

カイコに対する殺虫剤の投与が後代に及ぼす影響 (3)

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
著者	山野井, 文夫
巻/号	50巻4号
掲載ページ	p. 282-287
発行年月	1981年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



カイコに対する殺虫剤の投与が後代に及ぼす影響

Ⅲ 産下卵の孵化に影響を及ぼす有機 リン殺虫剤の投与時期並びに薬量

山野井文夫

松本市・農林水産省蚕糸試験場中部支場 (〒 390)
(1981年2月20日受理)

有機リン殺虫剤のMPP, EPNなどをカイコ幼虫に連続投与すると産下卵の多くが催青死卵となり孵化率が著しく低下し、孵化できたものも中毒死したり、生き残っても計量形質が劣化することなどが明らかになった(山野井, 1980; 1981)。また、それらの産下卵からは投与薬剤そのものがガスクロマトグラフ分析によって検出された(山野井, 1979)。これら一連の実験結果から、カイコ幼虫へ投与した薬剤が蛹から成虫を経て卵に移行して残留し、胚発育の末期に毒作用を発揮したものと考えられ、有機リン剤の慢性影響としてとらえることができた。

一般に、有機リン殺虫剤は塩素系殺虫剤などと比べ、生体内で分解されやすく蓄積性も少ないとされている(山本, 1966; 福永, 1976) 薬剤であるだけに、カイコにこのような悪影響を及ぼすことは注目に値する。そこで、これら薬剤がカイコの孵化に影響を及ぼす要因と作用特性を究明する目的で、雌雄別、投与薬量別、幼虫期から蛹期にかけての投与時期別に孵化に及ぼす影響を調べたところ、いくつかの知見が得られたので報告する。

本文に入るに先だち、この研究を進めるにあたってご指導とご助言をいただいた蚕糸試験場中部支場の栗林茂治養蚕研究室長、本稿のご校閲を賜った同小平宗男支場長に対し心から御礼申し上げる。

なお、本研究は環境庁の特別研究「環境汚染の生物に与える慢性影響の解明に関する総合研究」の一環として行ったものである。

材料と方法

供試薬剤はMPP (Baycid), EPN, MEP (Su-

mithion), malathion の有機リン殺虫剤4種で、乳剤として製剤になっているものを主としたが、注射投与には標準品(和光純薬製)を用いた。これらは使用にあたって、水あるいはアセトンで所定濃度(供試蚕の半数程度が致死する濃度を最高に1/2段階で3-5濃度、有効成分をもとに表示)に希釈した。

カイコへの投与は添食法と注射法によった。添食法では薬液を濃度別に摘葉桑に1ml/10gの割合で散布し、ポリ袋に貯蔵し5齢幼虫に所定期間投与した(雌雄および5齢投与時期と孵化との関係の試験)。注射法では薬液を微量注射器によって、幼虫あるいは蛹の背面皮下に5 μ l/1頭あて注入した(投与薬量および幼虫期・蛹期への投与と孵化との関係の試験)。

供試蚕品種は支124号または支137号で、薬剤投与時以外は普通に飼育し、常法にしたがって採種、人工孵化処理、催青などを行い、孵化後1区あたり20蛾程度について肉眼観察によって催青死卵数や孵化率などを調べた。注射投与における薬量と孵化率の関係は、BlissのProbit分析法(菅原, 1959)によって求めた。

結 果

1. 薬剤投与における雌雄の違いと産下卵の孵化
産下卵の孵化に及ぼす影響が雌雄によって違うかどうかを明らかにするため、薬剤を投与したものと無投与のものとを交配して孵化率の違いをみた。5齢期間中MPPを投与した結果を示すと第1表のようであった。

第1表 MPP 投与における雌雄の違いと産下卵の孵化率

交配形式	投与濃度		
	0.013%	0.025%	0.05%
雌×雄			
薬剤投与 × 薬剤無投与	19±21%	0%	0%
薬剤無投与 × 薬剤投与	88±5	88±8	90±8
薬剤投与 × 薬剤投与	20±26	0	0

