制線虫剤のバイオアッセイに関する2,3の検討

石橋 吉友・石橋 信義¹⁾ (三笠化学工業株式会社・¹⁾佐賀大学農学部)

Bioassays of the nematicides MK-166 and oxamyl in the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Yoshitomo ISHIBASHI and Nobuyoshi ISHIBASHI¹⁾ (Mikasa Chemical Ind. Co., Ltd., Ogohri, Fukuoka 813. ¹⁾Faculty of Agriculture, Saga University, Saga 840)

Investigations were carried out on the nemastatic effects of nematicides (MK-166 and oxamyl) on embryonic development, larval emergence from egg masses, and egg-laying activity of female adults of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. The embryonic development of eggs laid in equilibrated saline solution was more retarded by MK-166 (88-350 ppm) than by oxamyl for the same dosage of the product. Seasonal variations of the susceptibility should be taken into account for the evaluation of the chemicals. The larval emergence from egg masses was more inhibited by MK-166 (88-350ppm) than by oxamyl. The egg masses should be exposed to the chemicals for at least 2 weeks. Both chemicals most affected the development of nematodes 6 to 10 days after the penetration to host plants at 18.4°C, bringing about the highest depression of egg-laying activity of the females.

EDBやD-Dなど従来から使用されてきた土壌くん蒸剤は漸次製造中止になり、代って現在は有機リン剤などの制線虫剤が線虫防除剤として主流になりつつある。しかし制線虫剤の評価方法について、わが国においては近藤・石橋(1984)のほかにみるべき報告はないようである。著者らはサツマイモネコブセンチュウ(*Meloidogyne incognita*)に対する制線虫剤のバイオアッセイをさらに確立すべく、本研究に着手した。制線虫剤のネコブセンチュウに対する作用は、1) 卵の胚子発生および幼虫の卵のう遊出抑制 2) 幼虫の運動抑制 3) 侵入阻害 4) 生育阻害 5) 産卵抑制が考えられる。本報告では、胚子発生・遊出抑制と産卵抑制について検討した。

材料および方法

供試薬剤には、有機リン剤としてMK-166、対照薬剤に既存の制線虫剤としてオキシムカーバメート剤のoxamylを使用した。卵のうおよび雌成虫はトマト(品種:福寿)から得た。

1. 胚子発生の抑制試験

卵のう物質の影響をできるだけ避けるため、トマトのゴールから摘出した雌成虫を生理食塩水(石橋, 1967)に浸漬し、液中に産下された卵(単細胞~4細胞)を使用した。産下卵は卵懸濁液として薬液を希釈し、所定の濃度に調製した後、シラキウス皿(直径2cm)に入れて25℃条件下におき、6日後実体顕微鏡下で観察した。卵

殻内で幼虫となったものを、胚子発育の完了した卵として計数調査した。なお試験は、冬季温室内において、播種後約50日経過したトマト(11月)と、約120日経過したトマト(1月)から雌成虫を採集してその産下卵を使用した。

2. 幼虫の卵のう遊出抑制試験

11月に、温室内で生育させたトマトから採取した白色卵のう(幼虫侵入約2ヵ月)をシラキウス皿で3個ずつ薬液浸漬した。そのシラキウス皿4個は湿らせた濾紙を敷いた直径9cmのシャーレに入れ、25℃下に置いた(4反復)。処理9、15日後実体顕微鏡下で遊出幼虫を計数し、その後薬液を水ととり換えて更に25℃下に置き、遊出幼虫を約10日毎に計数した。

3. 産卵抑制試験

トマト苗(品種:福寿, 播種25日後)を植えたビニールパイプ(内径2cm, 長さ15cm)を10本まとめ、直径17cmのプラスチック製ポットに入れ、そのポットの底を浮かす形で更に1/5000aワグネルポットに入れた(Fig. 1参照)。ビニールパイプ内のパーミキュライトが乾燥しないように随時灌水しながらトマトの根が水耕液(ハイポネックス0.2%)に達した時、2期幼虫をトマト1株当たり200頭接種した。2期幼虫の侵入期間として2日間置き、これ以後の侵入はないものと仮定して、接種3日後を侵入0日と起算した。侵入0日~5日, 6日~10日, 12日~16日, 18日~25日の各期間に、水耕液に

MK-166 と oxamyl をそれぞれ 50ppm となるよう混入した。薬液の濃度はトマトに薬害が生じない最大値に設定した。薬液処理期間中は、通気によって薬剤が蒸散する場合を想定して、薬液を1回とり換えた。侵入54日後にトマトを抜いて、ゴールから雌成虫を摘出し、生理食塩水に浸漬して25℃に置き、産下卵数を4日間毎日調べた。また産下卵の胚子発生も1.と同様にして調べた。

Fig. 1. Model of experimet appratus on egg-laying activity.

