

ネギネクロバナネキノコバエ

Bradysia odoriphaga

防除のための手引き

(技術者向け)

—2020年改訂版—



農業環境変動研究センター・野菜花き研究部門

農林水産省消費・安全局植物防疫課

はじめに

ネギネクロバネキノコバエ (*Bradysia odoriphaga*) は、2014年に埼玉県北部のネギ、ニンジンで初めて発生が確認された害虫である。同県は2016年6月に、ネギネクロバネキノコバエに関する病害虫発生予察情報特殊報を発表した。また、隣接する群馬県においても、同年12月にネギで、さらに2018年11月にはコウで本害虫の発生を確認している。ネギネクロバネキノコバエは、国内既発生種のチバクロバネキノコバエ等とは発生生態や作物への加害状況等が大きく異なっており、防除対策の早急な確立と生息域の拡大抑止が強く求められている。

このような状況において、農研機構（農業環境変動研究センター、野菜花き研究部門）、埼玉県農業技術研究センター、埼玉県大里農林振興センターおよび静岡大学は、2016年に、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「クロバネキノコバエ科の一種の生態の解明及び防除手法の開発」（委託元：農林水産省）において、ネギネクロバネキノコバエに関する研究・調査を実施し、その成果を「クロバネキノコバエの一種 *Bradysia* sp.防除のための手引き」として取りまとめた。また、翌年からは、群馬県農業技術センターと森林研究・整備機構（森林総合研究所）も加わり、安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業「クロバネキノコバエ科の一種の総合的防除体系の確立と実証」（委託元：農林水産省）を実施している。この「ネギネクロバネキノコバエ *Bradysia odoriphaga* 防除のための手引き（技術者向け）－2020年改訂版－」は、2019年12月までに標記の委託事業で得られた成果を取りまとめたものである。ネギネクロバネキノコバエの防除に少しでも貢献できれば幸いである。なお、手引きの中で紹介している知見や防除技術には、研究や開発途上のもの、未発表データなどが含まれているため、取り扱いには注意されたい。

2020年1月31日

研究代表者

吉松慎一（農研機構 農業環境変動研究センター）

編集責任者

太田 泉（農研機構 野菜花き研究部門）

目 次

I. ネギネクロバナネキノコバエの正体と被害の特徴	
1. ネギネクロバナネキノコバエは「 <i>Bradysia odoriphaga</i> 」	3
2. ネギネクロバナネキノコバエによる作物の被害	4
II. ネギネクロバナネキノコバエの防除対策	
1. ネギ、ニンジン、ニラで使用できる殺虫剤	7
2. ネギにおける防除体系	8
3. ニンジンにおける防除体系	10
4. ニラにおける防除体系	11
5. 石灰窒素施用による残渣処理	13
6. 石灰窒素施用による発生抑制効果	14
7. キルパーによるネギ残渣処理	15
III. ネギネクロバナネキノコバエの種識別法	
1. DNA 解析	16
2. ネギネクロバナネキノコバエとチバクロキノコバエの外部形態	22
IV. ネギネクロバナネキノコバエのモニタリング法	
1. 成虫	25
2. 幼虫	25
V. ネギネクロバナネキノコバエの生物学的特性	
1. 発育、増殖	29
2. 発生生態	32
VI. ネギネクロバナネキノコバエの飼育法	
1. 大量飼育法	35
2. 系統維持飼育法	35

参考文献リスト

I. ネギネクロバナネキノコバエの正体と被害の特徴

1. ネギネクロバナネキノコバエは「*Bradysia odoriphaga*」

ネギネクロバナネキノコバエ（図1、2）は、クロバナネキノコバエ類の一種である。2014年に埼玉県北部で発見され、その後、群馬県東部および中部でも発生が確認されている。2019年10月の時点で本種による被害が確認されている作物は、ネギ、ニンジン、ニラである。和名の“ネギネクロバナネキノコバエ”は、本害虫が地下深くの「ネ」に生息し、ネギの茎盤や葉鞘に加えて、根菜類のニンジンも加害するという特徴から提唱されたものである（小俣、2017）。

Sueyoshi and Yoshimatsu (2019) は、ベルリン自然史博物館、フィンランド自然史博物館、浙江農林大学、コーネル大学動物学博物館、大阪市立自然史博物館に所蔵されているクロバナネキノコバエ類(*Bradysia tilicola*, *B. difformis*, *B. paupera*, *B. cellarum*, *B. odoriphaga*, *B. impatiens*, *B. agrestis*) の模式標本とネギネクロバナネキノコバエの標本を精査し、ネギネクロバナネキノコバエを「*Bradysia odoriphaga* Yang and Zhang」と同定した。中国ではニラの害虫として知られており、国内で既に発生が知られている農業害虫種のチバクロバナネキノコバエ *B. impatiens* とは別種になる。また、Arimoto et al. (2018) は、ネギネクロバナネキノコバエのDNA解析を行い、ミトコンドリアCOI領域の塩基配列 (accession no. LC278313) が、中国で採集された *B. odoriphaga* の塩基配列 (accession no. KU131581) と100%一致することを確認している。



図1 ネギネクロバナネキノコバエ成虫（左♀、右♂、原図：田上陽介）



図2 ネギネクロバネキノコバエ幼虫（原図：藍澤 亨）

2. ネギネクロバネキノコバエによる作物の被害



図3 ネギネクロバネキノコバエ幼虫によって地下部を激しく加害されたために地上部が坪枯れ状になったネギ圃場（原図：小俣良介）



図4 多数のネギネクロバネキノコバエ幼虫がネギの地下部を食害している様子
(上：葉鞘部分、下：茎盤付近、原図：太田 泉)



図5 ニンジンにおけるネギネクロバネキノコバエ幼虫の食害痕
(原図：小俣良介)



図6 ニラにおけるネギネクロバネキノコバエの被害
(上：地上部の様子、下：地下部に寄生する幼虫、原図：谷口高大)

Ⅱ. ネギネクロバネキノコバエの防除対策

1. ネギ、ニンジン、ニラで使用できる殺虫剤

ネギネクロバネキノコバエの幼虫は地下部に生息して作物を加害する特徴から、本害虫の防除は、殺虫剤による化学的防除が主体となる。2019年10月現在、ネギ、ニンジン、ニラで、ネギネクロバネキノコバエを含めたクロバネキノコバエ類防除に利用可能な登録薬剤を表1、2、3に示した。また、これらの殺虫剤を利用したネギ、ニンジン、ニラにおける防除体系も示した。

表1 ネギのクロバネキノコバエ類防除に利用できる登録殺虫剤

薬剤名	使用方法	希釈倍数	使用量	使用時期	使用回数
ジノテフラン水溶剤	株元灌注	1000倍	1L/m ²	生育期（但し、収穫14日前まで）	1回
ジフルベンズロン水和剤	株元灌注	2000倍	300ml/m ²	収穫21日前まで	3回以内
テフルトリン粒剤	作条土壌混和		9kg/10a	定植時	1回
ニテンピラム水溶剤	散布	2000倍	100～ 300L/10a	収穫前日まで	3回以内
フルフェノクスロン乳剤	散布	4000倍	100～ 300L/10a	収穫14日前まで	3回以内
メソミル水和剤	散布	1000～ 2000倍	100～ 300L/10a	収穫7日前まで	4回以内

表2 ニンジンのクロバネキノコバエ類防除に利用できる登録殺虫剤

薬剤名	使用方法	希釈倍数	使用量	使用時期	使用回数
ジノテフラン水溶剤	株元灌注	400倍	0.4L/m ²	生育期（但し、収穫21日前まで）	1回
テフルトリン粒剤	全面土壌混和		12kg/10a	は種前	1回
メソミル水和剤	散布	1000倍	100～ 300L/10a	収穫前日まで	2回以内

表3 ニラのクロバネキノコバエ類防除に利用できる登録殺虫剤

薬剤名	使用方法	希釈倍数	使用量	使用時期	使用回数
ジノテフラン水溶剤	株元灌注	1000倍	1L/m ²	生育期（但し、収穫14日前まで）	1回
メソミル水和剤	灌注	1000倍	1L/m ²	収穫21日前まで	2回以内

2. ネギにおける防除体系（埼玉県の事例）

[栽培管理上の注意点]

1. 夏期に防除を行う際は、早朝や夕方などの涼しい時間帯に行く。
2. ほ場には明渠や排水路を設置し、ほ場が過湿にならないように努める。
3. 定期的な防除を行い、防除間隔は1か月以上空かないようにする。

梅雨の前に

排水対策を実施しましょう！

- 過湿な環境は、病害の発生を助長するだけでなく、クロバネキノコバエ類の幼虫も多く発生する傾向があります。
- ほ場に水が停滞しないように、明渠の設置や排水路を確認しましょう。



