数種ユスリカの殺虫剤感受性試験

佐藤 英毅* 安野 正之**

* 川崎市衛生研究所 (〒 210 川崎市川崎区大島)

** 国立公害研究所生物環境部 (〒 300-21 茨城県筑波郡谷田部町)

(受領: 1979年7月11日)

Test on Chironomidae larvae susceptibility to various insecticides

Hideki SATO* and Masayuki YASUNO**

* *Publish Health Institute of Kawasaki City, Kawasaki 210, Japan*

** *National Institute for Environmental Studies, P. O. Yatabe,
Ibaraki 300-21, Japan*

近年, 人為による汚染等によって各種水域においてユスリカの多量な発生が相次ぎ不快昆虫として問題となっている。その多くは下水溝に生息する *Chironomus yoshimatsui* によるものであるが(井上・三原, 1975; 田原, 1975; 田原ら, 1978), 養鰻池のような特殊な水域からのユスリカも問題となった(大倉・田原, 1975)。ユスリカは種類も多くその生息域, および生態も多種多様であるために, 生息場所を異にするいくつかの種類についてその殺虫剤感受性を調べることは重要であると考えられる。しかしながらこれまで種の同定が困難であることから多くの種を区別して検討することができなかった。ここでは5種類のユスリカを用いて9種類の殺虫剤に対する感受性試験を行った。

ユスリカの殺虫剤感受性試験は Hilsenhoff (1959, 1966), Edwards *et al.* (1964), Mulla and Khasawinah (1969) らによって行われ, 試験方法の開発もされてきた。しかしながらわが国においては標準的な試験方法が確立されていないので, 前記の報告等においても実地で試験する方法がとられている。Muirhead and Thomson (1971) も強調しているように, ユスリカ防除のために新しい殺虫剤の開発と室内における殺虫剤の効果判定のための精度の高い方法が要求されている。したがってユスリカに対する試験方法の確立は急務と考えられ, この研究ではこの点が留意された。さらに標準となる試験動物の確立も考慮されねばならない。その目的にそうために, ここでは国立公害研究所で累代飼育されている *Paratanytarsus parthenogenetica* を試験に供

した。

材料および方法

供試昆虫

Paratanytarsus parthenogenetica, 国立公害研究所の温室で見つけられ(佐々・安野, 1977), 累代試育されている系統(安野ら, 1978)。

Chironomus yoshimatsui, 土浦市荒川沖の下水溝より1977年11月採集した集団。

Procladius sp. 国立公害研究所のコンクリート池から1978年1月採集した集団。

Polypedilum nubifer, 同上。

Psectrocladius sp., 同上。

供試薬剤

resmethrin, fenthion, fenitrothion, temephos, dichlorvos, propoxur, meobal, *p*, *p'*-DDT, lindane

の9種類について原体をアルコールに溶解して供試した。

試験方法

実験は22°C±1°Cの恒温室で行われた。

ユスリカ幼虫は野外で採集した集団または温室で飼育した集団より4令幼虫を選び出し試験室内に1日以上放置して水温に馴らしたのち供試した。

100ml 容量のビーカーに人工軟水*を100ml 取りユス

* 蒸留水中に CaCl₂, MgSO₄, K₂SO₄, NaHCO₃, を含み pH 6.9~7.1, 硬度25ppm。

Fig. 1 Variation of susceptibility of Chironomid larvae to insecticide with the duration of exposure

Open symbols: *Procladius* sp., semi solid symbols: *Chironomus yoshimatsui* and solid symbols: *Polypedilum nubifer*

リカの終令幼虫を10または20個体入れた。用いた薬剤濃度は1.2倍の希釈段階であった。観察は24時間後、48時間後あるいは72時間後に行った。繰り返しは3ないし5回行った。

殺虫剤の効果の判定は次の2つの方法によった。

1) 薬剤浸漬後24時間、48時間ないし72時間後にピンセットで刺激したとき動くものを生存個体、動かないものを死亡個体、わずかし動かかないものは中毒個体として後者に含めた。これを以後生死による判定方法と呼ぶ。

2) 薬剤浸漬後24時間目に造巢の材料として緑藻 (*Golenkinia radiata*) を一定量加え、さらに1時間経過後に観察を行い、巢を作った個体と、まったく作れなかった個体にわけた。この場合その中間的な段階として、巢を作る努力をしているが完成できず頭部の一部を潜らすかまたはダンゴ状に藻類を丸めるのみのものがあるが、ここでは巢を作れない個体の範ちゅうに入れた。これを以後巢による判定方法と呼ぶ。

