

ウィロイドによって引き起こされる キク矮化病の蔓延防止マニュアル



矮化株



キク矮化ウィロイド (*Chrysanthemum stunt viroid*, CSVd) によって引き起こされるキク矮化病は、日本国内では1977年に初めて本病の発生が確認され、その後全国的にウィロイドの被害が報告されています。CSVdに感染したキクは健全なキクに比べ草丈が低くなり、商品性が大きく損なわれます。CSVdは熱やアルコールなどの薬品に対して耐性を持ち、極めて安定性が高いのが特徴です。CSVdの伝染は主に収穫作業や栽培管理の際にキクの汁液が付着することにより起こり、一旦発病すると完治しません。さらには、CSVdはウイルスに有効な器具用消毒剤は効果がないなど、大変防除が難しい病害です。

農業総合試験場では、キク矮化病の発生を防止するため、器具等の消毒方法や発病株の抜き取り、発病残渣の処理方法などに取り組み、蔓延防止マニュアルを策定しました。本冊子では、そのポイントを紹介します。

「農林水産省・新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」（2010～2012年度）による研究成果です。

技術マニュアル編

1 キク矮化ウイルスによるキク矮化病の概要

1) ウイロイドとは

「ウイロイド」(viroid)とは、「ウイルスのようなもの」の意味で、ウイルスよりも小さな病原体です。ウイルスと区別するためにウイロイドの略号は語尾にVdをつけています。

2) キク矮化病とは

病原体はキク矮化ウイロイド *Chrysanthemum stunt viroid* (CSVd) です。宿主はキク科植物が中心でナス科、ウリ科植物などにも無病徴感染します。

3) 病 徴

(1) 葉

- ・小型化、茎との角度が小さく直立、節間が短く矮化する
- ・わずかに淡緑化し、特徴的な退緑斑～黄斑を生ずることがある



図1 葉の小型化

図2 葉が茎に対して直立

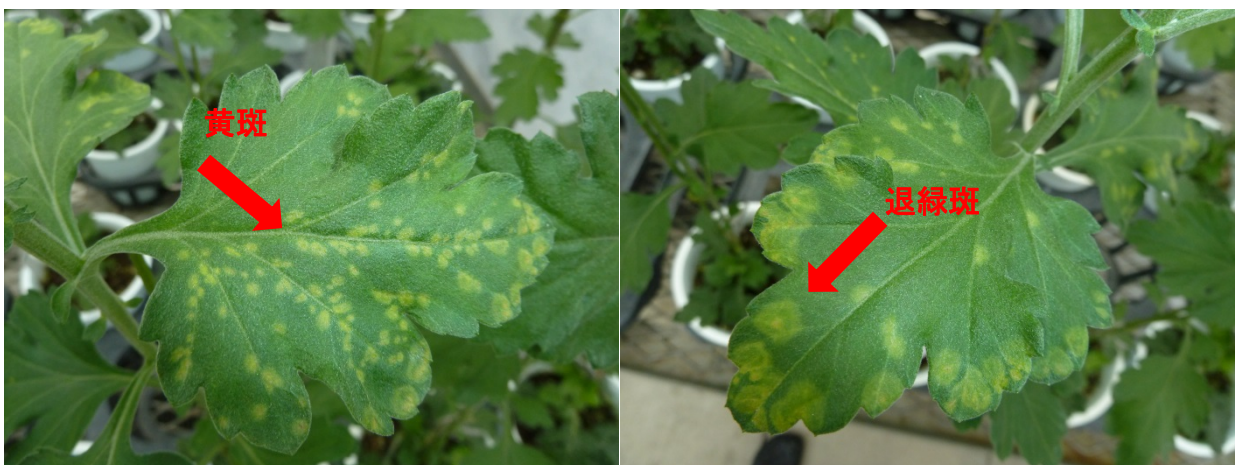


図3 感染株に見られた黄斑や退緑斑症状

(2)花

- ・小型化する
- ・品種によっては退色する
- ・開花期が早くなることが多い

(3)根

- ・挿し穂の発根が不良となる
- ・根の張りが悪く、簡単に抜ける



図4 矮化して花が小さくなった発病株

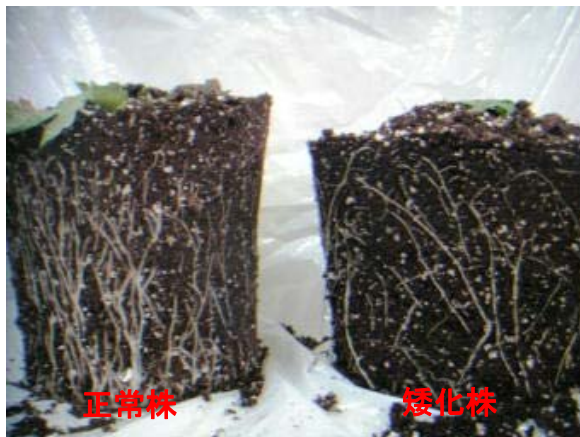


図5 発根の状況(鉢植栽培)