薬剤を雌にのみ投与し、無投与の雄と交配した場合の孵化率はきわめて悪く、投与濃度によって差はあるが、悪影響を及ぼすことは明瞭であった。そして、影響の程度は薬剤を雌雄ともに投与した場合とほぼ一致していた。これに対し、薬剤を雄に投与し無投与の雌と交配させた場合の孵化率は88—90%で正常と変わりなく、投与濃度による差もみられなかった。これらのことから、産下卵の孵化への悪影響は薬剤を雌に投与した場合に限って生起し、雄に投与しても関係ないことが分った。これは薬剤に対する感受性の雌雄差によるものではなく、雌雄における生理的な違いによるものと推察され、薬剤の作用機構の究明などに重要な手掛りになるものと考えている。

このような雌雄による影響の違いは EPN 投与の場合も同様であった。

2. 幼虫への投与時期と産下卵の孵化

5 齢期を前期（桑付け—48時間後）、中期（48時間後—96時間後）、後期（96時間後—上簇）に分け、MPP をそれぞれこの期間中のみ添食投与し、それ以外は普通桑を給与して薬剤の投与時期と産下卵の孵化の関係を調べた。その結果は第2表のようであった。

0.013% 液を前期のみ投与した場合の孵化率は90%を示し影響は認められなかった。しかし、同液を中期に投与すると67%に低下し、さらに後期投与で

第2表 幼虫に対する MPP の投与時期と産下卵の孵化率

投与濃度	5 齢投与時期		
	前期	中期	後期
0.013%	90±4%	67±21%	18±25%
0.025	79±14	0.1±0.2	0
0.05	30±40	0	0

は18%と著しく低下した。0.025% あるいは0.05% の投与においては、前期でも影響があらわれたが中期および後期ではほとんど孵化がみられなかった。

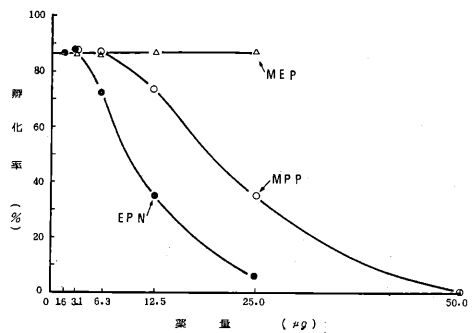
また、5 齢2日目、4日目、6日目の幼虫に MPP 25 μg を注射投与した場合の産下卵の孵化率はそれぞれ90%、77%、26%となって、添食投与の場合と同じ傾向であった。

これらのことから、MPP の孵化への影響は投与時期によって差があり、前期投与では影響が少なく、中期投与がこれにつき、後期投与は顕著に影響を及ぼすことが判明した。

3. 幼虫への薬剤投与量と産下卵の孵化

MPP と EPN を添食した場合の孵化に影響を及ぼす薬液濃度は前報（1980）で明らかにしたが、投与薬量と孵化の関係を明らかにしておくことも必要と考えられる。そこで、MPP、EPN、MEP の3薬剤を注射法によって5 齢6日目の雌幼虫（体重3.28g）に薬量別投与を行って、産下卵の孵化率を調べた。その結果は第1図に示すような薬量—孵化率曲線となった。

MPP の場合の孵化率は 6.3 μg までは薬剤無投与区と変わらないが、12.5 μg から低下がみられ 50 μg では0%となった。EPN の場合の孵化率は3.1



第1図 5 齢末期幼虫に対する投与薬量と産下卵の孵化率
5 齢6日目の雌幼虫に注射投与

第3表 投与薬量と孵化率の関係のプロビット分析

薬 剤	回 帰 式 Y =	孵化阻害50%を引き起こす1頭あたりの薬量	孵化に悪影響を及ぼさない1頭あたりの限界薬量
MPP	7.992-2.512X	15.53 (4.73) μg	5.77 (1.76) μg
EPN	7.918-3.074X	8.90 (2.71)	3.96 (1.21)

