

[研究報告]

新しい生物製剤MA剤（仮称）のゴキブリに対する 効力についての基礎的な検討

Laboratory evaluation of *Metarhizium anisoplaea*, Bio-path
against the German cockroach, *Blattella germanica*

石井 結子* 水谷 澄*

Yuuko ISHII and Kiyoshi MIZUTANI

はじめに

神経毒を示す合成薬剤の殺虫剤抵抗性や一部薬剤に対する安全性問題等から、対象生物のみに特異的な殺虫活性を示す物質が検索されている。多くは動植物由来の抽出物や幅広い微生物から検討されてきたが、その中の一つ、人畜にきわめて安全な真菌 *Metarhizium anisoplaea* (ESFI) を利用したゴキブリ駆除製剤が1993年に米国で上市された。

この菌は昆虫に黒きょう病を引起す糸状菌として知られている。製剤は、*Metarhizium anisoplaea* を安定した性状で処理し、誘引剤を添付した感染用容器である。この容器をゴキブリの生息場所に配置しておく、ゴキブリは潜み場所としてこのなかに侵入、内部の病原菌に感染する。十分な病原菌を取り込んだ感染虫は、最短で数日後に致死するが、生存中に他のゴキブリに接触して、その病原菌を二次的に感染させることができる。

この度、上記製剤のチャバネゴキブリに対する室内試験を実施したので、その結果を報告する。

1 供試製剤および供試昆虫

1. 供試製剤

自然界の土壤中にみられる真菌 *Metarhizium anisoplaea* (ESFI 0.35%) を有効成分とした微生物殺虫剤（商品名：Bio-path）を用いた。これは、60×60×20mmの感染容器内に少なくとも1×10⁴CUFs（コロニーを形成する単位）の活性微生物を含む。さらに、有効成分以外にゴキブリの好む誘引剤が配合されている。

2. 供試昆虫

チャバネゴキブリ *Blattella germanica*

渡田コロニー

当研究室において、温度25℃の条件下で累代飼育中の集団を使用した。

2 試験方法

1. 任意潜伏試験

床面積が2m²、高さが17cm、供試虫が逃亡できないように壁面内部にバターを塗った試験容器内に、雌雄成虫各20匹と老令幼虫30匹の合計70匹を放した。容器中央には、ベニヤ板で作った45cm角のシェルターを潜み場所として置き、また、コーナー部には餌（オリエンタル酵母工業製、実験動物用MF固型飼料）と水（脱脂綿を湿らせたもの）をシャーレに入れて配置した。

一晚放置して、供試虫を安定させた後、供試製剤をそれぞれ1、2、4個ずつ試験容器内に設置した。供試虫をこの中で自由に潜伏させ、活性微生物 *Metarhizium anisoplaea* を体表面に取り込ませて、日時の経過に伴う供試虫の死亡状況を観察した。

なお、対照区の個体が死亡したときには、下記の式より、処理区の致死率を補正した。

$$\text{補正致死率(\%)} = \left(\frac{\text{処理区致死率} - \text{対照区致死率}}{100 - \text{対照区致死率}} \right) \times 100$$

以上の結果から供試製剤の効果を判定した。

2. 二次感染試験

ゴキブリからゴキブリへの感染を確認するために、成虫を対象として次のような試験を行った。

供試製剤に一昼夜任意に潜伏させた感染虫と健全な供試虫を内径9.2cm、高さ4cmの同一容器内で飼育して、日時の経過に伴う供試虫の死亡状況を観察した。

* (財)日本環境衛生センター東日本支局環境生物部
Department of Environmental Biology, East Branch,
Japan Environmental Sanitation Center

感染虫と非感染虫の組合せは、表1の通りとし、その比率により日時の経過に伴う死亡状況の変化を観察した。なお、対照区の個体が死亡したときには、任意潜伏試験と同様に、処理区の致死率を補正した。

表一 二次感染試験 感染虫と非感染虫の比率

感 染 虫		:	非感染虫	
♂	♀		♂	♀
0	0	:	10	10
1	1	:	9	9
2	2	:	8	8
5	5	:	5	5
8	8	:	2	2
9	9	:	1	1