図6 発根の状況(水挿し)

(4)矮化症状の全体像



図7 矮化症状(品種:星の鈴)



図8 ほ場での矮化症状

4) 伝染経路

(1) ウィロイドが検出された感染植物（伝染源）

- ・栽培ギク
- ・キク科園芸作物（マーガレット、ダリアから高頻度で感染株を検出）
- ・野生ギク（ワカサハマギクなど）
- ・キク科雑草（セイタカアワダチソウ、ベニバナボロギクなど）

表1 キク科園芸作物のCSVd感染状況

種名	品種数	検体数	CSVd感染 検体数	感染率 (%)
マーガレット	120	244	66	27.0
ダリア	46	141	28	19.9
その他	95	291	12	4.1

(2) 感染植物の汁液の付着

- ・最初の伝染源は感染した栽培ギク
- ・摘蕾、芽かき及び収穫などの作業の際に感染植物の汁液の付着で伝染



図9 刃に付着したキクの汁液や残渣

(3) 根の接触

- ・根の接触によっても感染が起こる
- ・発生ほ場では矮化株を中心に坪状に発生

(4) 種子伝染

- ・種子伝染することを確認（服部ら，2012）

5) 感染から発病に至るまでのウィロイドの動態

(1) 通常のウィロイド濃度の状態

- ・多くの品種では、感染株の中でウィロイド濃度は上昇することなく低く維持される

(2) ウィロイド濃度の上昇と発病

- ・過度な摘心や特に春先の急激な温度上昇などが引き金となり、ウィロイド濃度が上昇し、病気が発症すると推定される

(3) 感染キクが発症に至るメカニズムは、完全には解明されていない

6) 抵抗性に関する知見

(1) 既存品種のウィロイド抵抗性調査

- ・種苗会社と松阪菊保存会提供の品種で、ウィロイド抵抗性の有無を調査
- ・比較的強い抵抗性と強い抵抗性を持つキクが24%見つかった
- ・抵抗性品種の多くは観賞ギクであった

表2 調査品種の抵抗性分類結果（実験室内で接ぎ木で調査）

提供元	供試品種数	CSVd抵抗性評価分類(タイプ)		
		罹病性	難発病性	抵抗性
種苗会社	312	124	116	72
松阪菊	23	9	6	8
合計	335	133	122	80
(%)	(100.0)	(39.7)	(36.4)	(23.9)

