

フタテンチビヨコバイのイネ幼苗を用いた累代飼育法と トウモロコシ品種のワラビー萎縮症抵抗性簡易検定法

松村 正哉・徳田 誠*
(九州沖縄農業研究センター)

A mass rearing method using rice seedlings for the maize orange leafhopper *Cicadulina bipunctata* (Melichar) (Homoptera: Cicadellidae) and a simple method for evaluating varietal resistance of maize to maize wallaby ear disease. Masaya Matsumura and Makoto Tokuda* (National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, Nishigoshi, Kumamoto 861-1192, Japan)

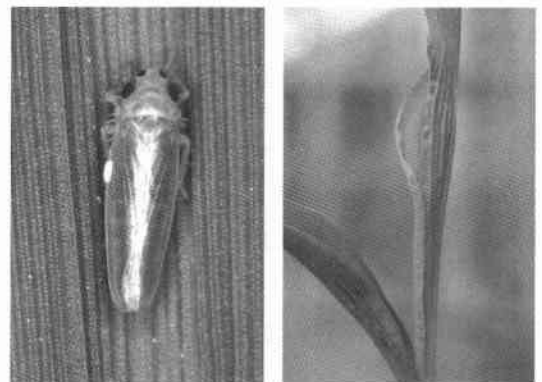
A continuous laboratory rearing method using rice seedlings was established for the orange leafhopper *Cicadulina bipunctata* (Melichar), which induces maize wallaby ear disease (MWED) on maize. The generation time was 28 to 35 days and the growth rate (from adults to adults) was 3.9 at a day length of 16 h and a temperature of 25°C. To establish a simple method for evaluating varietal resistance of maize to MWED, two pairs of adult *C. bipunctata* were released on a six-day-old maize seedling for three days. At six days after removal of the insects, the leaf length of the maize seedling was measured and the symptoms of MWED were observed using a rating of 0 to 2 based on the following scale: 0 = no symptom; 1 = slight enlargement of leaf vein; 2 = severe swelling of leaf vein. Using this method, varietal resistance of maize to MWED can be easily evaluated under laboratory conditions.

Key words : *Cicadulina bipunctata*, maize wallaby ear disease, mass rearing, varietal resistance

緒 言

フタテンチビヨコバイ *Cicadulina bipunctata* (Melichar) (以下、フタテンと呼ぶ) (第1図) は、北アフリカからインド、インドシナ半島、東南アジア、オーストラリア北部にかけて広く分布する体長約3 mmの半翅目ヨコバイ科の昆虫で、アジア地域における分布の北限は九州中部となっている (Webb, 1987; Wilson and Claridge, 1991)。本種は、トウモロコシにワラビー萎縮病と呼ばれる萎縮症状を引き起こすことで知られている (Maramorsch et al., 1961; Grylls, 1975)。この症状は、トウモロコシの株が萎縮し、葉身裏面の葉脈にこぶ状の隆起が見られ (第1図)、葉色もやや濃くなるもので、症状が激しい場合には収量が著しく低下する (Agati and Calica, 1949; 大畑, 1993)。

ワラビー萎縮症はフタテンによって媒介されるウイルス病であると考えられていた (Reddy et al., 1976)。しか



第1図 フタテンチビヨコバイの成虫 (左) と、本種の加害によりトウモロコシの葉身裏面の葉脈がこぶ状に隆起したワラビー萎縮症の症状 (右)。フタテンチビヨコバイの体長は約3 mm。トウモロコシは2葉期。

*現在 産業技術総合研究所

*Present address: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Tsukuba Central 6, Tsukuba, Ibaraki 305-8566, Japan

し、その後の研究によって、罹病株からウイルス粒子が認められないことなどから、フタテンの吸汁により植物体内に注入されるなんらかの毒素のような物質によって、トウモロコシに生育抑制と萎縮症状が起こるものとされている (Ofori and Francki, 1983; 大畑, 1993; 河野, 1994)。しかし、ワラビー萎縮症の起こる詳しいメカニズムはまだわかっていない。

