

栽培ギクのキク矮化ウイルス(CSVd)保毒状況の把握

中村恵章¹⁾・福田至朗²⁾・栗山幸子³⁾・服部裕美⁴⁾・平野哲司⁴⁾・大石一史⁵⁾

摘要：キク生産に致命的な影響を与えるCSVd保毒状況を以下の3種の方法で調査した。①愛知県内のキク栽培ほ場で197品種の栽培ギクの矮化症状の有無を調べたところ、27%の品種で矮化が認められた。②同県内の外観上病徴のない291品種について、葉をサンプリングしRT-PCR/電気泳動法で高濃度保毒品種を、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法で低濃度保毒品種を調べたところ、それぞれ31%と53%の品種でCSVdが検出された。③市場出荷されたキクについて9地域(2か国・7県)から収集したキク92品種のうち30%の品種でCSVdが検出された。このことから、健全な外観の本県産および他地域産のキクの中に潜在的な保毒株が多数含まれていることが明らかになった。

キーワード：栽培ギク、キク矮化ウイルス(CSVd)、保毒株、
RT-PCR/ハイブリダイゼーション法

Rates of *Chrysanthemum Stunt Viroid*-Carrying Plantlets among the Varieties of Cultivated Chrysanthemums

NAKAMURA Yasunori, FUKUTA Shiro, KUWAYAMA Sachiko, HATTORI Hiromi,
HIRANO Tetsuji and OHISHI Kazushi

Abstract: Chrysanthemum stunt disease is one of the most serious and harmful diseases in the commercial cultivation of chrysanthemums. In this study, we checked the symptoms of *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) in the field for 197 cultivars when we collected plantlets in Aichi Prefecture. Stunted plants were found in 27% of the cultivars. We checked for CSVd in healthy-looking plantlets of 291 cultivars of chrysanthemum in Aichi Prefecture, by using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)/electrophoresis method for the detection of low CSVd infections and the RT-PCR/hybridization method for the detection of high CSVd infections. CSVd was detected in 31% of the 291 cultivars by the RT-PCR/electrophoresis method and in 53% by the RT-PCR/hybridization method. Furthermore, we checked the plantlets of 92 cultivars' that were shipped for the local flower wholesale market from 2 foreign countries and 7 prefectures, using the RT-LAMP method, and 30% of these cultivars contained CSVd-carrying plantlets. Thus, we can conclude that many field-grown chrysanthemum varieties contain CSVd-carrying plantlets, both in Japan and in foreign countries.

Key Words: Chrysanthemum cultivars, *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd),
CSVd-carrying plantlets, RT-PCR/hybridization method

本研究の一部は平成23年度園芸学会東海支部(2011年9月)において発表した。

本研究は「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」により実施した。

¹⁾ 園芸研究部(現園芸農産課) ²⁾ 環境基盤研究部 ³⁾ 環境基盤研究部(現豊田加茂農林水産事務所)

⁴⁾ 園芸研究部 ⁵⁾ 園芸研究部(現企画普及部)

(2013.9.24 受理)

緒言

営利栽培を行うキク生産者にとって、キク矮化ウイルス(*Chrysanthemum stunt viroid*, CSVd)によるキク矮化病は、植物体が矮小化し著しく品質を損なうキクの重要病害の一つである。CSVdは1947年にアメリカ合衆国で報告されて以来¹⁾、瞬間に世界中でその発生が広がった²⁾。日本においても1977年に、初めてキクでの感染が確認された後、全国で被害が報告されている³⁻¹²⁾。CSVdに感染したキクは、健全な株に比べて1/2~2/3ほどの草丈に矮化し、葉や花の小型化、根の伸長不良などの病徴が報告されている^{2, 12)}。これらの病徴による商品性の低下に加え、不齊な生育が計画生産を損ねることによる経済的な損失は膨大であると推計される^{2, 4)}。現在まで国内の様々なキク産地において栽培品種のCSVd保毒率が調査されている³⁻¹²⁾。特に、松下¹²⁾は複数の県にわたってキクへのCSVd感染状況とCSVdのゲノム解析を行い、遺伝子型の異なる複数のCSVd系統を確認している。

