

2-6 ウンカ類

1) ウンカ類の薬剤抵抗性の現状と対策の考え方

ウンカ類にはトビイロウンカ、セジロウンカ、ヒメトビウンカの3種がいる。このうちトビイロウンカとセジロウンカは寄主植物がほぼイネに限られるため、冬季にイネがない日本や中国（最南端の海南島や広東省南部を除く）などでは越冬ができない。これら2種の越冬北限はベトナム北部や中国の海南島や広東省南部であり、そこで越冬したウンカ類がまず中国の華南地域に一次移動して数世代増殖し、6～7月の梅雨時期に南西からの季節風に乗って日本に飛来する。一方、ヒメトビウンカはイネがなくなる秋以降もイネ以外にも越年性のイネ科作物（小麦、大麦、イタリアンライグラスなど）やイネ科雑草で越冬可能である。ヒメトビウンカは、これまでは長距離移動しないといわれていたものの、近年、中国東部の江蘇省などから6月上旬の麦刈りの時期に九州などの西日本や韓国西部に大量に飛来する事例が知られている。

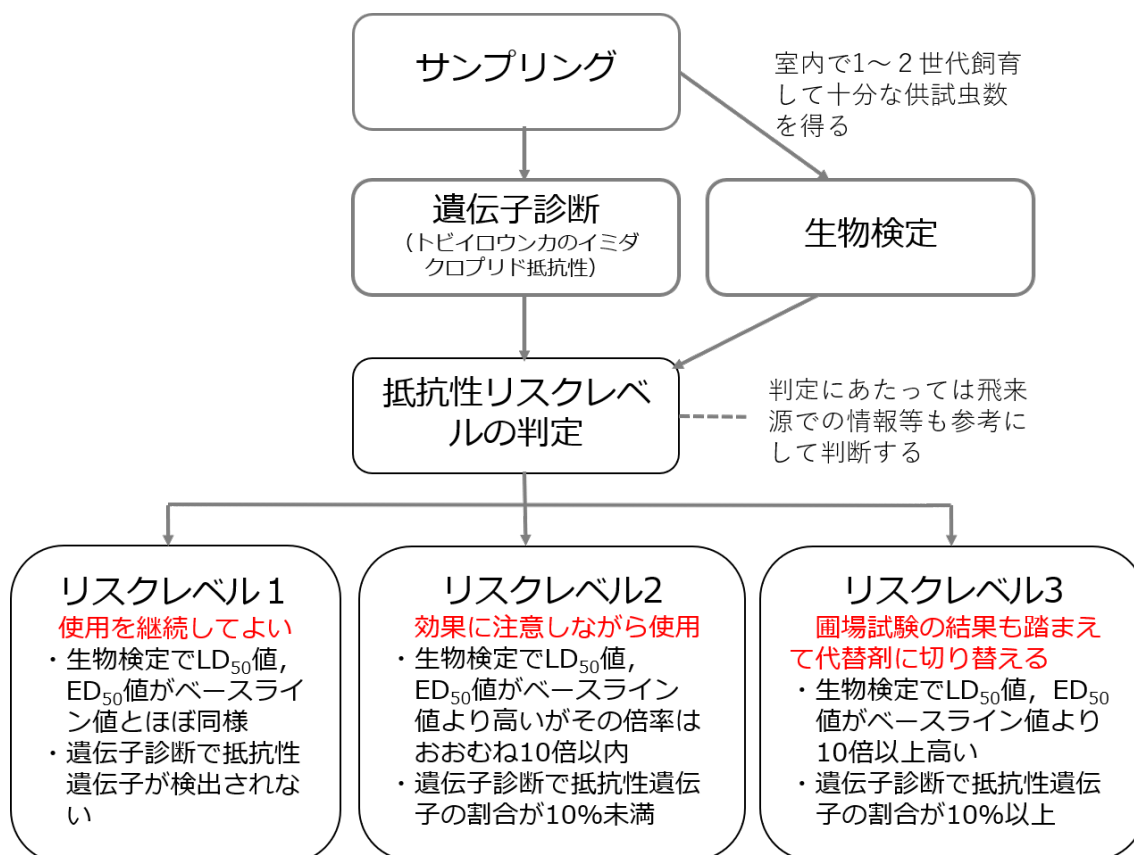
一般的に、害虫に対する薬剤抵抗性は、ある場所で同じ薬剤を使い続けることによって発達する。しかし、ウンカ類のような長距離移動性害虫では、飛来源（ベトナム北部・中国）で薬剤を多用することによって抵抗性が発達し、それが日本に飛来するという特徴がある。このため、他の害虫のように、日本国内で薬剤抵抗性を管理することによって抵抗性の発達を防ぐことはできない。

