



第1図 穂高系統における4種薬剤のLD<sub>50</sub>値の年次変化(1973年のデータは渋谷<sup>\*)</sup>による)

についてはややLD<sub>50</sub>値が低下している。本剤の使用は1965年で中止され、その後ほぼ10年間経過した現在でもマラチオンに対する抵抗性水準は比較的高い。このことは、マラチオンの使用を中止しても、その抵抗性水準の大幅な低下は望めないことを示しているようである。

#### IV 摘 要

長野県下のツマグロヨコバイの薬剤に対する感受性をイネ幼苗浸漬法と局所施用法により検定した。

1) 県下の9地点から採集した成虫に対するイネ幼苗浸漬法による検定で、マラチオンに対しては県下全般に効果が劣り、ダイアジノン、パミドチオン、BPMCに対しては一部の系統で感受性の低下がみられた。

2) さらに、局所施用法による検定により、松川、穂

高系統は有機リン剤とカーバメイト剤に対して高度な複合抵抗性の発達が認められ、長野系統は有機リン剤のみに中程度の抵抗性を示すことが明らかとなった。

3) 検定結果と過去の防除歴を比べてみると、薬剤抵抗性の発達は過去に散布された薬剤の種類と量に関係が深いことが示唆された。

#### 引用文献

- 1) Hayashi, M. and Hayakawa, M. (1962) Malathion tolerance in *Nephotettix cincticeps* Uhler. Japanese Jour. Appl. Ent. Zool. 6: 250—252.
- 2) Ozaki, K. (1966) Some notes on the resistance to malathion and methyl parathion of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Homoptera: Cicadellidae). Appl. Ent. Zool. 1: 189—196.
- 3) 岩田俊一・浜弘司 (1971) カーバメイト系殺虫剤抵抗性ツマグロヨコバイについて. 防虫科学 36: 174—179.
- 4) 岩田俊一 (1976) ツマグロヨコバイの薬剤抵抗性問題の現状. 関東東山病虫研報 23: 6—10.
- 5) 長野県 (1977). ツマグロヨコバイの薬剤抵抗性に関する試験. 病害虫に関する試験成績: 85—93.
- 6) 尾崎幸三郎・黒須泰久 (1967) ツマグロヨコバイにおける殺虫剤抵抗性. 応動昆 4: 145—149.
- 7) 市川久雄・中村行雄 (1960) 稻黄萎病と栽培法との関係. 関東東山病虫研報 7: 18.

(1977年7月1日受領)

## 薬剤抵抗性ツマグロヨコバイの2, 3の酵素的性質

渋谷 一郎\*・小林 莊一\*\*

(\*八州化学工業株式会社研究所 \*\*長野県農業総合試験場農事試験場)

### I. SHIBUYA and S. KOBAYASHI: Some properties of resistant green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler.

Toxicity (LD<sub>50</sub>) and anticholinesterase activity (I<sub>50</sub>) of BPMC, MTMC, MPMC and malathion for Matsukawa and Hotaka resistant strain and Yashima susceptible strain of the green rice leafhopper were determined. ChEs from Matsukawa and Hotaka strain were found to be insensitive to the four insecticides tested as compared with that from Yashima strain. I<sub>50</sub> values of BPMC, MTMC, MPMC and malathion for ChE from Matsukawa strain were 106.1, 18.4, 6.0 and 6.4 times higher than those of Yashima strain, respectively. ChE from Hotaka strain was also insensitive to these insecticides but I<sub>50</sub> values were not so high as Matsukawa strain. The ratios of I<sub>50</sub> value of three carbamate insecticides for Matsukawa and Hotaka strain to those for Yashima strain paralleled the

resistant ratios of Matsukawa and Hotaka strain. ChE activity in homogenate of Matsukawa strain was a little higher than that of Yashima strain. Non-specific esterase activity in Matsukawa strain was 4.4 times higher than that of Yashima strain.

