

水稲の抵抗性を利用したツマグロヨコバイ管理技術に関する研究

平江雅宏*

目 次

I 緒言	51	2. 抵抗性品種の栽培方法	78
II 幼虫発育を指標としたイネのツマグロヨコバイ抵抗性検定法	54	3. 抵抗性品種に対する加害個体のモニタリング	79
III ツマグロヨコバイ抵抗性品種を加害するバイオタイプ	58	4. 新しい抵抗性遺伝子の探索	80
1. 抵抗性品種を加害するバイオタイプの選抜と加害性の変化	58	5. 抵抗性遺伝子の集積	80
2. バイオタイプの加害特性および生活史特性の比較	66	摘要	82
IV 野外におけるツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統の密度抑制効果	71	1. 幼虫発育を指標とした簡易抵抗性検定法	82
V 総合考察	77	2. ツマグロヨコバイ抵抗性品種を加害するバイオタイプ	82
1. 異なる遺伝子を保有する抵抗性品種への切り替え	78	3. 野外におけるツマグロヨコバイ準同質遺伝子系統の密度抑制効果	83
		謝辞	83
		引用文献	84
		Summary	91

I. 緒 言

ツマグロヨコバイ *Nephotettix cincticeps* (Uhler) はカメムシ目 (Hemiptera) ヨコバイ科 (Cicadellidae) に属する吸汁性昆虫であり、水稲の主要害虫の一種として知られている。本種は日本では本州・四国・九州に分布し、幼虫態で越冬し年間4~5世代を繰り返す^(25,37,57,94)。本種はイネ萎縮病、イネわい化病を引き起こすウイルスや、イネ黄萎病を引き起こすファイトプラズマ等の病原微生物を媒介してイネに被害をもたらす^(18,36,90,111)。イネの移植直後に本種が多発生した場合は、吸汁加害により苗の枯死や生育の遅延などの被害を引き起こす⁽⁶¹⁾。また、出穂期から登熟期に多発生した場合は、本種の吸汁による籾の褐変および上位葉の変色、茎葉や穂への排泄物(甘露)の付着によるすす病の発生のほか、登熟歩合の低下や千粒重の減少などによる品質の低下や減

収を引き起こす^(51,61,132,140)。西南日本地域では、主に本田初期におけるウイルス病が問題とされ、吸汁加害により登熟期間中に変色籾やすす病の発生を認める場合はあるが減収に至ることは稀である⁽⁷⁷⁾。一方、東北や北陸地方などの東北日本地域では、本種の発生量は年次変動が大きいものの、しばしば多発し^(52,72,88)、収量が減少する直接的な被害が大きい^(58,84,89,141)。これは、西南日本地域では成虫期の分散による密度依存的調節機構が強く働くために本田後期に本種の密度が高まらないのに対し^(37,63,74)、東北日本地域では個体群密度の調節機構が有効に働かず高い増殖率となり、本種のピーク世代の密度が西南日本地域と比べ著しく高くなるからとされる^(35,47,52,62)。また、西南日本地域と比べて東北日本地域では、本種の加害密度の増加による稲の収量低下の

傾向が大きく、これは吸汁加害によるイネの補償作用が両地域で異なるためと考えられている^(51,77)。

本種を含む水稲害虫の防除は主として有機合成殺虫剤に依存しているが、殺虫剤一辺倒の防除方法は、薬剤抵抗性の発達⁽⁴⁹⁾や環境の汚染等の弊害が指摘されている。近年、食品や環境に対する安全性が重要視されていることから、殺虫剤のみに依存した防除体系から、高精度な発生予察に基づいた防除法や耕種的防除法、生物的防除法を組み合わせる害虫の生息密度を経済的被害許容水準以下に制御する総合的害虫管理技術の確立が望まれている。本研究で対象としている抵抗性品種を利用した害虫管理技術は、殺虫剤使用量の削減によって環境に対する負荷を軽減させるだけでなく、人畜に対する安全性や防除の省力化あるいは低コスト化などの利点を持つ総合的害虫管理技術の有力な素材の1つである。

ツマグロヨコバイに対するイネの抵抗性に関する研究は、1960年代に外国稲品種の中から本種に抵抗性を示す品種が見いだされたことから始まる⁽⁴²⁾。抵抗性のイネ品種に寄生した幼虫は発育が遅延し死亡率が高く、成虫は生存期間が短縮し雌成虫は産卵が阻害される^(65,73)。また、抵抗性のイネ品種には、このような発育、生存を阻害する抗生作用(antibiosis)だけでなく、寄主植物への寄生を回避させる抗寄生性作用(antixenosis)も認められる⁽⁷³⁾。抵抗性の検定方法として、芽出し苗検定法⁽⁶⁶⁾、幼苗検定法^(66,91,97,106,108)、葉検定法⁽⁶⁷⁾、葉鞘検定法、わくかけ検定法などの抗生作用を指標とした方法や、抗寄生性作用を指標とした方法^(3,91,97,107,109)が検討されてきた。これらの検定法のうち、葉検定法は抵抗性程度を的確に判定できるが、イネの生育段階によって抵抗性程度が変動するため検定時期が出穂期前後に限られることや、検定材料に用いるイネを生育させる圃場やポットを必要とする等、時空間的な制約がある⁽⁶⁷⁾。また、他の検定法にも一長一短があり、抵抗性の品種間差異を明らかにするためには有効であるが、抵抗性の程度を個体レベルで評価するのは困難であり、大量の検定材料について迅速、簡易かつ正確に抵抗性程度を判定する手法が必要である。

本種は主に維管束に口針を挿入し師管と道管の両方から吸汁し⁽⁸⁰⁾、師管吸汁時に糖類およびアミノ酸が排泄物(甘露)から検出される⁽⁹⁶⁾。抵抗性のイネ品種を吸汁した場合、感受性のイネ品種と

比べて大量の甘露を排泄する。しかし、感受性のイネ品種を吸汁した場合に排泄された甘露に糖類やアミノ酸が含まれるのに対し、抵抗性のイネ品種を吸汁した場合の甘露中にこれらはほとんど含まれない^(53,59,60,75,98,123,139)。吸汁行動の電氣的測定から、本種は抵抗性のイネ品種の師管まで口針が到達するものの、そこからの吸汁が阻害されることが明らかにされている^(59,60,75)。これらのことから、ツマグロヨコバイ抵抗性のイネ品種では師管からの吸汁阻害により本種の栄養摂取を困難にし、発育遅延や生存率の低下、産卵数の減少などの影響を及ぼすものと考えられている^(59,60)。本種は抵抗性イネから採取した師管液に対し吸汁阻害活性を示さない^(27,60)。このため、師管液自体にもともと吸汁阻害因子が存在するのではなく、本種が師部組織に口針を挿入することにより、師部特異的な抵抗性因子が誘導されて吸汁阻害を引き起こしているのではないかと考えられている⁽²⁸⁾。抵抗性機構の解明には至っていない。

ツマグロヨコバイ抵抗性のイネ品種は、イネ萎縮病に対しても抵抗性を示すことから^(24,41,55,95)、抵抗性遺伝子を日本イネに導入した両抵抗性品種の育成が行われている。これまでに台湾のイネ品種 Pe-bi-hun(白米粉)を母本にした水稲中間母本農2号(旧名:関東 PL 3)や、フィリピンのイネ品種 Tadukanを母本にした関東 PL 6が育成された^(55,69,70)。また、インドのイネ品種 C203-1と Lepe dumaiを母本にして水稲中間母本農5号(旧名:西海 PL 2)と水稲中間母本農6号(旧名:奥羽 PL 1)がそれぞれ育成された^(68,95)。愛知県ではインドネシアのイネ品種 Rantaj-emas 2が保有する抵抗性遺伝子を導入した愛知42号、愛知80号および愛知97号が育成された^(81,113,114)。しかし、これら抵抗性品種が、野外条件でどの程度ツマグロヨコバイの密度を抑制するかについては、品種間差を調べる目的で行われた試験例があるものの^(39,40,42,79)、まだ不明な点が多いことから、抵抗性品種のツマグロヨコバイ密度抑制効果について詳細に検討する必要がある。

イネのツマグロヨコバイ抵抗性の遺伝解析に関して、関沢・藤井⁽¹¹⁰⁾は、観音籾、Lepe dumai, Te-tep, 赤米 d の抵抗性が単一の優性遺伝子に支配されていると報告した。Kobayashi⁽⁶⁹⁾は、水稲中間母本農2号と IR 24 のツマグロヨコバイ抵抗性は単一の優性遺伝子支配であり、Pe-bi-hun, Tadukan, Te-

tep, 八十子秣, Chiem-chan, 道人橋は2つの優性遺伝子支配であるとした。また、水稲中間母本農2号とIR 24の保有する抵抗性遺伝子は同一であり、Pe-bi-hunの保有する2つの抵抗性遺伝子のうちの1つと同一であると推測された⁽⁶⁹⁾。水稲中間母本農5号と水稲中間母本農6号の抵抗性は、幼苗期の検定ではともに2つの優性補足遺伝子により支配されていると推測されている^(41,68)。しかし、水稲中間母本農6号では成体期には3つの優性補足遺伝子の関与も推測されている⁽⁶⁸⁾。愛知42号ではイネ萎縮病抵抗性に関する遺伝解析が行われ、単一の不完全優性遺伝子支配であると推測されている⁽⁹²⁾。このように、抵抗性の遺伝解析は数多く行われてきたが、結果が必ずしも一致しない報告もあり、それぞれの抵抗性品種が保有する遺伝子の異同については不明な点が多い。

抵抗性を利用する上での大きな問題点として、抵抗性品種を加害するバイオタイプが発達し抵抗性が崩壊してしまうことがあげられる。抵抗性品種を加害するバイオタイプの存在は多くの作物で報告されており^(12,100,117,118)、トビイロウンカ *Nilaparvata lugens* Stål では抵抗性品種の作付後、これを加害するバイオタイプが出現した^(21,116)。また、実験室内でバイオタイプの選抜が行われ、抵抗性品種を加害する系統が得られた^(8,11,46,138)。ツマグロヨコバイでは、現在までのところ抵抗性品種の作付によってバイオタイプが発達した例はない。抵抗性品種に対する加害性は、ツマグロヨコバイ地域個体群間で異なり、鹿児島市や福岡県筑後市などで採集された九州地域の個体群は、抵抗性品種IR 24に対する加害性を持つが、石川県松任市、富山市、新潟県上越市などの北陸地域の個体群はこれに加害性を持たないことが知られている^(103,121)。九州のツマグロヨコバイ個体群では、実験室内で抵抗性品種を加害する系統が選抜されているが⁽¹³¹⁾、選抜に用いた抵抗性品種の数が少なく、選抜に伴う加害性の変化や他の

抵抗性品種に対する加害性についての詳細は不明である。このため、抵抗性品種を安定的に利用する技術を確立する上で、ツマグロヨコバイ抵抗性品種に対する加害性が九州地域とは異なる北陸地域において、バイオタイプが発達する可能性を多くの抵抗性品種について検討し、バイオタイプの品種加害性およびバイオタイプの生活史特性などの諸特性を明らかにする必要がある。

本研究は、以上のような背景と観点に立って、イネの抵抗性を利用したツマグロヨコバイの総合的管理技術の確立を目指して、1993年から2007年にかけて北陸農業試験場（新潟県上越市稲田）（現、北陸研究センター）において、バイオタイプ発達の可能性や抵抗性品種の密度抑制効果を明らかにするために行った室内実験および野外調査の結果をとりまとめたものである。論文の構成は以下の通りである。

第Ⅱ章ではまず、抵抗性を効率よく正確に評価できる抵抗性検定法を確立するため、幼虫の発育程度を考慮した検定法について検討した。第Ⅲ章では、抵抗性品種を加害できるバイオタイプ発達の可能性を検討するため、複数の抵抗性品種を用いて選抜を試みた。また、バイオタイプ各系統について、抵抗性品種および抵抗性遺伝子給源品種に対する加害性を明らかにし、抵抗性品種の保有する抵抗性遺伝子との関係を整理した。さらに、バイオタイプの加害特性および生活史特性の差異を明らかにするため、バイオタイプの発育と産卵、成虫の甘露中の糖量を調査した。第Ⅳ章では、ツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統を用いて、野外における同系統のツマグロヨコバイ密度抑制効果およびツマグロヨコバイ地域個体群の抵抗性品種加害能力の差異を明らかにした。以上の研究結果をふまえ、イネのツマグロヨコバイに対する防除技術確立のため、抵抗性の利用についての提言を行った。

なお本報告は、著者が筑波大学へ提出した学位論文を一部加筆修正したものである。

II 幼虫発育を指標としたイネのツマグロヨコバイ抵抗性検定法

1) はじめに

ツマグロヨコバイ抵抗性に関する研究を行うにあたり、抵抗性の程度を正確に評価する抵抗性検定法がまず求められる。イネにおける抵抗性の遺伝解析や抵抗性品種を育成する際には、抵抗性のイネ個体を効率よく判定する必要がある。また、新たな抵抗性品種を検索する際には、多くの品種について抵抗性を判定する必要がある。このため、大量の検定材料について迅速、簡易かつ正確に抵抗性程度を判定する手法が求められる。

ツマグロヨコバイ抵抗性検定法のうち、幼虫の生存率を指標にして判定する芽出し苗検定や葉検定⁽⁶⁶⁾は抵抗性品種の検索や抵抗性の遺伝解析、系統選抜等にしばしば利用されてきた^(3,41,55,68)。芽出し苗検定は周年検定が可能で材料の準備が容易であることから、最も簡易な検定法といえる。しかし、芽出し苗検定による抵抗性の遺伝解析の際に、イネの雑種後代において検定結果が連続的になり抵抗性を判定することが困難な場合も多く、検定精度の向上が求められていた。そこで本章では、芽出し苗期における抵抗性の検定精度を向上させるため、幼虫の発育程度を指標とした検定法について検討した。

2) 材料および方法

(1) 供試昆虫

ツマグロヨコバイは1993年10月に新潟県上越市の北陸農業試験場の圃場で採集し、杉本⁽¹²⁵⁾の方法に準じ室温25℃、16時間明-8時間暗の日長条件下でツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を持たない品種である日本晴の芽出し苗を用いて累代飼育しているものを供試した。飼育容器は、後面および両側面にサラン網を張った透明な硬質塩化ビニル製のツマグロヨコバイ飼育箱（藤原製作所、幅34cm×奥行き25cm×高さ34cm）を用いた。プラスチックシャーレ（直径90mm、深さ22mm）に無肥料培土60mlを入れ、水で充分湿らせた後に、浸種3日後のイネ籾を30ml（約600粒）播種した。これを25℃条件下で4日間育苗し2葉期にツマグロヨコバイの餌とした。餌は原則として7日間隔で交換した。成虫は別の飼育容器に移しイネ苗に産卵させ次世代を得た。

(2) 抵抗性程度の異なるイネ品種を用いた幼虫発育の差異

抵抗性程度の異なるイネ品種上におけるツマグロヨコバイ1齢幼虫の生存と発育を調べるため、次の試験を行った。2葉期のイネ芽出し苗1本を水0.5mlの入った試験管（直径1.8cm、高さ18cm）に入れ、ふ化8時間以内の1齢幼虫5頭を放飼し、テトロンゴースで覆った脱脂綿で栓をした。1品種につき20本のイネ芽出し苗を用意した。供試苗は25℃、16時間明-8時間暗の日長条件下に置き、放飼2日後までは24時間ごとに、それ以降は放飼5日後まで8時間ごとに1齢幼虫と2齢幼虫の生存個体数を調査した。放飼虫に対する2齢幼虫の割合を求め、2齢到達率として発育程度の指標とした。供試品種は、抵抗性品種として水稲中間母本農5号（以下、中母農5号）および西海164号を、感受性品種として日本晴を用いた。なお、中母農5号と西海164号は九州農業試験場（現九州沖縄農業研究センター）でツマグロヨコバイ抵抗性品種C203-1を母本として育成され、芽出し苗検定⁽⁶⁶⁾、幼苗検定^(66,97)および葉検定⁽⁶⁶⁾で中母農5号は抵抗性強を示す中間母本、西海164号は抵抗性中程度を示す育成系統である⁽⁴⁸⁾。

(3) イネの雑種集団における抵抗性の個体検定

ツマグロヨコバイ1齢幼虫の発育を指標として、イネの抵抗性品種と感受性品種の雑種集団において、抵抗性の分離個体の判定が可能かを調べるため、次の試験を行った。ツマグロヨコバイ抵抗性品種である水稲中間母本農6号（以下、中母農6号）と感受性品種であるトヨニシキを交配し、さらにトヨニシキを戻し交配したB₁F₁雑種集団（トヨニシキ/中母農6号//トヨニシキ）77個体について、2葉期の芽出し苗で抵抗性検定を行った。検定は上記と同様の条件でふ化8時間以内の1齢幼虫を放飼し、25℃、16時間明-8時間暗の日長条件下に置き、4日後に幼虫生存率および2齢到達率を調査した。

また、芽出し苗期における幼虫の生存率を指標とした検定および2齢到達率を指標とした検定の精度を確認するため、検定後の芽出し苗を1/5000 aのワグネルポットに1株ずつ移植しガラス温室内で栽培し出穂期の検定を行い、両者の結果を比較した。

出穂期の検定は従来法である葉検定法⁽⁶⁷⁾を用いた。出穂期のイネの最上位下第1葉(n-1葉)の基部を15 cm 切り取り、水3 mlを入れた試験管に入れ、1齢幼虫10頭を放飼し、25℃、16時間明-8時間暗の日長条件下に置き、4日後の生存率を調査した。検定はイネ1個体につき3反復行い、平均値を各イネ個体の抵抗性程度とした。

さらに、2齢到達率を用いた芽出し苗検定法が他の雑種集団においても適用可能かを検討するため、3種類のF₂雑種集団(キヌヒカリ/Pe-bi-hun 156個体、キヌヒカリ/八仔 205個体、キヌヒカリ/西海182号 232個体)を用いて2葉期における抵抗性検定を行った。なお、Pe-bi-hunおよび八仔は抵抗性強品種^(4,48,97)、西海182号は抵抗性中程度を示す育成系統である⁽¹³¹⁾。

(4) 統計検定

F₂雑種集団における分離比の解析では χ^2 分布による適合度の検定($p > 0.05$)を行った。

3) 結果

(1) 抵抗性程度の異なるイネ品種を用いた幼虫発育の差異

抵抗性程度の異なるイネ品種の芽出し苗におけるツマグロヨコバイ幼虫の生存と発育の差異を(図1)

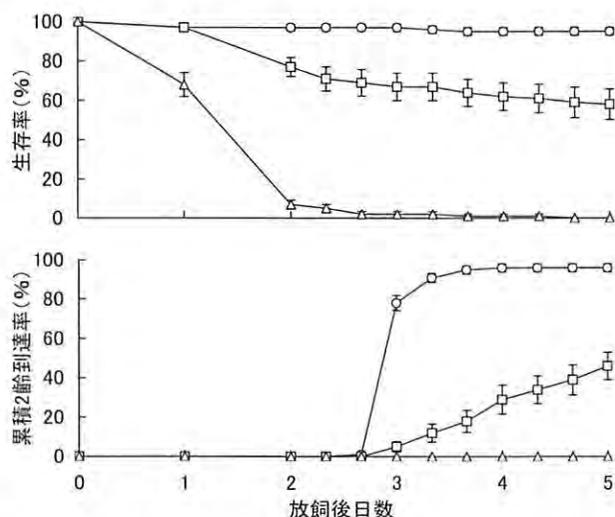


図1 抵抗性程度の異なるイネ品種の芽出し苗におけるツマグロヨコバイ幼虫の生存率および2齢到達率

○: 日本晴, □: 西海164号, △: 中母農5号。
値は平均値±標準誤差(n=20)を示す。

に示した。感受性品種の日本晴では、放飼5日後の幼虫生存率は95%となった。また、放飼虫の78%が放飼3日後に2齢幼虫となり、3日16時間後には生存虫のすべてが2齢幼虫まで発育した。一方、抵抗性品種の中母農5号では、放飼2日後の幼虫生存率は僅か7%であり、調査期間の5日後までに2齢幼虫まで発育した個体は認められなかった。西海164号では放飼5日後の生存率は59%であり、放飼虫のうち2齢まで発育した個体は放飼4日後で29%、5日後で40%となり、日本晴と比べ幼虫の生存率が低下し発育が遅延した。

(2) 雑種集団における抵抗性の個体検定

中母農6号にトヨニシキを戻し交配して得られたB₁F₁雑種集団を用いたイネ芽出し苗期の検定結果を(図2)に示した。放飼4日後のツマグロヨコバイ幼虫の生存率は0~100%まで連続的に分布し、抵抗性個体と感受性個体を明確に区別できなかった。一方、2齢到達率では0~40%と80~100%の2つに非連続的に分布し、抵抗性個体と感受性個体の推定が可能であった。

生存率または2齢到達率を指標とした芽出し苗検定の精度を確認するため、出穂期に葉検定を行い、両者の結果を比較した(図3)。芽出し苗検定における雑種集団の2齢到達率は0~40%、80~100%の2つに分けられ、前者が抵抗性個体、後者が感受性個体と推定された。また、前者の個体は葉検定において生存率0~36.7%を、後者の個体は86.7~100%を示し、芽出し苗検定で2齢到達率を指標にして抵抗性あるいは感受性と判定された個体は、出穂期の葉検定においても同様に判定された。一方、生存率を指標とした芽出し苗検定では分布が連続的になった。さらに、芽出し苗検定で生存率80%を示し感受性と推定された個体のうち1個体は葉検定で生存率0~20%と抵抗性を示したため、両者の結果が一致しなかった。

芽出し苗期におけるF₂雑種集団の幼虫生存率と2齢到達率を(図4)に示した。前述のトヨニシキ/中母農6号//トヨニシキB₁F₁雑種集団の解析で判別分析による2齢到達率の境界値が58.0%であったことから、2齢到達率40%以下を抵抗性個体、60%以上を感受性個体と判定すると、キヌヒカリ/Pe-bi-hunのF₂雑種集団においては、抵抗性145個

体, 感受性 11 個体に分離し (図 4A), 優性 2 遺伝子支配の期待理論比 15 : 1 に適合した ($\chi^2 = 0.17$, $p = 0.68$). このことから, Pe-bi-hun の抵抗性は優性 2 遺伝子支配であると推定された. また, 八仔とキヌヒカリとの F_2 雑種集団でも抵抗性と感受性が 187 個体と 18 個体に分けられ (図 4B), 優性 2 遺伝子による分離比に適合した ($\chi^2 = 2.24$, $p = 0.13$).

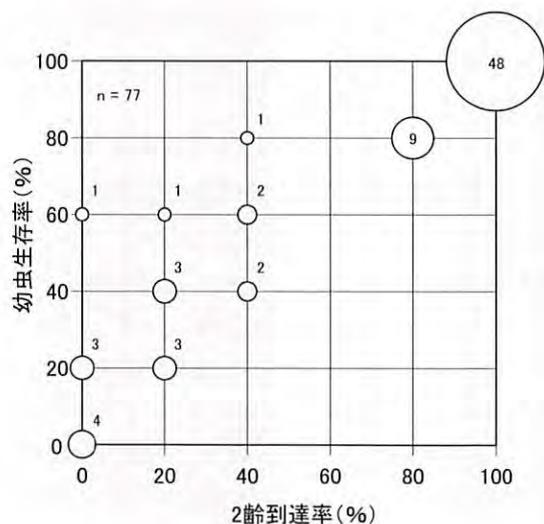


図 2 トヨニシキ/中母農 6 号/トヨニシキ B_1F_1 雑種集団の芽出し苗期におけるツマグロヨコバイ 1 齢幼虫の放飼 4 日後の生存率と 2 齢到達率

図中の円中または円の右上の数字はイネの個体数を示す.

