

ニーム由来成分を用いた害虫防除剤の開発

ニーム抽出物のハスモンヨトウに対する摂食阻害活性

—松時生^{*1} 齋藤浩之^{*1} 水城英一^{*1} 中村寿雄^{*2} 野田潔^{*2}

Development of insecticide using the Neem Extracts

Antifeedant activity of the Neem Extracts against Larvae of *Spodoptera litura*

Tokio Ichimatsu, Hiroyuki Saitoh, Eiichi Mizuki, Toshio Nakamura, Kiyoshi Noda

ニーム抽出物は、インドセンダン（Indian Neem）という樹木の種子から得られる。その主成分であるアザジラクチンは、数種の昆虫に対して忌避及び摂食阻害作用が文献上認められている。そこで、本研究では、ニーム抽出物を防除剤として製品化するために必要な忌避、摂食阻害作用の確認及びその有効濃度の検討を行った。ダイズ、サトイモ、キャベツ、ナスなど多くの畑作物および野菜類を加害する雑食性の害虫であるハスモンヨトウ *Spodoptera litura* に対してバイオアッセイを行った結果、ニーム抽出物の摂食阻害活性が認められた。

1 はじめに

本研究の対象とするニーム抽出物は、インドセンダン（Indian neem tree）という樹木の種子より得られたものである。このニーム抽出物の主成分はアザジラクチン¹⁾である。この物質は、数種の昆虫に対して忌避および摂食阻害作用が文献上²⁾³⁾認められている。また、欧米では、広く生物農薬として利用されているが、日本での普及は緒についたばかりである。そこで、生物農薬として開発するために、この植物抽出成分の忌避・摂食阻害剤としての有効性の確認及びその有効濃度の検討を鱗翅目昆虫のハスモンヨトウに対して行った。

ハスモンヨトウ、*Spodoptera litura* (common cutworm, cluster caterpillar), は日本から東南アジアにかけて広く分布し、日本では関東中部以南の温暖な地域に発生する。そして、本種は大豆やサトイモだけでなく野菜や花き類等も食害する多食性の重要害虫であり、近年、化学農薬に対する抵抗性が増大し、生物農薬の開発が待たれている。また、本種は、飼育も比較的容易なため、対象害虫とした。

タイ及びインドより、抽出法の異なるニーム抽出物2種を入手し、それぞれについて、摂食阻害活性を測定し、比較した。

2 材料と方法

2-1 供試虫

本実験に使用したハスモンヨトウは、人工飼料（インセクタLFS：日本農産工業（株））を用い、25で継代飼育したものをを用いた。

2-2 ニーム抽出物

インド産ニーム (*Azadirachta indica*) の抽出物及びタイ産ニーム (*Azadirachta siamensis*) の抽出物を用いた。バイオアッセイを行う前に、HPLCを用いて成分分析を行った。サンプルをメタノール希釈し、0.45 μmメンブランフィルターを過し、分析した。分析は、Isocratic HPLCで行い、カラムはLiChroCART (ODS) 250 × 4mm (Cica-MERCK)、溶媒はアセトニトリル：水 = 4 : 6、流速1 ml/min、カラム温度40、サンプル量10 μlで行った。

2-3 バイオアッセイ

6cmのdisposableのプラスチックディッシュの底に湿度調整用に濾紙を敷いた。人工飼料を約2gの大きさ（17 × 17 × 7mm程度）に切断し、上記ディッシュに入れた。人工飼料の水分の濾紙への移動を防ぐために、その人工飼料と濾紙の間に25 × 25mmのアルミ箔を入れた。ハスモンヨトウを20頭（2令）をそのディッシュの中に入れた。その後、人工飼料にニーム抽出物のサンプル溶液を100 μl添加した。

サンプル溶液は、アザジラクチンAの濃度を基準と

*1 生物食品研究所

*2 クロレラ工業株式会社

し、10倍ずつ濃度が異なるものを5濃度、蒸留水で調製し、各々の濃度で3連行った。ディッシュは乾燥を防ぐために、テープ（パラフィルム）でシールし、25度で飼育した。シールは測定毎に新しいものを用いた。24時間毎に飼料の減量を測定した。摂食阻害活性は、ニーム抽出物の代わりに蒸留水を添加したブランクを基準とした。ブランクの飼料減量を摂食阻害活性0%とし、飼料減量が0gのものを摂食阻害活性100%とした。

3 結果と考察

3-1 ニーム抽出物の成分

HPLCで分析した結果、インド産ニーム抽出物原液の濃度（azadiractinA含有量）は、2.21% weight/volumeであった。タイ産原液の濃度は、0.21% weight/volumeであった。

3-2 タイ産及びインド産ニーム抽出物の摂食阻害活性の比較

インド産とタイ産ニーム抽出物のサンプルを10, 100, 1000, 10000, 100000倍に希釈して、摂食阻害活性を測定した。それぞれの濃度での経過時間における摂食阻害活性（3連試験の平均値）を表-1, 2に示した。いずれの抽出物においても、添加時、ハスモンヨトウの忌避が観察された。その後、幼虫は容器が密閉されているため、逃げるができず、抽出物の付いた人工飼料の摂食を開始した。

