

表皮形成阻害物質 diflubenzuron に関する研究

第4報 ハエ幼虫に対する羽化阻害効果について (2)

Studies on insect growth regulator, diflubenzuron

4. Laboratory evaluations on the emergence inhibitory activity against fly larvae (2)

島 田 篤 夫¹⁾²⁾

Atsuo Shimada

著者は前報 (島田ら, 1977)¹⁾において diflubenzuron (PH 60-40) が昆虫体内に経口的に摂取されたとき、昆虫の表皮形成を阻害し、ハエ幼虫に対しても高い殺虫 (羽化阻害) 効力を有することを確認した。このなかで、有機燐系殺虫剤に対して抵抗性をもつイエバエ集団と、同じく感受性のイエバエ集団の diflubenzuron に対する感受性を比較したとき、同じ幼虫の日令で大きな差が認められた。その理由としては、第1に、抵抗性集団の幼虫の発育期間が感受性集団のそれよりも短かく、経口的な摂取によってのみ効力を発現 (Mulder and Gijswijt, 1973; Wellinga et al., 1973)²⁾³⁾ する本剤にあつてはその摂取量が少なくなること、第2には本剤に対して系統間に感受性の差異があることが考えられ、この点についてはすでに Cerf ら (1974)⁴⁾ や Oppenooth ら (1977)⁵⁾ が、本剤もまた既存の殺虫剤と同様に抵抗性問題を回避できないと報告している。

今回著者らはこれらの点を明らかにするため、diflubenzuron の効力とイエバエ幼虫の日令との関係について調べたのでここに報告する。

供試昆虫

供試したイエバエは次の3コロニーの幼虫である。

イエバエ *Musca domestica vicina* Macquart

伝研コロニー：1955年東京都港区芝白金，東京大学伝染病研究所 (現医科研) 構内において採集，以来研究室において累代飼育中のコロニーである。なお、このコロ

ニーは有機塩素剤に対して抵抗性，有機燐剤に対しては感受性を示す。

三崎コロニー：1972年神奈川県三浦市において，林らによって採集され，以来研究室において累代飼育中のコロニーである。なお，このコロニーは有機塩素剤に対して抵抗性，有機燐剤に対してはきわめて高い抵抗性を示す (林ら, 1973)⁶⁾。

府中コロニー：1976年東京都府中市において採集され，以来研究室において累代飼育中のコロニーである。

上記3コロニーの殺虫剤感受性は著者ら (1976, 未発表) が別の機会に調べたものであり，Table 1に示したとおりである。

Table 1 Susceptibility of three strains of house fly to four organophosphorus compounds

	LD-50* (μg/♀) in adults			LC-50* (ppm) in larvae		
	Denken	Misaki	Fuchū	Denken	Misaki	Fuchū
fenitrothion	0.065	20-30	7.1	< 2	> 400	140
fenthionmin	0.071	1.2-1.6	1.25	< 2	—	40
DDVP	0.031	—	0.22	< 2	—	> 50
diazinon	0.091	—	1.25	< 2	—	180

* by topical application

** by immersion

なお，供試した幼虫は，いずれも午前10時から午後5時の間に産卵された個体群とした。

供試検体および実験方法

供試した検体 diflubenzuron (PH 60-40), 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea はオランダの Philips-Duphar 社で製造された工業原体である。対照検体として供試した fenitrothion, 0,0-dimethyl

- 1) 日本環境衛生センター環境生物部
Department of Environmental Biology, Japan Environmental Sanitation Center
- 2) 横浜市立大学医学部寄生虫学教室
Department of Parasitology, Yokohama City University School of Medicine

0-(3-methyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate は住友化学工業株式会社で製造された工業原体である。また、共力剤として piperonylbutoxide を使用した。

実験方法としては、幼虫用培地のなかに上記検体を混入し、供試昆虫によって餌として摂取されるようにした。すなわち、粉末飼料（オリエンタル酵母工業製造 MF）12.5g、フスマ12.5g および脱塩素水による検体希釈液25g からなる合計50g の培地を用意し、このなかに所定の日令の幼虫 50頭を放し、観察の時まで放置した。

なお、検体は培地全量に対して所定の濃度になるように希釈し、検体を含まない脱塩素水のみ混合した培地を比較のための無処理区とした。

実験は1濃度区について少なくとも2回のくりかえしをもうけ、これらを室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 60~70%、および照明時間が16時間に調節された恒温室内に保存した。

観察は培地中の幼虫が羽化を完了した後に、正常羽化個体、形態異常を呈した個体、蛹のまま死亡した個体および幼虫で死亡した個体にかけて行い、正常に羽化したもの以外をすべて羽化阻害個体とした。

