

# 琉球大学学術リポジトリ

## イモゾウムシの卵接種が起因となる人工幼虫飼料汚染の防止

メタデータ	言語: 出版者: 沖縄農業研究会 公開日: 2009-01-29 キーワード (Ja): イモゾウムシ, 人工飼料, 不妊虫飼育, 殺菌処理, 汚染, バクテリア, 卵表面殺菌液 キーワード (En): 作成者: 下地, 幸夫 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002015649">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002015649</a>

# イモゾウムシの卵接種が起因となる人工幼虫飼料汚染の防止

下地 幸夫\*  
(琉球産経株式会社)

Yukio Shimoji: Prevention of contamination on the artificial larval diet of West Indian sweetpotato weevil *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) from their inoculated eggs.

## はじめに

イモゾウムシ *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) は、南アメリカ、西インド諸島、太平洋諸島等においてサツマイモ *Ipomoea batatas* (L.) を加害する重要害虫である (Raman and Alleyne, 1991)。我が国では、本種の侵入を阻止するため植物防疫法により沖縄県等の発生地域から本土等未発生地域へのサツマイモ等寄主植物の移動が禁止または制限されている。そこで、この移動規制を撤廃するため、沖縄県では不妊虫放飼法による本種の根絶が検討されている。

Shimoji and Kohama (1996b) は、本種の不妊虫放飼法に必要な不可欠な大量増殖のために人工幼虫飼料を開発したが、それはカビとバクテリアによって汚染されやすかった。いったん汚染されるとそれ自身の質が低下するばかりでなく虫の発育に障害を与えるため餌としての価値がなくなる。MacGown and Sikorowski (1980) は、人工飼料を汚染するバクテリアがワタミゾウムシ *Anthonomus grandis* の中腸の上皮組織を破壊し生存率を低下させるため不妊虫放飼法の妨げになると報告した。そこで、イモゾウムシの大量増殖を実現するためにも人工幼虫飼料の汚染を防止する方法を開発する必要がある。

ある。

一般に昆虫の人工飼料の汚染は、卵の表面に付着する微生物が主因となることが多いため、人工飼料に接種される前に卵の表面殺菌処理が多く行われる (湯島ら, 1991)。それで、イモゾウムシの人工幼虫飼料の汚染を卵の殺菌処理で防止できるかどうか、70%エタノール溶液、及び5%ホルマリン溶液の処理によって検討する。

尚、本実験は、1994年9~10月に沖縄県ミバエ対策事業所において行った。

## 材料と方法

### 1. 供試卵

実験に使用した卵は、1989年10月に読谷村で採集したイモゾウムシの成虫を基に、沖縄県ミバエ対策事業所において、温度25℃、湿度60-80%、照明14L:10D (4時点灯18時消灯) の条件下で、サツマイモ塊根を用いて累代飼育してきた雌成虫から得られた卵である。

### 2. エタノール溶液による卵表面殺菌の効果

1994年10月に、飢餓産み落とし採卵法 (Shimoji and Kohama, 1996a) により回収した卵は、シャーレ (直径9cm、高さ2cm) の中の湿ったろ紙上に置いて蓋をし、孵化前日ま

\*現在、有限会社津田塾・沖縄森の研究所。

でインキュベーター (温度25℃, 湿度70-80%, 全暗) に保管した。使用器具は, 実験前に70%エタノール溶液で消毒し, 沸騰した蒸留水で数回すすいだ。実験者は石鹸で手を洗った後, 70%エタノール溶液で消毒した。シャーレから極細筆を使って孵化前日の卵を70%エタノール溶液20mlの入ったフィルムケース (直径3cm, 高さ5cm) 4個に各20卵ずつ移した。各々のフィルムケースを30秒, 1分, 2分, もしくは5分間ゆっくり振って卵を攪拌し殺菌処理をした。その後, 卵を含んだ70%エタノール溶液をろ紙でろ過し, 卵だけを取り出した。これらの卵を処理時間ごとに70%エタノール溶液消毒した極細筆を使って0.1%弱の防腐剤を含む20gの人工幼虫飼料 (Shimoji and Kohama, 1996b) を入れたシャーレに20卵接種した。対照として人工幼虫飼料にエタノール消毒しない卵を接種する区を設けた。人工幼虫飼料の乾燥を防ぐため本体と蓋の狭間をセロハンテープ (コクヨスーパーテープ T-K24) で目張りをし, インキュベーターに保管した。卵接種の2日後に孵化数を, 1週間後に人工幼虫飼料表面のバクテリア, もしくはカビによる汚染の有無を調べた。この実験を8反復した。

