

# カンキツグリーンング病原細菌の系統判別

(独)農研機構果樹研究所 <sup>か</sup>加 <sup>とう</sup>藤 <sup>ひろし</sup>寛

## はじめに

カンキツグリーンング病は東南アジアやアメリカのフロリダ州、またブラジルのサンパウロ州等のカンキツ産地で壊滅的な被害を及ぼしている (DA GRACA, 1991)。我が国においては1988年に西表島で初めて発生が確認されて以来 (宮川・津野, 1989)、沖縄県のほぼ全域 (河野ら, 1997; 内藤ら, 2001)、2002年には与論島 (濱島ら, 2003)、さらに03年に徳之島 (篠原ら, 2006) と南西諸島を北上するように分布を拡大させている (図-1)。

カンキツグリーンング病は“*Candidatus Liberibacter spp.*”に分離される3種の細菌によって起こり、我が国では、“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”の分布が確認されている。“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”は長期間の純粋培養が困難で、純粋培養したコロニーが約10日間の間隔で4、5回培地上での植え接ぎにより生存したという報告があるのみである (SECHLER et al., 2009)。

“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”は師部局在性であり、接ぎ木や取り木等の栄養繁殖によって伝搬する。またミカンジラミによって永続的に伝搬され (HALBERT and MANJUNATH, 2004)、葉の黄化や果実の着色不良、果実の奇形等の影響を及ぼす。そして果樹そのものにも樹勢の低下を及ぼし、最終的には枯死に至らせてしまうカンキツにおける最重要病害であり、経済的被害は深刻である。

“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”の性状解析を進めていくうえで、遺伝的解析が重要であるが、病原細菌において単純繰り返し配列 (Simple sequence repeat: SSR) は遺伝的多様性を測る一手段となりえる (LIN et al., 2005)。細菌類でもSSRは解析が進んでおり、*Yersinia pestis* (ADAIR et al., 2000)、*Haemophilus influenza* (HOOD et al., 1996)、*Mycobacterium tuberculosis* (KREMER et al., 1999; GASCOYNE-BINZI et al., 2001)、*Mycobacterium africanum* (VIANA-NIERO et al., 2001)、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (LINDSTEDT et al., 2003)、*Bacillus anthracis* (KIM et al., 2002) そして *Xylella fastidiosa* (COLETTA-FILHO et al., 2001; LIN et al., 2005) 等で解析され

ている。特に *X. fastidiosa* はゲノム中にある複数のSSRを解析することにより、ブドウ、アーモンド、カンキツそしてセイヨウキョウチクトウそれぞれに特異的に感染する菌株を分類することができる (LIN et al., 2005)。

また“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”においてもCHENらは全ゲノムDNA配列が明らかとなっているフロリダ株 psy62 (DUAN et al., 2009) の配列の中からSSR (AGACACA) を発見し、アメリカのフロリダや中国の広東省にて採取したサンプル間で多型を示すことを明らかにしている (CHEN et al., 2010)。しかしながら、全長で約1.2 Mbある“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”の全ゲノムDNA配列中にSSRが一つだけとは考えにくく、さらに精査する必要がある。そこでフロリダ株 psy62 (DUAN et al., 2009) の全ゲノムDNA配列中から他に多型を示すSSRの有無を精査した。

## I 手 法

### 1 “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” のゲノム中における単純繰り返し配列の探索

フロリダ株 psy62 (DUAN et al., 2009; accession num-

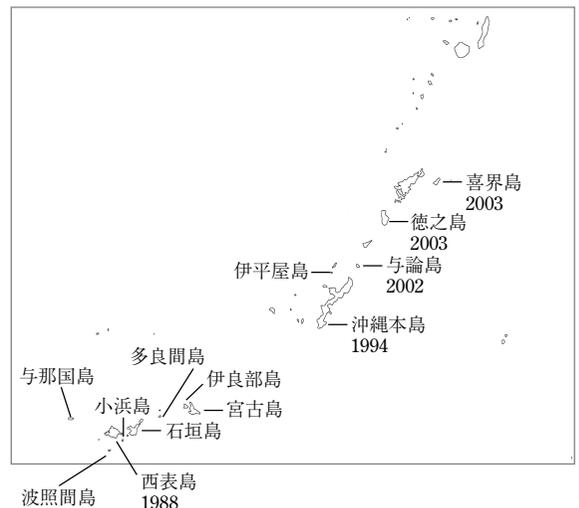


図-1 日本におけるカンキツグリーンング病の拡がり

南西諸島の地図はフリーマップのウェブサイト [http://www.freemap.jp/japan/ja\\_island1.html](http://www.freemap.jp/japan/ja_island1.html) からダウンロードした。島名の下にある西暦はカンキツグリーンング病が初確認された年を示す (KATO et al., (2011) を改変)。

