

トビイロウンカから分離した *Entomophthora delphacis* について¹

島津光明

農林省九州農業試験場

(1976年3月24日受領)

Entomophthora delphacis Isolated from the Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens* (STÅL). Mitsuaki SHIMAZU (Kyushu National Agricultural Experiment Station, Chikugo, Fukuoka 833) *Jap. J. Appl. Ent. Zool.* **20**: 144~150 (1976)

An entomophthoraceous fungus was isolated as the pathogen of the epizootic of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, which occurred in Chikugo, Kyushu Island of Japan in autumn of 1975, and its morphological and cultural characters were studied. The conidiophores were branched or sometimes simple, the cystidia slender and the conidia elliptical to ovoid with a slight papillate base, containing one or numerous oil globules, and measured $32.7 \times 14.8 \mu$ (collected from hosts) or $30.2 \times 15.5 \mu$ (collected from cultures). Rhizoids and resting spores were not observed. The optimum temperature and pH value for cultivation on Sabouraud's medium were 25°C and pH 6.3 to 6.7. The conidial formation on Sabouraud's agar+pupal extract and the hyphal growth on Sabouraud's agar+egg yolk were better than those on Sabouraud's agar only. This fungus was identified as *Entomophthora delphacis* HORI; this was resembled to *E. aphidis* and *E. dipterigena* but distinguishable by the characters grown on the artificial media and by their host ranges.

緒言

1975年10月~12月、九州農試ほ場で刈らずに放置したイネのトビイロウンカ *Nilaparvata lugens* (STÅL) 個体群に *Entomophthora* 属菌による流行病が多発し、著者は本菌を根本の培地(根本, 1975)で分離培養することに成功した。コルク栓に本菌を培地とともに付着させて試験管にはめ、中に継代飼育したトビイロウンカ成虫を放飼した結果、接種後4日から9日目までに72頭中36頭が野外と同じ病徴で死亡したため、本菌がその病原であることを確認した。本菌は観察の結果 *Entomophthora delphacis* HORI として矛盾がないことがわかった。

E. delphacis はわが国で戦前にわずかの報告があるだけで(堀, 1906; 酒井, 1932; 江崎・橋本, 1936; 江崎ら, 1937), その他はこれらの引用または引用と思われるものが2~3あるばかりである(青木, 1957; MACLEOD, 1963)。特にその形態については堀(1906)の原記載以外になく(青木(1957)の記述は堀と同一内容で

あり、引用と思われる), またその記載や図もあまり簡単なため他の類似種との区別点で明確さを欠き、わずかに寄主のちがいで別種と言えるだけであった。また *E. delphacis* は外国では発見されていないようである(MACLEOD, 1963)。

今回、本菌の形態ならびに簡単な培養的性質について調べ、類似種との差異について若干の知見を得たので報告する。

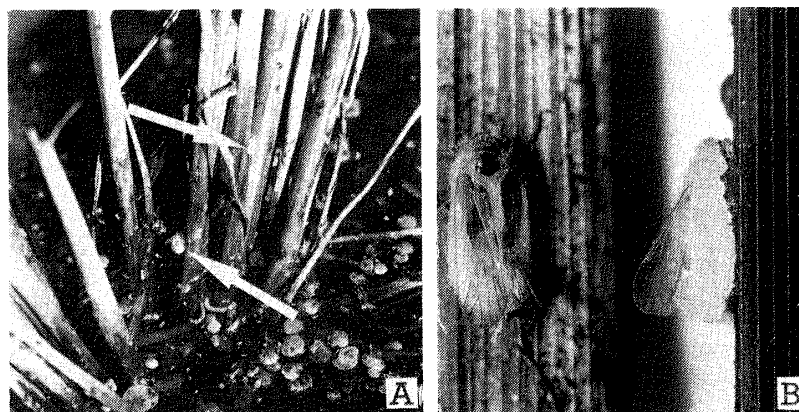
報告にあたって本稿をご校閲いただいた当场虫害第1研究室宮原義雄室長に感謝の意を表す。

