幼若ホルモン類似体 methoprene の蚊に対する効果

武衛 和雄* 伊藤寿美代* 山田 敬**

蒲生 信一** 加藤 雅章**

* 大阪府立公衆衛生研究所医動物室 (〒537 大阪市東成区中道 1 丁目 3-69)

** 近畿大学農学部 (〒577 大阪府東大阪市小若江 321)

(受領: 1975年 4月10日)

The effect of a juvenile hormone mimic, methoprene,
against mosquito larvae

Kazuo BUÉI*, Sumiyo ITO*, Takashi YAMADA**,
Shinichi GAMO** and Masaaki KATO**

* *Laboratory of Medical Zoology, Osaka Prefectural Institute of
Public Health, 3-69, 1-chome, Nakamichi, Higashinari-ku,
Osaka 537*

** *College of Agriculture, Kinki University, 321 Kowakae, Higashi-
Osaka, Osaka 577*

はじめに

近年殺虫剤その他の農薬の人畜に対する毒性や環境汚染が問題となり、年々その規制がきびしくなる傾向がある。また一方では各種昆虫において殺虫剤に対する抵抗性の発達が注目されるようになった。このような問題を打開するためのひとつの新しい試みとして、幼若ホルモンの利用に関しての研究の進展が期待されている。

幼若ホルモン様物質を蚊幼虫に与え、その致死効果を最初に報告したのは Spielman and Williams (1966) であり、幼若ホルモンがセスキテルペンであることがわかって以来、種々の活性物質が合成され、種々の昆虫に対して高い効果をあらわすものが発表された。野口ら (1974) は19種の合成幼若ホルモンについて、アカイエカに対する効果を比較検討した。

数多く報告された幼若ホルモン類似体の中でも、Henrick ら (1973) によって発見された methoprene (isopropyl 11-methoxy-3, 7, 11-trimethyl-2, 4-dodecadienoate) は蚊に対して著効のあることが報告された。筆者らは、この methoprene について蚊に対する効果を室内および野外実験を通じて検討し、2, 3の興味ある知見を得たので報告する。

I. 蚊幼虫の methoprene に対する効果

1. アカイエカ幼虫の令期による感受性の変化

実験材料および方法: 供試した検体は Zoecon 社で製造された ZR-515® で、純度90%の工業原体である。

供試したアカイエカ *Culex pipiens pallens* は、1971年奈良県御所市内の下水溝で採集した卵塊および幼虫から出発し、当所で累代飼育を重ねてきた御所系と称する系統である。有機リン剤やピレスロイドに対しては非抵抗性で、比較的均質な感受性をもつ集団として、殺虫剤などの生物試験の標準系統として供試されている。

幼虫は25°C の温室で飼育し、孵化後3~7日の3令後期から成熟幼虫にいたるまで、各發育段階にある幼虫を供試した。

実験は WHO の蚊幼虫の抵抗性試験法に準じて行なった。すなわち、直径10cm、深さ8.5cm の塩化ビニール製の蓋つきの容器に225ml の蒸留水を入れ、この中に所定の濃度に希釈した methoprene のエチルアルコール溶液1ml を滴下して攪拌する。供試虫は別の容器に20匹ずつとり、水を加えて25ml とし、これを前記の容器の中に移し入れた。処理後は粒状の昆虫用飼料 (オリエンタル酵母工業 KK 製造) を数粒ずつ与えた。

Fig. 1 The relation between concentration of methoprene applied to various stages of *Culex pipiens pallens* and percent inhibition of adult emergence

観察はすべてが羽化を完了するまで継続し、完全に羽化した個体と、羽化のさい蛹殻からの脱出に失敗した個体、蛹又は幼虫のまま死亡した個体とに分けて記録し、後2者を羽化阻止個体とみなして羽化阻止率と50%羽化阻止薬量(IC₅₀と略す)を求めた。実験中の温度は25°Cに保ち、一濃度について5~6回くりかえし、一実験について数回反復して行なった。

