

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 伊藤 隆 男

ウイロイドは、タンパク質の外殻を持たない裸の環状 1 本鎖 RNA のみからなり、自己複製する最も小さい植物病原体である。現在、2 科 7 属に分類され合計約 30 種のウイロイドが報告されているが、そのうちカンキツの保毒するウイロイドは最も種類が多く、また、複合感染の例も知られている。本研究では、国内のカンキツが保毒するウイロイドについて、その病原性と種類を生物検定ならびに分子生物学的手法により解析するとともに、それらすべてのウイロイドを同時に検出できるマルチプレックス RT-PCR を開発し、多様なウイロイドが国内のカンキツ圃場に広く蔓延している現状を明らかにした。

I. 国内のカンキツが保毒するウイロイドの類別と病原性解析

国内より樹勢衰弱を呈するカンキツ樹の穂木を多数収集し、それらから抽出した低分子 RNA について未変性及び変性条件を組合せた逐次的な同方向電気泳動 (sPAGE) ならびに RT-PCR を行ったところ、カンキツエクソコーティスウイロイド (*Citrus exocortis viroid*, CEVd), カンキツベントリーフウイロイド (*Citrus bent leaf viroid*, CBLVd), ホップ矮化ウイロイド (*Hop stunt viroid*, HSVd), カンキツウイロイド III (*Citrus viroid III*, CVd-III) およびカンキツウイロイド IV (*Citrus viroid IV*, CVd-IV) の全 5 種が検出された。次いで、既報の CBLVd とは異なる CBLVd 様 RNA を精製し、エトログシトロン系統アリゾナ 861-S1 に接種したところ、CBLVd によるものと類似した若干激しい病徴が観察された。本ウイロイドは 327 塩基の環状 1 本鎖 RNA であり、CBLVd と最も高い相同性 (約 84%) を示したことから、本ウイロイドをカンキツウイロイド I-LSS (*Citrus viroid I-low sequence similarity*, CVd-I-LSS) と名付けた。また、CBLVd とも CVd-I-LSS とも異なる CBLVd 様 RNA を精製し、エトログシトロンに接種したところ、軽微な葉の下垂と葉柄の褐変を生じた。本ウイロイドは 330 塩基の環状 1 本鎖 RNA であり、中央保存領域の配列から *Apscaviroid* 属に分類されたが、CVd-III とはその相同性が約 68% と低く、また、病徴も既報のウイロイドとは異なることから、本ウイロイドをカンキツウイロイド OS (*Citrus viroid OS*, CVd-OS) と名付けた。さらに、国内のカンキツが保毒するウイロイドについて、それぞれの特異的 RT-PCR による増幅断片の塩基配列を解析したところ、種内に多様な塩基配列変異株が存在することが確認された。特に HSVd 変異株の中には、カクヘキシア病を引き起こす変異株と全く同じ配列を持つものの他、カクヘキシア病変異株に特徴的な 6 塩基置換を持つ変異株が 8 株以上あることを見いだした。また、台木にエクソコーティス病様の激しい剥皮症状を示すカラタチ台カンキツ樹のいくつかからは CEVd は検出されず、その他のウイロイドの複合感染が認められた。

II. カンキツのウイロイドとリンゴステムグルービングウイルス (ASGV) の国内での発生調査

カンキツの 6 種の全ウイロイドならびにカラタチ台カンキツ樹の接木部異常病の病原であるリンゴステムグルービングウイルス (*Apple stem grooving virus*, ASGV, 別名: カンキツターリーフウイルス) すべてを同時に検出できるマルチプレックス RT-PCR を開発し

た後、一般圃場を中心に採集した国内のカンキツ 217 樹について、マルチプレックス RT-PCR により各ウイルスおよび ASGV の発生調査を行った。その結果、HSVd が最も頻繁に、次いで CVd-III が多くの樹から検出された。CVd-OS はウンシュウミカンや‘不知火’から、CVd-I-LSS は‘不知火’から多く検出された。

以上を要するに、国内のカンキツが保毒するウイルスについて、その病原性と種類を生物検定ならびに分子生物学的手法により解析するとともに、それらすべてのウイルスを同時に検出できるマルチプレックス RT-PCR を開発し、多様なウイルスが国内のカンキツ圃場に広く蔓延している現状を明らかにした。本研究で得られた成果は学術上、応用上寄与するところが多い。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。