

(千葉大学学位申請論文)

殺虫剤の開発：ジュベノイド化合物、pyriproxyfenの  
農業害虫防除剤としての実用化研究

2006年1月

大 内 晴

# Development Of Insecticide : Study On The Synthetic Juvenoid, Pyriproxyfen, For Plant Protection

Haruka OOUCHI

In the present thesis, insecticidal activity of a photo-stable juvenoid, pyriproxyfen, was investigated for the purpose of developing a product effective in plant protection. Juvenoids in general have long been believed unsuitable for development as agricultural insecticides for herbivorous insect pest control because of their typical property of producing a so-called supernumerary larva, which damages crops much more than does a normal larva. However, the present study on pyriproxyfen demonstrated that the compound has potential to reduce an insect pest population when properly applied in a spray control operation to induce sterility in eggs and adult females of the target species. Further investigation of its chemosterilant activity resulted in the development of a visually attractive target consisting of a pyriproxyfen-impregnated roll-tape product that could substitute for conventional insecticide spray techniques. The new product produced a labour saving method particularly for whitefly control in commercial greenhouses. Specific findings are summarized as follows:

1. In developing pyriproxyfen as an insecticide, one should pay attention to its property of inhibiting normal insect development rather than the simple lethality of a conventional insecticide. The spray test against the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci*, suggested that effective spray timing was specific and narrow and that pyriproxyfen should be applied preventively as an ovicide. Bearing in mind the above suggestions, its activity was investigated in detail to evaluate its ability to disrupt development and reproduction in the tsetse fly, *Glossina morsitans*, a pest both in veterinary and public health sectors.
2. To understand the basic properties of the synthetic juvenoid, a relationship was investigated between the fate of incorporated pyriproxyfen and its sterilization activity in adult females of *G. morsitans* and *Rhodnius prolixus* using  $^{14}\text{C}$ —pyriproxyfen. Results suggested strongly that the intact compound induced arrested development of *Glossina* pupae and *Rhodnius* eggs. In addition, it was demonstrated that such inhibition of egg development also occurred in a herbivorous lepidopteran insect, the diamondbacked moth, *Plutella xylostella*, which is an important agricultural pest. The finding is in contrast to a previous belief that such effects of pyriproxyfen might be restricted to blood-sucking insects.
3. The above basic findings led consequently to the conclusion that preventive spraying of the juvenoid was feasible in terms of an integrated pest control programme for control of the whitefly, *B. tabaci*, in cotton cultivation. The findings led to an evaluation of induced sterility in eggs produced from mated adults of *P. xylostella* that made contact with pyriproxyfen-impregnated roll-tape. Results suggested that pyriproxyfen, if taken up by adults and eggs exposed by contact with an appropriately treated surface, should provide effective control of the *P. xylostella* in greenhouse horticulture.

## 目次

第1章 序説	1
第2章 数種の農業害虫に対するpyriproxyfenの慣行散布方法による効果	5
第1節 緒言	5
第2節 試験方法および対象	5
第3節 結果および考察	7
第3章 棉害虫、タバココナジラミ、 <i>Bemisia tabaci</i> に対するpyriproxyfenの殺卵効果	11
第1節 緒言	11
第2節 試験材料および方法	11
第3節 結果および考察	11
第4章 人獣共通害虫、ツェツェバエ、 <i>Glossina morsitans morsitans</i> に対するpyriproxyfenの不妊効果	13
第1節 緒言	13
第2節 試験材料および方法	14
第3節 結果	15
第4節 考察	18
第5章 人獣共通害虫、ツェツェバエ、 <i>G. m. morsitans</i> が取り込む <sup>14</sup> C-pyriproxyfenの量と不妊効果	20
第1節 緒言	20
第2節 試験材料および方法	20
第3節 結果	22
第4節 考察	28
第6章 吸血性害虫、オオサシガメ、 <i>Rhodnius prolixus</i> における <sup>14</sup> C-pyriproxyfenの挙動と繁殖阻害	30
第1節 緒言	30
第2節 試験材料および方法	30
第3節 結果	32
第4節 考察	38
第7章 吸血性害虫、オオサシガメ、 <i>R. prolixus</i> とツェツェバエ、 <i>G. m. morsitans</i> の体内および害虫誘引の標的装置上におけるpyriproxyfenの残留性	40

第1節	緒言	40
第2節	試験材料および方法	40
第3節	結果および考察	42
第8章	鱗翅目害虫、コナガ、 <i>Plutella xylostella</i> の全発育ステージに対する pyriproxyfenの影響	45
第1節	緒言	45
第2節	試験材料および方法	46
第3節	結果	47
第4節	考察	50
第9章	棉作におけるタバココナジラミ、 <i>B. tabaci</i> の予防的防除法の検討	53
第1節	緒言	53
第2節	試験材料および方法	53
第3節	結果および考察	54
第10章	Pyriproxyfenによるオンシツコナジラミ、 <i>T. vaporariorum</i> の繁殖阻害効果 を目指した点処理による害虫防除法（ルアー）の検討	60
第1節	緒言	60
第2節	試験材料および方法	60
第3節	結果および考察	62
第11章	Pyriproxyfenによるコナガ、 <i>P. xylostella</i> の繁殖阻害効果を目指した点処理 法（ルアー）の予備検討	66
第1節	緒言	66
第2節	試験材料および方法	66
第3節	結果	69
第4節	考察	76
第12章	総合考察	78
	摘要	87
	謝辞	91
	引用文献	93

1. 本文中の表タイトル目次

1) Table 2-1. Effect of pyriproxyfen (S-71639) on the greenhouse whitefly, <i>T. vaporariorum</i> infested on egg plant . . . . .	7
2) Table 3-1. Inhibition of pyriproxyfen on egg hatch of the cotton whitefly, <i>B. tabasi</i> oviposited in clip-on leaf cage . . . . .	12
3) Table 4-1. Percentage distribution of developmental stages reached by puparia dosed with test chemicals when 0-1 day old. Assessment made 9 days after the expected normal emergence . . . . .	15
4) Table 4-2. Percentage distribution of developmental stages reached by puparia dosed with test chemicals when 2-4 days old. Assessment made 9 days after the expected normal emergence . . . . .	15
5) Table 4-3. Percentage theoretical and actual stages of development reached by puparia produced by <i>G. m. morsitans</i> females treated on day 1 or day 7 of the second reproductive cycle with S21149 or S31183, pyriproxyfen (data for doses between 2 and 50 µg pooled) . . . . .	16
6) Table 4-4. Percentage distribution of developmental stages achieved by offsprings produced at different intervals after treating parental females with 2 µg of test compound on day 1 of second reproductive cycle . . . . .	17
7) Table 4-5. Survival and fertility of <i>G. m. morsitans</i> males dosed with 20 µg test compound on day 4 of adult life. Each male mated to normal 13-day-old virgin female first on day 9 and again on day 18 of life . . . . .	17
8) Table 4-6. Percentage distribution of developmental stages reached by offspring collected over 45 days from normal females mated to males treated with 20 µg test compound either 1 or 10 days . . . . .	18
9) Table 5-1. Mean percentage distribution ( $\pm$ SEM) of radioactivity at intervals after topical administration of $^{14}\text{C}$ -labelled S-31183, in either acetone or rape seed oil, to the ventral abdomen of adult <i>G. m. morsitans</i> females on day 1 of their second reproductive cycle. n=4 (0=4h post-treatment) . . . . .	23

- 10) Table 5-2. Regression of amounts S-31183 detected in larvae upon amounts administered topically in oil to parent females at the start of their second reproductive cycle . . . . . 24
- 11) Table 5-3. Estimates of amounts of S-31183 (ng  $\pm$  SEM) picked up by female *G. m. morsitans* following exposure by tarsal contact to oil-formulated  $^{14}\text{C}$ —labelled S-31183 on black cotton cloth and amounts transferred when mated immediately after such exposure . . . . . 26
- 12) Table 6-1. Effect of topical doses of pyriproxyfen or S-methoprene in 1  $\mu\text{l}$  acetone per insect on metamorphosis of 5<sup>th</sup> instar larvae of *R. prolixus* . . . . . 33
- 13) Table 6-2. Percent viability of eggs produced by adult females of *R. prolixus* treated with pyriproxyfen or S-methoprene in their 5<sup>th</sup> instar. Numbers in brackets are number of observed . . . . . 34
- 14) Table 6-3. Viability of eggs of *R. prolixus* treated 24-48 hours after oviposition with pyriproxyfen dissolved in acetone. . . . . 34
- 15) Table 6-4. Incorporation of radiolabel (disintegrations per minute) into different parts of the body of *R. prolixus* adults, following topical dose of 10  $\mu\text{g}$  pyriproxyfen containing  $5 \times 10^5$  dpm  $^{14}\text{C}$ —pyriproxyfen per adult female. Figures in brackets are percentages of total radioactivity administered . . . . . 35
- 16) Table 6-5. Distribution of radiolabel among different tissues during 10 days following topical application of  $^{14}\text{C}$ —pyriproxyfen to adult females of *R. prolixus* . . . . 36
- 17) Table 6-6. Percentage viability of eggs produced by the adult females of *R. prolixus* exposed alternately to filter paper perches treated with 0.15 mg pyriproxyfen and 3.5  $\mu\text{l}$  oil (Cereclor S45)  $\text{cm}^{-2}$  and to untreated filter papers. Alternate egg collections were made from treated and untreated filter papers to demonstrate any effects of direct contamination of eggs after oviposition . . . . . 38
- 18) Table 7-1. The fate of pyriproxyfen in adults and eggs of *R. prolixus* after treatment of adult females topically with 1  $\mu\text{l}$  acetone containing 10  $\mu\text{g}$  pyriproxyfen and  $3 \times 10^5$  dpm radiolabelled pyriproxyfen before placing with males . . . . . 43

19) Table 7-2 . The fate of pyriproxyfen in adults and puparia of <i>G. m. morsitans</i> after treatment of adult females topically with 1 µl acetone containing 10 µg pyriproxyfen and 2×10 <sup>5</sup> dpm radiolabelled pyriproxyfen . . . . .	44
20) Table 8-1. Viability of <i>P. xylostella</i> eggs of different ages treated with pyriproxyfen (n=5) . . . . .	48
21) Table 8-2. Dose response data for eggs of <i>P. xylostella</i> treated with pyriproxyfen (n=3) . . . . .	48
22) Table 8-3. Effect of pyriproxyfen treatment on 3rd instar larvae of <i>P. xylostella</i> (n=3) . . . . .	48
23) Table 8-4. Effect of pyriproxyfen treatment on final instar larvae of <i>P. xylostella</i> (n=2) . . . . .	49
24) Table 8-5. Effect of pyriproxyfen treatment on pupae of <i>P. xylostella</i> (n=3) . . . . .	49
25) Table 8-6. Percent eclosion of eggs produced between 1 and 5 days following exposure of adult <i>P. xylostella</i> to an aluminium surface treated with pyriproxyfen in acetone or in acetone : canola oil (n=4) . . . . .	50
26) Table 10-1. Numbers of adult <i>T. vaporariorum</i> per bean plant per cylindrical plastic cage in the laboratory . . . . .	62
27) Table 11-1. Mean numbers of eggs produced by couples of <i>P. xylostella</i> in which one mate was treated topically with 10 µg of pyriproxyfen (five replicates) . . . . .	69
28) Table 11-2. Egg and larval mortality of <i>P. xylostella</i> following treatment of eggs on cabbage leaf by dipping in EC solution of pyriproxyfen less than 24 hours after oviposition <sup>a</sup> (n=3) . . . . .	69
29) Table 11-3. Mean egg numbers (±SE) per female and percent mortality recorded daily after exposure by tarsal contact of male and/or female adult <i>P. xylostella</i> to yellow tape coated with pyriproxyfen (Lano <sup>®</sup> ) within 24 hour following eclosion (n=5) . . . . .	70

30) Table 11-4. Daily egg production and percent egg mortality following tarsal exposure to yellow tape (Lano<sup>®</sup>, see text) of female adult *P. xylostella* at different times following eclosion (n=5) . . . . . 72

## 2. 本文中の図タイトル目次

- 1) 図1. Chemical Structure of Insect Growth Regulator (IGR) —Common name (product name), chemical name and structure— . . . . . 3
- 2) Fig. 2-1. Numbers of living aphid, *A. gossipii* infested on cucumber post treatment of pyriproxyfen (S-71639). . . . . 8
- 3) Fig. 2-2. Effect of pyriproxyfen (S-71639) on the pear psylla, *P. piri* infested on pear trees. . . . . 9
- 4) Fig. 2-3. Life cycle of the pear psylla, *P. piri* in Italy. . . . . 9
- 5) Fig. 5-1. Average viability of offspring produced over 90 days following topical treatment or injection of pregnant female *G. m. morsitans* with 0.2 $\mu$ l vegetable oil containing different amounts of the juvenile hormone mimic S-31183. . . . . 22
- 6) Fig. 5-2. Average viability offspring produced over 90 days by female *G. m. morsitans* exposed at 30°C for up to 10 min by tarsal contact to filter paper treated with 0.1mg S-31183 in 5 $\mu$ l vegetable oil cm<sup>-2</sup>. Line draw by eye. . . . . 27
- 7) Fig. 5-3. Effect of age of oil formulation of S-31183 on average viability of offspring produced over 90days by female *G. m. morsitans* following exposure by tarsal contact for 5 min at 30°C to treated filter paper described in Fig. 5-2. Line draw by eye. . . . . 27
- 8) Fig. 5-4. Effect of age of oil formulation of S-31183 on the viability of offspring produced in each reproductive cycle following exposure of females by tarsal contact to treated filter paper described in Fig. 5-3. . . . . 27
- 9) Fig. 6-1. Relationship between pyriproxyfen content (▲) of individual eggs of *R. prolixus* and their viability (●) at intervals after treatment of adult females topically with 10  $\mu$ g active ingredient. . . . . 37
- 10) Fig. 8-1. Average number of eggs produced per adult female of *P. xylostella* exposed for 1 hour to different formulations of pyriproxyfen on aluminium foil at the rate of 0.04 mg a.i./cm<sup>2</sup> (n=4). . . . . 50

11) Fig. 9-1. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the adult of <i>B. tabaci</i> in cotton (Operational trial in Sudan, 1986). . . . .	55
12) Fig. 9-2. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the nymph of <i>B. tabaci</i> in cotton (Operational trial in Sudan, 1986). . . . .	55
13) Fig. 9-3. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the egg of <i>B. tabaci</i> in cotton (Operational trial in Sudan, 1986). . . . .	56
14) Fig. 9-4. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the adult of <i>B. tabaci</i> in cotton (Operational trial in Turkey, 1986). . . . .	57
15) Fig. 9-5. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the larva and pupa of <i>B. tabaci</i> in cotton (Operational trial in Turkey, 1986). . . . .	57
16) Fig. 9-6. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) at 200g ai/ha on the larvae of <i>B. tabaci</i> in cotton in Sudan (Operation-1, 1987). . . . .	58
17) Fig. 9-7. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) at 200g ai/ha on the larvae of <i>B. tabaci</i> in cotton in Sudan (Operation-2, 1987). . . . .	58
18) Fig. 9-8. IPM—IRM programme for the cotton whitefly, <i>B. tabaci</i> and other major cotton pests in Israeli cotton, 1993 (modified after Horowitz et. al., 1994) . . . .	59
19) Fig. 10-1. Mean number/leaf (2cm×2cm) of eggs of <i>T. vaporariorum</i> . . . . .	63
20) Fig. 10-2. Mean number/leaf (2cm×2cm) of larvae of <i>T. vaporariorum</i> . . . . .	63
21) Fig. 10-3. Mean number/leaf (2cm×2cm) of adults of <i>T. vaporariorum</i> . . . . .	64
22) Fig. 11-1. Total numbers of eggs ( $\pm$ SE) produced by <i>P. xylostella</i> adult females exposed by tarsal contact for 10 min to pyriproxyfen treated yellow tape (n=5). . . .	71
23) Fig. 11-2. Larva of <i>P. xylostella</i> showing disruption of eclosion within an egg laid by a female 4 days after exposure for 10 min to pyriproxyfen treated yellow tape (photographed 8 days after oviposition, size; x100, Scale; @=10 $\mu$ m). . . . .	71

- 24) Fig. 11-3 Effect on egg production and percentage eclosion following exposure by tarsal contact for 1 hour of adult female *P. xylostella* to various concentrations of pyriproxyfen in canola oil/acetone (1 : 50 v/v) on aluminium foil (n=4). . . . . 73
- 25) Fig. 11-4. Effect on egg production and percentage eclosion following exposure by tarsal contact of adult female *P. xylostella* for different times to 0.04 mg/cm<sup>2</sup> pyriproxyfen in canola oil/acetone (1 : 50 v/v) on aluminium foil (n=4). . . . . 74
- 26) Fig. 11-5. Effect on egg production and percentage eclosion following exposure by tarsal contact for 1 hour of adult female *P. xylostella* to pyriproxyfen in different oil formulations on aluminium foil at a concentration of 0.04 mg/cm<sup>2</sup>. (n=4). . . . . 75
- 27) Fig. 12-1. Comparison of three-dimensional structures of insect growth regulators, JH-III with synthetic juvenoids, pyriproxyfen and methoprene. . . . . 81
- 28) Fig. 12-2. Pyrethroid impregnated Franking Target (Photographed in Kenya). . . . . 83

## 第1章 序説

スイスで初めて、DDTが殺虫効果を示すとの再発見があったのは1939年、第二次世界大戦中のことであった (Müller, 1948)。この発明によって合成化学農薬である第二世代殺虫剤の夜明けをみたと言えよう。戦前から、第一世代殺虫剤と総称される石灰硫黄合剤やヒ酸鉛のような無機化合物あるいはピレトリンやロテノンのような天然物などが実用化されていた。このDDTの発明以来、幾多の合成化学農薬が発明され、伴って農薬防除技術が普及し戦後の食糧増産と安定供給に大きく寄与してきたことは疑いがない。一方で問題が無かったわけではなかった。日本における戦後のパラチオンの導入に代表されるように当時の稲作害虫防除目的の殺虫剤は人畜に対する急性毒性が高く、誤用による人身事故またDDTやBHCに代表される塩素系農薬の高い残留性などが問題視されていた (梅津, 2003)。

その後、1950年代、有機リン化合物、fenitrothionが、1980年代には合成ピレスロイド化合物、fenvalerateやfenpropathrin等が発明された。その後もこうした低毒性かつ速効性にすぐれ、効力範囲が広い化合物の開発が中心に行われ、第二世代殺虫剤として一時代を画してきた。こうした安価で優れた殺虫剤も、多用、連用による抵抗性の問題、或いは標的害虫以外の生物、天敵生物への影響が問題視され人々の経済生活が豊かになるにつれ、開発する農薬に対し環境への影響などが厳しく問われるようになる。このような社会背景もあり、総合的防除などの観点からも選択性が高くこれまでとは全く異なる第三世代殺虫剤の創製が課題となった (板谷, 1987)。

当時、すでに昆虫の脱皮、変態に関わる昆虫ホルモンである幼若ホルモン (JH) と脱皮ホルモンの活性が注目され、選択性の高い安全な殺虫剤、昆虫発育調節剤、Insect Growth Regulator (IGR) として第三世代の殺虫剤になり得ると早くから有望視されていた。Williams (1956, 1967) は油状物質として抽出したJHが昆虫特有の物質であることに着目し、活性が昆虫に特異的であることから抵抗性が発達しない害虫防除剤になり得ると示唆していた。JHが脂溶性であり、従来どおりの散布方法によっても昆虫の皮膚浸透性が期待できるとして合成化学の観点から、IGR剤における昆虫ホルモンへの関心は自ずとJHに集中しやすかった。脱皮ホルモンが水溶性であることを考えれば当然の成り行きと言えよう。

JHの単離構造決定 (Roller et al., 1967)、Bowers (1969) の合成に始まった初期のJH類縁体 (ジュベノイド) の研究により多くの化合物が合成された。その結果、JHと同じようなテルペノイド構造をもつmethopreneが合成され、衛生害虫に対して開発され使用されるに至った (亀井, 1983; 波多腰・中山, 1987; Hirano et al., 1998)。しかし、初期の合成JHと同様に光安定性が低いため野外における農業害虫防除剤としては不向きであった。このような背景もあったためか、合成ジュベノイド化合物がもつ二重結合、エポキサイド、エステルなどの構造的長にもとづく野外環境における化学的不安定性が、ジュベノイド化合物を農業用殺虫剤として開発することは困難であるとする世界的な潮流にあった (板谷, 1987; 広瀬, 1977; Hirano et al., 1998; Casida and

Quistad, 2004)。

その後、更に構造改変が進み、テルペノイドとは異なる Fenoxycarb が見出され半翅目害虫のキジラミやカイガラムシに有効と報告された (Dorn et al., 1981)。しかし、適用範囲が小さいためか理由は不明だがその後の市場における地位は極めて限定された状況にあり、取り分けわが国では農薬登録がなされていない。1980年代初頭より日本においても IGR に注目し、昆虫内分泌生理の学問的成果を基礎に新しい殺虫剤の創薬研究が始まり (Hirano et al., 1998)、1983年に初めて、活性が高くかつ光安定性が高い pyriproxyfen が合成された (Kishida et al., 1984)。実用化研究の上で、光安定性が低いという問題に加えジュベノイド活性が示す次のような共通の特性も開発の障害となっていた。即ち、1) 化合物ごとに害虫種の感受性が異なり、一般的に効力範囲が狭い、2) 遅効性で、特に幼虫加害型害虫の被害を許容しがたい。こうした認識が農業用殺虫剤としてのジュベノイドの有効性に疑いをもたらしした。特に pyriproxyfen も例外ではなく、ジュベノイドを処理した鱗翅目幼虫の過剰脱皮により幼虫個体が大きくなる。このことが作物に対する食害がより増すとの理解が支配的となり当該化合物の開発を一層困難にした。各種農業害虫に対しても活性を認めながらも現象把握の段階に留まるに過ぎなかった。

しかし、こうした現象把握の段階を打開し当該化合物、pyriproxyfen を農業用殺虫剤として開発し、散布剤のみならず更に、散布しなくても、張るだけで好いというテープ製剤の開発を行った。

本論文では開発研究の基盤となった主要研究及び著者が担った海外における実用化研究について述べる。

Pyriproxyfen と代表的な合成ジュベノイドの化学構造式を図1にまとめて示した。また、他の代表的な昆虫成長制御剤も分類的に併記した。

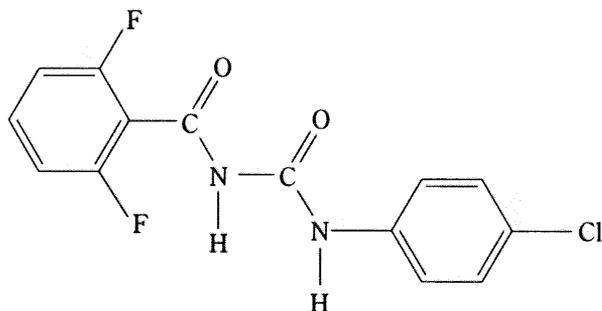
☒ 1 . Chemical Structure of Insect Growth Regulator (IGR)

—Common name (Product name), Chemical name and Structure—

1 · Chitin Synthesis Inhibitor

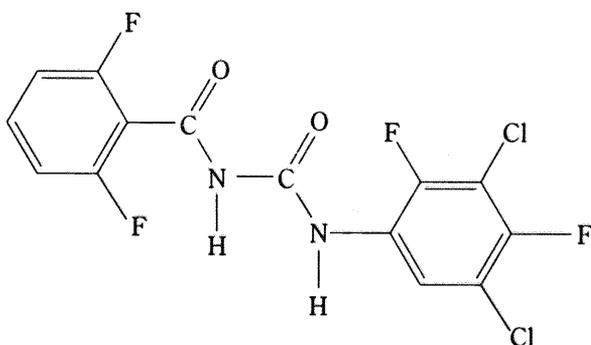
Diflubezuron ; 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea

(Dimilin)



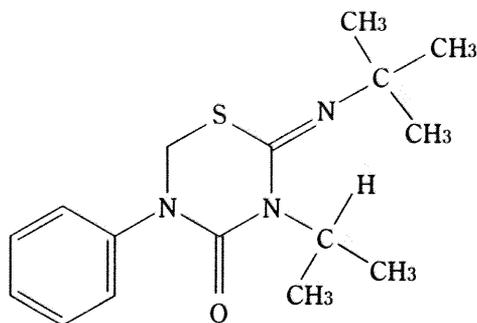
Teflubenzuron ; 1-(3,5-dichloro-2,4-difluorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea

(Nomolt)



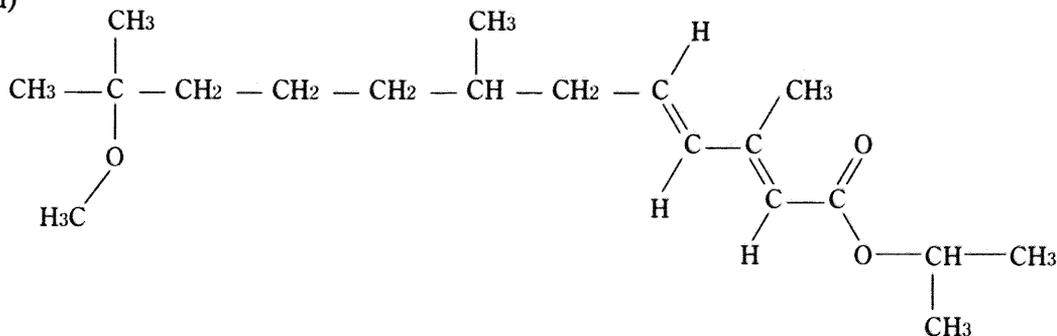
Buprofezin ; 2-*tert*-butylimino-3-isopropyl-5-phenyl-1,3,5-thiadiazinan-4-one

(Applaud)



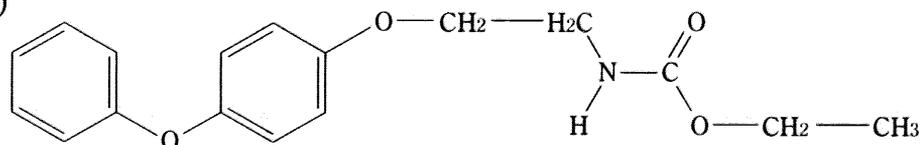
2 · Juvenoid (Juvenile Hormone Mimic or Analogue)

Methoprene ; isopropyl (*E,E*)-(*RS*)-11-methoxy-3,7,11-trimethyldodeca-2,4-dienoate  
(Altosid)



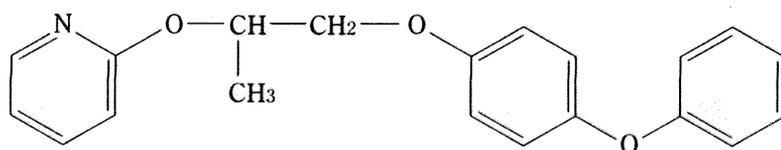
Fenoxycarb ; ethyl 2-(4-phenoxyphenoxy)ethylcarbamate

(Insegar)



Pyriproxyfen ; 4-phenoxyphenyl (*RS*)-2-(2-pyridyloxy)propyl ether

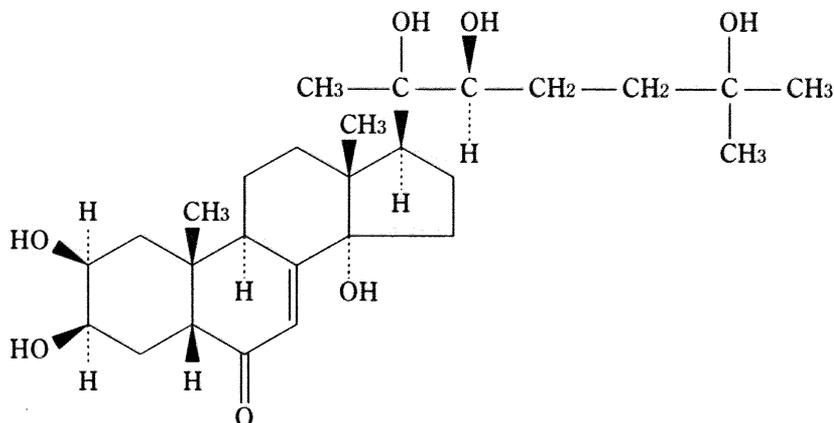
(Lano)



3 · Others

Moulting Hormone

Ecdysone ; (2 $\beta$ , 3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 22*R*)-2,3,14,20,22,25-hexahydroxycholest-7-en-6-one



NOTES ; There is no ISO common name for this substance; the name “ $\beta$  - ecdysone” has also been used.

## 第2章 数種の農業害虫に対するpyriproxyfenの慣行散布方法による効果

### 第1節 緒言

Pyriproxyfenが示すジュベノイド活性の発見後、昆虫内分泌学的観点による基礎研究（波多腰, 1990）と平行し、害虫防除手段としての開発検討が室内、あるいは準野外におけるスクリーニング規模で開始された。その間、蚊、ハエあるいはブユのように成虫の段階で人間に直接害を及ぼす、あるいはニューサンス（不快害虫）として害を及ぼす衛生害虫に対して開発の焦点があてられた。これら飛翔害虫の場合、その成虫羽化阻害活性に着目し、手段として適用すればよく、その実用化検討が鋭意進められていた（川田, 1990）。

一方、農業害虫においても昆虫特有の各種生理現象に対する阻害活性が認められた。特に国内における検討の結果、アブラムシ、コナガ、ハスモンヨトウなどの重要農業害虫にも活性が認められた（波多腰・中山, 1987；Oouchi, 1987）。しかし、評価態勢において、これら生理現象に対する阻害を念頭に置いてはいたが、具体的にBiorational（生物合目的）的なアプローチを採った訳ではなかった。当初は、言わばランダムスクリーニングの延長にあり、従来の殺虫剤開発手法にとらわれていたため、野外における散布試験の成績は芳しくなく農業用害虫防除剤として開発するには無理があった（住友化学技術月報, 1984）。本章では現象把握を目的として、現場の見取り試験、あるいは世に言うブッカケ試験に近く統計処理などによる結果解析は一部実施したに過ぎない。しかし、pyriproxyfenが示す活性と効果が比較的高かった以下3例（Oouchi, 1987）を示す。

### 第2節 試験方法および対象

野外試験— 1、温室におけるジュベノイド、S-71639乳剤のオンシツコナジラミに対する密度抑制効果

- 1、試験地および試験年；日本、1984年
- 2、試験方法；使用薬剤、S-71639（別コード番号S-31183）10% 乳剤；  
pyriproxyfen（住友化学工業株式会社）  
Fenprothrin5EC+Fenitrothion45EC；  
Fenprothrin-S 別名Danitol-S（住友化学工業株式会社）  
Methidathion 40EC；Supracide（日本農薬株式会社）

#### 3、対象

- 3-1、対象作物；ナス, 千両二号系統、50本/薬剤、ファイロンハウス栽培
- 3-2、対象害虫；オンシツコナジラミ、*Trialeurodes vaporariorum*

#### 4、施用方法

- 4-1、散布方法；手動式散布器
- 4-2、散布日；7月31日、1回散布
- 4-3、散布量；葉面から流れ落ちる程度 1反復

4-4、希釈薬量；結果の表に示す。

## 5、調査方法

処理のうちナスの上位葉にオンシツコナジラミの寄生が認められる30葉を抽出し、成虫数を数えた。以後、散布後経過日数に伴う密度変化を調査し、対照区と比較した。

## 野外試験-2、温室におけるジュベノイド、S-71639乳剤のワタアブラムシに対する散布効果

1、試験地および試験年；日本、1985年

2、試験方法；使用薬剤、S-71639 10%乳剤

Fenpropathrin 10EC；Danitol（住友化学工業株式会社）

S-71639 10EC+Fenpropathrin5EC（同上）

## 3、対象

3-1、対象作物；キュウリ、品種；不明、ファイロンハウス栽培

3-2、対象害虫；ワタアブラムシ、*Aphis gossypii*

## 4、施用方法

4-1、散布方法；背負式噴霧器

4-2、散布日；11月12、21日

4-3、散布量；5000L/ha、4反復

4-4、希釈濃度；結果の表に示す。

## 5、調査方法

処理各日数後の試験葉上のワタアブラムシ数を数え対照区と比較した。

## 野外試験-3、西洋ナシ園におけるジュベノイド、S-71639乳剤のナシキジラミに対する密度抑制効果

1、試験地および試験年；イタリア、1986年

2、試験方法；使用薬剤、S-71639 10%乳剤

Amitraz20EC（Quimica Esterella S.A.C.I.eI及びAtabay Agrochemicals & Veterinary Product A.S.）

Diflubenzuron 23.5WP（Dimiline；Uniroyal Chemical Co., Inc.）

## 3、対象

3-1、対象作物；西洋ナシ成木 品種；Abate fetel

3-2、対象害虫；ナシキジラミ、*Psylla piri*

## 4、施用方法

4-1、散布方法；動力噴霧

4-2、散布日；4月10日、6月9日

4-3、散布量；1000L/ha、4反復

4-4、希釈薬量；結果の表に示す。

## 5、調査方法

試験木の小枝10本あたりの幼虫数を記録し防除率を産出した。

尚、以上の試験には、pyriproxyfen以外、次の薬剤を用いた。特に断らない限り一部は次章以下、第9章でも共通に使用した。

Amitraz20EC (Quimica Esterella S.A.C.I.eI 及び Atabay Agrochemicals & Veterinary Product A.S.)

Diflubenzuron 23.5WP ; Dimiline (Uniroyal Chemical Co., Inc.)

Fenpropathrin10EC ; Danitol (住友化学工業株式会社)

Fenpropathrin5EC+Fenitrothion45EC ; Fenpropathrin-S (Danitol-S、同上)

Fenvalerate 20EC ; Sumicidine (同上)

Methidathion 40EC ; Supracide (日本農薬株式会社)

### 第3節 結果および考察

#### 第1項 オンシツコナジラミ、*T. vaporariorum* (半翅目害虫) (Table 2-1)

目視上、ナスの葉一葉あたり約5頭の成虫を認めたときを散布のタイミングとしたのであり、鱗翅目などの幼虫加害害虫が対象においては適切な散布タイミングであったと判断される。ここで用いた方法は殺虫剤散布の慣行方法であり、スクリーニング目的の観点からは、通常的判断と言える。Pyriproxyfen散布区は100ppmの高濃度にも関わらず二週間後においても成虫の数が減少しなかった。一方、対照に用いたfenpropathrin、supracideは散布4日後の観察において、密度抑制効果を発揮した。以上の結果からpyriproxyfenは防除効果がないように受けとめられた。

Table 2-1. Effect of pyriproxyfen (S-71639) on the greenhouse whitefly, *T. vaporariorum* infested on egg plant

Chemicals	Conc. (ppm)	Numbers of adult / leaves every 4-7days after treatment				
		7/31 ↓	8/3	8/7	8/11	8/18
Pyriproxyfen	100	157.8	163.5 <sup>a</sup>	114.1 <sup>a</sup>	112.6 <sup>a</sup>	27.4 <sup>a</sup>
Fenpropathrin-S	500	168.4	4.6 <sup>b</sup>	1.6 <sup>b</sup>	1.2 <sup>c</sup>	0.6 <sup>c</sup>
Supracide	400	150.9	1.4 <sup>b</sup>	0.9 <sup>b</sup>	3.6 <sup>c</sup>	0.7 <sup>c</sup>
control	—	140.3	204.2 <sup>a</sup>	121.3 <sup>a</sup>	29.3 <sup>b</sup>	4.5 <sup>b</sup>

↓ ; Spary date, a,b,c, ; significant at p = 0.05 (Duncun's mulitple range test)

しかし、この成虫発生密度であれば、既に卵が産み落とされていたに違いなく、合成JHの卵に対する孵化阻害を意識し、卵や仔虫の密度を調査するなら以後の成虫密度にも変化が現れ、異なった結論になったと思われる。特に、無処理区の成虫密度推移に着目すれば、8月11日、散布後11日目に急激に密度が減少した。統計処理上からも、5%の危険率で有意な差が認められていた。一方、無処理区における11日目以降の急激な密度

の降下は、寄生作物が枯れ始めた事が主因と考えられる。あるいは散布区それぞれはランダム配置ではなかったため、pyriproxyfen処理区よりの飛び込みも否定できない。試験区間相互の干渉、成虫の飛び込みの影響などを考察するなら、無処理区の急激な成虫数の減少にも意義を見出せたかもしれない。これ以上の論議は次章以降に譲る。

## 第2項 ワタアブラムシ、*A. gossypii*に対する防除効果

ワタアブラムシの発生を認めて以後、慣行法と同様の散布タイミングでpyriproxyfenを散布した場合、散布後7日目の観察では密度の低減効果が認められなかった(Fig. 2-1)。同時に散布した対照区の合成ピレスロイド、fenpropathrin (2回散布, 11月21日)が示した密度低減効果とは明らかに異なった。むしろ、pyriproxyfen区では合成ピレスロイドとの混合散布区を除くと、単独で散布した場合には密度が散布前の数倍に増加した。更に一回の追加散布を行い、2回(11月21日散布)としても散布直後の密度降下は認められず、試験後42日目まで実的に防除効果にほとんど変化がなかった。但し、傾向として、試験開始21日以降、fenpropathrin単独、あるいはpyriproxyfen合剤区において密度回復の兆候を示した。この密度回復傾向が、混合したpyriproxyfenの量と関係するのかは不明であった。

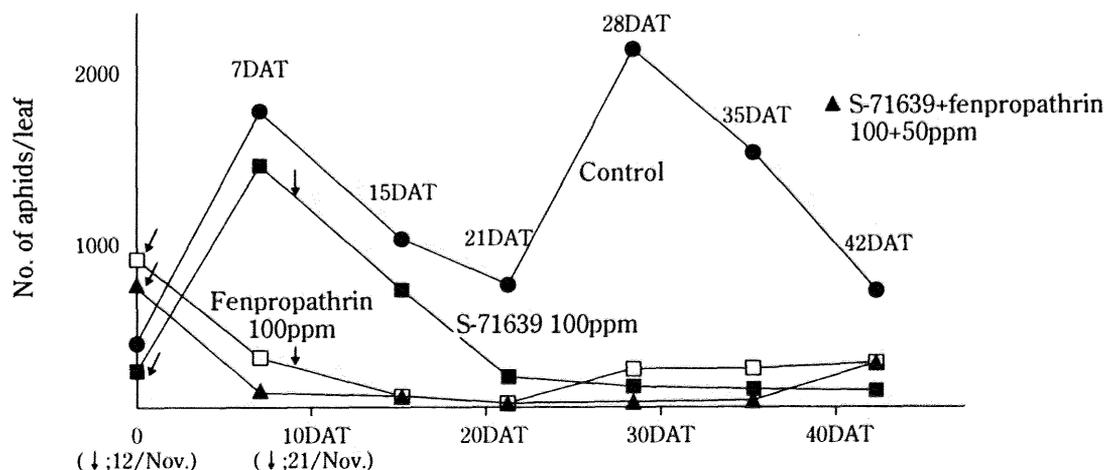


Fig. 2-1. Numbers of living aphid, *A. gossypii* infested on cucumber post treatment of pyriproxyfen (S-71639). ↓; Spray date, DAT; days after treatment

以上の結果はFig. 2-1のグラフが示すようにアブラムシの密度抑制状況が一目瞭然であった。合成ピレスロイドの散布により、散布直後密度が低下したことを考え合わせると、pyriproxyfenのジュベノイド活性が、表面は成虫に対する直接的な致死効果をもたらさないから密度増加は当然の結果と考えられた。しかし、よく観るとpyriproxyfen処理区では処理20日目以降に密度の抑制効果が認められた。

以上の結果はpyriproxyfenについて処理タイミングを考慮し直せば防除効果が上がるのではないかと示唆するものであった。

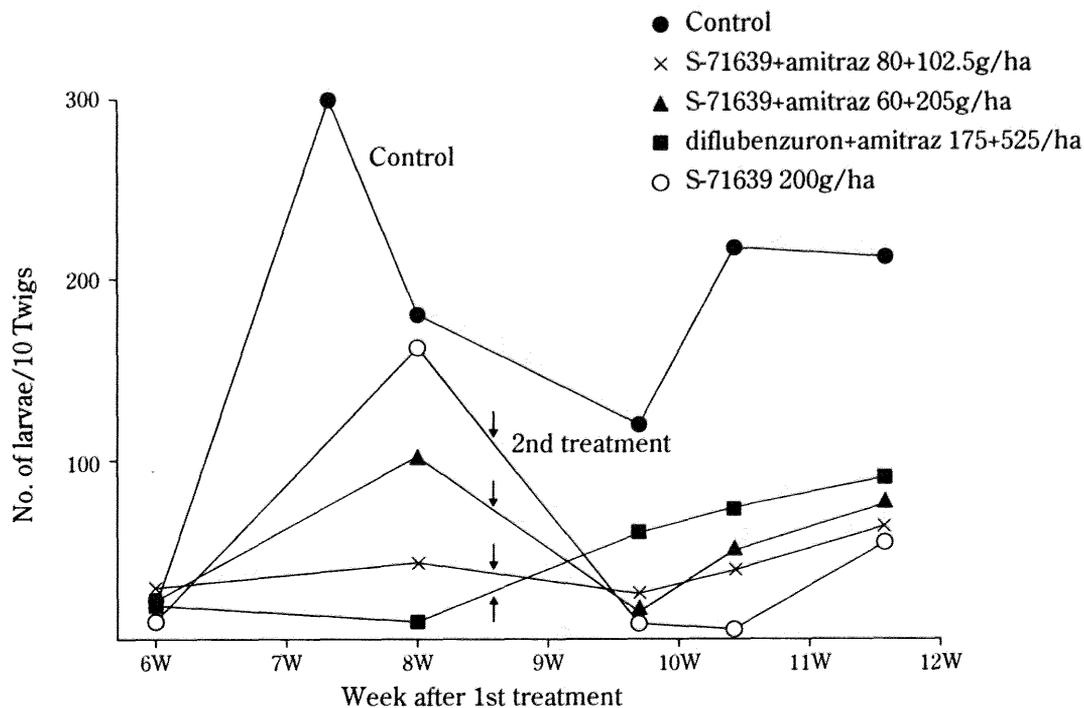


Fig. 2-2. Effect of pyriproxyfen (S-71639) on the pear psylla, *P. piri* infested on pear trees.