これらの成績は Briss のプロビット法から回帰直線および LC_{50} (あるいは50 % Effective Concentration; EC_{50}) を求めた。

結 果

1. 浸漬時間と死亡率

24時間、48時間あるいは72時間と観察時間をかえたときに死亡率がどう変わるかについてしらべた結果の代表を Fig. 1 に示す。 *Procladius* sp. では24時間後と48時間後における LC_{50} の差は temephos (0.849ppm-0.216ppm) でも p, p' -DDT (0.0036ppm-0.001ppm) でも約4倍である。しかし48時間後の観察では、どちらも回

帰直線の傾きは緩やかになる傾向がある。 *C. yoshimatsui* についても fenthion の場合には24時間と48時間の観察で死亡率に約4倍 (0.103ppm-0.026ppm) の違いが見られ、回帰直線の傾きが緩やかになるのは同じである。Fig. 1 に示していないが、この種は resmethrin, dichlorvos および propoxur での LC_{50} は24時間でも48時間でもほとんど変わらない。 *P. nubifer* では p, p' -DDT において Fig. 1 に示されるごとく、回帰直線はやや左に移動するが傾きはほとんど変わらなかった。

2. 効果判定基準の比較

ユスリカの種類の違いによって殺虫剤に対する反応がかなり異なる傾向を示した。営巢しない *Procladius* sp. は比較的行動が活発で容器を軽くたたく程度でも生存しているものは動く。 *Psectrocladius* sp. では営巢の材料を入れなくても自らの粘液で器壁に巢を作りこれをピンセットで刺激すると生存個体は素早く飛び出す。 *C. yoshimatsui* または *Polypedilum nubifer* のごとくヘム色素を有するものでは、 p, p' -DDT ないし lindane によって死に至る場合、体色が暗赤色にかわり、コイル状にちぢまるが、有機リン系およびカーバメート系の殺虫剤による場合では長く伸び、体色が薄味を帯びて死に至る。しかし濃度によっては刺激しても動かないものが清浄水にもどすと再び生きかえることがあった。ピンセットで刺激した場合、 *C. yoshimatsui* では正常個体はただちにコイル状に身をちぢめるが *Polypedilum nubifer* では刺激後1~2秒経過してから動き出すのが普通であった。 *Paratanytarsus parthenogenitica* においても行動が終始緩慢で生と死または瀕死の判定は容易でない。このように薬剤浸漬後の生死の判定は繁雑でむずかしい。したがって死亡と判定するためには多大の時

Fig. 2 Variation of susceptibility of Chironomid larvae to insecticide due to the difference of criterion

Solid lines indicate the method of success-failure of nest making and broken lines indicate the dead-alive method. Pol.: *Polypedilum nubifer*, Pse.: *Psectrocladius* sp.

間と労力を要する。ところが、営巣する種については浸漬法によって薬剤に暴露された後巣を作ることができるか否かを一つの効力判定基準にした場合、完全な巣を作れる個体、まったく作れない個体および造巣の材料をダンゴ状にするのみか頭部の一部を潜らす程度の穴を作る個体などおおむね3つの型に比較的容易に分けられた。今回供試したユスリカでは造巣に要する時間は普通5分ないし15分であった。したがって、造巣の材料を与え一定時間、たとえばこの実験で行ったように1時間後に観察を行えば十分判定を下すことができる。

ここでは生死によって判定する場合と、巣によって判定する場合の比較をした。Fig. 2には *Psectrocladius* sp.と *Polypedilum nubifer* についての例が示されている。fenitrothion と *p,p'*-DDT のそれぞれについて、どちらの種の場合も二つの方法によって得られた結果はよく似ている。生と死の方法による、いわゆる LC_{50} と巣による方法での EC_{50} はよく一致し、そうでない場合でも両者のあいだに有意の差は認められなかった。回帰直線の傾斜は多少巣による場合の方が急であるが、これも図にみられるように大きな違いはない。

3. 各種薬剤に対する感受性

5種類のユスリカ幼虫に対する殺虫剤の効力を *Procladius* sp.を除いて（この種は巣を作らない）巣による判定方法から検討した。この方法においては殺虫剤浸漬24時間後に *Golenkinia ladiata*（緑藻）を入れるため48時間後の観察は行わず、すべて24時間についての結果をTable 1にまとめた。概して *C. yoshimatsui* は殺虫剤感受性が低く、その反対に *Paratanytarsus partheno-*

genetica は感受性がきわめて高く、*Polypedilum nubifer* はこれに次ぐ。すなわちユスリカの種類の違いによって殺虫剤に対する感受性は異なることがわかった。今回使用した殺虫剤に関するかぎりでは EC_{50} は3 ppb から16.18ppm までおよそ4万倍のひらきがあった。