ツマグロヨコバイのカーバメイト系殺虫剤に対する抵抗性は1961年に愛媛県松山市で発見されて以来、その分布は西南暖地一帯から中部、関東地方にもおよんでいる。長野県においても1970年頃から一部の地域においてある種の有機リン剤やカーバメイト剤によるツマグロヨコバイの防除効果の低下が問題となってきた。小林(1977)は長野県下各地のツマグロヨコバイの薬剤感受性を検定し、安曇地方の松川村と穂高町の個体群で有機リン剤とカーバメイト剤の双方に強い抵抗性が発達していることを確認した。

本報告では長野県下のツマグロヨコバイの抵抗性に関する基本的な特徴を知るために、抵抗性個体群と感受性個体群についてコリンエステラーゼの活性、コリンエステラーゼの薬剤感受性、非特異的エステラーゼ活性を比較検討した。

本文に入るに先だち、本稿の校閲をしていただいた農業技術研究所浜弘司技官に深い謝意を表する。

## I 試験方法

供試した抵抗性ツマグロヨコバイは、1976年8月中旬に北安曇郡松川村、同年12月上旬に南安曇郡穂高町で採集した2系統で、その後4～5世代を経過したものである。この2系統は有機リン剤とカーバメイト剤に抵抗性を示すことが確認されている。比較に用いた感受性系統は、過去にほとんど殺虫剤が散布されていない長野市の八洲化学工業研究所の圃場から1969年に採集し、その後室内で継代飼育してきたものである。供試薬剤はカーバメイト剤としてBPMC(精製品)、MTMC(精製品)、MPMC(95%工業原体)の3種とマラチオン(95%工業原体)を用いた。

供試薬剤は各々所定の濃度にアセトンで希釈し、雌成虫の胸腹部背面に1頭当り0.48 $\mu$ lを局所施用した。処理した虫はイネ芽出しを入れた透明なプラスチック容器(直径8cm×高さ4.5cm)に移し、25 $\pm$ 1 $^{\circ}$ Cの定温室に置き、24時間後に死亡率を調べた。各濃度それぞれ20頭ずつ供試し、3反復で行なった。結果はBlissのプロビット法によって対数薬量—死亡率回帰直線を計算し、それぞれの殺虫剤に対する中央致死薬量(LD<sub>50</sub>)を求めた。

コリンエステラーゼ(以下ChEと略す)活性はHama and Iwata(1971)の方法を一部改変して測定した。1/15 Mリン酸緩衝液、pH7.4で1mlあたり6～8頭の雌成

虫をガラスホモジナイザーを用いて摩砕し、ガラスウールでろ過したものを酵素液とした。この酵素液1mlに2mlのリン酸緩衝液(1/15M, pH7.4)を加えさらにアセチルコリンプロマイド液(2mg/ml)を1ml加え37 $^{\circ}$ Cの恒温槽内で60分間反応させた後、残存している基質をHestrin法で発色させ、530nmで比色定量した。測定は5反復行い酵素活性は酵素液中の蛋白1mgあたりの基質分解量で示した。

酵素液中の蛋白量は測定に用いた各々の酵素液からその1部を取り、蒸留水で6倍に希釈したものについてLowry法によって比色定量した。

カーバメイト剤およびマラチオンによるChE活性の阻害はHama and Iwata(1971)および小島、石塚(1960)の方法に準じてそれぞれ測定した。カーバメイト剤による阻害実験では、まず薬剤が酵素液中で所定の濃度になるように阻害剤のアセトン溶液をマイクロシリンジで所定量取り、溶媒を減圧下で蒸発させた後1mlの酵素液を加え37 $^{\circ}$ Cで15分間阻害させた。次いで、それに2mlのリン酸緩衝液と1mlのアセチルコリンプロマイド液を加え37 $^{\circ}$ Cで60分間反応させた後、阻害されていないChE活性を測定した。