明渠は必ず排水路につなげる。

[薬剤防除体系]

時期	処理時期	IRACコード*	薬剤 (一般名)	使用時期	処理方法	希釈倍数	使用量 (10a換算)	本剤の使用回数
5月中旬	定植時	3 A	フォース粒剤 (テフルトリン粒剤)	定植時	作条 土壌混和	-	9 kg	1回
6月下旬	生育期 (土寄せ前)	4 A	ベストガード水溶剤 (ニテンピラム水溶剤)	収穫前日まで	散布	2000	100~300L	3回以内
7月中旬		1 5	カスケード乳剤 (フルフェノクスロン乳剤)	収穫14日前まで	散布	4000	100~300L	3回以内
8月上旬		1 5	デミリン水和剤 (ジフルベンズロン水和剤)	収穫21日前まで	株元 灌注	2000	300L	3回以内
8月下旬		4 A	スタークル/アルバリン 顆粒水溶剤 (ジノテフラン水溶剤)	収穫14日前まで	株元 灌注	1000	1000L	1回
土寄せ								
9月中旬	生育期 (土寄せ後)	1 5	カスケード乳剤 (フルフェノクスロン乳剤)	収穫14日前まで	散布	4000	100~300L	3回以内
10月上旬		1 5	デミリン水和剤 (ジフルベンズロン水和剤)	収穫21日前まで	株元 灌注	2000	300L	3回以内
10月下旬		1 A	ランネート45DF (メソミル水和剤)	収穫7日前まで	散布	1000 ~ 2000	100~300L	4回以内

※スタークルの有効成分（ジノテフラン）は、アルバリンの成分と同じです。

※ベストガード粒剤を生育期（定植時を除く）に使用する場合は、それを含めた使用回数が3回以内になります。

クロバネキノコバエ類の防除を行う際は、登録農薬がまだ少ないため、薬剤の使用回数を考慮して計画的な使用を行いましょう。

収穫後ほ場の対応

ネギネクロバネキノコバエは鮮度のある部分に寄生をするため、収穫後ほ場に
残ったねぎをそのままにしたり、残渣が再び根付くと、そこが寄生場所になる可
能性があります。

収穫が終わったほ場は、早急に石灰窒素を60～100kg/10a 散布・耕うんし、腐
熟促進を図り、新たな寄生場所にならないように注意しましょう。



このような状態で収穫残渣が根付くと、新たな寄生
場所になる可能性があり、キケンです。

(作成：埼玉県大里農林振興センター、編集：埼玉県農業技術研究センター)



(補足) 埼玉県では、「県内現地向けの防除マニュアル」を
別に作成して、生産者等への普及活動を行っている。

3. ニンジンにおける防除体系（埼玉県事例）

[栽培管理上の注意点]

は種時期とトンネル除去直後には必ず薬剤による防除を行い、被害の軽減を図りましょう。

耕種的防除対策

- 1 来年2月以降に収穫を予定しているねぎほ場の隣や、今年栽培したねぎの後作での作付けは、可能な限り避けましょう。
- 2 は種時期を早め、害虫被害がひどくなる前（5月末まで）に収穫を行える計画を立てましょう。
- 3 できるだけ排水の良いほ場を選定し、排水路の設置や耕盤の破碎など、排水対策を行いましょう。

[薬剤防除体系]

時期	処理時期	IRACコード	薬剤 (一般名)	使用時期	処理方法	希釈倍数	適用害虫	使用量 (10a換算)	本剤の使用回数
12～1月	は種前	3 A	フォース粒剤 (テフルトリン粒剤)	は種前	全面 土壌 混和	-	クロバネ キノコバエ類	12kg	1回
4月上～ 中旬	トンネル 除去直後	4 A	スタークル/アルバリン 顆粒水溶剤 (ジノテフラン水溶剤)	収穫21日 前まで	株元 灌注	400	クロバネ キノコバエ類	400L	1回
4月下旬～ 5月上旬	生育期	1 5	カスケード乳剤 (フルフェノクスロン乳剤)	収穫3日 前まで	散布	4000	ヨトウムシ	100～300L	2回以内
5月中旬	収穫期	1 A	ランネート45DF (メソミル水和剤)	収穫前日 まで	散布	1000	クロバネ キノコバエ類	100～300L	2回以内

※スタークル/アルバリン顆粒水溶剤を株元灌注する場合は、使用時期（収穫前日数）に注意して使用する。

※5月中旬の防除は、収穫が6月以降になる場合に実施する。

農業を使用する際は必ず使用農業のラベルを確認し、使用基準を遵守するとともに、周辺作物への飛散防止に努めましょう。

（作成：埼玉県大里農林振興センター、編集：埼玉県農業技術研究センター）

4. ニラにおける防除体系（群馬県の事例）

[ほ場での被害状況]



ニラでは、幼虫が地下茎葉部を加害することで加害された株は生育不良となる。地下部を激しく加害されると地上部の茎葉が萎れて枯れる。

[薬剤防除体系]

	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月
栽培体系	● 播種	● 育苗	● 定植						● 捨て刈り	● ハウス被覆保温開始	● 収穫①	● 収穫②	● 収穫③	● 収穫④	● 収穫⑤
防除内容	①		②							③	④				

※ニラは地上部の刈り取り、再生、収穫を複数回繰り返す。農薬の使用回数は、刈り取り時にリセットされる。

①育苗期及び②生育期（捨て刈り前まで）

本種の発生が認められた場合は、メソミル水和剤やジノテフラン水溶剤の灌注処理を行う（農薬の具体的な使用方法は7ページの表3を参照。以下も同様）。

③捨て刈り直後

本種の発生が懸念される場合は、メソミル水和剤、更に7日後位にジノテフラン水溶剤の灌注処理を行う。

④収穫期

・収穫1回目後～収穫2回目前

本種の発生が認められた場合は、収穫までの日数に注意した上で、メソミル水和剤、更に7日後位にジノテフラン水溶剤の灌注処理を行う。

・収穫2回目後～収穫3回目前

収穫1回目後～収穫2回目前と同じ

・収穫3回目後～収穫4回目前

収穫 1 回目後～収穫 2 回目前と同じ

- 収穫 4 回目後～収穫 5 回目前

収穫 1 回目後～収穫 2 回目前と同じ

⑤栽培終了後

キルパーによる残渣株の枯死処理を行う。

ニラにおけるキルパーの使用方法

使用目的	使用量	使用時期	使用回数	使用方法
前作のにら又は にら（花茎）の 古株枯死	原液として 60L/10a	前作の栽培終了 後からは種又は 定植の 10 日前 まで	1 回	所定量の薬液を土壤 表面に散布し、直ちに 混和し被覆する。
				予め被覆した内で、所 定量の薬液を水で希 釈し土壤表面に散布 または灌水する。
				所定量の薬液を土壤 中約 15cm の深さに 注入し直ちに被覆ま たは覆土・鎮圧する。

[その他の対策]

- 農業機械の衛生管理

本種発生ほ場で使用した機械を未発生ほ場に持ち込む際には、必ず機械を洗浄する。

- ほ場の排水性改善

水はけの悪い場所で本種の発生が多い事例があるため、明渠の設置などで水はけを改善する。

（作成：群馬県農業技術センター）

5. 石灰窒素施用による残渣処理

ネギネクロバネキノコバエに加害されたネギ、ニンジンを圃場に放置したり、未分解のまま鋤込むと、本害虫が作土中に残り、後作でも被害が発生しやすくなる。

石灰窒素は有機物の分解を促進する。ネギ残渣を鋤込んだほ場に 60kg/10a 相当量の石灰窒素を施用すると、約 1 カ月後にネギの残渣量が約 20%まで減少する（表 4）。室内試験において、石灰窒素を施用せずにニンジン残渣を土壌混和したのみでは、ニンジンが再生し、地上部が回復した。また、粉碎してあれば、その程度によらず、石灰窒素を処理することで分解が進んだ（データ略）。したがって、石灰窒素を施用せずにニンジン残渣を土壌混和しただけでは、ネギネクロバネキノコバエの発生を助長する恐れがある。ニンジンでは、石灰窒素を施用し、軽くニンジン残渣を粉碎する程度の混和を実施することで、残渣を十分に分解できると考えられる。

