

芳香族化合物に対する化学走性を用いたダニの駆除法の模索

石川県立金沢泉丘高等学校理数科

小浦 晃大 齊藤 みすず 谷 佳樹 徳田 悠陽 本田 千紘

要旨

コナヒョウヒダニ (*Dermatophagoides farinae*) が正の走性を示す化学物質を見つけるために、有機化合物や食品など様々な物質を対象としてコナヒョウヒダニの走性の様子を観察した。有機化合物は芳香族化合物を、食品は野菜や果物をもとにその走性を調べた。その結果、桃・パイナップル・ぶどう・いちごの香料を含む食品に、コナヒョウヒダニの正の走性が見られた。このことから、それらの香料にコナヒョウヒダニを引き寄せる物質が含まれると考えられる。本研究を通して、新たな安全かつ安価なダニの駆除方法を探ることを目的としている。

1. 研究の背景と目的

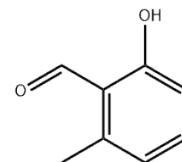
近年、開封された状態で常温保存された小麦粉やお好み焼き粉などに混入・繁殖したダニによる蕁麻疹や呼吸困難といったアレルギー被害や、草むらや山に生息するマダニに刺されることによる感染症が社会問題となっている。我々はこの問題を起点にダニの駆除方法を考えることにした。本研究では日本ダニ協会から提供していただいたコナヒョウヒダニ (写真1) を用いた。

コナヒョウヒダニとはチリダニの一種で、室内で家具や絨毯、布団などに生息する。その死骸やフンがアレルゲンとなり、人間の生活に悪影響を及ぼしている。ダニに刺されたり、皮膚に寄生されたりすることで、皮膚のかゆみや喘息、鼻炎などのアレルギー症状が約6割もの日本人に実際に引き起こされている。

先行研究により、コナヒョウヒダニには2-ヒドロキシ-6-メチルベンズアルデヒド (2-Hydroxy-6-methylbenzaldehyde) (図1) という、オスを誘引する性フェロモンが存在することが分かった。性フェロモンは、同種の生物個体同士の行動や発育に影響を与えるフェロモンの一種で、その他に集合フェロモンや警報フェロモンなどがある。ただ、2-ヒドロキシ-6-メチルベンズアルデヒドは高価であり

入手するのが容易でないため、2-ヒドロキシ-6-メチルベンズアルデヒドと構造が類似した別の安価な物質から、性フェロモンを発見することを目的として我々は研究を行った。

(写真1) 参考文献⑦

コナヒョウヒダニ (*Dermatophagoides farinae*)

(図1) 2-ヒドロキシ-6-メチルベンズアルデヒド

2. コナヒョウヒダニの培養方法

- (1) 120mL の試薬瓶に餌となるお好み焼き (株式会社はくばく ふわもちお好み焼き粉) を入れ、その上に、ダニを提供していただいた培地ごと少量入れ、蓋をする。この時、空気は通るようになっている。
- (2) ダニの好適湿度 (60~80%) を保つために、飽和食塩水を入れた 10mL の試験管を準備する。

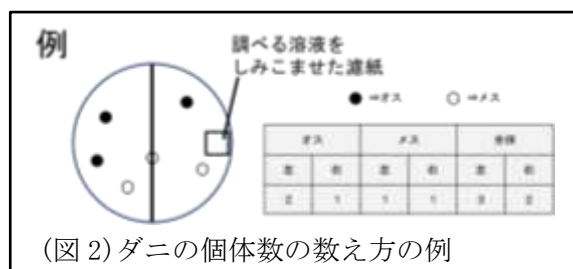
(3) (1)の試薬瓶と(2)の試験管を8cm×14cmのプラスチック製タッパーに入れ、それをダニの好適温度(25℃)に設定した明期12時間、暗期12時間の恒温器(800~20000Lux)〈日本医化器械製作所〉に入れて培養する。



3. 実験1 (誘引物質の探索 I)