Lineage Analysis of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” Isolates.  
By Hiroshi KATO

(キーワード: カンキツ, グリーンング病, 単純繰り返し配列)

ber CP001677) の全ゲノム配列を Tandem Repeat Finder のウェブサイト (<http://tandem.bu.edu/trf/trf.html>) を用いて 1 モチーフ当たり 4 塩基以上の SSR を検索した。その結果, CHEN らが発見したのもも含め 4 塩基繰り返しものから 63 塩基繰り返しものまで, 計 27 個の単純繰り返し配列が認められた (KATOH et al., 2011)。

## 2 罹病樹からの DNA 抽出

サンプル DNA は日本, 台湾そしてインドネシアの果樹園 (表-1) にて発見したカンキツグリーニング病の罹病樹から抽出した。DNA 抽出は DNeasy plant minikit (Qiagen) を用いた。まず約 0.2 g の罹病葉の主脈をメスで細かく刻んだ後, キット中に含まれる 400  $\mu$ l の AP1 buffer に懸濁し, 乳鉢上で乳棒を用いて緑色の液体になるまで磨砕した。以降の抽出はマニュアルどおりに行った。

## 3 PCR を用いたそれぞれの SSR の確認

それぞれの SSR を PCR 増幅させるためのプライマーは Primer3 website (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>) を用いてそれぞれデザインした。PCR は 1  $\mu$ l のゲノム DNA をテンプレートとして 0.1  $\mu$ M のプライマー, 200  $\mu$ M の dNTP mixture, 1  $\mu$ l の PCR buffer, そして 2.5 unit の *Ex Taq* DNA polymerase Hot Start version (TaKaRa) を計 20  $\mu$ l に調節して GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystem) にて反応させた。反応条件は 92°C で 2 分間反応させた後, (92°C で 30 秒間, 54°C で 30 秒間, そして 72°C で 1 分間) のサイクルを 30 回繰り返した。PCR 産物は 1.5% agarose, 1.0  $\times$  TBE buffer, 100 V で約 30 分の条件で電気泳動を行い, 目的のサイズの PCR 産物をメスで切り取った。この PCR 産物は QIAquick gel extraction kit (Qiagen) を用いて精製した。精製した PCR 産物はサンガー法 (SANGER et al., 1997) を用いて塩基配列を決定した後, DNA Data Bank of Japan のウェブサイト (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/Welcme-j.html>) を用いて相同性検索を行い, ClustalW program (THOMPSON et al., 1994) によっていくつかのサンプルの塩基配列を並べてそれぞれの SSR の繰り返し数を数えた。

## 4 地域ごとの SSR の多型の数値化

地域ごとにそれぞれの SSR の多型を数値化 ( $H$  値化) するため, NEI の手法を用いた (NEI, 1973)。 $H$  値は一つの集団が示す SSR などから, 集団の遺伝的多様性を数値化したものである。例えば, 4 種の SSR を示す 100 菌株の集団中, 25 菌株ずつがそれぞれ別の SSR を持つ場合,  $H$  値は最大になり, 一方 4 種の SSR のうち, 96

菌株が一つの SSR を示し, 残りの三つがそれぞれ別の SSR を持つ場合は  $H$  値は最小になる。

南西諸島の島々を全地域並びに北部 (喜界島, 徳之島), 中部 (与論島, 伊平屋島並, 沖縄本島), 南部 (宮古島, 伊良部島, 多良間島, 石垣島, 小浜島, 西表島, 波照間島, 与那国島) の 4 地域に分け, それぞれの地域ごとの SSR (i) の流動性を  $pi$  とした時,  $H = 1 - \sum pi^2$  の計算式で算出した (NEI, 1973)。