材料および方法

罹病虫は野外および室内で肉眼により観察した。

菌の形態は罹病虫および培養したものから肉眼と光学顕微鏡とを用いて観察した。また SABOURAUD 寒天、馬鈴薯煎汁寒天、SABOURAUD 寒天培地処方中の水をハスモンヨトウ *Spodoptera litura* 蛹煎汁(乾燥蛹100gに水1lを加え30分煮沸したもの)で置き換えたもの(以下 SABOURAUD 蛹汁寒天と記す)、根本の培地(SABOURAUD

1 本報の一部は九州病害虫研究会第41回発表会(昭和51年2月、宮崎)で報告した。



第1図 病死したトビイロウンカ。

A : 野外での死亡状態。矢印は病死虫。B : 病死虫。左 : 背面, 右 : 側面。

寒天 200cc 当り卵黄 1 個を加えたもの) の各種培地上における菌の形態を肉眼的に観察した。

菌の発育と pH の関係は次の 2 法により調査した。

(1) 液体培養 : SABOURAUD 麦芽糖培地を 4% 塩酸または 4% 水酸化ナトリウム溶液を用いて, pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.4, 6.3, 6.7, 7.2, 7.5, 8.0 に調整し, おのおの 100cc 容の三角フラスコ 3 本ずつに 20cc ずつ入れ, 高圧滅菌する。これに根本の培地で斜面培養した本菌から約 5 mm 角の菌そうを移植し, 25°C で静置培養する。14 日後に乾燥重量既知のろ紙でろ過し, 菌体を 105~110°C で恒量になるまで乾燥し, 直示天秤を用いて菌体の乾燥重量を測定する。(2) 平板培養 : 液体培養と同じ培地に寒天を 1.5% 加え, 高圧滅菌し, おのおの 3 枚の 9 cm 径滅菌シャーレに約 10cc ずつ分注し固くさせる。これに液体培養に用いたと同じ菌そうを移植し, 倒置して 25°C で培養し, 一定日ごとに直交する任意の 2 方向について菌そうの直径を測定する。

菌の発育と温度の関係は SABOURAUD (都合によりブドウ糖使用) 培地を pH6.5 に調整し, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C で液体培養および平板培養の 2 法で調査した。方法は前記の各種 pH での培養に準じておこなった。

結 果

1. 病死虫

病死虫は稲株の株本付近に多く見出された。 *Entomophthora* 属に侵されたこん虫には, 高所に上って死亡する場所が見られるが, 本菌の場合は死体はトビイロウンカの棲息部位と同一個所に存在した (第 1 図 A)。死体は翅を上げてイネの茎に付着し, 全体は菌糸 (ほとんど分生子梗) におおわれるが, 翅と背板は裸出することが多

かった。死後間もないものはまだ分生子梗の発達が弱く, 死体から出た菌糸は白色綿毛状であるが, やや時間を経たものは, 分生子梗はよりち密になり, 黄白色砂糖菓子状に見えた (第 1 図 B)。頭部の菌糸は若干紫色を帯びていた。新鮮な死体を室内に置くと半径 1 cm 程度まで分生胞子を飛散させた。

