

新 制  
農  
578  
京大附函

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

川 田 均

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

川 田 均

## 目次

|      |  |    |
|------|--|----|
| 第1章  | 緒言   | 1  |
| 第2章  | ピリプロキシフェンの衛生害虫に対する基礎活性および作用性<br>評価   | 5  |
| I.   | イエバエ <u>Musca domestica</u> に対する基礎活性                                       | 5  |
| 1    | 培地混入法による活性評価   | 5  |
| 2    | 限定時間浸漬法による活性評価   | 11 |
| 3    | 局所施用法による活性評価および共力剤の添加効果  | 15 |
| 4    | 幼虫体表よりの吸収性   | 19 |
| 5    | 殺卵活性   | 25 |
| 6    | 産卵抑制効果   | 27 |
| 6-1  | 成虫期処理による産卵の抑制  | 29 |
| 6-2  | 幼虫期処理による産卵の抑制  | 31 |
| II.  | カ類に対する基礎活性   | 36 |
| 1    | アカイエカ <u>Culex pipiens pallens</u> に対する基礎活性                                | 39 |
| 2    | ネッタイシマカ <u>Aedes aegypti</u> および各種系統ハマダラカ<br><u>Anopheles sp.</u> に対する基礎活性 | 43 |
| III. | チャバネゴキブリ <u>Blattella germanica</u> に対する基礎活性                               | 46 |
| 1    | 幼虫に対する羽化阻害活性評価   | 46 |
| 2    | 成虫に対する産卵抑制作用   | 55 |
| 2-1  | 局所施用法による活性評価   | 56 |
| 2-2  | 摂食法による活性評価   | 58 |
| 3    | 任意接触法による活性評価   | 64 |
| IV.  | まとめ  | 73 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 第3章  | ピリプロキシフェン製剤の開発  | 76  |
| I.   | ピリプロキシフェン粒剤の開発  | 76  |
| 1    | 粒剤の製剤要因と効力  | 78  |
| 2    | 粒剤の効力と作用性   | 85  |
| 2-1  | イエバエ防除における粒剤の効力と作用性                                   | 85  |
| a.   | 豚糞面散布による準実地試験   | 89  |
| b.   | 人工培地中での残効性  | 91  |
| c.   | ピリプロキシフェン粒剤のイエバエ幼虫に対する効力発現機構                          | 93  |
| 2-2  | 静止水系散布における粒剤の効力と作用性                                   | 100 |
| a.   | カ類幼虫に対する残効性評価   | 105 |
| b.   | 野外水槽における準実地試験   | 107 |
| c.   | ピリプロキシフェン粒剤の静止水中での作用性                                 | 112 |
| 2-3  | 流水系散布における粒剤の効力と作用性                                    | 117 |
| II.  | その他の製剤の開発   | 125 |
| 1    | エアゾール製剤   | 125 |
| 2    | ULV (超微量) 製剤  | 132 |
| III. | まとめ   | 138 |
| 第4章  | 実用効果  | 140 |
| I.   | 鶏舎における散布試験  | 140 |
| II.  | ソロモン諸島国におけるマラリア媒介蚊防除試験                                | 144 |
| 1    | ピリプロキシフェン乳剤による <i>Anopheles farauti</i> 幼虫の野外防除試験     | 146 |
| 2    | ピリプロキシフェン粒剤による <i>Anopheles punctulatus</i> 幼虫の野外防除試験 | 151 |

|                |     |
|----------------|-----|
| 第5章 総合考察 ..... | 158 |
| 摘要 .....       | 161 |
| 謝辞 .....       | 165 |
| 引用文献 .....     | 166 |

## 第1章 緒言

昆虫体内のアラタ体より分泌されるJHは、前胸腺より分泌される脱皮ホルモンと共に作用し、昆虫の変態を司どる働きを持つ。昆虫は幼虫から蛹、あるいは幼虫から成虫への劇的な変態が行なわれる終齢幼虫期に最もJHに対する感受性が強くなり、この時期に過剰のJHを与えると、蛹死、変態異常、過剰脱皮等の羽化阻害現象がみられる。このことから、幼若ホルモン様物質(JHM)の合成研究、殺虫剤への応用研究が数多くなされてきた(Bowers *et al.*, 1965; 1966; Bowers and Nishida, 1980; Henrick *et al.*, 1973; 1976; Dorn *et al.*, 1981 など)。これらの研究によって見出された化合物の多くは、環境中での安定性の低さや、製造コスト、そして殺虫剤としての効力が不十分であったことなどのことから実用までは至っていない。その中で既に実用に供されているJHMとしては、メトブレンやハイドロブレン(Henrick *et al.*, 1973; 1976)、フェノキシカーブ(Dorn *et al.*, 1981)が代表的なものである。メトブレンはハエ、カ等の双翅目昆虫やノミ類に高い効果を示し、Alto-sid(ハエ、カ剤)あるいはPrecor(ノミ剤)の商標のもとに上市されている。ハイドロブレンはゴキブリに高い羽化阻害効力を示し、Altozar、Gencorの商標のもとに上市されている。これら2種のJHMがもっぱら衛生害虫防除の分野に適用されてきた最大の理由は、このような天然JHの構造的模倣物(テルペン系)の外界での安定性が低く、農業用の分野まで適用できなかつたことである。フェノキシカーブはカ、ゴキブリ、貯穀害虫、アリなどの他、カイガラムシやキジラミにも有効で、農業用の分野にもJHMが適用された数少ない例である。

一方、JHMと並んで昆虫成長制御剤(Insect Growth Regulator, IGR)の範疇に含まれる化合物群として、キチン形成阻害剤(Chitin Synthesis

Inhibitor, CSI) がある。CSI はサイロマジン (Hall and Foehse, 1980) の様なトリアジン型の化合物は例外として、ディフルベンズロン (Wellinga *et al.*, 1973) に代表されるベンゾイルフェニルウレア型化合物が主流を占める。CSI は昆虫の脱皮の際の新しいクチクラの合成を阻害し死に至らしめる作用を特徴としており、JHM とは全く異なった作用性を有するものであるが、いずれも従来の殺虫剤とは異なった新しい作用性を有し、低毒性で、昆虫に対し特異的に効力を発揮する (CSI は節足動物全般にスペクトラムが広がる可能性があるが) ということから、両者は IGR を代表するものとして並び称されることが多い。この様な新しい作用性を持った化合物は、従来の殺虫剤に対する昆虫の抵抗性の発達、農薬による環境破壊等の問題が深刻化する現代においては Williams (1967) のいう所の "第3世代" の殺虫剤として注目されており、現在も多くの研究者によって開発が行なわれている。その代表的なものを図1に示した。

以上の様な背景の中で、Ohsumi *et al.* (1985) はメトブレンとは著しく構造の異なるオキシムエーテル系化合物が JH 活性を示すことを見出し、その後のスクリーニングの結果 Hatakoshi *et al.* (1987) は、4-フェノキシフェノキシ構造を有するピリジルエーテル化合物ピリプロキシフェン (4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl ether) がイエバエ、アカイエカ幼虫に対し極めて高い羽化阻害活性を示すことを見出した。

ピリプロキシフェンはメトブレン等のテルペン系化合物に比較して、極めて活性が高く、外界での安定性に優れていることを大きな特徴としている (川田ら, 1986; 図2)。また、本化合物はアブラムシ、カイガラムシ、オンシツコナジラミ等の農業害虫に対しても高い活性を示し (波多腰・中山, 1987)、この分野への適用が期待されている。

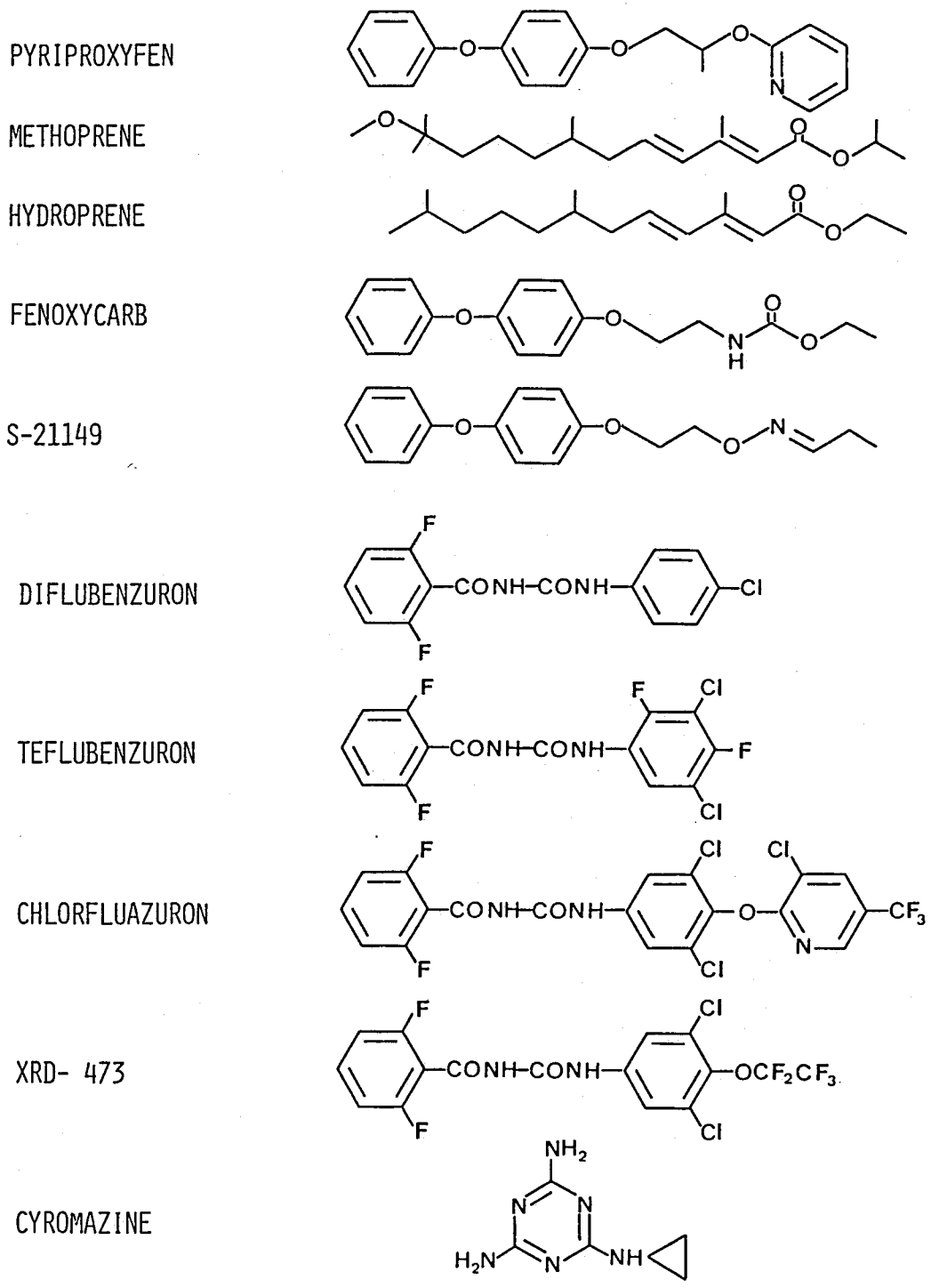


Fig. 1 Insect growth regulators examined in the study.



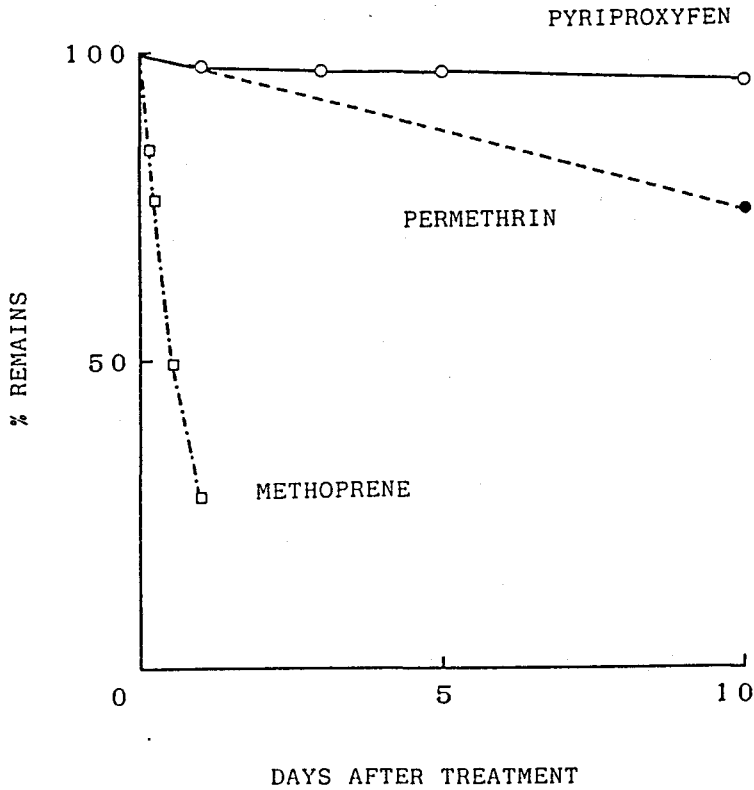


Fig. 2 Photo-stability of pyriproxyfen under irradiation of xenon lamp (6500-7500 lux). Chemicals were treated on the glass surface at the rate of 500 mg/ Petri dish (7 cm i.d.).

本研究の主テーマは、ハエ、カ、ゴキブリ等の衛生害虫を対象とした防疫用分野におけるピリプロキシフェンの開発であり、具体的には、

- (1) 基礎活性評価
- (2) 実用製剤の開発、および製剤の作用性の検討
- (3) 実用効果の確認と適用分野の探索

が主たるものである。次章よりこれらについての研究成果に関する詳細を述べる。

## 第2章 ピリプロキシフェンの衛生害虫に対する基礎活性および作用性 評価

ピリプロキシフェンのイエバエ Musca domestica、アカイエカ Culex pipiens pallens、ネッタイシマカ Aedes aegypti、各種マラリア蚊 Anopheles sp.、チャバネゴキブリ Blattella germanica 各々の幼虫あるいは成虫に対する諸活性を検定した。

### I. イエバエ Musca domestica に対する基礎活性

#### I-1 培地混入法による活性評価

ピレスロイド系殺虫剤、および有機リン系殺虫剤に対して様々な感受性を示すイエバエ数系統を用い、成虫の薬剤感受性と幼虫の IGR 剤に対する感受性との関係について検討を行なうとともにピリプロキシフェンの羽化阻害活性を各種 IGR 剤のそれと比較した。

#### 材料および方法

##### A. 供試虫

###### イエバエ Musca domestica

下記に示す6系統の雌成虫（羽化後3-5日齢）および2日齢幼虫（孵化後2日を経過した幼虫、2齢後期）および4日齢幼虫（終齢後期）を使用した。

- 1) CSMA系
- 2) 都城系 … 宮崎県都城市都城農協種豚センターにおいて、19

83年6月に採集。

- 3) 益子系 … 栃木県益子町養豚場において、1984年9月に採集。
- 4) 赤城系 … 群馬県勢多郡富士見村大字赤城山において、1984年8月に採集。
- 5) 夢の島系 … 東京都第3夢の島において、1982年9月に採集。
- 6) 八尾系 … 大阪府八尾市ごみ処理場において、1982年10月に採集。

## B. 供試薬剤

### a. ピレスロイドおよび有機リン剤

- 1) Pyrethrin (purity 21.6%)
- 2) d-t-80 Tetramethrin (purity 93.5%)
- 3) Permethrin (purity 90.4)
- 4) d-t-80 Resmethrin (purity 96.7%)
- 5) Fenitrothion (purity 96.7%)

### b. I G R 剤\*

- 1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)
- 2) Methoprene (purity 88.2%)
- 3) Fenoxycarb (purity 100%)
- 4) Diflubenzuron
- 5) Cyromazine (purity 100%)
- 6) Chlorfluazuron (purity 100%)
- 7) Teflubenzuron (purity 100%)

\* 4) については市販されている水和剤（ディミリン25%水和剤、三共

製薬)を、5)については試験用に作製した水和剤をそれぞれ使用した。

他剤は乳剤(有効成分5%、溶剤85%、乳化剤10%)を使用した。

### C. 試験方法

#### (1) イエバエ成虫の薬剤感受性調査 … 局所施用法

低温(0-3℃)で麻酔した供試虫の胸部背板に供試薬剤のアセトンによる希釈液を0.5μl宛施用した。24時間経過後、供試虫の致死を観察し、薬剤濃度と致死率の関係よりプロビット法(Bliss, 1934)によってLD<sub>50</sub>(50%致死薬量)を求めた(1群20頭、3-5反復)。

#### (2) イエバエ幼虫に対する活性評価 … 培地混入法

供試薬剤の乳剤あるいは水和剤の蒸留水による所定濃度希釈液10mlを人工培地\*5gと練り合わせ、150ml容のプラスチックカップに入れた。この試験培地に供試虫各50頭を放ち、紙製ウェスで蓋をした後、25℃60%RHの室内において飼育した。約2週間経過後、蛹化虫数および羽化虫数を記録し、下記の式に従って羽化率を求めた。

\* イエバエ用配合飼料(オリエンタル酵母k.k.)7:動物用粉末飼料(日本クレア)1。

$$\text{羽化率}(\%) = \frac{\text{羽化虫数}}{\text{蛹化虫数}^*} \times 100$$

\* キチン形成阻害剤, fenitrothion の場合は供試幼虫数。

得られた羽化率および無処理区の羽化率より下記の補正式に従って補正羽化阻害率を算出し、

$$\text{補正羽化阻害率}(\%) = \frac{\text{無処理区の羽化率} - \text{処理区の羽化率}}{\text{無処理区の羽化率}} \times 100$$

薬剤濃度と補正羽化阻害率との関係より50%羽化阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) を Bliss のプロビット法 (Bliss, 1934) により求めた (2-6 反復)。

### 結果および考察

試験に供試した各種系統イエバエ成虫の薬剤感受性を表1に示した。CSMA系イエバエは、いかなる薬剤に対しても高い感受性を示す標準系統である。それぞれの薬剤に対するCSMA系の  $LD_{50}$  値を1とした時の各系統イエバエの抵抗性比を括弧中に示した。都城系、益子系、赤城系の3種の野外採集系統はいずれも畜舎における殺虫剤散布による淘汰によってピレスロイド、有機リンいずれに対しても抵抗性を獲得した系統である。都城系の抵抗性因子は Takada *et al.* (1988) によって解析されており、第2および第5染色体上に存在するいわゆるMFO因子が主であることが明らかにされている。益子系については Motoyama (1984) の研究があり、第3染色体上の *kdr* 因子によるノックダウン抵抗性が主であることが示唆されている。赤城系の抵抗性因子は解析されていないが、*kdr* 因子の関与している可能性が極めて強い。3系統中では、益子、赤城系が比較的高い抵抗性比を示し、都城系の抵抗性は中程度と考えられた。夢の島系、八尾系の2系統はいずれも有機リン剤に対して高い抵抗性を有し、ピレスロイド剤には高感受性を示した。

培地混入法による各種系統イエバエ幼虫に対するIGRの活性を表2に示した。ピレスロイド剤、あるいは有機リン剤に抵抗性を示す5系統のイエバエ幼虫に対し、ピリプロキシフェンはメトプレンの10から100分の1以下の薬量で高い羽化阻害活性を示した。都城系を除く4系統のCSMA系に対する相対薬量比は2日齢幼虫で3.3から9.4、4日齢幼虫で4.9から22倍の範囲にとどまった。これに対して都城系イエ

Table 1 LD<sub>50</sub> values of several insecticides for each strain of housefly by topical application.

| Chemicals      | LD <sub>50</sub> (μg/female) |                |                 |                  |                  |                   |
|----------------|------------------------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------|
|                | Miyakonojo                   | Mashiko        | Akagi           | Yumenoshima      | Yao              | CSMA              |
| Pyrethrin      | 2.14<br>( 2.3 )              | 12.0<br>( 13 ) | 8.75<br>( 9.3 ) | -<br>( - )       | -<br>( - )       | 0.940<br>( 1.0 )  |
| d-Tetramethrin | 27.2<br>(120 )               | 95.6<br>(430 ) | 48.6<br>(220 )  | -<br>( - )       | -<br>( - )       | 0.224<br>( 1.0 )  |
| Permethrin     | 0.45<br>( 29 )               | 5.80<br>(360 ) | 7.14<br>(450 )  | 0.039<br>( 2.5 ) | 0.037<br>( 2.4 ) | 0.0157<br>( 1.0 ) |
| d-Resmethrin   | 0.24<br>( 26 )               | 2.42<br>(270 ) | 2.39<br>(250 )  | 0.021<br>( 2.2 ) | -<br>( - )       | 0.0094<br>( 1.0 ) |
| Fenitrothion   | 3.68<br>( 60 )               | 25.8<br>(430 ) | 5.48<br>( 89 )  | 136<br>(2200 )   | 94.4<br>(1600 )  | 0.0613<br>( 1.0 ) |

1) Figures in parentheses indicate the resistance ratio to susceptible CSMA strain.

Table 2 Inhibition of emergence of housefly<sup>1)</sup> by the artificial medium method  
A. 2-day-old larvae

| Chemicals     | IC <sub>50</sub> (ppm) |         |        |             |     |        |
|---------------|------------------------|---------|--------|-------------|-----|--------|
|               | Miyakonojo             | Mashiko | Akagi  | Yumenoshima | Yao | CSMA   |
| Pyriproxyfen  | 0.530                  | -       | 0.0449 | 0.0160      | -   | 0.0048 |
| Methoprene    | 9.60                   | -       | 5.93   | 3.79        | -   | 0.80   |
| Diflubenzuron | 0.34                   | -       | 0.20   | 0.290       | -   | 0.187  |
| Fenitrothion  | 41.5                   | -       | >66.7  | >66.7       | -   | 1.93   |

B. 4-day-old larvae

| Chemicals     | IC <sub>50</sub> (ppm) |         |        |             |        |        |
|---------------|------------------------|---------|--------|-------------|--------|--------|
|               | Miyakonojo             | Mashiko | Akagi  | Yumenoshima | Yao    | CSMA   |
| Pyriproxyfen  | 0.353                  | 0.0667  | 0.0533 | 0.0247      | 0.0153 | 0.0031 |
| Methoprene    | 3.97                   | 3.64    | 3.03   | 1.43        | 2.80   | 0.80   |
| Diflubenzuron | 38.3                   | >66.7   | -      | 4.04        | -      | 8.67   |
| Fenitrothion  | >66.7                  | >66.7   | >66.7  | >66.7       | >66.7  | 2.73   |

バエの相対薬量比は2日齢幼虫で110倍、4日齢幼虫で113倍と高い値を示した (Kawada *et al.*, 1987)。同様の傾向はメトブレンにも見られた。都城系イエバエは、前述の通りMFO因子による抵抗性系統であり、この薬剤代謝因子とJHMに対する低感受性との間に何らかの関連性のあることが示唆された。この問題については、第3、4節で検討を行なう。イエバエ幼虫の感受性は、島田・緒方 (1974) や武衛ら (1979) が報告しているように、ピリプロキシフェン、メトブレンのようなJHMに対しては若齢に比較して老齢のほうが高い傾向が、顕著ではないが見られた。またこれとは対照的にキチン形成阻害剤であるディフルベンズロンに対しては若齢の方が感受性が高くなる傾向が示唆された (Kawada *et al.*, 1987)。これは、JHMとキチン形成阻害剤の作用性の違いを示唆するものであるが、後者については昆虫種によって、あるいは化合物の構造の違いによって、傾向は様々である。例えば Retnakaran (1979) は、Spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* が餌に処理されたディフルベンズロンに対して終齢期に最も感受性が高くなるのに対して、EL-494 に対しては全く逆の傾向を示すことを報告している。化合物の昆虫に対する作用性は、化合物の処理方法によって微妙に異なると考えられ、例えば餌として与えた場合の摂取量が若齢と終齢とで異なることなどの要因を加味する必要があるであろう。本節の培地混入法も、化合物の培地中での安定性の違い等に効力が左右され、特にJHMにおいては昆虫の感受期を検定するには好ましい方法ではない。これを明らかにするためには複数の検定法によって総合的に考察する必要があるであろう。

C SMA系イエバエに対する各種IGR剤の培地混入法による活性を表3に示した。メトブレンのIC<sub>50</sub>値を1としたときの相対効力比を括弧内に示したが、ピリプロキシフェンは2日齢幼虫、4日齢幼虫いずれに対しても他剤に比較して極めて高い効力を示した。サイロマジン、クロル

Table 3 Emergence inhibition activities of IGRs against the CSMA strain housefly larvae by artificial medium method.

| Chemicals      | IC <sub>50</sub> (ppm)      |               |
|----------------|-----------------------------|---------------|
|                | 2-day-old                   | 4-day-old     |
| Pyriproxyfen   | 0.0048 (170 ) <sup>1)</sup> | 0.0031 (260 ) |
| Methoprene     | 0.80 ( 1 )                  | 0.80 ( 1 )    |
| Fenoxycarb     | 12.7 ( 0.06)                | 15.3 ( 0.05)  |
| Diflubenzuron  | 0.187 ( 4.3 )               | 8.67 ( 0.09)  |
| Cyromazine     | 0.333 ( 2.4 )               | 9.33 ( 0.09)  |
| Chlorfluazuron | 0.14 ( 5.7 )                | 0.867 ( 0.9 ) |
| Teflubenzuron  | 0.567 ( 1.4 )               | 5.20 ( 0.2 )  |
| Fenitrothion   | 1.93 ( 0.4 )                | 2.73 ( 0.3 )  |

<sup>1)</sup> Figures in parentheses indicate relative effectiveness against methoprene.

フルアズロン、テフルベンズロンといったキチン形成阻害剤の効力はディフルベンズロンとほぼ同等かこれに比べやや劣る結果となった。

## I-2 限定時間浸漬法による活性評価

前節で考察したように培地混入法は、薬剤の効力をより実用レベルで評価するには適しているが、昆虫の感受期を調べる目的には適していない。

そこで次に薬液への接触の時間を限定した浸漬法によって効力を評価した。

### 材料および方法

#### A. 供試虫

イエバエ *Musca domestica*



下記の3系統の2日齢幼虫および4日齢幼虫を使用した。

- 1) CSMA系      2) 都城系      3) 夢の島系

#### B. 供試薬剤

1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)

2) Methoprene (purity 88.2%)

3) Diflubenzuron

4) Fenitrothion (purity 96.7%)

\* 3) については市販されている水和剤（ディミリン25%水和剤、三共製薬）を使用した。他剤は乳剤（有効成分5%、溶剤85%、乳化剤10%）を使用した。

#### C. 試験方法 … 限定時間浸漬法

各薬剤の蒸留水による所定濃度希釈液2.5mlをアルミニウム製カップ（200ml容、底面直径6cm）に入れ、これに供試虫50頭を放ち所定時間浸漬した。所定時間経過後、供試虫を回収し蒸留水で水洗した後イエバエ用人工飼料15g中に放ち飼育した。2週間経過後に蛹化虫数、羽化虫数を記録し、I-1-2と同様の方法で50%羽化阻害濃度（IC<sub>50</sub>）を求めた。

#### 結果および考察

CSMA系イエバエ幼虫を薬液に3時間浸漬したときの羽化阻害効果を表4に示した。JHMに対する幼虫の感受性は、ピリプロキシフェンで1.6倍、メトプレンで5.0倍それぞれ4日齢幼虫の方が高い値を示した。前節の培地混入法ではそれぞれ1.5倍、1.0倍であったことを

Table 4 Inhibition of emergence by dipping of CSMA larvae in different age.

| Chemicals     | IC <sub>50</sub> (ppm) |           |
|---------------|------------------------|-----------|
|               | 2-day-old              | 4-day-old |
| Pyriproxyfen  | 0.14                   | 0.089     |
| Methoprene    | 11                     | 2.2       |
| Diflubenzuron | 5.7                    | >128      |
| Fenitrothion  | 7.1                    | 7.3       |

\* Dipping for 3 hrs.

考えると幼虫齢期間の感受性差は浸漬法による評価によってメトブレンにおいて顕著となったのに対しピリプロキシフェンではさほど顕著にはならなかったと言える。これはピリプロキシフェンがメトブレンに比較して幼虫体内に存在する時間が長いこと、すなわちJHMの感受期ではない2日齢の時期に取込まれたピリプロキシフェンが高い割合で感受期である終齢幼虫期まで存在することを示唆している。 Hatakoshi *et al.* (1987) は、*Manduca sexta* 5 齢幼虫の体液中でのピリプロキシフェンの半減期が 8. 2 時間と、メトブレンのそれ (5 - 5. 8 時間) に比較して長いことを報告しており、これを裏付けている。一方、ディフルベンズロンは 2 日齢幼虫に対してはメトブレンを上回る活性を示すのに対し、4 日齢幼虫に対しては全く活性を失った。この現象は、培地混入法においてディフルベンズロンが 4 日齢幼虫に対し低いながらも羽化阻害効果をもたらす (IC<sub>50</sub> = 8. 67 ppm) ことを考えると極めてドラスティックで

ある。ベンゾイルフェニルウレア型の化合物のクチクラからの吸収は一般に低く、接触よりはむしろ経口的に摂取した方が効果的であると言われており (Retnakaran *et al.*, 1985)、ディフルベンズロンが浸漬法によって効果をもたらすためにはより長時間を必要とするのではないかと考えられる。フェニトロチオンの幼虫齢期間での活性差はほとんど認められず、上記の IGR 2 剤との殺虫作用の違いを顕著に示している。

浸漬法によって各種系統イエバエ幼虫に対する活性を比較した結果を表 5 に示した。いずれの薬剤においても浸漬時間の長い方が高い効果を示したが、ピリプロキシフェンの 3 時間浸漬と 24 時間浸漬それぞれによる効果の差が 2.5 - 5.6 倍と小さいのに対して、メトプレンのそれが非常に大きくなっているのが特徴的である。これはフェニトロチンにおいても同様であった。この現象は化合物の昆虫体内への吸収性の違いを顕著に示していると考えられる。ピリプロキシフェンのイエバエ幼虫体

Table 5 Inhibition of emergence of housefly by dipping of 4-day-old larvae in IGR solution

| Chemicals     | IC <sub>50</sub> (ppm) |       |             |       |       |       |
|---------------|------------------------|-------|-------------|-------|-------|-------|
|               | Miyakonojo             |       | Yumenoshima |       | CSMA  |       |
|               | 3 hr                   | 24 hr | 3 hr        | 24 hr | 3 hr  | 24 hr |
| Pyriproxyfen  | 7.6                    | 2.0   | 0.21        | 0.083 | 0.089 | 0.016 |
| Methoprene    | >1000                  | 190   | 16          | 6.3   | 2.2   | 0.30  |
| Diflubenzuron | >1000                  | >1000 | >256        | >256  | >128  | >128  |
| Fenitrothion  | >128                   | 26    | >128        | 31    | 7.3   | 0.88  |

表よりの吸収性については、第4節において若干考察を行なう。

ディフルベンズロンはいずれの系統の幼虫に対しても効果が低かった。

### I-3 局所施用法による活性評価および共力剤の添加効果

I-1節において、ピリプロキシフェンに対する都城系イエバエ幼虫の感受性が、他系統に比べ特徴的に低いことが明かとなった。この原因として、代謝酵素による解毒分解と体表よりの吸収性の違いの2点が考えられた。そこで本節ではイエバエ幼虫に対する局所施用法によってピリプロキシフェンの活性を評価するとともに、共力剤の添加効果について検討を行なった。

#### 材料および方法

##### A. 供試虫

イエバエ Musca domestica

下記の4系統の5日齢幼虫を使用した。

- 1) C S M A系 2) 都城系 3) 赤城系 4) 夢の島系

##### B. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)
- 2) Methoprene (purity 86.4%)
- 3) Permethrin (purity 91.0%)
- 4) Fenitrothion (purity 96.7%)
- 5) Piperonyl butoxide (PBO, purity 87.8)
- 6) NIA-16388 (purity 94.6%)

### C. 試験方法 … 局所施用法

各供試虫の5日齢幼虫の胸部背側に、供試薬剤の所定濃度アセトン希釈液を0.5 $\mu$ l処理し、20頭の処理虫をイエバエ用人工飼料15g中に放ち飼育した。約2週間経過後蛹化虫数および羽化虫数を記録し、I-1の方法に従って補正羽化阻害率を求めた。薬量と補正羽化阻害率との関係から、Bliss (1934) のプロビット法により50%羽化阻害薬量 (ID<sub>50</sub>、Permethrin, Fenitrothion の場合は LD<sub>50</sub>) を求めた。共力剤は薬剤処理の24時間前、すなわち4日齢幼虫に処理した。この場合の補正羽化阻害率は下記の式に従って求めた(3-5反復)。

$$\text{補正羽化阻害率 (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A, 共力剤のみ処理した区; B, 共力剤処理後に薬剤を処理した区

### 結果および考察

結果を表6および図3に示した。CSMA系におけるID<sub>50</sub>値を1とした場合、それぞれの系統に対するピリプロキシフェンの相対薬量比は、都城系で160、赤城系76、夢の島系49となり、培地混入試験による相対順位と同じ結果を得た。PBOおよびNIA-16388を前日に処理した場合、都城系、赤城系においてはPBOの共力作用が認められ、25 $\mu$ g/頭処理で、都城系8.1倍、赤城系13倍の共力効果がそれぞれ得られた。NIA-16388処理による共力作用は都城系で3.0倍、赤城系で5.8倍と、PBOの効果のほぼ3分の1にとどまった。同様なPBOの共力作用はメトプレンにおいても認められた。これに対して夢の島系では、PBO、NIA-16388いずれの処理においても顕著な活性増強を認めなかった。PBOはMFOによる酸化的分解を阻

Table 6 Inhibition of emergence of housefly with topically applied<sup>1)</sup> pyriproxyfen

| Chemical                  | ID <sub>50</sub> (μg/insect) |         |             |          |
|---------------------------|------------------------------|---------|-------------|----------|
|                           | Miyakonojo                   | Akagi   | Yumenoshima | CSMA     |
| Pyriproxyfen              | 0.118                        | 0.0556  | 0.0362      | 0.000732 |
| +PBO 3.2 μg <sup>2)</sup> | 0.0735                       | -       | -           | -        |
| +PBO 8 μg                 | 0.0369                       | -       | -           | -        |
| +PBO 25 μg                | 0.0145                       | 0.00425 | 0.0335      | -        |
| +NIA 3.2 μg               | 0.0836                       | -       | -           | -        |
| +NIA 8 μg                 | 0.0375                       | -       | -           | -        |
| +NIA 25 μg                | 0.0387                       | 0.00960 | 0.0422      | -        |
| Methoprene                | 2.76                         | 2.00    | 1.98        | 0.122    |
| +PBO 3.2 μg               | 3.09                         | -       | -           | -        |
| +PBO 25 μg                | 0.53                         | 0.125   | -           | -        |
| +NIA 3.2 μg               | 2.80                         | -       | -           | -        |
| +NIA 25 μg                | 1.36                         | 0.764   | -           | -        |
| Permethrin                | 49.8                         | >100    | 33.5        | 0.124    |
| Fenitrothion              | >100                         | >100    | >100        | 0.338    |

<sup>1)</sup> 0.5 μl of acetone solution was applied to dorsal thorax of the last instar larvae, <sup>2)</sup> Synergists (PBO=piperonyl butoxide, NIA=NIA 16388) were applied 24 hrs before treatment of chemicals.

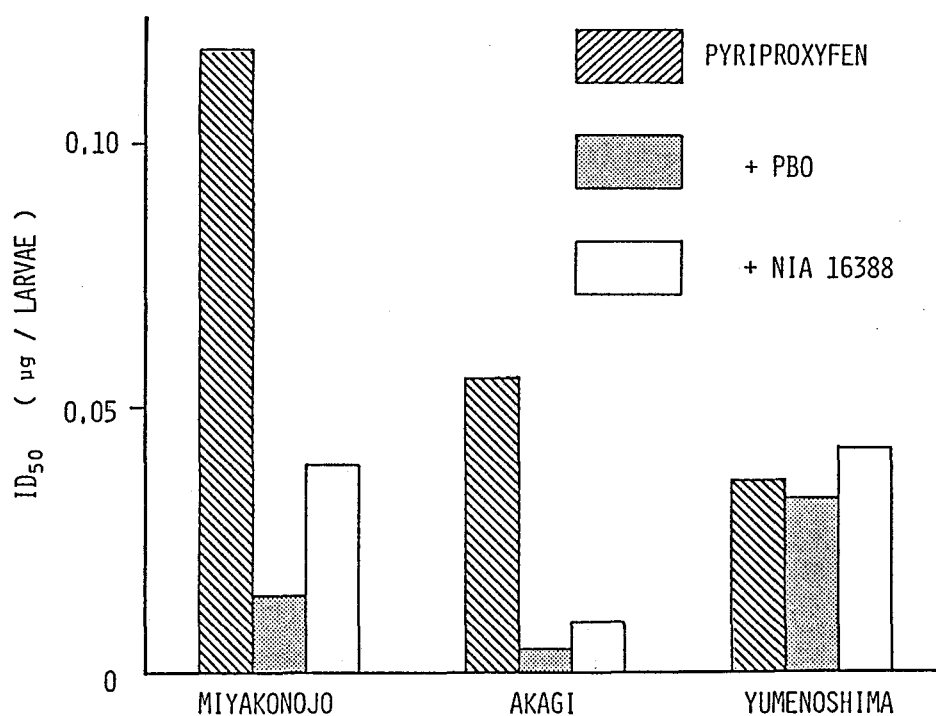


Fig. 3 Effect of synergists on the activity of pyriproxyfen.

害することが知られており (Casida, 1970)、また N I A - 1 6 3 8 8 は carboxyesterase による加水分解を阻害することが報告されている (Miyamoto and Suzuki, 1972; Suzuki and Miyamoto, 1973)。従って、本結果によりピリプロキシフェンに対する都城系の低感受性の原因として M F O 由来の酸化的分解が関与している可能性が示唆された。

昆虫体内における J H の代謝酵素には次の 2 つが知られている。すなわち、最も主要な役割をもつ Juvenile hormone esterase そして加水分解酵素である epoxide hydratase である。メトプレンの場合は、JH esterase によるエステル化が容易に進まないことにより高い J H 活性が得られることが分っており (Hammock and Quistad, 1981)、ピリプロキシフェンにおいても同様であることは容易に推察される。また共力剤が J H M の活性に対して共力効果を示すという報告は数多く、例えば Solomon and Metcalf (1973) は Chaetochytrium シダマシ、Tenebrio molitor 蛹に P B O を与えることによってメトプレンの hydroxy ester への代謝を阻害し、また T O C P が methoxy acid への代謝を阻害することを報告している。Bigley and Vinson (1979) も Imported fire ant, Solenopsis invicta において P B O がメトプレンの hydroxy ester への代謝を阻害することを報告している。さらには、上記のような事実と殺虫剤抵抗性系統の昆虫が J H M に対して低感受性を示すという現象のみによって、両者の交差抵抗性を論じ、J H M の施用によって他の殺虫剤に対する抵抗性が発達することを危惧するような報告もある (Vinson and Plapp, 1974; Cerf and Georghiou, 1972; 1974)。しかしながら、Brown and Brown (1974) や Georghiou et al. (1978) が実験的に作ったメトブレン低感受性のコロニーが、有機リン剤、カーバメイト、ピレスロイドなどの殺虫剤に対しては感受性であるという事実を考えると、J H M の代謝に関与する酵素は上記の殺虫剤の代謝に関与する酵素とは別のもの

であると考えた方が良いでしょう。ピリプロキシフェンに関しても前述の通り、成虫の薬剤感受性と幼虫のJHMに対する感受性との間には相関性がなく、交差抵抗性を論ずるにはやや無理があると思われる。

#### I-4 幼虫体表よりの吸収性

I-2節で行なった薬液への短時間の浸漬試験の結果より、ピリプロキシフェンはメトブレン等他の薬剤に比べて幼虫体表よりの吸収性が高いことが推察された。そこで、本節ではイエバエ幼虫体表からの薬剤吸収に関して若干の検討を行なった。

#### 材料および方法

##### A. 供試虫

イエバエ Musca domestica

下記の3系統の4日齢幼虫を使用した。

- 1) CSMA系 2) 都城系 3) 夢の島系

##### B. 供試薬剤

1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)

2) Methoprene (purity 88.2%)

##### C. 試験方法

供試薬剤の250ppmアセトン溶液2mlを300ml容ビーカー(底面直径、7cm)底面に均一に処理し、風乾した(500μg/ビーカーに相当)。これに供試虫を50頭放ち、所定時間経過後アセトン15ml(10ml×1回、5ml×1回)で幼虫およびビーカー内壁を洗



い、50ml容ナスフラスコに液を移した。これに500ppmトリフェニルフォスフェイトを内部標準液として1ml加えた後、エバポレーターでアセトンを蒸散させた。これにアセトン1mlを加え、ガスクロマトグラフにより分析を行なった。分析条件は下記の通り。

a. ピリプロキシフェンの分析（内部標準法）

|             |               |
|-------------|---------------|
| ガスクロマトグラフ機種 | GC-7AG（島津製作所） |
| カラム         | 5% OV-101     |
| カラム温度       | 230℃          |
| 気化室温度       | 270℃          |
| キャリアー       | ヘリウム（60ml/分）  |

b. メトプレンの分析（内部標準法）

|             |              |
|-------------|--------------|
| ガスクロマトグラフ機種 | GC-7A（島津製作所） |
| カラム         | 5% OV-101    |
| カラム温度       | 210℃         |
| 気化室温度       | 250℃         |
| キャリアー       | 窒素（50ml/分）   |

結果および考察

C SMA系イエバエ幼虫を用いてピリプロキシフェンとメトプレンの体表外残存量について調べた結果を表7および図4に示した。メトブレンはコントロール区において8時間経過後に設定値の60%程度にまで残量が低下しているが、これは主に光による分解と蒸散が原因と考えられる。

著者らはメトブレンが光照射化48時間経過後に約70%以上分解し、暗条件化においても10%以上が分解することを報告している（川田ら、

Table 7 Changes in the amount of JHMs outside the bodies of housefly\* larvae after their releasing on the JHM treated glass surface.

| Chemicals                | Amount recovered from outside the bodies ( $\mu\text{g}$ )<br>after exposure for (hrs) |                  |                  |
|--------------------------|--|------------------|------------------|
|                          | 2 hrs  | 4 hrs            | 8 hrs            |
| <b>Pyriproxyfen</b>      |  |                  |                  |
| + 50 larvae              | 404.6 $\pm$ 21.5   | 352.8 $\pm$ 16.1 | 298.1 $\pm$ 14.9 |
| Control                  | 506.3 $\pm$ 7.42   | 487.2 $\pm$ 16.5 | 493.9 $\pm$ 1.61 |
| Corrected %<br>Recovered | 79.9   | 72.4             | 60.4             |
| <b>Methoprene</b>        |  |                  |                  |
| + 50 larvae              | 345.2 $\pm$ 6.07   | 291.6 $\pm$ 16.9 | 239.8 $\pm$ 5.47 |
| Control                  | 395.8 $\pm$ 37.4   | 352.4 $\pm$ 11.3 | 304.1 $\pm$ 10.2 |
| Corrected %<br>Recovered | 87.3   | 82.7             | 78.9             |

\* Fifty 4-day-old larvae (CSMA strain) were released on the bottoms of 300 ml glass beaker (38 cm<sup>2</sup>).

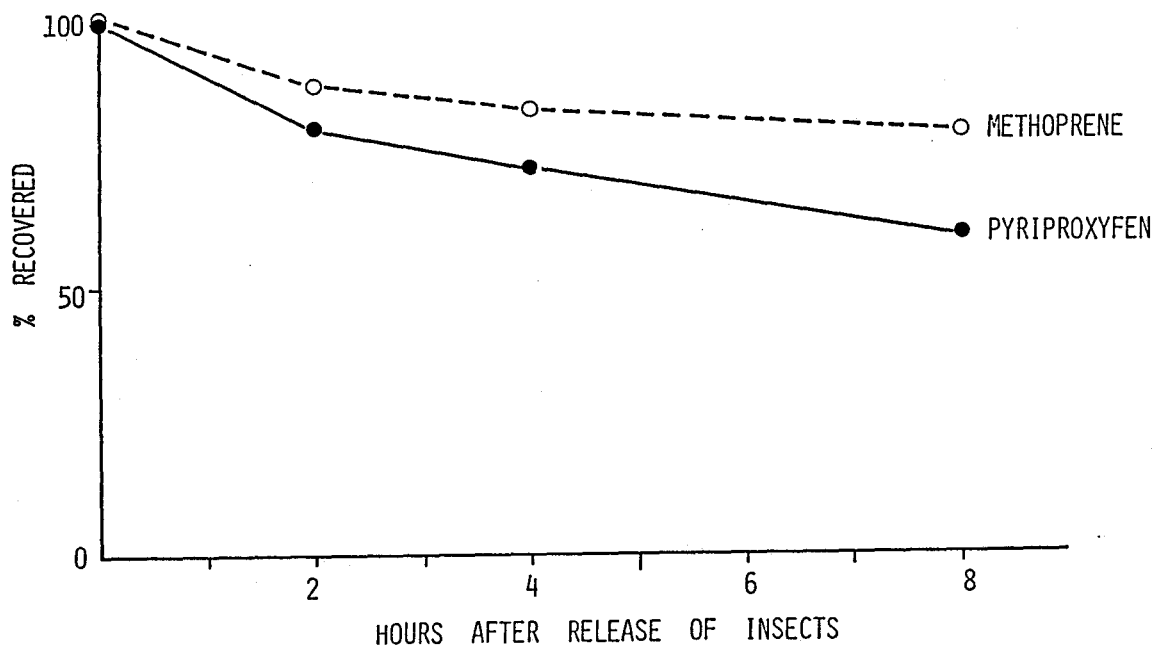


Fig. 4 Changes in the amount of JHMs outside bodies of the housefly larvae released on the JHM treated glass surface.

1986)。また、Quistad et al. (1975) はメトブレンの太陽光線照射下での半減期が6時間であると報告している。これに対してピリプロキシフェンは本実験の条件下では安定であった。したがって、両者の比較をコントロール区の残存量で補正した残存率によって行なうと、ピリプロキシフェンにおいては8時間経過後の体表外残存量が60%程度に低下する(すなわち40%程度が幼虫体表あるいは体内に取込まれたと考えられる)のに対し、メトブレンでは80%近くが体表外に残存していたと考えられた。それぞれの回帰式を求めると、ピリプロキシフェンでは  $\log a = 4.4714 - 0.0464t$  ( $r = -0.9998$ ; a, 体表外残存率; t, 時間; log は自然対数)、メトブレンでは  $\log a = 4.4929 - 0.0161t$  ( $r = -0.9734$ ) となり、ピリプロキシフェンがメトブレンに比べて2.9倍速く体内に取込まれやすいということがいえる。

次にピリプロキシフェンの体表外残存量をCSMA系イエバエと都城系

Table 8 Changes in the amount of pyriproxyfen outside the bodies of housefly larvae after their releasing on the pyriproxyfen treated glass surface.

| Housefly Strain | Amount recovered from outside the bodies ( $\mu\text{g}$ ) after exposure for (hrs) |                              |                              |
|-----------------|---|------------------------------|------------------------------|
|                 | 2 hrs   | 4 hrs                        | 8 hrs                        |
| CSMA            | 406.0 $\pm$ 6.01<br>( 80.9 )  | 339.9 $\pm$ 28.8<br>( 67.5 ) | 252.7 $\pm$ 4.49<br>( 50.0 ) |
| Miyakonojo      | 454.3 $\pm$ 6.39<br>( 90.6 )  | 407.4 $\pm$ 8.21<br>( 80.9 ) | 334.8 $\pm$ 7.60<br>( 66.2 ) |
| Control         | 501.6 $\pm$ 4.87  | 503.8 $\pm$ 7.15             | 505.6 $\pm$ 2.28             |

\* Fifty 4-day-old larvae were released on the bottoms of 300 ml glass beaker (38 cm<sup>2</sup>).  
 \*\* Figures in parenteses indicate the corrected % recovered.

