

植物防疫基礎講座

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(5)

イネ害虫：ニカメイガ

農林水産省農業環境技術研究所 こんのやすひこ
昆野安彦

Ⅰ 薬剤抵抗性の概況

ニカメイガの防除は、1950年代初めから西日本を中心にパラチオンとBHCによる防除が始まったが、1960年代に入ると早くも両薬剤の効力低下が問題となった(尾崎, 1962; 伊東・尾崎, 1966; 坪井, 1970; 上住ら, 1970)。抵抗性が顕在化した地域では、代替薬剤としてダイアジノン, MEP (スミチオン), MPP (バイジット)などの有機リン剤や、ネライストキシン系化合物のカルタップ(パダン)が導入され、その後しばらくは本種の抵抗性問題は鎮静化した。また1970年ごろよりニカメイガの発生数が全国的に減少し、殺虫剤抵抗性問題のみならず、防除そのものもそれほど問題とされなくなった(永田, 1983)。

ところが1978年、岡山県において大発生が見られ、しかもその個体群がMEPやMPPに著しい抵抗性を獲得していることが明らかになった(田中ら, 1982)。同様の抵抗性個体群はその後も、兵庫県(足立, 1987)、新潟県(小山, 1987)、山形県(昆野・土門, 投稿中)で確認されている。ニカメイガの抵抗性の現在の状況については、報告されることが少ないので確かなことは言えないが、各地の研究者の話を総合すると、抵抗性個体群は西日本から東北地方にかけての広い範囲で発生していると考えられる。

ニカメイガに対する現在の薬剤防除は、有機リン剤抵抗性が問題となっている地域ではMEPやMPPに代わる代替薬剤を基本に据えるのが主流である。特にネライストキシン系化合物のパダンは圃場で長い間使われているにもかかわらず、高度の抵抗性はいまだに確認されていないきわめて有用な殺虫剤である。また有機リン剤ではあるけれども、MEPやMPPとは化学構造が大きく異なるCVMP(ガードサイド)、ジメチルピノス(ランガード)、モノクロトホス(アルフェート)も有効である。育苗箱処理剤として登録されているのは4薬剤で、内訳はカルタップ(パダン)粒剤、ダイアジノン

(ダイアジノン)粒剤、エチルチオメトン・ダイアジノン(エチメトン)粒剤、フィプロニル(プリンス)粒剤である。また幼虫のふ化初期を中心に行われる本田防除には、ネライストキシン系化合物のカルタップ粒剤、ペンスルタップ(ルーバン)粒剤、チオシクロム(エビセクト)粉剤、それにCVMP(ガードサイド)粉剤、ジメチルピノス粉剤、モノクロトホス粒剤などが選択されている。

Ⅱ 薬剤感受性検定法

供試虫の入手：

幼虫がイネの茎に食い込むと中心葉が枯れる「心枯茎」となるので、そうした株から幼虫を採集することができる。一般的には第一世代よりも第二世代の幼虫のほうが、イネ株が大きいこともあって採集は容易である。第二世代幼虫の場合は、数が十分採れた場合はそのまま薬剤感受性検定を行ってもよいが、越冬後の休眠明けを待って累代飼育を行い、1～2世代室内で増殖させてから検定に供試してもよい。幼虫を越冬させるには、幼虫が潜む稲わらをダンボール箱などに入れて外気温とほぼ等しい場所に保管する。そして3月ごろに稲わらを温室内のポット植えのイネのあるケージなどに移して成虫を羽化させ、採卵を行う。

ところで、ニカメイガはイネのほかにイネ科植物であるマコモにも寄生する。従来、マコモにつくニカメイガ(マコモ系統と呼ぶ)はイネを加害するニカメイガ(イネ系統と呼ぶ)と同一種と思われてきたが、最近の研究により、二つの系統が生理・生態的に異なることが明らかになった(昆野・田中, 1996; KONNO and TANAKA, 1996)。マコモ系統のニカメイガはイネを加害しない可能性もあるので、マコモから得られたニカメイガについて薬剤感受性検定を行うと誤った結論を導く恐れがある(一般にマコモ系統の薬剤感受性はイネ系統よりも高い)。このことから、ニカメイガの薬剤感受性検定を行う場合は、あくまでイネを加害する個体群を用いることが原則である。供試虫を得る方法としては、ほかに灯火採集によって雌を得て採卵する方法もあるが、この方法を用いる場合には、水田の周囲にマコモが繁茂していな

