

ウリミバエ放飼虫の標識に用いる 蛍光色素について

大戸 謙二*・福島 満**・桐野 嵩
岡本 敏治***・石塚 義彦****・吉田 隆***
門司植物防疫所名瀬支所

Fluorescent Dyes for Marking the Melon Flies, *Dacus cucurbitae* COQUILLETT (Diptera: Tephritidae). Kenji OHTO, Mitsuru FUKUSHIMA, Takashi KIRINO, Toshiharu OKAMOTO, Yoshihiko ISHIZUKA and Takashi YOSHIDA (Naze Branch, Moji Plant Protection Station). *Res. Bull. Pl. Prot. Japan* 22: 23-34 (1986).

Abstract: A exact method for evaluating the sterile insect release method was needed for eradicating the melon flies, *Dacus cucurbitae* COQUILLETT, from Amami Island. The method examining the fluorescent dye from heads of trapped flies was adopted. Braze Orange, Neon Red, NKP-817・8312・8315・8327・8328・8347・8367, Rocket Red, Saturn Yellow, Uvitex OB, and Whitex SKC were suitable dyes for marking the flies in consideration of their characters.

Marking with the dyes did not have any adverse effect on adult emergence, mortality and dispersal ability.

Examination was made by crushing the heads of the flies on the filter paper between flat glasses after drying procedure I (80°C, 72 hrs) and II (silica gel, 96 hrs.) then dropping the solvent (acetone 4: ethanol 1) on each head to transfer the dye on the filter paper, after these processes filter papers were observed under the UV light.

The marking rate of the release flies was perfect under the condition that mixing 2 g or more dyes with 1 liter batches of pupae (ca. 33,000 pupae/liter).

Exactly discrimination between wild flies and released ones was imposible by the method of dropping the solvent on the whole bodies of the trapped flies because of wild flies contaminated with the dye of released ones in a trap. But, the discrimination by the method of crushing their heads was very exactly.

はじめに

不妊虫放飼法によってミバエ類を防除する際、防除効果を判定するには種々の方法があるが、その一つに放飼虫を蛍光色素で標識（マーキング）する方法がある。

ミバエ類は土中で蛹化し、羽化するときに頭部の触角の基部直上にある前額のう(ptilinum)をふくらませて土粒をはねのけ、地上に出てくる。地上に出ると、必要なくなった前額のうはたたまれて頭部に陥没してしまう。放飼する蛹に蛍光色素を粉衣しておく、羽化直後にふくらんだ前額のうに蛍光色素が付着し、前額のうとともに頭部に陥没してしまうことによってマーキングされる。

モニタートラップに誘殺された成虫を用いて蛍光色素の検出を行い、その有無によって放飼虫（マーク虫：M）と野生虫（非マーク虫：U）の判定を行い、両者の比率（M/U）を定期的に調査することによって、防除効果の進捗状況を知ることができる。

筆者らは、奄美群島におけるウリミバエの根絶防除に際して、蛍光色素の選択、検出方法の開発、マーキングおよび検出にかかわる諸問題について検討を行ったのでここに報告する。

本文に入るに先立ち、有益な御助言、御指導をいただいた東京都労働経済局農林水産部の秋元篤司氏、横浜植物防疫所調査研究部害虫課の一戸文彦防疫管理官、また供試虫の提供等御協力をいただいた鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室、ならびに蛍光色素を提供していただいたボクスイ・ブラウン株式会社、日本蛍光化学株式会社、および日本化薬株式会社に感謝の意を表する。

* 現在、横浜植物防疫所調査研究部害虫課

** 現在、門司植物防疫所国際課

*** 現在、門司植物防疫所国内課

**** 現在、門司植物防疫所鹿児島支所

I. 蛍光色素の特性に関する調査

国内外産の蛍光色素 24 種を用いて、検出に用いる溶媒に対する溶解性、希釈性、濾紙への展開性について調査を行った。

材料および方法

供試蛍光色素：供試した蛍光色素および紫外線燈下 (2,537 Å/100 V, 3,650 Å/100 V) での蛍光色については第 1 表に示した。

(1) 溶媒に対する溶解性

24 種の蛍光色素各 10 mg を、アセトンとエタノールの 4:1 混合液および水 25 ml に入れ振とう攪拌を行い、静置した後、溶解の程度を観察した。

(2) 濾紙上での展開性

24 種の蛍光色素各 10 mg をアセトン・エタノール混合液 25 ml に溶解させ、この溶液を濾紙上に約 0.01 ml 滴下して直径約 1 cm のスポットを形成させ、乾燥後スポットの上からアセトン・エタノール混合液 0.1 ml を滴下し、濾紙上での蛍光色素の広がりを紫外線燈下

で観察した。

(3) 希釈性

19 種の蛍光色素各 10 mg を 10 ml のアセトン・エタノール混合液に溶解させたものを原液とし、第 2 表のとおり段階的に希釈液を調整した。この希釈液を濾紙上に約 0.02 ml ずつ滴下して蛍光色素のスポットを形成させ、乾燥後紫外線燈下で識別可能な範囲を調査した。

結果および考察

(1) 溶媒に対する溶解性

蛍光色素の溶媒に対する溶解性に関する調査の結果は第 3 表に示した。Brill Flavin FF, Light Yellow F8G および Rhodamin FB は水に対して非常によく溶解することがわかった。アセトン・エタノール混合液に対しては若干の差はあるが、供試したすべての蛍光色素は良好な溶解性を示した。この結果から、水に非常によく溶解する蛍光色素は、野外調査における使用には適さないものとして除外すべきであろう。

