

Methoprene とその製剤のイエバエおよび センチクバエに対する効力の検討

Studies on the effect of methoprene and its formulation against
the house fly and the flesh fly

島田 篤夫^{1),2)} 緒方 一喜¹⁾

Atsuo Shimada and Kazuki Ogata

著者らは前報(島田ら 1974)¹⁾において、幼若ホルモン様活性化化合物 methoprene のイエバエ幼虫に対する羽化阻害効力について検討し、イエバエ幼虫駆除剤として期待できることを確認した。

現在、わが国のイエバエについては、林(1979)²⁾の報告にみられるように、有機燐系殺虫剤に対する抵抗性が大きな問題になっており、発現場ではその対策に苦慮しているところである。

一方、センチクバエは、わが国における汲取式便池から発生する代表的なハエであるが、1978年におけるわが国の非水洗化人口が約60% (厚生省, 1980)³⁾という現状から、いまだ衛生害虫としての重要な地位を保っているものと考えられる。

今回著者らはこれらのハエ類に対する methoprene の羽化阻害効果を、とくに実用的な観点から検討したのでここに報告する。

供試昆虫

供試したハエ類はいずれも当研究室で累代飼育中の次のコロニーである。

イエバエ *Musca domestica*

伝研コロニー：1955年東京大学伝染病研究所(現医学研究所)構内で採集、有機燐系殺虫剤に抵抗性、有機燐系殺虫剤、ピレスロイド剤に対して感受性である。

三崎コロニー：1972年神奈川県三浦市で、林らによって採集、1975年に分与をうけたもの、有機燐系殺虫剤にきわめて高い抵抗性を示す。(林ら, 1973)⁴⁾

なお、三崎コロニーは Fig. 1 に示した実験のみに供試し、他はすべて伝研コロニーを供試した。

センチクバエ *Boettcherisca peregrina*

大宮コロニー：1963年埼玉県大宮市産、国立予防衛生研究所で飼育、1975年に分与をうけたもの。

イエバエ幼虫の飼育には、粉末飼料(オリエンタル酵母 K.K. 製造, MF)、ふすま、水を重量比 1:1:2 の割合で混合した培地を用いた。また、センチクバエの飼育には豚レバーを与えたが、試験の際には、魚粉、ふすま、水を重量比でそれぞれ 1:1:5 の割合で混合した培地を用いた。

いずれも飼育条件は、室温約 25°C 相対湿度 70~80%、照明時間を 16 時間とし、供試虫の発育時期をそろえるために、5~7 時間以内に産卵または産仔された個体群を用いた。

供試検体および実験方法

供試した検体は、アメリカの Zoecon 社で製造された methoprene (isopropyl 11-methoxy-3,7,11-trimethylidodeca-2,4-dienoate) の工業原体と、これを 10% 含有し炭末に吸着させた徐放型製剤 Altosid 10 F® である。また、対照検体として fenitrothion [0,0-dimethyl 0-(3-methyl-4-nitrophenyl) phosphorothioate] の工業原体を用いた。

効力評価のための試験法としては、次の 4 方法を用いた。

1) 微量滴下法

検体のアセトン溶液を、マイクロシリンジにより、1 頭あたり、蛹化後 24 時間以内のイエバエ蛹に 0.5 μ l、センチクバエ幼虫には 1.0 μ l ずつ滴下処理した。一葉量区について、イエバエ蛹で 100 頭、センチクバエ幼虫の場合には 60 頭を供試した。検体処理後の供試虫は、そのまま腰高シャーレに入れ、羽化が完了するまで 25°C

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, School of Medicine,
Yokohama City University

Table 1 Percent inhibition of emergence by topical application against house fly pupae

chemicals	dosage (μg/pupa)														
	1			0.1			0.01			0.001			0		
methoprene (technical)	100			86			16			7			13		
	a (1)	b (0)	c* (99)	(5)	(4)	(77)	(0)	(4)	(12)	(0)	(1)	(6)	(2)	(2.5)	(8.5)

