

Studies on the Mechanism of Resistance in Diazinon Resistant Hokota Strain of Houseflies.

II. *In Vitro* Degradation of Diazoxon. Toshio SHONO (Laboratory of Applied Entomology, Faculty of Agriculture, University of Tokyo) Received Dec. 21, 1973. *Botyu-Kagaku*, 39, 54, 1974. (with English Summary 59)

8. 銚田産 diazinon 抵抗性イエバエの抵抗性の機構に関する研究 II. *In vitro* における diazoxon の分解 正野俊夫 (東京大学農学部害虫学研究室) 48. 12. 21 受理

Diazoxon の *in vitro* における分解を diazinon 抵抗性の銚田系イエバエと感受性の NAIDM 系イエバエの磨砕液で比較した。銚田系の diazoxon 分解酵素の活性は NAIDM 系より約 2 倍高く、抵抗性の機構として、大きな役割を果たしていることが明らかになった。Diazoxon 分解酵素による diazoxon の分解生成物は diethyl phosphate で、酵素の最適 pH は 7.0 附近に存在した。Diazoxon 分解酵素は Cu^+ , Cu^{++} , Hg^+ , Hg^{++} , *p*-chloromercuribenzoic acid, isopropyl paraoxon, EPN oxide で阻害されたが、SKF-525A では阻害されなかった。銚田系イエバエ磨砕液の diazoxon 分解酵素は phosphatase で、mixed function oxidase でも、glutathione transferase でもないことが確認された。

茨城県銚田町産の diazinon [O,O-diethyl-O-(2-isopropyl-4-methyl-6-pyrimidinyl) phosphorothioate] 抵抗性イエバエ (以下銚田系) について、その抵抗性の機構を調べるため、diazinon の *in vitro* における代謝を調べたところ、diazinon の生体内活性化合物である diazoxon [O,O-diethyl O-(2-isopropyl-4-methyl-6-pyrimidinyl phosphate)] が、銚田系イエバエの体内にはほとんど蓄積されていないが、感受性の NAIDM 系では多量の蓄積がみられた (正野, 1974)¹⁾。この多量の diazoxon の蓄積が NAIDM 系イエバエ致死の原因である。銚田系イエバエが、体内に diazoxon を蓄積しないのは、一部は皮膚の diazinon 透過性の低下によるが、主として解毒酵素の働きによるものと思われた。

本実験では、銚田系と NAIDM 系の diazoxon 分解酵素の活性を比較し、あわせて、銚田系の diazoxon 分解酵素の性質について、主として ³²P-diazoxon を用いて調べた。

材料および方法

イエバエ Diazinon 抵抗性の銚田系と感受性の NAIDM 系イエバエを用い、羽化後 4~6 日の成虫を実験に供した。局所施用法による diazinon の LD₅₀ はそれぞれ 4.03, 0.0643 $\mu\text{g}/\text{fly}$ であった。

供試薬剤 ³²P-diazoxon: The Radiochemical Center (Amersham, Buckinghamshire, England) より購入した。入手時の比放射能は 10mCi/mM であった。³²P-diazoxon は、比放射能が高い間は、放射される β 線によって分解され、水溶性の分解物を生じる。この分解物を取り除くため、毎使用直前に、1% Na_2CO_3 水溶液と chloroform を加え、よく振とうし

た後分液し、chloroform 層を取り、chloroform を乾燥空气中で蒸発させ精製した。このようにして得た ³²P-diazoxon を paper chromatography で調べたところ、不純物の混入は認められなかった、*n*-propyl paraoxon (O,O-di-*n*-propyl O-*p*-nitrophenyl phosphate), EPN oxide (O-ethyl O-*p*-nitrophenyl phenylphosphonate, 以下 EPNO), O,O-diethyl phosphate (以下 DEP), SKF-525A (2-dimethylaminoethyl 2,2-diphenylvalerate) は農業技術研究所矢野孝博士より提供された。

抗 AChE 作用喪失の測定 銚田系および NAIDM 系イエバエを、氷冷した生理食塩水 (0.15M NaCl, 0.04M MgCl_2) で homogenizer を用いて、1 分間磨砕し、得られた磨砕液をガーゼでろ過した後、500g で 5 分間遠沈して、その上清を酵素液として用いた。この酵素液 2.7 ml に所定濃度の diazoxon 生理食塩水溶液 0.3 ml を加え、27°C で 2 時間 incubate し、その反応液を 100°C で 1 分加熱後、遠沈し、その上清 0.5 ml を取り、この液の AChE 阻害度を調べた。AChE 阻害度は、別に用意したイエバエ頭部の磨砕液を AChE の酵素液として、Warburg 検圧法によって求めた。AChE 活性の測定は前報 (正野, 1974)¹⁾ で述べたとおりである。

