

害虫抵抗性品種の育成ならびに新規需要米の
利用促進に必要な形質とその特性の解明

中村 充

2020年3月

目 次

緒論	1
第1章 水稻品種「あさひの夢」にみられるセジロウンカ殺卵反応の弱さとその遺伝的背景	
緒言	5
材料および方法	7
結果	10
考察	17
第2章 斑点米カメムシ抵抗性ドナー品種「密陽44号」の抵抗性機構の解明	
緒言	22
2-1 抵抗性の特徴と野外圃場での斑点米率低減効果	
材料および方法	24
結果	29
考察	43
2-2 抵抗性と籾殻の関係	
材料および方法	50
結果	54
考察	65
第3章 米の澱粉組成タイプと製粉特性、吸水特性ならびに胚乳細胞組織の形態との関係	
緒言	69
材料および方法	71
結果	74
考察	83

総合考察	88
摘要	91
引用文献	93
謝辞	101

緒 論

近年、米の消費量に対して生産が過剰であることや、消費者の低価格米への志向が強いこと等から、米価は下落傾向で推移しており（農林水産省 2009）、稲作経営を取り巻く環境は厳しい。このため、稲作経営では生産コストの一層の削減が求められている。このような状況の中、稲の病害虫は主要ないもち病とウンカ、カメムシだけで全国で8万6千トンの被害（農林水産省 2018a）を与え、生産性を低下させている他、防除に要する農業薬剤費は物財費の約10%を占め（農林水産省 2018b）、生産コストの削減を妨げる一因となっている。そのため生産コストの削減には、経営規模の拡大や省力栽培技術の導入とともに、病害虫管理を低コストに行うことが重要となっている。この点において、病害虫抵抗性品種は病害虫の被害を品種特性で抑えることができるため、重要な役割を果たすと考えられる。

愛知県では病害虫抵抗性品種の導入が進んでおり、イネ縞葉枯病抵抗性遺伝子 *Stvb-i*（早野 2002）とそれと連鎖する穂いもち圃場抵抗性遺伝子 *Pb1*（藤井ら 1999）を導入した「コシヒカリ愛知 SBL」（杉浦ら 2004）、「あさひの夢」（井澤ら 2001a）、「あいちのかおり SBL」（井澤ら 2001c）、「こはるもち」（加藤ら 2012）、「きぬはなもち」（坂ら 2009）、「夢吟香」（加藤ら 2011）や、両遺伝子にツマグロヨコバイ *Nephotettix cincticeps*（Uhler）抵抗性遺伝子 *Grh3*（Saka et al. 2006）をさらに付与した病害虫複合抵抗性品種「大地の風」（井澤ら 2001b）、「ゆめまつり」（加藤ら 2008）の他、いもち病圃場抵抗性遺伝子 *Pi39* (t)（Terashima et al. 2008）を導入した「みねはるか」（坂ら 2007）が作期別、地域別に作付され稲作の安定生産や病害虫防除コストの低減化に寄与してきた。しかし、これらの抵抗性品種では対応できていない病害虫の被害があり、解決すべき課題となっている。そのうちの一つが「あさひの夢」におけるセジロウンカ *Sogatella furcifera* の被害である。「あさひの夢」は、2017年のうるち米における品種別作付割合（醸造用米、もち米を除く）が全国第9位（公益社団法人米穀安定供給確保支援機構 2019）となった主要な品種で、主に愛知県の他、栃木県や群馬県で作付されているが、年によってセジロウンカの被害を受けて減収することが報告（愛知県病害虫防除所 2002）されている。しかし、同熟期の「祭り晴」では同様の被害が確認されておらず、「あさひの夢」が特異的に被害を受ける原因は不明であった。

もう一つは、斑点米カメムシによる被害である。斑点米カメムシは出穂後の水田に飛来して子実を吸汁加害し減収させる他、斑点米を発生させる。出荷する玄米に対して斑点米の混入率が 0.1%を超えると、農産物検査において 2 等以下に格付けされて取引価格が低下するため、生産者は斑点米カメムシ被害を薬剤で防除する他、収穫後の玄米を色彩選別機により斑点米を除去する対応をとっている。しかし、斑点米カメムシは飛翔能力が高いため、薬剤防除は地域一体的に行わないと十分な効果が得られない場合があることや、色彩選別機を通す場合にもコストがかかる他、除去される斑点米は収量の損失となるため、斑点米カメムシによる被害自体が少なくなる抵抗性品種の開発が求められている。

このため本研究では、両害虫に対する抵抗性品種の開発に資する知見を得ることを目的とし、第 1 章において「あさひの夢」におけるセジロウンカが多発要因とその遺伝的な由来を解明し、第 2 章において筆者らが見出した斑点米カメムシ抵抗性ドナー品種（杉浦ら 2017）のうち、「密陽 44 号」の抵抗性の特徴と抵抗性機構の解明を試みた。

一方、米価の低下に対しては政府も施策を講じており、主要因である需要と供給のアンバランスを是正すべく、主食用米以外の加工用米や新規需要米の生産に対する交付金制度を設けその生産拡大を促している（農林水産省 2018c）。しかし、新規需要米のうち飼料用米の生産量は 2017 年産まで増加傾向にあるものの、米粉用の生産量は 2011 年の 36,842 t で頭打ちとなっている（農林水産省 2018d）。これは、新規需要用途として、主食用と異なる澱粉組成をもつ高アミロース品種や超多収品種といった他用途米の開発がなされてきているが、それらの澱粉組成の区分が十分に整理されていない他、澱粉組成と加工特性との関係が解明されていないため、実需者が用途拡大を図れるだけの情報提供ができていないこと、さらには実需者のニーズにきめ細かく対応した加工特性を持つ品種開発がなされていないことに一因があると考えられる。このため、第 3 章において中～高アミロースの 27 品種・系統を用いて、澱粉組成を 6 タイプに区分し、澱粉組成タイプと加工上の重要な特性である製粉性（米粉粒径、米粉澱粉損傷度）、米粉吸水性および胚乳細胞組織の形態との関係を検討した。

第1章

水稻品種「あさひの夢」にみられるセジロウンカ
殺卵反応の弱さとその遺伝的背景

緒言

セジロウンカ *Sogatella furcifera* は梅雨時期に海外から飛来する水稻害虫であり、愛知県では水稻品種「あさひの夢」において特異的に多発する事例が確認されてきた（愛知県病虫害防除所 2002）。「あさひの夢」は、「愛知 70 号（あいちのかおり）」を母、「愛知 56 号（月の光）」と「愛知 65 号」の一代雑種を父として育成された品種である。「あさひの夢」は「愛知 56 号（月の光）」由来の稲縞葉枯病と穂いもち抵抗性を有し、玄米外観品質と食味に優れることから、愛知県においては平成 9 年に奨励品種に採用され、平成 20 年には 3080 ha で栽培されている（農林水産省大臣官房統計部 2009）。しかし、愛知県尾張北部地域を中心にセジロウンカの被害が多発し、黄化や矮化となる他、分けつ数の減少や稈の伸長抑制など、生育障害により減収する事例が多数確認されてきた（愛知県病虫害防除所 2002）。

セジロウンカ個体群密度を低下させる作用としては、吸汁を阻害することで抗寄生性や抗生性を発現する吸汁阻害型抵抗性と、産下卵を産卵部位の褐変により高率に死亡させる殺卵型抵抗性（寒川 2000）が報告されている。前者はパキスタン等の南アジア北部の在来インド型水稻に偏在する形質であるが、日本型水稻には報告されていない（寒川 2000）。一方、後者は日本産の日本型品種に普遍的に認められる誘導抵抗性であるとされている（寒川 2000）。

この殺卵反応については、殺卵活性をもつ安息香酸ベンジルが産卵部位周辺の細胞間隙を満たす液浸化により誘導され、卵が産卵後 2 日以内に高率で死亡すること（Suzuki et al. 1996, Seino et al. 1996, 鈴木・清野 1997, 寒川 2007）や、イネの生育ステージに依存し、最高分けつ期に反応が最も高くなること（鈴木ら 1993）が明らかにされている。また、日本型稲品種「あそみのり」とインド型稲品種「IR24」の組換え自殖系統群を用いた QTL 解析から、殺卵反応に主要な QTL が第 6 染色体短腕部に検出されたこと（Yamasaki et al. 1999, 山崎・安井 2002）や、準同質遺伝子系統群による詳細な分析の結果、この主要 QTL が殺卵遺伝子 *Ovc* として同定され、この遺伝子が殺卵反応に必須であること（Yamasaki et al. 2003, 山崎・安井 2002）

が報告されている。

本研究では、「あさひの夢」とその系譜上にある品種・系統を用いてこの殺卵反応調査と殺卵反応の発現に必須である殺卵遺伝子 *Ovc* に近接する RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms : 制限酵素断片長多型) マーカー分析を行うことで、「あさひの夢」におけるセジロウンカ多発要因の解明とその由来関係を明らかにした。

材料および方法

愛知県における水稻奨励品種の殺卵反応

「あさひの夢」, 「コシヒカリ」および「祭り晴」の幼苗を育苗用ポリポット（高さ 5 cm×口径 6 cm）に 1 本植えし, これを水稻育苗箱に各品種 1 列 5 個体ずつ 2 反復で配置した. 供試苗はガラス温室内に設置した寒冷紗のケージ内で生育させた. 分げつ初期に（独）九州沖縄農業研究センターから分譲されたセジロウンカ（平成 11 年に熊本県菊池郡西合志町（現合志市）で採集）成虫が 100 個体以上存在するケージに育苗箱ごと移し, 2 日間産卵させた. 放飼後はセジロウンカ成虫を除いた供試株をケージ内で保管し, 4 日後に実体顕微鏡下で産卵部位を切開して, 産卵数と眼点形成の有無（図 1-1）を指標とした卵の死亡率を調べた. 死亡率の算出は, 眼点が形成された卵を生存卵（図 1-1 左）, 眼点が形成されなかった卵を死亡卵（図 1-1 右）と判定し, 観察した産卵数に対する死亡卵数の割合で求めた. 統計的検定はボンフェローニの多重比較法を用い, 比率は逆正弦変換を施した値を用いて検定した.

「あさひの夢」の系譜上にある品種・系統の殺卵反応

「あさひの夢」の系譜上にある 23 品種・系統（図 1-3）と, 比較対照として殺卵遺伝子 *Ovc* を有する「あそみのり」と有しないインド型稲品種「IR24」を供試した. 供試個体は試験番号順にミノル式ポット育苗箱（14×32 穴）に 1 穴おきに 8 反復播種し, 60 日間寒冷紗のケージ内で育苗した. セジロウンカの接種と殺卵反応の調査は試験 1 と同様に行った. 試験は 2 回行ったが, 2 回の試験間の卵の死亡率に統計的有意差が認められなかったため, 両試験の結果を合計し, 試験 1 と同様に比率に逆正弦変換を施した値を用いてボンフェローニの多重比較法で品種・系統間の統計的検定を行った.

殺卵遺伝子 *Ovc* の近傍 RFLP マーカーによる「あさひの夢」の系譜上にある品種・系統の分析

殺卵遺伝子 *Ovc* に近接する RFLP マーカー R1954 (山崎・安井 2002) を使用して試験 2 と同様の 25 品種・系統のマーカー分析を行った。DNA はイネのバルク成葉から CTAB 法 (Murray and Thompson 1980) で抽出した。4 μg の DNA を制限酵素 *EcoRI* で消化し、0.8%アガロースゲルで電気泳動した後、プラスチャージナイロンメンブレン (GE ヘルスケアバイオサイエンス (株)) に転写した。プローブとして R1954 を用い、ECL Direct Nucleic Acid Labelling and Detection System (GE ヘルスケアバイオサイエンス (株)) によって多型の検出を行った。プローブのハイブリダイゼーション・洗浄・蛍光シグナル検出操作はそれぞれメーカー推奨の方法に準じて実施した。

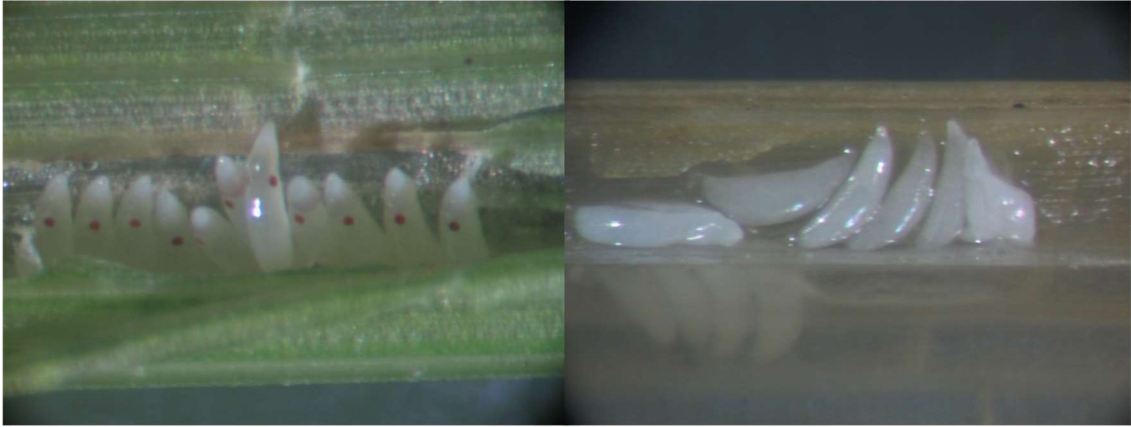


図 1-1. 正常に発育したセジロウンカ産下卵（左）と殺卵反応による死亡卵（右）

結果

愛知県における水稻奨励品種の殺卵反応

株当たり平均産卵数には品種間で有意な差が認められなかった（表 1-1）. 一方, 卵の死亡率は, 「コシヒカリ」と「祭り晴」が 70%以上であったのに対し, 「あさひの夢」は 11.6%であり, 「あさひの夢」の卵死亡率は 1%水準で有意に低かった（表 1-1）.

「あさひの夢」の系譜上にある品種・系統の殺卵反応

各供試品種・系統の卵死亡率を図 1-2 に示した. 比較品種の株当たり平均卵死亡率は, 殺卵遺伝子 *Ovc* を有する「あそみのり」が 74.7%, 有しない「IR24」が 11.1%であり, 両品種間に 0.1%水準で有意差が認められた（図 1-2）. 一方, 「あさひの夢」の系譜上にある品種・系統の平均卵死亡率は, 「アキニシキ」の 72.7%からインド型品種「Modan」の 4.8%まで連続的な分布を示した. しかし, 比較品種との検定結果から, 「あそみのり」とは有意差はないが「IR24」とは有意差が認められる殺卵反応の強いグループと, それとは逆の殺卵反応が弱いグループにほぼ二分された（図 1-2）. 殺卵反応の弱いグループは, 卵死亡率の低い順に「Modan」, 「関東 79 号」, 「京都旭」, 「愛知 37 号（青い空）」, 「ハツシモ」, 「愛知 70 号（あいちのかおり）」, 「あさひの夢」, 「St No.1」, 「農林 8 号」, 「愛知 6 号」, 「愛知 65 号」であった（図 1-2）. これら殺卵反応の弱い品種・系統は「あさひの夢」の系譜から, 「京都旭」から「農林 8 号」, 「ハツシモ」, 「愛知 70 号（あいちのかおり）」, 「あさひの夢」へとつながるグループと「Modan」および「農林 8 号」から, 「St No.1」, 「愛知 6 号」, 「愛知 37 号（青い空）」へとつながるグループに二分された（図 1-3）. 「関東 79 号」と「愛知 65 号」は他の殺卵反応の弱い品種からは系譜的に独立していた（図 1-3）.

殺卵遺伝子 *Ovc* の近傍 RFLP マーカーによる「あさひの夢」の系譜上にある品種・系統の分析

RFLP マーカーによる分析結果を表 1-2 および図 1-3, 4 に示す. 殺卵遺伝子 *Ovc*

を有しない「IR24」型の多型（約 6 kb のバンドが無いパターン）を示したのは「あさひの夢」の他、「京都旭」、「ハツシモ」、「愛知 70 号（あいちのかおり）」、「Modan」, 「St No.1」, 「愛知 6 号」, 「愛知 37 号（青い空）」, 「農林 8 号」でその他の品種・系統は殺卵遺伝子 *Ovc* を有する「あそみのり」型の多型を示した.

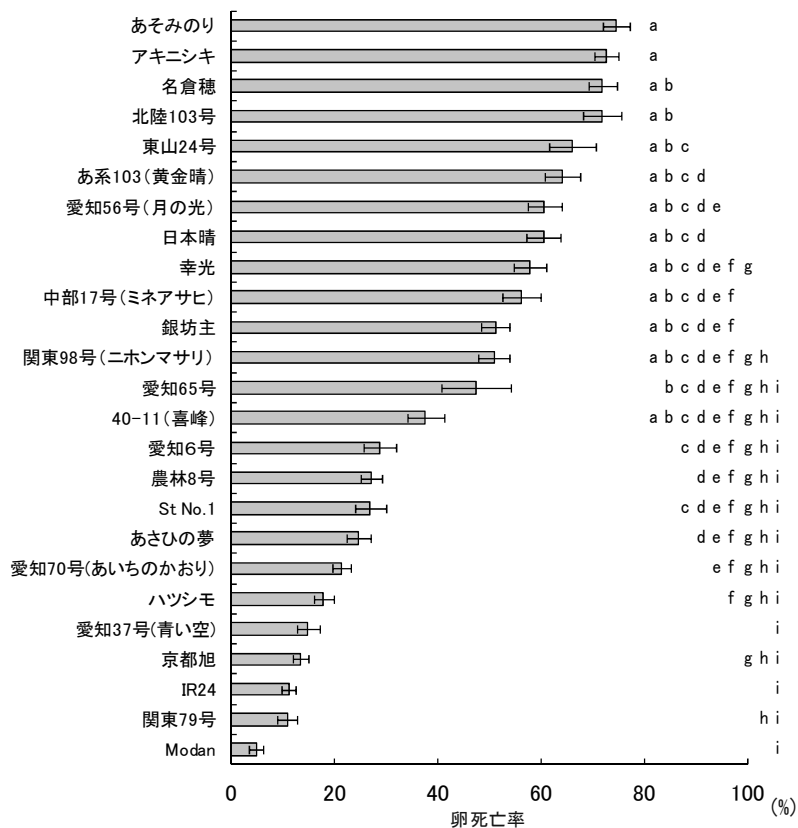


図 1-2. 各品種・系統のセジロウンカに対する殺卵反応

図中のバーは標準誤差 (S.E.) を表示.

各品種・系統間において異なる英小文字は 5%水準で有意差があることを示す.

(Bonferroni の多重検定による).

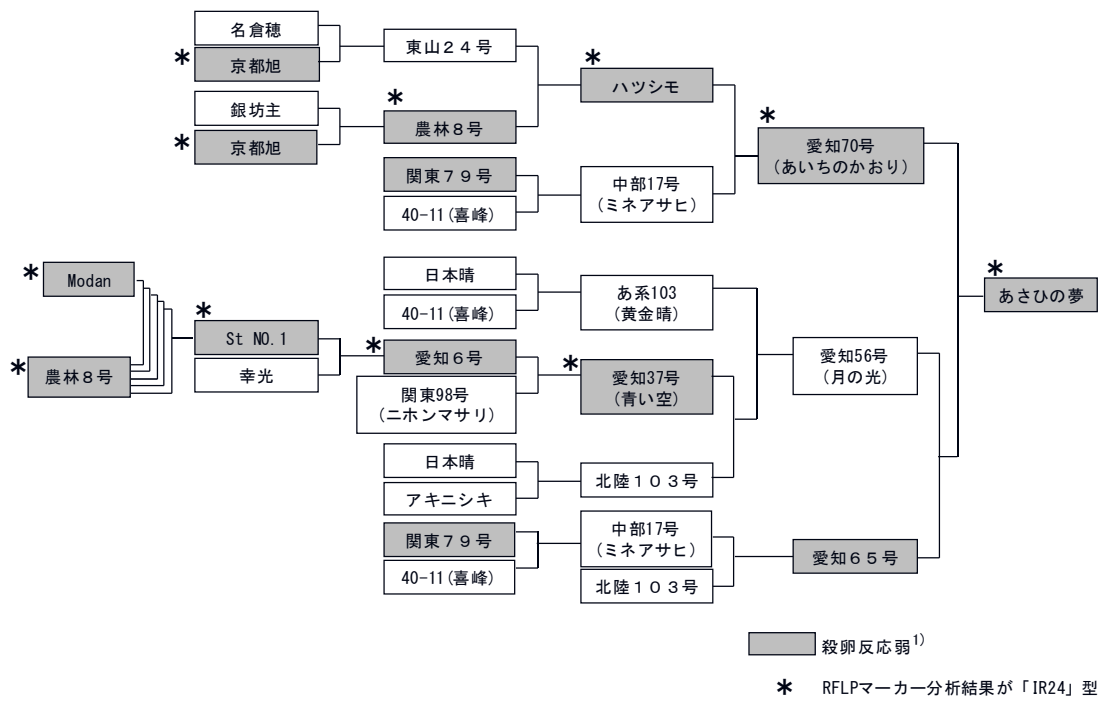


図 1-3. 「あさひの夢」系譜図における殺卵反応が弱い品種・系統の相互関係

1) 「あそみのり（殺卵反応強）」と有意差があり、「IR24（殺卵反応弱）」と有意差のない品種・系統.

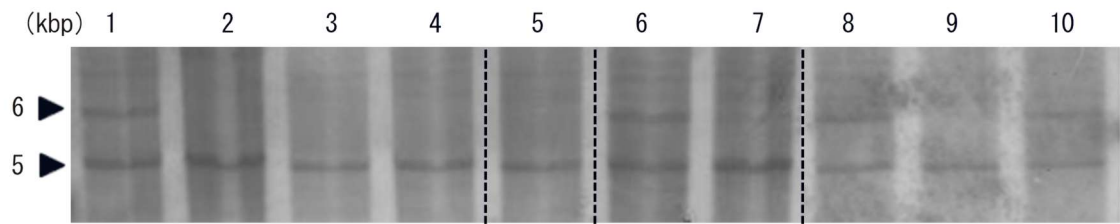


図 1-4. DNA 制限酵素に *EcoRI*, プローブに R1954 を用いた RFLP 分析結果

「京都旭」から「あさひの夢」まで連なる品種・系統のみを抜粋.

1. 「あそみのり」
2. 「IR24」
3. 「あさひの夢」
4. 「愛知 70 号 (あいちのかおり)」
5. 「ハツシモ」
6. 「東山 24 号」
7. 「農林 8 号」
8. 「名倉穂」
9. 「京都旭」
10. 「銀坊主」

「あそみのり」型の多型は約 6 kb にバンドのあるパターンを, 「IR24」型の多型は同位置にバンドの無いパターンを示す.

表1-1. 「あさひの夢」, 「祭り晴」及び「コシヒカリ」のセジロウンカに対する殺卵反応

品種名	産卵数 / 株 ± 標準偏差	卵死亡率(%) / 株 ± 標準偏差
あさひの夢	8.8 ± 7.0 n. s. ¹⁾	11.6 ± 13.3 a ²⁾
祭り晴	20.5 ± 18.1 n. s.	75.3 ± 32.6 b
コシヒカリ	13.5 ± 11.7 n. s.	71.7 ± 29.4 b

¹⁾各品種間において有意差がないことを示す(Bonferroniの多重検定による).

²⁾異なる英小文字は1%水準で有意差があることを示す(Bonferroniの多重検定による).

表1-2. RFLP分析結果と殺卵反応の対応及び殺卵反応調査時の発育時期

品種・系統名	RFLP分析結果 ¹⁾	殺卵反応 ²⁾	発育時期
あそみのり	+	+	幼穂形成期
IR24	-	-	幼穂形成期
あさひの夢	-	-	穂孕み期
愛知70号(あいちのかおり)	-	-	幼穂形成期
愛知56号(月の光)	+	+	穂孕み期
愛知65号	+	-	乳熟期
ハツシモ	-	-	幼穂形成期
中部17号(ミネアサヒ)	+	+	出穂期
あ系103(黄金晴)	+	+	穂孕み期
愛知37号(青い空)	-	-	穂孕み期
北陸103号	+	+	穂孕み期
東山24号	+	+	幼穂形成期
農林8号	-	-	幼穂形成期
関東79号	+	-	乳熟期
40-11(喜峰)	+	±	出穂期
日本晴	+	+	穂孕み期
愛知6号	-	-	穂孕み期
関東98号(ニホンマサリ)	+	+	幼穂形成期
アキニシキ	+	+	穂孕み期
名倉穂	+	+	幼穂形成期
京都旭	-	-	幼穂形成期
銀坊主	+	+	穂孕み期
StNo. 1	-	-	幼穂形成期
幸光	+	+	穂孕み期
Modan	-	-	穂孕み期

1) DNA制限酵素にEcoRI, プロープにR1954を使用. + は「あそみのり」型, - は「IR24」型のバンドを示す.

