(成果	(成果情報名)DNA マーカーによるニガウリうどんこ病抵抗性個体の判別							
	(要約) <u>ニガウリうどんこ病抵抗性</u> と連鎖する <u>DNA マーカー</u> (<u>PMR71</u> 、 <u>PMR80</u>) の遺伝子型を調べることで、抵抗性個体を判別することができる。							
	(担当機関) 農業研究センター研究企画班・野菜花き班 連絡先 098-840-8513							
部会	野菜・花き	専門	育種	対象	ニガウリ	分類	基礎研究	

「背景・ねらい〕

ニガウリうどんこ病(以下うどんこ病)はニガウリの重要病害の一つで、多発すると葉が枯死し、収量および品質に大きな影響を与える。県内で利用される経済品種には同病に抵抗性を示すものは無く、生産現場からは抵抗性品種の育成が望まれている。農業研究センターでは、これまでに多くの遺伝資源を収集しており、明らかなうどんこ病抵抗性を示す系統も得られている。そこで本研究では、うどんこ病抵抗性を導入した優良品種の効率的な育成を図るため、抵抗性系統14-01の遺伝情報を解析し、DNAマーカーを用いたうどんこ病抵抗性個体の判別技術を開発する。

[成果の内容・特徴]

- 1. うどんこ病感受性系統 OHB61-5 (母本) と抵抗性系統 14-01 (父本) の F_2 分離集団 (162 個体) から抵抗性個体 (61 個体、人工接種 3 週間後の病斑面積が 5 %未満) の DNA を供試し、次世代シーケンサーでゲノム解析 (RAD-Seq 解析) すると、抵抗性集団に特異的な DNA 配列が得られる (データ省略)。
- 2. 抵抗性集団に特異的な DNA 配列とニガウリゲノム配列 (Urasaki et al., 2017) を用いて塩基配列比較を行うと DNA マーカー (PMR71、PMR80) が開発できる。さらに PCR 増幅およびアガロースゲル電気泳動を行うと OHB61-5、14-01、 F_1 個体のそれぞれに特異的なバンドパターン(遺伝子型)が得られる(図 1)。
- 3. F_2 分離集団 (162 個体)を用いて PMR71、PMR80 の遺伝子型およびうどんこ病抵抗性の調査を行うと、両 DNA マーカーの遺伝子型とうどんこ病抵抗性間には有意な関連があり $(\chi^2(2)=8.096, 7.146, p<0.05)$ 、また遺伝子型が抵抗性ホモを示す個体 (B1 および B2) は、80%以上が病斑面積割合 10%未満の抵抗性個体である (表 1)。以上から、PMR71 および PMR80 はうどんこ病抵抗性と連鎖している。
- 4. PMR71 および PMR80 を用いて 14-01 を遺伝的背景にもつ F_2 分離集団 (95-32-112-68×OAC09-04C、323 個体)の抵抗性評価を行うと、遺伝子型 B1 と B2 を同時に保持する個体 (B1B2、23 個体)は、うどんこ病抵抗性評価が極強 (1.1 ± 0.3)の抵抗性を示す (表 2)。

[成果の活用面・留意点]

- 1. PMR71 と PMR80 を用いてうどんこ病抵抗性個体のみを選抜することで、ニガウリの効率的な育種に活用できる。また、両マーカーを組み合わせて用いることでうどんこ病抵抗性をより強く示す個体の選抜に活用できる。
- 2. 病原菌のレース分化などによる抵抗性系統の罹病化に対応するためには、新たな抵抗性素材の探索とともに DNA マーカーを活用して複数の抵抗性遺伝子を集積しながら選抜する必要がある。
- 3. 本結果は抵抗性系統 14-01 由来のうどんこ病抵抗性をもつニガウリ系統にのみ適用される点に留意する。

[残された問題点]