いことが条件となる。

薬剤感受性系統は、試験研究機関や農業メーカーから譲渡してもらう。なお、薬剤感受性系統で行った筆者のデータを比較のために利用するのもよい (KONNO et al., 1987)。

供試虫の累代飼育：

採集した幼虫や採卵した卵からは、イネの芽出しを用いる累代飼育法により室内で大量飼育することができる。芽出しを育成する容器にはプラスチック製のふたのついた 300 cc ほどのマヨネーズ瓶 (ガラス製) を用いる。プラスチック製のふたには通気孔としてカッターなどで径 3 cm ほどの穴を開け、メッシュの細かい金網を溶接法で接着させて使うか、あるいは使用時に脱脂綿でふたをする。

蛹化は幅 3 cm ほどのダンボールを芽出しの上部に設置して、ダンボールの穴の中で行わせる。蛹のたまったダンボールはポット植えのイネの入ったケージ内に置き、その中で自由に羽化させて交尾・産卵させる。累代飼育は 25°C 前後の恒温室で行い、照明条件は 15 L 9 D から 16 L 8 D の範囲の長日条件に設定する。

検定法の種類と特徴：

本種の防除対象薬剤である有機リン剤やネライストキン系殺虫剤はイネ茎内に食入した幼虫に作用する接触毒剤なので、薬剤の検定法には通常は 4～5 齢幼虫を対象とした局所施用法が用いられる。なお、2 齢前後の若齢幼虫を検定に用いる場合には幼虫が小さすぎて局所施用法が適用できないので、その場合は若齢幼虫が食入したイネ株に薬剤を散布して調べる方法 (尾崎, 1962) や、回転式散布塔によって薬液を幼虫に直接噴霧する方法などの散布法が用いられる場合もある (金, 1970)。

ニカメイガに対する薬剤の経口毒性を調べる方法に経口投与法がある (真鍋ら, 1983; KONNO and KAJIHARA, 1985)。経口投与法には 4～5 齢幼虫を用いるが、薬剤を幼虫に飲下させるには細いガラス管や注射針を幼虫の口に挿入する。

以上の検定法のそれぞれの特徴を表-1 にまとめたが、現場サイドでの感受性モニタリングの目的には 5 齢幼虫

を対象とした局所施用法が簡便かつ最も適当である。また、製剤の効力そのものを判定するには、若齢幼虫を対象としたイネ株散布法が適当である。そこで本稿では、局所施用法とイネ株散布法について以下に具体的に解説する。

III 局 所 施 用 法

供試虫：

病気に侵されていない健全な 5 齢幼虫を用いる。局所施用法では一般に薬剤の LD₅₀ 値は幼虫の体重当たりの薬量で表示するので、検定前に体重を測定しておく。測定にはそのとき使用する幼虫すべてをまとめて秤量し、その値から幼虫 1 頭当たりの平均体重を算出する。5 齢幼虫 1 頭当たりの平均体重は飼育条件にもよるが、通常は 50 から 80 mg の範囲におさまる。

薬液の調製：

薬剤の原体あるいは純品を入手し、有機リン剤やピレスロイド剤の場合はアセトンで、またネライストキン系化合物 (カルタップなど) の場合はアセトン水溶液 (アセトン：水=7:3) で希釈して所定の有効成分を調製する。通常、10 mg/0.5 ml の薬液をまず調製し、これを順次アセトン、またはアセトン水溶液で希釈して所定の濃度を得る。例えば 2 倍ずつ希釈すれば、5, 2.5, 1.25, 0.625 mg/mg… の希釈液が調製されるわけである。薬剤感受性の程度の予測がつかない場合は、10 mg/0.5 ml の薬液を 10 倍ずつ希釈した濃度で予備検定し、その結果から死亡率 50% 前後に 4～5 段階の希釈濃度を設定する。薬液はふた付きのガラス瓶に入れて冷凍庫で保管すれば、1 か月程度は続けて使用できる。なお、検定実施場所の温度は、アセトンの蒸発を防ぐために 20～25°C くらいが望ましい。

