昆虫に対する摂食阻害物質の作用

1) ヤマトシロアリ摂食阻害物質

石田宗孝, 金 武柝

太陽化学(株)総合研究所

木材の大害虫であるシロアリは、ハチ、アリと同様に社会生活を営む昆虫である。しかし、ハチやアリと同類に属するのではなく、シロアリは2億年も前の中生代から古生代にかけての時期にゴキブリと共通の祖先から分化したことから、“社会性のゴキブリ”とさえ言われている。その社会は大きく分けて、生殖蟻、職蟻および兵蟻の階級に分化され、このうち実際に木材などに被害を及ぼすのは職蟻である。食餌の対象は木材にとどまらず、衣類、書籍、地下ケーブル、プラスチックなどに及ぶことがある。したがって、日本におけるシロアリの被害は潜在的なものを含めると非常に大きく、一説によると火災に匹敵するとまで言われている。

さて、日本で被害を及ぼすシロアリは、主にヤマトシロアリ (*Reticulitermes speratus* Kolbe) とイエシロアリ (*Coptotermes formosanus* Shiraki) の2種であり、ヤマトシロアリは北海道北部を除く日本全土に、一方イエシロアリは関東、東海以南の海岸地域に分布している。シロアリの主要食物は木材であるが、その嗜好性は材種によってかなり異なり、特にアカマツ、ペイマツなどのマツ材を好んで食害する⁽¹⁾。また、一般に硬い材より軟らかい材を好み、同じ材でも秋材より春材を加害しやすい。これとは逆に、木材に含まれる特定成分のために耐蟻性の高い木材がある。イヌマキ、センダン、ヘツカニガキ、アオモリヒバ、ヒノキなどがその一例で、忌避成分あるいは殺蟻成分の存在が示されている⁽²⁾。これらの抗蟻性の試験は、被験材をそのまま用いるかあるいは木材抽出物をアカマツなどのマツ材に塗布し、シロアリの攻撃に曝した後、木材の重量減少量を調べることであり、活性を評価するのが一般的な方法である。

筆者らはより簡便にシロアリ摂食阻害物質のスクリーニングを行なう方法として、緑色あるいは赤色の食用色素をインジケーターとして用いるアッセイ方法を考案し

た。本方法を用いることにより、幾つかのシロアリ摂食阻害物質を見いだすことができたので、以下2, 3の実例を紹介する。

生物試験方法

試験には入手の容易なヤマトシロアリを用いた。三重県四日市市郊外の松林よりヤマトシロアリの営巣している松材を採取し、このものを25℃、高湿条件下で累代飼育した。試験には、24時間絶食後、その条件下でなお健全な職蟻の成虫のみを選び出し実験に供した。被験試料を濾紙(東洋濾紙製ペーパーディスク、直径8mm、重量約30mg)に適量塗布し、その後よく乾燥させて各々食餌としてシロアリに与えた。

本方法のポイントは、この濾紙を予め食用色素(青色1号, brilliant blue FCF)で染色しておくことである。すなわち、シロアリがこの濾紙を摂食した場合、白い透明の腹部が青色に着色されるが、この着色の度合いから摂食の有無、あるいは程度を視覚的に評価できるわけである。

容器にはプラスチックカップを用い、その底部に海砂を敷き容器の一方の端に充分な湿度を与えるだけの水を加え、反対側の端には試料を塗布した濾紙を置き、穴を数個あけたプラスチック製の蓋をした(図1)。また、試験に用いたヤマトシロアリの職蟻の個体数は、容器あたり20匹とした。20匹以上では試験期間の途中で濾紙がすべて食べ尽くされる場合があること、また10匹以下では生存率が低下するなど、シロアリの活動にはある程度の個体密度が必要と考えられ、20匹とした。実験は25℃、恒温暗黒下で行ない、各々5反復で3回繰り返した。無供餌区(完全飢餓状態)のシロアリがすべて死亡する期間(3~4週間)、一定期日毎に各試験区の生存虫数および腹部着色の有無を調べることであり、各試料の

