

局所施用法によるアカスジカスミカメの 薬剤感受性検定手法

宮城県古川農業試験場 ^か加 ^{しん}進 ^{じょう}丈 ^じ二

はじめに

カメムシ類による水稻の斑点米被害は1970年代から問題視されてきたが、1999年以降の発生面積の急激な増加と被害の拡大によってその重要度はさらに高まっている。カメムシ類の多くは、寄主植物が存在する牧草地や雑草地、畦畔等で繁殖した後、出穂した水田へ飛来してイネを加害する。このため、防除対策は発生源と水田の双方に対して行う必要がある。発生源となる牧草地や雑草地ではカメムシ類の密度抑制を目的とした草刈りなどの耕種防除が主体であり、水田では殺虫剤による薬剤防除が主体である(渡邊・樋口, 2006)。宮城県においても斑点米被害が全国的に問題化した2000年ごろから薬剤防除面積が急増し、現在では水稻を作付した水田の大部分でカメムシ類を対象とした薬剤防除が行われている(図-1)。薬剤防除は無人ヘリコプターを利用した広域散布が主流であり、同一系統の薬剤が連年使用されることも少なくない。斑点米カメムシ類において薬剤感受性に関する報告は少ないが、アカヒゲホソミドリカスミカメ *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) では有機リン殺虫剤のMEP, MPPに対する感受性低下が報告されている(石本, 2004; 吉村・越智; 2010)。カメムシ類に対する薬剤防除が常態化している地域では、薬剤抵抗性の発達に注意を要する。

斑点米カメムシ類は水田内において一般に低密度であるため、薬剤抵抗性の発達にともなう防除効果の不良を水田内の発生密度から知ることは難しい。したがって、抵抗性発達の兆候は定期的な薬剤感受性の検定によって把握する必要がある。清水(1997)は水稻のカメムシ類に対する感受性検定法として、局所施用法を推奨している。様々な検定法のなかでも局所施用法は供試虫に与えた薬量を正確に把握できること、得られた結果を他者のデータと比較できる点で優れている。しかし、局所施用法による感受性検定を進めていくうえで、検定結果への影響が想定される諸条件について基礎的知見を得たうえ

で検定方法の標準化を行っておく必要がある。そこで、宮城県における斑点米カメムシ類の最重要種であるとともに、近年の発生や被害の拡大から全国的に重要視されているアカスジカスミカメ *Stenotus rubrovittatus* (Matsumura) を対象に薬液の施用量と供試虫の条件について検討した(KASHIN and WATANABE, 2012)。本稿では、その内容を紹介したうえで、アカスジカスミカメにおける検定の手順を簡単に述べる。なお、研究の一部は独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センターでの依頼研究員の際に実施したものである。

I 局所施用法における諸条件の検討

1 施用量の設定

局所施用法では一般にマイクロアプリーターが用いられる。薬液を吸引したマイクロシリンジをマイクロアプリーターに装着し、マイクロアプリーターのハンドルを操作して一定量の薬液を虫体に施用する。この際、薬液の施用量には注意を払う必要がある。アカスジカスミカメはカメムシ類のなかでも小型の種で、その体重は雄成虫で1.7~1.8 mg、雌成虫で2.7~3.6 mg程度である。1個体当たりの施用量が多すぎると薬液が虫体から溢れて検定結果に影響を及ぼす恐れがある。適正な施用量を知るため、次のような方法で試験を行った。

炭酸ガスで麻酔した成虫をろ紙の上に置き、発色剤としてプロモフェノールブルーを添加したアセトンを1個体当たり0.08~0.80 μ lの範囲で胸部背面に局所施用した。ろ紙に黄色汚点が現れた場合をオーバーフローと判断し、その有無を調査した。0.08~0.20 μ lの範囲ではオーバーフローは確認されなかったが、0.36~0.80 μ lの範囲では施用量が多くなるにしたがってオーバーフローの発生頻度が高まった(図-2)。また、その頻度は雌成虫に比べて体サイズの小さい雄成虫のほうが高い傾向を示した。ウンカ類ではアセトンの施用量を増やすと死亡率が高まることが報告されている(SANADA-MORIMURA and MATSUMURA, 2011)が、アカスジカスミカメの雌成虫の場合、1個体当たりのアセトンの施用量が0.04~0.20 μ lの範囲では死亡率に影響しないことを確認した。これらの結果から施用量の上限は0.20 μ lと判断した。下限については特に検討しなかったが、アセトンは揮発し

Method of Testing Insecticide Susceptibility of *Stenotus rubrovittatus* (Hemiptera : Miridae) by Topical Application. By Joji KASHIN

(キーワード: アカスジカスミカメ, 薬剤感受性, 局所施用法)

