

## 5-4 ネギアザミウマの薬剤抵抗性生物検定法

### 5-4-1 はじめに

日本において農作物を加害するアザミウマは3科44種が知られている（日本応用動物昆虫学会, 2006）。アザミウマ類を効果的に防除するためには、殺虫剤抵抗性の現状を把握し、有効な殺虫剤を選択する必要がある。これまでもアザミウマ類の殺虫剤感受性検定については、雑誌「植物防疫」においてミナミキイロアザミウマ *Thrips palmi* Karny（森下, 1997）（図1）、ミカンキイロアザミウマ *Frankliniella occidentalis*（Pergande）（片山, 1997）（図2）、チャノキイロアザミウマ *Scirtothrips dorsalis* Hood（河合, 1997）（図3）の検定法が詳しく紹介されている。森下（1997）が紹介しているミナミキイロアザミウマに対する葉片・虫体散布法では、薬液の散布に回転式薬剤散布塔を使用するが、現在、この製品は製造中止となっていることに加え、農業現場ではネギアザミウマ *Thrips tabaci* Lindeman（図4）やヒラズハナアザミウマ *Frankliniella intonsa*（Trybom）（図5）なども発生して被害を及ぼすようになってきている。



図1 ミナミキイロアザミウマ雌成虫



図2 ミカンキイロアザミウマ雌成虫



図3 チャノキイロアザミウマ雌成虫



図4 ネギアザミウマ雌成虫



図5 ヒラズハナアザミウマ雌成虫

アザミウマ類の防除に使用される主な殺虫剤には、カーバメート系（1A：IRACによる殺虫剤の作用機構分類、以下同様）、有機リン系（1B）、ピレスロイド系（3A）、ネオニコチノイド系（4A）、スピノシン系（5）、アベルメクチン系（6）、ネライストキシシン系（14）、ベンゾイル尿素系（15）など多くの系統がある。ほとんどは、成虫および幼虫の両ステージに対して殺虫効果をもつが、なかにはベンゾイル尿素系のクロルフルアズロン乳剤（15）、フルフェノクスロン乳剤（15）、ルフエヌロン乳剤（15）、テトロン酸およびテトラミン酸誘導体のスピロテトラマト水和剤（23）など幼虫にのみ殺虫効果を発揮し、効果の発現が遅効的な薬剤もある。

本稿ではソラマメで飼育できないチャノキイロアザミウマを除く上記アザミウマ類 4 種の成虫と幼虫に対する簡易な生物検定法について記載する（柴尾, 2013 ; 浜崎ら, 2015)。なお、前述のように、成虫および幼虫の両ステージに対して殺虫効果があり、速効的に効果を発現する薬剤は成虫に対する葉片浸漬法、ベンゾイル尿素系 (15) やスピロテトラマト水和剤 (23) など幼虫のみに殺虫効果を示し、効果の発現が遅効的な薬剤は幼虫に対する葉片浸漬法または虫体・葉片散布法を基本的に用いる。

## 5-4-2 供試虫の入手と飼育

### (1) 供試虫の入手方法

ネギアザミウマの成虫は主に作物の葉に生息することから、圃場内の 10 か所程度から成虫を葉ごと採集し、チャック付ポリ袋に入れて持ち帰る。その際、袋内が過湿にならないようにペーパータオルなどを入れておく。

### (2) 種の識別方法

アザミウマ類成虫を採集した場合、まずは 20 倍程度のルーペか拡大鏡で確認する。成虫の性を区別するため、腹部の先の部分を観察する。雌には産卵管があり、腹部全体が太く、腹部末端が尖っているのに対し、雄には産卵管がなく、腹部全体が細長い。雌成虫ではルーペを観察により種をある程度見分けることができる。①体長を比較する。ミカンキイロアザミウマやヒラズハナアザミウマは 1.3~1.7 mm で大きく、チャノキイロアザミウマは 0.7~1.0 mm で小さい。②体色を比較する。ミナミキイロアザミウマやチャノキイロアザミウマは強い黄色であるが、ヒラズハナアザミウマは褐色~黒褐色である。③翅の色を比較する。チャノキイロアザミウマは翅全体、ミナミキイロアザミウマは翅の毛が黒いため、翅をたたんだ時に合わせ目が背中の黒筋として見える。