結果および考察：アカイエカ幼虫の methoprene に対する感受性を孵化後3日(3令後期)4日(4令後期)、5日(同後期)、6日(同)、7日(4令成熟)の幼虫について、濃度—羽化阻止率回帰直線を描いて示したのが図1である。

この図からもわかるように、methoprene の回帰直線の傾斜が、ふつう有機リン系殺虫剤などの薬量死亡率回帰直線でみられるような傾斜に比べて非常にゆるやかである。これに関して野口ら(1974)は、同じ実験群でも個体によって生長の遅速が生ずるため、投与した幼若ホルモンが急速に分解されるから個体による感受性の差に開きがあらわれることによるのではないかと考えた。この実験結果からみると、アカイエカの幼虫は、孵化後3, 4日のもの、5, 6日のもの、7日のものの3つのパターンで示されるように、回帰直線の傾斜はそれぞれに異なっている。これは、4令初期までは、かなり揃って发育するが、发育期間の長い4令幼虫でも、とくに孵化後5, 6日のものは发育が不揃いになって傾斜も非常にゆるやかになるのである。

各令期における IC₅₀ 値を求めると、それぞれ0.028, 0.031, 0.0028, 0.0018, 0.00037 ppmであった。すなわち蛹化が近づくほど非羽化率が高くなっている。この成績は野口ら(1974)の成績ともよく一致しており、幼若ホルモンが各幼虫期の途中では幼虫自体がそれを分泌

しているため効果は少ないが、このホルモンの分泌が停止すると考えられる成熟幼虫期に与えると高い羽化阻止効果があらわれるという見解にもとづくものである。

2. 各種蚊幼虫に対する感受性の比較

実験材料および方法：アカイエカ以外にコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus summorosus*, ハマダライエカ *Culex orientalis*, フトシマフサカ *Culex infatulus*, トウゴウヤブカ *Aedes togoi*, ヒトスジシマカ *Aedes albopictus*, ネットアイシマカ *Aedes aegypti*, オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* の methoprene に対する感受性を比較テストした。これらの蚊はいずれも当所で累代飼育中の系統で、成熟幼虫を供試した。

実験の方法はアカイエカの場合とまったく同様であるが、アカイエカとコガタアカイエカ以外の蚊では、水質の汚濁による蛹の死亡を防ぐために、蛹化した個体は別の清浄な容器に用意した蒸留水に移して飼育する方法をとった。

結果および考察：各種蚊幼虫の methoprene に対する濃度—羽化阻止率回帰直線を図2に示す。それぞれの蚊について IC₅₀ 値を求めたのが表1である。これらからみると、オオクロヤブカを除く6種類の蚊では、感受性にとくに大きな差はなかった。しかし、オオクロヤブカの IC₅₀ 値は、0.15 ppm と感受性はきわめて低く、アカイエカのそれに比べると実に400倍のひらきがみられる。

methoprene に対する感受性は種類によって異なるという報告がある。Jakob(1972)はネットアイシマカ、ネットアイエカ *C. p. quinquefasciatus*, ハマダラカ2種についてその効力を比較したが、*Anopheles albimanus* に対して最も sensitive であったと報告している。Henrick(1973)はネットアイシマカに対する IC₅₀ 値は0.00014

Fig. 2 The relation between concentration of methoprene applied to seven species of mosquito larvae and percent inhibition of adult emergence

Table 1 IC₅₀ values, in ppm, of methoprene to the late 4th-stage larvae of several species of mosquitoes by dipping test

