報 文

幼若ホルモン類似体 methoprene のハエに対する効果

武衛 和雄, 仁木 知義*, 豊田 正人*

大阪府立公衆衛生研究所医動物室

*近畿大学農学部害虫学研究室

(昭和54年4月11日受理)

Effect of a Juvenile Hormone Mimic, Methoprene, against Synanthropic Flies

Kazuo BUÉI, Tomoyoshi NIKI* and Masato TOYODA*

Laboratory of Medical Zoology, Osaka Prefectural Institute of Public
Health, Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537, Japan

*Entomological Laboratory, Faculty of Agriculture, Kinki University,
Kowakae, Higashi-Osaka 577, Japan

Inhibitory effects of methoprene on embryonic, larval and adult developments of eight species of synanthropic flies were determined by laboratory tests. 1) Specific amounts of methoprene were applied topically to the dorsal part of the the larvae. The inhibiting effect of methoprene on adult emergence was stronger to fully grown larvae than to younger larvae. The house fly, *Musca domestica*, was the most susceptible among eight species of flies. 2) The eggs of house fly were immersed continuously into the emulsified solution of methoprene. The hatchability was reduced by 95% when 1-hr-old eggs were immersed into the 5% solution. The approximate IC_{50} was 2.3%. 3) The inhibitory effects on reproduction was tested with the female flesh fly, *Boettcherisca peregrina*. The larval production of the treated fly was reduced to about half of the untreated when 49 μ g of methoprene was applied onto 2-day-old females. 4) When fully grown larvae of the flesh fly were treated with methoprene, fecundity of the resultant adults was considerably reduced. Applications of 0.008 to 0.06 μ g of methoprene to larvae decreased their fecundity from 49 larvae per normal female to 0-17 larvae per treated female.

は じ め に

幼若ホルモンをハエに人工的に賦与して変態の抑制をみたのは Srivastava and Gilbert^{1,2)} にはじまる。多くの幼若ホルモン様活性物質が合成され、ハエに対する効果が検討されたが、methoprene が実用的な面で興味ある評価がなされている³⁻¹¹⁾。

筆者らは、日本に棲息する親人間的 (synanthropic) なハエとして主要な8種類に対する methoprene の羽化阻止効果、イエバエに対する殺卵効果およびセンチクバエの成虫または幼虫への JH 処理が生殖能力に及ぼす影響などについて検討し、2, 3 の興味ある知見を得たので

報告する。

実 験 方 法

供試したハエ類は、いずれも当研究室で累代飼育中の次のコロニーである。

イエバエ *Musca domestica*, 高槻系で、有機リン剤やピレスロイドなどに対して正常な感受性の系統。

ケブカクロバエ *Aldrichina grahami*, 1977 年当所構内 (大阪市東成区) で採集。

ミドリキンバエ *Lucilia illustris*, 1971 年香川県小豆郡土庄町豊島産。

クロキンバエ *Phormia regina*, 1974 年秋田市産。

ルリキンバエ *Protophormia terraenovae*, 1974 年札幌市産。

センチニクバエ *Boettcherisca peregrina*, 東京都文京区湯島産, 東京医科歯科大学で飼育, 1976 年に分与をうけた系統。

シリアカニクバエ *Parasarcophaga crassipalpis*, 1965 年上記産, 分与をうけた系統。

ナミニクバエ *Parasarcophaga similis*, 1970 年香川県小豆郡土庄町豊島産。

イエバエ幼虫の飼育には、ふすま、魚粉、昆虫用酵母飼料（オリエンタル酵母 KK 製造）の混合培基を用い、その他のハエ類は牛肉のひき肉にイエバエ用の飼料を加えたものを与えた。供試した幼虫は、発育時期をそろえるために、6 時間以内に産卵または産仔された個体群を用いた。実験には幼虫の日齢をかえて、種々の発育段階にある 3 齢幼虫を供試した。飼育はケバクロバエは 20°C、他の種類は 26°C の定温室で行なった。

供試した検体は、アメリカの Zoecon 社で製造された 92.8% の活性成分を含む methoprene (isopropyl 11-methoxy-3,7,11-trimethyldodeca-2,4-dienoate) の工業原体である。