Y：プロビット孵化率，X：log 薬量，括弧内は体重1gあたりの薬量

μg までは正常であったが，6.3 μg から低下し25 μg では6%となった。これに対し MEP の場合は，幼虫が致死する限界に近い25 μg の投与においても87%の孵化率を示したことから，ほとんど影響はないものと考えられた。

MPP と EPN の投与量と孵化との関係を Probit 分析法を適用して調べてみると第3表のようになった。

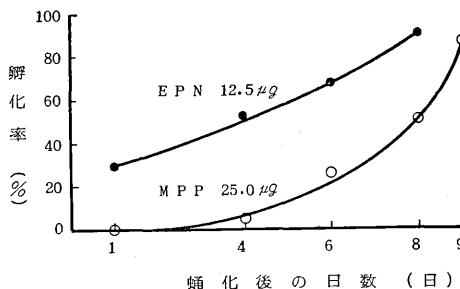
孵化に悪影響を及ぼさない（薬剤無投与区と同じ孵化率の86%を示す）薬量の限界は1頭あたり MPP 5.77 μg ，EPN 3.96 μg であり，体重1gあたりのそれは MPP 1.76 μg ，EPN 1.21 μg とみなされた。また，孵化阻害50%を引き起こす薬量は1頭あたり MPP 15.53 μg ，EPN 8.90 μg であった。5齢末期幼虫に注射投与した場合の LD_{50} 値は，1頭あたり MPP 250.0 μg ，EPN 30.4 μg であったから，これらの薬量に比べ孵化阻害50%を引き起こす薬量は MPP では1/16，EPN では1/3という微量であって，孵化に対する影響は致死量よりかなり低薬量で生じることが分った。

4. カイコ蛹への薬剤投与と産下卵の孵化

蛹期は卵形成に重要な時期であるとともに，投与薬剤は体外に排泄されないので影響の解析がしやすい。そこで，薬剤を注射法によって雌蛹に時期別あるいは薬量別に投与し，羽化後薬剤無投与の雄と交配して産卵させ孵化への影響をみた。

MPP と EPN を用い，同一薬量を蛹化1日，4日，6日，8日，9日目にそれぞれ投与し孵化率を調べると第2図のようになった。

両薬剤とも蛹化初期への投与ほど産下卵の孵化に対する影響は顕著であって，大多数を催青死卵にした。投与が後期になるにしたがって孵化率は順次上昇し，特に8日目以降の投与では影響がみられなかった。これらのことから，薬剤の蛹への投与においても孵化との関係は投与時期によって異なり，前