なし

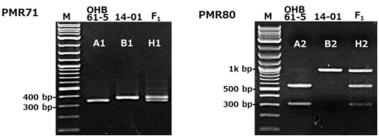


図1 DNA マーカーPMR71と PMR80 のアガロースゲル電気泳動の結果

A1 (349bp)、A2(577bp と 321bp)は OHB61-5、B1 (379bp)、B2(898bp)は 14-01、そして H1 と H2 は F₁個体に特異的なバンドパターン(遺伝子型)を示す。M は 1 kb Plus DNA Ladder を示す。PMR71 はプライマーW71F5 (CGGAATAACTATGGCGAGTC)、W71R5 (GGTCAGTATCTTCCTCC)を用いて PCR 法により増幅した。PMR80 は W80F1 (TATTGCCAAGCAGCAGCAGC)、W80R2 (CACCAGATGCTAATCAGGGA)を用いて増幅後、制限酵素 TspRI を用いて処理した。PCR 条件は、両マーカーともに 94℃ (5分)、94℃ (10秒) 55℃ (10秒) 68℃ (60秒) 35 サイクル、68℃ (5分) で実施した。

表1 F2分離集団(OHB61-5×14-01)の遺伝子型別のうどんこ病病斑面積割合の個体分布

DNA	遺伝子型①	病斑面積割合(%)2)					合計	抵抗性個体の割合 ³⁾
マーカー		~ 5	~ 10	~15	~20	~ 65		(%)
	A1	10	8	9	3	6	36	50
PMR71	H1	32	28	13	8	11	92	65
	B1	19	9	1	2	3	34	82
	A2	12	13	7	4	6	42	60
PMR80	H2	32	18	14	7	12	83	60
	B2	17	14	2	2	2	37	84

- 1) 遺伝子型は幼苗期の葉から DNA を抽出し、PCR 増幅およびアガロースゲル電気泳動により決定した。
- 2) 本葉 1 葉期に人工接種を実施し 3 週間後に本葉 $1 \sim 4$ 葉を採取し葉面積画像解析システム WinDIAS3 を用いて植物体あたりの病斑面積割合を調査した(2017 年)。
- 3) うどんこ病の病斑面積割合が10%未満の個体を抵抗性個体とした。

表2 F₂ 分離集団(95-32-112-68×OAC09-04C¹⁾、323 個体)での PMR71とPMR80の遺伝子型の組合せによる抵抗性評価

1)95-32-112-68 は抵抗性系統(遺伝子型: B1B2)、OAC09-04C は感受性系統(遺伝子型: A1A2) である。

2) 幼苗期に人工接種し、3週間後に5段階評価(1極強:無発病、2強: 病斑面積率5%以下、3中:病斑面積率6~25%、4弱:病斑面積率26 ~50%、5極弱:病斑面積率51%以上)で抵抗性を達観評価した(2020年)。異符号間は Tukey-Kramer 法の多重比較検定による有意差を示す(p<0.01)。</p>

組合せ	個体数	抵抗性評価 2)
A1A2	28	3.9±1.3 a
A1H2	43	2.6±0.9 b
A1B2	13	$2.4{\pm}0.8^{\ b}$
H1A2	28	2.8±1.1 ^b
H1B2	37	$2.2\pm0.7^{\ b}$
H1H2	94	$2.2{\pm}0.7^{\ b}$
B1A2	18	$2.1\pm0.7^{\ b}$
B1H2	39	2.1±0.6 b
B1B2	23	1.1±0.3 °

[研究情報]

課題 ID: 2012 農 012、2018 農 001、2022 農 001

研究課題名: DNA マーカー育種システムの開発、野菜類の DNA マーカー等開発 、DNA マーカーを用いた野菜類のスマート育種

予算区分:沖縄振興特別推進交付金、次世代沖縄ブランド作物特産化推進事業、先端技術を結 集した園芸品目競争力強化事業、労働力不足と環境負荷軽減に対する沖縄型園芸農業 技術開発事業

研究期間(事業全体の期間): 2012~2017 年度、2018~2021 年度、2022 年度(2022~2026 年度)

研究担当者:友寄敬太、浦崎直也、太郎良和彦、伊礼彩夏、谷合直樹、儀間康造

発表論文等:なし

(成果情報名) ピーマン版天敵利用マニュアル

(要約) ピーマンの施設栽培において重要な害虫であるアザミウマ類、タバココナジラミ、チャノホコリダニを対象に、その被害軽減に有効な天敵製剤のスワルスキーカブリダニおよび土着天敵のタバコカスミカメを利用する技術を防除体系としてまとめている。

(担当機関) 農業研究センター・病虫管理技術開発班					連絡先		098-	840-8504
部会	野菜・花き	専門	作物虫害	対象	ピーマン	,	分類	実用化研究

