

# ペンチオピラドのキュウリうどんこ病菌に対する感受性検定法

三井化学アグロ株式会社 農業化学研究所 生物評価グループ おほら としあき つつみ きょうこ 小原 敏明・堤 京子

## はじめに

ペンチオピラド (試験開発番号: MTF-753) は、三井化学アグロ株式会社が創出し開発した新規殺菌剤である。本化合物は、カルボン酸アミド系殺菌剤に属し、ミトコンドリア電子伝達系複合体 II のコハク酸脱水素酵素の反応を阻害する SDHI (Succinate De Hydrogenase Inhibitors) 剤である。1966～90 年代に開発されたカルボキシンの SDHI 剤の特徴は、黒穂病菌、さび病菌、紋枯病菌等の担子菌による病害のみに対し高い活性を示すことであった。一方、本系統の中には灰色かび病菌に対する活性を示す化合物が存在することが明らかにされていた (EDGINGTON and BARRON, 1967)。しかしながら、当時 (1991 年)、灰色かび病およびうどんこ病に対し活性を示す SDHI 剤は開発されておらず、三井東圧化学株式会社 (現、三井化学アグロ株式会社) の研究陣は、灰色かび病およびうどんこ病等の子嚢菌による病害に対する活性を指標に合成展開を開始した。その結果、1995 年に担子菌による病害だけでなく灰色かび病、うどんこ病およびリング黒星病等の子嚢菌による病害に対しても活性を示すペンチオピラドを見いだすことに成功した (柳瀬ら, 2006; YOSHIKAWA, et al. 2011; YANASE, et al. 2013 a; 2013 b)。現在、本化合物の子嚢菌および担子菌に効果を示すスペクトラムを活かし、2009 年に芝用 (商品名 ガイア® 顆粒水和剤)、2010 年に野菜・果樹用 (商品名 アフェット® フロアブル)、2014 年に果樹用 (商品名 フルーツセーバー®) 殺菌剤として、灰色かび病、うどんこ病、黒星病および *Rhizoctonia* 属菌による病害を中心に国内登録を取得し、海外市場も含め開発・適用拡大を進めている。

ウリ類うどんこ病は、*Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*) および *Golovinomyces cichoracearum* (syn. *Erysiphe cichoracearum*) によって引き起こさ

れるキュウリ、メロン、スイカ等のウリ科作物の重要病害の一つである。これまで、我が国における病原菌は主に *P. xanthii* によって引き起こされると考えられていたが (我孫子・岸, 1979)、近年、*G. cichoracearum* によっても引き起こされることが確認され (UCHIDA et al., 2009)、ウリ類うどんこ病を引き起こす病原菌が 2 種類存在することが明らかにされている。一方、ウリ類うどんこ病に対し、卓効を示す殺菌剤として、ベンズイミダゾール系殺菌剤、エルゴステロール合成阻害剤 (EBI 剤: Ergosterol Biosynthesis Inhibitors)、ストロビルリン系殺菌剤 (QoI 剤: Quinone Outside Inhibitors)、シフルフェナミド剤等が登録を取得しているが、既に耐性菌の存在が確認されており、薬剤耐性リスクが高い病害の一つとされている (飯田, 1975; OHTSUKA, et al. 1988; 細川ら, 2006; 石井, 2012; ISHII, 2014)。

近年、子嚢菌に効果を示すペンチオピラドを始めとする SDHI 剤の開発が進む中で本系統に対する耐性菌の存在が国内および海外で確認され、報告されている (石井, 2012; SIEROTZKI and SCALLIET, 2013; ISHII, 2014)。代表的な農業化学品製造会社の殺菌剤研究員、専門家から構成される耐性菌対策のための国際委員会 Fungicide Resistance Action Committee (FRAC: 日本支部, Japan FRAC/URL; <http://www.jfrac.com/>) では、耐性リスクを殺菌剤、病原菌、栽培条件の 3 要素に分類、それぞれが複合的に関与するとし、そのリスクについて高～低に分類している。殺菌剤の耐性リスクは、高、中および低程度の 3 段階に分類され、その中でも SDHI 剤は中程度 (2) とされている。また、病原菌の耐性リスクについても、高、中および低程度の 3 段階に分類され、キュウリうどんこ病菌については高程度 (3) とされている。したがって、SDHI 剤によるキュウリうどんこ病菌防除場面での複合リスクは、SDHI 剤とキュウリうどんこ病の耐性リスクを掛けあわせた (6) となる。実際、日本においては、2009 年、SDHI 剤であるボスカリド耐性のキュウリうどんこ病菌の発生が確認されており (宮本ら, 2009; MIYAMOTO et al. 2010)、感受性モニタリングに基づいた耐性菌マネジメントが必要とされている。