海外飛来性イネウンカ類の薬剤抵抗性管理においては、日本に飛来した虫の薬剤感受性を迅速に検定して、飛来後の国内での防除対策の構築（当年の本田散布剤の選択や次年度以降の箱施用剤の選択）に資することが、現状におけるイネウンカ類の薬剤抵抗性管理対策の基本的な考え方となる。

将来的には、ベトナムなどの飛来源において薬剤抵抗性のモニタリングを行う体制を構築し、あわせて殺虫剤の使用状況やウンカの発生状況などに関する情報を迅速に入手するシステムを構築することが、飛来源を含めたウンカ類の薬剤抵抗性対策のゴールとなる。

2) 薬剤抵抗性管理の具体的手順

a) フローチャート



b) サンプリング (3-6 参照)

海外から飛来するウンカ類については、可能な限り飛来個体群を採集する。飛来個体群が採集できない場合には、殺虫剤を使用していない水田（試験水田の無防除区などでもよい）で次世代以降の成虫を採集する。

採集した虫は、芽出しイネ苗を入れた容器などに入れて持ち帰り、遺伝子診断を行うまでは冷凍して保存する。水銀灯等のトラップで誘殺された個体や払い落としなどで採集された個体についても冷凍保存すれば遺伝子診断は可能である。遺伝子診断が目的であれば採集個体は幼虫・成虫のどちらでも良い。

採集後、実験室内で増殖してから遺伝子診断を行う必要がある場合には、室内でウンカを飼育する。ウンカ類の飼育方法については、薬剤感受性検定マニュアル（和文及び英文）（九州沖縄農業研究センター、2017a、2017b）を参照する。

c) 薬剤抵抗性検出

c-1) 遺伝子診断法 (4-6 参照)

マニュアルに基づいて、捕獲したトビイロウンカ（出来れば 40 個体以上）について各個体毎に PCR-RFLP 法もしくはマルチプレックス PCR 法による

イミダクロプリド剤抵抗性遺伝子診断を行う。

c-2) 生物検定法

ウンカ類の薬剤感受性の生物検定手法については、半数致死薬量(LD₅₀ 値)や半数効果薬量(ED₅₀ 値)を求める方法と、半数致死濃度(LC₅₀ 値)や半数効果濃度(EC₅₀ 値)を求める方法がある。LD₅₀ 値やED₅₀ 値を用いることによって、異なる年代や場所で得られた感受性データを直接比較することができる。これに対して、LC₅₀ 値やEC₅₀ 値については同時に試験した感受性系統の値との比較しかできない。このため、実用濃度での効果試験等ではなく感受性の変動を調べることを目的とする薬剤感受性検定においては、LD₅₀ 値やED₅₀ 値を求める手法が確立されている薬剤では、極力その手法で感受性検定を行うべきである。

LD₅₀ 値を算出できる標準的な手法には、微量局所施用法がある。現在イネウンカ類の防除に使用されている薬剤のうち、微量局所施用法を適用できる薬剤は、カーバメート剤(BPMC など)、ピレスロイド剤(エトフェンプロックスなど)、ネオニコチノイド剤(イミダクロプリド、ジノテフラン、クロチアニジン、チアメトキサム、ニテンピラムなど)、フェニルピラゾール剤(フィプロニルなど)である。

