

ダリアに感染するウイルス・ウイロイドの検出技術の開発および国内における発生状況

奈良県農業研究開発センター 浅野峻介・平山喜彦・仲照史
農研機構 花き研究所 松下陽介

はじめに

国内の花き生産額が年々低下している中、ダリア切り花の生産額は増加傾向にあり有望な品目となっている。従来は仏花としての需要が主であったが、近年ではブライダルやパーティー等の業務用需要を中心に、フラワーアレンジメントに欠かせない花材となっている。

ダリアは冷涼な気候を好む植物であるため、夏秋期には奈良県や兵庫県の中山間地域と山形県等の冷涼地に産地が形成されている。これらの地域では、夏秋期の切り花生産とその後の球根生産を組合せることによって、労働力の周年活用が図られている。また、近年増加している冬春期の切り花生産は、従来産地ばかりでなく長野県、愛知県、高知県、宮崎県等全国各地に導入されている。

現在、これらのダリア生産で、ウイルス・ウイロイド病害が問題となっている。生産現場における増殖は、夏秋期産地では主として球根（塊根）の分球、冬春期産地では主として挿し芽によって行われている。そのため、ウイルス・ウイロイドに感染した母株から後代にウイルス・ウイロイドが伝染し、その被害が拡大しやすい。

ダリアへの感染が報告されているウイルス・ウイロイドはキュウリモザイクウイルス (CMV: *Cucumber mosaic virus*)、ダリアモザイクウイルス (DMV: *Dahlia mosaic virus*)、インパチエンスえそ斑点ウイルス (INSV: *Impatiens necrotic spot virus*)、タバコ条斑ウイルス (TSV: *Tobacco streak virus*)、トマト黄化えそウイルス (TSWV: *Tomato spotted wilt virus*)、キク矮化ウイロイド (CSVd: *Chrysanthemum stunt viroid*)、ジャガイモやせいもウイロイド (PSTVd: *Potato spindle tuber viroid*)、*Dahlia latent viroid* (DLVd) と多数存在する (表-1)。これらの中でも日本では TSWV によるダリア輪紋

病と DMV によるダリアモザイク病の被害が深刻である (末松ら, 1977; 仲ら, 2007)。

TSWV によるダリア輪紋病の病徴は、葉に黄斑や輪紋、輪紋状のえそ、茎にえそ条斑を生じ、生育が抑制される。球根には、あざ状のえそ条斑を生じる (LOBENSTEIN et al., 1995)。7月下旬から8月下旬の高温期には病徴はマスキングされる。虫媒伝染について、アザミウマ類による永続伝播が報告されており、現地圃場での著しい被害の拡大が確認されている (浅野ら, 2015)。DMV によるダリアモザイク病の病徴は、葉でモザイク、葉脈黄化、委縮が生じ、生育が抑制される (LOBENSTEIN et al., 1995)。虫媒伝染について、アブラムシによる非永続伝播が報告されている。

また近年、CSVd の感染が確認されており、キクに感染する系統と塩基配列の相同性が高いことが明らかにされている (NAKASHIMA et al., 2007)。しかし、我が国の花き生産における最重要品目であるキクと共通病害でありながら、生産性への影響、生産現場での感染状況は明らかでない。

そこで、生産現場で最も問題となる TSWV と DMV、さらなる調査が必要と考えられる CSVd のマルチプレックス RT-PCR による同時検出技術の開発およびその簡易化を実施し、これを用いて国内各地での感染状況およびその症状を調査したので、その結果を紹介する (ASANO et al., 2015)。

I マルチプレックス RT-PCR 法の開発

マルチプレックス RT-PCR には既報の TSWV-Rnp, Fnp (瀬尾ら, 2009)、DMV-R1345, F944 (仲ら, 2007) と、今回新たに作製した CSVd-R, F (ASANO et al., 2015) を用いた (表-2)。RT-PCR 試薬は PrimeScript One Step RT-PCR Kit Ver. 2 (Dye Plus) (TaKaRa) を用いた (表-3)。RT-PCR 試薬の濃度はプロトコールに準じ、3組のプライマーの濃度は $0.4 \mu\text{M}$ とした。テンプレートには TSWV, DMV, CSVd に単独感染しているダリアから RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) で抽出した total RNA を用いた。反応は $10 \mu\text{l}$ 系で実施し、テンプレートは 1 反応につき 1 ng の total RNA を使用した。RT 反応

Simultaneous Detection of Two Viruses and Viroid in Dahlias and their Distribution in Japanese Dahlias. By Shunsuke ASANO, Yoshihiko HIRAYAMA, Terufumi NAKA and Yosuke MATSUSHITA

(キーワード: ダリア, マルチプレックス RT-PCR, TSWV, DMV, CSVd, 発生状況)