ペンチオピラドについては、灰色かび病菌、リング黒星病菌、トマト葉かび病菌、ナスすすかび病菌およびキ

Sensitivity Testing Method of Cucumber Powdery Mildew Caused by *Podosphaera xanthii* for Penthiopyrad. By Toshiaki OHARA and Kyoko TSUTSUMI

(キーワード: 殺菌剤, SDHI 剤, 感受性検定方法, キュウリうどんこ病菌)

キュウリうどんこ病菌に対する感受性検定方法が検討・確立され、それぞれの病原菌における感受性ベースラインが設定されている(櫻井, 2007; SAKURAI et al., 2011)。ウリ類うどんこ病菌については、日本各地(10道県)から採取された48菌株を対象とし、キュウリ幼苗を使用したポット試験方法によって、MIC値(最小生育阻止濃度) = 1.56 ~ 25 ppm, EC<sub>50</sub>値(50%生育阻止濃度) = 0.39 ~ 6.25 ppm, 感受性ベースラインは25 ppm以上と設定されている(SAKURAI et al., 2011)。一方、本菌の感受性検定として一般的に使用されている方法がSCHEPERS(1984)のリーフディスク法である。本法の詳細については、「植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル」のウリ類うどんこ病菌(中澤・大塚, 1998)およびIIのキュウリうどんこ病菌(石井, 2009; 武田, 2009; 植草ら, 2009; 山中, 2009)に詳細に記載されており、ベンズイミダゾール系殺菌剤、EBI剤、QoI剤、シフルフェナミドだけでなく、新規うどんこ剤であるピリオフェノンの感受性検定にも用いることができることが明らかにされている(小川, 2014)。しかしながら、従来の方法は、キュウリ子葉を用いるため多くの植物を準備する必要があること、作業上の問題として、薬液上にリーフディスクを浮かべて検定するため、運搬中などのわずかな振動でリーフディスクが薬液で濡れ発病が著しく低下する場合があること、また、化合物の物性・特徴、すなわち、化合物の水溶解度、化合物の浸達性および治療効果の有無、化合物の水中共分解性によって正確な検定ができない可能性があること等が問題点として挙げられる。特に、ペンチオピラドについては浸達性を有するものの、QoI剤およびEBI剤ほどの優れた浸達性を示さないことから、感受性検定はキュウリ幼苗を用いたポット試験法を採用していた(櫻井, 2007; SAKURAI et al., 2011)。しかしながら、ポット試験による検定では多くの供試植物と広い閉鎖的空間が必要であり、リーフディスクを用いた簡易な感受性検定方法を検討・開発する必要があった。筆者らは、以上の問題点を解決しつつ、従来の方法に準じたリーフディスク法について検討した結果、ポット試験と同様な結果が得られるリーフディスク素寒天培地法が有効であることを見いだした(堤ら, 2014)。本稿では、ペンチオピラドの感受性検定方法として確立したリーフディスク素寒天培地法について紹介する。

## I サンプルング方法

従来、サンプルング方法については、十分にまん延したうどんこ病菌の分生胞子を集めるとされていた(中

澤・大塚, 1998; 武田, 2009; 山中, 2009)。しかしながら、複数の病斑から形成された分生胞子を用いた場合、反復試験によって感受性検定結果が大きく異なる場合が多く、感受性の判断が困難になることがある。したがって、うどんこ病菌の新鮮な分生胞子が形成され、かつ単一の病斑を含む罹病葉を採取する。特に、単一な菌株を分離するためには、初期病斑(4~10 mm程度)を採取するのが望ましい。圃場における採取場所としては、1圃場の発病状況を反映できる地点2~4箇所から罹病葉各1枚程度を採取する。必ず防除に使用した薬剤の防除暦および採取前に処理した薬剤の使用履歴を記録しておく。また、検定の対象となる薬剤の散布後数日以内の圃場からの採取は避ける。

