植物防疫基礎構座
農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル(2)

# 農業害虫：薬剤感受性検定法の基礎

農林水産省農業環境技術研究所　浜（はま）　弘司（ひろし）

農業害虫等における，薬剤抵抗性発達や薬剤感受性変動等の調査を目的とした生物検定法には，害虫の種類や検定の目的に応じた様々な手法が考案されている。本基礎講座では，室内で生物個体を用いた生物検定法を中心に解説するが，本論では生物検定を実施する際の一般的な留意事項について解説する。

## I　検定法の選択

薬剤感受性の検定の目的は様々であり，目的に最適な手法を選択することが大事である。薬剤抵抗性に関する生物検定の目的には表-1に示す項目が挙げられる。

抵抗性の早期発見を目的とする場合には，抵抗性を示す個体の割合は低率であることから，供試個体を大量に供試することが必要で，かつ検出される少数の個体が抵抗性であると確実に判定できる精度の高い検定法でなければならない。こうした目的には，遺伝子レベルの検定法が理想的である。

それ以外の目的の場合には，最初に簡便な検定法によりおおよその傾向を把握し，その特徴を知ったうえで，さらに精度の高い検討法で実施する二段構えが望ましい。例えば，抵抗性の広域における分布状況や長期にわたる抵抗性のモニタリング調査には，薬剤感受性系統の個体が十分に死亡する1，2薬量（判別薬量）を選び十分な個体数を供試して検定し，死亡率の変化を調べるとよい。また，薬剤抵抗性個体群に対する代替剤を選定する場合には，各薬剤の製剤を用い実用濃度で検定し，実用的な効果が認められた薬剤について薬量と死亡率の関係を検討する。

## II　検定法の精度と簡易性

検定法の精度と簡易性は一般的には相反し，精度を上げると手法が煩雑で面倒になり，簡易性を高めれば精度が低下する傾向がある。この問題は検定の目的とも関連するが，最初の段階ではおおよその傾向を知るために簡易検定法を実施し，詳しい検討が必要な場合には精度の高い検定法を実施する。

野外では抵抗性が顕在化している地域においても，抵抗性レベルの異なる個体が感受性個体とともに混在するのが普通である。その混在率は野外で均一であるとは限らない。そのため，供試虫の採集（サンプリング）場所および採集頭数をどの程度確保するのかは簡単には決められない。すなわち，採集した個体群がその地域の母集団の薬剤感受性という質を代表するに足るかどうかが問題となる。当該個体群の生物的，生態的特性を考慮してサンプリング法や採集頭数を決める必要がある。

試験に必要な個体数が十分に確保できない場合や，様々な特性を調べるため大量の個体を必要とする場合には室内で増殖して供試する。飼育増殖中に個体群の薬剤感受性の質が変わらないことが望まれる。抵抗性に関する表現型間で増殖率に差がある場合あるいは遺伝子のびん首効果が生じ，ある特定の表現型が優占する可能性も考慮する必要がある。特に，飼育条件などにより個体数が極端に減少した場合には，その後増殖した個体群の質には注意が必要である。

供試する発育段階（卵，幼虫，成虫），雄雌の選定は，検定の目的，薬剤の作用特性，検定手法により定められるが，一定のステージの個体でも薬剤感受性は日齢，体重，翅型（有翅・無翅の別），生理的状態（休眠・非休眠，餌の質，飼育条件など）により異なる場合があるので，それらの性質をそろえるとともに，それらが薬剤感受性に及ぼす影響をあらかじめ把握しておくことが望ましい。

供試個体数，反復回数（繰り返し）は，検定結果の処理，判断にも影響する大切な問題である。試験研究の目

表-1　薬剤抵抗性に関する生物検定の目的

① 抵抗性発達の早期発見
② 抵抗性のモニタリング(経時的変動)
③ 抵抗性のモニタリング(地域的変動，抵抗性の分布)
④ 交差抵抗性関係の解明，代替剤(有効薬剤)の選定
⑤ 抵抗性の特性解明(抵抗性の発達，抵抗性の安定性，協力効果など)

Methods for the Measurement of Susceptibility of Agricultural Insect Pests to Insecticides. General Principles.
By Hiroshi HAMA

表－2　薬剤感受性検定にあたって考慮する事項

① 検定の目的：(表-1 参照)
　検定の精度
　手法の難易
② 供試個体群：
　供試虫の採集(サンプリング)，採集場所と頭数(母集団)
　野外個体群の室内継代飼育(びん首効果)，飼育条件
　供試する発育段階(卵，幼虫，成虫)
　供試個体(体重，日齢など)
　供試個体数，反復回数
　標準系統(薬剤感受性系統)の確保
③ 薬剤の特性：
　純品(原体)，製剤の別
　直接的な殺虫効果
　　接触毒(経皮毒)，食毒(経口毒)，浸透移行性
　　速効的，遅効的
　その他の生理的影響(産卵数，ふ化率，摂食忌避，接触忌避など)
④ 検定法：
　局所施用法
　ドライフィルム法
　浸漬法(虫体，餌(葉片)，両者)
　散布法(虫体，餌(葉片)，両者)
　餌混入法
　浸根法
⑤ 検定結果の評価：
　対照区の死亡率，死亡率の補正
　判別薬量における死亡率，$LD_{50}$ あるいは $LC_{50}$，抵抗性比

