

METHODS IN PESTICIDE SCIENCE

農薬 実験法

深見順一・上杉康彦・石塚雄造・富沢長次郎：編

1 殺虫剤編

ソフトサイエンス社

農薬実験法

1

殺虫剤編

—編集委員—

- 理化学研究所 深見 順一
(Dr. Junichi FUKAMI)
- 農業技術研究所 上杉 康彦
(Dr. Yasuhiko UESUGI)
- 筑波大学 石塚 皓造
(Dr. Kozo ISHIZUKA)
- 農業技術研究所 富沢長次郎
(Dr. Chojiro TOMIZAWA)

●印 本編担当編集委員

METHODS IN PESTICIDE SCIENCE
(1981)

SOFT SCIENCE, INC. Tokyo

序

農業の必要性と危険性とを科学的事実として正しく認識することを目的として、先に「農業-デザインと開発指針」が刊行された。そこでは、農業開発の原論ともいわれるべき諸事項についての詳細な内容の展開が行われている。しかし見るがえて見ると、科学的な研究においては問題の着想や提起とともに、それらを遂行する手段や方法はこれらに優るとも劣らない重要なものであり、あたかも両者は車の両輪の如き意義を有するものと考えられる。特に農業研究の場においては、新しい手段・手法の開発や導入は新しい農薬の産出や農薬研究の展開に大きな貢献をなすものであり、これまでもその例は枚挙にいとまもないことであった。

そこで、農業の科学的な研究にとって必須にして十分なる「実験法」の集大成を試みんとし、本書「農業実験法」Methods in Pesticide Science を編さんした。本書は農薬の標的生物ごとに、殺虫剤、殺菌剤および除草剤に分けてそれぞれの分野に即応した特徴を活かすべく編集したが、近年特に問題領域として注目を浴びている環境科学における農薬研究については、殺虫、殺菌、除草の各剤すべてに当てはまるものなので、独立して集約することとした。

農業研究の手段・手法といっても、極めて幅広いものがあり、実際の技術面では他にも成書がある。本書では、農薬の安全性、病虫害の農薬抵抗性などの問題について、主として生理生化学的な面と農薬をめぐり実際上の技術上の諸問題との橋渡し役たらんことを試みた。

その主たる構成は、各種生物の個体レベルから細胞内分画レベルまでの試料の飼育・調製からはじまり農薬の効力検定の基本的な方法や、代謝生理、農薬代謝を通しての作用点の検索方法などを広く取り込み、環境中における農薬の安全性評価とその指針、遺伝生化学へのアプローチまで含む形となっている。農薬の効力検定・薬理・環境科学などについて、これから研究に携わろうとする人々にも理解できるよう、斯界第一線の研究者にそのノウハウを披瀝していただいた。

本書は農業研究の実務的な実験書として研究者-学生に至る幅広い方々の用に供せられることを希望するか、同時に関連する農学、生物学、医学、環境科学などの諸分野の方々の研究指針にもなり得るものとする。本書が農業研究発展の一助となれば幸甚である。

最後に本書が執筆者ならびにその関係各位の惜しみない御協力のことをご銘記するとともに、本書の編集業務に尽力されたソフトサイエンス社の山村俊弘、宜保洋子の両氏に謝意を表す。

1981年3月

編集委員

深見 順一
上杉 康彦
石塚 皓造
富沢 長次郎

■ 本編の編集にあたって

戦後における有機合成農薬の広範囲にわたる使用は、農業における生産性を著しく高めた反面、人畜の中毒、天敵などの益虫の殺滅、殺虫剤抵抗性害虫の出現、さらに農作物や環境への残留など社会的に見過ごすことができない多くの問題をひき起こしてきた。これら農薬公害につながる現代の合成農薬に対処する方策として、より低毒性で、より特異的な作用を持った病虫害の防除剤を開発することが急務である。またそのために、農薬の登録申請においては、催奇形性、発癌性および野生生物（魚、鳥、ミツバチ）に対する毒性などに関する安全性のデータが要求されるようになった。このような状況にあつては、従来と同様の、「強力な殺虫性」に重点がおかれたランダムスクリーニングによる殺虫剤の開発研究では、厳しい規制を踏み越えることはもはや不可能だろう。それに代わり理論に立脚した農薬研究を進めていくことにこそ、道程は長くても人類の要請に応えうる害虫防除剤の開発への方向があると考えられる。この方向での開発の例として、選択作用性の利用による低毒性害虫防除剤等がある。

