共生細菌を保持したホソハリカメムシ (カメムシ目: ヘリカメムシ科) の発育零点と有効積算温度から推定した年間世代数

小西 怜生¹・重盛 俊弥¹・田村 瑠菜¹・伊藤 英臣²
菊池 義智²・樋口 博也^{1,*}

¹ 龍谷大学農学部

² 国立研究開発法人産業技術総合研究所北海道センター

Number of Annual Generations of *Cletus punctiger* (Heteroptera: Coreidae) Estimated Using Developmental Zeros and Effective Accumulative Temperatures of Individuals Carrying Symbiotic Bacteria. Reo KONISHI,¹ Toshiya SHIGEMORI,¹ Runa TAMURA,¹ Hideomi ITOH,² Yoshitomo KIKUCHI² and Hiroya HIGUCHI^{1,*} ¹Faculty of Agriculture, Ryukoku University; 1–5 Yokotani, Seta Oe-cho, Otsu, Shiga 520–2194, Japan. ²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Hokkaido Center; 2–17–2–1 Tsukisamu-Higashi, Toyohira-ku, Sapporo, Hokkaido 060–8517, Japan. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 64: 125–131 (2020)

Abstract: *Cletus punctiger* (Dallas) (Heteroptera: Coreidae) is widely distributed in Japan. This insect is a serious pest that sucks developing rice kernels and causes pecky rice. Adults collected in environmental fields, orally acquire symbiotic bacteria belonging to the genus *Burkholderia* from environmental soil in the nymphal stage and commonly possess the symbionts in their gut crypts. Therefore, we examined whether nymphs reared with food, water and soil collected from their natural habitat acquire the symbionts. Rearing experiments with soil demonstrated that nymphs acquire the symbionts. We then investigated the developmental zeros and effective accumulative temperatures using rearing experiments with food, water, and soil. The developmental zeros were 14.3°C in the egg stage, and 14.0°C and 14.1°C from the egg to the nymph stage in the females and males, respectively, and 12.8°C in the preoviposition period. The effective accumulative temperatures were 84.0 day-degrees in the egg stage, 344.8 day-degrees from the egg to the nymph stage in both females and males, and 131.6 day-degrees in the preoviposition period. Based on the data above, the number of annual generations of *C. punctiger* in Shiga Prefecture was estimated to be three at the most. The new adults in the third generation are considered diapause adults that move to hibernating sites.

Key words: *Cletus punctiger*; symbiotic bacteria; developmental zero; effective accumulative temperature; number of generations

緒 言

ホソハリカメムシ *Cletus punctiger* (Dallas) (カメムシ目: ヘリカメムシ科) は、イネ *Oryza sativa* L. が出穂すると水田に飛来侵入し、穂を吸汁加害することで斑点米を発生させる (伊藤, 1989; 樋口, 2019)。斑点米の原因となるカメムシ類は 10 種以上に及ぶが、そのなかでも本種は重要種として知られている (伊藤, 1985)。滋賀県においても、本種はトゲシラホシカメムシ *Eysarcoris aeneus* (Scopoli)、クモヘリカメムシ *Leptocoris chinensis* Dallas、アカスジカスミカメ *Stenotus rubrovittatus* (Matsumura)、アカヒゲホソミドリカスミカメ *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) と

ともに斑点米被害を引き起こす重要害虫となっており (長谷川ら, 1979a; 田中, 2000; 寺本, 2003)、水田畦畔のイネ科雑草の管理による個体数の抑制と斑点米被害の軽減 (寺本, 2003)、水田内での斑点米の発生状況 (湯浅・中野, 2001; 湯浅ら, 2003) や加害能力 (田中・小嶋, 2003)、防除時期 (湯浅ら, 2002) に関する研究が展開されている。

ヘリカメムシ上科 (Coreoidea) に属するカメムシ種の大部分は、消化管内に発達する盲嚢内に β -プロテオバクテリア綱の *Burkholderia* 属に分類される共生細菌を保持している (Kikuchi et al., 2005, 2011a)。これまでに、ヘリカメムシ上科ホソヘリカメムシ科 (Alydidae) に属するホソヘリカメムシ *Riptortus pedestris* (Fabricius) を対象とし

* E-mail: hhiroya@agr.ryukoku.ac.jp

2019 年 11 月 30 日受領 (Received 30 November 2019)

2020 年 5 月 26 日登載決定 (Accepted 26 May 2020)