日本においては、これまで長崎、熊本、鹿児島、宮崎の各県で、1986年以降に飼料用二期作トウモロコシでワラビー萎縮症の被害が局地的に発生している (大畑, 1993; 大畑, 私信)。また、沖縄県のスイートコーンにおいても同様の被害が発生した事例がある (河野, 1994)。とりわけ、フタテンの分布北限に近い熊本県菊池郡内では、1999年以降に飼料用二期作トウモロコシにおいて被害発生地と被害程度が拡大傾向にある (大畑, 私信)。飼料用トウモロコシに対して殺虫剤などの使用による防除対策を取ることは困難であるため、抵抗性品種の利用などの被害回避手段を確立する必要がある。

フタテンの加害に対して抵抗性を示すトウモロコシ品種の存在が知られているが、現在、実用化されているのは1品種のみである。今後、新たなワラビー萎縮症抵抗性の品種育成を行う際には抵抗性の検定を行う必要があるが、本種の発生が局地的でその発生生態も不明な点が多いため、圃場試験による抵抗性の検定は困難である。このため、フタテンの簡易増殖法と幼苗を用いた室内での簡易抵抗性検定法を確立することは極めて有用である。そこで、イネ幼苗を用いた本種の簡易増殖法と、トウモロコシ幼苗を用いた簡易抵抗性検定法について検討を行った。

本文に先立ち、フタテンを同定して頂いた九州大学大学院農学研究院の紙谷聡志氏、トウモロコシ種子を分譲して頂くとともにフタテンの発生状況等の多くの情報をご教示頂いたパイオニア・ハイブレッッド・ジャパン株式会社の大畑親一氏、有益な情報をご教示頂いた九州沖縄農業研究センターの佐藤健次氏に厚く御礼申し上げる。

材料および方法

1. 供試昆虫

2000年9月に熊本県菊池郡旭志村の飼料用二期作トウモロコシ圃場において、フタテンの成虫を雌雄合計で約20頭採集した。これを播種後4~5日のイネの芽出し苗 (品種レイホウ) を入れたツマグロヨコバイ大量飼育箱 (30cm × 24.5cm × 28cm, 三紳工業株式会社製) に放飼した。放飼2週間後から次世代幼虫が出現したので、1週間ごとに芽出し苗を更新し、これを飼育ストックとし

て維持した。飼育ストックの維持は25℃, 16時間日長の恒温室内で行った。

2. イネ幼苗を用いた累代飼育法とその増殖効率

直径14cm, 高さ16cmの透明プラスチック円筒容器 (以下、飼育容器と呼ぶ) にビートモスを2cmの高さに敷きつめ、数日間水に浸して鳩胸状態にしたイネ種子 (品種レイホウ) 35gを播種した。飼育容器の上部はナイロンゴースで覆った。播種4日後に、この飼育容器にフタテンの成虫を後述する密度で放飼した。放飼1週間後に成虫を除去し、苗を水洗いした。放飼2, 3および4週間後に飼育容器と餌を更新した。餌の更新時には、古い飼育容器を上、新しい飼育容器を下にして向かい合わせに重ね、中の虫を新しい飼育容器に払い落とした。放飼35日後に、次世代の成虫数を雌雄別に計数した。飼育密度と増殖効率との関係を明らかにするため、飼育容器当たりの放飼成虫密度を20対および50対とし、増殖効率 (放飼密度あたりの次世代成虫数) を比較した。反復数は各密度区でそれぞれ8であった。実験は25℃, 16時間日長の恒温室内で行った。

3. 簡易抵抗性検定法

パイオニア・ハイブレッッド・ジャパン株式会社で育成された飼料用トウモロコシの4品種を供試した。4品種の内訳は、ワラビー萎縮症に対して圃場抵抗性を示す2品種「30D44」および「30B80」と、感受性を示す2品種「3081」および「3470」であった。これらの圃場抵抗性の程度が既知である4品種を用いて、以下に示す検定法により抵抗性程度の評価を行った。このうち、「30D44」は唯一のワラビー萎縮症抵抗性品種として九州地域において実用化されている品種である。