西海 182 号とキヌヒカリとの F_2 雑種集団では, 抵抗性 66 個体, 感受性 166 個体に分けられ (図 4C), 分離比 1 : 3 に適合した ($\chi^2 = 1.47$, $p = 0.23$). このように, どの雑種集団においても幼虫生存率の値は連続的に分布したが, 抵抗性品種の Pe-bi-hun と感受性品種との組み合わせでは, 2 齢到達率を指標として用いて抵抗性個体と感受性個体を判定することが可能であった (図 4A). 八仔あるいは西海 182 号と感受性品種との組合せでは, 2 齢到達率を用いても分布が連続的になった (図 4B, C). しかしながら, 生存率のみでは感受性と推定される個体であっても, 2 齢到達率を用いることにより抵抗性と判定される個体が認められた.

4) 考察

腰原⁽⁷³⁾ および大矢・佐藤⁽⁹⁷⁾ は, 抵抗性品種ではツマグロヨコバイの幼虫生存率の低下, 幼虫発育の遅延, 羽化率の低下と羽化の不斉一が認められると報告している. 本研究において, 抵抗性強品種の中母農 5 号では 2 齢幼虫まで発育した個体は認められず, 抵抗性中程度の品種の西海 164 号では, 日本晴と比べて幼虫の生存率の低下と発育の遅延が認められた (図 1). このように, 抗生作用による幼虫発育の遅延が 1 齢幼虫から顕著であったことから, 幼虫の発育を指標とした抵抗性の判定が可能であると

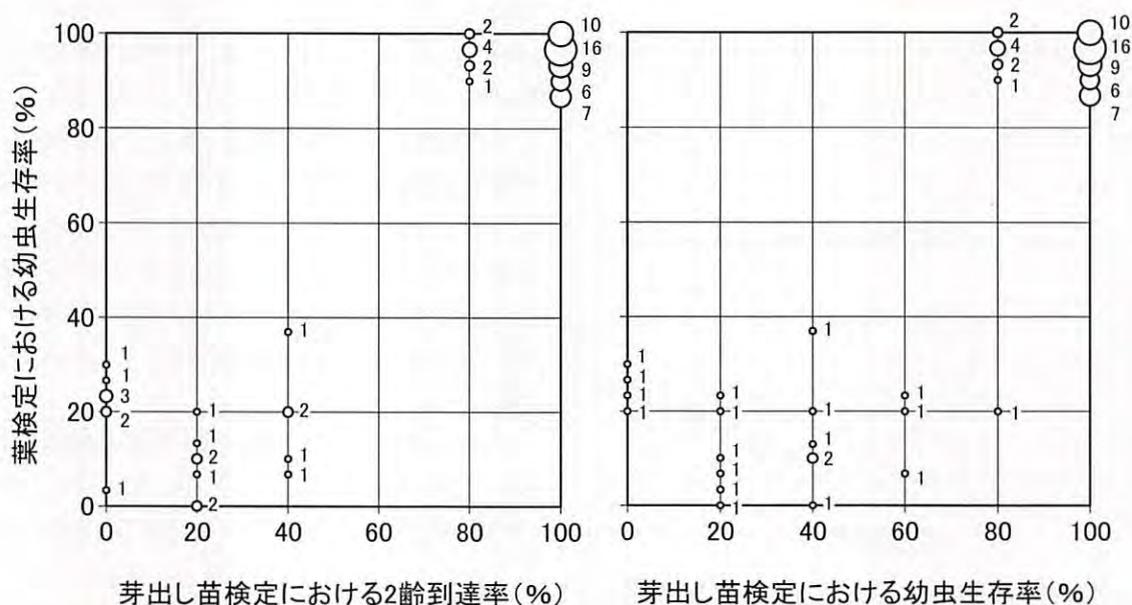


図 3 芽出し苗検定と葉検定における B_1F_1 雑種集団 (トヨニシキ/中母農 6 号/トヨニシキ) 77 個体の分布
図中の円の右の数字はイネの個体数を示す.

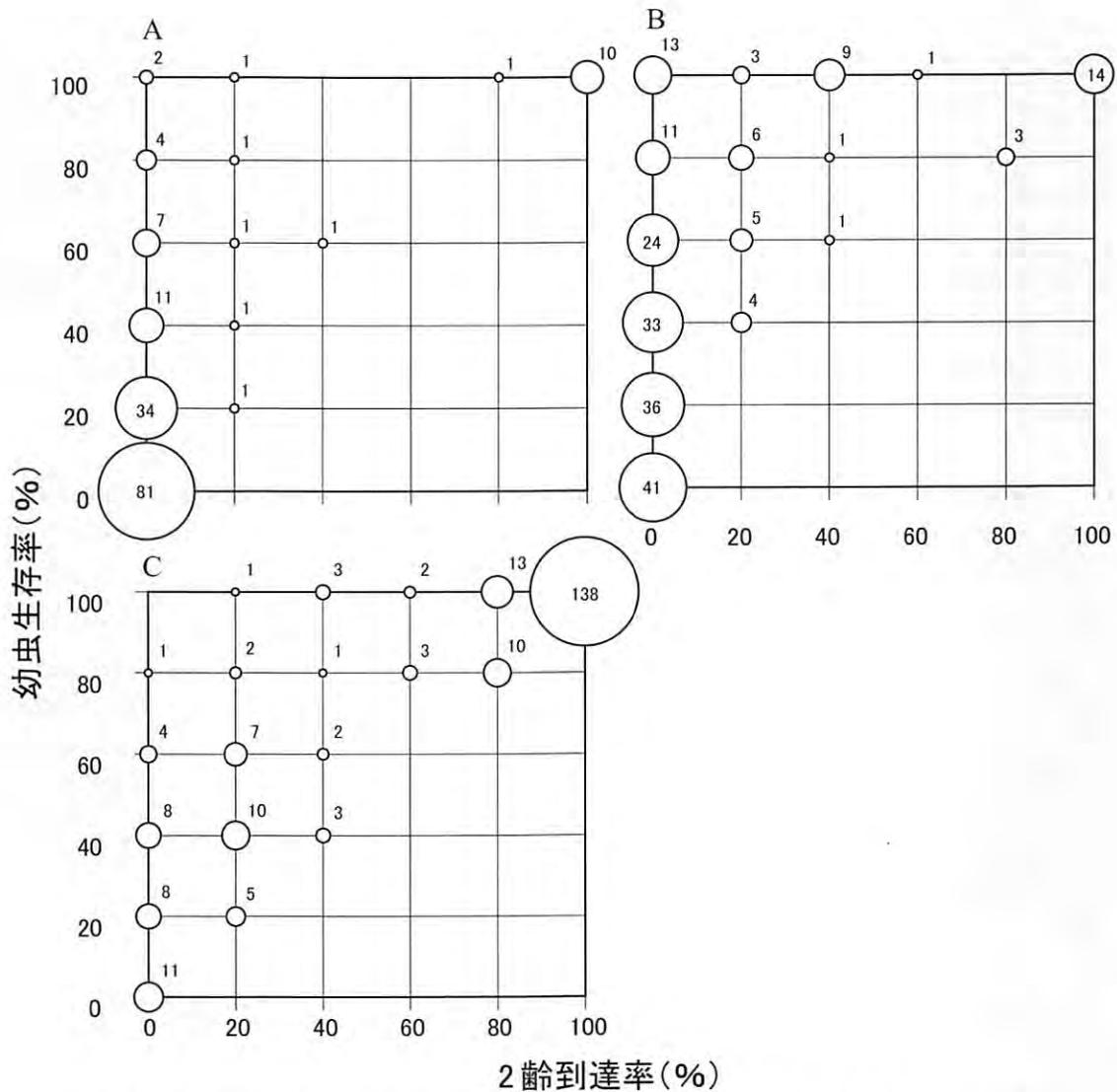


図4 F₂ 雑種集団の芽出し苗検定におけるツマグロヨコバイ幼虫生存率と2 齢到達率の分布

A: キヌヒカリ/Pe-bi-hun (n = 156).

B: キヌヒカリ/八仔 (n = 205).

C: キヌヒカリ/西海 182 号 (n = 232).

図中の円中または円の右上の数字はイネの個体数を示す。

考えられた。幼虫発育の調査時期は、感受性品種でほとんどの幼虫が2 齢まで発育する放飼3 日8 時間～4 日後が適当である。

B₁F₁ 個体を用いた検定結果から、芽出し苗期においては幼虫生存率を指標にした場合に比べ、2 齢到達率を指標とした検定法の方が抵抗性個体と感受性個体を明確に分離することができ(図2)、さらに葉検定と同様な結果を示したことから(図3)、検定精度は高いと判断された。幼虫生存率を指標とした検定法では、抵抗性個体上で発育が遅延しているものの生存している幼虫が存在し(図3)、このことによって抵抗性個体であっても幼虫生存率が高く示される場合があり、抵抗性個体を感受性個体と誤

判定していると考えられた。一方、2 齢到達率を指標とした検定法では、幼虫生存率が高くなる抵抗性個体においても、2 齢までの発育が遅延している幼虫の存在を検出できるため、幼虫生存率を指標とした検定法よりも精度が高くなると考えられた。このことから、ツマグロヨコバイ抵抗性程度を正確に評価する検定法として、2 齢到達率を指標とした検定法が有効であると考えられた。

ツマグロヨコバイに対するイネの抵抗性を幼苗期に判定するこれまでの芽出し苗検定法は、周年検定が可能であり材料の準備が容易なことから、大量の検定材料を扱う抵抗性遺伝資源の検索でイネの品種間差を明らかにするため有効な方法とされ

る⁽⁶⁶⁾。しかし、これまでの生存率を指標とした芽出し苗検定法では、抵抗性個体であっても感受性個体と判定したり、試験管に放飼した幼虫がたまたま不良の場合には逆に感受性個体を抵抗性個体と判定したりする可能性もあった。このため、抵抗性の程度を詳しく調査する場合や交配後代の選抜などイネの個体レベルで抵抗性を判定する場合は、芽出し苗検定法よりも精度の高い葉検定が適しているとされてきた^(66,67)。本研究において、幼虫の発育程度を評価する2齢到達率を新たな指標としたことにより、

検定期間や場所に制約のある葉検定を行なうことなく、芽出し苗期にこれまでより精度の高い検定ができるようになった。本研究で開発した検定法と、従来の検定法について比較したものを表1に示す。2齢到達率を指標とした検定法は、イネの個体レベルでの判定を芽出し苗期で可能としたことに大きな意義がある。本法の適用により、交配後代の雑種集団における抵抗性の遺伝解析や⁽¹³⁶⁾ (図4)、抵抗性イネ個体の選抜を迅速、簡易かつ正確に行うことが可能となった。

表1 ツマグロヨコバイ各種抵抗性検定法の検定材料の準備期間、検定期間および検定の可否

抵抗性検定法	判定指標	検定材料の準備期間	検定期間	検定の可否		文献
				周年検定	イネ個体検定	
芽出し苗検定	2齢到達率	7日	4日	+	+	本報
芽出し苗検定	幼虫生存率	7日	5日	+	±	岸野・安藤 (1978) ⁽⁶⁶⁾
幼苗集団検定	幼虫生存率	7日	5日	+	-	岸野・安藤 (1978) ⁽⁶⁶⁾
葉検定	幼虫生存率	70～100日	3～5日	-	+	岸野・安藤 (1978) ⁽⁶⁶⁾
抗寄生性作用検定	着生虫数	7日	1～2日	+	-	安藤・岸野 (1981) ⁽³⁾

+ : 検定可。

± : 検定可 (ただし検定精度は低い)。

- : 検定不可。

Ⅲ ツマグロヨコバイ抵抗性品種を加害するバイオタイプ

抵抗性品種を利用した害虫管理技術を確立する場合の最も大きな問題点として、抵抗性品種を加害するバイオタイプが発達し抵抗性が崩壊してしまうことがあげられる。バイオタイプ発達による抵抗性の崩壊を防ぐためには、害虫のバイオタイプが発達する可能性や、バイオタイプの品種加害性およびバイオタイプの生活史特性などの諸特性をあらかじめ明らかにした上で、それに対し有効な管理戦略を立てる必要がある。

そこで本章第1節では、抵抗性品種を加害できるバイオタイプ発達の可能性を検討するため、複数の抵抗性品種についてバイオタイプの選抜を試みた。また、選抜によって得られたバイオタイプの加害性の変化を明らかにするため、抵抗性品種および抵抗性遺伝子給源品種について抵抗性検定を行った。さらに、バイオタイプの抵抗性品種に対する加害性と、抵抗性品種の持つ抵抗性遺伝子との関係を明らかにするため、抵抗性遺伝子の対立性を検定した。第2

節では、バイオタイプの生活史特性に差異があるかどうかを明らかにするため、抵抗性品種および抵抗性遺伝子を持たない品種上での発育と産卵を調査した。抵抗性品種上では本種はイネの師管液を吸汁できず、排泄物である甘露中に糖分がほとんど含まれないことが知られている^(53,59,60,75,98,123,139)。そこで、バイオタイプの加害特性を明らかにするため、成虫の甘露中の糖量を比較し、抵抗性品種における師管吸汁の有無を調べた。

1. 抵抗性品種を加害するバイオタイプの選抜と加害性の変化

1) はじめに

抵抗性品種を加害するバイオタイプについて、ツマグロヨコバイの近縁種であるタイワンツマグロヨコバイ *Nephotettix virescens* Distant では、抵抗性品種 Pankhari 203 や IR 42 を用いてバイオタイプの選抜が行われ、これらの品種においてバイオタイプ発

達の可能性が示された^(71,130)。現在までに日本国内で育成されたツマグロヨコバイ抵抗性品種、中間母本、育成系統は、複数の遺伝子給源品種を母本にしていることから、それぞれ異なる抵抗性遺伝子を持っている可能性がある。このことから、多くの抵抗性品種についてバイオタイプ発達の可能性を検討する必要がある。また、福岡県筑後市のツマグロヨコバイ個体群から西海 182 号や愛知 42 号で発育可能な系統が実験室内で選抜されており⁽¹³¹⁾、九州ではこれらの抵抗性品種を加害するバイオタイプが発達する可能性がある。しかし、九州の個体群とは発生動態や抵抗性品種に対する加害性が大きく異なる北陸地域のツマグロヨコバイ個体群についてバイオタイプ発達の可能性は明らかでない。そこで本節では、抵抗性品種を加害できるバイオタイプ発達の可能性を検討するため、新潟県上越市で採集したツマグロヨコバイ個体群を用いて、遺伝子給源の異なる複数の抵抗性品種についてバイオタイプの選抜を試みた。また、得られたバイオタイプについて、抵抗性品種の種類やイネの生育時期によって加害性が異なるか否かを明らかにした。さらに、バイオタイプの品種加害性と抵抗性品種の持つ抵抗性遺伝子との関係を明らかにするため、複数の抵抗性品種を交配し対立性検定を行った。

2) 材料および方法

(1) 供試昆虫

ツマグロヨコバイは 1993 年 10 月に北陸農業試験場内の圃場で採集し、杉本⁽¹²⁵⁾の方法に準じ室温

25℃、16 時間明 - 8 時間暗の日長条件下で、ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を持たないイネ品種である日本晴の芽出し苗によって累代飼育したものをを用いた。

(2) 供試品種

供試品種を(表 2)に示した。ツマグロヨコバイ選抜のための抵抗性品種として、西海 164 号、西海 182 号、関東 PL 6、中母農 5 号、中母農 6 号、対照品種として日本晴を用いた。バイオタイプの品種加害性の検定には、選抜に用いた上記 6 品種および IR 24、水稻中間母本農 2 号(以下、中母農 2 号)、中国 105 号、愛知 80 号、および遺伝子給源品種の Pe-bi-hun, Tadukan, Rantaj-emas 2 を用いた。

(3) 抵抗性品種を加害するバイオタイプの選抜

プラスチックシャーレ(直径 90 mm、深さ 22 mm)に無肥料培土 60 ml を入れ、水で充分湿らせた後に、浸種 3 日後のイネ籾を 30 ml (約 600 粒)播種した。25℃条件下で 4 日間育苗し 2 葉期にツマグロヨコバイの餌として供試した。このシャーレにテロンゴースで通気窓を 3ヶ所つけた塩ビ製円筒容器(直径 8.5 cm、高さ 15 cm)をかぶせ、ふ化 8 時間以内のツマグロヨコバイ 1 齢幼虫 150 ~ 200 頭を放飼した。餌は原則として 5 日毎に交換し、羽化した個体を別容器内の同じ供試イネ品種上に移して採卵し、得られた次世代で同じ選抜を継続した。このように選抜された系統は、それぞれ選抜に用いた品種名に対応させて「西海 182 号選抜系統」「関

表 2 バイオタイプ選抜および加害性検定に用いた品種、系統と抵抗性遺伝子給源品種およびその抵抗性遺伝子

品種	抵抗性遺伝子給源品種	抵抗性遺伝子 ^a	文献
日本晴		抵抗性遺伝子なし	
IR 24		<i>Grh1</i>	International Rice Research Institute (1972) ⁽⁴³⁾
中母農 2 号	Pe-bi-hun	<i>Grh1</i>	金田ら (1985) ⁽⁵⁵⁾
中国 105 号	中母農 2 号	<i>Grh1</i>	農業研究センター (1995) ⁽⁹³⁾
西海 164 号	C203-1	不明	農業研究センター (1995) ⁽⁹³⁾
西海 182 号	中母農 5 号	<i>Grh2</i>	Takita and Nishiyama (1989) ⁽¹³¹⁾
関東 PL 6	Tadukan	不明	小林ら (1980) ⁽⁷¹⁾
愛知 80 号	Rantaj-emas 2	<i>Grh3(t)</i> ^b	中込ら (1989) ⁽⁸¹⁾
中母農 5 号	C203-1	<i>Grh2, Grh4</i>	小野ら (1986) ⁽⁹⁵⁾
中母農 6 号	Lepe dumai	<i>Grh2, Grh4</i>	岸野ら (1987) ⁽⁶⁸⁾

^a 1995 年現在。

^b *Grh3(t)* は遺伝子記号が仮登録 (tentative) であることを示す。

東 PL 6 選抜系統」とし、対照品種の日本晴で維持した無選抜系統を「日本晴継代系統」とした。

(4) 幼虫発育期間および羽化率

各選抜世代の幼虫発育期間および羽化率の変化を調査するため、以下のような幼虫発育試験を行った。選抜実験で用いたものと同一品種のイネ芽出し苗を同様の方法で餌として与えた。ただし、播種量はシャーレ当たり 15 ml (約 300 粒) とした。飼育容器にふ化 8 時間以内のツマグロヨコバイ 1 齢幼虫を 50 頭放飼した。各選抜系統につき 3 つの容器に放飼し、合計 150 頭について試験した。餌は原則として 5 日毎に交換し、成虫が羽化するまで飼育した。羽化個体は容器から取り出し、羽化個体数および羽化までの期間を毎日調査した。羽化率は 1 容器当たりの平均を求め、3 反復とした。

(5) バイオタイプの品種加害性検定

選抜を繰り返した各系統の抵抗性品種に対する加害性を調査するため、芽出し苗検定および葉検定⁽⁶⁶⁾を行った。芽出し苗検定は、検定に用いるイネ品種の芽出し苗 1 本 (2 葉期) を水 0.5 ml の入った試験管 (直径 1.8 cm, 高さ 18 cm) に入れ、ふ化 8 時間以内のツマグロヨコバイ 1 齢幼虫 5 頭を放飼し、テロンゴースで覆った脱脂綿で栓をした。1 品種につき 10 本のイネ芽出し苗を用意した。供試苗は 25℃, 16 時間明 - 8 時間暗の日長条件下に置き、放飼 4 日後に 2 齢幼虫まで発育した個体数を調査し、放飼虫に対する 2 齢幼虫の割合から 2 齢到達率を求めた。なお、上記バイオタイプ選抜で 8 世代選抜を繰り返した西海 164 号選抜系統、西海 182 号選抜系統、関東 PL 6 選抜系統に加えて、愛知 80 号、中国 105 号、IR 24 を用いて同様な方法で 12 世代以上選抜を行った系統についても調査した。検定を行った品種は、選抜試験で用いた品種とその遺伝子給源品種のうち C203-1 および *Lepe dumai* を除いた合計 13 品種である。

葉検定は北陸農業試験場内の圃場に日本晴、中国 105 号、西海 182 号、関東 PL 6、愛知 80 号、中母農 5 号を 1997 年 5 月 16 日に移植し、慣行栽培したイネを用いた。8 月 17 日 (幼穂形成期～出穂期) にイネの最上位葉の基部を 15 cm 切り取り、水 3 ml を入れた試験管に入れ、15 世代以上選抜を続けて

いるツマグロヨコバイ各選抜系統の 1 齢幼虫 10 頭を放飼し、4 日後の 2 齢到達率を調査した。検定は 1 品種につき 5 反復行った。

(6) 抵抗性品種の対立性検定

得られたバイオタイプの抵抗性品種に対する加害性から推測される抵抗性遺伝子の異同が既報⁽¹³¹⁾と異なっていたことから、抵抗性遺伝子の異同を確かめるため、中母農 2 号、関東 PL 6、愛知 80 号の 3 品種間で交配し対立性検定を行った。交配組合せは、関東 PL 6 × 愛知 80 号、関東 PL 6 × 中母農 2 号および愛知 80 号 × 中母農 2 号とした。各抵抗性品種の交配によって得られた F₂ 雑種集団 285 個体から 307 個体のイネ種子を播種し、2 葉期のイネについて上記と同様の方法で芽出し苗検定を行い、Tamura et al.⁽¹³⁶⁾の方法に準じて 2 齢到達率が 40% 以下のイネ個体を抵抗性、60% 以上のイネ個体を感受性と判定した。Kobayashi⁽⁶⁹⁾ および池田⁽³⁸⁾の方法に準じ、抵抗性と感受性のイネ個体の分離の割合が 15 : 1 であれば、交配母本同士は異なる遺伝子を有すると推測した。また、感受性のイネ個体の分離が認められなければ、同じ遺伝子座に座乗する遺伝子によって支配されていると推測した。関東 PL 6 × 愛知 80 号の交配組合せについては 2 反復行った。

(7) 統計検定

各選抜世代の幼虫発育期間の解析は Tukey-Kramer の多重比較検定 ($p < 0.05$) を用いた。各選抜世代の羽化率、芽出し苗検定および葉検定による各選抜系統の抵抗性品種に対する加害性は、逆正弦変換後 Tukey の多重比較検定 ($p < 0.05$) を行った。対立性検定では、F₂ 雑種集団について χ^2 分布による適合度の検定 ($p > 0.05$) を行った。

3) 結果

(1) 抵抗性品種を加害するバイオタイプの選抜

バイオタイプの選抜経過を表 3 に示した。西海 164 号、西海 182 号、関東 PL 6 で選抜を行うことにより、8 世代目には羽化率 94% 以上の系統が得られた。一方、中母農 5 号は第 1 世代、中母農 6 号は第 3 世代以降十分な羽化成虫を得ることができなかったため、選抜を中止した。

表3 ツマグロヨコバイ抵抗性品種および日本晴における選抜各世代の羽化率

品種 / 選抜世代	羽化率 (%)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
日本晴	95.0 (300)	95.7 (300)	89.3 (300)	94.0 (300)	96.7 (150)	97.3 (150)	93.3 (150)	90.0 (150)
西海 164 号	90.3 (300)	93.3 (300)	93.3 (300)	88.3 (300)	90.0 (150)	87.3 (150)	89.3 (150)	97.3 (150)
西海 182 号	88.3 (300)	83.7 (300)	85.7 (300)	84.0 (300)	84.7 (150)	90.7 (150)	88.0 (150)	97.3 (150)
関東 PL6	37.8 (1300)	69.6 (500)	74.2 (589)	74.0 (300)	88.0 (150)	88.0 (150)	89.3 (150)	94.0 (150)
中母農 5 号	0.4 (1900)							
中母農 6 号	7.9 (1900)	41.3 (189)	26.1 (69)					

