

## トピックス

## 「第16回国際カンキツウイルス学者研究集会」報告

果樹研究所カンキツ研究部 伊 藤 隆 男

## はじめに

国際カンキツウイルス学者研究集会 (IOCV) は、カンキツの接ぎ木伝染性病害の国際的な研究者集会であり、3年ごとに開催される。今回は第16回会議であり、2004年11月8～12日の5日間、世界各国より約100名の参加者を集めて、メキシコ北部の都市モンテレーで開催された。

## I カンキツトリステザウイルス (CTV)

CTVの全塩基配列は報告数も徐々に増えており、今回も全塩基配列に関する発表がいくつか行われた。マイクロアレーを用いた迅速なCTVゲノム解析方法も紹介された。CTV保毒株から検出される多様な欠失RNAについては、その構成や生物学的性状により六つに種類分けをしたうえで、RNAサイレンシングとの関係などいくつか疑問点が紹介された。

感染性クローンに関する研究では、強毒系統と弱毒系統のキメラクロンの作製と解析が試みられているとの報告がされた。また、緑色蛍光タンパク質を発現するCTV接種カンキツ樹を異なる温度条件下で育成し、その樹体内分布を観察した結果が報告された。さらに、モノクローナル抗体MCA-13に反応するCTV感染性クローンから反応しないものを1塩基置換によって作出して解析を行った例も報告された。

病徴発現に関わると考えられるCTVのp23遺伝子について、強毒と弱毒の由来の異なるものをCTVの検定植物であるメキシカンライムや、その他の感受性の異なるカンキツ品種に対して形質転換し、その発現量と病徴発現の関係を解析した結果が報告された。また、p23遺伝子を形質転換された *Nicotiana benthamiana* とカンキツでCTVに対する干渉効果に違いが見られることが報告された。その他の遺伝子についても形質転換が行われ、CTV抵抗性を示す個体がいくつか得られたとの報告もされた。

通常は強い抵抗性を示すカラタチに感染性を示す

CTV系統がニュージーランドで見つかっている。その部分的塩基配列は、T36株と90%程度の相同性を示した。今後、T36株とのキメラ感染性クローンを作成し、カラタチでの増殖に関わる遺伝子領域を探索する予定らしい。カラタチからのCTV抵抗性遺伝子については、候補が10個に絞られた。現在、感受性品種に形質転換して抵抗性の評価が行われている。

30か国から採集した267の異なるCTV株を、16年間にわたりメキシカンライムなどの5種の検定植物により検定を行った結果がまとめて報告された。また、エライザの陽性試料と陰性試料を標準化して提供し、異なる研究室間での結果を直接比較しようという提案もなされた。

## II カンキツの突然死病 (Citrus Sudden Death : CSD)

本病は、1999年にブラジル・ミナスゼライス州でラングブアライム台スイートオレンジに発生し、その後ブラジル最大のカンキツ産地を抱えるサンパウロ州の北部に侵入した。すでに100万本以上のラングブアライム台スイートオレンジが枯死している。1930年代に南米で猛威を振るったCTVによるサワーオレンジ台カンキツの急性衰弱症と発生の仕方が類似していたために、深刻な大問題として受け止められた。4年にわたる研究の結果、接木伝染性のCTV類似のウイルス性の接木部障害であることが明らかとなった。CSDに罹病したカンキツ樹は全てCTVとCSD-associated virus (CSDaV)に感染しているが、病原は今のところ不明であり、両者の相互作用によるとも考えられている。短期的にはクレオパトラマンダリンなどの根接ぎと長期的には抵抗性植物により防除が可能であることが確認され、現在は平静が取り戻されている。病原の解明に関わる発表が主であった。

CSDに罹病したカンキツから得られたCTVの全塩基配列解析結果が報告された。二つの優勢な変異株が検出されたが、CSDと特別関係するようなゲノム上の特徴は見られなかった。罹病樹由来の多様なcDNA解析によってもCTVとCSDとの関連は見出せず、CTVの新変異株によるものという仮説は証明されていない。一方、CSDaVはCSD罹病樹からのみ検出される。全塩基配列が解析され、*Marafivirus* 属のウイルスと近縁である可能性が示され、アブラムシからも検出されることが

確認された。

### Ⅲ カンキツグリーニング病 (Huanglongbing)

ブラジルでのグリーニング病の発生に関わるものが多く、その他にグリーニング病感染に関わる剪定、台木、保毒するCTV株、および殺虫剤の影響、そして媒介虫であるミカンキジラミのメキシコとコスタリカでの初発生状況などが報告された。