DOI: 10.1303/jjaez.2020.125

た研究により、これらのカメムシ類が *Burkholderia* 属の共生細菌を毎世代土壤中から経口摂取し、選択的に盲嚢内に共生させていることが明らかにされた (Kikuchi et al., 2007; Itoh et al., 2019). 通常、飼育環境下においては共生細菌の獲得は起こらないが、給水用の水に圃場の土を懸濁して与えることで容易に共生細菌を獲得させることができる (Takeshita and Kikuchi, 2017). ホソハリカメムシの幼虫は、主に2齢期に共生細菌を土壤中から獲得するが (Kikuchi et al., 2011b), 幼虫期に共生細菌を獲得できなかった場合、羽化した成虫は共生細菌を獲得した成虫に比べ体サイズが小さくなり、産卵数も大きく減少することが報告されている (Kikuchi et al., 2007; Kikuchi and Fukatsu, 2014). ヘリカメムシ上科ヘリカメムシ科 (Coreidae) に属するホソハリカメムシも *Burkholderia* 属に分類される共生細菌を消化管盲嚢内に保持していることが知られており (Kikuchi et al., 2011a), 共生細菌保持の有無により、幼虫期間、産卵前期間に差異が生じる可能性が考えられる。

ホソハリカメムシの飼育温度と発育日数については、中沢・林 (1983), 川東ら (2019) が報告し、川東ら (2019) は発育零点と有効積算温度から滋賀県での年間世代数は2世代であると推定している。しかし、これらの報告では、幼虫の飼育に餌と水を与えたのみで、共生細菌を獲得する機会を与えていないため、供試されたホソハリカメムシは共生細菌を保持していないと考えられる。

本研究では、野外で捕獲したホソハリカメムシ成虫、幼虫期に餌と水と土を与え飼育し羽化した成虫、土を与えずに餌と水のみで飼育し羽化した成虫において共生細菌保持の有無を明らかにした。さらに、幼虫期に餌と水と土を与え飼育を行い、幼虫期間、産卵前期間の発育零点、有効積算温度を求め、滋賀県での年間世代数の推定を行った。

本研究のホソハリカメムシの飼育は、幼虫期に土を与える以外は、川東ら (2019) の報告にある飼育方法と同じ方法で行い、調査方法も同一とした。また、本研究で得られた結果と比較するため、関西病虫害研究会に「転載許諾申請」を行い、許可を受けたうえで、川東ら (2019) の第1表に示された数値およびそれらを求めたデータを使用し統計解析を行った。

材料および方法

1. 野外虫と飼育虫の共生細菌保持の有無

(1) 供試虫

野外成虫は、2018年8月7日に滋賀県大津市南小松 (北緯 35°14', 東経 135°57') でホソハリカメムシ雌 11 頭、雄 9 頭を採集し、70% エタノールを満たした管ビン (スクリュウ管ビン, 60ml, アズワン) に入れて殺した後、共生細菌の検出に供試した。

飼育虫は、大津市南小松と大津市森 1 丁目 (北緯 34°56',

東経 135°56') で採集した成虫を、人工気象器 (LPH-240N, 株式会社日本医化器機製作所) で、25°C, 16 時間明期-8 時間暗期 (16L:8D) の日長条件で累代飼育し、産下卵から孵化した幼虫を供試した。

孵化幼虫を7頭ずつプラスチックシャーレ (アズノール滅菌シャーレ, 外径 90×高さ 15mm, アズワン) に入れ、25°C, 16L:8D で羽化まで飼育した。水を浸み込ませた脱脂綿 (約 40×40mm) と、餌として布ガムテープ (約 25×35mm) に貼り付けたコムギ *Triticum aestivum* L. (ミナミノカオリ) 種子約 60 粒 (約 2g) を与えた。布ガムテープの粘着面に幼虫が捕獲されないように、コムギ種子を貼り付けた隙間にはアカクロパー *Trifolium pretense* L. 種子を貼り付けた。水は適宜追加したが、餌は交換しなかった。また、これとは別に、孵化幼虫を7頭ずつ入れたプラスチックシャーレに、水を浸み込ませた脱脂綿と餌を貼り付けた布ガムテープのほかに、大津市堂 1 丁目 (北緯 34°95', 東経 135°93') のダイズ *Glycine max* (L.) Merrill 栽培圃場で採取した土約 1g を入れ、25°C, 16L:8D で羽化するまで飼育した。

羽化した成虫は、羽化翌日に 70% エタノールを満たした管ビンに入れて殺した。餌と水のみで飼育した雌 11 頭、雄 9 頭と、餌と水と土を入れ飼育した雌 13 頭、雄 7 頭について共生細菌の検出を行った。

