

2種の牛用駆虫剤が糞食性コガネムシ  
類の誘引，生存，繁殖および摂食活動  
に及ぼす影響

2019

岩手大学大学院  
連合農学研究科  
生物環境科学専攻  
(帯広畜産大学)

石川 郁太郎

Effects of the antiparasitic drugs, ivermectin  
and eprinomectin on the attraction, survival,  
reproduction and feeding activity of the dung  
beetles in Japan

2019

Ikutaro Ishikawa

Course of Biotic Environment,  
the United Graduate School of Agricultural Sciences,  
Iwate University  
(Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

# 目次

序論 .....	1
第 1 章 イベルメクチンの残留糞がエンマコガネ属 2 種, ダイコクコガネ属 3 種および センチコガネ属 1 種の生存と繁殖に及ぼす影響 .....	4
第 2 章 エプリノメクチンの残留糞がエンマコガネ属 2 種, ツノコガネ属 1 種およびダ イコクコガネ属 2 種の生存と繁殖に及ぼす影響 .....	24
第 3 章 イベルメクチンおよびエプリノメクチンの残留糞が糞虫 7 種における成虫の 摂食活動に及ぼす影響 .....	38
第 4 章 イベルメクチンの残留糞が糞虫類の誘引性および糞分解に及ぼす影響 .....	54
総合考察 .....	74
謝辞 .....	78
要約 .....	79
Summary .....	82
引用文献 .....	85

## 序論

### 背景と目的

家畜用駆虫剤の中でも、大環状ラクトン類 (MLs) のイベルメクチン群 (イベルメクチン, ドラメクチン, エプリノメクチン) およびミルベマイシン群 (モキシデクチン) は、寄生虫駆除のために広く使用されている。特にイベルメクチンは、広範囲の内部・外部寄生虫に対して高い殺虫効果を持ち (Drummond, 1985; Schröder, 1985), 牛体の背に沿って薬剤溶液を注ぐだけのポアオン法 (背部塗布法) の開発も相まって世界中で普及してきた。しかし、これらの駆虫剤の殺虫有効成分は、家畜体内でほとんど代謝されることなく糞尿に排泄されるため (Campbell et al., 1983), 駆除対象外である糞食性昆虫への悪影響が懸念されてきた (Wall & Strong, 1987; Floate et al., 2005)。糞食性昆虫のなかでも、特に糞食性コガネムシ (糞虫) に分類される昆虫は、糞の分解能力が高いだけでなく、糞塊の下に巣穴を深く掘ってそこに糞を運ぶことによって、土壤中の養分循環や害虫の発生抑制など放牧地において重要な生態系サービスを提供している (Yamashita & Hayakawa, 1991; Yamada et al., 2007; Nichols et al., 2008; Gregory et al., 2015)。こうしたイベルメクチンの糞への残留は、多くの糞虫の幼虫生存率を低下させ (Ridsdill-Smith, 1988; Houlding et al., 1991; Fincher, 1992; Holter & Sommer, 1993; Lumaret et al., 1993; Dadour et al., 1999; Wardhaugh et al., 2001), また一部の糞虫種は成虫の生存、産卵数および摂食活動にまで悪影響を及ぼす可能性が示されてきた (Wardhaugh & Rodriguez-Menendez, 1988; Pérez-Cogollo et al., 2015)。さらに、駆虫剤残留糞による糞虫の誘引性の変化 (Wardhaugh & Mahon, 1991; Holter et al., 1993; Floate, 1998) や糞分解の遅延 (Sommer et al., 1993; Floate, 1998; Dadour et al., 1999) など報告されている。これらのことから、MLs 残留糞が放牧地における糞虫類の個体群や生態的機能に影響を及ぼし、放牧生態系への悪影響に繋がる可能性が考えられる。

我が国においても、イベルメクチンは、1996 年からポアオン法によって普及し、家畜の

寄生虫を効率よく駆除するため全国的に使用されてきた（岩佐，2008）．しかし，日本での駆虫剤登録の際，家畜体内や乳汁などの生産物に対する駆虫剤成分の残留性については考慮されているが，排泄物中への残留などについては考慮されておらず，家畜用駆虫剤使用の環境リスクについてはほとんど調査されてこなかった．これまで，一部の糞食性ハエ類と糞虫類がイベルメクチンの糞残留によってその生存と繁殖率が低下することが報告されてきたが（山下ら，2004; Iwasa et al., 2005a, b, 2007），対象種は一部の種に限られており，MLs 駆虫剤残留が国内の糞食性昆虫に及ぼす影響についての情報は極めて少ない現状となっている．

一方，イベルメクチンよりも後に開発されたエプリノメクチンは，牛の乳汁中への残留移行性が低く，イベルメクチンと同等の駆虫効果を持ちながら搾乳牛へ使用制限なく投与が可能であることが最大の特徴となっている（Schoop et al., 1996a, b; Reist et al., 2011; Gokbulut et al., 2012; Mason et al., 2012）．しかし，エプリノメクチンは，日本において2009 年以降に流通し，国内での駆除対象外昆虫に対する影響評価は，Iwasa & Sugitani（2014）の報告があるにすぎない．従来のイベルメクチンに代わり，より利便性が高いエプリノメクチンの使用が今後拡大していくことが予想されるため，駆除対象外昆虫への悪影響を未然に防ぐためにもこれらの影響評価を進めていく必要がある．

日本においても糞分解能力の高さから重要視されている糞虫類は，近年全国的に個体数が減少傾向であり（塚本，2003），特にダイコクコガネ属（*Copris*）に分類される糞虫は多くの都道府県で絶滅危惧種に指定されているため（Hori, 2005），こうした種の保護のためにも駆虫剤残留の影響を明確にすることは重要な課題である．また，駆虫剤の糞への残留が，糞虫類の糞の選好性にも影響を及ぼすことが知られており（山下ら，2004），駆虫剤残留糞による糞虫の誘引性の変化についても明らかにする必要がある．

そこで本研究では，糞分解能力が高く，重要な生態系サービスを提供している糞虫類に焦点を当て，牛用駆虫剤の糞への残留が糞虫類に及ぼす影響を，以下の4つの項目について明らかにすることを目的とした．

- 1) イベルメクチンが日本産糞虫 3 属（エンマコガネ属：*Onthophagus*, ダイコクコガネ属, センチコガネ属：*Phelotrupes*）6 種の生存と繁殖に及ぼす影響.
- 2) エプリノメクチンが日本産糞虫 3 属（エンマコガネ属, ツノコガネ属：*Liatongus*, ダイコクコガネ属）5 種の生存と繁殖に及ぼす影響.
- 3) イベルメクチンおよびエプリノメクチンの残留糞が上記の糞虫（エンマコガネ属, ツノコガネ属, ダイコクコガネ属, センチコガネ属）7 種における成虫の摂食活動に及ぼす影響.
- 4) 野外において, イベルメクチンの残留糞が糞虫類の誘引性および糞分解に及ぼす影響.

## 第1章 イベルメクチンの残留糞がエンマコガネ属 2 種, ダイコクコガネ属 3 種およびセンチコガネ属 1 種の生存と繁殖に及ぼす影響

### はじめに

日本の糞食性昆虫におけるイベルメクチンの残留汚染の影響評価は 2000 年代にはじめて行われ, 数種の糞虫類を対象に調査されてきた. 山下ら (2004) は, 在来糞虫のオオフタホシマグソコガネ (*Aphodius elegans* Allibert) の幼虫生存がイベルメクチン投与後 14 日までの糞において影響を受けたことを示した. また, Iwasa et al. (2005b, 2007) はマエカドコエンマコガネ (*Caccobius jessoensis* Harold) およびツノコガネ (*Liatongus minutus* Motschulsky) の次世代幼虫の羽化率がイベルメクチン残留糞で低下することを明らかにし, さらに大型であるダイコクコガネ属の糞虫種においては成虫の生存および産卵数に影響を及ぼすことを明らかにした. しかし, これらの種は, 日本産糞虫種 (約 160 種) の中でもほんの一部に限られている. 現在, 各都道府県発刊のレッドデータブックに掲載されている糞虫種は全体の 29%となっており (塚本, 2003), 希少種をはじめとしたより多くの国内糞虫種を対象にしたイベルメクチンの影響の解明は, 今後のこれらの保護や生態系への影響評価のためにも重要と思われる. そこで, 本章では未調査種であるシナノエンマコガネ (*Onthophagus bivertex* Heyden), カドマルエンマコガネ (*Onthophagus lenzii* Harold), オオセンチコガネ (*Phelotrupes auratus* Motschulsky), そして各県で希少種または絶滅危惧種に指定されているダイコクコガネ (*Copris ochus* Motschulsky), ミヤマダイコクコガネ (*Copris pecuarius* Lewis), ゴホンダイコクコガネ (*Copris acutidens* Motschulsky) の計 6 種を対象とし, イベルメクチンがこれらの生存と繁殖に及ぼす影響を明らかにする目的で実験を行った.

### 材料および方法

#### 1. 駆虫剤投与および牛糞サンプルの回収

供試牛は、北海道帯広市の八千代公共育成牧場で放牧されているホルスタイン種の雌若牛（10～30 ヶ月齢，体重 280～500 kg）の放牧群（50～100 頭）の中から無作為に 10 頭を選んで使用した．駆虫剤は，イベルメクチン（アイボメックトピカル；メリアルジャパン株式会社）を使用し，牛の体重あたり 500  $\mu\text{g/kg}$  を投与量として 2015～2018 年の各年 6 月にポアオン法（背部塗布法）で投与した．対照区として，過去 1 ヶ月間駆虫剤を投与していない別の放牧区の牛 10 頭を使用した．投与区および対照区の各放牧区における牛から，投与前と投与後 1，3，7，14，21 日経過毎に排泄されて 1 時間以内の新鮮な牛糞を回収し，5～10 頭分の糞を各日数でよく攪拌した後 $-20^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存した．

## 2. 牛糞内の駆虫剤残留濃度分析

各投与区より回収し $-20^{\circ}\text{C}$ で冷凍保存しておいた各投与後日数の牛糞 100 g を室温で解凍し，5 g を精秤後，イベルメクチンの分析に供した．分析は Payne et al. (1995)の方法に準じて蛍光誘導化試薬(1-メチルイミダゾール)で誘導化後，C18 カラム(CAPCELLPAKC18 UG120:5 $\mu\text{m}$ , 4.6mm i.d.  $\times$  150mm)を用いて高速液体クロマトグラフィーによって行った．

## 3. イベルメクチンの糞残留がシナノエンマコガネおよびカドマルエンマコガネ（エンマコガネ属）の生存と繁殖に及ぼす影響

シナノエンマコガネおよびカドマルエンマコガネは，それぞれ体長 6.4～10.6 mm, 6.0～12.8mm の中型種であり，両種とも牛，馬，シカ，羊などの新鮮な糞に集まる（川井ら，2005）．シナノエンマコガネは，北海道から九州にかけて局所的に分布しており，関東以北からの記録が多いが，産地は激減している（川井ら，2005）．カドマルエンマコガネは，北海道から南西諸島まで広く分布しており，平地に多く生息している普通種である．実験に使用したシナノエンマコガネ成虫（図 1-1）は 6 月に北海道勇払郡むかわ町穂別の中村牧場の牛糞下から採集し，カドマルエンマコガネ成虫（図 1-2）は栃木県日光市の草原で牛糞トラップを用いて採集した．



上記糞虫 2 種の飼育には、高さ 18 cm、直径 12 cm のプラスチック容器を使用し、それぞれ容器の 8 割ほどの高さになるように固く詰めた黒土の上に各投与区の牛糞 70 g を置き、そこに成虫雌雄 3 対を入れた。容器には、空気穴をあけたビニールシートで蓋をしてインキュベーター内 (22 ± 1 °C, 16L8D) で飼育した。容器内で形成された糞球は 1 週間経過毎に回収し、成虫の生存確認と牛糞の交換も同時に行った。糞球は黒土とともにプラスチックカップ (高さ 4 cm、直径 8 cm) に個別に入れて飼育し、次世代幼虫の羽化率を記録した。シナノエンマコガネは、投与後 1, 3, 7 日、カドマルエンマコガネは、投与後 1, 3, 7, 14 日の牛糞 (2016 年投与) を使用して 2 カ月間飼育し、各投与区で 5 反復飼育実験を行った。

#### 4. イベルメクチンの糞残留がダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネ (ダイコクコガネ属) の生存と繁殖に及ぼす影響

ダイコクコガネは、糞虫種の中でも日本最大の大きさ (体長 15.7~34.0 mm) であり、同じダイコクコガネ属のミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネもそれぞれ体長 17.0~24.2 mm, 9.7~16.0 mm の大型種である (川井ら, 2005)。これらの成虫は、主に牛、馬、シカなどの草食動物の新鮮な糞に集まり、初夏~秋にかけて雌雄で番となって巣穴に育児球をつくり、ともに長期間育児行動をするという生態的特徴がある。ダイコクコガネおよびゴホンダイコクは北海道から九州にかけて分布しており、ミヤマダイコクコガネは東北から九州にかけて局所的に分布している。これら 3 種の個体数は全国的な減少傾向にあり、各都道府県で絶滅危惧種、もしくは希少種としてレッドデータブックに記載されている (堀, 2005)。実験に使用したダイコクコガネ (図 1-4) およびゴホンダイコクコガネ (図 1-6) の成虫は、6 月初旬~7 月下旬に北海道むかわ穂別の中村牧場の牛糞下およびその周辺の街灯で採集し、ミヤマダイコクコガネ (図 1-5) は栃木県日光市の草原で牛糞トラップを用いて採集した。

ダイコクコガネおよびミヤマダイコクコガネは高さ 40 cm、直径 30 cm、ゴホンダイコクコガネは高さ 18 cm、直径 12 cm のプラスチック容器を使用し、それぞれ容器の 8 割ほど

の高さになるように黒土を固く詰めた．そこに成虫雌雄 1 対および各投与区の牛糞（ダイコクコガネ，ミヤマダイコクコガネ：100 g，ゴホンダイコクコガネ：70 g）を入れ，空気穴をあけたビニールシートで蓋をして室温（約 22 ℃）で飼育した．牛糞の交換と成虫の生存は 1 週間経過毎にを確認し，30 日経過毎に容器内の土を出して形成された糞球を回収して個数を記録した．糞球は黒土とともにプラスチックカップ（高さ 4 cm，直径 8 cm）に個別に入れて飼育し，次世代幼虫の羽化率を記録した．ダイコクコガネおよびミヤマダイコクコガネは投与後 3，7，14，21 日の糞（それぞれ 2017 年，2018 年投与），ゴホンダイコクコガネは投与後 3，7，14 日の糞（2015 年投与）でそれぞれ 90 日間飼育し，各投与区で 10 反復飼育実験を行った．

#### 5. イベルメクチンの糞残留がオオセンチコガネ（センチコガネ科：センチコガネ属）の生存と繁殖に及ぼす影響

オオセンチコガネは，体長 12.4～22.0 mm の大型種で，北海道から九州にかけて広く分布している（川井ら，2005）．成虫は林内の野生動物（シカ，キツネ，タヌキなど）や，放牧地の牛，馬，羊の新鮮な糞によく集まる．使用したオオセンチコガネ（図 1-7）の成虫は，北海道帯広市の八千代公共育成牧場の放牧地に落ちている牛糞内から採集した．

飼育容器は上記のダイコクコガネと同じものを使用し，成虫雌雄 2 対および牛糞 100 g を入れた．1 週間経過毎に成虫の生存確認を行い，30 日経過毎に容器内に形成された糞ソーセージ（ソーセージ状に固められた育児用糞塊，糞球と同様 1 つにつき 1 個卵を産み付ける）を回収して個数を記録した．回収した糞ソーセージは，黒土とともにプラスチックカップ（高さ 4 cm，直径 8 cm）に個別に入れて飼育し，次世代幼虫の 3 齢期までの生存率を記録した．飼育は，投与後 3 日および対照区の牛糞（2016 年投与）を使用して 90 日間行い，各投与区で 5 反復飼育実験を行った．

#### 6. 統計解析

各糞虫種の飼育実験における成虫死亡率は、ログランク検定後に得られた  $P$  値を Bonferroni 法により補正し、各投与区で多重比較した。糞球形成数および次世代幼虫の羽化率は、一般化線形混合モデル (Generalized linear mixed model: GLMM) を用いて解析し、それぞれ誤差構造をポアソン分布、二項分布とした。糞球数、羽化率を応答変数、糞の投与後日数を説明効果、反復数をランダム効果に指定した。糞球形成数および羽化率は、GLMM 解析後に Tukey 法によって多重比較し、各投与区間で比較した。全ての解析は、統計解析ソフト R (R Development Core Team, 2016) を使用し、GLMM は lme 4 パッケージ (Bates et al., 2013) を用いた。

## 結果

### 1. 牛糞におけるイベルメクチンのポアオン法投与後の残留濃度推移

2015～2018 年の各投与区の牛糞内におけるイベルメクチンの残留濃度推移を図 1-8 に示した。イベルメクチンの残留濃度は、2017 年のみ投与後 1 日目で最高 (0.36 ppm) となり、2015, 2016 年では投与後 3 日に最高 (それぞれ 0.24, 0.21 ppm) となった。2018 年では、イベルメクチンは投与後 1 日目において検出されなかったが、投与後 3 日目に最高濃度として 0.3 ppm が検出された。その後の糞内の残留濃度は、2015 年では投与後 7 日、2016, 2017, 2018 年では投与後 14 日以降に検出限界値 (0.05 ppm) 以下となった。対照区におけるすべての年度、および投与後日数の牛糞内には駆虫剤成分が検出されなかった。

### 2. イベルメクチンの糞残留がシナノエンマコガネおよびカドマルエンマコガネ (エンマコガネ属) の生存と繁殖に及ぼす影響

#### i) シナノエンマコガネ

イベルメクチン投与後 1, 3, 7 日の投与区および対照区 (2016 年) において、シナノエンマコガネの累積成虫死亡率、1 糞塊当たりの平均糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を表 1-1 に示した。全ての投与区における累積成虫死亡率は 53.3～63.4% となり、各投与区

間で有意な差はみられなかった。糞球形成数は、投与後 1 日の糞では対照区よりも有意に増加したにもかかわらず ( $Z = 3.2, P < 0.05$ ), 投与後 3, 7 日の糞では有意に減少した ( $Z = -4.1, P < 0.001$ ;  $Z = -7.2, P < 0.001$ )。次世代幼虫の羽化率は、投与後 1, 3 日の糞では対照区よりも有意に低下したが ( $Z = -2.96, P < 0.05$ ;  $Z = -3.8, P < 0.001$ ), 投与後 7 日の糞では有意差はなかった。

## ii) カドマルエンマコガネ

イベルメクチン投与後 1, 3, 7, 14 日の投与区および対照区 (2016 年) において、カドマルエンマコガネの累積成虫死亡率, 1 糞塊当たりの平均糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を表 1-2 に示した。累積成虫死亡率においては、各投与区間で有意な差はみられなかった。同様に、糞球形成数においても、投与後 3, 7, 14 日の糞と対照区それぞれの間で有意な差はなかった。しかし、投与後 1 日の糞のみ、対照区や他の投与区よりも糞球数が有意に増加した ( $Z = 3.63, P < 0.05$ )。次世代幼虫の羽化率は、対照区では 72.9% だったのに対し、投与後 1, 3, 7 日の糞ではそれぞれ 7.6%, 0.7%, 11.6% と有意に低下した ( $Z = -9.12, P < 0.001$ ;  $Z = -7.06, P < 0.001$ ;  $Z = -5.26, P < 0.001$ )。しかし、投与後 14 日の糞では、羽化率は 56.8% まで回復し、対照区と有意差はなかった。

## 3. イベルメクチンの糞残留がダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネ (ダイコクコガネ属) の生存と繁殖に及ぼす影響

### i) ダイコクコガネ

イベルメクチン投与後 3, 7, 14, 21 日の投与区および対照区 (2017 年) の糞において、ダイコクコガネの 30 日経過毎の累積成虫死亡率, 1 糞塊当たりの平均糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を表 1-3 に示した。成虫の累積死亡率は、飼育開始後 30 日では全ての投与区で有意な差はなかったが、飼育開始後 60 日以降は投与後 3 日の糞で 45.0%, 70.0% まで増加し、対照区 (5.0%, 10.0%) と有意な差がみられた (60 日:  $\chi^2 = 7.2, P < 0.005$ ; 90 日:

$\chi^2 = 15.7, P < 0.005$ ). 一方で、投与後 7, 14, 21 日の糞では、90 日までの死亡率はそれぞれ 20.0%, 10.0%, 16.7% となり、対照区と有意差はなかった。糞球は、対照区では平均 5.4 個形成されたのに対し、投与後 3 日の糞では 1 つも形成されなかった。また、投与後 7 日の糞でも、糞球は平均 1.2 個しか形成されず、対照区よりも有意に減少した ( $Z = -4.7, P < 0.001$ )。しかし、その後の投与後 14, 21 日では、それぞれ平均 4.7, 5.5 個の糞球が形成され、対照区と有意差はなかった。次世代幼虫の羽化率において、対照区では 69.4% の幼虫が成虫に羽化したのに対し、投与後 7 日では全ての幼虫が卵もしくは 1 齢幼虫で死亡し、投与後 14 日でも同様に 3.6% と著しく羽化率が低下した ( $Z = -4.9, P < 0.001$ )。しかし、投与後 21 日の糞においては、羽化率は 79.6% まで回復し、対照区と有意な差はなかった。

