

illumination on rice seedlings. Tests were made for 4-5 days old adult females of the green rice leafhopper and for adult females of spiders which were collected in paddy fields. Dosage-mortality tests of insects and spiders were carried out by dipping them in various dilutions of a test insecticide and their mortality was assessed after 6 hours for *N. cincticeps* and 24 hours for spiders keeping them at 25°C without food.

Granular formulations of  $\gamma$ -BHC and BPMC containing respectively 6 and 4 percent active ingredients were applied at commercial rate of 3 kg per 1000 m<sup>2</sup> in December 1968 and 1969 to the paddy field after the harvest of rice. Changes in numbers of leafhopper larvae and spiders were studied at 10 day intervals until March by a vacuum sampler operated in a quadrat (0.3×2m) placed on the experimental plots of 30 m<sup>2</sup> each. Samplings were repeated four times in each quadrat and the total numbers of leafhoppers and spiders were recorded.

The LC<sub>50</sub> doses of the malathion resistant strain

were ten, five and 2 to 3 times greater than those of the susceptible one for organophosphorus, carptap and carbamate compounds, respectively. By contrast, the LC<sub>50</sub> dose of BHC in the resistant strain was nearly one half that of the susceptible one. Generally, the LC<sub>50</sub> doses for *Lycosa* were lower than those for *Oedothorax*. The indices of relative toxicity (LC<sub>50</sub> for spiders/LC<sub>50</sub> for leafhoppers) of the insecticides used were greater than unity for *Oedothorax* except for BHC, but were less than unity for *Lycosa* except for BPMC (a carbamate insecticide). Especially, BHC showed high toxicity to both kinds of spiders. By field experiment, it was also confirmed that the BPMC was selectively toxic to hoppers but was less toxic to spiders and that the BPMC treatment improves the balance between spiders and leafhoppers in favour of spiders and enhances the controlling effect of spiders on leafhoppers. On the other hand, BHC which was highly toxic to spiders almost annihilated the spiders in the field.

#### On the Black Pigment of the Larval Integument of the Armyworm, *Leucania separata*\*.

Hajime Ikemoto (Tokyo Prefectural Isotope Research Station, Setagaya, Tokyo) Received June 29, 1971. *Botyu-Kagaku* 36, 128, (1971) (with English Summary 131).

19. アワヨトウ幼虫の皮膚にみられる黒色色素\* 池本 始 (東京都立アイソトープ総合研究所, 東京都世田谷区) 46. 6. 29. 受理

高密度飼育によって生ずる幼虫の黒色色素を抽出単離し、インドールメラニンであると同定した。

#### 緒 言

アワヨトウ *Leucania separata* の幼虫は生息密度の変動により体色変化をおこす。高密度では黒色幼虫が発現する。この黒色色素はインドールメラニンであることがあきらかになったので報告する。

#### 実験材料および方法

実験にはトウモロコシの葉をあたえて全幼虫期間をシャーレあたり10~10数匹で飼育した6令幼虫(3000匹)の皮膚を用いた。池本(1970)<sup>1)</sup>の方法にしたが

って黒色色素を抽出単離し、五酸化燐上で乾固した。この化合物を用いていろいろな化学的性質をしらべたが、その一環としてアルカリ熔融をおこなった。アルカリ熔融は池本(1970)<sup>1)</sup>の方法にしたがった。そしてアルカリ熔融物のエーテル抽出物を東洋濾紙No. 50を用いたペーパークロマトグラフィー法(25°C)で分離同定した。呈色剤として Pauly 試薬(ジアゾ化スルフェニル酸)および3%エタノール性塩化鉄(Smith 1958)<sup>2)</sup>を用いた。なお、マスペーパークロマトグラフィー法によってアルカリ熔融物を展開し、濾紙からクエン酸第二ナトリウム-NaOH 緩衝液(pH 5.6)で抽出し、紫外線吸収スペクトル測定の資料とした。

黒色色素の抽出には外皮(20匹)を0.5 N, NaOHで約2時間煮沸する方法も用いた。その間、時々蒸発

\* 本報告の概要は昭和45年4月8日日本応用動物昆虫学会で発表した。

をした分だけ水を加えて NaOH が 0.5N をたもつようにした。冷却後、溶液を濾過し希塩酸を加えて色素を沈澱させ、沈澱物を水で洗い、ふたたび NaOH 溶解、希塩酸による沈澱をくりかえして黒色色素を精製した。0.5N, NaOH に黒色色素を溶解し、400~600  $m\mu$  の範囲で吸光度を測定した。

