

トピックス

「第15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

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2001年11月に約100名の参加者を集めてキプロス共和国で開催された第15回会議の様子を、話題に挙がったトピックスを中心に紹介する。

I カンキツトリステザウイルス (CTV)

アブラムシ伝搬性で、世界的に特に被害が大きいウイルスであり、今回の会議で最も時間を割いて議論された。CTV ゲノムの全塩基配列は1995年にフロリダのT36株で報告されており、T36株とVT株の塩基配列の5'部分が大きく異なることや、多くのCTV株で多様な欠失RNAが見られることなど、興味深い知見もすでに得られている。感染性クローンをを用いた解析なども行われ、病原性に関わる因子も明らかとなると思われる。今回の会議では、ポストゲノム的手法による生態的あるいは病原性の解析が多い印象であったが、以下に話題に挙がった主なトピックスを内容別に紹介する。

1 干渉効果

弱毒系統PB61株の発消長をRT-PCRなどにより解析し、接種初期の分布、季節消長についての品種間での相違などが明らかになった。この結果を受け、より効果的にPB61株の予備接種ができるよう、Australian Citrus Budwood Scheme の内容に変更が加わった。

PB61株は強毒系統に対してはPB155株よりもPB235株の方に干渉効果が高く、塩基配列解析でもPB235株のほうに相同性が高かった。

CP遺伝子のsingle-strand conformation polymorphism (SSCP) 解析により、弱毒系統Pera IAC株接種樹で、強毒系統Barao B株が増殖しないことが確認された。

2 診断と生態

いくつかの系統をいくつかのカンキツ種に接種したと

ころ、*p18* 遺伝子のSSCPパターンに、系統ごと、カンキツ種ごとまたは個体ごと、あるいは経時的にも変化が見られた。

アブラムシで複合感染を分ける試みにより、モノクローナル抗体MCA13(フロリダの弱毒系統に反応しない)陰性系統に陽性系統が混在していることが推察された。

強毒系統SY-568株を接種したスイートオレンジ実生個体間に、萎縮やステムピッチングなどの症状に違いが見られた。RNase protection assayにより、各個体に少なくとも2変異株が混在しているものと、1変異株のみが存在するものが確認された。

春と秋に接ぎ木接種したT30株をELISAで追跡したところ、春に接種した方がCTVの移動が速いことが推察された。またどちらの季節も少なくとも1年は全身感染に要するものと考えられた。

p20 遺伝子をクローニングし、SSCPパターンが異なるものについて塩基配列を解析したところ、いくつかの塩基配列変異株が確認された。

EUのDiagnostic Protocolでは、生物検定、血清診断、遺伝子診断の様々な手法のうち、異なる二つの手法を組み合わせた検定によりCTV陽性の判定を行うことになる。その手法はインターネットで公開される。

3 形質転換植物

CTV *p23* 遺伝子形質転換メキシカンライムがCTVによるものと似た症状を発現した。

カラタチ由来のCTV抵抗性遺伝子 *Ctv* について、いくつかの候補遺伝子を特定した。今後これらの遺伝子を感受性品種に形質転換する。

SY568株の非翻訳の外被タンパク質遺伝子を導入した形質転換グレープフルーツのいくつかの個体で、接種した強毒CTVの濃度に差が見られた。

強毒系統T305株と弱毒系統T317株の外被タンパク質遺伝子を含む *p25* 遺伝子を導入した形質転換メキシカンライムで、CTVに対して抵抗性を示す個体がいくつか得られた。その抵抗性は非相同のCTV系統にも発揮された。

T305株の非翻訳の *p25* 遺伝子を導入した形質転換メキシカンライムでは、転写後型のジーンサイレンシン

Report on the 15 th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. By Takao Ito

(キーワード:カンキツ, ウィルス, ウィロイド, 細菌, IOCV)