的に見合ったデータを取る必要がある。例えば，いろいろな濃度に希釈した薬量について不十分な供試虫数で検定し，得られたデータから算出した $LD_{50}$ の値の信頼性は低い。むしろ，限られた薬剤濃度で十分な個体数を供試して得られた死亡率のほうが有効な場合もある。

当該個体群が抵抗性発達であるかどうか判断するには標準系統（薬剤感受性系統）のデータが不可欠となる。イエバエ等の衛生害虫では，国際的に標準系統が維持確保され入手可能な場合もあるが，農業害虫ではそうした標準系統はない。長年室内で薬剤に接触させずに飼育している感受性の高い系統を標準系統として用いる。そうした系統を入手できない場合には，野外で薬剤による淘汰をあまり受けていない個体群を採集し感受性系統とすることが多い。

検定法が統一されている場合には，既に報告されている感受性個体群の基礎データとの比較から，抵抗性に関する情報を得ることができる。こうした点から検定法の標準化が望まれる。

## Ⅲ　農薬の種類と検定法

従来の速効的な殺虫剤に加えて，昆虫固有の脱皮・変態過程に影響を与える遅効的な昆虫成長制御剤など新しいタイプの殺虫剤の開発が進んでいる現在，各薬剤の特性を考慮した適切な検定法を確立する必要がある。また，殺虫活性以外に産卵数，ふ化率，摂食忌避，接触忌避等の生理・生態的な影響についても，適宜評価する手法を確立する必要がある。

殺虫活性には，薬剤の取り込まれる経路により経皮的活性（接触毒），経口的活性（食毒），浸透移行性による活性に分けられる。さらに，殺虫活性の発現速度の違いにより速効的，遅効的薬剤に大別される。

処理個体の生死の判定は，成虫のノックダウンのように生死が明確なものもあるが，生死の判定が難しいものも少なくない。中毒症状を示す個体が多く正常な個体との区別が明確でない場合には，生死の判定時間を延ばし正常，中毒・死亡が明確になった時点で判定することが望ましい。すなわち，薬剤の中毒から死亡の過程を経時的に観察し，その結果に基づき妥当な生死の判定基準および調査時間を設定する。通常中毒している個体は死亡個体として取り扱う。

また，ネライストキシン系薬剤，BT 剤等の処理により，致死には至らなくても摂食活動が抑制あるいは停止し，見掛け上は正常な個体と区別がつき難いものの，体重が対照区の虫と比較して軽い場合がある。こうした個体を正常と判定するか否かは難しいが，少なくとも正常な個体とはいえない。要は，処理個体の状況をよく観察し，その影響に応じて適切な判断基準を定める。

供試する薬剤は，検定法により純品（あるいは原体），製剤を使用する。所定の濃度の薬剤溶液を調製する場合，(薬剤の重量 g)/(溶液の容積 m$l$) とし，必要濃度への希釈は，(元の溶液の容積 m$l$)/(溶媒の容積 m$l$) で希釈する。

接触毒の薬剤の標準的な検定法は局所施用法である。すなわち，薬剤の純品を有機溶媒で希釈し，一定量をミクロアプリケーターを用い虫体に滴下する。その簡便法であるドライフィルム法は，試験管，シャーレなどのガラス容器内面に薬剤の薄膜を作り，その容器に供試虫を入れ薬剤の薄膜と接触させる。浸漬法は虫体，餌(葉片)あるいは両者を薬剤の希釈液に浸漬し，餌（葉片）浸漬の場合は風乾後に供試虫を放飼する。散布法は，虫体，餌(葉片)あるいは両者に薬剤の希釈液を噴霧し，餌(葉片）噴霧の場合は処理後に供試虫を放飼する。虫体浸漬あるいは散布の場合には薬剤の接触毒性が，餌（葉片）浸漬あるいは散布の場合には薬剤の経口毒性（食毒）と接触毒性が，また両者の浸漬あるいは散布の場合には，接触毒および食毒の両毒性がそれぞれ評価される。

