ワタアブラムシ (カメムシ目: アブラムシ科) の 甘露排泄を利用した簡易な生存個体数推定法

溝部 信二^{1,*}・中川 浩二¹・三浦 一芸²

¹山口県農林総合技術センター

²国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構西日本農業研究センター

Simple Estimation Method of Survival Number of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) Based on Honeydew Excretion. Shinji MIZOBE,^{1,*} Koji NAKAGAWA¹ and Kazuki MIURA² ¹Yamaguchi Prefectural Agriculture and Forestry General Technology Center; Yamaguchi, Japan. ²National Agriculture and Food Research Organization Western Region Agricultural Research Center; Fukuyama, Japan. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 61: 252–255 (2017)

Abstract: An assessment method wherein an aphid colony-infected leaf disk was dipped in an insecticide for 10s and placed in a plastic zipper bag was developed to easily estimate the number of surviving aphids. This number after 48h could be estimated by counting the number of honeydew droplets produced by aphids in the bags after 24h. Although this survey method cannot accurately calculate the mortality rate, it is easy and inexpensive. Therefore, this method is considered to be useful as a simple method for estimating the number of surviving aphids and as a method for easily determining insecticides with reduced effects.

Key words: Aphids; insecticide; plastic zipper bag

植物吸汁性のカメムシ目昆虫の多くは、植物の篩管液を吸汁して甘露 (honeydew) と呼ばれる糖分を含む液体を肛門から排泄する。アブラムシ類 (カメムシ目: アブラムシ科) の吸汁および甘露排泄に関しては、本研究で用いたワタアブラムシ *Aphis gossypii* Glover など複数種において多くの報告がある (Auclair, 1959; Banks and Nixon, 1959; Takeda et al., 1982; 篠田ら, 1991; Lee et al., 2012)。

アブラムシ類が腹部を持ち上げて甘露を排泄し、後脚で甘露を蹴り飛ばすことはダイコンアブラムシ *Brevicoryne brassicae* Linnarus (Broadbent, 1951)、モモアカアブラムシ *Myzus persicae* (Sulzer) (Downing, 1978)、マメアブラムシ *Aphis craccivora* Koch (Takeda et al., 1982) で報告されている。また、モモアカアブラムシの寄生虫数と甘露の粒数との間には高い相関が認められた (河合・玉木, 1969)。すなわち、植物を吸汁するアブラムシ類の寄生虫数は、排出した甘露粒数で判断できる。

アブラムシ類に薬剤を処理し、一定時間が経過した後に生死を判定する薬剤感受性検定方法については、多くの先行研究がある。一般的な検定方法は、野外から採集したアブラムシ類の成幼虫を区分し、無翅胎生雌成虫あるいは無翅胎生雌幼虫を室内で成虫化させたものを用いて 24 時間後に生死を判定する虫体浸漬法

(浜, 1987) や、植物の苗を利用して 1~2 日後に判定する方法 (牧野ら, 1992) などである。しかし、これらの方法における生死の判定は、無翅雌成虫を対象として実体顕微鏡下で 1 頭ずつ供試虫を観察するもので、専門的な技術と労力が必要とされる。

そこで、本論文では野外から採集したワタアブラムシの成幼虫に薬剤を処理し、これらが排泄する甘露の粒数を肉眼で観察することにより、生存個体数を推定する簡易な方法を開発したので報告する。本文に入るに先立ち、原稿を読み、有益な助言をくださった住友化学株式会社の森下正彦博士に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

