

キリてんぐ巢病の早期診断技術の開発とその応用

東北支所 佐橋憲生・窪野高徳二
元東北支所 庄司次男・伊藤進一郎

1. はじめに

東北地方は岩手の南部桐、福島の会津桐など全国的にも有名なキリの産地である。これらの中でも、岩手のキリは材の光沢に優れ、その材色が紫色を帯びていることから、「南部の紫桐」として全国的に名高い。また、その紫色の清楚な花は「県の花」として、多くの県民に広く愛されている。

キリの材は非常に軽く、熱や湿気強いために、古くから箆笥や琴の材料として利用されてきた。また成長が極めて速いため、農山村地域の貴重な現金収入源として重要な役割を果たしてきた。しかしながら、近年キリの栽培地において衰退現象が目立ち、産地は壊滅的な被害を受けており、これがキリ栽培上大きな問題となっている。古くから伝統産業としてキリを栽培してきた岩手県や福島のキリ栽培にとって、この衰退現象の原因解明と防除対策の確立は緊急の課題である。

この衰退現象の原因として「腐らん病」と「てんぐ巢病」が指摘されてきた。キリてんぐ巢病はファイトプラズマによって起こる病害で、我が国をはじめ中国、台湾、韓国などに広く分布している。本病に罹病したキリは、腋芽が多数分化し、節間のつまった小枝を叢生する。罹病枝の枝は葉が黄化・小型化し、いわゆる「てんぐ巢症状」を示し、やがて枯死する。しかしながら東北地方では、一部の地域を除き、典型的なてんぐ巢症状は認められない。東北地方に典型的な病徴として花芽の奇形が報告されている。これはある程度の目安にはなるが、これらの病徴観察だけでは本病を正確に診断することは難しく、東北地方でのキリてんぐ巢病の発生状況や、キリの衰退現象に本病がどの程度関与しているのかはこれまで不明であった。筆者らはキリてんぐ巢病の診断技術として遺伝子増幅(PCR)法による診断法を確立し、これを用いて東北地方におけるてんぐ巢病の発生状況を調査した。ここにその概要を報告したい。

2. キリてんぐ巢病の遺伝子診断

キリてんぐ巢病ファイトプラズマのリボソームタンパク質及びリボソームRNA (rRNA) 遺伝子の塩基配列をもとに数種のプライマーをデザインし、キリてんぐ巢病のPCRによる遺伝子診断の可能性を検討した。当初、16S rRNAを増幅するプライマーを用いて診断を試みたが、まれに健全試料から感染試料と同一の非特異的なバンドが検出されることがあり、最終的にはリボソームタンパク質遺伝子の一部を増幅するプライマー (rp3とrp4の組み合わせ、図1)を用いた。この方法を用いて診断を試みたところ、罹病試料からのみファイトプラズマ由来である0.75キロ塩基対 (kbp) のDNAが特異的に増幅されることが明らかになり、キリてんぐ巢病ファイトプラズマを罹病キリから検出できる遺伝子診断法が確立された。

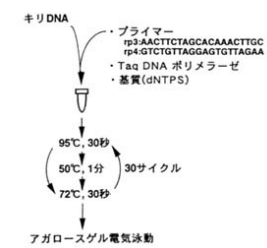


図-1. リボソームタンパク質遺伝子の一部を増幅するプライマー (rp3とrp4の組み合わせ)

前述したように、東北地方ではいわゆる「てんぐ巢症状」を示さない。そのため、花芽の奇形が東北地方に認められるてんぐ巢病病徴の一形態と考えられてきた。これは本来ほぼ球形にできるはずの花芽の事片が異常に伸長し、ラッパ状に細長くなり亀裂が入ったりする症状で、花を咲かすことなく枯れてしまう(写真1)。しかしながら、これが本当にファイトプラズマの感染によって引き起こされるかどうかは、確認されていなかった。筆者らが開発した診断法を用いて奇形花芽と外見上健全な花芽を検定したところ、外見上健全な試料からはファイトプラズマのDNAバンド

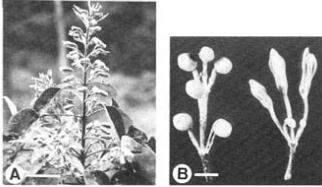


写真1. キリてんぐ巢病罹病樹に認められる花芽の奇形
A: 奇形花をつけた花序、B: 正常花と奇形花の比較。
左: 正常な花芽、右: 奇形を呈した花芽
東北地方では病気がかかっても典型的なてんぐ巢症状にならず、花芽に奇形を呈することが多い。