カッコ内の数値は1齢幼虫の放飼数を示す。

表4 ツマグロヨコバイのバイオタイプ選抜系統の各世代における幼虫発育期間と羽化率

選抜世代	品種	幼虫発育期間 (日, 平均値 ± 標準誤差) ^a		羽化率 (% ± 標準誤差) ^b
		雌	雄	
1	日本晴	19.8 ± 0.1(68)a	18.4 ± 0.1(71)a	92.7 ± 0.7a
	西海 164 号	22.9 ± 0.3(70)b	20.8 ± 0.2(62)b	88.0 ± 2.3a
	西海 182 号	23.8 ± 0.3(64)b	21.7 ± 0.3(62)b	84.0 ± 4.2a
	関東 PL 6	33.2 ± 0.4(52)c	29.3 ± 0.5(45)c	64.7 ± 4.4b
	中母農 5 号	(0)	32.0(1)	0.7 ± 0.7c
	中母農 6 号	34.0 ± 0.8(11)c	33.1 ± 0.7(9)d	13.3 ± 2.7c
2	日本晴	20.5 ± 0.1(68)a	18.9 ± 0.1(71)a	92.7 ± 1.8a
	西海 164 号	22.8 ± 0.2(71)b	20.9 ± 0.2(64)b	90.0 ± 3.5a
	西海 182 号	24.9 ± 0.3(61)c	23.0 ± 0.3(56)c	78.0 ± 6.4a
	関東 PL 6	29.6 ± 0.3(61)d	26.7 ± 0.3(45)d	70.7 ± 4.1a
3	日本晴	18.5 ± 0.1(68)a	17.5 ± 0.1(71)a	92.7 ± 1.3a
	西海 164 号	20.5 ± 0.2(85)b	19.1 ± 0.2(54)b	93.3 ± 4.8a
	西海 182 号	20.5 ± 0.2(78)b	18.8 ± 0.2(56)b	89.3 ± 2.4a
	関東 PL 6	21.1 ± 0.4(65)b	19.0 ± 0.3(57)b	81.3 ± 3.3a
4	日本晴	19.1 ± 0.1(90)a	17.9 ± 0.1(54)a	96.0 ± 2.3a
	西海 164 号	19.8 ± 0.2(82)a	18.4 ± 0.2(42)a	82.7 ± 3.7a
	西海 182 号	21.3 ± 0.3(76)b	18.9 ± 0.2(53)a	86.0 ± 3.1a
	関東 PL 6	19.4 ± 0.2(50)a	18.0 ± 0.1(75)a	83.3 ± 4.4a
6	日本晴	19.4 ± 0.1(87)a	17.8 ± 0.1(57)a	95.3 ± 2.7a
	西海 164 号	19.3 ± 0.1(92)a	17.9 ± 0.1(39)a	87.3 ± 2.7a
	西海 182 号	19.5 ± 0.1(73)a	18.2 ± 0.1(64)a	92.0 ± 0.0a
	関東 PL 6	19.0 ± 0.1(71)a	17.8 ± 0.1(71)a	94.7 ± 2.4a
8	日本晴	19.3 ± 0.1(59)a	18.0 ± 0.1(74)a	88.7 ± 2.9a
	西海 164 号	19.4 ± 0.1(91)a	18.0 ± 0.2(47)a	92.0 ± 1.2a
	西海 182 号	19.4 ± 0.1(86)a	18.1 ± 0.1(54)a	94.0 ± 1.2a
	関東 PL 6	19.1 ± 0.1(66)a	17.7 ± 0.1(72)a	92.0 ± 4.6a

カッコ内の値は成虫数を示す。

^a 同一英文字間には各世代の雌または雄において品種間に Tukey-Kramer の多重比較検定による有意差がないことを示す ($p > 0.05$)。

^b 同一英文字間には各世代において品種間に逆正弦変換後 Tukey の多重比較検定による有意差がないことを示す ($p > 0.05$)。

(2) 幼虫発育期間および羽化率

幼虫発育試験による選抜各世代の幼虫期間と羽化率を表4に示した。西海164号選抜系統および西海182号選抜系統では、第1世代目には日本晴継代系統と比べて平均2~4日程度の発育遅延が認められた。しかし、さらに選抜を繰り返すことにより幼虫発育期間が短縮し、第6世代目には日本晴継代系統

と同等となった。また、これらの系統の羽化率は第1世代目から高かった。関東PL6選抜系統は、第1世代には大幅に幼虫発育が遅延したが、第4世代目以降は日本晴継代系統と比べ有意差が認められなかった。関東PL6選抜系統の羽化率は第1世代では64.7%であったが、第2世代以降は上昇した。中母農5号選抜系統および中母農6号選抜系統では、

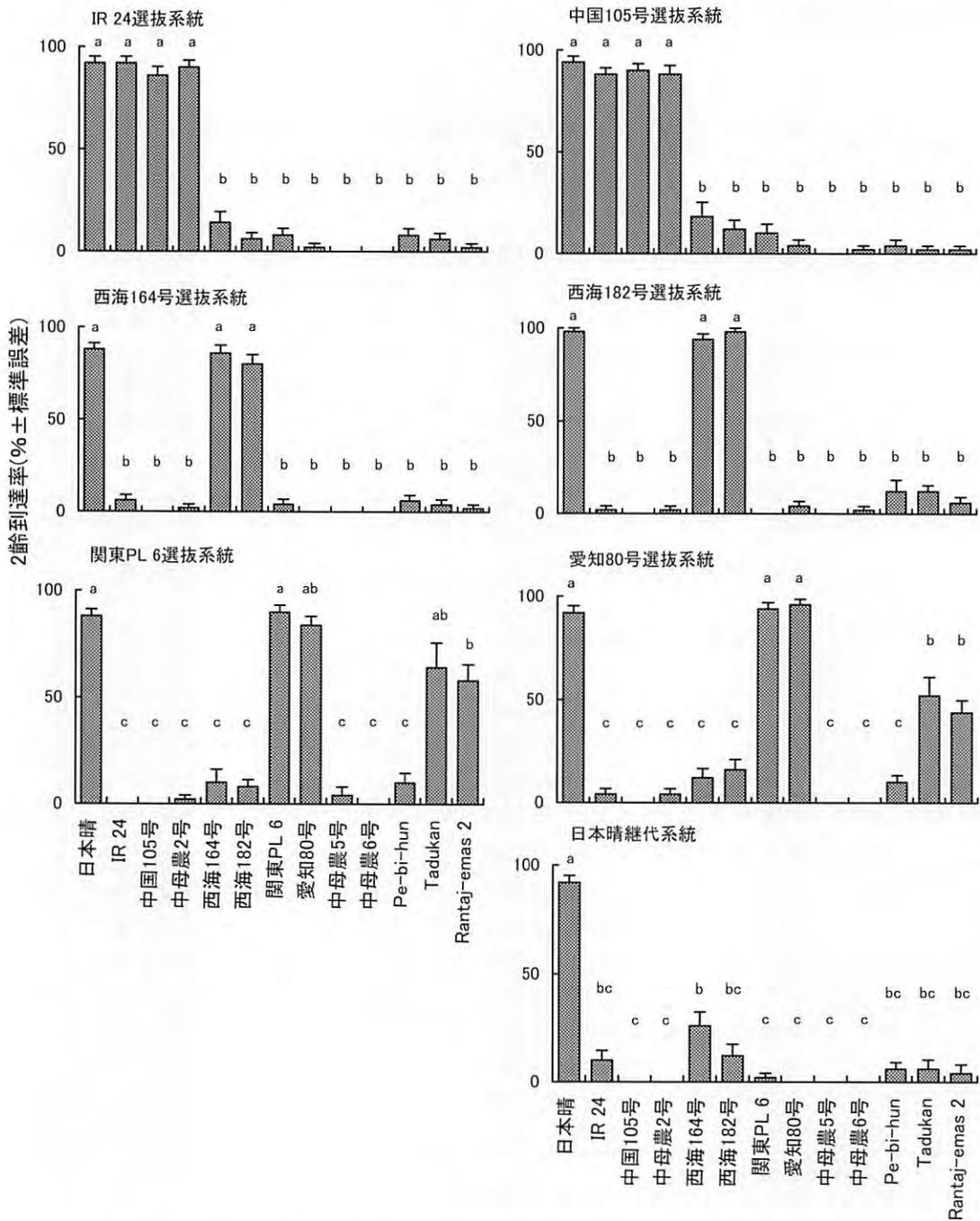


図5 芽出し苗検定により調査したツマグロヨコバイ選抜系統のイネ品種に対する加害性
同一英文字間には各選抜系統において品種間に逆正弦変換後 Tukey の多重比較検定による有意差がないことを示す ($p > 0.05$).

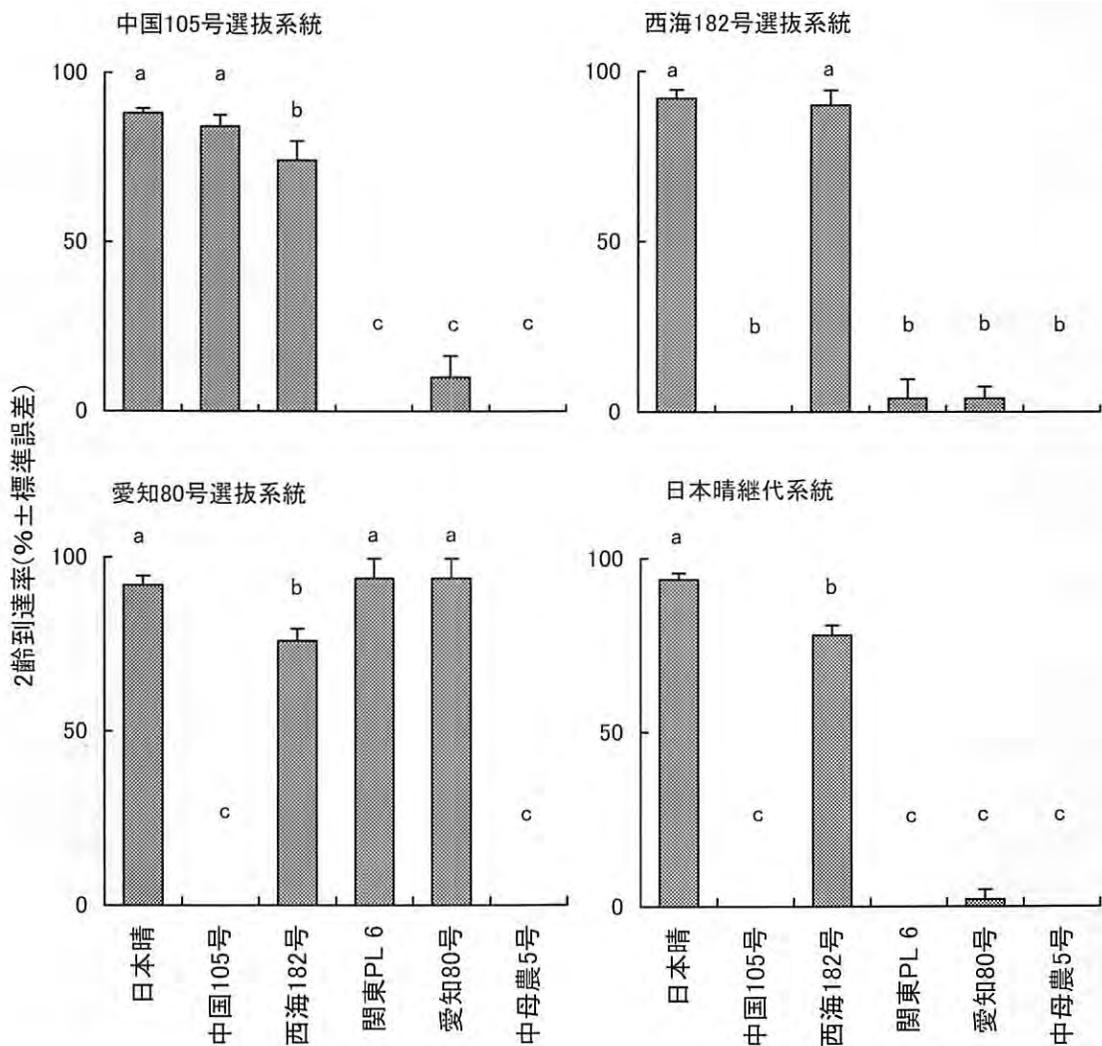


図6 葉検定により調査したツマグロヨコバイ選抜系統のイネ品種に対する加害性
 同一英文字間には Tukey の多重比較検定による有意差がないことを示す ($p > 0.05$).

第1世代で羽化率がそれぞれ0.7%および13.3%と低かった。

(3) バイオタイプの品種加害性検定

ツマグロヨコバイ選抜系統のイネ品種に対する芽出し苗検定の結果を(図5)に示した。調査した6種類の選抜系統すべてで、それぞれ選抜を行った品種で2齢到達率が高く、これらの品種に対し加害性を示した。IR 24 選抜系統および中国105号選抜系統では、IR 24、中国105号、中母農2号で2齢到達率が高かったが、中母農2号の母本である Pe-bi-hun やその他の抵抗性品種では低かった。西海164号選抜系統および西海182号選抜系統は、西海164号、西海182号で2齢到達率が高く、日本晴との間

に有意差が認められなかった。一方、西海182号の母本である中母農5号では2齢到達率が低かった。関東PL 6 選抜系統および愛知80号選抜系統は、関東PL 6、愛知80号で2齢到達率が高く、関東PL 6の母本である Tadukan や愛知80号の母本である Rantaj-emas 2 においても44.0~64.0%の値を示した。いずれの選抜系統も中母農5号および中母農6号では2齢到達率が低く加害性を示さなかった。

葉検定の結果を(図6)に示した。各選抜系統はそれぞれ選抜を行った抵抗性品種で2齢到達率が高く、愛知80号選抜系統は関東PL 6でも高い値を示した。日本晴継代系統では、西海182号で2齢到達率が78.0%と高いが対照品種の日本晴の94.0%と比べるとやや低く有意差が認められた。一方、西

海182号選抜系統では西海182号の2齢到達率は90.0%と高く、日本晴との間に有意差がなかった。中母農5号はすべての選抜系統で2齢到達率が低かった。葉検定の結果は、西海182号で抵抗性の強度が低かったものの、芽出し苗検定とほぼ同様となった。

(4) 抵抗性品種の対立性検定

ツマグロヨコバイ抵抗性品種同士を交配したF₂雑種集団における抵抗性の分離結果を(表5)に示した。関東PL6と愛知80号のF₂雑種集団では、すべての個体が抵抗性を示したことから、関東PL6と愛知80号のツマグロヨコバイ抵抗性は、同じ遺伝子に支配されていると推測された。関東PL6と中母農2号、愛知80号と中母農2号とのF₂雑種集団では、抵抗性と感受性のイネ個体が分離し、15:1の分離比に適合した。このことから、両品種はそれぞれ異なる1優性遺伝子を持つと推測された。これらの結果から、中母農2号のツマグロヨコバイ抵抗性は関東PL6や愛知80号の抵抗性とは異なる遺伝子によって支配されていると推測された。

4) 考察

ツマグロヨコバイのバイオタイプについて、寒川・佐藤⁽¹²¹⁾は鹿児島県鹿児島市、福岡県筑後市ならびに和歌山県海南市の地域個体群ではIR24上で容易に累代飼育が可能であり、石川県松任市、富山県富山市、新潟県上越市、長岡市寺泊の地域個体群では累代飼育が不可能であることを示した。Takita and Nishiyama⁽¹³¹⁾は筑後市の個体群を用いてバイオタイプの作出を試み、愛知42号または西海182号で発育する系統を得た。本研究では、上越市産のツマグロヨコバイ個体群を用いて抵抗性品種で選抜を行い、西海164号、西海182号、関東PL6上で発育・

増殖可能な系統が得られた(表3,表4)。このことは、上越市の個体群においても抵抗性品種を加害する遺伝変異が存在することを示している。つまり、上越市の水田で抵抗性品種を栽培した際に、抵抗性品種を加害するバイオタイプが発達し、抵抗性が崩壊する可能性を示唆している。一方、中母農5号および中母農6号については現在まで発育・増殖可能な系統は選抜されておらず、バイオタイプ発達の可能性については、採集個体・地点を増やすなど、今後も検討を要する。

本研究から、選抜系統の抵抗性品種に対する加害性については選抜系統間で似たような加害性反応を示すことが明らかになり、IR24選抜系統および中国105号選抜系統、西海164号選抜系統および西海182号選抜系統、関東PL6選抜系統および愛知80号選抜系統の3つのグループに分けられた(図5,図6)。このようなバイオタイプの品種加害性の差異は、抵抗性遺伝子の違いによるものであり、このことからバイオタイプを用いてイネの抵抗性遺伝子を判別できると考えられる。以下、選抜系統の品種加害性と抵抗性品種の保有する抵抗性遺伝子との関係について考察する。

IR24選抜系統および中国105号選抜系統は、IR24、中国105号および中母農2号に高い加害性を示すことから、これらの抵抗性品種は同じ抵抗性遺伝子を保有していると考えられる。また、IR24選抜系統や中国105号選抜系統が中母農2号の母本であるPe-bi-hun(表2)を加害できなかったことから(図5)、Pe-bi-hunはIR24や中母農2号が保有する遺伝子だけでなく、さらに別な遺伝子を保有していると推測される。これは、Pe-bi-hunには2個の優性遺伝子が関与しており、IR24はPe-bi-hun由来の1個の優性遺伝子を保有している報告⁽⁶⁹⁾や、同じく1優性遺伝子支配である中母農2号⁽⁵⁵⁾の抵抗性遺伝

表5 ツマグロヨコバイ抵抗性品種F₂交配雑種集団の分離

交配組合せ	個体数		期待分離比 (抵抗性:感受性)	χ^2 値	p値
	抵抗性	感受性			
関東PL6 × 愛知80号	285	0	1:0		
	307	0	1:0		
関東PL6 × 中母農2号	279	25	15:1	2.02	0.16
愛知80号 × 中母農2号	266	23	15:1	1.44	0.23

子 *Grh1* が、IR 24 の抵抗性遺伝子と同じ遺伝子座にある報告⁽¹³⁶⁾と一致する。

中母農 5 号は 2 個の補足遺伝子によって支配されており⁽⁴¹⁾、これら補足遺伝子 *Grh2* と *Grh4* はそれぞれイネの第 11 染色体と第 3 染色体上に座乗する^(20,133)。また、西海 182 号は中母農 5 号由来の遺伝子 *Grh2* を保有している^(19,134)。このことから、本研究で得られたバイオタイプ西海 164 号選抜系統や西海 182 号選抜系統は、抵抗性遺伝子 *Grh2* の作用する抵抗性要因を打ち消すことにより西海 182 号での発育が可能になったが、もう一つの抵抗性遺伝子 *Grh4* の作用により中母農 5 号は加害できなかったと考えられる (図 5, 図 6)。選抜系統の品種加害反応、および西海 164 号と中母農 5 号の母本が同じ C203-1 であることから (表 2)、西海 164 号の保有する抵抗性遺伝子は西海 182 号と同じ *Grh2* であると考えられるが、対立性検定や RFLP マーカーによる遺伝子座の解析等で確認する必要がある。なお、葉検定では西海 182 号における 2 齢到達率がどの系統でも高かったが (図 6)、これは西海 182 号の保有する *Grh2* の作用が不安定であり^(31,131,134)、葉検定を行った時期の西海 182 号の抵抗性が弱かったためと考えられる。

関東 PL 6 選抜系統は、愛知 80 号選抜系統と同様の品種加害性の反応を示したことから、関東 PL 6 と愛知 80 号が同一の抵抗性遺伝子支配であり、中国 105 号や中母農 2 号、西海 182 号の保有する抵抗性遺伝子とは異なることが示唆された。Takita and Nishiyama⁽¹³¹⁾ は、愛知 80 号の母本である愛知 42 号で発育可能なツマグロヨコバイ系統が、関東 PL 6 だけでなく中母農 2 号でも生存率が高く、中母農 2 号を愛知 42 号グループに分類した。これは中母農 2 号が愛知 80 号や関東 PL 6 と同じ遺伝子支配であることを示唆するものであり、本研究で得られた結果と異なる。そこで、これら 3 品種の保有する抵抗性遺伝子の関係を明らかにするため対立性検定を行った結果、愛知 80 号の抵抗性遺伝子は関東 PL 6 と同じ遺伝子座に座乗し、中母農 2 号の抵抗性遺伝子と異なると推測された (表 5)。愛知 80 号の保有する抵抗性遺伝子 *Grh3(t)* はイネの第 6 染色体上に座乗し⁽¹⁰²⁾、中母農 2 号の遺伝子は第 5 染色体に座乗する報告⁽¹³⁶⁾からも、本研究において得られた結果と同様に愛知 80 号と中母農 2 号の抵抗性遺伝子

が異なると推測される。Takita and Nishiyama⁽¹³¹⁾ が用いた筑後市の個体群には、IR 24 や中母農 2 号など抵抗性遺伝子 *Grh1* を保有する品種を加害できる個体が多く含まれ^(121,122)、愛知 42 号で選抜した後も *Grh1* を保有する品種の加害個体の割合が高く保たれていたため、本研究で選抜した系統と異なる結果になった可能性がある。

コムギの害虫であるヘシアンバエ *Mayetiola destructor* (Say) (Diptera: Cecidomyiidae) では、抵抗性品種を加害するバイオタイプとコムギ品種との間に "gene for gene system"⁽¹⁴⁾ が認められ、抵抗性品種の保有する遺伝子と、バイオタイプの加害性遺伝子の対応関係が整理されている^(13,26,124)。すなわち、コムギのヘシアンバエに対する抵抗性は主に単一の優性遺伝子 (例えば H3, H6 など)、ヘシアンバエのコムギに対する品種加害性は単一の劣性遺伝子 (*vH3^a*, *vH6^a* など) によって支配され、加害性遺伝子 *vH3^a* を持つヘシアンバエは、抵抗性遺伝子 H3 を保有するコムギ品種を加害できるが H6 を保有する品種は加害できない等、これらの遺伝子が互いに特異的に対応して抵抗性反応が示される。トビイロウンカでは、抵抗性遺伝子とバイオタイプの反応との相互関係を利用することによりイネの抵抗性遺伝子型を推定する手法が確立されている^(38,44,54,86)。ツマグロヨコバイのバイオタイプの品種加害性の遺伝様式は不明であるが、抵抗性品種に対するバイオタイプの反応は明確に示されることから、イネの抵抗性遺伝子と本種の加害性遺伝子にも 1 対 1 の特異的対応関係が存在し、同様な手法が適用できると考えられる。本研究において選抜で得られた系統は、加害できる抵抗性品種の持つ抵抗性遺伝子に対応させ、抵抗性遺伝子 *Grh1* を加害できる系統を Biotype 1, *Grh2* あるいは *Grh3(t)* を加害できる系統をそれぞれ Biotype 2, Biotype 3 と整理した (表 6)。今後、複数の抵抗性遺伝子を加害する系統が出現した場合でも、加害する抵抗性遺伝子に対応させて、例えば *Grh1* と *Grh2* を加害する系統は Biotype 1, 2, *Grh2* と *Grh3(t)* を加害する系統は Biotype 2, 3 と整理が可能である。本研究においてイネの保有する抵抗性遺伝子とバイオタイプの加害性との関係が整理されたことにより、バイオタイプ発達に対応した抵抗性品種の選択や、抵抗性品種の保有する抵抗性遺伝子の推定、新規の抵抗性遺伝子の探索手法への利用が考

表6 ツマグロヨコバイのバイオタイプの抵抗性品種に対する反応

品種	抵抗性遺伝子	無選抜系統		選抜系統				
		日本晴	Biotype 1		Biotype 2		Biotype 3	
			IR 24	中国 105 号	西海 164	号西海 182 号	関東 PL 6	愛知 80 号
日本晴	抵抗性遺伝子なし	+	+	+	+	+	+	+
IR 24	<i>Grh1</i>	-	+	+	-	-	-	-
中母農 2 号	<i>Grh1</i>	-	+	+	-	-	-	-
中国 105 号	<i>Grh1</i>	-	+	+	-	-	-	-
Pe-bi-hun	<i>Grh1</i> + χ	-	-	-	-	-	-	-
西海 164 号	<i>Grh2</i>	-	-	-	+	+	-	-
西海 182 号	<i>Grh2</i>	-	-	-	+	+	-	-
中母農 5 号	<i>Grh2, Grh4</i>	-	-	-	-	-	-	-
中母農 6 号	<i>Grh2, Grh4</i>	-	-	-	-	-	-	-
関東 PL 6	<i>Grh3</i>	-	-	-	-	-	+	+
愛知 80 号	<i>Grh3</i>	-	-	-	-	-	+	+

+ : 加害性が高い.