本書は、大きく分けて以下の三部分からなっており、それぞれの分野において第一線で活躍されている研究者に執筆をお願いした。まず、第一部では、害虫の飼育・管理技術および薬剤の施用方法などの、新しい害虫防除剤の分子設計を行ううえでの基礎的な知見について述べられている。第二部には、選択毒性の重要な鍵となる作用機構研究方法が、つづいて第三部には、近い将来主流となるかもしれない新しい防除法の基礎となるべき、昆虫生態化学に関して述べられている。

本書に類似したものとして「昆虫実験法」（深谷・山崎・石井編、植物防疫協会）があるが、これが刊行されてから20年以上にもなる。この本が著者ら殺虫剤研究に従事したのものにとっていかに役に立ったかということはいふまでもないことである。本書が今後理想的な低毒性害虫防除剤開発に従事する方々にとって上記の類書と同じように役に立っていただければ幸甚である。

1981年 3月

殺虫剤編編集担当
深見 順一

農業実験法 ② 殺菌剤編

担当編集：上杉 康彦

(執筆総数27名)

1. 植物病原菌取扱法

- 1.1 増地とその調製
 - *培養系/増地の種類/素材/調製法/pH/滅菌
- 1.2 培養
 - *培養条件の設定/必要な器具と滅菌/移植操作
- 1.3 分離
 - *細菌の分離/糸状菌の分離
- 1.4 保存
 - *継代培養/流動パラフィン/重層法/水保存/凍結・乾燥保存/箱トトでの保存
- 1.5 胞子形成
 - *胞子形成と光/胞子形成法
- 1.6 接種
 - *一般的注意事項/各種接種法
- 1.7 薬剤耐性変異菌株の実験室的取得法
 - *馴致法/選抜法/耐性株の誘発法

2. 抗菌活性測定法

- 2.1 抗菌試験の基本的技法
 - *供試材料、試験法の選択/胞子発芽法/寒天平板法/その他の抗菌活性試験法/抗菌力に影響する因子
- 2.2 連合作用検定法
 - *基本的な連合作用/連合作用実験法
- 2.3 薬剤耐性検定法
 - *耐性検定の要否/耐性検定の具体例

3. 形態観察法

- 3.1 光学顕微鏡観察
 - *直接観察法/切片観察法/核および核分裂の観察
- 3.2 透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察
 - *試料作製法/観察法/オートラジオグラフィ/細胞組織化学/フリーズエッチング法
- 3.3 走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察
 - *試料作製法/観察法/マンフレッティング/X線微小分析

4. ウイルス取扱法および抗ウイルス作用検定法

- 4.1 ウイルス取扱法
 - *主要なウイルス病害/ウイルスの種類と性質/供試植物の育て方/ウイルスの検出方法/ウイルスの分離と精製法/ウイルスの定量法/ウイルスの保存法
- 4.2 抗ウイルスの作用検定法
 - *供試ウイルス、検定植物の選択/検定植物および接種原の準備/接種法/感染阻止作用検定法/増殖阻止作用検定法/毒素と抗ウイルス効果の判定/全身感染宿主による実用化試験/圃場試験

5. 殺菌剤薬理実験法

- 5.1 呼吸
 - *検出法/電気学的方法/指示薬法および分光学的方法/ラジオオレシビロメトリー
- 5.2 蛋白質合成
 - *蛋白質合成の機能と合成過程/蛋白質合成の実験系/蛋白質合成を阻害する農業用殺菌剤
- 5.3 核酸合成
 - *生細胞を用いた実験法/RNA合成実験系/DNA合成実験系/DNA合成系に作用する阻害剤
- 5.4 キチン合成
 - *胞子発芽と菌糸先端の糖化膨潤
 - *¹⁴C-GlcNH₂の細胞壁キチンの取り込み
 - *¹⁴C-グルコースの酵母細胞壁多糖類への取り込み
 - *キチン合成酵素
- 5.5 脂質合成
 - *概説/ステロイド合成/リン脂質合成
- 5.6 微小管形成
 - *微小管の構造と機能
 - *微小管形成と薬剤の影響
- 5.7 その他の菌体内酵素
 - *Mixed function oxidase
- 5.8 細胞膜機能
 - *細胞膜の構造と機能
 - *細胞膜機能を阻害する殺菌剤
 - *一般的実験法
- 5.9 非殺菌性病害防除作用
 - *有機塩基系殺菌剤
 - *Probenazole/Validamycin
- 5.10 菌体内薬剤代謝
 - *実験法の概要/代謝の毒物学的意義の解析
 - *代謝反応の解析
 - *病原菌による薬剤代謝実験の具体例

