

キク矮化ウイルス(CSVd)の蔓延を防ぐ鋏等器具の消毒方法

中村恵章¹⁾・福田至朗²⁾・栗山幸子³⁾・服部裕美⁴⁾・平野哲司⁴⁾・大石一史⁵⁾

摘要：本研究ではCSVdを保毒した植物の汁液にふれた鋏等の器具の消毒方法を検討した。火炎によってCSVdの付着した昆虫針の表面が赤化するまで加熱することでRT-PCR/ハイブリダイゼーション法でCSVdは検出されなくなった。同様の昆虫針を薬液に5秒間浸漬したところ、消毒効果が認められたのは次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度5%)のみであり、エタノール(99%)、ホルマリン(2%)、第三リン酸ナトリウム(5%)では認められなかった。次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度5%)により消毒効果が現れた浸漬時間は15秒以上であり、さらに2分以上浸漬することで、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法でCSVdは検出されなくなった。次亜塩素酸ナトリウムは有効塩素濃度が3%よりも下がると消毒効果は低下した。次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度5%)を明条件と暗条件に置いて安定性を比較したところ、暗条件に置いた次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度5%)では7日後にも安定していたが、明条件では有効塩素濃度が半分程度に減少していた。薬液は暗所で保存して安定性を維持することが重要である。

キーワード：器具の消毒、加熱、次亜塩素酸ナトリウム、濃度、安定性

How to Sterilize Knives and Pruning Tools Contaminated with *Chrysanthemum stunt viroid*

NAKAMURA Yasunori, FUKUTA Shiro, KUWAYAMA Sachiko, HATTORI Hiromi,
HIRANO Tetsuji and OHISHI Kazushi

Abstract: The present study was conducted to determine how to sterilize tools contaminated with *Chrysanthemum stunt viroid*. Insect pins were heated on a gas burner until the surface of the pins became reddish, and after a few seconds in this reddish state, CSVd was no longer detected by the reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)/hybridization method. Disinfecting insect pins by dipping them for 5 s in 5% sodium hypochlorite was found to be effective for inactivating CSVd on the surface, but 99% ethyl alcohol, 2% formalin, and 5% trisodium phosphate were found to be ineffective. Pins were sterilized after dipping in 5% sodium hypochlorite for longer than 15 s. Longer dipping was found to be more effective for inactivating CSVd. Dipping for longer than 2 min made the tools clean, although if the concentration of sodium hypochlorite was less than 3%, CSVd was still detected by the RT-PCR/hybridization method. We also compared sodium hypochlorite stability under light and dark conditions. The concentration of sodium hypochlorite decreased to less than half after 7 days under light conditions, but it was stable after 7 days under dark conditions. Therefore, it is important to store sodium hypochlorite in the dark to keep it stable.

Key Words: Sterilize tools, Heating, Sodium hypochlorite, Concentration, Stability

本研究は「新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」により実施した。

¹⁾ 園芸研究部(現園芸農産課) ²⁾ 環境基盤研究部 ³⁾ 環境基盤研究部(現豊田加茂農林水産事務所)

⁴⁾ 園芸研究部 ⁵⁾ 園芸研究部(現企画普及部)

(2013.9.18 受理)

緒言

営利栽培を行うキク生産者にとってキク矮化ウイルス(*Chrysanthemum stunt viroid*, CSVd)による矮化病は重大な病害の一つとなっている。キクのCSVdについては、1947年にアメリカ合衆国で初めて報告されて以来¹⁾、世界中にその発生が広がっている。日本でも1977年に初めてキクでの発生を確認し、1980年代に品種の輸入に伴って多くの都道府県で発生し始めたことが報告されている²⁻¹⁰⁾。CSVdに感染したキクは、健全な株に比べて草丈が矮化し、葉や花の小型化、根の伸長不良などを生じることが報告されている^{2, 11)}。これらの外観的な商品性の低下や不斉な生育により、計画生産ができなくなることで経済的な損失が膨大になると推計されている^{2, 3)}。