マラチオンによる阻害はカーバメイト剤と同様にマラチオンのアセトン溶液を所定量取り溶媒を蒸発させた後、希臭素水(飽和臭素水をリン酸緩衝液で1250倍に希釈したもの)を0.5ml加えて3分間置き、酵素液を0.5ml加えて37 $^{\circ}$ Cで30分間阻害させた。その後カーバメイト剤の場合と同様な操作を行なった。なおマラチオンは希臭素水で処理しなければ $1.7 \times 10^{-5}$ MでまったくChEを阻害しなかった。実験に用いた濃度では希臭素水はChE活性に何らの影響も認められなかった。

非特異的エステラーゼ活性の測定は、 $\beta$ -ナフチルアセテートを基質としてOzaki and Koike(1965)の方法に準じて行なった。1/10Mリン酸緩衝液、pH7.0で5mlあたり1頭の雌成虫をガラスホモジナイザーを用いて摩砕し、ガラスウールでろ過したものを酵素液とした。基質は $\beta$ -ナフチルアセテート10mgを2mlのアセトンに溶かし、リン酸緩衝液(1/10M, pH6.6)で100mlにしたものを用いた。この基質液2mlを37 $^{\circ}$ Cに5分間加温し、酵素液0.5mlを加え、5分間反応させた後、ファストブルーBソルト液(4mg/ml)0.5mlを加えて発色させた。次いで3分後に20%トリクロロ酢酸液を加え、さらに酢酸エチルを加えて強振し、3500rpmで5分間遠

沈し上澄を 540nm で比色定量した。酵素活性は酵素液 1 ml 中の蛋白質 1 mg あたりの  $\beta$ -ナフトール生成量で表示した。

## II 試験結果と考察

ツマグロヨコバイの供試系統に対する BPMC, MTMC, C, MPMC およびマラチオンの LD<sub>50</sub>値を第 1 表に示し

第 1 表 松川系統, 穂高系統および感受性系統の雌成虫に対する 4 薬剤の LD<sub>50</sub> 値\*

薬 剤	感受性系統	松川系統	穂高系統
BPMC	2.8	141.8 (50.6)**	90.1 (32.2)**
MTMC	3.4	69.1 (20.3)	63.6 (18.7)
MPMC	2.1	39.7 (18.9)	33.0 (15.7)
マラチオン	1.6	146.3 (91.4)	60.2 (37.6)

\* LD<sub>50</sub> 値は虫体重 g 当りの施用薬量  $\mu$ g

\*\* ( ) 内の数値は抵抗性比 (松川系統又は穂高系統の LD<sub>50</sub> 値/感受性系統の LD<sub>50</sub> 値)

た。松川, 穂高系統は検定に用いた 3 種のカーバメイト剤, とくに BPMC に高い抵抗性を示した。両系統はマラチオンに対しても高い抵抗性を示した。

感受性系統と松川系統の ChE 活性および  $\beta$ -ナフトールアセテートを基質に測定したエステラーゼ活性を第 2 表

第 2 表 感受性系統および松川系統の ChE 活性とエステラーゼ活性\*

	感受性系統	松川系統
ChE activity	279.0	344.2
esterase activity	182.0	41.3

\* ChE 活性 (Ach-Br 分解量  $\mu$ g/mg 蛋白/60 分)

エステラーゼ活性 (生成  $\beta$ -ナフトール量  $\mu$ g/mg 蛋白/5 分)

に示した。ChE 活性は松川系統で感受性系統よりやや高かったが, その差はわずかであった。ツマグロヨコバイのエステラーゼ活性は一般に有機リン剤抵抗性個体群で高いことが知られている。本実験においてもマラチオンに高い抵抗性を示した松川系統のエステラーゼ活性は感受性系統に比べ約 4.4 倍と高く, 既知の事実と一致していた。