注:細川のデータ(2012)を改編

罹病性タイプ : 抵抗性を持たず、感染し発症する

難発病性タイプ : 感染するが矮化症状は現れにくい

抵抗性タイプ : 感染してもCSVd濃度が上昇しない、もしくは消失する

(2) ウィロイド抵抗性品種の利用

- ・積極的な情報入手と抵抗性品種の利用
- ・抵抗性品種の育成

2 蔓延防止対策

1) 伝染源の除去

(1) 発病株や疑わしい株は抜き取る

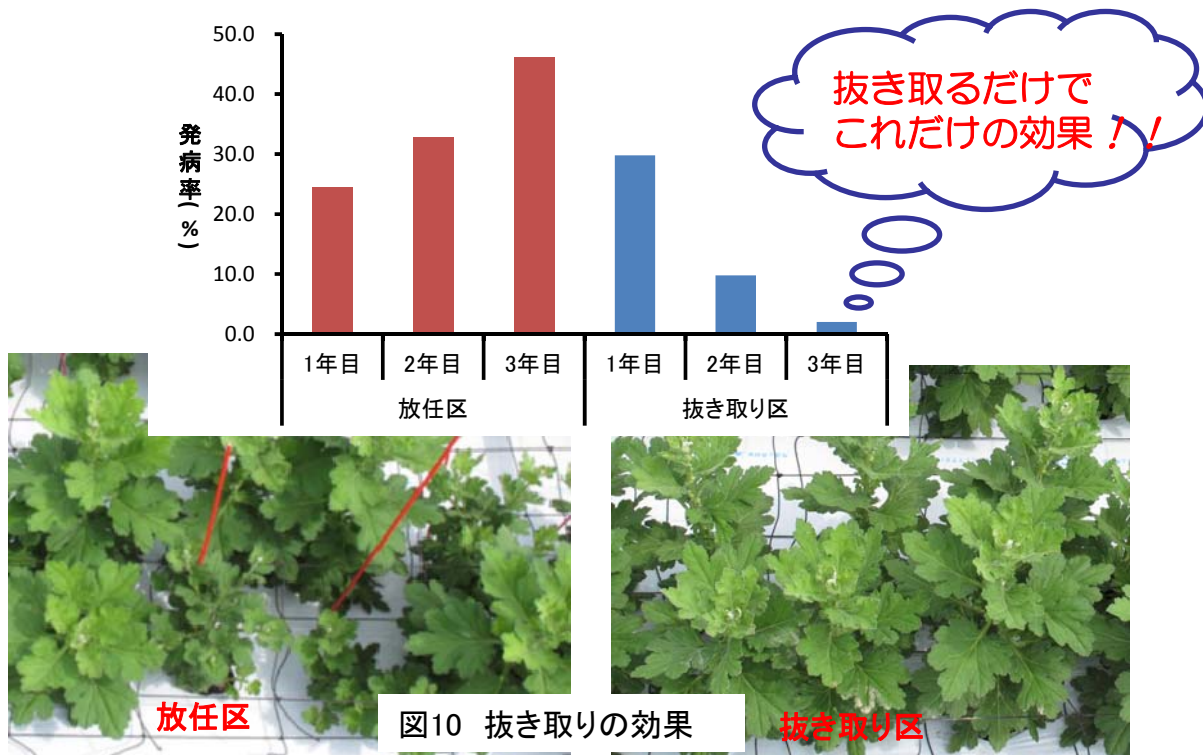
- ・できるだけ早く発病株や疑わしい株は抜き取り、隣接株への感染を防止
- ・根の張りが悪い株や生育の悪い株も抜き取る
- ・ほ場に残った株も感染の可能性が高いため、すべて抜き取り処分

(2) キク科雑草の除草

- ・周辺のキク科雑草はウィロイドに感染している可能性があるため、定期的に除草

(3) マーガレットやダリアを近くに植えない

- ・キクの直接伝染源となるマーガレットやダリアは、キク栽培ほ場近くに植えない



2) 鋏等器具の消毒

(1) 作業用手袋の着用と交換

- ・ 管理作業や収穫作業の際、ウイロイド感染株の汁液や残渣が付着したまま他の株の作業を行うと伝染する
- ・ 作業の際は使い捨ての手袋を着用し、こまめに交換

(2) 鋏や鎌などは次亜塩素酸ナトリウム液（アンチホルミン：塩素濃度5%以上）の2分間の浸漬消毒

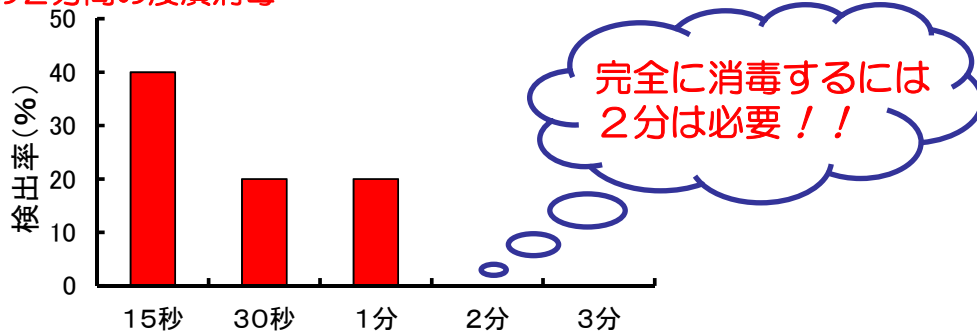


図11 次亜塩素酸ナトリウム液の消毒時間

注：浸漬消毒後、蒸留水で1秒水洗い
RT-PCR/ハイブリダイゼーション法による検出

(3) 赤化するまで行う火炎滅菌は有効

表3 火炎滅菌によるウイロイド検出率の推移(%)

検出方法	赤化前	赤化してからの時間 (秒)			
		1	5	15	30
RT-PCR/ハイブリダイゼーション法	40	0	0	0	0

(4) ウイルス病の消毒に使う第三リン酸ナトリウムはウイロイドに効果がない

表4 器具の浸漬消毒効果

消毒方法	CSVd検出率 (%)
次亜塩素酸ナトリウム(5%)	0
エタノール(99%)	100
ホルマリン(2%)	100
第三リン酸ナトリウム(5%)	100
水洗い	100
消毒なし	100

3) 発病キク残渣の処分方法

(1) 残渣は完全に腐らせる

- ・発病キク残渣を完全に腐らせるとウイロイドは無くなる
- ・完全に腐らせるには、穴を掘って深く埋めるか、積み上げて堆肥化
- ・トラクタ等での鋤き込みは、キク残渣が完全に腐るまで時間がかかる