### 第3項 ナシキジラミ, *P. piri* (半翅目害虫) に対する防除効果

本試験では、移動性害虫とみなされるナシキジラミに着目した。本害虫は春の訪れとともに、近接する植生にて越冬する成虫が侵入する、あるいはポルトガル、スペインなどのヨーロッパ南部から飛来すると見られてヨーロッパでは重要害虫となっている。本害虫の生活史を模式的に示せば、イタリアではFig. 2-3のような概略の発消長を示す。三月初めには既に成虫の発生が記録され同時に産卵も開始されるのが通常で

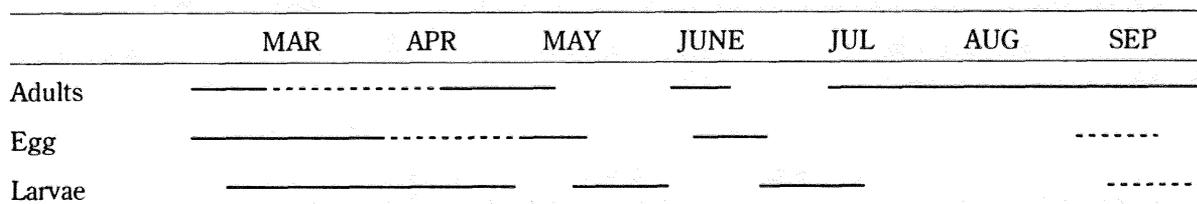


Fig. 2-3. Life cycle of the pear psylla, *P. piri* in Italy.

あり、pyriproxyfenの一般的なジュベノイドの活性を念頭に、このような発生初期に予防的に散布することで、どのような結果が観察されるか試みた。ただし、薬量を変えた以外は、慣行の散布時期に従ったものであり、その意図は漠然としたものであった。結果はFig. 2-2から明らかなように薬量反応も明確でなく、むしろ、pyriproxyfenあたりの有効成分80g/ha散布区と比較し、2倍以上の濃度、200g/haにおいて初回散布の7-8週目にかけて密度増加が著しくなるという結果も観察された。しかし、初回の散布から散布8週間後は急激に密度が下がり、第3節、2項で観察したワタアブラムシで

観た現象と似た傾向を示した。一方、amitrazとの合剤区では、pyriproxyfen単独区より密度回復が早い傾向を示した。原因としてpyriproxyfenの混合量を減らしたためと考えられる。

第3節、第2項のアブラムシに対する試験で観察されたように、Fig. 2-2からは、全体的にみれば慣行殺虫剤、amitrazとの混合散布区において密度抑制効果を認めた。9週目ごろまではその傾向が顕著であった。比較対照に散布したキチン合成阻害剤diflubenzuronとamitrazとの混合結果から推して、この効果はamitrazの高濃度施用に起因するとも思えた。しかし10週目以降はpyriproxyfen単独、200g/haのみが密度回復をよく抑制した。Amitraz単独散布区を設定していないから根拠はやや弱まるが、上記アブラムシとの結果と同様、実用防除の上からpyriproxyfenの繁殖阻害の寄与を示唆する興味深い結果であった。

以上のように、海外で実施した他の多くの試験においてもDose Finding Researchが、目的の大部分であったので、これらの結果からも一定した傾向の防除成績が得られなかった。

しかし、後に明らかとなったように、pyriproxyfenに曝されたナシキジラミ類 (*Cacopsylla pyricola* および *P. pyricolla*) の成虫に由来する卵が本化合物によって孵化が阻害される事実が報告されている (McMullen, 1990; Higbee et al., 1995)。これら報告の本化合物が示す孵化阻害効果とFig. 2-3のナシキジラミ (*P. piri*) の発発生消長を併せ考えると、pyriproxyfenの散布時期を慣行法の時期より前にずらす事が適切と思われる。つまり、3月頃の成虫発生が認められるその前後に予防的に散布し、pyriproxyfenに、直接あるいは間接的に卵を曝すことが散布タイミングの鍵となると示唆する。

### 第3章 棉害虫、タバココナジラミ、*Bemisia tabaci*に対するpyriproxyfenの殺卵効果

#### 第1節 緒言

前章、第1節におけるハウス内のスクリーニング試験結果ではオンシツコナジラミに対するpyriproxyfenの効果が明確でなかった。その原因には、実際場面における施用方法に、pyriproxyfenの種々の生理現象に対する阻害効果をどのようにして組み込むかという試験設計上の思想に明らかな欠落があった（Oouchi, 1987；Yamamoto and Kasamatsu, 1990）。しかし、前章の第2節及び第3節で観た処理後半における密度抑制効果の結果から、pyriproxyfenを適切に処理すればコナジラミ類に対しても密度抑制効果が期待されると思えた。この観点から、本項では、棉作における大害虫であるタバココナジラミ、*B. tabaci* (Trabooulsi, 1994) に注目し、pyriproxyfenによる昆虫の生理現象に対する種々の阻害効果のうち、この繁殖阻害効果に着目した。

以下に、処理タイミングを知るために予備検討を実施した結果について述べる。

#### 第2節 試験材料および方法

##### 1、供試昆虫

棉の葉を餌として飼育したタバココナジラミ、*B. tabaci* を用いた。飼育方法の詳細はMelamed-Madjar et al. (1984) によった。

##### 2、試験方法

温室におけるポット植えの棉の葉に、pyriproxyfen 10% を乳剤試験液としてAirless electric gunにて葉面から薬液が流れ落ちる程度に散布した。ただし、有効成分の濃度は10、50、100ppmの各々に調整した。その後、一定期間後、クリップで葉面下に留めた小ケージ区毎にメス成虫15頭を放飼して2日間処理葉面上に産卵させた。放飼産卵終了後に成虫を取り除いて廃棄し、実体顕微鏡下で観察、卵数を数えると共に孵化率を調査した。これを一定期間毎に繰り返し、散布後の残効性を調査し、無処理区（水のみ散布）と比較した。以上を6反復実施した。

#### 第3節 結果および考察

結果は、Table 3-1から次の五つに要約出来た；1) 成虫にはほとんど無影響（成虫は死なない）。2) 卵は生みつけられるが孵化しない。特に散布直後に放飼した成虫の産卵からは一頭も孵化しない。3) この傾向は濃度依存性が小さい。4) ただし、処理後の方が、産卵数が少ない傾向にある。5) しかし、処理後の日数が経つにつれ、卵の数も増し、幼虫、蛹へと成長が観られるようになる（Oouchi, 1987, Ascher and Eliyahu, 1988；波多腰ら, 1997）。

これらの結果は、pyriproxyfenを処理してから短期間内に成虫が処理面に接触するならば、pyriproxyfenが不妊（稔）効果（Sterile acitivity）を有していることを示しており、実際の棉作防除場面でタバココナジラミの被害が大きくなる前に予防的に処理すれば

Table 3-1. Inhibition of pyriproxyfen on egg hatch of the cotton whitefly, *B. tabaci* oviposited in clip-on leaf cage\*

Concentration ppm ai	Days after spraying	% Mortality of adult after 48 hrs	Average No. of eggs laid	Average No. of L3 nymphs & pupae developed from eggs (%)
Control	2	0	74.0	35.5
10	2	3.5	62.7	0
50	2	10.9	46.2	0
100	2	10.1	79.8	0
-----				
Control	16	0	202.2	132.2
10	16	4.1	176.2	96.0
50	16	0	213.8	56.0
100	16	0	164.7	0
-----				
Control	30	0	187.0	80.2
10	30	7.9	140.7	62.2
50	30	10.4	67.8	28.2
100	30	0	105.2	17.3

\*After the treatment, 15 female flies were released to oviposit for 2 days and counted numbers eggs and hatched larvae.

好いという pyriproxyfen の使用法を示唆するものであった。

その後引き続いた一連の試験において pyriproxyfen の残効性について検討した結果、この不妊（稔）効果が予想外に顕著であることが判明した（Ishaaya and Horowitz, 1992）。つまり、成虫を処理葉から48時間後に無処理の新鮮な棉の葉に移して産卵させた場合でも、二日間にわたってほぼ完全に孵化が阻害され、不稔効果を示した。更に以後6-8日後までその影響が認められ、8日後でも約50%の孵化阻害を示した。これは、植物表面に化合物が残存することによって示されるいわゆる殺虫効果の残効性に対し、害虫の繁殖阻害によって密度増加を抑制するという次元の異なる観点を提示するものであった。

## 第4章 人獣共通害虫、ツェツェバエ、*Glossina morsitans morsitans*に対するpyriproxifenの不妊効果

### 第1節 緒言

第2章および第3章で観てきた農作物を対象とした試行錯誤以外に、農業生産における適用範囲を探索する目的で人獣共通害虫であるツェツェバエ、tsetse flyに着目した。このハエは幼虫胎生で交尾後9-10日毎に約10回にわたって3齢幼虫を一頭ずつ、ほぼ定期的(Chronological)に産み落とすという変わった生理的特徴をもつ(Langley, 1977)。

家畜と人間とに共通である眠り病を媒介する吸血性のこのハエ対策に1984年当時、まだ残留性に問題が残る合成殺虫剤の空中散布が行われていた。序説に述べたと同様、アフリカ大陸といえども例外ではなく、こうした残留性や自然環境への影響が国際的にも問題化していた。特に援助国である欧州では関心が高くこうした影響の少ない方法の開発についてイギリス政府海外援助機構のODAおよびEEC(欧州経済機構)、IAEA(国際原子力機関)、FAO(国連農業機関)、WHO(世界保健機関)などの国際機関が資金援助も含め、ツェツェバエ防除の新しい方法について研究を推進していた(Jordan, 1985およびLangley, 1990)。現在、広域の航空散布が中止され、トラップ或いはターゲットと称される誘引装置が実用化されている。誘引源として色と牛の尿の臭いとを組み合わせている。特に後者は、通称フランキングターゲットと呼ばれ、ピレスロイド化合物を含浸させた網製で出来ている。大きさが、約1m×2mの直方体で網製のスクリーン装置に成虫を誘引し、ピレスロイドに接触させて殺虫、防除する方法が適用されるようになった(Vale et al., 1986; Vale et al., 1988)。

この装置への適用に、化学不妊剤としてthioziridine化合物、bisazirが有望視されていた。しかし、その急性毒性の強さ(LD<sub>50</sub>, 8.5mg/kg)と高い揮発性から実用上、野外で長期間不妊効果を継続させる装置への適用が難しいとの理由で開発が断念された。替りに、methopreneがツェツェバエの蛹の変態に影響を与え、成虫個体を羽化、致死させる異常な現象が確認された(Langley and Pimley, 1986)。この事から、幼虫胎生である本害虫の性質に着目し、子宮内の幼虫に対する影響と更に処理オス成虫からメスへのジュベノイド化合物の移行研究に関心がにわかに高まっていた(Langley et al., 1990a)。

本研究は、WHO本部、ジュネーブ、Div. Vector Biology & Control局が実施した新規薬剤の評価プログラムの中で、pyriproxifenがOMS-3019(Organization Mond de la Santé)として認識番号が付されたことが契機になった。その中で、人畜共通の重要害虫、ツェツェバエ対策剤の候補として関心が集まった。つまり、pyriproxifenが示すジュベノイドとしての種々の生理現象に対する阻害活性のうち顕著な特性である羽化阻害に着目し、英国ブリストル大学に併設されるTsetse Research Laboratory(TRL)においてpyriproxifenの種々の生理現象に対する阻害活性を評価した。

以下に述べる実験の要点は、pyriproxifenを処理した性的に成熟したオスとの交尾を

通じて無処理のメスが生んだ幼虫が蛹を経て発育が止まり成虫になりきらない（羽化阻害あるいは成虫化阻害）という重要な発見である。その意味は、害虫防除における応用技術開発の検討過程でpyriproxyfenについて、特殊な性的成熟生理を有するツェツェバエ（Langley, P. A., 1977）に対してpyriproxyfenが理想的な不妊（稔）効果（Sterile effect）を発揮する事実を初めて明らかにしたことにある（Langley et al., 1988）。

その後、このユニークな現象は他の害虫でも追認されている（Mulye and Gordon, 1989；Yokoyama and Miller, 1991；Ashcer and Eliyahu, 1988など）。

## 第2節 試験材料および方法

### 1、供試昆虫

豚の堵殺血液を吸血源として室内、25℃下で大量飼育したツェツェバエ、tsetse fly、*G. m. morsitans*の蛹と成虫を用いた。

Pyriproxyfen処理には蛹化後、1日以内または2-4日経過した蛹を用いて1週間飼育し、以後の解剖処理に供試した。羽化1週間後、性的に成熟した処理オス成虫を定期的な交尾試験に用いた。反対に、比較としてメスは羽化後2日目にpyriproxyfenを処理した処女成虫を用い、処理後に無処理の性成熟した正常オス成虫と交尾させた。

### 2、試験方法

#### 2-1、Pyriproxyfenの処理

Pyriproxyfenの所定量が得られるようにアセトンで薬液を調整し、供試虫1頭あたり1-2μlのアセトン溶液を処理した。成虫では腹部腹面に、蛹では外皮上の不特定部位に局所施用した。一方、処理対象薬剤には、S-methoprene (ZR312-0008, Zoecon社)、ジュベノイド系実験化合物、S-21149, propionaldoxime-o-4-phenoxy phenoxyether（住友化学工業株式会社）及び無処理対照区にはアセトンのみを施用した。尚、本稿では原著論文に従ってpyriproxyfenについて、S-31183のコード番号も用いる。

#### 2-2、処理虫の飼育

それぞれの薬量を施したメス成虫は以後45日間25℃下で飼育し、以後の生存率と受胎率を調査した。ただし、処理一時間後に給餌（血）用のシリコン膜を通じ刺口吸血させて処理虫それぞれ別々に餌を与えた。ただし、処理虫相互の接触を避けた。また場合により処理薬量の少ない順番に給餌し、処理虫相互間のpyriproxyfenによる汚染を回避した。

尚、pyriproxyfen処理の影響を受けた蛹は解剖し、各発育段階をBursell (1959) の記載方法に基づいて分類記録し、その段階に応じてpyriproxyfen処理の影響を受けた割合を求めた。ただし、本昆虫は蛹殻の内部で3齢および4齢幼虫が脱皮し、次のような特徴的発育段階が観察される。

それぞれの特徴を以下のようにローマ数字で対応させた各ステージを結果の表に示した。即ち、ステージI - 蛹殻内で3齢幼虫がapolysis\*を起こしていない静止状態、

Ⅱ－肛門部分のみがクチクラ化し、他の部分がまだ薄い膜に覆われたままの4齢幼虫、Ⅲ－成虫体に付属すべき各器官の原基が出芽し明瞭となった段階、さらに、Ⅲ<sub>1</sub>－前記段階で、かつ色素が未形成、Ⅲ<sub>2</sub>－複眼にのみ色素形成が認められる、Ⅲ<sub>2a</sub>－複眼が黄色に着色、Ⅲ<sub>2b</sub>－複眼が赤褐色に着色、Ⅲ<sub>3</sub>－複眼の色素形成が終わり、剛毛が認められる、Ⅲ<sub>4</sub>－外皮の色素形成がすすみ、初めに腹部背板で際立つ、Ⅲ<sub>4a</sub>－蛹殻の全体が湿潤、Ⅲ<sub>4b</sub>－キチン蛹殻の表面が乾燥し、その内側に新しい蛹が付着する状態、として表した。

\* Apolysis；キチン質蛹殻の内側に付着する薄膜が剥離する状態をいう。殻が物理的に破れるEcdysisとは区別される（Jenkin and Hinton, 1966）。

### 第3節 結果

#### 第1項 蛹に対する影響

蛹化1日以内に、蛹1頭あたり、0.2μgのpyriproxyfenを処理した場合、処理蛹からは

Table 4-1. Percentage distribution of developmental stages reached by puparia dosed with test chemicals when 0-1 day old. Assessment made 9 days after the expected normal emergence

Compound	Dose (μg)	Puparia (no.)	Developmental stage									Adults		
			Dead	I	II	Ⅲ <sub>1</sub>	Ⅲ <sub>2a</sub>	Ⅲ <sub>2b</sub>	3	4a	4b	Abn.	Norm.	
S21149	0.2	60	3							97	0	0	0	0
S31183	0.2	60	5							57	25	13	0	0
ZR312-008	0.2	60	8							0	0	0	43	48

Note : Abn. ; Abnormal, Norm. ; Normal

Table 4-2. Percentage distribution of developmental stages reached by puparia dosed with test chemicals when 2-4 days old. Assessment made 9 days after the expected normal emergence

Compound	Dose (μg)	Puparia (no.)	Developmental stage									Adults		
			Dead	I	II	Ⅲ <sub>1</sub>	Ⅲ <sub>2a</sub>	Ⅲ <sub>2b</sub>	3	4a	4b	Abn.	Norm.	
S21149	2	19	5							42	5	21	0	26
	0.2	19	5							68	0	16	0	10
	0.02	19	5							5	26	16	0	47
S31183	2	20	0							35	15	25	0	25
	0.2	24	0							21	12	21	21	25
	0.02	14	0							43	7	14	7	28
ZR312-008	2	20	0							10	30	60	0	0
	0.2	17	0							12	0	47	12	29
	0.02	19	0							0	5	26	0	68

全く成虫羽化が認められなかった (Table 4-1)。一方、2~4日経過した蛹に処理をした場合には、10倍量の2 $\mu$ gでも処理蛹の25%に正常な羽化成虫が認められた。しかしながら、0.02 $\mu$ gと10分の1の低薬量を処理した場合でも64%がStage III<sub>3</sub>以降の蛹で発育を停止した (Table 4-2)。

## 第2項 成虫に対する影響

### 2-1、メス成虫への影響

第2周期目、幼虫産下の準備期間にあるメス成虫、1ないし7日齢の個体について処理した場合、以後45日間に渡っても受胎能力に障害は認められなかった。アセトン溶液0.2 $\mu$ lあたり2、10、20及び50 $\mu$ gのpyriproxyfen処理を二回繰り返した結果でも受胎率は高く、処理濃度間で差がなかった。オス、メス処理ごと8グループ毎に合わせて受胎率の平均を計算してみると0.87 $\pm$ 0.09SEMであった。

また、45日間にわたって産出された蛹を集め、解剖観察の結果、蛹の発育は全てステージ III<sub>3</sub>で止まった (Table 4-3)。即ち、蛹の発育段階で、赤色の眼部を形成する未成熟成虫、いわゆるPharate (Hinton, 1946) であり、成虫体の外皮は色素が形成されていない状態であった。多くは致死蛹であったが、中には胸部腹板を通して心臓の動きが見える個体もあった。この現象はメス処理の場合、オス処理の場合とも共通に観察された。

Table 4-3. Percentage theoretical and actual stages of development reached by puparia produced by *G. m. morsitans* females treated on day 1 or day 7 of the second reproductive cycle with S21149 or S31183, pyriproxyfen (data for doses between 2 and 50 $\mu$ g pooled)

	Puparia examined (no.)	Developmental stage							
		I	II	III <sub>1</sub>	III <sub>2a</sub>	2b	3	4a	4b
S21149									
Theoretical	147		5.4	14.3	3.4	14.3	5.4	12.9	44.2
Actual	111		0.9	32.4	13.5	7.2	45.9	0	0
S31183									
Theoretical	126		8.7	10.3	7.9	11.9	7.9	7.9	45.2
Actual	116		0.9	27.6	16.4	8.6	46.5	0	0

Note : See text (Bursell, E., 1959) for I, II, III<sub>1</sub>, 2a, 2b, 3, 4a, 4b.

### 2-2、メス成虫に対する残効効果

繁殖第2週期目にある成虫15頭に対し、2 $\mu$ gのpyriproxyfenを処理した後、継続して産出される蛹を35日目まで集め一部を解剖観察した。残りについては対照に用いた化合物とその成虫羽化率を比較した。その結果、pyriproxyfen処理虫には成虫羽化の回復効果が全く認められず、その効果がもっとも長かった。他は途中で成虫羽化の回復効果が認められた (Table 4-4)。

Table 4-4. Percentage distribution of developmental stages achieved by offsprings produced at different intervals after treating parental females with 2µg of test compound on day 1 of second reproductive cycle

Compound	Days after dosing	Puparia (no.)	Developmental stage									Adults		
			Dead	I	II	III <sub>1</sub>	III <sub>2a</sub>	2b	3	4a	4b	Abn.	Norm.	
S21149	9-17	11	9							91	0	0	0	0
	18-26	5	0							0	0	40	0	60
	27-35	5	0							0	0	40	20	40
S31183	9-17	9	45							55	0	0	0	0
	18-26	7	14					29	57	0	0	0	0	0
	27-35	9	0						89	11	0	0	0	0
ZR312-008	9-17	6	33							0	0	17	33	17
	18-26	9	33			11				0	0	0	0	56
	27-35	9	0							0	0	0	0	100

### 2-3、オス成虫への影響

羽化4日後のオス成虫に対し、高薬量、20µgものpyriproxyfenを処理した場合でも生殖能力および生存力には全く影響がなかった。即ち精子形成が十分となった9日齢および18日齢のオスと3日齢の性成熟した処女メス個体と交尾させた。その後正常に産子するかどうかを観察することで、オス成虫における生殖力に対するpyriproxyfenの影響を観た (Table 4-5)。

一方、20µgのpyriproxyfenを7日齢のオス成虫に処理し、その1~10日後に、性成熟が正常な3日齢の処女メス成虫と交尾させた。産出される蛹を回収し、実験室に放飼し続けた。実験の最後に発育段階調査のため解剖観察に供した。結果、処理したオスの一日経過後にメスを交尾させた場合、少なくとも4週期目 (45日間) までに産出される蛹は全て羽化が阻害された (Table 4-6)。更にpyriproxyfen処理10日後、同様に処女メスに対する交尾の影響を観た。その結果、対照にした他の化合物との比較

Table 4-5. Survival and fertility of *G. m. morsitans* males dosed with 20µg test compound on day 4 of adult life. Each male mated to normal 13-day-old virgin female first on day 9 and again on day 18 of life

Compound	Flies (no.)	% survival to second mating	Male fertility expressed as fecundity of mates over 45 days	
			First mating	Second mating
S21149	12	67	0.8	1.0
S31183	11	73	1.0	1.0
ZR312-008	12	75	0.9	—

では、pyriproxyfenは供試した化合物の中でもっとも蛹の生存率が低かった。ただし、オスに処理したpyriproxyfenの影響は処理一日後の結果の半減となった。

Table 4-6. Percentage distribution of developmental stages reached by offspring collected over 45 days from normal females mated to males treated with 20µg test compound either 1 or 10 days

Compound	Puparia (no.)	Developmental stage									Adults	
		Dead	I	II	III <sub>1</sub>	III <sub>2a</sub>	2b	3	4a	4b	Abn.	Norm.
First mating												
S21149	8							100				0
S31183	48							100				0
ZR312-008	14							5	28	14	7	0
-----												
Second mating												
S21149	16											100
S31183	14	50										50
ZR312-008	6	17										83

#### 第4節 考察

ツェツェバエは、幼虫一蛹の期間が著しく長く、25℃の室温下では成虫羽化まで28～29日も要する。変態過程はこの間、時間の経過と共に好く同調している (Bursell, 1959)。第1週目に蛹化が起り、未成熟成虫が蛹殻内に形成される。この期間に50µgのmethopreneやpyriproxyfenを局所施用した場合、翅の縮れや、捻れた蛹などの異常個体が出現し、成虫の羽化阻害が認められている (Langley and Pimley, 1986)。一方、pyriproxyfenを処理したこの実験では、Table 4-4で示されるように、処理後18-26日の結果から処理後約22日目までに複眼が赤色の段階で蛹の発育が止まっているのが認められた。同様に処理27-35日の結果から28-29日目までに、蛹殻内で複眼の色素形成や、外皮の色素が形成される段階の状態が発育が留まっていると判った。

この結果は、pyriproxyfenの残効効果が著しく高いことを示している。さらに、本化合物は蛹に対して幼虫の体表面、経皮的にpyriproxyfenが取り込まれて影響を及ぼすだけでなくメス成虫の生殖器官経由でも、産出される次世代幼虫にもpyriproxyfenが移行し影響することを示唆している。しかし、この影響が真に経皮的なのか、または母体の生殖腺である乳腺 (Milk gland) などを經由して幼虫に移行するのかわ不明である。恐らく後者と考えられるが、いずれにしてもpyriproxyfenの代謝、排泄が遅い様である。

一般に、ジュベノイド化合物を殺虫剤目的に適用しようとするとき害虫種によってどの生育段階に適用すればよいかという古典的課題にぶつかる。ガラス温室のように全体を散布カバーできるような環境にある場合、あるいは加害段階がハモグリガ類の幼虫などの様に移動する性質がないか、少ない害虫では、この課題の解決がそれほど困難ではないかも知れない。しかし、ツェツェバエの場合は野生動物とも共に行動する

広域移動害虫であり、その生息環境に対し防除者が何か対策を加えることはほぼ不可能である。したがって、殺虫剤の広域航空散布法と、ハエの休息環境に残留噴霧する手段との組合せが長い間採用されてきた (Jordan, 1985)。残留噴霧による環境への影響を低減する手段としてVale et al. (1988) はターゲット装置を開発した。更に発展させ、Langley and Weidhaas (1986) は化学不妊剤の適用を検討した。候補に昇った化合物bisazirは緒言に述べた問題で実用化には至らなかった。

これら実状を念頭に、ツェツェバエの特異的な繁殖生理を考慮すると、本実験で明らかとなったpyriproxyfenの性能は、これら殺虫剤、化学不妊剤を代替し得る。つまり、殺虫剤ではメスのみを防除できれば密度降下の目的を達するから、pyriproxyfenをメスに処理する事で幼虫、蛹に対する殺虫効果を発揮させるなら同じ効果になる。しかも、オスに処理したpyriproxyfenがメスにも移行し、産出される次世代以降にまで影響するから、不妊化剤としても付加価値も加わる事になる。ただ、局所施用方法によるこれらの結果では効果発現に高薬量が必要ではある。しかし、bisazirの500倍の効果である事とpyriproxyfenのもう一つの特徴である毒性の低さ (波多腰ら, 1997) を考慮すると、今後pyriproxyfenの費用対効果を念頭におき、有効な製剤と施用方法の検討が必要となる。

## 第5章 人獣共通害虫、ツェツェバエ、*G. m. morsitans*が取り込む<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの量と不妊効果

### 第1節 緒言

前章でアセトンに溶解したpyriproxyfenがツェツェバエのメス、オスいずれを経由した場合でも、産み落とされる蛹に影響を与え、以後の繁殖が阻害される事を明らかにした。本結果から、pyriproxyfenが既知の化学不妊剤を代替するのではないかと同時に安全な新しい化学不妊剤として適用できるとの期待が高まった。

メスを不妊化させればメス成虫を殺すことによって得られる結果と同じになるが、Langley and Weidhaas (1986) はメス、オスいずれをも不妊化することの方が、メス、オスを単に殺すより優れていると論じた。確かに、通常の殺虫手段は対象になった集団にのみ密度降下の影響を及ぼすことになる。ゴキブリなどのように致死間際に子孫を残すために、卵を産み落とすケースは子孫に決定的な障害は与えられない。この問題は、不妊化手段の場合、特に本化合物の特徴である産下子孫への影響で軽減できる。

前章で示したpyriproxyfenのオスからメスへ不妊化の移行効果、いわゆるpyriproxyfenの付加価値をより有効にする目的でも有効な製剤が望まれる。活発に行動するツェツェバエにpyriproxyfenの有効な量を付着させる製剤と装置を検討する上で、当該害虫の跗節が化合物の処理面に接触することによって化合物を取り込む量と、処理面の材質の関係が問題となる。

本章では、pyriproxyfenについて跗節からの取り込み量と局所施用によるその取り込み量と、体内における挙動と繁殖に対する影響を調べた (Langley et al., 1990a)。

### 第2節 試験材料および方法

1、供試虫 第3章、第2節と同じ、ツェツェバエを用いた。

#### 2、放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの処理方法

##### 2-1、<sup>14</sup>C標識体pyriproxyfen

[Phenoxyphenyl-<sup>14</sup>C]-pyriproxyfen 放射能量、9.25MBq  
比放射能、2.15GBq mmol<sup>-1</sup> (6.69GBq g<sup>-1</sup>) を用いた。

##### 2-2、Pyriproxyfenの局所施用

Pyriproxyfenの薬量が1μl/1頭あたり0.001-0.1μgになる様にアセトン溶液およびゴマ油溶液として調整処理した。調整液は、アセトンに対し1/5のゴマ油を添加し、N<sub>2</sub>気流下でアセトンを揮散させて調整した。成虫に対する処理は、繁殖2周期目のメス成虫を用い、断らない限り第1周期目の蛹について産下後1日齢あるいは4-5日齢を試験に供した。

また、メス成虫について、産仔、第2周期目の初日に、ゴマ油-アセトン溶液として調整した放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを1頭あたり12.5ng-138ngの範囲で局所施用し

た。その上で生まれ出る幼虫における<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの回収率と処理量との関係について回帰直線式を求め、アセトン処理の場合と比較した。

#### 2-3、Pyriproxyfenの濾紙または黒色綿布処理\*

所定のゴマ油溶液を濾紙一枚あたりに5 $\mu$ l/cm<sup>2</sup>塗布で、必要薬量が、また綿布では10 $\mu$ l/cm<sup>2</sup>塗布で必要薬量が得られる様に調整施用した。

\* ツェツェバエが黒色に集まる走光性を利用する。

#### 3、Pyriproxyfenの残留性試験の方法（ガラス瓶内の濾紙接触処理）

濾紙小片一枚、10×2cmに、5 $\mu$ l/cm<sup>2</sup>あたり有効成分が0.1mgになるように植物油に溶解した<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを塗布した。これを収容したガラス瓶の中で繁殖2周期目のメス、1~2日齢の成虫を1、2および5分間に分けて処理面に強制接触させた。同じピンの処理濾紙を用いて以後引き続き産出されてくる間隔でメス成虫を14週目まで同様に接触させた。以上を30℃の室内で実施した。尚、調整した濾紙の風化試験目的には、フタ無しガラス容器に濾紙を収容し室温下（15~25℃）に曝した。

#### 4、濾紙又は綿布製剤に担持するオイル量の推定

予め、glycerol tri [<sup>14</sup>C] oleate (Amersham, 2.0GBq mmol<sup>-1</sup>, Toluene solution) 所定濃度をアセトンに溶解してオイル混合液を調整した。その上で、製剤検討用の紙または布製のディスクを調整液に浸漬した。それぞれのディスクを風乾後、3mlの液体シンチレーションカウンター液、Optiphase Safe (Pharmacia LKB) 液の中に沈めた。次項に述べると同様にReckbeta 1217測定器で<sup>14</sup>Cの放射活性を測定しディスクに担持するオイルの量を推定した。推定値については、アセトン混合割合との関係を、回帰直線式を求めて解析した。

#### 5、放射能の測定

##### 5-1、放射能測定用の体表面試料の調整

処理後、供試虫の体内外に移行した放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを追跡しその量を測定した。初めに、処理虫の体表面を1mlのアセトンで3回洗い、個体ごと洗浄した液を集めた。洗浄液は測定用サンプルとして、処理経過毎に3mlのバイアル瓶に合一し、アセトンを揮発させて後に放射能の測定に供した。

##### 5-2、放射能測定用解剖組織の調整

処理メス成虫を生理食塩水の中で解剖し、胃を取り除き、脂肪体を子宮から分離し他の腹部組織と別にした。尚、脂肪体の分離方法は、Kabayo and Langley (1981)の方法によった。各組織はNCS組織破壊液 (Amersham/Searle社製) で溶解し、酢酸で中和した。放射能の測定には、3mlの液体シンチレーションカウンター液 (Optiphase Safe, Pharmacia LKB) を調整した中和液と混合し、後の測定に供した。

処理オスについては、解剖せずに上記と同様にして体表面全体の洗浄液のみを調整し、測定に供した。尚、放射性 $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfenを局所施用した処理虫の排泄物及び呼気に含まれる放射性 $^{14}\text{C}$ の測定はLangley and Pimley (1979)の方法によった。

### 第3節 結果

#### 第1項 局所的施用、表面塗布と注射方法の違いによる影響

Pyriproxyfenの施用方法によってツェツェバエの変態に対する影響の出方が明らかに異なった。Fig. 5-1に健全蛹の割合 (Viability) について平均値を示す。即ち、処理後90日間、ほぼ10日毎に産下された9頭の蛹に対する各濃度処理における平均値の変化を示した。図から一目瞭然のようにゴマ油溶液として繁殖2周期目の妊娠メス成虫5日齢の腹板にpyriproxyfenを表面塗布施用した場合には産出された蛹全体のうち、処理濃度、 $0.001\sim 0.1\mu\text{g}$ の範囲の結果それぞれをまとめて平均化すると約20%にしか生存が認められなかった。一方、体内に同じ調整液を注射した場合は一部の低濃度処理個体を除けばほぼ完全に、100%近くの蛹に発育の停止が認められ、健全蛹はほぼゼロであった。局所施用法では $0.01\mu\text{g}$ 及びそれより低い濃度では20%を超える生存率が観察されたが、一方、注射した場合は $0.01\mu\text{g}$ で10%未満、 $0.001\mu\text{g}$ で10数%の生存率が得られたのみであった。いずれにしる、1頭あたりごく少量のpyriproxyfen、 $0.02\mu\text{g a.i.}$ を処理すれば90日間、10日毎に産出された9週期全ての蛹が発育停止すると判明した。しかし、この結果と対照的に、データは示さなかったが、幼虫や蛹化して間もない個体に表面処理した場合には、その薬量が多くなり、5倍量の $0.1\mu\text{g}$ を要した。

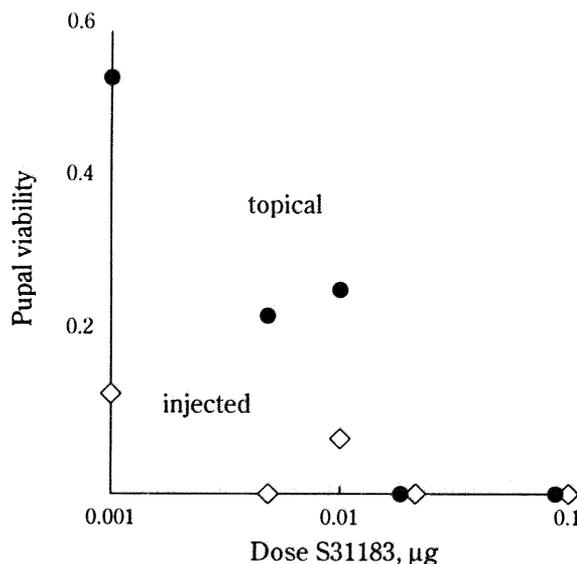


Fig. 5-1. Average viability of offspring produced over 90 days following topical treatment (●) or injection (◇) of pregnant female *G. m. morsitans* with  $0.2\mu\text{l}$  vegetable oil containing different amounts of the juvenile hormone mimic S-31183.