表 4 ネギ収穫後ほ場に各種資材を施用した場合のネギ残渣の分解促進効果

供 試 資 材 施用量	土壌5ℓ当たりのネギ残渣量(g)						
	反復	処理直前		処理 14日後		処理 33日後	
		①	②	①	②	①	②
石灰窒素 60kg/10a	I 区	446	98	34	68	6	17
	II 区	68	84	8	64	8	48
	III 区	106	32	34	110	30	10
	平均	139.0		53.0		19.8	
	補正指数*			73.1		19.7	
分解ヘルパー (微生物土壌改良材) 60kg/10a	I 区	84	46	58	100	38	36
	II 区	12	90	74	6	10	34
	III 区	88	82	40	14	28	42
	平均	67.0		48.7		31.3	
	補正指数*			139.2		64.5	
無処理	I 区	82	50	4	2	62	30
	II 区	50	186	18	46	24	32
	III 区	98	36	136	56	76	140
	平均	83.7		43.7		60.7	
	補正指数*			100		100	

*補正指数：(処理区の処理 × 日後の残渣量 / 処理区の処理直前の残渣量) × (無処理区の処理直前の残渣量 / 無処理区の処理 × 日後の残渣量) × 100

6. 石灰窒素施用による発生抑制効果

石灰窒素のネギネクロバネキノコバエに対する抑制効果について、①残渣処理に石灰窒素を使用することを想定し、土壌混和（100kg/10a 相当量）、②ネギ生育中の追肥的利用として株元散布（混和は行わずに、培土の表面に 12kg/10a 相当量を処理）をそれぞれ想定したケースにおける室内試験を実施し、羽化成虫数を調査した。いずれの場合も、石灰窒素を施用した区の成虫の羽化は確認されなかった（図 7、8）。したがって、石灰窒素の処理は残渣の分解促進に加えてネギネクロバネキノコバエの発生を抑制する可能性がある。なお、石灰窒素 4kg/10a の株元散布を設定したケースでは無処理と同じくらいの成虫が羽化した（データ略）。

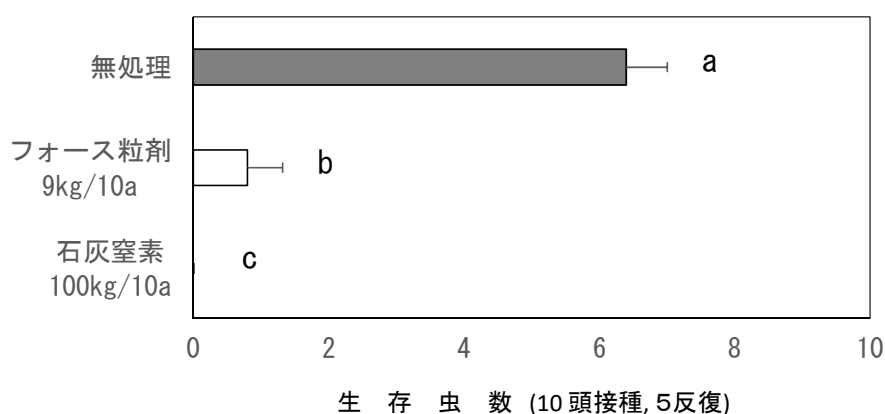


図 7 石灰窒素（100kg/10a 相当量）の土壌混和处理を想定した室内試験におけるネギネクロバネキノコバエ羽化成虫数

異なるアルファベット間には有意な差があることを示す（Scheffe の検定、 $p < 0.05$ ）。グラフのバーは標準誤差。

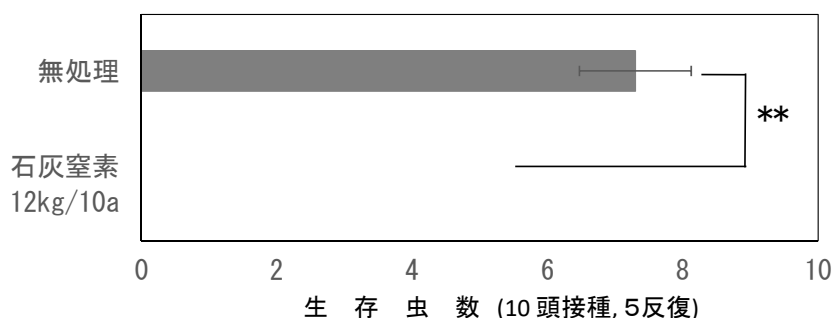


図 8 石灰窒素（12kg/10a 相当量）の株元散布処理を想定した室内試験におけるネギネクロバネキノコバエ羽化成虫数

図中のアステリスク間には有意な差があることを示す（t-検定、 $p < 0.01$ ）。グラフのバーは標準誤差。

7. キルパーによるネギ残渣処理

収穫調整時に大量に発生するネギ残渣の処理方法として、土壤消毒剤のキルパーが農薬登録された（表5）。ネギ残渣をほ場内（次作は登録作物を作付けする）に、高さ40cm程度以下となるよう集積する。キルパー 40ml/m²を原液～10倍程度に希釈して残渣の上から散布し、すぐにビニール等で覆う（図9）。数日から1週間後に、ビニールを除去し残渣をほ場内にすき込む。冬季の低温時でも十分な効果がある（表6）。

表5 ネギにおけるキルパーの使用法（2019年10月現在）

使用目的	使用量	使用時期	使用回数	使用方法
前作のねぎの作物残渣に寄生したクロバネキノコバエ類蔓延防止	原液として40mL/m ²	集積後からは種又は定植の15日前まで	1回	ほ場内に集積した残渣物に所定量の薬液を散布し被覆する。

表6 キルパーのネギネクロバネキノコバエ幼虫に対する効果

供試薬剤	処理方法	調査力所	5株あたりの幼虫寄生数			
			処理前(1/18)		処理3日後(1/21)	
			計		計	
キルパー	40ml/m ² 10倍希釈液 散布	I	275	1109	0	0
		II	449		0	
		III	385		0	
キルパー	40ml/m ² 原液 散布	I	399	1057	0	0
		II	408		0	
		III	250		0	
無処理 (ビニール被覆のみ)		I	331	874	208	746
		II	220		409	
		III	323		129	



図9 キルパーによるネギ残渣の処理（原図：岩瀬亮三郎）

Ⅲ. ネギネクロバネキノコバエの種識別法

1. DNA 解析

ネギネクロバネキノコバエのミトコンドリア COI 領域の塩基配列は、チバクロバネキノコバエ等の国内既発生種と異なっていたことから、本害虫に特異的な PCR プライマーを設計し、簡易識別法を開発した (Arimoto et al, 2018)。この手法では、PCR 増幅産物のアガロースゲル電気泳動を行い、約 324 塩基のバンドが検出されればネギネクロバネキノコバエ、709 塩基のバンドが検出されれば他 3 種と識別できる (表 7、図 10)。

なお、上記の簡易識別法でネギネクロバネキノコバエの特異的バンドが検出された場合には、汎用の PCR プライマー (LCO1490 と HCO2198、下表参照) を用いてミトコンドリア COI 領域の塩基配列を解読し、既登録の *Bradysia odoriphaga* の塩基配列 (accession no. KU131581) と一致することを確認した方がより確実である (ダイレクトシーケンシング法)。

[簡易識別法のプロトコル]

(1) DNA の抽出法

- ① 1.5ml チューブに虫体 (成虫または幼虫) を入れる。エタノール浸漬個体の場合、室温で 10~20 分静置してエタノールを揮発させる。
- ② PrepMan[®] Ultra Sample Preparation Reagent (Life Technologies, CA, USA) 50 μ L を加える。
- ③ 直径 1.5mm のジルコニアビーズを 4~6 個入れ、マルチビーズショッカーで磨砕する。
- ④ 100 $^{\circ}$ C に設定したヒートブロックで 20 分間加熱後、室温で 15,000g \cdot 3 分間遠心する。

(2) PCR 実験方法

① プライマー配列

プライマー名	塩基配列
LCO1490	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
HCO2198	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'
BCOF1	5'-TTCTCATTTCAGGTGCATCAGTA-3'

② PCR 反応液組成

TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version (タカラバイオ) を使用する。

1 サンプルあたり反応液を 10 μ L とする。

	1サンプル	8サンプル
滅菌済蒸留水	6.15 μ L	49.20 μ L
10 \times Ex Taq Buffer (20mM Mg ²⁺ plus)	1.00 μ L	8.00 μ L
2.5mM dNTP	0.80 μ L	6.40 μ L
プライマー LCO1490 (10 μ M)	0.50 μ L	4.00 μ L
プライマー HCO2198 (10 μ M)	0.50 μ L	4.00 μ L
プライマー BCOF1 (10 μ M)	0.50 μ L	4.00 μ L
TaKaRa Ex Taq [®] HS (5U/ μ L)	0.05 μ L	0.40 μ L
DNA抽出液	0.50 μ L	4.00 μ L
合 計	10.00 μ L	80.00 μ L

