

## 植物防疫基礎講座

## 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(29)

## 天敵生物：総論／化学農薬の影響評価法の基礎

農林水産省農業研究センター 平 井 一 男

## はじめに

IPM（総合的有害生物管理）推進に際し、現状では化学的防除法と自然制御法の調和的利用を必要とする場面が多い。そこで天敵生物への農薬影響を適正かつ簡易に評価することが必要となる。ヨーロッパでの天敵生物に及ぼす農薬影響の評価は、IPM推進者が行い影響の少ない農薬を選定する場合および農薬登録申請者が登録要件のデータとして必要とする場合がある。

ヨーロッパでは食料が完全自給の状態になった1979年以降、環境に及ぼす農業生産の影響に関心を払うようになり、その一環としてIOBC（生物的防除国際組織）ヨーロッパ支部（公立研究機関、大学、農業企業等で構成）が、天敵生物への農薬の影響評価指針の確立に向けた研究を早くから開始している（HASSAN, 1985）。このような背景を受け、農薬は本来の効果以外には人畜、地下水、天敵に悪影響を及ぼさないことが必要、との内容を盛り込んだ農薬の認可に関するEC通達が、1991年7月に加盟国により採択された。1994年にオランダで開催されたワークショップで、農薬の登録とIPMへの導入のために、提示された天敵類に及ぼす農薬の影響評価法が提案され（BARRETT et al., 1994）、1995年6月までにEC15か国中ベルギー、デンマーク、フランス、アイルランド、イタリア、ポルトガル、スペイン、イギリスで採用された。1996年3月には「天敵への農薬の適切な評価のために生態毒性学的研究が必要」としたEU通達が出された（平井, 1996）。

1996年10月にイギリススウェールズ大学で開催された「生態毒性学：農薬と有用生物に関する国際シンポジウム」では農薬の影響調査法について論議し、ヨーロッパで実施している個体レベルの毒性調査のみでなく、個体群増殖レベルの影響調査も必要との意見がアメリカの研究者から提案されたことがある（平井, 1997a）。

日本では、化学合成農薬が出回り始めたころ、農林省

植物防疫課（当時）の発生予察特殊調査でBHC、パラチオン、DDT、ドリノ剤等の散布による水田生物相に対する影響が各県で調査された。化学合成殺虫剤の散布はニカメイチュウの防除に効果的であったが、クモ類が減少し、ウンカ、ヨコバイ類が増加したこと等が示され、生物相への影響を配慮した殺虫剤による合理的害虫防除の確立が必要と報告されている（病害虫発生予察資料第57号, 1957）。また、IPM創始期には、桐谷（1975）により農薬は農業生態系の管理システムのなかで評価され適正に使用されなくてはならないと述べられている。近年は捕食者、寄生蜂等の天敵や花粉媒介昆虫の利用促進や低毒性農薬の選定等のために、天敵の農薬感受性の検定、農薬の生態学的影響、選択性殺虫剤の開発、抵抗性進化、天敵の抵抗性管理等に代表される「天敵と農薬に関する研究」が盛んになり、IPMの研究と推進に役立てようとの傾向にある。本報では、天敵生物への化学農薬の影響評価法について主にヨーロッパで実施されている例を参考に概説する。

## I 試験生物選定の原則

試験生物は、農業生態系（地域、作物、作型等）に高密度で広域に分布する優占的な天敵で、薬剤感受性が高く、飼育と実験が容易な種、そしてIPMへの選択性農薬の組込みに関する情報が得られる天敵群から選定する。そのほか分類学上別グループに属する試験種を選定し、別の天敵生物への影響情報も得られることが望ましい。殺虫剤一次スクリーニング試験やミツバチ試験の結果から節足動物種へのリスク情報が得られることもあるが、データの外挿には注意が必要である。ただし農薬感受性の高い種を対象に最悪条件で実施した室内試験で毒性がない場合、野外試験でも影響が出ることは少ない。個々の飼育法と試験法はHASSAN（1992）と平井（1997b）に述べられている。

## 1 推薦された試験生物

ヨーロッパではBARRETT et al.（1994）により試験生物が耕地生態系ごとに寄生蜂、捕食性ダニ、地上徘徊性天敵、葉上捕食者のように機能別に分けられている（平井, 1996）。しかし、水田については試験生物が提案さ

An Introduction to Guidelines for Testing the Effects of Pesticides on Beneficials. by Kazuo HIRAI

（キーワード：天敵生物，化学農薬，影響評価，薬剤感受性，検定法）

れていない。平井・竹内 (1998) は水田の簡易調査用にアジアイトトンボ、ツヤヒメハナカメムシ等を試験生物として提案している。国内のほかの作物生態系についても試験生物を早急に選定する必要がある。