## 第2項 局所施用法による放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの体内への取り込み

### 2-1、体表面の挙動

局所施用後の放射性<sup>14</sup>Cの行方を追跡すると、pyriproxyfenを溶かした溶媒、アセトンとゴマ油ではその挙動が異なった。処理4時間後の体表面洗浄液の放射能を調べると、アセトン処理では施用した<sup>14</sup>Cのうち総量の15%以下しか回収されなかった。一方、ゴマ油を溶媒とした場合には総量の約90%が体表から回収された。しかも3-4日を経ても、ゴマ油処理では処理したそのほぼ5-10%が体表にまだ残っていた。一方、アセトン処理ではほとんど消失していた (Table 5-1)。

### 2-2、体内の挙動

さらに日数を経過した場合、処理した<sup>14</sup>C総量の行方を観ると、溶媒の種類に関係なく、体表面を除く虫体全体からは処理量のわずか20%回収されたに過ぎなかった。Table 5-1に示すように以後、体表面を除く体内における回収総量は10日後では処理量の約10%そして、17日後には5%以下の放射能を認めただけに過ぎなかった。

一方、体内に取り込まれた放射能の大部分の行方は脂肪体であり、アセトン処理の方がゴマ油に比べてその到達が速かった。アセトンを用いた場合、処理4時間 (0日) 後には既に処理量全体の約20%が脂肪体に到達し、10日後にはその量がわずか5%に減少した。しかし、ゴマ油処理ではその結果が対照的であった。処理4時間 (0日) 後では脂肪体に到達したその量がわずか1%に過ぎず、しかも6日目を経ても脂

Table 5-1. Mean percentage distribution ( $\pm$  SEM) of radioactivity at intervals after topical administration of <sup>14</sup>C-labelled S-31183, in either acetone or rape seed oil, to the ventral abdomen of adult *G. m. morsitans* females on day 1 of their second reproductive cycle. n=4 (0=4h post-treatment)

Solvent	Locatin of radiolabel	Days after treatment							
		0	3	4	5	6	10	17	
Acetone	Surface	13.7 (3.9)	1.6 (0.5)	0.9 (0.2)	0.9 (0.2)	0.6 (0.2)	0.5 (0.2)	0.3 (0.02)	
	Fat body	21.4 (6.9)	18.9 (1.9)	15.3 (2.3)	9.9 (1.3)	14.6 (0.6)	4.4 (0.9)	3.1 (1.2)	
	Uterine gland	—	2.2 (0.1)	1.7 (0.3)	2.2 (0.3)	1.6 (0.2)	0.9 (0.1)	1.0 (0.3)	
	Larva	—	—	0.6 (0.2)	3.1 (0.6)	4.0 (0.6)	4.3 (1.8)	0.4 (0.1)	
	Remains	—	2.0 (—)	2.1 (0.1)	5.9 (0.9)	2.4 (0.4)	0.6 (0.1)	1.8 (0.8)	
Total		35.1	24.7	20.6	22.0	23.2	10.7	6.6	
Oil	Surface	89.1 (2.8)	7.0 (2.0)	7.4 (1.9)	2.3 (0.5)	1.4 (0.3)	1.4 (0.7)	0.5 (0.1)	
	Fat body	0.9 (0.2)	11.6 (1.1)	10.9 (0.6)	10.5 (1.7)	11.4 (2.1)	3.0 (0.9)	1.7 (0.4)	
	Uterine gland	—	2.3 (0.5)	1.8 (0.2)	2.0 (0.4)	2.0 (0.4)	1.1 (0.1)	0.7 (0.1)	
	Larva	—	—	0.4 (0.02)	3.6 (0.9)	2.9 (0.4)	6.1 (1.2)	0.3 (0.02)	
	Remains	—	2.0 (—)	1.6 (0.1)	2.5 (0.5)	3.2 (0.4)	0.7 (0.1)	1.3 (0.2)	
Total		90.0	22.9	22.1	20.9	20.9	12.3	4.5	

脂肪に取り込まれた量は最大、ほぼ11%に達しただけであった。

一方、子宮への放射性化合物の取り込みは、体表面における様相とは大幅に異なっていて、<sup>14</sup>Cは溶媒の種類とは無関係の挙動を示した。つまり、取り込まれる速さ、およびその量には、溶媒相互では影響が見られず、処理放射能全体の最大、2-3%が子宮に取り込まれるに過ぎなかった。しかも、処理10日後には、1%に減少し、それと呼応してメス体内における産下直前の幼虫への取り込み量が処理全体の4-5%に上昇した。さらに、次に生まれてくる幼虫においても<sup>14</sup>Cの取り込みは認められたがその量はさらに減少すると判明した。

総合的に観るとTable 5-1から、虫体に表面処理した<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの大半は体内に取り込まれる以前に消失してしまうと解釈できる。しかしながら、ゴマ油で処理した場合にはその消失がアセトン処理と比べ比較的遅いと言える。

### 2-3、体外の挙動

繁殖2週期目に達したメスの体表面に<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを処理した場合、メスが排出する呼気CO<sub>2</sub>中には処理に由来する<sup>14</sup>Cの放射能は、全く認められなかった。一方、排泄物中においては処理後数日を経るにしたがって放射能値が高くなった。しかし、その放射能がpyriproxyfenの代謝産物に由来するかどうかは目的を異にしたので調べなかった。

### 2-4、処理メス経路による<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの蛹への取り込み

放射性の<sup>14</sup>C-pyriproxyfenをメス親に処理し、生まれてくる蛹に取り込まれる<sup>14</sup>Cの量を調べてみた。局所施用として、繁殖第2周期目にある1日齢のメス成虫に対して1頭あたり、12.5ngから138ngに薬量を変化させて処理した場合、処理量と産下される子孫の体内に取り込まれる量は直線関係にあった。アセトン処理では処理直後では、子宮内幼虫への取り込みが処理量の10% ( $r=0.88$ ) に達した。一方ゴマ

Table 5-2. Regression of amounts S-31183 detected in larvae upon amounts administered topically in oil to parent females at the start of their second reproductive cycle

Cycle following treatment	Solvent	<i>n</i>	<i>a</i>	<i>b<sub>yx</sub></i>	<i>r</i>	<i>t</i>	% transfer
1	Acetone	25	0.06	0.1	0.88	8.7	10
	Oil	13	0.36	0.03	0.66	2.9	3
2	Acetone	10	0.75	0.002	0.14	0.4	0.2
	Oil	8	-0.04	0.005	0.74	3.2	0.5
3 } 4 }		3-6	—	—	—	—	0.2-0.5

Note : *n* = number of observation, *a* = intercept value of *y* on the *x* axis, *b<sub>yx</sub>* = slope of line relating change of *y* values for given values of *x*, *r* = correlation coefficient, *t* = measurement of significance.

油処理においては、その量が3% ( $r=0.66$ ) であった。次に生まれた幼虫ではアセトン、ゴマ油それぞれで、0.2% ( $r=0.14$ ) および0.5% ( $r=0.74$ ) であった。以後に産まれた蛹では取り込まれる放射エネルギーと処理量の相関は崩れたが、これらの蛹にはまだ、処理量の0.2–0.5%が取り込まれていた (Table 5-2)。

結論として、Fig. 5-1の結果から、局所施用のゴマ油中に20ngのpyriproxyfenが存在すれば、メスが産出する蛹の全てが発育停止する事が判っているから、その0.5%にあたる0.1ngが幼虫に取り込まれることによって以後の変態に影響が出ることになる。

#### 第4項 附節接触によるpyriproxyfenの取り込み量とその影響

##### 4-1、植物油の混合割合と取り込み量

植物油を製剤の基本とするために、予めpyriproxyfenをアセトンに溶解し、予備的にその混合最適比を検討した。植物油の含量が少なくなると、効果発現の最適量を下回り、また、その量が多くなるとしばしば気門に植物油がつまり成虫が死に至る。

放射性 $^{14}\text{C}$ -トリグリセロールを用いた検討の結果、濾紙片と黒色綿布に対する植物油の付着量とアセトン溶液中の混合含量との関係について解析した結果、次の回帰直線式が得られた。即ち、濾紙では： $\hat{y} = 0.26 X - 2.6$  ;  $r=0.91$ 、綿布では： $\hat{y} = 0.53 X - 1.9$  ;  $r=0.99$ の相関関係が成り立った。この関係から最適混合濃度が、濾紙と綿布それぞれにおいて、アセトン中、植物油の30%混合系、 $5\mu\text{l}/\text{cm}^2$ および同じく植物油20–25%混合系、 $10\mu\text{l}/\text{cm}^2$  含浸割合にあると判明した。

附節からの取り込み量を知るために、予め放射性と非放射性的のpyriproxyfenを上記の植物油/アセトン混合系に溶解し、黒色綿布を浸漬した。ツエツエバエの雄を1分間および5分間と別々に接触させ、取り込み量を調べた。その結果、浸漬量が $0.05\text{mg}/\text{cm}^2$  の場合、オス成虫が取り込むpyriproxyfenの量は、混合した放射性 $^{14}\text{C}$ - pyriproxyfenの放射能の測定値から換算して、接触1分間では4.7ng、5分接触では7.7ngであると判った。ただし混合液の浸漬塗布量は綿布、平方センチあたり $4\mu\text{l}$ の条件とした。さらに塗布量を $8-9\mu\text{l}/\text{cm}^2$ と増加させると、成虫1頭毎の取り込み量が15ngから65ngに増加した。

同様に繁殖2周期目のメス成虫を1時間接触させた場合、 $8-9\mu\text{l}/\text{cm}^2$ の割合で塗布した条件では、体表面に取り込まれたpyriproxyfenの量は10–39ngで、平均26ngになると判った。

##### 4-2、取り込み量と繁殖に対する影響

一定時間 (1分及び5分間) 処理布に曝した直後のオスを、性的に成熟した3日齢の処女メスと交尾させた。18時間後にオスを分離し、交尾後のメスに移行した $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfenの量を測定した。その結果、メス、オスそれぞれで、Table 5-3に示すような分布値となった。但し、pyriproxyfenの量 (ng数) は非放射性的のpyriproxyfenとの混合調整した $^{14}\text{C}$ の放射能測定値から換算した。即ち、オスにおいては、表面洗浄

液から計算される値が、交尾後のメスのそれよりも小さいと判った。一方、処理オスと交尾させた後では計算されたpyriproxyfenの総量のうち、その大半がメスによって取り込まれたものであると判った。つまり、1分および5分間、処理布に接触させたオスから無処理のメスにおいて交尾後に移行した量が、供試虫平均が幾らになるか求めてみた。すると、綿布にそれぞれの時間接触させてから交尾させた一日後（約18時後）には、6.4ngおよび16.5ngの量にも昇るpyriproxyfenが交尾後のメスに移行した。実験の反復数は表に示した通りである。

Table 5-3. Estimates of amounts of S-31183 (ng ± SEM) picked up by female *G. m. morsitans* following exposure by tarsal contact to oil-formulated <sup>14</sup>C-labelled S-31183 on black cotton cloth and amounts transferred when mated immediately after such exposure

Exposure time of males (min)	n	Male		Female	
		Surface	Total	Surface	Total
1	10	0.45 (0.05)	5.9 (0.47)	1.4 (0.22)	6.4 (1.20)
5	10	2.5 (0.20)	23.6 (2.10)	6.6 (1.70)	16.5 (3.10)

オイルに溶解し、濾紙に塗布したpyriproxyfenがどの程度残効するかについて受胎メス成虫を塗布処理した濾紙に跗節接触させて変態への影響を検討した。つまり、0.1mgのpyriproxyfenを含む植物油混合溶媒を平方センチあたり0.5μlの割合で含浸塗布した濾紙を室温下に、14週間にわたって放置し続け、その間ほぼ定期的に接触試験を継続した。その結果、放置した濾紙にメスをわずか1分間接触させた場合でも、供試虫が産出する子孫の生育阻害は、無処理に比べ30%乃至はそれ以下に過ぎなかった。且つ、二週間の室温下における暴露を経ても処理濾紙が及ぼすその発育障害の影響は変わらなかった。しかも、接触時間を5分～10分間に延ばすと、産出された子孫は全て発育を停止し、成虫の羽化は実質ゼロであった。即ち、この暴露実験で、濾紙上のpyriproxyfenは安定的に比較的長期に残存するらしいと判った (Fig. 5-2)。従って、更に2週間以上放置した場合のpyriproxyfenの残効性についても検討した (Fig. 5-3)。

Figure 5-3から明らかなように、濾紙の室内放置経過時間が長引けばそれに伴って処理メスに由来する蛹の羽化率が上昇した。しかしながら、14週間を経てもまだ親の接触にともなう化合物の取り込みの影響が大きく、わずか蛹の30%が無影響であったにすぎなかった。改めて、産出周期各々の蛹の発育に対する影響について調べてみた。つまり放置した濾紙についてそれぞれ2、4、8、9週間目にメス（産子2周期目）を跗節接触させた。その結果、Fig. 5-4に示されるように、当初、3週目までに産出される蛹は全て発育が停止した。それ以後はその割合が少なくなり後半には正常発育に回復していった。

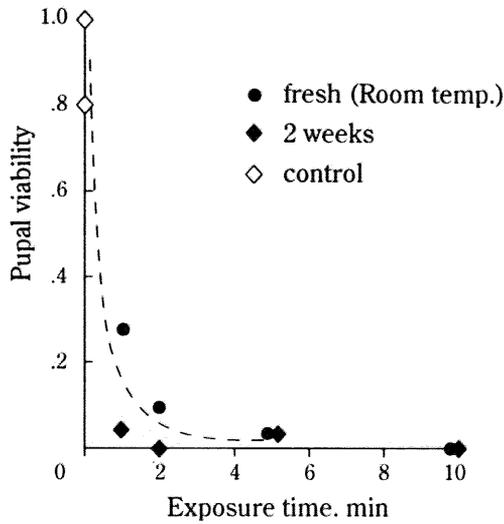


Fig. 5-2. Average viability offspring produced over 90 days by female *G. m. morsitans* exposed at 30°C for up to 10 min by tarsal contact to filter paper treated with 0.1mg S-31183 in 5µl vegetable oil cm<sup>-2</sup>. Line draw by eye.

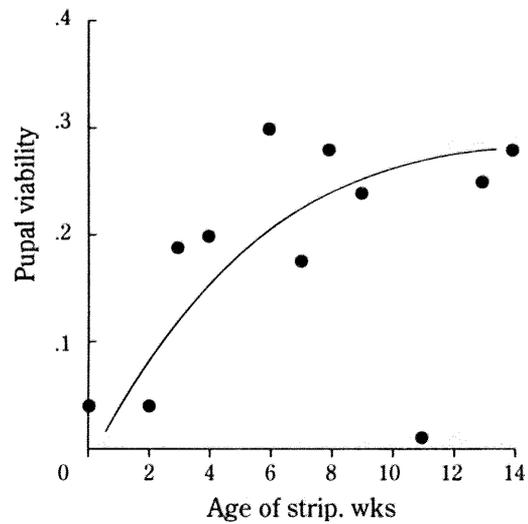


Fig. 5-3. Effect of age of oil formulation of S-31183 on average viability of offspring produced over 90 days by female *G. m. morsitans* following exposure by tarsal contact for 5 min at 30°C to treated filter paper described in Fig. 5-2. Line draw by eye.

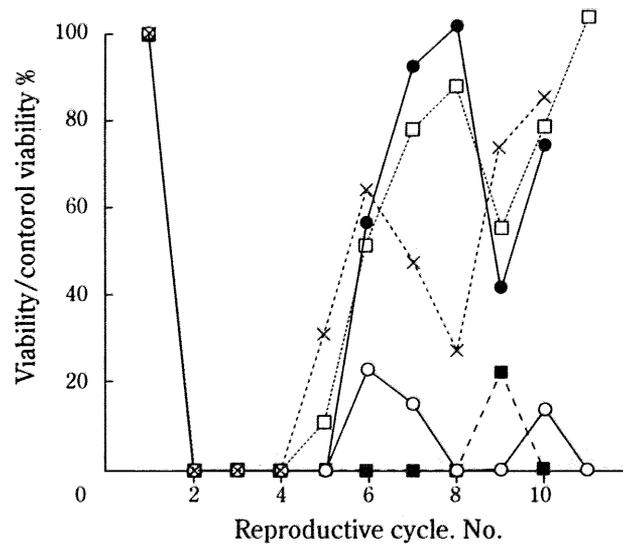


Fig. 5-4. Effect of age of oil formulation of S-31183 on the viability of offspring produced in each reproductive cycle following exposure of females by tarsal contact to treated filter paper described in Fig. 5-3.

Age of strip: ○ ; fresh, ■ ; 2 weeks, □ ; 8 weeks, ● ; 9 weeks, × ; 14 weeks.

#### 第4節 考察

結論として、pyriproxyfenを植物油に溶解した場合、ツェツェバエの変態に対して、体表面への局所施用あるいは跗節接触によるいずれの方法でも、化合物による影響を与えるための方法として有効であった。植物油による処理は、アセトン法に比べ、化合物の取り込みが遅いが、体表面からの消失は少なかった。この現象は、pyriproxyfenを処理したオスとの交尾によるメスへの化合物移行にとって明らかに有利となる。

局所施用によるpyriproxyfenの体内への取り込む割合とその量的程度は、各組織によって異なったが、その結果は化合物が脂肪体と子宮へ移行することによって胎内の幼虫が化合物の主な貯溜体になっている事を示唆している。この観点から言うなら、取り込まれた一部の化合物は排泄物として体外に排出されはするが、取り込まれたpyriproxyfenが胎児の栄養供給源である乳腺 (Milk gland) の構成成分と挙動を共にしている。この処理法により、メス親経由によって放射性化合物が蛹内に検出される量は、pyriproxyfenとして0.1 $\mu$ gのごく少量に過ぎず、蛹の発育停止効果をもたらすに十分な量であった。が、胎児への取り込み過程における化合物の代謝分解の可能性については実験していないから、この量は最大見積もり値ということになる。

以上の現象は、pyriproxyfenの胎児への移行が、単に外皮から受動的 (Passive) に取り込まれたものではなく、子宮乳腺を経由した能動的な取り込みであることを強く示唆している。すなわち、幼虫、蛹いずれにもpyriproxyfenを直接局所施用すると、発育障害を引き起こす。その必要量は0.1 $\mu$ gといずれの場合も同じ量である事実が上の仮説を支持する。

残効性について言えば、室内条件下における三ヶ月間にわたるpyriproxyfenの残存性は野外における繰り返し使用には十分である事は疑いがない。つまり室内試験の結果、処理綿布との5分間の接触によって化合物を取り込んだメスが産出する最初の三周期目までの幼虫全てに発育阻害が起こる。この事実は、野外条件下においても化合物を取り込んだメスが完全に繁殖阻害を受けることが十分考えられる。

野外条件下、アフリカ、ジンバブエ共和国においてツェツェバエ誘引の装置である殺虫剤を処理した標的が同じツェツェバエのサバンナ種に対し非常に有効であると証明されている (Vale et al., 1986, 1988)。したがって、pyriproxyfenを処理した同様の標的で、例えばメスのみが効果的に不妊化されるだけでもツェツェバエの密度降下に寄与できることは疑いがない。しかも、既に第4章で考察したように、交尾時にオスからメスへ化合物が移行する性質はさらに付加価値であり、単にメス、オスを殺すに過ぎない手法と比べ、より効果的な手段となり得る (Langley and Weidhaas, 1986)。Hargrove (1988) によれば、もしツェツェバエのメス成虫の死亡率がその自然死亡率のわずか2%を上回るなら密度回復 (Resilience) の問題を克服でき、且つ不可逆的にツェツェバエの密度を下げるのが可能であると言う。この死亡率の上昇については、牛の尿を臭い源とするツェツェバエの誘引剤と合成ピレスロイド系殺虫剤を組み合わせた標的装置で達成維持されている (Vale et al., 1986, 1988)。こうした現状から、pyriproxyfenを不妊化剤として用いるなら、理論的に考え、更に効果的な手段が提供で

きることになる。加えて本化合物は毒性が低いという恵まれた特長がある。

ほか、大部分の産卵性害虫を考慮するとき、pyriproxyfenを処理した同趣旨の標的への接触時間はおそらく短いものと思われるが、本化合物が60℃下でも3ヶ月以上安定で、わずか1%の分解を見るに過ぎず耐熱性に優れていること、またキセノンランプ照射(6.5–7.5×10<sup>3</sup> lux、36–46℃条件下)に10日間さらしても光安定の性質があり、野外施用に有利な特徴を備えている。

上述したpyriproxyfenのユニークな特長に着目し、1989年に英国政府の資金援助のもと、ジンバブエ共和国のザンベジ川沿いに広がる国立公園のWoodlandの中で約4km四方にツェツェバエ誘引の臭い源を備えたトラップ41個を設置するという大規模な野外試験が実施されるに至った(Hargrove and Langley, 1990)。この事については総合考察でさらに詳しく触れる。

## 第6章 吸血性害虫、オオサシガメ、*Rhodnius prolixus*における<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの挙動と繁殖阻害

### 第1節 緒言

第4章におけるpyriproxyfenをツェツェバエのメス、オス別に処理した交尾試験と第5章における放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを用いた研究結果から、メスに処理された、あるいはオスに処理されたpyriproxyfenが産出される子孫の変態に影響し、その後の繁殖を阻害すると解った。その研究過程でpyriproxyfenがメスの生殖腺（乳腺）を經由して胎児に移行、取り込まれることが強く示唆された。交尾相手を經由して不妊化が起こることはpyriproxyfenについては初めての発見事実であるが、似た現象は、古くは、既にMasner et al., (1968) が定性的な試験結果から、合成ジュベノイド、dihydrochloride ethyl farnesolを用いてホシカメムシ、*Pyrrhocoris apterus*における処理雄からメスへ、合成ジュベノイドが移行すると報告している。しかし、実際に孵化阻害が生じた卵については言及されていない。またメスへの移行も化合物自体を捉えてはいないので、推察の域を出ていない。化合物のクチクラ層透過や卵殻を経ての取り込み量は、一般的に化合物の物性、あるいは製剤として用いられる溶媒に左右される。本章では、ジュベノイド化合物であるpyriproxyfenが、親から産出されてくる卵への取り込みとその活性の関係を定量的に明らかにしようとした。用いた害虫オオサシガメ、*R. prolixus*は、やや変わった繁殖生理をもち、温度条件にもよるが一日平均2個の卵を約2週間にわたって産み続け、約100日間の生存期間を示す (Gomez-Nunez, 1964)。ツェツェバエと同じく吸血性で、やはり人間に対して原虫 (*Trypanosoma cruzi*) を媒介し、慢性的な心臓疾患などを引き起こす。南米地域の、いわゆるシャーガス病として知られる風土病を媒介する害虫として問題になっている。

メス成虫に<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを局所施用したときに、産出される卵にpyriproxyfenが未分解と推察される親化合物が取り込まれ、その量と卵の孵化率が深く関係している事を明らかにした (Langley et al., 1990b)。結果を踏まえてpyriproxyfenの製剤開発に関わる視点から研究結果を述べる。

### 第2節 試験材料および方法

#### 1、オオサシガメ、*R. prolixus*

第4章、第2節で述べたツェツェバエと同様に豚の堵殺血液を吸血源として室内、25℃下でBristol大学、Tsetse Research Laboratoryが飼育維持する系統 (Langley and Pimley, 1978) を用いた。なお、他は、室内の湿度を60–70%の相対湿度に保ち、暗；12時間一明；12時間の照明の飼育条件とした。

#### 2、放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの処理方法

##### 2-1、Pyriproxyfenのクチクラ層への処理と分布

##### 2-1-1、放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfen

第5章、第2節とおなじ比放射能、 $2.15\text{GBq mmol}^{-1}$  ( $6.69\text{GBq g}^{-1}$ ) の活性を示す $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfenを用いた。

また第5章と同様にS-methopreneを処理対照化合物として用い、アセトン処理のみを無処理対照区とした。

#### 2-1-2、Pyriproxyfenの局所施用

Pyriproxyfenの所定濃度を含むアセトン溶液を成虫および5齢の若虫（仔虫）に対し $1\mu\text{l}$ /頭を腹部腹板に局所施用した。また、卵に対しては $0.2\mu\text{l}$ を局所施用した。

#### 2-1-3、 $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfenクチクラ層への処理と $^{14}\text{C}$ の虫体における分布

$^{14}\text{C}$ -pyriproxyfen のほぼ $8.3\text{KBq}$  ( $5\times 10^5\text{ dpm}$ ) を含むように調整したアセトン溶液を成虫1頭あたり $1\mu\text{l}$ を局所施用した。

局所施用したオオサシガメを毎日採取し、約 $2\text{ml}$ のアセトンで虫体を洗浄し死亡させた。1頭あたり二回洗浄した液を $5\text{ml}$ バイアル瓶に集め体表面に残る放射活性測定試料として貯蔵した。体液については、脚部先端を切除し、脚部から漏出する液をキャピラリー管に採取した。その後虫体を解剖し、頭部、胸部、胃、卵巣、腹部脂肪体、残り腹部組織、脚部および翅部それぞれに分け、それぞれ以降の放射能測定用調整試料とした。

#### 2-1-4、各組織および器官における放射性 $^{14}\text{C}$ の測定

分離した各組織および器官を第5章、第2節、5-2に述べたと同様に組織破壊液で溶解し、放射能測定試料を調整した後に液体シンチレーションカウンターで $^{14}\text{C}$ の放射能を測定した。なお、別途、虫体由来の各組織、器官について新しく試料を調整し $70^\circ\text{C}$ 下で乾燥させてからそれぞれの乾燥重を求めた。

#### 2-2、 $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfenの成虫から卵への移行

##### 2-2-1、卵における胚発生阻害に必要なpyriproxyfenの量

羽化3日後の成虫に、アセトン調整液 $1\mu\text{l}$ を局所施用した。即ち、 $1\mu\text{l}$ 中非放射性的のpyriproxyfen $10\mu\text{g}$ に対し、放射性的の $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfenを $0.83\text{KBq}$  ( $5\times 10^4\text{ dpm}$ ) を含むように施用液を調整した。

放射性 $^{14}\text{C}$ 処理のメス成虫と同数の非処理オスとを容器内に收容し、交尾、産卵させて毎日採卵した。採卵した半分を孵化率の推移調査目的に $25^\circ\text{C}$ 下で孵化させた。残りについて、卵の表面をアセトンで表面洗浄を行い、上記と同様に $^{14}\text{C}$ の放射活性を測定した。以後、調整各組織、器官内において局所施用液における放射性 $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfenと非放射性的pyriproxyfenの混合比率が卵内の比率と変わらないものと仮定し、放射性 $^{14}\text{C}$ の計測値から卵に取り込まれたpyriproxyfen量の推定値を求めた。ただし、この場合、化合物の代謝割合やその程度については調査していないから測

定された<sup>14</sup>Cの放射活性がpyriproxyfenの親化合物に由来するとは必ずしも限らない。いずれにしても、得られた推定値は各試料に取り込まれたpyriproxyfenの最大値を見積もったことになる。

局所施用に平行して、塩素系炭化水素溶媒、CereclorS45の処理溶媒量の影響についても調べた。つまり、Cereclorの処理量変化とpyriproxyfenの処理濃度関係を変えて跗節による接触試験用に調整した。調整処理液を濾紙に塗布し、オオサシガメのメス成虫をとまらせて跗節接触によるCereclorの処理溶媒量の違いがどのように影響するかを観た。尚、濾紙に塗布する溶媒量の規定は、アセトンとの混合液に濾紙を浸漬、アセトンを揮発させる既出の方法にもとづいた (Langley et al., 1990)。

以上の実験のうち一部は先に述べたとおり、合成ジュベノイドであるS-methopreneを比較対照に用いた。

### 第3節 結果

#### 第1項 変態に対するpyriproxyfenの影響

オオサシガメの若虫の5齢期に対するpyriproxyfenの処理は、その少ない量で当該害虫の成虫への正常な発育を阻害した。しかも、対照に用いたS-methopreneの処理量より少ない量でその影響が出た (Table 6-1)。プロビット分析の結果、成育阻害影響の薬量中央値 (ED<sub>50</sub>) はそれぞれ、0.15 $\mu$ gおよび4.20 $\mu$ gであった。一方、若虫の過剰脱皮を引き起こす影響では、S-methopreneの最小必要量が5 $\mu$ gであったのに対しpyriproxyfenの必要量はわずか0.5 $\mu$ gでS-methopreneの約10分1という少量に過ぎなかった。他に、生育異常の成虫には、未伸展や捻じ曲がった翅が認められた。なお、プロビット分析はMLP, Laws Agricultural Tust, Version3.08, 1986 Rothamsted Experimental Stationの方法によった。

Table 6-1. Effect of topical doses of pyriproxyfen or S-methoprene in 1 $\mu$ l acetone per insect on metamorphosis of 5<sup>th</sup> instar larvae of *R. prolixus*

Juvenile hormone mimic	Dose ( $\mu$ g)	N	No. super-numerary instars	No. stunted adults	% abnormal	ED <sub>50</sub> ( $\mu$ g)
Pyriproxyfen	5	2	2	0	100	
	2	10	9	1	100	
	1	10	7	3	100	
	0.5	18	4	5	50	
	0.25	3	0	1	33	0.15
	0.20	13	0	9	70	
	0.10	18	0	10	55	
	0.05	8	0	2	25	
	0.025	11	0	2	18	
	0.010	8	0	0	0	
S-methoprene	50	5	5	0	100	
	10	10	8	2	100	
	5	6	2	4	100	
	2	6	0	2	33	4.20
	1	11	0	1	9	
	0.5	5	0	1	20	
	0.1	8	0	0	0	
	0	6	0	0	0	

## 第2項 卵の発育に対するpyriproxyfenの影響

Pyriproxyfenを5齢の若虫に処理した場合、低薬量においては次の変態過程で全く正常なメス成虫が出現した。出現したメス成虫を正常なオスと交尾させ産下させた卵について以後の孵化率を調査した。やはり、S-methopreneの影響よりpyriproxyfenの影響が強く、0.2 $\mu$ g処理のpyriproxyfenでは産卵期間の、少なくとも50日間にわたって卵の孵化が阻害された。一方、S-methopreneは1.0 $\mu$ gの処理でも30日間だけ孵化阻害が認められたのみだった (Table 6-2)。

所定の濃度範囲のpyriproxyfenをアセトン溶液として卵に直接処理した場合には、卵はpyriproxyfenに対する耐性を示し、2-10 $\mu$ g/卵の高濃度のpyriproxyfenのみで卵の発育に影響を及ぼした (Table 6-3)。

この様に、卵に直接本化合物を処理し、卵内に浸達させようとする高濃度の薬量が必要であったが、かなりの卵が発育を完了し、正常に孵化することを観察した。高濃度の処理量にかかわらず、卵に対する影響が少ないのは、主として直接卵に処理したpyriproxyfenに対する卵殻の透過性が低いためなのか、または卵の初期発育の段階で

Table 6-2. Percent viability of eggs produced by adult females of *R. prolixus* treated with pyriproxyfen or S-methoprene in their 5<sup>th</sup> instar. Numbers in brackets are number of observed

Juvenile hormone mimic	Dose (μg)	Time after adult ecdysis (days)								
		10	20	25	30	35	40	45	50	55
Pyriproxyfen	0.01			97 (31)		100 (14)	83 (18)	100 (27)		100 (8)
		0 (6)	100 (21)	91 (21)		100 (13)				
	0.20						0 (25)	0 (14)		
S-methoprene	0.10					82 (17)	100 (24)			
		1.00			0 (18)	100 (17)	100 (9)		100 (26)	

Table 6-3. Viability of eggs of *R. prolixus* treated 24–48 hours after oviposition with pyriproxyfen dissolved in acetone. Dose rate 0.2μl per eggs

Dose	N	No. completing development	No. normal eclosions	% viability
Untreated	40	31	31	77
Acetone only	24	20	20	83
Pyriproxyfen:				
0.2ng	24	23	23	96
10ng	24	22	20	92
20ng	24	21	19	79
2μg	24	10	8	33
10μg	24	16	16	67

成虫から卵巣内に浸透移行したpyriproxyfenに卵が曝される必要があるのかは不明である。この点を明らかにするため以下二つの実験をおこなった。即ち、初めに、<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを局所施用したメス成虫を経時的に解剖し、各解剖組織の<sup>14</sup>Cの放射能を測定した。

その結果、腹部脂肪体において処理後1日目において急激な<sup>14</sup>C由来の放射能の測定値が高くなるのが認められた (Table 6-4)。

その後脂肪体における<sup>14</sup>C量は10日目まで徐々に減少した。脂肪体で観られたこのような速い放射能の蓄積は他の組織では見られなかった。他の組織については、卵巣を

Table 6-4. Incorporation of radiolabel (disintegrations per minute) into different parts of the body of *R. prolixus* adults, following topical dose of 10µg pyriproxyfen containing  $5 \times 10^5$  dpm  $^{14}\text{C}$ -pyriproxyfen per adult female. Figures in brackets are percentages of total radioactivity administered

Days after treatment	Washings	Malpighian tubules	Midgut	Hindgut	Ovaries	Fat body	Head	Thorax	Abdominal residues	Legs & wings	Excreta	Haemolymph	Total counts detected
1	185,240 (31)	11,292 (2)	12,328 (2)	6,777 (1.1)	4,553 (0.8)	68,173 (11)	5,357 (0.9)	153,354 (26)	65,716 (11)	17,427 (3)	0	1,413 (0.2)	531,630 (89)
2	130,335 (22)	1,513 (0.2)	4,858 (0.8)	11,098 (1.9)	9,738 (1.6)	58,339 (10)	3,327 (0.6)	60,016 (10)	116,750 (20)	4,279 (0.7)	0	1,738 (0.3)	402,071 (67)
3	67,930 (11)	4,992 (0.8)	6,342 (1)	12,518 (2)	23,546 (4)	2,066 (0.3)	8,167 (1.4)	74,847 (13)	40,134 (7)	16,451 (3)	443 (0.1)	3,323 (0.6)	259,131 (43)
4	28,614 (4.8)	1,206 (0.2)	6,584 (1)	47,233 (8)	52,971 (9)	28,224 (5)	5,508 (0.99)	67,873 (11)	64,483 (11)	17,816 (3)	1,499 (0.3)	1,421 (0.2)	325,340 (54)
5	125,766 (21)	8,394 (1)	20,669 (3)	13,624 (2)	14,416 (2)	3,576 (0.5)	3,213 (0.5)	42,879 (7)	25,849 (4)	21,159 (4)	3,370 (2)	403 (0.1)	284,386 (47)
10	7,479 (1.2)	1,919 (0.3)	4,601 (0.8)	77,064 (13)	17,535 (3)	578 (0.1)	1,056 (0.2)	8,293 (1.4)	6,341 (1.1)	2,737 (0.5)	161,970 (27)	289,976 (48)	

Only 2-3% of radioactivity was recoverable from filter paper perches and other cage surfaces. Hence metabolism to  $^{14}\text{CO}_2$  must be suspected.

除けばほぼ似たような放射能の蓄積速度であった。一方、卵巣ではメス成虫への処理4日後、急激に<sup>14</sup>Cの放射エネルギーが最高値に達した。この卵巣における高い放射エネルギーは、卵殻形成の前期で、おそらく卵黄形成時期 (Vitellogenesis) と重なるので、<sup>14</sup>Cが脂肪体から卵巣へ移行したためと思われる。その後、10日後には後腸 (Hindgut) と排泄物において放射エネルギーが高くなる現象がみとめられた。

表 (Table 6-5) のパーセント表示値から各組織の乾燥重mgに対する放射エネルギーの分布として見直してみると、各組織における<sup>14</sup>C放射エネルギーの分布程度がよく判る。しかも、脂肪体における放射エネルギーの取り込みは一日目から著しく、それに伴って卵巣への移行量が増加したことが窺える。

Table 6-5. Distribution of radiolabel among different tissues during 10 days following topical application of <sup>14</sup>C-pyriproxyfen to adult females of *R. prolixus*

Days after treatment	Radioactivity per mg dry wt. (% of total administered)						
	Head	Thorax	Abdominal residue	wings & Legs	Abdominal fat body	Ovaries	Excreta*
1	1.6	2.2	2.1	0.3	23.8	0.2	0
2	1.4	2.4	4.4	0.4	16.3	0.6	0
3	2.6	2.6	4.4	0.5	14.1	2.1	0.1
4	2.5	3.6	2.8	1.6	8.1	4.0	0.2
5	2.6	2.6	1.1	1.1	11.2	0.2	0.6
10	2.4	1.1	0.5	0.7	1.0	0.2	26.9**

\* Excreta not weighed; \*\* radioactivity is total present in all excreta collected between 5 and 10 days after treatment.

