

エステラーゼ活性度によるヒメトビウンカの有機 りん剤抵抗性検定のさいのサンプリングについて¹⁾

清家安長・高山昭夫
(愛媛県農業試験場)

まえがき

ウンカ・ヨコバイ類における有機りん剤抵抗性の検定に関して、沢紙上や寒天ゲル板上で虫のエステラーゼ活性を調べてその強弱度から有機りん剤抵抗性の発達程度を判定する方法が開発され、抵抗性発達程度の地域差や年次変動を調べる場合などに広く用いられようとしている(横山・尾崎, 1968; 高山・吉岡, 1964; 白神ら, 1964)。

この検定法にかかわらず、母集団の特性を抽出標本で検討する場合、サンプリングの良否が結果の精度に与える影響は大きい。標本抽出の手法は統計学の教科書に詳しく紹介されており、これに従ってサンプリングを行なえば、ほぼ母集団の特性を代表する標本が得られるはずである。しかし、この検定法に関しては、未だ資料が少なく、サンプリングを行なううえで未知の要素が多いことも事実である。

そこで著者らは、1968年来、いくつかの有限母集団を作り、これを使って数多くの抽出実験を企画実施しているが、ここにその一部を報告する。

この報告を行なうにあたり、検定法についてご教示をいただいた香川県農業試験場病虫科尾崎幸三郎博士、とりまとめにあたりご教導をいただいた四国農業試験場虫害研究室河野達郎室長および大竹昭郎、小山光男の両技官、さらにとりまとめにあたりご協力をいただいた愛媛県農業試験場病虫科吉岡幸治郎技師に対し深謝の意を表したい。

材料および方法

供試虫は、1968年3月下旬に採集したヒメトビウンカ(第1回成虫)を室内で飼育して、その次世代の5令幼虫を用いたが、採集の場所、採集虫数、検定に供試した虫数などは第1, 2表のとおりである。

第1表 ヒメトビウンカの採集概要

採集時期	採集場所	採集虫数	備考
3月 下旬	南宇和郡御荘町長月	約 60頭	コムギ 約 50a
3月 下旬	新居浜市中萩	約 50頭	コムギ、休閑田 約 60a
3月 下旬	宇摩郡土居町	約 80頭	休閑田

飼育は25~27°C、日長16時間で行ない、食餌水稻はほぼ5日毎に新鮮なものととりかえた。

検定は、尾崎(1968)および横山・尾崎(1968)の寒天ゲル板上でエステラーゼ反応を調べる方法で行なった。

すなわち、寒天ゲル板はりん酸緩衝液(pH6.8, イオン強度0.025)の100mℓに寒天700mgとポリビニールピロドリン(K-90)2,000mgを

1) On the sampling of the smaller brown planthopper in an esterase activity test for organophosphorus insecticide resistance. By Yasunaga SEIKE and Teruo KOYAMA.

含む溶液を幅10cm、長さ16cmのガラス板上に22mℓあて流して作成した。

実験は5令幼虫1個体あて血液反応皿に入れ、0.01mℓの蒸溜水を加えてガラス棒で磨碎した。磨碎液は幅1mm、長さ5mmの沢紙を用いて温度4℃の冷蔵庫内で30分間寒天ゲルに沢過吸着させた。その後沢紙は取除き、ただちにβ-ナフチルアセテートの0.5%アセトン溶液を噴霧し、温度37℃で20分間加温した後、デアゾブルーBの0.4%水溶液を滴下して約5分間室温に保持した。これらの寒天ゲル板は水洗した後、50℃で乾燥した。また、検定結果の判定は尾崎(1968)および横山・尾崎(1968)に準じて標準活性個体、抵抗性個体、雑種個体に類別した。

抽出実験の方法に関しては、研究結果のところで詳しくのべる。

第2表 検定標本の概要

供試虫の採集場所	検定虫数	10頭を単位とした組数(ヶ)	高活性個体率	雑種個体率	R個体率
土居町	500	50	—	—	54%
中萩	300	30	—	—	64%
御荘町	300	30	15%	28%	43%
重信町	230	23	—	—	75%

実験結果および考察

第2表に検定結果の概要を示したが、抵抗性個体率および雑種個体率とは供試個体数に対するそれぞれの割合であり、R個体数とは供試個体数に対する抵抗性と雑種の合計個体数の割合である。

採集場所別に任意に10頭ずつ合わせて組をつくり、組を単位として標本抽出をおこなった。場所別の組数をnとし(第2表左から3番目の欄)、抽出組数をrとすると、とり出し方はnCr通りであるが、ここでは100回の抽出回数とした。rは2(すなわち1回で抽出される個体数20頭)、4(40頭)、6(60頭)、8(80頭)、10(100頭)、12(120頭)、14(140頭)、16(160頭)とした。

