

## 9. ホルトノキ<sup>いおう</sup>萎黄病

病原：ファイトプラズマ類 *Candidatus Phytoplasma*

### 基本データ

#### 1) 原産地

(病原) ファイトプラズマ：不明  
(推定媒介昆虫) ヨコバイ類・カメムシ類：不明

#### 2) 沖縄県における発生地域と宿主植物

(発生地域) 沖縄島・西表島  
(宿主植物) ホルトノキ (*Elaeocarpus sylvestris* (Lour.) Poiret var. *ellipticus* (Thumb.) Hara)

#### 3) 被害木の症状

葉の黄化、葉の小型化・節間の詰まり・一枝の着葉数の低下(すなわち若枝の矮化)、樹冠密度の低下という病徴(症状)の一部またはすべてが組み合わさって、樹冠の一部ないし全身に現れる。本病は、これらの病徴が持続し、木全体で次第に衰退の程度を増していき、1~数年のうちに樹冠が退廃して枯死に至る。本病は慢性的全身病であるが、通常の感染症よりも進行が遅く、衰退病と位置づけられる。

#### 4) 伝播の方法

不明。一般的なファイトプラズマ病においては、ヨコバイ類やカメムシ類のような吸汁性昆虫が媒介者となり、その成虫が葉や茎にとまって樹液を吸おうとしたときに、篩部組織内にファイトプラズマを感染させる。



ホルトノキ萎黄病の病徴(ホルトノキ)

### 日本国内における病害虫の発生地域と主な宿主植物名

萎黄病の症状を示しファイトプラズマが検出されたホルトノキは、福岡県、徳島県、静岡県など、ホルトノキが天然分布する本土の温暖地に広く見られる。(小田原市文化財保護委員会, 2013; 河辺ら, 2001; 佐藤ら, 2014) 主な宿主は、本州・四国・九州・薩南諸島ではホルトノキ、小笠原諸島では、シマホルトノキ (*Elaeocarpus photiniaefolius* (Hook. et Arn.)) (島田, 2014)。

### 海外における病害虫の発生地域と主な宿主植物名

*Candidatus Phytoplasma malaysiaianum* の宿主として、マレーシアにおいて、ニチニチソウ *Catharanthus roseus* (L.) G. Don、ココヤシ *Cocos nucifera* L.、ギニアアブラヤシ *Elaeis guineensis* Jacq. が知られる (Nejat et al., 2013)。ほかにファイトプラズマによる被害は果樹等多数の植物に確認されているが、本病と同種であるかは不明。

### 1) 特徴

緑化・庭園木や街路樹などとして永年健全に生育してきたホルトノキ成木が萎黄(いおう)病にかかると、目に見えて樹勢を衰えさせ、枯死に至ることもある(大野ら, 2003; 亀山ら, 2015)。

ホルトノキは、沖縄県の重要な緑化樹種である。沖縄県においては中南部を中心に広く街路・公園緑地に植栽され、浦添市では「市民の木」に指定されている。また、沖縄県中北部において、マツ枯れ(材線虫病)被害跡地にホルトノキを含む広葉樹林が成立する事例がみられ、自生木も緑化及び森林環境の保全に寄与していると考えられる。これらの植栽木、自生木ともに、本病の感染発病例がある。

本病にかかると、葉の黄化、葉の小型化・節間の詰まり・一枝の着葉数の低下（すなわち若枝の矮化）、樹冠密度の低下という病徴（症状）の一部またはすべてが組み合わさって、樹冠の一部ないし全身に現れる。本病は、これらの病徴が持続し、木全体で次第に衰退の程度を増していき、1～数年のうちに樹冠が退廃して枯死に至る。本病は慢性的全身病であるが、通常の感染症よりも進行が遅く、衰退病と位置づけられる。

強風・潮風、水分ストレス、植え柵の土壌条件などが本病の誘因として働く可能性があるが、特段の悪条件がないと思われる植栽環境でも、発病・進展し枯死に至る事例が観察されている。