## II 結果と考察

南西諸島のサンプルにおいて 27 個の SSR のうちどれが多型のものか, 宮古島のサンプルを用いて解析した。まず宮古島を調査対象とした理由は, 本島は感染が確認されてから長期間経ており (内藤ら, 2001), 遺伝的多様性が予想されたことと, 本研究室でサンプルを多数保有しているからである。その結果, 四つの SSR (001, 002, 005, 077) に特に多型が見られた (表-2)。CHEN らが発見した 005 は bacteriophage repressor protein C1 の読み取り枠内に位置しているが, その他の 001, 002, 077 は遺伝子間領域に位置していた。これら四つの SSR について, 南西諸島のカンキツグリーニング病の罹病樹から抽出したゲノム DNA の多型を調べた。

表-1 にて四つの SSR (001, 002, 005, 077) について日本で採取した 84 サンプル, 台湾で採取した 4 サンプル, そしてインドネシアで採取した 12 サンプルのそれぞれの繰り返し数を示す。現在のところ, 罹病していたカンキツの種類と SSR の繰り返し数の種類との間に関連性は認められていない。

南西諸島のサンプルは多型を示したが, 台湾に近い南部 (宮古島, 伊良部島, 多良間島, 石垣島, 小浜島, 西表島, 波照間島, 与那国島) において特に高い多型を示した。また日本のサンプルと同様に台湾で採取した 4 サンプル, インドネシアで採取した 12 サンプルについても多型を示した。台湾のサンプル II-6 は 001 を増幅する PCR で複数のバンドが見られたため, プラスミドベクター pCR4-TOPO (Invitrogen) にサブクローニングして調べたところ, 5 種類の繰り返し数を示した。これにより一つの罹病樹に少なくとも 5 種類のカンキツグリーニング病原細菌が混合感染していたと考えられる。

沖縄本島で採取した 21 サンプルにおいて 001 は 9 種類の多型, 002 は 3 種類の多型, 005 は 7 種類の多型そして 077 は 3 種類の多型を示した (表-1)。宮古島にて採取した 14 サンプルも同様に多型に富んでおり, 四つの SSR がすべて同一であるサンプルは得られなかった (表-1)。一方で南西諸島においてカンキツグリーニン

表-1 本実験で使用した“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”のサンプルと、それぞれのSSRの繰り返し数の比較 (KATOH et al., (2011) を改変)

