

スリランカにおける植物検疫上重要なミバエ類の大量飼育

川下 貴*・S. A. H. SUNDARAPPERUMA**・鶴田 賢治***

*横浜植物防疫所業務部

**スリランカ農業局植物検疫所昆虫部

***横浜植物防疫所調査研究部

Mass Rearing of Fruit Flies Associated with Plant Quarantine in Sri Lanka. Takashi KAWASHITA (Inspection & Operation Division, Yokohama Plant Protection Station), S. A. H. Sundarapperuma (Entomology Section, National Plant Quarantine Service, Sri Lanka) and Kenji Tsuruta (Research Division, Yokohama Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 39: 41-47 (2003).

Abstract: Four dactyni fruit flies, *Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae*, *B. (B.) dorsalis*, *B. (B.) kandiensis*, *B. (Z.) tau* were mass-reared for the first time in Sri Lanka, using existing mass rearing techniques. All four species had been reared for two years during which they had propagated over 60 times. The starting time of hatching differed with these species; that is, the members of the *Zeugodacus* subgeneric group (*B. cucurbitae*, *B. tau*) hatched slightly earlier than the members of the *Bactrocera* subgeneric group (*B. dorsalis*, *B. kandiensis*). Moreover, *B. tau* hatched slightly earlier than *B. cucurbitae* and *B. kandiensis* hatched earlier than *B. dorsalis*. The first starting time was 34 hours in *B. kandiensis*, and 38 hours in *B. dorsalis*. The yield of adults from the 1st instar in *B. kandiensis*, which did not differ much from that in the other species, was 43.6% and the hatchability was 49.3%. The yield of adult from eggs declined to 17.9%. The optimum rearing density of adults in each species seemed to be 1,600-1,800 adults per cage (30 cm×30 cm×45 cm).

Key words: mass-rearing, fruit fly, *Bactrocera*, Sri Lanka, *Bactrocera kandiensis*

緒 言

1994年7月に開始された国際協力事業団（JICA）によるスリランカ国立植物検疫所計画プロジェクトにおいて植物検疫技術の移転が行われた。プロジェクト後半の1997年からは蒸熱処理による処理基準設定試験のための供試虫を得る目的で、スリランカに分布し、栽培植物を寄主とするミバエ4種（*B. kandiensis*, ミカンコミバエ *B. dorsalis*, ウリミバエ *B. cucurbitae*, セグロウリミバエ *B. tau*）を試験対象種として選定し、既存の人工飼料による大量飼育を開始した。スリランカにおいてこれらのミバエ類の大量飼育は初めての試みである。特に、*B. kandiensis* はスリランカにおいてはミカンコミバエと寄主植物の範囲や寄生率がほぼ等しい重要なミバエであるが、スリランカ固有種であるため、本種についての分類、生理、生態に関する情報が少ない。大量飼育を確立する過程で、各種の卵量による卵数の推定、発育期間、飼育密度が死亡率及び産卵数に及ぼす影響等について基礎データが得られたため、これら4種の生育特性の比較を行った結果、生育特性においても各種間で差異が認められたの

で報告する。これらのデータは今後、各種の飼育管理を行う上での有用な情報を提供する。

本調査に当たり、ご支援いただいたスリランカ農業局の Dr. M. H. J. P. Fernando 元農業総局長、現種子証明植物防疫センターの Dr. S. L. Weerasena 所長、国立植物検疫所（NPQS）の Dr. S. M. C. Subasinghe 所長、JICA スリランカ事務所の方々、カウンターパートの Mr. S. A. H. Sundarapperuma のミバエ飼育研修をお世話いただいた横浜植物防疫所の諸氏に感謝を申し上げる。

材料及び方法

1. 供試虫

供試されたミバエ類の来歴は以下のとおりでスリランカ国内の各地から採集された。

B. kandiensis（旧系統）：1995年3月29～30日に Katunayake（カツナヤケ）近辺の Mutuwadiya で採取したジャックフルーツ生果実から羽化し、その後3世代をマンゴウ生果実で飼育したもの。

B. kandiensis（新系統）：1999年1月4日に Gam-paha（ガンパハ）県 Walpita（フルピタ）政府農場で

採取したジャックフルーツ生果実から羽化したもの。

ミカンコミバエ: 1995年3月30日にNegombo(ネゴンボ)周辺のAndiambalama及びKaturayake周辺のMutuwadiyaで採取したマンゴウ生果実から羽化し、その後2世代をマンゴウ生果実で飼育したもの。