検定器具：

薬液を幼虫に局所施用するには、通常、マイクロアプリケーションャーを用いる。すなわち薬液を吸入したマイクロシリンジをマイクロアプリケーションャーにセットし、微量の薬液を幼虫に塗布するわけである。市販のアプリケーションャーとしてはイギリスのパッカード社製品を葯心社 (大阪

表-1 ニカメイガの幼虫を用いた薬剤感受性検定法の主な種類と特徴

検定手法	主な毒性評価	供試薬剤	供試ステージ	必要な機器	特徴	文献
局所施用法	接触毒性	原体	4～5 齢幼虫	マイクロアプリケーションャー	接触毒性の検定に最適	1, 11, 12)
散布法	虫体噴霧法	製剤	1～2 齢幼虫	噴霧装置	製剤の評価ができる	13)
	イネ株噴霧法	製剤	1～2 齢幼虫	噴霧装置		1)
経口投与法	経口毒性	原体	4～5 齢幼虫	マイクロシリンジまたは ガラス細管	経口毒性の評価ができる	14, 15)

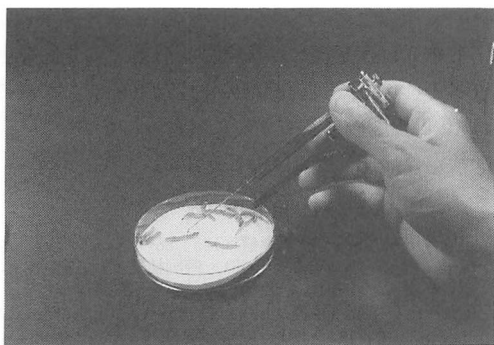


図-1 薬液の幼虫への局所施用

市中央区博労町 1-2-8) が扱っている。ただし、バッカード社製のマイクロシリンジのアプリケーションナーへのセッティングがやや煩雑なので、筆者は井内盛栄堂(大阪市北区天満 4-15-5) が扱っているアメリカのハミルトン社製のリピーティングディスペンサーを使用している(図-1)。これは一台およそ 1 万円と安価であることや、いったんディスペンサーにシリンジをセットすれば、ディスペンサーからシリンジを取り外すことなく何回でも使用できる簡便さが特徴である。図-1 では 25 μ l のマイクロシリンジを使用しているが、この場合だとディスペンサーのボタンを 1 回押すごとに 0.5 μ l の薬液が塗布される。なお、シリンジの針の先端は図-1 のように若干折り曲げてあるほうが幼虫への薬液の塗布は行いやすい。

検定手順：

① 直径 9 cm、高さ 15 mm 程度のプラスチックシャーレ(ふた付き)の底に汙紙(東洋濾紙、直径 9 cm)をひいた状態のものを必要の数だけ用意する。そろえ終わったら、シャーレ全体の重さを計っておく。あらかじめふたに薬剤名と塗布量を記入しておくと、検定中の間違いが少ない。

② 5 齢幼虫を 10 頭ずつ上記のシャーレに入れる。幼虫は比較のおとなしいので二酸化炭素などによる麻酔などの処置は必要なく、飼育瓶から直接ピンセットでつまんで移すことができる。所定の数の幼虫が入った状態のシャーレ全体の重さを計り、この値から先ほどのシャーレだけの重さを差し引くことによって幼虫 1 頭当たりの平均体重を算出する。

③ シリンジに薬液を吸入する前にアセトン液でシリンジ内を十分に洗浄し、前回の試験薬剤がシリンジ内に残っていないようにする。

④ シリンジに薬液を吸入する。4~5 段階の希釈濃度の薬液を用意している場合には、必ず濃度の薄い薬液

表-2 ニカメイガの殺虫剤抵抗性系統と感受性系統の局所施用法による LD₅₀ 値 (μ g/g)*

薬剤	感受性系統(理研)	抵抗性系統(岡山県産)
MEP	1.8	75
MPP	3.1	82
ダイアジノン	6.2	126
馬拉ソン	1.5	1.7
PAP	3.1	2.3
EPN	0.7	23
ジメチルビンホス	0.3	0.6
CVMP	2.1	2.2
モノクロトホス	2.2	6.9
カルタップ	0.4	0.6