## 2 有効成分の認可

ヨーロッパでは、有効成分の認可申請に際し薬剤感受性の高い生物2種と製剤の適用対象 (作物と害虫) にあった2種の天敵に対する製剤の試験データが必要である。アブラバチ科 *Aphidius rhopalosiphii* とカブリダニ *Typhlodromus pyri* の2種を標準種として推薦している。A. *rhopalosiphii* の代わりにタマゴコバチ科 *Trichogramma cacoeciae* の結果でもよく、T. *pyri* の代わりに *Amblyseius* sp. の試験でもよい。

## 3 製剤の認可

上記2節の試験で影響が見られた薬剤については、上記とは別種で対象生態系にいる適切な2種の天敵を用いて試験する。2節の試験で評価された主要製剤と別の製剤については、先の試験で最も感受性の高かった2種の天敵を対象に試験する。この製剤が主要製剤より毒性が強かった場合、さらに製剤の適用対象に合った2種の天敵について試験する。

## II 室内試験と拡大室内試験

天敵生物に及ぼす農薬の影響を評価するには、最高薬量の曝露をねらった標準室内試験、野外条件に近い曝露を行う拡大室内試験、半野外試験、必要に応じて野外試験を含む連続階層試験 (Tier 試験) の実施が広く認められている。飼育を含む試験法はタマゴコバチ、クサカゲロウ、ハナカメムシ、カブリダニ、シヨクガタマバエ、オサムシ、ミミズ等で公表されている (HASSAN, 1992; 平井, 1997 b)。

### 1 室内試験

室内試験の目的は、作物に農薬を散布したときに天敵への影響が少ない薬剤を選出することであり、試験生物の若い発育態を容器内に閉じこめ高薬量の残留物に曝露し調査する (worst-case bioassay)。評価には死亡率以外に、増殖率、寄生率、摂食量が影響される亜致死率も含める。

① 試験薬剤：第一次試験として地域や作物ごとに代表的な剤型を用い野外での影響を考察しうる情報を得る。

② 試験用器具：試験用器具は処理薬剤の安定性やデータの再現性を保証するガラス、石英砂のような不活性物質製とする。

③ 試験生物：試験生物は室内飼育系統を使い日齢、

寿命、繁殖力、ふ化率、天敵機能等の質をそろえ、薬剤感受性の高い発育態を使う。必要に応じ雌雄について試験する。

④ 試験薬剤の処理：検量線を利用する等、単位面積当たりの薬液量 ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) が処理面に均一になるように散布する (例：ガラス面や葉面上の液量は  $1.5 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 、砂面上の液量は  $6 \text{ mg}/\text{cm}^2$  とする (HASSAN, 1992))。

⑤ 試験方法：散布薬液が乾燥後、処理器具内に餌と試験生物を入れ、薬剤残留物に十分接触させる。さらに薬剤残留物からの揮発物を排気しその影響を少なくする。

⑥ 調査と評価法：試験生物の活性と天敵能力を評価するために、生存率および産卵、寄生、捕食、行動変化、子の生存等に関係する亜致死率を調査する。結果は4段階評価を行う。例えば、死亡率30% (影響なし)、31~80%未満 (影響小)、80~98%未満 (影響中)、99%以上 (影響大) (HASSAN, 1992)。死亡率50%までを影響なしと主張する意見もあり、このトリガー値 (判断値) の決定については関係者の大方の合意が必要である。

⑦ 調査基準：対照として水処理区を設け自然死および天敵機能の程度を知る。結果は統計処理ができるように反復を十分取る。

### 2 拡大室内試験

室内試験で影響が見られた薬剤は必要に応じ野外条件に準じた拡大室内試験を行う。この試験では、ポット内の土壌や植物に薬剤を処理し、その上に試験生物を接種し各発育態への影響、薬剤の残効性、薬剤-反応曲線、複数回処理の影響を調査する。試験は試験指針に準じ (HASSAN, 1992)、試験法がない場合、実施方法を詳細に記録する。

① 処理量：一作に1回散布する薬剤は室内試験では最高薬量、200~600 l/ha 相当量を散布する。定温器等に入れた鉢植えのリンゴやトウモロコシで試験する場合、葉面付着量は散布量の40%、地上付着量は50%として試験する。

② 複数回処理：一作に2~3回散布する薬剤は前項の室内試験で用いた最高薬量の2倍量を散布して評価する。4回以上散布の場合、散布間隔は14日以内とする。

③ 注意：種子粉衣剤、土壌施薬剤、誘引剤、揮散剤のような剤型、糸状菌、細菌剤、IGR剤のような作用機作が異なる薬剤は試験法を別途考案し評価する。種子粉衣、ペレット、ベイト等はクモ類とオサムシ類の2種で試験する。