3-1. 方法

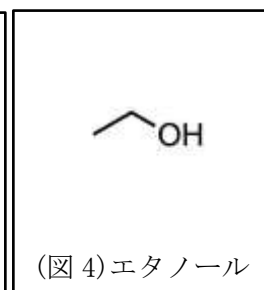
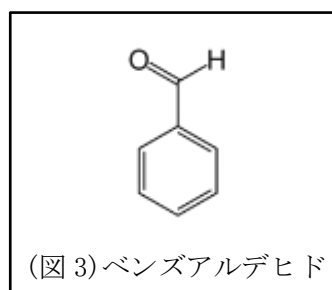
- (1) φ60mm シャーレにコナヒョウヒダニを培地とともに0.01g (ダニの数:300~400匹) 入れ、均一に広げた後、シャーレを逆さまにして培地を落とす。シャーレから落ちずに残っているコナヒョウヒダニを実験に使用した。
- (2) 9mm×9mm の濾紙に、マイクロピペットを用いて溶液を5 μL 添加して染み込ませ、コナヒョウヒダニが入ったシャーレの端に置いて上蓋をする。何も濾紙に添加しなかったものをブランクとして別に用意した。
- (3) ダニの走性が見られるまで、ダニの好適温度・湿度を保った恒温器内で24時間シャーレを保存する。
- (4) 24時間経過後、顕微鏡でシャーレを観察し、見つけたダニがオスの場合は青シール、メスの場合は赤シールをシャーレの上蓋に貼り、走性を視覚的に判別できるようにする。(図2)
- (5) シャーレを半分に分け、濾紙が置いてある方にいるダニが走性を示したと定義して個体数を数える。



【検討物質】

- ・ベンズアルデヒド (図3)
〈ナカライテスク株式会社〉
(原液/エタノールで5段階*に希釈したもの)
- ・油性ペン 〈ゼブラ株式会社〉 (黒/赤/青)
- ・フルーツエキス 〈株式会社東京企画販売〉
(市販のダニ捕りシートの誘引剤を希釈したもの)
- ・エタノール (図4)
- ・バニラエッセンス 〈株式会社明治屋〉
(原液/エタノールで*5段階に希釈したもの)
(*: 希釈倍率は 0.02%・0.05%・0.10%・0.15%・0.20%)

コナヒョウヒダニの性フェロモンである2-ヒドロキシ-6-メチルベンズアルデヒドと類似した構造を持つベンズアルデヒドは、線虫の化学走性に関する先行研究で使用されている物質である(参考文献⑥)。アーモンド、杏仁の香りの成分で、甘い匂いを発する。同様にバニラエッセンスも甘い匂いを発する。

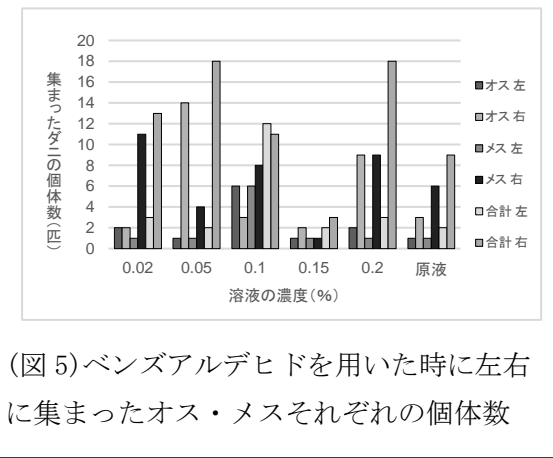
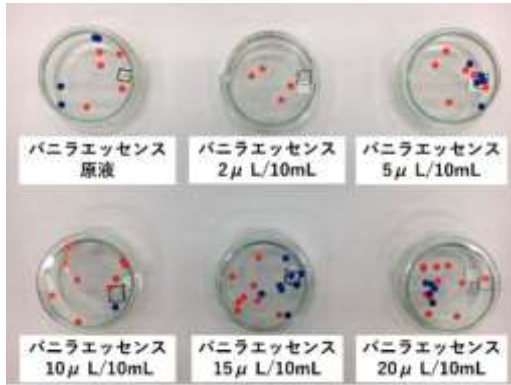