### 3. ホルマリン溶液による卵表面殺菌の効果

1994年9月に, エタノールによる処理と同様に卵を回収し, インキュベーターに保管した。実験前に使用する器具等も前の実験と同様に70%アルコール溶液で消毒した。50卵を孵化前日にシャーレから極細筆を使って5%ホルマリン溶液20mlの入ったフィルムケース (前述) に移し, 20分間浸した。その後, 卵を含んだホルマリン溶液をろ紙でろ過し, 卵だけを取り出した。予め70%アルコール溶液で消毒した後, 滅菌水で洗浄した極細筆を使ってこれらの卵をシャーレに入った20gの人工幼虫飼料 (Shimoji and

Kohama, 1996b) に50卵接種した。対照区として人工幼虫飼料にホルマリン殺菌処理しない卵を接種した区を設けた。人工幼虫飼料の乾燥を防ぐためシャーレの本体と蓋の狭間を前述のセロハンテープで目張りをし, インキュベーターに保管した。卵接種2日後に孵化数を記録した。人工幼虫飼料表面を毎日観察し, 卵接種後バクテリアが発生するまでの日数を記録した。40日後に人工幼虫飼料を解体して幼虫・蛹・成虫の数を記録した。この実験を7反復した。

## 結果

### 1. エタノール溶液による卵表面殺菌の効果

30秒・1分・2分・5分間, 卵の70%エタノール溶液殺菌処理を行ったが, いずれにおいてもバクテリアによる人工幼虫飼料の汚染はなく, 30秒間で卵は十分に消毒できることが分かった (表1)。これに比較して, 卵を殺菌せずに接種した対照区の人工幼虫飼料は8回の繰り返しすべてにおいてバクテリアに汚染された。しかし, カビによる汚染はなかった。処理時間間で孵化率に有意差はなく, 卵は70%エタノール溶液に5分間浸されても孵化に悪影響を及ぼさないことも分かった (表1)。

### 2. ホルマリン溶液による卵表面殺菌の効果

5%ホルマリン溶液殺菌処理した卵と無処理卵の孵化率は, それぞれ $48.4 \pm 1.4$  (平均値±標準偏差) 個と $47.6 \pm 1.3$ 個であり (表2)。両者に有意差はなかった (Mann-Whitney のU検定)。しかし, バクテリア発生までの経過日数は, ホルマリン処理区が $20.0 \pm 8.4$ 日, 対照区が $2.6 \pm 0.5$ 日と, 無処理卵を接種した人工幼虫飼料のバクテリア発生が有意に早く (Schefféの多重検定,  $p < 0.01$ )。卵接種から40日後の生存虫数の合計も, ホルマリン処理区が $15.0 \pm 5.2$ 頭, 対照区が $5.4 \pm 6.8$ 頭と, ホルマ

表 1. イモゾウムシの卵表面の70%エタノール溶液殺菌処理時間と卵接種された人工幼虫飼料の汚染率の関係.

処理時間 (分)	孵化数 <sup>b</sup> (個)	汚染率 (%)
対照区 <sup>a</sup>	17.5±2.4	100 <sup>c</sup>
0.5	18.6±1.3	0
1	18.1±2.3	0
2	19.4±1.1	0
5	17.8±1.0	0

<sup>a</sup> 表面殺菌処理をしない卵を接種した.

<sup>b</sup> 20卵を接種した. 8 反復. 平均値±標準偏差. Scheffé の多重比較検定により平均値間に有意差はない.

<sup>c</sup> バクテリアによる汚染.

表 2. 5%ホルマリン溶液による卵表面殺菌処理とバクテリアが発現するまで要した日数および発育虫数の関係.

