

新技術解説

簡易検定法によるワタアブラムシおよび
モモアカアブラムシの殺虫剤感受性検定宮崎県総合農業試験場 病害虫防除・肥料検査課 ^{まつ}松 ^{うら}浦 ^{あきら}明

はじめに

果樹、野菜および花き等の重要害虫であるワタアブラムシ *Aphis gossypii* Glover およびモモアカアブラムシ *Myzus persicae* (Sulzer) は古くから、薬剤抵抗性が発達しやすい害虫として知られている。ところが1990年代に入って上市されたネオニコチノイド剤は、それまでの有機リン剤や合成ピレスロイド剤抵抗性アブラムシにも卓効を示し、日本国内において約20年にわたり、本剤に対する抵抗性の発達は確認されなかった。しかしながら、2012年に宮崎県のピーマンとキュウリで採集されたワタアブラムシにおいて、複数のネオニコチノイド剤に対する抵抗性が確認された (MATSUURA and NAKAMURA, 2014; 松浦, 2015)。今後もアブラムシ類において新たな薬剤に対する抵抗性発達が予見されるが、生産現場において抵抗性害虫の抵抗性レベルを速やかに把握することは、効率的防除体系の構築と害虫の抵抗性管理において重要である。

これまでアブラムシ類における薬剤抵抗性の実態は、局所施用法 (西東, 2013) や虫体浸漬法 (浜, 1987) および幼苗処理法 (MATSUURA and NAKAMURA, 2014; 岡本ら, 2014) 等の植物体浸漬法などの生物検定法により明らかにされてきた。過去のデータとの殺虫効果の比較では、局所施用法が適しているが、使用器材が高価であり、手法も簡便とは言い難い。特に生産現場の防除に利用するためには、迅速かつ簡易に利用できる手法が好ましい。そのため、植物体浸漬法が比較的容易に取り組める手法ではないかと考える。植物体浸漬法にはいくつか類似した手法が存在するが、幼苗処理法やMunger cell法 (岡崎ら, 2014) は、検定容器の加工が必要であるため、加工労力や費用が必要になる点が検定実施者の負担となる。そこで市販の器材を利用し、かつ手順が簡便に実施できる簡易検定法 (松浦・日高, 2016) を開発した。

本稿では、ワタアブラムシとモモアカアブラムシに対する簡易検定法による感受性検定法の検定手順と検定結果を示すとともに、他の検定方法との比較について紹介する。

なお、本手法の開発は、農林水産省委託研究プロジェクト「ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発 (PRM2103)」により実施した。

I 簡易検定法による検定手順

1 検定植物および検定葉片

ワタアブラムシは同一種でも寄主植物が異なるバイオタイプが存在するため、検定植物には、採集または飼育植物と同じ植物を供試する。本稿ではワタアブラムシはキュウリ、モモアカアブラムシはピーマン葉片を用いた。

供試葉は健全な厚めのものを用いる。目安としてキュウリは定温25℃で播種20～30日以降、ピーマンは播種30日以降の株を供試する。キュウリは成長点を除去すると残りの葉が大きくなり、多数の葉片を確保しやすくなるので、本葉5ないし6葉目を除去後、しばらく栽培するとよい。また、肥料は多めに施用する。

検定葉片は葉片浸漬の2時間位前までに直径約5cmの円形に打ち抜き、十分に湿らせたペーパータオル上に葉裏を上にして置く。浸漬まで乾燥しないように、葉上にハンドスプレーで水道水を噴霧後、ラップをかけておく。打ち抜きには市販の打ち抜き用のベルトポンチ (販売: トラスコ中山株式会社) やお菓子作り用の円形の型 (100円ショップなどで販売) 等を利用する。

2 検定容器

①小型プラスチックシャーレ (直径6.0×深さ1.5cm, 西部株式会社製, 未滅菌), ②ペーパータオル (商品名リードクッキングペーパー), 約8×5cmにあらかじめカットし, 2枚重ねて使用する。③ガラスもしくは耐薬品性プラスチックビーカー (500ml), ④葉さじ, ⑤浸漬用ピンセット (図-1)。