採取した罹病葉は1枚ずつポリ袋に入れ、実験室に持ち帰る。遠隔地へ輸送する場合は、罹病葉の葉柄を湿らせたティッシュペーパーなどで包みラップフィルムで覆うことで、比較的長い時間の輸送にも対応可能である。また、ポリ袋に空気を入れ膨らませておけば、罹病葉の分生胞子が袋に付着するリスクを低減できる。

## II 接種源の準備

キュウリうどんこ病菌は絶対寄生菌であり無菌的な培地での増殖は不可能である。したがって、感受性検定を実施するにあたり、できるだけ単一な菌株を分離し、宿主であるキュウリ葉上で十分量の分生胞子を増殖させる必要がある。単一な菌株の分離(単胞子分離)については「植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアルII」(石井, 2009)に記載の方法で単胞子分離を行うことが望ましいが、煩雑であるため、検定数が多い場合は困難である。そのため、筆者らは、簡便な方法として単一な初期病斑のみを分離の対象とした。しかしながら、単一の菌株から得られた少量の分生胞子を用いた場合、一般的なダスティングによる接種では十分量の分生胞子を確保できないという問題があった。筆者らは、キュウリうどんこ病抵抗性検定に使用されている噴霧接種法(森下ら, 2002)を参考にし、単一な病斑から十分な分生胞子を確保する方法を確立することができた。以下、詳細について述べる。

### 1 接種用キュウリ葉の準備

他の病斑から分離した菌株と隔離するために、腰高シャーレを利用する。腰高シャーレに深さ約2~3 cmとなるように0.8%素寒天培地を流し込み、固める。この腰高シャーレにキュウリ(品種‘相模半白’)の第一本葉を刺し込んだものを準備する(図-1A)。

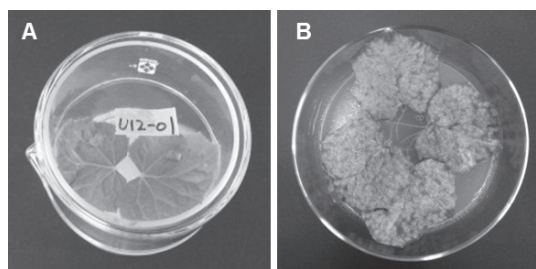


図-1 キュウリうどんこ病菌の分離と接種源の準備  
 A: 腰高シャーレを用いた罹病葉からの単病斑分離。  
 B: 噴霧接種による接種源の準備。

## 2 罹病葉からの分離

圃場からサンプリングした罹病葉の単一な初期病斑(4～10 mm 程度)をハサミなどで切り取り、(1)で準備した0.8%素寒天培地を含む腰高シャーレ中のキュウリ葉に分生子が触れるように接種・静置する(図-1A)。

## 3 培養条件

キュウリ第一本葉に罹病葉片を静置した腰高シャーレを照明付きインキュベーター内、20～23℃、2,000～3,000 Lux、1日12時間照明下で7～10日間培養し、単一病斑から形成・分離された病斑から必要最低限の分生胞子を得る。

## 4 接種源の準備

十分な分生胞子を確保するために、森下ら(2002)の方法によって分生胞子懸濁液を準備する。2 ml 容のエッペンチューブに滅菌した蒸留水1.5 mlを分注後、1-(3)で得られた病斑部分(4～10 mm 程度)を入れ、ボルテックスなどでよく攪拌する。分生胞子数が $1 \times 10^5 \sim 6$ 個存在することを確認後、作成した分生胞子懸濁液を腰高シャーレに準備したキュウリ第一本葉に小型スプレー(Mini Compressor IS-51, ANEST IWATA Co.)を用いて噴霧接種し、10～15日間培養する(図-1B)。なお、噴霧接種はキュウリ第一本葉全体が濡れる程度であればよく、分生胞子懸濁液も作成後10日間は使用可能である(森下ら, 2002)。

上記の方法で、単一な病斑から分離、さらに分離した菌株から十分な分生胞子を得ることが可能である。筆者らは、単一な病斑から十分量の分生胞子を得るために1節から4節の手順で行ったが、サンプリングした罹病葉が新鮮であれば4節の手順のみで十分であり、得られた分生胞子を検定に利用することも可能である。

