

遺伝子鑑定による薬剤耐性病害虫の診断技術

農業・園芸総合研究所

1 取り上げた理由

作物の病害虫防除において、病害虫の化学合成農薬に対する抵抗性発達は深刻な問題である。薬剤耐性を有する病害虫の診断は、外観での識別はできず、また、薬剤検定による判定までには時間を要することから、迅速な診断は難しい。近年、病害虫における薬剤耐性の分子生物学的なメカニズムが明らかにされつつあり、薬剤耐性の有無を遺伝子レベルで識別できる遺伝子診断技術が開発されてきている。遺伝子診断は、これまでの薬剤検定による判定に比べて短期間（1日程度）で薬剤耐性の診断が可能であり、迅速に薬剤耐性の有無を生産現場に報告できる。そこで、宮城県内で発生が確認されている薬剤耐性病害虫の遺伝子診断技術の開発・検証を行い、防除対策への活用が十分に可能な遺伝子診断技術をまとめたので普及技術とする。

2 普及技術

- 1) 対象とする薬剤耐性病害虫は以下のとおり。
 - a トリフルミゾール剤耐性菌：キュウリうどんこ病菌，イチゴうどんこ病菌
 - b QoI耐性菌：キュウリうどんこ病菌，キュウリ褐斑病菌，イチゴ炭疽病菌
 - c ビフェナゼート剤耐性ハダニ類：ナミハダニ，カンザワハダニ
- 2) 診断方法の概要を図1に示す。それぞれの検定方法と検出できる遺伝子型は以下のとおり。
 - a トリフルミゾール剤耐性キュウリうどんこ病菌：PCR-RFLP法による感受性型，耐性型（1塩基置換型），高度耐性型（4塩基置換型）の遺伝子型診断（図2）
 - b トリフルミゾール剤耐性イチゴうどんこ菌：PCRによる感受性型および耐性型の遺伝子型検出
 - c QoI剤耐性菌（菌の種類は上述）：PCR-RFLP法による感受性型，耐性型の遺伝子型診断（図3：キュウリうどんこ病菌）
 - d ビフェナゼート剤感受性低下ナミハダニ・カンザワハダニ：PCR-RFLP法による野生型，変異型個体の検出による感受性低下個体群の識別（図4）

3 利活用の留意点

- 1) 上記の診断は，農業・園芸総合研究所バイオテクノロジー開発部において検定できる。各検定に要する消耗品の費用は，1検体あたりいずれも100～200円程度である。遺伝子診断での判定は，「薬剤耐性の遺伝子型が検出された」等，遺伝子型での判別となる。
- 2) 遺伝子診断に用いる材料には，いずれも病原菌および害虫が確認できる状態のサンプルが必要である。すなわち，病原菌では作物上で孢子等が十分に確認できる状態の感染植物体あるいは培地上で培養した病原菌，ナミハダニ・カンザワハダニであれば，成育ステージが成虫の虫体がそれぞれ必要である。
- 3) キュウリうどんこ病菌については，1つのサンプルでトリフルミゾール剤耐性，QoI剤耐性の両方を検定可能である。
- 4) ここで取り上げた剤はそれぞれ，トリフルミゾール剤はトリフミン水和剤，QoI剤はアミスター20フロアブル，ストロビーフロアブル，ビフェナゼート剤はマイトコーネフロアブルを指す。同一系統に分類される他の剤については未検討であるため，抵抗性との関連は不明である。

（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

簡易型DNA鑑定キット作製による病害虫等診断技術の開発（平成20年度）
簡易遺伝子鑑定等による病害虫診断法の確立（平成21年～23年度）

2) 参考データ

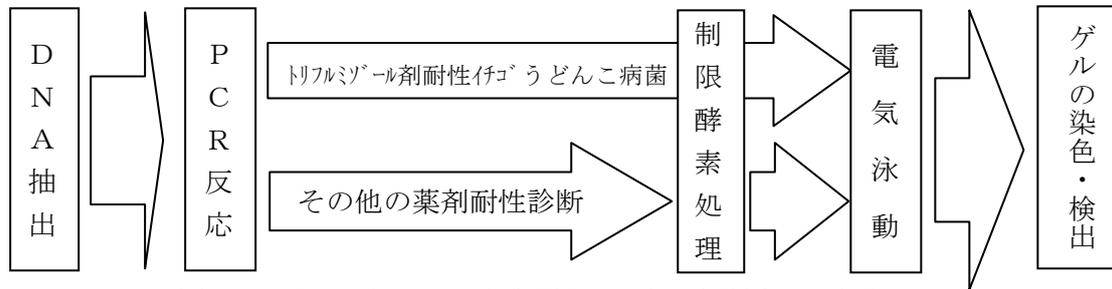
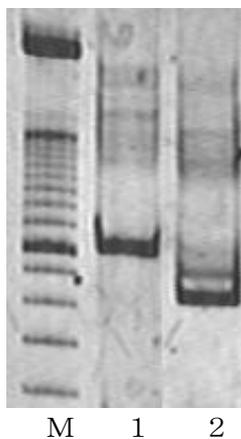
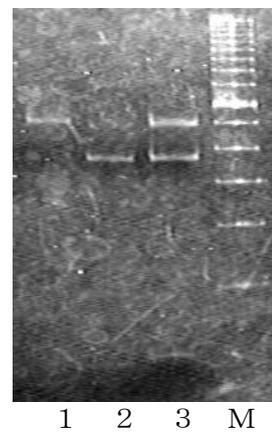


図1 遺伝子鑑定での薬剤耐性病害虫の診断までの流れ



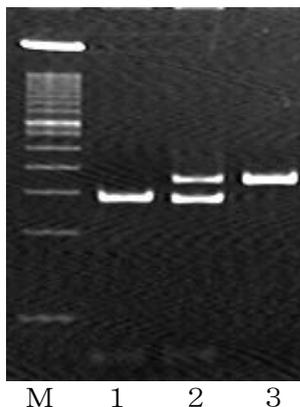
←4塩基置換型
←1塩基置換型
←感受性型

図2 PCR-RFLP法によるキュウリうどんこ病菌のトリフルゾール剤に対する感受性と耐性の識別
レーンM：ラダーマーカー
レーン1：4塩基置換型（高度耐性型）
レーン2：1塩基置換型（耐性型）と感受性型の混在。



←286塩基対（感受性型）
←228塩基対（耐性型）

図3 PCR-RFLP法によるキュウリうどんこ病菌のQoI剤に対する感受性型と耐性型の識別
レーン1：感受性型
レーン2：耐性型
レーン3：感受性型+耐性型
レーンM：ラダーマーカー



←変異型バンド
←野生型バンド

図4 PCR-RFLP法によるピフェナゼート感受性低下ハダニ個体群の識別
レーンM：ラダーマーカー
レーン1：野生型個体だけの個体群
レーン2：野生型・変異型個体混在の個体群
レーン3：変異型個体だけの個体群

3) 発表論文等

a 関連する普及に移す技術

a) 遺伝子解析によるピフェナゼート剤感受性低下ナミハダニ個体群の識別（第86号参考資料）

b その他

a) ピフェナゼート耐性ナミハダニ個体群における遺伝子解析. 北日本病虫研報61:281(講演要旨)

4) 共同研究機関 なし