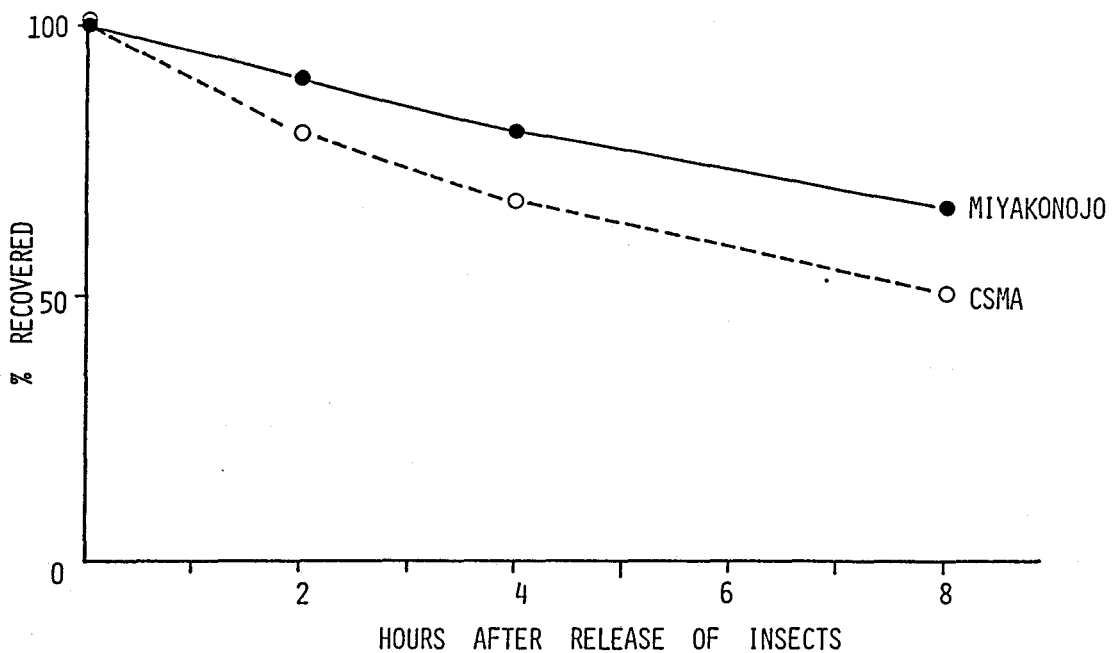


Fig. 5 Changes in the amount of pyriproxyfen outside bodies of the housefly larvae released on the pyriproxyfen treated glass surface.

イエバエについて比較した結果を表8および図5に示した。この結果より、都城系イエバエ幼虫における体表外残存率はCSMA系イエバエのそれを上回る傾向にあることが明かとなった。すなわち、イエバエ系統の違いによりピリプロキシフェンの幼虫体表よりの吸収性が異なることが示唆された。そこで、次にCSMA系、都城系、夢の島系の各系統イエバエ幼虫について、幼虫投入8時間後のピリプロキシフェン残存率について比較を行なった。結果を表9に示した。CSMA系と都城系とを比較すると、CSMA系幼虫の体表外残存量は $248.9 \pm 17.2 \mu\text{g}$  (補正残存率50.3%)、都城系幼虫では $327.8 \pm 11.6 \mu\text{g}$  (同66.2%)となり、都城系幼虫における残存量がCSMA系幼虫のそれを有意に上回った ( $P < 0.01$ )。これに対し、CSMA系と夢の島系との比較では、CSMA系幼虫の体表外残存量 $219.9 \pm 17.0 \mu\text{g}$  (補正残存率44.5%)に対し夢の島系では $206.7 \pm 9.52 \mu\text{g}$

Table 9 Amount of pyriproxyfen outside the bodies of housefly larvae after 8 hrs exposure on the pyriproxyfen treated glass surface.

| Housefly Strain | Amount recovered ( $\mu\text{g}$ ) | Corrected % of recovered |
|-----------------|------------------------------------|--------------------------|
| Miyakonojo      | 327.8 $\pm$ 11.6                   | 66.2                     |
| CSMA            | 248.9 $\pm$ 17.2                   | 50.3                     |
| Control         | 494.8 $\pm$ 1.76                   | -                        |
| Yumenoshima     | 206.7 $\pm$ 9.52                   | 41.8                     |
| CSMA            | 219.9 $\pm$ 17.0                   | 44.5                     |
| Control         | 494.2 $\pm$ 1.63                   | -                        |

\* Fifty 4-day-old larvae were released on the bottoms of 300 ml glass beaker (38 cm<sup>2</sup>).

(同 4 1 . 8 %) と、有意な差は認められなかった。

以上の結果より、ピリプロキシフェンはメトブレンに比較して速いスピードで幼虫体内に取込まれるということが明かとなった。I - 3 節の結果より、局所施用法による都城系イエバエ幼虫に対するピリプロキシフェンの ID<sub>90</sub> (90%羽化阻害薬量) は、1.14  $\mu\text{g}$ /頭という値を得ている。これを今回の試験条件に換算すると約 2 時間程度の接触で ID<sub>90</sub> 値以上の薬量が取込まれた計算となる。同様に、Hatakoshi *et al.* (1987) は、Manduca sexta 幼虫の皮膚へのピリプロキシフェンの透過性がメトブレンの 7.2 倍高いことを報告している。

薬剤の昆虫の皮膚に対する透過性の違いと薬剤に対する感受性との関係に関する研究は数多い (Forgash *et al.*, 1962; Farnham *et al.*, 1965; Fine *et al.*, 1967; Plapp and Hoyer, 1968; Sawicky, 1970; Sawicky and Lord, 1970; Farnham, 1973 など)。Sawicky and Lord (1970)

は、皮膚の透過性を低下させる因子は解毒酵素活性を抵抗性因子として有する系統において、より大きな効果をもたらすとしている。しかし、神経系に即効的に作用する殺虫剤の場合、Gerolt (1969; 1970; 1972) が示唆したように単に化合物が昆虫の皮膚を通して体内に移行するという仮説のみでは説明できないような現象もあり、皮膚の透過性という因子は常にマイナーなものとして取扱われがちである。これに対して I G R 剤の場合は、昆虫が比較的長期間にわたってこれにさらされること、あるいは通常の殺虫剤ほど即効的ではないことなどの理由により、皮膚の透過性は化合物の活性にとって重要な因子となると考えられる。また、本節の実験によって皮膚の透過性がイエバエの系統によって異なることが明かとなり、この因子が J H M に対する低感受性の要因となり得ることが示唆された。

#### I - 5 殺卵活性

前節までは、ピリプロキシフェンの殺幼虫剤としての活性を中心に考察してきたが、本節以降はこれまで I G R 剤に認められてきたそれ以外の活性として、殺卵活性と産卵抑制活性について考察する。まずイエバエ産下直後の卵に対する殺卵活性について検討を行なった。

#### 材料および方法

##### A. 供試虫

イエバエ Musca domestica

下記の 2 系統の卵を使用した。

- 1) C S M A 系
- 2) 都城系

## B. 供試薬剤

Pyriproxyfen (purity 97.2%) の乳剤 (有効成分 5%、溶剤 85%、乳化剤 10%) を使用した。

## C. 試験方法

産卵後 1 時間以内のイエバエ卵 20 - 50 卵をホールスライドグラス上に置き、これに薬剤の所定濃度水希釈液を 10  $\mu$  l 滴下し卵を浸漬した。このホールグラスを、水で浸したろ紙を敷いたカップ内に入れ蓋をして高湿度条件にし、24 時間経過後に孵化数を観察した (以上の方法は武衛ら (1979) の方法に準じた。2 - 3 反復)。

## 結果および考察

結果を表 10 に示した。ピリプロキシフェンは 5% (50000 ppm) の濃度で CSMA 系、都城系いずれのイエバエ卵に対しても孵化阻害率 13.9%、9.2% と効果は低かった。武衛ら (1979) は高槻系イエバエ (ピレスロイド剤、有機リン剤に対し正常な感受性を示す標準系統) に対するメトプレンの殺卵効果について検討し、5% の薬液への浸漬によって 95.2% の孵化阻害を得たことを報告している。したがって、本節の結果よりピリプロキシフェンのイエバエ卵に対する殺卵効果は低いことが示唆されたが、5% という濃度が実用濃度、あるいは昆虫体内における JH の濃度を遙かに上回る濃度であることを考えると、本実験のような条件ではこれらの IGR 剤のイエバエの殺卵剤としての実用性はほとんど期待できないと考えられる。IGR 剤の殺卵作用は胚発生の初期になるほど強くなる傾向がある (満井, 1973)。胚の発生速度は昆虫の種によって異なるが、どの種においても卵の前期において殺卵作用が顕著である

Table 10 The ovicidal activity of pyriproxyfen against the housefly eggs<sup>1)</sup>

| Chemicals    | % inhibition of hatching ( % hatching ) |      |        |            |
|--------------|---|------|--------|------------|
|              |   | CSMA |        | Miyakonojo |
| Pyriproxyfen | 5.0 %                                   | 13.9 | (76.5) | 9.2 (87.7) |
|              | 2.5 %                                   | 22.1 | (69.2) | 0 (96.7)   |
|              | 1.25%                                   | 0    | (92.5) | 0 (96.3)   |
| Control      |   | -    | (88.8) | - (96.6)   |

1) Oviposited within 1 hr before the treatment.

(Riddiford and Williams, 1967 など)。イエバエの場合殺卵効果が見られるのは、産卵後1時間以内の卵に限られ、6時間以上経過すると効果は見られなくなる(武衛ら, 1979)。イエバエの卵期間は12-24時間と他の昆虫と比較しても非常に短いことからIGRに対する感受期も極めて短いと考えられる。したがって、IGRの殺卵作用をより有効に作用させるためには、卵がより胚発生の初期の段階にある成虫体内にある時期に処理する必要があると考えられた。

#### I-6 産卵抑制効果

前節の結果よりピリプロキシフェンのイエバエ卵に対する殺卵作用は低いことが明かとなったが、本節では本剤を成虫に処理した場合の、あるいは幼虫期に処理した後に成虫化した個体に対する産卵抑制効果について検



討を行なった。

## 材料および方法

### A. 供試虫

イエバエ Musca domestica C S M A系

### B. 供試薬剤

1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)

2) Methoprene (purity 88.2%)

上記薬剤の原体、あるいは乳剤（有効成分5%、溶剤85%、乳化剤10%）を使用した。

### C. 試験方法

#### (1) 雌成虫に対する施用

羽化後24時間以内の成虫を雌雄別に隔離飼育し、羽化3日後に雌成虫胸部背板に薬剤のアセトン希釈液0.5 $\mu$ lを処理した。雌雄各25頭（雄は未処理）を飼育ケージ（20 $\times$ 20 $\times$ 20cm）に放ち、水と餌（スキムミルク1：グラニュー糖1）を与え飼育した。所定日にスキムミルク水溶液に浸した紙ウェスをプラスチックカップに入れたものをケージ内に置き、これに産卵させた。産下された卵については、卵数を記録し、また数10～100卵程度を抽出して湿ったろ紙上に置きカップ内に密閉して24時間経過後孵化率を観察した。得られた総産卵数および孵化率より下記の式にしたがって繁殖抑制率を求めた。

$$\text{繁殖抑制率 (\%)} = 100 - \frac{\text{試験区の産卵数} \times \text{試験区の孵化率}}{\text{無処理区の産卵数} \times \text{無処理区の孵化率}} \times 100$$

## (2) 雄成虫に対する施用

羽化3日後の雄成虫に対し薬剤を施用し、未処理の雌成虫とともに飼育し上記と同様の方法によって卵数および孵化率を観察した。

## (3) 雌成虫の卵巣発育の観察

羽化後24時間以内の雌成虫100頭をケージに雄から隔離して飼育し、所定日に10個体を任意に抽出して解剖し卵巣の発育状況を観察した。これを羽化3日後にピリプロキシフェンを10 $\mu$ g処理した区および無処理区について行なった。

## (4) 幼虫に対する施用

乳剤の所定濃度水希釈液10mlをイエバエ用人工飼料5gと練り合わせ、試験培地を作った。これに供試虫の2日齢幼虫50頭を放ち、25℃ 60%RHの室内で飼育した。約2週間経過後羽化した成虫は雌雄25頭ずつを20 $\times$ 20 $\times$ 20cmのケージ内で飼育した。所定日に、スキムミルクに浸した紙ウェスをケージ内に置き産卵させ、産下された卵は水洗後吸引ろ過し重量をはかった。また、産下された卵については上記と同様の方法によって孵化率を観察した。これを成虫の羽化後31日まで行った。さらに、薬剤処理区および無処理区より羽化した成虫各10頭を任意に抽出して卵巣の発育状況を観察した。

## 結果および考察

### I-6-1 成虫期処理による産卵の抑制

ピリプロキシフェンを成虫に処理した場合の産卵に及ぼす影響を表11に示した。採卵は羽化後23日間の間5回行なったが、無処理区の総産卵数(7832卵)に対してピリプロキシフェンを処理した区では20 $\mu$

Table 11 Effect of topically applied pyriproxyfen on the reproduction of housefly.

| Dosage<br>( $\mu\text{g}/\text{insect}$ ) | Treatment to female |      |      |      | Treatment to male |      |      |      |
|---|---------------------|------|------|------|-------------------|------|------|------|
|   | T                   | H    | IO   | IR   | T                 | H    | IO   | IR   |
| 20  | 468                 | 5.8  | 94.1 | 99.6 | 2171              | 35.4 | 72.3 | 89.1 |
| 10  | 471                 | 21.5 | 94.0 | 98.5 | 8008              | 54.3 | 0    | 38.4 |
| 5   | 2378                | 34.5 | 69.8 | 87.6 | 10747             | 72.1 | 0    | 0    |
| 2   | 5447                | 51.1 | 30.8 | 58.1 | -                 | -    | -    | -    |
| 1   | -                   | 62.2 | -    | -    | -                 | -    | -    | -    |
| 0.5                                       | -                   | 68.7 | -    | -    | -                 | -    | -    | -    |
| Control                                   | 7872                | 84.3 | 0    | 0    | 7838              | 90.1 | 0    | 0    |

T = Total No. of eggs/female; H = Hatchability of eggs; IO = %Inhibition of oviposition; IR = %Inhibition of reproduction.

$\mu\text{g}$ /雌処理で94.1%、 $10\mu\text{g}$ /雌処理で94.0%、 $5\mu\text{g}$ /雌処理で69.8%、 $2\mu\text{g}$ /雌処理で30.8%の産卵数の抑制をそれぞれ示した。また、同時に産下された卵の孵化率も薬量の増加にしたがって低下する傾向がみられた。繁殖抑制率(RI)は対数確率紙上で薬量に対しきれいな直線関係を示し、90%繁殖抑制薬量は5-6 $\mu\text{g}$ /雌と推定された。これに対し、雄に対する施用による産卵抑制あるいは繁殖抑制効果は雌に対する施用に比べると顕著ではなく、 $5\mu\text{g}$ /雄処理ではほとんど効果が認められなかった。

ピリプロキシフェン処理後のイエバエ雌成虫の卵巣の発育経過を図6に示した。イエバエ卵の卵巣内での発達の様子は Adams (1974) により10段階のステージに分けられているが、肉眼による観察で最も区別し易いのはステージ6からステージ7への移行である。この移行は27℃において羽化後40時間から60時間にかけて行なわれるが、この間に卵の全

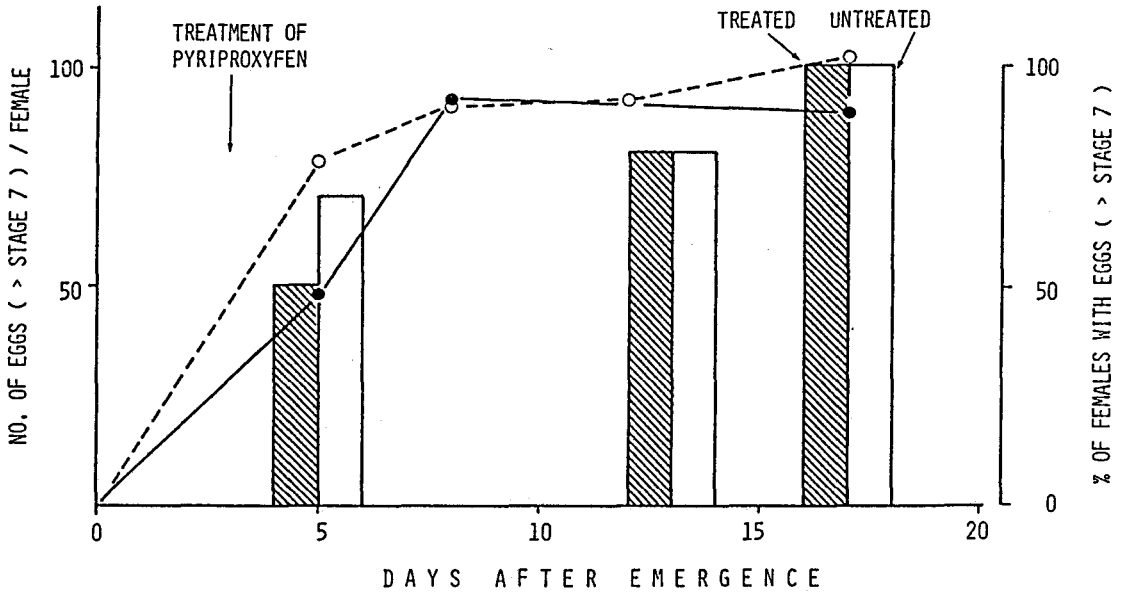


Fig. 6 Changes in the number of eggs (> Stage 7) / female (●, pyriproxyfen treated; O, untreated) and the percent of females with eggs in stage more than 7 after emergence.

長は約2倍に伸長する。そこで観察はステージ1-6までとステージ7以降に大きく分けて行ない、ステージ7以上の卵を保有する個体の割合、およびステージ7以上の卵の1個体当りの産卵数の変化を調べた。図6よりCSMA系イエバエは25℃の条件において羽化後3-5日の間にステージ6からステージ7への移行が行なわれることが分かる。ピリプロキシフェンを羽化後3日目に10 $\mu$ g処理した雌成虫の産卵数の変化は無処理区のそれとほぼ同じであり、同薬量が産卵数の減少に与えたような顕著な現象はみられなかった。

#### I-6-2 幼虫期処理による産卵の抑制

JHMを幼虫期に与えた時に羽化成虫の産卵に及ぼされる影響を表12に示した。成虫の羽化率はピリプロキシフェン0.03ppm処理で1

Table 12 Inhibition of the reproduction of housefly by the JHMs treated at larval stages.

| Chemicals    | Dosage (ppm) | % Adult Emergence | Production of eggs/female(mg) | % Inhibition of Reproduction | Mean Hatchability |
|--------------|--------------|-------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------|
| Pyriproxyfen | 0.03         | 11.9              | 2.84                          | 87.5                         | 55.1              |
|              | 0.015        | 50.2              | 4.62                          | 79.6                         | 67.8              |
|              | 0.0075       | 65.2              | 11.1                          | 51.1                         | 53.3              |
| Methoprene   | 3.0          | 27.6              | 4.13                          | 81.8                         | 48.2              |
| Control      | -            | 87.8              | 22.7                          | 0                            | 85.0              |

• Chemicals were treated to the larval medium.

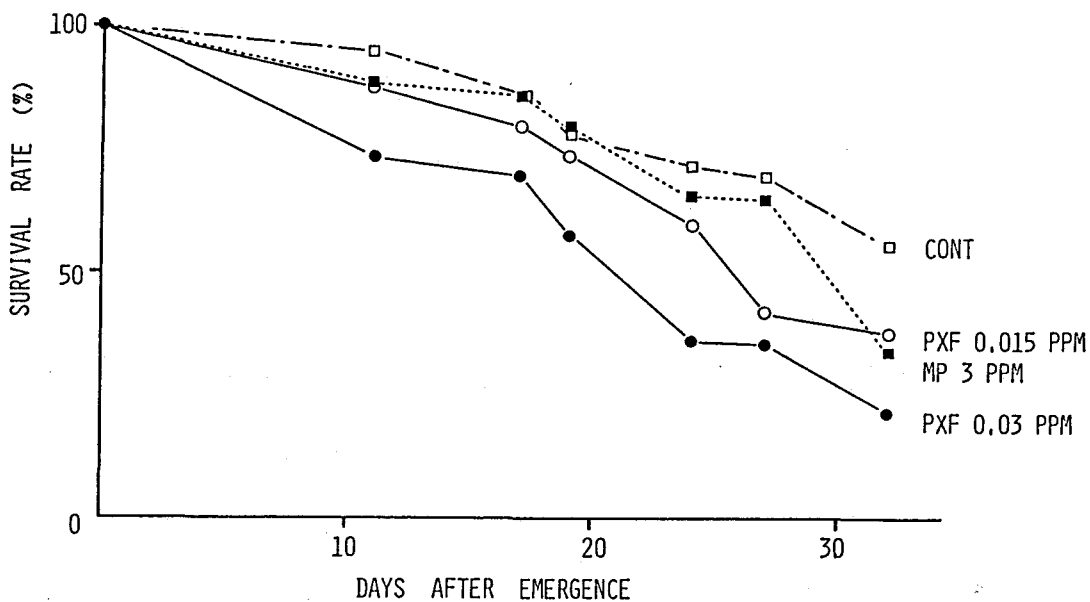


Fig. 7 Changes in the survival rate of the adults treated with JHM at their larval stages (PXF, pyriproxyfen; MP, Methoprene).

1.9%、0.015 ppm処理で50.2%、0.0075 ppm処理で65.2%、メトブレン3.0 ppm処理で27.6%であった。ピリプロキシフェン処理区の成虫の総産卵量（1雌あたり）は0.03 ppmで2.84 mg、0.015 ppmで4.62 mg、0.0075 ppmで11.1 mgと、無処理区の22.7 mgに対してそれぞれ87.5%、79.6%、51.1%の産卵抑制率を示した。メトブレン3.0 ppm処理では81.8%と、ピリプロキシフェン0.015 ppm処理による効果とほぼ同等であった。羽化後31日間の平均孵化率はいずれの薬剤処理区においても低下したが、濃度依存的ではなかった。羽化後の成虫の生存率（図7）はピリプロキシフェン0.0075 ppm処理では無処理区並みであったが、0.015 ppm、0.03 ppm、と濃度が上昇するにしたがって低下する傾向にあった。メトブレン3 ppm処理では無処理区並みかこれをやや下回る程度であった。また、ピリプロキシフェン0.015 ppm処理区の雌成虫1頭あたりの羽化後7日目の卵巣重量（7.12 ± 0.68 mg）と無処理区のそれ（7.98 ± 0.57 mg）との間に有意な差は見られなかった（ $P > 0.05$ ）。

幼若ホルモン（JH）は昆虫の成虫体内において生殖腺刺激ホルモン（gonadotropine）の作用を果していると考えられている。この事実は、絶食あるいは断頭によってアラタ体の機能を不活性化した個体にJHを処理することにより、卵巣の成熟が開始することから証明されるが、JHM（例えばメトブレン）もこれと同様の作用を示すことが分かっている（桜井, 1976; Sakurai, 1977; Adams, 1974 など）。この事実とは裏腹にJHMの投与により次世代への産卵が抑制されるという事実が多く報告されている（Masner *et al.*, 1968; Das and Gupta, 1977; 武衛ら, 1979; Ammar, 1983; Thomas, 1984; Staal *et al.*, 1985; Bouchard and Wilson,

1987; Langley et al., 1988; Kawada et al., 1989 など)。J H M の産卵抑制作用は、<sup>1)</sup> 幼虫期における処理によるいわゆる “delayed effect” と、<sup>2)</sup> 成虫期における処理による作用とに分けられるが、両者の作用機構は厳密には異なると考えられる。すなわち前者は J H M の幼虫に対する羽化阻害効果の 1 結果としての卵巣や精巣の機能的、形態的異常をも含むのに対し、後者では純粹に J H M の成虫の生理機能あるいは卵への直接の作用による効果と考えられるからである。

本節の結果より、ピリプロキシフェンはイエバエ雌成虫に作用して産卵数の低下をもたらすばかりでなく、産下された卵の孵化率も低下させることが分かった。また、雄に処理した場合にも同様の現象が得られたが、雌に比べると高薬量が必要とされた。Masner et al. (1968) はホシカメムシ *Pyrhocoris apterus* 雌成虫に J H M を投与することにより産下されるすべての卵の孵化率が 0 になること、また雄成虫に J H M を投与すると交尾した雌が不妊となるが、この場合雄に投与すべき薬量は雌の場合の 100 倍程度必要とされることを報告しており、今回得られた結果もこれに共通した現象と考えられる。雄の精子形成は雌の卵黄形成の時期よりもかなり早い発育段階で行なわれており、例えばカイコガ *Bombyx mori* では精原細胞は 2 齡幼虫の頃に分化を始め、蛹化直後に精子形成はほぼ完了してしまう (佐渡, 1963)。したがって雄への J H M の投与による効果は交尾の際の性的伝播によるところが大きいと考えられる。雌成虫の産卵に及ぼされる J H M の影響については不明な点が多い。本節の結果の様に J H M の処理は雌の卵巣発育にはほとんど影響を与えないことから、卵黄形成に関与する J H や Ecdysteroids の作用に影響を与えてはいないことが考えられるが、それにもかかわらず産卵数や孵化率の低下がみられることから、J H M は <sup>1)</sup> イエバエの胚発生の初期に作用してこれを阻害し、さらに <sup>2)</sup> 雌成虫の産卵を促す何らかの生理的な刺激を阻害して

いるのであろうということが示唆された。

幼虫期における J H M の処理による成虫の産卵に対する影響は、前述の様に羽化阻害によってもたらされた機能的、形態的な異常による場合がある。例えば Das and Gupta (1974; 1977) は、チャバネゴキブリ幼虫に対する J H M の処理により羽化成虫の卵巢や accessory gland が形態的な異常を来すことを報告している。本節の結果からは J H M のイエバエ幼虫に対する施用による卵巢の形態的な異常や発育異常は認められなかったが、羽化成虫の産卵能力や羽化後の生存率には影響を及ぼすことが明かとなり、J H M が羽化成虫に対しなんらかの機能的な障害を与えていることが考えられた。また、産下された卵の孵化率の低下が顕著ではないことから、成虫処理の場合と異なり卵巢内の卵に対する直接的な影響は小さいと思われた。



## II. カ類に対する基礎活性

本節では、衛生害虫としてあるいはマラリア、デング熱、黄熱等の熱帯病の媒介者として極めて重要なカ類幼虫に対するピリプロキシフェンの効力を各種 IGR 剤と比較する。

### 材料および方法

#### A. 供試虫

##### (1) アカイエカ Culex pipiens pallens

下記の標準系統および抵抗性系統の幼虫を使用した。

- 1) 御所系 … 奈良県御所市において採集された、薬剤に正常な感受性を示す標準系統
- 2) 豊中系 … 大阪府豊中市服部において昭和55年9月17日に採集。有機リン剤に対し抵抗性を示す。

##### (2) ネットイシマカ Aedes aegypti 標準系統

##### (3) ハマグラカ Anopheles sp.

下記の標準系統および抵抗性系統の幼虫を使用した。

- 1) An. stephensi (SUS) … 標準系統
- 2) An. stephensi (MLTR) … パキスタン Lahor で採集されたマラチオン抵抗性系統
- 3) An. gambiae (SUS) … タンザニアで採集された標準系統
- 4) An. gambiae (DLDR) … ブルキナファソで採集されたディルドリン抵抗性系統

- 5) An. gambiae (DDTR) … アフリカで採集された D D T 抵抗性系統
- 6) An. albimanus (SUS) … 標準系統
- 7) An. albimanus (OPCR) … エルサルバドルで採集された有機リン剤およびカーバメイト剤抵抗性系統
- 8) An. farauti … ソロモン諸島国で採集された系統

\* 1) は聖マリアンナ大学より 1974 年に入手、8) はソロモン諸島国厚生省にて飼育のコロニー。他はロンドン大学より 1984 年から 1987 年にかけて入手したコロニー。

#### B. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)
- 2) Methoprene (purity 88.2%)
- 3) Fenoxycarb (purity 100%)
- 4) Diflubenzuron
- 5) Cyromazine (purity 100%)
- 6) Chlorfluazuron (purity 100%)
- 7) Teflubenzuron (purity 100%)
- 8) XRD-473 (purity 100%)
- 9) Temephos

\* 4)、9) については市販されている水和剤（ディミリン 25% 水和剤、およびアベイト水和剤、三共製薬）を、5) は水和剤を、他は乳剤（有効成分 5%、溶剤 85%、乳化剤 10%）を使用した。

## C. 試験方法

### (1) 継続浸漬法

所定濃度の薬剤の水希釈液 150 ml をアルミ製カップ (200 ml 容、底面直径 6 cm) に入れ、これに供試虫の終齢幼虫 (孵化より 7-8 日を経過したもの) あるいは中齢幼虫 (孵化より 5-6 日を経過したもの) 30 頭を放ちエサ (動物用粉末飼料 1 : エビオス 1) を少量加えて飼育した。全ての供試虫が羽化し終わるまでこれを観察し羽化率を求め、得られた羽化率より下記の式にしたがって補正羽化阻害率を求めた。

$$\text{補正羽化阻害率 (\%)} = 100 - \frac{\text{試験区の羽化率}}{\text{無処理区の羽化率}} \times 100$$

薬剤濃度と補正羽化阻害率との関係より 50% 羽化阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) を Bliss のプロビット法 (Bliss, 1934) により求めた。

### (2) 限定時間浸漬法

所定濃度の薬剤の水希釈液 50 ml をアルミ製カップ (200 ml 容、底面直径 6 cm) に入れ、これに供試虫の終齢幼虫 (孵化より 7-8 日を経過したもの) あるいは中齢幼虫 (孵化より 5-6 日を経過したもの) 20 頭を放ち所定時間 (1 分、10 分、60 分、1440 分) 浸漬した。所定時間経過後供試虫を回収し蒸留水で水洗後、蒸留水 100 ml を入れたプラスチックカップに放ち、エサ (動物用粉末飼料 1 : エビオス 1) を少量加えて飼育した。全ての供試虫が羽化し終わるまでこれを観察し羽化率を求め、得られた羽化率より上記と同様の方法に従って 50% 羽化阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) を求めた。

## 結果および考察

### II-1 アカイエカ Culex pipiens pallens に対する基礎活性

継続浸漬法による IGR の活性評価の結果を表 13 に示した。ピリプロキシフェンの御所系アカイエカ中齢幼虫および終齢幼虫に対する IC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.0046 ppb、0.027 ppb となり、他剤に対する効力比はメトプレンの 2.8 倍～4.4 倍、ディフルベンズロンの 3.4～8.0 倍、テメフォスの 7.0～37.0 倍となった (Hatakoshi *et al.*, 1987)。中齢幼虫と終齢幼虫の感受性を比較すると、テメフォスを除く 3 薬剤においていずれも中齢幼虫の感受性が低い傾向が得られた。感受性の差はピリプロキシフェンで 5.9 倍、メトプレンで 9.2 倍、ディフルベンズロンで 2.5 倍となり、イエバエにおける結果と同様に JHM に対して

Table 13 Inhibition of emergence of susceptible and Organophosphate-resistant strain mosquitoes, Culex pipiens.

| Chemicals     | IC <sub>50</sub> (ppb)    |                          |                               |
|---------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------------|
|               | Gose strain <sup>1)</sup> |                          | Toyonaka strain <sup>2)</sup> |
|               | Middle instar             | Last instar              |                               |
| Pyriproxyfen  | 0.027 (0.022 - 0.034 )    | 0.0046 (0.0023 - 0.0091) | 0.015 (0.007 - 0.030 )        |
| Methoprene    | 0.12 (0.065 - 0.21 )      | 0.013 (0.0080 - 0.021 )  | 0.24 (0.11 - 0.49 )           |
| Diflubenzuron | 0.92 ( ——— )              | 0.37 (0.22 - 0.64 )      | 1.2 (1.2 - 1.2 )              |
| Temephos      | 1.9 (1.1 - 3.5 )          | 1.7 ( ——— )              | 47 ( 19 - 120 )               |

<sup>1)</sup> Susceptible strain, <sup>2)</sup> Organophosphate resistant strain, <sup>3)</sup> Figures in parentheses indicate 90% confidence limits.

は終齡期が感受期であることが示唆された。キチン形成阻害剤であるディフルベンズロンに対する感受性の差は本試験方法では顕著に表れなかった。豊中系アカイエカは有機リン剤に対し抵抗性を有する野外採集系統であるが、ピリプロキシフェンは本系統に対しても極めて高い羽化阻害効果を示した (Kawada *et al.*, 1988)。

アカイエカ終齡幼虫に対する各種 IGR 剤の羽化阻害活性を表 14 に示した。メトプレンの  $IC_{50}$  値を 1 としたときの相対的な効力比はピリプロキシフェンで 2.8 となったが、同じ JHM であるフェノキシカーブでは 0.02、ベンゾイルフェニルウレア型あるいはトリアジン型のキチン形成阻害剤ではいずれも 0.05 以下となり、ピリプロキシフェンの羽化阻害活性の高さを示している。

Table 14 Emergence inhibition activities of IGRs against the last instar larvae of mosquito, *Culex pipiens*.

| Chemicals      | $IC_{50}$ (ppb)          | Relative efficacy |
|----------------|--------------------------|-------------------|
| Pyriproxyfen   | 0.0046 (0.0023 - 0.0091) | 2.8               |
| Methoprene     | 0.013 (0.0080 - 0.021)   | 1.0               |
| Fenoxycarb     | 0.55 (0.27 - 1.1)        | 0.02              |
| Diflubenzuron  | 0.37 (0.22 - 0.64)       | 0.035             |
| Cyromazine     | >100                     | -                 |
| Chlorfluazuron | 0.35 (0.22 - 0.56)       | 0.037             |
| Teflubenzuron  | 0.35 (0.23 - 0.52)       | 0.037             |
| XRD-473        | 0.4 - 0.8                | 0.016 - 0.032     |

\* Figures in parentheses indicate 95% confidence limits.

次に、限定時間浸漬法によって幼虫齢期間での活性を比較した。結果を表15および表16に、また中齢幼虫と終齢幼虫それぞれに対する各浸漬時間におけるIC<sub>50</sub>(ppb)の概算値による比較を図8に示した。ピリプロキシフェンはメトブレンと比較していずれの濃度あるいは浸漬時間においてもこれに勝る羽化阻害効果を示した。ディフルベンズロンの終齢幼虫に対する効果はピリプロキシフェンに比べ低く、特に浸漬時間が短くなると極端に効果が低くなることが分る。中齢幼虫になると効果は高くなり、浸漬時間が60分以上の時にはむしろピリプロキシフェンをやや上回るようになるが、やはり浸漬時間が短いと効果は十分ではなくなる。この傾向は、これまでイエバエ幼虫について確認されてきたJHMとキチン形成阻害剤との作用性の違いがアカイエカにおいても見られたことを示している。さらに、ディフルベンズロンは十分な効力を得るために比較的長時間の接触を必要とすること、すなわち幼虫による取込が比較的遅い

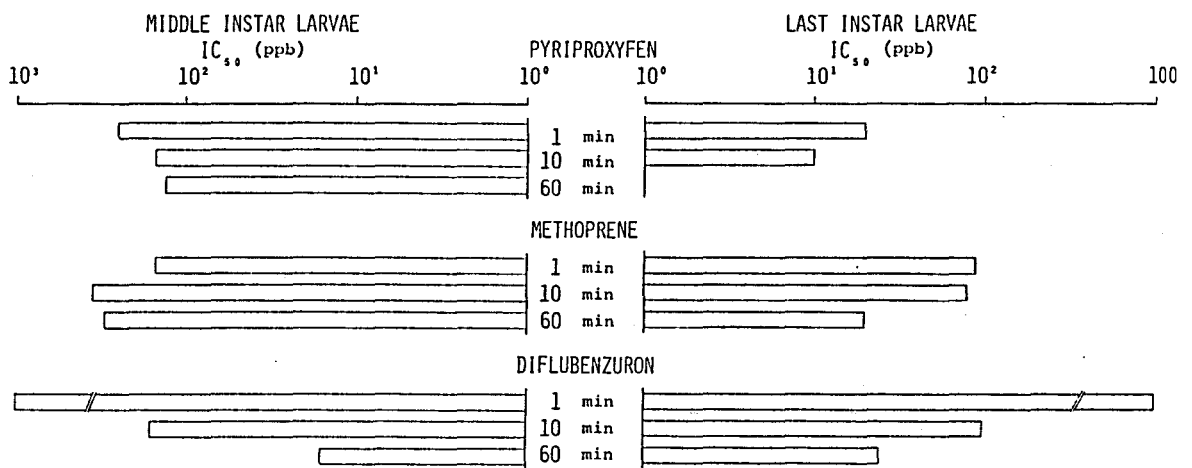


Fig. 8 Difference in susceptibility of *Culex pipiens* larvae of different larval stages against IGRs by the definite time dipping method.

Table 15 Inhibition of emergence of mosquito, Culex pipiens, by dipping of middle instar larvae for the definite time.

| Chemicals     | Conc.<br>(ppm) | % Inhibition of emergence by dipping for (min.) |         |         |           |
|---------------|----------------|---|---------|---------|-----------|
|               |                | 1 min.  | 10 min. | 60 min. | 1440 min. |
| Pyriproxyfen  | 1.0            | 66.2  | 85.1    | 86.5    | 95.9      |
|               | 0.1            | 35.0  | 41.8    | 47.2    | 90.5      |
|               | 0.01           | 25.6  | 12.6    | 9.4     | 75.6      |
|               | 0.001          | 0   | 5.3     | 3.9     | 21.5      |
| Methoprene    | 1.0            | 64.8  | 62.1    | 74.2    | 86.5      |
|               | 0.1            | 51.3  | 31.0    | 21.5    | 64.8      |
|               | 0.01           | 22.9  | 14.7    | 8.0     | 32.3      |
|               | 0.001          | 18.4  | 0       | 0       | 4.7       |
| Diflubenzuron | 1.0            | 39.1  | 100     | 100     | 100       |
|               | 0.1            | 2.6   | 36.4    | 100     | 100       |
|               | 0.01           | 0   | 29.9    | 36.4    | 98.6      |
|               | 0.001          | 0   | 4.6     | 0       | 13.4      |

Table 16 Inhibition of emergence of mosquito, Culex pipiens, by dipping of last instar larvae for the definite time.

| Chemicals     | Conc.<br>(ppm) | % Inhibition of emergence by dipping for (min.) |         |         |           |
|---------------|----------------|---|---------|---------|-----------|
|               |                | 1 min.  | 10 min. | 60 min. | 1440 min. |
| Pyriproxyfen  | 0.1            | 70.3  | 75.2    | 96.7    | 96.7      |
|               | 0.01           | 48.9  | 58.7    | 75.2    | 93.5      |
|               | 0.001          | 7.6   | 15.8    | 40.6    | 80.2      |
|               | 0.0001         | 0.9   | 0       | 25.7    | 70.3      |
| Methoprene    | 0.1            | 45.5  | 58.7    | 75.2    | 93.5      |
|               | 0.01           | 34.0  | 19.2    | 29.0    | 91.7      |
|               | 0.001          | 19.2  | 15.8    | 29.0    | 71.9      |
|               | 0.0001         | 0.9   | 2.5     | 30.6    | 73.7      |
| Diflubenzuron | 0.1            | 15.8  | 76.8    | 96.7    | 100       |
|               | 0.01           | 5.9   | 0       | 32.2    | 90.0      |
|               | 0.001          | 0   | 0       | 4.3     | 42.2      |
|               | 0.0001         | 0   | 0       | 10.8    | 37.3      |

ことを示している。キチン形成阻害剤のカ類幼虫の齡期の違いによる感受性差に言及した報告は意外と少ない。これは若齡期の幼虫が扱いにくいことや、慣習的にカの効力試験は終齡幼虫を用いることになっていることなどの理由によると思われる。高橋・大滝 (1976) は、アカイエカ3齡幼虫に対するディフルベンズロンの効力が4齡幼虫に対する効力の約1.8倍であることを報告しているが、カ類幼虫のキチン形成阻害剤に対する齡期間での感受性差はイエバエに見られるほど顕著ではないことが伺われ、この傾向は図8からも明らかである。

## II-2 ネットイシマカ Aedes aegypti および各種系統ハマダラカ Anopheles sp. に対する基礎活性

ネットイシマカ、ハマダラカはデング熱、黄熱、フィラリア症、マラリア等の熱帯病の媒介者として極めて重要なカである。これらのカ類の防除 (Vector Control) のために、前者においては有機リン剤やピレスロイド剤のULV (超微量) 散布が (Pant et al., 1974; Focks et al., 1987)、後者においては各種殺虫剤による住居壁面への残留散布、ULV散布、発生源への殺幼虫剤散布等が現在行なわれているが、特にハマダラカ類において各種の薬剤抵抗性が出現して問題化している (Hemingway and Georghiou, 1983; Scott and Georghiou, 1986; Hemingway et al., 1986 など)。本節において使用したハマダラカ類各系統成虫の局所施用法による薬剤感受性を図9に示した (Kawada et al., 未発表)。各系統は入手以来薬剤による淘汰を受けておらず、An. gambiae DDTR や An. albimanus OPCR のように本来の抵抗性が低くなってしまったものもあるが、その他の系統は本来有していた抵抗性を維持していると考えられた。また、An. stephensi MLTR においてフェニトロチオンとの交差抵抗性が



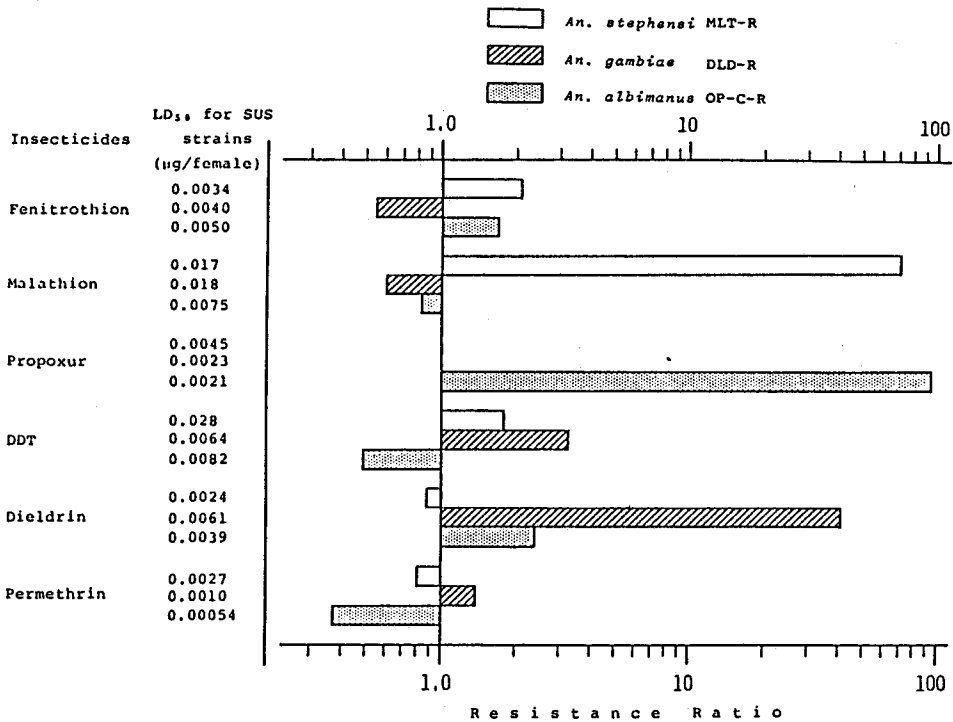


Fig. 9 Susceptibility of *Anopheles* sp. against several insecticides by topical application.

見られないのは、本系統の抵抗性因子が Malathion-Carboxylesterase であることを示している (Scott and Georghiou, 1986)。

ネッタイシマカおよびハマダラカ類幼虫に対する継続浸漬法によるピリプロキシフェンの羽化阻害活性を表 17 に示した。ピリプロキシフェンによる IC<sub>50</sub> 値は *An. albimanus* OPCR の 0.00042 ppb から *An. stephensi* SUS の 0.043 ppb まで幅があり、ピリプロキシフェンに対する感受性は系統によって様々であるが、いずれの種においても感受性系統 (SUS) と抵抗性系統との間の感受性差は無くむしろ抵抗性系統の感受性の方が高いという興味深い結果となった。また、メトブレンに対する相対的な効力比は *An. gambiae* の SUS および DLDR においては 5 倍以内と前節のアカイエカに対する結果と同様であったが、他の系統あるいはネッタイシマカに対してはいずれも 10 倍から 40 倍の範囲にあり、これらの種に対するピリプロキシフェンの有効性を示唆している (鈴木

Table 17  $IC_{50}$  values of the IGRs against the last instar larvae of *Anopheles* sp. and *Aedes aegypti*

| Species              | Strain | $IC_{50}$ (ppb)                |                          |                       |          |
|----------------------|--------|--------------------------------|--------------------------|-----------------------|----------|
|                      |        | Pyriproxyfen                   | Methoprene               | Diffubenzuron         | Temephos |
| <i>An. stephensi</i> | SUS    | 0.043<br>(0.011 - 0.18)        | 0.54<br>(0.39 - 0.77)    | 0.84<br>(0.71 - 0.99) | 31       |
|                      | MLT-R  | 0.025<br>(0.019 - 0.034)       | 0.75<br>(0.099 - 5.63)   | 1.6<br>(1.4 - 1.7)    | 19       |
| <i>An. gambiae</i>   | SUS    | 0.025<br>( - )                 | 0.067<br>(0.022 - 0.20)  | 3.7<br>(2.6 - 5.2)    | 16       |
|                      | DLD-R  | 0.0098<br>(0.0025 - 0.038)     | 0.039<br>(0.011 - 0.14)  | 0.87<br>(0.76 - 0.99) | 13       |
|                      | DDT-R  | 0.0040<br>(0.0028 - 0.0057)    | 0.072<br>(0.0023 - 2.27) | 1.9<br>(0.53 - 7.1)   | 10       |
| <i>An. albimanus</i> | SUS    | 0.016<br>( - )                 | 0.18<br>(0.11 - 0.23)    | 0.70<br>(0.59 - 0.83) | 6.9      |
|                      | OP-C-R | 0.00042<br>(0.000035 - 0.0050) | 0.016<br>(0.012 - 0.021) | 0.20<br>( - )         | 41       |
| <i>An. farauti</i>   |        | 0.0017<br>(0.011 - 0.16)       | ( - )                    | ( - )                 | -        |
| <i>Ae. aegypti</i>   |        | 0.023<br>(0.017 - 0.031)       | 0.77<br>(0.31 - 1.9)     | 0.6 - 0.8<br>( - )    | 4.5      |

\* Figures in parentheses indicate 95% confidence limits.