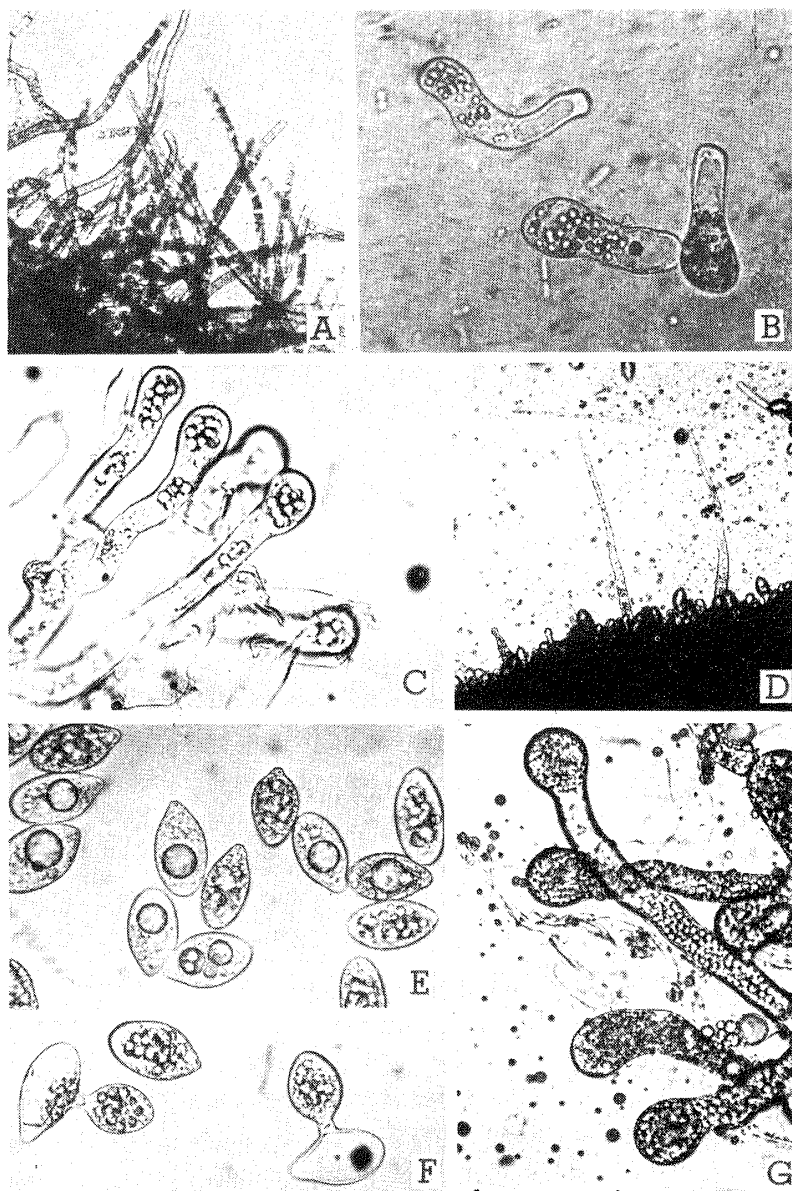
2. 菌の形態

菌糸は一般に隔壁はなく, 内容は顆粒状で幅は 6~20 μ (第 2 図 A)。生長とともに空胞部を残す。空胞部と顆粒状の原形質の境界には隔壁が存在する。

hyphal body は不定形で幅 10~20 μ , 内容は顆粒状で空胞がある (第 2 図 B)。

分生子梗は分岐するが, 単条のものもある (第 2 図 C)。cystidia は幅 5~17 μ で細長く, 長さは 0.6 mm 前後, 長いものは 1 mm を越し, よく発達する (第 2 図 D)。しかし GUSTAFSSON (1965a) が *E. ovispora* で, また THAXTER (1888) が *E. sepulchralis* で観察したような極端に幅の広いものはない。仮根は発見できなかった。

分生胞子は楕円形または長卵形で, まれに球形に近いものもある。一端は若干細まり, 弱い乳頭状突起をなす。内部には 1 個または多数の油球を含む (第 2 図 E)。色は無色であるが, 飛散された胞子の集まりは肉眼的には黄白色に見える。分生胞子の大きさは, 野外トビイロウンカ死体から得たものでは 29.2~35.6 \times 13.0~17.5 μ 平均 32.7 (S. D.=1.3) \times 14.8 (S. D.=1.4) μ (調査数 50), また培養 (SABOURAUD 蛹汁寒天) から得たものでは 22.9~36.8 \times 12.4~20.3 μ 平均 30.2 (S. D.=3.0) \times 15.5 (S. D.=1.7) μ (調査数 100) であった。第 2 次分生胞子は分生胞子からの直接の出芽によって形成され, *E. sphaerosperma* などのように毛細管状の発芽管を伸ばすことはない。大きさ, 形状は分生胞子とほぼ同様, も



第2図 菌の形態。(A, D: $\times 84$; B, C, E, F, G: $\times 336$)