ルーペや拡大鏡による観察では種をある程度見分けることができるが、正確な診断は難しい。そこで、実体顕微鏡 (60~120 倍程度) を用いた簡易同定診断法により種を診断する (千脇ら, 1994)。主要 5 種の雌成虫の形態に基づく同定診断フローチャートは図 6 のとおりである。ただし、主要 5 種以外にダイズウスイロアザミウマ、ハナアザミウマ、ダイズアザミウマ、ビワハナアザミウマ、クロゲハナアザミウマ、キイロハナアザミウマ、クサキイロアザミウマ、マメハナアザミウマ、イネアザミウマ、コスモスアザミウマなどが発生している場合には種の診断ができない。この場合は必要に応じてプレパラート標本作製して前述の簡易同定法により診断し、触角の配色なども確認する。なお、幼虫は実体顕微鏡でも種の診断が困難である。

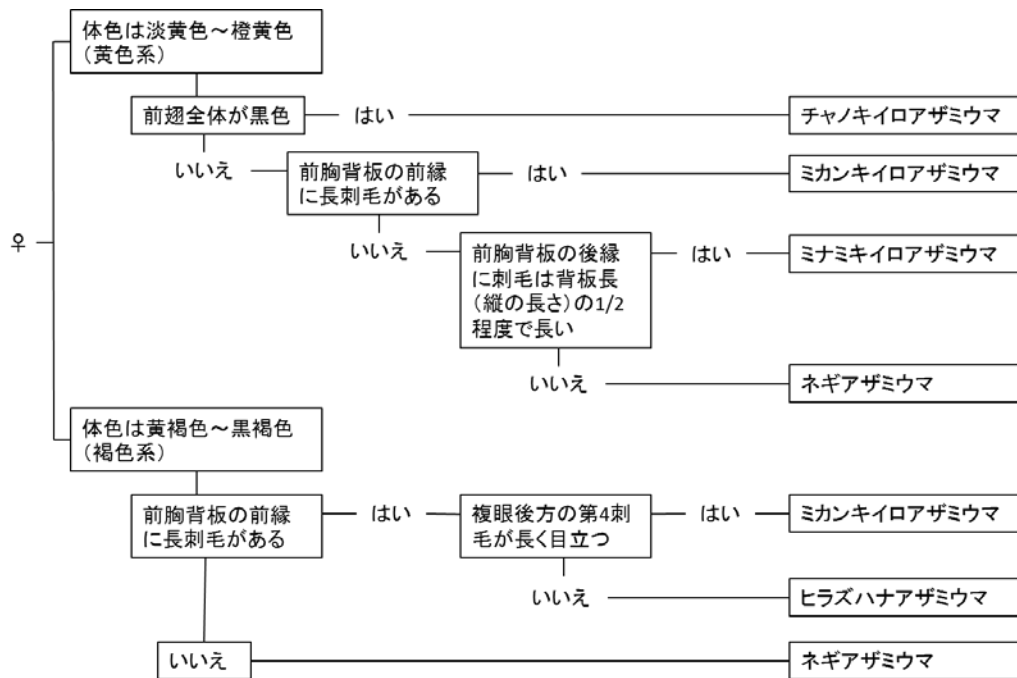


図6 アザミウマ類雌成虫の同定診断フローチャート（千脇ら、1994 を改変）

### (3) 供試虫の累代飼育法

生物検定には、1 薬剤について 30～50 個体が必要となる。感受性検定を効率的に実施するためにはアザミウマ類を飼育して増殖させる。アザミウマ類の飼育は村井（2002）の方法で行う。餌はレース鳩用のソラマメを用いる（図7、コクサイペットフード（株））。ソラマメは流水中で発芽・発根させて皮を剥き、芽と根を除去したものを使用する。