(2) 濾紙上での展開性

蛍光色素の濾紙上での展開性に関する調査の結果

第 1 表 供試蛍光色素と蛍光色

蛍光色素	蛍光色	蛍光色素	蛍光色
B-10	*	NKP-8312	緑
Blaze Orange	黄橙	NKP-8315	黄緑
Brill Flavine FF	黄緑	NKP-8327	赤橙
Calco Blue	*	NKP-8328	青
Light Yellow F8G	黄緑	NKP-8347	赤橙
MPI-503	赤橙	NKP-8367	淡紫
MPI-504	黄橙	Rhodamin FB	赤橙
MPI-505	緑	Saturn Yellow	緑
MPI-506	黄緑	Rocket Red	赤橙
MPI-507	赤橙	Tinopal SFG	淡青
Neon Red	赤橙	Uvitex OB	青
NKP-817	赤橙	Whitex SKC	青

* 蛍光を発しない。

第 2 表 蛍光色素の希釈段階とそれに含まれる蛍光色素の量

希釈段階 区分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
希釈率	原液	1/10	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1,600	1/3,200	1/6,400
含まれている 蛍光色素の 量 (mg)	-3 20×10	-3 2×10	-3 0.4×10	-3 0.2×10	-3 0.1×10	-4 0.5×10	-4 0.25×10	-4 0.125×10	-5 0.625×10	-6 0.3125×10

第3表 各種蛍光色素の溶解性と濾紙上での展開性

蛍光色素	溶解性*		濾紙上での 展開性**
	水	アセトン・エタ ノール 混合液	
B-10	—	++	++
Blaze Orange	—	++	++
Brill Flavine FF	++	++	+
Calco Blun	—	++	++
Light Yellow F8G	++	+	—
MPI-503	—	++	++
MPI-504	—	+	++
MPI-505	—	++	++
MPI-506	—	++	++
MPI-507	—	++	++
Neon Red	—	++	+
NKP-817	—	+	++
NKP-8312	—	+	+
NKP-8315	—	+	+
NKP-8327	—	++	+
NKP-8328	—	++	++
NKP-8347	—	++	++
NKP-8367	—	++	++
Rhodamin FB	++	+	+
Rocket Red	—	++	++
Saturn Yellow	—	++	+
Tinopal SFG	—	+	++
Uvitex OB	—	++	++
Whitex SKC	—	+	+

* —；不溶、+；溶解する、++；非常によく溶解する。

** —；劣っている、+；良好、++；極めて良好。

は、第3表に示した。供試したすべての蛍光色素は、Light Yellow F8G 以外はすべて溶解性を示した。

(3) 希釈性

蛍光色素のアセトン・エタノールに対する希釈性に関する調査の結果は、第4表に示した。B-10、および Calco Blue は他のものに比較して劣っていたが、それ以外のものは概ね希釈段階4から5付近まで識別が可能であった。なかでも Uvitex OB と Whitex SKC は特にすぐれた希釈性が認められた。

以上のことから、第1表に示した蛍光色素の中で Brill Flavin FF, Light Yellow F8G および Rhodamin FB は、ミバエ類の放飼虫マーキングのための蛍光色素としては適さないことが明らかとなった。このため以下の調査には供試しなかった。

II. 蛍光色素がウリミバエに与える生理的影響

蛍光色素を用いてウリミバエにマーキングを行った場合、羽化率、生存率、分散力に対して、どのような影響があるのか調査を行った。

材料および方法

供試蛍光色素：羽化率、生存率の調査には B-10, Blaze Orange, Calco Blue, NKP-817, NKP-8315, NKP-8347, NKP-8367, Saturn Yellow, Uvitex OB, Whitex SKC の10種を用い、分散力の調査については、Blaze Orange, NKP-817, NKP-8315, Saturn Yellow, Uvitex OB, Whitex SKC の6種を用いた。

供試虫：鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室で大量増殖された羽化2日前の蛹に対して、B-10, Calco Blue, NKP-8347, NKP-8367 については、1g/10,000

第4表 各種蛍光色素の希釈性

蛍光色素	希釈段階									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
B-10	+*	+								
Blaze Orange	+	+	+							
Calco Blue	+	+								
MPI-503	+	+	+	+						
MPI-504	+	+	+	+	+					
MPI-506	+	+	+	+						
MPI-507	+	+	+	+	+					
Neon Red	+	+	+	+						
NKP-817	+	+	+							
NKP-8312	+	+	+	+						
NKP-8315	+	+	+	+						
NKP-8327	+	+	+	+						
NKP-8328	+	+	+							
NKP-8347	+	+	+	+						
NKP-8367	+	+	+	+						
Rocket Red	+	+	+	+						
Saturn Yellow	+	+	+							
Uvitex OB	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Whitex SKC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

* + は紫外線灯下で蛍光を肉眼で確認できたもの。

頭(約300 ml)その他については2 g/1 l(約33,000 頭)の割合で蛹と蛍光色素をポリエチレンの袋に入れ、色素が蛹全体に十分にきわたるように静かに袋を回転させて粉衣を行った。

(1) 羽化率

前述の10種の蛍光色素を用いて粉衣した蛹を、各色素について200個体ずつ3回サンプリングを行い、それぞれのサンプルをプラスチック容器(直径13 cm, 高さ7 cm)に収容し $26 \pm 1^\circ\text{C}$ の飼育室内で羽化させた。羽化開始後6日目に調査を行い、正常羽化、奇形(翅が正常に伸展していないものなど)、羽化途中での死亡、死亡蛹のいずれかに分類した。対照区として蛍光色素を粉衣していないものを用いて同様の調査を行った。なお、この調査は2回に分けて行った。