³²P-diazoxon の *in vitro* における分解 酵素液: 銚田系および NAIDM 系のイエバエ成虫を、3 倍量の氷冷した 0.25M シュ糖を含む 0.05M, pH 7.4 のリン酸緩衝液で、homogenizer を用いて磨砕し、ガーゼでろ過後、500g で 5 分間遠沈して、クチクラの破片などを取り除き磨砕液を得た。この磨砕液を 10,000g で 10 分間遠沈して、得られた上清を S₁ 分画と呼んだ。また、得られた沈殿はシュ糖リン酸緩衝液

に懸濁させた後、更に、10,000 g で10分間遠沈し、その沈殿をショ糖リン酸緩衝液に懸濁し、これを M_1 分画とした。基質液： ^{32}P -diazoxon を少量の Triton X-100を含んだ acetone に溶かし、これを100倍の蒸留水で希釈して $100 \mu\text{g/ml}$ の水溶液を作り、これを基質液とした。酵素活性の測定：0.9 ml の酵素液に基質の ^{32}P -diazoxon 水溶液 0.1 ml を加え、27°C で所定時間 incubate した。金属イオン、阻害剤の影響を調べる時は、酵素液 0.8 ml、基質液 0.1 ml、金属イオンまたは阻害剤の水溶液 0.1 ml の反応液を用いた。所定時間 incubation 後、反応液を100°C で1分間加熱して、酵素を失活させた。更に、反応液に蒸留水 2 ml、chloroform 3 ml を加えて、よく振とうした後、遠沈して分液した。水層を放射能測定用の試料皿に移し、赤外線ランプで乾燥後、GM-counter で放射能活性を測定した。酵素液の窒素量は Conway の微量拡散法で測定した。

^{32}P -diazoxon 分解物の同定 ^{32}P -diazoxon の水溶性分解物の調製：鉾田系 M_1 分画 25 ml と ^{32}P -diazoxon 水溶液 ($100 \mu\text{g/ml}$) 3 ml を 27°C で2時間 incubate し、反応液から、未分解の ^{32}P -diazoxon を chloroform で抽出した後、残りの反応液を 50°C で約 2 ml に減圧濃縮し、これに標準試料として DEP を加えて、イオン交換 column chromatography の試料とした。イオン交換 column chromatography：diazoxon 分解酵素の分解生成物を Plapp and Casida (1958)²⁾ の考案したイオン交換 column chromatography で同定した。100～200 メッシュの Dowex 1-X8 イオン交換樹脂 50 g を内径 1.5 cm のクロマト管につめて、次の溶出液を用いて、グラジエント法により溶出した。

- (1) pH 2 塩酸 500 ml～pH 1 塩酸 500 ml
- (2) pH 1 塩酸 200 ml～1 N 塩酸 200 ml
- (3) pH 1 以上になるまで水で洗う
- (4) pH 1 塩酸+methanol (1:3) 200 ml
～1 N 塩酸+methanol (1:3) 200 ml

(5) 1 N 塩酸+acetone (1:3) 200 ml～濃塩酸+蒸留水+acetone (1:1:6) 200 ml

(6) 濃塩酸+水+acetone (1:1:6) 200 ml

溶出液は 10 ml ずつ分画し、各分画より 2 ml を取り、放射能活性を測定した。また各分画より 1 ml を取り、過塩素酸で燐機した後、Allen の方法でリンを比色定量した。

結 果

Diazoxon をイエバエの磨砕液と incubate し、抗 AChE 作用の喪失を調べた (第1表)。Diazoxon と鉾田系の磨砕液と incubate すると、抗 AChE 作用が著しく減少した。例えば、 $3.3 \times 10^{-8} \text{M}$ の diazoxon と鉾田系の磨砕液を incubate すると、0 時間ではイエバエの AChE を100%阻害するが、2 時間後には、その抗 AChE 作用は完全に失われる。これに反して、NAIDM 系の磨砕液と diazoxon を incubate した場合、抗 AChE 作用の減少はごくわずかであった。