	Isolate	Code	分離地	分離年	SSR			
					001	002	005	077
喜界島	Kikai-130	Hm1	鹿児島県 大島郡喜界町大朝戸	2006	15	7	11	9
	Kikai-145	Hm2	鹿児島県 大島郡喜界町大朝戸	2006	15	7	11	9
	Kikai-147	Hm3	鹿児島県 大島郡喜界町大朝戸	2006	15	7	11	9
	Kikai-269	Hm4	鹿児島県 大島郡喜界町大朝戸	2007	15	7	11	9
	Kikai-301	Hm5	鹿児島県 大島郡喜界町大朝戸	2007	15	7	11	9
	Kikai-318	Hm6	鹿児島県 大島郡喜界町大朝戸	2007	15	7	11	9
	Kikai-323	Hm7	鹿児島県 大島郡喜界町大朝戸	2007	15	7	11	9
徳之島	Toku-225	Hm8	鹿児島県 大島郡伊仙町喜念	2006	8	7	5	9
	Toku-228	Hm9	鹿児島県 大島郡伊仙町喜念	2006	12	7	5	9
	Toku-229	Hm10	鹿児島県 大島郡伊仙町喜念	2006	12	7	5	9
	Toku-230	Hm11	鹿児島県 大島郡伊仙町喜念	2006	12	7	5	9
	Toku-231	Hm12	鹿児島県 大島郡伊仙町喜念	2006	12	7	5	9
	Toku-232	Hm13	鹿児島県 大島郡伊仙町喜念	2006	12	7	5	9
	Toku-233	Hm14	鹿児島県 大島郡伊仙町喜念	2006	14	7	5	9
	Toku-234	Hm15	鹿児島県 大島郡伊仙町西目手久	2006	12	7	5	9
	Toku-235	Hm16	鹿児島県 大島郡伊仙町東目手久	2006	12	7	5	9
	Toku-236	Hm17	鹿児島県 大島郡伊仙町東目手久	2006	12	7	5	8
	Toku-237	Hm18	鹿児島県 大島郡伊仙町東目手久	2006	12	7	5	8
	Toku-238	Hm19	鹿児島県 大島郡伊仙町東目手久	2006	12	7	5	9
	Toku-239	Hm20	鹿児島県 大島郡伊仙町東目手久	2006	12	7	5	9
	Toku-240	Hm21	鹿児島県 大島郡伊仙町佐弁	2006	12	7	5	9
	Toku-241	Hm22	鹿児島県 大島郡伊仙町佐弁	2006	12	7	5	9
	Toku-244	Hm23	鹿児島県 大島郡伊仙町佐弁	2006	12	7	5	9
与論島	Yoron-57	H1	鹿児島県 大島郡与論町	2002	12	8	10	9
	Yoron-83	H2	鹿児島県 大島郡与論町	2002	16	7	15	9
	Yoron-121	H3	鹿児島県 大島郡与論町	2002	16	7	11	9
	Yoron-127	H4	鹿児島県 大島郡与論町	2002	15	7	9	9
伊平屋島	Iheya-2	K13	沖縄県 島尻郡伊平屋村	2007	18	7	11	10
沖縄本島	OgimiA-3	K20	沖縄県 国頭郡大宜味村	2007	12	7	12	9
	Nakijin-5	K18	沖縄県 国頭郡今帰仁村	2007	14	6	12	9
	MotobuB-1	K16	沖縄県 国頭郡本部町	2007	15	7	11	9
	HigashiA-3	K19	沖縄県 国頭郡東村	2007	11	7	13	9
	Nago-Nc-1	K14	沖縄県 名護市	2007	15	7	12	9
	Nago-4	K15	沖縄県 名護市	2007	15	7	12	9
	Kin2-1	K17	沖縄県 国頭郡金武町	2007	14	6	12	10
	KIN-3	Ns1	沖縄県 国頭郡金武町	2007	15	7	13	8
	KIN-1	Iw2	沖縄県 国頭郡金武町	1994	14	7	11	9
	Uruma1-1	K21	沖縄県 うるま市具志川	2007	13	7	8	9
	UrunaKA-5	K22	沖縄県 うるま市勝連	2007	15	7	11	9
	Ishi-2	Ns2	沖縄県 うるま市	2007	15	7	15	9
	A-17	K23	沖縄県 沖縄市	2007	12	7	12	9
	A2-12	K24	沖縄県 沖縄市	2007	16	7	13	9
	B-8	K25	沖縄県 沖縄市	2007	7	8	8	8
	A-11	K26	沖縄県 豊見城市	2007	13	7	13	9
	C-3	K27	沖縄県 糸満市	2007	18	6	6	9
	A-3	K28	沖縄県 那覇市	2007	12	7	6	9
	Hae-5	K29	沖縄県 島尻郡南風原町	2007	17	7	11	9
	Ishi-4	Iw5	沖縄県 沖縄市	2005	14	7	9	9
KO-7	K30	沖縄県 島尻郡八重瀬町	2007	15	7	11	9	

表-1 (つづき)