*a-d indicate the score, which shows classification of effects on the pupa-adult transformation as follows :
a : abnormal adult, b ; incompletely emerged adult, c ; dead pupa, d: dead larva

Table 2 Effectiveness of methoprene against flesh fly larvae by two methods

test method	larval age (day)	concentration (ppm)						
		2	1	0.5	0.2	0.1	0.05	0
continuous dipping	5	0 a	0	0	0	0	0	0
		0 b	0	0	0	0	0	0
		100 c	95.0	93.3	96.7	50.0	10.0	5.0
		0 d	3.3	5.0	0	0	0	0
		total %	100	98.3	98.3	96.7	50.0	10.0
	6	0	0	0	3.3	8.3	0	0
		0	0	0	3.3	0	1.7	0
		100	100	93.3	41.7	31.7	6.7	3.3
		0	0	0	0	1.7	0	0
		total %	100	100	93.3	48.3	41.7	8.4
topical application	5			dosage (μg/larva)				
		0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125	0	
		1.7	0	1.7	3.3	0	0	
		3.3	0	6.7	1.7	0	0	
		93.3	86.7	41.6	1.7	1.7	1.7	
	0	0	0	0	0	0		
	total %	98.3	86.7	50.0	6.7	1.7	1.7	
	6			dosage (μg/larva)				
		1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0	
		0	0	1.7	3.3	4.0	0	
0		1.7	1.7	1.7	4.0	0		
100		93.3	85.0	60.0	20.0	0		
0	0	0	0	0	0			
total %	100	95.0	88.4	65.0	28.0	0		

の温度下に放置した。なお、対照区にはアセトンのみを滴下処理した。

2) 継続浸漬試験

検体の1% (W/V) エチルアルコール溶液に検体の1/2量の乳化剤 Tween 80 を加え、所定濃度になるよう水を加えて検体希釈液を調製した。この5 ml を直径9 cm 高さ6 cm の腰高シャーレに入れ、このなかに一定の日令の供試幼虫を30頭~50頭放した。その後温度25°C、湿度80%RH以上の環境下で、すべての個体が羽化するか、またはそれ以前に死亡する時点まで放置し、最終的な羽化の状況を観察した。

3) 培地混入試験

所定濃度の検体を含むように調製した培地50gに、所定数の供試幼虫を入れ、綿布のおおいをして供試虫の脱出をふせいだ。その後25°C、70%RHの環境下で、上記と同様の方法で観察した。培地の組成は前述のとおりである。

4) 準実地試験

培地混入試験に用いたものと同じ組成の培地を用い、日令の異なる幼虫を同時に入れた。一試験区あたりの培地の量は、イエバエ幼虫150頭に対して2kg、センチニクバエ幼虫150頭に対して7kgとした。検体の処理

は、実際場面におけると同様に、培地の表面にのみ希釈液を 2l/m² の割合で散布し、混合はしなかった。試験容器は、イエバエ幼虫には 2l 容のガラスビーカー、センチクバエ幼虫には直径 27~30 cm、深さ 30~40 cm のガラス容器とし、いずれも供試虫の脱出をふせぐため綿布で上部をおおった。なお、センチクバエの試験では、検体処理から 2 日後に培地表面中央部に蛹化場所として、プラスチック製の浅型容器に入れたふすまを置いた。

以上の 4 つの方法の試験はいずれも 2 回以上のくりかえしを行い、観察にあたっては、幼虫死、蛹死、羽化不完全、形態異常成虫の 4 段階において観察し、上記すべてを含めて正常な羽化がみられなかった個体の供試虫数に対する割合を求め、これを羽化阻害率とした。なお、

