

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25660261

研究課題名(和文)短波長可視光の殺虫メカニズムの解明と害虫防除への応用に向けた基礎的研究

研究課題名(英文)Lethal effects of short-wavelength visible light on insects

研究代表者

堀 雅敏(Hori, Masatoshi)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70372307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：キイロショウジョウバエ、チカイエカ、ヒラタコクヌストモドキ、イチゴハムシに対する短波長可視光(青色光)の殺虫効果をLEDを用いて調べた結果、卵～成虫まで様々な成育段階の様々な昆虫種に効果があることが明らかになった。効果的な波長や有効光強度は種により異なることも明らかになった。ショウジョウバエにおいては、変態により効果的波長が変化することもわかった。ショウジョウバエ蛹殻の光透過スペクトルを調べた結果、光透過率に波長特異性はみられなかったことから、波長特異的な殺虫効果は虫体内部の光吸収特性によるものと考えられた。また、殺虫効果を得るには光強度と照射時間の両方が一定以上必要であることもわかった。

研究成果の概要(英文)：The lethal effects of visible light on insects were investigated by using light-emitting diodes (LEDs). It was revealed that irradiation with short-wavelength visible (blue) light killed eggs, larvae, pupae, and adults of *Drosophila melanogaster*. Blue light was also lethal to mosquitoes (*Culex pipiens molestus*), flour beetles (*Tribolium confusum*), and leaf beetles (*Galerucella griseascens*), however, the effective wavelength at which mortality occurs was species-specific, and tolerance to blue-light irradiation differed among insect species. In *D. melanogaster*, the effective wavelength changed with the metamorphosis. Light transmission of *D. melanogaster* puparia was not wavelength-specific. Therefore, it is suggested that light absorption by certain inner tissues of the fly is wavelength-specific. Furthermore, it is suggested that irradiation period longer than certain hours, as well as light intensity higher than certain level, is needed for lethal effects on insects.

研究分野：応用昆虫学

キーワード：短波長 可視光 青色光 殺虫 致死 照射 害虫防除 成育阻害

1. 研究開始当初の背景

(1) 現在の害虫防除は主に殺虫剤によって行われているが、安全性や環境への負荷の問題から殺虫剤に代わる防除技術の開発が求められている。そのような中、物理的防除、特に光を用いた防除が注目されている。

(2) 光による昆虫の行動制御に関しては古くから研究が行われており、誘引捕殺やモニタリング、低誘引照明、夜間照明による夜行性害虫の活動抑制などに利用されている。しかし、光により昆虫を直接的に殺虫できるという報告はこれまでになかった。

(3) 280nm以下の紫外線(UVC)には強い殺菌効果があることが知られているが、UVCでもカやハエなどの比較的大きい、進化した生物は直接的には殺せないというのがこれまでの常識であった。しかし、ハモグリバエを用いた実験で、短波長可視光(400~500nmの光;以下、青色光)が卵や蛹に対して直接的な殺虫効果を示すことを見いだした。光が生物に与える有害性は波長が短いほど強いので、UVCでも直接殺すことができないとされていた昆虫類を可視光で殺せることを見いだしたことは驚きに値する結果であった。

(4) キハダショウジョウバエを用いて波長と殺虫効果の関係を調査し、405~470nmの青色光に蛹への殺虫効果があること、特に420~470nm光はきわめて強い効果があり、その効果は375nmの紫外線(UVA)よりも強いことを明らかにした。このことから、殺虫効果は波長が短いほど高いのではなく、可視光の殺虫効果は紫外線の生物への有害性とは異なるメカニズムであることを明らかにした。

(5) 青色光の殺虫効果を害虫防除に利用できれば、安全性が高く、環境への負荷の少ない画期的な防除ツールになることが期待できることから、この効果について早急に基礎的知見を積み上げることが重要であると考えた。

2. 研究の目的

(1) 衛生害虫、農業害虫、畜産害虫を中心に、各種昆虫に対する短波長可視光の羽化阻害・殺虫効果を調査し、効果をもつ昆虫の分類範囲を明らかにする。

(2) 各害虫種で効果をもつ光の波長域、光強度を調査し、種による効果的波長の違い、光耐性の違いを明らかにする。

(3) 殺虫効果を引き起こす青色光の虫体への入力経路を明らかにするため、ショウジョウバエ蛹殻の光波長透過特性を解析する。

(4) 効率的な殺虫技術を確立するための基礎的知見を得るため、光を照射する昆虫の発

育段階や照射期間と殺虫効果との関係を明らかにする。

(5) 殺虫メカニズムを解明するための基礎的知見を得るため、光照射により死亡した昆虫の死亡原因を解剖学的に明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 各種害虫に対する青色光の殺虫効果

