

5-3 ワタアブラムシおよびモモアカアブラムシの薬剤抵抗性生物

検定法

5-3-1 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)の薬剤抵抗性の実態は、これまで各種生物検定によって明らかにされてきた。1980～1990年代後半までは、局所施用法（西東ら, 1995; 西東, 2013）や虫体浸漬法（浜, 1987）が多く用いられてきたが、ネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシの発生以降は、簡易な植物体浸漬法による Munger cell 法（岡崎, 2013）や幼苗処理法（熊本県, 2000 ; Matsuura and Nakamura, 2014 ; 岡本ら, 2014）および簡易検定法（松浦・日高, 2016）が用いられている。

簡易検定法は市販の器材を利用し、かつ手順が簡便に実施できることから、アブラムシ類の薬剤抵抗性モニタリングに向いている。

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の手法について紹介する。



図1 ワタアブラムシ
(成虫と幼虫)



図2 モモアカアブラムシ
(成虫と幼虫)

5-3-2 供試虫の入手と飼育

(1) 供試虫の入手

アブラムシは寄主植物とともに採集し、過湿防止のため、ティッシュなどに包みビニル袋に入れて持ち帰る。ほ場内の数カ所から数十頭ずつ採集し、まとめて検定に供試する。野外で採集した個体群は、農薬の暴露による影響や寄生蜂および寄生菌に侵されている場合があるので、可能な限り直接検定に用いず、数世代を飼育後に供試する。

(2) 種の識別方法

有翅虫による識別は困難であるため、寄主植物、無翅雌成虫の体色および形状で識別する。

1) ワタアブラムシ

体色は濃緑色で、更に濃色の個体は黒色に見える。黄色や茶色の個体も混在する場合がある。体長は約 1.1~1.7 mm。額瘤は発達しない。角状管は黒色であるが、尾片は体色と同じ。

農作物ではウリ科（キュウリ、メロン、スイカなど）、ナス科（ナス、ピーマン、ジャガイモなど）、オクラ、サトイモ、カンキツ、ナシ、イチゴなどに寄生する。



図3 ワタアブラムシ



図4 モモアカアブラムシ

2) モモアカアブラムシ

体色は黄緑色や淡黄色変化が多く、光沢がある。無翅胎生雌虫は体長約 1.8~2 mm。額瘤は発達し、内側に突出する。角状管は体と同色であるが、中央部から先端にかけてわずかに膨らみ、先端部は暗色。

農作物ではナス科（ナス、ピーマン、ジャガイモなど）、アブラナ科（ダイコン、ハクサイなど）、ゴマ、モモ、ナシ、ウメなどに寄生する。

※形態情報は、「アブラムシ類の見分け方,2008」より引用

(3) 供試虫の累代飼育法

ワタアブラムシに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、採集作物と同じもしくは近縁の植物で飼育するのが望ましい^(注1)。ソラマメの芽だし(村井, 1991)を用いれば、ほとんどのバイオタイプを飼育維持可能である。ただし、ソラマメで飼育した個体は小型化するので、発育良好な寄主植物に移し、数世代増殖した後に検定を行う。

モモアカアブラムシは概ねアブラナ科やトマトを除くナス科植物で飼育が可能であるが、ダイコンの葉であれば、どのバイオタイプでも飼育が可能である（高田，1991）。

注1) ネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシは感受性個体群に比べ、増殖率が低いため（松浦ら，2016）、混在した場合は感受性個体群が優占する恐れがある。また、その他の薬剤抵抗性個体も感受性個体に比べ、増殖率が低い可能性があるため、採集1ヶ月後位までに検定を実施することが望ましい。

すぐに検定が困難な場合は、15～20℃の低温条件下での飼育やクローンによる個体維持を行う。なお20℃以下で飼育する場合は、長日条件で飼育すること。低温短日条件では有性世代が出現し、感受性が変化する恐れがある。

5-3-3 簡易検定法による検定手順

(1) 検定の事前準備

1) 検定用アブラムシの準備

ワタアブラムシは数世代高密度の状態では飼育すると、体サイズが小型化し、扱いにくいので、検定日の2週間位前から新しい植物を用い増殖する。

きゅうりやピーマンに寄生するワタアブラムシは、きゅうり（本葉6～8枚）やピーマン（本葉12枚）の各4～6株に対して、成幼虫を株当たり200～400頭程度接種する。接種後は20～25℃前後の室温で管理する。ただし一部抵抗性個体群やバイオタイプによる寄主植物の不適合の場合は、増殖率が低い場合があるので、飼育中の増殖状況を観察し、適宜、接種量や飼育期間を調整する。