ら、1989)。本節で取上げた以外のカ類に対するピリプロキシフェンの活性が他の研究者達によって報告されている。Iwanaga and Kanda (1988) は *An. balabacensis* に対するピリプロキシフェンの  $IC_{50}$  値が 0.27 ppb であることを、また Schaefer et al. (1988) は *Culex quinquefasciatus*, *C. tarsalis*, *Aedes taeniorhynchus* に対する  $IC_{50}$  値がそれぞれ 0.018 ppb (有機リン剤抵抗性系では 0.022 ppb)、0.021 ppb (同 0.052 ppb)、0.010 ppb であったことを報告している。これらの結果からも推察されるように *Culex*, *Anopheles*, *Aedes* の 3 属のカ類に対してピリプロキシフェンは種間あるいは抵抗性系統間の違いにかかわらず高い羽化阻害効果を示すことが明らかであり Vector control 用の殺幼虫剤として極めて有望な剤となることが期待される。

### Ⅲ. チャバネゴキブリ Blattella germanica に対する基礎活性

近年まで衛生害虫防除の分野での J H M の使用はハエ、カ、ユスリカ、ブユ等の双翅目昆虫類に限られていた。これは、従来の J H M が一般的に双翅目昆虫に対して高活性であったこと、あるいはこれらの昆虫類の breeding area が限られており殺幼虫剤の散布に適していたことなどの理由によるものと考えられる。J H M やキチン形成阻害剤がゴキブリに対して羽化阻害や、繁殖能力の低下をもたらすことは知られていたが (Wellinga et al., 1973; Riddiford et al., 1975; Das and Gupta, 1977)、この作用を利用したコントロールの考え方が提唱されたのは最近のことである (Staal et al., 1985)。本節ではピリプロキシフェンのチャバネゴキブリに対する羽化阻害活性、繁殖抑制効果に関する検討を行ない本剤のゴキブリ防除への可能性につき考察する。

#### Ⅲ-1 幼虫に対する羽化阻害活性評価

##### 材料および方法

##### A. 供試虫

チャバネゴキブリ Blattella germanica

殺虫剤に対し正常な感受性を示す標準系統を使用した。

##### B. 供試薬剤

1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)

2) Hydroprene (purity 98.0%)

## C. 試験方法

### (1) 局所施用法

薬剤の所定濃度アセトン希釈液  $1 \mu\text{l}$  または  $0.5 \mu\text{l}$  を供試虫の胸部腹板に局所施用した。処理した供試虫は 10 頭ずつプラスチックカップに移し、水とエサを与えて飼育した。以後 2-3 日間隔でこれを観察し、幼虫の死亡および羽化阻害 (写真 1) について記録した。羽化阻害に関しては図 10 のように、正常虫 (スコア 0)、黒化個体および翅の異常な個体 (スコア 1)、過剰脱皮幼虫および黒化して翅芽が肥大した永久幼虫 (Adultoid および Permanent nymph, スコア 2) のようにスコアリングを行なった。全供試虫が羽化した時点で各処理薬量における 1 個体当りの平均のスコアを算出した。

### (2) 繁殖抑制効果の評価

上記の試験によって得られた各処理薬量のグループについて、1 週間間

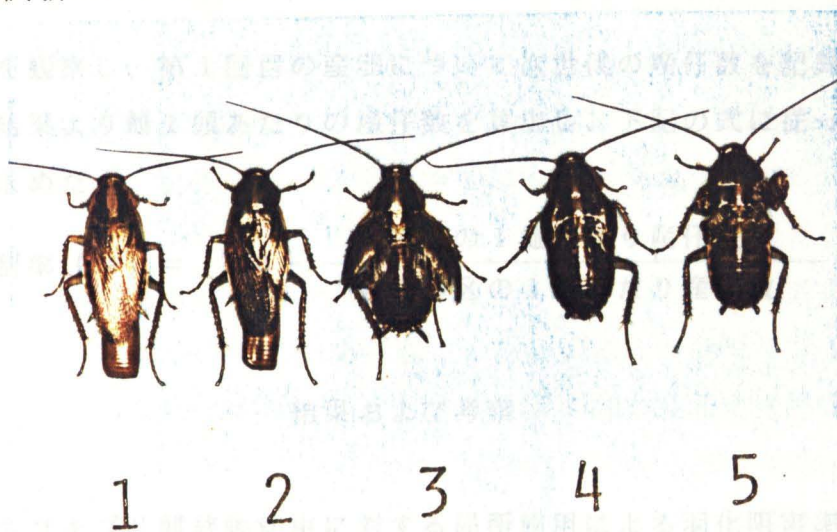


Photo 1 Inhibition of emergence of pyriproxyfen-treated female German cockroaches. 1, Normal; 2, Melanic coloration; 3, Abnormal wing; 4, Permanent nymph; 5, Adultoid.

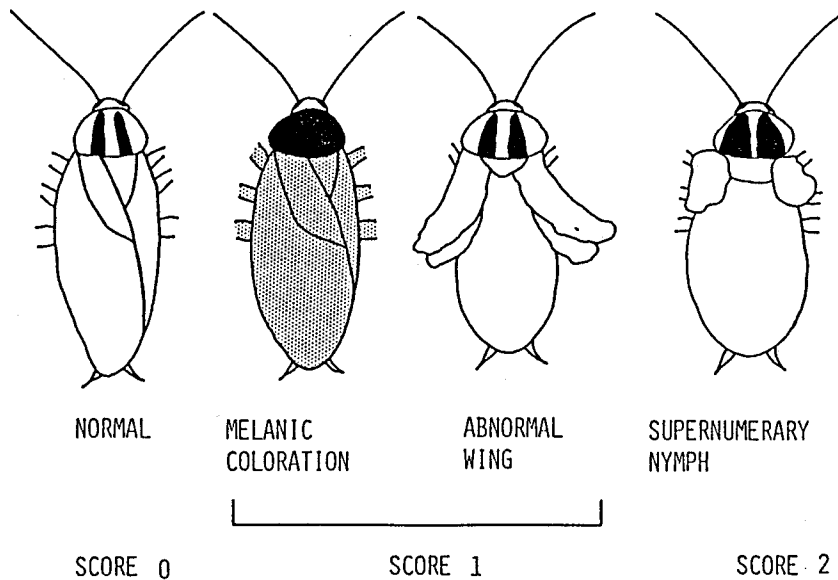


Fig. 10 Scoring of cockroach affected by treatment of JHM.

隔でこれを観察し、第1回目の産卵について次世代の産仔数を記録した。得られた結果より雌1頭あたりの産仔数を算出し、下記の式に従って繁殖抑制率を求めた。

$$\text{繁殖抑制率 (\%)} = 100 - \frac{\text{試験区の1雌あたり産仔数}}{\text{無処理区の1雌あたり産仔数}} \times 100$$

#### 結果および考察

チャバネゴキブリ雌終齢幼虫に対する局所施用による羽化阻害率の比較を表18に示した。ピリプロキシフェンは $10 \mu\text{g}/\text{雌}$ で平均スコア1.46、 $0.1 \mu\text{g}/\text{雌}$ でも1.07という高い羽化阻害効果を示した。薬剤処理より1週間以内に羽化した成虫は比較的低いスコアを示すものが

Table 18 Inhibitory effect of topically applied pyriproxyfen on adult emergence of the German cockroach <sup>1)</sup>

| Compounds    | Dosage<br>( $\mu\text{g}/\text{nymph}$ ) | % individuals in each score <sup>2)</sup> |             |             | Average<br>score |
|--------------|--|---|-------------|-------------|------------------|
|              |  | score 0                                   | score 1     | score 2     |                  |
| Pyriproxyfen | 10                                       | 0 ( 0)                                    | 53.6 ( 0)   | 46.4 ( 100) | 1.46 (2.00)      |
|              | 5  | 0 ( 0)                                    | 61.5 ( 0)   | 38.5 ( 100) | 1.39 (2.00)      |
|              | 1  | 2.9 ( 0)                                  | 70.6 ( 0)   | 28.5 ( 100) | 1.24 (2.00)      |
|              | 0.5                                      | 6.7 ( 0)                                  | 73.3 ( 0)   | 20.0 ( 100) | 1.13 (2.00)      |
|              | 0.1                                      | 9.7 ( 0)                                  | 74.2 (54.5) | 16.1 (45.5) | 1.07 (1.46)      |
| Hydroprene   | 10                                       | 0 ( 0)                                    | 66.7 ( 0)   | 33.3 ( 100) | 1.33 (2.00)      |
|              | 5  | 6.5 ( 0)                                  | 77.4 (28.6) | 16.1 (71.4) | 1.10 (1.71)      |
|              | 1  | 23.1 ( 0)                                 | 65.4 (57.1) | 11.5 (42.9) | 0.89 (1.43)      |
|              | 0.5                                      | 32.4 ( 0)                                 | 55.8 (66.7) | 11.8 (33.3) | 0.79 (1.33)      |
|              | 0.1                                      | 54.1 (46.2)                               | 43.2 (46.2) | 2.7 ( 7.6)  | 0.49 (0.62)      |
| Control      | —  | 97.3 ( 100)                               | 2.7 ( 0)    | 0 ( 0)      | 0.03 (0.00)      |

<sup>1)</sup> Sixth instar female nymph

<sup>2)</sup> Figures in parentheses indicate the value when the insects molting within 7 days after treatment were excluded.

多かった。 Patterson and Koehler (1985) も同様な現象を認めており、薬剤への接触より0から4日以内に羽化した個体はJHM (ハイドロブレン) に対し感受性が低くなることを報告している。 この現象はチャバネゴキブリにおける終齢幼虫から成虫への脱皮がこの時期に既にプログラムされていることを示唆している。 薬剤処理より1週間以内に羽化した個体を除外したときの平均スコアを表18の括弧内に示した。 この場合の評価では、ピリプロキシフェン0.1  $\mu\text{g}/\text{雌}$  で平均スコア1.46、0.5  $\mu\text{g}/\text{雌}$  以上の薬量では平均スコア2.0すなわち全ての個体がAdultoidとなった。 これに対してハイドロブレンでは平均スコア2.0を得るためには10  $\mu\text{g}/\text{雌}$  以上の薬量を必要とした (Kawada *et al.*, 1989)。

チャバネゴキブリの齢を孵化からの週齢によって、3週齢から7週齢までのグループに分け (3週齢は2-3齢、7週齢は終齢幼虫に相当する)

Table 19 Changes in the average score of the German cockroach responding to pyriproxyfen topically applied at different ages.

| Nymphal age<br>when treated<br>(in weeks) | Average score at different dosage ( $\mu\text{g}/\text{nymph}$ ) |      |      |      |     |         |
|---|--|------|------|------|-----|---------|
|   | 0.0625   | 0.25 | 1    | 4    | 16  | Control |
| 3   | 0  | 0    | 0.05 | 0.35 | 2.0 | 0.11    |
| 4   | 0  | 0.10 | 0.11 | 0.58 | 1.9 | 0.03    |
| 5   | 0.10   | 0.05 | 0.30 | 1.2  | 1.9 | 0.03    |
| 6   | 0.25   | 0.60 | 1.6  | 1.3  | 2.0 | 0.03    |
| 7   | 0.84   | 0.84 | 1.3  | 1.6  | 1.8 | 0.05    |

それぞれの幼虫に対しピリプロキシフェンを局所施用したときの羽化虫の平均スコアを表19に示した。平均スコアは薬量の増加に従って増加するが、同じ薬量では幼虫の齢が大きいほどスコアが大きくなる傾向にあり、チャバネゴキブリにおいても幼虫の齢が進むにしたがってJHMに対する感受性が高くなることが証明された。また、 $16\mu\text{g}/\text{頭}$ の薬量（試験に使用した最高の薬量）において幼虫の死亡が観察された。若齢期にピリプロキシフェンを処理した場合には次の齢への脱皮が行なえずに幼虫として死亡するケースが多いのに対し、老齢期に処理した場合は幼虫での死亡は起らずに過剰脱皮幼虫 (Adultoid) あるいは正常な脱皮がストップして体色が黒化した永久幼虫 (Permanent nymph) となるが、後者の永久幼虫が次の脱皮を企てた際に脱皮に失敗して死亡するケースが多かった (Kawada et al., 1989; 表20および写真2)。

Table 20 Mortality<sup>1)</sup> of nymphs topically treated with pyriproxyfen.

| Nymphal age<br>when treated<br>(in weeks) | Mortality (%)<br>as nymphs |         | Mortality (%)<br>as supernumerary nymphs |         |
|---|----------------------------|---------|--|---------|
|   | 4                          | 16 (μg) | 4  | 16 (μg) |
| 3   | 0                          | 55.0    | 0  | 15.0    |
| 4   | 0                          | 45.0    | 0  | 5.0     |
| 5   | 10.0                       | 25.0    | 5.0                                      | 0       |
| 6   | 0                          | 0       | 0  | 40.0    |
| 7   | 0                          | 10.0    | 5.0                                      | 55.0    |

<sup>1)</sup> Fourteen weeks after hatching

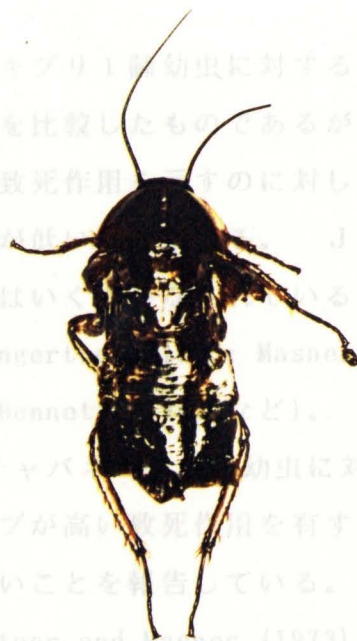


Photo 2 Death of German cockroach as a permanent nymph.



Table 21 Lethal effect of topically applied JHMs on the 1st instar nymph of the German cockroach.

| Chemicals    | Mortality (%) at ( $\mu\text{g}$ / nymph) |      |      |      |      |
|--------------|---|------|------|------|------|
|              | 1   | 2    | 4    | 8    | 16   |
| Pyriproxyfen | 5.0                                       | 10.5 | 10.5 | 57.9 | 65.0 |
| Hydroprene   | 4.8                                       | 5.0  | 0    | 10.0 | 17.6 |
| Control      |   |      | 0    |      |      |

表21はチャバネゴキブリ1齢幼虫に対するピリプロキシフェンとハイドロプレンの致死活性を比較したものであるが、ピリプロキシフェンは8  $\mu\text{g}$ /頭以上の薬量で致死作用を示すのに対し、ハイドロペンでは16  $\mu\text{g}$ /頭でもその効果が低いことが分る。JHMが昆虫の幼虫期に致死活性を示すという報告はいくつかなされている (Hangertner and Masner, 1973; Masner and Hangertner, 1973; Masner et al., 1975; Vogel et al., 1979; King and Bennett, 1988 など)。King and Bennett (1988) はハイドロプレンのチャバネゴキブリ幼虫に対する致死作用が低いのに対してフェノキシカーブが高い致死作用を有すること、さらに致死作用は幼虫齢期が若いほど高いことを報告している。Masner and Hangertner (1973) および Hangertner and Masner (1973) はJHがチャバネゴキブリ幼虫に対して2つの作用を示すとしている。すなわち、1つは幼虫の全ステージにおいて ecdysis をブロックする作用、もう1つは終齢幼虫

Table 22 Changes in the average number of progeny <sup>1)</sup> per female topically treated with pyriproxyfen at different nymphal age.

| Nymphal age when treated (in weeks) | No. of progeny at different dosages ( $\mu\text{g}/\text{nymph}$ ) <sup>2)</sup> |          |          |          |        | Control   |
|-------------------------------------|--|----------|----------|----------|--------|-----------|
|                                     | 0.0625   | 0.25     | 1        | 4        | 16     |           |
| 3                                   | 32.8( 8)   | 31.4( 9) | 41.4( 5) | 36.8( 8) | 0 ( 5) | 39.8 (17) |
| 4                                   | 32.1(12)   | 35.8( 5) | 32.9(10) | 33.1( 8) | 0 ( 6) | 35.0 (23) |
| 5                                   | 32.9(12)   | 38.1(10) | 37.8(10) | 9.3( 7)  | 0 ( 4) | 35.6 (24) |
| 6                                   | 21.7(15)   | 28.5(13) | 15.7(10) | 23.4( 7) | 0 ( 7) | 34.5 (21) |
| 7                                   | 22.2(13)   | 27.8(10) | 21.2(10) | 0 (11)   | 0 (11) | 33.9 (19) |

<sup>1)</sup> No. of nymphs hatched from the first oothecae

<sup>2)</sup> Figures in parentheses indicate the number of females used.

におけるクチクラ合成をブロックする作用である。すなわち、終齡以外の齡期の幼虫においてはクチクラの合成は正常に行なわれるが、過剰に与えられた JH あるいは JHM によって正常な脱皮がブロックされるために結果として脱皮失敗という形で死亡が起るのに対し、終齡幼虫の初期においてはクチクラの合成をもブロックするためにこの時期に過剰な JHM を与えると一種の休眠状態となり永久幼虫となるがこれが 15 - 18 日後に次の脱皮を試みる際に脱皮に失敗して死亡する。本節の試験においては週齡によって幼虫を供試したために各個体間にはステージに差があり、特に 7 週齡においては過剰脱皮幼虫 (Adultoid) となるものと永久幼虫 (Permanent nymph) となるものが混在する結果となった。過剰脱皮幼虫と永久幼虫とは形態的、生理的には全く異なるものではあるが、Riddiford *et al.* (1975) らは後者を前者に次ぐ羽化阻害としてスコアリングして活性を評価しており、本節における簡易的なスコアリングも妥当なもの

であると考えられる。

それぞれの薬量処理による羽化雌 (Adultoid を含む) の1回目の産卵に関して (全ての雌幼虫が羽化してから6週間経過する間の) 1雌あたりの産仔数を表22に示した。1雌あたりの産仔数は無処理区で30-40の間にあり正常な値を示した。これに対してピリプロキシフェン処理区の産仔数は薬量の増加に従って、また薬剤処理時の幼虫の齢期が増加するに従って減少する傾向にあった。さらに16  $\mu$ g/頭処理では処理した幼虫の齢期にかかわらずいずれも産仔数は0となった。羽化雌の平均スコアと繁殖抑制率との関係を図11に示したが、両者は比較的高い相関関係を示し ( $r=0.91$ )、羽化阻害の程度が大きくなるに従って次世代への繁殖が抑制されることが明かとなった (Kawada *et al.*, 1989)。過剰脱皮幼虫 (Adultoid) の卵巣を実体顕微鏡下で観察したところ、Das and Gupta (1974;1977) が報告したように卵巣の肥大および輸卵管の肥厚、さ

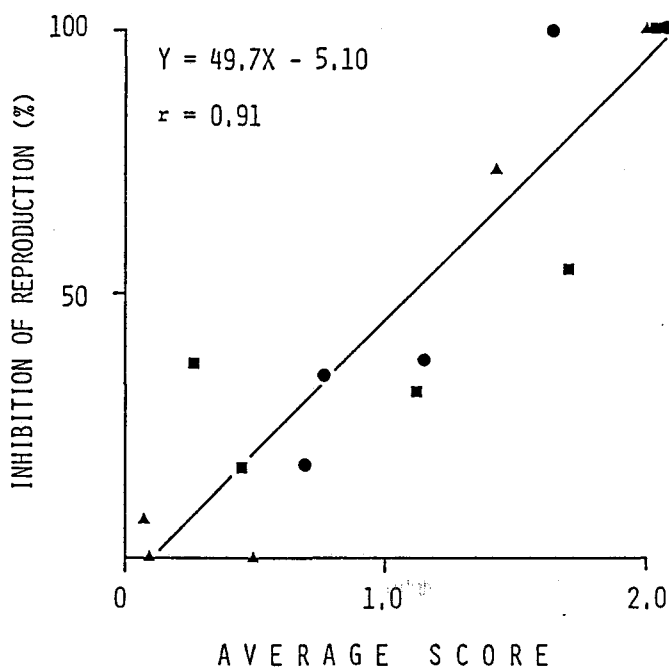


Fig. 11 Correlation between average score of female German cockroach and inhibition rate of reproduction. Pyriproxyfen was topically applied at 7-week-old (●), 6-week-old (■), and 5-week-old (▲) nymphs, respectively.

らにはこれらの破壊が観察された。チャバネゴキブリ終齢幼虫にピリプロキシフェンを $10\mu\text{g}$ /頭処理して得られた体色の黒化した成虫（スコア1）および過剰脱皮幼虫（スコア2）をそれぞれ雌雄5頭ずつのペアとして飼育し、次世代への産卵を観察したところ過剰脱皮幼虫は正常虫に比較して100%の産卵抑制を、また黒化成虫では64%の産卵抑制をそれぞれ示し、羽化阻害の中程度の成虫もその程度に比例した繁殖抑制作用を受けることがこのことから類推される（川田ら，1987）。

### Ⅲ-2 成虫に対する産卵抑制作用

#### 材料および方法

##### A. 供試虫

チャバネゴキブリ Blattella germanica

野外系統（ピレスロイドに対し低感受性で他の薬剤には正常な感受性を示す系統； Umeda et al., 1988）を使用した。

##### B. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen (purity 97.2%)
- 2) Hydroprene (purity 98.0%)

##### C. 試験方法

###### (1) 局所施用法

薬剤の所定濃度アセトン希釈液 $1\mu\text{l}$ を供試虫の胸部腹板に局所施用した。処理した成虫は雌雄5頭ずつのペアとしプラスチックカップに入れ、水とエサを与えて飼育した。これを1週間間隔で観察し、供試虫の

死亡、産卵数、孵化率等を記録した。得られた結果より雌1頭あたりの産仔数を算出し、下記の式に従って繁殖抑制率を求めた。

$$\text{繁殖抑制率 (\%)} = 100 - \frac{\text{試験区の1雌あたり産仔数}}{\text{無処理区の1雌あたり産仔数}} \times 100$$

## (2) 摂食法

供試虫雌雄各5頭をプラスチックカップに入れ、これにピリプロキシフェンを含有させたエサ（ゴマ油2.0%、砂糖30.0%、結晶セルロース30.0%、バレイショ澱粉残% w/w）を与えて飼育した。これを1週間間隔で観察し、エサの減少量、供試虫の死亡、産卵数、孵化率等を記録した。得られた結果より雌1頭あたりの産仔数を算出し、上記の式に従って繁殖抑制率を求めた。

## 結果および考察

### III-2-1 局所施用法による活性評価

羽化より1週間以内の未交尾の雌雄成虫にピリプロキシフェン10 $\mu$ gを局所施用した時の雌15頭あたりの産仔数の変化を図12に示した。

ピリプロキシフェンの処理を雌雄いずれにも行なった場合、および雌のみに行なった場合に繁殖抑制効果が見られた。雄のみに処理した場合の孵化数は無処理区とほぼ同数となり、繁殖抑制効果は認められなかった。

1回目の産卵が行なわれた6週目までの結果をまとめると、雌雄いずれにも処理した場合は100%、雌のみに処理した場合は92.2%の産卵抑制率を示すが、2回目の産卵を含めた12週までの結果をまとめると、繁殖抑制率はそれぞれ80.3%、69.4%となった。すなわち、2回目の産卵からはピリプロキシフェンの効果が低くなるものと考えられた

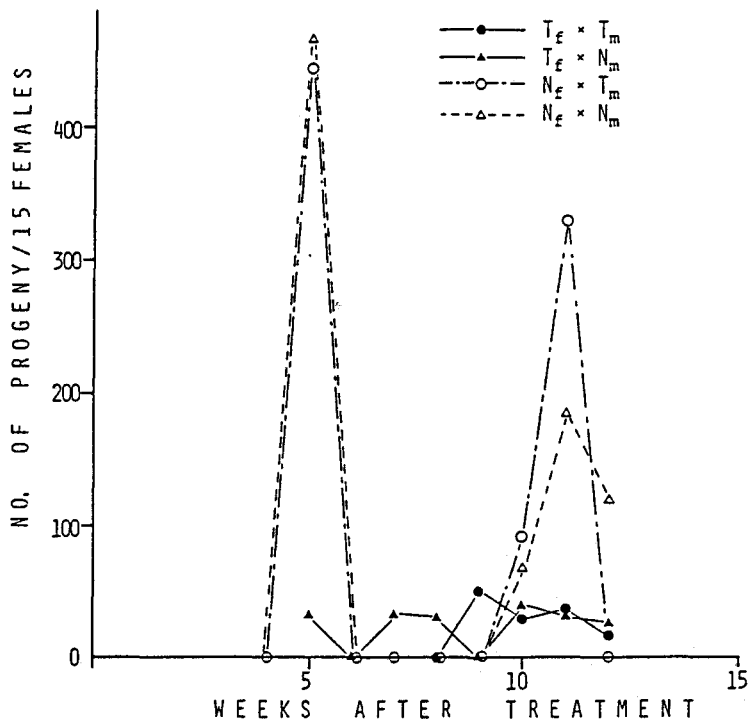


Fig. 12 Changes in the no. of progeny produced by German cockroach (pyrethroid resistant strain) treated with 10  $\mu$ g of pyriproxyfen. T, treated; N, untreated; f, female; m, male.

(川田ら, 1987)。成虫に対する産卵抑制効果をヒドロブレンと比較した結果を表23に示した。ピリプロキシフェンは10  $\mu$ g/頭処理で100%、2  $\mu$ g/頭処理で56.5%の繁殖抑制効果を示した。これに対しヒドロブレンでは10  $\mu$ g/頭処理でも51.5%の抑制率を示すにとどまり、繁殖抑制効果はピリプロキシフェンの約5分の1以下と考えられた。また、1雌あたりの産仔数の減少と同時に、1雌あたりの第1回目の産卵における1頭あたりの卵鞘数がヒドロブレンにおいては無処理区と同様なのに対し、ピリプロキシフェンでは薬量が大きくなるにしたがって減少する傾向が得られた(川田ら, 1987)。チャバネゴキブリの卵は卵鞘内に産み付けられて孵化直前まで成虫がこれを保持するが、ピリプロキシフェンを処理した雌では卵鞘の形成は行なわれるが卵が産下されずに委縮してしまい短期間でこれを落としてしまうものや、卵鞘あたりの孵化数が低下するものが認められた。したがって、チャバネゴキブリの

Table 23 Effect of topically applied JHMs on the reproduction of the German cockroach adult.

| Chemicals    | Dosage<br>( $\mu\text{g}/i$ ) | No. of<br>Oothecae<br>/female | No. of<br>Progeny<br>/female | Corrected %<br>Inhibition of<br>Reproduction |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--|
| Pyriproxyfen | 10                            | 0.33                          | 0                            | 100  |
|              | 2                             | 0.60                          | 11.3                         | 56.5   |
|              | 0.4                           | 0.87                          | 23.5                         | 9.6  |
| Hydroprene   | 10                            | 0.80                          | 12.6                         | 51.5   |
|              | 2                             | 0.89                          | 21.2                         | 18.5   |
|              | 0.4                           | 1.0                           | 22.7                         | 12.7   |
| Control      |                               | 0.8                           | 26.0                         | -  |

\* Chemicals were treated to the virgin male and female of the pyrethroid resistant strain emerged within a week before treatment, and observation was carried out for 6 weeks after treatment.

場合もイエバエに関して推察されたと同様にピリプロキシフェンが卵に直接働いてこれを殺す作用を有すると同時に成虫の生理状態になんらかの影響を及ぼしていることが考えられた。

### III-2-2 摂食法による活性評価

ピリプロキシフェンをそれぞれ0.1%、0.02%、0.004%含有させたエサを羽化より1週間以内の未交尾の成虫および羽化より2-3週間経過した既交尾の成虫に与えてこれを飼育したときの繁殖に及ぼされる影響を表24および図13、14に示した。観察期間中(15週間)のエサの総摂食量は、羽化後2-3週間経過した成虫(以後成熟成虫とする)を使用した場合、無処理エサ(動物用固形飼料、CE-2)の148mg/頭に対して150-170mg/頭、羽化後1週間以内の成虫(以後未

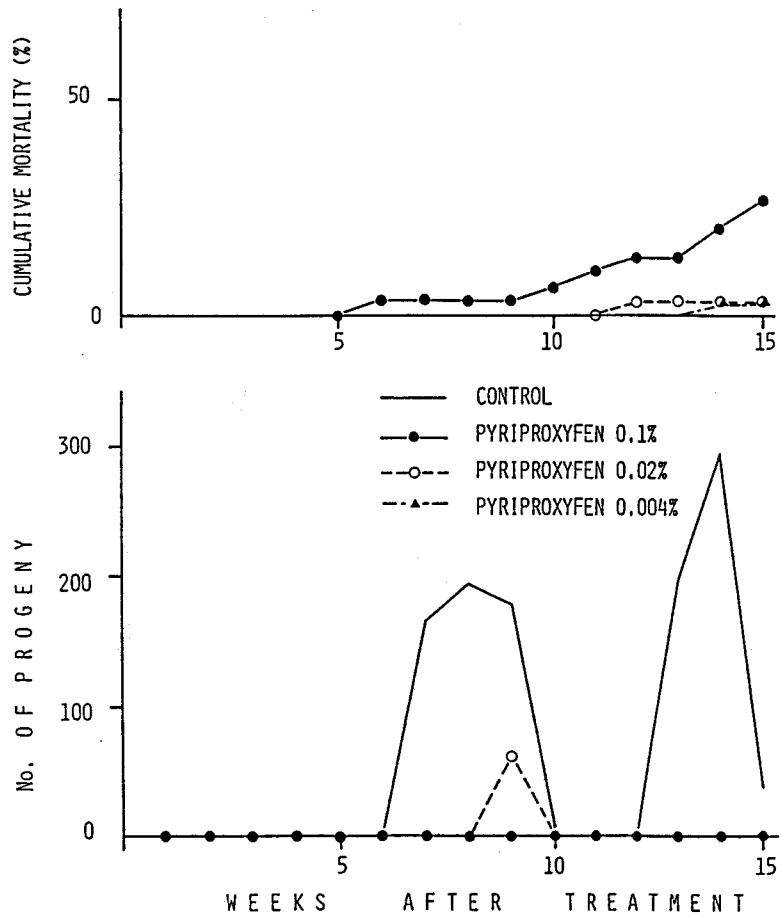


Fig. 13 Changes in the no. of progeny produced by female German cockroach\* fed with pyriproxyfen in the diet.  
\* Pyrethroid resistant strain emerged within 1 week before test.

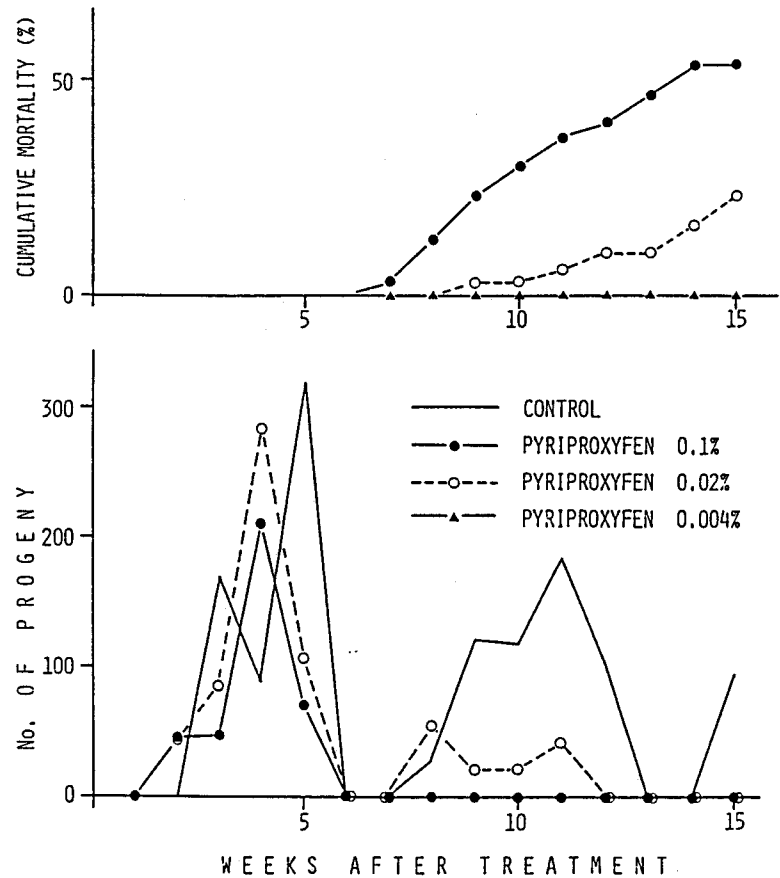


Fig. 14 Changes in the no. of progeny produced by female German cockroach\* fed with pyriproxyfen in the diet.  
\* Pyrethroid resistant strain emerged within 2 - 3 weeks before test.



Table 24 Sterilizing effect of pyriproxyfen fed with diet on the adult German cockroach<sup>1)</sup>.

| Insects used                                   | Conc. in diet (%) | Cumulative Mortality (%) | Intake of diet/insect (mg) | No. of Oothecae /female | Total No. of Progeny | Corrected % Inhibition of Reproduction |
|--|-------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------|--|
| Adults emerged within a week before test       | 0.1               | 26.7                     | 178                        | 0.60                    | 0                    | 100                                    |
|  | 0.02              | 3.3                      | 186                        | 0.60                    | 61                   | 94.3                                   |
|  | 0.004             | 3.3                      | 210                        | 1.2                     | 479                  | 55.2                                   |
|  | Control           | 3.3                      | 200                        | 2.0                     | 1069                 | -                                      |
| Adults emerged within 2 to 3 weeks before test | 0.1               | 53.3                     | 152                        | 0.93                    | 375                  | 69.4                                   |
|  | 0.02              | 23.3                     | 159                        | 1.4                     | 666                  | 45.7                                   |
|  | 0.004             | 0                        | 173                        | 2.0                     | 822                  | 33.0                                   |
|  | Control           | 6.7                      | 148                        | 2.2                     | 1226                 | -                                      |

<sup>1)</sup> Fifteen males and females of the pyrethroid resistant strain.

<sup>2)</sup> Observation was carried out for 15 weeks after treatment.

成熟成虫とする) の場合は無処理区の 200 mg/頭に対して 180-210 mg/頭であり、エサの喫食性に差は認められなかった。成虫の死亡率は 0.1% 処理区で高く、成熟成虫で 53.3%、未成熟成虫で 26.7% であった。また死亡個体のほとんどが雄であった。観察期間中の 1 雌あたりの卵鞘数は成熟成虫の場合無処理区の 2.2 に対して 0.1% 処理区で 0.93、0.02% 処理区で 1.4、0.004% 処理区で 2.0 となり、ピリプロキシフェン含量の増加にともなって減少する傾向が認められた。未成熟成虫を使用した場合にも同様の傾向が得られ、減少の程度は成熟成虫の場合よりも大きかった (川田ら, 1987)。雌 15 頭あたりの総産仔数は成熟成虫の場合無処理区の 1226 に対して 0.1% 処理区 375、0.02% 処理区 666、0.004% 処理区 822 となり、それぞれ 69.4%、45.7%、33.0% の繁殖抑制率を示した。これは未成熟成虫に対してはより顕著となり、産仔数は無処理区の 106

9 に対し、0.1% 処理区 0、0.02% 処理区 61、0.004% 処理区 479 という値を示し、繁殖抑制率はそれぞれ 100%、94.3%、55.2% となった。産仔数の変化を経時的に見ると成熟成虫では 2-5 週目に見られる第 1 回目の産卵ピークにおいてはピリプロキシフェン処理区と無処理区との間に差が見られないのに対し、8-12 週目に見られる第 2 回目の産卵ピークにおいてピリプロキシフェンの含量に依存した産仔数の減少が見られ、第 2 回目の産卵に関しては 0.1% 処理区で 100% の繁殖抑制率を示した。これに対し未成熟成虫を使用した場合には第 1 回目の産卵から繁殖抑制効果が見られた。これらの結果よりピリプロキシフェンはある程度胚の発育が進行している成熟成虫の卵に対しては影響を及ぼさないことが分る。

次にピリプロキシフェンの含量を 0.5%、0.1%、0.05% とし、それぞれについて未成熟成虫に喫食させる期間を制限したときの繁殖に対する影響について調べた。結果を表 25 および図 15 に示したが、本結果より十分な繁殖抑制を得るためには、0.5%、0.1% 処理いずれにおいても 7 日以上 の 喫食を必要とすることが分った。。エサの摂取量から計算されたピリプロキシフェンの摂取量は 3 日間 喫食では 0.5% 処理区で  $25 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、0.1% 処理区で  $7.7 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、0.05% で  $4.2 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、7 日間 喫食ではそれぞれ  $68.5 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、 $15.0 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、 $9.2 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、また 15 日間 喫食ではそれぞれ  $95.0 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、 $28.9 \mu\text{g}/\text{頭}$ 、 $15.9 \mu\text{g}/\text{頭}$  となり、70% 以上の繁殖抑制効果を得るためには少なくとも  $15.0 \mu\text{g}/\text{頭}$  の薬量が取込まれる必要があると考えられた。体外より局所施用によってピリプロキシフェンを処理した場合は、 $1.0 \mu\text{g}/\text{頭}$  の処理で 100% の繁殖抑制を得られることからエサとして経口的に摂取した場合は不妊化に必要とされる薬量が大きくなることが分った。ピリプロキシフェンのゴキブリ 1 頭あたりの計算摂取

Table 25 Sterilizing effect of pyriproxyfen fed with diet on the adult German cockroach<sup>1)</sup>.

| Conc. in diet (%) | Feeding Duration (days) | Cumulative Mortality (%) | Intake of diet/insect (mg) | No. of Oothecae /female | Total No. of Progeny | Corrected % Inhibition of Reproduction |
|-------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------------|-------------------------|----------------------|--|
| 0.5               | 3                       | 8.7                      | 5                          | 1.1                     | 218                  | 58.0                                   |
|                   | 7                       | 8.7                      | 13.7                       | 0.93                    | 54                   | 89.6                                   |
|                   | 15                      | 10.0                     | 19.0                       | 0.53                    | 0                    | 100                                    |
| 0.1               | 3                       | 16.7                     | 7.7                        | 0.87                    | 341                  | 34.2                                   |
|                   | 7                       | 6.7                      | 15.0                       | 0.87                    | 127                  | 75.4                                   |
|                   | 15                      | 6.7                      | 28.9                       | 1.1                     | 32                   | 93.9                                   |
| 0.05              | 3                       | 0                        | 8.3                        | 1.2                     | 438                  | 15.4                                   |
|                   | 7                       | 0                        | 18.3                       | 1.1                     | 275                  | 47.0                                   |
|                   | 15                      | 3.3                      | 31.7                       | 0.93                    | 213                  | 58.8                                   |
| Control           |                         | 3.3                      | -                          | 1.0                     | 518                  | -                                      |

<sup>1)</sup> Fifteen males and females of the pyrethroid resistant strain.

<sup>2)</sup> Observation was carried out for 8 weeks after treatment.

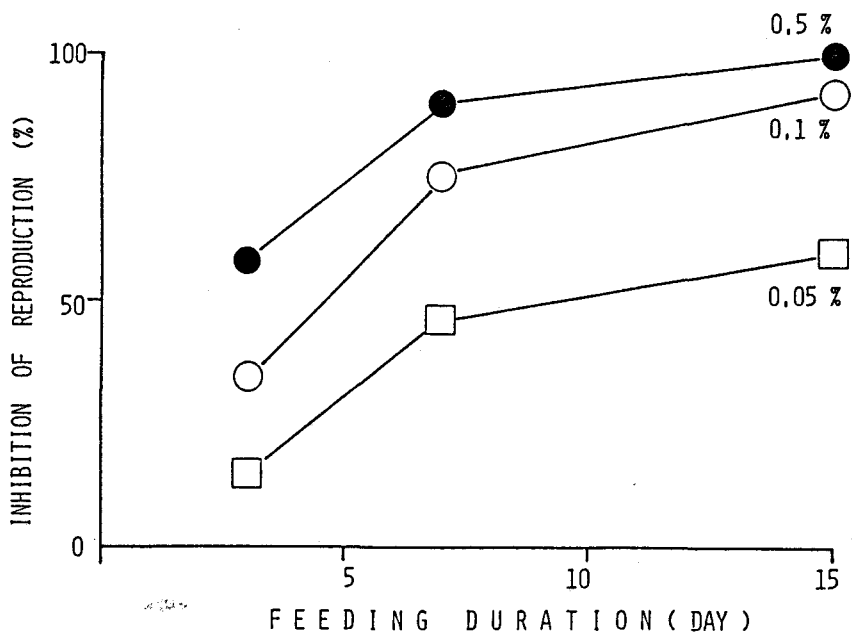


Fig. 15 Inhibition of reproduction of German cockroach\* by pyriproxyfen fed with diet.

\* Pyrethroid resistant strain; Figures indicate contents of pyriproxyfen in a diet.

量の対数値を横軸に、繁殖抑制率を縦軸にとり摂食させた期間ごとにプロットすると図16のようになる。図16よりエサの摂食期間が長くなるにしたがって少量のエサの摂取量で高い効果を示す傾向があることが分る。すなわち、高い含量のエサを摂取しても排泄等によるロスが大きくなり、むしろ低含量のエサを長期にわたって摂取した方が効率良く効果が現れるのではないかと考えられた (川田ら, 1987)。

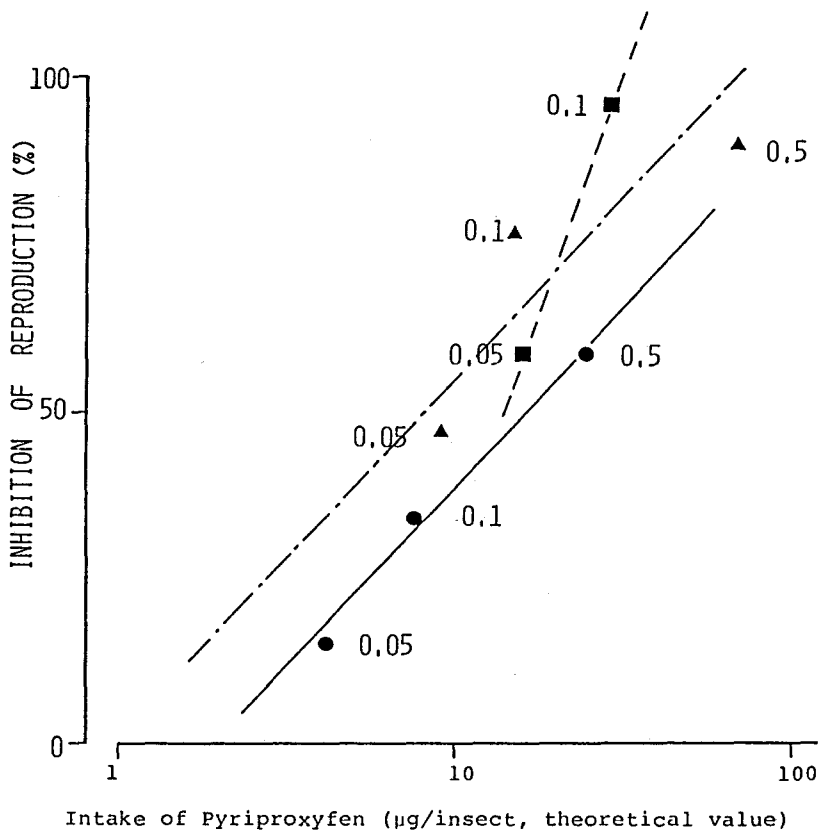


Fig. 16 Relation between the intake of pyriproxyfen and the inhibition of reproduction (●, feeding for 3 days; ▲, feeding for 7 days; ■, feeding for 15 days). Figures indicate the contents of pyriproxyfen in a diet.

成虫に IGR を与えることによってこれを不妊化し個体群密度を低下させようとするような試みが報告され始めたのは比較的最近のことである。

しかし、その中では Weaver et al. (1984) によるトリフルムロンを用いたゴキブリの不妊化効果の実験や、同じくキチン形成阻害剤を用いたハエ類の不妊化の試み (Wright and Harris, 1976; Wright and Spates, 1976; Chang, 1979; Knapp and Herald, 1983; Broce and Gonzaga, 1987; Knapp and Cilek, 1988) といったようにキチン形成阻害剤に関する報告は多いのに対し、JHM に関しては Langley et al. (1988) によるピリプロキシフェンを用いたツェツェバエの不妊化試験や、Das and Gupta (1976) によるゴキブリのベイト剤への応用に関する小実験にその数少ない例を見るのみである。この原因としては、ベイト剤によるコントロールが一般に有効な方法と考えられてはいなかったこと、低薬量で成虫に作用してこれを有効に不妊化するような JHM がこれまでなかったことなどが考えられる。しかし近年、特に衛生害虫防除の分野においては、環境を乱さないクリーンな施工、ばら撒かない殺虫剤への志向が強くなってきつつあり、ベイト剤や、忌避剤、誘引剤といったものの見直しが必要とされてきている。このような背景においてピリプロキシフェンのような高活性を持った JHM の不妊化剤としての応用は未来の殺虫剤の取るべき 1 つの道を提示するものであると考えられる。しかし、そこには如何に効率よくこれを昆虫の体内に取込ませるかという問題が残されており、昆虫の誘引技術、喫食性を向上させる技術等に関する十分な研究が必要とされることは言うまでもない。

### Ⅲ-3 任意接触法による活性評価

これまで、ピリプロキシフェンのチャバネゴキブリ成幼虫に対する基礎

的な効果について述べてきたが、本節では、ゴキブリの生息場所あるいは活動場所への残留散布を想定した検討を行ない本剤の実用性について考察する。

## 材料および方法

### A. 供試虫

チャバネゴキブリ *Blattella germanica*

殺虫剤に対し正常な感受性を示す標準系統を使用した。

### B. 供試薬剤

Pyriproxyfen (purity 97.2%) の乳剤 (有効成分 5%、溶剤 85%、乳化剤 10%) を使用した。

### C. 試験方法

#### (1) 幼虫に対する活性

乳剤の所定濃度水希釈液を  $50 \text{ ml} / \text{m}^2$  となるようにベニヤ板面 (化粧板、 $15 \times 15 \text{ cm}$ ) にピペッターにより滴下処理した。これを風乾後、プラスチック製容器 ( $21 \times 15 \times 8 \text{ cm}$ ) の底に置き、チャバネゴキブリ幼虫を齢期 (週齢) 別に容器内に放ち (0-2 週齢は各 20 頭、3-5 週齢は各 10 頭)、紙製シェルター、水およびエサ (動物用固形飼料、CE-2) を与えて飼育した。1 週間間隔でこれを観察し、供試虫の死亡、羽化虫数、羽化阻害の程度を記録した。羽化虫 (過剰脱皮幼虫、永久幼虫を含む) は同じ容器内で飼育し、次世代への産卵を観察した。羽化阻害の程度は III-1 節図 10 の様にスコアを付けグループの平均スコアを求

めて評価した。

## (2) 実験個体群に対する増殖抑制作用

ピリプロキシフェン乳剤の所定濃度水希釈液を上記と同様の方法によりベニヤ板面(15×15cm)に処理し、3枚のベニヤ板を1cm間隔で積み上げシェルターを作った。これをプラスチック製の容器の底(700cm<sup>2</sup>)に置き、雌成虫15頭、雄成虫10頭、若齢幼虫50頭、中齢幼虫40頭、および終齢幼虫30頭をそれぞれ容器内に放した。容器内には水とエサを与えて飼育し、2-3週間隔で個体数の増減を観察した。

## 結果および考察

ピリプロキシフェンの各薬量区における羽化虫の平均スコアを接触を開始した週齢別に示したのが図17である。112.5μg/容器以下の薬量では接触を開始した齢期にかかわらず平均スコアは1.0以下であり羽化阻害効果は低かったが、225μg/容器の薬量ではいずれの齢期においても平均スコア1.5以上となり、さらに450μg/容器以上ではほぼ2.0に近い値を示した。羽化した成虫(Adultoidを含む)により産下された第1回目の1雌あたりの産仔数を図18に示した。56.25μg/容器の薬量では、産仔数は各接触開始齢期区とも無処理区並みであったが、112.5μg/容器以上の薬量においては産仔数が減少し、225μg/容器ではほとんど0に近い値を示した。112.5μg/容器の薬量区では、平均のスコアは1.0以下と低い値を示すのにもかかわらず、特に若齢および中齢期より接触を開始した区において繁殖抑制率が高かった。この現象はⅢ-1節において述べた平均スコアと繁殖抑制率との相関関係のみからは説明できない。Staal et al. (1985) はハイ

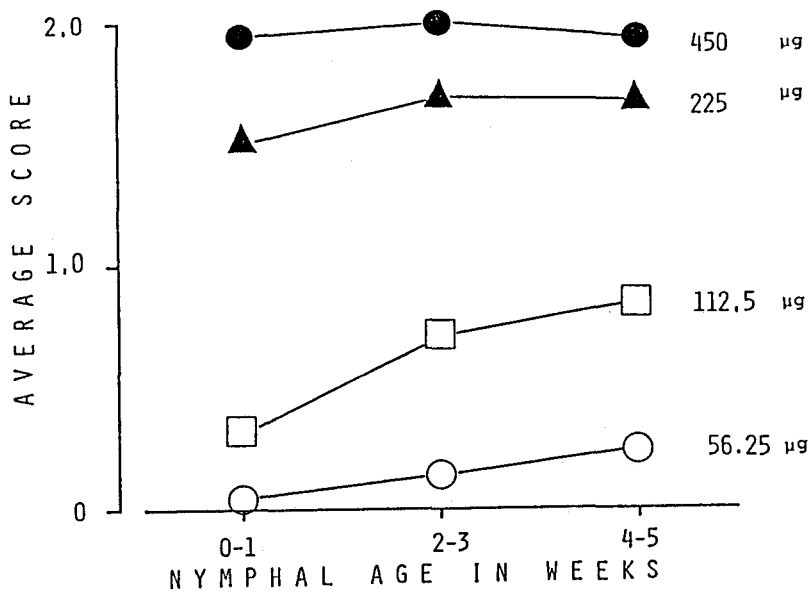


Fig. 17 Changes in the average score of the German cockroach by dosage of pyriproxyfen and the nymphal age at which voluntary contact was started. Figures indicate pyriproxyfen dosage ( $\mu\text{g}/\text{container}$ ).