③ PCR 条件

95 $^{\circ}$ C	4分	} 30サイクル
94 $^{\circ}$ C	30秒	
60 $^{\circ}$ C	1分	
72 $^{\circ}$ C	40秒	
72 $^{\circ}$ C	5分	
10 $^{\circ}$ C	∞	

(3) 電気泳動によるバンドパターンの確認

PCR 増幅産物を 2% SeaKem[®] GTG[™] アガロース (Lonza, Basel, Switzerland)を用いて 100V で 30 分~40 分間電気泳動し、GelRed[™](Biotium, CA, USA) を用いて 20 分間染色する。

表7 簡易識別法の検証に利用したクロバネキノコバエ類 4 種のサンプル

採集地名	採集年月日	寄主	種の和名	特異的バンド*
埼玉県北部	2015年12月	ネギ	<u>ネギネクロバネキノコバエ</u>	+
埼玉県深谷市	2016年5月	ジャガイモ	チバクロバネキノコバエ	-
静岡県静岡市	静岡大学累代飼育系統		チバクロバネキノコバエ	-
大分県豊後大野市	2012年9月	イチゴ	チバクロバネキノコバエ	-
茨城県つくば市	2016年9月	木材チップ	チバクロバネキノコバエ	-
埼玉県鶴ヶ島市	2016年11月	サトイモ	ジャガイモクロバネキノコバエ	-
千葉県旭市	2010年11月	マツコルム	ツクリタケクロバネキノコバエ	-
長野県佐久市	2004年11月	エリンギ	ツクリタケクロバネキノコバエ	-
長野県長野市	2011年11月	エリンギ	ツクリタケクロバネキノコバエ	-

*図 10 を参照。約 324 塩基のバンドが検出されたものを「+」、約 709 塩基のバンドが検出されたものを「-」とした。

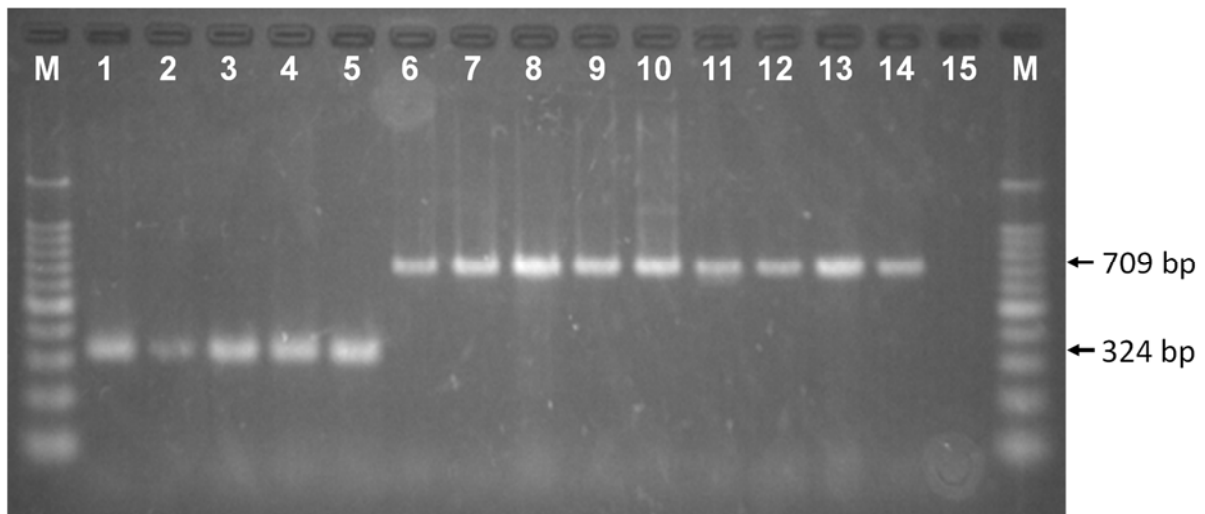


図 10 ネギネクロバネキノコバエと国内既発生クロバネキノコバエ類 3 種における種特異的プライマーを用いた PCR 増幅産物の 2%アガロースゲル電気泳動写真

M: 100bp DNA ラダーマーカー、1-5: ネギネクロバネキノコバエ、6-10: チバクロバネキノコバエ、11-12: ジャガイモクロバネキノコバエ、13-14: ツクリタケクロバネキノコバエ、15: ネガティブコントロール (抽出 DNA 未添加の PCR)

[ダイレクトシーケンス法のプロトコル]

(1) DNA の抽出法

上記[簡易識別法のプロトコル]の (1) を参照

(2) PCR による DNA バーコード領域の増幅

① プライマー配列

上記[簡易識別法のプロトコル]の (2) ①の LCO1490 と HCO2198 を使用する。

② PCR 反応液組成

TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version (タカラバイオ) を使用する。

1 サンプルあたり反応液を 10 μ L とする。

	1サンプル	8サンプル
滅菌済蒸留水	6.65 μ L	53.20 μ L
10× Ex Taq Buffer (20mM Mg ²⁺ plus)	1.00 μ L	8.00 μ L
2.5mM dNTP	0.80 μ L	6.40 μ L
プライマー LCO1490 (10 μ M)	0.50 μ L	4.00 μ L
プライマー HCO2198 (10 μ M)	0.50 μ L	4.00 μ L
TaKaRa Ex Taq® HS (5U/ μ L)	0.05 μ L	0.40 μ L
DNA抽出液	0.50 μ L	4.00 μ L
合 計	10.00 μ L	80.00 μ L

③ PCR 条件

95°C	4分	} 40サイクル
94°C	30秒	
57°C	1分	
72°C	40秒	
72°C	5分	
10°C	∞	

(3) 電気泳動による PCR 増幅状況の確認

上記[簡易識別法のプロトコル]の(3)を参照。

(4) PCR 増幅産物の精製

ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup Reagent (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA) を使用する。

- ① 滅菌済蒸留水 20 μ l : ExoSAP-IT 1 μ l の割合で混合する。
- ② PCR 増幅産物 5 μ l に上記混合液を 1 μ l ずつ加える。
- ③ 37°C で 20 分加熱後、80°C で 20 分加熱する。

(5) シークエンスのための蛍光標識

BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) を使用する。

① プライマー配列

LCO1490 と HCO2198 を使用し、各プライマーについて以下の反応液を調整する。PCR 増幅時とは濃度が異なる点に注意する。

② 反応液組成

	1サンプル	8サンプル
滅菌済蒸留水	3.261 μL	26.088 μL
5 x Sequencing Buffer	0.875 μL	7.000 μL
Cycle Sequencing RR-100	0.250 μL	2.000 μL
プライマー (3.3 μM)	0.114 μL	0.912 μL
テンプレートDNA (PCR産物)	0.500 μL	4.000 μL
合 計	5.000 μL	40.000 μL

③ 反応条件

96°C 1分	} 30サイクル
96°C 30秒	
50°C 15秒	
60°C 4分	
10°C ∞	

(6) 精製

Wizard[®] MagneSil[®] Sequencing Reaction Clean-Up System (Promega, Madison, WI, USA) を使用する。

- ① MagneSil[®] GREEN ボトルを撹拌し、上記(5)③の反応を終えた各チューブに 180 μl ずつ入れ、ボルテックスする。
- ② 室温で 5 分間静置する。その間、0、2.5、5 分後に転倒混和により撹拌する。
- ③ 8 連チューブをプレート遠心機で遠心する。
- ④ 8 連チューブを MagnaBot[®] II Magnetic Separation Device に立て、DNA-MagneSil[®] GREEN 複合体を集磁し、上澄みを除く。
- ⑤ 100 μl の 90%エタノールを各サンプルに加える。
- ⑥ 室温で 5 分間静置する。その間、0、2.5、5 分後に転倒混和により撹拌する。
- ⑦ 8 連チューブをプレート遠心機で遠心する。
- ⑧ 8 連チューブを MagnaBot[®] II Magnetic Separation Device に立て、DNA-MagneSil[®] GREEN 複合体を集磁し、90%エタノールを除く。
- ⑨ 上記⑤~⑧をもう一度繰り返す。
- ⑩ 遠心エバポレーターを用いて加熱しながら 30 分間乾燥させる。

(7) シークエンス

ABI PRISM[®] 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いてシークエンスを行う。

- ① 上記(6)の⑩で乾燥させた各チューブに Hi-Di Formamide を 20 μ l ずつ加える。
- ② ボルテックスした後、プレート遠心機で遠心する。
- ③ 8 連チューブを MagnaBot[®] II Magnetic Separation Device に立て、MagneSil[®] GREEN のみを集磁し、溶出液 16 μ l をシークエンス用プレートに移す。
- ④ プレート遠心機で遠心した後、96°C で 2 分間加熱する。
- ⑤ 加熱後、氷上で急冷する。
- ⑥ ABI PRISM[®] 3130xl Genetic Analyzer でシークエンスを行う。