以上の観察結果から羽化阻害率を計算し、必要に応じて Abbott の式による補正を行い IC-50 (50%羽化阻害濃度) を算出した。

幼虫期間の観察は、上記の無処理区と同じ組成の培地に、1区あたり50個体を放し、蛹化が始まる時期より毎日ほぼ定時に蛹化個体をとり出して記録することによった。なお、くりかえしは10回以上とした。

実験結果および考察

1. 幼虫の日令と diflubenzuron の羽化阻害効果の関係について:

Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3 に3コロニーの幼虫の日令ごとの試験結果を示した。これらの図には各日令の幼虫を供試した場合の IC-50値をプロットしたが、いずれの場合においても、供試した幼虫の日令が進むにつれて IC-50値が大きくなってゆく。しかし、対照検体として供試した fenitrothion ではとくにこの傾向は認められない。また、3コロニー間での IC-50値の増大の程度を比較すると、有機燐剤抵抗性の三崎コロニーと府中コロニーにおいて顕著であった。Table 2 に伝研コロニーと三崎コロニーの日令ごとの IC-50値を示したが、両コロニー間で同じ日令での IC-50 値を比較 (B/A) すると、2日令で2.7であったものが5日令では13.5とその比が大きくなってゆく。さらに、同じコロニーでの IC-50値を比

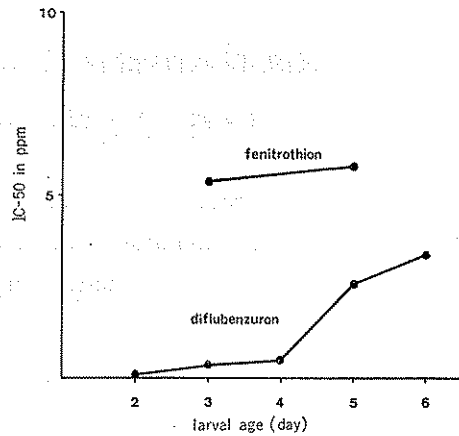


Fig. 1 IC-50 values in different larval age 1. Denken strain

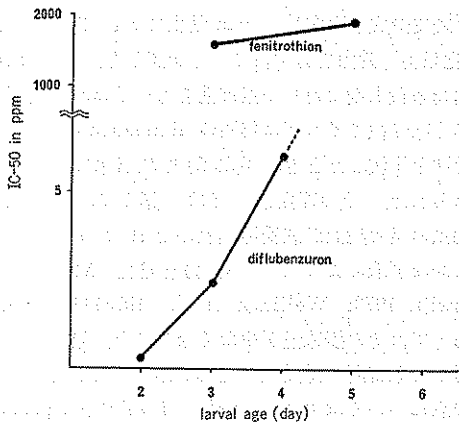


Fig. 2 IC-50 values in different larval age 2. Misaki strain

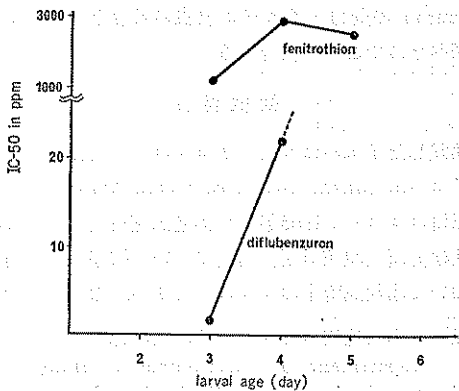


Fig. 3 IC-50 values in different larval age 3. Fuchū strain

Table 2 IC-50 values in two strains of house fly against diflubenzuron

larval age (days)	strain		B/A
	Denken (A)	Misaki (B)	
2	0.11*	0.3*	2.7
3	0.36	2.4	6.7
4	0.5	6.0	12
5	2.6	35	13.5
6	3.4		

* IC-50 in ppm

較すると、伝研コロニーでは2日令から5日令までの間に23.6倍、同じく三崎コロニーでは実に116.7倍に増大した。この傾向は府中コロニーでも同様であった。

同じコロニーでも供試した幼虫の日令が異なることと羽化阻害効力に差が生じることは島田ら (1977)¹¹、武衛ら (1977)¹²がすでに確認しているが、今回の実験結果のように、有機燐剤抵抗性のコロニーにおいてその傾向が著しいことは興味深い。diflubenzuronと同様に IGR の1つである methoprene ではこのような傾向が認められず、令が進むにつれて羽化阻害効果が増大した (島田ら, 1974)⁸。また、有機燐剤抵抗性の三崎コロニーに対しても、感受性の伝研コロニーとほぼ同等の羽化阻害効果を示した (島田, 未発表)。このことは diflubenzuron と methoprene の作用機作が本質的に異なることの一つの裏づけを示すものである。