(2) 共生細菌の検出方法

エタノール保存した成虫を生理的食塩水 (Phosphate Buffered Salts, Takara-bio) に移し、双眼実体顕微鏡下でピンセットと解剖用ハサミを用いて共生器官の摘出を行った。摘出した共生器官について、DNA 抽出キット (QIAamp DNA Mini Kit, QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA を鋳型として、*Burkholderia* 共生細菌の 16S rRNA 遺伝子配列に特異的なプライマーセット BF (5'-TAGCCCTGCGAAAGCCG-3') および BR (5'-GCCAGTCACCAATGCAG-3') を用いて PCR を行った (Tago et al., 2014)。PCR の反応液は 10μl 系で調製し、反応液の組成は DNA 抽出液 1μl, AmpliTaq Gold™ 360 Master Mix (Thermo Fisher Scientific) 5μl, 100μM BF 0.04μl, 100μM BR 0.04μl, Nuclease free water (Qiagen) 3.92μl とした。PCR は T100™ thermal cycler (Biorad) を用いて行い、反応条件は 95°C for 10min に続いて、95°C for 30sec, 55°C for 1min, 72°C for 30sec のステップを 25 回繰り返した。反応後、反応液 3μl に Novel juice (Bio-Helix) 0.5μl を混ぜ、2% アガロースゲルにて 100V で 20 分間電気泳動した後、WSE-6100 LuminoGraph I (ATTO) を用いて増幅産物の有無やサイズを観察した。

DNA が適切に抽出されていることを確認するためのコントロールとして、広範囲の無脊椎動物において Cytochrome c oxidase subunit I (COI) 遺伝子の検出に用い

られるユニバーサルプライマー LCO1490 (5'-GGTCAACA AATCATAAAGATATTGG-3') および HCO2198 (5'-TAAAC TTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') を用いて PCR を行った (Folmer et al., 1994). COI 遺伝子の PCR における反応液は *Burkholderia* 共生細菌の 16S rRNA 遺伝子の検出と同様の組成で作成し、反応条件については、95°C for 10min に続いて、95°C for 30sec, 48°C for 1min, 72°C for 30sec のステップを 25 回繰り返した。

2. 発育零点および有効積算温度の算出

(1) 卵・幼虫期間

調査には、累代飼育虫が麻ヒモに産下した卵を使用し、16L:8D の日長条件で、19°C, 22°C, 25°C, 28°C, 31°C の 5 段階の温度で行った。飼育ケース (インセクトブリーディングディッシュ SPL-310102, 外径 100×高さ 40mm, 内径 94.3×高さ 38.2mm, メッシュ孔サイズ 40mm, SPL LifeSciences) に、麻ヒモに産下された産卵後 24 時間以内の卵と水を浸み込ませた脱脂綿を入れ、各温度に供試した。供試卵数は、各温度 60~63 卵で、孵化までの日数を調査した。

孵化した幼虫は、1 頭ずつプラスチックシャーレ (アズノール滅菌シャーレ, 外径 90×高さ 15mm, アズワン) に入れ、水を浸み込ませた脱脂綿と餌を貼り付けた布ガムテープと土約 1g を入れ、羽化までの日数を調査した。水は適宜追加し、餌はカビが生えてくれば交換した。日長、温度条件は卵期間の調査と同様で、各温度につき 42~53 頭を供試した。

(2) 産卵前期間

孵化直後の幼虫 7 頭をプラスチックシャーレ (アズノール滅菌シャーレ, 外径 90×高さ 15mm, アズワン) に入れ、25°C, 16L:8D 条件で、水を浸み込ませた脱脂綿と餌を貼り付けた布ガムテープと土約 1g を入れ飼育し、羽化した雌を使用した。

雌は、羽化当日に 1 頭ずつ飼育ケース (インセクトブリーディングディッシュ SPL-310102, 外径 100×高さ 40mm, 内径 94.3×高さ 38.2mm, メッシュ孔サイズ 40mm, SPL LifeSciences) に移し、翌日に羽化後 24 時間以上経過した雄 2 頭を入れた。16L:8D で、飼育温度は 22°C, 25°C, 28°C, 31°C の 4 段階とし、各温度につき雌 25 頭を供試した。雄が死亡した場合には、新たに雄を追加した。飼育ケースには、水を浸み込ませた脱脂綿と餌を貼り付けた布ガムテープ、産卵用として約 25cm の麻ヒモを入れた。産卵開始までの日数を明らかにするために、産卵の有無は毎日調査した。

(3) 発育零点および有効積算温度の算出

各飼育温度において、平均発育日数 D の逆数 $1/D$ である発育速度 V を求めた。飼育温度 T を横軸に発育速度 V を縦軸とし、各飼育温度に対する発育速度をプロットし、