愛知県においても以前から矮化病の発生は確認されていたが¹¹⁾、県内を網羅的に調査した研究例はない。生産現場での聞き取りでは、発病株の抜き取りなど発病に対する対応策は様々であるが、矮化株の発生が収まらないのは、それらの対応が不十分であることを示しており、ほ場におけるCSVd保毒程度を把握したうえでCSVd保毒株を減らすべく対処する必要がある。

そこで、本研究では愛知県内7市町のキク栽培ほ場において矮化症状を調査するとともに、県内8市町のキク栽培ほ場で外観的に健全な株から検体を収集し、これらの品種がCSVdを保毒しているか調査を行った。さらに、県内の地方卸売市場の協力を得て、市場に出荷された複数産地(外国産地からの輸入切り花を含む)からの生産物のCSVd保毒を調査した。

材料及び方法

1 県内産地ほ場における矮化品種率調査

2010年および2011年に種類別(輪ギク、スプレーギク、小ギク)および生態的分類による開花期別(秋ギク、夏秋ギク)に、県内主要産地(7市町)のほ場において、外観の病徴判断により100株当たりの矮化株発生数の計数を行った。2010年は86品種、2011年は111品種、品種は重複しないように197品種を対象に実施した(表1)。なお、病徴判断はあらかじめRT-LAMP法によりCSVd保毒の確認を実施し、同様の病徴を示したものを矮化と判断した。

2 複数産地からの検体収集

(1) 県内主要産地キク栽培ほ場からの検体の収集方法

2010年および2011年に種類別(輪ギク、スプレーギク、

小ギク、ポットマムなど)および生態的分類による開花期別(秋ギク、夏秋ギク)に、県内主要産地(8市町)において、病徴が発現していない無病徴株(外観的に健全な株)を条件にして1品種当たり1~5検体を収集した。2010年は117品種、2011年は174品種、品種は重複しないよう合計291品種を対象に実施した(表2、表3)。

(2) 地方卸売市場への出荷物の保毒状況の把握

2012年10月~11月および2013年1月に複数産地(愛知県内外産・外国産を含む)から愛知県内の地方卸売市場へ出荷されたキクのCSVd保毒の有無について、92品種を調査した(表4)。検体は出荷箱の中からランダムに5本を取り出し、それぞれの茎の中位から下位の展開葉各1枚を収集し、1品種当たり5検体を検定に用いた。ただし、国内産地については地域が異なる場合は一部品種の重複があり、外国産のキクについては同一産出国であっても輸入会社が異なる場合は同一品種を収集した。そのうち8品種は2産地・地域で、2品種は3産地・地域で重複しており、本調査での収集品種数は80品種であった(表4)。

3 CSVdの検定方法

(1) RNAの抽出方法

植物体からのRNAの抽出はTRIzol試薬(life technologies社、カールスバッド、アメリカ)を用い、添付のマニュアルに従って実施した。

(2) RT-PCR法による検定

県内主要産地から収集した検体の検定には高濃度保毒株の検出にRT-PCR/電気泳動法を、低濃度保毒株の検出にRT-PCR/ハイブリダイゼーション法を用いた。

RT-PCR法によるCSVd配列の増幅にはReverTra Dashキット(東洋紡(株)、大阪)を用い、プライマーおよびPCRの反応条件はHosokawaら¹³⁾の方法に従った。

RT-PCR/電気泳動法によって、得られたRT-PCR産物を1.5%アガロースゲルで電気泳動し、増幅されたcDNAを確認し、CSVd高濃度保毒品種を判定した。

さらにRT-PCR/電気泳動法で保毒が確認できなかった検体をRT-PCR/ハイブリダイゼーション法に供して低濃度保毒品種を判定した。RT-PCR/ハイブリダイゼーション法はCSVd由来の増幅産物2 μ Lを同量の0.8N NaOHと混合した後、ニトロセルロースメンブレンに滴下した。風乾後120 $^{\circ}$ C、20分のベーキングにより、DNAをメンブレンに固定した。サザンハイブリダイゼーションには、CSVdゲノム由来のcDNAを鋳型としPCR DIG Probe Synthesis Kit(Rosch Applied Science社、Penzberg、ドイツ)を用い、DIG Luminescent Detection Kit(Rosch Applied Science社)によるCPSD化学発光で検出を行ってCSVdを判定した。