## 2) 病虫害環および生態

ファイトプラズマは篩部に絶対寄生性の細菌の一種である。移動能力を持たないファイトプラズマにより引き起こされる病害の拡大には、媒介昆虫が関与する。普通、ファイトプラズマの候補種と媒介昆虫の種のあいだの種間関係（宿主特異性）は強いが、ファイトプラズマの候補種は、植物に対しては多犯性である。

一般的なファイトプラズマ病においては、ヨコバイ類やカメムシ類のような吸汁性昆虫が媒介者となり、その成虫が葉や茎にとまって樹液を吸おうとしたときに、篩部組織内にファイトプラズマを感染させることが知られている。ファイトプラズマは、代謝系の一部の遺伝子を欠き、宿主植物の代謝に依存することが知られ、したがって、篩部組織中に絶対寄生性である。宿主内における病原の分布密度は低い。樹体間は媒介昆虫により伝播されるが、根に癒合部がある場合は、隣接木に感染しうると考えられる。ファイトプラズマは、細菌の一種だが細胞壁を持たず、小型不定形で、形態では分類できず、DNAの塩基配列をもちいた「分子分類」がなされるためその分類群は「種」でなく「候補種」と呼ばれる（学名には頭に「*Candidatus*」がつけられる）。

前項に記された本病の病徴はファイトプラズマ病の一般的な病徴に一致するが、これらの病徴一つ一つはファイトプラズマ病に固有のものではない。したがって、ホルトノキに衰退被害が発生した場合、ファイトプラズマによる萎黄病であることが疑われるが、他の要因によることもあり得る。また、衰退木からファイトプラズマが検出されたとしても、ファイトプラズマ感染が発病・枯死に最も寄与していると直ちに言うことはできず、別の要因によって衰退しつつある個体に、たまたま病原性に乏しいファイトプラズマが寄生しているだけである可能性も残されている。

ファイトプラズマは電子顕微鏡でなければ確認できないため、その検出は、被害植物組織から抽出したDNAから、PCR法により、ファイトプラズマに特異的な塩基配列を持ったDNA断片が増幅されることにより行われる。県内及び本土の発症したホルトノキの一部から検出されたファイトプラズマの一部は *Candidatus Phytoplasma malaysianum* であることが示唆された（大島ら、未発表；亀山、未発表）が、他に、ホルトノキに寄生するファイトプラズマ種があるかどうかは十分検討されていない。また、ファイトプラズマの病原性評価は目下なされていない。

フクギでも衰退被害が発生しており、ファイトプラズマの関与が疑われるため、フクギ被害木からのDNA検出と、それによるファイトプラズマの同定が求められる。なお、ファイトプラズマによる樹木病害として西日本に多発しているキリ (*Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud.) てんぐ巢病の病原は、*Candidatus Phytoplasma asteris* の1系統であり、同種はこれまで沖縄産ホルトノキから検出されていないので、本病病原ではない可能性が高い。

### 3) 沖縄県における発生の現状と侵入・発生の経過

日本国内では 1999 年にホルトノキにファイトプラズマ病が報告され、ホルトノキ萎黄病と命名された(河辺ら, 1999)。2014 年には、ホルトノキのファイトプラズマ病が沖縄島内で確認された。また、県道 38 号線の浦添市前田付近の街路樹には、古い伐根があり、沿道住民の証言からも、本病に酷似した症状による枯死が少なくとも 2012 年よりも相当前から発生していたと考えられる。

2013 年に琉球大学構内で異常な衰退を示すホルトノキ植栽木 1 本が見いだされ、この個体を継続観察したところ、2014 年夏に枯死を確認し、同個体から 2014 年 3 月にファイトプラズマが検出された。同年 6 月にこの個体の周囲 43 本について検査を行ったところ、症状を示すと示さないによらず、34 個体からファイトプラズマが検出された。このように、沖縄においては、ホルトノキ萎黄病の進行は極めて遅く、また、外見上健全でもファイトプラズマを保持している潜在感染木が相当あると考えられる。

無病徴の個体からファイトプラズマが検出されることについては、潜伏期間が長いこと、誘因の強弱がある可能性が推測されている。

現在までに、沖縄島ではうるま市から西原町・浦添市那覇市に至る広域で、ファイトプラズマを検出している。症状が酷似した個体は、沖縄島全域で認められる。また、八重山諸島では、少なくとも西表島でファイトプラズマが検出されていることから、沖縄県内に広く被害が拡大していることが示唆された(図-1)。