3 検定容器の作製

2枚のペーパータオル (約8×5cm) を半分に折り、シャーレ内に敷いた後、水道水を1.0～1.5ml滴下する (入れすぎに注意すること)。

New and Simple Bioassay Method for Monitoring Pesticide Toxicity on *Aphis gossypii* and *Myzus persicae*. By Akira MATSUURA

(キーワード: *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, 植物体浸漬法, Munger cell法, 幼苗処理法)

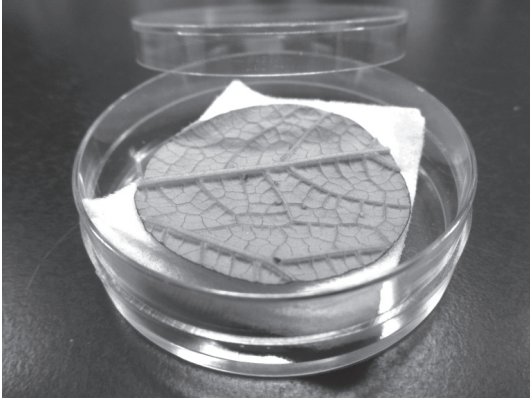


図-1 簡易検定法

小型プラスチックシャーレ（直径6.0×深さ1.5 cm, 西部株式会社製）内に、ペーパータオルを敷き、水道水を1.5～2.0 ml 滴下、検定薬液に浸漬・風乾した葉片（直径約5 cm）を入れ、アブラムシ類無翅雌成虫10頭を接種。

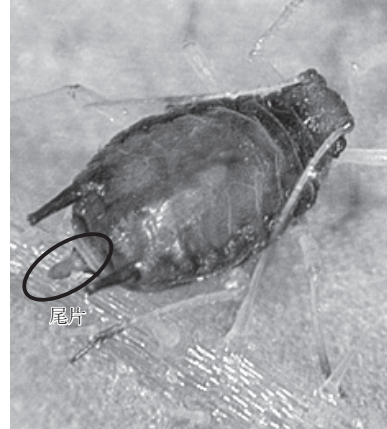


図-2 ワタアブラムシ無翅雌成虫
尾片の形状で成虫を見分ける。

4 薬液の準備と浸漬

各供試薬剤は展着剤としてトリトン X-100 (2,000 倍 0.05%) を添加した水道水で希釈する。トリトン X-100 添加水道水は、20 倍の高濃度液（要冷蔵）を作製しておき、検定前に 100 倍希釈で使用。希釈は、泡立ち防止のため水道水を 9 割以上入れた後、20 倍液を所定量添加する。冷蔵中にかびが発生した場合は作り直す。

供試薬液は 1 薬剤につき最低 200～300 ml 以上作製する。各葉片を薬液に 10 秒間浸漬後、軽く湿らせたスポンジまたはペーパータオル上に葉裏を上向きに置き、風乾後シャーレ内に移動する。浸漬後の葉片は、葉片上の薬液のおおむね 9 割以上が乾けば、シャーレに移動してよい。また、葉片はペーパータオルに押しつけず、軽く置くだけにする。

5 供試虫の接種

成虫の移動は、実体顕微鏡下で無翅雌成虫を、湿らせた面相筆を用い 10 頭/シャーレを接種する。無翅雌成虫は尾片の形状（田中, 1976）により判断する（図-2）。成虫の尾片は突起状であるのに対し、幼虫の尾片は丸みを帯びる。また、成虫より大きい 4 齢幼虫が存在するため、大きさだけで成虫を識別しない。

