

# Bacillus thuringiensis製剤のチャハマキに対する生物活性 の評価について

誌名	茨城県病害虫研究会報
ISSN	03862739
著者	浅野, 昌司
巻/号	43号
掲載ページ	p. 38-42
発行年月	2004年3月

# *Bacillus thuringiensis* 製剤のチャハマキに対する 生物活性の評価について

浅野 昌 司

## はじめに

*Bacillus thuringiensis* 製剤（以下BT剤とする）の昆虫に対する生物活性の評価は通常致死率をもとになされるが、他に、摂食阻害率や発育阻害率でなされることもある。これらの評価方法にはそれぞれに長所や短所があり、試験の目的や供試昆虫の種類によってそれに適した方法を採用することが肝要である。BT剤の生物活性が致死活性（ $LC_{50}$ ）をもとになされる場合には調査時期が問題となる。その時期は試験目的や供試昆虫の種類によっても異なるが（浅野ら, 1973; Asano and Seki, 1994; 浅野, 1999）、投与後の致死率の安定するまでの日数がひとつの目安となり、通常投与5～7日後に行われている。

ハマキムシ類はBT剤に対して致死の発現が比較的遅く、 $LC_{50}$  前後の濃度では致死率が安定するまでに7～14日を要する（浅野ら, 未発表）。それ故、BT剤のハマキムシ類に対する生物活性は評価方法と調査時期がとくに問題となる。

今回、BT剤としてゼンターリ顆粒水和剤を選び、チャハマキ *Homona magnanima* に対する生物活性の評価について飼料混入法を用いて検討した。また、生物活性と幼虫齢期の関係についても調査したので併せて報告する。

## 材料および方法

供試薬剤：BT剤は市販のゼンターリ顆粒水和剤（北興化学株式会社製）を用いた。

供試昆虫：人工飼料インセクタLFS（日本農産工業株式会社製）を用いて累代飼育しているチャハマキのI齢～V齢幼虫を供試した。I齢幼虫はふ化直後のものを用いた。II齢～V齢幼虫は径14.4mm×長さ43.3mmのサンプルカップ（株式会社サンプラテック）にインセクタLFSの細片を入れ、個体別に飼育し、所定幼虫齢期へ脱皮した後24時間以内のものを用いた。

試験方法：インセクタLFSの20gと所定濃度に希釈したゼンターリ顆粒水和剤液の2mlを混合した後、プラスチック製の1/2オンスカップ（中国パール化成株式会社製）10ケに約2gずつ配分した。これに所定齢期のチャハマキ幼虫を1頭ずつ接種し、同製の蓋をした。調査は25℃、70%R.H.の条件において7および14日後に生存数、発育齢期、幼虫サイズおよび摂食度合を記録した。試験は日をかえて4～5回反復した。生物活性の評価は生存数にもとづく致死率、生存個体の幼虫齢期および幼虫発育量にもとづく発育阻害率、幼虫サイズおよび摂食度合にもとづく摂食阻害率で行った。このうち、幼虫発育量は生存幼虫×齢指数の合計値で求めた（浅野, 2000）。ここで、齢指数にはI、IIおよびIII齢にそれぞれ1、2および4を用いた。摂食阻害率は生存個体の摂食度合を－、±、+および++の4段階に区分し、それぞれに指数0、1、2および3を乗じて合計した値を、処理区と無処理区の間で比較した。致死活性（ $LC_{50}$ ）、発育阻害活性（ $EC_{50}$ ）および摂食阻害活性（ $EC_{50}$ ）の算定はSPSS（11.0J）社の統計

計ソフトによるプロビット解析を用いた。

## 結 果

### 1. I 齢幼虫に対する生物活性

ゼンターリ顆粒水和剤を製剤濃度で10, 100, 1,000および10,000ppm含む餌をチャハマキ I 齢幼虫にふ化直後から5日間与えた。投与後の致死率の推移を調べた結果は第1表に示した。10,000ppmでの致死率は投与1日後には40%と低かったが、2日後には98%と高くなった。1,000ppmでは1日後に20%と低かったが、2日後に75%、3日後には100%と順次高くなった。100ppmでも1日後に8%と低く、2日後に65%、3日後に93%と順次高くなった。しかし、10ppmでは5日後でも33%と低かった。この様に、ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキ I 齢幼虫に対する致死率は処理濃度によっても異なるが、投与1日後では全体に低く、2日以後に順次高くなる傾向が示された。