## ii) ミヤマダイコクコガネ

イベルメクチン投与後 3, 7, 14, 21 日の投与区および対照区 (2018 年) の糞において、ミヤマダイコクコガネの 30 日経過毎の累積成虫死亡率、1 糞塊あたりの平均糞球形成数および次世代 3 齢幼虫までの生存率を表 1-4 に示した。成虫の累積死亡率は、投与後 3 日の糞において飼育開始後 60 日で 35.0%, 90 日後には 65.0% となり、対照区よりも有意に増加した (60 日:  $\chi^2 = 8.3, P < 0.005$ ; 90 日:  $\chi^2 = 10.5, P < 0.005$ )。一方で、投与後 7, 14, 21 日の糞では、飼育開始後 90 日までに死亡率がそれぞれ 35.0%, 20.0%, 25.0% まで増加したが、いずれも対照区と有意差はなかった。糞球形成数は、投与後 3 日の糞では 0 だったが、投与後 7, 14, 21 日および対照区の糞では処理区間で有意な差はなかった。次世代の 3 齢幼虫の生存率は、対照区では 92.9% だったが、投与後 7 日, 14 日の糞ではそれぞれ 9.8%, 58.0% と対照区よりも有意に低下し ( $Z = -5.4, P < 0.001$ ;  $Z = -2.9, P < 0.05$ )、死亡した次世代は全て卵もしくは初齢幼虫の生育段階であった。しかし、投与後 21 日の糞における 3 齢幼虫の生存率は 93.5% まで回復し、対照区と有意差はなかった。

## iii) ゴホンダイコクコガネ

イベルメクチン投与後 3, 7, 14 日目の投与区および対照区の糞 (2015 年) において、ゴホンダイコクコガネの 30 日経過毎の累積成虫死亡率, 1 糞塊あたりの平均糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を表 1-5 に示した。成虫の累積死亡率は、投与後 3 日の糞では飼育開始後 30 日で 10.0%, 60 日および 90 日経過後ではそれぞれ 35.0%, 40.0%と対照区より有意に増加した (30 日:  $\chi^2 = 7.7, P < 0.0083$ ; 60 日:  $\chi^2 = 11.6, P < 0.0083$ ; 90 日:  $\chi^2 = 13.7, P < 0.0083$ )。同様に、投与後 7 日目の糞では、成虫死亡率は飼育開始後 60 日で 21.0%, 90 日後には 25.0%と有意に増加した (60 日:  $\chi^2 = 5.8, P < 0.0083$ ; 90 日:  $\chi^2 = 7.9, P < 0.0083$ )。投与後 14 日目の糞では、90 日間を通して死亡したのは 1 匹のみで、対照区と有意差はみられなかった。糞球は、対照区のメスでは平均 5.3 個形成されたのに対し、投与後 3 日の糞においては全くみられなかった。投与後 7 日の糞では、糞球数は平均 2.9 個と対照区よりも有意に減少したが ( $Z = -2.6, P < 0.05$ )、投与後 14 日の糞では対照区と有意差はなかった。次世代幼虫の羽化率は、対照区では平均 96.1%だったのに対し、投与後 7, 14 日の糞ではそれぞれ 8.3%, 68.3%と有意に低下した ( $Z = -5.7, P < 0.001$ ;  $Z = -2.9, P < 0.01$ )。

#### 4. イベルメクチンの糞残留がオオセンチコガネ (センチコガネ科: センチコガネ属) の生存と繁殖に及ぼす影響

イベルメクチン処理後 3 日目の処理区および対照区の糞において、オオセンチコガネ成虫の 30 日経過毎の累積死亡率, 1 糞塊あたりの平均産卵数および 2 齢幼虫生存率を表 1-6 に示した。成虫の累積死亡率は、対照区および投与後 3 日の糞でそれぞれ 0%, 5.0%となり、有意な差はみられなかった。オオセンチコガネのメスによる糞ソーセージの形成数は、投与区と対照区で有意差はなかった (対照区: 全 15 個, 投与区: 全 13 個)。糞ソーセージ内の幼虫は、投与区対照区両方において、平均 70.0%が 3 齢幼虫まで生育したが、蛹化せずにすべて死亡した。

## 考察

イベルメクチンは、ポアオン法による投与後 1～3 日の牛糞内で最高濃度で排泄され、その後も投与から 14～28 日まで糞に排泄され続けることが報告されている (Sommer et al., 1992; Strong & James, 1992; Iwasa et al., 2005a, b, 2007). 本研究の結果において、イベルメクチンは、投与後 1 日もしくは 3 日で最高残留濃度となり、先行研究とほぼ一致し、投与後 14 日以降は検出されなかった。しかし、本研究のダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネにおけるイベルメクチン残留糞の飼育実験では、投与後 14 日まで次世代幼虫の羽化率が低下したことから (表 1-3, 4, 5), 本研究の投与後 14 日以降の牛糞にもイベルメクチンが検出限界値以下の濃度で残留し続けていた可能性が考えられる。

現在までに、コガネムシ科 (Scarabaeidae) に分類されるマグソコガネ属、マエカドコエンマコガネ属、エンマコガネ属、ツノコガネ属、*Euoniticellus* 属など、様々な中型～小型糞虫種におけるイベルメクチン残留の影響が評価されており、これらの種のほとんどは成虫段階の生存において影響を受けなかった (Ridsdill-Smith, 1988; Fincher, 1992; Lumaret et al., 1993; 山下ら, 2004; Iwasa et al., 2005b, 2007; Pérez-Cogollo et al., 2017). しかし一方で、ダイコクコガネ属に分類される大型の糞虫種においては、*Copris hispanus* Linnaeus の新成虫がイベルメクチン投与後 2, 3 日の糞で新成虫の死亡率が増加し (Wardhaugh & Rodriguez-Menendez, 1988), さらにダイコクコガネとゴホンダイコクコガネでは、成熟した成虫でも死亡率が増加した (Iwasa et al., 2007). 本研究のシナノエンマコガネとカドマルエンマコガネは、上記の中型～小型種と同様に成虫の生存においてイベルメクチンの影響がみられなかったが、対照的に大型種であるダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネでは、成熟していたにもかかわらず成虫死亡率が増加した。これらのことから、より大型であるダイコクコガネ属に分類される糞虫種の成虫は、他のコガネムシ科における属の糞虫種よりもイベルメクチンに対する薬剤感受性が高い可能性が示唆された。

イベルメクチン残留糞において、上記で述べた先行研究の中型～小型種は、成虫生存と同様に、糞球形成数においても負の影響を受けなかったことが報告されてきた (Ridsdill-Smith, 1988; Fincher, 1992; Lumaret et al., 1993; 山下ら, 2004; Iwasa et al., 2005b, 2007; Pérez-Cogollo et al., 2017). しかし、大型種の *C. hispanus* の産卵数は、イベルメクチン投与後 3 日の糞で減少し (Wardhaugh & Rodriguez-Menendez, 1988), ダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの成虫は、イベルメクチン残留糞において全く糞球を形成しなかった (Iwasa et al., 2007). 本研究の結果でも、シナノエンマコガネとカドマルエンマコガネの糞球形成数は、イベルメクチン残留糞で変化がないかもしくは増加したにもかかわらず、ダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネでは産卵数（糞球形成数）に影響を及ぼし、中型～小型糞虫の結果と大きく異なった。これらのことから、ダイコクコガネ属糞虫種においては、イベルメクチンは、成虫の生存だけでなく繁殖行動にも大きな影響を与え、産卵数も減少させる可能性が示唆された。

イベルメクチン残留糞において、*Onthophagus gazelle* Fabricius は皮下注射投与後 1～2 週間の糞 (Fincher, 1992), *Onthophagus binodis* Thunberg は皮下注射投与後 1～4 週間の糞 (Ridsdill-Smith, 1988), マエカドコエンマコガネおよびツノコガネはそれぞれ投与後 3～7 日, 14 日までの糞 (Iwasa et al., 2005b, 2007) で幼虫生存率（羽化率）が低下したことが報告されてきた。Iwasa et al. (2007) は、マエカドコエンマコガネ（体長 5～8 mm）の羽化率におけるイベルメクチンのポアオン法投与によって受ける影響の期間は、エンマコガネ属のような中型糞虫種に比べて短いと報告した。本研究におけるシナノエンマコガネ（体長 5.2～6.8 mm）とカドマルエンマコガネ（体長 7.1～9.2 mm）において、次世代幼虫の羽化率は、それぞれ投与後 3 日, 投与後 7 日まで低下し、より体サイズの小さいシナノエンマコガネが影響を受けた投与後日数が短くなった。この傾向は Iwasa et al. (2007) に一致し、同じ分類群（エンマコガネ属）においても、体サイズがより小さい種ほど幼虫への影響が短くなる可能性が示唆された。また、Wardhaugh & Rodriguez-Menendez (1988) は、イベルメクチンの皮下注射投与後 3, 8 日の糞で *C.*



*hispanus* の幼虫が 100%死亡したことを報告した．特に大型であるダイコクコガネ（体長 15.7～34.0 mm）とミヤマダイコクコガネ（体長 17.0～24.2 mm）の幼虫は，本研究においてもイベルメクチン投与後 3，7，14 日の糞で著しく羽化率が低下し，Wardhaugh & Rodriguez-Menendez, 1988）と同様の結果を示した．このことから，ダイコクコガネ属に含まれる大型糞虫種においては，成虫と同様にイベルメクチンに対する薬剤感受性が他の分類群の糞虫種よりも極めて高く，幼虫への影響は微量な残留濃度となる投与後 1～2 週間にまで及ぶ可能性が考えられる．

センチコガネ科（Geotrupidae）に分類される糞虫種を対象にした駆虫剤残留の影響評価については，*Anoplotrupes stercorosus* Hartmann の成虫の生存は，イベルメクチンを経口投与した馬の糞において影響がなかったという Lumaret（1996）の研究があるにすぎない．センチコガネ科の中でも，センチコガネ属（*Phelotrupes*）の糞虫の影響評価は海外でも調査例がなく，本研究のオオセンチコガネが初となる．本研究の結果において，オオセンチコガネの成虫は，最高濃度の牛糞（投与後 3 日）を摂食していたにもかかわらず，上記の *A. stercorosus* と同様に成虫の生存および産卵数に影響はみられなかった．Madsen et al.（1990）は，イベルメクチン残留糞に対する環縫群（Cyclorrhapha）と長角亜目（Nematocera）のハエ幼虫の薬剤感受性の違いは，摂食量，発生活長および食性（環縫群：糞の流動体を摂食，長角亜目：糞の未分解繊維を摂食）の違いに起因すると推測した．一方で，糞虫類における成虫と幼虫とのイベルメクチン残留糞に対する薬剤感受性の違いは，主に摂食量に起因すると考えられている（成虫：糞の流動体を摂食，幼虫：糞球内で繊維質，流動体両方を繰り返し大量に摂食）（Floate et al., 2005）．同じように，より大型であるダイコクコガネ属糞虫種のイベルメクチンに対する高い薬剤感受性もおそらく，他の種よりも多い摂食量が起因していると考えられる．しかし，センチコガネ科の成虫は咀嚼型の口器をもっており，糞の流動体部分を吸収するブラシ型に口器が特化した他のコガネムシ科糞虫とは食性も異なると考えられる．実際に，地中海地域に生息する *Thorectes lusitanicus* Jekel（センチコガネ科）は乾燥した糞やドングリなどを摂食していることが知られており

(Verdú et al., 2010), これはこの分類群の糞虫種が植物繊維質を摂食していることを示している。従って、オオセンチコガネ成虫の著しく低い薬剤感受性もまた食性の違いに関連している可能性がある。糞虫におけるイベルメクチンに対しての耐性機構の解明は、成虫および幼虫の両者における食性との関連において更なる調査が必要である。



**1-1**



**1-2**



**1-3**



**1-4**



**1-5**



**1-6**



**1-7**

図 1-1～7. 飼育実験に使用した各糞虫種：1-1, シナノエンマコガネ (*Onthophagus bivertex*) ; 1-2, カドマルエンマコガネ (*Onthophagus lenzii*) ; 1-3, ツノコガネ (*Liatongus minutus*) ; 1-4, ダイコクコガネ (*Copris ochus*) ; 1-5, ミヤマダイコクコガネ (*Copris pecuarius*) ; 1-6, ゴホンダイコクコガネ (*Copris acutidens*) ; 1-7, オオセンチコガネ (*Phelotrupes auratus*)

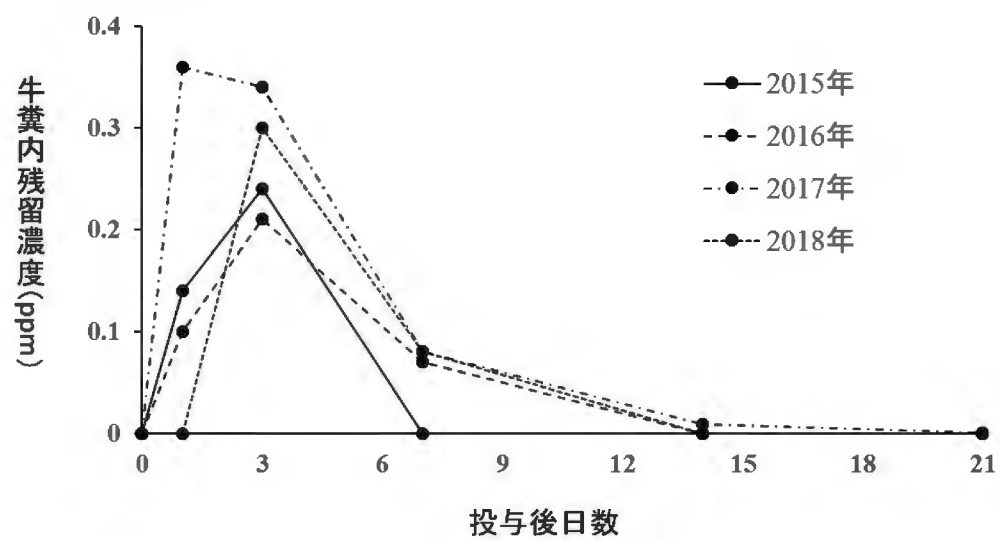


図 1-8. イベルメクチン投与後の日数経過にともなう牛糞への残留濃度推移

表 1-1. 対照区およびイベルメクチン投与区(2016 年)の糞におけるシナノエンマコガネの平均累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)	糞球形成数	次世代幼虫の羽化率 (%)
対照区	53.3 ± 13.9 <sup>a</sup>	47.2 ± 7.8 <sup>a</sup>	39.8 ± 9.8 <sup>a</sup>
1 日	63.4 ± 7.5 <sup>a</sup>	62.2 ± 35.7 <sup>b</sup>	25.5 ± 12.7 <sup>bc</sup>
3 日	56.7 ± 14.9 <sup>a</sup>	19.8 ± 9.1 <sup>c</sup>	20.4 ± 13.5 <sup>b</sup>
7 日	60.0 ± 22.4 <sup>a</sup>	30.8 ± 13.3 <sup>d</sup>	35.3 ± 15.7 <sup>ac</sup>

各値は 5 反復の平均値(mean ± SD)を表す(1 反復♂♀3 対)

異文字間は各列の投与区間で有意差を表す(成虫死亡率:ログランク検定・ボンフェローニ法; $P < 0.0083$ , 糞球形成数, 羽化率:GLMM, Tukey 法; $P < 0.05$ )

表 1-2. 対照区およびイベルメクチン投与区(2016 年)の糞におけるカドマルエンマコガネの平均累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)	糞球形成数	次世代幼虫の羽化率 (%)
対照区	56.7 ± 25.3 <sup>a</sup>	24.4 ± 16.4 <sup>a</sup>	72.9 ± 15.5 <sup>a</sup>
1 日	63.3 ± 13.9 <sup>a</sup>	37.2 ± 15.4 <sup>b</sup>	7.6 ± 10.3 <sup>bc</sup>
3 日	60.0 ± 36.5 <sup>a</sup>	19.8 ± 8.8 <sup>a</sup>	0.7 ± 1.6 <sup>c</sup>
7 日	76.7 ± 14.9 <sup>a</sup>	18.6 ± 10.4 <sup>a</sup>	11.6 ± 14.8 <sup>b</sup>
14 日	60 ± 14.9 <sup>a</sup>	21.4 ± 4.7 <sup>a</sup>	56.8 ± 11.5 <sup>a</sup>

各値は 5 反復の平均値(mean ± SD)を表す(1 反復♂♀3 対)

異文字間は各列の投与区間で有意差を表す(成虫死亡率:ログランク検定・ボンフェローニ法;  $P < 0.005$ , 糞球形成数, 羽化率:GLMM, Tukey 法;  $P < 0.05$ )

表 1-3. 対照区およびイベルメクチン投与区(2017 年)の糞におけるダイコクコガネの累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)			糞球形成数	次世代幼虫の羽化率 (%)
	投与後日数				
	30 日	60 日	90 日		
対照区	0 <sup>a</sup>	5.0 ± 15.8 <sup>b</sup>	10.0 ± 21.1 <sup>b</sup>	5.4 ± 1.8 <sup>a</sup>	69.4 ± 21.3 <sup>a</sup>
3 日	10.0 ± 21.1 <sup>a</sup>	45.0 ± 15.8 <sup>a</sup>	70.0 ± 25.8 <sup>a</sup>	0	0
7 日	10.0 ± 31.6 <sup>a</sup>	20.0 ± 34.9 <sup>a</sup>	20.0 ± 34.9 <sup>b</sup>	1.2 ± 1.5 <sup>b</sup>	0
14 日	0 <sup>a</sup>	5.0 ± 15.8 <sup>b</sup>	10.0 ± 21.1 <sup>b</sup>	4.7 ± 3.1 <sup>a</sup>	3.6 ± 8.3 <sup>b</sup>
21 日	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	16.7 ± 25.0 <sup>b</sup>	5.5 ± 2.2 <sup>a</sup>	79.6 ± 26.4 <sup>a</sup>

各値は 10 反復の平均値 (mean ± SD)を表す(1 反復♂♀1 対)

異文字間は各列の各投与区間で有意差を表す(成虫死亡率:ログランク検定・ボンフェローニ法; $P < 0.0083$ , 糞球形成数, 羽化率:GLMM, Tukey 法; $P < 0.05$ )

表 1-4. 対照区およびイベルメクチン投与区(2018 年)の糞におけるミヤマダイコクコガネの累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代 3 齢幼虫までの生存率

投与後日数	成虫死亡率 (%)			糞球形成数	3 齢幼虫までの 生存率 (%)
	飼育開始後日数				
	30 日	60 日	90 日		
対照区	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	15.0 ± 24.2 <sup>b</sup>	4.3 ± 1.8 <sup>a</sup>	92.9 ± 13.4 <sup>a</sup>
3 日	10.0 ± 21.1 <sup>a</sup>	35.0 ± 33.8 <sup>a</sup>	65.0 ± 33.8 <sup>a</sup>	0	0
7 日	0 <sup>a</sup>	20.0 ± 25.8 <sup>ab</sup>	35.0 ± 24.2 <sup>ab</sup>	3.1 ± 1.3 <sup>a</sup>	9.8 ± 16.2 <sup>c</sup>
14 日	0 <sup>a</sup>	5.0 ± 15.8 <sup>b</sup>	20.0 ± 25.8 <sup>b</sup>	4.3 ± 1.3 <sup>a</sup>	58.0 ± 35.8 <sup>b</sup>
21 日	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	25.0 ± 26.4 <sup>b</sup>	4.5 ± 1.2 <sup>a</sup>	93.5 ± 10.6 <sup>a</sup>

各値は 10 反復の平均値(mean ± SD)を表す(1 反復♂♀1 対)

異文字間はいずれの投与区間で有意差を表す(成虫死亡率:ログランク検定・ボンフェローニ法; $P < 0.0083$ , 糞球形成数, 羽化率:GLMM, Tukey 法; $P < 0.05$ )



表 1-5. 対照区およびイベルメクチン投与区 (2015 年) の糞におけるゴホンダイコクコガネの累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)			糞球形成数	次世代幼虫の 羽化率 (%)
	飼育開始後日数 30 日	60 日	90 日		
対照区	● <sup>b</sup>	● <sup>c</sup>	● <sup>c</sup>	5.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	96.1 ± 8.7 <sup>a</sup>
3 日	25.0 ± 26.4 <sup>a</sup>	35.0 ± 24.2 <sup>a</sup>	40.0 ± 21.0 <sup>a</sup>	●	●
7 日	5.0 ± 15.8 <sup>b</sup>	20.0 ± 25.8 <sup>b</sup>	25.0 ± 26.4 <sup>b</sup>	2.9 ± 2.4 <sup>b</sup>	8.3 ± 23.6 <sup>b</sup>
14 日	5.0 ± 15.8 <sup>b</sup>	5.0 ± 15.8 <sup>c</sup>	5.0 ± 15.8 <sup>c</sup>	3.7 ± 2.6 <sup>a</sup>	68.3 ± 23.5 <sup>c</sup>

各値は 10 反復の平均値 (mean ± SD) を表す (1 反復♂♀1 対)

異文字間は各列の投与区間で有意差を表す (成虫死亡率: ログランク検定・ボンフェローニ法;  $P < 0.0083$ ,

糞球形成数, 羽化率: GLMM, Tukey 法;  $P < 0.05$ )

表 1-6. 対照区およびイベルメクチン投与区(2015 年)の糞におけるオオセンチコガネの累積成虫死亡率, 糞球形成数および 3 齢幼虫の生存率

投与後日数	成虫死亡率(%)			糞ソーセージ形成数	3 齢幼虫生存率 (%)
	飼育開始後日数				
	30 日	60 日	90 日		
対照区	0	0	5.0	3.0 ± 2.0	70.0 ± 24.5
3 日	0	5.0 <sup>n. s.</sup>	5.0 <sup>n. s.</sup>	2.6 ± 1.1 <sup>n. s.</sup>	70.0 ± 29.8 <sup>n. s.</sup>

各値は 5 反復の平均値(mean ± SD)を表す(1 反復♂♀2 対)

n. s. : 投与区間で有意差なし(成虫死亡率:ログランク検定; $P > 0.05$ , 糞球形成数, 羽化率:GLMM; $P > 0.05$ )

## 第2章 エプリノメクチンの残留糞がエンマコガネ属 2 種、ツノコガネ属 1 種およびダイコクコガネ属 2 種の生存と繁殖に及ぼす影響

### はじめに

エプリノメクチンは、イベルメクチンと同様に多くの内外部寄生虫の駆除効果が高く、特に投与した家畜の食肉や乳中への移行性が比較的低いことが報告されている (Schoop et al., 1996; Williams et al., 1997; Reist et al., 2011; Gokbulut et al., 2012; Mason et al., 2012). しかし、世界的にみても投与後の家畜糞への成分残留による糞虫類および放牧環境への影響を評価した研究例は前章のイベルメクチンと比べて極めて少なく、一部の報告があるに過ぎない (Wardhaugh et al., 2001; Lumaret et al., 2005; Floate, 2006). 日本では、Iwasa & Sugitani (2014) がエプリノメクチンがイベルメクチンよりも高濃度で牛糞に残留し、これらが日本に生息する糞食性ハエ類 2 種と糞虫類 2 種の生存、繁殖に影響を及ぼすことを明らかにした。しかし、エプリノメクチン投与後の残留糞における他の多くの糞虫類に対する影響は、未調査のままとなっている。そこで本章では、エプリノメクチンがシナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネ、そして希少種であるツノコガネ (*Liatongus minutus* Motschulsky), ダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの生存、繁殖に及ぼす影響を明らかにすることを目的として実験を行った。

### 材料および方法

#### 1. 駆虫剤投与、牛糞サンプルの回収および残留濃度分析

供試牛は、八千代公共育成牧場のホルスタイン種の雌若牛 (10~30 ヶ月齢, 体重 280~500 kg) 6 頭を使用した。駆虫剤は、エプリノメクチン (エプリネックス; メリアルジャパン株式会社) を使用し、牛の体重あたり 500 µg/kg を投与量として 2015~2017 年の 6 月にポアオン法 (背部塗布法) で投与した。対照区として、過去 1 ヶ月間駆虫剤投与していない別の放牧区の牛 6 頭を使用した。投与区および対照区の各放牧区における牛から、投与

前と投与後 1, 3, 7, 14, 21 日経過毎に排泄されて 1 時間以内の新鮮な牛糞を回収し, 6 頭分の糞を各日数でよく攪拌した後-20 °Cで冷凍保存した. 回収した各牛糞サンプルは第 1 章と同様の方法で牛糞内におけるエプリノメクチンの残留濃度推移を分析した.