Isolate	Code	分離地	分離年	SSR				
				001	002	005	077	
宮古島	08GA-5	08M1	沖縄県 宮古島市城辺	2008	15	11	10	8
	08G-3	08M2	沖縄県 宮古島市入江	2008	15	10	9	11
	08U-1	08M3	沖縄県 宮古島市上野	2008	14	10	11	8
	08U-2	08M4	沖縄県 宮古島市野原	2008	15	10	9	8
	08U-3	08M5	沖縄県 宮古島市上野	2008	17	8	5	7
	08GB-3	08M6	沖縄県 宮古島市城辺	2008	14	8	4	7
	06S-2-2	06M3	沖縄県 宮古島市下地	2006	15	10	9	7
	06S-2-3	06M4	沖縄県 宮古島市下地	2006	18	11	9	7
	06S-2-5	06M5	沖縄県 宮古島市下地	2006	16	11	9	7
	06G-3	06M10	沖縄県 宮古島市城辺	2006	12	8	6	7
	06G-4	06M11	沖縄県 宮古島市城辺	2006	15	11	12	7
	S-2-4	K1	沖縄県 宮古島市下地	2006	19	10	9	8
	H-3	K3	沖縄県 宮古島市平良	2006	14	8	11	8
	U-4	K4	沖縄県 宮古島市上野	2006	15	10	4	8
伊良部島	06I-5	06M9	沖縄県 宮古島市伊良部	2006	16	10	6	7
	I-1	K2	沖縄県 宮古島市伊良部	2006	14	11	10	8
多良間島	Tarama-12	K12	沖縄県 宮古郡多良間村	2006	16	8	6	7
	MT-3	Mt3	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	15	9	4	9
	MT-4	Mt4	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	8	7	4	8
	MT-6	Mt6	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	9	6	4	8
	MT-7	Mt7	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	9	6	4	8
	MT-8	Mt8	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	9	6	4	8
	MT-9	Mt9	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	8	6	4	8
	MT-10	Mt10	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	16	8	6	7
	MT-11	Mt11	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	23	10	6	7
	MT-12	Mt12	沖縄県 宮古郡多良間村	2008	9	6	4	7
石垣島	Ishi-1	Iw3	沖縄県 石垣市	2005	14	7	8	9
	Hirakubo-5	K5	沖縄県 石垣市平久保	2007	19	9	6	9
	Hirano-4	K6	沖縄県 石垣市平野	2007	14	7	12	10
	Kawahara-4	K7	沖縄県 石垣市川原	2007	17	8	5	8
	Hirae-1	K8	沖縄県 石垣市平得	2007	22	7	5	9
西表島	OK-901	Iw1	沖縄県 八重山郡竹富町西表	1988	14	7	11	9
小浜島	Kohama-4	K10	沖縄県 八重山郡竹富町小浜	2007	13	10	17	8
与那国島	Higawa-1	K11	沖縄県 八重山郡与那国町比川	2007	16	11	10	8
波照間島	Hateruma-1	K9	沖縄県 八重山郡竹富町字波照間	2007	13	10	12	11
台湾		II-2	屏東市	2006	11	10	7	9
		II-5	斗六市	2006	25	11	5	13
		II-6 <sup>a)</sup>	屏東市	2006	9, 22, 26, 27, 28	9	6	13
		II-7	花蓮市	2006	11	10	21	8
インドネシア	1	Pum 12	Magetan	2007	23	8	9	10
	9	Pum 3	Magetan	2007	18	7	6	10
	11	EJ5-1	Magetan	2007	25	7	2	9
	17	Pum 8	Magetan	2007	29	8	11	10
	4	Pu1	Purworejo	2007	23	10	8	9
	5	ND5	Purworejo	2007	29	7	9	10
	7	Pu3	Purworejo	2007	29	7	9	10
	16	Pu2	Purworejo	2007	11	8	7	11
	18	ND3	Purworejo	2007	23	7	8	6
	25	P1-9-4	Purworejo	2007	23	7	2	10
	12	KIT-3	Kintamani	2007	24	8	8	10
	13	B3T3	Buleleng	2007	14	9	7	11

<sup>a)</sup> SSR 001 のプライマーを用いて PCR したところ、複数のバンドを増幅した。

表-2 “*Candidatus Liberibacter asiaticus*”<sup>a)</sup> のゲノム中で多型が見られた SSR の特徴と PCR 増幅に用いたプライマー (KATOH et al., (2011) を改変)

SSR	フォワードプライマー	リバースプライマー	リピートモチーフ <sup>b)</sup>	読み取り枠 <sup>c)</sup>	ゲノム中の遺伝子番号
001	TGAAGTAGCTCTGCAATATCTGA	GGTGAATTAGGATGGAATGC	(TACAGAA) <sub>8</sub>	遺伝子間領域	255591-255646
002	TTGATAATATAGAAAGAGCGAAGC	TCCATACCCAAAAGAAAAGCA	(CAGT) <sub>8</sub>	遺伝子間領域	537729-537760
005	ATTGAAGGACGAAACCGATG	TCCCAAGGTTTTCAAATTGC	(AGACACA) <sub>5</sub>	Bacteriophage repressor protein C1	354492-354526
077	TGACTGATGGCAAAGATGG	AGACACGCCAAACAAGGAAT	(TTTG) <sub>14</sub>	遺伝子間領域	655277-655332

a) すべて“*Ca. Liberibacter asiaticus*”のフロリダ株“psy62”のゲノム情報から得られたもの。Accession number は CP001677 (DUAN et al., 2010).

b) 括弧外にある下付きの数字はフロリダ株“psy62”のゲノム中における、それぞれのモチーフの繰り返し数を示す。

c) それぞれの SSR が位置していた箇所が存在していた読み取り枠を示している。

グ病が確認された北端の島である喜界島においては、供試した7サンプルすべてにおいて四つの SSR すべてが単一であった(表-1)。この結果から、遺伝的観点からも喜界島に“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”が侵入したのはごく最近であること、もしくは初めて侵入した箇所も限られた場所であることが示唆された。