2) - は「あそみのり(殺卵反応強)」と有意差があり, 「IR24(殺卵反応弱)」と有意差のない品種・系統. + はその逆の品種・系統. ± はいずれとも有意差のない品種・系統.

考察

愛知県では「あさひの夢」栽培地域で特異的にセジロウンカが多発事例がたびたび報告されてきたが、その要因は明らかにされていなかった。そこで本研究ではまず「あさひの夢」の殺卵反応を他の奨励品種である「祭り晴」および「コシヒカリ」とともに調査した。その結果、「あさひの夢」は「祭り晴」および「コシヒカリ」に比べ有意に殺卵反応が弱いことが明らかとなり、これがセジロウンカ多発の一因となっていると考えられた。

さらに「あさひの夢」の殺卵反応の弱さの由来を検討するために、「あさひの夢」の系譜上にある品種・系統を用いて殺卵反応を調査したところ、殺卵反応の弱い品種・系統が複数存在し、それらは「京都旭」から「農林 8 号」、「ハツシモ」、「愛知 70 号（あいちのかおり）」、「あさひの夢」へとつながるグループと「Modan」および「農林 8 号」から「St No.1」、「愛知 6 号」、「愛知 37 号（青い空）」へとつながるグループに大別された。中でも、前者のグループは系譜の発端である「京都旭」から「あさひの夢」まで切れ目無く殺卵反応の弱い品種・系統がつながっていた。このことから、「あさひの夢」の殺卵反応の弱さは「京都旭」に由来する可能性が高いと考えられる。

殺卵反応の弱いもう一方のグループのうち「Modan」はインド型品種で、イネ縞葉枯病抵抗性遺伝子 *Stvb-i* の供与親品種として日本型品種との交雑に用いられた。このインド型品種との交雑によってセジロウンカに対する殺卵反応が喪失し、著しく感受性化する事例は多収性飼料米品種（寒川 1991）や「むさしこがね」（原・斉藤 1984, 高山ら 1984）でも報告されている。特に「むさしこがね」は本グループの「St No.1」、「愛知 6 号」、「愛知 37 号（青い空）」と同様にイネ縞葉枯病抵抗性遺伝子 *Stvb-i* を「Modan」から導入した品種である。これらの事例と同様に本グループ 3 系統（「St No.1」、「愛知 6 号」、「愛知 37 号（青い空）」）の殺卵反応が弱いのも「Modan」由来である可能性も考えられる。ただし、この場合イネ縞葉枯病抵抗性遺伝子 *Stvb-i* は第 11 染色体長腕部にあり、第 6 染色体にある殺卵遺伝子 *Ovc* とは座乗位置を異にしており、殺卵反応の弱さとの間に直接的な連鎖関係はないと考えられる。このことは

「Modan」に由来した *Stvb-i* を有する他の品種・系統「愛知 56 号（月の光）」や「祭り晴」が強い殺卵反応を示していた（表 1-1, 図 1-2, 3）ことから支持される。一方、本グループのもう一つの起点である「農林 8 号」も殺卵反応が弱かったことから、本グループ 3 系統の殺卵反応の弱さの由来は「農林 8 号」、さらにはその交配親である「京都旭」に由来する可能性も考えられた。

また、これらのグループとは独立して殺卵反応が弱かった系統に「関東 79 号」と「愛知 65 号」があった。この 2 品種は今回の供試品種・系統の中で特に出穂期が早く、殺卵反応の検定時に乳熟期に達していた（表 1-2）。セジロウンカに対する水稻の殺卵反応は最高分げつ期から出穂期にかけてピークとなりそれ以降低下していく（鈴木ら 1993, 清永・鈴木 1998）ことから、この 2 品種では殺卵反応が本来より弱く発現した可能性がある。また「関東 79 号」は「コシヒカリ」にガンマ線照射で突然変異を誘導した品種であり、ガンマ線照射が殺卵遺伝子になんらかの影響を及ぼした可能性も否定できない。

以上のように「あさひの夢」の系譜上には殺卵反応の弱い品種系統が複数あることが確認された。この殺卵反応の発現には、殺卵遺伝子 *Ovc* が必須であり、*Ovc* の存在下で少なくとも 4 個の QTL が殺卵反応を高める効果を有する（山崎・安井 2002）ことが明らかになっている。このため、殺卵反応に必須である *Ovc* に近接する RFLP マーカーによる分析を行った。その結果、「あさひの夢」の系譜上で殺卵反応の弱かった品種・系統のほとんど、すなわち「あさひの夢」、「京都旭」、「農林 8 号」、「ハツシモ」、「愛知 70 号（あいちのかおり）」、「Modan」、「St No.1」、「愛知 6 号」、「愛知 37 号（青い空）」は殺卵遺伝子 *Ovc* を有しない「IR24」型の多型を示し（表 1-2）、これらの品種・系統では殺卵遺伝子 *Ovc* を有していないと考えられた。一方、殺卵反応は同様に弱かったものの、殺卵遺伝子 *Ovc* を有する「あそみのり」と同じ多型を示した系統は「関東 79 号」と「愛知 65 号」であったが、これらの 2 系統は、上述したように殺卵反応が本来の特性より弱く評価されている可能性が高い。一方、殺卵反応が強かった品種・系統は全て殺卵遺伝子 *Ovc* を有する「あそみのり」と同じ多型を示したことから（表 1-2）、これらの殺卵反応性は *Ovc* によると考えられた。これらのことから、「あさひの夢」の系譜の殺卵反応の強弱は殺卵遺伝子 *Ovc* に近傍なマーカー、R1954

をプローブとした RFLP 分析による遺伝子型でほぼ区別され、殺卵遺伝子 *Ovc* が殺卵反応の強弱に重要な影響を与えていると考えられた。

以上から、「あさひの夢」は一般的な日本型品種に比べて殺卵反応が弱く、それは殺卵遺伝子 *Ovc* を持たないためであると考えられる。またその遺伝的由来は殺卵反応の弱さとともに RFLP 分析による遺伝子型が「あさひの夢」と同じ品種・系統を辿ると「京都旭」である可能性が高いと考えられる。鈴木（1996）も「ホウヨク」と「ニシホマレ」が「レイハウ」と「ヒノヒカリ」に比べ卵死亡率が有意に低いことを明らかにしており、インド型品種の他に日本型品種でも殺卵反応の弱い品種はわずかに報告されているが、今回日本型稲品種のルーツの一つである「京都旭」とその後代の品種・系統の殺卵反応が弱いことが明らかになったことにより、殺卵反応の弱い日本型品種がさらに多く存在する可能性が高いと考えられる。これまでこのような殺卵反応の弱い日本型品種に関する報告が少なかった要因としては、日本型品種が殺卵反応を普遍的に示すと考えられてきたことから、日本型品種間の殺卵反応の差異が詳細に調査されてこなかったことと、殺卵反応の強弱がセジロウンカによる被害と後述するように結びつかないことがあるため、虫害抵抗性としての有効性が看過されてきた（寒川 2007）ことが挙げられる。殺卵反応が強くてもセジロウンカの被害を受ける場合としては、セジロウンカの大量飛来が考えられる。これは殺卵反応がセジロウンカの卵期にのみ作用し、成虫の寄主選択や吸汁、蔵卵、産卵、および幼虫の発育に対する抗生作用を持たない（寒川 2007）ため、セジロウンカが大量に飛来した場合には、殺卵反応が強くても、飛来した世代や殺卵されずに生存した第二世代によって分げつ抑制や生育遅延に至ることがあるためである。逆に、殺卵反応が弱くてもセジロウンカの被害が軽減される場合として、セジロウンカの飛来そのものが少ないことが挙げられる。これは、セジロウンカは止葉から数えて第 6, 7 葉を産卵の対象として特異的に選好する（飯富 1995）など、イネの生育状況により産卵数が異なることが明らかとなっているため、セジロウンカの飛来時期とイネの生育状況のタイミング等から、殺卵反応の弱い品種であってもセジロウンカに産卵の対象として選好されないことがあるためである。実際に、本研究で「あさひの夢」と同様に殺卵反応の弱いことが明らかとなった「あいちのかおり」は平成 15 年くらいまで、「ハツシモ」は現在も栽培

されているが、セジロウンカの多発事例は「あさひの夢」に比べ少ない。この2品種は愛知県における中晩生品種で、多くの場合早生品種である「あさひの夢」より遅く移植管理されることからセジロウンカの産卵対象として選好されることが少なかったと考えられる。しかし今回、「あさひの夢」におけるセジロウンカの多発要因に殺卵反応の弱さがあることが明らかとなったことから、殺卵反応はセジロウンカの被害軽減に重要であると考えられる。今後は、品種育成において従来から指摘されているインド型品種から日本型稲品種へ有用形質を導入する場合のみならず、殺卵反応が弱い日本型品種との交雑によって品種を育成する場合においても殺卵反応の低下に注意する必要があると考えられた。

第2章

斑点米カメムシ抵抗性ドナー品種「密陽44号」の 抵抗性機構の解明

緒言

斑点米カメムシによる被害は 1990 年代後半に全国的に多発し（白石 2001）、斑点米による米の等級の格下げを引き起こした。伊藤（2004）はこのようなカメムシの多発発生を水田の利用状況の変化から考察し、休耕地の増加をその要因と指摘している。愛知県においても 1999 年に多発生して以降、圃場内および畦畔を含めた周辺の雑草管理、出穂期以降の薬剤防除、色彩選別機による斑点米の物理的除去等の斑点米カメムシへの対策が講じられている。しかし、いずれも労力、コストがかさむことから、対策に関わる労力と経費を軽減できる手段として斑点米カメムシ抵抗性品種の育成が望まれてきた。

愛知県農業総合試験場では抵抗性品種の育成を目的に、抵抗性ドナーの選定を試み、クモヘリカメムシとミナミアオカメムシ両種に対して斑点米率の発生を低減させる「密陽 44 号」と「CRR-99-95W」が有望であることを明らかにした（杉浦ら 2017）。しかし、両系統の抵抗性の詳細な特徴や機構、ならびに圃場で栽培した場合の斑点米率低減効果についての詳細な検討はなされておらず、これらの解明はドナー系統の育種利用と併行して解明すべき課題となっていた。そこで、本研究では、抵抗性ドナー系統のうち「密陽 44 号」について、抵抗性機構を検討するうえで必要となる基礎的な知見を得ることを目的としてまず形態的特性（草型、穂相、籾の形態）を明らかにするとともに、本系統が示す抵抗性の特徴と圃場栽培における斑点米率低減効果について詳細な検討を行い、次いで抵抗性機構の解明を試みた。

抵抗性の特徴の解析に当たっては、本抵抗性がイネと加害カメムシの相互作用によって特徴づけられると考えられるため、供試するカメムシ種の選定はその加害特徴を踏まえて行うことが重要であると考えた。斑点米カメムシは、重要種として 10 種あまりが知られている（岩田・葭原 1976, 林 1997）が、種によって加害部位に特徴のあることが知られている。川村（1993）は、斑点米の加害痕の位置から加害種を鈎合部（縫合部）加害型、基部加害型、無差別加害型、頂部加害型の 4 つに類別している。竹内ら（2004a）は、クモヘリカメムシ、イネカメムシおよびホソハリカメムシにつ

いてそれぞれが鉤合部加害型，基部加害型，無差別加害型に該当し，粃加害部位の特徴の相違が種特異性に起因することを明らかにした．さらに，カメムシ種の加害部位選択性と寄主植物種の範囲の幅との関連性に着目し，寄主植物の幅が広いカメムシ種（ホソハリカメムシ）は加害部位を選択せず，イネ科への依存度が高い種（クモヘリカメムシ，イネカメムシ，アカスジカスミカメ）は粃の中でも比較的柔らかい鉤合部や基部を選択して加害することを指摘している．このため，本研究では「密陽 44 号」の抵抗性の特徴を，広範な寄主植物を加害でき，加害部位を選択しないカメムシ種と，寄主植物がイネ科に特化し，粃の柔らかい部位を選択して吸汁するカメムシ種の 2 種に対して検討することとした．ここでは両種の中から，それぞれ愛知県の優占種（愛知県農業総合試験場環境基盤研究部病害虫防除室 2017）であるホソハリカメムシ（無差別加害型）と，クモヘリカメムシ（鉤合部加害型）をカメムシ抵抗性検定に供した．また，斑点米カメムシの加害量は粃の登熟段階によっても異なる（中筋 1973）ことが知られているため，登熟段階の異なる「密陽 44 号」の稲株を用いてカメムシ抵抗性検定を行うとともに，粃の硬度を測定することで抵抗性の特徴を粃の登熟段階からも検討した．さらに，「密陽 44 号」の抵抗性が野外圃場の斑点米カメムシ自然発生条件下でどの程度効果を持つかを検討するため，3 年に渡って比較品種とともに栽培し，斑点米率低減効果を調査した．次に，抵抗性機構に関して，玄米を保護する役割のある粃殻に着目し，斑点米カメムシが粃を吸汁加害する際の痕跡である粃表面の口針鞘，粃殻の穿孔および玄米表面の吸汁痕と，粃殻断面の形態を調査し，抵抗性との関係を検討した．さらに剪穎した粃の斑点米カメムシ抵抗性を調査することで，粃殻の抵抗性に果たす役割について詳細な解析を行った．

2-1 抵抗性の特徴と野外圃場での斑点米率低減効果

材料および方法

「密陽 44 号」の形態的特性

稈長，穂長，穂数および玄米千粒重

2015, 2016 年に愛知県農業総合試験場（長久手市）の圃場で「密陽 44 号」と、比較品種として「あいちのかおり SBL」を各品種・系統 4.5 m²（4 条，長さ 3.6 m）の規模で試験栽培した。移植はいずれの年も 5 月中旬に 1 株 3 本植えで行い，施肥は元肥として N, P₂O₅, K₂O をそれぞれ 5.6, 6.1, 6.5 gm⁻² の割合で，穂肥を出穂 20 日前と 10 日前に N, K₂O をそれぞれ 2.6, 1.6 gm⁻² の割合で施用した。成熟期に稈長，穂長，穂数を調査した後収穫し，乾燥後，脱穀，籾摺りを行い，1.8 mm の篩にかけて篩上の玄米について玄米千粒重を調査した。試験は 1 反復とした。

籾の形態的特性

後述の籾硬度（出穂 25 日後）を測定した穂について，穎の色，外穎先端の色，外穎の毛茸の粗密，芒の分布，最長芒の長さ，および芒の色を農林水産植物種類別審査基準（稲種）（農林水産省 2015）に従い調査した。芒の分布，最長芒の長さは穂全体を対象に調査し，それ以外は黄熟した籾について調査した。

穂相

後述の集団検定（2012, 2013 年，出穂 20 日後）に供した各株 2 穂について着粒部位毎の籾数を集団検定と兼ねて調査した。

カメムシ抵抗性検定

2012 年はクモヘリカメムシ，2013 年はクモヘリカメムシ，ホソハリカメムシ両種を用い，杉浦ら（2017）の集団検定法によって検定を行った。籾の登熟段階と斑点米率低減効果の関係を検討するため，出穂 10 日，20 日後の稲株を供試した。また，一

穂内においても粃の着粒部位によって開花と登熟順序がほぼ決まっており（星川 1975）、検定時の穂においても着粒部位によって登熟段階が異なることから、斑点米率の調査は開花順序に基づき着粒部位を分けた区分毎に行った（図 2-1）。区分は 7 つで、①上位 1～3 番目までの枝梗、4～7 番目までの枝梗のうち、②一次枝梗、③二次枝梗の最上位粃、④二次枝梗のそれ以外の粃、8～11 番目までの枝梗のうち、⑤一次枝梗、⑥二次枝梗の最上位粃、⑦二次枝梗のそれ以外の粃である。

対象カメムシ

クモヘリカメムシおよびホソハリカメムシ両種とも 6 月下旬から 7 月上旬にかけて愛知県農業総合試験場内で捕獲した。その後、山間農業研究所（豊田市）のガラス室内にテトロンゴース布を蚊帳状に設置し、その中で糊熟期以降の稲株を与えて増殖した。

供試稲の養成

「密陽 44 号」と、対照品種として出穂期が「密陽 44 号」に近い「あいちのかおり SBL」を供試系統とした。2012、2013 年とも 5 月中旬に山間農業研究所の圃場に両品種・系統を 1 本植えて移植した。施肥は全層用全量基肥で N、 P_2O_5 、 K_2O をそれぞれ 8.0、4.3、3.3 gm^{-2} の割合で施用した。供試株は出穂日を穂毎にラベルした。検定数日前まで圃場で生育させた後、鉢上げし、出穂日がほぼ同日の 3 穂を選び、それ以外の穂は切除した。検定に供する 3 穂は圃場での生育期間中に斑点米カメムシの被害を受けた可能性のある不稔粃や子房の発達が著しく遅い粃を切除した。

集団検定

両年とも 9 月上旬頃の出穂 10 日および 20 日後に供試株 1 株を蚊帳内に移し 5 日間に渡ってカメムシに吸汁させる処理を行った。吸汁処理は 3 反復で行い、供試品種・系統が偏らないように配置し、供試株の穂の高さが異なる場合は鉢を土台に乗せ、穂の高さを均一にした。処理後、供試株にジノテフラン水和剤を散布した後、カメムシの被害を受けないよう別のガラス室内で登熟させた。成熟期に 3 穂を刈り取り、乾燥

させた後に上述の着粒部位区分毎に分けて脱穀し、粃摺りをした。粃摺りは、玄米が砕けないように充実した粃は一穂用粃摺器（藤原製作所製）で粃摺りし、充実不足の粃はハサミとピンセットを用いて粃殻を外した。斑点米は目視で調査した。斑点米率は斑点米数 / 総玄米数×100 で算出した。また、吸汁処理中の 2 日目と 4 日目の午前中に各 1 回、成虫、幼虫込みの穂への寄生虫数を見取り調査した。

粃硬度

カメムシ抵抗性検定供試株と同一条件で栽培した稲から、検定に供した穂と同一出穂日の 2 穂を選び、カメムシ抵抗性検定が終了する出穂 15 日、25 日後に穂を切除し、ビニール袋に入れ同日のうちに測定した。測定する粃は抵抗性検定同様に着粒部位の区分毎に 8 粒以上ある場合は 8 粒を選び、8 粒未満の場合は全ての粃とした。測定はレオメーター（CR-3000、サン科学製）で行い、プランジャーとして木綿針（太さ 0.84 mm、長さ 51.5 mm、クロバー製）を固定し、速度 100 mm / 分、深さ 2.0 mm の条件で行った。

圃場栽培での斑点米率調査

2012, 2013, 2015 年に山間農業研究所圃場で「密陽 44 号」と、比較品種として「あいちのかおり SBL」を各品種・系統 9.3 m²（6 条、長さ 5.0 m）栽培した。試験区は 1 反復で各品種・系統を隣接して配置した。移植はいずれの年も 5 月中旬に 3 本植えで行い、施肥は元肥として N, P₂O₅, K₂O をそれぞれ 5.0, 5.4, 5.8 gm⁻²の割合で、穂肥を出穂 20 日前に N, K₂O をそれぞれ 3.5, 2.2 gm⁻²の割合で施用した。斑点米カメムシへの防除は無防除とした。斑点米カメムシの発生調査は種別に成虫、幼虫を分けずに見取りで行い、出穂期前後から成熟期頃まで 5~7 回、5~10 日間隔で行った。成熟期に各区 1, 3, 5 列目から 1 株おきに 10 株を刈り取り乾燥後、脱穀、粃摺りを行って 1.8 mm の篩にかけた後、篩上の玄米について斑点米を調査した。斑点米の調査は収穫した列毎に玄米を混合して目視で行い、斑点米率は斑点米数 / 総玄米数×100 で算出した。さらに、斑点米を実体顕微鏡下で観察し、加害痕の位置を竹内ら（2004a）が定めた 3 区分（基部、鉤合部縦稜線、その他）に頂部を加えた 4 区分に

類別した.

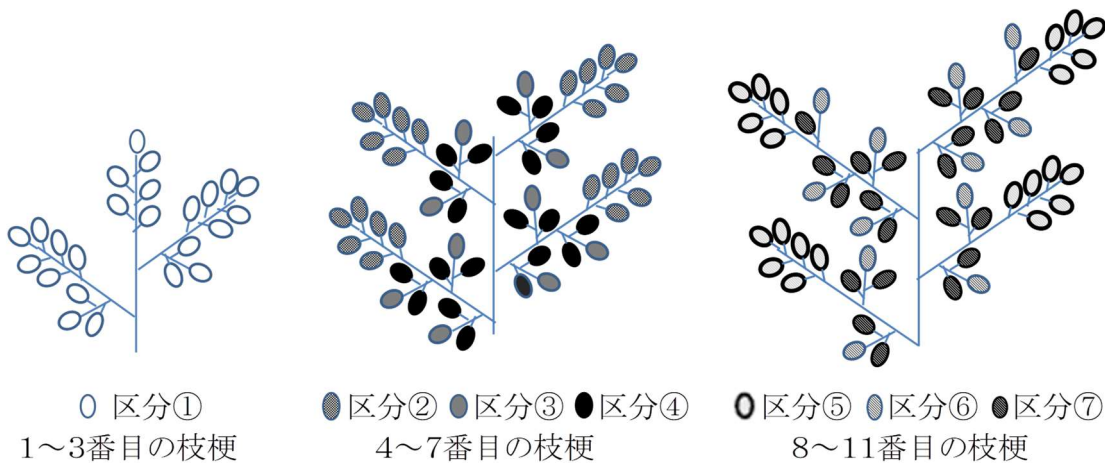


図 2-1. 着粒部位に基づく粳の調査区分

①～⑦の部位に区分：①上位 1～3 番目までの一次枝梗に着粒した粳，②4～7 番目までの一次枝梗上の先端側に直接着粒した粳，③4～7 番目までの一次枝梗上の二次枝梗の最上位に着粒した粳，④4～7 番目までの一次枝梗上の二次枝梗の最上位以外に着粒した粳，⑤8～11 番目までの一次枝梗上の先端側に直接着粒した粳，⑥8～11 番目までの一次枝梗上の二次枝梗の最上位に着粒した粳，⑦8～11 番目までの一次枝梗上の二次枝梗の最上位以外に着粒した粳。

結果

「密陽 44 号」の形態的特性

稈長，穂長，穂数および玄米千粒重の調査結果を表 2-1 に示す．2015 および 2016 年の調査結果の平均で稈長は「密陽 44 号」が 72 cm，比較品種の「あいちのかおり SBL」が 80 cm，穂長は両品種系統とも 22.6 cm，穂数は「密陽 44 号」が 354 本 / m²，「あいちのかおり SBL」が 403 本 / m²，玄米千粒重は「密陽 44 号」が 20.5 g，「あいちのかおり SBL」が 24.5 g であった．

次に籾の形態的特性を表 2-2 に示す．「密陽 44 号」の穎の色は「黄白」，外穎先端の色は「白」，外穎の毛茸の粗密は「やや粗」，芒の分布は「先端のみ」，最長芒の長さは「極短」，芒の色は「黄白」であった．「あいちのかおり SBL」とは外穎の毛茸の粗密が「中」，芒の分布が「全体」，最長芒の長さが「短」において両者に相違がみられたが，その他の形態的特徴に差異は認められなかった．

穂相の調査結果を表 2-3 に示す．一次枝梗数の頻度分布は「密陽 44 号」，「あいちのかおり SBL」ともに 8～11 が最も多く，大きく異ならなかった．籾数は「密陽 44 号」の二次枝梗上の着生粒で「あいちのかおり SBL」より多く，一穂着粒数では 18% 多かった．

カメムシ抵抗性検定

クモヘリカメムシに対する集団検定結果を表 2-4 に示す．「密陽 44 号」は出穂 20 日後の株を供試した場合，穂全体の斑点米数と斑点米率はそれぞれ「あいちのかおり SBL」対比で 2012 年が 44%，30%，2013 年が 44%，42%と安定して低い値を示した．一方，出穂 10 日後の株を供試した場合，穂全体の斑点米数と斑点米率はそれぞれ「あいちのかおり SBL」対比で 2012 年が 38%，27%と低かったものの，2013 年は 96%，93%と高く，試験年によって大きな差異がみられた．着粒部位の区別に斑点米率をみると，出穂 20 日後の株を供試した場合，登熟が比較的早く進むことが想定される 1～3 番目の枝梗（区分①）ならびに 4 番目以降の枝梗のうち一次枝梗（区分②，⑤）

