

環 動 昆

報 文

平尾素一：ノシメマダラメイガに対する性フェロモント
 ラップの屋内及び屋外における誘引試験 57

GASSA, Ahdin・高橋正三：体表ワックス成分の変化がシ
 ロアリの種認知行動に及ぼす影響 64

吉村 剛・高橋旨象・吉田安子・犬飼忠彦・千葉 拓・
 加藤夏樹：室内試験によるヒノキチオールお
 よびその誘導体の殺蟻効力 72

千保 聡・牧田光康・矢野俊彦・安部八洲男・伊藤高明・
 平野雅親：新規合成ピレスロイド系化合物イミ
 プロトリンの衛生害虫に対する殺虫特性 79

資 料

夏秋 優：市立伊丹病院における毛虫皮膚炎患者について 87

解 説

島田康夫：パソコンの苦手な人のための動物群集構造解析
 その3：クラスター解析結果の妥当性を検証す
 る手段はあるか? 91

研究奨励賞受賞論文

神崎 務：新規殺虫成分シラフルオフェンの実用化に関す
 る研究102

雑 録110

書 評113

会 報115

会員動静

学術会議だより

Vol.7

2

日本環境動物昆虫学会

1995

ノシメマダラメイガに対する性フェロモントラップの 屋内及び屋外における誘引試験

平尾 素一

環境生物コンサルティング・ラボ

(受領: 1995年6月6日; 受理: 1995年7月3日)

Field Evaluation of the Synthetic Sex Pheromone Trap for the Indian Meal Moth (*Plodia interpunctella* HÜBNER). Motokazu HIRAO (Hirao Biological Institute, 1765-147 Kita, Shizuoka city, Shizuoka 420, Japan). *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* 7: 57-63 (1995)

Traps baited with the Phycitinae sex pheromone, (Z, E) -9, 12-Tetradecadienyl-acetate, which emit 20 $\mu\text{g}/\text{day}$ through slow-release membrane, were used for the Indian meal moth to 1) reveal the relationship of the cumulative number of recaptured moths and days after releasing, 2) evaluate the attractive distance from a release point of moths in a room, and 3) evaluate the attractive distance of the pheromone from a release point of marked moths in residential area. Field trials of pheromone traps showed that 1) 70% of recaptured moths were trapped on first night after releasing, 2) released moths were recaptured in the traps set 11m apart from release point in a room (volume 390 m^3), but not recaptured in traps 21m, and 3) the attractive distance was 20 to 30m according to mark and release method in residential area.

Key Words: Phycitinae, Indian moth, *Plodia interpunctella*, Pheromone, Attractiveness, Mark and release.

貯蔵食品害虫であるマダラメイガ亜科の性フェロモン, (Z, E) -9, 12-Tetradecadienyl-acetate を1日20 μg 放出する徐放膜式フェロモン製剤をウィング型トラップに装着し, 未交尾のノシメマダラメイガ雄成虫に対する 1) 放飼後の経過時間と捕獲個体数との関係, 2) 室内における放飼地点からトラップ配置場所までの距離と捕獲個体数との関係, 3) マーク虫を用いての住宅団地屋外放飼地点からトラップ配置場所までの距離と捕獲個体数との関係を調べた。その結果, 1) 総捕獲個体数の70%は, 放飼の最初の夜間に捕獲された。2) 室内では放飼した雄成虫は放飼点から11m離れたトラップに再捕獲されたが, 21m離れたそれには再捕獲されなかった。3) 住宅団地の屋外では, 放飼地点から20-30m離れたトラップにも雄成虫が捕獲された。

はじめに

メイガ科 (Phyralidae) マダラメイガ亜科 (Phycitinae) に属するノシメマダラメイガ (*Plodia interpunctella* HÜBNER) は、わが国でも穀類、乾燥果物、およびこれらの加工食品、菓子類の重要害虫である。菓子・加工食品に対する消費者からの虫害クレームでは、タバコシバンムシ (*Lasioderma serricorne*, FABRICIUS) と並んで常に上位を占めている。そのため、本種の防除は、食品業界ではきわめて重要である。防除のためには発生の早期探知と発生箇所の探知が必要であるが、本種の場合、被害が拡大し、高密度に発生しないと目視による発見は困難である。そのため、1980年代中頃より、フェロモントラップが探知の目的で使用されるようになった。ノシメマダラメイガの性フェロモンとして、(Z, E)-9, 12-Tetradecadienyl acetate と (Z, E)-9, 12-Tetradecadien-1-ol の2種が知られている (KUWAHARA *et al.*, 1971; BRADY *et al.*, 1971; SOWER *et al.*, 1974)。前者のみを成分とするマダラメイガ亜科用の性フェロモントラップが、わが国にも導入され、探知用として使用されるようになった。これらのトラップは主に、成虫発生の早期探知 (平尾, 1989)、発生場所の探索手段 (城戸, 1988)、発生消長の調査用 (高山ら, 1993)、発生有無の調査手段 (平尾, 1991, 1994) 等に用いられてきた。

タバコシバンムシの性フェロモントラップもこの時期、同じような目的で使用されている (中島, 1984; 中沢ら, 1987; 渡辺ら, 1987; 羽原ら, 1990; SHINODA and YOSHIOKA, 1991)。

これらの研究報告は、いずれも発生消長や早期発見、

探知について示しているが、トラップ配置の基準や、実際の個体群動態と捕獲動態との関連等のデータはなかった。これらを明確にするためには、トラップの有効誘引範囲や、羽化時期と捕獲時期との関係を明らかにする必要があった。そこで以下の3つの実験を行なった。①室内におけるノシメマダラメイガの放飼後の経過時間と捕獲個体数との関係、②室内での放飼地点からトラップ配置場所までの距離と捕獲個体数との関係、③野外でのマーク虫放飼地点からトラップ配置場所までの距離との関係を調査した。

材料と方法

実験に用いたノシメマダラメイガを環境生物研究会の辻英明博士より入手した。本種の飼育を次のように行なった。あらかじめホスフィンでくん蒸した市販の米ヌカ (50 g) を飼育容器 (20×13×5 cm) に配置し、羽化後48時間以内の成虫6対を入れた。これを室温条件下に24時間置いて産卵させて得た個体を実験に使用した。この個体を終齢幼虫段階で、雌雄に分け、別々に羽化させた。実験には平尾 (1992) が用いたものと同型のフェロモントラップを使用した。

1. 放飼後の経過時間と捕獲個体数の関係

大きさの異なる3つの部屋 (図1) で、放飼後の経過時間と捕獲個体数との関係を次のようにして調べた。各部屋において、羽化後48時間以内の未交尾の雄成虫20頭を、午後6時に放飼し、60時間後の午前6時にトラップを回収した。この間、原則として12時間ごとに捕獲個体数を記録したが、この他にも随時捕獲個体数を数えた。これらの部屋はいずれも本種の発生・侵入がなかった。また、試験期間中ドアおよび窓を閉じ、カーテンを開放