#### 実験結果および考察

第1表にしめすように黒色色素はアルコール、エーテルなどの普通の有機溶媒には不溶、希アルカリ、濃塩(硫)酸に溶解する。塩酸溶液に水を加えていくと黒色に沈澱する。臭素水、過酸化水素などの酸化剤で退色し、アンモニア性硝酸銀を還元して銀を遊離する。そして黒色色素の 0.5N, NaOH 溶液の吸収スペクトルは吸光度の log をとると 400~600 $m\mu$  の範囲内で直線をしめす(第1図)。これらの性質はメラニンをもくむフェノール性化合物の酸化重合体の一般的性質である。黒色色素そのものは松材反応およびエールリッヒ反応をしめさないが、黒色色素を蒸発皿に入れ加熱して生ずる蒸気を用いて松材反応をおこなうと陽性に反応する(第1表)。本反応はピロール、フラン、インドール、クマリン、カルバゾール誘導体にたいし陽性である。また黒色色素を300°Cでアルカリ熔融をおこない、そのエーテル抽出物に *p*-ジメチルベンズアルデヒド酸性エタノール溶液を添加すると陽性に反応

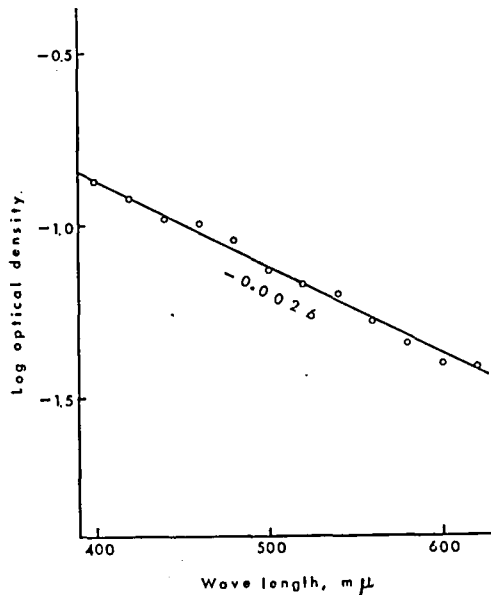


Fig. 1. Absorption spectrum of alkaline solution of the black pigment isolated from *Leucania* larvae, log optical density ( $\log [\log I_0/I]$ ) plotted against wave length.

Table 1. Chemical properties of the black pigment isolated from *Leucania* larvae

| Experiments                                 | Reactions                                                                      |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Solubility</b>                           |                                                                                |
| Dil. alkali                                 | Very soluble (dark brown soln.)                                                |
| Dil. acid                                   | Precipitated thereby, as black powder                                          |
| Conc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>        | Soluble (brown soln.)                                                          |
| Ethanol                                     | Insoluble                                                                      |
| Acetone                                     | Insoluble                                                                      |
| Chloroform                                  | Insoluble                                                                      |
| Diethylether                                | Insoluble                                                                      |
| <b>Oxidizing agents</b>                     |                                                                                |
| Bromine                                     | Bleaching                                                                      |
| Chlorine                                    | Bleaching                                                                      |
| Chloric acid                                | Bleaching                                                                      |
| Performic acid                              | Bleaching                                                                      |
| Peracetic acid                              | Bleaching                                                                      |
| Hydrogen peroxide                           | Bleaching                                                                      |
| Ammoniacal silver ion                       | System darkened, liberating Ag                                                 |
| <b>Anthrone test for carbohydrate</b>       | Negative                                                                       |
| <b>Benedict's test for reducing sugars</b>  | Negative                                                                       |
| <b>Murexide test for purines</b>            | Negative                                                                       |
| <b>Biuret test for peptide linkage</b>      | Negative                                                                       |
| <b>Sakaguchi reaction for arginine</b>      | Negative                                                                       |
| <b>Ehrlich's reaction for tryptophan*</b>   | Negative                                                                       |
| <b>Jaffe's reaction for indigo</b>          | Negative                                                                       |
| <b>Ninhydrin test for amino acids</b>       | Negative                                                                       |
| <b>Schiff's reaction for aldehydes</b>      | Negative                                                                       |
| <b>Millon's reaction for hydroxyphenols</b> | Negative                                                                       |
| <b>Degradation</b>                          |                                                                                |
| Roasting                                    | Vapours reddened a pine splinter moistened with concentrated HCl               |
| <b>Fusion in KOH</b>                        | Ether extraction of products gave a violet-red colour with Ehrlich's reagent** |

\* A few drops of Ehrlich's reagent (10g of *p*-dimethylaminobenzaldehyde dissolved in 100ml of concentrated HCl) was added.

