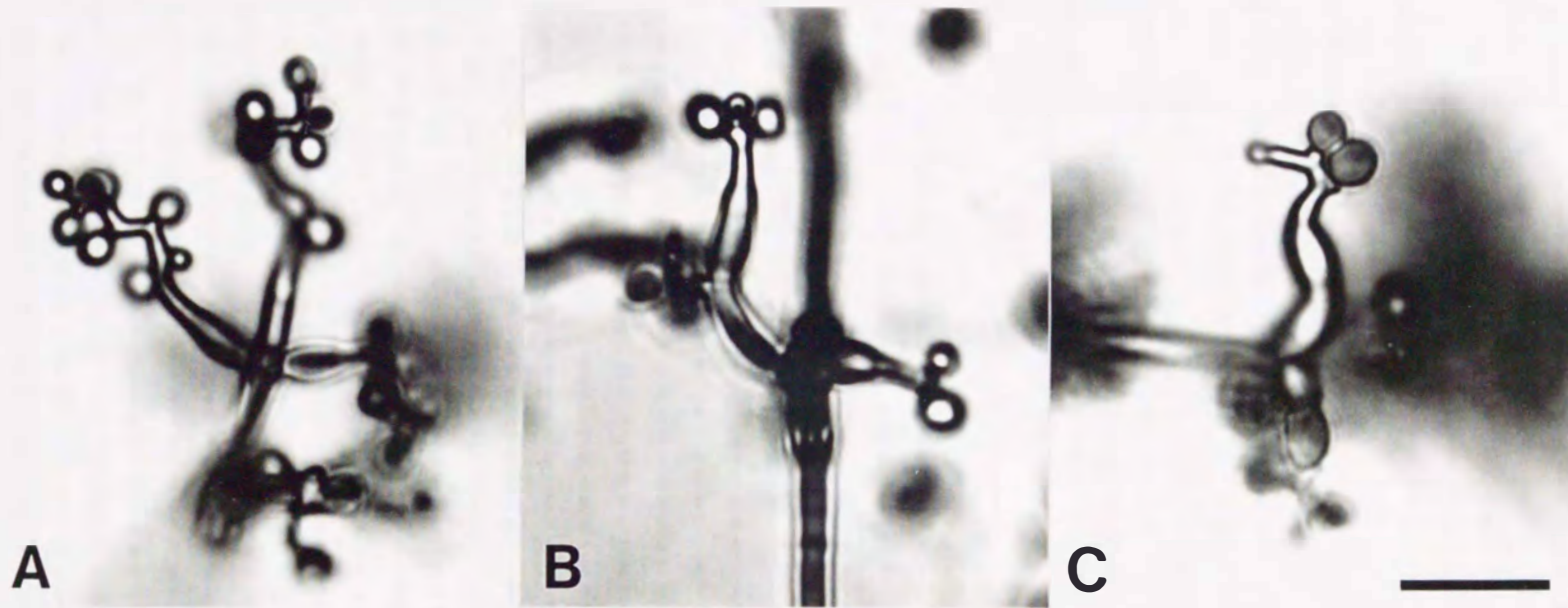


図-3 *Beauveria*属の分生子形成細胞先端での分生子形成方法。
A：ジグザグ形（F-15），B：多叉形（F-185），C：一方形（F-286）。
倍率共通，棒線 = 10 μ m。

表-16 菌株のグループごとの培養的性質の類似度の平均値

分生子形態のグループ	1	2	3	4	5
1	5.9				
2	6.1	7.7			
3	5.8	6.0	6.1		
4	5.6	6.0	6.1	7.2	
5	5.9	5.9	6.3	5.8	6.8

は調査した菌株が多かったこともあり、多岐にわたっていた。また、グループ3はそれ自身よりもグループ5との類似度が高く表れた。これはグループ3と5に培地を赤変するものが多く、とくに5の方がその点においてよくまとまっていたため、と思われる。

分生子の形態による5つのグループ内で、類似度が80%以上あったものをまとめると、以下ようになった。グループA：分生子形態グループ1，典型的な黄きょうで，F-15，F-56，F-209，F-240，F-268，F-320が含まれる。グループB：分生子形態グループ1，純白の分生子を形成するB. bassianaで，F-18，F-185，F-365が含まれる。グループC：分生子形態グループ4，分生子は桃色から褐色で，F-277，F-281，F-333が含まれる。グループD：分生子形態グループ2，平坦なコロニーで，暗黒で培養しても菌糸はほとんど綿状にならない。黄きょうに似ているが，分生子はごく淡い黄褐色に近く，培地は黄色がかかる。F-237，F-300，F-313，F-315が含まれる。グループE：分生子形態グループ3，培地を赤変し，R-47，F-357-13が含まれる。グループF：分生子形態グループ5，培地を赤変し，F-357-4，F-357-11，F-357-14が含まれる。グループG：分生子形態グループ1，培地を赤変し，F-305，F-359-7，F-359-8，F-359-14，F-359-16，F-359-21，F-359-22が含まれる。

MacLeod (1954) はBeauveria属を分生子の形態によりB. bassianaとB. tenellaの2種に統合した。DeHoog (1972) はBeauveria属のモノグラフを記し，タイプ標本の検討からB. tenellaはB. bassianaの異名であり，MacLeod (1954) によりB. tenellaとされた長円形の分生子をもつ種の名前はB. brongniartiiが正当であるとした。大筋では，後者の分類基準は前者の考えを踏襲しており，さらに，クラスターの有無，分生子形成細胞の形態を分類基準に入れている。しかし，本研究の結果では，クラスターと分生子形成細胞は，同一菌株同一培養内でも変異が大きく，分類基準にするには不適當であると考えられた。MacLeod (1954) もクラスターと分生子形成細胞の形態を詳しく観察しており各種の変異を記載しているが，著者が