## **2. エプリノメクチンの糞残留がシナノエンマコガネ, カドマルエンマコガネおよびツノコガネ (エンマコガネ属, ツノコガネ属) の生存と繁殖に及ぼす影響**

ツノコガネは, 体長 7.0~12.4 mm の中型種で, 北海道から九州にかけて広く分布しており, 放牧地の牛, 馬や林内のシカの糞によく集まる (川井ら, 2005). 現在, ツノコガネは 5 つの都道府県において絶滅危惧種もしくは準絶滅危惧種に指定されており, 個体数は減少傾向にある. シナノエンマコガネおよびカドマルエンマコガネは, 第 3 章と同様の場所, 方法で採集し, またツノコガネ (図 1-3) は栃木県日光市の草原で牛糞トラップを用いて採集した.

上記糞虫 3 種の飼育実験は, 第 1 章と同様の材料・方法で行い, 各種の成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を記録した. シナノエンマコガネおよびツノコガネは, 投与後 1, 3, 7 日の牛糞 (2017 年投与) を使用し, カドマルエンマコガネは両駆虫剤それぞれ投与後 1, 3, 7, 14 日の牛糞 (2015 年投与) を使用して 2 カ月間飼育し, 各投与区で 5 反復行った.

## **3. エプリノメクチンの糞残留がダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネ (ダイコクコガネ属) の生存と繁殖に及ぼす影響**

実験に使用したダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネは, 第 3 章と同様の場所, 方法で採集した. これら糞虫 2 種の飼育実験は, 第 1 章と同様の材料・方法で行い, 各種の成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を記録した. ダイコクコガネは投与後 3 日 (2015 年投与) および投与後 7, 14, 21 日 (2016 年投与) の糞, ゴホンダイコクコガネは投与後 1, 3, 7, 14 日 (2016 年) の糞で 90 日間飼育し, 各投与区で 10 反復飼育実験

を行った。

#### 4. 統計解析

統計解析についても第 1 章と同様に、統計解析ソフト R (R Development Core Team, 2016) のログランク検定, GLMM, Tukey 法を用いて解析を行い、各調査項目の値を各投与区間で比較した。全ての解析は、統計解析ソフト R (R Development Core Team, 2016) を使用し、GLMM は lme 4 パッケージ (Bates et al., 2013) を用いた。

### 結果

#### 1. 牛糞におけるエプリノメクチンのポアオン法投与後の残留濃度推移

エプリノメクチン投与後の糞内の残留濃度は、すべての年で投与後 1 日目で最高 (1.4～1.5 ppm) となり、いずれも投与後 14 日以降は検出限界値以下となった (図 2-1)。両駆虫剤投与における対照区は、すべての投与後日数の糞において駆虫剤成分は検出されなかった。

#### 2. エプリノメクチンの糞残留がシナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネおよびツノコガネの生存と繁殖に及ぼす影響

##### i) シナノエンマコガネ

エプリノメクチン投与後 1, 3, 7 日目の投与区および対照区 (2017 年) において、シナノエンマコガネの累積成虫死亡率, 1 糞塊あたりの平均糞球数および次世代幼虫の羽化率を表 2-1 に示した。累積成虫死亡率は、対照区および投与後 14 日の糞ではそれぞれ 39.9%, 49.9%であったのに対し、投与後 1, 3 日の糞では飼育開始後 56 日までに 100%となった。糞球形成数も、投与後 14 日の糞では平均 36.2 個と対照区と有意差はなかったが、投与後 1, 3 日の糞ではそれぞれ平均 6.4 個, 9.2 個と著しく減少した ( $Z = -8.1$ ,  $P < 0.001$ ;  $Z = -7.2$ ,  $P < 0.001$ )。次世代幼虫の羽化率は、対照区で 45.1%, 投与後 14 日で 41.6%と両区

で有意差はなかったが、投与後 1, 3 日の糞における糞球内の幼虫は卵～初齢幼虫の段階で全て死亡していた。

## ii) カドマルエンマコガネ

エプリノメクチン投与後 1, 3, 7, 14 日目の投与区および対照区 (2015 年) において、カドマルエンマコガネの累積成虫死亡率, 1 糞塊あたりの平均糞球数および次世代幼虫の羽化率を表 2-2 に示した。成虫の累積死亡率において、対照区および投与後 7 日の糞ではそれぞれ 37.0%, 47.0%だったのに対し、投与後 1, 3 日の糞ではどちらも飼育開始後 2 ヶ月で 100%となり、有意な増加がみられた ( $\chi^2 = 39.8, P < 0.005$ ;  $\chi^2 = 33.7, P < 0.005$ )。糞球形成は、投与後 1 日の糞では全くみられず、投与後 3 日の糞でもその数は対照区と比べ著しく減少したが ( $Z = -5.2, P < 0.001$ )、投与後 7 日目の糞では対照区との間で有意差はみられなかった。次世代幼虫の羽化率は、対照区では 41.9%だったのに対し、投与後 3 日の糞では 0%, 投与後 7 日目の糞で 4.5%と対照区よりも著しく低下した ( $Z = -5.04, P < 0.001$ )。しかし投与後 14 日の糞では、羽化率は 38.3%まで回復し、対照区と有意な差はなかった。

## iii) ツノコガネ

エプリノメクチン投与後 1, 3, 7 日目の投与区および対照区 (2017 年) において、ツノコガネの累積成虫死亡率, 1 糞塊あたりの平均糞球数および次世代幼虫の羽化率を表 2-3 に示した。累積成虫死亡率は、対照区では 29.9%だったのに対し、投与後 1, 3 日の糞ではそれぞれ 66.7%, 60.1%となり、対照区と有意な差が見られた (それぞれ  $\chi^2 = 9.6, P < 0.0083$ ;  $\chi^2 = 5.0, P < 0.0083$ )。しかし、投与後 7 日の糞では、死亡率は 33.3%となり、対照区と有意な差はなかった。糞球形成数は、対照区では平均 50.2 個だったのに対し、投与後 1 日の糞では平均 6.6 個と著しく減少した ( $Z = -10.9, P < 0.001$ )。投与後 3 日の糞での糞球数は、投与後 1 日の糞より有意に多かったが ( $Z = 8.6, P < 0.001$ )、対照区よりは有意に少なかった ( $Z = -3.9, P < 0.001$ )。しかし、投与後 7 日の糞における糞球数は、平均 63.8 個とな

り，対照区と有意な差はなかった。

### 3. エプリノメクチンの糞残留がダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの生存と繁殖に及ぼす影響

#### i) ダイコクコガネ

エプリノメクチン投与後 3, 7, 14 日の投与区および対照区 (2015, 2016 年) において，ダイコクコガネの 30 日経過毎の累積成虫死亡率，1 糞塊あたりの平均糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を表 2-4 に示した。2015 年と 2016 年の対照区両方において，飼育開始後 90 日までの累積成虫死亡率はそれぞれ 10%，20%となった。しかし，投与後 3 日の糞における成虫死亡率は，飼育開始後 60 日で 90%，90 日で 100%と対照区よりも有意に増加した (60 日： $\chi^2=18.1$ ,  $P<0.0083$ ；90 日： $\chi^2=30.2$ ,  $P<0.0083$ )。一方で，投与後 7 日と 14 日の糞における成虫死亡率は，すべての飼育開始後日数で対照区と有意差はなかった。糞球形成数は，両対照区でメス 1 匹あたりそれぞれ平均 4.3 個，4.4 個だったが，投与後 3 日の糞では 0 だった。投与後 7 日の糞における糞球数も対照区よりも有意に減少したが ( $Z=-2.7$ ,  $P<0.05$ )，投与後 14 日の糞における糞球数は，対照区と有意な差がないほど回復した。次世代幼虫の羽化率において，投与後 7 日，14 日の幼虫は卵もしくは初齢幼虫の発生初期段階ですべて死亡した。

#### ii) ゴホンダイコクコガネ

エプリノメクチン投与後 1, 3, 7, 14 日の投与区および対照区 (2016 年) において，ゴホンダイコクコガネの 30 日経過毎の累積成虫死亡率，1 糞塊あたりの平均糞球形成数および次世代幼虫の羽化率を表 2-5 に示した。成虫の累積死亡率は，対照区では飼育開始後 90 日間で 0%だったのに対し，投与後 1 日の糞では飼育開始後 30 日で 70%，60 日で 95%，90 日には 100%と高い死亡率を示した ( $\chi^2=44.5$ ,  $P<0.005$ )。同様に，投与後 3 日の糞における死亡率も飼育開始後 30 日で 30%，60 日で 35%，90 日には 70%といずれの日数でも有

意に増加した ( $\chi^2 = 21.4, P < 0.005$ ). しかし、投与後 7 日の糞では、飼育開始後 90 日までに 15%のみ死亡し、また投与後 14 日の糞では 1 匹も死亡せず、両方とも対照区と有意差はなかった. 糞球形成数は、対照区では平均 4.7 個だったのに対し、投与後 1, 3 日ではそれぞれ 0 個, 0.1 個と著しい減少がみられた. 投与後 7 日の糞では、糞球数は投与後 3 日の糞よりも有意に増加したが ( $Z = 3.1, P < 0.05$ ), 依然として対照区よりは有意に少ないままだった ( $Z = -2.8, P < 0.05$ ). 投与後 14 日の糞での糞球数は、平均 4.6 個で、対照区と有意差はみられなかった. 次世代幼虫の羽化率において、対照区では 100%だったのに対し、投与後 3, 7 日の糞では卵、もしくは初齢幼虫の段階で全て死亡していた. 投与後 14 日の糞では、平均 75.4%の幼虫が羽化し、対照区と有意差はなかった.

## 考察

牛糞におけるポアオン法投与後のエプリノメクチンは、投与後 2~3 日に最高残留濃度で牛糞内に排泄され、その後も投与後約 7~29 日まで排泄され続けることが知られている (Lumaret et al., 2005; Iwasa & Sugitani, 2014). 本研究の結果においては、投与後の牛糞内のエプリノメクチン濃度は投与後 1 日目で最高となり、先行研究よりも早いピークの出現となった. さらに、Iwasa & Sugitani (2014) の結果では、最高残留濃度は 0.35~0.56 ppm であったが、本研究ではその 2.5~4 倍である 1.4~1.5 ppm となった. 駆虫剤投与後に排泄される残留濃度は、牛に与える飼料の違いでも異なることが知られているが (Cook, et al., 1996), 本研究では Iwasa & Sugitani (2014) と同様に、使用した牛は完全放牧で青草を主食としていた. また、山下ら (2004) は、駆虫剤投与後の残留濃度のばらつきの大きさや経時的推移の違いは駆虫剤投与から糞サンプル採取までの気象条件や牛の品種の違いに起因すると推測している. これらのことから、本研究のエプリノメクチンにおける高い残留濃度は、牛に与える飼料以外の他に、牛の体調、糞の質 (軟便, 硬便), 気候条件などの要因が関係していると考えられる.

Ridsdill-Smith (1988) は、中型種である *Onthophagus binodis* Thunberg において、イ



ベルメクチンを皮下注射投与した牛の糞が成虫の生存に影響を与えなかったことを報告し、また Fincher (1992) は、同じ中型種である *O. gazella* の成虫もまたイベルメクチンの皮下注射投与後の牛糞において成虫生存に影響がなかったことを報告した。小型種である *E. intermedius* および *E. fulvus* は、イベルメクチンの皮下注射後の牛の糞で成虫の生存に影響を受けなかった (Fincher, 1992; Lumaret et al., 1993)。さらに、日本のマエカドコエンマコガネ (小型種) とツノコガネ (中型) でも上記と同様の結果を示した (Iwasa et al., 2005b, 2007)。一方、エプリノメクチンでは、中型種である *O. taurus* 成虫の生存はポアオン法投与後の糞において影響がみられず (Wardhaugh et al., 2001)、また日本産のマエカドコエンマコガネとツノコガネも同様に、成虫生存に対するエプリノメクチンの影響はなかった (Iwasa & Sugitani, 2014)。本研究における同じ中型～小型種であるシナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネ、およびツノコガネでは、イベルメクチンにおいて成虫への影響がなかったにも関わらず (Iwasa et al., 2005b)、エプリノメクチンにおいては成虫の生存、そして産卵数にまで影響を受けた。これは、先述した牛糞内の残留濃度の差が一つの要因と考えられ、エプリノメクチンによる 0.5～1.5 ppm のより高濃度の残留糞であれば、比較的薬剤感受性が低いと思われる中型～小型種でも成虫段階において影響を受ける可能性が示唆された。Wardhaugh & Rodriguez-Menendez (1988) は、大型種である *C. hispanus* の新成虫がイベルメクチン残留糞において死亡率が増加したことを報告し、Iwasa et al. (2007) もまたダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの成熟成虫がイベルメクチン残留糞において死亡率が増加したことを報告した。本研究のダイコクコガネとゴホンダイコクコガネの成虫死亡率は、イベルメクチンでは最高濃度の投与後 3 日の糞でもそれぞれ 70%, 40% となり (第 1 章)、エプリノメクチンでは両種とも投与後 1, 3 日の糞で 70%以上の成虫が死亡し、糞球もまったく形成されなかった。これらのことから、エプリノメクチンは、イベルメクチンと同様にダイコクコガネ属成虫に対して著しく死亡率を高め、また残留濃度が高い傾向がみられることから、さらにその影響は大きくなる可能性が示唆された。

Wardhaugh et al. (2001) は、エプリノメクチンのポアオン法投与後 3, 7 日の糞で *O.*

*taurus* の次世代幼虫の羽化率が低下したと報告した。マエカドコエンマコガネおよびツノコガネの次世代幼虫の羽化率は、両種ともエプリノメクチンのポアオン法投与後 1, 3 日の糞で低下し (Iwasa & Sugitani, 2014), イベルメクチンの結果 (Iwasa et al., 2007 ; それぞれ投与後 7, 14 日まで) よりも短い投与後日数となった。一方, 本研究の次世代幼虫の羽化率は, シナノエンマコガネではエプリノメクチン投与後 3 日まで, カドマルエンマコガネでは投与後 7 日まで低下し, 影響を受けた投与後日数がイベルメクチンの結果 (第 1 章) と同じであった。これは, 駆虫剤の残留濃度が投与後 7 日以降でエプリノメクチンとイベルメクチンでほとんど差がなかったことによるものと推測される。また, 本研究のツノコガネにおいては, 羽化率は投与後 7 日まで低下し, Iwasa & Sugitani (2014) の結果と異なった。これは, Iwasa & Sugitani (2014) の投与後 7 日の糞は, 残留濃度が 0.08~0.09 ppm であり, 本研究の濃度 (0.13 ppm) より低かったためであると考えられ, ツノコガネの幼虫に影響を及ぼす臨界濃度は, 0.09~0.13 ppm の間にある可能性が示唆された。エプリノメクチンが糞虫の幼虫に及ぼす影響について, 現在 *O. taurus* (Wardhaugh et al., 2001), マエカドコエンマコガネとツノコガネ (Iwasa & Sugitani, 2014) の影響評価のみに限られていた。本研究では, 新たにダイコクコガネ属のダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの幼虫におけるエプリノメクチンの影響を調査し, それぞれポアオン法投与後 7 日, 14 日まで影響を受けることを示した。ゴホンダイコクコガネでは, エプリノメクチンの方がイベルメクチンの結果 (第 1 章) よりも影響を受ける投与後日数が短くなり, マエカドコエンマコガネの両駆虫剤の比較 (Iwasa et al., 2007; Iwasa & Sugitani, 2014) と類似したが, ダイコクコガネではイベルメクチンと同様に幼虫への影響は投与後 2 週間以上に及んだ。これらのことから, エプリノメクチンが糞虫の幼虫に及ぼす影響は, イベルメクチンと同様に成虫の体サイズが大きい種ほど大きくなる可能性が示唆された。

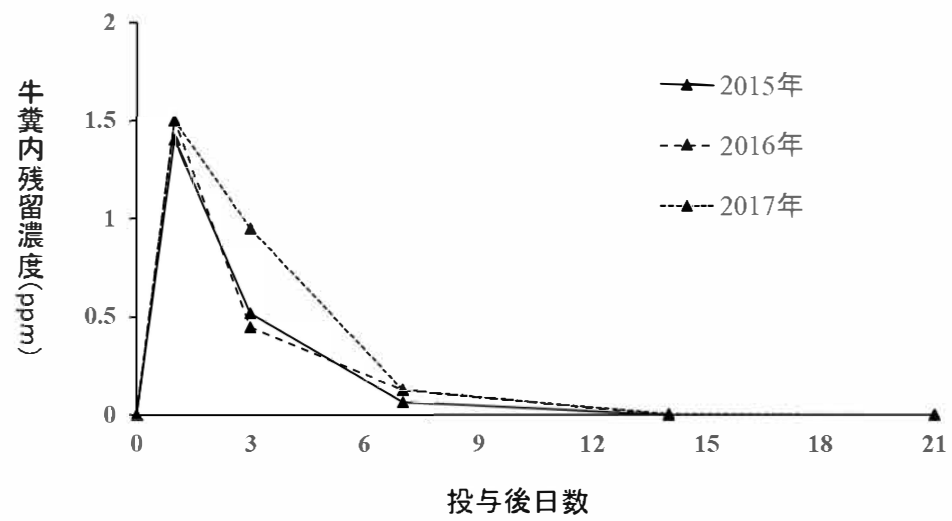


図 2-1. エプリノメクチン投与後の日数経過にともなう牛糞への残留濃度推移

表 2-1. 対照区およびエプリノメクチン投与区 (2017 年) の糞におけるシナノエンマコガネの平均累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)	糞球形成数	次世代幼虫の羽化率 (%)
対照区	39.9 ± 9.1 <sup>c</sup>	31.0 ± 21.9 <sup>a</sup>	45.1 ± 7.1 <sup>a</sup>
1 日	100 <sup>a</sup>	6.4 ± 3.8 <sup>b</sup>	0
3 日	100 <sup>b</sup>	9.2 ± 3.4 <sup>b</sup>	0
7 日	49.9 ± 1.8 <sup>c</sup>	32.6 ± 14.6 <sup>a</sup>	41.6 ± 7.6 <sup>a</sup>

各値は 5 反復の平均値 (mean ± SD) を表す (1 反復♂♀3 対)

異文字間は各列の投与区間で有意差を表す (成虫死亡率: ログランク検定・ボンフェローニ法;  $P < 0.0083$ , 糞球形成数, 羽化率: GLMM, Tukey 法;  $P < 0.05$ )

表 2-2. 対照区およびエプリノメクチン投与区 (2017 年) の糞におけるカドマルエンマコガネの平均  
累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)	糞球形成数	次世代幼虫の羽化率 (%)
対照区	36.8 ± 39.7 <sup>b</sup>	17.0 ± 5.5 <sup>a</sup>	41.9 ± 22.5 <sup>a</sup>
1 日	100 <sup>a</sup>	0	0
3 日	100 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.9 <sup>b</sup>	0
7 日	46.8 ± 29.6 <sup>b</sup>	18.8 ± 5.7 <sup>a</sup>	4.5 ± 6.4 <sup>b</sup>
14 日	46.7 ± 21.7 <sup>b</sup>	21.4 ± 6.2 <sup>a</sup>	38.3 ± 20.1 <sup>a</sup>

各値は 5 反復の平均値 (mean ± SD) を表す (1 反復 ♂♀3 対)