第2表に示された4カ所でのR個体率および御荘町での高活性個体率と雑種個体率をそれぞれ母百分率pとみなし、これらと抽出実験でえられた標本百分率とを比較した。

いま、母百分率の両側に10%あるいは5%の幅をとり、これを許容範囲とし、この範囲内に標本百分率の何パーセントがはいるかを示したのが、第1図である。この図から明らかのように、検定虫数が40頭ぐらいまでは抽出標本の標準偏差が大きく、許容範囲内に入る抽出標本の割合の低い場合がある。だが、60頭以上になると抽出標本の標準偏差が小さく、10%許容範囲内に入る標本の割合が十分に高い傾向がみられており、120頭以上になると抽出標本の100%が許容範囲に入っている。しかし、5%を許容範囲とした場合には、140頭から160頭のサンプリング規模でも許容範囲内に入る標本の割合は必ずしも高くない。

このことは、140頭から160頭のサンプリング規模で、±5%の許容誤差を目標精度にして高い信頼率の標本を得るのは困難なことを意味している。サンプリング規模と許容範囲内に入る標本の割合との間における勾配は、140頭から160頭のサンプリング規模のところで非常にゆるやかになっており、これは両者の関係がほぼ平衡状態に達したのではないかと思われるが、そうとすれば、十分に高い信頼率の得られるサンプリング規模は非常に大きなものであることが想像される。

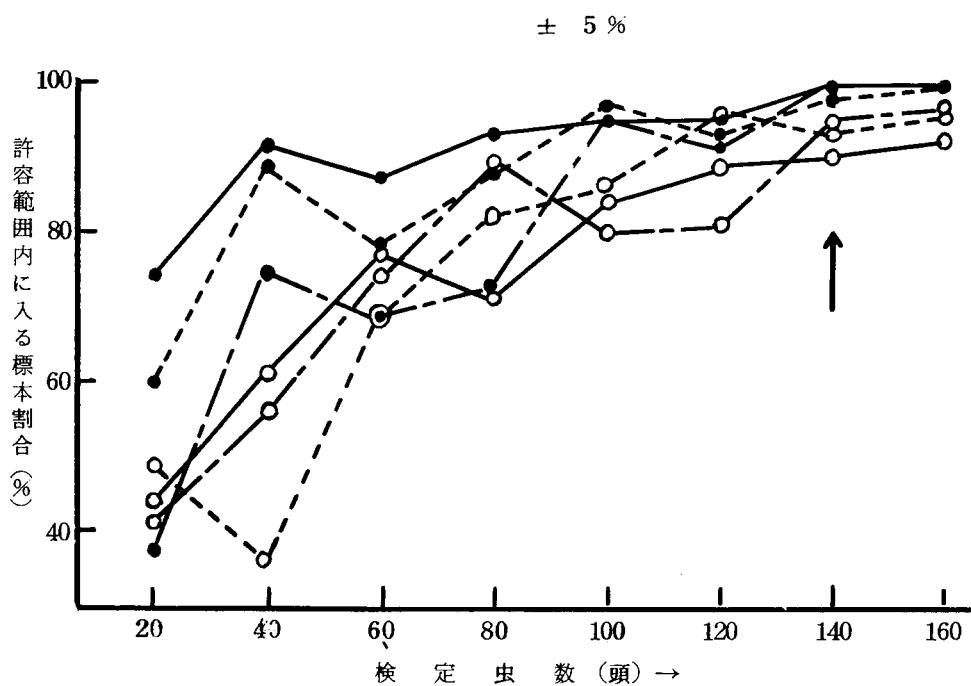
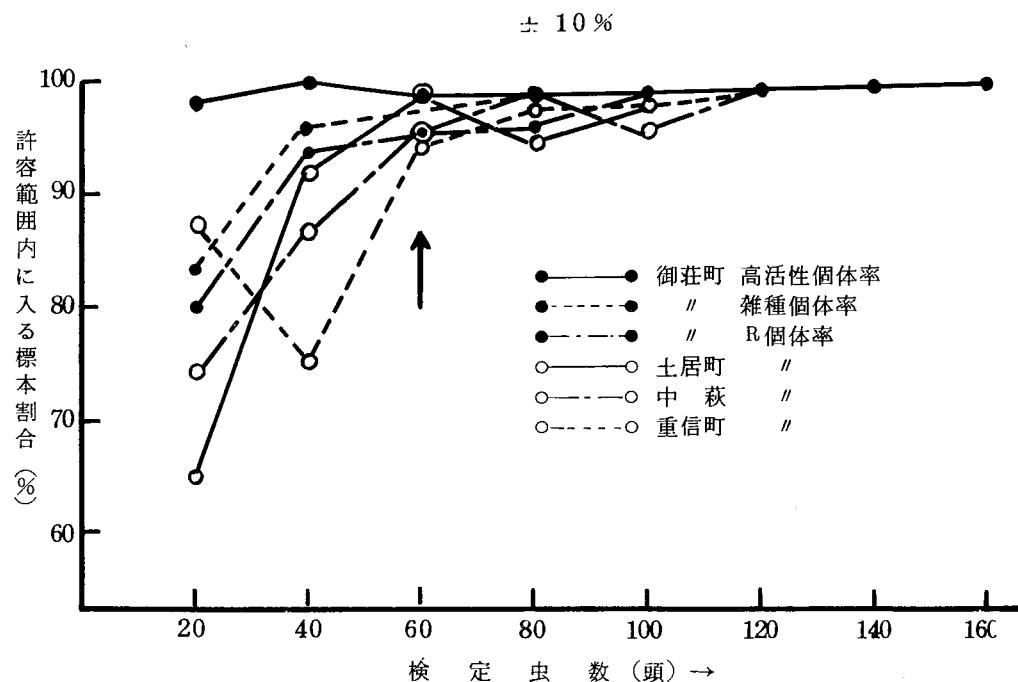
統計学の教科書には、割合の推定の場合の標本の大きさを求める公式が示されており、それには標準誤差(D[P])を用いるものと変動係数(CV[P])を使うものとがある(現代統計実務講座テキストⅡ)。