ホルトノキ萎黄病が拡大する原因としては、通常のファイトプラズマで確認されているように、媒介昆虫としてヨコバイ類・カメムシ類が関与していることが推測されるが、探索中である。

フクギの衰退と同様に、ホルトノキ萎黄病においても、土壌条件・植栽環境、水分ストレス、強風などが発病・進展の誘因となっている可能性がある。

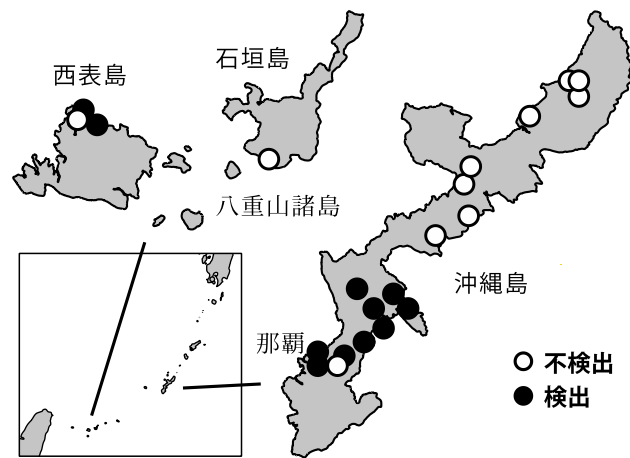


図-1 ホルトノキのファイトプラズマの分布(亀山, 2016)

### 4) 診断

ファイトプラズマは電子顕微鏡でなければ確認することができない大きさの微生物であり、しかも、樹体ではもっぱら篩部組織に寄生するが、その感染密度は極めて低く、電子顕微鏡下での観察結果から病原体の有無を判断することはできない。そこで、ファイトプラズマが寄生する篩部組織が多く集まる葉の中肋付近を切り出して、そこから DNA を抽出し、PCR 法により病原に特有の DNA 断片を検出する方法が用いられる。プライマーとして、日本本土のホルトノキ萎黄病においては R16mF2/R16mR1 (Gundersen et al., 1996) と R16F2n/R16R2 (Lee et al., 1995; 1998) を用いた nested PCR 法が使用されてきた(河辺ら, 1999)が、本プライマーセットは、沖縄県産のホルトノキでは検出力が低かった。それに対して、プライマー 16R758F/16R1232R (Gibb et al. 1995) を用いた direct PCR 法、または、P1/P7 (Deng and Hiruki, 1991; Schneider et al., 1995) と R16F2n/R16R2 を用いた nested PCR 法により、沖縄県産のホルトノキから鋭敏にファイトプラズマが検出される。(亀山, 2016; 亀山ら, 2015)

本病に類似した症状を呈したものの、PCR 法では陽性を示さなかった個体が多く見つかっており、その原因として、ファイトプラズマが検出されにくい罹病個体が存在する可能性が疑われる。一方、台風

などの気象害の影響や、街路樹等の場合その植栽環境は、宿主個体に長期にわたるストレスを付加していることがある。少なくとも、沖縄島北部など本病病原が検出されない地域で発生しているホルトノキ被害木は、こうした非生物要因によるものである可能性が高い。

本病に類似した症状は、水欠乏や養分傷害等の非生物因子で形成されうるが、長期に症状が続いて、ゆっくりと衰退が進行して枯死に至るのは、本来、本病に特徴的な症状である。しかし、街路樹の場合、不適切な植え柵の設計や土壌条件などにより長期にストレスが及ぶことも考えられるので、植栽環境が衰退に寄与していないか、現地調査を実施するなどして、環境要因の把握に努める必要がある。

