

カブラヤガ細胞質多角体病ウイルスについて

I 幼虫の発育程度と病原性の関係¹⁾

尾 崎 幸 三 郎

(香川県農業試験場)

安 富 範 雄^{*}

(香川大学農学部)

カブラヤガは野菜, 花, 牧草などの主要害虫であるが, この害虫のは場における生存曲線と生命表に関する調査研究の過程で, 幼虫期における死亡要因に細胞質多角体病ウイルスの存在することが明らかにされた (尾崎, 1975, 新家ら, 1977)。鱗翅目昆虫における細胞質多角体病ウイルスはすでに168種類が記録されているが (ARUGA and TANADA, 1971), カブラヤガを侵すものは未記録であり, 病原性やは場効果は全く不明である。

昆虫を侵すウイルスの害虫防除への利用は1950年頃から本格的に注目されるようになった。カナダではマツハバチ (BIRD, 1954) とオビカレハ (CLARK and THOMPSON, 1954) の防除に核多角体病ウイルスが, 米国ではイラクサギンウワバとモンシロチョウの防除に核多角体病あるいは顆粒病ウイルス (HALL, 1955, TANADA, 1956) が, 日本ではマツカレハの防除に細胞質多角体病ウイルス (小山, 1961) が実用されるに至っている。そこで筆者らはカブラヤガを侵す細胞質多角体病ウイルスが防除に適用できるか否かについて検討を加えているが, 今回は幼虫の発育程度と病原性に関する結果を報告する。

材料および方法

カブラヤガの細胞質多角体病ウイルス (A fCPV) は香川農試ほ場で自然感染している幼虫から分離したものを ml あたりの多角体数 $10^7 \sim 10^8$ の濃度で $100g$ の人工飼料に混入し, カブラヤガ5令幼虫に接種した。幼虫は $25 \pm 1^\circ C$, 16時間照明の恒温室で飼育し, 飼育中の病死個体を径 $2cm$, 長さ $10cm$ のガラス管に集め, $-20^\circ C$ の冷凍庫に保存した。

冷凍保存している病死個体は解凍して中腸を取り出し, ホモジナイザーで磨碎した。磨碎液はガーゼで濾過し, $4,000 rpm$ で20分間遠心分離した。この操作を3回反覆し, 多角体を精製した。精製多角体は適量の蒸留水を加えて径 $1cm$, 長さ $10cm$ のガラス管に入れ, $-20^\circ C$ で冷凍保存した。

精製多角体は必要に応じて適量を解凍し, 展着剤「リノー[®]」を添加 (3,000倍) した蒸留水で所定の濃度に稀釈して多角体懸濁液を作った。なお, それぞれの稀釈液の多角体数は光学顕微鏡下で5回反覆計数し, $1ml$ 当りの多角体数として示した。

それぞれの濃度の多角体懸濁液は, メスピペットでハクサイの子葉の表裏に, 約 $0.01 ml/cm^2$ の割

* 現在, 東京農業大学。

1) On the cytoplasmic-polyhedrosis virus of the common cutworm, *Agrotis fucosa* BUTLER.

I. Relation between the age of larvae and pathogen of the virus.

By Kozaburo OZAKI and Norio YASUTOMI.

Proc. Assoc. Plant Protec. Shikoku, No. 13: 11-15 (1978)

合で塗布し、風乾後に人工飼育した幼虫に経口的に接種した。多角体を塗布したハクサイで48時間飼育した幼虫は、人工飼料を入れた径2cm、長さ10cmのガラス管に1頭宛移し、個体飼育した。これらの飼育幼虫は、すべての濃度で死亡個体が見られなくなるまで、毎日、発育程度と生死を観察記録した。なお、実験は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16時間照明の恒温室で実施し、ガラス容器はすべて 160°C で30分間乾熱殺菌したものを使用した。