6. 生物活性天然物実験法

- 6.1 抗生物質
 - *BlasticidinS/Kasugamycin/Polyoxyon/Validamycin
- 6.2 同種菌の生産する生育制御物質
 - *糸状菌の同種菌内の菌株間結核物質/菌根の生殖制御物質
- 6.3 植物原抗生物質
 - *化学的防菌機構とその分類/抗生物質の検出法/各種実験例
- 6.4 Phytoalexin
 - *ジャガイモに非親和性菌、親和性菌を接種した場合のphytoalexin量の増減(天岡)

農業実験法 ③ 除草剤編

担当編集：石塚 船造

(執筆者総数41名)

1. 植物材料取扱法

- 1.1 種子、塊茎など繁殖器官取扱法
- 1.2 植物組織、器官培養取扱法
- 1.3 プロトプラスト、クロマトフォア、ミトコンドリア、その他の細胞内組織取扱法
- 1.4 各種植物からのクロロプラスト調製法

2. 除草剤効力検定法

- 2.1 除草剤の作用検定法
 - * 除草剤の開発目標/スクリーニング
 - * 各段階評価試験 供試植物の選定/殺草スペクトラム/薬害試験/選択性試験/土壌移行性/残効性ほか
- 2.2 除草剤作用特性及び適用性の試験方法
 - * 試験の進め方/水稲作/稲作物/野菜/果樹/林木
- 2.3 混合効果の判定法
- 2.4 共力剤・解毒剤の試験法
- 2.5 室内実験による効力検定法
- 2.6 生化学手段による薬理作用の検定法

3. 植物生長調節剤試験法

- 3.1 植物ホルモン検定法
- 3.2 植物生長調節剤検定法

4. 組織形態学実験法

- 4.1 形態形成解析法
- 4.2 物質移動にかかわる組織形態的接近法
 - * 放射自感光法/細胞化学的手法/植物根細胞の微細構造/水稲根細胞によるヘモグロビン取り込み機構

5. 除草剤薬理機構研究法

- 5.1 発芽過程解析法～生化学的アプローチ～
 - * 発芽の化学：休眠/初芽の初期代謝/発芽の誘導
- 5.2 発芽過程解析法～生理生態的アプローチ～
 - * 休眠～休眠覚醒/休眠覚醒～発芽～初期生育
- 5.3 植物ホルモン作用機構の解析法
 - * オーキシン/ノベレリン/サイトカイニン/エチレン
- 5.4 呼吸
 - * 酸化的リン酸化の反応機構/細胞の呼吸機能の障害/高等植物ミトコンドリアの分離調製/分離ミトコンドリアの呼吸機能の解析 特殊な呼吸系の測定
- 5.5 光合成系
 - * 電子伝達系 光合成電子伝達系と阻害部位/光合成反応の測定
 - * 光リン酸化反応 反応の障害の特徴/反応機構/親具/細胞エネルギー転移阻害剤/反応測定法
 - * C₃植物とC₄植物

- * 光呼吸 光呼吸の検出/光呼吸関連酵素の測定/光呼吸の制御法
- * 光色素合成 概説/除草剤による光色素合成阻害
- * CO₂固定測定 赤外線ガス分析計/ラジオアイソトープ

