

***BULLETIN  
OF  
THE OKINAWA PREFECTURAL  
AGRICULTURAL RESEARCH  
CENTER***

No.18

March, 2025

**沖縄県農業研究センター研究報告**

第 18 号

令和 7 年 3 月

OKINAWA PREFECTURAL AGRICULTURAL RESEARCH CENTER

820, MAKABE, ITOMAN-city, OKINAWA901-0336, JAPAN

沖縄県農研セ研報  
Bull.OKINAWA  
Agric.Res.Cent.  
No.18 2025

沖縄県農業研究センター

沖縄県糸満市真壁 820

沖縄県農業研究センター 研究報告  
第 18 号

目 次

【原著論文】

1. 「天草」で発生するカンキツかいよう病の病原細菌に対する数種殺菌剤の薬剤感受性  
および銅水和剤の防除効果  
..... 澤岨哲也<sup>1</sup>・光部史将<sup>2</sup>・小波津明彦<sup>3</sup>・宜保永堅<sup>4</sup> 1

【ノート】

1. 近年沖縄県で育成されたパインアップル品種・系統のレトロトランスポゾン挿入型  
(RBIP) マーカーによる品種識別技術  
..... 伊礼彩夏・小林拓也 6

【学位論文】

1. 小規模離島における野菜産地の形成と展開過程に関する研究  
..... 新崎泰史 12

【論文抄録】

1. Genotyping of the *Y2* Locus in the Yellow-Root Carrot, *shima-ninjin* (*Daucus carota* subsp. *sativus*).  
...Ayaka IREI, Kazuhiko TARORA, Haruki SUNAGAWA, Daisaku YAMASHITA,  
Tsubasa HESHIKI, and Naoya URASAKI 14
2. Vinegar extraction from the acerola fruit (*Malpighia emarginata*) cultivated in Okinawa,  
Japan  
.....T. Hanagasaki 14
3. The Change of Nutrient Components Contained in the Acerola Fruit (*Malpighia emarginata*)  
Cultivated in Okinawa, Japan  
..... Takashi Hanagasaki 15
4. *In vitro* antibiotic susceptibility of *Erwinia* sp. causing papaya (*Carica papaya*) black rot in  
Okinawa, Japan and several pesticides effectiveness on potted papaya plantlets before infe-  
ction  
.....T. Hanagasaki・T. Takushi・A. Ajitomi・H. Yamagishi・S. Kawano 15

## 原著論文

# 「天草」で発生するカンキツかいよう病の病原細菌に対する 数種殺菌剤の薬剤感受性および銅水和剤の防除効果

澤岬哲也<sup>1</sup>・光部史将<sup>2</sup>・小波津明彦<sup>3</sup>・宜保永堅<sup>4</sup>

1 沖縄県農業研究センター

2 沖縄県農業研究センター名護支所（現 北部農林水産振興センター）

3 沖縄県農業研究センター名護支所

4 沖縄県農業研究センター名護支所（現 家畜改良センター）

## 要 約

沖縄県の「天草」に発生するカンキツかいよう病の病原細菌に対して、塩基性硫酸銅水和剤、硫黄＋塩基性塩化銅水和剤、炭酸水素ナトリウム＋無水硫酸銅水和剤およびカスガマイシン＋塩基性塩化銅水和剤は高い薬剤感受性を示した。一方、水酸化第 2 銅水和剤の感受性は低かった。「天草」樹葉における本病の発病推移では、2017～2018 年ともに 4 月下旬から発病が始まり、2017 年は 5 月上旬、2018 年は 6 月下旬以降に発病葉率のピークを示した。また、2017～2018 年における塩基性硫酸銅水和剤を用いた 3 月の新梢発芽前から 7 月の着果期までの複数回散布は、本病の葉での発病に対して高い防除効果を示した。

キーワード：天草、塩基性硫酸銅、発病推移、かいよう病

## 緒 言

沖縄県の中晩柑「天草」は中部地区を中心に栽培され、収穫は 12 月上～中旬で「あま SUN」の商品名で年末贈答品として人気がある。果皮は鮮やかなオレンジ色でやや皮は剥きにくい、糖度 12°、酸度 1%以下となり香り・食味ともに良好である（新崎・比嘉，2001）。しかし、生産現場では生育期に葉や果実でカンキツかいよう病のコルク状の褐色病斑による落葉や果実外観の劣化がしばしば発生し問題となる。2016 年には中北部生産地のタンカンや天草において、葉や果実で本病による被害が多発し、病害虫発生予察注意報が発出され、注意喚起が行われた（沖縄県病害虫防除技術センター，2016）。生産現場では本病の対策として銅剤等の登録殺菌剤の散布が指導されているが、明確な防除適期が定まっておらず、安定した防除効果が得られていないという現状がある。また、本病の防除効果が安定しない要因として病原細菌に対する登録殺菌剤の抗菌活性（薬剤感受性）が低下している可能性も懸念されている。そこで、沖縄県の「天草」で発生するカンキツかいよう病の病原細菌に対する数種登録殺菌剤の薬剤感受性を調べるとともに、「天草」圃場における本病の葉での発病推移ならびに銅水和剤の防除効果について明らかにしたので報告する。なお、本報告の一部は令和元年度沖縄農業研究会第 58 回大会において報告した（澤岬・光部，2019）。

## 材料および方法

### 供試菌株

カンキツかいよう病菌（病原細菌：Xanthomonas citri subsp. citri）として、大畑（1995）の方法に準じて農業研究センター名護支所内の「天草」罹病葉から分離した Xcc1 および名護市大北の農家圃場の「天草」罹病葉から分離した Xcc2 の 2 菌株を以下の試験に供試した。なお、いずれの菌株も分離後にイムノストリップ植物病原検査キット（Agdia）にて本細菌の陽性反応を確認し、同定したものを使用した。

### 病原細菌に対する登録殺菌剤の薬剤感受性

供試薬剤は、本病の登録殺菌剤である塩基性硫酸銅水和剤（IC ボルドー 66D：25 倍，200 倍）、硫黄＋塩基性塩化銅水和剤（イデクリーン水和剤：400 倍，800 倍）、水酸化第 2 銅水和剤（コサイド 3000：1000 倍，2000 倍）、炭酸水素ナトリウム＋無水硫酸銅水和剤（ジーファイン水和剤：750 倍，1500 倍）、カスガマイシン＋塩基性塩化銅水和剤（カスミンボルドー：1000 倍）の 5 薬剤で常用の 10 濃度を使用した。なお、他の登録殺菌剤としてバリダマイシン液剤（バリダシン液剤 5：500 倍）があるが、本剤の作用機作はトレハロース分解酵素の阻害と菌体外多糖質（EPS）の変性とされており（Asano et al., 1987）、病原細菌に対し直接的殺菌効果を狙う剤ではないため、本試験では供試しなかった。感受性の評価は

篠原（2014）の方法に準じて、所定濃度の薬液と NA 培地を混和して作成した薬剤添加培地に供試菌株の細菌懸濁液（ $1 \times 10^7$  cfu/ml）を塗布した。接種培地は 25℃下で 7 日間培養後に培地上のコロニー形成の有無を判定した。試験は培地 5 枚／区の 4 反復で行った。

#### 「天草」におけるカンキツかいよう病の発病推移

供試樹は農業研究センター名護支所内の「天草」18～19 年生を用い、自然発生条件下で試験を実施した。樹当たり 10 枝にラベリングし、着生する葉 10 枚（計 100 葉／樹）に発生するかいよう病斑の発病葉率を調査した。調査は 2017～2018 年の 2 カ年において 3 月下旬から開始し、14 日間隔で 7 月下旬まで行った。試験は 1 樹／区の 4 反復で行った。