50% 羽化阻害薬量 (ID₅₀) または 50% 羽化阻害濃度 (IC₅₀) は、必要に応じて Abbott の式による補正を行った羽化阻害率をプロビットに変換し、薬量または濃度を対数にとってプロットし、これらの点を満足する回帰直線からよみとった。

実験結果

1. 微量滴下試験

イエバエ蛹およびセンチクバエ幼虫に対する結果を Table 1 および 2 に示した。すなわち、蛹化後 24 時間以内のイエバエ蛹に対して methoprene の ID₅₀ は 0.03 μg/pupa であった。また、センチクバエ幼虫では、産仔 5, 6 日目のものに対する methoprene の ID₅₀ はそれぞれ 0.05 μg, 0.09 μg/larva であった。

Table 3 Effectiveness of Altosid®10F* against housefly larvae by two test methods

test method	larval age(day)	concentration of AI (ppm)						
		0.4	0.2	0.1	0.05	0.025	0.0125	0
continuous dipping	5	1 a**	0	0	0	0	0	1
		7 b	3	0	1	2	1	3
		83 c	27	14	10	15	9	9
		2 d	1	6	5	2	2	4
total %		93	31	20	16	19	12	17
medium mixing	5	2.0	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	0
		0 a**	0	2	8	10	1	0
		0 b	0	0	14	7	0	0
		100 c	99	92	68	35	9	6
0 d	0	5	1	5	0	0	0	
total %		100	99	99	91	57	10	6

*contains 10% active ingredient (methoprene)

**a-d indicate the score, which shows classification of effects on the larval-adult transformation as follows : a ; abnormal adult, b ; incompletely emerged adult, c ; dead pupa, d ; dead larva

Table 4 Effectiveness of Altosid®10F against fleshfly larvae by two test methods

test method	larval age (day)	concentration of AI (ppm)						
		1.0	0.5	0.2	0.1	0.05	0.02	0
continuous dipping	6	0 a	1.7	0	0	0	0	0
		0 b	0	5	0	0	0	1.7
		100 c	90	48.3	33.3	8.3	5	1.7
		0 d	0	0	1.7	13.3	8.3	0
total %		100	91.7	53.3	35.0	21.7	13.3	3.3
medium mixing	6	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05	0	0
		0 a	0	0	0	0	0	0
		0 b	0	0	0	0	0	0
		65.6 c	57.5	2.5	5	2.5	17.5	0
0 d	0	0	0	0	0	0	0	
total %		65.6	57.5	2.5	5	2.5	17.5	0

2. 継続浸漬試験

所定濃度の検体を含む希釈液に供試虫を継続的に浸漬したときの結果を Table 2, 3, 4 に示す. イエバエ 5 日令幼虫に対して, methoprene 製剤 Altosid 10 F® を用いると, 有効成分濃度 0.4ppm で, 91.6% (Abbott 補正值, 以下対照区に羽化阻害があった場合にはすべて補正值で示す) の羽化阻害率が得られ, IC₅₀ は 0.25 ppm であった. 一方, センチクバエ幼虫では, methoprene 原体を用いたとき, その IC₅₀ は 0.1~0.2 ppm であり, Altosid 10® でもほぼ同程度であった. なお, この場合, 検体希釈液は 2~3 日で乾固した.

3. 培地混入試験

培地が所定濃度の検体を均一に含有するように調製して, これに供試虫を放した場合の結果を Table 3, 4 および Fig. 1, 2 に示した.

すなわち, Altosid 10 F® を用いたとき, イエバエ 5 日令幼虫に対して, 有効成分濃度 0.25 ppm で 90.4% の羽化阻害率が得られ, その IC₅₀ は 0.12 ppm であった. また, センチクバエ 6 日令幼虫での IC₅₀ は 0.45 ppm であった.