次にイエバエ3コロニーの幼虫期間を Fig. 4 に示した。これによると伝研コロニーの幼虫期間が明らかに長く、平均幼虫期間は9.3日であった。しかし、他の有機燐剤抵抗性の三崎コロニーの平均幼虫期間は6.6日、同じく府中コロニーでは7.4日であり、その差は1.9日か

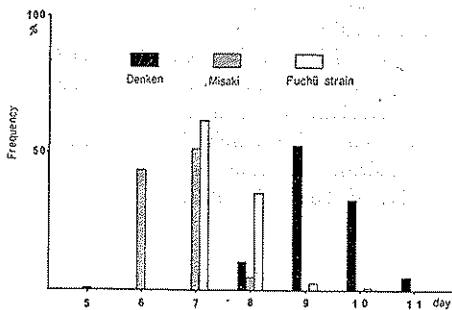


Fig. 4 Comparison of the egg-larval period of three strains of houseflies. Breeding condition: Room temperature; 25±1°C, Relative humidity; 60~70%, Photoperiod; 16 hrs.

ら2.7日であった。

これらを Table 2 に示した結果と対照して考慮すると、伝研コロニーにおける幼虫の供試時日令ごとの IC-50 値の増大は、三崎コロニーに比べてほぼ2日間ほど遅れていることがわかる。これは、伝研コロニーと三崎コロニーの幼虫期間の差とほぼ符合している。

殺虫剤抵抗性と対象昆虫の幼虫期間との関連については、武衛 (1963, 1964)^{9,10}、林ら (1968)¹¹などの報告があり、それらによれば γ -BHC や p, p'-DDT に対する抵抗性をめやすとした場合、抵抗性のレベルが高いほど発育所要日数が長くなり、pyrethroids の場合にはそれとは逆の現象が認められている。

しかし、今回の結果からは、むしろ、供試したイエバエの幼虫期間が短い場合、摂食毒として作用する本剤は、その摂取量が少なくなり、とくに影響を受けるものと考えられた。

このことは、若令時から本剤を摂食させたときに、コロニー間の IC-50 値の差が小さいことからもうかがえる。

2. piperonylbutoxide の共力効果について

Georghiou (1977)¹³は piperonylbutoxide が diflubenzuron に対して著しい共力作用をもつことを報告しているが、今回著者は有機燐剤に抵抗性をもつイエバエの2つのコロニーについてその共力効果を調べた。その結果を Fig. 5 に示したが、三崎コロニー、府中コロニーのいずれにおいても、diflubenzuron に対して5倍量の piperonylbutoxide の添加による共力効果はほとん

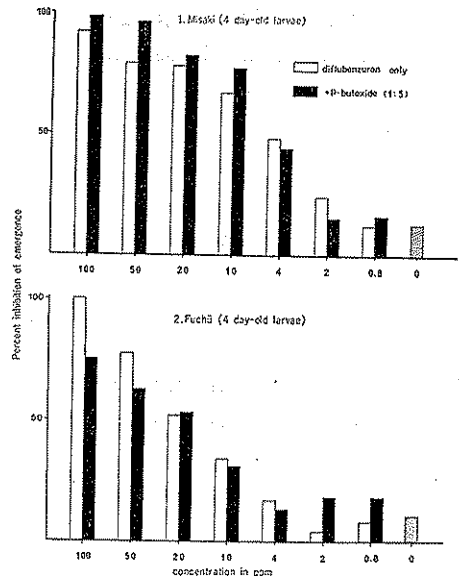


Fig. 5 Synergism to diflubenzuron of P. butoxide

ど認められなかった。

ま と め

昆虫生長制御物質 diflubenzuron のイエバエ幼虫に対する羽化阻害効果を、有機燐系殺虫剤に感受性の集団と抵抗性の集団を用いて、室内実験によって検討し、以下の結果を得た。

1. イエバエ幼虫に対する羽化阻害効果は、有機燐系殺虫剤に感受性のコロニーと抵抗性のコロニーとの間において顕著な差が認められ、イエバエ幼虫の供試時の日令によっても大きな差が認められた。コロニー間の効力の差は幼虫の供試時日令が進むにつれて大きくなっていった。

2. 各コロニーの幼虫期間を調べたところ、有機燐剤に抵抗性を示すコロニーは、有機燐剤感受性コロニーよりも幼虫期間が明らかに短かった。このことは diflubenzuron のようにその作用機作が主として経口によるものでは、幼虫の発育期間の長さによって、その摂取量が大きく影響を受けるものと考えられた。これらのことから、今回供試したイエバエ集団においては、幼虫の発育期間の差がコロニー間の IC-50値の差、および幼虫の摂食期間の差が幼虫の異なった日令間の IC-50値の差となつてあらわれたものと考えられた。

