

速報

ハラアコブカミキリ幼虫の人工飼育法の改良^{*1}小坂 肇^{*2}・高畑義啓^{*2}

小坂 肇・高畑義啓：ハラアコブカミキリ幼虫の人工飼育法の改良 九州森林研究 70：97－99，2017 日本本土への侵入種でシイタケほだ木の害虫でもあるハラアコブカミキリの人工飼料による幼虫の飼育法（人工飼育法）が開発された。しかし、容量100 mlの三角フラスコに20 gの人工飼料を入れたこの飼育法（従来法）では、飼育時に広い空間を占有したり飼料の食べ残しがでたりするなどの欠点があった。そこで、人工飼育法の改良を試み、25 mlと50 mlの遠沈管を飼育容器に用いて飼料の量を16 gとすることにした（改良法）。改良法では、従来法より多数の人工飼料の作製や飼育時に占有する空間の縮小が可能となっただけでなく、人工飼料を作製する時間も短縮することができた。改良法では従来法と同等以上の成虫羽化率を得ることができたが、正確な蛹化日や羽化日が分からない場合があることや10%程度が奇形で羽化することが明らかになった。これらの結果から、改良法は大量の幼虫を飼育するためには優れているが、幼虫の発育を詳しく調べるためには、従来法で行う必要があると考えられた。

キーワード：遠沈管，作業効率，飼育容器，シイタケ害虫，人工飼料

I. はじめに

ハラアコブカミキリは日本本土への侵入種でありシイタケほだ木の害虫である（大長光・金子，1988；1990）。従って本種の生物学的特徴を詳しく調べる必要がある。その一環として本種幼虫の人工飼料による飼育法（人工飼育法）が開発された（Kosaka, 2011；小坂，2012）。この人工飼育法（従来法）では容量100 mlの三角フラスコ（フラスコ）を用いるため、多数の幼虫を飼育する場合、広い空間を必要とする。このことは限られた空間の恒温器で飼育する時に大きな欠点となる。また、従来法の飼料の量では食べ残しが発生するため、より少ない飼料で飼育可能と思われる。このほか従来法の問題点として、飼料を混合する際に少なからぬ量の飼料が手にこびり付き無駄になるほか、ガラス容器を用いるため、容器を割る可能性がある。これらの問題を解決する飼育法（改良法）として、人工飼育法の改良を試みた。

II. 材料と方法

改良法でも人工飼料の組成は従来法と同様にクヌギ材粉砕物25%、蚕用人工飼料（日本農産工業株式会社，シルクメイト原種1～3齢用M）20%、乾燥酵母5%、蒸留水50%とした。飼育容器としてポリプロピレン製の25 ml（φ29 mm×L75 mm）と50 ml（φ29 mm×L115 mm）の遠沈管を用いた。後述するように飼料を詰めた後、T-28サイズのシリコセン（信越ポリマー株式会社）を通常とは反対向きに詰めて蓋とした。

人工飼料作製の効率を調べるため、ポリエチレン製の使い捨て手袋をして合計500 gの飼料素材を混ぜ、飼料の損失量を調べた。予備的な調査で手袋をしたままでは混合後の飼料を飼育容器に詰めにくいことが分かった。そこで、飼料の混合後は手袋を取り、素手で16±1 gの飼料を遠沈管に詰め、棒で突き固めた後に容器

壁面に接するように葉さじで幼虫の接種孔を開け、シリコセンで蓋をした。この作業は2名で行い、できた人工飼料の数を数えるとともに処理に要する時間を計った。なお、予備的な調査で遠沈管に人工飼料を詰める工程が作業時間を制限している要因であったので、25 mlと50 mlの遠沈管の区別なく計時した。人工飼料を121℃で20分間オートクレーブした後に接種孔にハラアコブカミキリの孵化幼虫を接種した。接種する幼虫は、野外で成虫を採集し、室内飼育してクヌギ枯れ枝に産卵させ、採卵してシャーレに入れた湿ったろ紙上で孵化したもの（Kosaka, 2011；小坂，2012）、あるいは枝内で孵化した直後のものを用いた。そして、接種する幼虫の親や産卵時期が特定の飼育法に偏らないように留意した。幼虫の飼料への接種はピンセットを利用して接種孔に幼虫を落とし込むか、葉さじを利用して接種孔に直接入れる方法を取った。接種に失敗した（接種孔に幼虫が入らなかった）場合、幼虫を飼育容器から取り出して再び接種した。接種後の幼虫を27.5℃、全暗で飼育し、接種した幼虫数に対する成虫の羽化率、羽化した成虫数に対する奇形率、性及び虫体重を調べた。成虫の羽化後、人工飼料に食べ残しがあるか定性的に観察した。対照として従来法による幼虫の飼育を行った。改良法と同じ組成の人工飼料を素手で混合し、この飼料をフラスコに20±0.5g入れてヘラで押し固めた。これに葉さじで接種孔を開けてシリコセンで蓋をし、121℃で20分間オートクレーブしたものを飼育に使用した。幼虫の接種、接種後の飼育については、改良法と同様の方法で行った。