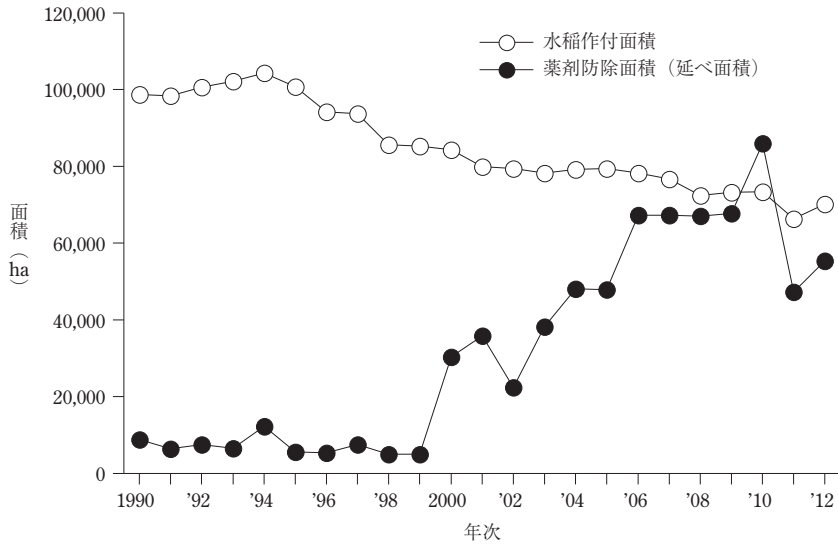


図-1 宮城県における水稲の作付面積とカメムシ類に対する薬剤防除面積の推移 (宮城県病害虫防除所発行, 植物防疫年報より)

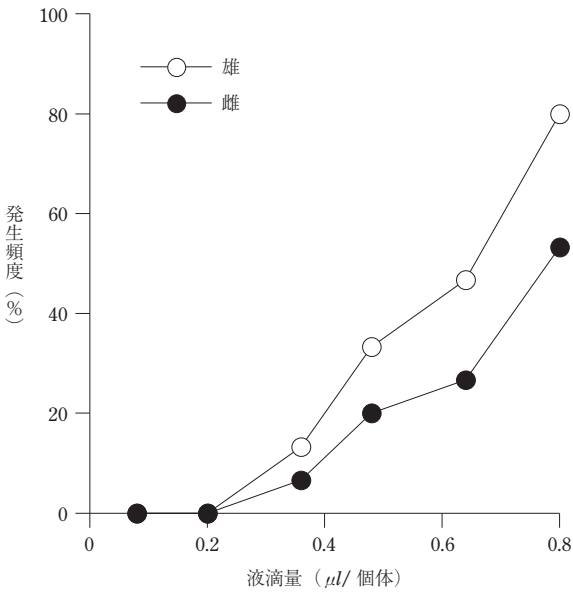


図-2 アカスジガasmicame成虫に局所施用した液滴量とオーバーフローの発生頻度の関係 (KASHIN and WATANABE, 2012 より)

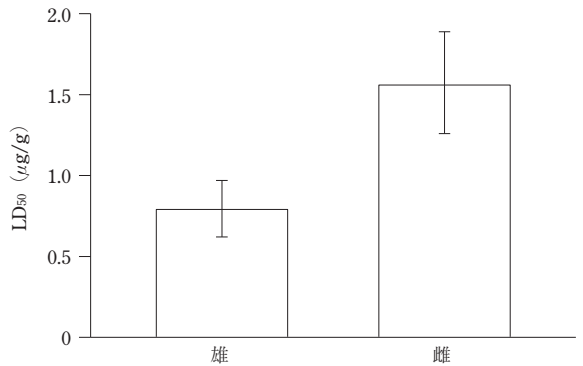


図-3 アカスジガasmicame成虫における MEP 感受性の雌雄間差

(KASHIN and WATANABE, 2012 より作図)
2009年に千葉県香取市で採集し累代飼育した個体群を用いて検定。
LD₅₀は薬剤処理24時間後の死虫率より算出した。バーは95%信頼区間を示す。

やすい性質であるため、施用量を減らすほど施用時に迅速さと精確さが要求される。また、施用時の虫体の濡れを肉眼で確認しながら行うのが安全である点を考慮すると、0.08 ~ 0.20 μlが適正な範囲と思われる。

2 雌雄, 羽化後日数による感受性の違い

感受性検定では雌雄間差や齢期による変動を考慮し、

供試虫の雌雄または羽化後日数を一定条件に揃えるのが一般的である。アカスジガasmicameにおけるその条件を明らかにするため、雌雄と羽化後日数による感受性の違いを調べた。薬剤には MEP を用いた。

