

## 主論文の要約

斑点米カメムシ抵抗性品種育成のための育種母本の選定とその抵抗性機構の解析

杉浦 和彦

本研究は、近年被害が深刻化しているカメムシによる斑点米を抑制するための有効な手段である斑点米カメムシ抵抗性品種を育成するため、鉤合部加害型、無差別加害型、頂部加害型と異なる加害型のカメムシに対する育種母本となる品種・系統を選定した。また、害虫に対する抵抗性品種の育成には、抵抗性検定を確立することが必要であるため、育種・選抜するための効果的な抵抗性検定方法および簡易な検定法の確立に加え、異なる加害型に対応する抵抗性検定法の確立を試みた。さらに、斑点米カメムシ抵抗性の育種母本として選定された「CRR-99-95W」について、抗寄生性、抗生作用、耐性の3つの要因から、抵抗性の機構を明らかにしようとした。

第1章では、愛知農総試で保存しているイネ490品種・系統から、ほ場検定法、集団検定法、品種別検定法の3種類の方法により、斑点米カメムシ抵抗性品種・系統を選定した。ほ場検定では、野外ほ場で自然発生したカメムシにより抵抗性品種の抵抗性を判定した。集団検定法では、テトロンゴース製の布を蚊帳のように吊るした中でカメムシを増殖させた後、複数のイネ品種を蚊帳内に移し、カメムシに吸汁させて抵抗性を判定した。品種別検定法では、1株ごとにテトロンゴース製の布をかぶせ、その中にカメムシを放飼して、品種ごとの抵抗性を判定した。これらの検定には、鉤合部加害型カメムシであるクモヘリカメムシを用いた。初期選抜では、ほ場検定法および集団検定法を用い、検定精度よりも多くの品種・系統を選定することを優先した。抵抗性品種を絞り込んだのち、検定精度の高い品種別検定法を用いることで、効率的、効果的に選定を行った。その結果、「GP242」、「TI-11-8」、「密陽44号」、「CRR-99-95W」がクモヘリカメムシに対し抵抗性を示すことを明らかにした。さらにこの4品種・系統を用いて、無差別加害型であるミナミアオカメムシに対する抵抗性を検定した結果、「密陽44号」、「CRR-99-95W」が抵抗性を示した。以上の結果から、クモヘリカメムシおよびミナミアオカメムシに対する抵抗性品種の育成母本として「密陽44号」、「CRR-99-95W」を見出した。

第2章では、抵抗性品種を選抜するための効率的な斑点米カメムシ抵抗性検定法を開発した。カメムシによる1日当たりの加害回数数はイネの登熟段階により異なるため、出穂後の日数の経過に伴い斑点米発生率が変化することが予想されることから、抵抗性検定に適するカメムシ放飼開始時期と放飼期間を検討した。カメムシ放飼開始時期

については、クモヘリカメムシを用いて試験を行った結果、出穂後 15 日および 20 日の放飼で品種間差異が明確となった。また、カメムシ放飼期間については、出穂後 20 日にクモヘリカメムシ成虫 5 頭を一定期間放飼した結果、放飼期間が長くなるほど斑点米発生率は増加し、4 日以上の放飼期間でその品種間差異が明確となった。これらの結果をもとに、検定を簡易に行うための切除茎を用いた検定法を検討した。出穂後 20 日に検定個体の茎を止葉下第 2 葉節より 50 mm 下の部分（第Ⅲ節間）で水切りし、切除した茎を水に挿してガラス室内でクモヘリカメムシを 7 日間放飼して、斑点米カメムシ抵抗性検定を実施した。その結果、斑点米発生率は品種により明確に異なり、斑点米カメムシ抵抗性の品種間差異を検出することができた。また、切除茎において登熟した玄米千粒重は、切除処理していない穂のそれに比べ 87～97%であり、斑点米の判別が十分可能な玄米であった。以上の結果から、切除茎を用いた斑点米カメムシ抵抗性検定法は、検定にかかる労力を減らすことができ、育種選抜において有効な方法であることを明らかにした。

第 3 章では、頂部加害型であるアカスジカスミカメに対する「CRR-99-95W」の斑点米カメムシ抵抗性を明らかにしようとした。「CRR-99-95W」は比較品種である「あいちのかおり SBL」と同様に、登熟の進展に伴いアカスジカスミカメによる斑点米発生率が低下した。特に加害時期が出穂後 7、14 日では、「CRR-99-95W」は「あいちのかおり SBL」に比べて有意に斑点米発生率が少なく、出穂後 7 日では不稔粒発生率についても有意に少なかった。以上の結果から、「CRR-99-95W」は登熟初中期では斑点米発生率を抑制させ、さらに登熟初期では不稔粒の発生を抑制させることを明らかにした。アカスジカスミカメに対する斑点米カメムシ抵抗性の検定には、斑点米発生率に有意な差があり、かつ不稔粒の発生が少ない出穂後 14 日に放飼するのが適していることが見出された。また、アカスジカスミカメの被害に大きな影響を与える割れ粃の発生数を調査した結果、「CRR-99-95W」は出穂前の低温・寡照条件によって割れ粃が増加したが、その発生数は比較品種の「あいちのかおり SBL」と変わらなかったことから、「CRR-99-95W」のアカスジカスミカメに対する抵抗性は、割れ粃の有無が要因ではないことを明らかにした。