試験 1. チャック付きポリ袋を用いた甘露排泄の確認

試験には、チャック付きポリ袋 ((株) 生産日本社製ユニパック B-4, 85 mm×60 mm×0.04 mm)、ろ紙 (アドバンテック東洋(株) 製, No. 2, 直径 90 mm)、プラスチック容器 ((株) 大創産業製, A043, 157 mm×243 mm×20 mm)、ペーパータオル (日本製紙クレシア(株) 製, JK ワイパー, 225 mm×215 mm) およびポリ袋 (プラス(株) 製, No. 16, 480 mm×340 mm×0.03 mm) を用いた。薬剤は市販のネオニコチノイド系殺虫剤 (アセタミプリド水溶液 20.0%; 4,000 倍) とピレスロイド系殺虫剤 (フルバリネット水和剤 20.0%; 8,000 倍) を供試した。製剤の希釈および対照区には、展着剤 (ポリアルキレングリコールアルキルエーテル 27.0%; 5,000 倍) を加用した蒸留水を用いた。供試虫は、2013 年 11 月 26 日に山口県萩市椿の施設栽培イチゴで採集したワタアブラムシの成幼虫である。ワタアブラムシの寄生した部分を約 20 mm×40 mm に切り取ってイチゴの葉片を作製し、葉液に 10 秒間浸漬した。浸漬処理後のイチゴの葉片は、ペーパータオルで余分な葉液を除去した後、葉裏を上にしてチャック付きポリ袋に入れた。チャック付ポリ袋内に蒸留水で濡らしたろ紙 (10 mm×50 mm) を追加した後 (Fig. 1)、プラスチック容器に並べ、蓋をしてポリ袋に入れ、約 25°C, 16L:8D 条件下に静置した (Fig. 2)。なお、濡れたろ紙を入れずに供試する予備試験を実施したところ、処理 48 時間後にはイチゴの葉片は完全に乾燥し、ワタアブラムシが離脱することにより調査不能となった。

アブラムシ類の甘露排泄の回数は、1 時間当たり約 0.9 回であること (Takeda et al., 1982)、甘露排泄は幼虫~成虫のすべての発育ステージを通じて観察されること (Lee et al., 2012)、またその間、脱皮や産仔によって中断される時間は 12~16 時間であること (Auclair, 1959) が示されていることから、甘露排泄の有無は 24 時間後に観察すれば評価可能であると考えられる。そこで本研究では、生死および苦悶は、処理 24 時間後または処理 48 時間後に実体顕微鏡下でチャック付きポリ袋の外から軽く刺激して判別した。葉片から離脱した虫は、苦悶虫とした。各処理区の処理

虫数は、10～21 頭/葉片、幼虫の比率は 73～95% で、処理は 3 反復とした。チャック付きポリ袋の内側上面に付着した粒（ワタアブラムシ成幼虫の排泄した甘露）数は、およそ 0.5mm 以上のものを肉眼で調査した。

試験 2. 甘露粒数による各種薬剤処理後の生存虫数の推定

供試虫は、2014 年 1 月 23 日に山口県山口市大内水上の農林総合技術センター内の施設栽培イチゴで採集したワタアブラムシの成幼虫である。供試薬剤は、いずれも市販されているイチゴのアブラムシ類、またはワタアブラムシに登録のある薬剤の中から、ネオニコチノイド系殺虫剤（アセタミプリド水溶液 20.0%；4,000 倍）、有機リン系殺虫剤 2 種（マラソン乳剤 50.0%；1,500 倍および MEP 乳剤 50.0%；2,000 倍）、ピレスロイド系殺虫剤（フルバリネート水和剤 20.0%；8,000 倍）、METI 剤（ピリダベン水和剤 20.0%；1,500 倍）、その他の合成殺虫剤 2 種（フロニカミド水和剤 10.0%；4,000 倍、ピリフルキナゾン水和剤 20.0%；4,000 倍）の合計 7 種を用いた。薬剤処理は、試験 1 と同様の方法で行った。チャック付きポリ袋は、蒸留水で湿らせたペーパータオルを敷いたプラスチック容器に葉裏を上にして並べ、蓋をしてポリ袋（340mm×480mm×0.03mm）に入れた（Fig. 2）。生死および苦悶の判別、また甘露数のカウントはすべて試験 1 と同様の方法で

行った。各処理区の処理虫数は、10～42 頭/葉片、幼虫の比率は 63～97% で、処理は 3 反復とした。ポリ袋の内側上面に付着した粒（ワタアブラムシ成幼虫の排泄した甘露）数は、実体顕微鏡下でおよそ 0.5mm 以上のものを調査した。

すべての解析には EZR on R commander (Kanda, 2013) ver. 1.33 を使用した。生存虫数については、処理前、処理 24 時間後、処理 48 時間後の間、甘露の粒数については、処理 24 時間後、処理 48 時間後の間における差を検定するために Mann-Whitney の U 検定を行った後、Holm 法で補正した。