モモアカアブラムシはワタアブラムシに比べ、高密度による小型化は顕著ではない。抵抗性の有無により増殖率が異なるかどうかは不明であるが、寄主植物であっても、生育初期のトマトやハウレンソウでは、飼育が困難な事例が見られる。

2) 検定植物および検定葉片

- ・ 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。
- ・ 本稿ではキュウリおよびピーマンを用いた手順を記載する。
- ・ 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播種20日後、

ピーマンは播種 30 日後以降の株を供試する^(注2)。

- ・ 検定葉片は葉片浸漬の 2 時間位前までに直径約 5 cm 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^(注3)。
- ・ 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 円ショップ等で販売）などを利用する。
- ・ 葉片の鮮度維持のため、葉片の直径は 4 cm 以上を確保する。

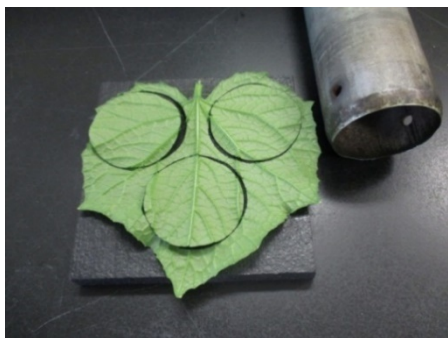


図 5 供試葉片の打ち抜き

注 2) 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良い。また肥料は多めに施用する。

注 3) 打ち抜いた葉は浸漬まで乾燥しないように、湿らせたペーパータオル上に置き、ハンドスプレーで水道水を噴霧後、ラップをかけておく。

(2) 検定容器

1) 検定容器および検定器材

- ・ 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、未滅菌）
- ・ ペーパータオル（商品名リードクッキングペーパー、約 8×5 cm にカットし、2 枚重ねで使用する）
- ・ ガラス製もしくは耐薬品性プラスチックビーカー（500 ml）
- ・ 葉さじ
- ・ 浸漬用ピンセット

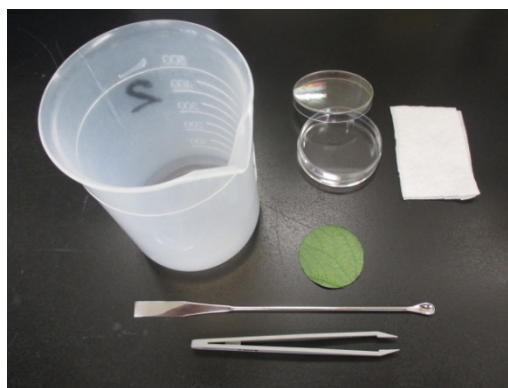


図 6 検定に使用する器材

2) 検定容器の作成

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

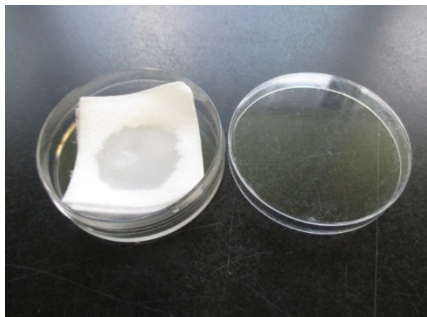


図7 シャーレ内にペーパータオルを敷き、水を滴下する。

3) 薬液の準備と浸漬

- ・各供試薬剤は展着剤トリトン X-100（2,000倍0.05%）を添加した水道水で希釈する（注4）。
- ・供試薬液は1薬剤につき最低200～300 ml以上作成する。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（注5）。

注4) トリトン X-100 添加水道水は、20倍の高濃度液（要冷蔵）を作成しておき、検定前に100倍希釈で使用する。希釈は水道水を9割以上入れた後、20倍液を所定量添加する（泡立ち防止のため）。

- ・冷蔵中の20倍液にかびが発生した場合は作り直す。

注5) 浸漬後の葉片は、葉片上の水分の9割以上が乾けば、シャーレに移動してよい。1時間程度で残った水分は検定容器内で蒸発する。

- ・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。



図8 薬液浸漬後の葉片

各薬液の混同防止に、各検定容器を同じ並びに置き、目印とする。

(4) 供試虫の接種

成虫の移動は、実体顕微鏡下で無翅雌成虫（尾片の形状により判断する（田中，1977）^{注6)}。幼虫は丸みを帯び、突起状ではない。）であることを確認しながら、面相筆を用い10頭／シャーレを接種する^{注7)}。