CSVdの感染経路は主に汁液感染である。特に摘心や収穫の際に指や刃物に汁液が付着し、感染株から健全株に感染が広がるのが主な経路とされている²⁾。

ウイルスはCSVdも含めて分子構造が極めて強固で、耐熱性や耐薬品性が高く消毒法の選択が難しいといわれている¹¹⁾。近年、CSVdの被害が発生した県において、CSVd対策技術に関する情報が公開されており¹²⁻¹⁵⁾、特に感染の蔓延の原因となる汁液が付着する鋏などの消毒には、次亜塩素酸ナトリウムを推奨しているが、ホルマリンや場合によっては第三リン酸ナトリウム¹⁵⁾などを用いて、植物ウイルスの消毒方法に準じたものが見うけられる。このような取り組みにもかかわらずCSVdの発生がなくなるには効果的な器具等の消毒方法が確立されていないことによると考えられる。

本試験では、キク矮化病の主な感染経路の一つであるCSVdの付着した使用器具等の有効な消毒方法を検討した。

材料及び方法

1 火炎滅菌法における有効な加熱時間の検討

(1) 材料

CSVdを保毒したキク「神馬」の葉脈を昆虫針の先端部分(5 mm)で複数回刺して、感染植物の汁液が付着した器具(以下、汚染昆虫針という)を作成した。

(2) 火炎滅菌の方法

火炎滅菌の熱源には家庭用コンロを用いた。その炎で汚染昆虫針の汁液付着部分を加熱した。加熱時間は先端が熱によって赤化した時点から1秒、5秒、15秒、30秒の4区、また、表面を軽くあぶっただけで赤化しない加熱赤化前終了区と無処理区を合わせた合計6区とした。各区とも3反復とした。

(3) 検出方法

RT-PCR法によるCSVd配列の増幅はReverTra Dashキット(東洋紡株式会社、大阪)を用いて実施した。RT反応は、ReverTra Ace(50 units)、RT Buffer(1 μ L)、dNTP

(10 mM)、(1 mM)、RNase inhibitor(5 units)、逆転写プライマー(0.5 μ L)を混ぜた反応液10 μ Lへ汚染昆虫針を浸漬して実施した。反応温度の条件は、42°Cで30分、99°Cで5分間実施した。PCR反応は、KOD Dash polymerase(0.25 units)、10×KOD Buffer(5 μ L)、プライマー(0.5 μ L)を含む40 μ LをRT産物10 μ Lに加えて行った。プライマーおよびPCRの反応条件はHosokawaら¹⁶⁾の方法に準じ、反応温度の条件は、98°Cで3分を1サイクル、その後、98°Cで30秒、58°Cで10秒、74°Cで30秒を35サイクル、74°Cで5分を1サイクルで実施した。その後、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法によってCSVdを検出した。

2 浸漬消毒における有効な薬液の検討

(1) 供試した薬液の種類

次亜塩素酸ナトリウム(商品名:アンチホルミン(原液):有効塩素濃度5%以上(以下、5%と表記する))、エタノール(99%)、ホルマリン(2%に調整)、第三リン酸ナトリウム(商品名:ピストロン-10:5%に調整)、蒸留水および消毒なしの合計6区とした。各区とも3反復とした。

(2) 処理方法

汚染昆虫針を作成して以下の消毒に供試した。0.5 mLチューブに薬液をそれぞれ0.2 mL量り取り、汚染昆虫針を各薬液に5秒間浸漬した。さらに、取り出した昆虫針を予め準備した蒸留水に瞬間浸漬し薬液を洗浄したのち風乾した。

(3) 検出方法

先述の方法によりRT-PCR産物を得て、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法によってCSVdを検出した。

3 薬液への浸漬時間および濃度の検討

(1) 昆虫針を用いたモデル実験

ア 材料

汚染昆虫針を作成して以下の消毒に供試した。

イ 処理方法

0.5 mLチューブに次亜塩素酸ナトリウム(5%)を0.2 mL量り取り、汚染昆虫針の先端を薬液に所定時間浸漬した。薬液への浸漬時間は1秒、3秒、5秒、15秒、30秒、1分、2分、3分の8区と消毒なしの合計9区とした。反復は、1秒~3秒区は3反復、15秒~3分区は5反復とした。昆虫針は薬液への浸漬後、予め準備した蒸留水に瞬間浸漬して薬液を洗浄したのち風乾した。