3 系統の ChE に対する BPMC, MTMC, MPMC, および希臭素水で前処理したマラチオンの I<sub>50</sub> 値を第 3 表に示した。供試した 3 種のカーバメイト剤の I<sub>50</sub> 値は感受性系統に比べ, 松川系統では BPMC で 106.1 倍, MTMC では 18.4 倍, MPMC で 6.0 倍高かった。穂高系統は松川系統にはおよばなかったが, 明らかに感受性系統より高い値を示した。以上のことから松川, 穂高両系統の ChE は 3 種カーバメイト剤に対して感受性が著しく低下していることが明らかである。さらにこの結果は第 1 表に示した 3 種カーバメイト剤の抵抗性比と平行

第 3 表 松川系統, 穂高系統および感受性系統の雌成虫における ChE 活性の 4 薬剤に対する感受性, I<sub>50</sub>(M)

薬 剤	感受性系統	松川系統	穂高系統
BPMC	$9.61 \times 10^{-6}$	$1.02 \times 10^{-3}$ (106.1)*	$3.90 \times 10^{-4}$ (31.2)*
MTMC	$7.76 \times 10^{-5}$	$1.43 \times 10^{-3}$ (18.4)	$3.95 \times 10^{-4}$ (5.1)
MPMC	$4.48 \times 10^{-5}$	$2.68 \times 10^{-4}$ (6.0)	$1.99 \times 10^{-4}$ (4.4)
マラチオン**	$1.60 \times 10^{-7}$	$1.30 \times 10^{-6}$ (8.1)	$9.82 \times 10^{-7}$ (6.1)

\* ( ) 内の数値は感受性系統の値に対する比率

\*\* 小島, 石塚の方法によって希臭素水で前処理したもの

関係にあることが認められた。すなわち著しく高い抵抗性を示す松川系統では, カーバメイト剤に対する ChE 感受性が中程度の抵抗性である穂高系統よりさらに低くなっている。

松川系統および穂高系統の ChE に対する希臭素水で前処理したマラチオンの I<sub>50</sub> 値は, 感受性系統と比べるとそれぞれ 8.1 倍, 6.1 倍と高かった。しかし松川, 穂高の 2 系統はマラチオンに対して高い抵抗性を示し, エステラーゼ活性も高いことから, 2 系統のホモジネート中に存在するマラチオン分解酵素活性の影響も無視できない。したがってマラチオンの I<sub>50</sub> 値における系統間の違いが希臭素水で前処理したマラチオンに対する ChE 感受性の違いにもとづくものか, ホモジネート中のマラチオンが分解されたために生じたものか, 本実験の結果から判断できなかった。しかし松川, 穂高系統のマラチオンに対する抵抗性比が 91.4 倍, 37.6 倍であることを考えると, ChE の感受性の変化が両系統のマラチオン抵抗性に関与している程度はあっても軽微と思われる。

本種のマラチオン抵抗性の主因はカルボキシエステラーゼ活性の増大であり, カーバメイト剤に対する抵抗性は ChE のカーバメイト剤に対する感受性の低下<sup>4,8)</sup>であるといわれている。本実験の結果から松川, 穂高系統はこの両方の因子をあわせて保持していることが示された。したがって両抵抗性系統間の有機リン剤およびカーバメイト剤に対する複合抵抗性は, 主にこれら 2 つの因子によっているのではないかと考えられた。

## III 摘 要

1) マラチオン, ダイアジノンおよび数種のカーバメイト剤に強い複合抵抗性を示す松川と穂高系統のツマグロヨコバイの *in vitro* でのコリンエステラーゼの活性と薬剤に対する感受性, および非特異的エステラーゼの活性を調べた。

2) BPMC, MTMC, MPMC, およびマラチオンの *in vitro* での ChE 阻害量 (I<sub>50</sub>) は松川, 穂高系統では感受性系統に比べ高かった。

