局所施用による薬剤感受性検定におけるアリモドキゾウムシの麻酔方法とfenitrothionに対する感受性

誌名	日本応用動物昆虫学会誌
ISSN	00214914
著者名	上室,剛 下津,文宏 里島,伸司 上福元,彰
発行元	日本応用動物昆虫学会
巻/号	57巻2号
掲載ページ	p. 95-99
発行年月	2013年5月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

AgriKnowledge

日本応用動物昆虫学会誌（応動昆）
第57巻　第2号：95–99（2013）
http://odokon.org/

局所施用による薬剤感受性検定におけるアリモドキゾウムシの麻酔方法と fenitrothion に対する感受性

上室　剛[1,*,†]・下津　文宏[2,‡]・里島　伸司[2]・上福元　彰[2,‡]

[1] 鹿児島県農業開発総合センター
[2] 鹿児島県大島支庁

Susceptibility of the Sweetpotato Weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius), to Fenitrothion and Anesthesia Method for Topical Application of Insecticides. Takeshi KAMIMURO,[1,*,††] Fumihiro SHIMOTSU,[2,‡‡] Shinji SATOSHIMA[2] and Akira KAMIFUKUMOTO[2,‡‡] [1] Kagoshima Prefectural Institute for Agricultural Development; Minamisatsuma, Kagoshima 899–3401, Japan. [2] Oshima Branch Office of Kagoshima Prefecture, Agricultural, Promotion and Advisory Division; Amami, Kagoshima 894–0061, Japan. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 57: 95–99 (2013)

Abstract: The effect of chilling and CO_2 anesthesia on sweetpotato weevils was investigated to optimize the immobilization duration sufficient for topical application of insecticides. Two-minute CO_2 anesthesia treatment with simultaneous chilling for the latter half of the time immobilized the weevils for about 100 seconds. This duration is sufficient to topically apply insecticides to the weevil bodies. This anesthesia method did not adversely affect the survivorship of weevils. Using this anesthesia method, we investigated the susceptibility to fenitrothion (MEP) of wild weevil populations on Kikai Island, where MEP and synthesized sex pheromone had been applied for 3 years and on Amami Oshima Island where no control measures were implemented. The LD_{50} values were as low (about 4.0–8.0 μg/g) for sweetpotato weevils collected from Kikai Island as for weevils collected from the control, Amami Oshima Island (about 2.5 μg/g). This result suggests that the weevil-controlling measures on Kikai Island are working satisfactorily.

Key words: *Cylas formicarius* (Fabricius); LD_{50}; fenitrothion; topical application; anesthesia

緒　　言

アリモドキゾウムシ *Cylas formicarius* (Fabricius)（コウチュウ目：ミツギリゾウムシ科）はサツマイモ *Ipomoea batatas* (L.) Lam. の重要害虫で，鹿児島県ではトカラ列島および奄美群島に分布している（栄，1968；宮路・田中，1998）．鹿児島県は本種の根絶を目指しており，2001年からは農林水産省の補助を受けて奄美群島の喜界島において不妊虫放飼によるアリモドキゾウムシ根絶事業を実施している．

不妊虫放飼法の効果を高めるためにあらかじめ野生個体群の密度を低下させておく必要がある．そのため，本事業では有機リン系薬剤の fenitrothion（以下，MEP）と合成性フェロモンを含浸させたファイバーボード製の誘引殺虫剤（アリモドキコール®）（瀬戸口ら，1991）を約1カ月間隔で長期間処理している（以下，密度抑圧防除）．こうしたMEPの長期間処理は，本剤に対するアリモドキゾウムシの感受性を低下させてしまい，密度抑圧防除の効果があがらなくなることも懸念されることから，密度抑圧防除を実施している地域のアリモドキゾウムシについて薬剤感受性を監視する必要がある．アリモドキゾウムシの感受性は局所施用法によって検定する計画であるが，そのためには薬液処理時に供試虫を一時的に静止させておく必要がある．昆虫の麻酔法として，一般に冷却処理（Harris et al., 1965；Hooper, 1970）や CO_2 処理（Edwards, 1968；Hooper, 1970）が行われている．アリモドキゾウムシでは10分間の冷却処理が行われているが（Mason et al., 1991），処理時間が長くなるほど供試虫の生存率は低下し（Hooper, 1970），作