## 5) 防除

### ①方針

ホルトノキは、本県とくに沖縄島において、個体数が多くかつ有用な樹種であるので、本病の防除は重要な課題である。

しかし、ファイトプラズマは、樹木の節部に生息し、吸汁性昆虫に伝播されることから、薬剤防除は効果的でない。本病においても抗細菌剤による防除の研究事例があるが、その効果は限定的である。そこで、被害未発生地域に本病を侵入させないことが極めて重要である。被害発生地では、目下被害木の除去しか方策がない。拡大防止策としては、速やかに、ホルトノキ苗にファイトプラズマ感染がないことを確認する体制を確立するとともに、苗や成木の長距離の移動を行わないことが必要である。また、未発生地域に被害が侵入しないよう媒介昆虫の確認を行い、文化財の保全など特別な場合には、その駆除を検討することも考えられる。

本病発生地域でも極めて健全な個体が見られる(図-2)。一方、本病の未検出地域でも、本病以外の原因で著しく衰退した植栽木がしばしば認められる(図-3)。したがって、ホルトノキの植栽管理の実を上げるためには、適地に植栽し、植栽環境を好適に保ちつづけることが重要である。激害地での植栽条件を考慮すると、植栽時に、十分に根を張り、枝を伸ばす余地がある場所を選び、強剪定や根系の攪乱を避けること、河畔や尾根鞍部のような、水分が豊富で水はけも良いような土壌環境・防風や潮風の当たりにくい環境を選ぶこと、などに配慮すべきことが示唆される。



図-2 公共施設敷地内であるが植栽環境に恵まれ、樹冠を傘状に大きく広げたホルトノキ成木(西原町)





図-3 狭い植枿、隣接木による被陰、電線の保安のための剪定などの悪条件が重なっている場所で、著しく衰退したホルトノキ街路樹(名護市)

## ②方法

本土においては、ファイトプラズマに効果があるとされる抗生物質である硫酸オキシテトラサイクリンを樹幹注入する方法が試行されてきた。しかし、本法は、症状の進行を止めたり、若干の改善効果はあるものの、病原ファイトプラズマを駆除することはできないと考えられ、根治は困難である。

また、沖縄において、自生するホルトノキが多いこと、ファイトプラズマは媒介昆虫が加害する他樹種にも感染している可能性が高いことから、感染木が極めて多いことが推測され、樹幹注入法による病原密度の低下は期待できない。文化財のような特別の個体に処理することは考えられるが、本剤は樹幹注入に適した形で原体が販売されておらず、一般的な防除方法として確立されていない。このことに加え、効果が限定的であること、防除費用が高いこと、農薬登録もなされていないこと、施用には樹幹注入処理が必要であるが、本処理の副作用として穿孔部周辺の辺材部に水分通導阻害を引き起こすので繰り返しの施用ができないことなどから、薬剤防除には相当慎重な検討が必要である（宇佐美ら，2008；河辺ら，2011）。

わが国の樹木のファイトプラズマ病では、抗生物質（抗細菌剤）であるオキシテトラサイクリンが治療効果を有することがホルトノキ萎黄病において知られているが、効果は限定的であり、防除費用が高くなるうえ、農薬登録もなされていないことから、天然林や街路樹・緑化木管理の現場では利用されていない（河辺ら，2011；宇佐美ら，2008）。文化財保護など特別の目的で単木の治療や感染防止を試みる場合にも、オキシテトラサイクリンの施用には樹幹注入処理が必要であるが、本処理の副作用として穿孔部周辺の辺材部に水分通導阻害を引き起こすので、繰り返しの施用はできないことを前提に、対策を検討する必要がある。

## ③研究

沖縄産のファイトプラズマは、PCR法において、本土のホルトノキ萎黄病の検出に用いるプライマーにほとんど反応せず、別の万能プライマーで検出法を確立した。このプライマーは、本土のホルトノキ

