

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

杉浦広幸¹・花田 薫²

¹ジョモケニアッタ農工大学, P. O. Box 62000 Nairobi Kenya

²農林水産省九州農業試験場 861-1192 熊本県菊地郡西合志町

Chrysanthemum Stunt Viroid, a Disease of Large-flowered Chrysanthemum in Niigata Prefecture

Hiroyuki Sugiura¹ and Kaoru Hanada²

¹Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, P. O. Box 62000 Nairobi, Kenya

²Kyushu National Agricultural Experiment Station, Nishigoushi Kikuchi-gun, Kumamoto 861-1192

Summary

A disease of large-flowered chrysanthemum plants with characteristic stunting symptoms was observed in Niigata Prefecture in 1988. Chrysanthemum stunt viroid (CSVd) was transmitted from those plants by grafting onto 'Mistletoe', and it was confirmed by electrophoretic analysis of nucleic acid. Although it has been reported that CSVd-infected spray-type chrysanthemum flowered up to 2 weeks earlier than the non-infected, CSVd-infected chrysanthemum cultivars used in this study flowered 1 to 2 weeks later with bearing anemone-type abnormal shaped flowers. In the cultivar 'Senryomusume', CSVd was not detected from the winter rosette sucker of infected plants in 50 to 61 % of plants tested. Subsequent assays indicated that by vegetative propagation during a period of low temperature, CSVd could be eliminated. We found that sap transmission rate was different among varieties tested and that CSVd was not transmissible to healthy plants from infested soil. After RT-PCR amplification of CSVd, a 354 nucleotide sequence was determined which is comparable with that of the English and Australian types.

Key Words: Chrysanthemum, viroid, temperature.

緒 言

キクわい化ウイルス (*Chrysanthemum stunt viroid* : CSVd) は、キク (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitam) の切り花に大きな品質低下をもたらす。1988年頃より新潟県でのキク生産地において、夏秋ギク型の大輪ギク品種「千両娘」などに特異的な生育障害が発生した(第1図)。その主な症状は、1) 1~2週間の開花遅延、2) 開花期の20cm程度の草丈のわい化、3) 葉の小型化と茎径の縮小、4) 花型の丁字型化であった。これらの症状はキクの窒素欠乏症 (Gosling, 1964) やモリブデン欠乏症 (Messing・Owen, 1954) と類似していたため、発生当初は土壌障害によるものと考えられた。しかし障害による被害が当初は特定の作付圃場内で部分的な発生であったが、次第に周辺に拡大する傾向が見られたため、伝染性病害の可能性が示唆された。前述の2)と3)の症状は、Dimock (1947) の報告したCSVdのそれと類似していた。しかし、Hollings・Stone (1973) の報告ではCSVdの感染によって開花が

早まるとされていたが、今回の症状では開花遅延であり異なっていた。また、上記の症状4)は、従来の報告 (Hollings・Stone, 1973; 高橋, 1985) には見られないものであった。

CSVdは、わが国では花田ら (1982) が最初にキクから分離したことを報告し、その後全国的に発生が報告されている (天野, 1988; 楠, 1992)。前述の生育障害株もCSVdによることが予想されたため、CSVd検定用キク品種「ミスルトー」を接ぎ木した結果、「ミスルトー」にCSVd特有の黄斑が現れ、本障害がCSVdに起因するものであることが明らかになった。

わが国に発生しているCSVdは接触伝染や接ぎ木伝染すること、高温条件で発病しやすくなることや高温条件下で長期間処理しても無毒化されないと報告されている (枋原, 1978; 高橋, 1992)。しかし、キク品種間での病徴の差の有無や土壌伝染の有無は明確でない。また塩基配列についてはいくつか報告 (Grossら, 1982; Haseloff・Symons, 1981; 塩飽ら, 1996; 森山ら, 1997) があるが、それらは数塩基ずつ異なっていた。当初わが国では無病徴の株からCSVdが検出されていた (花田ら, 1982) ため、品種の転換を迫られるような大