#### 「天草」における銅水和剤の防除効果

供試樹は農業研究センター名護支所内の「天草」18～19 年生を用い、自然発生条件下で試験を実施した。供試菌株に対して高い薬剤感受性を示した塩基性硫酸銅水和剤（IC ボルドー 66D：80 倍）を、2017～2018 年の 2 カ年において 3 月中旬（新梢発芽前）～7 月上旬（着果期）に計 6 回スピードスプレーヤーで散布した。なお、銅水和剤の散布間隔は、圃場に累積雨量計（Sakimil：株式会社一色本店）を設置し、芹澤（1992）の報告に準じて降

雨量 200mm または散布後 30 日に達したときに散布を実施した。発病調査は 8 月下旬に葉の病斑数を基に発病葉率および発病度を算出した。発病度は次ぎの基準（日本植物防疫協会, 2022）に従って算出した。指数 0：発病なし、指数 1：病斑が 1～3 個、指数 2：病斑が 4～10 個、指数 3：病斑が 11～20 個、指数 4：病斑が 21 個以上、発病度＝ $\{\sum (\text{指数別発病葉数} \times \text{指数}) \div (4 \times \text{調査葉数})\} \times 100$ 。また、発病度の平均値から次の式により防除価を算出した。防除価＝ $100 - (\text{処理区の発病度} \div \text{無処理区の発病度}) \times 100$ 。試験は 1 樹／区の 4 反復で行った。

## 結果および考察

#### 病原細菌に対する登録殺菌剤の薬剤感受性

供試 2 菌株に対する数種殺菌剤の薬剤感受性では、いずれの菌株も塩基性硫酸銅水和剤、硫黄＋塩基性塩化銅水和剤、炭酸水素ナトリウム＋無水硫酸銅水和剤およびカスガマイシン＋塩基性塩化銅水和剤で病原細菌の生存コロニー数が 0 となり生育を完全に抑制した。また、水酸化第 2 銅水和剤 1000 倍では生存コロニー数が減少し抑制効果を示したが、その程度は低かった。一方、水酸化第 2 銅水和剤 2000 倍では多くの生存コロニー数が確認され、抑制効果はみられなかった（図 1, 2）。このことから登録殺菌剤では、多くの銅剤で高い薬剤感受性を

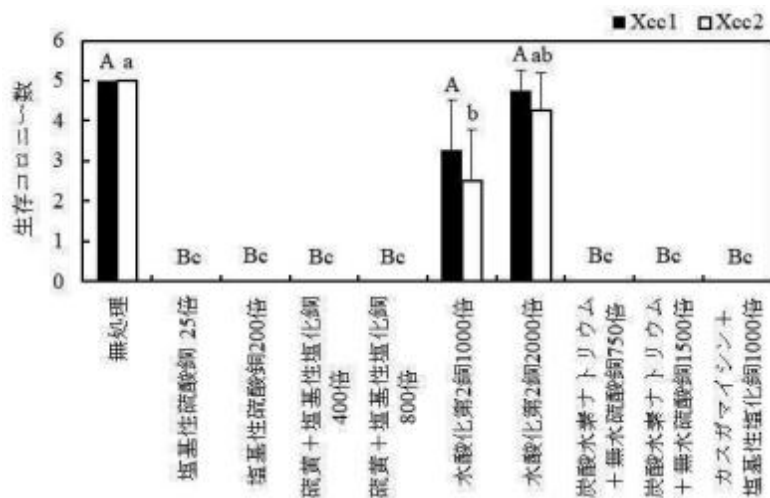


図 1 「天草」から分離したカンキツかいよう病菌に対する各種登録殺菌剤の薬剤感受性(培地試験)。大小アルファベットは Fisher の正確確率検定 (Holm 法で  $p$  値調整) の多重比較による有意差 ( $p < 0.05$ ) を示す。バーは標準偏差 (SD) を示す。Xcc1：名護支所分離株、Xcc2：農家圃場（名護市大北）分離株。

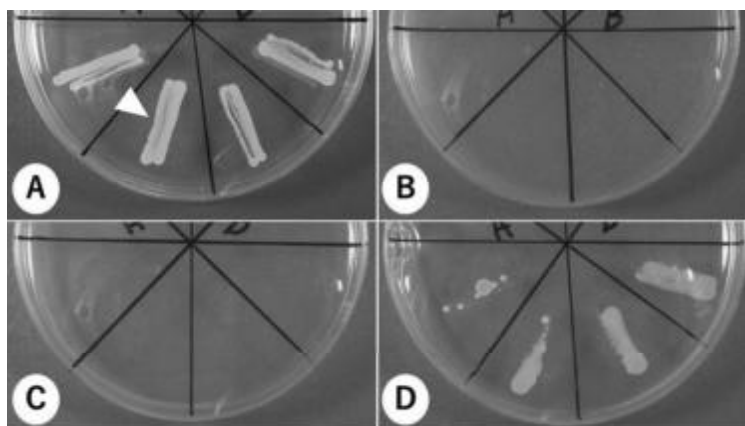


図 2 薬剤感受性試験における培地上の病原細菌コロニー形成の様子。A：無処理（白矢印は供試菌株 Xcc1 の黄色コロニー）、B：塩基性硫酸銅水和剤 200 倍、C：硫黄＋塩基性塩化銅水和剤 800 倍、D：水酸化第 2 銅水和剤 2000 倍。

示すことが明らかになった。しかし、主成分である銅化合物の種類により薬剤感受性も異なる場合があることが示唆され、硫酸銅や塩化銅と比べて水酸化第2銅では薬剤感受性が低くなる可能性が推察された。これまでにカンキツかいよう病菌に対して国内で銅耐性の報告はないが、海外ではイランにおいてメキシカンライムやグレープフルーツから分離した本病原細菌で銅耐性菌が検出されている (Izadiyan and Taghavi, 2024)。一般に銅剤は、銅イオンあるいはキレート化合物として細胞に導入された銅イオンの酸化力や不溶化に基づくSH酵素の不活性化により殺菌力を発揮するもので、FRACコードはM1に分類され耐性菌の発生リスクは低いとされている (高橋, 1997; 日本植物防疫協会, 2013)。今回の結果では2地点2菌株のみでの低い薬剤感受性が示された事例であるため、検定菌株数が少なく、現時点でこの2菌株が水酸化第2銅水和剤に対して耐性菌であるとは断定できない。今後さらに地点数や菌株数を増やしながら薬剤感受性調査を継続するとともに、実際の圃場試験によるかいよう病に対する本剤の防除効果の低下について確認する必要がある。