(3) RT-LAMP法による検定

RT-LAMP反応は福田ら¹⁴⁾の方法に従った。調整した反応液24 μ Lに1 μ LのRNA抽出液を加えて、63 $^{\circ}$ Cで60分間反応させて高濃度保毒品種を判定した。

LAMP反応液の濁度はリアルタイム濁度測定装置

Realoop-30（富士通システムズ・イースト、東京）を用いて測定した。リアルタイム濁度計の濁度の閾値0.05とし、CSVd高濃度保毒ギク（以下、ポジティブコントロール：PCとする）の閾値を超える時間を調べたところ、PCは反応開始から23分辺りで濁度上昇が認められ、23～40分までに濁度上昇した検体をCSVd高濃度保毒とした。また、反応開始から40～50分までに濁度上昇した検体をCSVd保毒と判定し、50～60分の反応は非特異的反応とした。

4 判定方法

(1) ほ場における矮化率調査

病徴による矮化の判断は、ほ場において5%（100株の内5株）以上で矮化が確認された品種を矮化発生品種とした。矮化株は草丈が他の平均的な草丈に対して2/3よりも短く生育し、小葉化や葉縁の退緑などの病徴を基準とし、茎径が著しく細い生育不良個体を除いたものとした。

(2) 植物体からのCSVd保毒検定

RT-PCR/電気泳動法、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法、RT-LAMP法によって供試した全検体中の1検体以上で（地方卸売市場への出荷物の保毒状況の把握ではRT-LAMP法のみによる）陽性反応を示した品種を保毒品種と判定した。

試験結果

1 ほ場での観察結果

ほ場において矮化株発生の確認をしたところ、2010年は86品種中22品種（矮化株発生率25.6%）で矮化株が観察された（表1）。また、2011年に調査した111品種では32品種（矮化株発生率28.8%）で矮化株の発生が確認された。産地別では年次変動および産地による明確な傾向は認められず、2年間の合計ではbの2品種においては矮化が観察されなかったが、それ以外の6産地ではいずれも矮化が観察され、aとfでは、矮化株発生率が、それぞれ22.7%と22.5%で、それ以外は30%以上、gで採取した輪ギク1品種は激しい矮化が見られた（表1）。2年間の合計の矮化品種率は、種類別で輪ギクが47.1%で最も高く、次いで小ギクの31.3%、スプレーギクの21.0%で全体の平均は27.4%であった（表1）。生態的分類による開花期別（秋ギク、夏秋ギク）の矮化発生程度は表5のとおりであった。2年間の保毒率に明確な傾向は認められず、2年間の合計で輪ギクは夏秋ギクが1.4倍矮化品種率が高く、スプレーギクでは夏秋ギクが5.8倍矮化品種率が高かったが、小ギクでは逆に秋ギクの方が2.0倍の矮化品種率で、栽培ギク全体の開花期別で矮化の発生に一定の傾向は認められなかった。

2 RT-PCR産物を用いてのCSVd検出

キクの産地別・種類別・年次別のCSVd高濃度保毒品種数をRT-PCR/電気泳動法によって調査した結果は表2の

とおりであった。全体の保毒品種率は2010年59.8%、2011年12.1%で、調査年次によって変動が認められた。また、種類、産地、年次によってその保毒品種率は変動して、これらの保毒率に一定の傾向は認められなかった。2年間の合計した産地別で見ると、aは52.2%、bは43.8%、cは35.4%の順で高く、g以外はいずれも高濃度保毒品種を検出した。また、2年間の合計した種類別の保毒品種率は、ポットマム等は42.1%、小ギクは34.2%の順で高く、次いでスプレーギクは33.1%、輪ギクは8.8%の順で、全種類の平均は31.3%であった。

生態的分類による開花期別のCSVd保毒品種数は表6のとおりであった。2010年の保毒品種率はスプレーギク、ポットマム等とともに夏秋ギクが秋ギクに比べて大きな値を示した。しかし、2011年の調査結果では輪ギク、スプレーギク、小ギクにおいて秋ギクの方が夏秋ギクに比べて保毒品種率が大きくなった。2年間の合計で見るとその割合は種類毎に異なったが、秋ギクよりも夏秋ギクで保毒率が高くなる傾向であった。

