キュウリ幼苗を用いたミナミキイロアザミウマの薬剤効力検定法

曾根信三郎*・牧 孝匡*・岩谷宏司**・大津悠一*

* 日本バイエルアグロケム(株)結城中央研究所

** 日本バイエルアグロケム(株)営業本部

New Pesticide Bioassay Method for *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) using Cucumber Seedlings. Shinzaburo Sone, Takamasa Maki (Nihon Bayer Agrochem K. K., Yuki Research Center, Yuki 9511-4, Ibaraki 307-0001, Japan), Koji Iwaya (Nihon Bayer Agrochem K. K., Takanawa 4-10-8, Minato-ku, Tokyo 108-8572, Japan) and Yuichi Otsu (Nihon Bayer Agrochem K. K., Yuki Research Center, Yuki 9511-4, Ibaraki 307-0001, Japan). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 42: 215-220 (1998)

Abstract: A new bioassay method for *Thrips palmi*, called the CST (Cucumber Seedling Treatment) method, was established. The CST method is characterized by easy chemical application, easy observation, long observation period, high survival rate and high reproducibility. The 1st-instar larvae attached to a cucumber seedling grow healthily, and the rate of pupation and emergence is very high (90%-100%). These merits enable evaluation of slow-acting compounds, such as chitin synthesis inhibitors and hormone analogues. In the CST method, the feeding damage appears as dead spots on the leaves, and visual evaluation of control efficacy is easy. The CST method can be used to determine susceptibility of *Thrips palmi* to insecticides with different modes of action.

Key words: Bioassay, cucumber seedling, screening, susceptibility to insecticides, *Thrips palmi* Karny

緒 言

ミナミキイロアザミウマ *Thrips palmi* Karny (以下 *T. palmi*) は、わが国では1978年に宮崎県で確認されて以来、関東以西において果菜類を中心に大きな被害を及ぼす重要害虫のひとつとなっている。そのため研究者は、既存の殺虫剤の効力検定法の著述(尾崎・斉藤, 1981; 會田, 1985; 満井, 1985)を参考に、*T. palmi* に対する生物検定法を確立し、有効な防除薬剤の選別や薬剤に対する感受性検定試験を行ってきた(森下, 1993, 1997; 西野, 1987; 永井ら, 1988; 野沢ら, 1994)。これらの薬剤感受検定法は、薬剤処理後24時間ないし48時間の薬剤の殺虫効力を評価することが可能であり、有機リン剤やカーバメート剤およびピレスロイド剤などの速効的な薬剤の評価に有効である。しかし、キチン生合成阻害剤のような遅効的な薬剤の *T. palmi* に対する効力検討に必要な、より長期の観察には、植物体の状態の悪化や供試虫の加齢による生活型の変化などが障害となるため、必ずしも適当な方法ではなかった。また、近年上市されたクロロニコチニル系殺虫剤は、これを摂取した昆虫に対して、数分~1時間以内に摂食行動の抑制(Nauen, 1995)や行動の異常(Sone et al., 1994)を起こさせ速効的であるが、死に至るまでに時間を要する作用特性を持つ(Nauen, 1995)。これらの薬剤の効力検定においても、短期間の致死の判定だけではなく、長期間の致死の判定と植物体への加害も観察評価する必要性

がある。

著者らは、イネ芽だしを使用したウンカ・ヨコバイ類に対する新しい簡易な薬剤効力検定法(曾根ら, 1995; 曾根, 1995)を確立した経験をもとに、*T. palmi* について、1週間以上にわたり幼虫~成虫の各発育態の生死の判別が可能であり、また同時に植物体への加害状態を観察することも可能な生物検定法を考案したので報告する。

本文に入るに先立ち、*T. palmi* 感受性系統を分譲して下さった農林水産省野菜・茶業試験場、松井正春博士、*T. palmi* の花粉を用いた室内飼育方法を御教授下さった岡山大学、村井 保博士、本稿を校閲していただいた農業環境技術研究所、浜 弘司博士に厚くお礼申し上げる。

材料および方法

1. 使用容器

容器は、70 ml のスチロール製防湿保存容器(直径42 mm, 高さ75 mm, 三進興業製)を用いた。これをFig. 1のように加工し、上下を逆さまにして使用した。ここでは、スチロール製の本体部分を「カバー」、蓋の部分を「台」と呼ぶことにする。カバーは底の部分を切り抜き、側面の上部2箇所、中央部に2箇所、計4箇所に直径6 mmの穴を開け、側面の穴に60 μ mのナイロンゴースを貼った。台はオレンジ色のプラスチック部分を取り除き、中央部に直径12 mmの穴をポンチを使用して開けた。