ウ 検出方法

風乾した昆虫針を用いて、先述の方法によりRT-PCR産物を得て、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法で検定を行った。

(2) 小型の鋏を用いた実証実験

ア 薬液への浸漬時間および濃度とCSVdの検出

(7) 材料

全長9 cm(刃渡り3.5 cm)の小型鋏を用い、保毒株から採取した葉を30~40回切り刻み汁液および植物残渣を付着させた鋏(以下、汚染鋏という。図1(a))を作成し

た。

(イ) 処理方法

汚染銼を風乾し、アンチホルミン(5%)を100 mLビーカーに50 mL準備し、銼の先端部分が十分に薬液に浸るよう汚染銼の刃先を浸漬し、予め準備した蒸留水で1秒間洗浄した。浸漬時間および処理方法は、薬液への浸漬時間を1秒、5秒、15秒、30秒とし、それぞれの浸漬中に刃の表面をブラシ(材質:飽和ポリエステル樹脂)でこするブラシ処理あり(以下、あり区)と浸漬のみでブラシ処理なし(以下、なし区)を組み合わせた8区と、浸漬処理せず蒸留水による1秒間の洗浄のみ行う無処理区を合わせた合計9区とした。ブラシ処理は、刃先を浸漬する際に、ブラシで刃の表裏面を各5回程度(1秒区では片面を1回のみ、5秒区では表裏面を各2回程度)こすった。各区とも5反復とした。洗浄した銼は風乾した後、蒸留水100 μ Lを入れた1.5 mLサンプルチューブに刃先を30秒浸漬し、これをサンプル水として振とうして供試した。同時にブラシ処理の前後の刃の表面を実体顕微鏡(倍率20倍)で観察した。

処理濃度の検討は、次亜塩素酸ナトリウム(5%)の希釈倍率を原液(5%)、2倍希釈(有効塩素濃度3%。以下3%と表記する)、4倍希釈(有効塩素濃度1%。以下1%と表記する)とブラシ処理の有無を組み合わせた6区と無処理区の合計7区について検討し、各区とも5反復とした。薬液へは30秒間浸漬、蒸留水で1秒間洗浄、風乾した。その後、蒸留水100 μ Lを入れた1.5 mLサンプルチューブに刃先を30秒浸漬し、これをサンプル水として振とうして供試した。

(ウ) 検出方法

サンプル水2.5 μ LをRT-PCR反応液(ReverTra Dash キット)(東洋紡株式会社、大阪)7.5 μ Lと混合して合計10 μ Lとし、先述の方法に準じてRT-PCR産物を得て、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法によって検定を行った。

4 市販の次亜塩素酸ナトリウムの塩素濃度の安定性等

(1) 薬液の調整方法

1.5 mLのサンプルチューブに次亜塩素酸ナトリウム(商品名:アンチホルミン(5%))および市販の次亜塩素酸ナトリウム(商品名(業務用)ハイターE、出荷時の塩素濃度6%)を各1 mL量り取り、20°C・24時間(蛍光灯)照明に設定した陽光恒温器中に置いた。ただし、市販の次亜塩素酸ナトリウム(ハイターE)は購入してから約半年間、常温で管理し、試験直前に開封したものを用いた。

(2) 処理期間

恒温器中でアンチホルミンを管理する期間は0日、1日、3日、5日、7日とし、1~7日区はそのまま恒温器内で管理する明条件区とアルミホイルで遮光処理をした暗条件区の計8区とし、合計9区とした。各区とも5反復とした。

恒温器中でハイターEを管理する期間は0日、7日とし、7日区は明条件と暗条件の2区とし、合計3区とし

た。各区とも3反復とした。

(3) 塩素濃度の測定方法

塩素検出試験紙(0-500 mg/L:No. 17924、0-20 mg/L:No. 17925 Merck社)を用いて、塩素濃度を測定した。測定時は試験紙の呈色範囲内になるように蒸留水で希釈し、測定後に希釈倍率により補正した。なお、試験紙の呈色が各濃度の指示色の中間範囲内となる場合は両濃度の中間濃度として計算した。