① キイロショウジョウバエに対する効果
蛹に対する効果では、各種波長のLED光をキイロショウジョウバエ(以下、ショウジョウバエ)蛹に照射し、羽化せずに死亡した蛹の割合を調査した。蛹化後24時間以内の蛹30頭を湿る紙を敷いたシャーレ(φ60mm)の中に入れ、パラフィルムで密閉後、バイオマルチインキュベーター(25±1°C、LH-30CCFL-8CT)の中で各LED光を7日間照射した。LED光源には150×150mmのLEDパネル(ISL-150×150シリーズ)を用いた。光強度は高速分光器(HSU-100S、受光角:約23°C)を用いて測定した。試験は8反復行った。

卵に対する効果では、腰高シャーレ(φ60×90mm)に入れた人工飼料(寒天、グルコース、エビオス、水、プロピオン酸、ボーキニンB液)上に産下させた卵に各種波長光を照射した。1シャーレ当たり産下後6時間以内の卵10個を用い、蛹と同様にLED光の照射を行った。照射時間は48時間とし、照射後、孵化せずに死亡した卵の割合を調査した。試験は10反復行った。

幼虫に対する効果では、餌から出てきて24時間以内の終齢幼虫10頭をシャーレ(φ55mm)に入れ、蛹と同様に各種波長のLED光を照射した。照射時間は24時間とし、照射後、10日間、16L8D(明期は白色蛍光灯照明)条件下に置き、羽化せずに死亡した個体の割合を調査した。467nm照射区においては、死亡した個体の発育段階についても、解剖により調査した。

成虫に対する効果では、羽化後12時間以内の雌雄成虫1対を人工飼料の入った腰高シャーレ(φ60×90mm)の中に入れ、各種波長のLED光を上記と同様に照射した。照射開始から3日ごとに成虫の生存数を調査し、同時に餌をシャーレごと新しいものに交換した。また、467nmについては1雌当たりの産卵数の変化を毎日、調査した。

② チカイエカに対する効果

蛹に対する効果では、蛹化後1時間以内の蛹10頭を100mlの水の入ったアイスクリームカップ(φ101×49mm)の中に入れ、ガラスプレートで蓋をした後、各種波長のLED光をショウジョウバエと同様に照射した。照射は5日間行い、照射後、羽化せずに死亡した蛹の割合を調査した。試験は10反復行った。

卵に対する効果では、産下後1時間以内の卵10個を50mlの水の入ったアイスクリームカップ(φ60×38mm)の中に入れ、ガラスプ

レートで蓋をした後、上記と同様に、各種波長のLED光を照射した。48時間照射後に孵化率を調査し、調査後すぐに全暗条件下に移し、72時間後、死亡率を調査した。試験は10反復行った。

成虫に対する効果では、羽化後12時間以内の雌雄成虫各5頭を腰高シャーレ(φ60×90mm)の中に入れ、ハチミツ水を与えて、417nmのLED光を上記と同様に照射した。照射開始から24時間ごとに成虫の生存数を調査し、餌の交換は2日おきに行った。照射はシャーレ内の成虫が全て死亡するまで行い、各個体の生存日数を調査した。1頭1反復とし、雌雄各50反復とした。照射光強度は 10×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ とした。

③ ヒラタコクヌストモドキに対する効果
蛹に対する効果のみ調査した。蛹化後24時間以内の蛹10頭をシャーレ(φ30mm)に入れ、各種波長の光を上記と同様に14日間照射した。照射後、羽化せずに死亡した蛹の割合を調査した。試験は10反復行った。

④ イチゴハマシに対する効果
蛹に対する効果では、前蛹15頭をシャーレ(φ55mm)に入れ、各種波長の光を上記と同様に10日間照射した。照射後、羽化せずに死亡した蛹の割合を調査した。試験は9反復行った。照射光強度は 15×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ とした。

卵に対する効果では、産下後24時間以内の卵20個を湿ろ紙を敷いたシャーレ(φ55mm)の中に入れ、各種波長の光を上記と同様に卵期間中照射し、孵化せずに死亡した卵の割合を調査した。孵化した個体は全暗条件下に置き、その後、羽化せずに死亡した個体の割合を調べた。試験は9反復行った。