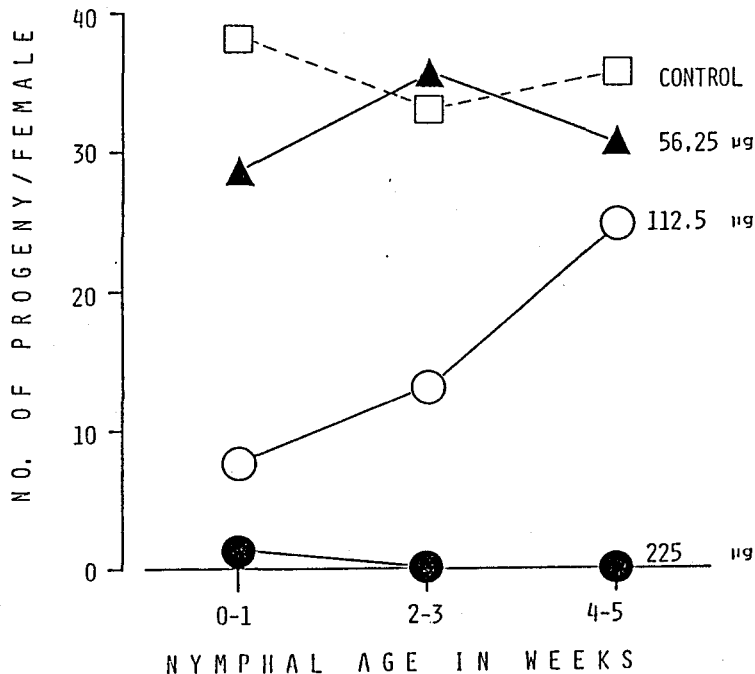


Fig. 18 Changes in the average number of progenies per female by dosage of pyriproxyfen and the nymphal age at which voluntary contact was started. Average number of progenies was indicated by the number of nymphs hatched from the first oothecae. Figures indicate pyriproxyfen dosage ( $\mu\text{g}/\text{container}$ ).



ドロブレンによる同様な試験において形態的には正常な成虫が不妊化されることを報告しており、本節の結果もこれと同様の現象を示唆していると考えられる。また本節の結果より、この現象は若齢期より接触を開始した個体により多く現れるものと考えられ、幼虫に対する致死効果と同様に JHM の幼虫に対する作用の 1 つとして注目すべきであろう (Kawada *et al.*, 1989)。各処理薬量における接触を開始した齢期別の累積致死率を表 26 に、またその経時変化を図 19 にそれぞれ示した。接触を開始したどの齢期においても 112.5  $\mu\text{g}$ /容器以下の薬量では幼虫の累積致死率は 20% に満たないが、225  $\mu\text{g}$ /容器以上の薬量において死亡が観察された。累積致死率は処理薬量の増加とともに増加する傾向にあり、接触開始より 18 週以内に 450  $\mu\text{g}$ /容器の薬量で 50-60%、900  $\mu\text{g}$ /容器の薬量で 70% 以上に達した。この死亡のほとんどはピリプロキシフェンへの接触により生じた永久幼虫 (Permanent nymph) が

Table 26 Mortality of insects reared under the voluntary contact with pyriproxyfen started from different nymphal age.

| Nymphal age<br>in weeks<br>when exposure<br>started | Mortality (%) <sup>1)</sup> at different dosage<br>( $\mu\text{g}/\text{container}$ ) |      |      |      |
|---|---|------|------|------|
|   | 112.5   | 225  | 450  | 900  |
| 0 and 1   | 0   | 32.5 | 57.5 | 75.0 |
| 2 and 3   | 16.7  | 16.7 | 53.3 | 76.7 |
| 4 and 5   | 15.0  | 30.0 | 65.0 | 70.0 |

<sup>1)</sup> Eighteen weeks after exposure of insects to pyriproxyfen.

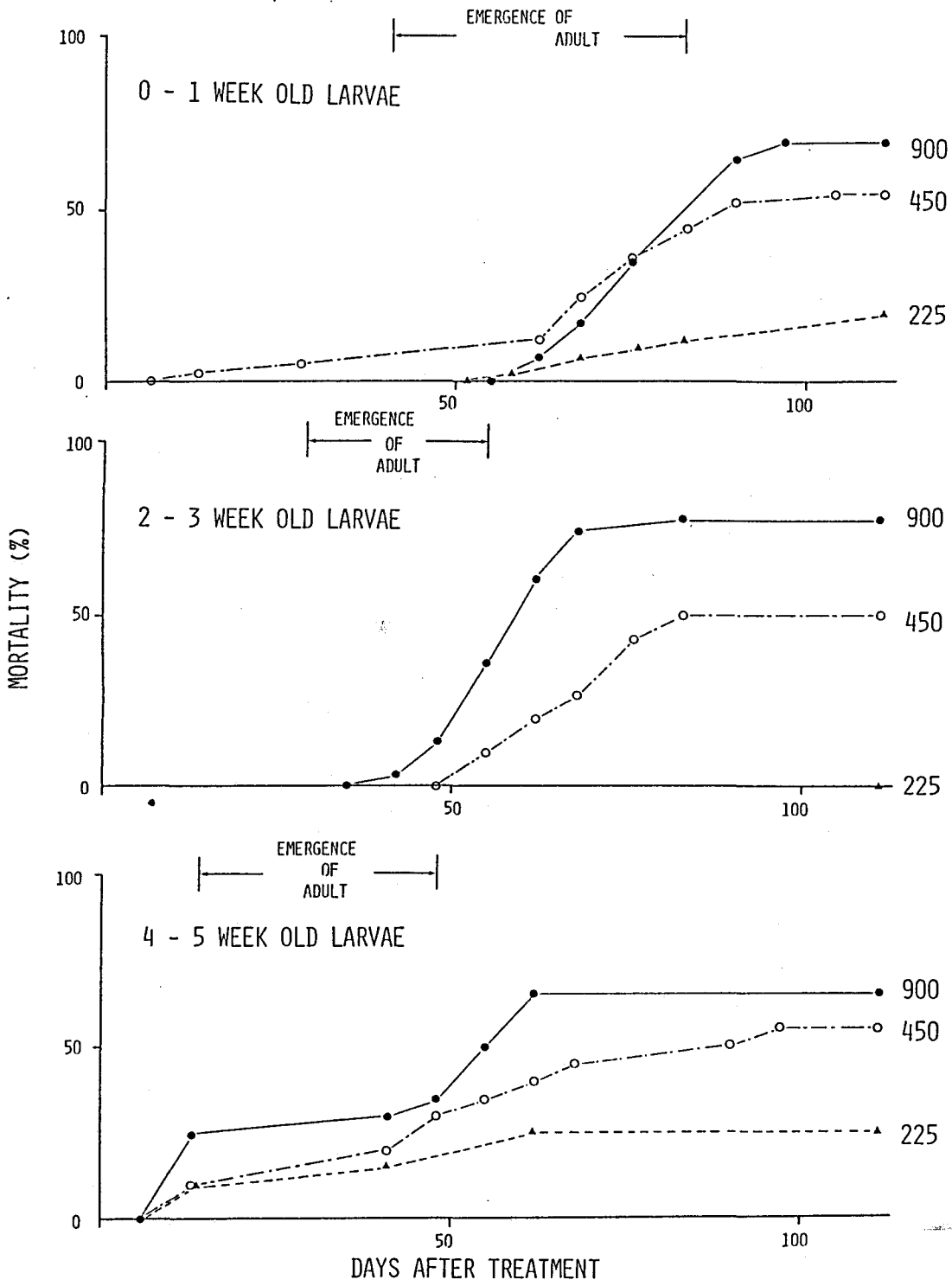


Fig. 19 Cumulative mortality of German cockroach by continuous contact with pyriproxyfen. Figures indicate the dosage of pyriproxyfen ( $\mu\text{g}/\text{container}$ ).

正常な成虫脱皮の時期より2-3週間後に脱皮を企てた際の脱皮失敗という形で起ることが図19より明らかであり、Ⅲ-2-1節の局所施用においてみられた若齢期における死亡は本節の任意接触による最高薬量の900 $\mu$ g/容器においてもほとんど観察されなかった (Kawada *et al.*, 1989)。

本節の結果より、局所施用における効果と異なりピリプロキシフェン処理面に対する任意接触による効果は接触を開始したチャバネゴキブリ幼虫の齢期の違いにあまり左右されないことが分った。この結果はⅠ-1節のイエバエに対する培地混入による結果と同様にチャバネゴキブリ幼虫のピリプロキシフェンに対する感受期が終齢期であるために処理面上において薬剤が安定に存在する限りにおいては結果として終齢期に対する効果となって現れることを示唆している。幼虫に対する羽化阻害率、次世代への繁殖抑制率の2点において高い値を示した薬量は225 $\mu$ g/容器であったが、これは単純に面積あたりで換算すると10mg/m<sup>2</sup>となる。また、450 $\mu$ g/容器(20mg/m<sup>2</sup>換算)以上の薬量においては100%に近い繁殖抑制効果に加えて幼虫を直接死亡させる効果が期待でき、実際のゴキブリ防除においては10-20mg/m<sup>2</sup>の薬量で高い効果が期待できることが示唆された。

チャバネゴキブリが潜むシェルターをピリプロキシフェンによって処理し、成虫および若齢から終齢までの各ステージの幼虫からなる実験個体群を飼育したときの総個体数の変化を図20に示した。無処理区の総個体数は試験開始より5ヵ月経過する間に最初の個体数に比べ20倍以上増加したのに対し、ピリプロキシフェンを床面積あたり3.8mg/m<sup>2</sup>(シェルターあたり10mg/m<sup>2</sup>)処理した場合は最初の個体数を維持し、また床面積あたり38mg(シェルターあたり100mg/m<sup>2</sup>)処理の場合には最初の個体数の70%程度に減少した。すなわち、接触を開始した当

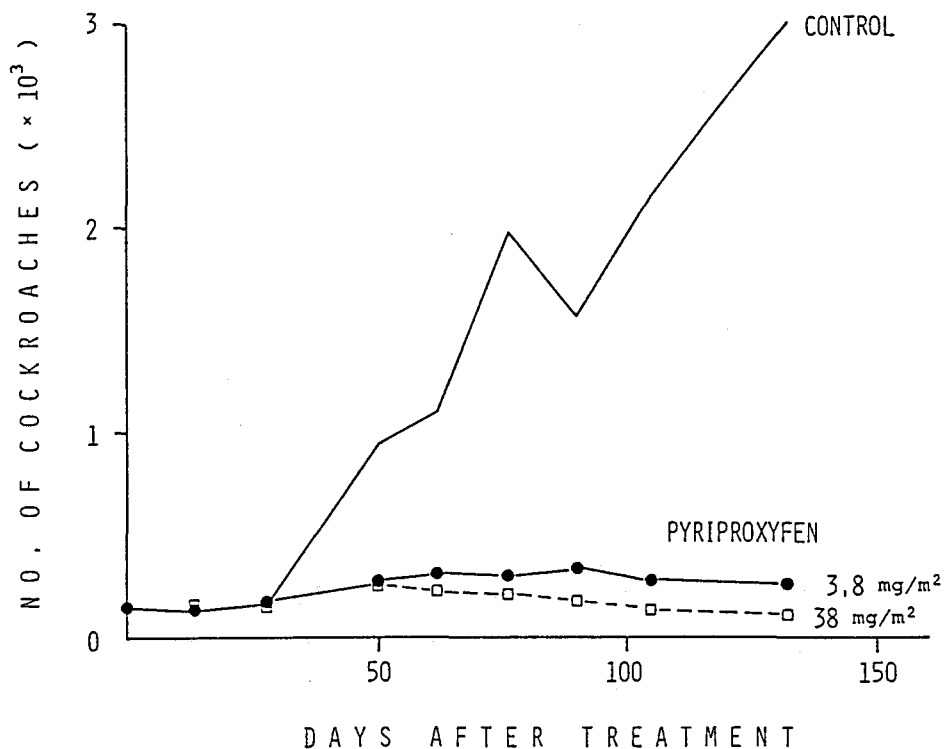


Fig. 20 Changes in the experimental German cockroach population reared in shelters treated with pyriproxyfen.

初の個体数 145 頭に対してピリプロキシフェン処理区の個体数は 3.8 mg/m<sup>2</sup> 処理区で 73 頭、38 mg/m<sup>2</sup> 処理区で 29 頭であったが、いずれにおいても全ての個体が過剰脱皮幼虫 (Adultoid) であり、個体群は 1 年を経過する間に消滅した (Kawada et al., 1989)。Staal et al. (1985) はハイドロブレンを含有した全量噴射型エアゾール剤 (トータルリリースエアゾール、TRA) による準実地的な試験において、ハイドロブレン 6.2 mg/m<sup>2</sup> の処理により個体群の成長を若干抑えることを、またハイドロブレン乳剤による残留散布により 44 mg/m<sup>2</sup> の薬量で 10 ヶ月後までにチャバネゴキブリの個体数をほとんどゼロにまで減少させたことを報告している。彼らの報告によればハイドロブレン処理により無処理区の個体数との有意な差が生じるには 1 ヶ月から 4 ヶ月を要している。こ

れに対して、ピリプロキシフェン処理による本節の結果では無処理区と処理区との間に差が生じるのに2ヵ月を要しないことが分る。前節において述べたように、ピリプロキシフェンはハイドロブレンに比較して成虫に対する不妊効果と若齢幼虫に対する致死効果が高く、これが比較的速い効果の現れにある程度関与しているものと考えられた。

以上の結果よりピリプロキシフェンはゴキブリ防除剤としても有効な剤と考えられ、実用的には10 mg/m<sup>2</sup>以上の薬量処理によって高い防除効果を示すであろうことが期待された。

#### IV. まとめ

イエバエ、カ類、チャバネゴキブリに対するピリプロキシフェンの基礎活性および作用性に関し得られた知見を下記にまとめた。

1. ピリプロキシフェンはイエバエ幼虫に対しメトプレンの10-100分の1の薬量で高い羽化阻害活性を示した。成虫の薬剤抵抗性との交差は認められなかった。

2. ピリプロキシフェンはメトプレンに比較して短時間の接触により昆虫体内に取込まれ、効果を発揮すると考えられた。

3. ピリプロキシフェンに対するイエバエ、カ類幼虫の感受性はJHM一般に認められているように終齢期に最も高くなるが、メトプレンに比較して若齢期の感受性と終齢期のそれとの間の差が小さかった。

4. ピリプロキシフェンに対する感受性は都城系イエバエにおいて他のイエバエに比較し特異的に低いが、この原因としてはMFOによる代謝と皮膚の透過性の低下が考えられた。

5. ピリプロキシフェンのイエバエ卵に対する殺卵活性は低かったが、成虫に対して不妊効果と産下された卵の孵化率を低下させる効果を示した。また、幼虫に対する処理により羽化成虫の生存率の低下および繁殖能力の低下をもたらした。

6. ピリプロキシフェンのカ類幼虫に対する活性をメトプレンに対する効

力比で示すと、アカイエカに対して2.8-4.4倍、ネッタイシマカで約30倍、ハマダラカ類で数倍から数十倍であり、マラリア等のベクターコントロール用の殺幼虫剤として期待される。

7. ピリプロキシフェンはチャバネゴキブリに対しても高い羽化阻害効果を有し、雌終齢幼虫に対する局所施用による評価ではヒドロプレンの5-10倍の効果を示した。

8. チャバネゴキブリ幼虫のピリプロキシフェンに対する感受性はイエバエ、カ類と同様に齢期が進むにしたがって高くなった。

9. チャバネゴキブリ幼虫に対するピリプロキシフェンの処理により羽化成虫 (Adultoid を含む) の繁殖能力が低下するが、これは雌成虫の羽化阻害の程度と相関関係にあった。

10. ピリプロキシフェンを16  $\mu$ g/頭以上処理することによりチャバネゴキブリ若齢幼虫期における致死作用を、また終齢幼虫期においては永久幼虫 (Permanent nymph) の過剰脱皮失敗による致死作用をそれぞれもたらした。

11. ピリプロキシフェンはチャバネゴキブリ成虫に対してこれを不妊化する作用を有し、その効果はヒドロプレンの5倍以上であった。この不妊化効果はピリプロキシフェンを含有させたエサを与えることによっても得られるが、効果は経皮的に与えた場合に比べると劣った。

12. ピリプロキシフェン処理面に対する任意の接触によってチャバネゴ

キブリ幼虫に羽化阻害をもたらして次世代への繁殖抑制効果を及ぼすことが可能な薬量は  $10 \text{ mg/m}^2$  であり、 $20 \text{ mg/m}^2$  以上の薬量においてはさらに永久幼虫の過剰脱皮失敗による致死作用をもたらした。

13. ピリプロキシフェンの処理によりチャバネゴキブリの成虫および各齢期の幼虫からなる実験個体群の増殖が抑えられ、本剤のゴキブリ防除への応用も可能であることが示唆された。



### 第3章 ピリプロキシフェン製剤の開発

前章においてはピリプロキシフェンの代表的な衛生害虫に対する基本的な効力および作用性について考察を行ない、本剤の衛生害虫防除分野への適用の可能性を示唆した。本章ではピリプロキシフェンをハエ類およびカ類の発生源対策剤として実用化するにあたって検討を行なった粒剤の効力とその作用性につき主に考察を行ない、さらに家庭用製剤としての（ゴキブリ、ノミを対象とした）エアゾール製剤の検討、そしてベクターコントロール用途に将来適用し得る新しい製剤の概念についても考察を行なう。

#### I. ピリプロキシフェン粒剤の開発

殺虫剤をハエ、カ類の発生源対策剤として開発するにあたっては、その化合物の有する特性を十分反映させるような剤型の選択をする必要がある。一般に殺幼虫剤 (Larvicides) の剤型としては下記の様なものが考えられ、それぞれの特徴を有している。

##### (1) 乳剤 (EC, Emulsifiable concentrates)

- ・比重が1より小さい（水より軽い） … カ、ブユの幼虫防除において有利。
- ・拡散しやすい … 同上。 反面、薬剤のドリフトによる悪影響の可能性もある。
- ・広い面積をカバーできる。
- ・運搬が容易である。
- ・有効成分の毒性を増強する場合がある。 … 散布者にとっては危険が大きくなる。

- ・残効性が短い … 散布頻度が増す。 反面、抵抗性が出現しにくい等の利点もある。

- ・特別な散布機を必要とする。

## (2) 油剤 (Oil formulations)

- ・特徴はほぼ乳剤と共通する。

- ・特に水系施用においては水表面を多い、ボウフラの防除には有効であるが、環境を汚染する。

## (3) 水和剤 (WP, Wettable powders; Water dispersible powders)

- ・特徴はほぼ乳剤と共通する。

- ・粉状であるため取扱は前2者に比べ繁雑。

- ・効力的には前2者に劣る場合が多いが、残効性は乳剤を上回る場合がある。

## (4) マイクロカプセル剤 (Microcapsule formulations)

- ・安定性の低い化合物に残効性を付与できる。

- ・処方により目的に応じた様々な作用特性を化合物に付与することが可能。 … 残効性の調節、比重、有効成分の溶出性等を調節可能。

- ・前3者に比べるとコストが高くなる。

## (5) 粒剤 (Granular formulations)

- ・植物相等を介した散布においては液剤よりも到達率が高い。

- ・植物（作物）に対する有効成分の残留性が低い。

- ・散布者にとって安全性が高い。 … 散布時に散布者が薬剤を吸入することがない（液剤の場合は有効成分ばかりでなく溶媒も散布者の健康に影響を与える場合がある）。

- ・残効性が期待できる。

- ・狭い場所では散布機を必要としない。

- ・運搬性に難がある。 … 散布時に希釈できないために有効成分の含

有量がもともと低く製剤のほとんどの部分が担体であることが多い。

上記の種々の特徴を吟味した結果、特に1) 散布の容易さ、2) 散布者に対する安全性の高さ、3) 残効性の長さの3点を重視し、ピリプロキシフェンの製剤としては粒剤を選択した。本節ではピリプロキシフェン粒剤の製剤要因とアカイエカ幼虫に対する効力との関係について考察するとともに、粒剤の様々な施用場面における作用性につき言及する。

### I - 1 粒剤の製剤要因と効力

#### 材料および方法

##### A. 供試虫

アカイエカ Culex pipiens pallens 御所系終齢幼虫

##### B. 供試薬剤

ピリプロキシフェンを含有する下記の製剤を供試した。

- |                         |       |   |
|-------------------------|-------|---|
| 1) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | A |
| 2) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | B |
| 3) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | C |
| 4) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | D |
| 5) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | E |
| 6) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | F |
| 7) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | G |
| 8) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | H |
| 9) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 | 処方NO. | I |

10) Pyriproxyfen 0.5% 粒剤 処方NO. J

11) Pyriproxyfen 5% 乳剤

\* 1)-10) は有効成分（ピリプロキシフェン）0.5%、界面活性剤、その他の副資材所定量を、農薬用途に一般的に用いられている担体に含浸あるいは練り込み造粒した製剤。 11) は有効成分を5%、溶剤を5%、界面活性剤を19%、蒸留水を残部とした製剤。

### C. 試験方法

#### (1) 有効成分の水中への溶出率の測定

1 l 容ガラスビーカーに蒸留水 1 l を入れ、これにピリプロキシフェン粒剤各 20 mg（有効成分として 0.1 ppm に相当）を投入し 25℃ 暗所に静置した。 所定日にビーカーより 100 ml の水をサンプリングし、クロロホルム 50 ml によって抽出を 3 回行ない、無水硫酸ナトリウムによって脱水後内部標準物質（IS）を添加した。これをエヴァポレータによって濃縮しクロロホルムを完全に除去した後、アセトン 4 ml で洗い込んでガスクロマトグラフによって分析を行なった。分析条件は下記の通り。

|             |                     |
|-------------|---------------------|
| ガスクロマトグラフ機種 | GC-7AG (FTD, 島津製作所) |
| カラム         | 5% OV-101           |
| カラム温度       | 220℃                |
| 気化室温度       | 250℃                |
| キャリアー       | ヘリウム (50 ml / 分)    |
| 内部標準物質      | S-21149             |

#### (2) アカイエカ幼虫に対する残効性試験

1 l 容ガラスビーカーに蒸留水 1 l を入れ粒剤各 20 mg（有効成分として 0.1 ppm に相当）を投入した。乳剤は有効成分として 0.1 p

p mとなるように希釈した液100 mlを900 mlの蒸留水に加えて1  
 lとした。これを室内に静置し、図21の様な装置を作った。所定日  
 に各ピーカー内のガラスチューブにアカイエカ幼虫50頭を放ち1週間経  
 過後に羽化成虫数を数え下記の式にしたがって羽化率を求めた。

$$\text{羽化率 (\%)} = \frac{\text{羽化成虫数}}{\text{供試幼虫数}} \times 100$$

また評価は無処理区の羽化率で補正した羽化阻害率を下記の式により求め  
 て行なった。

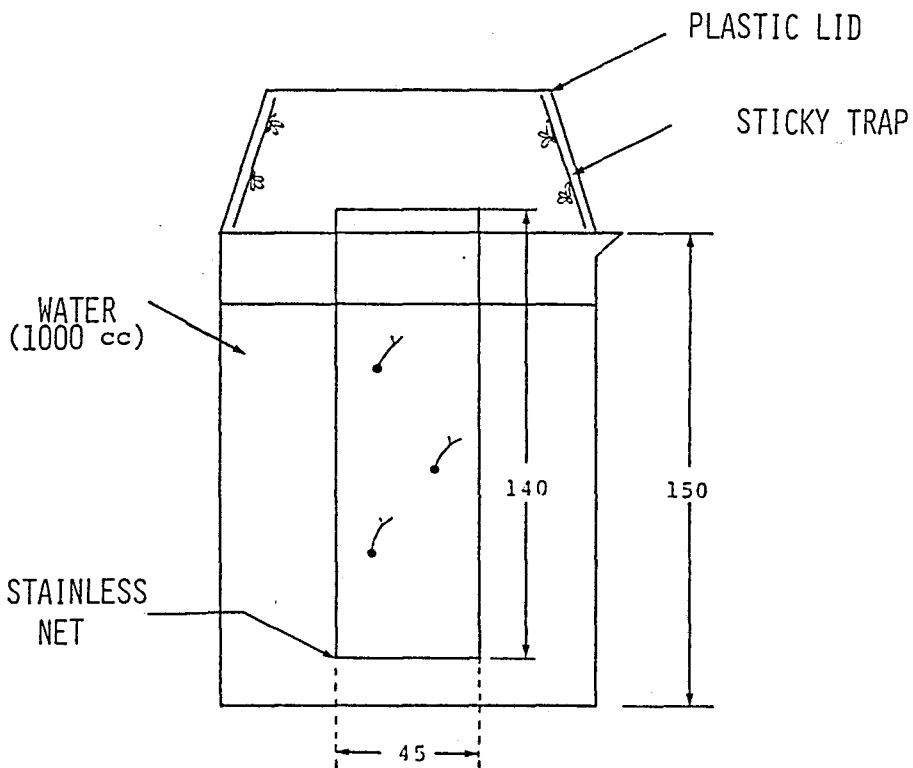


Fig. 21 Sketch of the apparatus used in the laboratory experiments.  
 Larvae are released in the glass tube which is then immersed in the  
 water treated with chemicals. Emerging adults are collected in a  
 sticky trap. Figures are expressed in mm.

$$\text{補正羽化阻害率 (\%)} = \frac{\text{無処理区の羽化率} - \text{試験区の羽化率}}{\text{無処理区の羽化率}} \times 100$$

以上の試験を同一のビーカーで繰返した。

### 結果および考察

それぞれの処方の粒剤を水中に処理したときの有効成分の溶出率の変化を図22に示した。溶出率は粒剤の処方によって異なり、3週間後における溶出率は最大95%（処方A）から検出限界（0.1ppb）以下（処方J）の範囲にあった。乳剤では処理直後に100%となるのは言うまでもない。それぞれの粒剤処理によるアカイエカ幼虫に対する残効性を図23に示した。残効性は粒剤の処方によって大きく異なり、処理よ

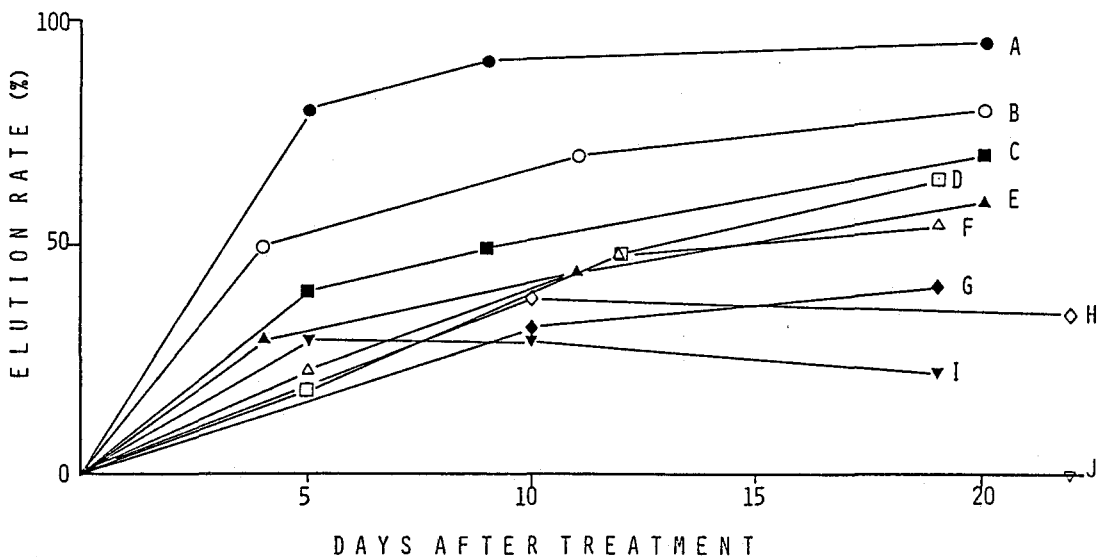


Fig. 22 Elution rate of pyriproxyfen into the water after the treatment of several granular formulations containing 0.5% of pyriproxyfen (0.1 ppm as a.i. treatment to 1 liter of water).

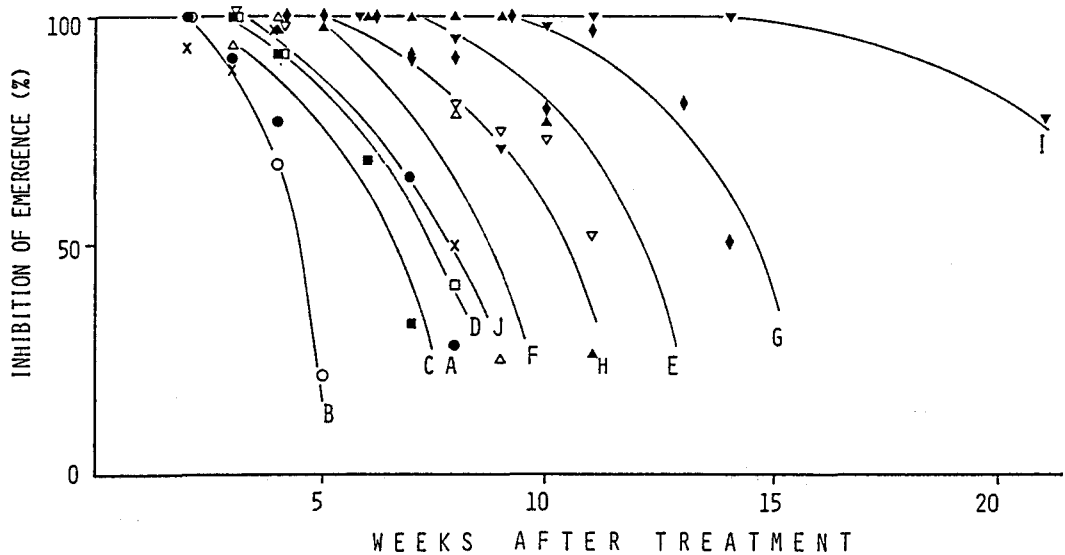


Fig. 23 Residual efficacy of pyriproxyfen against the 4th instar larvae of mosquito, *Culex pipiens*, with granular formulations of different elution rate of a.i. into the water.

り5週間以内に効力がなくなるものから20週間以上にわたって高い羽化阻害効果を示すものまで様々であった。各処方方の粒剤処理によって80%以上の羽化阻害率を示す期間(週)を表27に、また粒剤の溶出率と残効性との関係を図24にそれぞれ示した。これらの結果より、溶出率が65%以上の粒剤では残効性は乳剤のそれ(80%の羽化阻害が6週間維持される)と大差ないこと、溶出率が65%以下になれば残効性が大きくなるがあまり小さくなり過ぎると残効性は低下することなどが明かとなり、溶出率が20%程度の所に最適点が存在することが示唆された。

農薬の放出制御は、残効性の延長、省力化、省資源化、薬害の軽減、環境による分解の減少、取扱の容易さ等の利点を有している。その方法には 1) 高分子媒体中での薬剤の拡散を利用する、 2) 農薬の高分子化、 3) 多孔性物質の利用 4) 包接化合物(シクロデキストリンなど)の利用な

Table 27 Residual efficacy of pyriproxyfen against the 4th instar larvae of mosquito, *Culex pipiens*, with 0.5% granular formulation of different elution rate of a.i. into the water.

| Granular type    | Elution rate (%) <sup>1)</sup> | Weeks more than 80% <sup>2)</sup> mortality lasted |
|------------------|--------------------------------|--|
| A                | 95                             | 4  |
| B                | 80                             | 4  |
| C                | 70                             | 6  |
| D                | 65                             | 6 - 7  |
| E                | 60                             | 10   |
| F                | 55                             | 8  |
| G                | 40                             | 14   |
| H                | 35                             | 9  |
| I                | 23                             | 21   |
| J                | < 0.1                          | 6 - 7  |
| EC <sup>3)</sup> | (100)                          | 6  |

<sup>1)</sup> 19 - 20 days after 0.1 ppm (as a.i.) treatment to 1 liter of water, <sup>2)</sup> 0.1 ppm (as a.i.) treatment, <sup>3)</sup> Emulsifiable concentrate.

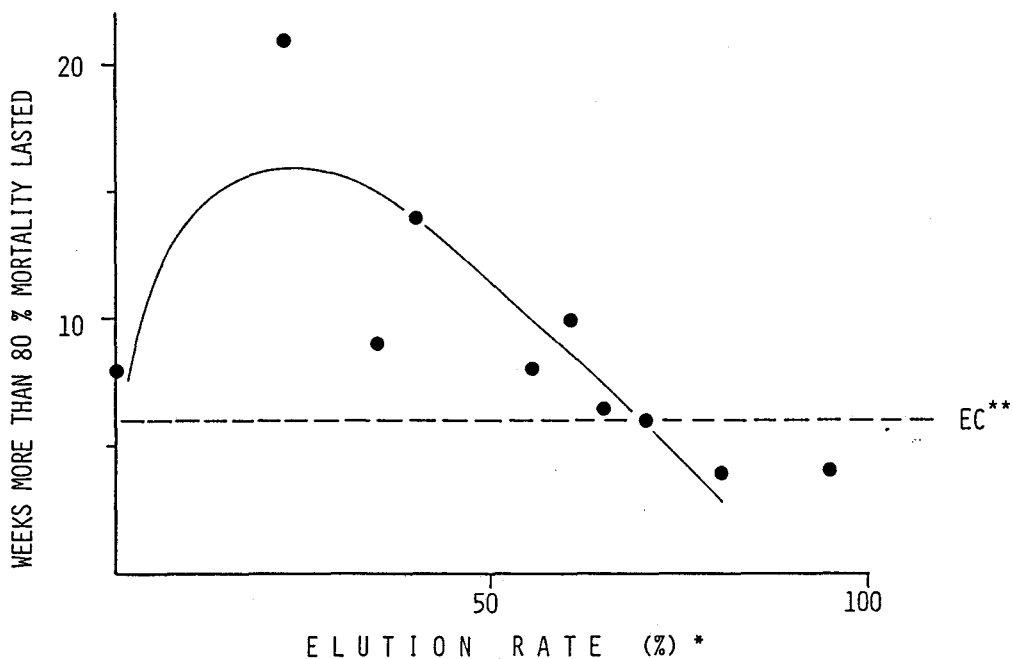


Fig. 24 Relation between the residual efficacy of pyriproxyfen against the 4th instar larvae of mosquito, *Culex pipiens*, and the elution rate of a.i. from granule into the water. \* 19-20 days after 0.1 ppm (as a.i.) treatment to 1 liter of water. \*\* Broken line indicates weeks more than 80% mortality lasted in EC formulation.



どが考えられる (辻, 1982)。農薬の粒剤化は上記の 3) に含まれる技術であり、この剤型は主に水田や畑地での殺虫、除草用途に広く用いられているが、粒剤による放出制御理論に関する研究は現在の所数少ないようである。和田 (1988) はモデル環境における徐放製剤からの有効成分の溶出速度と効力の持続期間について下記の式を提示している。

$$t_0 = - \frac{1}{k_1} \ln \left( 1 - \frac{k_1}{k_0} M_0 \right) \quad \dots \quad \textcircled{1}$$

ここで、

$t_0$  = 放出を開始してから最低有効濃度に達するまでの時間

$k_1$  = 分解、土壌への吸着などによる減少速度定数

$k_0$  = 有効成分の溶出速度定数

$M_0$  = 最低有効濃度 である。

また、時間  $t_0$  の間濃度  $M_0$  を維持するのに必要な全施用量  $M_0$  は、

$$M_0 = k_0 (t_0 + t_0) \quad \dots \quad \textcircled{2}$$

となる。本節の試験による結果をこの式にあてはめると、ピリプロキシフェン乳剤処理による効力の半減期が 30 日、アカイエカ幼虫に対する最低有効濃度が 1.0 ppb とすると、

$$t_0 = \frac{100}{k_0} + 43.3 \times \ln \left( 1 - \frac{0.0231}{k_0} \right) \quad \dots \quad \textcircled{3}$$

という式が導き出される。この式は  $k_0$  が小さければ小さいほど有効期間  $t_0$  が長くなることを意味するが、その反面最低有効濃度に達する時間  $t_0$  も延長されてしまう。散布初期より 100% の効力を得るために  $t_0$  は最低 1 日である必要があると仮定すると、①式より  $k_0 = 1.0 \text{ ppb/日}$  となる。また、この場合の有効期間  $t_0$  は③式より約 100 日と計算される。本節において供試した粒剤のうち最も長期の残

効を示した粒剤 I の溶出率は約 1 p p b / 日となり上記の理論式より導かれた値とよく適合している。また、この式は長期の残効性を得るための最適な溶出速度が存在するという本節の結果をも裏付けるものである。

## I - 2 粒剤の効力と作用性

前節におけるスクリーニングによって得られた結果を元にピリプロキシフェン粒剤の処方を選定した。本節では粒剤の施用が考えられる様々な環境における衛生害虫に対する防除効果、およびその作用性につき考察を行なう。

### I - 2 - 1 イエバエ防除における粒剤の効力と作用性

#### 材料および方法

##### A. 供試虫

イエバエ Musca domestica 都城系および C S M A 系幼虫

##### B. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen 0.5G (Pyriproxyfen 0.5% 含有粒剤)
- 2) Pyriproxyfen 5SEC (Pyriproxyfen 5% 含有水性乳剤)
- 3) Pyriproxyfen 5WP (Pyriproxyfen 5% 含有水和剤)
- 4) Altosid 10F (Methoprene を活性炭に吸着させた 10% 懸濁剤、アース製薬製)
- 5) Dimilin 25WP (Diflubenzuron の 25% 水和剤、三共製薬製)
- 6) Neporex 2G (Cyromazin の 2% 水溶性粒剤、チバ・ガイギー社製)

## 7) Sumithion 5EC (Fenitrothion の5%乳剤)

### C. 試験方法

#### (1) 豚糞面散布による準実地試験

プラスチック製コンテナ(38×60×高さ10cm)内に豚糞10kgを入れ(深さ約7cm)、都城系イエバエの卵300、2日齢幼虫300頭、4日齢幼虫500頭を放ち(卵は豚糞の表面に置いた)、供試薬剤の所定量を、粒剤は手撒きによって、水希釈剤は2l/m<sup>2</sup>となるように均一に散布した。薬剤散布後、四角錐状のステンレス製ケージ(1m×1m×高さ0.7m)内にコンテナを置き、所定日にケージ内の羽化成虫数を記録した。なお、散布後13日目に再び供試虫の2日齢幼虫500頭、4日齢幼虫500頭を放虫した。

#### (2) 人工培地中での残効性試験

イエバエ用人工培地110gをプラスチックカップ(底面直径10cm、培地の深さは約2cmとなる)に入れ、この培地表面に粒剤は手撒きによって、水希釈剤は1l/m<sup>2</sup>となるように所定薬量を均一に散布した。

この培地に都城系イエバエの4日齢幼虫50頭を放ち2週間経過後羽化成虫数を記録し、無処理区の羽化率に対する羽化阻害率を算出した。その後同一培地に蒸留水70mlおよび動物用粉末飼料5gを加え、均一に混ぜ合わせた後に再び供試虫の4日齢幼虫50頭を放った。この操作を2週間間隔で行なった。

#### (3) 培地面散布試験

アルミ製容器(30×30×30cm)にイエバエ用人工培地(イエバエ用配合飼料7:動物用粉末飼料1:蒸留水14)3960gを入れ(培地の深さは約5cmとなる)、これに都城系イエバエの4日齢幼虫200頭を放った。この培地表面にピリプロキシフェン粒剤の所定薬量を手撒

きによって均一に散布した。約2週間経過後羽化虫数を記録し、無処理区の羽化率に対する羽化阻害率を算出した。

#### (4) 散布方法の違いによる効力比較

イエバエ用人工培地 110 g をプラスチックカップ（底面直径 10 cm、培地の深さは約 2 cm となる）に入れ都城系イエバエの4日齢幼虫 50 頭を放した後、これに各薬剤を図 25 に示したような散布方法すなわち、1) 培地の底部に均一に散布（この場合は培地の投入、および放虫は散布の後で行なった）、2) 培地表面に均一に散布、3) 培地面 1 ヶ所にスポット施用、そして 4) 培地に均一に混入の4種類の方法によって散布した。

ただし水希釈剤の場合は、培地下および培地面散布は所定濃度の希釈液を  $1\text{ l}/\text{m}^2$  となるように、スポット施用はこの4分の1量をピペッターによって処理した。約2週間経過後羽化虫数を記録し、無処理区の羽化率に対する羽化阻害率を算出した。

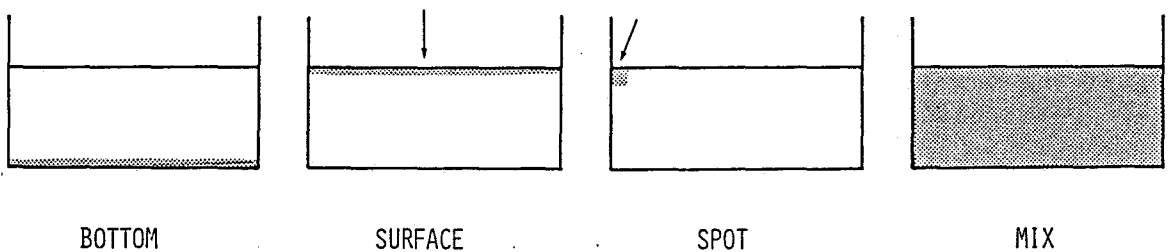


Fig. 25 Way of application to the experimental media

### (5) 散布面の条件の違いによる効力比較

イエバエ用人工培地 1320 g を底面直径 20 cm の容器に入れ（培地の深さは約 5 cm となる）、これに都城系イエバエの 2 日齢幼虫 100 頭を放った。この試験培地面に、粒剤は手撒きによって、水希釈剤は 1 l / m<sup>2</sup> となるように 1) 通常の方法で散布、2) バーミキュライトの層（深さ 5 cm）を介して散布、3) 2) の散布後バーミキュライト層の上から蒸留水を 1 l / m<sup>2</sup> 追加散布、の 3 種類の方法によって散布した。約 2 週間経過後羽化虫数を記録し、無処理区の羽化率に対する羽化阻害率を算出した。

### (6) 粒剤から培地への有効成分浸透の有無に関する生物検定

#### a. 横方向への浸透の有無の確認

プラスチック製コンテナ（60 × 38 × 高さ 10 cm）内にイエバエ用人工飼料 5.3 kg を入れ、この培地中央にピリプロキシフェン粒剤を 4.56 g（培地面積に換算して有効成分 100 mg / m<sup>2</sup> に相当）をスポット散布した。処理日より 1 日後及び 4 日後に粒剤処理部を中心に同心円状の部分（半径 10、20、30 cm）から培地を 15 g ずつ取りこれに CSMA 系イエバエ 4 日齢幼虫を放って羽化虫数を記録した。

#### b. 縦方向への浸透の有無の確認

ステンレス製のリング（直径 12.5 cm、高さ 5 cm）を 4 つ重ね合わせて外側をガムテープで固定し、底部にはステンレスの板を接着した容器を作った。これにイエバエ用人工培地 1650 g を入れ（培地の高さは 17.5 cm となる）、ピリプロキシフェン粒剤を有効分量が 100 mg / m<sup>2</sup> となるように均一に 1) 表面散布、及び 2) 底面散布した。処理日より 1 日後および 4 日後にガムテープをはずし、培地表面より 2.5 - 5 cm、7.5 - 10 cm、12.5 - 15 cm の部分より培地を各 15 g ずつとり CSMA 系イエバエ 4 日齢幼虫 50 頭を放って羽化虫数を記

録した。

### (7) 培地中におけるイエバエ幼虫の分布の観察

上記(6) - bの試験に用いたステンレスリング内の培地にCSMA系イエバエ2日齢幼虫100頭を放ち、投入後6時間後、1日後、2日後、5日後にガムテープをはずし、培地表面からそれぞれ0-2.5cm、2.5-7.5cm、7.5-12.5cm、12.5-17.5cmの部分にいた幼虫数を記録した。

## 結果および考察

### a. 豚糞面散布による準実地試験

ピリプロキシフェン粒剤、水和剤、水性乳剤および対照として使用したアルトシッド10F、ディミリン25WPの豚糞面散布による都城系イエバエに対する防除効果を表28に示した。無処理区における総羽化個体

Table 28 Inhibition of emergence of the Miyakonojo strain housefly in swine manure.

| Chemicals         | Dosage<br>(mg a.i./m <sup>2</sup> ) | % inhibition of<br>emergence |
|-------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| Pyriproxyfen 5SEC | 200                                 | 99.4 ( 4)                    |
| Pyriproxyfen 5SEC | 100                                 | 91.9 ( 54)                   |
| Pyriproxyfen 0.5G | 100                                 | 94.6 ( 36)                   |
| Pyriproxyfen 5 WP | 100                                 | 98.7 ( 9)                    |
| Altosid 10F       | 800                                 | 21.9 ( 523)                  |
| Dimilin 25WP      | 1000                                | 94.8 ( 35)                   |
| Untreated         | -                                   | - ( 670)                     |

Data were corrected by Abbotts' formula. Figures in parentheses indicate the total no. of adults emerged. 5SEC, 5% solubilized emulsifiable concentrate; 0.5G, 0.5% granular formulation; 5 WP, 5% wetttable powder formulation.

数は670となり投入した供試虫数(卵を含め2100頭)に比べ低い値となった。これは半野外試験条件のために捕食者や寄生者による影響が大きかったためと考えられる。ピリプロキシフェン各剤はいずれも90%以上の防除効果を示したが、同薬量においては(有効成分100mg/m<sup>2</sup>)水和剤、粒剤が水性乳剤の効力をやや上回った。ディミリン25WPはピリプロキシフェン粒剤の10倍の薬量においてこれと同等の効力を示したが、アルトシッド10Fはピリプロキシフェン粒剤の8倍の薬量によっても十分な防除効果を示さなかった(Kawada *et al.*, 1987)。図26に薬剤処理後の経過日数にともなう羽化個体数の推移を示した。無処

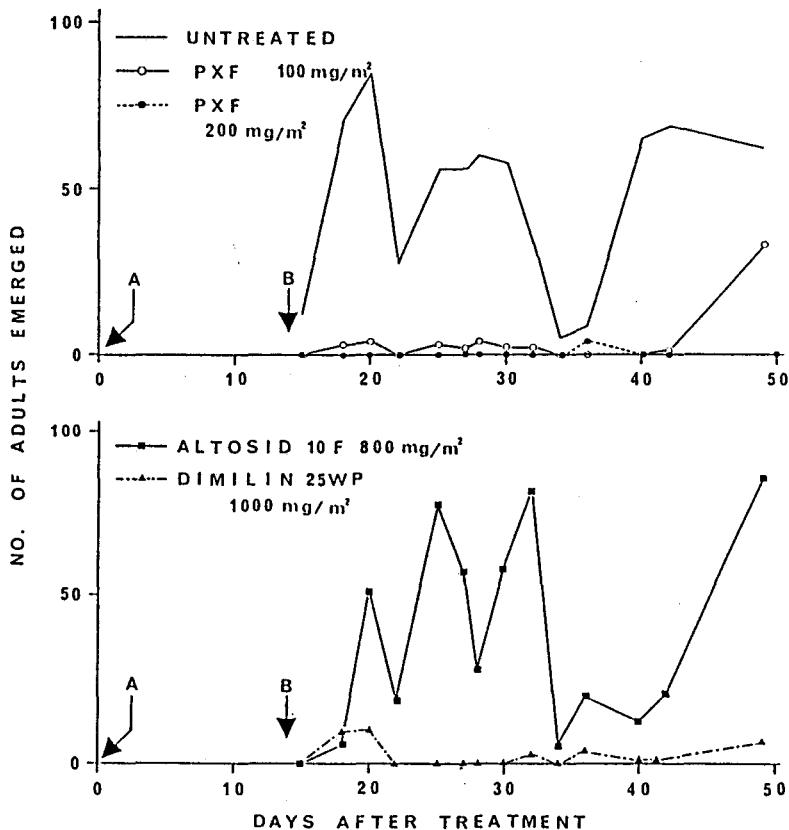


Fig. 26 Inhibition of emergence of the Miyakonojo strain housefly in swine manure.

A: Initial release of insects (eggs, 2-day-old and 4-day old larvae) and application of chemicals. B: Second release of insects (2-day-old and 4-day-old larvae). The numbers at day 49 are the sum of data from day 42 to 49.