1. 幼虫の微量滴下法

原体をアセトンにとかし、所定の濃度の溶液をつくり、これをマイクロシリンジにより、幼虫の背面に 1 頭あたり 0.98 μ l ずつ滴下処理した。実験は一薬量について原則として 100 匹を供試した。処理後は濾紙をしいた腰高シャーレにいれ、餌を与えずに 26°C の定温室に保って羽化するまで放置した。

2. 卵の浸漬テスト

原体とその 1/3 量の乳化剤 Tween 80 にエチルアルコールを加えて 10% の乳剤をつくり、これを蒸留水で稀釈して所定の濃度にし、マイクロシリンジで、ホールガラスの上に 8 μ l を滴下した。ミルクを浸した脱脂綿に産下させたイエバエの卵塊を、産卵後 1, 3, 6~8 時間経過後に、ガラスあたり 30~70 粒ずつ浸漬した。処理した卵は、そのまま 25°C で約 24 時間高湿度に保ったのち、孵化数を観察した。蒸留水だけで同様に処理したものを対照区として比較にあてた。

3. 成虫の JH 処理と生殖能力

同日に羽化した雌雄 30 対のセンチニクバエを、30 cm 立方のナイロンケージにいれて飼育した。羽化後 2, 5, 8 日を経過した雌成虫に対し、所定の濃度の methoprene のアセトン溶液を、その胸背に 0.98 μ l ずつ滴下処理した。成虫には砂糖水とミルクを与え、26°C で飼育した。産仔が近づくおよそ 10 日後に、ひき肉をケージの中に

いれてこれに生ませた。肉は 5 日間毎日交換し、産仔数を記録した。無処理区を比較対照とした。

4. 幼虫の JH 処理と生殖能力

3 齢後期 (6 日齢) のセンチニクバエ幼虫に対し、微量滴下法により methoprene 処理を行なった。各濃度区のアエが羽化したら、雌雄の成虫をケージにいれて飼育した。観察は成虫の JH 処理の場合と同様に行なった。

実験結果

1. 各種ハエ類に対する羽化阻止効果

微量滴下法で処理した幼虫の羽化阻止効果の判定には、Daoud and Sehnal⁴⁾ が地中海ミバエ *Ceratitis capitata* に対する効果を評価するさいに用いたような、形態学的に段階を区分する方法を参考とした。すなわち、成虫が蛹殻から完全に脱出されず、たとえば頭部だけが出ているような半羽化状態のものを含めて羽化個体として扱い、成虫が蛹殻内にとどまっているもの、それ以前の段階で発育を停止したまま死亡しているものを羽化阻止個体とみなし、全蛹数に対する羽化阻止個体の比率をもって羽化阻止率とした。

結果は Table 1 に示すとおりで、羽化阻止率をプロビットに変換し、methoprene の濃度を対数にとってプロットし、それらの点を満足する予備回帰直線から 50% 羽化阻止薬量 (ID₅₀ Morphological) がよみとられた。ID₅₀ 値から各種類の効果を比較すると、イエバエが最も感受性が高く、ついでナミニクバエであるが、クロバエ科の 4 種類はいずれも感受性が低い傾向が伺われた。

2. イエバエに対する殺卵効果

成績を Table 2 に示す。処理区の孵化率を対照区のそれと比較することにより、死亡率を Abbott の補正值であらわした。産卵 1 時間後に処理したときに胚に対する発育阻止効果がみられた。しかし、産卵後 3 時間以上経過した卵ではわずかな効果しか示さなかった。

3. センチニクバエの生殖能力に及ぼす影響

成虫に methoprene 処理を行なった場合の成績を Table 3 に示す。雌成虫に対し、methoprene を 9.8 μ g 処理したときの産仔数は、無処理区のそれと変わらなかったが、49 μ g を羽化 2 日後に処理すると、その産仔数は無処理区のその約半分になった。しかし、5 日後に処理したときは、その間にほとんど差がみられなかった。

幼虫期に処理した場合の成績を Table 4 に示す。すなわち、0.06 μ g の処理で 100% 不妊となり、0.008 μ g 処理では無処理のアエにくらべて約 3 分の 1 の産仔数にとどまった。

Table 1 Percent inhibition of the adult emergence when the larvae were treated with methoprene.

