

# MLO からファイトプラズマへ——ファイトプラズマの分類

東京大学大学院農学生命科学研究科生物資源創成学研究室 なん ば しげ とう  
難 波 成 任

## はじめに

マイコプラズマ様微生物 (Mycoplasmalike organisms: MLO) が発見されてから、すでに 25 年以上がたつ。それらは、動物に見いだされるマイコプラズマに似ていたため、このような俗称 (trivial term) が定まることとなった。これまでに、数百種類以上の植物種において 600 以上の病気の病原であると考えられている。その発見以来永い間、当初呼ばれていたいわゆる「MLO」は一つの微生物群であろうと考えられていたが、電子顕微鏡観察や、培養の可否のほか、種々の生物学的性状から、異なる微生物群からなることが明らかになった。マイコプラズマ (mycoplasmas) というのはモリキューテス綱 (class Mollicutes) の細菌類を総称した俗名であり、その一部は培養できるが、いずれも細胞壁を欠いた原核微生物である。このうち植物に感染するものには 2 種類のものが知られており、それぞれ、らせん状の形態を特徴とするスピロプラズマ (spiroplasmas) と、多型性の MLO と呼ばれ、どちらも、昆虫に感染し、モリキューテス綱に属すると考えられていた。スピロプラズマは 1970 年代初期に、新しい微生物として認知されたものであり、当時は corn stunt 病および citrus stubborn 病という植物の病気とその媒介昆虫が発見されたのがそのきっかけであった。スピロプラズマの植物との関係や媒介虫以外の昆虫からもしばしば見いだされることは今日よく知られるところとなった。スピロプラズマの大半は比較的容易に培養できる。その性状の多くは明らかにされ、モリキューテス綱、マイコプラズマ目 (order Mycoplasmatales)、スピロプラズマ科 (family Spiroplasmataceae) に分類されている。しかしそのうち植物に病原性を持つものは *Spiroplasma citri*, *S. kunikellii*, *S. phoeniceum* の 3 種が知られているのみである。血清学的手法と生化学的方法を取り合わせた方法が一般にこれら 3 種のスピロプラズマの同定と分類に用いられている。

一方、ごく最近になって、組換え DNA 技術が実用化されるようになってから、マイコプラズマ目の細菌とともに、MLO の系統関係についても研究されるようになって

た (NAMBA et al., 1993 a ; 難波ら, 1993)。これらの研究はそのほとんどが、rRNA 遺伝子の解析に基づくものであり (NAMBA et al., 1993 b), それによると、MLO は従来動物マイコプラズマに近縁であると考えられていたが、むしろ、進化的にはアコレプラズマ (acholeplasmas) により近縁であると考えられるようになった。

1994 年、フランスのボルドーで第 10 回国際マイコプラズマ学会が開催され、MLO の俗称として「ファイトプラズマ」を採用することが承認された。また、16 S rRNA 遺伝子を用いた分子系統学的な解析により、ファイトプラズマには大きな変異のあることが明らかになり (NAMBA et al., 1993 b), 暫定的な学名 (Candidative genus name and species name) をつけて分類し、属名を *Phytoplasma* とすることが承認された。

今日まで、MLO によると思われる病気の診断と分類は、電子顕微鏡や節細胞の DNA 染色、あるいは媒介様式や宿主範囲、病徴などの生物学的性状に基づいて行われてきたが、最近の組換え DNA 技術やハイブリドーマ技術の発展によって、より正確に診断し、しかも分類できるようになった。MLO がファイトプラズマと呼ばれるようになったことについては既に述べたが (難波ら, 1995), 本稿では、さらにその経緯と分類および学名の採用についてご紹介したい。なお、紙面の都合で、引用文献や詳細については触れられなかった点をお許しいただきたい。

## I マイコプラズマの特異な性状

細胞壁を欠く原核微生物のほとんどすべてがモリキューテス綱に含まれる。しかもモリキューテス綱の細菌は、細胞壁を持った A+T リッチなクロストリジア (clostridia) に最も近縁で、これを含む厚い細胞壁を持ったグラム陽性細菌に近縁である。細胞壁を欠くことは、この近縁関係と矛盾するようであるが、退行的進化 (degenerative evolution) によりマイコプラズマが細胞壁形成能を欠失したと考えることもできる。モリキューテス綱のメンバーは、地球上で最も小さなゲノムを持つ生命体であり、マイコプラズマによっては、600 kb 以下のものもある。モリキューテス綱の中には、スピロプラズマやアコレプラズマのように、そのおよそ 3 倍のサイズのゲノムをもったものもあるが、それでも大腸菌に比

