

論文の内容の要旨

論文題目 *Candidatus Phytoplasma asteris* の
媒介昆虫特異性に関する研究

氏 名 西 村 典 夫

1967年、土居らは電子顕微鏡観察によって、それまでウイルス病と考えられていたクワ萎縮病、ジャガイモてんぐ巣病、キリてんぐ巣病に罹病した植物の茎葉篩部にマイコプラズマ様微生物(mycoplasmalike organism, MLO; 1994年「ファイトプラズマ (*Candidatus Phytoplasma*)」と改称されたため以下ファイトプラズマとする)が局在していることを発見し、これが病原体であることを報告した。ファイトプラズマによる植物病害の世界で最初の報告である。これが契機となり、ファイトプラズマによる植物の病害が世界各地で次々と発見された。我が国でも1967年以降3年の間に、イネ黄萎病(那須ら、1967)、サツマイモてんぐ巣病・マメ類てんぐ巣病(土居ら、1967)、ミツバてんぐ巣病(奥田ら、1968)、香料ゼラニウムてんぐ巣病・ハウレンソウ黄萎叢生症状(奥田ら、1969)などのファイトプラズマ病が新たに発見された。これらの病害の多くは、ファイトプラズマ病と確認される前に、1960年代にすでに媒介昆虫が判明していたが、ウイルス病と考えられていた。例えば、クワ萎縮病はヒシモンヨコバイにより、イネ黄萎病はツマグロヨコバイ、マメ類てんぐ巣病はミナミマダラヨコバイによりそれぞれ媒介されることが報告されていた。し

しかし、キリてんぐ巢病やミツバてんぐ巢病などについては媒介昆虫は不明であった。ファイトプラズマは機械的接種が不可能であり、人工培養できないうえに、有効な防除薬剤が無く、研究遂行上も、病害防除の観点からも、媒介昆虫を明らかにすることは最重要課題である。

全ゲノムが解読され、系統解析が急速に進んだ今日、同一種のファイトプラズマは同じ昆虫により媒介されることが明らかになりつつあり、種に対して特異的な媒介昆虫が存在すると考えられるようになった。しかし、*Ca. Phytoplasma asteris* (*asteris* 種のファイトプラズマ)を構成するファイトプラズマの OY 系統 (タマネギ萎黄病ファイトプラズマ (OYP)、ミツバてんぐ巢病ファイトプラズマ (CJWP) など)、MD 系統 (クワ萎縮病ファイトプラズマ (MDP))、および PW 系統 (キリてんぐ巢病ファイトプラズマ (PWP)) の 3 系統では、OY 系統がヒメフタテンヨコバイにより、MD 系統がヒシモンヨコバイおよびヒシモンモドキにより、PW 系統はクサギカメムシにより媒介されると報告されており、系統により媒介昆虫が大きく異なり、我が国における *Ca. Phytoplasma asteris* には何故か媒介昆虫の種特異性が認められない事が知られていた。

茨城県では、1967 年に霞ヶ浦沿岸地方を中心にミツバてんぐ巢病が大発生し問題となった。その後これがファイトプラズマに由来する病気であることが明らかとなり、防除対策確立の見地から、その媒介昆虫を明らかにすることが急務となった。本研究は、この問題を契機に、ミツバてんぐ巢病ファイトプラズマの媒介昆虫を明らかにするとともに、特に *Ca. Phytoplasma asteris* と媒介昆虫の関係を詳細に検討し、ファイトプラズマの系統と媒介昆虫との関係を調べ、ファイトプラズマの種に対する媒介昆虫特異性について再検討することを目的に行ったものである。本研究の背景には、分子生物学的な手法の導入により 16SrRNA 遺伝子配列にもとづいたファイトプラズマの系統分類体系確立の存在が大きい。その概要は以下のとおりである。

1. OY 系統のミツバてんぐ巢病ファイトプラズマ (CJWP) の媒介昆虫の探索

ミツバてんぐ巢病ファイトプラズマ (CJWP) の伝染方法を明らかにするため、汁液伝染、土壌伝染、アブラムシ伝染および発病圃場から採集した 7 種ヨコバイによる伝染試験を行

ったところ、ヒメフタテンヨコバイによってのみ伝染が認められ、ヒメフタテンヨコバイがファイトプラズマの、またしかも CJWP の媒介昆虫であることが本研究によって初めて明らかになった。そこで詳細な試験を行い、ヒメフタテンヨコバイは 30 分間の獲得吸汁および 30 分間の接種吸汁で CJWP を伝搬し、虫体内潜伏期間は 20~26 日であること、さらに同虫が一旦 CJWP を獲得すると、一生体内に CJWP を保有し伝搬能を保持することを明らかにした。また、CJWP を獲得吸汁したヒメフタテンヨコバイをキリに接種吸汁したところ、キリへの感染も認められた。草本植物を宿主とするファイトプラズマが木本植物にも感染し得ることを示したのは、本研究が初めてである。