回帰直線 $V=a+bT$ をあてはめ、各発育期間における発育零点と有効積算温度は、発育零点 $t=-a/b$, 有効積算温度 $K=1/b$ より算出した。

3. 年間世代数の推定

伊藤 (1989) は、ホソハリカメムシの越冬成虫が越冬場所から離脱し餌植物へ移動を開始するのは 4 月中~下旬で、半旬別の最高気温が約 20°C, 平均気温が約 15°C になる時期であると報告している。滋賀県大津市の平年値で、半旬別の日最高気温が 20°C を超えるのは第 5 半旬の 4 月 21 日以降で、日平均気温が 15°C を超えるのは 4 月 26 日である (気象庁, 2019)。また、2018 年 4 月 23 日に滋賀県大津市で捕獲した本種雌は、越冬を終了した産卵可能な成虫であることも報告されている (磯見ら, 2019)。そこで、4 月 21 日を起点として、雌の卵から羽化までの期間と産卵前期間の発育零点と有効積算温度を使い、滋賀県大津市の日平均気温の平年値 (気象庁, 2019) から、ホソハリカメムシの年間世代数を推定した。

4. 統計解析

本研究で得られたホソハリカメムシの雌雄それぞれの幼虫期間および雌の産卵前期間のデータと、川東ら (2019) の第 1 表に示された数値を求めたデータを使用し、各飼育温度における幼虫期の飼育条件の違いに関して、Excel 2016 (version 16) を用いて t 検定を行った。

結果および考察

Burkholderia 共生細菌の保持を PCR で調査した結果、野外で採集したホソハリカメムシの成虫 20 頭すべてにおいて *Burkholderia* 共生細菌の 16S rRNA 遺伝子断片 (約 500bp) の増幅が確認されたことから、これら野外採集個体すべてが *Burkholderia* 共生細菌を保持していることが明らかとなった (第 1 表)。また、幼虫期に餌と水と圃場の土を与え飼育し羽化した成虫は、20 頭のうち 18 頭で *Burkholderia* 共生細菌の 16S rRNA 遺伝子断片の増幅が確認されたことから、それら 18 頭が共生細菌を保持していることが確認された。一方、幼虫期に餌と水だけで飼育し羽化した成虫からは *Burkholderia* 共生細菌の 16S rRNA 遺伝子断片の増幅は確認されず、すべての個体が共生細菌を保持していなかった。したがって、室内飼育でも幼虫期に

第 1 表 ホソハリカメムシ野外採集虫と飼育虫の共生細菌保持の有無

供試虫	幼虫期の飼育条件	供試成虫数		共生細菌保持成虫数	
		雌	雄	雌	雄
野外虫	—	11	9	11	9
飼育虫	餌+水	11	9	0	0
飼育虫	餌+水+土	13	7	12	6

幼虫の飼育は、25°C, 16L:8D で行った。

圃場の土を与えることにより、ホソハリカメムシは野外虫と同じように共生細菌を保持できることが明らかとなった。

ホソハリカメムシの5段階の飼育温度における卵期間、幼虫期間、卵から羽化までの期間、産卵前期間を第2表に示した。卵期間の平均値は、19°Cで18.3日、22°Cで10.4日、25°Cで8.5日、28°Cで6.1日、31°Cで5.0日であり、川東ら(2019)による19°Cで18.5日、22°Cで11.6日、25°Cで8.4日、28°Cで6.3日、31°Cで5.0日という結果に近い値が示された。雌の幼虫期間の平均値は、19°Cで51.7日、22°Cで28.9日、25°Cで24.9日、28°Cで18.0日、31°Cで15.1日となった。これらの値を、川東ら(2019)に示された雌の幼虫期間の平均値、22°Cで41.1日、25°Cで29.4日、28°Cで21.2日、31°Cで19.9日と比較すると有意に短くなった(第3表; $p < 0.01$, t 検定)。雄の幼虫期間の平均値も同様で、19°Cで51.4日、22°Cで29.3日、25°Cで24.3日、28°Cで16.8日、31°Cで15.4日となり、川東ら(2019)の19°Cで59.7日、22°Cで34.6日、25°Cで29.0日、28°Cで

22.0日、31°Cで18.3日と比較し有意に短くなった($p < 0.01$, t 検定)。中沢・林(1983)の本種幼虫を稲穂と水で飼育した場合の平均幼虫期間は、飼育温度が22.5°Cで約41日、30°Cで約21日とやはり本結果と比較し、長い傾向が認められる。産卵前期間についても、本結果における平均値は、22°Cで14.4日、25°Cで11.6日、28°Cで7.8日、31°Cで7.6日であるのに対し、川東ら(2019)の25°Cで22.7日、28°Cで20.3日、31°Cで13.6日という結果と比較し有意に短くなり($p < 0.01$, t 検定)、中沢・林(1983)では、22.5°Cで27.8日、25°Cで19.2日、30°Cで13.7日と、幼虫期に圃場の土を与えていない試験では長くなっている。