本研究で明らかにしたような分生子形成細胞の形態はクラスター形成の有無と強い相関があり，それはまた，培地からの距離に影響される，という観察はされていない。

分生子の形態は，精密に調査するとかなり明瞭にグループ分けが可能であった。このグループをDeHoog (1972), Samson & Evans (1982) による分類に比較して当てはめてみると，グループ1はB. bassiana，グループ2と3はB. brongniartii，グループ4は該当種なし，グループ5はB. amorphaとなる。第1章第2節で供試した Beauveria sp.1はこのグループ4に該当する。B. brongniartiiとグループ2と3との関係については次節で述べる。

第2節 Beauveria brongniartiiの2つの型について

前節で，Beauveria属の分生子の形態で分けたグループ2と3は形態的に異なるのみならず，寄主もそれぞれカミキリムシ科とコガネムシ科に属し，また，培養上の性質もそれぞれのグループ内では類似している。このことから，現在，B. brongniartiiと呼ばれているものは2群に分けることが適当であると考えられる。種名については，ここでは扱わず，一応，グループ2に属するものをカミキリムシ寄生型B. brongniartii，グループ3に属するものをコガネムシ寄生型B. brongniartiiと呼ぶことにする。カミキリムシ寄生型B. brongniartiiと仮称した菌の形態をここに他種との差異が明瞭になるように記載し，この菌の位置づけについて考察する。

記載

(1) カミキリムシ寄生型 Beauveria brongniartii

寄主：これまで，自然状態ではカミキリムシ類の成虫以外に寄生しているものは発見されていない。また，他の研究者から分与を受けたこのタイ

プの菌もすべてカミキリムシ類成虫からのものであった。本菌によって死亡した寄主は節間から白色菌糸を伸長し、しばしば全面をおおうほどに発達する。成虫ではコガネムシ寄生型 *B. brongniartii* や *B. bassiana* によって死亡した場合に比較して、鞘翅の表面や腹部腹面までも菌糸におおわれることがより多い。分生子は粉状に形成され飛散しやすい。

培地上の外観：SDY培地上で菌糸は純白、ほぼ平坦でめったに綿状にならない。分生子を形成すると粉状、淡い黄褐色。集落裏面は淡黄色ないし黄褐色。*B. bassiana* やコガネムシ寄生型 *B. brongniartii* にはない淡い花のような芳香をもつ。

分生子形成細胞：球形ないしフラスコ型、培地から離れた部分では円筒状になることもある。先端はジグザグ状に分生子を形成。この形状だけでは他の *Beauveria* 属と区別することは困難である。しばしばクラスターをなす。

分生子：卵形から長円形で $2.9\sim 3.8 \times 2.2\sim 2.4\mu\text{m}$ 、縦横比は1.4前後。コガネムシ寄生型 *B. brongniartii* より大きく、とくに短径が大きい。

(2) コガネムシ寄生型 *Beauveria brongniartii*

寄主：ほとんどがコガネムシ科の幼虫または成虫。例外的に、鱗翅目からの分離株がある。土壌昆虫が多く、死亡虫から伸長した菌糸が周囲の土を団子状に固めていることが多い。分生子は長く伸びた菌糸では先端に少しだけ粒状に形成され、そうでない場合には死体表面に密な塊状に形成され、いずれの場合も、*B. bassiana* やカミキリムシ寄生型 *B. brongniartii* に比べ、飛散しにくい。死亡直後の寄主は菌の産生する色素でピンク色になることが多い。

培地上の外観：SDY培地上で菌糸は純白、気中菌糸がよく発達し、綿状になることが多い。この培地では分生子を形成しにくい、形成される場合には密な塊状になることが多く、その色はほとんど白色。培地中に紅色色素を産生することが多い。

分生子形成細胞：カミキリムシ寄生型 *B. brongniartii* とほぼ同様。

分生子：長円形， $2.8\sim 3.2\times 1.6\sim 2\mu\text{m}$ ，縦横比は1.6前後。カミキリムシ寄生型 *B. brongniartii* より小さく，細い。

その他，詳しくは後述するが，この菌は時に子のう胞子を形成することがあり，完全世代は *Cordyceps brongniartii* である。

考察

カミキリムシ寄生型 *B. brongniartii* とと思われる菌を河上(1978)はキボシカミキリから分離し *B. tenella* として記載した。また青木ら(1983)はやはりキボシカミキリから本菌と類似の菌を検出し，*Isaria near felina* と同定している。その分生子形成細胞先端は多叉形で，ジグザグに形成されることはなかったという。分生子は短楕円形で大きさは $1.5\sim 3.0\times 1.5\sim 2.5\mu\text{m}$ ，平均 $2.5\times 2.0\mu\text{m}$ でかなり球形に近く，これは，前節で扱った菌で他の *B. bassiana* より分生子が大きく縦横比も若干大きい（細長い）F-18やF-185の大きさに近い。*I. felina* (De Hoog, 1972)はこれらより大きく，そのため，この菌は *near felina* という扱いを受けている。*Isaria* 属は Carmichael (1980)が *Beauveria* 属に編入したので，この菌も *Beauveria* 属になる。直接の比較検討は行っていないが，分生子が若干小さく球形に近いということで，この菌と *B. brongniartii* カミキリムシ寄生型とは別のものである可能性が高い。

現在 *Beauveria brongniartii* と呼ばれている菌の学名が定着するまでにはいくつかの混乱があった。ここで，卵形ないし長円形の分生子を作る *Beauveria* 属の学名の変遷を，MacLeod (1954)およびDe Hoog (1972)から拾って見直してみる。