試験結果

1 火炎滅菌法における有効な加熱時間の検討

炎を用いて消毒した場合、金属が赤化すればその後の消毒時間は1秒から30秒までいずれの処理時間においてもRT-PCR/ハイブリダイゼーション法によってCSVdは検出されなかった。また、加熱部分の赤化前に火炎滅菌を終了した場合はRT-PCR/ハイブリダイゼーション法で100%の割合で検出された(表1)。

2 浸漬消毒における有効な薬液の検討

4種類の薬液及び蒸留水へ5秒間浸漬したところ、次亜塩素酸ナトリウム(5%)のみ3検体のうち2検体でCSVdが検出されなかったが、エタノール(99%)、ホルマリン(2%)、第三リン酸ナトリウム(5%)および消毒なしでは100%CSVdが検出された(表2)。

3 薬液への浸漬時間および濃度の検討

モデル実験として昆虫針を用いて次亜塩素酸ナトリウム(5%)の処理時間を検討したところ、15秒以上1分までの浸漬ではRT-PCR/ハイブリダイゼーション法による検出でCSVdの検出率は低いながら、いずれもCSVdは検出されたが、2分以上では全く検出されなかった(表3)。

また、銼を用いた実証試験で、銼の表面を実体顕微鏡(20倍)で観察したところ、ブラシ処理をしない場合は表面に若干の残渣が観察されたが(図1(b))、十分にブラシ処理をした場合には残渣の観察は認められなかった(図1(c))。30秒浸漬区と15秒浸漬区ではブラシ処理の有無にかかわらずCSVdを検出しなかったが、1秒・なし区と5秒・あり区、5秒・なし区ではCSVdが5反復中1反復で検出された。1秒・あり区では他の区よりも多い5反復中3反復でCSVdを検出した。また、無処理区では全ての刃先からCSVdが検出された(表4)。

また、CSVdの消毒に有効な次亜塩素酸ナトリウム(5%)の処理濃度およびブラシ処理のあり・なしの影響について検討したところ、原液(5%)・あり区ではCSVdを検出せず、原液(5%)・なし区、2倍希釈および4倍希釈ではブラシ処理の有無にかかわらずそれぞれ5反復のうち1反復および2反復でCSVdを検出した。また、無処理区は全ての刃先からCSVdを検出した(表5)。

4 市販の次亜塩素酸ナトリウムの塩素濃度の安定性等

市販されている次亜塩素酸ナトリウム液の試薬（商品名：アンチホルミン、有効塩素濃度5%以上）は20℃の暗条件に置いた場合、7日後にも有効塩素濃度は変わらず安定していたが、明条件では有効塩素濃度が半分程度に減少した（図2）。

また、市販の次亜塩素酸ナトリウムの家庭用洗淨漂白

剤（商品名：ハイターE、出荷時有効塩素濃度6%）を未開封、常温で管理し半年後に塩素濃度を測定したところ、その塩素濃度は開封時に4%以下となっており、20℃・暗条件下では7日後も4%以下のままであったが、20℃・明条件下では7日後に2%以下にまで低下した（表6）。

表1 火災滅菌による昆虫針の加熱時間とCSVdの検出（3反復）

器具の消毒方法	RT-PCR/ハイブリダイゼーション法による検出
家庭用コンロの炎で加熱し、赤化後 1秒	0/3
家庭用コンロの炎で加熱し、赤化後 5秒	0/3
家庭用コンロの炎で加熱し、赤化後 15秒	0/3
家庭用コンロの炎で加熱し、赤化後 30秒	0/3
加熱赤化前終了	3/3
消毒なし	3/3

表2 消毒液の種類と昆虫針からのCSVdの検出（3反復）

消毒液の種類 ¹⁾	RT-PCR/ハイブリダイゼーション法による検出
次亜塩素酸ナトリウム（5%）	1/3
エタノール（99%）	3/3
ホルマリン（2%）	3/3
第三リン酸ナトリウム（5%）	3/3
水洗い	3/3
消毒なし	3/3