第1表 ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキ I 齢幼虫に対する致死活性

濃度 <sup>a)</sup> (ppm)	供試数	投与後の致死率 (%)				
		1	2	3	4	5 (日)
10,000	40	40	98	100	100	100
1,000	40	20	75	100	100	100
100	40	8	65	93	100	100
10	40	0	3	10	20	33
0	40	0	0	0	0	0

#### a) 飼料中の製剤濃度

つぎに、ゼンターリ顆粒水和剤の1~30ppmを含む餌をチャハマキ I 齢幼虫にふ化直後から7日間与えた時の生存数および発育齢期について調べた結果を第2表に示した。表に示すように、30ppmでは7日後の生存個体は全く見られなかった。1~10ppmでは濃度が低くなるに従って生存数が多くなった。無処理区における7日後の生存幼虫の齢期は一部II齢もあったが、ほとんどはIII齢であった。処理区では濃度が高くなるほど生存個体の齢は遅く、幼虫発育が阻害されていることが示された。各試験区における7日後の生存幼虫数にそれぞれ齢指数を乗じて合計した値を幼虫発育量として同表の最右欄に示した。

第2表 ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキ I 齢幼虫に対する生物活性

濃度 <sup>a)</sup> (ppm)	供試数	生存数 <sup>b)</sup>	生存個体の齢期 <sup>b)</sup>			幼虫発育量 <sup>c)</sup>
			I	II	III	
30	40	0	0	0	0	0
10	40	14	12	2	0	16
3	39	29	8	14	7	64
1	40	38	0	13	25	126
0	39	38	0	9	29	134

a) 飼料中の製剤濃度, b) 7日後の調査, c)  $\Sigma$  (生存幼虫×齢指数)

第2表の結果をもとにゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキ I 齢幼虫に対する生物活性を評価した結果を第3表に示した。致死率をもとに算定したLC<sub>50</sub>は6.7ppmであった。幼虫発育量をもとにした発育阻害率から算定したEC<sub>50</sub>は3.1ppm, その値はLC<sub>50</sub>の約1/2であった。また, 7日後にII 齢以上に発育している幼虫数をもとにした発育阻害率から算定したEC<sub>50</sub>は3.9ppmで, その値は上述の幼虫発育量から求めたEC<sub>50</sub>値に近似していた。

第3表 第2表をもとにしたゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキ I 齢幼虫に対する生物活性の比較

濃度 (ppm) <sup>a)</sup>	供試数	致死率 <sup>b)</sup>	II 齢発育阻害率 <sup>c)</sup>	幼虫発育阻害率 <sup>d)</sup>
30	40	100	100	100
10	40	65	95	98
3	39	10	25	43
1	40	5	5	6
LC <sub>50</sub> (EC <sub>50</sub> )	—	6.7	3.9	3.1

a) 飼料中の製剤濃度, b) 7日後の調査, c) 7日後のII 齢以上幼虫発育数から算定,

d) 幼虫発育量 = Σ (幼虫数 × 齢指数) から算定

第2表とは別に行った試験で, ゼンターリ顆粒水和剤の0.3~30ppm含む餌をチャハマキ I 齢幼虫に連続して14日間与えた時の7日後および14日後の生存数, 幼虫齢期および摂食度合をもとに生物活性を評価した結果を第4表に示した。7日後および14日後の致死活性 (LC<sub>50</sub>) はそれぞれ6.4および4.1ppmで, 14日後の方が明らかに小さかった。摂食阻害活性 (EC<sub>50</sub>) はそれぞれ1.6および2.0ppmで, 両調査日の間に大差がなかった。7日後のII 齢以上および14日後のIII 齢以上の生存幼虫数をもとにした発育阻害活性 (EC<sub>50</sub>) はそれぞれ4.2および3.2ppmで, 同様に両調査日の間に大差は無かった。発育阻害活性 (EC<sub>50</sub>) は上記の致死活性 (LC<sub>50</sub>) と摂食阻害活性 (EC<sub>50</sub>) の中間にあった。