### 「天草」におけるカンキツかいよう病の発病推移

2017～2018年における葉のカンキツかいよう病の発病推移では、いずれの年も4月下旬から発病が始まり、

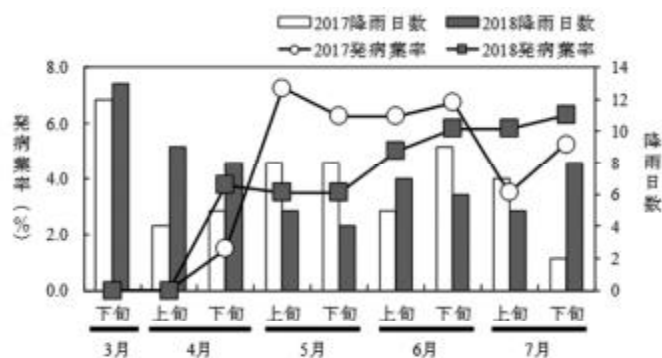


図3 「天草」に発生するカンキツかいよう病の発病率および降雨日数の推移。降雨日数は気象庁アメダス（沖縄名護）データを集計して使用した。

2017年は5月上旬に7.3%、2018年は6月下旬以降に5.8%とそれぞれ発病率のピークを示した (図3)。このことから、防除のタイミングとして4月以前からの薬剤散布の開始が重要と考えられた。なお、今回の調査では発病と降雨日数との関係は判然としなかった (図3)。「天草」における本病の発病推移の報告は本研究が初知見となるが、これまでに別品種「川野なつだいでい」におけるカンキツかいよう病の春葉での発病推移の報告によると、5月下旬から発病が始まり、7月下旬に発病率のピークを示しており (芹澤, 1985)、本県の「天草」のほうが初発および発病ピークともに時期が早まる傾向を示した。これは本県の春先の温暖な環境条件が病原の感染や病斑形成に好適となり、それが影響したものと考えられた。また、上記の「川野なつだいでい」では初発前の5月上旬頃からの薬剤防除の開始が本病に有効であることが確認されており (芹澤, 1985)、本県の「天草」においても初発の4月下旬前からの早めの薬剤防除開始が重要と考えられた。

### 「天草」における銅水和剤の防除効果

上記の「天草」樹葉におけるカンキツかいよう病の発病推移の結果に基づき、供試菌株に対して高い薬剤感受性を示した塩基性硫酸銅水和剤 (IC ボルドー 66D:80倍) を3月中旬 (新梢発芽前) から早めに散布を開始し、7月上旬 (着果期) までに計6回散布を実施した。その結果、無処理区の発病率 (2017年:15.8%, 2018年:8.8%)、発病度 (2017年:4.1, 2018年:3.8) と比べて、銅水和剤区では発病率 (2017年:1.0%, 2018年:0.8%)、発病度 (2017年:0.3, 2018年:0.2) となり、いずれの年でも防除価92以上を示したことから、高い防除効果が認められた (表1)。なお、本試験では2ヶ年ともに薬液による葉の著しい劣化や枯死 (葉害) は特にみられなかった。これまでに品種「宮内ヨカン」において、発芽前の3月中旬から生育期の6月下旬にかけて銅剤を用いた複数回散布による体系防除試験を実施し、そのうち水酸化第

表1 「天草」の葉に発生するかいよう病に対する塩基性硫酸銅水和剤の防除効果

年度	試験区	反復	調査 葉数	程度別発病葉数					発病率 (%)	発病度	防除価
				0	1	2	3	4			
2017	銅水和剤 <sup>1)</sup>	①	100	100	0	0	0	0	0.0	0.0	92.7
		②	100	99	1	0	0	0	1.0	0.3	
		③	100	97	3	0	0	0	3.0	0.8	
		④	100	100	0	0	0	0	0.0	0.0	
		平均	100						1.0 <sup>**3)</sup>	0.3	
	無処理	①	100	91	9	0	0	0	9.0	2.3	—
		②	100	75	24	1	0	0	25.0	6.5	
		③	100	85	15	0	0	0	15.0	3.8	
		④	100	86	13	1	0	0	14.0	3.8	
	平均		100						15.8	4.1	
2018	銅水和剤 <sup>2)</sup>	①	100	100	0	0	0	0	0.0	0.0	94.7
		②	100	100	0	0	0	0	0.0	0.0	
		③	100	97	3	0	0	0	3.0	0.8	
		④	100	100	0	0	0	0	0.0	0.0	
		平均	100						0.8 <sup>**</sup>	0.2	
	無処理	①	100	89	6	2	2	1	11.0	5.0	—
		②	100	76	12	8	3	1	24.0	10.3	
		③	100	0	0	0	0	0	0.0	0.0	
		④	100	0	0	0	0	0	0.0	0.0	
	平均		100						8.8	3.8	

1) 2017年3/10, 3/30, 4/19, 5/9, 5/29, 6/19に散布した。

2) 2018年3/12, 4/13, 5/14, 6/5, 6/18, 7/6に散布した。

3) アスタリスクはMann-Whitney's U検定により有意差 ( $p<0.01$ ) があることを示す。

2 銅水和剤と比べて塩基性硫酸銅水和剤のほうが、葉の発病に対し高い防除価を示すことが確認されている（三好，1998；2005）。また，銅剤散布後の経時的な葉上の銅付着量の減衰率から，水酸化第2 銅水和剤と比べて塩基性硫酸銅水和剤のほうが残効性に優れることが明らかになっている（三好，1998）。これらの知見からも，本試験における本剤の散布結果を支持するものであった。以上より，本剤による防除体系は「天草」においても有効と考えられた。また，今回のように圃場に累積雨量計（Sakimil）を設置することで，複数回の薬剤の散布間隔を効率的に把握しながら散布を実施できることから，本病の防除対策として累積雨量計の活用は非常に有効と考えられた。

本試験では2 ヶ年ともに，いずれの試験区においても8 月以降の着果期における本病の果実での発病が少発生だったことから，果実での発病に対する銅水和剤の防除効果については判然としなかった。これまでに「川野なつだい」において，7 月下旬の春葉発病度とそれ以降の強風雨日数を要因とした予測式により，9 月以降の果実での発病度と高い相関を示すことが明らかになっていることから（芹澤，1992），今回の「天草」における塩基性硫酸銅水和剤を用いた7 月までの春葉の防除においても，9 月以降の果実での発病を抑制できることが推察された。

以上の結果より，本県の「天草」より分離したカンキツかいよう病菌に対する数種登録殺菌剤の薬剤感受性が明らかになり，その中で高い感受性を示した塩基性硫酸銅水和剤を本病の初発が始まる4 月以前の3 月（新梢発芽前）から7 月（着果期）までに複数回散布することにより，高い防除効果を発揮することが明らかになった。「天草」における本剤の実用的な防除効果を示した事例は，国内外において本研究の報告が初めてとなる。これまでに，本県北部地区の生産農家向けのカンキツ防除暦（JA おきなわ，2018）では，生育期の本病対策の薬剤として本研究で病原細菌に対し低い感受性を示した水酸化第2 銅水和剤が推奨されていた経緯があることから，今後は本研究の結果を考慮して，関係機関と協議しながら県全域のカンキツ防除暦の見直し・改定を進めていく必要がある。

## 謝 辞

本研究は，沖縄県植物防疫協会単独試験（2018 年度）の一環として行われたものである。

## 引用文献

- 新崎正雄・比嘉 淳（2001）カンキツ栽培の問題点と技術的対策．沖縄農業 35：49-56.
- Asano, N., Yamaguchi, T., Kameda, Y. and Matsui, K. (1987) Effect of validamycins on glycohydrolases of *Rhizoctonia*

*solani*. J. Antibiotics. 40: 526-532.

Izadiyan, M., Taghavi, S. M. (2024) Diversity of copper resistant *Xanthomonas citri* subsp. *citri* strains, the causal agent of Asiatic citrus canker, in Iran. Eur. J. Plant. Pathol. 168: 593-606.

JA おきなわ（2018）平成30 年度柑橘防除暦，北部地区営農振興センター（沖縄），p.3.

三好孝典（1998）カンキツかいよう病に対するIC ボルードの防除効果と問題点．今月の農業（9 月号）：70-74.

三好孝典（2005）樹冠流下雨水中の病原細菌量によるカンキツかいよう病防除薬剤の評価．植物防疫 59：513-516.

日本植物防疫協会編（2013）農薬作用機構分類一覧，一般社団法人日本植物防疫協会（東京），p.117.

日本植物防疫協会編（2022）試験法・調査法（病害防除），一般社団法人日本植物防疫協会（東京），pp.82-83.