2. キュウリ苗の調製

キュウリ（品種四葉）をガラス温室内の苗床に播種し、発芽 2~3 日後の子葉が展開した幼苗を苗床から抜いて根を洗い、水 5 ml を入れたスチロール製の蓋付き管瓶（直径 15 mm、高さ 40 mm）に入れ、切り込みを入れた蓋でキュウリ幼苗を挟んで管瓶に被せ、幼苗が動かないようにパラフィルム®で基部を固定した。これを台の穴に押し込み固定した（Fig. 2 Left）。

3. 供試薬剤

市販されている sulprophos 50%乳剤, fenobucarb 50%乳剤, cypermethrin 6%乳剤, cypermethrin 6%水和剤, imidacloprid 10%水和剤, acetamiprid 20%水和剤, flufenoxuron 10%乳剤, chlorfluazuron 5%乳剤, orthene 50%水和剤, chlorphenapyr 10%フロアブルを試験に供した。carbofuran は日本バイエルアグロケム（株）結城中央研究所で合成されたものを試験に供した。

4. 薬剤処理

1) 葉面散布法

供試薬剤を展着剤ネオエステリン®0.1%を含む水で所定濃度に希釈し、エアブラシを使用し、容器当たり 5 ml の所定濃度の薬液を散布した。

2) 浸根法

供試薬剤を水で所定濃度に希釈した薬液 5 ml を 2. で示した管瓶に入れ、キュウリ幼苗の根部を浸漬し、2. に従って調製した。

5. 供試虫

1986 年三重県津市で採集され、農林水産省野菜・茶業試験場にて、無淘汰で累代飼育されていた個体群の一部（野沢ら, 1994）を、1996 年 2 月に譲り受け、村井・石井（1982）、村井（1998）の花粉による訪花性アザミウマ類の簡易飼育法を改良した方法を用い、当研究室にて無淘汰で累代飼育している系統を試験に供した。

6. 供試虫の接種

幼虫の薬剤感受性を検討する場合は、孵化 24 時間後の *T. palmi* 1 齢幼虫 20 頭を、細筆を使用して、薬剤処理したキュウリ苗の子葉に接種し、「カバー」の開口部をパラフィルム®（American National Can 製）で覆った（Fig. 2 Right）。成虫の薬剤感受性を検討する場合は、吸虫管を用いて成虫を採集し、CO₂ で軽く麻酔した後、20 頭を試験容器内に接種し、「カバー」の開口部をパラフィルム®で覆った。

7. 試験期間中の管理および調査

試験は、23±0.5°C、60±5% R. H.、白色蛍光灯（FLR40S-W）による約 500 lx の照明で 16L8D の条件下で行った。調査は「カバー」を透して行った。幼虫の感受性試験は、薬剤処理 2 日後に幼虫の生死を、7 日後に蛹の生死を、14 日後に成虫の生死を調査して死虫率を算出し、

プロビット法により LC₅₀ 値を算出した。健全に動作している個体を生、変色し健全な動作をしない個体を死とした。成虫の感受性試験は、薬剤処理 2 日後に供試虫の調査を行い、死虫率を算出して、プロビット法（Finney, 1971）により LC₅₀ 値を算出した。

8. 比較のために実施した試験法

1) リーフディスク法

森下（1993）の方法を若干改変して試験を行った。ガラスシャーレ（直径 9 cm、深さ 2 cm）に 0.5%の寒天ゲルを注入し、直径 30 mm に切ったインゲンの初生葉葉片を、葉裏を上にして寒天ゲル上にのせた。葉片上に雌成虫 20 頭を放飼し、直径 4 cm のプラスチックシャーレの底を抜いてナイロンゴースを貼ったものを葉片上に被せた。この装置を 23°C、50±10% R. H.、16L8D の条件下で保持し、24 時間産卵させた後、雌成虫を取り除いた。雌成虫除去 5 日後に、回転式薬剤散布塔（280 mmHg/cm²、みずほ理化学）を使用して、供試薬剤を展着剤ネオエステリン®0.1%を含む水で所定濃度に希釈した薬液を容器当たり 6 ml 散布し、薬剤処理 24、48 時間後に実体顕微鏡下で生死の判定を行い、前述 7. に準じた。

2) パラフィルム®法

ガラス円筒容器（直径 1.5 cm、高さ 2 cm）に、雌成虫 10 頭を入れ、薄くのばしたパラフィルム®で容器の口を覆った。パラフィルム®の上に、薬剤を蒸留水で所定濃度に希釈した薬液を滴下し、その上をもう 1 枚の、薄くのばしたパラフィルム®で覆った。薬剤処理後 48 時間に供試虫の生死を調査し、前述 7. に準じた。