Link (1809)は *Sporotrichum densum* という菌を記載したが，この時点で分生子についての記述はなかった。Link (1820)は *Sporotrichum* 属のモノグラフで，再度 *S. densum* について述べ，分生子は丸いと記載した。Sac-

cardo (1886)はcockchafer (Melolontha melolonthaと思われる)から「イザリア」様の菌を記載し、これをBotrytis tenellaと呼んだ。その分生子は丸く(1.5 μ m)、これをBotrytis bassianaの変種とした。Prillieux & Delacroix (1891)はBotrytis bassianaに類似で分生子が卵形ないし楕円形の菌に対し、Botrytis tenellaという名を用いた。Brongniart & Delacroix (1891)はアルジェリアのバッタから3種の菌を分離し、うち2種がBotrytis属であったが、命名しなかった。Saccardo (1892)はBrongniart由来の菌のうちのひとつで、フランスの"red muscardine"によく似た菌で、名前なしで記載されていたものをBotrytis brongniartiiとして記載した。その分生子は卵形、4 \times 2~2.5 μ mでBotrytis tenellaよりもやや長いと報告した。また、球形の分生子をもつ種をB. brongniartii subsp. delacroixiiとして再記載した。Giard (1892)はcockchaferの菌についてIsaria densaと呼び、これはFries (1832)によって命名されたものと記した。しかし、これはMacLeod (1954)によると誤りで、Fries (1832)がS. densumと呼んだ菌はBotrytis densa (= Tricholoma candium)であり、Link (1820)のS. densumとは異なるとした。Delacroix (1893)はBotrytis tenellaはゼラチンを赤変するが、Botrytis brongniartiiは赤変しない点で異なると報告した。Saccardo (1913)はMelolontha vulgarisから分離された菌(分生子卵形、2.5~3 \times 1.5 μ m)をBotrytis melolonthaeとして記載した。Vuillemin (1912)はBeauveria属の原記載をし、B. bassianaとBeauveria effusaの2種をこれに入れた。Sporotrichum densum Link (= Isaria densa Giard = Botrytis tenella Saccardo)はBeauveriaとの関連に疑問があるとして入れられなかった。Picard (1914)はGiardの菌にBeauveria densaの名を与えた。Petch (1926)はBotrytis brongniartiiをBeauveria属へ移したが、Botrytis melolonthaeはBotrytis tenella Delacr. (= S. densum Link)に似ているとしながらも、Saccardo (1913)の記述からはBeauveria属に属するかどうか明確でないとした。Kuru (1931)は日本で、ヒトの右季肋部の膿瘍から菌を分離し、Isaria shiotaeと命名

した。彼はこの菌はB. bassianaおよびB. effusaと形態的に同一であるがときに分生子柄束を形成することからIsaria属とした。しかしのちにMacLeod (1954)はこの大きさ、形態はむしろB. tenellaであるとしている。Brumpt (1936)によるとLangeronはI. shiotaeをBeauveria属に移し、Beauveria shiotaeとした。Siemaszko (1937)はSporotrichum densum Linkは記載が不完全で変則的な命名で、このためS. densumの名を卵形分生子をもつBeauveria属菌の名の異名とするのは疑問であり、この菌の名としては、年代順中最初の有効名であるところのBeauveria tenellaを使うべきだと提案した。また、Beauveria brongniartiiはB. tenellaの1系統であるとした。MacLeod (1954)は卵形分生子をもつBeauveria属菌の名としてS. densumは、1821年以前の記載であるので無効であり、さらにこの学名はFries (1832)によって別の菌に対して命名された学名として有効であるとした。このため、卵形分生子をもつBeauveria属菌の正当な名としてはB. tenella (Delacroix) Siemaszkoであると提案した。また、Beauveria属を2種に統合し、B. densa, B. melolonthae, B. brongniartii, B. shiotaeの4種をB. tenellaの異名とした。De Hoog (1972)はタイプ標本を検討した結果、B. tenellaとB. densaをB. bassianaの異名とし、卵形分生子の菌に対してはB. brongniartiiの名を用いた。さらに、Isaria koganeなどもB. brongniartiiの異名にした。

以上のような経緯で、卵形ないし長円形の分生子のBeauveria属菌はMacLeod (1954)によって統合され、すべてB. tenellaと呼ばれるようになったが、B. tenellaは本来球形の分生子の菌に付けられた名であったことをDe Hoog (1972)が指摘してB. brongniartiiという名が現在使われている。Siemaszko (1937)によるB. brongniartiiのB. tenellaへの統合に始まり、長円形分生子の菌をすべて統合したMacLeod (1954)の考え方を認めるならば、確かにこれらの菌の名はみなDe Hoog (1972)の指摘どおりB. brongniartiiと呼ぶべきである。しかし、本研究で明らかにしたように現在B. brongniartiiと呼んでいる菌にも形態的に区別できる2つのグループがあ

り、寄主、培養特性、さらには遺伝子レベルでも(山下ら, 1995a, b)違いがある以上、両者はいずれは別種にすべきものだと考える。Neuvegliseら(1994)は多くのB. brongniartiiについて特定の昆虫に対する病原力とリボソームDNAのRFLP分析、塩基配列分析を行っている。結論としてはB. brongniartiiはかなり多様で、特定の寄主からの分離株は遺伝的に均質でその寄主に対する病原力が強い、としている。不完全菌の種の分類は基本的には形態のちがいに基づくべきで、同一の形態の菌の中での培養的性質や寄生特性のちがいは種以下のことといえる。しかし、遺伝子レベルでの彼らのB. brongniartiiの多様性は、同時に試験に供したB. bassiana (つまり明らかに形態的に異なる)と同程度の違いがあり、このことはB. brongniartii内部の多様性は種レベルに相当するものだということになる。残念ながら、彼らは形態に一言も触れていないので、本研究によるグループ分けとの比較ができない。