と二次枝梗の最上位の籾（区分③，⑥）での被害が「あいちのかおり SBL」より低く抑えられていた．一方で，登熟が特に遅れる二次枝梗の最上位以外の籾（区分④，⑦）では斑点米率が高く，これらの部位で集中的に加害を受けていた．出穂 10 日後の株を供試した場合にも，2012 年は区分④以降の値が他区分よりも高く，相対的に登熟の遅い着粒部位の籾が加害を受ける傾向がみられた．吸汁処理中の寄生虫数はいずれの検定においても「あいちのかおり SBL」対比で 24～66%と少なかった．

次にホソハリカメムシに対する集団検定結果を表 2-5 に示す．「密陽 44 号」は出穂 20 日後の株を供試した場合，穂全体での斑点米数と斑点米率はともに「あいちのかおり SBL」対比で 30%と低かった．一方，出穂 10 日後の株を供試した場合は穂全体での斑点米数と斑点米率がそれぞれ「あいちのかおり SBL」対比で 92%，66%であり，「あいちのかおり SBL」と同程度の加害を受けていた．「密陽 44 号」の着粒部位区分別の斑点米率は，出穂 20 日後の株を供試した場合，登熟が特に遅れる 4～7 番目以降の一次枝梗上の二次枝梗最上位以外の籾（区分④，⑦）で他区分よりやや高く，出穂 10 日後の株を供試した場合においても，同様に区分（⑦）がやや高かった．しかし，一方で二次枝梗の中では登熟が早くすすむ最上位籾（出穂 20 日後の検定の区分⑥，出穂 10 日後の区分③，⑥）でも同様に斑点米率が高く，クモヘリカメムシのように登熟の遅い区分を明瞭に選択して加害する傾向はみられなかった．寄生虫数は「あいちのかおり SBL」対比で，出穂 10 日後の検定が 82%，20 日後の検定が 70%と「あいちのかおり SBL」よりやや減少したが有意差はみられなかった．

籾硬度

籾硬度の評価指標として用いたレオメーターで測定したピークフォースを表 2-6 に示す．籾硬度を上位枝梗と下位枝梗部位で比較すると，「密陽 44 号」，「あいちのかおり SBL」ともに下位枝梗の方が低い値を示す傾向がみられた．着粒部位区別にみると，二次枝梗のうち最上位以外の区分（区分④，⑦）が顕著に低かった．品種・系統間で比べると，「密陽 44 号」は「あいちのかおり SBL」に比べ出穂 15 日後においても 25 日後においても多くの着粒部位区分で値が高く，特に，1～3 番目の枝梗の籾（区分①）と，4～7 番目以降の枝梗の一次枝梗（区分②，⑤）では，いずれの試験年にお

ける出穂後日数の穂においても「あいちのかおり SBL」との間で有意差がみられた。両カメムシ種から「あいちのかおり SBL」と同程度の加害を受けた 2013 年の「密陽 44 号」の出穂 15 日後の穂では、2012 年の同穂に比べ硬度が 50%程度に低下していた。

籾硬度と斑点米率の関係

2013 年に調査した出穂 25 日後の籾硬度と、出穂 20 日後に行った集団検定での着粒部位区分別斑点米率との相関関係を図 2-2, 3 に示す。着粒部位区分のうち 8~11 番目の枝梗の二次枝梗 (⑥, ⑦) では供試株によって籾の無い場合があったため、着粒部位区分①~⑤までの値を用いて相関関係を検討した。クモヘリカメムシに対して集団検定した場合、「あいちのかおり SBL」では相関関係は認められず、硬度の高い区分においても斑点米率が高かった。一方、「密陽 44 号」においては籾硬度と斑点米率に負の相関 (5%水準で有意) がみられた。回帰直線の傾きは「あいちのかおり SBL」よりも大きく、籾硬度の低い区分では「あいちのかおり SBL」と同様の高い斑点米率であったが、籾硬度が高い区分になるほど斑点米率が大きく低下していた。この傾向は、2012 年も同様であった。ホソハリカメムシに対して集団検定を行った場合も、「あいちのかおり SBL」では有意な相関は見られなかったが、「密陽 44 号」では負の相関関係 (1%水準で有意) がみられた。回帰直線の傾きは同程度であったが、「密陽 44 号」の方が y 切片が小さく、いずれの籾硬度においても「あいちのかおり SBL」よりも斑点米率が低かった。

圃場栽培での斑点米率低減効果

「密陽 44 号」および「あいちのかおり SBL」の出穂日、斑点米カメムシ延べ発生数、斑点米率、「密陽 44 号」の斑点米率の「あいちのかおり SBL」対比、および斑点米に占める加害痕の位置別の割合を表 2-7 に示す。「密陽 44 号」と「あいちのかおり SBL」の出穂日の差は 0~3 日であった。斑点米率はいずれの試験年においても「密陽 44 号」が「あいちのかおり SBL」よりも少なく、「あいちのかおり SBL」対比でみると 18~47%に低減していた。斑点米カメムシの発生数は 2013, 2015 年で「密陽

44号」が「あいちのかおり SBL」の30%以下と少なかった。この2カ年の優占種はクモヘリカメムシであり、「密陽44号」では同種の発生数が「あいちのかおり SBL」の13%以下と顕著に少なかった（図2-4）。一方、2012年はホソハリカメムシが優占種であり（図2-4）、「密陽44号」の斑点米カメムシの発生数は「あいちのかおり SBL」対比で92%となって両系統間で大きな違いはみられなかった。斑点米に占める加害痕の位置は2013、2015年は「あいちのかおり SBL」では鉤合部縦稜線の割合が最も高く、「密陽44号」ではその他（頂部、基部、鉤合部縦稜線以外）と鉤合部縦稜線の割合が高かった。2012年は両品種・系統ともその他の割合が最も高かった。

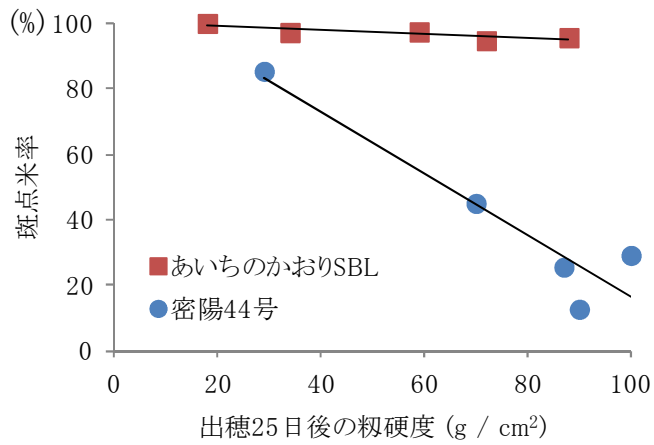


図 2-2. 出穂 25 日後の粳硬度とクモヘリカメムシ集団検定（出穂 20 日後）の斑点米率の関係（2013 年）.

粳の着粒部位区分①～⑤の値.

*5%水準で有意な相関有り.

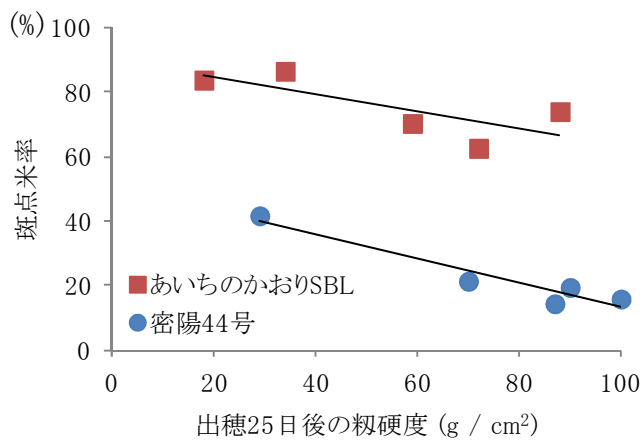


図 2-3. 出穂 25 日後の韌硬度とホソハリカメムシ集団検定（出穂 20 日後）の斑点米率の関係（2013 年）.

韌の着粒部位区分①～⑤の値.

**は 1%水準で有意な相関有り.

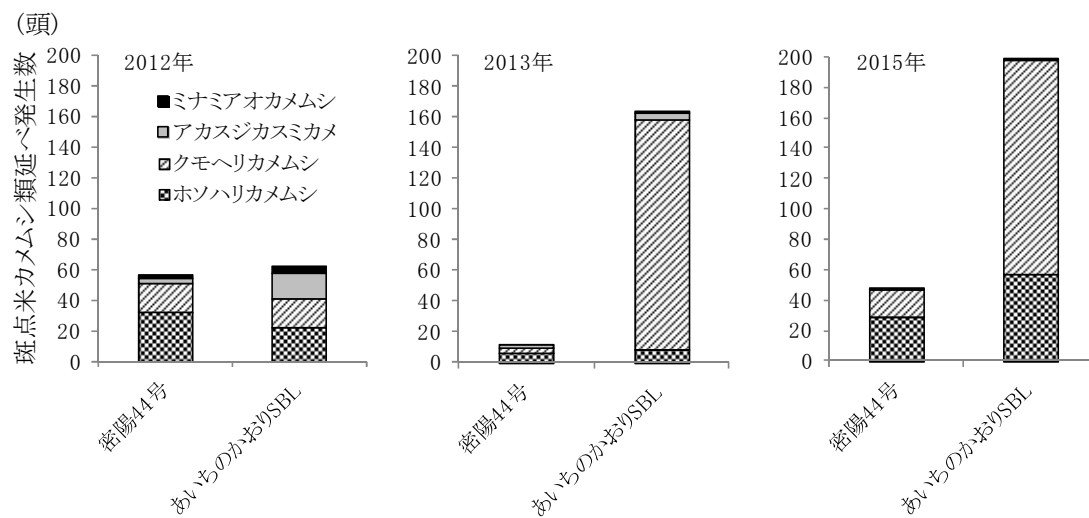


図 2-4. 圃場栽培で発生した斑点米カメムシ類の種別延べ発生数

延べ発生数は、斑点米カメムシの見取り調査の合計数。見取り調査は、出穂期前後から成熟期頃まで5～7回、5～10日間隔で行い、カメムシの種別に成虫、幼虫を分けずに数えた。

表2-1. 密陽44号の稈長, 穂長, 穂数及び玄米千粒重

試験年	品種・系統名	稈長	穂長	穂数	玄米千粒重 ¹⁾
		cm	cm	本 / m ²	g
2015年	密陽44号	76 *	23.2 *	408	20.1
	あいちのかおりSBL	79	21.8	370	24.1
2016年	密陽44号	68 **	22.0 *	299	20.9
	あいちのかおりSBL	80	23.4	436	25.0
平均	密陽44号	72 n.s.	22.6 n.s.	354 n.s.	20.5 *
	あいちのかおりSBL	80	22.6	403	24.5

*, **はt検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があること, n.s.は有意差がないことを示す.

1) 14.5%水分換算値.

表2-2. 密陽44号の粳の形態的特徴

品種・系統名	穎の色	外穎先端 の色	外穎の 毛じの粗密	芒の分布	最長芒の 長さ	芒の色
密陽44号	黄白	白	やや粗	先端のみ	極短	黄白
あいちのかおりSBL	黄白	白	中	全体	短	黄白

調査基準は農林水産植物種類別審査基準(稲種)による。

表2-3. 出穂20日後の集団検定に供試した穂の穂相

品種・系統名	一次枝梗数の頻度分布						着粒部位区別着粒数と二次枝梗数					
	1~3		4~7		8~11		1~3		4~7		8~11	
	着粒数	頻度	着粒数	頻度	着粒数	頻度	着粒数	頻度	着粒数	頻度	着粒数	頻度
密陽44号	0	0	18	0	107 *	32.6 **	20.4 **	28.3 **	10.3 **	15.9 n.s.	9.7 *	3.9 n.s.
あいちのかおりSBL	0	0	15	3	90	24.3	23.9	18.1	7.0	17.6	5.2	2.4

表中の値は、2012年(クモヘリカメムシ), 2013年(クモヘリカメムシ, ホソハリカメムシ)の集団検定に供試した穂(各株2穂)の一次枝梗数の頻度分布と、一穂着粒数及び着粒部位区別着粒数と二次枝梗数の平均値。
 ①~⑦は着粒部位区分番号。

*, **は検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があること, n.s.は有意差がないことを示す。

表2-4. クモヘリカメムシ接種時期別寄生虫数, 斑点米数および斑点米率

接種時期	試験年	品種・系統名	寄生虫数 /株	穂全体 の 斑点 米数	(比較 対比 (%))	斑点米率(%)									
						穂全体 (比較対比 (%))					着粒部位区分				
						穂全体 対比 (%)	1~3	4~7	8~11	他	穂全体 対比 (%)	一次 枝梗	二次枝梗 最上位	一次 枝梗	二次枝梗 最上位
①	②	③	④	⑤	⑥	⑦									
出穂10日後	2012年	密陽44号	4.3 **	21 **	(38)	27 **	(27)	19 **	23 **	17 **	56 n.s.	42 **	42	NA	
		あいちのかおりSBL	8.3	56		100	100	100	100	100	100	100	100	NA	NA
出穂20日後	2013年	密陽44号	5.0 n.s.	63 n.s.	(96)	93 *	(93)	91 *	93 n.s.	90 n.s.	100 n.s.	100 n.s.	NA	NA	
		あいちのかおりSBL	7.6	66		100	100	100	100	100	100	100	100	NA	NA
出穂20日後	2012年	密陽44号	3.3 **	31 *	(44)	28 *	(30)	17 *	7 *	15 *	69 n.s.	14 *	20 **	88 n.s.	
		あいちのかおりSBL	13.4	71		94	86	91	88	91	100	100	97	100	100
出穂20日後	2013年	密陽44号	9.7 n.s.	40 **	(44)	41 **	(42)	29 **	26 **	15 *	82 *	45 **	22 n.s.	93 n.s.	
		あいちのかおりSBL	18.1	90		97	95	97	96	97	100	100	97	100	100

①~⑦は着粒部位区分番号。

*, **は検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があること, n.s.は有意差がないことを示す。

NA: データなし。

表2-5. ホソハリカメシ接種時期別寄生虫数, 斑点米数および斑点米率

接種時期	試験年	品種・系統名	寄生虫数 /株	穂全体 の 斑点 米数	(比較 対比 (%))	斑点米率(%)									
						穂全体 (比較 対比 (%))					着粒部位				
						穂全体 米数	穂全体 対比 (%)	1~3	4~7	8~11	一次 枝梗	二次枝梗 最上位	二次枝梗 他	一次 枝梗	二次枝梗 最上位
出穂10日後	2013年	密陽44号 あいちのかおりSBL	1.0 n.s. 1.2	33 n.s. 36	(82) (92)	41 n.s. 62	(66) (92)	34 n.s. 57	35 n.s. 61	55 n.s. 72	34 n.s. 83	42 n.s. 81	60 n.s. 50	NA	
出穂20日後	2013年	密陽44号 あいちのかおりSBL	1.6 n.s. 2.2	22 ** 73	(70) (30)	23 ** 75	(30) (30)	16 * 63	14 ** 70	19 ** 74	42 * 84	21 ** 86	46 n.s. 92	40 n.s. 97	

①~⑦は着粒部位区分番号.

*, **はt検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があること, n.s.は有意差がないことを示す.

NA: データなし.

表2-6. 着粒部位区分別粗の硬度

測定時期	試験年	品種・系統名	出穂日	着粒部位区分別比 ^① グフォース (g / cm ²)									
				1～3			4～7			8～11			
				①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩
出穂15日後	2012年	密陽44号	8.27	53.5 **	38.2 **	36.7 **	12.3 **	20.0 **	36.4 *	9.4 **			
		あいちのかおりSBL	8.27	8.5	7.3	10.2	5.2	5.8	9.0	5.0			
	2013年	密陽44号	8.19	24.0 **	15.0 **	24.0 **	6.7 n.s.	10.0 *	12.0 *	5.0 n.s.			
		あいちのかおりSBL	8.19	9.6	9.8	11.0	5.0	8.0	7.3	5.0			
出穂25日後	2012年	密陽44号	8.27	96.9 **	90.5 **	88.4 n.s.	46.6 **	77.1 **	84.8 n.s.	19.3 *			
		あいちのかおりSBL	8.27	74.4	63.4	83.7	17.0	37.1	69.5	8.6			
	2013年	密陽44号	8.19	100.0 **	87.0 **	90.0 n.s.	29.0 *	70.0 **	83.0 n.s.	6.5 n.s.			
		あいちのかおりSBL	8.19	72.0	59.0	88.0	18.0	34.0	49.0	11.0			

①～⑩は着粒部位区分番号。

*, **はt検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があること, n.s.は有意差がないことを示す。

表2-7. 圃場栽培における斑点米カメムシ類発生数と斑点米率

品種・系統名	2012年										2013年										2015年											
	出穂日		斑点米カメムシ類発生数 ¹⁾		斑点米率		比較対比		斑点米に占める加害痕の位置の割合		出穂日		斑点米カメムシ類発生数 ¹⁾		斑点米率		比較対比		斑点米に占める加害痕の位置の割合		出穂日		斑点米カメムシ類発生数 ¹⁾		斑点米率		比較対比		斑点米に占める加害痕の位置の割合			
	月.日	%	頭	%	%	%	%	%	頂部	基部	穂線	月.日	%	頭	%	%	%	%	%	頂部	基部	穂線	月.日	%	頭	%	%	%	%	%	%	
密陽44号	8.22	59	1.0	47	15	8	15	62	8.19	14	0.3	18	7	0	43	50	8.14	50	0.7	27	13	0	40	47	8.15	199	2.8	100	11	0	52	37
あいちのかおりSBL	8.25	64	2.1	100	11	2	10	77	8.19	164	1.9	100	17	3	64	15	8.15	199	2.8	100	11	0	52	37								

1) 各調査日の発生数を合計した延べ発生数(2012年:8/24,8/29,9/5,9/12,9/20,9/27,10/5, 2013年:8/22,8/30,9/4,9/10,9/17, 2015年:8/19,8/25,8/31,9/10,9/16).

考察

「密陽 44 号」の形態的特性

「密陽 44 号」は、2015 および 2016 年の 2 カ年の平均で、稈長 72 cm、穂長 22.6 cm、穂数 354 本 / m²、玄米千粒重 20.5 g であり、「あいちのかおり SBL」よりもやや短稈で穂数がやや少なく、千粒重が軽い傾向を示した。しかし、これらの値からは「密陽 44 号」が日本で栽培されている一般的な品種と比べて特異的な草型や粒大等がカメムシ抵抗性に関係しているとは考えにくい。「あいちのかおり SBL」と比べてやや短稈であることがカメムシの選好性に影響する可能性も考えられるが、集団検定では穂の高さを揃えるように調整しており、本検定の結果からは稈長が抵抗性に影響を及ぼすことは無いと考えられる。籾の形態的特性では外穎の毛茸の粗密、芒の分布および最長芒の長さが「あいちのかおり SBL」と異なるものの、いずれも「あいちのかおり SBL」より少ない、あるいは短い値を示しており、抵抗性とは無関係であると考えられる。穂相は「密陽 44 号」が「あいちのかおり SBL」より二次枝梗の着粒数が多い傾向を示したが、後述するようにクモヘリカメムシは登熟の遅い籾を好んで加害するため、抵抗性にとって有利な特性とはいえないことから、調査対象とした形態的特性は「密陽 44 号」の抵抗性の要因ではないと考えられた。ただし、一穂着粒数が「あいちのかおり SBL」より 18%多かったため、穂数を揃えて供試する集団検定では、供試籾数が「密陽 44 号」の方が多くなり、仮に斑点米数が「あいちのかおり SBL」と同程度であったとしても「密陽 44 号」の方が斑点米率が低くなり、抵抗性が過大評価される可能性が考えられた。このため、斑点米率のみでなく斑点米数でも抵抗性程度を評価する必要があると考えられた。

集団検定法における「密陽 44 号」の抵抗性の特徴

本検定では供試個体を野外圃場で栽培し、検定数日前まで十分に生育させた。これは「密陽 44 号」の抵抗性の特徴を、諸特性が発揮された健全な稲株で評価することが目的であったが、本法では検定に供する時点で供試株が斑点米カメムシの加害を受

けている可能性がある。このため、検定に供した段階での斑点米カメムシの被害程度を推定する必要があると考えた。そこで検定と同一条件で栽培し、出穂 25 日後に圃場から採取した穂（粳硬度を測定した穂）の斑点米率を調査した結果、2012 年が「密陽 44 号」で 1.5%、「あいちのかおり SBL」で 1.9%、2013 年が「密陽 44 号」で 2.8%、「あいちのかおり SBL」で 3.2%であった。この値は、検定後の斑点米率と比べると「密陽 44 号」で 10%以下、「あいちのかおり SBL」で 4%以下である。さらに検定では斑点米カメムシの加害を受けた可能性のある不稔粳や子房の発達が著しく遅い粳を切除してから供しているため、実際の供試株の斑点米率はさらに低くなっていると考えられる。このため、検定に供した時点での斑点米率は、検定結果を考察するうえで考慮しないこととした。

以降、検定結果をカメムシの種別に考察する。クモヘリカメムシに対し出穂 20 日後の株を供試した場合、「密陽 44 号」は斑点米数においても斑点米率においても「あいちのかおり SBL」より有意に低く（表 2-4）、安定した抵抗性を示した。一方、出穂 10 日後の株を供試した場合は、2012 年は対照品種の「あいちのかおり SBL」に対して抵抗性を示したものの、2013 年は抵抗性が認められず（表 2-4）、抵抗性が不安定であった。出穂 20 日後の着粒部位区分別の調査では、粳硬度が顕著に低く、登熟が特に遅れていた二次枝梗の最上位以外の粳（区分④、⑦）が集中的に加害を受けていた（表 2-4）。これらのことから、「密陽 44 号」の抵抗性機構は登熟に伴い発達し、登熟初期段階では抵抗性程度が低いと考えられる。竹内ら（2004b）はクモヘリカメムシの加害性と粳の登熟段階との関係について、総被害粳数が出穂後 7 日から 14 日の間に減少することを示し、玄米が縦伸長途中から幅伸長途中の粳を主に加害している。同様に、古家・清田（1993）も黄熟期の吸汁粳率は低く、乳熟期前後の粳を選好することを報告している。このようにクモヘリカメムシは、本来吸汁しやすい乳熟期前後の粳を選好し、登熟の進んだ粳に対してはあまり吸汁しない特性を有している。このため、「密陽 44 号」の登熟に伴う抵抗性が「あいちのかおり SBL」のそれと異なるのかを検討するため、粳硬度と斑点米率の関係を調べた。その結果、「密陽 44 号」では、ある程度粳硬度が高くなると「あいちのかおり SBL」と同程度の粳硬度であっても「あいちのかおり SBL」よりも斑点米率が低く（図 2-2）なり、一次回帰式