結果および考察

本試験で確立したキュウリ幼苗処理法（Cucumber Seedling Treatment method: 以下 CST 法）において、使用したキュウリ幼苗は、水の追加を必要とせず 14 日間健全な状態を保ち、試験終了時に、本葉 1 枚が展開した状態であった。また、管瓶内の 5 ml の水は、14 日後にはほとんど残っていない状態であった。幼虫の感受性試験の無処理区において、供試した *T. palmi* 1 齢幼虫は健全に生育し、2 齢幼虫の後期になると前蛹となるために植物を離れ、試験開始 7 日後にカバーと台の間の隙間およびキュウリ苗を入れた蓋付き管瓶のパラフィルム®の隙間で前蛹となり、14 日後には成虫となった。14 日後の生存率は 90~100%であった。幼虫は生育が非常に速いために、孵化後の日数によって薬剤に対する感受性が異なる場合があり、正確な薬剤感受性検定には、孵化 24 時間後の幼虫を使用することが望ましかった。

CST 法およびリーフディスク法を用いた葉面散布による *T. palmi* 1 齢幼虫の薬剤に対する感受性試験の結果を Table 1 に示した。リーフディスク法による薬剤散布後 2

Fig. 1. CST method testing vessel.

Fig. 2. Preparation of cucumber seedling.

Fig. 3. Feeding damage by *T. palmi* on cucumber seedling 14 days after attachment. Left: sulprofos 40 ppm, Right: untreated control.

Table 1. Effectiveness of insecticides against 1st-instar larvae of *Thrips palmi* by leaf disk method and foliar spray in CST method

Insecticides	LC ₅₀ (ppm)							
	Leaf disk method				CST method			
	2DAT		2DAT		7DAT		14DAT	
Sulprofos 50EC	0.32	(0.25–0.40)	3.2	(2.7–3.8)	2.1	(1.7–2.6)	2.0	(1.6–2.5)
Fenobucarb 50EC	108	(49.2–227)	260	(150–484)	201	(168–241)	119	(101–141)
Cypermethrin 6EC	0.012	(0.008–0.018)	0.97	(0.82–1.1)	0.97	(0.82–1.1)	0.65	(0.55–0.77)
Imidacloprid 10WP	2.4	(2.0–3.0)	1.3	(0.77–2.3)	1.1	(0.77–1.6)	0.54	(0.44–0.65)
Acetamiprid 20WP	7.7	(3.8–15.8)	6.2	(4.4–8.8)	5.7	(3.5–9.1)	4.5	(3.8–5.2)
Flufenoxuron 10EC	>40		>200		0.0004	(0.00004–0.002)	0.00005	(0.00002–0.0001)
Chlorfluazuron 5EC	>40		>1,000		0.043	(0.025–0.071)	0.004	(0.002–0.005)

Figures in parentheses indicate the 95% confidence limit.

DAT: days after insecticide application.

日の sulprofos, fenobucarb および cypermethrin の LC₅₀ 値は, CST 法による薬剤散布後 2 日の LC₅₀ 値に比べ 1/2~1/10 であった. また, リーフディスク法による imidacloprid と acetamiprid の LC₅₀ 値は, CST 法によるものとほぼ同等であった. リーフディスク法では flufenoxuron と chlorfluazuron の正確な LC₅₀ 値は得られなかった. リーフディスク法は, 成虫に葉内に産卵させて, 幼虫孵化後に虫体散布する方法であるので, 経皮毒性の高い薬剤の LC₅₀ 値は, CST 法に比べ小さい値をとる傾向が認められた. また, この方法では, 薬剤散布後も幼虫が孵化し続け, 虫体に散布された幼虫とされていない幼虫が混在する場合がある. この点, 一定の処理法により薬剤に対する感受性を正確に把握するのに不利であり, 速効性の薬剤についても, 得られた LC₅₀ 値の信頼限界の幅が CST 法に比べて広がった一因と考えられた. また, リーフディスク法では植物体を長期間健全に維持することができず, さらに 2 齢幼虫が前蛹になるとき葉を離れてしまい, 蛹の生死を調査することができなかったため, 昆虫生育制御 (IGR) 剤のような遅効的な薬剤に対する感受性を検定することは困難であった.