### III 半野外試験と野外試験

II章の試験で影響のあった薬剤は、半野外試験または野外試験を行う。半野外試験は室内試験と同様に単一種試験であるが、野外試験は複数種に対する情報が得られる。

#### 1 半野外試験

試験は圃場内の囲いやケージ内で試験する。必要に応じ雨よけをしてもよい。しかし環境を改変しないようにし、温度や日照等の気象要素を記録する。試験生物は実際場面に合わせ薬剤処理前または処理後に放す。試験は実際の処理時期に合わせて最悪な条件を再現できる時期や季節に行い、適切な処理方法で製剤の実用濃度を処理する。試験区には対照薬剤と水処理区を含み反復を十分取る。試験区は風向、太陽光、傾斜等の場所の影響を考え無作為乱塊法やラテン方格法で配置する。

① 試験生物：室内飼育系統または野外採集系統を供試する。野外採集個体は試験前に室内で飼育し、弱勢個体や病気個体等を除いて供試する。

② 作物：試験は薬剤の適用作物や試験生物が豊富な圃場で行う。耕地作物、広面積栽培作物、果樹等のグループ別に試験してもよい。

③ 餌：試験生物に給餌し天敵機能を発揮させる。

④ 試験期間：短期試験は24～48時間、長期試験は14日間を目安とし、試験生物や方法により適宜変更する。

⑤ 評価：半野外試験では行動、被食、寄生、繁殖、寿命等の変化に関係する亜致死と死亡、ノックダウン、試験適合性を調査する。短命のクサカゲロウ、寄生蜂、カブリダニでは生存者の繁殖能力を調査する。

⑥ 半野外試験の利点：反復数、対照薬剤、試験生物、植物、薬剤等の均一性により統計処理が容易である。室内試験に比べ施用薬剤の動態や試験生物の行動が実際場面に近い。

⑦ 半野外試験の制約：ケージ内が非現実的で自然の行動を抑制する。試験生物が薬剤処理面を避ける場合がある。温湿度や植物の選択が試験結果に影響する。試験期間が短く複数回処理の影響を評価しにくいことがある。

#### 2 野外試験

野外試験の目的は、室内試験や半野外試験で明らかになった薬剤の影響を再確認または除外することにある。野外試験では長期試験や殺菌剤を含む複数回散布の影響、単一種と複数種の影響等も調査する。最も実態に近い試験ができるが、試験区の設定によっては全体像を把

握できないこともある。試験場所の気象や生物により影響されるので、条件の異なる複数圃場で試験する。

① 試験生物：野外生物が生息する作物や土壌に直接処理する。生物的防除が実施されている所では試験中に生物的防除素材を補給する。IGR剤では幼若期から成虫期まで調査する。

② 試験場所：試験薬剤の使用法に基づき実際のナワーストケースを反映し、主要動物が生息し、反復可能な場所を選定する。試験区の大きさは試験区構成と試験生物(移動能力)によって決定するが、なるべく1区100m<sup>2</sup>以上とし、区間を十分とる。

③ 処理法：薬剤は試験製剤の実用濃度と最多散布回数で処理し、対照薬剤と水処理区を設定する。

④ サンプルング：処理前の個体群動態を観察し処理効果を定量化したり、処理剤の影響期間を定量化するためにサンプルング頻度を多くする。試験区の中央からサンプルングし、散布むらや小動物の移出入等の周辺効果を排除する。サンプルングでは幼若個体を含めたり、多数の動物種、被食者、寄主、高次寄生を調査する。種レベルで個体数の多い小動物を調査し統計処理する。結果は4段階評価とするが、レンジは室内試験より厳しい(例：死亡率25%未満(影響なし)、25～50%未満(影響小)、51～75%未満(影響中)、75%以上(影響大)(HASSAN, 1992))。

⑤ 野外試験の長所：空間的、時間的に複合種の実際の生態と行動を調査できる。しかし野外実態を完全に反映できるわけではないので、季節ごとに反復数を増やすことが必要である。

⑥ 野外試験の制約：野外試験は費用と労力がかかり、天候に左右される。多因子間相互作用が発生しデータは解釈しにくい。これらは対象生物が多い試験場所を選ぶことによりある程度回避できる。試験結果は薬剤が試験された実際的な最悪条件の代表であるので、結果の外挿は専門的な判断に委ねる。

