[短報]

屋内塵性ダニの卵に対する脱酸素剤の致死効果

亀崎 宏樹^{1*}・大橋 和典^{2†}・石原 圭朗¹・佐々木 義昭¹・高藤 晃雄²

¹ ライオン株式会社薬品第 2 研究所, 〒969-0264 福島県西白河郡矢吹町中畑 464

² 京都大学大学院農学研究科生態情報開発学研究室, 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
(受領: 2007 年 2 月 19 日; 掲載決定: 2007 年 5 月 7 日)

ABSTRACT

Lethal effects of two types of oxygen absorbers on the eggs of three house dust mites, *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus*, and *Tyrophagus putrescentiae*. Hiroki KAMEZAKI (Pharmaceutical Research Laboratories No. 2 Pharmaceutical Products Division, Lion Corporation, Fukushima 969-0264, Japan), Kazunori OHASHI[†] (Laboratory of Ecological Information, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan), Keiro ISHIHARA, Yoshiaki SASAKI (Pharmaceutical Research Laboratories No. 2 Pharmaceutical Products Division, Lion Corporation, Fukushima 969-0264, Japan), and Akio TAKAFUJI (Laboratory of Ecological Information, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan)

The lethal effects of two types of oxygen absorbers on the eggs of the house dust mites, *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus*, and *Tyrophagus putrescentiae* were studied. For *D. farinae*, and *D. pteronyssinus*, the mortality obtained after 2 days in an air-tight container with iron (Fe)-type oxygen absorbers was 100%, while an ascorbic-acid-type oxygen absorber needed 5 days to obtain 100% mortality. On the other hand, the two types of oxygen absorbers showed no significant lethal difference on *T. putrescentiae*.

Key words: *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus*, *Tyrophagus putrescentiae*, house dust mites, oxygen absorber

緒言

貯穀害虫や文化財害虫の防除に使われてきた臭化メチル燻蒸の代替法として, 密閉環境の空気組成を害虫の発生に不適になるように改変する CA (controlled atmosphere) 貯蔵法がある. この方法は, 貯蔵場所を完全に密封すれば, 害虫がいずれ酸素を使い果たして二酸化炭素が充満する原理にもとづき (吉田, 1981), 酸素濃度を 1% 以下に下げると, 二酸化炭素濃度を 60% 以上に上昇させることで, さまざまな害虫を効果的に死亡させることができる (Bailey and Banks, 1980; 吉田, 1981).

脱酸素剤は食品の酸化防止を目的として開発され, 密閉容器内に封入すれば容易に酸素濃度を 1% 以下にすることができる. また, 脱酸素剤は化学反応が異なる 2 つのタイプに大別でき, 鉄系では酸素を吸収するだけであるのに対し, アスコルビン酸に代表される有機系では吸収した酸素と同量の二酸化炭素を発生する. そのためアスコルビン酸系では低酸素状態と高い二酸化炭素濃度の相乗効果によって効果的に害虫を駆除できる可能性がある.

* 連絡先著者: e-mail: kamehiro@lion.co.jp

[†] 現在: 長崎大学熱帯医学研究所生物環境分野, 〒852-8523 長崎市坂本 1-12-4

脱酸素剤は化学物質による燻蒸と異なって残留毒物の問題もないことから、これまでも食品や文化財の害虫防除や (Gilberg, 1990; 木川ら, 2001; 大口ら, 1983; 相馬ら, 1995; Tarr and Clingeffer, 2005), 屋内塵性ダニ類の防除が試みられている (田中, 1990, 1993; Tatsuki and Fukami, 1984). しかし, それらは全て鉄系によるものであり, 酸素濃度低下による致死効果のみが論じられてきた.