ウリミバエ: 1995年4月12日にPuttalam(プットラム)周辺のTabbowaで採取したヘビウリ生果実、4月18日にNegombo周辺のDankotuwaで採取したヘチマ生果実及び4月20日にDumbulla(ダンプラ)周辺のPalweheraで採取したヘチマ生果実から羽化し、その後1世代をニガウリ生果実で飼育したもの。

セグロウリミバエ: 1995年4月12日にKegalla(ケガアラ)周辺のKotiakumburaで採取したHondala(*Adenia palmata*)生果実から羽化し、その後2世代をニガウリ生果実で飼育したもの。

2. 人工飼料及び採卵用果汁の作成

4種ミバエは、Kakinohana(1996)を参考にして次の人工飼料で飼育され、採卵には*B. kandiensis*及びミカンコミバエ用にはマンゴウ果汁、ウリミバエ及びセグロウリミバエ用にはカボチャ果汁を使用した。

成虫飼料には蛋白加水分解物AY-65(アサヒビール(株)製)1に対し砂糖4の割合で混合したものを使用した。幼虫飼料には培地1/l当たり、乾燥酵母35g、砂糖35g、チリ紙25g、水650cc、*p*-ヒドロキシ安息香酸メチル0.75g、安息香酸ナトリウム0.75gをブレンダーで細かく液状になるまで粉碎し、幼虫飼育用プラスチックケースに小麦フスマ175gを加えてかき混ぜ、濃塩酸1cc又は希塩酸(3.5%)20ccを用いてpH4.5~4.9に調整したものを使用した。

3. 大量飼育方法

大量飼育は4種とも同じ条件で行われた。飼育室内の条件は温度 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度70~85%RH、光条件は12L12D、暗期の1~2時間は自然光の薄暮とした。

成虫は30cm×30cm×45cmのケージ内に約1,500~2,000頭の密度になるように2,000~2,500蛹が置かれ、前記成虫用人工飼料で飼育された。給水用のコンテナは直径7cm高さ8cmのスチロールカップに紙タオルで水分を吸い上げさせたものを用いた。成虫飼料・水は週に1~2回新しいものと交換した。

採卵は、羽化後、約2週間後から約10ccの果汁の入った採卵器(高さ13cm直径7cmのふた付きのブ

ラスチックカップ筒に0.4mmの穴を2cm間隔で約72個開けたもの)を成虫飼育ケージに入れ採卵した。採卵の時間は通常4時間、蒸熱処理試験用には1~2時間とした。

卵は、メスシリンダーで卵量を計測し幼虫培地1/l当たり卵量2mlをピペットを用い接種した。幼虫用飼料は3令時の酸欠を防ぐため、ふたに金網の張られたプラスチックケース(縦23cm×横30cm×高さ10cm)に収め、表面をならし、ティシュペーパーが敷かれた。

接種してから7~9日後、培地から飛び出す3令幼虫を集めるため、水の張られたプラスチック製の大型コンテナ(縦60cm×横40cm×高さ32cm)の中に培地を置き、外部に幼虫が逃げないようにアクリル製のカバーをかけた。飛び出しを促すために培地の下に氷又は冷凍剤を置いた。半日後、金網のすくい水中から幼虫を集め、あらかじめ乾熱滅菌(180°C2時間)され、水で湿めらせた砂が敷かれたプラスチックケース(縦23cm×横30cm×高さ10cm、ふたに金網の張られたもの)に幼虫を移し蛹化させた。幼虫の飛び出しが少ない場合は、翌日まで飼育し再度同様の処置をした。

飛び出しの1~3日後には、ほとんどの幼虫が蛹になるので、4~7日後、蛹を砂から100メッシュのふるいでふるい分け、蛹を500個ごとに電子天秤で5回計測し平均値を求め、残りは重量測定により5回測り取り、約2,500個(推定)と見なした。約2,500個の蛹は小型容器に入れられ砂を被せて成虫飼育ケージに置かれた。500個未満の蛹は重量から推定数を出し同様に設置した。この方法でケージ当たりの成虫飼育数を2,000頭前後にした。

