



ダリアの主要なウイルス・ウィロイドの診断・防除 技術の確立

浅野, 峻介

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2024-03-05

(Date of Publication)

2025-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙第3442号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100490198>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(別紙様式3)

論文内容の要旨

氏名 浅野 峻介

論文題目 ダリアの主要なウイルス・ウイロイドの診断・防除技術の確立

ダリアはブライダルなどの業務用需要を中心に切り花の生産額が増加傾向にある有望な品目である。ダリア栽培での主要な病害はウイルス・ウイロイド病であり、挿し芽や球根の分球といった栄養繁殖によって感染した母株から後代に伝染し、その被害が拡大する。特に TSWV と DMV による被害が深刻とされ、CSVd については病原性を含めさらなる調査が求められていた。しかし、これらに対する防除対策を進めるための根拠となる情報が不十分であった。そこで本研究では、ダリア生産でのウイルス・ウイロイドの発生状況と病原性を解明し、さらに診断技術の省力化を図り、実証試験を実施することで防除技術の確立を目指した。

第2章ではダリアにおけるウイルス・ウイロイド検出法の省力化と精緻化、さらに主要なウイルス・ウイロイドの発生状況の解明を目的とした。主要なウイルス・ウイロイドである TSWV、DMV および CSVd のマルチプレックス RT-PCR 法による同時検出技術を開発した。それぞれの PCR 産物のサイズは 720、402 および 249bp である。さらに針先についた植物体の汁液をテンプレートとする microtissue direct RT-PCR での実用性を確認し、RNA 抽出を省略できることで作業時間を大きく短縮した。

上述の3種ウイルス・ウイロイドの中で TSWV のみがキク等の植物体で不均一に分布することが報告されている。そこで、適切なサンプリング部位を提示するため、ダリアの植物体内での TSWV の分布を調査した。複葉での検出率は葉柄で最も高く、次に葉軸、葉脈となり、葉身では低く、葉柄から離れるにしたがって検出率が低下する傾向があった。小葉においても同様の傾向を示し、葉脈近辺では安定して分布しており、葉身では特に葉縁で分布しない傾向があった。茎では、栄養成長期と開花期では分布の傾向が異なっていた。栄養成長期では、茎の上位節は、中位節と下位節に比べて検出率が低かった。一方、開花期では、栄養成長期と比べて検出率は上位節で高く、下位節で低い傾向があった。球根では TSWV は球根の皮層、師部および木部に主に分布していた。しかし、球根断面での TSWV の分布面積は 1/3 未満となる個体が半数以上であり局在性が高かった。これらのことと検体採取の作業性を考慮すると中位の複葉の葉柄が検定部位として最も適切と考えられる。

第3章ではウイルス媒介虫対策による TSWV の防除技術の確立を目的とした。奈良県のダリアの露地球根生産圃場における媒介能を持つ主要なアザミウマ類がヒラズハナアザミウマであることを明らかにした。その発生のピークは7月上旬であり、栽培期間を通じて TSWV を保毒していることが明らかになった。このことから、殺虫剤の散布はヒラズハナの発生の増加時期である5、6月に実施するのが適切と考えられた。施設切り花生産圃場では、アザミウマ類の TSWV の保毒が確認され、感染株率は 80%に達したことからアザミウマ類による TSWV の媒介能力は高いと考えられた。なお、物理的防除である 0.4mm 目合のネット被覆による TSWV の感染拡大の抑制効果は高く、有効な防除手段となることを実証した。

第4章では、ダリアから検出された CSVd の塩基配列や感染性といった基礎情報に加え、今まで明らかにされていなかった病原性について評価を行った。国内のダリアから検出された CSVd の系統はいずれも全長が 354bp であり、既報のダリアから検出された系統に加え、これまでに報告がなかった系統および既報のキクから検出された系統が確認された。これらの塩基配列の多型の多くは病原性領域で確認された。ダリアまたはキクから検出された CSVd 系統をダリアとキクに汁液接種した結果、いずれの組み合わせでも感染率は高く、感染性に系統間差は認められなかった。このことから、ダリアとキクとの間で CSVd が伝搬する可能性が示唆された。接種試験により CSVd のダリアの生育に対する影響を調査した。その結果、植物体の矮化、露心花の発生および花色の変化が認められた。これらは商品性の低下に直結することから CSVd は防除対象とすべき病原体であると結論づけた。なお、CSVd 系統間で病原性に違いが認められ、CSVd 系統 2 では他の 2 系統と比べて、露心花率が高く、切り花重も低い傾向にあった。なお、日長は CSVd 感染ダリアの生育に影響を及ぼし、冬季試験では暗期中断処理は、14.5 時間日長と比べて露心花率は低く、切り花長は長かった。