筆者らは前報 (亀崎ら, 2005) で, アレルギー疾患のアレルゲンとして重要なヒョウヒダニ 2 種を含む屋内塵性ダニ 3 種の成虫に対する鉄系およびアスコルビン酸系の脱酸素剤の致死効果を比較し, 鉄系の効果がアスコルビン酸系に比べ高いことを報告した. 本報告はその報告に続き, 脱酸素剤の卵に対する致死効果を調査した. 低酸素濃度や高二酸化炭素濃度に対する反応は発育ステージによって異なることが一部の貯穀害虫やダニで知られており (例えば, 相馬ら, 1995; Tatsuki and Fukami, 1984), 屋内塵性ダニにおいても, 卵に対する脱酸素剤の防除効果が鉄系とアスコルビン酸系で成虫とは異なる可能性がある. 従って, 防除効果をより適切に評価するためには異なる 2 タイプの脱酸素剤を用いて発育ステージごとに効果を評価する必要がある. 本報告では, 寝具やぬいぐるみ, あるいは貯蔵食品などを封入した実用場面を想定して, 屋内塵性ダニ類の防除に適した脱酸素剤の種類と密封期間を明らかにした.

材料と方法

供試ダニ

実験には, コナヒョウヒダニ *Dermatophagoides farinae* Hughes, ヤケヒョウヒダニ *D. pteronyssinus* (Trouessart) およびケナガコナダニ *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (いずれも東京女子医大系統) を用いた. 2 種のヒョウヒダニには乾燥酵母エビオス® (アサヒフードアンドヘルスケア (株)) と煮干を重量比で 1:1 に混合粉碎したものを, ケナガコナダニには乾燥酵母エビオス® のみを与えてシャーレ内で飼育した. シャーレはいずれも 25°C, 16L8D, 75%RH に調節したコンテナ内で維持した (亀崎ら, 2005).

供試脱酸素剤

実験には, 亀崎ら (2005) が調べた脱酸素剤の中から, 2 種ヒョウヒダニ成虫に対して効果が比較的高かったものを, 鉄系とアスコルビン酸系からそれぞれ 1 種ずつを選んだ. すなわち, 鉄系ではバイタロン® PH-2500 ((株) 常盤産業), アスコルビン酸系では YC-500PW (ドレンシー (株)) を供試した. これらの脱酸素剤はいずれも 1 袋あたりの酸素吸収能力が空気量約 2.5 L (酸素量として 0.5 L) である.

供試卵の採集

検定対象とするダニの卵は, 産下後 24 時間以内のものをを用いた. 卵は屋内塵性ダニ類の薬剤検定に汎用されるクリップ法 (例えば, Hashimoto et al., 1999; Heller-Haupt and Busvine, 1974) に準じた. すなわち, 5×10 cm の黒色ろ紙 (ADVANTEC® 131B) を二つ折りにし, その内側に 3 種ダニいずれかの種の雌成虫 50–100 個体を細筆によって導入し, 幅 52 mm の目玉クリップ ((株) ライオン事務器 No. 52) でろ紙の 3 辺を閉じた. ろ紙は 25°C, 16L8D, 75%RH に調節した恒温器に 24 時間維持した後, 開封して雌成虫を排除し, ろ紙上に産下された卵の周辺に鉛筆でマークをし, それらを供試卵とした. ろ紙あたりの供試卵数は 20 卵を基本としたが, 産卵数にばらつきがあったため, 結果的にろ紙あたりの供試卵数は 12–27 であった. 試験区ごとにそれぞれ 3 回ずつ繰り返しを行った.