既知の菌の中に、本研究のこれらのグループに相当する菌があるかどうか比較してみる。MacLeod (1954)のモノグラフの中で、彼はそれまで報告のあった各種のBeauveria属菌の分生子の大きさをまとめている。これとカミキリムシ寄生型およびコガネムシ寄生型B. brongniartiiを比較してみると表-17のようになる。ここでいうB. tenellaはPrillieux & Delacroix (1891)のいう分生子が卵形ないし楕円形のもののことである。分生子の大きさを比較してみると、SiemaszkoによるB. tenellaの寸法は範囲が広すぎて比較が難しいが、その他の分生子の幅は、 $2\mu\text{m}$ を境に2グループに分けることができる。幅が $2\mu\text{m}$ を超えるものはB. brongniartii, B. shiotae, そして本論文のカミキリムシ寄生型、また幅が $2\mu\text{m}$ 以下のものはB. tenella, B. melolonthae, そして本論文のコガネムシ寄生型である。これらは寄主によっても違いがあり、前者のグループはバッタ、ヒト、カミキリムシ類など不定、後者のグループはコガネムシである。すでに、これらのグループに属する種の相違を指摘した人も過去にあり、Saccardo (1892)はBotrytis brongniartiiはBotrytis tenellaより分生子が長い、Delacroix

表-17 卵形ないし長円形分生子をもつ *Beauveria* 属の分生子の大きさ
(MacLeod, 1954のデータを使用)

種名	長径 (μm)	短径 (μm)	文献
<i>brongiartii</i>	4.0	2.0-2.5	Saccardo (1892)
<i>shiotae</i>	2.5-4.0	2.0-3.5	Kuru (1932)
カミキリ寄生型	2.9-3.8	2.2-2.4	本論文
<i>tenella</i>	1.9-5.0	1.7-3.0	Siemaszko (1937)
〃	2.0-2.5	1.5-2.0	Smith (1897)
<i>melolonthae</i>	2.5-3.0	1.5	Saccardo (1913)
コガネムシ寄生型	2.8-3.2	1.6-2.0	本論文

(1893)はBotrytis brongniartiiはゼラチンを赤変しないがBotrytis tenellaは赤変する，という報告をしている。

正式な記載にはタイプ標本の検討が必要であるが，文献上の特徴からも現在B. brongniartiiという名で呼ばれている菌は2種に分割することが適当であろうということがわかる。

第3節 Beauveria 属の有性世代

Beauveria属をグルーピングするにあたっては，有性世代についても当然考慮されなければならない。Beauveria属は従来有性世代が発見されていなかったが，有性世代があるとすればCordyceps属であろうとの推論はされてきた(Arx, 1986; Samson et al., 1988)。著者はコガネムシ寄生型Beauveria brongniartiiを施用した林分の土壌で飼育したコガネムシ幼虫から，ときに冬虫夏草の子実体が発生することを経験し，この菌について研究するうち，これがB. brongniartiiの有性世代である可能性が高いことがわかった。このため，これを実験的に確認することと，Cordyceps属の分類的観点からこの菌を調査し，新種であることが分かったのでこれを新種記載した(Shimazu et al., 1988)。今のところBeauveria属で有性世代が判明しているのはコガネムシ寄生型B. brongniartiiのみであるが，B. brongniartiiをコガネムシ寄生型とカミキリムシ寄生型の2型に分けて考える中ではこの有性世代についても触れておかねばならない。

B. brongniartiiはコガネムシ科昆虫の最も強力な病原の一つとして知られ，この菌をコガネムシ類幼虫の防除素材とした多くの利用試験がある(Ferron, 1981)。日本では，政府がIsaria kogane Hasegawa & Koyama (長谷川・小山, 1941) という菌を大量生産し，コガネムシ科幼虫防除のため林業苗畑に配布した(浜, 1959)。I. koganeは後にB. brongniartiiの異名とされた(De Hoog, 1972)。

1976年に，長野県の西岳(もと広原)国有林のカラマツ造林地で，オオ

スジコガネ *Anomala costata* の大発生が起こった。このオオスジコガネ幼虫の防除のため、もとの林業試験場の研究者、片桐一正、岩田善三、串田保らによって、長野県大門国有林のオオスジコガネから分離した *B. brongniartii* (青木ら, 1975) がパーク堆肥で大量生産されこの大発生地内の試験地に導入された。その後、菌を導入した試験地の土壌を採集し、ドウガネブイブイの健全幼虫をその中で生物検定のため飼育し、導入した菌が長く活性を保ってきたことがわかっている (片桐ら, 1983)。

上記の生物検定の際に得られた *B. brongniartii* による死体を 25°C 長日 (16L-8D) に偶然長期間置いたとき、いくつかの死体から子のう殻をもった子座が伸展した。寄主の死後約 3 週間で子座の結実部から子のう胞子が飛散された。この子座を形成する菌は *B. brongniartii* の完全世代であると考えられたので、この菌の特性を子のう菌の一種としての観点から調査し、また、子のう殻をもつ子座の形成を確認するため健全幼虫に分生子を接種した。また、この菌の子座からの分離株をもとの *B. brongniartii* 分離株と比較した。