本研究によって、国内のダリア生産における主要なウイルス・ウイロイド種が TSWV、DMV および CSVd

であることを特定し、これらの省力的な診断技術を確立した。本技術により発生状況の調査や診断および健全株の選抜が推進されることを期待する。また、TSWV 主要な感染拡大の要因がアザミウマ類による媒介であり、その媒介虫の発生活長を明らかにした。その対策として殺虫剤の適切な散布時期を提示し、防虫ネット被覆が有効であることを実証した。CSVd は本研究により防除対象に新たに加えられ、塩基配列や感染性といった対策の基礎となる情報についても整理を行った。今後、これらの知見がダリア生産の現場で活用されることを期待する。

| | | | |
|---|------------------------------|-----|------|
| 氏名 | 浅野 峻介 | | |
| 論文 題目 | ダリアの主要なウイルス・ウイロイドの診断・防除技術の確立 | | |
| 審査 委員 | 区 分 | 職 名 | 氏 名 |
| | 主 査 | 教授 | 土佐幸雄 |
| | 副 査 | 教授 | 中屋敷均 |
| | 副 査 | 准教授 | 池田健一 |
| | 副 査 | | |
| | 副 査 | | |
| 要 旨 | | | |
| <p>ダリアはブライダルなどの業務用需要を中心に切り花の生産額が増加傾向にある有望な品目である。ダリア栽培での主要な病害はウイルス・ウイロイド病であり、挿し芽や球根の分球といった栄養繁殖によって感染した母株から後代に伝染し、その被害が拡大する。特にトマト黄化えそウイルス (tomato spotted wilt virus ; TSWV) とダリアモザイクウイルス (dahlia mosaic virus ; DMV)による被害が深刻とされ、キク矮化ウイロイド (chrysanthemum stunt viroid ; CSVd) については病原性を含めさらなる調査が求められていた。しかし、これらに対する防除対策を進めるための根拠となる情報が不十分であった。そこで本研究では、ダリア生産でのウイルス・ウイロイドの発生状況と病原性を解明するとともに、診断技術の省力化・防除技術の確立を目指し、現場における実証実験を行った。</p> <p>第1章における研究背景の概説に続き、第2章ではダリアにおけるウイルス・ウイロイド検出法の省力化と精緻化を試みた。まず、主要なウイルス・ウイロイドである TSWV、DMV および CSVd のマルチプレックス RT-PCR 法による同時検出技術を開発した。それぞれの PCR 産物のサイズは 720、402 および 249bp であった。さらに針先についた植物体の汁液をテンプレートとする microtissue direct RT-PCR を実用化した。これにより、RNA 抽出を省略することが可能となり、診断に必要な作業時間を大きく短縮した。</p> <p>TSWV は、キク等の植物体で不均一に分布することが報告されており、サンプリング部位を誤ると誤診する可能性がある。そこで、適切なサンプリング部位を提示するため、ダリアの植物体内での TSWV の分布を調査した。複葉での検出率は葉柄で最も高く、次に葉軸、葉脈となり、葉身では低く、葉柄から離れるにしたがって検出率が低下する傾向があった。小葉においても同様の傾向を示し、葉脈近辺では安定して分布しており、葉身では特に葉縁で分布しない傾向があった。茎では、栄養成長期と開花期では分布の傾向が異なっていた。栄養生長期では、茎の上位節は、中位節と下位節に比べて検出率が低かった。一方、開花期では、栄養成長期と比べて検出率は上位節で高く、下位節で低い傾向があった。球根では TSWV は球根の皮層、師部および木</p> | | | |

| | |
|----|------|
| 氏名 | 浅野峻介 |
|----|------|

部に主に分布していた。しかし、球根断面での TSWV の分布面積は 1/3 未満となる個体が半数以上であり局在性が高かった。これらのことと検体採取の作業性を考慮し、中位の複葉の葉柄が検定部位として最も適切と考えた。

第 3 章ではウイルス媒介虫対策による TSWV の防除技術の確立を試みた。奈良県のダリアの露地球根生産圃場における TSWV の媒介虫を調べたところ、媒介能を持つ主要なアザミウマ類はヒラズハナアザミウマであることが判明した。その発生のピークは7月上旬であり、栽培期間を通じて TSWV を保毒していた。このことから、殺虫剤の散布はヒラズハナの発生の増加時期である 5、6 月に実施するのが適切と考えた。施設切り花生産圃場では、アザミウマ類の TSWV の保毒が確認され、感染株率は 80%に達したことから、アザミウマ類による TSWV の媒介能力は高いと考えられた。そこで、0.4mm 目合のネット被覆の TSWV 防除効果を調べたところ、高い感染拡大抑制効果が認められた。このことから、本物理的防除法は、有効な防除手段となることが明らかとなった。