キクの種類別・産地別・年次別のCSVd低濃度保毒品種数をRT-PCR/ハイブリダイゼーション法によって調査した結果は表3のとおりであった。全体の保毒品種率は2010年76.1%、2011年36.8%で、2年間の平均は52.6%で、調査年次によって変動が認められた。また、産地、種類、年次によってその保毒品種率は変動し、これらの保毒率に一定の傾向は認められなかった。2年間の合計した産地別で見ると、その保毒率はRT-PCR/電気泳動法の検出結果とほぼ同じ順番であったが、f、g、h産地の保毒率はe産地よりも大きくなった。いずれの産地もRT-PCR/電気泳動法の検出結果よりも保毒率が高かった。2年間の合計した種類別の保毒品種率は、ポットマム等57.9%とスプレーギク56.7%で高く、次いで小ギク48.6%、輪ギク47.1%の順で高く、全種類の平均は52.6%であった。

また、キクの種類別・生態的分類別・年次別のCSVd低濃度保毒品種数は表7のとおりであった。2010年の保毒品種率は、スプレーギク、ポットマム等とともに夏秋ギクが秋ギクに比べて大きな値を示した。しかし、2011年の調査結果では、スプレーギク、小ギクにおいて秋ギクの方が夏秋ギクに比べて保毒品種率が大きくなった。2年間の合計では秋ギクよりも夏秋ギクで保毒品種率が若干高くなったが、年次では変動が認められ、全体の平均では52.6%であった。

3 地方卸売市場に出荷された複数産地（外国からの輸入切り花を含む）からの生産物のCSVd保毒率

検定した92品種の内訳は、海外（A国、B国）産10品種、C県産50品種、他の6県（D～I県）産32品種、であった（表4）。

このうち、CSVd高濃度保毒あるいはCSVd保毒と判定した品種数（比率）は、A国産1品種（33.3%）、B国産5品種（71.4%）、C県産15品種（30.0%）、D県産2品種（18.2%）、F県産1品種（50.0%）、G県産1品種（14.3%）、H県産1品種（16.7%）、I県産2品種（50.0%）で、全体で

は28品種(30.4%)で保毒していた。また、E県産の検体からはCSVdは検出されなかった。さらに、これらのうち、PCと同程度の高濃度保毒と判定したのはB国産4品種およびC県産3品種で、それぞれの産地の品種数の57.1%お

よび6.0%であった(表4)。また、収集した10品種のうち、4品種は複数産地でCSVd保毒と判定された同一品種であった。

表1 県内産地別・種類別・年次別の目視による矮化調査品種数、矮化品種数及び矮化品種率

産地	2010年				2011年				合計			
	輪ギク	スプレーギク	小ギク	計	輪ギク	スプレーギク	小ギク	計	輪ギク	スプレーギク	小ギク	計
a		56 14 (25.0)		56 14 (25.0)		10 1 (10.0)		10 1 (10.0)		66 15 (22.7)		66 15 (22.7)
b			2 0 (0.0)	2 0 (0.0)							2 0 (0.0)	2 0 (0.0)
c			12 2 (16.7)	12 2 (16.7)	1 1 (100.0)		36 14 (38.9)	37 15 (40.5)	1 1 (100.0)		48 16 (33.3)	49 17 (34.7)
d			15 5 (33.3)	15 5 (33.3)			15 4 (26.7)	15 4 (26.7)			30 9 (30.0)	30 9 (30.0)
e	1 1 (100.0)			1 1 (100.0)	8 2 (25.0)			8 2 (25.0)	9 3 (33.3)			9 3 (33.3)
f					6 3 (50.0)	34 6 (17.6)		40 9 (22.5)	6 3 (50.0)	34 6 (17.6)		40 9 (22.5)
g					1 1 (100.0)			1 1 (100.0)	1 1 (100.0)			1 1 (100.0)
合計	1 1 (100.0)	56 14 (25.0)	29 7 (24.1)	86 22 (25.6)	16 7 (43.8)	44 7 (15.9)	51 18 (35.3)	111 32 (28.8)	17 8 (47.1)	100 21 (21.0)	80 25 (31.3)	197 54 (27.4)