表-1 わが国に発生する主なファイトプラズマ病

病名	媒介虫	宿主範囲	発生地
<b>野菜</b>			
サツマイモてんぐ巢病	クロマダラヨコバイ ( <i>Orosius ryukyuensis</i> )	サツマイモ・アサガオ・グンバイヒルガオ・ニ チニチソウ	南西諸島
マメ類てんぐ巢病	ミナミマダラヨコバイ ( <i>Orosius albicinctus</i> )	ラッカセイ・ダイズ・アズキ・ソラマメ・エン ドウ・インゲン・ササゲ・アスター・コスモ ス・ヒャクニチソウ・フダンソウ	南西諸島
ジャガイモてんぐ巢病	キマダラヒロヨコバイ ( <i>Scleroracrus flavopictus</i> )	ジャガイモ・トマト・カボチャ・アカクローバ	北海道
ニンジン萎黄病	キマダラヒロヨコバイ	ニンジン	九州・北海道
フキ萎縮症 (フキてんぐ巢病)	キマダラヒロヨコバイ	ダチュラ・ペチュニア・リンドウ・パセリ・香 料ゼラニウム・ラッカセイ・クロタリリア	中部山岳
トマト萎黄病	キマダラヒロヨコバイ	トマト・キンセンカ・アスター・レタス・リン ドウ・パセリ・シュンギク・セルリー・ニンジ ン・ニチニチソウ	中部山岳 (北海道)
セルリー萎黄症	キマダラヒロヨコバイ	ペチュニア	長野
ウド萎縮病	キマダラヒロヨコバイ	ウド・フキ・アスター・トマト・ジャガイモ	山梨・新潟
ミツパてんぐ巢病 (レタス萎黄病・ニンジン萎 黄病・シュンギクてんぐ巢 病・セリ萎黄病)	ヒメフタテンヨコバイ ( <i>Macrosteles striifrons</i> )	ミツパ・レタス・シュンギク・ホウレンソウ・ ネギ・タマネギ・オオジシバリ・セルリー・ニ ンジン・ニチニチソウ・エゾギク・セリ	東北以南
ミシマサイコ萎黄病	ヒメフタテンヨコバイ	ミツパてんぐ巢病の宿主植物の他、ミシマサイ コ・ダイコン・カブ・コマツナ・タネツケバ ナ・エンドウ・レンゲ・ペチュニア・ナデシ コ・セキチク・ <i>Nicotiana glutinosa</i> ・ルスチ カ・クロゴマ・ナス	北陸
ナス萎縮病	ヒメフタテンヨコバイ?	<i>N. glutinosa</i> ・ニンジン・パセリ	岡山
タマネギ萎黄病	ヒメフタテンヨコバイ	タマネギ・ネギ・トマト・カボチャ・ニンジ ン・セルリー・シュンギク・ニチニチソウの他 はミシマサイコ萎黄病と同じ	佐賀・山口・兵庫
ニンニク奇形花症	?	?	鹿児島
イチゴてんぐ巢病	ヒメフタテンヨコバイ	ミシマサイコ萎黄病と同じ	愛知・静岡
パセリ萎黄病	?	パセリ	北海道・兵庫
セルリー萎黄症	?	セルリー	北海道
トマト萎黄病	?	トマト (接木)	福岡・熊本・静岡
<b>花卉</b>			
エゾギク萎黄病	キマダラヒロヨコバイ	キク科・ナス科・マメ科	北海道
香料ゼラニウムてんぐ巢病	キマダラヒロヨコバイ	香料ゼラニウム・スイバ・オニタビラコ・オオ アレチノギク・ノゲシ・タカサプロウ	香川・愛媛
リンドウてんぐ巢病	キマダラヒロヨコバイ	リンドウ・エゾギク・トマト・ニンジン・セル リー・ホウレンソウ・ダイコン・コスモス・ム ギワラギク・スイバ・ゲンノショウコ	東北・北陸・関東・ 中部山岳
アスター萎黄病 (ジャガイモ紫染萎黄病)	キマダラヒロヨコバイ	アスター・ジャガイモ・トマト・アカクロー バ・シロクローバ・ニンジン	北海道
ニチニチソウ萎黄病	?	?	東京・神奈川
スターチステんぐ巢病	?	?	神奈川
アネモネてんぐ巢病	ヒメフタテンヨコバイ	ナデシコ・トマト・アネモネ・カボチャ	静岡
アイランドボビー萎黄病	ヒメフタテンヨコバイ	ヒナギク・ナバナ・シネラリア・セリ・セキチ ク・トマト	千葉
シネラリアてんぐ巢病	ヒメフタテンヨコバイ	レタス・トマト・エンドウ・カブ	埼玉
ホワイトレースフラワー 萎黄病	ヒメフタテンヨコバイ	ナデシコ・ナス・タガラシ・セリ	千葉
ツワブキてんぐ巢病	キマダラヒロヨコバイ	ハクサイ・ナス・アズキ・ニンジン	宮崎