CST 法では, 薬剤散布後 14 日以上植物体を健全に維持できることから, *T. palmi* 1 齢幼虫に対する効果のみならず, 薬剤散布 7 日後に幼虫から蛹までの, 薬剤散布 14 日後に蛹から成虫までの薬剤に対する感受性を検定することができた. 速効的な薬剤である sulprofos, fenobucarb および cypermethrin の散布 2 日後, 7 日後, 14 日後の LC₅₀ 値に大きな変化は見られなかったが, IGR 剤である flufenoxuron と chlorfluazuron の散布後 2 日, 7 日, 14 日の LC₅₀ 値は, 日数を経るにつれ急激に小さくなり, 幼虫から前蛹・蛹になるときに薬剤の活性が現れることや, 羽化に失敗する個体が多く見られる現象を観察することができた. 永井ら (1988) は, ナスの切り葉を使用して,

IGR 剤である flufenoxuron の *T. palmi* における活性を検討しているが, この方法における対照区の死虫率は 23~25% と高かった. これに対し, CST 法における無処理区の *T. palmi* の死虫率は 0~10% であり, 供試された 1 齢幼虫は健全に生育・蛹化・羽化できることから, 遅効的な薬剤の生物活性を正確に把握できると思われる. 近年上市されたクロロニコチニル系殺虫剤に関しても, 例えばアブラムシの imidacloprid に対する正確な薬剤感受性を検定するには, 薬剤処理後 72 時間以上の観察が必要とされる (Nauen and Elbert, 1997). また, 生死判定のみならず, 供試虫の摂食行動, 植物体への加害状態を調査する必要がある. CST 法では, 寄生植物上の供試虫を継続的に調査することが可能であり, 薬剤の効果を殺虫性と被害防止の両面から検討することができた (Fig. 3).

CST 法を用い, 浸根法により実施した *T. palmi* 1 齢幼虫の薬剤感受性試験の結果を Table 2 に示した. 浸透移行性の低い cypermethrin, fenobucarb の LC₅₀ 値は大きかったが, 浸透移行性が高く, *T. palmi* に殺虫活性のある orthene, carbofuran, imidacloprid, acetamiprid の LC₅₀ 値は 10 ppm 以下と低かった. これまで, 薬剤の浸透移行性を, *T. palmi* において検討できる室内試験方法は開発されていなかった. CST 法の浸根法を使用することにより, 薬剤の浸透移行性, *T. palmi* に対する殺虫活性の強弱を正確に把握することができた.

CST 法およびパラフィルム®法による, *T. palmi* 成虫に対する薬剤の効果 Table 3 に示した. CST 法による LC₅₀ 値は, パラフィルム®法による LC₅₀ 値とほぼ同等の値を示し, CST 法は, *T. palmi* 成虫の薬剤感受性検定に有効であると思われた. また, CST 法は植物に対する加害状態も同時に調査することができるために, 植物体を使用しないパラフィルム®法に比べ, 野外における防除効果を推測する上で, より多くの情報を提供できると思われる.

Table 2. Effectiveness of insecticides against 1st-instar larvae of *Thrips palmi* by root soaking in CST method

Insecticides	LC ₅₀ (ppm)		
	2DAT	7DAT	14DAT
Sulprofos 50EC	>40	>40	>40
Fenobucarb 50EC	>40	>40	>40
Cypermethrin 6WP	>40	>40	>40
Orthene 50WP	8.2 (6.5–10)	1.1 (0.9–1.3)	0.44 (0.36–0.55)
Carbofuran Tech.	1.5 (1.2–1.9)	0.21 (0.17–0.26)	0.081 (0.066–0.10)
Imidacloprid 10WP	0.24 (0.15–0.38)	0.021 (0.012–0.034)	0.015 (0.007–0.034)
Acetamiprid 20WP	1.3 (1.1–1.5)	0.43 (0.36–0.51)	0.39 (0.33–0.46)

Figures in parentheses indicate the 95% confidence limit.
DAT: days after insecticide application.

Table 3. Effectiveness of insecticides against adults of *Thrips palmi* by double membrane method and foliar spray in CST method

Chemicals	LC ₅₀ (ppm)			
	Double membrane method		CST method	
	2DAT		2DAT	
Sulprofos 50EC	4.5	(3.8–5.5)	6.2	(5.3–7.3)
Fenobucarb 50EC	98	(81–119)	205	(167–250)
Cypermethrin 6WP	6.3	(3.0–13)	8.3	(7.0–9.8)
Imidacloprid 10WP	2.3	(1.5–3.6)	1.5	(1.0–2.1)
Acetamiprid 20WP	4.8	(2.5–8.9)	2.9	(2.3–3.6)
Chlorphenapyr 10SC	49	(41–57)	23	(20–27)

Figures in parentheses indicate the 95% confidence limit.
DAT: days after insecticide application.