萎黄病のファイトプラズマをも検出する。

○ファイトプラズマ DNA 断片の検出フロー

- (1) 対象のホルトノキ個体を目視で観察し、①健全葉の黄変の程度、②葉の小型化の程度、③葉の枚数、④着葉枝の縮小の程度、⑤樹冠量等、樹体全体の衰退の状況を記録する。
- (2) 異なる大枝に付いている当年枝3枝を採取し、そこから生きた成葉2枚ずつ計6枚（葉が著しく小さい場合は一枝3枚とる）を付け根から折り取り、封筒やビニール袋に入れるなどして持ち帰る。
- (3) 採取した葉は新鮮なまま処理するか、または凍結保存する。
- (4) 葉の中肋だけ（少し葉身が入っても支障ない）をきれいなはさみで、2mmほどの小片に切りだして、液体窒素を張った乳鉢に落とし入れる。凍結下で乳棒で粉碎し粉末にする。100mgほどの葉の粉末を用い、Qiagen DNeasy Plant Mini Kit など市販の植物 DNA 抽出キットを用いて全 DNA を抽出する。
- (4') 葉の中肋部をはさみで細切りして、1%水酸化ナトリウム水溶液内に落とし入れ、30分ほど静置して DNA 抽出物として、その少量をとって、島津製作所 Ampdirect プラスなど PCR 阻害成分を抑圧する試薬を加えた PCR 試薬で、nested PCR を行う（檜崎，2007）。
- (5) 市販の任意の PCR キットを用い、プライマー16R758F/16R1232R による direct PCR を行う。1.2% アガロースゲル、0.5 倍 TBE バッファーを用いた電気泳動により所期の約 500 塩基長のバンドが出れば、ファイトプラズマが検出された可能性が高いことになる（ときに非特異的な増幅がされる）。陰性の場合、プライマーP1/P7 次いでプライマーR16F2n/R16R2 による nested PCR を行う。なお、direct PCR では、ファイトプラズマが強く検出された感染個体よりも、試料中のファイトプラズマ密度が数十～百倍低くても、また、nested PCR では、数千倍低くても、それぞれ検出可能な感度をもつ。
- (6) 陽性試料は、DNA 配列を読んで、ファイトプラズマのものであることを確認する事が最も確実である。ただし、そのための機器であるシークエンサーは高価で維持も容易でないので、DNA 配列を読む民間業者に精製試料を送って読み取らせることが一般的である。予備実験として、PCR 産物を制限酵素 Sca I で 37°C 16 時間処理し、切断されたら（電気泳動により、当初よりはるかに短い塩基長のバンドが出現したら）、ファイトプラズマの DNA である可能性が高いと判断される。（以上、亀山，2016；亀山ら，2015）

## 6) 本病虫害について研究の経過と動向の概要

亀山統一（2016）. 九州・沖縄地区から「沖縄らしいみどりを守ろう事業」の進展. 樹木医学研究 20, 38-69.

本病虫害についての代表的な研究論文・専門書

亀山統一（2016）. 琉球列島のホルトノキにおけるファイトプラズマの感染状態. 樹木医学研究 20, 32-33.

亀山統一・山城直也・日暮悠樹・塩垣美森・牧山建・玉城信徳・上間明人・諸見里穂高・伊藤俊輔（2015）. 沖縄島におけるホルトノキ萎黄病（速報）. 樹木医学研究 19, 102-103.

河田祐嗣・菊池泰生・楠木学・大野啓一郎・加藤貞一（2001）. ファイトプラズマによるホルトノキ衰弱枯死被害-ホルトノキ萎黄病ともうひとつの新病害-. 樹木医学研究 5（1），39.

本病虫害についての、一般市民、学生生徒、造園・林業技術者等に向けた既存のパンフレット等の  
刊行物やウェブサイト

琉球大学森林保護学研究室 <http://www.agr.u-ryukyu.ac.jp/kameyama>

沖縄美ら島財団 平成 27 年度亜熱帯緑化事例発表会 基調講演

[https://churashima.okinawa/userfiles/files/page/ocrc/anettai/h27\\_jyusyousya\\_0204.pdf](https://churashima.okinawa/userfiles/files/page/ocrc/anettai/h27_jyusyousya_0204.pdf)

[引用文献]