* 責任著者
† 現在　鹿児島県農業開発総合センター茶業部
‡ 現在　鹿児島県農政部農産園芸課
†† Present address: Kagoshima Prefectural Institute for Agricultural Development, Tea Division, Minamikyusyu, Kagoshima 897–0303, Japan.
‡‡ Present address: Kagoshima Prefectural Agriculture Department Agricultural Production Division, Kagoshima, Kagoshima 890–8577, Japan.
2010年11月26日受領（Received 26 November 2010）
2013年 2月12日登載決定（Accepted 12 February 2013）
DOI: 10.1303/jjaez.2013.95

業効率も悪くなる．また，アリモドキゾウムシの局所施用では，60～90秒間の静止時間が必要である．そこで，本研究ではCO_2処理と冷却処理を組み合わせた麻酔処理法を検討した．さらに，本研究で開発した麻酔処理法を用いた局所施用法によってアリモドキゾウムシ個体群のMEPに対する感受性を調査した．

材料および方法

1. 局所施用に必要な静止時間を確保するための麻酔方法の検討

供試個体群は，2008年9月に鹿児島県大島郡喜界町花良治にて雌雄合計で約1,500頭を採集し，下津ら（2009）の方法で累代飼育した系統であった．実験には累代飼育13世代目の成虫（羽化脱出後3～10日）を用いた．

CO_2単独処理区，冷却単独処理区およびCO_2処理の後半に冷却処理を併用する区の3つの麻酔方法を検討した．いずれの区でも，成虫15頭ずつを丸底試験管（長さ18 cm×内径1.5 cm）に入れた後，麻酔処理を行った．CO_2単独処理区では，CO_2を試験管に注入（流量：約15 L/min，注入時間：5秒間）した後，綿栓をして1，2，5あるいは10分間静置して麻酔した．冷却単独処理区では，成虫を入れた試験管の側面をあらかじめ冷凍しておいた2つの保冷剤（15 cm×21 cm，アイスパック，ダイセロックス，広島市）ではさみ，さらに試験管底部が別の保冷剤に接するように固定して1，2，5あるいは10分間静置して麻酔した．CO_2処理の後半に冷却処理を併用する区では，CO_2処理を1，2あるいは5分間行った直後に，綿栓をしたまま冷却処理を1分（CO_2処理開始からの合計2分間），2分（同4分間），5分（同10分間）行った．また，無処理区は上記処理を一切行わなかった．各処理は雌雄別に実施し，それぞれ3反復で行った．なお，冷却処理中に試験管内の温度をデジタル温度計（おんどとり®，T&D，松本市）で10分間隔で24回測定した結果，3.2±0.2°Cであった．

麻酔処理を施されて静止した成虫は，試験管からプラスチック製容器（直径10.5 cm×高さ5.2 cm）に移し，室温下で処理虫（15頭）のうち最初の1頭が麻酔から覚醒し，活動を開始するまでの時間をストップウオッチで測定した．脚を少しでも動かした時点を麻酔からの覚醒と判断した．これらの試験を行った部屋の温度をデジタル温度計（おんどとり®，T&D，松本市）で10分間隔で24回測定した結果，23.7±0.2°Cであった．

最初の1頭が覚醒した後，成虫が入っている容器にゴース張りのふたをして，27±1°C，相対湿度70±10%，14L10Dの条件の実験室へ移し，48時間後に供試虫の生死を調査した．なお，餌としてサツマイモ片（品種：ベニサツマ，重さ：約30～50 g，乾燥防止のため切り口にパラフィンを塗布）を与えた．