5.6 高等植物の蛋白質合成

- * リボソームの調製/アミノアシルtRNA合成酵素/転位RNA/蛋白質合成にあずかる可溶性因子ほか

5.7 核酸合成

- * 核酸生合成実験法/核酸抽出分離法/植物細胞分離法

5.8 植物の一次代謝研究法

- * 蛍光法によるTLC上¹⁴C-アミノ酸の迅速検出法/ β -カマラ高速ラジオアミノ酸アナライザーによる放射能標識アミノ酸の迅速定量法

5.9 植物の二次代謝研究法

- * NAD, NADP測定法/NAD, NADP補酵素の代謝

5.10 生理活性物質の酵素に対する影響の解析

- * 酵素活性測定の方法/ミカエリス・メンテン式/酵素反応に対する阻害の解析/生理活性物質の酵素レベルに及ぼす影響

5.11 構造-活性相関解析法

- * Hansch法による解析の手順/解析の実例と統計処理

6. 除草剤の行動解析法

6.1 除草剤の吸収と移行

- * トレーサーとしての標識除草剤の利用と処理
- * 液体シンチレーションカウンターの利用/測定試料の調製/オートラジオグラフィの利用

6.2 安定同位元素(重炭素)の利用

- * 重炭素分析法と濃度測定

6.3 選択作用機構解析法

- * 植物体内における除草剤の行動と殺草作用発現過程/選択作用機構の解析

6.4 植物体内代謝

- * 各種植物材料を用いた解析法/メタボライトの同定

6.5 酵素取扱法

- * 実験材料酵素の取扱い/可溶性酵素/顆粒結合酵素

7. 除草剤抵抗性検定法

7.1 植物生理活性物質に対する抵抗性の検定法

7.2 除草剤抵抗性における細胞工学育種技術の利用

7.3 高等植物の遺伝子操作技術の利用

- * DNAの切断と分画
- * サザンハイブリッド法
- * 遺伝子クローニング法

農業実験法 ④ 環境化学及び分析編

担当編集：富沢長次郎

(執筆者総数33名)

〈1〉環境化学実験法

1. 農業の代謝分解実験法

- *環境生物における農業の代謝分解の音鏡
- *薬物の生物学的変換の基本経路
- *代謝分解実験法
 - 細胞分離の調製法/酸化酵素/還元酵素/加水分解酵素/脱塩酸酵素/結合酵素/抱合体加水分解酵素

2. 哺乳動物実験法

- *小動物、中・大動物を用いた代謝実験
 - 供試動物/投与/再産動物の飼育/微量血液の採取/解剖/全身オートラジオグラフィ/代謝物の抽出とクレンジアップ/組織残留物/代謝酵素
- **In vitro* 代謝研究法
 - 細胞分離/臓器灌流/組織切片/培養細胞/分離肝細胞/各種 *in vitro* 代謝研究の比較

3. 鳥類における毒性試験と毒物の代謝実験法

- *鳥類の選択と飼育法
- *毒物試験法における薬剤投与方法

4. 植物実験法

- *植物代謝実験法
 - 農業の分解に関与する植物の代謝系/供試材料の調製および処理
- *植物残留分析法
 - 試料の採取、調製法/保存法/装置と器具/試薬/抽出操作/濃縮法/clean up/hound residues

5. 土壌および土壌微生物

- *農業による土壌微生物の変換(室内実験/野外の調査)
- *土壌有機物の挙動(試料の調製、保存/定量化)
- *土壌中の農業の追跡
 - (残留性試験/分解/吸着、移行、溶脱、揮散)

6. 水生動物実験法

- *毒性試験法
 - 魚類に対する試験法/ミシノコ類の試験法
- *生物濃縮試験法

7. モデル生態系

- *生物濃縮野外試験法
- *モデル生態系の種類と構成/陸-水系モデル生態系の装置の組立て方と操作法/トラップを設けた陸-水系モデル生態系/陸系モデル生態系/実験結果の解析法

8. アイソトープ実験法

- *RI施設の構成、放射能測定機器

9. 光化学実験法

- *農業の光学的研究/光化学反応の基本則
- *環境中における農業の光化学反応/モデル実験法

〈2〉農業の代謝生成物の分析および物理化学的同定法

1. クロマトグラフィーおよび電気泳動

- 1.1 濾紙および薄層クロマトグラフィー
- 1.2 カラムクロマトグラフィー
- 1.3 高速液体クロマトグラフィー
- 1.4 ガスクロマトグラフィー
- 1.5 電気泳動

2. 分光分析

- 2.1 吸光光度法(紫外および可視)
- 2.2 紫外および赤外吸収スペクトル
- 2.3 NMR(プロトン-NMR/炭素-NMR)
- 2.4 ガスクロマトグラフィー質量分析計
- 2.5 旋光-[α]_D, ORD, CD-の測定
- 2.6 重金屬原子吸光