1996年7月29日 受付、1997年8月15日 受理。

本報告の一部は植物病理学会1993年度大会において発表した。

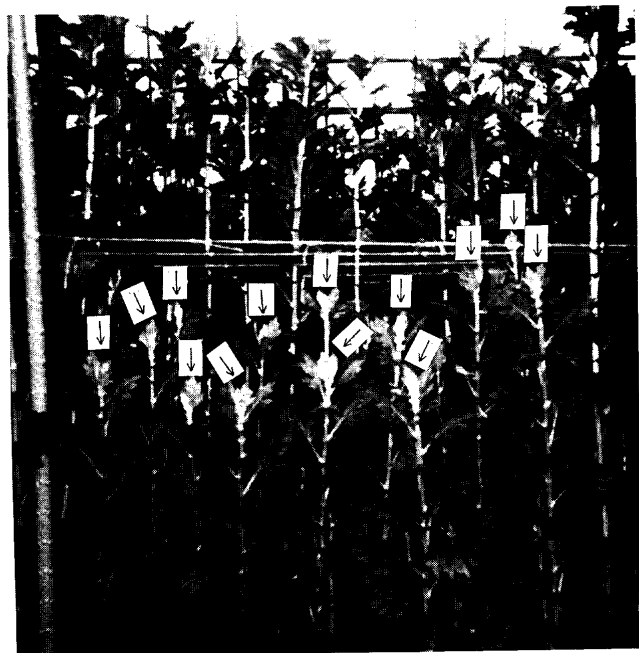


Fig. 1. Vegetative stage of chrysanthemum plants cv. Hoshinokagayaki with typical CSVd symptoms (↓).

きな被害を出すものとは認識されていなかった。

そこで本研究では、CSVd による病害の拡大を明らかにし、CSVd 感染に対する品種間差異、キクを低温にさらすことから CSVd の無毒化につながる可能性のある冬至芽の無毒化の程度、土壌伝染性の有無などを検討した。また、それらの CSVd の塩基配列を決定した。

材料および方法

1. ‘ミスルトー’の接ぎ木による CSVd の検定

新潟県内（新潟市、中の島町および水原町）で採集した CSVd 様症状を呈した ‘千両娘’、‘星の輝’、‘銀水’、‘岩清水’および ‘晴山’ と、それらと同じ圃場に栽培されていた ‘明錦’、‘さんご’、‘精海’、‘精雲’、‘金鶏’ および ‘サマーイエロー’ の計 11 品種の大輪ギクを供試した。CSVd 様の症状を呈さなかった品種は、なるべく生育不良の株を供試した。それらの株に、Dimock (1947) の手法に従い CSVd 検定用のキク ‘ミスルトー’ を接ぎ木して 1~2 か月後に現れる黄色小斑点の有無によって CSVd 保毒の有無を判定した。さらに大輪ギクへの感染が、小輪ギクおよびスプレーギクの不顕性感染株からおきたかどうかを検討するため、同地域で栽培されている小輪ギク 2 品種およびスプレーギク 30 品種についても CSVd 保毒の有無を同じ手法で検定した。接ぎ木はカミソリとパラフィルムを用いて割り接ぎし、汁液による伝染を防ぐためカミソリは使用の度に必ず熱消毒した。検定は寒冷紗で全面を被覆した隔離施設内で行い、毎週薬剤散布を行ってアブラムシなどの発生を防止した。

2. ポリアクリルアミドゲル電気泳動による CSVd の検定

(1) RNA の抽出と検定

供試材料として大輪ギク品種 ‘千両娘’ および ‘銀水’ の罹病葉または接ぎ木後に、黄斑症状を呈した ‘ミスルトー’ の罹病葉を供試した。また、生物検定によりモザイク症状を呈した ‘精雲’ や、生育不良を呈した ‘サマーイエロー’。さらに、感染源調査のため生育不良のスプレーギク品種 ‘メロディー’ および ‘ゴールド’ の株の葉も供試した。花田ら (1988) の方法に従い、キク葉から RNA を抽出して 5% ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動 (PAGE) により CSVd の検出を行った。CSVd 感染が確認されているキク品種 ‘星の輝’ から抽出した RNA を対照として同時に泳動した。分子量マーカーには、野菜・茶業試験場で保存されていた CSVd の RNA (‘精流’ より抽出) およびキュウリモザイクウイルスのサテライト RNA (塩基数 386) を用いた。これらの罹病株から得られた CSVd の RNA のバンドの位置と ‘ミスルトー’ による接ぎ木検定の結果を比較した。