殺虫剤から見た場合には temephos がもっとも高い効力を示すといえるが、興味深いことに *Procladius* sp. の場合には LC_{50} は0.85ppm と特異的に高かった (Fig. 1にも示されている)。ところが *Procladius* sp. はどの薬剤にも強いわけではなく resmethrin にはきわめて弱く、*p,p'*-DDT に対しても感受性が高い。temephos と同じ有機燐系殺虫剤である fenitrothion に対しては他の種類とほぼ同じ程度の感受性を示した。temephos に次ぐのは *p,p'*-DDT, fenthion, resmethrin の3薬剤で fenitrothion, lindane, dichlorvos の順に効力は落ち、meobal と propoxur のようなカーバメート系殺虫剤はユスリカに対する効力が一段さらに低いといえよう。このことは *C. yoshimatsui* の場合に顕著であった。さらに特筆すべきことは *C. yoshimatsui* については fenitrothion の EC_{50} が4 ppm と高く、ほとんど効力を示さないことであろう。

考 察

ユスリカの殺虫剤感受性試験において、Hilsenhoff (1959), Edwards *et al.* (1964) らは大型の水槽に泥を入れて巣を作らせた後殺虫剤を投入して効果判定を行った。そして Hilsenhoff (1959) は dipterex, DDVP および malathion が有効であるとした。しかしこの場合には薬剤の吸着や分解があって効果は不明確になる。したがって LC_{50} 値には意味がない。この意味で Mulla and Khasawinah (1969) は泥のかわりに砂を用いたが生死の判定に要する時間と労力はいずれの場合でも多大であると思われる。この報告に示されたように一定の時間薬剤に暴露した後に造巣の材料を与え、巣を作ることができるかどうかを判定する方法は生死によって判定する方法よりも容易であるばかりでなく、判定がより客観的であることからますますユスリカ幼虫における殺虫剤感受性の判定方法として十分使用に耐えるものと考えられる。

造巣の材料として今回は緑藻の *Golenkinia radiata* を用いたが、巢材としてはより標準的で容易に入手できる適当な素材、たとえば粒子の大きさをそろえた silt を用いることができよう。

浸漬時間に関しては、生死による判定方法の困難さは時間が長くても変わらなかった。また死亡率は時間の長

Table 1 The equations of concentration—nest making failure regression of various insecticides to different species of Chironomid larvae

	Insecticide	Regression equation	(variance of coefficient)	EC ₅₀ *	(95% confidence interval)
<i>Paratanytarsus parthenogenetica</i>	resmethrin	$y=3.59x+14.08$	(0.47)	0.0030	(0.0025 -0.0034)
	fenitrothion	$y=2.32x+10.24$	(0.12)	0.005	(0.004 -0.007)
	temephos	$y=1.75x+11.12$	(—)	0.0003	(0.0002 -0.0005)
	<i>p, p'</i> -DDT	$y=2.31x+11.66$	(0.07)	0.0014	(0.0011 -0.0016)
<i>Polypedilum nubifer</i>	resmethrin	$y=5.84x+13.65$	(0.25)	0.033	(0.030 -0.036)
	fenthion	$y=3.49x+15.34$	(0.19)	0.0012	(0.0011 -0.0014)
	fenitrothion	$y=3.56x+13.72$	(0.59)	0.0031	(0.003 -0.0041)
	temephos	$y=5.38x+23.24$	(1.78)	0.00032	(0.00028-0.00037)
	dichlorvos	$y=3.54x+ 8.57$	(0.14)	0.098	(0.087 -0.109)
	propoxur	$y=2.76x+ 7.97$	(0.15)	0.087	(0.074 -0.095)
	meobal	$y=3.90x+ 6.66$	(0.10)	0.376	(0.330 -0.419)
	<i>p, p'</i> -DDT	$y=4.54x+ 3.25$	(1.65)	0.015	(0.014 -0.017)
	lindane	$y=2.51x+ 9.46$	(0.21)	0.017	(0.014 -0.019)
<i>Psectrocladius</i> sp.	resmethrin	$y=4.35x+13.66$	(0.38)	0.010	(0.009 -0.011)
	fenthion	$y=5.02x+15.26$	(9.24)	0.009	(0.008 -0.010)
	fenitrothion	$y=4.37x+13.76$	(0.56)	0.010	(0.009 -0.011)
	temephos	$y=5.35x+17.73$	(1.37)	0.0042	(0.0039 -0.0050)
	dichlorvos	$y=4.55x+10.09$	(0.83)	0.076	(0.069 -0.084)
	propoxur	$y=2.58x+ 7.47$	(0.38)	0.110	(0.093 -0.127)
	meobal	$y=2.28x+ 4.15$	(0.01)	2.359	(2.008 -2.892)
	<i>p, p'</i> -DDT	$y=2.92x+ 8.64$	(0.004)	0.057	(0.050 -0.064)
	lindane	$y=2.79x+10.07$	(0.21)	0.015	(0.013 -0.018)
<i>Chironomus yoshimatsui</i>	resmethrin	$y=6.85x+ 9.76$	(1.01)	0.202	(0.183 -0.222)
	fenthion	$y=3.20x+ 8.17$	(0.19)	0.103	(0.086 -0.122)
	fenitrothion	$y=2.90x+ 3.25$	(0.31)	4.009	(3.37 -5.162)
	temephos	$y=5.43x+14.90$	(0.75)	0.015	(0.013 -0.017)
	dichlorvos	$y=3.16x+ 7.06$	(0.26)	0.224	(0.189 -0.267)
	propoxur	$y=2.59x+ 1.87$	(0.23)	16.186	(11.364 -27.162)
	meobal	$y=4.84x+ 0.23$	(1.74)	9.646	(8.274 -11.196)
	<i>p, p'</i> -DDT	$y=4.91x+13.08$	(0.72)	0.023	(0.020 -0.026)
	lindane	$y=2.58x+ 7.70$	(0.10)	0.090	(0.073 -0.116)
<i>Procladius</i> sp.**	resmethrin	$y=2.80x+13.57$	(0.21)	0.0009	(0.0007 -0.00011)
	fenitrothion	$y=4.40x+ 5.60$	(0.02)	0.732	(0.629 -0.844)
	temephos	$y=4.66x+ 5.33$	(0.01)	0.849	(0.732 -1.071)
	<i>p, p'</i> -DDT	$y=4.29x+15.37$	(0.45)	0.0038	(0.0033 -0.0044)