A: 菌糸。B: hyphal body。C: 分生子梗。D: cystidia。E: 分生孢子。F: 第2次分生孢子的形成。G: 休眠孢子的形成?。

しくはやや球に近い(第2図F)。

休眠孢子は発見できなかった。しかし菌糸内部の顆粒がよりち密になり、先端あるいは途中が丸くふくらみ出て、非接合孢子を形成しつつあるのではないかと思われるものは、ゆでた卵黄の古い培養(室温)に観察された(第2図G)。

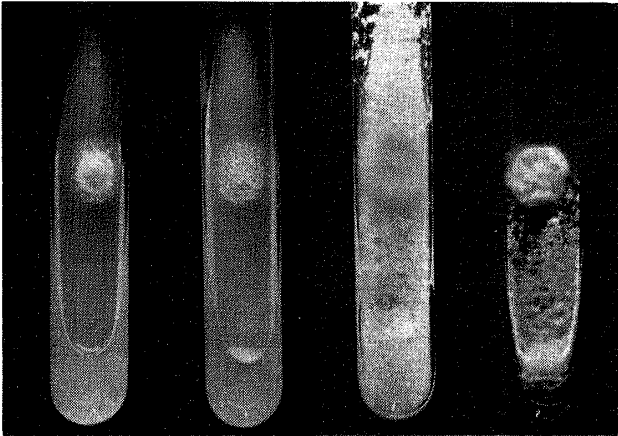
3. 培地上の状態

菌糸を SABOURAUD (麦芽糖またはブドウ糖) 寒天に移植すると、径 1 cm 程度までは移植した菌塊に付着している培地をおおって綿毛状となる。その後は菌糸は培

地内部ではよく伸びるが、表面の菌糸は培地面をほうように生長し、空中へはほとんど伸びない。分生孢子的形成は少なく、また培地上に落下した孢子はほとんど発芽しない。この状態は肉エキスを 1% 添加した SABOURAUD 培地でもあまり改善されない。

馬鈴薯寒天培地でも菌糸の発育状態はよく似ているが、分生孢子的形成は多い。

根本の培地では分生孢子的形成は SABOURAUD と同程度もしくはより少ない。菌糸は最初はやはり白色綿毛状塊となるが、以後も菌糸の発育は最良で培地表面ばかり



第3図 各種培地上の集落（移植後5日目）。

左から SABOURAUD 麦芽糖寒天，馬鈴薯寒天，根本の培地，SABOURAUD 蝸汁寒天。

でなく，空中にもよく伸び，黄白色毛布状の菌そうとなる。また培地上に落下した胞子の発芽も良好である。

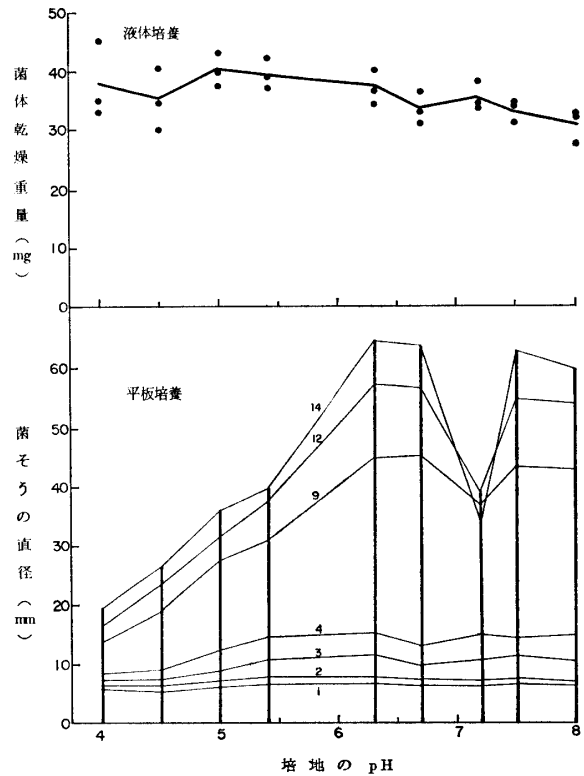
SABOURAUD 蝸汁寒天では分生子梗が非常によく形成され，菌そうは黄白色クルミ状に盛り上り，分生胞子を大量に形成する。クルミ状の集落は広がりながら発達してゆくが，やがて中央から萎縮し，淡黄褐色ピロード状となる。胞子形成と同じく，培地上に落下した胞子の発芽も良好なので，斜面培地に植えた場合，移植した部分から広がった集落と発芽によって形成された集落がつながり，菌そうの広がり本培地が最も速い。