(2) 戻し接種

供試品種として ‘千両娘’ および ‘銀水’ を用いた。それらの CSVd 罹病株から前項と同様の手法で CSVd 特有のバンドを得、それらについてフェノールとクロロホルムにより RNA を抽出した。その RNA を TNE (0.1 M NaCl, 20 mM Tris and 5 mM EDTA, pH 8.5) に溶かし、各々の RNA の由来と同じ品種の健全株へ、ナイフにより切りつけ接種した。それらの接種株に ‘ミスルトー’ を接ぎ木して感染の有無を検定した。接種は春 (5 月上旬) と秋 (9 月中旬) の 2 回各品種 8 株行い、病徴の発現様相を接種 2 か月後から 8 か月後までの 6 か月間観察した。

3. 伝染方法の検定

(1) 汁液伝染性

供試品種として ‘サマーイエロー’、‘精雲’、‘千両娘’ および ‘銀水’ を用いた。‘星の輝’ の CSVd 発病葉の汁液を、これらの健全株の葉に傷付けて接種した。接種後、その日のうちに接種した枝の先端に健全 ‘ミスルトー’ を接ぎ木し、‘ミスルトー’ の発病を観察した。検定には、各品種 12 株を供試した。

(2) 土壌伝染性

供試品種として ‘星の輝’ を用いた。試験圃場には、CSVd 発病株と健全株をそれぞれ 6 か月間栽培していた圃場を用いた。発病株を栽培していた圃場は、発病株の抜き取り直後の定植区および抜き取り 1 か月後の定植区に分けて試験を行った。これらの区に、それぞれ ‘星の輝’ の健全株を 1 区当たり 42 株ずつ定植した。定植した健全株の CSVd への感染を確認するため、それらすべての株の 1 吸枝に ‘ミスルトー’ を接ぎ木した。‘ミスルトー’

一'の病徴の発生様相を定植後1か月後から2か月毎に6か月間観察し、残根からのCSVdの土壌伝染性の有無を調査した。

4. 冬至芽の無病化度の検定

(1) 冬至芽の無病化度の検定

供試品種として'千両娘'および'銀水'を用いた。CSVd保毒株および健全株から12月に採取した冬至芽を各々分けて無加温ハウス内で約3か月間十分な低温に遭遇させた。それらの株の茎が伸長しはじめた4月に'ミスルトー'を接ぎ木し、1~2か月後に病斑の発生様相を調べた。病徴の観察は'千両娘'では3年間、'銀水'では2年間継続した。無病化度の検定は、1芽について各3回反復した。

(2) 吸枝の冷蔵処理の影響

冬至芽にみられたCSVdの無病株の出現が低温処理のみに由来するかどうかを検討するため、'千両娘'および'銀水'を用いて、以下の実験を行った。これらの発病株の吸枝を2℃、1か月間の冷蔵処理を行ったのち、'ミスルトー'を接ぎ木し、病斑の発生の有無を4か月間調査した。

5. CSVdのクローニングと塩基配列の解析

'銀水'の発病株の核酸からPAGEにより得たCSVdのバンドからRNAを1%のSDSを含むTNEと等量のフェノールにより抽出後、それらのRT-PCR法(楠ら, 1993)によりCSVdのcDNAを増幅した。得られた増幅産物をプラスミドベクターp-Bluescriptとライゲーションの後、大腸菌(JM 109)のコンピテントセルに形質転換した。得られた白色コロニーを増殖し、それらよりプラスミドを抽出し、アガロースゲル電気泳動によって導入遺伝子の存在を確認した。塩基配列の解析は、ジデオキシ法(Sangerら, 1977)により行った。プライマー部分の配列を確認するため、CSVdイギリス株の101~120番目の配列と同じものと81~100番目の配列と相補的なプライマーを用いてRT-PCRを行い、クローニングにより塩基配列を解析した。

結 果

1. 'ミスルトー'の接ぎ木によるCSVdの検定

新潟県内で採集した大輪ギクの特徴的な病徴は、1~2週間の開花遅延、開花期における草丈の約20cmのわい化、茎葉のわい小化、病徴の激しい場合は花型の丁字型化などであった。これらの株に'ミスルトー'を接ぎ木したところ、CSVd特有の黄斑が多数認められた。一方、無病徴の大輪ギクに接ぎ木した場合、'ミスルトー'には黄斑は全く認められなかった。生物検定でCSVdによる病害であることが確認された品種は'千両娘'、'銀水'、'晴山'、'星の輝'および'岩清水'の5品種であった(第1表)。「サマーイエロー」などの3品種では、接ぎ木した

Table 1. Flower-type change and Mistletoe-indexing among chrysanthemum cultivars in Niigata Prefecture.