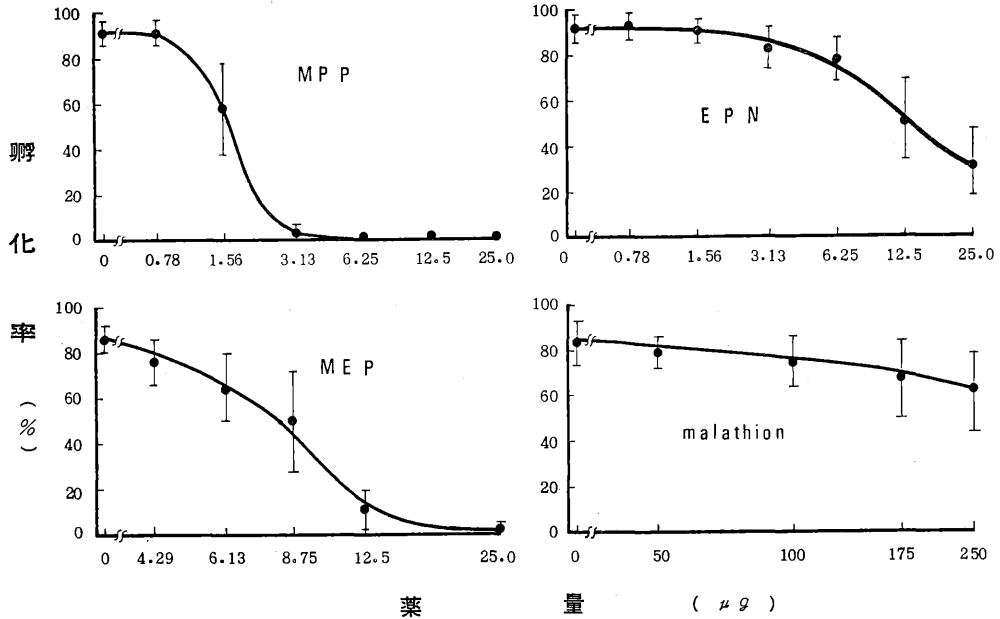
第2図 蛹に対する薬剤の投与時期と産下卵の孵化率

期，特に蛹化初期の投与が最も影響の大きいことが分った。

つぎに MPP，EPN，MEP ならびに malathion の4薬剤を薬量別に雌蛹に投与して孵化との関係をみた。その結果は第3図のようであった。

MPP (蛹化1日目に投与) の場合の孵化率は0.78 μg では正常であったが，これより薬量を増すにしたがって低下し，6.25 μg 以上では孵化するものがなかった。EPN は蛹化4日目に投与したが，1.56 μg までは孵化に影響が認められなかった。しかし3.13 μg 以上で悪影響があらわれ，25 μg 投与の孵化率は26%と低下した。

MEP と malathion はカイコ幼虫に投与しても産下卵の孵化に影響を及ぼさない薬剤である (山野井，1980) が，MEP を蛹 (蛹化1日目) に投与したところ，孵化率は4.29 μg で76%，8.75 μg で50%と薬量を増すにしたがって低下し，悪影響を及ぼすことが明らかとなった。しかし，malathion の場合は薬量を増すと早期死卵や催青死卵の発現がわずかに多くなり，そのため孵化率は若干低くなったが致死限界に近い投与量でも MPP や EPN 投与におけるような歴然とした低下はみられなかった。したがって，malathion は幼虫期，蛹期いずれの時期に投与しても孵化に悪影響を及ぼすことは少ない。



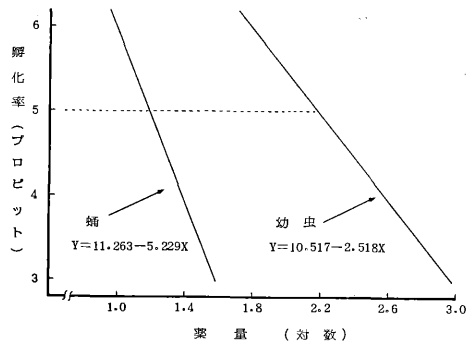
第3図 蛹に対する投与薬量と産下卵の孵化率
MPP, MEP, malathion は蛹化1日目, EPN は蛹化4日目に注射投与

考 察

産下卵の孵化への影響は薬剤を雌に投与した場合に限られることから、雌に起因することが明瞭となった。それ故、要因の解析にあたっては雌体内における卵形成とのかかわりにおいて検討する必要がある。

薬剤が卵に移行しやすい時期は、MPPの一定量(25 μg)を5齢初期から蛹期末まで時期別に投与した場合の孵化率からみて蛹化初期とみなされた。そこで、5齢6日目(第1図)と蛹化1日目(第3図左上)に投与した場合の薬量と孵化率の関係をProbit分析し、回帰直線によって比較すると第4図のような違いになった。この図から孵化阻害を50%引き起こす薬量をみると、幼虫への投与では1頭あたり15.53 μgであるのに対し、蛹への投与ではその約1/10量の1.58 μgであった。この薬量差は幼虫へ投与した薬剤が蛹期までに解毒、分解、排泄などによって作用力を失った量に相当するものと考えられる。

カイコ体内における卵形成の過程において、蛹期は体内諸組織に含まれていた物質が体液中に出て、



第4図 幼虫期と蛹期におけるMPPの投与量と孵化率の関係の比較
Y: プロビット孵化率 X: log 薬量
薬量は計算の都合上10倍してある

卵巢、卵管に集積する時期である。蛹化初期は栄養細胞が盛んに活動し、卵母細胞に栄養物質を流入し、また包卵被膜細胞も分裂増殖する。そして、卵黄膜の形成に引き続き包卵細胞より卵殻分泌が中期頃からはじまり、後期の蛹化9日目頃には卵殻形成がほぼ終る(小沢, 1959; 松崎, 1968)といわれている。蛹体内に残留していた薬剤も栄養物質などが

