

新技術

解説

# PCR-RFLP 法を活用したネギハモグリバエ *Liriomyza chinensis* (Kato) (Diptera : Agromyzidae) A 系統および B 系統の簡易迅速識別法

茨城県農業総合センター園芸研究所  
高木 素紀\*・岩崎 明\*\*・  
佐藤 信輔・小河原 孝司

茨城県西農林事務所結城普及センター  
森 晴 香

農研機構 東北農業研究センター  
上 すぎ 杉 龍 士

## はじめに

ネギハモグリバエ *Liriomyza chinensis* (Kato) はネギ、タマネギ、ニラ、ラッキョウ等、*Allium* 属にのみ寄生する害虫である (徳丸, 2019)。成虫が葉を吸汁しさらに葉身部に産卵して、ふ化した幼虫が葉肉内に潜り込み、葉身を食害して筋状の食害痕を残す。この症状により、寄主に生育遅延を引き起こすほか、外観品質を損ない経済的な被害をもたらす。

ネギハモグリバエは、これまで茨城県のネギ栽培ではそれほど多発する害虫ではなく、ネギアザミウマを防除していれば同時に防除され、大きな問題となることはなかった (TAKAGI et al., 2021)。しかし、2016 年に京都 (TOKUMARU et al., 2021) および長野 (金子・岩田, 2019)、2017 年に富山 (青木・黒田, 2019) および茨城 (TAKAGI et al., 2021) で、従来のネギハモグリバエとは摂食様式が異なり、ネギの葉身を白化させるほど激しい食害をもたらすネギハモグリバエが確認され始めた。2019 年には茨城県内で、ネギハモグリバエによりネギ株が枯死し、圃場が収穫皆無となる事例も認められた。TOKUMARU et al. (2021) によると、従来のネギハモグリバエの幼虫は葉の表皮直下と内面に交互に侵入することで不連続な線状の食害痕 (マイン) を形成するが、問題のネギハモグリバエは表面直下のみ穿孔して連続的なマインを形成する特徴をもつ。これらの特徴をもつ個体群は、形態的に

は同種である一方で、ミトコンドリア COI 遺伝子 (以下 *mtCOI* と略す) において異なる配列をもつ。そこで従来型はバイオタイプ A (以下 A 系統)、新型はバイオタイプ B (以下 B 系統) と名付けられた。

A 系統と B 系統は、形態上の差異を認めにくく (TOKUMARU et al., 2021)、これまで同定の手段はシーケンサーを用いた *mtCOI* の塩基配列決定に頼っていた。しかしシーケンス解析は機材、費用および労力を要することから、今回シーケンサー不要の PCR-RFLP 法を用いた識別法を開発したので紹介する。試算では、1 サンプル当たり判別時間を 1/4、コストを 1/5 に削減することができる。

なお、本研究を実施するにあたり、農研機構 豊島真吾博士、浦入千宗博士には貴重なネギハモグリバエ A 系統を分譲いただいた。同じく農研機構 有本誠博士には、PCR 法について貴重なアドバイスをいただいた。また、茨城県内のネギハモグリバエサンプリングには多くの茨城県職員および生産者の方々の協力をいただいた。厚く御礼申し上げる。

## I PCR-RFLP 法による系統判別

### 1 PCR-RFLP 法について

PCR-RFLP (制限酵素断片長多型 : Polymerase Chain Reaction-Restricted Fragment Length Polymorphism) は、PCR によって増幅された DNA 断片内に含まれる、制限酵素が認識して消化 (切断) できる塩基配列 (制限酵素認識部位 RES : Restriction Enzyme recognition Site) を利用して、断片長の違いから遺伝子相違を比較する方法である (図-1, 2)。日本の害虫では、タバココナジラミのバイオタイプ判別 (バイオタイプ Q と B) (上田, 2006) が有名である。

Simplified and Rapid Detection Method of *Liriomyza chinensis* (Kato) (Diptera : Agromyzidae) Genotypes A and B using PCR-RFLP. By Motonori TAKAGI, Akira IWASAKI, Shinsuke SATO, Takashi OGAWARA, Haruka MORI and Ryuji UESUGI

(キーワード : バイオタイプ, *Allium* 属, ネギ, *mtCOI*, dCAPS 法)

\*現所属 : 茨城県銚田普及センター

\*\*現所属 : 株式会社 IMO