3) 松川系統は感受性系統に比べ ChE 活性はわずか

に高かったが、エステラーゼ活性は約 4.4 倍高い値を示した。

4) 複合抵抗性を示す松川と穂高系統は、エステラーゼ活性が高く、薬剤感受性の低い ChE を合わせて保有していることが確認された。

引用文献

1) 岩田俊一・浜弘司 (1971) カーバメイト系殺虫剤抵抗性ツマグロヨコバイについて. 防虫科学 36: 174~179. 2) 岩田俊一 (1976) ツマグロヨコバイ薬剤抵抗性問題の現状. 関東東山病虫研報 23: 6~10. 3) 小林荘一 (1977) 長野県の薬剤抵抗性ツマグロヨコバイ. 北陸病虫研報 25: 60~63. 4) Hama, H. Iwata, T. (1971) Insensitive cholinesterase in the Nakagawara strain of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Hemiptera: Cicadelli-

dae) as a cause of resistance to carbamate insecticides. Appl. Ent. Zool. 6: 183~191. 5) 小島建一・石塚忠克 (1960) 有機リン殺虫剤の酵素微量定量に及ぼす人血コリンエステラーゼの活性と試験管内転位の影響. 防虫科学 25: 30~41. 6) Ozaki, K. and Koike, H. (1965) Naphthyl acetate esterase in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler, with special reference to the resistant colony of the organophosphorus insecticide. Japanese Jour. Appl. Ent. 9: 53~58. 7) 小島建一・石塚忠克・北方節夫 (1963) ツマグロヨコバイの Malathion に対する抵抗性の機構. 防虫科学 28: 17~25. 8) 浜弘司・岩田俊一 (1973) ツマグロヨコバイにおけるカーバメイト系殺虫剤抵抗性とその機構. 応動昆 17: 154~161. (1977年7月1日受領)

トマトかいよう病菌のビニールハウス内における生存様相\*

杉本義則\*\*・菅 正道\*\*\*

(\*\*福井県農業試験場・\*\*\*佐賀県農業試験場)

Y. SUGIMOTO and M. KAN: Survival of *Corynebacterium michiganense* in soil in the plastic greenhouse

トマトかいよう病の土壌伝染は複雑な様相を呈するようである。特に、施設内での本病原菌の越冬に関しては不明の点も少なくないので、これについて若干の試験を行った。

本試験を行うに当り、農林省農業技術研究所細菌病第2研究室からかいよう病菌を、更に植松 勉技官からはこの抗血清を分譲して頂くなど多大の援助を賜わった。また、福井県立短期大学助教授伊阪実人博士には多くの教示を頂き、当農試環境部長奈須田和彦博士には校閲を賜わった。記して深謝の意を表する。

I 実験方法

かいよう病罹病茎からの菌検出 没根接種した幼苗を3カ月間栽培、罹病茎を10cm長に切断し、その100gを通気性のある薄紙で包み露地およびビニールハウスの所

定の深さに設置した(7月22日)。また、幼苗の罹病茎1gを風乾土10gと混合、殺菌水4.2ml(畑地状態水分量)を注加した後、所定の温度に保った。菌検出はB・E法で行った。その方法は、罹病茎を殺菌水で磨碎、サラシ布でろ過し6,000 rpm, 15分間遠沈、沈渣にイネ白葉枯病菌用脇本培地から寒天を除いた液体培地(以下半合成液体培地と略す)1mlを加え、これを本葉4枚のトマト幼苗の葉先に、昆虫針No. 2, 50本束針で針接種した。B・Eは2週間後に観察し、抗血清による凝集反応もしくは菌分離で同定した。かいよう病菌は農技研N6601菌を供し、半合成液体培地で25°C, 3日間振とう培養した後、6,000rpm, 10分間遠沈、沈渣に殺菌水を加えて接種に供した。

かいよう病菌接種土壌からの菌再分離 湿熱殺菌した風乾土200gに本菌懸濁液(10<sup>10</sup>/ml)を畑地状態水分含量になるように70ml注加した。菌の再分離はKadaら

\* 福井県農業試験場環境部病理昆虫科投稿 No. 59 (病)