


 研究
報告

ネギハモグリバエのバイオタイプ A と B を 識別するための核 DNA マーカーの開発

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜花き研究部門 野菜花き育種基盤研究領域	うら 浦	いり 入	ち 千	ひろ 宗
国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜花き研究部門 野菜花き品種育成研究領域	ふじ 藤	と 戸	さと 聡	し 史
国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター 畑作園芸研究領域	うえ 上	すぎ 杉	りゅう 龍	じ 士

はじめに

ネギハモグリバエ *Liriomyza chinensis* (Kato) は高温期に多発するネギ類の重要害虫である。幼虫が葉身内を潜孔し、白い筋状の食害痕を生成するため、葉身部が商品となる葉ネギでは商品価値を著しく損なうほか、葉身が枯れる場合もある (CHOI et al., 2003)。ネギハモグリバエはこれまで、ネギアザミウマとの同時防除により抑えられていたため、さほど大きな問題にはならなかった。しかし 2016 年ころから、食害様相が従来系統とは異なるネギハモグリバエ別系統の発生が全国的に確認されるようになった。別系統では幼虫が集団で葉身を加害する傾向があるため、甚発生圃場では葉全体が白化する例もみられる (徳丸・上杉, 2019)。別系統と疑われる被害が新たに発生した場合、特殊報発令のために確実な同定が必要となるが、両系統の外見による識別は困難であり (TOKUMARU et al., 2021)、遺伝子型の違いによる同定が必要であった。

これまで、ミトコンドリア COI 遺伝子 (以下、mtCOI) のプライマーセット LCO1490 および HCO2198 (FOLMER et al., 1994) により増幅されるネギハモグリバエ両系統の DNA 断片 612 bp の中に 8 箇所の一塩基置換 (SNP) があることが明らかになっており (TOKUMARU et al., 2021)、それ以降、従来系統はバイオタイプ A、別系統はバイオタイプ B と呼ばれるようになった。さらに、この mtCOI の多型を利用してネギハモグリバエのバイオタイプ識別用 PCR-RFLP (制限酵素断片長多型: Polymerase Chain Reaction-Restricted Fragment Length Polymorphism)

マーカーが開発された (TOKUMARU et al., 2021; TAKAGI et al., 2021)。しかし、ミトコンドリア DNA マーカーによる系統識別では母系由来の遺伝子型しか確認できず、交雑個体は同定できないという欠点があった。そこで農研機構 野菜花き研究部門では、核ゲノム上の D2 領域についてダイレクトシーケンスを行い、多型情報を利用した核 DNA マーカーを開発した。本稿では、今回開発した核 DNA マーカーおよび既に開発されているミトコンドリア DNA マーカーを用いた PCR-RFLP 法による確実なネギハモグリバエのバイオタイプ識別法について紹介する。また、日本各地で採集されたネギハモグリバエの mtCOI および D2 領域の塩基配列情報に基づき、系統解析も行ったので合わせて報告する。

本研究を進めるにあたり、京都大学大学院農学研究科 日本典秀教授、京都府農林水産技術センター 徳丸晋虫氏、北海道立総合研究機構 岩崎暁生氏、農研機構北海道農業研究センター 豊島真吾氏には多大なるご助言を賜った。また、各都道府県の公設試ならびに病虫害防除所の方々には地域採集ネギハモグリバエサンプルを提供いただいた。この場を借りて厚く御礼申し上げる。

I 解析に使用したネギハモグリバエサンプル

15 都道府県で採集された計 60 サンプルおよび 28 サンプルをそれぞれ D2 および mtCOI 領域のダイレクトシーケンスに使用した (道総研または農研機構での累代飼育個体群を含む)。PCR-RFLP 法による系統識別には、所内実験室内で作成した系統間交雑個体 (F₁) 8 サンプルおよび 20 都道府県で採集された計 266 サンプル (道総研または農研機構での累代飼育個体群を含む) を使用した。系統間交雑に使用したネギハモグリバエについては、バイオタイプ A は農研機構 野菜茶業研究所 (現同野菜花き研究部門安濃野菜研究拠点、三重県津市) の圃場にて 2011 年 10 月に採集し、葉ネギ (品種: ‘九条太’)

A Novel Nuclear DNA Marker for Identifying Biotypes A and B of *Liriomyza chinensis* (Diptera: Agromyzidae). By Chihiro URAIRI, Satoshi FUJITO and Ryuji UESUGI

(キーワード: ネギハモグリバエ, バイオタイプ識別, D2 領域, mtCOI, PCR-RFLP 法)