ホソハリカメムシについては、共生細菌を保持した幼虫は、保持していない幼虫に比べ幼虫期間が短くなり、また、幼虫期に共生細菌を獲得し羽化した成虫は、体サイズが有意に大きくなり、産卵前期間が短縮し、産卵数も多くなることが報告されている(Kikuchi et al., 2007; Kikuchi and Fukatsu, 2014)。これらの報告は、共生細菌がホソハリカメムシの成長や繁殖に大きな役割を果たしていることを

第2表 ホソハリカメムシの各飼育温度における発育日数(平均±SE)

飼育温度 (°C)	卵期間	幼虫期間		卵+幼虫期間		産卵前期間
		雌	雄	雌	雄	
19	18.3±0.2 (53)	51.7±1.7 (13)	51.4±1.3 (12)	70.0±1.6 (13)	69.3±1.5 (12)	—
22	10.4±0.1 (52)	28.9±0.6 (14)	29.3±0.6 (27)	39.5±0.6 (14)	39.7±0.6 (27)	14.4±0.9 (16)
25	8.5±0.1 (42)	24.9±0.7 (11)	24.3±0.4 (24)	33.5±0.7 (11)	32.7±0.4 (24)	11.6±1.0 (22)
28	6.1±0.0 (49)	18.0±0.5 (19)	16.8±0.3 (16)	24.1±0.6 (19)	22.8±0.3 (16)	7.8±0.6 (16)
31	5.0±0.0 (52)	15.1±0.2 (19)	15.4±0.2 (25)	20.1±0.2 (19)	20.4±0.2 (25)	7.6±0.8 (19)

飼育時の日長は、16L:8Dとした。

()内は、孵化数、羽化数、産卵雌数を示す。

—は、調査を行わなかったことを示す。

第3表 ホソハリカメムシの幼虫期の飼育条件の違いと幼虫期間および産卵前期間(平均±SE)

飼育温度 (°C)	幼虫期の飼育条件	幼虫期間		産卵前期間
		雌	雄	
19	餌+水	—	59.7±2.0	—
	餌+水+土	51.7±1.7	51.4±1.3 **	—
22	餌+水	41.1±1.7	34.6±0.9	—
	餌+水+土	28.9±0.6 **	29.3±0.6 **	14.4±0.9
25	餌+水	29.4±1.0	29.0±1.1	22.7±1.2
	餌+水+土	24.9±0.7 **	24.3±0.4 **	11.6±1.0 **
28	餌+水	21.2±0.7	22.0±0.9	20.3±2.2
	餌+水+土	18.0±0.5 **	16.8±0.3 **	7.8±0.6 **
31	餌+水	19.9±0.6	18.3±0.8	13.6±1.3
	餌+水+土	15.1±0.2 **	15.4±0.2 **	7.6±0.8 **

幼虫期の飼育条件「餌+水」の幼虫期間、産卵前期間の数値については、川東ら(2019)の第1表から引用し、統計処理にはそれぞれの生データを使用した。

** : 各飼育温度において、幼虫期の飼育条件「餌+水」、「餌+水+土」の違いで、雌雄それぞれの幼虫期間、雌の産卵前期間に有意差があることを示す($p < 0.01$, t 検定)。

—は、調査が行われなかったことを示す。

第4表 発育速度の回帰式から求めたホソハリカメムシの発育零点と有効積算温度

発育期間	回帰式	r^2	発育零点 (°C)	有効積算温度 (日度)
卵期間	$Y=0.0119X-0.1704$	0.99	14.3	84.0
雌 幼虫期間	$Y=0.0038X-0.0525$	0.99	13.8	263.2
雄 幼虫期間	$Y=0.0039X-0.0535$	0.98	13.7	256.4
雌 卵+幼虫期間	$Y=0.0029X-0.0405$	0.99	14.0	344.8
雄 卵+幼虫期間	$Y=0.0029X-0.0409$	0.99	14.1	344.8
産卵前期間	$Y=0.0076X-0.0971$	0.91	12.8	131.6

示すものである。ホソハリカメムシにおいても、野外虫は *Burkholderia* 共生細菌を保持しており、室内飼育の場合でも、幼虫期に土を与えることによりほとんどの成虫が共生細菌を保持することから（第1表）、川東ら（2019）、中沢・林（1983）の調査結果と比べ、幼虫期間、産卵前期間が短くなることが認められた背景として、幼虫期における共生細菌獲得の有無が大きく影響したと考えられる。これらのことから、本研究で示したホソハリカメムシの幼虫期間、産卵前期間は、野外条件に近い状態で求められた数値であると結論できる。