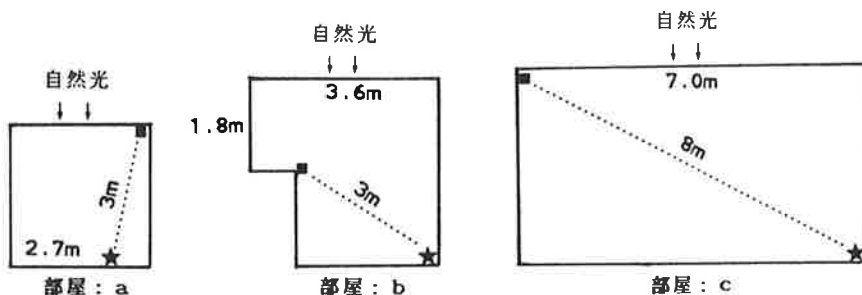


図1 放飼—再捕獲実験を行ったそれぞれの部屋における放飼地点 (★)、フェロモントラップ (■) の位置関係。

し、夜間照明を使用しなかった。a, b, c各部屋での各3回の実験日は以下の通り。a; 1) 7月21~24日, 2) 8月31日~9月3日, 3) 9月2~5日, b; 4) 7月22~25日, 5) 8月27~30日, 6) 8月31日~9月3日, c; 7) 8月5~8日, 8) 8月31日~9月3日, 9) 9月3~6日。

2. 室内における放飼地点からトラップ配置場所までの距離と捕獲個体数との関係

ノシメダラメイガの発生・侵入のない新築ビルの室

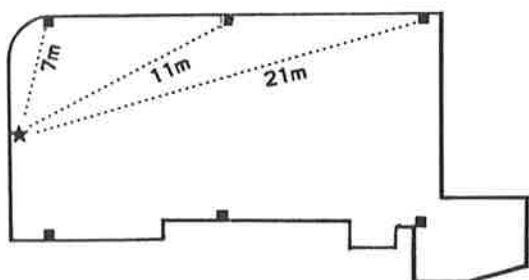


図2 放飼-再捕獲実験を行った部屋 (390 m²) における放飼点 (★), フェロモントラップ (■) の位置関係。

内 (131m²×3 m) で試験を行なった (図2)。この部屋の1ヶ所に放飼地点を設け、ここから一定距離 (7 m, 11 m, 21 m) に各2ヶ所ずつフェロモントラップを配置した。トラップの取付位置を床から1.5 mとした。羽化48時間以内の未交尾雄成虫30頭を、穴 (3×4 cm) をあけたプラスチック容器 (20×14×6 cm) に入れた。この容器を床に置き、成虫を自由に脱出させた。放飼時の気温は27°C, 回収時は26.5°Cであった。実験を9月16日の午後6時に開始, 17日の午前6時までに行なった。その後トラップを回収し、これに捕獲されている個体数を数えた。

3. 野外における放飼地点からトラップ配置場所までの距離と捕獲個体数との関係

野外におけるフェロモントラップのノシメダラメイガに対する有効誘引範囲をマーク虫を用いて調査した。マーク虫を用いたのは、野外で本フェロモントラップに放飼した個体以外のノシメダラメイガが捕獲されている (平尾, 1994) ためである。成虫のマーキングには、金山 (1991) がブユで行なったと同じ方法を用いた。放飼に先立ち、マーク虫と非マーク虫の生存率を比較したが、24時間以内なら両者の間に生存率に差はなかった。

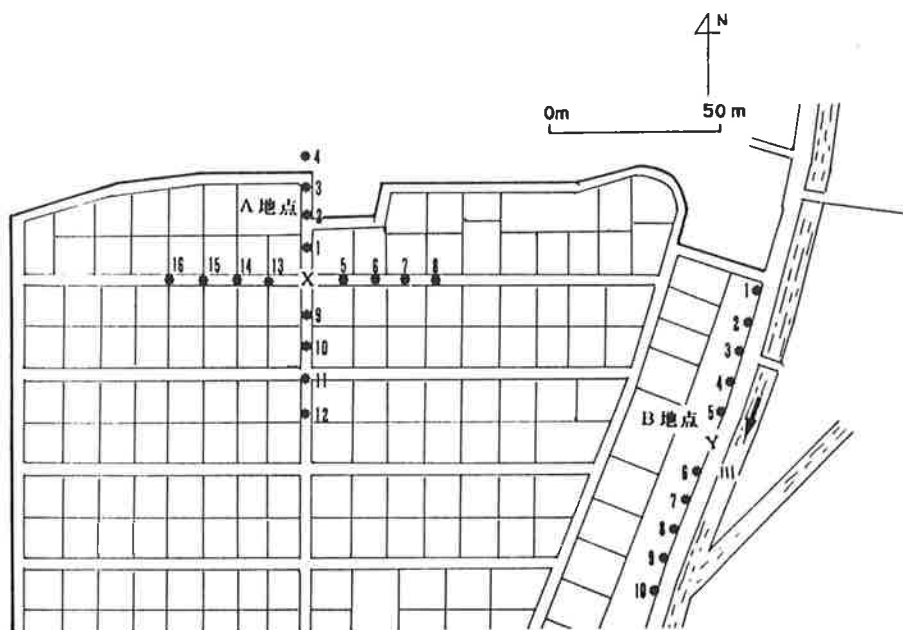


図3 屋外におけるマーク虫の放飼-再捕獲実験地の概要と放飼地点 (X, Y) とトラップ (*) の配置場所。

マーク虫の放飼場所はJR静岡駅より北へ8 kmに位置する三方を小山に囲まれた小高い住宅団地約170戸のA、Bの2地点とした(図3)。A地点は団地の交差点の一つで、交差の中心X地点より4方向に伸びる道路(幅6 m)沿いに10 mごとに40 mまで、計16個(1~16)のトラップを地上1.5 mの高さに取付けた。B地点はA地点より140 m離れた団地周辺を流れる川(幅6 m)に沿った道路(幅6 m)とした。道路の一方に沿って高さ4 mのコンクリート擁護壁が続いている。その中心のY地点より左右に10 mごとに50 mまで、10個のトラップを1.5 mの高さで壁に設置した。B地点を選択したのは、壁に沿って設置した場合の直線方向の誘引範囲を見るため

である。

両地点におけるマーク虫の放飼を次のようにして行なった。マーク直後の羽化後48時間以内の雄虫50頭を容器(20×13×5 cm)に入れ、午後6時にX、Y地点より各々放飼した。翌日の午前6時にトラップを回収した。トラップに捕獲されたノシメダラメイガ個体数をマーク虫、非マーク虫別に数えた。調査期間を夜間のみとしたのは本種の活動が夜間に集中すること(田村, 1978)、マーキングの影響が出ない時間以内で調査を終えること等が理由である。上記の実験をA、B 2ヶ所で9月4日から9月11日の間の降雨のない夜を選んで行なった。