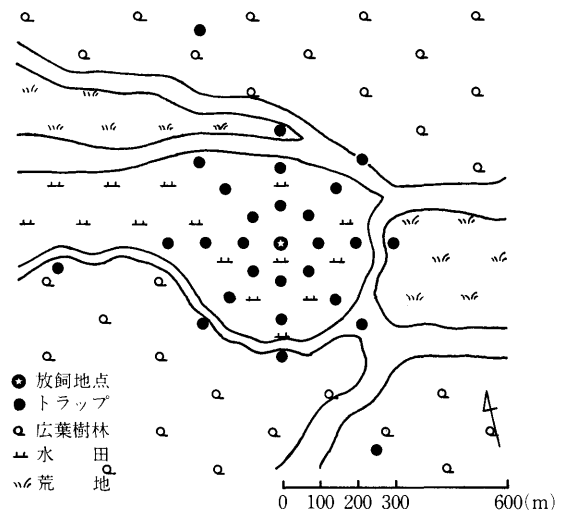
(2) 生存率

前述の10種の蛍光色素で粉衣した蛹を羽化させたのちに、各色素ごとに雌雄各100頭ずつを小型のケージ(17×17×18 cm)に収容した。この成虫に水と成虫飼料(Amber BYF-100®と砂糖を1対5に混合したもの)を与え、 $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 16L8Dの飼育室内で飼育を続け1週間ごとに死亡虫を数えた。調査は3回に分けて行い、1回ごとに対照区として蛍光色素を粉衣していないものを用いて同様の調査を行った。なお、調査は

3反復行い、調査期間は羽化後8週間目までとした。

(3) 分散力

前述の6種の蛍光色素でマーキングした雄成虫各1,000頭および対照区としてマーキングしていないものの1,000頭を用いた。各蛍光色素が脱落した個体と対



第1図 野外調査地域概略図

照区の個体を識別できるように、さらに胸部背板および小楯板に白いラッカーで各蛍光色素ごとに異なるマーキングを行った。これらの成虫を水と成虫飼料を与えて2週間飼育した後、鹿児島県名瀬市小湊地区に設定した野外調査地域（第1図）で放飼した。放飼地点から100, 200, 300, 600 mに同心円状に配置したトラップでこれらの成虫を捕獲し、分散距離および回収率を調べた。捕獲された虫は、放飼後10日目に回収し、

ラッカーマークによる識別後、さらに蛍光色素の検出による識別も行った。なお、トラップはスタイナー型を使用し、誘引剤にはキュールアを用いた。この調査は2回反復した。

結果および考察

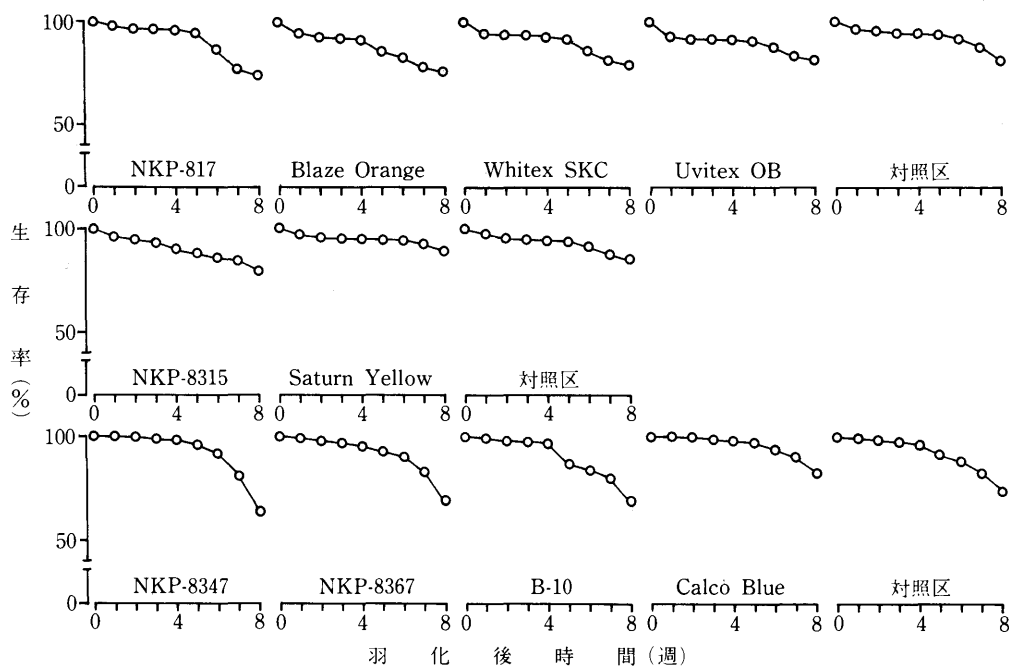
(1) 羽化率

結果は第5表に示した。NKP-8315およびSaturn

第5表 各種蛍光色素の羽化に対する影響

蛍光色素	正常羽化(%)	奇形(%)	羽化途中死亡(%)	死亡蛹(%)
Blaze Orange	89±2.6	5±1.8	2±1.2	4±1.7
NKP-817	91±2.3	4±1.7	1±0.9	4±1.7
NKP-8315	86±2.9	6±2.0	3±1.4	5±1.8
Saturn Yellow	87±2.8	7±2.1	2±1.2	4±1.7
Uvitex OB	91±2.4	2±1.2	1±0.9	5±1.8
Whitex SKC	93±2.1	1±0.9	1±0.9	5±1.8
対照区	93±2.1	1±0.9	1±0.9	5±1.8
B-10	91±2.3	3±1.4	2±1.2	4±1.7
Calco Blue	95±1.8	2±1.2	1±0.9	1±0.9
NKP-8347	91±2.4	6±2.0	1±0.9	2±1.2
NKP-8367	92±2.3	6±2.0	1±0.9	1±0.9
対照区	94±2.0	2±1.2	1±0.9	3±1.4