アブラムシは小筆の先をあごの下付近に差し込むようにすくい取ると効率よく接種できる。この採取法で死亡率が上昇することはないため、アブラムシが口針を抜くまで待つ必要はない。ワタアブラムシは、同一植物体上でも、体サイズのバラツキが大きいので、供試薬剤ごとの虫体サイズが平均的になるように配慮しながら接種する。また、元気な個体を選んで移動させる。

6 検定容器の保管と死亡虫調査

無翅雌成虫を接種した検定容器は 23～25℃ 16L8D の定温器内に重ねずに静置する。72 時間後に実体顕微鏡下で生死を判定し、ABBOTT (1925) の補正式によって各補正死亡率を算出する。葉片以外の場所で生存している個体も生存虫として計数する。試験の目的にもよるが、無処理の死亡率が 30% 以上の場合は再度検定を行う。

7 簡易検定法の問題点

シャーレ内に結露が生じると、アブラムシが溺死し、死亡率が上昇する場合がある。対策として、①シャーレ内の水道水の滴下量を 1.5～2.0 ml とする、②シャーレ上に新聞紙やティッシュ等を被せて遮光をしない、③フタの内側に付着した結露が多いときは、検定 2 日目ころに拭き取る、等が有効である。

II 簡易検定法と他の植物体浸漬法の 検定結果の比較

簡易検定法と同じく植物体浸漬法である幼苗処理法と Munger cell 法を用い、各種薬剤の感受性検定結果の比較を、ネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシ (2012 串間市) およびモモアカアブラムシ (2013 西都市) を供試し行った。ワタアブラムシの検定において、簡易検定法における無処理区の 72 時間後の補正死亡率は 5.5% と低く、幼苗処理法 6.7%、Munger cell 法 0.0% と比べて有意な差は認められなかった（表-1）。

簡易検定法の補正死亡率は、幼苗処理法とすべての薬剤で同等の結果を示した。一方、Munger cell 法もほとんどの剤は簡易検定法と同等の結果を示したが、ネオニコチノイド剤のイミダクロプリドおよびアセタミプリド、ネライストキシン類縁体剤のカルタップの 3 剤の補

表-1 簡易検定法によるネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシに対する各種殺虫剤の補正死亡率

系統 ^{a)}	供試薬剤	剤型 ^{b)}	有効成分%	希釈倍数(倍)	総供試頭数	補正死亡率(% ± S.D.) ^{c)}		
						簡易検定法	幼苗処理法	Munger cell 法
ネオニコチノイド	イミダクロプリド	WP	10	2,000	30	60.0 ± 6.7	69.2 ± 6.7	16.7 ± 15.3
	クロチアニジン	SP	16	2,000	30	40.0 ± 10.0	46.2 ± 17.6	36.7 ± 30.6
	チアメトキサム	SP	10	2,000	30	23.3 ± 15.3	3.8 ± 9.7	6.7 ± 5.8
	ジノテフラン	WP	20	2,000	30	23.3 ± 20.8	3.8 ± 4.4	0 ± 0
	ニテンピラム	SP	10	1,000	30	43.3 ± 41.6	38.5 ± 24.0	23.3 ± 11.5
	アセタミプリド	SP	20	2,000	30	86.7 ± 5.8	92.3 ± 13.3	36.7 ± 11.5
	チアクロプリド	WP	30	2,000	30	73.3 ± 20.8	92.3 ± 13.3	56.7 ± 5.8
ピレスロイド	ベルメトリン	EC	20	1,000	30	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
	アクリナトリン	WP	3	1,000	30	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
有機リン	アセフェート	WP	50	1,000	30	100 ± 0	96.4 ± 6.2	100 ± 0
	フェニトロチオン	EC	50	1,000	30	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
カーバメート	メソミル	WP	45	1,000	30	100 ± 0	96.4 ± 6.2	100 ± 0
	カルバリル	WP	85	1,000	30	100 ± 0	96.4 ± 6.2	100 ± 0
ネライストキシン類縁体	カルタップ	SP	75	1,500	30	92.3 ± 13.3	96.4 ± 6.2	30.0 ± 26.5
無処理死亡率 ^{d)}	—	—	—	—	30	5.5 ± 6.9 a	6.7 ± 6.7 a	0.0 ± 0 a