## III リーフディスク素寒天培地法による感受性検定

キュウリうどんこ病菌に対する従来のリーフディスク法(中澤・大塚, 1998; 武田, 2009)は以下の手順で行

うことが「植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル」に記載されている。

- ①準備したキュウリ子葉からコルクボーラー(径10 mm)でリーフディスクを打ち抜く。
- ②リーフディスクを湿ったろ紙に葉表を上にして並べる。
- ③リーフディスクを円筒シャーレ内に置き、その上から分生胞子を払い落とし接種する。
- ④所定濃度の薬液を入れたシャーレに接種したリーフディスクを浮遊・薬剤を処理する。
- ⑤培養8日後調査、発病度を算出、MIC値とEC<sub>50</sub>値を求める。

筆者らは、従来のリーフディスク法の①④の下線部の部分を改変し、ベンチオピラドの感受性検定方法としてリーフディスク素寒天培地法を確立した。変更した①キュウリ子葉については、実際に発病する部位が本葉であること、ベンチオピラドの感受性ベースラインがキュウリ幼苗を用いた検定結果であること、本葉の方が多くのリーフディスクを確保できることから、キュウリ子葉ではなく本葉を用いることにした。④の薬剤処理法については、ベンチオピラドの化合物の物性・特徴に合わせた処理方法に変更する必要がある。山中(2009)は、薬液を含む素寒天培地で感受性検定が可能であることを明らかにした。しかしながら、薬剤の水溶解度、浸達性およびペーパーアクションによって感度が大きく低下する可能性があることを問題点として挙げている。したがって、ベンチオピラドの感受性検定を考慮した場合、素寒天培地上での検定は問題ないが、薬剤の処理方法が課題であった。薬剤の処理方法については、浸漬処理および散布処理を検討したが、浸漬処理が簡易かつ薬剤処理が均一になるため、浸漬処理を採用した。以下、②④の部分を改変したリーフディスク素寒天培地法による感受性検定の詳細について述べる(図-2)。

### 1 検定方法

#### (1) リーフディスクの作成

育苗用バットに市販の野菜用育苗培土をつめ、キュウリ種子(品種‘相模半白’)を播種する。播種1週間後、子葉が展開した苗を小型ポット(直径5～10 cm程度)に定植し、1～1.5葉期(本葉が10～15 cm程度)になるまで栽培した苗の第一本葉を供試する。なお、栽培は一般的な温室(室温20～28℃程度)であれば問題ない。得られた第1本葉を用いて、径11.5 mmのコルクボーラーでリーフディスクを打ち抜く。得られたリーフディスクを蒸留水で湿らせたろ紙を敷いたシャーレ(直径20 cm)に葉表を上にして並べる。この際、栽培状況

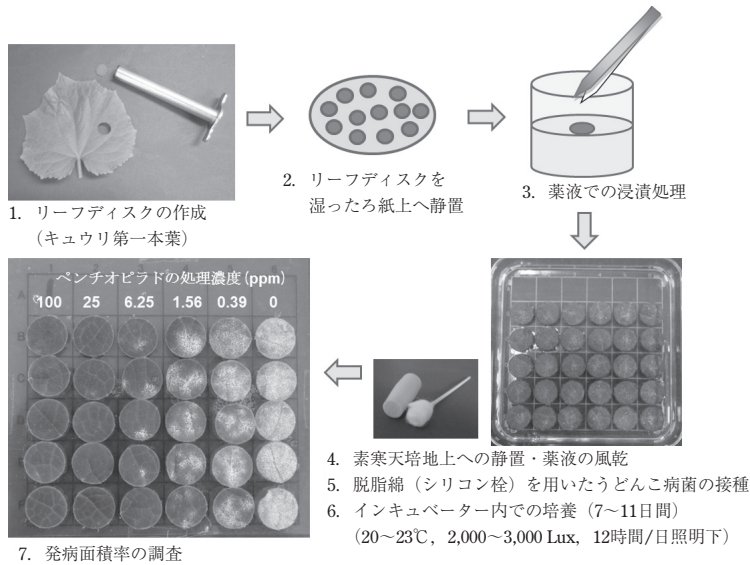


図-2 リーフディスク素寒天培地法による感受性検定

によって各ポットの本葉の感受性が異なる場合があるので、打ち抜いたリーフディスク(第1葉ごと)のグループとして並べ、反復も含めて均一になるように試験に供試するのが望ましい。

