

On the Development and Decline of Resistance to Malathion of the Green Rice Leafhopper, *Nephotettix cincticeps*. Ken'ichi KOJIMA, Setuo KITAKATA and Akio SHIINO (Institute of Agricultural Chemicals, Tōa Noyaku Co. Ltd., Odawara, Kanagawa) and Takao YOSHII (Kōti Agricultural Experiment Station, Nangoku, Kōti). Received Jan. 7, 1963. *Botyu-Kagaku*, 28, 13, 1963 (with English résumé, 16).

4. ツマグロヨコバイの malathion に対する抵抗性の発達と消失について* 小島建一・北方節夫・椎野明雄(東亜農業株式会社 農業研究所) 吉井孝雄(高知県農業試験場) 38. 1. 7. 受理

高知産ツマグロヨコバイの malathion に対する抵抗性の発達の有無を、微量局所用法によって調べた。採集当時、高知産ツマグロヨコバイは標準系統としてもちいた小田原産のそれに比べて malathion に対して約 5.6 倍抵抗性を示した。この抵抗性は実験室において malathion の淘汰をつづけられれば維持されるが、淘汰を中止すると徐々に消失する。また実験室で小田原産の系統を malathion で淘汰した場合、おおよそ 5 世代目でやや感受性が低下する傾向を示し、10 世代目には約 3.3 倍耐性が増大した。

Malathion は米国 Am. Cyanamid 社が 1950 年に試験番号 AC-4049 のもとに開発したいわゆる低毒性有機燐殺虫剤で、現在世界の 60 ヶ国以上の国々で広く使用されている。しかしその後、リンゴハダニ *Panonychus ulmi*^{8,20)}、ミカンハダニ *Panonychus citri*¹⁰⁾、ナミハダニ *Tetranychus telarius*²⁷⁾、ニセナミハダニ *Tetranychus cinnabarinus*¹¹⁾、モモアカアブラムシ *Myzus persicae*¹⁾、イエバエ *Musca domestica*^{9,10,13,14,18,19,20,23,26)}、ヤブカの 1 種 *Aedes sollicitans*¹⁶⁾、ヤブカの 1 種 *Aedes taeniorhynchus*¹⁶⁾、イエカの 1 種 *Culex tarsalis*¹²⁾、チャバネゴキブリ *Blattella germanica*^{4,5)} などのダニや昆虫において malathion に対する抵抗性が発達した事実が海外の各地から報告されるようになった。一方、本邦では 1953 年に malathion が導入され、イネのツマグロヨコバイの防除に卓効のあることが認められて以来広く普及したが、最近尾崎²⁴⁾は高知県においてツマグロヨコバイに malathion 抵抗性が発達した事実を指摘した。著者らは 1960 年の春頃より高知県の香長平野においてツマグロヨコバイに対して malathion の効力が低下したという問題について研究をおこなってきたが、若干の知見をえたので、ここにその結果をとりまとめて報告する。

本文に入るにさきだち、終始ご指導とご鞭撻を賜った農林省農業技術研究所深谷昌次博士、尾崎幸三郎博士、名古屋大学弥富喜三教授、東京農業大学山本亮教授に対し、ここに謹んで感謝の意を表する。また原稿のご校閲と有益な助言とを賜ったイハラ農業研究所長沢純夫博士に謝意を表する。なお実験に際し材料の採集、その他に多大の援助を賜った高知県農業試験場石本茂、松崎征夫の両技師、当研究所田中文一氏、

山崎純一氏、上原みつ子嬢に厚くお礼申し上げる次第である。

実験材料および方法

供試昆虫と飼育方法：この実験にもちいたツマグロヨコバイは、つぎのような系統である。

1) 小田原系統 A：1960 年 4 月に神奈川県小田原市国府町において採集し、その後いかなる薬剤にも接触させることなく累代飼育した、殺虫剤に対して正常の感受性をもつと考えられる個体群である。