卵母細胞に流入する蛹化初期と一緒にとり込まれるものであって、蛹期末になって卵殻形成が完了してしまえば卵への移行も起こらないものと推察される。

MPP, EPN, MEP, malathion の4薬剤を幼虫期、蛹期にそれぞれ投与した場合における産下卵の孵化に対する影響を一括すると、幼虫期、蛹期ともに影響を及ぼす MPP, EPN, 蛹期のみ影響を及ぼす MEP, 何れの時期に投与しても影響のない malathion などに分けることができた。このように同じ有機リン剤であっても孵化への影響という点では異なる作用特性を示したことは、生体内における薬剤の挙動や作用の違いなどを知るうえで興味深い。

有機リン殺虫剤のカイコに対するこのような影響は、他の昆虫に対しても同様であるかは今後検討されなければならないが、害虫に対して殺卵作用があるならば生殖阻害という新しい防除法の手がかりになることも期待される。

摘 要

有機リン殺虫剤 MPP, EPN などがカイコの孵化に悪影響を及ぼす要因を調査し、つぎのような作用特性を明らかにした。

1. MPP と EPN を雌雄別に投与して産下卵の孵化を調べたところ、雌に投与した場合に限って孵

化率は低下した。

2. MPP, EPN の投与（添食または注射）の時期による孵化への影響は、蛹化初期が最も顕著であり、続いて蛹化中期、5齢後期、5齢中期、5齢前期の順となり、蛹期末では影響がみられなかった。

3. 産下卵に孵化阻害50%を引き起こす薬量は5齢後期に投与した場合、1頭あたり MPP 15.53 μg （致死量の約 1/16）、EPN 8.90 μg （致死量の約 1/3）であった。蛹化初期に MPP を投与した場合のそれは1頭あたり 1.58 μg と微量であった。

4. MEP は蛹期に投与した場合のみ影響があり、malathion は何れの時期に投与しても影響が認められなかった。

文 献

- 福永一夫(1976)：農薬ハンドブック，pp.2，日本植物防疫協会，東京。
 松崎守夫(1968)：日蚕雑，37，483-490。
 小沢民治(1959)：日蚕雑，28，211-219。
 菅原寛夫(1959)：昆虫実験法（深井・石井・山崎編），pp.700-707，日本植物防疫協会，東京。
 山本 亮(1966)：農薬学，pp.101，南江堂，東京。
 山野井文夫(1979)：日蚕講要，(49)，57。
 山野井文夫(1980)：日蚕雑，49，434-439。
 山野井文夫(1981)：日蚕雑，50，83-87。

Summary

Effect of insecticides on progeny in the silkworm, *Bombyx mori*.

**III. Effect of the stage and the dose of application of
organophosphorus insecticides on hatching**

by

Fumio YAMANOI

Organophosphorus insecticides, such as MPP, EPN, MEP and malathion, were administered to larvae of the silkworm and the effect on hatching or eggs laid by them was examined.

1. EPN or MPP was administered to the male and female groups of silkworm separately and found to reduce the hatchability abruptly only when administered to the female.

2. The application EPN or MPP at the end of the fifth larval instar (oral administration) and at the early pupal stage (injection) resulted an adverse effect on hatching.

3. The dose of the insecticides causing a 50% reduction of hatchability was 8.90 μg for EPN and 15.53 μg for MPP per larva, when administered at the end of the fifth instar. It was 1.58 μg per individual for MPP, when injected at early pupal stage.

4. MEP exerted an adverse effect only injected at pupal stage. No effect was recognized with malathion, even when applied at any developmental stages from larva to pupa.

(*Chūbu Branch, Sericultural Experiment Station, Matsumoto, Nagano* 〒390)