- : 加害性が低い.

えられる.

ツマグロヨコバイ抵抗性はイネの生育時期によって変動し、出穂 20 日前に抗生作用が強い^(2,67,129)。本研究でイネ芽出し苗を用いて選抜を行った系統は、イネの芽出し苗期と幼穂形成期～出穂期の両方でそれぞれ選抜を行った品種に対して加害性が高かった(図 5, 図 6)。このことは、抵抗性品種を加害するバイオタイプがイネの生育期間全般を通して加害可能であることを示唆している。本研究において実験室内で選抜を行った結果が実際の圃場で起こりうるケースとしてすぐには適用できないと考えられるため、バイオタイプ発達の可能性については圃場レベルでの検討が必要である。

2. バイオタイプの加害特性および生活史特性の比較

1) はじめに

抵抗性イネ品種に対する加害性を持ったバイオタイプの発達は、薬剤に対する抵抗性の発達と同様に、生物の適応とみることができる。薬剤抵抗性系統は感受性系統と比べて生活史特性などに関し適応度が低い場合がある⁽¹⁰¹⁾。同じように抵抗性品種に対する加害性の獲得にコストを伴うならば、抵抗性品種に加害性を持つ系統が、加害性を持たない系統と比べて適応度が低い可能性がある。その場合、圃場においてイネ品種のローテーションなどによって、ツ

マグロヨコバイの加害性が発達するのを防止あるいは遅延させることができると予想される。したがって、バイオタイプ間の生活史特性の差異とその程度を明らかにすることは、バイオタイプ発達に対する対策を講ずる上で重要な情報となる。そこで本節では、抵抗性品種を加害できるツマグロヨコバイ系統について、抵抗性遺伝子を持つ品種と持たない品種上での発育と増殖に関する調査を行った。また、抵抗性品種上におけるツマグロヨコバイ系統の師管吸汁の有無について明らかにするため、イネ体から吸汁して排泄される甘露中の糖量を比較した。

2) 材料および方法

(1) 供試昆虫

ツマグロヨコバイは 1993 年 10 月に北陸農業試験場内の水田圃場で採集し、杉本⁽¹²⁵⁾の方法に準じ日本晴で累代飼育した系統(以下、Biotype 0)および抵抗性品種上で選抜を行い作出した抵抗性品種加害系統を用いた。抵抗性品種加害系統は中国 105 号、西海 182 号あるいは愛知 80 号上でそれぞれ 20 世代以上選抜を続けた後、それぞれの品種で累代飼育している系統である。ここでは、中国 105 号、西海 182 号あるいは愛知 80 号で選抜した系統をそれぞれ Biotype 1, Biotype 2, Biotype 3 と呼ぶ。昆虫の飼育および試験はすべて 25℃, 16 時間明 - 8 時間暗の日長条件下で行った。

(2) 供試品種

ツマグロヨコバイ抵抗性品種として、抵抗性遺伝子 *Grh1* を保有する中国 105 号, *Grh2* を保有する西海 182 号, *Grh3(t)* を保有する愛知 80 号を用いた。また、ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を保有しない品種として日本晴を用いた。

(3) 幼虫発育期間および生存率

各系統の抵抗性品種上における幼虫発育を調べるため、抵抗性品種中国 105 号, 西海 182 号, 愛知 80 号について Biotype 0 およびそれぞれの品種の加害系統である Biotype 1, Biotype 2, Biotype 3 を用いて以下の試験を行った。

水 0.5 ml の入った試験管（径 1.8 cm, 長さ 11 cm）に 2 葉期のイネ芽出し苗を 2 本入れ、ふ化直後のツマグロヨコバイ 1 齢幼虫を 1 頭放飼した。芽出し苗の交換は原則として 3 日間隔で行い、成虫羽化まで飼育した。羽化までの日数、羽化成虫数を調査し、幼虫の発育期間および生存率を求めた。各品種につき 1 齢幼虫 50 頭を供試した。また、抵抗性遺伝子を持たない品種である日本晴において各加害系統および Biotype 0 を用いて試験を行った。試験方法は上記と同様であった。

(4) 成虫の産卵数および生存日数

各系統の抵抗性品種上における成虫の産卵数および生存日数を調べるため、中国 105 号, 西海 182 号, 愛知 80 号について Biotype 0 およびそれぞれの加害系統である Biotype 1, Biotype 2, Biotype 3 を用いて以下の試験を行った。水 0.5 ml の入った試験管に

2 葉期のイネ芽出し苗を 2 本入れ、羽化直後のツマグロヨコバイ成虫雌雄 1 対を放飼した。その後雌が死亡するまで 24 時間毎に芽出し苗を交換した。雄が死亡した場合は、死亡した雄の生存日数を記録し、羽化 3 日以上経過した雄を 1 頭追加した。取り出した苗は解剖して産卵数を調査した。各品種につき雌雄 30 対を供試したが、放飼後 24 時間以内に成虫が死亡した場合は調査対象から除外した。また、産卵が認められなかった雌は産卵前期間の調査対象から除外し生存日数のみを調査した。また、日本晴において同様に各加害系統および Biotype 0 を用いて、成虫の産卵数および生存日数を調べた。

(5) 成虫の甘露排泄物中の糖量

各系統成虫の抵抗性品種からの師管吸汁量を比較するため、中国 105 号, 西海 182 号, 愛知 80 号について Biotype 0 およびそれぞれの加害系統である Biotype 1, Biotype 2, Biotype 3 を用いて甘露排泄物中の糖量を測定した。試験管に 2 葉期のイネ芽出し苗を 2 本と蒸留水 0.5 ml を入れ、羽化直後のツマグロヨコバイ雌成虫を 1 頭放飼し 3 日間吸汁させた。その後成虫およびイネ芽出し苗を取り出し、試験管の内容物を蒸留水ですすいで回収し、2.0 ml の溶液に調整したものを試料液とした。全糖量の測定にはアンスロンによる比色定量法⁽¹⁴²⁾を用いた。試料液 0.3 ml に、アンスロン 100 mg を冷 75% 硫酸 130 ml に溶かしたアンスロン試薬 3 ml を加えた。これを沸騰浴中で 10 分間加熱した後冷水で冷まし、波長 620 nm で吸光度を測定し、全糖量をグルコース換算量として求めた。各品種につき雌成虫 10 頭を供試した。また、日本晴において同様に各加害系統お

表 7 抵抗性品種におけるツマグロヨコバイ系統の幼虫発育期間と生存率

抵抗性品種 (抵抗性遺伝子)	ツマグロヨコバイ系統	生存率 (%)	幼虫発育期間 (日, 平均値 ± 標準誤差)	
			雌	雄
中国 105 号 (<i>Grh1</i>)	Biotype 0	0	— ^a (0)	— (0)
	Biotype 1	96.0	18.8 ± 0.1 (23)	17.5 ± 0.2 (25)
西海 182 号 (<i>Grh2</i>)	Biotype 0	12.0	23.7 ± 0.8 (6)	— (0)
	Biotype 2	94.0	18.1 ± 0.1 (25)	17.0 ± 0.1 (22)
愛知 80 号 (<i>Grh3(t)</i>)	Biotype 0	4.0	45.0 (1)	26.0 (1)
	Biotype 3	98.0	18.5 ± 0.2 (31)	17.2 ± 0.2 (18)

カッコ内の値は成虫まで発育した幼虫数を示す。

^a—は結果なしを示す。

よび Biotype 0 を用いて成虫の甘露排泄物中の糖量を調べた。

(6) 統計検定

幼虫発育試験における幼虫生存率の解析はカイニ乗検定 ($p < 0.05$) を用いた。また、幼虫期間、成虫の産卵数、産卵前期間、生存日数、甘露排泄物中の糖量の解析は、t 検定 ($p < 0.05$ および $p < 0.001$) または Dunnett の検定 ($p < 0.05$) によって抵抗性品種加害系統と Biotype 0 との比較を行った。

3) 結果

(1) 幼虫発育期間および生存率

抵抗性イネ品種上における抵抗性品種加害系統および Biotype 0 の幼虫の生存率と発育期間を表 7 に示した。抵抗性品種である中国 105 号、西海 182 号および愛知 80 号における Biotype 0 の幼虫生存率は最大 12.0% であったが、加害系統では 94.0% 以上であった。抵抗性品種における幼虫の発育期間は Biotype 0 では遅延したが、各加害系統では前者に比べて有意に短縮した。次に各加害系統の日本晴上

表 8 日本晴におけるツマグロヨコバイ系統の幼虫発育期間と生存率

ツマグロヨコバイ系統	生存率 (%) ^a	幼虫発育期間 (日, 平均値 ± 標準誤差) ^b	
		雌	雄
Biotype 0	88.0	18.8 ± 0.3 (17)	16.9 ± 0.2 (27)
Biotype 1	88.0	18.3 ± 0.1 (21)ns	17.3 ± 0.2 (23)ns
Biotype 2	88.0	18.5 ± 0.2 (23)ns	17.0 ± 0.1 (21)ns
Biotype 3	90.0	18.3 ± 0.2 (29)ns	16.4 ± 0.1 (16)ns

カッコ内の値は成虫まで発育した幼虫数を示す。

^aカイニ乗検定による有意差なし ($p > 0.05$)。

^bns は Biotype 0 との間に有意差がないことを示す (Dunnett の検定, $p > 0.05$)。

表 9 抵抗性品種におけるツマグロヨコバイ系統の成虫の産卵前期間、産卵数および生存日数

抵抗性品種 (抵抗性遺伝子)	ツマグロヨコバイ系統	産卵前期間 (日, 平均値 ± 標準誤差) ^a	雌当たり産卵数 (平均値 ± 標準誤差) ^a	生存日数 (平均値 ± 標準誤差) ^a	
				雌	雄
中国 105 号 (<i>Grh1</i>)	Biotype 0	11.6 ± 0.9 (19)**	21.3 ± 4.0 (29)**	25.1 ± 2.7 (29)*	12.4 ± 1.4 (30)**
	Biotype 1	3.8 ± 0.2 (28)	195.0 ± 16.6 (29)	33.1 ± 2.2 (29)	36.2 ± 2.8 (29)
西海 182 号 (<i>Grh2</i>)	Biotype 0	9.8 ± 0.7 (26)**	48.6 ± 7.0 (30)**	27.8 ± 2.1 (30)*	19.0 ± 1.3 (30)**
	Biotype 2	3.6 ± 0.1 (30)	245.3 ± 24.0 (30)	35.9 ± 2.8 (30)	39.9 ± 3.1 (30)
愛知 80 号 (<i>Grh3(t)</i>)	Biotype 0	— ^b (0)	0.0 ± 0.0 (30)	7.1 ± 0.6 (30)**	5.3 ± 0.3 (30)**
	Biotype 3	4.0 ± 0.1 (29)	172.7 ± 13.8 (29)	35.3 ± 2.6 (29)	36.7 ± 2.3 (30)

カッコ内の値は成虫数を示す。

** および ** はバイオタイプと Biotype 0 との間に有意差があることを示す (t 検定, * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$)。

^b—は結果なしを示す。

表 10 日本晴におけるツマグロヨコバイ系統の成虫の産卵前期間、産卵数および生存日数

ツマグロヨコバイ系統	産卵前期間 (日, 平均値 ± 標準誤差) ^a	雌当たり産卵数 (平均値 ± 標準誤差) ^a	生存日数 (平均値 ± 標準誤差) ^a	
			雌	雄
Biotype 0	4.1 ± 0.3(30)	239.3 ± 17.6(30)	40.2 ± 2.1(30)	38.6 ± 2.1(30)
Biotype 1	3.7 ± 0.1(30)ns	285.1 ± 15.1(30)ns	41.3 ± 1.9(30)ns	38.3 ± 2.1(30)ns
Biotype 2	3.4 ± 0.2(30)ns	224.9 ± 21.3(30)ns	35.3 ± 2.5(30)ns	36.7 ± 2.3(30)ns
Biotype 3	3.9 ± 0.2(30)ns	220.8 ± 16.8(30)ns	38.3 ± 1.9(30)ns	40.5 ± 1.9(30)ns

カッコ内の値は成虫数を示す。

^ans は Biotype 0 との間に有意差がないことを示す (Dunnett の検定, $p > 0.05$)。

における幼虫生存率と幼虫発育期間を（表 8）に示した。幼虫生存率はいずれの加害系統でも 88.0% 以上であり、加害系統および Biotype 0 間に有意差は認められなかった。また、幼虫発育期間についても各加害系統と Biotype 0 の間に有意な差はなかった。

(2) 成虫の産卵数および生存日数

各抵抗性品種上における加害系統および Biotype 0 の平均産卵前期間、雌当たり平均総産卵数と成虫の平均生存日数を（表 9）に示した。平均産卵前期間は、それぞれが加害する抵抗性品種上で、Biotype 0 に比べ有意に短かった。また、各加害系統の成虫は、Biotype 0 と比べて雌当たり平均総産卵数は有意に多く、成虫の平均生存日数は有意に長かった。次に各加害系統および Biotype 0 成虫の日本晴上での平均産卵前期間、雌当たり平均総産卵数と成虫の平均生存日数を（表 10）に示した。各加害系統の成虫の日本晴におけるそれらの値は Biotype 0 と比べて有意差は認められず、ほぼ同じ傾向を示した。

(3) 成虫の甘露排泄物中の糖量

Biotype 1, Biotype 2 および Biotype 3 のそれぞれ

加害する抵抗性品種上における、雌当たり日当たりの甘露排泄物中の糖量は Biotype 0 の 6 ~ 20 倍と多かった（表 11）。また、日本晴上における甘露排泄物中の糖量は、各加害系統と Biotype 0 とでほぼ同じであった（表 12）。

4) 考察

ツマグロヨコバイのバイオタイプについて、Sato and Sogawa⁽¹⁰³⁾ は、新潟県上越市の個体群の抵抗性品種 IR 24 上での幼虫発育や抗寄生性が福岡県筑後市の個体群と異なっており、両個体群間にバイオタイプの変異があることを報告している。Takita and Nishiyama⁽¹³¹⁾ は筑後市の個体群を用い、抵抗性品種上で発育可能な系統を選抜した。しかし、これらの報告では幼虫の発育について調べたものであり、成虫の生存や増殖に関わる形質やバイオタイプの加害特性については調べられていない。ここでは、ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子 *Grh1*, *Grh2* および *Grh3(t)* をそれぞれ保有する品種である中国 105 号、西海 182 号あるいは愛知 80 号で選抜して作出した系統を用いて、幼虫の発育期間と生存率、成虫の生存日数と産卵数を調査した。その結果、いずれの抵

表 11 抵抗性品種におけるツマグロヨコバイ系統の雌成虫の糖排泄量

抵抗性品種 (抵抗性遺伝子)	ツマグロヨコバイ系統	供試虫数	糖排泄量 (μg /雌/日, 平均値 \pm 標準誤差) ^a
中国 105 号	Biotype 0	10	28.4 \pm 14.4 **
(<i>Grh1</i>)	Biotype 1	10	411.4 \pm 85.4
西海 182 号	Biotype 0	10	55.1 \pm 21.7 **
(<i>Grh2</i>)	Biotype 2	10	350.1 \pm 58.1
愛知 80 号	Biotype 0	10	21.3 \pm 12.7 **
(<i>Grh3(t)</i>)	Biotype 3	10	433.5 \pm 54.5

** はバイオタイプと Biotype 0 間に有意差があることを示す (t 検定, $p < 0.001$)。

表 12 日本晴におけるツマグロヨコバイのバイオタイプ雌成虫の糖排泄量

ツマグロヨコバイ系	統供試虫数	糖排泄量 (μg /雌/日, 平均値 \pm 標準誤差) ^a
Biotype 0	10	372.0 \pm 75.0
Biotype 1	10	399.6 \pm 40.1 ns
Biotype 2	10	334.2 \pm 27.2 ns
Biotype 3	10	424.3 \pm 71.2 ns

^a ns は Biotype 0 との間に有意差がないことを示す (Dunnnett の検定, $p > 0.05$)。

抗性品種上でも Biotype 0 と比べ、抵抗性品種加害系統では幼虫発育期間の短縮、高い幼虫生存率、成虫の平均生存日数および雌当たり総産卵数の増加が認められた (表7, 表9)。このことから、幼虫の生存・発育だけでなく、成虫の生存や増殖に関してもバイオタイプはそれぞれ選抜を行った品種上で適応度が高く、抵抗性品種はバイオタイプの幼虫や成虫に対し抵抗性を示さず感受性化していると考えられた。このことはまた、野外において抵抗性品種を加害するバイオタイプが出現した場合、抵抗性品種上で加害性のツマグロヨコバイの密度が高まり、すす病や吸汁害等の被害が顕在化する可能性を示唆している。

ツマグロヨコバイ抵抗性の機構について、本種の発育には師管液の吸汁が必要であるが、抵抗性品種上では本種のイネの師管からの吸汁が阻害されて栄養摂取を困難にし、発育遅延や生存率の低下、産卵数の減少などの影響を及ぼすものと考えられている^(59,60)。本種のイネの師管からの吸汁の有無は、甘露排泄物中の糖類およびアミノ酸の量から判断できる^(53,59,60,79,96,98,139)。本研究では、抵抗性品種上におけるツマグロヨコバイ各系統の師管吸汁の有無を明らかにするため、甘露排泄物中の糖量を比較した。その結果、Biotype 0 は抵抗性品種上における甘露排泄物中の糖量が少なく (表11)、いずれの抵抗性品種とも師管からの吸汁阻害が抵抗性の要因であることを確認した。一方、加害系統ではそれぞれ選抜を行った抵抗性品種上における甘露排泄物中の糖量が Biotype 0 と比べて多かったことから (表11)、バイオタイプは抵抗性の要因である師管からの吸汁阻害を打破し、師管からの栄養摂取を可能とすることによって、幼虫の発育や生存が可能になっていると考えられた。大矢・佐藤⁽⁹⁷⁾は、抵抗性品種と感受性品種を二者択一させた場合の産卵数の間には差は認められず、本種は吸汁可能なイネの存在下では抵抗性品種にも産卵を行い、抵抗性品種に産卵阻害作用は認められなかったことを報告している。本研究において、選抜系統の抵抗性品種への産卵数が多かったことは (表9)、抵抗性品種上で師管液を吸汁可能になった結果、成虫の生存と産卵が可能になったためと考えられる。

殺虫剤に対し抵抗性を発達させた昆虫の系統では感受性系統に比べて生活史特性の適応度が低い例が

報告されている⁽¹⁰¹⁾。コナガでは、BT 抵抗性の系統でふ化率の低下、幼虫発育の遅延および羽化率の低下、成虫生存期間の短縮や産卵数減少が認められ、BT 抵抗性と適応度がトレードオフの関係にあった⁽¹¹²⁾。また、フェンバレレートで選抜を行った系統で卵サイズが小型化する事例も知られている⁽⁶⁾。

抵抗性品種とそれを加害するバイオタイプについては、トビイロウンカで抵抗性遺伝子 *bph2* を加害する Biotype 3 が他の2種類のバイオタイプと比べて感受性品種 TN1 上での産卵数が少ないことが報告されている^(9,115)。しかし、一方ではトビイロウンカ Biotype 3 の野外における密度が他の2種類のバイオタイプと同程度まで増加する報告⁽⁴⁵⁾や、バイオタイプ間の増殖率に差がないとの主張もあり⁽¹²⁰⁾、トビイロウンカでは抵抗性品種に対する加害性獲得と適応度コストの関係については明確ではない。

ツマグロヨコバイのバイオタイプについては、IR 24 に対する加害性が異なる上越市および筑後市のツマグロヨコバイ個体群間で体サイズや総産卵数が異なるとの報告がある⁽¹²²⁾。しかし、この報告では抵抗性品種に対する加害性との関連について明確にされておらず、適応度コストによる差であるのか、あるいは個体群間にあるその他生理的な差によるものかは不明である。本研究で調査した3種類のバイオタイプの日本晴における幼虫の発育期間および生存率、成虫の生存日数および産卵数は、Biotype 0 とほぼ同等であった (表8, 表10)。また、各バイオタイプの日本晴における糖排泄量も Biotype 0 とほぼ同等であったことから (表12)、ツマグロヨコバイの吸汁行動や生存、発育、増殖等に関しては抵抗性品種に対する加害性獲得に適応度コストを伴わないと考えられた。このことは、本種がある特定の抵抗性品種に対する加害性を一度獲得すると、他の抵抗性品種または感受性品種に切り替えても元の抵抗性品種に対する加害性が容易に消失しないことを意味する。このため、抵抗性品種のローテーション栽培だけでは加害性の発達を防止あるいは遅延させることは難しいと考えられる。

抵抗性品種に対する加害性と適応度コストの関係性を明らかにすることは、抵抗性品種の持続的利用にとって重要な課題のひとつである。本種はイネだけでなくスズメノテッポウ等のイネ科植物を寄主とし⁽³⁷⁾、幼虫態で越冬し年間4~5世代を繰り返す。

(25,37,57,94)．本研究において調査した特性は生活史特性の一部であることから、異なる寄主における発育・増殖や、低温下における越冬態幼虫の生存率などの

未調査の生活史特性についてもバイオタイプ間の差異を検討する必要がある。

IV 野外におけるツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統の密度抑制効果

1) はじめに

第I章で述べたように、国内では1960年代以降にツマグロヨコバイおよびイネ萎縮病抵抗性水稻品種を育成する試みが行われ、複数の中間母本、育成系統および実用品種が作出されてきたが、これら抵抗性遺伝子を導入したイネ品種の野外におけるツマグロヨコバイの生息密度抑制効果については不明な点が多かった。これまでに、野外で抵抗性品種のツマグロヨコバイ密度について調べた例では、草型や出穂期の大きく異なる外国稲や日本稲を用いて比較検討されてきた^(39,40,42,79)。しかし、草型や草丈が異なるイネ品種間では害虫の捕獲効率が異なり、害虫の生息密度について厳密に比較できない可能性がある。また、出穂期の異なるイネ品種間でツマグロヨコバイ発生量は大きく異なるため⁽¹⁰⁰⁾、抵抗性品種の持つ生息密度抑制効果を正しく評価するためには、草型や出穂期ができるだけ同じイネ品種間で比較する必要がある。同質遺伝子系統は、特定の遺伝子だけが異なり、遺伝的背景を同じくする系統である⁽¹²⁸⁾。イネのツマグロヨコバイ抵抗性は単一ま

たは少数の主導遺伝子に支配されており^(41,68,69)、草型や出穂期が同じ系統を開発することが可能である⁽⁸²⁾。そこで本章では、ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子が異なり、イネ品種キヌヒカリと同じ遺伝的背景を持つ準同質遺伝子系統を戻し交配によって作り、新潟県上越市の水田における経時的なツマグロヨコバイの生息密度調査およびイネの生育時期別の抵抗性の変動を調査し、抵抗性遺伝子の持つ生息密度抑制効果を評価した。ツマグロヨコバイには地域個体群が存在し、抵抗性品種に対する加害性が異なることから^(103,121)、日本国内3カ所から採集したツマグロヨコバイ系統に対する抵抗性準同質遺伝子系統の抵抗性の差異を調べた。また、福岡県筑後市の水田における密度調査を行い、ツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統の野外における生息密度抑制効果が地域によって異なるかどうか検証した。

2) 材料および方法

(1) 供試品種

キヌヒカリを反復親とした戻し交配を4回または

表13 ツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統の新潟県上越市および福岡県筑後市における出穂期^{a)}