2. OY 系統 (CJWP 及び OYP) のヒシモンヨコバイ・ヒシモンモドキによる伝搬、および MD 系統 (MDP) のヒメフタテンヨコバイによる伝搬試験

16SrRNA 遺伝子配列に基づいて確立された系統分類体系によって (CJWP を含む) *Ca. Phytoplasma asteris* に分類されるファイトプラズマの媒介昆虫について詳細な検討を行った。まず、クワ萎縮病ファイトプラズマ (MDP) の媒介昆虫として知られるヒシモンヨコバイとヒシモンモドキが、同じく *Ca. Phytoplasma asteris* である CJWP 或いはタマネギ萎黄病ファイトプラズマ (OYP) を媒介するか否かについて調べた。CJWP 或いは OYP を獲得吸汁させたヒシモンヨコバイおよびヒシモンモドキの各虫体を材料に、PCR 法によりそれぞれのファイトプラズマの検出を試みたところ、いずれも当該ファイトプラズマが検出され、同時に、それぞれの保毒昆虫は健全植物にそれぞれ CJWP あるいは OYP を伝搬した。しかし、CJWP の媒介昆虫であるヒメフタテンヨコバイに MDP を獲得吸汁させたところ、本研究では MDP の伝搬は確認されなかった。以上を要するに、*Ca. Phytoplasma asteris* の系統である OY 系統と MD 系統は、ヒメフタテンヨコバイの媒介性に差が認められたものの、両系統ともヒシモンヨコバイおよびヒシモンモドキにより媒介された。これらの昆虫は両ファイトプラズマ系統に共通で、*asteris* 種の系統を越えた種特異的な媒介昆虫である事が示された。また、3 種ヨコバイの CJWP の伝搬能にはほとんど差が無かった。

3. PW 系統のキリてんぐ巣病ファイトプラズマ (PWP) の媒介昆虫の探索

つぎに、分子系統分類体系によって *Ca. Phytoplasma asteris* の一系統 (PW 系統) に分類されるキリてんぐ巣病ファイトプラズマ (PWP) について媒介昆虫の再検討を行った。PWP の既報の本邦媒介昆虫はクサギカメムシとされる。そこで PWP 株を用いて、まず、クサギカメムシによる伝搬能について調べた。PWP を獲得吸汁したクサギカメムシは、体内から PCR 法で PWP がまれにしか検出されず、またキリならびにニチニチソウへの PWP の伝搬は認められなかった。一方、ヒメフタテンヨコバイ、ヒシモンヨコバイ、ヒシモンモドキに PWP を獲得吸汁させたところ、ヒシモンヨコバイで 1 例だけ体内から PWP が検出されたが、いずれもキリへの伝搬は確認されなかった。一方、キリ樹に多数生息するミドリヒメヨコバイをキリ病枝葉上で 14 日以上獲得吸汁させ、獲得吸汁開始後 28 日以上経過させると、PCR 法で虫体内から低率 (8.4%) ながら安定して PWP が検出された。キリおよびニチニチソウへの伝搬は本研究条件下では認められなかったが、自然条件下で大量のミドリヒメヨコバイの接種吸汁と、植物体内における潜伏期間が長い可能性を考慮すれば、ミドリヒメヨコバイが PWP の媒介昆虫である可能性を示唆している。もし、PW 系統もヨコバイ科の昆虫で媒介される可能性が確認されれば、PW 系統も OY 系統、MD 系統との間で媒介昆虫の共通性が認められる可能性があり、我が国における *Ca. Phytoplasma asteris* に共通した媒介昆虫特異性が認められる可能性が高いものと考えられた。

以上を要するに、本研究ではミツバてんぐ巣病ファイトプラズマ (CWJP) の媒介昆虫がヒメフタテンヨコバイであることを明らかにし、同病の防除法を確立した。さらに、16S rRNA 遺伝子配列にもとづいた分類に従って *Ca. Phytoplasma asteris* に分類される OY、MD、PW の 3 系統のファイトプラズマの媒介昆虫を詳細に検討することにより、これまで媒介昆虫の種特異性が認められていなかった同種ファイトプラズマに共通して、ヨコバイ科の昆虫が種特異的な媒介昆虫となり得ること、すなわち *Ca. Phytoplasma asteris* に「媒介昆虫特異性」が認められることを初めて明らかにし、現場における防除体系を確立することが可能となった。