ワラビー萎縮症に対する簡易抵抗性検定法を確立するため、プラスチックコップ (220ml) に土 (育苗用培土) を入れて、トウモロコシの各品種を1粒づつ播種した。播種後6日目 (2葉期) に、第2葉の長さ (葉の先端から地上部までの長さ) を測定し、羽化後約1週間のフタテン成虫2対を3日間放飼した。放飼時には、プラスチックコップに直径4.5cm, 高さ25.0cmの亚克力円筒容器を被せ、上部はナイロンゴースで覆った。放飼3日後に放飼虫を回収し、放飼期間中の第2葉の伸長量を測定した。放飼虫を回収してから6日後に第2葉および第3葉の長さとしてワラビー萎縮症の病徴の有無を測定・観察した。第3葉が展開している場合には回収6日後の第3葉の長さとして回収時の第2葉の長さの差を、展開していない場合には6日間の第2葉の伸長量を草丈伸長量とした。ワラビー萎縮症の病徴スコアについては、0: 無病徴, 1: 葉脈が浮き出る, 2: こぶ状の隆起が顕著に見

られる、の3段階とし、品種ごとにスコアの平均値を算出した。供試したトウモロコシは、播種からフタテン放飼までとフタテン回収後の6日間は $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 、自然日長のガラス温室に、フタテンの放飼期間中は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、16時間日長の恒温室内に置いた。対照として無放飼区を品種ごとに設けた。反復数は各区とも品種ごとに7~10であった。

結 果

1. イネ幼苗を用いた累代飼育法とその増殖効率

フタテンはイネ幼苗を用いて容易に飼育することが可能で、 25°C 16時間日長の条件下で1世代28~35日で累代飼育が可能であった。なお、予備的な試験として、この方法で2年間以上にわたり累代飼育した本種の子孫をトウモロコシ幼苗に放飼したところ、野外虫と同様にトウモロコシにワラビー萎縮症を引き起こすことを確認した。また、累代飼育による増殖力の低下などはみられなかった。

本種の成虫をイネ芽出し苗に密度を変えて放飼して次世代幼虫数を調査したところ、容器当たり20対放飼区では雌雄合計で156.0頭、50対放飼区では367.8頭の次世代成虫が得られた(第1表)。成虫数は雌より雄のほうが若干多い傾向にあったが、性比は両放飼密度区ともに1:1との間に有意な差はなかった(2項検定, $p > 0.05$)。1世代の増殖効率は20対放飼区で3.9倍、50対放飼区で3.7倍であった(第1表)。

第1表 イネ芽出し苗を餌とした場合のフタテンチビヨコバイの放飼頭数と次世代成虫数との関係

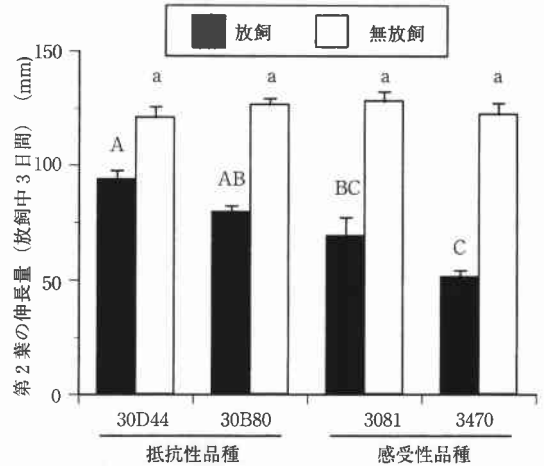
放飼頭数 (A)	次世代成虫数 (平均値 \pm SE)			増殖効率 (B/2A)
	雌	雄	計 (B)	
20	73.4 \pm 5.6	82.6 \pm 4.8	156.0 \pm 9.9	3.90
50	179.5 \pm 9.6	188.3 \pm 9.0	367.8 \pm 17.8	3.68