理区の羽化個体数のピークは大きく4つに分けられ、それぞれ、1) 第1回目の4日齢幼虫、2) 第1回目の2日齢幼虫および卵、3) 第2回目の4日齢幼虫、4) 第2回目の2日齢幼虫の羽化のピークに相当すると考えられる。それぞれのピーク別に効果を評価すると、アルトシッド10Fは最初のピークにおいては60%の防除効果を示すのに対して、その後のピークにおいては効果が低くなっている。一方、ディミリン25WPでは第1番目および第3番目のピークにおける防除効果が他のピークにおける効果を上回る傾向が見られた。これは第2章で考察したようにJHMとキチン形成阻害剤との作用性の違いを示唆するものである (Kawada *et al.*, 1987)。Wright (1974) はイエバエ幼虫に対するディミリン25WPの550 mg/m<sup>2</sup>の散布で91%の、110 mg/m<sup>2</sup>の散布で88%の防除効果をそれぞれ示すことを報告し、上記の薬量がイエバエに対して効果的なレベルであるとしている。また、Asano *et al.* (1984) はアルトシッド10Fの100 mg/m<sup>2</sup>の散布により散布7日後に88%の、13日後には74%の防除効果をそれぞれイエバエ幼虫に対し示したとしている。都城系イエバエを防除するために必要なアルトシッド10Fあるいはディミリン25WPの薬量は、本節の結果より上記の報告における薬量を上回るものと考えられた。ピリプロキシフェン粒剤はこれに対し、100 mg/m<sup>2</sup>という低薬量でこれを防除できることが明かとなった。

#### b. 人工培地中での残効性

ピリプロキシフェン各製剤のイエバエ用人工培地処理による残効性の変化を図27に示した。ピリプロキシフェンの製剤はいずれも長期の残効性をイエバエ幼虫に対し示したが、中でも粒剤の残効性が最も優れ、22週経過後も10 ppm処理により84.8%、20 ppm処理で97.6%の羽化阻害率を維持した。これに対し他の製剤では、10 ppm処理



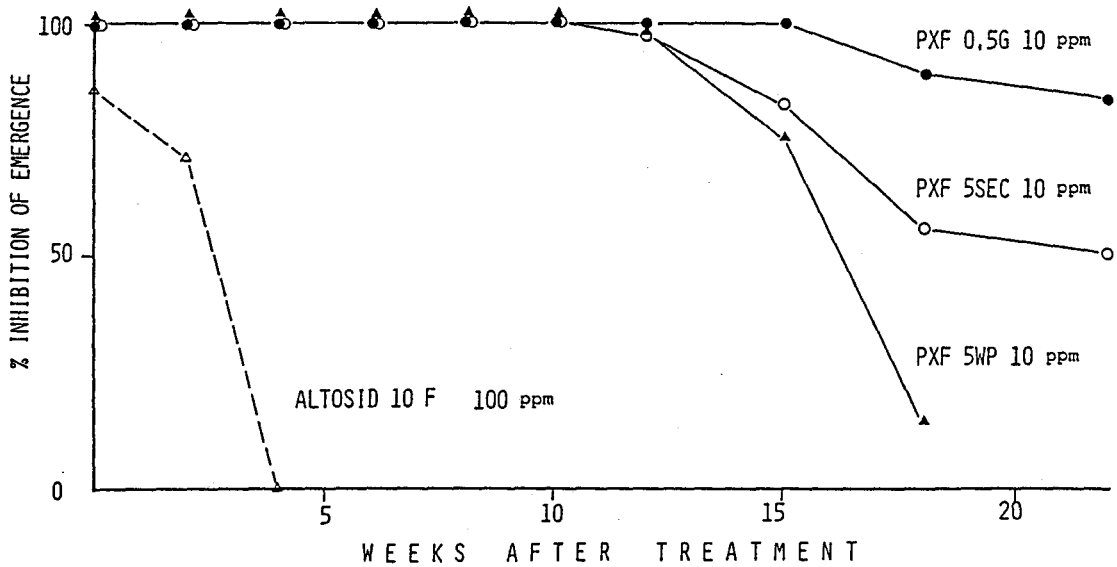


Fig. 27 Residual efficacy against Miyakonojo strain housefly larvae by the treatment of pyriproxyfen to the artificial medium. PXF, pyriproxyfen; 0.5G, 0.5% granular formulation 5SEC, 5% solubilized emulsifiable concentrate, 5WP, 5% wettable powder formulation.

で18-22週経過後には水性乳剤で50%程度、水和剤では50%以下にそれぞれ羽化阻害率が低下した。アルトシッド10Fは100ppm処理によっても4週経過後には効果を失った。これはメトプレンの都城系イエバエに対する基礎活性が、ピリプロキシフェンに比べると本節で使用した薬量比より大きい(4日齢幼虫に対する $IC_{50}$ 値で70倍以上)ことも一つの原因となっていると考えられるが、人工培地中におけるメトプレンの安定性の低さがその主要な原因と思われる。ピリプロキシフェンは人工培地中においてメトペンに比べ安定であるがこれを粒剤化することによって安定性がさらに向上し残効性が延長されるものと考えられた。

以上の結果より、豚糞面への散布による準実地試験ではピリプロキシフェンの製剤の違いによる効果の違いは顕著ではなかったが培地中での残効性を考えると粒剤が最も高い効果を有することが示唆された。

### c. ピリプロキシフェン粒剤のイエバエ幼虫に対する効力発現機構

人工培地面への散布によるピリプロキシフェン粒剤の都城系イエバエ幼虫に対する羽化阻害効果を表29に示した。ピリプロキシフェンの培地混入試験による都城系イエバエに対するIC<sub>50</sub>、IC<sub>90</sub>はそれぞれ0.35 ppmおよび2.5 ppmである。培地面散布における処理薬量を培地重量あたりの濃度に換算すると、それぞれ100 mg/m<sup>2</sup>で2.3 ppm、50 mg/m<sup>2</sup>で1.1 ppm、25 mg/m<sup>2</sup>で0.6 ppm、12.5 mg/m<sup>2</sup>で0.3 ppmとなる。したがって、100 mg/m<sup>2</sup>処理における薬量はIC<sub>90</sub>値にほぼ等しいがそれ以下の薬量はこれを下回るにもかかわらずいずれも90%以上の羽化阻害率を示しており、培地重量あたりではかなりの低薬量であっても粒剤を表面に散布することによって高い効果が得られることが分った。人工培地に対する種々の散布法による羽化阻害効果を表30に示した。薬剤の濃度は培地混入によって100%の羽化阻害が得られる濃度を設定したため、いずれの薬剤も培地への混入による施用では100%の効果を示した。ピリプロキシフェン粒剤は、

Table 29 Inhibition of emergence of the Miyakonojo strain housefly<sup>1)</sup> by the surface treatment of pyriproxyfen granular formulation.

| Dosage               |                   | % emergence of adult |
|----------------------|-------------------|----------------------|
| mg AI/m <sup>2</sup> | ppm <sup>2)</sup> |                      |
| 100                  | 2.3               | 100                  |
| 50                   | 1.1               | 97.5                 |
| 25                   | 0.6               | 94.3                 |
| 12.5                 | 0.3               | 90.2                 |

1) Four-day-old larvae were used. 2) Calculated conc. as AI distribute uniformly in the medium.

Table 30 Inhibition of emergence against 4-day-old larvae of the Miyakonojo strain housefly by the different ways of application of chemicals to the experimental media.

| Chemicals         | conc.<br>(ppm)   | % inhibition of emergence |         |      |     |
|-------------------|------------------|---------------------------|---------|------|-----|
|                   |                  | Bottom                    | Surface | Spot | Mix |
| Pyriproxyfen 5SEC | 10 <sup>1)</sup> | 100                       | 100     | 97.5 | 100 |
| Pyriproxyfen 0.5G | 10               | 97.4                      | 100     | 97.4 | 100 |
| Altosid 10F       | 100              | 79.5                      | 18.0    | 14.5 | 100 |
| Fenitrothion 5EC  | 500              | 82.9                      | 47.1    | 7.7  | 100 |

1) The dosage is equivalent to 100 mg a.i./m<sup>2</sup>.

4種の散布法のいずれにおいてもほぼ100%の羽化阻害効果を示し、その効果は水性乳剤と同等とみなされた。これに対し、メトブレンの製剤であるアルトシッド10F、フェニトロチオンの各製剤では散布の方法によって大きな効力差を示し、表面散布や1点散布によっては十分な効力を示さないことが分った。

次に、散布面の条件の違いの効力に対する影響について検討した。結果を表31に示した。ピリプロキシフェン粒剤は100mg/m<sup>2</sup> - 25mg/m<sup>2</sup>の薬量においていずれの散布面においてもほぼ100%の高い羽化阻害効果を示し、約8cmのパーミキュライトの層を介した散布でも十分効力を発揮することが分った。これに対しキチン形成阻害剤サイロマジンの製剤であるネポレックス水溶性粒剤（粒剤のまま散布、あるいは水に希釈して液剤として散布の2種の散布が可能な製剤）では、水希釈後の散布条件では250mg/m<sup>2</sup>以上の薬量においてはほぼ100%の羽化阻

Table 31 Inhibition of emergence against egg of the Miyakonojo strain housefly in the different conditions or different ways of application.

| Chemicals         | Conditions for application  | % inhibition of emergence at (mg a.i./m <sup>2</sup> ) |     |      |
|-------------------|-----------------------------|--|-----|------|
|                   |                             | 100  | 50  | 25   |
| Pyriproxyfen 0.5G | Normal <sup>1)</sup>        | 100  | 100 | 98.5 |
|                   | + VCL <sup>2)</sup>         | 100  | 100 | 100  |
|                   | + VCL + water <sup>3)</sup> | 100  | 100 | 100  |

| Chemicals  | Conditions for application | % inhibition of emergence at (mg a.i./m <sup>2</sup> ) |      |      |
|--|----------------------------|--|------|------|
|  |                            | 500  | 250  | 125  |
| Neporex 2G                                       | Normal                     | 100  | 89.6 | 98.5 |
|  | + VCL                      | 100  | 95.7 | 39.1 |
| Neporex 2G <sup>4)</sup><br>(Dissolved in water) | Normal                     | 98.5   | 100  | 100  |
|  | + VCL                      | 92.8   | 100  | 79.7 |

<sup>1)</sup> Chemicals were treated to the surface of artificial medium, <sup>2)</sup> Medium surface was covered with vermiculite (8 cm in depth), <sup>3)</sup> water (2 litter/m<sup>2</sup>) was sprayed over the vermiculite after treatment of granule, <sup>4)</sup> water solution of Neporex was treated at the rate of 2 litter/m<sup>2</sup>.

害効果を示したが、パーミキュライトを介した散布ではやや効果が低くなった。粒剤のままの散布の場合はこの傾向がより顕著となり、125 mg/m<sup>2</sup>の薬量でパーミキュライトを介した場合羽化阻害率39.1%と効力の低下が著しくなった。

次に、粒剤を培地面に散布した時の有効成分の培地中への滲出の有無の確認を生物検定によって行なった。人工培地の表面散布および底面散布後の各深度の培地におけるCSMA系イエバエ幼虫の羽化率を図28および29に示した。いずれの散布によっても各深度における羽化率は80%以上を示し、有効成分の縦方向への滲出はほとんどないことが証明された。また、培地表面積あたり100 mg/m<sup>2</sup>となる薬量の粒剤を培地中央にスポット処理したときの処理地点からの各距離の培地におけるCSMA系イエバエ幼虫の羽化率を図30に示したが、10 cmの距離において処理より4日後の羽化率が79%とやや低いものの他はいずれの距離においても80%以上の羽化率を示し、有効成分の横方向への滲出もほとんど

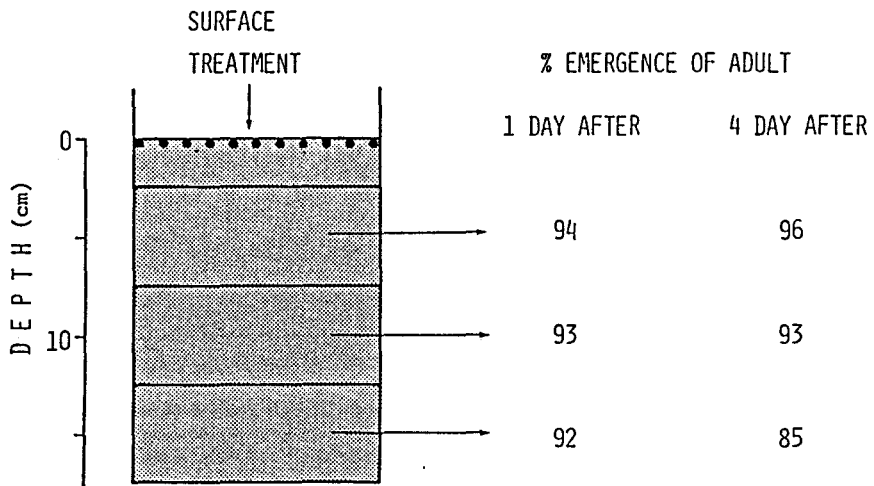


Fig. 28 Percent emergence of adult housefly (CSMA strain) with the medium taken from the different depth (Surface treatment of pyriproxyfen 0.5G at the rate of 100 mg a.i./m<sup>2</sup>)

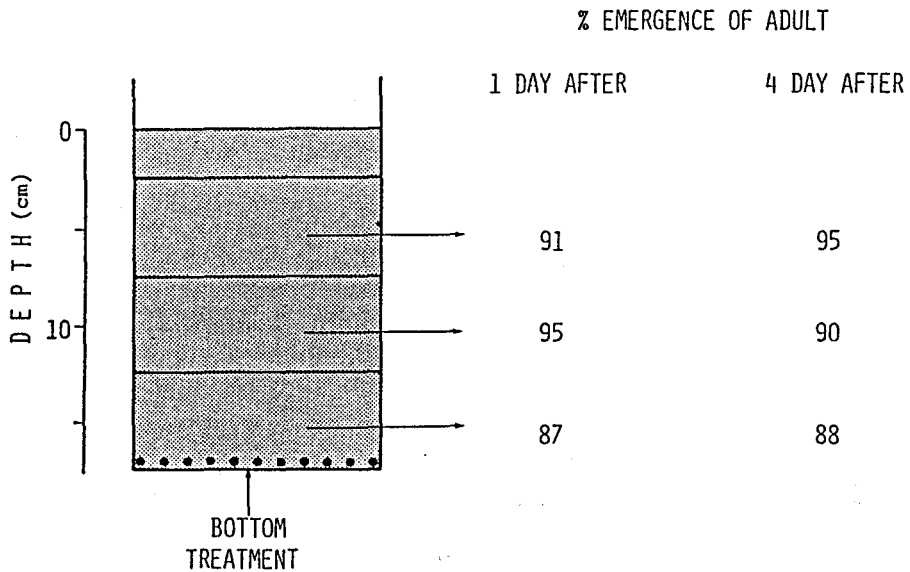


Fig. 29 Percent emergence of adult housefly (CSMA strain) with the medium taken from the different depth (Bottom treatment of pyriproxyfen 0.5G at the rate of 100 mg a.i./m<sup>2</sup>).

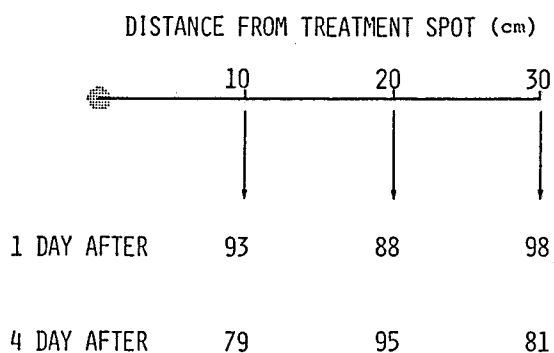


Fig. 30 Percent emergence of adult housefly (CSMA strain) with the medium taken from the different distance from the treatment spot of pyriproxyfen 0.5G at the rate of 100 mg a.i./m<sup>2</sup>.

ないことが証明された。以上の結果より、少なくとも本節における試験条件下（水分含量約50%の人工培地での）では粒剤散布後に有効成分が培地中に滲出拡散することはないことが確認された。

以上の知見よりピリプロキシフェン粒剤のイエバエ幼虫に対する効力発現機構として以下の仮説が考えられる。すなわち、1) 蛹化直前のイエバエ幼虫は蛹化のためにより乾燥した場所を求めて移動する性質があるため、必然的に培地表面、さらには他のより乾燥した部分（本節の条件におけるパーミキュライトの層のような）に現れ、薬剤の高濃度な部分に接触しやすくなる。そして、2) イエバエ幼虫はこの時期に最もJHMに対する感受性が高く、さらにはピリプロキシフェンの高い経皮浸透移行性のために極めて効率よく薬剤が幼虫に取込まれる。また、3) キチン形成阻害剤の場合感受性が高い時期は若齢期であるためにこの仮説が適用されない。

これらの仮説を確実にするために、人工培地中におけるイエバエ幼虫の分布の観察を行なった。 孵化後の経過時間（日齢）に伴うイエバエ幼虫の人工培地中での分布の変化を図 31 に示した。 孵化後 2 日の 2 日齢幼虫は培地表面より 2.5 cm 以深にほぼ一様に分布するのに対し、3 日齢および 4 日齢幼虫では表面より 7.5 cm の部分にほとんど全ての幼虫が集中し、さらに蛹化は全て表面より 2.5 cm までの部分において行なわれることがこの図より明らかである。 イエバエ幼虫が終齢の後期において蛹化のために行動様式を変化させ、より低温でより乾燥した場所を探して動きまわることによく知られており (Keiding, 1986)、本節の結果もこれをサポートするものである。 Gotaas (1956) は野外に堆積した堆肥中のイエバエ幼虫の分布について報告しているが、終齢幼虫が分布するのは堆肥表面より数 cm 下の部分および地表と堆肥の接触面の限られた部分であるとしており、本節の結果が室内条件下のみでの現象ではないことを示

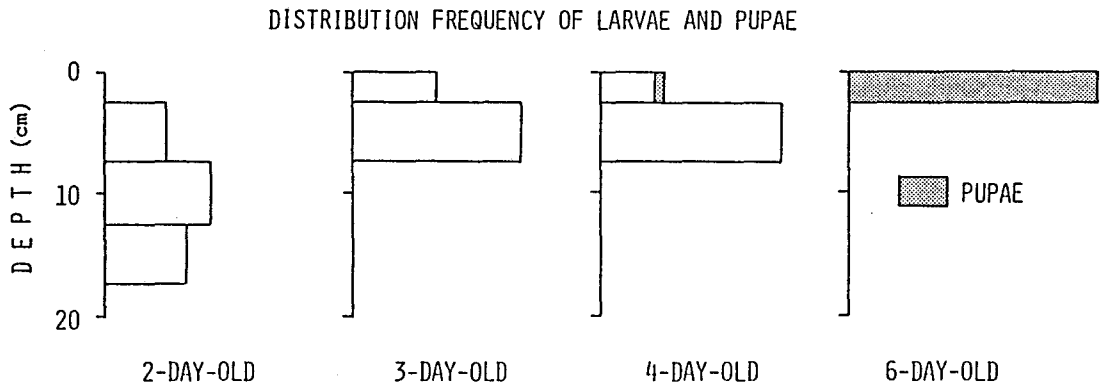


Fig. 31 Distribution of housefly larvae in different stages in the artificial medium.

している。

本節においてこれまでに得られた知見は、殺幼虫剤をイエバエの発生源対策剤として有効に使用するにあたっての重要なポイントを示唆していると考えられる。例えば、キチン形成阻害剤のように作用点が若齢期にあるような薬剤は、幼虫の生息場所に十分浸透するような剤型あるいは処理方法を考えなければならないが、これに対しJHMのように終齢期に作用点を有するような薬剤では、できるだけ表面にとどまるような剤型および処理方法の開発、さらには幼虫が好んで蛹化するような場所への重点的な散布といった工夫がより高い効果をもたらすであろう。粒剤という剤型はそういった意味でJHMに極めて適した剤型であるということが言えよう。



## I - 2 - 2 静止水系散布における粒剤の効力と作用性

### 材料および方法

#### A. 供試虫

|         |                              |                   |
|---------|------------------------------|-------------------|
| アカイエカ   | <u>Culex pipiens pallens</u> | 御所系および豊中系終<br>齢幼虫 |
| ネッタイシマカ | <u>Aedes aegypti</u>         | 終齢幼虫              |
| ハマダラカ   | <u>Anopheles stephensi</u>   | 終齢幼虫              |

#### B. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen 0.5G (Pyriproxyfen 0.5%含有粒剤)
- 2) Pyriproxyfen 5SEC (Pyriproxyfen 5%含有水性乳剤)
- 3) Pyriproxyfen 5WP (Pyriproxyfen 5%含有水和剤)
- 4) Altosid 10F (Methoprene を活性炭に吸着させた10%懸濁剤、アース製薬製)
- 5) Altosid SR10 (Methoprene をマイクロカプセル化した徐放剤、ゾエコン社製)
- 6) Dimilin 25WP (Diflubenzuron の25%水和剤、三共製薬製)

#### C. 試験方法

##### (1) 室内における残効性試験

##### a. 薬剤の違いによる残効性比較

1 l 容ガラスビーカーに蒸留水 1 l を入れ、粒剤は手撒きによって処理、液剤は所定濃度に希釈した液 100 ml を 900 ml の蒸留水に加えて 1 l とした。これを室内に静置し、I - 1 の図 21 と同様な装置を作った。

所定日に各ビーカー内のガラスチューブにアカイエカ幼虫50頭を放ち1週間経過後に羽化成虫数を数え下記の式にしたがって羽化率を求めた。

$$\text{羽化率 (\%)} = \frac{\text{羽化成虫数}}{\text{供試幼虫数}} \times 100$$

また評価は無処理区の羽化率で補正した羽化阻害率を下記の式により求めて行なった。

$$\text{補正羽化阻害率 (\%)} = \frac{\text{無処理区の羽化率} - \text{試験区の羽化率}}{\text{無処理区の羽化率}} \times 100$$

以上の試験を同一のビーカーで繰返した。

#### b. 各種カ類に対するピリプロキシフェン粒剤の効力

ガラス製水槽(20×35×高さ25cm)に蒸留水8lを入れ、これに所定濃度となるように薬剤を処理した。底部にステンレス製ネットを張ったガラス製チューブ(長さ14cm、直径4.5cm)内に供試虫を放ちこの水槽内に浸けた(幼虫は水槽の底から3cmの深さまで到達可能)。1週間経過後羽化成虫数を記録し、新たに供試虫をチューブ内に放った。この操作を同一の水槽内において1-2週間間隔で行なった。評価は上記の試験と同様に無処理区における羽化率に対する補正羽化阻害率を算出して行なった。

#### (2) 野外水槽における準実地試験

野外条件化にある6つのコンクリート製水槽を用いた。それぞれの水槽の容積、形状、処理薬剤および処理濃度を表32にまとめた。それぞれの水槽にピリプロキシフェン粒剤は手撒きによって、他は水による希釈液をジョウロによってそれぞれ均一に散布した。薬剤散布後、アカイエカ終齢幼虫に対する残効性を下記の2つの方法によって評価した。

##### a. 水採取法

それぞれの水槽より所定日に1lの水をガラスピンに採取し実験室内に

Table 32 Description of concrete pots used in the field evaluation.

| Pot | Length× Width× Depth<br>(cm) |     |     | Volume<br>(m <sup>3</sup> ) | Chemicals<br>applied | Conc.<br>(ppm) |
|-----|------------------------------|-----|-----|-----------------------------|----------------------|----------------|
| A   | 800                          | 377 | 150 | 45.2                        | Pyriproxyfen 5WP     | 0.1            |
| B   | 803                          | 399 | 138 | 44.2                        | Pyriproxyfen 0.5G    | 0.1            |
| C   | 804                          | 402 | 134 | 43.3                        | Pyriproxyfen 5WP     | 0.05           |
| D   | 801                          | 399 | 132 | 42.2                        | Dimilin 25WP         | 0.5            |
| E   | 805                          | 405 | 134 | 43.7                        | Pyriproxyfen 0.5G    | 0.05           |
| F   | 685 (305-558) 140            |     |     | 41.4                        | Altosid SR10         | 0.5            |

\* Pot F was trapezoid-shaped.

持帰った。アカイエカ御所系の終齢幼虫50頭をそれぞれのサンプル150ml中に放ち、成虫の羽化まで室内においてこれを飼育した。評価は供試した幼虫数に対する羽化阻害率を求めて行なった。

#### b. フローティング・ケージ法

ステンレス製のネットおよび発砲スチロールを使用して水面に浮くようなフローティング・ケージを作製した (Mulla et al., 1974 における方法を改変、図32)。2つのケージをそれぞれ水槽の中央に設置し、所定日に100頭のアカイエカ終齢幼虫(御所系および豊中系)をケージ内に放った。放虫より4日後にケージ内の羽化虫数を記録し、羽化に致っていない幼虫あるいは蛹は実験室内に持帰り各水槽よりの採取水中で羽化まで飼育した。評価は供試した幼虫数に対する羽化阻害率を求めて行なった。気温、降水量は毎日記録し、水温は水の採取時に記録した。さらに、各水槽中の水のpH、COD、BOD、DOを薬剤散布前および

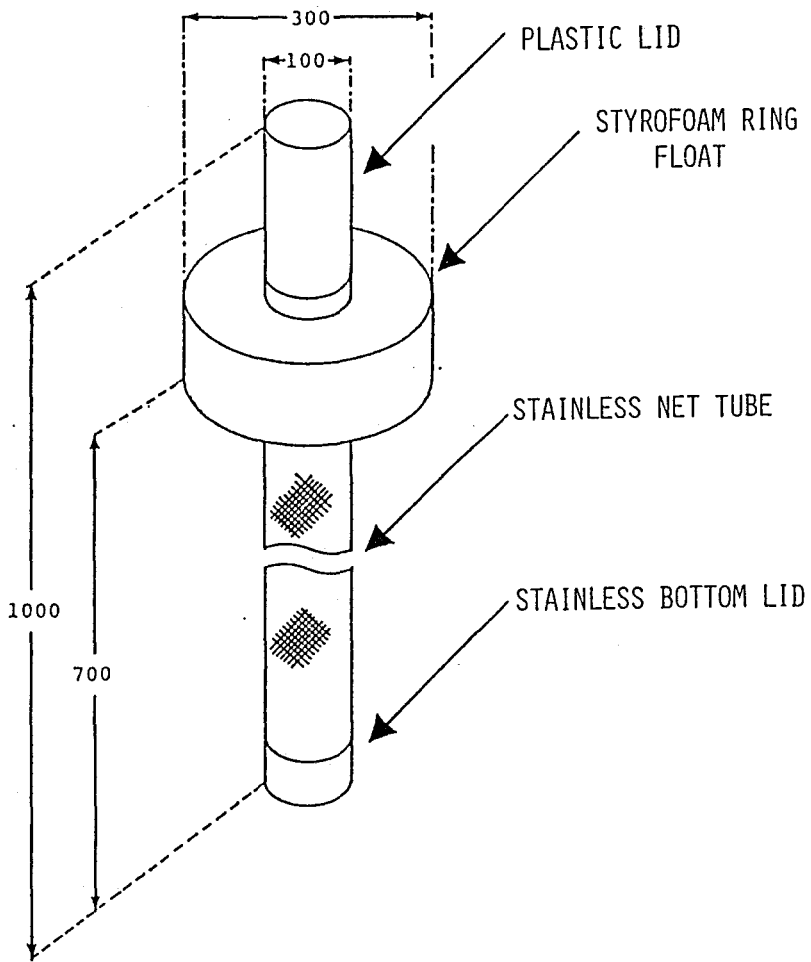


Fig. 32 Sketch of floating cage used in field experiments. Larvae are confined in the portion below the styrofoam float in the water. Emerging adults are collected in a sticky trap placed in the plastic lid. Figures are expressed in mm.

散布より3週間後にそれぞれチェックした。

### (3) 土壤の存在下における有効成分の水中溶出率の測定

1 l 容ガラスビーカーに宝塚土壤（砂壤土、 $\phi < 2 \text{ mm}$ ）5 g および蒸留水 1 l を入れ数時間静置して水と土壤が完全に分離した後、これにピリプロキシフェン粒剤 20 mg（有効成分として 0.1 ppm に相当）を投入し室内に静置した。所定日にビーカーより 100 ml の水をサンプリングし、クロロホルム 50 ml によって抽出を3回行ない、無水硫酸ナトリウムによって脱水後内部標準物質（IS）を添加した。これをエヴァポレータによって濃縮しクロロホルムを完全に除去した後、アセトニトリル 2 ml で洗い込んで液体クロマトグラフによって分析を行なった。分析条件は下記の通り。

|             |                   |                      |
|-------------|-------------------|----------------------|
| 液体クロマトグラフ機種 | L-4000            | （日立製作所）              |
| カラム         | Sumipax ODS A-212 | （15 cm、 $\phi$ 6 mm） |
| カラム温度       | 室温                |                      |
| 移動相         | アセトニトリル/水         | 75/25                |
| 流量          | 1.0 ml/分          |                      |
| 検出器         | UV、230 nm         |                      |
| 内部標準物質      | フェンプロパスリン         |                      |

### (4) 水中におけるカ幼虫の分布の観察

直径 10 cm、長さ 90 cm のプラスチック製チューブの一端をゴム栓で塞ぎ、蒸留水で満たした。このチューブ内にアカイエカあるいはハマダラカの終齢幼虫 50 頭を放ち、20 分間隔で 1 時間にわたって幼虫の垂直分布を観察した。

### (5) 水深の異なる条件での残効性試験

直径 10 cm、長さ 40 cm および 90 cm のプラスチック製チュー

ブの一端をゴム栓で塞ぎ、この中に宝塚土壌50gを入れ蒸留水で満たした。このチューブ内にピリプロキシフェン粒剤を水中の有効成分濃度が0.1ppmとなるように処理した。所定日にチューブ内にハマダラカ終齢幼虫20頭を放ち、1週間経過後羽化虫数を記録し供試した幼虫数に対する羽化阻害率を求めた。

### 結果および考察

#### a. カ類幼虫に対する残効性評価

アカイエカ御所系終齢幼虫に対するピリプロキシフェン各製剤の室内における残効性試験の結果を表33に示した。残効性は粒剤処理の場合が最も高く、100ppb処理で10週以上、10ppb処理で4週以上それぞれ70%以上の羽化阻害率を維持した。水和剤は100ppb処理

Table 33 Residual activity of several formulations of pyriproxyfen against fourth instar larvae of *Culex pipiens*.

| Formulation <sup>1)</sup> | Conc. (ppb) | % inhibition of adult emergence at different weeks |      |      |      |      |      |
|---------------------------|-------------|--|------|------|------|------|------|
|                           |             | Initial  | 1    | 2    | 5    | 10   | 16   |
| 0.5G                      | 100         | 100  | 100  | 100  | 95.9 | 71.2 | 22.9 |
| 5 WP                      | 100         | 100  | 96.3 | 100  | 95.6 | 73.4 | 2.6  |
| 5SEC                      | 100         | 100  | 96.1 | 98.7 | 0    | -    | -    |

| Formulation | Conc. (ppb) | % inhibition of adult emergence at different weeks |      |      |      |
|-------------|-------------|--|------|------|------|
|             |             | Initial  | 1    | 4    | 9    |
| 0.5G        | 10          | 100  | 100  | 89.9 | 21.7 |
| 5 WP        | 10          | 100  | 97.3 | 21.0 | 6.7  |
| 5SEC        | 10          | 100  | 98.6 | 0    | -    |

<sup>1)</sup> 0.5G, 0.5% granular formulation; 5WP, 5% wettable powder formulation; 5SEC, 5% solubilized emulsifiable concentrate.

では粒剤とほぼ同等の残効を示したが、10ppb処理では粒剤にやや劣る結果となった。これに対して水性乳剤（SEC）の残効性は、100ppb、10ppbいずれの処理においても他の製剤のそれに比べて劣った（Kawada *et al.*, 1988）。表34はアカイエカ御所系、ネッタイシマカ、ハマダラカ各幼虫に対するピリプロキシフェン粒剤の残効性をメトブレン製剤のアルトシッド10Fと比較した結果を示している。ピリプロキシフェン粒剤は、100ppb処理によって、アカイエカに対しては10週以上、ネッタイシマカに対しては6週以上、ハマダラカに対しては4週以上それぞれ80%以上の羽化阻害率を維持した。それぞれの供試虫のピリプロキシフェンに対する感受性は第2章において述べたようにIC<sub>50</sub>値（ppb）で比較するとアカイエカ0.0046ppb、ネッタイシ

Table 34 Residual activity of granular formulation of pyriproxyfen against fourth instar larvae of mosquitoes under laboratory conditions.

| Mosquito and Chemical      | % inhibition of adult emergence at different weeks |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
|----------------------------|--|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|---|-----|-----|
|                            | Initial  | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6  | 7  | 8 | 9   | 10  |
| <u>Culex pipiens</u>       |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| Pyriproxyfen 0.5G          |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| 100 ppb                    | 100  | 100 | -   | 100 | -   | 100 | -  | 95 | - | 100 | 100 |
| 50 ppb                     | 100  | 100 | -   | 100 | -   | 100 | -  | 65 | - | -   | -   |
| 10 ppb                     | 100  | 100 | -   | 89  | -   | 52  | -  | -  | - | -   | -   |
| Altosid 10F                |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| 1000 ppb                   | 100  | 92  | -   | 100 | -   | 92  | -  | 90 | - | 89  | 90  |
| <u>Aedes aegypti</u>       |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| Pyriproxyfen 0.5G          |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| 100 ppb                    | 95   | 100 | 100 | 88  | -   | -   | 93 | 0  |   |     |     |
| 50 ppb                     | 92   | 100 | 100 | 74  |     |     |    |    |   |     |     |
| 10 ppb                     | 92   | 100 | 94  | 14  |     |     |    |    |   |     |     |
| Altosid 10F                |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| 1000 ppb                   | 98   | 100 | 100 | 88  | -   | -   | 0  |    |   |     |     |
| <u>Anopheles stephensi</u> |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| Pyriproxyfen 0.5G          |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| 100 ppb                    | 100  | 100 | 100 | 100 | 100 | 35  |    |    |   |     |     |
| 50 ppb                     | 100  | 100 | 100 | 100 | 27  |     |    |    |   |     |     |
| 10 ppb                     | 100  | 88  | 0   |     |     |     |    |    |   |     |     |
| Altosid 10F                |  |     |     |     |     |     |    |    |   |     |     |
| 1000 ppb                   | 100  | 100 | 100 | 100 | -   | 38  |    |    |   |     |     |

マカ 0.023 ppb、ハマダラカ (*An. stephensi*) 0.043 ppb となり、上記の残効期間の大小はそれぞれの供試虫の感受性の大小に単純に依存しているものと考えられる。また、アルトシッド 10F によってピリプロキシフェンと同等の残効を得るためには 10 倍以上の薬量を必要とすることがこの結果より明らかである (Kawada *et al.*, 1988)。

#### b. 野外水槽における準実地試験

次に、ピリプロキシフェン粒剤、水和剤、アルトシッド SR10 (メトプレンの徐放化製剤)、ディミリン (ディフルベンズロン) 水和剤それぞれのアカイエカ幼虫に対する防除効果を野外条件において比較した。薬剤散布前と薬剤散布後 3 週間を経過した時点における水質について表 35 にまとめた。いずれの水槽においても pH が中性からややアルカリ性に

Table 35 Changes of water quality in each pot.

| Pot | pH  |     | BOD (ppm) |     | COD (ppm) |    | DO (ppm) |     |
|-----|-----|-----|-----------|-----|-----------|----|----------|-----|
|     | 1   | 2   | 1         | 2   | 1         | 2  | 1        | 2   |
| A   | 7.7 | 9.7 | 9         | 13  | 21        | 25 | 6.1      | 8.3 |
| B   | 9.4 | 9.7 | 23        | 15  | 28        | 31 | 7.6      | 8.4 |
| C   | 7.9 | 8.4 | 4         | 5.3 | 7         | 8  | 6.5      | 6.7 |
| D   | 7.6 | 8.1 | 5         | 15  | 9         | 18 | 6.1      | 5.9 |
| E   | 7.9 | 9.2 | <1        | 6.4 | 2         | 2  | 7.8      | 7.7 |
| F   | 9.3 | 9.8 | 4         | 9.4 | 10        | 18 | 7.6      | 9.3 |

1, before application (June 12, 1984); 2, three weeks later.  
BOD, biochemical oxygen demand; COD, chemical oxygen demand; DO, dissolved oxygen.



推移し、BODが若干増加する傾向が見られた他は散布前と散布後との間の水質変化は顕著ではなかった。BODの若干の増加は水中のプランクトン、藻類などの微生物の増加に伴うものと考えられた。したがって、薬剤処理による水質への影響は全くなかったと考えられる (Kawada *et al.*, 1988)。

各薬剤散布後の水槽より採取した水による御所系アカイエカ幼虫に対する羽化阻害率の変化を表36-Aに、水槽に浮かべたケージ内に幼虫を放った場合の羽化阻害率の変化を表36-Bおよび図33に示した。水槽よりの採水による効力評価(水採取法)では、ピリプロキシフェン粒剤および水和剤の0.1ppm処理によりそれぞれ7週間以上および2週間以上高い防除効果を示したが、0.05ppm処理では両者の差はほとんどなくなり、粒剤は薬剤処理より1週間経過後に、水和剤も2週間経過後には効力を失った。対照剤であるアルトシッドSR10およびディミリン水和剤は0.5ppm処理においてそれぞれ2週間後、4週間後には効力を失った。これに対して、アカイエカ幼虫を直接水槽中のケージに放虫する方法(フローティング・ケージ法)による評価では、それぞれの残効は水採取法による評価に比べ明らかに延長された。この評価法によると、ピリプロキシフェン粒剤は水和剤に比べ長期の残効を示し、アルトシッド製剤に比べ約10分の1の薬量でこれと同等の残効を有することが示され、室内試験における結果とほぼ同様な結果となる。水採取法とフローティング・ケージ法とによるこの残効性の違いはピリプロキシフェン粒剤およびアルトシッドSR10において他剤に比べより顕著であった。この現象の主な原因として、薬剤の水中における不均一性が考えられた。すなわち、水を採取した水槽の表層部と水底とにおける有効成分の濃度分布が異なっており、おそらくは水底の濃度が高くなっているために、幼虫を水槽に放虫して水底近くまで幼虫が到達可能な後者の方法において効果が高

Table 36 Laboratory and field evaluation of residual activity against fourth instar larvae of Culex pipiens (Gose strain).

A. Water collection method

| Chemicals         | Conc.<br>(ppm) | % inhibition of adult emergence at different weeks |                 |      |      |      |      |      |     |      |
|-------------------|----------------|--|-----------------|------|------|------|------|------|-----|------|
|                   |                | -3 <sup>1)</sup>                                   | 0 <sup>2)</sup> | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 7   | 9    |
| Pyriproxyfen 0.5G | 0.1            | 30.1   | 85.7            | 82.1 | 100  | 71.2 | 80.2 | 84.8 | 100 | 29.3 |
|                   | 0.05           | 13.8   | 100             | 37.2 | 7.6  | -    |      |      |     |      |
| Pyriproxyfen 5 WP | 0.1            | 18.4   | 100             | 100  | 100  | 45.2 | 39.3 | -    |     |      |
|                   | 0.05           | 12.0   | 100             | 87.5 | 19.2 | -    |      |      |     |      |
| Altosid SR10      | 0.5            | 33.3   | 100             | 97.3 | 27.3 | -    |      |      |     |      |
| Dimilin 25 WP     | 0.5            | 15.5   | 100             | 100  | 100  | 100  | 17.7 | -    |     |      |

B. Floating cage method

| Chemicals         | Conc.<br>(ppm) | % inhibition of adult emergence at different weeks |      |      |      |      |      |      |      |     |
|-------------------|----------------|--|------|------|------|------|------|------|------|-----|
|                   |                | 1  | 2    | 3    | 4    | 5    | 7    | 9    | 11   |     |
| Pyriproxyfen 0.5G | 0.1            | 100  | 100  | 100  | 100  | 100  | 100  | 100  | 100  | 100 |
|                   | 0.05           | 97.8   | 94.2 | 78.6 | 97.3 | 100  | 100  | 16.9 | -    |     |
| Pyriproxyfen 5 WP | 0.1            | 100  | 100  | 100  | 100  | 100  | 100  | 96.8 | 34.3 |     |
|                   | 0.05           | 100  | 90.4 | 83.6 | -    | 87.5 | 19.2 | -    |      |     |
| Altosid SR10      | 0.5            | 100  | 98.1 | 100  | 100  | 100  | 100  | 17.4 | -    |     |
| Dimilin 25 WP     | 0.5            | 100  | 100  | 100  | 100  | 70.0 | 44.7 | 0    | -    |     |

1) Three weeks before application, 2) Four hrs after application.  
 A: The larvae were put into the water collected from each pot under laboratory conditions. B: The larvae were released into a cage placed at the center of each pot.

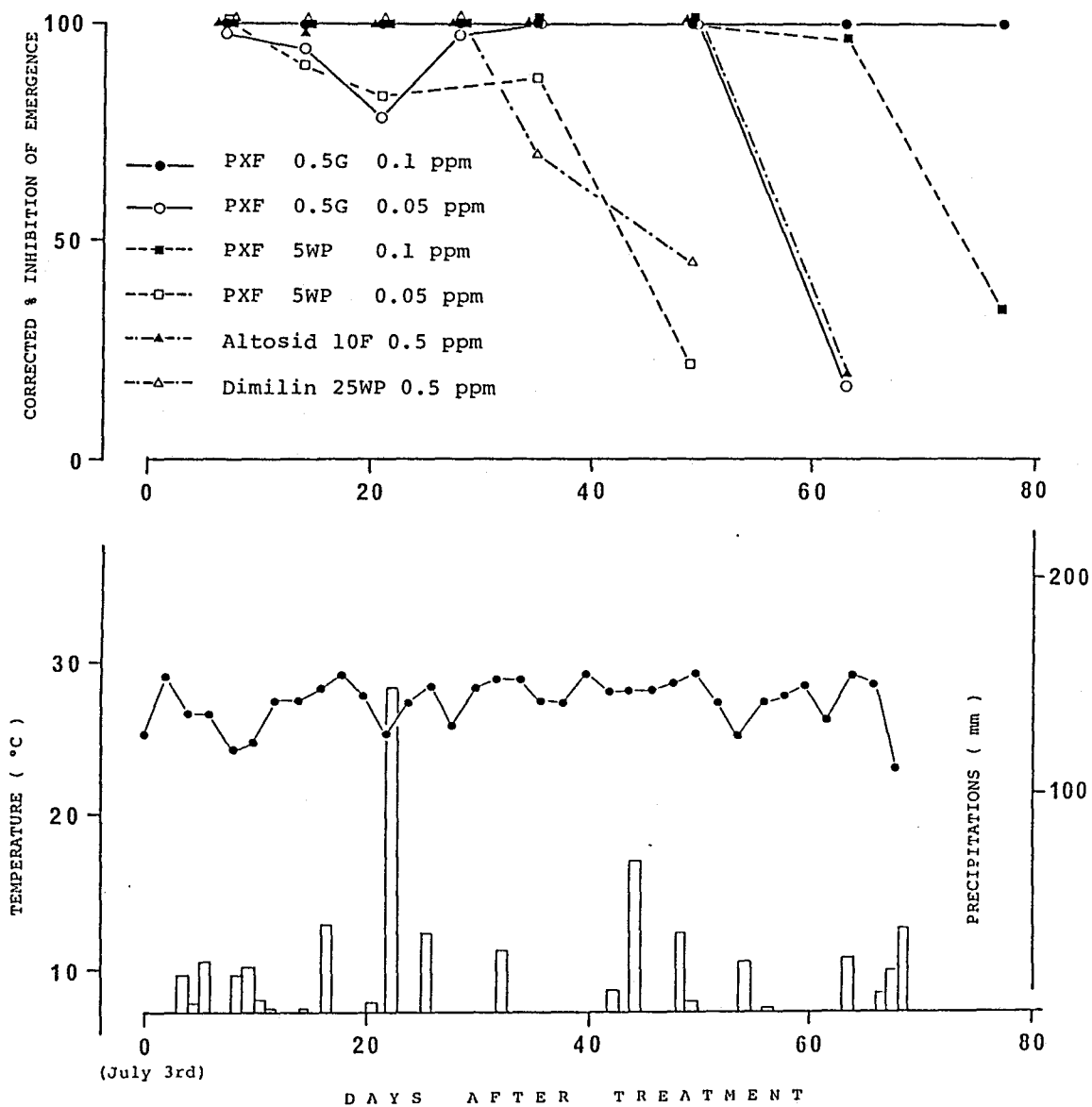


Fig. 33 Residual activity of pyriproxyfen against *Culex pipiens* (Gose strain) under field conditions. Dots and bars in the lower graph indicate mean temperature and precipitation of the day, respectively.  
 \* PXF, Pyriproxyfen.

く現れたものと考えられる。また、この濃度分布の不均一性は製剤そのものが散布直後に水底に沈降する粒剤において最も大きいと考えられる。Schaefer *et al.* (1974) はアルトシッドSR10が散布後水底に被膜状に存在するため("plate-out")、ヤブカなどのように水底で採餌する "browse-feeder" には有効であるがイエカのような "filter-feeder" には有効ではないことを報告しており、この製剤もやはり粒剤と同様に水底に沈降するタイプの製剤であると思われる。水採取による効力評価は、その簡便性において優れた方法であるが、土壌に対する吸着性の高い化合物や、水底に沈降するタイプの製剤などの評価に際しては上記のように過小評価となる場合がある。したがってこのような製剤の評価に際しては、いくつかの評価法、すなわち、本節における方法のような直接放虫による評価、あるいは現地には生息する幼虫および蛹の採集による評価などの同時試験がより正確な効力評価には必要となると考えられる (Kawada *et al.*, 1988)。

Table 37 Field evaluation of residual activity against fourth instar larvae of *Culex pipiens* (Toyonaka strain).

| Chemicals         | Conc.<br>(ppm) | % inhibition of adult emergence at different weeks |      |      |      |      |      |
|-------------------|----------------|--|------|------|------|------|------|
|                   |                | 3  | 4    | 7    | 8    | 10   | 11   |
| Pyriproxyfen 0.5G | 0.1            | 100  | 100  | 100  | 100  | 47.4 | 21.7 |
|                   | 0.05           | 90.6   | 32.7 | -    |      |      |      |
| Pyriproxyfen 5WP  | 0.1            | 100  | 96.2 | 97.7 | 94.0 | 55.2 | 39.4 |
|                   | 0.05           | 44.4   | 56.0 | 14.3 | -    |      |      |
| Altosid SR10      | 0.5            | 25.0   | 14.3 | -    |      |      |      |
| Dimilin 25 WP     | 0.5            | 66.7   | 15.8 | -    |      |      |      |

The larvae were released into a cage placed at the center of each pot.

フローティング・ケージ法による豊中系アカイエカ（有機リン剤抵抗性系統）幼虫に対する各製剤の残効性を表37に示した。ピリプロキシフェン粒剤は0.1ppm処理において8週間以上、0.05ppm処理において3週間以上高い防除効果を維持したのに対し、対照剤のアルトシッド、ディミリン各製剤は0.5ppmの薬量でいずれも3週間以内に効力を失い、本系統に対してもピリプロキシフェン粒剤は極めて有効であることが示された (Kawada *et al.*, 1988)。

野外条件化での殺虫剤散布においては化合物の残効性の高さが高い防除効果を得るための重要な要因となるが、作用点の限られたJHMにとってはこれが特に重要となる。すなわち、例えばカ幼虫の防除を考えた場合、breeding siteには様々なステージが混在するためJHM散布時に感受性の低かった卵や若齢幼虫が最も感受性の高くなる終齢期に達する1-2週間は少なくとも有効でなければ十分な効果は得られないであろう。野外条件におけるIGRの残効性を向上させるためにいくつかの製剤型の適用が試みられてきた (Mian and Mulla, 1982)。メトブレンについてはマイクロカプセル剤 (SR10) や活性炭を担体とした懸濁剤 (10F) が乳剤に比べ残効性が高いことが報告されている (Schaefer *et al.*, 1974)。

また、Mulla and Darwazeh (1979) はキチン形成阻害剤であるトリフルムロン (SIR-8514) の水和剤あるいは粒剤が *Aedes nigromaculis* に対し乳剤より高い効果を示すことを報告している。ピリプロキシフェンについても、本節の結果より水和剤や粒剤という剤型がアカイエカに対する残効性を向上させることが示された。

### c. ピリプロキシフェン粒剤の静止水中での作用性

IGRの製剤化によるメリットの1つは野外条件化では不安定な化合物

の安定性を向上させることである。例えば乳剤散布によるメトプレンの水中での半減期は約2時間足らずであり (Schaefer and Dupras, 1973)、この剤型では全く残効が期待できないことが分る。もう1つは有効成分の水中への溶出を制御することによる徐放化効果である。これは安定性が比較的高くしかも最小有効量の小さな化合物に適用することによって高い効果が得られると考えられる。ピリプロキシフェン粒剤が後者の効果を有することは既に述べた。ピリプロキシフェン粒剤は、水中への散布後すみやかに水底にまで達し有効成分をある一定の割合で溶出させることにより高い残効性を発揮すること、および、水表面に比べ水底近くの有効成分濃度が高くなることが本節の結果より明かとなった。また、野外条件においては水底に有機物や土壌等の吸着体が必ず存在し、これが上記のような濃度勾配の発生を助長している可能性が高い。そこで、ピリプロキシフェン粒剤の散布における有効成分の静止水中での挙動に関し検討を行なった。

ピリプロキシフェン粒剤よりの有効成分の溶出に対する土壌の影響を図34に示した。1 lの静止水中に砂壤土5 gを加え、これにピリプロキシフェン粒剤を0.1 ppmとなるように処理した場合有効成分の水中溶出率は処理より1週間経過後には2.1%、2週間経過後には<1%となりそれぞれ土壌が存在しない場合に比べて有意に低くなった。著者ら(1986)はこの原因が有効成分の土壌への吸着によるものであり、土壌中の有機物による分解ではないことを確認している。したがって、有効成分の溶出は水底の土壌の存在により抑えられ、より徐放効果が高くなることがこの結果より明らかである。先にも述べたように薬剤のこのような水底への“plate-out”が採餌法の異なる他種のカ類、特に“surface-feeder”といわれるハマダラカ類に対する効力にどのような影響を及ぼすかが興味ある問題である。そこでアカイエカ幼虫とハマダラカ (An.