表-1 (続き)

病名	媒介虫	宿主範囲	発生地
マーガレット萎黄病	ヒメフタテンヨコバイ	トマト・シュンギク・ミツバ・カボチャ	千葉
サボテンてんぐ巢病	?	サボテン	全国
コスモス萎黄病	?	?	長野
<b>食用・特用作物</b>			
イネ萎黄病	ツマグロヨコバイ タイワンツマグロヨコバイ クロスジツマグロヨコバイ	イネ・スズメノテッポウ・ミノゴメ・バニカム	九州・四国・本州
クワ萎縮病	ヒシモンヨコバイ ヒシモンモドキ	クワ・カナムグラ・ニチニチソウ・アカクローバ・シロクローバ・レンゲ	東北以南から九州
シバ黄化症	?	?	四国
<b>樹木</b>			
キリてんぐ巢病	?	?	東北以南から九州
クリ萎黄病	?	クリ	茨城
アジサイ葉化病(?)	?	アジサイ・ニチニチソウ	栃木・静岡・大分

べれば、3分の1にすぎない。また、培養可能なマイコプラズマは、例外的である。

## II ファイトプラズマとほかのモリキューテス網の細菌との共通点および相違点

ファイトプラズマは培養可能なモリキューテス網の細菌(特にマイコプラズマやスピロプラズマ)と多くの共通点を有している。すなわち、細胞壁を欠く点や0.45 μmの孔径のフィルターを透過する点である。ファイトプラズマとマイコプラズマの主なる違いは、ファイトプラズマは篩部細胞に局在するのに対して、ほとんどのマイコプラズマは、宿主細胞の中ではなくその間隙で増殖する点である。

ファイトプラズマと植物病原性スピロプラズマは、生態学的に見て多くの類似点を有している。両者とも細胞内で増殖するが、特に糖やアミノ酸を転送する役目を担う篩管組織で増殖する。しかも病植物から健全植物へ、ヨコバイやウンカのような篩部吸汁性媒介昆虫によって伝搬される。植物に病気を起こすだけでなく、媒介昆虫に対して病原性を持つものもあり、唾腺を初めとする多くの器官で増殖し、昆虫にダメージを与える。このような病原を吸汁すると、媒介昆虫は寿命が短くなるが、生存している限り感染性は維持している。保毒虫は吸汁時に唾腺から篩部組織へ病原を注入する。スピロプラズマがらせん構造であるのに対して、ファイトプラズマは多形性であり、培養できていない点でスピロプラズマとは異なる。

## III 分子生物学的にも生化学的にもファイトプラズマはマイコプラズマではない

少なくともこれまでに得られている次の四つの分子生物学的知見から、ファイトプラズマは明らかにモリキューテス網のメンバーであると結論づけることができる。

(1) ファイトプラズマのG+C含量は25~30%で、モリキューテス網の細菌のA+TリッチなゲノムDNAのG+C含量に近い。

(2) 16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく分子系統学的解析から、以下のようなことがわかった。すなわち、ファイトプラズマはモリキューテス網のアコレプラズマおよび絶対嫌気性細菌であるアナエロプラズマ(anaeroplasmata)のクラスターに位置する。しかも、ファイトプラズマはモリキューテス網の他のメンバーと比較した場合よりも互いに近縁であるが、ファイトプラズマ自体、予想以上に多様性に富んでいる。特にAY-ファイトプラズマのような草本植物に感染するファイトプラズマと、X病-ファイトプラズマのような樹木に感染するファイトプラズマとの間では大きく異なっている。

(3) ファイトプラズマのゲノムサイズは450-1180 kbにわたって幅があり、マイコプラズマ属同様多様性に富んでいる。しかしアコレプラズマやアナエロプラズマより小さい。