- Deng, S. and D. Hiruki. (1991). Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes. *J. Microbiol. Methods* 14, 53-61.
- Schneider, B., E. Seemüller, C. D. Smart, and B. C. Kirkpatrick. (1995). Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas. In S. Razin and J. G. Tully (eds.), *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology*, Vol. 1. Academic Press, San Diego, California, pp. 369-380
- Gibb, K. S., Padovan, A. C. and Mogen, B. D. (1995). Studies on Sweet Potato Little-leaf Phytoplasma detected in sweet potato and other plant species growing in Northern Australia. *Phytopathology* 85, 169-174.
- Gundersen, D. E., Lee, I.-M., Schaff, D. A., Harrison, N. A., Chang, C. I. Davis, R. E. & Kingsbury, D. T. (1996). Genomic diversity and differentiation among phytoplasma strains in 16s rRNA group I (aster yellows and related phytoplasmas) and III (X-disease and related phytoplasmas). *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46, 64-75.
- Lee, I.-M., Zhu, S., Gundersen, D. E., Zhang, C. & Hadidi, A. (1995). Detection and identification of a new phytoplasma associated with cherry lethal yellows in China. *Phytopathology* 85, 1179.
- Lee, I.-M., Dawn E. Gundersen-Rindal, Davis, R. E. and Bartoszyk, I. M. (1998). Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16s rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology* 48, 1153-1169.
- 亀山統一 (2016). 琉球列島のホルトノキにおけるファイトプラズマの感染状態. *樹木医学研究* 20, 32-33.
- 亀山統一, 山城直也, 日暮悠樹, 塩垣美森, 牧山建, 玉城信徳, 上間明人, 諸見里穂高, 伊藤俊輔 (2015). 沖縄島におけるホルトノキ萎黄病 (速報). *樹木医学研究* 19, 102-103.
- 河辺祐嗣, 菊池泰生, 楠木学, 大野啓一郎, 加藤貞一 (2001). ファイトプラズマによるホルトノキ衰弱枯死被害-ホルトノキ萎黄病ともうひとつの新病害-. *樹木医学研究* 5 (1), 39.
- 河辺祐嗣, 楠木学, 宮下俊一郎, 菊池泰生 (2001). 樹木ファイトプラズマ病の遺伝子診断法の開発. 独立行政法人森林総合研究所 平成12年度研究成果選集2000, 10-11.
- 河辺祐嗣, 楠木学, 大野啓一郎 (1999). ファイトプラズマによるホルトノキ萎黄病 (新称). *日植病報* 65, 654.
- 河辺祐嗣, 津田城栄, 松浦邦昭, 小河誠司, 宇佐美暘一, 楠木学 (2011). ホルトノキ萎黄病罹病木におけるオキシテトランサイクリン製剤樹幹注入後のオキシテトランサイクリン濃度およびファイトプラズマ検出. *樹木医学研究* 15, 97-101.
- 檜崎康二 (2007). 8樹木の生理特性に関する研究- 福岡県内におけるホルトノキ萎黄病の発生状況について-. 平成18年度福岡県森林林業技術センター年報, 24-25.
- Nejat, N., Vadamalai, G., Davis, R. E., Harrison, N. A., Sijam, K., Dickinson, M., Abdullah, S. N. and Zhao, Y. (2013). '*Candidatus* Phytoplasma malaysianum', a novel taxon associated with virescence and phyllody of Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 63, 540-548.

- 小田原市文化財保護委員会 (2013). 市指定文化財「旧MRAアジアセンター ODAWARA のホルトノキ」の指定解除について. 平成23年度第2回小田原市文化財保護委員会 会議概要, 1-3.
- 大野啓一郎, 河辺祐嗣, 加藤貞一, 菊地泰生, 楠木学 (2003). ホルトノキ萎黄病による衰弱枯死経過. 樹木医学研究7 (1), 46.
- 佐藤征弥, 高橋英誠, 近森美保, 谷由里恵, 安達直之 (2014). 徳島市城山のホルトノキの衰弱・枯死の原因についてーホルトノキ萎黄病を引き起こすファイトプラズマの深刻な感染状況ー. 自然科学研究 徳島大学大学院ソシオ・アーツ・アンド・サイエンス研究部28 (4), 21-25.
- 島田律子 (2014). 桑ノ木山のシマホルトノキ突然枯死について. 小笠原研究年報 (37), 81-83.
- 宇佐美陽一, 河辺祐嗣, 小河誠司 (2008). ホルトノキ萎黄病に対する抗生物質の樹幹注入による薬害発生と樹勢回復 (臨症事例). 樹木医学研究12 (2), 85-90.