の傾きが大きくなった。このため、「密陽 44 号」は「あいちのかおり SBL」とは異なる登熟に伴う抵抗性機構を有すると考えられる。一方、「密陽 44 号」は「あいちのかおり SBL」よりも靱硬度が早く高くなる傾向がみられ（表 2-6）、登熟が「あいちのかおり SBL」よりも早くすすむことが示唆された。この特性は、比較的早い登熟段階を選好するクモヘリカメムシに対しては加害されやすい期間が短く、斑点米率の低減に有利に働くと考えられた。ただし、前述のように「あいちのかおり SBL」と同程度の靱硬度であっても「あいちのかおり SBL」よりも斑点米率が低くなる関係がみられたことから、抵抗性機構は登熟が早いこと以外にもあると考えられる。一方、抵抗性機構をクモヘリカメムシの選好性から検討すると、集団検定におけるクモヘリカメムシの寄生虫数が「あいちのかおり SBL」よりも少ない傾向を示した（表 2-4）ことから、クモヘリカメムシに対して何らかの非選好性を伴う機構が存在すると考えられる。以上のことをもとに先述の靱硬度と斑点米率の関係をみると、「密陽 44 号」は登熟とともに「あいちのかおり SBL」が加害を受けにくくなるのとは異なる抵抗性機構が発達し、クモヘリカメムシの選好性が急激に低下するのに対し、「あいちのかおり SBL」は登熟に伴う選好性の低下が緩やかであるため、相対的な選好性の差異が登熟とともに大きくなり、それが斑点米率の差となってあらわれたと考えることができる。このように「密陽 44 号」の抵抗性機構は、登熟とともに非選好性を伴い発現すると考えられるが、抵抗性を発揮する登熟段階に見当をつけることは育種利用のうえで重要である。そこで抵抗性にばらつきがみられた出穂 10 日後の検定結果を気象条件とともに検討する。出穂 10 日後の検定では 2012 年は抵抗性を示したものの、2013 年は抵抗性が認められなかった。2012 年の出穂後 15 日間（出穂からカメムシの吸汁処理が終了するまでの間）の気象は、平均気温が 22.8℃（対平年値+1.1℃）、平均日照時間が 4.7 時間 / 日（対平年値±0 時間）であり、平年よりやや気温が高く、日照時間は平年並みであった。一方、2013 年は出穂後 15 日間のうち 12 日間で降雨があり、その間の平均気温は 22.2℃（対平年値±0℃、対 2012 年値-0.6℃）と 2012 年よりわずかに低く、平均日照時間も 3.5 時間 / 日（対平年値-1.5 時間、対 2012 年値-1.2 時間）で 2012 年の 75%と少なかった。このため靱の登熟は 2012 年よりも遅いと考えられ、実際に出穂 15 日後の靱硬度は 2012 年に比べ 50%程度と低かった（表 2-6）。

これらのことから、出穂 10 日後は抵抗性が登熟条件に左右される段階であり、2013 年は気象の影響によって登熟が遅れ、抵抗性を発揮するに至らなかったと考えられる。

ホソハリカメムシはクモヘリカメムシよりも寄主植物の範囲が広く、籾の加害時期についても、玄米の縦伸長途中から厚さ伸長途中まで幅広い登熟段階の籾を加害する（竹内ら 2004b）。古家・清田（1993）もホソハリカメムシ幼虫の吸汁籾率はクモヘリカメムシよりもやや成熟した糊熟期および糊熟期後期の籾で高いことを報告している。「密陽 44 号」はこのようにある程度登熟した籾に加害性を示すホソハリカメムシに対しても、出穂 20 日後の穂を供試した場合、斑点米数と斑点米率はともに「あいちのかおり SBL」対比で 30%と低く、抵抗性が認められた（表 2-5）。しかし、出穂 10 日後の穂を供試した場合は「あいちのかおり SBL」と同程度の加害を受け（表 2-5）、クモヘリカメムシ同様にある程度登熟が進まないと抵抗性が発揮されないと考えられた。一方、籾硬度と斑点米率の関係では、有意な負の相関を示したが、クモヘリカメムシと異なり硬度の低い籾が集中加害されることがなく、いずれの籾硬度においても「あいちのかおり SBL」より斑点米率が低くなる関係を示した。これは、「密陽 44 号」の抵抗性は登熟程度に依存するものの、先述のようにホソハリカメムシが幅広い登熟段階の籾を吸汁する、あるいはやや成熟した籾を好んで吸汁する特性を持つため、登熟の遅い着粒部位の籾を集中加害しないかあるいは避けたことが影響した可能性が考えられる。寄生虫数は「あいちのかおり SBL」と有意差がなく、クモヘリカメムシのような非選好性はみられなかった。このことから、ホソハリカメムシに対しては非選好性によらない抵抗性機構を持つと考えられる。

圃場栽培での斑点米率低減効果

発生したカメムシの優占種は 2012 年がホソハリカメムシ、2013 年、2015 年がクモヘリカメムシであった。「密陽 44 号」はいずれの試験年においても斑点米率が「あいちのかおり SBL」対比で 18~47%と低く、加害特性の異なる両カメムシ種に対して圃場栽培でも抵抗性を示すことが確認された。斑点米率低減要因を優占種が異なる試験年別に検討する。クモヘリカメムシが優占種であった 2013 年、2015 年は本種の発生数が「密陽 44 号」で「あいちのかおり SBL」の 13%以下と顕著に少なく、斑点

米カメムシ全体の発生数も「あいちのかおり SBL」の 30%以下と少なかった。このため、クモヘリカメムシの発生数の少なさが斑点米率の低減要因となっていると考えられる。斑点米の加害痕の位置をみても、「あいちのかおり SBL」は両年ともクモヘリカメムシの特徴的な加害部位である鉤合部縦稜線が最も高く、加害の中心はクモヘリカメムシであったと考えられ、本種の発生数の少なかったことが「密陽 44 号」の斑点米率の低減要因であることを裏付けている。「密陽 44 号」に対してクモヘリカメムシが非選好性を示すことは集団検定でもみられているが、圃場での小規模栽培においても同様の傾向が示された。クモヘリカメムシは寄主植物がイネ科への依存度が高い種であり、鉤合部を選択して加害する。この寄主植物と加害部位の選択性の高さが「密陽 44 号」に対する非選択性に影響していると考えられる。

一方、2012 年はホソハリカメムシが優占種であった。斑点米の加害痕の位置をみても両品種・系統ともその他が最も多く、ホソハリカメムシが加害の中心であったと考えられる。「密陽 44 号」の斑点米カメムシの発生数は「あいちのかおり SBL」の 92% であり、この値は大きく異なっておらず、ホソハリカメムシの発生数は「あいちのかおり SBL」よりもむしろ多かった。にもかかわらず「密陽 44 号」の斑点米率は「あいちのかおり SBL」より低減している。同様の傾向は集団検定でもみられており、「密陽 44 号」がホソハリカメムシに対して非選好性によらない抵抗性機構を有していることが圃場栽培においても示唆された。ホソハリカメムシは寄主植物の幅が広く、加害部位を選択しない特性を持つ。この特性が抵抗性機構を持つ「密陽 44 号」に対しても非選好性を示さないことに関連していると考えられる。

本試験では、試験区が 9.3 m² であり、カメムシの試験区間の移動が容易であることから、今後さらに大区画での栽培試験を行い、クモヘリカメムシのように選好性の高いカメムシ種が他品種に容易に移動できない条件下での抵抗性程度も検証する必要がある。

抵抗性発現機構

「密陽 44 号」の抵抗性機構を解明することは、育種利用において極めて重要である。本研究では加害様式の異なるクモヘリカメムシとホソハリカメムシに対し、出穂

後日数の異なる「密陽 44 号」および比較品種を集団検定に供することで、抵抗性機構の解明に必要な籾の登熟程度と抵抗性発現の関係や非選好性の有無について調査するとともに、野外圃場で栽培試験を行うことで抵抗性の有効性を検証した。その結果、①「密陽 44 号」の抵抗性は、籾の吸汁部位を選択しない無差別加害型（川村 1993; 竹内ら 2004a）に属するホソハリカメムシに対しても、鉤合部加害型（川村 1993; 古家・清田 1993; 竹内ら 2004a）に属するクモヘリカメムシに対しても機能すること、②籾の登熟が「あいちのかおり SBL」よりも早くすすみ、これが乳熟期前後の比較的早い登熟段階を選好するカメムシ種に対して加害軽減に有利に働く可能性のあること、③抵抗性は籾の登熟に伴って発達し、ある程度登熟がすすんだ段階から安定すること、抵抗性機構は籾の登熟が早いだけでなくそれ以外にもあること、④抵抗性機構は選好性の高いクモヘリカメムシに対して非選好性として働くこと、⑤クモヘリカメムシ、ホソハリカメムシがそれぞれ優占して発生する野外圃場においても抵抗性を示すことが示された。

本研究で用いた集団検定法や小規模な圃場栽培では、カメムシの他品種への移動が容易である。このため、本研究で明らかにした抵抗性に関する特徴は非選好性の影響を含んだものであり、非選好性を示したクモヘリカメムシの移動を制限した場合の抵抗性程度は検討できていない。しかし、この点においては杉浦（2017）が「密陽 44 号」の穂にテトロンゴース製の袋をかけ、中にクモヘリカメムシを放飼する品種別検定法による抵抗性検定試験を行い、比較品種に対し斑点米率が低減することを確認していることから、「密陽 44 号」はクモヘリカメムシに対して非選好性が機能しない場合においても十分な抵抗性をもたらす抵抗性機構があると考えられる。ホソハリカメムシに対しては本研究において非選好性を示さなかったため、非選好性以外の抵抗性機構のあることが示唆されている。本研究ではこの機構を明らかにできなかったが、斑点米自体は比較品種より少ないものの発生することや、杉浦（2017）が上述の品種別検定においてクモヘリカメムシの死亡がほとんどなかったことを報告していることから、一部のツマグロヨコバイ抵抗性品種のように吸汁を高度に抑制し、死亡率を高める（岸野・安藤 1978; 安井 2007）ほどの抗生作用を有しているとは考えにくい。このため、抵抗性機構は吸汁のしにくさをもたらす機構が主であり、それが登熟と

もに発達すると考えられる。この抵抗性機構が加害部位の異なるクモヘリカメムシとホソハリカメムシに共通するものか、あるいは別々の機構であるのかも今後明らかにする必要がある。籾殻は籾を保護する役割があり、珪酸の蓄積（徐・太田 1982）やリグニンの形成（徐・太田 1983）を通して登熟に伴い強度が増すため、本抵抗性の特徴を考えると抵抗性機構を解明するにあたり最初に検討すべきで器官である。今後は籾殻の構造や成分と抵抗性機構の関連を検討する。

2-2 抵抗性と籾殻の関係

2-1 において、「密陽 44 号」の抵抗性は、クモヘリカメムシに対して非選好性を伴い、ホソハリカメムシには非選好性を伴わず発現することを明らかにした。しかし、両カメムシ種の寄生数を揃え、かつ移動を制限した場合の抵抗性程度は検討できていない。そこで、供試品種の穂にテロンゴース布の袋をかけてその中に同数のカメムシを放飼する品種別抵抗性検定を行い「密陽 44 号」の抵抗性を検討した。また、2-1 において、抵抗性が籾の登熟とともに高まったことから、抵抗性機構として登熟とともに強度が増す籾殻に着目し、カメムシが加害行動をとった際に形成される籾殻上の口針鞘と穿孔および玄米上の加害痕とともに、籾殻の断面の細胞の形態を「あいちのかおり SBL」と比較することで抵抗性との関係を検討した。さらに、剪穎処理した穂を用いて抵抗性を検定することで抵抗性機構としての籾殻の重要性を検証した。

材料および方法

カメムシ抵抗性品種別検定

「密陽 44 号」と比較品種「あいちのかおり SBL」について杉浦ら（2017）の品種別検定法に準じて下記のようにカメムシ抵抗性検定を行った。供試カメムシは第 2 章-1 と同様に増殖したクモヘリカメムシとホソハリカメムシを用いた。

供試品種は 5 月中旬に 1 / 10,000 a ポットに 1 本植えて移植した。施肥は全層用全量基肥で N, P₂O₅, K₂O をそれぞれ 8.0, 4.3, 3.3 gm⁻²の割合で施用した。移植後は野外で栽培し、出穂日を穂毎にラベルした。出穂 20 日後に登熟段階の揃った 2 穂を残し他の穂は全て切除した。次に残した 2 穂について、生育期間中に斑点米カメムシの被害を受けた可能性のある不稔籾や子房の発達が著しく遅い籾を切除した。この検定前処理を行った後、各ポットの穂および上位葉にテロンゴース製の袋（幅 50 cm, 長さ 60 cm）をかけ、中にカメムシの雄成虫を放飼した。放飼頭数と期間は、2013 年が 5 頭を 6 日間、2015 年が 4 頭を 7 日間である。放飼終了後に中のカメムシを取

り出し、ジノテフラン水和剤を散布した。その後、カメムシの被害を受けないように別のガラス室内で登熟させた。成熟期に穂を刈り取り、乾燥させた後に斑点米数の調査を行った。斑点米は目視で調査し、斑点米率は斑点米数 / 総玄米数×100 で算出した。検定に供したポット数は各試験 3 であった。なお、放飼期間中に死亡したカメムシはほとんどなく、死亡した場合は速やかに別のカメムシを補充した。

統計的検定は、ポット当たり 2 穂合計の斑点米率について逆正弦変換を施した後、t 検定を用いて行った。

籾殻上の口針鞘と穿孔および玄米上の加害痕調査

上述のカメムシ抵抗性品種別検定で得た各株 2 穂のうち、1 穂の全ての籾（合計 2,433 粒）についてメチレンブルー1%水溶液で染色（竹内ら 2004）した後、実体顕微鏡下でカメムシの加害による籾表面の口針鞘の付着部位を観察した。その後、籾殻と玄米を分離し、籾殻の穿孔の有無、玄米表面の加害痕の有無を調査した。加害痕は竹内ら（2004）に準じ、斑紋のほぼ中央にあるカメムシの口針により形成された玄米果皮の穴とし、この穴が確認できない場合には籾殻の穿孔部位と斑紋の形状から位置を推定した。また、口針鞘数当たりの加害痕数を吸汁成功割合として算出した。さらに、観察中に確認された 2 種のカメムシ特有の加害様式を示すため、籾の鉤合部と内穎辺縁部に付着したクモヘリカメムシの口針鞘および内穎中央部のホソハリカメムシの穿孔について、走査型電子顕微鏡（TM3030, 日立ハイテクノロジーズ）で観察した。鉤合部の観察は籾を中心部付近で長軸に対し垂直方向にカミソリで切断したものを試料とした。それ以外は玄米を取り除いた籾殻をカミソリで切った断片を試料とし、いずれもカーボンテープで試料台に固定し、金属コーティング等の前処理は施さずにそのまま試料室に挿入し、低真空条件において加速電圧 15 kV で反射電子像を取得した。

統計的検定は、1 穂ごとの吸汁成功割合（加害痕数 / 口針鞘数×100）について逆正弦変換を施した後、t 検定を用いて行った。

籾殻の断面の細胞の形態の観察

2013年に「密陽44号」と比較品種「あいちのかおり SBL」を品種別検定と同様の方法で1/10,000 aポットで栽培し、出穂10日後と20日後に各品種3ポットから3穂ずつ収穫した。次に各3穂について上位3番目までの枝梗に着生した粃を脱粒、分解し粃殻を得た。粃殻はFAA（ホルマリン：酢酸：70%エタノール；1：1：18）で固定した後、リン酸緩衝液（pH 7.0）で2回各30分間洗浄し、次いで濃度を段階的に変えたアセトン系列中で脱水し、水溶性メタクリル樹脂（Technovit® 7100; Kulzur Co., Ltd.）に包埋し、45℃で重合させた。その後、各3穂分の粃殻からランダムに6粒分の粃殻を選び、中央部から6 μm厚の横断面の切片を得た。切片中のリグニンはフロログルシノール・塩酸法（Jensen 1962）で検出した。すなわち、切片を75%エタノール溶液で希釈した1%フロログルシノール染色液に1時間浸した後、6 Mの塩酸に10分間浸して切片中のリグニンを赤く染色した。各切片の断面を撮影後、赤く染色された厚壁細胞のうち、図2-8の矢印で示したような断面のきれいな5個の細胞の細胞壁の厚さを画像解析ソフトImageJ（ImageJ. Version 1.52k）で測定した。測定値の統計的検定は、内穎の鈎合部（出穂20日後）ではt検定（ $P < 0.01$ ）を用い、外穎（出穂10日後および20日後）では分散分析（ $P < 0.01$ ）およびTukeyのHSD検定（ $P < 0.05$ ）を用いて行った。

剪穎処理した穂におけるカメムシ抵抗性集団検定

2013年に「密陽44号」と比較品種「あいちのかおり SBL」を品種別検定と同様の方法で1/10,000 aポットで栽培し、出穂1~3日後に出穂が揃った2穂/ポットについて開花後の穎花を先端から三分の一程度のところで剪穎した。その後、剪穎した粃の乾燥を避けるため穂に紙袋（幅13 cm，長さ35 cm）をかけガラス室内で登熟させた。出穂20日後に紙袋を外し、剪穎処理がなされていない粃を全て切除し供試株とした。供試株は第2章-1と同様の方法でクモヘリカメムシとホソハリカメムシによるカメムシ抵抗性集団検定に供した。すなわち、両カメムシ種をそれぞれ増殖した蚊帳内に供試株を移し5日間カメムシに吸汁させた。供試株は供試品種が偏らないように配置し、株の穂の高さが異なる場合はポットを土台に乗せ、穂の高さを均一にした。吸汁処理後は供試株にジノテフラン水和剤を散布し、カメムシの被害を受けないよう

別のガラス室内で登熟させた。成熟期に穂を刈り取り脱穀した。粃はメチレンブルー 1%水溶液で染色（竹内ら 2004）した後、粃殻と玄米を分離し実体顕微鏡下で玄米表面の加害痕を調査した。加害痕が確認できない場合には粃殻の穿孔部位と斑紋の形状から位置を推定し、位置を玄米が剥き出しになった部分、粃殻に内包されていた部分、その両方、どちらか不明、に区分した。斑点米率は斑点米数 / 総玄米数×100 で算出した。試験は各 3 ポットで行った。

統計的検定はポットごとの穂当たりの斑点米率について逆正弦変換を施した後、t 検定を用いて行った。

結果

カメムシ抵抗性品種別検定

2013, 2015 両年とも, いずれのカメムシを放飼した場合においても「密陽 44 号」は「あいちのかおり SBL」に比べ斑点米率が有意に低かった (表 2-8, 2-9). カメムシ一頭一日の斑点米産出数 (2 カ年平均) は, クモヘリカメムシが「密陽 44 号」で 1.4 粒, 「あいちのかおり SBL」で 2.7 粒. ホソハリカメムシが「密陽 44 号」で 1.1 粒, 「あいちのかおり SBL」で 2.5 粒であった.

籾殻上の口針鞘と穿孔および玄米上の加害痕調査

籾の形状は「密陽 44 号」が長さ 8.55 mm, 幅 2.89 mm, 「あいちのかおり SBL」が長さ 7.05 mm, 幅 3.24 mm であり (データ省略), 「密陽 44 号」がやや細長かった. 口針鞘の付着部位は, クモヘリカメムシは「密陽 44 号」, 「あいちのかおり SBL」とも鉤合部に集中していた (図 2-5). ホソハリカメムシは両品種とも内外穎全体に付着していたが「あいちのかおり SBL」では分布様式が一様であったのに対し, 「密陽 44 号」は籾先端近傍にやや集中していた (図 2-5). 次にカメムシ種別の詳細な加害様式の特徴を表すため, 「密陽 44 号」の内穎に形成されたクモヘリカメムシの口針鞘およびホソハリカメムシの穿孔の走査型電子顕微鏡撮影写真を図 2-10 に示す. クモヘリカメムシは「あいちのかおり SBL」に対して 97%, 「密陽 44 号」に対しては全て鉤合部 (図 2-10A) の隙間に口針を差し込み吸汁しており (図 2-7), 鉤合部に形成された口針鞘の直下の内穎を穿孔する場合は「あいちのかおり SBL」で 3%認められたただけであった (図 2-7). その加害様式は鉤合部の隙間に口針を差し込んだ後, 外穎の下側にある内穎が薄くなった辺縁部を穿孔するか (図 2-6F), 辺縁部に沿ってさらに口針を伸ばし, 辺縁部を超えたところで直接玄米を加害する (以下「内穎辺縁部のまたぎ」とする.) (図 2-6D, 2-6E) かのいずれかがほとんどであった (図 2-7). 内穎辺縁部を穿孔する場合は, 図 2-6F のように内穎の鉤状にせり上がった部分から穿孔し, 辺縁部を下から穿孔する場合と, 鉤合部の隙間に沿って口針を伸ばし辺縁部に達した

ところで上から穿孔する場合があった(データ省略)。以上が両品種にみられた共通する加害様式であったが、「密陽 44 号」は「あいちのかおり SBL」に比べ内穎辺縁部の穿孔が 10%少なく、内穎辺縁部のまたぎが 14%多かった(図 2-7)。ホソハリカメムシは両品種とも全箇所において内外穎に付着した口針鞘の直下を穿孔していた(図 2-7)。穎の表面は隆起した円形突起が縦列している(前田 1972)が、穿孔は全ての箇所(「密陽 44 号」が $n = 65$, 「あいちのかおり SBL」が $n = 104$ (2015 年の品種別検定))で図 2-6G に示した列間の谷間部分に認められた。

株当たりの口針鞘数は 2015 年のホソハリカメムシに対する試験を除き、「密陽 44 号」の方が多く、2013 年のクモヘリカメムシに対しては有意差がみられた(表 2-10)。一方、吸汁成功割合はカメムシ両種とも「密陽 44 号」が「あいちのかおり SBL」の 23%~68%と低く有意差が認められた(表 2-10)。

籾殻の断面の細胞の形態

クモヘリカメムシの加害部位である内穎の鉤合部では、赤く染色された厚壁細胞の細胞壁の厚さが出穂 20 日後において「密陽 44 号」が「あいちのかおり SBL」よりも有意($t = 8.93$, $df = 10$)に厚かった(図 2-8A, 2-8B および図 2-9A)。一方、ホソハリカメムシの加害部位である外穎中央部においては、出穂後日数と品種で厚壁細胞の細胞壁の厚さに有意な交互作用が認められた(図 2-9B)。厚壁細胞の細胞壁の厚さは出穂 10 日後と 20 日後のいずれも「密陽 44 号」が「あいちのかおり SBL」よりも有意に厚かった(図 2-8C~F および図 2-9B)。出穂後日数で比較すると、両品種とも出穂 20 日後は、10 日後よりも有意に厚かった(図 2-8C~F および図 2-9B)が、「密陽 44 号」の出穂 10 日後の細胞壁の厚さは「あいちのかおり SBL」の出穂 20 日後のそれと有意差が無く、同等であった(図 2-9B)。

剪穎処理した穂におけるカメムシ抵抗性集団検定

両品種とも両カメムシ種にほぼ全ての籾が加害され有意差は認められなかった(表 2-11)。加害痕形成部位の割合は両品種とも両カメムシ種において玄米剥き出し部が最も高く、籾殻下部は 6%以下と少なかった(表 2-11)。

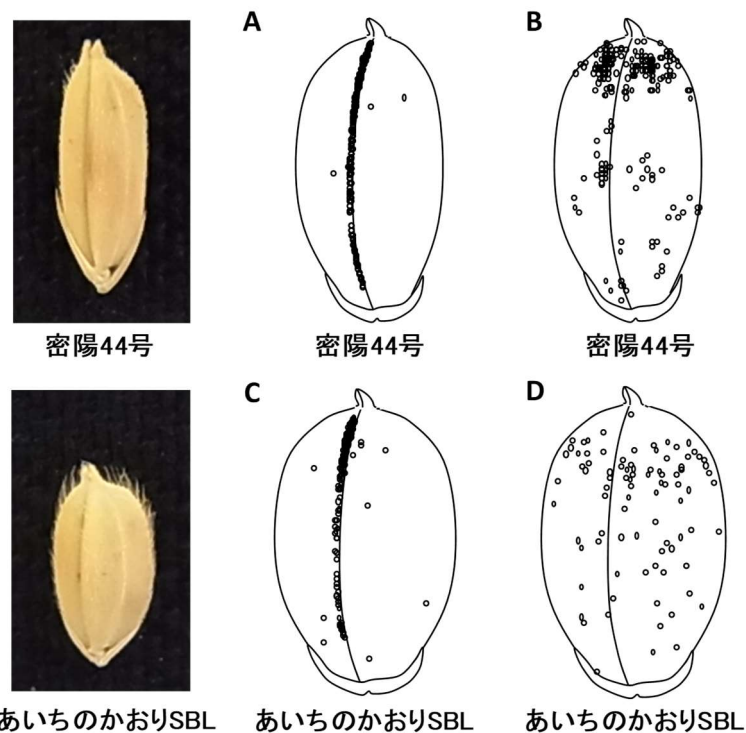


図 2-5. 「密陽 44 号」と「あいちのかおり SBL」の籾の実体画像（左側写真）と籾におけるクモヘリカメムシとホソハリカメムシの口針鞘の付着部位（黒点）
 籾は上が先端.

口針鞘は 2013 年に品種別検定に供試した 3 株について各株 1 穂を実体顕微鏡で観察した. 黒点はそのうち 2 穂分の口針鞘の付着部位を合わせて示した.

- A 「密陽 44 号」に対するクモヘリカメムシの口針鞘の付着部位.
- B 「密陽 44 号」に対するホソハリカメムシの口針鞘の付着部位.
- C 「あいちのかおり SBL」に対するクモヘリカメムシの口針鞘の付着部位.
- D 「あいちのかおり SBL」に対するホソハリカメムシの口針鞘の付着部位.