昆虫成長調節剤(IGR 剤)のうち、ブプロフェジンについては、局所施用による一回の薬剤塗布では死亡率が上がらないため、LC₅₀ 値を算出できる葉しょう浸漬法が標準的な手法として使われている。

昆虫に対して吸汁阻害作用を示す薬剤(例えばピメトロジンなど)については、これまでIRAC(Insecticide Resistance Action Committee、薬剤抵抗性対策委員会)では、葉しょう浸漬法によって成虫に薬剤を施用したのちにイネ苗に産卵させて次世代孵化幼虫数を数える手法が提唱されている(No.005)。しかし、この方法では半数効果濃度(EC₅₀ 値)は算出できるものの半数効果薬量(ED₅₀ 値)が算出できない。ピメトロジンの感受性検定については、九州沖縄農業研究センターで新たに開発した、微量局所施用法と次世代幼虫数の抑制効果とを組み合わせる半数効果薬量(ED₅₀ 値)を算出する、ピメトロジンの感受性検定法(Tsujimoto et al., 2016)を推奨する。

これら3つの感受性検定法の具体的な手順については、薬剤感受性検定マニュアル(和文及び英文)(九州沖縄農業研究センター、2017a、2017b)を参照する。

c-3) 圃場検定法

圃場における防除試験を新農薬実用化試験・殺虫剤圃場試験法(日本植

物防疫協会、2016) に従って実施する。本試験を実施することにより、遺伝子診断及び生物検定の結果と照らし合わせた総合的な判断が可能になる。

3) 判断基準

薬剤感受性検定によって求められた LD₅₀ 値や LC₅₀ 値などが、どの数値以上になると抵抗性が発達するという厳密な基準はない。これは、現場における薬剤の成分量や投入量、苗箱施用薬剤については移植後日数の違いなどによって、実際に害虫に暴露する薬量が異なるからである。しかし、同一薬剤に対する LD₅₀ 値の年次変化を調査することによって、前年までに比べて LD₅₀ 値や LC₅₀ 値などが 10 倍以上増加するような場合には、防除効果が低下する可能性がある。また、微量局所施用法によって求めた LD₅₀ 値については、LD₅₀ 値が 1 µg/g 以下であれば現場における防除効果に問題はないが、LD₅₀ 値が 10 µg/g を超えるような場合については、現場においても防除効果が低下することが多い。これが大まかな基準となる。

トビイロウンカのイミダクロプリド抵抗性の遺伝子診断法によって検出された抵抗性遺伝子頻度については未検出でリスクレベル 1、<10%でリスクレベル 2、≥10%でリスクレベル 3 とする。ただし、海外飛来性であるトビイロウンカの抵抗性管理は日本国内では不可能なため、現場での有効な防除（補正死虫率 90%程度）の観点から、リスクレベル 2 と 3 の判定のみ行うこととする。その際に、リスクレベル 2 と 3 の判別には 16 頭の個体別遺伝子診断を行う必要がある。

4) 代替防除手段について

殺虫剤に代わるウンカ類の防除手段としては、抵抗性品種の利用がある。現在、日本においてはトビイロウンカに対して吸汁阻害を示す抵抗性遺伝子を導入した良食味品種や新規需要米品種の育成が進められている。また、セジロウンカについては殺卵作用遺伝子を導入した品種育成も進められている。ヒメトビウンカについては、媒介するイネ縞葉枯病抵抗性遺伝子を導入した品種育成が進められている。近い将来、これらの品種が実用化されれば、抵抗性品種を利用することによって、薬剤の使用が軽減される可能性がある。