Species	IC ₅₀
<i>Culex tritaeniorhynchus summorosus</i>	0.00065
<i>Culex orientalis</i>	0.0010
<i>Culex infantulus</i>	0.00073
<i>Aedes togoi</i>	0.00085
<i>Aedes albopictus</i>	0.00062
<i>Aedes aegypti</i>	0.00038
<i>Armigeres subalbatus</i>	0.15

ppm と記しており、この数値は筆者らの結果ときわめて近似している。また Schaefer and Wilder (1973) は、3種類の蚊 *Culex tarsalis*, *C. p. quinquefasciatus* および *Aedes nigromaculis* についてテストした結果では、*A. nigromaculis* は最も感受性が高く、0.00001ppm でも高い死亡率が得られるという。筆者らの得た成績からは、とくに本邦のヤブカ類が methoprene に対して感受性が高いという傾向はみられないようである。

イエカ類については野口ら (1974) がアカイエカとコガタアカイエカの比較を行なっている。しかし両種間で著しい感受性の差異は見出されていない。

3. 徐放製剤の水における残効性

幼若ホルモンの蚊幼虫に対する効果は、その効力の発現する令期に限られた時期であるということは、殺虫剤との大きな違いである。Schaefer and Wilder (1972) は、水における methoprene の安定性は、水中の微生物、日光、温度などの影響をうけて分解されやすいことを報告した。野外では各令期の幼虫やサナギが混棲し

ているのが普通であろうから、幼若ホルモンの水における残効性があまり短かいのは問題がある。

実用的にみて、より長い残効性を期待するためには製剤面での改良が必要であろう。

Zoecon 社が開発した methoprene の徐放製剤は、以上のような欠点を補なったものといわれる。以下の実験は徐放製剤の水における残効性を bioassay によって比較評価した。

実験材料および方法：供試材料は次の3通りである。

ZR-515® methoprene 90%を含む工業原体

SR-10® 10%の有効成分を乳剤タイプにしてマイクロカプセル化したもの

SR-10F® 10%の有効成分を活性炭に吸着させたもの
原体は所定の濃度にエチルアルコールで溶解したものを蒸留水中に滴下し、徐放製剤はそれぞれ水で希釈し、有効成分が0.005ppmの濃度になるようにした。これらは25°Cの温室で暗黒状態に保ち、0, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14日経過後に、前述の方法により、アカイエカ成熟幼虫を浸漬して羽化阻止効果を調べた。

結果および考察：供試した ZR-515 と徐放製剤の処理後の経過日数と羽化阻止率との関係を図3に示す。日数の経過にともなってその効果は減退するが、結果は明らかに徐放製剤の残効性が大きいことを示している。また SR-10, SR-10F, はともに処理当日は ZR-515より効力がやや劣っているが、その後上昇し、2日後に最も高い効果が現われている。このことは、有効成分が徐々に放出され、2日後に最高になるためであろう。

徐放製剤の活性が ZR-515 より高いことは、野口ら (1974) によっても認められている。また Schaefer and Dupras (1973) によると、徐放製剤を散布した池の水を分析した結果、48時間後にはまったく検出できなかった。

Fig. 3 The relation between days after treatment with technical ZR-515 or slow-release formulations, SR-10 and SR-10 F, and percent inhibition of adult emergence of *Culex pipiens pallens*

たけれども, bioassay によると数日間は生物活性が認められたという。

この実験では, ZR-515 の効力の半減期は2日であるが, SR-10, SR-10F の場合は7日以上となっている。しかし今回の実験では, SR-10 と SR-10 F の間に明確な効力のちがいは認められなかった。

II. 野外実験

実験地の概況および実験方法: 大阪府門真市のアカイエカの多発生する池において, methoprene 徐放製剤による野外実験を1974年6~7月に2回, 9月に1回行なった。実験地はもともと水田や池の多い低湿地帯であったが, 近年は埋立てがさかんに行なわれて, 多くの住宅が建ち並び, 下水が流入してかなり汚染のはげしい

池である。

実験場所は図4に示すように, A池の面積は570 m² (38×15m), B池は1,813m² (49×37m), C池は925m² (25×37m), D池は850m² (23×37 m) であった。池の水量は降雨の影響をうけるので水位はかなり不安定であるが, 実験中の水深はほぼ10cm ぐらいを保っていた。

Fig. 4 Sketch-map of the lotus ponds tested.