* 95%信頼限界



第2図 各種蛍光色素の生存率に及ぼす影響

第6表 各種蛍光色素の分散力に対する影響

色 素 名	第 1 回目回収虫数				回収率 (%)	第 2 回目回収虫数				回収率 (%)
	放飼地点からの距離(m)					放飼地点からの距離(m)				
	100	200	300	600		100	200	300	600	
NKP—817	46	3	5	2	5.6	12	5	12	0	2.9
Blaze Orange	34	3	5	0	4.2	12	9	15	1	3.6
Whitex SKC	41	5	10	0	5.6	12	8	11	0	3.1
Uvitex OB	36	6	1	1	4.4	17	4	16	0	3.7
NKP—8315	31	2	7	0	4.0	13	5	12	0	2.9
Saturn Yellow	45	3	5	0	5.3	5	1	13	1	1.9
対照区	36	4	4	0	4.4	14	6	12	0	3.2

Yellowの正常羽化率は対照区と比較して劣っていた。また、その他の蛍光色素については対照区と差が認められなかった。奇形率についてはBlaze Orange, NKP-817, NKP-8315, Saturn Yellow, NKP-8347, NKP-8367が対照区に比べて大きかった。羽化途中での死亡および蛹の死亡率については対照区と比較して差がなかった。このことは、蛍光色素が何らかの要因、例えば蛍光色素の吸湿性や粒子の大きさ、比重等の種々の要因によって翅の正常な伸展に障害を与えることになったと考えることができるが、全般的に正常羽化率が高く実用上の大きな障害とはならないであろう。

(2) 生存率

結果は第2図に示した。各蛍光色素によってマーキングされた成虫の生存率は、それぞれの対照区と比較して有意な差は認められなかった。

このことから、供試した10種の蛍光色素はウリミバエの生存率に影響を与えないものと考えられる。

(3) 分散力

結果は第6表に示した。各蛍光色素でマーキングした成虫の回収率は、すべて対照区と比較して有意な差はなかった。また、放飼地点からの距離別の回収率においてもそれぞれ対照区と比較して有意な差はなかった。

このことから、これらの蛍光色素によるマーキングはウリミバエ成虫の分散力に対して影響を与えないものと考えられる。

III. 蛍光色素検出方法の開発

喜界島におけるウリミバエの不妊虫放飼法による根絶防除事業に先立って、沖縄や小笠原で実用化されている手法を参考にしてより効率的な蛍光色素検出方法

を開発し、正確かつ迅速な防除効果の判定を行うことを目的として検討を行った。

蛍光色素によるマーク虫の識別は、ウリミバエの前額のように取り込まれた蛍光色素を、頭部の押しつぶしと有機溶媒の滴下によって濾紙上に溶出させ、有機溶媒の蒸発後に紫外線燈下で観察し、蛍光色素の発光の有無を調査する方法であるが、これら一連の作業を的確に実施するためには、誘殺虫の処理基準を一定にする必要がある。

このことから、検出作業の予措として、誘殺虫の乾燥、頭部の切り離しと濾紙上への配列、頭部押しつぶし法、有機溶媒の滴下法について検討を行い作業体系を整えたので、その概要を以下に述べる。

(1) 誘殺虫の乾燥

回収した誘殺虫の乾燥が不十分であった場合、頭部を押しつぶすことによって、体液やその分解物が濾紙に付着し、紫外線燈下で蛍光色素を検出する際に蛍光を発して検出の妨げとなる。また、頭部を押しつぶす際に前額のように付近が十分に破砕されず、蛍光色素の溶出が不十分となり、これも検出の妨げとなる。

このため乾燥の処理基準について検討を行った結果、80℃、72時間の乾燥処理を行った後、さらにシリカゲルを用いてデシケーター内で96時間乾燥させることによって良好な乾燥状態が得られた。なお、蛍光色素の分解点は180から240℃程度であるため、この処理基準による蛍光色素への影響はないものとする。シリカゲルによる乾燥は、大戸(1982)によれば120時間となっているが、同等の乾燥状態が得られることから96時間に短縮した。

(2) 頭部の切り離しと濾紙上への配列

頭部の切り離しは時間を要する精密な作業であるが、前述の乾燥処理を行うことによって、ピンセットを用いて容易にしかも効率よく行えるようになった。

また切り離した頭部を濾紙上に並べる場合、あらかじめ濾紙に凹状のくぼみをつけておけば整然と配列でき、配列した頭部が移動することもなかった。この型押しの作業には、野菜試験場において開発されたミバエ押しつぶし機（葭原，河合，1980）を使用した。この機械はステンレス製の押しつぶし棒をこの利用によって金属製の台上の濾紙に配列したミバエの頭部を押しつぶすものであったが、これを利用することによって、濾紙（15×15 cm）に凹状のくぼみを25個形成させた。