2) 小田原系統 B：1961 年 10 月に小田原系統 A から分け、その後実験室において雌雄別に 50% 前後の生存率のえられる malathion の薬量で淘汰をくりかえし、累代飼育を続けて今日にいたる個体群である。

3) 高知系統 A：1961 年 9 月に高知県南国市の高知県農業試験場の場内で採集した当時 malathion に対して抵抗性を示した個体群で、その後当研究所でいかなる薬剤とも接触させることなく累代飼育して今日にいたる系統である。

4) 高知系統 B：高知系統 A から分離し、前記した方法で malathion の淘汰をくりかえしている系統である。

これらの各系統は、横 30cm、縦 30cm、高さ 30cm の金網張り飼育籠に入れ、小型ポットに栽植した水稻を与えて温室型パイオトロンの 4 つの個室で別々に飼育した。飼料の水稻の交換に当っては、とくにウンカ類の産卵痕跡のないもののみをもちいるようにした。飼育温度は 25~28°C であった。湿度はとくに厳密に調節しなかった。

Crow⁶⁾ のショウジョウバエの研究において、実験結果の再現性が雄よりも雌の方が僅かに高いこと、雌は X 染色体の数 (X) と常染色体の数 (A) が同じで性

* 本報告の一部は昭和 37 年 4 月 2 日、日本応用動物昆虫学会昭和 37 年度大会において発表した。

指数 (X/A) が 1.00 であるとのべた事実を考慮して、実験には主として成虫の雌個体をもちいた。またツマグロヨコバイ 雌成虫の malathion に対する感受性は羽化後の日数によって若干変化する傾向があるが (未発表)、大体羽化後 5~7 日目の個体をもちいるようにした。

供試薬剤: 溶出カラム・クロマトグラフ法で精製した malathion を使用し、アセトンで供試溶液を調製した。

実験方法: ツマグロヨコバイの malathion に対する抵抗性の検定は、著者らのひとり小島が考案した冷却麻醉装置、空気ホルダー、虫体支持装置、micrometer syringe (California Laboratory Equipment Co. 製)、処理昆虫飼育器からなる微量局所施用装置をもちいた。薬液は上記の micrometer syringe で冷却麻醉した雌成虫の胸背部に 1 個体当たり 0.5 μ l ずつ処理した。この方法の詳細については、別に報告する。

予備実験の結果から、濃度は原則として 4 段階とり、1 濃度について、1 $\times$ 10 頭ずつ 5 回くりかえし、24 時間後の死虫数をしらべた。えられた濃度と平均致死率の関係は Bliss⁹⁾ のプロビット変換法にもとずいて整理した。実験はすべて 25°C、湿度 50% の環境条件下

において行った。

実験結果と考察

小田原産と高知産の各系統を、実験室において malathion で淘汰した場合と、薬剤と接触させることなく累代飼育した場合の malathion に対する感受性の程

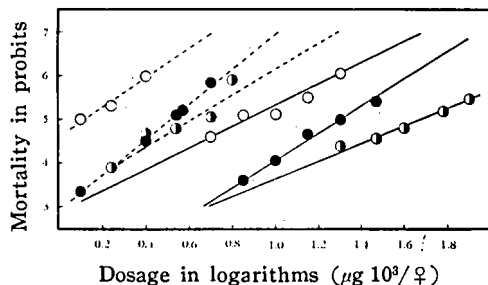


Fig. 1. Dosage-mortality regression lines indicating development and decrease of malathion resistance in female adults of the green rice leafhopper.

---- Odawara strain ● Parent
 ——— Koti strain ○ F_{10} (selected with LD_{50})
 ○ F_{10} (not selected)

Table 1. Dosage-mortality regression equations of the malathion susceptible and resistant strains of female adults of the green rice leafhopper, for malathion applied topically in acetone.