(type) Cultivar	Change of flower type ¹	Disease symptoms on grafted cv. Mistletoe ²
(Large-flowered)		
Akenishiki	—	+
Ginsui	+	++
Hoshinokagayaki	—	++
Iwashimizu	+	++
Kinsu	—	—
Sango	—	+
Seikai	—	—
Seiunn	—	+
Seizan	+	++
Senryomusume	+	++
Summer Yellow (Small-flowered)	—	—
Hakusan	—	—
Yumito Queen (Splay)	—	—
Arietta	—	—
Alps	—	—
Canaria	—	—
Cream Pinky	—	—
Dark Pink Frnak	—	—
Dark Westland	—	—
Encore	—	—
Fidesa	—	—
Fidusia	—	—
Flamingo	—	—
Frost	—	—
Gold	—	—
Gem	—	—
Lemon	—	—
Melody	—	—
Microp	—	—
Moonlight	—	—
Morning Sun	—	—
Parliament	—	—
Pink Frank	—	—
Pinky	—	—
Show Girl	—	—
Snow Queen	—	—
Sopring Song	—	—
Statesman	—	—
Si..er Queen	—	—
Spring Song	—	—
Statesman	—	—
Summer Queen	—	—
Sujy	—	—
Sunny Orange	—	—
Westland Yellow	—	—
White Bouquet	—	—

¹ +: Changed from large-flowered type to anemontype. —: No symptom.

² ++: Cultivar yellow spot. +: Mosaic. —: No symptoms. Each cultivar was tested 3 times.

'ミスルトー'に病斑は全く認められず、不顕性感染は認められなかった。また、同様に上記の病徴の認められなかった小輪ギクおよびスプレーギクの計32品種では、病斑は全く認められなかった。

2. アクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) による CSVd の検定

(1) RNA の抽出と検定

生物検定によって感染が確認された‘星の輝’の葉から抽出した異常株に特異的な RNA は PAGE により、野菜・茶業試験場保存株の RNA に含まれる CSVd と同じ泳動度を示した (第2図-A)。CSVd 特有のバンドは、‘千両娘’、‘銀水’、‘岩清水’およびそれらに接ぎ木した‘ミスルトー’からも PAGE で検出された。一方、生物検定で保毒が確認されなかった株からは、該当するバンドは検出されなかった。また、生物検定でモザイク症状を呈した‘精雲’や、伸長不良株の‘サマーイエロー’および‘メロディー’から、いずれも CSVd に該当するバンドは検出されなかった (第2図-B)。

(2) 戻し接種

5月上旬の接種では、接種2か月後までは病斑は全く認められなかったが、3か月後には‘銀水’では4株すべてが、‘千両娘’では4株中3株に病斑が認められた。

9月中旬の接種では、全品種のすべての株で接種5か月後までは‘ミスルトー’に病斑は全く見られなかったが、その中‘銀水’では8か月後に8株中3株に黄斑が認められた。病斑数は高温期の検定結果と比較すると約2割程度と少なかった。その後、新葉の黄斑数は‘ミスルトー’の生育に伴って増加した。

3. 伝染方法の検定

(1) 汁液伝染性

‘千両娘’および‘銀水’の CSVd 接種株に接ぎ木した‘ミスルトー’では、病斑は接種2か月後まで全く認められなかったが、5~6か月後には全品種で1~2割の株に病斑が確認された。それらの病斑の数は発病株に接いだ場合の約2割であったが、時間の経過に伴って増加していった。さらに、7か月後には‘千両娘’の58%の株、および‘銀水’のすべての供試株に特徴的な病斑が現れた。しかし、‘サマーイエロー’および‘精雲’では、全く病斑は認められなかった (第2表)。

(2) 土壌伝染性

いずれの区および時期にも、それらに接ぎ木した‘ミスルトー’には病斑は認められなかった。

Table 2. Sap transmission of CSVd.

Cultivars	Percent of infection (%)
Senryomusume	58
Ginsui	100
Summer-Yellow	0
Seiun	0

All data were obtained after 7 months after planting. 42 plants were tested for each cultivar.