4. 生育調査

卵、幼虫、蛹の各ステージごとに大量飼育に必要な以下のデータを調査した。各調査は大量飼育と同じ飼育環境、人工飼料で行った。

1) 4種ミバエの卵数推定

飼育容器当たりの飼育虫数を調節するために卵量1ml当たりの卵数を調査した。

卵量1ml当たりの卵数は、採卵器で採取された卵をメスシリンダー(5ml)で正確に1ml量り取り、1lの水に希釈し、攪拌しながら素早くピペットで3mlを直径5.5cmの小型シャーレ20枚に計20回60ml採り、卵数を計測後、次の式で1ml当たりの推定卵数を求め、さらに同様の方法で卵量と卵数の相関関係を調査した。

・1 ml 当たりの卵数 (推定数) = (摂取した 60 ml 中の卵数 ÷ 60) × 1,000

2) 4 種ミバエの発育期間

4 種ミバエのふ化開始時間及び卵、幼虫及び蛹の発育に要する期間をそれぞれ調査した。

ふ化開始時間の計測は 2 時間の採卵時間で採取した卵を用い、シャーレ (直径 9 cm) に水を十分に含ませた黒色ろ紙を敷き、黒色ろ紙上にミバエ卵を 1 シャーレ当たり 100 卵置き、原則として 2 時間ごとにふ化幼虫数を計測した。計測は採卵器設置後 24 時間目から 50 時間後まで行った。

卵期間は、VARGAS *et al.* (1996) を参考にふ化開始時間の平均値を日数に換算して求めた。幼虫及び蛹の期間は大量飼育時のデータから集計して求めた。幼虫期間は卵を幼虫培地に接種し、3 齢幼虫が培地から飛び出すまでの日数から平均卵期間を差し引いて計算した。蛹期間は飛び出した 3 齢幼虫を蛹化用の砂に移した翌日から成虫が羽化するまでの日数とした。幼虫及び蛹の期間の調査は 69~77 世代行った。

3) 4 種ミバエの各態における歩留まり

4 種ミバエにおける、卵量 2 ml 当たりの蛹化虫数、羽化虫数を計測し、蛹・成虫における生育歩留りを求め、各種間の比較を行った。

ふ化率はふ化開始時間の調査と同様な方法で、採卵器設置後、48 時間目のふ化数をカウントして算出した。1998 年 4 月から恒常的に通常の繁殖時にも 200 卵のふ化数をカウントして算出した。蛹化率の歩留まりは蛹化から 4~7 日後、蛹を砂からふるい分け蛹数 (健全・死亡) 及び幼虫数 (健全・死亡) をカウントして算出した。また、羽化 7~10 日後、砂をふるい分け、蛹殻・羽化不全成虫・死亡蛹を計測し羽化率の歩留まりを算出した。

4) 4 種ミバエの異なる飼育密度における死亡率及び産卵数

成虫の飼育密度について、蛹 2,500 個 (羽化成虫数約 2,000~2,200 頭) の区と蛹 2,000 個 (羽化成虫数約 1,600~1,800 頭) の区とで、羽化後 2 週間目から

毎週一回、産卵数、死亡成虫数、ふ化率を計測した。

ふ化率は毎回 200 卵を調べ、産卵数は 4 時間の採卵における卵量 (ml) から卵数を推定して求めた。

結果及び考察

1. 大量飼育

B. kandiensis を含めミバエ 4 種について、1997 年 3 月から 1999 年 5 月まで約 70 回繁殖することができた。また、毎週 10 ケージから採卵して卵 2 万卵、1 令・2 令各 1 万頭を処理試験に供給することができるようになった。ふ化率は、当初、セグロウリミバエのふ化率が 80% 前後あるのを除き、他の 3 種のふ化率は低かったが、1998 年 2 月から新しい AY-65 (成虫用飼料) に換えてからふ化率が上昇した。*B. kandiensis* は旧系統はふ化率が 50% 前後とやや低かったが、1999 年 1 月から新しい系統を導入してから、ふ化率が 54~74% に高くなった。旧系統のふ化率が低い理由として、飼育当初の個体数が少なかったため遺伝的に偏りがあった可能性が考えられる。