ホソハリカメムシの卵期間の発育零点は 14.3°C、有効積算温度は 84.0 日度であった（第4表）。幼虫期間の発育零点と有効積算温度は、雌で 13.8°C、263.2 日度、雄で 13.7°C、256.4 日度、卵から羽化までの発育零点は、雌で 14.0°C、雄で 14.1°C、有効積算温度は雌雄ともに 344.8 日度であった。産卵前期間の発育零点は 12.8°C、有効積算温度は 131.6 日度であった。ここで求めた有効積算温度は、川東ら（2019）の求めている有効積算温度、すなわち、雌雄の幼虫期間 333.3 日度、322.6 日度、卵+幼虫期間 400.0 日度、産卵前期間 200.0 日度に対して小さい値となっている。中沢・林（1983）の雌雄の幼虫期間の有効積算温度 356.5 日度、347.9 日度、産卵前期間 217.3 日度と比較しても同様に小さくなっている。

4月21日を起点に、雌の卵+幼虫期間、産卵前期間の発育零点、有効積算温度と、滋賀県大津市の日平均気温の平年値（気象庁、2019）を使い、滋賀県でのホソハリカメムシの世代の推移を求めた（第1図）。越冬世代の雌が産下した卵が孵化し、幼虫が羽化するのに必要な有効積算温度 344.8 日度に達するのが6月28日、羽化した雌が産卵を開始するのに必要な有効積算温度 131.6 日度に達するのが7月10日となった。第1世代は8月6日に羽化し、産卵前期間が終了するのが8月15日であった。第3世代は9月14日に羽化が始まる。以上から、滋賀県大津市でのホソハリカメムシの年間世代数は最大3世代であると考えられる。

ホソハリカメムシは成虫越冬であり（伊藤、1982, 1985）、伊藤（1988）は、茨城県産の成虫に休眠が誘起される臨界日長は 13～14 時間の間にあることを報告している。

第1図 ホソハリカメムシの発育零点、有効積算温度から求めた滋賀県大津市における年間世代数の推移
4月21日を起点に、大津市の日平均気温の平均値を使い、雌の卵から羽化までと産卵前期間の発育零点と有効積算温度から推定した。

中沢・林（1983）は、広島県で本種に休眠が誘起される臨界日長は 14.3 時間であると報告している。滋賀県大津市において日の出から日の入りまでの時間（気象庁、2019）に薄明薄暮期 1 時間を加え日長時間が 14 時間以下となるのは 8 月 30 日からである。したがって、9 月 14 日以降に羽化した成虫は休眠状態となり、産卵することなく第3世代成虫は休眠成虫になると考えられる。

川東ら（2019）は、発育零点と有効積算温度からホソハリカメムシの滋賀県での年間世代数は 2 世代としている。また、長谷川ら（1979b）も、雌の卵巣の発育状況、野外の発生消長から滋賀県内の年間発生回数は 2 回と報告している。しかし、今回の調査結果から、滋賀県でのホソハリカメムシの年間世代数は最大 3 世代で、越冬世代の産下卵から孵化した第1世代幼虫の羽化開始が6月下旬、産卵を開始するのが7月上旬、第2世代の幼虫が羽化するのが8月上旬からで産卵開始が8月中旬、第3世代幼虫が羽化するのが9月中旬であり、この第3世代の成虫は休眠成虫となると考えられる。一方、本種成虫は寿命が非常に長く（長谷川ら、1979b；寺本、2003；礒見ら、2019）、越冬後成虫の飼育条件下での生存日数は 100 日以上であり（伊藤、1989）、伊藤（1982）も指摘しているように、夏季は越冬世代成虫と新成虫が混在し、第1・2世代の成虫の一部は

そのまま休眠成虫となって越冬すると考えられる。

本研究では、ホソハリカメムシの幼虫に餌と水以外に圃場の土を与え飼育し、成虫が共生細菌を保持できることを確認した後、発育零点と有効積算温度を求め、年間の世代数を推定した。幼虫期に共生細菌を経口的に取り込んでいくカメムシ類について、発育に関するパラメータを明らかにするには、野外条件を再現するために飼育時に圃場の土を与えるなどの操作を通じて、共生細菌を保持させることが重要である。

摘 要

野外から採集したホソハリカメムシ成虫は、すべての個体が共生細菌を保持していた。室内飼育でも幼虫期に圃場の土を与えると、羽化した成虫は共生細菌を保持することが確かめられた。そこで、幼虫期に餌と水以外に圃場の土を与え飼育し、卵期間、幼虫期間、産卵前期間の発育零点と有効積算温度を求めた。卵期間の発育零点は14.3°C、有効積算温度は84.0日度、雌と雄の幼虫期間の発育零点、有効積算温度はそれぞれ13.8°C、263.2日度、13.7°C、256.4日度であった。雌と雄の卵+幼虫期間の発育零点は14.0°C、14.1°Cで、有効積算温度はどちらも344.8日度であった。産卵前期間については、発育零点は12.8°C、有効積算温度は131.6日度であった。雌の卵+幼虫期間と産卵前期間の発育零点と有効積算温度から、滋賀県におけるホソハリカメムシの年間の世代数を推定したところ最大3世代となった。越冬世代の産下卵から孵化した第1世代幼虫の羽化開始が6月下旬、産卵を開始するのが7月上旬、第2世代の幼虫が羽化するのが8月上旬からで産卵開始が8月中旬、第3世代幼虫が羽化するのが9月中旬であり、この第3世代の成虫は休眠成虫となると考えられる。