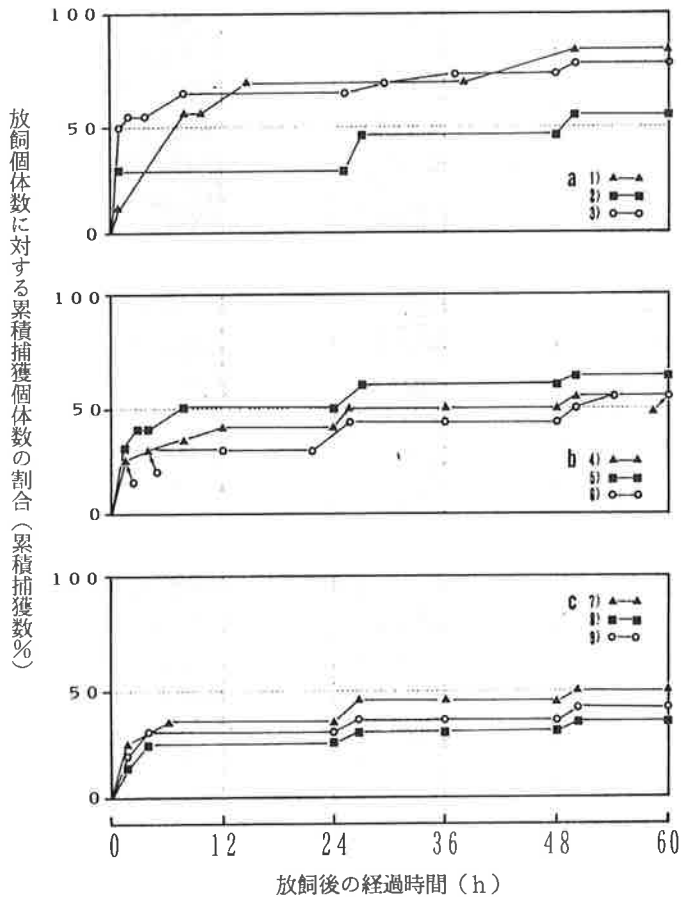


図4 異なる3つの部屋(a, b, c)における放飼後の経過時間と累積捕獲率(=累積捕獲数/放飼個体数×100)との関係。

図中の▲, ■, ○は実験のくり返しを示し、影をつけた部分は夜間を、それ以外は昼間を示す。

結果と考察

1. 放飼後の経過時間と捕獲個体数の関係

ノシメダラメイガ未交尾雄成虫の放飼後の経過時間と捕獲率との関係を図4に示す。実験場所および時期に関係なく、未交尾雄成虫の捕獲は夜間に集中していた。川村(1978, 1992)は、本種の行動(歩行, 飛翔, 交尾等)が夜間に集中し、昼間は行動しないことを示した。このことは本研究結果と一致している。しかし、彼が示した本種の行動が夜間を通してみられるのに対し、本研究ではフェロモントラップへの捕獲は日没後数時間に集中していた。このことは本種の交尾行動が日没後数時間以内に起こることを示唆している。

放飼場所や時期に関係なく、放飼後60時間に捕獲された雄成虫のうち、約70%が放飼当日の夜間に捕獲された。放飼した雄成虫の日齢が1~2齢であることを考慮すればフェロモントラップには、羽化直後の雄成虫が捕獲されることを示している。このことは、本トラップがノシメダラメイガの発生時期を早期に探知できる高度なセンサーとして使用可能なことを示している。

2. 室内における放飼地点からトラップ配置場所までの距離と捕獲個体数との関係

放飼点からトラップまでの距離と捕獲個体数との関係を図5に示す。放飼した未交尾雄30頭のうち、容器内に

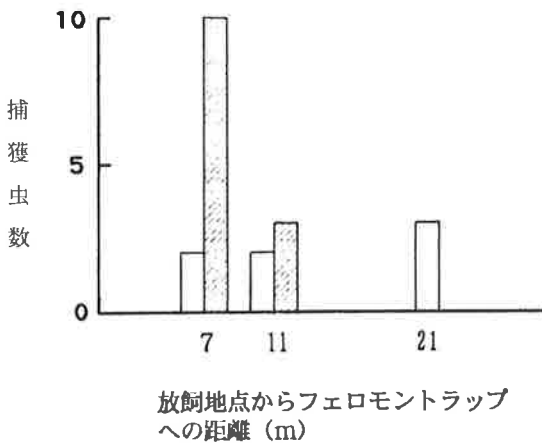


図5 室内における放飼地点からトラップまでの距離と捕獲個体数との関係。

- ▨ はトラップに捕獲された個体を示し、
- はトラップ周辺(3m)の壁に留まっていた個体を示す。

7頭が残り、13頭がトラップに捕獲、残り10頭は壁面に休止していた。捕獲のみられのは放飼点から11 mまでのフェロモントラップで、21 m離れたものには捕獲されなかった。

Vick *et al.* (1986) も、本種に加害された食品近くに配置されたトラップには成虫が捕獲されたが、それより17 m離れたトラップには捕獲がなかったと報じている。これらの結果より空気の動きの少ない室内での本フェロモントラップの有効誘引範囲は、トラップより半径10m以内と思われる。

放飼した雄成虫のうち、トラップに再捕獲されたのはその43.3%で、その他の33.3%の個体は壁面に係留していた。同様の傾向は実験1でも見られた。このことはフェロモンにすぐ反応する個体と、反応の遅い個体の2つの型が存在する可能性を示唆している。

3. 野外における放飼地点からトラップ配置場所までの距離と捕獲個体数との関係

実験期間中に得られた3回の繰り返しの結果を図6に示す。A地点では50頭ずつ3回、計150頭のマーク虫を放飼したが、再捕獲できたのは12頭(再捕獲率8.0%)であった。住宅地の路上であるが、マーク個体以外に22頭の、野外で活動していたと思われるノシメダラメイガ雄成虫が捕獲された。同じ場所で昨年も捕獲がみられた(平尾, 1994)。B地点でも計150頭のマーク虫を放飼したが、再捕獲は9頭(再捕獲率6.0%)であった。ここではマーク虫以外のノシメダラメイガの捕獲はなかった。A, B両地点での捕獲結果より、野外でのノシメダラメイガ未交尾雄へのフェロモントラップの有効誘引範囲は、半径20-30 m程度と判断した。野外でのこの結果は、室内より広い有効誘引範囲であった。これは時々吹く微風がフェロモンをより遠くへ運んだためと思われる。

食品工場では、出入口から20 mほど離してフェロモントラップを配置することにより、屋外での発生消長を知り、あわせて屋外のノシメダラメイガを誘引し、工場への侵入を防止するという目的で使用できることが示唆された。