いま、単純な任意抽出がおこなわれるとして、95%信頼確率に対して許容誤差を±5%および±10%としたとき、必要な標本の大きさを正規近似によって計算してみる。

母百分率をp%，q=100-p%とし、±5%および±10%としたとき、必要な標本の大きさをそれぞれn₁、n₂とすれば、

$$n_1 = \frac{4pq}{5^2}, \quad n_2 = \frac{4pq}{10^2}$$

母百分率を15, 28, 43, 54, 64, 75%として求めたn₁およびn₂の値は第3表に示されている。この結



第1図 抽出実験の精度

↑印は標本割合がほぼ平衡状態に達する虫数を示す。

果は第1図に示された抽出実験の結果と傾向としては一致しており、許容誤差を $\pm 5\%$ にしづると200頭から400頭に近い大きな標本が必要であるが、 $\pm 10\%$ にゆるめると約1/4に大きさを減らすことができる。なお、もっとも大きな標本を必要とするのは、 $p=50\%$ のときで、 $\pm 5\%$ の許容誤差では400頭を必要とする。

許容誤差を $\pm 10\%$ として標本の大きさを比較的小さくした場合には、当然のことながら標本百分率間の有意差検定の感度は落ちる。しかし、この感度を高めるために、1カ所400頭もの個体を県下数10カ所から採集してエステラーゼ活性を調べることは労力的に非常に困難である。したがって、広い地域を対象としてR個体率の分布を迅速に調査する場合のサンプリング規模としては、100頭ぐらいで満足するのが賢明だと考えられる。

ウンカ・ヨコバイ類におけるエステラーゼ活性のR個体率のごとく、場所的な異質性が高い場合には、母集団のR個体率などに関してよほど確かな予備知識がない限り、母集団のR個体率は50%からあまり離れていないと考えて、標本の大きさを小さくしない方が無難であろう(高山・吉岡, 1964; 白神ら, 1964)。

以上、ウンカ・ヨコバイ類におけるエステラーゼ活性のR個体率の母数推定のためのサンプリングに関し、抽出実験の結果などをよりどころとして、広い地域内におけるR個体率の分布調査などの場合には、1カ所100頭程度の大きさの標本をとることが賢明であるとのべた。

もっとも、野外の自然集団における異質性は、この抽出実験に用いた材料よりも大きい場合が多いだろうし、不時不測の不定要因も考慮される(高木ら, 1962)。したがって、実際の自然集団から抽出実験を行ない、サンプリングの方法とその規模について検討する必要が残されている。この研究は、その段階まで研究を展開させる足場として実施したものであるが、この研究から導かれた知見は、実際の調査に当りサンプリング規模を決める場合の参考ともなるであろう。

要 約

寒天ゲル板上や涙紙上でウンカ・ヨコバイ類のエステラーゼ活性を調べる場合のサンプリング規模について検討した。

検討には、エステラーゼ活性のR個体率(供試虫に対する抵抗性と雑種との合計個体の割合)などが15%から75%にわたる6個体群を有限母集団とみなして、これらから抽出実験を行なった結果をよりどころとした。

その結果、95%の信頼確率で許容誤差を $\pm 5\%$ とすると、非常に大きな標本(およそ200~400頭)を必要とするが、許容誤差を $\pm 10\%$ とすれば、100頭以内でよいことが判った。労力その他を考慮して、1カ所100頭程度の標本が適當ではないかと思われる。

引 用 文 献

高山昭夫・吉岡幸治郎(1965)：殺虫剤抵抗性に関する試験成績書, pp. 43~54.

尾崎幸三郎(1968)：農業グラフ, No. 27 : 2~6.

白神虎雄・小林正吉・坪井昭正(1964)：殺虫剤抵抗性に関する試験成績書, pp. 1~8.

高木信一・杉野多万司・西野操(1963)：静岡農試特別報告, No. 7 : 10~12.

横山光男・尾崎幸三郎(1968)：四国植物防疫研究, No. 3 : 35~38.

第3表 95%信頼確率に対し、許容誤差を $\pm 5\%$ および $\pm 10\%$ としたときの必要な標本の大きさ

母百分率	必要な標本の大きさ	
	許容誤差 $\pm 5\%$ (n ₁)	許容誤差 $\pm 10\%$ (n ₂)
%	頭	頭
15	204	51
28	323	81
43	393	98
54	398	100
64	369	93
75	300	75

(1970年3月2日 受 領)