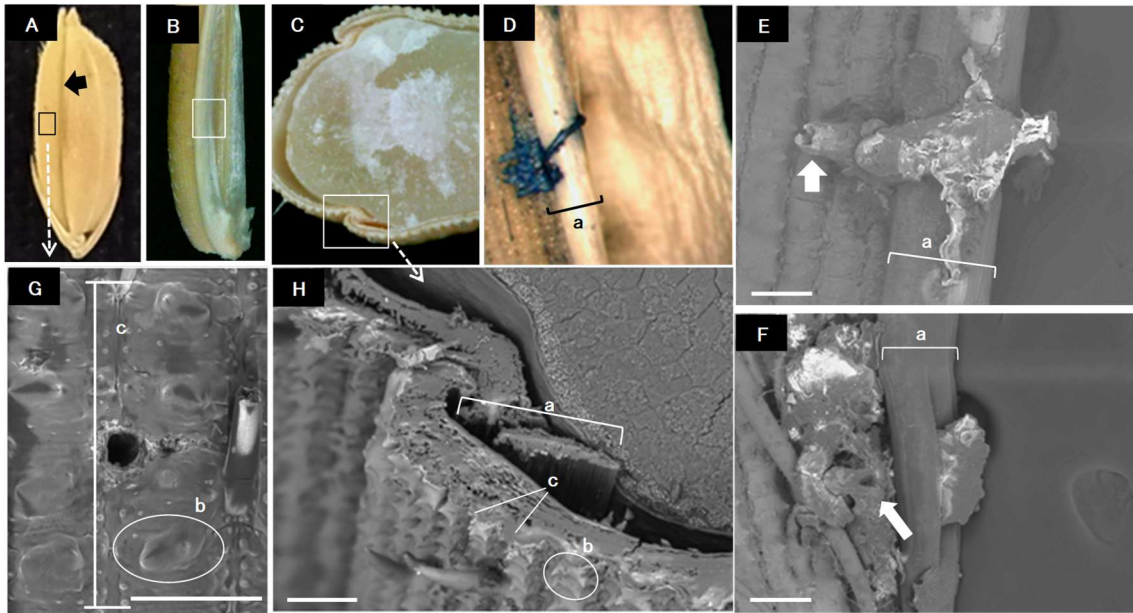


図 2-6. 「密陽 44 号」の鉤合部と内穎辺縁部に形成されたクモヘリカメムシの口針鞘
および内穎に形成されたホソハリカメムシの穿孔

A 粃 (黒い矢印が鉤合部), B 内穎 (四角部分が鉤合部), C 粃の断面 (四角部分が鉤合部), D クモヘリカメムシの口針鞘が内穎辺縁部 (a) に沿う様子 (口針鞘はメチレンブルー1%水溶液で染色されている. 左側は玄米), E クモヘリカメムシの口針鞘が内穎辺縁部 (a) に沿う様子 (白い矢印は口針の挿入口), F クモヘリカメムシの口針鞘が内穎辺縁部 (a) を貫通する様子 (白い矢印部分が口針の挿入口側で左の内穎辺縁部を下方から貫通している), G ホソハリカメムシによる内穎の円形突起 (b) の谷間 (c) に形成された穿孔 (真上に形成されていた口針鞘は除去), H 鉤合部と内穎辺縁部 (a), E~G は走査型電子顕微鏡で撮影, スケールバー = 100 μm .

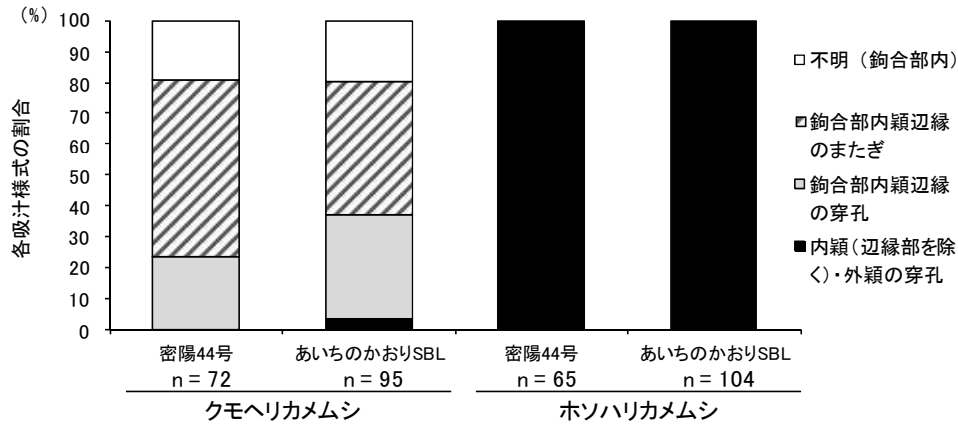


図 2-7. クモヘリカメムシとホソハリカメムシの加害様式の割合

加害様式は籾の表面に形成された口針鞘と籾殻の穿孔および玄米の加害痕から推定し、4 つに分類：内穎（辺縁部を除く）および外穎を穿孔，鉤合部内穎辺縁部の穿孔，鉤合部内穎辺縁部のまたぎによる直接の玄米への加害，鉤合部からの加害であるが，内部での加害様式不明（未特定）。

総数は 2015 年に品種別検定に供試した各株 2 穂のうち実体顕微鏡で観察した 1 穂の加害痕の合計値。

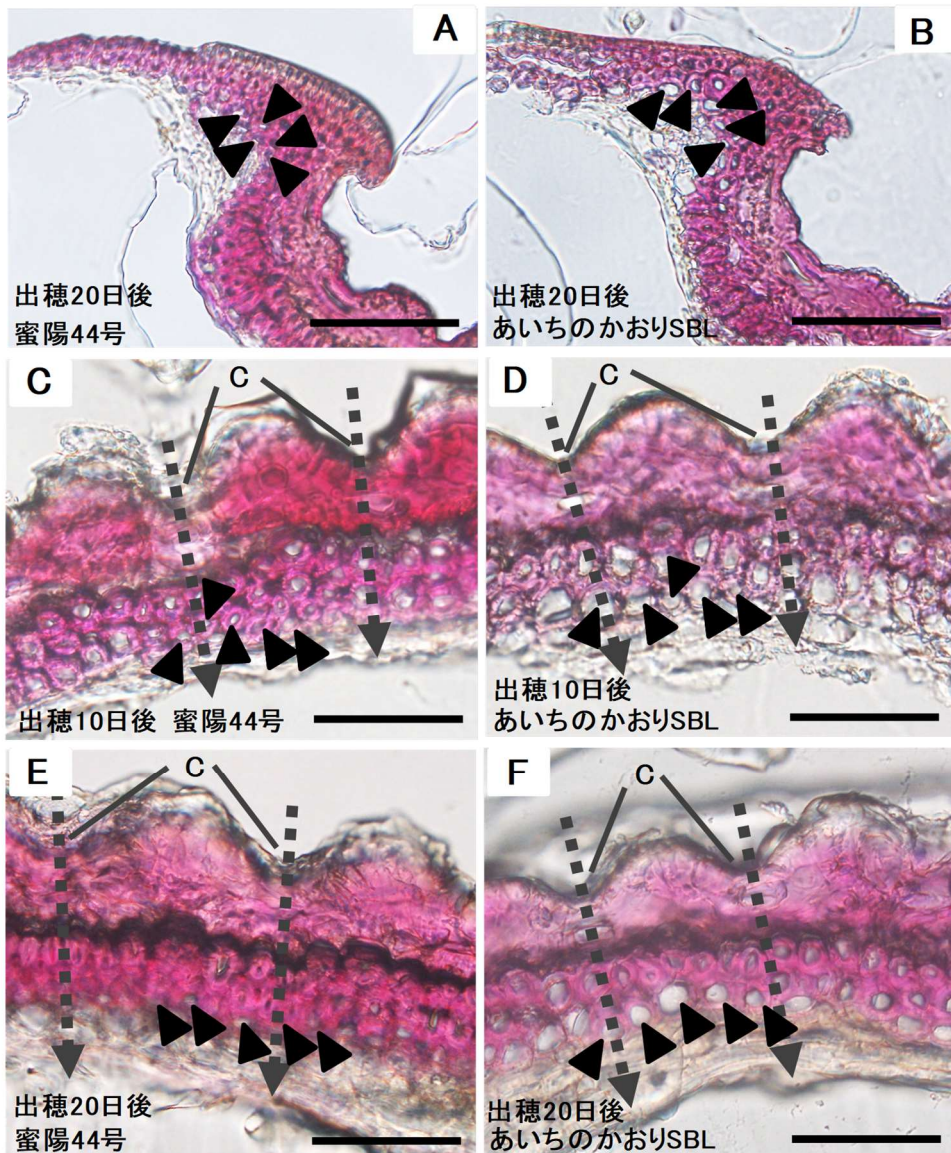


図 2-8. 出穂 10 日後および 20 日後の靱殻の断面の形態

c は円形突起の谷間，矢印は厚壁細胞，破線の矢印はホソハリカメムシの口針の貫通経路のイメージ，スケールバー = 50 μm .

A 「密陽 44 号」の出穂 20 日後の内穎の鉤合部（図 2-6B の四角部分に相当）の断面

B 「あいちのかおり SBL」の出穂 20 日後の内穎の鉤合部の断面

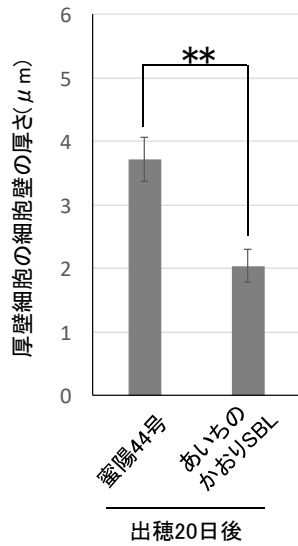
C 「密陽 44 号」の出穂 10 日後の外穎の中央部の断面

D 「あいちのかおり SBL」の出穂 10 日後の外穎の中央部の断面

E 「密陽 44 号」の出穂 20 日後の外穎の中央部の断面

F 「あいちのかおり SBL」の出穂 20 日後の外穎の中央部の断面

A



B

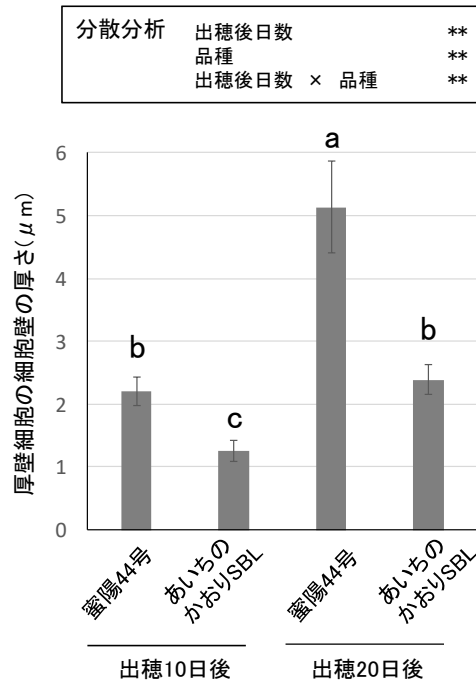


図 2-9. 「密陽 44 号」と「あいちのかおり SBL」の籾殻の厚壁細胞の細胞壁の厚さの比較

クモヘリカメムシの加害部位（内穎の鉤合部）（A）とホソハリカメムシの加害部位（外穎の中央部）（B）における厚壁細胞の厚さ. **は t 検定又は分散分析による有意差（ $P < 0.01$ ）があること，異なる英小文字は Tukey の HSD 検定で出穂後日数および品種間で有意差（ $P < 0.05$ ）のあることを示す. 全ての値は平均値±標準誤差（ $n = 6$ ）.

表2-8. クモヘリカメムシを放飼した品種別検定による斑点米数および斑点米率

試験年	品種名	籾数 ¹⁾	斑点米数 ¹⁾	(比較対比(%))	斑点米率(% ²⁾	(比較対比(%))	カメムシ一頭一日当たりの斑点米産出数 ³⁾
2013	密陽44号	201 ± 27	34 ± 3	(42)	17 **	(33)	1.1
	あいちのかおりSBL	155 ± 23	80 ± 12		52		2.7
2015	密陽44号	215 ± 15	44 ± 5	(63)	20 *	(65)	1.6
	あいちのかおりSBL	223 ± 30	70 ± 5		32		2.5

1) 数値は検定に供したポット当たり2穂合計の平均値±標準偏差.

2) 逆正弦変換した後に統計処理を行った.

3) 2013年:斑点米数 / 6日間 / 5頭, 2015年:斑点米数 / 7日間 / 4頭.

*, **はt検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があることを示す.

表2-9. ホソハリカメムシを放飼した品種別検定による斑点米数および斑点米率

試験年	品種名	籾数 ¹⁾	斑点 米数 ¹⁾	(比較 対比(%))	斑点 米率(% ²⁾)	(比較 対比(%))	カメムシ一頭一 日当たりの斑点 米産出数 ³⁾
2013	密陽44号	190 ± 33	30 ± 7	(41)	16 **	(39)	1.0
	あいちのかおりSBL	182 ± 22	74 ± 10		41		2.5
2015	密陽44号	183 ± 24	32 ± 4	(48)	18 *	(55)	1.2
	あいちのかおりSBL	212 ± 64	68 ± 24		32		2.4

1) 数値は検定に供したポット当たり2穂合計の平均値±標準偏差.

2) 逆正弦変換した後に統計処理を行った.

3) 2013年:斑点米数 / 6日間 / 5頭, 2015年:斑点米数 / 7日間 / 4頭.

*, **はt検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があることを示す.

表2-10. 品種別検定におけるカメムシ種別の口針鞘数と加害痕数及び吸汁成功割合

カメムシ種	試験年	品種名	粒数	口針鞘数	口針鞘数 / 粒	加害痕数	吸汁成功割合(%) ¹⁾	(比較対比(%))
クモヘリ カメムシ	2013	密陽44号	114 ± 15	176 ± 22	1.58 ± 0.39	22 ± 12	12 **	(26)
		あいちのかおりSBL	84 ± 19	92 ± 9	1.12 ± 0.26	45 ± 7	49	
	2015	密陽44号	110 ± 24	101 ± 48	0.89 ± 0.35	24 ± 12	24 **	(46)
		あいちのかおりSBL	118 ± 31	63 ± 19	0.56 ± 0.23	32 ± 5	51	
ホソハリ カメムシ	2013	密陽44号	95 ± 31	87 ± 53	0.98 ± 0.56	12 ± 4	15 **	(23)
		あいちのかおりSBL	79 ± 15	40 ± 5	0.51 ± 0.08	27 ± 10	66	
	2015	密陽44号	93 ± 15	44 ± 18	0.49 ± 0.25	22 ± 9	50 *	(68)
		あいちのかおりSBL	118 ± 62	48 ± 14	0.50 ± 0.25	35 ± 4	74	

1) 加害痕数 / 口針鞘数 × 100. 逆正弦変換した後に統計処理を行った.

数値は品種別検定に供した各ポット2穂のうち実体顕微鏡で観察した1穂の平均値 ± 標準偏差.

*, **はt検定でそれぞれ5%, 1%水準で有意差があることを示す.

表2-11. 剪穎処理した籾の斑点米率および加害痕形成部位

カメムシ種	品種名	籾数	斑点米数	斑点米率 (%) ¹⁾	加害痕形成部位別斑点米の割合 (%)			
					玄米剥き出し部 ²⁾	籾殻下部 ³⁾	両方 ⁴⁾	不明
クモヘリ	密陽44号	38 ± 9	38 ± 9	100 n.s.	75	3	14	8
カメムシ	あいちのかおりSBL	25 ± 10	25 ± 10	100	70	5	2	23
ホソハリ	密陽44号	32 ± 14	30 ± 10	93 n.s.	66	6	23	5
カメムシ	あいちのかおりSBL	25 ± 13	24 ± 12	97	67	3	13	16

1) 逆正弦変換した後に統計処理を行った。

2) 剪穎処理により剥き出しになった玄米部分。

3) 籾殻に包まれた玄米部分。

4) 玄米剥き出し部と籾殻下部の両方

数値は検定に供したポットの穂当たりの平均値±標準偏差。

n.s.はt検定で有意差がないことを示す。

考察

カメムシ抵抗性品種別検定

クモヘリカメムシとホソハリカメムシの寄生数を同一にし、かつカメムシの移動を制限した場合においても「密陽 44 号」は抵抗性を示すことが確認された(表 2-8, 9)。これは「密陽 44 号」が両種のカメムシにとって餌が本品種しかなく、非選好性が機能しない場合においても抵抗性を示すことを意味している。このため、「密陽 44 号」は斑点米カメムシが他品種に移動しにくい大規模な圃場栽培を行った場合にも抵抗性を示すことが期待され、本品種の斑点米カメムシ抵抗性ドナー品種としての有用性が高いことが示された。

カメムシ種別の加害様式と吸汁成功割合

口針鞘の付着部位は、クモヘリカメムシは鉤合部に集中し、ホソハリカメムシは内外穎全体にわたっていた(図 2-5)。この観察結果はこれまでの報告(川村 1993; 古家・清田 1993; 竹内ら 2004)と一致していた。しかし、穂当たりの口針鞘数は、2015 年のホソハリカメムシに対する試験を除き、「密陽 44 号」の方が多く、2013 年のクモヘリカメムシに対する試験では有意差がみられた(表 2-10)。この結果は、両カメムシ種とも「密陽 44 号」に対して吸汁の試み自体は「あいちのかおり SBL」と同等以上に行っていたことを示している。一方、吸汁成功割合は、カメムシ両種とも「密陽 44 号」が「あいちのかおり SBL」よりも有意に低く(表 2-10)、これが斑点米率を低くしている原因となっていた。これらのことから、「密陽 44 号」の抵抗性機構は斑点米カメムシが吸汁を試みるものの吸汁できない、すなわち吸汁のしにくさにあると考えられた。

この吸汁のしにくさについてカメムシ種別に検討する。クモヘリカメムシの口針鞘は鉤合部の内穎側に付着していたが、その直下に穿孔はほとんどなかった(図 2-7)。多くの場合は鉤合部の隙間に口針を挿入し、外穎の下側に位置する内穎が薄くなった辺縁部を穿孔して吸汁するか、さらに奥まで口針を伸ばし、辺縁部をまたいで吸汁し

ていた（図 2-6, 7）. 中には鉤合部の隙間に口針を挿入後、口針を伸ばす障害となる内穎が鉤状に立ち上がった部分を穿孔したり、裂開しながら辺縁部まで口針を到達させる様子も観察された（図 2-6）. クモヘリカメムシがこのように内穎の薄くなった辺縁部を穿孔することは竹内ら（2004）によっても報告されているが、今回鉤合部の隙間において内穎の形状に沿って曲がった口針鞘が認められたことから、クモヘリカメムシは口針を鉤合部の隙間に沿って曲げながら挿入し、内穎の穿孔をなるべく避けて吸汁していると考えられた. このことから、「密陽 44 号」の抵抗性機構は鉤合部の隙間から口針を挿入しにくいことや、挿入後も口針を鉤合部のすきまに沿って深く挿入しにくいこと、あるいは口針を挿入する障害となる内穎が鉤状に持ち上がった部分を穿孔しにくいこと、辺縁部まで口針が到達しても辺縁部を穿孔しにくいことなどが考えられた. 一方、ホソハリカメムシは内外穎全体に形成された口針鞘の直下に穿孔と加害痕がみられた（図 2-6, 7）. このことから「密陽 44 号」のホソハリカメムシに対する抵抗性機構は籾殻の貫通のしにくさであると考えられた. さらに詳細には、口針鞘と穿孔は籾表面上の円形突起が縦列している列間のいわば谷間部に形成されていた（図 2-6）ことから、少なくともこの谷間部の上表皮から下表皮までのいずれかの組織に穿孔しにくい機構があると考えられる.

籾殻における斑点米カメムシ抵抗性機構

「密陽 44 号」の穂を剪穎処理した結果、玄米剥き出し部を集中加害され、「あいちのかおり SBL」と同程度の吸汁加害を受けた（表 2-11）ことは、籾殻が抵抗性機構に重要な役割を果たしていることを示唆している. 徐・太田（1983）は稔実籾が物理的に強固である理由として、籾殻の表皮部における珪酸の集積とともに、厚膜組織におけるリグニンの形成を挙げている. 「密陽 44 号」は斑点米カメムシの加害抑制効果が確認されている出穂 20 日後において、リグニンを含む籾殻の厚壁細胞の細胞壁が「あいちのかおり SBL」よりも厚かった（図 2-8, 2-9）ため、これが籾殻を強固にし、抵抗性機構として働いている可能性がある. 第 2 章の 2-1 において「密陽 44 号」の斑点米カメムシ抵抗性は出穂 10 日後では不安定であったが、出穂 10 日後の「密陽 44 号」の籾殻では厚壁細胞の細胞壁は同時期の「あいちのかおり SBL」より有意に厚い

ものの、出穂 20 日後の「密陽 44 号」より有意に薄く、同時期の「あいちのかおり SBL」と同程度であった（図 2-8, 2-9）。このことから、出穂 10 日後の籾殻は、厚壁細胞の細胞壁が「あいちのかおり SBL」よりも厚いものの、抵抗性機構として機能するほど強固でなかった可能性がある。今回、抵抗性機構としての可能性が示唆された籾殻の厚壁細胞の細胞壁の厚さは、籾殻を穿孔して吸汁するホソハリカメムシに対して穿孔のしにくさとして表れると考えられる。一方、鉤合部の隙間から口針を挿入して吸汁するクモヘリカメムシに対しても、図 2-6F でみられたような鉤合部内部の内穎の破壊のしにくさとして表れると考えられる。このことは、「密陽 44 号」が「あいちのかおり SBL」よりも内穎辺縁部の穿孔による加害割合が低く、またぎの割合が高かったこと（図 2-7）から支持される。しかし、その差はそれぞれ 10%と 14%で、斑点米率の低減割合と比べると小さいことから、抵抗性機構を完全に説明できていない。このため、抵抗性機構は、ホソハリカメムシとクモヘリカメムシに対して異なる可能性もあり、今後、籾殻の厚壁細胞の細胞壁の厚さが抵抗性として働くメカニズムを解明するとともに、他の要因についてもさらに検討を要する。例えば、「密陽 44 号」は吸汁成功割合が低く（表 2-10）、両種のカメムシに吸汁されていない籾の部位にも口針鞘の形成が多数認められた。これは両種のカメムシが籾殻の穿孔を試みている段階で唾液を出していることを意味している。半翅目の昆虫の唾液には様々な酵素が含まれており、マキバメクラカメの唾腺にアミラーゼとプロテアーゼが含まれている（Hori 1973）他、ツマグロヨコバイから吐出された唾液にラッカーゼ（服部 2001）やベータガラクトシダーゼ（服部ら 2003）が含まれることなどが報告されている。クモヘリカメムシやホソハリカメムシの唾液中の成分は明らかでないが、籾殻の穿孔を試みている際にも吐出されていることや、クモヘリカメムシのように口針を曲げて挿入する場合、口針の力だけでは籾殻を穿孔しにくいことも考えられることから、唾液が穿孔を補助している可能性もある。このため、「密陽 44 号」の抵抗性機構を今後さらに明らかにしていくうえでは、リグニン同様、籾の登熟とともに蓄積され籾殻に物理的な強度をもたらす珪酸（徐・太田 1982）や、鉤合部内部の構造の他、斑点米カメムシが吐出する唾液との相互作用の有無についても検討する必要があると考えられる。

第3章

米の澱粉組成タイプと製粉特性，吸水特性ならびに
胚乳細胞組織の形態との関係

緒言

近年、水田の有効利用による食料自給率の向上を図るため、米粉用途をはじめとした新規需要に向けた米の活用が推進されている。これにより、主食用とは異なる澱粉組成をもつ高アミロース品種や超多収品種といった他用途米が育成され、それらの品種から米粉パンや米麺の商品も開発されてきている。