(2) ショウジョウバエ蛹の囲蛹殻の光透過スペクトル

ショウジョウバエ蛹から囲蛹殻を採取してシート状にし、洗浄・乾燥後、スライドガラスに挟み込み、紫外可視分光光度計(UV-2600)を用いて、透過スペクトルを測定した。測定範囲は300~800nmとし、0.1nm単位で測定した。測定光は囲蛹殻の外側から照射されるようにし、各発育ステージ1~10反復行った。

(3) ショウジョウバエ蛹の発育にともなう有効波長、効果的波長の変化

試験の方法は(1)①の蛹による照射に準じたが、蛹の発育ステージは、①P1-P2(前蛹)、②P5(頭頭蛹の最初のステージ)、③P7-P9(複眼が着色途中の段階)、④P10-P11(複眼の着色が完了し、体表に剛毛が生えている途中の段階)の4段階に分けて、各波長の殺虫率を比較した。照射時間は各24時間とし、10頭/シャーレを1反復として、10反復行った。照射終了後は全暗条件下に置き、8日後に羽化

せずに死亡していた個体数を調査した。

(4) 青色光照射による傷害の解剖学的調査
発育ステージP5(i)-25のショウジョウバエ蛹1頭を湿ろ紙を敷いた35mmシャーレに入れ、パラフィルムで密閉後、上記と同様にLED光を照射した。照射波長は465nm、光強度は 11×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ 、照射時間は24時間とした。蛹は照射終了後、全暗条件下に置き、24時間ごとに蛹の各部位を観察し、各部位の発育が完了しているか調査した。観察部位は複眼、翅、頭部剛毛、胸部剛毛、腹部剛毛、脚部剛毛とした。調査は蛹が死亡するまで継続した。対照区は全暗条件とし、各30反復行った。

(5) 照射強度と照射時間がショウジョウバエ蛹への殺虫効果に与える影響

試験の方法は(1)①の蛹による照射に準じたが、照射時間を24、18、12時間、照射強度を5、8、 10×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の各3段階とし、すべての組み合わせについて照射試験を行った。

また、連続照射と間断照射で効果の違いを比較した。いずれの処理区も合計照射時間が24時間となるように、24L0D×1日、12L12D×2日、8L16D×3日、6L18D×4日の4照射条件を設定した。光強度は8、 10×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の2段階とした。

照射終了後は全暗条件下に置き、8日後に羽化せずに死亡していた個体数を調査した。蛹はP5(i)-25の発育段階のものを用いた。10頭/シャーレを1反復とし、10反復行った。

4. 研究成果

(1) 各種害虫に対する青色光の殺虫効果：

① キイロショウジョウバエに対する効果
蛹に対する効果を図1に示した。467nm、次いで440nmが高い殺虫効果を示し、 3×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の照射強度でのこれら2波長における死亡率はそれぞれ、95%と73%に達した。上記照射強度における378nmのUVAでの死亡率は約40%であり、前記2波長に比べると殺虫効果は明らかに劣っていた。また、紫外線に最も近い可視光である404nmの効果は他の青色光に比べ、非常に低かった。以上から、青色光の殺虫効果は波長が短いほど高いというわけではないことが明らかになった