また従来は、前額のうの部分を下に向けて濾紙上に配列して押しつぶしていたが、乾燥処理によって頭部の破砕が完全になったため、この必要がなくなった。

(3) 押しつぶし

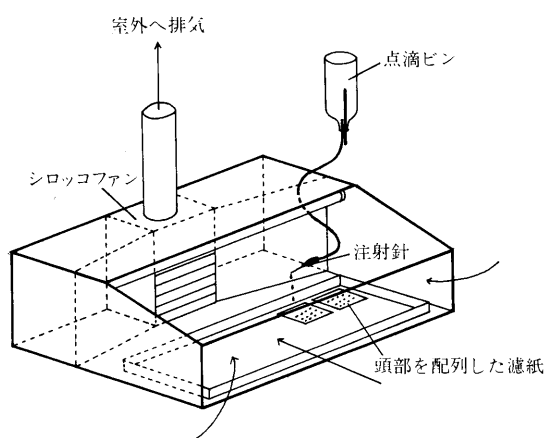
従来はガラス棒によって頭部を濾紙上で1個ずつ押しつぶしており、識別作業の中でも、多大な労力と時間を要する過程であったが、小笠原諸島でのミカンコミバエの根絶防除事業において採用されたガラス板を使った平板押しつぶし法を採り入れ検討を行った結果、前述の乾燥を行った後切り離した頭部を濾紙上に配列し、ガラス板（15×15×0.3 cm）ではさんで押しつぶすことによって完全に破砕された。この頭部を配列した濾紙は、約20枚程度ガラス板と交互に積み重ねて手で押しつぶすことができるため、一度に500頭の処理が可能で、作業能率が飛躍的に向上した。

(4) 有機溶媒の滴下

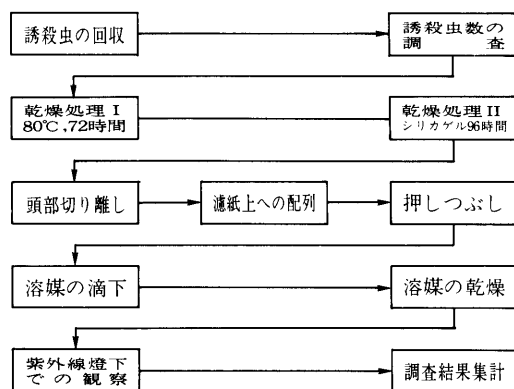
押しつぶされた頭部から蛍光色素を溶出させる有機溶媒には、アセトンとエタノールを4対1に混合した液を用いた。押しつぶされた頭部から微量の蛍光色素を溶出させるには、多量の有機溶媒を滴下した方がよいが、逆に溶出した蛍光色素の濾紙上での展開域が広がりすぎて蛍光色素が希釈され、蛍光が不鮮明となる。また、隣接した展開域と重複することがあるので検出に支障をきたす。展開域の直径が1 cm程度となるように1滴当たり0.01 ml程度とし、3滴を間欠的に滴下し、滴下の間隔は、前回の滴下液が蒸発した後に次の滴下を行うことにより、良好な結果が得られた。滴下には従来駒込ピペットを用いていたが、医療用に用いられている点滴ビンと注射針を用いたところ、作業前に滴下の間隔を調整するだけでよく、溶媒を補給する手間も省くことができ、作業効率が向上した。この作業には有機溶媒を用いるため、作業の安全性を考慮した局所排気装置が必要である。そこで、作業性を加味した排気装置を作成して実用に供した（第3図）。

(5) 紫外線燈による蛍光色素の検出

蛍光色素の検出には2,537 Å/100 V, 3,650 Å/100 V



第3図 局所排気装置



第4図 マーク虫識別作業体系

の紫外線燈を用いた。紫外線燈下での作業は防眼鏡を着用するが長時間の連続作業は避けた方がよい。

以上の検討結果に基づく誘殺虫の回収から、MU比の集計までの作業の流れを第4図に示した。これらの手法によって、防除効果の判定ばかりでなく、野外における種々の調査に応用が可能で、しかも簡便な操作で大量の試料を処理できるようになった。

IV. マーキングおよび検出にかかわる諸問題

1. 蛍光色素の粉衣量と検出率について

不妊虫放飼法によってウリミバエを防除する際、蛹に対してどの程度の量の蛍光色素を粉衣しておけば、防除効果を判定する時に野生虫との識別が確実に行えるかについて調査を行った。

第7表 各種蛍光色素の粉衣量と検出率

色素名	粉衣量 (g/ℓ)	羽化後4週間目			羽化後10週間目		
		供試虫数	検出虫数	検出率(%)	供試虫数	検出虫数	検出率(%)
NKP-817	1	240	240	100	200	200	100
	2	200	200	100	200	200	100
	3	200	200	100	200	200	100
Blaze Orange	1	200	200	100	200	200	100
	2	200	200	100	200	200	100
	3	200	200	100	200	200	100
Whitex SKC	1	200	200	100	200	196	98
	2	200	200	100	200	200	100
	3	200	200	100	174	174	100
Uvitex OB	1	200	200	100	200	200	100
	2	200	200	100	200	200	100
	3	200	200	100	200	200	100
NKP-8315	1	200	200	100	200	200	100
	2	200	200	100	200	200	100
	3	200	200	100	200	200	100
Saturn Yellow	1	172	172	100	200	200	100
	2	200	200	100	200	200	100
	3	200	200	100	200	200	100

材料および方法

供試虫；鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室において大量増殖されたウリミバエを用いた。

供試蛍光色素；NKP-817, Blaze Orange, Whitex SKC, Uvitex OB, Saturn Yellow, NKP-8315を用いた。

