

**昆虫病原性糸状菌（緑きょう病菌）の発芽促進物質**

カイコ蛹抽出物中には緑きょう病菌 (*Nomuraea rileyi*) の発芽誘導期を短縮し、幅広い温度域で発芽率を高める効果がある物質が含まれる。この物質は液体培養による 96 穴マイクロプレート生物検定法を用いて効率的に評価することができる。

農業研究センター 農産園芸研究所 バイオ育種研究室 (担当者: 野田孝博)

**研究のねらい**

緑きょう病菌は、ハスモンヨトウやオオタバコガ等ヤガ科害虫の天敵微生物であり生物農薬としての実用化が期待されている。しかし、糸状菌の感染には長時間の高湿度・適温環境維持等が要求されることから、温湿度変化が激しい野外使用では効果が不安定になる傾向がある。そこで、より短時間に経皮感染を成立させることによって感染効率を向上させることを目的として緑きょう病菌の寄主の一つであるカイコから発芽促進物質の探索を行う。

**研究の成果**

1. カイコ蛹由来の発芽促進物質は、緑きょう病菌の発芽誘導期を半分以下に短縮し、短時間 (10 時間) では幅広い温度域において発芽率を高める効果がある (図 1、2、3)。
2. 液体培地では固形培地と比較し発芽対数期が短縮され分生子発芽の同調性が向上し (データ省略) 液体培養の際、96 穴マイクロプレートを用いることにより効率的に発芽促進効果を評価することができる (図 4)。
3. カイコ蛹から様々な精製工程を経て、メタノール抽出物と比較して 45,000 倍以上に活性が向上する (表 1)。

**普及上の留意点**

1. これらの内容については、東海大学と共同特許出願済み
2. 本物質によりヤガ科害虫への緑きょう病菌感染率向上が期待できる。

【具体的データ】

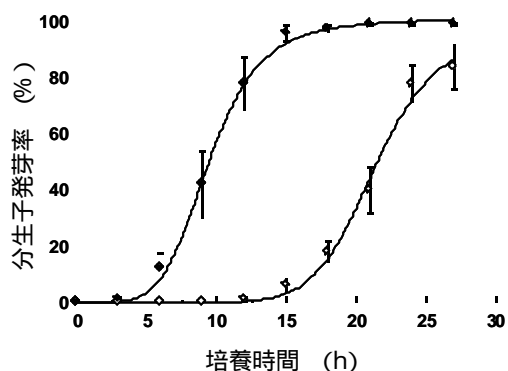


図 1 . カイコ蛹抽出物の *N.rileyi* 分生子に対する発芽促進効果

分生子はカイコ蛹抽出物添加培地( - ) と無添加培地( - )で 23 で培養. 半数発芽時間は蛹抽出添加培地で 9.5 時間. 無添加培地で 21.4 時間. エラーバーは mean±SE.

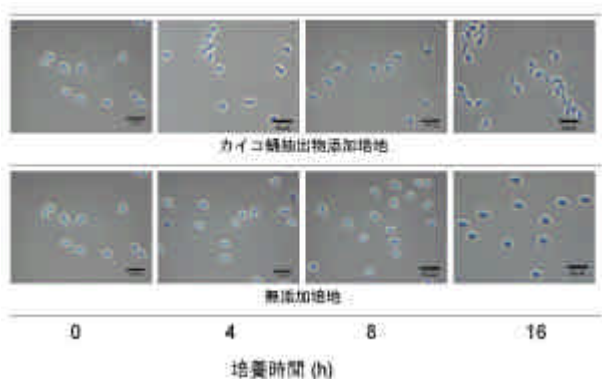


図 3 . カイコ蛹抽出物の *N. rileyi* 分生子に対する発芽促進効果 条件は図 1 と同じ

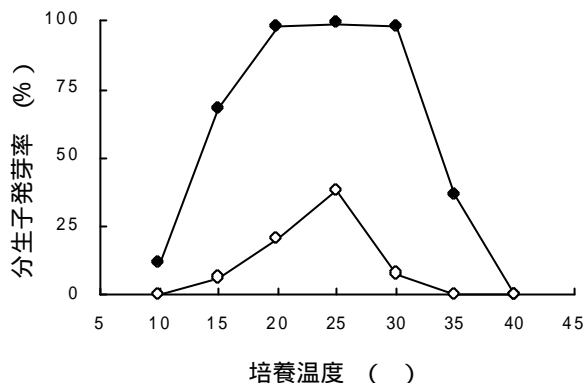


図 2 . *N.rileyi* 分生子発芽の温度による影響

分生子はカイコ蛹抽出物添加培地( - ) と無添加培地( - )で培養.10 時間後の発芽率.

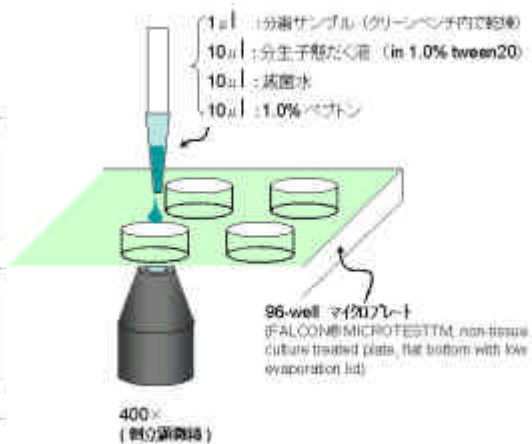


図 4 . 96 穴マイクロプレートを用いた *N. rileyi* 分生子発芽促進効果の生物検定法

表 1 . カイコ蛹から発芽促進物質の精製行程

精製工程	重量 (mg)	活性 EC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (mg/ml)	比活性
抽出 (蛹 1.0 kg/5000ml メタノール)			
1000ml (上清)	21,200	7.4 x 10 <sup>-4</sup>	1
メタノリシス		5.0 x 10 <sup>-6</sup>	148
液 - 液分配 (石油エーテル - メタノール)	11,440	2.7 x 10 <sup>-6</sup>	278
液 - 液分配 (水 - n-ブタノール)	6,020	1.4 x 10 <sup>-6</sup>	526
順相カラムクロマトグラフィー	384.0	1.9 x 10 <sup>-7</sup>	3810
逆相カラムクロマトグラフィー	50.7	3.1 x 10 <sup>-8</sup>	23810
Sephadex LH20カラムクロマトグラフィー	12.4	1.6 x 10 <sup>-8</sup>	46641

a : 量反応データから EC50 値 (the effective concentration for 50% germination; 50%の発芽率を得るための有効濃度) を算出