

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(13)

野菜・花き害虫：コナガ

兵庫県立中央農業技術センター 足 立 年 一

I 薬剤抵抗性の概況

コナガはもともと薬剤感受性が低く、抵抗性が生じやすい害虫と言われており、薬剤による頻繁な防除は抵抗性を発達させ、農作物生産上難防除害虫となっている。

コナガの防除には1960年代後半からDDVP乳剤をはじめとする有機リン剤やメソミル水和剤などのカーバメート剤が使用されてきた。その後、ネライストキシン系剤、ピレスロイド剤、BT剤、IGR剤などが防除薬剤として登場した。コナガの薬剤抵抗性の発達経過は1970年代中ごろからDDVP乳剤の効力低下が問題となり(東海林ら, 1981), 1980年代に入りメソミル水和剤などの抵抗性が顕在化し, 各地のアブラナ科野菜産地で指摘された(浜, 1983, 1986)。その後, 新しいタイプのピレスロイド剤が開発, 実用化され, 1983年から農業害虫の防除に導入され, アブラナ科野菜産地を中心に大々的に使用された。しかし, 使用後1~2年の短期間に高度の抵抗性コナガが鹿児島県(牧野ら, 1985; 堀切ら, 1986, 1987), 沖縄県(HAMA, 1987)において確認された。その後1985年には和歌山県(森下ら, 1987)をはじめとする西日本各地でピレスロイド剤抵抗性が顕在化し, 抵抗性コナガの発生地域は急速に拡大した(HAMA, 1987; 浜, 1989)。

ピレスロイド剤抵抗性の発達に伴い, その代替剤としてBT剤(トアロー水和剤CT, バシレックス水和剤)やネライストキシン系剤(カルタップ水溶剤)が使用されるようになった。BT剤については1988年に施設栽培のクレソンで高度なBT剤抵抗性(抵抗性比500倍以上)が確認された(浜, 1990, 1991; 田中ら, 1991)。また露地栽培(キャベツ)では1985年に和歌山県でトアロー水和剤CT抵抗性が認められ(森下ら, 1987; MORISHITA et al., 1992), 兵庫県でも1988年ごろからトアロー水和剤CT, バシレックス水和剤に抵抗性比27~42倍の抵抗性発達が見られた(ADACHI, 1993)。ま

たハワイでも1990年にBT剤抵抗性が顕在化している(TABASHNIK et al., 1990)。しかし, BT剤は連用散布により抵抗性は徐々に発達するが, BT剤の散布を中止した場合, いったん生じたBT剤抵抗性レベルは下がり感受性は回復するようである(ADACHI, 1993; 浜ら, 1990)。また, ネライストキシン系剤のカルタップ水溶剤も連用散布に伴い, 防除に支障をきたし, 薬剤感受性はかなり低下している(森下ら, 1987; 小澤ら, 1989)。

IGR剤のキチン合成阻害剤が1989年に導入されたものの, 東南アジアではすでに抵抗性が確認されており(小林ら, 1990), 1991年ごろから西日本の各地で効力低下が認められ, 抵抗性コナガが顕在化している(末永ら, 1992; 足立ら, 1994)。

このように, コナガはいずれの薬剤に対しても抵抗性が確認されており, 代替剤に事欠く傾向にある。コナガに対する最近の防除薬剤としては, BT剤や新しく登場したクロロフェナピル剤などが使用されているのが現状である。

II 薬剤感受性検定法

供試虫の入手:

コナガの発生しているアブラナ科作物圃場から老齢幼虫または蛹を採集し, 室内で羽化させ, 1世代以上増殖させて供試する。採集する個体数は最低100頭以上で, 羽化成虫が50頭以上の確保をめざす。検定薬剤が多いときは200頭以上採集する。コナガは圃場によって感受性の違いが認められるので, 1圃場ごとの個体群として採集することが望ましい。

供試虫の飼育:

各個体群の飼育は腰原・山田(1976)の方法を改良して, 25°C, 16時間照明恒温室で行う。すなわち, 老齢幼虫および蛹を飼育ゲージ(15×15×30cm, 四面サラ網張り)に入れ羽化させ, これをカイワレダイコンの芽出し苗を入れたプラスチック容器(25×18×8cm, 表面をサラ網張り)に羽化成虫を50~60頭ずつ吸虫管で移し, 産卵させそのまま飼育する。また, 採卵, 接種法として, パクチョイ等植物体に産卵させ, 産下された卵を芽出し上に接種する方法もある。ただし, 乾燥す

Methods for the Measurement of Susceptibility of Agricultural Insect Pests to Insecticides. The Diamondback Moth, *Plutella xylostella* L. By Toshikazu ADACHI

(キーワード: 鱗翅目, コナガ, 薬剤感受性, 検定法)

るとプラスチック容器内のダイコン苗が枯れて餌状態が悪くなり、ふ化幼虫の死亡原因になるため、プラスチック容器の上にビニールを掛け湿度調節を行う。また過湿になるとカビが発生し、飼育がうまく行かない場合が多いため温度調節に注意する。

あらかじめ、種子に付着した病原菌を消毒するため、カイワレダイコンの種を1昼夜(夏は1晩)流し水に浸漬し、芽を切った状態でホーマイ水和剤100倍液に1時間浸漬する。水切り後プラスチック容器(36×26×4.5 cm)内に敷いた蚕の産卵用網紙に播種し、25°Cの恒温室に置き3~4日で双葉状態になったものを産卵、飼育するための餌とする。この状態の芽出し苗は冷蔵庫で2~3週間保存できる。

そのほか、コナガの人工飼料による簡易飼育法が塩野義製薬(株)、(株)クボタ等で開発されている(宮園ら、1992)。

検定方法の種類と特徴：

コナガに用いられる薬剤感受性検定法には、浸漬法、局所施用法、散布法などがある(浜、1983；昆野、1996)。浸漬法には葉片浸漬、虫体浸漬法がある。葉片浸漬法は供試虫の餌となるキャベツ葉を薬液に一定時間(10秒または60秒)浸漬し、風乾する。浸漬時間について、10秒間に設定している場合も多い。処理葉と供試虫をプラスチックカップやペトリ皿等に入れ、定温室に置き一定時間後に生死を判定するものである。検定には通常3齢幼虫を用いる。この方法は通常の製剤が利用でき、比較的実用場面に近い状態で薬剤に接触させることができる。特別な器具がいらず、操作も簡単であるが、薬液の付着量や虫の摂食量を同じにすることが難しい。日本植物防疫協会の「難防除病害虫研究会」では、葉片浸漬法によってコナガの抵抗性検定が実施された(1980~82)。卵、幼虫、蛹に適用でき、主に接触毒や食毒が評価される。

局所施用法は一定の薬液を虫体に滴下する方法で、再現性が高く、処理した葉量が正確にわかるので、他者のデータとの比較ができる利点がある。一方、本法では微量の薬液を虫に滴下するためのマイクロアプリケーションを要し、操作に若干の習熟を必要とする。この方法は普通4齢幼虫を用い、薬液0.5 μ l前後をマイクロアプリケーションを用いて背面に滴下する方法である。処理した虫は新鮮葉を入れた容器に移し、25°Cの定温室に置き、24あるいは48時間後に生死を判定する。