なお、diflubenzuron に対する抵抗性については、その作用機作の解明も含めてさらに検討を加える必要がある。

3. piperonylbutoxide の diflubenzuron に対する共力効果を、有機燐剤に抵抗性を示す2つのコロニーを用いて調べた。その結果、diflubenzuron の5倍量の piperonylbutoxide の添加では、その共力効果は認められなかった。

稿を終るにあたり、御校閲の労をいただいた当部部长緒方一喜博士、および本研究をすすめるにあたり種々の御協力をいただいた当部水谷澄課長はじめ各位に厚く御礼申し上げます。

また、日頃御指導をいただいている横浜市立大学医学部寄生虫学教室大島智夫教授に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究は IGR 研究会の活動の一環として行われたものであり、検体、資料の提供をいただいた三共株式会社に対し深謝したい。

本稿の要旨は第30回日本衛生動物学会（長崎市、1978年4月）にて発表した。

引用文献

- 1) 島田篤夫, 小宮山素子, 水谷 澄, 緒方一喜:

表皮形成阻害物質 diflubenzuron に関する研究, 第2報, ハエ幼虫に対する羽化阻害効果について, 日環七所報, No. 4: 126~130, 1977.

- 2) Mulder, R. and M. J. Gijswijt: The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. *Pest. Sci.*, 4: 737~745, 1973.
- 3) Wellinga, K., R. Mulder and J. J. Van Dalen: Synthesis and laboratory evaluation of 1-(2,6-disubstituted benzoyl)-3-phenylureas, new class of insecticides. I. 1-(2,6-dichlorobenzoyl)-3-phenylureas. *Journ. Agric. Food Chem.*, 21: 348~354, 1973.
- 4) Cerf, D. C. and G. P. Georghiou: Cross-resistance to an inhibitor of chitin synthesis, TH 60-40, in insecticide-resistant strains of the house fly. *Journ. Agric. Food Chem* 22: 1145~1146, 1974.
- 5) Oppenooth, F. J. and Van Der Pas, L. J. T.: Cross-resistance to diflubenzuron in resistant strains of housefly, *Musca domestica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 21: 217~228, 1977.
- 6) 林 晃史, 廿日出正美, 森谷清樹: 神奈川県下におけるイエバエの殺虫剤感受性について, 防虫科学, 38: 35~40, 1973.
- 7) 武衛和雄, 岡部英夫: 昆虫発育制御物質 diflubenzuron のハエに対する効果, 防虫科学, 42: 176~180, 1977.
- 8) 島田篤夫, 緒方一喜: 幼若ホルモン様化合物 methoprene のイエバエ幼虫に対する基礎効力の検討, 衛生動物, 25: 279~284, 1974.
- 9) 武衛和雄: 殺虫剤抵抗性および感受性イエバエにおける生態学的な諸性質の比較, 防虫科学, 28: 98~103, 1963.
- 10) 武衛和雄, 福原義春: イエバエの幼虫期間の長さと殺虫剤感受性との関係について, 防虫科学, 29: 9~14, 1964.
- 11) 林 晃史, 池野直志: Pyrethroid 抵抗性および感受性系統イエバエにおける幼虫期間の長さについて, 衛生動物, 19: 204~206, 1968.
- 12) Georghiou, G. P.: The development and characteristic of resistance to new and novel chemicals, with emphasis on housefly and mosquitos. Abstract of seminar held at Univ. of Tokyo in 1977.

Summary

Laboratory evaluations on emergence inhibitory activity of diflubenzuron, the insect growth regulator, were carried out against housefly larvae, *Musca domestica vicina* Macquart, using a medium containing the toxicant.

The results of the emergence inhibitory activity tests using diflubenzuron, resulted in IC-50 values

being observed to vary greatly relating to the larval age and OP compound susceptibility of the houseflies tested.

IC-50 values of the Misaki strain, a resistant strain to OP compounds, ranged from 0.3 to 35 ppm in larval ages of 2 to 5 days, while those of the Denken strain, a susceptible strain to OP compounds, ranged from 0.11 to 3.4 ppm in larval ages of 2 to 6 days.

Observations made on the length of the egg-larval period showed that the periods of the

susceptible strain (Denken) were significantly longer than those of the resistant strains (Misaki and Fuchū). These results may suggest that the feeding amount of diflubenzuron acting as stomach poisons, causes the difference between the effectiveness against susceptible and resistant strains

In additional experiments, piperonylbutoxide was observed not to synergize the efficiency of diflubenzuron, in resistant strains to OP compounds.