図 1 ■色素をインジケーターに用いたシロアリ摂食阻害物質検出試験

活性を判定した。

上記方法により摂食阻害物質のスクリーニングを行なったところ、キハダ (*Phellodendron amurense*)⁽³⁾、夏柑種子 (*Citrus natsudaidai*)⁽⁴⁾、ニームオイル (*Azadirachta indica*)⁽⁵⁾ の各メタノール抽出物にヤマトシロアリ摂食阻害活性が認められた。すなわち、前記抽出物を添加した着色濾紙を職蟻に与えて飼育試験を行なったところ、腹部の着色は認められず、無供餌区のシロアリと同程度の率で死亡することが判明した。以上の結果をもとに、これらの抽出物を単離精製した結果、摂食阻害成分としてキハダからは obacunone (1)、nomilin (2)、夏柑種子からはそれに加えて limonin (3)、そしてニームオイルからは deacetylgedunin (4)、gedunin (5)、hydroxyazadiradione (6)、azadiradione (7) および

azadirachtin (8) などのリモノイド化合物を得ることができた (図 2)。

活性の定量的比較

上記の方法で得られた各化合物の摂食阻害活性を定量的に評価するため、前述のアッセイ方法の改良を行なった。すなわち、濾紙に被験化合物の希釈溶液を一定量塗布し、減圧デシケーターにて充分乾燥した後、

濾紙の重量を測定しアッセイに供した。試験終了後、濾紙を回収して 60°C で乾燥し、次いで減圧デシケーター中で乾燥した後、重量を測定して試験期間中の濾紙の重量減少量を求めた。この際、対照として用いた無処理濾

表 1 ■各リモノイド化合物の摂食阻害活性

化合物	50%摂食阻害量 (μg/disc)	95%摂食阻害量 (μg/disc)
obacunone (1)	19.4	38.5
nomilin (2)	47.2	152.2
limonin (3)	1,625	—*
deacetylgedunin (4)	22.5	113.7
gedunin (5)	49.0	218.4
hydroxyazadiradione (6)	67.8	235.6
azadiradione (7)	238.5	827.5
azadirachtin (8)	73.4	2,221

* 検定域外

図 2 ■ヤマトシロアリ摂食阻害リモノイド化合物

図 3 ■ ヤマトシロアリによる化合物摂取量と処理濃度の関係

紙の重量減少量に対する各試験濾紙の減少量の割合から摂食阻害率を求め、プロビット法により 50% および 95% 摂食阻害量を算出して各化合物の活性とした (表 1)。

周知のように、azadirachtin はニームに含まれるリモノイド化合物であり、リン翅目昆虫、半翅目昆虫など約 200 種の害虫に対して強力な殺虫活性および摂食阻害活性を有する化合物として知られている。しかし、今回各リモノイド化合物の摂食阻害活性を比較してみると obacunone が最も強く、意外にも azadirachtin の活性はきわめて弱いことが示された。これは、シロアリに対してのみ示される結果なのかどうか大変興味をもたれる。また、本アッセイ結果から、シロアリによる濾紙の重量減少量 (摂食量) とその際の濾紙への試料塗布量からシロアリが摂食したと思われる被験物質のトータル摂取量を求めることができる。そこで、塗布濃度とトータル摂取量の関係を調べてみると、obacunone や nomilin のように強い摂食阻害物質では化合物の摂取量に最大値があり、その値は両化合物とも 50% 摂食阻害量に相当した (図 3)。すなわち、これらの化合物では、ある量以上摂取すると急速に摂食阻害作用が発現するものと推定される。一方、limonin, azadirachtin などの摂食阻害活

性の弱い化合物ではこういった現象は認められなかった⁽⁶⁾。

これらの化合物の摂食阻害作用の機構は不明であり、今後シロアリの味覚受容器、特に摂食阻害物質受容器やそれら情報伝達系に関する研究が必要とされる。一方、シロアリに対する摂食阻害物質を探索する場合、腸内共生原虫に対する影響を調べることも重要である⁽⁷⁾。シロアリがセルロース消化性昆虫として進化するに至った最大の要因が、腸内共生原虫との共進化であることから注目し値すると思われる。因みに筆者らは、obacunone がイエシロアリの腸内原虫のうち大型原虫である *Pseudotrichonympha grassi* の密度低下作用を有することを確認している。