3-2. 実験結果と考察

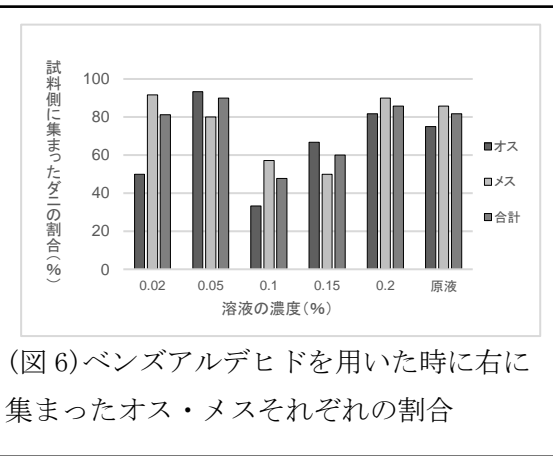
それぞれの物質に対して1回ずつ実験を行った。その結果、ベンズアルデヒドには希釈の程度に関わらず両性が誘引された。また、

バニラエッセンスには走性が見られた濃度のものがあつた。(写真 3) それ以外の油性ペン、フルーツエキス、エタノールには正の走性は観察できなかった。

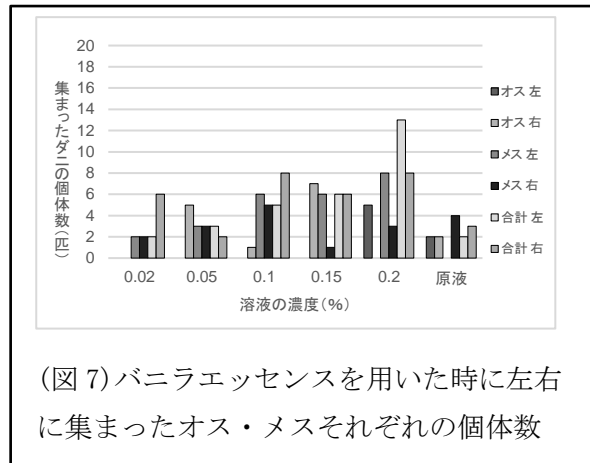
(写真 3) バニラエッセンス添加の結果
(右側にバニラエッセンスを添加した濾紙が置いてある)



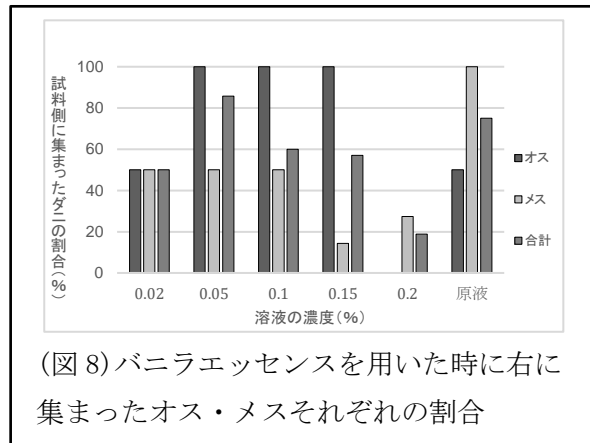
(図 5) ベンズアルデヒドを用いた時に左右に集まったオス・メスそれぞれの個体数