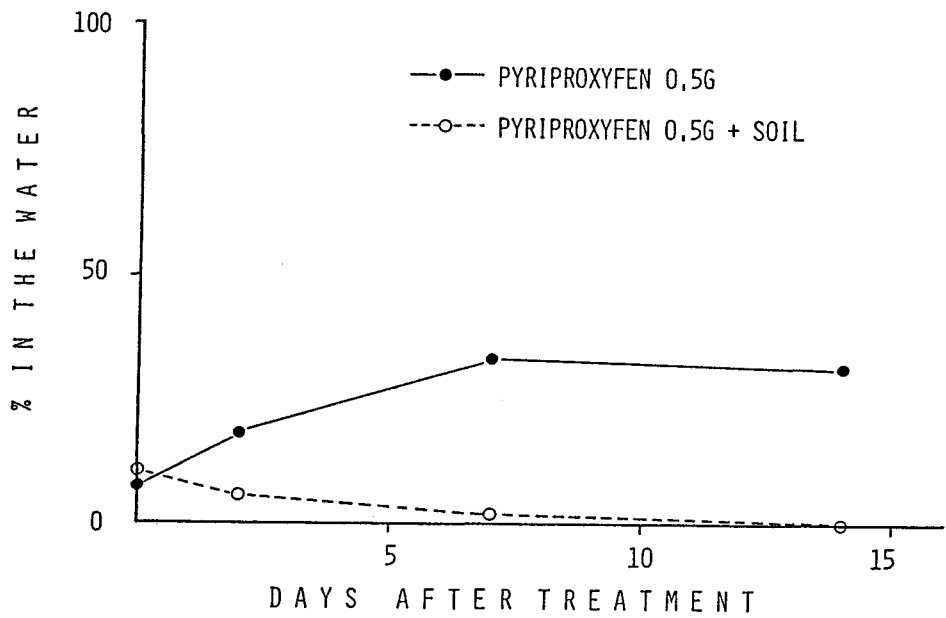


Fig. 34 Changes in the concentration of pyriproxyfen in the water with 0.1 ppm treatment of granular formulation under the conditions with or without soil.

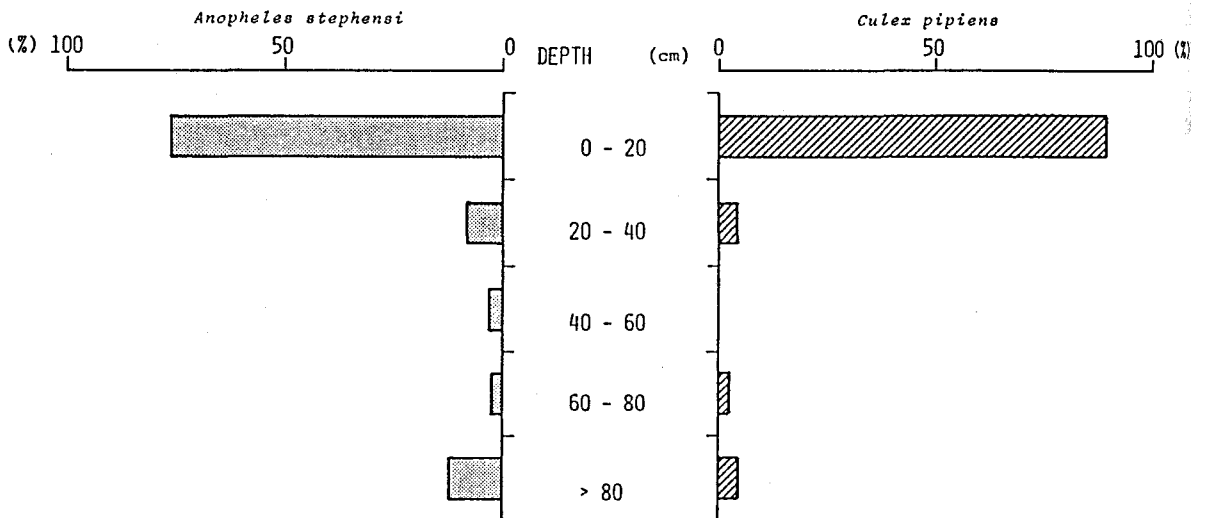


Fig. 35 Distribution of mosquito larvae in 90 cm high plastic tube.

stephensi) 幼虫との水中における垂直分布を比較した結果が図 35 である。この結果より、アカイエカ幼虫の約 90%、ハマダラカ幼虫の約 70% は常に水表面から 20 cm までの範囲に分布しており、残りの 10% および 30% の個体は少なくとも水深 80 cm 以上の水底と水表面との往復を繰り返していることが分り、両種の幼虫の垂直分布にはほとんど差がないものと考えられた。さらに、水深 40 cm、および 90 cm の水底に土壌を処理した静止水へのピリプロキシフェン粒剤の処理によるハマダラカ (An. stephensi) 幼虫に対する残効性を表 38 に示したが、いずれの水深の場合においても土壌の存在による残効性に対する影響は見られなかった。

Aly et al. (1987) は、ハマダラカの幼虫は水表面下 1 - 2 mm の範囲に浮遊する粒子状のエサのみを摂取するために B T I (Bacillus thuringensis var. israelensis) の液剤や粒剤のような剤型の有効性は低いとしている。この説は食毒性の強い B T I には適用可能であるが、経皮的に作用する化合物に関しても同様であるとは断言できない。カ類の幼虫

Table 38 Residual activity of pyriproxyfen 0.5G\* against Anopheles stephensi larvae in the plastic tube with soil.

| Depth of<br>Tube (cm) | % inhibition of emergence at (weeks) |     |     |     |     |      |
|-----------------------|--------------------------------------|-----|-----|-----|-----|------|
|                       | Initial                              | 1   | 2   | 3   | 4   | 5    |
| 90                    | 100                                  | 100 | 100 | 100 | 100 | 91.7 |
| 40                    | 100                                  | 100 | 100 | 100 | 100 | 100  |

\* 0.1 ppm (as a.i.) treatment.



の水中での垂直分布に関して調査したような報告はほとんどなく、極めて経験的、感覚的なことしか分っていないようである。ハマダラカの幼虫についても“surface-feeder”としての特徴があまりにも強いために、この属のみがあたかも“surface-breeder”であるような誤解を招く場合が多いが、実際には全てのカ幼虫 (Mansonia sp. のような水中生活者は例外として) が“surface-breeder”であることは間違いない。本節の結果によっても、アカイエカ幼虫とハマダラカ幼虫個体群のほとんどの部分は常に水表面近くに分布していることが分る。また、いずれの種の幼虫も常に水表面と水底との間を往来していることから、ピリプロキシフェン粒剤のように有効成分の濃度分布が不均一となる場合でも幼虫は頻繁に水底の高濃度の部分に接触しており、効力が発現するものと考えられる。

以上のようにピリプロキシフェン粒剤は1 m程度の水深の静止水であれば、土壌の影響やカ幼虫の生態等に左右されることなく有効に効果を発揮し得ることが示唆された。したがって、カ類幼虫の生息する多くの水域に本剤型が適用可能であるといえるが、シナハマダラカ An. sinensis や An. nigerrimus (Hemingway et al., 1986) のような多くのハマダラカ類や、コガタアカイエカ C. tritaeniorhynchus (Self et al., 1973) のように広大な水田地域に生息する種、あるいは Ae. nigromaculis (Mulhern et al., 1965) や Ae. aegypti (Pant et al., 1974) のように生息する場所は狭いがそれが無数に点在する種の防除に粒剤散布を適用させることは物理的、経済的に難しくなってくる。このような種の防除には、より広範囲に薬剤を到達させ得るような剤型あるいは散布法を開発することが重要となると考えられる。ピリプロキシフェンのカ防除における新しい製剤型の概念については後の節において述べる。

### I-2-3 流水系散布における粒剤の効力と作用性

ブユの雌成虫は人畜を吸血し、我が国では農山村における重要な害虫である（大村ら、1978）。また、世界的にはヒトのオンコセルカ症の Vector として知られており、流行地である熱帯アメリカや熱帯アフリカでは大きな問題となっている。オンコセルカ症防除は主に媒介ブユの幼虫駆除を中心に行なわれており、具体的にはテメフォス（アベイト）によるグアテマラの *Simulium ochraceum* の防除（Kamimura et al., 1985; Umino and Suzuki, 1984; Umino et al., 1983 など）や B T I による西アフリカの *S. damnosum* の防除（Kurtak et al., 1987; Walsh, 1985 など）などが知られている。I G R によるこれらの地域における幼虫防除は現在のところ行なわれていない。この理由の1つとして、メトプレンやディフルベンズロンの Stage-specificity が高いために幼虫の全てのステージに有効でないことが挙げられている（Walsh, 1985）。この Stage-specificity は、幼虫駆除の方法が液剤の一定時間散布（10分-1時間）という形を取るためにさらに不利となる。したがって、I G R 剤をブユ防除に適用させるにあたっては、化合物自体の効力の高さ、皮膚浸透性の高さ、そして製剤による徐放効果による有効期間の延長が不可欠であると考えられる。本節では、ピリプロキシフェン粒剤および水和剤によるブユ幼虫防除試験結果より本剤のブユ防除への可能性につき考察する。

#### 材料および方法

##### A. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen 0.5G (Pyriproxyfen 0.5%含有粒剤)

## 2) Pyriproxyfen 5WP (Pyriproxyfen 5%含有水和剤)

### B. 試験方法

試験は昭和62年8月24日から11月26日にかけて長野県諏訪郡原村の河川において行なった。

#### (1) 薬剤散布

薬剤処理の前日に試験河川の川幅、水深、流速を測定し、15分間あたりの流量を算出した。薬剤処理は、15分間水量に対して0.1ppmとなるように薬剤を秤量し、粒剤は全量を布製の袋に入れて水底に固定、水和剤は約501の河川水で希釈後15分間かけて一地点に散布した。

#### (2) ピリプロキシフェンの水中濃度測定

a. 水和剤散布 … 薬剤処理時に、15分間水量に対して100ppmとなるように食塩水を同時に15分間流した。散布地点より300mおよび1km下流の地点において電気伝導度計を用いて河川水の電気伝導度を経時的にチェックし、同時に11容のガラスビンに河川水を採取した。

採取した河川水についてはガスクロマトグラフによる濃度分析およびアカイエカ Culex pipiens pallens を用いた生物検定を行なった。

b. 粒剤散布 … 薬剤投入地点より約10m下流の河川水を11容のガラスビンに採取し、上記と同様なチェックを行なった。採水は薬剤投入直後、1日後、23日後にそれぞれ行なった。

### 結果および考察

試験河川の流量は、水和剤投入区が170t/15分間(川幅平均2.73m、水深平均0.31m、流速4.5秒/m)、粒剤投入区が45.7t/15分間(川幅平均1.6m、水深平均0.13m、流速4.0秒

／m)であった。水和剤投入区の投入地点より300m下流における採水中のピリプロキシフェンの濃度およびアカイエカ幼虫に対する生物検定結果を図36に示した。薬剤散布と同時に処理した食塩水による電気伝導度のピークとピリプロキシフェンの水中濃度のピークはほぼ完全に一致した。すなわち、投入地点での散布開始より15分後からそれぞれの値は上昇し始め、30分付近で最大(0.14ppm)となり、その後すぐに減少した。電気伝導度は35分後にはほぼ完全に元の値に戻ったが、ピリプロキシフェンの水中濃度はしばらく尾を引き、120分後まで若干量が検出された。アカイエカ幼虫による生物検定によっても120分まで高い活性が確認され、薬剤の有効濃度は120分以上保たれたと考えられるが、24時間経過後には水中濃度は検出限界以下(0.1ppb以下)に、アカイエカに対する羽化阻害率も散布前の結果と等しくなった。水和剤の投入は15分間の間に行なわれているが、300m下流地点でも約20分間で薬剤のほとんどの部分が通過したものと考えられる。1km下流地点では散布より70分経過以前のデータは取得できなかったが、食塩による電気伝導率のピークは300m下流地点のそれとほとんど同じと考えられるのに対し、ピリプロキシフェンのピークは300m下流地点に比べると平たくブロードになっており、水中濃度が低めとなり、有効濃度の検出される時間が長くなっていると考えられた(図37)。すなわち、1kmの距離を流れる間に、水中での有効成分の拡散や土壌への吸着が起っていることが想像される。

ピリプロキシフェン粒剤の投入区における水中濃度の変化を図38に示したが、投入直後より有効成分は徐放化されており、投入直後でも水中濃度は約10ppbに抑えられ、24時間経過後も同程度の濃度が検出された。しかし、粒剤の投入量は15分間水量に対し0.1ppmであることを考えると、もし10ppbの濃度で流れ続けたとすると150分後に

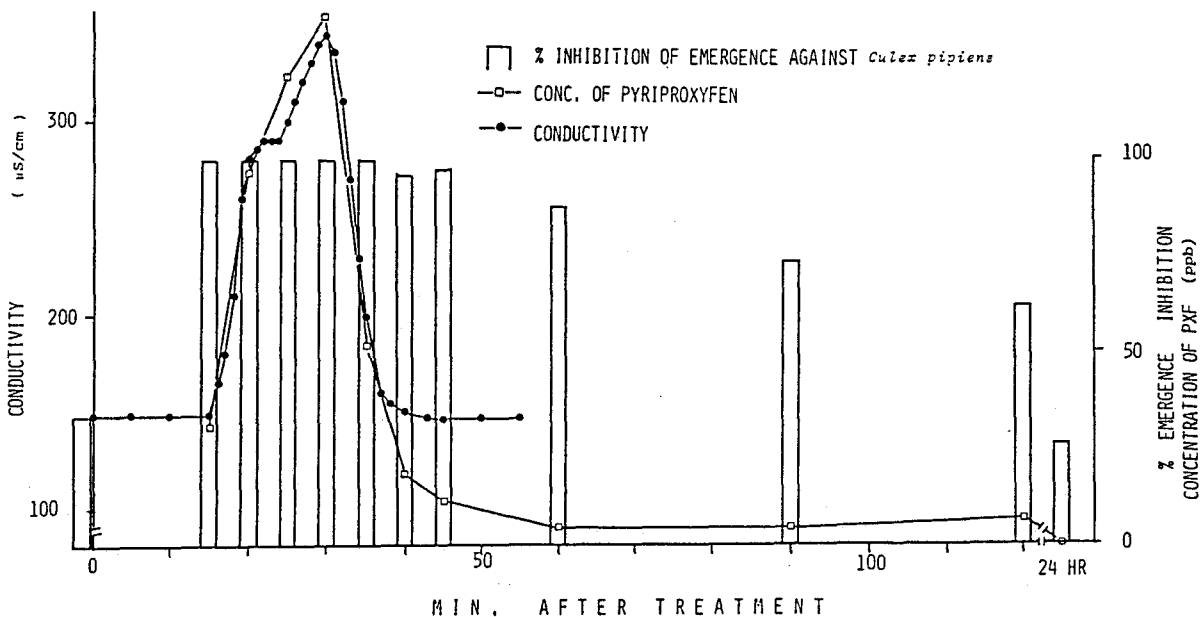


Fig. 36 Changes in the concentration and the inhibition activity of emergence of pyriproxyfen in the water collected from the river at 300 m down from the point of treatment of WP formulation.

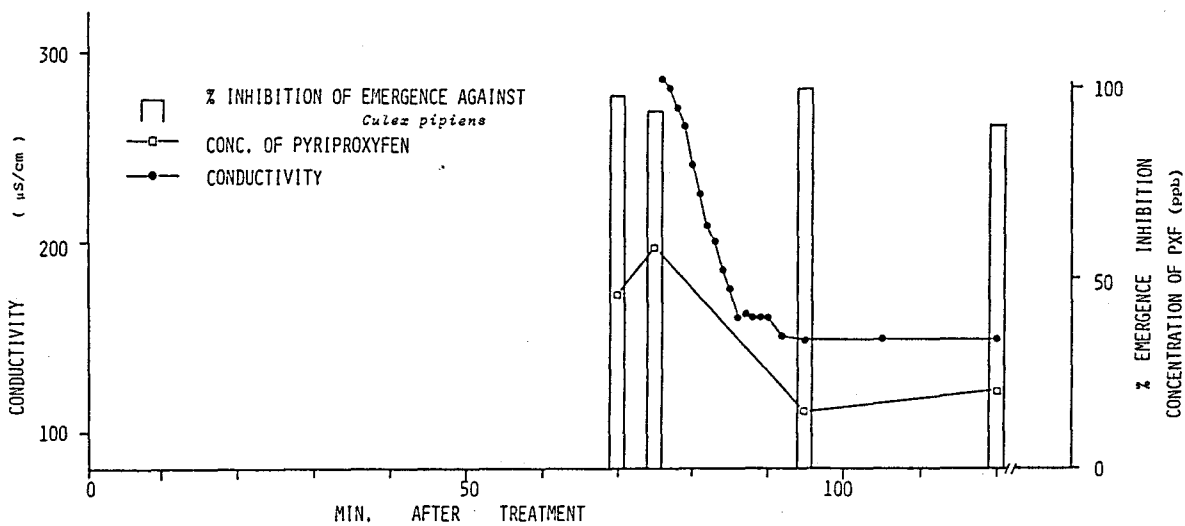


Fig.37 Changes in the concentration and the inhibition activity of emergence of pyriproxyfen in the water collected from the river at 1000 m down from the point of treatment of WP formulation.

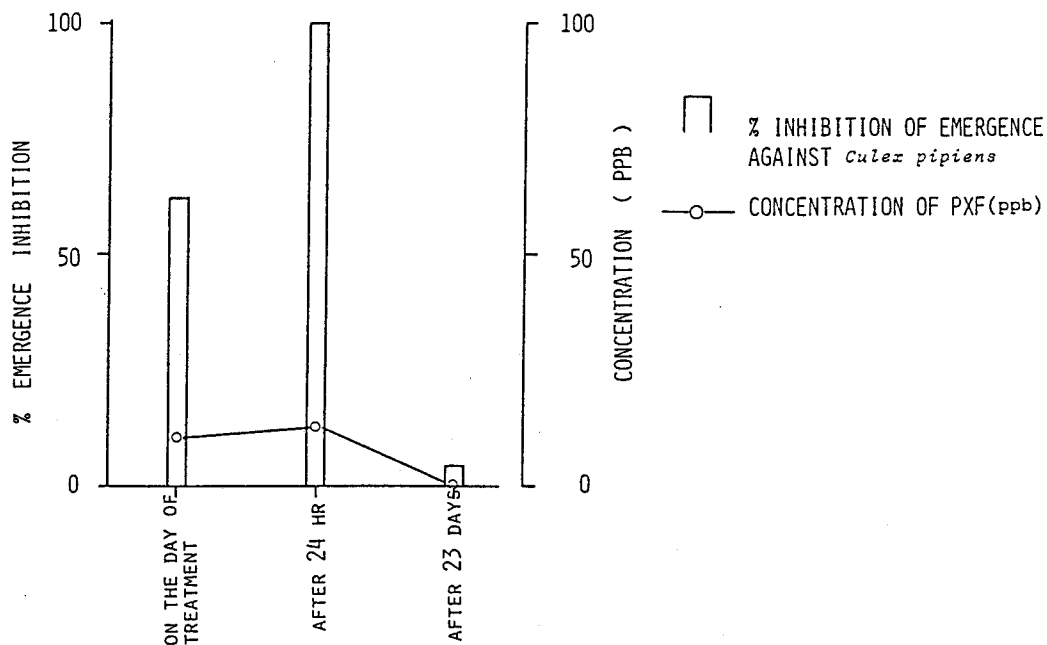


Fig. 38 Changes in the concentration and the inhibition activity of emergence of pyriproxyfen in the water collected from the river at 10 m down from the point of treatment of granular formulation.

は全ての有効成分が流出してしまう計算となり、今回の結果と矛盾する。おそらくは、粒剤を袋詰めにして1ヵ所（川の中央）に固定したために水をサンプリングした中央部の濃度が高めに現われたのであろうと思われ、実際にはこれより低い濃度になっていると考えられる。粒剤処理より23日後の採水中のピリプロキシフェン濃度は検出限界以下であった。

ピリプロキシフェン水和剤処理区および粒剤処理区におけるブユ幼虫に対する羽化阻害効果の経時変化をそれぞれ図39、40に示した。試験河川より採集された主なブユはアオキツメトゲブユ *Simulium aokii*、ウチダツノマユブユ *S. uchidai*、アシマダラブユ *S. japonicum*、および *S. iwatense* であった（水谷ら、1988）。水和剤散布の場合、羽化阻害率は処理地点より50 m下流、300 m下流、1 km下流いずれの地点においても約2週間で低下し、効果は一過性であることが分った。また、羽化阻害効果は1 km下流地点が最も高く、序で300 m下流、50 m下

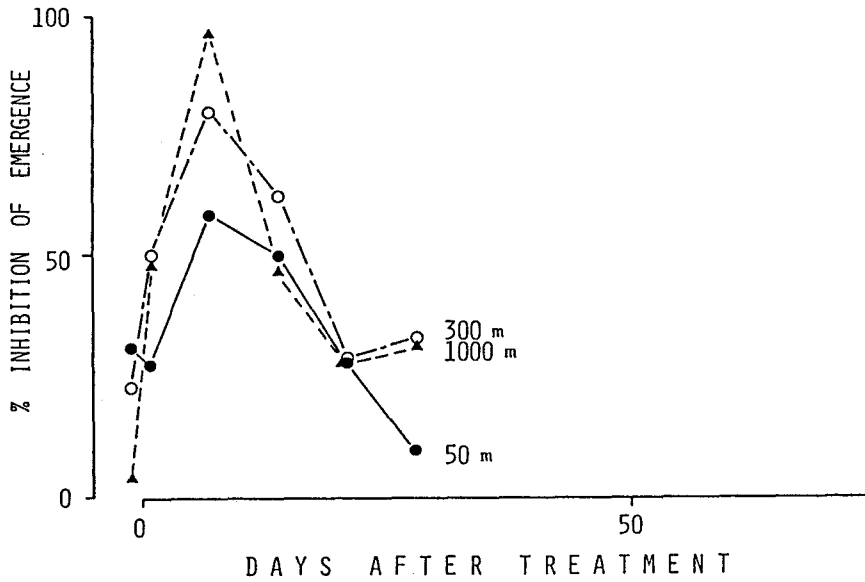


Fig. 39 Inhibition of emergence of *Simulium sp.* by the treatment of pyriproxyfen SWP at different distances from the point of treatment (Mizutani *et al.*, 1988).

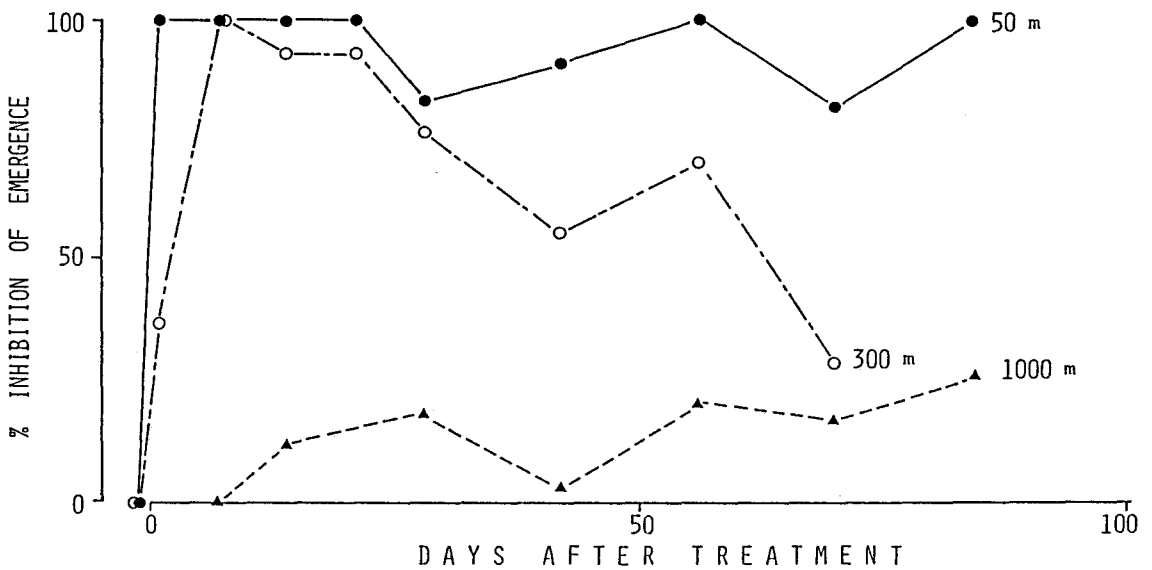


Fig. 40 Inhibition of emergence of *Simulium sp.* by the treatment of pyriproxyfen 0.5G at different distances from the point of treatment (Mizutani *et al.*, 1988).

流地点となり、下流になるほど効果が高くなる傾向が得られた（水谷ら、1988）。これに対して、粒剤散布では長期にわたる羽化阻害効果が得られた。効果は処理地点より50 m地点で最も高く、2ヵ月以上にわたって高い羽化阻害効果を維持した。300 m地点での効果がこれに次ぎ、3週間以上にわたって高い羽化阻害効果を維持した。1 km地点の効果は不十分であり、水和剤の散布によって得られた傾向とは全く逆の結果となった（水谷ら、1988）。

以上の結果より、水和剤処理では効果は一過性であるが有効距離が長くなること、粒剤処理では長期の残効性が得られるが有効距離が短くなることが分った。Hocking *et al.* (1949) は  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$  の殺幼虫剤の濃度  $\times$  時間 = 一定の死亡率 という説を提唱した。この説は後の研究によって正しくはないこと、あるいはある範囲の暴露時間にのみ適用されることが分ってきた。Frommer *et al.* (1983) や Muirehead-Thomson (1983) はブユ幼虫のテメフォスに対する暴露時間を延長することによって有効な濃度を上記の式における一定値よりも低くできることを、また Umino *et al.* (1983) はテメフォスによる120分以下の暴露では上記の式が適用されるのに対し、300分では死亡率が高くなることをそれぞれ報告している。この理由として Walsh (1985) はブユ殺虫剤が食毒としてより有効に作用することを挙げているが、化合物の経皮浸透性の程度もこれに深く関係するものと考えられる。本説の結果より、ピリプロキシフェン水和剤の効果は処理地点よりの距離が長くなるほど高くなる傾向が得られたが、これは水中濃度の測定により、上流では高い濃度が短時間で流れ去るのに対して、下流に進むにしたがって水中濃度が低くなり、暴露時間が長くなることによってもたらされたものと思われる。

ブユ防除における Slow-release formulation の使用はあまり一般的ではない。Takaoka *et al.* (1981) はテメフォスの徐放製剤（錠剤）を金



網の籠の中に固定し、60分水量に対し0.1ppmとなる薬量を1地点に処理することにより高い効果を得ている。本説における方法は基本的には彼らの方法を模したものであるが、水量の比較的小さなグアテマラの河川（水量 0.1-50 l/秒）や本説で使用した河川（水量 50.8 l/秒）においてこの様な徐放製剤の使用は高い残効性をもたらすものと考えられる。しかし、S. damnosum の生息するようなアフリカの河川は雨季の水量が200 t/秒、乾期でも2 t/秒と桁外れに大きく（Kurtak et al., 1987）、徐放製剤の使用は物理的に不可能と思われる。この様な大水量の河川においては、乳剤や水和剤等の液剤や、ブユ幼虫の“particle feeder”としての習性を利用した微小なマイクロカプセル剤やコロイド状の製剤が有効となるであろう（Walsh, 1985）。

## II. その他の製剤の開発

これまで、主にハエ類の発生源、あるいはカ、ブユ類の発生源となる静止水や流水へのピリプロキシフェン散布を目的とした粒剤について考察を行ってきたが、前節において述べたように目的とする害虫種によっては粒剤の散布が適していないかあるいは不可能な場合が多々ある。本節ではゴキブリ防除を目的とした全量噴射型エアゾール剤（Total Release Aerosol Fogger、TRA）、およびヤブカ類の防除を目的とした超微量（Ultra Low Volume、ULV）散布製剤へのピリプロキシフェンの適用の可能性について考察を行なう。

### II-1 エアゾール製剤

第2章においてピリプロキシフェンのチャバネゴキブリに対する諸活性について述べたが、ピリプロキシフェン処理面に対するチャバネゴキブリの任意の接触によって次世代への繁殖抑制効果が期待される薬量は $10\text{ mg}/\text{m}^2$ 以上であること、また、エサ中にピリプロキシフェンを含有させることによって、成虫の不妊化がもたらされることが分った。これらの知見から、ピリプロキシフェンのゴキブリ防除用製剤としては、油乳剤、燻煙剤、エアゾール剤等によるゴキブリの生息場所や活動場所への残留散布、あるいはベイト剤（毒餌剤）といった剤型が考えられた。本節ではピリプロキシフェンを含有させた全量噴射型エアゾール（TRA）のチャバネゴキブリ個体群に対する防除効果について考察を行なう。

#### 材料および方法

## A. 供試虫

チャバネゴキブリ Blattella germanica

野外系統（ピレスロイドに対し低感受性で他の薬剤には正常な感受性を示す系統； Umeda et al., 1988）を使用した。

## B. 供試エアゾール

|                            |            |   |     |
|----------------------------|------------|---|-----|
| 1) Pyriproxyfen            | 0.25       | % | W/W |
| 2) Pyriproxyfen            | 0.025      | % |     |
| 3) Pyriproxyfen            | 0.0025     | % |     |
| 4) Pyriproxyfen/Permethrin | 0.25/1.0   | % |     |
| 5) Pyriproxyfen/Permethrin | 0.025/1.0  | % |     |
| 6) Pyriproxyfen/Permethrin | 0.0025/1.0 | % |     |
| 7) Permethrin              | 1.0        | % |     |

\* 全て噴射剤としてフロンガスを使用。全量100g。

## C. 試験方法

図41に示したようなプラスチック製コンテナの底にベニヤ板（20×25cm）を敷き、この中に水、エサ、ベニヤ板製のシェルター（15×15cmのベニヤ板を3段に重ねたもの）とともに供試虫成虫雌雄各5頭、若齢幼虫、中齢幼虫、終齢幼虫、それぞれ各50頭を入れた。このコンテナを図41に示したように4×3m（容積28m<sup>3</sup>）の試験室内に配置し、TRAを噴射し2時間暴露させた。2時間経過後コンテナを取り出し、以後このコンテナの中で供試虫を飼育した。所定日に生存していた幼虫数および成虫数を記録し、成虫については第2章の図10に示したように羽化阻害の程度をスコアリングした。この観察を薬剤処理後5ヵ月間にわたって行なった。

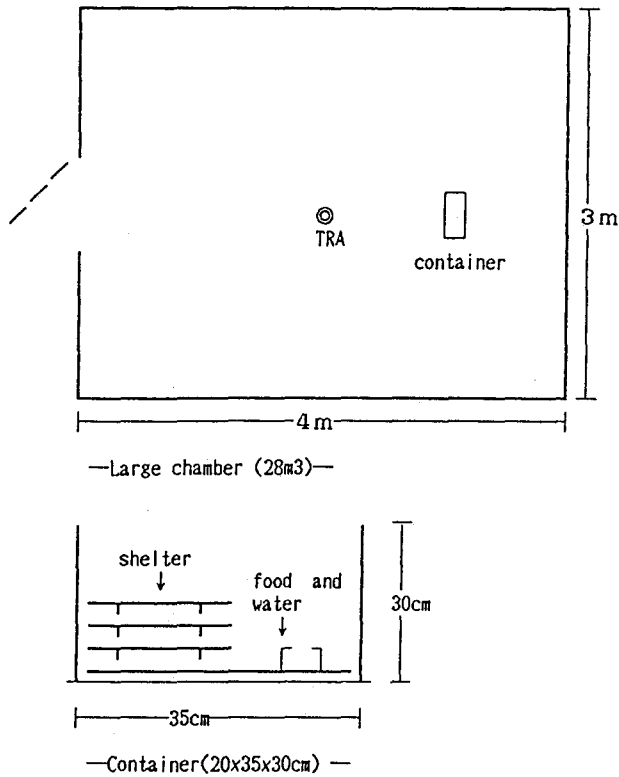


Fig. 41 Set-up for total release aerosol test method.  
TRA, total release aerosol.

### 結果および考察

薬剤処理後の経過日数にともなう供試虫の平均スコアの変化を図42に示した。スコア0の正常羽化虫の数はピリプロキシフェン薬量の増加にともなって減少し、薬剤処理より5ヵ月後にはピリプロキシフェン単剤0.25%処理（有効成分量で約 $2.1 \text{ mg/m}^2$ ）では2頭（全体の8.7%）、0.025%処理（約 $2.1 \text{ mg/m}^2$ ）では54頭（同51.4%）、ピ

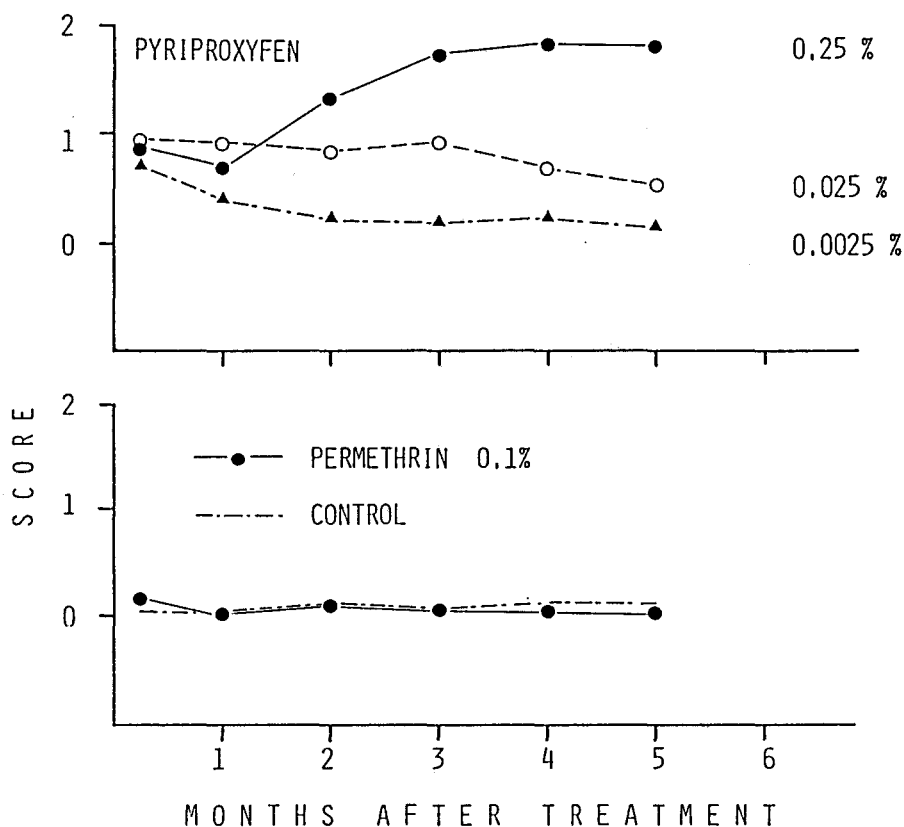


Fig. 42 Changes in the average score of the experimental population of German cockroach (Pyrethroid resistant strain) after treatment of pyriproxyfen total release aerosol.

リプロキシフェン/パーメスリンの合剤0.25/1.0%処理(約21 mg/83 mg/m<sup>2</sup>)では0頭(0%)、0.025/1.0%(約2.1 mg/83 mg/m<sup>2</sup>)では28頭(31.1%)となり、ピリプロキシフェン0.25%の処理によりほとんどの羽化虫が羽化阻害を受けたことが分る。平均スコアはピリプロキシフェン0.25%処理区では経過日数とともに上昇する傾向にあり、5ヵ月経過後にはピリプロキシフェン単剤で1.8、パーメスリンとの合剤では2.0と高い値を示した。これに対して、0.025%以下の薬量では平均スコアは経過日数とともに減

少する傾向にあり、正常虫の占める割合がしだいに高くなっていることを示している。各処理区における薬剤処理後の成虫および幼虫の総個体数の変化を図43に示した。総個体数はピリプロキシフェン0.25%単剤処理区では経過日数とともに減少したが、それ以下の薬量では増加する傾向にあった。ピリプロキシフェンとパーメスリンの合剤の効果はピリプロキシフェン単剤の効果に比べて高く、両者の0.025/1.0%処理により、個体数の増加を4ヵ月にわたって低いレベルに保った。パーメスリン1.0%単剤処理によっても2ヵ月程度は個体数を比較的低いレベルに保ったが、4ヵ月経過後には無処理区と同レベルにまで個体数は回復した。薬剤処理区の総個体数を無処理区の総個体数で補正した増殖抑制率の変化を図44に示した。ピリプロキシフェン単剤0.25%処理による増殖抑制率は4ヵ月経過後には80%を越したが、0.025%では40-50%にとどまり、5ヵ月経過後には0%にまで低下した。一方、パーメスリン1.0%との合剤とした場合は、ピリプロキシフェン単剤処理に比べ薬剤処理直後より約70%の高い抑制率を示し、単剤処理に比べ初期の効果が高くなることが分る。

以上の結果より、ピリプロキシフェンをTRAとして処理した場合、20mg/m<sup>2</sup>の処理薬量であれば高い増殖抑制効果を期待できることが明かとなり、第2章において得られた知見をよく反映した結果が得られた。また、これにピレスロイド等の速効性を有する殺虫剤を混合させることによりさらに高い効果を得られることが明かとなった。JHMと殺虫剤の同時施用の有用性は Staal et al. (1985) によっても認められている。彼らはジクロロボスとプロボキサールのTRAの散布により初期の2ヵ月間程度は約50%の防除効果を維持するが、3ヵ月以降は無処理区並みに個体数が回復すること、ハイドロブレン単剤の処理により4ヵ月以降には防除効果が80%以上となるが、それ以前の効果は低く、処理より3ヵ月間

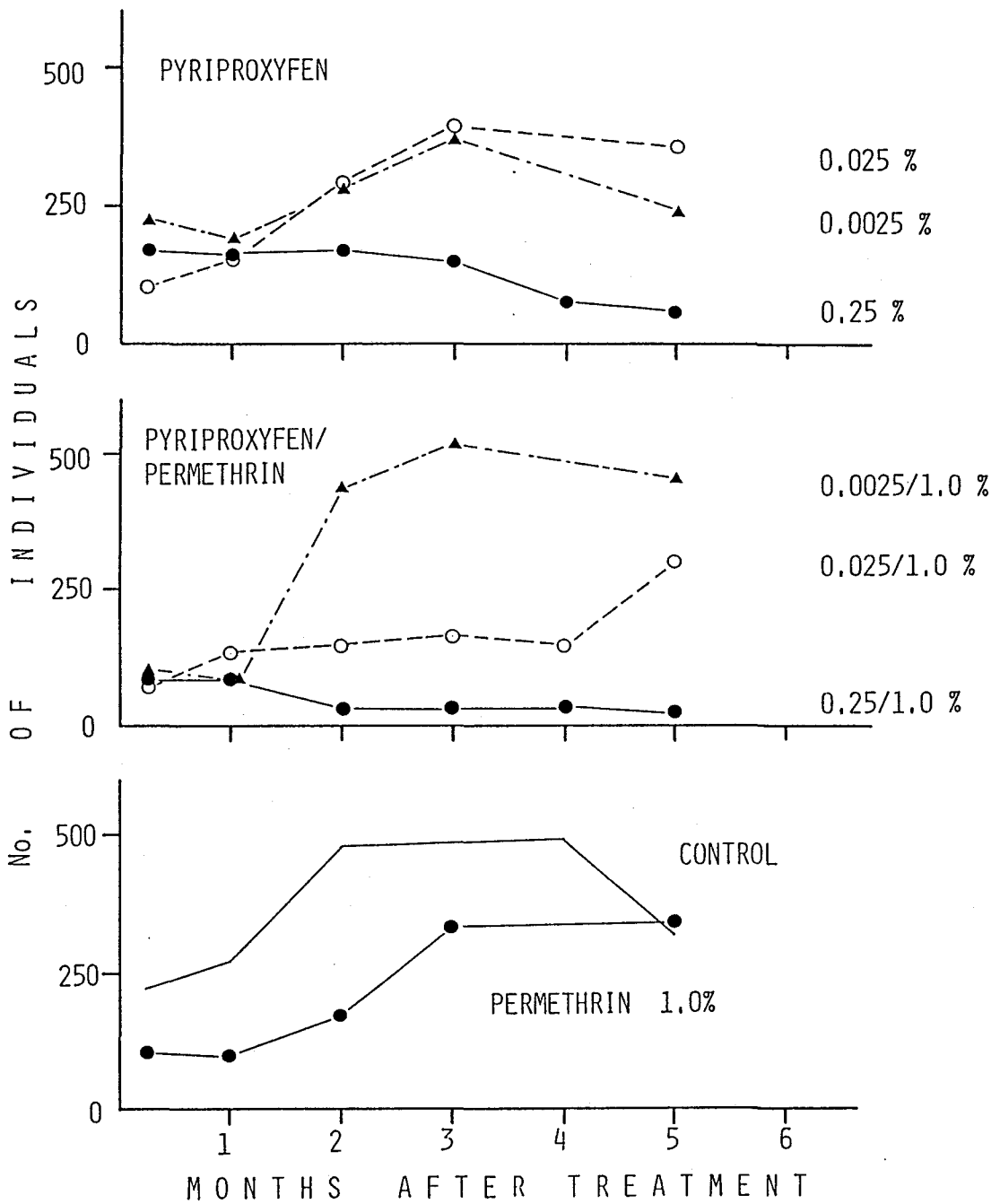


Fig. 43 Changes in the number of nymphs after treatment of pyriproxyfen total release aerosol to the experimental population of German cockroach (Pyrethroid resistant strain).

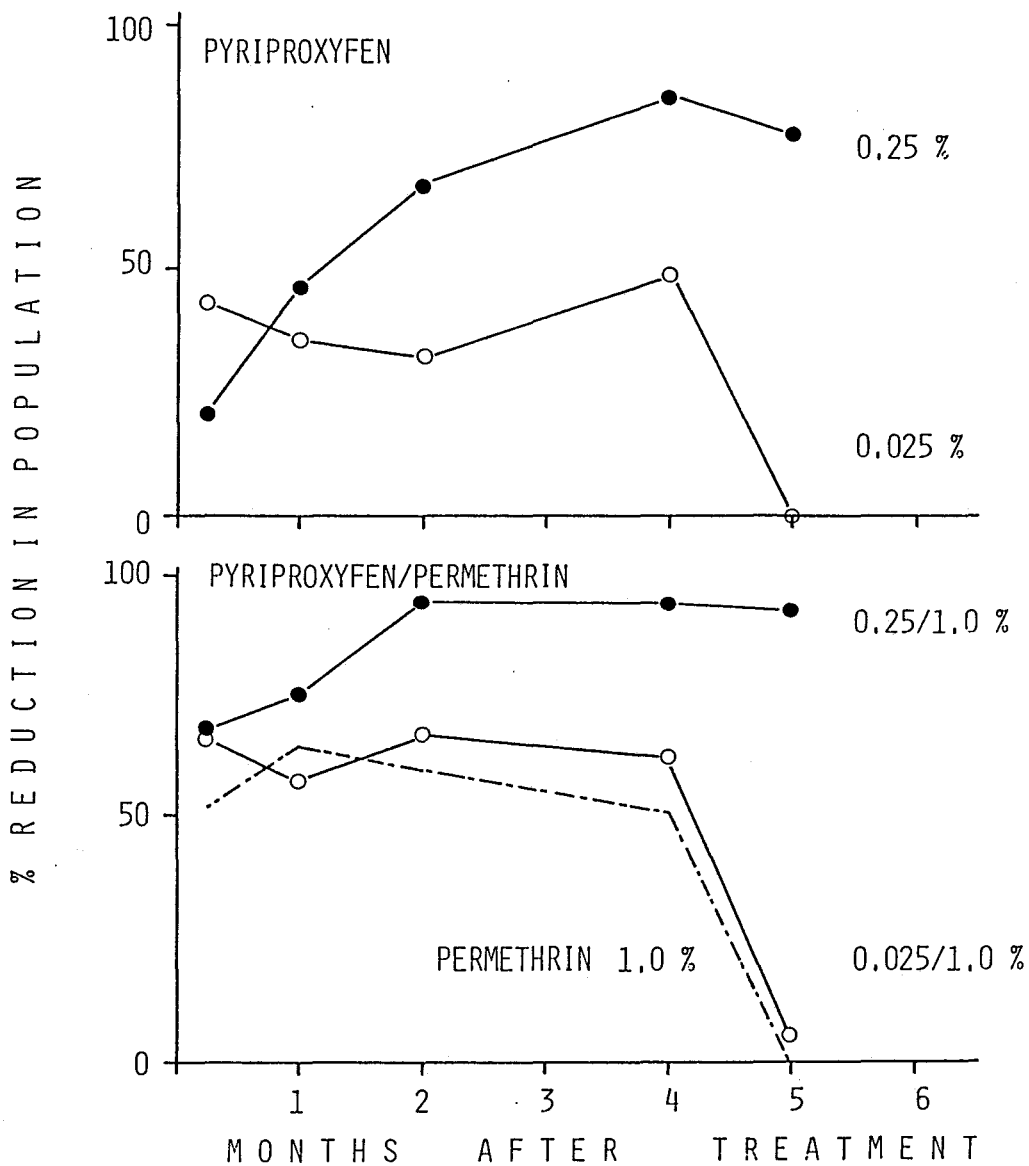


Fig. 44 Inhibition of population growth of German cockroach (Pyrethroid resistant strain) after treatment of pyriproxyfen total release aerosol.