餌（葉片）浸漬法の変法に，餌の中に薬剤を混入させて摂取させる方法や，浸透移行性の薬剤では，その希釈液に植物の根部を浸漬し茎葉部へ供試虫を接種する方法などがある。

## Ⅳ　検定結果の処理方法と解釈

簡便な検定法では，薬剤の実用濃度や薬剤感受性個体が100%致死する判別薬量で処理し，供試虫の死亡率を算出する。通常は各段階に希釈した薬液で処理し，薬液濃度と死亡率の関係から，プロビット法により薬剤の半数致死薬量あるいは濃度（$LD_{50}$ あるいは $LC_{50}$）を算出し，感受性系統の値と比較し，抵抗性発達の度合いを判定する。

いずれの場合も，薬剤の処理を溶媒に代えたほかは全く同一条件の対照区を設ける。対照区で死亡個体が生じた場合には次式の Abbot の式で処理区の死亡率を補正する。

補正死亡率(%)

$$=\frac{\text{処理区の死亡率(\%)}-\text{対照区の死亡率(\%)}}{100-\text{対照区の死亡率(\%)}}\times 100$$

なお，対照区の死亡率は10%以下が望ましい。死亡率が20%以上の場合には原則として一連の試験結果は棄却する。

当該個体群の $LD_{50}$ 値と薬剤感受性系統の $LD_{50}$ 値の比を抵抗性比といい，抵抗性発達程度の尺度となる。しかし，両者の薬量－死亡率の回帰式の傾きは異なる場合が多く，抵抗性比は厳密な尺度ではない。また，前述したように感受性系統が必ずしも同一でないため，比較に用いる感受性系統によって抵抗性比は大きく変わることに留意する必要がある。

昨今，コンピュータプログラムが簡単に使用できることから，実験で得た死亡率から機械的に算出した $LD_{50}$ 値のみで評価する傾向にあるが，算出された値は薬量と死亡率の関係が正規分布した場合の値であることに留意する必要がある。薬量と死亡率のデータは，当該個体群の薬剤感受性の変異の幅，抵抗性個体の存在の有無，抵抗性個体の混在割合など，抵抗性に関する多くの情報が得られる貴重なソースである。薬量と死亡率のデータを最大に活用することが望ましい。

当該個体群の $LD_{50}$ 値が，感受性系統の値と比較し有意に高ければ，科学的には抵抗性個体が混在しているといえる。しかし，抵抗性発達の初期段階には，抵抗性個体が出現していても防除効果には影響しないこともある。すなわち，抵抗性個体の出現と防除効果に影響が生ずる段階とは，時間的なずれがある場合が多い。

### 参　考　文　献


1) 合田重道（1985）：最新農薬生物検定法（細辻豊二編），全国農村教育協会，p. 232-257.
2) FAO（1969）：FAO Plant Protec, Bull.　17：76～82.
3) 深谷昌次（1969）：植物防疫　23：24～30.
4) 石井象二郎・富沢長次郎(訳)（1962）：植物防疫　16：327～331, 378～380.
5) 尾崎幸三郎・斎藤哲夫（1981）：昆虫，農作害虫，農薬実験法1殺虫剤編（深見順一ら編），ソフトサイエンス社，p. 64～102.
6) 塚本増久（1963）：植物防疫　17：237～241, 290～294.


---

### お知らせ

**○第11回報農会シンポジウム『植物保護ハイビジョン－1996』のご案内**

**――IPM（総合的有害生物管理）の現状と将来 II《環境情報解析と有害生物制御》――**

趣　旨：我が国における植物防疫の発展を推進するため，植物防疫の学術・技術の研究，交流及び普及を図る一環として，このシンポジウムを開催する。

主　催：財団法人 報農会

日　時：平成8年9月27日(金)10：00～17：00

場　所：飯田橋レインボービル7階大会議室（都内新宿区市谷船河原町11），JR・地下鉄：飯田橋駅下車
TEL 03-3260-4791

講　演：10：10～11：10　米国におけるバイテク植物情報　（理研）　有江　力氏
11：15～12：15　IPMにおける微生物の活用
（(株)エス・ディー・エスバイオテックつくば研究所）　鈴井孝仁氏
13：30～14：30　環境情報解析と害虫防除システム　（茨城大理学部）　塩見正衛氏
14：35～15：35　総合防除の実践と今後の課題――天敵利用と害虫管理――
（実践農家：神奈川県天敵利用研究会）　石川榮一氏
15：50～16：50　総合討論
17：00～19：00　功労者表彰式および懇親会

参加費：5,000円（当日参加6,000円），学生1,000円
講演会参加者は全員表彰式および懇親会に招待されます。

申し込み：参加希望者は9月10日までに下記口座へ参加費をお振込み下さい。前もってテキストと名札をお送り致します。
郵便振替　00100-5-103214　財団法人 報農会

連絡先：財団法人 報農会　吉田孝二氏，仲川正義氏
〒187 小平市鈴木町2-772　植物防疫資料館内
TEL 0423-81-5455　FAX（同）