飼育法の違いによる羽化率、奇形率及び性比の差についてはPearsonカイ二乗検定を行い、有意確率が5.5%以下の場合、個々にFisher正確確率検定を行った。虫体重については一元配置の分散分析を行った。検定にはJMP[®]12（SAS Institute, 2015）を用いた。

*1 Kosaka, H. and Takahata, Y. : Improvement of artificial rearing for larvae of *Moechotypa diphyssis*.

*2 森林総合研究所九州支所 Kyushu Res. Ctr., For. & Forest Prod. Res. Inst., Kumamoto 860-0862, Japan.

表-1. 500gの人工飼料素材からできる人工飼料の個数と飼料を飼育容器に詰める時間

飼育容器	n	人工飼料の個数*	飼料を詰める時間	
			500g 当たり	人工飼料当たり**
フラスコ	2	24(1), 25(0)	32分, 36分	1分17秒, 1分26秒
遠沈管***	3	29(1), 29(1), 29(0)	27分, 31分, 33分	54秒, 1分4秒, 1分6秒

* 括弧内は規定量（フラスコは 20 ± 0.5 g, 遠沈管は 16 ± 1 g）に満たない量で作製した人工飼料の個数。

** 500gの飼料を詰める時間を規定量未満を含む人工飼料の個数で割って得た。

*** 25mlと50mlの遠沈管を区別しなかった。

Ⅲ. 結果と考察

手袋をして飼料素材を混合した時、飼料の平均損失量は1.8g ($n = 3$)であったが、素手で混合した場合には4.3g ($n = 3$)であった。手袋の有無による飼料の損失量の差は予想外に少なかった。しかし、飼料の損失以外に、手袋をした場合、次の作業に移る前に手を洗わなくていい利点があった。また、感覚的に手に飼料がこびり付く不快感がなかった。500gの飼料から作製された人工飼料の数と処理効率を表-1に示した。遠沈管利用のできる飼料の数が多かったのは単純に飼料を詰める量を減らしたためである。一方で、遠沈管を利用してできる人工飼料の数が増えたのにも関わらず500gの飼料を詰めて固める時間がフラスコより短い傾向にあったのは、飼料1個当たりの作製時間が従来法より短かったからである。作業時間の短縮は、飼料を固める際にヘラではなく、棒で突き固めるように作業方法を変更したこと、また許容できる量の誤差を0.5gから1gに緩和したためと考えられる。飼育容器内で飼料を固める方法の変更については、体感的にも楽になったと感じた。

ハラアコブカミキリ幼虫を20頭飼育した時の写真を示した(図-1)。遠沈管を利用したほうが明らかに占有する空間が少なくなった。ただし、遠沈管を利用した場合、発育期間を通じて幼虫が飼料内部にとどまる場合があり(図-2)、その場合、幼虫の目視による観察が困難で、蛹化や羽化を確認できなかった。フ