結果および考察

試験 1. チャック付きポリ袋を用いた甘露排泄の確認

ワタアブラムシの排泄した甘露は、チャック付きポリ袋の内側上面に粒となって付着した。1 回の排泄で付着した粒の直径は、約 0.2mm と小さく肉眼で確認することは困難であったが、連続して蹴飛ばされた甘露は、ワタアブラムシの真上のほぼ同じ位置に付着するため、徐々に拡大し、肉眼で確認できる大きさ（およそ 0.5mm 以上）になった（Fig. 3）。一方、水蒸気に由来すると推定される結露は、チャック付ポリ袋の内側下面に多く付着した。結露の水滴と甘露粒は、大きさが異なるため容易に区別できた。

処理における生存虫数と甘露の粒数の結果を Table 1 に示した。

Fig. 1. Leaf disk in the plastic zipper bag.

Fig. 3. Honeydew droplets excreted from aphids observed in the plastic zipper bag. White arrows indicate honeydew droplets.

Fig. 2. Method for estimation of the number of surviving aphids based on honeydew excretion.

Table 1. Relationship between the number of surviving aphids and honeydew droplets in the plastic zipper bag

Application	Control		Fluvalinate		Acetamiprid	
	No. of surviving aphids	No. of honeydew droplets	No. of surviving aphids	No. of honeydew droplets	No. of surviving aphids	No. of honeydew droplets
Before	16.7±4.5 a		13.3±4.9 a		12.3±2.0 a	
After 24 h	22.0±9.2 a	22.3±17.6 a	12.7±5.5 a	19.0±16.4 a	2.3±2.5 b	0.0±0 a
After 48 h	23.7±14.3 a	15.0±14.5 a	12.7±10.0 a	16.0±9.6 a	0.0±0 b	0.0±0 a

Means±SD of three replicates. Same letter in the same column indicate no significant difference using Holm method after Mann-Whitney's *U* test ($p>0.05$).

Fig. 4. Relationship between the number of surviving aphids and honeydew droplets at 48 h and 24 h after insecticide application, respectively.

対照区およびフルバリネット区における処理前、処理24時間後および処理48時間後の生存虫数に有意差は認められなかった ($p>0.05$)。アセタミプリド区の生存虫数は、処理前と処理24時間後および処理48時間後に有意差が認められた ($p<0.05$)。各区における処理24時間後と処理48時間後の甘露の粒数に有意差は認められなかった。供試したワタアブラムシの対照区の生存虫率は、処理24時間後で71~100%、48時間後で33~100%であった。対照区およびフルバリネット区では産仔が認められ、個体数が増加した区があった。アセタミプリド区では、産仔は認められなかった。イチゴの葉片は48時間後も健全な状態を保ち、葉片から離脱するワタアブラムシはみられなかった。

試験2. 甘露粒数による各種薬剤処理後の生存虫数の推定

処理48時間後のワタアブラムシの生存虫率は、対照区で97.7%、薬剤処理区で4.8~80.3%となり、処理薬剤の種類による差が認められた。処理24時間後の甘露の粒数と処理48時間後の生存虫数を薬剤別に比較し、Fig. 4に示した。アセタミプリド区では、甘露の粒は認められなかったが、生存虫がわずかに認められた。マラソン区とMEP区では甘露の粒、生存虫とも少なかった。フルバリネット区、ピリダベン区、フロニカミド区、ピリフルキナゾン区では甘露の粒、生存虫がともに認められた。また、処理24時間後の甘露の粒数と処理48時間後の生存虫数には正の高い相関が認められた ($r=0.94, p<0.001$)。

これらのことから、チャック付きポリ袋に付着した処理24時間後の甘露粒数をカウントすることにより処理48時間後のアブラムシ類の生存虫数を簡易に推定できるものと考えられた。

アブラムシ類やカイガラムシ類など吸汁性昆虫の甘露を利用して生死を判定する方法はこれまでに数事例報告されている(河合・玉木, 1969)。しかし、これらの方法は、甘露を受け取る紙に薬品によって特殊な処理をするか、試験後に褐色に変色するまで加熱してあぶり出す必要があり、簡便ではない。また、ワタのタバコナジラミ *Bemisia tabaci* (Gennadius) (カメムシ目: コナジラミ科) において、排泄された甘露を一定時間シャーレに受け、実体顕微鏡で観察する方法 (Melamed-Madjar et al., 1983) も考案されているが、鉢植えの植物を用いていることから使用場面が限定される。

