

払い落とし法と押しつぶし法を組み合わせた ハダニ密度推定法

果樹研究所 ^{とよ}豊 ^{しま}島 ^{しん}真 ^ご吾
東北農業研究センター ^{たか}高 ^{なし}梨 ^{まさ}祐 ^{あき}明

はじめに

ハダニ類は、体サイズが約 0.5 mm と小さいために発見されにくく、防除適期を逃したり、散布ムラによる生き残りが発生し、また、薬剤に対する感受性が低下しやすいなど、防除が困難な害虫として知られる。近年では、殺ダニ剤の感受性低下の懸念から、気門封鎖型薬剤の効果が検討され（宮田・増田, 2006）、利用が推奨されている。殺ダニ剤を散布するにしても、気門封鎖型薬剤を散布するにしても、防除適期を知るためにハダニ密度を推定することは重要である。本稿では、ハダニの防除基準を概説し、ハダニ密度を簡易に推定する方法を紹介する。

I ハダニの防除基準

ハダニの経済的被害許容水準（EIL）は作物や品種、栽培条件によって大きく異なり、リンゴとリンゴハダニの関係を調査した多くの先行研究において、その設定の難しさがうかがえる（RABBINGE, 1985）。例えば、van de VRIE (1956) は、オランダのリンゴ園でハダニ寄生密度と生産量などの関係を調査し、葉当たり 40 頭（成虫・若虫・幼虫ステージを含む）、または 1 cm² 当たり 1～2 頭、または、葉当たりの累積寄生個体数（日当たりの寄生数の合計）で 1,080 頭（単位として、英語で“mite days”と表記される）、または 1 cm² 当たりの累積寄生個体数で 54 頭に達したときに、生産量の 18% が減少し、30% の新梢成長が阻害されることを示している。一方で、LIGHT and LUDLAM (1972) は累積寄生密度が 1,350 頭を超えたときに初めて生産量の減少が観察されたことを報告しており、ZWICH et al. (1976) は、葉当たり 70 頭（累積寄生密度で 1,400）に達しても、果実成長や新梢成長、次年度のための花芽形成などに影響はなかったことを報告している。

我が国のハダニの要防除水準として、温州ミカンでは

『葉あたり雌成虫 3 頭（多発樹）』、『0.5～1 頭（平均）』、または『寄生率で 30～40%』などが推奨され、リンゴでは『葉あたり成幼虫数 3 頭の樹が園内に 10% に達したとき』、などが推奨されている（高木, 1998）。一般的には、これらの基準を参考にして、各県で独自の防除基準が設定されている。表記方法としては『葉当たり寄生数』または『寄生率』が一般的である。

葉当たり寄生数（または寄生率）を算出するためには、例外なく、ルーベによるハダニの観察が基本となり、生産者にとって、やっかいな作業となっていることは否めない。ルーベ利用による観察では、生産現場で迅速な判断が可能となるものの、寄生を見逃したり、加害された葉を中心に観察して寄生密度を過大推定したりするおそれもある。各県において、ハダニを観察する葉の枚数、観察する樹の本数、樹における観察対象となる葉の位置等、調査手法を詳細に設定している場合があるものの、多数の葉をルーベによって忍耐強く観察することは極めて困難と言わざるを得ない。防除基準を参考にした薬剤散布を励行するためには、ルーベを使用しない、比較的簡易な方法でハダニの発生を把握する必要がある。

II 簡易なハダニ寄生密度の推定法

筆者らの研究チームでは、リンゴに寄生するハダニの寄生密度を推定するため、ブラッシングマシン（ハダニ掃落調査機）と実体顕微鏡を利用している。樹当たり 30 葉を 3 樹から採集し、実験室内において次のような行程でハダニを計数している。まず、ブラッシングマシンの回転する 2 本のブラシの間に、葉の柄をもって 2 回、さらに持ち替えて葉の先端をもって 2 回挿入し、下に置いた浅皿にハダニを払い落とす（筆者らは、ブラッシングマシンに付属するガラス円盤を使用せず、ディスクの透明カップのふた（直径約 13 cm）に 5～10 倍希釈の食器用洗剤液を塗って使用している。積み重ねることができるので、冷蔵庫に一時的に保存してから観察することもできる）。次に、浅皿に落ちたハダニを実体顕微鏡で観察し、雌成虫を種ごとに計数する。ランダムに採集した 90 葉に寄生するハダニを計数することにより、ある程度の精度でハダニ密度を推定できると考えている。