異文字間は各列の投与区間で有意差を表す (成虫死亡率: ログランク検定・ボンフェローニ法;  $P < 0.005$ , 糞球形成数, 羽化率: GLMM, Tukey 法;  $P < 0.05$ )

表 2-3. 対照区およびエプリノメクチン投与区(2017 年)の糞におけるツノコガネの平均累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)	糞球形成数	次世代幼虫の羽化率 (%)
対照区	29.9 ± 7.4 <sup>b</sup>	50.2 ± 6.9 <sup>b</sup>	43.4 ± 8.2 <sup>a</sup>
1 日	66.7 ± 16.7 <sup>a</sup>	6.6 ± 1.7 <sup>d</sup>	0
3 日	60.1 ± 9.2 <sup>a</sup>	34.0 ± 6.5 <sup>c</sup>	0
7 日	33.3 ± 11.8 <sup>b</sup>	63.8 ± 11.4 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.5 <sup>b</sup>

各値は 5 反復の平均値(mean ± SD)を表す(1 反復♂♀3 対)

異文字間は各列の投与区間で有意差を表す(成虫死亡率:ログランク検定・ボンフェローニ法;  
 $P < 0.0083$ , 糞球形成数, 羽化率:GLMM, Tukey 法; $P < 0.05$ )

表 2-4. 対照区エプリノメクチン投与区 (2015, 2016 年) の糞におけるダイコクコガネの累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数		成虫死亡率 (%)			糞球形成数	次世代幼虫の羽化率 (%)
		飼育開始後日数				
		30 日	60 日	90 日		
2015 年	対照区	10.0±21.1	10.0±21.1	10.0±21.1	4.3±1.1	10●
	3 日	30.0±34.9	90±31.6 *	100 *	●	●
2016 年	対照区	10.0±21.1 <sup>a</sup>	15.0±24.2 <sup>a</sup>	20±25.8 <sup>a</sup>	4.4±2.8 <sup>a</sup>	71.6 ± 24.9 <sup>a</sup>
	7 日	15.0±24.2 <sup>a</sup>	20±25.8 <sup>a</sup>	25.0±26.4 <sup>a</sup>	2.2±2.6 <sup>b</sup>	●
	14 日	15.0±24.2 <sup>a</sup>	15.0±24.2 <sup>a</sup>	20±25.8 <sup>a</sup>	3.8±1.8 <sup>a</sup>	●
	21 日	●	15.●±24.2 <sup>a</sup>	15.0±24.2 <sup>a</sup>	4.5 ± 2.3 <sup>a</sup>	61.6 ± 32.2 <sup>a</sup>

各値は 10 反復の平均値 (mean ± SD) を表す (1 反復 ♂♀1 対)

異文字間は各列の各投与区で有意差を表す (成虫死亡率: ログランク検定・ボンフェローニ法;  $P < 0.005$ , 糞球形成数, 羽化率: GLMM, Tukey 法;  $P < 0.05$ )

表 2-5. 対照区エブリノメクチン投与区 (2016 年) の糞におけるダイコクコガネの累積成虫死亡率, 糞球形成数および次世代幼虫の羽化率

投与後日数	成虫死亡率 (%)			糞球形成数	次世代幼虫の 羽化率 (%)
	飼育開始後日数				
	30 日	60 日	90 日		
対照区	● <sup>c</sup>	● <sup>c</sup>	● <sup>c</sup>	4.7 ± 1.3 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
1 日	70.0 ± 35.0 <sup>a</sup>	95.0 ± 15.8 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	●	●
3 日	30.0 ± 35.0 <sup>b</sup>	35.0 ± 33.7 <sup>b</sup>	70.0 ± 25.8 <sup>a</sup>	0.1 ± 0.3 <sup>b</sup>	●
7 日	● <sup>c</sup>	10.0 ± 21.1 <sup>c</sup>	15.0 ± 24.2 <sup>c</sup>	2.3 ± 1.9 <sup>c</sup>	●
14 日	● <sup>c</sup>	● <sup>c</sup>	● <sup>c</sup>	4.6 ± 2.1 <sup>a</sup>	75.4 ± 29.3 <sup>a</sup>

各値は 10 反復の平均値 (mean ± SD) を表す (1 反復♂♀1 対)

異文字間は各列の投与区間で有意差を表す (成虫死亡率: ログランク検定・ボンフェローニ法;  $P < 0.005$ , 糞球形成数, 羽化率: GLMMs, Tukey 法;  $P < 0.05$ )



### 第3章 イベルメクチンおよびエプリノメクチンの残留糞が糞虫 7 種における 成虫の摂食活動に及ぼす影響

#### はじめに

放牧地に生息する糞虫類は、他の糞食性昆虫（主にハエ類など）よりも大型なため、糞の摂食量が多く分解能力に極めて優れている。また、糞虫類は、糞塊の下に坑道を掘り、そこに糞を埋め込むことによって放牧地の土壌養分循環や浸透性、通気性などの物理化学的性質を改善するため（Yamashita & Hasegawa, 1991; Yamada et al., 2007; Nichols et al., 2008; Gregory et al., 2015）、その摂食活動は健全な放牧運営において重要になってくると思われる。しかし、糞への駆虫剤の残留は、糞虫類の生存や繁殖だけでなく成虫の摂食活動を抑制することが報告されており（Wardhaugh & Rodriguez-Menendez, 1988; Perez-Cogollo et al., 2015）、こうした糞虫の活動抑制が放牧地の糞分解の遅延に関連している可能性が示唆されてきた（Floate et al., 1998）。これまでの糞虫類を対象にした駆虫剤残留の影響評価は、生存や繁殖などに関する研究が多く、糞虫の摂食活動をはじめとした生態的機能に着目した影響評価の例は極めて少ない。そこで本章では、イベルメクチンとエプリノメクチンの残留が、第 1 章、2 章で使用した糞虫種（エンマコガネ属、ツノコガネ属、ダイココガネ属、センチコガネ属）の摂食活動に及ぼす影響について飼育実験を行い調査した。

#### 材料および方法

##### 1. イベルメクチンおよびエプリノメクチンの糞残留が糞虫類の摂食活動に及ぼす影響

シナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネ、ツノコガネ、ダイココガネ、ミヤマダイココガネ、ゴホンダイココガネ、オオセンチコガネの成虫は、各投与後日数のイベルメクチン、エプリノメクチン残留糞および対照区の糞で飼育し（飼育方法および供試虫については第 1、2 章の材料および方法を参照）、Wardhaugh & Rodriguez-Menendez (1988) の方法に準じて餌交換の際に糞塊の摂食度合から 5 段階の任意水準で糞虫の摂食活動を評価

した (0 = 摂食痕なし, 1 = 1カ所の摂食痕あり, 2 = 2カ所以上の摂食痕あり, 3 = 大部分が摂食され, 糞塊の外皮部分のみ残る, 4 = 糞塊がほとんど分解, もしくは巣穴に運び込まれた). 評価した摂食活動レベル (f) およびそれぞれの供試虫数 (n) から, 飼育経過週ごとの累積摂食活動指数 (F) を計算し, 各投与区と対照区で比較した.

$$F = n_1f_0 + n_2f_1 + n_3f_2 + n_4f_3 + n_5f_4$$

## 2. 統計解析

各糞虫種の飼育実験において記録した摂食活動指数は, GLMM を用いて解析し, 誤差構造をポアソン分布, 摂食活動レベルを応答変数, 飼育後日数と糞の投与後日数を説明効果, 反復数をランダム効果に指定した. その後 Tukey 法を使用して多重比較を行い, 各投与区間で比較した. 全ての解析は, 統計解析ソフト R (R Development Core Team, 2016) を使用し, GLMM は lme 4 パッケージ (Bates et al., 2013) を用いた.

## 結果

### 1. イベルメクチンの糞残留が糞虫 3 属 6 種の摂食活動に及ぼす影響

#### 1) シナノエンマコガネ, カドマルエンマコガネおよびオオセンチコガネ

イベルメクチン投与後 1, 3, 7, 14 日の投与区および対照区 (2016 年) において, シナノエンマコガネおよびカドマルエンマコガネの累積摂食活動指数をそれぞれ図 3-1, 2 に示した. 両種の累積摂食活動指数は, イベルメクチン投与後 3, 7 日の糞で対照区よりも若干の低下が見られたが, すべての投与区で対照区と有意な差はなかった. オオセンチコガネの累積摂食活動指数も同様に, イベルメクチン投与後 3 日 (2016 年) と対照区の糞で有意な差はなかった (図 3-3).

#### 2) ダイコクコガネ, ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネ

ダイコクコガネにおける累積摂食活動指数は, 投与後 3 日 (2017 年) の糞でのみ対照区

よりも著しく低下したが ( $Z = -7.5, P < 0.001$  : 図 3-4), その他の投与後 7, 14, 21 日の糞では多少の差はあったものの, いずれも対照区と有意差はなかった. ミヤマダイコクコガネの累積摂食活動指数も同様に, 投与後 3 日 (2018 年) の糞で対照区よりも著しく低下したが ( $Z = -7.2, P < 0.001$  : 図 3-5), その他の投与後 7, 14, 21 日の糞では対照区と有意差はなかった. ゴホンダイコクコガネでは, 投与後 7, 14 日 (2015 年) の累積摂食活動指数は対照区と有意差はなかったが, 投与後 3 日の糞では対照区よりも有意な低下がみられた ( $Z = -4.4, P < 0.001$  : 図 3-6).

## 2. エプリノメクチンの残留糞が糞虫 3 属 5 種の摂食活動に及ぼす影響

### 1) シナノエンマコガネ, カドマルエンマコガネおよびツノコガネ

シナノエンマコガネの累積摂食活動指数は, エプリノメクチン投与後 1, 3 日 (2017 年) の糞で対照区よりも有意に低下したが (それぞれ  $Z = -2.6, P < 0.05$  ;  $Z = -2.8, P < 0.05$  : 図 3-7), 投与後 7 日の糞では対照区と有意な差はなかった. カドマルエンマコガネの累積摂食活動指数は, 投与後 1, 3 日 (2017 年) の糞で著しく低下し, 対照区と有意な差が見られたが ( $Z = -4.7, P < 0.001$  ;  $Z = -3.1, P < 0.05$  : 図 3-8), 投与後 7, 14 日の糞では対照区と有意な差はみられなかった. ツノコガネの累積摂食活動指数は, 投与後 1 日 (2017 年) の糞でのみ対照区よりも有意に低下したが ( $Z = -2.9, P < 0.05$  : 図 3-9), 投与後 3, 7 日の糞では有意な差はみられなかった.

### 2) ダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネ

エプリノメクチン投与後の牛糞におけるダイコクコガネ (投与後 3, 7, 14, 21 日 : 2015, 2016 年) およびゴホンダイコクコガネ (投与後 1, 3, 7, 14 日 : 2016 年) の累積摂食活動指数の結果をそれぞれ図 3-10, 11 に示した. ダイコクコガネの累積摂食活動指数は, 投与後 3 日の糞において, 飼育開始後 7~49 日の間で著しく低下し, 対照区と有意な差がみられた ( $Z = -7.6, P < 0.001$ ). しかし, 投与後 7, 14 日の糞における累積摂食活動は, 対照

区との間に有意な差はみられなかった。ゴホンダイコクコガネの累積摂食活動指数は、投与後 1, 3 日の糞で対照区よりも極めて低く推移し（それぞれ  $Z = -6.9$ ,  $P < 0.001$  ;  $Z = -8.4$ ,  $P < 0.001$ ), また投与後 7 日の糞でも有意な差がみられた ( $Z = -3.7$ ,  $P < 0.005$ )。しかし、投与後 14 日の糞における累積摂食活動指数は、対照区と有意な差はみられなかった。

## 考察

Wardhaugh & Rodriguez-Menendez (1988) は、*C. hispanus* の新成虫の摂食活動がイベルメクチンの皮下注射投与後 1~8 日の糞で抑制されたことを報告した。本研究のシナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネおよびオオセンチコガネ成虫においては、イベルメクチンのそれらの摂食活動への影響はみられなかった一方で、ダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネのダイコクコガネ属 3 種においては、成熟成虫であったにもかかわらず摂食活動への影響がみられたことから、ダイコクコガネ属成虫のイベルメクチンに対する薬剤感受性が他の糞虫種よりも高く、そして新成虫のみでなく成熟した成虫においても摂食活動が抑制される可能性が示唆された。さらに、イベルメクチン残留糞は、ダイコクコガネ属の成虫死亡率を増加させたことが報告されてきた (Wardhaugh & Rodriguez-Menendez, 1988; Iwasa et al., 2007)。本研究の結果 (第 1 章) においても、ダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネのダイコクコガネ属 3 種とも成虫生存率がイベルメクチン残留糞において低下した。MLs に分類される駆虫剤は、無脊椎動物のグルタミン酸ゲート式と GABA ゲート式の神経・筋細胞の塩基イオンチャネル両方において作用し、麻痺効果をもたらすとされている (Keane & Avery, 2003; Geary & Moreno, 2012)。GABA 塩基イオンチャネルは、昆虫の神経と嗅覚の増強に欠かせない触角に存在し、実際に大型種である *Scarabaeus cicatricosus* Lucas の成虫は、イベルメクチンの直接添加糞によって嗅覚の反応力と歩行運動能力に影響を受けた (Verdú et al., 2015)。これらのことから、上記の *S. cicatricosus* と同様に、本研究におけるダイコクコガネ属 3 種においてもイベルメクチンの神経麻痺効果によって摂食活動が抑制され、その結果第 1 章

で述べたような成虫死亡率の増加や繁殖活動（糞球形成）の抑制を引き起こした可能性が考えられる。また、ダイコクコガネ属と同様に大型種であるオオセンチコガネの摂食活動がイベルメクチンによって影響がなかったことから、駆虫剤による摂食活動への影響は、体サイズよりもむしろ分類群（属）、もしくは食性の違いによって大きく異なる可能性が示唆された。

本研究において、シナノエンマコガネとカドマルエンマコガネの摂食活動は、イベルメクチンで影響が見られなかったが、エプリノメクチンでは投与後 1, 3 日の糞で影響を受け、この違いは残留濃度の差によるものと思われる。また、ツノコガネの成虫生存および産卵数は、エプリノメクチンによって影響を受けなかったが (Iwasa & Sugitani, 2014), 本研究では投与後 1, 3 日の糞で減少しただけでなく (第 2 章), 摂食活動も抑制された。本研究のダイコクコガネとゴホンダイコクコガネの摂食活動も、イベルメクチンと同様に著しく抑制された。これらのことから、エプリノメクチンは、イベルメクチンと同様に中型～大型糞虫種の摂食活動にも負の影響を及ぼし、そしてその影響は残留濃度が高くなることによってイベルメクチンよりも多くの糞虫種に及ぶ可能性が考えられる。今後、これら摂食活動への影響が野外の糞分解や生態的機能に及ぼす影響について、更なる調査が必要である。

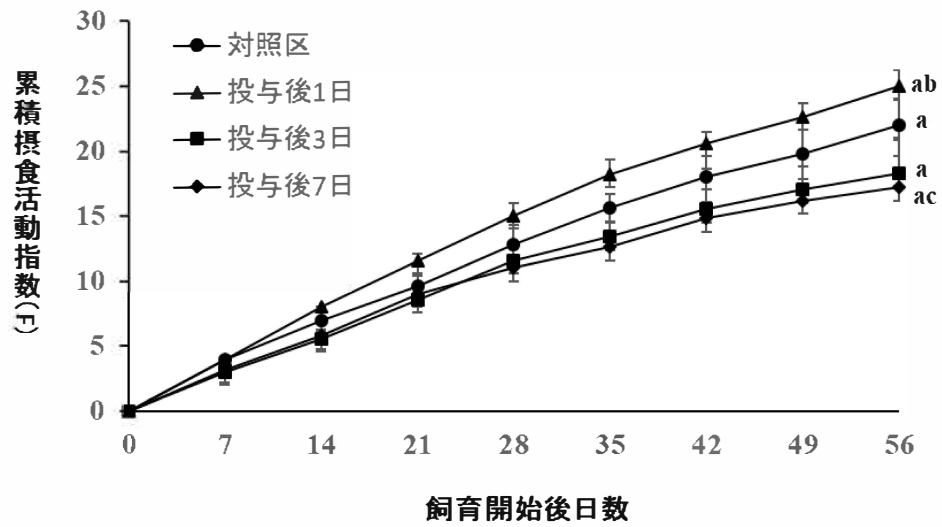


図 3-1. 対照区および各イベルメクチン投与区の糞におけるシナノエンマコガネの平均累積摂食活動指数 (F)

各値は 5 反復の平均値 (mean  $\pm$  SD) を表す (1 反復 ♂♀3 対)

異文字間は投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

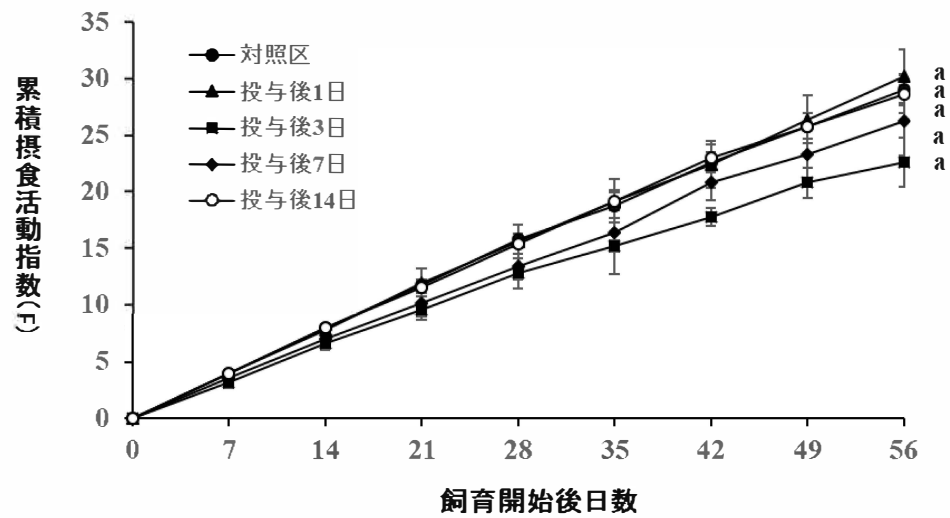


図 3-2. 対照区および各イベルメクチン投与区の糞におけるカドマルエンマコガネの平均  
累積摂食活動指数 (F)

各値は 5 反復の平均値 (mean  $\pm$  SD) を表す (1 反復♂♀3 対)

異文字間は各投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法 :  $P < 0.05$ )

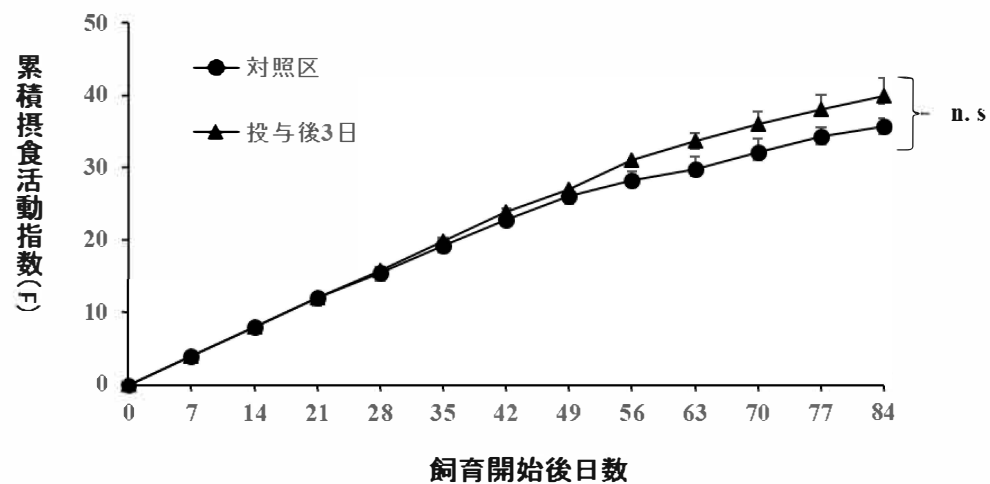


図 3-3. 対照区およびイベルメクチン投与区（2015 年）の糞におけるオオセンチコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 5 反復の平均値（mean ± SD）を表す（1 反復♂♀2 対）

n. s.：投与区間で有意差なし（GLMM： $P < 0.05$ ）



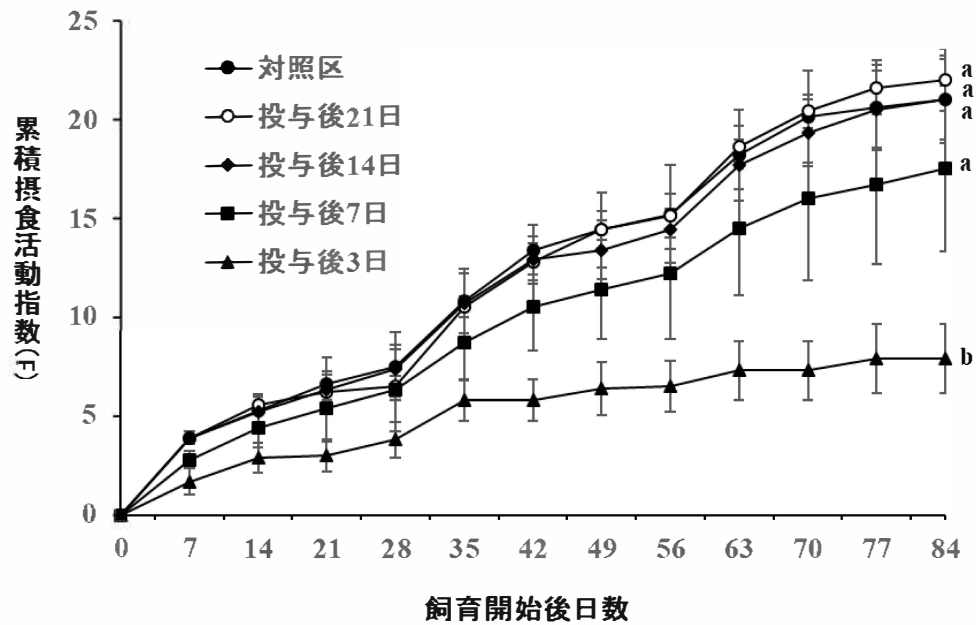


図 3-4. 対照区および各イベルメクチン投与区（2017 年）の糞におけるダイコクコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 10 反復の平均値（mean  $\pm$  SD）を表す（1 反復♂♀1 対）