3. 各論

- 3.1 BHC関連剤
 - *基質/分析機器/実験例
- 3.2 有機リン剤
 - *有機リン酸エステルの分析法/部分加水分解物の分離、同定/実験例
- 3.3 カーバメート剤
 - *殺虫剤/殺菌剤/除草剤/実験例
- 3.4 合成ピレスロイド
 - *哺乳動物/昆虫/植物/土壌および土壌微生物/光分解/水系モデルエコシステム
- 3.5 トリアジン系除草剤
 - *水稲、田間水および土壌中のメトリンの代謝物測定法の例/プロパシンの土壌中における代謝物の測定
- 3.6 ジフェニルエーテル系除草剤
- 3.7 Oxadiazon
 - *RI-トレーサーによる残留、代謝実験
 - *代謝生成物M-1の同定法
 - *GLCによる分析法/同位体重量分析法による定量
- 3.8 塩素系殺菌剤
 - **Fusarium oxysporum f. lycopersici*によるPCNBの代謝
 - **F. oxysporum*の resting cell suspensionによる懸定中間体からのPCTAの生成
- 3.9 Blastocidin S
 - *¹⁴C-Blastocidin Sの調製/光分解/土壌中における代謝分解/土壌産物による分解

—索引—

—— 執筆者一覽 ——

農業實驗法 Ⅰ 殺虫劑編

・ 執筆順 ・

- | | |
|--|--|
| 釜野 静也 (Seiya KAMANO)
農業技術研究所 害虫防除第三研究室長 | 重松 孟 (Hajime SHIGEMATSU)
森永試験場 生理部 研究室長 |
| 藤原 達雄 (Tatsuo KOSHIHARA)
野菜試験場 虫害研究室長 | 山元 大輔 (Daisuke YAMAMOTO)
圃三変化成生命科学研究所 脳神経生理学研究室 |
| 柳沼 薫 (Kaoru YAGINUMA)
福高果樹試験場 病理昆虫部 | 鷲尾 宏 (Hiroshi WASHIO)
圃三変化成生命科学研究所 脳神経生理学研究室 |
| 野淵 輝 (Akira NOBUCHI)
林業試験場 昆虫第一研究室長 | 本山 直樹 (Naoki MOTUYAMA)
千葉大学 園芸学部 助教授 |
| 山根 明臣 (Akiomi YAMANE)
林業試験場 昆虫第一研究室長 | 三橋 淳 (Jun MITSUHASHI)
農業技術研究所 病理昆虫部 |
| 安富 和男 (Kazuo YASUTOMI)
国立予防衛生研究所 虫疫室長 | 深見 順一 (Junichi FUKAMI)
理化学研究所 昆虫薬理研究室 主任研究員 |
| 中北 宏 (Hiroshi NAKAKITA)
食品総合研究所 食品保全部 主任研究官 | 塚本 増久 (Masuhisa TSUKAMOTO)
産業医科大学 動物学教室 教授 |
| 真槻 徳純 (Norizumi SHINKAJI)
千葉大学 園芸学部 教授 | 玉木 佳男 (Yoshio TAMAKI)
農業技術研究所 害虫防除第一研究室長 |
| 西沢 務 (Tsutomu NISHIZAWA)
農業技術研究所 線虫研究室長 | 川崎 建次郎 (Kenjiro KAWASAKI)
農業技術研究所 病理昆虫部 主任研究官 |
| 藤田 義雄 (Yoshio FUJITA)
住友化学工業園農業事業部 研究部 | 池庄司 敏明 (Toshiaki IKESHOJI)
東京大学 農学部 害虫研究室 助教授 |
| 斎藤 哲夫 (Tetsuo SAITO)
名古屋大学 農学部 教授 | 石川 幸男 (Yukio ISHIKAWA)
東京大学 農学部 害虫研究室 |
| 尾崎 幸三郎 (Kozaburo OZAKI)
香川県農業試験場 府中分場 | 本田 博 (Hiroshi HONDA)
東京農業大学 農芸化学科 教授 |
| 赤井 弘 (Hiroshi AKAI)
森永試験場 生理部 研究室長 | 安居院 宣昭 (Noriaki AGUI)
国立予防衛生研究所 衛生昆虫部 主任研究員 |
| 佐藤 仁彦 (Kimihiko SATO)
東京農工大学 農学部 | 大羽 克明 (Katsuaki OHBA)
塩野義製薬㈱ 油日ラボラトリー 研究員 |
| 木村 滋 (Shigeru KIMURA)
森永試験場 生理部 | |