表-1 インド産ニーム抽出物のAzadiratin Aの濃度と摂食阻害率

Azadiractin A conc.(ppm)	摂食阻害率 (%)						
	1日後	2日後	3日後	4日後	5日後	6日後	7日後
1.11×10^2	60.0	50.0	58.3	85.0	90.3	92.7	96.2
1.11×10	40.0	66.7	75.0	85.0	83.9	92.7	96.2
1.11×10^0	60.0	66.7	75.0	80.0	80.6	85.4	84.9
1.11×10^{-1}	40.0	50.0	66.7	65.0	64.5	63.4	58.5
1.11×10^{-2}	20.0	16.7	25.0	5.0	3.2	-2.4	-7.5

表-2 タイ産ニーム抽出物のAzadiratin Aの濃度と摂食阻害率

Azadiractin A conc.(ppm)	摂食阻害率 (%)						
	1日後	2日後	3日後	4日後	5日後	6日後	7日後
1.05×10	60.0	66.7	91.7	90.0	96.8	100.0	98.1
1.05×10^0	40.0	50.0	58.3	75.0	80.6	87.8	90.6
1.05×10^{-1}	40.0	50.0	58.3	65.0	67.7	70.7	69.8
1.05×10^{-2}	40.0	50.0	50.0	25.0	32.3	34.1	32.1
1.05×10^{-3}	40.0	50.0	33.3	20.0	29.0	26.8	22.6

インド産ニーム抽出物では、4日後から、ほぼ濃度に応じた摂食阻害率が観察された。タイ産では、3日

後から濃度に応じた阻害率が観察された。これらは、今回使用した2令幼虫の摂食量がブランクにおいても少なかったためと考えられる。令の大きい幼虫を使用すれば、1日後から濃度に依存した阻害率が観察されると考えられる。インド産の 1.11×10^{-2} の濃度では6日後以降の摂食阻害率がマイナスを示しているが、これは、ブランクの乾燥減量以上に減量したためであり、摂食阻害率0%と見なして良い。

図-1, 図-2に、実験開始7日後の摂食阻害率とアザジラクチン濃度との関係を示した。これらのグラフから、インド産及びタイ産ニーム抽出物の EC_{50} は、いずれも0.01ppmから0.1ppmの間にあることが判る。表-1, 2のデータを元に、 EC_{50} を算出した結果、インド産及びタイ産アザジラクチンの EC_{50} 値は、それぞれ0.016ppm, 及び0.019ppm（危険率1%以下で有意）とほぼ同じ値を示した。よって、ハスモンヨトウの摂食阻害活性が産地や抽出法などに依存するのではなく、アザジラクチンAの濃度に依存することが判明した。

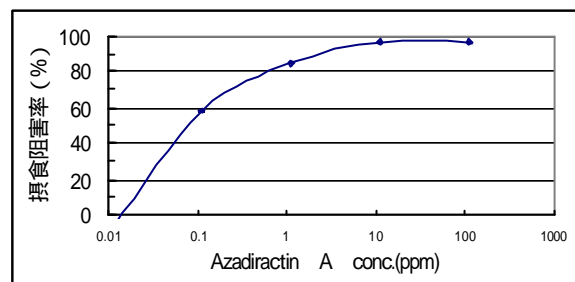


図-1 インド産ニーム抽出物のアザジラクチン濃度と摂食阻害率（7日後）

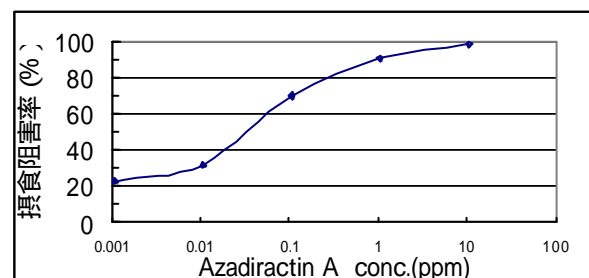


図-2 タイ産ニーム抽出物のアザジラクチン濃度と摂食阻害率（7日後）

4 まとめ

ニーム抽出物のハスモンヨトウに対する摂食阻害活性を測定した。その結果、インド産ニーム抽出物の EC_{50} 値は0.016ppm、タイ産ニーム抽出物の EC_{50} 値は0.019ppmと、ほぼ同値であり、アザジラクチンAの濃度と摂食阻害活性の間に相関が認められた。

今後は、今回試験した鱗翅目昆虫以外の昆虫で同様の摂食阻害活性が認められるかどうか、さらに検討を行う予定である。

5 参考文献

- 1) S.V.Ley,A.A.DenholmandA.Wood:Natural product reports,p.109(1993)
- 2)KanthM.S.Sundaram:J.Environ.Sci.Health.B31(4),p.913(1996)
- 3)A.J.Mordue(Luntz) andA.Blackwell:J.Insect Physiol,vol39,No.11,p.903(1993)
- 4)一ノ瀬良ほか：昆虫実験法,p.30，学会出版センター(1981)
- 5)湯嶋健ほか：昆虫の飼育法,p.197,日本植物防疫協会(1991)