品種・系統	交配組合せ ^{b)}	抵抗性遺伝子	上越市			筑後市	
			2001年	2002年	2003年	2002年	2003年
キヌヒカリ			8月3日	8月4日	8月11日	8月16日	8月20日
NIL-1	キヌヒカリ/中母農2号	B ₄ F ₃ Grh1	8月3日	-	-	-	-
NIL-1'	キヌヒカリ/中母農2号	B ₄ F ₄ Grh1	-	8月5日	8月11日	8月17日	8月21日
NIL-2	キヌヒカリ/中母農5号	B ₄ F ₃ Grh2	8月4日	-	-	-	-
NIL-2'	キヌヒカリ/中母農5号	B ₄ F ₄ Grh2	-	8月5日	8月12日	8月19日	8月23日
NIL-3A	キヌヒカリ/愛知80号	B ₅ F ₃ Grh3(t)	8月3日	-	-	-	-
NIL-3A'	キヌヒカリ/愛知80号	B ₅ F ₄ Grh3(t)	-	8月5日	8月12日	8月18日	8月22日
NIL-3B	キヌヒカリ/関東PL6	B ₅ F ₃ Grh3(t)	8月3日	-	-	-	-
NIL-4A	キヌヒカリ/中母農5号	B ₄ F ₃ Grh2, Grh4	8月4日	-	-	-	-
NIL-4A'	キヌヒカリ/中母農5号	B ₄ F ₄ Grh2, Grh4	-	8月5日	8月13日	8月20日	8月23日
NIL-4B	キヌヒカリ/中母農6号	B ₅ F ₃ Grh2, Grh4	8月2日	-	-	-	-

^{a)} -はその年に試験を行っていないことを示す。

^{b)} B₄F₃およびB₄F₄はキヌヒカリを反復親とした戻し交配を4回行い、自殖をそれぞれ2回または3回行った系統を示す。B₅F₃およびB₅F₄は戻し交配を5回行い、自殖をそれぞれ2回または3回行った系統を示す。

5回行った後に自殖を繰り返して開発したツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統（以下、NILs）を試験に用いた。交配組み合わせおよび保有する抵抗性遺伝子について（表13）に示した。抵抗性遺伝子 *Grh1* あるいは *Grh2* を保有する系統名をそれぞれ NIL-1, NIL-2 とした。また, *Grh3(t)* を保有する系統あるいは *Grh2* と *Grh4* の2つの遺伝子を保有する系統については、遺伝子給源品種の異なる2つの系統 NIL-3A, NIL-3B あるいは NIL-4A, NIL-4B を用いた。また、2001年に NIL-1, NIL-2, NIL-3A, NIL-4A をそれぞれ自殖して増殖した系統を、2002年および2003年に NIL-1', NIL-2', NIL-3A', NIL-4A' として用いた。対照品種としてツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を持っていないキヌヒカリを用いた。水田で NILs を栽培した時の出穂期の幅は最大で4日であった。

(2) 水田におけるツマグロヨコバイの生息密度調査

NILs のツマグロヨコバイ生息密度抑制効果を調べるために、2001年から2003年の3年間、新潟県上越市の北陸研究センター内の水田に NILs を栽培し密度調査を行った。試験には1筆当たり面積 6.6 ~ 6.9 a (53 ~ 55 × 12.5 m) の連続する3筆の水田を用いた。各イネ品種・系統を栽培した区画当たりの面積は、2001年は 90 m² (7.2 × 12.5 m)、2002年は 105 m² (8.4 × 12.5 m)、2003年は 120 m² (9.6 × 12.5 m) に設定した。2001年は反復なし、2002年および2003年は2反復行った。移植は2001年および2002年は5月15日、2003年は5月13日に行い、2001年はイネ中苗を 30 × 30 cm 間隔で手植えし、2002年および2003年はイネ稚苗を 30 × 18 cm 間隔で機械移植した。元肥は窒素成分で 6 kg/10 a、穂肥は窒素成分で 2 kg/10 a の2回散布、除草剤および殺菌剤の施用等その他の栽培管理は慣行によったが、殺虫剤散布は全く行わなかった。

ツマグロヨコバイの密度調査は粘着板払い落とし法⁽⁷⁸⁾を用い、7月下旬から9月中旬まで原則として7日毎に行った。粘着板はプラスチック板 (24 × 18 cm) に粘着スプレー (マルゼン化工製金竜スプレー) で粘着剤を塗布したものをを用いた。各区から3列を任意に選び、各列20株についてイネの株元に粘着板を置き反対側からイネ株を1株当たり2

回叩いて虫を払い落としした。粘着板に付着したツマグロヨコバイ成幼虫数を計数し、20株当たりの平均虫数を求めた。調査の結果、成虫の払い落とし虫数が2001年は0 ~ 1.7頭/20株、2002年は0 ~ 1.3頭/20株、2003年は0.3 ~ 6.3頭/20株と少なかったため、解析には成虫数と幼虫数の合計値を用いた。

(3) NILs の抵抗性の変動

NILs の持つ抵抗性がイネの生育時期によってどの程度変動するかを調べるため、水田で栽培したイネの葉身を用いて葉検定⁽⁶⁶⁾を行った。調査は北陸研究センター内の水田で栽培した上述の NILs について2001 ~ 2003年の3年間、6月から9月まで原則として7日毎に行った。イネの最上位展開葉の基部を15 cm 切り取り、水3 ml を入れた試験管 (直径1.8 cm, 高さ18 cm) に入れ、ふ化後8時間以内の1齢幼虫10頭を放飼し、25°C、16時間明 - 8時間暗の日長条件下に置き、4日後の2齢幼虫数を調査し2齢到達率を求めた。検定はキヌヒカリおよび NILs 系統につき5枚のイネ葉について行った。検定に用いたツマグロヨコバイは、1993年10月に北陸農業試験場内の水田圃場で採集し、杉本⁽¹²⁵⁾の方法に準じ25°C、16時間明 - 8時間暗の日長条件下でツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を持っていない日本晴のイネ芽出し苗で累代飼育しているものである。

(4) NILs のツマグロヨコバイ地域採集系統に対する抵抗性

NILs のツマグロヨコバイ地域採集系統に対する抵抗性を調査するため、新潟県上越市、茨城県水戸市および福岡県筑後市から採集したツマグロヨコバイについて芽出し苗検定を行った。上越系統は2002年10月に北陸研究センター内の水田圃場で、水戸系統は2002年9月に水戸市飯富の水田圃場で、筑後系統は2002年7月に筑後市上北島の水田畦畔で採集した。各系統は採集後に室内で日本晴のイネ芽出し苗で2 ~ 4世代累代飼育した後に検定に用いた。NILs として、中母農2号由来のツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子 *Grh1* を保有する NIL-1', 中母農5号由来の抵抗性遺伝子 *Grh2* を保有する NIL-2', *Grh2* および *Grh4* を保有する NIL-4A', 愛知80号由来の抵抗性遺伝子 *Grh3(t)* を保有する NIL-3A' を用いた (表13)。第2葉期のイネ芽出し苗1本を水0.5 ml

の入った試験管（直径 1.8 cm, 高さ 11 cm）に入れ、ふ化後 8 時間以内のツマグロヨコバイ 1 齢幼虫 5 頭を放飼した。3 地域から採集したツマグロヨコバイ各系統につき 10 本のイネ芽出し苗を用意した。供試苗は 25℃, 16 時間明 - 8 時間暗の日長条件下に置き、放飼 4 日後の 2 齢幼虫数を調査し、2 齢到達率を求めた。

(5) 筑後市の水田におけるツマグロヨコバイ密度調査

筑後市の九州沖縄農業研究センター内の水田において、2002 年、2003 年に NILs を栽培し、ツマグロヨコバイ密度調査を行った。試験は面積約 2.5 a (38.9 × 6.4 m) の水田 1 筆を用いた。各イネ品種・系統を栽培した区画当たりの面積は、2002 年は 12.96 m² (3.6 × 3.6 m), 2003 年は 46.08 m² (7.2 × 6.4 m) に設定した。反復は行わなかった。移植

は、2002 年は 6 月 24 日、2003 年は 6 月 27 日に行い、イネ中苗を 30 × 15 cm 間隔で 1 株ずつ手植えた。施肥管理は緩効性肥料 LP 複合 D100 で全量元肥とし、窒素成分で 8 kg / 10 a であった。除草剤および殺菌剤の施用等、その他の栽培管理は慣行によった。農薬散布は育苗期にツマグロヨコバイに対する殺虫活性の低いフィプロニル・ジクロシメット粒剤 (1.0%・3.0%) を所定量散布した。ツマグロヨコバイ密度調査は、8 月上旬から 9 月中旬まで原則として 7 日毎に行った。各区から 2002 年は 2 列、2003 年は 3 列を任意に選び、各列 20 株について払い落としを行い、20 株当たりの平均成幼虫数を求めた。

(6) 統計検定

NILs のツマグロヨコバイ地域採集系統に対する抵抗性検定における有意差の検定は、逆正弦変換後 Tukey の多重比較検定 ($p < 0.05$) によって行った。

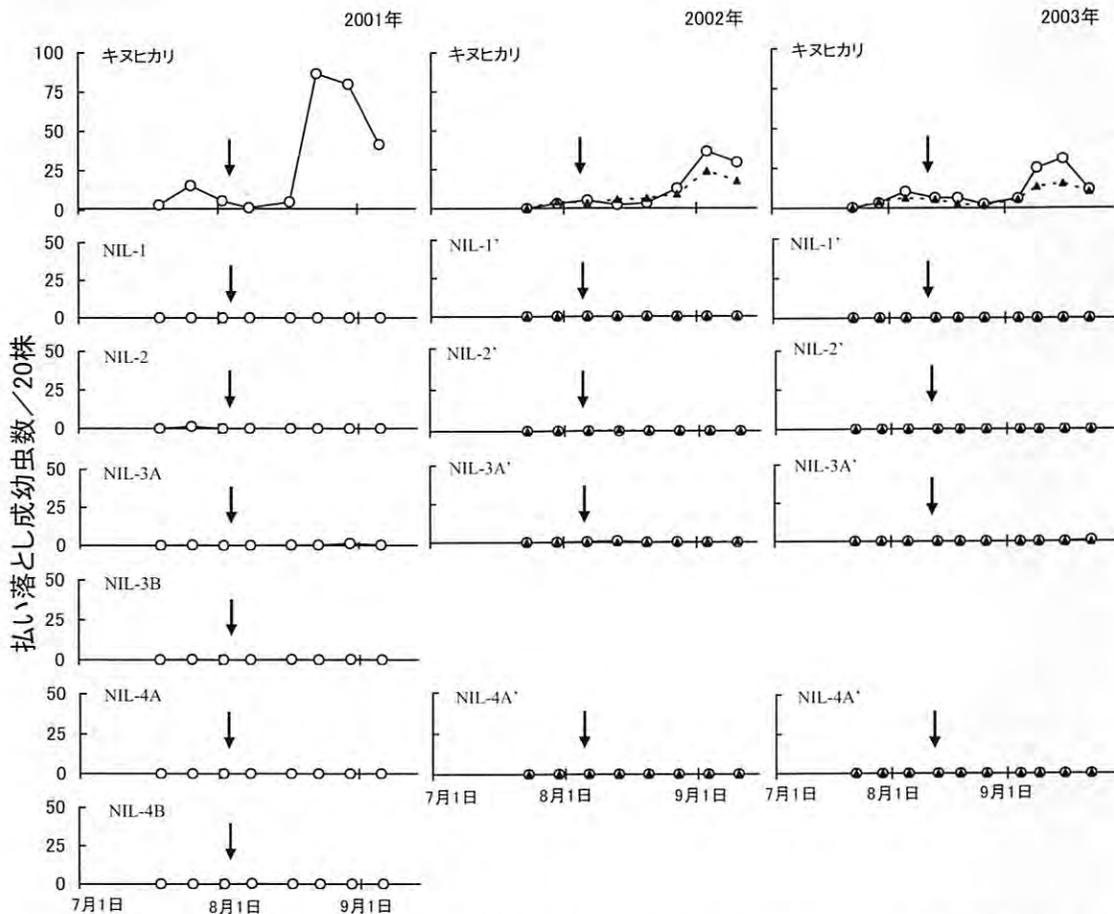


図 7 新潟県上越市で調査したツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統におけるツマグロヨコバイ生息密度の推移
 ○: 反復 1, ▲: 反復 2, 2001 年は反復なし。矢印は出穂期を示す。

3) 結果

(1) 水田におけるツマグロヨコバイの密度調査

上越市の水田で調査したNILsにおけるツマグロヨコバイ密度の推移を(図7)に示した。対照品種のキヌヒカリでは2001年は7月下旬と8月下旬～9月上旬, 2002年および2003年は8月上旬と9月上中旬に成幼虫の密度が高まった。これに対し, NILsでは各系統ともツマグロヨコバイ密度はいずれの年でも低く, ほとんど発生が認められなかった。

(2) NILsの抵抗性の変動

NILsの葉検定によるツマグロヨコバイの2齢到達率はイネの生育時期によって変動し, 抵抗性遺伝子 *Grh2* を保有するNIL-2', *Grh3(t)* を保有するNIL-3A, NIL-3A' およびNIL-3Bでは, 6月は2齢到達率が高く, その後は徐々に低下し7月には一時0%となった後に上昇し, 8月下旬から9月には80%以上となった(図8)。抵抗性遺伝子 *Grh1* を保有するNIL-1, NIL-1', *Grh2* と *Grh4* の2つの遺伝

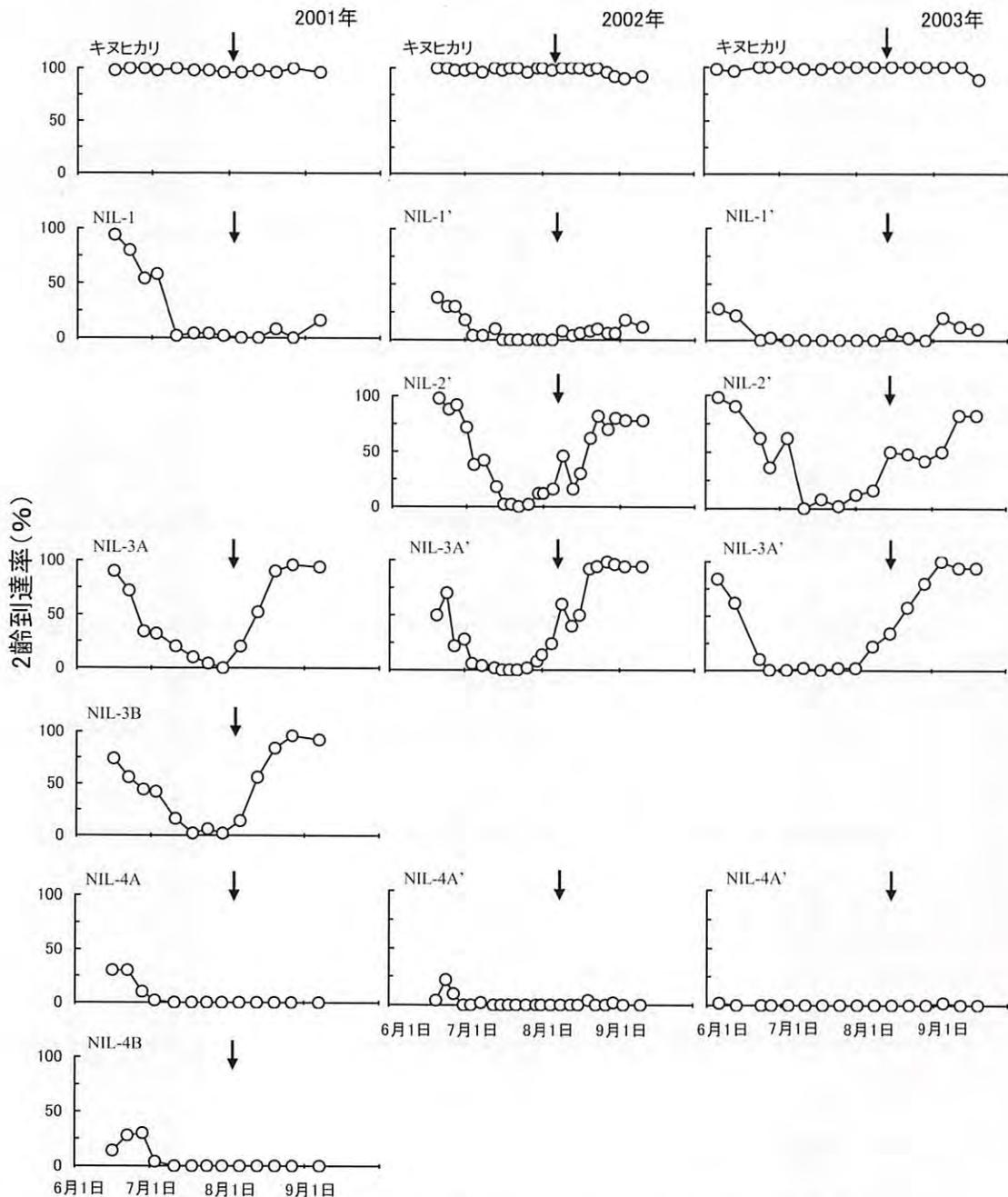


図8 葉検定により調査したツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統に対する2齢到達率
矢印は出穂期を示す。

表 14 芽出し苗検定により調査したツマグロヨコバイ地域採集系統のツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統^aに対する2齢到達率

地域採集系統	キヌヒカリ	2 齢到達率 (% ± 標準誤差) ^b			
		NIL-1' (<i>Grh1</i>)	NIL-2' (<i>Grh2</i>)	NIL-3A' (<i>Grh3(t)</i>)	NIL-4A' (<i>Grh2, Grh4</i>)
上越	100a	2.0 ± 2.0a	0a	0	0
水戸	100a	0a	12.0 ± 3.3b	0	0
筑後	98.0 ± 2.0a	20.0 ± 4.2b	26.0 ± 4.3c	0	0

^a括弧内は保有するツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子名を示す。

^b各5頭×10反復。同一英小文字間には逆正弦変換後のTukeyの多重比較検定による有意差がないことを示す ($p > 0.05$)。

子を保有するNIL-4A, NIL-4A' およびNIL-4Bでは、調査期間中の2齢到達率は40%以下で推移した(図8)。

(3) NILsのツマグロヨコバイ地域採集系統に対する抵抗性

日本国内3カ所から採集したツマグロヨコバイ系統に対するNILsの抵抗性を(表14)に示した。NILsはいずれも上越系統のツマグロヨコバイに対して強い抵抗性を示した。しかし抵抗性遺伝子*Grh1*を持つNIL-1'における2齢到達率は、上越および水戸系統と比べ筑後系統でやや高かった。また、抵抗性遺伝子*Grh2*を持つNIL-2'における2齢到達率は上越系統で低かったが水戸系統や筑後系統でやや高い値を示した。

(4) 筑後市の水田におけるツマグロヨコバイ密度調査

筑後市では9月上旬から下旬にかけてキヌヒカリでツマグロヨコバイの密度が高まり、20株当たり成幼虫数は2002年でピーク時に181.5頭、2003年は58.3頭となった(図9)。一方、NILsでは、抵抗性遺伝子*Grh1*を持つNIL-1'で、2002年はピーク時に21.5頭/20株、2003年は4.6頭/20株、*Grh2*を持つNIL-2'ではそれぞれ40.5頭/20株と7.7頭/20株、*Grh3(t)*を保有するNIL-3'でそれぞれ22.5頭/20株と2.3頭/20株の成幼虫が認められた。*Grh2*と*Grh4*の2つの抵抗性遺伝子を保有するNIL-4A'では2002年には20株当たり最高で8.5頭の成幼虫が認められたが、2003年はほとんど認められなかった。

4) 考察

これまで国内で作出されてきたツマグロヨコバイ抵抗性中間母本や育成系統を栽培した場合、これらの品種の北陸地域での出穂期は8月上旬から9月上旬まで様々となり⁽³¹⁾、イネ品種の早晚性によって本種の発生量に差異が出ることから⁽¹⁰⁴⁾、野外における抵抗性品種の密度抑制効果を正確に評価することは困難であった。本研究は、出穂期や草丈・草型がほぼ同じであるNILsを用い、本種に対する抵抗性遺伝子の密度抑制効果を定量的に解析した初めての事例である。抵抗性遺伝子*Grh1*、*Grh2*、*Grh3(t)*あるいは*Grh2*と*Grh4*をキヌヒカリに導入したNILsは、対照品種のキヌヒカリでツマグロヨコバイの発生が多くなる8月下旬から9月上旬でも成幼虫の発生はほとんど認められず(図7)、野外においても本種に抵抗性を示すことが明らかになった。ツマグロヨコバイの発生の様相は東北・北陸などの北日本と南西日本では地域差が認められ^(35,47,62,104)、北陸地域では本種はイネの出穂期から登熟期に多発し被害を引き起こす^(58,84,89,141)。抵抗性遺伝子を導入したNILsではイネの出穂期以降も顕著な密度抑制効果が認められ、調査を行った3年間とも安定した結果を示したことから、北陸地域において本種に対する抵抗性品種の利用が有効であると考えられる。抵抗性遺伝子を導入したNILs間で本種の生息密度に差は認められず、抵抗性遺伝子の違いによって野外における密度抑制効果が異なるかどうかは不明であった。

ツマグロヨコバイ抵抗性はイネの生育時期によって変動し^(67,129)、イネ株全体の抵抗性は葉身における抵抗性と同様な変動パターンであるとされる⁽⁶⁷⁾。本研究においてNILsを用いた抵抗性の葉検定結果

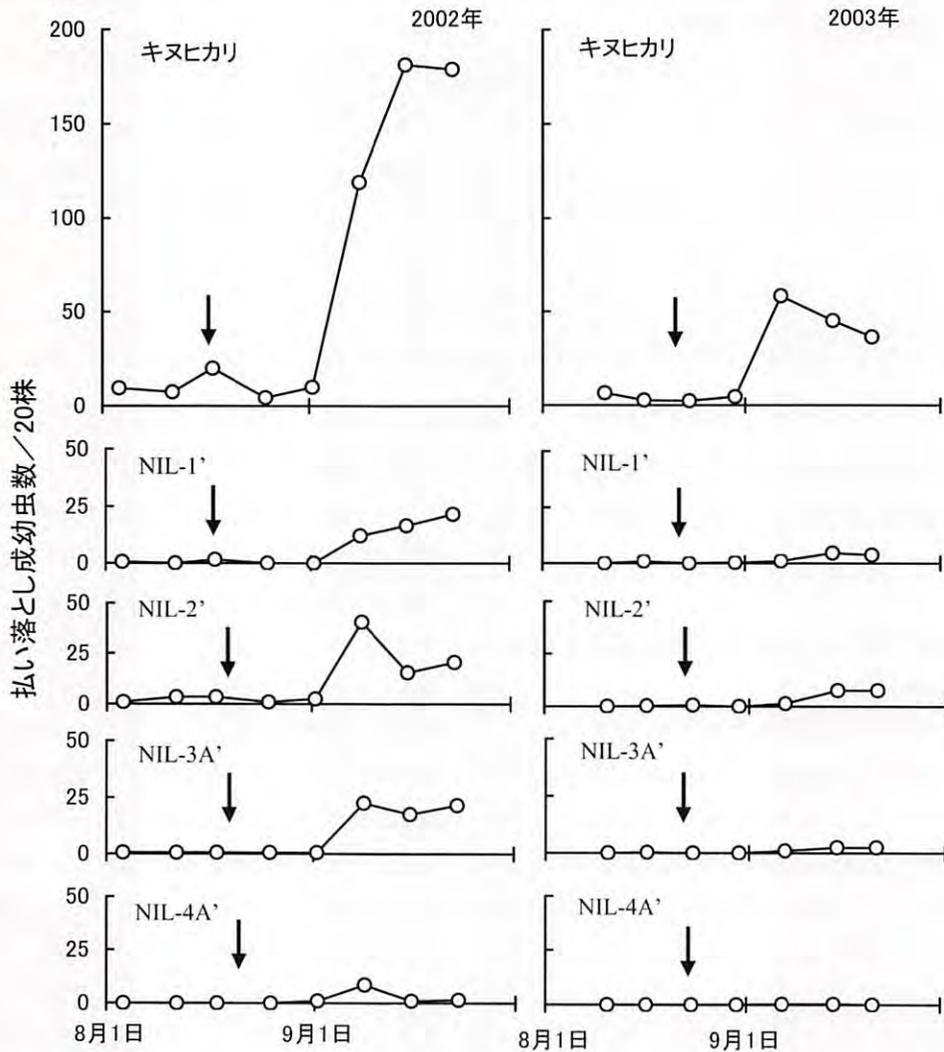


図9 福岡県筑後市で調査したツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統におけるツマグロヨコバイ生息密度の推移
矢印は出穂期を示す。

から、抵抗性遺伝子の違いによって抵抗性の変動パターンが異なることが明らかになった(図8)。抵抗性遺伝子 *Grh1* あるいは *Grh2* と *Grh4* の両方を持つNILsでは出穂期以降も抵抗性を維持しているのに比べて、*Grh2* あるいは *Grh3(t)* を持つNILsでは抵抗性が出穂期以降急速に弱まり抵抗性を強く維持している期間が短い(図8)。しかしながら、野外では *Grh2* あるいは *Grh3(t)* を持つNILsは出穂期以降も成幼虫がほとんど認められなかったことから(図7)、上越地域では出穂期前の7月にイネの抵抗性が一時的に高まることによって、野外におけるツマグロヨコバイ密度を低下させその後の増殖を抑えた結果、イネ成熟期までこれらのNILsではツマグロヨコバイ密度が低く推移したと考えられる。

国内3カ所から採集したツマグロヨコバイ系統間でNILsに対する2齢到達率が異なっていたことは(表14)、Sato and Sogawa⁽¹⁰³⁾や寒川・佐藤⁽¹²¹⁾の報告にある抵抗性品種を加害する個体の存在が理由として考えられる。つまり系統間の2齢到達率の違いはNILsに対する加害性の違いを反映しており、筑後系統には抵抗性遺伝子 *Grh1* を持つNIL-1'や *Grh2* を持つNIL-2'を加害できる個体が存在すると推測される。また、各地域個体群由来の系統でNILsの2齢到達率に差が認められたことから、これらの違いは地域個体群間のNILsに対する加害個体の割合の違いを反映している可能性がある。筑後市の水田における密度調査ではキヌヒカリと比べてNILsのツマグロヨコバイ密度は低く推移したが(図

9), 芽出し苗検定において筑後系統で2齢到達率の高かったNIL-1' およびNIL-2' ではツマグロヨコバイ成幼虫が少ないながらも認められた(図9, 表14). このことも地域個体群のNILsに対する加害個体によるものと推測される.