＝目 次＝

序

■ 本編の編纂にあたって

1. 昆虫飼育法	1
1.1 昆虫飼育の実際	2
1.1.1 農作害虫	2
i) ニカメイガ	(釜野静也) 2
ii) ツマグロヨコバイ	(") 5
iii) カメムシ類	(") 7
iv) ハスモンヨトウ	(") 10
v) ヨトウガ	(") 12
vi) コナガ	(藤原達雄) 14
vii) コスカシバ	(柳沼 薫) 17
viii) アワヨトウ	(釜野静也) 20
ix) アワノメイガ	(") 23
x) コカクモンハマキ	(") 25
xi) ヒラタキクイムシ	(野淵 輝) 27
xii) 松毛虫	(山根明佳) 29
xiii) マツノマダラカミキリ	(") 32
1.1.2 衛生害虫	(安富和男) 35
i) ゴキブリ 35
ii) イエバエ 36
iii) カ 38
iv) ノミ 40
1.1.3 貯穀害虫	(中北 宏) 41
i) コクヌストモドキ 41
ii) コクゾウ 43
iii) ノシメマダラメイガ 45
iv) その他の貯穀害虫 47
1.1.4 その他の害虫 48
i) タニ	(真梶徳純) 48
iii) 線虫	(西沢 務) 51
1.2 最近の昆虫飼育装置	(藤田義雄) 54
1.2.1 環境調節装置 (インセクトロン) 54
i) 装置の種類と機構 54
ii) 環境調節装置を選定する際の留意点 58

1.2.2 昆虫飼育作業に関わる装置	59
i) 人工飼料調合	60
ii) 餌植物の栽培	60
iii) プラスチック容器の消毒	60
iv) 組立式飼育ケージ	60
v) アカイエカ成虫の日齢管理	61
vi) ヨトウカ類の個別飼育	62
2. 殺虫剤効力検定法	63
2.1 昆 虫	64
2.1.1 農作害虫 (尾崎幸三郎・齋藤哲夫)	64
A. イネ害虫	64
i) 供試害虫の選択	64
ii) 供試薬剤	70
iii) 共力剤	71
iv) 相関剤	72
v) 試験方法	73
局所施用法/注射法/ドライフィルム法/浸漬法/散布法/浸根法/田面施用法	
vi) 効力判定	85
B. 野菜害虫	86
i) 供試虫の選択	86
ii) 供試薬剤	90
iii) 共力剤	91
iv) 試験方法	91
局所施用法/注射法/軽口投与法/浸漬法/散布法/土壌施用法	
v) 効力判定	97
vi) プロビント計算法	98
2.1.2 衛生害虫 (安富和男)	103
i) 供試害虫の選択	103
ii) 供試薬剤と対照害虫	103
iii) 局所施用法(微量滴下法 topical application method)および注射法	104
iv) 濾紙接触法	104
v) 濾紙粉砕法	107
vi) 直接噴霧法	107
vii) 蚊取線香の試験法	109
viii) 浸漬処理	109
ix) ベイト剤(毒餌)試験法	111
x) 忌避剤試験法	111
xi) 牛乳ビンによる抵抗性簡易測定法	112
xii) 効力判定	112

2.2 その他の害虫	114
2.2.1 ダニ	(真椋徳純) 114
i) 供試ハダニの選択	114
ii) 供試薬剤と対象ステージ	115
iii) 検定時の飼育	116
iv) 散布処理	117
v) 浸漬処理	117
vi) 局所施用	118
vii) 効果の評価	118
2.2.2 線虫	(西沢 務) 119
i) 供試線虫	119
ii) 供試薬剤	119
iii) 薬剤浸漬法	120
iv) 線虫土壌処理法	122
v) 浸根・治療・浸透効果試験法	123
vi) 無菌培養による検定法	124
vii) 圃場試験法	124
viii) 効力判定	124
ix) プロビット計算法	125
<付表> プロビット変換表/「補正プロビット」および「重み」の算定に必要な恒数表/ x^2 の積/1分 布表	
3. 殺虫剤作用機構研究法	133
3.1 作用点解析法	134
3.1.1 皮膚構造	134
i) 超微形態	(赤井 弘) 134
皮膚の表面構造/皮膚の超微形態	
ii) 皮膚の透過性	(佐藤仁彦) 149
RIによる昆虫皮膚透過性測定法/カラムクロマトグラフ法を応用した昆虫による薬剤吸収量の測定 法/薬剤の昆虫分離皮膚透過性測定法/薬剤の昆虫表面物質透過性測定法	
iii) 皮膚の生化学	(木村 滋) 155
蛋白質/キチン/ペプチドキトデキストリン	
iv) 血液、脂肪体の生化学(蛋白質、RNA・DNA)	(重松 孟) 170
3.1.2 神経(作用点)	179
i) 興奮性膜	(山元大輔) 179
神経活動の細胞外導出/細胞内微小電極法/膜電位固定法	
ii) シナプス	(鷲尾 宏) 194
神経筋接合部/中枢神経系におけるシナプス	
iii) 神経の化学	(本山直樹) 210
ATPase/MAO/アセチルコリンエステラーゼ/薬物との結合	