沖縄県病害虫防除技術センター（2016）平成28 年度病害虫発生予察注意報第2 号．

大畑貫一（1995）作物病原菌研究技法の基礎（大畑貫一ほか編），日本植物防疫協会（東京），pp.216-217.

芹澤拙夫（1992）カンキツかいよう病の生態と防除に関する研究．静岡柑試研特別報 5：1-153.

芹澤拙夫・井上一男・鈴木 誠（1985）カンキツかいよう病に関する研究(9)：発病の時期的推移と薬剤防除適期．静岡柑試研報 21：35-43.

篠原弘亮（2014）植物病原細菌の薬剤感受性．微生物遺伝資源利用マニュアル 36：1-15.

高橋信孝（1997）基礎農薬学，養賢堂（東京），p.279.

澤岬哲也・光部史将（2019）「天草」で発生するカンキツかいよう病菌の薬剤感受性と銅水和剤の防除効果．沖縄農業研究会第58 回大会：27-28.（講要）

# **Sensitivity of citrus canker pathogen to various bactericides and control effectiveness of copper bactericide on “Amakusa”**

Tetsuya Takushi<sup>1</sup>, Fumimasa Mitsube<sup>2</sup>, Akihiko Kohatsu<sup>3</sup> and Eiken Gibo<sup>4</sup>

1 Okinawa Prefectural Agricultural Research Center

2 Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch  
(currently Hokubu Agriculture, Forestry and Fisheries Promotion Center)

3 Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch

4 Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch (currently Livestock Improvement Center)

## **Abstract**

The citrus canker pathogen affecting “Amakusa” in Okinawa Prefecture was found to be highly susceptible to the following wettable powders: basic copper sulfate, sulfur + copper oxychloride, sodium bicarbonate + copper (II) sulfate, and kasugamycin + copper oxychloride. However, it exhibited low susceptibility to copper (II) hydroxide wettable powder. Regarding disease progression, disease symptoms on “Amakusa” first appeared in late April in both 2017 and 2018, with peak leaf infection in early May 2017 and from late June onward in 2018. Multiple applications of basic copper sulfate wettable powder, starting before shoot sprouting in March and continuing through fruit set in July, effectively reduced leaf infection in both years.

**Keywords:** basic copper sulfate, disease progression, *Xanthomonas citri*

## ノート

# 近年沖縄県で育成されたパインアップル品種・系統の レトロトランスポゾン挿入多型 (RBIP) マーカーによる品種識別技術

伊礼 彩夏<sup>1</sup>・小林 拓也<sup>2</sup>

<sup>1</sup>沖縄県農業研究センター

<sup>2</sup>沖縄県農業研究センター名護支所

## 要 約

沖縄県で近年育成されたパインアップル品種「沖農 P17」(サンドルチェ<sup>®</sup>), 「沖農 P19」(ホワイトココ<sup>®</sup>)を含む 17 品種・系統について, 34 種類のレトロトランスポゾン挿入多型 (Retrotransposon-Based Insertion Polymorphism, 以下, RBIP) マーカーを用いて, 遺伝子型を調査した. その結果, 各 RBIP マーカーは, 品種・系統間で PCR 増幅バンドの有無が異なり, その組み合わせにより 17 品種・系統が識別できた. また, 奈島ら (2015) により報告されている 24 品種を加えた合計 41 品種・系統でも識別可能であり, 識別に必要な最少マーカー数は, 8 種類であった. これらの情報は, 育成者の権利保護のための品種識別に活用できる.

キーワード: 登録品種, 権利保護, DNA マーカー, PCR, 最少マーカー数

## 緒 言

パインアップルのゲノム配列に基づいた品種識別は, 育成品種保護や研究現場における品種管理等で重要である. 改正種苗法 (2020 年 12 月 2 日成立, 農林水産省, 2020) に基づいて登録された品種は, 育成者権が保護されるとともに, 第三者による無許可での経済栽培や自家増殖, それに伴う種苗の販売は禁止されている. 2024 年 8 月時点で, 沖縄県が育成者権を持つ登録品種は, 「ゴールドバレル」, 「ジュリオスター」, 「沖農 P17」(サンドルチェ<sup>®</sup>), そして「沖農 P19」(ホワイトココ<sup>®</sup>) の 4 品種である (農林水産省品種登録ホームページ). 育成者権の権利侵害が疑われる際には, 形質の特性比較や比較栽培試験が行われるが, 環境要因に影響されない信頼性の高い方法として DNA マーカーによる品種識別がある.

パインアップルの品種識別に利用可能な DNA マーカーには, 高精度で判定できる共優性の Simple Sequence Repeat (SSR) マーカーがある (Shoda *et al.*, 2012, Nashima *et al.*, 2020). SSR マーカーは, 識別に加えて交配親が推定できる利点があるが, その検出には, DNA シークエンサーなどの高額精密機器が必要であり, 設備の無い育種・研究現場や生産現場での利用は困難な場面が多い. そのため, 高額な分析機器を必要とせず, 迅速・簡便で再現性の高い品種識別技術が求められている.

迅速・簡便な品種識別法の一つにレトロトランスポゾン挿入多型に基づく DNA マーカー (Retrotransposon-Based Insertion Polymorphism markers, 以下 RBIP マーカー) がある. レトロトランスポゾンは真核生物のゲノム内に存在する可動遺伝因子であり, 自身をコピー後新たなゲノム配列に挿入されるコピーアンドペースト型の

複製を行う. 複製配列はゲノム上に多数存在しており, ゲノム内に挿入された後は安定的に遺伝する (Kumar and Hirochika, 2001). RBIP マーカーでは, 複製配列の有無が PCR 増幅産物の有無として検出可能であり (Flavell *et al.*, 1998), 迅速・簡便かつ再現性に優れた品種識別 DNA マーカーとして近年多くの作物で報告されている. 例として, ニホンナシ (Kim *et al.*, 2012), リンゴ (西谷ら, 2016), マンゴー (Nashima *et al.*, 2017, 奈島ら, 2018), イチゴ (Monden *et al.*, 2014), カンキツ (Okamoto *et al.*, 2023) などの品目がある.

パインアップルでは沖縄県育成品種「N67-10」のゲノム情報を基に, 34 種類の RBIP マーカーが開発され, そのうち 6 種類を用いることで, 沖縄県育成 7 品種, 導入品種 17 品種・系統, 計 24 品種の識別が可能であることが報告されている (奈島ら, 2015). しかし, 近年沖縄県で育成された登録品種である「沖農 P17」(サンドルチェ<sup>®</sup>), 「沖農 P19」(ホワイトココ<sup>®</sup>) や交配親として用いられている新たな育成系統は含まれていない. 登録品種の権利保護や品種管理のためには, これらの品種・系統の遺伝子型や識別可否を調査するとともに, 識別に必要な RBIP マーカー数や組合せを把握する必要がある.

本研究では, 沖縄県で近年育成された品種を含む 17 品種・系統の遺伝子型を新たに調査する. また, 既報の 24 品種を加えた計 41 品種・系統を識別可能な最少マーカー数および組合せを明らかにする.