異文字間は投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

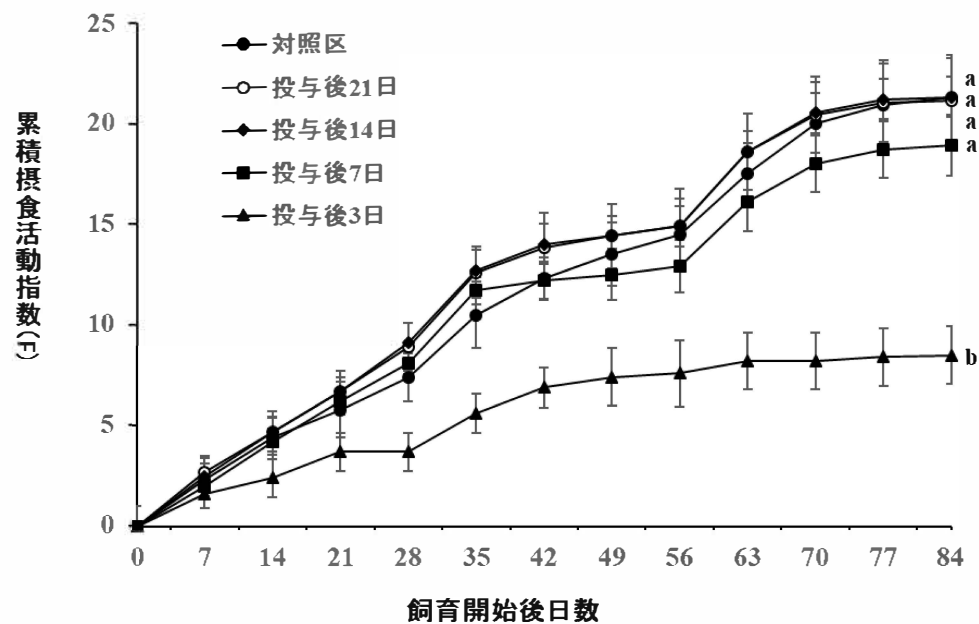


図 3-5. 対照区および各イベルメクチン投与区（2018 年）の糞におけるミヤマダイコクコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 10 反復の平均値（mean ± SD）を表す（1 反復♂♀1 対）

※ 異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

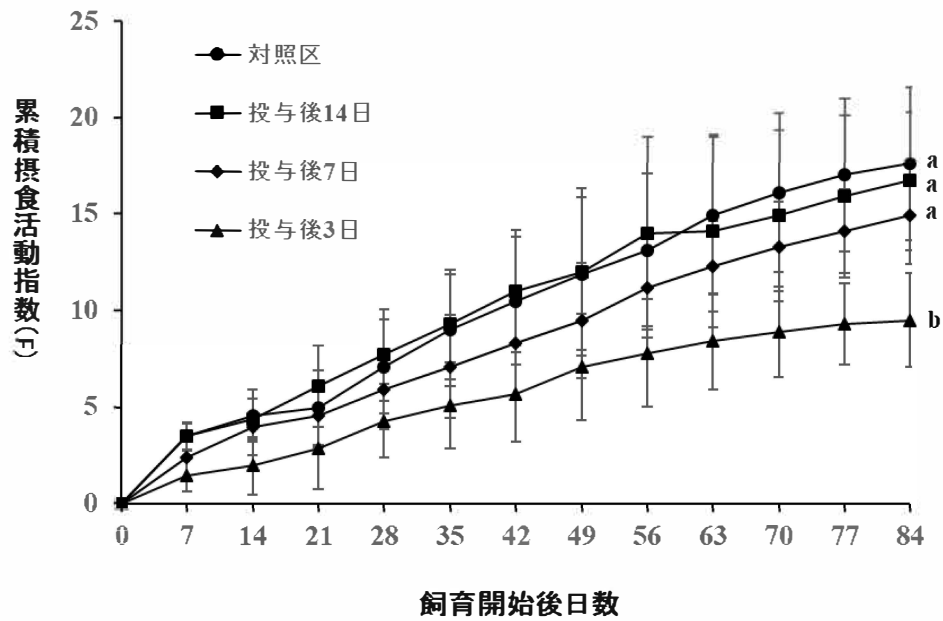


図 3-6. 対照区および各イベルメクチン投与区（2015 年）の糞におけるゴホンダイコクコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 10 反復の平均値（mean  $\pm$  SD）を表す（1 反復♂♀1 対）

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

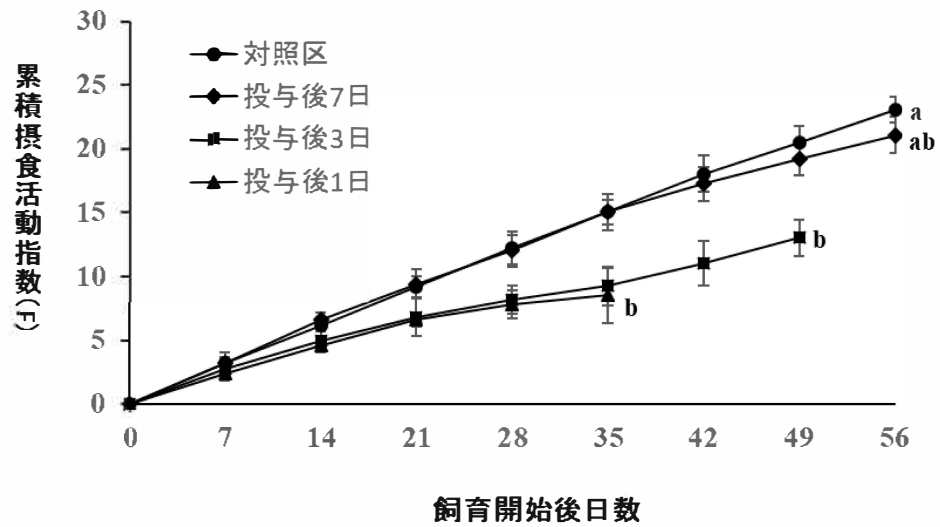


図 3-7. 対照区および各エプリノメクチン投与区（2017 年）の糞におけるシナノエンマコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 5 反復の平均値（mean  $\pm$  SD）を表す（1 反復♂♀3 対）

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

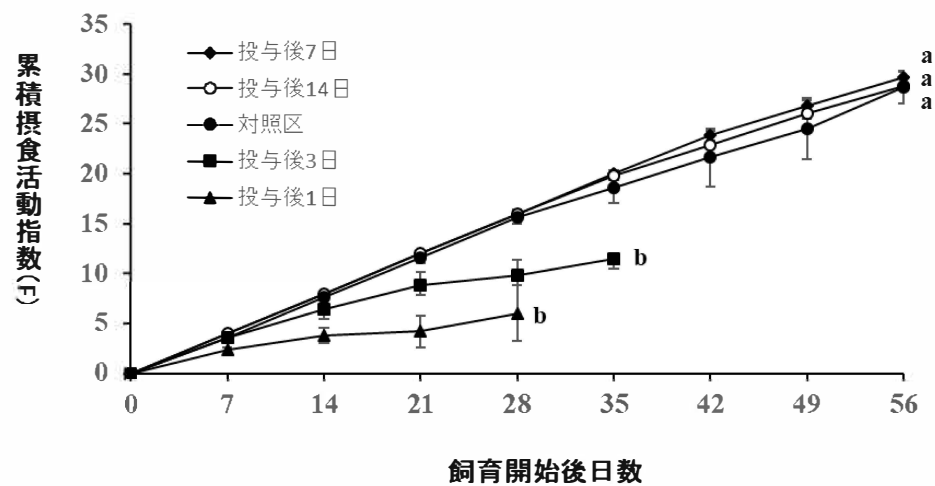


図 3-8. 対照区および各エプリノメクチン投与区（2017 年）の糞におけるカドマルエンマコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 5 反復の平均値（mean ± SD）を表す（1 反復♂♀3 対）

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

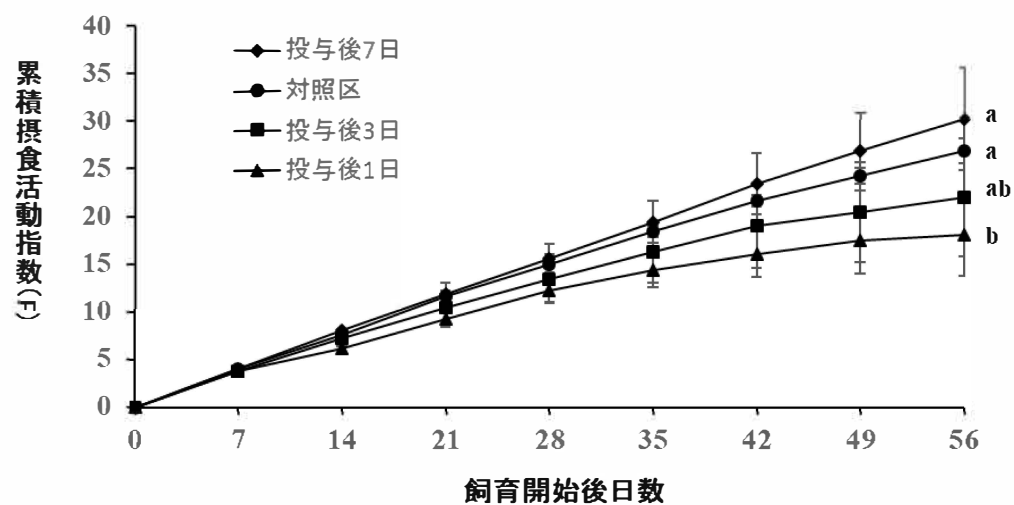


図 3-9. 対照区および各エプリノメクチン投与区（2017 年）の糞におけるツノコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 5 反復の平均値（mean ± SD）を表す（1 反復♂♀3 対）

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

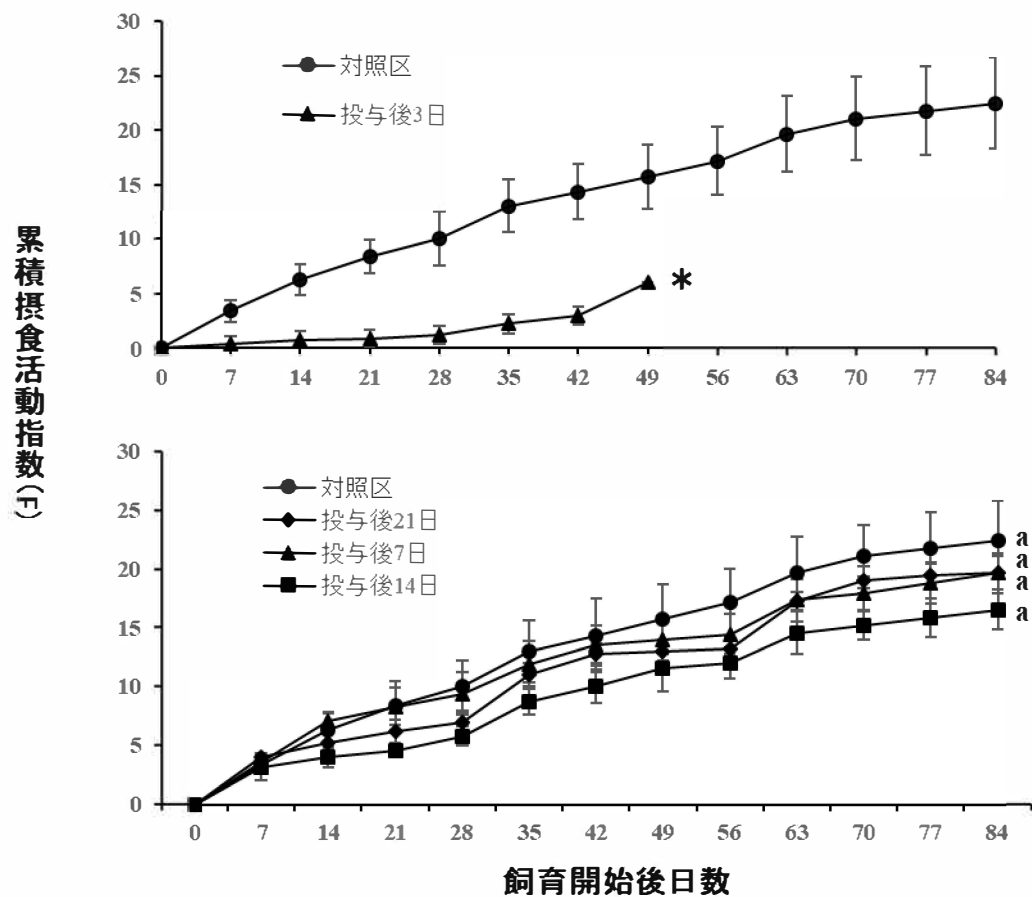


図 3-10. 対照区および各エプリノメクチン投与区（2015, 2016 年）の糞におけるダイコ  
クコガネの平均累積摂食活動指数 (F)

各値は 10 反復の平均値 (mean  $\pm$  SD) を表す (1 反復♂♀1 対)

\* : 対照区と有意差あり (GLMM,  $P < 0.05$ ,  $\pm$  S. D.)

異文字間は各投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法 :  $P < 0.05$ )

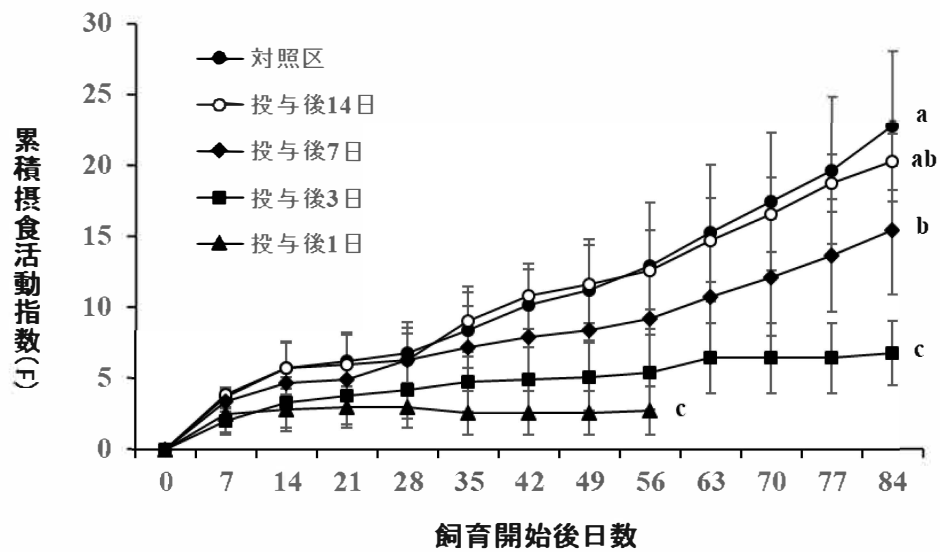


図 3-11. 対照区および各エプリノメクチン投与区（2016 年）の糞におけるゴホンダイコクコガネの平均累積摂食活動指数（F）

各値は 10 反復の平均値（mean ± SD）を表す（1 反復♂♀1 対）

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）



## 第4章 イベルメクチンの残留糞が糞虫類の誘引性および糞分解に及ぼす影響

### はじめに

糞虫の糞塊への誘引は、放牧地の糞分解における最初の段階であり、これが駆虫剤残留によって変化するなら、糞分解にも影響する可能性が高い。イベルメクチン残留糞は、一部の糞虫種の誘引性を増加させ (Wardhaugh & Mahon, 1991; Holter et al., 1993), さらに糞分解が残留していない糞よりも促進された例 (Wardhaugh & Mahon, 1991) が報告されている。しかし一方で、これとは逆に駆虫剤残留糞で誘引性が低下した糞虫種も存在し (Floate, 2007), さらに野外における糞虫の糞分解活動の抑制 (Dadour et al., 1999), また糞分解の遅延も引き起こした例もある (Sommer et al., 1992; Floate, 1998)。これらのことから、駆虫剤残留糞による糞虫類の誘引性と糞分解に及ぼす影響は、地域やその糞虫相によって大きく異なると予想される。日本においても、野外実験においてマエカドコエンマコガネとツノコガネの2種がイベルメクチン残留糞において有意に多く糞球を形成したことが報告された (Iwasa et al., 2007)。しかし、野外における駆虫剤残留糞における糞虫の誘引性の変化や糞の分解への影響については不明のままである。そこで本章では、イベルメクチンの残留糞が日本産糞虫類の誘引性および糞分解に及ぼす影響を明らかにするため、野外実験を行って調査した。

### 材料および方法

#### 1. イベルメクチン残留糞が糞虫の誘引性に及ぼす影響

冷凍保存しておいたイベルメクチン投与後 1, 3, 7 日 (2017, 2018 年投与) および対照区の牛糞 300g (各 3 つずつ) は、24 時間室温で解凍した後、排水口用の水切りネットに入れて口を縛り、酢酸 10% 水溶液を深さ 5 cm まで入れたプラスチック製のタライ (直径 30 cm) と金網の上に乘せた (牛糞トラップ: 図 4-1)。この牛糞トラップ計 12 個を中村牧場の放牧地 (北海道むかわ穂別) に 5 m 間隔で同じ投与区の牛糞が隣り合わないよう 2 列に

置いた。トラップを設置して約 1 週間後、誘引されてタライ内に落ちた糞虫類を回収し、種レベルで同定後個体数を記録した。この操作を 2017 年の 7 月 11～18 日、8 月 3～10 日、10～17 日と 22～30 日の 4 回、および 2018 年の 7 月 11～19 日、19～27 日、8 月 24～31 日と 9 月 2 日～16 日の 4 回、計 8 回行った。回収した糞虫類は個体数記録後、約 60℃に設定した乾燥機に 24 時間入れて乾燥させ、各牛糞ごとに誘引された糞虫類の生物量を計測した。

## 2. イベルメクチンの残留糞が糞虫の糞分解に及ぼす影響

冷凍保存しておいたイベルメクチン投与後 1, 3, 7 日（2017, 2018 年投与）および対照区の各牛糞サンプル（700g）は、24 時間室温で解凍した後、中村牧場の放牧地に縁まで埋めて 9 割バーミキュライトを詰めたプラスチックバケツ（37 × 30 × 17 cm）の上に置いた（牛糞トラップ：図 4-2）。各サンプルは 3 つずつ用意し、トラップは 5 m 間隔で同じ投与区の糞が隣り合わないよう 2 列に設置した。また、ネガティブコントロール（NC）として、上記サンプルと同様の牛糞トラップにネットを被せて昆虫の侵入を防いだ対照区（無投与）の糞を 3 つ用意し、実験区から 10m 離れたところに設置した。約 2 週間後にトラップ上の牛糞サンプルを回収し、約 60℃に設定した乾燥機に 48 時間入れて乾燥させ、それぞれの重量を測定した。各牛糞の分解率は、Manning et al. (2017) の方法に準じて（NC 糞の乾燥重量－各実験区の糞の乾燥重量）／NC 糞の乾燥重量×100 の式で計算した。これらの操作を 2017 年の 8 月 10～26 日、8 月 26～9 月 8 日と 9 月 8～21 日の 3 回、および 2018 年の 8 月 6～20 日、8 月 24～9 月 5 日、9 月 5～16 日の 3 回、計 6 回行った。

## 3. 統計解析

牛糞トラップで各投与区の牛糞に誘引された糞虫の個体数、生物量および牛糞の分解率は、それぞれ一般化線形混合モデル（GLMM）を使用し、誤差範囲はポアソン分布として統計解析を行った。誘引個体数および分解率を応答変数、牛糞の投与後日数を説明効果、反

復数をランダム効果にそれぞれ指定した。GLMM 解析後、Tukey 法によって多重比較し、各投与区で比較した。解析は統計解析ソフト R (R Development Core Team, 2016) を使用し、GLMM は lme 4 パッケージ (Bates et al., 2013) を用いた。

## 結果

### 1. イベルメクチンの残留糞が糞虫類の誘引性に及ぼす影響

野外に約 1 週間放置した各イベルメクチン投与区および対照区の糞に誘引された各糞虫類の個体数 (2017 年) を表 4-1~4 に示した。1 回目 (表 4-1) では 6 属 9 種の糞虫が誘引され、その中でもマグソコガネ (*Aphodius rectus* Motschulsky) は投与後 1 日の糞、マエカドコエンマコガネ (*Caccobius jessoensis* Harold) は投与後 1, 3 日の糞、そしてツノコガネは投与後 3 日の糞でそれぞれ対照区よりも有意に多く誘引された ( $Z = 5.5, P < 0.001$ ;  $Z = 4.4, P < 0.001$ ;  $Z = 2.6, P < 0.05$ )。その他の糞虫種においては、対照区と各投与区の糞で誘引個体数に有意差はなかった。2 回目 (表 4-2) では 6 属 8 種の糞虫が誘引され、中でもマエカドコエンマコガネは投与後 3 日 ( $Z = 2.7, P < 0.05$ )、ツノコガネは投与後 1, 3, 7 日 ( $Z = -6.3, P < 0.001$ ;  $Z = -5.2, P < 0.001$ ;  $Z = -7.5, P < 0.001$ ) の糞でそれぞれ対照区よりも有意に誘引個体数が減少した。3 回目 (表 4-3) では 5 属 7 種の糞虫が誘引され、2 回目と同様にマエカドコエンマコガネは投与後 1, 3 日 ( $Z = -2.7, P < 0.05$ ;  $Z = -4.4, P < 0.001$ )、ツノコガネは投与後 1, 3, 7 日 ( $Z = -4.4, P < 0.001$ ;  $Z = -5.1, P < 0.001$ ;  $Z = -5.1, P < 0.001$ ) の糞で対照区よりも有意に誘引個体数が減少した。さらに、シナノエンマコガネおよびセンチコガネも投与後 3 日, 7 日の糞でそれぞれ誘引個体数が有意に減少した。4 回目 (表 4-4) では 5 属 7 種の糞虫が誘引され、すべての糞虫種において誘引個体数に有意差はみられなかったが、オオセンチコガネは投与後 1 日の糞で他の投与区、対照区よりも誘引個体数が多かった ( $Z = 2.5, P = 0.053$ )。

野外に約 1 週間放置した各イベルメクチン投与区および対照区の糞に誘引された各糞虫類の個体数 (2018 年) を表 4-5~8 に示した。1 回目 (表 4-5) では 6 属 8 種の糞虫が誘引

され、ツノコガネの誘引個体数が投与後 1 日の糞で有意に増加したが ( $Z = 4.2, P < 0.001$ ), マエカドコエンマコガネでは投与後 1, 7 日の糞で有意に減少した ( $Z = -3.1, P < 0.05$ ;  $Z = -2.7, P < 0.05$ ). 2 回目 (表 4-6) では 5 属 7 種の糞虫が誘引されたが、ツノコガネの誘引個体数が投与後 7 日の糞で有意に減少したのみで ( $Z = -2.7, P < 0.05$ ), 他の種においては投与区間で誘引数に有意差はなかった. 3 回目 (表 4-7) では 4 属 6 種の糞虫が誘引され、マエカドコエンマコガネおよびシナノエンマコガネは投与後 1, 3 日の糞で対照区よりも有意に誘引個体数が減少した (マエカドコエンマコガネ:  $Z = -4.5, P < 0.001$ ;  $Z = -5.7, P < 0.001$ , シナノエンマコガネ:  $Z = -3.6, P < 0.005$ ;  $Z = -3.9, P < 0.001$ ). 4 回目 (表 4-8) では 5 属 8 種の糞虫が誘引されたが、すべての種と投与区において誘引個体数に有意差はなかった. しかし、オオセンチコガネでは対照区で平均 1.3 匹だったのに対し、投与後 1, 3 日の糞でそれぞれ 2.3, 4.3 匹と 2 倍ほど増加した.