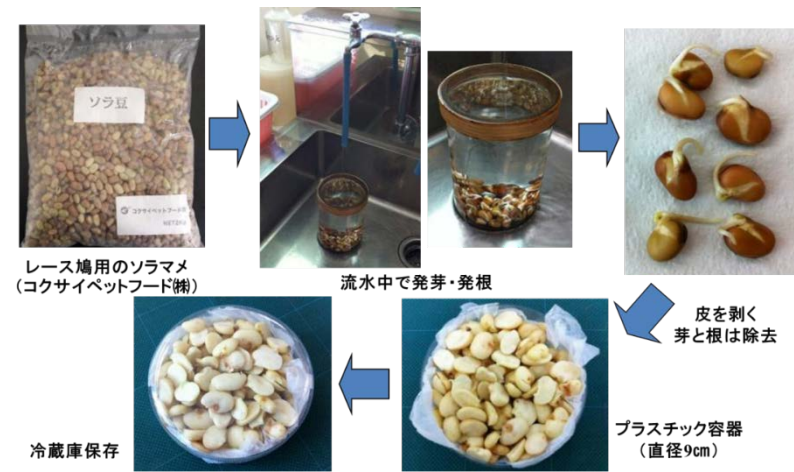


図7 アザミウマ類飼育用のソラマメ催芽種子の準備

飼育容器（タイトタッパー（12×8.5×4.5 cm）、ふた中央部に直径約 5 mm の穴を開けてナイロンメッシュシート N-305（目合 48 μm、（株）サン普拉テック）を貼付けたもの）に剥皮したソラマメ種子をキムワイプ等で包んで入れる（図 8）。この飼育容器にアザミウマ類の成虫を 100 個体ほど入れ、25°C の恒温室内に入れる。成虫はソラマメ催芽種子に産卵し、孵化幼虫はソラマメ催芽種子を餌として発育する。幼虫はキムワイプ等の隙間などで蛹化し、3 週間後には次世代成虫が得られる。なお、飼育容器は蛍光灯の光が直接当たらないようにしないとソラマメの水分が蒸発して容器内面に水滴が付着し、アザミウマ類幼虫が溺死することがある。なお、この方法でほとんどのアザミウマ類は飼育できるが、チャノキイロアザミウマは飼育できない。また、累代飼育を長期間行くとその間に薬剤感受性が変動する可能性があり、採集 2 世代後くらいまでに実施する。

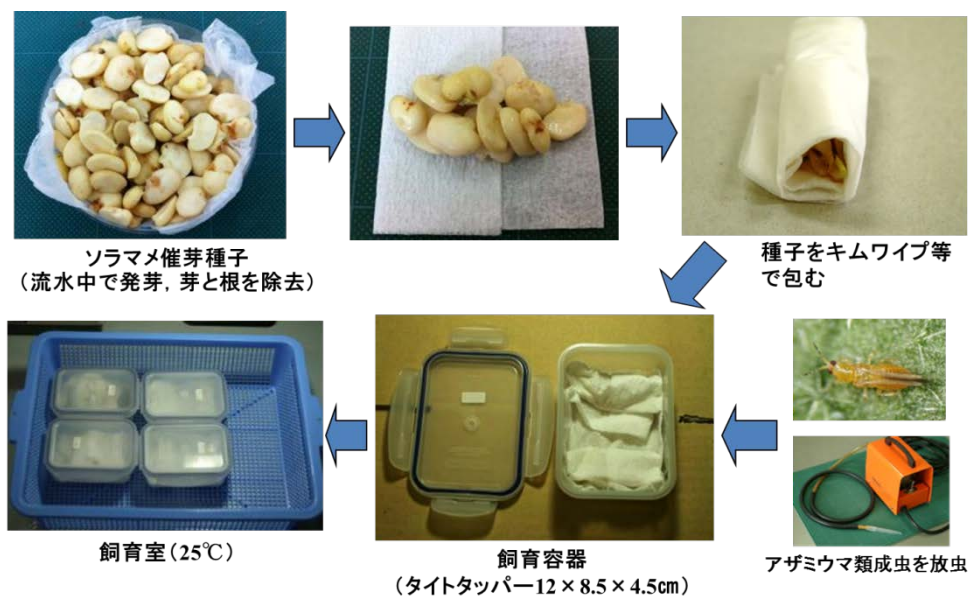


図 8 アザミウマ類の累代飼育法

### 5-4-3 成虫に対する葉片浸漬法

#### (1) 検定の準備

1) インゲンマメ葉片の準備：9 cm ポットにインゲンマメ種子（品種：ナガウズラマメ）を 1～2 粒播種し、25°C、16L8D 条件の人工気象器内で 2～3 週間栽培する（図 9 左）。芽が成長してくるので、初生葉を残し摘み取る。検定直前に苗から初生葉を切り取り、葉片（1.2 cm 四方）を作成しておく。インゲンマメがない場合は、アザミウマ類の累代飼育に用いるソラマメを用いてもよい。プランターに育苗用培土を入れ、前述のソラマメ種子を播種する。これを人工気象器内に置き、適宜灌水して 2～3 週間で草丈 20 cm 程度にする