#### (2) 検定用素寒天培地の準備

0.6%素寒天培地を含む角型シャーレを検定に供試する。0.6%となるように寒天を調製した素寒天培地を検定用角型シャーレ(100 mm × 100 mm × 15 mm: D210-16 Polystyrene Sterile Square Petri Dish With Grid, Simport Plastics®)に35 ml程度分注し、風乾する。

#### (3) 薬液処理

試験には、市販されているペンチオピラド20%フロアブル(商品名 アフェット®フロアブル)を供試する。実用濃度である2,000倍(100 ppm)希釈液を作成し、さらに所定の濃度(0, 0.39, 1.56, 6.25, 25, 100 ppm)となるように希釈、50 mlのビーカーに薬液を準備する。なお、展着剤を加用する必要はない。(1)で準備したリーフディスクを薬液に浸漬処理(5~10秒程度)、ビーカーの口で適度に薬液を取り除いた後、(2)で準備した素寒天培地を含む角型シャーレ内に並べ、リーフディスクを風乾する。筆者らは1濃度につきリーフディスクを5枚用いて試験を実施している。

#### (4) 接種

単一な初期病斑から分離・増殖した接種源を供試する。本稿では、一般的なダスティング法とドロップ法について紹介する(図-3)。ダスティングによる接種では、丸めた脱脂綿またはシリコン製の培養栓等で分生胞子を

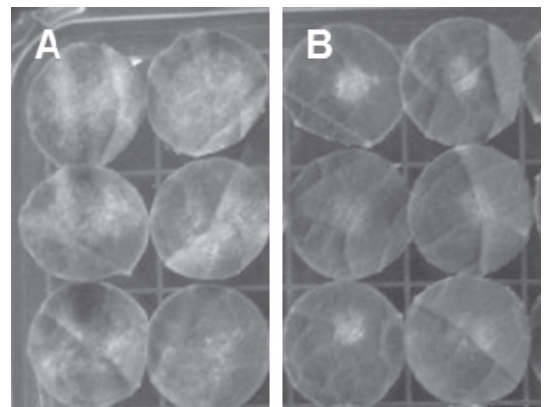


図-3 接種方法の違いとキュウリうどんこ病菌の発病  
A:ダスティング法, B:ドロップ法。

かき取り、直接リーフディスクに擦りつける。この際、面倒でもリーフディスクごとに接種源からかきとるほうが発病は均一となる(図-2および図-3 A)。なお、ダスティングによる接種法は病斑面積率を算出できるため、EC<sub>50</sub>値を算出するための詳細な検定に有効である。

多くの菌株を用いた感受性検定を想定し、発病の有無のみMIC値を確認するのであれば、ドロップ法も有効である(図-3 B)。ドロップ法では、 $1 \times 10^5 \sim 10^6$ 個に調整した分生胞子懸濁液を作成、リーフディスクに10 μlずつ滴下・接種する。本方法は、滴下した部分のみ病斑が形成されるため、発病面積率が算出できないことが欠点である。しかしながら、発病の有無が明瞭であること、接種源が少量でも検定が実施可能であること、各ステー

ジの分生胞子が均一に含まれるため発病が均一になることが利点である。したがって、感受性検定の目的に応じて、二つの接種方法を使い分けるのが望ましい。

(5) 培養条件

うどんこ病菌を接種後、リーフディスクを静置した角型シャーレを照明付きインキュベーター内、20～23℃、2,000～3,000 Lux、1日12時間照明下で7～11日間培養する。分離した菌株によって生育速度が異なるため、無処理区の分生胞子が十分に形成され、処理区との差が明確になった時点で調査するのが望ましい。

(6) 調査方法

目視で発病程度を調査する。なお、分生胞子形成を伴う病斑面積率は中澤・大塚(1998)に準じた指数を用い、各リーフディスクについて判定する。

- 0：無発病
- 1：発病面積率5%以下
- 2：発病面積率6～25%
- 3：発病面積率26～50%
- 4：発病面積率51～75%
- 5：発病面積率76%以上