謝 辞

本実験を行なうにあたり、種々ご助言をいただいた京都大学農学部高橋正三教授に厚く御礼申しあげる。また、ノシメダラメイガを供与いただき、飼育に色々ご助言

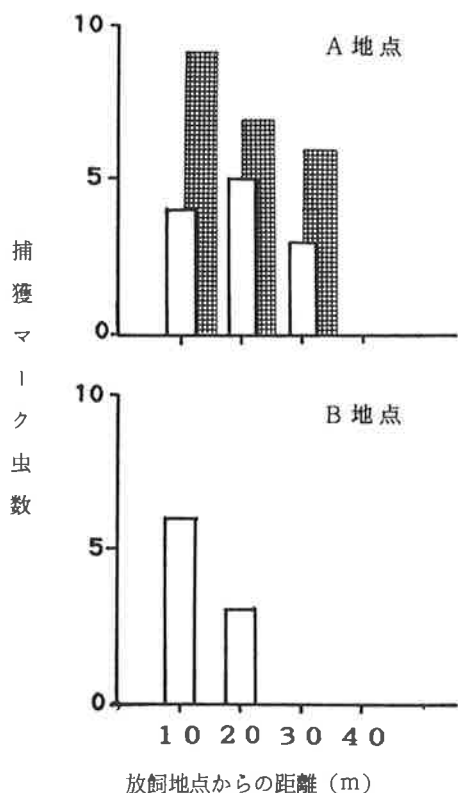


図6 屋外における放飼地点からトラップまでの距離と捕獲個体数との関係。

□ はトラップに捕獲されたマーク個体を示し、
 ■ はトラップに捕獲された非マーク個体を示す。

をいただいた辻英明博士に厚く御礼申し上げる。

引用文献

BRADY, U. E., J. H. TUMLINSON, R. G. BROWNLEE and R. M. SILVERSTEIN (1971) Sex stimulant and attractant in the Indian meal moth and in Almond moth. *Science* 171: 802-804.

羽原政明・篠田一孝・宮元謙二 (1990) タバコシバンムシ防除におけるフェロモントラップの利用. *ペストロジー学会誌* 5 (1): 33-34.

平尾素一 (1989) ノシメマダラメイガフェロモントラップによる成虫の早期発見. *ペストロジー学会誌* 4 (1): 49-50.

平尾素一 (1991) 小売店におけるフェロモントラップに

よるノシメマダラメイガ調査. *ペストロジー学会誌* 6 (1): 60-62.

平尾素一 (1994) 静岡県中部の一般住宅内外におけるフェロモントラップによるノシメマダラメイガの調査. *ペストロジー学会誌* 9 (1): 5-10.

金山彰宏 (1991) ブユ成虫の記号放逐実験. *横浜医学* 42: 235-243.

城戸 毅 (1992) 食品工場でフェロモントラップにより捕獲される蛾類. *ペストロジー学会誌* 7 (1): 45-47.

KUWAHARA, Y., C. KITAMURA., S. TAKAHASHI, H. HARA, S. ISHII and H. FUKAMI (1971) Sex Pheromone of a Almond Moth and Indian meal moth: *Cis*-9, *trans*-12-Tetradecadienyl acetate. *Science* 171: 801-802

中澤保彦・宮代龍次・田村 章 (1987) 手延素麺工場における誘引剤トラップを利用したタバコシバンムシの発生調査. *日本食品工業学会誌* 34: 636-639.

SHINODA, K. and M. YOSHIDA (1991) Effect of position and number of pheromone traps on the capture of cigarette beetle, *Lesioderma serricorne* F., in a flour mill. *ペストロジー学会誌* 6 (1): 31-34.

SOWER, L., VICK and J. H. TUMLINSON (1974) (*Z*, *E*)-9, 12 Tetradecadien-1-ol: A chemical released by female *Plodia interpunctella* that inhibits the sex pheromone response of *Cadra cautella*. *Environ. Entomol.* 3: 120-122.

田村正人 (1978) ノシメマダラメイガ *Plodia interpunctella* HÜBNER の生態に関する実験的研究. 122 pp.

田村正人 (1992) ノシメマダラメイガのコーリング行動. *家屋害虫* 14 (1): 9-12.

高山 渉・山内章央・小長谷貴昭・稲本真佐子・高橋朋也 (1993) 1 飼料工場と住宅3戸においてフェロモントラップで捕獲された食品害虫の比較. *ペストロジー学会誌* 8 (1): 18-21.

VICK K. W., P. G. KOEHLER and J. J. NEAL (1986) Incidence of stored-product Phycitinae moths in food distribution warehouses as determined sex pheromone-baited traps.

J. Econ. Entomol., 79: 936~936.

渡辺弘司・田中正郎・川添英志郎 (1987) パン製造工場
におけるタゴコンバンムシの防除について—タバコ

シバンムシ誘引トラップ (セリコ) のモニタートラッ
プとしての実用性の検討. ペストロジー研究会誌
2 (1): 32-34.

Effects of Modification of Cuticular Hydrocarbon Composition on the Recognition Behavior of Termites

Ahdin GASSA and Shozo TAKAHASHI

*Pesticide Research Institute, Faculty of Agriculture,
Kyoto University, Kyoto 606, Japan*

(Received : June 13, 1995 ; Accepted : July 14, 1995).

体表ワックス成分の変化がシロアリの種認知行動に及ぼす影響 Ahdin GASSA・高橋正三 (京都大学農学部農薬研究施設)

微粉物質あるいは流動パラフィンのシロアリ体表塗布による致死効果ならびにそれらに対する同種兵蟻の刺咬行動の解発についてはすでに報告した。他種シロアリ体表ワックスの炭化水素と類似した炭素数のパラフィンを塗布した職蟻に同種の兵蟻は攻撃行動を解発した。多くのパラフィンの中でトリコサンがヤマトシロアリ兵蟻に、トリアコンタンがイエシロアリ兵蟻に最も効果的な種認知の信号物質と考えられる。イエシロアリ、ヤマトシロアリの体表ワックス成分のパラフィン化合物添加による改変はシロアリの種及び階級認知に影響を与える重要な信号となっている。

The lethal effects of powder coating and liquid paraffin treatment on the body surface of termites as well as elicitation of aggressive behavior of soldiers toward a conspecific worker treated with heterospecific cuticular hydrocarbons have been reported. Coating with paraffin compounds of similar molecular weight as the cuticular wax on the body surface of workers induced aggressive behavior in conspecific soldiers of the worker. Among paraffins tested, tricosane is the most effective cue for the recognition behavior of *Reticulitermes speratus* soldiers and triacontane is for *Coptotermes formosanus* soldiers. Modification of cuticular hydrocarbon compositions with paraffin compounds is a critical cue for the species and caste recognition in two species of termites.