* 50% Effective Concentration (ppm)

** Assessed by mortality since this species does not make nest

さによって変わってくることが考えられたが、殺虫剤またはユスリカの種類によっては必ずしも変化しないことが明らかとなった。もし変化する場合でもそのプロビット死亡率と濃度の関係において回帰直線の傾きが緩やかになるように変化し、集団としては殺虫剤に対する反応の幅が広くなることを示した。またその場合でも LC₅₀

は24時間から48時間で4倍程度変化するのみで、その分散値に大きな差がないことから、浸漬時間は24時間で十分であると考えられる。

井上・三原 (1975), 田原 (1975) らはユスリカ 幼虫に最も効果的な殺虫剤は temephos であるとしている。これらの報告は実地試験における成績で、対象は C.

yoshimatsui であるが今回の試験においてもほぼ同じ結果を得た。しかしながら *Procladius* sp. では resmethrin および *p,p'*-DDT に対する感受性は比較的高かったにもかかわらず、temephos に対する感受性は著しく低く temephos はどのユスリカにも効力を持つという一般的な結論はさしひかえねばならないことを示した。

ユスリカには薬剤に対して概して感受性の高い種類と低い種類の存在することがわかったが、殺虫剤の種類によっては感受性が大きく異なることがあることに注意すべきであろう。

代田 (1969) によって *Chironomus dorsalis* (*C. yoshimatsui*?) を累代飼育する方法が確立されている。不快昆虫として *C. yoshimatsui* が問題となるときには累代飼育された系統の *C. yoshimatsui* を標準動物として用いることができよう。ここで用いた系統の *Paratanytarsus parthenogenetica* は飼育が容易であり、この研究から明らかなように殺虫剤に対して一般に感受性が高いことから、標準試験動物として適当であると思われる。

ま と め

ユスリカ幼虫に対する殺虫剤の毒性試験の室内における標準的な方法を確立する目的で浸漬時間による相違と相対的な毒性の判定方法について実験を行った。

浸漬時間を 24 時間、48 時間、72 時間と比較したところ、時間が経過しても死亡率はあまり大きく変わらないことが多かったが、薬剤によっては半数致死濃度が 4 倍程度変化するものがあつた。このとき、回帰直線の傾きは緩やかになる傾向があつた。

判定方法として動く・動かない(生死による判定方法)または巣を作る・作らない(巣による判定方法)の両者を比較したところ、後者の方がより明確にまた容易に判定できることがわかった。