経過以前の防除率は40%以下であること、これに対して両者の同時施用により初期より高い効果が得られることを報告している。

ゴキブリ防除を目的とした残留散布において、薬剤の残効性を決定する要因としては、薬剤の分解、揮散、処理面への吸収などが考えられるが、液剤散布において最もその効果を左右するのは処理面への吸収であろう。

Staal *et al.* (1985) はさまざまな処理面においてハイドロプレンの徐放製剤である粉剤 (Residual dust formulation) やマイクロカプセル剤 (Microencapsulated formulation) が乳剤に比べ長期の残効を有することを示した。家庭内でのゴキブリ防除に関する限りは、この様なある程度の散布技術を要する製剤の普及にはやや難があるが、PCO (Pest control operator) による専門的な薬剤処理には十分適用可能である。特に高分子によって薬剤を微小なカプセル中に封入したマイクロカプセル剤は、散布者に対する安全性の向上、薬剤の安定性の向上、吸収面上での残効性の維持といったいくつかの優れた特徴を有する新しい製剤である。近年マイクロカプセル剤のゴキブリ防除剤としての適用についても盛んに研究がなされており (Sakurai *et al.*, 1982; Ohtsubo *et al.*, 1987; Tsuda *et al.*, 1987; Kawada *et al.*, 1989)、今後ピリプロキシフェン等のIGRへの適用に興味もたれる。

## II-2 ULV (超微量) 製剤

ヤブカ属 (*Aedes*) は激しく人畜を襲い、中でも *Stegomyia* 亜属は Dengue 熱や黄熱等の Arbovirus による熱帯病やフィラリア症の媒介蚊として極めて重要な位置を占めている。 *Stegomyia* 亜属の中では *Ae. albopictus* や *Ae. aegypti* が世界的に最も知られた種に数えられる。 両

者は熱帯アジアに極めて普通に見られる種であり、我が国にも生息する。

これらのヤブカ類の多くは昼間吸血性で成虫の活動範囲は他のカ類に比べて狭く、Sheppard et al. (1969) によれば、Ae. aegypti の1日の平均移動距離は37mに過ぎないという。幼虫は水差しの水、墓石の溜水、樹洞、あるいは野積みにされた古タイヤ等の比較的小さく点在する場所に生息し、幼虫防除には大きな労力を必要とする。本節ではピリプロキシフェンを成虫剤に混合させたULV散布剤の、上記の様な生態系への適用の可能性に関し考察を行なう。

## 材料および方法

### A. 供試虫

アカイエカ Culex pipiens pallens 御所系終齢幼虫

### B. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen 1% 乳剤
- 2) d-t80 Allethrin / Phenothrin / Pyriproxyfen 6/14/5% 乳剤
- 3) d-t80 Allethrin / Phenothrin / Pyriproxyfen 6/14/1% 乳剤
- 4) d-t80 Allethrin / Phenothrin 6/14% 乳剤

### C. 試験方法

#### a. ULV散布試験

3×4m (容積28m<sup>3</sup>) の試験室の床上短辺部の壁際に30×30×30cmのダンボール製の箱を設置した。それぞれの箱は図45に示したように、A:上部が開放条件、B:側面に15×30cmの開口部がある条件、C:側面に5×30cmの開口部がある条件に設定し、それぞれ

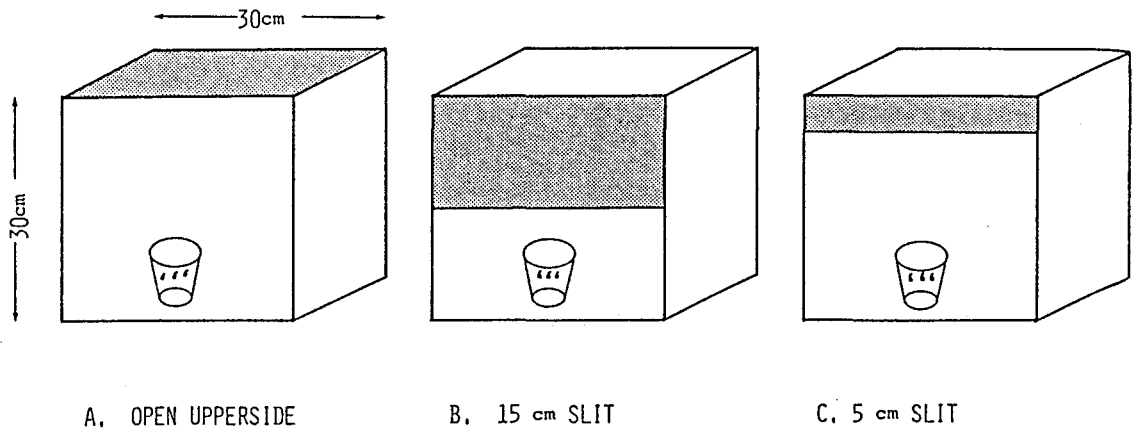


Fig. 45 Experimental boxes which imitate the breeding places of *Aedes* sp.

2 反復とした。また、200 ml 容のアルミ製カップに蒸留水 150 ml を入れ、これに供試虫 30 頭を放ちそれぞれの箱の底部に 2 個ずつ配置した。箱を設置した壁の反対側に位置する試験室の小窓（高さ約 1 m）より各薬剤の蒸留水による 5 倍希釈液 1.2 ml (1 l / ha に相当する) を携帯用 ULV 散布機によって 45° 上方に向け散布した。1 時間暴露後カップを取りだし、エサを少量与えて成虫の羽化まで飼育し、幼虫の死亡あるいは羽化阻害を観察した。

#### b. 幼虫浸漬試験および残効性試験

乳剤の蒸留水による所定濃度希釈液 150 ml を 200 ml 容のアルミ製カップに入れ、これに供試虫 30 頭を放ち、幼虫の死亡あるいは羽化阻害を観察した。また、処理液を 1 週間あるいは 2 週間室内に保存したもののについて同様の浸漬試験を行ない、残効性を調べた。

## 結果および考察

各乳剤のULV散布によるアカイエカ幼虫に対する致死効果を表39に示した。有効成分の散布量は床面積あたりに換算すると、d-t80 アレスリン/フェノスリン6/14%乳剤が4 mg/m<sup>2</sup>、ピリプロキシフェン1%乳剤が0.2 mg/m<sup>2</sup>に相当する。この量は開放条件のアルミカップ上に均一に薬剤が降下したとすると、それぞれ約0.13 ppm、0.007 ppmとなる。致死効果はピリプロキシフェン単剤処理において若干の羽化個体が認められたものの、いずれの薬剤も高い値を示した。条件別では開口部が5 cmの場合他の条件に比べてやや低い値を示したが、顕著な差ではなかった。したがって、成虫剤である d-t80 アレスリン/フェノスリン6/14%乳剤のULV処理のみによっても十分な殺幼虫効果が期待できることが明かとなり、この結果からはピリプロキシフェンの混合のメリットは明確にはならなかった。そこで、室内における残

Table 39 Mortality of *Culex pipiens* in the different conditions by the ultra low volume spraying of EC formulation<sup>1)</sup> containing pyrethroid and pyriproxyfen.

| Chemicals             | Mortality (%) at different conditions <sup>2)</sup> |      |      |
|-----------------------|---|------|------|
|                       | A   | B    | C    |
| ALT/PHT 6/14 EC       | 100   | 100  | 99.6 |
| ALT/PHT/PXF 6/14/1 EC | 100   | 100  | 99.6 |
| PXF 1 EC              | 97.9  | 96.7 | 98.3 |

<sup>1)</sup> Diluted 5 times with water and sprayed at the rate of 1 liter/ha. <sup>2)</sup> A, Open upside; B, 15 cm slit; C, 5 cm slit.

効を加味した試験を行なった。 d-t80 アレスリン／フェノスリン 6/14 EC のアカイエカ幼虫に対する50%致死濃度 (IC<sub>50</sub>) は35 ppb ( $Y = 4.9 + 3.6(X - 1.5)$ ,  $\chi^2 = 3.9$ ) となり、ピリプロキシフェンの0.0046 ppbには大きくおよばないものの比較的低い濃度で致死効果を示すことが分った。 d-t80 アレスリン／フェノスリン／ピリプロキシフェン 6/14/1 EC、および d-t80 アレスリン／フェノスリン 6/14 EC の2剤について処理直後から2週間経過後までのアカイエカ幼虫に対する残効性の変化を図46に示した。 d-t80 アレスリン／フェノスリン 6/14 EC は処理より1週間経過後までは50 ppb処理においても高い致死効果を示すが、2週間経過後には100 ppb処理で57.4%、50 ppb処理で7.4%にそれぞれ致死効果が低下した。これに対し、ピリプロキシフェンを1%含有させた製剤では25 ppb処理で2週間経過後も100%の致死効果を維持した。

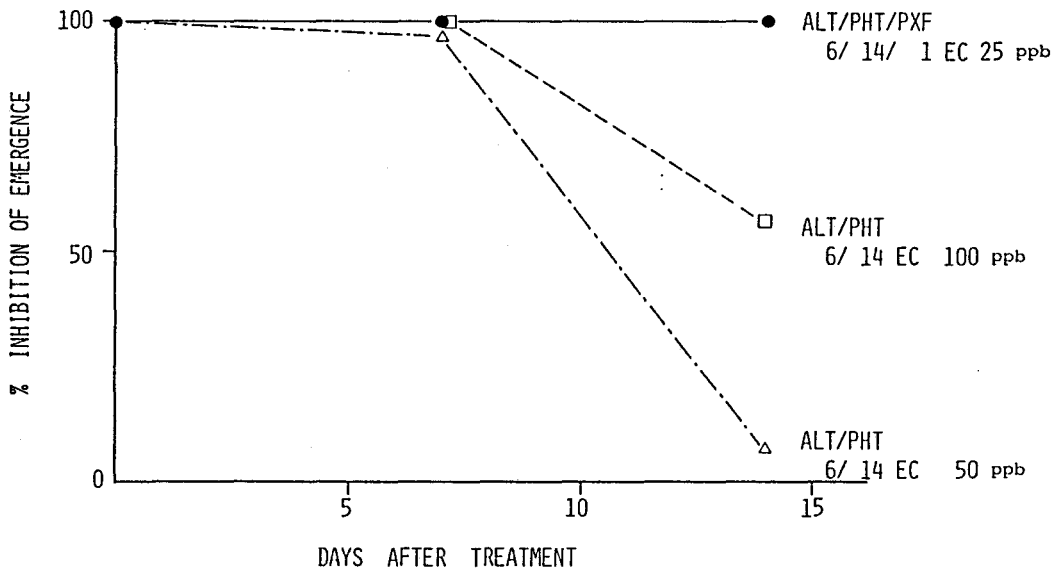


Fig. 46 Residual efficacy of EC formulation containing pyrethroid and pyriproxyfen against 4th instar larvae of *Culex pipiens*. ALT, d-t80-Allethrin; PHT, Phenothrin; PXF, Pyriproxyfen.

以上の結果より、d-t80 アレスリン／フェノスリン 6/14 EC は野外における蚊成虫を対象とした U L V の実用散布薬量（5 - 10 倍希釈液を 1 l /ha 散布）において、散布地域に存在する breeding site の幼虫に対してもある程度の致死効果を示すが、残効性は期待できないこと、これにピリプロキシフェンを含有させることにより長期の残効が得られることが明かとなった。

U L V 製剤の殺幼虫剤としての使用に関する報告は少なくないが (Mulhern et al., 1965; Knapp and Pass, 1966; Lembright, 1968; Coombes and Meisch, 1973)、そのほとんどが Culex や Psorophora を対象とした、広大な面積をカバーするための散布手段として U L V を用いており、Aedes を対象とした試験報告は少ない。Bang and Pant (1972) はテメフォスの粒剤をバンコクの 170 ha の地域に存在するネッタイシマカ Ae. aegypti 発生源の全てに 0.1 ppm の濃度で 4 回処理することにより 12 ヶ月これをコントロールしたことを報告しているが、これは発生源のほとんどが人為的に作られた水瓶であったためになしえた極めて特殊な例と言えよう。また Pant et al. (1974) は 2 週間間隔でのフェニトロチオンの U L V 散布により Ae. aegypti 成虫だけでなく幼虫の密度をもコントロールしたことを報告しているが、この成功は幼虫に対しても比較的高い効力を有するフェニトロチオンを使用し、しかも散布量を増やし、媒介蚊の生息するような環境に直接的に散布することによって得られたものであることを著者らは示している。Aedes 属と同様な環境に幼虫が生息する捕食者 Toxorhynchites を用いた生物的防除法はヤブカ属の生態を利用した理想的な考え方であるが、一般的な方法として確立されていない。このように、Aedes 属幼虫を有効に防除するためには大きな労力とコストを余儀なくされるのが現状であるが、ピリプロキシフェンの U L V 製剤はこの問題を解決する 1 つの手段として期待されるものである。

### Ⅲ. まとめ

ピリプロキシフェン製剤の開発に関し、得られた知見を下記にまとめた。

1. 水中におけるピリプロキシフェンの粒剤よりの溶出率は、残効性を決定する大きな要因となり、溶出率20%付近に最適点が存在した。

2. 豚糞への表面散布によるイエバエに対する防除試験ではピリプロキシフェン粒剤、水和剤、乳剤のいずれの剤型においてもほぼ同等の高い効果が認められたが、イエバエ用人工培地中での残効性は粒剤が最も高く、残効性を加味すれば粒剤が最も有効であると考えられた。

3. ピリプロキシフェン粒剤のイエバエ発生源への表面散布により、有効成分の大部分は表面付近に分布し、発生源全体に均一に拡散することはないが、これはむしろイエバエ幼虫の生態を考えた場合効果をより有効に発揮させる結果となる。

4. 粒剤を静止水系に散布した場合、粒剤粒子は水底に沈降し、しかも土壌の影響により有効成分の徐放化が助長される。したがって有効成分の濃度は水底付近が最も高くなり、水表面近くの濃度は低くなるが、その定期的な水底と水表面との往復のためにカ幼虫は常に高い濃度の有効成分に接する機会を有しており、効力が低下することはない。

5. 流水系への水和剤の散布による効力は一過性であるが有効距離が長くなる。これに対し、粒剤の散布では残効性が高くなるが有効距離が短くなる。したがって、粒剤は比較的小規模の流水系への散布に適している

と考えられた。

6. ピリプロキシフェンをTRA（全量噴射型エアゾール）により処理した場合、 $20\text{ mg}/\text{m}^2$ 以上の処理薬量において高い増殖抑制効果が認められた。また、成虫剤の同時施用により初期より高い効果が得られる。

7. カ成虫防除を目的とした d-t80 アレスリン／フェノスリン 6/14 EC のULV（超微量）散布は、その実用散布薬量において散布地域に存在する breeding site のカ幼虫に対してもある程度の致死効果を示すものの残効性は期待できないが、これにピリプロキシフェンを含有させることにより長期の残効が得られる。



## 第4章 実用効果

これまでピリプロキシフェンの各種衛生害虫に対する効力特性とこれを利用したアプリケーションの可能性について種々検討した結果を考察してきた。本章ではピリプロキシフェン製剤を用いて野外の実用場面において行なった実用効果試験について考察を行なう。

### I. 鶏舎における散布試験

ピリプロキシフェン粒剤を用いて養鶏場の鶏舎に発生するハエ類を対象とした全面散布試験を行なった。

#### 材料および方法

##### A. 試験場所

大阪府豊能郡能勢町山辺 K養鶏場 (鶏舎面積約500m<sup>2</sup>×2棟)

##### B. 試験期間

昭和56年 6月 2日 - 10月28日 (第1回散布)

昭和59年 7月24日 - 11月 2日 (第2回散布)

##### C. 供試薬剤

- 1) Pyriproxyfen 0.5G (pyriproxyfen 0.5% 含有粒剤)
- 2) Fenitrothion/ Tetramethrin 10/1 FD (fenitrothion/ tetramethrin 10/1 % 含有フローダスト剤)
- 3) Permethrin 5SEC (Permethrin 5% 含有水性乳剤)

## D. 対象害虫

オオイエバエ Muscina stabulans

ヒメイエバエ Fannia canicularis

イエバエ Musca domestica

## E. 薬剤散布

### (1) 第1回散布

フェニトロチオン/テトラメスリン 10/1 FD剤を手動式散粉機(アリミツHD-7)によって鶏舎1棟あたり500g(1g/m<sup>2</sup>)となるように空間散布し、成虫防除を行なった。また、鶏舎の周囲(範囲5m以内)には同薬剤の60倍希釈液を100l散布し、周囲に潜む成虫を防除した。さらに、幼虫防除として同薬剤の60倍希釈液を1l/m<sup>2</sup>となるように散布した。

### (2) 第2回散布

フェニトロチオン/テトラメスリン 10/1 FD剤を手動式散粉機によって鶏舎1棟あたり500g(1g/m<sup>2</sup>)となるように空間散布し、成虫防除を行なった。また、鶏舎の周囲(範囲5m以内)にはパーメスリン5SECの50倍希釈液を50l散布し、周囲に潜む成虫を防除した。さらに、ピリプロキシフェン粒剤を10kg/棟(20g/m<sup>2</sup>)となるように鶏糞表面に手撒きによって均一に散布した。

## F. 評価方法

### (1) 第1回散布

数箇所の特定の観察地点において、飛翔しているハエ、および鶏舎の壁に休止しているハエの数を目視によって観察し、6段階にスコア分けし、全観察地点のスコアの平均値を求めて評価を行なった。

## (2) 第2回散布

薬剤散布日に鶏舎各棟に粘着式のハエ取りリボンを3本ずつ設置し、一定時間後にこれを回収して成虫の個体数を記録した。薬剤散布後も所定日にハエ取りリボンを上記と同じ数だけ設置し所定時間経過後これを回収して成虫の個体数を記録し、ハエ取りリボン1本あたりの個体数を24時間あたりに換算した数を求めた。評価は薬剤散布前の24時間あたりの個体数に対する減少率によって行なった。

## 結果および考察

結果を図47に示した。試験を行なった鶏舎に生息するハエ類は、オオイエバエ、ヒメイエバエが主であり、イエバエの個体数は少なかった。昭和56年度の第1回目の散布試験では、フェニトロチオン/テトラメスリン 10/1 FD剤による空間散布を計12回、周囲散布を計5回、鶏糞面散布を計3回行なった。この処理によりハエの個体数は完全にゼロにはならないものの処理前に比較するとかなりの低密度に保たれた。空間噴霧剤は、基本的には散布時に発生している成虫を一時的に防除することを目的としており、通常は1-2週間経過すればハエの個体数は元のレベルにまで回復する。したがって、今回の試験に見られるように1-2週間に1回程度の頻度で散布を繰返すことを必要とする。これに対し、ピリプロキシフェンによる幼虫防除を併用した場合は、初回に1回のみ空間噴霧および周囲散布による成虫防除で、ハエの個体数を急激に低下させることができることが分った(川田ら, 1986)。2回の試験は、実施した年度は異なるものの、ほぼ同じ時期に開始しており、試験条件はほぼ同一と考えられる。したがって、第2回目の試験における散布より2週間経過以降の成虫個体数の減少はピリプロキシフェン粒剤による羽化阻害

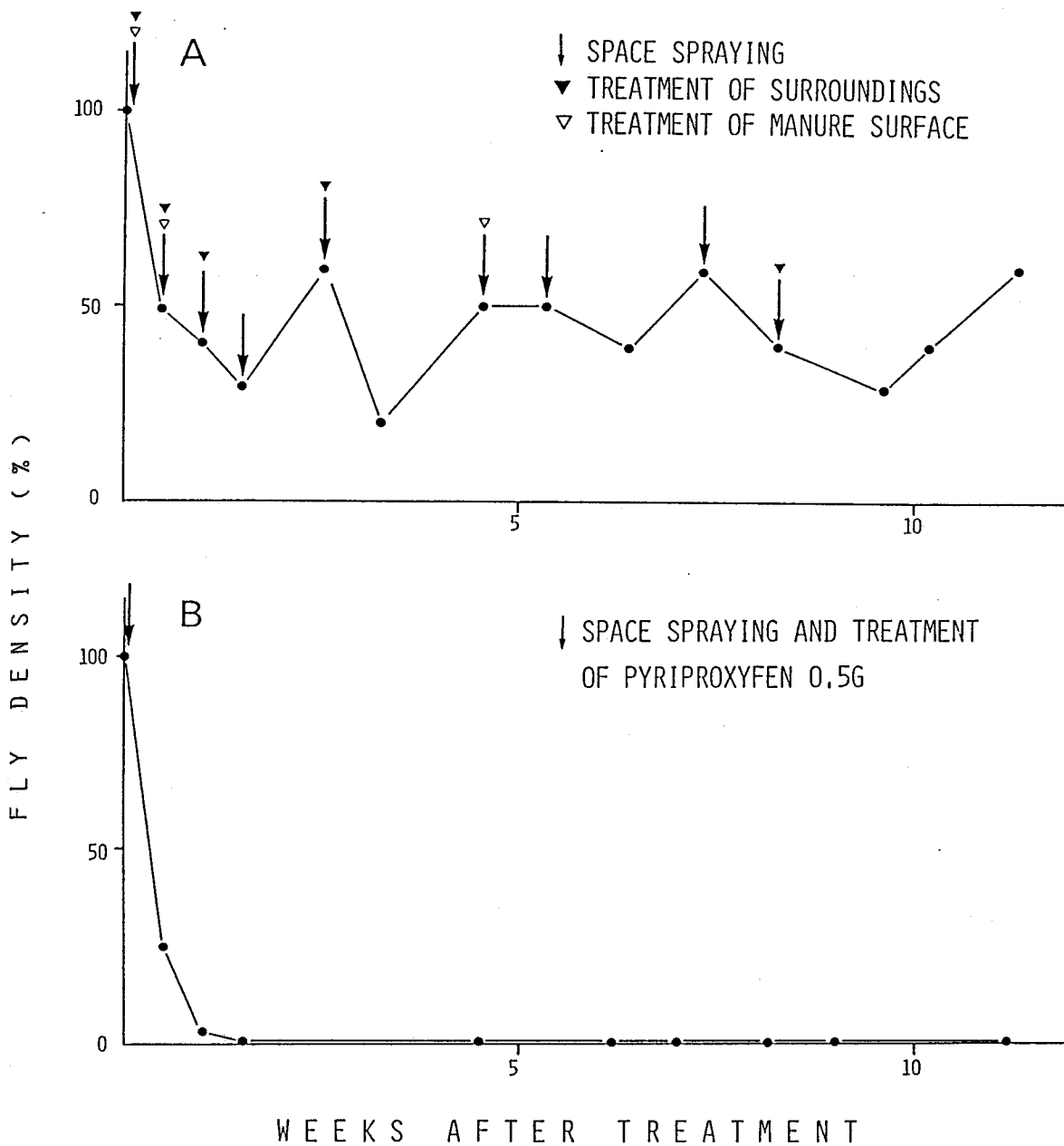


Fig. 47 Field evaluation of Fenitrothion/d-Tetramethrin FD and Pyriproxyfen 0.5G against the flies in a poultry house. A, Treatment of Fenitrothion/d-Tetramethrin FD in the combination of three treatment methods; B, Treatment of Pyriproxyfen 0.5G (20g/m<sup>2</sup>) with combination of Fenitrothion/d-Tetramethrin FD space spraying (1g/m<sup>2</sup>).

効果によるものと考えられる。我が国の西南部の畜・鶏舎におけるハエ類の季節消長は、初夏から夏と秋における2山型を示し（更科ら，1985）、本説の鶏舎においてもこれは例外ではない。すなわち、本説の結果よりピリプロキシフェン粒剤（20 g/m<sup>2</sup>）の初夏における1回のみ散布によってその年のハエの発生を十分抑えることが可能であると言える。また、野外条件におけるハエ類成虫の生存期間は2-4週間と考えられ、成虫や蛹には全く効果を示さないピリプロキシフェン散布には成虫防除の併用が不可欠であると思われた。

## II. ソロモン諸島国におけるマラリア媒介蚊防除試験

ソロモン諸島国は南緯5度-12度30分、東経155度30分-170度15分に位置する南太平洋の小国であり、6つの主要な島（チョイセル、ニュージョージア、サンタ・イザベル、ガダルカナル、マライタ、サン・クリストバル）を中心に1450 kmにわたって小さな島々が広がっている（全国土面積は約29500 km<sup>2</sup>）。島々の海岸部の多くは珊瑚礁やラグーンに取り囲まれており、また大きなマングローブの沼地が多い。首都ホニアラ（ガダルカナル島）における年間の平均気温は27℃、平均降水量は3000-3600 mmに達し、この高温と高湿度はマラリアの媒介蚊であるハマダラカ類に好適な環境を提供している。第2次世界大戦中、旧日本軍および連合軍の兵士の多くがこの地でマラリアに罹患した。1942年、米軍は上陸以来DDTの空中散布や発生源対策を行なったが、米軍の撤収とともにこれは中断された。BSIP（The British Solomon Islands Protectorate）によるマラリア防除計画が1961年10月より行なわれ、DDTによる屋内散布試験が1962年10月より開始された。この際にマラリアの媒介蚊として認定されたのが Anopheles

An. farauti、An. punctulatus そして An. koliensis の3種である。これら3種はいずれも DDT には感受性であり、吸血後は室内の壁で休息する習性を持っていた。DDT の散布 ( $2 \text{ g/m}^2$ ) は6ヵ月間隔で行なわれ、当初はマラリア防除が成功したかに見えた。事実、An. punctulatus と An. koliensis は DDT の散布により有効に防除されたが、An. farauti の個体数は減少しなかった。この現象に対し Taylor (1975) は、前2種のハマダラカの biting habit が DDT 散布前と後とで変化がない（すなわち夜間吸血型）のに対し、An. farauti は夜間吸血型から夕方吸血型へ、また屋内吸血型 (endophilic) から屋外吸血型 (exophilic) へとその行動を変化させたことが主な原因であることを報告した。この様な An. farauti の行動様式の変化、および DDT そのものに対する抵抗性の発達、さらには An. punctulatus の同様な行動変化 (Bakote'e et al., 未発表) によって DDT によるマラリアの防除は疑問視されてきているのが現状である。

An. farauti および An. punctulatus はいずれもニューギニア、ソロモン諸島、北部オーストラリアに分布する種でかつて前種は後種の極めて近縁な亜種と考えられていた (Daggy, 1945)。An. farauti は No. 1 - No. 3 の3種の sibling species から構成されており (Mahon and Mienthke, 1982)、ソロモン諸島には An. farauti No. 1 が確認されている。An. farauti No. 1 は他2種の sibling species に比較して塩水に対する耐性が強く (Sweeney, 1987)、幼虫は陸上のあらゆる水域に分布している。これに対し、An. punctulatus 幼虫はより内陸部に分布し、発生源は比較的小規模な水溜まり (車の轍など) に限定される (鈴木ら, 1988)。本説ではピリプロキシフェン製剤を用いた上記2種のハマダラカ防除を目的とした野外試験結果について考察を行ない、ピリプロキシフェン製剤のマラリア防除への適用の可能性について言及する。

## II-1 ピリプロキシフェン乳剤による Anopheles farauti 幼虫の野外防除試験

### 材料および方法

#### A. 試験地域

ソロモン諸島国ガダルカナル島北部

#### B. 試験期間

1987年9月-1988年2月

#### C. 対象害虫

Anopheles farauti

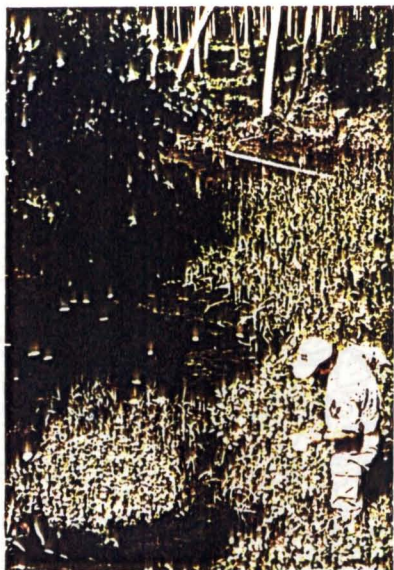
#### D. 供試薬剤および試験区

下記に示した4地点を設定し、2地点はピリプロキシフェン1%乳剤処理区、他は無処理区とした(図48および写真3)。

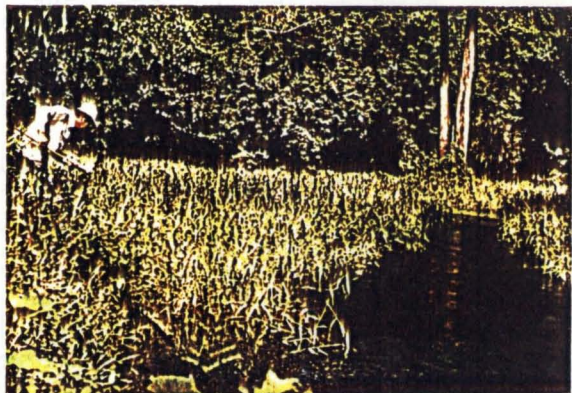
- (1) Tamboko (ピリプロキシフェン1%乳剤0.1ppm処理区)
- (2) Mamara I (ピリプロキシフェン1%乳剤0.1ppm処理区)
- (3) Mamara II (無処理区)
- (4) Gilutae (無処理区)

Tamboko は水量約170m<sup>3</sup>(面積=591.5m<sup>2</sup>、水深=0.1-0.5m)の淡水の沼である(写真3-A)。Mamara I は常に流れのある淡水の河で、河幅は約20m、水深は最も深い所で約1mである(写真3-B)。幼虫は比較的水深の浅い川岸の水草の間に生息していた。

Mamara II は砂によって海岸線より隔離されたクリークで水質は常に半塩



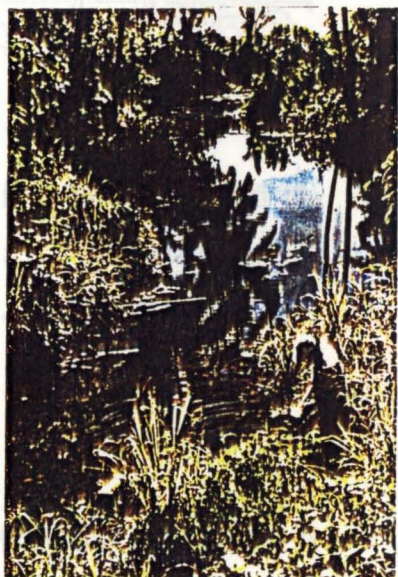
A



B



D



C

Photo 3 Landscape at test sites. A, Tamboko - pyriproxyfen EC 0.1 ppm treatment (19 km northwest from Honiara, fresh water); B, Mamara I - as control (7 km northwest from Honiara, fresh water); C, Mamara II - pyriproxyfen EC 0.1 ppm treatment (7 km northwest from Honiara, brackish water); D, Gilutae - as control (24 km east from Honiara, brackish water).



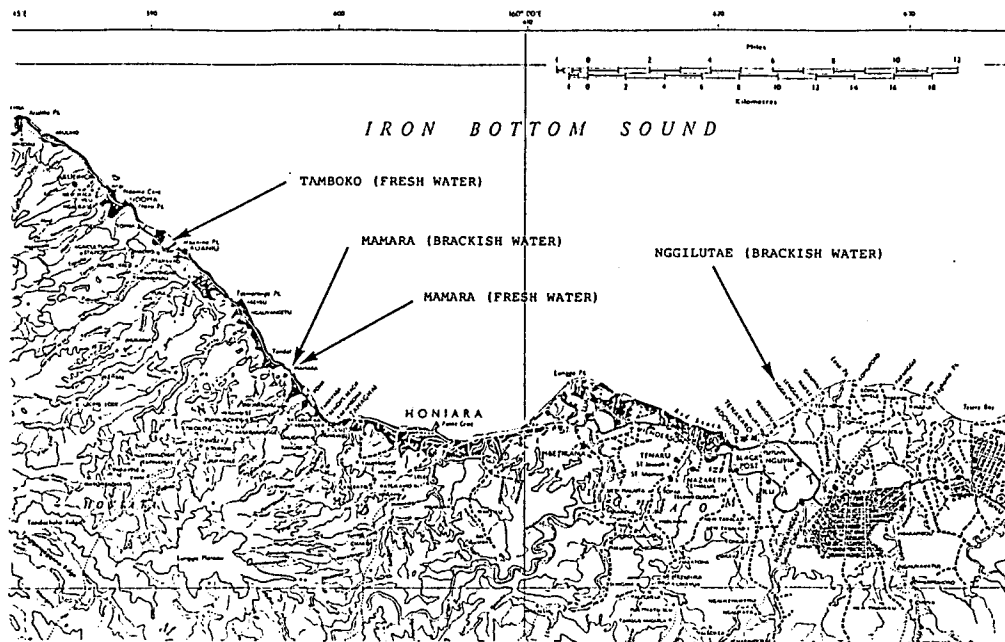


Fig. 48 Map of experimental areas.

水（塩分濃度約1%）である（写真3-C）。水量は約70 m<sup>3</sup>（面積 = 253 m<sup>2</sup>、水深 = 0.2 - 0.3 m）と計算された。Gilutae もやはり海岸線より砂で隔離された大きなクリークであり、水質は半塩水（塩分濃度約1%）である（写真3-D）。

#### E. 試験方法

供試薬剤を現地水によって約10倍に希釈し、残留散布用の散布器（ハドソン X-pert）によって水面に散布した。散布前、および散布後の所定日に試験区より対象害虫の蛹あるいは終齢幼虫を採集して実験室内に持帰った。蛹はプラスチックの容器内に個別飼育し、成虫の羽化状況を観察した。幼虫は現地水によって飼育し、蛹化したらプラスチック容器に移して個別飼育し上記と同様に羽化状況を観察した。評価に要する蛹あるいは幼虫数は50 - 100頭とした。評価に使用した蛹数および羽化成虫数より下記の式にしたがって羽化阻害率を求め、この値が50%

を下回るまで所定日に採集と観察を繰返した。

$$\text{羽化阻害率 (\%)} = 100 - \frac{\text{羽化成虫数}}{\text{供試蛹数}} \times 100$$

### 結果および考察

本試験において、ピリプロキシフェン処理区の幼虫、あるいは蛹の体色が白色化するという興味深い現象が観察された。試験地より採集された幼虫、あるいは蛹は約8週間白色の体色を維持し、その後次第に元の体色に戻った。JHやJHMが直翅目や鱗翅目幼虫の体色の黒化を阻害することは知られていたが (Raabe, 1982; Morita, 1988)、カ幼虫の体色変化に関する報告はこれが最初であろう。この現象を室内において再現す

Table 40 Mortality and change in body color of *Anopheles stephensi* larvae by immersion with pyriproxyfen solution.

| Concentration (ppm) | Mortality (%) | - | Change in body color <sup>1)</sup> |
|---------------------|---------------|---|------------------------------------|
| 5                   | 100           | - | W                                  |
| 2.5                 | 76            | - | W                                  |
| 1.25                | 46            | - | W                                  |
| 0.625               | 16            | - | W                                  |
| 0.3125              | 12            | - | W                                  |
| 0.15625             | 4             | - | N                                  |

1) W, whitened; N, no change.

るために、無処理区より An. farauti 終齢幼虫を採集し、ピリプロキシフェンの 1.0 - 0.125 ppm の溶液中に浸漬したが、体色の変化は観察されなかった。さらに、An. stephensi の室内における継代飼育コロニーの孵化 1 - 2 日後の若齢幼虫を用いて同様の浸漬テストを行なった所、表 40 に示したようにピリプロキシフェン 0.3125 ppm 以上の濃度において幼虫体色の白色化が認められた。したがって、ピリプロキシフェンの比較的高濃度の溶液に若齢の時期より接触することによって体色の白色化が誘起されるものと推察された (鈴木ら, 1989)。しかし、野外試験で散布した薬量は 0.1 ppm と、室内で体色変化が得られた薬量に較べて低く、野外条件における体色変化は上記の理由のみでは説明できない。室内飼育系統は野外に自然発生する系統よりは一般に体色が薄くなる傾向にあり、これがこれまで室内における試験によって体色の変化を認めにくかったこと、およびこれとは逆に野外では特にこれが際立って認められる理由になっているのではないだろうか。

ピリプロキシフェン乳剤 0.1 ppm 処理による An. farauti 幼虫に対する防除効果を表 41 および図 49 に示した。ピリプロキシフェン処理前の各試験区より採集した蛹あるいは終齢幼虫の羽化率はいずれもほぼ 100% 近い値を示した。淡水系と半塩水系とにおける羽化率に差は認められなかった。ピリプロキシフェン処理区はいずれの区においても処理直後より 100% の羽化阻害率を示し、処理より 8 週間経過した時点においても羽化阻害率は淡水の Tamboko で 70.4%、半塩水の Mamara で 88.1% と高い値に保たれた。最終的にはピリプロキシフェン 0.1 ppm の散布により少なくとも 2 ヶ月間 70% 以上の、そして 4 ヶ月以上は 50% 以上の羽化阻害効果の持続を得た。淡水と半塩水との間の効力差は認められなかった。Tamboko の処理区では処理より 18 週経過以降幼虫が発見されずデータの取得はできなかった (Suzuki et al., 1989)。

Table 41 Evaluation of efficacy of pyriproxyfen against *Anopheles farauti* in the field

| Days after treatment | Fresh water  |         |          |                  |      |     | Brackish water |         |         |                 |      |     |
|----------------------|--------------|---------|----------|------------------|------|-----|----------------|---------|---------|-----------------|------|-----|
|                      | Test Tamboko |         |          | Control Mamara I |      |     | Test Mamara II |         |         | Control Gilutae |      |     |
|                      | ♂            | ♀       | %IE      | ♂                | ♀    | %IE | ♂              | ♀       | %IE     | ♂               | ♀    | %IE |
| Pre -1               | 1/27         | 0/51    | 1.3      | 1/41             | 0/32 | 1.4 | 1/32           | 0/33    | 1.5     | 0/21            | 0/22 | 0.0 |
| Post 4               | 36/36        | 46/46   | 100      | 1/25             | 1/38 | 3.2 | 38/38          | 36/36   | 100     | 1/25            | 1/27 | 3.8 |
| 7                    | 37/37        | 34/34   | 100      | 1/41             | 0/39 | 1.3 | 25/25          | 40/40   | 100     | 0/29            | 2/35 | 3.1 |
| 14                   | 21/21        | 20/20   | 100      | 0/36             | 1/50 | 1.2 | 32/32          | 52/52   | 100     | 0/55            | 0/35 | 0.0 |
| 32                   | ( 3/3 )      | ( 3/3 ) | ( 100 )  | 0/19             | 0/34 | 0.0 | 22/22          | 38/38   | 100     | 0/32            | 0/26 | 0.0 |
| 48                   | 25/25        | 44/45   | 98.8     | 1/28             | 0/32 | 1.7 | 25/28          | 40/43   | 91.5    | 1/43            | 0/39 | 1.2 |
| 63                   | 12/19        | 26/35   | 70.4     | 0/33             | 0/41 | 0.0 | 29/33          | 23/28   | 88.1    | -/-             | -/-  | -   |
| 89                   | ( 1/3 )      | ( 1/2 ) | ( 40.0 ) | 0/28             | 2/36 | 3.1 | 29/39          | 43/50   | 80.9    | 1/29            | 0/37 | 1.5 |
| 110                  | 16/21        | 12/23   | 63.7     | 0/34             | 1/40 | 1.4 | 34/42          | 49/51   | 78.5    | 1/21            | 0/37 | 1.7 |
| 131                  | -/-          | -/-     | -        | 1/40             | 0/46 | 1.2 | ( 0/3 )        | ( 0/5 ) | ( 0.0 ) | 0/32            | 1/38 | 1.4 |
| 138                  | -/-          | -/-     | -        | 0/32             | 0/26 | 0.0 | 12/36          | 11/33   | 33.3    | -/-             | -/-  | -   |

<sup>1)</sup> Pyriproxyfen dosage was 0.1 ppm at both test sites.

<sup>2)</sup> ♂, ♀, No. of pupal deaths (♂ = male, ♀ = female); %IE, percent of inhibition of emergence.

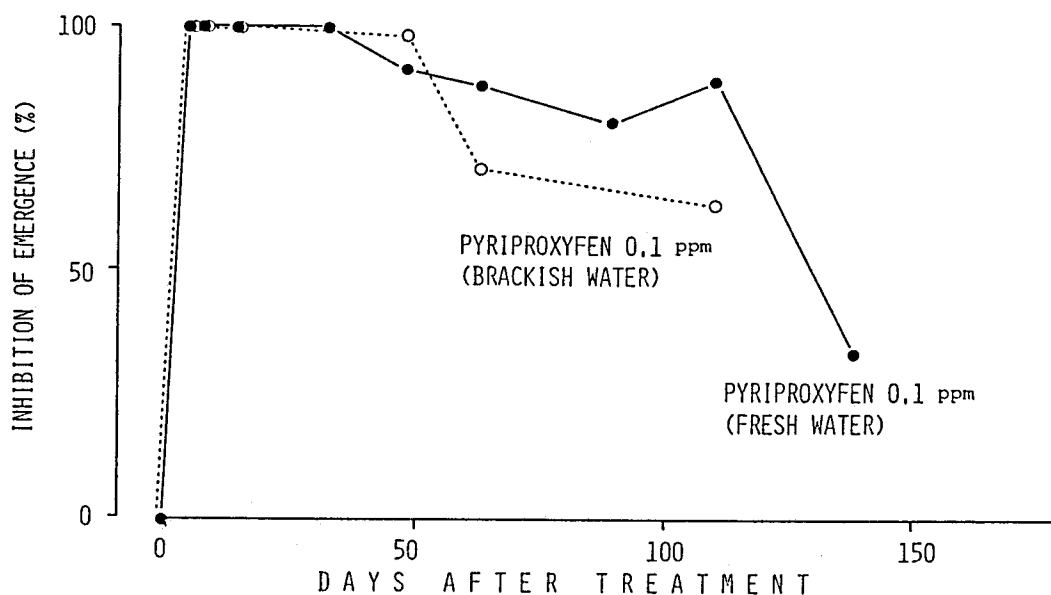


Fig. 49 Residual activity of pyriproxyfen against *Anopheles farauti* under field conditions.

Table 41 Evaluation of efficacy of pyriproxyfen against *Anopheles farauti* in the field

| Days after treatment | Fresh water  |         |          |                  |      |     | Brackish water |         |         |                 |      |     |
|----------------------|--------------|---------|----------|------------------|------|-----|----------------|---------|---------|-----------------|------|-----|
|                      | Test Tamboko |         |          | Control Mamara I |      |     | Test Mamara II |         |         | Control Gilutae |      |     |
|                      | ♂            | ♀       | %IE      | ♂                | ♀    | %IE | ♂              | ♀       | %IE     | ♂               | ♀    | %IE |
| Pre -1               | 1/27         | 0/51    | 1.3      | 1/41             | 0/32 | 1.4 | 1/32           | 0/33    | 1.5     | 0/21            | 0/22 | 0.0 |
| Post 4               | 36/36        | 46/46   | 100      | 1/25             | 1/38 | 3.2 | 38/38          | 36/36   | 100     | 1/25            | 1/27 | 3.8 |
| 7                    | 37/37        | 34/34   | 100      | 1/41             | 0/39 | 1.3 | 25/25          | 40/40   | 100     | 0/29            | 2/35 | 3.1 |
| 14                   | 21/21        | 20/20   | 100      | 0/36             | 1/50 | 1.2 | 32/32          | 52/52   | 100     | 0/55            | 0/35 | 0.0 |
| 32                   | ( 3/3 )      | ( 3/3 ) | ( 100 )  | 0/19             | 0/34 | 0.0 | 22/22          | 38/38   | 100     | 0/32            | 0/26 | 0.0 |
| 48                   | 25/25        | 44/45   | 98.6     | 1/28             | 0/32 | 1.7 | 25/28          | 40/43   | 91.5    | 1/43            | 0/39 | 1.2 |
| 63                   | 12/19        | 28/35   | 70.4     | 0/33             | 0/41 | 0.0 | 29/33          | 23/28   | 88.1    | -/-             | -/-  | -   |
| 89                   | ( 1/3 )      | ( 1/2 ) | ( 40.0 ) | 0/28             | 2/36 | 3.1 | 29/39          | 43/50   | 80.9    | 1/29            | 0/37 | 1.5 |
| 110                  | 16/21        | 12/23   | 63.7     | 0/34             | 1/40 | 1.4 | 34/42          | 49/51   | 78.5    | 1/21            | 0/37 | 1.7 |
| 131                  | -/-          | -/-     | -        | 1/40             | 0/46 | 1.2 | ( 0/3 )        | ( 0/5 ) | ( 0.0 ) | 0/32            | 1/38 | 1.4 |
| 138                  | -/-          | -/-     | -        | 0/32             | 0/26 | 0.0 | 12/36          | 11/33   | 33.3    | -/-             | -/-  | -   |

<sup>1)</sup> Pyriproxyfen dosage was 0.1 ppm at both test sites.

<sup>2)</sup> ♂, ♀, No. of pupal deaths (♂ = male, ♀ = female); %IE, percent of inhibition of emergence.

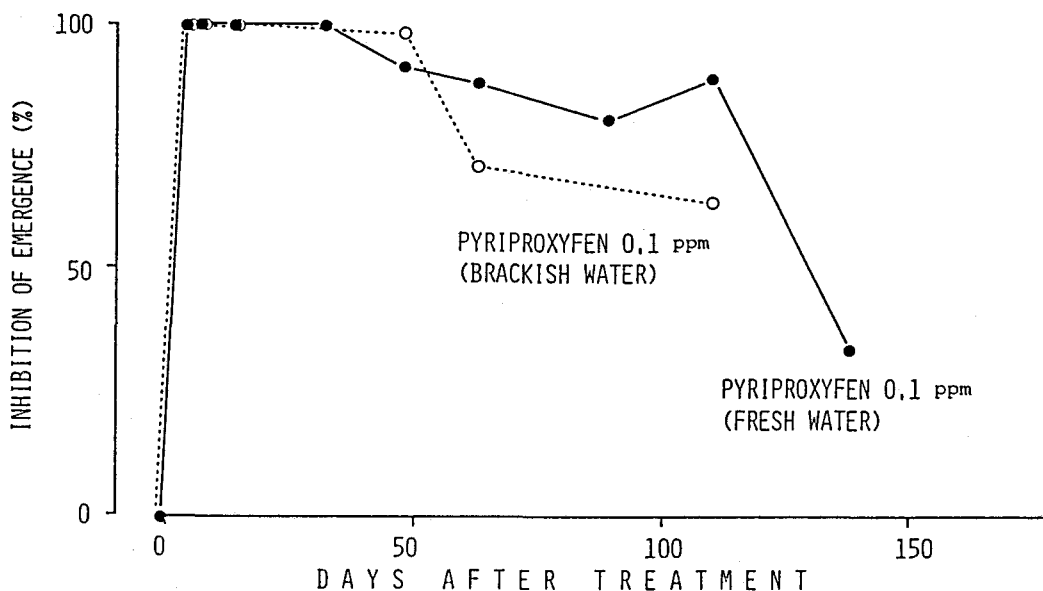


Fig. 49 Residual activity of pyriproxyfen against *Anopheles farauti* under field conditions.

II-2 ピリプロキシフェン粒剤による Anopheles punctulatus 幼虫の  
野外防除試験

材料および方法

A. 試験地域

ソロモン諸島国ガダルカナル島北部

B. 試験期間

1988年11月-1989年3月

C. 対象害虫

Anopheles punctulatus

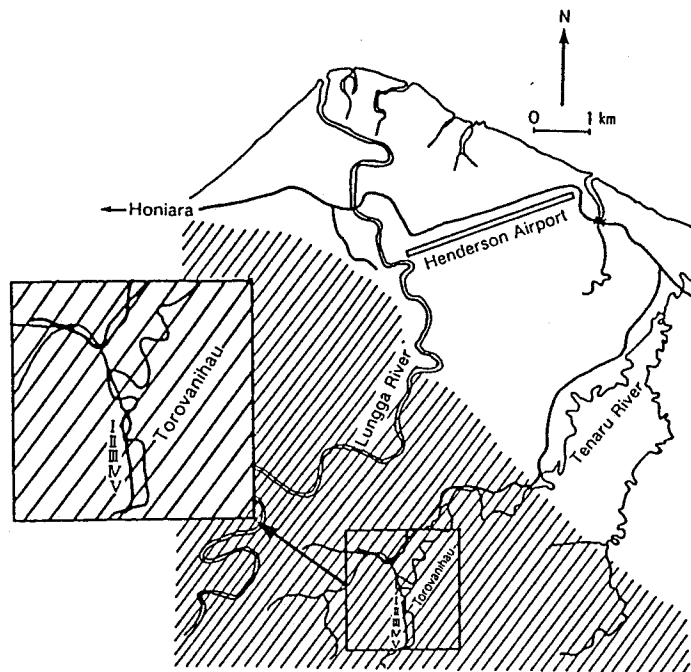


Fig. 50 Map of experimental areas. Shaded part indicate the mountainous region.

#### D. 供試薬剤および試験区

試験はガダルカナル島北部の Tenaru 河に添って約 10 km 内陸部に入った、Torovanihau において行なった (図 50)。村落近くの道沿いに点在する水溜まり (いずれも車の轍、あるいは凹みに雨水が溜まって発生源となったもの) を 5 ヲ所選択し、下記の様な濃度となるようにピリプロキシフェン粒剤を手撒きによって散布した (写真 4)。

- |             |   |                   |                            |
|-------------|---|-------------------|----------------------------|
| (1) 試験地 I   | … | ピリプロキシフェン 0.5% 粒剤 | 0.1 ppm                    |
|             |   |                   | (水量約 18.6 m <sup>3</sup> ) |
| (2) 試験地 II  | … | ”                 | 0.1 ppm                    |
|             |   |                   | (水量約 0.5 m <sup>3</sup> )  |
| (3) 試験地 III | … | ”                 | 0.05 ppm                   |
|             |   |                   | (水量約 1.4 m <sup>3</sup> )  |
| (4) 試験地 IV  | … | ”                 | 0.02 ppm                   |
|             |   |                   | (水量約 2.0 m <sup>3</sup> )  |



Photo 4 Landscape at test sites.