3. 開封後の残効性試験

供試剤の残効性を検討するために、開封直後のものと開封後1か月、2か月、3か月、6か月、12

表二 任意潜伏試験 日時の経過に伴う致死状況

薬 量 個 数/m ²	経過日数	経過日数							回収数
		1	5	9	15	21	25	32	
0 (対照)	♂	0	2	2	3	3	5	7	31
	♀	1	1	3	4	6	6	8	31
	幼	0	1	3	4	6	6	7	17
	計	1	4	8	11	15	17	22	79
致死率 (%)		1.3	5.0	10.1	13.9	19.0	21.5	27.8	
0.5	♂	0	1	4	15	21	22	25	30
	♀	0	0	4	21	23	24	26	27
	幼	0	2	2	7	11	12	12	17
	計	0	3	10	43	55	58	63	74
致死率 (%)		0	4.1	13.5	58.1	74.3	78.4	85.1	
補正致死率 (%)		0	0	3.8	51.3	68.3	72.4	79.4	
1	♂	0	1	6	16	23	24	—	27
	♀	0	2	10	19	25	26	—	30
	幼	0	2	3	9	11	11	—	11
	計	0	5	19	44	59	61	—	68
致死率 (%)		0	7.4	27.9	64.7	86.8	89.7	—	
補正致死率 (%)		0	2.4	19.8	59.0	83.7	86.9	—	
2	♂	1	5	5	14	21	22	—	22
	♀	0	3	10	20	22	23	—	23
	幼	0	13	20	24	27	27	—	32
	計	1	21	35	58	67	72	—	77
致死率 (%)		1.3	27.3	45.5	75.3	87.0	93.5	—	
補正致死率 (%)		0	23.4	39.3	71.3	88.8	91.7	—	

注) 供試個体は実験期間中に逃亡などが原因で減少したので最終的な回収数から、致死率を示した。
 表中の数値は累積死虫数を示した。
 試験期間：1993年8月5日～9月2日
 温 度：22.0～28.5℃

か月経過したもの使用し、任意潜伏試験を行った。なお、製剤の設置個数は、試験容器に対して2個(1個/m²)とした。

3 結果と考察

1. 任意潜伏試験

供試剤のチャバネゴキブリに対する任意潜伏試験の結果を表2に示した。供試剤の設置数は1 m²当り製剤0.5、1および2個宛供試したが、供試製

剤の設置数と効力の間に関係が見られた。

供試虫は4～5日経過すると死亡が認められ、その後日時の経過に伴い致死率が上昇する。0.5個/m²区では32日後に79.4%の致死率に留まったが、1個/m²区では、25日後に86.9%、表6に示した同量の試験では、30日後に98.3%の致死率が得られた。2個/m²区では日経に伴う致死効力はさらに上昇した。

表3は表2をまとめたものであるが、50%致死日数は、0.5個/m²区が14.5日、1個/m²区が13.5日(表6の同量区は12日)、2個/m²区は10.5日であった。

表一3 任意潜伏試験 まとめ

薬量 個数/m ²	50%致死日数	最終観察日の 致死率(%)
0.5	14.5	79.4 (32日)
1	13.5	86.9 (25日)
2	10.5	91.7 (25日)

注) 致死率は補正値を示す。

この結果は、供試薬剤(感染容器)の設置数と供試虫数の多少による影響が多分に大きいと思われる、今回試験した雌雄成虫、幼虫を2m²の容器に70頭供試する条件では、供試薬剤0.5個/m²区の設置数では、供試虫の大部分に病原菌の感染が得られない、または病原菌の量的な不足から効力は不十分

であった。しかし、1個/m²区以上設置すると、最終的な致死率からみて十分な効力が得られていると判断された。

2. 二次感染試験

二次感染試験の結果を表4に示した。供試薬剤に一昼夜強制的に潜伏させた感染虫1に対して非感染虫9の混合集団は、日時の経過に伴い致死率が上昇して41日後に90.9%の致死率が得られた。この結果は、ゴキブリ同士の接触により極めて効率的に二次感染が起こっていることを示している。感染虫の組合せ比率を高めると、効力はさらに増大した。感染虫8:2非感染虫と9:1の区では41日後に供試虫すべてが致死した。