また, 有機燐剤に強い抵抗性を示す三崎コロニーに対する methoprene の羽化阻害効果を調べたところ, 有機燐剤に感受性の伝研コロニーとの間に, fenitrothion では数百倍もの差が認められたが, methoprene ではほとんど差が認められず, 高い羽化阻害効果が認められ

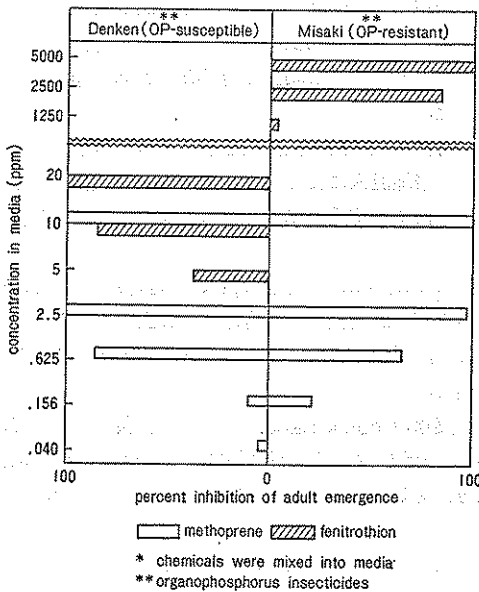


Fig. 1 Effectiveness of methoprene and fenitrothion against housefly larvae of two colonies

た.

次に, センチクバエ 6 日令幼虫を用いて, 幼虫が蛹化直前に培地から脱出できるようにした場合の methoprene による効力発現の差異を調べたところ, IC₅₀ の差はほぼ 7 倍であった.

4. 準実地試験

実際の発生源を想定したモデル実験を, 培地混入試験に用いたと同じ組成の培地を用いて行った. その結果を Fig. 3 に示す. この場合, 実際の幼虫集団を想定して, 種々の日令の幼虫集団を供試した. このとき, 検体有効成分の培地全量による希釈倍数が 27,000 倍になるように処理した試験区での羽化は, イエバエで無処理区を 100 とすると 5.7, 81,000 倍区で, 15.2 であった. また,

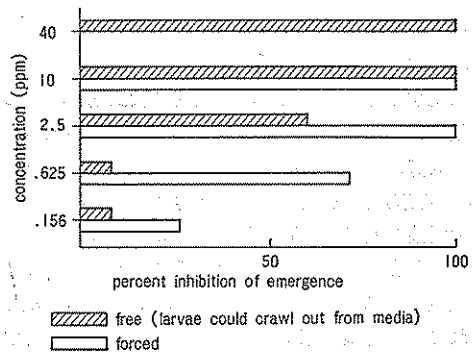


Fig. 2 Effectiveness of methoprene against fleshfly larvae (6 day-old) in the two conditions of testing media

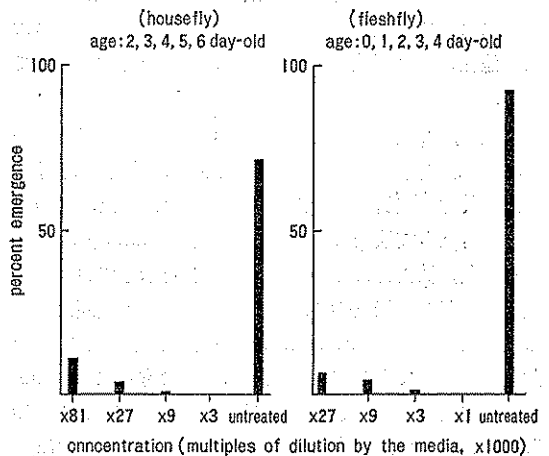


Fig. 3 Emergence of different age fly larvae introduced simultaneously to the larval media treated with Altosid 10 F

センチニクバエでは同様に 27,000 倍区で 7.2 であった。

考 察

著者らは前報(1974)¹⁾において methoprene がイエバエ幼虫に対して高い羽化阻害効力を有することを報告したが、今回用いたイエバエ蛹、センチニクバエ幼虫に対しても高い効果を示した。また、有機燐剤に抵抗性をもつイエバエ集団に対しても高い効果をもつことがわかった。また、methoprene の徐放型製剤である Altosid 10 F[®] についても原体同様高い羽化阻害効果をもつことがわかり、実用製剤として有用なものと考えられた。