なお，これらの培地のどれも着色はみられず，また，培地面はしわにならなかった（第3図）。

4. 菌の発育と pH，温度との関係

各種 pH における本菌の発育は第4図のとおりであった。平板培養では一応 pH 4.0 から 8.0 まですべて生育が可能であったが，pH 6.3 から 6.7 で最も発育が良好であった。また pH 7.5，8.0 もかなり良好であったが，7.2 はなぜか途中から不良で，最終日には平均値で小さくなってしまった。液体培養では pH による差はみられなかった。なお，培地の最終 pH を測定したところ，接種前の pH が 4.5 以下のものはそのままの値であり，5.0 以上のものは 4.7 から 5.2 の間となった。

各種温度における本菌の発育は第5図のとおりであった。平板培養では 35°C では全く生育しなかったが，その他の温度では生育が可能であった。最も発育が良好であったのは 25°C で，30°C がこれに次いだ。液体培養では肉眼的には平板培養と同様で，25°C が最良，35°C では全く生育不能であった。しかし秤量の結果は図に示すとおり，平均値では 35°C を除いて平板と同様の傾向であったものの，全く生育しなかった 35°C で大きな値



第4図 菌糸の発育と pH の関係。

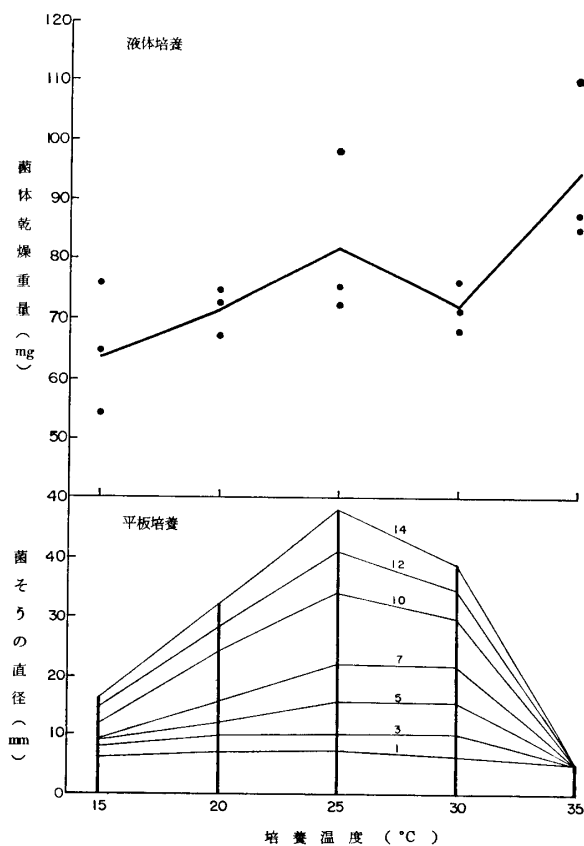
上：液体培養（実線は平均値），下：平板培養（3シャーレ・2 方向の平均値，折線の小数字は移植後の日数）。

を示したことは不可解であった。

各種 pH における培養結果では平板培地で pH 4.0 が最低であったにもかかわらず，液体培養では大きな値を示したことを考え合わせると，液体培養した菌体の乾燥重量を測定することは，必ずしも実際の菌の発育の状態を反映するものではないように思われた。GUSTAFSSON (1965 b) は液体培養で数種 *Entomophthora* について発育と温度との関係を調査した結果，*E. coronata*，*E. virulenta* などは温度による発育の違いはないとした。しかし，これらは HALL and BELL (1961) の平板培養の結果では温度によって大きく発育が異なっていた種であった。これによっても平板培養の方が敏感なように思われる。