結果および考察

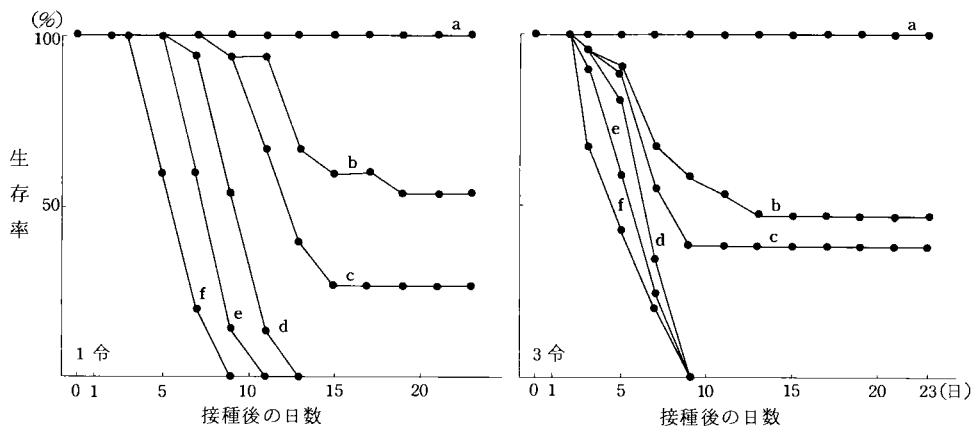
AfCPVのカブラヤガ各令幼虫に対する病原性は50%致死濃度(LC₅₀)で評価した。LC₅₀はすべての濃度で新しく死亡個体が出現しなくなった時の死亡率と多角体濃度との関係式から求めた。第1表はそれぞれの令期の幼虫に対するLC₅₀であるが、AfCPVの病原性は2令幼虫に最も強く現われ、ついで1令幼虫に強く現われた。3令と4令幼虫に対する病原性は1令幼虫に対してより弱かったが、その差は小さかった。5令と6令幼虫に対するLC₅₀は4令幼虫のそれより約2倍高く、AfCPVの病原性は老令幼虫に対してかなり低下する現象がみられた。

第1表 カブラヤガ幼虫に対するAfCPVの致死濃度

令期	LC ₅₀ (多角体数/ml)
1令	415×10^4
2令	235×10^4
3令	637×10^4
4令	624×10^4
5令	133×10^5
6令	140×10^5

ハスモンヨトウに対する核多角体病ウイルス(SINPV)のLC₅₀は1~3令幼虫で $1.5 \sim 3.9 \times 10^3/\text{ml}$ 、4令幼虫で $2.5 \times 10^4/\text{ml}$ であると報告されているが(岡田, 1977)、それに比べて、AfCPVのカブラヤガ幼虫に対する病原性は1/10程度低いといえる。しかし、病原性の令期間差異はハスモンヨトウに対するSINPVのそれより多少小さい傾向がみられた。

なお、AfCPVのカブラヤガに対する病原性は若令幼虫より老令幼虫において低い傾向がみられた。これと同様なことが、ヒメエグリバやアワヨトウの幼虫に対する細胞質多角体病ウイルス(於保, 1966, TANADA and CHANG, 1960)、ハスモンヨトウ、アワヨトウ、タバコガ、カレハガの幼虫に対する核多角体病ウイルス(TANADA, 1956, TANADA and REINER, 1962, STAIRS, 1965, 岡田, 1977)の病原性においても明らかにされている。したがって、多角体病ウイルスは、一般に、若令期により強い病原性を示すように思われる。このことは多角体病ウイルスを実用する際に留意すべき事柄であると考えられる。



第1図 AfCPVをカブラヤガの1令と3令幼虫に経口的に接種した場合の生存率の低下状況(図中のa~fの説明は第2表参照)