(2) 土壌消毒（太陽熱や腐熟促進効果を持つ土壌消毒剤）で残渣の腐熟促進

- ・太陽熱消毒は40℃以上の地温が100時間以上あれば、28日後にウイロイドを無くすことができる
- ・土壌消毒剤(D-D剤)は21日後にウイロイドを無くすことができる

表5 土壌消毒の方法

処理	処理方法・使用量
太陽熱消毒	鋤込み後十分かん水し、ビニル被覆 地温を確保するためには、石灰窒素を加用
土壌消毒剤 (D-D剤)	鋤込み後十分かん水し、点注後ビニル被覆し 1穴当り2~3ml(20~30L/10a)

土壌病害に対する
農薬登録に準じて
実施！！

表6 高濃度保毒株を用いた太陽熱、D-D剤処理の効果

処理	処理後 日数	積算時間(h)			CSVd 検出率(%)
		≥45℃	≥40℃	≥35℃	
太陽熱消毒	14日後	44.0	89.8	148.0	16.7
	21日後	44.0	98.5	172.0	50.0
	28日後	44.0	102.0	210.3	0.0
D-D剤 (D-D 97%)	14日後	17.0	74.5	134.5	33.3
	21日後	17.0	74.5	146.8	0.0
	28日後	17.0	74.5	166.3	—
埋 設	14日後	0.0	26.0	98.3	100.0
	21日後	0.0	26.0	109.3	100.0
	28日後	0.0	26.0	125.8	100.0

注) H23/7/5処理開始、H23/7/15ガス抜き1回

4) 発病助長要因の除去

(1) 過度な連続摘心は避ける

- ・ 摘心を繰り返すことでウィロイド濃度が上昇

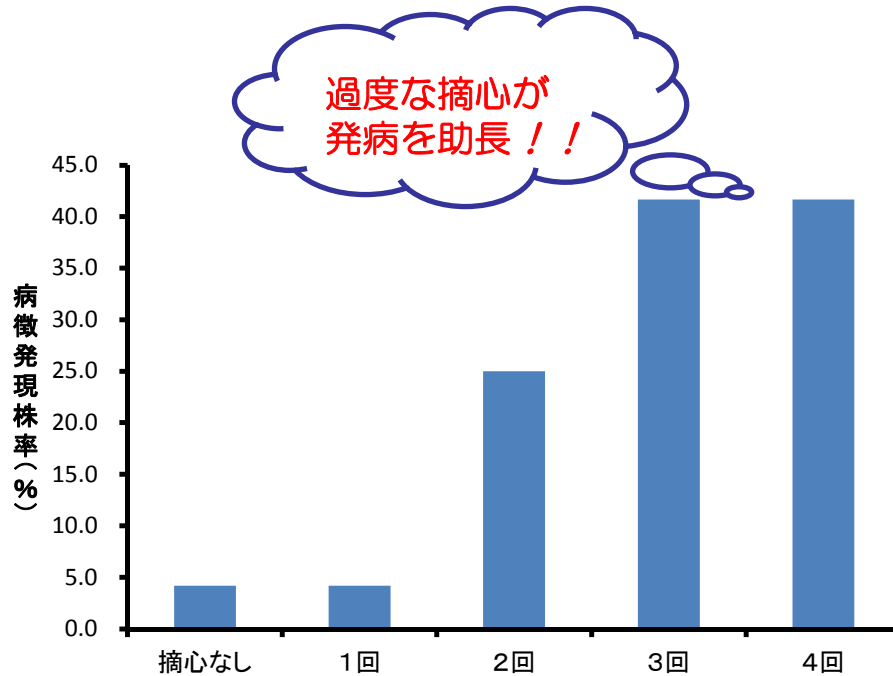


図12 摘心回数と病徴発現(供試品種:セイアイシスピンク)