実験の要領は表2のとおりである。

薬剤の散布は薬剤が池の中心まで到達できるような動力噴霧機によった。

効果判定の方法は, 1) 各試験区から散布前および散布後一定経過日ごとに約1.5 l ずつ採水して実験室に持ち帰り, 容器に200ml ずつ注ぎ入れ, この中にあらかじめ室内で飼育したアカイエカの成熟幼虫を20匹ずつ放ち, 羽化を完了するまで飼育観察した。2) 各試験区から採集した蛹を実験室に持ち帰り, ただちに蒸留水 200 ml を入れた容器の中に移して, 前と同様な観察をした。飼育温度はいずれも25°C に保った。

結果および考察: 野外実験の成績を表3~5に示す。1, 2回目の実験結果からその効果を判断すると, 0.1 ppm の散布濃度で処理した池の水は, 2日間は高い羽化阻止効果がみられる。1回目の実験ではほとんど降雨

Table 2 Explanation of field experiments

Field trial	I	II	III
Application date	June 4, 1974	June 18, 1974	Sept. 17, 1974
Air temperature	28°C	24°C	26°C
Water temperature	23° to 24°C	27°C	24°C
Weather	Cloudy	Cloudy	Cloudy
Exact treatment			
Pond A	SR-10, 57g	SR-10F, 57g	—
Pond B	SR-10F, 180g	SR-10, 180g	SR-10F, 1800g
Pond C	Control	Control	—
Pond D	—	—	Control
Concentration of methoprene	0.1ppm	0.1ppm	1.0ppm

Table 3 Field evaluation of methoprene applied at 1.0g A.I. per 100m² of the pond-surface against the larvae of *Culex pipiens pallens* (Expt. I)

a. Percent inhibition of adult emergence of the 1ab. 4th-stage larvae in the treated water

Pond (Formulation)	Days after treatment				
	0	1	2	3	4
A (SR-10)	96	94	88	64	41
B (SR-10F)	95	86	83	86	92
C (untreated)	24	50	28	16	3

b. Percent inhibition of adult emergence of the pupae collected from treated pond

Pond (Formulation)	Days after treatment						
	0	1	2	3	4	6	7
B (SR-10F)	41	37	92	98	98	98	90

Table 4 Field evaluation of methoprene applied at 1.0g A.I. per 100m² of the pond-surface against the larvae of *Culex pipiens pallens* (Expt. II)

a. Percent inhibition of adult emergence of the 1ab. 4th-stage larvae in the treated water

Pond (Formulation)	Before treatment	Days after treatment									
		0	1	2	3	4	6	7	8	9	14
A (SR-10F)	23	100	90	94	44	56	63	39	58	37	7
B (SR-10)	51	98	56	83	67	64	80	46	22	57	67
C (untreated)	11	66	17	72	20	52	44	14	40	43	46

b. Percent inhibition of adult emergence of the pupae collected from treated pond

Pond (Formulation)	Days after treatment									
	0	1	2	3	4	6	7	8	9	14
A (SR-10F)	—	—	—	98	100	60	36	59	—	—
B (SR-10)	92	91	95	84	44	77	67	86	63	53

Table 5 Field evaluation of methoprene applied at 10g A. I. per 100m² of the pond-surface against the larvae of *Culex pipiens pallens* (Expt. III)

a. Percent inhibition of adult emergence of the 1ab. 4th-stage larvae in the treated water

Pond (Formulation)	Before treat- ment	Days after treatment											
		0	1	2	3	4	7	9	11	13	15	20	
B (SR-10F)	46	100	100	100	100	100	100	100	100	99	85	98	
D (untreated)	55	—	51	73	61	43	35	14	49	49	40	29	

b. Percent inhibition of adult emergence of the pupae collected from treated pond

Pond (Formulation)	Before treat- ment	Days after treatment													
		0	1	2	3	4	7	9	11	13	15	17	20	30	
B (SR-10F)	19	37	48	94	99	100	97	96	93	89	71	89	89	87	