鉾田系磨砕液による diazoxon の抗 AChE 作用の喪失が、解毒酵素による diazoxon の分解に起因するのかを確かめるために、 ^{32}P -diazoxon を用いて diazoxon の代謝を調べた。イエバエの磨砕液と ^{32}P -diazoxon を incubate すると、水溶性の放射性代謝物が得られ、この水溶性代謝物は diazoxon が磨砕液によって分解されて生じたものと思われる。水溶性代謝物の生成量は incubation の時間と比例し、また磨砕液を 100°C で1分間加熱してから diazoxon と incubate した場合は、水溶性の代謝物はほとんど得られない。これらのことから、磨砕液による diazoxon の分解は酵素的に行なわれているものと考えられた。以下この酵素を diazoxon 分解酵素と呼ぶことにする。

鉾田系と NAIDM 系の磨砕液における diazoxon の分解を比較すると、鉾田系では NAIDM 系の約2倍の diazoxon を分解し、diazoxon 分解酵素の活性が鉾田系では NAIDM 系より強いことが明らかにされた (第2表)。

Table 1. Elimination of anti-AChE activity of diazoxon by the homogenates of HOKOTA and NAIDM strain.

Strain	Incubation time (hr)	AChE activity (%)					
		Diazoxon concentration (M)					
		10^{-9}	3.3×10^{-9}	10^{-8}	3.3×10^{-8}	10^{-7}	3.3×10^{-7}
NAIDM	0	84.5	22.7	0.0			
NAIDM	2	98.4	80.0	0.0			
HOKOTA	0		103.5	32.4	0.0		
HOKOTA	2				100.0	103.4	0.8

Table 2. Degradation of ^{32}P -diazoxon by the homogenates of HOKOTA and NAIDM strain.

Incubation time (min)	Diazoxon degradation ($\mu\text{g}/\text{ml}$ homogenates)	
	HOKOTA	NAIDM
30	202	89
60	418	194
120	843(49*)	398(40*)

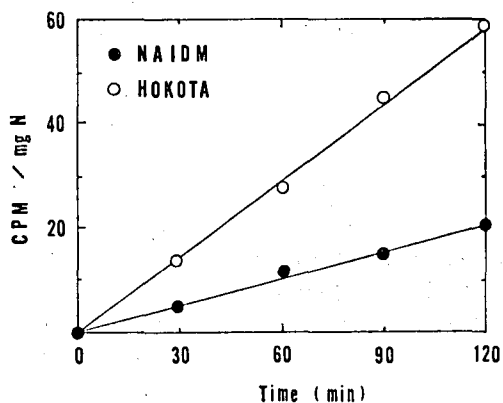
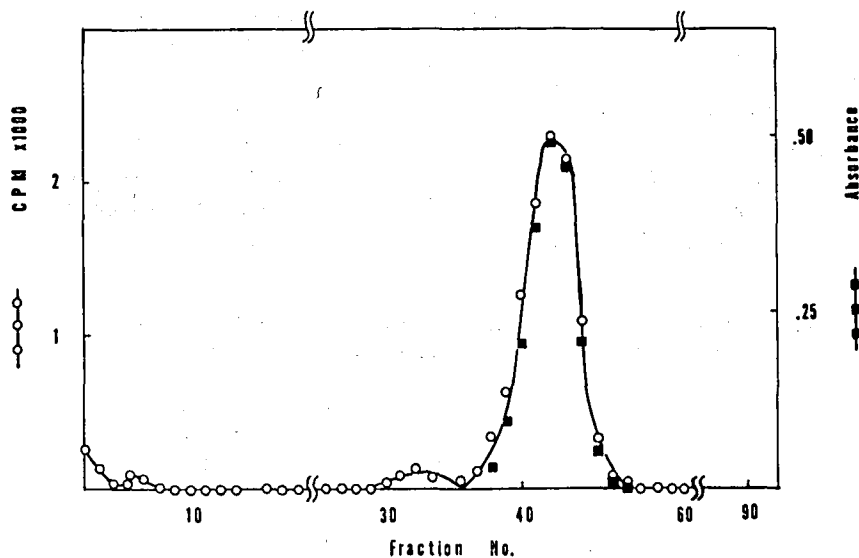
* Incubated with the homogenates boiled.