Key Words : Cuticular hydrocarbons, Recognition behavior, Aggressive behavior, *Reticulitermes speratus*, *Coptotermes formosanus*

Introduction

Cuticular hydrocarbons of insects have been

recognized to function in water retention, protection from abrasion, barriers to microorganism invasion and to some degree in interspecific and intraspecific recognition (HOWARD,

1993). The lethal effects of powder coating on the body surface of insects has long been recognized (YASUE, 1949). While walking on powdered material or liquid paraffin placed on a filter paper in a petri dish, termite workers and soldiers became motionless and died within a few hours (YAMAMOTO and OKAMOTO, 1993; GASSA *et al.*, 1994). When a conspecific soldier encountered a treated worker under these conditions, the soldier attacked with open mandibles and bit the worker to death. The powder particles adhered strongly to the abdominal intersegmental membrane, while termites dying from liquid paraffin treatment had swollen abdomens. *n*-Heptadecane is liquid at room temperature and was applied to the worker in the same manner. The activity of the compound equalled that of liquid paraffin in its impact on the survival time of workers (GASSA *et al.*, 1994).

When a soldier and a heterospecific worker were placed in a petri dish, the soldier quickly began antennal contact with worker and simultaneously opened mandible. Soldiers of each species killed their heterospecific opponents within a short time by bitings (TAKAHASHI and GASSA, 1995). However, efforts to show that termites use cuticular hydrocarbons as nestmate or caste recognition cues have been less successful, because a worker does not respond to a freeze-killed worker or to a dummy coated with cuticular extract. A bioassay using a live soldier's response toward a live worker heterospecifically treated with solid hydrocarbons is therefore necessary, as the molecular weight of cuticular hydrocarbons of most termites is high. Recently a suspension of cuticular hydrocarbons in 2% Triton[®] X-100 (a surfactant, polyethylene glycol mono-*p*-isooctyl phenyl ether) heterospecifically applied to a live worker was successfully bioassayed by a soldier's responsive behavior (TAKAHASHI and GASSA, 1995).

Cuticular hydrocarbon composition in *Coptotermes formosanus* workers and soldiers of many colonies from the U. S. and Japan seem very similar (HAVERTY *et al.*, 1990; TAKAHASHI and GASSA, 1995). Using these analytical results, normal alkane mixtures with similar carbon numbers to those in the termite cuticular hydrocarbons were prepared. Application of these normal alkane mixtures or of each alkane compound to the body surface modifies the cuticular hydrocarbon composition and causes the elicitation of a different response in soldiers. This paper reports the effects of modification of the cuticular hydrocarbons by addition of commercially available paraffins with carbon numbers similar to the cuticular hydrocarbons of two termite species, *C. formosanus* and *Reticulitermes speratus*.

The hydrocarbons of *C. formosanus* consists of carbon numbers from C₂₅ to C₃₁. The standard paraffin mixture-I was made in a ratio of 2 (C₂₆) : 1 (C₂₇) : 8.3 (C₂₈) : 2.3 (C₃₀) according to the approximate ratio of the cuticular hydrocarbons (Table 1). The standard paraffin mixture-II was made in a ratio of 1 (C₂₃) : 4 (C₂₅) : 1.4 (C₂₈), similar to the ratio of *R. speratus* hydrocarbons with the addition of C₂₈ for C₂₆ and minor higher hydrocarbons (Table 2). Major common components in the two species are C₂₅ and C₂₆. Major differences in the components are the lack of C₂₃ in *C. formosanus* and C₂₇ or higher carbon numbers in *R. speratus*. Effects of addition of tricosane to *C. formosanus* workers and triacontane to *R. speratus* workers were tested in the soldiers' responses.

Materials and Methods

Preparation of standard paraffin mixtures

Commercially available normal alkanes (standard paraffins) were mixed in a composition of 60 mg of hexacosane, 30 mg of heptacosane, 250 mg of octacosane, and 70 mg of

Table 1 Percent composition of cuticular hydrocarbons from workers of *C. formosanus* and standard paraffin mixture-I

Cuticular hydrocarbon of <i>C. formosanus</i>			Standard paraffin mix.-I	
Component	Carbon number	(%)	Alkane	(%)
n-C ₂₅	25	1.42		
x-Me-C ₂₅ ¹⁾	26	1.18		
2-Me-C ₂₅	26	10.33		
3-Me-C ₂₅	26	1.53		
n-C ₂₆	26	1.48	n-C ₂₆	14.63
x-Me-C ₂₆ ¹⁾	27	1.80		
2-Me-C ₂₆	27	4.71		
n-C ₂₇	27	6.48	n-C ₂₇	7.32
9-, 11-, 13-Me-C ₂₇	28	27.95		
2-Me-C ₂₇	28	14.41		
3-Me-C ₂₇	28	7.89		
n-C ₂₈	28	3.76	n-C ₂₈	60.98
9-, 11-, 13-Me-C ₂₈	29	3.21		
9-, 11-, 13-Me-C ₂₉	30	0.90	n-C ₃₀	17.07
13, 15-DiMe-C ₂₉	31	11.40		
2-Me-C ₃₀	31	1.45		

¹⁾ Position of methyl is unidentified.

Table 2 Percent composition of cuticular hydrocarbons from workers of *R. speratus* and standard paraffin mixture-II

Cuticular hydrocarbon of <i>R. speratus</i>			Standard paraffin mix.-II	
Component	Carbon number	(%)	Alkane	(%)
n-C ₂₃	23	10.35	n-C ₂₃	15.56
2-Me-C ₂₃	24	1.90		
3-Me-C ₂₃	24	5.20		
2-Me-C ₂₄	25	15.44		
n-C ₂₅	25	28.80	n-C ₂₅	62.22
x-Me-C ₂₅ ¹⁾	26	8.09		
2-Me-C ₂₅	26	7.46		
3-Me-C ₂₅	26	16.56		
n-C ₂₆	26	6.20		
			n-C ₂₈	22.22

¹⁾ Position of methyl is unidentified.

triacontane. This mixture consists of similar carbon numbers to *C. formosanus* cuticular hydrocarbons and is referred to as standard paraffin mixture-I. The other mixture was made of 70 mg of tricosane, 280 mg of penta-cosane, and 100 mg of octacosane, and is called

standard paraffin mixture-II.

Preparation of suspension of the standard paraffin mixtures

To each 10 mg or 100 mg of standard paraffin mixture, 1 ml of 2% aqueous Triton[®] X-100 solution was added, and the mixture was

warmed and shaken in an ultrasonic cleaner (Branson B-92) for 30 min. All other suspensions were prepared in the same manner. The following suspensions were used for the experiments.

- 10 mg tricosane in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.01 mg/ μ l)
- 100 mg tricosane in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.1 mg/ μ l)
- 10 mg triacontane in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.01 mg/ μ l)
- 100 mg triacontane in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.1 mg/ μ l)
- 1 mg standard paraffin mixture-I in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.001 mg/ μ l)
- 10 mg standard paraffin mixture-I in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.01 mg/ μ l)
- 1 mg standard paraffin mixture-II in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.001 mg/ μ l)
- 10 mg standard paraffin mixture-II in 1 ml 2 % Triton[®] X-100 (0.01 mg/ μ l)

Soldier's behavior toward worker treated with a suspension

One μ l of a paraffin suspension in 2 %

Triton[®] X-100 or 2 % Triton[®] X-100 solution was topically applied to the dorsal surface of a worker on a cooled petri dish and the worker was then kept at room temperature for 15 min. After drying, the treated worker was placed in an observation petri dish (arena) and a soldier was introduced. The behavior upon antennal contact, mandible opening and biting by the soldier was observed, and survival time of the worker was recorded.