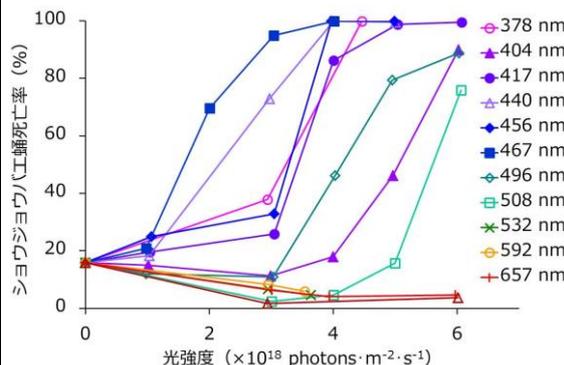


図1. ショウジョウバエ蛹に対する各種波長光の殺虫効果

卵に対する効果を図2に示した。蛹と異なり、卵に対しては波長が短いほど殺卵効果が高い傾向がみられたが、439nmだけは前後の波長に比べて効果が劣っていた。

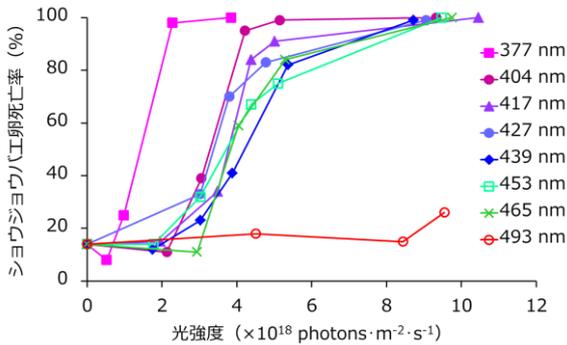


図2. ショウジョウバエ卵に対する各種波長光の殺卵効果

幼虫に対する効果を図3に示した。蛹、卵のどちらとも異なり、405~465nmのいずれの波長も同程度の殺虫効果を示した。また、465nm光を照射したときの、光強度と死亡した発育ステージの関係を調査したところ、光強度が高くなるほど、死亡発育ステージは早まり、 $12 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ では、40%の個体が幼虫で死亡し、59%の個体が前蛹で死亡した(図4)。

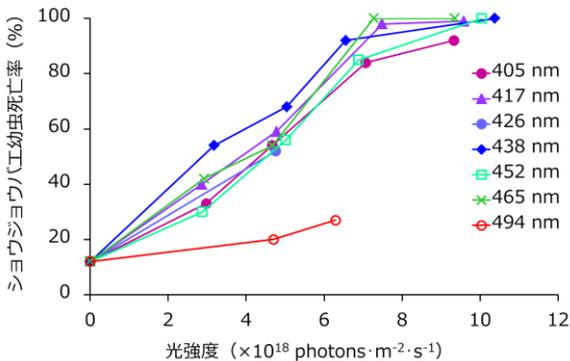


図3. ショウジョウバエ幼虫に対する各種波長光の殺虫効果

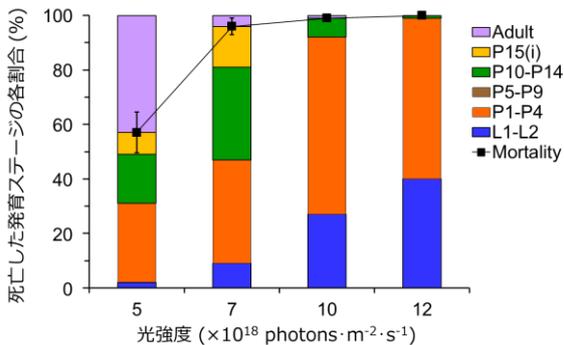


図4. ショウジョウバエ幼虫に467nm光を照射したときの照射光強度と死亡発育ステージの関係
L1-L2: 終齢幼虫、P1-P4: 前蛹、P5-P15: 蛹

各種波長光を $10 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ で成虫に照射した場合の死亡率を図5に示した。成虫に対して効果の高い波長は蛹とやや類似しており、465nmが最も効果が高かった。417nmの効果が465nmに次いで高い点は蛹と異なっていたが、439nmの効果が高く、404、

455nmの効果が465、439nmに比べて大きく劣る点も蛹と類似していた。全暗条件では成虫の寿命は約60日であったが、最も効果の高い465nm光を用いた場合、 $1 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ でも寿命は約20日に、 $5 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ では約5日に、 $10 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ では約3日にまで短縮することが明らかになった。467nm光の照射により、生存している雌の産卵数も大きく減少することも明らかになった(図6)。