考 察

ウンカ，ヨコバイ類に寄生する *Entomophthora* 属はアブラムシや双翅目に寄生する種とくらべると報告が少なく，これまでに *E. apiculata* (MACLEOD and MÜLLER-KÖGLER, 1973)，*E. coronata* 類似種 (岡田, 1971)，*E. delphacis* (堀, 1906) *E. grylli* (青木, 1958, 未永あて私信)，*E. jaapiana* (MACLEOD and MÜLLER-KÖGLER,



第5図 菌糸の発育と温度の関係。

上：液体培養（実線は平均値），下：平板培養（3シャーレ・2方向の平均値，折線の小数数字は移植後の日数）。

1970), *E. jassi* (MACLEOD and MÜLLER-KÖGLER, 1973), *E. sphaerosperma* (THAXTER, 1888) などが知られている。本菌は菌の形態，病死虫の状態などが，この中の *E. delphacis* に似ていた。

GUSTAFSSON (1965a) はスウェーデンから発見された *Entomophthora* 属を形態的側面から8つのグループに分類した。彼がfグループとしたものは *E. aphidis*, *E. dipterigena*, *E. exitialis*, *E. echinospora*, *E. ovispora* その他スウェーデンに産しない数種も含むとしている。これらの菌は卵形～楕円形の分生胞子と分岐した分生子梗をもつことを特徴としている。堀 (1906) は *E. delphacis* を *E. sphaerosperma* と近似の菌として比較している。しかし *E. delphacis* は形態的には GUSTAFSSON のfグループに含まれるべき菌であり，*E. sphaerosperma* との類似はむしろ少ない。ところが堀の記載内容はこのfグループの諸種の多くに共通するものであり，*E. delphacis* と類似種との判別が困難である。

E. delphacis の *E. sphaerosperma* との区別点として堀が述べている点は，分生胞子が紡錘形から楕円形で大き

く，乳頭状の突起を欠くこと，また「再生胞子を生ずる担子梗の頂端には毛状突起 (Cystidia) せざる……」とある。分生胞子の乳頭状突起と油球についてはその胞子の付着 (落下) した場所の水分の有無によって形状が変わることを著者は *E. aphidis* と本菌について経験した。すなわち胞子を水滴をのせたスライドガラス上に飛散・付着させた場合は油球は小型のものが多数観察され，胞子基部は太まり乳頭状突起が不明りようになる。また水滴のない乾いたスライドガラス上に飛散・付着させると油球は大型のものが1～2個となり，基部が細まり乳頭状突起が目立つようになる。通常，我々が分生胞子を観察する場合は病死虫の一部または全体，あるいは培地上の菌塊をかき取って鏡検することが多いが，そのような場合には，虫体や菌体に付着した胞子を観察することになる。これらにはしばしば微細な水滴が付着しているため，このような方法で観察した胞子は両方の型が混在していることが多い。*Entomophthora* 属の分類上，分生胞子の形態は一つの重要な要素ではあるが，このような現象があるので，慎重を要する。また cystidia に関する堀の記述は内容から考えてこれは真の cystidia ではなく，*E. sphaerosperma* の特徴の一つである第2次分生胞子を形成する毛細管のことと思われるので，*E. delphacis* の真の cystidia の有無は不明である。このような *E. delphacis* の形態についての記載と分生胞子の大きさを手がかりに類似種の中から区別できる種を排除しても，*E. delphacis* は *E. aphidis*, *E. dipterigena*, *E. ovispora* の3種とは区別ができないことになる。

一方，本菌は分生子梗が分岐すること，分生胞子が長円形であること等の形態的特徴により，やはり GUSTAFSSON のfグループに属することがわかる。さらにその中でも細長い cystidia をもつこと，および分生胞子の大きさからその形態は *E. aphidis*, *E. dipterigena* に最も近い。しかし分生胞子の大きさは *E. dipterigena* の記載より若干大型である。またオオムギのキビクビレアブラムシ *Rhopalosiphum maidis* FITCH から分離した *E. aphidis* との比較では，寄主に寄生している状態では分生子梗，分生胞子その他形態的に区別が不可能であった。しかし培養したものでは *E. aphidis* は培地上に GUSTAFSSON (1965a) が厚膜胞子としたものと同一と思われる分生胞子に似た形の胞子を形成し，また hyphal body 状の大きな卵形の細胞が沢山見られた。これらは本菌の形成しないものである。また本菌と *E. delphacis* の記載を比較してみると本菌の分生胞子は若干大きく，また乳頭状突起を持っている点が異なった。