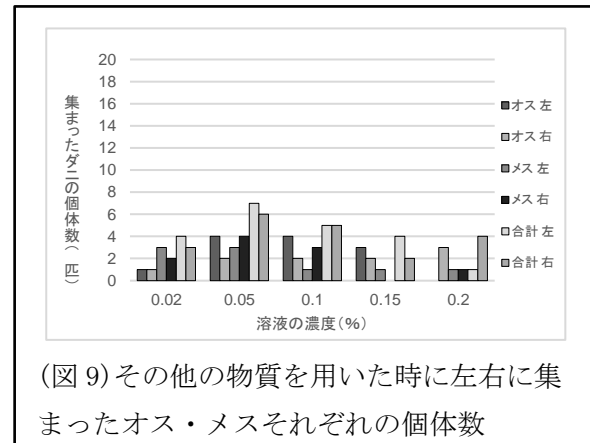
(図 6) ベンズアルデヒドを用いた時に右に集まったオス・メスそれぞれの割合



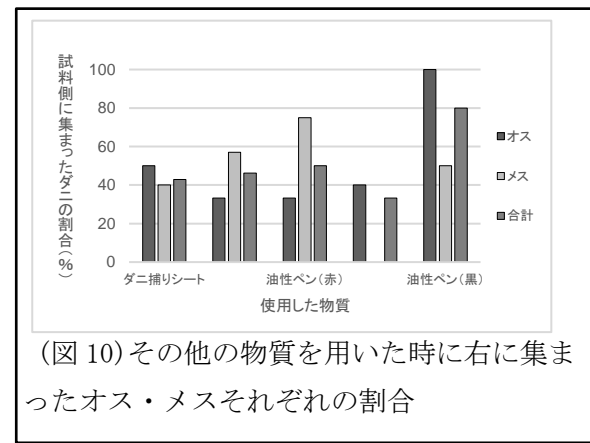
(図 7) バニラエッセンスを用いた時に左右に集まったオス・メスそれぞれの個体数



(図 8) バニラエッセンスを用いた時に右に集まったオス・メスそれぞれの割合



(図 9) その他の物質を用いた時に左右に集まったオス・メスそれぞれの個体数



(図 10) その他の物質を用いた時に右に集まったオス・メスそれぞれの割合

図 6、8、10 において試料側に集まった個体の割合が 50%を越える場合に、正の化学走性があると判断した。同割合でも個体数がそれぞれ異なるため、図 5、7、9 を作成した。

結果からは、雌雄の差、化学物質の濃度による走性の違いは確認できなかったが、ベンズアルデヒドに対し、比較的多くのダニが正の走性を示したことから、ベンズアルデヒドがダニの誘引物質である可能性が高い。これは、ベンズアルデヒドがダニの性フェロモンの基本骨格を持つため、性フェロモンの受容体に結合するからではないかと考えられる。また、ダニ捕りシートがダニを誘引できなかったのは、濾紙に染み込ませるためにダニ捕りシートの成分を希釈したことが原因だと考えられる。

この実験方法ではシャーレを半分に分けてダニの数を数えているため、判別しにくい位置のダニも多く、有意差を求めにくい。そこで、よりリニアに化学走性を測定する方法として、参考文献③を参考にして、次の 4-1 の方法で再度実験を行うことにした。

なお、雌雄は尾端の構造の違いで判別するが明確ではない。また、走性における雌雄の違いも有意ではなかったこともあり、以降の実験ではダニの個体数のみを求めることとした。

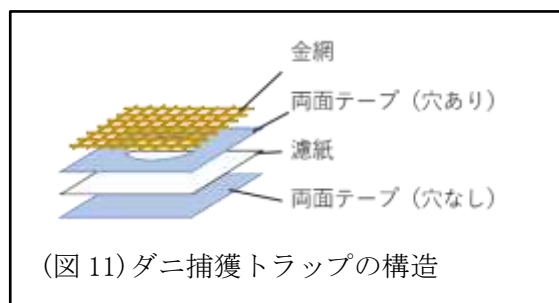
4. 実験 2 (誘引物質の探索 II)

4-1. 方法

財団法人日本環境衛生センターの「殺虫剤研究班のしおり」(参考文献 [3]) を参考に方法を改善して実験を実施した。

研究 1 で走性が見られたベンズアルデヒド、走性の可能性を持つバニラエッセンス、さらにバニラの香りの主要成分物質のバニリン (vanillin) も追加して、それぞれ 4 回ずつ実験を行った。

- (1) 8mm 四方の濾紙 1 枚、両面テープ 2 枚、金網 1 つを用意し、2 枚の両面テープのうち 1 枚に直径 5mm の穴を開ける。
- (2) (1) の濾紙を 2 枚の両面テープの間に挟んで接着させ、穴の開いた両面テープがついた面を上にしてタッパー (14cm×21cm×7cm) の端に貼り付ける。試料が溶液の場合、濾紙にその溶液を 5 μ L 染み込ませる。試料が粉末の場合、濾紙にその粉末を乗せる。試料が固体であり粉末ではない場合、そのままタッパーに置く。
- (3) (2) のろ紙の上に金網を貼り(そのまま置いた固体の上には貼らない)、濾紙から 5 cm のところにダニを培地ごと 0.01g 置く。そして、タッパーの蓋を閉める。
- (4) ダニの走性が見られるまで、ダニの好適温度・好適湿度を保って 24 時間放置する。
- (5) 24 時間後、濾紙または試料の上にいるダニの数を調べる。