のない条件下であったが、2回目は断続的な雨を経験した条件下であり、たいした降雨のない状態であれば SR-10F は4日以上残効が認められる。しかし雨が降ると、SR-10F でも3日後にはかなり効力が低下している。1 ppm の散布濃度では残効性はかなり長く、およそ2週間以上認められる。

一方、処理された池から採集した蛹の羽化阻止効果は、散布後2～3日たってから高い効果が現われている。これは散布当日又は1日後の蛹はすでに成虫化のプログラムが完成または完成に近いものが多いことと、有効成分が徐々に水中に溶出されることによるものと思われる。0.1ppm で処理した池では、降雨がなければ7日以上効果が持続したが、降雨があるとどちらの製剤でも3～4日しか持続しなかった。しかし1 ppm の散布濃度になると、約11日間高い効果を持続した。

幼若ホルモンによる蚊の駆除実験に関してはわずかな報告があるのにすぎない(Schaefer and Wilder, 1972; Arevad, 1973)。カリフォルニア州で行なわれた Schaefer らの実験によると、*A. nigromaculis* や *A. melanimon* のようなヤブカに対しては卓越した効果をあげている。すなわち、methoprene の徐放製剤を0.05～0.1ポンド/エーカー (0.5～1 g/100m²) という少量散布でも効果があったという。しかし、*Culex tarsalis* に対しては0.2ポンドの散布量でもよい効果は得られなかったという。しかし蚊の種類も発生環境も異なったわが国の実情に対し、これらの成績は直接の参考にはならないように思われる。

他の異なった剤型について、Dunn and Strong(1973)はポリウレタンフォームに吸着させた有効成分を徐放させると、アカイエカに対し2カ月間の残効性があったといい、Hoppe ら (1974) は乳剤より粒状タイプの方が効果がすぐれるが、これは粒状のものに幼虫が直接接触するためであろうという。

このように合成幼若ホルモンの紫外線や温度、微生物などによって分解されやすい性質も、製剤の改良によって実用化への道が拓かれるようになった。今回われわれが行なった野外実験において、SR-10, SR-10F のような徐放製剤を用いれば、わが国の主要害虫であるアカイエカに対し、実用的段階において駆除が期待できることを示唆しているといえよう。

要 約

1. 幼若ホルモン類似体 methoprene のアカイエカ幼虫に対する感受性を、3令後期から4令成熟幼虫まで発育段階別に調べたところ、IC₅₀ は0.028～0.00037 ppm であり、幼若ホルモンの分泌が停止すると考えら

れる成熟幼虫期に与えると最も効果が高かった。

2. わが国の主要蚊であるコガタアカイエカ、ハマダライエカ、フトシマフサカ、トウゴウヤブカ、ヒトスジシマカ、ネッタシマカの6種類の幼虫に対する methoprene の感受性はとくに大きな違いはなかった。しかし、オオクロヤブカに対する効果はきわめて低かった。

3. methoprene の徐放製剤 SR-10® と SR-10 F® のアカイエカに対する残効性を比較テストした。その結果明らかに徐放製剤は原体に比べて効力の持続性が認められた。

4. アカイエカの多発生するはす池において、徐放製剤による野外実験を行なった。効果は次の通りである。

1) 0.1ppm の散布濃度でテストした池の水は SR-10 では2日、SR-10F は4日以上残効性があつた。また、処理された池のアカイエカの羽化阻止効果は、降雨がなければ約7日間持続したが、断続的な降雨があると3～4日しか続かなかった。

2) 1 ppm の散布濃度でテストした池の水は2週間以上残効性があつた。処理された池のアカイエカの羽化阻止効果は約11日間持続した。

本研究を行なうにあたり、種々有益なご助言を与えられた国立予防衛生研究所衛生昆虫部大滝哲也技官と、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に対し、あつく御礼申しあげる。