2. 生育調査

1) 4 種ミバエの卵数の推定

卵量の測定では、計測した結果、Table 1 のようになり 1 ml 当たりの卵数は、*B. kandiensis* は約 1,500 個で、ミカンコミバエの約 14,000 個より若干多い傾向があった。ウリミバエで約 8,000~10,000 個、セグロウリミバエで 7,000~9,000 個となった。ウリミバエに関しては沖縄県で行われた試験結果と類似していた (NAKAMORI & KAKINOHANA, 1980)。

卵量 (x) と卵数 (推定値) (y) とは正の相関があり、4 種それぞれの回帰直線 (*B. kandiensis*: $y = 14766x - 113.49$, ミカンコミバエ *B. dorsalis*: $y = 12754x + 416.67$, ウリミバエ *B. cucurbitae*: $y = 9057.8x + 87.303$, セグロウリミバエ *B. tau*: $y = 6769.7x + 140.08$) が得られた。この回帰直線式で卵量から推定卵数を計算でき、大量人工飼育で接種卵数を調整することができた。

Table 1. The estimated numbers of eggs per 1 ml in four *Bactrocera* species of fruit flies.

Species	No. of tested	No. of eggs in 3 ml by pipet (range)*	Estimated No. of eggs of 1 ml ± S.D. (range)*
<i>B. kandiensis</i>	6	44.5 (26-60)	14,847 ± 1,215 (13,583-16,600)
<i>B. dorsalis</i>	9	41.6 (24-59)	13,886 ± 1,339 (11,950-15,783)
<i>B. cucurbitae</i>	5	28.8 (15-47)	9,623 ± 803 (8,533-10,733)
<i>B. tau</i>	5	22.8 (14-37)	7,609 ± 849 (6,283- 8,550)

* Indicated as (min-max).

2) 4種ミバエの発育期間

ふ化開始時間は、Fig. 1 のとおり、セグロウリミバエでは26時間目から、ウリミバエは28時間目からふ化が始まった。*B. kandiensis* のふ化は34時間目に400卵中1卵がふ化し、35時間目から本格的に始まり、ミカンコミバエの38時間目より3~4時間早くふ化が始まること明らかとなった。

B. kandiensis は、ミカンコミバエ種群で各腿節に黒班を持つのが形態上の特徴で、ミカンコミバエとの識別に有効であったが、ふ化開始時間のような生理的な特性も異なっていることが示唆された。

約70回の繁殖を集計した卵期・幼虫期・蛹期の結

果は、Table 2 のとおり、*B. kandiensis* は、ミカンコミバエに比べ卵期・蛹期で生育が早い傾向にあった。各種とも幼虫期は5.6~5.8日前後、蛹期は9日前後、計16日前後で卵から成虫になった。

幼虫の各令期の観察では、セグロウリミバエはふ化が早いので、採卵後1日目で1令になり、2日目に2令、3日目には3令になった。続いて、ウリミバエがやや遅れて同様に発育し、*B. kandiensis* は、ミカンコミバエと同じく2日目で1令、3日目で2令、4日目に3令に達した。