ダニ卵の密封

供試卵が産下されたろ紙は再び二つ折りにし、クリップで3辺を閉じた。これを、ガス吸入用コックを取り付けた 35×24 cm のポリ塩化ビニリデンコートポリプロピレン (KOP/CP, 厚さ 20/40 μm) 製ガスバリア袋内に、各脱酸素剤 1 袋とともに入れ、直ちにガスバリア袋をヒートシーラにより密封した。次に、袋内の湿度が 70%RH 以上になるように調節した空気 2 L を小型ポンプによりガス吸入用コックから注入し、その後コックを閉じて密封状態とした (亀崎ら, 2005 参照)。このようにして密封したガスバリア袋を 25°C, 16L8D に調節した恒温器に入れた。なお、脱酸素剤を入れないバリア袋を対照区として上記と同様に処理した。低酸素状態に対する耐性は 2 種ヒョウヒダニよりもケナガコナダニの方が高いことが示唆されたことから (亀崎ら, 2005), 密封期間は、2 種ヒョウヒダニでは 1 (24 時間), 2 (48 時間), 5 および 7 日間, ケナガコナダニでは 2 (48 時間), 5, 7, 10 および 14 日間とした。バリア袋は実験区および対照区ともに、それぞれの密封期間ごとに別のものを使用し、繰り返しは各 3 回ずつ行った。

酸素および二酸化炭素濃度の測定

酸素濃度の測定は前述のバリア袋を密封してから 2, 4, 6, 8, 24 および 48 時間後に、二酸化炭素濃度の測定は 2, 4, 6, 8 および 32 時間後に行った。ただし、鉄系の脱酸素剤を処理したときには二酸化炭素が発生しないことは亀崎ら (2005) で確かめられているので、鉄系脱酸素剤 (バイタロン[®] PH-2500) 処理区の二酸化炭素濃度は密封 2 および 6 時間後だけに測定した。測定には、熱伝導度検出器 (TDC) 付ガスクロマトグラフ (島津製作所製 GC-14B) を用いた (亀崎ら, 2005 参照)。

致死効果の判定

所定期間密封後にバリア袋を開封し、ろ紙を取り出して 25°C, 16L8D, に調節した恒温器に入れた。卵期間はコナヒョウヒダニとヤケヒョウヒダニでは 23°C でそれぞれ 10.1 および 8.1 日 (Arlian et al., 1990; Arlian and Dippold, 1996), ケナガコナダニでは 25°C で 5.5 日 (Rivard, 1961) であることから、密封期間が 1, 2, 5 および 7 日の実験区の卵の 1 回目の観察は産下後 10 日を経過した時点で行い、また発育遅延があった場合を考慮してさらに 2 回目の観察を産下後 17 日目に行った。一方、10 日間以上の密封区においては産下 10 日後の観察ができないため、10 日間密封区においては 1 回目と 2 回目の観察をそれぞれ産下後 14, 21 日目に、14 日密封区においてはそれぞれ 18, 25 日目に行った。観察は実体顕微鏡下で行い、幼虫脱出後の卵殻が認められるものをふ化卵とし、ふ化率を算出した。剤によるふ化率の差は、角変換した値を Tukey 法で検定した。2 回目の観察時点で未ふ化であったものは、産下後最大 90 日まで観察を行い、ふ化の有無・卵の形態を観察して生死を判定した。

結果

酸素および二酸化炭素濃度の変化

バリア袋内の酸素濃度の推移を Fig. 1 に示した。鉄系では密封 8 時間後までに急速に酸素濃度が低下し、8 時間後の酸素濃度は 2.13% であった。24 時間後には 0.01% とほぼ無酸素状態になった。これに対してアスコルビン酸系では鉄系に比べて酸素濃度の低下が遅く、8 時間後に 10.75%, 24 時間後に 3.87% であり 48 時間後においても 0.31% の酸素濃度を示した。一方、二酸化炭素濃度は、鉄系では全く上昇しなかったのに対して、アスコルビン酸系のものでは 8 時間後に 7.14%, 32 時間後には 17.07% に上昇した (Fig. 2)。

Fig. 1. Change in O₂ concentration with two types of oxygen absorber.

Fig. 2. Change in CO₂ concentration with two types of oxygen absorber.