1)各溶液に5秒浸漬後、蒸留水で1秒水洗いし、RT-PCRを実施した。

表3 次亜塩素酸ナトリウム（5%）への昆虫針の浸漬時間とCSVdの検出

浸漬時間	RT-PCR/ハイブリダイゼーション法による検出
1秒	1/3 ¹⁾
3秒	3/3
5秒	3/3
15秒	3/5
30秒	3/5
1分	1/5
2分	0/5
3分	0/5
消毒なし	3/3

1)各分母は反復回数

表4 次亜塩素酸ナトリウム（5%）への鉄の処理時間および方法の検討（5反復）

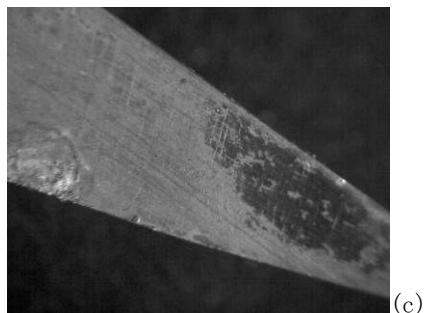
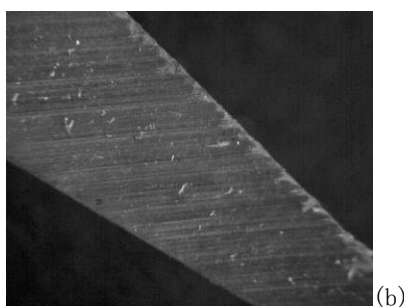
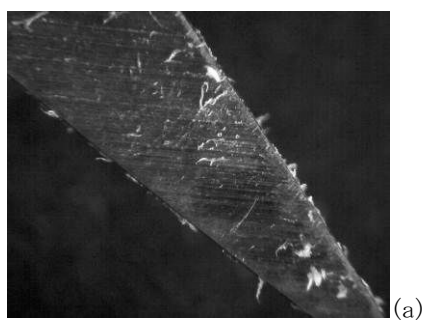
処理時間	ブラシ処理	RT-PCR/ハイブリダイゼーション法による検出
1秒	あり ¹⁾	3/5
	なし	1/5
5秒	あり ²⁾	1/5
	なし	1/5
15秒	あり	0/5
	なし	0/5
30秒	あり	0/5
	なし	0/5
無処理	—	5/5

1) 鉄の片面のみを1回こする（1～2秒）

2) 鉄の両面をブラシで1～2回こする（5秒弱）

表5 次亜塩素酸ナトリウム（5%）の希釈倍率および方法の検討（5反復）

希釈倍率	ブラシ処理	RT-PCR/ハイブリダイゼーション法による検出
原液（5%）	あり	0/5
	なし	1/5
2倍希釈（3%）	あり	1/5
	なし	1/5
4倍希釈（1%）	あり	2/5
	なし	2/5
無処理	—	5/5



