

審査の結果の要旨

氏名 宮崎 彰雄

萎黄叢生病は植物病原細菌のファイトプラズマ (*Candidatus Phytoplasma spp.*) による病害であり、植物に黄化や叢生などの症状を引き起こして枯死させる。作物生産においては収量や品質の低下の原因となり、世界各地の農業経済を脅かしている。しかし、ファイトプラズマに有効な化学農薬は未だに開発されておらず、蔓延後の駆除が極めて困難である。そのため、感染植物や媒介虫、中間宿主植物の除去などを通じて伝染環を断ち蔓延を阻止することが重要である。その実現には、個々の病害の病原ファイトプラズマに対して、感染検定手法の確立と伝染環の把握が不可欠である。

ココヤシやバナナに代表される熱帯作物は、途上国の食糧と経済を支える重要作物である。熱帯作物においても萎黄叢生病の発生が報告されているものの、先進国での発生事例に限られるため生態解明や対策実現が遅れており、問題となっている。本研究において、申請者はパプアニューギニア (PNG) で近年報告された2つの萎黄叢生病を対象に、現地で発生するファイトプラズマの分子生物学的解析ならびに検定手法の確立を行った。

1. PNGにおける新興萎黄叢生病の発生調査

ココヤシのBogia coconut syndrome (BCS) とバナナのbanana wilt disease (BW) は、いずれも葉が黄化して枯死に至る萎黄叢生病の1種である。ニューギニア島内においてそれぞれ2011年と2012年に報告され、蔓延が危惧されている。そこで申請者は、マダン州内の6地区の生産圃場と、ココヤシの国際ジーンバンク維持施設であるStewart Research Stationを訪問して、発生調査に取り組んだ。6地区の生産圃場ではココヤシとバナナの混植を確認し、いずれにおいてもBCSとBWの症状を見出した。次いで、ココヤシの幹とバナナの葉身からCTAB法によってDNAを精製し、特異的PCR検定を行うことで、4地区の検体 (3地区のココヤシと4地区のバナナ) についてファイトプラズマの感染を確認した。一方、Stewart Research Stationの検体には病徴が観察されず、ファイトプラズマも感染していないことを明らかにした。

2. 検出されたファイトプラズマの分子生物学的解析

本章で申請者は、分布地や寄主植物の異なる系統間の類縁関係に基づいて、疫学的な観点から病原ファイトプラズマの生態解明を試みた。まず、採集した7系統について、16S rRNA遺伝子とリボソームタンパク質オペロンの塩基配列を解読したところ、いずれの領域も系統間で配列が完全に一致していた。また、16S rRNA遺伝子について既報分離株と比較したところ、ニューギニア島のBCS・BWファイトプラズマ全分離株に加え、同じくニューギニア島のビンロウから検出されたarecanut

yellow leaf (AYL) ファイトプラズマとも、99%以上の配列同一性を示した。以上から、ニューギニア島で発生しているAYL・BCS・BWファイトプラズマは互いに極めて近縁であり、同一のファイトプラズマがココヤシ・バナナ・ビンロウの間で伝染している可能性が示唆された。続いて、解読した16S rRNA遺伝子について既存暫定種と比較して種分類を試みたところ、新暫定種に相当することが示された。既報のものも含め全分離株がニューギニア島に由来することから、申請者は「ニューギニアに土着の」を意味する種形容語をラテン語で作出し '*Ca. P. noviguineense*' として記載した。

3. 現地で実施可能な感染検定手法の確立

PNGでは実験設備に乏しく電力供給も不安定なため、一般的な検定手法である特異的PCR法による検定が困難である。そこで申請者は、より利便性の高い特異的LAMPキットを用いた検定手法の確立に取り組んだ。まずBCS・BWファイトプラズマのCTAB精製DNAを供試し、本キットが '*Ca. P. noviguineense*' を検出できることを確かめた。次に、検体の葉脈をバッファーに浸漬して加熱する、より簡便な粗抽出プロトコルの適用を目指した。申請者は本プロトコルの適用にあたっては検体の部位と量、バッファーの量について検討が必要と考えた。そこでまず、最適な供試部位を特定するため、ココヤシとバナナにおける '*Ca. P. noviguineense*' の局在を特異的PCRにより調べたところ、ココヤシでは幹、バナナでは葉と偽茎に局在を確認し、検定に適していると考えた。続いて、最適な供試量とバッファー量を調べるため、検定可能な条件を検討したところ、ココヤシについては、幹のおが屑50 gをバッファー1 mlに浸漬するのが最適であると判断した。一方バナナについては、粗抽出プロトコルの通りで正確に検定できることを示した。

以上を要するに、本研究では途上国で問題となっている萎黄叢生病の病原ファイトプラズマの分子生物学的解析と臨床技術開発に取り組み、それらの発生状況や宿主範囲などを明らかにするとともに、現地で実施可能な感染検定手法を確立した。さらに、分子系統解析をもとにファイトプラズマの新暫定種 '*Ca. P. noviguineense*' を記載した。これらの研究成果は学術上また応用上極めて価値が高い。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。