3.1.3 呼 吸	(中北 宏)	224
i) 生体・ミトコンドリア		224
ii) 電子伝達系		236
3.1.4 組織および細胞培養	(三橋 淳)	242
i) 設 備		242
ii) 機 械		243
iii) 器 具		245
iv) 培 地		248
v) 実験手技		254
vi) 培養法		256
vii) 培養の条件		259
viii) 培養中の経過および培養結果		259
ix) 応 用		263
3.2 昆虫における薬剤の代謝実験法	(深見順一)	266
3.2.1 標識化合物使用による研究の意義		266
i) トレーサ・実験		268
3.2.2 昆虫における <i>in vivo</i> の代謝		271
i) 昆虫の処理		271
ii) 投 与 量		272
iii) 種差および齢期		273
iv) 組織残留		273
v) 代謝経路		273
3.2.3 昆虫における <i>in vitro</i> の代謝		283
i) 酵素の精製		283
ii) 反応条件		283
iii) 活性の測定		284
iv) 抵抗性との関係		295
3.3 殺虫剤抵抗性の遺伝学的解析とその生化学	(塚本増久)	299
3.3.1 抵抗性の遺伝様式の推定		300
i) 系 統		300
ii) 交配の方法		302
iii) 止逆交雑		302
iv) 優性と劣性		303
v) 遺伝子記号		304
vi) 戻し交雑		305
vii) 薬量-死亡率曲線		306
3.3.2 イエバエの連鎖群と染色体		309
i) 連鎖群の確立と命名の混乱		309
ii) イエバエの主なミュータントと連鎖群		310

iii) 野外集団からのミュータントの見つけ方と固定法	310
3.3.3 抵抗性遺伝子の連鎖群決定法	311
i) 交配の型	312
ii) 要因分析法とその実例	315
iii) 分散分析による有意性の検定法	317
3.3.4 染色体地図と遺伝子座	319
i) 二点法	320
ii) 三点法	320
iii) 抵抗性個体と感受性個体の識別	320
iv) 二点法による組換え値の計算	322
3.3.5 抵抗性遺伝子と抵抗性メカニズム	327
i) メカニズム研究のための系統	327
ii) イエバエの抵抗性メカニズム	327
3.3.6 性決定の異常と性比異常	332
i) 限性遺伝	332
ii) 性比異常	333
iii) 染色体観察法	333
3.3.7 抵抗性と集団遺伝学	336
3.3.8 昆虫の遺伝生化学と抵抗性	337
4. 昆虫生態化学	341
4.1 フェロモン	342
4.1.1 単離, 同定 (玉木佳男)	342
i) 抽出, 捕集	343
ii) 精製, 単離	347
iii) 同定	352
4.1.2 生物検定法 (川崎達次郎)	358
i) 生物検定法の条件とその選択	359
ii) 行動を指標とする生物検定法	360
iii) EAG法	365
iv) 生物検定法の選択	370
4.2 カイロモン (池庄司敏明・石川幸男)	373
4.2.1 タマネギバエの産卵誘引物質	373
i) 生活史と産卵誘引物質	373
ii) 実験方法	373
iii) 実験結果と考察	375
4.2.2 メマトイの誘殺駆除実験	376
i) メマトイの生活史とカイロモン	376
ii) 誘殺実験	377