カンキツグリーニング病細菌はこれまでアジア型 (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) とアフリカ型 (*Candidatus Liberibacter africanus*) の2種の存在が知られていた。ブラジルなどではもともとミカンキジラミの分布は知られていたが、本病のアメリカ大陸での発生報告はなかった。しかし、2004年にサンパウロ州のグリーニング病様症状を示す10樹を調べたところ、2樹からグリーニング病特異的PCRによって陽性反応が得られた。増幅産物の塩基配列解析により *Ca. L. asiaticus* と高い相同性を示すことが確認された。その後、サンパウロの異なる地域の38樹について調べたところ10樹から陽性が得られるなど、本病原細菌の発生がアメリカ大陸で初めて確認された。一方で、病徴を示しながらもグリーニング病特異的PCRで陽性が得られない個体について、細菌の16S rDNAを増幅する共通プライマーによりPCRを行ったところ陽性反応が得られた。その増幅産物の塩基配列解析では、*liberibacter* と考えられる新規な細菌であることが確認され、*Candidatus Liberibacter americanus* と命名された。

*Ca. L. americanus* 特異的なプライマーも開発され、PCR検定が行われた。その結果、*Ca. L. asiaticus* よりも *Ca. L. americanus* の方がブラジルで広く分布するものと考えられた。ミカンキジラミからも陽性が得られたことから、*Ca. L. americanus* もミカンキジラミによって伝搬するのではないかと考えられた。このアメリカ型のグリーニング病については、発生生態やその起源などまだまだ不明であることが多く、検疫の観点からも大きく関心を集めていた。

### Ⅳ ウイロイド

樹体への影響、gummy bark病やgum pocket病などとウィロイドとの関係、検定法の改良、各国でのウィロイドの検出報告、ウィロイドの多様性や安定性などの発表が行われた。内容がユニークな二つの話題を紹介する。

5種のウィロイドを保毒するラフレモンにカンキツ属近縁の *Atalantia citroides* を接木して育成したところ、3年後に、*A. citroides* ではこれらウィロイドの感染は確認できなかったが、電気泳動により新たなウィロイド様

RNAが検出された。エトログシトロンへの接種により感染性も確認され、*Atalantia citroides viroid (AcVd)* と仮称された。2種以上のウィロイドの組換えによって生じた新規なウィロイドと考えられた。

中東地域の多くの果樹でウィロイドの感染が広く見られることについて、ヤギが樹に角をこすりつける習慣があり、その地域でのウィロイドの伝搬を促しているのではないかという興味深い仮説(ヤギ伝搬)が紹介された。

### Ⅴ そ の 他

その他の細菌病として、スタボーン (Stubborn, 病原: *Spiroplasma citri*) とバリエゲータッドクロロシス (Variegated Chlorosis, 病原: *Xyllella fastidiosa*) に関する発表が行われた。*S. citri* については、ゲノム解析が進んでおり、ヨコバイ伝播に関わる遺伝子がプラスミド上にある可能性やカリフォルニアでの発生状況などが報告された。*X. fastidiosa* については、スイートオレンジやその交雑種などでの抵抗性個体の探索などが報告された。

その他のウイルス病についても、いくつか発表が行われた。レプローシス (Leprosis) はウイルス粒子形態と細胞病理学的に細胞質型と核型が存在しそれぞれ異なるウイルスが関わっていることが推察されている。より広く分布する細胞質型のレプローシスはRT-PCRによって特異的に検出が可能であり、それをを用いた発生調査などが報告された。また、ソローシス (Psorosis) はアルゼンチン、テキサス、カリフォルニアでの観察からベクターによる伝搬が疑われており、*Olpidium* 様糸状菌の遊走子からRT-PCRにより病原ウイルスが検出されたとの報告がなされた。シトレンジ台の接木部異常症への関連が疑われた *Citrus leaf blotch virus (CLBV)* について、接木部異常を起こさない株からも検出されたことから、本症状には別の病原が関わっているのではないかと推察された。

検定制度に関しては、各国での病気や媒介虫の発生状況とその検定および検疫対策が報告された。CLBVが種子伝染性であるという最近の報告を受けて、カリフォルニアでは採穂母樹の再調査も検討しているようだ。

インターネット上に、カンキツのウイルス性病害に関するスライドショーが公開されていることが紹介された (EcoPort slide shows, <http://citrus.ecoport.org/>)。病気や検定などについての総説や各論が利用できる。

#### 参 考 文 献

- 1) Programme & Abstracts, XVI Conference of the International Organization of Citrus Virologists (2004) : 216 pp.