Fly species and larval age		Dosage ($\mu\text{g/insect}$)				
<i>Musca domestica</i>	0.245	0.0612	0.0153	0.0038	ID ₅₀	
3 days old (Middle III)	100.0%	78.6%	51.0%	32.7%	0.015 μg	
4 days old (Late III)	100.0	87.8	53.5	24.9	0.012	
5 days old (Late III)	100.0	85.4	70.2	29.9	0.0078	
6 days old (Late III)	100.0	95.7	84.4	70.2	0.0012	
<i>Aldrichina grahamsi</i>	0.49	0.123	0.031	ID ₅₀		
6 days old (Late III)	91.3%	24.8%	0%	0.20 μg		
8 days old (Late III)	93.9	27.8	10.2	0.18		
<i>Lucilia illustris</i>	3.920	0.980	0.245	0.0612	ID ₅₀	
5 days old (Late III)	100.0%	94.4%	47.4%	%	0.26 μg	
6 days old (Late III)		100.0	71.3	15.1	0.15	
<i>Phormia regina</i>	0.980	0.245	0.0612	ID ₅₀		
6 days old (Late III)	95.7%	44.7%	7.7%	0.25 μg		
7 days old (Late III)	96.7	48.2	15.3	0.21		
<i>Protophormia terraenovae</i>		3.920	1.960	0.980	0.490	0.245 ID ₅₀
6 days old (Late III)		99.9%	%	12.0%	%	% 1.40 μg
7 days old (Late III)		100.0	98.9	43.7	16.1	0.87
8 days old (Late III)			100.0	80.5	74.0	31.3 0.32
<i>Boettcherisca peregrina</i>		0.49	0.123	0.031	0.0077	ID ₅₀
5 days old (Late III)		64.2%	38.7%	6.5%	2.2%	0.23 μg
6 days old (Late III)		84.0	34.0	7.1	0	0.17
7 days old (Late III)		95.6	86.7	41.1	3.3	0.033
<i>Parasarcophaga similis</i>		0.245	0.0612	0.0153	ID ₅₀	
3 days old (Late III)		100.0%	93.3%	8.9%	0.030 μg	
4 days old (Late III)		100.0	88.9	23.4	0.026	
<i>Parasarcophaga crassipalpis</i>		0.980	0.245	0.0612	0.0153	ID ₅₀
4 days old (Late III)		100.0%	26.9%	5.5%	5.4%	0.58 μg
5 days old (Late III)		100.0	63.2	14.9	7.4	0.17
6 days old (Late III)		100.0	51.5	3.1	0	0.24
7 days old (Late III)		100.0	98.9	24.1	0	0.085

Table 2 Effects of methoprene to the house fly on different stages of embryonic development.

Concentration (%)	Inhibition of hatchability*		
	1 hr old (%)	3 hrs old (%)	6-8 hrs old (%)
5.0	95.2	19.9	13.0
2.5	42.9	11.0	0
1.25	24.9	22.6	15.3

* Corrected for hatch percent of untreated eggs by Abbott's formula.

Table 3 Fecundity of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina*, treated with methoprene at the adult stage.

Dose ($\mu\text{g/insect}$)	Time of application	No. of flies tested	No. of larvae deposited	Av. no. of larvae per female
9.8	2-day-old	17♂ × 17♀	394	23.2
9.8	8-day-old	21♂ × 25♀	632	25.3
Untreated		20♂ × 23♀	658	28.6
49	2-day-old	20♂ × 15♀	293	19.5
49	5-day-old	26♂ × 20♀	576	28.8
49	8-day-old	25♂ × 27♀	857	31.7
Untreated		25♂ × 20♀	665	33.3

Table 4 Fecundity of adult females obtained after topical application of methoprene at the fully grown larval stage of the flesh fly, *Boettcherisca peregrina*.