注6) 成虫より大きい4齢幼虫が存在するため、大きさだけでは成虫を識別できない。

注7) アブラムシは小筆の先をあごの下付近に差し込むような感じで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無い。

ワタアブラムシは、同一植物体でも、寄生部位によって体サイズにバラツキが認められることから、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。



図9 ワタアブラムシ無翅成虫
モモアカアブラムシ成虫の区別も同じく尾片で行う。



図10 接種後の様子

(5) 検定容器の保管と死亡虫調査

23～25℃の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、Abbot (1925) の補正式によって各補正死虫率を算出する。なお、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^{注8)}。

注8) 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。浜 (2013) は20%以上で再検定を推奨している。

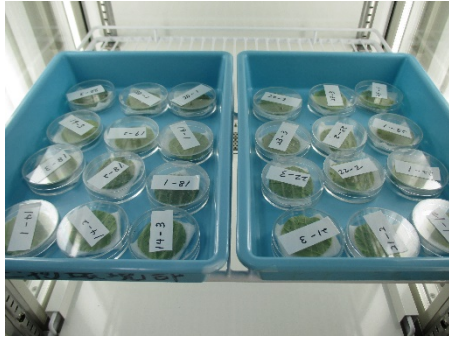


図 11 定温器内に平積みで置く。

(6) 簡易検定法の問題点

シャーレ内に結露が生じると、死虫率が上がる場合がある。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など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時は、検定 2 日目頃に拭き取る。などが有効である。

(7) 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、同一個体群でも検定日ごとに結果のバラツキが大きい事例が認められ、困難である（松浦・日高, 2016）。

そのため、産子幼虫数を含めた密度指数を用いて評価する。基本的な手順はこれまでと同様であるが、処理 96 時間後に全生存成幼虫数を調査し、無処理の生存幼虫数と比した密度指数*を算出することにより評価する。

*密度指数 = 処理区の生存成幼虫数 / 無処理区の生存成幼虫数 × 100

（執筆：松浦明）

文献

- Abbott, W. S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265–267.
- 浜 弘司 (2013) 農業害虫：薬剤感受性検定法の基礎（農業害虫の薬剤感受性検定マニュアル編集委員会編）. 日本植物防疫協会, 東京. pp. 4–6.
- 熊本県農業研究センター (2000) 九州農業研究成果情報 15: 455–456.
- 松浦 明・日高春美・土田聡 (2016) ネオニコチノイド剤抵抗性ワタアブラムシのきゅうりにおける増殖率. 第 60 回応動昆大会講演要旨集 19.
- 松浦 明・日高春美 (2016) アブラムシ類の殺虫剤感受性検定のための簡易

- 検定法. 九病虫研究会報 62: 82-88
- Matsuura A. and M. Nakamura (2014) Development of neonicotinoid resistance in the cotton aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) in Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 49: 535-540.
- 村井 保 (1991) 昆虫の飼育法 (湯嶋 健ら編)、日本植物防疫協会, 東京. pp. 75-77.
- 岡本 崇・岩橋良典・森下正彦 (2014) 和歌山県におけるネオニコチノイド系薬剤の殺虫効果が低いワタアブラムシの発生. 関西病虫研報 56: 135-137.
- 岡崎真一郎 (2013) 近年大分県の夏秋ピーマンで多発生するワタアブラムシに対する各種薬剤の殺虫効果. 九病虫研究会報 59: 108 (講要)
- 西東 力 (2013) 野菜・花き害虫: アブラムシ類. 農業害虫の薬剤感受性検定マニュアル (農業害虫の薬剤感受性検定マニュアル編集委員会編). 日本植物防疫協会, 東京. pp.79-82.
- 西東 力・浜 弘司・鈴木 健 (1995) ワタアブラムシ *Aphis gossypii* (GLOVER)の薬剤抵抗性クローンの各種薬剤に対する感受性と協力剤の影響. 応動昆 39: 151-158.
- 高田 肇 (1991) 昆虫の飼育法 (湯嶋 健ら編). 日本植物防疫協会, 東京. pp. 71-74.
- 田中 正 (1977) 野菜のアブラムシ. 日本植物防疫協会, 東京. pp. 25-26.