

しぶや かずき

氏名（本籍地） 渋谷 和 樹

学 位 の 種 類 博士（農学）

学 位 記 番 号 農博第 1146 号

学位授与年月日 平成 28 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項

研 究 科 ， 専 攻 東北大学大学院農学研究科（博士課程）応用生命科学専攻

論 文 題 目 短波長可視光の殺虫効果とそのメカニズムの解明

博士論文審査委員 （主査）准教授 堀 雅敏

教 授 鳥山 欽哉

教 授 昆野 安彦

准教授 金山 喜則

# 論文内容要旨

## 短波長可視光の殺虫効果と そのメカニズムの解明

東北大学大学院農学研究科

応用生命科学専攻

渋谷和樹

指導教員

堀 雅敏 准教授

## 第1章 序論

現在の害虫防除は薬剤を用いた化学的防除が主流であるが、害虫の薬剤抵抗性の発達や環境中への残留などの問題が指摘されており、新たな防除法の開発が望まれている。本研究は光を用いた新たな物理的防除法を確立しようとするものである。現在用いられている光による害虫防除法は、いずれも昆虫の行動を制御しようというものである。昆虫の生存を直接的に阻害する目的では、UV照射による致死効果を研究したものはあるが、可視光照射による殺虫が研究された例はこれまでにない。よって本研究では、可視光の殺虫効果の有無を調査し、さらに殺虫効果の種間比較、成育ステージ間比較、殺虫メカニズムの解明、応用に向けた照射方法の検討などを行った。その結果、可視光の短波長域（400~500 nm、以後短波長可視光と表記）に強力な殺虫効果があることが明らかになった。この研究は可視光による殺虫という全く新しい害虫防除技術の確立につながるだけでなく、光生物学に新たな知見を加える意義のあるものである。

## 第2章 様々な昆虫の蛹に対する殺虫効果

可視光照射が昆虫の生存を阻害するかどうかを検証するために、3種類の昆虫の蛹に様々な波長の可視光を照射し、殺虫効果の有無とその昆虫種間における差異を検討した。実験にはハエ目のキイロショウジョウバエとチカイエカ、コウチュウ目のヒラタコクヌストモドキを供試した。

キイロショウジョウバエ蛹では 467 nm と 440 nm にピークがある 2 山型の殺虫効果を示した (Fig. 1)。378~508 nm の波長範囲では光強度の上昇に伴って殺虫率も高くなる傾向が見られたが、532 nm 以上の波長においては、光強度が上昇しても殺虫率には大きな変化が見られなかった (Fig. 2)。チカイエカ蛹では 417 nm に高い殺虫効果があった (Fig. 3)。404~467 nm の範囲においては、光強度が上昇すると殺虫率も高くなる傾向が見られた。殺虫率の上昇が最も顕著であったのは 417 nm であった (Fig. 4)。ヒラタコクヌストモドキ蛹では 404~467 nm の波長範囲で 100%の殺虫率を示した (Fig. 5)。

これらの結果から、短波長可視光が高い殺虫効果を示すことが明らかになった。ハエ目とコウチュウ目という異なる目で殺虫効果が得られたことから、短波長可視光の照射は昆虫綱全体に対して殺虫効果を示す可能性がある。また、効果的な光波長および光強度が昆虫種によって異なるということも明らかになった。このことは光に対する耐性が昆虫種間で大きく異なっていることを示唆している。

## 第3章 キイロショウジョウバエ各成育ステージに対する殺虫効果

蛹以外の成育ステージに対する殺虫効果を明らかにするために、キイロショウジョウバエの各成育ステージ（卵、終齢幼虫、各成育段階の蛹、成虫）に短波長可視光を照射し、殺虫効果の有無と成育ステージ間の効果的な波長の違いを調査した。

卵では波長が短くなるほど殺虫率が高くなる傾向が見られた (Fig. 6)。いずれの波長も

光強度の上昇に伴って殺虫率も高くなり、短い波長ほど殺虫率の上昇程度が大きい傾向であった (Fig. 7)。終齢幼虫では 405~465 nm の範囲で同程度の殺虫効果が示された (Fig. 8)。いずれの波長においても光強度の上昇に伴い殺虫率も高くなったが、494 nm は他の波長と比較して明らかに効果が低かった (Fig. 9)。蛹では 15 段階 (P1-P15) の成育ステージのうち、P2-P4、P5、P7-P9、P10-P11 の 4 段階を供試した。416~465 nm の波長範囲は P2-P4 および P5 の蛹に対して高い殺虫効果を示したが、蛹の成育に伴い殺虫率は大きく減少した (Fig. 10)。P2-P4 および P5 の蛹に対して、416~465 nm の光を上記試験より低い強度で照射した結果、465 nm が最も高い殺虫効果を示した (Fig. 11, 12)。成虫には 12 日間連続で光を照射し、3 日ごとの累積死亡率を調査した。光強度が低い場合は 417 nm が最も高い殺虫効果を示したが (Fig. 13, 14)、高い光強度では 465 nm が最も高い殺虫効果を示した (Fig. 15, 16)。短波長可視光照射が成虫の寿命と繁殖能力に与える影響を詳細に調査するため、成虫が死亡するまで 467 nm 光を連続して照射し、そのときの生存日数と産卵数を計測した。成虫の寿命と産卵数は 467 nm 光の強度の上昇に伴って顕著に減少することが示された (Fig. 17, 18)。

これらの結果から、短波長可視光はキイロショウジョウバエの成育ステージ全体に渡って高い致死効果を示すことが明らかになった。しかし、効果の高い波長は成育ステージごとに異なっており、これには成育に伴う体構造の変化が影響していると考えられた。また、卵・幼虫よりも蛹・成虫において明瞭な波長特異性が示された要因として、囲蛹殻など表面構造の光透過性が波長特異的である可能性が考えられた。

#### 第 4 章 キイロショウジョウバエ囲蛹殻の光透過率

殺虫効果の波長特異性が昆虫の表面構造の光透過率に起因するものか否かを検討するために、キイロショウジョウバエの囲蛹殻の透過スペクトルを測定した。測定は蛹の成育ステージごとに行った。

いずれのステージにおいても、波長が短くなると透過率が減少する傾向がみられた。前蛹 (P1-P4) では成育の進行に伴い透過率が減少する傾向が見られたが、P5 以降は成育に伴う透過率の変動は見られなかった (Fig. 19, 20)。

特定の波長を透過しやすいといった特徴は見られなかったことから、波長特異的な殺虫効果は囲蛹殻の光透過率に起因するものではないといえる。表面を透過し昆虫の内部組織に到達した光波長のうち、特定波長の光を選択的に吸収するようなメカニズムが存在すると考えられた。

#### 第 5 章 短波長可視光の照射による過酸化水素の発生

短波長可視光の殺虫メカニズムとして、照射光のエネルギーによる活性酸素の発生が考えられた。そこで、キイロショウジョウバエ蛹に各波長の可視光を照射し、活性酸素種の一種である過酸化水素の発生量を測定した。

いずれの波長においても過酸化水素の発生が確認され、光強度の上昇に伴って発生量も増加した (Fig. 21)。波長間で発生量の比較をすると、404~466 nm の範囲では発生量が多く、495、508 nm では低かった。最も発生量が多い波長は 439 nm であり、次いで 466 nm であった (Fig. 22)。

これらの結果より、短波長可視光の照射が過酸化水素を発生させることが明らかになったが、その発生量は波長特異的であり、キイロシヨウジョウバエ蛹の殺虫効果において示された傾向 (492 nm 以上の波長で殺虫率が低く、465 nm 以下の波長で殺虫率が高い、Fig. 10) と類似していた。短波長可視光照射による殺虫のメカニズムには、特定波長の光を特異的に吸収する光増感物質と、それによって発生する活性酸素が関与していることが示唆された。

## 第 6 章 短波長可視光の照射がキイロシヨウジョウバエ蛹の発育過程に与える影響

短波長可視光の照射が昆虫に対してどのような損傷を与えるのかを調査した。465 nm 光を照射したキイロシヨウジョウバエ蛹の各部位を観察し、それぞれの部位について発育完了率を調査した。観察部位は複眼・翅 (着色が完了しているかどうか)、頭部剛毛・胸部剛毛・腹部剛毛・脚の剛毛 (剛毛が生えそろうているかどうか) とした。その結果、胸部および腹部剛毛の発育完了率が高い傾向が示された (Fig. 23)。光照射による損傷の程度には部位間で差があると考えられる。また、発育完了までの日数が 1~2 日程度延長することも示された (Fig. 24)。これらの結果から、短波長可視光の照射により発育の進行度に部位間で大きな差が生じ、それにより蛹は正常に羽化できずに致死すると考えられた。

## 第 7 章 照射強度と照射時間が殺虫効果に与える影響

465 nm を用いて照射強度と照射時間を様々な組み合わせで変え、殺虫効果の変化を調査した。連続照射条件で殺虫効果を得るには、照射強度  $8 \times 10^{18}$  photons $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ s<sup>-1</sup> 以上、照射時間 18 時間以上が必要であり、高い殺虫効果を得るには 24 時間の照射が必要であった (Fig. 25)。次に、24 時間照射の途中で暗期を挿入することで一日当たりの照射時間を様々な変化させて、殺虫効果を調査した。照射強度が  $10 \times 10^{18}$  photons $\cdot$ m<sup>-2</sup> $\cdot$ s<sup>-1</sup> であれば、一日当たり 6 時間の照射 (6L18D $\times$ 4 日間) でも 24 時間連続照射条件と同等の殺虫率が得られた (Fig. 26)。

このことから、光強度が一定以上の強さであれば、一日当たりの照射時間を大きく短縮できるということが明らかになった。これは実際の防除の現場に応用する際の利点と成り得る。例えば人がいる日中は短波長可視光の照射を行わず、夜間の数時間のみ照射するといった使い方が考えられる。

## 第 8 章 総合考察

可視光が昆虫のような複雑な動物を殺すことができるという発見は世界初であり、これ

までの常識を覆すものである。短波長可視光の照射による殺虫のメカニズムには以下のような仮説を立てることができる。光が照射された際、卵は波長に応じたエネルギーを受容し、幼虫は光受容器官によって、蛹と成虫は体内の光増感物質によって波長特異的に光エネルギーを受容する。そのエネルギーによって活性酸素が発生し、周辺の組織や細胞に傷害を与える。この傷害によって発生過程に異常をきたし、昆虫は次の成育ステージに進行することができなくなり死に至る。ただし、成虫は成長が完了しているため、活性酸素による損傷は細胞寿命の短縮や正常な代謝の阻害などを引き起こして致死すると考えられる。

短波長可視光の照射による殺虫は様々な場面で応用できる新たな害虫防除技術と成り得る。害虫種や生息環境を限定せずに利用できる可能性があり、家屋内など薬剤の使用が難しい場面にも適用しやすい。また、光は薬剤と異なって環境中に残留することはないため、環境負荷がきわめて小さいといえる。短波長可視光による殺虫現象の発見、およびそのメカニズムの解明はきわめて新規性の高い研究であり、光生物学に新たな知見を加えるという意味でも非常に重要なものである。