まず、雌雄成虫の感受性を処理24時間後の死虫率から得た LD₅₀ で比較したところ、雄成虫の感受性は雌成虫に比べて2倍程度高いことが確認された(図-3)。この結果は雌雄を混在させて供試した場合、雌雄の比率が変動すれば感受性の検定結果も変わってくることを示し

ている。したがって、供試虫において雌雄の区別は必要である。前述したように、体サイズの小さい雄成虫では雌成虫に比べて薬液のオーバーフローが起きやすい。これらのことから供試虫には雌成虫が適していると判断した。

次に、羽化後日齢が感受性に与える影響を検討した。MEPを用いて羽化後0～3、4～7、8～11、12～15日齢の雌成虫の感受性の違いを調べた。その結果、羽化後日数の経過とともに感受性は高まる傾向が認められたが、羽化後4～7日齢と8～11日齢の間では感受性の違いは小さかった(表-1)。雌成虫の体重は、羽化後日数の経過とともに増加する傾向が認められたが、感受性と同様に羽化後4～7日と8～11日の間では体重差が比較的小さかった。体重の変化が小さい4～11日齢の雌成虫を用いることで感受性の値が安定するものと推測された。このことから、供試する雌成虫は羽化後4～11日経過した成虫が適していると判断された。

3 MEPに対する感受性

図-3の試験に供した千葉県香取市と表-1の試験に供した宮城県大崎市の個体群について、羽化後4～11日齢の雌成虫のデータだけを用いてMEPのLD₅₀を求めたところ、千葉県香取市は1.5 μg/g、宮城県大崎市は4.0 μg/gであった。これらの値は、石本(2004)と吉村・越智(2010)が報告しているアカヒゲホソミドリカスミカメのMEP感受性系統のLD₅₀(それぞれ18.8～21.8 μg/g, 13.4～18.5 μg/g)に比べて低かった。このような感受性の地域間差、種間差についてはさらに詳しく調べていく必要がある。

II 局所施用法の手順

上記の結果を踏まえて、実際の局所施用法の手順を簡単に説明する。

1 供試虫の準備

アカスジカスミカメは、イタリアンライグラスやノビエ、メヒシバ等のイネ科植物が生えている牧草地、畦畔、雑草地等に多く生息する。これらの場所で捕虫網によるすくい取りにより採集する。イヌホタルイやシズイ等のカヤツリグサ科雑草が残草している水田でもアカスジカスミカメが高密度で発生する場合もあるので(大友ら, 2005; 加進ら, 2009), このような場所でも採集は可能である。

採集した個体はウンカ・ヨコバイ類用飼育箱などの飼育容器に入れて25℃, 16時間照明の室内に置いて累代飼育する。成幼虫の餌にはコムギ幼苗, 採卵にはアワまたはコムギの幼苗を用いる方法が報告されている(安藤・渡邊, 2007; 長澤・樋口, 2008; 2010)。また, コムギ幼苗に産卵させて, これを1～2日低温保存することでふ化幼虫をまとめて得る方法も考案されている(櫻井・榊原, 2008)。これらの方法を参考にして飼育を行い, 羽化後4～11日齢に達した雌成虫を取り出して供試虫とする。なお, LD₅₀は体重当たりの値(μg/g)で示すので, あらかじめ20～30頭の体重を2～3回測定し, その平均値から1個体当たりの体重を算出しておく。

2 薬液の準備

検定に用いる薬液は, 原体あるいは純品をアセトンで希釈して作成する。最初に調製する薬液は2%が一般的とされる。この薬液を希釈する際, 遠藤(1996)が紹介した方法は短時間で調製できて簡便である。例えば, 薬液を10段階の濃度に希釈する場合, 5 mlのガラス製バイアル瓶を10本用意し, それぞれの瓶にアセトン1 mlをあらかじめ入れて並べておく。最初に作った薬液1 mlをマイクロピペットで取ってバイアル瓶に注入する。マイクロピペットのチップの先端を瓶に差し込んだまま薬液を数回出し入れして攪拌する。ここから1 ml

表-1 アカスジカスミカメ雌成虫の羽化後日数によるMEP感受性の違い
(KASHIN and WATANABE, 2012より)

羽化後日齢	平均体重 (SE) ^a (mg/個体)	傾き (SE) ^b	LD ₅₀ (95% CI) ^b (μg/g)	効力比 ^b (95% CI)
0～3 d	2.65 (0.05) a		6.0 (5.0～7.1)	0.75 (0.59～0.96)
4～7 d	3.40 (0.04) bc	4.0 (0.3)	4.5 (3.8～5.3)	1
8～11 d	3.16 (0.08) b		3.6 (3.0～4.3)	1.2 (0.97～1.6)
12～15 d	3.63 (0.07) c		3.0 (2.6～3.6)	1.5 (1.2～1.9)