放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenのみを処理した場合には、ほぼ1μgの<sup>14</sup>C-pyriproxyfenでは放射活性、 $5 \times 10^5$  dpm = 8.3KBq (6.69GBq g<sup>-1</sup>) を示すことになる。そこで、次に、以下のような実験を行った。つまり、<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの放射エネルギーが卵へ取り込まれる割合とその程度を調べた。処理方法として、メス1頭あたり、10μgのpyriproxyfenを施用することで放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの0.1μgを処理できるようにした。

Figure 6-1にその結果を示す。つまり、オオサシガメのメスに処理した放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenから卵が取り込んだ放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの量的変化をもとに計算して得た結果を示した。つまり、pyriproxyfenの絶対量と卵の生存率の関係を経過時間毎にプロットして表した。処理10日後に放射性<sup>14</sup>Cの取り込みが最大になり、このとき同時に、卵の孵化率がほぼゼロに低下した。その後13日間で、<sup>14</sup>Cの放射エネルギーに相当するpyriproxyfenの計算最大値が、卵あたり約45ngのピークから約8ngに減衰した。しかし、卵は全てが孵化しなかった。この時点からは、処理60日後までの間わずかに<sup>14</sup>Cの放射エネルギーが認められたに過ぎなかった。しかしながら、卵の孵化生存率は依然として低く、処理13日目から60日目までに得られた値を平均して見ていると、わずか10~20%が孵

化したに過ぎなかった。その後、60～80日を経るころになってメス成虫は漸く無処理区に匹敵する健全な卵を産出し始め、孵化率は約20%から70%前後へと回復を示した。

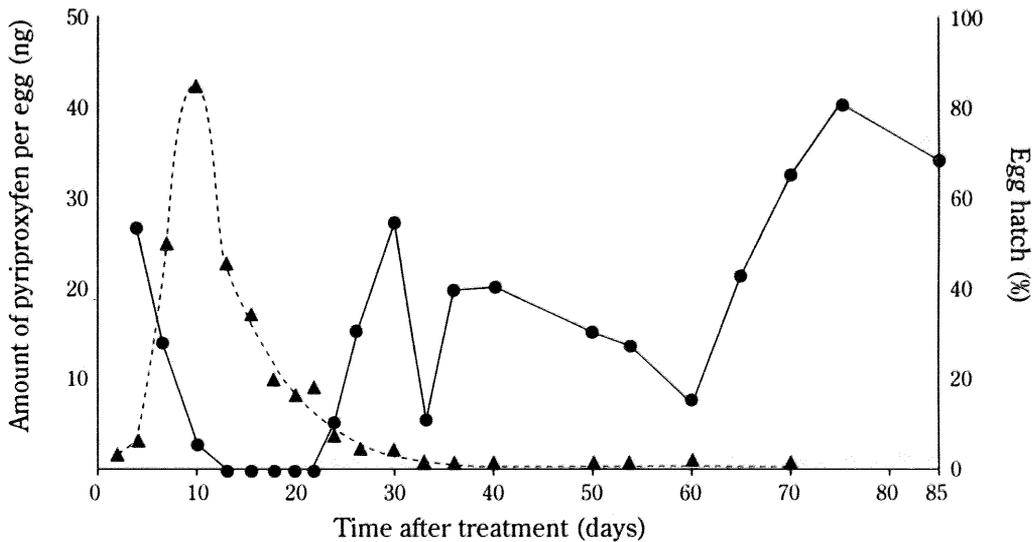


Fig. 6-1. Relationship between pyriproxyfen content (▲) of individual eggs of *R. prolixus* and their viability (●) at intervals after treatment of adult females topically with 10 µg active ingredient.

### 第3項 オオサンガメの防除を目指したpyriproxyfenの製剤

オオサンガメは建物などの隙間に隠れ、棲息する習性をもつため、この習性を利用して防除方法を考えた。塩素系炭化水素溶媒、Cereclor S45にpyriproxyfenを溶解、塗布した濾紙を隠れ家として利用させオオサンガメの成虫をその濾紙に接触させることで、密度抑制の効果が認められるかどうかの可能性について評価した。しかし、Cereclor S45のみの塗布量が5µl/cm<sup>2</sup>、あるいは10µl/cm<sup>2</sup>の量になると卵に致死の影響がでると判った。しかも次第に成虫の死亡率も上昇し、pyriproxyfenの効果が検出できなくなった。無影響となるCereclorの最大許容量は3.5µl/cm<sup>2</sup>であった。この溶媒量でpyriproxyfenの濃度範囲を変化させて試験を継続し、影響を検出できるpyriproxyfenの最少量は0.15mg/cm<sup>2</sup>と判明した。この結果を受けて無処理の濾紙および処理の濾紙に対し、サンガメの成虫をまとめて数日間ずつそれぞれの濾紙に交互に接触させた (Table 6-6のカラム2)。それぞれの濾紙の上に成虫が産卵した卵を集め孵化率を調査した。このように交互に接触させ産卵させれば、メス成虫経路による卵への影響の有無あるいは、卵が処理面に接触してpyriproxyfenに汚染されたかどうか判断がつくことになる。

このようにして処理開始からの経過日数をTable 6-6のカラム3に示した。交互接触の濾紙上それぞれから採卵した卵数とその孵化率の変化を同Tableの最後、三つのカラムに示した。

この結果から、卵の生存率に影響が発現するには、明らかに成虫が予め産卵14日前にpyriproxyfenにさらされる必要がある。また、無処理濾紙の産卵区から採卵した場合

の孵化状況が処理濾紙の産卵区から得た卵の孵化状況と似た傾向であったことから、卵が処理濾紙に接触してpyriproxyfenに汚染し、孵化阻害率が高くなる事実は認められなかった。したがって濾紙上に排泄されたpyriproxyfenに卵が接触したために汚染するという疑いは払拭された。以後、処理48日後になるとpyriproxyfen処理濾紙が影響を及ぼさなくなり、卵の生存率が正常な状態に回復していった。ただ、影響が消失するこの現象は、pyriproxyfenが濾紙上で分解することによるのか、あるいはオオサシガメ自身による除去作用によるものかは不明のままである。

Table 6-6. Percentage viability of eggs produced by the adult females of *R. prolixus* exposed alternately to filter paper perches treated with 0.15 mg pyriproxyfen and 3.5µl oil (Cereclor S45) cm<sup>-2</sup> and to untreated filter papers. Alternate egg collections were made from treated and untreated filter papers to demonstrate any effects of direct contamination of eggs after oviposition

Filter paper perch	Exposure duration of adults (days)	Time since start (days)	Eggs (No.)		
			Total	Hatched	% hatched
Treated	2	2	36	36	100
Untreated	5	7	93	91	98
Treated	2	9	98	64	65
Untreated	3	12	61	45	74
Treated	2	14	69	31	45
Untreated	5	19	97	3	3
Treated	14	33	293	6	2
Untreated	15	48	387	56	15
Treated	7	55	177	114	64

#### 第4節 考察

明らかに、pyriproxyfenはS-methopreneと比べオオサシガメの若虫化 (Juvenilization) への影響が強い。この影響の強さは5齢の若虫にpyriproxyfenを処理した場合に、更にその羽化した成虫から生まれ出る卵の正常な発育を阻害するという現象にも及んでいる。いずれにしろ、若虫の過剰脱皮あるいは卵に対する直接の局所施用によって卵の発育に影響をもたらすpyriproxyfenの必要量はかなり高くなり、合成ジュベノイド化合物をオオサシガメの防除に適用しようとするとその価値を下げることになる。また、製剤にも問題があり、棲息場所の表面に粉剤を施用した場合でも残効性の面から不十分な結果に終わっている (Oliveira Filho, 1988)。

通常に使用される多くの殺虫剤に対する抵抗性発達の問題、人間および家畜に対する安全性、あるいはこれら既存の殺虫剤に対する施用技術の発展の問題などが未解決のまま残る。そのような状況の中で、第三世界におけるこうした殺虫剤の適用を考え

るとき既存の手法に代替し得る、より適切な防除戦略の研究が必要とされてくる。オオサシガメに対する合成ジュベノイド化合物の適用においては、必要薬量が多くなるという観点で以前から疑問視されてきた。しかし、本研究における発見は低薬量によるこれら類似化合物の防除適用が可能であると示唆する。オオサシガメ、*R. prolixus*の成長制御におけるジュベノイドの働きには、第5齢のメス若虫に処理した場合、過剰脱皮を生じさせるには低薬量に過ぎてもメス成虫が産下する卵に影響し、生存率を下げる役割があるとみられる。この見解は、Patterson and Schwarz (1979) が導いた同じ昆虫による実験結果の結論と対照をなす。つまりオオサシガメの変態過程の阻害における体重あたりのジュベノイド化合物の薬量は、卵の孵化阻害に必要な薬量より少ないと結論した。しかしながら、彼らの結論は、卵に直接局所施用した結果から導かれたものであり、本研究におけるTable 6-2の結果とは異なる。

本研究では、メス成虫に局所施用した際の、放射能の成虫各組織における分布と卵の孵化率の関係、および卵内に存在するpyriproxyfenの量から次のように示唆される。即ち、卵黄形成前期 (Pre-vitellogenesis) に成虫が低薬量のpyriproxyfenにさらされた場合、卵黄形成 (Vitellogenesis) の際に本化合物の致死量が一緒に取り込まれ、それが後の胚発生に影響をおよぼす。また、経過時間に伴って長い間ごく僅かの放射能が卵に認められるにすぎない。それにもかかわらず長期間を経ても、卵への致死作用が引き続き認められた。この事実から、卵がごく初期の発育段階にあれば、pyriproxyfenの低薬量に対する感受性がより高いものと推察される。一端、産下された卵は発育が既に進んでおり、卵殻の非透過性も手伝ってpyriproxyfenに対する、あるいは他の類似の化合物 (Oliveira Fiho, 1981; Patterson and Schwarz, 1979) に対する卵の感受性が鈍るものと考えられる。Pyriproxyfenの処理後、オオサシガメ体内と排泄物中の検知可能な放射能レベルが3日目から30日目にかけて処理量の50%に減衰した。したがって、本化合物は代謝を受け、またその大部分は呼吸作用で放射性の炭酸ガスとして消失したものである。

本研究では、成虫の跗節による長期間の接触目的にpyriproxyfenの製剤化を初めて試みた。その結果、顕著な卵の発育阻害が比較的長い期間にわたって記録された。Pyriproxyfenによるオスの汚染が交尾によって非汚染メスに本化合物が移行する現象は不妊化作用においてボーナス的付加効果であり、結果的にメス、オス両性に対する自動的な不妊効果発現の道を提供することにもなる。この考え方は最初にホシカメムシ、*P. apterus*において推し進められた (Masner et al., 1968) が、本研究で述べた油性の製剤はこの“不妊化の伝播”に理想的な手段を提供するものと思える。ツェツェバエ防除においては、不妊化手段の方が殺虫手段よりもさらに効果的であることは既にLangley and Weidhaas (1986) が論じ、かつ上述と類似の油性製剤についてはツェツェバエ防除目的にLangley et al. (1990a) が評価している。したがって、オオサシガメ防除上、どの段階かにpyriproxyfenを施用することによって特定発育期の密度降下を維持できれば、結果的には全体の密度を下げることに繋がる。製剤について、今後の更なる研究が望まれる。

## 第7章 吸血性害虫、オオサシガメ、*R. prolixus*とツェツェバエ、*G. m. morsitans*の体内および害虫誘引の標的装置上におけるpyriproxyfenの残留性

### 第1節 緒言

放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを局所施用した2種類の害虫、ツェツェバエ、*G. m. morsitans*及びオオサシガメ、*R. prolixus*における放射性炭素<sup>14</sup>Cの挙動がそれぞれの変態過程の阻害及び卵の孵化阻害と呼応していることが前章までの研究で明らかになった。しかし、これらの研究では放射性炭素<sup>14</sup>Cがpyriproxyfenそのものに由来するのか、または供試虫による代謝分解産物に由来するのかどうかは不明のままであった。実験結果からは、供試虫に処理されたpyriproxyfenのほとんどが代謝を受けず、親化合物がそのまま次世代に移行し、その後の繁殖に影響を及ぼしたものと結論した。これが著者の以後の開発研究における理論的背景をより強化するものとなった。

以下に述べる実験では、虫体に取り込まれたpyriproxyfenの大半が未分解物であることを証明した (Langley et al., 1992)。同時に、実用上の残効性の観点からも自然条件下に長期間暴露した場合の本化合物の残留性が問題になる。実際場面の自然条件下で不妊化モデル装置に施用したpyriproxyfenを曝し、放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) 分析による<sup>14</sup>C放射性炭素の追跡実験を行いその残留性について明らかにした (Langley et al., 1993)。

### 第2節 試験材料および方法

#### 1、供試虫

##### 1-1、ツェツェバエ、*G. m. morsitans*

第3章、第2節と同じ、室内累代飼育系の*G. m. morsitans*の蛹と成虫を用いた。

##### 1-2、オオサシガメ、*R. prolixus*

上記と同様豚の堵殺血液吸血源として室内、25℃下でBristol大学、Tsetse Research Laboratoryが飼育維持する系統 (Langley and Pimley, 1978) を用いた。

#### 2、放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの処理方法

##### 2-1、放射性pyriproxyfen

第5章、第2節と同じ比放射能、2.15GBq mmol<sup>-1</sup> (6.69GBq g<sup>-1</sup>) を用いた。

##### 2-2、Pyriproxyfenの局所施用

Pyriproxyfenの薬量が1μl/頭あたり10μgおよび2×10<sup>5</sup> dpm の<sup>14</sup>C-pyriproxyfen、両方を含むようにアセトン溶液として調整した。調整液の処理は、ツェツェバエに対しては繁殖2周期目のメス成虫の腹部腹板に局所施用した。オオサシガメについてはツェツェバエと同様にし、羽化直後のメス成虫に処理した。ただし、放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの施用量は、3×10<sup>5</sup> dpmとした。

## 2-3、<sup>14</sup>C-pyriproxyfen局所施用虫の飼育維持

### 2-3-1、オオサシガメ

局所施用したオオサシガメのメスを透明のポリスチレンカップに収容し、同数の雄と同時に、各成虫の休止場所として濾紙を収容した。採卵と平行して毎週一回給餌した。毎週採卵した一部は直ちに放射能測定に供試した。残りは以後の高速クロマトグラフ（HPLC）用の分析試料とし、バイアル瓶にてメタノール液中に浸漬、貯蔵した。また、毎週採卵した卵の孵化率調査を目的に、残りの卵を室温25℃下に飼育維持し、約21日後の孵化を待った。これら孵化虫についても放射能の測定に供試した。同様に、残りの孵化標品についても以後のHPLC分析のためにメタノール中に貯蔵した。一部の卵で、30日後に孵化を認めたので、未孵化の卵と孵化直後の1齢仔虫を回収して同様に測定に供した。

### 2-3-2、ツェツェバエ

同様に放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを施用したメス成虫を10個体のグループとして円筒のプラスチック製容器に収容し、毎日給餌し、産出する蛹を採取して以後の繁殖試験に供した。産出した蛹は25℃で飼育し、発育の各段階にしたがって、蛹を確保した。その一部は直ちにシンチレーションカウンターによる放射能測定に供した。残りは上記と同様にHPLC分析用試料としてメタノール中に保存した。更に、処理メス成虫に由来する、2周期目および3週期目に産出される蛹についても同様に確保し10日間のみ飼育し、以後の試験に供した。

### 2-3-3、両供試成虫の処置

<sup>14</sup>C-pyriproxyfenを局所施した両供試虫、ツェツェバエおよびオオサシガメの成虫についても放射能の測定とHPLC分析に供した。即ち、それぞれツェツェバエについては処理後36日の成虫を、オオサシガメについては14日および53日後の成虫を供した。また、実験期間中、メスと共に同ケージ内で飼育した無処理の雄についても同様の測定と分析を実施した。

## 3、放射能の測定およびHPLC分析

### 3-1、放射能測定

放射能測定用に確保した供試虫をメタノール液中で磨砕し、遠心分離によって放射性化合物を含む抽出液と残渣とに分けた。更に残渣をメタノールで3回洗い洗浄液を遠心分離抽出した液と合一した。合一抽出液の3mlをシンチレーションカウンター用プラスチック性バイアル瓶に採りN<sub>2</sub>気流下でメタノールを揮散させた後、第5章、第2節-4に述べたと同様、3mlのシンチレーション液、Optipase “Hisafe” II (LKB) を添加して放射能の測定に供した。放射能はLKB Wallac 1217 Reckbetaを用い、直接測定した。

### 3-2、HPLC分析

分析用に貯蔵した供試虫を2mlのCH<sub>3</sub>CN液に収容し2分間超音波破碎した。破碎液500μlをエッペンドルフ遠沈管に採り200rpm下で10分間遠心分離を行った。その上で、上清液20μlを以後の逆相クロマトグラフ、HPLC法の分析に供した。HPLCの操作は以下の条件で流出展開した。即ち、流量をWaters 600Eのシステムで毎分1mlになるように制御し、溶出液のUV吸光度 (UV absorption) を波長220nmで測定、プロットした。

Columns : 8×100mm, Packing 4μm, C18 Nova-Pack (Waters) Cartridge

Eluent : CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O= 60/40 (V/V)

Flow rate : 1.0mL/min.

Detector : Waters 990 UV (220nm) multi-wave length photodiode array detector

以後、カラム展開流出液を1分毎に採取し、<sup>14</sup>Cの量をLKBシンチレーションカウンターで測った。なお、本分析はINRA (Institute Nationale de Recherches Agronomique, Versailles) のBernard Mauchamp博士にお願いした。

## 第3節 結果および考察

### 第1項 オオサシガメの<sup>14</sup>C-pyriproxyfen

試験結果はTable 7-1にまとめた通りであり、局所施用した<sup>14</sup>C-pyriproxyfenのうち、約10%の放射性<sup>14</sup>Cが14日間、処理メス成虫体に残存した。一方、局所施用量、10μgのpyriproxyfenをもとに、卵に取り込まれた<sup>14</sup>Cの放射能ng値から計算すると、この期間中に処理メスが産んだ卵には、0.07%~0.5%の<sup>14</sup>C-放射能が認められた。局所施用後、21日から28日目に産下された卵の内部においてpyriproxyfenが代謝された兆候は認められなかった。取り込み量の減少は、恐らく母体における代謝、排泄に由来すると考えられる。クロマト流出画分の<sup>14</sup>Cのほとんどは標準品、pyriproxyfenの流出画分と一致した。

しかし、処理30日後に産下された卵では未分解性pyriproxyfenの量は30%以下に減少した。とは言え、同じ経過時間のメス成虫では状況が異なり70%もの未分解性の親化合物が残存し、更に53日後でもその状況は変わらなかった。

以上の結果は、メス体内に貯蔵されたpyriproxyfenが代謝され、処理30日後には、生じた極性の代謝産物がメスから卵へ送り込まれたものと強く示唆する。メス成虫から卵に取り込まれた1週目当初にあった約50ng (1.7×10<sup>3</sup>dpm) のpyriproxyfen量は、処理後21日目~28日目の間に2.5ng (0.8×10<sup>2</sup>) へと、次第に減衰した。この現象は、30日後において取り込まれたpyriproxyfenの親化合物が処理量の30%以下に減衰し、卵の孵化現象を伴った (Table 7-1)。

特に興味深いことに、メスと共に同一容器内で飼育した無処理のオスが<sup>14</sup>Cの放射活性を帯びたが、pyriproxyfenの親化合物量にしてわずか約25ngで、全体の6%にしか過

ぎなかった。このことから、オスが、メスと比べpyriproxyfenを代謝する能力が著しく高くない限り、この程度の量は容器内にメスが排泄した糞が汚染源となったためと考えられる。

Table 7-1. The fate of pyriproxyfen in adults and eggs of *R. prolixus* after treatment of adult females topically with 1 $\mu$ l acetone containing 10 $\mu$ g pyriproxyfen and 3 $\times$ 10<sup>5</sup> dpm radiolabelled pyriproxyfen before placing with males

Sample	Time after treatment (days)	Age of sample (days)	Radioactivity		Authentic pyriproxyfen (%)
			dpm	ng equiv.	
Egg	< 7	1 - 7	2.2 $\times$ 10 <sup>2</sup>	7	94.5
Egg	< 7	7 - 14	1.7 $\times$ 10 <sup>3</sup>	57	92.0
Egg	< 7	14 - 21	4.5 $\times$ 10 <sup>2</sup>	15	92.0
Egg	7 - 14	1 - 7	2.0 $\times$ 10 <sup>2</sup>	7	89.2
Egg	14 - 21	1 - 7	3.4 $\times$ 10 <sup>2</sup>	11	82.3
Egg	21 - 28	1 - 7	0.8 $\times$ 10 <sup>2</sup>	3	91.7
Egg	> 30	1 - 25	< 1.0 $\times$ 10 <sup>2</sup>	< 3	22.0
1st instar	> 30	> 20	< 1.0 $\times$ 10 <sup>2</sup>	< 3	27.0
Adults					
Female	14	—	2.2 $\times$ 10 <sup>4</sup>	730	79.5
Female	53	—	7.0 $\times$ 10 <sup>3</sup>	233	73.0
Male	53	—	0.8 $\times$ 10 <sup>2</sup>	27	6.5

ng equiv.; estimated equivalent amount (ng) of pyriproxyfen calculated from radioactivity measured in the sampled eggs

## 第2項 ツェツェバエの<sup>14</sup>C-pyriproxyfen

メスの繁殖第2周期目には処理した<sup>14</sup>C-pyriproxyfenが幼虫に取り込まれ、さらに処理量全体の約20%が蛹に取り込まれた (Table 7-2) 第2周期目に産出された蛹では<sup>14</sup>C-pyriproxyfenはメス親に処理した量の5%以下となったが、それでもpyriproxyfenの親化合物としては取り込み量全体の83%を占めた。第3週期目の蛹になるとその量は処理量の0.3%に減じ、親化合物としてのpyriproxyfenは取り込み量の65%に減少した。一方、この時期のメス成虫には処理した放射活性の3%が残るに過ぎなかったが、まだpyriproxyfenの親化合物としてはその残存量の77%に達していた。したがって、ツェツェバエにおけるpyriproxyfenの代謝は緩慢で、蛹に取り込まれた未分解のpyriproxyfen量はメス親におけるその存在量を反映したと観られる。しかも、蛹の体内においては更にpyriproxyfenが代謝された兆候はほとんどなかった。

Table 7-2. The fate of pyriproxyfen in adults and puparia of *G. m. morsitans* after treatment of adult females topically with 1μl acetone containing 10μg pyriproxyfen and 2×10<sup>5</sup> dpm radorlabelled pyriproxyfen

Reproductive cycle after treatment	Age of puparia (days)	Radioactivity / insect		Authentic pyriproxyfen (%)
		dpm	μg equiv.	
1	1 - 3	4.0×10 <sup>4</sup>	2.0	98.6
1	1 - 3	3.4×10 <sup>4</sup>	1.7	87.2
1	10 - 13	3.7×10 <sup>4</sup>	1.8	88.4
1	17 - 20	4.0×10 <sup>4</sup>	2.0	81.6
2	1	1.0×10 <sup>4</sup>	0.5	83.0
2	7 - 10	5.0×10 <sup>3</sup>	0.25	86.2
3	1 - 6	6.0×10 <sup>2</sup>	0.03	65.0
End of 3 (36 days)	Adult female	6.0×10 <sup>3</sup>	0.30	77.0

第5章におけるツェツェバエに対する<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの追跡実験による研究結果で、メス成虫の生涯に不妊効果をもたらすpyriproxyfenの量が、1頭あたり20ng必要であることを明らかにした。本研究から、ツェツェバエのメス親においてはpyriproxyfenの代謝が緩慢であり、確かに体外にも排出されるが、産出される全ての子孫が変態に失敗するに十分なpyriproxyfenの量を体内に維持していると結論できた。こうした代謝の様相はオオサシガメ、*R. prolixus*においてもほとんど似た状況であった。しかしながら、ツェツェバエの場合と比較すると、オオサシガメのメス成虫1頭あたり10μgもの大量のpyriproxyfenを処理しても、処理後30日の間に産出される全ての卵の生育を妨げるのに足る十分な量のpyriproxyfenが卵に移行することはなかった。

何れにしろ本研究からも、結論として次のように言えよう。即ち、pyriproxyfenを不妊化手段とするオオサシガメの防除戦略においては、本害虫の生息場所である建物の割れ目や休止場所に本剤を処理するならpyriproxyfenに対するオオサシガメの継続的な接触を確かなものにし得る。一方、pyriproxyfen固有の化学的安定性と本化合物のごく少量に対するツェツェバエ幼虫の極めて高い感受性に着目すれば、pyriproxyfenが、現在ピレスロイド化合物と牛の匂いとを組み合わせを主体とするツェツェバエ誘引用の回転標的法（フランキングターゲット）の補完手段としても有用であるに違いない。

## 第8章 鱗翅目害虫、コナガ、*Plutella xylostella* の全発育ステージに対する pyriproxyfen の影響

### 第1節 緒言

前章までの研究結果、pyriproxyfenが親を経由して化合物が次世代にも移行し、繁殖阻害をもたらすことが明らかになり、従来の合成ジュベノイド化合物とは大いに異なる特徴であることが判った。Masner et al., (1968) では推定に過ぎなかったジュベノイド化合物の産下卵への移行化合物が物質的に捉えられ、その存在が証明された。<sup>14</sup>C-pyriproxyfenをそれぞれの両親に処理したツェツェバエ、*G. m. morsitans*の蛹、及びオオサシガメ、*R. prolixus*の卵に大半が未分解のままの親化合物として取り込まれ、それぞれにおいて以後の変態に影響を及ぼし、発育を停止させることが明白になった。

しかし、ここに至ってもこれらの害虫が、偶然ではあるが何れも吸血性であり、且つ一方は双翅目で幼虫胎生、他方は半翅目で両種ともに不完全変態種に属することからこうした現象はpyriproxyfenに対するこれら昆虫の特殊な反応結果であるという昆虫学的観点の疑問が提示され、専門家の疑いすら誘った。特にmethopreneを扱ってきた研究者にその傾向が強かった。これら研究成果については開発当初、学術的に未発表であることも手伝って研究成果の意義についても疑問視された (Edwards, P.\*, 1986, 私信)。確かに、本化合物の害虫に対する影響についての研究は、幼虫加害が問題となる鱗翅目害虫ではpyriproxyfenの作用がどのようなものであるか、それまで全体像が把握されることがなかった。その主な研究は、本化合物発見の基礎となるハスモンヨトウ、*Spodoptera litura*を用いてHatakoshi (1987, 1992) が精力的に行った内分泌学的視点に基づく成果があった。しかし、変態に対する影響について全発育ステージ全てについて検討したわけではなかった。後には、他の特定の鱗翅目害虫について、その加害段階に焦点をあてた研究成果が幾つか発表されたが、同様に限られた発育ステージのみが対象であった。例えば植物検疫上の関心からYokoyama and Miller (1991) がシンクイガ類にMulye and Gordon (1989) が森林害虫、ハマキガ科のトウヒシントメハマキガ、Spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*などで影響を調べ報告しているに過ぎない。こうした、幼虫が加害する昆虫では、過剰脱皮作用により、序説でも述べたように、個体が大きくなり食害がもっと増すなどの作用もあることから、一般的にはそれ以上の応用評価が無意味であると思わせる。

したがって、以下の研究では、鱗翅目害虫であり防除上も抵抗性が問題となっているコナガを対象害虫として選び、改めてpyriproxyfenが卵から成虫までその生育にどのように影響するか網羅的に調べ、その作用の全体像を把握しようとした。また実用防除の上で、どのような変態への影響が適用可能であるかを探り、考察しようとした。結果的に、従来からジュベノイドで知られている種々の生理現象に対する影響がコナガでも例外ではないと確認し、不妊化作用が実用防除の上で適用の可能性が高いことを明らかにした (Oouchi, 2005a)。

\*英国 MAFF Slaw Lab : (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food。現、Depart-

## 第2節 試験材料および方法

### 1、供試昆虫

住友化学工業（株）が維持するコナガ、*P. xylostella*を用いた。ただし、本試験では室温、25℃、照明、14明—10暗および相対湿度（R.H.）60—70%の条件下で累代飼育する殺虫剤感受性系統を使用した。

### 2、試験方法

#### 2-1、使用薬剤

特に断らない限りpyriproxyfenの10%乳剤を所定の濃度に希釈して使用した。

#### 2-2、卵への処理

産卵前に、キャベツの葉に所定濃度に希釈した乳剤液を散布し、風乾した後、処理面に数頭の成虫を放飼して産卵させた。この卵、0—24時間内の産下卵、即ち産卵0時にpyriproxyfenに接触した卵として以後の調査に供した。

産卵後について、産卵0—24時間後および24—48時間経過した卵に所定濃度の乳剤を直接散布した。以後25℃下の室内に静置し、5日後の産卵数とその孵化率を調査した。ただし、乳剤の散布濃度は有効成分としてpyriproxyfenの有効成分、50ppmを含むように予め水で希釈調整した。

更に、pyriproxyfenの薬量変化と産卵に対する影響を観るために成虫、5対のメス、オスを、乳剤を処理していない新鮮なキャベツの葉に1—5時間放飼して産卵させた。産卵6時間以内の卵についてキャベツの葉ごと処置濃度の希釈乳剤液に20秒間浸漬した。風乾後プラスチックの容器に移して室内に静置した。処理7日後、孵化率および孵化健全幼虫数および致死数を調査した。ただし、乳剤の処理液におけるpyriproxyfenの薬量変化は有効成分として0.1、1、10および100 ppmの濃度が得られるように水で希釈調整した。

#### 2-3、幼虫への処理

二通りの発育段階、すなわち、3齢幼虫と終齢幼虫を用いた。3齢幼虫については予め新鮮なキャベツの葉を所定乳剤液に1分間浸漬した。風乾後、約30頭を放飼して、このpyriproxyfen処理の葉を餌とし3日間飼育した。その後、新鮮な無処理の葉と入れ替え浸漬処理開始7日後に、それぞれ、孵化幼虫数、生存と致死幼虫数、蛹化数および成虫羽化数を調査した。尚、餌として与えキャベツの葉の食害程度を調査した。つまり、供試したキャベツの葉の幼虫による食痕数を目視により数え、無処理区の被害数の指数を100として処理濃度毎の相対的な被害率を3日目と7日目について合わせて求めた。ただし処理乳剤の濃度は、各々0.1、1、10および100ppmの有効成分が得られるように水で希釈調整した。

さらに、終齢幼虫に50頭についても同様に処理葉を与え飼育した。即ち、乳剤の有効成分を以下の濃度、4、20、100および500ppmに調整して与え、3齢幼虫と同様にして処理7日後、変態に対する影響をみた。

#### 2-4、蛹への処理

終齢幼虫を飼育容器に投入後3日以内に蛹化した30個体に対し、容器のフタの間隙から噴霧液が内部に到達するように、乳剤の各所定濃度を2mの距離から散布した。散布7日後に成虫羽化数を調査した。ただし水希釈の乳剤濃度を以下に設定した；4、20、100 および 500ppm。

#### 2-5、成虫への処理

##### 2-5-1、散布処理

羽化、24時間以内のメス、オス成虫、各20頭を予めナイロンネット（メッシュサイズ、<1mm）で覆った1辺が14cmのスチール枠製箱型のケージに収容し、pyriproxyfenの有効濃度、100ppmの水希釈液を手動のミニ散布器（マルハチ産業（株）、東京）を用いてネットに向けて散布した。散布後ケージ内にダイコンの芽だしを入れ産卵をさせた。以後の採卵、孵化率の調査のために毎日新鮮なダイコン芽だしと交換した。

##### 2-5-2、塗布接触処理

次の二通りの処理を実施し、pyriproxyfenの成虫に対する影響を調査した。一方は、pyriproxyfenをアセトンに溶解し、直径9.5 cmのアルミニウム箔に塗布した。風乾、溶媒のアセトンの揮散後、未交尾のメス、オス別々に各々20頭ずつ処理面に1時間強制的に接触させた。他方は菜種油とアセトンの混合、1:50の溶媒として予めアセトンにpyriproxyfen溶解し、アセトン処理と同様に強制接触させた。ただし、アセトン単独、混合溶媒系いずれにおいても1ml塗布によって pyriproxyfenの有効成分が平方センチあたり0.04g a.i.となるように希釈調整した。

### 第3節 結果

#### 第1項 卵の孵化に対する影響

Pyriproxyfenを処理した卵のいずれの経過時間でも、明らかに胚発生に異常がおこり孵化阻害が認められた。特に、卵の齢期が未だ進んでいない産卵直後の若い卵に対する影響が大きかった。なかでも、pyriproxyfenを処理した葉面に産み落とされた卵および産卵24時間以内に浸漬処理した卵では、90%の卵に孵化阻害が生じ、いずれもわずか10%の孵化率を認めたに過ぎない。しかしながら、齢期が進んだ卵では影響が解消され、産卵後24-48時間経過後に浸漬処理した場合では孵化率が70%に達した（Table 8-1）。

産卵6時間後の卵にTable 8-2に示すような薬量範囲を処理したところほぼ処理濃度に応じた孵化阻害の影響が認められた。0.1ppm処理でも27%の孵化阻害が認められ、さ

らに処理濃度が高くなれば孵化阻害率も高く、90%に達した。孵化した幼虫の生存率も極端に低くわずか0-0.5%を示した。この低率は孵化直後の致死に起因している。

Table 8-1. Viability of *P. xylostella* eggs of different ages treated with pyriproxyfen (n=5)

Treatment	Conc. (ppm)	Inhibition of egg hatch (%)		
		-24-0 <sup>a</sup>	0-24	24-48h
Pyriproxyfen	50	89.3	90.3	31.6
Untreated	—	0	0	0

<sup>a</sup> Pairs of adults were released onto cabbage plants after spraying or before spraying ; -24-0: oviposited between 0-24 h after spraying; 0-24 and 24-48: oviposited between 0-24 h and 24-48 h before spraying, respectively.

Note : No egg numbers are reported in this experiment because of recording error, nevertheless they were within the range of those observed in Table 8-2.

Table 8-2. Dose response data for eggs of *P. xylostella* treated with pyriproxyfen (n=3)

Treatment	Conc. (ppm)	No. of eggs <sup>a</sup>	% Unhatched egg	% Larvae	
				Dead	Alive
Pyriproxyfen	0.1	126	27.0	41.3	31.7
	1	168	49.4	45.3	5.2
	10	151	67.5	31.8	0
	100	169	89.3	10.7	0
Untreated	—	84	3.6	8.3	88.1

<sup>a</sup> Eggs oviposited within 6 h were used. Larval mortality was recorded at 7 days after treatment.

## 第2項 幼虫の変態に対する影響

処理した3齢幼虫では、pyriproxyfenの有効成分量、0.1-10ppmでも蛹への変態が停止した。その停止率は供試幼虫数の6.7%と24.1%であった (Table 8-3)。より高濃度処

Table 8-3. Effect of pyriproxyfen treatment on 3rd instar larvae of *P. xylostella* (n=3)

Treatment	Conc. (ppm)	No. of larvae	Corrected mortality (%)				%		Relative value of leaf damage area in 3 to 7 days
			3	4	5	6 (DAT <sup>a</sup> )	Pupation	Adult emergence	
Pyriproxyfen	0.1	30	0	13.9	73.9	92.2	6.7	6.7	69.3
	1	28	0	19.3	60.0	83.3	3.6	3.6	27.1
	10	29	0	3.4	42.1	55.8	24.1	17.2	108.6
	100	30	3.3	3.3	14.1	26.1	50.0	6.7	192.9
Untreated	—	28	0	7.1	10.7	14.3	85.7	53.6	100

<sup>a</sup> DAT : Day (s) after treatment

理では、過剰脱皮の大きな幼虫を生じた。しかも過剰脱皮幼虫区では幼虫の期間も低濃度処理由来の幼虫より長くなり、餌として与えたキャベツの葉に対する食害が大きくなった。一見矛盾するが、興味深いことにさらに高濃度の100ppm処理では処理虫に50%もの蛹化がおこり、且つほとんどの蛹は発育を停止し、成虫羽化が阻害された。

一方、老齢幼虫では3齢幼虫の場合とは異なり、Table 8-4に見られるように多くが蛹の段階で発育が阻害されることなく成虫羽化に成功した。

Table 8-4. Effect of pyriproxyfen treatment on final instar larvae of *P. xylostella* (n=2)

Treatment	Conc. (ppm)	No. of larvae	Adult emergence at 7 days after treatment (%)
Pyriproxyfen	4	100	49.0
	20	100	41.0
	100	100	23.0
	500	100	13.0
Untreated	—	100	93.0

### 第3項 蛹の変態に対する影響

Table 8-5に示すようにpyriproxyfenの噴霧処理は、蛹の発育を止め、成虫の羽化を阻害した。しかしその薬量反応は、処理したpyriproxyfenの有効成分濃度、4–500ppmの範囲では明確ではなかった。しかも4ppmの処理濃度では見かけ影響を受けていないようであった。しかし、以後に羽化するだろう成虫由来の卵数あるいはその孵化率についてpyriproxyfenが示すだろう変態過程に対する影響に着目した調査は実施しなかった。

Table 8-5. Effect of pyriproxyfen treatment on pupae of *P. xylostella* (n=3)

Treatment	Conc. (ppm)	No. of pupae	No. of dead pupae	No. of adults emerged	Adult <sup>a</sup> emergence (%)
Pyriproxyfen	4	30	4	26	86.7
	20	30	12	18	60.0
	100	30	15	15	50.0
	500	30	13	17	56.7
Untreated	—	30	0	30	100

<sup>a</sup> Observations were made at 7 days after treatment

### 第4項 成虫に対する影響

Figure 8-1から明らかなように異なる溶媒系で調整したpyriproxyfenをアルミニウム箔に塗布し、成虫を強制的に接触させると産卵への影響が出た。特に植物油である菜種油の2%をアセトンに混合した系では産卵数も極端に少なく、産卵初期におけるメス1頭の産卵平均数は10個以下であった。しかもその孵化率は抑制され、処理後1日目に

産卵された卵では70%以下の孵化率を示した。その後は10%前後の低い孵化率を維持した (Table 8-6)。アセトンに溶解した場合も産卵抑制の効果が強く発現し、且つ孵化率も植物油混合と似た傾向を示した。しかし、アセトンの場合は、5日目に植物油混合系の場合とは大きく異なって、pyriproxyfenの影響が少なくなり孵化率が80%まで回復した。対照の無処理メスの場合とほぼ同じ程度であった。

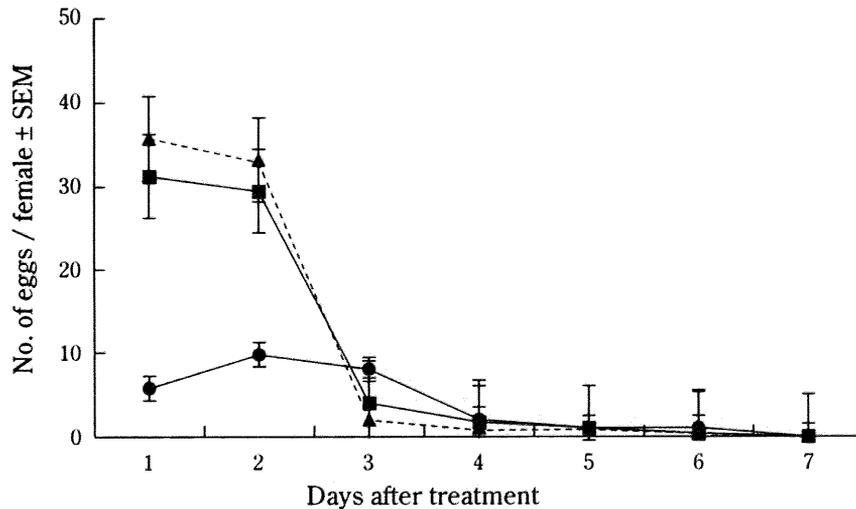


Fig. 8-1. Average number of eggs produced per adult female of *P. xylostella* exposed for 1 hour to different formulations of pyriproxyfen on aluminium foil at the rate of 0.04 mg a.i./cm<sup>2</sup> (n=4).