筑後市の水田での調査では抵抗性遺伝子*Grh3(t)*を持つNIL-3A' でも少ないながらもツマグロヨコバイ成幼虫密度が増加した(図9), このことから, ツマグロヨコバイ筑後系統に芽出し苗検定では評価できなかった*Grh3(t)*を加害できる個体が含まれる可能性が考えられる. また, 筑後ではイネの抵抗性が弱まる時期のツマグロヨコバイの増殖能力が上越の場合と異なる可能性や, イネの生育時期による抵抗性の変動パターンが上越とは異なる可能性も考えられる. また, 特に2002年は筑後における試験区1区画の面積が小さいことによる隣接区からのツマグロヨコバイ個体の移入の影響も否定できない. 以上のことを明らかにするためには, 加害個体の存在割合や抵抗性の変動パターンについてより詳細に調査し, 野外における抵抗性系統のツマグロヨコバイ密度抑制との関係について明らかにする必要がある.

ツマグロヨコバイ抵抗性品種では, 本種の発育・

生存を阻害する抗生作用だけでなくイネへの定着を阻害する抗寄生性作用も認められ^(3,30,73,97), 幼苗時における本種の抗寄生性作用と抗生作用の強さには高い相関関係があることが知られている⁽⁹⁷⁾. 永田・里見⁽⁷⁹⁾は, 中程度のツマグロヨコバイ抵抗性を示す密陽40号を野外で栽培し, ツマグロヨコバイ中齢幼虫を放飼したところ, 放飼9日後に隣接区へ成虫が移出したことを報告している. このことから, 野外においても抵抗性品種では篩管吸汁が阻害されることにより抗生作用および抗寄生性作用が現れ⁽⁵⁹⁾, ツマグロヨコバイの増殖を阻害している可能性がある. 抗生作用の強度は葉の葉位や部位によって異なり, 葉の下部ほど抗生作用が強く, 葉鞘では葉身下部と同等かやや強いことが知られている^(66,67). しかしながら, 野外で栽培された抵抗性品種上での本種の吸汁部位や吸汁行動, 株内および株間移動については不明な点が残されており, 抵抗性品種の密度抑制に関する詳細な機構についてはさらに検討を要する. また, ツマグロヨコバイの発生量は上越では2001年に, 筑後では2002年にやや増加したものの, その他の年では少発生であったことから, 多発生時における密度抑制効果についてさらに検討する必要がある.

V 総合考察

本研究では, イネのツマグロヨコバイ抵抗性品種の安定的な利用技術の確立を目指し, 抵抗性品種を利用する際に問題となるバイオタイプ発達の可能性およびバイオタイプの品種加害性, 野外における抵抗性準同質遺伝子系統のツマグロヨコバイ密度抑制効果を明らかにした. その結果, 国内で育成された抵抗性品種の保有する抵抗性遺伝子や, それぞれの抵抗性品種のバイオタイプ発達リスクを網羅的に整理し, ツマグロヨコバイ抵抗性品種の利用戦略の構築が可能となったことが大きな成果と言える. 本章では, 本研究によって得られた結果に基づいて考察を行う.

ツマグロヨコバイ抵抗性検定法として最も簡易である芽出し苗検定の精度を向上させるため, これまでの幼虫生存率を指標とした方法ではなく, 幼虫の発育程度すなわち2齢到達率を指標とした検定法を

開発した(第II章). この2齢到達率を用いた芽出し苗検定法は, 1齢幼虫を放飼して4日後に2齢幼虫に発育した虫数を調べることにより抵抗性の判定が可能となるため, 大量の材料の検定が必要となる抵抗性遺伝子給源品種の探索や, イネの個体レベルでの判定が不可欠である抵抗性の遺伝解析に有用である. これまでの抵抗性の遺伝解析では, F_2 雑種集団をポットあるいは圃場に栽培して, 幼穂形成期前後に葉検定を複数回行ったたり, F_2 雑種集団を自殖して得られる F_3 系統について芽出し苗検定を行ったりする必要があるが, 2齢到達率を用いることにより, F_2 雑種集団が得られれば速やかに実験室内で芽出し苗を準備し, 早期かつ簡易に抵抗性を検定することが可能となった. 本研究において開発された抵抗性検定法と, RFLP マーカーを用いた F_2 雑種集団における連鎖解析によって, 中母農2号, 中母

農5号および西海182号の抵抗性に関与する遺伝子のイネの染色体上の座乗位置や近接するRFLPマーカーが明らかにされた^(133,134,136)。また、キヌヒカリのツマグロヨコバイ抵抗性同質遺伝子系統である北陸IL5号および北陸IL6号は、本研究で開発された検定法を用いて、交配後代の雑種集団から抵抗性イネ個体を選抜して育成された⁽⁷⁾。このように、芽出し苗期にイネの個体レベルで抵抗性を判定できたことにより、今後新たなツマグロヨコバイ抵抗性の遺伝解析や抵抗性品種育成に貢献できるものと思われる。

本研究では、新潟県上越市においてツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統(NILs)を用いた圃場試験を行い、抵抗性遺伝子 *Grh1*、*Grh2* または *Grh3(t)* が導入された系統は、本種の密度を低く抑えることを明らかにした(第IV章)。このことから、単一のツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を導入した品種の実用性が高いことを圃場レベルで実証した。しかしながら、抵抗性品種を加害するバイオタイプ発達の可能性を検討したところ、上越市で採集されたツマグロヨコバイ個体群から上記の抵抗性遺伝子を保有する抵抗性品種を加害する系統が4~6世代という早い世代で選抜されることが明らかになった(第III章第1節)。また、抵抗性品種を加害できる系統は、イネ体の師管液を吸汁することによって加害を可能にしていた(第III章第2節)。このことは、上越市の個体群には抵抗性品種を加害する遺伝変異が存在し、*Grh1*、*Grh2* あるいは *Grh3(t)* を保有する抵抗性品種を栽培することによって、これを吸汁加害する個体の割合が増加し、抵抗性品種であっても本種による被害が顕在化する可能性を示唆している。熱帯地域では、トビイロウンカ抵抗性遺伝子 *Bph1* や *bph2* を保有する品種が育成され、東南アジアを中心に普及したが、普及後数年でこれら抵抗性品種を加害できるバイオタイプの発達が認められた^(21,116,119)。タイワンツマグロヨコバイでも抵抗性品種を栽培すると3~5年で抵抗性品種を加害できる個体が増加し、品種切り替えのために異なる抵抗性遺伝子を持つ抵抗性品種の育成が求められている⁽²²⁾。ツマグロヨコバイでは、現在までのところバイオタイプ発達による問題は顕在化していないが、抵抗性品種を加害する系統が選抜される危険性が示されたことは非常に重要な知見であり、本研究における成

果の一つといえる。抵抗性品種を安定的に利用するためには、バイオタイプ発達による抵抗性の崩壊を防ぐ対策が重要であると考えられる。以下、バイオタイプ対策について考察する。

1. 異なる遺伝子を保有する抵抗性品種への切り替え

ある抵抗性品種に対して加害個体が増加した場合、その抵抗性品種に対する加害性獲得に適応度コストを伴うならば、異なる抵抗性品種に栽培を切り替えることにより元の抵抗性品種に対する加害性を低下させることが期待され、抵抗性品種をローテーション栽培する方法がバイオタイプ対策として有効と考えられる。本研究では、抵抗性品種に加害性を持つ系統の幼虫の発育期間と生存率、成虫の生存日数と産卵数は、加害性を持たない系統とほぼ同等であり(第III章第2節)、抵抗性品種に対する加害性の獲得に、本種の発育や増殖に関するコストは伴わないことを明らかにした。このことから、抵抗性品種を加害するツマグロヨコバイ個体の割合が一度増加してしまうと、品種を切り替えても元の抵抗性品種に対する加害個体の割合を減少させることはできず、上述の抵抗性品種のローテーション栽培だけを行っても加害性の発達を抑制あるいは遅延させることは困難である可能性が高いと考えられる。一つの抵抗性品種を長期間安定的に持続させるためには、抵抗性の崩壊を容易に起こさせないように、加害性個体の増加を抑制または遅延させる栽培方法および抵抗性遺伝子の利用方法をまず検討し、さらに将来起こりうるバイオタイプ発達を前もって考慮し、品種切り替えのため異なる抵抗性遺伝子を保有する多数の抵抗性品種を育成していく必要がある。

2. 抵抗性品種の栽培方法

バイオタイプ発達を回避する方法として、中筋⁽⁸³⁾は抵抗性品種の広域単一栽培を避けることや、感受性品種を含む異なった抵抗性遺伝子を持つ品種のモザイク栽培またはローテーション栽培をあげている。ツマグロヨコバイ抵抗性品種では師管吸汁が阻害される結果、虫の発育・増殖を抑制する抗生作用だけでなく、虫を他のイネに回避させる抗寄生性作用が現れることが知られており^(59,60,98)、野外においても抵抗性品種に成虫を放飼すると、隣接する感受

性品種へ移出することが報告されている⁽⁷⁹⁾。本研究では、実験室内において抵抗性品種上で強制的に飼育することにより、抵抗性品種を加害する系統が得られたが（第Ⅲ章第1節）、新潟県上越市の圃場では抵抗性が導入されたNILs上で本種の成幼虫がほとんど認められなかった（第Ⅳ章）。このことから、野外では抵抗性品種から感受性品種への移出が起り、抵抗性品種に対する加害個体の割合が容易には増加しない可能性がある。その場合、ある抵抗性品種を栽培する際に、感受性品種を区分栽培または混合栽培することによって、ツマグロヨコバイの加害性の発達を防止あるいは遅延させることができると予想される。ツマグロヨコバイはイネだけでなくスズメノテッポウ等のイネ科植物を寄主とすることが知られている⁽³⁷⁾。このため、イネ品種だけでなく、畦畔などに植生しているイネ科寄主植物を感受性品種の代用として利用する方法も考えられる。今後、感受性品種やイネ科寄主植物を区分栽培あるいは混合栽培することで、本種の移動分散や増殖に与える影響や、どの程度加害性の発達が抑えられるかを明らかにできれば、バイオタイプ発達を抑制する栽培方法の開発につながるものと思われる。

イネの重要病害であるいもち病の防除では、異なる真性抵抗性遺伝子を導入した同質遺伝子系統を混合した多系品種（マルチライン）の利用が実用化されている。Nemoto and Yokoo⁽⁸⁷⁾は、トビイロウンカ抵抗性品種を混合栽培した場合、単一の抵抗性品種を栽培した場合より加害個体の増加を数世代遅延させるが、混合栽培した抵抗性品種すべてに対する加害性が高まり、抵抗性品種の混合栽培が逆に加害範囲の広いバイオタイプの発達を招く危険性を指摘した。また、台湾ツマグロヨコバイでも同様に抵抗性品種IR 24とPankhari 203を混合して飼育を行い、3世代目以降には両抵抗性品種に対し加害性が高まったとの報告があり⁽⁸⁵⁾、異なった抵抗性遺伝子を持つ品種を混合栽培しても、バイオタイプの発達を回避できない可能性がある。本研究で得られた抵抗性品種加害系統をあらかじめ無選抜系統に混合し、抵抗性品種を混合栽培した場合と単一の抵抗性品種を用いた場合で選抜試験を行うことにより、ツマグロヨコバイの加害性の変化が明らかになり、抵抗性品種を混合栽培した場合の有効性を検証できるであろう。

3. 抵抗性品種に対する加害個体のモニタリング

現在、埼玉県ではツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子*Grh1*を持つイネ品種「彩のかがやき」が、愛知県では*Grh3(t)*を持つ「大地の風」が育成され、2004年にはそれぞれ1,200 ha、588 haに作付されている^(5,15,50)。しかしながら、本研究において実験室内で抵抗性遺伝子*Grh1*、*Grh3(t)*を持つ品種を加害する系統が選抜されたことから（第Ⅲ章第1節）、これらの抵抗性品種を同一地域で広範囲に栽培した場合、選択圧が高くなり抵抗性品種を加害する個体の増加が懸念される。このため今後取りうる対策として、抵抗性品種を栽培している地域におけるツマグロヨコバイ個体群の抵抗性品種に対する加害性をモニタリングし、加害個体の増加による抵抗性崩壊のリスクを予測することが重要であると考えられる。また、地域個体群によって抵抗性品種に対する加害性が異なることから^(103,121)（第Ⅳ章）、これから抵抗性品種の栽培を検討している地域においても、ツマグロヨコバイ個体群の品種加害性のモニタリングを行い、その地域に効果的な抵抗性品種を選ぶ必要があると考えられる。本研究では、ツマグロヨコバイ個体群の抵抗性品種に対する加害性を、NILsを用いて保有する抵抗性遺伝子別に明らかにした（第Ⅳ章）。その結果、新潟県上越市産の個体群は抵抗性遺伝子*Grh1*、*Grh2*、*Grh3(t)*あるいは*Grh2*と*Grh4*を持つ系統に対する加害性が低いのに対し、福岡県筑後市産の個体群は*Grh1*や*Grh2*に対する加害性がやや高いことが明らかになった。これらの違いは地域個体群間のNILsに対する加害個体の割合の違いを反映しており、筑後市ではこれらの遺伝子を持つ抵抗性品種ではなく、*Grh3(t)*あるいは*Grh2*と*Grh4*を持つ抵抗性品種を栽培するほうが加害性個体の増加リスクは小さいと予測された。このように、NILsを用いて抵抗性遺伝子別に加害性を調査する手法は、地域個体群の抵抗性品種に対する加害性のモニタリング手法として十分実用可能であると考えられる。

今後、抵抗性品種に対する加害性の獲得に関連した形質ならびに遺伝子を明らかにすることにより、これらをマーカーとしたバイオタイプの識別や品種加害性のモニタリングが可能となる。トビイロウンカでは加害性の異なるバイオタイプを用いて形態的な差異の検出やアロザイム分析による遺伝的多型の

検出による比較が行われてきたが^(9,105)、加害性との関連は不明である。ツマグロヨコバイに関して、これまで品種加害性と関連した形質は見いだされていない。抵抗性品種に対する加害性の異なるバイオタイプ間の遺伝子の差異を検出する試みがトビイロウンカで行われており⁽⁷⁶⁾、本研究で得られたツマグロヨコバイのバイオタイプについても同様な解析を行うことによって、加害性に関連する変異をタンパク質や遺伝子レベルで明らかにすることが可能となる。また、加害性に関連する形質の解明は、バイオタイプの加害性獲得機構の解明にも繋がり、そのことからバイオタイプの発達を防止あるいは遅延させ得る情報が得られるのではないかと期待される。

4. 新しい抵抗性遺伝子の探索

本研究において、多数の抵抗性品種について加害系統を選抜した結果、IR 24、中母農2号、西海164号、西海182号、関東PL 6、愛知80号をそれぞれ加害できるツマグロヨコバイ系統が得られた。また、抵抗性品種や遺伝子給源品種に対する品種加害性から、加害性バイオタイプを3つのグループに分類した。さらに、バイオタイプの品種加害性は抵抗性品種が持つ遺伝子と対応しており、その関係を整理することによって、バイオタイプを用いた抵抗性遺伝子の判別手法が構築できることを示した(第Ⅲ章第1節)。この判別手法により、保有する遺伝子の異同についてこれまで不明な点が多かった抵抗性品種の持つ抵抗性遺伝子を明らかにし、保有遺伝子別に品種を分類可能となったことは本研究の成果の一つと言える。このことによって、バイオタイプの発達に対応した抵抗性品種の選択や、抵抗性品種の育成のために活用することができる。これまで本種の抵抗性中間母本や育成系統は多数育成されているが、実際には*Grh1*～*Grh4*の4種類の抵抗性遺伝子しか導入されていないことが明らかになった。抵抗性育種には多大な労力と時間が費やされ、前述の「大地の風」の育成には最初の交配から育成まで26年を費やしたとされる⁽¹⁵⁾。現段階で育成されている抵抗性遺伝子の数は十分ではなく、新しい抵抗性遺伝子を探索し、その抵抗性遺伝子を導入した品種を多数育成する必要がある。本研究で得られた3種類のバイオタイプを用いた抵抗性遺伝子の判別手法によって、多数のイネ品種から新規のツマグロヨコバ

イ抵抗性遺伝子を探索する試みが行われた。その結果、関東PL10が新規のツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を持つことが明らかになり⁽¹³⁵⁾、遺伝解析により抵抗性遺伝子*Grh6*と命名され⁽¹³⁷⁾、現在、九州沖縄農業研究センターでこの遺伝子を導入した新品種の育成がすすめられている。近年では、イネの近縁野生種からの抵抗性遺伝子の探索もすすめられており、*Oryza rufipogon*由来の抵抗性遺伝子*Grh5*が見いだされている^(16,17)。今後は、抵抗性遺伝子に密接に連鎖する分子マーカーを用いた検出手法と、バイオタイプを用いた判別手法を組み合わせ、より効率的に新規の抵抗性遺伝子の探索が可能となろう。

5. 抵抗性遺伝子の集積

ヘシアンバエでは、複数の抵抗性遺伝子を集積したコムギ品種を用いることにより、これを加害するバイオタイプの発達を遅延させ、抵抗性品種を長期間利用可能であることがシミュレーションモデルで示されている⁽²³⁾。また、ムギミドリアブラムシ*Schizaphis graminum* (Rondani)やイネシントメタマバエ*Orseolia oryzae* (Wood-Mason)では、2つの抵抗性遺伝子を組み合わせた品種の育成がすすめられている^(56,99)。トビイロウンカ抵抗性品種のIR 64は、抵抗性遺伝子*Bph1*に加えてさらに数個の微動遺伝子を持っており、このことがバイオタイプの発達しにくい要因とされ、微動遺伝子のトビイロウンカ抵抗性機構について研究が行われている^(1,10)。本研究において、ツマグロヨコバイ抵抗性中間母本の中母農5号と中母農6号に対して、室内飼育系統を用いて選抜を試みたが、加害系統は得られなかった(第3章第1節)。これらの品種は、2つの補足遺伝子*Grh2*と*Grh4*によって支配されていることが知られている^(20,41,68,133)。このことから、*Grh2*と*Grh4*の両方を持つ品種ではバイオタイプが発達を遅延させる可能性が高く、抵抗性遺伝子を集積化したイネの系統を育成することが、本種による抵抗性の崩壊を防ぐために有効であると考えられる。福田ら⁽¹⁹⁾は、中母農6号からそれぞれの遺伝子を単独で持つ準同質遺伝子系統を開発し、*Grh4*は単独でホモの状態では抵抗性を発現せず、*Grh2*も単独では安定した抵抗性は示さないが、*Grh4*が*Grh2*の作用を補足、促進する形で抵抗性が安定的に強く発現することを明らかにした。*Grh2*と*Grh4*を両方持った品種

は、*Grh2* を加害できる Biotype 2 に対しても強い抵抗性を示す（第Ⅲ章第 1 節）。このため、抵抗性遺伝子 *Grh2* と *Grh4* が単に相加的な作用で発現しているのか、それとも相乗的な作用で発現しているのかの相互作用を調べることは重要であり⁽¹⁹⁾、それぞれの遺伝子の作用および遺伝子を集積した系統における抵抗性機構が解明されれば、バイオタイプの発達ににくい要因の解明に結びつくと考えられる。本研究において、*Grh1* を保有する Pe-bi-hun に対して Biotype 1 の加害性は低く、Pe-bi-hun の抵抗性発現は *Grh1* 以外に複数の抵抗性遺伝子が関与していると考えられた（第Ⅲ章第 1 節）。また、Biotype 3 の加害性の反応から Tadukan や Rantaj-emas 2 には *Grh3(t)* 以外の抵抗性遺伝子の存在が示唆される。*Grh1* あるいは *Grh3(t)* と他の抵抗性遺伝子、特に他の遺伝子を補足、促進する作用が期待される *Grh4* と組み合わせた品種について、抵抗性の強度やバイオタイプ発達の可能性を調べることによって、どの組み合わせで抵抗性遺伝子を集積するとバイオタイプ発達抑制に効果的であるかが示され、抵抗性品種の安定的な利用方法の確立につながると考えられる。

ツマグロヨコバイ抵抗性品種の安定的な利用を考える上で、本論文で触れなかった重要な点は、バイ

オタイプの品種加害性に関する遺伝分析およびツマグロヨコバイの越冬前後の生態と加害性の変化、他の防除手段との組合せについてである。Gould⁽²³⁾ は、抵抗性品種を加害するバイオタイプ発達に影響を与える要因として、これまで考察で述べた遺伝子集積系統や品種のローテーション、感受性品種の栽培比率等の抵抗性品種の利用方法だけでなく、バイオタイプの品種加害性の遺伝様式および遺伝子初期頻度を指摘している。品種加害性の遺伝様式が完全優性あるいは完全劣性かによって、抵抗性品種を加害するバイオタイプの発達速度は異なるため、ツマグロヨコバイの品種加害性に関する優性度の遺伝解析を行うことも今後重要だろう。鈴木・山中⁽¹²⁷⁾ は、害虫の変態の型、交尾時期、移動能力などの生活史特性や密度依存的防除がバイオタイプ発達に影響を与えることを示した。また、作物以外の植物を寄主として利用する生活環を持つ害虫の場合、寄主転換やその際の適応度の差によってバイオタイプ発達を抑制できる可能性があることから⁽¹²⁶⁾、スズメノテッポウなどのイネ科植物上に幼虫態で越冬するツマグロヨコバイの越冬前の移動分散、越冬期間中の寄主植物上における適応度の差、越冬後成虫の交尾時期などについての解析が今後求められる。鈴木⁽¹²⁶⁾ は