散布法には薬剤の希釈液を虫体に散布する方法と葉片に散布し処理葉を虫に給餌する方法がある。コナガでは虫体散布が多く、この方法は操作も比較的簡単で再現性

もある。普通3、4齢幼虫を用い、3 ml前後の薬液を回転式散布塔や噴霧装置等で散布する。主に薬剤の接触毒や食毒を評価する方法である。

以上の検定法があるが、現場での感受性モニタリングの目的には3齢幼虫を対象とした葉片浸漬法が簡単に利用しやすく、一般的に使用されている検定法である。

ここでは、葉片浸漬法と局所施用法について述べる。

Ⅲ 葉片浸漬法

供試虫：

薬剤の殺虫活性は幼虫の齢が進むごとに低くなる。また数世代飼育することにより感受性が回復する傾向があり、現場の状況を把握するため、コナガの感受性検定にはできるだけ飼育1世代目の3齢幼虫を用いる。3齢2日目のそろった幼虫を使用するには、できるだけ多くの蛹を確保することが必要である。また、成虫は羽化後速やかにダイコン苗に移し産卵飼育する。

検定薬液の調製：

薬剤は乳剤、液剤、水和剤、水溶剤などの製剤を供試する。これらの薬剤に展着剤(0.02%)を加用した水道水で所定の濃度に希釈する。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、その結果から死亡率50%前後の濃度を中心にして、2倍希釈の4~6段階の濃度を設定する。検定薬液は実施日ごとに調製する。ただし、薬剤の濃度を250倍以下に濃くすると、乳化剤等の影響やキャベツ葉に十分な有効成分が付着しにくいいため、希釈濃度は250倍を限度とする。

検定器具：

薬剤の希釈液、アイスクリームカップ(直径10 cm、高さ4.5 cm)または腰高ペトリ皿(直径9 cm)、沔紙(70 mm)、検定(浸漬)用のキャベツ葉(葉数5~6枚に育てたキャベツ苗)

検定手順：

① 直径10 cm、高さ4.5 cmのプラスチックカップ(ふた付き)の底に沔紙(70 mm)を敷いた状態のものを必要数だけ用意する。あらかじめふたに薬剤名、濃度、番号などを記入しておく。

② 薬剤を所定の濃度に希釈した検定液に、キャベツ葉片(5×5 cm)を1分間浸漬(10秒間に設定している場合も多い)し、室温で自然乾燥する。1濃度3葉片を必要とする。

③ 処理葉は乾燥後、沔紙を敷いたプラスチックカップに一枚ずつ入れ、同時にコナガ3齢幼虫を1カップ当たり10頭ずつ放飼する。

④ 25°C、16時間照明の定温室に置き、24時間ごと

表-1 コナガの感受性系統と野外個体群の葉片浸漬法による各薬剤のLC₅₀値(ppm)

薬剤名	感受性系統 (住友系)	野外個体群 (神戸市:1995.6)	抵抗性比 (R/S)	野外個体群 (神戸市:1995.11)	抵抗性比 (R/S)
アセフェート	43	>2000	>46	>2000	>46
PAP	17	>1000	>57	1236	71
ベルメトリン	5.7	>400	>70	>400	>70
フェンバレレート・マラソン	22	>1600	>74	>1600	>74
カルタップ	64	793	12	889	14
トアローCT	1.1	4.4	4.0	244	222
バシレックス	1.4	3.3	2.4	23	16
クロルフルアズロン	0.05	6.3>	125>	11.2	224