注: 摘心を繰り返した元株の病徴発現を調査

5) 症状軽減

(1) 低温遭遇は茎伸長促進に有効

- ・ 低温遭遇(4~6か月間冷蔵庫(5℃)保管)は、15℃の加温管理に比べて、ウィロイド高濃度感染株、正常株ともに茎の伸長が良くなる

(2) 適正な温度管理

- ・ 急激な温度変化は、ウィロイド濃度の上昇を招き発症に至る
- ・ 親株養成や栽培中の温度管理は適切に
- ・ 冬期の親株管理に注意

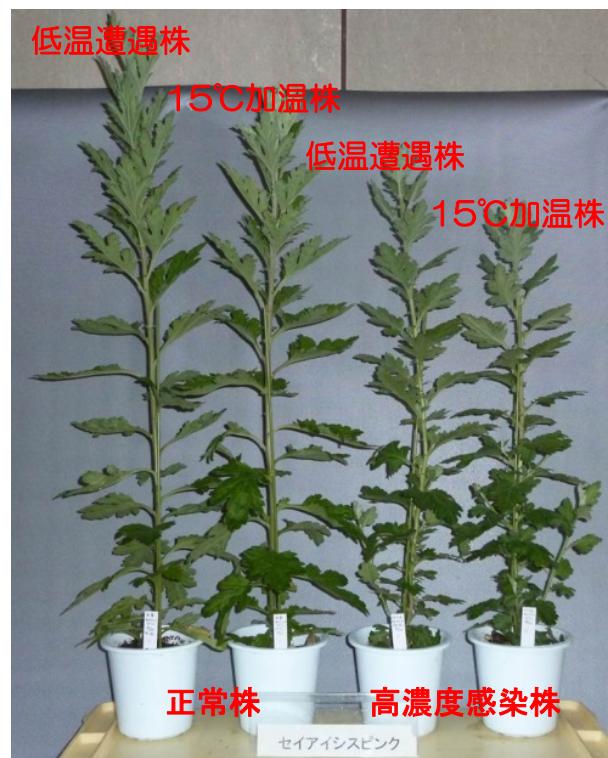


図13 低温遭遇の有無と矮化程度

I キク矮化病蔓延防止のポイント

1 入れない

- ① ウイロイドに感染していない苗を確保する。
- ② 定期的に健全な親株に更新する。
- ③ キク科園芸作物を触った後は必ず丁寧に手洗いをする。
- ④ キク科園芸作物の管理等で使ったハサミ等の器具は必ず消毒する。
- ⑤ マーガレットやダリアなどキク科園芸作物はウイロイドに感染している可能性があるため、キク栽培施設やキク露地ほ場周辺で栽培しない。
- ⑥ 栽培施設、ほ場周辺のキク科雑草を除草する。

2 出さない

- ① 栽培植物の残渣(葉、茎、根など)は土壌消毒等により確実に腐らせる。
- ② 残渣等が完全に腐熟している栽培用土等を利用する。

3 拡げない

- ① 発病株や疑わしい株は早期に抜き取り、ほ場に残さない。
- ② 感染が疑わしい株を他人に譲渡しない。
- ③ 収穫、刈り込みなどで使用する刃物は必ず消毒する。

4 ほ場衛生意識

- ① 芽かき、摘蕾などの手作業の際は、汁液による伝染を予防するため、使い捨ての手袋を使用する。
- ② 管理作業で使用する器具等は必ず複数用意し、市販の塩素系漂白剤(次亜塩素酸ナトリウムを含む)等で交互に消毒しながら使用し、少なくとも品種や畝毎で使用する器具を交換する。
- ③ 器具の消毒に市販の塩素系漂白剤を使用する場合、必ず防護メガネやゴム手袋を着用するなどの安全対策を行う。

II 矮化症状の軽減のポイント

1 親株の管理

- ①健全な株を選定し親株とする。
- ②冬期は十分に低温に遭遇させる。
- ③過度な連続採穂は、ウイロイド濃度を上昇させる危険性があるので避ける。
- ④温度が急激に変化するとウイロイド濃度が上昇する危険性があるので、換気等に努める。

2 定植およびその後の管理

- ①発根の悪い苗は、ウイロイド感染の可能性があるので定植しない。
- ②生育の悪い株や矮化病の疑いがある株はできるだけ早く抜き取り処分し、隣接株への感染を防ぐ。

3 抵抗性品種の利用

- ①ウイロイドが増殖しにくい品種は、矮化症状が出ないので、こうした品種を利用する。
- ②今後、研究開発の進展に伴い、実用品種の抵抗性が明らかとなれば、種苗会社のカタログに抵抗性に関する情報が記載され、抵抗性品種の利用が促進される。
- ③抵抗性品種を利用することにより、一層の矮化病の発生が低減できる。

技術資料編

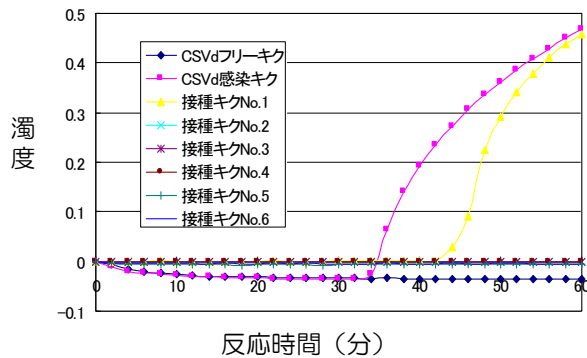
I 汁液、接触以外の伝染経路

1 土壌伝染

土壌中のCSVd感染残渣や感染株の根との接触、土壌中でのCSVdの動態について明らかにしました。

(a) 機械的接種による根からのCSVd感染

根に接種した個体からのRT-LAMPによるCSVdの検出(接種1ヶ月後)