(a) : 植物を切った後の状態（残渣が多量に付着する）

(b) : 水洗いした状態（細かな残渣が残る）

(c) : ブラシで表面を洗浄後（残渣は残らない）

図1 鉄の表面の状態

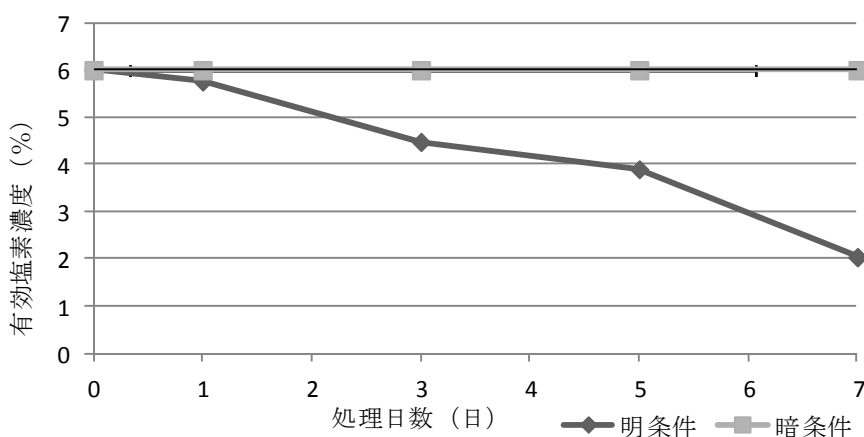


図2 次亜塩素酸ナトリウム（アンチホルミン）の管理条件と塩素濃度の推移

表6 市販の次亜塩素酸ナトリウム（商品名：ハイターE¹⁾を半年間未開封で常温保存した後の経時的濃度変化

条件	0日 ²⁾	7日
明	4%以下	2%以下
暗	4%以下	2～4%

- 1) 出荷時の塩素濃度は6%。
2) 開封時を0日とした。

考 察

キク矮化ウイルス(CSVd)は、摘心や収穫の際に刃物等に汁液が付着し、感染株から健全株に広がるのが主な感染ルートとされている。そこで本試験は、CSVdの付着した使用器具等の消毒方法について検討した。

昆虫針を用いたモデル実験では、器具の消毒にはバーナーなどを用いて金属部分を赤化させるか、次亜塩素酸ナトリウムで2分以上の浸漬消毒を行うことで、RT-PCR/ハイブリダイゼーション法によっても検出されないレベルで消毒が可能であった。

火炎滅菌法について、表面を火炎であぶっただけで、赤化させなかった場合、十分な消毒とならず、CSVdが検出されることがあった。即ち、火炎滅菌において赤化させる意味は、金属の表面を高温にすることで汁液中や残渣内に含まれるCSVdを高温で加熱することで失活させることによると推察された。鋏の火炎滅菌法は十分に熱することで完全に滅菌できる一方で、生産者ほ場では使用の都度、滅菌を実施するのは煩雑で実用的ではない。より現実的な対応としては品種毎やほ場内をブロック毎、列毎などで区切って実施することによりCSVdをほ場内で次々と広げないよう対応できる可能性があり、CSVdに対する火炎滅菌法による対応の証明は今後の進展に期待する。

次に、火炎滅菌法よりも簡便な消毒方法を求めて薬液浸漬について検討をした。薬液による消毒方法に関して、様々な資料や各自治体等のホームページ等でウイルスの消毒に用いる薬液への浸漬がCSVdにも有効であることを表示している^{12, 15)}が、今回の試験で供試した濃度範囲では次亜塩素酸ナトリウムの原液（有効塩素濃度5%）への浸漬のみが有効な消毒方法であった。BouwenとVan Zaayen²⁾はホルムアルデヒドと第三リン酸ナトリウムはCSVdの感染を減らすことがないとしており、今回の結果とも一致した。

原液の次亜塩素酸ナトリウムへの浸漬時間に関しては、15秒以上で消毒効果が高まっていき、完全に検出しなくなるには2分以上と比較的長時間の浸漬が必要であった。

一方で、実際の利用場面と想定される栽培ギクほ場で長時間の浸漬処理は作業効率の低下を引き起こすと予想された。また、鋏等の刃の表面には汁液だけでなく植物残渣が付着し（図1(a)）、消毒の仕方によっては表面に残渣が残る（図1(b)）ことがあり、残渣中のCSVdが十分に滅菌できない場合にCSVdが検出される可能性が考えられた。

服部ら¹⁷⁾はカミソリの刃を用いた実験で、次亜塩素酸ナトリウムで消毒し、水で洗浄後にティッシュなどで拭き取ることで、植物残渣を表面から除去すること、刃の表面を消毒することの両者をあわせることで消毒が効

果的になるとした。

そこで、ブラシを用いて刃の表面から植物残渣を物理的に除去する方法と組み合わせることにより効率的な消毒方法を検討した。

鋏での実証試験において、1秒間の浸漬とブラシ処理を合わせた消毒方法において最もCSVdの検出率が高まったが、これは付着した残渣の除去が不十分だったため、その後の次亜塩素酸ナトリウム（5%）による消毒も十分でなかった可能性が考えられた。