## 材料および方法

### 供試材料および DNA 抽出

供試材料は沖縄県農業研究センター名護支所で育成さ



れた登録品種の「沖農 P17」(サンドルチェ®),「沖農 P19」(ホワイトココ®),そして、育成系統の沖縄 9 号, 沖縄 11 号, 沖縄 12 号, 沖縄 13 号, 沖縄 14 号, 沖縄 18 号, 沖縄 20 号, 沖縄 21 号, 沖農 P22, 沖縄 23 号, 沖縄 24 号, 沖縄 25 号, 沖縄 26 号, 沖縄 27 号, 沖縄 28 号の計 17 品種・系統を用いた。各品種・系統の若葉の基部組織から、DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いてゲノム DNA を抽出した。抽出した DNA は NanoDrop2000c (Thermo Fisher Scientific) を用いて濃度と純度を測定した。

#### PCR 条件および RBIP マーカーの検出

プライマーセットは奈島ら (2015) が開発した JPAcRBIP0001 ~ JPAcRBIP0034 の 34 種類を用いた。各 RBIP マーカーは、PCR 増幅産物が 209 ~ 335bp になるように設計されている。DNA ポリメラーゼは KOD FX (TOYOBO LIFE SCIENCE) を用いた。また、陽性コントロールとして、葉緑体ゲノムコード遺伝子 *rbcl* (Forward 5' -ATGTCACCACAAACAGAAAC-3', Reverse 5' -GTAAAATCAAGTCCACRCG-3') を用いた。PCR 反応液の組成は、12.5  $\mu$ L の 2 $\times$ PCR Buffer, 5  $\mu$ L の dNTPs (2mM each), RBIP マーカーのプライマー各 1  $\mu$ L (5 pmol), KOD 0.25  $\mu$ L, 陽性コントロールプライマー各 0.5  $\mu$ L (0.75 pmol) に 1  $\mu$ L の DNA 溶液を加え、超純水を用いて総量を 25  $\mu$ L とした。PCR 増幅条件は、94  $^{\circ}$ C で 2 分の熱変性後、94  $^{\circ}$ C, 1 分, アニーリング 55  $^{\circ}$ C, 1 分, 伸長反応 72  $^{\circ}$ C, 1 分間を 1 サイクルとして 40 サイクル、

最終伸長反応は 72  $^{\circ}$ C で 2 分行った。PCR 増幅産物は 1.5 %アガロースゲルを用いて、100 V, 30 分間の電気泳動 (0.5 $\times$ Tris-Borate-EDTA buffer) を行い、臭化エチジウムでゲル染色後、紫外線下 (354 nm) で増幅産物を検出した。

#### 最少マーカー数の決定

本試験で供試した 17 品種・系統と、奈島ら (2015) により遺伝子型が明らかにされている 24 品種を加えた合計 41 品種・系統の遺伝子型データを用いた (表 1)。識別に必要な最少マーカー数は、最も少ないマーカー数で、すべての品種を判別するためのマーカーセットを検出するコンピュータプログラム MinimalMarker (Fujii *et al.*, 2013) を用いて決定した。

#### 結果および考察

17 品種・系統を供試し陽性コントロールと RBIP マーカーを同時検出した。RBIP マーカー JPAcRBIP0001 を用いた結果を図 1 に示す。陽性コントロールは全ての品種・系統で目的のサイズ (約 600 bp) 付近で検出された。34 種類の RBIP マーカーを用いて、17 品種・系統の遺伝子型を調査すると、各 RBIP マーカーの目的サイズのバンドの有無が品種・系統間で異なっており、識別可能であった (表 1)。RBIP マーカーは優性マーカーであるため、PCR 反応がうまくいかない場合、偽陰性と判定されるリスクがある。しかし、

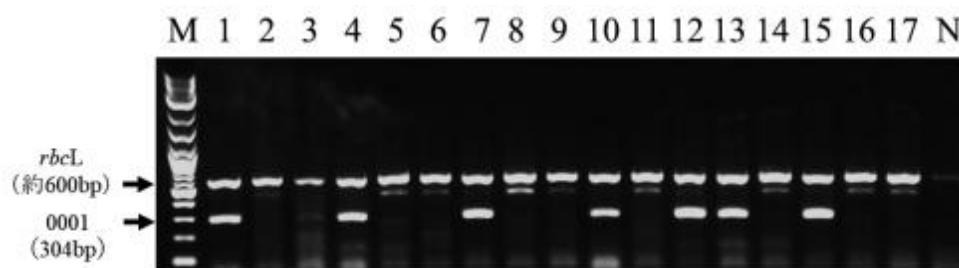


図1. 供試した17品種・系統におけるRBIPマーカーJPAcRBIP0001 (304bp)と*rbcl* (約600bp)の同時検出

M: 1 kb Plus DNA Ladder (New England Biolabs), 1: 沖縄 9 号, 2: 沖縄 11 号, 3: 沖縄 12 号, 4: 沖縄 13 号, 5: 沖縄 14 号, 6: 「沖農 P17」(サンドルチェ®), 7: 沖縄 18 号, 8: 「沖農 P19」(ホワイトココ®), 9: 沖縄 20 号, 10: 沖縄 21 号, 11: 沖農 P22, 12: 沖縄 23 号, 13: 沖縄 24 号, 14: 沖縄 25 号, 15: 沖縄 26 号, 16: 沖縄 27 号, 17: 沖縄 28 号, N: ネガティブコントロール (H<sub>2</sub>O).

表1. バインアップル41品種・系統における34種類のRBIPマーカーの遺伝子型判定

No. 品種・系統名	マーカー名	JPACRBIP0001	JPACRBIP0002	JPACRBIP0003	JPACRBIP0004	JPACRBIP0005	JPACRBIP0006	JPACRBIP0007	JPACRBIP0008	JPACRBIP0009	JPACRBIP0010	JPACRBIP0011	JPACRBIP0012	JPACRBIP0013	JPACRBIP0014	JPACRBIP0015	JPACRBIP0016	JPACRBIP0017	JPACRBIP0018	JPACRBIP0019	JPACRBIP0020	JPACRBIP0021	JPACRBIP0022	JPACRBIP0023	JPACRBIP0024	JPACRBIP0025	JPACRBIP0026	JPACRBIP0027	JPACRBIP0028	JPACRBIP0029	JPACRBIP0030	JPACRBIP0031	JPACRBIP0032	JPACRBIP0033	JPACRBIP0034	備考		
1 N67-10		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
2 ソフトタッチ		-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+			
3 ハニーブライト		-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+			
4 サマーゴールド		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+			
5 ゆがふ		-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
6 ゴールドパレル(登録品種)		+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+		
7 ジュリオスター(登録品種)		+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
8 A882		-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+		
9 A. comosus var. ananasoides		-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
10 A. comosus var. bracteatus		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-		
11 Bogor		-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+		
12 Cheese Pine		+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+		
13 Cream Pineapple		+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		
14 A. comosus var. ananasoides x Rondon		+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+		
15 HI101		+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		
16 I-43-880		-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+		
17 McGregor ST-1		-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
18 MD2		-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		
19 Papuri Vaupes Colombia		+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+		
20 Red Spanish		+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
21 Santa Marta No. 1		+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
22 Seijo Cayenne		+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
23 Tainung No. 11		+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
24 Tainung No. 17		+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
25 沖縄9号		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+		
26 沖縄11号		-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
27 沖縄12号		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
28 沖縄13号		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
29 沖縄14号		-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
30 沖縄P17(サンドルチェ®/登録品種)		-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
31 沖縄18号		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
32 沖縄P19(ホワイトココ®/登録品種)		-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
33 沖縄20号		-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
34 沖縄21号		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
35 沖縄P22		-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
36 沖縄23号		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
37 沖縄24号		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
38 沖縄25号		-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
39 沖縄26号		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
40 沖縄27号		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
41 沖縄28号		-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

+: PCRで増幅あり, -: PCRで増幅なし. 供試した41品種・系統の識別が可能な最少マーカーセットを灰色で示した.

No.1~7, 25~41の太字は沖縄県育成品種・系統を示す.