第 4 章では、「CRR-99-95W」の斑点米カメムシ抵抗性の要因として、抗寄生性、抗生作用、耐性を検討した。「CRR-99-95W」の抵抗性要因として抗寄生性、抗生作用が関与している可能性を検証するため、2 つの実験を行った。その結果、クモヘリカメムシの寄生数と斑点米発生率との間に相関は見られなかった。さらに、「CRR-99-95W」の成熟粃におけるミナミアオカメムシの吸汁頻度は、比較品種と有意な差が認められな

った。これらの結果から、「CRR-99-95W」はカメムシに対して抗寄生性、抗生作用を示さないことが示唆された。次に、耐性の要因を調べるために、籾殻の硬度と斑点米発生率を調査したところ、両者は負の相関を示したことから硬さの要因となる籾殻のケイ素分析および厚壁繊維の構造解析を行った。その結果、「CRR-99-95-W」は比較品種に比べ、ケイ素含量は変わらないが、厚壁繊維の細胞壁の割合が高い傾向があった。また、内穎鉤合部の鉤状の開口部の幅は、比較品種のそれよりも狭かった。鉤合部加害型であるクモヘリカメムシは、鉤合部の隙間に口針を曲げながら差し込み吸汁するため、この鉤合部の形状が吸汁のしにくさとなっていることが示唆された。こうした「CRR-99-95W」の籾殻の形態的特徴が、カメムシ被害に対する抵抗性に重要な役割を果たすことを明らかにした。

以上の結果より本研究では、「密陽 44 号」、「CRR-99-95W」が鉤合部加害型、無差別加害型に対し抵抗性を示すこと、さらに「CRR-99-95W」は頂部加害型にも抵抗性を示すことを明らかにした。斑点米カメムシ抵抗性検定として、ほ場検定法、集団検定法、品種別検定法のメリット、デメリットを明らかにするとともに、集団検定法、品種別検定法では、品種間差異が明確となるカメムシの放飼時期、放飼期間を加害型別に決定した。また、育種現場で有効である切除茎を用いた簡易検定法を確立したことで、今後、抵抗性品種育成の加速化が期待される。「CRR-99-95W」の斑点米カメムシ抵抗性機構については、籾殻における厚壁繊維の細胞壁の割合が高いことで硬度が高まることが抵抗性要因の一つであることを明らかとした。さらに、内穎鉤合部の鉤状の開口部の幅が狭い形状の特徴が、鉤合部加害型カメムシの吸汁のしにくさの要因となっており、こうした耐性としての機構が「CRR-99-95W」の斑点米カメムシ抵抗性機構であることを明らかにした。

カメムシ抵抗性品種については世界的にも研究に取り組みされていないが、Jahn ら (2004) が「IR64」、「PSBR c 20」は緩やかな抵抗性を有していると報告している。この 2 品種・系統はいずれも比較品種と比べ斑点米発生率を 28~35%抑制しているが、有意な差は認められてない。本研究で選定した「CRR-99-95W」、「密陽 44 号」は比較品種に比べ斑点米発生率を 86.7~88.9%抑制している。さらに「CRR99-95W」は、鉤合部加害型であるクモヘリカメムシ、無差別加害型であるミナミアオカメムシ、頭頂部加害型であるアカスジカスミカメのいずれの加害型に対しても抵抗性を示す。この 3 種のカメムシは、いずれも斑点米被害が多く報告されている重要種であることから、「CRR-99-95W」は斑点米カメムシ抵抗性の育種母本として極めて有用である。

一方、頂部加害型であるカスミカメムシ類については、品種間差異が報告されてい

るが（竹内ら 2004, 田渕・櫻井 2019), いずれも割れ粃の有無が抵抗性の要因となっている。「あきたこまち」や「イシカリ」は他品種に比べ割れ粃発生率が高く, カスマカメムシ類の被害が大きい（小嶋・小松 2003, 伊藤 2004b). このため, 「CRR-99-95W」の割れ粃数を調査したが, 割れ粃の発生数は比較品種の「あいちのかおり SBL」と変わらなかった. このことは, 「CRR-99-95W」のアカスジカスマカメに対する抵抗性要因が割れ粃ではないことを示している. 第4章で, 鉤合部加害型カメムシであるクモヘリカメムシに対する「CRR-99-95W」の抵抗性は, 内穎鉤合部の鉤状の形状が大きな影響を与えていることを明らかにしているが, アカスジカスマカメに対する抵抗性についても, 割れ粃の発生が原因ではないことから, 鉤合部加害型カメムシと同様の抵抗性機構が働いている可能性が考えられる. しかし, 粃先端部分の解剖学的解析は, 粃の先端部分の僅かな場所の違いにより鉤合部の形態が大きく異なることが予想されるため, 解析方法を含めて今後, 検討していく必要がある.