産卵前期間は各種とも羽化後9~14日で、14日目には、確実に採卵可能であった。ただし、セグロウリ

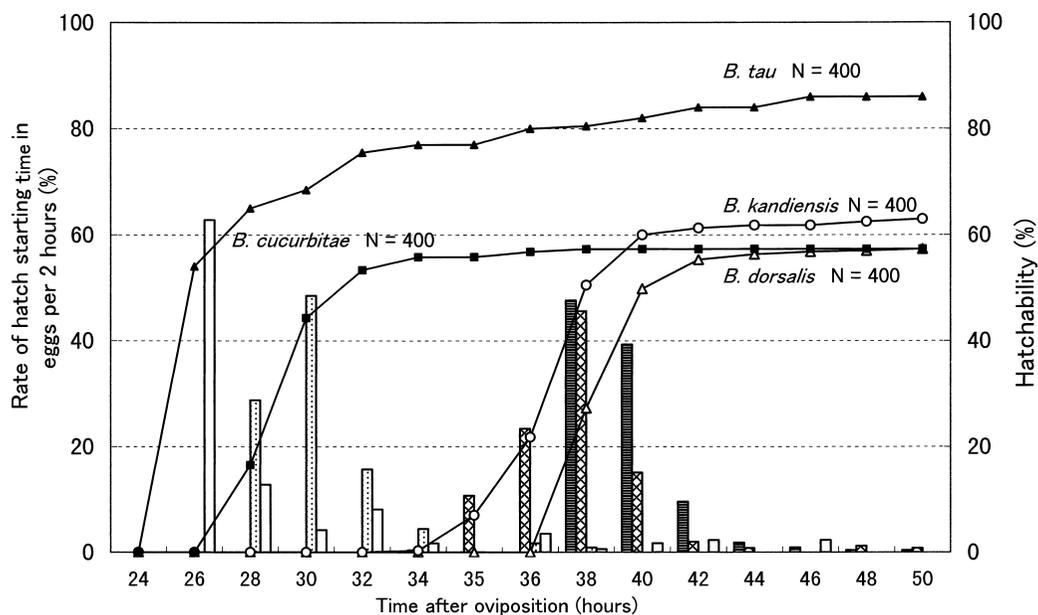


Fig. 1. Comparison of hatch starting time and hatchability in each *Bactrocera* species of fruit flies (24±1°C RH: 70-80%)

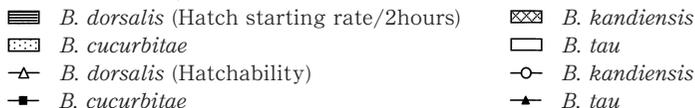


Table 2. Difference of development period in each stage of four *Bactrocera* species of fruit flies.

Species	Total No. of generations	Egg period ±S.D. (Days)	Larval period ±S.D. (Days)	Pupal period ±S.D. (Days)	Total developing period to adults ±S.D. (Days)
<i>B. kandiensis</i>	69	1.57±0.09	5.63±0.75	9.48±0.69	16.69±0.76
<i>B. dorsalis</i>	74	1.64±0.07	5.66±0.79	9.60±0.65	16.91±0.91
<i>B. cucurbitae</i>	77	1.25±0.07	5.88±0.68	9.28±0.65	16.40±0.86
<i>B. tau</i>	69	1.18±0.19	5.87±0.88	9.20±0.55	16.26±0.95