上記の各牛糞に誘引された糞虫類の生物量 (乾燥/mg) の結果を図 4-3 (2017 年) および図 4-4 (2018 年) に示した. 2017 年における生物量は、1 回目では投与後 1, 3 日の糞で対照区および投与後 7 日の糞よりも有意に増加した ( $Z = 50.6, P < 0.001$ ;  $Z = 47.9, P < 0.001$ ). しかし、2 回目および 3 回目の生物量は、投与後 1, 3, 7 日の糞で対照区よりも有意に減少した. 4 回目の生物量は、投与後 1 日の糞のみ対照区よりも有意に増加したが ( $Z = 14.5, P < 0.001$ ), 投与後 7 日の糞では有意に減少した ( $Z = -13.5, P < 0.001$ ). 2018 年において、1 回目の生物量は、投与後 1, 7 日の糞で対照区よりも有意に減少した ( $Z = -4.3, P < 0.001$ ;  $Z = -18.6, P < 0.001$ ). 2 回目の生物量は、投与後 3, 7 日の糞で対照区よりも有意に減少した ( $Z = -12.9, P < 0.001$ ;  $Z = -15.2, P < 0.001$ ). 3 回目では、1 回目と同様に投与後 1, 7 日の糞で有意に生物量が減少したが ( $Z = -11.8, P < 0.001$ ;  $Z = -25.9, P < 0.001$ ), 投与後 3 日の糞では有意に増加した ( $Z = 8.5, P < 0.001$ ). 4 回目でも投与後 1, 7 日の糞で生物量が有意に減少したが ( $Z = -7.5, P < 0.001$ ;  $Z = -6.1, P < 0.001$ ), 投与後 3 日の糞では有意に増加した ( $Z = 19.9, P < 0.001$ ).

## 2. イベルメクチンの残留糞が糞分解に及ぼす影響

野外に約 2 週間放置した各イベルメクチン投与区および対照区の糞の分解率の結果を図 4-5 (2017 年) および図 4-6 (2018 年) に示した。2017 年において、糞分解率は、1 回目 (8 月上旬) の投与後 1 日および 7 日の糞で対照区と有意差はなかったが、投与後 3 日の糞でのみ有意に増加した ( $Z=4.1, P<0.001$ )。その後の 2 回目 (8 月下旬) における糞分解率は、対照区とすべての投与区の間には有意差はなかったが、3 回目 (9 月上旬) では投与後 1 日、7 日の糞で対照区よりも有意に増加した ( $Z=3.7, P<0.01$ ;  $Z=3.1, P<0.05$ )。2018 年において、1 回目 (8 月中旬) では投与後 1、7 日の糞と対照区の糞で糞分解率に有意差はなかったが、投与後 3 日の糞のみで分解率が対照区よりも有意に増加した ( $Z=2.9, P<0.05$ )。2 回目 (8 月下旬) では、投与後 1 日の糞のみで糞分解率が対照区の糞よりも有意に増加したが ( $Z=3.6, P<0.01$ )、投与後 3、7 日の糞では対照区と有意な差はなかった。3 回目 (9 月中旬) では、投与後 1、7 日の糞分解率は対照区と有意な差はなかったが、投与後 3 日の糞でのみ分解率が有意に増加した ( $Z=3.1, P<0.05$ )。

## 考察

Wardhaugh & Mahon (1991) は、オーストラリア南東部 (3~5 月) において、*Onthophagus australis* Guerin-Ménéville がアベルメクチン皮下注射投与後 3 および 25 日の糞で多く誘引され、*O. pexatus* Harold は投与後 25 日の糞で多く誘引されたことを報告した。ジンバブエでの調査においては、イベルメクチン残留糞で *Euoniticellus intermedius* Reiche と *Liatongus militaris* Castelnau の誘引性が増加した (Holter et al., 1993)。山下ら (2004) は、イベルメクチン残留糞によってオビマグソコガネ (*Aphodius uniplagiatus* Waterhouse)、フチケマグソコガネ (*A. urostigma* Harold)、オオマグソコガネ (*A. quadratus* Reiche)、コマグソコガネ (*A. pusillus* Herbst)、ウスグロマグソコガネ (*A. comatus* Ad. Schmidt)、スジマグソコガネ (*A. rugosostriatus* Waterhouse)、ツノコガネの 7 種の誘引個体数が増加したと報告している。Dadour et al. (1999) は、*O. taurus*

Schreber による野外での糞分解は、イベルメクチン投与後 7, 10 日の糞で減少し、この糞虫種は駆虫剤非投与の牛糞よりもイベルメクチン残留糞で誘引性が低くなる可能性を示した。本研究のマグソコガネ、マエカドコエンマコガネ、クロマルエンマコガネ、ツノコガネの誘引個体数がイベルメクチン残留糞において 7 月中旬に増加傾向であったが、その後 8 月～9 月では減少、もしくは変化がなかった。一方オオセンチコガネでは、8 月下旬から誘引個体数が増加し、8 月下旬～9 月中旬においてイベルメクチン残留糞で誘引個体数が増加する傾向がみられた。一般的に、マグソコガネ属 (*Aphodius*)、エンマコガネ属 (*Onthophagus*) などをはじめとした中型～小型糞虫種は、春～初夏にかけて繁殖行動をし、その 1～2 か月後の真夏は幼虫・蛹で過ごし、秋に新成虫が出現する (益本, 1973)。センチコガネ科などの大型糞虫種は、秋頃に繁殖活動が盛んになり、新成虫も同時に出現する。これらのことから、イベルメクチン残留糞による糞虫類の誘引性への影響は、季節や成虫の成熟度合、または繁殖期の違いなどによって大きく異なる可能性が示唆された。

Floate (1998) は、イベルメクチンのポアオン法投与後の残留糞が野外において 340 日間分解されなかったと報告し、これは昆虫の糞分解活動の減少に関連すると推測している。また、牛糞内に残留したイベルメクチン成分は、野外において最大 45 日間持続し、皮下注射投与後 1, 2 日の糞、ポアオン法投与後 1～14 日の糞でそれぞれ糞の分解が遅延した (Sommer et al., 1992)。しかし一方で、イベルメクチン投与後 3 日の糞はほとんど分解され、残渣の乾燥重量も対照区のものよりも有意に減少したという報告がある (Wardhaugh & Mahon, 1991)。また、Suarez et al. (2003) は、野外に設置したイベルメクチンの皮下注射投与後 3, 7, 16, 29 日の糞において、糞分解および糞虫による糞埋没量の投与区間における差はなかったことを報告した。さらに、Sommer et al. (1993) の報告においても同様に、イベルメクチン皮下注射投与後 2, 8, 16 日の糞において、糞虫による糞の埋没量に差はみられなかった。本研究におけるイベルメクチン残留糞の分解が 8 月～9 月で促進される傾向は、Wardhaugh & Mahon (1991) の結果と類似した。これは、上記で述べたオオセンチコガネの誘引性が増加した時期と一致しており、大型種であるオオセンチが対照区よ

りも多く投与区に誘引され、糞の摂食および繁殖行動によって分解を促進した可能性が考えられる。よって、イベルメクチンの残留が糞分解に及ぼす影響については、明確な傾向がみられなかったが、イベルメクチン残留による糞分解は、年、季節や糞虫相などによって異なる可能性が考えられる。Iwasa et al. (2007) は、マエカドコエンマコガネやツノコガネの誘引個体数がイベルメクチン残留糞で多くなり、糞球形成数も増加したことを報告した。また、本研究のシナノエンマコガネとカドマルエンマコガネにおいても、イベルメクチン投与後 1 日の糞で有意に糞球形成数が増加したことから (第 1 章)、誘引性だけでなく糞虫の繁殖行動の活発化や、滞在時間に伴う選好性の増加がイベルメクチン残留糞の分解・埋没の促進に関連している可能性が示唆された。

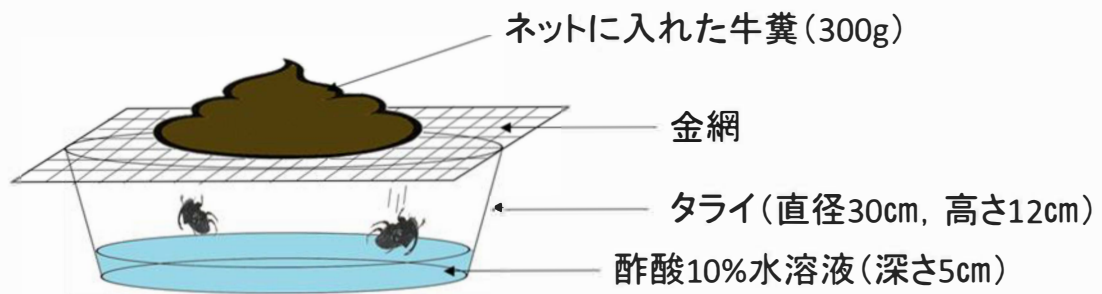


図 4-1. 牛糞トラップ (誘引用)

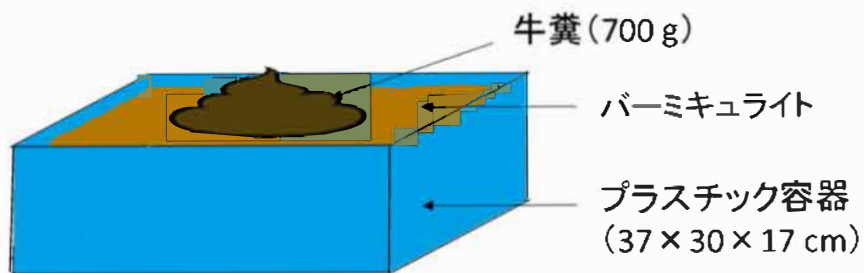


図 4-2. 牛糞トラップ (糞分解用)



表 4-1. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2017 年 1 回目:7 月中旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	7.7 ± 11.6 <sup>a</sup>	28.0 ± 1.0 <sup>b</sup>	13.3 ± 9.5 <sup>a</sup>	8.0 ± 5.2 <sup>a</sup>
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	6.7 ± 6.5 <sup>a</sup>	16 ± 1.0 <sup>b</sup>	20.7 ± 10.4 <sup>c</sup>	11 ± 1.0 <sup>abc</sup>
ツノコガネ	2.0 ± 2.0 <sup>a</sup>	5.7 ± 2.9 <sup>ac</sup>	6.7 ± 4.2 <sup>bc</sup>	4.0 ± 2.0 <sup>ac</sup>
シナノエンマコガネ	3.3 ± 4.9 <sup>ac</sup>	5.0 ± 3.0 <sup>a</sup>	0	0.3 ± 0.6 <sup>bc</sup>
クロマルエンマコガネ	0.7 ± 1.2 <sup>a</sup>	3.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	2.0 ± 3.5 <sup>a</sup>	1.0 ± 1.7 <sup>a</sup>
ダイコクコガネ	0	0	0.7 ± 1.2	0
ゴホンダイコクコガネ	0	0.3 ± 0.6	0	0
オオセンチコガネ	0	0.7 ± 0.6	0	0
センチコガネ	0.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	0	0

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

表 4-2. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2017 年 2 回目:8 月上旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	0.3 ± 0.6	0	0	0
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	10.0 ± 3.5 <sup>a</sup>	7.7 ± 2.3 <sup>ab</sup>	4.0 ± 2.7 <sup>b</sup>	7.0 ± 7.9 <sup>ab</sup>
ツノコガネ	40.3 ± 25.8 <sup>a</sup>	12.7 ± 7.6 <sup>bc</sup>	17 ± 10.6 <sup>b</sup>	6.7 ± 3.5 <sup>c</sup>
シナノエンマコガネ	3.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	4.3 ± 4.2 <sup>a</sup>	0	1.3 ± 1.5 <sup>a</sup>
クロマルエンマコガネ	1.0 ± 1.0	1.3 ± 1.5	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6
ダイコクコガネ	0	0	0	0
ゴホンダイコクコガネ	0	0.3 ± 0.6	0	0
オオセンチコガネ	0	0.6 ± 0.6	1.0 ± 1.7	0.3 ± 0.6
センチコガネ	4.7 ± 2.5 <sup>a</sup>	4.3 ± 3.5 <sup>a</sup>	3.0 ± 4.4 <sup>a</sup>	3.7 ± 5.5 <sup>a</sup>

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

表 4-3. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2017 年 3 回目:8 月中旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	0	0	0	0
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	16.3 ± 7.1 <sup>a</sup>	8.3 ± 2.5 <sup>b</sup>	4.0 ± 4.0 <sup>b</sup>	12.7 ± 4.7 <sup>a</sup>
ツノコガネ	33.7 ± 22.1 <sup>a</sup>	15.3 ± 7.8 <sup>b</sup>	13.0 ± 9.2 <sup>b</sup>	13.0 ± 5.3 <sup>b</sup>
シナノエンマコガネ	11.0 <sup>a</sup>	3.3 ± 5.8 <sup>ab</sup>	3.3 ± 3.2 <sup>b</sup>	9.0 ± 5.6 <sup>a</sup>
クロマルエンマコガネ	3.3 ± 2.3 <sup>a</sup>	2.3 ± 2.3 <sup>a</sup>	1.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	2.6 ± 3.8 <sup>a</sup>
ダイコクコガネ	0	0	0	0
ゴホンダイコクコガネ	0.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.6 <sup>a</sup>
オオセンチコガネ	1.7 ± 1.5 <sup>a</sup>	1.7 ± 2.1 <sup>a</sup>	4.3 ± 4.5 <sup>a</sup>	2.0 ± 2.0 <sup>a</sup>
センチコガネ	6.3 ± 8.4 <sup>a</sup>	4.3 ± 4.2 <sup>a</sup>	4.0 ± 4.6 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.6 <sup>b</sup>

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

表 4-4. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2017 年 4 回目:8 月下旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	0	0	0	0
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	6.0 ± 3.5 <sup>a</sup>	3.3 ± 4.2 <sup>a</sup>	2.7 ± 2.5 <sup>a</sup>	4.3 ± 4.5 <sup>a</sup>
ツノコガネ	34.3 ± 18.9 <sup>a</sup>	30.0 ± 6.0 <sup>a</sup>	34.7 ± 12.6 <sup>a</sup>	23.3 ± 4.1 <sup>a</sup>
シナノエンマコガネ	2.0 ± 1.7 <sup>a</sup>	1.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	1.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	3.6 ± 2.5 <sup>a</sup>
クロマルエンマコガネ	1.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	3.0 ± 3.6 <sup>a</sup>	1.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	2.3 ± 2.3 <sup>a</sup>
ダイコクコガネ	0	0	0	0
ゴホンダイコクコガネ	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6	0	0.7 ± 0.6
オオセンチコガネ	3.0 ± 2.7 <sup>a</sup>	8.0 ± 7.6 <sup>a</sup>	5.7 ± 4.6 <sup>a</sup>	3.7 ± 3.2 <sup>a</sup>
センチコガネ	3.7 ± 4.7 <sup>a</sup>	4.7 ± 6.4 <sup>a</sup>	2.0 ± 2.7 <sup>a</sup>	3.0 ± 3.0 <sup>a</sup>

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

表 4-5. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2018 年 1 回目:7 月中旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	1.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 1.7 <sup>a</sup>	1.7 ± 1.5 <sup>a</sup>	1.0 ± 1.0 <sup>a</sup>
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	12.7 ± 12.5 <sup>a</sup>	5.0 ± 3.0 <sup>b</sup>	20.0 ± 8.9 <sup>a</sup>	6.7 ± 6.4 <sup>b</sup>
ツノコガネ	10.0 ± 9.6 <sup>b</sup>	24.7 ± 16.9 <sup>a</sup>	7.0 ± 6.0 <sup>b</sup>	7.3 ± 6.7 <sup>b</sup>
シナノエンマコガネ	0	0	1.0 ± 1.7	0.3 ± 0.6
クロマルエンマコガネ	3.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	1.3 ± 1.5 <sup>ab</sup>	6.7 ± 3.8 <sup>ab</sup>	3.7 ± 2.5 <sup>a</sup>
ダイコクコガネ	0	0	0	0
ゴホンダイコクコガネ	0	0	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6
オオセンチコガネ	3.0 ± 2.7 <sup>a</sup>	0.7 ± 1.2 <sup>a</sup>	2.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	1.7 ± 1.5 <sup>a</sup>
センチコガネ	1.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	0.7 ± 1.2 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.7 ± 1.2 <sup>a</sup>

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

表 4-6. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2018 年 2 回目:7 月下旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	2.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	3.0 ± 2.7 <sup>a</sup>	1.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.6 <sup>a</sup>
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	11.3 ± 7.5 <sup>a</sup>	14.0 ± 8.7 <sup>a</sup>	15.3 ± 5.5 <sup>a</sup>	11.0 ± 2.7 <sup>a</sup>
ツノコガネ	13.3 ± 4.7 <sup>a</sup>	18.0 ± 6.6 <sup>a</sup>	9.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	6.3 ± 0.6 <sup>b</sup>
シナノエンマコガネ	0.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	3.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 1.0 <sup>a</sup>
クロマルエンマコガネ	0.3 ± 0.6	0	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6
ダイコクコガネ	0	0	0	0
ゴホンダイコクコガネ	0	0	0	0
オオセンチコガネ	0.7 ± 1.2	0	0	0.7 ± 1.2
センチコガネ	1.0 ± 1.0	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

表 4-7. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2018 年 3 回目:8 月下旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	0	0	0	0
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	23.0 ± 16.5 <sup>a</sup>	8.0 ± 1.0 <sup>b</sup>	16.7 ± 15.6 <sup>a</sup>	3.7 ± 3.2 <sup>b</sup>
ツノコガネ	20.3 ± 16.4 <sup>a</sup>	19.0 ± 6.1 <sup>a</sup>	28.3 ± 17.4 <sup>a</sup>	14.7 ± 9.6 <sup>b</sup>
シナノエンマコガネ	11.3 ± 4.7 <sup>a</sup>	3.0 ± 1.0 <sup>b</sup>	11.0 ± 6.2 <sup>a</sup>	0.7 ± 1.2 <sup>b</sup>
クロマルエンマコガネ	4.0 ± 1.0 <sup>a</sup>	1.0 ± 1.7 <sup>b</sup>	3.3 ± 5.8 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.6 <sup>b</sup>
ダイコクコガネ	0	0	0	0
ゴホンダイコクコガネ	0	0	0	0
オオセンチコガネ	0.3 ± 0.6	0.7 ± 1.2	0.7 ± 0.6	0.3 ± 0.6
センチコガネ	0.3 ± 0.6	0	0	0

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法:  $P < 0.05$ )

表 4-8. イベルメクチン残留糞および対照区の糞に誘引された糞虫類の個体数(2018 年 4 回目:9 月中旬)