Strain	Selection	Generation	Average body weight (mg)	Regression equation	Median lethal dosage	
					(μ g/♀)	(μ g/g)
Odawara	None	P	4.2	$Y=5.106+4.240(X-0.838)$	0.003	0.78
		F_2	3.8	$Y=5.125+3.153(X-0.619)$	0.002	0.50
		F_5	4.1	$Y=5.344+2.254(X-0.538)$	0.001	0.30
		F_{10}	4.4	$Y=5.111+3.622(X-0.463)$	0.001	0.31
	With LD_{50}	P	4.2	$Y=5.106+4.240(X-0.838)$	0.003	0.78
		F_2	3.9	$Y=5.358+3.849(X-0.618)$	0.002	0.42
		F_5	3.8	$Y=5.029+4.194(X-0.579)$	0.002	0.50
		F_{10}	4.1	$Y=4.737+2.410(X-0.817)$	0.004	1.03
Kōti	None	P	4.7	$Y=4.677+2.790(X-1.499)$	0.021	4.38
		F_2	4.2	$Y=5.410+3.249(X-1.357)$	0.009	2.05
		F_5	3.7	$Y=4.682+3.759(X-1.258)$	0.011	2.97
		F_{10}	4.0	$Y=5.195+1.555(X-1.232)$	0.006	1.60
	With LD_{50}	P	4.7	$Y=4.677+2.790(X-1.499)$	0.021	4.38
		F_1	3.2	$Y=4.898+3.673(X-1.525)$	0.018	5.58
		F_2	3.8	$Y=5.079+2.515(X-1.512)$	0.015	3.98
		F_5	3.8	$Y=5.010+1.679(X-1.476)$	0.015	3.85
		F_{10}	4.2	$Y=4.940+1.950(X-1.951)$	0.048	11.42

LD_{50} 's of parents were determined in October, 1961.

Table 2. Active ingredient of malathion in grams per hectare for controlling the green rice leafhoppers by the Agricultural Co-operative Association in Kōti and Odawara where the test insects were collected.

Locality	Year								Total 1955~1961
	1955	1956	1957	1958	1959	1960	1961	1955~1960*	
Nangoku, Kōti	170	359	574	795	807	613	986	1158	5634
Kozu, Odawara	0	0	0	0	0	0	28	0	28

* Figure was obtained from some firms.

度を検定した結果は第1表の通りである。それを葉量一死亡率回帰線で表わしたものが第1図である。

まずはじめに、この実験にもちいたツマグロヨコバイの採集地について、農業協同組合の資料からツマグロヨコバイの防除に使用された malathion の量を1ヘクタール当りの有効成分量で示すと第2表の通りで、小田原系統は採集当時、過去に malathion と接触した経験をもたなかったものと考えて差支えなからう。他方、高知系統は1955年からツマグロヨコバイの防除に malathion が使用されはじめ、1958年以降香長平野を中心とする11,000ヘクタールの水田、畑、雑草地、堤防、飛行場を含む全面に一斉共同防除が実施され²⁸⁾、しかも1960年春頃より malathion の効力が低下し、1961年には malathion の3%粉剤でも防除効果が充分でなかったという地域から採集したもので、malathion との接触はきわめて多かったものと考えられる。

ツマグロヨコバイを比較的大量に累代飼育する場合、その飼育方法、飼育条件が確立されていないため、一般に累代飼育した個体群の生体重が野外の個体群のそれより小となり、malathion に対する感受性が高くなる傾向があるが、本文では一応雌の生体重g当りのLD₅₀だけをとりあげて論ずることとする。

第1表の結果をみると、小田原系統と高知系統の malathion に対する感受性は著しく異なり、parent においてLD₅₀は小田原系統の0.78μg/gに対し、高知系統は4.38μg/gであった。小田原系統の感受性を1とすると、高知系統の malathion 抵抗性は約5.6倍となる。また高知系統の示す葉量一死亡率回帰線の傾きは小田原系統のそれに比べてきわめて緩やかである。

採集後いかなる薬剤とも接触させることなく10世代飼育した高知系統Aでは、malathion に対する抵抗性が徐々に消失する傾向を示したが、malathion で淘汰を続けた高知系統BのLD₅₀は各世代において若干の変動がみられるが、各世代とも前記AのLD₅₀より高い値を示している。これはこの個体群の malathion 抵抗性が遺伝的に維持されているものと解釈される。不幸にして高知産ツマグロヨコバイについて malathion