今回供試した南西諸島にて採取したサンプルの SSR の多型を数値化 (*H* 値化) した。*H* 値が高いほど、その SSR は多型に富むことを示している。南西諸島にて採取した全 84 サンプルの *H* 値は 005 が 0.86 と最も高い数値を示し、次いで 001 が 0.84 の値を示した(表-3)。同じく SSR の多型を数値化した *B. anthracis* (KIM et al., 2002), *Y. pestis* (ADAIR et al., 2000), *X. fastidiosa* (COLETTA-FILHO et al., 2001) においては、それぞれ 0.80, 0.82, 0.83 を示しており、今回発見した SSR がそれらと同様に多型に富み、遺伝的多様性を測るうえで有効であることが示唆された。また地域別に比較したところ、四つの SSR すべてにおいて南部地域は北部地域、中部地域に比べ *H* 値が高く遺伝的多様性が高いことが明らかとなった。一方で徳之島や喜界島の北部地域は *H* 値が低く遺伝的多様性が低いことが明らかとなった。この結果から、カンキツグリーニング病原細菌は台湾もしくはその他の周辺地域から南西諸島の南部の島々に侵入してきたと考えられる。さらに南西諸島の北部に位置する徳之島や喜界島において、“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”の侵入時期は南部や中部の島々と比べごく最近であること、もしくは侵入箇所がごく限られた地域だと考えられる。

沖縄本島にて採取した 21 サンプルに注目した場合、今回選抜した四つの SSR (001, 002, 005, 077) によって 17 グループに分類されることがわかった。一方 CHEN らは一つの SSR (AGACACA : 005 のこと) のみを用い

表-3 日本の“*Candidatus Liberibacter asiaticus*” 84 サンプルにおける地域ごとの SSR の多型の数値化 (KATOH et al., (2011) を改変)

地域	SSR			
	001	002	005	077
北部 <sup>a)</sup>	0.53	0.00	0.42	0.16
中部 <sup>b)</sup>	0.83	0.33	0.83	0.27
南部 <sup>c)</sup>	0.87	0.80	0.84	0.67
全地域 <sup>d)</sup>	0.84	0.62	0.86	0.60

a) 喜界島、徳之島にて採取した 23 サンプルについて SSR の多型を数値化したもの。

b) 与論島、伊平屋島、沖縄本島にて採取した 26 サンプルの SSR の多型を数値化したもの。

c) 宮古島、伊良部島、多良間島、石垣島、小浜島、西表島、波照間島、与那国島にて採取した 35 サンプルの SSR の多型を数値化したもの。

d) 南西諸島の全 84 サンプルの SSR の多型を数値化したもの。

てアメリカのフロリダや中国の広東省にて採取したサンプルの遺伝的多様性を解析したが (CHEN et al., 2010), 005 のみでは沖縄本島の 21 サンプルは 7 グループのみにしか分類できない。このことから、“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”の遺伝的多様性を解析するには 005 のみではなく、今回新しく発見したのものも含め四つの SSR (001, 002, 005, 077) を用いることによってより詳細に解析できることが明らかとなった。さらに台湾とインドネシアのサンプルにおいても多型が見られたことから、日本のみならず海外のサンプルの系統解析にも利用できると考えられる。

## おわりに

ここで紹介した四つの SSR (001, 002, 005, 077) に

よってその地域の“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”の遺伝的多様性を解析することが可能である。新しく“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”の感染が確認された地域が出現した場合、SSRの多型を解析することによって侵入してから期間は長いのか、侵入経路は単一なのか複数なのか、もしくはどこから来たのかを推定する一手段となりえる。

今後の課題として、これら多型が見られるSSRはどのような条件下で繰り返し数を変化させるのか調査する必要がある。同一樹体内でも時間経過により変化するのか、それとも接ぎ木やミカンキジラミによる虫媒伝染により変化するのか。また一方で媒介するミカンキジラミの体内で変化しないのか、これらを明らかにしていくことによって今回供試したサンプルについて、それぞれのSSRにおける繰り返し数の変化が持っている意味がさらに明らかになると思われる。