(図 11) ダニ捕獲トラップの構造

(写真 4) タッパー内の様子

(左: 試料 中央粉末: ダニ培地)

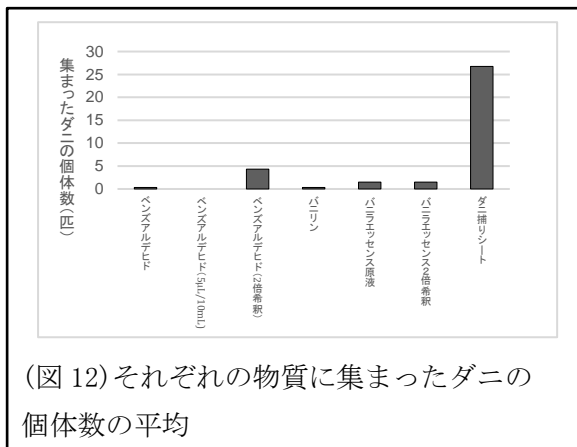


【検討物質】

- ・ベンズアルデヒド(原液/2 倍希釈したもの/エタノール 10mL あたり 5 μ L の濃度のもの)

- ・バニラエッセンス(原液/2倍希釈したもの)
- ・バニリン (ナカライテスク株式会社)
- ・フルーツエキス (市販のダニ捕りシートの誘引剤)

4-2. 実験結果と考察



ダニ捕りシート以外の全ての物質に対して明確な走性は見られなかったことから、実験1のシャーレによる方法では、やはり適切に化学走性が測定できていなかったと考えられる。一方、ダニ捕りシートではダニの走性が観察でき(図12)、さらに実施方法の有用性も確認することができた。

そして、ダニ捕りシートにダニが引き寄せられる理由を探るために、ダニ捕りシートに含まれる成分を調べ、誘引剤として使われているフルーツエキスに集まっているのではないかと考えた。そこで、次に果物についての走性を調べることにした。

5. 実験3(フルーツを対象とした実験)

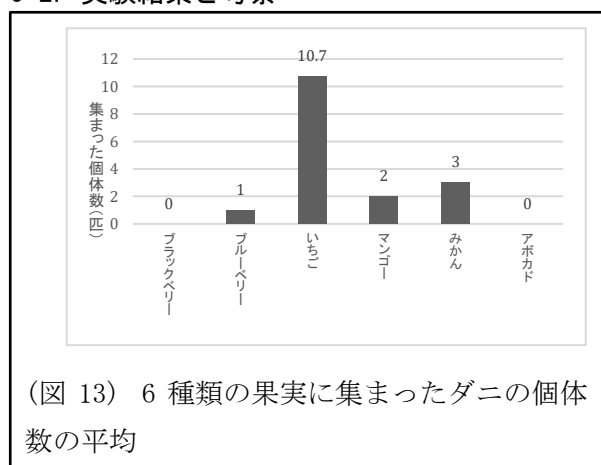
5-1. 方法

イチゴ・ブラックベリー・ブルーベリー・みかん・アボカド・マンゴーを対象として、それぞれ3回ずつ実験を行った。

【使用した果実】

- ・イチゴ (イオン株式会社 4種のベリーミックス)
- ・ブラックベリー (4種のベリーミックス)
- ・ブルーベリー (4種のベリーミックス)
- ・みかん
- ・アボカド
- ・マンゴー (イオン株式会社 マンゴー)

5-2. 実験結果と考察



実験の走性の評価は、それぞれ3回の平均の個体数で行った。イチゴに対する正の走性が他の果実よりも大きかった(図13)。ダニ捕りシートのフルーツエキスが誘引剤であるということは、フルーツそのものよりもフルーツの香り物質がダニを誘引しているのではないかと考えた。

