葉片浸漬法と散布法によるナミハダニの感受性検定の比較および 簡易なハダニ接種法の開発

國本佳範・今村剛士

Yoshinori Kunimoto and Tsuyoshi Imamura:

A comparison between two susceptibility test methods, chemical spray and leaf dip, for two-spotted spider mite and development of a simple method for placing mites on a leaf disk

Abstract

We compared the mortality of mites between two susceptibility test methods, chemical spray and leaf dip, with bifenazate, emamectin and cyenopyrafen for the two-spotted spider mites on strawberry. When using bifenazate and cyenopyrafen, there was no difference in mortality of mites between the two methods. However, when using emamectin, the mortality by the leaf dip method was significantly lower than that by the spray method.

A new method of placing mites on the leaf of kidney beans without using a fine brush was developed. That is, a small strawberry leaf infested with mites was placed by an intact stem of kidney bean with one primary leaf for a day. Most mites on the strawberry leaf moved onto the kidney bean leaf by themselves. There after the kidney bean leaf with mites was dipped in the acaricides for five seconds. By using this placement method followed by the leaf dip method, the mortality was similar to that of normal placement method using a fine brush followed by the spray method.

緒 言

ハダニ類は薬剤抵抗性が発達しやすいことが知られており（真梶，1970），奈良県でも複数の殺ダニ剤に対してイチゴ等に寄生するナミハダニ黄緑型の感受性が低下している（國本，2010）。このため，生産者への防除指導は感受性検定の結果に基づいて行うことが望ましい。

ハダニ類の感受性検定法としては，ハダニ類を接種したインゲン葉に殺ダニ剤を散布する方法（浜村，1996）（以下，散布法）や，あらかじめ殺ダニ剤に浸漬したインゲン葉にハダニ類を接種する方法（望月，1998），（<http://www.irac-online.org/methods/panonychus-ulmi-tetranychus-species-adults/>，以下，浸漬法）などが知られている。ただし，浸漬法での供試殺ダニ剤は，プロモプロピレート，サイヘキサチンあるいはミトコンドリア電子伝達系Ⅰ阻害剤などとされており，これらは現在の促成イチゴ栽培では使用されていない。そこで，促成栽培イチゴの栽培現場で使用されている殺ダニ剤を対象に，両検定法を比較したところ，死亡率に違いが生じる薬剤があることがわかったので報告する。

また，両検定法ではインゲン葉へのハダニの接種に小筆が用いられる。ところが，この方法は作業に熟練が求められるうえ，長時間の細かい作業となるために作業者の精神的疲労が大きい。そこで，小筆を用いないハダニ接種法を開発したので併せて報告する。

なお，本研究は農林水産省委託プロジェクト「ゲノム情報等を活用した薬剤抵抗性管理技術の開発（PRM2303）」で実施した。

材料および方法

1. 両検定法の比較

供試したナミハダニ黄緑型は2015年5月25日に奈良県桜井市東田，2015年6月4日に高市郡明日香村平田の促成栽培イチゴ施設（品種：アスカルビー）から採集した。供試した殺ダニ剤はピフェナゼート水和剤（1000倍，日産化学工業株式会社），エマメクチン安息香酸塩乳剤（2000倍，シンジェンタジャパン株式会社），シエノピラフェン水和剤（2000倍，日産化学工業株式会社）で，対照として水道水を用いた。各検定法は以下の手順で行った。

散布法：①リーフディスクの作成：水で湿らせた濾紙を敷いた9 cm シャーレ上にインゲン初生葉（品種：長鶏菜豆）を葉表を上にして置き、湿らせたペーパータオルで3 cm 四方に囲った。②ハダニの導入：リーフディスクに小筆でナミハダニ黄緑型の雌成虫を20頭程度導入した。数時間放置後、実体顕微鏡下で生存虫を計数した。併せて、ハダニが吐出した糸を除去した。③殺ダニ剤散布：当センターでは回転式散布塔を所有していないため、これに代わる簡易な散布法としてハダニを接種したリーフディスクをターンテーブルに乗せ、エアブラシ（スプレーワーク HG トリガータイプ、株式会社タミヤ）で供試殺ダニ剤を約 2 mg/cm^2 となるように散布した。

浸漬法：①殺ダニ剤への浸漬：展開したインゲン初生葉を供試殺ダニ剤に5秒間浸漬し、風乾した。風乾後のインゲン葉を用いて散布法の①と同様の方法でリーフディスクを作成し、②と同様にハダニを導入した。