(4) リボソームタンパク質遺伝子の配列データの分子系統学的な解析からも、ファイトプラズマはアコレプラズマと近縁である。

#### IV ゲノムサイズも分類上重要な基準となる

パルスフィールドゲル電気泳動分析によると、マイコプラズマやファイトプラズマのゲノムサイズは特に多様性に富んでいる。このことは、これらの細菌群でゲノムの縮小が幾度にもわたって起こったことを示唆している。特に、環境条件が変化し、宿主あるいは生息場所から複雑な有機分子が供給されるようになった場合には、ゲノムから、その物質の生合成装置の構成成分をコードする遺伝子が欠失する可能性がある。ファイトプラズマやそれに近縁なアコレプラズマやアナエロプラズマでは、他のモリキュレートス綱の細菌とは別の機能を欠失しているものと考えられる。

マイコプラズマやメソプラズマ (methoplasmas) が、UGG コドンから UGA コドン (オパールコドン) への置換を行って、トリプトファンが、UGG コドンから本来終止コドンである UGA コドンに変わっているのに対し、ファイトプラズマでは、このような現象はないものと考えられる。

#### V ファイトプラズマの分類

ここ数年にわたって、試みられたファイトプラズマの系統分類に関する研究のうち、当初は、そのほとんどが、16 S rRNA 遺伝子を PCR 増幅して RFLP 解析し、グループに分類しようとするものであった。その最初の報告は AHRENS and SEEMÜLLER (1992) によるもので、SCHNEIDER らによりさらに進められた。その結果、既報のファイトプラズマは七つの主要なグループと二つのサブグループに分類された。この RFLP 解析はその後、16 S rRNA 遺伝子の全長配列データ (NAMBA et al., 1993 b; SEEMÜLLER, 1994) および 16 S/23 S スペーサー領域の全長配列データが得られるようになって、さらに正確かつ詳細に解析されるようになった。特に、16 S rRNA 遺伝子の全長の解析が可能になってから (NAMBA et al., 1993 b), ファイトプラズマの分類学的な再検討が真剣に考えられるようになった。最近では、さらに多くのファイトプラズマについて 16 S rRNA 遺伝子の全長配列データが得られるようになり、六つから七つの主要なグループが系統分類上認められるようになってきた。このようなデータはそのほとんどが、これまでの PCR 増幅した 16 S rRNA 遺伝子の RFLP 解析の結果を裏付けるものであった。PCR 増幅したファイトプラズマの 16 S rRNA 遺伝子を用いた同様な RFLP 解析が LEE ら (1993) によって行われ、九つの主要なグループと、AY-ファイトプラズマクラスターにおけるサブグループの設定が提唱さ

れた。AY-クラスターについては、16 S の RFLP 解析 (DAVIS and LEE, 1993) とクローン化ゲノム DNA プローブを用いたサザンプロットハイブリダイゼーションによる RFLP (LEE and DAVIS, 1992) が詳細に行われた。同様な RFLP 解析によって、X-ファイトプラズマのクラスターが提唱された (LEE et al., 1992)。また、*Oenothera* ファイトプラズマのリボソームタンパク質遺伝子が解析され (LIM and SEARS, 1992), ファイトプラズマが他のモリキュレートスとは異なるものの、アコレプラズマに近縁であることが明らかとなった。

#### VI ファイトプラズマの学名

ファイトプラズマワーキングチームは、1994 年の第 10 回 IOM 会議において開催された委員会で、「MLO」に代えて、「ファイトプラズマ (phytoplasma)」という名称を採用すること、また、今後のファイトプラズマの分類基準には 16 S rRNA 遺伝子の全長配列をもってあてること、さらにファイトプラズマに暫定的な学名 (属名および種小名) を用いることとし、属名には、俗名と同様に「*Phytoplasma*」を用いることが決定された。

16 S rRNA 遺伝子の全長の塩基配列の解析によって、15 の主要なファイトプラズマ群がすでに確認されている。ワーキングチームでは、これらの主要な MLO 群が、少なくとも、それぞれ別々の「種」を形成することを承認し、系統学的、遺伝学的、血清学的、生物学的性状を記述した一連の論文をまとめ、チームのメンバーや他のファイトプラズマ研究者の承認を得ることを決定した。下記の暫定的な「種名」がチームの会議に提案され、承認された。

1. *Phytoplasma asteri* aster yellows
2. *P. rosaceae* apple proliferation
3. *P. pruni* X-disease
4. *P. oryzae* rice yellow dwarf
5. *P. ulmi* elm yellows
6. *P. palmi* coconut lethal yellowing
7. *P. solani* stolbur
8. *P. cajanus* pigeon pea witches' broom
9. *P. fraxini* ash yellows
10. *P. zizyphi* jujube witches' broom
11. *P. trifolii* clover proliferation, BLTVA
12. *P. luffa* loofah witches' broom