注) 上段：矮化調査品種数、下段：矮化品種数、()：矮化品種率で%

表2 県内地域別・種類別・年次別のRT-PCR/電気泳動法によるCSVd保毒調査品種数、保毒品種数及び保毒品種率

産地	2010年					2011年					合計				
	輪ギク	スプレーギク	小ギク	ポットマム等	計	輪ギク	スプレーギク	小ギク	ポットマム等	計	輪ギク	スプレーギク	小ギク	ポットマム等	計
a		56 35 (62.5)			56 35 (62.5)		11 0 (0.0)			11 0 (0.0)		67 35 (52.2)			67 35 (52.2)
b			6 5 (83.3)	16 8 (50.0)	22 13 (59.1)			7 1 (14.3)	3 0 (0.0)	10 1 (10.0)			13 6 (46.2)	19 8 (42.1)	32 14 (43.8)
c			23 12 (52.2)	23 12 (52.2)	23 12 (52.2)	2 0 (0.0)		40 11 (27.5)	3 11 (26.2)	42 11 (26.2)	2 0 (0.0)		63 23 (36.5)		65 23 (35.4)
d			15 9 (60.0)	15 9 (60.0)	15 9 (60.0)			20 0 (0.0)	20 0 (0.0)	20 0 (0.0)			35 9 (25.7)		35 9 (25.7)
e	1 1 (100.0)				1 1 (100.0)	8 1 (12.5)				8 1 (12.5)	9 2 (22.2)				9 2 (22.2)
f						7 0 (0.0)	39 6 (15.4)			46 6 (13.0)	7 0 (15.4)	39 6 (13.0)			46 6 (13.0)
g						2 0 (0.0)				2 0 (0.0)	2 0 (0.0)				2 0 (0.0)
h						14 1 (7.1)	21 1 (4.8)			35 2 (5.7)	14 1 (7.1)	21 1 (4.8)			35 2 (5.7)
合計	1 1 (100.0)	56 35 (62.5)	44 26 (59.1)	16 8 (50.0)	117 70 (59.8)	33 3 (9.1)	71 7 (9.9)	67 12 (17.9)	3 0 (0.0)	174 21 (12.1)	34 3 (8.8)	127 42 (33.1)	111 38 (34.2)	19 8 (42.1)	291 91 (31.3)

注) 上段：矮化調査品種数、下段：矮化品種数、()：矮化品種率で%

表3 県内地域別・種類別・年次別のRT-PCR/ハイブリダイゼーション法によるCSVd保毒調査品種数、保毒品種数及び保毒品種率

産地	2010年					2011年					合計				
	輪ギク	スプレーギク	小ギク	ポットマム等	計	輪ギク	スプレーギク	小ギク	ポットマム等	計	輪ギク	スプレーギク	小ギク	ポットマム等	計
a		56 46 (82.1)		16 11 (69.8)	56 46 (82.1)		11 2 (18.2)		3 0 (0.0)	11 2 (18.2)		67 48 (71.6)		13 19 (53.1)	67 48 (71.6)
b			6 5 (83.3)	16 11 (69.8)	22 16 (72.7)			7 1 (14.3)	3 0 (0.0)	10 1 (10.0)			13 6 (46.2)	19 11 (57.9)	32 17 (53.1)
c			23 12 (52.2)	16 12 (52.2)	23 12 (52.2)	2 1 (50.0)	40 22 (55.0)			42 23 (54.8)	2 1 (50.0)		63 34 (54.0)		65 35 (53.8)
d			15 14 (93.3)	16 14 (93.3)	15 14 (93.3)		20 0 (0.0)			20 0 (0.0)			35 14 (40.0)		35 14 (40.0)
e	1 1 (100.0)				1 1 (100.0)	8 2 (25.0)	39 17 (43.6)			8 2 (25.0)	9 3 (33.3)				9 3 (33.3)
f						7 4 (57.1)	39 17 (43.6)			46 21 (45.7)	7 4 (57.1)	39 17 (43.6)			46 21 (45.7)
g						2 2 (100.0)				2 2 (100.0)	2 2 (100.0)				2 2 (100.0)
h						14 6 (42.9)	21 7 (33.3)			35 13 (37.1)	14 6 (42.9)	21 7 (33.3)			35 13 (37.1)
合計	1 1 (100.0)	56 46 (82.1)	44 31 (70.5)	16 11 (68.9)	117 89 (76.1)	33 15 (45.5)	71 26 (36.6)	67 23 (34.3)	3 0 (0.0)	174 64 (36.8)	34 16 (47.1)	127 72 (56.7)	111 54 (48.6)	19 11 (57.9)	291 153 (52.6)