2. 簡易抵抗性検定法

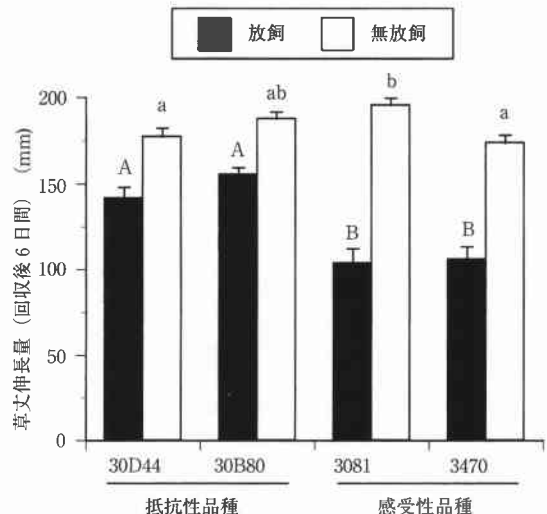
播種後6日目のトウモロコシ幼苗にフタテンを放飼し、放飼期間中(3日間)の第2葉の伸長量を測定したところ、いずれの品種においても放飼区では無放飼区に比べて伸長量が有意に少なかった(t 検定, $p < 0.05$) (第2図)。このことから、抵抗性、感受性の品種ともに、フタテンの吸汁によって葉の生育抑制が見られることがわかった。しかし、生育抑制の程度には品種間で違いが見られ、放飼区の第2葉の伸長量を品種ごとに比較すると、抵抗性の「30D44」と「30B80」では感受性の「3081」および「3470」に比べて伸長量が多い傾向にあった。抵

抗性品種の「30D44」では感受性の2品種との差が有意であった(Tukey-Kramer検定, $p < 0.05$)。

フタテンの回収後6日間の草丈伸長量については、抵



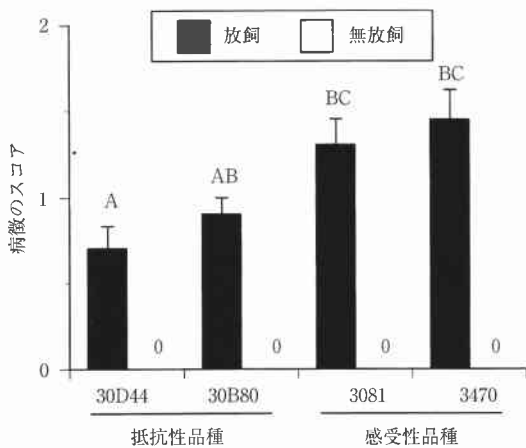
第2図 フタテンチビヨコバイをトウモロコシに放飼した場合の放飼期間中の第2葉伸長量の品種間差異。播種後6日目のトウモロコシにフタテンチビヨコバイを3日間放飼した。第2葉伸長量は放飼期間3日間の値。同一大文字または同一小文字の間には有意差がないことを示す(Tukey-Kramer検定, $p > 0.05$)。



第3図 フタテンチビヨコバイをトウモロコシに放飼した場合の放飼終了後の草丈伸長量の品種間差異。播種後6日目のトウモロコシにフタテンチビヨコバイを3日間放飼した。草丈伸長量は放飼虫回収後6日間の値。同一大文字または同一小文字の間には有意差がないことを示す(Tukey-Kramer検定, $p > 0.05$)。

抗性品種と感受性品種との間に明らかな違いが見られ、抵抗性品種の「30D44」と「30B80」では感受性品種の「3081」と「3470」に比べて有意に伸長量が多かった (Tukey-Kramer 検定, $p < 0.05$) (第3図)。

ワラビー萎縮症の病徴については、抵抗性品種の「30D44」と「30B80」では病徴のスコア平均値が1以下であったのに対し、感受性品種の「3081」と「3470」では1以上であった (第4図)。また、抵抗性品種の「30D44」では感受性品種の「3081」および「3470」に比べてスコアが有意に低かった (Steel-Dwass 検定, $p < 0.05$) (第4図)。



第4図 フタテンチビヨコバイをトウモロコシに放飼した場合のワラビー萎縮症状の病徴スコアの品種間差異。播種後6日目のトウモロコシにフタテンチビヨコバイを3日間放飼した。病徴は放飼虫回収6日後に調査した。同一文字の間には有意差がないことを示す (Steel-Dwass 検定, $p > 0.05$)。スコアについては本文参照。無放飼区ではいずれの品種でも病徴のスコアは0であった。

