

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 夏 志松

クワ萎縮病 (mulberry dwarf) は中国、日本、韓国、ロシア (旧ソ連)、ベトナムなどの多くの蚕業国においてその発生が認められ、クワ (*Morus* spp.) の重要病害のひとつとなっている。特に、中国、日本、韓国など主要養蚕国では古くから甚大な被害を生じ、蚕業上大きな脅威となっている。本研究では、中国におけるクワ萎縮病の発生・被害・分布および病徴を調べ、その病因および発病、伝染の様式などを疫学的に解明するとともに、分子系統学的な解析を行った。また、伝統的な診断法に加え、分子診断法を確立すると共に、媒介昆虫の駆除・薬剤による病樹の治療・抵抗性品種選抜・無病苗の育成・罹病樹の除去などの検討を行った。

1. 病徴、発生、被害および伝染機作

中国におけるクワ萎縮病は病徴により黄化型萎縮病、萎縮型萎縮病および花葉型萎縮病の3タイプに分けられていたが、本研究では発生も多く、被害も大きい黄化型萎縮病を中心に萎縮型萎縮病も併せて検討した。本病に感染した罹病クワ樹では発病枝条は伸長を停止するとともに節間は短縮し、葉は著しく矮化して黄化しやがて、先端芽は枯死し、枝条の腋芽が発芽後側枝を生じてんぐ巢症状となった。病株は翌年夏刈後枯死した。本病は中国では広域に発生し、全国桑園の約1/4で被害が確認された。激発桑園では60~90%でのクワ樹が発病した。本病はヒシモンヨコバイ (*Hishimonus sellatus*) とヒシモンモドキ (*Hishimonoides sellatiformis*) により伝搬され、発病苗の持ち込みが伝播・蔓延の原因である。

2. 病原の同定

クワ萎縮病罹病株の新梢および葉片の節部組織の電子顕微鏡観察をおこなったところ、ファイトプラズマ粒子が全ての罹病株で認められた。また、本病罹病株はオキシテトラサイクリン (oxytetracycline) 処理による治療効果が認められた。さらに、罹病クワ組織よりファイトプラズマを抽出・精製して、戻し接種を行ったところ、原病徴が再現され、発病株からもファイトプラズマ粒子が確認された。以上より、中国産クワ萎縮病の病原はファイトプラズマであると結論された。

3. 抵抗性品種の選抜とその抵抗性機構

60余種のクワ品種について本病に対する抵抗性を検定し育2号および湖桑7号を抵抗性品種として選抜した。特に育2号は本病にほとんど感染しない点で注目された。病害抵抗性に関与するとされるファイトアレキシン (phytoalexin: PA) について抵抗性品種と罹病性品種について解析したところ、クワ品種のファイトプラズマ抵抗性とPAの各成分およびその含有量との関係が示唆された。

#### 4. 血清学的試験

罹病クワ新梢維管束篩部から抽出・精製したファイトプラズマ部分精製試料を抗原に、家兔を用いて抗血清を作製した。本抗血清が本病の検診に応用できる可能性が示された。

#### 5. モノクローナル抗体の作製とその利用

クワ萎縮病ファイトプラズマに対する特異的モノクローナル抗体の作製を試みた。罹病クワより部分精製したファイトプラズマ試料に対して特異的に反応するハイブリドーマ 3 株を選抜し、得られたモノクローナル抗体がその診断に有効なことが明らかになった。

#### 6. 組織培養法によるファイトプラズマの増殖と維持

ファイトプラズマ感染クワ新梢組織片からカルスを誘導し、不定芽より再分化した罹病苗を継代培養した。14 回の継代培養株でも組織内にはファイトプラズマが多数確認された。組織培養法によりファイトプラズマを長期にわたって維持できることが確認された。

#### 7. 病原体の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列解析および PCR 法による診断

本病に感染したクワ組織から全 DNA を抽出し、nested-PCR を行うことにより、クワ萎縮病ファイトプラズマを検出することができた。PCR 増幅した 16S rDNA の塩基配列をダイレクトシーケンシングにより決定した結果、中国産クワ萎縮病ファイトプラズマでは日本産クワ萎縮病ファイトプラズマに対して 1 塩基欠損しているだけで、非常に近縁であることが示唆された。

#### 8. 病樹治療法の確立

クワ萎縮病罹病樹を薬剤処理することで病原ファイトプラズマの除去を試みた。オキシテトラサイクリン剤を用い、圃場でクワ罹病株の治療を試みたところ、70-80%の病株で治療効果が認められ、本治療法の有効なことが確認された。また、クワ罹病苗の治療法についても検討したところ、病苗の根を 2,000ppm のオキシテトラサイクリン剤液に 4 時間浸漬処理した後に定植することで高い治療効果が認められた。

#### 9. 防除法の確立

種々の効果的な防除法を組み合わせて系統的な防除技術体系(総合的防除法)の確立を試みた。第一に、桑園の罹病株を掘り出して焼却した。この方法では、病徴が明瞭となる 6 月中・下旬に 1 回、その後 2 週間ごとに 1 回、桑園を巡検し、病株が認められたら直ちに病樹を除去することで防除効果を上げることが出来た。第二に、抵抗性品種の導入を行ったところ、高い防除効果が認められた。第三に、媒介昆虫の駆除による防除法を検討した。その結果、枝条長の 1/3 条梢を切除、焼却すること、夏刈直後に殺虫剤を撒布することで高い駆除効果が得られた。第四に、無病苗の育成を行った。無病地域で無病台木を育成し、これに無病接穂を接木して無病苗を得る体系を確立した。以上の手法を適宜組み合わせ総合的防除技術体系を確立した。

以上、本研究の結果、養蚕上大きな問題になっていた中国産クワ萎縮病について、発生生態・診断・分子系統学的な解析によって多くの病理学的特性を明らかにし、さらに総合的防除技術体系の確立を行った。これらの成果は、学術上また応用上きわめて価値が高い。よって審査委員一同は本論文が博士(農学)に値するものと認めた。