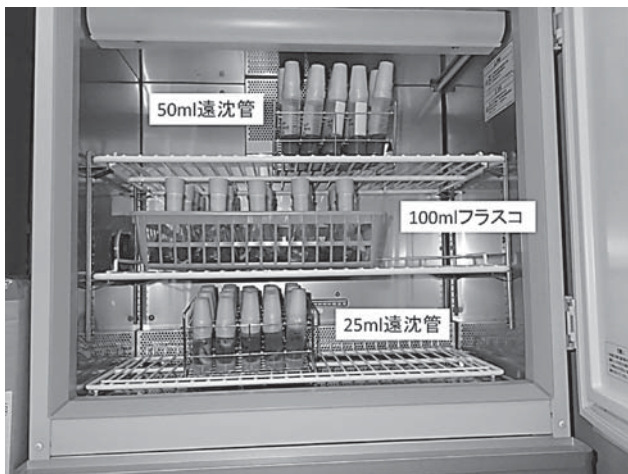


図-1. それぞれの飼育容器で20頭のハラアコブカミキリを飼育している状態
飼育に必要な空間(W×D×H(cm), 飼育容器下のザルあるいは試験管立てを含む)は、100mlフラスコで(38.0×30.5×14.0), 25ml遠沈管で(18.7×14.7×13.0), 50ml遠沈管で(18.7×14.7×16.0)であった。

ラスコを飼育に利用する場合、幼虫の発育とともに人工飼料が食べ崩されて幼虫を観察することができる。しかし、遠沈管の場合は容器の底面積が狭いので人工飼料の食べ崩しが生じず、幼虫が飼料内部にとどまる場合があると思われた。

それぞれの飼育容器で飼育したときの羽化率を表-2に示した。フラスコと50mlの遠沈管を利用した場合、羽化率は50%前後であった。それに対し、25mlの遠沈管を利用した場合には羽化率が約70%となった。この原因の一つとして容器の口から人工飼料までの距離が考えられる(図-3)。25mlの遠沈管は容器の口から人工飼料までの距離が約3cmと他の容器の約7cmより短いので幼虫の接種に失敗することはほとんどなかった(小坂, 未発表)。フラスコと50ml遠沈管では幼虫の接種に失敗して再接種する際に幼虫に見えない傷をつけてしまい、飼育中に死亡して羽化率が悪くなったのかもしれない。

遠沈管を利用した場合、25mlでも50mlでも羽化した成虫の約10%が奇形であった。そのほとんどは翅が正常に伸びないものであり(図-4)、狭い遠沈管内で蛹化時や羽化時に飼料と不

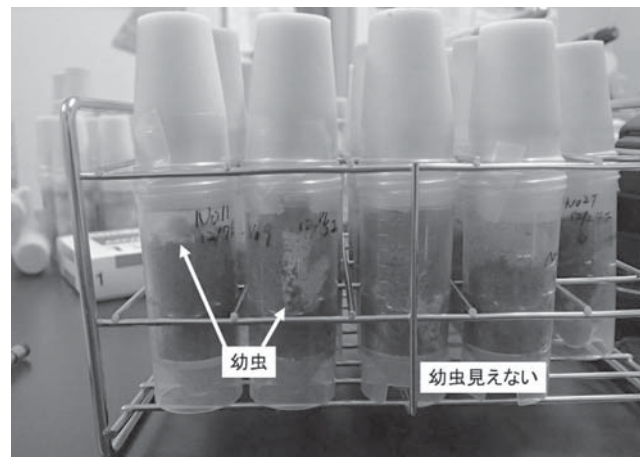


図-2. 遠沈管を利用した幼虫の飼育
人工飼料に幼虫がもぐり込み、幼虫の状態が確認できない場合がある。

表-2. 異なる飼育容器で飼育したハラアコブカミキリの羽化率と奇形率

飼育容器	n	羽化率(%)*	奇形率(%)*
フラスコ	89	49.4 ^a	0 ^a
25ml 遠沈管	90	68.9 ^b	8.1 ^{ab}
50ml 遠沈管	89	52.8 ^a	12.7 ^b

* 列内でのアルファベットの違いはFisher 正確確率検定による有意差($p < 0.05$)があることを示す。

表-3. 正常に羽化した成虫の性比と虫体重

飼育容器	n	性比(♀/♀+♂)*	平均虫体重±SE (mg)	
			♀**、***	♂****
フラスコ	44	0.523	816±159	786±82
25ml 遠沈管	57	0.509	811±157	734±174
50ml 遠沈管	41	0.439	784±82	713±83

