

## 平成 23 年度 成績概要書

研究課題コード：6104-696322（公募型研究）

### 1. 研究成果

- 1) 研究成果名：合成ピレスロイド剤抵抗性ネギアザミウマの遺伝子型簡易判定法と発生実態  
（予算課題名：野菜類を加害する薬剤抵抗性ネギアザミウマの遺伝子解析）
- 2) キーワード：ネギアザミウマ、合成ピレスロイド剤抵抗性、PCR-RFLP、ハプロタイプ、生殖型
- 3) 成果の要約：空知・上川地方のネギアザミウマ個体群を用いて、合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型の簡易判定法を開発した。41%の個体が抵抗性の type III か IV であり、これらは 80%のほ場から確認された。感受性の type I または II は産雌性単為生殖のハプロタイプ(HT)13 と 14 から、type III はほとんどが産雄性 HT から、type IV は産雌性の HT15～17 から確認された。

### 2. 研究機関名

- 1) 担当機関・部・グループ・担当者名：中央農試・病虫害部・予察診断 G・武澤友二
- 2) 共同研究機関（協力機関）：

3. 研究期間：平成 22 年度（2010 年度）

### 4. 研究概要

#### 1) 研究の背景

近年、日本各地で各種野菜類や果樹類へのネギアザミウマの被害が拡大しており、合成ピレスロイド剤に抵抗性を示す個体群の発生により薬剤防除が困難となり、被害を深刻化させている。道内においても、ネギ類以外にキャベツ等でもネギアザミウマによる激しい被害が確認されており、抵抗性遺伝子を持つ個体や道外からの移入が疑われるハプロタイプが確認された。

#### 2) 研究の目的

空知および上川地方のネギ類、キャベツ、アスパラガス等の野菜類におけるネギアザミウマの発生実態の把握と適切な防除対策のための基礎的知見の集積を目的に、合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型およびハプロタイプ構成を明らかにする。

### 5. 研究方法

#### 1) 合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子の解析

##### ・ねらい

空知および上川地方のネギアザミウマ個体群を用いて、合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型の簡便な判定法を検討し、抵抗性個体の発生実態調査をおこなう。

##### ・試験項目等

ナトリウムチャンネル遺伝子の塩基配列を決定し、その塩基配列情報に基づき PCR-RFLP による合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型の判定法を検討する。また、本法を用いて抵抗性遺伝子型の判定をおこなう。

#### 2) ミトコンドリアシトクロムオキシダーゼ I (COI) ハプロタイプの解析

##### ・ねらい

空知および上川地方のネギアザミウマ個体群を用いて、COI ハプロタイプ構成を明らかにし、生殖型の簡便な判定法を検討する。

##### ・試験項目等

COI 遺伝子の塩基配列を決定し、ハプロタイプおよび生殖型の判定をおこなう。また、PCR-RFLP により生殖型の判定法を検討する。

### 6. 研究の成果

- (1) 96 個体についてナトリウムチャンネルゲノム遺伝子の塩基配列を決定したところ、合成ピレスロイド剤感受性の type I、抵抗性の type III と IV が確認されたが、感受性の type II は確認されなかった。
- (2) PCR-RFLP による合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型の簡易判定法を開発した(図 1, 2)。本法を用いて 195 個体を判定した結果、感受性(type I または II)が 59%、抵抗性の type III と IV はそれぞれ 29%と 12%であった。また、抵抗性遺伝子を持つ個体は調査ほ場の 80%で認められ、その分布域は少なくとも空知地方および上川地方南部の広い範囲におよぶことが確認された(表 1)。
- (3) COI 遺伝子の塩基配列を決定し、201 個体のハプロタイプおよび生殖型を判定した。また、PCR-RFLP による生殖型の判定法を開発した(図 3)。
- (4) 本試験で調査した空知および上川地方個体群では、抵抗性遺伝子型はハプロタイプおよび生殖型と強い関連性があり、感受性(type I または II)は産雌性単為生殖の HT13 と 14 のみで、type IV は産雌性の HT15～17 のいずれかのみで構成され、type III はほとんどが産雄性のハプロタイプであった(表 1)。

#### \* 用語解説

- ・PCR-RFLP：PCR 増幅した DNA の制限酵素切断断片の長さの違いから異なる遺伝子型を判定する方法。
- ・ハプロタイプ：片親に由来する遺伝子型の組合せ。ネギアザミウマでは 20 の COI ハプロタイプが知られており、系統解析に利用される。
- ・生殖型：ネギアザミウマは未受精卵から発生する単為生殖をおこない、雌しか生まれない産雌性単為生殖と雄雌が生まれる産雄性単為生殖の 2 つの生殖型が知られている。