表一4 二次感染試験 日時の経過に伴う死亡状況

組合せ	感染虫:非感染虫	経過日数								回収数
		1	6	10	15	21	24	30	41	
0:10	♂	0	0	0	2	3	3	5	16	28
	♀	0	0	0	3	3	3	5	8	28
	計	0	0	1	5	6	6	10	24	56
致死率(%)		0	0	1.8	8.9	10.3	10.3	17.9	42.9	
1:9	♂	0	2	7	9	16	17	21	27	28
	♀	0	2	5	7	10	14	18	28	30
	計	0	4	12	16	26	31	39	55	58
致死率(%)		0	6.9	20.7	27.6	44.8	53.4	67.2	94.8	
補正致死率(%)		0	6.9	20.3	20.5	38.5	48.0	60.0	90.9	
2:8	♂	0	1	5	7	16	18	25	29	29
	♀	0	2	5	7	14	18	22	29	30
	計	0	3	10	14	30	36	47	58	59
致死率(%)		0	5.1	16.9	23.7	50.8	61.0	79.7	98.3	
補正致死率(%)		0	5.1	15.4	16.2	45.2	56.5	75.3	97.0	
5:5	♂	0	5	9	20	24	24	27	28	30
	♀	0	8	10	18	23	25	29	30	30
	計	0	13	19	38	47	49	56	58	60
致死率(%)		0	21.7	31.7	63.3	78.3	81.7	93.3	96.7	
補正致死率(%)		0	21.7	30.4	59.7	75.8	79.6	91.8	94.2	
8:2	♂	0	6	15	24	29	29	29	31	31
	♀	0	5	12	20	23	24	26	28	28
	計	0	11	27	44	52	53	55	59	59
致死率(%)		0	18.6	45.8	74.6	88.1	89.8	93.2	100	
補正致死率(%)		0	18.6	44.8	72.1	86.7	88.6	91.7	100	
9:1	♂	0	2	14	21	28	28	28	29	29
	♀	0	9	18	25	27	28	28	28	28
	計	0	11	32	46	55	56	56	57	57
致死率(%)		0	19.3	56.1	80.7	96.5	98.2	98.2	100	
補正致死率(%)		0	19.3	55.3	78.8	96.1	98.0	97.9	100	

注) 供試個体は実験期間中に逃亡などが原因で減少したので最終的な回収数から、致死率を示した。
表中の数値は累積死虫数を示した。
試験期間: 1993年9月22日~11月19日
温度: 20.5~26.0℃

表一5 二次感染試験 まとめ

組合せ 感染虫：非感染虫	50%致死日数	最終観察日の 致死率 (%)
1：9	25.0	90.9
2：8	22.0	97.0
5：5	16.0	94.2
8：2	10.5	100
9：1	10.0	100

注) 最終観察日は41日後、致死率は補正值を示す。

表4をまとめたのが表5である。50%致死日数は、感染虫1：9非感染虫区が25日、2：8区は22日、5：5区は16日、8：2区は10.5日、9：1区は10日であった。

この結果から判断すると、供試虫が病原菌に感染後50%が致死するのに要する日数は約10日であると考えられた。感染虫の比率が10%しかない低

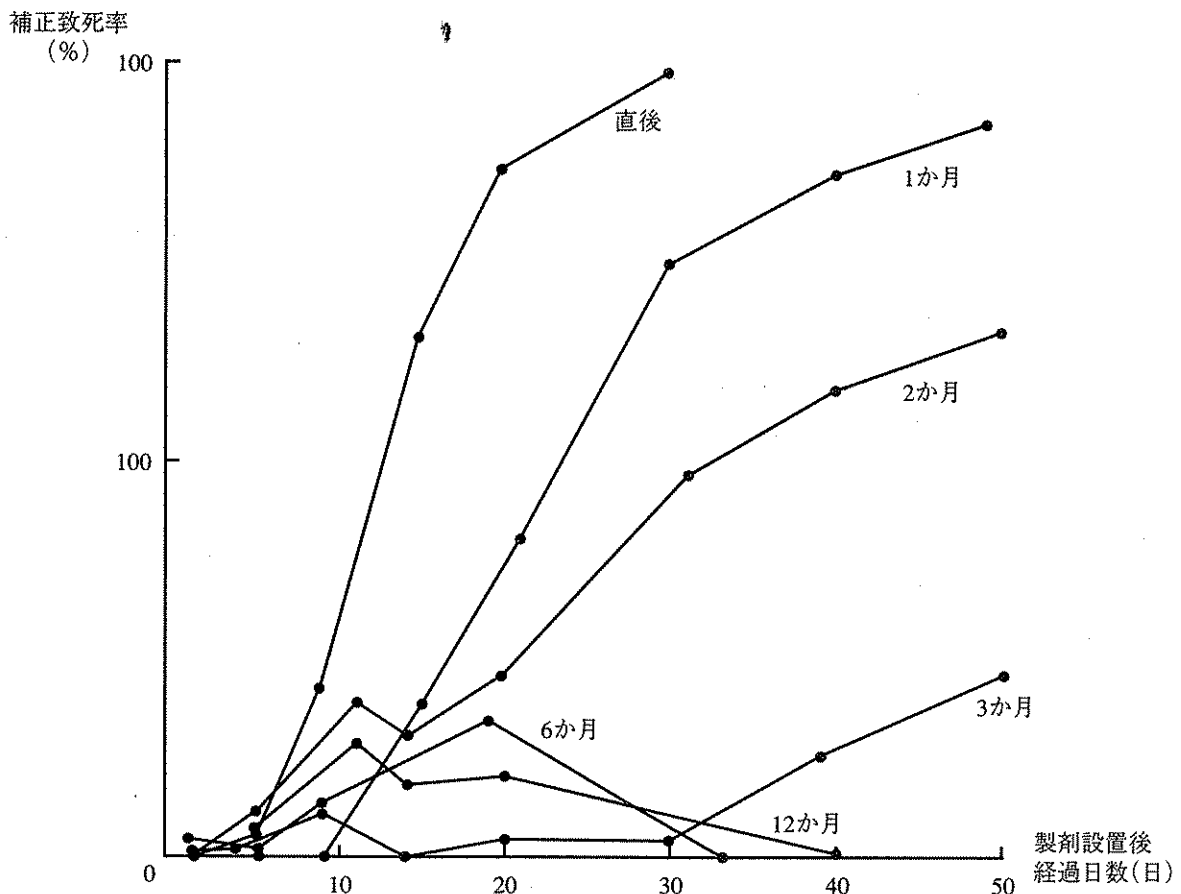
い場合でも、ここで行った試験条件では健全虫の大部分を感染させることが出来た。この場合、50%致死日数が遅延したのは、非感染虫の大部分が感染するのにある程度の日数を要するためと考えられた。