考 察

これまで、フタテンの被害再現試験などにおいては、供試昆虫は小麦やトウモロコシ (Ammar, 1978; Maramorosch et al., 1961)、ポット植えのイネ (Catindig et al., 1996) などで飼育増殖したものが用いられている。しかし、本種がこれらの植物で累代飼育可能か否か、あるいは、イネウカ類で行われているようなイネ芽出し苗を用いた効率的な飼育法についてはこれまで検討されていなかった。本研究から、フタテンはイネ幼苗を用いて1世代28~35日で累代飼育が可能であり、1世代で約4倍に増殖可能であることが明らかになった

(第1表)。また、イネ幼苗を用いて2年間以上累代飼育した系統を用いても、野外虫と同様にトウモロコシにワラビー萎縮症を示すことがわかった。したがって、イネ幼苗で累代飼育した系統を用いてワラビー萎縮症に対する抵抗性検定を行うことが可能であると考えられる。

ワラビー萎縮症に対する抵抗性の検定法として、播種後6日目のトウモロコシ幼苗にフタテンを3日間放飼して、放飼虫回収後6日間の草丈伸長量と病徴を調査する方法を確立した。この方法により、フタテンの加害に対するトウモロコシのワラビー萎縮症抵抗性程度の品種間差異を簡易に判定できることが明らかになった (第3図, 第4図)。なお、フタテンの加害に対して圃場レベルで抵抗性を示す品種であっても、生育抑制やワラビー萎縮症の病徴が発現した (第2図, 第3図, 第4図)。したがって、フタテンに対する抵抗性 (耐性) は抵抗性が感受性かというような二者択一的なものではなく、病徴の発現程度の量的な差によるものであると考えられる。現在、フタテンの発生地である熊本県内では抵抗性品種「30D44」の導入により実質的な被害が回避されていることから、今後の新たな品種育成においては、本検定方法を用いて「30D44」と生育抑制程度や病徴が同等かそれ以上であるかどうかを検定すればよいと考えられる。なお、本研究では、フタテンの放飼密度や放飼期間について詳細な検討を行わなかった。今後これらを検討することにより、より明確な抵抗性の判別法を確立できると考えられる。

Catindig et al. (1996) は、フタテンの寄主範囲について58種のイネ科植物を調査し、そのうちの17種の植物で発育が可能であることを示した。また、これらの植物のうち、トウモロコシで最も発育が良好なことを示している。一方、イネはトウモロコシに比べてフタテンの産卵数が極めて少なく、卵の生存率が低く、幼虫発育期間が長い (Catindig and Barrion, 1995; Catindig et al., 1996) ことから、寄主として不適であるとされている。しかし、筆者らの予備試験によるフタテンのイネでの増殖率は、従来報告されていたイネでの増殖率 (Catindig and Barrion, 1995; Catindig et al., 1996) よりも極めて高いことがわかっている (松村・徳田, 未発表)。両者の違いの原因は不明であるが、供試したイネの品種の違いなどが関与している可能性があり、今後検討する必要がある。また、本種はトウモロコシの他、イネにも類似の萎縮症状を起こすことが知られている (Agati and Calica, 1949; 河野, 1994)。日本においては、これまで本種の水田での発生は認められていないものの、今後、イネにおける増殖特性やイネでのフタテンの害虫化の可能性につ

いて検討する必要がある。

フタテンによる二期作トウモロコシのワラビー萎縮病の被害は、これまで熊本県菊池郡内のごく限られた地域を中心に発生していたが、1999年以降に被害発生地域の範囲が拡大する傾向にある(大畑, 私信)。この原因については不明であるが、今後、地球温暖化等の影響によってフタテンの発生世代数の増加、発生時期の早期化、発生個体数の増加の可能性がある。これに伴い、現在は飼料用として7月末頃に播種される二期作トウモロコシのみで発生している被害が、一期作目あるいは食用のスイートコーンなどにも拡大する可能性がある。このため、フタテンの温度・発育反応や温度別の生活史パラメータなどの基礎的データを明らかにしておく必要がある。また、本種による被害回避対策を検討する上では、日本における野外での発生生態、特に野生寄主植物や越冬生態などについて今後明らかにする必要がある。