種名	対照区	イベルメクチン投与後日数		
		1 日	3 日	7 日
マグソコガネ	0	0	0	0
オオマグソコガネ	0	0	0	0
マエカドコエンマコガネ	3.0 ± 3.0	1.0	3.3 ± 2.1	0
ツノコガネ	4.0 ± 4.6 <sup>a</sup>	1.7 ± 2.1 <sup>ab</sup>	7.7 ± 4.1 <sup>ac</sup>	1.7 ± 0.6 <sup>ab</sup>
シナノエンマコガネ	1.0 ± 1.7	2.3 ± 4.1	0.7 ± 1.2	0
クロマルエンマコガネ	8.3 ± 2.3 <sup>a</sup>	4.3 ± 3.8 <sup>a</sup>	9.3 ± 5.1 <sup>ab</sup>	3.3 ± 1.5 <sup>ac</sup>
ダイコクコガネ	0	0.3 ± 0.6	0	0
ゴホンダイコクコガネ	2.0 ± 2.6 <sup>a</sup>	1.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	1.3 ± 1.2 <sup>a</sup>	1.7 ± 2.1 <sup>a</sup>
オオセンチコガネ	1.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	2.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	4.3 ± 3.8 <sup>a</sup>	1.7 ± 1.5 <sup>a</sup>
センチコガネ	1.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6	1.0 ± 1.0	0.7 ± 1.2

各値は 3 反復の平均値 (mean ± SD) を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す (GLMM, Tukey 法 :  $P < 0.05$ )



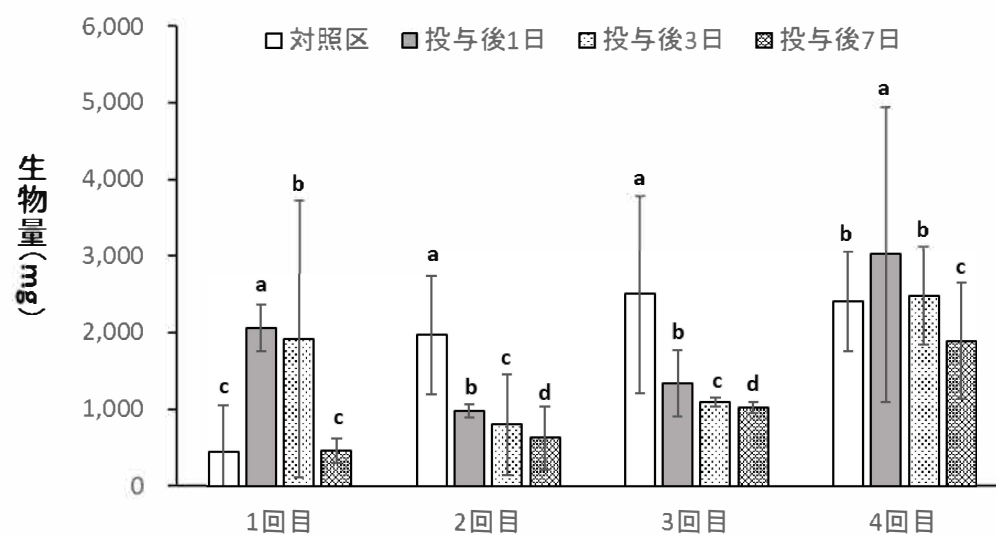


図 4-3. 対照区及び各イベルメクチン投与区（2017 年）の牛糞に誘引された糞虫類の平均生物量（乾燥，mg）

各値は 3 反復の平均値（mean ± SD）を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

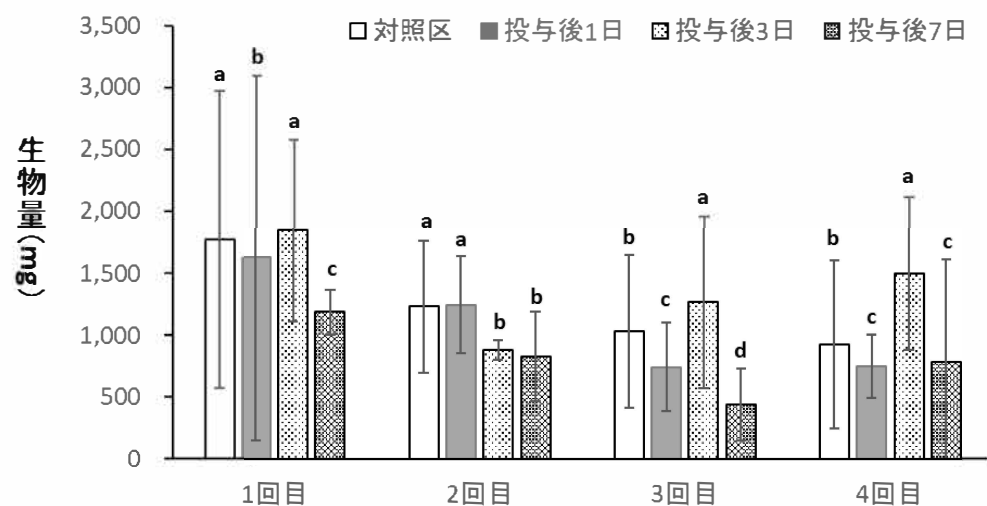


図 4-4. 対照区及び各イベルメクチン投与区（2018 年）の牛糞に誘引された糞虫類の生物量（乾燥，mg）

各値は 3 反復の平均値（mean ± SD）を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

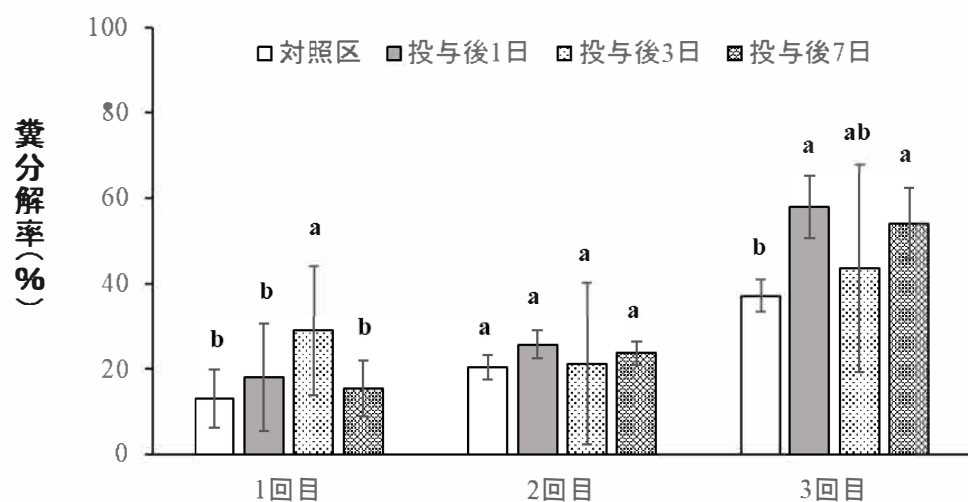


図 4-5. 対照区及び各イベルメクチン投与区（2017 年）の牛糞における糞分解率

各値は 3 反復の平均値（mean ± SD）を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

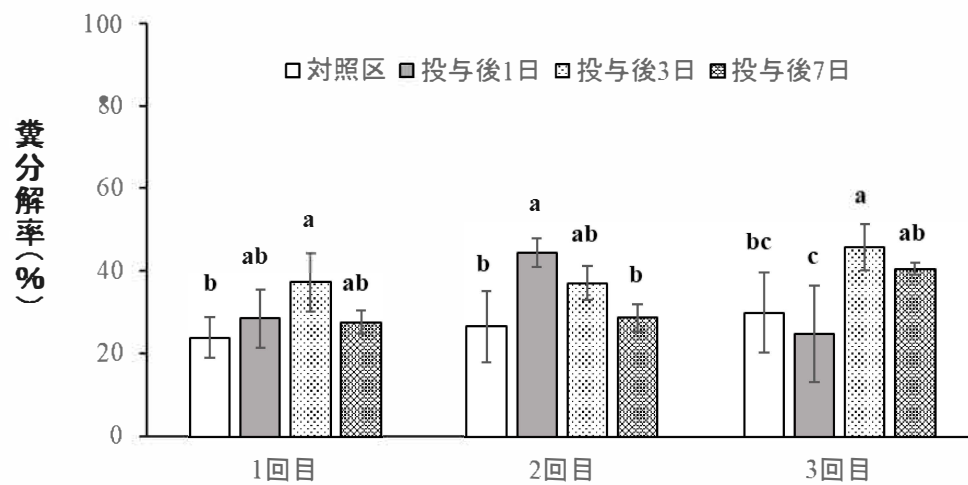


図 4-6. 対照区及び各イベルメクチン投与区（2018 年）の牛糞における糞分解率

各値は 3 反復の平均値（mean ± SD）を表す

異文字間は各投与区間の有意差を表す（GLMM, Tukey 法： $P < 0.05$ ）

## 総合考察

牛用駆虫剤の投与後に牛糞へ排泄された残留濃度推移を調べた先行研究において、イベルメクチンでは、ポアオン法による投与後 1～3 日に最高濃度となり (0.11～0.56 ppm), その後も投与後 14～28 日まで残留し続けた (Sommer et al., 1992; 山下ら, 2004; Iwasa et al., 2005a,b, 2007). エプリノメクチンでは、ポアオン法投与後 2～3 日で最高濃度となり (0.35～0.56 ppm), その後は投与後 7～29 日まで残留し続けた (Lumaret et al., 2005; Iwasa & Sugitani, 2014). モキシデクチンでは、ポアオン法投与後 3 日に最高濃度となり (0.2～0.95 ppm), その後は投与後 14～21 日まで残留し続けた (Zulalian et al., 1994; Iwasa et al., 2008). 本研究において、イベルメクチンでは投与後 1～3 日に最高残留濃度 (0.21～0.36 ppm) となり、先行研究の結果とほぼ一致したが、検出限界値以下の濃度を下回るまで投与後 3～7 日となり、先行研究より短くなった。また、エプリノメクチンでは投与後 1 日で最高残留濃度 (1.4～1.5 ppm) で排泄され、先行研究の 2.5～4 倍となり、ピーク出現期も 1～2 日早かった。これらのことから、投与後の残留期間においては 3 種の駆虫剤とも最低 1～2 週間は残留し続け、イベルメクチンの最高濃度 (0.11～0.56 ppm) に対しエプリノメクチン (0.35～1.5 ppm) およびモキシデクチン (0.2～0.95 ppm) の最高濃度は、その変動がイベルメクチンに比べ大きい可能性が考えられる。

Floate et al. (2002, 2005) は、糞食性昆虫に対する 4 つの MLs 駆虫剤 (ドラメクチン, イベルメクチン, エプリノメクチン, モキシデクチン) を比較し、影響を受けた種数とその影響期間から毒性の高い順に、ドラメクチン>イベルメクチン>エプリノメクチン>モキシデクチンと順序付けした。しかし、本研究における糞虫の成虫では、エンマコガネ属およびツノコガネ属の中型～小型種は、イベルメクチンよりもエプリノメクチンの方でより大きな影響を受け、Floate et al. (2002, 2005) の結果とは異った。これは、先述した糞内の残留濃度の変動に起因していると推測され、残留濃度の違いによってこの毒性順序に当てはまらない糞虫種が多く存在する可能性があると思われる。そのため、駆虫剤の種類

ごとにその残留濃度推移も考慮して慎重に毒性を評価していく必要がある。

MLs 駆虫剤の残留が糞虫の幼虫に及ぼす影響について、イベルメクチンおよびエプリノメクチンは、マエカドコエンマコガネの羽化率をそれぞれ投与後 7 日 (Iwasa et al., 2007), 投与後 3 日 (Iwasa & Sugitani, 2014) まで低下させたのに対し、モキシデクチンでは投与後 1, 3, 7, 14 日の糞で幼虫への影響はみられなかった (Iwasa et al., 2008)。この駆虫剤同士の影響比較は、上記の毒性順序 (Floate et al., 2002, 2005) に一致したが、本研究におけるシナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネ、ダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネでは、影響を受けた投与後日数は、イベルメクチンとエプリノメクチンで明確な差はほとんどなかった。本研究のイベルメクチンとエプリノメクチンは最高残留濃度に大きな差はあったものの、残留期間においてはどちらも投与後 7 日までだったため、幼虫に影響を及ぼす投与後期間は両駆虫剤で類似すると考えられる。以上のことから、MLs 駆虫剤が糞虫類に示す毒性は、投与後の残留濃度と期間、そして生育段階（成虫と幼虫）によって大きく異なるため、それぞれの項目において駆虫剤の毒性を比較することが重要と思われる。

駆虫剤残留の影響評価は、主に飼育実験による生存、繁殖への影響を評価した例が多く、その要因となる生理学的メカニズムを調査している例は少ない。Strong (1993) は、アベルメクチン駆虫剤の残留が成虫の生存に対して水分バランスの損失、摂食阻害、体脂肪率の減少、また繁殖に対しては卵巣発育の遅延、繁殖率の低下、交尾障害など幅広く影響を及ぼす可能性を指摘した。実際に、イベルメクチンの直接添加糞は、*E. intermedius* のメスの卵巣の卵黄合成の停止、体脂肪の減少を引き起こした (Martínez et al., 2016)。本研究のダイコクコガネ属の次世代は、3 種ともイベルメクチンとエプリノメクチン両方の駆虫剤残留糞で形成された糞球内で、卵もしくは初齢幼虫と発生初期段階ですべて死亡したことから、駆虫剤成分による交尾障害、卵巣の未発達による卵の正常発生が阻害された可能性が推測される。また、Sommer & Nielsen (1992) は、*O. gazella* の孵化後間もない幼虫が糞球内のイベルメクチン残留物を経皮吸収したため幼虫の死亡率が増加したと推測している。ダイコクコガネ属糞虫種の卵は大きいため表面積も広く、そのため卵皮もしくは幼虫の皮膚が

らより多くの駆虫剤成分が吸収された可能性も考えられる。

本研究により、一部の糞虫種においてイベルメクチンの残留がその誘引性を増加させ、さらにそれは季節によっても変動する可能性が示唆された。一般的に、牛用駆虫剤は春～夏（5月～7月）に投与することが多く、この時期に繁殖活動で活発になるマグソコガネ、コエンマコガネ、ツノコガネなどの中型～小型糞虫種は誘引性に大きく影響を受ける可能性が考えられる。一部の糞虫種の糞に対する誘引性や選好性がイベルメクチンによって増加され、一時的に糞の分解が促進されるかもしれないが、イベルメクチンが糞虫の次世代幼虫の羽化率に及ぼす影響の結果（第1章）を考慮すると、その次世代の個体数を減少させる恐れがある。一方で、エプリノメクチンにおける糞虫の誘引性や糞分解に及ぼす影響についての知見は極めて不足している。Floate (2007)は、イベルメクチン残留糞が糞虫類に対して強い誘引効果を持つ一方で、エプリノメクチン残留糞は一部の糞虫種に対して忌避効果を持つ可能性があると報告した。第2章より、本研究の飼育実験においても、ダイコクコガネ、ゴホンダイコクコガネ、シナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネ、ツノコガネすべての種において摂食活動が抑制され、ほとんどの糞が分解されなかった。エプリノメクチンは、イベルメクチンよりも高い濃度で糞に残留する傾向があるが、それによって糞の選好性や糞分解率を増加させる可能性は低いと考えられる。また、糞虫の中でも特にダイコクコガネ属とエンマコガネ属の糞虫種は、1日当たりの糞の埋め込み量が多く、分解能力が極めて高いことが知られている (Bang et al., 2005)。そのため、エプリノメクチンによるこれらの糞虫の摂食および繁殖活動（糞埋め込み活動）の抑制が、放牧地における糞の分解・消失に大きな悪影響を及ぼす可能性が高い。今後は、エプリノメクチンの残留濃度の高さに着目し、野外における誘引性（選好性）、糞分解への影響を詳細に明らかにし、糞虫の摂食、糞分解活動に及ぼす影響の大きさをイベルメクチンの場合と比較していく必要がある。

イベルメクチンをはじめとした家畜用駆虫剤の糞虫類に対する影響評価は、世界的に見ても対象種は中～小型の普通種に集中しており (Floate et al., 2005)、絶滅に瀕している希少種における調査例は極めて少ない。本研究では、日本の各都道府県で希少種、もしくは絶

滅危惧種に指定されているダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネ、ゴホンダイコクコガネ、シナノエンマコガネ、ツノコガネを含む 4 属 7 種の糞虫におけるイベルメクチンまたはエプリノメクチンの影響評価を行った。その結果、生育段階や分類群だけでなく、体サイズによっても駆虫剤残留の影響は異なり、特に大型であるダイコクコガネ属の糞虫種は成虫・幼虫ともに他の中型～小型種よりも極めて高い薬剤感受性を持つことが明らかとなった。

McCracken (1993) は、再繁殖能力の低いダイコクコガネ属やエンマコガネ属のような希少糞虫種はアベルメクチンの残留汚染による危険に曝されやすいと述べている。しかも、ダイコクコガネ属の糞虫は、エンマコガネ属などの中型～小型種よりも一生での産卵数が極めて少なく（ダイコクコガネ属：2～10 個/1 メス，エンマコガネ属：約 100 個以上/1 メス），また成虫は雌雄で糞球の世話と巣穴の防御を行い、長期間巣穴に留まるため、その生存および繁殖に対する残留駆虫剤の影響は特に大きくなると予想される。このような希少種の繁殖期におけるイベルメクチンやエプリノメクチンの高頻度な投与は、その個体群への影響が他の普通種に比べて大きくなる可能性がある。今後、日本におけるエプリノメクチンの使用が拡大し、イベルメクチンと同様に価格の安い後発品が流通すれば、放牧地における汚染の広がりも懸念される。駆除対象外昆虫への影響がより小さい駆虫剤の選択や、希少種の繁殖期を避けた投与時期の検討など、放牧生態系への悪影響を未然に防いでいく対策が必要と思われる。そのためには、さらに未調査糞虫種の調査を進めるとともに、駆虫剤残留が放牧環境に及ぼす影響評価を確かなものにする必要がある。



## 謝 辞

本研究を博士論文のテーマとしてくださり、5年間にわたり基礎的な事柄から実験操作まで日々直接変わらぬ懇切なる御指導、御助言をくださりました帯広畜産大学の岩佐光啓名誉教授に厚く御礼申し上げます。また、様々な御指導をしてくださいました、同大学の押田龍夫教授、熊野了州准教授、弘前大学の中村剛之准教授、岩手大学の東淳樹講師に深く感謝申し上げます。

フィールド調査においては、供試牛への駆虫剤投与、サンプル採取に多大なる御協力を頂きました、八千代公共育成牧場の三原様、長尾様をはじめ関係者の方々に深く感謝いたします。また、供試虫の採集やフィールド調査に関して御協力を頂きました、中村牧場の中村様、大野牧場の長谷川様、大田原市農政課の新井様に感謝いたします。

供試虫の採集においては、協力して頂いた帯広畜産大学大学院畜産生命科学専攻修了の中谷郁也氏、また同大学環境生態ユニット環境昆虫学研究室卒業の新畑結香氏、坂本楓夏氏に深く感謝するとともに、同研究室の大学院生、学生から多くの協力、助言を頂いたことを心から感謝いたします。最後に、5年間の長きにわたる学生生活を遠方の栃木県から支え続け、不自由なく大学院に通わせてくれた両親、祖父母に心から感謝いたします。

## 要約

牛用駆虫剤イベルメクチンとエプリノメクチンが、糞食性コガネムシ類（コガネムシ科，センチコガネ科）の誘引性，生存，繁殖および摂食活動に及ぼす影響を調査した結果，下記に記す知見が得られた．

1. イベルメクチン投与後に排泄された牛糞内の残留濃度は，投与後 1 日もしくは 3 日目に最大（0.21～0.36 ppm）となり，その後減少し，投与後 7 日もしくは 14 日目には検出限界値（0.05 ppm）以下となった．エンマコガネ属であるシナノエンマコガネ，カドマルエンマコガネの成虫生存は，イベルメクチン残留糞において影響を受けなかったが，シナノエンマコガネの糞球形成数は，投与後 3, 7 日の糞において対照区よりも有意に減少した．また，これら 2 種の次世代幼虫の羽化率は，それぞれ投与後 3 日，7 日まで対照区よりも有意に低下した．一方，ダイコクコガネ属であるダイコクコガネ，ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの成虫生存率と糞球形成数は，3 種とも投与後 3 日の糞で対照区よりも有意に減少した．また，これらの次世代幼虫の死亡率は，ダイコクコガネとミヤマダイコクコガネでは投与後 14 日，ゴホンダイコクコガネでは投与後 7 日までの糞で著しく増加し，それらの死亡個体は全て卵もしくは初齢幼虫の発生初期段階であった．よって，ダイコクコガネ属の糞虫種は成虫，幼虫ともに，エンマコガネ属のような中型種よりも薬剤感受性が高い可能性が示唆された．センチコガネ属であるオオセンチコガネの成虫生存と産卵数は，最高残留濃度であった投与後 3 日（0.24 ppm）の糞でも影響はみられず，また育児用の糞塊内の幼虫生存率も対照区と投与区の間で有意な差はみられなかった．

2. エプリノメクチン投与後に排泄された牛糞内の残留濃度は，投与後 1 日目にイベルメクチンの 4～7 倍の濃度となる最高濃度（1.4～1.5 ppm）となり，その後は急速に減少し，投与後 14 日目には検出限界値以下となった．シナノエンマコガネ，カドマルエンマコガネおよびツノコガネの成虫生存率と糞球形成数は，3 種とも投与後 1, 3 日の糞で有意に減少し

た。これらの次世代幼虫の死亡率は、シナノエンマコガネでは投与後 3 日、カドマルエンマコガネとツノコガネでは投与後 7 日まで対照区よりも有意に増加した。よって、エプリノメクチンの高濃度の残留は、エンマコガネ属、ツノコガネ属のような中型～小型糞虫種においても、成虫の生存、産卵数に影響を及ぼす可能性が示唆された。ダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの成虫生存率と糞球形成数は、それぞれ投与後 3 日、投与後 7 日まで対照区よりも有意に減少した。これらの次世代幼虫は、イベルメクチンと同様に、ダイコクコガネでは投与後 14 日、ゴホンダイコクコガネでは投与後 7 日までの糞ですべて発生初期段階で死亡した。

3. イベルメクチン残留糞は、シナノエンマコガネ、カドマルエンマコガネおよびオオセンチコガネの摂食活動に影響を及ぼさなかった。一方、ダイコクコガネ、ミヤマダイコクコガネおよびゴホンダイコクコガネの摂食活動は、イベルメクチン投与後 3 日の糞で対照区よりも有意に抑制された。エプリノメクチン残留糞において、シナノエンマコガネとカドマルエンマコガネの摂食活動は、投与後 1, 3 日の糞で対照区よりも有意に抑制され、ツノコガネの摂食活動は投与後 1 日の糞で抑制された。また、ダイコクコガネとゴホンダイコクコガネの摂食活動は、それぞれエプリノメクチン投与後 3 日、投与後 1, 3, 7 日の糞で対照区よりも有意に抑制された。

4. イベルメクチン残留糞の糞虫類に対する誘引性に関する野外実験において、7 月中旬（夏季）におけるマグソコガネ、マエカドコエンマコガネおよびツノコガネの誘引個体数は、投与後 1 日もしくは 3 日の糞で対照区よりも有意に増加した。しかし、7 月下旬～9 月中旬（晩夏～秋）におけるマエカドコエンマコガネおよびツノコガネの誘引個体数は、残留糞で有意に減少、もしくは対照区と有意差はなかった。8 月下旬～9 月中旬（秋）におけるオオセンチコガネの誘引個体数は、イベルメクチン残留糞で対照区の 1.9～3.6 倍であったが、投与区と対照区の間で有意差はみられなかった。2017 年におけるイベルメクチン残留糞の

分解率は、8月上旬（夏）における投与後3日の糞で対照区よりも有意に増加したが、8月下旬（初秋）では対照区と投与後1, 3, 7日の糞で有意差はなかった。しかし、その後9月上旬（秋）においては、投与後1, 7日の糞の分解率は対照区よりも有意に増加した。2018年における投与後1日もしくは3日の糞の分解率は、8月中旬～9月上旬で有意に増加した。イベルメクチン残留糞が糞虫の誘引性と糞分解に及ぼす影響は、年、季節、糞虫種などによって異なり、駆虫剤以外の要因も関係している可能性が示唆された。

## Summary

Effects of the veterinary drugs, ivermectin and eprinomectin on the dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Geotrupidae), were investigated by pour-on administrations in the laboratory and field experiments in Hokkaido, Japan.