(8) 塩基配列の決定

シークエンスの結果得られた配列データについて、GENETYX[®]などの遺伝情報処理ソフトウェアを用いて解析し、塩基配列を決定する。なお、上記プライマーを用いた場合、DNA バーコード領域の塩基配列は 658bp となる。

(9) 相同性検索

決定した塩基配列を BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) に入力し、既登録の *Bradysia odoriphaga* の塩基配列 (accession no. KU131581) との相同性を確認する。

NCBI Nucleotide BLAST:

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome

2. ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエの外部形態

●共通点

ネギネクロバネキノコバエ *B. odoriphaga* は、チバクロバネキノコバエ *B. impatiens* と同様に、前脚脛節内側の先端部に一列に並ぶ剛毛を備えること（図 11 左）等から、*Bradysia* 属に含まれる。また、小顎鬚（palpus）上に感覚毛を備えた窪みを持つこと（図 11 右）等で、*Bradysia* 属 16 種群のうちの *B. tilicola* 種群に属する。



図 11 チバクロバネキノコバエの前脚脛節内側先端部の剛毛（左）とネギネクロバネキノコバエの小顎鬚（palpus）上の感覚毛を備えた窪み（右）（原図・編集：吉松慎一）

■相違点1：雄成虫の触角第4節

ネギネクロバネキノコバエの雄触角第4節の長さは、幅の約 2.2 倍（図 12 左）あるが、チバクロバネキノコバエの雄では約 1.4 倍である（図 12 右）。

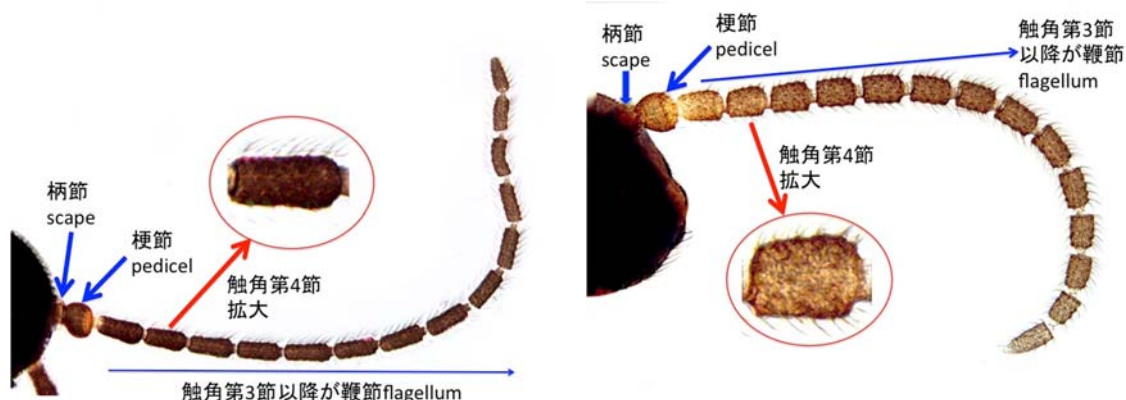


図 12 ネギネクロバネキノコバエ（左）とチバクロバネキノコバエ（右）の雄の触角（原図・編集：吉松慎一）

■相違点2：雄成虫の交尾器

クロバネキノコバエ類の雄成虫の腹部末端は交尾の際に雌成虫の腹部末端を保持する器官（交尾器）となっている。腹部第9節腹板は左右に突出した生殖基節（gonocoxite）とその先端で可動する生殖端節（gonostylus）に変形している。ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエは共に生殖端節の末端に嘴状の突起を持つが、それが生える位置が異なる。ネギネクロバネキノコバエのそれは生殖端節の外側に位置し、チバクロバネキノコバエのそれは生殖端節の先端に位置する（図13）。



図13 ネギネクロバネキノコバエ（左）とチバクロバネキノコバエ（右）の雄交尾器背面（原図・編集：吉松慎一）

■相違点3：成虫の平均棍の色

ネギネクロバネキノコバエ成虫の平均棍は淡黄色（図14）、チバクロバネキノコバエは暗灰色をしている（図15）。ただし、長期間保存されたサンプルでは退色が進むため、この特徴は利用できない（小俣ら、2019）。

■その他

小俣ら（2019）では、幼虫の頭部や前胸部、蛹の複眼などの形態学的特徴でも上記2種の間の特徴を見出しているが、さらなる検討が必要な点もあるため、本稿では割愛した。詳細は、小俣ら（2019）を参考にされたい。

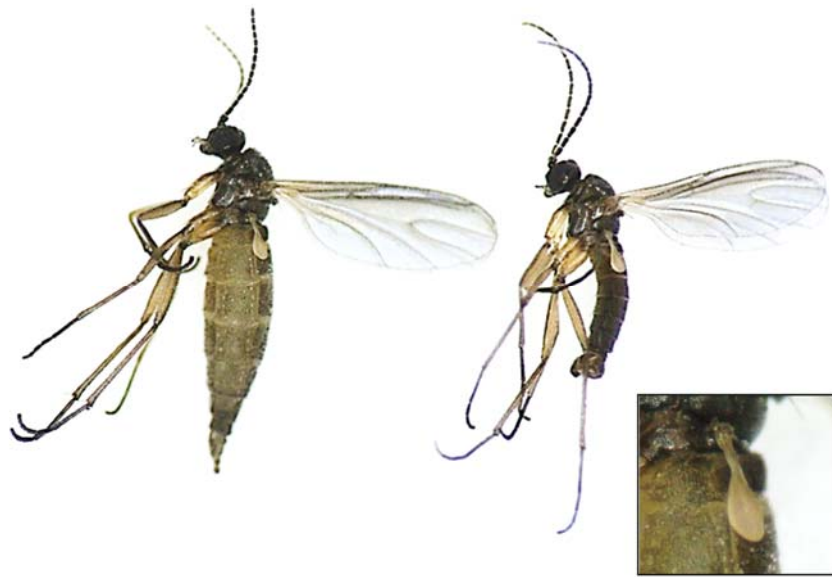


図 14 ネギネクロバネキノコバエ (左：雌、右：雄、右下：平均棍)
(原図：田上陽介、編集：小俣良介)



図 15 チバクロバネキノコバエ (左：雌、右：雄、右下：平均棍)
(原図：田上陽介、編集：小俣良介)

IV. ネギネクロバネキノコバエのモニタリング法

1. 成虫

(1) 黄色粘着トラップ

圃場に黄色粘着トラップを設置して成虫を捕獲する(図 16)。ネギネクロバネキノコバエ成虫はあまり高い位置を飛翔しないので、トラップの設置位置は地上 50cm 程度までとする。粘着板はラップなどに包んで室内に持ち帰り、実体顕微鏡下でクロバネキノコバエ類とその他を判別し、さらにクロバネキノコバエ類については、前頁の相違点1と相違点3によりネギネクロバネキノコバエを判別する。DNA 解析を行う場合は、成虫にヘキササンや D-リモネンを滴下してトラップから引きはがす(そのままだでは平均棍が確認できない場合も同様にはがして観察する)。虫体にトラップの粘着剤が残っていると支障があるので、有機溶媒等で丁寧に落とすか、粘着剤のついていない部分を切除して DNA 解析に用いる。なお、粘着トラップに捕獲されたキノコバエ類成虫の DNA は時間の経過とともに劣化していくため、特に夏季の高温期は、トラップの設置期間は概ね 10 日以内とするのが望ましい。



図 16 ネギ圃場に仕掛けた黄色粘着トラップ(左、中央)とトラップに捕獲されたネギネクロバネキノコバエ成虫(右)

(原図：岩瀬亮三郎)

2. 幼虫

ネギネクロバネキノコバエ幼虫はサイズが小さく、現地で個体数等を調査するのは煩雑である。そのため、圃場からネギネクロバネキノコバエ幼虫が寄生していると思われるネギ、ニンジンを持ち帰り、実験室内で寄生を確認する3つの方法を紹介する。



図 17 ネギ、ニンジンでネギネクロバネキノコバエ幼虫の寄生を確認する方法
(原図・編集：小俣良介)