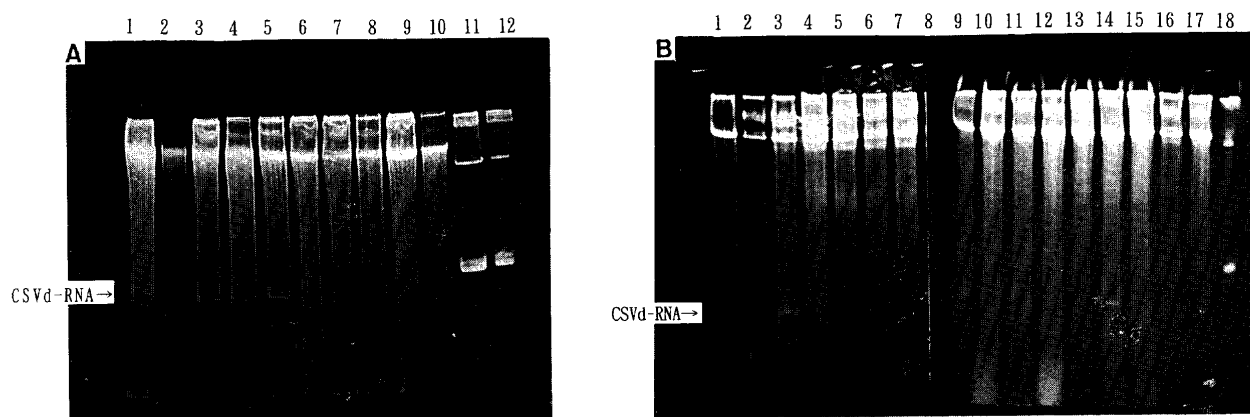


Fig. 2. Polyacrylamide gel after electrophoresis to detect CSVd in infected chrysanthemum plants.

A. Lane 1: RNA from infected ‘Seiryuu’ obtained from the National Research Institute of Vegetable and Ornamental Plants and Tea. Lane 2: RNA from non-infected ‘Hoshinokagayaki’. Lane 3: RNA from infected ‘Hoshinokagayaki’. Lane 4: RNA from infected ‘Hoshinokagayaki’. Lane 5: RNA from infected sucker of ‘Hoshinokagayaki’. Lane 6: RNA from non-infected ‘Senryomusume’. Lane 7: RNA from non-infected ‘Senryomusume’. Lane 8: RNA from non-infected ‘Senryomusume’. Lane 9: RNA from infected sucker of ‘Senryomusume’. Lane 10: RNA from non-infected ‘Senryomusume’. Lane 11 and 12: CMV-RNA with satellite RNA.

B. Lane 1: RNA from non-infected ‘Mistletoe’. Lane 2: RNA from ‘Mistletoe’ grafted onto non-infected Senryomusume. Lane 3: RNA from ‘Mistletoe’ grafted onto infected ‘Senryomusume’. Lane 4: RNA from non-flowering plantlet of ‘Gold’. Lane 5: RNA from plant with mosaic symptoms of ‘Melody’. Lane 6: RNA from normal plant of ‘Summer Yellow’. Lane 7: RNA from stunted plant of ‘Summer Yellow’. Lane 8: No sample. Lane 9: RNA from infected ‘Mistletoe’. Lane 10: RNA from normal plant of ‘Seiun’. Lane 11: RNA from plantlet with mosaic symptoms of ‘Seiun’. Lane 12: RNA from infected ‘Iwashimizu’. Lane 13: RNA from non-infected ‘Iwashimizu’. Lane 14: RNA from infected ‘Senryomusume’. Lane 15: RNA from non-infected ‘Senryomusume’. Lane 16: RNA from infected ‘Ginsui’. Lane 17: RNA from non-infected ‘Ginsui’. Lane 18: CMV-RNA with satellite RNA (386 Bp.)

4. 冬至芽の無病化度の検定

(1) 冬至芽の無病化度の検定

‘ミスルトー’に黄斑が認められた株の発生率は、‘千両娘’の冬至芽では調査した3年間を通じ50.0～61.3%であり、冬至芽由来の株の半数近くがCSVdが無病であった(第3表)。一方、‘銀水’では調査1年目は92.5%、同2年目は96.7%の株で病斑が認められ、冬至芽におけるCSVdの無病化度は、品種により著しく異なった。