^{a)} IRAC の分類に従った。 ^{b)} SP：水溶剤，WP：水和剤，EC：乳剤。 ^{c)} 補正死亡率は ABBOTT (1925) の補正式により算出した。 ^{d)} 同じ英文字間は各検定法間で有意差がないことを示す (Tukey's HSD Test, $P < 0.05$)。

表-2 簡易検定法によるネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシに対する遅効性殺虫剤の補正死亡率

系統 ^{a)}	供試薬剤	剤型 ^{b)}	有効成分%	希釈倍数(倍)	総供試頭数	試験回数	補正死亡率(% ^{c)}		
							簡易検定法	幼苗処理法	Munger cell 法
ピメトロジン	ピメトロジン	SP	50	5,000	30	1 回目	60.0	60.0	43.3
						2 回目	72.4	75.9	60.7
						3 回目	100	88.9	88.5
						最大-最小	40.0	28.9	45.1
						平均	77.5	74.9	64.2
フロニカミド	フロニカミド	WP	10	2,000	30	1 回目	68.0	72.0	86.7
						2 回目	72.4	96.6	85.7
						3 回目	96.3	96.3	69.2
						最大-最小	28.3	24.6	17.4
						平均	78.9	88.3	80.5
UN	ピリフルキナゾン	WP	20	3,000	30	1 回目	72.0	60.0	80.0
						2 回目	82.8	65.5	60.7
						3 回目	100	88.9	84.6
						最大-最小	28.0	28.9	23.9
						平均	84.9	71.5	75.1
無処理死亡率						1 回目	16.7	16.7	0
						2 回目	3.3	3.3	6.7
						3 回目	10.0	10.0	13.3
						最大-最小	10.0	10.0	6.7
						平均	10.0	10.0	6.7

^{a)} IRAC の分類に従った。 ^{b)} SP：水溶剤，WP：水和剤。 ^{c)} 補正死亡率は ABBOTT (1925) の補正式により算出した。

正死亡率は、簡易検定法のほうが Munger cell 法よりも 40 ポイント以上高い傾向が認められた。また、クロチアニジン以外のネオニコチノイド剤においても、Munger cell 法に比べ、簡易検定法の補正死亡率が 10 ポイント以上高い傾向を示した (表-1)。

III 遅効性薬剤の評価

遅効性薬剤であるピメトロジン、ピリフルキナゾン、フロニカミドの簡易検定法による無翅雌成虫を用いた評価は、同一個体群でも試験日ごとに結果のバラツキが大

表-3 簡易検定法によるモモアカアブラムシに対する各種殺虫剤の補正死虫率

系統 ^{a)}	供試薬剤	剤型 ^{b)}	有効成分%	希釈倍数(倍)	総供試頭数	補正死虫率 (% ± S.D.) ^{c)}	
						簡易検定法	幼苗処理法
ネオニコチノイド	イミダクロプリド	WP	10	2,000	30	100 ± 0	100 ± 0
	クロチアニジン	SP	16	2,000	30	100 ± 0	100 ± 0
	チアメトキサム	SP	10	2,000	30	100 ± 0	96.8 ± 5.2
	ジノテフラン	WP	20	2,000	30	100 ± 0	97.0 ± 5.8
	ニテンピラム	SP	10	1,000	30	100 ± 0	100 ± 0
	アセタミプリド	SP	20	2,000	30	100 ± 0	100 ± 0
	チアクロプリド	WP	30	2,000	30	100 ± 0	100 ± 0
ピレスロイド	ペルメトリン	EC	20	1,000	30	3.7 ± 12.8	0 ± 0
有機リン	アセフェート	WP	50	1,000	30	100 ± 0	80.0 ± 20
METI	トルフェンピラド	EC	15	1,000	30	100 ± 0	83.3 ± 11.5
カーバメート	メソミル	WP	45	1,000	30	88.9 ± 11.1	80.0 ± 20
無処理死虫率	-	-	-	-	30	10.0 ns ^{d)}	0

a) IRAC の分類に従った。b) SP: 水溶剤, WP: 水和剤, EC: 乳剤。c) 補正死虫率は ABBOTT (1925) の補正式により算出した。d) ns は幼苗検定法と有意差がないことを示す (一元配置分散分析, $P < 0.05$)。

