

ニーム由来成分を用いた害虫防除剤の開発

ミナミキイロアザミウマに対するニーム抽出物の摂食阻害活性

一松時生^{*1} 百武稔郎^{*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 *Thrips palmi* KARNY

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

ニーム抽出物は、インドセンダン（Indian Neem, *Azadirachta indica*）の種子から得られる。その主成分であるアザジラクチンAは、数種の昆虫に対する摂食阻害活性が報告されている。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摂食阻害活性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ミナミキイロアザミウマ（*Thrips palmi* KARNY）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

ニーム抽出物は、インドセンダン（Indian Neem, *Azadirachta indica*）という樹木の種子より得られる。このニーム抽出物の主成分アザジラクチンA¹⁾は、昆虫に対して忌避および摂食阻害作用が報告²⁾³⁾されている。そして、欧米では生物農薬として利用されている。日本では、まだ幾つかの製品が見られるに過ぎない。そこで、この植物抽出物を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アザミウマ目昆虫のミナミキイロアザミウマに対して行った。

ミナミキイロアザミウマ（*Thrips palmi* KARNY）の寄生する植物は21科79種が記録され、きわめて広い範囲の植物に発生する。園芸作物ではキュウリ、ピーマン、スイカ、ナスなどの果菜類のほか、ホウレンソウ、シュンギクなども被害を受ける。キク、シクラメン、ガーベラ、コスモスなどの花き類も加害を受ける。本種は吸汁性であるため、葉での被害症状ははじめ葉裏の葉脈沿いに1～3mmの白斑を生じ、密度が高まるにつれて銀白色の斑紋が拡大してくる。さらに密度が高まると巻葉して枯れ上がり、後には落葉する。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。

インドより、ニーム抽出物の溶液と乾燥粉末を入手し、それぞれについて、摂食阻害活性を測定した。

2 材料と方法

2-1 供試虫

本実験に使用したミナミキイロアザミウマは、インゲンをを用い、25℃で継代飼育⁴⁾⁵⁾した成虫を用いた。

2-2 ニーム抽出物

インドセンダンの抽出物の溶液及び乾燥粉末の2種を今回の試験に供した。

バイオアッセイを行う前に、HPLCを用いて成分分析を行い、アザジラクチンAの濃度を定量した。サンプルをメタノールで希釈し、0.45µmメンブランフィルターで過後、分析した。分析は、Isocratic HPLCで行い、カラムはLiChro CART (ODS) 250×4mm (Cica-MERCK)、溶媒はアセトニトリル/水=4:6、流速1ml/min、カラム温度40℃、サンプル量10µlで行った。

2-3 バイオアッセイ

インゲンの葉は、発芽7～10日の本葉（30mm）を用いた。ニーム抽出液を葉の表に塗布し、乾燥させた。添着剤としてグラミン（農林水産省登録第13662号、三共株式会社製）を最終希釈倍数が1,000倍となるように、ニーム抽出液に添加した。ガラス製円筒容器（外径30mm、内径27mm）の筒の端に塗布面を中に

*1 生物食品研究所

*2 クロレラ工業株式会社

して、葉を載せ、寒天（5%、厚さ5~7mm）をその上から載せ、それらをパラフィルムで巻いて固定した。成虫20匹を筒の中に入れ、ビニールで蓋をした。25で摂食させ、48時間後の加害面積を判定した。

サンプル溶液は、アザジラクチンAの濃度を基準とし、10倍ずつ濃度が異なるニーム抽出物を4濃度、グラミン1000倍希釈蒸留水で調製し、各々の濃度で3連行った。ブランクとして、ニーム抽出物の代わりにグラミン1000倍希釈蒸留水を添加したものをを用いた。ブランクの葉の加害面積（ cm^2 ）を摂食阻害活性0%とし、加害面積0（ cm^2 ）を摂食阻害活性100%とした。