材料と方法

(1) 土壌サンプルの生物検定

土壌サンプルは 1987 年 7 月 28 日に西岳国有林の試験地の 30 本のカラマツの周囲の 4 カ所の地面から採集した。各土壌サンプルは地表から 30 cm の深さまでの土壌を含む。同じ林分の無処理区の土壌を対照区として採集した。供試虫は実験室内で採卵・飼育したドウガネブイブイの 2 齢幼虫である。幼虫は 250 ml 容のプラスチックカップに約 2.5 cm の深さの土壌サンプルとともに入れ、ニンジン片を与えて室温で飼育した。各土壌サンプルには 10 頭の幼虫を飼育した。飼育は 1987 年 8 月 3 日に開始した。毎週死亡率を調査し、糸状菌に感染したと思われる硬化病症状の死体はすべて土壌に入れたまま 25°C 16L-8D の長日条件に置き、死因を同定するため胞子を形成させた。1

週間以上置いても分生子を形成しなかった場合には，死体から菌死を素寒天上に取り，25℃長日に置いて分生子を形成させた。分生子を体表に形成した死体は，さらに子座を形成するかどうかを調査するためさらに数週間同じ条件下に置いた。

(2) 分生子で感染した幼虫からの子座形成

ドウガネブイブイ幼虫に，培養および死体から得た分生子を感染させた。この菌の子のう殻からの分離株をRS培地(前述)平板で18日間培養し，表面に形成された分生子を接種源とした。子座の形成された死体表面の分生子をもう1つの接種源とした。健全幼虫をTween 80の100 ppm溶液に浸漬した後，表面に分生子をまぶした。供試幼虫は実験室内でふ化・飼育した2齢または3齢で，各区20ないし23頭を供試した。幼虫は清浄な土壌で25℃で飼育し，土壌サンプルの生物検定と同様の方法で死亡率を調査した。

(3) 子座を形成する菌と分生子分離株の形態

死体上の子座の形態を調査した。子座は切片を作り，子のう殻の配置状態を顕微鏡で同定した。子のう殻，子のう，子のう胞子，および2次胞子の大きさは顕微鏡テレビの画面上でノギスによって計測し，実寸法に換算した。

この菌の子のう胞子と子のう殻からの分離株を作った。飛散した子のう胞子を滅菌ペトリ皿に取り，滅菌水に懸濁した。この懸濁液をSDY平板培地に画線した。子のう殻を子座から取り，1滴の滅菌水の中につぶし，その水を同様に画線した。これらの平板培地は25℃に保ち，生じたコロニーを釣菌した。分離菌はスライドグラス上でSDY培地でスライド培養し，分生子形成構造を調べた。

結果

土壌サンプルの中で315日まで飼育したドウガネブイブイの死亡率を表18に示す。B. brongniartiiを12年前に導入した試験区で，この菌が幼虫

表-18 *Beauveria brongniartii*導入試験地の土壌サンプルで飼育したドウガネブイブイの死亡率

試験区	飼育虫数	死亡合計			<i>Beauveria brongniartii</i> による死亡率					
					子座の発生のなかったもの			子座の発生のあったもの		
		数	死亡率	平均死亡日数	数	死亡率	平均死亡日数	数	死亡率	平均死亡日数
I	48	23	48	135	11	23	131	4	8	114
II	36	9	25	166	3	8	136	0	0	-
対照区	36	5	14	165	0	0	0	0	0	-

の主な死亡要因であった。この菌は第1試験地でよりよく生存していた。対照区では感染がみられなかった。*B. brongniartii*に感染した死体は、死亡直後には硬化し、淡褐色からピンク色であった。それらは1~2日で白い菌糸におおわれた。ほとんどの死体上で、菌は白~明黄色の分生子柄束または綿状菌糸を伸展した。体表とときには分生子柄束上に分生子が形成された。しかし、いくつかの死体は菌糸または分生子柄束のみを形成し、分生子は形成しなかった。そのような分生子を形成しない死体からの菌糸でも、素寒天上に移植すると分生子を形成した。表に示すように、土壌サンプルでの飼育で得られた死体のうち、4個体が子座を形成した。

子座形成死体上の*B. brongniartii*、および子のう殻からの分離菌の分生子を接種された幼虫は、同様の病徴で死亡し、そのうちのいくつかは同様の子座を生じた(表-19)。子座形成率は死体上の分生子を接種した区の方が培地上の分生子を接種した区より高かった。

子座は通常3週間以内に成熟して子のう胞子を飛散した。子座は、長さ20mm~70mm、棍棒形、基部はねじれたようなしわがあり、肉質、淡黄色から淡橙色(図-4A)、先端5~20mmはやや膨れて結実部となるが、茎部と明瞭には区別できない(図-4B)。子のう殻は半埋生、倒卵形ないし倒棍棒型、 $335\sim 535\times 160\sim 295\mu\text{m}$ 、平均 $463\pm 12(\text{SE})\times 238\pm 9(\text{SE})\mu\text{m}$ (図-5A)。子のうは円筒形、長さ $170\sim 375\mu\text{m}$ 、平均 $231\pm 18(\text{SE})\mu\text{m}$ で、直径 $2.8\sim 3.5\mu\text{m}$ 、平均 $3.3\pm 0.03(\text{SE})\mu\text{m}$ の半球形の頂端をもつ(図-5B)。子のう胞子は糸状、 $220\sim 315\times 0.8\sim 1.1\mu\text{m}$ 、平均 $264\pm 6(\text{SE})\times 0.9\pm 0.01\mu\text{m}$ 、多くの隔壁をもつ(図-5C)。2次胞子は両端が切頭状、 $2.7\sim 8.9\times 0.8\sim 1.2\mu\text{m}$ 、平均 $4.5\pm 0.1(\text{SE})\times 1.0\pm 0.01\mu\text{m}$ (図-5D)。