奈島ら, 2015  
より引用

本研究で用  
いた沖縄県  
育成系統・品  
種

陽性コントロールを同時検出することで、このリスクを避けることができた。本試験で供試した 17 品種・系統と、奈島ら(2015)の 24 品種を加えた計 41 品種・系統を識別するために必要な最少マーカー数を算出した結果、少なくとも 8 種類のマーカーセットが必要であり、その組み合わせは 15 通り検出された。一例として表1の灰色で示したRBIPマーカー、JPACRBIP0001, JPACRBIP0005, JPACRBIP0009, JPACRBIP0010, JPACRBIP0012, JPACRBIP0019, JPACRBIP0027, JPACRBIP0029 を用いることで識別可能であった。これらの RBIP マーカーは、栽培現場において、沖縄県で栽培される品種管理に活用できる。

奈島ら(2015)は24品種を識別するには6種類のRBIPマーカーが必要になることを報告している。本試験において、41品種・系統の識別には8種類のRBIPマーカーが必要であることが明らかとなった。今後、新たな品種・系統を加えて識別する場合は、RBIPマーカー全34種類を用いて、遺伝子型を調査し、識別の可否および識別に必要な最少マーカーセットを決定する必要がある。ただし、育種・研究現場

や生産現場において、識別する品種が限られる場合は、表1の遺伝子型を活用して数種類のRBIPマーカーで識別可能である。

なお、突然変異により生じた品種については、ゲノムの変異部位がプライマー配列部位やプライマー間に起きる確率は極めて低く、原品種と遺伝子型が同一となるため、RBIPマーカーによる識別は困難である。SSRマーカーによる品種識別においても「Hawaiian Smooth Cayenne」と「N67-10」は異なる名称であるが、遺伝子型は同一であり、ゲノム情報から突然変異によって生じた品種であることが示唆されている(Shoda *et al.*, 2012)。

これまでに、育成者権侵害対応の強化を目的として様々な植物等の品種を対象にDNA品種識別技術が開発されている。RBIPマーカーについても今後、新たに開発される品種をはじめとして、まだ対応していない種や品種への利用拡大が期待される。一方、DNA品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン(農林水産省輸出・国際局知的財産課, 2023)によると、実際の品種判定に利用し、税関における輸

出入差止や育成者権侵害紛争等に利用する上では、技術の妥当性を確認することが重要とされている。パインアップルでは、奈島ら (2015) が報告した 24 品種について、この妥当性試験が実施されており (成田ら, 2016), 農研機構種苗管理センターにおいて「ゴールドバレル」および「ジュリオスター」の品種類似性識別 (DNA 分析) が可能となっている。本試験で、新たに供試した 17 品種・系統についても妥当性試験が実施され、社会実装されることが望まれる。

RBIP マーカーは PCR およびアガロースゲル電気泳動のみで品種識別が可能のため、他の識別マーカーと比較して安価に実施可能である。近年、さらに簡易で実用的な手法として、RBIP マーカーで増幅した PCR 産物を核酸クロマト PAS (C-Pas) 法で検出する技術がカンキツで開発されている (Okamoto *et al.*, 2023)。本手法は、マッチ棒サイズのメンブレンスティックを DNA 溶液に浸し、青い DNA シグナルの有無を検出することで遺伝子型を判定できることから、実験器具および設備が不要なため、実用性が極めて高いと考えられる。

近年では台湾産のパインアップル輸入量が 2021 年の約 0.2 万 t から 2022 年には約 1.76 万 t と 8.2 倍に急激に増えており (財務省貿易統計)、沖縄県内において台湾産パインアップルの流通や増殖も考えられ、沖縄県登録品種の権利保護のための品種識別技術はこれまで以上に重要になると推察される。パインアップルにおいても、C-Pas 法を活用した識別キットの開発が進むことで、生産・流通現場に近い場所において、登録品種の不適切な栽培といった育成者権の侵害が疑われる事例が生じた際に、迅速な対応が可能になることを期待したい。

## 謝 辞

本研究は、持続可能な沖縄型果樹生産技術開発事業 (2022 年～2026 年度、沖縄振興特別推進交付金) において実施しました。本研究を実施するにあたり、日本大学生物資源科学部の奈島賢児博士および沖縄県農業研究センター石垣支所の太郎良和彦研究主幹には実験手法に関して多くのご指導を頂きました。また、沖縄県農業研究センター研究企画班の皆様には分析や調査に多大なご協力を賜りました。ここに深く感謝の意を表します。

## 引用文献

Flavell AJ, Knox MR, Pearce SR and Ellis THN (1998) Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. *Plant J.*, 14: 643-650.  
Fujii H, Ogata T, Shimada T, Endo T, Iketani H, Shimizu T, Yamamoto T and Omura M (2013) Minimal marker: an algorithm and computer program for the identification of minimal sets of discriminating DNA markers for efficient variety identification. *J. Bioinform. Comput.*

*Biol.*, 11: 1250022.

Kim H, Terakami S, Nishitani C, Kurita K, Kanamori H, Katayose Y, Sawamura Y, Saito T and Yamamoto T (2012) Development of cultivar-specific DNA markers based on retrotransposon-based insertional polymorphism in Japanese pear. *Breed. Sci.*, 62: 53-62.

Kumar A and Hirochika H (2001) Application of retrotransposons as genetic tools in plant biology. *Trends Plant Sci.*, 6: 127-134.

Monden Y, Takasaki K, Futo S, Niwa K, Kawase M, Akitake H and Tahara M (2014) A rapid and enhanced DNA detection method for crop cultivar discrimination. *J. Biotechnol.*, 185: 57-62.

成田知聡, 後藤洋, 木村鉄也, 奈島賢児, 押野秀美, 國久美由紀, 寺上伸吾, 西谷千佳子, 山本俊哉 (2016) 品種識別技術のマニュアル化とその妥当性評価について, *DNA 多型*, 24: 108-111.

Nashima K, Hosaka F, Terakami S, Kunihisa M, Nishitani C, Moromizato C, Takeuchi Makoto, Shoda M, Tarora K, Urasaki N and Yamamoto T (2020) SSR markers developed using next-generation sequencing technology in pineapple, *Ananas comosus* (L.) Merr. *Breed. Sci.*, 70: 415-421.

Nashima K, Terakami S, Kunihisa M, Nishitani C, Shoda M, Matsumura M, Onoue-Makishi Y, Urasaki N, Tarora K, Ogata T and Yamamoto T (2017) Retrotransposon-based insertion polymorphism markers in mango. *Tree Genet. Genomes*, 13: 110.

奈島賢児, 寺上伸吾, 國久美由紀, 西谷千佳子, 山本俊哉, 正田守幸, 竹内誠人, 浦崎直也, 太郎良和彦, 門田有希, 田原誠 (2015) パインアップルにおけるレトロトランスポゾン挿入多型マーカー開発と品種識別への適用, *DNA 多型*, 23: 29-33.

奈島賢児, 内田喬之, 國久美由紀, 西谷千佳子, 山本俊哉, 正田守幸, 松村まさと, 尾上 (牧志) 祐子, 浦崎直也, 太郎良和彦, 緒方達志 (2018) マンゴーにおける共優性レトロトランスポゾン挿入多型マーカーの開発, *DNA 多型*, 26: 69-73.

西谷千佳子, 山本俊哉, 藤井浩, 岡田和馬, 門田有希, 田原誠 (2016) レトロトランスポゾン挿入多型を利用したリンゴの品種識別マーカー開発, *DNA 多型*, 24: 101-107.