第2表 AfCPVを接種したカブラヤガ幼虫の生存個体と死亡個体の発育程度別頻度

令期	多角体濃度 (<i>ml</i> あたり)	生・死別	発育程度別頻度 (%)							死亡率(%)	
			1	2	3	4	5	6令	前蛹		
1	a 無接種	生存個体× 死亡個体××	—	—	6.7	33.3	60.0	—	—	—	0
	b 4×10^4	生存個体 死亡個体	— 9.0	20.6 36.0	6.9 —	27.5 —	— —	— —	— —	— —	45
	c 4×10^5	生存個体 死亡個体	— 30.0	18.7 45.0	6.3 —	— —	— —	— —	— —	— —	75
	d 4×10^6	生存個体 死亡個体	— 93.3	— 6.7	— —	— —	— —	— —	— —	— —	100
	e 4×10^7	生存個体 死亡個体	— 100	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	100
	f 4×10^8	生存個体 死亡個体	— 100	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	100
3	a 無接種	生存個体 死亡個体	— —	— —	— —	— —	10.0 —	80.0 —	10.0 —	— —	0
	b 6×10^4	生存個体 死亡個体	— —	— —	— 15.7	7.9 36.8	7.9 —	31.7 —	— —	— —	52.5
	c 6×10^5	生存個体 死亡個体	— —	— —	— 37.5	— 25.0	7.5 —	30.0 —	— —	— —	62.5
	d 6×10^6	生存個体 死亡個体	— —	— —	— 85.0	— 15.0	— —	— —	— —	— —	100
	e 6×10^7	生存個体 死亡個体	— —	— —	— 100	— —	— —	— —	— —	— —	100
	f 6×10^8	生存個体 死亡個体	— —	— —	— 100	— —	— —	— —	— —	— —	100

※：最終調査時の発育程度， ※※：死亡時の発育程度

第1図と第2表は、1令と3令幼虫にAfCPVを経口的に接種した場合における死亡状況と死亡個体ならびに最終調査時（接種23日後）の生存個体の発育程度であるが、これによると、1令幼虫に接種した場合、*ml*当り多角体数 4×10^8 と 10^7 では9または11日後に全個体が死亡し、死亡個体の令期はすべて1令であった。*ml*当り 4×10^6 の接種でも、13日後には100%死亡したが、このうち93.3%の個体は1令であり、3令まで発育した個体はみられなかった。また、それ以下の多角体濃度では、接種から死亡までの期間は延長し、死亡率が低下したが、死亡個体の令期は2令までであり、3令に進んでからの死亡はみられなかった。

3令幼虫に接種した場合、*ml*当り多角体数 6×10^8 から 10^6 の範囲では、接種9日後に全個体が死亡したが、 6×10^8 と 10^7 ではすべてが3令で死亡し、 6×10^6 では死亡個体の85%が3令であり、残り15%は4令であった。なお、それ以下の濃度では、接種から死亡までの期間が長くなり、死亡率が低下したが、死亡個体の令期は4令までであった。

他の令期については、AfCPVの接種後における死亡と発育の状態はここに示さなかったが、いずれの令期においても、死亡は大多数の個体で接種された令と次の令でおこり、それ以上発育してからの死亡は少なかった。なお、各令期とも接種した多角体濃度が低くなると、死亡時期がおそくなり、次令での死亡個体の割合が高くなったが、これは、体内でウイルスの致死量に達するまでの増殖期間が最初の取込み量に比例して長くなるためであると考えられる。

なお、第2表にみられるように、幼虫の1令または3令期にA f CPVが接種された場合、早期に死亡しなかった個体の令構成は無接種の個体のそれと著しく異なり、接種後の発育遅延が認められた。このような現象は他の令期幼虫に接種した場合も同様にみられたが、これは多角体病ウイルスに感染した他の昆虫におけると同様結果を示すものである(TANADA, 1956, IGNOFFO, 1965, 於保, 1966, 倉田, 1971, 岡田, 1977)。

普通、A f CPVに感染死亡する幼虫は、まず、発育遅延が起り、死亡の3～5日前には摂食を停止する。この頃から幼虫には下痢症状がみられるようになり、やがて体色が乳白色に変化して死亡するが、この実験の場合、死亡はいずれの令とも、脱皮直後と末期に多くみられた。カイコガ幼虫の細胞質多角体病ウイルスに対する抵抗力は、脱皮直後と就眠間近において弱く、摂食時には強いことが明らかにされていることからみると(小原ら, 1967)、このような現象は多くの昆虫で共通してみられるのではないかと思われる。