そこで、フルーツエキスの代わりに、イチゴなどのフルーツの香りが付けられているフルーツ飴を対象とした走性実験を行った。

6. 実験4(香料を対象とした実験I)

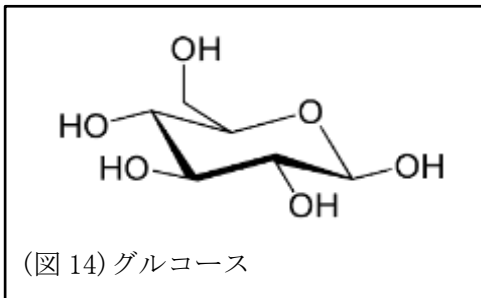
6-1. 方法

方法については実験3と同手順とした。

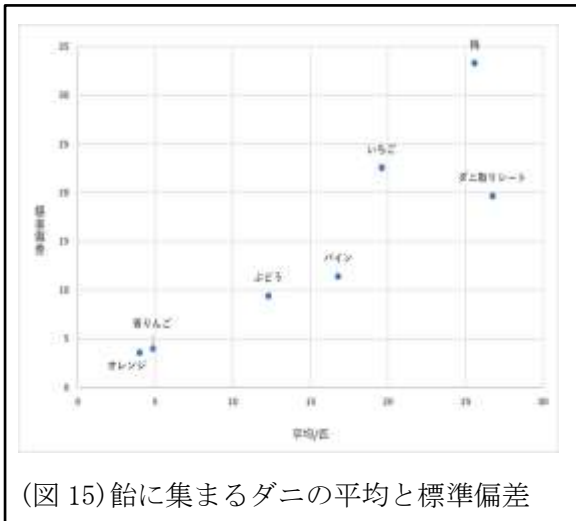
フルーツ飴を主として香りを発する物質を対象とし、それぞれ8回ずつ実験を行った。

【使用した香りを発する物質】

- ・ 飴（カンロ株式会社 色鉛筆キャンディー）（ぶどう/イチゴ/もも/パイン/オレンジ/青リンゴ）
 - ・ フルーツエキス（市販のダニ捕りシートの誘引剤）
 - ・ グルコース（図 14）（関東化学株式会社）
- 実験の比較として、ダニ捕りシートの誘引剤とブドウ糖のグルコース（glucose）も同様にを行った。グルコースも甘い匂いを発する。



6-2. 実験結果と考察



実験の走性の評価は、標準偏差と平均との関係から行った。標準偏差と平均の関係グラフ（図 15）から、桃飴、イチゴ飴、パイン飴、ぶどう飴に対して走性があると考えられる。しかし、走性が高くなるほど、標準偏差が大きくなることから、飴の質量を測らずに実験を行ったことが原因で、質量の違いによる誤差が生じたのではないかと考えた。

そこで、走性があると考えられるぶどう飴、桃飴、パイン飴に絞って誘引物質の量の違いを飴の質量の違いとして考え、誘引物質の量による走性の違いに関する実験を行う必要があると考えた。なお、いちご飴にも走性は見られたが、それぞれの飴の香料に含まれる成分を調べたところ、パイン飴、いちご飴に使われる香料は基本的に同じ物質であったため、パイン飴のみを評価することにした。