[背景・ねらい]

ピーマンは、本県の主要な野菜類の一つである。施設栽培のピーマンにおいて、アザミウマ類やタバココナジラミ、チャノホコリダニなどの微小害虫は、品質低下および減収を引き起こす重要害虫である。これら微小害虫に対し、従来からの化学合成農薬を主体とした防除法では、害虫の薬剤に対する感受性低下の問題や環境負荷の増大が懸念される。これらの問題解決に向け、天敵(スワルスキーカブリダニおよびタバコカスミカメ)を利用する防除手法の開発が進められ、核となる技術が確立された。生産現場からは、これら個別技術を体系的にまとめ、新たな技術情報も加えた利便性の高いマニュアルが望まれている。

そこで、天敵利用による主要微小害虫の防除体系、天敵温存植物の栽培方法および技術情報をまとめたマニュアルを作成する。

[成果の内容・特徴]

- 1. 本マニュアルは、施設栽培のピーマンにおいて、スワルスキーカブリダニを単独で利用する方法およびスワルスキーカブリダニとタバコカスミカメを併用する方法などを、31 項目に分け詳細に説明している(図1)。
- 2. 本マニュアルは、土着天敵であるタバコカスミカメの利用に向け、天敵温存植物の屋内外での栽培方法や天敵の誘引と放飼、台風対策、天敵利用時の失敗事例やその対策などについて、画像やイラストを多く用い視覚的に理解し易いように示している(図1、図2)。
- 3. 本マニュアルは、主要な害虫および両天敵の生態情報に加え、具体的な病害虫防除スケジュール、さらに各種薬剤の天敵への影響表を盛り込み生産現場で活用できる実践的なマニュアルである(図1)。

[成果の活用面・留意点]

- 1. 本マニュアルは、ピーマンの施設栽培に関わる県関係機関、団体等に冊子およびPDFで配布する。
- 2. 本マニュアルが県内関係者に活用されることで、生産農家への天敵利用技術の普及が進み、ピーマンの安定生産、品質向上が期待できる。
- 3. 本マニュアルに記載されている農薬の登録内容は、マニュアル作成時の情報に基づいているため、農薬使用時に最新の情報を必ず確認する。

[残された問題点]

なし。



図1 作成したマニュアルの表紙(左)と目次(右)



12. スワルスキー放飼後の葉面散布について



24.タバコカスミカメ利用のための4ステップ



図2 内容(抜粋)

[その他]

課題 ID: 2015 農 004、2018 農 008、2021 農 008 研究課題名:総合的病害虫管理(IPM)利用技術の開発

予 算 区 分 : その他 (沖縄型総合的病害虫管理技術 (IPM) 事業) 、その他 (化学農薬削減に向けた病害虫防

除技術推進事業)、その他(総合的病害虫管理技術推進事業)

研究期間(事業全体の期間): 2016~2023 年度(2015 年~2023 年度)

研究担当者:安次富厚、秋田愛子、與儀喜代政、上里卓己、守屋伸生、喜久村智子

発表論文等:1) 上里卓己ら(2017) 沖縄農業研究会第56回大会

2) 上里卓己ら (2019) 沖縄農業研究会第58回大会

3) 秋田愛子ら(2019)天敵利用研究会第29回大会

(成果情報名) 露地オクラにおける天敵温存植物を利用したフタテンミドリヒメヨコバイの密度抑制

(要約) 圃場を取り囲むように<u>天敵温存植物</u>のソルゴー、ソバ、ホーリーバジルを植栽することで<u>土着</u> <u>天敵</u>のチビトビカスミカメ類、ツマジロオオメナガカメムシ、テントウムシ類の温存が可能となり、<u>オ</u>クラの害虫であるフタテンミドリヒメヨコバイの密度を抑制できる。

(担当機関) 農業研究センター・病虫管理技術開発班						098	-840-8504
部会	野菜・花き	専門	作物虫害	対象	オクラ	分類	実用化研究

[背景・ねらい]