結果および考察

1. 胚子発生の抑制

MK-166 区の胚子発生の抑制効果は、試験時期によって大きく異なった (Table 1)。oxamyl 区や無処理区も1月は11月よりも胚子発生率が低下したが、MK-166 区では更にその差が大きく現れた。両時期の材料とも同一接種から出発しているので、1月は老齢の雌成虫である。雌成虫の生理的状态が、供試した卵の活性に大きく影響したものと考えられる。雌成虫の生理活性は、寄主植物の生理状態の影響を受けるので (石橋, 1967), 本試験で得られたような卵の薬剤に対する反応は、同じ寄主植物を用いても季節やそのときの寄主の生育状態、液内産卵に用いる雌成虫の age によって異なることが予想される。したがって薬剤試験ではこれらのことを明記すべきであろう。

2. 幼虫の卵のう遊出抑制

結果は Table 2 に示した。両浸漬期間において、MK-166 はいずれの濃度においても幼虫の遊出を抑えていた。Oxamyl では9日浸漬よりも15日浸漬の方が遊出が多くみられ、これは単に遊出する時期を遅らせているだけのようにも思える。一方薬液浸漬後、卵のうを水に戻すと濃度に関係なく遊出してきたが、同じ経過日数間では、oxamyl より MK-166 の方が有意に遊出幼虫数が少なかった (9日浸漬: $P < 0.05$, 15日浸漬: $P < 0.01$, χ^2 検定)。また MK-166 は浸漬期間が長くなると、oxamyl より遊出を抑える傾向があった。したがって卵のうからの幼虫遊出に対する薬剤の効果判定において、

Table 1. Efft of MK-166 and oxamyl on the embryonic development of eggs laid in balanced saline solution

Chemicals	Conc. (ppm)	November		January	
		No. of eggs	Embryos	No. of eggs	Embryos
MK-166	350	105	101(100)	85	0(0)
	175	114	109(100)	92	0(0)
	88	71	68(100)	94	0(0)
oxamyl	350	69	9(14)	57	0(0)
	175	51	28(58)	57	12(27)
	88	75	67(94)	143	74(81)
control	—	86	82(100)	220	141(100)

() indicated correcting percentage of embryos (control=100).

Table 2. Effect of MK-166 and oxamyl on larval emergence from egg masses in water (Control=100)

Chemicals	Conc. (ppm)	Days after exposure for 9 days			Days after exposure for 15 days		
		0	10	20	0	11	22
MK-166	350	0	18	22	1	1	1
	175	0	13	14	0	1	1
	88	0	19	29	1	4	4
oxamyl	350	0	48	57	1	32	38
	175	0	29	45	6	30	30
	88	19	29	42	40	52	53
control	—	100 (498)	100 (591)	100 (619)	100 (584)	100 (633)	100 (633)

() indicated No. of larvae/egg mass.

Not significant difference between concentration in each chemicals (F test).

効果を顕著に現わさせるためには、浸漬期間を約2週間以上とるべきであろう。

3. 産卵抑制

Fig. 2 に雌成虫の生理食塩水内産卵数 (4日間) の無処理比を示した。両薬剤とも侵入後6日~10日処理で産卵数は最も低下し、この時間 (2期幼虫) に薬剤の影響を最も受けるものと考えられる。

Fig. 3 に産下日別の胚子発生を示した。MK-166 ではいずれの日も無処理と差がみられなかったが、oxamyl では産下1日目の卵の胚子発生が抑えられており、6~10日処理区では特にその傾向が強かった。したがって oxamyl は、産下1日目の卵の胚子発生に影響を及ぼすことがわかった。

以上の結果から、薬剤の産卵抑制効果は侵入後6~10日 (試験期間中の平均気温は18℃) に処理したときが最も強く現れた。この時期はおそらく2期幼虫の後期ないしは3期幼虫への脱皮時期と考えられ、脱皮時期は薬剤

Fig. 2. Fecundity of root-knot nematodes, *M. incognita*. Treated with MK-166 or oxamyl (50 ppm concentration in water culture solution) during the different period after penetration of tomato roots.

感受性が最も高いという従来の報告 (CASTRO and THOMASON, 1971) と一致する。

摘 要

サツマイモネコブセンチュウに対する制線虫剤 (MK-166 と oxamyl) の評価方法について検討し、以下の知見を得た。

1) 生理食塩水内産下卵に対する両薬剤の胚子発生の抑制効果は、雌成虫の由来によって結果が大きく異なった。

2) 葉液への卵の浸漬による幼虫遊出抑制効果は、浸漬期間を2週間以上とることにより、薬剤の効果が一

Fig. 3. Embryonic development (%) of eggs laid by *M. incognita* females which were exposed to MK-166 or oxamyl during 0-5 days (A) or 6-10 days (B) after the penetration of tomato roots.

層ははっきりした。

3) 水耕栽培液へ両薬剤を添加することによって産卵抑制効果が認められ、侵入後6日～10日に処理したとき最も高い効果を得た。

引 用 文 献

- 1) CASTRO, C. E., THOMASON, I. J. (1971) Plant Parasitic Nematodes Vol. II Academic Press, New-York, 347p.
- 2) 石橋信義 (1967) 農事試験報11:177-219.
- 3) 近藤栄造・石橋信義 (1984) 日線虫研誌 14:8-14.

(1985年4月30日 受領)