

氏名	包文学		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	農学		
学位授与番号	博甲第5056号		
学位授与の日付	平成26年 9月30日		
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)		
学位論文の題目	果菜類の重要害虫ミナミキイロアザミウマの殺虫剤抵抗性に関わる分子機構の解析		
論文審査委員	准教授 園田 昌司	教授 鈴木 信弘	准教授 杉本 学

学位論文内容の要旨

本研究では、果菜類の重要害虫であるミナミキイロアザミウマ *Thrips palmi* の合成ピレスロイド剤(シペルメトリン)、スピノシン系殺虫剤(スピノサド)、ネオニコチノイド系殺虫剤(イミダクロプリド)に対する抵抗性機構を明らかにし、本種の防除対策に貢献することを目的として行われた。

合成ピレスロイド剤抵抗性には、標的であるナトリウムチャネルのアミノ酸置換による感受性の低下とシトクローム P450 (CYP450)による解毒分解活性の増大が関与していることが、多くの昆虫種で報告されている。そこでまず、シペルメトリンに対する抵抗性レベルの最も高い系統と最も低い系統を用いて、ナトリウムチャネル遺伝子の全塩基配列を決定し、コードされるアミノ酸配列の比較を行った。その結果、1)両系統は M827I、T929I、A1215D という既知のアミノ酸置換を持ち抵抗性系統であること、2)両系統の抵抗性レベルの違いはナトリウムチャネルのアミノ酸配列の違いでは説明できないことが示された。CYP450 の活性阻害剤である PBO を用いた感受性試験により、1)本種の合成ピレスロイド剤抵抗性には、ナトリウムチャネルのアミノ酸置換による感受性の低下と CYP450 による解毒分解の両方が関与していること、2)両系統のシペルメトリンに対する抵抗性レベルの違いの少なくとも一部は CYP450 による解毒分解活性の違いによって説明できることが明らかとなった。

アザミウマ目のミカンキイロアザミウマのスピノサド抵抗性には、ニコチン性アセチルコリン受容体 $\alpha 6$ サブユニット (nAChR $\alpha 6$) におけるアミノ酸置換 (G275E) が関与していることが報告されている。そこで、本種のスピノサド抵抗性にも nAChR $\alpha 6$ における G275E が関与しているかどうかを、スピノサドに対する抵抗性レベルの最も高い 2 系統と最も低い 1 系統を用いて調べた。また、3 系統を用いて各種解毒分解酵素の活性阻害剤を用いた感受性試験を行った。その結果、1)本種のスピノサド抵抗性には G275E による感受性の低下と CYP450 による解毒分解が関与していること、2)抵抗性 2 系統の抵抗性レベルの違いの少なくとも一部は、CYP450 による解毒分解活性の違いによって説明できることが明らかとなった。

モモアカアブラムシのイミダクロプリド抵抗性には、nAChR $\beta 1$ におけるアミノ酸置換 (R81T) が関与していることが報告されている。そこで、本種のイミダクロプリド抵抗性にも nAChR $\beta 1$ における R81T が関与しているかどうかを、抵抗性レベルの最も高い系統と最も低い系統を用いて調べた。また、各種解毒分解酵素の活性阻害剤を用いた感受性試験を行った。その結果、本種のイミダクロプリド抵抗性には R81T による感受性の低下は関与しておらず、CYP450 による解毒分解のみによって付与されていることが明らかとなった。

論文審査結果の要旨

本研究では、果菜類の重要害虫であるミナミキイロアザミウマ *Thrips palmi* の殺虫剤抵抗性機構の解析を行った。

合成ピレスロイド剤に対する抵抗性レベルの異なる2系統を用いて、感受性試験および標的であるナトリウムチャンネル遺伝子のクローニングと塩基配列決定を行った。その結果、両系統はいずれも抵抗性系統であり、抵抗性には3つのアミノ酸置換(M827I、T929I、A1215D)が関与していることを明らかにした。チトクロームP450(CYP450)の活性阻害剤であるピペロニルブトキシドを用いた感受性試験を行い、両系統の抵抗性レベルの違いの少なくとも一部は、CYP450による解毒分解活性の違いに基づくことを明らかにした。

スピノシン系殺虫剤(スピノサド)に対して感受性の1系統と抵抗性の2系統を用いて、標的であるニコチン性アセチルコリン受容体 $\alpha 6$ (nAChR $\alpha 6$)サブユニットの解析を行い、本種のスピノサド抵抗性には1つのアミノ酸変異(G275E)が関与していることを明らかにした。また、各種解毒分解酵素の活性阻害剤を用いた感受性試験を行い、抵抗性系統間の抵抗性レベルの違いにはCYP450による解毒分解活性の違いが関与していることを明らかにした。

ネオニコチノイド系殺虫剤(イミダクロプリド)に対する抵抗性レベルの異なる2系統を用いて、標的であるニコチン性アセチルコリン受容体 $\beta 1$ (nAChR $\beta 1$)サブユニットの解析と各種解毒分解酵素の活性阻害剤を用いた感受性試験を行った。その結果、本種のイミダクロプリド抵抗性にはCYP450による解毒分解によって付与されていることを明らかにした。

これらの成果は国際誌2報を含む、3報の論文に公表されており、博士学位論文に十分値すると判定した。