●—●, Ac:Canola Oil (50:1), ■—■, Acetone (Ac), ▲-----▲, Control (Ac:Canola Oil, 50:1 alone)

Table 8-6. Percent eclosion from eggs produced between 1 and 5 days following exposure of adult *P. xylostella* to an aluminium surface treated with pyriproxyfen in acetone or in acetone :canola oil (n=4)

Solvent system	Dose 0.04mg/cm <sup>2</sup>	Day after treatment <sup>a</sup>				
		1	2	3	4	5
Untreated (AC : Canola oil, 50 : 1)	-	97.9	95.9	95.1	97.3	90.9
Acetone (Ac)	+	80.2	55.4	33	23.4	79.5
Ac : Canola oil (50 : 1)	+	67.1	21.3	9.1	24.1	9.9

<sup>a</sup> Egg hatch was monitored at 5 days following each oviposition (% calculation were based on the egg numbers in Fig. 8-1).

#### 第4節 考察

鱗翅目害虫の卵における発育に対するpyriproxyfenの影響を調べた例は極めて少なくその例が限られている。Asher and Eliyahu (1988) のEgyptian cotton leafworm,

*Spodoptera littoralis*で報告した産下直後の卵がpyriproxyfenの影響を非常に受け易いという例や、植物検疫上の観点からシンクイ蛾類の、*Cydia pomonella* および *Grapholita molesta*についてYokoyama and Miller (1991) が報告した例などの他、2、3の例に限られる。

本実験におけるコナガ、*P. xylostella* においても例外なくこれら既報告の例と同じで、pyriproxyfenによる産下卵数の減少と孵化阻害活性の発見事実と一致した。特に、卵がpyriproxyfenの影響を受けた場合には、孵化直後の初齢幼虫特有の黒い頭殻形成を殻内に見ないままで、卵表面に特段の変化を見せない。以降の発育が停止した状態にあり、他の神経毒性殺虫剤などに見られる孵化直後の幼虫致死反応とは明らかに様相が異なっていた。卵の発育が阻害されたと観られる。

幼虫ではジュベノイドの化合物の顕著な特徴の一つである過剰脱皮による大きな個体が出現した。またpyriproxyfen処理により、幼虫一蛹の中間体を示すキメラ体のまま致死する発育異常の個体が多く認められた。特に3齢幼虫ではそれが目立った。本実験結果では幼虫の死亡率において一見矛盾した薬量対応反応が見られたが、この理由は不明である。処理法によって本化合物の消失のしかたが異なることを前章で観た。Pyriproxyfenの作用経路や薬量の違いによってコナガの変態に対する反応が異なって現れるのかもしれない。この矛盾した薬量反応が定量的に把握された例がある。*Manduca sexta*の5齢幼虫にpyriproxyfenを局所施用した時に、高濃度になればなるほど幼虫体内に浸透する速度が遅くなる例が報告されている (Hatakoshi et al., 1987)。ただ報告者たちは実験上のartifactであるとする疑いも捨てていない。コナガを用いた本実験の場合、考えられることは、pyriproxyfenを餌であるキャベツの葉に噴霧処理しているから、幼虫に対する化合物の一次作用には二経路が寄与することになる。つまり、接触毒と食毒が考えられる。高濃度処理の場合、低濃度処理と比較し乳剤中の溶媒量も相対的に多くなるのでキャベツの葉肉の内部にpyriproxyfenをより到達させ易くしたかもしれない。そのような場合、食毒が主な経路となるから、コナガ幼虫の消化器官に取り込まれたpyriproxyfenが消化液によって分解などの影響を受け、pyriproxyfenの影響を緩和したとも考えられる。特に、本化合物がアルカリの条件下では比較的分解しやすい物理化学的性質を示すことと鱗翅目昆虫における腸内のpHが強アルカリ性であることをあわせ考えるとその疑いが残る。いずれにしろ、羽化阻害率などを考慮し総合的に判断すれば結果的に濃度依存の反応が示されるものと判断される。

老齢幼虫に対するpyriproxyfen処理の影響では低濃度区では50%以上の個体が成虫羽化に至り、高濃度区では羽化阻害率が高まってほぼ濃度依存の反応が認められた。だが、羽化成虫においては、密度抑制の観点から次世代への繁殖の影響が重要となるが本実験では未調査のままとなった。これについては別の実験 (Oouchi and Hatakoshi, 1990, 未発表)で平方センチあたり有効成分量、6 $\mu$ gを塗布処理した面への接触試験で羽化した成虫にもpyriproxyfenによる次世代の繁殖阻害が起こった。*S. litura*の蛹に対するpyriproxyfenの局所施用の結果によると、蛹化後1日以内に処理した蛹に由来する成虫では著しく産卵数が減少した。しかし、その後の処理ではあまり影響がみられてい

ないと報告されている (Hatakoshi, 1992; 野村・宮田, 2000)。実用場面において、蛹にあるいはその感受性の高い時期を狙って直接薬剤を到達させる事は容易ではなく非現実的である。しかし、このような幼虫処理による本化合物の次世代への影響は、特にコナガが低密度である初期発生においてはその意味が大きい。

成虫に対するpyriproxyfenの影響は、処理方法によって異なった。第5章で論述したように、このような繁殖阻害に対する影響は他の昆虫でもpyriproxyfenの際だった特徴となっている。その作用機作については不明だが、Hatakoshi (1992) は本化合物に関する産卵阻害作用メカニズム研究の中でハスモンヨトウ, *Spodoptera litura* のメス成虫にpyriproxyfenを処理した際、産卵数の減少が著しいのに比べ、卵巣発育は無処理メスのそれとはほとんど変わらなかったと報告している。本害虫の場合も、pyriproxyfen処理の影響による非産卵メスの腹部をつぶしてみても、明らかに卵巣が発育し、卵が並んでいることが肉眼でも確認される。こうした次世代への長期の影響が認められたのは合成ジュベノイドとしてはpyriproxyfenが最初である。いずれにしろpyriproxyfenが示す種々の害虫に対する繁殖阻害効果は、実用防除に適用できる生理的特長として注目に値する。

以上の結論としてpyriproxyfenがコナガ、*P. xylostella* の全変態過程に対しても例外なく正常な発育を妨げる影響を及ぼすことが確認された。特に、本化合物の不妊化活性が顕著でpyriproxyfenを害虫防除剤としてその適用を改めて見直すに値すると言える。Retnakaran et al., (1985) はその総説の中でジュベノイドを使った害虫防除の種々の例を論じている。確かにジュベノイドを害虫防除に適用しようとする時、標的となる適切な発育ステージは何かという古典的な問題にぶつかる。取り分け幼虫加害ステージが主となる本種、*P. xylostella*のような植食性害虫においては、ジュベノイドの適用はこれまで論議したように食害も増すことから不適切として省みられないのが常である。しかし、本害虫の抵抗性問題からもその解決のために有効な、あたらしい防除法の確立が望まれる。Sivapragasam and Saito (1986) が黄色の粘着トラップにコナガ成虫が誘引される事実を基礎に、そうした資材を調整しコナガの防除法として検討している。またGupta and Thorsteinson (1960) やKoshihara et al. (1978) がそれぞれ、産卵刺激物質およびコナガの性フェロモンについて報告している。Pyriproxyfenが示すこの化学不妊活性がこれらの成果と組み合わせられ、適切な製剤にて予防的防除法として適用されるなら、殺虫剤を散布するという従来の防除法にとって代わることも可能と思える。また温室栽培においては寄生バチとの組み合わせによる総合的害虫防除 (IPM) の適用も対象技術となる。このようなケースは寄生バチへの影響を考慮し、殺虫剤の散布を避けなければならない。こうした制限においてはpyriproxyfenと、コナガに対する上述する化学的あるいは視覚的誘引源とを組み合わせる化学不妊効果を適用する方法は打ってつけに違いない。

## 第9章 棉作におけるタバココナジラミ、*B. tabaci*の予防的防除法の検討

### 第1節 緒言

第6章でみたように放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの追跡実験で、メス親に処理したpyriproxyfenが生まれた卵に移行しその卵の孵化を阻害することが明らかになった。さらに第7章では卵に取り込まれた放射性化合物の大半がpyriproxyfenの親化合物そのものであり代謝産物ではない、とほぼその確証を得た。Pyriproxyfenの同定にはガスクロマトー質量分析などによる化学構造の最終確認は残るが、いずれにしろ以上の物質的根拠を背景に、pyriproxyfenの孵化阻害とその卵巣への移行の時期が深く関わるとも理解できた。つまり卵黄形成 (Vitellogenesis) 期の前にpyriproxyfenが卵巣内に取り込まれる必要があると示唆するものであった。また、このことが、ツェツェバエやオオサシガメなどの吸血昆虫とは分類上全く異にし、鱗翅目害虫で植食性のコナガ、*P. xylostella*においても例外ではないと前章、第8章で明らかにした。

これらの結果は、第3章でみたタバココナジラミ、*B. tabaci*において、産み落とされた卵におけるpyriproxyfenの孵化阻害とその影響の持続性との関係についてもよく説明している。加えて、母体内に取り込まれたpyriproxyfenが卵の発育に影響するだけでなく、卵の胚発生が未発達の時期において、pyriproxyfen塗布あるいは付着面に卵が曝されるなら、処理濃度や程度の差こそあれ同様に孵化阻害が起こることも供試昆虫間に共通現象であることが明白になった。

以上の各種供試害虫に対するpyriproxyfenが示す繁殖阻害効果の一次作用メカニズムから、本開発研究における主題であるpyriproxyfenの予防的散布 (ProphylacticあるいはPreventive) 方法が実際の作物栽培場面でも適用できるとの確信に至った。つまり、作物表面に対し、本化合物を害虫発生の前またはその初期 (Pre-infestation) に予防的に施用するなら、pyriproxyfenに汚染した害虫のメス親経路で或いは処理面に産み落とされた卵の孵化阻害、言い換えれば殺卵効果が発揮され、以後の繁殖を抑制する事が期待できるとの考えを支持するものであった。したがって、本章ではこの成果として経営栽培におけるOperational Researchの実証について3例 (Oouchi, 1987, 1988住友化学技術資料, 未発表) を述べる。

### 第2節 試験材料および方法

#### 第1項 実証試験-1 (小規模試験)

- 1-1、試験地および試験年；スーダン、1986年
- 1-2、対象作物および害虫；棉、タバココナジラミ、*B. tabaci*
- 1-3、使用薬剤；S-71639 10EC (Pyriproxyfen)、Fenvalerate 20EC、Fenprothrin 10EC、およびDTLS EC (Danitol-S、Fenprothrin5EC+Fenitrothion45EC)
- 1-4、散布条件；試験面積、112m<sup>2</sup>；3-4週間おきに動力散布機で476.2 L/haを3回散布。4反復実施した。

- 1-5、調査方法；1区毎、無作為に100枚の棉の葉を選び、寄生する卵、幼虫、蛹、それぞれの数を調査した。また成虫については、棉の成長上部、中部、下部それぞれ15枚ずつ選び成虫数を調査した。

## 第2項 実証試験-2 (大規模試験)

- 2-1、試験地および試験年；トルコ、1986年  
2-2、対象作物および害虫；棉、タバココナジラミ、*B. tabaci*  
2-3、使用薬剤；S-71639 10EC, Fenpropathrin 10ECおよびAmitraz 40EC  
2-4、散布条件；試験面積、1ha；約3週間おきに動力散布機で500Lを2回散布。3反復実施した。  
2-5、調査方法；  
卵；棉の生長上部の*B. tabaci*が多発する葉を選び、室内に持ち帰り、寄生する卵の孵化率を調査した。  
幼虫および蛹；20本の棉から、4葉と5葉目を採取し、寄生する幼虫と蛹それぞれの数を調査した。  
成虫；25本の棉から75枚の葉を選び、ただし内25枚は棉の成長上部から選んで寄生する成虫数を調査し、無散布区と比較した。

## 第3項 実証試験-3 (散布時期検討試験, Oouchi, 1988)

- 3-1、試験地および試験年；スーダン、1987年  
3-2、対象作物および害虫；棉、タバココナジラミ、*B. tabaci*  
3-3、使用薬剤；S-71639 10EC  
3-4、試験面積、4000m<sup>2</sup> (1Feddan≒約0.4ha)  
散布条件-1 (Operation 1)、LV散布機にて、2L (200g a.i./ha) を一回散布した。ただし、散布タイミングを成虫数それぞれ、50/100葉、200/100葉および250/100葉とした。  
散布条件-2 (Operation 2)、同じくLV散布機にて2L (200g a.i./ha) を定期的に10日間隔で散布した。  
3-5、調査方法；  
無作為に選んだ棉の葉60枚に寄生する卵、幼虫、蛹、それぞれについて数を調査し、無散布区と比較した。ただし、成虫については散布タイミング決定の上から100葉について調査した。

## 第3節 結果および考察

### 第1項 実証試験-1

スーダン国の綿花耕作公団 (Sudan Gezira Board) が栽培する経営栽培の棉畑の一面に約100m<sup>2</sup>を設け、3-4週間間隔 (WAT; Week After Treatment) で合計3回散布し、タバココナジラミの密度変化を調査した (1986)。ただし、pyriproxyfenの処理量は

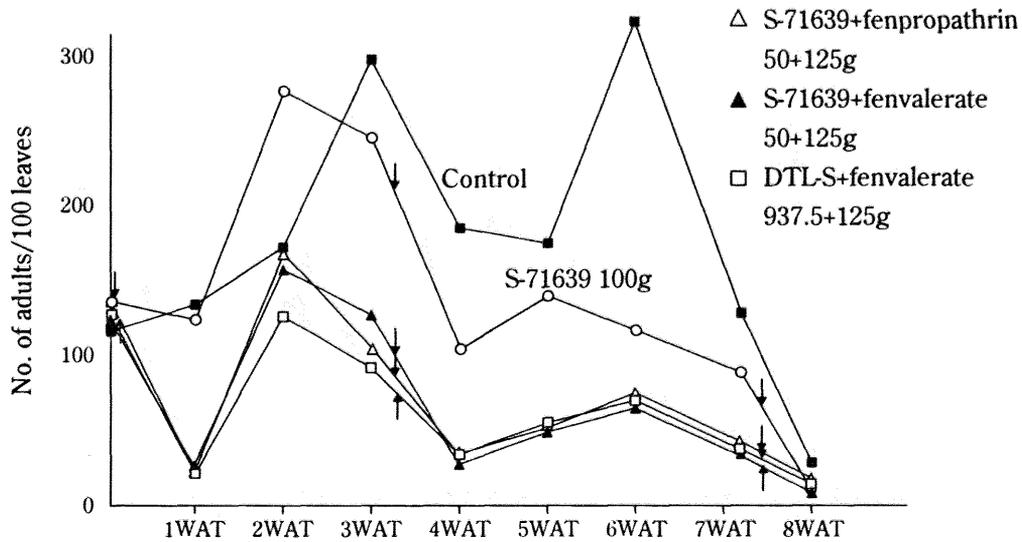


Fig. 9-1. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the adult of *B. tabaci* in cotton (Operational trial in Sudan, 1986). ↓; Spray date, WAT; weeks after treatment

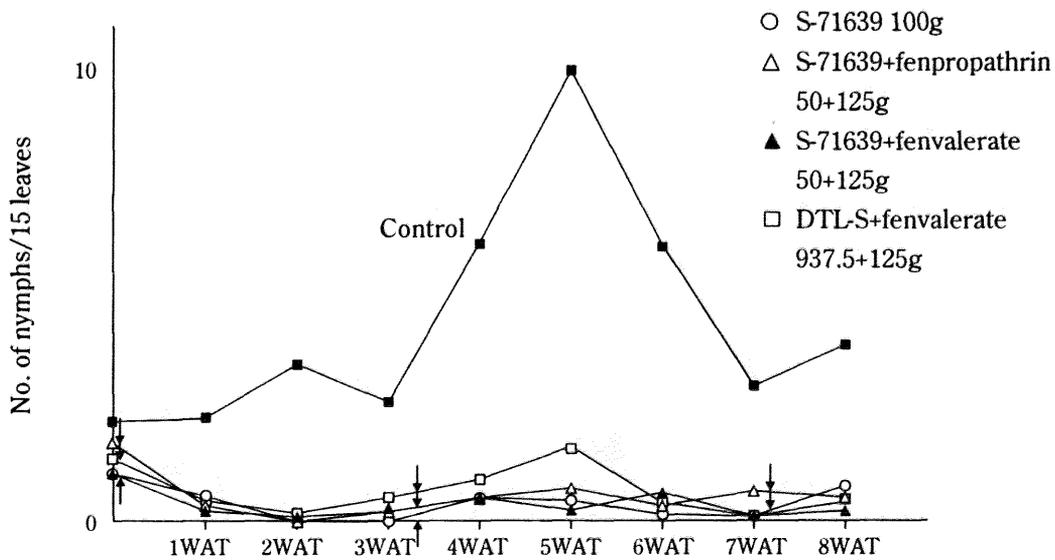


Fig. 9-2. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the nymph of *B. tabaci* in cotton (Operational trial in Sudan, 1986). ↓; Spray date, WAT; weeks after treatment

100g a.i./haに固定した。すると、成虫、幼虫および卵の密度はそれぞれFig. 9-1、9-2、9-3のようであった。すなわち、①成虫および卵の数を見る限り、pyriproxyfenの影響は認められず無処理区と同様の推移を示した。むしろ季節的要因で密度が変化したと考えられる結果であった (Fig. 9-1、9-3)。ところが、②孵化幼虫数に注目すると (Fig. 9-2)、その数は著しく少なく試験期間を通じて密度の増加はほとんど認められなかった。無処理区と比較するとその低い密度推移は一目瞭然でpyriproxyfenによる密度抑制効果は劇的であった。Pyriproxyfenの変態に対するこれまで見てきたさまざまな結果から、この現象では、pyriproxyfenの成虫に対する直接的な作用は認められず、卵がほぼ

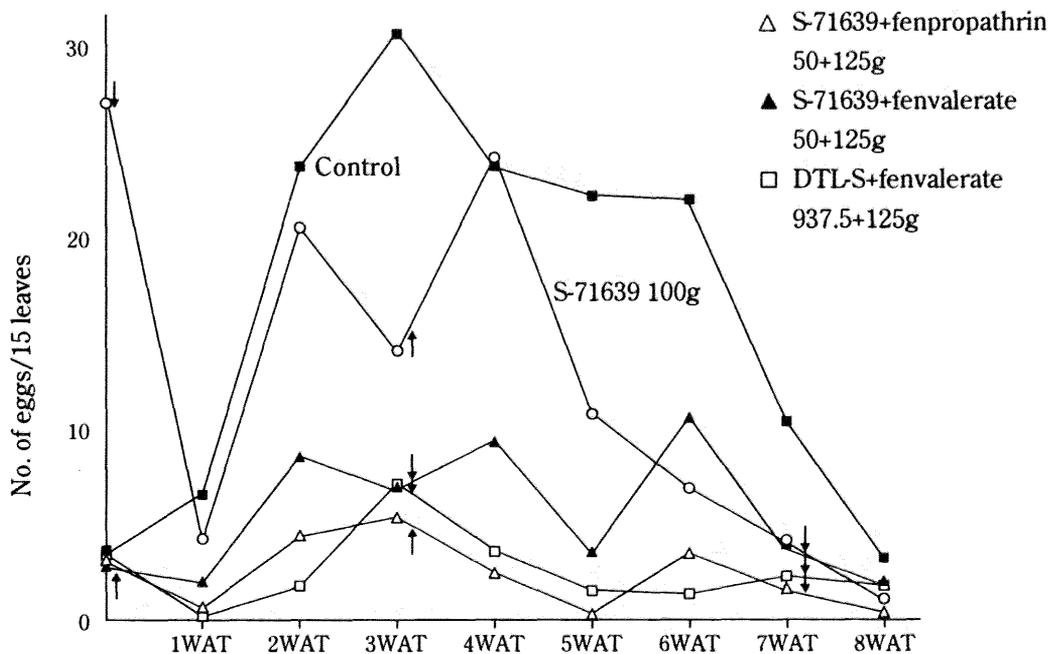


Fig. 9-3. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the egg of *B. tabaci* in cotton (Operational trial in Sudan, 1986). ↓; Spray date, WAT; weeks after treatment

正常に産下された結果を反映したものと考えられた。一方、卵の新たな孵化については、卵がpyriproxyfen処理面に産卵されたはずだから、散布後の卵では孵化阻害が起これ、殺卵効果が現れたと容易に推察できる。しかし、経過時間を経たにも関わらず成虫および卵数の減少が認められなかったのは処理面積が100m<sup>2</sup>と小さく、試験区隣接圃場からの飛び込みによる侵入が影響したものと推察された。実用上、この成虫密度推移は受け入れられるものではなかった。

## 第2項 実証試験-2

この飛び込みに対する推察は、同年、平行して実施したトルコ国における大規模試験、1ヘクタール規模におよぶ散布試験の結果、正しいことが証明された。つまり、同様に100g a.i./haの薬量でpyriproxyfenを散布した結果 (Fig. 9-4)、散布当初は予想通り成虫密度が低く推移した。しかし、pyriproxyfenの残効性がなくなったと思われる時点で成虫密度が回復し始めた。もちろんその程度は無処理区にくらべ遥かに低いものであった。この残効効果の減衰は幼虫および蛹の密度推移からもうかがえた (Fig. 9-5)。このように、後になって増えてくる成虫は、新たな飛来成虫に基づくものではなく、孵化幼虫に由来すると考えられた。体内に取り込まれたpyriproxyfenが消失すれば羽化率や孵化率が回復する事は前章までの研究でツェツェバエやオオサンガメの例からも見たとおりであり、この事からも容易に推察できる。この推察は、無処理区の圧倒的な密度増加の程度および、幼虫と蛹の増加傾向を勘案すれば納得できる。

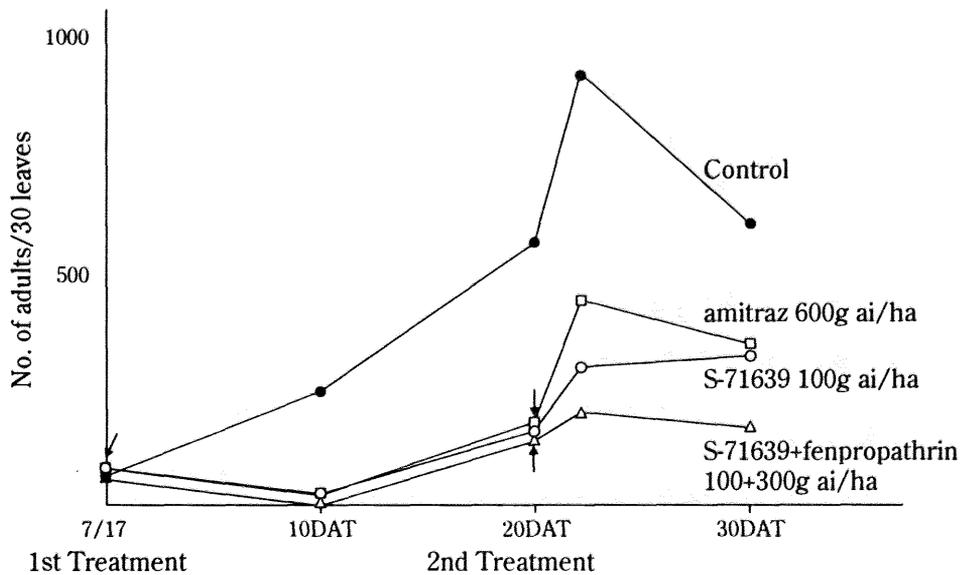


Fig. 9-4. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the adult of *B. tabaci* in cotton (Operational trial in Turkey, 1986). ↓; Spray date, DAT; days after treatment

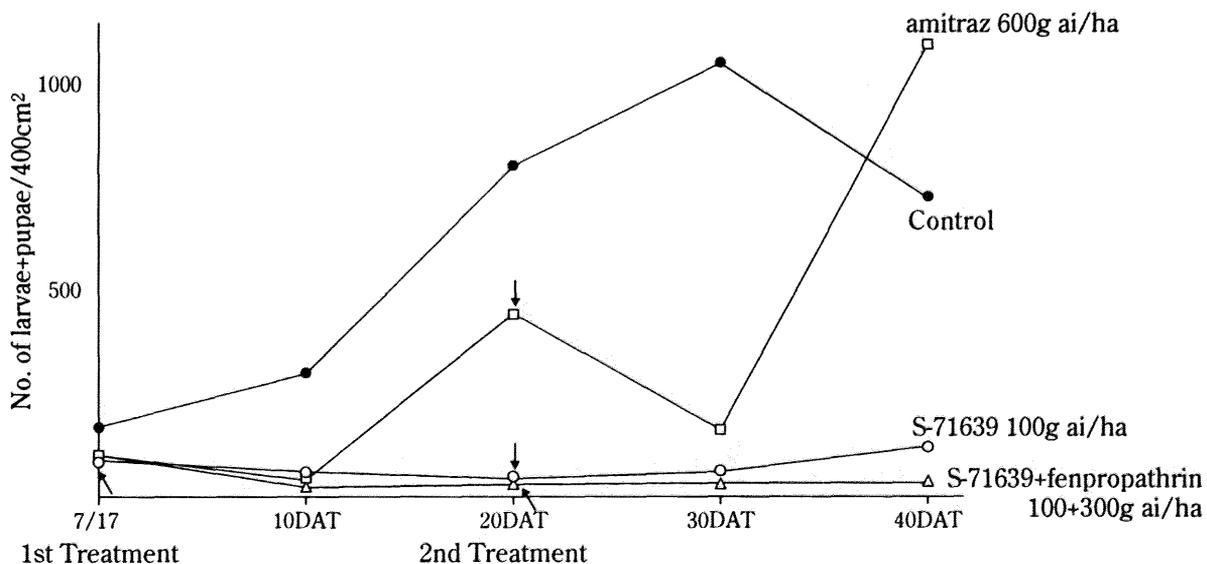


Fig. 9-5. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) on the larva and pupa of *B. tabaci* in cotton (Operational trial in Turkey, 1986). ↓; Spray date, DAT; days after treatment

### 第3項 実証試験-3

以上の実証例2件の結果から、防除オペレーションの実用条件のうち、(I) 処理薬量は75g/ha以下、(II) 散布間隔は2週間の2条件が望ましいことが解った。次に散布タイミングが課題となり、翌年改めて検討した。棉の葉一枚あたりの成虫数を散布タイミングの指標とし、以後、蛹および加害ステージとして重要な幼虫の推移を追った。所定のタイミングに一回散布のみの場合と、10日間隔で試験期間中継続的に散布する二要因を入れた散布条件下でタバココナジラミの密度推移を追った。一連の結果のう

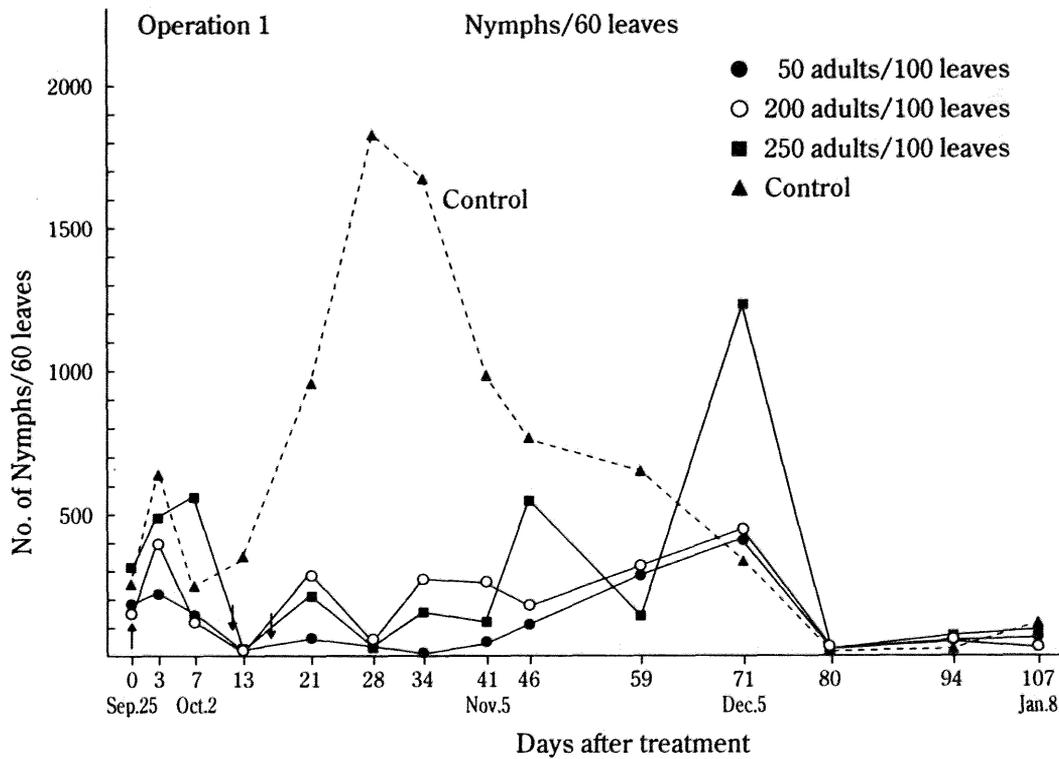


Fig. 9-6. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) at 200g ai/ha on the larvae of *B. tabaci* in cotton in Sudan (Operation-1,1987). ↓ ; Spray date.

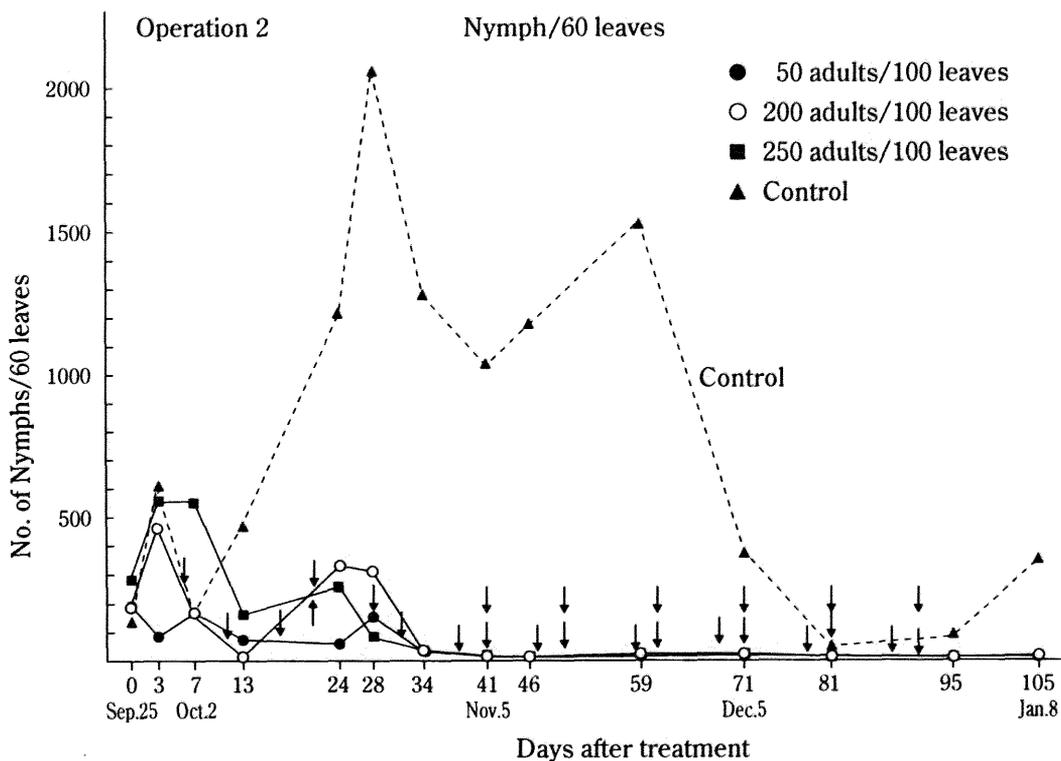


Fig. 9-7. Effect of S-71639 (pyriproxyfen) at 200g ai/ha on the larvae of *B. tabaci* in cotton in Sudan (Operation-2,1987). ↓ ; Spray date.

ち、幼虫の結果を抜粋して示せばFig. 9-6—Operarion 1とFig. 9-7—Operarion 2のようである。データは示していないが蛹においても先の結果と同じ傾向が認められ、散布2~3週間後から増加した。結論として、100葉あたりの成虫数50以下、つまり二葉あたり一頭が、より望ましい散布タイミングであると示唆する結果であった。

しかし、現実的には、上記数字では、少なくまだ早いという栽培管理者側の心理が働き、一葉あたり4~5頭の成虫を目安とする指標が設定されていった。散布頻度については一回を採用することになった。この採用に当たっては、これまで多くの殺虫剤抵抗性問題の事例から、繰り返し散布することによる抵抗性の発現が本剤についても例外ではないと当初から予想されていたことによる。すなわち、総合防除の観点から、Fig. 9-8に示すような交互散布方式 (Horowitz et al., 1994) が採用され、実施に移されている (1997年現在, 波多腰ら, 1997)。また、成虫密度が少なければ、防除成果は上がると理屈の上では解っても、密度が低いとは言え成虫の存在は栽培管理者心理からは、密度回復への懸念がぬぐい切れない恨みが残った。このため一部地域では合成ピレスロイドのfenpropathrinを成虫駆除目的に混合した製剤も開発、使用され、今日に至っている。両薬剤に対する抵抗性の同時発達に対する著者の懸念が受け入れられなかったのが実状である。

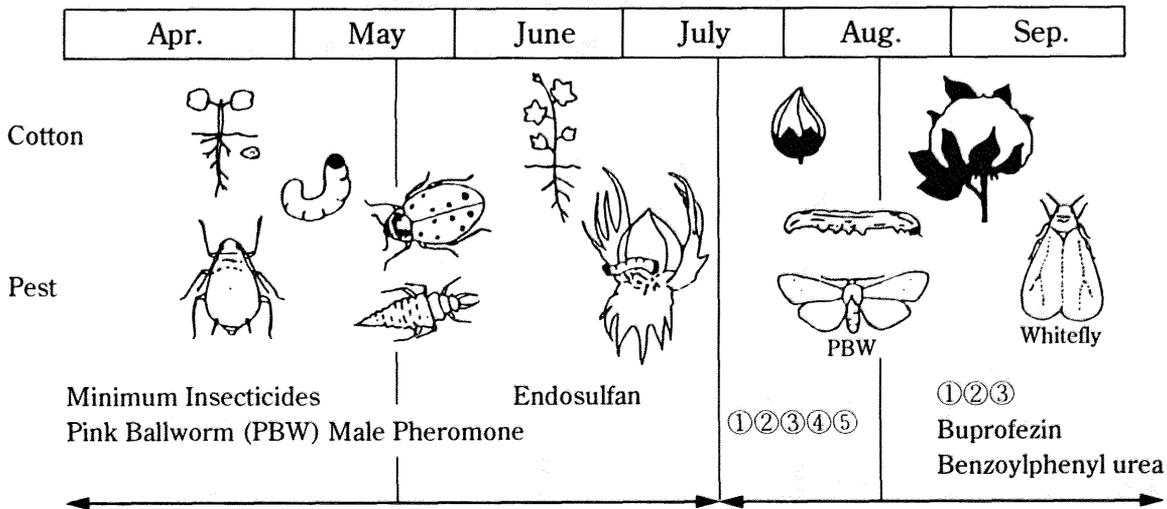


Fig. 9-8. IPM-IRM programme for the cotton whitefly, *B. tabaci* and other major cotton pests in Israeli cotton, 1993 (modified after Horowitz et. al., 1994).

Insecticides; ① organo-phosphorus, ② carbamate, ③ pyrethroid, ④ pyriproxyfen, ⑤ diafenthiuron.