致死効果

脱酸素剤によるダニのふ化率を Table 1 に示した. まず 2 種ヒョウヒダニについてみると, 1 日密封のふ化率は 1 回目の観察 (産卵後 10 日目) でコナヒョウヒダニでは鉄系において 88.9%, アスכולビン酸系で 74.0% であり, 両系間だけでなく対照区 (95.2%) と有意差はなかった. ヤケヒョウヒダニでは鉄系で 74.6% であり, 対照区 (93.9%) よりも有意に低かったが, アスכולビン酸系 (91.0%) との間に有意差はなかった. また, いずれの試験区においても, 2 回目の観察 (産卵後 17 日目) でもふ化率は 1 回目と変わらず, 1 回目観察以降にふ化した卵は認められなかった. 2 日間密封では, 鉄系においては 2 種ヒョウヒダニのふ化率はいずれもゼロであったのに対して, アスכולビン酸系では 2 回目の観察 (産卵後 17 日目) においてコナヒョウヒダニで 67.5%, ヤケヒョウヒダニでは 88.9% で, 鉄系に比べ有意にふ化率が高かった. 5 および 7 日間わたって密封すると, 鉄系・アスכולビン酸系いずれにおいても全くふ化は認められなかった.

一方, ケナガコナダニでは, いずれの脱酸素剤を用いた場合にも密封期間にかかわらずふ化率がゼロになることはなかった. 鉄系およびアスכולビン酸系の 2 回目の観察時のふ化率は 2 日間密封の場合にはそれぞれ 100 および 95.2% で, 5 日間密封の場合 (産卵後 17 日目) はそれぞれ 86.9 および 94.3%, 7 日間密封区 (産卵後 17 日目) では 91.2, 96.0%, 10 日密封

Table 1. Percentage of egg hatchability (mean±SE, n=3) of three house dust mites after treatment with two different oxygen absorbers

Mite species	Oxygen absorber	Duration of treatment (days) ^a											
		1			2			5			7		
		No. of days after oviposition		No. of days after oviposition	No. of days after oviposition		No. of days after oviposition	No. of days after oviposition		No. of days after oviposition	No. of days after oviposition		No. of days after oviposition
<i>D. farinae</i>	Fe (VITALON PH-2500 [®])	10	17	88.9±3.7 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0	0 ^a	0	0	0
	Ascorbic acid (YC-500PW)			74.0±8.6 ^a	64.1±9.6 ^b	67.5±7.5 ^b	0 ^a	0	0	0 ^a	0	0	0
	Control			95.2±2.9 ^a	—	94.6±3.2 ^c	—	83.0±4.1 ^b	—	86.3±5.2 ^b	—	—	—
<i>D. pteromyssinus</i>	Fe (VITALON PH-2500 [®])			74.6±7.6 ^a	0 ^a	0 ^a	0	0	0	0 ^a	0	0	0
	Ascorbic acid (YC-500PW)			91.0±1.9 ^{ab}	88.9±1.3 ^b	88.9±1.3 ^b	0 ^a	0	0	0 ^a	0	0	0
	Control			93.9±1.5 ^b	—	100 ^c	—	86.1±1.1 ^b	—	96.9±1.5 ^b	—	—	—
<i>T. putrescentiae</i>	Fe (VITALON PH-2500 [®])			96.1±3.9 ^a	100 ^a	96.1±3.9 ^a	38.3±13.5 ^a	86.9±1.4 ^a	0 ^a	91.2±3.9 ^a	0 ^a	87.7±3.8 ^a	0 ^a
	Ascorbic acid (YC-500PW)			95.2±2.4 ^a	95.2±2.4 ^a	95.2±2.4 ^a	74.2±6.1 ^{ab}	94.3±3.2 ^a	0 ^a	96.0±2.0 ^a	0 ^a	90.7±1.9 ^a	0 ^a
	Control			100 ^a	—	100 ^a	93.8±6.3 ^b	—	—	93.0±3.9 ^b	—	87.6±3.7 ^b	85.9±6.3 ^b

Each replicate had 12–27 eggs.
^a Means in each column in each species followed by the same letters are not significantly different (P>0.05, Tukey's test after arcsine transformation).
—: Not observed.