巣による判定方法で 5 種のユスリカについて各種の殺虫剤感受性試験を行ったところ、*Paratanytarsus parthenogenetica* は最も感受性が高く *Polypedilum nubifer* がこれについていた。*Chironomus yoshimatsui* は概して各種の殺虫剤に対して感受性が低かった。

temephos はほとんどの種に対して高い毒性を示したが *Procladius* sp. に対しては特異的に低い値が得られ、種による感受性の相違に大きな幅のあることが示された。

カーバメート系殺虫剤の propoxur と meobal はここで供されたユスリカの種類に関する限りほとんど効力を示さなかった。

本研究を奨められユスリカ幼虫の同定をして下さった国立公害研究所所長 佐々学博士に深く謝意を表します。また実験にあたっての種々の御助力に対し国立公害研究所生物環境部畠山成久博士、長谷川淳一氏、さらにデータの処理にあたりご援助いただいた電算機管理室松戸修氏に謝意を表します。

引用文献

Edwards, R.W., H., M. A. Learner, and P. J. Maris (1964) : The control of chironomid larvae in ponds TDE (DDD). *J. Appl. Ecol.* 1 : 97-117.

Hilscnhoff, W. L. (1959) : The evaluation of insecticides for the control of *Tendipes plumosus* (Linnaeus). *J. Econ. Entomol.*, 52 : 331-332.

Hilscnhoff, W. L. (1966) : Effect of aquatic insects and related animals. *J. Econ. Entomol.*, 59 : 1520-1521.

井上義郷, 三原実(1975) : 我が国における不快昆虫としてのユスリカに関する研究 1. モデル実験による数種有機燐殺虫剤のセスジユスリカ終令幼虫に対する効力評価. 衛生動物, 20(2・3) : 135-138.

Muihead, and R. C. Thomson (1971) : Pesticides and fresh water fauna, 230 pp., Academic Press, London & N. Y.

Mulla, M. S. and A. M. Khasawinah (1969) : Laboratory and field evaluation of larvicides against Chironomic Midges. *J. Econ. Entomol.*, 63(1) : 37-41.

大倉正, 田原雄一郎(1975) : 養鰻池から発生するユスリカの防除に関する研究. 水産増殖, 23(1) : 1-7.

佐々学, 安野正之 (1977) : 日本産ユスリカ科 Chironomidae に関する知見追加. 衛生動物, 28(1) : 20.

代田昭彦(1969) : アカムシの研究. 養魚餌料の飼育培養法, 145 pp., 恒星社厚生閣, 東京.

田原雄一郎(1975) : 都市河川の汚染とセスジユスリカの大量発生ならびにその薬剤防除の試み. 衛生動物, 26(4) : 247-251.

田原雄一郎, 松永秀子, 佐藤淳夫(1978) : 都市河川におけるセスジユスリカの薬剤防除, とくに有効水域と流失幼虫の生死について. 衛生動物, 29(2) : 87-91.

安野正之, 菅谷芳雄, 佐々学(1978) : 環境汚染物質試験動物としてのユスリカの一つ *Lundstroemia parthenogenetica* の生物学的知見. 衛生動物, 29(1) : 27.

Summary

A standard method for evaluation of the relative effectiveness of insecticides on Chironomid larvae was developed. After 24 hours exposure to insecticide in a beaker, *Golenkinia radiata*, a

kind of green algae was added as a nest material and one hour later the success or failure in making a nest by Chironomid larvae was assessed. Most species used made a nest within 15 minutes, normally when the algae were added. The larvae suffered from the insecticide could not make a nest at all or could not complete a nest.

There was no significant difference between the dose-response regression based on the dead-alive method and that based on the method of success-failure of nest making. However, the latter was superior as a criterion because of the clarity and easiness of evaluation, compared with the dead-alive method in which some alive larvae would be regarded as dead.

The variation of mortality in Chironomid larvae due to the difference in exposure period to the insecticide from 24 hours to 72 hours was studied. No significant difference could be found in some species in the 50 percent lethal concentra-

tion, whereas some other species showed approximately four times the difference in the concentration between a 24-hour exposure and a 48-hour exposure. Susceptibility of four species of Chironomid larvae to various insecticides was evaluated by the method of success-failure of nest making. The dead-alive method, however, was applied to *Procladius* sp. which does not make a nest. *Paratanytarsus parthenogenetica*, which had been colonized in the laboratory, was the most susceptible in general to the insecticides tested, whereas *Chironomus yoshimatsui*, which is an inhabitant of drains and one of the important pest insects in Japan, showed a rather high tolerance to most insecticides. Temephos showed a high toxicity with Chironomid larvae in the present study. However, *Procladius* sp. showed exceptionally low susceptibility to this insecticide.