カメムシ斑点米抵抗性の機構については, 抵抗性品種である「CRR-99-95W」, 比較品種「あいちのかおり SBL」および「CRR-99-95W」の交配後代で抵抗性を持つ「D15」の3品種・系統を用い, 解剖学的形態調査を行った. 半薄切片による走査型電子顕微鏡の観察は透過型電子顕微鏡での観察に比べて簡便で安定した方法だが, 二重固定, 樹脂包埋, 切断, 染色など, 手間のかかる分析である. そこで, 本研究では最も重要な品種・系統に着目して解剖学的な差異を求めたが, 今後は他品種・系統での解析が必要であろう. 第1章で, 「GP242」, 「TI-11-8」は, 鉤合部加害型であるクモヘリカメムシに対し斑点米カメムシ抵抗性を示すが, 無差別加害型であるミナミアオカメムシに対してはその抵抗性を示さなかった. このため, この2品種・系統は, 抵抗性品種に特有な鉤合部の形状を有しているものの, 厚壁繊維の細胞壁割合は感受性品種と変わらない構造をしている可能性が考えられる. まずは, この2品種・系統の解剖学的調査をする必要がある.

本研究において「密陽44号」, 「CRR-99-95W」は有用な斑点米カメムシ抵抗性の母本となることが明らかとなった. これを踏まえ, カメムシ斑点米抵抗性品種の育成を進めており, 「密陽44号」を母本とした「愛知137号」を育成している. 本系統は「密陽44号」が持つ外観品質の不良形質を改善しているが, 食味が劣るためさらなる改良が必要である. また, 「CRR-99-95W」の交配後代系統については, 登熟不良, 低収などの不良形質の随伴により, 有望な系統が育成されていない. 抵抗性個体の選抜は, 第2章で開発した切除茎を用いた検定法などを用い集団検定法を中心に行っているが, 選抜効率を高め, 育成を加速化するためには斑点米カメムシ抵抗性遺伝子に関する DNA

マーカーの開発が喫緊の課題である。このため、斑点米カメムシ抵抗性の QTL 解析を進めているが、解析には生物検定の高い精度が求められる。イネの主要病害の抵抗性検定は、多くが幼苗検定などに代表される簡易な検定法が開発されているが (Pathak, M. D. ら 1969, 金田 1984, 桜井ら 1963, 岸野・安藤 1978, 坂ら 2000), 斑点米カメムシ抵抗性検定は簡易検定法を開発したものの、成熟期までの管理が必要なこと、籾摺りが必要なこと、など他の抵抗性検定に比べ多大な労力を要することが課題となっている。このため、本研究で明らかとなった厚壁繊維の細胞壁割合、鉤合部の構造に着目した QTL 解析に期待したい。

「密陽 44 号」の抵抗性は籾殻を介した吸汁のしにくさが抵抗性の要因であり (中村ら 2017), 従来品種に比べ厚壁細胞が厚いことが要因である可能性が報告されている (Nakamura ら 2020)。「密陽 44 号」と「CRR-99-95W」の抵抗性が同じ遺伝子またはメカニズムに起因しているかについては、今後の研究の進捗が待たれるが、異なる遺伝子であれば、抵抗性遺伝子のピラミディングにより、抵抗性がより高まる可能性がある。

一方、「CRR-99-95W」の割れ籾発生は従来品種と同等であったことから、割れ籾を少なくする遺伝子の導入により、さらに斑点米発生を抑制できる可能性がある。尾崎・小島 (2018) は割れ籾が少ない品種としてイネ品種「Davao1」を見出している。また、割れ籾に関する QTL 解析も行われており、玄米の大きさと相関がなく、割れ籾を減少させる効果のある QTL が見出されている (Fujino ら 2018)。このため、割れ籾を少なくする特性をピラミディングして育種することで、カメムシに対する抵抗性をさらに高めることも可能であると期待される。今後は、marker assisted selection による実用的な斑点米カメムシ抵抗性品種の早期育成により、生産者の水稻安定生産および薬剤散布軽減によるコスト・環境負荷軽減に寄与したい。