区（産卵後 21 日目）では 87.7, 90.7% であった。14 日間密封の場合（産卵後 25 日目）には、それぞれ 46.5, 48.7% であり、いずれの脱酸素剤の場合も半数以上の卵が未ふ化であった。すべての密封期間において鉄系とアスコルビン酸系脱酸素剤処理区のふ化率の間に有意差は認められなかった。

なお、各試験区において、2 回目の観察で未ふ化であったものは産下後最大 90 日目まで観察を行い、ふ化の有無・卵の形態を観察したが、2 回目観察時以降にはふ化はまったくなく、未ふ化卵は発育遅延のためではなくいずれも死亡卵であることが確認された。

考察

今回実験に用いた 2 種脱酸素剤の違いとして、鉄系は酸素吸収速度が速く二酸化炭素を発生しないこと、アスコルビン酸系は酸素吸収速度が遅く二酸化炭素を発生することがあげられる。前報では、2 種ヒョウヒダニの成虫は鉄系で 48 時間密封して 100% の死亡率が得られたのに対し、アスコルビン酸系では 72 時間密封しても 100% の死亡率は得られなかった（亀崎ら, 2005）。同様に、本実験の 2 種ヒョウヒダニの卵に対する致死効果でも、鉄系のほうがアスコルビン酸系に比べ有意に高かった。この両タイプの脱酸素剤のヒョウヒダニに対する致死効果の差は、二酸化炭素の発生ではなく酸素吸収速度が主な原因であると考えられる。なぜなら前報（亀崎ら, 2005）で、同じアスコルビン酸系でも酸素吸収速度の速い剤で成虫の致死率が高かったからである。このことは、酸素吸収速度をさらに高めた鉄系脱酸素剤を用いることにより、死亡に要する密封期間を短縮できる可能性が高いことを示唆する。一方、アスコルビン酸系脱酸素剤が発生する約 20% の二酸化炭素はヒョウヒダニ類の卵の致死効果にはほとんど貢献しないと考えられた。貯穀害虫 3 種に対する致死効果を調べた木村ら（1991）によれば、3 種すべてを 100% 死亡させるためには 50 ～ 60% の二酸化炭素に 5 日間以上処理する必要がある。ヒョウヒダニ類に対して致死効果を得るためには、20% より高濃度の二酸化炭素が必要であると考えられる。

ケナガコナダニの卵に対しては、鉄系およびアスコルビン酸系のいずれでも、14 日間にわたって密封しても完全な致死効果が得られず、本種には低酸素状態に対して高い耐性があることが示された。Tatsuki and Fukami（1984）は本種の卵に対する完全致死に要する日数を 14 日間としたが、本研究ではそれより長い密封期間が必要であることが示された。昆虫類の低酸素による致死効果は、温度が高いほど、また湿度が低いほど高くなるため（Bailey and Banks, 1980）、実験条件の違いが致死効果の違いをもたらした可能性がある。なお、鉄系とアスコルビン酸系による致死率には有意な差がなく、本種においてもアスコルビン酸系が発生した二酸化炭素による致死効果はなかったと考えられた。

低酸素状態における貯穀害虫の発育遅延についてはこれまでも報告がある。大口ら（1983）は、コクゾウムシ *Sitophilus zeamais* Motschulsky の卵と幼虫に脱酸素剤を 5 日間処理すると、羽化のピークが約 3 日遅れたことを認めている。本実験では、ケナガコナダニの卵を 7 日間以上密封したとき、1 回目観察におけるふ化率がゼロであったのにもかかわらず、2 回目の観察で卵のふ化が認められたことから、本種においても無酸素環境では発育を停止し、好適な酸素濃度になると発育を再開する性質をもつことが示唆された。

前報（亀崎ら, 2005）による成虫の結果と比較して、2 種ヒョウヒダニの死亡率は、24 時間処理において卵より成虫で若干高い傾向が見られたが、いずれも 2 日間処理することによって 100% の死亡率を得ることができた。したがって、寝具やぬいぐるみなどの対象物をバリア袋内に鉄系脱酸素剤とともに最低 2 日間密封すれば、ヒョウヒダニ類を防除できることが