(2) 吸枝の冷蔵処理の影響

‘ミスルトー’の発病率は、‘千両娘’では冷蔵処理区(42.9%)は無処理区(41.2%)に比べて1.7%高く、冷蔵による無病化率の向上は見られなかった(第4表)。一方‘銀水’では冷蔵処理区(82.4%)が無処理区(88.9%)に比べ4.7%低く、冷蔵処理によりわずかに無病化率の向上が示唆された。

5. CSVdのクローニングと塩基配列の解析

CSVdに感染したキクから抽出した核酸を用い

RT-PCRで増幅後、PAGEで解析した結果、MonomerのほかにDimerが認められた。Monomerの塩基配列を解析した結果、既報(Grossら, 1982; Haseloffら, 1981)と比較すると最初の3塩基が欠失していたため、クローニングサンプルにDimerを用いた。Dimer由来の7コロニーのすべてでCSVdのインサートが確認された。これらのうち4サンプルの塩基配列を解析した結果、その配列数は354塩基で、イギリス型(Grossら, 1982)と一致し、356塩基のオーストラリア型(Haseloff・Symons, 1981)と同じ塩基数のものは認められなかった。また塩基配列は、上記のイギリス型と2カ所の塩基について異なった。すなわち、103番目の塩基が、イギリス型のグアニン(G)からシトシン(C)になり、254番目の塩基が同アデニン(A)からウラシル(U)に、それぞれ置換していた(第4図)。

考 察

新潟県で見いだされたCSVdによる病害の発生は、いずれもキクの大規模産地に限られている。これらの地域の種苗は、県外からの購入が頻繁な地域で、保毒株が外部から持ち込まれる機会が多かったと考えられる。CSVd病害の発生は、他県においても報告されており(楠, 1992; 楠ら, 1993; 塩飽ら, 1996; 森山ら, 1997)、国内各地に発生していることが予想された(天野, 1988)。本県で発生したCSVdは、PAGEでは既報(花田, 1988)のCSVdと同じ泳動度であった。また、塩基配列の解析結果から、Grossら(1982)が報告したイギリス型の塩基数(354)と同じであった。最近わが国のCSVdの塩基配列が報告されているが、新潟県のCSVdの塩基数は、塩飽ら(1996)が最近報告した兵庫県の子で発生したCSVdとも一致していた。一方、森山ら(1997)が最近報告した熊本県で発生したCSVdの塩基数はオーストラリア型と同じ356塩基であり、本県のCSVdとは異なった。本県で発生したCSVdの塩基配列は254番目がイギリス型と置換していたが、この

Table 3. CSVd detection in rosette sucker after wintering.

Cultivars	Tested year	No. of tested	Percent of infection (%)
Senryomusume	1990	150	61.3
Senryomusume	1991	30	50.0
Senryomusume	1992	44	59.1
Ginsui	1992	52	92.5
Ginsui	1993	30	96.7

Data were obtained after 1 to 2 month grafting.

Table 4. Loss of CSVd after low temperature storage.

Cultivars	Cold storage ¹⁾	No. of tested	Percent of infection (%)
Senryomusume	+	42	42.9
Senryomusume	- ²⁾	41	41.2
Ginsui	+	52	84.2
Ginsui	-	52	88.9

¹⁾ Plants were stored at 2 °C for 30 days.

²⁾ Cold stored. - Control.

Data were obtained after 2 month of grafting.

```

1
CGGGACUUAUUGUGGUUCCUGUGGUGCACUCCUGACCCUGCUGCUUGGAAAGAAAAAGAAUGAGGCGAAGAAGUCCUUCAGGGAUCCC          90
91
CGGGGAAACUUGCAGGAAGUCCGACGAGAUCCGCGGUGGGGCUUAGGACCCACUCCUGCGAGACAGGAGUAAUCCUAAACAGGGUUUUC          180
181      ↑
ACCCUCCUUUAGUUUCCUUCUCCUGGAGAGGUCUUCUGCCUAGCCCGGUCUUUGAAGCUUCCUUUUGGCUACUACCCGGUGGAAAC          270
271
AACUGAAGCUUACAAGCCUUUUUUUCCAAUCUUCUUUAGCACCGGGCUAGGGAGUAAAGCCCGUGGAACCUUAGUUUUUUUUUU          354
                                     ↑

```

↑...change from England type

Fig. 3. CSVd sequence from infected plantlet of ‘Senryomusume’ in Niigata prefecture. Substitution of England type; 103 base (G→C), 254 base (A→U).