2. 局所施用による薬剤感受性検定

薬剤感受性検定には，①大量増殖個体群，②密度抑圧防除を開始して1年が経過した地域の個体群，③密度抑圧防除を開始して3年が経過した地域の個体群，④防除事業を実施していない地域の個体群，の4個体群を供試した．それぞれの個体群の来歴は以下のとおりである．①は，1990年10月に鹿児島県大島郡龍郷町で採集し，その後，100世代以上累代飼育した個体群である．②は，2007年9月に喜界町花良治集落で採集したサツマイモから得られた成虫（約1,800頭）の次世代個体群である．③は，2009年12月に喜界町滝川集落で採集したサツマイモから得られた成虫（約1,400頭）の次世代個体群である．④は，2007年10月に鹿児島県大島郡龍郷町のサツマイモ畑でロート型フェロモントラップ（安田ら，1992）を用いて採集した雄の個体群で，採集した虫を検定に供した．①～③の個体群は，下津ら（2009）の方法で飼育し，イモから羽化脱出後3～10日目の雌雄成虫を供試し，検定は雌雄別に実施した．

薬剤感受性検定は，2007年10月から2010年2月にかけて，24±1°Cの実験室内において行った．MEPは原体（96.8%，住友化学，東京）をアセトンで2倍ずつ段階希釈した．予備試験の結果をふまえ，48.8～1,562.5 ppmの6段階とした．麻酔処理前に各個体群の供試虫から雌雄それぞれ任意に選んだ30頭を用いて1頭当たりの体重を算出した．個体群ごとに，3回繰り返しその平均を1頭当たりの体重とした．麻酔処理は，前述の試験で最適とされたCO_2処理（2分間）の後半に冷却処理（1分間）を併用する方法とした．マイクロアプリケーター（Arnold automatic microapplicator, Burkard Manufacturing，イギリス）を用いて，成虫の腹部腹面に1頭当たり0.08 μlの薬液を処理した．対照区にはアセトンのみを処理した．1濃度当たり15頭を供試し，各実験は3反復で行った．前述の飼育容器にサツマイモ片とともに処理後の虫を収容し，27±1°C，相対湿度70±10%，14L10Dの条件下の実験室内に置いて，24時間後に死亡虫数を調査した．この際，正常に歩行できない個体も死亡虫とみなした．

3. 統計解析

麻酔後の覚醒までの時間に対して，処理と性別を要因とした二元配置分散分析を行った後，有意差の認められた要因についてTukey-KramerのHSD検定により多重比較を行った．覚醒後の生存率は，逆正弦変換後にDunnettの検定により多重比較を行った．これらの統計解析には統計ソフトJMP ver. 5.1.2（SAS Institute Japan Inc., 2002）を用いた．LD_{50}値はBliss（1935）のProbit法により求め，回帰直線の適合度の判定にはχ^2検定を用いた．これらの算出には日本環境毒性学会が公表しているEcotox-Statics（http://www.intio.or.jp/jset/ecotox.htm）を用いた．