(図9右)。検定直前に苗から葉を切り取り、葉片(1.2 cm 四方)を作成する。



図9 インゲンマメ苗(左)とソラマメ苗(右)

2) 薬液と検定容器の準備：薬剤は市販の製剤を用い、水道水を用いて所定の濃度に希釈し、薬液を調製する。水和剤、フロアブル剤、水溶剤などには展着剤(5,000倍)を加用する。検定容器として内径2.5 cm、高さ5.0 cmの透明の円筒型スチロール棒瓶(アズワン(株)、容量15 ml、蓋は使用しない)を用いる。検定容器の開口部を密封するための薄膜フィルム(ラボピタ(ニプロ(株))やパラフィルム(Bemis company)など)と検定容器内の湿度を調節するためのろ紙片(1.2×4 cm)を準備しておく。小型のラベルシールに供試虫の採集場所、供試薬剤名などの情報を記入し、スチロール棒瓶に貼り付けておく。

## (2) 供試虫の確保

検定には雌成虫を供試する。累代飼育により得られた雌成虫を供試する場合には羽化後7日以内の雌成虫を用いる。供試虫の移し替えにはマイクロピペット用チップ、ビニールチューブホース、ナイロンメッシュシート(前述)を使って製作した吸虫管を用いる(図10)。小型吸引ポンプ(Linicon LV-125、メド一産業(株))をビニールチューブホースに接続して使用すると効率的に供試虫を吸引することができ、スムーズに移し替えできる。幼虫を検定に用いることは可能であるが、供試虫の移し替えなどの操作は雌成虫の方が扱いやすい。



図10 吸虫管と小型吸引ポンプ

### (3) 検定の手順

- 1) 検定容器にラベルシールを貼り付ける。
- 2) 薬液を検定容器に十分量注入した後に薬液を除去し、ペーパータオル上で開口部を下にして検定容器を置き、内面に付着した薬液を乾かす（図 11）。薬液が乾いたら、開口部を上にして置き、ろ紙片を 1~2 枚入れる。なお、展着剤を加用した水道水のみ注入し、同様に検定容器内面を乾かした無処理の検定容器も用意する。



図 11 検定容器の薬液処理

- 3) 用意しておいたインゲンマメ葉片（1.2 cm 四方）を薬液に 30 秒間浸漬し、割りばしを用いてよく攪拌した後、ペーパータオル上に取り出して風乾させる（図 12）。風乾後、インゲンマメ葉片を検定容器に入れる。なお、インゲンマメ葉片を展着剤を加用した水道水に浸漬した無処理のインゲンマメ葉片も同様に用意する。
- 4) 吸虫管と小型吸引ポンプを用いて 10~15 個体の供試虫を吸い取り、検定容器内でマイクロピペット用チップを軽く叩きながら供試虫を移し替える。直後に検定容器の開口部を薄膜フィルム（ラボピタやパラフィルムなど）で覆って密封する。各薬剤および無処理の反復数は 3~5 とする。
- 5) 検定容器は 25℃の恒温室に 24~72 時間静置する。その際、蛍光灯の光が検定容器に直接当たらないようにするとともに、恒温室内の湿度条件が極端

な高湿度および低湿度にならないように調整する。所定時間経過後、検定容器内の供試虫を生存虫（面相筆の先でつついて動くもの）と死亡虫（動かないもの）の別に計数し、死亡率を算出する。無処理についても同様に調査し、無処理の死亡率から各薬剤の補正死亡率（Abbott, 1925）を算出する。