A Counting Method to Estimate the Density of Spider Mites.
By Shingo TOYOSHIMA and Masaaki TAKANASHI

（キーワード：ナミハダニ、密度推定、払い落とし法、押しつぶし法、リンゴ）

残念ながら、ブラッシングマシンと実体顕微鏡といった専門的な機器を使用するこの作業を、生産者にお願いすることは無理である。そこで、ブラッシングマシンと実体顕微鏡のそれぞれの行程を、簡易な方法に置き換えれば生産者にも取り組むことができると考えた。つまり、ブラッシングマシンの行程を簡易な払い落とし法に置き換え、実体顕微鏡で観察する行程を押しつぶし法に置き換え、二つの簡易な方法を組み合わせるとハダニの寄生密度を推定する、というものである。いずれの方法も、生産現場で実戦可能な方法である。押しつぶし法については、複数の研究例が報告されているものの、多くの生産現場で取り組まれているとは言えない。そこで、まず、それぞれの行程に当てはめ可能な既知の方法を紹介し、ルーペ観察との比較により、利点と欠点を整理する。

(1) 払い落とし法

個々の葉からハダニを払い落とす簡易な方法は現在までに知られていない。しかし、同様の方法として、木製の棒で樹木をたたいて、寄生するダニ類を落とす方法が知られている (SHREWSBURY and HARDIN, 2004 など)。我が国では、ミカンの主枝を手でたたいてミカンに寄生するカブリダニ類と昆虫類を粘着フィルム上に払い落として、寄生密度を推定する研究例が報告されている (KATAYAMA et al., 2006)。

たたき落とし法では、果樹園内の広範囲における多数の樹を調査対象にすることで、果樹園全体の平均的な発生傾向を知ることができる。また、生産現場で実施するので、「判断基準を迅速に得る」という目的にふさわしい方法とも言える。この場合も、ルーペや肉眼でハダニを観察することになるものの、1枚の板 (例えば、粘着板など) を観察するので、ルーペによって多くの葉を個別に観察する方法に比べると労力は軽減され、効率は格段に向上すると考えられる。また、ハダニの識別という観点からも、効率が向上していると考えられる。葉に寄生するハダニを識別する場合、葉色とハダニの色が似ている場合が多く、その識別は容易ではない。一方、たたき落とし法では、使用する板の色や材質を工夫すれば、容易にハダニを識別できると考えられる。

ただし、払い落とし法は、吐糸量の少ないハダニ種では適用できるが、吐糸量の多いハダニ種では適用が困難であるなどの欠点を有する。例えば、吐糸量が少なく、立体網を形成しないミカンハダニやリンゴハダニは、葉の表面に生息するのである程度の衝撃で落下するが、吐糸量が多く、不規則な立体網を形成するナミハダニでは、かなり強い衝撃を与えたとしても、たたき落とすことは難しい。密度が高くなればなるほど、立体網は強力

なものとなり、たたき落としによる計測値と寄生密度との相関がなくなると考えられる。つまり栽培管理上、最も重要なハダニ種の一種であるナミハダニの密度推定には不向きであるかもしれない。

筆者らはたたき落とし法よりも、ブラッシングマシンのように、ブラシなどで葉に寄生するハダニを払い落とす方法のほうがよいと考えた。麺類をつかむトングのような形に2本のブラシを加工すれば、ブラッシングマシンと同じように2本のブラシで葉を挟んで、効率的に葉の表裏に寄生するハダニを一度に払い落とすことができるだろう。このブラシを使用して、葉に寄生するハダニを黒色の板に払い落とせば、ルーペなどを利用して計数することも可能となる。