要 約

カブラヤガ幼虫に対するA f CPVの病原性は2令幼虫において最も強く、LC₅₀は $235 \times 10^4/ml$ であり、若令幼虫に対して高く、老令幼虫に対して低下する現象がみられた。

カブラヤガ幼虫にA f CPVを経口的に接種した場合、1令幼虫では ml あたり多角体数 $4 \times 10^8 \sim 10^6$ の接種で9～13日後に、3令幼虫では $6 \times 10^8 \sim 10^6$ の接種で9日後に100%死亡した。それ以下の多角体濃度では接種から死亡までの期間は延長し、死亡率が低下した。なお、A f CPVによる死亡は、多角体接種時の令期または次令期に起った。また、発病しない幼虫は、健全虫に比べて発育速度が著しく遅延した。

引 用 文 献

- ARUGA, H. and Y. TANADA (1971): The cytoplasmic-polyhedrosis virus of the silk worm. University of Tokyo press, 234pp. (単行本).
- BIRD, F. T. (1953): The use of virus disease in the biological control of the european pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (GEOFFR). Can. Entomologist, 85:437～446.
- CLARK, E. C. and C. G. THOMPSON (1954): The possible use of microorganisms in the control of the great basin tent caterpillar. J. Econ. Entomol., 47:268～272.
- HALL, I. M. (1955): The use of *Bacillus thuringiensis berliner* to control the western grape leaf skeletonizer. J. Econ. Entomol., 48:675～677.
- IGNOFFO, C. M. (1965): The nuclear-polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (BODDIE) and *Heliothis virescens* (FABRICIUS). VI. Bioassay of virus activity. J. Invertebrate Pathol., 7:315～319.
- 小原隆三・有賀久雄・渡部仁(1967): 家蚕における細胞質多角体病ウイルスに対する感染抵抗力の発育時期による変動. 日蚕雑, 36:165～168.
- 小山良之助(1961): マツカレハの細胞質多角体病とその応用(予報). 日林試, 43:91～93.
- 倉田啓而(1971): 細胞質多角体病ウイルス感染蚕の無菌条件下での発症. 日蚕雑, 40:32～36.
- 於保信彦(1966): ヒメエグリバの細胞質多角体病ウイルスについて. 1. 発見の経緯とその病原性. 園誌報告, A5号:165～178.
- 尾崎幸三郎(1975): ハスモンヨトウとネキリムシの生態と防除. 農林水産技術会議研究成果, 82:105～139.
- 新家義三・尾崎幸三郎・宮本裕三(1977): カブラヤガの生存曲線と生命表の発生世代あるいは密度による変化. 四国植防, 12:63～74.
- STAIRS, G. R. (1965): Quantitative differences in susceptibility to nuclear-polyhed-

- rosis virus among larval instars of the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria* (HÜBNER). J. Invertebrate Pathol., 7:427 ~ 429.
- TANADA, Y. (1956): Some factors affecting the susceptibility of the armyworm to virus infections. J. Econ. Entomol., 49:52 ~ 57.
- TANADA, Y. and G. Y. CHANG (1960): A cytoplasmic-polyhedrosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (HAWORTH). J. Insect Pathol., 2:201 ~ 208.
- TANADA, Y. and C. REINER (1962): The use of pathogens in the control of the corn earworm, *Heliothis zea* (BODDIE). J. Insect Pathol., 4:139 ~ 154.

(1978年3月10日受領)

Summary

The cytoplasmic-polyhedrosis virus (AfCPV) which infects the common cutworm, *Agrotis fucosa* BUTLER was newly found from the population which occurred in chinese cabbage field at Busshozan, Kagawa prefecture in 1973. Relative susceptibility of each instar to this virus was studied. The second instar larvae was the most susceptible of all instars (LC_{50} was 2.35×10^4 polyhedra/ml). The susceptibility remarkably decreased as the larvae grow; LC_{50} for the sixth instar larvae was 6 times higher than that for the second instar larvae. The infected larvae lost appetite, delayed in growth, and died in 5 to 15 days after inoculation with AfCPV, that is, at the instar of infection or at the next instar.