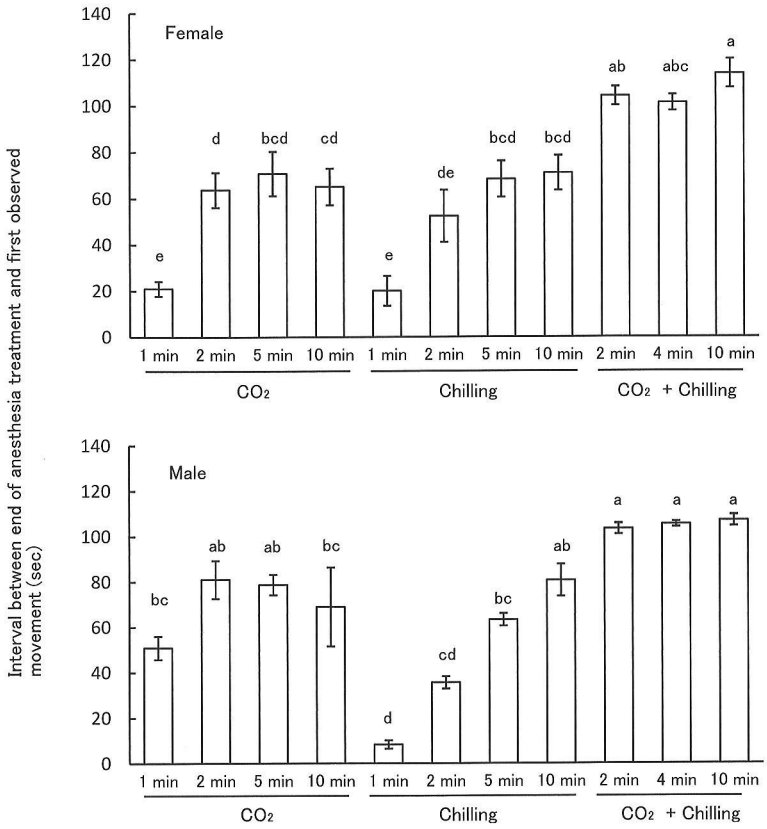

Fig. 1. Interval between the end of anesthesia treatment by CO_2 alone, chilling alone, and CO_2 with chilling and the first observed movement for female (upper) and male (lower) adults of the sweetpotato weevil. Each bar and error bar represents the mean and SE of three replicates of 15 adults per test tube. Same lowercase letters indicate no significant difference among treatments (Tukey-Kramer HSD test, $p>0.05$).

結　　果

1. 麻酔方法

麻酔処理によって全個体が静止した後に最初の1頭が活動を開始するまでの時間には，雌雄間に有意な差は認められなかったが（二元配置分散分析，$F=0.93$, $p=0.340$），処理区間には有意な差が認められた（二元配置分散分析，$F=36.512$, $p<0.0001$）．処理と性別の間には交互作用は認められなかった（二元配置分散分析，$F=1.827$, $p=0.0837$）．

11種類の麻酔処理区のうち，2分間のCO_2処理の後半に1分間の冷却処理を併用した方法で，静止時間が最も長くなる傾向があり，静止時間は雌で104.3秒，雄で103.3秒であった（Fig. 1）．麻酔覚醒48時間後の生存率はどの麻酔処理においても高く，無処理区と比較して有意な差は認められなかった（Dunnettの検定，$p>0.05$）（Table 1）．

2. MEPに対する感受性

MEPのLD_{50}値は雌が3.29～8.03 μg/gで，雄が2.52～4.90 μg/gであった（Table 2）．個体群間のLD_{50}値の違いが最大であったのは，雌の大量増殖個体群と密度抑圧防除を開始して3年が経過した地域の個体群であったが，その違

Table 1. Survival of adult sweetpotato weevils 48 hours after anesthesia treatment

Treatment	Exposure time (min)	Survival rate[a] (%)	
		Female	Male
CO_2	1	100.0±0.0	95.6±2.2
	2	100.0±0.0	100.0±0.0
	5	100.0±0.0	100.0±0.0
	10	97.8±2.2	100.0±0.0
Chilling	1	100.0±0.0	97.8±2.2
	2	100.0±0.0	100.0±0.0
	5	97.8±2.2	100.0±0.0
	10	100.0±0.0	100.0±0.0
CO_2+Chilling[b]	2	97.8±2.2	100.0±0.0
	4	100.0±0.0	100.0±0.0
	10	100.0±0.0	100.0±0.0
Control		97.8±2.2	97.8±2.2

Values are the mean of 15 adults±SE.

[a] No significant differences from the control were found by analysis using Dunnett's multiple comparison test following arcsine transformation ($p>0.05$).

[b] Equal duration of CO_2 treatment followed by chilling treatment; total treatment time is shown as exposure time.

Table 2. Susceptibility of adult sweetpotato weevils to MEP 24 hours after topical application

Population	Sex	LD_{50} (μg/body)	LD_{50} (μg/g)	Regression equation[a]
Mass laboratory-reared sweetpotato weevils	Female	0.014	3.29	$y=4.45x+8.31$*
	Male	0.012	4.22	$y=2.28x+4.40$*
F1 generation of weevils collected from the Keraji Region on Kikai Island which had been controlled by use of fiber boards containing MEP and synthesized sex pheromone for 1 year	Female	0.023	4.77	$y=3.35x+5.49$*
	Male	0.023	4.90	$y=3.06x+5.01$*
F1 generation of weevils collected from the Takikawa Region on Kikai Island which had been controlled by use of fiber boards containing MEP and synthesized sex pheromone with 3 years	Female	0.035	8.03	$y=2.46x+3.58$*
	Male	0.017	3.98	$y=2.21x+3.90$*
Male sweetpotato weevils collected using a pheromone trap from the Tatsugo Region on Amami Oshima where no control measures were being implemented	Male	0.018	2.52	$y=2.28x+4.00$*

[a] y represents the probit of mortality and x is the log transformed concentration. Asterisk (*) indicates regression equation was fitted to χ^2 test ($p=0.01$).