(2) 押しつぶし法

体長約0.5 mmのハダニを肉眼で観察することは難しいが、それを紙面上に押しつぶして得られる斑点は、容易に肉眼で識別することができる。この方法は、VENABLES and DENNY (1941) や AUSTIN and MASSEE (1947) らがプリント法として紹介するなど、古くから、有効性が検討されてきた。我が国においても、舟山 (1997) と伊澤 (1997) が同様の方法を紹介している。舟山 (1997) では、粘着ポリウレタンと感水紙を利用した簡易ハダニ密度推定法が紹介されている。ナミハダニが寄生しているリンゴ葉を粘着ポリウレタンに押しつけてナミハダニを付着させ、感水紙を押し当ててナミハダニをつぶし、得られる斑点を計数する、というものである。粘着ポリウレタンは、ハンディクリーナーのローラー部分に使用されているものをはがして使用し、残るローラーは押しつけるときなどに利用することができる、などの利点を挙げている。一方、伊澤 (1997) は、ナシに寄生するハダニ種を判別して計数する方法として、アクリル製透明カバーが付いた粘着板を利用した簡易判別法を紹介している。これにより、ナシの主要発生種であるナミハダニ、カンザワハダニ、クワオオハダニを判別することが可能であり、防除適期の把握、殺ダニ剤の選択に当たって実用的であると考察している。

しかしながら、いずれの方法も、個々の葉を台紙などに押しつけて寄生するハダニをつぶし、得られる大小の斑点を観察する方法なので、たたき落とし法に比べると、労力と費用がかかるだろう。そのため、果樹園全体の平均的な発生傾向を知るために多数の葉を観察するような場合には、ルーペによる観察との併用が不可欠であると思われる。

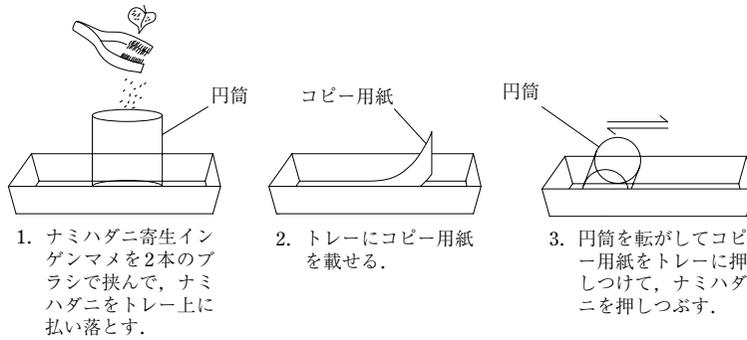


図-1 払い落とし法と押しつぶし法の組み合わせによるハダニ密度推定法の行程

III 組み合わせによる密度推定

筆者らは、押しつぶし法における「多数の葉を処理できない」という欠点を補うために、押しつぶし法に払い落とし法を組み合わせることを考えた(図-1)。多くの葉を採集し、それらを個々に押しつぶしたり、ルーペで観察したりするのではなく、ブラシによって寄生するハダニを1箇所に払い落とし、その後、一気に押しつぶして得られる斑点を計数することにより、作業効率が改善されと考えられる。次に、この方法の寄生密度の推定精度と利用上の欠点について解説する。

(1) 払い落とし効率と斑点形成率

豊島ら(2008)の実験に使用したブラシは、実験室ではどこにでもある「試験管ブラシ(ナイロンブラシ部の直径が3~4 cm、長さが10 cm程度)」の2本をトンゲ状に連結して使用した。試験管ブラシは、一般に入手が簡単なものとは言えないが、同じような材質や形状のものを入手することはできるだろう。

このブラシを利用して、まず、実験室でナミハダニ雌成虫を接種したリンゴ葉からの払い落としと押しつぶしの検証を行った。リンゴ葉の柄をもって葉をブラシに挟んで寄生するナミハダニを払い落とす場合、寄生密度によって払い落としの割合が異なった(図-2)。寄生密度が葉当たり雌成虫1頭の場合、1回のブラッシングによって0.82頭が払い落とされ、2回のブラッシングによって0.87頭が払い落とされる。葉当たり5頭では3.3頭(1回)と4.2頭(2回)、葉当たり10頭では4.2頭(1回)と5.5頭(2回)であり、寄生密度が高くなると払い落とし効率が悪くなる傾向が見られた。