効果の発現について詳細に観察をしたところ、羽化阻害はほとんど例外なく蛹での死亡が多く、このことは前報¹⁾で報告したとおりである。

イエバエ蛹期に処理した場合の ID₅₀ 値は、蛹化後 24 時間以内のものであったが、0.03 μg/pupa というのは注目に値するものといえる。一般的に殺虫剤は、蛹に対して処理されたとき効力が大きく落ちることが知られている(大滝, 1964)²⁾が、実用的に考えたときに methoprene の有効性を示唆するものと考えられる。

継続浸漬試験での Altosid 10[®] による IC₅₀ はイエバエ 5 日令幼虫で 0.25 ppm、センチニクバエ幼虫では原体、製剤ともに IC₅₀ が 0.1-0.2 ppm であった。現在上市されている有機燐剤でのセンチニクバエ幼虫に対する LC₅₀ は 2.9-80 ppm(殺虫剤指針解説 1978)³⁾であることから、培地混入試験での結果をもあわせて考えると、methoprene の有効性が評価できる。ハエ類幼虫に対する methoprene の羽化阻害効果については武衛ら(1979)⁴⁾によっても報告され、イエバエ、センチニクバエおよび他種のハエ類数種について高い効力を有するとしている。

有機燐剤に抵抗性をもつイエバエ集団に対しても methoprene は高い羽化阻害効果を発揮し、感受性集団との間に効力の差異はほとんど認められなかった。このことは、今回の実験結果だけからいえば、methoprene と有機燐剤の抵抗性に交差性がないことを示しており、有機燐剤に対して抵抗性を増大させたイエバエ集団に対する代替薬剤として methoprene の使用が可能であることを意味するものであろう。しかし、実験室内で methoprene に対して抵抗性の集団がつかられ(Cerf ら, 1972)⁵⁾、野外で抵抗性集団が発見され(Rupeš ら, 1976)⁶⁾た事実から、methoprene もまた抵抗性問題を回避できないものと考えられ、その実地適用には慎重を期す必要がある。

便池のように水分の多いところに発生するセンチニク

バエ幼虫は、蛹化直前に乾燥した場所へ脱出、移動する。この点に関して methoprene の羽化阻害効果への影響を調べたところ、強制的に検体に触れさせたとき、蛹化直前に幼虫が検体を含む培地から脱出できるようにしたときの IC₅₀ 値の差は約 7 倍、IC₁₀₀ では 4 倍の差を生じた。このことは、センチニクバエ幼虫への実地における適用のときに、発生源周囲への薬剤処理などの考慮を必要とするであろう。

次に、製剤 Altosid 10 F[®] を用い、実際条件を想定して行った実験では、イエバエ、センチニクバエともに高率に羽化が阻害されることがわかった。

ま と め

昆虫ホルモン様化合物 methoprene の工業原体と、それを 10% 含有する徐放型製剤 Altosid 10 F[®] のイエバエおよびセンチニクバエに対する羽化阻害効果を室内実験によって検討し、以下の結果を得た。

1 羽化阻害効果は、幼虫に処理したとき、多くの場合蛹の状態のままの死亡という形であられた。

2 蛹化後 24 時間以内のイエバエ蛹に対し、微量滴下法により methoprene 処理を行い、ID₅₀ 0.03 μg/pupa を得た。

3 Altosid 10 F[®] を用いた継続浸漬試験において、イエバエ 5 日令幼虫で IC₅₀ 0.25 ppm、センチニクバエ 6 日令幼虫で IC₅₀ 0.15 ppm が得られた。

4 培地に Altosid 10 F[®] を混合した試験において、イエバエ 5 日令幼虫での IC₅₀ は 0.12 ppm (AI)、センチニクバエ 6 日令幼虫での IC₅₀ は 0.45 ppm (AI) であった。