摘 要

フタテンチビヨコバイ *Cicadulina bipunctata* (Melichar) は北アフリカ、アジア熱帯地域からオーストラリア北部にかけて広く分布し、トウモロコシにワラビー萎縮病と呼ばれる萎縮症状を引き起こす。日本では、これまで熊本県の一部を中心に、1986年以降に飼料用二期作トウモロコシで被害が発生している。本種の加害に対して抵抗性を示すトウモロコシ品種の育成のためには、簡易増殖法と幼苗を用いた室内での簡易抵抗性検定法を確立する必要がある。そこで、イネ幼苗を用いた本種の簡易増殖法と、トウモロコシ幼苗を用いた簡易抵抗性検定法を確立した。本種はイネ幼苗で容易に飼育可能で、25℃16時間日長の条件下では1世代28~35日で累代飼育が可能であった。1世代の増殖効率は3.9倍であった。簡易抵抗性検定法を確立するため、播種後6日のトウモロコシ(2葉期)に本種の成虫2対を3日間放飼して、放飼期間中の葉の伸長量および、放飼虫回収後6日間の葉の伸長量とワラビー萎縮症状の有無を測定・観察した。この方法によって、本種の加害に対するトウモロコシの抵抗性程度の品種間差異を簡易に判定できることが明らかになった。

引用文献

- Agati, J. A. and C. Calica (1949) The leaf-gall disease of rice and corn in the Philippines. *Philipp. J. Agric.* 14 : 31-40.
- Ammar, E. D. (1978) Comparative study on the morphology of the immature stages of *Cicadulina chinai* Ghauri and *Cicadulina bipunctella zeae* China. *Dtsch. Ent. Z. N. F.* 25 : 119-127.
- Catindig, J. L. A. and A. T. Barrion (1995) Biology of the maize orange leafhopper *Cicadulina bipunctata* (Melichar) on rice and maize. *Int. Rice Res. Notes* 20 (3) : 26-27.
- Catindig, J. L. A., A. T. Barrion and J. A. Litsinger (1996) Plant host range and life history of the orange leafhopper *Cicadulina bipunctata* (Melichar) (Hemiptera: Cicadellidae). *Philipp. Entomol.* 10 : 163-174.
- Grylls, N. E. (1975) Leafhopper transmission of a virus causing maize wallaby ear disease. *Ann. Appl. Biol.* 79 : 283-296.
- 河野伸二 (1994) 我国におけるフタテンチビヨコバイ *Cicadulina bipunctella* (Matsumura) (Hemiptera: Cicadellidae) の吸汁によるトウモロコシこぶ萎縮症の発生. *沖縄農試研究報告* 15 : 51-57.
- Maramorosch, K., C. A. Calica, J. A. Agati and G. Pableo (1961) Further studies on the maize and rice leaf galls induced by *Cicadulina bipunctella*. *Entomol. exp. appl.* 4 : 86-89.
- Ofori, F. A. and R. I. B. Francki (1983) Evidence that maize wallaby ear disease is caused by an insect toxin. *Ann. Appl. Biol.* 103 : 185-189.
- 大畑 親一 (1993) ヨコバイの一種, *Cicadulina bipunctata* Melichar (Homoptera, Cicadellidae), の吸汁加害によるトウモロコシの Maize Wallaby Ear Disease の発生について. *日草誌* 39 : 120-123.
- Reddy, D. V. R., N. E. Grylls and L. M. Black (1976) Electrophoretic separation of dsRNA genome segments from maize wallaby ear virus and its relationship to other phytoeviruses. *Virology* 73 : 36-42.
- Webb, M. D. (1987) Species recognition in *Cicadulina* leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae), vectors of pathogens of Gramineae. *Bull. Entomol. Res.* 77 : 683-712.
- Wilson, M. R. and M. F. Claridge (1991) Handbook for the Identification of Leafhoppers and Planthoppers of Rice. CAB International (Oxon), pp. 142.

(2004年4月30日受領; 6月18日受理)