5) 地域特性に合わせた抵抗性管理のポイント

トビイロウンカとセジロウンカは毎年海外から飛来する。毎年飛来する源は必ずしも同一ではないが、これまでの感受性検定の結果から、同一年の飛来であれば感受性の程度は大きくは変わらない (Nagata, 1982)。このため、各県などで独自に感受性モニタリングをする必要性は少なく、代表地点における検定結果（現在、九州沖縄農業研究センターで継続的にモニタリングを行っている）

を参照することで感受性レベルが把握可能である。しかし、ヒメトビウンカについては、海外飛来の影響の有無や、現地での薬剤使用状況によって感受性が異なる可能性があるため、それぞれの県で感受性のモニタリングをすることが望ましい。

6) 薬剤抵抗性管理に役立つ生物学的情報

a) 日本に飛来したトビイロウンカとセジロウンカの薬剤感受性（LD₅₀ 値）の長期的推移

日本に飛来したトビイロウンカとセジロウンカの主要殺虫剤 5 剤 [BPMC(カーバメート系、商品名：バッサ)、エトフェンプロックス（ピレスロイド系、商品名：トレボン）、イミダクロプリド（ネオニコチノイド系、商品名：アドマイヤー）、ジノテフラン（ネオニコチノイド系、商品名：スタークル）、およびフィプロニル（フェニルピラゾール系、商品名：プリンス)] に対する半数致死薬量 (LD₅₀ 値) の 2012 年までの長期的推移を図 1 に示した。すべてのデータは微量局所施用法によって調べられた値である。

トビイロウンカのイミダクロプリドに対する LD₅₀ 値は、1992 年には 0.16 µg/g であったが、2000 年以降には LD₅₀ 値が約 10 倍に増加し、2005 年以降にはさらに抵抗性倍率が増加し、2012 年には 616 倍（LD₅₀ 値は 98.5 µg/g）に増加した。2012 年以降 2017 年まで、LD₅₀ 値は 100 µg/g 以上で推移しており、感受性が低下した状態が続いている（松村ら、未発表）。一方、トビイロウンカのジノテフランおよびフィプロニルに対する LD₅₀ 値については、2005 年から 2012 年までの変動幅はほぼ 10 倍以内であり、感受性の低下は起こっていない。2012 年以降についても、感受性の大きな変化は起こっていない（松村ら、未発表）。

セジロウンカについては、トビイロウンカと対照的に、ネオニコチノイド系のイミダクロプリドとジノテフランに対する LD₅₀ 値には大きな年次変化はなく、低い値を保っていることから、感受性の低下は起こっていない。しかし、フィプロニルに対する LD₅₀ 値は、トビイロウンカと対照的に、年次によって変動するものの 2009 年のピーク時には 77.2 µg/g と大きな値となっており、感受性が低下した状態が続いている。2012 年以降も同様の傾向が続いている（松村ら、未発表）。

トビイロウンカ、セジロウンカともに、BPMC に対しては 1980 年代から LD₅₀ 値は大きな値を示しており、感受性が低下した状態が続いている。一方、エトフェンプロックスに対しては、1980 年代後半から 2012 年まで LD₅₀ 値の変動幅は他の薬剤に比べて小さく、また LD₅₀ 値についても小さい値を維持していることから、感受性の変化は起こっていない。

