

## 湛水条件のマメシクイガ幼虫生存率に及ぼす温度の影響

竹内博昭

Hiroaki TAKEUCHI:

Effect of flooding temperature on survival of soybean pod borer (*Leguminivora glycinivorella*) larvae

To determine the effect of flooding temperature on the survival of soybean pod borer (*Leguminivora glycinivorella*) larvae, the larvae in cocoons were submerged in sand and incubated at five different temperatures, ranging from 5°C to 25°C, in the laboratory. Larvae in soil samples were also submerged under outdoor conditions. A logistic model was fitted to the binary data (alive or dead) obtained in the laboratory experiment to test the effect of temperature and submersion period on larval survival. Then, a degree-day model was fitted to estimate the base temperature and other parameters of the model. The binary data from the outdoor experiment were fitted to a generalized linear mixed model to clarify the effect of cumulative temperature during submersion on larval survival in soil. In the laboratory experiment, the submerged larvae died more quickly under higher temperatures than under lower temperatures. The base temperature for the degree-day model was estimated to be 2.86 °C. In the outdoor experiment, the cumulative temperature had an effect on larval survival. These findings highlight that a degree-day model can be used to estimate survival probability. Further studies are necessary to determine whether factors other than temperature influence larval mortality under flooded conditions.

Key words: 輪作, 湛水, 土繭, submersion, cultural control

### 緒言

マメシクイガ *Leguminivora glycinivorella* は、チョウ目ハマキガ科 Tortricidae に属し、ダイズ *Glycine max* を主な寄主植物とする害虫である<sup>8)</sup>。日本では九州以北に生息し、北陸地方では年1回発生する。古くからダイズ子実に被害を発生させる害虫として知られ、現在でも北日本を中心に発生圃は多く<sup>20)</sup>、被害粒率が数十%を超える甚大な被害を生じることもある<sup>10)</sup>。そのため本種は、ダイズの防除コスト上昇を招く要因の一つとなっている。

一般に、本種の卵は莢表面に産みつけられる。幼虫は莢の中で子実を摂食して成長し、数週間後に老熟する。老熟幼虫は、10月ごろ莢から出て浅い土壤中に移動し丈夫な土繭を作る。そして、土繭の中で摂食せずに長期間幼虫態ですごし、翌年の夏に蛹化羽化する。成虫は長距離を移動しないとされている<sup>11)</sup>。これらの生態的特徴から、輪作が本種の生活環を断ち切る有効な耕種的防除法となっている。

国内の北海道以外の地域ではダイズはほとんどが水田転換畑における作付であり、ダイズ後に水稻が作付けされることも多い。その場合、代かき作業を経て湛水状態を保てば越冬幼虫を死滅させられることが知られている<sup>16)</sup>。一方、コメツキムシ科 Elateridae<sup>7)</sup>、ゾウムシ科 Curculionidae<sup>18)</sup>などの幼虫では、温度によって水没後の死亡率が異なることが知られている。これまで本種について実験的に水没の影響が確認されたことはなく、死亡率に及ぼす温度の影響の知見もない。多様な条件の圃場で耕種的防除の効果を安定化させるためには、水没中の温度と幼虫死亡率との関係を解明するとともに、死滅させるまでに必要な水没期間を推定するための知見を得る必要がある。

そこで本研究では、室内恒温条件で土繭を水没させて、幼虫の生死に及ぼす水没中の温度や期間の影響を調査した。そして、得られたデータに積算温度式をあてはめてパラメータを推定した。次に、野外で期間を変えて幼虫が生息している土壌を水没させ、幼虫の生死を水没中の

平均温度や積算温度で説明できるか調査した。さらに、野外の多様な時期に水没試験を行い、生存率と温度との関係を調査して、湛水中の温度条件が幼虫の生存率に及ぼす影響を考察した。

なお、本研究の一部は農林水産省の委託プロジェクト研究「収益力向上のための研究開発」(多収阻害プロ)の予算を用いて行われた。また、北陸病害虫グループの矢澤かずえ氏、遠藤信幸氏、渋谷和樹氏には研究の遂行において多くの協力、助言をいただいた。本文に先立ち感謝の意を表す。

## 材料および方法

### 1. 室内恒温条件における湛水試験

調査に用いた土繭(幼虫)は、2016年3月、12月および2017年3~4月に新潟県上越市にある農研機構中央農業研究センター北陸研究拠点のダイズ連作圃場の表土から採集した。採集方法は既報<sup>15)</sup>に準じた。すなわち、掘り取った表土を少しずつバケツに入れ、水を溜めてよく混ぜ、浮遊物を網(目合約2mm)でこし、その中から土繭を拾った。変色がないか土繭の表面を観察したり、ピンセットで軽く押して弾力性をみたりして、空の繭や寄生性天敵(寄生蜂、寄生蠅、寄生性線虫、昆虫病原性糸状菌)に寄生された土繭を除去した。健全とみなした繭は、蓋付きマイクロチューブ(1.5mL、目盛り)の中に1個ずつ入れて屋外の暗所に保管した。容器には土繭を入れる前に、底に0.3mLを目安に珪砂(7号)を入れた。水没開始は2016年3月25日としたが、2016年12月27