Results and Discussion

The responses of *R. speratus* soldiers to conspecific workers treated with standard paraffin mixture-I are shown in Table 3. The soldiers showed aggressive behavior, and the survival time of the worker was an average of 237.42 min (3.96 hr). The *C. formosanus* soldier was aggressive toward the conspecific worker treated with standard paraffin mixture-II and survival time averaged 168.54 min (2.81 hr) (Table 4). In these experiments, the *C. formosanus* soldier responded with a number of mandible openings but no biting, but the *R.*

Table 3 Induction of aggressive behavior in *R. speratus* soldiers toward conspecific workers treated with a suspension of standard paraffin mixture-I (mean \pm SE)¹⁾

Behavior of <i>R. speratus</i> soldier	Response of <i>R. speratus</i> soldier	
	to conspecific worker treated with standard paraffin mix.-I ²⁾	to conspecific worker treated with 2 % Triton X-100 ³⁾
Beginning of antennal contact and mandible opening (min.)	0.21 \pm 0.05	0.25 \pm 0.31
Beginning of attack on worker (min.)	0.52 \pm 0.15	0.00 \pm 0.00
Number of mandible openings	3.60 \pm 0.61	0.00 \pm 0.00
Number of bitings of worker	2.80 \pm 0.99	0.00 \pm 0.00
Survival time of worker (min.)	237.42 \pm 29.63	1351.20 \pm 17.34

1) Average of 10 replications. Intact individuals were used in each test.

2) 1 μ l topical application of suspension (2 % Triton X-100 + standard paraffin mixture-I = 0.01 mg/ μ l).

3) 1 μ l topical application of 2 % Triton X-100 (control).

Table 4 Induction of aggressive behavior in *C. formosanus* soldiers toward conspecific workers treated with a suspension of standard paraffin mixture-II (mean \pm SE)¹⁾

Behavior of <i>C. formosanus</i> soldier	Response of <i>C. formosanus</i> soldier	
	to conspecific worker treated with standard paraffin mix. -II ²⁾	to conspecific worker treated with 2% Triton X-100 ³⁾
Beginning of antennal contact and mandible opening (min.)	0.10 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01
Beginning of attack on worker (min.)	0.24 \pm 0.04	0.00 \pm 0.00
Number of mandible openings	8.90 \pm 1.62	0.00 \pm 0.00
Number of bitings of worker	7.60 \pm 1.24	0.00 \pm 0.00
Survival time of worker (min.)	168.54 \pm 15.65	1493.59 \pm 36.90

1) Average of 10 replications. Intact individuals were used in each test.

2) 1 μ l topical application of suspension (2% Triton X-100 + standard paraffin mixture-II = 0.01 mg/ μ l).

3) 1 μ l topical application of 2% Triton X-100 (control).

speratus soldier not only opened the mandible but bit. One component of both *R. speratus* cuticular hydrocarbon and of standard paraffin mixture-II, tricosane, was tested for its effect on the response of the *C. formosanus* soldier when put on a conspecific worker. Compared with treatment by standard paraffin mixture-II, the average survival time (73.79 min) was

shorter, although the number of bitings was fewer (Table 5). *R. speratus* soldiers also aggressively responded to conspecific workers treated with triacontane, which is a higher molecular weight component in mixture-I. The result was shorter survival time (average 108 min) and an increased number of bitings (Table 6). All results were obtained at opti-

Table 5 Induction of aggressive behavior in soldiers *C. formosanus* toward conspecific workers treated with a suspension of tricosane (C₂₃) in 2% Triton X-100 (mean \pm SE)¹⁾

Behavior of <i>C. formosanus</i> soldier	Response of <i>C. formosanus</i> soldier	
	to conspecific worker treated with C ₂₃ suspension ²⁾	to conspecific worker treated with 2% Triton X-100 ³⁾
Beginning of antennal contact and mandible opening (min.)	0.21 \pm 0.03	0.12 \pm 0.01
Beginning of attack on worker (min.)	0.52 \pm 0.14	0.00 \pm 0.00
Number of mandible openings	1.70 \pm 0.14	0.00 \pm 0.00
Number of bitings of worker	4.00 \pm 0.61	0.00 \pm 0.00
Survival time of worker (min.)	73.79 \pm 2.74	1493.59 \pm 36.90

1) Average of 10 replications. Intact individuals were used in each test.

2) 1 μ l topical application of suspension (2% Triton X-100 + C₂₃ = 0.1 mg/ μ l).

3) 1 μ l topical application of 2% Triton X-100 (control).

Recognition Behavior of Termites

Table 6 Induction of aggressive behavior in soldiers of *R. speratus* toward conspecific workers treated with a suspension of tricosane (C₃₀) in 2% Triton X-100 (mean ± SE)¹⁾

Behavior of <i>R. speratus</i> soldier	Response of <i>R. Speratus</i> soldier	
	to conspecific worker treated with C ₃₀ suspension ²⁾	to conspecific worker treated with 2% Triton X-100 ³⁾
Beginning of antennal contact and mandible opening (min.)	0.27 ± 0.01	0.25 ± 0.03
Beginning of attack on worker (min.)	1.75 ± 0.13	0.00 ± 0.00
Number of mandible openings	4.00 ± 0.65	0.00 ± 0.00
Number of bitings of worker	4.20 ± 0.46	0.00 ± 0.00
Survival time of worker (min.)	108.00 ± 7.79	1351.20 ± 17.35

1) Average of 10 replications. Intact individuals were used in each test.

2) 1 μl topical application of suspension (2% Triton X-100 + C₃₀ = 0.1 mg/μl).

3) 1 μl topical application of 2% Triton X-100 (control).

mum concentrations of the test solution and no response was elicited with application of lower concentrations. With modification to the cuticular hydrocarbon composition by addition of standard paraffin mixture-I, -II, triacontane, or tricosane, the conspecific soldier recognized

workers as a different species.

When a soldier faced a heterospecific worker treated with conspecific cuticular hydrocarbons, the treatment counteracted the elicitation of aggressive behavior by the soldier. This was true in all tests with standard paraffin mixture

Table 7 Suppression of aggressive behavior in *C. formosanus* soldiers toward workers of *R. speratus* treated with a suspension of standard paraffin mixture-I and in *R. speratus* soldiers toward workers of *C. formosanus* treated with a suspension of standard paraffin mixture-II (mean ± SE)¹⁾

Behavior of soldier	Response of <i>C. formosanus</i> soldier to <i>R. speratus</i> worker treated with standard paraffin mix.-I ²⁾	Response of <i>R. speratus</i> soldier to <i>C. formosanus</i> worker treated with standard paraffin mix.-II ³⁾
	Beginning of antennal contact and mandible opening (min.)	0.30 ± 0.09
Beginning of attack on worker (min.)	0.33 ± 0.24	0.12 ± 0.12
Number of mandible openings	5.00 ± 0.71	2.90 ± 0.52
Number of bitings of worker	0.03 ± 0.15	0.60 ± 0.34
Survival time of worker (min.)	677.22 ± 30.772	778.71 ± 31.54

1) Average of 10 replications. Intact individuals were used in each test.