(1) 植物培養法

圃場から採取したネギ、ニンジンを容器内で一定期間保存し、ネギネクロバネキノコバエ成虫を羽化させて寄生を確認する方法である(図 17A)。ネギは茎盤から上 10～15cm の部分を使用する。ニンジンは、根の肩～中部の部分を使用する。プラントポット (W72×D72×H約 200mm) にバーミキュライト (約 100ml)、水 (約 80ml) を入れて、ネギまたはニンジン を 1 本ずつ培養する。温度 25℃・日長 16L8D の条件下で保存し、ネギネクロバネキノコバエの寄生があれば 14 日程度で成虫が発生しはじめ、28 日程度でほぼ終息する。したがって、サンプル採取 (またはサンプルセット) 14 日後～21 日程度の成虫の発生で寄生の有無を判定する。

(2) 植物分解法

ネギの茎盤から上 15cm の葉鞘までを採取し、ひげ根と付着土壌 (図 17B の右上)、茎盤 (同左上)、茎盤側の葉鞘 (同左下)、残りの葉鞘 (同右下) に分ける。それぞれを実体顕微鏡下で観察して、寄生しているネギネクロバネキノコバエ幼虫を直接確認する。若齢幼虫は動きがなくなると顕微鏡下で発見しにくくなるため、若齢幼虫発生時期などは、採取後できるだけ早いうちに調査することが望ましい。また、透過型顕微鏡を利用すると幼虫を確認しやすい。

(3) 水浸漬法

水（水道水でよい）を入れた容器にネギを浸して、組織内に隠れたネギネクロバネキノコバエ幼虫を出現させる（図 17C）。ネギネクロバネキノコバエ幼虫は水没して容器の底に沈下する（図 17D）。

幼虫数調査では、上述の植物分解法は非常に労力がかかるため、水浸漬法と植物分解法を組合せるとよい。ポリプロピレン製タイトボックス（ロング、約 30×10×9.8cm、2.5L）等を使い、ネギ（莖盤から 15cm までの部分）やニンジン（葉の付け根 2cm 程度を残した根部全体）が水面下に浸るように本数を適宜調整して水道水（約 0.6～1L 前後）を注ぐ。なお、水温が低すぎると幼虫の出現も抑制されることが考えられることから、冬期は水道水の温度に注意する。ネギでは 30 分、ニンジンでは約 1 時間静置する。その後、浸漬した水をステンレス製の網（φ 15～20cm）などにペーパータオルを敷いて濾し、実体顕微鏡下で幼虫、蛹数を計数する（図 18）。浸漬後のネギ、ニンジン根部は、実体顕微鏡により分解調査を実施し、残存虫を計数する。また、サンプルを入れたポリ袋内の壁面および残存する土壌中における幼虫の有無も実体顕微鏡等で確認する。



図 18 水浸漬処理中のネギ（左上）とニンジン（左下）、浸漬液を濾過した残渣からネギネクロバネキノコバエ幼虫を検鏡している様子（右）（原図：小俣良介）

水浸漬法では、ネギに寄生する幼虫の約 80%が水中に出現するため（図 19）、ネギの簡易調査としては、水浸漬法のみでも十分である。「泥ネギ」を出荷する際の本種害虫の寄生の有無をチェックする簡易調査に利用可能である。一方のニンジンでは、「割れ」や内部の腐食部分に幼虫が残存する割合が多く、植物分解法との併用が不可欠である。

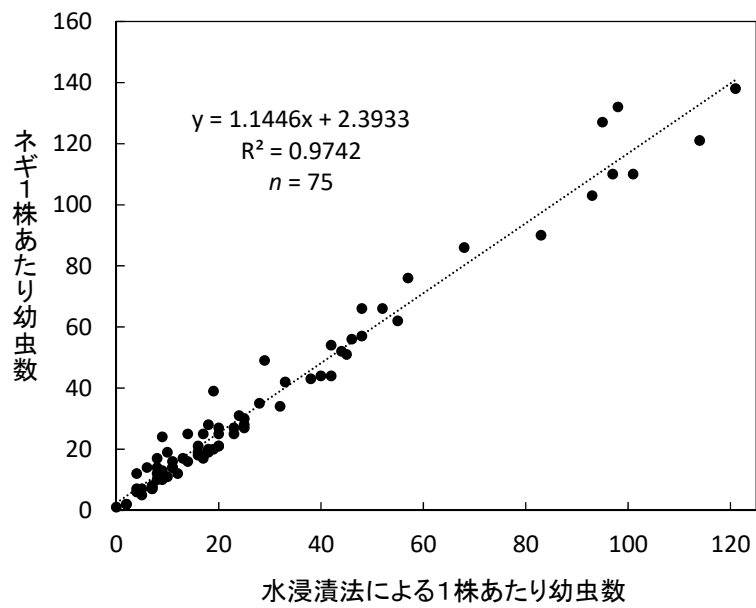


図 19 ネギの 1 株あたり幼虫数と水浸漬法による幼虫数の関係

V. ネギネクロバネキノコバエの生物学的特性

1. 発育、増殖

石原・田上（2019）は、米ヌカを餌として与えた場合のネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエの発育、増殖を明らかにしている。

ネギネクロバネキノコバエ幼虫の発育期間は、チバクロバネキノコバエと比べて全般に長く、30℃では発育の遅延も認められる（表8）。幼虫の蛹化率は11℃で12.5%、30℃で25.2%となり、16℃、20℃、25℃と比べて低い（表9）。なお、発育ゼロ点は、どの発育ステージも概ね7～8℃となっている（表10）。

表8 ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエの発育期間*

種類	性別	飼育温度 (℃)	発育期間 (日)			
			卵	幼虫	蛹	全体
ネギネクロバネ キノコバエ	♀	11	18.6	79.5	14.7	112.8
		16	9.4	49.6	7.4	65.8
		20	6.4	31.4	4.3	41.7
		25	4.0	19.4	3.5	26.6
		30	4.6	24.4	3.3	32.2
	♂	11	19.3	83.1	14.9	115.0
		16	9.8	47.0	6.8	63.3
		20	6.0	28.5	5.3	39.6
		25	4.0	18.4	3.7	25.7
		30	4.3	24.3	3.3	31.8
チバクロバネ キノコバエ	♀	11	16.1	63.7	13.0	93.3
		16	7.9	26.5	6.8	41.2
		20	4.8	15.9	4.1	24.8
		25	4.0	14.5	2.9	21.4
		30	2.6	13.6	3.6	19.4
	♂	11	17.6	53.9	14.8	86.1
		16	8.3	22.6	7.6	38.4
		20	5.0	14.7	4.3	24.0
		25	4.0	10.4	2.7	17.1
		30	3.3	9.2	3.3	15.8

*石原・田上（2019）を改変。餌として米ヌカを与えた結果。平均値。

表9 ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエの生存率*

種類	飼育温度 (°C)	孵化率 (%)	蛹化率 (%)	羽化率 (%)	全体の 生存率 (%)
ネギネクロバネ キノコバエ	11	34.3	12.5	83.3	3.6
	16	40.4	60.0	87.5	21.2
	20	61.0	51.1	95.8	29.9
	25	79.9	79.3	88.8	56.2
	30	54.7	25.2	46.9	6.5
チバクロバネ キノコバエ	11	43.0	20.9	93.5	9.0
	16	66.9	60.9	90.6	36.9
	20	83.0	79.5	100.0	66.0
	25	65.0	66.2	100.0	43.0
	30	41.8	76.1	77.1	24.5

*石原・田上（2019）を改変。餌として米ヌカを与えた結果。

表10 ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエの発育ゼロ点と有効積算温度*

	ステージ	性別	発育ゼロ点 (°C)	有効積算温度 (日度)	回帰式**
ネギネクロバネ キノコバエ	卵	♀	7.7	73.1	$V = 0.0137T - 0.1054$
		♂	8.1	69.6	$V = 0.0144T - 0.1158$
	幼虫	♀	7.6	357.9	$V = 0.0028T - 0.0213$
		♂	8.0	327.3	$V = 0.0031T - 0.0243$
	蛹	♀ + ♂	6.7	65.1	$V = 0.0154T - 0.1036$
	全体	♀	7.6	485.4	$V = 0.0021T - 0.0157$
		♂	7.8	461.0	$V = 0.0022T - 0.0169$
チバクロバネ キノコバエ	卵	♀	7.8	60.8	$V = 0.0165T - 0.1288$
		♂	6.3	75.6	$V = 0.0132T - 0.0838$
	幼虫	♀	8.2	192.5	$V = 0.0052T - 0.0427$
		♂	7.8	180.2	$V = 0.0056T - 0.0433$
	蛹	♀ + ♂	8.4	47.9	$V = 0.0209T - 0.1754$
	全体	♀	8.0	306.2	$V = 0.0033T - 0.0261$
		♂	7.8	295.0	$V = 0.0034T - 0.0266$