注) 上段: 矮化調査品種数、下段: 矮化品種数、(): 矮化品種率で%

表4 市場出荷物から収集した産地別CSVd保毒品種数

種類	品種数	保毒品種数	CSVd保毒品種率 (%)	うち高濃度保毒	
				品種数	CSVd保毒品種率 (%)
A国	3	1	33.3	0	0.0
B国	7	5	71.4	4	57.1
C県	50	15	30.0	3	6.0
D県	11	2	18.2	0	0.0
E県	2	0	0.0	0	0.0
F県	2	1	50.0	0	0.0
G県	7	1	14.3	0	0.0
H県	6	1	16.7	0	0.0
I県	4	2	50.0	0	0.0
延べ合計	92	28	30.4	7	7.6
うち2産地重複	8	2			
うち3産地重複	2	2			
実合計品種数	80				

表5 ほ場におけるキクの種類別・生態的分類別・年次別による矮化品種数

種類	生態的分類	2010年			2011年			合計		
		品種数	矮化品種数	矮化品種率 (%)	品種数	矮化品種数	矮化品種率 (%)	品種数	矮化品種数	矮化品種率 (%)
輪ギク	秋ギク	0	0	-	12	5	41.7	12	5	41.7
	夏秋ギク	1	1	100.0	4	2	50.0	5	3	60.0
スプレーギク	秋ギク	30	2	6.7	19	1	5.3	49	3	6.1
	夏秋ギク	26	12	46.2	25	6	24.0	51	18	35.3
小ギク	秋ギク	0	0	-	9	5	55.6	9	5	55.6
	夏秋ギク	29	7	24.1	42	13	31.0	71	20	28.2
合計	秋ギク	30	2	6.7	40	11	27.5	70	13	18.6
	夏秋ギク	56	20	35.7	71	21	29.6	127	41	32.3

表6 キクの種別・生態的分類別・年次別のRT-PCR/電気泳動法による保毒品種数

種類	生態的分類	2010年			2011年			合計		
		品種数	保毒品種数	矮化品種率 (%)	品種数	保毒品種数	矮化品種率 (%)	品種数	保毒品種数	矮化品種率 (%)
輪ギク	秋ギク	0	0	—	28	2	7.1	28	2	7.1
	夏秋ギク	1	1	100.0	5	0	0.0	6	1	16.7
スプレーギク	秋ギク	30	18	60.0	43	5	11.6	73	23	31.5
	夏秋ギク	26	17	65.4	28	2	7.1	54	19	35.2
小ギク	秋ギク	0	0	—	11	3	27.3	11	3	27.3
	夏秋ギク	44	26	59.1	56	9	16.1	100	35	35.0
ポットマム等	秋ギク	10	2	20.0	3	0	0.0	13	2	15.4
	夏秋ギク	6	6	100.0	0	0	—	6	6	100.0
合計	秋ギク	40	20	50.0	85	10	11.8	125	30	24.0
	夏秋ギク	77	50	64.9	89	11	12.4	166	61	36.7