以上から、効果的な波長はショウジョウバエの発育段階により変化することが明らかになった。

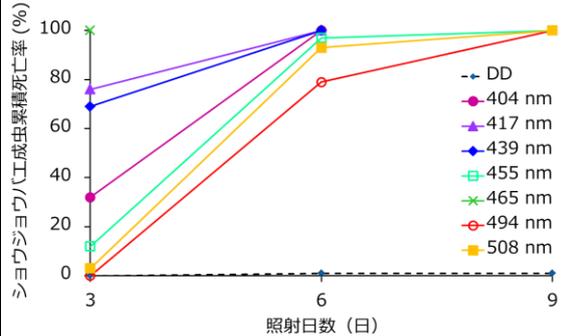


図5. ショウジョウバエ成虫に対する各種波長光の殺虫効果

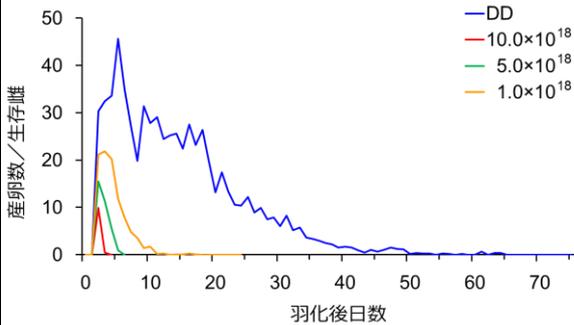


図6. 467nm光照射によるショウジョウバエ成虫の産卵への影響
凡例の数値は光強度 (photons·m⁻²·s⁻¹)

② チカイエカに対する効果

チカイエカ蛹に対する効果を図7に示した。417nm、次いで427nmが高い殺虫効果を示し、ショウジョウバエに対して最も高い効果を示した470nm近傍の波長を含め、他の波長の効果は低かった。また、最も効果の高かった417nm光でも、その効果はショウジョウバエに比べてかなり低く、照射強度が $10 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ でも、死亡率は約60%にとどまった。以上から、効果の高い青色波長は種特異的であること、また、有効光強度も種により大きく異なることが明らかになった。

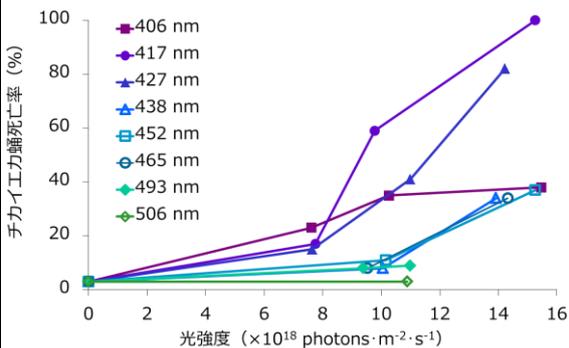


図7. チカイエカ蛹に対する各種波長光の殺虫効果

卵に青色光を照射した後、72時間経過した個体の死亡率を図8に示した。卵に対して効果的な波長は蛹と類似しており、417nm、次いで427nmが高い殺虫効果を示した。卵への殺虫効果は蛹への効果よりも高く、417nmの場合、 10×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ で90%以上の死亡率が得られた。

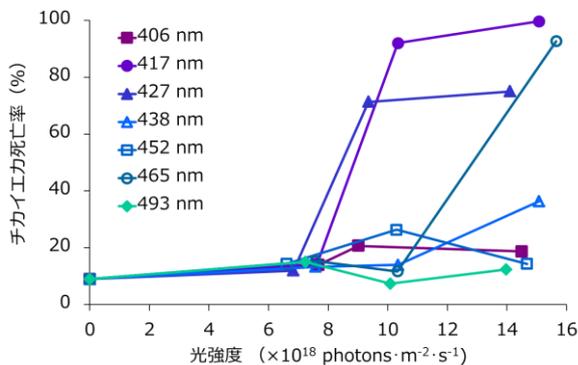


図8. チカイエカ卵に対する各種波長光の殺虫効果

成虫に対する417nm光の殺虫効果を図9に示した。雌雄とも、照射により寿命が大きく短縮し、全暗条件の1/4~1/5程度となった。以上から、417nm光は卵、蛹、成虫に対して殺虫効果をもつことが明らかになった。

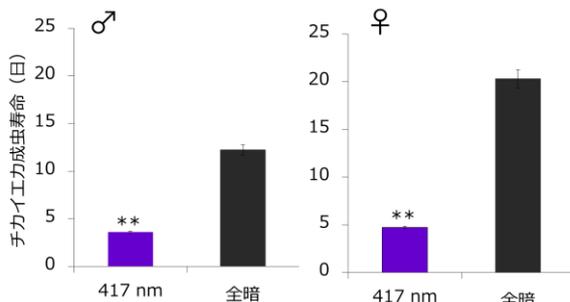


図9. チカイエカ成虫に対する417nm光の殺虫効果
**: $p < 0.01$ で有意差あり (Mann-Whitney U test)

③ ヒラタコクヌストモドキに対する効果
ヒラタコクヌストモドキ蛹に対する効果を図10に示した。377~417nmの波長の短い光が高い殺虫効果を示したが、467nmも前後の波長に比べると高い効果を示した。一方、441nmは前後の波長に比べて効果が低かった。