7. 実験 5（香料を対象とした実験Ⅱ）

7-1. 方法

誘引物質側の準備を簡略化し以下のように実験 2 を修正した。

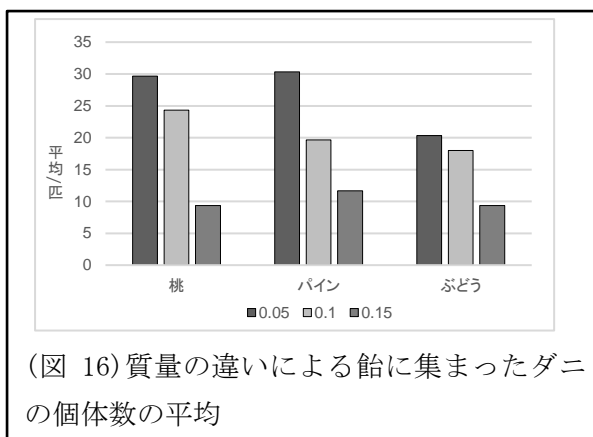
- (1) 8 mm 四方の両面テープをタッパーの端に貼り、調べる物質をその両面テープの上に乗せる。調べる物質が溶液の場合は、8mm 四方の濾紙を両面テープの上に貼り付け、その濾紙に調べる溶液 5 μ L 染み込ませる。
- (2) (1)の濾紙から 5 cmのところ、ダニを培地ごと 0.01g 置き、タッパーの蓋をする。
- (3) ダニの走性が見られるまで、ダニの好適温度・好適湿度を保って 24 時間放置する。
- (4) 24 時間後、濾紙または試料の上にいるダニの数を調べる。

【使用した香りを発する物質】

- ・ 飴（ぶどう/桃/パイン）

7-2. 実験結果と考察

桃飴、ぶどう飴、パイン飴に関して、それぞれ実験 5 の方法を用いて 0.05g、0.01g、0.15g を測って 3 回ずつ実験を行い、その平均個体数で結果を評価した。（図 16）



(図 16) 質量の違いによる飴に集まったダニの個体数の平均

質量の違いによる走性の差異は小さかったため、6-2 の結果のデータは妥当といえる。すなわち桃飴、パイン飴、ぶどう飴に関して走性があると考えられる。

なお、これまでの実験からも濃度(質量)による走性の違いが見られないことや、図 15 の結果にあるように、走性が高くなると標準偏差が大きくなることから、ダニの行動が不規則であったことや、飴の香りではなく偶然糖に出会ったことでダニがその場に留まったことによって飴にダニが集まった可能性も考えられたが、それらを否定するため、誘引物質の場所に食塩水、食塩、グルコース、さらには何も置かないものなどでも実験を行った。その結果、これらにはほとんどダニは近づかなかった。

修正簡略した実験 5 の方法そのものは有意であることを再確認できた。

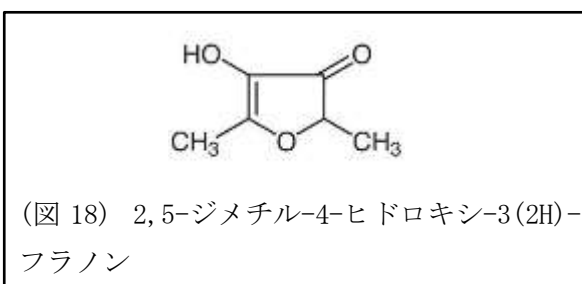
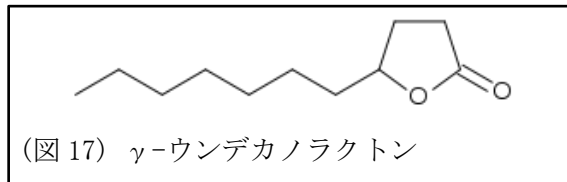
8. 実験 6 (誘引物質の探索Ⅲ)

8-1. 方法

方法については有意であると評価した実験 5 の方法を採用した。

それぞれの飴に含まれるどの物質がダニを引き付けているのかと考え、パイン飴の香料に特有の成分である γ -ウンデカノラクトン (γ -Undecanolactone) (図 17)、いちご飴とパイン飴の香料に共通する物質である 2,5-ジ

メチル-4-ヒドロキシ-3(2H)-フラノン (2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone) (図 18) を対象とすることとした。それぞれ 7 回ずつ実験を実施した。