第4表 ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキ I 齢幼虫に対する生物活性と投与後の日数の関係

濃度 <sup>a)</sup> (ppm)	供試数	致死率 (%)		発育阻害率 (%) <sup>b)</sup>		摂食阻害率 (%) <sup>c)</sup>	
		7	14	7	14	7	14 (日)
30	50	100	100	100	96	100	100
10	50	70	90	96	96	100	100
3	50	10	28	22	40	80	72
1	50	4	6	2	8	15	14
0.3	50	0	0	0	0	5	0
LC <sub>50</sub> (EC <sub>50</sub> )		6.4	4.1	4.2	3.2	1.6	2.0

a) 飼料中の製剤濃度, b) 7日後のII 齢以上及び14日後のIII 齢以上の発育幼虫数から算定,

c) 無処理区に対する相対摂食量を-, ±, +, および++として算定

## 2. 生物活性と幼虫齢期と関係

ゼンターリ顆粒水和剤の1～100ppm含む餌を1齢～5齢のチャハマキ幼虫に連続して14日間与えた時の7日後および14日後の致死率とLC<sub>50</sub>を第5表および第1図に示した。1齢幼虫の7日後および14日後の致死率およびLC<sub>50</sub>の値は第4表と重複するが、II～V齢幼虫との比較を容易するために再掲した。各濃度における致死率はI齢とII齢の間は大差がないが、III齢以後はあきらかに齢が進むに従い低下した。この傾向は7日後のLC<sub>50</sub>および14日後のLC<sub>50</sub>でも同様であった。7日後のLC<sub>50</sub>でみるとI齢とV齢の間に約17倍の差があったが、14日後のLC<sub>50</sub>ではその差は7倍に低減した。

第5表 ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキに対する致死活性と幼虫齢期の関係

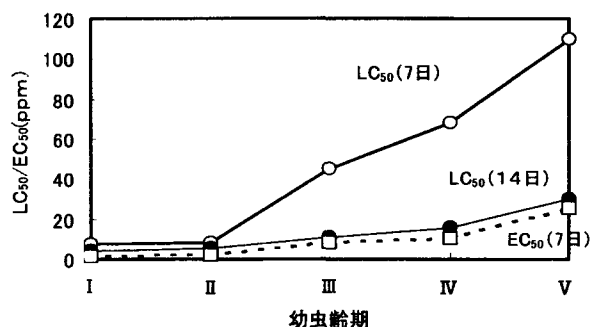
濃度 (ppm)	幼虫齢期と投与7および14日後の致死率(%)									
	I		II		III		IV		V	
	7	14	7	14	7	14	7	14	7	14(日)
100	100	100	100	100	80	97	76	100	47	87
30	100	100	67	100	30	97	10	88	18	50
10	70	90	57	83	18	40	0	20	6	3
3	10	28	13	13	5	10	2	4	0	0
1	4	6	7	7	0	7	0	0	0	0
LC <sub>50</sub>	6.4	4.1	8.5	5.7	45	11	68	16	110	30

第6表 ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキに対する摂食阻害活性と幼虫齢期の関係

濃度 (ppm)	幼虫齢期と摂食阻害率(%)				
	I	II	III	IV	V
100	100	100	88	80	67
30	100	100	81	69	53
10	100	89	57	50	37
3	97	62	21	23	23
1	7	38	8	2	2
EC <sub>50</sub>	1.6	1.8	8.0	10	25

第5表と同じ試験において調べた7日後の摂食阻害率とEC<sub>50</sub>を第6表と第1図に示した。I齢とII齢の摂食阻害率およびEC<sub>50</sub>には大差がなかったが、III齢以後は第5表の致死率と同様に摂食阻害率は齢が進むほど低下し、I齢とV齢の間にはEC<sub>50</sub>で約16倍の差があった。

ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキ幼虫に対するLC<sub>50</sub>およびEC<sub>50</sub>と幼虫齢期との関係は第1図に示すように7日後のLC<sub>50</sub>では齢期による差が大きいが、14日後のLC<sub>50</sub>ではその



第1図 ゼンターリ顆粒水和剤のチャハマキに対する生物活性と幼虫齢期

差は少なくなり、7日後のEC<sub>50</sub>でも同様に差が少なくなった。それ故、BT剤に対するチャハマキ幼虫の感受性は齢が進むに従って低下する傾向はいずれも同様であるが、その度合は評価方法や調査時期によって大きく異なることが示された。

## 考 察

BT剤の昆虫に対する生物活性の評価が致死率をもとになされる場合の多い理由として、調査が簡単・明瞭であること（生死の判定は2者択一であること）や、観察者による調査記録に変異の少ないことなどがある。生死の判定は通常先端の尖ったものによる物理的刺激に反応しないものを死、苦悶していても反応があるものは生として記録することが多い。しかし、苦悶虫の多くはその後の発育が正常に出来ず、やがて死に至る個体も多いので、致死活性（LC<sub>50</sub>）は実際のBT剤の生物活性を低く見積ることになる。他方、摂食阻害活性（EC<sub>50</sub>）は致死濃度以下で評価できること（検定感度が高くなること）や、実際の防除効果（食害防止効果）との相関の高いことなどから致死活性による評価より優れた点がある（浅野，1999）。しかし、摂食度合（食害面積など）を数値で記録することは容易ではなく、調査方法にはそれなりの工夫が必要になる。また、発育阻害活性（EC<sub>50</sub>）も摂食阻害活性と同様に致死活性より低濃度で評価できることや、濃度に対して連続した反応性があることなどの利点はあるが、この場合も発育度合（体重増加量や幼虫発育齢期など）を数値で記録することは容易でなく、解析方法も含めた調査方法に工夫が必要になる（浅野，2000）。

今回、ゼンターリ顆粒水和剤を用いてBT剤のチャハマキ幼虫に対する生物活性の評価方法を検討した結果、致死活性（LC<sub>50</sub>）をもとに評価する場合は投与2週間後の調査が1週間後より妥当と考えられたが、調査期間が長くなると日常的な生物検定の場合には支障も少なくない。通常、致死率の調査は試験開始後1週間以内になされることが多い。それ故、致死に代えて発育阻害を指標とする評価方法についても検討した。チャハマキ幼虫の場合、幼虫の動きが速く、かつ虫体も小さく、虫体重の測定が困難であったので、投与7日後の処理区と無処理区の幼虫齢期をもとに、生存個体×齢指数の合計を幼虫発育量（バイオマス）として求め、発育阻害活性（EC<sub>50</sub>）を算出した。この方法もBT剤の生物活性の評価に有効と考えられた。その他、投与7日後の処理区および無処理区の排糞量の多少および虫体の大小をもとに摂食量の度合を肉眼的に類別し、それを指数化して摂食阻害活性（EC<sub>50</sub>）を求める方法も有効と考えられた。これら3評価方法の中では摂食阻害活性（EC<sub>50</sub>）の値が最も小さかった。

今回の結果からBT剤のハマキムシ類に対する生物活性の評価は致死率以外に摂食阻害率や発育阻害率による評価も可能と考えられたので、今後、摂食阻害活性および発育阻害活性の調査時期、調査方法および結果の解析方法について、より簡便で、かつ、効果的な評価基準の検討が必要と考えられた。

## 引用文献

浅野昌司（1999）茨城病虫研報 38:1-5.

浅野昌司（2000）茨城病虫研報 39:1-7.

Asano, S. and A. Seki (1994) Appl. Entomol. Zool. 29:285-288.

浅野昌司・榊原啓高・北垣忠温・中村后代枝・松下洋子（1973）応動昆 17:91-96.