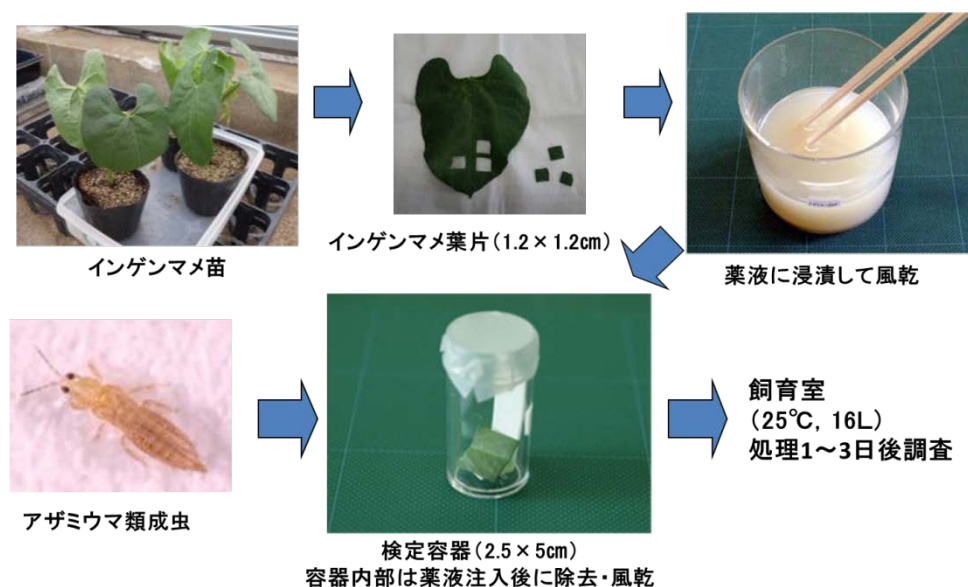


図 12 成虫に対する葉片浸漬法

#### (4) 検定手法の特徴と問題点

検定法の特徴として、インゲンマメ葉片の準備に要する期間は2～3週間程度であり、供試虫の入手または累代飼育虫の準備ができ次第に検定が実施できる。また、森下（1997）の葉片・虫体散布法で用いられる回転式薬剤散布塔などの機器を事前に準備する必要がない。一方、問題点としては、検定には雌成虫を供試するため、脱皮阻害剤など幼虫に作用する薬剤、効果の発現が遅効的な薬剤、薬液の直接的な接触により殺虫効果が発現する薬剤の検定は難しい。

#### 5-4-4 幼虫に対する葉片浸漬法

##### (1) 検定の準備

1) 検定容器の準備：検定容器には、内径 8.5 cm、高さ 1.5 cm のプラスチックシャーレを用いる。インゲンマメ葉片の乾燥防止に使用するキムワイブ（M-150）（1枚を四つ折りにしたもの）（図 13 左）と、葉片上からの幼虫の逃亡防止に使用するろ紙（ADVANTEC、直径 7 cm、No.2、中央に直径 21 mm の穴を開ける）（図 13 右）を準備しておく。ろ紙の穴開けには、ハトメ抜き（70号、内径 21 mm）を用いる。



図 13  
試験に使用するキム  
ワイプ（左）とろ紙と  
ハトメ抜き（右）

2) インゲンマメ葉片の準備：成虫に対する葉片浸漬法に準じて準備する。検定の直前に苗から初生葉を切り取り、葉片（3～4 cm 四方）を作成しておく。

3) ソラマメ発芽種子断片の準備：ソラマメ発芽種子断片は、アザミウマ類の1 齢幼虫を確保するための産卵基質として使用する。湿らせたキムワイプ（M-150）（1 枚を四つ折りにしたもの）を敷いたクリーンカップ（直径 10 cm、深さ 4.5 cm）にソラマメ種子を 10～15 粒ずつ並べてふたをし、25℃、16L8D 条件の人工気象器に入れて栽培する（図 14 左）。発芽して芽と根が 3～5cm に成長したら、基部から 5～7 mm ほどを残して芽と根を切り取り、子葉の片方を取り除く。残りの子葉は芽と根の基部を 6～8 mm ほど残して取り除き、11～15 mm 四方の断片にする（図 14 右）。



図 14  
ソラマメ発芽種子（左）と  
その断片（右、赤丸で示  
した部分を使用）

## (2) 供試虫の確保

約 100 個体のアザミウマ類成虫を導入した飼育容器（タイトタッパー（12×8.5×4.5 cm）、前述）にソラマメ発芽種子断片をそれぞれ 6 個ずつ入れ、25℃、16L8D 条件下で 2 日間産卵させる（図 15 左）。プラスチックシャーレ（内径 8.5 cm）に水を含ませたキムワイプ（M-150）（1 枚を四つ折りにしたもの）を敷き、その上にインゲンマメの初生葉片（3～4 cm 四方）を葉表を上にして載せて産卵させたソラマメ発芽種子断片を置き、ふたを被せる（図 15 右）。これを 25℃、16L8D 条件下に約 5 日間置き、幼虫が孵化直後の状態になった断片を試験に用いる。