(7) データ解析

データ解析については、中澤・大塚(1998)に準じた方法を用いる。基本的には、1濃度につき5枚のリーフディスクを対象とし、最大と最小の指数を除く、中間の指数3枚(反復数)について、発病度を以下の式で算出する。なお、筆者らは、対象となる5枚の指数(反復数)間の振れが小さかったため、すべてをデータ解析に用いた。

$$\text{発病度} = \frac{\sum (\text{指数} \times \text{該当リーフディスク数})}{100/5 \times \text{反復数}}$$

上式から算出された発病度と無処理区の発病度とを比較した阻害度からEC<sub>50</sub>値(50%生育阻止濃度)および

最小生育阻止濃度(MIC)を算出し、データを解析する。筆者らは、EC<sub>50</sub>値(50%生育阻止濃度)および最小生育阻止濃度(MIC)を算出するために5枚のリーフディスクを調査対象としたが、多くの菌株を対象とした場合は、3反復で十分である。

2 検定結果

日本各地からキュウリうどんこ病の罹病葉を採取し、本稿に記載した方法によって11菌株を分離した。分離した11菌株について、リーフディスク素寒天培地法を用いて感受性検定を実施した結果、ペンチオピラドの本菌に対するMIC値は6.25～25ppmの範囲、EC<sub>50</sub>値は0.39～6.25ppmの範囲であり(図-4;堤ら,2014)、1～1.5葉期のキュウリ幼苗を用いたポット試験の感受性検定結果(SAKURAI et al. 2011)とほぼ同等の値を示した。

さらに、5菌株についてリーフディスク素寒天培地法および従来法であるキュウリ幼苗を用いたポット試験法で感受性検定を実施した結果、どちらの方法においても同等のMIC値および、EC<sub>50</sub>値を確認することができた(図-5;堤ら,2014)。以上の結果は、ペンチオピラドの物性・特徴に対応した感受性検定方法であること、従来法での感受性検定結果をリーフディスク素寒天培地法によって再現できることを示している。

おわりに

ペンチオピラドのキュウリうどんこ病菌に対する感受性検定方法として、従来のリーフディスク法を改変したリーフディスク素寒天培地法を確立した。薬液上に浮かべる従来法とは異なり、リーフディスクを市販の薬剤から調製した薬液に浸漬処理するため、実際に圃場で薬剤を散布する場合とよく似た条件での評価となる。したがって、様々な物性・特徴を示す化合物の感受性検定にも利用できる可能性がある。本稿ではキュウリうどんこ病

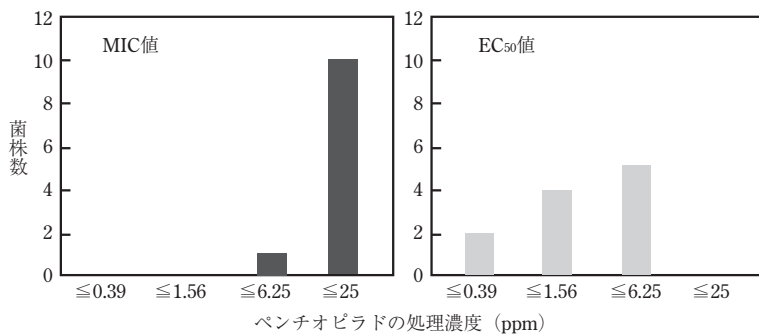


図-4 リーフディスク素寒天培地法によるキュウリうどんこ病菌のペンチオピラドに対する感受性分布

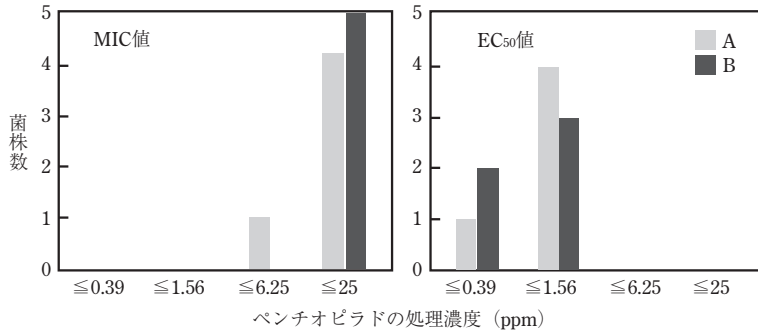


図-5 従来法とリーフディスク素寒天培地法の比較

A: 従来法 (キュウリ第一本葉を用いたポット試験法).