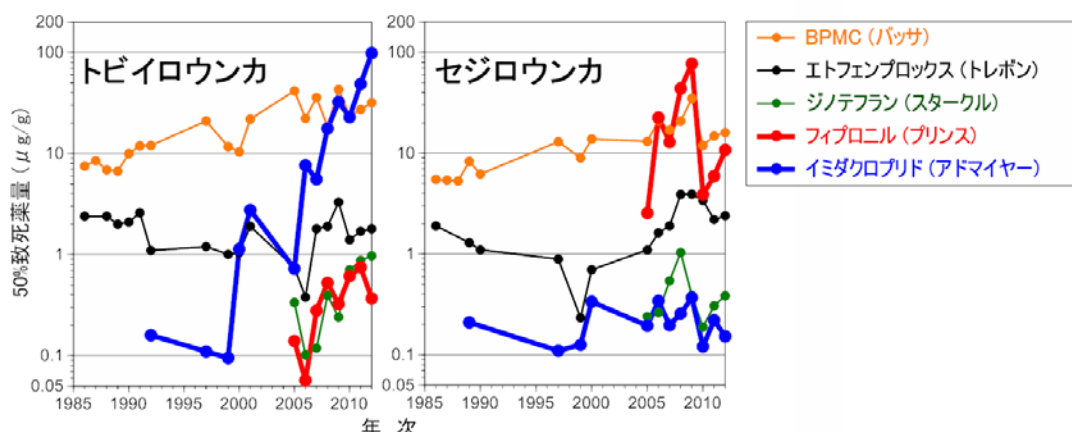


図 1 トビイロウンカ(左)とセジロウンカ(右)の各殺虫剤に対する 50%致死薬量の推移

(2005～2012 年のデータは Matsumura et al. (2014) より。それ以前のデータは既報論文から引用。すべてのデータは微量局所施用法によって調べられた値。フィプロニルとジノテフランは 2005 年以前のデータなし。)

b) トビイロウンカのネオニコチノイド剤 5 剤の交差抵抗性

本研究では、薬剤選抜によりイミダクロプリド抵抗性を強く発達させたトビイロウンカの系統(図 2)を作出し、トビイロウンカにおけるイミダクロプリド感受性低下に伴うネオニコチノイド剤 5 剤に対する交差抵抗性発達の有無を確認した。その結果、薬剤選抜系統のトビイロウンカにおけるチアメトキサムとクロチアニジンに対する LD₅₀ 値は、対照系統の LD₅₀ 値よりも大きく増加したが、一方で、ジノテフランとニテンピラムに対する LD₅₀ 値には薬剤選抜と対照系統間に明瞭な差が見られなかった。これらの結果から、イミダクロプリドに対する感受性低下によりチアメトキサムとクロチアニジンに対する交差抵抗性が強く発達することがわかった。日本に飛来するトビイロウンカのチアメトキサムとクロチアニジンに対する LD₅₀ 値は 2010 年以降に増加し、トビイロウンカに対するこれら 2 剤の感受性が徐々に低下してきたが、トビイロウンカのジノテフランとニテンピラムに対する LD₅₀ 値については変動幅が小さく感受性の低下が起きていない。薬剤選抜系統を利用した室内試験の結果と、トビイロウンカの野外個体群におけるチアメトキサムとクロチアニジンに対する感受性の長期的推移はよく合致しており、2 剤の感受性低下にはイミダクロプリド抵抗性発達による影響が大きいと考えられる。しかし、トビイロウンカのジノテフランとニテンピラムに対する感受性は薬剤選抜系統と対照系統間での LD₅₀ 値に大きな差が見られなかったことより、イミダクロプリド抵抗性発達の影響が小さいと考えら

れる。トビイロウンカの防除において、ジノテフランとニテンピラムを利用したローテーション散布が有効と考えられ、2剤に対する抵抗性発達を遅延させるように配慮した薬剤管理が推奨される。

c) トビイロウンカのイミダクロプリド抵抗性の遺伝様式

ネオニコチノイド系薬剤イミダクロプリドの抵抗性遺伝様式は、本プロジェクトの研究成果 (Sanada-Morimura et al., 2019) から、「常染色体上にある単一（主動）遺伝子によるもので、ほぼ完全優性である」ことが明らかとなった。ここで“ほぼ完全優性”としたのは、優性の程度を示す優性度（完全劣勢=-1, -1<不完全優性<0, 0<不完全優性<1, 完全優性=1）は0.9前後で、完全優性の優性度=1と同程度のため、完全優性とはほぼ同じ遺伝様式を示すと考えられるためである。後述の「4-6 トビイロウンカのイミダクロプリド抵抗性遺伝子診断法」にあるように、イミダクロプリド抵抗性の主要因は解毒分解酵素 *CYP6ER1* の高発現である。したがって、抵抗性個体にみられる解毒分解酵素 *CYP6ER1* の高発現は、常染色体上にあり、ほぼ完全優性する単一遺伝子によるものと考えられる。