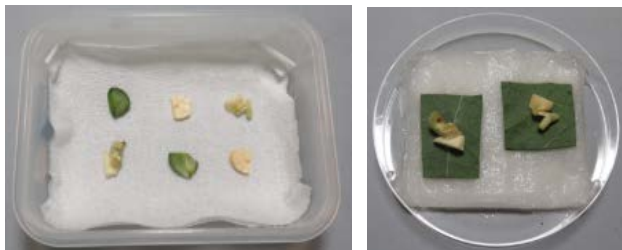


図 15  
アザミウマ類の飼育容器（左）  
産卵させたソラマメ発芽種子断片を置いたインゲン葉片（右）

### (3) 検定の手順

- 1) 内径 8.5 cm のプラスチックシャーレにキムワイプ（M-150）（1 枚を四つ折りにしたもの）を敷き、逆さにしても水が垂れない程度に湿らせておく。
- 2) 用意しておいたインゲンマメ葉片（3～4 cm 四方）を薬液に 30 秒間浸漬し、ペーパータオル上に取り出して風乾させる。風乾した葉片は、葉表を上にして湿らせた脱脂綿上に置き、直径 21 mm の穴をあけたろ紙（直径 7 cm）で覆って保水する（図 16）。
- 3) 穴枠内の葉上に、アザミウマ類幼虫が孵化直後の状態にあるソラマメ発芽種子断片を 1 個載せて 18～20 時間静置し、1 齢幼虫を放虫する。放虫後、ソラマメ発芽種子断片は取り除く。供試個体数は 1 区（1 穴枠）当たり 10～14 個体とする。幼虫数が少ない場合は予備のソラマメ発芽種子断片から孵化した個体を面相筆で加え、多い場合はピンセットで取り除き、供試個体数を調整する。

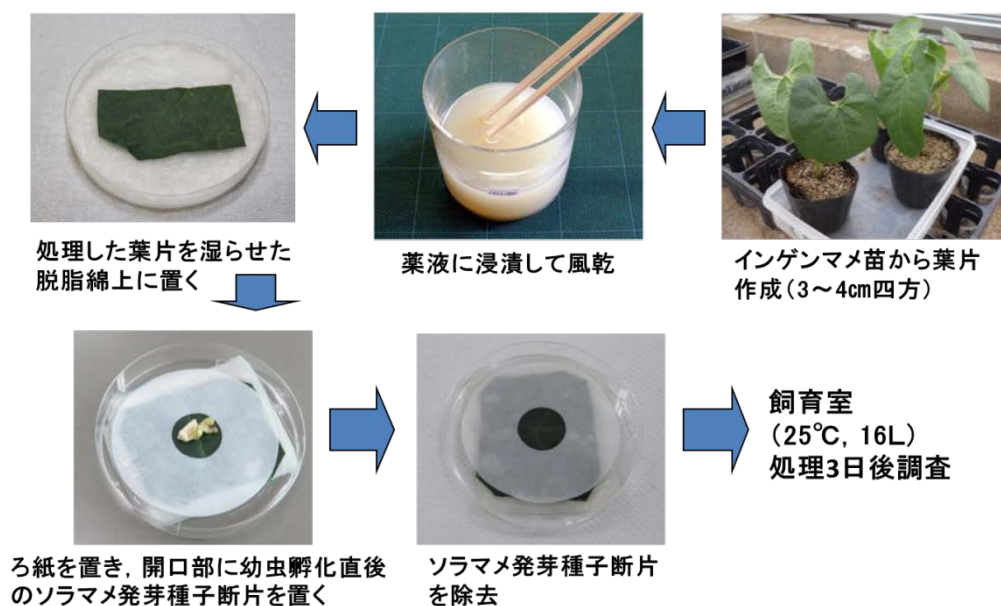


図 16 幼虫に対する葉片浸漬法

4) 検定容器は 25°Cの恒温室に静置する。乾燥によりろ紙の水分が減ると、幼虫がろ紙を這い上がって脱出してしまうので、試験期間中はろ紙が乾燥しないよう適宜水を補充する。72 時間後（3 日後）に実体顕微鏡下で観察し、正常に活動する個体を生存虫、動かない個体や苦悶する個体を死亡虫として計数し、死亡率を算出する。無処理についても同様に調査し、無処理の死亡率から各薬剤の補正死亡率（Abbott, 1925）を算出する。なお、効果の発現が遅効的な薬剤は処理 5 日後または 7 日後に同様に調査する。