2009年に宮城県大崎市で採集し累代飼育した個体群を用いて検定。

^a 同一のアルファベットを記述した日齢グループ間にはTukeyの多重比較($P < 0.05$)で有意差がないことを示す。

^b すべての日齢グループに共通の傾きを与えた回帰式を用いてLD₅₀値および効力比を推定した。効力比は羽化後4～7日齢グループに対する比率で示した。

を取り、次のバイアル瓶に注入してまた攪拌する。この2倍希釈の作業を10回繰り返せば10段階(2~1,024倍)の薬液を短時間で調製することができる。薬液を保存する場合、アセトンに対応したパッキンを付けた蓋をした上にパラフィルムなどでさらに封をしてフリーザー内で保存する。

3 薬液の施用

マイクロアプリーケーターとマイクロシリンジの容量の組合せから1回当たりの吐出量を0.08~0.20 μ lに設定する。1濃度当たりの供試個体数は10~20個体とし、濃度は5段階程度、3反復以上行う。この際、アセトンのみを施用する対照区も設ける。1濃度分の個体を吸虫管で取り、これに炭酸ガスを吹き込んで10~20秒程度麻酔してから局所施用を行う。時計皿にガーゼを貼った台の上に供試虫を載せて行うのが扱いやすい。施用する部位は胸部背面である。仰向けになった個体はシリンジの針先を軽く当てて返しながらか施用する。この方法は永田・守谷(1970)に詳しく説明があるので参照していただきたい。なお、薬液を吐出して針先にためてから虫体に触れる方法では、虫体に与える薬液の量変動しやすい(永田・守谷, 1970)。施用する際は、マイクロシリンジの針先が供試虫に触れた状態で薬液を吐出する。

4 処理後の飼育

局所施用した個体は、餌としてコムギ幼苗数本を入れた容器内で飼育する。通気性のある透明のプラスチック容器などを用いるとよい。飼育時の温度は25 $^{\circ}$ C、16時間照明条件の室内におき、処理24時間あるいは48時間後に生死を判定する。

5 結果の解析

検定結果の解析方法は他の害虫の場合と同様である。アセトンのみを処理した対照区の結果をもとに補正した死虫率をプロビット変換し、濃度の対数値との回帰式からLD₅₀を求める(尾崎・斎藤, 1981)。PriProbit(SAKUMA, 1998)などの公開されているソフトウェアを用いるのも

便利である。

おわりに

本稿で紹介した研究は、アカスジカスミカメにおける感受性検定手法を標準化することを目的として諸条件を検討したものである。この手法をもとに、実際に使用されている主要薬剤に対する感受性を定期的に調べていく予定である。アカスジカスミカメによる斑点米被害が問題となっている他の地域においても薬剤感受性のモニタリングが進展することを期待したい。また、斑点米被害をもたらすカメムシ類は数多く知られており、複数種の発生が被害に関与している地域も多い。このような地域では、同一薬剤に対する複数種の薬剤感受性を同時に評価し、種間の感受性の違いを考慮したうえで薬剤の選択を含めた抵抗性管理手法を考えていくことが大切である。そのためには、アカスジカスミカメ以外の種に対しても標準的な検定手法を確立しておく必要がある。今回紹介した内容がその参考として活用していただけたら幸いである。

引用文献

- 1) 安藤慎一朗・渡邊朋也(2007):*応動昆* 51:55~57.
- 2) 遠藤正造(1996):*植物防疫* 50:434~438.
- 3) 石本万寿広(2004):*応動昆* 48:348~352.
- 4) 加進丈二ら(2009):*同上* 53:7~12.
- 5) KASHIN, J. and T. WATANABE (2012):*Appl. Entomol. Zool.* 47:467~473.
- 6) 長澤淳彦・樋口博也(2008):*応動昆* 52:1~6.
- 7) —————(2010):*同上* 54:197~203.
- 8) 永田 徹・守谷茂雄(1970):*植物防疫* 24:481~484.
- 9) 大友令史ら(2005):*北日本病虫研報* 56:105~107.
- 10) 尾崎幸三郎・斎藤哲夫(1981):*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, 東京, p.64~102.
- 11) SAKUMA, M (1998):*Appl. Entomol. Zool.* 33:339~347.
- 12) 櫻井民人・榎原充隆(2008):*北日本病虫研報* 59:126~128.
- 13) SANADA-MORIMURA, S. and M. MATSUMURA (2011):*Appl. Entomol. Zool.* 46:443~447.
- 14) 清水喜一(1997):*植物防疫* 51:182~185.
- 15) 渡邊朋也・樋口博也(2006):*同上* 60:201~203.
- 16) 吉村具子・越智昭彦(2010):*北日本病虫研報* 61:121~124.