接種したキクのうち1株からCSVdを検出

(b) プランター内での根の接触

プランターにおける根の接触によるCSVdの伝染

定植月日	接触区	対照区
2月24日	2 / 24	0 / 6
7月11日	1 / 24	0 / 6

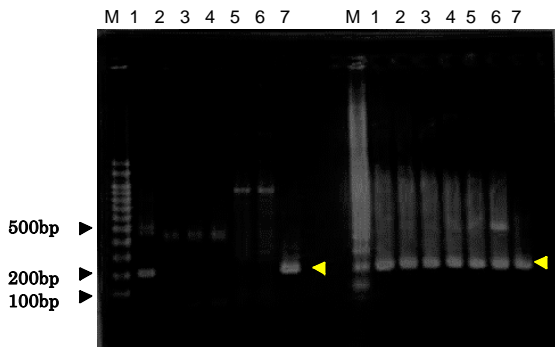
CSVdが検出された個体数 / 試験に用いた個体数

接触させたキクのうち3株から検出

根に直接、汁液を接種したり、感染根と接触すると感染が起こる！！

(c) 罹病葉鋤込み後の土壌中のCSVdの消長

nested RT-PCRによる土壌RNAからのCSVdの検出



M: 100bp ladder, 1: 0 day, 2: 1 week, 3: 2 weeks, 4: 3 weeks, 5: 6 weeks, 6: 12 weeks, 7: positive control

感染葉の磨砕液を鋤込んだ土壌からは、1週間で検出できなくなる！！

感染葉の切片を鋤込んだ土壌からは、12週間後でもCSVdを検出！！

土壌に吸着されたCSVdは微生物等により分解されるが、CSVdを含んだ植物残渣は重要な伝染源となる！！

残渣処理は必要！！

2 種子伝染

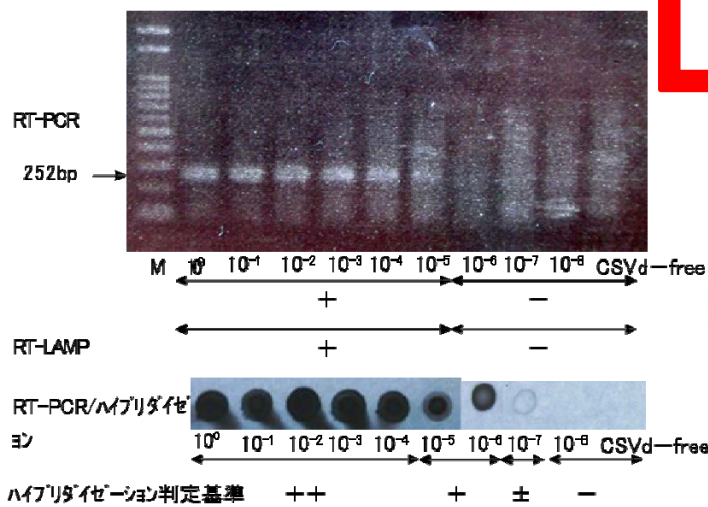
CSVd フリー株、低濃度保毒株、高濃度保毒株を用いて交配を行い、種子伝染することを証明しました。

(a) 交配による種子伝染の確認

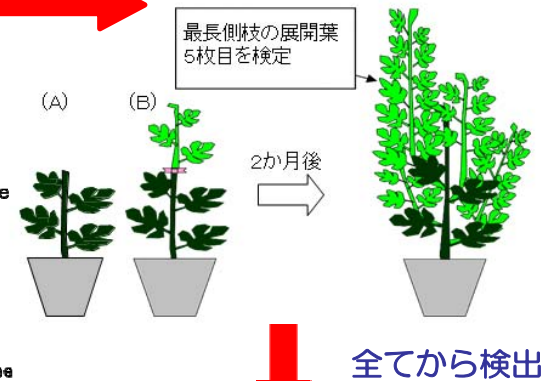
表 実生個体のCSVd感染程度

試験区 (交配組み合わせ)	検体数	RT-PCR/ドットプロットの判定 (%)			
		-	±	+	++
高濃度レミダス(♀) × 高濃度セイブリス(♂)	50個体	0	16	50	34
高濃度セイブリス放任交配	50個体	0	4	14	82
高濃度精やわら放任交配	50個体	0	18	38	44
フリーヒート(♀) × 高濃度セイブリス(♂)	100個体	1	8	52	39
フリーヒート(♀) × 低濃度セイブリス(♂)	50個体	60	32	8	0
低濃度セイブリス(♀) × 低濃度精やわら(♂)	50個体	30	46	18	6