日、2017年5月2日にも追加分の水没調査を開始した(Fig. 1)。水没開始時には、水道水を1mLの線まで注入して、土繭を水没沈下状態とした。マイクロチューブは格納容器内に立て、全暗の恒温器(5, 10, 15, 20, 25℃)に入れた。対照区は十分な数の土繭を準備できなかったため設けなかった。

水没させた土繭は、温度毎に不規則の間隔でマイクロチューブからとり出し(Fig. 1)、実体顕微鏡下で土繭の中の幼虫の状態を調査した。調査ではまず、土繭から幼虫が出ているか否か、幼虫体の変色しているか否かを記録した。寄生性天敵により死亡した土繭は調査対象から除外した。調査土繭数はのべ867個であった。変色した幼虫は死亡と判定した。多くの幼虫では変色はなかったが、動きもなく容易に生死判定できなかった。そのため飼育して生死を判定した。飼育では、湿らせた珪砂とろ紙(2×0.5cmにキムワイプ®を切ったもの)を入れたマイクロチューブを用意し、土繭からとり出した幼虫を入れ、25℃全暗に保った。約1カ月後までに幼虫がチューブ壁面、ろ紙、珪砂のいずれかを使い虫体を完全に覆う繭を完成させた場合には生存、それ以外の場合は死亡と判定した。

### 2. 野外条件における湛水試験

野外条件で水没させて土繭の生存率を調査した(Table 1の試験No. 1~11)。供試虫は、土繭が生息している圃場の表土をスコップで採取し、プラスチックコンテナ(60×44×15cm)に満たして準備した。水没開始は2017年3月10日とした。各コンテナの水没開始時の虫

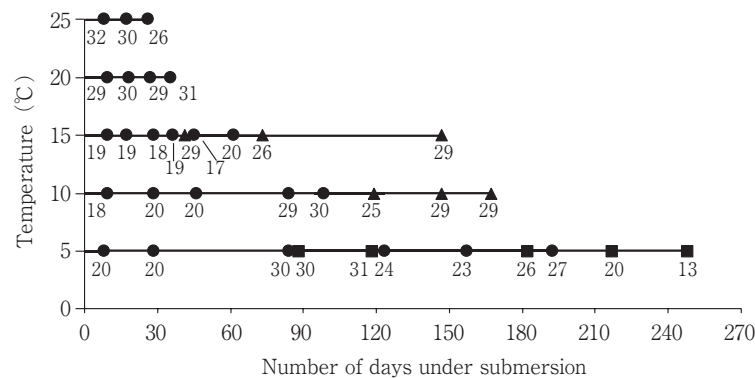


Fig. 1 Number of days of submersion for larvae at each of five constant temperatures, with numbers of larvae per treatment.

Values below symbols indicate numbers of larvae in each treatment.

Position of each symbol indicates day on which each submersion period ended.

Submersion commenced on 2016/3/25 (circles), 2016/12/27 (squares), and 2017/5/2 (triangles).

Table 1 Submersion methods for larvae under flood conditions for various periods and survival rate of larvae in submerged and un-submerged plots

No.	Place <sup>a)</sup>	Insect	Start date	End date	Period (days)	Un-submerged control plot					Submerged plot					
						Average temperature of soil (°C)	Cumulated temperature <sup>b)</sup> (degree-day)	Number of treated larvae <sup>c)</sup>	Number of surviving larvae	Survival rate (%)	Average temperature of soil (°C)	Cumulated temperature <sup>b)</sup> (degree-day)	Number of treated larvae <sup>c)</sup>	Number of surviving larvae <sup>d)</sup>	Survival rate (%)	Corrected survival rate (%) <sup>e)</sup>
1	Container	Occurred	2017/3/10	2017/4/10	31	8.6	180	25	9	36	8.8	185	20	7	35	97
2	Container	Occurred	2017/3/10	2017/4/13	34	8.7	201	38	13	34	8.9	206	103	7	7	20
3	Container	Occurred	2017/3/10	2017/4/20	41	9.6	278	12	6	50	9.8	288	34	12	35	71
4	Container	Occurred	2017/3/10	2017/4/24	45	9.9	319	26	23	88	10.1	329	105	74	70	80
5	Container	Occurred	2017/3/10	2017/5/1	52	10.7	410	11	2	18	10.9	419	68	4	6	32
6	Container	Occurred	2017/3/10	2017/5/8	59	11.4	506	152	22	14	11.4	508	60	3	5	35
7	Container	Occurred	2017/3/10	2017/5/17	68	12.4	648	15	3	20	12.3	642	63	0	0	0
8	Container	Occurred	2017/3/10	2017/5/19	70	12.5	664	54	15	28	12.4	656	121	2	2	6
9	Container	Occurred	2017/3/10	2017/5/25	76	13.4	800	26	20	77	13.3	793	92	0	0	0
10	Container	Occurred	2017/3/10	2017/5/30	81	13.8	890	11	4	36	13.7	882	41	0	0	0
11	Container	Occurred	2017/3/10	2017/6/1	83	14.1	934	71	35	49	14.0	924	208	0	0	0
12	Wagner pot	Released	2015/12/20	2016/3/23	94	4.7	214	25	15	60	3.6	190	30	17	57	94
13	Wagner pot	Released	2015/12/20	2016/5/25	157	8.7	959	40	14	35	8.2	960	57	0	0	0
14	Wagner pot	Released	2016/10/24	2016/12/17	54	8.7	320	31	18	58	8.7	320	31	4	13	22
15	Wagner pot	Released	2016/10/24	2017/1/5	73	7.8	379	29	17	59	7.8	375	31	2	6	11
16	Wagner pot	Released	2016/12/27	2017/3/25	88	3.0	107	30	28	93	3.1	106	29	17	59	63
17	Wagner pot	Released	2016/12/27	2017/4/17	111	4.3	251	29	22	76	4.3	241	29	15	52	68
18	Wagner pot	Released	2016/12/27	2017/5/1	125	5.4	412	30	20	67	5.4	400	30	9	30	45
19	Wagner pot	Released	2016/12/27	2017/5/17	141	6.6	630	29	23	79	6.6	619	41	10	24	31
20	Rice field	Released	2016/6/3	2016/6/14	11	21.8	209	39	34	87	24.2	236	36	5	14	16
21	Rice field	Released	2016/6/7	2016/6/14	7	22.5	138	39	34	87	24.9	156	41	4	10	11
22	Rice field	Released	2016/5/25	2016/6/3	9	20.1	156	28	13	46	22.1	174	51	0	0	0