沖縄県の露地オクラでは、フタテンミドリヒメヨコバイ(以下、ヨコバイ)(図1a)が多発し、問題となっている。ヨコバイの密度増加により、オクラは、葉の黄化・萎縮・奇形を引き起こし、生長が抑制され、収量が著しく低下する。鹿児島県のオクラ栽培では、天敵温存植物を圃場周囲に植栽し、ヒラタアブ類やテントウムシ類等の土着天敵を利用してアブラムシ類を防除する技術が普及している。本研究では、上記の技術の適応に向け、本県の露地オクラの害虫であるヨコバイの密度抑制効果について検討する。

[成果の内容・特徴]

- 1. オクラ圃場(4月中旬播種)を取り囲むように天敵温存植物(ソルゴー、ソバ、ホーリーバジル)を植栽することで、ヨコバイの個体数を大きく減少させることができる(図2)。
- 2. 6~7月中旬にかけて、ソバとホーリーバジルでチビトビカスミカメ類 (図1b) を温存し、6月以降 からホーリーバジルでツマジロオオメナガカメムシ (以下、ツマジロ) (図1c) とソルゴーでテント ウムシ類 (図1d) を温存できる。これら土着天敵は天敵温存植物による誘引性が高く、ヨコバイの密 度抑制に影響しているものと考えられる (図3および図4)。
- 3. これら天敵温存植物の植栽は、ヨコバイの密度抑制に加えて、オクラに寄生するアブラムシ類の密度も抑制することができる(データ省略)。

[成果の活用面・留意点]

- 1. 本成果は、土着天敵を活用した防除体系を構築する際の参考資料とする。
- 2. 試験は農業研究センター内露地圃場において、4月中旬にオクラを播種し、品種は「ブルースカイG (2021 年度試験)」または「ブルースカイ (2019~2020 年度試験)」を供試し、1区3連制の乱塊法により実験を行ったものである (図1e)。
- 3. 天敵温存植物はオクラの畝から 45cm の距離に 10cm 間隔幅でソルゴー1g/㎡ (1条植え、3月下旬播種、品種: 短尺ソルゴー)、ソバ4g/㎡ (2条植え、3月下旬播種、品種: 信州大ソバ)、ホーリーバジル株間 50cm (1条植え、2月上旬播種、2月下旬鉢上げ、3月下旬定植)の順にオクラの定植に先立って植栽し、実験を行ったものである。
- 4. チビトビカスミカメ類は、コミドリチビトビカスミカメとミナミチビトビカスミカメの2種、テントウムシ類は、ダンダラテントウとヒメカメノコテントウの2種を確認している。
- 5. 国外では、綿花に発生する害虫の捕食者として、ツマジロが報告されている。
- 6. ソルゴーには、土着天敵のヒラタアブ類とテントウムシ類の餌となるヒエノアブラムシの発生が確認される。ヒエノアブラムシはオクラに寄生しない(図1f)。
- 7. 農薬散布回数が減少することで、ガ類の発生がみられる場合がある。その際、BT 剤等の土着天敵に影響の小さい薬剤で防除を行う。

「残された問題点]

現地での実証試験により、薬剤散布回数の削減効果について検証する。

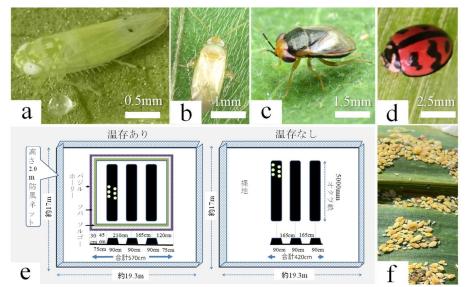


図1 露地オクラにおけるヨコバイの被害並びに天敵温存植物の利用と温存される土着天敵 a:ヨコバイ成虫、b:チビトビカスミカメ類成虫、c:ツマジロ成虫、d:テントウムシ類成虫 (ダンダラテントウ) 、e:調査圃場 (左:温存あり区、右:温存なし区) 、f:ソルゴー上に寄生するヒエノアブラムシ成幼虫 ※ヨコバイの密度は、オクラ定植一ヶ月後から2週間間隔で、展開上位葉45葉 (区当たり) の成幼虫数から算出している。

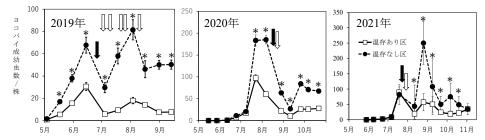
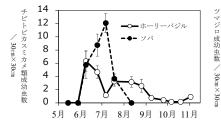