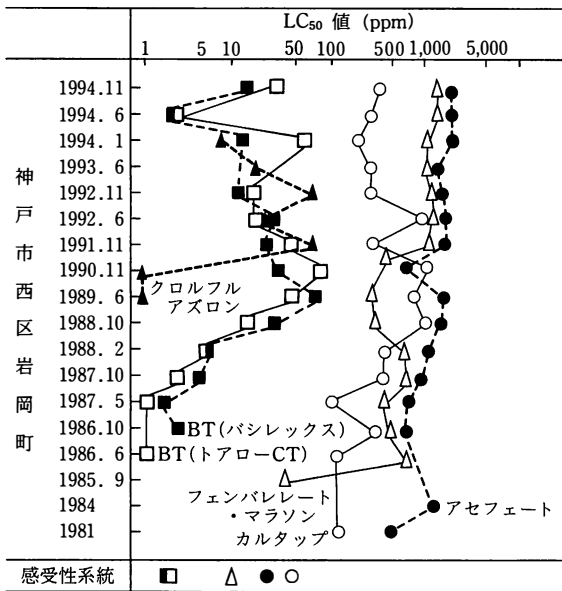


図-1 コナガの野外個体群薬剤感受性の経時変化

に生死状況を調査する。有機リン剤、カーバメート剤、ピレスロイド剤は48時間後、BT剤、ネライストキシン系剤は72時間後の生死で判定する。IGR剤は成虫の羽化まで調査し判定する。ただし、72時間以上たつて判定する場合、餌不足となるため新鮮なキャベツ葉を餌として追加する。

⑤ 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虫と判定する。

⑥ 薬剤1濃度当たり10頭供試し、3回以上反復する。また検定は日を替えて2回以上繰り返す。

⑦ 検定結果は無処理の結果を基に、ABBOTTの式により死亡率を補正し、プロビット法で薬剤のLC₅₀値を算出する。抵抗性比(R/S比)を求め、感受性の程度を比較する。

葉片浸漬法によるコナガの薬剤感受性検定結果の代表例を表-1、図-1に示した。

IV 局所施用法

供試虫：

採集した個体群を先に述べた方法で飼育する。累代飼育すると感受性が高まるため、できるだけ飼育1世代目の生育のそろった4齢幼虫を用いる。

薬剤の調製：

薬剤の原体(純度90%以上のもの)あるいは純品を用意し、天秤で量り、有機リン剤やピレスロイド剤、カーバメート剤の場合はアセトンで、またネライストキシン系化合物の場合はアセトン水溶液(アセトン:水=7:3)で希釈して所定の薬液を作製する。この薬液をメスピペットを用いてアセトンで適宜希釈し検定液とする。通常2%の薬液を調製し、その後2倍希釈を繰り返す。検定液を調製する。薬剤感受性の程度の予測が付かない場合は、基の薬液を10倍ずつ希釈した濃度で予備検定し、死亡率50%前後から4~5段階の希釈濃度を設定する。薬液はすり合わせのふた付のガラス瓶に入れて、冷凍庫で使用時まで保管する。約1か月程度は続けて使用できる。なお、冷凍庫から取り出した検定液は室温になるまで静置した後、開栓して使用する。

検定器具、試薬：

薬剤の希釈液、アセトン、マイクロシリンジ、自動微量滴下装置(マイクロアプリケーター)、減圧弁を装着した炭酸ガスボンベ、メスフラスコ、メスピペット、ふた付プラスチックカップ(径10cm、高さ4.5cm)または9cm腰高ペトリ皿、沓紙(70mm)、検定時のキャベツ葉片(葉5~6枚に育てたキャベツ苗)

検定の手順：

① ふた付のプラスチックカップ(径10cm、高さ4、5cm)または腰高ペトリ皿(径9cm)に沓紙を敷いたものを必要数だけ用意する。あらかじめふたに薬剤名

表-2 コナガの感受性系統(S)と野外抵抗性2個体群の各種薬剤に対する感受性(局所施用法による)