- 1) Ivermectin residues attained maximal concentration at 1 or 3 days post-treatment, and they were detected until 7 or 14 days post-treatment in dung from treated cattle. In the laboratory experiments of *Onthophagus bivertex* Heyden and *Onthophagus lenzii* Harold, there were no significant differences in adult survival rates in dung from treated and the control cattle, but the numbers of brood balls of *O. bivertex* constructed in dung at 3 and 7 days post-treatment were significantly lower than those of control dung. The adult emergence rates of *O. bivertex* and *O. lenzii* were significantly reduced in dung at 1 to 3 and 1 to 7 days post-treatment, respectively. In *Copris ochus* Motschulsky, *Copris pecuarius* Lewis and *Copris acutidens* Motschulsky, adult survival rates and the numbers of brood balls constructed were significantly reduced in dung at 3 days post-treatment. The adult emergence rates (the larval survivals) of *C. ochus* and *C. pecuarius* were significantly reduced in dung up to 14 days post-treatment. In *C. acutidens*, the adult emergence rates were significantly reduced in dung at 3 and 7 days post-treatment. These death individuals of *Copris* within brood balls were confirmed to be the stages of egg or first instar. It was suggested that the adults and larvae of *Copris* has higher dung sensitivity than those of *Onthophagus*. In *Phelotrupes auratus* Motschulsky, there were no significant differences in the adult survivals, numbers of brood masses, larval survivals (until third instar) in dung from treated and the control cattle.
- 2) Eprinomectin residues attained maximal concentration at 1 day post-treatment,

followed by the marked declines at 3 and 7 days and they were not detected at 14 days or later after treatment. The adult survivals and the numbers of brood balls constructed of *O. bivertex*, *O. lenzii* and *Liatongus minutus* Motschulsky were significantly reduced in dung at 1 and 3 days post-treatment. The adult emergence rates of these species were declined until 3 or 7 days post-treatment. It was suggested that the adult survivals and reproductions of small-medium sized beetles, such as *Onthophagus* and *Liatongus* were affected by higher concentration of eprinomectin than ivermectin. The adult survivals of *C. ochus* and *C. acutidens* were significantly reduced in dung at 3 and 1–3 days post-treatment, respectively. The numbers of brood balls of these two species were reduced in dung up to 7 days post-treatments. The adult emergence rates were declined in dung at 7–14 days post-treatment

- 3) Dung from ivermectin-treated cattle had no effect on the feeding activities of *O. bivertex*, *O. lenzii* and *P. auratus*. Whereas, the feeding activities of *C. ochus*, *C. pecuarius* and *C. acutidens* were significantly suppressed in dung at 3 days after ivermectin treatments. Dung from eprinomectin-treated cattle inhibited the feeding activities of *O. bivertex* and *O. lenzii* in dung at 1–3 days post-treatment, and that of *L. minutus* in dung at 1 days post-treatment. In *C. ochus* and *C. acutidens*, the feeding activities were inhibited in dung at 3 days and at 1, 3, 7 days after eprinomectin treatment, respectively.
- 4) In the field experiment for attraction of dung beetles to dung from ivermectin-treated cattle, adults of *Aphodius rectus* Motschulsky, *Caccobius jessoensis* Harold and *L. minutus* were significantly attracted to dung at 1 or 3 days post-treatment in middle of July. However, the numbers of adult of *C. jessoensis* and *L. minutus* attracted to dung of treated cattle were significantly decreased, or were no significant differences compared to the control in late of July to middle of September. The numbers of adult

of *P. auratus* attracted to dung of treated cattle had a tendency to increase in late of Augst to middle of September, but there were stastically no significant differences between treatments and control. In 2017, the degradation rates of dung at 3 days post-treatment was significantly promoted in beginning of August, but were no significant differences in the rates between control and treatments in late of August. The degradation rates of dung at 1 and 7 days post-treatment were significantly higer than the controls in the beginning of September. In 2018, the decomposition rates in dung at 1 or 3 days post-treatment were significantly higher than those of control in middle of August to middle of September. It was suggested that the effects of ivermectin on attraction of dung beetles and dung degradation vary according to years, seasons and dung beetle species, and are related to the other factors except for ivermectin residues.

## 引用文献

- Bang, H. S., Lee, J. H., Kwon, O. S., Na, Y. E., Jang, Y. S. & Kim, W.H.,** (2005) Effects of paracoprid dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on the growth of pasture herbage and on the underlying soil. *Applied Soil Ecology* **29**, 165–171.
- Campbell, W. C., Fisher, M. H., Stapley, E. O., Albers-Schön-berg, G. & Jacob, T. A.** (1983) Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. *Science* **221**, 823–828.
- Cook, D. F., Dadour, I. R. & Ali, D. N.** (1996) Effect of diet on the excretion profile of ivermectin in cattle faeces. *International Journal of Parasitology* **26**, 291–295.
- Drummond, R. O.** (1985) Effectiveness of ivermectin for control of arthropod pests of livestock. *Southwestern Entomologist* **7**, 34–42.
- Dadour, I. R., D. F. Cook & C. Neesam** (1999) Dispersal of dung containing ivermectin in the field by *Onthophagus Taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Bulletin of Entomological Research* **89**, 119–123.
- Fincher, G. T.** (1992) Injectable ivermectin for cattle: Effects on some dung-inhabiting insects. *Environmental Entomology* **21**, 871–876.
- Finchr, G. T.** (1996) Ivermectin pour-on for cattle: effects on some dung-inhabiting insects. *Southwestern Entomologist* **21**, 445–450.
- Floate, K. D.** (1998) Off-target effects of ivermectin on insects and on degradation on southern Alberta, Canada. *Bulletin of Entomological Research* **88**, 25–35.
- Floate, K. D., Spooner, R. W. & Colwell, D. D.** (2001) Larvicidal activity of endectocides against pest flies in the dung of treated cattle. *Medical and Veterinary Entomology* **15**, 117–120.
- Floate, K. D., Colwell, D. D. & Fox, A. S.** (2002) Reduction of non-pest insects in dung of cattle treated with endectocides: a comparison of four products. *Bulletin of Entomological Research* **92**, 471–481.



- Floate, K. D., Wardhaugh, K. G., Boxall, A. B. A. & Scherratt, T. N.** (2005) Fecal residues of veterinary parasiticides: Nontarget effects in the pasture environment. *Annual Review of Entomology* **50**, 153–179.
- Floate, K.D.** (2006) Endectocide use in cattle and faecal residues: Environmental effects in Canada. *Canadian Journal of Veterinary Research* **70**, 1–10.
- Floate, K.D.** (2007) Endectocide residues affect insect attraction to dung from treated cattle: Implications for toxicity tests. *Medical and Veterinary Entomology* **21**, 312–322.
- Geary, G. & Moreno, Y.** (2012) Macrocyclic Lactone Anthelmintics: Spectrum of Activity and Mechanism of Action. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **13**, 866–872.
- Gokbulut, C., S., Naturali, D., Rufrano, A., Abastasio, H. S., Yalinkilinc & V., Veneziano** (2012) Plasma disposition and milk excretion of eprinomectin following pour-on administration in lactating donkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **36**, 302–305.
- Gregory, N., Gómez, A., T. M. F. de S. Oliveira & Nichols, E.** (2015) Big dung beetles dig deeper: trait-based consequences for faecal parasite transmission. *International Journal of Parasitology* **45**, 101–105
- Holter, P. & Sommer, C.** (1993) Effects of ivermectin treatment on the attraction of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae and Hydrophilidae) to cow. *Bulletin of Entomological Research* **83**, 53–58.
- Hori, S.** (2005) On inhabiting situation of the Japanese species of the scarabaeid genus *Copris* (Coleoptera, Scarabaeidae). *Konchu to Shizen [Insects and Nature]* **40**, 6–9 (in Japanese).
- Houlding, B., Ridsdill-Smith, T. J. & Bailey, W. J.** (1991) Injectable abamectin causes a delay in scarabaeinae dung beetle egg-laying in cattle dung. *Australian Veterinary Journal* **68**, 185–186.
- Iwasa, M., Maruo, T., Ueda, M. & Yamashita, N.** (2007) Adverse effects of ivermectin on the dung beetles, *Caccobius jessoensis* Harold, and rare species, *Copris ochus* Motschulsky and *Copris acutidens* Motschulsky (Coleoptera: Scarabaeidae), in Japan. *Bulletin of Entomological*

*Research* **97**, 619–625.

**Iwasa, M., Maruyama, M., Nakamura, N., Yamashita, N. & Watanabe, A.** (2005a) Effects of ivermectin on target and non-target dung-breeding flies (Diptera) in cattle dung pats. *Medical Entomology and Zoology* **34**, 1485–1492.

**Iwasa, M., Nakamura, T., Fukaki, K. & Yamashita, N.** (2005b) Nontarget effects of ivermectin on coprophagous insects in Japan. *Environmental Entomology* **34**, 1485–1492.

**Iwasa, M., Suzuki, N. & Maruyama, M.** (2008) Effects of moxidectin on coprophagous insects in cattle dung pats in Japan. *Applied Entomology and Zoology* **43**, 271–280.

岩佐光啓 (2008) 動物用医薬品による放牧地の糞の残留汚染-イベルメクチンが非標的糞分解昆虫に及ぼす影響-. 環境技術学会 **37**, 13–19.

**Iwasa, M. & Sugitani, M.** (2014) Effects of the veterinary antiparasitic drug eprinomectin on dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae), the non-pest fly *Neomyia cornicina* and pest fly *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) in Japan. *Applied Entomology and Zoology* **49**, 591–597.

川井信矢・堀繁久・河原正和・稲垣政志 (2005) 日本産コガネムシ上科図説 第1巻 食糞群. 昆虫文献 六本脚. 189 pp.

**Keane, J. & Avery, L.** (2003) Mechanosensory inputs influence *Caenorhabditis elegans* pharyngeal activity via ivermectin sensitivity genes. *Genetics* **164**, 153–162.

**Lumaret, J. P., Galante, E., Lumbreras, C., Mena, J., Bertrand, M., Bernal, J. L., Cooper, J. F., Kadiri, N. & Crowe, D.** (1993) Field effects of ivermectin residues on dung beetles. *Journal of Applied Ecology* **30**, 428–436.

**Lumaret, J. P.** (1996). Comparative effects of moxidectin 2% equine gel and ivermectin 1.87% equine gel on dung non-target fauna when used at the recommended dose in horse. American Cyanamid Company, Princeton, NJ. Report No. GASD. Cyanamid Websters Pty Ltd, Baulkham Hills, NSW. Unpublished. GASD. Cyanamid Websters Pty Ltd, Baulkham Hills, NSW. Unpublished.

- Lumaret, J. P., Errouissi, F., Galtier, P. & Alvinerie, M.** (2005) Pour-on formulation of eprinomectin for cattle: fecal elimination profile and effects on the development of the dung-inhabiting Diptera *Neomyia cornicina* (L.) (Muscidae). *Environmental Toxicology and Chemistry* **24**, 797–801.
- Madsen, M., Nielsen, B. O., Holter, P., Pedersen, O. C., Jespersen, J. B., Jensen, K. M. V., Nansen, P. & Gronvold, J.** (1990) Treating cattle with ivermectin: effects on the fauna and decomposition of dung pats. *Applied Ecology* **27**, 1–15.
- Manning, P., Slade, E. M., Beynon, S. A. & Owen, T. L.** (2017) Effect of dung beetle species richness and chemical perturbation on multiple ecosystem functions. *Ecological Entomology* **42**, 577–586.
- Mason, W. A., Pomroy, W. E., Lawrence, K. E. & Schot, I.** (2012) The effect of repeated, four weekly eprinomectin treatment on milk production in pasture-based, seasonally-calving dairy cattle. *Veterinary Parasitology* **189**, 250–259.
- Martínez M, I., Lumaret, J. P., Ortiz Zayas, R. & Kadiri, N.** (2016) The effects of sublethal and lethal doses of ivermectin on the reproductive physiology and larval development of the dung beetle *Euoniticellus intermedius* (Coleoptera: Scarabaeidae). *The Canadian Entomologist* **149**, 461–472.
- McCracken, D. I.** (1993) The potential for avermectins to affect wildlife. *Veterinary Parasitology* **48**, 273–289.
- 益本仁雄** (1973) フン虫の採集と観察. ニュー・サイエンス社. 96 pp
- Nichols, E., Spector, S., Louzada, J., Larsen, T., Amezcuita, S. & Favila, M. E.** (2008) Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetle. *Biological Conservation* **141**, 1461–1474.
- Payne, L. D., Hicks, M. B. & Wehner, T. A.** (1995) Determination of abamectin and/or ivermectin in cattle feces at low parts per billion levels using HPLC with fluorescence detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**, 1233–1237.

- Pérez-Cogollo, L. C., Rodríguez-Vivas, R. I., Delfín-González, H., Reyes-Novelo, E. & Ojeda-Chi, M. M.** (2015) Lethal and sublethal effects of ivermectin on *Onthophagus landolti* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Environmental Entomology* **44**, 1634–1640.
- Pérez-Cogollo, L. C., Rodríguez-Vivas, R. I., Reyes-Novelo, E. & Delfín-González, H.** (2017) Survival and reproduction of *Onthophagus landolti* (Coleoptera: Scarabaeidae) exposed to ivermectin residues in cattle dung. *Bulletin of Entomological Research* **107**, 118–125.
- Reist, M., Forbes, A. B., Bonfanti, M., Beretta, W. & Pfister, K.** (2011) Effect of eprinomectin treatment on milk yield and quality in dairy cows in South Tyrol, Italy. *Veterinary Record* **168**, 484–487.
- R Development Core Team** (2016) R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available online at <https://www.r-project.org>.
- Ridsdill-Smith, T. J.** (1988) Survival and reproduction of *Musca vetustissima* Walker (Diptera: Muscidae) and a scarabaeine dung beetle in dung of cattle treated with avermectin B1. *Journal of the Australian Entomological Society* **27**, 175–178.
- Schoop, W. L., Demontigny, P., Fink, D. W., Williams, J. B., Egerton, J. R., Mrozik, H., Fisher, M. H., Skelly, B. J. & Turner, M. J.** (1996a) Efficacy in sheep and pharmacokinetics in cattle that led to the selection of eprinomectin as a topical endectocide for cattle. *International Journal of Parasitology* **26**, 1227–1235.
- Schoop, W. L., Egerton, J. R., Eary, C. H., Haines, H. W., Michael, B. F., Mrozik, H., Eskola, P., Fisher, M. H., Slayton, L., Ostlind, D. A., Skelly, B. J., Fulton, R. K., Barth, D., Costa, S., Gregory, L. M., Campbell, W. C., Seward, R. L. & Turner, M. J.** (1996b) Eprinomectin: A novel avermectin for use as a topical endectocide for cattle. *International Journal of Parasitology* **26**, 1237–1242.
- Schröder, J.** (1985) Chemical control of ticks on cattle. *Tick Vector Biology* 175–184.

- Sommer, C. & Nielsen, B. O.** (1992) Larvae of the dung beetle *Onthophagus gazella* F. (Col., Scarabaeidae) exposed to lethal and sublethal ivermectin concentrations. *Journal of Applied Entomology* **114**, 502–509.
- Sommer, C., Grønvold, J., Holter, P., Madsen, M. & Nansen, P.** (1993) Dung burial activity and development of ivermectin exposed *Diastellopalpus quinquedens* in a field experiment. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **66**, 83–89.
- Strong, L. & James, S.** (1992) Some effects of rearing the yellow dung fly *Scatophaga stercoraria* in cattle dung containing ivermectin. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **63**, 39–45.
- Strong, L.** (1993) Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. *Veterinary Parasitology* **48**, 3–17.
- Suarez, V. H., Lifschitz, J. M., Sallovitz, J. M. & Lanusse, C. E.** (2003) Effects of ivermectin and doramectin faecal residues on the invertebrate colonization of cattle dung. *Journal of Applied Biology* **127**, 481–488.
- 塚本圭一 (2003) 絶滅に瀕する食糞性コガネムシ類について. 昆虫と自然 38 (14), 37–40.
- Verdu, J. R., Casas, J. L., Lobo, J. M. & Numa, C.** (2010) Dung beetles eat acorn to increase their ovarian development and thermal tolerance. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0010114>
- Verdú, J. R., Cortez, V., Ortiz, A. J., González-Rodríguez, E., Martínez-Pinna, J., Lumaret, J. P., Lobo, J. M., Numa, C. & Sánchez-Piñero, F.** (2015) Low doses of ivermectin cause sensory and locomotor disorders in dung beetles. *Scientific Reports* **5**, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep13912>.
- Verdú, J. R., Lobo, J. M., Sánchez-Piñero, F., Gallego, B., Numa, C., Lumaret, J. P., Cortez, V., Ortiz, A. J., Tonelli, M., García-Teba, J. P., Rey, A., Rodríguez, A. & Durán, J.** (2018) Ivermectin residues disrupt dung beetle diversity, soil properties and ecosystem functioning: An interdisciplinary field study. *Science of The Total Environment* **618**, 219–228.

- Wall, R. & Strong, L.** (1987) Environmental consequence of treating cattle with the antiparasitic drug ivermectin. *Nature* **327**, 418–421.
- Wardhaugh, K. G. & Rodriguez-Menendez, H.** (1988) The effects of the antiparasitic drug, ivermectin, on the development and survival of the dung-breeding fly, *Orthellia cornicina* (F.) and the scarabaeine dung beetle, *Copris hispanus* L., *Bubas bubalus* (Oliver) and *Onitis belial* F. *Journal of Applied Entomology* **106**, 381–389.
- Wardhaugh, K. G., Longstaff, B. C. & Morton, R.** (2001) A comparison of the development and survival of the dung beetle, *Onthophagus taurus* (Schreb.) when fed on the faeces of cattle treated with pour-on formulations of eprinomectin or moxidectin. *Veterinary Parasitology* **99**, 155–168.
- Wardhaugh, K. G. & Mahon, R. J.** (1991) Avermectin residues in sheep and cattle dung and their effects on dung beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) colonization and dung burial. *Bulletin of Entomological Research* **81**, 333–339.
- Williams, J. C., Stuedemann, J. A., Bairden, K., Kerboeuf, D., Ciordia, H., Hubert, J., Broussard, S. D., Plue, R. E., Alva-Valdes, R., Baggott, D. G., Pinkall, N. & Eagleson, J. S.** (1997) Efficacy of a pour-on formulation of eprinomectin (MK-397) against nematode parasites of cattle, with emphasis on inhibited early fourth-stage larvae of *Ostertagia* spp. *American Journal of Veterinary Research* **58**, 379–383.
- Yamada, Daigo., Osamu. Imura, Kun. Shi and Takeshi Shibuya** (2007) Effect of tunneler dung beetles on cattle dung decomposition, soil nutrients and herbage growth. *Japanese Society of Grassland Science* **53**, 121–129.
- Yamashita, N. & Hayakawa, H.** (1991). Reproduction of a dung beetle, *Onthophagus gazella*, fed with frozen dung of pastured cattle. *Medical Entomology and Zoology* **42**, 245–248.
- 山下伸夫・吉田信代・渡邊彰・三上暁子 (2004) 牛用駆虫薬が牛糞分解に関与する昆虫類の発育に及ぼす影響. 東北農業研究 **57**, 119–120.
- Zulalian, J., Stout, S. T., daCunha, A. R., Garces, T. & Miller, P.** (1994) Absorption, tissue

distribution, metabolism, and excretion of moxidectin in cattle. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **42**, 381–387.