(5) 試験地 V ...

〃

0.01ppm

(水量約11.0m<sup>3</sup>)

## E. 試験方法

散布前、および散布後の所定日に各試験地より終齢幼虫を採集し、実験室に持帰り、II-1と同様の操作を行なって羽化阻害率の変化を記録した。

## 結果および考察

試験期間中(約200日)の累積降水量は2110.5mmに上り、30mm以上の降水があった日は延べ16日に達した。この激しい降雨のためにTenaru川の氾濫が起り、試験地に赴くことが困難になったばかりでなく試験地の環境を変化させ、評価に必要な十分な数の幼虫の採集が不可能となる場合が多かった。各試験地において採集された幼虫に対する羽化阻害率の経時変化を図51および図52に示した。試験地I(ピリプロキシフェン粒剤0.1ppm処理)では、処理後15日間にわたって100%の防除効果が確認されたが、その後川の氾濫によって試験地が消滅し、15日以降の評価は行なえなかった。試験地II(0.1ppm処理)では処理後58日目まで幼虫が採集され、幾度かの降雨による水の溢出にもかかわらずこの期間中は100%の防除効果を維持した。その後、試験地IIは土砂によって埋められ、約50日間にわたって水の無い期間が続き、幼虫の採集は出来なかった。処理より140日経過後に野性の豚がこの試験地を掘返したため、再び水が溜まり幼虫が発生するようになったが、この時点で採集された幼虫の羽化阻害率は依然として100%であった。しかし、羽化阻害率は2週間ほどの間に低下した。試験地III(0.05ppm処理)は試験地IIのように干上がることはなく、水量の



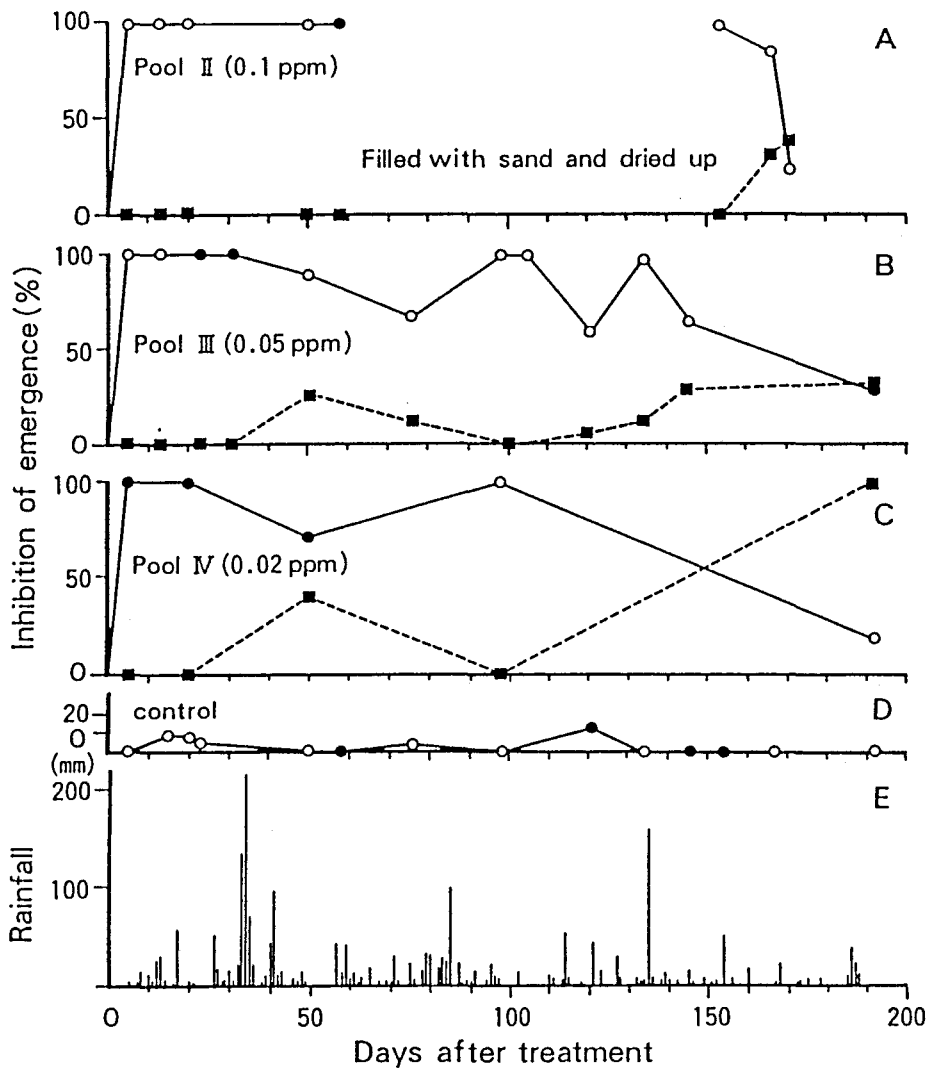


Fig. 51 Changes in the inhibition rate of emergence in the test pools and daily rainfall at Henderson airport. Solid lines indicate the inhibition rate (Open circles, more than 10 pupae were observed; Solid circles, less than 10 pupae were observed). Square marks indicate the rate of mortality at adult emergence against total inhibition rate.

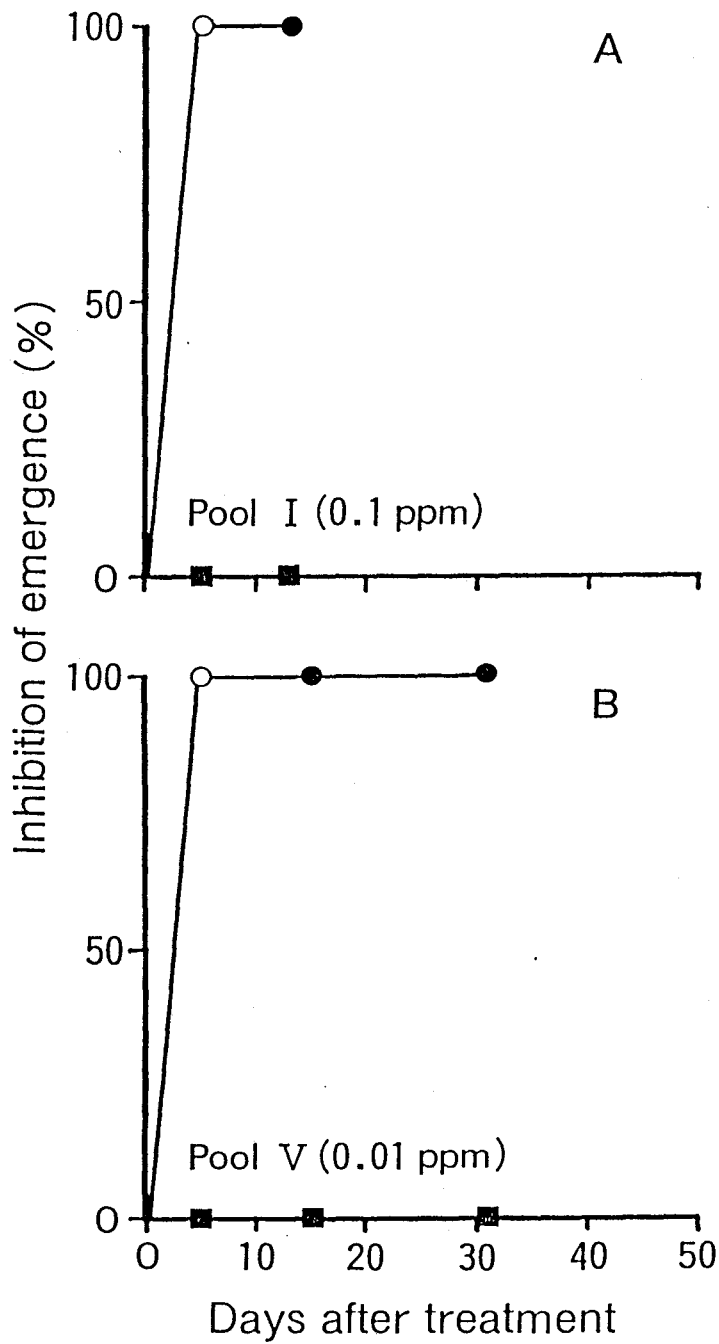


Fig. 52 Changes in the inhibition rate of emergence in the test pools (continued from Fig. 51).

増減はあるものの全試験期間にわたって幼虫の採集が可能であった。90%以上の防除効果が約50日にわたって維持され、その後145日目までは60-100%の間を上下したが、192日目には30%に低下した。試験地Ⅳ(0.02 ppm処理)では100%の防除効果が20日間保たれ、50日経過後でも約70%の高い値を示した。試験地Ⅴ(0.01 ppm処理)においても水の干上がりはなく100%の羽化阻害率が30日にわたって維持されたが、その後水草の繁茂によって水面が塞がれたために、幼虫が発生しなくなり評価は続行できなかった。

本試験においても An. farauti について観察されたと同様な幼虫の体色の白色化が観察された。また、ピリプロキシフェンによる羽化阻害率の低下とともに体色が元の状態に戻るという現象も全く同様であった (Bakote'e et al., 未報告)。

ソロモン諸島国ガダルカナル島北部における生態の異なる2種のハマダラカ幼虫に対するピリプロキシフェン乳剤および粒剤の防除効果について検討を行ない、下記の結果を得た。

- (1) An. farauti 幼虫に対し、ピリプロキシフェン乳剤0.1 ppm処理によって2ヵ月間70%以上の防除効果が認められた。
- (2) 淡水と半塩水との違いによる効果の差は認められなかった。
- (3) An. punctulatus 幼虫に対し、ピリプロキシフェン粒剤0.1 ppm処理によって100%の、0.05 ppm処理によって90%以上の、そして0.02 ppm処理によって70%以上の防除効果がそれぞれ50日以上維持された。また、0.01 ppmの低濃度処理でも少なくとも30日以上の高い効果が認められた。
- (4) いずれの幼虫においてもピリプロキシフェン処理直後より体色の白色化が観察された。

以上のように、ピリプロキシフェンの殺幼虫剤としての高い防除効果が野外条件においても証明された。特に、降雨による水の溢出や、発生源の消失・再生の繰返しが頻繁に起る An. punctulatus の発生源のような habitat においてピリプロキシフェン粒剤の処理が有効であった事は特筆すべきであろう。この事は、カ幼虫の生態に合せた剤型の選択の必要性、さらにはいずれは発生源となるであろうと考えられる場所へのいわば予防的な散布、といった新しい防除法を示唆しているものと思われる。

幼虫対策はマラリア防除プログラムの中では殺虫剤の屋内散布などに比較すれば minor なものと考えられている。これは、これまでの殺幼虫剤の残効性が短く（有機リン剤で一般に2-3週間）、屋内の残留散布（6ヵ月から12ヵ月に1回の散布）に較べて極めて頻繁な処理を必要としたことや、幼虫の発生源は限定することが困難で、また無数に存在する発生源を全て処理することが特に器材や資金、人手の不足しているマラリア発生地域においては不可能に近いこと等がその主な原因となっている。

しかし、一般にハマダラカの成虫はその発生源より2-3kmの範囲にしか移動しない（Bruce-Chwatt, 1985）ことを考えれば、自ずと処理すべき発生源は限定される筈である。また、残効性の問題もピリプロキシフェンの使用により解決されると考えられる。したがって、今後は本剤を用いたより実際場面に即した大規模なトライアルを行なうことによって、ピリプロキシフェンがカのマラリア感染能力にどの程度影響を与えるか、さらにはマラリア感染率そのものをどの程度低下させることが出来るか等の確認を行なうことが残された大きな課題であろう。

## 第5章 総合考察

本研究において著者は新規合成幼若ホルモン様物質ピリプロキシフェンの各種衛生害虫に対する作用性、その殺虫剤としての基本的な性能を評価し、さらにはその製剤化にともなう問題点、そして実用場面における害虫の防除効果について明らかにした。特に、従来のJHMに欠けていた環境中での安定性の高さによってもたらされるピリプロキシフェンの高い残効性は有望な衛生害虫防除剤としての可能性を示唆するものである。また、近年殺虫剤抵抗性の因子として注目されている神経の低感受性因子(kdr 遺伝子)を有するイエバエに対してピリプロキシフェンが有効に作用するという事実は本剤がピレスロイド抵抗性の対策剤となる可能性を示唆している。

将来の殺虫剤あるいは農薬には、高い効力はもちろんのこと、それ以外の特性として、できるだけ低コストで開発が行なえること、環境や標的外生物に影響が低いこと、抵抗性の発達スピードが遅いこと、といった課題がますます強く要求されるようになるであろう。Williams (1967) はJHMを上記の特性を兼ね<sup>具</sup>供えた理想の殺虫剤となることを予言したが、Vinson and Plapp (1974) によってこれを否定する実験結果が公表されて以来、この予言が間違っていたことを多くの人々が認識するに至った。

“第3世代”の殺虫剤としてのJHMの地位はこうして現在揺らぎつつあるのは否定できないが、それでもなおJHMのもつ低毒性、環境に対する影響の低さ、第2世代の殺虫剤(ピレスロイド、カーバメイト、有機リン剤など)とは異なった作用性、等の特性は高く評価すべきである。したがって、この理想の殺虫剤をいかに効果的に、しかもそれ自身の寿命を縮めないように害虫の防除プログラムに組込むかが残された課題であろう。例えば、抵抗性の発達を最小限にとどめるような散布方法や製剤の開発、

有効な共力剤の探索、他作用性をもつ殺虫剤との混用やローテーション使用、等に関する研究が今後益々必要とされるであろう。また、このためには現在未だに未知の部分が多いJHや脱皮ホルモン等の昆虫内分泌系の作用の解明が急がれることは言うまでもない。

## 摘要

昆虫体内のアラタ体より分泌される幼若ホルモン（JH）は、前胸腺より分泌される脱皮ホルモンと共に昆虫の変態を司る働きを持つ。昆虫は幼虫から蛹、あるいは幼虫から成虫への劇的な変態が行なわれる終齢幼虫期に最もJHに対する感受性が強くなり、この時期に過剰のJHを与えると、蛹死、変態異常、過剰脱皮等の羽化阻害現象がみられる。このことから、合成幼若ホルモン様物質（JHM）の殺虫剤への応用研究が数多くなされてきた。既に防疫用途で実用に供されているJHMとしては、メトブレン（ハエ、カ、ノミ用）、ハイドロブレン（ゴキブリ用）が代表的なものである。当研究所においても、この新たな殺虫活性を有するJHMに関しスクリーニングがなされ、既存のJHMを凌駕する化合物としてピリプロキシフェン（4-Phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl ether）が開発化合物となった。本研究の主テーマは、防疫用分野におけるピリプロキシフェンの開発であり、具体的には、（1）基礎活性評価、（2）実用製剤の開発、および製剤の作用性の検討、（3）実用効果の確認と適用分野の探索が主たるものである。その概要を下記に述べる。

### I. 基礎活性、および作用性評価

ピリプロキシフェンはイエバエに対して最も高活性を示し、蚊類に対しても高い活性を示した。イエバエについては野外産のピレスロイド抵抗性系、有機燐剤抵抗性系等、数系統について感受性チェックを行なったが、いずれの系統に対してもメトブレンの10～100倍以上の羽化阻害活性を示し、実用効果が期待された。また、イエバエに対しては、成虫処理あるいは幼虫期の処理による産卵抑制効果も確認された。イエバエ幼虫

の体表よりの透過性はメトレンに比較して高く、ごく短時間の接触によって昆虫に取込まれて効果を発揮することが分った。ピリプロキシフェンは双翅目昆虫以外の衛生害虫に対しても活性を示し、ゴキブリに対しては羽化阻害及び繁殖抑制をもたらすことが明かとなった。

## II. 実用製剤の開発、および製剤の作用性の検討

### (1) 粒剤の開発

ピリプロキシフェンの防疫用ハエ、カ発生源処理剤の剤型として、乳剤、水和剤、粒剤の3剤型を考え、1剤を選定するために残効性を加味したスクリーニングを行なった。

アカイエカ幼虫に対する残効性は、室内試験においても野外試験においても粒剤が最も高かった。また、イエバエ幼虫に対する種々の試験においても粒剤は高い効果を示し、これらの結果よりハエ、カ用の製剤としてピリプロキシフェン 0.5% 含有粒剤を最終的に選定した。

ハエ幼虫の防除は家畜糞、鶏糞などへの表面散布が主となる。この場合、有効成分の溶出のしやすさの違いにより効力が違うかどうか疑問となるが、中規模の散布試験により溶出速度の大小は効力にほとんど影響せず、ハエ幼虫に対しては同等の効力を示すことがわかった。また、イエバエ幼虫が蛹化の際に乾燥した表面に出て蛹化場所を求めて移動する内に高濃度の薬剤に接触して効力が発現することが明らかとなった。

粒剤を静止水中に散布すると、有効成分は時間の経過とともに水中に溶出してくる。この溶出の速度は、処方によって様々に調製できるが、溶出速度が大きすぎても小さすぎても残効性に劣るという結果を得た。すなわち、水中への溶解度、水中での分解性、土壌等への吸着などの要因を



最もバランス良く保つ最適な溶出速度が存在することが示唆された。

ピリプロキシフェンの水和剤及び粒剤を用いて流水系に発生するブユの防除試験を行なったところ、水和剤は長距離にわたって有効であるが効果は一過性であること、これに対し粒剤では残効性に優れるが有効距離が短いことが明かとなった。その他、ゴキブリについては全量噴射型のエアゾール剤を、ヤブカ類についてはULV（超微粒子散布）製剤の検討を行なった。

### Ⅲ. 実用効果の確認

ピリプロキシフェン製剤を用いて、鶏舎におけるハエ類を対象とした鶏糞面全面散布試験、およびソロモン諸島国におけるマラリヤ媒介蚊 Anopheles farauti および An. punctulatus を対象とした防除試験を行なった。前者の試験においては、0.5% 粒剤 20g/m<sup>2</sup> の散布により優れたハエ類防除効果が得られることを確認するとともに、より有効な防除のためには殺成虫剤の併用が不可欠であることが示唆された。また、後者においては有効成分濃度 0.01 - 0.1 ppm という低濃度の散布により、1ヵ月から数ヵ月以上にわたってマラリア媒介蚊の発生源防除が可能であることが明かとなった。

### Ⅳ. まとめ

以上述べたように、ピリプロキシフェンは衛生不快害虫類防除薬として極めて有効な薬剤として期待され、特に今後はマラリヤ防除等のベクターコントロールへの応用に夢がもたれる。Williams(1967) はJHMの低毒性、環境中での非残留性、抵抗性発現が考えられないことなどの点より

J H Mが理想的な第3世代の殺虫剤となることを予言した。しかし、その後の多くの研究によりJ H Mも乱用すれば抵抗性の発達を避けられないことが明らかにされてきた。J H Mに限らず、近年は殺虫剤の開発に莫大な経費が必要とされる上、新しい殺虫剤スクリーニングのヒット率はますます低下しつつある。殺虫剤の寿命を可能な限り引延ばすために、いかに抵抗性の発達を阻止し、かつ有効に害虫を防除するかが今後の課題である。

## 謝辞

本論文を作成するにあたり貴重な御助言、御助力、激励を賜わった京都大学農薬研究施設教授高橋正三先生、住友化学工業株式会社宝塚総合研究所農業科学研究所板谷信重主席研究員、安部八洲男主任研究員、伊藤高明主任研究員の各氏に篤く感謝致します。また、本研究を行なうにあたり、共同研究者として終始貴重な御助言、御指導を賜わった住友化学工業株式会社宝塚総合研究所農業科学研究所新庄五朗主任研究員（現在同社防疫薬事業部部長補佐）、波多腰信副主任研究員、小島一郎副主任研究員（現在住化テクノス部長補佐）、堂原一伸研究員、長崎大学熱帯医学研究所鈴木博先生、佐賀医科大学微生物学教室岡沢孝夫先生、ソロモン諸島国厚生省 Malaria Training and Research Center, Dr. N. Kere に心より御礼申し上げます。さらに、英文の校閲を賜わった米国 Insect Control and Research Inc. Dr. E. J. Gerberg および Dr. R. Todd の両氏に深く感謝致します。最後に、本研究を行なうにあたり多大な御協力と御補佐を頂いた大道恵美子（旧姓小山）氏、住友化学工業株式会社宝塚総合研究所農業科学研究所家庭防疫薬研究室花浦美恵、大谷良子、藤本善子の各氏ならびにその他の諸兄に心より御礼申し上げます。

## 引用文献

- Adams, T. S. (1974): The role of juvenile hormone in housefly ovarian follicle morphogenesis. J. Insect Physiol., 20:263-276.
- Aly, C., M. S. Mulla, W. Schnetter and B. Xu (1987): Floating bait formulations increase effectiveness of Bacillus thuringiensis var. israelensis against Anopheles larvae. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 3:583-588.
- Ammar, I. M. (1983): The delayed effects of sublethal concentration of the JHA, methoprene and trifluron on development and reproduction of Colorado potato beetle Leptinotarsa decemlineata Say. Z. ang. Ent. 96:42-47.
- Asano, S., A. Kamada, M. Kamei, S. Tani and H. Okamoto (1984): Inhibitory effects of Altosid 10F on the emergence of house flies from poultry droppings. Jpn. J. Sanit. Zool., 35:307-314.
- Bakote'e, B., T. Okazawa, H. Suzuki, N. Kere and H. Kawada : Report on a field evaluation of a new insect growth regulator, pyriproxyfen (S-31183), against Anopheles punctulatus. in preparation.
- Bennett, G. W., J. W. Yonker and E. S. Runstrom (1986): Influence of hydroprene on German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) populations in public housing. J. Econ. Entomol., 79:1032-1035.
- Bigley, W. S. and S. B. Vinson (1979): Effects of piperonyl butoxide and DEF on the metabolism of methoprene by the Imported fire ant, Solenopsis invicta Buren. Pestic. Biochem. Physiol., 10: 14-22.
- Bliss, C.I. (1934): The method of probits. Science, 79:38-39.
- Bouchard, B. L. and T. G. Wilson (1987): Effects of sublethal doses of methoprene on reproduction and longevity of Drosophila melanogaster (Diptera:

- Drosophilidae). J. Econ. Entomol., 80:317-321.
- Bowers, W. S. and R. Nishida (1980): Juvocimenes: Potent juvenile hormone mimics from sweet basil. Science, 209:1030-1032.
- Bowers, W. S., H. M. Fales, M. J. Thompson and E. C. Uebel (1966): Juvenile hormone: Identification of an active compound from Balsam fir. Science, 154:1020-1021.
- Bowers, W. S., M. J. Thompson and E. C. Uebel (1965): Juvenile and gonadotropic activity of 10,11 epoxy farnesoic acid methyl ester. Life Sci., 4:2323-2331.
- Brenner, R. J., P. G. Koehler and R. S. Patterson (1988): Integration of fenoxycarb into a German cockroach (Orthoptera: Blattellidae) management program. J. Econ. Entomol., 81:1404-1407.
- Broce, A. H. and V. G. Gonzaga (1987): Effects of substituted benzylphenols and triflumuron on the reproduction of the face fly (Diptera: Muscidae). J. Econ. Entomol., 80:37-43.
- Brown, T. M. and A. W. A. Brown (1974): Experimental induction of resistance to a juvenile hormone mimic. J. Econ. Entomol., 67:799-801.
- Bruce-Chwatt, L. J. (1985): Essential Malariology. pp.452., John Wiley & Sons, New York.
- 武衛和雄、仁木知義、豊田正人 (1979): 幼若ホルモン類似体 methoprene のハエに対する効果. 日本農薬学会誌, 4:481-485.
- Casida, J. E. (1970): Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. J. Agr. Food Chem., 18:753-772.
- Cerf, D. C. and G. P. Georghiou (1972): Evidence of cross-resistance to a juvenile hormone analogue in some insecticide-resistant houseflies. Nature, 239:401-402.

- Cerf, D. C. and G. P. Georghiou (1974): Cross resistance to juvenile hormone analogues in insecticide-resistant strains of Musca domestica L. Pestic. Sci., 5:759-767.
- Chang, S. C. (1979): Laboratory evaluation of diflubenzuron, penfluron and BAY Sir 8514 as female sterilants against the housefly. J. Econ. Entomol., 72:479-481.
- Coombes, L. E., J. T. Lee and M. V. Meisch (1973): Effectiveness of ground ULV aerosols against larvae of Psorophora confinnis (Lynch-Arribalzaga). Mosquito News, 33:203-205.
- Cooper, R. M. and R. D. Oetting (1985): Effects of the juvenile hormone mimic S-31183 and trifluron on development of tea scale (Homoptera: Diaspidida). J. Entomol. Sci., 20:429-434.
- Daggy, R. H. (1945): The biology and seasonal cycle of Anopheles farauti on Espiritu Santo, New Hebrides. Ann. Entomol. Soc. Amer., 38:1-13.
- Das, Y. T. and A. P. Gupta (1974): Effects of three juvenile hormone analogs on the female German cockroach, Blattella germanica (L.)(Dictyoptera: Blattellidae). Experientia, 30:1093-1095.
- Das, Y. T. and A. P. Gupta (1976): Non-repellency of two insect growth regulators with juvenile hormone activity to Blattella germanica. Ent. exp. & appl., 20:195-198.
- Das, Y. T. and A. P. Gupta (1977): Abnormalities in the development and reproduction of Blattella germanica (L.)(Dictyoptera: Blattellidae) treated with insect growth regulators with juvenile hormone activity. Experientia, 33:968-970.
- 堂原一伸、川田均、新庄五朗 (1986): 新規 J H 様化合物 S - 3 1 1 8 3 ( 2 ) 製剤と実用効果 第 3 8 回日本衛生動物学会講要, 衛生動物 37:297.
- Dorn, S., M. L. Frischkeht, V. Martinez, R. Zurfluch

- and R. Fischer (1981): A novel non-neurotoxic insecticide with a broad activity spectrum. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz., 88:269-275.
- Estrada, J. G. and M. S. Mulla (1986): Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. J. Am. Mosq. Control Assoc., 2:57-60.
- Farnham, A. W. (1973): Genetics of resistance of pyrethroid-selected houseflies, Musca domestica L. Pestic. Sci., 4:513-520.,
- Farnham, A. W., K. A. Lord and R. M. Sawicky (1965): Study of some of the mechanisms connected with resistance to diazinon and diazoxon in a diazinon-resistant strain of houseflies. J. Insect Physiol., 11:1475-1488.
- Fine, B. C., P. J. Godin, E. M. Thain and T. B. Marks (1967): Resistance to pyrethrins and DDT in a strain of houseflies Musca domestica L. I. The sorption of a synthetic [<sup>14</sup>C] pyrethrin I. J. Sci. Food Agr., 18:220-224.
- Focks, D. A., K. O. Kloter and G. T. Carmichael (1987): The impact of sequential ultra-low volume ground aerosol applications of malathion on the population dynamics of Aedes aegypti (L.). Am. J. Trop. Med. Hyg., 36:639-647.
- Forgash, A. J., B. J. Cook and R. C. Riley (1962): Mechanisms of resistance in diazinon-selected multi-resistant Musca domestica. J. Econ. Entomol., 55: 544-551.
- Frommer, R.L., S. C. Hembree, J. H. Nelson, M. P. Remington and P. M. Gibbs (1980): Potential sources of error in preparing doses of microbial insecticides. Bull. ent. Soc. Am., 26:445-446.
- Georghiou, G. P., S. Lee and D. H. DeVries (1978): Development of resistance to the juvenoid methoprene in the house fly. J. Econ. Entomol., 71:544-547.

- Gerolt, P. (1969): Mode of entry of contact insecticides. J. Insect Physiol., 15:563-580.
- Gerolt, P. (1970): The mode of entry of contact insecticides. Pestic. Sci., 1:209-212.
- Gerolt, P. (1972): Mode of entry of oxime carbamates into insects. Pestic. Sci., 3:43-55.
- Gotaas, H. B. (1956): Composting. Sanitary disposal and reclamation of organic wastes. In: W. H. O. monograph series No. 31. W. H. O., Geneva.
- Hangartner, W. and P. Masner (1973): Juvenile hormone: Inhibition of ecdysis in larvae of the German cockroach, Blattella germanica. Experientia, 29:1358-1359.
- Hall, R. D. and M. C. Foehse (1980): Laboratory and field tests of CGA-72662 for control of the house fly in poultry, bovine or swine manure. J. Econ. Entomol., 73:564-569.
- Hammock, B. D. and G. B. Quistad (1981): Metabolism and mode of action of juvenile hormone, juvenoids, and other insect growth regulators. In Progress in Pesticide Biochemistry. Edt. by D. H. Hutson and T. R. Roberts. Vol. 1, pp 1-83. John Wiley & Sons, New York.
- 波多腰信・中山勇 (1987): 幼若ホルモン活性物質 - 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. Ent. Zool., 22:641-644.
- Hatakoshi, M., H. Kawada, S. Nishida, H. Kishida and I. Nakayama (1987): Laboratory evaluation of 2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxy]pyridine against larvae of mosquitoes and housefly. Jpn. J. Sanit. Zool., 38:271-274.
- Hemingway, J and G. P. Georghiou (1983): Studies on the



- acetylcholin esterase of Anopheles albimanus resistant and susceptible to organophosphate and carbamate insecticides. Pestic. Biochem. Physiol., 19:167-171.
- Hemingway, J., K. G. Jayawardena and P. R. Herath (1986): Pesticide resistance mechanisms produced by field selection pressures on Anopheles nigerrimus and A. culicifacies in Sri Lanka. Bull. World Health Organ., 64:753-758.
- Henrick, C. A., G. B. Staal and J. B. Sidaal (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., 21:354-359.
- Henrick, C. A., W. E. Willy and G. B. Staal (1976): Insect juvenile hormone activity of alkyl (2E, 4E)-3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoates. Variations in the ester function and the carbon chain. J. Agric. Food Chem., 24:207-218.
- Hocking, B, C. R. Twinn and W. McDuffie (1949): A preliminary evaluation of some insecticides against the immature stages of black flies (Diptera: Simuliidae). Scient. Agric., 29:69-80.
- Iwanaga, K. and T. Kanda (1988): The effects of a juvenile hormone active oxime ether compound on the metamorphosis and reproduction of an Anopheline vector, Anopheles balabacensis (Diptera: Culicidae). Appl. Ent. Zool., 23:186-193.
- Kamimura, K., T. Suzuki, T. Okazawa, T. Inaoka and J. O. Ochoa A. (1985): Effect of temephos against the blackfly larvae in stream tests in Guatemala. Jpn. J. Sanit. Zool., 36:189-195.
- 川田均、堂原一伸、新庄五朗 (1986): 新規 J H 様化合物 S - 3 1 1 8 3 ( 1 ) 物性と効力. 第 3 8 回日本衛生動物学会講要, 衛生動物 37:296.
- 川田均、新庄五朗 (1987): 新規 J H 様化合物 S - 3 1 1 8 3 チャバネゴキブリに対する作用. 第 3 9 回日本衛生動物学

会講要, 衛生動物 38:132.

Kawada, H., K. Dohara and G. Shinjo (1987): Evaluation of larvicidal potency of insect growth regulator, 2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy)ethoxy]pyridine, against the housefly, Musca domestica. Jpn. J. Sanit. Zool., 38:317-322.

Kawada, H., K. Dohara and G. Shinjo (1987): Laboratory and field evaluation of an insect growth regulator, 4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl ether, as a mosquito larvicide. Jpn. J. Sanit. Zool. 39:339-346.

川田均、新庄五朗 (1988): 新規化合物 S-31183  
ゴキブリに対する作用 (2). 第40回日本衛生動物  
学会講要, 衛生動物 39:174.

Kawada, H., I. Kojima and G. Shinjo (1989): Laboratory evaluation of a new insect growth regulator pyriproxyfen, as a cockroach control agent. Jpn. J. Sanit. Zool. 40:195-201.

Kawada, H., Y. Shono, M. Hirano and G. Shinjo :  
Laboratory evaluation of insecticides and insect  
growth regulators against several strains of  
Anopheline mosquitoes. Unpublished.

Kawada, H, S. Tsuda, T. Ohtsubo, G. Shinjo and K. Tsuji  
(1989): Fenitrothion Mmicrocapsule for cockroach  
control. In: Proceeding of 16th International  
Symposium on Controlled Release of Bioactive  
Materials, Chicago, U.S.A.

Keiding, J (1986): The house-fly - Biology and control.  
In: Vector control series training and information  
guide. W. H. O., Geneva.

King, J. E. and G. W. Bennett (1988): Mortality and  
developmental abnormalities induced by two juvenile  
hormone analogues on nymphal german cockroaches  
(Dictyoptera: Blattellidae). J. Econ. Entomol.,  
81:225-227.

Knapp, F. W. and B. C. Pass (1966): Low volume aerial

sprays for mosquito control. Mosquito News, 26:22-25.

Knapp, F. W. and F. Herald (1982): Mortality of eggs and larvae of the face fly (Diptera: Muscidae) after exposure of adults to surface treated with BAY Sir 8514 and penfluron. J. Econ. Entomol., 76:1350-1352.

Kurtak, D., H. Jamnback, R. Meyer, M. Ocran and P. Renaudo (1987): Evaluation of larvicides for the control of Simulium damnosum S. L. (Diptera: Simuliidae) in West Africa. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 3:201-210.

Langley, P. A., T. Felton and H. Oouchi (1988): Juvenile hormone mimics as effective sterilants for the tsetse fly Glossina morsistans morsistans. Med. Veter. Entomol., 2:29-35.

Lembright, H. W. (1968): Dosage studies with low volume application of Dursban® insecticide. Down to Earth, 24:16-17.

Mahon, R. J. and P. M. Miethke (1982): Anopheles farauti No. 3, a hitherto unrecognized biological species of mosquito within the taxon A. farauti Laveran (Diptera: Culicidae). Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg., 76:8-12.

Masner, P. and W. Hangartner (1973): Ecdyson: An antagonist of juvenile hormone in the control of cuticle synthesis in the German cockroach (Blattella germanica). Experientia, 29:1550-1552.

Masner, P., W. Hangartner and M. Suchy (1975): Reduced titres of ecdysone following juvenile hormone treatment in the German cockroach, Blattella germanica. J. Insect Physiol. 21:1755-1762.

Masner, P., K. Slama and V. Landa (1968): Sexually spread insect sterility induced by the analogues of juvenile hormone. Nature, 219:395-396.

Mian, L. S. and M. S. Mulla (1982): Biological and

environmental dynamics of insect growth regulators (IGRs) as used against Diptera of public health importance. Residue Rev., 84:27-112.

満井 喬 (1973): ホルモン様物質の害虫防除への利用とその問題点 植物防疫, 27:263-269.

Miyamoto, J. and T. Suzuki (1973): Metabolism of tetramethrin in houseflies in vivo. Pestic. Biochem. Physiol., 3:30-41.

水谷澄・武藤敦彦・島田篤夫・田中生夫・伊藤靖忠 (1988): S-31183 0.5%粒剤および5%水和剤のブユに対する実地効力試験 第40回日本衛生動物学会講要, 衛生動物 39:173.

Morita, M., M. Hatakoshi and S. Tojo (1988): Hormonal control of cuticular melanization in the common cutworm, Spodoptera litura. J. Insect Physiol., 34:751-758.

Motoyama, N (1984): Pyrethroid resistance in a Japanese colony of the housefly. J. Pestic. Sci., 9:523-526.

Muirhead-Thomson, R. C. (1983): Time/concentration impact of the Simulium larvicide, Abate, and its relevance to practical control programs. Mosquito News, 43:73-76.

Mulhern, T, C. M. Gjullin, O. V. Lopp, D. Ramke, R. F. Froli, D. E. Reed and W. D. Murray (1965): Low volume airplane sprays for the control of mosquito larvae. Mosquito News, 25:442-447.

Mulla, M. S. and H. A. Darwazeh (1979): New insect growth regulators against flood and stagnant water mosquitoes - Effects on nontarget organisms. Mosq. News, 39:746-755.

Mulla, M. S., H. A. Darwazeh, B. Kennedy and D. M. Dawson (1986): Evaluation of new insect growth regulators against mosquitoes with notes on non-target organisms. J. Am. Mosq. Control Assoc., 2:314-320.

- Mulla, M. S., H. A. Darwazeh, and R. L. Norland (1974): Insect growth regulators: Evaluation procedures and activity against mosquitoes. J. Econ. Entomol., 67:329-332.
- Ogg, C. L. and R. E. Gold (1988): Exposure and field evaluation of fenoxycarb for German cockroach (Orthoptera: Blattellidae) control. J. Econ. Entomol., 81:1408-1413.
- Ohsumi, T., M. Hatakosi, H. Kishida, N. Matsuo, I. Nakayama and N. Itaya (1985): Oxime ethers: New potent insect growth regulators. Agric. Biol. Chem., 49:3197-3202.
- 大利昌久、斎藤一三、松井すず子、石井明 (1978): ブユ刺咬症の疫学調査成績. 衛生動物, 29:133-138.
- Ohtsubo, T., S. Tsuda, H. Kawada, Y. Manabe, N. Kishibuchi, G. Shinjo and K. Tsuji (1987): Formulation factors of the fenitrothion microcapsule influencing the residual efficacy against the German cockroach. J. Pestic. Sci., 12:43-47.
- Olson, W. P. and R. D. O'Brien (1963): The relation between physical properties and penetration of solutes into the cockroach cuticle. J. Insect Physiol., 9:777-786.
- Pant, C. P., H. L. Mathis, M. J. Nelson and B. Phanthumachinda (1974): A large-scale field trial of ultra-low-volume fenitrothion applied by a portable mist blower for the control of Aedes aegypti. Bull. World Health Organ., 51:409-415.
- Patterson, R. S. and P. G. Koehler (1985): Sterility: A practical IPM approach for German cockroach (Blattella germanica) control. Proc. First Insect Growth Regul. Symp., 1:48-60
- Plapp, F. W. and R. F. Hoyer (1968): Insecticide resistance in the housefly: decreased rate of absorption as the mechanism of action of a gene that acts as an intensifier of resistance. J. Econ. Entomol., 61:1298-1303.

- Quistad, G. B., L. E. Staiger and D. A. Schooley (1975): Environmental degradation of the insect growth regulator methoprene (Isopropyl(2E,4E)-11-methoxy-3,7,11-trimethyl-2,4-dodecadienoate). III. Photodecomposition. J. Agr. Food Chem., 22:299-
- Raabe, M. (1982): Morphological and physiological color change. In: Insect Neurohormones, pp. 141-162, Plenum Press, New York.
- Retnakaran, A. (1979): Effect of a new moult inhibitor (EL-494) on the spruce budworm, Choristoneura fumiferana (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Ent., 111:847-850.
- Retnakaran, A., J. Granett and T. Ennis (1985): Insect growth regulators. In: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology (ed., Kerkut, G. A. and L. I. Gilbert), Vol.12, pp.529-601, Pergamon Press, New York.
- Riddiford, L. M. and C. M. Williams (1967): The effects of juvenile hormone analogues on the embryonic development of silkworms. Proc. Nat. Acad. Sci. (Amer.), 57:595-601.
- Riddiford, L. M. and A. M. Ajami and C. Boake (1975): Effectiveness of insect growth regulators in the control of populations of the German cockroach. J. Econ. Entomol., 68:46-48.
- Sakurai, H. (1977): Endocrine control of oögenesis in the housefly, Musca domestica vicina. J. Insect Physiol., 23:1295-1302.
- 桜井宏紀 (1976): イエバエの卵巣発育に関する研究 Ⅲ. 卵巣発育における幼若ホルモンの役割 衛生動物 27:355-359.
- Sakurai, M., M. Kurotaki, S. Asaka, T. Umino and T. Ikeshoji (1982): Characteristic effects of the micro-encapsulated diazinon against the German cockroach, Blattella germanica L. Jap. J. Sanit. Zool., 33:301-307.

- 更科孝夫、山田あつし、大塩行夫(1985):北海道の一養豚場におけるハエ類の季節的消長. 衛生動物 36:205-210.
- Sawicky, R. M. (1970): Interaction between the factor delaying penetration of insecticides and the desethylation mechanism of resistance in organo-phosphorus-resistant houseflies. Pestic. Sci., 1: 84-87.
- Sawicky, R. M. and K. A. Lord (1970): Some properties of a mechanism delaying penetration of insecticides into houseflies. Pestic. Sci., 1:213-217.
- Schaefer, C. H. and E. F. Dupras, Jr (1973): Insect developmental inhibitors. 4. Persistence of ZR-515 in water. J. Econ. Entomol., 66:923-925.
- Schaefer, C. H., T. Miura, F. S. Mulligan III and R. M. Takahashi (1974): Insect developmental inhibitors. Biological activity of RE-17565, RE-17937 and RE-18286 against mosquitoes (Diptera: Culicidae) and nontarget organisms. Proc. Calif. Mosq. Control Assoc., 42:147-
- Schaefer, C. H., T. Miura, E. F. Dupras, Jr., F. S. Mulligan III and W. H. Wilder (1988): Efficacy, nontarget effects and chemical persistence of S-31183, a promising mosquito (Diptera: Culicidae) control agent. J. Econ. Entomol. 81:1648-1655.
- Scott, J. G. and G. P. Georghiou (1986): Malathion-specific resistance in Anopheles stephensi from Pakistan. J. Am. Mosq. Control Assoc., 2:29-32.
- Self, L. S., H. I. Lee, C. S. Lofgren, J. C. Shim, C. Y. Chow, H. K. Shin and K. H. Kim (1973): Aerial applications of ultra-low-volume insecticides to control the vector of Japanese encephalitis in Korea. Bull. Wld Hlth Org. 49:353-357.
- Sheppard, P. M., W. W. Macdonaldo, R. J. Tonn and B. Grab (1969): The dynamics of an adult population of Aedes aegypti in relation to dengue haemorrhagic fever in Bangkok. J. Anim. Ecol. 38:661-702.

島田篤夫、緒方一喜 (1974): 幼若ホルモン様活性化化合物 methoprene のイエバエ幼虫に対する基礎効力の検討。  
衛生動物, 25:279-284.

Solomon, K. R. and R. L. Metcalf (1974): The effect of piperonyl butoxide and triorthocresyl phosphate on the activity and metabolism of Altosid (Isopropyl 11-methoxy, 3,7,11-trimethyldodeca-2,4-dienoate) in Tenebrio molitor L. and Oncopeltus fasciatus (Dallas).  
Pestic. Biochem. Physiol., 4:127-134.

Staal, G. B., C. A. Henrick, D. L. Grant, D. W. Moss, M. C. Johnston, R. R. Rudolph and W. A. Donahue (1985): Cockroach control with juvenoids. In: Bio-regulators for Pest Control. American Chemical Society Symposium Series, No. 276 (ed., Hedin, P.A.), pp. 201-218, American Chemical Society, Bethesda.

鈴木博・岡沢孝雄・N. K e r e (1989): ガダルカナル島のハマダラカ亜科幼虫の生息場所と分布。第41回日本衛生動物学会講要, 衛生動物 40:238.

鈴木博・岡沢孝雄・N. K e r e・川田均 (1989): ソロモン島における昆虫成長制御剤ピリプロキシフェンの Anopheles farauti に対する野外効力評価 第41回日本衛生動物学会講要, 衛生動物 40:238.

Suzuki, H., T. Okazawa, N. Kere and H. Kawada (1989): Field evaluation of a new insect growth regulator, pyriproxyfen, against Anopheles farauti, the main vector of malaria in the Solomon Islands. Jpn. J. Sanit. Zool., 40:253-257.

Suzuki, T. and J. Miyamoto (1974): Metabolism of tetramethrin in houseflies and rats in vitro.  
Pestic. Biochem. Physiol., 4:86-97.

Sweeny, A. W. (1987): Larval salinity tolerance of the sibling species of Anopheles farauti. J. Amer. Mosq. Control Assoc., 3:589-592.

Takada, Y., T. Hiroyoshi and M. Hirano (1988): Linkage group analysis of permethrin resistance in the Miyakonojo colony of the housefly, Musca domestica



- L. (Diptera: Muscidae). Appl. Ent. Zool., 23:122-126.
- Takaoka, H., J. O. Ochoa, M. Takahashi and H. Takahashi (1981): Evaluation of temephos as a larvicide against Simulium ochraceum (Diptera: Simuliidae) in Guatemala. Jap. J. Sanit. Zool., 33:369-377.
- 高橋正和、大滝哲也 (1976): 室内条件化におけるアカイエカおよびコガタアカイエカに対する PH 60-40 の致死効果 衛生動物, 27:361-365.
- Taylor, B. (1975): Changes in the feeding behavior of a malaria vector, Anopheles farauti Lav., following use of DDT as a residual spray in houses in the British Solomon Islands Protectorate. Trans. R. ent. Soc. Lond., 127:277-292.
- Thomas, D. B. (1984): Influence of a juvenile hormone analog on reproduction of normal and sterilized adult horn flies (Diptera: Muscidae). J. Econ. Entomol. 77:666-669.
- Tsuda, S., T. Ohtsubo, H. Kawada, Y. Manabe, N. Kishibuchi, G. Shinjo and K. Tsuji (1987): A way of action of the fenitrothion microcapsule as a residual cockroach control formulation. J. Pestic. Sci., 12:23-27.
- 辻孝三 (1982): 農薬の製剤と施用法 (7) 農薬の放出制御製剤. 日本農薬学会誌 7:539-548.
- Tsuji, H. and Y. Taneike (1988): Insecticidal effect of diflubenzuron against cockroaches. Jpn. J. Sanit. Zool., 39:19-25.
- Umeda, K., T. Yano and M. Hirano (1988): Pyrethroid-resistance mechanism in German cockroach, Blattella germanica (Orthoptera: Blattellidae). Appl. Ent. Zool., 23:373-380.
- Umino, T. and T. Suzuki (1984): Insecticide studies in vector control of Guatemalan onchocerciasis. 3. Laboratory tests on adsorption of larvicides to soil. Jap. J. Sanit. Zool., 35:1-6.

- Umino, T., T. Suzuki and E. L. Juarez O. (1983): Insecticide studies in vector control of Guatemalan onchocerciasis. 2. Efficacy of larvicides assessed by simulated trough tests. Jap. J. Sanit. Zool. 34:269-277.
- Vinson, S. B. and F. W. Plapp, Jr. (1974): Third generation pesticides: the potential for the development of resistance by insects. J. Agr. Food Chem., 22:356-360.
- Vogel, W., P. Masner, O. Graf and S. Dorn (1979): Types of response of insects on treatment with juvenile hormone active insect growth regulators. Experientia, 35:1254-1256.
- 和田 譲 (1988): 農薬の放出制御. 農薬の製剤技術と基礎 (日本農薬学会農薬製剤施用法研究会編、日本植物防疫協会) pp.127
- Walsh, J. F. (1985): The feeding behaviour of Simulium larvae, and the development, testing and monitoring of the use of larvicides, with special reference to the control of Simulium damnosum Theobald s. l. (Diptera: Simuliidae): a review. Bull. ent. Res., 75:549-594.
- Weaver, J. E., J. W. Begley and V. A. Kondo (1984): Laboratory evaluation of alsystin against the German cockroach (Orthoptera: Blattellidae): Effects on immature stages and adult sterility. J. Econ. Entomol., 77:313-317.
- Wellinga, K., R. Mulder and J. J. Van Daalen (1973): Synthesis and laboratory evaluation of 1-(2,6-disubstituted benzoyl)-3-phenylureas, a new class of insecticides. II. Influence of the acyl moiety on insecticidal activity. J. Agr. Food Chem., 21:993-998.
- Williams, C. M. (1967): Third-generation pesticides. Sci.Am., 217:13-17.
- Wright, J. E. (1974): Insect growth regulators:

Laboratory and field evaluations of Thompson-Hayward TH-6040 against housefly and the stable fly. J. Econ. Entomol., 67:746-747.

Wright, J. E. and R. L. Harris (1976): Ovicidal activity of Thompson-Hayward TH60-40 in the stable fly and horn fly after surface contact by adults. J. Econ. Entomol., 69:728-730.

Yamagata, Y. (1986): Movement response of larvae of Simulium ochraceum Walker and S. horacioi Okazawa et Onishi (Diptera: Simuliidae) to water depth and current velocity in a trough. Jap. J. Sanit. Zool., 37:11-16.

Yamagata, Y. and A. Kanayama (1985): Micro-distribution of Simulium ochraceum Walker (Diptera: Simuliidae) larvae in relation to stream depth and current velocity. Jpn. J. Sanit. Zool., 36:227-231.