* 飼育容器の違いにより性比に有意差はなかった (Pearson カイ二乗検定, $p = 0.708$)。

** 羽化数日以内に計測できなかったため25ml 遠沈管3個体, 50ml 遠沈管1個体の欠測。

*** 飼育容器の違いによる雌成虫の虫体重に有意差はなかった (一元配置分散分析, $p = 0.767$)。

**** 飼育容器の違いによる雄成虫の虫体重に有意差はなかった (一元配置分散分析, $p = 0.157$)。

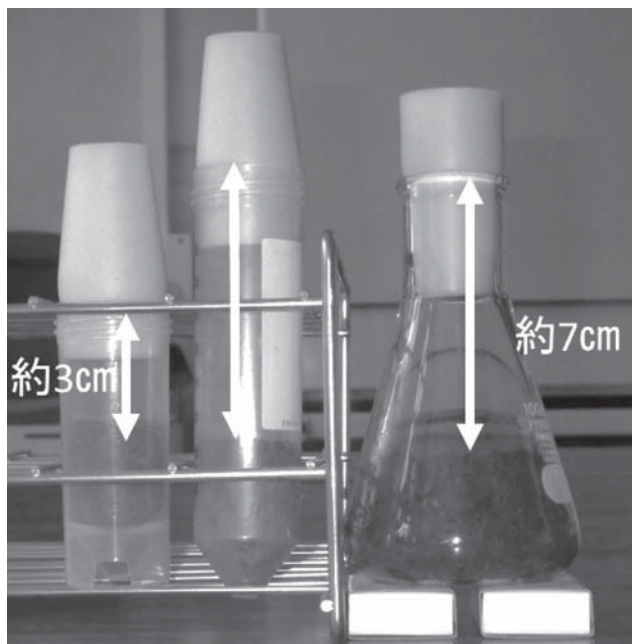


図-3. 飼育容器開口部から人工飼料までの距離
25 ml 遠沈管は他の容器より短く, 幼虫の接種が容易である。



図-4. 遠沈管において奇形で羽化した典型的な例
上翅や後翅, あるいはその両方がきれいに伸びきれずに奇形となる。

適当に接触して奇形になったと思われる。正常に羽化した成虫の性比と体重を表-3に示した。性比や雌雄別の体重に飼育容器間で有意差はなく, 飼育容器はそれらに影響しないと考えられた。改良法で成虫が羽化した場合でも, 少なからぬ量の食べ残しがあり, より少ない人工飼料での飼育が可能であると思われた。

IV. まとめ

ハラアコブカミキリの幼虫を大量に飼育するためには, 人工飼料を効率よく作製でき, 飼育場所の占有が少ない遠沈管を利用した改良法が従来法より優れていた。特に飼育に必要な空間が小さく羽化率も高い25 mlの遠沈管での飼育が現在では最も効率的なハラアコブカミキリ幼虫の大量飼育法と考えられる。ただし, 成虫を得ようとした場合, 遠沈管を利用した場合に25 mlでも50 mlでも10%程度の奇形が生じる可能性があることを認識しておく必要がある。一方で, 遠沈管では正確な蛹化日や羽化日が分からないことがあるので, 発育を詳細に調べる場合はフラスコを利用する従来法が適していると思われた。

遠沈管を用いた飼育でもハラアコブカミキリの幼虫が前蛹になった時点で飼育容器から出して幼虫と飼料との接触をなくせば奇形の発生を低下できる可能性が考えられる。また, より少ない人工飼料での幼虫飼育も可能であると思われた。これらが, さらなる飼育法の改善点である。

謝辞

ハラアコブカミキリの採集には大分県日田市在住の阿部康夫氏, 大分県西部振興局の坂本修一氏, 塚本麻衣子氏, 谷川直太氏, 飼育やデータ入力には森林総合研究所九州支所非常勤職員の鎌三佳氏にご協力をいただいた。ここに感謝する。本研究は科研費(課題番号15K14762)の補助を受けた。

引用文献

- Kosaka H (2011) Appl Entomol Zool 46: 581-584
 小坂 肇 (2012) 森林防疫 61: 203-207
 大長光 純・金子周平 (1988) 林業と薬剤 106: 1-12
 大長光 純・金子周平 (1990) 福岡県林業試験場時報 37: 1-58
 SAS Institute (2015) JMP[®] 12. SAS Institute INC, Cary, NC, USA
 (2016年11月18日受付; 2016年12月22日受理)