2) 1 μl topical application of suspension (2% Triton X-100 + standard paraffin mixture-I = 0.01 mg/μl).

3) 1 μl topical application of suspension (2% Triton X-100 + standard paraffin mixture-II = 0.01 mg/μl).

Table 8 Suppression of aggressive behavior in *C. formosanus* soldiers toward workers of *R. speratus* treated with a suspension of triacontane (C₃₀) and in *R. speratus* soldiers toward workers of *C. formosanus* treated with a suspension of tricosane (C₂₃) (mean \pm SE)¹⁾

Behavior of soldier	Response of <i>C. formosanus</i> soldier to <i>R. speratus</i> worker treated with triacontane (C ₃₀) ²⁾	Response of <i>R. speratus</i> soldier to <i>C. formosanus</i> worker treated with triacontane (C ₂₃) ³⁾
Beginning of antennal contact and mandible opening (min.)	0.35 \pm 0.07	1.88 \pm 1.46
Beginning of attack on worker (min.)	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Number of mandible openings	8.20 \pm 1.21	4.50 \pm 0.98
Number of bitings of worker	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00
Survival time of worker (min.)	550.80 \pm 12.48	775.02 \pm 55.07

1) Average of 10 replications. Intact individuals were used in each test.

2) 1 μ l topical application of suspension (2% Triton X-100 + C₃₀ = 0.1 mg/ μ l).

3) 1 μ l topical application of suspension (2% Triton X-100 + C₂₃ = 0.1 mg/ μ l).

-I, -II, triacontane, and tricosane (Table 7, 8). Here again, a compound in a standard mixture was effective in suppressing aggressive behavior. Modification of cuticular hydrocarbon composition affects the recognition behavior of soldiers. Tricosane, a lower molecular weight component, is believed to be a specific hydrocarbon of *R. speratus* and to function as an important chemical cue. For the species and caste recognition behavior of an *R. speratus* soldier, tricosane is a key hydrocarbon on the body surface of the *C. formosanus* worker that effectively suppressed biting by the soldier. A similar response was elicited in an *C. formosanus* soldier to an *R. speratus* worker treated with triacontane.

Cuticular hydrocarbon composition is thus an important chemical cue for the species and caste recognition of termites. Although there is a slight difference in the hydrocarbon composition of nestmates and colonies, the termites hardly recognize this difference. Other factors such as specific odor signals and behavioral response are involved in their communication

system.

Acknowledgements

We thank Dr. T. YOSHIMURA, Wood Research Institute, Kyoto University for supplying the *C. formosanus* colony. Our sincere thanks to Dr. H. OKAMOTO, United Graduate School of Agricultural Sciences, Ehime University for his suggestions and discussion throughout our experiments.

References

- GASSA, A., S. TAKAHASHI and H. OKAMOTO (1994) Effect of cuticular coating on the behavior and survival of termites. *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* 6: 53-60.
- HAVERTY, M. I., L. J. NELSON and M. PAGE (1990) Cuticular hydrocarbons of four populations of *Coptotermes formosanus* SHIRAKI in the United States. Similarities and origins of introductions. *J. Chem. Ecol.*, 16: 1635-1647.
- HOWARD, R. W. (1993) Cuticular hydrocarbons and chemical communication. in "Insect

- lipids: Chemistry, Biochemistry, and Biology*" (D. W. STANLEY-SAMUELSON and D. R. NELSON, eds.), pp 177-226, University of Nebraska Press, Lincoln and London.
- TAKAHASHI, S. and A. GASSA (1995) Roles of cuticular hydrocarbons in intra- and inter-specific recognition behavior of two Rhino termitidae species. *J. Chem. Ecol.* 21:1837-1845.
- YAMAMOTO, N. and H. OKAMOTO (1993) Studies on the lethal effect of powders or powdered natural minerals on termites, cockroaches and mites. *Jpn. J. Environ. Entomol. Zool.* 5: 13-24 (in Japanese With English summary).
- YASUE, Y (1949) Control of stored product pest insects by treatment with powders. *Noh-yaku* 3: 4-13 (in Japanese).

Termiticidal Performance of Hinokitiol and Its Derivatives in Laboratory Test

Tsuyoshi YOSHIMURA¹⁾, Munezoh TAKAHASHI¹⁾, Yasuko YOSHIDA²⁾,
Tadahiko INUKAI³⁾, Taku CHIBA⁴⁾ and Natsuki KATO⁵⁾

- 1) Wood Research Institute, Kyoto University, Uji, Kyoto 611, Japan
- 2) NGK Insulators, Ltd., 1 Maegata-cho, Handa 475, Japan
- 3) Biseiken Co. Ltd., 4-9-24 Biwajima, Nishi-ku, Nagoya 451, Japan
- 4) Faculty of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University, 3-1, Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan
- 5) Tyukyo Women's University, Yokone-cho, Oobu 474, Japan

(Received : May 17, 1995 ; Accepted : June 27, 1995)

室内試験によるヒノキチオールおよびその誘導体の殺蟻効力 吉村 剛¹⁾・高橋 旨象¹⁾
・吉田 安子²⁾・犬飼 忠彦³⁾・千葉 拓⁴⁾・加藤 夏樹⁵⁾ (¹⁾京都大学木質科学研究所,
²⁾日本ガイシ(株), ³⁾㈲ピセイケン, ⁴⁾名古屋市立大学薬学部, ⁵⁾中京女子短期大学)

ヒノキチオール (β -ツヤプリシン) およびその誘導体の殺蟻効力について室内試験による検討を行った。処理濾紙を用いた効力試験の結果、イエシロアリ職蟻に対してはヒノキチオールが最も高い殺蟻性能を示し、アシル誘導体 (ヒノキチオール *n*-オクタノエート) がそれに次いだ。2種のグルコース配糖体の効力は非常に遅効的であった。また、ヒノキチオールおよびその誘導体の摂取が、イエシロアリ職蟻後腸内の共生原生動物相に影響を及ぼす事が明らかになり、さらに、誘導体のヒノキチオールへの変換が、その効力発現に不可欠である事も推察された。現在シロアリ防除薬剤として汎用されている有機リン系化合物等と比較した場合、これら化合物の殺蟻効力はかなり低く、したがって、実用的な検討に関しては、この作用機構などからも、例えば、ベイト剤のような新しい製剤型の検討が必要であろう。

The termiticidal performance of hinokitiol (β -thujaplisin), its two glucosides, and an acyl-derivative was investigated using a laboratory bioassay with reference to their effects on the protozoan fauna in the hindgut. Hinokitiol was the most effective against workers of *Coptotermes formosanus* SHIRAKI among these chemicals, followed by hinokitiol *n*-octanoate, in a filter paper test. The two glucosides showed delayed activity. Even hinokitiol needed more than a hundred times the amount of chemical to meet the same level of effectiveness compared to authentic termiticides, therefore, these chemicals did not seem to be alternatives for conventional preventive and/or remedial termite controlling methods. All

test chemicals certainly affected the protozoan fauna in the hindgut. From the change of the protozoan fauna of workers fed on treated filter papers, it appeared that derivatives needed to be converted into hinokitiol for expressing their anti-microbial activity, and that glucosides were more easily converted into hinokitiol than hinokitiol *n*-octanoate. Novel formulations such as baiting techniques should be concerned when practical application of hinokitiol and its derivatives is considered.