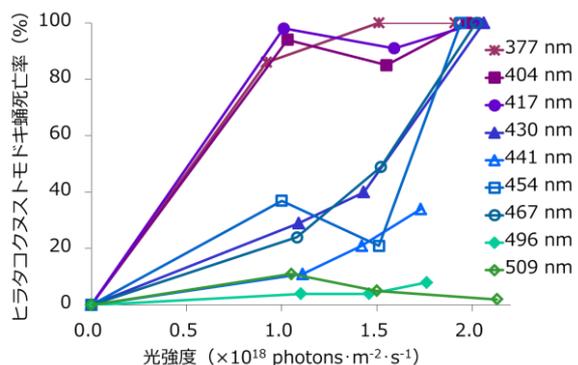


図10. ヒラタコクヌストモドキ蛹に対する各種波長光の殺虫効果

④ イチゴハムシに対する効果
蛹に対する死亡率を図11に示した。青色光

はイチゴハムシの蛹に対しても殺虫効果を示したが、その効果は他の昆虫種に比べると低く、 15×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の照射強度でも、最も高い効果を示した467nmでの死亡率が、50%程度にとどまった。

卵に照射した場合、孵化せずに死亡した個体の割合は60~70%にとどまったが、照射により、孵化後に死亡する個体も増え、440nmの場合、 15×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$

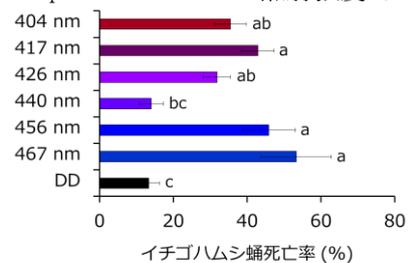


図11. イチゴハムシ蛹に対する各種波長光の殺虫効果

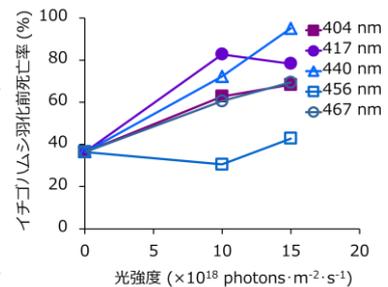


図12. イチゴハムシの卵への照射による殺虫効果

の光強度で、95%の個体が羽化前に死亡した。以上の結果から、屋外性で太陽光に暴露される機会が多いと考えられる昆虫種でも、光耐性は強いものの、青色光照射により致死する種が存在することが明らかになった。

(2) ショウジョウバエ蛹の困蛹殻の光透過スペクトル
いずれの发育ステージにおいても、波長が短いほど困蛹殻の光透過率は減少する傾向がみられ、ショウジョウバエ蛹に対して特異的に高い効果を示した470nm付近の波長の透過性が高いというようなことはなかった。すなわち、光透過率に波長特異性はみられなかった。したがって、ショウジョウバエ蛹でみられた波長特異的な殺虫効果は、困蛹殻の光透過率に起因するものではないと考えられた。

(3) ショウジョウバエ蛹の发育にともなう有効波長、効果的波長の変化
各发育ステージのショウジョウバエ蛹に対して、各種波長の光を 10×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ で照射した場合の殺虫効果を図13に示した。465、453、437、416nmが高い効果を示し、404、492、505nmでは効果は認められなかった。また、P2-P5までは高い殺虫効果が得られたが、P7以降は发育に伴い、効果は低くな

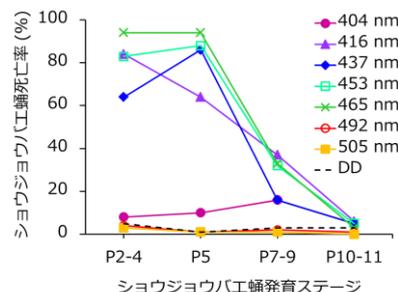


図13. 各发育ステージのショウジョウバエ蛹に対する各種波長光の殺虫効果

った。照射強度を 8×10^{18} (図 14 左)、 9×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ (図 14 右) と変えて、P2-P4 および P5 のみ同様に試験したところ、465nm の殺虫効果が最も高く、次いで 438、417nm の効果が高いことが分かった。効果の高い波長は成虫に類似しており、蛹化後早い段階で、成虫に類似した殺虫効果の波長特異性に变化することが明らかになった。