a) Area of Wagner pot, container, and paddy field was 1/5000 a, 0.28m<sup>2</sup>, and 7.1 a, respectively.

b) Hourly measured temperature accumulated during submergion period after subtracting 2.86°C.

c) In No. 1 to 11, number of treated larvae is total number of surviving and dead larvae after treatment.

d) Un-submerged plots No.20 and 21 are the same.

e) Corrected survival rate =  $\frac{\text{survival rate of submerged plot} - \text{survival rate of control plot} \times 100}{\text{survival rate of control plot} \times 100}$

数は調査しなかった。コンテナは、コンクリート敷きで平らな屋根のない場所においた。水没区は水深2cm以上に水道水で湛水し、無処理区は灌水のみとした。水没区は、降雨により湛水が保たれたが、土が露出しそうになった場合は水道水を足した。無処理区には乾燥と降雨による湛水を防ぐために同じ大きさのプラスチックコンテナをかぶせた。水没区と無処理区の地表下約4cmの毎時温度をデータロガ（おんどとり® TR52, 株式会社ティアンドデイ）で測定した。各水没終了日（Table 1）には水没区と無処理区からコンテナを1個ずつ選び、中の土壌から土繭を全て採集した。採集方法は、上述の室内試験における供試虫の準備方法と同じである。採集した土繭のうち、寄生性天敵に寄生された繭、空の繭は調査対象から除外した。残りの土繭中の幼虫については室内試験と同じ方法で生死を判定した。

### 3. 多様な野外温度条件における湛水試験

ワグネルポット（1/5000a, 粒状培土）と水田（2016年5月19日移植、殺虫剤なしで栽培）を用いて多様な野外温度条件で土繭を水没させて生存率を調査した（Table 1の試験No.12~22）。供試虫は上述の室内試験と同じ方法で12月、3月、4月に採集した。ただし、2015年と2016年10月の調査では、ダイズを登熟期ごろに刈り取って保管し、莢から出てきた老熟幼虫を圃場の土壌を入れた容器に入れ、土繭を作成させ、これを供試虫とした。採集した土繭は、屋外全暗条件に保管した。調査に用いる前に健全か否かを再度確認した。

土繭は埋設後に発見しやすくするために、1mLピペットチップの中に入れた。チップの広い開口部から4cmの位置に土繭を固定するようにチップに砂を詰めた。そして、広い開口部が地表と同じ高さになるまで先端から土中に押し込んだ。無処理区は、湛水していないワグネルポットまたは水田に隣接するダイズ畑とし、水没区とはほぼ同数の土繭入りチップを打ち込んだ。ポットは、建物横の砂利敷で屋根のない場所においた。調査開始時に水没区は水道水で約4cm湛水し、無処理区（排水孔は開口）は土が湿る程度に灌水した。その後は、降雪降雨によって湛水、保湿が保たれたが、土が露出しそうな場合には水道水を足した。一方、水田は田植え前後の時期であり用水で湛水状態が維持された。無処理区（播種期前後のダイズ圃場）は降雨による保湿のみであった。水没終了日（Table 1）にチップを掘り出し、土繭中の幼虫の生死を上述の野外試験および室内試験と同様に判定し

た。

### 4. 室内試験における水没幼虫の生死に及ぼす要因の解析

室内水没試験のデータには、ロジスティックモデルをあてはめて幼虫の生死に影響した要因を解析した。目的変数は土繭中の幼虫の生死とした（生存と判定した場合は1、死亡と判定した場合は0。以下全て同じ）。説明変数は、温度（5~25℃の5通り、連続変数）、水没日数（連続変数）、水没開始日（12月27日、3月25日、5月2日の順の順序変数）および温度と日数の交互作用の4つとした。水没開始日の違いは一部の温度のみであったので、水没開始日を含む交互作用は考慮しなかった。各説明変数の効果を尤度比検定で評価した。