澱粉組成に関しては複数の遺伝的変異が知られており、アミロース含有率が *Wx* 遺伝子座によって大きく制御されること (Sano 1984) や、アミロペクチンの側鎖長が *Alk* 遺伝子座によって制御され、短鎖比率の高い S タイプと同比率の低い L タイプに大別されること (Umemoto ら 2002, Nakamura ら 2002) が報告されている。またアミロペクチンの側鎖がアミロース様に発達した超長鎖 (以下、アミロペクチン SLC (super long chain) とする.) は、日本型品種ではほとんど含まれない K (コシヒカリ) タイプが、高アミロース品種では 5~7% 含まれる H (ホシユタカ) タイプと 13~16% 程度含まれる Y (夢十色) タイプに分けられ (Horibata ら 2004), SLC 含有率が *Wx* 遺伝子座で制御されることも明らかとなっている (Aoki ら 2006)。そしてこのような澱粉に関する遺伝的変異を組み合わせると、澱粉組成に基づいて米を 10 グループに大別し得ることが報告されている (梅本 2009)。これら米の澱粉組成は、米粉食品への加工性に影響することが明らかとなっている。すなわち米粉パンにおいてはアミロース含量が低いとパンが焼成後に収縮しやすくなり (青木 2008)、米麺ではアミロペクチン短鎖比率が低い米粉を使用すると、麺生地を糊化させた後の付着性の消失時間が早く麺の裁断性も良い (中村ら 2008)。一方、澱粉組成とともに米粉加工性に影響を及ぼす重要な要素として製粉性 (宍戸・江川 1992, 荒木ら 2007) と米粉吸水性 (瀧尾 2007) が報告されている。しかし、澱粉組成と製粉性、米粉吸水性および製粉性に影響する胚乳細胞組織の形態との関係についてはこれまで十分に検討されていない。これらの関係を解明することができれば、品種の澱粉組成を調べることによって糊化特性と同時に製粉性および米粉吸水性を推定でき、米粉加工適性や米粉加工時における最適の加水量を検討するうえで参考にできる。そこで本研究では、米

粉パンや米麺への加工適性が高いとされる中～高アミロースの 27 品種・系統を用いて、澱粉組成をタイプ区分し、区分に基づいた澱粉組成と製粉性（米粉粒径，米粉澱粉損傷度），米粉吸水性および胚乳細胞組織の形態との関係を検討した。

材料および方法

供試材料の栽培概要および調製

日本型品種，インド型品種，それらの他用途米および澱粉組成が異なる「日本晴」の準同質遺伝子系統（near isogenic line; NIL）（井ノ内 2010, Umemoto ら 2008）を含む 27 品種を供試した（表 3-1, 表 3-2）。「日本晴 NIL」は澱粉粒結合型澱粉合成酵素 I（GBSS I）をコードする W_x 遺伝子の座乗染色体領域をインド型品種「Kasalath」の遺伝子型（ W_x^a ）に置換した NIL（ W_x^a ）と，澱粉合成酵素 II a（SS II a）をコードする A/k 遺伝子座領域を「Kasalath」型（ A/k ）に置換した NIL（ A/k ），さらにその両方を置換した NIL（ $W_x^a, A/k$ ）を供試した．栽培は 2006～2009 年までの 4 ヶ年，各年 2～27 品種を愛知県農業総合試験場内（愛知県長久手市）の水田圃場にて行い，各年とも 5 月下旬に 1 株 1 本植（30 cm×15 cm）で 1 品種当たり 27 m² 移植した．施肥は全層用全量基肥で N, P₂O₅, K₂O をそれぞれ 0.6, 0.4, 0.3 gm⁻² の割合で施用した．

玄米は青未熟粒とくず米が 10% 以下となるよう品種毎の粒厚に応じて 1.6～1.8 mm の篩でふるって整粒とした．整粒は精米器（MR-D720W, ツインバード工業）で糠および胚が除去できるまで品種に応じて 83～91% に精米した．製粉方法は 2006 年産米については，精米を水分 11～13% まで自然乾燥した後に，サイクロンミル（Cyclone Sample Mill, UDY, スクリーンメッシュ 1.0 mm）およびボールミル（MM2000, Retsch, Amplitude100, 2 分間粉碎）で製粉して 2 種類の精米粉を得た．2007, 2008 年産米は精米を室温の水に 2 時間浸漬した後，高速脱水機（C14LSS, SOMELA）で 30 秒脱水し，上述のサイクロンミルで粉碎した．さらに 2007 年産については粉碎して得た精米粉を 200 メッシュの篩にとおした（いずれの製粉方法による精米粉も以下，米粉とする）．

DNA マーカーによる澱粉組成の識別

アミロース含有率を制御する W_x^a , W_x^b 遺伝子型の識別は Yamanaka ら（2004）

が作成した dCAPS マーカーを用いた。アミロペクチン側鎖長分布の S, L 型を制御する *Alk* 遺伝子型の識別は Hiratsuka ら (2010) の SNP マーカーを用いた。*Alk* 遺伝子型は, SNP3 が A 又は SNP4 が TT であると酵素活性欠損型の *alk*, SNP3 が G かつ, SNP4 が GC であると機能型の *Alk* とした。アミロペクチン SLC 含有率は, *Wx* 遺伝子の第 10 エキソンにみられる Y タイプに特有な配列に着目して青木 (注: 私信) が作製した H, Y タイプを識別するマーカーを用いた。プライマーの配列は Exon10-1: GCATCACCGGCATCGTC, Exon10-2: GCGGCCATGACGTCCGA である。タイプ区分は, マーカーが識別する 1 塩基置換がシトシン (C) である H タイプ, チミン (T) である Y タイプとした。アミロペクチン SLC 含有率は後述するようにラピッドビスコアアナライザーのセットバック値と相関のあることが明らかになっているが, *Wx* 遺伝子のエキソン 10 の多型はそのセットバック値と関連している (Traore ら 2011)。

アミロース含有率およびアミロペクチン側鎖長分布の測定

見かけのアミロース含量は, 100 mg の米粉を 0.5 N 水酸化ナトリウム水溶液で一晩かけて膨潤させオートアナライザー II 型 (AutoAnalyzer II, Bran+Luebbe) で測定した。検量線は糯米粉にポテトアミロース (Sigma Type III) を混合した粉を用い, 米標準試料には「日本晴 (ビーエルテック, アミロース 18.1%, 水分 13.4%)」を使用した。

アミロペクチン側鎖長分布は Umemoto ら (1999) に従い, HPAEC-PAD (high-performance anion exchange chromatography with a pulsed amperometric detector) 法で測定した。すなわち, 米粉を脱脂後, 熱糊化させイソアミラーゼでアミロペクチンの枝切り処理をした。枝切り後のサンプルの鎖長を高性能陰イオン交換クロマトグラフィー・パルスドアンペロメトリック検出 (DX-500, Dionex) で求めた。各分析は 2 反復で行った。

ラピッドビスコアアナライザーによるセットバック値の測定

水分 14% に換算した米粉 3.5 g に 25 ml の水を加えラピッドビスコアアナライザ

ー (RVA) (RVA-4, Newport Scientific) で粘度変化を測定し、最終粘度と最低粘度の差をセットバック値として求めた。測定プログラムは、初期温度を 50°C で 1 分間保持し、4 分間で 93°C まで上昇させてそのまま 7 分間保持し、続けて 4 分間で 50°C まで冷却、さらに 50°C で 3 分間保持する計 19 分間の設定とした。測定は 2 反復で行った。

製粉特性、吸水特性および米粒白度の測定

米粉の粒径は、レーザー回折式乾式粒度分布測定装置 (HELOS&RODOS, Sympatec) で測定し、体積基準粒度分布から米粉粒径中央値を求めた。

米粉の澱粉損傷度は、損傷澱粉測定キット (starch damage kit, Megazyme) を用い、所定の方法で測定した。

飽和吸水率は、奈良ら (1968) および有坂ら (1992) の方法に準じて測定した。すなわち、アリーン氏管形ガラス濾過器 (G4 型) に水分を測定した試料 5 g を秤り入れ、25°C で 24 時間吸水させた。次いでこの濾過器を遠沈管に入れ蓋をし、遠心脱水 (1610 g, 40 分) した後、試料重量を測定して乾物重当たりの吸水率を求めた。

精米および玄米白度の測定は、試料 (約 6 g) を測定容器に充填し、分光測色計 (CM-3500d, コニカミノルタ) で L^* , a^* , b^* を測定したのち、白色度 (W) = $100 - ((100 - L^*)^2 + a^2 + b^2)^{1/2}$ の式で算出した。

澱粉損傷度、飽和吸水率、米粒白度の測定は、いずれも 2 反復で行った。

走査型電子顕微鏡による胚乳細胞組織の観察

2008 年産の「日本晴」および「日本晴 NIL」の玄米を米粒中心部付近で長軸に対し垂直方向に薄片カミソリで割断し、走査型電子顕微鏡 (S-3400N, 日立ハイテクノロジーズ) で横断面の中心部周辺を観察した。観察は各系統 5~7 粒行い、観察条件は加速電圧 8 kV, 低真空度 70 Pa, -25°C とした。また、澱粉粒の大きさを走査型電子顕微鏡の付属ソフト (SEM Data Manager) で測定した。

結果

澱粉タイプの区分

表 3-1 に DNA マーカーによる W_x , Alk 両遺伝子型の識別結果と澱粉組成（見かけのアミロース含有率, アミロペクチン短鎖比率（重合度 6-11 / 12-24））および RVA セットバック値を示した。

DNA マーカーによる識別の結果, アミロース含有率を制御する W_{x^a} , W_{x^b} の判定で, すべての日本型食用米と「TS-3」, インド型他用途米「タカナリ」および日本型他用途米「アケノホシ」が W_{x^b} に, それ以外の品種・系統は W_{x^a} に区分された（表 3-1）. 次にアミロペクチン SLC 含有率を制御する W_x 遺伝子の第 10 エキソンの SNP 遺伝子型の判定によって, W_{x^a} のグループをホシユタカ型（H）と夢十色型（Y）に区分した（表 3-1）. さらに, 上述によって区分された 3 グループはアミロペクチン鎖長分布を制御する Alk , alk の判定によってそれぞれ 2 分された（表 3-1）. これによって, DNA マーカーによる多型から供試した品種・系統は 6 タイプに細分できた（表 3-1）.

一方, 澱粉分析の結果, 見かけのアミロース含有率は 2007 年産が 2006 年産よりも全体に低い傾向であったものの, 2 ヶ年ともに W_{x^b} グループが 23.0% 以下（中アミロース）であったのに対し, W_{x^a} グループは 25.8% 以上（高アミロース）で両グループ間に有意差が認められた. また, アミロペクチン側鎖長分布の特徴を短鎖比率でみると, 0.33~0.40 の L タイプと 0.49~0.55 の S タイプに大別でき, L タイプが DNA マーカー識別結果の Alk グループと, S タイプが alk グループと一致した. RVA セットバック値は, おおよそ 4 つのグループに分けることが出来た. すなわちアミロース含有率と同様に日本型品種, 「TS-3」, 「タカナリ」 および 「アケノホシ」 からなる 120 RVU 以下のグループ, 「ホシユタカ」 や 「Kasalath」 を含む 140 RVU~172 RVU のグループ, 「IR36」 等のインド型 4 品種からなる 184 RVU~191 RVU のグループ, および 209 RVU 以上を示す「夢十色」 等のインド型 5 品種からなるグループである. RVA セットバック値は, SLC 含有率と正の相関が高いこと（Horibata ら 2004）が

明らかとなっているため、RVA セットバック値と SLC 含有率を識別する DNA マーカーによる判別結果との対応をみると、RVA セットバック値が最も低いグループは DNA マーカーで判別した W_{x^b} グループと、RVA セットバック値が 2 番目に低いグループは DNA マーカーで判別した W_{x^a} でホシユタカ型のグループと一致した。RVA セットバック値が最も高いグループと次に高いグループは DNA マーカーで判別した夢十色型のグループと一致した。

このように、澱粉分析結果は DNA マーカーによる判別と矛盾しなかったため、上記 6 タイプを、アミロース含有率とアミロペクチンの推定 SLC 含有率に基づく K, H, Y および短鎖比率に基づく L, S の分類を組み合わせた 6 組合せ、KS, KL, HS, HL, YS, YL と標記することにした（表 3-1）。

米粉の粒径および澱粉損傷度

2006 年産の澱粉組成タイプ間の米粉粒径中央値は、粉砕方法に関わらずアミロペクチンの推定 SLC 含有率で分類したコシヒカリ型 (K) > ホシユタカ型 (H) > 夢十色型 (Y) の傾向を示し、サイクロンミルで製粉した場合は KS > (YS, YL) の関係で、ボールミルで製粉した場合には KS > (HL, YS, YL) の関係で有意差が認められた（表 3-2）。また、見かけのアミロース含有率と米粉粒径中央値との間にも両製粉方法とも有意な負の相関が認められた（表 3-3, 図 3-1）。アミロペクチン短鎖比率と米粉粒径中央値の間ではボールミルで製粉した場合のみ有意な正の相関が認められた（表 3-3）。2007 年産と 2008 年産は精米を 2 時間吸水させてからサイクロンミルで製粉し、2007 年産はさらに 200 メッシュの篩をとおした。その結果、米粉粒径中央値は、2006 年産のサイクロンミルで製粉した米粉よりも小さくなった（表 3-2）。それでも澱粉組成タイプ間の粒径中央値の関係は 2006 年産と同じくコシヒカリ型 (K) > ホシユタカ型 (H) > 夢十色型 (Y) であり（表 3-2）、有意差も 2006 年産と同一の関係で認められた。見かけのアミロース含有率と米粉粒径中央値との間にも 2007 年産は 2006 年産と同じく有意な負の相関が認められた（表 3-3）。

米粉澱粉損傷度は、2006 年産は製粉法によらずアミロペクチン短鎖比率の低い KL, HL, YL がそれぞれ短鎖比率の高い KS, HS, YS に対して低い傾向にあり、サイク

ロンミルで製粉した場合には $YL < (HL, YS) < (KS, HS)$ の関係で、ボールミルで製粉した場合には $YL < (KS, HS)$ の関係で有意差が認められた (表 3-2)。また、グループを込みにしたアミロペクチン短鎖比率と米粉澱粉損傷度との間にも比較的高い有意な正の相関が認められた (表 3-3, 図 3-1)。2007, 2008 年産は精米を吸水させてから製粉しており、2006 年産よりも全体に澱粉損傷度が低く澱粉組成タイプ間の差が縮小された (表 3-2)。澱粉組成タイプ間で比較すると 2007 年産は 2006 年産と同様にアミロペクチン短鎖比率の低い KL, HL, YL がそれぞれ短鎖比率の高い KS, HS, YS に対して低くなる傾向を示した。有意差は $(HL, YL) < KS$ で認められた (表 3-2)。2008 年産は $(HL, YL, YS) < KS$ で有意差が認められた (表 3-2)。

一方、澱粉損傷度とアミロース含有率との間には、2006 年産、2007 年産ともに相関は認められなかった (表 3-3, 図 3-1)。

米粉および精米の飽和吸水率

サイクロンミルで粉砕した米粉の飽和吸水率を澱粉組成タイプ間で比較すると、高アミロースである H, Y タイプにおいて S タイプが L タイプより高く、 $(KS, HS) > (HL, YL)$ と $YS > YL$ の関係で有意差が認められた (表 3-2)。アミロペクチン短鎖比率と飽和吸水率には有意な正の相関が認められた一方、アミロース含有率と飽和吸水率には有意な負の相関が認められた (表 3-3)。しかし、米粉の飽和吸水率は澱粉損傷度の影響を受ける (長尾 1992) ため、飽和吸水率と澱粉損傷度の相関をみると、両者には高い正の相関が認められた (表 3-3)。そこで澱粉損傷度の影響を排除するため、精米を用いて飽和吸水率を測定した結果、2008 年産は高アミロースタイプが中アミロースタイプよりも低い傾向が米粉よりも明確に表れ、 $(KS, KL) > (HS, HL, YL)$ の関係で有意差が認められた (表 3-2)。一方 S, L タイプ間で比較すると有意差は認められなかったものの、米粉同様に $HS > HL$ および $YS > YL$ の傾向を示した。「日本晴 NIL」を用いた澱粉タイプ別の精米吸水率も同様の傾向であった (表 3-2)。2009 年産は 2 品種のみの分析であるが、ホシニシキ (HS) $>$ 北陸 207 号 (HL) 間に有意差が認められた。

精米および玄米白色度

精米白色度は澱粉組成タイプ間で有意差が認められなかった(表 3-2)。しかし、精米白色度が供試品種・系統の果皮色と精米歩合の影響を受けていることも考えられたため、それらの影響を排除するために「日本晴 NIL」の 2008 年産の玄米でも同様の測定を行った。その結果、L タイプの白色度が高く、KS < (KL, HL) と HS < HL の関係で有意差が認められた(表 3-2)。なお、白色度は腹白粒や背白粒といった白未熟粒の発生程度の影響も受けると考えられるが、達観調査による供試品種の白未熟発生程度は澱粉タイプとは独立しており(データ略)、「日本晴 NIL」の玄米白色度の差もうすい乳白様の粒全体にみられる白濁程度が影響していると考えられた。

胚乳細胞組織の形態

「日本晴」および「日本晴 NIL」の米粒中心部の胚乳細胞壁に沿った切断面と、同部位の胚乳細胞内を切断して澱粉粒が剥き出しとなった切断面を図 3-2 に示した。胚乳細胞壁に沿った切断面では、「日本晴 NIL (A1k), (W_{x^a), (W_{x^a, A1k)」はいずれも「日本晴」より小さい澱粉粒や棒状の澱粉粒が多く認められ、さらに L タイプの「日本晴 NIL (A1k)」と「日本晴 NIL (W_{x^a, A1k)」は澱粉粒間に空隙が多く存在した。胚乳細胞内を切断した切断面では、L タイプの「日本晴 NIL (A1k)」と「日本晴 NIL (W_{x^a, A1k)」の澱粉粒表面に凹みが認められた。また、澱粉粒の大きさは、「日本晴 NIL (A1k), (W_{x^a), (W_{x^a, A1k)」はいずれも「日本晴」より小さく、特に「日本晴 NIL (W_{x^a, A1k)」は小さかった。図 3-2E~H の代表的な澱粉粒の大きさの平均値は、「日本晴 NIL (W_{x^a, A1k)」, 「日本晴 NIL (W_{x^a)」, 「日本晴 NIL (A1k)」, 「日本晴」の順に、単粒デンプンで 4.4 μm, 5.7 μm, 5.6 μm, 7.7 μm, 複粒デンプンで 10.5 μm, 13.6 μm, 14.8 μm, 15.4 μm であった。}}}}}}}}}

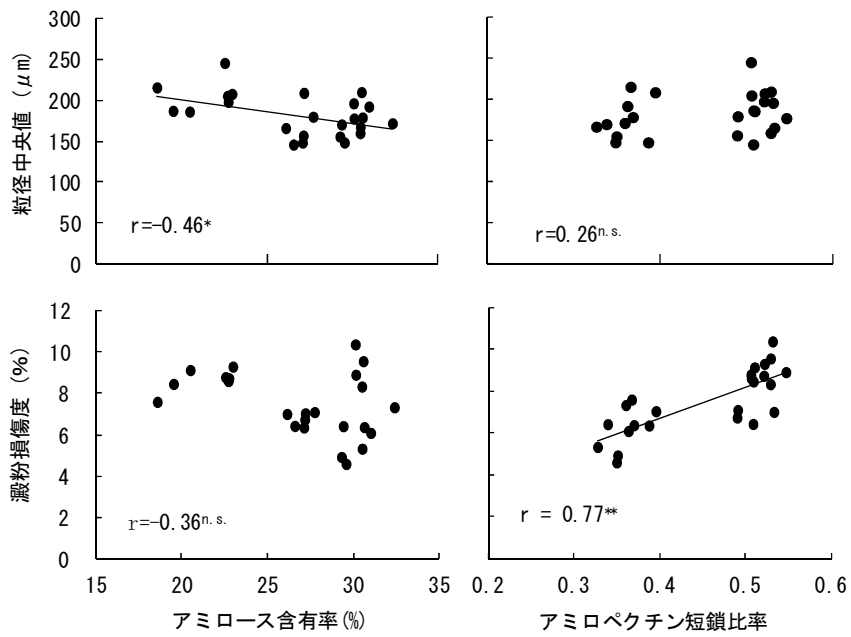


図 3-1. サイクロンミルで製粉した 2006 年産米粉の Amylose 含有率および Amylopectin 短鎖比率と粒径中央値および澱粉損傷度の関係

*, **はそれぞれ 5%, 1%水準で有意差があること, ns は有意差がないことを示す.

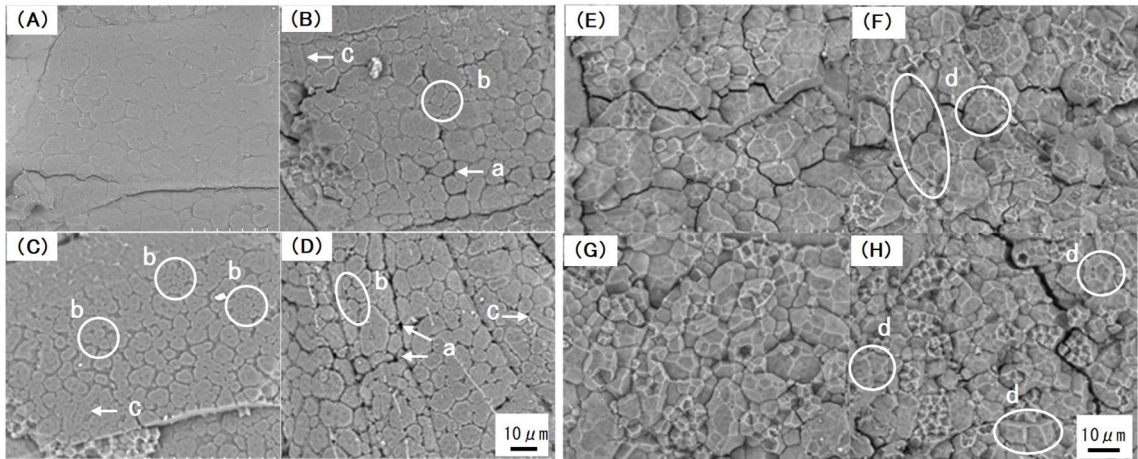


図 3-2. 「日本晴」および「日本晴 NIL」の玄米断面の走査電子顕微鏡による観察像
(倍率 1000X)

(A) ~ (D) : 胚乳細胞の表面. (E) ~ (H) : 胚乳細胞が破断されて露出した澱粉粒.
 (A), (E) : 「日本晴」. (B), (F) : 「日本晴 NIL (*Alk*)」. (C), (G) : 「日本晴 NIL (*Wxa*)」.
 (D), (H) : 「日本晴 NIL (*Wxa*, *Alk*)」. a : 澱粉粒間の間隙. b : 小型の澱粉粒.
 c : 棒状の澱粉粒. d : 表面が凹んだ澱粉粒.