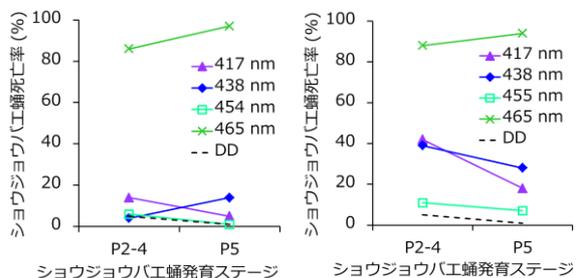


図 14. 各発育ステージのシヨウジョウバエ蛹に対する各種波長光の殺虫効果
照射強度： 8×10^{18} (左)、 9×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ (右)

(4) 青色光照射による傷害の解剖学的調査
青色光照射による蛹の発育への影響は、蛹の部位間で差があった。正常な蛹は複眼が赤に着色した後、頭部、胸部、腹部の順で剛毛が生えるが、青色光を照射した蛹は複眼の着色途中で頭部剛毛も生える前に、胸部および腹部剛毛が生えた個体が多く見られた。

(5) 照射強度と照射時間がシヨウジョウバエ蛹への殺虫効果に与える影響

照射強度が 8×10^{18} および 10×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の場合は、照射時間が長くなると殺虫効果も上昇した。一方、 5×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の場合は、照射時間を 12、18、24 時間と長くしても殺虫効果は認められなかった。

また、 10×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の場合は、連続照射でも間断照射でもほぼ 100% の致死率を示したが、 8×10^{18} photons \cdot m $^{-2}$ \cdot s $^{-1}$ の場合は、間断照射では効果を全く示さなかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① 堀雅敏, 青色光の殺虫効果, パリティ (丸善出版), 査読無, 2015, 30: 55-58
- ② 堀雅敏, 青色光に見いだされた殺虫効果—新たな害虫防除技術の可能性—, 植物防疫 (日本植物防疫協会), 査読無, 2015, 69: 422-427
- ③ Hori, M., Shibuya, K., Sato, M. and Saito, Y., Lethal effects of short-wavelength visible light on insects, Scientific Reports, 査読有, 2014, 4: 7383, DOI: 10.1038/srep07383

[学会発表] (計 17 件)

- ① Shibuya, K., Sato, M., Saito, Y.,

Onodera, S. and Hori, M., Lethal effects of short-wavelength visible light on insects, 2016 XXV International Congress of Entomology, 2016 年 9 月 25-30 日, Orland (USA)

- ② Onodera, S., Shibuya, K., Suzuki, K., Aso, H., and Hori, M., Blue light injures insect cell and kills insect organisms, 2016 XXV International Congress of Entomology, 2016 年 9 月 25-30 日, Orland (USA)

- ③ 堀雅敏, 青色光の昆虫に対する致死効果, 照明学会創立 100 周年記念 平成 28 年度照明学会全国大会 (招待講演), 2016 年 8 月 31 日-9 月 1 日, 日本大学 (東京都千代田区)

- ④ Shibuya, K. and Hori, M., Lethal effect of blue light on *Drosophila melanogaster* and its mechanism, 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会, 2016 年 3 月 26-29 日, 大阪府立大学 (大阪府堺市)

- ⑤ 斎藤佳乃・渋谷和樹・堀雅敏, チカイエカに対する青色光の殺虫効果, 第 58 回日本応用動物昆虫学会大会, 2016 年 3 月 26-29 日, 大阪府立大学 (大阪府堺市)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 害虫の防除方法及び防除装置

発明者: 堀雅敏・鈴木智尚・渋谷和樹・佐藤光成

権利者: 堀雅敏・信越半導体株式会社

種類: 特許

番号: PCT/JP2014/073679

出願年月日: 平成 25 年 11 月 29 日

国内外の別: 国外

[その他]

- ① 報道関連: フジテレビ「新報道 2001」, 科学雑誌「Newton」, 産経新聞, 日刊工業新聞, 河北新報, 日本農業新聞, Yahoo トップニュースなどのインターネット情報サイトなど多数

- ② アウトリーチ活動情報: 渋谷和樹・堀雅敏, 青い光が虫を殺す, 日本応用動物昆虫学会ホームページ「むしむしコラム・おーどーこん」, URL: http://column.odokon.org/2015/0609_190700.php

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀 雅敏 (HORI, Masatoshi)

東北大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号: 70372307