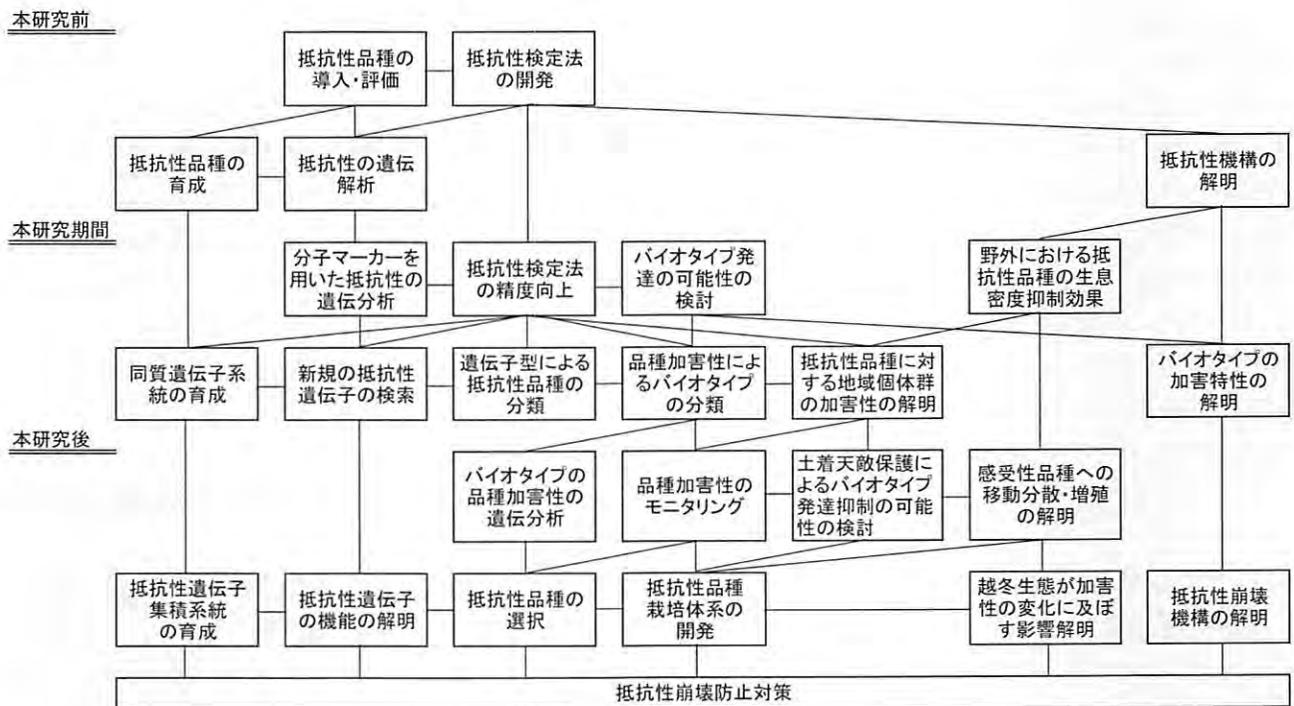


図 10 イネの抵抗性を利用したツマグロヨコバイ管理技術の確立に向けた課題

細菌エンドファイト共生イネにおけるバイオタイプ発達モデルを開発し、細菌エンドファイト施用と土着天敵保護を組み合わせることにより、トビイロウンカとセジロウンカではバイオタイプ発達を10年以上遅延させることをモデルで示した。西日本では土着天敵であるキクズキコモリグモの捕食がツマグロヨコバイの発生動向に大きな役割を果たしていることが知られている^(63,64)。このため、抵抗性品種を栽培している圃場において、土着天敵を保護することによってバイオタイプ発達を遅延させることが可能か否かについて、今後検討する必要がある。

以上、本研究において得られた結果から、抵抗性品種を安定的に利用するための今後の課題について(図10)にまとめた。まず、品種育成に関しては、抵抗性品種を加害するバイオタイプの発達により抵抗性の崩壊が起こった場合でも迅速に品種切り替えを行えるよう、新規のツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を探索し、新しい抵抗性品種の育成を行う。この際、本研究で選抜されたバイオタイプを用いた抵抗性検定法で新しい遺伝子を探索することが可能である。また、抵抗性遺伝子の機能を解明し、バイオタ

イプが発達しにくい抵抗性遺伝子の組合せを明らかにし、抵抗性遺伝子集積系統を育成する。ツマグロヨコバイのバイオタイプに関しては、バイオタイプの品種加害性の遺伝分析を行い、本種の抵抗性品種に対する加害性の優性を明らかにする。一方、抵抗性品種を栽培する地域におけるツマグロヨコバイ個体群の加害性についてモニタリングし、バイオタイプ発達のリスクを予想し、栽培する抵抗性品種の選択に利用する。また、バイオタイプの加害性獲得機構を解析することで、抵抗性崩壊機構を明らかにする。ツマグロヨコバイの生態に関して、抵抗性品種から感受性品種やイネ科寄主植物への本種の移動分散・増殖や、本種の越冬中における適応度および加害性の変化、複数の抵抗性品種を栽培した時の本種の加害性の変化を解明することで、抵抗性品種の最適な栽培方法を明らかにする。抵抗性品種と土着天敵保護を組み合わせることにより、バイオタイプ発達の遅延の可能性を検討する。最後に、これらを総合化してツマグロヨコバイ管理技術の中に組み込むことにより、抵抗性崩壊の防止対策となると考えられる。

摘 要

ツマグロヨコバイ *Nephotettix cincticeps* (Uhler) はカメムシ目 (Hemiptera) ヨコバイ科 (Cicadellidae) に属する吸汁性昆虫であり、水稻の主要害虫の一種として知られている。抵抗性品種を利用した害虫管理技術は総合防除技術の有力な素材の1つである。本研究では、ツマグロヨコバイに対するイネの抵抗性に関し、早期に簡易かつ的確に判定できる抵抗性検定法を開発した。また、イネのツマグロヨコバイ抵抗性を加害できるバイオタイプの選抜およびバイオタイプの品種加害性、バイオタイプの加害特性および生活史特性の比較、野外における抵抗性準同質遺伝子系統のツマグロヨコバイ密度抑制効果および地域個体群の抵抗性品種加害能力の差異を明らかにした。主要な結果を以下に要約する。

1. 幼虫発育を指標とした簡易抵抗性検定法

最も簡便な抵抗性検定法であるイネの芽出し苗期における検定について、幼虫の発育程度を指標とした方法を検討した。抵抗性品種では幼虫発育の遅延

が1齢幼虫の段階から認められたため、1齢幼虫を放飼して4日後の2齢幼虫数を2齢到達率として求め、幼虫発育程度の指標とした。抵抗性品種の中母農6号と感受性品種のトヨニシキを交配した B_1F_1 雑種集団では、芽出し苗期に2齢到達率を用いて抵抗性個体と感受性個体を明確に分離することができた。出穂期の抵抗性検定でも同様に判定されたことから、2齢到達率を用いた検定法の精度は高いと判断された。さらに、「キヌヒカリ/Pe-bi-hun」, 「キヌヒカリ/八仔」, 「キヌヒカリ/西海182号」の F_2 雑種集団においても、2齢到達率を用いた検定で精度の高い判定が可能であった。

2. ツマグロヨコバイ抵抗性品種を加害するバイオタイプ

1) ツマグロヨコバイ抵抗性を加害できるバイオタイプの選抜

新潟県上越市のツマグロヨコバイ個体群から、抵抗性品種の西海164号、西海182号、関東PL6で選抜を繰り返すことにより、累代飼育が可能な系統

を得た。このことから、上越市の個体群には抵抗性品種を加害する遺伝変異が存在し、抵抗性品種を栽培するとバイオタイプが発達する可能性が示された。中母農5号と中母農6号で発育できる系統は選抜できなかった。

2) バイオタイプの品種加害性

抵抗性品種のIR 24、中国105号、西海164号、西海182号、関東PL 6、愛知80号で選抜されたツマグロヨコバイ系統は、それぞれ選抜を行った品種に対して高い加害性を示し、他の抵抗性品種に対する加害性から3つのグループに分けられた。抵抗性品種の持つ抵抗性遺伝子は、選抜系統の品種加害性から推測される遺伝子の異同と一致し、バイオタイプを用いて抵抗性遺伝子を推定できることが示された。抵抗性遺伝子 *Grh1* を持つ品種を加害できる系統を Biotype 1、*Grh2* あるいは *Grh3(t)* を加害できる系統をそれぞれ Biotype 2、Biotype 3 とし、抵抗性品種に対する加害性から抵抗性遺伝子を判別するシステムを提案した。選抜系統は幼穂形成期～出穂期のイネに対して加害性を示したことから、イネの生育期間を通じて加害可能であることが示された。

3) バイオタイプの加害特性および生活史特性の比較

抵抗性品種の中国105号、西海182号あるいは愛知80号をそれぞれ加害できる系統では、抵抗性品種上で幼虫発育期間が短く、幼虫生存率が高く、成虫の平均生存日数および雌当たり総産卵数が増加し、バイオタイプは選抜を行った抵抗性品種に適

応していると考えられた。抵抗性品種上でバイオタイプから排泄された甘露中の糖量は、無選抜系統と比べて有意に増加しており、バイオタイプは師管からの吸汁を可能にすることによって加害性を獲得していると考えられた。日本晴における羽化率、幼虫発育期間、成虫生存日数、産卵数、糖排泄量は各バイオタイプと無選抜系統との間で有意差は認められず、本種の抵抗性品種に対する加害性獲得には適応度コストを伴っていないと考えられた。

3. 野外におけるツマグロヨコバイ準同質遺伝子系統の密度抑制効果

ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子を保有するキヌヒカリ準同質遺伝子系統 (NILs) を新潟県上越市の水田で栽培したところ、ツマグロヨコバイ生息密度は低く推移し、密度抑制効果は高かった。*Grh2*、*Grh3(t)* を持つ系統ではイネの出穂期以降に抵抗性が弱まるが、野外では生息密度を低く抑えており、出穂期前後の一時的な抵抗性の高まりが以後の密度上昇を抑制する要因であると考えられた。

福岡県筑後市のツマグロヨコバイ個体群は *Grh1* および *Grh2* を持つ系統上で2齢到達率が高く、これらの系統に対し加害性が高かった。筑後市の水田では *Grh1*、*Grh2* をそれぞれ保有するNILsでツマグロヨコバイ成幼虫が少ないながらも発生し、筑後市の個体群中にはこれらの系統を加害できる個体が存在することが示された。抵抗性品種をツマグロヨコバイ防除に利用する際には、導入する地域の個体群の品種加害性を明らかにし、有効な抵抗性品種を選択することが重要である。

謝 辞

本研究の取りまとめにあたり、懇切なご指導とご助言をいただき、さらに本論文のご校閲をいただいた筑波大学生命環境科学研究科本田洋教授に対し厚くお礼申し上げます。筑波大学生命環境科学研究科奥野員敏教授ならびに戒能洋一准教授、独立行政法人農業生物資源研究所服部誠氏には、本稿のご校閲をいただき、深く感謝を申し上げます。独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター北陸研究センター樋口博也氏には、本研究の遂行および取りまとめにあたり多くの有益なご助

言、ご指導いただくとともに、本論文のご校閲をいただき、心からお礼申し上げます。

元北陸農業試験場虫害研究室長大矢慎吾氏には、本研究の端緒を与えられご指導いただいた。独立行政法人国際農林水産業研究センター福田善通氏、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センター田村克徳氏には、本研究の開始以来数々の有益な議論をしていただいた。独立行政法人農業環境技術研究所田中幸一氏、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究

センター松村正哉氏には、本研究の遂行および取りまとめにあたって数々のご教示およびご指導をいただいた。独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター渡邊朋也氏、元同センター鈴木芳人氏には、研究の過程で有益なご助言をいただいた。独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター北陸研究センター高橋明彦氏には常日頃より有益な議論をしていただいた。元北陸研究センター北陸水田利用部長執行盛之氏には、統計解析に関して数々のご教示をいただいた。以上の方々に厚くお礼申し上げます。

独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所低コスト稲育種研究チーム、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構東北農業研究センター旧水田病虫害研究室、愛知県農業総合試験場作物グループ、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター低コスト稲育種研究チームおよび独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構九州沖縄農業研究センター低コス

ト稲育種研究チームの諸氏には水稻中間母本および抵抗性育成系統の種子を提供していただいた。独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構中央農業総合研究センター北陸研究センター業務第4科職員各位には、試験圃場の管理および野外調査にあたり多大なご協力をいただいた。同センター矢澤かずえ氏ならびに元北陸農業試験場虫害研究室高木サチ子氏には飼育虫の管理にご協力いただいた。これらの方々のご協力なくして本研究は遂行不可能であった。ここに記して感謝の意を表す。

なお、本論文は次の既発表論文を取りまとめたものであり、論文の著作権者から利用許可をいただいた。第II章、第III章第2節および第IV章は雑誌日本応用動物昆虫学会誌に発表された文献29、33、34を一部加筆修正し、第III章第1節は雑誌Applied Entomology and Zoologyに発表された文献32を邦訳、一部加筆修正したものであり、日本応用動物昆虫学会に感謝する。

引用文献

1. Alam, S. N. and M. B. Cohen (1998) Durability of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resistance in rice variety IR 64 in greenhouse selection studies. Entomol. Exp. Appl. 89: 71-78.
2. 安藤幸夫 (1998) 水稻品種の生育時期によるツマグロヨコバイ耐虫性の変動程度. 熱帯農業 42: 54-56.
3. 安藤幸夫・岸野賢一 (1981) 水稻のツマグロヨコバイ耐虫性に関する研究. 3. 寄主選好性を利用した検定法について. 応動昆 25: 196-197.
4. 安藤幸夫・岸野賢一 (1986) ツマグロヨコバイ耐虫性品種の検索. 東北農試研究資料 5: 137-159.
5. 荒川誠・武井由美子・戸倉一泰・箕田豊尚・小指美奈子・石井博和・渡邊耕造・矢ヶ崎健治 (2003) 良質・良食味の病虫害複合抵抗性水稻新品種「彩のかがやき」, 「彩のきらびやか」の育成. 育種学研究 5 (別 2): 199.
6. Chen, X. D. and F. Nakasuji (2004) Diminished egg size in fenvalerate resistant strains of the diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Appl. Entomol. Zool. 39: 335-341.
7. 中央農業総合研究センター (2006) 北陸 IL5 号. 北陸 IL6 号. 平成 18 年 2 月. 水稻育成系統配布に関する参考成績書: 26-30.
8. Claridge, M. F. and J. Den Hollander (1982) Virulence to rice cultivars and selection for virulence in populations of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. Entomol. Exp. Appl. 32: 213-221.
9. Claridge, M. F., J. Den Hollander and D. Haslam (1984) The significance of morphometric and fecundity differences between the 'biotypes' of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. Entomol. Exp. Appl. 36: 107-114.
10. Cohen, M. B., S. N. Alam, E. B. Medina and C. C. Bernal (1997) Brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resistance in rice cultivar IR 64: mechanism and role in successful *N. lugens* management in central Luzon, Philippines. Entomol. Exp. Appl. 85: 221-229.
11. Den Hollander, J. and P. K. Pathak (1981) The genetics of the "biotypes" of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. Entomol. Exp.

- Appl. 29: 76-86.
12. Diehl, S. R. and G. L. Bush (1984) An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annu. Rev. Entomol.* 29: 471-504.
 13. El Bouhssini, M., J. H. Hatchett, T. S. Cox and G. E. Wilde (2001) Genotypic interaction between resistance genes in wheat and virulence genes in the Hessian fly *Mayetiola destructor* (Diptera: Cecidomyiidae). *Bull. Entomol. Res.* 91: 327-331.
 14. Flor, H. H. (1956) The complementary genetic systems in flax and flax rust. *Adv. Genet.* 8: 29-54.
 15. 藤井潔・早野由里子・荒川誠 (2005) イネ病害虫複合抵抗性品種の育成とその普及. *植物防疫* 59 : 226-230.
 16. Fujita, D., K. Doi, A. Yoshimura and H. Yasui (2003) Mapping of a new resistance gene for green rice leafhopper introgressed from *Oryza rufipogon* Griff. into cultivated rice, *Oryza sativa* L. *Rice Genet. Newslett.* 20: 79-80.
 17. Fujita, D., K. Doi, A. Yoshimura and H. Yasui (2006) Molecular mapping of a novel gene, *Grh5*, conferring resistance to green rice leafhopper (*Nephotettix cincticeps* Uhler) in rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 113: 567-573.
 18. Fukushi, T. (1934) Studies on the dwarf disease of rice plant. *J. Fac. Agric. Hokkaido Imp. Univ.* 37: 41-164.
 19. 福田善通・大矢慎吾・田村克徳・平江雅宏・芦川育夫・八木忠之 (1997) 分子マーカーを用いた遺伝, 育種学的研究 8. RFLP マーカーを選抜指標とした, ツマグロヨコバイ耐虫性同質遺伝子系統の育成. *育種* 47 (別 2) : 166.
 20. Fukuta, Y., K. Tamura, M. Hirae and S. Oya (1998) Genetic analysis of resistance to green rice leafhopper (*Nephotettix cincticeps* Uhler) in rice parental line, Norin-PL 6, using RFLP markers. *Breed. Sci.* 48: 243-249.
 21. Gallagher, K. D., P. E. Kenmore and K. Sogawa (1994) Judicial use of insecticides deter planthopper outbreaks and extend the life of resistant varieties in Southeast Asian rice. In *Planthoppers: Their Ecology and Management* (R. F. Denno and T. J. Perfect eds.), Chapman & Hall, New York, pp. 599-614.
 22. Ghani, M. U. and G. S. Khush (1988) A new gene for resistance to green leafhopper *Nephotettix virescens* (Distant) in rice. *J. Genet.* 67: 151-159.
 23. Gould, F. (1986) Simulation models for predicting durability of insect-resistant germ plasm: Hessian fly (Diptera: Cecidomyiidae)-resistant winter wheat. *Environ. Entomol.* 15: 11-23.
 24. 芳賀光司・田辺潔・香村敏郎・朱宮昭男・高松美智則 (1975) イネ萎縮病抵抗性の品種育成と機作 (第 1 報) 世代促進法をとり入れた戻し交雑. *愛知県農総試研報 A7* : 26-39.
 25. 橋爪文次 (1958) ツマグロヨコバイの生態. *植物防疫* 12 : 394-400.
 26. Hatchett, J. H. and R. L. Gallun (1970) Genetics of the ability of the Hessian fly, *Mayetiola destructor*, to survive on wheats having different genes for resistance. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63: 1400-1407.
 27. Hattori, M. (1997) Feeding behavior of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* (Homoptera: Cicadellidae) towards pure phloem sap collected from resistant and susceptible rice varieties. *Appl. Entomol. Zool.* 32: 409-412.
 28. 服部誠 (2006) ウンカ・ヨコバイ類に対するイネの品種抵抗性機構に関する研究の現状と展望. *農業技術* 61 : 153-157.
 29. 平江雅宏・福田善通・田村克徳・大矢慎吾 (2002a) 幼虫発育を指標としたイネのツマグロヨコバイ抵抗性検定法. *応動昆* 46 : 178-181.
 30. 平江雅宏・福田善通・田村克徳・大矢慎吾 (2002b) 非選好性を利用したイネのツマグロヨコバイ抵抗性検定法の検討. *北陸病虫研報* 51 : 11-18.
 31. 平江雅宏・福田善通・田村克徳・大矢慎吾 (2004) ツマグロヨコバイ抵抗性品種の密度抑制効果. *北陸病虫研報* 53 : 13-18.
 32. Hirae, M., Y. Fukuta, K. Tamura and S. Oya (2007) Artificial selection of biotypes of green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Homoptera: Cicadellidae), and virulence to resistant rice varieties. *Appl. Entomol. Zool.* 42: 97-107.
 33. 平江雅宏・田村克徳・福田善通 (2007) 水田におけるツマグロヨコバイ抵抗性準同質遺伝子系統の抵抗性. *応動昆* 51 : 273-280.

34. 平江雅宏・田村克徳・福田善通 (2008) 抵抗性イネ品種を加害するツマグロヨコバイのバイオタイプの発育と産卵. 応動昆 52: 207-213.
35. 平野耕治 (1988) 北日本のツマグロヨコバイ大発生機構. 植物防疫 42: 2-8.
36. 平尾重太郎・里見緯生・岡田忠虎 (1974) ツマグロヨコバイによるイネわい化性症状の媒介について. 九病虫研会報 20: 128-139.
37. 法橋信彦 (1972) ツマグロヨコバイの生活史と個体群動態に関する研究. 九州農試報告 16: 283-382.
38. 池田良一 (1985) イネにおけるトビイロウンカ抵抗性の遺伝およびトビイロウンカ抵抗性とウイルス病抵抗性の複合化に関する育種学的研究. 農研センター研報 3: 1-54.
39. 井辺時雄 (1981) 粘着板による水稲品種のツマグロヨコバイ抵抗性ほ場検定法. 九病虫研会報 27: 78-80.
40. Imbe, T. (1987) Efficient screening of rice varieties for resistance to rice green leafhopper by estimating the insect population with sticky boards. JARQ 20: 237-241.
41. 井辺時雄・岩崎真人 (1987) 水稲中間母本農5号のツマグロヨコバイおよび萎縮病に対する抵抗性の遺伝. 育種 37: 177-184.
42. 井上斉 (1966) 日本稲及び外国稲におけるウンカ・ヨコバイ類生育の品種間差異. 応動昆中国支部報 8: 17-19.
43. International Rice Research Institute (1972) IRRI Annual Report for 1971. International Rice Research Institute, Los Baños, 238 pp.
44. International Rice Research Institute (1976) IRRI Annual Report for 1975. International Rice Research Institute, Los Baños, 479 pp.
45. International Rice Research Institute (1983) IRRI Annual Report for 1981. International Rice Research Institute, Los Baños, 585 pp.
46. 伊藤清光・岸本良一 (1981) 耐虫性イネ品種を加害するトビイロウンカのバイオタイプの実験的選抜. 農試研報 33: 139-153.
47. Itô, Y. and T. Johraku (1982) Differences in population dynamics of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Hemiptera: Deltocephalidae), in two districts of Japan. Appl. Entomol. Zool. 17: 337-349.
48. 岩崎真人・井辺時雄 (1984) ツマグロヨコバイおよびイネ萎縮病抵抗性に関する研究. 2. 両抵抗性の品種間差異. 育種 34 (別2): 132.
49. 岩田俊一・浜弘司 (1973) カーバメイト系殺虫剤に対するツマグロヨコバイの抵抗性. 植物防疫 27: 165-169.
50. 井澤敏彦・朱宮昭男・工藤 悟・加藤恭宏・坂紀邦・藤井 潔・遠山孝通・杉浦直樹・中嶋泰則・伊藤俊雄・辻 孝子・小島 元 (2001) 病害虫複合抵抗性の水稲新品種「大地の風」. 愛知県農試研報 33: 25-32.
51. 常楽武男 (1966) ツマグロヨコバイの発生と防除. 農業および園芸 41: 1214-1218.
52. 常楽武男・関口 亘・嘉藤省吾・成瀬博行・今井富士夫・若松俊弘 (1983) 北陸地方におけるツマグロヨコバイの個体数変動. 応動昆 27: 146-151.
53. Jung, J. K., C. Kim and M. Horiike (1995) Mortality and honeydew profiles of *Nephotettix cincticeps* Uhler (Homoptera: Cicadellidae) supplied with a leafhopper-resistant rice variety. Appl. Entomol. Zool. 30: 91-95.
54. Kaneda, C., K. Ito and R. Ikeda (1981) Screening of rice cultivars for resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål., by three biotypes. Jpn. J. Breed. 31: 141-151.
55. 金田忠吉・横尾政雄・池橋宏・小林陽・池田良一・根本博 (1985) ツマグロヨコバイ・萎縮病に抵抗性の水稲中間母本農2号の育成. 農研センター研報 5: 81-91.
56. Katiyar, S., S. Verulkar, G. Chandel, Y. Zhang, B. Huang and J. Bennett (2001) Genetic analysis and pyramiding of two gall midge resistance genes (*Gm-2* and *Gm-6t*) in rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica 122: 327-334.
57. 嘉藤省吾・若松俊弘 (1978a) 富山県におけるツマグロヨコバイの発生経過. 北陸病虫研報 26: 12-17.
58. 嘉藤省吾・若松俊弘 (1978b) ツマグロヨコバイによる加害と収量への影響. 北陸病虫研報 26: 18-21.