きい事例が認められ、困難であった (表-2)。現在、産子幼虫も含めた密度指数による評価法を検討中である。

IV 簡易検定法によるモモアカアブラムシに対する各種殺虫剤の補正死虫率

簡易検定法における無処理区の72時間後の死虫率は10.0%と低く、幼苗処理法の0%と比べて有意な差は認められなかった。

モモアカアブラムシに対する簡易検定法の補正死虫率は、幼苗処理法とすべて同等の結果を示した (表-3)。

おわりに

殺虫剤抵抗性害虫の各種殺虫剤に対する抵抗性レベルを正確に把握することは、効率的防除体系の構築と害虫の抵抗性管理において重要である。また、既知の代替薬剤に対する感受性を明らかにすることも、抵抗性害虫が発生した生産現場における被害拡大を防ぐために重要である。そのためには、対象害虫の抵抗性レベルを速やかに評価する手法が必要である。アブラムシ類の抵抗性モニタリングにおいて、植物体浸漬法である幼苗処理法や Munger cell 法は、局所施用法に比べると比較的簡便な方法であり、これまでネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシの感受性検定には、両手法が用いられてきた。今回、開発した簡易検定法は、両手法に比べ、検定容器が安価であり、また、加工を必要としない点において、より簡便な方法である。そのため、試験研究機関に加えて、各農業改良普及センターや JA 等、殺虫剤検定の実験器材がない機関においても簡易に利用できると考え

る。また、簡易検定法の検定結果も、比較した二つの手法の結果と比べ、おおむね同様の結果が得られ、大きな問題はないと判断した。また、モモアカアブラムシに対しても特に問題は認められず、有効な検定法であると考ええる。

ただし、Munger cell 法との比較では、一部の薬剤において異なる結果が得られた点は注意すべきと考える。今回、採用した3種の検定法は検定容器や検定植物の形状が異なる以外は、植物体浸漬法を基準とした検定法である。そのため、いずれの検定法もワタアブラムシに対する供試殺虫剤の作用経路は経口および経皮毒性が主と考えられ、検定法により違いが出るとは想定していなかった。

結果が異なった原因は不明であるが、今回の結果から簡易検定法に限らず、植物体浸漬法を用いた検定では、一部の薬剤において結果が大きく異なる可能性が示唆された。そのため、正確な抵抗性モニタリングにおいては、感受性個体群や複数の供試個体群との比較を行い、総合的に判定することが重要である。

引用文献

- 1) ABBOTT, W. S. (1925): J. Econ. Entomol. 18: 265 ~ 267.
- 2) 浜 弘司 (1987): 植物防疫 41: 159 ~ 164.
- 3) 松浦 明 (2015): 同上 69: 92 ~ 96.
- 4) ———・日高春美 (2016): 九病虫研会報 62: 82 ~ 88.
- 5) MATSUURA, A. and M. NAKAMURA (2014): Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 49: 535 ~ 540.
- 6) 岡本 崇ら (2014): 関西病虫研報 56: 135 ~ 137.
- 7) 岡崎真一郎ら (2014): 九病虫研会報 60: 79 ~ 83.
- 8) 西東 力 (2013): 農業害虫の薬剤感受性検定マニュアル, 日本植物防疫協会, 東京, p.79 ~ 82.
- 9) 田中 正 (1976): 野菜のアブラムシ, 日本植物防疫協会, 東京, p.25 ~ 26.