学位論文審査結果の報告書

氏　　名　　山下　賢一

生年月日　　昭和２９年６月２１日

本籍（国籍）　　兵庫県

学位の種類　　博　　士（農　学）

学位記番号　　第 225 号

学位授与の条件　　学位規程第５条該当
（博士の学位）

論文題目　Studies on development of the new method of control using behavior regulator of *Leptocorisa chinensis* (Dallas) (Hemiptera:Alydidae)

（クモヘリカメムシの行動制御物質を使った新たな防除法の研究）

学位論文受理日　　平成２９年　６月　６日

学位論文審査終了日　　平成２９年　７月１８日

審査委員

（主　査）　松田　一彦　教授

（副主査）　板倉　修司　教授

（副主査）　細谷　和海　教授

（副　査）　　㊞

（副　査）　　㊞

論 文 内 容 の 要 旨

合成殺虫剤は、即効的でかつ少量で効果を発揮し、農業従事者が使用しやすいように製剤されているため、従来と同様に多用されている。しかし近年、合成殺虫剤に対する抵抗性の発達やに、標的以外の昆虫類や鳥類などへの合成殺虫剤の影響がたびたび問題となっている。このような状況の中で、吸汁が原因で斑点米をもたらすカメムシの主要種・クモヘリカメムシ *Leptocorisa chinensis* (Dallas) (Hemiptera: Alydidae) に対する防除方法においても、合成殺虫剤に頼らない効果的な防除方法の開発が求められてきた。
候補者は刺激を受けたクモヘリカメムシが発する臭いからクモヘリカメムシ自らが逃げ出す行動を確認し、その行動制御物質（Alarm pheromone）を用いて斑点米発生を抑制する新たな防除方法の開発を目標にした研究に取り組んだ。

クモヘリカメムシの野外における発生時期を明らかにするため、実験室内における飼育実験を行った。具体的には卵期間、幼虫期間、成虫の産卵前期間ごとに、長日条件下で4つの異なる温度での発育期間を調べた。その結果から、卵期間の発育零点が8.1℃、有効積算温度が147日℃、幼虫期間の発育零点が10.1℃、有効積算温度が370日℃、非休眠にある雌成虫の産卵前期間の発育零点が9.6 ℃、有効積算温度が256日℃であることを明らかにした。また、越冬明けの成虫の産卵前期間を長日条件且つ25℃で検討し、発育零点を非休眠の雌成虫と同じ9.6℃と考え、有効積算温度は469.7日℃であると仮定した。この結果から、各地域の温度をもとにクモヘリカメムシの発育段階ごとの発生時期が推定できるようになった。例えば兵庫県では年間2－3世代発生していると推察された。

温度と光周期の影響による生殖腺の発育状況を知るために、幼虫期を長日且つ25℃条件で飼育した個体を、長日及び短日条件で3つの異なる温度に移入し、次世代の産卵個体率の推移を100日間観察した。その結果、長日且つ25および20℃条件で産卵し、15℃で産卵しないことが判明した。
幼虫期を短日且つ25℃で飼育した個体を、長日および短日条件で3つの異なる温度に移入し、次世代の産卵個体率の推移を100日間観察した。その結果、長日且つ25、20℃では産卵したが、産卵の開始は遅れた。長日且つ15℃および短日では産卵しないことが明らかとなった。

野外で飼育したクモヘリカメムシの成虫を2、3、6月に長日および短日条件に移入し、次世代の産卵個体率の推移を140日間観察した。その結果、2、3月に長日条件に移入した個体は移入後40日頃産卵を開始し、6月に長日条件に移入した個体は移入後すぐに産卵を開始した。2、3月に短日に移入した個体は産卵しなかった。6月に短日に移入した個体は移入後すぐに産卵を開始したが産卵数は少なかった。これらの結果から、幼虫期の短日条件は次世代の産卵に影響を及ぼすが成虫期の長日条件と20℃以上の温度条件があれば、次世代の産卵が可能であることが分かった。また、野外条件で飼育した個体の結果からは2月には生殖休眠の覚醒が終わり、次世代の産卵を行うことが明らかとなった。