*石原・田上（2019）を改変。餌として米ヌカを与えた結果。

** V は発育速度（1/発育期間）、 T は飼育温度。

雌成虫の寿命と産卵前期間はほとんど差が見られない。これは、雌成虫が産卵後直ぐに死亡するためである（表 11）。総産卵数も、幼虫の蛹化率と同様に 11℃と 30℃で少なくなっており（表 11）、その結果、内的自然増加率もマイナスの値となっている（表 12）。以上の結果から、ネギネクロバネキノコバエは、チバクロバネキノコバエと比較して、低温および高温における発育、増殖能力が低いことが示唆される。

表 11 ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエの成虫寿命と産卵前期間、総産卵数*

種類	飼育温度 (°C)	雌成虫の 寿命 (日)	雄成虫の 寿命 (日)	産卵前期間 (日)	総産卵数
ネギネクロバネ キノコバエ	11	9.1	11.8	9.8	30.8
	16	7.0	7.3	6.8	60.5
	20	6.8	7.8	6.7	65.9
	25	4.3	5.7	4.2	90.7
	30	2.6	5.0	2.7	20.0
チバクロバネ キノコバエ	11	8.7	7.1	7.2	36.6
	16	6.1	5.3	4.9	73.1
	20	4.8	5.0	4.1	61.5
	25	3.5	3.1	3.4	59.6
	30	2.0	2.8	1.8	33.5

*石原・田上（2019）を改変。餌として米ヌカを与えた結果。平均値。

表 12 ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエの増殖率*

種類	飼育温度 (°C)	純増殖率	世代時間	内的自然増加率
ネギネクロバネ キノコバエ	11	0.46	123.9	-0.006
	16	4.93	72.0	0.023
	20	7.12	47.2	0.043
	25	21.06	30.5	0.100
	30	0.28	35.2	-0.030
チバクロバネ キノコバエ	11	1.37	95.4	0.004
	16	13.49	45.5	0.058
	20	18.04	28.4	0.103
	25	12.01	22.5	0.111
	30	2.35	19.0	0.062

*石原・田上（2019）を改変。餌として米ヌカを与えた結果。

2. 発生生態

ネギネクロバネキノコバエが発生している埼玉県北部のネギ圃場において、定期的にネギの掘り取り及び黄色粘着トラップによる発生調査を行った結果、以下の特徴が明らかになっている。

- ネギネクロバネキノコバエ幼虫は、夏期も含めてネギに継続的に寄生しており、土寄せ後の10月に増加する（図20）。

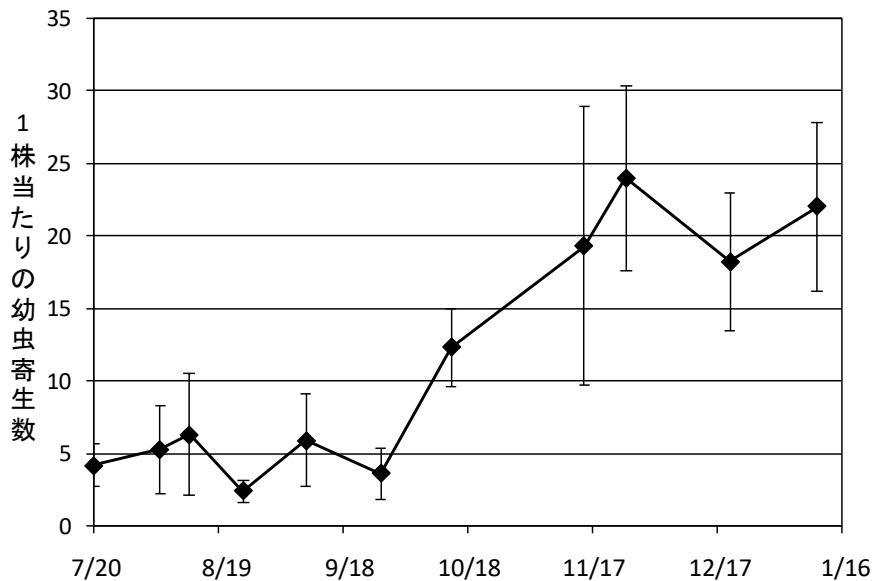


図20 ネギほ場におけるネギネクロバネキノコバエ幼虫の寄生数の推移

2016年7月下旬から2週間～1ヶ月の間隔で、埼玉県北部のネギほ場2～4ヶ所から9もしくは10株のネギを掘り取り、実体顕微鏡を用いた植物分解法により、ネギに寄生するネギネクロバネキノコバエ幼虫数を記録した。折れ線の縦棒は標準誤差を示す。

- 土寄せ前のネギでは、ネギネクロバネキノコバエ幼虫の80%以上は茎盤部に集中して寄生しているが、土寄せ後は、土が被った葉鞘にも移動する（図21）。幼虫は、ネギの茎盤の外縁と葉鞘の境付近に溝や空洞を作った後に葉鞘へ移動し（図22）、卵や蛹は、地表面近くの葉鞘のほかにも茎盤でも確認される（表13）。

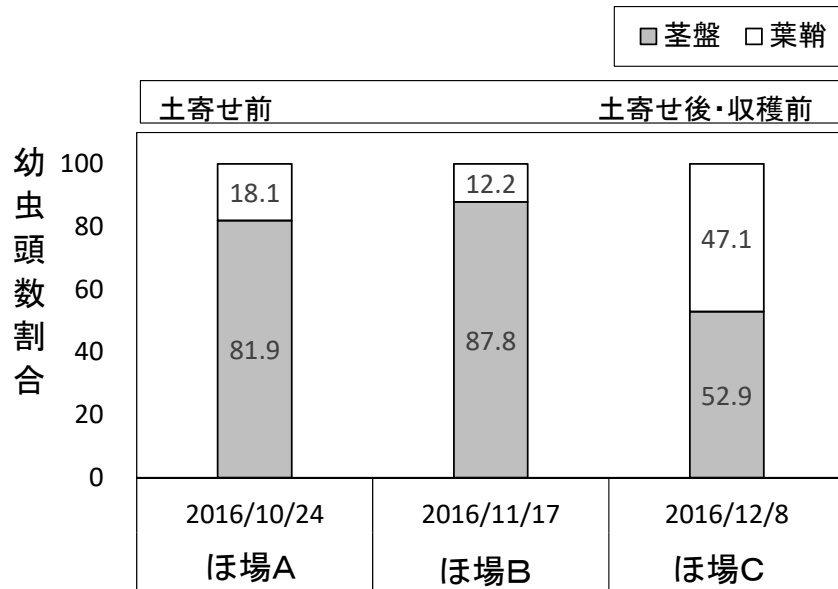


図 21 ネギにおけるネギネクロバネキノコバエ幼虫の寄生部位とその推移



図 22 ネギの茎盤に寄生するネギネクロバネキノコバエ幼虫（原図：小俣良介）
茎盤とひげ根の間に溝を形成して生息する幼虫（左）、多数の幼虫の加害により形成された茎盤部の空洞（右）。

表 13 ネギにおけるネギネクロバネキノコバエの産卵、蛹化位置

	n	個体数(株あたり)		地表面からの深さ(cm)			
		平均	標準誤差	平均	標準誤差	最深	最浅
卵	14	7.14	1.88	2.61	0.99	7.8	-2.2
蛹・蛹殻	23	2.17	0.91	3.35	1.01	7.8	-2.2