薬 剤	感受性系統	LD ₅₀			抵抗性比	
		横田(島根)	御坊(和歌山)	横田	御坊	
DMTP	0.068 (24)	1.6	1.6	24	24	
PAP	0.13 (46)	8.3	27	64	208	
ジアリホール	0.71 (253)	>45	>50	>63	>70	
ジメトエート	2.4 (855)	—	—	—	—	
マラソン	20 (7,123)	>45	—	>2.3	—	
CYP	0.031 (11)	29	>50	935	1,613	
プロフェノホス	0.073 (26)	5.6	12	77	164	
プロチオホス	0.089 (32)	24	39	270	438	
CYAP	0.10 (36)	9.6	21	96	210	
イソキサチオン	0.14 (50)	>45	>50	>321	>357	
サリチオン	0.43 (153)	11	19	26	44	
ピリミホスメチル	0.48 (171)	8.7	31	18	65	
グロルピリホスメチル	1.3 (463)	>45	—	>35	—	
EPN	1.5 (534)	37	—	25	—	
ダイアジノン	1.6 (570)	>45	—	>28	—	
MEP	1.6 (570)	>45	—	>28	—	
クロルピリホス	2.3 (819)	>4.5	—	>2.0	—	
ジメチルピホス	0.046 (16)	1.9	1.6	41	35	
DDVP	0.73 (260)	9.6	19	13	26	
CVP	1.1 (392)	7.7	—	7.0	—	
ESP	>4.5(>16,027)	—	—	—	—	
アセフェート	1.7 (605)	>4.5	—	>2.6	—	
DEP	13 (4,630)	>45	—	>3.5	—	
メソミル	0.86 (306)	>45	>50	>52	>58	
BPMC	3.5 (1,247)	—	27	—	7.7	
NAC	34 (12,110)	—	>50	—	>1.5	
カルタップ	0.16 (57)	1.2	1.2	7.5	7.5	
チオシクラム	0.19 (68)	0.39	1.4	2.1	7.4	
フェンパレレート	0.0073 (2.6)	0.013	0.0089	1.8	1.2	
フェノトリン	0.030 (11)	0.034	—	1.1	—	

数字は LD₅₀ μg/幼虫, 感受性系統(日農系)の()内の値は μg/g.
 浜(1986 b)より作表.

表-3 コナガの感受性系統(S)と野外抵抗性4個体群の各種ピレスロイド剤に対する感受性(局所施用法による)

薬 剤	S	LD ₅₀ (μg/幼虫)				
		溝辺(鹿児島)	南風原①(沖縄)	南風原②(沖縄)	今帰仁(沖縄)	
ベルメトリン	0.0023	—	0.25 (110)	0.63 (270)	0.65 (280)	
フェンパレレート	0.0041	1-20(240-4,900)	10 (2,400)	>50 (>12,000)	30 (7,300)	
レスメトリン	0.0054	—	—	—	2.3 (430)	
シベルメトリン	0.0085	—	—	—	8.5(1,000)	
α-シフェノトリン	0.0085	—	—	—	5.9 (690)	
フェノトリン	0.015	4.4(290)	7.5 (500)	>50 (>3,300)	12 (800)	
フェンプロバトリン	0.019	4.2(220)	6.7 (350)	27 (1,400)	17 (890)	
フルバリネート	0.041	—	—	—	>50(>1,200)	
ピレトリン	0.090	—	—	—	7.1 (79)	
テトラメトリン	0.15	>50(>330)	48 (320)	>50 (>330)	—	

()内の値は抵抗性比(各個体群の LD₅₀ 値の対 S 比).
 HAMA(1987)より作表.

と滴下量を記入しておく。

② 4齢幼虫を10頭ずつの重さを量り、幼虫1頭当たりの平均体重を算出する。

③ 4齢幼虫を10頭ずつプラスチックカップに入れ、炭酸ガスをゆっくり吹き込んで静置する。

④ ミクロシリンジに薬液を吸入する前にアセトンでシリンジ内を十分洗浄し、検定液をシリンジに採り、自動微量滴下装置にセットする。4～5段階の希釈濃度がある場合には、必ず濃度の低い薬液から検定する。

⑤ 濾紙の上に麻酔した幼虫を移し、自動微量滴下装置を操作し、針先を濾紙の上に添えて、薬液が順調に出ることを確認する。

⑥ 4齢幼虫の背面に軽く添えながら薬液0.5 μ を滴下する。背面に強く圧して幼虫に傷をつけないよう注意する。

⑦ 幼虫に薬液を滴下し終わったら、シリンジに残った薬液を元に戻し、次の濃度の薬液を吸入する。薬液の種類を代える場合は、アセトンでシリンジを十分に洗浄することを忘れてはならない。