Dose ($\mu\text{g}/\text{insect}$)	Inhibition of adult emergence (%)	No. of flies tested	No. of larvae deposited	Av. no. of larvae per female
0.061	93.1	8♂ × 5♀	0	0
0.031	86.1	12♂ × 10♀	101	10.1
0.015	69.8	15♂ × 9♀	113	12.6
0.008	38.5	25♂ × 25♀	443	17.7
Untreated	—	25♂ × 25♀	1246	49.8

考 察

ハエに対する methoprene の羽化阻止効果は、どの種類も幼虫の処理された時期によって異なり、蛹化の近づいた時期に処理された時ほど効果が大きいことを示している。イエバエ、センチクバエ、シリアカニクバエでは、蛹化直前に処理された個体は、3 齢前期のそれにくらべて約 10 倍も感受性が高くなっている。このように、JH analogs に対する感受性が幼虫の成長期によって差がみられるという事実は、他の双翅目の昆虫でも知られている。アカイエカやコガタアカイエカは成熟幼虫において最も感受性が高く¹²⁾、イエバエでは同じ 3 齢幼虫でも発育のすすんだ段階で処理したほうが効果が大きく⁸⁾、また地中海ミバエでは蛹殻形成直前の幼虫に処理した場合に最も感受性が高かったこと⁴⁾ などが報告されている。

methoprene の効果が種類によって異なるのは興味ぶかい。たとえば、イエバエとルリキンバエの ID_{50} を比較すると、実に 260 倍以上のひらきがみられる。一般に幼若ホルモン様活性物質は、その活性の点で種特異性が強いといわれる^{13,14)}。

幼若ホルモンは卵に作用して胚の発生を抑制する効果のあることが種々の昆虫で確かめられている^{13,15-17)}。Riddiford¹⁶⁾ は、2 種のカメムシの産卵後 4 週間内の卵に JH analogs 処理を行なうと変態の抑制がおり、数回よけいに脱皮した幼虫は巨大型となるが、成虫への変態は行なわれずに死亡したという。またセクロピア蛾¹⁷⁾ では、産卵直後の卵に処理した場合に阻害効果があらわれ、胚の発育が進んだ段階で処理すると、孵化した幼虫の後期または変態時に異常が起こるといふ。

Morgan ら⁹⁾ は、産卵後 1 日以内のイエバエ卵に methoprene の処理をしたが効果はなかったという。また地中海ミバエ⁴⁾ でも産卵後 4 時間以内に処理したが効

果がなかったという。一方、コロモジラミとトコジラミに対する methoprene の殺卵効果は大きく¹⁸⁾、昆虫の種類によって感受性が大きく異なることを示している。

イエバエの卵は、25~35°C において 8~12 時間で孵化する¹⁹⁾ ことから、われわれの実験では産卵後間もない時間に処理した場合のみ効果がみられたのであり、そのときの IC_{50} Ovicidal の濃度は 2.3% であった。6 時間以上経過した卵では、胚の発育がかなり進んだ状態にあったものと思われる。

これらは卵への直接の影響をみた場合であるが、処理された卵が成虫に育った後も、その 66% が不妊であったという Morgan ら⁹⁾ の報告は興味ぶかい。

幼若ホルモンを雌成虫に処理すると、それが卵に作用して発育を阻止するため不妊になることがホンカメムシ²⁰⁾ やセクロピア蛾¹⁷⁾ で確かめられ、その効果は産卵期間中の処理時期によって異なるという。

ハエに関しては、イエバエ⁹⁾ やサンバエ²¹⁾ で調べられており、前者は多量の methoprene で処理すると不妊になるが、とくに雌に処理した場合の効果の大きいことが示されている。これらの報告と同じように、本実験においても成虫処理による不妊効果は、羽化後の短時間のうちに処理した場合に現われることを示している。

これにくらべると、幼虫期に methoprene 処理をしたハエの不妊効果は顕著であった。地中海ミバエに高活性の幼若ホルモン様物質を与えてその不妊効果を調べた報告⁴⁾ によると、羽化後 24 時間以内の成虫に 50 μg を処理しても産卵数に影響を与えないが、蛹殻形成直前の幼虫に処理すると、最大の産卵抑制の効果があらわれたという。このような効果は、羽化した成虫の産卵管の発育不全による形態的な欠陥に起因することを明らかにしている。

以上の結果が示すように、methoprene を含めて幼若ホルモン様活性物質のハエに対する効果は、たんに変態抑制の効果として現われるだけでなく、殺卵効果や羽化した成虫の生殖力にも影響することから、効力の評価にはこれらを含めて総合的に判断することがのぞまれる。