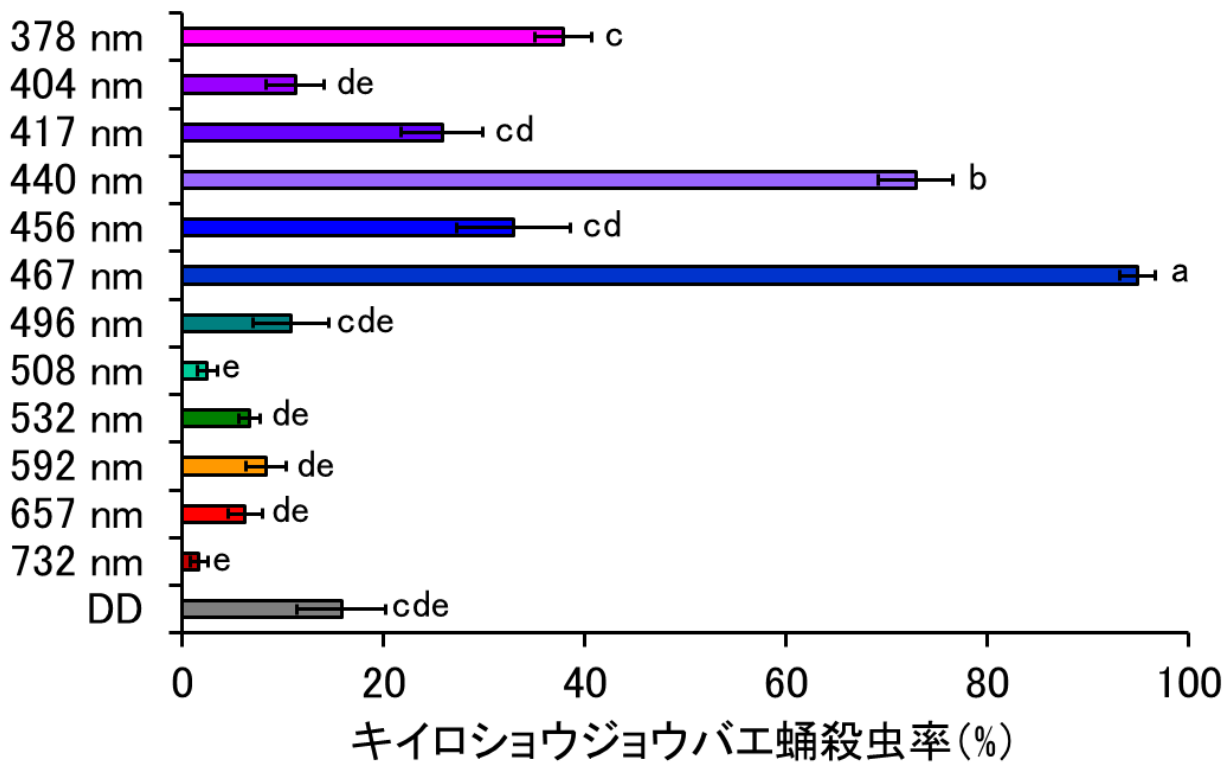


Fig. 1 各波長光照射によるキロシヨウジョウバエ蛹殺虫率  
 光強度  $3 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で7日間連続照射、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

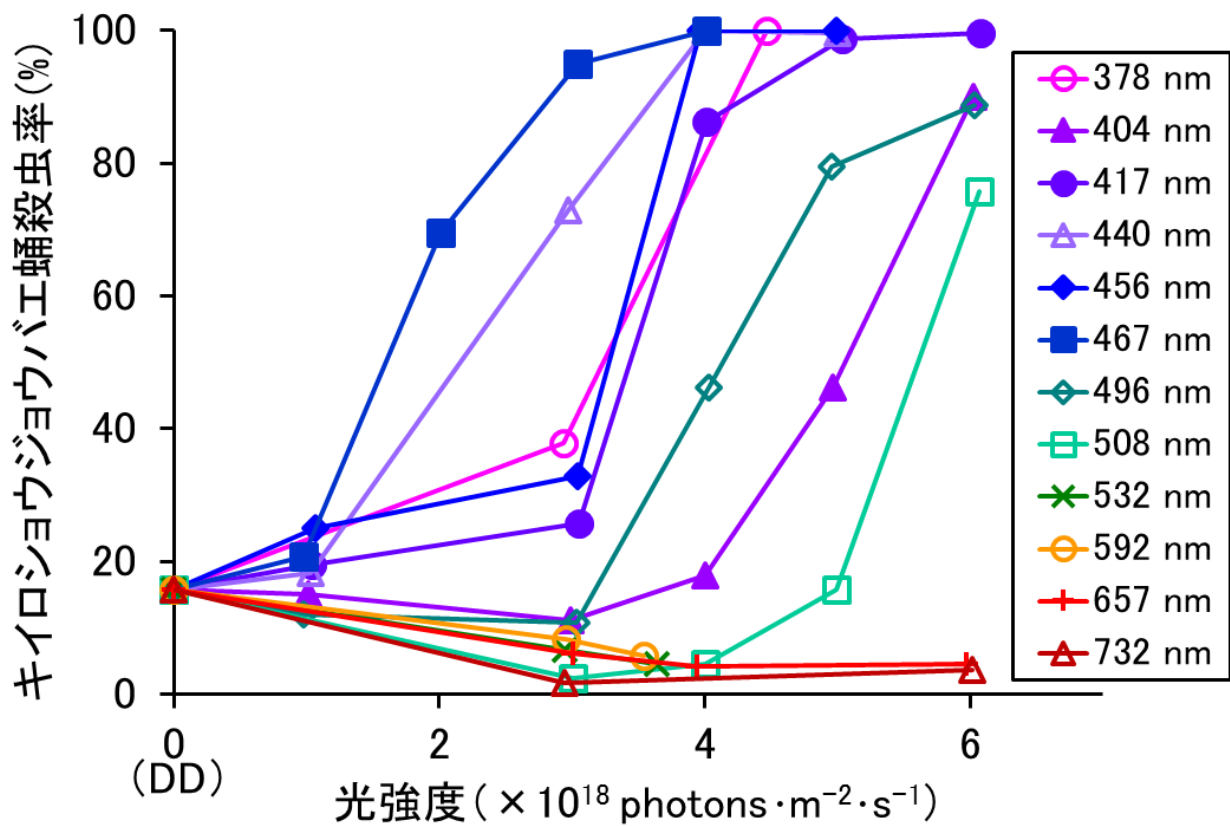


Fig. 2 各波長、各強度の光照射によるキロシヨウジョウバエ蛹殺虫率  
 DD は全暗条件を示す

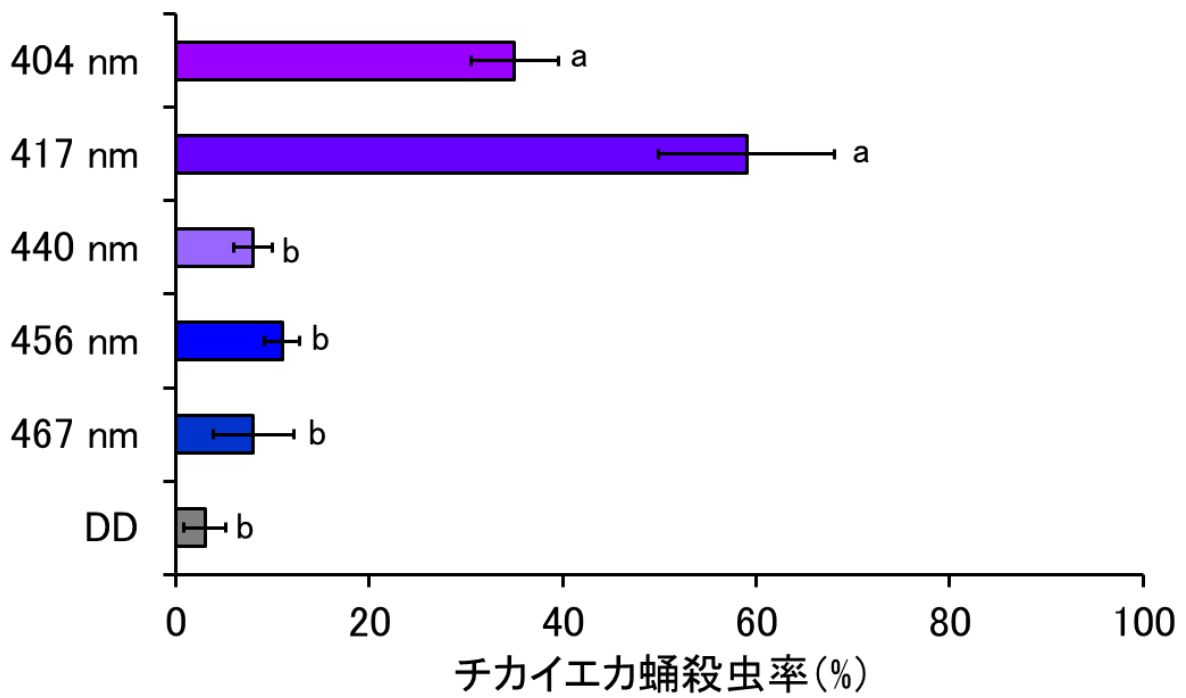


Fig. 3 各波長光照射によるチカイエカ蛹殺虫率  
 光強度  $10 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で5日間連続照射、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