#### (4) 検定手法の特徴と問題点

検定法の特徴として、幼虫が孵化直後の状態にあるソラマメ発芽種子断片を穴枠内の葉上に載せると、1 齢幼虫が自ら葉片上に移動するので、面相筆を用いて 1 個体ずつ移動させる労力を軽減できることが挙げられる。一方、問題点としては、放虫した 1 齢幼虫が 2 齢や蛹に成長すると、ろ紙を這い上がって穴枠から脱出する個体が増えるため、注意する。

#### 5-4-5 幼虫に対する虫体・葉片散布法

##### (1) 検定の準備

検定法は基本的に幼虫に対する葉片浸漬法の準備に従うが、以下の点が異なる。

1) 散布機器の準備：薬液散布には、エアブラシとコンプレッサー

（TAMIYA、スプレーワーク HG）を用いる（図 17）。穴枠への散布量を均一にするため、ターンテーブル（アズワン（株）、T-Au）を用い、散布した薬液の付着を防ぐためターンテーブルを除く本体部分は加工したアクリル板などで覆い、その上にキムタオルを敷く（図 18 左）。ターンテーブルには、ターンテーブルよりも大きなプラスチックシャーレ等を被せておく（図 18 右）。



図 17 エアブラシとコンプレッサー



図 18 ターンテーブルへの薬液飛散対策

薬液を散布するエアブラシは、ノズルの先端がターンテーブルの中心から 15 cm の距離で、検定容器の底面から高さ 15 cm、水平方向から 45°下向きの位置に固定する（図 19）。ノズルの固定にはカメラ用の三脚を用いる。薬液散布の際は、散布した薬液が周囲に飛散しないよう、ターンテーブルをポリプロピレン製容器（20×30×40 cm、ノズルの先端が当たる部分に穴を開けたもの）で覆っておく。ターンテーブルは 2 秒で 1 回転とし、オプションのフットスイッチで操作する。エアブラシのタンクに入れる薬液量は、穴枠当たりの散布量が約 20  $\mu\text{l}$  になるよう 320~350  $\mu\text{l}$  の範囲内で調整する。セッティングの際、エアブラシのノズルの高さや角度が微妙に異なると、穴枠への散布量が変わるので、タンクに入れる量と穴枠内の散布量を事前に確認しておく。



図 19 虫体・葉片散布法で使用する薬液散布システム

2) 散布量の確認：以下の手順で行う。i) プラスチックシャーレ（内径 85 mm）の中央に、2 mm 四方に切った両面テープを 3 つ貼り付ける（図 20 左）。ii) ハトメ抜きで打ち抜いた直径 21 mm の円形のろ紙片を両面テープにのせて固定する（図 20 右）。ろ紙片は、あらかじめ、重さを測定しておく。iii) ターンテーブルの中央に置き、エアブラシを用いて水道水を散布し、すぐにろ紙片の重さを測定する。iv) 散布前後のろ紙片の重さの変化から、散布量を算出する。



図 20 薬液散布量の測定に使用するシャーレ

### (3) 検定の手順

幼虫に対する葉片浸漬法の手順に従うが、インゲンマメ葉片を薬液に浸漬せずに検定容器に置き、幼虫の放虫後に、エアブラシを用いて薬液を散布する(図 21)。まず、幼虫を放虫した検定容器をターンテーブルに載せ、薬液飛散防止用の容器を被せる。次に、エアブラシのタンクに 320~350  $\mu\text{l}$  の薬液を入れ、ターンテーブルを動かしながら薬液を散布する。散布した検定容器は薬液が付着しているので、ピンセットを用いて内径 90 mm のプラスチックシャーレに入れ、持ち運びしやすくする。薬液散布後は、幼虫に対する葉片浸漬法の 5) 以降の手順に従う。

### (4) 検定手法の特徴と問題点

検定法の特徴として、エアブラシはハンドスプレーよりも細密に薬剤を散布することができ、再現性も高いことが挙げられる。一方、問題点としては、検定容器に薬剤が付着するため、散布後の取り扱いが面倒になること、複数の薬剤を検定する場合、効率的に作業を進めるためには複数のエアブラシが必要になる。

