

マラソン及びMTMCで淘汰したトビイロウンカのマラソン抵抗性機作

遠藤正造・風野 光・*升田武夫 (九州農業試験場・*農業環境技術研究所)

Shozo ENDO, Hikaru KAZANO and Takeo MASUDA: Mechanism of Malathion Resistance of the BPH Selected by Malathion and MTMC

トビイロウンカの有機リン剤、カーバメート剤に対する薬剤感受性は最近低下してきていることが報告されている。そこで筆者らは本種の薬剤抵抗性発達の予測とその機作解明を行うため、本種をマラソン及びMTMCで淘汰し薬剤抵抗性系統を得た。今回 *in vitro* によるマラソン抵抗性機作について若干の検討を行ったので報告する。

1. 材料及び方法

供試虫：淘汰虫及び無淘汰虫は稲芽出し苗を用いて25℃、16時間照明下で飼育した。

薬剤による虫体ホモジネートのアリエステラーゼ阻害

トビイロウンカの雌成虫60頭を3mlのリン酸緩衝液(1/15M, pH7.2)で磨砕、ナイロンゴースを用いてろ過後、700×g, 10,000×gで各5分間遠沈し、上清をさらに500倍に緩衝液で希釈し酵素液とした。あらかじめ10nmoleの薬剤を加えておいた試験管に0.2mlの酵素液、2.0mlのリン酸緩衝液、600nmoleのβ-Naphthylacetateをアセトン溶液として加えた後、27℃で30分間反応させた。反応終了後1%ジアゾブルー-B・5%ドデシル硫酸ナトリウム(2:5)混合液0.4mlを加え反応を停止させるとともに発色させ、30分後に島津UV-240型分光光度計を用いて555nmにおける吸光度を測定した。

虫体ホモジネートによるマラオクソンの分解 トビイロウンカの雌成虫300頭をリン酸緩衝液15ml(pH 7.2, 1/15M)で磨砕、ナイロンゴースでろ過後、700×g, 10,000×gで各5分間遠沈し上清を酵素液とした。あらかじめ20nmoleのマラオクソンを添加しておいた試験管に所定量の酵素液及びリン酸緩衝液を加え、30℃で1ないし2時間反応させた。反応終了後反応液は6mlの塩化メチレンを用いて4回振とう抽出した。この抽出液を無水Na₂SO₄を通して脱水ろ過後、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固し所定量のアセトンに溶解してFPD付きガスクロマトグラフィーで残存薬剤を定量した。

2. 結果及び考察

マラソン、MTMC淘汰虫のマラソンに対する感受性は

第1表 各系統マラソン及びMTMCに対する感受性

薬剤名	L.D50 (µg/雌)		
	無淘汰	マラソン45回淘汰	MTMC45回淘汰
マラソン	0.05	1.2	0.79
MTMC	0.0078	0.027	0.045

第2表 薬剤添加による虫体ホモジネートのアリエステラーゼ活性の変化

系 統	残 存 活 性 (%)							
	マラソン	マラオクソン	ダイアジノン	ダイアゾクソン	テトラクロロピホス	ジメチルピホス	MTMC	NAC
無 淘 汰	110	56.6	23.3	2.4	17.0	28.7	108	86.1
マラソン45回淘汰	111	37.1	25.8	0.7	7.9	16.1	107	93.3
MTMC45回淘汰	97.5	33.0	24.1	1.1	5.5	15.1	108	86.1

無淘汰系統のその1/24, 1/16で、マラソンに対して速やかに感受性が低下した。MTMCに対する感受性はMTMC淘汰系統で1/6に低下したのみであった(第1表)。

マラソン抵抗性機作については種々の昆虫で調べられているがほとんどの場合、アリエステラーゼ活性の増大によるマラソンの分解によるものとしている。トビイロウンカの場合も MIYATA *et al.* によりこの酵素活性の増大が報告されている。本試験に用いた薬剤淘汰系統でもアリエステラーゼ活性が感受性系統に比べ高かった。*In vitro* において薬剤がアリエステラーゼに及ぼす影響を第2表に示したが、いずれの系統においてもマラソン、MTMC、NACによるアリエステラーゼの阻害はほとんど認められなかった。しかし、ダイアジノン及びオクソン型有機リン剤にはよく阻害された。またオクソン型有機リン剤による阻害度は系統によって異なり、抵抗性系統ではオクソン型の有機リン剤により阻害されやすいアリエステラーゼがいくぶん増加したものと考えられた。MOTOYAMA *et al.* はツマグロヨコバイの有機リン剤抵抗性機作としてオクソン体と結合解毒するアリエステラーゼ(薬剤結合タンパクとしても働く酵素)の増加を認めており、トビイロウンカの場合もこの観点からさらに検討する必要がある。

虫体ホモジネートによるマラオクソンの分解を第3表に示した。各系統とも酵素量を増加させるにつれてマラオクソンの分解は多くなったが顕著な差を見いだすには酵素液を1~2mlとしたほうが良かった。酵素液量を1mlとしたときの両淘汰系統のマラオクソンの分解量は無淘汰系統の5~6倍であった。KONNO and SHISHIDO はニカメイチュウで有機リン剤抵抗性の要因としてオクソンの分解の増大を認めているが、トビイロウンカの場合もマラソン抵抗性の要因の一つとしてマラオクソンの分解活性増大が考えられた。

第3表 虫体ホモジネートにおけるマラオクソンの分解

系 統	酵 素 量	緩 衝 液	反 応 時 間	マラオクソン分解割合
無 淘 汰	0.4 ml	0.6 ml	1時間	0.0%
	1.0	1.0	2	5.6
	2.0	1.0	2	16.8
マラソン45回淘汰	0.4 ml	0.6 ml	1時間	8.1%
	1.0	1.0	2	32.1
	2.0	1.0	2	45.2
MTMC45回淘汰	0.4 ml	0.6 ml	1時間	4.2%
	1.0	1.0	2	28.9
	2.0	1.0	2	39.1