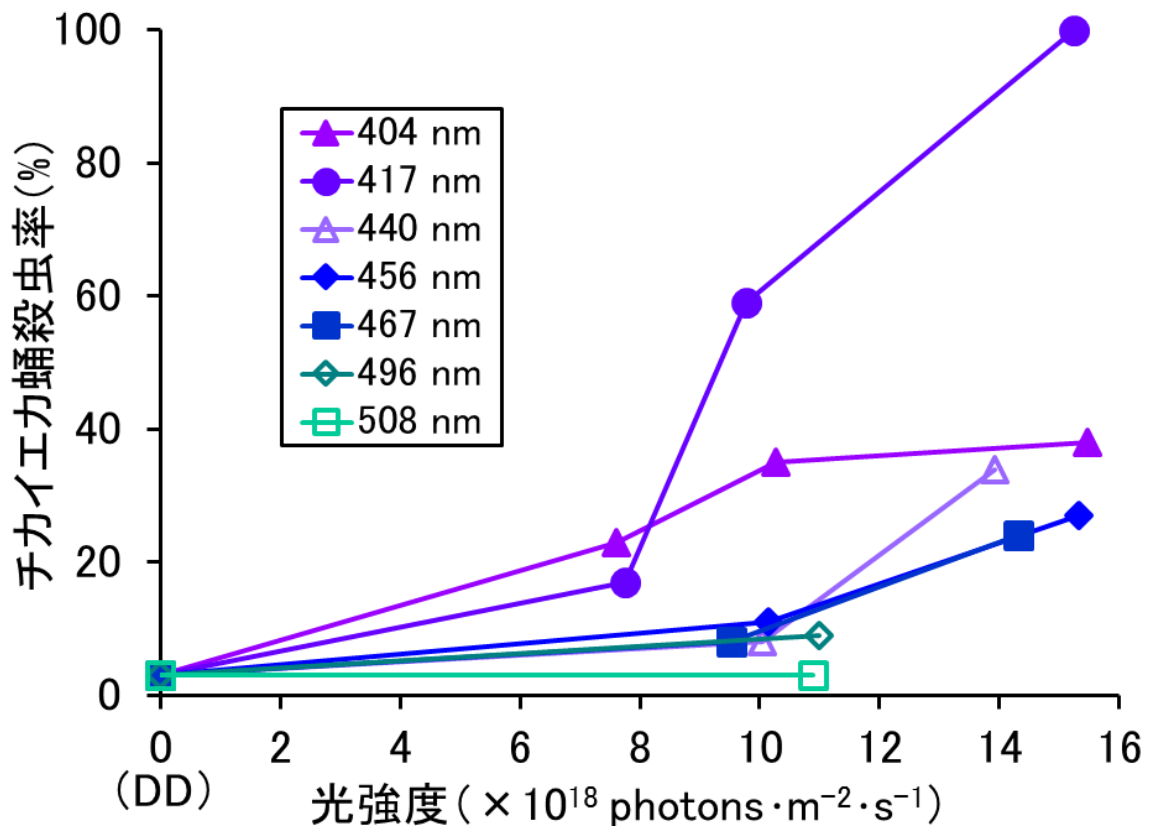


Fig. 4 各波長、各強度の光照射によるチカイエカ蛹殺虫率  
 DD は全暗条件を示す



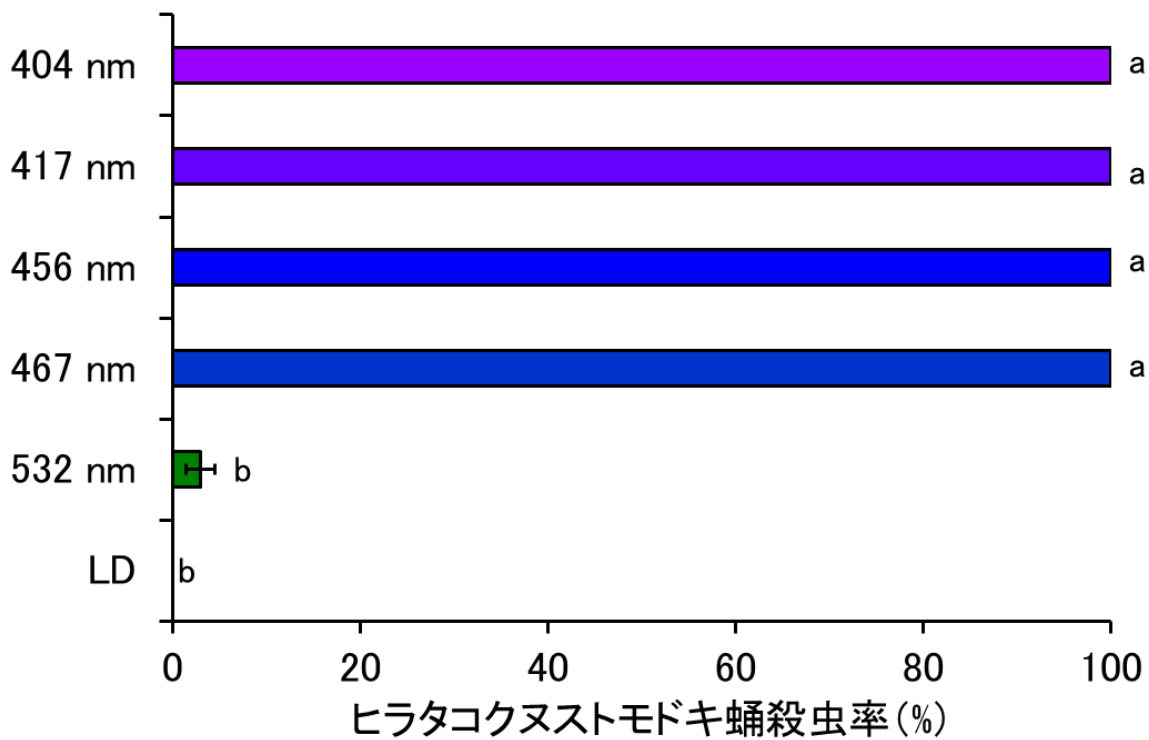


Fig. 5 各波長光照射によるヒラタコクヌストモドキ蛹殺虫率  
 光強度  $2 \times 10^{18}$  photons  $\cdot$  m<sup>-2</sup>  $\cdot$  s<sup>-1</sup> で 14 日間連続照射、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、LD は冷陰極蛍光ランプを用いた 16L8D 条件を示す

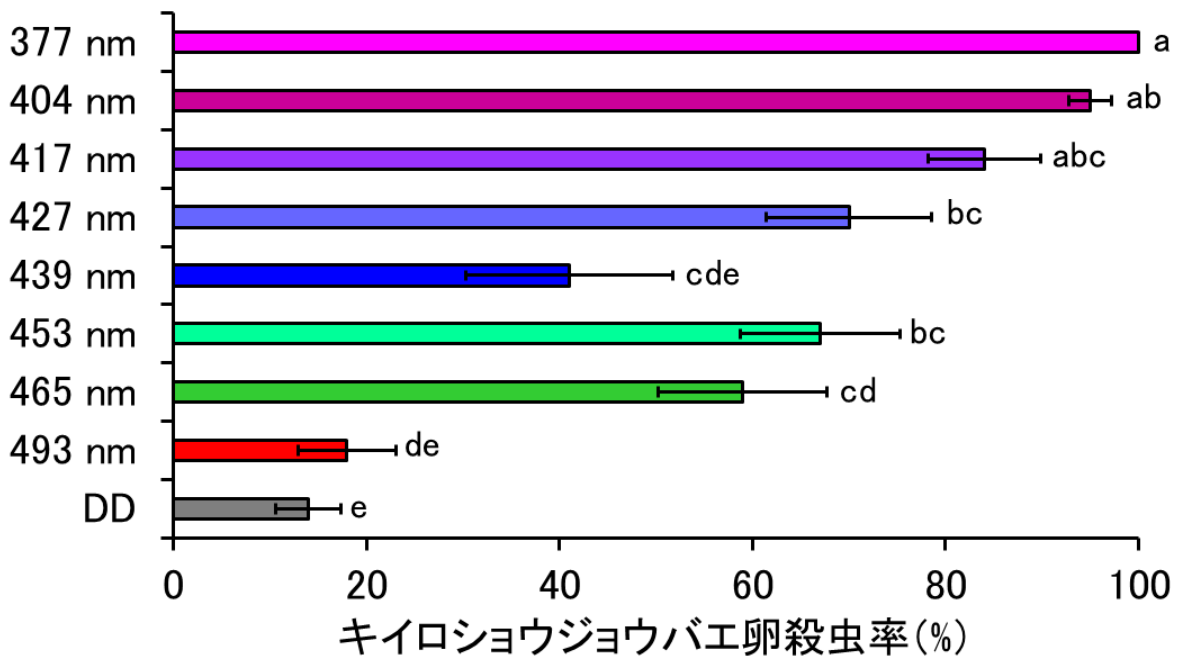


Fig. 6 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ卵殺虫率  
 光強度  $4 \times 10^{18}$  photons  $\cdot$  m<sup>-2</sup>  $\cdot$  s<sup>-1</sup> で 48 時間連続照射、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

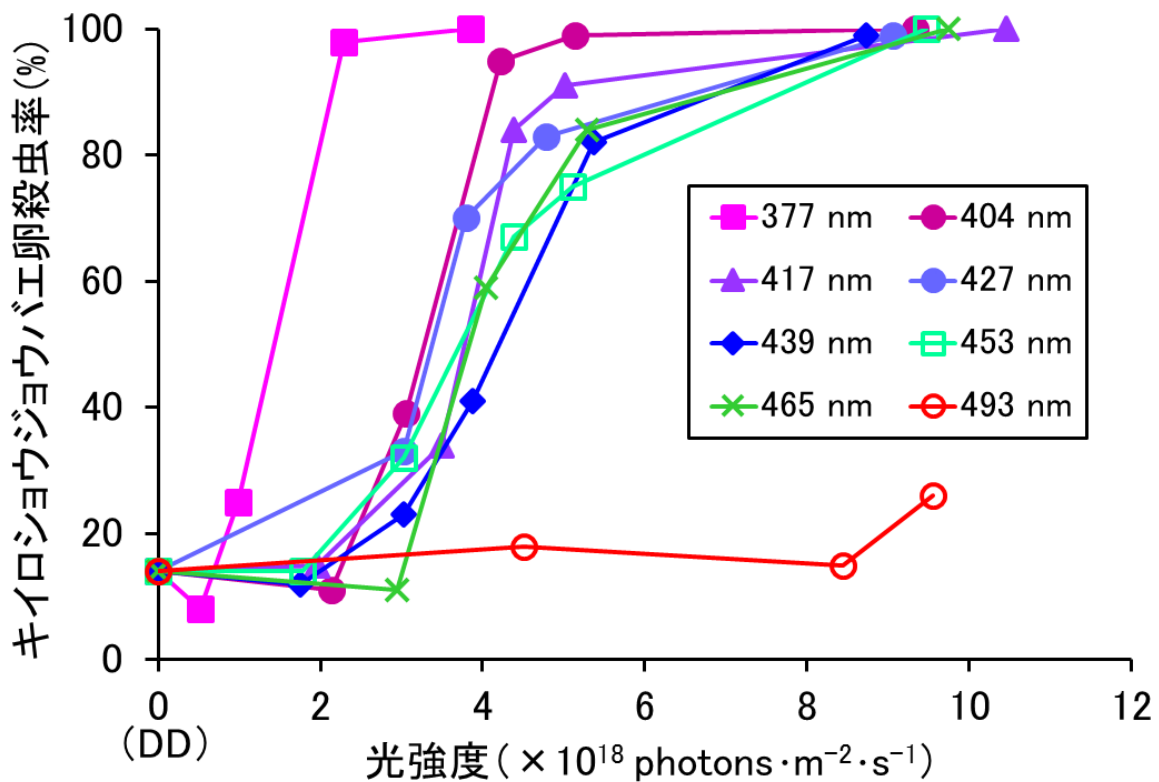


Fig. 7 各波長、各強度の光照射によるキイロショウジョウバエ卵殺虫率  
DD は全暗条件を示す

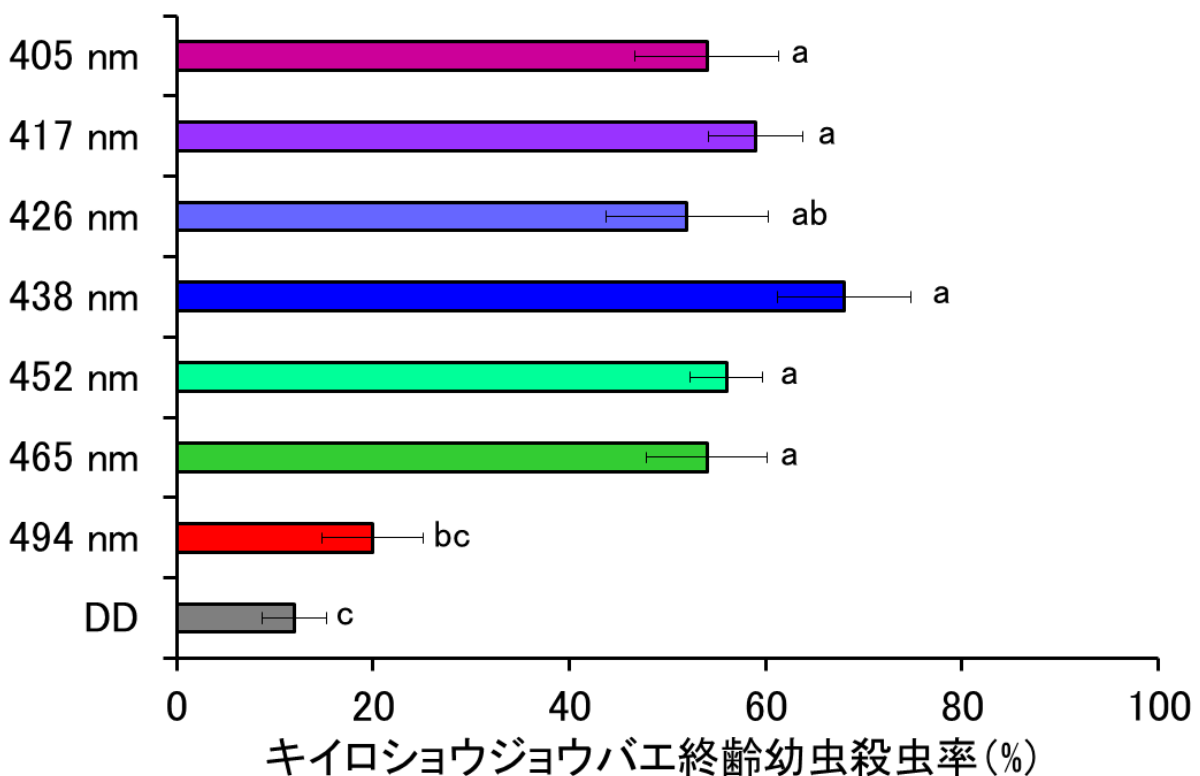


Fig. 8 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ終齢幼虫殺虫率  
光強度  $5 \times 10^{18}$  photons · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup> で 24 時間連続照射、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