* Rearing condition 24±1°C RH: 70-80%

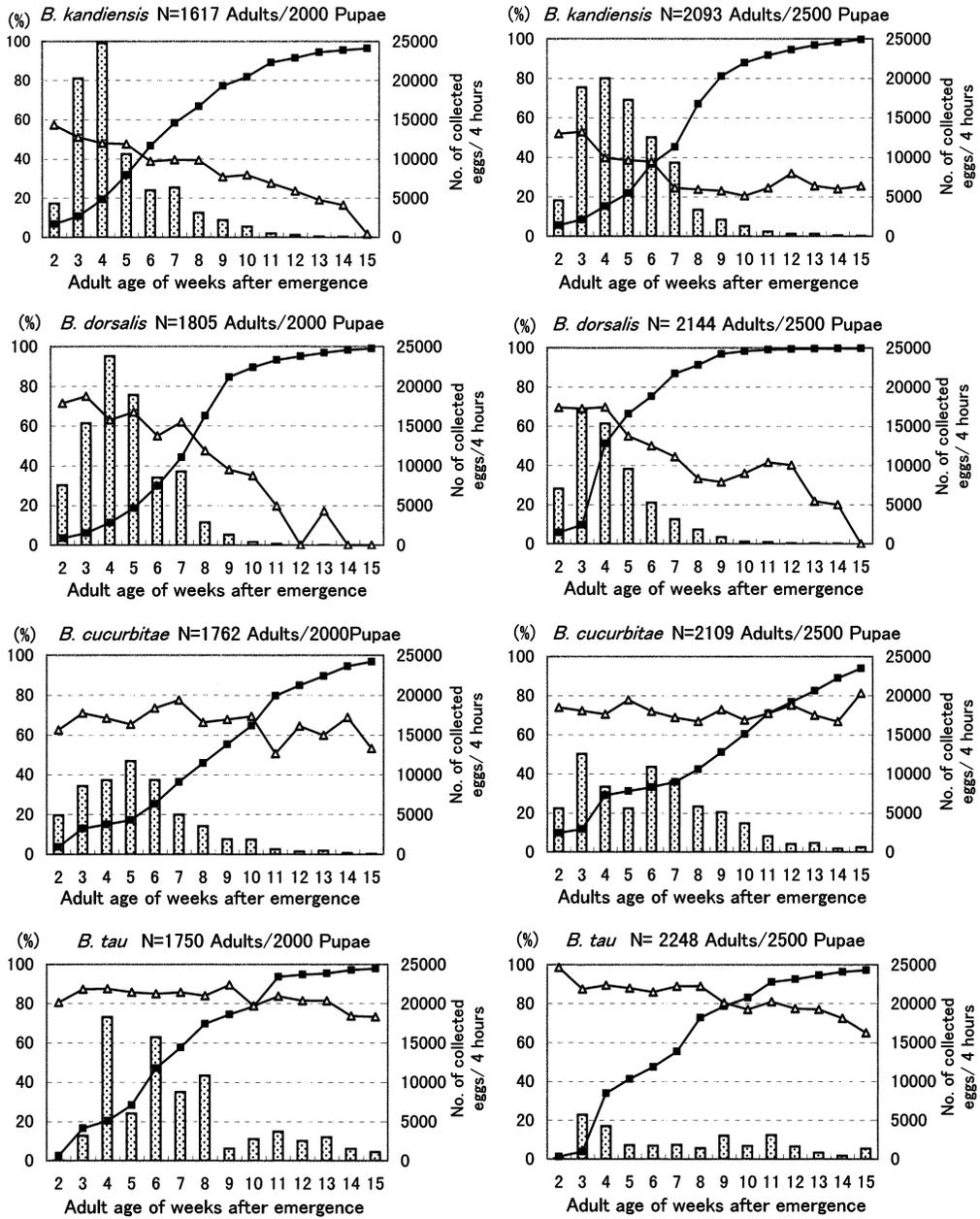


Fig. 2. Relationship between motarility and oviposition in four *Bactrocera* species of fruit flies under different rearing density of adult ($24 \pm 1^\circ\text{C}$ RH: 70–80%)

- ▨ No. of collected eggs
- Motarility of adults
- △ Hatchability

Table 3. Yield of pupae and adults in four *Bactrocera* species of fruit flies.

Species of fruit flies	No. of tested colonies	No. of eggs in 2 ml (A)*	Hatchability (%) (B)	Hatched larvae (C)=(A)×(B)	No. of obtained pupae (D)	No. of obtained adults (E)	Emergence rate (%) (E)÷(D)	Yield of adults from larvae (%) (E)÷(C)	Yield of adults from eggs (%) (E)÷(A)
<i>B. kandiensis</i>	N=14	29,418	49.3	14,503	6,330	5,257	83.0	43.6	17.9
<i>B. dorsalis</i>	N=15	25,924	60.3	15,632	7,209	6,388	88.6	40.9	24.6
<i>B. cucurbitae</i>	N=15	18,202	67.8	12,341	5,964	5,368	90.0	43.5	29.5
<i>B. tau</i>	N=15	13,679	85.9	11,750	7,375	6,679	90.6	56.8	48.8

* Calculated by the formula in a regression line was obtained by the statistic processing in each species.

ミバエは羽化後3週目に入らないと十分な産卵量が得られなかったり、ふ化率がやや低くなる傾向があった (Fig. 2 参照)。

3) 4種ミバエの歩留まり

卵量 2 ml 当たりの生育歩留りを蛹・成虫について求めた結果は Table 3 のとおり、セグロウリミバエは良好な生育で、卵から成虫までで 48.8% の歩留りがあった。*B. kandiensis* は卵から成虫までの歩留りが 17.9% と低かったが、ふ化 1 令幼虫から成虫までで 43.6% の歩留りがあり、他の 3 種と幼虫期の生育では大きな差はなく、ふ化率が 49.3% と他の 3 種と比べて低かった。羽化率は 4 種とも約 80~90% と良好であった。