示された。これに対してアスコルビン酸系では、約5日間の密封が必要であった。一方、ケナガコナダニに対しては脱酸素剤のみによる防除は困難であると考えられた。

文献

- Arlian, L. G., C. M. Rapp and S. G. Ahmed (1990) Development of *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 27: 1035–1040.
- Arlian, L. G. and J. S. Dippold (1996) Development and fecundity of *Dermatophagoides farinae* (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Medical Entomology*, 33: 257–260.
- Bailey, S. W. and H. J. Banks (1980) A review of recent studies of the effects of controlled atmospheres on stored product pests. In: *Controlled Atmosphere Storage of Grains* (ed., Shejbal, J.), pp. 101–118, Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam.
- Gilberg, M. (1990) Inert atmosphere disinfestations using AGELESS® oxygen scavenger. *International Council of Museums Committee for Conservation 9th Triennial Meeting*, 34: 812–816.
- Hashimoto, T., N. Motoyama and K. Mizutani (1999) Evaluation of the acaricidal efficacy of sixteen chemicals to three species of house dust mite, *Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Blomia tropicalis*, by filter paper contact method. *Medical Entomology and Zoology*, 50: 349–354.
- Heller-Haupt, A. and J. R. Busvine (1974) Tests of acaricides against house dust mites. *Journal of Medical Entomology*, 11: 551–558.
- 亀崎宏樹・佐々木義昭・大橋和典・高藤晃雄 (2005) 3 種屋内塵性ダニ成虫に対する 2 タイプの脱酸素剤の致死効果. 日本ダニ学会誌, 14: 127–133.
- 木川りか・宮澤淑子・山野勝次・三浦定俊・後出秀聡・木村 広・富田文四郎 (2001) 低酸素濃度および二酸化炭素による殺虫法. 文化財保存修復学会誌, 45: 73–86.
- 木村 広・井上市郎・鶴田 理・桑原雅彦 (1991) 貯穀害虫に対する炭酸ガスの殺虫効果. 日本環境動物昆虫学会誌, 3: 136–139.
- 大口嘉子・鈴木秀明・田付貞洋・深見順一 (1983) 貯穀害虫および衣類害虫に対する脱酸素剤エージェルス® の殺虫効果. 日本応用動物昆虫学会誌, 27: 270–275.
- Rivard, I. (1961) Influence of temperature and humidity on mortality and rate of development of immature stages of the mite *Tyrophagus putrescentiae* (Schränk) (Acarina: Acaridae) reared on mold cultures. *Canadian Journal of Zoology*, 39: 419–426.
- 相馬幸博・岸野秀昭・後藤睦郎・藪田重樹・松岡郁子・加藤利之 (1995) 貯穀害虫の二酸化炭素くん蒸に対する感受性 1. コクゾウ, グラナリアコクゾウ及びヒラタコクヌストモドキの二酸化炭素くん蒸における温度, 時間及び酸素濃度の影響. 植物防疫所調査研究報告, 31: 25–30.
- 田中雄一 (1990) 殺ダニ方法, 殺ダニ装置及び被殺ダニ処理材用収納体. 特許出願公開, 平 2–234646.
- 田中雄一 (1993) 寝具の衛生処理方法. 特許出願公開, 平 5–146240.
- Tarr, C. R. and P. R. Clingeleffer (2005) Use of an oxygen absorber for disinfestation of consumer packages of dried vine fruit and its effect on fruit colour. *Journal of Stored Products Research*, 41: 77–89.
- Tatsuki, S. and J. Fukami (1984) Lethal effect of oxygen absorber (Ageless®) on mold mite, *Tyrophagus putrescentiae*. (Acarina: Acaridae). *Report of Special Research Project on Tropical Agricultural Resources*, 3: 101–105.
- 吉田敏治 (1981) 貯蔵物昆虫学最近の進歩. 「昆虫学最近の進歩 (石井象二郎編)」, pp. 384–401, 東京大学出版会, 東京.