*：KONNO et al. (1987) より引用。

から検定を行う。

⑤ 汙紙上の幼虫の背面に、リピーティングディスペンサーにセットしたシリンジを用いて薬液 0.5 μ l を塗布する。確実な塗布を行うには、針先が若干幼虫の体表に触れるぐらいがよい。

⑥ 10 頭の幼虫に薬液を付け終わったら、シリンジに残った薬液を元のガラス瓶に戻し、次濃度の薬液を吸入する。薬液の種類を代える場合は、アセトン液でシリンジを十分に洗浄することを忘れてはならない。

⑦ 薬剤を処理した幼虫の入ったプラスチックシャーレは 25℃前後の部屋に置き、一定時間後の幼虫の生死を判定する。ニカメイガの場合、通常は 24 時間後に調査を行う。幼虫の餌をプラスチックシャーレに入れる必要は特にないが、48 時間以上たってから生死の判定を行う場合にはイネの芽出しを少量入れる。

⑧ 薬剤を処理した幼虫の生死を判定する際、正常な個体以外の幼虫、例えば苦悶したり正常に動けない個体は死亡したものと判定する。

⑨ 薬剤の 1 濃度当たり 10 ないし 20 頭を供試し、3~5 回以上繰り返す。また検定は日をかえて最低 2 回は繰り返す。本法により実施されたニカメイガの殺虫剤抵抗性個体群および感受性個体群の各種殺虫剤に対する LD₅₀ 値を表-2 に示した。

IV イネ株散布法

供試虫：

ふ化したばかりの 1 齢幼虫を一定数イネ株に接種してもよいが、この方法だと手間がかかるので、筆者はふ化直前の卵塊をイネ株に付け、ふ化した幼虫がイネ株に自由に食入できる方法を用いている(産みつけられたばかりの卵は最初は白いが、ふ化 24 時間前くらいになると

黒くなる)。

イネ株：

草丈 30～50 cm 前後のポット (1/5,000 a) 植えのイネ株を供試する。

薬剤の調製：

乳剤、水和剤などの液剤を供試する。液剤を展着剤 (0.01～0.03%) を添加した蒸留水で所定の濃度に希釈して用いる。希釈濃度は実用濃度を参考に、数段階の濃度の薬液で予備調査を行い、その結果を基に 4～5 段階の濃度で局所施用法の項に準じて本試験を行う。

検定手順：

① 黒くなった 100 卵程度の卵塊をイネ株の葉にクリップで留める。なお、卵塊の大きさにはばらつきがあるので、大きな卵塊の場合には 100 卵程度になるように鉄などで切って調製する。

② 薬剤の散布はふ化幼虫のイネ株侵入 5 日後くらいに行う。イネ株全体に一定量の薬液がかかるようにスプレー装置を用いて満遍なく散布する。なおスプレー装置は特別なものは必要なく、市販の台所用のものでかま

わない。

③ 散布 3 日ほど後に、株全体を分解して生・死虫数を調査する。昆虫成長制御剤のような遅効的な薬剤の場合には 10 日程度後に調査する。

④ 検定は最低、2 回は繰り返す。

引 用 文 献

- 1) 足立年一 (1987)：農業通信 125：86～90.
- 2) 伊東 博・尾崎幸三郎 (1966)：四国植防 1：26～28.
- 3) 金 昌交ら (1970)：応動昆 14：149～152.
- 4) KONNO, T. and O. KAJIHARA (1985)：Appl. Entomol. Zool. 20：403～410.
- 5) 昆野彦彦・田中福三郎 (1996)：応動昆 40：245～247.
- 6) KONNO, Y. and F. TANAKA (1996)：Appl. Entomol. Zool. 31：326～329.
- 7) ——— et al. (1987)：J. Pesticide Sci. 11：393～399.
- 8) 昆野彦彦・土門 清：応動昆 (投稿中).
- 9) 小山正一ら (1987)：北陸病虫研報 35：43～46.
- 10) 真鍋幸明ら (1983)：武田研究所報 42：87～95.
- 11) 永田 徹 (1983)：薬剤抵抗性 (深見順一ら編)、ソフトサイエンス社、p.9～30.
- 12) 尾崎幸三郎 (1962)：防虫科学 27：81～96.
- 13) 田中福三郎ら (1982)：近畿中国農研報 64：60～65.
- 14) 坪井昭正 (1970)：岡山農試時報 52：241～246.
- 15) 上住 泰ら (1970)：関西病虫研報 12：89～90.

