

キク矮化ウイルス *Chrysanthemum stunt viroid*

松下 陽介

農業・食品産業技術総合研究機構 野菜花き研究部門

1. はじめに

ウイルス (Viroid) は 200 から 400 塩基程度の短い環状の一本鎖 RNA のみからなる最小の植物病原体であり、ヒト・動物への感染は報告されていない。また、ウイルスはタンパク質をもつが、ウイルスはそれをもたない。そのため、ウイルスの検出ではタンパク質を標的にした検出方法を用いることができるが、ウイルスの検出にはそのような方法を利用することはできない。このことが、ウイルスの早期検出や検出の低コスト化を困難にしている。ウイルスによる病害はほとんどの花き類では発生しないが、キクでは重要病害の一つとなっており、なかでもキク矮化病は全国のキク産地で問題となっている。キク矮化病はキク矮化ウイルス (*Chrysanthemum stunt viroid*; CSVd) がキクに感染することによって引き起こされる病気である。本病害に関する一般的な特性に関する総説については Matsushita (2013) 等を参考にしてほしい。

2. 発生状況・症状・宿主範囲

キク矮化病は我が国では 1977 年に初めて静岡県で発生が確認された。その後、三重県 (1982 年)、香川県 (1993 年)、兵庫県・熊本県 (1996 年)、北海道 (1997 年)、山形県・新潟県 (1998 年)、福岡県・宮崎県・沖縄県 (2001 年) など、各地で発生が報告されており、筆者が行った 2006 年度の全国発生調査によると、一部の地域を除き、ほぼ全国の産地で発生が確認されている。

キク矮化病の主な病徴は植物体全体の生育不良による草丈の矮化症状である。その他、挿し穂の発根不良などが見られ、花の小型化や開花期の早期化または遅延化などがみられる品種も報告されている。一般的に矮化症状は高温時においてよく見られる。

キク矮化ウイルスの宿主範囲はほとんどの栽培ギク品種や野生ギク、ダリア、シネラリアなどのキク科植物、ペチュニアやトマトなどのナス科植物である (表 1)。しかしながら明瞭な病徴を示すのは栽培ギクだけである。現在のところ栽培ギクにおいて種子伝染 (伝染率は数%~90%) は確認されているが (服部ら, 2012)、虫媒伝染や土壌伝染は報告されていない。

微生物遺伝資源探索収集調査「キクわい化ウイルスの探索収集」(2007 年 7 月実施) (松下, 2008) において得られた CSVd は MAFF 260079~MAFF 260082 に登録されており、そのうち CSV-IB1 (MAFF260079) (DDBJ 登録 No. X16408) は国内で最も広く分布している系統である (図 1)。CSVd の研究を実施する際にはこの系統の利用をおすすめする。

表 1. 代表的なキク矮化ウイルス (CSVd) の系統

Hosts	Length	Accession number in DDBJ (Reference)	MAFF に登録されている系統で配列が一致する株
—	356	V01107	
Cineraria	354	M19506	
<i>Petunia hybrida</i>	355	U82445	
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	354	X16408	CSV-IB1 (MAFF 260079)
<i>C. morifolium</i>	354	AB006737	
<i>C. morifolium</i>	354	D88895	
<i>Solanum jasminoides</i>	354	DQ406591	
<i>C. morifolium</i> <i>C. japonense</i> var. <i>japonense</i> , <i>C. weyrichii</i>	354	X16408	CSV-IB1 (MAFF 260079)
<i>C. japonense</i> var. <i>japonense</i> , <i>C. indicum</i> var. <i>indicum</i> , <i>C. makinoi</i> , <i>C. zawadskii</i>	354	M19506	
<i>C. yoshinaganthum</i>	354	AB279770	
<i>C. morifolium</i>	354	AB279771	
<i>Vinca major</i>	355	DQ094298	
<i>Dahlia</i> spp.	354	AB255880	
<i>Dahlia</i> spp.	354	AB255879	
<i>C. morifolium</i>	354	AB279769	
<i>Argyranthemum frutescens</i>	355	JF938538	
<i>C. morifolium</i>	354	AB679211	
<i>C. morifolium</i>	354	AB279769	

CGGGACTTACTTGTGGTTCCTGTGGTGCACCTCCTGACCCTGCTGCTTTGAAAGAA
AAAGAAATGAGGCGAAGAAGTCCTTCAGGGATCCCCGGGGAAACCTGGAGGAAG
TCCGACGAGATCGCGGCTGGGGCTTAGGACCCACTCCTGCGAGACAGGAGTAA
TCCTAAACAGGGTTTTACCCCTTCCTTTAGTTTCCTTCCTCCTGGAGAGGTCTT
CTGCCCTAGCCCGGTCTTCGAAGCTTCCTTTGGCTACTACCCGGTGGAAACAAC
GAAGCTTCAACGCCTTTTTTTCCAATCTTCTTTAGCACCGGGCTAGGGAGTAAGC
CCGTGGAACCTTAGTTTTGTTCCCT