M_1 分画, S_1 分画の diazoxon 分解酵素の活性を, 酵素液の窒素重量当りで比較すると, diazoxon 分解酵素の活性は鉾田系, NAIDM 系とも, mitochondria 分画に相当する M_1 分画で, S_1 分画の約 2 倍の値を示した (第3表). M_1 分画の diazoxon 分解酵素による ^{32}P -diazoxon 分解の time course を第1図に示した.

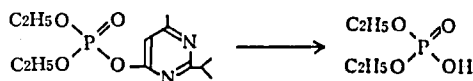
鉾田系イエバエ磨砕液の M_1 分画に存在する diazoxon 分解酵素による ^{32}P -diazoxon の水溶性代謝物をイオン交換 column chromatography で展開すると, 第1の溶出液つまり pH 2 塩酸~pH 1 塩酸で放射能活性のすべてが溶出され, 第2から第6の溶出液では放射能活性は溶出されなかった. 鉾田系イエバエ M_1 分画による ^{32}P -diazoxon の水溶性代謝物は, DEP との cochromatography の結果, DEP であることが確認された (第2図). また NAIDM 系 M_1 分

Table 3. Degradation of ^{32}P -diazoxon by 10,000 g supernatant fraction (S_1 fraction) and precipitate (M_1 fraction) from the homogenates of HOKOTA and NAIDM strain.

	Diazoxon degradation ($\mu\text{g}/\text{mgN}/60$ min)	
	HOKOTA	NAIDM
Homogenate	29.9	10.5
M_1 fraction	39.0	18.8
S_1 fraction	16.8	9.0

Fig. 1. Degradation rate of ^{32}P -diazoxon by M_1 fractions of HOKOTA and NAIDM strain.Fig. 2. Ion-exchange column chromatography of water soluble degradation products of ^{32}P -diazoxon by M_1 fraction of HOKOTA strain. To the solution to be chromatographed was added authentic diethyl phosphate.

画, 鉾田系 S₁ 分画などの diazoxon 分解酵素による分解物も DEP であった。つまり diazoxon は diazoxon 分解酵素により次のように分解される。



M₁ 分画を pH の異なるリン酸緩衝液に懸濁させ、これを酵素液として、diazoxon 分解酵素の活性に及ぼす pH の影響を調べたところ、diazoxon 分解酵素は pH 7.0 付近で最も高い活性を示すことが明らかになった。

金属イオンの diazoxon 分解酵素の活性に及ぼす影響について調べた結果を第4表に示した。Cu⁺⁺, Hg⁺⁺ は 10⁻⁴M で、Cu⁺, Hg⁺, Zn⁺⁺ は 10⁻³M で diazoxon

Table 4. The effect of cation on the degradation of diazoxon by M₁ fraction from the homogenate of HOKOTA strain.

Cation added	Concentration (M)	Diazoxon degradation (%)
None		100.0
Ca ⁺⁺	10 ⁻³	110.6
Mg ⁺⁺	10 ⁻³	101.4
Fe ⁺⁺	10 ⁻³	98.5
Fe ⁺⁺⁺	10 ⁻³	113.2
Mn ⁺⁺	10 ⁻³	112.8
Cu ⁺	10 ⁻³	19.1
Cu ⁺	10 ⁻⁴	101.1
Cu ⁺⁺	10 ⁻³	0.0
Cu ⁺⁺	10 ⁻⁴	29.6
Ni ⁺⁺	10 ⁻³	102.5
Co ⁺⁺	10 ⁻³	104.3
Al ⁺⁺⁺	10 ⁻³	104.2
Zn ⁺⁺	10 ⁻³	65.4
Zn ⁺⁺	10 ⁻⁴	96.8
Ba ⁺⁺	10 ⁻³	117.0
Hg ⁺	10 ⁻³	46.9
Hg ⁺	10 ⁻⁴	91.9
Hg ⁺⁺	10 ⁻³	2.2
Hg ⁺⁺	10 ⁻⁴	16.2
EDTA*	10 ⁻³	94.2

* Ethylenediaminetetraacetic acid

分解酵素を阻害した。Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, Fe⁺⁺, Fe⁺⁺⁺, Mn⁺⁺, Ni⁺⁺, Co⁺⁺, Al⁺⁺⁺, Ba⁺⁺ は 10⁻³M で酵素活性に影響を与えなかった。キレート剤の ethylenediaminetetraacetic acid (以下 EDTA) は diazoxon 分解酵素を阻害しなかった。また、diazoxon 分解酵素の活性を増強する金属イオンは発見できなかった。

種々の薬物の diazoxon 分解酵素に対する影響を第5表に示した。Rotenone, AntimycinA, KCN, CH₃ICOOH, CH₃FCOONa, As₂O₃, phenylthiourea,

Table 5. The effect of inhibitor on the degradation of diazoxon by M₁ fraction from the homogenate of HOKOTA strain.