上記6種の蛍光色素を用いて蛹1ℓ(約33,000頭)に対して、それぞれ1g, 2g, 3gをポリエチレン袋の中で粉衣し、羽化した成虫を各蛍光色素ごとに3,000頭を屋外網室内に置いたケージ(5面サランネット張り；40×40×40cm)内で10週間飼育し、4週間目と10週間目に200頭ずつ取り出してIIIで述べた方法によって乾燥させた後、試料として供試した。蛍光色素の検出についてもIIIと同じ方法で行った。

結果および考察

結果は第7表に示した。Whitex SKCを用いて蛹1ℓに対して1gの割合でマーキングしたものについては、羽化後10週間目において、98%の検出率であったが、その他はすべて100%の検出率であった。

このことから、ウリミバエ放飼虫に対する蛍光色素

によるマーキングは、蛹1ℓに対して2g以上の蛍光色素を用いて粉衣すれば、ほぼ100%のマーキング率が得られることが明らかになった。

鹿児島県が奄美群島で行っているウリミバエ不妊虫放飼による根絶防除事業においても蛹1ℓについて2g以上の割合である蛹10,000頭について1gの割合で、マーキングが行われている。

2. ウリミバエ放飼虫に対する蛍光色素の付着について

ミバエ類に対する蛍光色素を用いたマーキングのしくみについては、前述のとおりである。ウリミバエの根絶防除事業において不妊虫を放飼する際には、蛍光色素で粉衣された蛹は放飼用バケツに入れられ、そこで羽化するのであるが、この時に表面付近にある蛹から羽化した成虫は、蛹の層を通過することがないので、蛍光色素の前額のうへの付着量が減少することや、また付着しない場合も考えられる。

そこで、容器内の蛹の層の深さを変えて羽化させ、それらから得られた成虫について蛍光色素の検出を行った。

第8表 蛹の層の深さと蛍光色素の検出率

放飼容器	底面の大きさ	蛹の量	蛹の層の深さ	反復	検出率(%)
I	10×10cm	72ml	0.72cm	1	100
				2	100
				3	100
II	10×10cm	24ml	0.24cm	1	100
				2	100
				3	100
III	3×7.5cm	72ml	3.2cm	1	100
				2	100
				3	100

材料および方法

供試虫；鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室で大量増殖された蛹に対して、蛍光色素(Blaze Orange)を10,000頭に対して1gの割合で粉衣して用いた。

調査方法；供試虫の蛹を容器I, II, IIIに収容した。容器Iは喜界島での不妊虫放飼に使用されている放飼用バケツ内での蛹の層の深さ(0.72cm)を想定したものであり、容器IIは収容した蛹が容器の底面にはぼ一層となるため、放飼容器内の表層にある蛹を想定した。容器IIIは不妊虫の輸送容器として用いられているハトロン紙製の袋(底面8×12.5cm)をそのまま放飼容器として用いた場合の蛹の層の深さ(3.2cm)を想定したものである。

容器I, IIについてはそれぞれ1個ずつ飼育用ケージ(40×40×40cm)に収容し、容器IIについては、I, IIIと蛹の量が同じになるように3個ずつ飼育用ケージに収容した。羽化が終了した後3日間、水と成虫飼料を与えて飼育し、ケージごとに200個体ずつ3回サンプリングを行った。これらの試料を用いてIIIで述べた方法によって蛍光色素の検出を行った。なお、これらの調査は3反復行った。

結果および考察

結果は第8表に示した。すべての区において100%の検出率が得られた。この結果から放飼容器内の表層にある蛹から羽化した成虫の前額のうちには検出するに足る十分な蛍光色素が付着し、頭部に取り込まれていることが明らかになった。ウリミバエの羽化直後の状況を観察すると、前額のうちをふくらませたまゝの状態、活発に動きまわるためこの際に前額のうちに着するものと考えられる。

ゆえに、蛍光色素を粉衣された蛹から羽化してくる

成虫の前額のうちには、必ずしも蛹の層をくぐり抜けなくとも蛍光色素が付着し、頭部に取り込まれることが明らかになった。

3. トラップに誘殺された放飼虫の蛍光色素に対する誘殺剤の影響

不妊虫放飼法によるウリミバエの根絶防除事業においては、モニタートラップに誘殺されたミバエについて、蛍光色素の検出を行い、マーク虫(放飼虫:M)と非マーク虫(野生虫:U)の比(M/U)を随時調査し防除効果の確認が行われている。

モニタートラップとしては通常スタイナー型が使用されており、底には水抜きのための穴をあけ、さらにステンレス製の金網を内部に取り付け、トラップの底に溜った雨水等による誘殺虫の腐敗防止をはかっているが、時には水抜きの穴がつまり、誘殺虫が水に漬かってしまうことがある。この場合トラップ内に溜った水には誘殺剤の成分も含まれており、この水と誘殺剤の混合液が誘殺された放飼虫の蛍光色素に与える影響について、室内および屋外網室内で調査を行った。

材料および方法

供試虫；鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室で大量増殖したウリミバエに蛍光色素(Blaze Orange)を10,000頭に対して1gの割合でマーキングし、羽化後は水と成虫飼料を与え、26±1°C, 16L8Dで飼育したものを供試した。

誘殺剤および水との混合割合；モニタートラップに使用されている誘殺剤(MEP; 5%, メチルオイゲノール; 60%, キュールア; 20%, 有機溶剤; 15%)を用い水に対する混合割合は、室内調査では100, 75, 50, 25%とし、屋外網室調査では15, 10, 5%とした。