## 第10章 Pyriproxyfenによるオンシツコナジラミ、*T. vaporariorum*の繁殖阻害効果を目指した点処理法（ルアー）の検討

### 第1節 緒言

第5章で、牛の尿を臭い源とし、pyriproxyfenを浸漬して特定の波長に対する走光特性を利用してツェツェバエを誘引するトラップ、あるいはフランキングターゲットのジンバブエにおける野外試験について少し触れた。つまり、pyriproxyfenを散布せずに一定の個所にツェツェバエを集め、pyriproxyfenで集中的に成虫を汚染させる。そして汚染虫を再び野外に放飼して繁殖を阻害させる。言わば化合物のメスから直接子供へのVertical transferと、オスからメスへのHorizontal transferということになる。この方法は、植物加害性の農業害虫の防除においても魅力的手段であることには異論がないと考えられる。

1980年代後から1990年代にかけて、時代は総合防除論が賑わい、化学農薬の研究よりも微生物農薬、天敵農薬あるいは生態学的研究が主流となり脚光を浴びるようになった。現在もその波には変りはない。ジュベノイドの一般的特性から、通常の散布法では飛散や誤用による他の水系節足動物に対する影響の懸念があった。自然界には存在しない合成化合物の環境への負荷をできるだけ小さくするという時代的要請からもpyriproxyfenを局部的に施用し得る点処理的考え方が望ましいと考えた。

第4章から第7章までの研究結果はこの意図に理論的背景を提供してくれ、その後、平行して検討実施したこの点処理の技術、ルアー法の有効性が明らかになった。後に、pyriproxyfenを処理した黄色いテープに温室のコナジラミを誘引し不妊化させて防除が可能になるという製剤の開発に結びついた（井上・中村, 1999）。つまり、pyriproxyfenを散布しなくても済むという今日的課題に適合した新製品開発へのブレークスルーとなった。本論ではその基盤となった研究について論べ（Oouchi and Langley, 2005）、さらに適用拡大の可能性を検討した。

### 第2節 試験材料および方法

#### 1、供試虫

英国、ブリストル市植物園内に設置した木枠製簡易ガラスハウス（2.5m×4m×2m）内のポット植えインゲンに自然発生、寄生したオンシツコナジラミ（greenhouse whitefly）、*T. vaporariorum*を用いた。

#### 2、処理方法

##### 2-1、ルアー処理

Cerecrol S45<sup>®</sup> (ICI, U.K.)、容量比50%にてアセトン混合液（オイル）と10gのpyriproxyfenを溶解して処理液を調整した。調整液300ml中に黄色一綿混紡ポリエステル製布（5cm×25cm）を浸漬し、風乾後、浸漬布の1平方センチあたり1mgのpyriproxyfen／オイル15μlを得た（以後ルアーと略）。

尚、黄色一綿混紡ポリエステル布のUV吸収波長は550nm付近であり、市販のプラスチック製オンシツコナジラミ用粘着板の吸収帯とほぼ同一の物を用いた。

## 2-2、室内試験処理

ガラスシリンダー（直径20cm×高さ60cm）に約10葉に成長したオンシツコナジラミが寄生するポット植えのインゲンを収容した。同シリンダー内に、直方体（5×25cm）のpyriproxyfen処理済みのルアーを設置した。対照として、ガラスシリンダーにCerecrol S45のみを処理したルアーと同サイズの黄色一綿混紡ポリエステル布（以後対照ルアーと略）を同様に収容した。また無処理区としてインゲンのみを収容したシリンダーを準備した。ただし、資材調達の都合上、無処理区は試験区より10cm高いシリンダーを用いた。

各試験区とも1本のみインゲンを供試したので、オンシツコナジラミの発生総数の調査は9月中旬（1991）から開始となった。このため、一日の日長時間約15時間を確保する目的で10月末から植物生育用の照明をシリンダー上方に設置し、インゲンの生長を促した。

## 2-3、ガラスハウス試験用の処理

新たに設置したガラスハウス二棟について、以下のような処理を行った。すなわち、処理区1棟のハウスには、オンシツコナジラミが寄生するインゲン12ポットを約20～30センチ間隔で1ポットずつ四角形に並べた。ポットの間、10から20cmの距離をおいて、布の上端がインゲンの生長点付近になるようにルアーを16枚設置した。対照区のハウス二棟目にもポット植えのインゲンを同様に並べた。ただし、対照ルアーにはpyriproxyfenを除くCerecrol/アセトン混合オイルのみ浸漬し、同様の間隔で設置した。ただし、10月第1週目の末から1kwのファンヒーターを設置してハウス内温度を12℃～15℃に維持した。期間中最高温度が21℃を超える事はめったになく、温度制御は手動で行った。また照明については10月末から、100Wの植物生育用電灯をインゲン植えポット群の1m上方に設置し、17：00～20：00の間手動で電源を入れ、長日を確保してインゲンの生育を促した。

## 3、調査方法

室内試験については、各区、インゲン一本のみを供試したのでオンシツコナジラミの成虫総数について、9月中旬から毎週数えた。

ガラスハウス試験では次のような密度調査方法を採用した。つまり、各区から無作為に7本のインゲンを調査対象に選んだ。一本につき、下位、中位、上位と三ヶ所に調査の葉を分け、葉の面積、2×2cmあたりの卵、幼虫、幼虫L4および成虫についてそれぞれの総数を数えた。

### 第3節 結果および考察

#### 第1項 室内試験

処理区と対照区（ブランクの黄色の基材のみを施用）において観察の1日目から14日目にかけて成虫数の減少が認められた（Table 10-1）。しかしながら、2連のうち一方の対照区ではその後、急激に密度が増加したが、他方の対照区では以後35日間、密度増加は認められなかった。一方、pyriproxyfenを処理したルアー設置区では2連ともに密度回復が認められなかった。かつ、観察28日後にはオンシツコナジラミをほとんど認めなくなった。35日後の対照区では成虫数が平均で250となり、処理区の成虫数とは大きく異なった（Table10-1）。

Table 10-1. Numbers of adult *T. vaporariorum* per bean plant per cylindrical plastic cage in the laboratory

Plant	Replicates	Days after treatment					
		1	10	14	21	28	35
Expt. <sup>a)</sup>	No.1	48	11	2	4	2	2
	No.2	142	37	25	6	4	2
Cont. <sup>b)</sup>	No.1	96	32	28	322	189	322
	No.2	100	26	17	11	25	178
Non-T <sup>c)</sup>	No.1	145	50	37	163	120	Plant dead
	No.2	----- No observation -----				58	>400

a) Yellow target impregnated with pyriproxyfen.

b) Control: yellow target impregnated with Cereclor only.

c) Untreated control without a target.

#### 第2項 ガラスハウス試験

ガラスハウス試験においては、オンシツコナジラミの発生データの振れが大きかったので、より近似的な平均値を求めるために卵、若虫及び成虫それぞれについて集積したデータを、いったん常用対数に変換した。その上で、変換値の標準誤差とともに再度自然数に戻し、葉の面積、2×2のオンシツコナジラミの数としてグラフを描き結果を示した（Fig. 10-1～3）。

卵数の推移をFig. 10-1で観てみると、ルアー処理区では、少なくとも約50日間にわたって卵の数に変化が認められなかった。しかし、対照区ではその数に振れが認められた。その後、40～50日の間にその卵数がルアー処理区のそれより僅かに下がった。しかしながら、50日後以降には、ルアー処理区において卵数が急激に減少する一方、対照区においてはそれまでの卵数をはるかに上回る数で増加していった。

他方、若虫の推移をみると、対照区では65日間にわたり、ほぼ一定の水準で推移し、顕著な増加を示していった。しかし、ルアー処理区においては、15日目ごろから明らかにその数が減少し、30日後で次第に対照区との差が現れた（Fig. 10-2）。

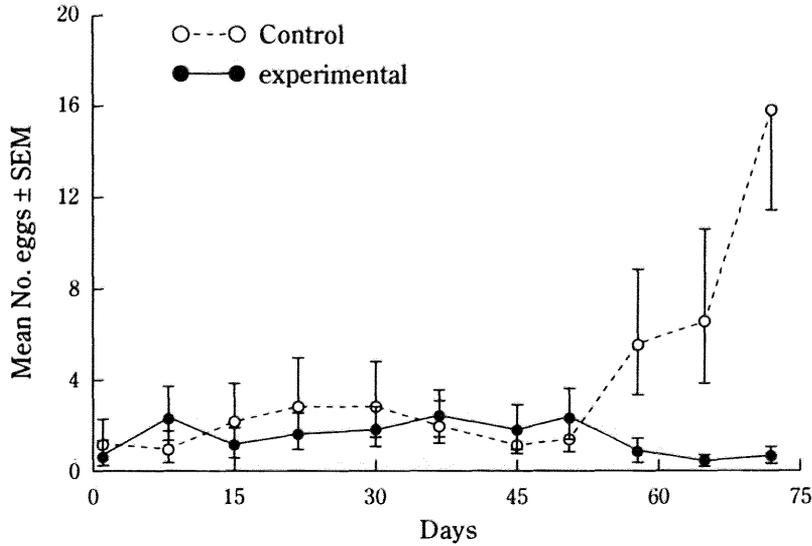


Fig. 10-1. Mean number/leaf (2cm×2cm) of eggs of *T. vaporariorum*.

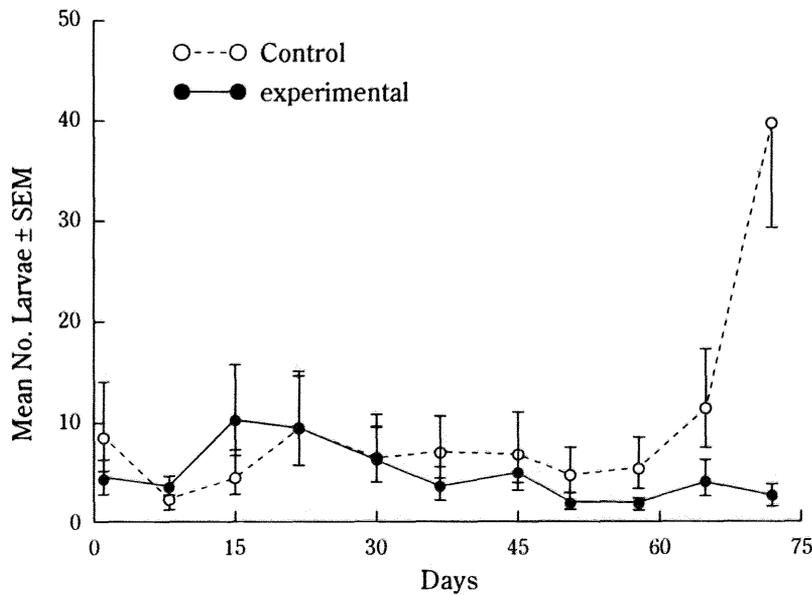


Fig. 10-2. Mean number/leaf (2cm×2cm) of larvae of *T. vaporariorum*.

成虫では、卵の場合と似たような大きな振れが認められた (Fig. 10-3)。対照区における30日から45日目にかけて観られた数の減少は恐らく、葉あたりの成虫の過剰密度に伴い、新しい繁殖先を求めたオンシツコナジラミ自身の分散によるものと思われる。一方、ルアー処理区においては、初期の増加はあったものの次第にその数が減少する傾向にあった。

以上、目視観察の上では、成虫における寄生密度の様相は明瞭であり、供試したインゲンの葉のみならず対照に設置したルアーの黄色の上にも密な状態であった。これとは対照的に、ルアー処理区においてはオンシツコナジラミによる寄生の兆候は認められなかった。若虫区においては発育上の阻害傾向が認められた。その証拠に寄生した葉の裏

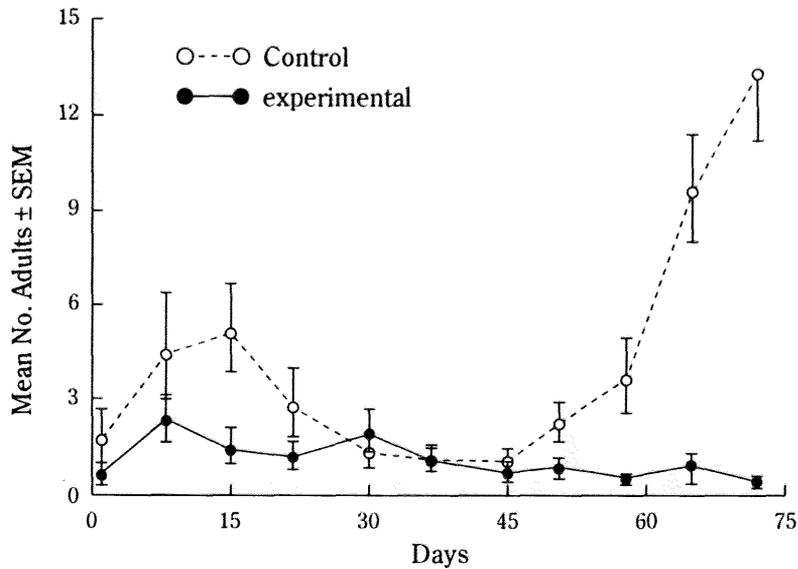


Fig. 10-3. Mean number/leaf (2cm×2cm) of adults of *T. vaporariorum*.

側のスス病が発生したなかに若虫段階のままで致死虫が認められた。処理区の古い葉には卵の数が多く、初期発育段階から不稔のまま長期間存在したと推察された。

結論として以上の実験から言えることは、ルアー処理においてpyriproxyfenがオンシツコナジラミに対し極めて強い繁殖率低下の効果をもたらすということである。つまり、オンシツコナジラミの繁殖に悪影響を及ぼし、結果的に50日間にわたる成虫数の減少につながったようである。特に、処理60日後における産下卵数の急激な減少は以後、成虫がpyriproxyfenの処理面に繰り返し接触し、不妊化の影響を受けた直接的結果と推察される。言い換えれば、オンシツコナジラミのメス、オス成虫いずれもが接触したpyriproxyfenに汚染された結果を反映し、産卵が抑制されその産下卵数が少なくなったと考えられる。

ハウス栽培におけるオンシツコナジラミ対策において、総合防除の観点から意図的に天敵が導入され、殺虫剤の散布を避けなければならない。このような散布制限においてはここで報告したこの現象が有効に生かせるものと考えられる。例えばYano (1987) は黄色の粘着トラップとツヤコバチ、*Eancarsia formosa*との組合せ防除システムを検討している。ジュベノイドの影響はこうした天敵にも例外とは考えられない。ここでは論じないが、そのような事実も本剤の海外における評価検討報告で指摘されている。しかし、pyriproxyfen乳剤の実用濃度を散布した実験においてNagai (1990) が報告したような捕食性カメムシに対する無影響の事実もある。また、天敵がオンシツコナジラミと同じ走光性を示すとしても、理論的に考えれば、天敵の餌として寄主あるいは被捕食者の密度上昇が必須である。天敵の侵入を許し寄生、捕食が可能になるレベルまで増殖しなければならないから、その以前に、言い換えれば、寄主の発生が初期の段階にこのようなルアーを設置すれば、天敵への影響に対する懸念もなく防除効果がより上がることが期待される。現実には*E. formosa*とこうしたルアーを組み合わせることが可能であると示唆、報告されている (Langley, 1998)。

本実験におけるルアーの施用方法について考えると、調整したルアーは5×25cmの短冊型であり、一枚一枚を供試作物の株間に設置する方法はいかにも作業に煩わしさがともなう。もちろんオンシツコナジラミの飛翔距離と施用枚数の関係を詳細に検討すれば施用の最低必要枚数の決定も可能かもしれない。いずれにしろ、1棟あたりのハウス面積が10アールにもなれば、その設置労力はかなり負担になると予想される。したがって巻尺のようなロールテープの製剤として施用する事ができるなら、引き延ばして張るだけでよくなるからその労力は一気に軽減されることになる。この考えの正しさは、本実験に引き続き1993年に検証され有効である事が確認された (Oouchi et al., 未発表)。その後の経過については総合考察で触れる。

## 第11章 Pyriproxyfenによるコナガ、*P. xylostella*の繁殖阻害効果を目指した点処理法（ルアー）の予備検討

### 第1節 緒言

コナガ防除においても殺虫剤の慣行散布法による環境負荷軽減の狙いや、抵抗性発達の問題から合成フェロモンによる交信かく乱法や、温室などの閉鎖空間においては黄色粘着板、あるいは天敵との組み合わせにもとづく防除方法が適用されている。また昨今の減農薬減化学肥料による新しい農業栽培法への転換の社会的要請もこうした傾向に拍車をかけている。背景には消費者の安全安心に対する過剰な要求が農家の姿勢を過敏にしているためとする批判もある。先進各国における世界的傾向でもあり、確かにその是非はある。新たな栽培法への転換は農家側にすれば明らかに作業の負担を強いられていることになる。コナガ防除に限らずこの様な作業の負担を軽減する意味でも、従来から主流となっている、害虫の生息場所に殺虫剤をアプローチさせる方法に替わって、殺虫剤に害虫をアプローチさせるという観念の変化が求められる。つまり害虫をおびき寄せ、ジュベノイドによる全く新しい化学不妊の概念適用を集中的に図ることができるか、技術的可否が課題となってくる。

本研究では予備実験として、第8章において明らかになったpyriproxyfenのコナガに対する繁殖阻害作用の結果と前章、第9章において証明されたpyriproxyfen含浸の黄色短冊法によるオンシツコナジラミ、*T. vaporariorum*の密度低減、維持効果とにその基礎をおいた。つまり、pyriproxyfenを含浸あるいは塗布した不活性表面にコナガを跗節接触させpyriproxyfenの影響を調べた。その結果、本化合物による繁殖阻害効果を達成させ得る製剤を検討するための基礎的知見を得ることができた(Oouchi, 2005b)。

### 第2節 試験材料および方法

#### 第1項 供試昆虫

第8章と同じように、住友化学工業(株)が維持し、室温、25℃、照明、14明－10暗および相対湿度(R.H.)60－70%の条件下で累代飼育するコナガ、*P. xylostella*の殺虫剤感受性系統を使用した。

#### 第2項 試験方法

##### 1、使用薬剤

特に断らない限りpyriproxyfenの原体と10%乳剤(以下ECと略)を所定の濃度に希釈して使用した。

##### 2、施用方法

###### 2-1、成虫に対する局所施用

アセトン溶液とし、0.5μl中に10μgのpyriproxyfenの原体を含む調整液を羽化24時間以内のメスあるいはオスの成虫一方の腹部腹板に局所施用した。局所施用後の成

虫に対し、処理の相手と交尾させた。交尾5組それぞれに一对ずつ透明プラスチックの容器に収容した。以後、室温27℃、照明、15明—9暗の条件下で8日間産卵させた。一方、比較対照にアセトンのみを施用した交尾区を設けて同様に産卵させ、経過日数にともなう産卵への影響を調査比較した。

## 2-2、産下卵の浸漬処理

予め、直径9cmの透明プラスチック容器内にコナガ成虫のメス、オス5組を収容し、同じく容器内に収容した新鮮なキャベツの葉に24時間産卵させた。その後、卵をキャベツの葉ごとECの所定希釈（有効成分量、0.1、1.0、10および100ppmを含む）に各々10秒間浸漬した。浸漬卵を風乾して後、同じようにプラスチック容器に収容した。以後6日間にわたり、幼虫の孵化数と死亡率を調査した。ただし、調査は室温、25℃の条件下でおこなった。

## 2-3、Pyriproxyfen含浸黄色樹脂テープに対する成虫の跗節接触処理

### 2-3-1、羽化24時間以内のメス、オス成虫の接触処理

市販のpyriproxyfen含浸黄色樹脂製ロールテープ（商品名；ラノー、住友化学工業株式会社製）の一部を、予め以下に適合する大きさに切断した。切断片を30ml容量のガラス製サンプルビンの壁、底部、キャップそれぞれの内側に、ほとんど隙間が出ないように沿わせた。以後この調整ビンを繰り返し使用した（以後、試験ビンと略）。試験ビンに、メスまたはオスの成虫を収容し10分間強制接触させた。予め交尾相手を収容した透明プラスチック容器内で交尾産卵させた。但し、強制接触中、試験ビンの肩、曲線部分に生じた隙間に成虫が止まった場合はビンをゆすってテープ部分に移動させた。

尚、接触に用いた成虫は次のように準備した。つまり、室内大量飼育由来の約400頭の蛹を17—22℃の室温、自然光条件下（4月初旬—中旬）に移した。その上で最初の羽化を待ち、最初の羽化虫を確認後、入手400頭のうち約100頭について直ちに一頭ずつ透明のプラスチックカップ（容量、220ml）に収容して処理前にメス、オスを分離し、試験前の交尾を避けた。羽化直後に上と同様のガラスビンに成虫を移し採り、一昼夜放置した。羽化成虫についてそれぞれの性を確認した個体の必要数を確保し、試験ビンへの接触試験に備えた。この手法によりドライアイスなどによる麻酔作業を避けた実験を比較的容易におこなう事ができた。尚、羽化率は90%以上であった。

本試験において容器内の産卵を促す意図および卵の観察を容易にする意図で2葉段階のダイコン芽出しを押し付け、滲みでる液を吸収させた5cm×7.5cmの黄色のステッカーオンメモ用紙をフタの内側に貼り付けた。産卵部位は容器壁、メモ用紙いずれにも偏ることがなかった。また湿度維持のため水道水を浸した容器の底の濾紙にも産卵する場合があった。また、pyriproxyfenの汚染を避ける目的で、吸虫管、ピンセットなどについては、処理用と無処理用とそれぞれ1セットずつ別に準備し使用した。また、使い捨て手袋にて実験者が直接化合物に手を触れる機会を断つように

配慮した。このようにして得た各々処理区の卵について以後5-6日間の経過日数毎に産卵数を調査し、さらに、それぞれの卵について産卵から5日目に孵化率を調査した。以下の実験においても同様に調査した。

### 2-3-2、羽化後の経過時間を異にするメス成虫の接触処理

次に、上と同様に大量飼育由来の蛹を入手し、自然光下（4月下旬-5月初旬）、19-24℃の室温に移した。最初の羽化を確認後ただちに蛹を1頭ずつ分離した。但し、本実験では、羽化後経過時間の調整のため、蛹の約200頭について1頭ずつ収容した内径5mm×長さ120mmのプラスチックチューブごと2日-3日間6℃の冷蔵庫に保管した。この冷蔵処理によって、供試前の一斉羽化をできるだけ促そうとした。以後、メス成虫羽化後の経過時間にしたがって試験ビンにメス成虫を10分間収容し、強制接触させた。その上で、予め無処理のオスを収容した上記と同様の透明プラスチック容器内で交尾させた。容器は、毎日産卵を確認した後、新しい容器に替え採卵した。ただし容器の底に濾紙をしき水道水を含ませ湿度の維持を図っただけで、成虫あるいは孵化してくるだろう幼虫に対し餌は供給しなかった。前記実験においても同様である。以上の試験期間中、室温、湿度、照明いずれも制御されることはなかった。温度について言えば、期間中23℃を超え、また20℃を下がることはめったになかった。また、この方法による成虫羽化率は約85%であった。

尚、実験中の汚染防止、採卵方法あるいはpyriproxyfenの影響調査は前記実験と同様にしておこなった。

### 2-4、Pyriproxyfenの植物油製剤を塗布したアルミニウム箔に対する成虫の跗節接触処理

#### 2-4-1、薬量変化させた処理面への接触

第8章、2-5-2の塗布処理と同様に塗布液を調整した。但し、菜種油-アセトン調整液中のpyriproxyfen量は、アルミ箔の塗布面積あたり、それぞれ0.4、0.1、0.04mg/cm<sup>2</sup>になるように調整した。塗布面のアセトンを揮散させて後、メス、オスそれぞれ別々に各処理面に一時間強制接触させた。接触させた5組のメス、オスについて、予め、餌としてダイコンの芽出しと水分を含ませた濾紙を入れた新鮮なプラスチックカップに1対ずつ収容した。以後7日間における経過日数毎の産卵数とその孵化率について調査した。

#### 2-4-2、各種植物油由来のpyriproxyfen製剤処理面への接触

各種、ピーナッツ、ゴマ、菜種に由来する市販の家庭用植物油を溶剤として、上記第8章2-5-2と同様の割合で混合したアセトン溶液とした。ただし、pyriproxyfenの量はアルミ箔に対する塗布処理薬量が0.04mg/cm<sup>2</sup>になるように1濃度に固定した。以後、上記の2-3-1と同様にして成虫の繁殖に対する影響を調査した。但し両実験は、上記、2-1の局所施用と同じ室内条件下でおこなった。

### 第3節 結果

#### 第1項 成虫に対する局所施用効果

コナガのメス成虫に対するpyriproxyfenの局所施用は産卵に対して影響を及ぼした。明らかに産卵数の減少と産卵の遅延結果が認められた。一方、オス成虫に対する同様の処理でも、その交尾相手である無処理メスの産卵に影響を与え、その産卵を長期化させた。しかし産卵総数は無処理のそれとほとんど変らなかった。ではあったが、産下卵においては孵化率の低下がメス、オスいずれの処理によっても共通に認められた (Table 11-1)。

Table 11-1. Mean numbers of eggs produced by couples of *P. xylostella* in which one mate was treated topically with 10 $\mu$ g of pyriproxyfen (five replicates)

Treated mate	Days following treatment								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	
♀	12.3 (65.8)	23.4 (37.1)	10.1 (17.4)	11.9 (15.4)	2.4 (0)	—	—	—	59.8 (39.3)
♂	0 (—)	10.0 (100)	36.7 (91.7)	20.0 (80.0)	2.0 (90.5)	9.5 (46.2)	4.0 (50.0)	2.0 (50.0)	94.2 (83.5)
Control	32.0 (98.0)	30.4 (93.9)	29.4 (91.1)	15.8 (86.5)	20.0 (87.1)	6.0 (80.1)	4.0 (25.0)	—	139.7 (90.0)

( ); % eclosion from eggs produced each day after treatment

Note: Statistical analysis was not available since egg numbers were aggregated as total.

#### 第2項 産下卵の浸漬処理効果

Table 11-2に示されるようにキャベツの葉に産み落とされた卵 (0-1日齢) を pyriproxyfen乳剤の希釈液に浸漬した場合も卵の孵化阻害効果が認められた。100ppm処理区では観察した120個の卵中33個、即ちわずか27.5%の殺卵効果を示したのみだった。ただ、25ppm処理区では151個中20個の致死卵、6.25ppmでは146個中12個の致死卵

Table 11-2. Egg and larval mortality of *P. xylostella* following treatment of eggs on cabbage leaf by dipping in EC solution of pyriproxyfen less than 24 hours after oviposition<sup>a</sup> (n=3)

Treatment	Conc. (ppm)	No. of eggs		No. of larvae	
		Total	Dead	Dead <sup>b</sup>	Alive
Pyriproxyfen	6.25	146	12	131	3
	25	151	20	131	0
	100	120	33	87	0
Control	—	115	0	11	104

<sup>a</sup> Observations were made 6 days after treatment. <sup>b</sup> Larvae were dead soon after their eclosion.

n=3: 3 replicates with five couples of ♀ × ♂

しか得られず、殺卵効果の上では薬量変化に伴う効果が明確ではなかった。しかしながら、孵化後の幼虫の死亡率は高く、試験薬量全ての範囲で131頭(6.25ppm)～87頭(100ppm)の致死個体が観察された。幼虫の生存率がわずか0-2%を示したにすぎなかった。この顕著な特徴は孵化後直ぐに認められた。

### 第3項 Pyriproxyfen含浸の黄色樹脂テープに対する成虫の跗節接触処理

#### 3-1、羽化24時間以内のメス、オス成虫の接触処理

試験ビンにて、メス成虫をpyriproxyfen含浸の樹脂テープにわずか10分間接触させた場合も産卵抑制となって影響が表れた。Table 11-3に示すように処理4日後の影響が強く、孵化が阻害された卵が最も多かった。一方、オスを同様に処理し、無処理のメスと交尾させた場合はその影響は弱く、産下卵総数は無処理のメス、オス同士を交尾させた場合の産卵総数とあまり変わらなかった (Fig. 11-1A)。しかも致死率の合計は26.5%であり、無処理区の13.8%と比べると大きな差はなかった (Table 11-3)。

Table 11-3. Mean egg numbers ( $\pm$ SE) per female and percent mortality recorded daily after exposure by tarsal contact of male and/or female adult *P. xylostella* to yellow tape coated with pyriproxyfen (Lano<sup>®</sup>) within 24 hour following eclosion (n=5)

Treated mate	Days after treatment					
	1	2	3	4	5	6 <sup>1</sup>
♀	4.8 $\pm$ 4.0 (4.8 $\pm$ 4.8)	26.4 $\pm$ 11.0 (29.6 $\pm$ 23.9)	42.0 $\pm$ 11.6 (11.5 $\pm$ 4.9)	15.2 $\pm$ 12.7 (6.7 $\pm$ 6.7)	3.2 $\pm$ 2.2 (33.3 $\pm$ 16.7)	1.0 $\pm$ 0.7 (0)
♂	6.2 $\pm$ 6.2 (9.7 $\pm$ iv)	51.8 $\pm$ 23.1 (6.5 $\pm$ 1.8)	35.6 $\pm$ 16.9 (11.9 $\pm$ 9.6)	7.8 $\pm$ 3.3 (0)	7.2 $\pm$ 4.0 (5.9 $\pm$ 5.9)	0.6 $\pm$ 0.6 (0)
♀ $\times$ ♂	12.0 $\pm$ 6.6 (17.0 $\pm$ 13.8)	20.6 $\pm$ 8.9 (3.5 $\pm$ 1.7)	5.8 $\pm$ 4.9 (0)	6.0 $\pm$ 6.0 (20.0 $\pm$ iv)	4.8 $\pm$ 4.8 (5.9 $\pm$ 5.9)	2.0 $\pm$ 2.0 (70.0 $\pm$ iv)
Control	20.0 $\pm$ 11.8 (3.0 $\pm$ 1.8)	26.8 $\pm$ 10.2 (2.7 $\pm$ 2.7)	25.4 $\pm$ 11.5 (1.1 $\pm$ 0.7)	13.2 $\pm$ 4.9 (1.4 $\pm$ 1.4)	14.0 $\pm$ 9.6 (7.2 $\pm$ 6.0)	2.0 $\pm$ 1.3 (0)

<sup>1</sup>All females were dead on day 6. iv; invalid due to egg production from single ♀

Egg mortality; figures in brackets ( $\pm$ SE). Eggs at day 5 were treated as dead.

<sup>A</sup>Total egg numbers were insignificant among the treatments (Scheffé's multiple range test,  $p < 0.05$ , see Fig. 11-1A for *t*-test comparison to untreated control).

しかしながら、メス、オス両成虫ともに同じくpyriproxyfenに接触処理、交尾させた場合には、産下卵に対する影響がより強く現れた。特に卵総数は、無処理成虫同士が交尾産卵した対照区の総卵数より明らかに少なかったが、統計的には有意差はなかった (Schefféの多重検定、 $p < 0.05$ および対照区との*t*検定、 $p < 0.05$ )。また処理後5日を経ると次第にその孵化阻害率が上昇する傾向もみとめられた。Figure 11-2にpyriproxyfenが示すその影響の代表的例を写真に示した。これによってpyriproxyfen

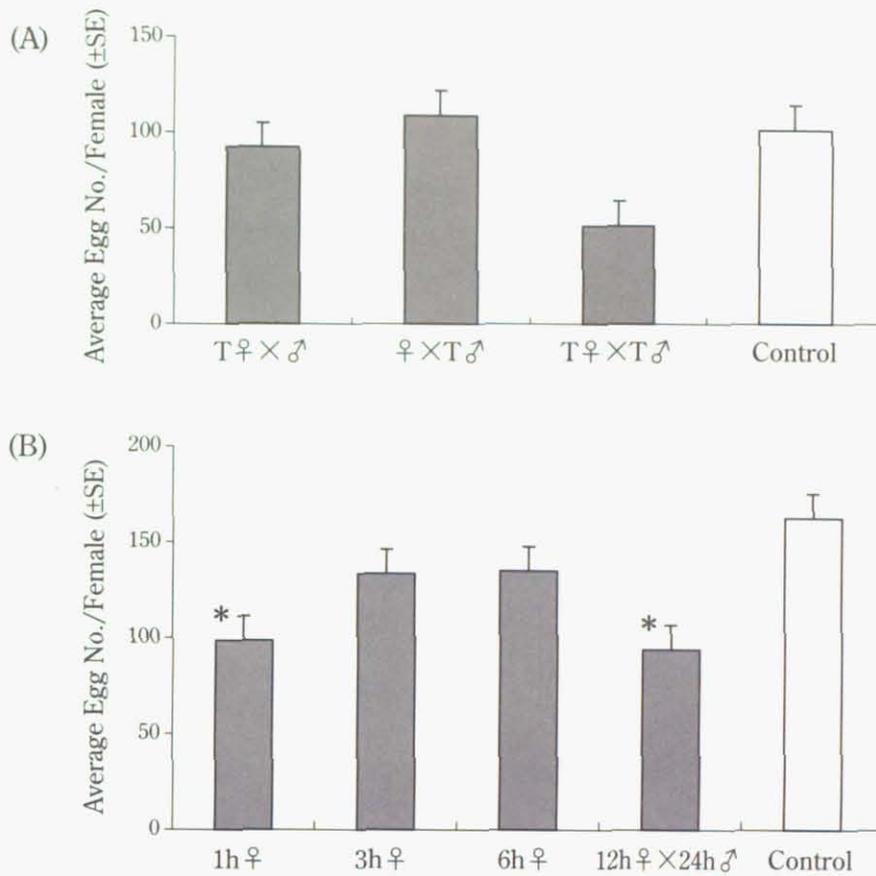


Fig. 11-1. Total numbers of eggs ( $\pm$ SE) produced by *P. xylostella* adult females exposed by tarsal contact for 10 min to pyriproxyfen treated yellow tape (n = 5):

A) within 24 hour following emergence, B) at precise times following emergence.

T = treated (for A). Controls (for A and B) were untreated. \*; significantly different when compared to Control (*t*-test,  $p < 0.05$ ).

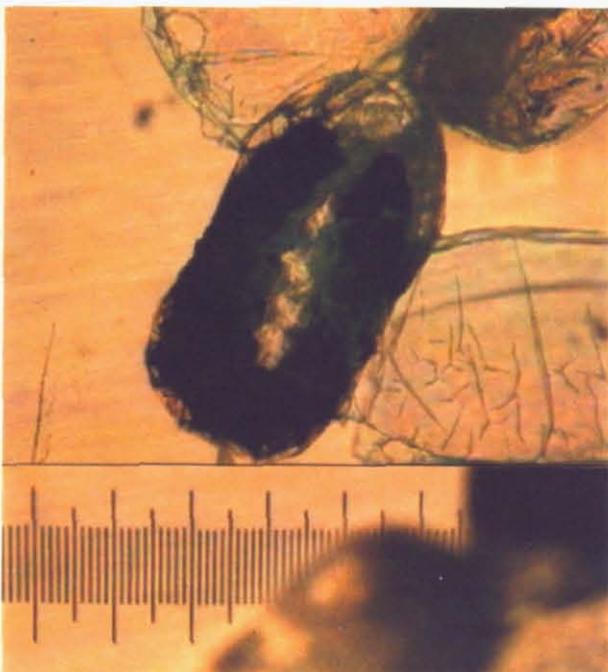


Fig. 11-2. Larva of *P. xylostella* showing disruption of eclosion within an egg laid by a female 4 days after exposure for 10 min to pyriproxyfen treated yellow tape (photographed 8 days after oviposition, size;  $\times 100$ , Scale; @=10 $\mu$ m).

処理面に接触したメス由来の卵において孵化阻害を受けた幼虫が卵殻内で死亡する様子が確認できた。

### 3-2、羽化後の経過時間を異にするメス成虫の接触処理

さらにメスの羽化後経過時間を細分化し試験ビンに暴露するまでの時間を区切って影響を調べてみた (Table 11-4)。その結果、羽化一時間以内の成虫を10分間試験ビンに接触させたメスの場合に最も産卵数が少なく、その差は有意であった (対照区との *t* 検定、 $p < 0.05$ )。ほか、3時間あるいは6時間と次第に羽化後の経過時間が長くなったメスを試験ビンで曝した場合ではその影響は少なく、無処理のメスの対照区が産卵したその総数とほとんど変わらなかった。メス成虫が羽化直後、特に0-1時間以内に pyriproxyfen に曝した場合、卵黄の形成などに影響が出たのかもしれない。したがって、この三様の実験相互の関係から pyriproxyfen 塗布面への10分間の接触処理の限りにおいてはメスの羽化経過時間が3時間以上経つと産卵に対する影響はほぼ無くなると言えた。しかしながら、メス、オス供に処理した場合では結果が異なった。

Table 11-4. Daily egg production and percent egg mortality following tarsal exposure to yellow tape (Lano<sup>®</sup>, see text) of female adult *P. xylostella* at different times following eclosion (n=5)

Female (♀) <sup>1</sup> age (h)	Days after treatment (mean no. ±SE)					
	1	2	3	4	5	6
0-1	19.6 ± 4.1 (9.5 ± 5.4)	69.6 ± 5.6 (10.2 ± 4.7)	8.4 ± 1.9 (8.0 ± 3.5)	1.0 ± 0.3 (0)	0 (0)	-
3	18.4 ± 10.0 (12.5 ± 8.8)	84.2 ± 14.4 (8.0 ± 2.8)	25.0 ± 6.6 (23.0 ± 7.8)	4.4 ± 3.7 (3.5 ± 3.5)	1.6 ± 0.9 (0)	-
6	43.2 ± 2.3 (3.7 ± 1.1)	59.4 ± 7.5 (6.7 ± 3.5)	26.8 ± 9.6 (6.3 ± 2.1)	5.6 ± 2.9 (16.6 ± 10.5)	1.4 ± 1.0 (0)	-
12	- <sup>2</sup>	70.0 ± 8.3 (9.9 ± 2.3)	20.8 ± 8.9 (0)	3.0 ± 1.5 (44.1 ± 28.0)	0.2 ± 0.2 (33.3 ± 33.3)	-
Control <sup>3</sup>	87.3 ± 12.7 (2.5 ± 0.7)	33.3 ± 16.2 (1.3 ± 0.7)	39.3 ± 2.0 (2.4 ± 1.4)	2.7 ± 0.9 (0)	0 (0)	-

-, All females were dead at day 5. Egg mortality; figures in brackets (±SE).

Eggs at day 5 were treated as dead.

<sup>1</sup> Males less than 10 hours old were paired with treated females except for 12 hour old females were 24 hours old at the time of mating.

<sup>2</sup> No data were collected on day 1 and were accumulated for 2 days.

<sup>3</sup> n = 3; three replicates

A-C Different letters on day 1, 2 and 3 were significant between the treatments (Scheffé's multiple range test,  $p < 0.05$ ; no letter indicates insignificant difference among the treatments).

D Total egg numbers did not differ between the treatments by Scheffé's,  $p < 0.05$ . See Fig 11-1B for *t*-test comparison to untreated control.