引 用 文 献

- Folmer, O., M. Black, W. Hoen, R. Lutz and R. Vrijenhoek (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biotechnol.* 3: 294–299.
- 長谷川美克・川田 和・保積隆夫・内田康雄・矢野 清・清水寛二・田中徳巳・田中伊和夫 (1979a) 斑点米に関与するカメムシ類に関する研究 (第2報) 水田およびその周辺から採集されたカメムシ類. 滋賀農試研報 21: 27–32. [Hasegawa, Y., H. Kawata, T. Hozumi, Y. Uchida, K. Yano, K. Shimizu, T. Tanaka and I. Tanaka (1979a) Studies on the pentatomid bugs and allied species causing the pecky rice in Shiga Prefecture. 2. The pentatomid bugs and allied species collected from the paddy fields and the balks. *Bull. Shiga Agric. Exp. Stn.* 21: 27–32.]
- 長谷川美克・川田 和・保積隆夫・渡辺健三 (1979b) 斑点米に関与するカメムシ類に関する研究 (第3報) ホソハリカメムシの年間発生回数. 滋賀農試研報 21: 33–38. [Hasegawa, Y., H. Kawata, T. Hozumi and K. Watanabe (1979b) Studies on the pentatomid and allied species causing the pecky rice in Shiga Prefecture. 3. On the slender rice bug's number of annual generation for a year. *Bull. Shiga Agric. Exp. Stn.* 21: 33–38.]
- 樋口博也 (2019) 斑点米カメムシ類の生態と防除—2. 植物防疫 73: 392–395. [Higuchi, H. (2019) Ecology and management of rice bugs causing pecky rice — 2. *Plant Prot.* 73: 392–395.]
- 磯見祐輔・野中大輝・山内稜平・樋口博也 (2019) ホソハリカメムシ越冬後成虫の生存日数と産卵能力. 関西病虫研報 61: 41–43. [Isomi, Y., D. Nonaka, R. Yamauchi and H. Higuchi (2019) Longevity and fertility in post-hibernating adults of *Cletus punctiger* (Heteroptera: Coreidae). *Ann. Rept. Kansai Pl. Prot.* 61: 41–43.]
- 伊藤清光 (1982) ホソハリカメムシ成虫の餌植物選好性と水田への移動. 応動昆 26: 300–304. [Ito, K. (1982) Immigration of *Cletus punctiger* Dallas (Heteroptera: Coreidae) into paddy field in relation to food plant preference in the adults. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 26: 300–304.]
- 伊藤清光 (1985) ホソハリカメムシの生活史と餌植物. 植物防疫 39: 157–160. [Ito, K. (1985) Life history of *Cletus punctiger* in relation to food plant phenology. *Plant Prot.* 39: 157–160.]
- 伊藤清光 (1988) 野外におけるホソハリカメムシの休眠覚醒. 応動昆 32: 63–67. [Ito, K. (1988) Diapause termination in *Cletus punctiger* Dallas (Heteroptera: Coreidae) in the field. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 32: 63–67.]
- 伊藤清光 (1989) ホソハリカメムシの生活史に関する研究—特に生息場所間の季節的移動と水田への移動機構. 農研センター研報 14: 39–103. [Ito, K. (1989) Studies on the life history of *Cletus punctiger* Dallas (Heteroptera: Coreidae) with special reference to the seasonal interhabitat movements and the mechanism of immigration into rice fields. *Bull. Natl. Agric. Res. Cent.* 14: 39–103.]
- Itoh, H., S. Jang, K. Takeshita, T. Ohbayashi, N. Ohnishi, X. Meng, Y. Mitani and Y. Kikuchi (2019) Host-symbiont specificity determined by microbe-microbe competition in an insect gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116: 22673–22682.
- 川東拓就・中川義之・二軒谷匠・樋口博也 (2019) 滋賀県におけるホソハリカメムシの年間世代数. 関西病虫研報 61: 145–148. [Kawahigashi, T., Y. Nakagawa, T. Nikenya and H. Higuchi (2019) Number of annual generations of *Cletus punctiger* (Heteroptera: Coreidae) in Shiga Prefecture. *Ann. Rept. Kansai Pl. Prot.* 61: 145–148.]
- Kikuchi, Y. and T. Fukatsu (2014) Living imaging of symbiosis: spatiotemporal infection dynamics of a GFP-labelled *Burkholderia* symbiont in the bean bug *Riptortus pedestris*. *Mol. Ecol.* 23: 1441–1456.
- Kikuchi, Y., X. Meng and T. Fukatsu (2005) Gut symbiotic bacteria of the genus *Burkholderia* in the broad-headed bugs *Riptortus clavatus* and *Leptocoris chinensis* (Heteroptera: Alydidae). *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 4035–4043.
- Kikuchi, Y., T. Hosokawa and T. Fukatsu (2007) Insect-microbe mutualism without vertical transmission: a stinkbug acquires a benefi-