\*\* Dissolved 4g of *p*-dimethylaminobenzaldehyde in 380ml of ethanol and 80ml of concentrated HCl.

する(第1表)。本反応は一種のエールリッヒ反応でインドール化合物およびピロール化合物を赤紫から青に呈色させる。しかし本実験に用いた試薬ではトリプトファンは呈色しない。アルカリ熔融物はトリプトファンとは異なるようである。

アルカリ熔融物のペーパークロマトグラフィー所見はそれぞれ5,6-ジヒドロキシインドールおよび5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸によく一致する(第2表)、そして分解物の吸収極大もそれぞれ5,6-ジヒドロキシインドールおよび5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸のそれによく一致する(第3表)。アルカリ熔融物 A, B はそれぞれ5,6-ジヒドロキシインドールおよび5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸とおもわれる。なお、5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸は5,6-ジヒドロキシインドールに比較してきわめて少なかった。

Table 2. Paper chromatography of the degradation products of the black pigment by alkali fusion.

| Compounds                                | Rf values            |           | Pauly reagent | 3% Ethanolic FeCl <sub>3</sub> |
|------------------------------------------|----------------------|-----------|---------------|--------------------------------|
|                                          | n-BuOH/AcOH/W 12:3:5 | 0.05N HCl |               |                                |
| A                                        | 0.68                 | 0.25      | red           | green                          |
| B                                        | 0.50                 | 0.10      | red           | blue                           |
| 5,6-dihydroxy-indole*                    | 0.69                 | 0.25      | red           | green                          |
| 5,6-dihydroxy-indole-2-carboxylic acid** | 0.50                 | 0.10      | red           | blue                           |

\* Synthesized by the method of Harley-Mason and Bu'Lock(1950)<sup>9)</sup>.

\*\* Synthesized by the method of Beer *et al.* (1949)<sup>10)</sup>.

Table 3. Absorption spectra maxima of the degradation products of the black pigment by alkali fusion

| Compounds | Absorption spectra maxima (m $\mu$ ) | Compounds to be expected              |
|-----------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| A         | 275, 298                             | 5,6-dihydroxyindole                   |
| B         | 310                                  | 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid |

黒色色素はフェノール性化合物の酸化重合体としての一般的性質をしめし、インドール-5,6-キノンを骨格としているので、インドール-5,6-キノンの重合体すなわちインドールメラニンとおもわれる。昆虫でもチ

ロシンがフェノールオキシダーゼに酸化されてインドールメラニンになると考えられているが、黒色型幼虫(高密度飼育)は淡色型幼虫(単独飼育)に比較してつよいフェノールオキシダーゼ活性をしめす(池本, 1967)<sup>11)</sup>ということも黒色色素がインドールメラニンであることを裏書きするものである。

アルカリ熔融物の一つとして5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸をみとめたが、メラニンにもともと遊離のカルボキシル基が存在していたのかあるいはアルカリ熔融の際に人為的に生じたのかあきらかでない。

黒色あるいは暗色をしめすものとしてメラニンの他にクロモリピド、オンモクローム、スクレロチンなどが知られている。これらの色素は化学的な同定もおこなわれず、ただ黒色あるいは暗色というだけでメラニンとしてあつかわれることもある。一般に黒色あるいは暗色の色素でアルカリ可溶性、酸化還元能のあるような場合、これを漠然とメラニンとみなしているが、アルカリにたいする可溶性、酸化還元能のあることなどは、それぞれフェノールならびにキノノイドの性質であり、メラニンに特有な反応ではない。メラニンにたいする確実な同定法はその構造にふくまれているキノンの性質やフェノールオキシダーゼの関与などをしらべる以外にない。昆虫では今迄にキンバエ *Lucilia cuprina* (Hackman 1967)<sup>12)</sup>、ニクバエ *Sarcophaga bulata* (Fogal, Fraenkel 1969)<sup>13)</sup>、クサシロヨトウ *Leucania loreyi* (池本1970)<sup>14)</sup>などの数種がこのような立場から研究されたにすぎない。

## 要 約

アワヨトウ *Leucania separata* の幼虫を高密度で飼育するといちちしく黒化した幼虫を生ずる。この黒色色素を抽出単離して、いろいろな理化学的性質をしらべた。

黒色色素はフェノール性化合物の酸化重合体で、アルカリ熔融によって分解せられて、エールリッヒ反応物質をあてる。そして分解物として5,6-ジヒドロキシインドールおよび5,6-ジヒドロキシインドール-2-カルボン酸が同定された。したがって黒色色素はインドール-5,6-キノンの重合体すなわちインドールメラニンとおもわれる。

## 文 献

- 1) 池本 始：応動昆, 14, 216 (1970).
- 2) Smith, I.: Chromatographic techniques, Williams, Heinemann Medical Bookes Ltd. (London) (1958).