表3-1. 供試品種・系統の澱粉組成分析およびDNAマーカーによる澱粉関連遺伝子の識別結果と澱粉組成タイプ区分

品種系統名(特徴)	アミロース含有率(%) ¹⁾		アミロペクチン短鎖比率 ²⁾	RVAセットバック値	DNAマーカーによる識別			澱粉組成グループ			
	2006産	2007産	2006産	2006産	<i>Wx</i>	Exon10	<i>Alk</i>	アミロース含有率	アミロペクチンSLC含有率	アミロペクチン短鎖比率	タイプ名
TS-3 (日本型とスリナム品種の交配種)	22.7	NA	0.52	111.9	<i>Wx</i> ^b		<i>alk</i>				
コシヒカリ (日本型)	19.5	19.8	0.51	98.6	<i>Wx</i> ^b		<i>alk</i>				
タカナリ (インド型他用途米)	20.5	NA	0.51	99.8	<i>Wx</i> ^b		<i>alk</i>			S	KS
あさひの夢 (日本型)	22.5	NA	0.51	109.0	<i>Wx</i> ^b		<i>alk</i>	中	K		
ハツシモ (日本型)	23.0	18.5	0.52	120.4	<i>Wx</i> ^b		<i>alk</i>				
日本晴 (日本型)	22.7	NA	0.51	116.4	<i>Wx</i> ^b		<i>alk</i>				
平均	21.8 a	19.2 a	0.51 a	109.3 a							
アケノホシ (日本型他用途米)	18.6	17.2	0.37	105.9	<i>Wx</i> ^b		<i>Alk</i>			L	KL
ホシニシキ (日本型他用途米)	30.6	27.6	0.53	172.0	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>alk</i>				
中国134号 (日本型他用途米)	30.1	26.2	0.53	159.3	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>alk</i>			S	HS
ホシユタカ (日本型他用途米)	30.1	25.8	0.55	161.5	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>alk</i>				
平均	30.3 b	26.5 b	0.54 a	164.3 b							
北陸207号 (日本型他用途米)	30.6	27.7	0.37	142.9	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>Alk</i>		H		
kasalath (インド型)	32.4	NA	0.36	161.5	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>Alk</i>				
Basilanon (インド型)	31.0	29.7	0.36	162.8	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>Alk</i>			L	HL
Page Minyak (インド型)	27.2	NA	0.40	152.6	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>Alk</i>				
Simanoek (インド型)	27.1	NA	0.39	140.2	<i>Wx</i> ^a	ホシユタカ型	<i>Alk</i>				
平均	29.6 b	28.7 b	0.38 b	152.0 b							
夢十色 (インド型他用途米)	30.5	28.8	0.53	211.6	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>alk</i>	高			
西海184号 (インド型他用途米)	27.7	28.9	0.49	226.4	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>alk</i>				
Gui Zhao2 (インド型)	26.6	28.0	0.51	209.3	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>alk</i>			S	YS
IR8 (インド型)	26.1	NA	0.53	239.9	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>alk</i>				
Sabari (インド型)	27.1	NA	0.49	216.7	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>alk</i>			Y	
平均	27.6 b	28.6 b	0.51 a	220.8 c							
Nan-jing11 (インド型)	29.6	27.8	0.35	183.6	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>Alk</i>				
IR36 (インド型)	29.4	28.1	0.34	190.8	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>Alk</i>				
Ratna (インド型)	30.5	28.2	0.33	190.7	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>Alk</i>			L	YL
Zhu-fei10 (インド型)	29.3	NA	0.35	186.3	<i>Wx</i> ^a	夢十色型	<i>Alk</i>				
平均	29.7 b	28.0 b	0.34 c	187.8 d							

各調査項目の異なる英小文字は澱粉組成グループ間にボンフェローニの多重検定により5%水準で有意差のあることを示す。

NA: データなし。

¹⁾ みかけのアミロース含有率。

²⁾ 重合度6-11/12-24。

表3-2. 供試品種・系統の製粉性、吸水性および精米・玄米白色度

品種系統名	製粉組 成タイプ名	米粉粒径中央値(μm)			澱粉損傷度(%)			飽和吸水率(%) ¹⁾			白色度 ²⁾			
		2006産		2007産	2008産	2006産		2007産	2008産	2006産	2008産	2007産	2008産	
		サイクロンミル ³⁾	ボールミル ³⁾	サイクロンミル ⁴⁾	サイクロンミル ⁵⁾	サイクロンミル ³⁾	ボールミル ³⁾	サイクロンミル ⁴⁾	サイクロンミル ⁵⁾	米粉(サイクロンミル ³⁾)	精米	精米	精米	玄米
TS-3		196.5	75.6	NA	NA	8.7	18.0	NA	NA	52.8	NA	NA	NA	NA
コシヒカリ		185.5	89.7	45.3	60.9	8.4	18.6	2.0	2.8	56.1	43.1	NA	72.8	NA
タカナリ	KS	184.6	67.6	NA	NA	9.1	19.7	NA	NA	54.9	40.3	NA	69.9	NA
あさひの夢		243.9	67.6	NA	64.9	8.8	22.6	NA	2.4	56.7	40.1	NA	NA	NA
ハツシモ		206.1	90.3	45.3	67.6	9.3	19.3	2.1	2.7	58.2	40.2	NA	68.2	NA
日本晴		203.7	89.5	NA	59.7	8.6	18.7	NA	2.5	53.8	39.3	NA	NA	54.1 c
平均		203.4 a	80.1 a	45.3 a	63.3 a	8.8 a	19.5 a	2.1 a	2.6 a	55.4 a	40.6 a	NA	70.3 n. s.	NA
アケノホシ	KL	214.1	80.4	43.5	63.5	7.6	16.8	1.4	2.7	54.4	41.5	NA	69.7	NA
日本晴NIL (\bar{W}_A^b, AIk)		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	41.2	NA	NA	56.2 ab
平均		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	41.4 a	NA	NA	NA
ホニシキ	HS	208.3	77.5	34.8	53.8	9.5	19.2	1.9	2.5	53.0	37.2	36.8 a	71.3	NA
中国134号		194.7	49.2	36.6	52.6	10.4	22.0	1.6	2.4	56.7	37.3	NA	74.5	NA
ホシユタカ		176.1	66.5	41.8	59.4	8.9	17.7	1.4	2.3	56.2	36.4	NA	68.0	NA
日本晴NIL (\bar{W}_A^a, aIk)		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	35.1	NA	NA	54.7 bc
平均		193.0 ab	64.4 ab	37.7 ab	55.3 ab	9.6 a	19.6 a	1.6 ab	2.4 ab	55.3 a	36.5 b	NA	71.2 n. s.	NA
北陸207号	HL	177.4	55.9	32.7	51.0	6.4	15.0	1.0	1.8	49.3	33.1	33.4 b	73.2	NA
kasalath		170.3	50.3	NA	56.2	7.3	18.4	NA	2.4	50.8	31.7	NA	NA	NA
Basilanon		190.7	54.5	38.2	64.1	6.1	17.2	0.9	2.1	50.8	34.2	NA	73.3	NA
Page Minyak		207.4	57.7	NA	49.5	7.0	17.4	NA	1.9	50.0	36.3	NA	NA	NA
Simanoek		146.8	53.8	NA	49.2	6.4	17.1	NA	1.9	48.7	39.4	NA	NA	NA
日本晴NIL (\bar{W}_A^a, aIk)		NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	32.7	NA	NA	56.9 a
平均		178.5 ab	54.4 b	35.5 ab	54.0 ab	6.6 b	17.0 ab	1.0 b	2.0 b	49.9 bc	34.6 b	NA	73.2 n. s.	NA
夢十色	YS	158.3	63.6	28.9	55.9	8.3	19.7	1.5	1.9	53.1	36.1	NA	71.8	NA
西海184号		178.3	58.2	29.1	52.8	7.1	18.9	1.9	1.8	52.0	36.6	NA	73.5	NA
Gui Zhao2		144.3	34.9	26.3	52.7	6.4	15.7	1.3	1.8	51.2	38.0	NA	73.9	NA
IR8		164.5	42.5	NA	52.6	7.0	19.2	NA	2.5	54.3	37.9	NA	NA	NA
Sabari		155.3	47.4	NA	40.9	6.7	19.1	NA	1.9	52.1	38.0	NA	NA	NA
平均		160.1 b	49.3 b	28.1 b	51.0 b	7.1 b	18.5 ab	1.6 ab	2.0 b	52.5 ab	36.9 ab	NA	73.1 n. s.	NA
Nan-jing11	YL	146.9	36.4	24.5	48.6	4.6	13.7	1.0	2.2	45.4	36.2	NA	79.0	NA
IR36		168.9	44.2	28.8	53.1	6.4	17.8	1.2	1.8	50.8	35.2	NA	72.7	NA
Ratna		165.8	55.2	36.2	54.9	5.3	14.2	0.9	1.9	47.8	35.8	NA	75.6	NA
Zhu-fei10		154.1	42.0	NA	50.8	4.9	14.9	NA	1.9	48.3	36.6	NA	NA	NA
平均		158.9 b	44.4 b	29.8 b	51.9 b	5.3 c	15.1 b	1.0 b	2.0 b	48.1 c	36.0 b	NA	75.8 n. s.	NA

各調査項目の異なる英小文字は製粉組成グループ間(玄米白色度のみに「日本晴NIL」の平均値間)にボンフェローニの多重検定により5%水準で有意差のあること、n. s. は有意差がないことを示す。

NA: データなし。

¹⁾ 乾物重に対する吸水率。

²⁾ 白色度(W) = $100 - ((100 - L)^2 + A^2 + B^2)^{1/2}$ 。

³⁾ 自然乾燥した精米を粉砕(篩なし)。

⁴⁾ 2時間吸水させた精米を粉砕(200メッシュの篩下)。

⁵⁾ 2時間吸水させた精米を粉砕(篩なし)。

表3-3. 澱粉組成と米粉粒径中央値, 澱粉損傷度, 飽和吸水率および澱粉損傷度と飽和吸水率との相関係数

澱粉組成・品質	米粉粒径中央値		澱粉損傷度		飽和吸水率 (サイクロン ミル米粉)
	サイクロンミル	ボールミル	サイクロンミル	ボールミル	
	2006産 ¹⁾	2007産 ²⁾	2006産 ¹⁾	2007産 ²⁾	
アミロース含有率	-0.46 *	-0.76 **	-0.62 **	-0.36 n. s.	-0.52 **
アミロペクチン短鎖比率	0.26 n. s.	NA	0.41 *	0.77 **	0.77 **
澱粉損傷度(サイクロンミル)					0.87 **

*, **はそれぞれ5%, 1%水準で有意差があること, n. s. は有意差がないことを示す.

NA: データなし.

1) 自然乾燥した精米を粉碎 (篩なし).

2) 2時間吸水させた精米を粉碎 (200メッシュの篩下).

考察

澱粉特性および W_x , Alk 遺伝子型による澱粉組成タイプの区分

梅本 (2009) は、見かけのアミロース含量, RVA セットバック値から推定したアミロペクチン SLC 含量, アミロペクチン鎖長分布の短鎖比率を指標にした澱粉組成タイプの簡易な区分法によって米を 10 グループに大別し得ることを報告している. 本研究では澱粉組成と製粉特性および吸水特性との関係を比較検討するために, まず, 中～高アミロース米 (アミロース含有率 17.2～32.4%) 24 品種・系統の澱粉組成タイプを区分した.

澱粉組成の区分は澱粉分析値が登熟期間の気温等, 栽培条件の影響を受けるため, 梅本 (2009) の方法と W_x , Alk 両遺伝子機能を識別する DNA マーカーを併用して行った. その結果, アミロース含有率とアミロペクチンの推定 SLC 含有率に基づく K, H, Y の 3 タイプおよびアミロペクチン短鎖比率に基づく L, S の 2 タイプの分類を組み合わせた KS, KL, HS, HL, YS, YL の合計 6 タイプに分類された (表 3-1). 「日本晴 NIL」は, 既報 (Umemoto ら 2008, 井ノ内 2010, Nakaura ら 2010) に基づき分類すると NIL (Alk) は KL に, NIL (W_{xa}) は HS, NIL (W_{xa} , Alk) は HL に属した (表 3-1).

澱粉組成タイプと米粉粒径との関係

澱粉組成タイプで区分した品種群の米粉粒径中央値は, 製粉法, 吸水処理の有無, 篩いかけの有無にかかわらず, 推定される SLC 含有率の高いタイプで小さくなる傾向, すなわちコシヒカリ型 (K) > ホシユタカ型 (H) > 夢十色型 (Y) が認められた (表 3-2). 米の澱粉組成は登熟気温の影響を受けることが明らかとなっている (Umemoto ら 1999, 高橋ら 2000). 本試験でも 2007 年産のアミロース含有率は 2006 年産よりも全体に低くなっており (表 3-1), 試験期間を通じて澱粉組成が気象の影響を受けていることが考えられるが, 3 ヶ年通じて同様の傾向が認められたことから, アミロペクチン SLC 含有率が高い Y タイプの粒径が同比率の低い K タイプより小さく, ア

ミロペクチン SLC 含有率が米粉粒径に影響することが示唆された。見かけのアミロース含有率と米粉粒径中央値にも 2006 年産，2007 年産ともに有意な負の相関が認められた（表 3-3，図 3-1）が，見かけのアミロースにはアミロペクチン SLC が含まれているため，アミロースとの関連を明確にするには真のアミロース含有率の測定を要する。また，ボールミルで製粉した場合のみアミロペクチン短鎖比率と米粉粒径中央値にも正の相関が認められた（表 3-3）が，サイクロンミルで製粉した 3 ヶ年の澱粉組成タイプ間の米粉粒径中央値をみると S タイプと L タイプとの間に有意差は認められない（表 3-2）ことから，アミロペクチン短鎖比率が米粉粒径中央値に及ぼす影響は小さいと考えられる。

澱粉組成タイプと米粉澱粉損傷度との関係

米粉澱粉損傷度は，2006 年産のサイクロンミルで製粉した場合に $YL < (HL, YS) < (KS, HS)$ の関係で有意差が認められた（表 3-2）。この有意差はアミロペクチン短鎖比率が低いタイプで損傷度が低くなる関係（ $YL < YS$ および $HL < HS$ ）とアミロペクチン SLC 含有率が高いタイプにおいて低くなる関係（ $YL < HL$ および $YS < HS$ ）を含んでいた。すなわち，アミロペクチン側鎖がより長いタイプで澱粉損傷度が低かった。2006 年産のボールミル製粉は他の製粉に比べ澱粉損傷度が全体に高く，2007，2008 年産は精米を吸水させてから製粉したため澱粉損傷度が全体に低くなっており（表 3-1），澱粉組成タイプ間の澱粉損傷度の差が 2006 年産のサイクロンミルより明確にならなかったと考えられる。このため，澱粉損傷度に影響するアミロペクチン短鎖比率とアミロペクチン SLC 含有率の両方が相加的に影響した澱粉組成タイプ間でのみ有意差が認められたと考えられた。

澱粉組成タイプと吸水性との関係

米粉の吸水性は，アミロース含有率との間に負の相関を示すことが明らかとなっている（吉井ら 1997，高橋ら 2009）。本研究でも米粉の飽和吸水率はアミロース含有率と負の相関が認められた（表 3-3）。さらに，アミロペクチン短鎖比率とも正の相関が認められ（表 3-3），澱粉組成タイプ間でも $S > L$ の傾向を認めた（表 3-2）。しかし，

飽和吸水率と澱粉損傷度に高い正の相関が認められた（表 3-3）ため、本研究の米粉飽和吸水率は、澱粉損傷度の影響を強く受けていると考えられた。そこで、粉碎による澱粉損傷度の影響を排除するために精米でも飽和吸水率を測定したところ、高アミロースタイプが中アミロースタイプよりも低い傾向が米粉よりも明確に表れた（表 3-2）。このため、見かけのアミロース含有率が精米および米粉の飽和吸水率に影響していることが確認された。一方、アミロペクチン短鎖比率との関係を見ると、2008年産の精米の飽和吸水率は有意差が認められなかったものの米粉同様 $S > L$ の傾向を示した（表 3-2）。2009年産では $HS > HL$ 間で有意差が認められた（表 3-2）。このため精米の飽和吸水率は程度が小さいものの、アミロペクチン短鎖比率の影響を受けている可能性もある。

澱粉組成タイプと精米および玄米白色度，胚乳細胞組織の形態との関係

以上のように澱粉組成タイプと製粉特性を比較検討した結果，米粉粒径中央値はアミロペクチンSLC含有率と，澱粉損傷度はアミロペクチン短鎖比率およびアミロペクチンSLC含有率と関連すること，米粉および精米飽和吸水率は見かけのアミロース含有率と関連し，アミロペクチン短鎖比率も影響する可能性のあることが明らかとなった。これらの関係の直接的な要因として，澱粉組成タイプ間で胚乳細胞内の澱粉粒の形態や，アミロプラストへの澱粉粒の充填状態が異なることが考えられた。澱粉の蓄積が不足するとアミロプラスト間，澱粉粒間に空隙が生じ，光を乱反射するため玄米が白色不透明に見える（田代・江幡 1975）。供試品種・系統の精米白色度と澱粉組成との関連を調べた結果，澱粉組成タイプ間で有意差は認められなかった（表3-2）。しかし，粒型がほぼ等しく精米歩合の影響が排除でき，果皮色も同等である「日本晴NIL」の玄米で同様の測定を行ったところ，Lタイプの白色度が高かった（表3-2）。このことから，Lタイプでは胚乳細胞組織に白色度が高くなるような変化が生じていることが推察された。これを検証するために，「日本晴NIL」の胚乳細胞組織を走査型電子顕微鏡で観察した。その結果，Lタイプである「日本晴NIL (Aik)」と「日本晴NIL (Wxa, Aik)」は澱粉粒間に空隙が多く存在し，澱粉粒も凹みのあるものが多かった（図3-2）。このためLタイプの玄米白色度が高いのは，澱粉粒の凹みや澱粉粒間の空

隙が一因となっており、それがLタイプの製粉を容易にして澱粉損傷度を低くしている可能性が高い。また、「日本晴NIL」は「日本晴」より棒状のアミロプラストが多くみられ（図3-2）、澱粉粒の大きさもアミロペクチン短鎖比率が小さく、アミロペクチンSLC含有率が高いタイプほど小さくなる傾向がみられた。これが、製粉した際の米粉粒径中央値に影響し、アミロペクチンSLC含有率の高いタイプほど同値が小さくなった可能性が高い。以上の観察結果から、澱粉の蓄積様式は澱粉組成タイプ間で異なり、それが製粉特性に影響を及ぼしていると考えられた。

米粉の加工利用と澱粉組成タイプ

本研究によって、米粉粒径と澱粉損傷度は澱粉組成タイプと関連することが明らかになったが、これらの製粉特性は米粉の加工性に影響することが知られている。澱粉損傷度はパンの膨らみ程度の指標値である比容積と負の相関があり（荒木ら 2007, Araki et al. 2009, 與座ら 2010）、米粉粒径は小さい方が団子の官能評価で粘りがでて舌ざわりもよくなる（勝田 1987）。同様に米粉の吸水性も米粉加工性に大きく影響し、米粉パンの場合、瀧尾（2007）は最適な吸水量が多い場合にはグルテン膜形成ができたとしても発酵時の生地が重くてボリュームが出ず、焼成後の縮みの大きいケービングしたパンになることを報告している。これらのことから、米粉の加工利用を検討する際には、使用する品種の製粉性と糊化特性を総合的に評価しておくことが望ましく、澱粉組成タイプはその大まかな指標にできると考えられる。例えば、米粉粒径は国内で主食用に使用されるKSタイプの品種よりも、アミロペクチンSLC含有率の高いHタイプさらにはYタイプの方が小さく製粉されやすく、澱粉損傷度はアミロペクチン短鎖比率の低いLタイプ、特にアミロペクチンSLC含有率も高いHL、YLタイプがより低く製粉されやすい。また米粉吸水性は高アミロースであるH、Yタイプの方が低くなり、さらにHSよりHLタイプ、YSよりYLタイプの方が低くなる場合が多いと考えられる。また、これら澱粉組成タイプと製粉性の関係を糊化特性と製粉性の関係に置き換えると、アミロペクチンSLC含有率の高いタイプはRVA分析によるセットバック値が高い（Horibataら 2004）ことや、アミロペクチン短鎖比率が低いタイプは糊化温度が高い（Nakamuraら 2002）ことが明らかとなっている。両

タイプとも老化しやすいことから、老化性の高い澱粉組成タイプが粒径の小さく、澱粉損傷度も低く、吸水性の低い米粉に製粉されやすいと大きく捉えることができる。したがって、米麺のようにある程度老化性が高い澱粉組成タイプが適する（中村ら 2008）用途では、HL タイプや YL タイプを原料に使用すると、主食用米（KS タイプ）よりも粒径が小さく、澱粉損傷度も低く、製麺性の高い米粉を得やすいことが期待できる。HS、YS タイプでは澱粉損傷度が HL、YL タイプより高くなりやすいが、湿式製粉するなど製粉方法に留意すれば差はほとんどなくなると考えられる。どちらのタイプを原料とするかは求める老化性の程度によって選択すると良いであろう。一方、老化性の低い主食用米は他の澱粉組成タイプに比べ米粉の粒径が大きく、澱粉損傷度や吸水率も高くなりやすかった。米粉パンには主食用米が使用されることが多いが、これらの特徴は製パンには不向きであるため、特に製粉機械や製粉方法を選ぶ必要があると考えられる。

総合考察

本研究は、害虫抵抗性品種の育成や、新規需要米の利用促進を通して、稲作経営の安定に寄与することを目的に行い、第1章において、原因が不明であった「あさひの夢」におけるセジロウンカの多発発生要因とその遺伝的背景、第2章において、抵抗性品種の開発が求められている斑点米カメムシの抵抗性ドナー品種「密陽44号」における抵抗性の特徴と抵抗性機構、第3章において、米の澱粉組成タイプと製粉および吸水特性との関係について検討し、新たな知見を得たものである。ここでは本研究結果の育種への利用について考察する。

セジロウンカ殺卵遺伝子の導入

本研究の結果、「あさひの夢」におけるセジロウンカの多発要因は、「あさひの夢」が殺卵遺伝子 *Ovc* を有していないためであることが明らかになった。これまで *Ovc* は日本稲のほとんどが有していると考えられ、その有無は育種上重要視されていなかった。しかし、本研究で「あさひの夢」が *Ovc* を有していないのは、現在の栽培種のルーツの一つである「京都旭」由来であることが明らかになったため、*Ovc* を有していない品種は本研究で明らかになった以外にも存在する可能性が高い。これが見過ごされてきたのは、*Ovc* を有していない日本稲の存在が広く知られていないことと、*Ovc* が孵化後の幼虫や成虫の生存に影響を及ぼさないため、セジロウンカが大量飛来した場合には *Ovc* を有している品種であっても被害を受けることがあるためであると考えられる。しかし、*Ovc* は世代間での増殖を減少させるため、愛知県での「あさひの夢」におけるセジロウンカの被害でみられるようにその抑制効果は明らかである。このため、愛知県農業総合試験場では *Ovc* の DNA マーカー選抜 (MAS) と生物検定を併用して品種育成を行い、*Ovc* を有する「ゆめまつり」を「あさひの夢」に替えて奨励品種に採用した。現在でも、愛知県と岐阜県では「京都旭」系譜の「あいちのかおり SBL」や「ハツシモ岐阜 SL」が主力品種として栽培されており、その特徴である粒が大きく、ややあっさりした食感を重視した品種育成が行われている。今後、このような「京

都旭」系譜の品種を交配親に使う場合のみならず、外国稲から病害虫抵抗性、多収性、高温耐性などの有用形質を導入する場合においても、*Ovc*のMASによる品種育成は、低コスト栽培に寄与するうえで重要になると考えられる。

斑点米カメムシ抵抗性品種の育成

本研究において、斑点米カメムシ抵抗性ドナー品種「密陽 44 号」の抵抗性の基本的な特徴が明らかになった。抵抗性が籾の登熟ステージに応じて増強することや、加害様式を異にするホソハリカメムシ（無差別加害型）と、クモヘリカメムシ（鉤合部加害型）両種に抵抗性を示すことが明らかとなり、小規模な圃場栽培試験では両種が優占する状況下で斑点米の発生を明確に抑えることが確認された。これらの結果から、「密陽 44 号」は有用なドナー品種であると考えられる。抵抗性機構については、籾殻を介した吸汁のしにくさが斑点米率の低減をもたらしていること、その要因となりうる特徴として、リグニンを含む厚壁細胞が厚いことを明らかにした。今後、「密陽 44 号」との交配後代を用いて厚壁細胞の厚さが抵抗性機構であることを検証するとともに、厚壁細胞の厚さが抵抗性として働くメカニズムを詳細に調査したい。一方で、特にクモヘリカメムシに対しては他の抵抗性機構の存在も考えられたため、籾殻の珪酸や鉤合部の形状の他、斑点米カメムシの唾液に含まれる酵素との関係にも着目して研究を継続したい。同時に、斑点米抵抗性品種の育成もすすめており、「密陽 44 号」をドナーとした「愛知 137 号」をこれまでに育成している。本系統は玄米の粒型と外観品質において「密陽 44 号」の不良形質を改善しているが、食味が劣るため、本系統を母材にした更なる改良が必要である。現在の育成は斑点米カメムシを人為的に接種する生物検定によって抵抗性個体を選抜しているため、育成を加速させるためには抵抗性遺伝子に関する DNA マーカーを開発することが喫緊の課題である。このため、斑点米カメムシの抵抗性 QTL の解析をすすめているが、生物検定を高い精度で行うために多大な労力を要することが課題となっている。本研究で見出した籾殻の厚壁細胞の厚さが抵抗性機構であることが明らかになれば、厚壁細胞の厚さに着目した QTL 解析が可能になるため期待したい。そして、国内で初となる斑点米カメムシ抵抗性を持つ実用品種の育成をすすめ、水稻の低コスト栽培に寄与したい。