3. 製剤開封後の残効性試験

図1は、供試薬剤を開封、室温下に所定日数保存した後、任意潜伏試験を行った結果である。この試験で活性成分の残効性を検討した。

この結果、30日後の致死率で比較すると、開封直後の製剤は98.3%、開封1か月後の製剤は74.4%、2か月後は48%、3か月後はわずか2%しか致死率が得られなかった。

図1を見ると有効成分の失効は比較的早く1か月経過するごとに急激に効力が低下している状況が認められた。



図一1 開封後所定日数経過した供試製剤の致死率の推移

表6は残効性試験をまとめたものである。1m²当り1製剤設置したときの50%致死日数は、開封直後が12日、1か月後が24日、2か月後は32日要し、3か月以上経過した製剤では得られなかった。また最終観察日の致死率が90%を越えたのは開封1か月後までの製剤で、2か月後は65%、3か月後が22%、6か月以降の製剤の致死率は得られなかった。

この結果から、一度開封すると、1か月後までは実用効果が認められるが、それ以上の期間経過した製剤の効果は低いことがわかった。

表-6 残効性試験 まとめ

開封後 月 数	50%致死日数	最終観察日の 致死率 (%)
直後	12.0	98.3 (30日)
1か月	24.0	91.5 (50日)
2か月	32.0	65.8 (50日)
3か月	得られず	22.6 (50日)
6か月	得られず	0 (50日)
12か月	得られず	0 (40日)

注) 薬量は1m²当り1製剤。
致死率は補正值を示す。

ま と め

真菌 *Metarhizium anisoplaea* (ESFI 0.35%) を有効成分とした微生物殺虫製剤 (商品名: Bio-path) のチャバネゴキブリ雌雄成虫および老令幼虫に対する基礎的な殺虫効力試験と感染試験を任意潜伏試験ならびに二次感染試験により検討した。

その結果、次に示す事項が確認された。

- 2m²の試験容器に供試虫70頭を用いた任意潜伏試験を行ったところ、供試虫は製剤に潜伏後、最短4日目頃から致死が認められた。50%致死日数は0.5個/m²区が14.5日、1個/m²区が13.5日 (同量別試験、12日)、2個/m²区は10.5日であった。
- 最終観察における致死率を考慮して上記の結果を判定すると、0.5個/m²区では効力が若干不十分であったが、1個/m²区以上の区では優れた効力を示した。
- 製剤に一昼夜強制的に潜伏させたゴキブリを感染虫として、この感染虫と非感染虫 (健全虫) を種々の比率で混合した集団を用いた二次感染試験を行ったところ、供試虫同士の接触により極めて効率的な感染が起こることが確認された。
- 感染虫を10%しか含まない混合集団でも、最終的に90%以上の致死率が得られた。
- 二次感染試験の50%致死日数は感染虫1:9非感染虫の区が25日、2:8区が22日、5:5区が16日、8:2区は10.5、9:1区が10日であった。
- 上記2試験から得られた結果から判断すると、供試虫が病原菌に感染後50%が致死するのに要する日数は約10日と考えられた。
- 製剤の開封後の活性成分の残効性を検討したところ、1m²当り製剤1個を設置した時の50%致死日数は、開封直後12日、1か月後が24日、2か月後が32日で、3か月以上経過した製剤では得られなかった。
- この結果、製剤の実用効果は、一度開封すると1か月後までであると考えられた。

謝 辞

本実験を行うにあたって製剤を提供いただいた丸和バイオケミカル株式会社に深謝します。