### 5. 室内試験データへの積算温度式のあてはめ

数段階の定温条件下で時間ごとに死亡率のデータを取り、モデルをあてはめ、このモデルを変温条件下で使おうとする場合、積算温度を用いたモデルや化学反応速度的な考え方を用いたモデル等が試されている<sup>12)</sup>。このうち、積算温度を用いる方法<sup>2)</sup>は精度が低い場合がある<sup>1)</sup>が簡易な方法である。本研究の室内試験では、目的変数が生死の二値なので、ロジスティックモデルを用いた積算温度の式<sup>14,19)</sup>  $q_i = 1/[1 + \exp\{-(\alpha_0 + \alpha_1 D_i)\}]$  をあてはめた。 $q_i$ は、 $i$ 番目の試験個体の生存確率、 $D_i$ は、 $i$ 番目の試験個体の水没中の積算温度である。設定温度を $x_i$ としたとき、 $D_i = x_i - \alpha_2$ で表される。ただし、 $x_i - \alpha_2$ が負の値となった場合は $D_i = 0$ となる。パラメータ $\alpha_0$ 、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ は、最尤法で推定することとし、二項分布の場合の対数尤度関数  $\sum_{i=1}^n \{ \log\binom{N_i}{y_i} + y_i \log(q_i) + (N_i - y_i) \log(1 - q_i) \}$  を最大化するパラメータを求めた。なお、式の中の $n$ は供試虫数、 $N_i$ は $i$ 番目の室内試験の供試個体数、 $y_i$ は $i$ 番目の室内試験の死亡個体数である。

### 6. 野外試験における水没幼虫の生死に及ぼす要因の解析

野外試験の水没区のデータには、一般化線形混合モデルをあてはめ、パラメータが有意に0と異なるか検定して、水没させた幼虫の生死を説明できる変数が判断した。目的変数は土繭中の幼虫の生死（2値データ）とした。説明変数は、水没日数と水没中の平均温度とし、ランダム効果を表現する変数としてコンテナ番号（1~11）を加えた。

また、同じモデル構成で、説明変数として積算温度を水没日数と平均温度の代わりに用いた場合についても、

パラメータの有意性を検定した。積算温度は、毎時温度データと室内試験で求めた $\alpha_2$ を用いて計算した。

### 7. 多様な野外温度条件における水没幼虫の生存率

時期を変えて土蕨を水没させた場合の処理後の生存率と水没中の温度条件を整理した (Table 1)。次に、上述のコンテナを用いた水没試験データとともに、下の式で補正生存率を求めた。補正生存率(%) =  $\{1 - (\text{非湛水区の生存率} - \text{湛水区の生存率}) / \text{非湛水区の生存率}\} \times 100$ 。そして、生存率、補正生存率および積算温度式の生存確率の推定値と積算温度との関係を散布図に表して考察した。

本研究では、統計解析には、統計ソフトJMP<sup>®</sup> 13.2.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いた。ただし、積算温度の式のパラメータ $\alpha_0$ 、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ の推定には、Microsoft Excel<sup>®</sup>のソルバーを用いた。一般化線形混合モデルのあてはめには、R ver.3.4.0のglmmMLパッケージを用いた<sup>17)</sup>。いずれも有意水準は5%とした。

## 結 果

### 1. 室内試験における水没幼虫の生死に及ぼす要因

水没させた土蕨のべ867個のうち、水没期間が終わったときに幼虫体の一部または全部が蕨を出ていたのは99頭 (11%) であり、大部分は土蕨の中に幼虫は留まっていた。

土蕨に留まっていた幼虫は、どの温度でも水没期間が長くなると徐々に衰弱した。水没処理後に蕨を作成できた個体を生存、それ以外を死亡と定義したが、幼虫の衰弱は徐々に進む連続的な変化であった。幼虫の衰弱は、水没中に動きがなくなることでまず認められ、次に水没後の動きの回復が少なくなり、やがて、水没後に蕨を作れなくなった。調査したすべての土蕨の中で、水没終了時に幼虫が既に変色しており死亡と判定した個体は全体の29%であった。残りは飼育して判定したが、蕨を作成でき生存と判定した個体は全体の42%であった。

室内試験の幼虫の生死のデータに対して、ロジスティックモデルをあてはめて解析したところ、説明変数のうち、温度、水没日数、温度と水没日数の交互作用は、5%水準で有意な効果が検出された (Table 2)。一方、水没開始日には有意な効果は検出されず、今回の試験では、水没開始日の違いの影響は小さいと判断された (Table 2)。温度ごとに水没日数と幼虫生存率との関係を散布図にした場合 (Fig. 2)、幼虫の生存率は、同じ温度ならば水没期間が長いほど低く、同じ水没期間ならば温度が低いほど高かった。

### 2. 室内試験データへの積算温度式のあてはめ

ロジスティックモデルを用いた積算温度の式をあてはめたところ、式に含まれるパラメータ $\alpha_0$ 、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ は順に、2.025、-0.0058、2.86と推定された (対数尤度: -188.8)。 $\alpha_2$ は積算の閾値の温度であり2.86°Cを意味する。これらのパラメータを含む積算温度式から推定した生存確率の曲線は、調査した温度いずれでも実験で得られたデータ点にほぼ沿った右下がりの曲線となった (Fig. 3)。

