

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(32)

天敵生物：オンシツツヤコバチ

農林水産省農業環境技術研究所 まつ 井 まさ はる
松 井 正 春

オンシツツヤコバチは、我が国では1995年に農薬登録され、その後、徐々に普及しつつある。天敵に対する薬剤検定は、圃場において天敵と併用できる薬剤を選定することを目的に行うが、圃場検定には多くの労力とコストがかかるので、国内では主に室内検定が行われ、蛹および成虫に対していくつかの検定法が試みられている。IOBC（国際有害動植物生物防除機関）の本寄生蜂に対する薬剤検定においては、図-1に示すように、3段階の室内検定の後に、比較的影響の少ない薬剤のみを圃場検定に持ち込む方式を採っている（VEIRE, 1994）。今後、国際動向（平井, 1999）にも十分に注意を払いつつ、より簡便な薬剤検定法の確立を図っていく必要がある。本稿では、国内で行われている本寄生蜂に対する薬剤検定法およびIOBCの方法を比較しながら、問題点

を整理してみたい。

I 供試虫の準備

マミーカードの入手：本寄生蜂のマミーカードは、国内では現在2社から販売されている（商品名：エンストリップおよびトモノツヤコバチ EF）。マミーカードは、マミー（寄生蜂の蛹）が厚紙に糊付されたものであるが、後者ではマミーが直径6 mmの円形のくぼみの中に糊付されている。いずれのカードもミシン目のついたシートとして箱に入れられている。エンストリップでは、到着直後から7日間5℃に冷蔵しても、羽化率の低下はほとんどないが、羽化時期が若干遅延する（和田・中村, 1996）。

蛹検定のためのマミーの準備：この検定にはくぼみのないエンストリップを用いる。マミーカード到着後、直ちに成虫が羽化していないことを確認し、検定開始まで5℃に保管する。マミーカードのうち、極端にマミー数の少ないものは供試しない。

成虫の準備：成虫の日齢管理法としては、まず、両側を切り取ったマミーカードを三角コルベン（300 ml程度）に収容して綿栓をし、検定前日にコルベン内部の成虫をすべて除去する。検定当日に翅が十分に伸展し活発に活動する成虫を吸虫管で選ぶことにより、羽化24時間以内の個体を得られる。

コナジラミの飼育：結球していないキャベツ葉の葉柄をプラスチック・カップ（直径9.5 cm、高さ5.8 cm）の蓋に開けた穴からカップ内の水に差し込んで発根させる。このキャベツ葉をカップとともにプラスチック・ケージ（直径15 cm、高さ40 cm、図-2）に収容した後、集団飼育したシルバーリーフコナジラミ雌成虫をケージ当たり30頭放飼し、25℃、16時間明8時間暗条件で飼育する。この方法によって、最初に1回給水するだけでシルバーリーフコナジラミの1世代を省力的に飼育できる。

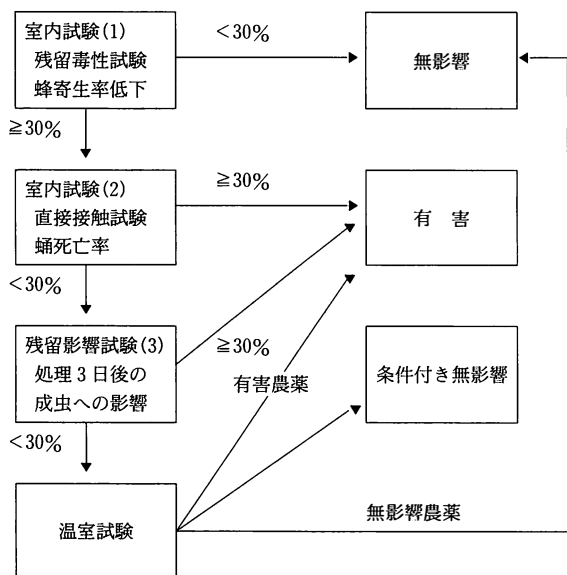


図-1 オンシツツヤコバチに対する農薬影響評価の流れ図
(VEIRE, 1994)

Methods for the Measurement of Susceptibility of Natural Enemies to Insecticides. *Encarsia formosa* GAHAN. By Masaharu MATSUI