図 2 天敵温存植物の利用によるオクラ上におけるヨコバイの密度抑制効果(2019~2021年)アスタリスクはWald検定による有意差を示す(p<0.001)。エラーバーは標準偏差を示す。 黒の矢印はオクラの切り戻し日、白の矢印は台風が接近した日を示す。



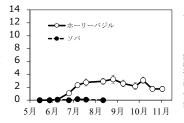


図3天敵温存植物上の土着天敵の成幼虫数の推移(2021年)叩き落とし法(30cm四方)により、落下する土着天敵数を計数している。エラーバーは標準偏差を示す。

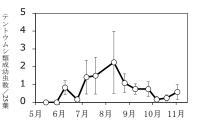


図 4 ソルゴー上に発生するテントウムシ類の推移(2021年) 株当たり1葉ずつ下位葉を見取り調査し、テントウムシ成幼虫数を計数している(区画当たり100株)。エラーバーは標準偏差を示す。

[その他]

課題 ID: 2015 農 004、2021 農 008

研究課題名:病害虫防除農薬環境リスク低減技術確立、総合的病害虫管理 (IPM) 利用技術の開発 予算区分:国庫(化学農薬削減に向けた病害虫防除技術推進事業、総合的病害虫管理技術推進事業)

研究期間(事業全体の期間): 2019~2021 年度(2015~2020、2021~2023 年度)

研究担当者:安次富厚、上里卓己、秋田愛子

発表論文等:1)上里卓己ら(2020)日本応用動物昆虫学会第64回大会発表

2)上里卓己ら(2021)日本応用動物昆虫学会第65回大会発表

3)安次富厚ら(2022)天敵利用研究会第31回大会発表

(成果情報名)輪ギク「首里の令黄」葉枯れの発生原因

(要約)輪ギク「首里の令黄」の<u>葉枯れ</u>は、電照終了後、生育ステージが<u>花芽分化期</u>に達してから、かん水量が多い場合や排水性が不良な圃場で増加し、圃場の<u>排水改善</u>および<u>雨よけ栽培</u>で減少することから、発生原因は電照終了以降の土壌水分過多による<u>湿害</u>である。

(担当機関) 農業研究センター・野菜花き班						098-	840-8506
部会	野菜・花き	専門	栽培	対象	キク	分類	実用化研究

[背景・ねらい]

「首里の令黄」は花色に優れ、花にボリュームがあり、新しい県外出荷向け黄色輪ギク品種として期待されている。しかし、電照終了後に葉が枯れ上がる症状(以下「葉枯れ」とする)が発生することがあり、生産振興を図る上で支障となっている。そこで、葉枯れ発生の原因を明らかにする。

[成果の内容・特徴]

- 1. 葉枯れは、電照終了後の生育ステージで、下・中位葉で発生する(図1)。発生株に根腐れ および茎枯れ、全身萎凋は観察されず、ほぼ正常に開花する。
- 2. 葉枯れと類似の症状である半身萎凋病、キクえそ病、茎えそ病の病原体やハガレセンチュウは確認できない(データ省略)。
- 3. 発生株と未発生株における葉の成分を比較した結果、発生株ではマグネシウムが少ない傾向 にあるが、葉面散布によりマグネシウムの施用量を増やしても葉枯れは減少しない(データ 省略)。
- 4. 電照終了後、降雨により一時的に畦間(通路)が湛水し、排水性が不良な場所で葉枯れは多く発生する(図2)。電照期間中に畦間が湛水しても葉枯れは観察されない。
- 5.12月出荷作型において、9月中旬以降にかん水量を増やし、土壌を連続して多湿状態にすると葉枯れは増加し、深耕による排水性改善およびビニル被覆により降雨の影響を排除することで減少することから、葉枯れの原因は土壌水分過多による湿害である(図3)。

[成果の活用面・留意点]