表7 キクの種別・生態的分類別・年次別のRT-PCR/ハイブリダイゼーション法による保毒品種数

種類	生態的分類	2010年			2011年			合計		
		品種数	矮化品種数	矮化品種率 (%)	品種数	矮化品種数	矮化品種率 (%)	品種数	矮化品種数	矮化品種率 (%)
輪ギク	秋ギク	0	0	—	28	12	42.9	28	12	42.9
	夏秋ギク	1	1	100.0	5	3	60.0	6	4	66.7
スプレーギク	秋ギク	30	22	73.3	43	17	39.5	73	39	53.4
	夏秋ギク	26	24	92.3	28	9	32.1	54	33	61.1
小ギク	秋ギク	0	0	—	11	5	45.5	11	5	45.5
	夏秋ギク	44	31	70.5	56	18	32.1	100	49	49.0
ポットマム等	秋ギク	10	5	50.0	3	0	0.0	13	5	38.5
	夏秋ギク	6	6	100.0	0	0	—	6	6	100.0
合計	秋ギク	40	27	67.5	85	34	40.0	125	61	48.8
	夏秋ギク	77	62	80.5	89	30	33.7	166	92	55.4

考 察

栽培ギクでのCSVdによる被害報告をする産地は最近になって増加しており、全国的に拡大傾向にあるといえる³⁻¹²⁾。正確な状況を把握するためには、感染源となる宿主の特定と感染範囲に関する調査が急務となっている。これまでにそれぞれの都道府県単位でCSVd発生状況調査が行われており、調査を実施した各都道府県ではいずれも発生が認められた³⁻¹¹⁾。一方、愛知県においては、CSVdの発生について検定を実施した事例は報告されている¹¹⁾が、県内全体を対象とした網羅的調査は実施されていなかった。本試験では、栽培ギクにおけるCSVdの保毒実態を明らかにするため、2年間にわたって県内主要産地7市町において病徴による矮化発生率を調査するとともに、県内主要産地8市町のほ場から収集した無病徴の291品種のCSVd保毒率について調査を実施した。その結果、輪ギク、スプレーギク、小ギクの197品種中54品種(27%)でほ場での矮化が認められた。生態的分類による開花時期別(秋ギク、夏秋ギク)とキクの種別(輪ギク、スプレーギク、小ギク、ポットマムなど)のCSVdの保毒について、開花時期による傾向が若干見られたが、これらが種別、開花時期別によるのか、個別の品種の感受性によるのかは本試験では判然としなかった。

2年間の調査によって、外観的に健全な検体291品種について、RT-PCR/電気泳動法によりCSVd保毒が確認され

た高濃度保毒品種率は31%、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法により判定された低濃度保毒品種率は53%となり、健全な外観の株の中にも病徴を示さないレベルの保毒株が相当数含まれている状況が推察された。これらはいずれも外観的に病徴を示していない個体から収集しており、RT-PCR/電気泳動法によりCSVd保毒が確認された高濃度保毒品種率はキク体内でのCSVd濃度は比較的高いが、発病に至っていない個体であると考えられる。これらの品種を含んだ197品種についてほ場で矮化株を確認したところ27%の品種で矮化株が発生していた。これらの病徴を示した株はキクの体内においてもCSVdは高濃度であると推察され、すぐにほ場から撤去するとともに残渣が2次感染源とならないように焼却などによって処分するのが望ましい。RT-PCR/ハイブリダイゼーション法により判定された低濃度保毒品種率は53%で、これらの個体がすぐに発病を誘発する感染源となるとは考えにくい。栽培条件等によってキク体内のCSVd濃度が上昇する可能性はある。今後、環境条件とCSVd濃度の推移および発病の関係について明らかになるまでは、健全個体の中にこれらのCSVd低濃度保毒個体が含まれることに留意が必要である。CSVd保毒の有無は外観で判断できないため、矮化株が発生した場合、ほ場内には相当数の低濃度保毒個体の存在が推測される。

また、地方卸売市場に出荷された生産物を対象とした調査は、限られた産地の検体で検討しているため全体を推察することは難しいが、今回供試したほとんどの産地(県、国)で保毒品種が確認され、これらの産地にお

る潜在的な保毒株の蔓延が危惧される。RT-LAMP法での検出時間を大まかな基準にして保毒の程度を推察したところ、地方卸売市場で収集した92品種のうち、濁度上昇の時間が40分以内で高濃度保毒と考えられた品種は7品種であった。また、CSVd保毒と判定をしたうちの残り21品種は濁度上昇が40～50分の保毒であった。さらに、92品種のうち10品種について、複数産地・産地から同一品種を収集しており、このうち4品種は異なった産地から収集した品種が高濃度あるいは保毒と判定した(表3)。細川ら¹⁵⁾や森本と松下¹⁶⁾は品種によってCSVdに対する感染性に差異があることを示しており、本試験において複数産地で保毒が確認された4品種も罹病しやすい品種であった可能性が示唆される。