（キーワード：薬剤感受性、検定法、影響評価、コナジラミ、天敵生物、オンシツツヤコバチ）

II 薬剤検定法の種類と特徴

1 室内検定法

(1) 蛹に対する検定

① 国内で行われている検定法

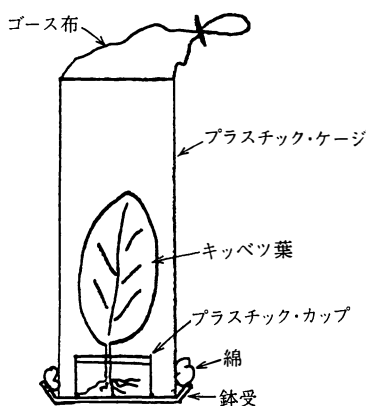


図-2 コナジラミ飼育用ケージ

マミーカード浸漬法：蛹に対する接触毒性の検定法として、蛹をマミーカードごと薬液に浸漬する方法がある(林, 1996; 松井, 1996 a, b)。すなわち、マミーカードの両側を切除し、所定濃度の薬液に10秒間浸漬する。水和(水溶)剤の場合には、実用濃度の界面活性剤を加える。カードを薬液から引き上げて下端にたまった液をふき取り、直径3.6 cm、高さ6.5 cmのプラスチック瓶に入れ、蓋をする。蓋には過湿防止のために直径5 mm程度の穴を開け綿栓をする(松井, 1996 a, b)。あるいは、所定濃度の薬液に10秒間浸漬したマミーカードを沬紙を敷いたプラスチック・シャーレ内に収容し、成虫の逃亡防止のためにシャーレの蓋を裏返してかぶせる(林, 1996)。これらを25℃に保管し、2～3週間後に羽化成虫数、マミー脱皮殻数、死籠もり数を調査する。無処理区は、処理区と同じ濃度の界面活性剤だけの水溶液とする。処理区当たりのマミーカード数は3～6枚(反復)とし、各処理区のカードは同じ箱のものを供試する。羽化率は、次のようにして求める。

$$\text{羽化率} = \frac{\text{羽化成虫数}}{\text{羽化成虫数} + \text{死籠もり数}} \times 100$$

羽化率を生存虫率とし、Abbotの式(菅原, 1959)により、無処理区と処理区の生存虫率の関係から補正死虫率を求める。破損したマミー数は、死籠もり数に含めない。なお、羽化成虫数とマミー脱皮殻数を比較することによって、検定開始前の羽化状況をチェックすることができる。

葉に形成されたマミーの浸漬法：葉に形成された黒色のマミーを葉とともに10秒間薬液に浸漬し、10～15日間25℃に保管した後に、羽化率あるいは死虫率を調査する(岡田・三田, 1978; 河合, 1988)。

② IOBCの方法

羽化2～3日前のマミーが付着したマメの葉に薬剤散布し、これを40頭ほどのマミーが付着するように切り

分け、直径9 cmのプラスチック・シャーレに収容する。これを22℃下で10～14日間保存して死虫率を調査し、Abbotの式から補正死虫率を計算する。異なる4枚の葉から8葉片を取り、8反復とする(OOMEN, 1989)。新しい方法では、紙に糊付したマミーに所定濃度の薬液を散布して検定する(VEIRE, 1994)。

(2) 成虫に対する検定

① 国内で行われている検定法

ドライフィルム法：管瓶(内径1.5 cm、長さ6 cm)に実用濃度の薬液を入れ、ゴム栓で密封して内壁面およびゴム栓の底部を薬液で濡らす。水和(水溶)剤の場合には、実用濃度の界面活性剤を添加する。薬液を捨てた後、ティッシュペーパー上に管瓶の口を下にして斜めに立てかけ、ゴム栓とともに25℃の恒温器内で24時間完全に風乾する。この管瓶に吸虫管を用いて成虫を5～10頭ずつ収容しゴム栓をする。管瓶に餌として直径6 mmの沬紙に5%ショ糖液を4 μl添加したものを入れ、25℃、16時間明8時間暗条件の恒温器内に横に並べて保管し、接触開始24時間後に生存虫数を調査する(松井, 1996 a, b)。無処理区は、処理区と同じ濃度の界面活性剤のみの水溶液とする。複数の薬剤を同時に検定する場合には、互いに汚染しないように細心の注意を払う。処理区当たり20～30頭とし、少なくとも3反復する。