結果は兵庫県および熊本県のもものと一致していた。また、本県の CSVd は 103 番目の塩基もイギリス型と置換していたが、これは兵庫県および熊本県の報告には見られなかった。これらの結果から、わが国で最近発生している CSVd の塩基配列はイギリス型やオーストラリア型を基本としているが、一部の配列が異なったいくつかのタイプに分かれていると考えられる。今回、本県の大輪ギクに発生した CSVd 病害の特徴は、既報 (Hollings・Stone, 1973) のそれと比較すると、発生は大輪ギクに限られ、開花期の遅延および花型の丁字型化などの点で明らかに異なっていた。これらの差異の原因は不明であるが、2 塩基の置換によることも考えられ、今後検討を必要とする。また、分離株間による塩基配列の差異、わが国における塩基配列の異なる CSVd の地理的分布などについても、今後解明する必要がある。

わが国のキク栽培では冬至芽が利用されている。本研究において、罹病株の冬至芽の中に CSVd の病徴を示さないものがあった。その原因は、低温による CSVd の増殖抑制と吸枝への CSVd の移行阻害のいずれかであると考えられた。CSVd の濃度は、低温処理によって低下することが既に報告されている (Singh ら, 1992)。従って、冬至芽の利用により CSVd の濃度が自然に低下する可能性が高いと考えられる。本研究において、'千両娘' の CSVd 罹病株から生じた冬至芽の約 60% は生物検定で CSVd が検出されなかった。戻し接種実験における病徴の発現は、9 月に接種し気温の低い冬を経過したものが、5 月に接種した場合に比べて長期間を要した。この相違は、低温の影響によるものと考えられた。しかし、CSVd 罹病株の吸枝を冷蔵処理した実験では、その保毒率に対する冷蔵の影響は明確に認められなかった。この結果から、冬至芽における保毒消失の原因は低温だけではなく、CSVd の増殖が吸枝の分化・生長に追いつけないことも大きな要因であることが示唆された。本研究における CSVd 病害の発生は、高温期に採花するキクにのみ見られている。そのため、低温によって CSVd の増殖が抑制されていることは考えられる。そのため、1 カ月の低温処理では CSVd の十分な増殖や移行を抑制するためには不十分であったかもしれないので、更に検討が必要である。

茎頂培養により CSVd 無病株が 40% 程度の確率で作出が可能であると報告されている (Bachleier ら, 1976; Paduch-Cichal・Kryczynski, 1987)。本研究では、冬至芽における CSVd の保毒性を検討した結果、冬至芽の CSVd 無病化率には品種間差が見られ、50~60% の高率となる品種もあった (第 3 表)。それらの無病株は、隔離圃場で 2 年後でも発病が見られなかったことから、冬至芽の利用による積極的な CSVd 無病株作出の可能性が示唆された。しかし、冬至芽の伝染についての実験だ

けでなく、汁液伝染の実験結果でも著しい品種間差があったことから、冬至芽の利用は品種を検討して行う必要があると思われた。

CSVd の土壌伝染は、本実験では認められなかった。一方、罹病株の汁液接種実験により、CSVd が汁液伝染することは山口 (1979) によって明らかにされている。そのため、抜き取り後の残根より汁液伝染する可能性もあると考えられた。従って、CSVd が発生した場合の対策としては、栽培作業中の汁液伝染を防止するため感染の疑いがある株は速やかに抜き取り処分をすることが、その拡大防止に重要であると考えられる。

Dimock (1947) は CSVd の発病には品種間差があると報告している。本研究では '銀水'、'千両娘' など 5 品種で多数の罹病株が認められた。一方、'サマーイエロー' および '精雲' では、CSVd 病害が発生した地域の栽培圃場でも全く発生しなかった。さらに、これらの品種では汁液接種後 3 年間にわたる 'ミスルトー' や PAGE による検定でも CSVd が確認されなかった。このように、わが国のキク品種において CSVd に対する感染に大きな差異があることが明らかになった。今後さらに多くのキク品種について CSVd 感染に対する差を調べることは、CSVd 抵抗性品種育成に役立つと期待される。また、CSVd に対する根本的対策の一つとして、CSVd 抵抗性品種に転換するのが有効と考えられる。