次に本菌の培養的性質をみると、SABOURAUD 寒天上では菌糸の伸長する速度は、他の同属 (GUSTAFSSON, 1965 b) とくらべ決して遅くはないが、菌糸の空中への伸びはほとんどない。*Entomophthora* 属のなかには SABOURAUD 寒天上でも空中に力強く盛り上った集落を作るものもあるが (HALL and BELL, 1961; MACLEOD, 1963; GUSTAFSSON, 1965 b), 本菌ではそのような状態を得るためには根本の培地や SABOURAUD 蛹汁のように栄養を強化した培地を必要とする。江崎・橋本 (1936), 江崎ら (1937) はウンカから分離した 1 菌種を *E. delphacis* として接種実験をおこなった。それによると馬鈴薯寒天培地、あるいは麵麩培地 (食パンを薄く切り、コンデスマルク 3 倍希釈液を加えたもの) に移植後 10 日以上たないと孢子を形成しないとされている。本菌では馬鈴薯寒天移植後 1~2 日でよく孢子を形成した。江崎らの菌が堀 (1906) の *E. delphacis* と同一か否かは形態について全く述べられていないので不明である。

生長に対する温度の影響を調査した結果からは、本菌の SABOURAUD 培地での最適培養温度は *Entomophthora* 属の中では比較的高い方であった (HALL and BELL, 1960; 同 1961; GUSTAFSSON, 1965b)。また pH については本菌の最適値は他の *Entomophthora* 属について調べられた値とよく一致した (SAWYER, 1931; GUSTAFSSON, 1965 b)。

本菌と形態の類似する種と培養特性を比較してみると、著者がキビクビレアブラムシから分離を試みた *E. aphidis* の分生孢子は多くの培地では生育せず、第 2 次分生孢子形成型となってしまった。わずかに生育がみられたのは SABOURAUD 蛹汁に卵黄 (200cc 当り 1 個)、可溶性澱粉 (2%), エピオス抽出水 (原料換算で 1%) を加えた培地で、これでも生育は極めて遅く、また菌糸の発育が悪く前述したとおり厚膜孢子や卵形の細胞が多くみられた。このように著者の分離した *E. aphidis* の培養状態は本菌と非常に異なっていた。また GUSTAFSSON (1965b) によると *E. aphidis* は SABOURAUD 培地上では発育しないかあるいは極めて遅く、かつ培地を褐色に着色すること、28°C という高温では発育は極めて貧弱か不能であること、pH 5.5~7.5 の範囲でなければ発育しないこと、また *E. dipterigena* は SABOURAUD 寒天上で毛深くしわ状の集落を作ること、発育最適温は 24°C で 21°C がこれに次ぎ 28°C では劣ることなどにより、両者ともその培養的性質は本菌と異なっている。

以上のように本菌はその形態的特徴が *E. aphidis*, *E. dipterigena* と酷似しており、これらに近縁の種であると

考えられるが、前者とは培地上の厚膜孢子等、そして両者と培養的性質により判別が可能であり、別種と考えられる。なお、*E. dipterigena* については実物と直接比較してみれば更に差異を見出せる可能性がある。また一方、堀の *E. delphacis* についての記載とは形態、病死虫の状態を含めてよく一致し、分生孢子に乳頭状突起をもたないと記されている点だけが本菌と矛盾する。そしてこれは前にも述べたとおり、条件によって観察されたりされなかったりするので、別種とするに足ほどの重要な差異とは思われないので、本菌を *E. delphacis* と同一として差しつかえないであろう。更に *E. aphidis*, *E. dipterigena* は寄主がそれぞれアブラムシ類、双翅目類に限定されていることで知られており、それに対し *E. delphacis* はトビイロウンカとセジロウンカに寄生する。このことも本菌と一致している。