CSVd感染の判定基準

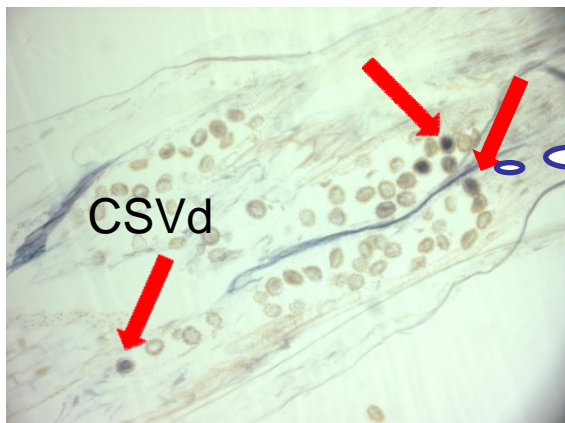


検出された個体は、穂木として CSVdフリー株台木に接ぎ木



種子伝染を確認！！

(b) 花粉の中のCSVdの確認



種子伝染を 最終的に確認！！

花粉の中にもCSVdが存在

3 栽培ギク以外の伝染源

表 キク科園芸作物のCSVd保毒状況

属名	名称	品種数	検体数	陽性数	保毒率(%)
Argyranthemum	マーガレット	120	244	66	27.0
Dahlia	ダリア	46	141	28	19.9
Callistephus	アスター	12	36	1	2.8
Gerbera	ガーベラ	11	33	2	6.1
Brachyscome	ブラキカム	9	27	2	7.4
Echinacea	エキナセア	7	21	1	4.8
Bidens	ウインターコスモス	6	18	3	16.7
Gymnaster	ミヤコワスレ	5	15	1	6.7
Olearia	オレアリア	1	6	1	16.7
Craspedia	クラスペディア	1	3	1	33.3
Achillea	アキレア	1	3		
Antennaria	エゾノチチコグサ	1	3		
Centaurea	ヤグルマギク	2	9		
Chrysanthemum	ファイバーフュー	1	3		
Cosmos	チョコレートコスモス	3	9		
Crepis	クレピス	1	3		
Dendranthema	デンドランセマ	1	3		
Echinops	エキノプス	1	3		
Euryops	ユリオプス	6	18		
Felicia	フェリキア	4	12		
Gaillardia	テンニンギク	1	3		
Gazania	ガザニア	3	9		
Helichrysum	ヘリクリナム	1	3		
Matricaria	カモマイル	3	9		
Nipponanthemum	ハマギク	1	3		
Osteospermum	オステオスペルマム	1	3		
Rhodanthe	花かんざし	1	3		
Sanbitalia	サンビタリア	1	3		
Santolina	サントリナ	3	9		
Senecio	セネシオ	2	6		
Steirodiscus	ステイロディスクス	1	3		
Stokesia	ストケシア	2	6		
Tagetes	マリーゴールド	2	6		
33属		261品種	676検体	陽性106	15.7%



マーガレット、ダリアが伝染源となる可能性大！！

(b) マーガレット分離CSVdのキクへの病原性と塩基配列

RT-LAMP法により、接種したキクからCSVdを検出



キクへの病原性を確認！！

CSVdの塩基配列

	64, 65	178	195	207	285	298	314	345	355						
キクCSVd	gaaa	ga	ggc ga***	uucacccuuc	cuuuagu	uc	uuuccucucc	*** gccuuuuuuu	-cc	a	aucuuc	uuuagcaccg	*** cuuagu	uuug	uuuccuc
MA-A1	gaaa	ag	ggc ga***	uucacccuuc	cuuuagu	uuc	uuuccucucc	*** gccuuuuuuu	-cc	u	aucuuc	uuuagcaccg	*** cuuagu	uuug	uuuccuc
MA-A2	gaaa	ag	ggc ga***	uucacccuuc	cuuuagu	uuc	uuuccucucc	*** gccuuuuuuu	-cc	u	aucuuc	uuuagcaccg	*** cuuagu	uuug	uuuccuc
MA-B1	gaaa	ag	ggc ga***	uucacccuuc	cuuuagu	uuc	uuuccucucc	*** gccuuuuuuu	t	cc	aucuuc	uuuagcaccg	*** cuuagu	uuug	uuuccuc
MA-B2	gaaa	ag	ggc ga***	uucacccuuc	cuuuagu	uuc	uuuccucucc	*** gccuuuuuuu	-cc	u	aucuuc	uuuagcaccg	*** cuuagu	uuug	uuuccuc