### 3. 野外試験における幼虫の生死に影響する要因

水没区のコンテナ内土蕨には、のべ915個の土蕨があった。水没終了時に幼虫が変色していた個体は全体の67%であった。残りは飼育したが、蕨を作成でき生存と判定した個体は全体の12%であった。コンテナごとに見ると生存率の範囲は、0~59%であった (Table 1)。変色個体の死亡要因は不明であった。

無処理区では、水没終了時に幼虫が変色しており死亡と判定した個体は全体の34%であった。変色個体の死亡要因は不明であった。蕨を作成でき生存と判定した個体は全体の34%であった。コンテナごとに見ると生存率の範囲は、14~88%でありばらつきは大きかった。無処理区の生存率と積算温度との関係を示した散布図では、生存率と積算温度との間に一定の傾向は認められなかった

Table 2 Effect of explanatory variables on fit of logistic model<sup>a)</sup>

Variable	df	Likelihood ratio	P
Temperature	1	204.5	<0.001
Submersion period (days)	1	203.2	<0.001
Interaction: temperature × days of submersion	1	75.4	<0.001
Submersion commenced date	2	5.4	0.066

a) Objective variable of model is larval binomial response (survival or death).

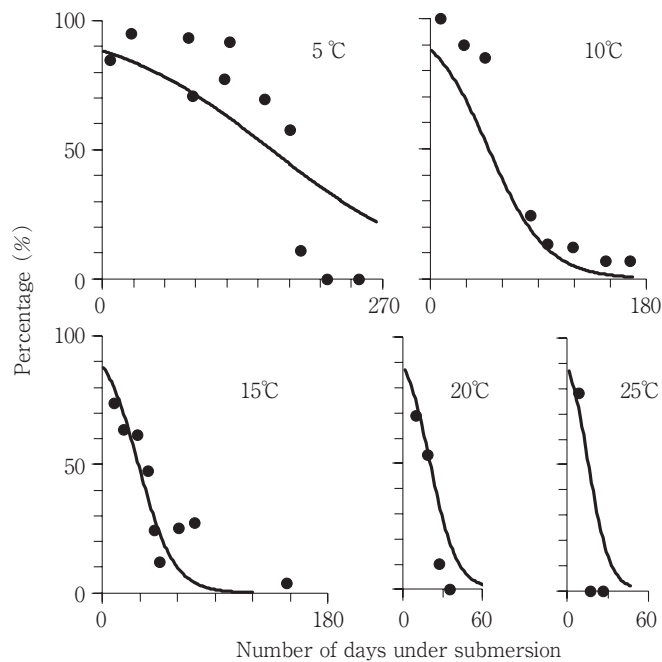


Fig. 2 Observed survival rate of larvae and survival probability after submersion.

Solid circle: Survival rate of larvae (number of survived larvae / number of tested larvae  $\times$  100).

Solid curve: Inverse of estimated number of days under submersion by cumulative temperature model.

Survival probability =  $1 / (1 + \exp(- (2.025 - 0.0058 \times \text{cumulative temperature}))) \times 100$ . Base temperature is 2.86°C.

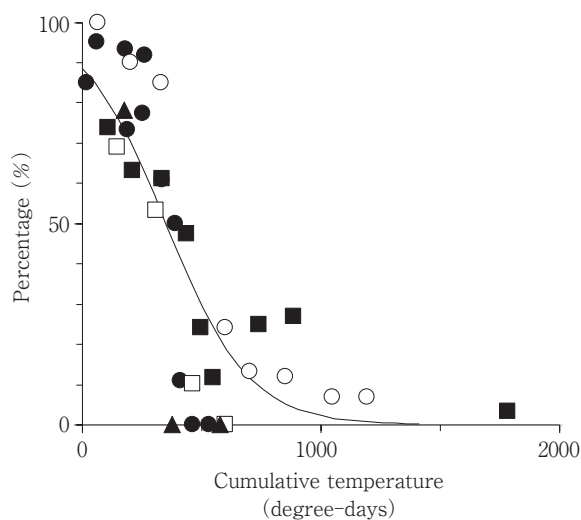


Fig. 3 Relationship between cumulative temperature and survival rate of submerged larvae in laboratory.

Solid circle, open circle, solid square, open square, and solid triangle show survival rate of larvae submerged at 5, 10, 15, 20 and 25°C, respectively.

Curved line: Probability of survival estimated by degree-day model.

(Fig. 4)。

水没区で得られたデータについて、幼虫の生死を目的変数とし水没日数、水没中の平均温度を説明変数として、一般化線形混合モデルをあてはめたところ、いずれのパラメータも 0 と有意な差は認められなかった (Table 3)。同じモデル構成で、説明変数として積算温度を水没日数

と平均温度の代わりに用いた場合には、積算温度のパラメータは 0 と有意な差が認められた (Table 4)。

コンテナ内土壌の温度推移の一部を Fig. 5 に示した。水没区の温度変化は大きかった。ただし、水没区、無処理区の平均温度はほぼ同等であった (Table 1)。

Table 3 Estimated parameters of generalized linear mixed model testing effects of submersion period and average temperature during submersion on larval binomial response (survival or death)<sup>a)</sup>

Parameter	Coefficient	S.E.	z-value	P <sup>b)</sup>
Intercept	5.01	29.806	0.168	0.867
Period	-0.122	0.510	-0.238	0.812
Average temperature	-0.146	5.217	-0.279	0.978

a) Submersion period and average temperature were considered as fixed effects. Each submersion container was considered as a random effect.

b) For each parameter, difference from 0 or not was determined by Wald test at the 5% significance level.

