

氏名(本籍)	そね しんざぶろう 曾根 信三郎(神奈川県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博乙第1,491号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	ヒメトビウンカにおける imidacloprid 抵抗性機構の研究
主査	筑波大学教授 農学博士 正野俊夫
副査	筑波大学教授 農学博士 臼井健二
副査	筑波大学併任教授 農学博士 濱弘司 (農業環境技術研究所)
副査	筑波大学助教授 農学博士 本田洋

論文の内容の要旨

この研究は新殺虫剤 imidacloprid 抵抗性の機構を解明する目的で行われた。実験室で累代飼育されているヒメトビウンカの有機リン剤・カーバメート剤抵抗性系統(N系統)が imidacloprid に対し交差抵抗性を示すことが明らかになったので、この系統を使って抵抗性の機構の解明を行った。有機リン剤、カーバメート剤の解毒に関与し、これらの殺虫剤の抵抗性の機構として働いている P450 酸化酵素の阻害剤 PBO, TCBE と加水分解酵素の阻害剤 DEF が N 系統において imidacloprid に共力効果を示さなかったため、これらの解毒酵素は抵抗性の機構として働いていないことが推定された。次に ^{14}C で標識された imidacloprid を用いて代謝実験を行った。In vitro

の代謝実験では imidacloprid は P450 酸化酵素によって、イミダゾリジン環の C5 の位置が水酸化することによって生じる水酸化代謝物(I-OH)と I-OH が非酵素的に脱水化されることによって生じるオレフィン代謝物(I-Olefin)に代謝されることが示された。N 系統は、S 系統に比べてより多くの I-OH と I-Olefin を生成することが明らかになった。しかし、I-OH と I-Olefin は高い殺虫活性を有しており、I-OH や I-Olefin の生成は imidacloprid の解毒にはなっていないことが明らかになった。

次に、標識された imidacloprid をヒメトビウンカに局所塗布して、in vivo の代謝試験を行った。S 系統と N 系統との間に、imidacloprid の皮膚透過性に差が認められなかった。In vivo 試験の代謝物として、I-OH、I-Olefin および高極性代謝物が検出された。代謝物の動態をみると、N 系統では、虫体内の殺虫活性化合物(imidacloprid + I-OH + I-Olefin)の量が時間を経ても変化せず、殺虫活性を持たない高極性代謝物の量が時間の経過とともに増加した。一方、S 系統では、殺虫活性化合物の量が時間の経過とともに増加し、高極性代謝物の生成も少なかった。このことは、imidacloprid から、I-OH や I-Olefin の生成が imidacloprid に対する抵抗性機構に関与していないことと、高極性代謝物の生成が imidacloprid に対する抵抗性機構に重要な働きをしていることを示している。

Imidacloprid の活性代謝物である I-OH、I-Olefin をヒメトビウンカに局所塗布して in vivo での代謝を調べた。N 系統は、imidacloprid の代謝と同様に、いずれの代謝物においても S 系統に比べて多くの高極性代謝物を生成した。S 系統は、I-OH から I-Olefin を多く生成したが、高極性代謝物の生成は少なかった。これらのことから、S 系統は、I-OH から I-Olefin を生成するものの、高極性代謝物の生成を行うことができないのに対し、N 系統は、I-OH から I-Olefin を生成後、さらに高極性代謝物を生成できるものと推測された。N 系統において認められた高極性代謝物は、塩酸によってほとんど分解されなかったが、 β -glucuronidase または β -glucosidase のような加水分解酵素、特に β -glucosidase によって容易に分解され、imidacloprid と I-Olefin がアグリコンとして同定さ

れた。このことから、高極性代謝物は imidacloprid および I-Olefin との抱合代謝物で、イミダゾリン環またはイミダゾリジン環の N の位置に結合したグルコサイドであると推測された。

ヒメトビウンカ N 系統における imidacloprid に対する抵抗性機構は次のように考えられた。Imidacloprid は、MFO の働きにより水酸化され I-OH に、さらに I-OH は非酵素的に脱水化され I-Olefin へと代謝される。N 系統は、imidacloprid や I-Olefin から殺虫活性のない抱合体を生成することができるのに対し、S 系統は、抱合体を生成することができず、殺虫活性のある化合物が体内に蓄積することとなる。抱合体生成能力の差が、ヒメトビウンカ N 系統における imidacloprid に対する感受性の差になった。ヒメトビウンカ N 系統における imidacloprid に対する抵抗性機構は、従来昆虫では二次代謝にしか関与しなかった抱合体生成が一次代謝として imidacloprid を解毒することによるもの結論された。この研究は抵抗性の機構として抱合解毒が直接働いていることを証明した最初の例である。

審 査 の 結 果 の 要 旨

Imidacloprid はネオニコチノイド系殺虫剤の先駆けとなった新規殺虫剤で、ウンカ、ヨコバイをはじめとする多くの農業害虫の防除剤として世界的に急速に普及している。この研究は将来出現するであろうと予想される imidacloprid 抵抗性害虫の抵抗性の機構を予め解明しようという目的で、imidacloprid に抵抗性を示すヒメトビウンカを用いて行われた。従来、種々の殺虫剤に対する抵抗性の機構として働いてきた皮膚の透過性の低下、解毒酵素としての加水分解酵素や P450 酸化酵素の活性上昇などが imidacloprid の抵抗性の機構としては働いていないことが先ず明らかにされた。代謝試験の結果、P450 酸化酵素によって I-OH 代謝物と、I-OH 代謝物が脱水してできる I-Olefin 代謝物が生成するが、I-OH、I-Olefin の両化合物共に高い殺虫活性をもっていることが判明し、P450 酸化酵素によるあ imidacloprid の代謝は解毒でないことが明らかにされた。In vivo の代謝試験から、抵抗性の N 系統では体内の活性化合物 (imidacloprid + I-OH + I-Olefin) の量が少なく、高極性代謝物の生成量が多い。一方、感受性の S 系統では活性化合物の量が多く、高極性化合物の生成量は少ないことが分かった。高極性代謝物には殺虫活性はまったく認められなかった。これらのことから抵抗性の要因は高極性代謝物の生成量の増加であることが示された。高極性代謝物は β -glucosidase などの加水分解酵素によって分解され、代謝物として imidacloprid と I-Olefin が得られたので、高極性代謝物は imidacloprid と I-Olefin のグルコサイドであると推定された。抵抗性系統における糖抱合活性の上昇という、全く新しい殺虫剤抵抗性の機構を発見したことは注目に値する。

以上、ネオニコチノイド系の新殺虫剤 imidacloprid について、抵抗性のヒメトビウンカを用いて、その抵抗性機構を追求し、糖抱合活性の上昇という全く新しい抵抗性の機構を発見し、世界的に広く使われているこの殺虫剤に対して、将来出現するであろう抵抗性害虫についてその対策を立てるための貴重な情報を提供したことは、基礎、応用の両面から高く評価される。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するもの認める。