また、葉当たり1頭が寄生しているリンゴ葉30枚を一気に払い落とすとしてコピー用紙に押しつぶして得られる

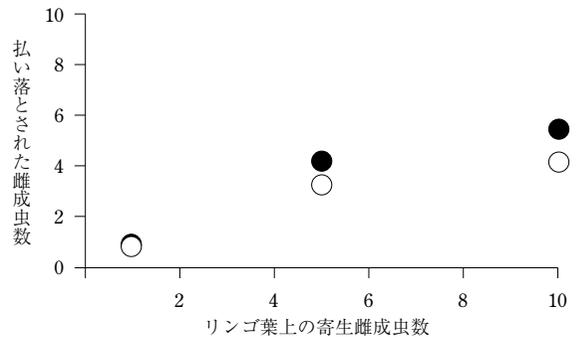


図-2 寄生雌成虫とブラッシングにより払い落とされるナミハダニ雌成虫数の関係
○が1回のブラッシング、●が2回のブラッシングで払い落とされる数を示す。

斑点を計数すると18.3個であり、葉当たり10頭のリンゴ葉1枚から払い落としとして得られる斑点数は4.8個となった。前者は、30頭が払い落とされ、30頭が押しつぶされることを前提としており、計算上、斑点形成率は約61%となり、一方、後者では、10頭が払い落とされて10頭が押しつぶされることを前提としているので、48%の斑点形成率となる。払い落とし法に押しつぶし法を組み合わせることにより斑点形成率は悪くなり、それは寄生密度が高くなると、いっそう斑点形成率が低下する傾向がある。

(2) 発育ステージが混在する野外サンプルの場合

リンゴ園から葉を採集する場合、一般に、ハダニ類の発育ステージが混在する。払い落とししたハダニを押しつぶさずに実体顕微鏡で観察すれば、他の発育ステージから雌成虫を判別することは容易である。ところが、払い落とししたハダニを押しつぶすと、大きさや色の多様な斑

点が得られるので、雌成虫由来の斑点を判別する必要がある。雌成虫の斑点は、直径2mm程度で他の发育ステージのそれよりも大きく、色が濃くなる。この斑点を判別するためには、ある程度の「慣れ」が必要になるだろう。

发育ステージが混在する野外サンプルにおいて、「組み合わせによる密度推定」が有効か検証するためには、雌成虫の斑点を判別することに、ある程度「慣れ」が必要がある。しかし、慣れるまでにどの程度の時間が必要になるか、また、「慣れ」そのものの検証も必要になるなど、話が少しややこしくなる。そこで、模擬的に「慣れ」の状態を作りだし、その条件下で野外サンプルにおける「組み合わせによる密度推定」の検証を行った(豊島ら, 2008)。

模擬的な「慣れ」の状態として、コンピュータを利用した画像解析によって雌成虫の斑点を抽出する方法を採用した。この方法では、一定の基準で斑点を抽出することが可能なので、斑点の抽出に最も慣れた状態と見なすことができる。比較的小さい点は除外し、比較的薄い点は計数する、という条件で雌成虫の点を抽出したところ、抽出された斑点数と実際の寄生数の相関関係があった(相関係数 $r = 0.80$)。ただし、寄生数と斑点数のそれぞれの消長は図-3のようになり、寄生数が高いと斑点の計数で密度を推定することができないことが示唆された。これは、上述の払い落とし効率の低下に加えて、斑点の重なりによって、見かけ上、実際よりもかなり少ない斑点数となったことが原因であると考えられる。