食用色素の摂食阻害活性

今回、生物試験のインジケーターとして食用色素を用いることになったので、一般によく用いられている食用色素類についても摂食阻害があるかどうかを検討したが、その際偶然にも興味ある知見を得た。すなわち、市販の食用色素 6 種類を入手し、それぞれについてシロアリの摂食に及ぼす影響を調べた。図 4 に示すように、各

図 4 ■ 色素の摂食阻害活性試験

表 2 ■ 各種食用色素の摂食阻害活性

色素	摂食阻害率 (% 対照)*
brilliant blue FCF	0
acid red	39.0
indigo carmine	81.8
tartrazine	85.7
new cocchine	100
erythrosine	100

* 1~7 の濾紙の配置を 7 通りに変化した時の各色素の平均阻害率 (処理量はいずれも 300 μ g/disc).

図 5 ■ 摂食阻害活性を示す食用色素の構造

色素で染色した 6 種類の濾紙と対照の濾紙、合わせて 7 枚の濾紙を、直径 9 cm のガラスシャーレ中の図示した番号位置に並べた。その後ヤマトシロアリの職蟻 40 匹を放虫し、選択条件下で摂食量を調べた。この際、隣り合って配置された濾紙間の影響を除くために、配置の組合せを 7 通りに変化した。その結果、brilliant blue FCF では対照との差は認められなかったが、その他の色素は何らかの摂食阻害活性が認められた (表 2)。なかでも、erythrosine (9) および new cocchine (10) (図 5) は、300 μ g/disc で 100% の摂食阻害を示した⁽⁹⁾。両化合物はいずれも一般的にかまぼこなどの着色に使われる水溶性色素であり、erythrosine は構造的な特徴として分子内に 4 個分のヨウ素を有している。その作用様式、機構は不明であるものの、食品に用いられている成分がシロ

アリ防除に利用可能な素材であることを示唆している点で興味がある。

*

今回、筆者らが用いたアッセイ法で見いだしたヤマトシロアリ摂食阻害物質は、いずれもリモノイド化合物である。リモノイドは穀物害虫などに対して摂食阻害や成長抑制などの活性を有することが知られており、これらの害虫防除への研究が試みられているが^(9,10)、シロアリ防除への応用開発は緒についたばかりだと言える。obacunone は今回筆者らが得たシロアリ摂食阻害物質の中で最も活性の強い化合物であり、また azadirachtin に比べると安定性もきわめて高く、もちろん人畜に対して安全性の高い化合物である。ただ、これらの化合物は既存の合成薬剤と比較すると、効果および持続性の点ではまだ満足すべきものとはいえない。しかし、環境問題への関心の高まりとともに、現在使用されているシロアリ剤の残留性が問題視されている現状を考えると、安全性のきわめて高い天然物を有効に利用した製剤、あるいは使用法を開発することが重要となるのは必至であろう。

文献

- 1) 山野勝次: 木材保存, 15, 2 (1989).
- 2) 屋我嗣良: シロアリ, No.64, p.3 (1986).
- 3) H. Kawaguchi, M. Kim, M. Ishida, Y. J. Ahn, T. Yamamoto, R. Yamaoka, M. Kozuka, K. Goto & S. Takahashi: *Agric. Biol. Chem.*, 53, 2635 (1989).
- 4) M. Serit, M. Ishida, M. Kim, T. Yamamoto & S. Takahashi: *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2381 (1991).
- 5) M. Serit, M. Ishida, K. Nakata, M. Kim & S. Takahashi: *J. Pesticide Chem.*, 17, 351 (1992).
- 6) M. Serit, M. Ishida, N. Hagiwara, M. Kim, T. Yamamoto & S. Takahashi: *J. Chem. Ecol.*, 18, 593 (1992).
- 7) 屋我嗣良: 木材学会誌, 24, 123 (1978).
- 8) 特許出願平成 03-233682
- 9) D. E. Champagne, O. Koul, M. B. Isman, G. G. E. Scudder & G. H. N. Towers: *Phytochemistry*, 31, 377 (1992).
- 10) O. Koul, M. B. Isman & C. M. Ketkar: *Can. J. Bot.*, 68, 1 (1990).