4) 4種ミバエの異なる飼育密度における死亡率及び産卵数

成虫の飼育密度は、Fig. 2 で示したようにケージ当りの飼育虫数が、約 2,000~2,200 頭の区では、1,600~1,800 頭の区と比べて *B. kandiensis* 以外の 3 種で羽化後 4 週目で成虫死亡率が急に高くなった。セグロウリミバエでは高い飼育密度において、4 時間以内の採卵数が減少した。また、飼育密度と関係なく、採卵数は成虫死亡率が増加するにつれて各種とも減少した。*B. kandiensis* とミカンコミバエでは採卵数が減少するとふ化率が低下する傾向が著しいのに対して、ウリミバエとセグロウリミバエはそのような傾向が見られなかった。

以上の結果から、成虫の飼育密度は、1998 年 12 月 16 日に採卵し生育した世代 (G) [*B. kandiensis* 59G, ミカンコミバエ 64G, ウリミバエ 67G, セグロウリミバエ 59G] から約 2,000 個の蛹を入れ羽化する成虫約 1,600~1,800 頭の密度で飼育するように切り替えた。

1999 年 1 月 21 日からそれらの群で採卵したが、産卵効率を見る限り 4 時間以内の採卵では、以前と大

きな差はなくむしろ採卵量は増加した。これは飼育密度を減らしたため、早期の死亡成虫数が減少したことによると思われる。

摘 要

国際協力事業団 (JICA) によるスリランカ国立植物検疫計画において、果実の蒸熱処理に供試虫を供給するため、スリランカ固有種 *B. kandiensis* とともに、ミカンコミバエ、ウリミバエ、セグロウリミバエの人工飼料による大量飼育が 1997 年 3 月から行われ、2 年間で 60 回以上繁殖することができた。

孵化開始時間は各種で異なり、亜属レベルでは、*Zeugodacus* 亜属の 2 種が *Bactrocera* 亜属の 2 種より早く孵化が見られた。種レベルでは特に *B. kandiensis* では産卵後 34 時間目から、ミカンコミバエでは 38 時間目より孵化が始まり、*B. kandiensis* は *B. dorsalis* とふ化開始時期のような生育特性においても異なることが判明した。

生育に関しては、*B. kandiensis* の 1 令幼虫から成虫までの歩留りが 43.6% であり、他の 3 種と較べ生育に問題がなく、ふ化率が平均で 49.3% と低いことが、卵から成虫までの歩留りを 17.9% と下げていることに関わっていることが分かった。卵量 (ml) と推定卵数との間には、各種とも正の相関関係があった。

成虫の飼育密度については、各種とも 1 ケージ (30 cm×30 cm×45 cm) 当り 2,500 個の蛹から羽化した約 2,000~2,200 頭で飼育した場合と比べて、2,000 個の蛹から羽化した成虫 1,600~1,800 頭で飼育した方が適正であった。

参 考 文 献

- BARNES, B. N. (1979) Alternative larval media for mass-rearing the Natal and Mediterranean fruit-flies. *J. Entomol. Soc. Southern Afr.* 42: 55-56.
DREW, R. A. I. and D. L. HANCOCK (1994) The *Bactro-*

- cera dorsalis* complex of fruit flies (Diptera: Tephritidae:Dacinae) in Asia. *Bull. Entomol. Res.* **84**: 2 (Sup.), 68 pp.
- KAKINOHANA, H. (1996) Studies on the mass production of the Melon flies, *Bactrocera cucurbitae* Coquillett. *Bull. Okinawa Agri. Exper. Stn.* No. 16, 101 pp.
- LIEDO, P. & J. R. CAREY (1994) Mass rearing of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae) fruit flies: a demographic analysis. *J. Econ. Entomol.* **87**: 176-180.
- NAKAMORI, H. & H. KAKINOHANA (1980) Mass-production of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae* Coquillett, in Okinawa, Japan. *Rev. Plant Protec. Res.* **13**: 37-53.
- TSURUTA, K. (1997) A preliminary note on the host-plants of fruit flies of the tribe *Dacini* (Diptera, Tephritidae) in Sri Lanka. *Esakia* No. 37, 149-160.
- TSURUTA, K. (1998) Pictorial key to dacine fruit flies associated with economic plants in Sri Lanka. *Res. Bull. Pl. Prot. Ser. Japan.* No. 34, 23-35.
- VARGAS, *et al.* (1996) Survival and development of immature stages of four Hawaiian fruit flies (Diptera: Tephritidae) reared at five constant temperatures. *Ann. Ent. Soc. Amer.* **89**: 64-69.