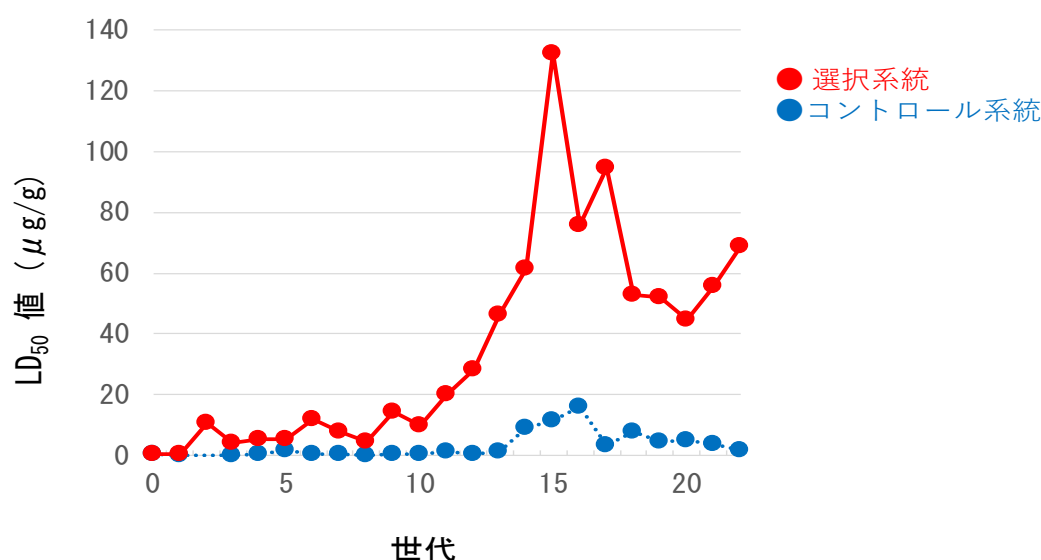


図2 イミダクロプリド選択系統のLD₅₀値

各世代での半数致死薬量 (LD₅₀ 値) のイミダクロプリドで選択した。コントロール系統はアセトン（薬剤溶液の溶媒）のみで選択している。

交雑実験の具体的データで説明すると、イミダクロプリド選抜系統と感受性系統との正逆交雑 F₁, F₁' の薬量に対する回帰線は両者とも、選択系統の回帰線とほぼ一致していることから (図 3)、伴性遺伝はなく (つまり常染色体上にある)、ほぼ完全優性遺伝であることが示された。さらに、F₂ と戻し交雑の回帰線 (図 4) は、完全優性である単一遺伝子の予測値とほぼ一致した。

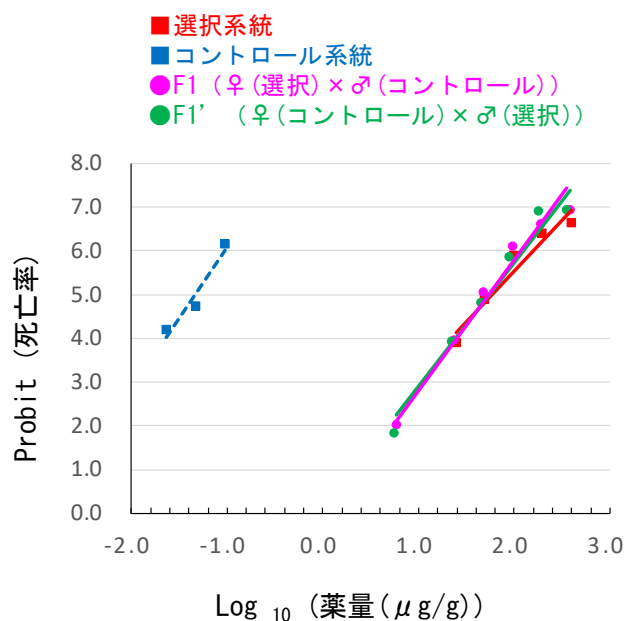


図 3 イミダクロプリド選択系統と感受性系統の正逆交雑 F_1 の死亡率回帰線
25 世代の選択系統を使用。 F_1 は選択系統の雌×感受性系統の雄、 F_1' は感受性系統の雌×選択系統の雄の交雑を示す。

