

ハモグリバエ類の遺伝子解析による即日加害種判別

農業・園芸総合研究所

1 取り上げた理由

野菜や花きを加害する広食性ハモグリバエのうち、在来種であるナスハモグリバエと近年の侵入種であるマメハモグリバエ（県内初確認1994年）、トマトハモグリバエ（同2004年）、アシグロハモグリバエ（同2004年）とは形態及び加害様式が酷似している。これら4種は寄生性や薬剤感受性が異なり、効果的な防除のためには種の判別が必要である。従来の判別法は、幼虫寄生組織から蛹を経て羽化した成虫から雄を選び、顕微鏡下で交尾器の形態を確認する形態観察のみである。しかし、この形態判定は熟練を要し、幼虫寄生組織を用いた場合、結果が出るまでに10日以上要することから、適切な防除のためには、より簡便で迅速な判別技術が求められていた。今回、成虫や蛹だけでなく、葉に寄生した状態の幼虫からでも、即日に加害種の判別ができる遺伝子診断法を開発し、防除対策としての活用が可能なので、普及技術とする。

2 普及技術

- 1) ナスハモグリバエ (*Liriomyza bryoniae*)、マメハモグリバエ (*L. trifolii*)、トマトハモグリバエ (*L. sativae*) 及びアシグロハモグリバエ (*L. huidobrensis*) の4種が判別できる。
- 2) 検体は、成虫、葉上または地表面の蛹、葉に寄生した状態の幼虫のどれでもよく、雌雄を問わない。いずれも生体が望ましいが、成虫の場合は、粘着トラップ等に付着した死後数日程度の損傷のないものでも検定可能である。蛹の場合は、羽化前であることを確認し、幼虫の場合は、潜孔先端の幼虫が確認できるものを用いる。
- 3) 採取する検体数は、発生1箇所あたり4検体程度とする。
- 4) 遺伝子診断はDNA抽出、遺伝子増幅、アガロースゲル電気泳動、染色・検出から成り、種特異的な遺伝子増幅産物を測定することにより判定する（図1）。所要時間は合計約3.5時間である。

3 利活用の留意点

- 1) 検体（成虫、蛹、幼虫）を採取後すぐに診断しない場合には、冷蔵（4℃）で数日保存できる。なお、99.9%エタノール中では半永久的に保存可能である。さらに、DNA抽出液は、冷蔵で数か月保存できる。
- 2) 近年、上記4種と別属のナモグリバエ (*Chromatomyia horticola*) の発生が多いが、本技術をナモグリバエに適用した場合、増幅産物はなく、上記4種との識別は可能である（図1）。
- 3) 本技術に必須の機器は、サーマルサイクラー（遺伝子増幅装置、約70万円）、アガロースゲル電気泳動装置（約4万円）、小型微量遠心機（約3万円）、紫外線照射装置（約13万円）であり、これらの機器はDNA品種識別を含めた多くの遺伝子診断技術に活用できる。
- 4) サーマルサイクラーの1回の処理数は通常96検体であり、96検体実施した場合の消耗品経費は、1検体あたり約70円である。