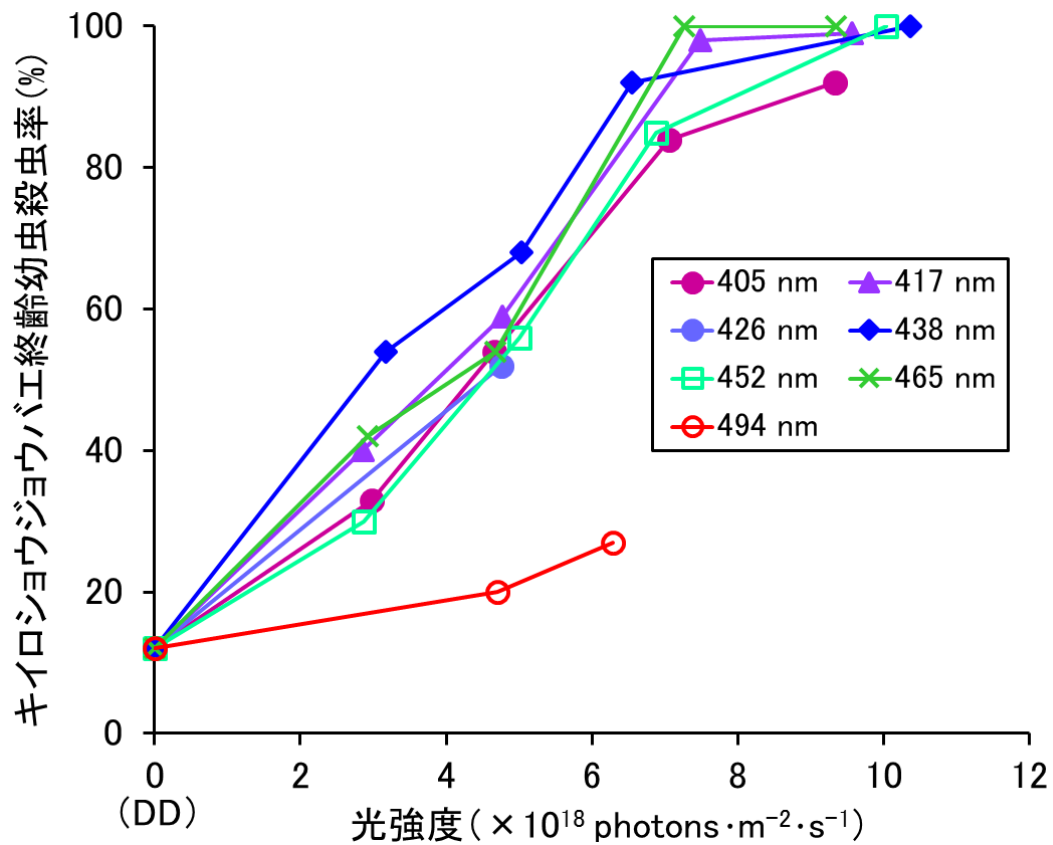


Fig. 9 各波長、各強度の光照射によるキイロシヨウジヨウバエ終齡幼虫殺虫率  
DD は全暗条件を示す

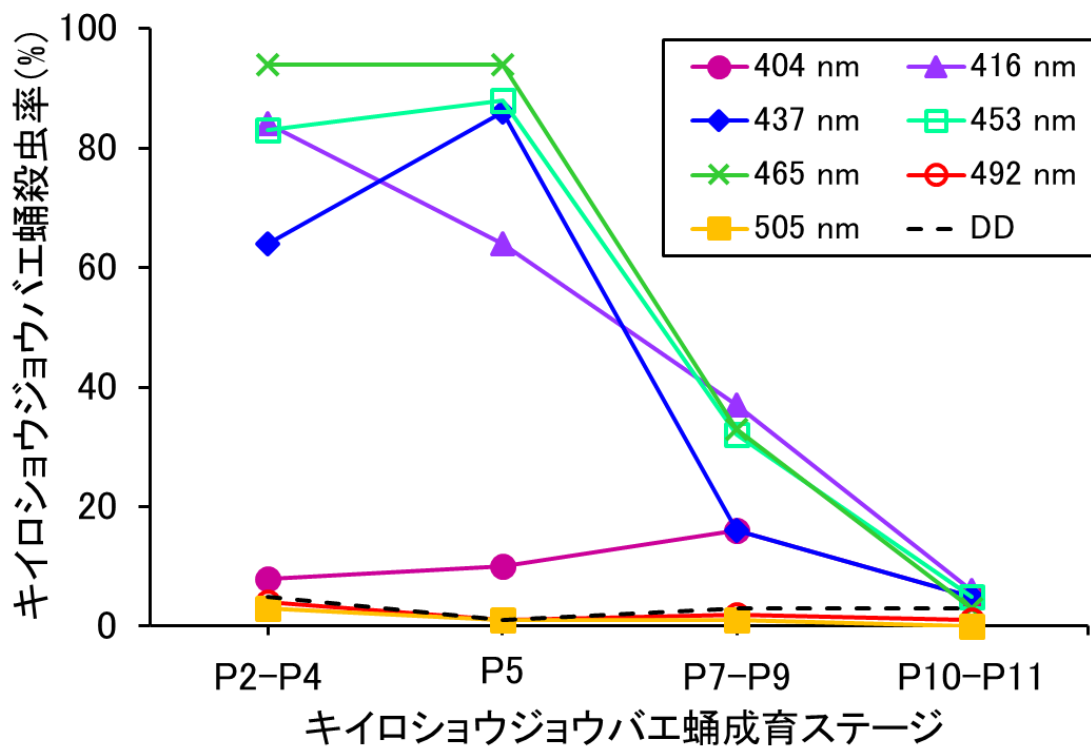


Fig. 10 各波長光照射によるキイロシヨウジヨウバエ各成育ステージの蛹における殺虫率  
光強度  $10 \times 10^{18}$  photons·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> で 24 時間連続照射、DD は全暗条件を示す

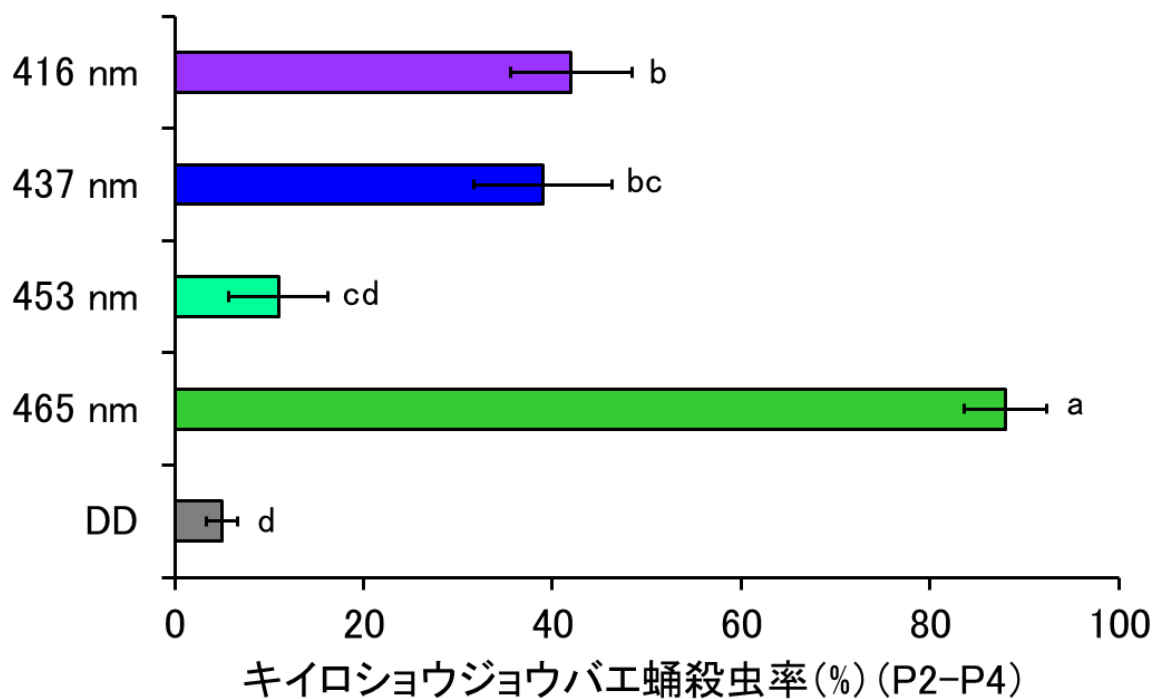


Fig. 11 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ蛹殺虫率 (P2-P4)  
 光強度  $9 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で 24 時間連続照射、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

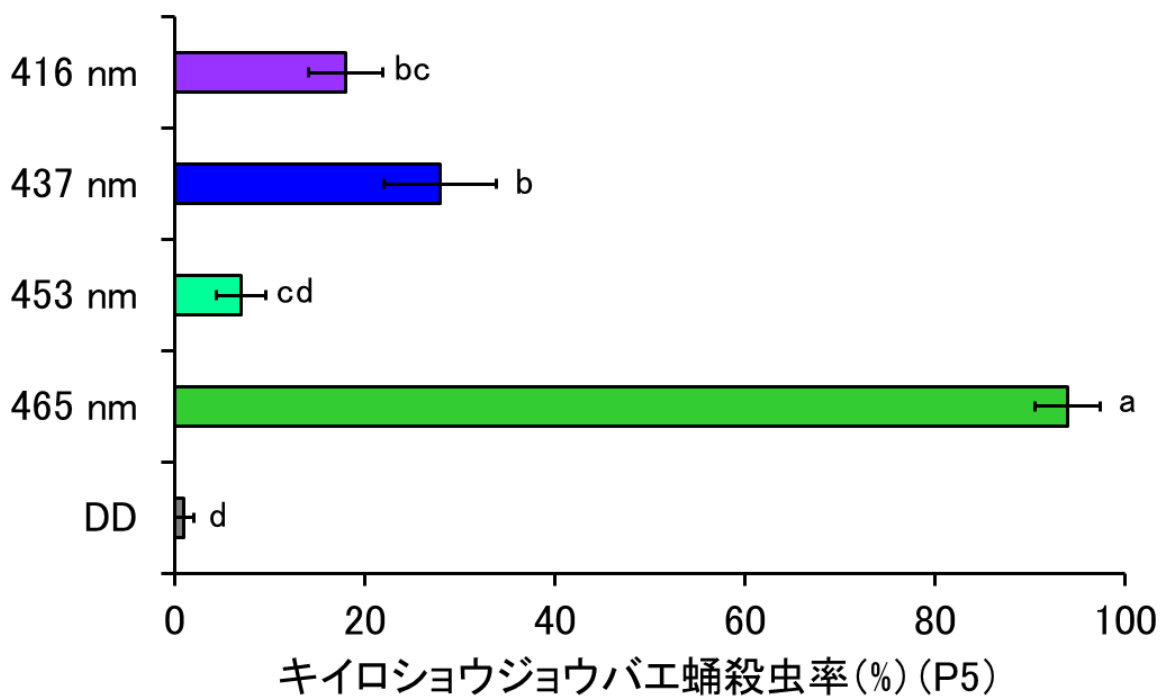


Fig. 12 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ蛹殺虫率 (P5)  
 光強度  $9 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で 24 時間連続照射、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