Table 4 Estimated parameters of a generalized linear mixed model testing effects of cumulative temperature during submersion on larval binomial response (survival or death)<sup>a)</sup>

Parameter	Coefficient	S.E.	z-value	P <sup>c)</sup>
Intercept	1.744	1.183	1.474	0.140
Cumulative temperature <sup>b)</sup>	-0.0104	0.003	-3.877	<0.001

a) Cumulative temperature was considered a fixed effect. Each submersion container was considered as a random effect.

b) Base temperature: 2.86°C.

c) For each parameter, difference from 0 or not was determined by Wald test at the 5% significance level.

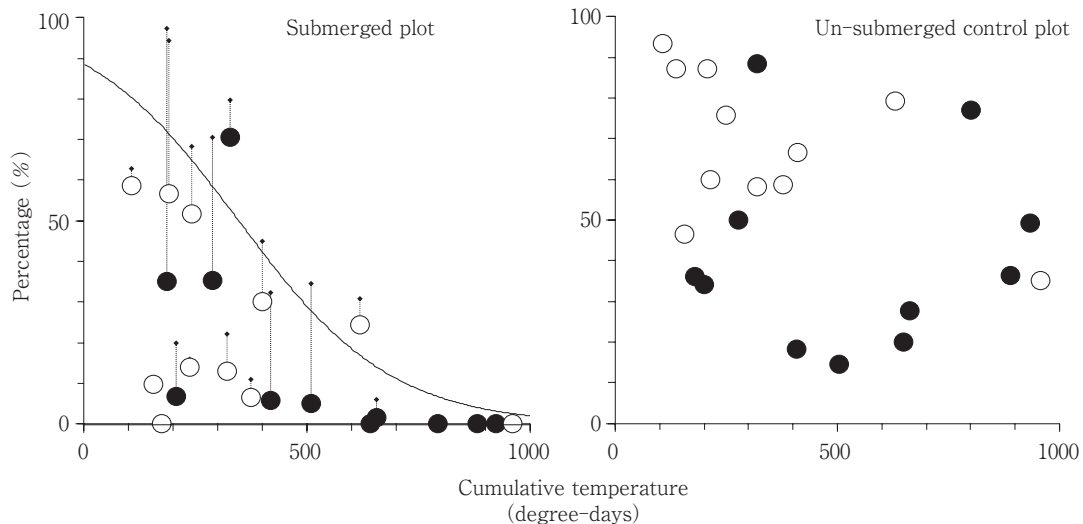


Fig. 4 Relationship between cumulative temperature and survival rate in submerged and un-submerged control plot in container, Wagner pot, and rice field experiments.

In submerged plot, the top end point of straight line extending vertically upward from each data point indicates value of corrected survival rate of that point. Solid circles: submersion test in container; open circles: submersion test in Wagner pot and rice field. Curved line: Probability of survival estimated by degree-day model.

#### 4. 多様な野外温度条件における水没幼虫の生存率

ポットと水田で多様な時期に水没処理した場合、幼虫生存率の範囲は、0～59%であった。一方、無処理区の幼虫生存率の範囲は、35～93%であった。無処理区の生存率は低い場合があった。

生存率と積算温度との関係を散布図に示した (Fig. 4)。上述のコンテナを用いた調査で得られたデータも合

わせると、データ点22個のうち20個は、室内試験で推定した積算温度式による推定曲線より下にばらついて分布した。推定曲線より上の2点は、曲線の値より最大18%大きかった。

無処理区の生存率は低い場合が多かった。無処理区の生存率が低い場合には、補正生存率は不正確となるが、補正しないと生存率を過小評価する可能性もある。補正

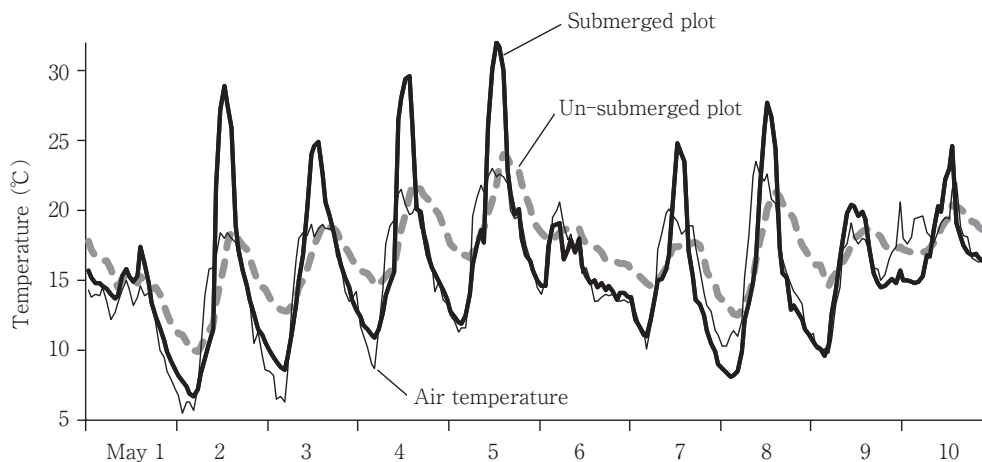


Fig. 5 Hourly measured temperature of submerged and un-submerged soil in container.