野外での行動観察の中で、クモヘリカメムが人間など、動物から攻撃・攪乱を受けると体側から強い臭いを出し、その臭いは動物のみなら自身の急激な逃避行動をもたらすことが観察された。この行動に対する室内検定方法を考案し、雌雄ともに臭いを放出し、雌雄ともに忌避行動を起こすことが見いだされた。共同研究者の協力を受け、ツイスターを使い、興奮状態の雌雄のクモヘリカメムシの臭気物質を捕集し、ガスクロマトグラフ質量分析計でその成分の候補物質を同定した。さらに、合成化合物を用いた生物検定により、クモヘリカメムシは自身が発する (*E*)-2-octenal、octyl acetate、 (*E*)-2-octenyl acetate、 (*Z*)-3-octenyl acetate、 hexyl acetate、 octanalとoctanolの7物質に対して忌避行動を起こすことが明らかとなった。続いて(*E*)-2-octenal、octyl acetate、 (*E*)-2-octenyl acetateの3成分については興奮行動と飛翔による忌避行動を起こす濃度を室内実験で明らかにした。さらに、野外実験で(*E*)-2-octenalを利用した場合、容積濃度で10 ppb以上の濃度であれば室内実験と同様な忌避効果が見られることも明らかとなった。

以上の結果を受け、クモヘリカメムシが出す臭気物質による本種が原因の水田での斑点米発生の抑制効果について調査した。使用した成分は、(*E*)-2-octenal である。忌避製剤の処理時期を水稲の出穂期から成熟期までを処理時期とし、1圃場を処理区と無処理区に分け、調査期間中の虫の寄生状況と収穫後の斑点米発生率で効果の判定を行った。その結果、(*E*)-2-octenalを処理した実験圃場で斑点米の発生が有意に抑制された。この結果から、クモヘリカメムシの臭気物質を斑点米の発生を抑制する新たな有機農薬として使用できる可能性が示唆された。

論文審査結果の要旨

クモヘリカメムシはイネ科植物を食草とするカメムシのなかまで、本種に吸汁された米に黒い斑点（黒斑）を生じることで知られている。このような黒斑ができると、米の等級は著しく下がるため、クモヘリカメムシはイネの生産現場で大きな問題となっている。本研究では、合成殺虫剤によるクモヘリカメムシの防除に限界があると考え、候補者はまず本種のライフサイクルをつぶさに調査し、予察する指標を開発した。すなわち、卵期、幼虫期、成虫期に長日条件で4つの異なる温度の影響を調べた。その結果、それぞれの発育ステージでの発育零点と有効積算温度を求めることに成功した。この数値はクモヘリカメムシの野外での生育状況を予察する重要な因子であり、実用的に価値のある結果と言える。とくに、越冬後の雌成虫に関する数値から、最初に本種による被害に注意する時期を推定することができ、それぞれの農家でこの数値をもとにあらかじめ被害を防ぐための策を講じることができるというのは価値のある成果である。

候補者はさらにクモヘリカメムシの光周性と産卵との関係について詳細に研究した。すなわち、長日と短日条件で飼育した幼虫を長日あるいは短日条件に移し、異なる温度条件で飼育したときの産卵数を調査した。その結果、長日条件は産卵を促進するが、低温の15°Cでは産卵しないこと、また短日で飼育したものを長日に移すと、20 °C以上では産卵するが少し遅れることや短日のままで置くと産卵しないことを突き止めた。この実験では100日以上と極めて長期間にわたり観察が行われた。地道な作業を正確に継続した候補者の努力があってこそこの結果があり、その成果は極めて高く評価される。

カメムシは特有の不快臭を出すことで知られている。クモヘリカメムシも同様でその臭気は攻撃する捕食者等に対する防御物質を考えられていた。候補者は発想を大きく転換し、この臭気物質が自身に対しても忌避作用があるのではないかと推定した。具体的には、クモヘリカメムシの臭気物質を捕集し、ガスクロマトグラフィー－質量分析装置で当該成分を同定、さらに同定した成分を購入して本種に対する忌避効果の有無について調べた。その結果、予想したように、(*E*)-2-octenal、octyl acetate、 (*E*)-2-octenyl acetateの3成分がクモヘリカメムシに対して忌避行動を誘起することを突き止めた。コペルニクス的転回と言えるこの発見は、常識にとらわれていた昆虫学者を驚かせた。この発見は、カメムシの臭気物質が警報フェロモン的作用を示すことを証明した最初の実例であり、これだけでも学位の価値があると評価される。

クモヘリカメムシの臭気物質が自身のアラームフェロモンであるとの証拠を得ても、それを本種の防除に利用するためには大きな壁がある。その第一段階が、圃場試験である。候補者は兵庫県の農業技術センターの職員であり、大学の研究者とは異なり、現場での調査も経験がある。その経験を生かして、(*E*)-2-octenalがクモヘリカメムシによる斑点米の発生を抑制できるか圃場で試験を実施した。その結果、この化合物によって有意に斑点米の発生を抑制できることを確認した。この業績は現場を知る者でしかない遂げられないものであり、称賛される。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成29年7月18日、農学研究科教授会において、 論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。