#### 引用文献

- 1) ADAIR, D. M. et al. (2000) : J. Clin. Microbiol. **38** : 1516 ~ 1519.
- 2) CHEN, J. et al. (2010) : Phytopathology **100** : 567 ~ 572.
- 3) COLETTA-FILHO, D. H. et al. (2001) : Appl. Environ. Microbiol. **67** : 4091 ~ 4095.
- 4) DA GRACA, J. V. (1991) : Annu. Rev. Phytopathol. **29** : 109 ~ 136.
- 5) DUAN, Y. et al. (2009) : Mol. Plant Microbe Interact. **22** : 1011 ~ 1020.
- 6) GASCOYNE-BINZI, D. M. et al. (2001) : J. Clin. Microbiol. **39** : 69 ~ 74.
- 7) HALBERT, S. E. and K. L. MANJUNATH (2004) : Florida Entomol. **87** : 330 ~ 353.
- 8) 濱島朗子ら (2003) : 日植病報 **69** : 307 ~ 308.
- 9) HOOD, D. W., et al. (1996) : Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **93** : 1121 ~ 1125.
- 10) KATO, H. et al. (2011) : Appl. Environ. Microbiol. **77** : 1910 ~ 1917.
- 11) KIM, W. et al. (2002) : FEMS Microbiol. Lett. **207** : 21 ~ 27.
- 12) 河野伸二ら (1997) : 日植病報 **63** : 256.
- 13) KREMER, K. et al. (1999) : J. Clin. Microbiol. **37** : 2607 ~ 2618.
- 14) LIN, H. et al. (2005) : Appl. Environ. Microbiol. **71** : 4888 ~ 4892.
- 15) LINDSTEDT, B. et al. (2003) : J. Clin. Microbiol. **41** : 1469 ~ 1479.
- 16) 宮川経邦・津野和宣 (1989) : 日植病報 **55** : 667 ~ 670.
- 17) 内藤 孝ら (2001) : 沖縄県農業試験場研究報告 **23** : 74 ~ 81.
- 18) NEI, M. (1973) : Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **70** : 3321 ~ 3323.
- 19) SANGER, F. et al. (1997) : *ibid.* **74** : 5463 ~ 5467.
- 20) SECHLER, A. et al. (2009) : Phytopathology **99** : 480 ~ 486.
- 21) 篠原和孝ら (2006) : 九病虫研会報 **52** : 6 ~ 10.
- 22) THOMPSON, J. D. et al. (1994) : Nucleic Acids Res. **22** : 4673 ~ 4680.
- 23) VIANA-NIERO, C., et al. (2001) : J. Clin. Microbiol. **39** : 57 ~ 65.

植物防疫 特別増刊号 No.14

## アザミウマ類の見分け方

(社)日本植物防疫協会 編

### 新発売

B5判 70ページ 口絵カラー  
 価格1,600円(本体)  
 送料80円(メール便)

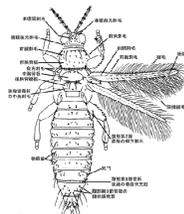
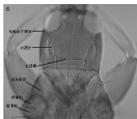
#### 【掲載内容】

- ・ 農作物のアザミウマの見分け方
- ・ 野菜栽培で問題となるアザミウマの見分け方
- ・ チャヤ果樹栽培で問題となるアザミウマ類の生態的特徴からの見分け方
- ・ カキ・モモ・イチジク栽培で問題となるアザミウマ
- ・ 遺伝子診断によるアザミウマの見分け方
- ・ 植物検疫で発見されるアザミウマ類
- ・ 他

◆農作物を加害する重要害虫「アザミウマ」について野菜、果樹、茶、花等の作物ごとに、その重要種を各研究者が詳しく解説しています。

#### 【主な掲載種】

- 塘 忠顕氏  
 柴尾 学氏  
 井村岳男氏  
 多々良明夫氏
- 森下 正彦氏  
 土田 聡氏  
 梶本 雅身氏
- ネギアザミウマ  
 ヒラスハナアザミウマ  
 ミカンキイロアザミウマ  
 チャノキイロアザミウマ  
 ミナミキイロアザミウマ  
 ダイズウスイロアザミウマ  
 キイロハナアザミウマ  
 ハナアザミウマ  
 ピワハナアザミウマ  
 他



お問合せは下記へ

〒114-0015 東京都北区中里 2-28-10  
 (社)日本植物防疫協会 支援事業部 出版担当  
 TEL 03-5980-2183 FAX 03-5980-6753  
<http://www.jpapa.or.jp/> order@jpapa.or.jp