以上の結果から、CST法は、*T. palmi* について作用性の異なる薬剤の効果を正確に把握できると同時に、透明な容器を通じて、供試虫に対する薬剤の影響を継続的に観察できることから、各種薬剤の作用特性を正確に把握することができる。また、CST法の実験系は、昆虫と寄主植物を収容した閉鎖系であるので、他の植物寄生性微小昆虫に対する薬剤感受性検定に、また、害虫、天敵などの食物連鎖系を収容して、それらに対する薬剤の影響評価法などにも応用できると思われる。

摘 要

ミナミキイロアザミウマ (*T. palmi*) に対する新しい薬剤感受性検定法として、キュウリの幼苗と透明容器を用いた Cucumber Seedling Treatment method (CST 法) を考案した。CST 法を用いることにより、植物体を 14 日以上健全に維持でき、供試した *T. palmi* 1 齢幼虫が健全に生育し、高い蛹化・羽化率がえられたことにより、速効性の薬剤のみならず昆虫生育制御剤のような遅効性の薬剤、クロロニコチル系殺虫剤など、作用性の異なる薬剤の *T.*

palmi に対する効力を検定することができた。本方法は、幼虫のみならず成虫における薬剤感受性を検討する上でも有効な方法であった。また、根を薬液に浸漬することにより薬剤の浸透移行性を検討することができた。本方法では、試験期間中、供試虫と植物の状態を透明な容器を通じて随時反復して観察できるので、薬剤の作用特性および被害の程度を薬剤感受性ととも把握することができた。

この CST 法は、*T. palmi* のみならず、他の微小昆虫に対する薬剤感受性検定や、天敵などの食物連鎖系を収容して、それらに対する薬剤の影響評価などにも応用できると思われる。

引 用 文 献

- 會田重道 (1985) *In vivo* 検定法. 最新農業生物検定法 (細辻豊二 編). 全国農村教育協会, 東京, pp. 232–256.
- Finney, D. J. (1971) *Probit Analysis*. 3rd ed. Cambridge Univ. Press, London, pp. 50–80.
- 満井 蓓 (1985) 昆虫の成長阻害剤の生物検定法. 最新農業生物検定法 (細辻豊二 編). 全国農村教育協会, 東京, pp. 381–405.
- 森下正彦 (1993) ミナミキイロアザミウマに対する薬剤の殺虫効果と協力作用. 応動昆 37: 153–157.
- 森下正彦 (1997) 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 (1998) ミカンキイロアザミウマの飼育法. 植物防疫 52: 24–26.
- 村井 保・石井卓爾 (1982) 花粉による訪花性アザミウマ類の簡易飼育法. 応動昆 26: 149–154.
- 永井一哉・平松高明・逸見 尚 (1988) ミナミキイロアザミウマ *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) に対するキチン合成阻害剤 flufenoxuron の防除効果. 応動昆 32: 297–299.
- Nauen, R. (1995) Behaviour modifying effect of low systemic concentrations of imidacloprid on *Myzus persicae* with special reference to an antifeeding response. *Pestic. Sci.* 44: 145–153.
- Nauen, R. and A. Elbert (1997) Apparent tolerance of a field-collected strain of *Myzus nicotinae* to imidacloprid due to

- strong antifeeding response. *Pestic. Sci.* 49: 252-258.
- 西野敏勝 (1987) ミナミキイロアザミウマにおける殺虫剤感受性の季節変動. 九病虫研会報 33: 150-153.
- 野沢英之・松井正春・小山健二 (1994) ミナミキイロアザミウマ各地個体群の薬剤感受性. 関東東山病虫研報 41: 205-207.
- 尾崎幸三郎・斉藤哲夫 (1981) 殺虫剤効力検定法. 農薬実験法殺虫剤編 (深見順一・上杉康彦・石塚皓造・富沢長次郎編). ソフトサイエンス社, 東京, pp. 73-85.
- 曾根信三郎 (1995) ウンカ・ヨコバイ類に対する稲芽だしを用いた新しい簡易効力検定法. 植物防疫 49: 525-527.
- Sone, S., K. Nagata, S. Tsuboi and T. Shono (1994) Toxic symptoms and neural effect of a new class of insecticide, imidacloprid, on the American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *J. Pesticide Sci.* 19: 69-72.
- 曾根信三郎・山田ゆみ・坪井真一 (1995) 芽だしを用いたウンカ・ヨコバイ類に対する殺虫剤の新しいスクリーニング法. 応動昆 39: 171-173.
-