が使用された当初に、局所施用法によるそのLD₅₀が調べられていないが、有機燐殺虫剤抵抗性は有機塩素殺虫剤抵抗性と異なり抵抗性は比較的安定で、淘汰を中止すると急速に減少するといわれるが²⁹⁾、高知系統Aの示す現象がこれにあたるものと考えられる。したがって、高知系統の parent のLD₅₀はこの系統の原個体群の値を示すものではなく、malathion 抵抗性が発達した結果によるものと推察される。事実、この実験にもちいた高知産ツマグロヨコバイの採集地と同じ場所において、1955年に malathion 乳剤および粉剤(1.5%)の殺虫効力試験が実施されているが、その結果は優れた防除効果を示している²⁹⁾。

つぎに標準としてもちいた小田原系統を、実験室的に malathion で淘汰した場合、5世代目くらいで感受性がやや低下する傾向を示し、10世代目には標準系統より約3.3倍耐性が増大した。

外国の例において、昆虫の malathion 抵抗性の発達の程度はイエバエの133倍以上¹⁹⁾、100倍²²⁾、23~27倍¹⁸⁾、イエカの1種の成虫の93~100倍¹²⁾、幼虫の60倍⁷⁾、50倍²³⁾、21~33倍¹²⁾、ミカンハダニの8倍¹⁵⁾である。昆虫やハダニ類の malathion に対する抵抗性は parathion^{10,20)} や Diazinon^{2,13,30,31)} のような他の有機燐殺虫剤の影響によっても発達するといわれている。しかしこの場合には、malathion に対する抵抗性は parathion に対するより強くない¹⁹⁾。また malathion によって発達した malathion 抵抗性昆虫が必ずしも parathion に対して交叉抵抗性を示さない¹²⁾。この交叉抵抗性については、March²²⁾がイエバエを材料にして、有機燐殺虫剤に対する抵抗性の特質は有機塩素殺虫剤のそれとは種々の点で著しく異なることを指摘しているが、著者らの実験によれば、現段階において、高知産の malathion 抵抗性ツマグロヨコバイは malaaxon に対して交叉抵抗性を示さない¹⁷⁾。

摘 要

1) Malathion に対する高知産ツマグロヨコバイの抵抗性の発達の有無を調査するため、高知産ツマグロ

ヨコバイの malathion 感受性を, malathion と接触経験をもたないと考えられる小田原産のそれを標準として, 微量局所施用法により比較検討した。

2) 小田原系統の雌成虫個体群の malathion にたいする LD_{50}/g を 1 とした時, 高知産のそれは1961年の採集当時において約 5.6 倍抵抗性を示した。

3) 高知産ツマグロヨコバイを, 採集直後二つの subcolony に分け, その後いかなる薬剤とも接触させることなく飼育した個体群は, malathion 抵抗性が徐々に減少する傾向を示した。しかし malathion で処理して, 50%前後の生存率がえられる薬量で淘汰した個体群では malathion 抵抗性が維持された。

4) 標準としてもちいた小田原系統では, 5 世代目くらいで malathion 感受性が低下する傾向を示し, 10 世代目には, 標準系統より約 3.3 倍の耐性を示した。