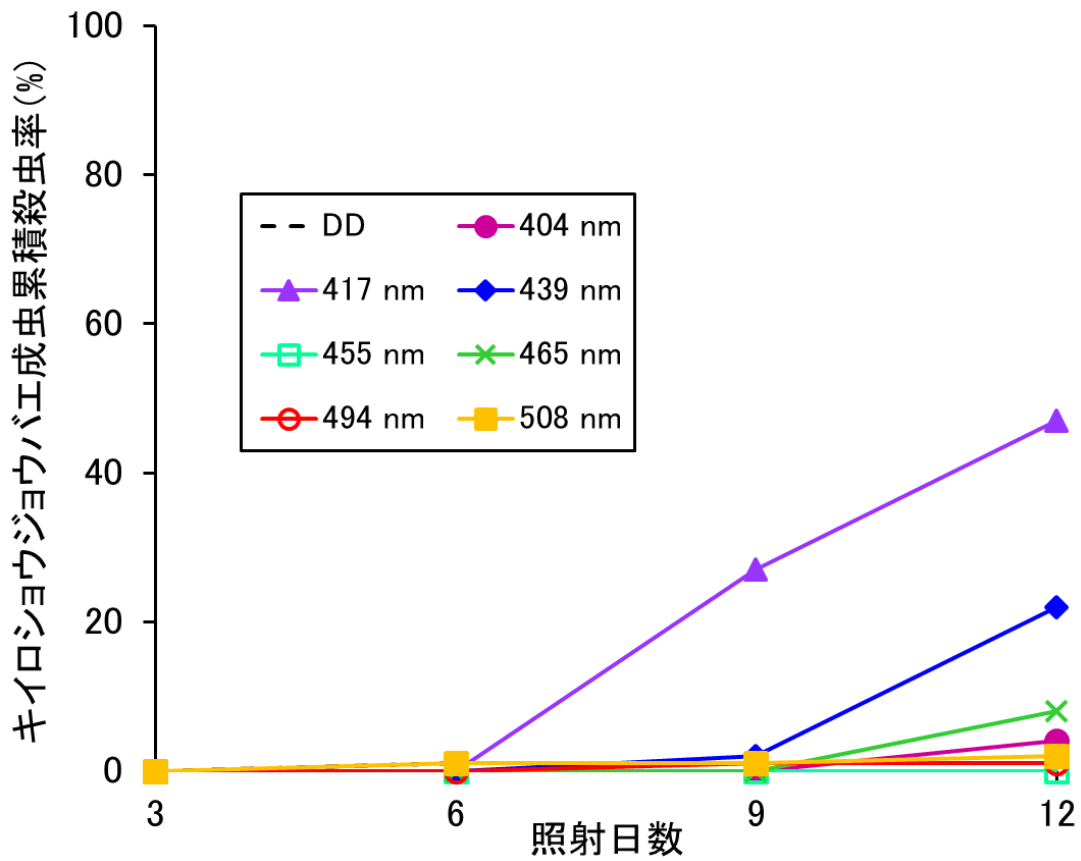


Fig. 13 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ成虫の累積殺虫率  
光強度  $1 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で 12 日間連続照射、DD は全暗条件を示す

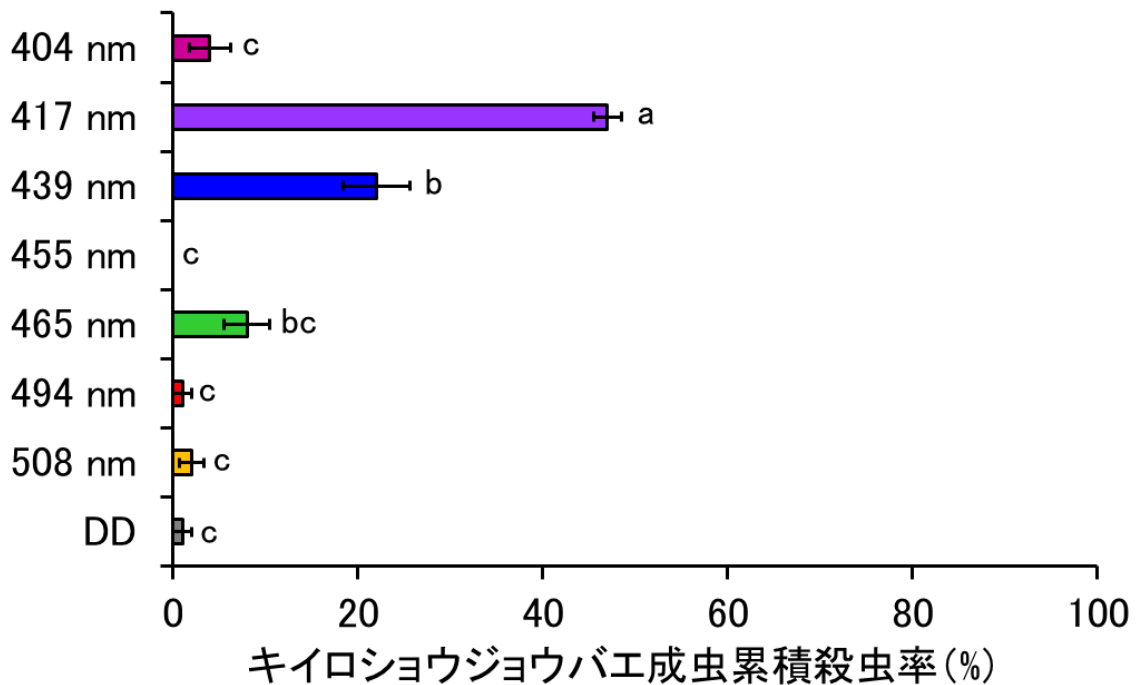


Fig. 14 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ成虫の累積殺虫率  
光強度  $1 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、Fig. 13 の照射 12 日目における累積殺虫率を比較、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

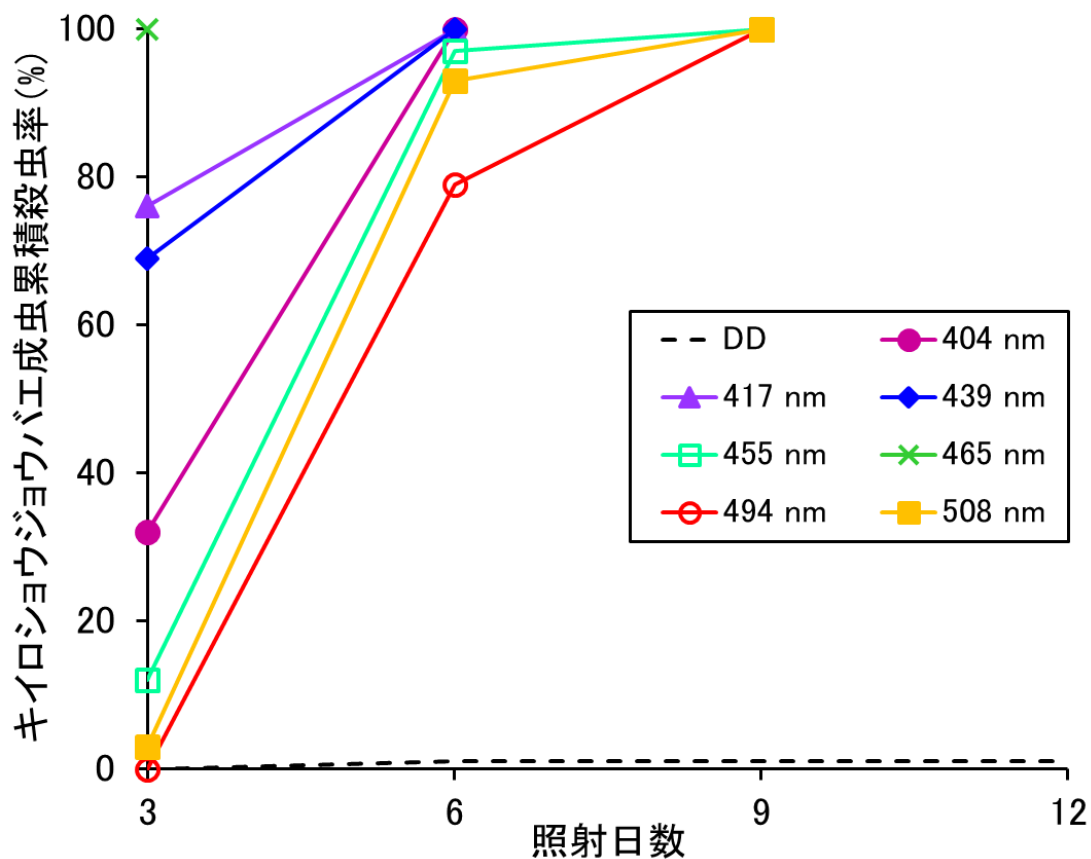


Fig. 15 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ成虫の累積殺虫率  
光強度  $10 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で 12 日間連続照射、DD は全暗条件を示す

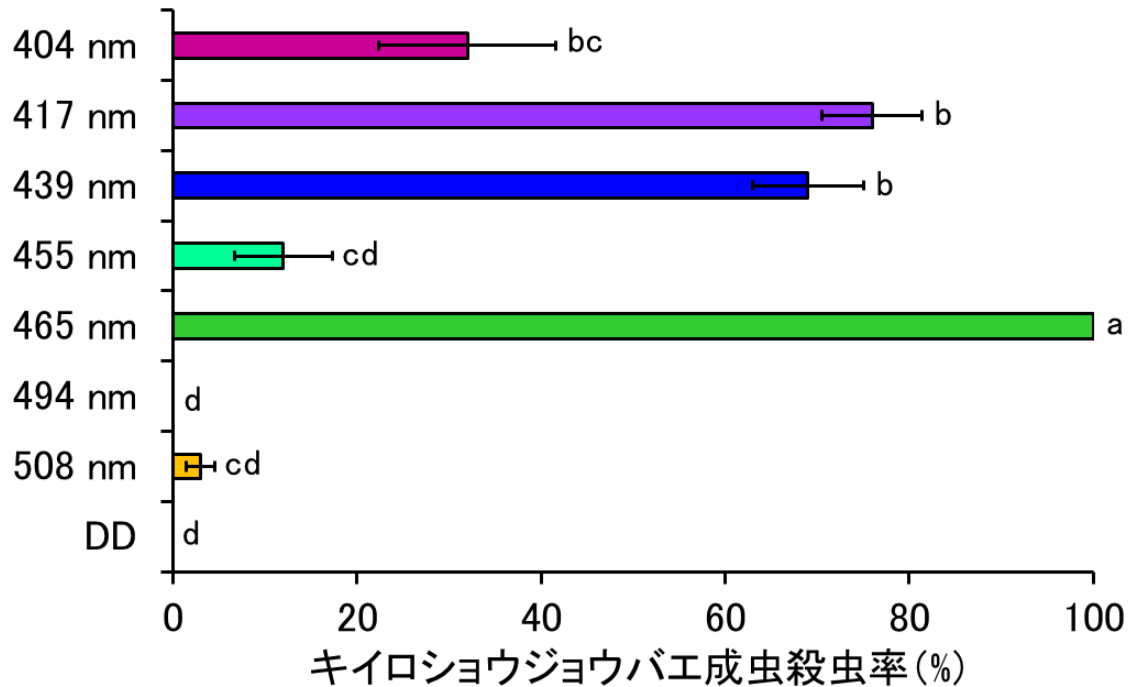


Fig. 16 各波長光照射によるキイロショウジョウバエ成虫殺虫率  
光強度  $10 \times 10^{18} \text{ photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、Fig. 15 の照射 3 日目における殺虫率を比較、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、DD は全暗条件を示す