## < 具体的なデータ >

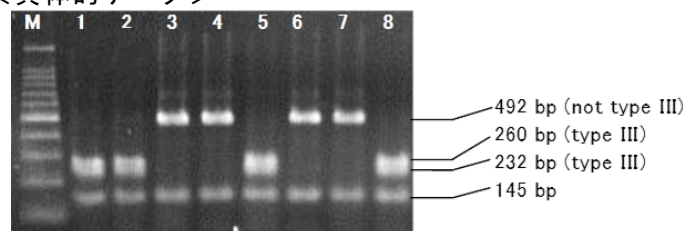


図 1. 合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型 type III の判定

\* レーン 1,2,5,8 は type III、3,4,6,7 は type III 以外 (I, II, IV のいずれか)

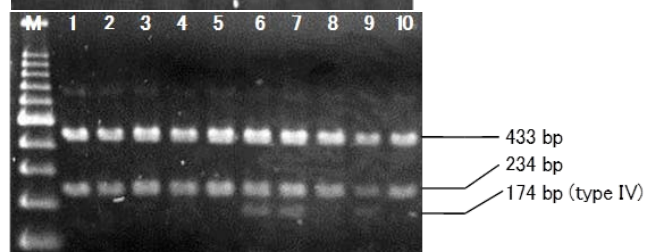


図 2. 合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型 type IV の判定

\* レーン 6, 7, 9 は type IV、1, 2, 3, 4, 5, 8, 10 は type IV 以外 (I, II, III のいずれか)

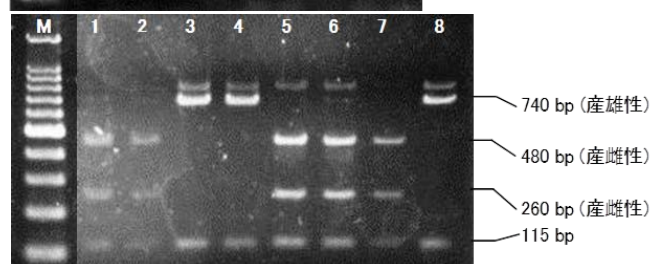


図 3. 生殖型の判定

\* レーン 1, 2, 5, 6, 7 は産雌性、3, 4, 8 は産雄性

表 1. 合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型とハプロタイプ構成

| 振興局         | 市町村 | 作物     | 抵抗性個体<br>確認ほ場数 | /調査ほ場数 | 合成ピレスロイド剤抵抗性タイプ別個体数 |                                        |                   |
|-------------|-----|--------|----------------|--------|---------------------|----------------------------------------|-------------------|
|             |     |        |                |        | type I, II<br>(感受性) | type III<br>(抵抗性)                      | type IV<br>(強抵抗性) |
| 空知          | A   | たまねぎ   | 2 / 3          |        | 17                  | 3                                      | 2                 |
|             |     | ねぎ     | 3 / 3          |        | 18                  | 5                                      | 1                 |
|             |     | キャベツ   | 2 / 2          |        | 10                  | 2                                      | 1                 |
|             |     | アスパラガス | 1 / 1          |        | 6                   | 0                                      | 4                 |
|             | B   | ねぎ     | 5 / 6          |        | 30                  | 11                                     | 7                 |
|             |     | アスパラガス | 0 / 2          |        | 16                  | 0                                      | 0                 |
|             | C   | たまねぎ   | 2 / 2          |        | 6                   | 10                                     | 0                 |
|             |     | キャベツ   | 1 / 1          |        | 1                   | 7                                      | 0                 |
|             | D   | ねぎ     | 2 / 2          |        | 2                   | 12                                     | 0                 |
|             | E   | ねぎ     | 1 / 1          |        | 1                   | 7                                      | 0                 |
| 上川          | F   | たまねぎ   | 0 / 1          |        | 8                   | 0                                      | 0                 |
|             | G   | たまねぎ   | 1 / 1          |        | 0                   | 0                                      | 8                 |
| 合計(割合)      |     |        | 20 / 25 (80%)  |        | 115 (59%)           | 57 (29%)                               | 23 (12%)          |
| ハプロタイプ(個体数) |     |        |                |        | 14(69), 13(42)      | 2(24), 18(12), 6~8(10), 1(9), 15~17(2) | 15~17(23)         |
| (生殖型)       |     |        |                |        | (すべて産雌性)            | (ほとんどが産雄性)                             | (すべて産雌性)          |

## 7. 成果の活用策

### 1) 成果の活用面と留意点

- (1) 本課題で開発した PCR-RFLP による判定法は、合成ピレスロイド剤抵抗性遺伝子型および生殖型の遺伝子診断法に活用する。
- (2) 本成果は空知・上川地方のたまねぎおよびねぎ産地で採集したネギアザミウマで得られたデータである。
- (3) 本課題は、財団法人北海道科学技術総合振興センター 若手研究人材育成事業「若手研究人材・ネットワーク育成補助金」(整理番号: H22 T-3-16) の助成により実施した。

### 2) 残された問題とその対応

- (1) 空知・上川地方以外における合成ピレスロイド剤抵抗性個体の分布実態の把握
- (2) 合成ピレスロイド剤抵抗性個体群に対する有効薬剤の探索と防除効果の検討
- (3) 代替薬剤を組み込んだローテーション防除による被害抑制効果の検討

以上 3 点について、後続課題で実施予定である。