文 献

- Arevad, K. (1973) : A field test with a juvenile hormone mimic against mosquito larvae. *Danish Pest Inf. Lab. Annual Rept.*, 1972 : 48-50.
- Dunn, R. L. and F. E. Strong (1973) : Control of catch-basin mosquitoes using Zoecon ZR 515 formulated in a slow release polymer—a preliminary report. *Mosquito News*, 33(1) : 110-111.
- Henrick, C. A., G. B. Staal and J. B. Siddall (1973) : Alkyl 3, 7, 11-trimethyl-2, 4-dodecadienoates, a new class of potent insect growth regulators with juvenile hormone activity. *J. Agric. Food Chem.*, 21(3) : 354-359.
- Hoppe, T., H. Isler, and W. Vogel (1974) : Biological activity of juvenile hormone analogues against larvae of *Culex pipiens pipiens* tested in smallscale field trials. *Mosquito News*, 34(3) : 293-296.
- Jakob, W. L. (1972) : Additional studies with juvenile hormone-type compounds against mosquito larvae. *Mosquito News*, 32(4) : 592-595.
- 野口圭子, 大滝哲也, 森 謙治 (1974) : 合成幼若ホルモン類似体のアカイエカ幼虫に対する致死効果. *衛生動物*, 24(3) : 257-260.
- 野口圭子, 大滝哲也 (1974) : 幼若ホルモン methopr-

ene ならびにその徐放製剤Aに対する蚊幼虫の発育段階における感受性の変化について. 衛生動物, **25** (2) : 185-189.

Schaefer, C. H. and W. H. Wilder (1972) : Insect developmental inhibitors : A practical evaluation as mosquito control agents. *J. Econ. Ent.*, **65** (4) : 1066-1071.

Schaefer, C. H. and W. H. Wilder (1973) : Insect developmental inhibitors. 2. Effects on target mosquito species. *J. Econ. Ent.*, **66** (4) : 913-916.

Schaefer, C. H. and E. F. Dupras, Jr. (1973) : Insect developmental inhibitors. 4. Persistence of ZR-515 in water. *J. Econ. Ent.*, **66** (4) : 923-925.

Spielman, A. and C. M. Williams (1966) : Lethal effects of synthetic juvenile hormone on larvae of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Science*, **154** : 1043-1044.

Summary

The insect growth regulator, methoprene, was evaluated against mosquito larvae in the laboratory. Methoprene, which contains more than 90% of the active ingredient, was diluted with ethyl alcohol, and applied to 20 larvae kept in 250 ml of distilled water in a 85×100 mm container at 25°C. Granulated larval food was added as required. The individuals which failed to moult into normal pupae or adults were counted every day until all surviving larvae became

adults. The following results were obtained.

1. The sensitivity of larvae of *Culex pipiens pallens* to methoprene varied with the developmental stages. IC_{50} values were 0.028 ppm at the late 3rd-instar and 0.00037 ppm at the very late 4th-instar stage.

2. The effects of methoprene to seven species of mosquito larvae, *Culex tritaeniorhynchus sum-morosus*, *C. orientalis*, *C. infantulus*, *Aedes togoi*, *A. albopictus*, *A. aegypti* and *Armigeres subalbatus*, were compared. This compound exhibited only moderate activity against six species, but less activity against *Armigeres subalbatus*.

3. The emergence-inhibiting effects of methoprene (technical ZR-515®), and its slow-release formulations, SR-10® and SR-10 F®, persisted for several days to the larvae of *C. p. pallens*.

The field tests were conducted against the natural populations of *C. p. pallens* breeding in the lotus ponds in the summer of 1974. The larvae in all stages and pupae were numerous at the time of application. The slow-release formulations, SR-10 and SR-10 F, were applied by a spray mobile at the rate of 1.0 or 10 g of the active ingredient per 100 m² of the pond surface.

Daily pupal collections and bioassay of the treated water were conducted.

The treatments at the higher dosage prevented the mosquito emergence from the ponds for 11 days and at the lower dosage for 7 days.