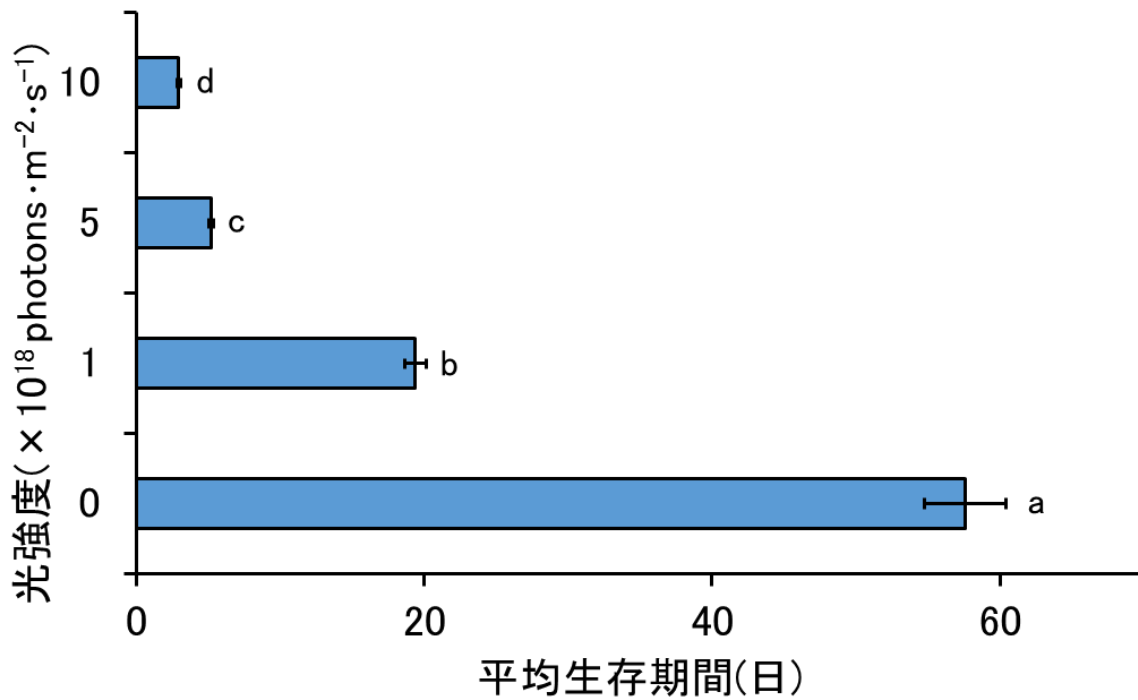


Fig. 17 467 nm 光照射によるキイロショウジョウバエ成虫の寿命の変化  
光強度0は全暗条件を示す、異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)

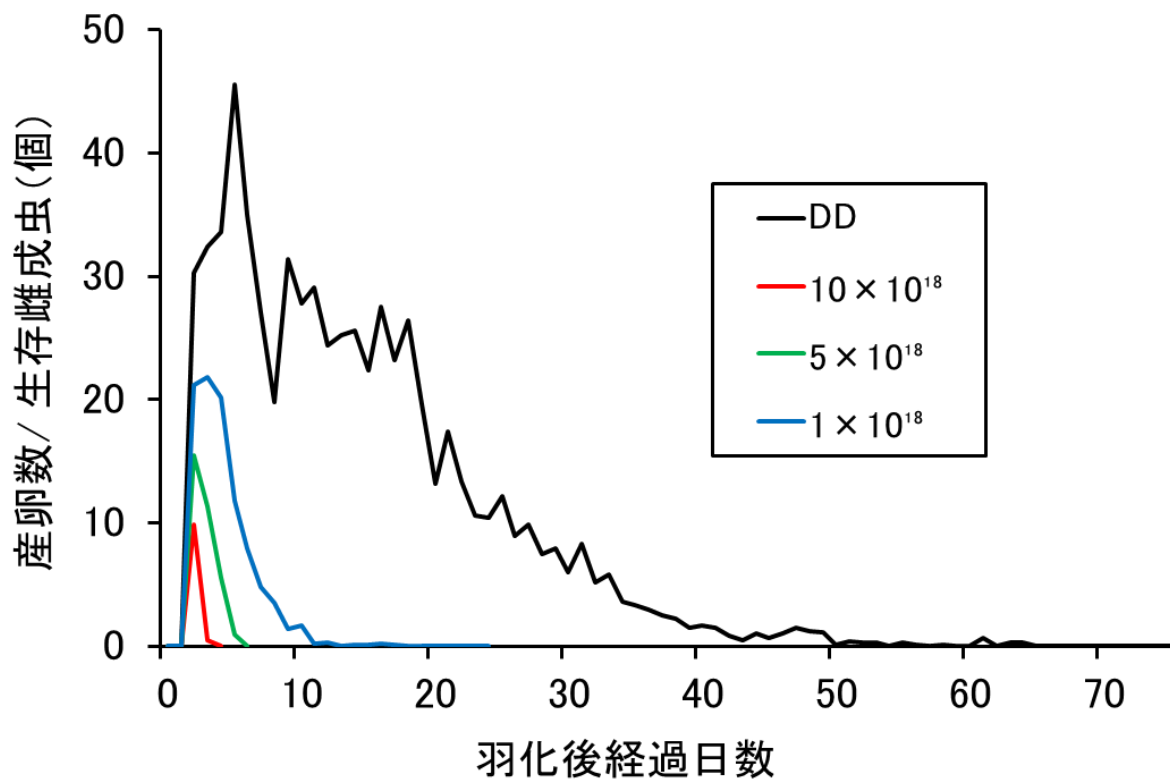


Fig. 18 467 nm 光照射によるキイロショウジョウバエ雌成虫の産卵数の変化  
DDは全暗条件を示す、凡例の数字は光強度 ( $\times \text{photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) を示す

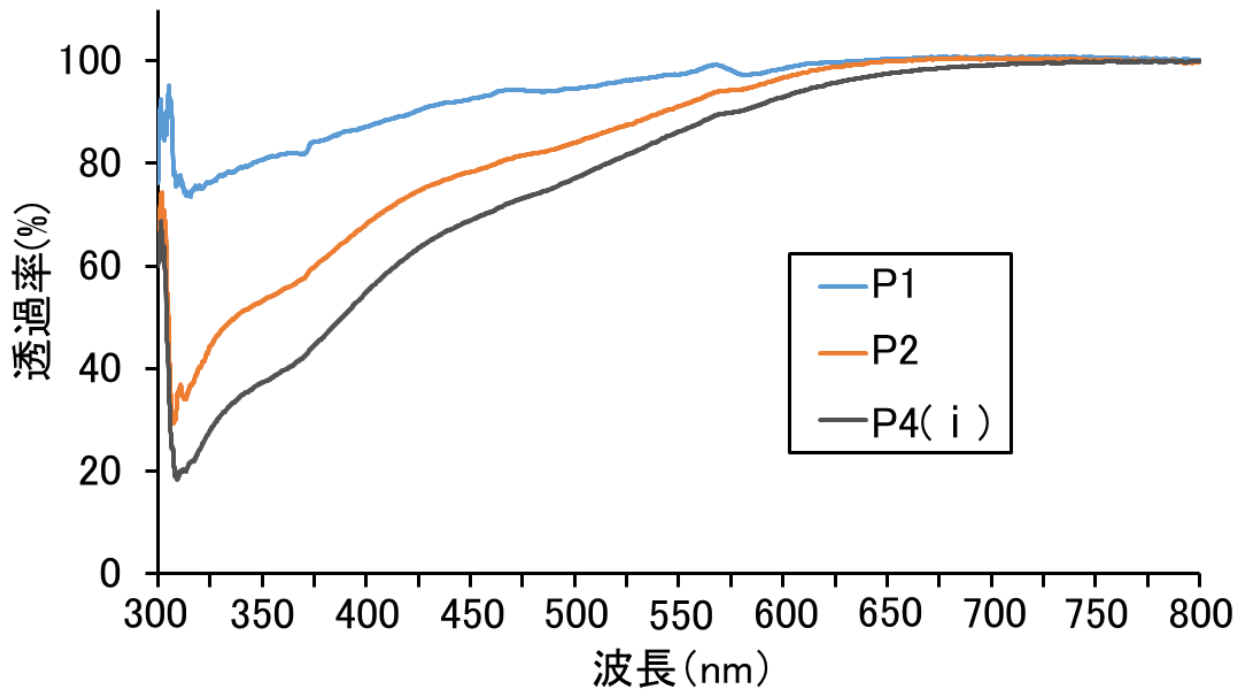


Fig. 19 キイロシヨウジョウバエ圏蛹殻の透過スペクトル (P1-P4 ( i ))

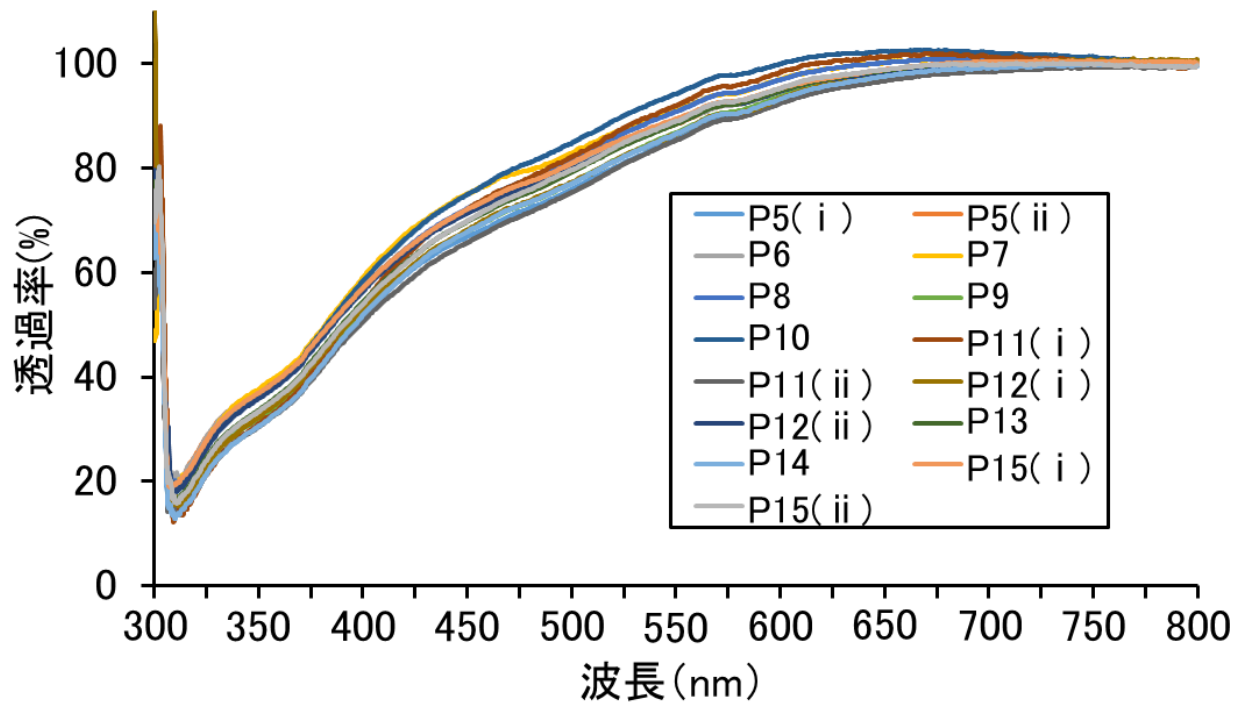


Fig. 20 キイロシヨウジョウバエ圏蛹殻の透過スペクトル (P5 ( i ) -P15 ( ii ))