室内における調査

第9表 誘殺剤と水の混合液に浸漬した
蛍光色素標識虫の蛍光色素検出率

誘殺剤濃度 (%) *	25	50	75	100	対照区 **
蛍光色素検出率 ***	0	0	0	0	100
* 誘殺剤(ml)/誘殺剤+水(ml)					
** 誘殺剤と水の混合液に浸漬しなかった区					
*** 供試個体数は50頭					

羽化後10日目の供試虫を冷凍庫内で低温殺虫し、水と誘殺剤の混合液4mlにそれぞれ50頭浸漬し、 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ で15日間保管した後に蛍光色素の検出を行った。また対照区として水と誘殺剤の混合液に浸漬しなかったものを用いて同様に蛍光色素の検出を行った。

屋外網室における調査

水抜き穴をふさいだスタイナー型トラップに、水と誘殺剤の混合液を40mlずつ入れて屋外網室内に吊り下げ、低温殺虫した供試虫を300頭ずつ混合液に浸漬した。5、10、15日目にそれぞれ100頭ずつ取り出し、蛍光色素の検出を行った。対照区として混合液を入れていないトラップに供試虫を入れ、同様に蛍光色素の検出を行った。

蛍光色素の検出

蛍光色素の検出は、IIIで述べた方法に基づいて行った。

結果および考察

結果は第9表および第10表に示した。対照区においては100%の検出率が得られたが、処理区においてはいずれの濃度および処理期間の区においても蛍光色素は検出されなかった。

この結果から、ウリミバエの前額のように取り込まれた蛍光色素は誘殺剤と水の混合液に完全に溶出してしまふことが明らかとなった。モニタートラップ誘殺虫を用いてMU比の調査を行い防除効果を判定する際には、トラップの設置場所やトラップの構造において雨水の浸入や誘殺虫の浸水を防止する工夫、およびトラップの管理等に十分な注意を払うことによって、精度の高い防除効果の判定が期待できる。

4. トラップ内における野生虫への蛍光色素の付着について

アメリカ・カリフォルニア州におけるチチュウカイミバエ撲滅防除において、放飼した不妊虫のマーキングに使用した蛍光色素が、モニタートラップ内で野生虫に付着し、不妊虫として誤って判定されたため、野

第10表 誘殺剤と水の混合液に浸漬した
蛍光色素標識虫の蛍光色素検出率

誘殺剤濃度 * (%)	蛍光色素検出率 **		
	浸漬期間 (日)		
	5	10	15
5	0	0	0
10	0	0	0
15	0	0	0
対照区 ***	100	100	100
* 誘殺剤(ml)/誘殺剤+水(ml)			
** 1反復に100頭供試した3反復の平均			
*** 誘殺剤と水の混合液に浸漬しなかった区			

生虫の密度および分布範囲を過小評価してしまった。その結果、撲滅防除の達成は大幅に遅れた(石田ら, 1983; 小山, 1982)。

不妊虫放飼法によるウリミバエの根絶防除においても同様の現象が起こるのかどうか、調査を行った。

材料および方法

供試虫; 鹿児島県大島支庁ウリミバエ防除対策室で大量増殖されたウリミバエを用い、蛹11に対して蛍光色素(Blaze Orange)を2g粉衣し、羽化後2週間水と成虫飼料を与えて $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 16L8Dで飼育したものを供試した。野生虫を想定して蛍光色素でマーキングしていないウリミバエを用い、マーキングしたものと識別できるように胸部背板に白いラッカーでマーキングを行った。

放飼およびトラップによる誘殺

蛍光色素でマーキングした成虫10,000頭と、蛍光色素でマーキングせず白いラッカーでマーキングした雄成虫500頭を羽化後2週間目に屋外網室(4.5×2.5×1.7m)に放飼した。誘殺剤を入れたスタイナー型トラップ3個を網室内に設置し、供試虫放飼後3日目に回収した。なおこの調査は2回行った。

第11表 蛍光色素の非標識虫に対する付着

反復	トラップ	誘殺虫数	誘殺虫のうち ラッカーによ るマーク虫	ラッカーによる マーク 虫 誘殺虫数(%)	頭部押しつぶしによる検出		虫体からの溶出による検出	
					供試虫数	検出率(%)	供試虫数	検出率(%)
I	A	535	108	20.0	107	0	108	4.6
	B	661	143	21.6	143	0	143	8.4
	C	261	43	16.5	43	0	43	9.3
	計	1,457	294	20.2	293	0	294	7.1
II	A	371	27	7.3	27	0	27	0
	B	185	37	20.0	37	0	37	0
	C	449	126	28.1	126	0	126	4.0
	計	1,005	190	18.9	190	0	190	2.6

蛍光色素の検出

誘殺虫のうちラッカーでマーキングされた虫を対象に蛍光色素の検出を行った。

第1回の調査ではIIIで述べた方法に基づいて蛍光色素の検出を行い、さらに頭部以外の虫体についても濾紙上に配列し、アセトン・エタノール混合液を滴下して蛍光色素の検出を試みた。

第2回の誘殺虫については、虫体を乾燥した後濾紙上に配列し、付着した蛍光色素の検出を行った後IIIで述べた方法によって頭部からの蛍光色素の検出を行った。

結果および考察

結果は第11表に示した。誘殺虫数は各トラップによってそれぞれ異なり、また誘殺虫のうちラッカーによるマーク虫すなわち蛍光色素によるマーキングを行っていない個体の割合も各トラップによって異なっていた。蛍光色素によるマーキングを行っていない個体の頭部からは蛍光色素は検出されなかったが、虫体からの溶出による方法では4.0～9.3%の範囲で蛍光色素が検出された。