以上のように、本県内の栽培ギクに関してCSVdの保毒状況を調べたところ、比較的高濃度と判断できるCSVd保毒品種は全体の27%、また地方卸売市場に出荷された2国・7県産のギクも30%の品種でCSVdの保毒が確認できた。また、潜在的な保毒と判断される低濃度保毒品種は県内の栽培ギクの53%で確認されたが、これらはすぐに発病する感染源となりにくいと考えられる。これらはいずれ矮化の病徴を示す可能性があり、栽培ほ場で矮化個体を見つけた場合はすぐに抜き取るなどの対応や、汁液感染を防ぐために鉢等の器具を消毒するなどの対策を取り、CSVd保毒個体の発生低減を図るよう留意すべきである。

謝辞: 本研究を行うに当たり株式会社名港フラワーブリッジの橋本実氏、細川浩邦氏はじめサンプリングに協力いただいた方々、また、市場との調整をしていただいた愛知名港花き卸売事業協同組合事務局の鈴木義則氏に対し、ここに感謝の意を表す。

引用文献

- Dimock, A. W. Chrysanthemum stunt. New York State Flower Growers Bull. 26, 2(1947)
- Bouwen I. and Van Zaayen A. Chrysanthemum stunt viroid. VIROIDS. CRISO PUBLISHING. Australia. p. 218-223(2003)
- 大沢高志, 森田儔, 森喜作. キクウイルス病の防除に関する研究 2. 指標品種への接ぎ木接種によるウイルスの検定. 日植病報. 43, 372-373(1977)
- Sano, T. Viroids in Japan. VIROIDS. CRISO PUBLISHING. Australia. p. 286-311(2003)
- 天野正之. 研究成果. 211農林水産技術会議. 東京. p. 40-44(1988)
- 土井誠, 加藤公彦. 静岡県で発生したキクわい化ウイルス(CSVd)の塩基配列とキク品種の病徴. 関西病虫研報. 46, 11-14(2004)
- 森山美保, 杉浦広幸, 蒲田洋次, 花田薫. 熊本県のキクから検出されたキク矮化ウイルス. 九病虫研会報. 42, 45-47(1996)
- 杉浦広幸, 花田薫. 新潟県の大輪ギクに発生したキクわい化ウイルスによる病害. 園学雑. 67, 432-438(1998)
- 花田薫, 酒井淳一. 九州・沖縄で発生したキクわい化ウイルスの塩基配列. 九病虫研会報. 47, 43-45(2001)
- 山本英樹. 秋田県農試特別報. 48, 99-119(2008)
- 深谷雅博, 花田薫, 栃原比呂志, 宮川寿之. 愛知県におけるキク矮化病の発生とキク矮化ウイルスの検出. 日植病報. 51(3), 356(1985)
- 松下陽介. 園芸植物における日本国内でのウイルスの発生分布と変異体の感染性. 花き研報. 11, 9-48(2011)
- Hosokawa, M., Matsushita, Y., Uchida, H. and Yazawa, S. Direct RT-PCR method for detecting two chrysanthemum viroids using minimal amounts of plants tissue. J. Virol. Meth. 131, 28-33(2005)
- 福田至朗, 新美善久, 大石一史, 吉村幸江, 穴井尚子, 堀田真紀子, 深谷雅博, 加藤俊博, 大矢俊夫, 神戸三智雄. 2種のウイルスとキクスタントウイルスを検出するreverse transcription loop-mediated isothermal amplification(RT-LAMP)法の開発. 関西病虫研報. 47, 31-36(2005)
- 細川宗孝, 鍋島朋之, 矢野志野布, 大石一史, 土井元章. キクわい化ウイルスに抵抗性を持つキク品種の探索. 園学研. 10別1, 204(2011)
- 森本正幸, 松下陽介. スプレーギク品種間におけるキクわい化ウイルスの感染性差異. 園学研. 11別2, 523(2012)