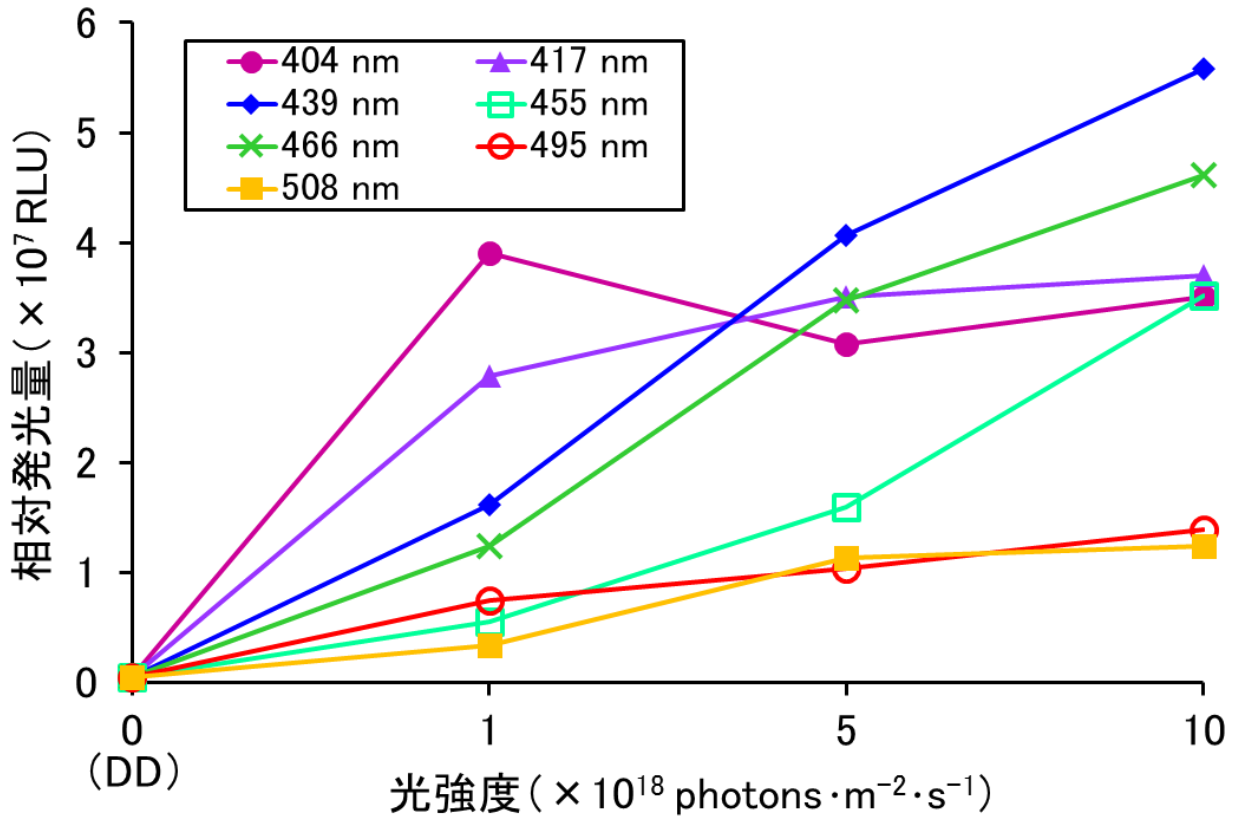


Fig. 21 各波長光照射による過酸化水素発生量  
DD は全暗条件を示す

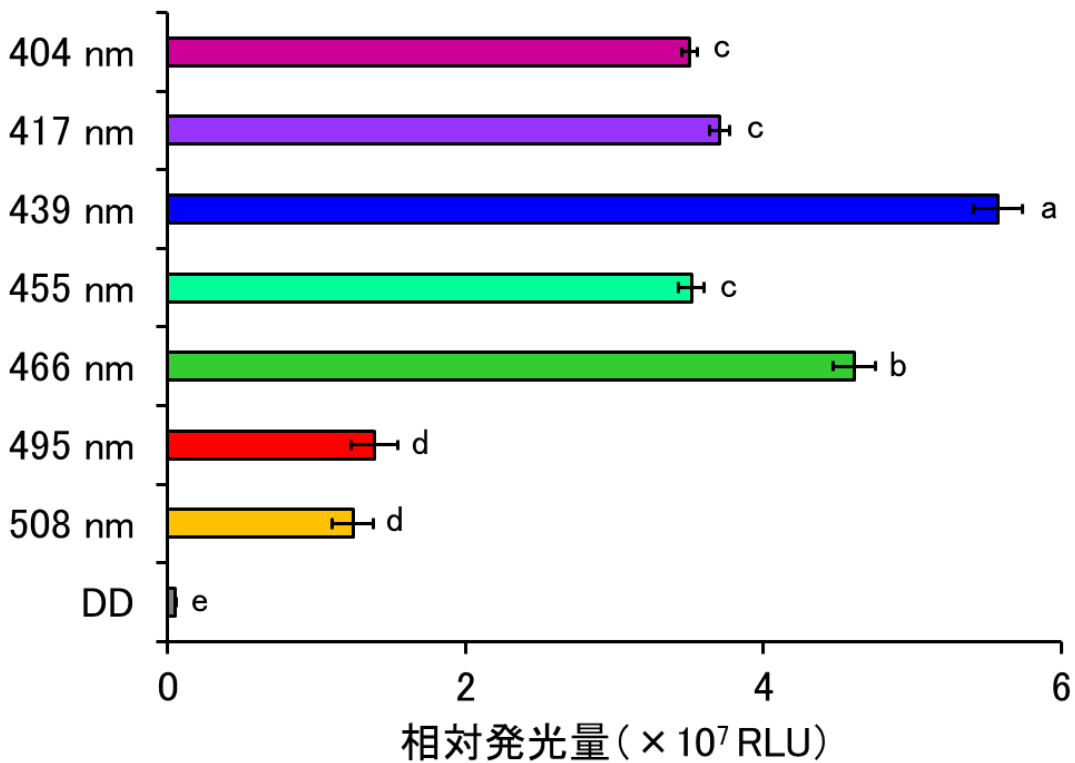


Fig. 22 光強度  $10 \times 10^{18}$  photons·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> の各波長光を照射したときの過酸化水素発生量  
異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Tukey's test)、DD は全暗条件を示す

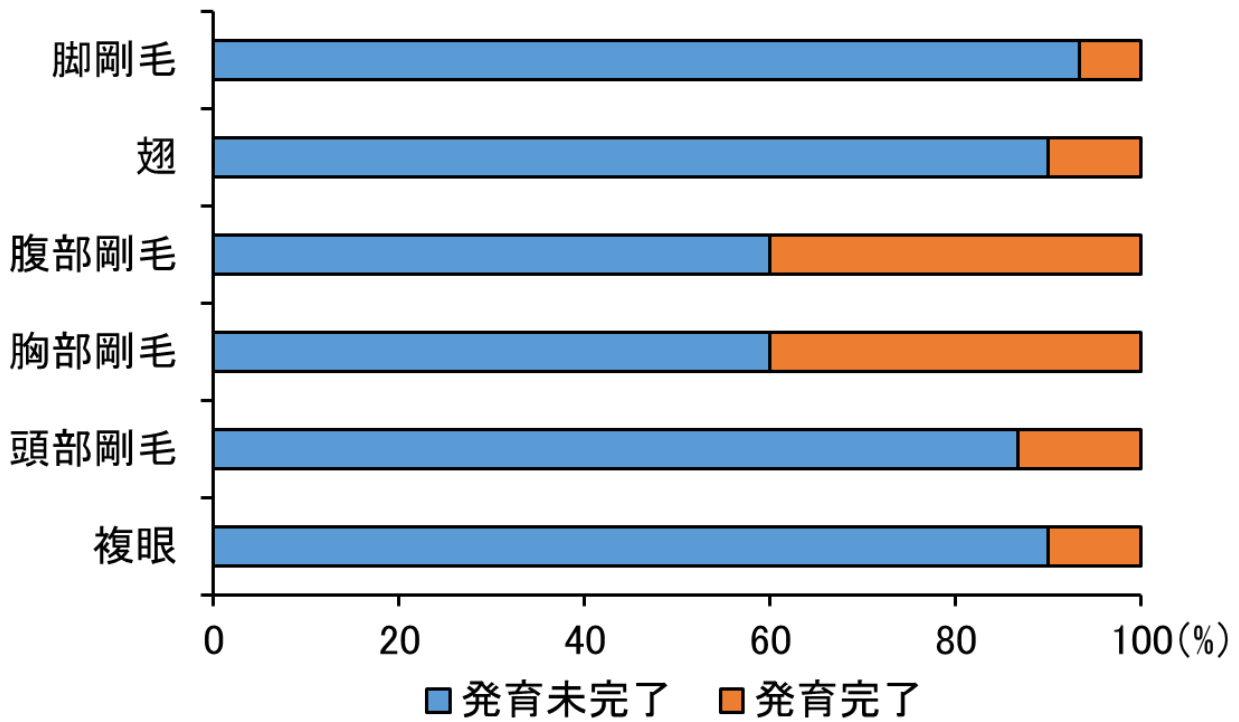


Fig. 23 465 nm 光照射により死亡した個体の各部位の発育完了率  
 光強度  $11 \times 10^{18}$  photons  $\cdot$  m<sup>-2</sup>  $\cdot$  s<sup>-1</sup> で 24 時間連続照射、部位間の発育完了率に  $p < 0.01$  で有意差あり (Cochran's Q test)