以下の 3 群については、会議では特定の名称については議論されなかったが、後刻担当者によって選定される予定となっている。

13. lethal decline of coconut

14. peanut witches' broom  
15. sunhemp/lime witches' broom

なお、このうち lime witches' broom phytoplasma については、ZREIKら (1995) により、*P. aurantifolia* が提案され、sunhemp witches' broom phytoplasma とは種が異なるのではないかとされている。

### おわりに

ファイトプラズマが自然界で生き残るためには、宿主植物も媒介昆虫も必須である。2年生あるいは木本植物では、病原は越冬し長期にわたる生息場所を確保できるが、それだけでは健全な植物に感染し生き延びることができない。しかし、そのかわり媒介虫がファイトプラズマを伝播し、新たな感染の場を提供する役割を果たしているものと考えられる。

ファイトプラズマの多くが広い宿主範囲を持っており、それが柔軟な適応性を発揮する結果となっているものと思われる。ファイトプラズマは媒介昆虫から植物体の篩部組織へとその寄生の範囲を広げた可能性がある一方で、他の病原細菌や糸状菌に吸着して篩部へと移り住んできたことも考えられる。いずれにしても、系統学的な解析結果は、それらがアコレプラズマ様の祖先からた

った一度だけ分岐したのち、急速に派生し、今日に至ったものであることを示唆している。そしてその柔軟な適応性と速い進化スピードのゆえに、今日それらが新たな生態学的地位と宿主を確立するに至ったものと考えられる。

### 引用文献

- 1) AHRENS, U. and E. SEEMÜLLER (1992): Phytopathology 82: 828~832.
- 2) DAVIS, R. E. et al. (1993): Phytopathology 83: 1008~1011.
- 3) NAMBA, S. et al. (1993 a): Phytopathology 83: 461~467.
- 4) ——— et al. (1993 b): Int. J. Syst. Bacteriol. 43: 461~467.
- 5) 難波成任(1993): 植物防疫 47: 86~93.
- 6) ———(1995): 同上 49: 11~14.
- 7) LEE, I. M. et al. (1992): J. Bacteriol. 174: 6694~6698.
- 8) ——— et al. (1993): Phytopathology 83: 834~842.
- 9) LIM, P. -O. and B. B. SEARS (1992): J. Bacteriol. 174: 2606~2611.
- 10) SCHNEIDER, B. et al. (1992): Mol. Plant Microbe Interact. 5: 489~495.
- 11) SEEMÜLLER et al. (1994): Int. J. Syst. Bacteriol. 44: 440~446.
- 12) ZREIK, L. et al. (1995): Int. J. Syst. Bacteriol. 45: 449~453.

■ 農薬に関する唯一の統計資料集

■ 登録のある全ての農薬名を掲載

1995年版 (平成6農薬年度)

# 農薬要覧

農林水産省農産園芸局植物防疫課 監修

## 主な目次

- I 農薬の生産、出荷—種類別生産出荷数量・金額/製剤形態別生産数量・金額/主要農薬原体生産数量/種類別会社別農薬生産・出荷数量/など
- II 農薬の流通、消費—県別農薬種類別出荷金額/農薬の農家購入価格の推移/など
- III 農薬の輸出、輸入—種類別輸出数量/種類別輸入数量/仕向地別輸出金額/など
- IV 登録農薬—平成6年9月末現在の登録農薬一覧/農薬登録のしくみ/など
- V 新農薬解説
- VI 関連資料—6年度農作物作付(栽培)面積/主要病害虫の発生面積・防除面積/など
- VII 付録—農薬の毒性及び魚毒性一覧表/関係機関等名簿/登録農薬索引/など

◆ B6判・678ページ

◆ 定価 5,400円 (本体 5,243円)

◆ 送料サービス

## バックナンバー

- 1994年版—5,200円 送料サービス
  - 1993年版—5,200円 //
  - 1992年版—5,200円 //
  - 1991年版—5,000円 //
  - 1989年版—4,400円 送料 340円
  - 1983年版—3,296円 送料 310円
- ※定価は税込価格です。

■ 品切絶版

1963~82, 84~88, 90年版

■ ご注文は、個人は前金 (現金・振替) で、機関は後払いも可、本会へ