iii) 駆除効果	377
4.2.3 カの吸血誘引物質	378
i) 吸血誘引に関与する要因	378
ii) 実験方法	378
iii) 実験結果	379
4.2.4 ワタゾウムシに寄生するコマユバチの産卵刺激物質	379
i) 寄生バチの寄主探索行動	379
ii) 実験方法	380
iii) 実験結果	381
4.3 寄主選択	(本田 博) 382
4.3.1 昆虫-寄主植物の関係	382
4.3.2 生物試験および分離操作における注意事項	383
4.3.3 産卵選択試験の実例	383
i) タマネギバエの産卵選択	383
ii) マメゾウムシの産卵選択	384
iii) ヒラタキクイムシの産卵選択	385
4.3.4 食性誘引試験の実例	385
i) 穀類に含まれるコクゾウ誘引物質	385
ii) チーズに含まれるケナガコナダニの誘引物質	386
4.3.5 植物に含まれる摂食阻害物質の実例	388
i) カミエビに含まれる摂食阻害物質	388
ii) タイヌビエに含まれるトビイロウンカの摂食阻害物質	388
4.3.6 寄主選択と関係のない誘引物質	389
i) ミカンコミバエの誘引物質	389
ii) ヨツボシクサカゲロウの誘引物質	389
4.4 ホルモン	(安厩院宣昭) 392
4.4.1 脱皮ホルモン (ecdysteroids)	393
i) Ecdysteroids の検定法	394
ii) Ecdysteroids の分離, 精製と同定法	400
4.4.2 幼若ホルモン (JH)	403
i) JH の検定法	404
ii) JH の分離, 精製と同定法	406
4.5 線虫, ダニの生化学	412
4.5.1 線虫の生化学	(大羽克明) 412
i) 線虫の大量培養法	412
ii) 線虫の無菌化	415
iii) 同調培養	417
iv) ステージ別採集法	418
v) カルス培養線虫の無菌的分離法	419

4.5.2 ダニの生化学	(本山直樹)	420
i) 材料の採集		421
ii) 酵素液の調製		421
iii) 殺虫剤の代謝実験		422
iv) コリンエステラーゼ活性		423
v) アリエステラーゼ活性		424
索引		429

1. 昆虫飼育法

1.1 昆虫飼育の実際

農作害虫／衛生害虫／貯蔵害虫
虫／その他の害虫

1.2 最近の昆虫飼育装置

1.1 昆虫飼育の実際

1.1.1 農 作 害 虫

1) ニカメイガ

ニカメイガ *Chilo suppressalis* Walker は、イネの重要害虫として古くから研究されていたが、近年発生が少なくなったことが原因してあまり飼育されなくなっている。しかし、イネの栽培が続く限り、研究を進めさせるため飼育を必要とすることも多い。この虫の飼育方法は、芽出しイネによる飼育と人工飼料による飼育とがある。

a. 芽出しイネによる飼育¹⁾

この方法で大量飼育が行われているが、餌の取り替えに労力を多く必要とする難点がある。

▶ 材料の採集

ニカメイガを野外から採集するには、越冬幼虫を集めるのが最も容易である。越冬幼虫は、5℃前後の低温におくと眠滞が約1か年可能であり、適宜加温して使用できる。また誘蛾灯で雌成虫を採集し採卵する方法もある。

▶ 採卵と卵の保護

成虫は、羽化当夜か翌晩に交尾し、その後3~4日間産卵する。室内でパラフィン紙に産卵させる場合は、ガラス製デシケータまたは覆高シャーレ(径12 cm、高さ20 cm位)を容器とする。この中に円筒状に巻きクリップで留めた紙と湿った脱脂綿とを入れ、25℃の明暗条件下におく。交尾率を高め産卵数を多くするためには、数対の成虫を入れた方がよい。イネに産卵させる場合は、イネをポットで30日前後栽培し、これを飼育箱に入れて産卵させる。

紙に産下させた卵塊は、卵塊の周囲の紙を残して切り取り、湿った脱脂綿とともにシャーレに入れ乾燥しないように保護する。イネに産下させた場合は、シャーレに水で湿らせた濾紙を敷き、垂ならないように並べイネが乾燥しないようにすると操作しやすい。しかし、カビが発生しやすいので注意しておく。卵塊は、日別に分けておくと予定が立ちやすく好都合である。

▶ 飼育容器

ビン詰などに使用する広口ガラスビン(径7~10 cm、高さ10~12 cm)で、底がやや広い方が好ましい。上部のふたは、ネジ込み式の金属製またはプラスチック製で、中央に穴をあけ種粒ができるようにする。

▶ 芽出しイネの作り方

餌とする芽出しイネの質が、幼虫の育成に大きく影響するので、注意して作成しなければならない。種もみは、発芽の均一なものを選び種子消毒を行う。この処理した種もみは、2日間水(流水がよい)に浸漬し、わずかに発芽・発根し始めたものを、ビンの底に二・三重の層になるくらい入れる。25℃で3~4日発芽させると卵の接種用の芽出しイネとなる。幼虫期の取り替え用は、1~2日長くおいて根や葉を大きくしたものがよい。幼虫は、まず根から摂食するので、種もみに水をあまり与えず発根をよくさ