（問い合わせ先：農業・園芸総合研究所 バイオテクノロジー開発部 電話022-383-8131）

4 背景となった主要な試験研究

1) 研究課題名及び研究期間

DNAマーカーによるハモグリバエ類の寄生種判別法の開発 平成17～平成18年度

2) 参考データ

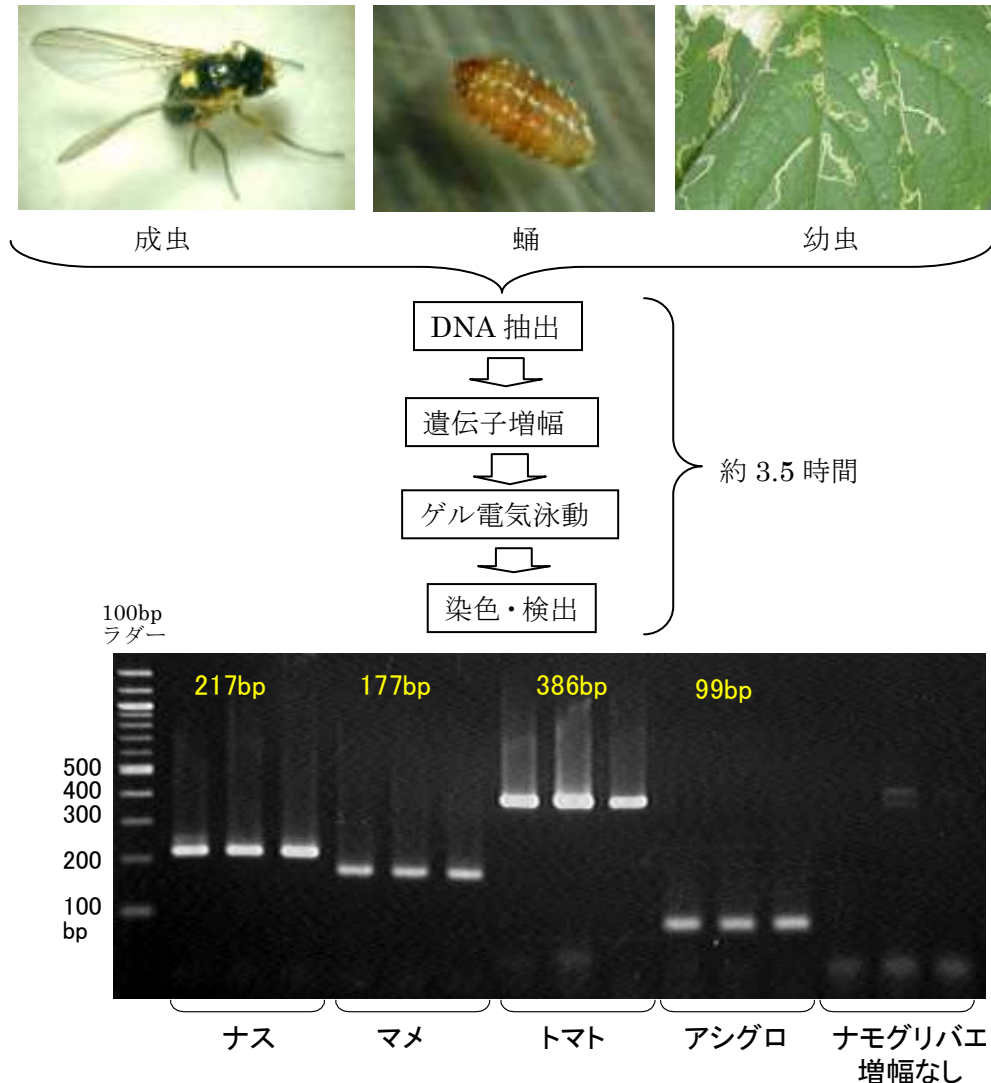


図1 検定作業の流れとアガロースゲル電気泳動によるハモグリバエ類の種判別パターン

表1 判別に用いるプライマーの塩基配列

ナスハモグリバエ特異的 5' プライマー	N2.5 : TTTTGTAGTTGACTAGCCACAA
マメハモグリバエ特異的 5' プライマー	M3.0 : TTATACACCAACTACTTTTGTGAA
トマトハモグリバエ特異的 5' プライマー	T1.5 : AAAAAGGAACTTTTGGTAGAT
アシグロハモグリバエ特異的 5' プライマー	A5.0 : TAATTCATCAATTGATGTAGTA
共通3' プライマー	COIN2 : CCKGCTATAATTGCAAATAC

増幅対象としている遺伝子はミトコンドリアゲノムの一部である

3) 発表論文等

第60回北日本病害虫研究発表会 (平成19年2月)