は全く検出されなかったのに対して、奇形の花芽からはすべての試料から0.75kbpのファイトプラズマ特異的なバンドが検出された。このことから、花芽の奇形化がファイトプラズマの感染による病徴の一形態であることが強く示唆された。さらに、遺伝子診断を行う場合の葉の採取時期及び診断に必要な一樹当たりの採取葉数について検討した。罹病キリ樹 (10本、10-12年生) を供試して、一樹につき、病徴の有無にかかわらず無作為に選んだ6本の枝から葉を各一枚ずつ採取し、PCRによるファイトプラズマの検出を行った。その結果、6月に採取した試料からの検出頻度は一樹当たり1/6-2/6であったのに対し、9月の試料では3/6-6/6と検出頻度が高くなった。以上の結果は、6月よりも9月に採取した試料においてファイトプラズマの濃度が高くなっていること、あるいは体内での分布域が拡大していることを示している。またキリてんぐ巢病の遺伝子診断を行う場合には、8月では一樹当たり5枚、9月では3枚、11月では6枚の葉を供試すると99%の信頼度で診断でき、9月に採取した試料が診断に最も適していることが明らかとなった。また枝や葉の病徴の有無にかかわらず、遺伝子診断法によりキリてんぐ巢病の診断が可能であることが明らかとなった。

3. 東北地方におけるキリてんぐ巢病の発生状況

東北地方におけるキリてんぐ巢病の発生状況を、岩手、山形、福島3県のキリほ場で、奇形花芽の観察と遺伝子診断法を用いて調査した。調査方法としては、ほ場内で無作為に選んだ任意数のキリについて、双眼鏡をのぞきながら、花芽の奇形を呈している樹数をカウントした。さらに岩手県と福島県については、ほ場内で無作為に選んだキリ樹 (10本/ほ場) について、一樹当たり6本の枝から1枚の葉を採取し、PCR検定した。その結果、調査したほとんどすべてのほ場において花芽の奇形が観察された。花芽の奇形を呈しているキリ樹の割合は、ほ場ごとに異なっており、岩手県では0~87.3%、山形県では14.3-89.5%、福島県では16.7~76.0%であった。PCRによる遺伝子診断においても同様に、ほぼすべてのほ場においてキリてんぐ巢病ファイトプラズマの存在が確認された。また、本研究で開発した遺伝子診断法によって明らかとなった感染率は、いずれの調査ほ場でも、花芽の奇形をもとにした感染率よりも高かった。このことは開発された遺伝子診断法の感度が非常に高く、信頼できる診断方法であることを示している。以上の調査結果から、東北地方のほとんどのキリ栽培ほ場に本病が広く蔓延していることが明らかとなった(表1)。

4. おわりに

ここで報告するように、PCR法に基づいた遺伝子診断法を導入することにより、東北地方のキリの衰退現象の原因として、これまで経験的にいわれていたてんぐ巢病が大きく関与していることが強く示唆された。またこれまでに発生状況が正確に把握できていなかった東北地方において本病が広く発生していることが明らかになった。しかしながら、本病の伝染についてはまだまだ未解明な点が多い。一般にキリは分根苗によって繁殖を行う。従って、本病に罹病した母樹から分根を取った場合には知らないうちに罹病した苗をばらまいてしまうことになる。また、本病は種子伝播しないことが知られているが、実生苗を植えたほ場でも本病が確認される。従って、野外で伝播に効果的に働く媒介昆虫が存在するはずであるが、この点について未解明である。ほ場での伝播に関与する媒介昆虫の同定は早急の課題である。

表1. 東北地方各地のキリ栽培地におけるてんぐ巢病の発生状況*

調査圃場		樹齢 (年)	調査樹数	奇形花芽数/観察樹数 (%)	P-値検定 検出樹数/検定樹数 (%)
岩手	山形県村山	20	7/43 (16.3)	4/40 (40)	
	山形県村山	20	2/55 (3.6)	3/10 (30)	
	岩手県	8	8/56 (14.3)	8/10 (80)	
	岩手県	25-30	2/46 (4.3)	6/9 (73)	
	岩手県村山	5	8/40 (20.0)	10/10 (100)	
	川井町	20	2/35 (5.7)	6/10 (60)	
	矢野町	15-20	3/31 (9.7)	1/10 (10)	
	雫石町	10-15	0/16 (0.0)	0/10 (0)	
	石巻市	10-20	4/35 (11.4)	6/10 (60)	
	大田町	15	48/55 (87.3)	10/10 (100)	
山形	大田町	15	4/34 (11.8)	3/10 (30)	
	東根市	15	27/68 (39.7)		
	尾花沢市	16	19/70 (27.1)		
	村山市	13	29/56 (51.8)		
	高橋町	15	11/25 (44.0)		
	鶴岡市	13	17/19 (89.5)		
	西目町	10	20/35 (57.1)		
	東阿賀市	10	11/54 (20.4)		
	大田町	15	13/20 (65.0)		
	鶴岡市	15	10/32 (30.3)		
福島	中山町	20	2/14 (14.3)		
	福島県	7-8	17/30 (56.7)	8/10 (80)	
	福島県	7-8	9/24 (37.5)	9/10 (90)	
	福島県	15-20	19/25 (76.0)	10/10 (100)	
	福島県	15-20	7/27 (25.9)	8/10 (80)	
	福島県	17-18	6/36 (16.7)	7/10 (70)	
	福島県	17-18	11/31 (35.5)	8/10 (80)	
	福島県	17-18	11/31 (35.5)	8/10 (80)	

* 病徴 (花芽の奇形) 観察および PCR 検定のための試料の採取は岩手県、福島県においては1994年に、また山形県においては1995年に行った。