散布法：圃場に定植、あるいはポット植えたトマトの葉に実用濃度の薬液を噴霧し風乾した後、定期的(散布当日～14日後)に葉をサンプリングし、これを管瓶(松井, 1996 b; 田中ら, 1999)、LEDIEU (1979)と同様の特製アクリル板ケージやプラスチック・シャーレ(林, 1996)、あるいはプラスチック容器(河合, 1988)に成虫とともに収容し、接触毒性をみる。林(1996)は、成虫を試験管に入れ10秒間水水中に浸漬して低温麻酔した後に、所定の容器内に入れる方法を採用している。管瓶法では、薬剤散布したトマトの小葉とともに、成虫を5～10頭収容する。この場合、管瓶内部が過湿にならないようにコルク栓を使用するが、コルク栓にはゴース布をあてがい穴に成虫が潜り込まないようにする。管瓶には餌を入れず、成虫を管瓶に収容して24時間後に生存虫数を調査する。処理区当たり20～30頭とし、少なくとも3反復する。

浸透移行性粒剤の検定法：トマトの定植時に粒剤を植え穴土壌混和処理し、小葉を定植2週間後から残効がなくなるまで毎週サンプリングし、散布法と同様に管瓶(松井, 1996 a, b)に成虫とともに収容し、24時間後の生存虫数を調査する。葉だけが成虫の水分補給源となる管瓶法(松井, 1996 a, b)のほうが、湿らせた沬紙上に

葉を置く方法よりも死虫率が高くなる傾向がある。

昆虫成長制御剤等の検定法：昆虫成長制御剤や成虫の行動に影響する薬剤は、成虫の生存には影響が出にくいですが、成虫が薬剤に接触すると産下卵数やふ化、幼虫発育等の次世代に対して影響を及ぼすことがある。この検定法として、4℃下で前記Ⅰのプラスチック・ケージ内のキャベツ葉にシルバリーフコナジラミ成虫を10～20頭放飼し、3～4齢初期幼虫が多数発生したころ（コナジラミ放飼2～3週間後）に、ドライフィルム法により一定時間薬剤に接触させた成虫を1ケージ当たり5～10頭、一定時間放飼する。その後、このキャベツ葉を別のプラスチック・ケージに移して寄生蜂を完全に除去し、放飼13または14日後に、本寄生蜂の幼虫およびマミーの生死数、マミー脱皮殻数、コナジラミの幼虫数および脱皮殻数を調査する（松井、1996b）。少なくとも3反復する。

② IOBCの方法

ドライフィルム法：特製の組立式小型ケージのガラス板の内壁面に、実用濃度の薬液でドライフィルムを作り、成虫に接触させる。揮発しやすい薬剤によるガス効果を減らすために、ポンプで小型ケージ内部を強制換気する。成虫は羽化12～24時間の個体を供試し、15頭ずつ容器内に収容し餌として蜂蜜を与え、2日、4日、7日後に死虫率を調査する。このときの生存虫を寄生試験に供試する。寄生試験は、上記の小型ケージのガラスの1面に5cmの穴を開けたものを用い（図-3）、ここにオンシツコナジラミ3、4齢幼虫が250～350頭付着したマメの葉をあてがって4時間産卵させ、12日後に寄生数を調査する。無処理区は、薬剤の代わりに水で処理する。少なくとも3反復する（OOMEN, 1989）。

散布法：成虫に対する薬剤の残効性検定は、ガラス室内のトマトに薬剤散布し、3日後に葉を取り、羽化24

時間以内の成虫20頭とともにポンプで強制換気する特製小型ケージに収容し、7日後の死虫率を調査する。少なくとも3反復する（OOMEN, 1989）。

昆虫成長制御剤等の検定法：上記のⅡ-1-(2)-②のドライフィルム法による検定では、生存成虫に寄生させ次世代数を調査するが、この方法によって昆虫成長制御剤の検定が可能である。