59. 河部暹 (1979) ツマグロヨコバイの吸汁行動とイネの抵抗性. 植物防疫 33 : 193-199.
60. Kawabe, S. (1985) Mechanism of varietal resistance to the rice green leafhopper (*Nephotettix cincticeps* Uhler). JARQ 19: 115-124.
61. 川瀬英爾 (1958) 北陸のツマグロヨコバイの被害と防除. 植物防疫 12 : 401-404.
62. Kidokoro, T. (1979) Geographic trend in the annual population fluctuation of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Hemiptera: Deltocephalidae). Appl. Entomol. Zool. 14: 127-129.
63. Kiritani, K., N, Hokyo, T. Sasaba and F. Nakasuji (1970) Studies on population dynamics of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler: regulatory mechanism of the population density. Res. Popul. Ecol. 12: 137-153.
64. Kiritani, K., S. Kawahara, T. Sasaba and F. Nakasuji (1972) Quantitative evaluation of predation by spiders on the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* (Uhler), by a sight-count method. Res. Popul. Ecol. 17: 29-38.
65. 岸野賢一 (1976) ツマグロヨコバイに対するイネの耐虫性. 研究の現状と問題点. 植物防疫 30 : 351-355.
66. 岸野賢一・安藤幸夫 (1978) 水稲のツマグロヨコバイ耐虫性に関する研究. 1. 抗生作用の検定法について. 応動昆 22 : 169-177.
67. 岸野賢一・安藤幸夫 (1979) 水稲のツマグロヨコバイ耐虫性に関する研究. 2. 稲の生育時期による抗生作用の変動. 応動昆 23 : 129-133.
68. 岸野賢一・安藤幸夫・鈴木忠夫・河部 暹・武田光能・池田良一・斉藤滋 (1987) ツマグロヨコバイに抵抗性のある水稲中間母本農 6 号の育成. 東北農試研報 76 : 1-11.
69. Kobayashi, A. (1983) Inheritance of resistance to green rice leafhopper (*Nephotettix cincticeps* Uhler) and dwarf virus disease. In Crop Improvement Research: Proceedings of Fourth International SABRAO Congress (T. C. Yap, K. M. Graham and J. Sukaimi eds.). SABRAO, Malaysia, pp. 157-165.
70. 小林陽・金田忠吉・池田良一・池橋 宏 (1980) イネのいしゅく病耐病性中間母本系統「関東 PL 6」について. 育雑 30 (別 2) : 102-103.
71. Kobayashi, A., M. A. Supaad and O. Othman (1983) Inheritance of resistance of rice to tungro and biotype selection of green leafhopper in Malaysia. JARQ 16: 306-311.
72. 腰原達雄 (1972) 東北地方のツマグロヨコバイ発生の地域差. 北日本病虫研報 23 : 71-77.
73. 腰原達雄 (1974) ウンカ・ヨコバイ類に対する抵抗性イネ品種の利用. 植物防疫 28 : 404-408.
74. 久野英二 (1968) 水田における稲ウンカ・ヨコバイ類個体群の動態に関する研究. 九州農試彙報 14 : 131-246.
75. Liu, J. and S. Takahashi (1990) Evaluation of host plant suitability to the green leafhopper, *Nephotettix* spp. (Homoptera: Cicadellidae) by different criteria. Appl. Entomol. Zool. 25: 49-57.
76. Mun, J. H., Y. H. Song and G. K. Roderick (2004) Isolation and characterization of microsatellites in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. Korean J. Appl. Entomol. 43: 311-315.
77. 那波邦彦 (1979) ツマグロヨコバイの吸汁による被害の地域差. 植物防疫 33 : 200-203.
78. Nagata, T. and T. Masuda (1978) Efficiency of sticky boards for population estimation of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae) on rice hills. Appl. Entomol. Zool. 13: 55-62.
79. 永田徹・里見緯生 (1985) ツマグロヨコバイのほ場での増殖にみられるイネ品種間差異. 北陸病虫研報 33 : 65-68.
80. 内藤篤・正木十二郎 (1967) ツマグロヨコバイの摂食行動に関する研究 第 1 報 寄主植物への口針挿入. 応動昆 11: 50-56.
81. 中込暉雄・滝本雅章・上林讓 (1989) ツマグロヨコバイの薬剤感受性とイネ品種愛知 80 号の耐虫性. 愛知県農総試研報 21 : 78-84.
82. 中嶋泰則・杉浦直樹・坂紀邦・加藤恭宏・遠山孝通・藤井潔・工藤悟・辻孝子・井澤敏彦・朱宮昭男 (1998) ツマグロヨコバイ抵抗性を導入したコシヒカリ同質遺伝子系統の作出. 愛知県農総試研報 30 : 57-61.
83. 中筋房夫 (1997) 総合的害虫管理学. 養賢堂, 東京. 273pp.
84. 成瀬博行・新田朗 (1998) 北陸地方におけるツマ

- グロヨコバイの吸汁被害. I. 圃場における発生が水稻の生育・収量に及ぼす影響. 富山県農技七研報 18 : 27-43.
85. Nemoto, H. and H. Habibuddin (1995) Adaptation of green leafhopper, *Nephotettix virescens*, populations reared on a mixed cropping of two rice cultivars resistant to rice tungro disease. Jpn. J. Trop. Agr. 39: 190-194.
86. Nemoto, H., R. Ikeda and C. Kaneda (1989) New genes for resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål, in rice. Jpn. J. Breed. 39: 23-28.
87. Nemoto, H. and M. Yokoo (1994) Experimental selection of a brown planthopper population on mixtures of resistant rice lines. Breed. Sci. 44: 133-136
88. 楡井幹男・江村一雄 (1974) ツマグロヨコバイの多発生と2・3の考察. 北陸病虫研報 22 : 32-34.
89. 楡井幹男・中里隆之 (1975) ツマグロヨコバイによる水稻の減収事例. 北陸病虫研報 23 : 41-43.
90. 西泰道・木村俊彦・前島勇 (1975) イネわい化病の病原について. 日植病報 41 : 223-227.
91. 西岡幹弘・工藤悟・都築仁 (1978) イネ萎縮病抵抗性の品種育成と機作 (第3報) 幼苗検定法における接種条件の検討. 愛知県農総試研報 A10 : 12-18.
92. 西岡幹弘・工藤悟・都築仁 (1981) イネ萎縮病抵抗性の品種育成と機作 (第6報) Rantaj-emas 2の萎縮病抵抗性の遺伝. 愛知県農総試研報 13 : 14-19.
93. 農業研究センター (1995) 水稻の育成品種・系統の来歴と品種名一覧 (1995年版). 農林水産技術情報協会, 東京. 247 pp.
94. 大兼善三郎・斉藤浩一・滝田泰章 (1980) ツマグロヨコバイの生態と防除に関する研究. 第2報. 周年経過. 栃木農試研報 26 : 37-54.
95. 小野敏忠・岡田正憲・渡辺進二・西山壽・本村弘美・井辺時雄・志村英二・和佐野喜久夫・赤間芳洋 (1986) ツマグロヨコバイ・萎縮病抵抗性の「水稻中間母本農5号」について. 九農研 48 : 27.
96. Oya, S. (1980) Feeding habits and honeydew components of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Hemiptera: Deltocephalidae). Appl. Entomol. Zool. 15: 392-399.
97. 大矢慎吾・佐藤昭夫 (1980) ツマグロヨコバイ抵抗性品種における抗生作用と非選好性. 北陸病虫研報 28 : 23-29.
98. Oya, S. and A. Sato (1981) Differences in feeding habits of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Hemiptera: Deltocephalidae), on resistant and susceptible rice varieties. Appl. Entomol. Zool. 16: 451-457.
99. Porter, D. R., J. D. Burd, K. A. Shufron and J. A. Webster (2000) Efficacy of pyramiding greenbug (Homoptera: Aphididae) resistance genes in wheat. J. Econ. Entomol. 93: 1315-1318.
100. Ratcliffe, R. H., G. G. Safranski, F. L. Patterson, H. W. Ohm and P. L. Taylor (1994) Biotype status of Hessian fly (Diptera: Cecidomyiidae) populations from the eastern United States and their response to 14 Hessian fly resistance genes. J. Econ. Entomol. 87: 1113-1121.
101. Roush, R. T. and J. A. McKenzie (1987) Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. Annu. Rev. Entomol. 32: 361-380.
102. 坂紀邦・遠山孝通・辻孝子・中前均・井澤敏彦 (1997) イネツマグロヨコバイ耐虫性遺伝子 *Grh-3(t)* の詳細な連鎖解析とツマグロヨコバイ耐虫性品種での *Grh-3(t)* の検索. 育雑 47 (別 1) : 55.
103. Sato, A. and K. Sogawa (1981) Biotypic variations in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Homoptera: Deltocephalidae), in relation to rice varieties. Appl. Entomol. Zool. 16: 55-57.
104. Satomi, H. (1993) Factors responsible for the difference in densities between southwestern and northern Japanese populations of the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps* (Uhler) (Hemiptera: Deltocephalidae), in their later generations. I. Effects of the heading time of rice varieties on the oviposition and propagation of second generation. Appl. Entomol. Zool. 28: 207-216.
105. Saxena, R. C., C. G. Demayo and A. A. Barrion (1991) Allozyme variation among biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* in the Philippines. Biochem. Genet. 29:115-123.

106. 関沢邦雄 (1979a) イネのツマグロヨコバイ抵抗性の品種間差異。(第1報) 成虫及び幼虫の死亡率. 近畿中国農研 58 : 6-9.
107. 関沢邦雄 (1979b) イネのツマグロヨコバイ抵抗性の品種間差異。(第2報) 成虫の品種抵抗性. 近畿中国農研 58 : 10-13.
108. 関沢邦雄 (1980a) イネのツマグロヨコバイ抵抗性の簡易検定法。(第1報) 幼苗個体検定法. 近畿中国農研 59 : 3-5.
109. 関沢邦雄 (1980b) イネのツマグロヨコバイ抵抗性の簡易検定法。(第2報) 幼苗集団検定法. 近畿中国農研 59 : 6-8.
110. 関沢邦雄・藤井啓史 (1979) イネのツマグロヨコバイ耐虫性の遺伝. 育雑 29 (別1) : 76-77.
111. 新海昭 (1962) 稲ウイルス病の虫媒伝染に関する研究. 農業技術研究所報告 C14 : 1-112.
112. 白井良和・田中寛・宮園稔・久野英二 (1998) BT 抵抗性コナガにおける内的自然増加率の低下. 応動昆 42 : 59-64.
113. 朱宮昭男・香村敏郎・釈一郎・高松美智則・工藤悟・中嶋泰則・加藤恭宏 (1984) イネ萎縮病抵抗性の品種育成と機作 (第8報) 萎縮病・ツマグロヨコバイ耐病虫性系統「愛知42号」の来歴と特性. 愛知県農総試研報 16 : 1-14.
114. 朱宮昭男・工藤悟・伊藤俊雄・藤井潔・加藤恭宏・杉浦直樹・坂紀邦・遠山孝通・釈一郎・香村敏郎・小島元 (1995) 水稲病害虫複合抵抗性系統「愛知97号」の育成. 育雑 45 (別2) : 279.
115. Sogawa, K. (1981) Biotypic variations in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) at the IRRI, the Philippines. *Appl. Entomol. Zool.* 16: 129-137.
116. Sogawa, K. (1982) The rice brown planthopper: Feeding physiology and host plant interactions. *Annu. Rev. Entomol.* 27: 49-73.
117. 寒川一成 (1983a) 食植性昆虫のバイオタイプ: 寄生性と加害性の種内変異. (1). 植物防疫 37 : 7-10.
118. 寒川一成 (1983b) 食植性昆虫のバイオタイプ: 寄生性と加害性の種内変異. (2). 植物防疫 37 : 63-68.
119. 寒川一成 (1993) トビイロウンカのバイオタイプ変異とモンスーン移動個体群の移出源の推定. 植物防疫 47 : 256-260.
120. 寒川一成 (1996) トビイロウンカとイネの相互作用. 農業技術 51: 97-101.
121. 寒川一成・佐藤昭夫 (1981) 稲品種に対する寄生性を異にするツマグロヨコバイ個体群. 応動昆 25 : 280-285.
122. 寒川一成・佐藤昭夫 (1983) 稲品種に対する反応を異にする上越および筑後産ツマグロヨコバイ個体群の形態および生理的形質の比較. 応動昆 27 : 22-27.
123. 寒川一成・佐藤昭夫・香村敏郎 (1982) 水稲品種愛知42号と愛知49号のツマグロヨコバイ抵抗性. 北陸病虫研報 30: 72-75.
124. Sosa, Jr. O. (1978) Biotype L, ninth biotype of the Hessian fly. *J. Econ. Entomol.* 71: 458-460.
125. 杉本渥 (1969) ツマグロヨコバイの大量飼育装置. 農薬検査所報告 9 : 19-24.
126. 鈴木芳人 (2008) 細菌エンドファイト利用による総合的害虫管理 (IPM) 技術の開発. 研究成果第458集「アグリバイオ実用化・産業化研究」. 農林水産省技術会議事務局, 東京, pp.129-136.
127. 鈴木芳人・山中武彦 (2003) 抵抗性品種を加害するバイオタイプ発達に及ぼす害虫の生活史特性. 共通基盤研究成果情報平成14年度. 中央農業総合研究センター, つくば, pp.230-231.
128. 高橋隆平 (1975) 自殖性植物における同質遺伝子系統の利用と育成方法に関する考察. 育雑 25 : 369-372.
129. 武田光能・永田 徹 (1987) ツマグロヨコバイ抵抗性中間母本の抗生作用の時期別変動. 北日本病虫研報 38 : 103-106.
130. Takita, T. and H. Habibuddin (1985) Relationship between laboratory-developed biotypes of green leafhopper and resistant varieties of rice in Malaysia. *JARQ* 19: 219-223.
131. Takita, T. and H. Nishiyama (1989) Selection of biotypes of green rice leafhopper and genetic analysis for the resistance in rice. *Bull. Kyushu Agric. Exp. Stn.* 25: 251-259.
132. 田村市太郎 (1957) 作物害虫による被害査定. イネクロカメムシとツマグロヨコバイによるイネの被害査定. 植物防疫 11 : 79-82.
133. 田村克徳・福田善通・平江雅宏・大矢慎吾・芦

- 川育夫・八木忠之 (1997) イネのツマグロヨコバイ耐虫性に関する遺伝機構の解明 IV. 中間母本農5号の耐虫性関連領域の同定. 育雑 47 (別2) : 167.
134. 田村克徳・福田善通・平江雅宏・大矢慎吾・芦川育夫・八木忠之 (1998) イネのツマグロヨコバイ耐虫性に関する遺伝機構の解明 V. 西海182号の耐虫性遺伝子のマッピング. 育雑 48 (別2) : 108.
135. 田村克徳・福田善通・平江雅宏・大矢慎吾・芦川育夫・八木忠之 (1999) イネのツマグロヨコバイ耐虫性に関する遺伝機構の解明 VI. 関東PL10の耐虫性遺伝子のマッピング. 育種学研究 1 (別2) : 118.
136. Tamura, K., Y. Fukuta, M. Hirae, S. Oya, I. Ashikawa and T. Yagi (1999) Mapping of the 1 locus for green rice leafhopper resistance in rice using RFLP markers. *Breed. Sci.* 49: 11-14.
137. Tamura, K., Y. Fukuta, M. Hirae, S. Oya, I. Ashikawa and T. Yagi (2004) RFLP mapping of a new resistance gene for green rice leafhopper in Kanto PL10. *Rice Genet. Newslett.* 21: 62-63.
138. Tanaka, K. (1999) Quantitative genetic analysis of biotypes of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*: heritability of virulence to resistant rice varieties. *Entomol. Exp. Appl.* 90: 279-287.
139. 手塚隆久・伊藤延男 (1991) イネツマグロヨコバイ排出甘露の糖量の品種間差異. 九農研 53 : 93.
140. 上田勇五 (1955) 本年大発生した病害虫. (2) 新潟県におけるウンカ類の大発生. 植物防疫 9 : 481-485.
141. 上田勇五 (1956) ツマグロヨコバイの被害と防除. 植物防疫 10 : 387-388.
142. 山下興亜・柳沼利信 (1980) 糖質分析法. 昆虫実験法 : 研究編. (一瀬太良・石原廉・松本義明・大羽滋・岡田益吉・斉藤哲夫・吉武成美 編). 学会出版センター, 東京, pp. 45-55.

A Study on the Management of Green Rice Leafhopper *Nephotettix cincticeps* (Uhler) (Homoptera: Cicadellidae) Using Resistant Rice Varieties

Masahiro Hirae

Summary

The green rice leafhopper (GRH) *Nephotettix cincticeps* (Uhler) is a serious pest in temperate Asia. Populations of this insect, which multiply rapidly around the heading stage of rice, can considerably increase and cause considerable losses of rice yield in northern Japan, although the peak density of population is relatively low in southwestern Japan. The GRH also damages rice indirectly by transmitting virus and phytoplasma causing plant diseases.

Utilization of crop resistance is effective in integrated pest management. The advantages of this method are that it has a relatively small effect on the environment and involves minimum labor and low expenditure. In the present study, I developed a simple and rapid method for evaluating the resistance of rice to GRH on the basis of nymphal growth. Further, (1) the development of virulence in GRH was examined by subjecting the Joetsu (northern Japan) population to artificial selection on several resistant rice varieties, and (2) the virulence of selected GRH lines was evaluated to clarify the differences in virulence among resistant varieties. Moreover, I investigated the density of GRH population in relation to GRH-resistant near-isogenic lines (NILs) of rice plants in paddy fields and the resistance of NILs to the GRH populations. The results are summarized as follows.

1. A method for examining the resistance of rice to GRH on the basis of nymphal growth

A simple and rapid method based on nymphal growth was developed in order to evaluate the resistance level of rice to GRH. Nymphs grew to the second instar on seedlings of susceptible varieties of rice within 3 days and 8 hours to 4 days. Therefore, the proportion of nymphs that developed into second instars within 4 days can be considered as a reliable index. The B_1F_1 population produced from a cross between Norin-PL6, a resistant rice line, and a susceptible variety of Toyonishiki was segregated into resistant and susceptible populations; the segregation was performed on the basis of the proportion of nymphs developing into second instars, as determined in a test using rice plant seedlings. The results of a leaf blade test conducted during the heading stage of rice plants correlated well with those of the seedling test. This indicates that determining the proportion of nymphs developing into second instars is effective for the accurate individual evaluation of rice plants with varying degrees of resistance. The evaluation method developed in this study could be used in various tests for rice plants, such as selection of crossed progeny and analysis of genes at the seedling stage.

2. GRH biotypes virulent to resistant rice varieties

Biotypes of pest insects virulent to resistant crop varieties pose a serious problem for resistant crops; therefore, it is important to (1) investigate the potential of pests to overcome resistance and (2) predict the emergence of such biotypes. A population of GRH collected from Joetsu was artificially selected on 5 resistant rice varieties in the laboratory. The GRH lines selected on Saikai 164, Saikai 182, and Kanto-PL 6 were able to survive and reproduce on their respective varieties. In these lines, the developmental period of nymphs was shortened by continuous

selection, although in the first generation the developmental period was longer than that of the GRH line reared on Nipponbare, which did not carry a resistance gene. This result shows that the GRH population from Joetsu has genetic variations to the resistance, which leads to development of the virulent. It also suggests that certain biotypes virulent to resistant varieties in the Joetsu district can overcome GRH resistance. It is important to note that I have not been able to establish GRH lines virulent to Norin-PL 5 or Norin-PL 6, which carry 2 complementary resistance genes *Grh2* and *Grh4*. This suggests that pyramiding resistance genes would be effective for providing durable resistance.

Six lines that are reared on IR 24, Chugoku 105, Saikai 164, Saikai 182, Kanto-PL 6, and Aichi 80 were assessed for virulence among different resistant varieties by conducting a seedling test. All the 6 GRH lines were highly virulent to the varieties on which they were selected. Virulence was similar for the IR 24 and Chugoku 105 lines, Saikai 164 and Saikai 182 lines, and Kanto-PL 6 and Aichi 80 lines. The Kanto-PL 6 and Aichi 80 lines were moderately virulent to Tadukan and Rantaj-emas 2. No GRH lines were virulent to Norin-PL 5, Norin-PL 6, and Pe-bi-hun. The results of the leaf blade test were similar to those of the seedling test. An allele test confirmed that the Kanto-PL 6 and Aichi 80 have the same GRH-resistance genes, and that the locus of the resistance gene in Norin-PL 2 differs from that of the resistance gene in Kanto-PL 6 and Aichi 80. These results suggest that the virulence of GRH biotypes is correlated to the resistance genes in the rice varieties; hence, the use of different biotypes allows the identification of groups of rice varieties that have similar resistance genes. I propose that the biotypes virulent to the *Grh1*-, *Grh2*-, and *Grh3(t)*-carrying varieties be designated "biotype 1," "biotype 2," and "biotype 3," respectively. The method for identifying resistance genes in resistant varieties was established on the basis of the relationship between resistance genes and GRH biotypes and could be used in the screening of new resistant varieties.

The development and reproduction in 3 GRH biotypes were examined on resistant rice varieties of Chugoku 105 (carrying the resistance gene *Grh1*), Saikai 182 (*Grh2*), and Aichi 80 (*Grh3(t)*). Biotypes 1, 2, and 3 exhibited a high survival rate, short developmental period, long adult longevity and high fecundity when grown on the respective varieties to which they are virulent. The total sugar content of honeydew excreted by these biotypes was high; this observation suggests that each biotype has the ability to suck phloem sap from the resistant variety to which it is virulent. Nymph survival and development, adult longevity, fecundity, and total sugar content of excreted honeydew in the 3 biotypes were similar to those observed in the unselected line reared on the Nipponbare variety carrying no resistance gene. These results indicate that there is no difference in fitness with respect to development and reproduction between the 3 biotypes and the unselected line of GRH grown on susceptible rice varieties. The result also suggested that the use of sequential release of single resistance genes in rice would not be a practical strategy for providing durable resistance.

3. Resistance of NILs to GRH in paddy fields

In order to evaluate resistance to GRH under field conditions, the density of GRH was investigated in relation to GRH-resistant NILs of rice plants in paddy fields in Joetsu, Niigata Prefecture. The GRH population on the rice cultivar "Kinuhikari," carrying no resistance gene, increased from late August and peaked during early to mid-September; however, the GRH population was suppressed in NILs carrying each of the GRH-resistance genes *Grh1*, *Grh2*, *Grh3(t)*, and *Grh2* and *Grh4*. The resistance of NILs to GRHs collected from Joetsu differed among NILs, as determined by the leaf blade test. Resistance decreased rapidly during the maturation stage of rice in lines carrying the *Grh2* or *Grh3(t)* gene, whereas it remained high in lines carrying the *Grh1* or *Grh2* and *Grh4* genes. Temporary resistance is effective for suppressing the GRH population in Joetsu paddy fields because in the maturation stage, the GRH density remained low on NILs with decreased resistance to GRH.

The resistance of NILs to the GRH population collected from Joetsu, Mito (Ibaraki Prefecture), and Chikugo (Fukuoka Prefecture) was evaluated in terms of the proportion of nymphs developing into second instars that was determined by conducting a seedling test. The proportion of nymphs of the Chikugo population developing into second instars was higher than that of the Joetsu and the Mito populations on NILs carrying *Grh1* or *Grh2*. In Chikugo, the number of GRH adults and nymphs on these NILs was slightly high in the field. This result indicates that the difference in the proportion of nymphs developing into second instars on NILs among GRH populations is related to the difference in the proportion of individuals that are virulent to the NILs among the populations. In Chikugo, a slightly high number of GRH adults and nymphs were found on NILs carrying the *Grh1*, *Grh2*, or *Grh3(t)* genes in the field.

This study confirmed the resistance of GRH-resistant NILs to s under field conditions. It also revealed that GRH populations differ in genetic structure with respect to virulence to resistant rice varieties. The widespread use of a single resistance gene may lead to the development of resistance-breaking biotypes. Further, there is no difference in fitness between different GRH biotypes on susceptible rice varieties. Pyramiding resistance genes, for example, combining *Grh2* and *Grh4*, is proposed to delay biotype development. In conclusion, to predict and prevent the development of resistance-breaking biotypes, it is important to use GRH-resistant rice varieties combined with monitoring the GRH population for variation in virulence to resistance genes before and after the use of resistant varieties. In addition, breeding GRH-resistant varieties with resistance genes from new sources and with more than one resistance gene is likely to be an effective strategy for achieving durable resistance against GRH.