生存率を散布図上に併せて示したところ、データ点22個のうち14個は、推定曲線より下にばらついて分布した。推定曲線より上の8データ点は、曲線の値より最大27%大きかった。

### 考 察

室内恒温条件で土繭を5～25°Cの恒温全暗条件で水没させて調査したところ、調査した温度範囲では、温度が高いほど、水没期間が長いほど生存率が低下した (Fig. 2)。これまで、水没中の温度と死亡率との関係が、メイガ科Pyralidae, コメツキムシ科Elateridae, ゾウムシ科Curculionidaeの幼虫やバッタ科Acrididaeの卵等で調査されている<sup>3,7,18,21</sup>。そして、水没に対する耐性は低温では高く、高温では低い傾向が示されている。本種もこれらの種と同様に、水没中の生存率は温度に影響されると考えられた。

水没させた土繭中の幼虫は、繭内に留まっていることが多かった。繭内の幼虫は徐々に衰弱した。虫体の動きが止まり、やがて水没処理の後に繭を作れなくなった。水中は空気中と異なり酸素濃度はごく低い。水中でも溶存酸素はあるがその量は温度が高いほど減少する<sup>6,9</sup>。一般に、昆虫の代謝量と酸素要求量は低温では少なく、適温では多くなる。本種幼虫の生存率は、高温条件では短期間で低下した。これらから、水没した幼虫が衰弱していくのは酸素不足によるものと考えられる。高温条件では低温条件より短い期間で、幼虫は酸素不足になると考えられた。

水没の影響を評価するために、ゾウムシ科の幼虫では

重回帰モデル<sup>18</sup>やプロビットモデル<sup>7</sup>があてはめられた例がある。また、加温の殺虫効果を評価するために、貯穀害虫では温度ごとの半数致死期間 (LT<sub>50</sub>やLT<sub>99</sub>) を求め、これに積算温度の式があてはめられた例がある<sup>2</sup>。本研究で得られた室内試験データは幼虫の生死の二値データであるため、ロジスティックモデルを用いた積算温度の式をあてはめた。作成した積算温度式から推定した生存確率の曲線は、調査した温度いずれでも、実験で得られたデータ点におおよそ沿った右下がりの曲線となった (Fig. 2)。このモデルでは、温度を積算する閾値は2.86°Cと推定された。閾値の温度の精度はモデルの精度に大きく影響するので、別に実験して推定することが望ましいとされている<sup>4</sup>。本研究の水没試験では5°Cの場合、幼虫は死滅した。推定した閾値はこれに矛盾のない値ではあるが、今後、閾値以下の温度条件で水没処理をして、この値の妥当性を確認するとともに、冬季の水没が幼虫生存率に及ぼす影響について解明する必要がある。

野外条件で3月～5月に土繭が生息する土壌を水没させた場合、水没区の温度の変動は無処理区より大きく、日最高温度は高いことが多かった。田植え期ごろの水田水温は日照の影響で気温より数度高く推移することが知られている。水没区の大きな温度変化はこの時期の水田温度の一般的な傾向を反映していると考えられる。このような条件で実施した野外水没試験の解析からは、平均温度と日数を説明変数とするモデルで幼虫の生死を説明することは難しいと考えられた。一方、積算温度を説明変数としたモデルでは可能性が見いだされた。野外変温条件で水没虫の生存率を推定する場合に、積算温度の使



用は一つの方法になると考えられる。

室内試験の水没処理とコンテナを用いた野外の水没処理は、水没時の積算温度の分布範囲はほぼ同じであったが、水没終了時の幼虫の状態や生存率は大きく異なった (Fig. 3および4)。水没終了時に体色に変色していた幼虫の割合は、室内試験では、全体の29%であったが、野外試験では、全体の67%で高かった。繭を作成できた幼虫の割合は室内試験では全体の42%であったが、野外試験では全体の12%で低かった。野外試験では、飼育後に回復できた個体の割合も低かった。これらから、野外試験では室内試験より、水没させた幼虫の衰弱が速く死亡率が高かったと考えられた。

この要因として、水没処理と関連する酸素濃度や生物的要因など外的死亡要因の影響が野外では大きかった可能性が考えられる。室内試験では珪砂と水道水のみを用いて土繭を水没させ、他の生物や土壌の影響をできるだけ除去した。一方、野外試験は開放系である上、使用した土壌には、多様な有機物や生物が含まれていた。水田土壌は珪砂と異なり、湛水すると溶存酸素が少ない還元層が生じる<sup>5)</sup>。水没後の死亡率に生息環境の溶存酸素や土壌の種類が影響した例が他種ではある<sup>3,7)</sup>。野外水没条件で本種の衰弱を速めた外的死亡要因の一つは、土壌の還元である可能性がある。