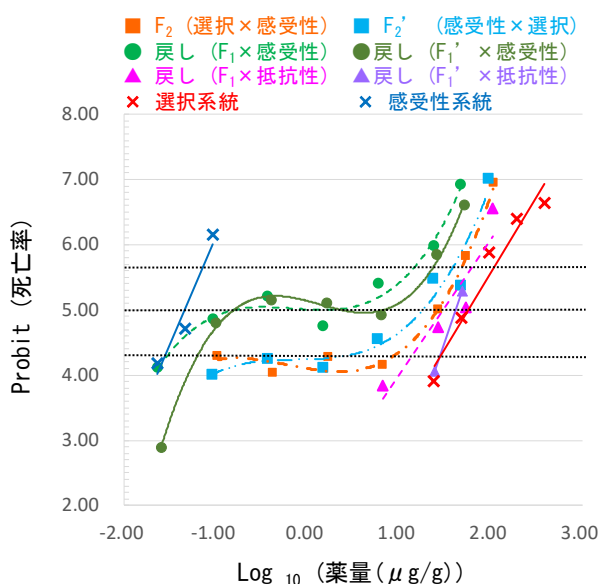


図 4 イミダクロプリド選択系統と感受性系統の F_2 と戻し交雑の回帰線
上段の破線は死亡率 75%, 中断は 50%, 下段は 25C のプロビット変換値を示す。完全優性単一遺伝子である場合の予測値では、 F_2 , F_2' が下段の破線でプラトー（平衡状態）を示し、 F_1 , F_1' と選択系統との戻し交雑は選択系統と一致する。 F_1 , F_1' と感受性系統との戻し交雑は中段の破線でプラトーを示す。

以上の結果から、トビイロウンカのイミダクロプリドにおける抵抗性管理において、生物検定に必要なサンプル数（参照：1-3-5）などは、単一遺伝子による完全優性のモデルを適用する必要がある。

（執筆：松村正哉 眞田幸代 藤井智久）

文献

九州沖縄農業研究センター (2017a) イネウンカ類の薬剤感受性検定マニュアル.
http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/pub2016_or_later/pamphlet/tech-

pamph/072957.html

九州沖縄農業研究センター (2017b) イネウンカ類の薬剤感受性検定マニュアル (英語版).

http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/pub2016_or_later/pamphlet/tech-pamph/075959.html

- Matsumura, M., S. Sanada-Morimura, A. Otuka, R. Ohtsu, S. Sakumoto, H. Takeuchi and M. Satoh (2014) Insecticide susceptibilities in populations of two rice planthoppers, *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera*, immigrating into Japan in the period 2005-2012. *Pest Manag. Sci.* 70: 615-622.
- Nagata, T. (1982) Insecticide resistance and chemical control of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). *Bull. Kyushu Nat. Agric. Exp. Stn.* 22: 49-164.
- Sanada-Morimura, S., Fujii, T., Chien, H. V., Cuong, L. Q., Estoy, G. F. Jr. and M. Matsumura. (2019) Selection for imidacloprid resistance and mode of inheritance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Pest. Manag. Sci.* doi: 10.1002/ps.5364.
- Tsujimoto, K., S. Sugii, S. Sanada-Morimura and M. Matsumura (2016) A new method for monitoring the susceptibility of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae), to pymetrozine by combining topical application and measurement of offspring number. *Appl. Entomol. Zool.* 51: 155-160.