つまり羽化12時間を経てから処理したメスでも、羽化24時間を経てから同様に試験ビンで接触処理したオスと交尾させた場合には明らかに産卵数に減少が認められ、統計的に有意であった（対照区との $t$ 検定、 $p < 0.05$ 、Fig. 11-1B）。加えて処理5日後には産下卵の孵化率も低下した（Table 11-4）。

#### 第4項 Pyriproxyfenの植物油製剤を塗布したアルミニウム箔に対する成虫の跗節接触処理

##### 4-1、薬量変化させた処理面への接触

さらに影響の薬量反応を観るために、菜種油を基材として製剤でpyriproxyfenの塗布液を調整し0.1、0.4、0.04mg/cm<sup>2</sup>の範囲で接触薬量を変化させた。Fig. 11-3Aに示されるように、オス、メス両者とも一時間の強制接触処理にも関わらず薬量の変化と交尾、産卵に対する影響の関係は認められなかった。一方、産下卵の孵化率では成虫処理後の経過時間が経つにしたがい孵化率は下がり、無処理対照区が90%以上の孵化率を示した結果（Fig. 11-4、参照）と比べるとpyriproxyfenによる孵化阻害の影響は際立った（Fig. 11-3B）。しかしながら、孵化阻害と薬量変化との関係におい

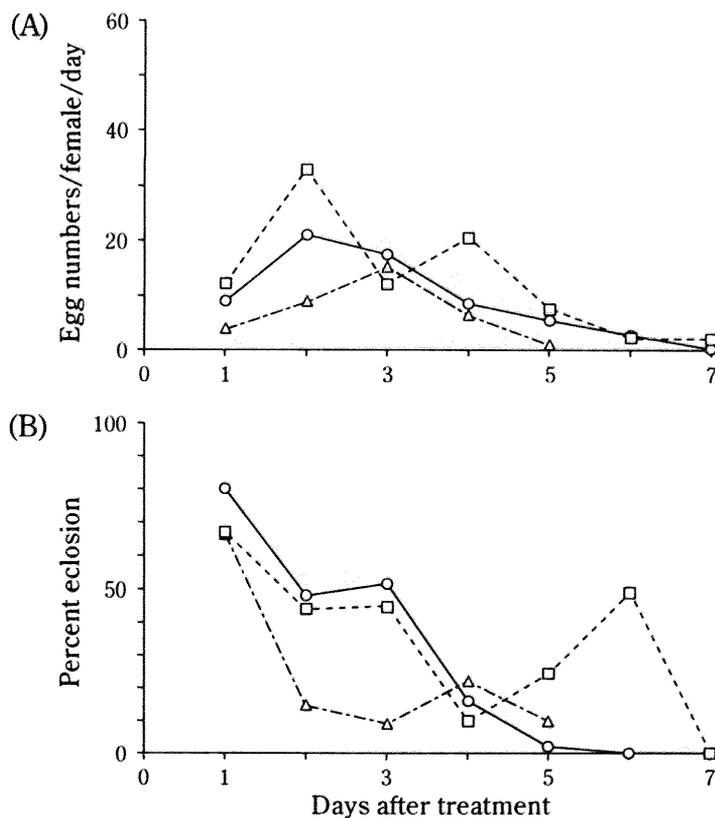


Fig. 11-3 Effect on egg production and percentage eclosion following exposure by tarsal contact for 1 hour of adult female *P. xylostella* to various concentrations of pyriproxyfen in canola oil/acetone (1:50 v/v) on aluminium foil (n=4).

A) No. eggs produced B) percent eclosion.

○; 0.4 mg/cm<sup>2</sup>, □; 0.1 mg/cm<sup>2</sup>, △; 0.04mg/cm<sup>2</sup> See Fig. 11-4 for untreated control.

ては濃度を増した場合は阻害率との関係が逆転した。つまり薬量が多いほど孵化阻害への影響が低かった。この逆転現象については第 8 章でも観たが、本化合物は高濃度より低濃度で効果が高く出る傾向を本実験でも示した。理由については、体内のジュベノイドのキャリアー蛋白、或いは結合蛋白とのバインディングの問題と関係するのかも知れない。しかし、以上の実験から一切不明である。以上、濃度を変えても産卵数については変わらず、一時間の接触時間に限って言うなら、影響をおよぼすには少量のpyriproxyfen、0.04mg/cm<sup>2</sup>の塗布で十分であった。

#### 4-2、接触時間を変化させた処理面への接触

上記結果を踏まえ薬量を0.04mg/cm<sup>2</sup>に固定し、処理面に対する接触時間の長短の影響を観た。その結果、0.04mg/cm<sup>2</sup>、わずか1分間の接触においては産卵数への影響もほとんどなかった。一方、卵の孵化率においては、対照区と比較すれば影響がやや強かった程度であった。しかしながら、接触時間をより長くするとpyriproxyfenの影響が産卵数にもその孵化率にも強く発揮された。つまり、60分間接触させた場

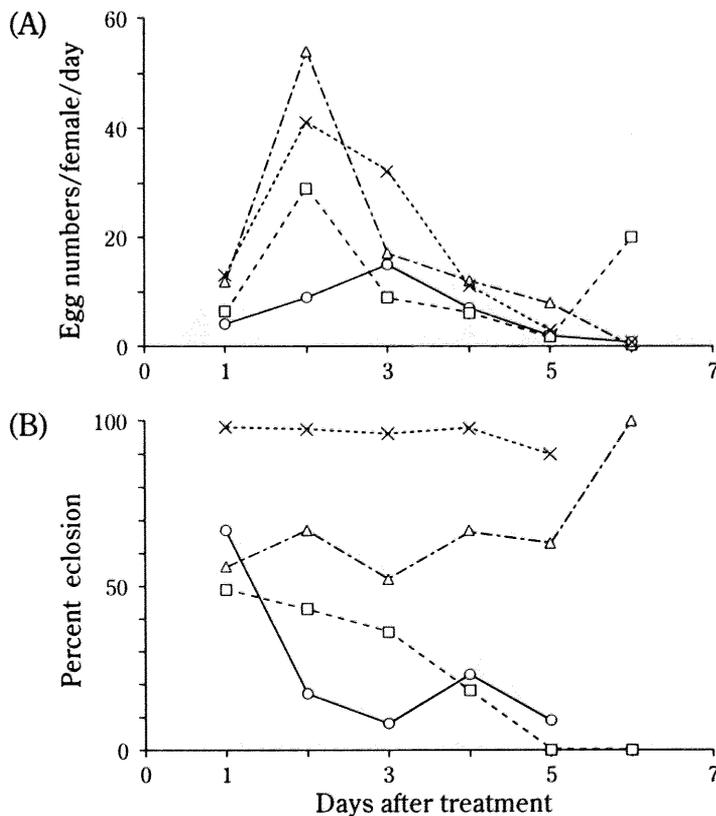


Fig. 11-4. Effect on egg production and percentage eclosion following exposure by tarsal contact of adult female *P. xylostella* for different times to 0.04 mg/cm<sup>2</sup> pyriproxyfen in canola oil/acetone (1:50 v/v) on aluminium foil (n=4).

A) No. eggs produced B) percent eclosion

○; 60 min, □; 10 min, △; 1 min, ×; untreated control (Ac : Canola Oil, 50 : 1 alone, 60min).

合、両者に対する影響は、対照区のそれらが示す値のほぼ20%にしかならなかった (Fig. 11-4)。10分間の接触においても同様に、産卵数にも孵化率にも pyriproxyfen の影響が強く発現し、処理初めからその4日間にそれら対照区の50%ほどに及んだ。

#### 4-3、各種植物油由来の pyriproxyfen 製剤処理面への接触

上記の結果から、産卵に対する影響を観るには pyriproxyfen の薬量が  $0.04\text{mg}/\text{cm}^2$  で十分と判断し、次に pyriproxyfen の量をこの薬量に固定し、溶媒として植物油の種類を変えて産卵に対する影響を調べた。前記と同じく一時間に限ってオス、メス共に接触、交尾させたメスへの影響は大きく、それぞれ、供試したピーナッツ、胡麻、菜種由来の油いずれでも共通に産卵抑制の影響が現れた。特にいずれの油でも産卵数が極端に減り6日間の産卵期間中、総数にして1頭あたりわずか17-35個の卵を産んだに過ぎなかった。しかもこの産卵数は菜種油だけを比較対照として処理したメスが産んだ100個/頭以上の数字と比べると半分以下であった (Fig. 11-5A)。

油の種類が違って産卵数でみる限りその減少程度に大きな違いはなかったが、詳細に見ると胡麻油においては、処理1日後の産卵数が他の植物油製剤よりも多かった。また、ピーナッツ油においては産卵数とは無関係に正常な孵化率を示し、孵化

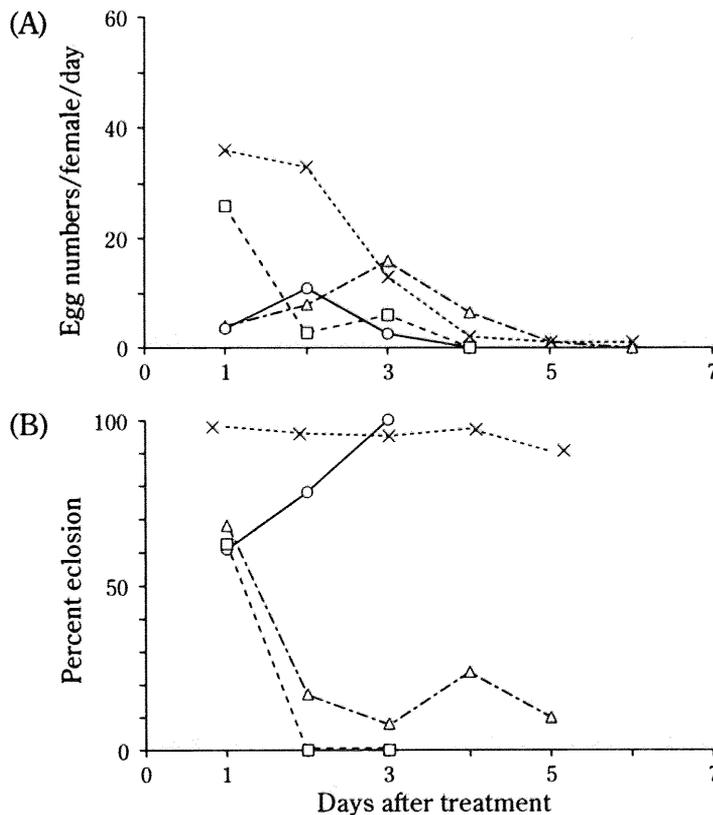


Fig. 11-5. Effect on egg production and percentage eclosion following exposure by tarsal contact for 1 hour of adult female *P. xylostella* to pyriproxyfen in different oil formulations on aluminium foil at a concentration of  $0.04\text{ mg}/\text{cm}^2$ . (n=4). Other details as in Fig. 11-3.

○; peanut, □; sesame, △; canola, ×; Control (Ac: Canola Oil, 50 : 1 alone)

率に関する限り異常は認められなかった (Fig. 11-5B)。ところが菜種油と胡麻油製剤では、明らかにpyriproxyfenの孵化抑制効果が発現した。孵化の総抑制率は80%にも達した。本実験では処理一日後の結果を除けば、菜種油、胡麻油製剤間で、産卵数に対する影響に差はなかった。しかし、孵化率の変化を追う限り胡麻油の方が菜種油製剤よりも孵化抑制効果がやや高く、処理2日後から幼虫の孵化が全く認められなくなった。Pyriproxyfenの不妊効果がより発揮された現象だった。

#### 第4節 考察

予備実験的に調整したルアー製剤いずれの処方においてもpyriproxyfenに接触したコナガに対する産卵抑制の影響が認められた。この抑制の程度はオンシツコナジラミ用に生産販売される既成品のルアーテープに接触させた場合と同様で、産下卵数の低減効果を示した (Fig. 11-1A, B)。この現象はpyriproxyfenの原体をアセトン処理した場に認められる基本的な産卵抑制効果と一致した。特に産卵数の低下が著しく、無処理の対照区が示した産卵数の半分以下であった (Table 11-1)。またFig. 11-3A, Bで示される接触薬量と産卵抑制反応試験の結果からpyriproxyfenの処理薬量をいたずらに増やしても繁殖阻害効果がそれに応じて高まるわけでもない事が明白となった。また、供試した植物油の種類によって少なくとも卵の孵化阻害効果に大きな違いが現れ、特にピーナッツ油では産下卵がほぼ正常に孵化した。一方、菜種油、胡麻油製剤では期待通り孵化阻害がみとめられた。この差が何に由来するかは不明ではあるが、恐らくピーナッツ油が他と比較して流動性に欠けることを考えあわせると、含まれる脂肪酸組成の違いが反映したとも思われる。一般的にピーナッツ油では飽和脂肪酸が優先し、流動性の主要因となる不飽和脂肪酸が少ない。このような物性がpyriproxyfenのキャリアーとして本化合物作用点への到達に深く関係するだろうことは先に述べた<sup>14</sup>C放射性のpyriproxyfenを使った追跡実験結果からも容易に想像できる。ツェツェバエ、あるいはオオサシガメにおけるpyriproxyfenの追跡実験では明らかに、アセトンと鉱物油それぞれに溶解した場合pyriproxyfenの挙動に大きな違いがあった。また野外における製剤の安定性の上でもこうした性質は重要な鍵となる (Langley et al., 1993)。

以上、これらの事実、あるいは一般的知見から、今後の研究として、pyriproxyfenの不妊化効果を最大限に発揮させるためには、視覚的あるいは化学的おとりを組み込んだルアーの製剤においては、少なくともコナガ防除対象に合った不活性な特性を示す基材と適切な溶剤の選択、及びそれらとの組み合わせが重要であることを示唆する。前章までの研究成果からも害虫の種類により、種それぞれに適合した、種特異の標的あるいはルアーの検討が必須であることは明らかである (Langley et al., 1993)。

一方、前章までに検討したほかの害虫、ツェツェバエ、オオサシガメ、オンシツコナジラミに対する本化合物の繁殖阻害効果とくらべると、コナガ成虫接触による本実験の範囲では上記の害虫とは異なり生涯にわたる繁殖阻害効果が認められなかった。確かに一見するとその効果がコナガでは中庸、または弱いと見える。しかしながら、Table 11-2における結果に注目すると、pyriproxyfenの産卵抑制効果だけではない特徴

的事実が見て取れる。つまり、既に産み落とされている卵に直接pyriproxyfenを作用させたこの結果では、処理濃度が高くなるにつれ幼虫の孵化抑制率も高くなるが、その事実に加え幼虫の孵化直後における死亡率の高さが際立つ。このような現象は実用上重要な意味をもってくる。特に実際の野外におけるルーア製剤の施用では、pyriproxyfenを取り込んだメスが作物上に産んだ卵からコナガ幼虫が孵化に成功した場合を想定しても幼虫が作物上で本化合物に直接接触することは実際上ありえない。またあるとしても、成虫由来の汚染にもとづくごく少量であるから実質は無影響である。したがって、メスが取り込んだpyriproxyfenの影響で二次的に孵化幼虫が死に至ることが大変重要な意味を持つことになる。確かに、産卵後にpyriproxyfenに曝された事を考えれば、この現象はキャベツの葉に残るpyriproxyfenが孵化幼虫に対して二次的に影響を及ぼした結果にもとづくに過ぎないのかどうか確認が要る。本実験でも試験ビン接触においても孵化直後に死亡幼虫が観察されたが、これが上の事実を反映したものか、あるいは単に飢餓あるいは試験容器内の濾紙が乾燥した結果であるかは不明のままである。

尚、本研究も一部では実験室の温湿度、照明を制御せずに自然の成りに近い環境で実験を行った。実験の精度の上から懸念も残るので少し触れる。植松ら(1998)および植松・好川(2002)がコナガの産卵行動習性および産卵能力決定要因などについて論議しているが、本害虫の産卵習性は日暮れとともに夜明けまで産卵行動がみられ、産卵の数は光条件によっても左右されるという。つまり、実験室における自動制御照明による突然の明暗条件より、日暮れとともに訪れる光の弱さが産卵をより促すとの見方をしている。確かに試験ビンによる接触試験においては自然条件に近い環境下であったため、特にTable 11-4の実験ではTable 11-3の実験時よりもやや室温も高く推移したからこうした光の影響も手伝って全体に早い時期の、しかも数多くの産卵を促したのかもしれない(Fig. 11-1A, B参照)。Table 11-3およびTable 11-4の結果は、産卵抑制結果も概ね妥当な結果であり、さらに冷蔵保管した蛹でも85%の羽化率も記録したことから、実験そのものには問題はなかったと判断される。また、Table 11-4で明らかのように、メス孵化後pyriproxyfen処理面に接触するまでの経過時間が短ければ短いほど本化合物の産卵抑制効果が発揮され易いことがうかがえる。実際場面においては産卵抑制の効率という観点からは効果の程度を左右する重要な因子にもなる。また、処理面に訪れる頻度はどれほどか、あるいはその時間はどの程度かなども防除の効率上、検討すべき課題として残る。

いずれにしろ、実際場面におけるこの不妊化技術を適用するならこうした産卵要因あるいは孵化幼虫の生存制限要因など全て重なって、最終的に、総合的な密度抑制結果を知ることができる。今後この技術の有効性の証明にも早い時期に野外試験が実施され、総合防除技術上の新しく、重要な技術としての検討が待たれる。特に、温室野菜栽培における捕食性昆虫などの天敵導入あるいは訪花昆虫導入においては、殺虫剤の散布が、禁止か散布回数などの制限を受ける事になるから、こうした技術は必須となる。

## 第12章 総合考察

本化合物pyriproxyfenはキチン合成阻害剤などとあわせ昆虫成長制御剤とも称されジュベノイドに属する。昆虫の変態、あるいは卵の発育（胚発生）を制御する合成化合物であり、この類縁化合物についてはWilliams（1967）が第三世代殺虫剤と提唱して以来、注目を集め早くから多くの研究者が研究開発に取り組んできた（Retnakaran et al., 1985）。しかし、ジュベノイド化合物の農業用途については、ごく一部の化合物を除いて当初の期待ほどには実用化されていないのが実状である。以下これまでの研究成果を踏まえ新しい防除技術及び総合防除の観点からpyriproxyfen開発の応用的意味合いを総合考察する。

当時、いわゆる環境論がかまびすしく農薬開発にとって、決して恵まれた環境にあったとは思えないその時代に、本研究によって、農業害虫における防除薬剤として実用化に結びつけることに成功した。その応用的意味は大きく次の二点にある。

- 1) 昆虫生理学あるいは内分泌学の学問的成果を基礎に、これまで開発が困難とされてきた農業分野の害虫防除剤としてジュベノイドを開発し、世に問う事ができた。
- 2) さらに、本化合物の化学的不妊効果を特徴づけ、これに着目することで、散布しなくて済む視覚誘引型のルアー（ラノー®テープ）の開発に結びついた。

かつて、類縁化合物の開発が難しかったその理由は、昆虫自身が分泌し、変態をつかさどるJuvenile Hormone自体はもちろんのことだが、合成された化合物の構造に由来する物理化学的な脆弱性にあった。野外、特に太陽光線下では安定性が低かったことが主因と言っても言い過ぎではない。テルペノイド系ジュベノイドの典型であるmethopreneやkinopreneについて野外における用途開発がなされていない事実がそれを裏付ける。もちろん、ジュベノイドの昆虫への生物反応として示される種特異性、発育ステージ特異性という問題も大きい。今日にいたっても、その後この分野の発展を見ないのはそのせいも多分に大きいのかも知れない。特に、序説でも触れたように、幼虫の過剰脱皮による大きな個体、Supernumeray幼虫が出現する現象は、作物生産場面において主たる標的である植物食性の害虫を防除対象とするとき、一般的に許容できる現象ではない。むしろ拒否感がともなうのが自然である。

本化合物は、その合成出発物質、あるいはリード化合物が、スクリーニングに供したハスモンヨトウに対し体色を赤く変化させるその偶然をHatakoshi（波多腰）が見逃さなかったことが幸いしている（Hirano et al., 1998）。それを契機に、その翌年という早い時期に発明された（Kishida et al., 1984）幸運にも恵まれた。その物性の大きな特徴に、安全性が高い上に紫外線下では分解が速く不安定にもかかわらず、太陽光下では安定性が高いことがあげられる（波多腰ら, 1997；Hirano et al., 1998）。著者はこの性質に着目した。平たく例をあげれば、除虫菊由来の天然ピレトリンと、それまで著

者が普及開発にたずさわっていた合成ピレスロイドの関係にあると直感した。化合物の発見と同時に第2章に述べたようにランダムスクリーニングの延長線上にあった評価結果は、本化合物の農業害虫に対する開発は、難しいとする一般的見方を追認する結果になっていた。

ではあったが、光に対する安定性に注目すると同時に、殺卵剤のニカメイガを対象にした開発が断念された一時代前の事実思い当たった。あらためて海外から集まってくるデータを見直した。つまり、開発の方向性が見つからないでいたその折、Retnakaran (1985) 本人からゲラ刷りを入手する機会があった。昆虫の成育ステージ別に解かりやすくまとめたジュベノイドの適用の可能性について読み、本化合物を殺卵剤として開発し得ることに気付いた。ジュベノイドの昆虫生理活性として卵の胚発生に阻害作用があるとする基礎知見に着目した。後に、板谷 (1987) が言う、昆虫生理学的知見を利用する害虫防除の試みの走り、ということになる。著者はこれをBiorational Approachと称して開発戦略の柱とした。第3章で述べた1984年、イスラエルにおける室内試験結果がこのアプローチを支持した。Pyriproxyfen乳剤を散布した棉の葉に産みつけられたタバココナジラミ、*B. tabaci*の卵が孵化しない事実から、予防的に散布すれば、光安定性もあるので棉畑における実用化が可能であるとの確信を得た。

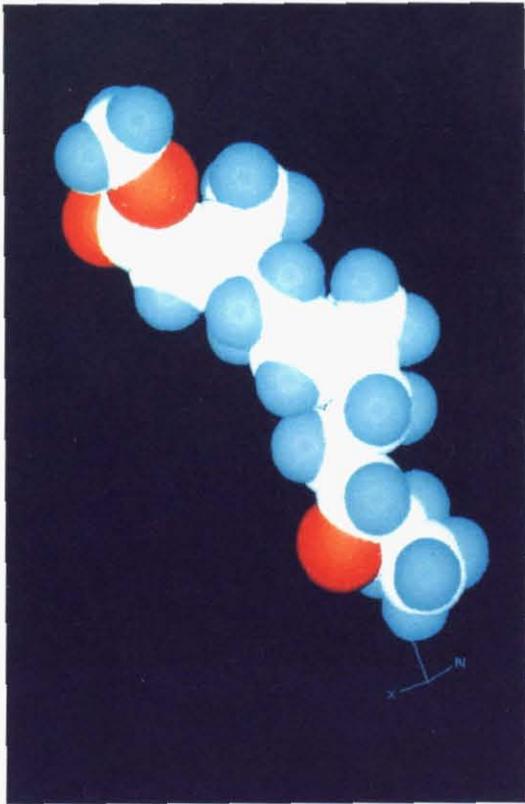
それまで、ジュベノイドの防除有効手段としては、作用結果として知られる成虫化の不完全さ、蛹からの羽化異常、成虫死亡の作用から次世代の繁殖阻害を標的とする考え方 (板谷, 1987) が一般的であったと思われる。確かにこのアプローチでも発生初期に施用できれば幼虫加害による被害も少なく、許容し得る。しかし、速効性にすぐれた殺虫剤が使用される現場状況では、防除手段として受け入れにくいのも事実である。この点では、作物表面に産みつけられる卵の殺卵効果を期待し、予めpyriproxyfenで作物を覆い、待ち伏せすることと同じになるこの手段も、同じような理由で現場の理解が得られるものではなかった。現実の栽培管理者心理からすれば、被害もないのに殺虫剤を予め散布するのは経済的にも受け入れられない。また、卵の発育阻害結果に着目した試験結果は、このときまで*B. tabaci*だけであったから、この殺卵現象を前面に押し立てて開発を推進することは、本害虫に限られた偶然に過ぎないとして、現場の理解が得られなかった。あるいは、化学不妊剤が哺乳動物に対しても毒性が高いことから過去に開発が断念された背景があったため、それとのアナロジーで各国の現場には、ジュベノイドを化学不妊剤あるいは胚発生阻害による殺卵剤として受け入れることに心理的な拒否感があったのかも知れない。これが理論と現実のギャップであった。こうした心理的抵抗を克服する必要があった。

一方、著者は本化合物の双翅目害虫に対する特異的な活性に着目し、オリーブ加害に代表される各種 fruits fly (*Bactrocera dorsalis*など) や、また直翅目のゴキブリに対する活性の類推から、サバクトビバッタ、*Schistocerca gregaria*などへの適用の可能性を探るために、開発協力をもとめて国連農業食糧機関 (FAO) にも接触していた。同時に、世界保健機関 (WHO) にも接触があった。当時マラリア対策に使われていた塩素系農薬、DDTの環境への影響懸念に対する世の注目、批判などから、WHOは代替の候

補化合物をさがしていた。また、抵抗性マラリア蚊の出現問題もあったのでこの代替に、マラリア対策剤としてわが日本国の海外援助によって、住友化学工業の Sumithion® (fenitrothion) が数カ国で使用されるという背景もあった。このような国際状況下に pyriproxyfen が出現したのは必然だったのかも知れない。著者は、農業用のみならず同時にこうした防疫分野の害虫対策にも開発の手を広げた。本化合物の双翅目害虫の活性に着目する中で、ほかに、原（線）虫 *Oncocerca volvulus* による River Blindness（川盲目病）媒介虫である black fly、*Simulium* sp や原虫 *leishmaniasis* によるレーシュマニア病媒介虫 sandfly (Psycodidae: Phlebotominae) にも開発の対象を広げる相談に、ジュネーブの WHO 本部を訪ねた。それが本研究の核をなしている第 4、第 5 および第 6 章の成果を生むきっかけとなった。

これら一連の研究で pyriproxyfen の一次作用機作と言ってもよい次の重要な結果が明らかとなった。その第 1、人獣（畜）共通の害虫である tsetse fly、*Glossina morsitans morsitans* に対し、pyriproxyfen が完全に繁殖阻害作用を示す。第 2、その阻害作用が本化合物に汚染したオス成虫から、本化合物との接触が未経験のメスまでにも交尾によって影響が生じる。そして以後の繁殖を完全に阻害する。第 3、放射性 <sup>14</sup>C-pyriproxyfen を用いた追跡実験により、メス、オスいずれに処理した場合も、本化合物がメスの子宮内に移行し、次世代の成虫羽化を妨げる。かつ、その取り込まれる量との関係が明らかになった。第 4、分類上全く異なるオオサシガメ、triatomine bug、*Rhodnius prolixus* においても生殖過程で卵に pyriproxyfen が取り込まれ、以後の繁殖阻害を長期にわたって引き起こす。第 5、卵内における本化合物が未分解のまま存在すること、および卵の孵化阻害とその取り込まれた量との関係が明らかになった。以上、これらの成果が第 7 章において tsetse fly の光刺激、化学的刺激に対する誘引性を想定した研究を着手させた。成虫を集中的に誘引することによって、跗節を経た pyriproxyfen との接触汚染を期待し、取り込まれる化合物の消長を観た研究である。いうなればキャッチ & リリース手法である。この方法によっても本化合物による繁殖阻害が確かなものであると確認し、化学不妊剤としての適用の道を拓いた（後述する）。

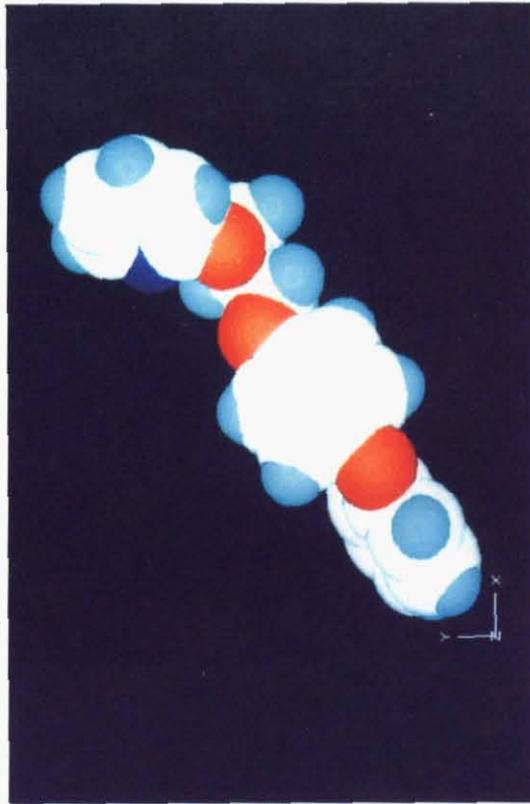
これらの事実は、methoprene の研究からは予想外のことであった (Langley et al., 1988)。天然の JH や methoprene の化学構造上から、昆虫による生化学的攻撃、代表的には JH エステラーゼや JH エポキサイド加水分解作用 (Casida and Quistad, 2004) などからその特徴の違いの発現は容易に理解される。また、さらにその先の作用機作については全く不明だが、化学構造上、pyriproxyfen がこれらテルペノイド化合物とは平面構造の上では全く類似性がないことから納得できることであった。一方、Motoki and Takayama (1987) が明らかにした本化合物の三次元構造は、ほかの代表的なジュベノイド化合物と比較したときに (Fig. 12-1) 各化合物の立体構造の類似性と生理機能の類似性の関連性を想像させるのに十分だった。こうした pyriproxyfen に特有な現象の発見が本化合物の予防的散布方法の理論的根拠として現場における説得力を増した。現場における意味は、訳のわからないものとして狭い地域に普及が限定されがちな特殊製品に理論的根拠を与え、より普遍性を持たせることと似た対応結果にもなった。



JH-III



Methoprene



Pyriproxyfen

Fig. 12-1. Comparison of three-dimensional structures of insect growth regulators, JH-III with synthetic juvenoids, pyriproxyfen and methoprene.

確かに、過去の多くの研究成果からすれば驚異的な現象結果であった。特にmethopreneを長いあいだ対象とした、あるいは文献学的研究者にとっては、にわかには信じがたい結果と受け取られたのも事実である。英国、MAFF Slaw Lab (Ministry of Agriculture, Fisheries and Food。現、Department for Environment, Food and Rural Affairs、Central Science Laboratory (CSL)) のJ. P. Edwards博士もそうした見解を寄せた一人であった (Edwards, 1987 私信)。とりわけ、ジュベノイドの研究がどちらかというとその内分泌学的視点、あるいは作用メカニズムについてが中心であった背景もあったろう。多くはジュベノイドによる生理制御研究、しかも個体、組織レベルの研究 (神村, 2004) に偏っていたせいもあって、種特異、ステージ特異性の疑いも残った。こうした疑問に答えるためにも実施した第 8 章のコナガ、*Plutella xylostella* に対する実験で明らかになった全発育段階におけるpyriproxyfenの殺虫剤としての特性研究がその疑いをぬぐった。つまり、殺虫特性という見方に限定した範囲ではあったが、コナガが示す多彩な生理現象のうちジュベノイドに一般的な、変態過程の阻害、繁殖阻害効果がpyriproxyfenにおいても例外ではないことを確認した。昆虫生理学的関心に傾き、昆虫毒物学、あるいは農薬開発視点 (斎藤、私信) がなければこうした把握も、その後の現場説得もむずかしかった。

以上の第 4、5、6 章で得たpyriproxyfenの一次的作用メカニズム研究の成果が、第 9 章における実践的防除Operationの研究を可能にしてくれた。Pyriproxyfenの変態過程の阻害、あるいは卵の発育阻害という学問的知見を棉作の重要害虫、タバココナジラミ対策の上でどのように適用するかの実践を、大棉作地帯であるスーダンとトルコで実施できる運びとなった。結果は第 9 章で見たとおりであり、その後、抵抗性発現を予め想定し、その回避をもくろんだ総合防除プログラムにpyriproxyfenを組み込む成果ともなった (Horowitz et al., 1994)。

一方、第 4～7 章の成果にもとづくpyriproxyfenの長期にわたるこの繁殖阻害効果と、その応用研究成果には色めきたつものがあつた。特に、色ないしは臭い単独、あるいはそれら同士の組み合わせによって、tsetse flyをおびき寄せ、pyriproxyfen処理面に接触させる方法でも成虫に本化合物を取り込ませ、さらにその子孫に送達させ得るとの研究内容は、それまで断念されていた化学不妊剤の関心をあらためて呼び起こした。しかも、メス、オスいずれを汚染させても不妊 (稔) 化を引き起こすことが出来るこの現象は、単にメスを不妊化することよりも大きなメリットがあると関係者の注目を集めた。ジュベノイドによるこの新しい概念の実用化研究を刺激し、国際原子力機関の関心も呼んだ (Langley et al., 1988, 1992)。昆虫の不妊化法は何も目あたらしい方法ではなく、この分野ではよく知られているとおりで、Kipling (1955) が不妊虫の大量放飼方法を提唱して以来、多くの害虫を対象に実施されている (Wall and Langley, 1991)。例えばわが国でも沖縄久米島や奄美群島におけるコバルト照射不妊虫によるウリミバエの撲滅 (Iwahashi, 1977; 石井ら, 1985; 山中, 1991) は記憶に新しい。

しかし、この手法は施設的にも資金的にも莫大なもので、発展途上国や通常の農業経営における防除手段としては適用が困難である。この問題を解決するためにも、

tsetse fly防除目的に殺虫剤を塗布した各種のトラップや、風を受けて中心支柱により回転する直方体でネット製のフランキングターゲット (Fig. 12-2) が考案され実用化されている (Wall and Langley, 1991 ; Langley, 1998)。取り分け過去の塩素系殺虫剤に替わって、野外においても残効性を発揮する合成ピレロイドが使用される (Wall and Langley, 1991)。確かに、理論的に考えると、メスを不妊化することそのものは殺虫剤を散布して得られる効果と変わらないことになる。しかし、pyriproxyfenに汚染したオスを再び野外に放し、新鮮なメスと交尾して本化合物をHorizontalに送達させることになるこの方法なら、以後の、メスから子孫へのVerticalな送達が期待できる。その効果は殺虫剤で防除するより効率が上がる事になる。有望視されていた化学不妊剤bisazirが猛毒性のため開発断念を余儀なくされたことは本論で述べたとおりである (Langley et al., 1988)。またその変態過程の阻害作用から期待されたmethopreneも、野外における不安定さから、現場に適用できないという結論に直面していた。ちょうどその折も折であったのでpyriproxyfenに対する期待が高まることになった。この比較的新しい手法を、Hargrove and Langley (1990) がアフリカ、ジンバブエ共和国で実践に移した。一部著者も実験に立ち会ったが、その概要は次のようであった。



Fig. 12-2. Pyrethroid impregnated Franking Target (Photographed in Kenya). Note: Dimension; around 1m×2m rectangular form.