室内試験のデータは、推定した積算温度の推定値の周囲に分布した (Fig. 3)。本研究の室内試験では無処理区を設定していないので、積算温度式による推定値は、生存率を過小評価している可能性がある。しかし、野外条件の水没幼虫の生存率では、多くのデータ点は積算温度式の曲線の下にばらついて分布した (Fig. 4)。補正生存率の場合には、より数値は大きくなったものの、曲線の上に分布した点と曲線との違いは大きくなかった。野外では多くの死亡要因が存在し、個々の湛水条件でのそれらの影響の評価は困難と考えられる。死亡要因が限定された室内試験で得られた推定式による推定値は、野外条件で水没虫が死滅する積算温度を推定する場面では、正確性は低い但過小評価の可能性が低い目安として適用できる可能性がある。

これまで、水稲作で湛水状態にすると幼虫を死滅させられることが経験的に知られてきた。本研究では高温ならば短期間で生存率が低下する可能性を示した。水田は田植え期には湛水状態が1ヵ月以上続く。試みとして新潟県上越市高田の各日の水田水温の値 (熱収支式によって計算されるイネがない水田水面の日平均値) を

NAROの「モデル結合型作物気象データベース」web版 (<http://meteocrop.dc.affrc.go.jp/>) から取り出して積算温度式で計算すると、ダイズ跡の水田では多くの幼虫がこの時期に死亡していると考えられた。その後も湛水があるので羽化成虫が水田から発生する可能性は低いと考えられた。ただし、6月以降に水田は中干しや間断灌漑をすることが多い。雑草種子では間断的な湛水では死滅しない例が知られている<sup>13)</sup>。今後、より実際に近い条件で水没後の生存率を調査する必要があると考えられる。

## 引用文献

- 1) Colinet, H., Sinclair, B. J., Vernon, P. and Renault, D. (2015) Insects in fluctuating thermal environments. *Annu. Rev. Entomol.* 60 : 123~140.
- 2) Dermott, T. and Evans, D. E. (1978) An evaluation of fluidized-bed heating as a means of disinfesting wheat. *J. Stored Prod. Res.* 14 : 1~12.
- 3) Fitzpatrick, S. M. (2007) Survival of submerged larvae of cranberry girdler, *Chrysoteuchia topiaria*, in the laboratory. *Crop Prot.* 26 : 1810~1816.
- 4) Gu, W. D. and Novak, R. J. (2006) Statistical estimation of degree days of mosquito development under fluctuating temperatures in the field. *J. Vector Ecol.* 31 : 107~112.
- 5) 長谷部亮・関矢信一郎・飯村康二 (1986) 水管理条件が酸化層・還元層の分化発達に及ぼす影響. *土肥誌* 57 : 544~550.
- 6) 林 文男 (1989) 低酸素濃度に対する水生昆虫の呼吸反応. *陸水学雑誌* 50 : 255~268.
- 7) van Herk, W. G. and Vernon, R. S. (2006) Effect of temperature and soil on the control of a wireworm, *Agriotes obscurus* L. (Coleoptera: Elateridae) by flooding. *Crop Prot.* 25 : 1057~1061.
- 8) 樋口博也・望月文昭 (2011) マメシクイガのダイズ圃場での発生生態. *植物防疫* 65 : 225~227.
- 9) Hoback, W. W. and Stanley, D. W. (2001) Insects in hypoxia. *J. Insect Physiol.* 47 : 533~542.
- 10) 石本万寿広・山代千加子 (2017) 新潟県におけるマメシクイガの発生消長. *新潟農総研報* 15 : 15~19.
- 11) 梶原敏宏・梅谷献二・浅川 勝 (1986) 作物病害虫ハンドブック. 1446, 養賢堂, 東京.

- 12) Kaliyan N., Carrillo M. A., Morey R. V., Wilcke W. F. and Kells S. A. (2007) Mortality of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) populations under fluctuating low temperatures: model development and validation. *Environ. Entomol.* 36 : 1318~1327.
- 13) 木田揚一・浅井元朗 (2006) 夏期湛水条件がカラスムギおよびネズミムギ種子の生存に及ぼす影響. 雑草研究51 : 87~90.
- 14) Manel, S. and Debouzie, D. (1997) Logistic regression and continuation ratio models to estimate insect development under variable temperatures. *Ecol. Modell.* 98 : 237~243.
- 15) 成瀬博行・新田 朗・中川俊昭・若松俊弘 (1986) 土壌調査によるマメシクイガ発生予察法. 北陸病害虫研報34 : 56~60.
- 16) 成瀬博行・新田 朗 (1991) 北陸地方におけるマメシクイガの発生経過. 富山農技セ研報10 : 1~9.
- 17) R Core Team (2017) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- 18) Shapiro, J. P., Hall, D. G. and Niedz, R. P. (1997) Mortality of the larval root weevil *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in simulated flooding. *Fla. Entomol.* 80 : 277~285.
- 19) Takeda, M. (2004) Effects of temperature on oviposition in overwintering females and hatch in first-generation larvae of *Pseudaulacaspis pentagona* (Hemiptera: Diaspididae). *Appl. Entomol. Zool.* 39 : 15~26.
- 20) 高橋智紀・持田秀之・榊原充隆・森本 晶・小林浩幸・相場 聡 (2014) 寒冷地における生産現場でのダイズ低収要因の解析. 東北農研セ研報116 : 89~118.
- 21) Woodman, J. D. (2015) Surviving a flood: effects of inundation period, temperature and embryonic development stage in locust eggs. *B. Entomol. Res.* 105 : 441~447.

(2018年10月17日受理)