キクとマーガレットの塩基配列は3か所異なる！！
 345u→aの変異がみられたマーガレット分離株を接種したキクから再分離した結果、a→uに戻っていた！！

これらの結果から



キク栽培ほ場、施設内、周辺のキク科植物は CSVdの伝染源となりうる！！

4 土壌消毒の効果

(a) 土壌消毒はなぜ必要か？

表 罹病残渣に対する土壌消毒効果

処理区	検出率 (%)	反応時間 (分)
D-D	0	—
ソリーン	0	—
石灰(粉)	0	—
無処理	35.7	45.2



土壌消毒によって残渣が十分に腐熟していないと伝染源になりうる！！

表 高濃度保毒株を用いた太陽熱、D-D等処理効果(地温不足の事例)

処理	処理方法・使用量	処理後 日数	積算時間(h)			CSVd 検出率(%)
			≥45℃	≥40℃	≥35℃	
太陽熱消毒	鋤込み後十分かん水し、 ビニル被覆	21日後	3.3	47.0	100.3	50.0
		28日後	18.5	88.8	175.3	75.0
石灰窒素加用 太陽熱消毒	キク残渣に振りかけ、 鋤込み後十分かん水し、ビニル被覆 (100kg/10a)	21日後	8.0	42.5	98.0	25.0
		28日後	26.5	85.8	173.3	0.0
粒状石灰窒素加用 太陽熱消毒	キク残渣に振りかけ、 鋤込み後十分かん水し、ビニル被覆 (100kg/10a)	21日後	3.0	35.8	93.8	50.0
		28日後	18.5	76.0	169.8	0.0
D-D	鋤込み後十分かん水し、 点注後ビニル被覆し、 1穴当り2ml(20L/10a)	21日後	0.0	11.0	68.5	25.0
		28日後	0.0	26.3	115.0	0.0
ソリーン	鋤込み後十分かん水し、 点注後ビニル被覆し、 1穴当り3ml(30L/10a)	21日後	0.0	14.3	73.5	75.0
		28日後	0.0	31.0	125.0	0.0
埋設	地中15cmに鋤込み後、 十分かん水	21日後	0.0	1.5	30.0	50.0
		28日後	0.0	17.8	77.0	75.0

注) H24/6/22処理開始、H24/7/2ガス抜き1回

**太陽熱土壌消毒では、地温40℃以上100時間で不活化する！！
 地温が確保できない場合は、石灰窒素を加用して太陽熱消毒！！**

冬期の土壌消毒効果は？

表 高濃度保毒株を用いた厳寒期の土壌消毒処理効果

処 理	処理方法・使用量	処理後 日 数	温度℃			CSVd 検出率(%)
			平均	最高	最低	
カオルピクリン・D-Dくん蒸剤 (カオルピクリン 40%) (D-D 52%)	1穴当り3ml (30L/10a)	21日後	6.5	16.6	0.2	25.0
		35日後	4.0	11.9	0.0	50.0
		49日後	3.4	9.8	-0.2	0.0
D-D剤 (D-D 97%)	1穴当り2ml (20L/10a)	21日後	7.1	18.6	0.4	25.0
		35日後	4.4	12.8	0.0	25.0
		49日後	3.6	11.0	-0.2	0.0
埋 設	地中15cmに鋤き込み	21日後	4.2	12.3	0.0	100.0
		35日後	3.9	11.9	-0.1	75.0
		49日後	3.3	10.3	-0.3	75.0
屋外気温		21日後	3.0	15.0	-4.6	-
		35日後	2.7	14.7	-5.6	-
		49日後	2.4	12.8	-8.7	-

注)H23/12/29処理開始、H24/1/19ガス抜き1回



冬期では消毒期間中の地温5℃以上を確保しても7週間以上必要！！

5 鉢等器具の効率的な浸漬消毒法

表 塩素消毒と拭き取りの有無

処理区	CSVd検出数/供試株数
①塩素消毒拭き取り区	0/5
②塩素消毒拭き取り無し区	4/5
③水洗い拭き取り区	3/5
④無消毒区	5/5

拭き取るだけでこれだけ
違う消毒効果！！

塩素消毒拭き取り区 : 「ハイターE」20秒浸漬→水10秒浸漬→拭き取り
 塩素消毒拭き取り無し区 : 「ハイターE」20秒浸漬→水10秒浸漬→放置乾燥
 水洗い拭き取り区 : 水30秒浸漬→拭き取り

編集・発行

愛知県農業総合試験場

〒480-1193 愛知県長久手市岩作三ヶ峯1-1

TEL 0561-62-0085 内線323 (企画普及部)

FAX 0561-63-0815 <http://www.pref.aichi.jp/nososi>

問い合わせ 園芸研究部花き研究室 TEL 0561-62-0085 内線542