摘 要

新潟県で特定の大輪ギク品種に発生した特異的な生育障害、すなわち草丈のわい化、開花の 1~2 週間の遅延、花型の丁字型化などを起こす CSVd の性質を調査した。'ミスルトー' を用いた生物検定、および RNA のポリアクリルアミドゲル電気泳動による解析の結果、本症が CSVd によるものであると確定した。罹病株から発生した冬至芽からの CSVd の無病化は、2 品種中 1 品種で認められ 50~61% の冬至芽が無病徴であった。汁液接種による CSVd の伝染性については品種間差があり、調査した 10 品種中、5 品種は CSVd 抵抗性であった。土壌伝染性は認められなかった。塩基配列を解析した結果、2 か所でイギリス型と異なっていたが、塩基数は同じであった。

謝 辞 CSVd 検定用品種の 'ミスルトー' は、農林水産省野菜茶業試験場花き第一研究室の清水明美氏より提供いただいた。ここに記して感謝の意を表します。

引用文献

- 天野正之. 1988. キクスタントウイロイド (CSV) の汚染状況の調査. p. 40-44. 病原性低分子 RNA の機能解明. 研究成果. 211. 農林水産省技術会議. 東京.
Bachelier, J. C., M. Monsion and J. Dunez. 1976. Possibilities of improving detection of chrysanthemum stunt and

- obtention of viroid-free plants by meristem-tip culture. *Acta Hort.* 59 : 63-69.
- Dimock, A. W. 1947. Chrysanthemum stunt. *New York State Flower Growers Bull.* 26 : 2.
- Gosling, S. G. 1964. *The chrysanthemum manual*. 2nd ed. p. 324. National Chrysanthemum Society London.
- Gross, H., G. Krupp, H. Domdey, M. Raba, P. Jank, C. Lossow, H. Alberty, K. Ramm and H. L. Saenger. 1982. Sequence of chrysanthemum stunt viroid in Europe. *European J. Biochem.* 121 : 249-257.
- 花田 薫. 1988. キクスタントウイルス (CSV) の検出. p. 30-32. 病原性低分子 RNA の機能解明. 研究成果. 211. 農林水産省技術会議. 東京.
- 花田 薫・栃原比呂志・橋本純治・沖村 誠・川田穰一. 1982. わが国のキクから分離されたキク矮化ウイルス. *日植病報* 48 : 131.
- Haseloff, J. and R. H. Symons. 1981. Chrysanthemum stunt viroid: Primary sequence and secondary structure. *Nucleic Acid Res.* 9 : 2741-2752.
- Hollings, M. and O. M. Stone. 1973. Some properties of chrysanthemum stunt, a virus with the characteristic of an uncoded ribonucleic acid. *Ann. Appl. Biol.* 74 : 333-348.
- 楠 幹生. 1992. 香川県におけるキクわい化病の発生実態と診断法. *香川県園芸研究会会報*, 31 : 34-39.
- 楠 幹生・寺見文宏・寺内英貴・十河和博. 1993. 逆転写-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) によるキクわい化ウイルスの検出. *関西病虫研報*, 35 : 7-12.
- Messing, J. H. L. and O. Owen. 1954. The visual symptoms of some mineral deficiencies of chrysanthemums. *Plant Soil* 5 : 101-120.
- 森山美穂・杉浦広幸・蒲田洋次・花田 薫. 1997. 熊本県のキクから検出されたキクわい化ウイルス. *九州病虫研報*, 42 : 45-47.
- Paduch-Cichal, E. and S. Kryczynski. 1987. A low temperature therapy and meristem-tip culture for eliminating four viroids from infected plants. *J. Phytopath.* 118 : 341-346.
- Sanger, F., S. Nicklen and A. R. Coulson. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74 : 5463-5467.
- Singh, R. P., A. Boucher and T. H. Somerville. 1992. Detection of potato spindle tuber viroid in the various parts of potato plant pollinated with viroid-infected pollen. *Plant Dis.* 76 : 951-953.
- 塩飽邦子・山元義久・岩井豊通. 1996. キクわい化ウイルス遺伝子のクローニングと全塩基配列. *関西病虫研報*, 44 : 1-4.
- 高橋 壮. 1985. ウイルス感染症研究の現状. *植物防疫* 39 : 343-350.
- 高橋 壮. 1992. 植物のウイルス病. *北日本病虫研報* 43 : 1-6.
- 栃原比呂志. 1978. 植物の新病原体バイロイド. *農および園*, 11 : 3-7.
- 山口 隆. 1979. キクの無病苗生産に関する諸問題 (2) *農および園*, 54 : 331-335.