この結果から、トラップに誘殺された放飼虫の虫体に付着している蛍光色素が野生虫の虫体に付着することが示唆された。このことは、カリフォルニアにおけるチチュウカイミバエの防除効果判定の際、虫体に直接有機溶媒を滴下して蛍光色素を溶出させる検出方法において起こった判定の誤りを裏付けるものであった。誘殺虫の蛍光色素の検出にはIIIで述べたとおり、頭部を用いて押しつぶした後、有機溶媒によって溶出させる方法のほうが精度が高いことが明らかになった。

総 合 考 察

今回行った種々の調査結果から、供試した蛍光色素のうち、B-10およびCalco Blueは希釈性が劣っており、また紫外線燈下で蛍光を発せず、このため今回は評価しなかった。しかし通常の照明下で暗紫色として検出されるので紫外線燈下での作業なしで検出が可能で、この方法は、STAINER (1965) によって報告されている。また、Brill Flavine FF, Light Yellow F8G および Rhodamin FB は水溶性であるため、野外調査への応用面から考えて、使用には適さないものと判断した。そしてMPIシリーズの蛍光色素は粒子が大きく、蛍光色素の特性としては優れているが使用にあたってはさらに粒子を細かくする工程を経たものでなければならない。またTinopal SFGは優れた特性を備え、SCHROEDER *et al.* (1972)、田村 (1975) およびSERGHIU (1977) によってミバエのマーキング用の蛍光色素として生理的な影響もなく優れていることが報告されているが、現在は製造中止となっている。

上記のことからBlaze Orange, Neon Red, NKP-817・8312・8315・8327・8328・8347・8367, Rocket Red, Saturn Yellow, Uvitex OB および Whitex SKC は、現在奄美群島におけるウリミバエ根絶防除事業および野外での大規模な移動分散試験等に使用されている。

本調査によって開発された放飼虫と野生虫の識別作業の体系は、雄の精巢生殖細胞の観察による放飼虫と野生虫の識別法(坂之内ら, 1985)とともに、防除効果の判定作業の中に導入されている。

マーキングおよび検出にかかわる諸問題としてとりあげた項目は、実際の防除にあたって問題となった点である。これらの結果を考慮し、今後の防除を進めて

いくことによってより正確な防除効果が判定され、よりの確な防除が可能となると考える。

摘 要

1. ウリミバエの標識に用いる蛍光色素を国内外産の24種を用いて各種調査を行うことにより選択した。調査は蛍光色素の特性として、溶解性、展開性および希釈性について行い、ミバエに対する生理的影響として、羽化率、生存率、分散力について行った。その結果、Blaze Orange, Neon Red, NKP-817・8312・8315・8327・8328・8347・8367, Rocket Red, Saturn Yellow, Uvitex OB, Whitex SKC, は標識用に適していることが明らかになった。

2. ウリミバエ根絶防除事業における効果判定法の一つであるMU比調査の作業体系について検討を行った。その結果、誘殺虫の乾燥(80℃ 72時間およびシリカゲル 96時間)、頭部切り離しと濾紙上への配列(濾紙上にくぼみをつけることによって配列が容易になった)、押しつぶし(ガラス板を用いて一度に500頭の押しつぶしが可能)、有機溶媒の滴下(0.01 ml ずつ3回間欠的に滴下)、紫外線燈下での検出、という一連の作業の流れおよび処理基準を明らかにした。

3. マーキングおよび検出にかかわる諸問題

蛍光色素の粉衣は蛹1対に対して2g以上で行えば、羽化後10週間目においても100%に近い検出率が得られる。

放飼虫のマーク率はほぼ完全である。

マークされた放飼虫がトラップ内で誘殺剤と水の混合液に漬かってしまうと前額のように取り込まれた蛍光色素は溶出してしまう。

ミバエの虫体から蛍光色素を濾紙上に溶出させて検

出する方法では、野生虫に放飼虫の蛍光色素が付着することがあるため正確な判定はできないことが明らかになった。頭部押しつぶしと有機溶媒の滴下を組み合わせた方法ではこのようなことは起こらず、精度の高い判定が期待できる。

引用文献

- 石田里司(1983) アメリカ・カリフォルニア州におけるチチュウカイミバエの発生と日本側の検疫対応, 植物防疫 **37**: 348-355.
- 小山重郎(1982) ミバエ類防除の現状と将来, 植物防疫 **36**: 245-250.
- 大戸謙二(1982) 喜界島におけるウリミバエ根絶防除事業に伴う調査, 九州植物防疫 **460**: 3.
- 坂之内踐行・大戸謙二・佐土嶋敏明・福島 満(1985) ウリミバエ雄生殖細胞の観察による不妊虫と野生虫の識別について, 植防研報 **21**: 17-26.
- SCHROEDER, W.J., R.T. CUNNINGHAM, R.Y. MIYABARA, and G.J. FARIAS. (1972) A fluorescent compound for marking Tephritidae. J. Econ. Entomol. **65**: 1217.
- SERGHIOU, C. (1977) Selected factors affecting the quality of Mediterranean fruit fly used in sterile release programs. J. Econ. Entomol. **70**: 351-356.
- STEINER, L.F. (1965) A rapid method for identifying dye-marked fruit flies. J. Econ. Entomol. **58**: 374-375.
- 田村 修(1975) ウリミバエの大量標識法について, 第19回応動昆大会講演要旨: 552.
- 葭原敏夫・河合 章(1980) 蛍光色素で標識されたウリミバエ検出のための押しつぶし機の試作と奄美大島で捕獲されたウリミバエのマーク虫調査, 昭和54年度野菜試験場久留米支場研究年報 **4**: 160-163.