農林水産省 (2020) 種苗法の改正について,  
<https://www.maff.go.jp/j/shokusan/syubyuhou/>

農林水産省品種登録ホームページ

<https://www.maff.go.jp/j/shokusan/hinshu/>

農林水産省輸出・国際局知的財産課 (2023) DNA 品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン (令和 4 年度改訂版)。

Okamoto M, Monden Y, Shindo A, Takeuchi T, Endo T, Shigematsu Y, Takasaki K, Fujii H and Shimada T (2023)

A target cultivar-specific identification system based on the chromatographic printed array strip method for eight prominent Japanese citrus cultivars. *Breed. Sci.*, 73: 146-157.

Shoda M, Urasaki N, Sakiyama S, Terakami S, Hosaka F, Shigeta N, Nishitani C and Yamamoto T (2012) DNA profiling of pineapple cultivars in Japan discriminated by SSR markers. *Breed. Sci.*, 62: 352-359.

財務省貿易統計 <https://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>

# Identification of recently registered pineapple cultivars in Okinawa using retrotransposon-based insertion polymorphism (RBIP) markers.

Ayaka Irei<sup>1</sup> and Takuya Kobayashi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Okinawa Prefectural Agricultural Research Center

<sup>2</sup> Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch

## Abstract

We investigated the genotypes of 17 pineapple cultivars, including “Okinou P17” (Sun Dolce<sup>®</sup>) and “Okinou P19” (White Coco<sup>®</sup>), recently registered in Okinawa Prefecture, using retrotransposon-based insertion polymorphism (RBIP) markers. RBIP markers were detected at target sizes, with PCR amplification band patterns varying among cultivars. Additionally, at least 8 markers were required to identify all 41 cultivars, including the 24 previously reported by Nashima *et al.* (2015). These findings support cultivar identification for protecting breeders' rights.

Keywords: Registered cultivars, Protection of rights, DNA marker, PCR, Minimal marker sets

## 学位論文

# 小規模離島における野菜産地の形成と展開過程に関する研究

新崎 泰史

沖縄県農業研究センター名護支所

## 要 旨

離島は人口の減少と高齢化が著しく進展しているが、わが国の国土保全などに重要な役割を果たしている。そのため、離島住民の定住条件を維持していくことは社会的にも重要な課題であり、産業振興による所得確保が求められている。離島において農業は産業の中心的な役割を果たしているが、近年では安価な外国産農産物の輸入が拡大する一方で、価格・所得政策などによる国の支援が縮小しており、従来型の農業のみでは所得確保が困難となりつつある。とくに農業経営の規模拡大が困難な小規模離島ではそれがより顕著であり、野菜など高収益作物の産地化が期待されるが、産地形成の条件はもとより、産地維持の課題が明確にならなければ、根拠を持って離島振興施策を講ずることは困難である。

そこで、本論文では沖縄県内の小規模離島を対象として、野菜産地の形成および展開過程を分析し、小規模離島における野菜産地の形成条件と産地維持の課題を明らかにすることを目的とした。研究方法は統計資料の分析とあわせて、次の3つの産地を事例としてヒアリング調査等に基づく実証分析を行った。第1に、輸送条件がきわめて厳しい遠隔地にある北大東島のカボチャ産地の事例である。第2に、鮮度保持が商品化の重要な要件である生鮮野菜の産地化に成功した伊良部島のエダマメ産地の事例である。第3に、野菜の産地化に成功したものの、縮小・後退にある津堅島のニンジン産地の事例である。

本論文の具体的な研究成果は、概ね次のとおりである。

まず、統計分析より、わが国の離島農業は肉用牛と工芸作物の生産が中心となっているが、沖縄県内で長年にわたって耕種部門を支えてきたサトウキビの収益性が低下していることを明らかにし、規模拡大が困難な離島農業の維持・発展を図るためには高収益作物の導入が重要となっていることを指摘した。

また、沖縄県内の離島市町村における野菜生産の動向をみると、一部には産地形成に成功しているところがあるものの、未だ多くの離島市町村では産地形成には至らず、いったん形成された産地であっても維持・存続を図ることが困難であることを示した。

つぎに、北大東島のカボチャ産地と伊良部島のエダマメ産地の事例分析から、小規模離島における野菜産地の形成条件として、①生産量が少なくても安定供給を可能とする生産・出荷方法の確立と販路の選択、②集出荷過程を支える労働力と施設などの社会資本の不足への対応、③鮮度保持と輸送コストの低減に向けた取り組み、④生産から販売までを支援する組織の存在とそれによる産地システムの構築などが重要であることを明らかにした。

さらに、津堅島のニンジン産地の事例分析から、小規模離島において野菜産地の維持・存続を図るための課題として、①担い手の減少・高齢化に伴う農業労働力の弱体化への対応、②兼業する漁業や複合経営部門など、より有利な産業や品目が出現した場合の対応、③老朽化するかんがい施設などの生産基盤の維持・更新、④産地形成を牽引したリーダーの継承など、リーダー人材の育成・確保などがあることを明らかにした。

キーワード：小規模離島、野菜、産地形成条件、産地維持、北大東島、伊良部島、津堅島

学位授与大学名：鹿児島大学大学院連合農学研究科

# **Formation conditions and Problems of maintaining vegetable production areas in small-scale remote islands**

Taishi Arasaki

Okinawa Prefectural Agricultural Research Center Nago Branch

## **Abstract**

The purpose of this paper is to analyze the formation and development process of vegetable production areas on small scale remote islands in Okinawa Prefecture, and to clarify the conditions for the formation of vegetable production areas on small isolated islands and the problems of maintaining production areas. In addition to analyzing statistical data, an empirical analysis was carried out using interview surveys to study three production areas. The first is a pumpkin production area on the island of Kitadaito. It is located in a remote area with extremely difficult transportation conditions. The second is a fresh vegetable production area on Irabu Island. Freshness is an important requirement for marketing. The third is the case of the carrot production area on Tsuken Island. This area has succeeded in establishing a vegetable production area, but is in the process of downsizing and regression.

The specific research results of this paper are as follows.

First, statistical analysis shows that while Japan's remote island agriculture is centered on the production of beef cattle and industrial crops, the profitability of sugarcane, which has long supported the agricultural sector in Okinawa Prefecture, is declining, and the introduction of highly profitable crops is important for the maintenance and development of remote island agriculture, which is difficult to scale up.

Next, looking at the trend of vegetable production in remote island municipalities in Okinawa Prefecture, although some have succeeded in establishing production areas, many remote island municipalities have yet to establish production areas, and even once established, it is difficult to maintain and sustain these production areas.

Then, based on case analyses of a pumpkin production area on Kitadaito Island and an green soybean production area on Irabu Island, the following four conditions for the establishment of a vegetable production area on a small scale remote island were clarified. (1) the establishment of production and transportation methods and the selection of sales channels that enable a stable supply even when production volume is low, (2) the response to the lack of social capital such as labor and facilities to support the collection and transportation process, (3) efforts to maintain freshness and reduce transportation costs, and (4) the existence of organizations that support everything from production to sales and the establishment of a production area system through these organizations.

And finally, from a case study analysis of the carrot production area on Tsuken Island, the following four issues were identified as challenges to maintaining and sustaining vegetable production areas on small, remote islands. (1) coping with the weakening of the agricultural labor force due to the decline and aging of the bearers, (2) coping with the emergence of more lucrative industries and commodities, such as dual-use fisheries and combined business sectors, (3) maintaining and updating aging irrigation facilities and other production infrastructure, and (4) developing and maintaining leadership, including succession of leaders who have led the establishment of production areas.