処理区	孵化数 <sup>c, d</sup> (個)	バクテリアが発現する までに要した日数 <sup>d, e</sup> (日)	卵接種から40日後 <sup>d</sup>			
			幼虫数	蛹 数	成虫数	合計 <sup>f</sup>
ホルマリン	48.4±1.4	20.0±8.4 a	1.4±1.8	1.1±0.8	12.4±5.0	15.0±5.2
対照区 <sup>a</sup>	47.6±1.3	2.6±0.5 b	0.7±1.4	0.9±1.5	3.9±5.1	5.4±6.8
人工飼料のみ <sup>b</sup>		26.9±13.0 a				

<sup>a</sup> 表面殺菌をしていない卵を接種した.

<sup>b</sup> 卵接種をしていない.

<sup>c</sup> 50卵接種. Mann-Whitney の *U* 検定により有意差はない.

<sup>d</sup> 平均値±標準偏差. 7 反復.

<sup>e</sup> 異なるアルファベット間に Scheffé の多重比較検定により 1% レベルで有意差がある.

<sup>f</sup> Mann-Whitney の *U* 検定により 5% レベルで有意差がある.

リン処理をした卵を接種したほうが虫は有意に発育した. (Mann-Whitney の *U* 検定,  $p < 0.05$ ; 表 2).

## 考察

本実験において, エタノール溶液とホルマリン溶液を用いて卵の表面に付着したカビやバクテリアから人工幼虫飼料の汚染を防止する方法を開発できた. ここで使用した70%エタノール溶液は一般に殺菌液としてではなく卵の表面にホルマリン等の殺菌液がよく接触するよう馴染

ませるための前処理剤として用いられている (湯島ら, 1991). しかし, 本実験の結果から, 70%エタノール溶液は高い殺菌性を示したため殺菌液として十分に使用できることが分かった. ホルマリン処理区の人工幼虫飼料は卵接種から20日程で汚染が始まったものの (表 2), この結果が5%ホルマリン溶液の殺菌効果を疑うものとはならない. なぜなら, ホルマリン処理区のバクテリアが発現するまでの日数が人工飼料のみ区のそれと有意差がない (表 2) ことから, バクテリアは卵を接種する前に既に人工幼虫飼

料に混入していたと考えられたからである。また、昆虫の卵は5~10%ホルマリン溶液に15~20分間浸漬させることで表面殺菌が可能といわれる(湯島ら, 1991)。

以上のことから、70%エタノール溶液と5%ホルマリン溶液は各々が卵表面殺菌液として使用可能であるが、30秒間~5分間の70%エタノール溶液処理と20分間の5%ホルマリン溶液処理の組み合わせにより卵による人工幼虫飼料汚染防止が強固になると考えられた。

#### 謝辞

本研究にご理解とご協力を賜った沖縄県ミバ工対策事業所に対し厚くお礼申し上げます。

#### Summary

Prevention of the bacterial contamination on the artificial larval diet of West Indian sweetpotato weevil *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) was examined. Bacteria on the surface of eggs-inoculated on diet was considered as a source of diet contamination. The surface of eggs were rinsed with 70% ethanol solution several times as follows; a half, 1, 2, and 5 minutes. Surface-sterilized eggs for 30 seconds did not permit the emergence of bacteria, indicating the necessity of sterilization of eggs more than 30 seconds to prevent the contamination of bacteria into an artificial larval diet. Eggs were then transferred to artificial larval diet after they were dipped in 5% formaldehyde solution to sterilize for 20 minutes. The dipping treatment could significantly suppress the emergence of

bacteria for a long period and produced significantly more surviving weevils from artificial larval diet than no treatment control diet.

#### 引用文献

1. MacGown, M. W. and P. P. Sikorowski. 1980. Histopathology of midgut of mass reared, irradiated boll weevils contaminated with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus* sp. J. Econ. Entomol. 73(1): 81-87.
2. Raman, K. V. and E. H. Alleyne. 1991. Biology and management of the West Indian sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus*. In Sweet Potato Pest Management (R. K. Jansson and K. V. Raman, eds). Westview Press, Boulder, pp. 263-281.
3. Shimoji, Y. and T. Kohama. 1996a. A simple method for collecting eggs of the West Indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae). Appl. Entomol. Zool. 31(1): 37-42.
4. Shimoji, Y. and T. Kohama. 1996b. An artificial larval diet for the West Indian sweetpotato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae). Appl. Entomol. Zool. 31(1): 152-154.
5. 湯島 健・釜野静也・玉木佳男編 (1991) 昆虫の飼育法. 日本植物防疫協会, 東京, 392 pp.