(3) 斑点の計数は有効か？

生産現場に必要な情報は、発生ピーク時の正確な寄生密度ではなく、密度の上昇が始まるタイミングである。もう一度図-3を見ると、発生ピーク直前の寄生密度と斑点数の消長はほぼ一致し、「密度上昇の始まり」のタイミングをほぼ正確に推定できると考えられ、実際、寄生数が低い場合に限れば、相関係数が0.94となり、 $y = 1.55 + 0.68x$ ($r^2 = 0.89$) の式により高い精度で推定で

ることが判明した(図-4)。つまり、払い落としに引き続き押しつぶしによって斑点形成率が悪くても、斑点を一定の基準で判別できれば、言い換えると、実際の寄生数と斑点計数値の間に高い相関関係があれば、ある係数を乗じて実際の寄生数を推定することが可能となり、「密度上昇の始まり」のタイミングをつかむことができるようになる。

そこで、そのような可能性があるか、斑点の計数に慣れていない16名の生産者がどの程度の精度で斑点を計数できるか調べてみた。計数前に、生産者に判別の基準として雌成虫1頭を押しつぶした点を示した。計数時間に個人差はあったものの、おおむね、短時間で計数を完了することができた。結果は、図-5の通りである。計数値と寄生密度にほとんど関係がない(相関係数で0.3~0.4の間)、つまり、斑点を計数しても密度を推定することができない生産者は1名いたが、一方で、高い相関関係(相関係数で0.9~1.0の間)を示す生産者が

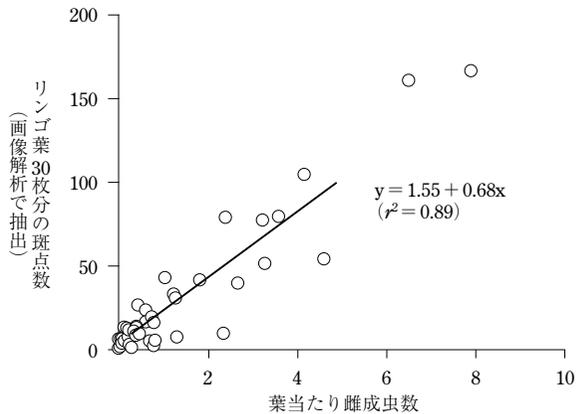


図-4 寄生密度と画像解析で抽出された斑点数の相関関係

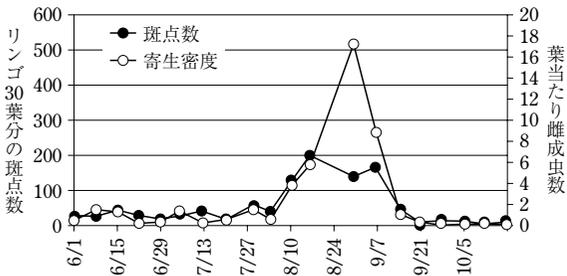


図-3 リンゴ葉上のナミハダニ寄生密度(○)の季節消長と画像解析により抽出された斑点(●)の消長

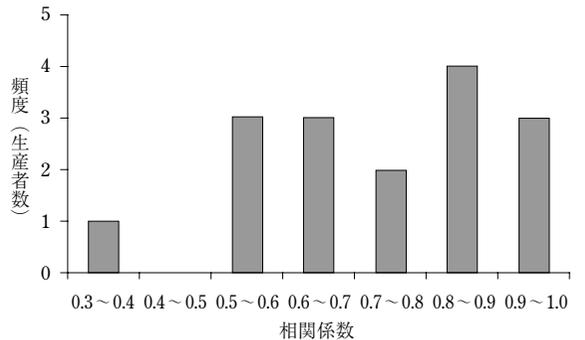


図-5 生産者が実際の斑点を計数した場合の精度

3名おり、彼らは、この方法でナミハダニの寄生密度をある程度正確に推定できるようになると思われた。相関係数で0.8～0.9を示した生産者4名についても、斑点計数の慣れによって相関係数がさらに向上する可能性がある。以上より、約半数の生産者は、斑点計数に慣れれば、本方法によってナミハダニ寄生密度を推定し、殺ダニ剤散布の要否を判断できると考えられた。