子のう胞子と子のう殻からのすべての分離株は、同一の外観を呈し、SDY培地上で赤い色素を生じた。それらは培地上では子座を形成しなかったが、ときに、SDY培地上で分生子柄束を形成した。これらの分離株は分生子形成細胞の伸長部にシンポジオ型に分生子を形成した(図-6A)。分生子形成細胞はフラスコ型で、しばしばクラスターを形成した。分生子は、長円

表-19 有性世代から培養した分生子を接種されたドウガネブイブイの死亡率

接種源	齢	飼育虫数	死亡合計			<i>Beauveria brongniartii</i> による死亡率					
						子座の発生のなかったもの			子座の発生のあったもの		
			数	死亡率	平均死亡日数	数	死亡率	平均死亡日数	数	死亡率	平均死亡日数
子のう殻分離菌	2	20	15	75	29	5	25	24	1	5	146
の分生子	3	20	19	95	45	11	55	23	1	5	90
死体上の分生子	3	20	10	50	59	2	10	15	4	20	50

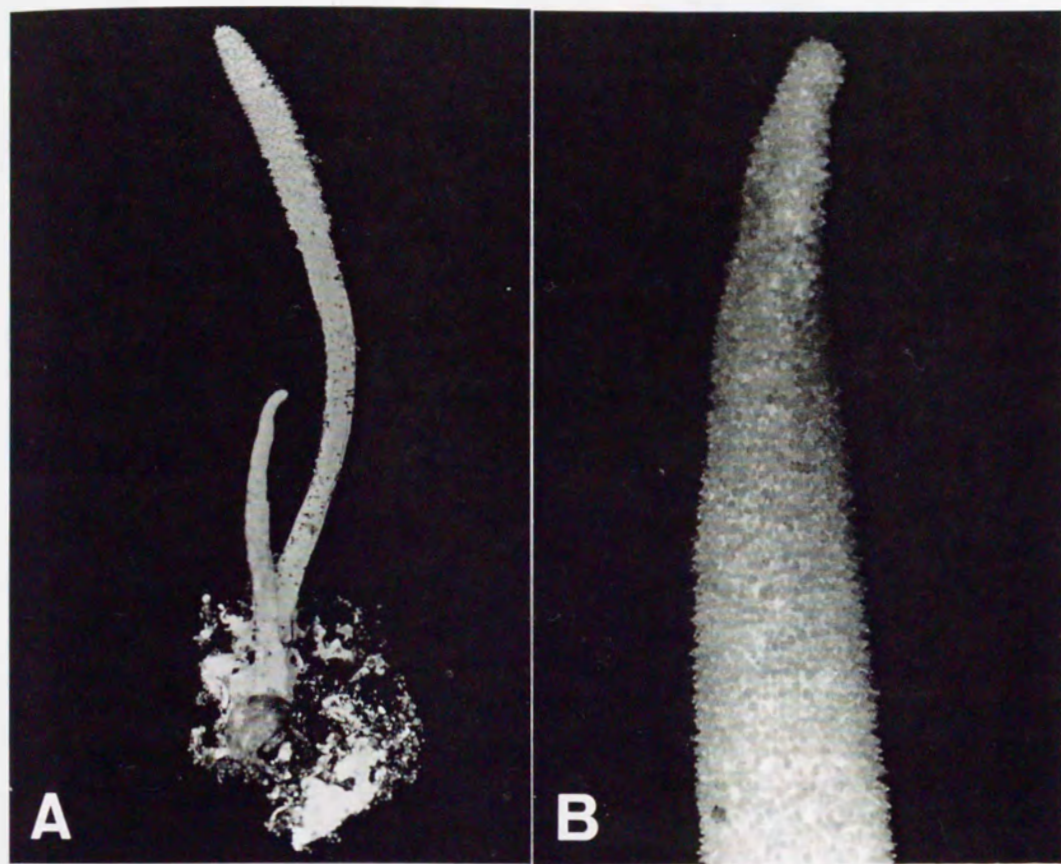


図-4 *Cordyceps brongniartii*の子実体。

A：ドウガネブイブイ幼虫上の子座。B：子座先端の結実部。

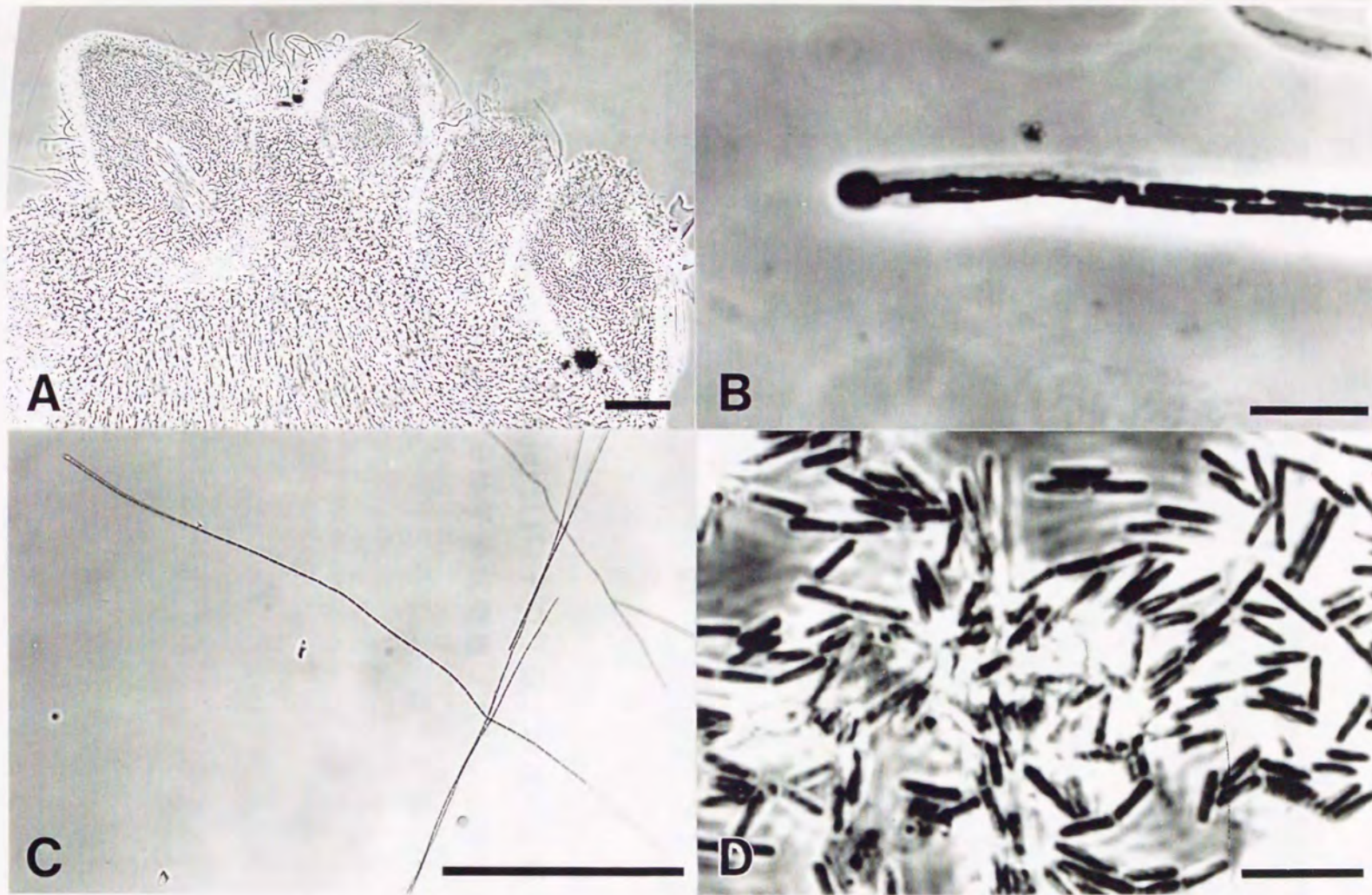


図-5 *Cordyceps brongniartii*の顕微鏡的形態。

A：子座に半埋性状態の子のう殻，棒線 = 100 μ m。

B：子のうと半球形の頂端，棒線 = 10 μ m。 C：子のう胞子，棒線 = 100 μ m。

D：2次胞子，棒線 = 10 μ m。

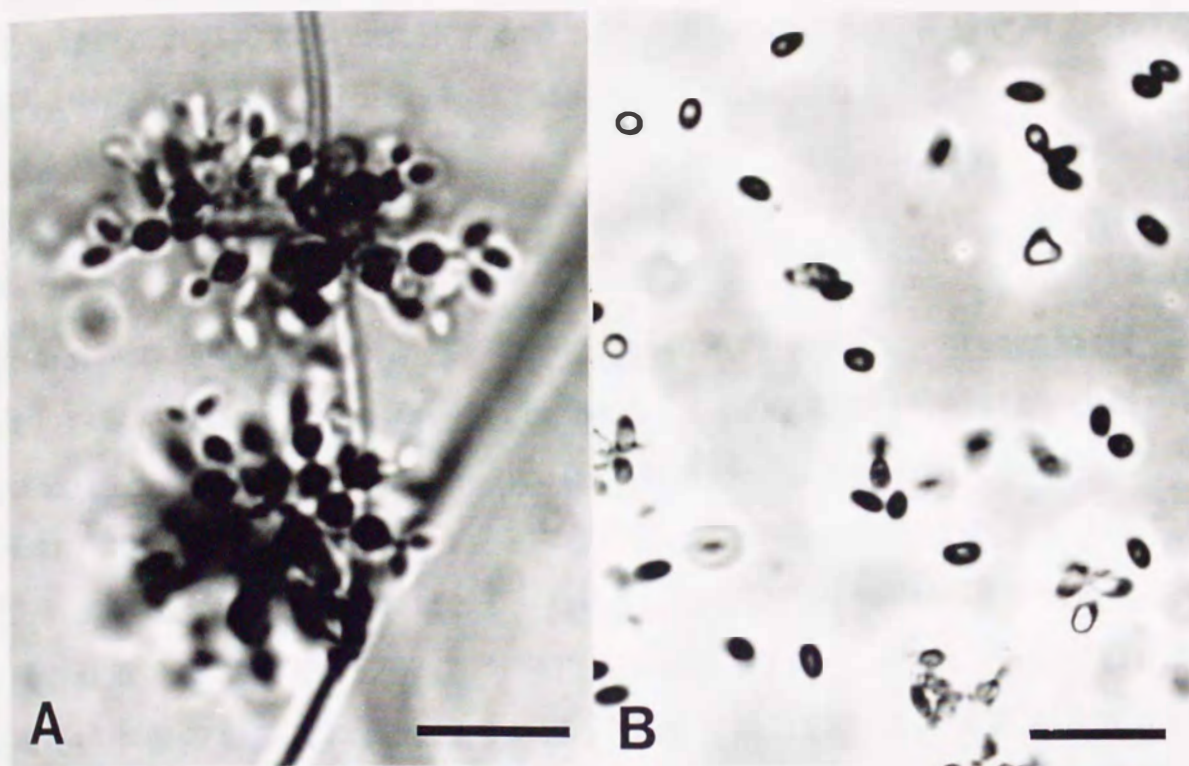


図-6 *Cordyceps brongniartii*の子のう胞子からの分離で得られた
*Beauveria brongniartii*の分生子形成構造 (A), と分生子 (B)。
倍率共通, 棒線 = 10 μ m。