Inhibitor	Concentration (M)	Diazoxon degradation (%)
None		100
Rotenone	10 ⁻³	102
Antimycin A	10 ⁻³	96
KCN	10 ⁻³	98
CH ₃ ICOOH	10 ⁻³	90
CH ₃ FCOONa	10 ⁻³	103
As ₂ O ₃	10 ⁻³	97
Phenylthiourea	10 ⁻³	106
SKF-525A ⁽¹⁾	10 ⁻³	79
PCMB ⁽²⁾	10 ⁻⁴	55
PCMB+GSH ⁽³⁾	10 ⁻⁴	96
GSH	10 ⁻²	109
Paraoxon	10 ⁻⁴	88
	10 ⁻⁵	104
Triphenyl phosphate	10 ⁻⁴	74
	10 ⁻⁵	93
n-Propyl paraoxon	10 ⁻⁴	13
	10 ⁻⁵	56
	10 ⁻⁶	91
EPNO	10 ⁻⁴	0
	10 ⁻⁵	26
	10 ⁻⁶	79

(1) 2-diethylaminoethyl 2,2-diphenylvalerate

(2) p-chloromercuribenzoate

(3) GSH concentration was 10⁻²M

SKF-525A は 10⁻³M で diazoxon 分解酵素の活性に影響を与えなかった。PCMB は 10⁻⁴M で diazoxon 分解酵素の活性を45%阻害するが、この阻害は還元型 glutathione (以下 GSH) を加えることによって回復した。これは diazoxon 分解酵素が SH 酵素であることを示唆している。GSH は酵素活性を増強しなかった。Paraoxon, triphenyl phosphate は 10⁻⁴M でほとんど阻害しなかったが、n-propyl paraoxon は 10⁻⁴M で 87%, 10⁻⁵M で 44%阻害した。EPNO は 10⁻⁴M で 100%, 10⁻⁵M で 74%阻害した。

考 察

鉾田系イエバエの磨砕液による diazoxon の抗 AChE 活性の喪失が、解毒酵素による diazoxon の分解によることは疑問の余地がない。Diazoxon の分解に関与している酵素として、次の3つのものが考えられる。

1. mixed function oxidase (以下 mfo)
2. glutathione transferase
3. phosphatase

Yang ら (1971)³⁾ は diazinon 抵抗性の Savannah 系イエバエの microsome では、NADPH の存在下

に, diazoxon を DEP に分解する mfo の活性が強いことを報告している。しかし, 鉦田系の diazoxon 分解酵素は microsome の含まれていない M_1 分画でも活性が強く, また第1図に示したとおり NADPH を加えなくても, diazoxon を一定の速度で分解する点と, mfo の阻害剤である SKF-525A で阻害されない点から mfo でないことは明らかである。Lewis and Sawicki (1971)⁴⁾ は diazinon に抵抗性を示す SKA 系イエバエの上清には, GSH の存在下に, diazoxon を desethyl diazoxon に分解する glutathione transferase が, また, Yang ら (1971)⁵⁾ は前述の Savannah 系の上清に, GSH 存在下に diazoxon を DEP と構造未確認の代謝物に分解する glutathione transferase が存在することを示した。しかし, 鉦田系の diazoxon 分解酵素は, 上清を含まない M_1 分画にも存在し, GSH を加えてもその活性が上昇しないことから, glutathione transferase でもないことは明らかである。鉦田系イエバエの diazoxon 分解酵素は, mfo でも, glutathione transferase でもなく, また, phosphatase の阻害剤である EPNO, *n*-propyl paraoxon で阻害されることから, phosphatase であることがほぼ確認された。Shishido and Fukami (1972)⁶⁾ はネズミの肝臓 mitochondria と microsome に diazoxon 加水分解酵素が存在し, この酵素が Ca^{++} によって活性化され, EDTA によって阻害され, その酵素活性の最適 pH は 8.8 であることを示したが, 鉦田系イエバエの diazoxon 分解酵素は, 特定の金属イオンで活性化されず, また EDTA で阻害されることもなく, 最適 pH も異なっているので, ネズミ肝臓の diazoxon 加水分解酵素と鉦田系の diazoxon 分解酵素はその性質がかなり異なるものと考えられた。