IV 実用化に向けた課題

生産者が実践できる計数法として実用化するために、①安価な道具を準備できるか検討し、②斑点の計数に慣れるためのトレーニング方法を考案しなければならない。また、③リングハダニやミカンハダニなどがナミハダニと混発する果樹園での計数方法を検討する必要がある。

図-1に概説している全行程で使用される道具として、払い落としに使用するブラシ、払い落とし範囲を限定するための円筒、払い落としの受け皿となるトレイ、食器用洗剤の希釈液、コピー用紙、押しつぶすためのローラーが必要となる。実験には試験管ブラシを使用しているが、一般の生産者が試験管ブラシを容易に入手できるとは思えない。代替のブラシの候補を選定し、それによる払い落とし効率を調査しなければならないだろう。しかし、ブラシ以外の道具については、家の中を見渡せば代替できるものは見つかるだろう。また、どのような道具になっても精度は低下しないと考えられる。

雌成虫は、齢や採餌経験により、つぶしたときに形成される斑点のサイズや色が異なるので、斑点の計数に慣れるためには、多様な斑点の「見本」を準備する必要がある。それら雌成虫の見本と除外すべき斑点の見本（若虫ステージ由来の斑点など）を観察した後に、実際の斑点の計数に取り組むほうが、判別の精度が向上すること

は間違いない。しかし、判別の精度を向上させるには、斑点計数の経験を積み重ねなければならない。

リングハダニやミカンハダニが混在する場合には、効果的な殺ダニ剤を選定するために種を判別しながら雌成虫を計数しなければならない。大きさと色で判別できるか、また、押しつぶす前に確認できるかなど、様々な角度から検討し、効率的な方法を確立する必要がある。

おわりに

前章までに紹介した簡易密度推定法は、改善の余地が多く残される未完成の技術である。そのような技術をあえて紹介したのは、ハダニを計数して殺ダニ剤を散布することが、殺ダニ剤の効果的な使用と薬剤抵抗性発達の遅延に役立つことを再認識する必要があるからである。今後、効果のある殺ダニ剤が少なくなる中で、気門封鎖型剤の活用も必要になるだろう。様々な場面において、ハダニの計数が重要な作業の一つになると思われ、生産者が容易に取り組める技術に改善していくことが重要である。

引用文献

- 1) AUSTIN, M. D. and A. D. MASSEE (1947): J. Pomol. Hort. Sci. 23: 227 ~ 253.
- 2) 舟山 健 (1997): 北日本病虫研報告 48: 189 ~ 191.
- 3) 伊澤宏毅 (1997): 応動昆中国支報 39: 1 ~ 4.
- 4) KATAYAMA, H. et al. (2006): Appl. Entomol. Zool. 41: 679 ~ 684.
- 5) 宮田将秀・増田俊雄 (2006): 北日本病虫研報告 57: 174 ~ 176.
- 6) RABBINGE, R. (1985): Spider Mites, World Crop Pest 1B, Elsevier, Amsterdam, p. 261 ~ 272.
- 7) SHREWSBURY, P. M. and M. R. HARDIN (2004): J. Econ. Entomol. 97: 1444 ~ 1449.
- 8) 高木一夫 (1998): 植物防疫講座 (第三版), 害虫・有害動物編, 日植防, 東京, p. 291 ~ 325.
- 9) 豊島真吾ら (2008): 応動昆 52: 107 ~ 112.
- 10) VENABLES, E. P. and A. A. DENNY (1941): J. Econ. Entomol. 34: 324.

農林水産省プレスリリース (21.8.7 ~ 9.15)

農林水産省プレスリリースから、病害虫関連の情報を紹介します。

<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/syokubo> の後にそれぞれ該当のアドレスを追加してご覧下さい。

- ◆ ポテトスピンドルチューバーウイルスによるトマトの病気の調査結果と今後の対応について (8月7日)
/090807.html
- ◆ プラムボックスウイルスによるウメの病気の発生調査の結

果と対応状況について (8月13日)
/090813.html

- ◆ 平成21年度病害虫発生予報第7号の発表について
/090910.html