形で、 $2.6\sim 3.4\times 1.2\sim 1.9$ ，平均 3.0 ± 0.02 (SE) $\times 1.7 \pm 0.02$ (SE) μm (図-6B)。これらの形態的特徴は土壤に導入した原株 (F-77) の特徴，また B. brongniartii の原記載の特徴とほぼ一致した (De Hoog, 1972)。この菌は，これらの特徴と後述する理由により Cordyceps の新種と考えられたため，別論文 (Shimazu et al., 1988) で新種記載した。

考察

コガネムシ科昆虫に病原性の Cordyceps の種の中で，C. brongniartii はその外観から Cordyceps ravenelii Berk. & Curt (Mains, 1958; 伊藤・浜, 1958)，と Cordyceps scarabaeicola Kobayasi (Kobayasi & Shimizu, 1976, 1978) に類似している。表-20 に本菌と他の類似種の比較を示してある。Mains (1958) によれば，C. ravenelii の分生子はシンボジュラ上に形成されるのではなく，フィアライド上に形成される，また，その形態と大きさが本菌のものとは異なっている。伊藤・浜 (1958) はオオスジコガネに寄生する Cordyceps を発見し，C. ravenelii と同定した。寄主上の子座の伸長についての彼らの記載と写真は寄主の種と産地同様 C. brongniartii に非常に類似している。しかし，彼らは分生子については言及しておらず，これを C. brongniartii と比較できなかった。C. scarabaeicola は Kobayasi and Shimizu (1976) によって記載されたもので，子のう殻と子のうの大きさは C. brongniartii のものより小さい，また，Kobayasi and Shimizu (1978) によるとその分生子は $1.5\sim 2\times 1\sim 1.5\mu\text{m}$ で菌糸の頂端または側面に直接形成される。これらの特徴は C. brongniartii のものと異なる。

分離と再接種実験の結果は C. brongniartii が B. brongniartii の有性世代であることを示した。これまで知られている Cordyceps の無性世代は Akanthomyces，Cephalosporium，Hirsutella，Hymenostilbe，Isaria (= Paecilomyces)，Paraisaria，Pseudogibellula，Sporothrix，Stilbella，および Verticillium などの不完全菌の多くの属にわたっている

表-20 コガネムシ科幼虫に寄生する3種の類似したCordycepsの形態的比較

		<i>C. ravenelii</i> ^a	<i>C. ravenelii</i> ^b	<i>C. scarabaeicola</i>	<i>C. brongniartii</i>
子のう殻	配置	半埋生のち裸生	裸生	半埋生	半埋生
	形状	亜球形ないし準円筒形	卵形	卵形	卵形
	大きさ (μm)	300-500×240-384	400-600×200-300	275-350×200-250	335-535×160-295
子のう	長さ (μm)	175-336	300-400	135-150	170-375
	頂端の直径 (μm)	2.5-3	3.5	3	2.8-3.5
子のう胞子	大きさ (μm)	132-252×2-2.5	子のうより短い	言及なし	220-315×0.8-1.1
	2次胞子 (μm)	長15-30	5.5-6.0×1.5	10×1-1.5	2.7-8.9×0.8-1.2
分生子	形成様式	フィアロ型	言及なし	菌糸頂端または横に直生	シンポジオ型(<i>Beauveria</i>)
	形状	狭い倒卵形	言及なし	卵形	長円形
	大きさ (μm)	5-7×2	言及なし	1.5-2×1-1.5	2.6-3.4×1.2-1.9

a: Mains(1958), b: 伊藤・浜(1958)より。

(小林・清水, 1983; Samson et al., 1988)。しかし, Beauveria属は Cordycepsの無性世代として報告されたことはなく, また, Beauveriaの有性世代はこれまで知られてこなかった。Arx (1986)は, Cordycepsが Beauveria属の有性世代であろうと述べている。Samson et al. (1988)も同様の意見に言及している。本研究の結果は彼らの考えを証明した。

本菌に類似のカミキリムシ寄生型 B. brongniartiiは, これまでのところ子座の形成はみられず, また, 数千頭のキボシカミキリ感染病死虫を観察した島根・河上(1994)もやはり有性世代の形成はみられず, 宿主や菌株の違いの可能性を提示している。世界中で長い間多くの研究がされてきた B. bassianaも, いまだに有性世代が発見されておらず, そうした菌は進化の過程の中で, もっぱら分生子だけで繁殖する方向に進化してきたのかもしれない。

本菌に限らず, Cordyceps属の菌を人工培養すると不完全菌として成長することはしばしば経験している。本研究で B. brongniartiiの分生子をドウガネブイブイに接種することで子座形成に成功したが, その形成率は100%ではなかった。また, 子座は人工培地上では形成されなかった。子座形成のための条件は未だに不明で, この菌を含めて, Cordyceps属の有性世代・無性世代を左右する条件を解明することが必要である。

第3章 Beauveria bassianaの培養特性と選択培地の開発

後述するマツノマダラカミキリの防除のために施用した B. bassianaの林内の動向と, 環境への影響を明らかにする必要がある。これら菌の消長調査を定量的に行うためには, 普通選択培地が用いられる。B. bassianaの選択培地としては, しばしばVeen & Ferron (1966)の培地および, その改良処方(Doberski & Tribe, 1980)が用いられるが, この培地の選択性は低い。最近, Beilharz et al. (1982)がdodineを抑制剤とした B. bassianaの選択培地を開発している。この培地の選択性はVeen & Ferron (1966)の培地よ