2-4 葉の加害面積の測定

葉をデジタルカメラでとり、画像解析により加害面積を算出した。

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溶液の濃度（アザジラクチンA含有量）は、0.203%（w/v）であった。乾燥粉末の濃度は、6.40%（w/v）であった。

3-2 ニーム抽出物の摂食阻害活性

溶液は0.01~10ppm、乾燥粉末は0.5~500ppmの範囲で用量依存的に摂食阻害活性を測定した。これらの希釈率は、予備試験を基に決定した。図-1、図-2に、実験開始48時間後の摂食阻害率とアザジラクチンA濃度（対数目盛）との関係を示した。これらのグラフから、溶液及び乾燥粉末の EC_{50} （半数影響濃度, Median Effective Concentration）は、それぞれ0.1 ppmから1 ppmの間、及び10ppmから100ppmの間にあることが判る。 EC_{50} を算出した結果、溶液及び粉末の EC_{50} 値は、それぞれ0.213 ppm（危険率5%以下で有意）、及び72.3 ppm（危険率1%以下で有意）であった。ミナミキイロアザミウマの摂食阻害活性は、溶液が乾燥粉末より約300倍高いことが判明した。この原因として今回使用した乾燥粉末が何らかの原因で活性を失ったと考えられる。

4 まとめ

ニーム抽出物のミナミキイロアザミウマに対する摂食阻害活性を測定した。その結果、ニーム抽出物溶液の EC_{50} 値は0.213 ppm、ニーム抽出物乾燥粉末の EC_{50} 値

は72.3 ppm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、農作物の病原菌（カビ、細菌）に対して抗菌もしくは静菌効果があるかどうかの検討を行う予定である。

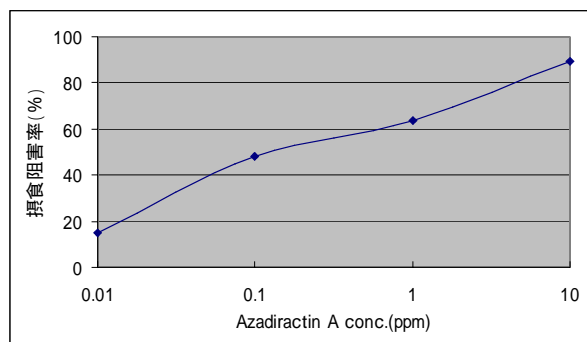


図-1 ニーム抽出物溶液のアザジラクチンA濃度と摂食阻害率

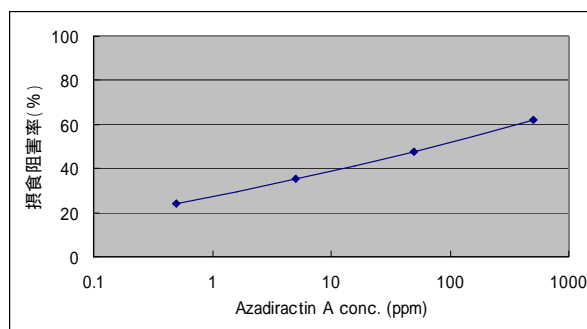


図-2 ニーム抽出物乾燥粉末のアザジラクチンA濃度と摂食阻害率

5 参考文献

- 1) S. V. Ley, A. A. Denholm and A. Wood: Natural product reports, p. 109(1993)
- 2) Kanth M. S. Sundaram: J. Environ. Sci. Health. B31(4), p. 913(1996)
- 3) A. J. Mordue(Luntz) and A. Blackwell: J. Insect Physiol, vol39, No.11, p. 903(1993)
- 4) 湯嶋健ほか：昆虫の飼育法,p.28,日本植物防疫協会（1991）
- 5) 永井一哉：ミナミキイロアザミウマ，農村漁村協会（1995）
- 6) 一松時生ほか：平成12年度福岡県工業技術センター研究報告，p.113(2001)