新規需要米品種の育成

現在、新規需要米の生産と利用が推進されているが、その育成においてはアミロペクチンも含めた澱粉組成が選抜指標に用いられることはほとんどなく、麺用途に高アミロース米が育成されているにとどまっている。2017年に農林水産省が米粉の用途別基準（農林水産省 2017）を発表したが、この中でも澱粉組成としてはアミロース含有率が指標になっているのみで、アミロペクチンの組成は考慮されていない。しかし、本研究の結果からアミロペクチンの組成も製粉特性に影響を及ぼすことは明らかであるため、今後はアミロペクチンも含めた澱粉組成を考慮した指針の改良が期待される。また、アミロペクチンを含めた澱粉組成は澱粉の糊化特性に影響し、これが食品の加工特性や食感に差異をもたらす。筆者らは本研究の供試品種・系統を用いて製麺性を検討した結果、アミロペクチン SLC 含有率が高く、アミロペクチン短鎖比の低い澱粉組成タイプが麺生地への付着性の消失が早く、裁断性も良好である一方、SLC 含有率の高いタイプは官能試験においてなめらかさが他のタイプより劣るため、SLC 含有率の中程度の HS, HL タイプ、特にアミロペクチン短鎖比の低い HL タイプの製麺適性が高いことを明らかにした（中村 2008）。このように、新規需要米の育成においては、澱粉組成をアミロース含有率のみでなく、本研究で示したようにアミロペクチンの組成も含めて細分化したタイプから、製粉性や吸水性ならびにデンプン糊化特性を総合的に判断し、用途に適した澱粉組成の品種を育成すべきであると考えられる。筆者らはこれらの知見に基づき、最も製麺適性の高い澱粉組成を HL タイプとして選定し、この澱粉組成を識別する DNA マーカーを活用した初めての MAS による品種「もみゆたか」（杉浦ら 2016）を麺用品種として育成した。本研究が、同様のアプローチによって実需者のニーズに適した新規需要米を育成する際の一助となり、その生産と利用が促進されることに期待したい。

摘要

本研究課題では、稲作経営の安定に寄与するため、①害虫抵抗性品種の育種と、②新規需要米の利用拡大、の2つの視点から課題を設定した。①では第1章において「あさひの夢」におけるセジロウンカの多発要因とその遺伝的な由来を検討し、第2章では、斑点米カメムシ抵抗性ドナー品種「密陽44号」の抵抗性の特徴と抵抗性機構の解明を試みた。②では、第3章において米の澱粉組成タイプと製粉性、米粉吸水性および胚乳細胞組織の形態との関係を検討した。得られた知見は以下のとおりである。

(1)「あさひの夢」はセジロウンカの殺卵率が有意に低く、セジロウンカの多発は殺卵反応の弱さに起因していることが示唆された。次に、「あさひの夢」の系譜上の品種・系統の殺卵反応から、殺卵反応の弱さは「京都旭」由来である可能性が示唆された。さらに、殺卵遺伝子 *Ovc* に近接する RFLP マーカー分析から、殺卵反応が弱いのは *Ovc* を有さないためであることが示唆された。

(2)「密陽44号」の斑点米カメムシ抵抗性は、①加害特性の異なるホソハリカメムシ、クモヘリカメムシ両種に対して有効であること、②斑点米カメムシが寄主植物間を容易に移動できる条件では、選好性の高いカメムシ種に対して非選好性として働くこと、③小規模な圃場栽培で抵抗性を示すこと、大規模な圃場栽培においても抵抗性を示す可能性の高いこと、④抵抗性は籾の登熟とともに安定するが、ホソハリカメムシに対しては登熟初期段階でもある程度の効果を示すこと、が示唆された。一方、抵抗性の機作については、①「密陽44号」は籾の登熟が「あいちのかおり SBL」よりも早くすすみ、それが、登熟段階に依存する抵抗性に有利に働く可能性があること、②その一方で、籾の登熟段階の指標となる籾硬度が「あいちのかおり SBL」と同程度の場合においても「あいちのかおり SBL」より斑点米率が低いことから、登熟の早さ以外にも抵抗性機構を持つこと、③斑点米カメムシの吸汁行動の痕跡である籾殻上の口針鞘数当たりの玄米の加害痕数が「あいちのかおり SBL」より有意に少なかったことから、抵抗性機構は斑点米カメムシが吸汁を試みるものの吸汁できない、すなわち吸汁のしにくさとして機能すること、④吸汁のしにくさをもたらす部位は、剪穎処理

を施した場合に玄米が剥き出した部位が集中的に加害されたことから籾殻であること、⑤クモヘリカメムシは籾の鉤合部の隙間に口針を曲げながら差し込み、ホソハリカメムシは籾表面の円形突起が縦列している列間を穿孔し吸汁したことから、少なくとも籾殻のこの部位に抵抗性機構があること、⑥⑤の指摘部位でリグニンを含む厚壁細胞の細胞壁が「あいちのかおり SBL」よりも厚く、それが籾殻の強度を高め、抵抗性機構となっている可能性のあることが明らかになった。

(3) 米の澱粉組成タイプと製粉性の関係として、米粉粒径はアミロペクチン超長鎖比率の高いタイプが小さくなること、澱粉損傷度は、アミロペクチン短鎖比率が低くアミロペクチン超長鎖比率が高いタイプが低くなることが明らかとなった。これらの特性の違いは、澱粉組成タイプ間のアミロプラストや澱粉粒の形態の相違に起因している可能性が示唆された。また、米粉の飽和吸水率はアミロース含有率と負の相関のあることが確認された。

引用文献

- 愛知県病害虫防除所（2002）第6 本年度新たに発見された病害虫および特異的に発生した病害虫. 1 特異的に発生した病害虫. (2) セジロウンカ. 平成12年業務年報, 93-96.
- 愛知県農業総合試験場環境基盤研究部病害虫防除室（2017）病害虫図鑑～生態と防除～. [<http://www.pref.aichi.jp/byogaichu/seitaitoboujyo/0-ine/kamemusi.html>].
- 青木法明（2008）米粉の利用と製パンへの利用技術. 食品と技術 11: 1-9.
- Aoki, N., T. Umemoto, S. Yoshida, T. Ishii, O. Kamijima, U. Matsukura and N. Inouchi（2006）Genetic analysis of long chain synthesis in rice amylopectin. *Euphytica* 151: 225-234.
- 荒木悦子・池田達哉・芦田かなえ・高田兼則・谷中美貴子・飯田修一（2007）損傷デンプンの量と米粉の形状は米粉の製パン性に影響する. 平成18年度近畿中国四国農業研究成果情報. 近畿中国四国農業研究センター, 広島. 21-22.
- Araki, E., T. Ikeda, K. Ashida, K. Takata, M. Yanaka and S. Iida（2009）Effects of rice flour properties on specific loaf volume of one-loaf bread made from rice flour with wheat vital gluten. *Food Sci. Technol. Res.* 15: 439-448.
- 有坂将美・中村幸一・吉井洋一（1992）製粉方法を異にした米粉の性質. *澱粉科学* 39: 155-163.
- 藤井潔・早野由里子・杉浦直樹・林長生・坂紀邦・遠山孝通・井澤敏彦・朱宮昭男（1999）イネ縞葉枯病抵抗性品種が有する穂いもち抵抗性の遺伝子分析. *育種学研究* 1: 203-210.
- 古家忠・清田洋次（1993）斑点米カメムシの種類と糞の吸汁部位. *九病虫研会報* 39: 82-84.
- 原栄一・斉藤満（1984）1983年群馬県におけるセジロウンカの発生について. *関東東山病虫研会報* 31: 107-108.
- 服部誠（2001）ツマグロヨコバイおよびトビイロウンカ唾液腺の酵素活性と糞液性唾

- 液タンパク質. 日本応用動物昆虫学会大会講演要旨 45: 142.
- 服部誠・清水利昭・小西博郷・小松節子・今野浩太郎・田村泰盛 (2003) ツマグロヨコバイ唾液腺のベータガラクトシダーゼとその摂食時における吐出. 日本応用動物昆虫学会大会講演要旨 47: 64.
- 早野由里子 (2002) イネ縞葉枯ウイルスのゲノム構造およびイネ縞葉枯病抵抗性遺伝子に関する研究. 北農研研報 175: 1-45.
- 林英明 (1997) 斑点米カメムシ発生相の変遷と防除対策. 植物防疫 51: 455-461.
- Hiratsuka, M., T. Umemoto, N. Aoki and M. Katsuta (2010) Development of SNP markers of *starch synthase IIa (alk)* and haplotype distribution in Rice Core Collections. Rice Genetics Newsletter 25: 80-82.
- Hori Koji (1973) Studies on Enzymes, Especially Amylases, in the Digestive System of the Bug *Lygus disponisi* and Starch Digestion in the system. Res. Bull. Obihiro Univ. 8: 173-260.
- Horibata, T., M. Nakamoto, H. Fuwa and N. Inouchi (2004) Structural and physicochemical characteristics of endosperm starches of rice cultivars recently bred in Japan. J. Appl. Glycosci. 51: 303-313.
- 星川清親 (1975) X 出穂と開花・受精 2. 開花 (2) 開花順序, “イネの生長”, 農山漁村文化協会, 東京. 251.
- 飯富暁康 (1995) イネ体上におけるセジロウンカの産卵部位. 北日本病虫研報 46: 111-114.
- 井ノ内直良 (2010) 米を中心とする穀物胚乳澱粉の構造と物性に関する研究. J. Appl. Glycosci. 57: 13-23.
- 伊藤清光 (2004) 近年の斑点米カメムシ類の多発生とその原因-水田の利用状況の変化. 北日本病虫研報 55: 134-139.
- 岩田俊一・葭原敏夫 (1976) 斑点米を発生させるカメムシ類-全国アンケート調査より-. 植物防疫 30: 127-132.
- 井澤敏彦・朱宮昭男・工藤悟・加藤恭宏・藤井潔・坂紀邦・遠山孝通・伊藤敏雄・杉浦直樹・小島元・中島泰則 (2001a) 水稻新品種「あさひの夢」の育成. 愛知農総

試研報 33: 1-9.

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・中島泰則・伊藤敏雄・辻孝子・小島元 (2001b) 病虫害複合抵抗性の水稲新品種「大地の風」. 愛知農総試研報 33: 25-32.

井澤敏彦・朱宮昭男・工藤悟・坂紀邦・加藤恭宏・杉浦直樹・藤井潔・遠山孝通・中島泰則・辻孝子・小島元・伊藤敏雄・濱田千裕 (2001c) イネ縞葉枯病・穂いもち抵抗性を導入した水稲準同質遺伝子系統「あいちのかおり SBL」. 愛知農総試研報 33: 33-40.

Jensen, W. A. (1962) Botanical histochemistry: principles and practice. Freeman, N. H. & Company, San Francisco, CA, USA, p. 408.

加藤満・加藤裕司・伊藤晃・杉浦和彦・船生岳人・坂紀邦・辻孝子・中村充・濱田千裕・藤井潔・城田雅毅・杉浦直樹・加藤恭宏・工藤悟・加藤博美・澤田恭彦・井澤敏彦・鈴木敏夫・釋一郎・井上正勝 (2012) 水稲糯新品種「愛知糯 115 号」の育成. 愛知農総試研報 44: 29-33.

加藤満・城田雅毅・中村充・工藤悟・藤井潔・辻孝子・濱田千裕・杉浦直樹・坂紀邦・中嶋泰則・加藤恭宏・遠山孝通・船生岳人・澤田恭彦・井澤敏彦・鈴木敏夫・釋一郎・井上正勝・朱宮昭男・小島元 (2008) 高品質, 良食味な病虫害複合抵抗性水稲新品種「愛知 108 号」の育成. 愛知農総試研報 40: 83-91.

加藤満・杉浦直樹・辻孝子・中村充・城田雅毅・加藤恭宏・船生岳人・工藤悟・加藤博美・澤田恭彦・鈴木敏夫・釋一郎・井上正勝・山本晃司・伊藤彰敏 (2011) 酒造好適米新品種「夢吟香」の育成. 愛知農総試研報 43: 17-24.

勝田啓子 (1987) 団子の粘弾性に及ぼす米粉粒度の影響—粘弾性測定値と官能評価との相関分析—. 家政誌 38: 283-291.

川村満 (1993) カメムシによる作物の被害: カメムシの種類による被害子実粒 (斑点米) の特徴と被害子実粒の形成のされかた, “日本原色カメムシ図鑑—陸性カメムシ類—”, 友国雅章監修, 全国農村教育協会, 東京. 278-286.

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.

- 清永徹・鈴木芳人（1998）水稻の生育段階別にみたイネウンカ類に対する殺卵反応。
九州農業研究 60: 85.
- 公益社団法人米穀安定供給確保支援機構（2019）平成 29 年産水稻の品種別作付動向
について。 [<http://www.komenet.jp/pdf/H29sakutuke.pdf>].
- 前田英三（1972）走査電子顕微鏡によるイネ籾表面構造の観察。日作紀 41: 459－471.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson（1980）Rapid isolation of high molecular weight
plant DNA. Nucleic Acids Res. 8: 4321－4325.
- 長尾清一（1992）製パンの科学Ⅱ製パン材料の科学 初版。田中康夫，松本博編。光
琳，東京。33－34.
- 中村充・松井昭仁・青木法明・梅本貴之（2008）澱粉組成の異なる米粉の製麺特性。
日作紀 77（別1）：228－229.
- Nakamura, Y., A. Sakurai, Y. Inaba, K. Kimura, N. Iwasawa and T. Nagamine
（2002）The fine structure of amylopectin in endosperm from asian cultivated
rice can be largely classified into two classes. Starch 54: 117－131.
- 中筋房夫（1973）稲穂を加害するカメムシ類の発生の特徴と要防除密度。植物防疫27:
372－378.
- Nakaura, Y., S. Kani, N. Aoki, T. Umemoto and N. Inouchi（2010）Effects of
variations in starch synthase on properties of rice starch and cooked rice. J.
Appl. Glycosci. 57: PPAGW2010講演要旨45.
- 奈良省三・山口猷三・岡田勝宏（1968）澱粉粒の飽和吸湿水とpF。澱粉工誌 16:1－4.
- 農林水産省（2009）米の取引価格について。
[http://www.maff.go.jp/j/nousei_kaikaku/n_kaigou/05/pdf/data2.pdf].
- 農林水産省（2015）農林水産植物種類別審査基準（稲種）。
[<http://www.hinsyu.maff.go.jp/info/sinsakijun/kijun/1440.pdf>].
- 農林水産省（2017）「米粉の用途別基準」及び「米粉製品の普及のための表示に関す
るガイドライン」の公表について。
[<http://www.maff.go.jp/j/seisan/keikaku/komeko/attach/pdf/index-11.pdf>].
- 農林水産省（2018a）水稻の被害面積及び被害量（全国農業地域別・都道府県別）。平

成 29 年産作物統計（普通作物・飼料作物・工芸農作物）.

[http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kome/index.html#r].

農林水産省（2018b）平成 28 年産米及び麦類の生産費．農業経営統計調査.

[<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/file-download?statInfId=000031685462&fileKind=0>].

農林水産省（2018c）第 2 水田活用の直接支払交付金．経営所得安定対策等実施要綱．
26－33.

[http://www.maff.go.jp/j/kobetu_ninaite/keiei/attach/pdf/youkou-33.pdf].

農林水産省（2018d）新規需要米等の用途別作付・生産状況の推移（平成 20 年産～平成 29 年産）.

[<http://www.maff.go.jp/j/seisan/jyukyu/komeseisaku/attach/pdf/index-47.pdf>].

農林水産省大臣官房統計部（2009）平成 20 年産水稻の品種別収穫量.

<http://www.maff.go.jp/www/info/bunrui/mono01.html>.

Sano, Y. (1984) Differential regulation of *Waxy* gene expression in rice endosperm. *Theor. Appl. Genet.* 68: 467－473.

坂紀邦・寺島竹彦・工藤悟・加藤恭宏・杉浦和彦・遠藤征馬・城田雅毅・井上正勝・大竹敏也（2007）いもち病高度圃場抵抗性を有する水稻新品種「みねはるか」．愛知農総試研報 39: 95－109.

坂紀邦・寺島竹彦・工藤悟・加藤恭宏・大竹敏也・杉浦和彦・遠藤征馬・城田雅毅・林元樹・中嶋泰則・伊藤幸司・井上正勝・加藤博美（2009）白度が高く粘りの強い餅ができる水稻糯新品種「中部糯 110 号」．愛知農総試研報 41: 165－175.

Saka, N., T. Tsuji, T. Toyama, M. Yano, T. Izawa and T. Sasaki (2006) Development of cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) markers linked to a green rice leafhopper resistance gene, *Grh3* (t) . *Plant Breeding* 125: 140－143.

Seino, Y., Y. Suzuki and K. Sogawa (1996) An ovicidal substance produced by rice plants in response to oviposition by the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* (Horváth) (Homoptera:Delphacidae) . *Appl. Entomol. Zool.* 31: 467－473.

- 徐錫元・太田保夫（1982）水稻の登熟に及ぼす籾殻の役割 第1報 登熟過程における籾殻の無機成分の動態. 日作紀 51: 97-104.
- 徐錫元・太田保夫（1983）水稻の登熟に及ぼす籾殻の役割 第8報 籾殻におけるでんぷんの蓄積およびリグニンの形成とそれらに関連する2, 3の酵素活性について. 日作紀 52: 80-83.
- 白石正美（2001）斑点米カメムシ類の今夏の発生状況について. 植物防疫 55: 445-446.
- 宍戸功一・江川和徳（1992）ペクチナーゼ処理による米粉の製造法およびその製パン適性. 新潟県食品研究所研究報告 27: 21-28.
- 寒川一成（1991）日印交雑水稻にみられるセジロウンカに対する超感受性現象について. 九州農業研究 53: 92.
- 寒川一成（2000）中国ジャポニカ水稻のセジロウンカ抵抗性. 植物防疫 54: 238-241.
- 寒川一成（2007）中国粳稻とセジロウンカ. 国際農業研究叢書 15: 1-186.
- 杉浦直樹・辻孝子・藤井潔・加藤恭宏・坂紀邦・遠山孝通・早野由里子・井澤敏彦（2004）水稻病害抵抗性付与のための連続戻し交雑育種におけるDNAマーカー選抜の有効性の実証. 育種学研究 6: 143-148.
- 杉浦和彦・加藤満・伊藤晃・中村充・城田雅毅・船生岳人・加藤恭宏・中嶋泰則・野々山利博（2016）米麵用品種「愛知125号」の育成. 愛知農総試研報 48: 39-47.
- 杉浦和彦・中村充・加藤満・伊藤晃・野々山利博・中嶋泰則（2017）斑点米カメムシ抵抗性イネ品種・系統の選定. 育種学研究 19: 1-7.
- 鈴木芳人（1996）九州北部における過去の水稲主要品種のセジロウンカ殺卵反応. 九州農業研究 58: 109.
- 鈴木芳人・清野義人（1997）イネウンカ類に対するイネの殺卵反応. 植物防疫 51: 451-454.
- 鈴木芳人・寒川一成・清田洋次（1993）セジロウンカ卵期の死亡要因の評価. 九病虫研会報 39: 78-81.
- Suzuki, Y., K. Sogawa and Y. Seino（1996）Ovicidal reaction of rice plants against the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* Horváth

- (Homoptera:Delphacidae) . Appl. Entomol. Zool. 31: 111–118.
- 高橋一典・松田智明・中村保典・神山かおる・新田洋司 (2000) 炊飯米の微細構造と食味XXVIII. 登熟温度の違いがイネ胚乳デンプンのアミロペクチンの側鎖長分布と糊化特性に及ぼす影響. 日作紀 69 (別2) : 92–93.
- 高橋誠・本間紀之・諸橋敬子・中村幸一・鈴木保宏 (2009) 米の品種特性が米粉パン品質に及ぼす影響. 食科工 56: 394–402.
- 高山隆夫・岩田直紀・田村利行 (1984) イネ品種とセジロウンカの寄生密度. 関東東山病虫研会報 31: 109.
- 竹内博昭・渡邊朋也・鈴木芳人 (2004a) クモヘリカメムシ, イネカメムシ, ホソハリカメムシの加害によって生じた斑点米の種特異的な加害痕の特徴. 応動昆 48: 39–47.
- 竹内博昭・渡邊朋也・鈴木芳人 (2004b) クモヘリカメムシ, イネカメムシ, ホソハリカメムシ, アカスジカスミカメに加害される粳の登熟段階. 応動昆 48: 281–287.
- 瀧尾佳明 (2007) お米の力再発見 米粉食品の普及と米粉パン. 月刊フードケミカル 23: 38–44.
- 田代亨・江幡守衛 (1975) 腹白米に関する研究 第4報 白色不透明部の胚乳細胞の形態的特徴. 日作紀 44: 205–214.
- Terashima, T., S. Fukuoka, N. Saka and S. Kudo (2008) Mapping of a blast field resistance gene *Pi39* (t) of elite rice strain Chubu 111. Plant Breeding 127: 485–489.
- Traore, K., A. M. McClung, M. Chen and R. Fjellstrom (2011) Inheritance of flour paste viscosity is associated with a rice *Waxy* gene exon 10 SNP marker. J. Cereal Sci. 53: 37–44.
- 梅本貴之 (2009) アミロペクチン鎖長分布に基づく澱粉特性解析法. 日作紀 78: 107–112.
- Umemoto, T., T. Horibata, N. Aoki, M. Hiratsuka, M. Yano and N. Inouchi (2008) Effects of variations in starch synthase on starch properties and eating quality of rice. Plant Prod. Sci. 11: 472–480.

- Umemoto, T., Y. Nakamura, H. Satoh and K. Terashima (1999) Differences in amylopectin structure between two rice varieties in relation to the effects of temperature during grain-filling. *Starch* 51: 58–62.
- Umemoto, T., M. Yano, H. Satoh, A. Shomura and Y. Nakamura (2002) Mapping of a gene responsible for the difference in amylopectin structure between japonica-type and indica-type rice varieties. *Theor. Appl. Genet.* 104: 1–8.
- Yamanaka, S., I. Nakamura, K. N. Watanabe and Y. Sato (2004) Identification of SNPs in the *Waxy* gene among glutinous rice cultivars and their evolutionary significance during the domestication process of rice. *Theor. Appl. Genet.* 108: 1200–1204.
- Yamasaki, M., H. Tsunematsu, A. Yoshimura, N. Iwata and H. Yasui (1999) Quantitative trait locus mapping of ovicidal response in rice (*Oryza sativa* L.) against whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera* Horváth). *Crop Sci.* 39: 1178–1183.
- 山崎将紀・安井秀 (2002) イネのウンカ類に対する殺卵作用の遺伝解析. *植物防疫* 56: 479–482.
- Yamasaki, M., A. Yoshimura and H. Yasui (2003) Genetic basis of ovicidal response to whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera* Horváth) in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding* 12: 133–143.
- 安井秀 (2007) イネのツマグロヨコバイ抵抗性の遺伝解析. *Gamma field symposia* 46: 55–60.
- 吉井洋一・有坂将美・城斗志夫・早川利郎 (1997) 低アミロース米の理化学的特性. *食科工* 44: 353–360.
- 與座宏一・松木順子・岡留博司・岡部繭子・鈴木啓太郎・奥西智哉・北村義明・堀金彰・山田純代・松倉潮 (2010) 製粉方法の異なる米粉の特性と製パン性の関係. *食総研報* 74: 37–44.

謝 辞

国立大学法人名古屋大学農学国際教育研究センターの犬飼義明教授と同大学生物機能開発利用研究センターの北野英己教授には本論文の作成にあたり、終始懇切丁寧な御指導をいただきました。北野英己教授においては、愛知県農業総合試験場と名古屋大学の協定研究「環境及び生物的ストレス耐性イネの作出と収量性改善のための遺伝育種的研究」(2010年)、「イネ収量性改善のための遺伝育種学的研究」(2011-2013年)および、農林水産省研究開発事業「イノベーション創出強化研究推進事業(アミロペクチン短鎖化でおいしさが持続する画期的な業務・加工向け多収品種の開発)」(2014-2018年)を共同で行う中で、新規需要米に関する多岐に渡る御助言もいただきました。心より深くお礼申し上げます。

また、第1章においてセジロウンカを増殖するにあたり、(独)九州沖縄農業研究センター難防除害虫研究チームからセジロウンカを分譲していただきました。この場を借りて感謝の意を表します。第3章では、研究で用いた「日本晴NIL」の一部を農業生物資源研究所から提供していただきました。またその他品種の多くは農業生物資源研究所ジーンバンク事業によって提供を受けました。ここに記して感謝申し上げます。

なお、第2章の研究の一部は、農林水産省委託プロジェクト研究「温暖化の進行に適応する品種・育種素材の開発委託事業」の支援によるものです。

最後に、研究の全般にわたって助言いただくとともに、あらゆる面で支えていただいた愛知県農業総合試験場作物研究部作物研究室および、山間農業研究所稲作研究室のスタッフの皆様に深くお礼申し上げます。