いは約2.4倍と小さかった（Table 2）．なお，アセトンのみを施用した対照区ではいずれの個体群においても死亡個体は認められなかった．

考　　察

CO_2 単独処理，冷却単独処理，CO_2 処理の後半に冷却処理を併用する麻酔処理は，いずれも処理時間が10分以内であれば，供試虫の生死に与える影響はほとんど認められなかった．このため，これらの麻酔処理はアリモドキゾウムシの局所施用に使えると考えられるが，処理に要した時間が最短で，しかも局所施用に必要な静止時間（60～90秒）が確実に得られたのは，2分間の CO_2 処理の後半に1分間の冷却処理を併用する方法であった．

アリモドキゾウムシの有機リン剤感受性を局所施用法で調べたMason et al.（1991）の報告によると，chlorpyrifosの LD_{50} 値は雌で3.78 μg/g，雄で2.06 μg/g，またparathionの LD_{50} 値は雌で4.90 μg/g，雄で2.67 μg/gとされている．今回供試したアリモドキゾウムシ個体群のMEPの LD_{50} 値は，雌で3.29～8.03 μg/g，雄で2.52～4.90 μg/gでありMason et al.（1991）の報告と同等であった．また，本研究に供試したアリモドキゾウムシ個体群の1頭当たりの LD_{50} 値は0.012～0.035 μg/頭（Table 2）となり，これはイネミズゾウムシ *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschelの1.2 μg/頭（中込・滝本，1997），あるいはイネドロオイムシ *Oulema oryzae*（Kuwayama）の<0.98 μg/頭（城所，1997）よりかなり低い．薬剤感受性が高いとみられるイネミズゾウムシよりMEP感受性が高かったことから，本研究に供試したアリモドキゾウムシ個体群が本剤に対して高い感受性を有していると言えそうである．さらに，MEPに対して感受性が高いとされるヒメアメンボ *Gerris latiabdominis*（LD_{50} 値：4.26 μg/g）（昆野，1999）と比較しても，本研究のアリモドキゾウムシのMEP感受性が高い．

以上のとおり，密度抑圧防除実施地域のアリモドキゾウムシ個体群にMEP感受性の低下は認められなかった．MEPに対する感受性が高いのは，防除開始からの経過年数が3年と浅いためかもしれない．また，性フェロモンを含む誘引殺虫剤は雄のみを対象としており，このことがMEPによる淘汰圧を緩和していることも考えられる．しかし，今後も誘引殺虫剤を使用し続ける場合には，MEPに対する感受性が低下することも考えられる．そのため，防除地域における本種のMEP感受性の調査を継続する必要がある．また，有機リン系以外の薬剤の利用や誘引殺虫剤とは別の防除方法についても今後検討する必要があろう．

摘　　要

アリモドキゾウムシの薬剤感受性を局所施用法で検定するための麻酔方法を検討した．CO_2 処理による2分間の麻酔処理のうち，後半の1分間に保冷剤を用いた冷却処理を併用する処理方法が最適と考えられた．この麻酔方法を用いてMEPを含浸させた誘引殺虫剤により防除を3年行っている鹿児島県喜界島のアリモドキゾウムシ個体群のMEPに対する感受性を検定した．この個体群のMEP感受性は無防除地域のそれと同等であることが明らかとなり，本剤に対する感受性低下は認められなかった．

引 用 文 献

Bliss, C. I.（1935） The calculation of the dosage-mortality curve. *Ann. Appl. Biol.* 22：134–167.

Edwards, L. J.（1968） Effects of carbon dioxide anesthesia on the larval growth of the corn earworm. *J. Econ. Entomol.* 61：990–992.