(29 ページより続く)

〔東北農業試験場〕

山下伸夫一企画連絡室企画科主研 (畜産部家畜虫害研主研)、宍戸良洋一総合研究部総合研究第 3 チーム長 (福島) (企画連絡室総合研究第 3 チーム長 (福島))、對馬誠也一同上チーム主研 (同上チーム主研)、村上弘治一同上チーム (同上チーム)、菅野紘男一水田利用部上席研究官 (水田利用部水田虫害研究室長)、望月 淳一同上部水田病虫害研主研 (同上部水田虫害研主研)、武田光能一同上 (同上)、園田亮一同上 (同上部水田病害研主研)、芦澤武人一同上研 (同上研)、善林 薫一同上 (同上)

〔北陸農業試験場〕

該当なし

〔中国農業試験場〕

山本孝稀一地域基盤研究部上席研究官 (生産環境部発病機構研究室長)、宮川久義一地域基盤研究部病害研究室長 (生産環境部病害研究室長)、小林正弘一同上部虫害研究室長 (同上部虫害研究室長)、三浦一芸一同上研主研 (同上研主研)、中保一浩一同上部病害研 (同上部病害研)、折原祥子一同上 (同上部発病機構研)、奥田 充一同上 (同上部病害研)、太田 泉一同上部虫害研 (同上部虫害研)、濱田しおり一同上 (同上)

〔四国農業試験場〕

後藤孝雄一企画連絡室業務第 1 科長 (企画連絡室業務科長)、岡田忠虎一作物開発部上席研究官 (生産環境部虫害研究室長)、小金澤碩城一作物開発部病虫害研究室長 (生産環境部病虫害研究室長)、佐藤豊三一同上研主研 (同上研主研)、笹谷孝英一同上研 (同上研)、小林秀治一同上 (同上部虫害研)、高篠賢二一同上 (同上)

〔九州農業試験場〕

岩野正敬一地域基盤研究部上席研究官 (地域基盤研究部流行機構研究室長)、西 和文一同上部病害生態制御研究室長 (同上部微生物制御研究室長)、花田 薫一同部病害遺伝子制御研究室長 (同部ウイルス病研究室長)、和田 節一同部害虫生態制御研究室長 (同部害虫行動研究室長)、鈴木芳人一同部害虫管理システム研究室長 (同部情報処理研究室長)、畔上耕兒一同部病害生態制御研主研 (同部流行機構研主研)、平八重一一同上 (同上)、並木史郎一同上 (同上部微生物制御研主研)、大貫正俊一同上部病害遺伝子制御研主研 (同上部ウイルス病研主研)、宮本憲治一同部害虫管理システム研主研 (同部情報処理研主研)、渡辺朋也一同上 (同上)、田中幸一同部害虫生態制御研 (同部害虫制御研主研)、樋口博也一同上 (同部害虫行動研主研)、鶴町昌市一水田利用部上席研究官 (同上部害虫制御研究室長)、川瀬章夫一地域基盤研究部病害生態制御研 (同部微生物制御研)、水谷信夫一同上部害虫生態制御研 (同部害虫行動研)、酒井淳一同部病害遺伝子制御研 (同部ウイルス病研)、

〔蚕糸・昆虫農業技術研究所〕

村路雅彦一遺伝育種部天敵育種研主研 (遺伝育種部適応遺伝研主研)、野田博明一生涯情報部共生媒介機構研究室長 (生涯情報部共生機構研究室長)、三橋 渡一同上研主研 (同上部媒介機能研主研)、塚田益裕一機能開発部上席研究官 (同部物質変換技術研究室長)、佐藤 守一生涯情報部上席研究官 (同部媒介機能研究室長)、長谷川毅一遺伝育種部遺伝子工学研 (同部適応遺伝研)、安居拓恵一生涯情報部選択情報研 (機能開発部物質変換技術研)、渡辺賢一同上部共生媒介機構研 (同部媒介機能研)、渡辺裕文一同上 (同部共生機構研)、中島信彦一同上 (同上) (50 ページに続く)