5 有機燐剤に強い抵抗性を示すイエバエ集団の幼虫に対し、培地混入によって methoprene を処理したところ、有機燐剤感受性集団と同等の羽化阻害効果が得られた。

6 methoprene を培地に混入する試験において、センチニクバエが蛹化のため培地から脱出できるようになったところ、脱出できない場合の IC₅₀ とほぼ 7 倍のひらきが出た。

7 実際の発生源を想定したモデル実験において、Altosid 10 F[®] は、イエバエ幼虫、センチニクバエ幼虫の双方に対して、高い羽化阻害効果が認められた。

本研究を行なうにあたり、種々ご協力いただいた田中生男博士はじめ当研究室の各位に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究は IRS 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大塚製薬

株式会社に対し深謝したい。

引用文献

- 1) 島田篤夫, 緒方一喜: 幼若ホルモン様活性化化合物 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.
- 2) 林晃史: 日本におけるイエバエの殺虫剤抵抗性の現状と対策, 動薬研究, 19: 5~14, 1979.
- 3) 日本廃棄物処理技術管理者協議会: 昭和55年度廃棄物処理技術管理者中央研究会資料集, 1980.
- 4) 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.
- 5) 大滝哲也: 土壌中のニクバエ蛹に対する殺虫剤の効果, 衛生動物, 15(2): 80~81, 1964.
- 6) 日本薬業新聞社: 殺虫剤指針解説, 328~445, 1978.
- 7) 武衛和雄, 仁木和義, 豊田正人: 幼若ホルモン類似体 methoprene のハエに対する効果, 日本農薬学会誌, 4: 481~485, 1979.
- 8) Cerf, D. C. and G. P. Georghiou: Evidence of cross-resistance to a juvenile hormone analogue in some insecticide-resistant houseflies. *Nature* 239: 401~402, 1972.
- 9) Rupēs, V., J. Zdárek, E. švandová and J. Pinerova: Cross-resistance to a juvenile hormone analogue in wild strains of the housefly. *Entomol. Exp. & Appl.*, 19: 57-64, 1976.

Summary

Inhibitory effects of methoprene and Altosid 10 F®, a juvenile hormone mimics and its slow-release formulation, on adult emergence of the house fly, *Musca domestica*, and the flesh fly, *Boettche-*

risca peregrina, were determined by laboratory tests and simulated field tests.

1) The larvae treated with test compounds resulted mostly in the death of the pupa.

2) When the specific amount of methoprene was applied topically to the house fly pupae within 24 hrs after pupation, the ID₅₀ value was calculated at approximately 0.03 μg/pupa.

3) Altosid 10F® was remarkably effective when the house fly, 5 day-old larvae, and the flesh fly, 6 day-old larvae, were placed on a water film containing the compound for 2-3 days. Then the IC₅₀ values were 0.25 ppm as an active ingredient (AI) in the house fly larvae and 0.15 ppm as AI in the flesh fly larvae, respectively.

4) The IC₅₀ values when fly larvae were kept continuously in the larval media containing Altosid 10F® were calculated as approximately 0.12 ppm as AI in the 5 day-old larvae of the house fly and 0.45 ppm as AI in the 6 day-old larvae of the flesh fly.

The inhibitory effect of methoprene on adult emergence of the house fly larvae resistant to organophosphorus insecticides was nearly similar to that of the susceptible one.

5) Altosid 10F® was considerably effective against the house fly larvae and the flesh fly larvae in the simulated tests.

Thus, we concluded that methoprene had a high inhibitory activity on adult emergence against the flesh fly larvae as well as against the immature stage of the house fly, and Altosid 10F® was expected to allow to be used as new agent for fly control.