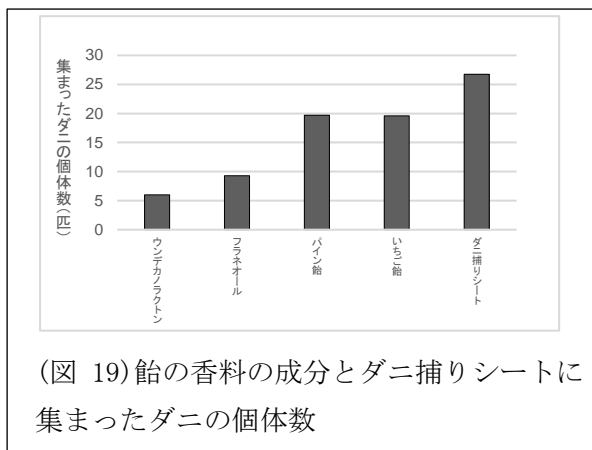
【検討物質】

- ・ 飴 (イチゴ/パイン)
- ・ ダニ捕りシートの誘引剤
- ・ γ -ウンデカノラクトン
- ・ 2,5-ジメチル-4-ヒドロキシ-3(2H)-フラノン

走性数の比較として、ダニ捕りシート、パイン飴、いちご飴に関しても同実験をした。

8-2. 実験結果と考察

図 19 より、 γ -ウンデカノラクトン、2,5-ジメチル-4-ヒドロキシ-3(2H)-フラノンは、飴と比べて引き寄せたダニの個体数が少なかったものの、多少走性が見られたことから、ダニを引き寄せる物質の 1 つであると考えられる。



(図 19) 飴の香料の成分とダニ捕りシートに集まったダニの個体数

では、図 15 のように、走性強度が上がると標準偏差が大きくなることはどのように捉えればよいのだろうか。この答えについては、まだ解決に至っていない。飼育照度やダニの密度などをより均一にするなど、ダニのコンディションの調整をさらに加え、再度実験を行いたいと考えている。

9. 結論

ダニは、パイナップル飴、桃飴、いちご飴、ぶどう飴に関して走性を示した。標準偏差やダニを集める個体数の平均を考慮すると、ダニ捕りシートよりも優れている物質は現時点では発見できていない。しかし、個体数だけを見ると、桃飴はダニ捕りシートに並ぶ数を引き寄せていることから、今後研究を重ねることにより、桃飴を用いた、より安価でダニを引き寄せるトラップを確立できると考えている。

また、観察下において、飴に集まったダニが飴の粘性により身動きが取れなくなっている様子が確認できたことから、安価で粘性を持つ飴はダニの駆除方法として実用性があるのではないかと考えられる。今後は飴を用いた簡便なダニ捕獲装置を考えたい。

10. 今後の展望

本研究では、先行研究を参考にして培地とダニを分けずに実験を行ったが、培地である

お好み焼き粉とダニを見分けるのが難しいという問題点があった。そこで、ダニと培地を分ける方法を確立したいと考えている。

現時点では、ダニを培地ごと画用紙の上に乗せて 10 分間放置した後、画用紙を傾斜させてゆっくりと培地を落とすことで、ダニだけを画用紙に残すことができると分かったが、この方法では画用紙に残るダニの数が少ない。

また、ダニが複数の香りの化学物質に誘引されていることから、香りの調合によって、ダニがさらに強い化学走性を示すと思われるため、その組み合わせについても検討したい。

さらに、今回の研究では試料に集まったダニの数だけを数えたが、より精度の良いデータを得るために、ダニが試料に向かって移動した距離も視野に入れて研究を行っていききたい。

11. 参考文献

- ①佐久間正幸、桑原保正(京都大学農学部)(1993)「昆虫/ダニ由来の刺激に対する嗅覚応答」
- ②石田浩彦、長塚路子、長幡由紀、久保田浩美、吉川翠(花王株式会社香料開発研究所、花王株式会社安全性評価研究所、都市居住環境研究所)(2008)「寝具の汚れおよび室内塵中のヒョウヒダニ誘引成分について」
- ③財団法人日本環境衛生センター環境生物部内(2005)「殺虫剤研究班のしおり」
- ④島野智之(2012)「ダニ・マニア チーズを作るダニから巨大ダニまで」
- ⑤佐久間正幸(1993)「昆虫の集合フェロモン」
- ⑥尾崎まみこ、村田芳博、藍浩之、定本久世、吉村和也、神崎亮平、日本比較生理生化学会(2015)「研究者が教える動物実験第 3 巻行動」
- ⑦エフシージー総合研究所(2017)「ハウスダストに含まれるコナヒョウヒダニ」