今後は本菌がトビイロウンカの天敵として果している役割、感染条件などの解明が必要であると思われる。また *E. delphacis* は現在までのところ日本以外では発見されていないようなので、本当に日本独特のものか否か、また GUSTAFSSON の f グループの特徴をそなえた菌でウンカ・ヨコバイ類に寄生するのは現在までのところ本菌だけであるが、他の同グループ種にもウンカ・ヨコバイ類に寄生するものがあるか否かの調査も必要であろう。

摘 要

野外トビイロウンカの流行病から分離した *Entomophthora* sp. について、その形態と簡単な培養的性質とを調べた。

分生子梗は分岐または単条、細長い cystidia を持つ。分生孢子は長円形で $32.7 \times 14.8 \mu$ (寄主より)、または $30.2 \times 15.5 \mu$ (培地より)、大小の油球を含む。仮根および休眠孢子は発見できなかった。

本菌は SABOURAUD 寒天上では空中への菌糸の伸びや分生孢子的形成は良好ではなかったが、栄養を強化した培地では良かった。SABOURAUD 培地での最適培養条件は pH 6.3~6.7、温度 25°C であった。

本菌はその形態と寄主により従来研究が少なく類似種との区別が困難であった *E. delphacis* と思われた。

本菌と形態の類似する *E. aphidis* とは培地上での厚膜孢子等、および培養特性、また *E. dipterigena* とは培養特性により判別が可能であった。

引用文献

青木 清 (1957) 昆虫病理学。技報堂、東京、493pp.

- 江崎悌三・橋本土郎 (1936) 寄生菌に関する研究. 九州帝国大学農学部農林省委託浮塵子駆除予防試験報告 **7** : 24~25.
- 江崎悌三・橋本土郎・鮫島徳造 (1937) 寄生菌に関する研究. 九州帝国大学農学部農林省委託浮塵子駆除予防試験報告 **8** : 25~30.
- GUSTAFSSON, M. (1965a) On species of the genus *Entomophthora* FRES. in Sweden. I. Classification and distribution. Lantbrukshögsk. Ann. **31** : 103~212.
- GUSTAFSSON, M. (1965b) On species of the genus *Entomophthora* FRES. in Sweden. II. Cultivation and physiology. Lantbrukshögsk. Ann. **31** : 405~457.
- HALL, I. M. and J. V. BELL (1960) The effect of temperature on some entomophthoraceous fungi. J. Insect Path. **2** : 247~253.
- HALL, I. M. and J. V. BELL (1961) Further studies on the effect of temperature on the growth of some entomophthoraceous fungi. J. Insect Path. **3** : 289~296.
- 掘正太郎 (1906) 日本産冬虫夏草図説二. 昆虫学雑誌 (東京) **3** : 81~83.
- MACLEOD, D.M. (1963) Entomophthorales infections. In "Insect Pathology vol. 2" (E. A. STEINHAUS ed.), Academic Press, New York and London : 189~231.
- MACLEOD, D. M. and E. MÜLLER-KÖGLER (1970) Insect pathogens : Species originally described from their resting spores mostly as *Tarchium* species (Entomophthorales : Entomophthoraceae). Mycologia **62** : 33~66.
- MACLEOD, D. M. and E. MÜLLER-KÖGLER (1973) Entomogenous fungi : *Entomophthora* species with pear-shaped to almost spherical conidia (Entomophthorales : Entomophthoraceae). Mycologia **65** : 823~893.
- 根本 久 (1975) *Entomophthora* 属菌の分離培養法の改良. 昭和 50 年度応動昆大会講演要旨, 東京.
- 岡田忠虎 (1971) ウンカから分離した疫病菌, *Conidiobolus* sp. について. 九病虫研報 **17** : 107~110.
- 酒井久馬 (1932) 大分地方産浮塵子類の天敵と之が年内に於ける消長に就いて (予報). 応動 **4** : 124~127.
- SAWYER, W.H. (1931) Studies on the morphology and development of an insect-destroying fungus, *Entomophthora sphaerosperma*. Mycologia **23** : 411~432.
- THAXTER, R. (1888) The entomophthoraeae of the United States. Mem. Boston Soc. Nat. Hist. **4** : 133~201.