Key Words : Hinokitiol, Glucosides, Acyl-derivative, Termiticidal performance, Protozoan fauna, *Coptotermes formosanus*

Introduction

Public concerns have encouraged the search for novel termiticidal chemicals having the least environmental impacts. Natural products, such as wood extractives, have been the major targets. Although many wood extractives have been shown to have termiticidal activity (YAGA, 1989), no commercial product has been obtained so far.

Hinokitiol (β -thujaplicin) is one of the major essential oils from several cypress trees (i. e. *Tsujopsis dolabrata* SIEB. et ZUCC.) and has been commercialized as an anti-bacterial agent because of its wide range spectrum (OKABE *et al.*, 1994). The termiticidal performance of hiba (*T. dolabrata* SIEB. et ZUCC. var. *hondae* MAKINO) essential oil, which contains hinokitiol and many other extractives, has also been investigated by OKABE and co-workers using *Reticulitermes speratus* (KOLBE) (OKABE *et al.*, 1990). Although they have concluded that hiba oil has a relatively high termiticidal effectiveness, the contribution of hinokitiol to the effectiveness has not been discussed.

Wood essential oils, such as hinokitiol, have high vapor pressures, and this results in less persistence in the environment. Therefore, reduction of vapor pressure appears to be one of the most important research targets when commercialization is concerned. Generally, a

high vapor pressure can be reduced by converting the chemicals into derivatives, such as glycosides and acyl-derivatives. When termites ingest these derivatives, hinokitiol would be released, to have detrimental effects on the health of the insects by effects on the symbiotic microorganisms that are important in nutritional metabolism in lower termites (YOSHIMURA, 1993).

For this paper, the termiticidal performance of hinokitiol, its two glucosides, and an acyl-derivative was investigated using a laboratory bioassay with reference to their effects on the protozoan fauna in the hindgut.

Materials and Methods

Termites

Undifferentiated mature larvae (=workers) of *Coptotermes formosanus* SHIRAKI were used as test insects. Those were obtained from a laboratory colony maintained in the dark at 28 ± 2 °C and more than 85% relative humidity for more than five years with pieces of *Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC.

Test chemicals

Test chemicals are shown in Fig. 1. Commercially available hinokitiol (HT) was used in this investigation (Wako Pure Chemicals Co. Ltd.). Two hinokitiol glucosides (HT-GU and HT-GL) were synthesized by the methods of CHIBA *et al.* (1995). Hinokitiol *n*-octanoate

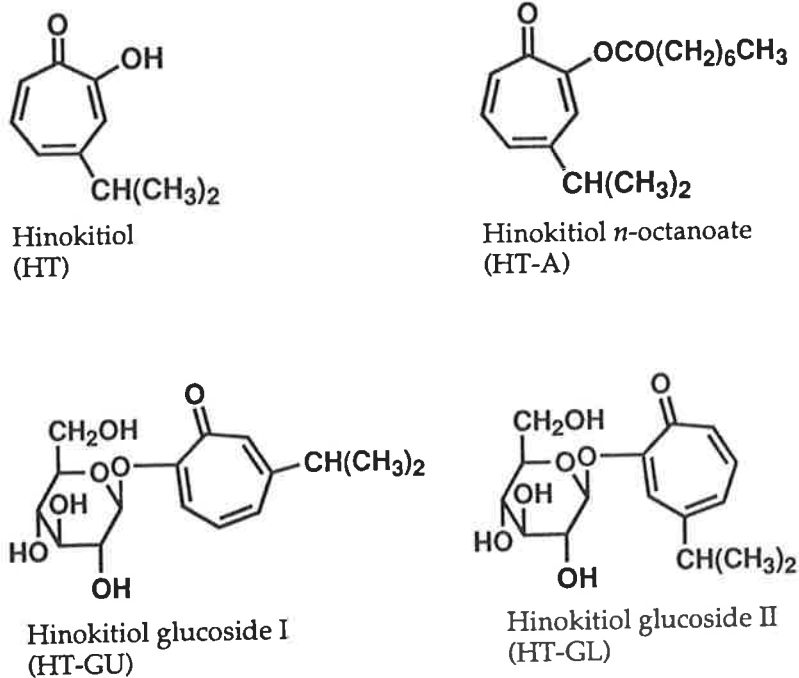


Fig. 1 Test chemicals.

(HT-A) was prepared by the methods of NEWMAN and LALA (1967), and FIESER and FICSER (1967).

Laboratory bioassay

A filter paper test was used to evaluate termiticidal performance. HT and HT-A, and HT-GU and HT-GL were dissolved in acetone and distilled water, respectively, to give concentrations of 0.010, 0.10, and 1.0% (W/W of filter paper) when 0.5 ml of each solution was pipetted onto a 60-mm filter paper (No. 2, Whatman BioSystems Co. Ltd.). After one day's air-drying, the treated filter paper was set into a Petri dish (60 mm in diameter) with 0.5 ml distilled water and thirty workers of *C. formosanus*. Three replicates were prepared for each treatment. The assembled dishes were kept in the dark at $28 \pm 2^\circ\text{C}$ and more than 85% relative humidity for eight weeks. The number of living insects was recorded daily, and dead ones were removed. Untreated filter papers were

used as controls.

Effects of chemicals on the protozoan fauna

HT, HT-A, and HT-GU were used for evaluating the effects of the chemicals on the protozoan fauna in the hindgut. One hundred workers of *C. formosanus* were forced to feed on a 0.1% treated filter paper (90 mm, No. 2, Whatman BioSystems Co. Ltd.) for four weeks. After 3, 7, 14, 21, and 28 days, ten insects were collected randomly, and their hindguts were pulled out from the posterior ends of the bodies. The hindguts were dissected under a binocular in Trager U solution (TRAGER, 1934), and presence of the three protozoan species was qualitatively observed. Two replicates were prepared for each treatment. Changes of protozoan fauna of workers fed on untreated filter paper, and of workers kept without any food (starvation) were observed as controls. The presence of the protozoa was described as the percentage of the individuals having the