本試験で用いたワタアブラムシは、野菜、果樹、花きなどの重要害虫のひとつである。2012年に宮崎県および大分県で、2013年には和歌山県でネオニコチノイド系薬剤に対する感受性が低下したワタアブラムシ個体群が確認された(大分県農林水産研究指導センター, 2013; Matsuura and Nakamura, 2014; 岡本ら, 2014)。このことから、ネオニコチノイド系薬剤に抵抗性を持つアブラムシ類の発生を早期に確認することは、農作物の防除薬剤を選定するうえで大変重要であると考えられる。

農家にとって重要なことは、圃場に発生した害虫に対して効果の高い殺虫剤をできるだけ迅速に知ること(井村, 2012)である。本調査法は、処理前虫数のカウントや成幼虫の区分を省略しているため、正確な死虫率を算出することはできない。しかしながら、アブラムシ類の寄生した葉の一部分を切り取ってチャック付きポリ袋に入れ、24時間後に観察するだけの本調査法は、作業が簡便であることから、大量のサンプルを処理できる。また、48時間後に死亡率を判定するネオニコチノイド系薬剤の効果を24時間で判定できる利点がある。さらに、調査に利用するチャック付きポリ袋の販売価格は、1枚あたり2円程度であり非常に安価である。以上のことから、本法は、生産現場で効果のない薬剤を把握するためのごく簡易な検定方法として活用でき、将来的には薬剤抵抗性が発達した個体群のモニタリング調査や、簡易な薬剤感受性検定法として応用できると考えられる。

本研究ではイチゴのワタアブラムシを対象としたが、今後、他の植物を加害するアブラムシ類についても検討を進める必要がある。

引用文献

- Auclair, J. L. (1959) *Entomol. Exp. Appl.* 2: 279–286.
- Banks, C. J. and H. L. Nixon (1959) *Entomol. Exp. Appl.* 2: 77–81.
- Broadbent, L. (1951) *Proc. R. Entomol. Soc. A* 26: 97–103.
- Downing, N. (1978) *J. Exp. Biol.* 77: 347–350.
- 浜 弘司 (1987) 植物防疫 41: 159–164. [Hama, H. (1987) *Plant Prot.* 41: 159–164.]
- 井村 岳男 (2012) 植物防疫 66: 255–259. [Imura, T. (2012) *Plant Prot.* 66: 255–259.]
- Kanda, Y. (2013) *Bone Marrow Transplant.* 48: 452–458.
- 河合省三・玉木佳男 (1969) 応動昆 13: 150–158. [Kawai, S. and Y. Tamaki (1969) *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 13: 150–158.]
- Lee, Y., H. Kim, T. J. Kang and Y. Jang (2012) *Entomol. Res.* 42: 320–329.
- 牧野 晋・肥後三郎・上 忠衛 (1992) 九病虫研会報 38: 109–112. [Makino, S., S. Higo and T. Kami (1992) *Proc. Assoc. Pl. Prot. Kyushu* 38: 109–112.]
- Matsuura, A. and M. Nakamura (2014) *Appl. Entomol. Zool.* 49: 535–540.
- Melamed-Madjar, V., U. Gerson and S. Tal (1983) *Phytoparasitica* 11: 25–32.
- 大分県農林水産研究指導センター (2013) 平成 25 年度病害虫発生予察特殊報第 2 号. 大分県, 大分. 2pp. [Oita Pref. Agri. Forest. Fish. Res. Cent. (2013) *Special Report on Forecast of Pest Occurrence*. No. 2. Oita Pref., Oita. 2pp.]
- 岡本 崇・岩橋良典・森下正彦 (2014) 関西病虫研報 56: 135–137. [Okamoto, T., Y. Iwahashi and M. Morishita (2014) *Ann. Rept. Kansai Pl. Prot.* 56: 135–137.]
- 篠田徹郎・伊藤秀和・松井正春 (1991) 関西病虫研報 33: 87–88. [Shinoda, T., H. Ito and M. Matsui (1991) *Proc. Kansai Pl. Prot.* 33: 87–88.]
- Takeda, S., K. Kinomura and H. Sakurai (1982) *Appl. Entomol. Zool.* 17: 133–135.
-