- cial gut symbiont from the environment every generation. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 4308–4316.
- Kikuchi, Y., T. Hosokawa and T. Fukatsu (2011a) An ancient but promiscuous host-symbiont association between *Burkholderia* gut symbionts and their heteropteran hosts. *ISME J.* 5: 446–460.
- Kikuchi, Y., T. Hosokawa and T. Fukatsu (2011b) Specific developmental window for establishment of an insect-microbe gut symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 4075–4081.
- 気象庁 (2019) URL://www.jma.go.jp/jma/kishou/info/coment.html [Japan Meteorological Agency (2019)]
- 中沢啓一・林 英明 (1983) 斑点米の原因となるカメムシ類の生態 第1報 シラホシカメムシおよびホソハリカメムシの発育と休眠雌の出現. 広島農試報告 46: 21–32. [Nakazawa, K. and H. Hayashi (1983) Bionomics of the stink bugs and allied bugs causing the pecky rice (Hemiptera: Heteroptera). 1. Development and occurrence of diapausing females in *Eysarcoris ventralis* Westwood and *Cletus punctiger* (Dallas). *Bull. Hiroshima Agric. Exp. Stn.* 46: 21–32.]
- Tago, K., H. Itoh, Y. Kikuchi, T. Hori, Y. Sato, A. Nagayama, T. Okubo, R. Navarro, T. Aoyagi, K. Hayashi and M. Hayatsu (2014) A fine-scale phylogenetic analysis of free-living *Burkholderia* species in sugarcane field soil. *Microbes Environ.* 29: 434–437.
- Takeshita, K. and Y. Kikuchi (2017) *Riptortus pedestris* and *Burkholderia* symbiont: an ideal model system for insect-microbe symbiotic associations. *Res. Microbiol.* 168: 175–187.
- 田中 豊 (2000) 滋賀県における斑点米カメムシ類の発生種の変遷と被害. 関西病虫研報 42: 37–38. [Tanaka, Y. (2000) Changes of species constitution in rice sting bug complex and occurrence of pecked rice in Shiga Prefecture. *Proc. Kansai Pl. Prot.* 42: 37–38.]
- 田中 豊・小嶋俊彦 (2003) 斑点米カメムシ類の種類と発生パターンの加害時期別発生状況. 滋賀農総セ農試研報 43: 98–107. [Tanaka, Y. and T. Kojima (2003) Species of rice sting bugs and pecky rice patterns by time of damage. *Bull. Shiga Agric. Res. Cent. Exp. Stn.* 43: 98–107.]
- 寺本憲之 (2003) 斑点米カメムシ類の個体数抑制を考慮した畦畔管理技術. 滋賀農総セ農試研報 43: 47–70. [Teramoto, N. (2003) Control of rice sting bug complex (Hemiptera) in paddy fields by gramineous weed control on balks. *Bull. Shiga Agric. Res. Cent. Exp. Stn.* 43: 47–70.]
- 湯浅和宏・中野 学 (2001) 斑点米の水田内分布の一事例. 関西病虫研報 43: 61–62. [Yuasa, K. and M. Nakano (2001) A distribution pattern of pecky rice incidence in a paddy field. *Proc. Kansai Pl. Prot.* 43: 61–62.]
- 湯浅和宏・田中 豊・角田 巖 (2002) 滋賀県における斑点米カメムシ類防除適期の再検討. 関西病虫研報 44: 53–54. [Yuasa, K., Y. Tanaka and I. Kakuda (2002) A reassessment of the timing of insecticide application for the control of rice stink bugs in Shiga Prefecture. *Proc. Kansai Pl. Prot.* 44: 53–54.]
- 湯浅和宏・田中 豊・角田 巖 (2003) 滋賀県における水田一筆内の斑点米発生分布. 滋賀農総セ農試研報 43: 71–88. [Yuasa, K., Y. Tanaka and I. Kakuda (2003) A distribution pattern of pecky rice incidence in a single paddy field lot in Shiga Prefecture. *Bull. Shiga Agric. Res. Cent. Exp. Stn.* 43: 71–88.]