n は調査したネギ75株のうち、卵、蛹もしくは蛹殻の付着が確認された株数

- ネギネクロバネキノコバエ成虫は、3月後半から～12月にかけてほぼ1カ月に1回程度の周期（年7～8回）で発生のピークを示す（図 23）。

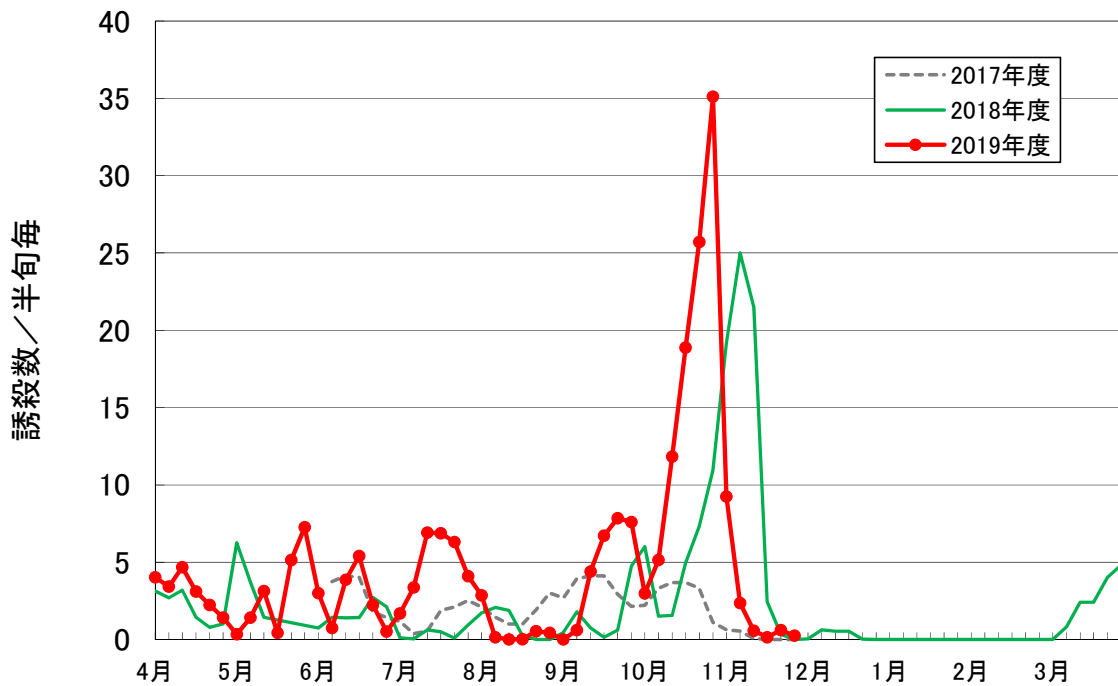


図 23 ネギ・ニンジンほ場におけるネギネクロバネキノコバエ成虫の発生活長
ネギネクロバネキノコバエ被害発生ほ場（埼玉県北部）における2017年6月～2019年11月のデータ。ただし、2018年4～5月と2019年4～5月はニンジンほ場でのデータ。黄色粘着トラップを使用した。日当たり捕獲数に換算して5日間移動平均を求めたのち半旬別に集計。2017年のデータは成虫の外部形態による種の識別が十分確立していなかったため、捕獲数にはチバクロバネキノコバエも含まれる可能性がある。

Ⅵ. ネギネクロバナネキノコバエの飼育法

ネギネクロバナネキノコバエの日本国内での発生地域は、埼玉県と群馬県の一部に限られている。本害虫の偶発的な拡散を防ぐため、試験研究が目的であっても、未発生地域での飼育は安易に行わないようにされたい。

1. 大量飼育法

ツマグロヨコバイ用飼育箱（幅 340mm×奥行 260mm×高さ 340mm）に円形の作業口をとりつけたものを用いる。作業口には捕虫網を加工し取り付ける。プラスチック容器の中に莖盤部を含む長さ 20cm 程度のネギ数本と水で十分に湿らせたキムワイプを入れた後、ネギネクロバナネキノコバエ雌雄成虫を数十頭ずつ飼育箱内に放飼する。飼育中はキムワイプが乾燥しないように随時給水する。放飼した成虫は飼育箱内で産卵し、孵化した幼虫はセットしたネギを摂食して成長する。25℃では 1 カ月程度で次世代の成虫が羽化し始め、ネギもほぼ食べつくされるので、吸虫管を使って雌雄成虫を数十頭ずつ採取し、新しい飼育箱に移す（図 24 左）。

2. 系統維持飼育法

ガラスビン（φ120mm×H18mm）の中に水分調整・餌を兼ねて米ぬかを高さ 3cm 程度入れ、その上にピートモスを培養土として高さ 6cm 程度まで入れ、ネギを 2～3 株程度植える。この中に、ネギまたはニンジンから採集したネギネクロバナネキノコバエ幼虫または成虫を入れる。ビン本体とフタ（本研究では目合 1.0mm の金網メッシュのフタを使用）の隙間や網目からの逃亡を防止するために、目合 0.4mm 以下のナイロンゴース等をかませる。ピートモスが乾燥しないように適宜給水する。飼育瓶内で世代交代を繰り返すため、1 回のセットで 3 カ月程度維持可能である（図 24 右）。さらに飼育を継続する場合は、老齢幼虫のステージの際に新たに用意したセットに移すか、大量飼育法のように吸虫管を使って雌雄成虫を数十頭ずつ採取し、新しい飼育瓶に移す。



図 24 ネギネクロバナネキノコバエの大量飼育法（左）と系統維持飼育法（右）
（原図：小俣良介）

参考文献リスト

- Arimoto, M., Uesugi, R., Hinomoto, N., Sueyoshi, M. and Yoshimatsu, S. (2018) Molecular marker to identify the fungus gnat, *Bradysia* sp. (Diptera: Sciaridae), a new pest of Welsh onion and carrot in Japan. *Applied Entomology and Zoology* 53 : 419-424.
- 石原由紀・田上陽介 (2019) ネギネクロバネキノコバエとチバクロバネキノコバエ (ハエ目: クロバネキノコバエ科) の発育・増殖に及ぼす温度の影響. *日本応用動物昆虫学会誌* 63 : 51-63.
- 岩瀬亮三郎・浅野 亘・小俣良介 (2017) ネギネクロバネキノコバエ (仮称) のネギにおける寄生部位と薬剤感受性. *関東東山病害虫研究会報* 64 : 109-112.
- 岩瀬亮三郎・小俣良介 (2018) ネギネクロバネキノコバエ成虫に対する薬剤の効果. *関東東山病害虫研究会報* 65 : 123-124.
- 小俣良介 (2017) 秋冬ネギ及び春ニンジンに発生したクロバネキノコバエ科の一種ネギネクロバネキノコバエ (仮称) (*Bradysia* sp.) について. *植物防疫* 71 : 260-263.
- 小俣良介 (2017) ねぎ、にんじんを加害する新害虫ネギネクロバネキノコバエ (仮称) の発生生態と防除対策. *グリーンレポート* 580 : 16-17.
- 小俣良介・渡辺俊朗・岩瀬亮三郎・石原由紀・田上陽介 (2019) 新害虫ネギネクロバネキノコバエ *Bradysia odoriphaga* と混発するクロバネキノコバエ類の現場における簡易な見分け方. *植物防疫* 73 : 576-580.
- 太田 泉 (2017) 新たに発生したネギネクロバネキノコバエの特徴とその対策について. *植物防疫所病害虫情報* 113 : 1-2.
- Sueyoshi, M. and Yoshimatsu, S. (2019) Pest species of a fungus gnat genus *Bradysia* Winnertz (Diptera: Sciaridae) injuring agricultural and forestry products in Japan, with a review on taxonomy of allied species. *Entomological Science* 22 : 317-333.

課題担当者一覧

吉松慎一・中谷至伸（農研機構 農業環境変動研究センター）

太田 泉・豊島真吾（農研機構 野菜花き研究部門）

有本 誠・日本典秀・長坂幸吉・安田哲也・安居拓恵・辻井 直・釘宮聡一・田端 純
（農研機構 中央農業研究センター）

上杉龍士（農研機構 東北農業研究センター）

末吉昌宏（森林研究・整備機構 森林総合研究所）

田上陽介（静岡大学）

小俣良介・岩瀬亮三郎・渡辺俊朗・高井芳久・岡山 研・植竹恒夫・阿見 真
・山口 敦（埼玉県農業技術研究センター）

後藤 進・野崎幸秀・安田尚子・金井小貴子・小澤貴弘（埼玉県大里農林振興センタ
ー）

酒井 宏・谷口高大・横山 薫・藍澤 亨・吉澤仁志・前田宏美（群馬県農業技術セ
ンター）

*当事業を担当した時の所属で記載しています。

表紙写真提供：吉松慎一、太田 泉

ネギネクロバネキノコバエ *Bradysia odoriphaga* 防除のための手引き
(技術者向け)
—2020年改訂版—

本手引きは、平成28年度 農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業「クロバネキノコバエ科の一種の生態の解明及び防除手法の開発」(課題番号28040C)及び、平成29年度～令和元年度 安全な農林水産物安定供給のためのレギュラトリーサイエンス研究委託事業「クロバネキノコバエ科の一種の総合的防除体系の確立と実証」で得られた成果をとりまとめたものです。

本手引きの無断での複製・転載は禁じます。内容に関する問い合わせは、農研機構ウェブサイトの問い合わせ窓口 (<http://www.naro.affrc.go.jp/inquiry/index.html>) までご連絡下さい。

発行

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構
野菜花き研究部門

〒305-8519 茨城県つくば市観音台3-1-1

TEL: 029-838-6575 (広報担当)

編集責任者: 太田 泉

発行日: 2020年1月31日