③ 検定方法の比較

管瓶（松井、1996a, b；田中、1999）やシャーレ（林、1996）によるドライフィルム法や散布法では、検定開始後に換気されないの、薬剤によるガス効果が生じうる。しかし、残効性をみる場合に、管瓶や葉は薬剤処理されてから検定開始まで広い空間に置かれるので、この間にガスは揮発する。このため、例えばDDVPについて見ると、国内で行われている方法でも、死亡率が25%以下となるのは処理4日後（松井、1996b）あるいは4～6日後（林、1996）であり、圃場での使用経験より残効期間が長くなるということはない。また、特製アクリル板法（林、1996）は、上部の穴にネットが張られ通気状態にある。これを用いてガス化しやすい有機リン剤（BRP）の検定が行われたが、密閉したシャーレのほうがかえって死虫率が低くなる結果となり、通気の効果は見られなかった（林、1996）。このように容器内を換気しなくても、圃場での残効期間をおおむね反映できると考えられるので、簡易な検定法作成のためにさらに検討する必要がある。生存虫数の調査時期は、国内ではIOBCの方法と異なり、いずれも接触開始24時間後（松井、1996a, b；林、1996；田中、1999）に行われている。これは無処理区でも成虫を4～7日間（OOMEN, 1989）安定的に飼育するのが難しいためでもある。

2 圃場検定法

(1) 国内で行われている検定法

散布剤の検定：圃場で散布剤の影響を見る場合には、まず、本寄生蜂が発生する圃場を作る必要がある。トマトでは、定植後にオンシツコナジラミまたはシルバリーフコナジラミを放飼し、これが3、4齢幼虫になる時期に本寄生蜂を放飼し、さらに、本寄生蜂の次世代成虫が発生し始めるころから実用濃度の薬剤を散布する。調査は、1区3枚以上の黄色粘着トラップ（商品名：ホリバー）を用い、薬剤散布前から散布3～4週間後まで本寄生蜂およびコナジラミの誘殺消長を調査して無処理区と比較する。また、トマト葉上のコナジラミ幼虫に対する本寄生蜂の寄生率を調査する。調査株数は、区当たり8～12株とし、コナジラミの4齢中期～後期の幼虫が生息する葉位を決めて、ここを中心に1株当たり3～5小葉をサンプリングする。調査は、薬剤散布前から散布後

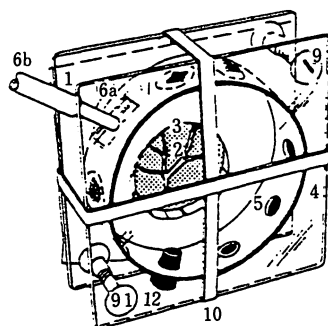


図-3 IOBCにおける寄生試験用ケージ（OOMEN, 1989）

- 1：ガラス板、2：葉、3：穴、4：輪、5：換気孔
6a, b：換気用チューブとポンプ端、9：ボルト、
10：バンド、12：ゴム栓

3～4週間にかけで行う。無処理区には薬剤を散布しない。試験区は3反復することが望ましい。寄生率は次のとおりとする。

$$\text{寄生率} = \frac{\text{生存マミー数}}{\text{生存マミー数} + \text{生存4齢幼虫数}}$$

ただし、生存4齢幼虫には蛹も含まれる。

粒剤の検定：粒剤の影響を見る場合には、粒剤を定植時植え穴土壌混和処理した後にコナジラミ成虫を放飼し、3～4齢幼虫が発生するところ（コナジラミ放飼2～3週間後）に本寄生蜂を放飼する。粒剤の残効性の検定法は、室内検定法での浸透移行性粒剤と同様に行う。圃場調査を行う場合には、散布剤の検定法に準じて黄色粘着トラップ及び寄生率の調査を行う（松井, 1996 a）。無処理区には粒剤を施用しない。

(2) IOBCの検定法

散布剤の検定：検定作物としては、施設栽培のキュウリ、トマト、ナスのいずれかをを用い、圃場内にオンシツコナジラミと本寄生蜂を均一に発生させるか、もし、偏っている場合には少なくとも均一な8株を選んで試験する。それぞれが隔離された施設あるいは内部を仕切った施設を使う。植物は少なくとも1m以上の高さで、1区8本以上とし、通常4反復、例外的に3反復とする。対照薬剤は、無害のものと有害のもので作用性が類似したものとする。コナジラミと寄生蜂が十分な密度に達したならば実用濃度の薬剤散布を行う。調査は、散布4週間後にコナジラミ成・幼虫数、黒化したマミー数について行う（Oomen, 1989）。