文 献

- 1) Anthon, E. A.: *J. Econ. Ent.*, 48, 56 (1955).
- 2) Bervoets, W., Bruaux, P., LeBrun, A. and Ruzette, M. A. (1957): *Ref. Brown, A. W. A., Adv. Pest Control Research*, 2, 351 (1958).
- 3) Bliss, C. I.: *Ann. Appl. Biol.*, 22, 134 (1935).
- 4) Burden, G. S., Lofgren, C. S. and Eastin J. L.: *Pest Control*, 27, 38 (1959).
- 5) Burden, G. S., Lofgren, C. S. and Smith C. N. *J. Econ. Ent.*, 53, 1138 (1960).
- 6) Crow, J. F.: *J. Econ. Ent.*, 47, 393 (1954).
- 7) Darrow, D. J. and Plapp, F. W.: *J. Econ. Ent.*, 53, 777 (1960).
- 8) Downing, R. S. (1956): *Ref. Brown, A. W. A., Adv. Pest Control Research*, 2, 385 (1958).
- 9) Fay, R. W., Kilpatrick, J. W. and Morris, G. C.: *J. Econ. Ent.*, 51, 452 (1958).
- 10) Geigy (1956): *Ref. Brown, A. W. A., Adv. Pest Control Research*, 2, 351 (1958).
- 11) Gerhardt, P. D. and Wene, G. P.: *J. Econ. Ent.*, 52, 760 (1959).
- 12) Gjullin, C. M. and Issak, L. W.: *Mosquito News*, 17, 67 (1957).
- 13) Hansens, E. J.: *J. Econ. Ent.*, 51, 497 (1958).
- 14) Harris, W. G. and Burns, E. C.: *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 8, 580 (1959).
- 15) Jeppson, L. R., Jesser, M. J. and Complin, M. O.: *J. Econ. Ent.*, 51, 232 (1958).
- 16) Keller, J. C. and Chapman, H. C.: *J. Econ. Ent.*, 46, 1004 (1953).
- 17) 小島建一・石塚忠克・北方節夫: 防虫科学 28, 17 (1963).
- 18) LaBrecque, G. C. and Wilson, H. G.: *Agr. Chem.*, 12, 9, 46 (1957).
- 19) LaBrecque, G. C., Wilson, H. G. and Gahan, J. B.: *J. Econ. Ent.*, 51, 616 (1958).
- 20) Lienk, S. E., Pean, R. W. and Chapman, P. J.: *J. Econ. Ent.*, 45, 1082 (1952).
- 21) Lindquist, A. W.: *Bull. World Health Organization*, 16, 33 (1957).
- 22) March, R. B.: *Misc. Publ. Ent. Soc. Amer.*, 1, 13 (1959).
- 23) Matsumura, F. and Brown, A. W. A.: *J. Econ. Ent.*, 54, 1176 (1961).
- 24) 尾崎幸三郎: ニカメイチュウに対するパラチオン剤の効力地域性連絡試験成績 日本植物防疫協会 p. 126 (1961).
- 25) Schoof, H. F. and Kilpatrick, J. W.: *J. Econ. Ent.*, 51, 546 (1958).
- 26) Sen, P.: *Indian J. Malariol.*, 13, 19 (1959).
- 27) Taylor, E. A. and Smith, F. F.: *J. Econ. Ent.*, 49, 858 (1956).
- 28) 吉井孝雄: 農業及び園芸 37, 66 (1962).
- 29) 吉井孝雄・石本茂: 昭和30年度 病害虫の薬剤防除に関する試験成績 日本植物防疫協会 p. 220 (1955).
- 30) 安富和男: 衛生動物 11, 112 (1960).
- 31) 安富和男: 衛生動物 12, 124 (1961).

Résumé

Owing to the high effectiveness of malathion against the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler, since the first importation to Japan from the U.S.A. in 1953, it has been practically used for controlling this pest throughout Japan.

In the early spring in 1960, however, it has become to difficult to control the green rice leafhopper with malathion in several parts of Kōti prefecture, where malathion has been used since 1955. In September 1961, the authors collected the green rice leafhoppers in Nangoku, Kōti prefecture where malathion has become to be ineffective to control this pest, and reared them successively from generation to generation without any insecticide pressure in a biotron in the Toa Agricultural Chemicals Institute at Odawara, and then carried out an experiment to determine their susceptibilities to malathion. As the standard of comparison, the authors used a strain collected at Kozu, Odawara, Kanagawa prefecture

in April of 1960 and reared successively without any insecticide exposure. It is considered that this population had no experience of contact with malathion in past.

Pure sample of malathion was used for the present experiment.