要 約

幼若ホルモン類似体 methoprene のハエに対する羽化阻止効果、殺卵効果、成虫または幼虫の JH 処理が生殖能力に及ぼす影響について検討し、次のような結果を得た。

1. 種々の発育段階にある 8 種類のハエ幼虫に対し、微量滴下法により methoprene 処理を行なった。ハエの羽化阻止効果は、成熟のすすんだ終齢幼虫に処理した時

ほど大きくあらわれた。これらのハエのなかで、イエバエは最も感受性が高かった。

2. イエバエの卵を methoprene 溶液に浸漬した時の殺卵効果を観察した。産卵1時間後に処理したとき、胚の発育を阻止する効果がみられた。孵化阻止のための IC_{50} はおよそ 2.3% の濃度であった。

3. 羽化2日後に、センチニクバエの雌に対し、49 μ g の methoprene 処理を行なうと、その産仔数は無処理の雌のそれにくらべて半減した。しかし5日以上経過した雌に処理した場合は、不妊効果は現われなかった。

4. センチニクバエの終齢後期の幼虫に methoprene 処理を行なうと、それから羽化した成虫の不妊効果は顕著にあらわれた。

この研究を行なうにあたり、有益なご助言を与えられた金沢大学理学部動物学教室の大滝哲也教授と、一部ハエの系統を分与して下さった北海道立衛生研究所の長谷川恩博士、東京医科歯科大学医動物学教室の加納六郎教授、篠永哲講師、検体や資料を提供された大塚ゾエコン株式会社、アース製薬株式会社の方々に対し、あつくお礼申しあげる。

引用文献

- 1) U. S. Srivastava & L. I. Gilbert: *Science* **161**, 61 (1968)
- 2) U. S. Srivastava & L. I. Gilbert: *J. Insect Physiol.* **15**, 177 (1969)
- 3) W. L. Jakob: *J. Econ. Entomol.* **66**, 819 (1973)
- 4) D. S. Daoud & F. Sehnal: *Bull. Entomol. Res.* **64**, 643 (1974)
- 5) R. L. Harris, W. F. Chamberlain & E. D. Frazar: *J. Econ. Entomol.* **67**, 384 (1974)
- 6) R. W. Miller & E. C. Uebel: *J. Econ. Entomol.* **67**, 69 (1974)
- 7) J. E. Wright: *Mosq. News* **34**, 160 (1974)
- 8) 島田篤夫・緒方一喜: 衛生動物 **25**, 279 (1974)
- 9) P. B. Morgan, G. C. LaBrecque, D. E. Weidhaas & A. Benton: *Can. Entomol.* **107**, 413 (1975)
- 10) A. R. Gingrich & D. E. Hopkins: *J. Econ. Entomol.* **70**, 107 (1977)
- 11) J. A. Miller, J. L. Eschile, D. E. Hopkins, F. C. Wright & J. J. Matter: *J. Econ. Entomol.* **70**, 417 (1977)
- 12) 野口圭子・大滝哲也: 衛生動物 **25**, 185 (1974)
- 13) K. Sláma, M. Romaňuk & F. Šorm: "Insect hormones and bioanalogs," Springer-Verlag, Wien, p. 213, 1974
- 14) 大滝哲也・桜井 勝: 蛋白質 核酸 酵素 **20**, 529 (1975)
- 15) W. P. Walker & W. S. Bowers: *J. Econ. Entomol.* **63**, 1231 (1970)
- 16) L. M. Riddiford: *Science* **167**, 287 (1970)
- 17) L. M. Riddiford: "Insect Juvenile Hormones-Chemistry and Action," ed. by J. J. Menn & M. Beroza, Academic Press, N. Y., p. 95, 1972
- 18) M. Takahashi & T. Ohtaki: *Jap. J. San. Zool.* **26**, 237 (1975)
- 19) L. S. West: "The Housefly, Its Natural History, Medical Importance, and Control," Comstock Publishing Co., Ithaca, N. Y., p. 99, 1951
- 20) K. Sláma & C. M. Williams: *Nature* **210**, 329 (1966)
- 21) J. E. Wright & G. E. Spates: *J. Econ. Entomol.* **65**, 1346 (1972)