Oppenoorth and Asperen (1961)⁷⁾ は有機リン剤抵抗性イエバエの磨砕液が oxon 型有機リン剤の抗 AChE 作用を失わせることを発見し, この抗 AChE 作用の喪失が, 抵抗性イエバエの磨砕液に存在する phosphatase によるものであり, この phosphatase は遺伝子の突然変異により, aliesterase より変ったとする mutant aliesterase 説を発表した。これに対して O'Brien (1966)⁷⁾ は 2 つの疑問点を上げた。第一は, oxon 型有機リン剤が phosphatase によって分解されたとする実験的証明がない。第二は, oxon 型有機リン剤の抵抗性イエバエの磨砕液による分解量が, 抵抗性イエバエと感受性イエバエの LD_{50} の差を説明する程, 大きくない。第一の点に関して, Welling ら (1971)⁸⁾ は 3H 標識の paraoxon を用いて, 有機リン剤抵抗性イエバエの磨砕液は paraoxon を DEP に分解する phosphatase が存在することを明らかにし

た。鉦田系の場合も, diazoxon を DEP に分解する phosphatase が磨砕液に存在することが明らかにされたので, O'Brien の第一の疑問には解答が与えられた。鉦田系イエバエの磨砕液による diazoxon の分解量は $418 \mu\text{g}/\text{ml}$ 磨砕液/hr であり, NAIDM 系では $194 \mu\text{g}/\text{ml}$ 磨砕液/hr である (第2表)。これは, それぞれ約 $30 \mu\text{g}/\text{fly}/\text{hr}$, $15 \mu\text{g}/\text{fly}/\text{hr}$ に相当し, 鉦田系と NAIDM 系の間には約 $15 \mu\text{g}/\text{fly}/\text{hr}$ の差が認められる。一方, diazinon を $1 \mu\text{g}/\text{fly}$ の葉量で局所用法で処理すると, 60分後に, NAIDM 系のハエは 100% knock down するが, 鉦田系のハエは中毒症状を発現しない。この時点でのイエバエ体内の diazoxon 蓄積量は NAIDM 系 $8.77 \mu\text{g}/\text{fly}$, 鉦田系 $0.20 \mu\text{g}/\text{fly}$ であった (正野, 1974)¹⁾。この NAIDM 系における diazoxon の多量の蓄積が NAIDM 系イエバエ致死の原因である。鉦田系と NAIDM 系における diazoxon 蓄積量の差 $8.57 \mu\text{g}/\text{fly}$ は, *in vitro* における diazoxon 分解酵素の活性の差約 $15 \mu\text{g}/\text{fly}/\text{hr}$ で説明でき, 鉦田系のイエバエ体内に diazoxon を蓄積させないのに十分な値である。これにより O'Brien の第2の疑問も説明できる。このように Oppenoorth and Asperen の mutant aliesterase 説を積極的に否定する O'Brien の論拠は一応消滅した。しかし, 「感受性系統の aliesterase が遺伝子の突然変異により oxon 型有機リン剤を分解する phosphatase になった」とするこの仮説を証明する実験的証拠は, 現在に至るも, まったくなく, その証明は今後の研究に待たねばならない。

イエバエの diazinon 抵抗性の機構としては, 先に述べたように mfo, glutathione transferase が大きな役割を果たしているとの報告があり, 鉦田系の場合も, これらの酵素が抵抗性の機構として働いている可能性は否定できないが, 本実験では phosphatase の一種と考えられる diazoxon 分解酵素が, 鉦田系の diazinon 抵抗性の機構の一つとして, 大きな役割を果たしていることが結論された。

謝辞 本研究のご指導を賜った東京大学農学部山崎輝男名誉教授, 同松本義明教授, ならびにご助言と各種化合物をご提供くださった理化学研究所深見順一博士, 農業技術研究所矢野孝博士に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 正野俊夫: 衛生動物, 25, 249 (1974).
- 2) Plapp, F. W., Jr. and J. E. Casida: *Analyt. Chem.*, 11, 1622 (1958).
- 3) Yang, R. S., E. Hodgson and W. C. Dauterman:

- J. Agr. Food Chem.*, 19, 14 (1971).
- 4) Lewis, J.B. and R.M. Sawicki: *Pesticide Biochem. Physiol.*, 1, 275 (1971).
 - 5) Shishido, T. and J. Fukami: *Pesticide Biochem. Physiol.*, 2, 39 (1972).
 - 6) Oppenoorth, F.J. and K. van Asperen: *Entomol. Exp. Appl.*, 4, 311 (1961).
 - 7) O'Brien, R.D.: *Ann. Rev. Entomol.*, 11, 369 (1966).
 - 8) Welling, W., P. Blaakmeer, G. J. Vink and S. Voerman: *Pesticide Biochem. Physiol.*, 1, 61 (1971).

Summary

The degradation of diazoxon by homogenates of diazinon-resistant Hokota strain and -susceptible

NAIDM strain of houseflies was studied. The homogenates of Hokota strain degraded more diazoxon than those of NAIDM strain. It was found that diazoxon was degraded to diethyl phosphate. The optimum pH for diazoxon degradation was about 7.0. The reaction was inhibited by Cu^+ , Cu^{++} , Hg^+ , Hg^{++} , *p*-chloromercuribenzoic acid, isopropyl paraoxon and EPN oxide, but not SKF-525A. It appears that the degradation of diazoxon is not due to mixed function oxidase and glutathione transferase, but to phosphatase. The higher rate of diazoxon degradation by the phosphatase of resistant Hokota strain is one of the most important mechanisms of resistance.

Insecticide Resistance in *Culex pipiens pallens* Larvae of Amagasaki City. Kazuo YASUTOMI (Department of Medical Entomology, National Institute of Health, Shinagawa-Ku, Tokyo) Received January 31, 1974. *Botyu-Kagaku*, 39, 59, 1974. (with English Summary 61)

9. 尼崎産アカイエカ幼虫の殺虫剤抵抗性 安富和男 (国立予防衛生研究所衛生昆虫部) 49. 1. 31 受理

1971年に兵庫県尼崎市七ツ松地区から採集したアカイエカ 終令幼虫について、殺虫剤抵抗性の強さを調査した結果、各種の有機燐剤に強い交差抵抗性が認められた。一方、ピレスロイド類の LC_{50} 値は感受性コロニーの値と大差がなかった。

鈴木 (1968)¹⁾ は 1967 年 8 月に自然界から採集したアカイエカ幼虫が各種の有機燐剤に抵抗性の強いことを発見し、NAコロニーとして報告した。その後、安富 (1970)²⁾ は 1969 年に、鈴木の報告と同じ場所 (兵庫県尼崎市七ツ松地区の下水溝) から採集したコロニーを調べた結果、 β -naphthylacetate を加水分解する活性泳動帯が、感受性系統に比べて異常に強いこと、さらに、この泳動帯は phenylacetate や methyl-n-butyrate のような有機酸エステルをも加水分解することを認めて報告した。

筆者はさらに、1971年8月に同一水域からの幼虫を入手し、各種殺虫剤に対する交差抵抗性について実験し、2, 3の知見を得たのでここに報告する次第である。

本文に入るに先だち、種々の御助言を賜わり、原稿御校閲の労をとられた国立予防衛生研究所衛生昆虫部長朝比奈正二郎博士、ならびに、供試昆虫の採集に御協力をいただいた尼崎の松島昭雄氏に対して感謝の意を表する。

材料および方法

1. 供試昆虫

実験に供試したアカイエカ *Culex pipiens pallens* Coquillett のコロニーは、1971年8月に兵庫県尼崎市七ツ松地区の下水溝より、幼虫約500頭を採集したものであり、実験室で飼育した1代目の終令初期の幼虫を供試した。

なお、比較対照用の感受性系統としては、1962年以降累代飼育中の豊中系アカイエカを用いた。

飼育は温度 25°C、関係湿度85%、14時間照明の恒温室内でおこない、幼虫の餌としては実験動物飼育用固型飼料、成虫には3%砂糖水を与え、産卵のためにはマウスを吸血源とした。

2. 供試薬剤

実験に用いた殺虫剤は、有機燐剤として diazinon, fenitrothion, fenthion (Baytex), dichlorvos (DDVP), malathion, Abate, および, Dowco-214, 塩素系殺虫剤として γ -BHC, ピレスロイド系殺虫剤としては, pyrethrins, allethrin, phthalthrin, resmethrin,