- 1. 「首里の令黄」の葉枯れが発生している圃場の対策のための基礎資料として活用できる。
- 2. 2020 年度の試験(図2)は、2020 年 10 月 22 日の 191mm の降雨で、湛水した通路(畦間)に面した畦(約24 ㎡)を湛水有り区とし、通路が湛水しなかった畦(約24 ㎡)を湛水なし区として、調査区を各3カ所配置した。
- 3. 2021 年度の試験(図3)は、平張施設Aに対照区区と多かん水区の畦を設け、両畦はかん水の影響を考慮し3m離した。雨よけ平張施設も雨よけ区と雨よけ・深耕区の畦を3m離して設けた。深耕区の平張施設Bは前年度の試験(図2)で排水性が不良であった施設である。調査区は各18㎡の畦内で4カ所配置した。深耕に用いたプラソイラーは、施設の妻面を解放させて施設内から外に貫通して牽引し、圃場の排水性の改善を図った。
- 4. 「首里の令黄」の葉枯れ対策として、栽培する圃場は排水性が良く、作土層が深いことが望ましい。また、そのような条件でない圃場では、明渠および暗渠、深耕等の排水性改善対策、電照期間中に成長を促進させる追肥増施、雨よけができるハウスであれば消灯後にビニル被覆することが軽減対策として有効である。

[残された問題点] 葉枯れ対策の現場実証と費用対効果の検討。



図1 「首里の令黄」の葉枯れ発生状況 (2020年11月撮影、農研センター平張施設、 土壌型:ジャーガル)

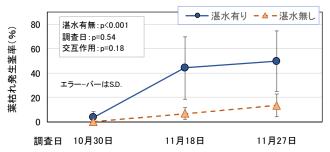


図2 降雨後の湛水の有無が葉枯れ発生に及ぼす影響

湛水有り:降雨後、畦間 (通路) が湛水する畦における葉枯れ発生茎率、湛水無し:畦間が湛水しない畦における発生茎率、葉枯れ発生茎率:葉枯れ発生茎数/調査茎数、湛水発生期間:10月22~25日、11月8~9日、11月13日、調査茎数:20茎、3 反復、栽培:2020年度12月出荷作型(定植8月19日、消灯(第1)10月21日、土壌型:ジャーガル、一般化線形混合モデル(GLMM)を用い、応答変数を葉枯れ発生茎率、説明変数を湛水有無および調査日、ランダム効果を反復とし、確率分布は二項分布、リンク関数はlogitとした。

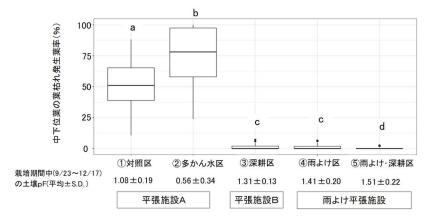


図3 多かん水と雨よけ、深耕が葉枯れ発生に及ぼす影響

試験区:①,③~⑥区;土壌 p F1.6(地下 20cm、デンション/--外-測定)以上で 7.4mm かん水、②多かん水区:9/15(整枝)以降 に毎日 7.4mm を 2 回かん水。9/15 以前は⑥区と同様のかん水、③深耕区:作畦前にプラソイラーで深耕、④雨よけ区:電 照終了後(10/23)に施設屋根面をビニル被覆、側面は解放、⑤雨よけ・深耕区:消灯後雨よけ+深耕区、中下位葉の葉枯れ発生 葉率:中下位葉における葉枯れ葉数/中下位の葉数、調査株数:8 株、4 反復、栽培:2021 年度 12 月出荷作型(定植 8 月 10 日、摘芯 8 月 19 日、整枝 9 月 15 日、消灯(第 1)10 月 23 日)、土壌型:ジャーガル、図中の異なるアルファベット間は 5% 水準で有意差があることを示す。統計解析は一般化線形混合モデル(GLMM)を用い、応答変数を中下位葉の葉枯れ発生葉率、説明変数を試験区、ランダム効果を反復とし、確率分布は二項分布、リンク関数は logit とし、その後の多重比較には Tukey・kramer 法を用いた。

[研究情報]

課題 ID: 2018 農 001

研究課題名:「首里の令黄」葉枯れ症状の要因究明と改善対策

予算区分:沖縄振興特別推進交付金事業(先端技術を結集した園芸品目競争力強化事業)

研究期間(事業全体の期間):2018~2021年度

研究担当者:関塚史朗、守屋伸生、赤嶺聖良、田場奏美、亀山健太、儀間直哉、渡邊武志、宮城悦子

発表論文等: 関塚史朗ら(2022)沖縄農業研究会第60回大会発表