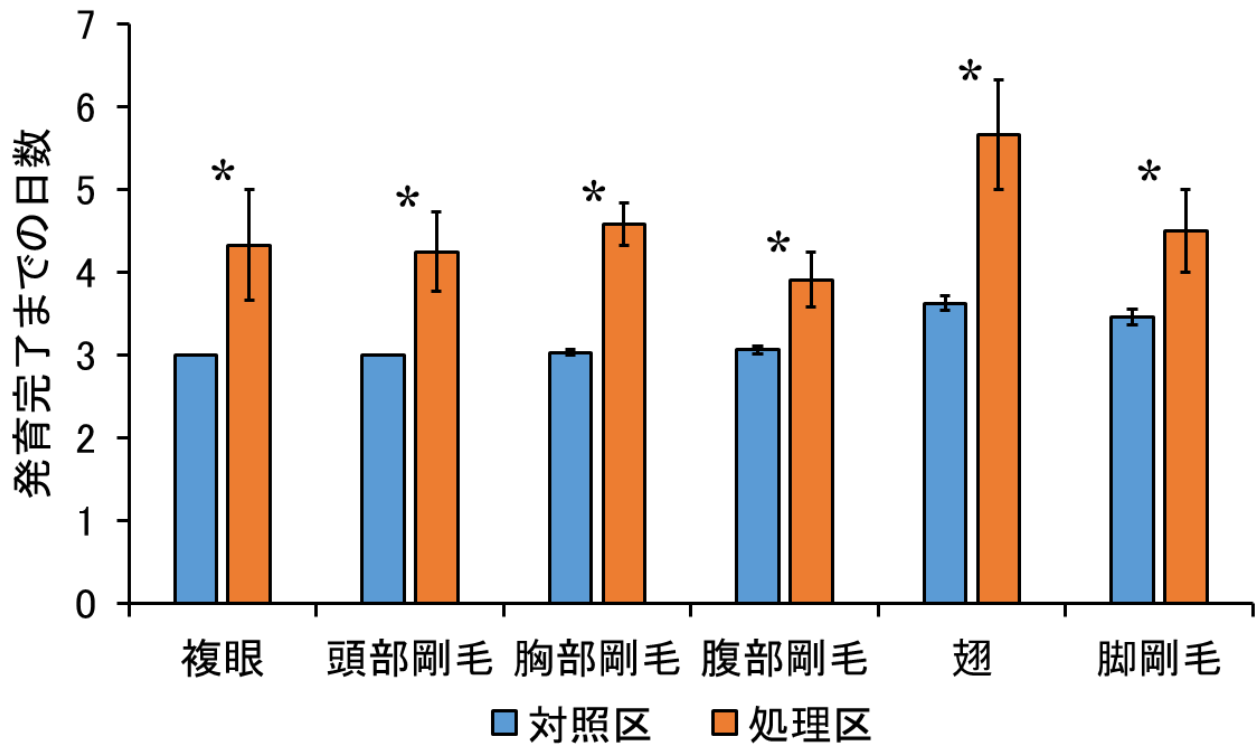


Fig. 24 465 nm 光照射によるキイロショウジョウバエ蛹各部位の発育完了期間に与える影響

\* : 对照区と処理区の間  $p < 0.05$  で有意差あり (Mann-Whitney U test)

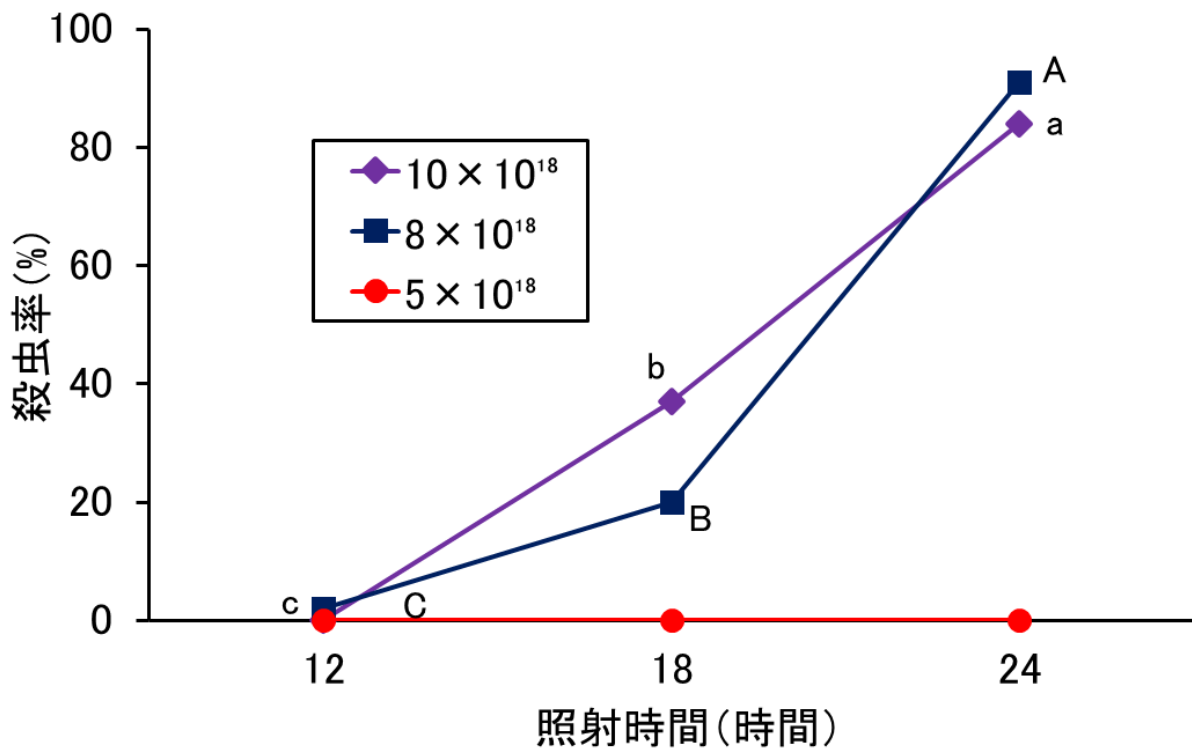


Fig. 25 各照射強度・照射時間におけるキイロショウジョウバエ蛹の殺虫率  
 $8 \times 10^{18}$ における検定結果を英大文字、 $10 \times 10^{18}$ における結果を英小文字で示す  
異なる文字間に  $p < 0.05$  で有意差あり (Steel-Dwass test)、凡例の数字は光強度 ( $\times \text{photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) を示す、照射波長は 465 nm

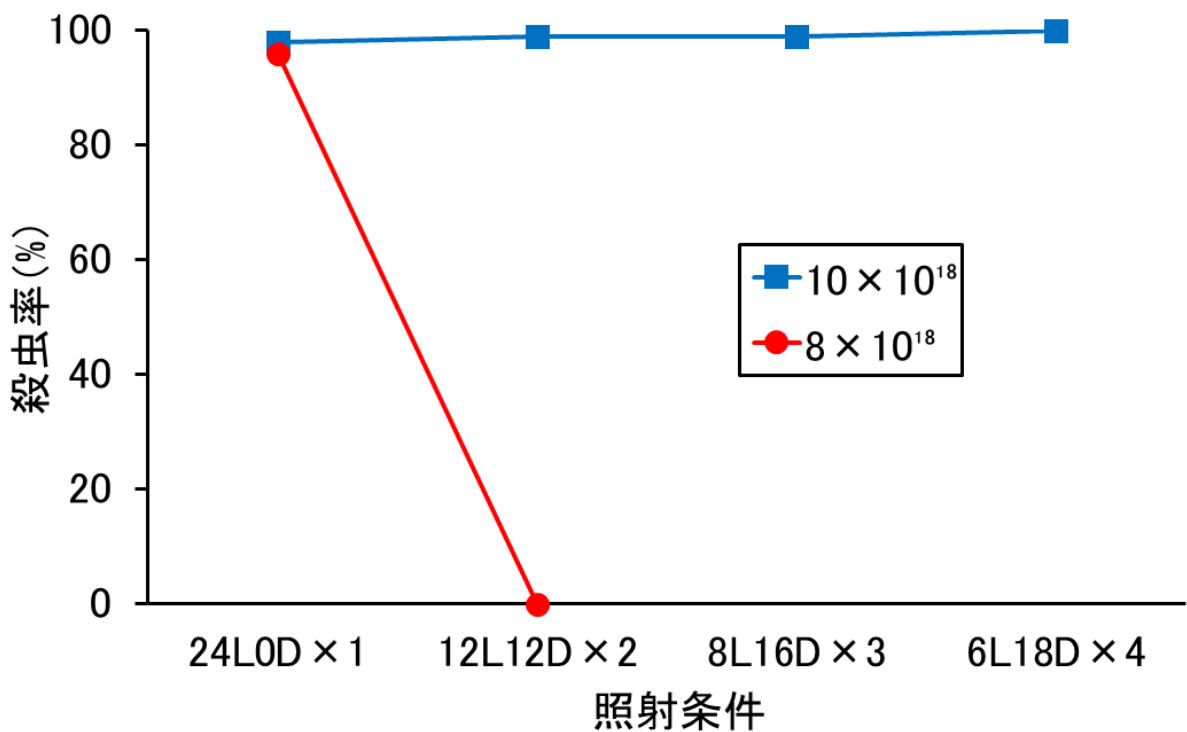


Fig. 26 各強度、各照射条件におけるキイロショウジョウバエ蛹の殺虫率  
凡例の数字は光強度 ( $\times \text{photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) を示す、照射波長は 465 nm

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名	渋谷 和樹
審査委員	主査：准教授 堀 雅敏 副査：教授 鳥山 欽哉 教授 昆野 安彦 准教授 金山 喜則
学位論文題目	短波長可視光の殺虫効果とそのメカニズムの解明

### 論文審査の結果の要旨

現在の害虫防除は化学的防除法が主流であるが、環境への負荷など様々な問題から、これに代わる防除法の開発が望まれている。光による物理的防除も、クリーンな防除技術として大きく期待されているものの一つである。しかし、現行の光による防除は昆虫の行動を制御するものだけであり、光によって直接的に殺虫する方法はなかった。これまで、光による昆虫への致死効果は紫外線照射に関しては知られていたが、可視光照射による殺虫が研究された例はなかった。本研究は可視光の殺虫効果と基礎的知見を明らかにする目的で行われた。

第1にハエ目のキイロショウジョウバエとチカイエカ、コウチュウ目のヒラタコクヌストモドキの蛹に様々な波長の可視光を照射して殺虫効果を調べ、いずれの種にも400~500 nmの短波長可視光（青色光）が殺虫効果を示すことを明らかにした。また、効果的な波長、有効な光強度は種により異なることも明らかにした。

第2にキイロショウジョウバエを用い、青色光の殺虫効果を成育ステージ間で比較し、青色光は全ての成育ステージで高い致死効果をもつが、効果的な波長は成育ステージにより異なることを明らかにした。

第3に殺虫効果の波長特異性における昆虫の表面構造の関与を調べるため、キイロショウジョウバエの蛹殻の透過スペクトルを測定し、波長特異的な殺虫効果は蛹殻の光透過率に起因するものではないことを明らかにした。

第4に青色光の殺虫メカニズムを明らかにするため、キイロショウジョウバエの蛹に各種波長の可視光を照射し、活性酸素の一種である過酸化水素レベルが上昇するか調べた。青色光を照射すると過酸化水素が発生したことから、青色光の殺虫効果には活性酸素の発生が関与していることが明らかになった。

第5に青色光が昆虫に対してどのような損傷を与えるのか、青色光を照射したキイロショウジョウバエの蛹を詳細に観察し、照射により発育の進行度に部位間で大きな差が生じて、羽化できなくなることを明らかにした。

第6に照射強度と照射時間が殺虫効果に与える影響を調べ、強度が一定以上であれば、一日当たり照射時間を大きく短縮できることを明らかにした。

以上のように本論文は青色光が殺虫効果をもつことを明らかにするとともに、その殺虫効果の基礎的な知見を与えたものである。この発見は、可視光には昆虫を含む複雑な動物に対する致死効果はないとする従来の説や光は波長が短いほど致死効果が高いとする従来の常識を覆す世界的な新発見であり、本研究の成果はきわめて優れていると評価できる。よって審査委員一同は、本論文の著者に対し、博士（農学）の学位を授与するに値するものと判断した。