いずれの検定法も処理24時間後、48時間後に実体顕微鏡下でハダニの生死を判定した。脚の痙攣などの苦悶虫は死亡とみなした。試験は3反復行い、Abbott の式 (Abbot, 1925) により補正死亡率を算出した。

2. 簡易なハダニ類接種法

実験にはナミハダニ黄緑型の餌植物として幅広く利用され、容易に栽培できることからインゲン（品種：長鶏菜豆）を用いた。展開した初生葉を1枚残したインゲン茎を、水を入れた直径2.5 cm、高さ10 cm のプラスチック製容器に挿し、切り込みを入れたスポンジでインゲン茎を挟むようにして容器の口部分に固定した。これを高さ10 cm の発泡スチロール製の箱に空けた穴に差し込んだ（第1図）。あらかじめ寄生するナミハダニ黄緑型雌成虫を計数したイチゴ小葉をインゲン茎元に接するように置き、24時間後にインゲン葉上のナミハダニ黄緑型雌

第1図 水挿しインゲンへのハダニ接種

成虫を計数した。また、1. で供試した桜井市東田の個体群を上記の方法でインゲン葉に移動させた。これを1. で供試した殺ダニ剤に5秒間浸漬し、24時間後に実体顕微鏡下で生死を確認し、補正死亡率を算出した。

結 果

1. 両検定法の比較

両検定法での48時間後の補正死亡率を第2図に示した。ビフェナゼート水和剤では供試したいずれの個体群においても、両検定法の補正死亡率は100%と高く、両者間に差はなかった。一方、エマメクチン安息香酸塩乳剤の浸漬法での補正死亡率はいずれの個体群でも低かったが、散布法では死亡する個体がかかり見られ、いずれの個体群でも両検定法の間に有意差があった（Fisher の直接確率検定、危険率1%）。シエノピラフェン水和剤ではいずれの個体群でも散布法でわずかに死亡する個体があったが、両検定法ともに補正死亡率は低く、両者間に有意差はなかった（Fisher の直接確率検定、危険率1%）。

2. 簡易なハダニ類接種法

イチゴ小葉上のナミハダニ雌成虫数と24時間後にイン

第2図 ナミハダニ黄緑型に対する各殺ダニ剤の浸漬法と散布法での補正死亡率

n.s. は Fisher の直接確率検定で有意差がない, ** は 1% 危険率で有意差があることを示す。

第3図 放飼前のイチゴ小葉上ナミハダニ雌成虫数と放飼24時間後のインゲン葉上のナミハダニ雌成虫数の関係

第4図 ナミハダニ黄緑型に対する簡易接種後の葉片浸漬と小筆を用いた接種後の薬液散布での各殺ダニ剤での補正死亡率
n.s. は Fisher の直接確率検定で有意差がないことを示す。

ゲン葉上で観察された虫数の関係を第3図に示した。イチゴ小葉のナミハダニ黄緑型はイチゴ葉が萎れるに伴い、茎を登りインゲン葉へ移動した。放飼前のイチゴ小葉上の虫数と放飼24時間後のインゲン葉上の虫数の間には正の相関が認められ ($y=0.9228x$, $R^2=0.8503$)、放飼後24時間で9割以上の個体がイチゴ小葉からインゲン葉上へ移動した。また、24時間後の補正死亡率を簡易接種後に葉片浸漬した場合と従来どおり小筆を用いて接種した後に散布法を用いた場合とで比較したところ、いずれの殺ダニ剤でも両者間には有意差は認められなかった (Fisher の直接確率検定、危険率 1%, 第4図)。

考 察

奈良県の促成イチゴ栽培で主に使用されている殺ダニ剤は、ビフェナゼート水和剤、ミルベメクチン水和剤、エマメクチン安息香酸塩乳剤、シエノピラフェン水和剤と気門封鎖剤である。このうちシエノピラフェン水和剤、シフルメトフェン水和剤は福岡県 (柳田ら, 2013)、三重県 (大仲・西野, 2013)、愛知県 (石川・江口, 2014)

から、ビフェナゼート水和剤も福岡県 (柳田ら, 2013) から感受性の低下が報告されている。ミルベメクチン水和剤についても効果低下の報告 (大仲・西野, 2013; 柳田ら, 2013; 石川・江口, 2014) があることから、実際の防除においていずれの薬剤を選択すべきか、栽培者はもとより普及指導員等の現場指導者でも判断するのは難しい状況となっている。このため、迅速で栽培現場での薬剤使用状況に対応した結果が得られる感受性検定法が求められている。