第 4 章では、ダリアから検出された CSVd の塩基配列、感染性、病原性について評価を行った。国内のダリアから検出された CSVd の系統はいずれも全長が 354bp であり、既報のダリアから検出された系統に加え、これまでに報告がなかった系統および既報のキクから検出された系統が確認された。これらの塩基配列の多型の多くは病原性領域で確認された。ダリアまたはキクから検出された CSVd 系統をダリアとキクに汁液接種した結果、いずれの組み合わせでも感染率は高く、感染性に系統間差は認められなかった。このことから、ダリアとキクとの間で CSVd が伝搬する可能性が示唆された。さらに、接種試験により CSVd のダリアの生育に対する影響を調査した。その結果、植物体の矮化、露心花の発生および花色の変化が認められた。これらは商品性の低下に直結することから CSVd は防除対象とすべき病原体であると結論づけた。なお、CSVd 系統間で病原性に違いが認められ、CSVd 系統 2 では他の 2 系統と比べて、露心花率が高く、切り花重も低い傾向にあった。日長は CSVd 感染ダリアの生育に影響を及ぼし、冬季試験で暗期中断処理を行うと、14.5 時間日長と比べて露心花率は低く、切り花長は長くなった。

以上、国内のダリア生産における主要なウイルス・ウイロイド種が TSWV、DMV および CSVd であることを特定し、これらの省力的な診断技術を確立した。また、TSWV の主要な感染拡大要因がアザミウマ類による媒介であり、その媒介虫の発消長を明らかにした。その対策として殺虫剤の適切な散布時期を提示し、防虫ネット被覆が有効であることを実証した。さらに、CSVd の塩基配列や感染性といった基礎情報を整理し、これを新たに防除対象に加えるべきであることを提唱した。以上の結果は、日本におけるダリアの病害防除の指針となる価値ある業績である。よって、その学術上、応用上の価値は極めて高い。以上のことから、学位申請者 浅野峻介 は、博士（農学）の学位を得る資格があるものと認める。

| | |
|----|------|
| 氏名 | 浅野峻介 |
|----|------|

部に主に分布していた。しかし、球根断面での TSWV の分布面積は 1/3 未満となる個体が半数以上であり局在性が高かった。これらのことと検体採取の作業性を考慮し、中位の複葉の葉柄が検定部位として最も適切と考えた。

第 3 章ではウイルス媒介虫対策による TSWV の防除技術の確立を試みた。奈良県のダリアの露地球根生産圃場における TSWV の媒介虫を調べたところ、媒介能を持つ主要なアザミウマ類はヒラズハナアザミウマであることが判明した。その発生のピークは7月上旬であり、栽培期間を通じて TSWV を保毒していた。このことから、殺虫剤の散布はヒラズハナの発生の増加時期である 5、6 月に実施するのが適切と考えた。施設切り花生産圃場では、アザミウマ類の TSWV の保毒が確認され、感染株率は 80%に達したことから、アザミウマ類による TSWV の媒介能力は高いと考えられた。そこで、0.4mm 目合のネット被覆の TSWV 防除効果を調べたところ、高い感染拡大抑制効果が認められた。このことから、本物理的防除法は、有効な防除手段となることが明らかとなった。

第 4 章では、ダリアから検出された CSVd の塩基配列、感染性、病原性について評価を行った。国内のダリアから検出された CSVd の系統はいずれも全長が 354bp であり、既報のダリアから検出された系統に加え、これまでに報告がなかった系統および既報のキクから検出された系統が確認された。これらの塩基配列の多型の多くは病原性領域で確認された。ダリアまたはキクから検出された CSVd 系統をダリアとキクに汁液接種した結果、いずれの組み合わせでも感染率は高く、感染性に系統間差は認められなかった。このことから、ダリアとキクとの間で CSVd が伝搬する可能性が示唆された。さらに、接種試験により CSVd のダリアの生育に対する影響を調査した。その結果、植物体の矮化、露心花の発生および花色の変化が認められた。これらは商品性の低下に直結することから CSVd は防除対象とすべき病原体であると結論づけた。なお、CSVd 系統間で病原性に違いが認められ、CSVd 系統 2 では他の 2 系統と比べて、露心花率が高く、切り花重も低い傾向にあった。日長は CSVd 感染ダリアの生育に影響を及ぼし、冬季試験で暗期中断処理を行うと、14.5 時間日長と比べて露心花率は低く、切り花長は長くなった。

以上、国内のダリア生産における主要なウイルス・ウイロイド種が TSWV、DMV および CSVd であることを特定し、これらの省力的な診断技術を確立した。また、TSWV の主要な感染拡大要因がアザミウマ類による媒介であり、その媒介虫の発消長を明らかにした。その対策として殺虫剤の適切な散布時期を提示し、防虫ネット被覆が有効であることを実証した。さらに、CSVd の塩基配列や感染性といった基礎情報を整理し、これを新たに防除対象に加えるべきであることを提唱した。以上の結果は、日本におけるダリアの病害防除の指針となる価値ある業績である。よって、その学術上、応用上の価値は極めて高い。以上のことから、学位申請者 浅野峻介 は、博士（農学）の学位を得る資格があるものと認める。