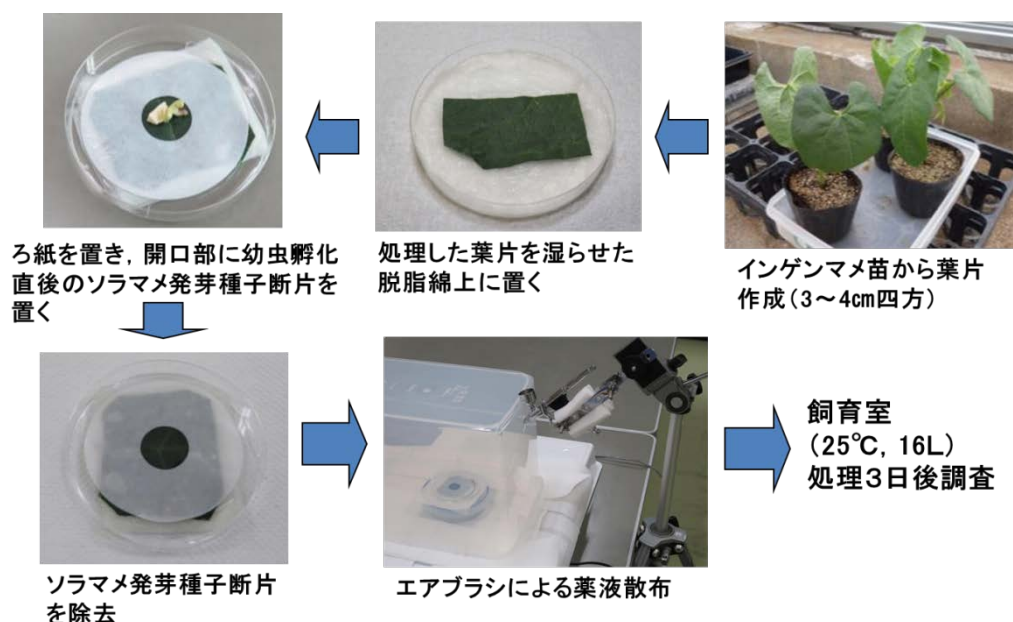


図 21 幼虫に対する虫体・葉片散布法

#### 5-4-6 結果の解析

##### (1) 殺虫効果の判断方法

一定時間経過後の処理区および無処理区の死亡率から下記の Abbott (1925) の補正式により補正死亡率を求める。なお、無処理区の死亡率は 10% 以下が望ましく、20% 以上の場合には原則として一連の試験結果は破棄する。薬剤の殺

虫効果は補正死亡率により判断し、90%以上で殺虫効果は高い、70%以上 90%未満で殺虫効果は認められる、50%以上 70%未満で殺虫効果は認められるがその程度は低い、50%未満で殺虫効果は低いとする。

補正死亡率 (%) =  $100 \times (\text{無処理区の生存率} - \text{処理区の生存率}) / \text{無処理区の生存率}$

## (2) プロビット法による半数致死濃度の算出

累代飼育により供試個体数が十分にある場合は、同一個体群を各段階の濃度に希釈した薬液で薬剤感受性検定を実施し、Bliss (1935) のプロビット法により薬剤の半数致死濃度 (LC<sub>50</sub> 値) を算出する。この値を感受性系統の値と比較し、薬剤抵抗性の発達の度合い (抵抗性比) を求める。

(執筆：柴尾学)

## 文献

- Abbott, W. S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entmol.* 18: 265-267.
- Bliss, C. I. (1935) The calculation of the dosage-mortality curve. *Ann. Appl. Biol.* 22: 134-167.
- 千脇健司・佐野敏広・近藤 章・田中福三郎 (1994) 粘着トラップに誘殺されたアザミウマ類の簡易同定法. *植物防疫* 48: 521-523.
- 浜崎健児・城塚可奈子・柴尾 学 (2015) ミナミキイロアザミウマ 1 齢幼虫に対する簡易な薬剤検定手法. *関西病虫研報* 57: 129-130.
- 片山晴喜 (1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル (9) 野菜・花き害虫：ミカンキイロアザミウマ. *植物防疫* 51: 235-238.
- 河合 章 (1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル (16) 茶害虫：チャノキイロアザミウマ、チャノミドリヒメヨコバイ. *植物防疫* 51: 587-589.
- 森下正彦 (1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル (9) 野菜・花き害虫：ミナミキイロアザミウマ. *植物防疫* 51: 232-234.
- 村井 保 (2002) ソラマメ催芽種子による汎用的害虫飼育法. *植物防疫* 56: 305-309.
- 日本応用動物昆虫学会 (2006) 農林有害動物・昆虫名鑑増補改訂版. 日本植物防疫協会、東京、387pp.
- 柴尾 学 (2013) 植物防疫基礎講座：殺虫剤感受性検定マニュアル (4) アザミウマ類. *植物防疫* 67: 248-251.