Tsetse flyの二種類、*G. pallidepes*と*G. m. morsitans*が対象となった。その試験規模は、サバンナ樹林地内の約4km四方、500mおきに41個の改良トラップを設置する大がかりなものであり、設置した改良トラップにはpyriproxyfenを塗布した付属品 (デバイス) を備える。Tsetse flyがその付属品内を通過する際に、pyriproxyfenを取り込むことによって不妊効果を期待したものである。設置後、経過月毎に試験地内を流れる河岸の泥

地に産み落とされた蛹を採集し、その羽化率を調査した。Pyriproxyfenの影響を半年間、毎月追った。結果、明らかに羽化率が下がっていった。しかしながら、野生動物と共に、一日約20km以上を移動するこれらハエの習性から、半年の間ではこの試験面積内の密度降下には至らなかった。もちろん、試験地外の周囲から圧倒的な成虫密度の侵入が原因であったからである。当然、どのような方法をとっても、国境を越え、あるいは海洋を超えて連続、不連続的に侵入、あるいは飛来する移動性害虫共通の問題であり得る。防除戦略の上で国際的協力がとられない限り成果は上がらない (Jones and Langley, 1998)。いずれにしてもこの実験はpyriproxyfenの不妊効果を野外で適用する上の正当性と、以後の開発の上で重要な裏付けとなった。

以上のtsetse fly に対するpyriproxyfenの不妊化作用の適用は、極めて特徴的なこのハエの繁殖生理が、不妊化による繁殖阻害の手法をより適用しやすくしている。産む子供の数が他の昆虫とは異なって最大約10頭にしかならない (Langley et al., 1988)。このうち僅かでも以後の生育が妨げられれば次世代の繁殖に多大な影響が出る事は容易に理解できる。現在の環境論が農薬の多用、残留などに厳しい注文をつける状況からpyriproxyfenによる不妊化技術は理想的な方法でもある。ひるがえって、トラップや、ターゲットによって、害虫をおびき寄せる概念は特に新しくもなく、古くからある (Vale et al., 1985)。わが国でも稲の害虫対策に誘蛾灯が設置された時代があった。Pyriproxyfenの強力な化学不妊作用を念頭に、改めてこのような昆虫に対する化学的あるいは、物理的誘引刺激に焦点をあてるなら、既に、黄色のトラップ (Lloyd, 1921) や、虫見板、粘着トラップ (Affeldt, et al., 1983; 西野・小野, 1984; Sivapragasam and Saito, 1986)、あるいは、性フェロモンによるマストラッピング方法 (Broumas, 1983; 岩田・田村, 1986) などに観ることができる。しかし、これらの方法では、多くの場合、密度抑制あるいは防除目的が達せられていないのが実状だろう (Langley, 1998)。この改善の道を拓くために、第10章のオンシツコナジラミ、*Trialeurodes vaporariorum* に対するルアー方法を検討した (Oouchi and Langley, 2005)。見てきたとおり黄色を誘引源としてpyriproxyfenを塗布した布を短冊として試験作物と作物の間に設置するだけでオンシツコナジラミの密度が激減することが判った。高温、あるいは密閉に近い温室における散布作業を思えば、散布せずに短冊を設置するだけで防除が可能なこの方法は斬新で革新的でもある。本論では示さなかったが、この結果を受け、さらに、黄色の波長の違いとオンシツコナジラミの誘引性との関係、設置労力軽減に、短冊ではなくロールテープとして引き伸ばして張る方法、あるいは張る位置の水平と垂直および防除効果との関係なども検討した (Oouchi et al., 未発表)。その後、製剤検討など実用化を目指して鋭意研究が進められたその結果、大変ユニークで世界でも類を見ないロールテープ、ラノー®が開発された。温室のコナジラミ用途に、製品、商品化され現在に至っている (井上, 中村, 1999)。この発想は他の害虫に対しても適用可能であるとの考えからその予備検討として第11章の実験に着手した (Oouchi, 2005b)。結果は明らかで、対象にしたコナガ、*P. xylostella* においても、pyriproxyfenを不活性基材に塗布し、コナガ成虫を接触させ交尾させることで、これまでと同様に繁殖阻害効果が起きるこ

とを確認した。またオスに対し、いかに多量のpyriproxyfenを担持させるかなど難しい課題が残る。恐らく鱗粉を除くか、シリカゲルなどで虫体に傷をつけるなどすれば体内への取り込み量が増すと考えられる。工夫の余地が残った。本論では温室などの閉鎖環境での黄色を誘引源とする適用方法に限って論じたが、性フェロモンや産卵刺激物質と組み合わせる、メス、オス成虫いずれでも誘引可能なデバイスが実現できるなら、露地栽培においてもトラップによる適用が可能と考えられる。移動性のtsetse flyに対する不妊化成虫のキャッチ&リリース法によるジンバブエ共和国における大規模試験の有効性がこの考えを強く支持する。

さらに、未検討のままとなったが、コナガにおいて、もし孵化直後の幼虫の死亡現象が処理成虫を経由しても普遍的に起こるなら、pyriproxyfen処理成虫の産卵抑制効果が中庸であるとしても必ずしも完全な産卵抑制効果を期待しなくてもよいことになる。Hargrove (1988) によれば、tsetse flyにおいては産子数が極端に少ないという特異な繁殖生理を示すから、防除手段を考える場合その自然死亡率に対し、わずか2%の密度抑圧効果を上乘せ、維持できるなら全体にtsetse flyの密度を降下させ、撲滅が可能になるという。コナガの場合についても、幼虫の死亡も加わってpyriproxyfenによる繁殖阻害効果として密度抑制圧がコナガの自然死亡率にさらに上乘せされることになる。したがって、本化合物の不妊化作用により、コナガの密度を総体的に下げることが可能になる。標的害虫に対する殺虫効果だけが防除成功の制限要素ではなく、孵化幼虫の環境への不適合成、天候、天敵の干渉などによる密度抑制効果を考慮するなら当然の事として理解できる。

今日、低気圧の発生と関連するコナガの飛来もほぼ定説化してきている（例えば、Honda et al., 1992参照）。あるいは積算温度と発生の関係など発生予察技術は確立している。今やIT技術をもって発生予察が可能な時代である。こうした既存の知見と技術との一体化で、コナガ不妊化デバイスあるいはルアーの設置タイミングを決め、不妊化法による効率的な防除方法も確立することも、古典的かつ新しい問題ではあるが、むずかしい事ではないと思える。

一方、温室の閉鎖環境における天敵導入など総合防除あるいはIPM (Integrated Pest Management) においては、本化合物の捕食性昆虫あるいは寄生蜂などの天敵昆虫に対する影響にも懸念が残る。ジュベノイドの作用特性から観ても宿命的な問題であり、検討すべき当然の課題ではある。本論の研究課題として検討しなかったが、この実用化研究と平行して、総合防除の観点から天敵昆虫に対する影響などについても種々検討が行われた。本研究の主題からは離れるのでpyriproxyfenの天敵に対する影響は深く論じていないが、例えば、Nagai (1990) の研究がある。ミナミキイロアザミウマ、*Thrips palmi*とその天敵である捕食性のカメムシ、*Orius* sp.の関係においてpyriproxyfenが無影響であり、むしろ他の殺虫剤とは異なりpyriproxyfenとの同時使用が天敵の働きを妨げることなくミナミキイロアザミウマ防除において、むしろ好成績を示したと報告している。さらにNagaiの実験ではpyriproxyfenに汚染されたミナミキイロアザミウマを餌として与えたとき、捕食者であるカメムシに何ら影響しない事を証明し、

pyriproxyfenが実用の上で天敵に対して影響が少ない事実を裏付けてくれた。

海外では、イスラエルにおける天敵コバチ、*Aphytis holoxanthus* (Peleg, 1988) や、イタリアやアメリカ、カナダ (McMullen, 1990) における捕食性カメムシ、*Anthocoris* spその他でもpyriproxyfenとの共存が可能であることが確認されている。こうした事実は、処理量と天敵に取り込まれる量との関係の問題、つまり、散布量と、被捕食者から取り込んだ食う側の捕食者におけるpyriproxyfenの取り込み量、および分解排泄の時間とのその量との関係の問題と捉えることができる。本論、第6章及び第7章で明らかになったtsetse flyやtriatomine bugの各組織、器官における放射性、<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの取り込みとその分布結果からもpyriproxyfenが天敵に取り込まれる量的な問題であると理解できる。そう理解するならNagai (1990) の*Orius* spにおける結果も納得できよう。また、多くの場合、天敵の捕食、あるいは寄生密度の確立までには、その前に十分な被捕食者の密度の確立が必須条件となる。既に第10章で論じたが、このことをとってみても、初期防除、あるいは予防的防除目的に本化合物を散布するか、あるいはトラップまたはデバイスの適用による天敵昆虫などに対する本化合物の実質的な影響はないと判断できる。今日、ラノーが現場で受け入れられている事が何よりの証査である。

また本成果は見方を変えれば、不妊化化合物のみならず、光視覚刺激あるいはSemi-chemicals (交信化学物質) とを組み合わせることにより昆虫生理活性体を担持した面に害虫を呼び寄せて接触させ、生理活性体を対象害虫に直接、間接に送達する手法ととらえる事ができる。そうであれば、既存の知見と組み合わせた新しい展開が可能となる。例えば、増田ら (1990) は*Spodoptera litura*を用いて、交尾前のオスを核多角体病ウイルスで汚染し、経卵伝染させて孵化幼虫を死亡させることに成功している。しかもウイルス汚染源フェロモンに誘引してオスを自己汚染させた場合も経卵伝染が有効であると証明した。こうした考え方は既にKniplingによって (Knipling, 1960) 示唆されてはいたが、農業害虫では増田ら (1990) がはじめて実証した。ウイルスが安全性の問題から実用がむずかしいとしても、ほかの天敵微生物の適用も可能と思われる。既に天敵カビ、*Metarhizium anisopliae*の孢子についても常識が破られ、油製剤の開発に成功している (Prior and Greathead, 1989; Lomer et al., 2001)。その実践をめざし、幾つかの国際機関の支援を得たLUBILOSA (Lutte Biologique Contre les Locustes et Sauteriaux) プログラムが立ち上がっている。すでに開発研究がほぼ実用化段階に移行し、航空散布法などによるサバクトビバッタ、*S. gregaria*やほかのバッタ類の対策を実施できる域に達している (Bateman and Alves, 2000)。

以上、これからも農薬による環境負荷をできるだけ避ける技術の確立要請がますます強まると予想される。時代的要請でもある。農薬開発にたずさわる著者ら関係者にとって、そうした要請に応える事は責務であり、急務でもある。本研究成果が契機の一つとなってさらに前段で論じ提示したような技術がさらに発展、進化することを確信する。過去の知見や技術を見直し、新しい見方で組み立て直すことも大いに有効である。

## 摘要

昆虫の成長制御剤とも称されるジュベノイド、pyriproxyfenを農業害虫における防除薬剤として主に海外における開発研究を行い実用化した。その応用的意味は大きく次の二点にある。1) 昆虫生理学あるいは内分泌学の学問的成果を基礎に、これまで開発が困難とされてきた農業分野の害虫防除剤としてジュベノイドを開発し、世に問う事ができた。2) さらに、本化合物の化学的不妊効果の特徴づけ、これに着目することで、散布しなくて済む視覚誘引型のルーア（ラノー® テープ）の開発に結びついた。以下に本成果の概要をかい摘んで述べる。

### 1. 数種の農業害虫に対するpyriproxyfenの慣行散布方法による効果

Pyriproxyfenの発見直後から害虫防除手段として開発検討されたが、各種害虫に対する初期の評価結果では防除効果が芳しくなく、開発中断の危機にあった。見取り試験的ではあったがその代表的な、内外における数種の害虫に対する評価結果を例示した。評価結果を解析し、試験方法が従来のランダムスクリーニングの延長にあり、さらに変態過程の阻害に着目したBiorational（生物合目的）アプローチが必要であるとの観方を提示した。以後の海外における開発戦略の基本とした。

### 2. 棉害虫、タバココナジラミ、*Bemisia tabaci*に対するpyriproxyfenの殺卵効果

海外における各種害虫に対する評価成績のうち、本害虫に対する殺卵効果に着目した。Pyriproxyfenの基本特性である昆虫の繁殖生理における胚発生阻害効果に基づく効果であると着眼し、本化合物の適用には害虫発生以前の予防的散布が鍵であるとの視点に立ち開発目標を定めた。

### 3. 人獣共通害虫、ツェツェバエ、*Glossina morsitans morsitans*に対するpyriproxyfenの不妊効果

農業生産における適用範囲を広げる目的で人獣（畜）共通害虫である本害虫にも着目した。特に、ほぼ10日ごとに一頭ずつ延べ10頭を産み、しかも幼虫胎生という変わった本害虫の繁殖生理に着目した。Pyriproxyfenが示す変態過程に対する阻害特性と本害虫の繁殖生理との関係を調査した結果、本化合物による影響は著しく大きいと判った。繁殖阻害効果が絶大であり、その効果において本化合物が従来からあるジュベノイドとは大きく異なることが判明した。つまり、雌雄、いずれに本化合物を処理しても、新鮮な相手と交尾させて生じる産子の発育が完全に阻害された。またその不妊（稔）による繁殖阻害効果と処理濃度との関係を明らかにした。またこの結果により、過去開発が断念された化学不妊剤の代替となり得るとの示唆を得た。

### 4. 人獣共通害虫、ツェツェバエ、*G. m. morsitans* が取り込む<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの量と不妊効果

放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfen を用い、<sup>14</sup>Cを追跡することによって、繁殖阻害効果とpyriproxyfenの量的関係を明らかにした。次のような特徴が判明した。つまり、注射法あるいは局所的に虫体表面に施用した場合では効果の出方に質的には差がなかった。表面局所施用では高薬量が必要であった。一方、注射法では、わずか0.02μgのpyriproxyfen量が産子虫すべての発育を阻害するのに十分であった。また処理溶媒の違いによって、体表面に残存するpyriproxyfenの量が異なった。体内における放射性<sup>14</sup>Cの挙動をしらべた結果、体内に取り込まれた大半が脂肪体内であり、溶媒によりその速度と取り込み量が異なった。しかし、子宮内へは、溶媒の違いが反映されず処理放射能全体の2-3%とほぼ一定の取り込み量であった。以上に加え、呼気中への<sup>14</sup>Cは認められず、時間の経過にともなって排泄物中の放射能が高くなっていった。

#### 5. 吸血害虫、オオサシガメ、*Rhodnius prolixus*における<sup>14</sup>C-pyriproxyfenの挙動と繁殖阻害

従来から疑問のままだった産下卵に対するジュベノイド化合物の孵化阻害効果と卵内における化合物の存在の関係について明らかにした。つまり、本化合物の<sup>14</sup>C-pyriproxyfenをメス成虫に処理した場合、産下される卵にpyriproxyfenが未分解のまま親化合物として取り込まれると示唆された。また取り込まれた量と孵化率の関係が明らかになった。卵内の<sup>14</sup>Cの放射活性が高ければ孵化率が下がる。逆に放射エネルギーが下がるにしたがって卵の孵化率も回復した。また不妊化装置への接触を想定した脚部の接触試験から、卵の孵化阻害が発現するには、少なくとも産卵2週間ほど前に成虫が処理面と接触し、本化合物を取り込む必要があると判った。

#### 6. 吸血害虫、オオサシガメ、*R. prolixus*とツエツエバエ、*G. m. morsitans*の体内および害虫誘引の標的装置上におけるpyriproxyfenの残留性

前記までの研究結果において不明だった両害虫の虫体に取り込まれた<sup>14</sup>C-pyriproxyfen由来の放射能を、高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) 分析にて調べた。その結果、放射性<sup>14</sup>Cがpyriproxyfenの未分解物に由来することを証明した。つまり、虫体に取り込まれた未分解化合物そのものが繁殖阻害をもたらすと推察に根拠を得た。本章では省略したが、この一連の研究において、実際場面の自然条件下で不妊化モデル装置に施用したpyriproxyfenを曝し、放射性<sup>14</sup>C-pyriproxyfenのHPLC分析による<sup>14</sup>C放射性炭素の追跡実験を行いその耐久性について明らかにしてもいる (Langley et al., 1993)。

#### 7. 鱗翅目害虫、コナガ、*Plutella xylostella*の発育段階に対するpyriproxyfenの影響

本化合物の研究が昆虫内分泌学的関心により、検討対象が特定の発育段階に限定される傾向にあった。そのため一種類の害虫における全発育過程でどのようにpyriproxyfenが影響するのかその全貌が見えなかった。また前記までの成果が、特殊な害虫を用いた為であるとする疑いも残った。その確認には、鱗翅目害虫であり防除上も抵抗

性が問題となっているコナガを対象害虫として選んだ。改めてpyriproxyfenが卵から成虫まで、その生育にどのように影響するか殺虫特性の観点から網羅的に調べてみた。結果、pyriproxyfenを用いても、従来から知られている種々のジュベノイドに観られる胚発生阻害および変態過程の阻害などがコナガでも例外ではないと確認した。不妊化作用が実用防除の上で適用の可能性が高いと判った。Pyriproxyfenの繁殖阻害作用の全体像から、開発の上で発生初期の散布と不妊化ルアー防除法が実用的に適用の可能性があると考察した。

#### 8. 棉作におけるタバココナジラミ、*B. tabaci*の予防的防除法の検討

以上の成果に基づいて、pyriproxfeufenの不妊化作用を農業害虫防除剤として適用するには、予防的に散布すればよいという開発戦略をとった。その理論的基礎を検証した。その為に世界的な大棉作地帯、スーダンとトルコの経営栽培の棉畑において大規模面積の1ヘクタールに散布した。この広さにより隣接地域から成虫の飛び込む影響を回避することが出来た。散布処理後のタバココナジラミの各ステージについて密度消長を調べた結果、孵化幼虫が激減し予防的散布の正しさが証明された。結果、タバココナジラミ防除Operationにおけるpyriproxyfenの用法、用量の基礎を確立することが出来た。

#### 9. Pyriproxyfenによるオンシツコナジラミ、*T. vaporariorum*の繁殖阻害効果を目指した点処理法（ルアー）の検討

前記の理論的背景もとに、このルアー法の有効性を明らかにした。黄色の布製短冊にpyriproxyfenを含浸させ、インゲンの株間に設置するだけで、本化合物を散布しなくても劇的にオンシツコナジラミの密度を下げる事が出来た。黄色い色に引かれたオンシツコナジラミの成虫が含浸面からpyriproxyfenを取り込んだため繁殖阻害効果が発揮されたと容易に推察できた。環境論による散布型の開発リスクに、点処理方法を検討し保険をかけようとした事が効を奏した。本成果が、後の井上・中村（1999）のラノー®テープの開発、商品化に結びついた。

#### 10. Pyriproxyfenによるコナガ、*P. xylostella*の繁殖阻害効果を目指した点処理法（ルアー）の予備検討

前記7の発想は他の害虫に対しても適用可能であるとの考えからその予備検討として塗布表面およびpyriproxyfenを調整する溶媒の種類を変えて製剤検討の予備的実験を行った。コナガ成虫の羽化条件をさまざまに変えて、羽化時間経過にともなうpyriproxyfenの処理と産卵に対する影響をも観た。結果は明らかで、対象にしたコナガ、*P. xylostella*においても、pyriproxyfenを不活性基材に塗布し、コナガ成虫を接触させ交尾させることで、これまでと同様に繁殖阻害が生じることを確認した。製剤を模した溶媒系においては、植物油、ピーナッツ、胡麻、菜種由来の油、各々の間でpyriproxyfenの影響の出方が少し違った。いずれにしろ、オスに対しては、いかに多量のpyriprox-

yfenを担持させるかなど難しい課題が残った。恐らく鱗粉を除くか、シリカゲルなどで虫体に傷をつけるなどすれば体内への取り込み量が増すと考えられる。工夫の余地が残った。本論では温室などの閉鎖環境での黄色を誘引源とする適用方法に限って論じたが、性フェロモンや産卵刺激物質とあるいは色とを組み合わせた、メス、オス成虫いずれでも誘引可能なデバイスの考案が示唆される。そうしたコナガに対するルアー（トラップ）法の露地栽培における適用の可能性が高いと判断される。移動性のtsetse flyに対する不妊化成虫のキャッチ&リリース法によるジンバブエ共和国における大規模試験の有効性からも、倣ってルアー法を検討する価値がある。

## 謝辞

本開発研究を推進するにあたり、終始変わらぬ関心、そして助言と支援をいただいた名古屋大学名誉教授 斎藤哲夫博士に深甚の感謝を申し上げる。また、同博士には元名古屋大学大学副学長 山下興亜博士と共に本成果の取りまとめを早い時期に、再三のお誘いをいただいた。しかしながら、諸般の事情により意に沿えなかった。ここに謹んで本成果の報告を申し上げる。このたび改めて、名古屋大学名誉教授 宮田正博士および千葉大学園芸学部生態制御化学研究室教授 本山直樹博士には本論文をまとめる機会を与えていただいた。終始熱心にご批判とご指導、激励をいただき完遂することが出来た。更に、同生命農学研究科生物機能分化学講座環境昆虫学分野教授 田中利治博士、同講座資源昆虫学分野教授 柳沼利信博士には本論文の査読をいただくと共に有益な助言を頂いた。併せて衷心よりお礼申し上げる。また、イギリスUniv. of Bristol、Tseste Research Laboratory (TRL)、Peter A. Langley博士（後、Univ. of Wales）には本開発研究の着想を理解され、惜しまぬ研究協力をいただいた。同博士の協力がなければ本開発研究は陽の目を見ることはなかった。記して、満腔よりの敬意と感謝の意を表しても余りある。併せて、以下に記す海外における先達にも心よりお礼申し上げる。同様に本開発研究の趣旨を理解され論議、また着想の実証に格段の研究協力をいただいた。カナダQueen's Univ.、Gerald Wyatt博士、同Agriculture Canada、Research Station、R. D. McMullen博士、アメリカ、USDA-ARS、Yakima、James L. Krysan博士、同Washington State Univ. Tree Fruit Research & Extension Center、Everett Burts博士、フランスINRA、Bernard Mauchamp博士、イギリスMAFF、Slaw Lab、John P. Edwards 博士（現Central Science Laboratory）およびオランダAgricultural Univ. Wageningen、de Kort 博士。またカナダForestry Canada, Forest Pest Management Institute, Aurther J. Retnakaran博士には本論で引用した自著論文のゲラ刷り写しを直接に頂戴した。その解りやすい記載から本開発研究の着想を得た。実証研究にも協力をいただいた。記して博士の好意に深謝する。

住友化学株式会社農業化学品研究所 波多腰 信博士には開発当初の支援に引き続き主論文のまとめには厳しい批判と論議をいただいた。本化合物発見に対する敬意を表するとともに感謝申し上げる。他には、同僚として本開発推進の無理に対し、常に快く対応し、積極的に業務を支えてくれた石塚 仁、丸山 茂、矢野俊彦博士の三君にも感謝の意を表したい。同じく本成果の実現には世界各地における実行部隊として配下に指示、協力いただいた元住友化学株式会社海外アグロ事業部普及部部長 川崎秀二氏の理解も本開発研究推進の力になった。記してお礼申し上げる。文献の探索、複写には英国Univ. of Bristol, School of Biological Science, Richard Wall 博士、住友化学株式会社農業化学品研究所企画情報室 堀場正雄博士、同 高山千代蔵博士（尚、同博士にはpyriproxyfenについて三次元構造のCG写真を頂戴し引用の許可を戴いた）、同愛媛工場基礎化学品研究所技術室 桐野孝子女史、住化テクノサービス株式会社情報部 實原美智子女史にもお世話になった。合わせてお礼申し上げる。住友化学株式会

社農業化学品研究所所長、理事 梅村武明博士には本成果のまとめと発表について快諾をいただき、加えて主論文の公表には特段の支援と配慮をいただいた。心より感謝申し上げます。さらに、一々の名前は記さないが、今日までアカデミズムの薫陶を頂戴し、今もいただいている諸先生、諸先輩、諸学兄にも本成果を報告とし、改めてお礼を申し上げます。

最後に、寛容と余裕のもと本研究の推進を、またここに本成果の公表を許された住友化学株式会社に謝意を表したい。と共に、この道に進むことを許しながら本成果を知ることなく他界した両親に深く感謝する。1983年、駐在国ギリシャより帰任したその秋、発明なったばかりの本化合物に巡りあう偶然の機会を得た。以来、人生を画した23年目の今日までを振り返れば万感の思いにある。定年を間近に控えこの期に及んでの本成果のまとめは、人生の集大成、本化合物開発の歴史の記録でもあり、決意した。特に記録にとどめ、くじけがちな日常を支え陰ながら応援をしてくれた家族に改めて感謝する。

## 引用文献

- Affeldt, H. A., R. W. Smith and F. F. Webb (1983) Response of the greenhouse whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) and the vegetable leafminer (Diptera: Agromyzidae) to photospectra. *J. Econ. Entomol.* 76: 1405-1409.
- Ashcer, K.R.S. and M. Eliyahu (1988) The ovicidal properties of the juvenile hormone mimic Sumitomo S-31183 (SK-591) to Insects. *Phytoparasitica* 16:15-21.
- Bateman, R. P. and R. T. Alves (2000) Delivery systems for mycoinsecticides using oil-based formulations. *Pesticide application : Aspects of applied biology.* 57: 163-170.
- Bowers, W. S. (1969) Juvenile hormone: Activity of aromatic terpenoid esters. *Science* 164: 323.
- Broumas, T., C. M. Liaropoulos, P. Katsoyannos, C. Yamvrias, G. Haniotakis and F. Strong (1983) Control of the olive fruit fly in a pest management trial in olive culture. In: *Fruit Flies of Economic Importance*. R. Cavarollo (Ed) Proceedings of the CEC/IOBC International Symposium, Athens, Greece, 16-19 November 1982. pp.584-592.
- Bursell, E. (1959) Determination of the age of tsetse puparia by dissection. In: *Proceedings of the Royal Entomological Society, London(A)*, 34: 23-24.
- Casida, J. E. and G. B. Quistad (2004) Why insecticides are more toxic to insects than people: The unique toxicology of insects. *J. Pestic. Sci.* 29: 81-86.
- Dorn, S., M. L. Frischknecht, V. Martinez, R. Zurflüh and U. Fischer (1981) A novel non-neurotoxic insecticide with a broad activity spectrum. *Z. Pflanzenkh. Pflanzenschutz* 88: 269-275.
- Gomez-Nunez, J. C. (1964) Mass Rearing of *Rhodnius prolixus*. In: *Symposium on Culture Procedures for Arthropod Vectors and Their Biological Control Agents*. Bull. Wld Hlth Org. 31: 365-567.
- Gupta, P. and A. J. Thorsteinson (1960) Food plant relationships of the diamondback moth (*Plutella maculipennis* (Curt.) II. Sensory regulation of oviposition of the adult. *Entomol. Exp. & Appl.* 3: 305-314.
- Hargrove, J. W. (1988) Tsetse: the limits to population growth. *Med. and Vet. Entomol.* 2: 203-217.
- Hargrove, J. W. and P. A. Langley (1990) Sterilizing tsetse, (Diptera: Glossinidae) in the field: a successful trial. *Bull. of Entomol. Res.* 80: 397-403.
- 波多腰 信・中山 勇 (1987) 幼若ホルモン様物質 —最近の研究— *植物防疫* 41:339-347.
- Hatakoshi, M., I. Nakayama and L. M. Riddiford (1987) Penetration and stability of juvenile hormone analogues in *Manduca sexta* L. (Lepidoptera: Sphingidae). *Appl. Entomol. Zool.* 22 : 641-644.

- 波多腰 信 (1990) 新規合成幼若ホルモン類縁体の活性と作用特性に関する研究. 学位論文 (筑波大学). 95 pp.
- Hatakoshi, M. (1992) An inhibitory mechanism oviposition in the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* by juvenile hormone analogue pyriproxyfen. J. Insect Physiol. 38: 793-801.
- 波多腰 信・岸田 博・川田 均・大内 晴・磯部直彦・萩野 哲 (1997) 昆虫成長制御剤ピリプロキシフェンの開発. 住友化学 I: 4-20.
- Higbee, B. R., D. R. Horton and J. L. Krysan (1995) Reduction of egg hatch in Pear psylla (Homoptera: Psyllidae) after contact by adults with insect growth regulators. J. Econ. Entomol. 88:1420-1424
- Hinton, H.E. (1946) Concealed phases in the metamorphosis of insects. Nature 157: 552-553.
- Hirano, M., M. Hatakoshi, H. Kawada and Y. Takimoto (1998) Pyriproxyfen and other juvenile hormone analogues. In Reviews in Toxicology 2 (E. Hodgson and R.R.Michael eds.). ISO-Press, Amsterdam, pp.357-394.
- 広瀬忠爾 (1977) 殺虫剤の現状と問題点. 日本農薬学会誌 2: 187-200.
- Honda, K., Y. Miyahara and K. Kegasawa (1992) Seasonal abundance and the possibility of spring immigration of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera:Yponomeutidae), in Morioka city, northern Japan. Appl. Entomol. Zool. 27: 517-525.
- Horowitz, A. R., G. Forer and I. Ishaaya (1994) Managing resistance in *Bemisia tabaci* in Israel with emphasis on cotton. Pestic. Sci. 42: 113-122.
- 井上雅夫・中村知史 (1999) 新規農薬製剤ラノー® テープの開発. 住友化学 I:16-24.
- Ishaaya, I. and A. R. Horowitz (1992) Novel phenoxy juvenile hormone analog (pyriproxyfen) suppresses embryogenesis and adult emergence of sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae). J. Econ. Entomol. 85: 2113-2117.
- 石井象二郎・桐谷圭治・古茶武夫 (1985) ミバエの根絶 —理論と実際—. 農林水産航空協会, 東京. 391pp.
- 板谷 信重 (1987) 昆虫幼若ホルモン化活性化化合物の殺虫剤としての発展、有機合成化学 45:36-47.
- Iwahashi, O. (1977) Eradication of the melon fly, *Dacus cucurbitae*, from Kume Is., Okinawa with the sterile insect release method. Res. Popul. Ecol. 19: 87-98.
- 岩田直記・田村利行 (1986) コナガの誘引に及ぼす粘着式性フェロモントラップの色彩および構造の影響. 関東病虫研報 33: 198.
- Jenkin, P. and Hinton, H. E. (1966) Apolysis in arthropod moulting cycles. Nature 211, 871.
- Jones, O and P. A. Langley (1998) Target technology —bring the insect to the insecticide not the insecticide to the insect. In: Pest & Disease— The 1998 Brighton Con-

- ference. pp. 433-440.
- Jordan, M. A. (1985) Tsetse fly eradication plans for southern Africa. *Parasitology Today* 1: 1-2.
- Kabayo, J. P. and P. A. Langley (1981) Separation of fat body and uterine gland tissues of *G. morsitans*. *Comp. Biochem. and Physiol.* 69A: 325-328.
- 神村 学 (2004) 幼若ホルモンの分子的作用機構—特に脱皮、変態の制御について—。応動昆 48: 1-12.
- 亀井正治 (1983) 新しいタイプの殺虫剤メトプレン—メトプレンの徐放製剤アルトシッド10Fの数種衛生害虫に対する防除効果, 月刊環境衛生 30: 22-31.
- 川田 均 (1990) 昆虫成長制御剤ピリプロキシフェンによる衛生害虫防除に関する研究. 学位論文 (京都大学). 181 pp.
- Kishida, H., M. Hatakoshi, N. Itaya and I. Nakayama (1984) New insect juvenile hormone mimics: Thiocarbamates. *Agric. Biol. Chem.* 48: 2889-2891.
- Koshihara, T., H. Yamada, Y. Tamaki and T. Ando (1978) Field attractiveness of the synthetic sex pheromone of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Appl. Entomol. Zool.* 13: 138-141.
- Langley P. A. (1977) Physiology of tse tse fly (*Glossina* spp.) (Diptera: Glossinidae). A review: *Bull. Entomol. Res.* 67: 523-574.
- Langley, P. A. and R. W. Pimley (1978) Rearing triatomine bugs in the absence of a live host and some effects of diet on reproduction in *Rhodnius prolixus* Stål (Hemiptera: Reduviidae). *Bull. Entomol. Res.* 68: 243-250.
- Langley, P. A. and R. W. Pimley (1979) Storage and mobilization of nutrient for uterine milk synthesis by *Glossina morsitans*. *J. Insect Physiol.* 25: 193-197.
- Langley, P. A. and D. Weidhaas (1986) Trapping as a means of controlling tsetse, *Glossina* spp. (Diptera: Glossinidae); the relative merits of killing and of sterilization. *Bull. Entomol. Res.* 76: 89-95.
- Langley, P. A. and R. W. Pimley (1986) A role for juvenile hormone and the effects of so-called anti-juvenile hormones in *Glossina morsitans morsitans*. *J. Insect Physiol.* 32: 727-734.
- Langley, P. A., T. Felton and H. Oouchi (1988) Juvenile hormone mimics as effective sterilants for the tsetse fly *Glossina morsitans morsitans*. *Med. and Vet. Entomol.* 2: 29-35.
- Langley, P. A. (1990) Use of juvenile hormone mimics in the sterilization of tsetse flies. In: 'Seminar of sterile insect technique for tsetse control and eradication'. Proceeding of the final research co-ordination meeting organized by the joint FAO/IAEA division of nuclear technique in food and agriculture and held in Nigeria. IAEA Publ., IAEA/RC/319.3/14 in 1990, Vienna, pp.207-211.
- Langley, P. A., T. Felton, K. Stafford and H. Oouchi (1990a) Formulation of pyriprox-

- yfen, a juvenile hormone mimic, for tsetse control. *Med. and Vet. Entomol.* 4:127-133.
- Langley, P. A., V. Howl and H. Oouchi (1990b) Regulation of reproduction in *Rhodnius prolixus* by the juvenile hormone mimic pyriproxyfen. *Entomol. Exp. Appl.* 57: 271-279
- Langley, P. A., B. Mauchamp, C. Royer and H. Oouchi (1992) The durability of pyriproxyfen, juvenile hormone mimic, for insect control. Proceedings of In 'Seminar for tsetse control, diagnosis and chemotherapy using nuclear techniques'. Jointly organized by the IAEA and FAO. IAEA Publ., IAEA-TECHDOC-634 in 1992, Vienna, pp.143-150.
- Langley, P. A., J. W. Hargrove, B. Mauchamp, C. Royer and H. Oouchi (1993) Prospects for using pyriproxyfen-treated targets for tsetse control. *Entomol. Exp. Appl.* 66: 153-159.
- Langley, P. A. (1998) Target technologies for insect pest control. *Pesticide Outlook* 9: 6-12.
- Lloyd, L. (1921) Note on colour tropism of *Asterochiton* (Aleurodes) *vaporariorum* Westwood. *Bull. Entomol. Res.* 12: 355-359.
- Lomer, C. J., R.P. Bateman, D.L. Johnson, J. Langwald, and M. Thomas (2001) Biological Control of Locusts and Grasshoppers. *Ann. Rev. Entomol.* 46: 667-702.
- Masner, P., K. Slama and V. Landa (1968) Sexually spread insect sterility induced by the analogues of juvenile hormone. *Nature* 219: 395-396.
- 増田俊雄、岩花秀典、阿久津喜作 (1990) ハスモンヨトウにおける核多角体病ウイルスの経卵伝達に関する研究：I. オス成虫ウイルス汚染処理による次世代幼虫のウイルス感染. *応動昆* 34: 1-6.
- McMullen, D. (1990) *Advances in Invertebrate Reproduction* 5, Elsevier Science publishers, B.V., pp.399-402.
- Melamed-Madjar, V., M. Chen, and D. Rosilio (1984) Screening insecticides against the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci*) on cotton, using a leaf cage laboratory method. *Phytoparasitica* 12: 119-125
- Motoki, T. and C. Takayama (1987) Comparison of three-dimensional structures of compounds with juvenile hormone activity: A new pyridyl ether and terpenoid compounds, in three-dimensional structures and drug action. Proceedings of symposium on three-dimensional structure and drug action, Tokyo, Japan, September 1986. University of Tokyo Press, Tokyo. : pp.258-259.
- Müller, P (1948) Nobel Lecture, Physiology or Medicine 1942—1962. Elsevier publishing, Amsterdam. pp.227-237.
- Müller, P (1948) Prix Nobel, ISSN: 0546-8175 : Publisher, Almqvist & Wiksell International Stockholm. pp.122-132.

- Mulye, H. and R. Gordon (1989) Effects of selected juvenile hormone analogs on the sixth-instar larvae of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* Clemens (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol.* 121: 1111-1116.
- Nagai, K. (1990) Effects of a juvenile hormone mimic material, 4-Phenoxyphenyl (*RS*)-2-(2-pyridyloxy) propyl ether, on *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) and its predator *Orius* sp. (Hemiptera: Anthocoridae). *Appl. Entomol. Zool.* 25:199-204.
- 西野敏勝・小野公夫 (1984) ミナミキイロアザミウマに対する青色粘着リボン (青竜) の防除効果. 九農研 46: 124
- 野村昌弘・宮田 正 (2000) 昆虫成長制御剤pyriproxyfenのハスモンヨトウの繁殖に及ぼす影響. 応動昆 44: 81-88
- Oliveira Filho, A.M., R. Pinchin, M. J. Figueiredo, C. A. Muller, J. R. S. Gocalves and B. Gilbert (1981) Structure-activity relationships of 110 candidate juvenile hormone analogues for *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835), a vector of Chagas' disease (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev. Brasil. Biol.* 41: 197-204.
- Oliveira Filho, A.M. (1988) Development of insecticide formulations and determination of dosage and application schedules to fit specific situations. In: 'Meeting on research needs in the field of Chagas' disease vector control' sponsored by UNDP/World Bank/ WHO special programme for research and training in tropical diseases, Panama City, Sept./Oct. 1987. *Rev. Arg. Microbiol.* 20 (Suppl.): 39-48.
- Oouchi, H. (1987) A guide for field evaluation, — Crop protection use — Juvenile hormone mimic, S-71639, Plant Protection Division-International, Sumitomo Chemical Co. Ltd., Technical report. 60 pp.
- Oouchi, H. (1988) S-71639 (Pyriproxyfen), DECEMBER 1988, Plant Protection Division-International, Sumitomo Chemical Co., Ltd., Technical report. 32 pp.
- Oouchi, H. (2005a) Insecticidal properties of a juvenoid, pyriproxyfen on all life stages of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Appl. Entomol. Zool.* 50: 145-149.
- Oouchi, H. and P. A. Langley (2005) Control of greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* using visually attractive targets impregnated with pyriproxyfen. *J. Pestic. Sci.* 30: 50-52.
- Oouchi, H. (2005b) Effects of pyriproxyfen-treated targets on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* 16: 77-84.
- Peleg, B. A. (1988) Effect of a new phenoxy juvenile hormone analog on california red scale (Homoptera:Diaspididae), florida wax scale, (Homoptera:Coccidae) and the ectoparasite *Aphytis holoxanthus* DeBache (Hymenoptera: Aphelenidae). *J. Econ. Entomol.* 81: 88-92.

- Prior, C. and D.J. Greathead (1989) Biological control of locusts: the potential for the exploitation of pathogens. *FAO Plant Protection Bull.* 37 : 37-48.
- Retnakaran, A., J. Grannet and T. Ennis (1985) Insect growth regulators. In: *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Vol. 12 (Kerukut GA, Gilbert LI eds.) Pergamon Press, New York. pp.529-601.
- Roller, H, K. H. Dahm, C. C. Sweely and B. M. Trost (1967) The structure of juvenile hormone. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 6: 179.
- Sivapragasam, A. and T. Saito (1986) A yellow sticky trap for the diamondback moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Appl. Entomol. Zool.* 21: 328-333.
- Traboulsi, R. (1994) "*Bemisia tabaci*" : a reports on its pest status with particular reference to the Near East", *FAO Plant Prot. Bull.* 42: 33-58.
- 植松秀雄・野見山淳・橋爪政彦 (1998) コナガにおける産卵能力の決定要因. *応動昆* 42 : 201-208.
- 植松秀雄・好川勝也 (2002) コナガの交尾・産卵時刻の季節的变化. *応動昆* 46 : 81-87.
- 梅津憲治 (2003) 農薬と食：安全と安心—農薬の安全性を科学として考える—。ソフトサイエンス社, 東京. 186pp.
- Vale, G. A., Bursell, E and J. W. Hargrove (1985) Catching-out the tsetse fly. *Parasitology Today* 1: 106-110.
- Vale, G. A. Hargrove, J. W., Cockbill, J. K. and R. J. Phelps (1986) Field trials of baits to control populations of *Glossina morsitans morsitans* Westwood and *G. pallidipes* Austen (Diptera: Glossinidae). *Bull. Entomol. Res.* 76: 179-193.
- Vale, G. A. Lovemore, D. F., Flint, S. and J. K. Cockbill (1988) Odour-baited targets to control tsetse flies, *Glossina* spp. (Diptera: Glossinidae), in Zimbabwe. *Bull. Entomol. Res.* 78: 31-49.
- 山中 正 (1991) 奄美群島—ウリミバエ根絶記念誌. 大島支庁ウリミバエ防除対策室編 鹿児島県 農政部, 鹿児島県. 123 pp.
- Yamamoto, H. and K. Kasamatsu (1990) Effect of a juvenile hormone mimic, S-71639 on the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, and the green peach aphid, *Myzus persicae*, in a greenhouse, *Advances in Invertebrate Reproduction* 5, Elsevier Publishers B. V., pp.393-398.
- Yokoyama, V. Y. and G. T. Miller (1991) Potential of pyriproxyfen as a quarantine treatment for codling moth and oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 84: 942-947.
- Wall, R. and P. Langley (1991) From behaviour to control: The development of trap and target techniques for tsetse fly population management. In: *Agricultural Zoology Reviews* 4, Intercept Ltd., Hampshire, pp.137-159.

- Williams, C. M. (1956) The juvenile hormone of insects. *Nature* 178: 212.
- Williams, C. M. (1967) Third-generation pesticides. *Sci. Am.* 217: 13-17.