⑧ 薬剤を処理した幼虫はキャベツ葉片とともにプラスチックカップに入れ、25°C定温室に置き、24時間後に生死を判定する。なお、ネライストキシン系剤は24時間後では判定が難しいので、48時間後に判定する。生死の判定をする場合、正常な個体以外の幼虫(苦悶虫や正常に動けない個体)は死亡虫と判定する。

⑨ 薬剤1濃度当たり10頭供試し、3反復を原則とする。検定日を替えて2回以上繰り返す。

⑩ 検定結果は無処理の結果を基に死亡率を補正し、

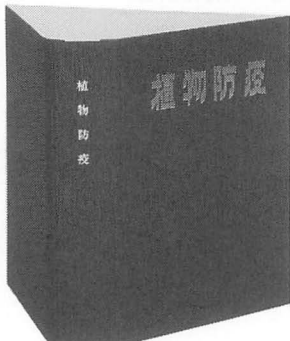
プロビット法により薬剤のLD₅₀値を算出する。局所施用法によるコナガの薬剤感受性検定結果の代表例を表2,3に示した。

最後になったが、農林水産省農業環境技術研究所 浜弘司博士の文献から作表させていただき、感謝したい。

引用文献

- 1) ADACHI, T. (1993): FFTC (proceedings): 286~301.
- 2) 足立年一・山下賢一 (1994): 応動昆 38: 194~196.
- 3) 浜 弘司 (1983): 植物防疫 37: 471~476.
- 4) ——— (1986 a): 同上 40: 366~372.
- 5) ——— (1986 b): 応動昆 30: 277~284.
- 6) ——— (1989): 中国農試研報 4: 119~134.
- 7) ——— (1990): 関東東山病虫研報 37: 1~4.
- 8) ——— (1991): 植物防疫 45: 502~505.
- 9) HAMA, H. (1987): Appl. Entomol. Zool. 22: 166~175.
- 10) HAMA, H. et al. (1987): ibid. 22: 176~180.
- 11) 堀切正俊・牧野 晋 (1986): 九州農業研究 48: 166.
- 12) ——— (1987): 九病虫研会報 33: 131~135.
- 13) 小林茂之・会田重道 (1990): 日本農薬学会第15回大会講演要旨: 100.
- 14) 昆野安彦 (1996): 植物防疫 50: 523~526.
- 15) 腰原達雄・山田偉雄 (1976): 応動昆 20: 110~114.
- 16) 牧野 晋・堀切正俊 (1985): 九病虫研会報 31: 175~178.
- 17) 宮園 稔ら (1992): 応動昆 36: 193~196.
- 18) 森下正彦・東 勝千代 (1987): 関西病虫研報 29: 17~20.
- 19) MORISHITA, M. et al. (1992): JARQ 26: 139~143.
- 20) 難防除病害虫防除に関する試験成績(昭和55, 56, 57年度): 日本植物防疫協会.
- 21) 小澤朗人ら (1989): 関東病虫研報 36: 161~162.
- 22) 末永 博ら (1992): 九病虫研会報 38: 129~131.
- 23) 東海林修・野村健一 (1975): 応動昆 19: 298~299.
- 24) TABASHNIK, B. E. et al. (1990): J. Econ. Entomol. 83: 1671~1676.
- 25) 田中 寛・木村 裕 (1991): 応動昆 35: 253~255.

ご利用下さい。「植物防疫」専用合本ファイル



本誌名金文字入・美麗 本体 699 円(税別)
送料 390 円

本誌 B5 判 12 冊 1 年分が簡単にご自分で製本できます。

- ・貴方の書棚を飾る美しい外観。
- ・穴もあけず糊も使わず合本できる。
- ・冊誌を傷めず保存できる。
- ・中のいずれでも取外しが簡単。
- ・製本費がはぶける。
- ・表紙がビニールクロスで丈夫。

ご希望の方は現金・郵便振替で直接本会へお申し込み下さい。