図 1. CSV-IB1 (MAFF 260079) (DDBJ 登録 No. X16408) の全塩基配列

3. 検定方法

CSVd の検出方法は様々あるが、前述したように RNA のみからなる病原体なので、糸状菌や細菌、ウイルスで用いるような方法はほとんど利用できない。光学顕微鏡などで観察できないことはもちろん、ウイルスで用いるような血清反応による方法も使うことができない。かつてはプローブを用いたハイブリダイゼーション法なども用いられたが、一般的には Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 法による検定が用いられる。RT-PCR 法は RNA を鋳型に逆転写を行い、生成された cDNA に対して PCR を行う方法である。RT-PCR による検定法については Hosokawa *et al.* (2006) などを参考にするとよい。その他には、リアルタイム RT-PCR 法 (Yanagisawa *et al.*, 2017) や RT-LAMP 法 (服部ら, 2012) がある。いずれも核酸増幅による手法である。ウイロイドの場合、感染個体における濃度が非常に高いため、RNA 抽出せずに針や爪楊枝等で検体を挿して、それをそのまま逆転写溶液 (RT) に浸すことで、RT-PCR を実行することができる (Hosokawa *et al.*, 2006)。

4. 本病原体の取り扱いについて

CSVd は他のウイロイドと異なり、感染力についてはあまり強くないようであるが、明確な実験データなどはない。残念ながら、CSVd はキク以外に明確な病徴を示す宿主植物がないため、感染の確認には RT-PCR 法による検定を用いる以外にはない。また、感染したキクが必ずしも矮化症状を示すわけではない。さらに品種によって接種してから感染が確認できるまでに期間が 1 か月～1 年、と幅があるので使用する品種については注意が必要である。

接種試験の手法としては、感染葉から得た汁液、抽出 RNA、または人工合成した RNA の利用などがある。人工合成 RNA を用いた方法については Matsushita and Kumar (2009) を参考にしてほしい。一般的な接種方法としては感染個体を台木として、接種個体に接木する方法がある (Matsushita and Kumar, 2009)。現時点で、接木接種は確実な接種方法として用いられており、栽培ギクのウイロイド抵抗性選抜においても用いられている (Matsushita *et al.*, 2012)。

5. 引用文献

- 服部裕美・中村恵章・平野哲司・福田至朗・栗山幸子・大石一史 (2012). キクにおけるキクわい化ウイロイドの種子伝染. 関西病虫研報. 54: 71-75.
- Hosokawa, M., Matsushita, Y., Uchida, H. and Yazawa, S. (2006). Direct RT-PCR method for detecting two chrysanthemum viroids using minimal amount of plant tissue. *J. Virol. Methods* 131(1): 28-33.
- Matsushita, Y. (2013). Chrysanthemum stunt viroid. *JARQ-Jpn. Agr. Res. Q.* 47: 237-242.
- Matsushita, Y. and Kumar, P.K.R. (2009). In vitro-transcribed *Chrysanthemum stunt viroid* RNA is infectious to chrysanthemum and other plants. *Phytopathology* 99: 58-66.
- Matsushita, Y., Aoki, K. and Sumitomo, K. (2012). Selection and inheritance of resistance to *Chrysanthemum stunt viroid*. *Crop Prot.* 35: 1-4.
- 松下 陽介 (2008). キクわい化ウイロイドの探索収集. 微探収報 21: 15-20.
- Yanagisawa, H., Shiki, Y., Matsushita, Y., Ooishi, M., Takaue, N. and Tsuda, S. (2017). Development of a comprehensive detection and identification molecular based system for eight pospiviroids. *Eur. J. Plant Pathol.* 149: 11-23.

遺伝資源センター資料

令和2年度

微生物遺伝資源利用マニュアル（43）

2021年3月 発行

編集 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構
遺伝資源センター

発行者 川口 健太郎

Genetic Resources Center
National Agriculture and Food Research Organization

〒305-8602 茨城県つくば市観音台2-1-2

<https://www.gene.affrc.go.jp/>

キク矮化ウイルス *Chrysanthemum stunt viroid*

松下 陽介

農業・食品産業技術総合研究機構 野菜花き研究部門

目 次

1. はじめに	1
2. 発生状況・症状・宿主範囲	1
3. 検定方法	3
4. 本病原体の取り扱いについて	3
5. 引用文献	3

2021年3月

編集 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 遺伝資源センター
発行者 川口 健太郎



リサイクル適性(A)
この印刷物は、印刷用の紙へ
リサイクルできます。