B: リーフディスク素寒天培地法.

菌に対する感受性検定方法を述べたが、メロンうどんこ病菌へも適用可能であることを確認している。このほか、イチゴ、ナス、トマト、ピーマン等の他の作物のうどんこ病菌の感受性検定法としても使用できると考える。しかしながら、化合物を含む薬液が付着しにくい作物を用いてリーフディスクを作成する場合、薬液に展着剤を加用するなどの検討が必要である。

農薬の開発には、非常に長い年月と多額の費用が必要であり、新規化合物が発見されてから市場に出るまで一般的に10年以上、40～50億円もの開発費用が必要となる。しかしながら、耐性菌が顕在化・まん延した場合、開発に費やされた年月や費用にかかわらず、その化合物を含む薬剤は使用不可能になる場合が多い。感受性モニタリングを実施することで各薬剤に対する感受性を把握でき、耐性菌が顕在化・まん延する前に対策をとれる可能性がある。すなわち、作用性が異なる薬剤によるローテーションや使用回数の制限によって、耐性菌密度を低下させ、病害防除に使用できる薬剤数・選択肢を維持することも可能である。本稿が、感受性モニタリングに基づいた耐性菌マネジメントの一助になれば幸いである。

#### 引用文献

- 1) 我孫子和雄・岸 国平 (1979): 野菜試研報 A. 5: 167～176.
- 2) EDINGTON, L. V. and B. L. BARRON (1967): *Phytopathology* 57: 1256.
- 3) 細川浩靖ら (2006): 日植病報 72: 260～261 (講要).
- 4) 飯田 格 (1975): 植物防疫 29: 163～166.
- 5) 石井英夫 (2009): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II, 日本植物防疫協会, 東京, p.44～46.
- 6) ——— (2012): 植物防疫 66: 481～487.
- 7) ISHII, H. (2014): *J. Pestic. Sci.* 39: 53～57.
- 8) 宮本拓也ら (2009): 日植病報 75: 216～217 (講要).
- 9) MIYAMOTO, T. et al. (2010): *J. Gen. Plant Pathol.* 76: 261～267.
- 10) 森下昌三ら (2002): 園学雑 71: 94～100.
- 11) 中澤靖彦・大塚範夫 (1998): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル, 日本植物防疫協会, 東京, p.50～52.
- 12) 小川宗和 (2014): 第24回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集: 17～26.
- 13) OHTSUKA, N. et al. (1988): *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 54: 629～632.
- 14) 櫻井誠也 (2007): 第17回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集, p.30～39.
- 15) SAKURAI, S. et al. (2011): *J. Pestic. Sci.* 36: 520～523.
- 16) SCHEPERS, H. T. A. M. (1984): *Neth. J. Pl. Path.* 89: 185～187.
- 17) SIEROTZKI, H. and G. SCALLIET (2013): *Phytopathology* 103: 880～887.
- 18) 武田敏幸 (2009): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II, 日本植物防疫協会, 東京, p.41～43.
- 19) 堤 京子ら (2014): 関西病虫害研究会報 56: 159 (講要).
- 20) UCHIDA, K. et al. (2009): *J. Gen. Plant Pathol.* 75: 92～100.
- 21) 植草秀敏ら (2009): 植物病原菌の薬剤感受性検定マニュアル II, 日本植物防疫協会, 東京, p.47～50.
- 22) 山中 誉 (2009): 同上, 日本植物防疫協会, 東京, p.51～52.
- 23) 柳瀬勇次ら (2006): 第23回農薬生物活性研究会シンポジウム要旨集: 13～16.
- 24) YANASE, Y. et al. (2013 a): *J. Pestic. Sci.* 38: 120～129.
- 25) ——— et al. (2013 b): *ibid.* 38: 188～193.
- 26) YOSHIKAWA, Y. et al. (2011): *J. Pestic. Sci.* 36: 347～356.