- 3) Harley-Mason, J. and J. D. Bu'Lock : *Nature*, 166, 1036 (1950).
- 4) Beer, R. J. S., L. Mc Grath, A. Robertson and A. B. Woodier : *J. Chem. Soc.*, 2061 (1949).
- 5) 池本 始 : 日本応用動物昆虫学会東海支部, 第11回講演会 (1967年7月22日) で発表.
- 6) Hackman, R. H. : *Nature*, 216, 163 (1967).
- 7) Fogal, W. and G. Fraenkel : *J. Insect Physiol.*, 15, 1437 (1969).

### Summary

Black pigment produced under crowded rearing of the armyworm, *Leucania separata* was isolated from the larval integument, and some chemical and spectral properties of the black pigment were

examined in order to characterize its chemical nature.

The black pigment showed a general feature of oxidative polymerization products of phenols. Moreover two degradation products of the black pigment by alkali fusion were isolated by paper chromatographic method. These were identified as 5,6-dihydroxyindole and 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid by comparing their R<sub>f</sub> values, reactions with some reagents and U. V. spectra with those of authentic samples. From these experimental results, it is concluded that black larval pigment produced under crowded rearing of the armyworm is one of indole melanin.

**Insecticidal Activity of Aerosol of Kikuthrin.** Studies on Insecticide. IX. Michio NAKANISHI, Toshihiko MUKAI, Atsushi TSUDA, KOZO ABE, Kazuhiro IWAO. (Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd., Fukuoka Pref.) Received July 10, 1971. *Botyu-Kagaku* 36, 131, (1971). (with English Summary 134).

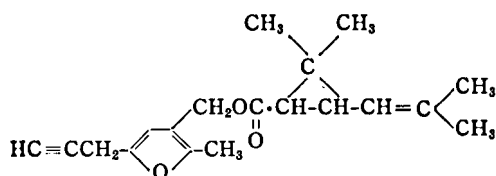
20. キクスリンエアゾールの殺虫効果 殺虫剤に関する研究 第9報 中西美智夫, 向井俊彦, 津田厚, 安部宏三, 岩尾和宏 (吉富製薬株式会社研究所) 46. 7. 10. 受理

Kikuthrin のエアゾール剤としての適性と実用性の評価のために, 0.5 m<sup>3</sup> 箱型装置でイエバエを使って実験を行なった. 対照エアゾール剤として現在実用化されているエアゾール剤に多くみる組成で phthalthrin + piperonyl butoxide を用いた.

この結果, *n*-propyl isome を加用した組成で著しい効力の増強がみられた. すなわち, 速効性が対照エアゾール剤と同等となり, その上さらに致死効力は極めて強力となった.

以上の結果から, Kikuthrin はエアゾール剤として適性に優れ, 増強剤として *n*-propyl isome の利用で十分実用的効力が期待され得るものと考ええる.

Kikuthrin は中西, 向井, 稲樹<sup>1)</sup>ら (1970) によって創製された次のような構造式をもつ新規 pyrethroid, proparthrin, の1% BHT 添加品である.



2-Methyl-5-(2-propynyl)-3-furymethyl(±)-*cis*, *trans*-chrysanthemate

また, その殺虫特性については既に中西, 向井, 津田<sup>2)</sup>ら (1970) による報告がある. 本実験では Kikuthrin の aerosol の効力を検討し, 2~3 の知見を得たので報告する.

### 実験材料および方法

#### I 実験材料

##### 1. 供試試料

(1) Kikuthrin® : 純度 91% 以上, 吉富製薬株式会社製 (工業規格品)

(2) Phthalthrin : 純度 85% 以上, 住友化学工業株式会社製 (工業規格品)

(3) *n*-Propyl isome : 日本樟脳株式会社製

(4) Piperonyl butoxide : 高砂香料株式会社製