A half μ l of acetone of a given dosage of malathion was applied topically to the pronotum of female adult which anaesthetized by refrigeration using a micrometer driven syringe.

Experiment was carried out under the condition kept at 25°C. Mortality count was made at 24 hours after treatment.

The results are summarized as follows:

1) Female adults of the green rice leafhopper collected in Kōti in September 1961, showed more

resistance to malathion than those of Odawara strain, showing LD_{50} 's were 4.38 and 0.78 μ g/g respectively, namely Kōti strain was about 5.6 times resistant to malathion than Odawara strain.

2) A subcolony divided immediately after collecting from the original population of Kōti strain and reared without any insecticide pressure, showed gradual decrease of resistance to malathion, while another subcolony selected with LD_{50} of malathion kept the resistance to this compound consistently.

3) In the case of Odawara strain, the population selected with LD_{50} of malathion, showed the tendency of decreasing susceptibility to malathion, and in the 10th generation about 3.3 times tolerant to malathion than the original standard strain.

Mechanism of Resistance to Malathion in the Green Rice Leafhopper, *Nephotettix cincticeps*.
Ken'ichi KOJIMA, Tadayoshi ISHIZUKA and Setuo KITAKATA (Institute of Agricultural Chemicals, Tōa Noyaku Co. Ltd., Odawara, Kanagawa). Received Jan. 14, 1963. *Botyu-Kagaku*, 17, 28, 1963 (With English résumé, 24).

5. ツマグロヨコバイの malathion に対する抵抗性の機構* 小島健一・石塚忠克・北方節夫
(東亜農薬株式会社 農薬研究所) 38. 1. 14. 受理

高知産のツマグロヨコバイが malathion に対して抵抗性を有することは、すでに報告した。その機構を高知産の抵抗性系統と小田原産の非抵抗性系統とをもちいて検討した結果、cholinesterase の活性度やこの酵素の malaoxon に対する感受性とは関係なく、malathion を分解する carboxyesterase 活性の増加に由来するものと考えられた。また malathion 抵抗性ツマグロヨコバイに対して malathion と Dibrom の混合剤が顕著な synergism を示すと同時に、マウスに対して potentiation を示すことを認めた。

さきに著者ら²⁰⁾は高知産ツマグロヨコバイの malathion 抵抗性について報告したが、同時にその機構を追究し若干の知見をえたのでその結果を報告する。

本文に入るにさきだち、終始ご指導とご鞭撻を賜った農林省農業技術研究所深谷昌次博士、尾崎幸三郎博士、名古屋大学弥富喜三教授、東京農業大学山本亮教授に対し、また有益なご助言を賜ったイハラ農薬研究所長沢純夫博士にここに謹んで感謝の意を表する。なお実験に際し、材料の採集、その他に多大のご援助を賜った高知県農業試験場吉井孝雄、石本茂、松崎征美、当研究所椎野明雄、田中文一、山崎純一の各氏に厚くお礼申し上げる。

実験材料および方法

供試昆虫と飼育方法：この実験にもちいたツマグロヨコバイはさきに²⁰⁾その飼育方法と管理の方法とを併せてしるした小田原系統 A と高知系統 B の雌成虫である。

供試薬剤：溶出カラム・クロマトグラフ法で精製した malathion, malaoxon, paraoxon, DDVP, Dibrom をもちいた。

ツマグロヨコバイの生物検定法：ツマグロヨコバイ雌成虫の malathion と malaoxon に対する感受性は、さきに²⁰⁾しるした微量局所施用装置により検定した。また同じ装置をもちいて malathion と Dibrom の連合作用を実験し、その結果の解析は Horsfall¹⁵⁾ の方法にもとずいておこなった。

マウスに対する毒性試験：malathion と Dibrom の混合乳剤のマウスに対する急性経口毒性は、さきに²¹⁾

* 殺虫剤の解毒に関する研究、第11報。本報告の概要は昭和37年4月2日、日本応用動物昆虫学会昭和37年大会において発表した。