Keywords: Small-scale remote islands, Vegetable, Conditions for forming vegetable production areas, Maintenance of vegetable production, Kitadaito island, Irabu Island, Tsuken Island

Name of doctoral degree granting university: The United Graduate School of Agricultural Sciences Kagoshima University

## **Genotyping of the $Y_2$ Locus in the Yellow-Root Carrot, *shima-ninjin* (*Daucus carota* subsp. *sativus*).**

Ayaka IREI, Kazuhiko TARORA, Haruki SUNAGAWA, Daisaku YAMASHITA,  
Tsubasa HESHIKI, and Naoya URASAKI

*shima-ninjin* is a carrot with a long yellow root. The spread of orange root contaminants is a serious issue for *shima-ninjin* cultivation. In carrots, root color is regulated by the  $Y$ ,  $Y_2$  and  $Or$  genes, and the genotypes of the yellow color have been reported to be  $yyY_2$  or a homozygote of wild type  $Or$  allele with  $yyy_2y_2$ . In other words, by identifying the genotype of the  $Y_2$  locus, the genetic mechanism of the yellow color in *shima-ninjin* could be estimated. Therefore, as a first step to clarifying the genetic basis of the yellow color in *shima-ninjin*, genotyping of the  $Y_2$  locus was carried out. An investigation for each four yellow *shima-ninjin* and orange contaminants using the 4144<sup>ApeKI</sup> CAPS marker and genotyping of 186 germplasm, 166 *shima-ninjin* and 20 orange contaminants, with the newly developed 4144<sup>BssSI</sup> CAPS marker showed that the recessive  $y_2$  and  $SY_2$  designated in this study were existed. Furthermore, the homozygotes of  $SY_2$  showing orange root color suggested that  $SY_2$  is also recessive allele and  $Or$  gene may be involved in yellow color. To confirm the involvement of the  $Or$  gene and produce seeds without contaminants, an association analysis was carried out in F1 progeny. All fifty F1 progeny, the homozygotes of the well-known recessive  $y_2$ , had the yellow root. These results suggest that the yellow phenotype in *shima-ninjin* may be determined by the  $Or$  as well as the  $Y$  and  $Y_2$  genes and traditional yellow *shima-ninjin* seeds without contaminants are producible.

出典：Tropical Agriculture and Development 68(3):49-54 (2024)

## **Vinegar extraction from the acerola fruit (*Malpighia emarginata*) cultivated in Okinawa, Japan**

T. Hanagasaki

Introduction - Acerola (*Malpighia emarginata* Mocino et Seese ex DC.) is cultivated in Okinawa, Japan. This fruit is mainly used for processed food. When acerola puree is produced, residual substances are typically discarded. These residual substances mainly comprise fruit skin and are bright red. This waste product can instead be turned into an excellent product with value-added processing. Objective - To utilize the acerola puree waste, we developed a process for extracting vinegar from it. Materials and method - Acerola is cultivated in Motobu and Itoman in the Okinawa prefecture. The acerola puree was produced using Pulper Finisher in the factory of Acerola Fresh Co., Ltd. Pulverizing acerola puree waste and acerola puree in spirit vinegar, vinegar extracts were produced. Results and discussion - The vinegar extract obtained from the acerola puree waste is characterized by the anthocyanin content (126.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), ascorbic acid content (122.3  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), malic acid content (78.7  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), and its red color ( $a^*$  value of 16.77). The resulting color of vinegar fades at room temperature, and the anthocyanin content drastically decreases after two weeks. However, refrigerator storage (4.8 °C  $\pm$  0.5 °C) allows the vinegar extract to retain anthocyanin to some extent for approximately 10 weeks and to remain red for 16 weeks. Conclusion - Acerola vinegar extracts are a nutritional functional food and can be used in seasonings and food products such as salad dressings, fruit vinegar drinks, and alcoholic drinks.

出典：Fruits 77(2) (2022)



## **The Change of Nutrient Components Contained in the Acerola Fruit (*Malpighia emarginata*) Cultivated in Okinawa, Japan**

Takashi Hanagasaki

Acerola (*Malpighia emarginata*) was brought from Hawaii to Okinawa, Japan, and has been cultivated for approximately 60 years. The variety of the fruit is mainly sweet species and is cultivated in Motobu and Itoman, the Okinawa Main Island. Acerola is mostly used in processed food and then, comprehending the change of nutrient components in acerola is really important. In the present study, ascorbic acid, anthocyanin, and others present in acerola fruits were investigated depending on the maturity level of acerola, harvest time, and cultivation place. From the result, anthocyanin contents in acerola fruit significantly increased as maturity level was higher and ascorbic acid content significantly decreased in several months as the maturity level of acerola was higher but it was kept to some extent over level 6 of maturity. And there was no clear tendency of polyphenol, brix, and acidity in acerola fruits depending on the maturity level of acerola. In addition, there was no clear tendency regarding those components depending on harvest time and cultivation place in Okinawa. Therefore, maturity level is considered to be rather important for the change of ascorbic acid and anthocyanin contents in acerola fruits, not harvest time and cultivation place. And acerola fruits have abundant ascorbic acid regardless of which the maturity level is in the Okinawa Main Island.

出典：Taiwanese Journal of Agricultural Chemistry and Food Science 60(2): 37-46 (2022)

## ***In vitro* antibiotic susceptibility of *Erwinia* sp. causing papaya (*Carica papaya*) black rot in Okinawa, Japan and several pesticides effectiveness on potted papaya plantlets before infection**

T. Hanagasaki, T. Takushi, A. Ajitomi, H. Yamagishi, S. Kawano

**Introduction** - Papaya bacterial disease has spread all over the world and papaya black rot has been an epidemic in Okinawa Prefecture, Japan. The pathogen is *Erwinia* sp. identified by phylogenetic trees of 16s rRNA gene and four housekeeping genes. There is only one pesticide, Orthocide, registered in Japan, but it is not enough to counter the disease spread. **Objective and method** - To hunt for other pesticide candidates, antibiotics were examined using minimum inhibitory concentration assay and resulted in oxytetracycline and streptomycin strongly inhibiting the papaya black rot pathogen. Besides, the test using potted papaya plantlets was performed in the condition the pesticides were applied before potted papaya plantlets were infected, using several pesticide candidates. **Results and discussion** - Captan (Orthocide), mancozeb, copper (II) hydroxide, and oxytetracycline exhibited a preventive effect on black rot on potted papaya plantlets. Especially, captan was found to be stronger when it was sprayed before the infection of potted papaya plantlets with black rot. However, streptomycin did not. **Conclusion** - mancozeb, copper (II) hydroxide, and oxytetracycline should also be approved to register as papaya black rot. Specifically, using the time of copper (II) hydroxide against papaya soft rot is unlimited, and it would be useful and effective for papaya black rot by being registered for legal expansion.

出典：Fruits 78(1) (2023)

沖縄県農業研究センター研究報告  
第 18 号

編集・発行

沖縄県農業研究センター

〒901-0336 沖縄県糸満市真壁 820 番地

電話 098-840-8500 (代表) Fax098-840-8510

ホームページ : [https://www.pref.okinawa.lg.jp/shigoto/kenkyu/  
1010703/1018784/1010711.html](https://www.pref.okinawa.lg.jp/shigoto/kenkyu/1010703/1018784/1010711.html)

代表 E-mail : xx049400@pref.okinawa.lg.jp

印刷

印刷センターテル

〒901-0211 沖縄県豊見城市字饒波 500-1

電話 098-856-5512 Fax098-856-4330

..... **Number18 March, 2025**

## Original paper

## Note

# Thesis Paper

**12-13 Taishi Arasaki: A study on the formation and development process of vegetable production areas in small-scale remote islands**