今回の結果から、あらかじめ殺ダニ剤に葉片を浸漬する方法では、エマメクチン安息香酸塩乳剤において、補正死亡率が散布法よりも低くなることが明らかとなった。生産者への防除指導でもハダニ類に直接薬液が付着するように散布することを指導している。このため、現在利用されている殺ダニ剤の検定には直接薬液に接触する方法が望ましいと考えられた。ただし、散布法には回転式散布塔などの散布器具が必要となるが、これを装備していない病害虫防除所等もある。しかも、回転式散布塔は既に販売が中止されており、入手することは難しい。今回はこれに代わる簡便な散布器具を使用した。今後は、この散布器具の散布粒子径やそのばらつき等を調べ、回転式散布塔の代替品としての性能を明らかにする必要がある。

次に、今回開発した小筆を用いない接種法は、イチゴ小葉に寄生するハダニ数からインゲン葉に移動するハダニ数が概ね予想できる。このため、検定に必要な頭数をイチゴ小葉に寄生するハダニ数で調整することが可能と考えられる。移動に要する時間が1日程度かかるものの、放置しておくだけであり、簡易な方法として利用できると考えられる。簡易な検定法としては採集してきた葉を直接薬液に浸漬する方法 (高梨ら, 2009) が知られている。しかし、栽培現場から採集してきた葉には死亡個体や移動中に損傷した個体なども含まれている。このため、浸漬前に十分な観察が必要となる。一方、今回の方法ではインゲン葉に移動させるので元気な生存虫のみを対象にできる。

また、1例だけであるが、ハダニの簡易接種後のインゲン葉を直接薬液に浸漬する方法でも、小筆を用いて接種後に散布法を用いた場合と同様の結果を得ることができた。今後より多くの事例を集める必要はあるが、簡易検定法として利用できる可能性は高い。

今回の実験では寄主植物のイチゴではなく、インゲンをを用いた。ナミハダニ黄緑型は寄主植物の範囲が広いいため、感受性検定にはどのような作物に寄生していた場合でもインゲンを餌植物とすれば飼育できる。また、イン

ゲンは栽培が容易で生育が速いことから、ナミハダニの飼育に広く用いられてきた(真梶, 1980)。ただし、いつでも感受性検定が実施できるようにするためにはインゲンを常に栽培しておく必要がある。この維持管理には相当の時間を要することから、今後はKwon らが開発したガラス管を用いる方法(Kwon et al., 2010)などを参考に、植物体を利用しない検定法の開発が必要である。

摘 要

ビフェナゼート水和剤, エマメクチン安息香酸塩乳剤, シエノピラフェン水和剤を用いてインゲン葉片に接種したハダニに殺ダニ剤を散布する方法(散布法)とあらかじめ殺ダニ剤に浸漬したインゲン葉片にハダニを接種する方法(浸漬法)の補正死亡率をイチゴに寄生するナミハダニ黄緑型で比較した。ビフェナゼート水和剤とシエノピラフェン水和剤では両者の間に差はなかったが、エマメクチン安息香酸塩乳剤では散布法より浸漬法での補正死亡率が有意に低くなった。

また、小筆を用いないハダニ接種法として、初生葉が展開したインゲン茎水挿しの茎元にイチゴ小葉を置き、

1 日程度放置することで、イチゴ小葉に寄生するハダニのほとんどがインゲン葉へ移動した。これを殺ダニ剤に浸漬することで散布法と同様の補正死亡率が得られた。

引用文献

- Abbot, W. S. (1925) J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- 浜村徹三 (1996) 植物ダニ学. 全国農村教育協会, 東京, pp. 323-330.
- 石川博司・江口敏弥 (2014) 関西病虫研報 56 : 139-143.
- 國本佳範 (2010) 奈良農総研セ研報 41 : 23-28.
- Kwon, D. H., D. Y. Song, S. Kang, J. J. Ahn, J-H. Lee, B. R. Choi, S. W. Lee, J-H. Kim and S. H. Lee (2010) J. Asia Pac. Entomol. 13: 333-337.
- 望月雅俊 (1998) 植物防疫 52 : 96-98.
- 大仲桂太・西野 実 (2013) 関西病虫研報 55 : 113-115.
- 真梶徳純 (1970) 植物防疫 24 : 455-460.
- 真梶徳純 (1980) 昆虫実験法. 材料・実習編. 学会出版センター, 東京, pp. 80-83.
- 高梨祐明・土師 岳・足立嘉彦・豊島真吾 (2009) 東北農研研報 110 : 177-186.
- 柳田裕紹・森田茂樹・國丸謙二 (2013) 福岡農総試研究報告 32 : 33-36.