Harris, R. L., R. A. Hoffman and E. D. Frazar（1965） Chilling vs.

other methods of immobilizing flies. *J. Econ. Entomol.* 58: 379–380.

Hooper, G. H. S. (1970) Use of carbon dioxide, nitrogen, and cold to immobilize adults of the Mediterranean Fruit Fly. *J. Econ. Entomol.* 63: 1962–1963.

城所 隆 (1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル (7) イネ害虫: イネドロオイムシ. 植物防疫 51: 80–85. [Kidokoro, T. (1997) Methods for the measurement of susceptibility of agricultural insect pests to insecticides. The rice leaf beetle, *Oulema oryzae* (Kuwayama). *Plant Prot.* 51: 80–85.]

昆野安彦 (1999) ヒメアメンボ成虫の薬剤感受性. 応動昆 43: 137–138. [Konno, Y. (1999) Insecticides susceptibility of adults of water strider, *Gerris latiabdominis* (Hemiptera: Gerridae). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 43: 137–138.]

Mason, L. J., D. R. Seal and R. K. Jansson (1991) Response of sweetpotato weevil (Coleoptera: Apionidae) to selected insecticides. *Fla. Entomol.* 74: 350–355.

宮路克彦・田中丈雄 (1998) 奄美群島におけるアリモドキゾウムシおよびイモゾウムシの発生拡大. 九病虫研会報 44: 88–92. [Miyaji, K. and T. Tanaka (1998) Geographic distribution of the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae) and the small sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae) in the Amami Islands. *Kyushu Plant Prot. Res.* 44: 88–92.]

中込暉雄・滝本雅章 (1997) 農業害虫および天敵昆虫等の薬剤感受性検定マニュアル (8) イネ害虫: イネミズゾウムシ. 植物防疫 51: 179–181. [Nakagomi, T. and N. Takimoto (1997) Methods for the measurement of susceptibility of agricultural insect pests to insecticides. The rice water weevil *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel. *Plant Prot.* 51: 179–181.]

栄 政文 (1968) 奄美群島に発生する特殊病害虫: アリモドキゾウムシ. 鹿児島県農業試験場大島支場65周年記念誌. pp. 27–48. [Sakae, M. (1968) Pest in the Amami Islands: sweet potato weevil. In *Mem. 65th Anniv. Kagoshima Pref. Agric. Exp. Stn. Ohshima Branch.* pp. 27–48.]

SAS Institute Japan Inc. (2002) JMP® 統計解析およびグラフ機能ガイド 5 日本語版. SAS Institute Japan Inc., 東京. 187 pp. [SAS Institute Japan Inc. (2002) *JMP® Statistics and Graphics Guide Version 5 Japanese Edition. SAS* Institute Japan Inc., Tokyo. 187 pp.]

瀬戸口脩・中村洋一・久保義昭 (1991) 合成性フェロモンと殺虫剤を混用したアリモドキゾウムシの誘殺板. 応動昆 35: 251–253. [Setokuchi, O., Y. Nakamura and Y. Kubo (1991) A fiberboard formulation of the sweet-potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius), sex pheromone and an insecticide for mass-trapping. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 35: 251–253.]

下津文宏・木崎優子・時村金愛・川島俊次・上室 剛・里島伸司・上福元彰 (2009) アリモドキゾウムシ大量増殖法の改良に向けた最適飼育密度および次世代成虫回収時期の検討. 九病虫研会報 55: 132–135. [Shimotsu, F., Y. Kisaki, K. Tokimura, S. Kawashima, T. Kamimuro, S. Satoshima and A. Kamifukumoto (2009) Optimal rearing density and emerging adult collection time of the sweetpotato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius): improvement of mass-production method. *Kyushu Plant Prot. Res.* 55: 132–135.]

安田慶次・杉江 元・R. R. Heath (1992) アリモドキゾウムシの合成性フェロモンの野外条件下における誘引性. 応動昆 36: 81–87. [Yasuda, K., H. Sugie and R. R. Heath (1991) Field evaluation of synthetic sex-attractant pheromone of the sweet-potato weevil *Cylas formicarius* Fabricius (Coleoptera: Brentidae). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 36: 81–87.]