Ⅲ 薬剤の影響のランク分けと問題点について

本寄生蜂に対する薬剤の影響のランク分けについて、林 (1996) は IOBC/WPRS の4段階評価 (HASSAN et al., 1987) にならって、その範囲 (レンジ) を25%刻みとし、死虫率が25%以下の薬剤は本寄生蜂に実害がなく併用可能とした。現在、国内で作成されている天敵への薬剤影響リストは、欧州で作成されたものをベースに蛹、成虫別に室内検定結果を中心に25%刻みで4段階評価されている (松井, 1997)。IGR剤や成虫行動に影響する薬剤については、次世代への影響が室内検定されているが、まだ十分ではない。今後、これらの室内検定法をベースに、補正死虫率ないし補正減少率で25%刻みのランク分けをし、総合評価のランク分けが必要な場合にはこれらの最高値で分け、圃場検定結果があればその値も加味するのが適当と思われる。また現時点では、圃場検定を3反復以上行うのは困難であるので、室内検定の実証の場として位置付けるのが妥当であろう。

IOBCの基準では、室内検定の結果を4段階にランク分けし、最近では30%未満で影響なし、30～79%で影響小、80～99%で影響中、99%より上で影響大としている (VEIRE, 1994)。また、本寄生蜂の場合は、図-1に示したように、室内検定によって第1段階の寄生率の減少が無処理区と比較して30%未満の場合には影響なしとして圃場検定が省略されている。寄生率の減少が30%以上であっても、蛹に対する検定による死虫率が30%以下で、成虫に対する残効性 (散布3日後) 検定による死虫率が30%以下の薬剤は圃場検定にかけられ (VEIRE, 1994)、その結果は25%刻みで評価される。

以上のように、IOBCの薬剤検定法は逐次検定法 (sequential test) として体系付けられているが、国内で行われた蛹に対する検定法はIOBCの第2段階に相当している。また、検定法が異なっても類似の結果が出ている場合もある。今後、国際的な観点からIOBCの基準を十分に考慮しつつ、国内における検定法の基準化とその改良を図っていく必要がある。一方、IOBCの方法は、基本的に圃場検定の結果を重視したものとなっているが、国内では3反復以上の半圃場ないし圃場検定を行う条件が整っておらず困難な面があるので、圃場条件を想定した室内検定法の改善、充実を図っていくのも一つの方向性であろう。また、IOBCの基準とは、室内検定結果のランク分けの範囲の取り方、第1段階の寄生試験 (図-1)、寄生試験で用いるコナジラミの種類、死虫率の調査時期、強制換気可能な検定用器具を使用する必要性、類似の検定結果が得られる場合のより簡易な手法への置き換え、ないしデータの読み替えの可否等の問題点が残されており、今後さらに詰めていく必要がある。

引用文献

- 1) HASSAN, R. A. et al. (1987) : J. Appl. Ent. 103: 92～107.
- 2) 林 英明 (1996) : 広島農技セ研報 64: 33～43.
- 3) 平井一男 (1999) : 植物防疫 53: 197～200.
- 4) 河合 章 (1988) : 野菜茶試研報 D1: 59～67.
- 5) LEDIEU, M. S. (1979) : Pestic. Sci. 10: 123～132.
- 6) 松井正春 (1996 a) : 関西病虫研報 38: 27～28.
- 7) ——— (1996 b) : 農林水産技術会議事務局, 研究成果シリーズ, 311, p. 80.
- 8) ——— (1997) : 植物防疫 51: 253～257.
- 9) 岡田忠虎・三田久男 (1978) : 中国農試報 E 14: 9～31.
- 10) OOMEN, E. (1989) : Bulletin OEPPEPPO Bulletin 19: 355～372.
- 11) 菅原寛夫 (1959) : 昆虫実験法, 日本植物防疫協会, pp. 700～707.
- 12) 田中 寛ら (1999) : 関西病虫研報 41: 61～62.
- 13) VEIRE, M. V. (1994) : IOBC wprs Bulletin/Bulletin OILB srop 17 (10) : 41～47.
- 14) 和田哲夫・中村善二郎 (1996) : トーメン農薬ガイド No. 79: 19～21