グ系統さえ、相同の T 305 株に抵抗性を示さなかった。

4 その他

CTV 感染植物の dsRNA から *Oat blue dwarf virus* の複製酵素の一部に高い相同性を持つ cDNA が得られた。

II カンキツウイルス

カンキツウイルスには CEVd, CBLVd (CVd-I), HSVd (CVd-II), CVd-III, CVd-IV があり, 新種 CVd-OS および CBLVd の特殊な変異株 CVd-I-LSS が日本から報告されている。いくつかの草本植物から CEVd の特殊な変異株が見つかり, カクヘキシア病に関わる HSVd の 5~6 塩基が特定され, Gummy Bark, Gum Pocket, Yellow Corky Vein が新しいウイルス病として疑わしく, HSVd と CVd-III によるカラタチ台の矮化が顕著であることなど, 関連する知見も蓄積しており, 今回の会議でも CTV に次いで発表が多かった。以下に話題に挙がった主なトピックスを内容別に紹介する。

1 検出

マルチプレックス RT-PCR を開発し, 各種カンキツウイルスの同時検出を行った。日本のカラタチ台に剥皮症状を呈する樹からは, CEVd 以外のウイルスの混合感染が検出される例も多く確認された。

数種カンキツウイルスの RT-PCR 検定で, 様々な品種のうち, キンカンでは確実に検出できず, 試料採集は穂木程度の枝の樹皮を暖かい時期に採集したものが良いことがわかった。

カンキツとその近縁種に数種カンキツウイルスを接種し, ハイブリダイゼーションと sPAGE を行った結果, 宿主によって検出されないウイルスがあった。

2 ウイルス病

yellow vein 症状から CEVd と HSVd が, gummy bark 病から様々な HSVd 変異株が検出された。

gum pocket は生理的あるいはストレスによるもので, ウイルスはそれを促進させていることが推察された。

カラタチ台カンキツへの接種試験により, CEVd は矮化と台木の剥皮, HSVd は台木の亀裂, CBLVd と CVd-III は矮化, CVd-IV は矮化と台木の亀裂を示した。

3 その他

CEVd の変異株クローンについて, 接種試験などにより感染性や増幅開始のメカニズムなどを解析した報告がいくつかあった。また, より効果的な矮化因子を作るため CVd-III ゲノムに変異を導入し病原性の異なる株をいくつか得たという報告もあった。

III その他

その他, 世界各地に分布する多様なウイルスや細菌による接ぎ木伝染性病害, あるいは検定制度についても, 多くの発表が行われた。以下に, 主なトピックスを内容別に紹介する。特に *Citrus leaf blotch virus* (CLBV) のこととスペインの検定制度の話題は, 日本の植物防疫を考える上で重要な情報であると考えられた。

1 カンキツソローシウイルス (CPsV) とその他のウイルス

ELISA, PCR, 電顕観察による CPsV 検定は信頼性があり, ソローシ病様剥皮や葉の退緑斑点は, 時に指標にならないことが推察された。

キンカンから検出された, シトレンジ台の接木部異常への関連が疑われる CLBV は, 新たな属に含まれる新種と考えられた。RT-PCR による検定で, 日本を含む世界各地の様々なカンキツから陽性反応が得られた。

2 スタボーン (*Spiroplasma citri*) とバリエゲータッドクロロシス (CVC, *Xylella fastidiosa*)

S. citri の様々な人工変異株の作出により, 病原性機構, 運動能力, ヨコバイ伝搬性, そしてオペロン調節に関する遺伝子が特定されつつあり, 一方, *S. citri* のゲノムは 2002 年には利用できるだろう。

CVC の分布状況, ブラジルでの CVC 被害の拡大と経済的損失, 抵抗性品種の探索や導入の取り組み, 強剪定の効果, ベクター駆除, フリー苗木の作出, 多様性解析, 高感度検出, 人工変異株の病原性解析など。

3 検定制度

スペインでは, 1975 年より, The Citrus Variety Improvement Program が行われ, 在来品種および導入品種は茎頂接ぎ木によって無毒化。無毒化後, 様々な検定植物で生物検定。加えて, ウイルスには sPAGE (導入品種) とプリントハイブリダイゼーション (在来品種), CLBV には PCR, dsRNA を生じるウイルスには dsRNA 解析, CTV にはイムノプリンティングを行う。検定済みのものだけが Germplasm Bank に保存され, すべての苗木園は, 現在そこから穂木を得ており, 新しい植栽園では大きな被害は見られなくなっている。

ブラジル・サンパウロ州では, CVC のベクター防除のため 2003 年以降すべてのカンキツ苗木の生産を網の中で行うことが義務化される見通しである。

参考文献

- 1) Programme & Abstracts, XV Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Agricultural Research Institute, Cyprus, 200 pp.