### IV 試験上のその他の留意事項

#### 1 製剤の試験法

散布液の残留物試験は同一有効成分を有する製剤間の違いを常に区別できるとは限らないし、製剤中の補助剤(担体、界面活性剤、油剤等)の違いにより影響が異なる場合があるので、場合によっては過剰に散布して影響を調査する。室内試験で毒性のあった有効成分では最も毒性の高かった製剤を用いて野外試験、半野外試験を行う。

混合剤：複数の有効成分を有する混合剤は室内で最初

に試験する。しかし過去の室内試験で1成分でも「影響あり」(例:死亡率31%以上)と判明している製剤は半野外試験, 野外試験に移す。

## 2 薬剤の使用

① 室内試験: 試験生物の選定とは別に, 薬剤の使用時期, 場所, 地域, 作物, 作型を考慮する。試験が適切な方法で最悪条件下で行われるならば, 結果は同一種に限り広域に適用できる。ヨーロッパでは全域に適用できるという。

② 半野外試験: 半野外試験は薬剤の使用範囲内で現実的な最悪条件を組み込んで行われるので, 場所や地域を考慮する必要はない。作型は試験生物により選定する。最悪条件には使用濃度内の最多曝露, 試験生物の十分な活動を促す環境条件, 感受性の高い生育態の選択, 土壌や作型による農薬の接触度等が関係する。

③ 野外試験: 製剤の通常の施用法や使用時期, 作型を考慮に入れ, 試験生物に抵抗性の発達がなく, 感受性の高い生育態が生息し, 気象環境条件に合致する地域や場所を選んで試験する。

## 3 薬剤の処理法

一作に2~3回散布する製剤の残留影響試験では, 実用濃度の2倍量を散布し評価する。この散布で試験生物が影響を受けるならば1倍量の試験を考える。3回以上散布の場合, 14日以内の散布間隔で評価する。複数回散布による累積残留の影響増加が見込まれる場合は拡大試験や半野外試験, 野外試験の追加試験で評価する。この試験例は果樹やブドウでの殺菌剤施用や種バレイショのアブラムシ防除剤に見られる。残留影響期間の評価は4段階評価を行う。5日未満(短期残留), 5~15日(残留小), 16~30日未満(残留中), 30日以上(残留大)(HASSAN, 1992)。

## 4 外挿

天敵生物に及ぼす農薬の影響は同一分類グループと同一栄養レベル, 機能・生態的同一グループに対し外挿できる。室内試験では行動生態が制限されるので, 種間の外挿には同一ステージのみ可能である。半野外条件では

行動が活発なので種間の外挿は室内試験より難しく, 同一種でも全く別様に行動し薬剤接触量が異なり感受性が異なる場合がある。室内試験で無影響とされる場合, 野外の影響評価に外挿できる。しかし外挿に当たり体サイズ, 生態, 行動, 系統の感受性, 残留と散布等の試験方法, 試験温度, 餌の有無, 特にIGR剤試験では発育態等々が薬剤接触量に関係することを十分考慮する。

## おわりに

我が国では土着天敵に及ぼす農薬の影響評価は一部自発的に行われているが, 将来統一試験法の作成とそれによる試験および公表が必要となる時期がくると思われる。その際, ヨーロッパで採用されている試験法は国内でもほぼ適用できるので, ヨーロッパ基準案に沿った試験生物の選定, 飼育法の確立, 連続階層試験(Tier試験)での死亡率・亜致死率の種別基準値(トリガー値)の設定, 作物ごとの(野外)試験法の確立, 天敵生物と農薬の併用可能性の評価法, 複数回散布剤の影響評価法の作成等を行う必要がある。

## 主な引用文献

- 1) BARRETT, K. L., et al. (1994): Guidance document on regulatory testing procedures for pesticides with non-target arthropods, SETAC-Europe, pp. 51.
- 2) HASSAN, S. A. (1985): Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies on insects and mites developed by the IOBC/WPRS working group, "Pesticide and biological organisms", Bull. OEPP/EPP 15: 214-255.
- 3) ——— (1992): Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: Description of test methods, IOBC/WPRS Bulletin, 1992/XV/3, pp. 186.
- 4) 平井一男 (1996): 植物防疫 50: 285~289.
- 5) ——— (1997 a): 同上 51: 72-73.
- 6) ——— (1997 b): 九州バイオテクノロジー研究会—生物農薬シンポジウム—: 1~32.
- 7) ———・竹内博昭 (1998): 第42回応動昆虫大会講演要旨 221.
- 8) 桐谷圭治 (1975): 農薬と生態系, 日本農薬学会誌学会設立記念号: 69~75.
- 9) 植物防疫課 (1957): 病虫害発生予察資料 第57号: 560.