今回の検出方法で用いたRT-PCR/ハイブリダイゼーション法は低濃度のCSVdまで検出できる方法である。服部ら¹⁷⁾はCSVdの検出にRT-LAMP法を用いており、検出感度は低くなるがこの方法で不検出であれば数か月後でもCSVdは不検出であることを示した。今回の試験はより厳しい条件で消毒効果を検討しており、今後、感染と発病の条件等の詳細な把握により効果的で簡便な手法について明確にできることを期待したい。また、実際に利用する場面では長時間の浸漬処理は煩雑であるため、液中に大きめのブラシを沈めて鋏の刃をこすりつけるなどさらに簡便な処理方法を検討する必要がある。

いずれにしても刃の両面の残渣を十分に除去することと次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度5%）を用いることによって十分な消毒ができる。

原液の塩素濃度の安定性について検討したところ、短期間の室温程度の温度には比較的安定であったが、光が当たる環境下では速やかに塩素濃度は低下した。また、未開封でも長期間放置すると塩素濃度は徐々に低下していくと考えられた。

中性次亜塩素酸カルシウム（商品名：ケミクロンG、有効塩素濃度70%）は入手、管理が簡便であり、CSVdの消毒にも利用できると考えられるが、使用説明書の通りに500倍（W/V）に希釈したものの塩素濃度は1.5%であった（データ省略）。有効塩素濃度5%程度の消毒効果を得るためには、今後使用方法の検討を要する。

今回、鋏を使用した実証実験で十分な消毒効果を得るための処理時間について、試験毎に長短が見られたが、使用した次亜塩素酸ナトリウムの塩素濃度が経時的に低下した影響の可能性はある。今後、この点の検証を進めるとともに、実際の使用時には、浸漬処理前に有効塩素濃度の把握をしてその効果を確認する必要がある。

これらのことより、CSVdの付着した鋏等の消毒は、パーナーなどを用いて金属部分を赤化させる火炎滅菌、あるいは次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度5%）に2分以上浸漬（ブラシやティッシュなどによって表面の残渣除去を併用することによって30秒程度に短縮できる）することが確実な方法であった。

また、次亜塩素酸ナトリウム（5%）は入手して早めに使い切ることで、暗所で保存して使用時に有効塩素濃度の確認をすること。また、植物残渣の有効な洗浄・除去作業と組み合わせることにより、浸漬時間を短縮できる可能性があることが明かとなった。

引用文献

1. Dimock, A. W. Chrysanthemum stunt. New York State Flower Growers Bull. 26, 2(1947)
2. Bouwen I. and Van Zaayen A. Chrysanthemum stunt viroid. VIROIDS, CRISO PUBLISHING. Australia. p. 218-223 (2003)
3. Sano T. Viroids in Japan. VIROIDS. CRISO PUBLISHING. Australia. p. 286-311 (2003)
4. 天野正之. キクスタントウイルス (CSV) の汚染状況の調査. 研究成果. 211. 農林水産技術会議. 東京. p. 40-44 (1988)
5. 土井誠, 加藤公彦. 静岡県で発生したキク矮化ウイルス (CSVd) の塩基配列とキク品種の病徴. 関西病虫研報. 46, 11-14 (2004)
6. 森山美保, 杉浦広幸, 蒲田洋次, 花田薫. 熊本県のキクから検出されたキク矮化ウイルス. 九病虫研会報. 42, 45-47 (1996)
7. 杉浦広幸, 花田薫. 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. 園学雑. 67, 432-438 (1998)
8. 花田薫, 酒井淳一. 九州・沖縄で発生したキク矮化ウイルスの塩基配列. 九病虫研会報. 47, 43-45 (2001)
9. 山本英樹. 秋田県農試特別報. 48, 99-119 (2008)
10. 松下陽介. 花き研報. Bull. Natl. Inst. Flor. Sci. 11, 9-48 (2011)
11. Horst H. K., Langhans R. W. and Smith S. H. Effects of Chrysanthemum Stunt, Chlorotic Mottle, Aspermy and Mosaic on Flowering and Rooting of Chrysanthemums. Phytopathology. 67, 9-14 (1977)
12. 福岡県【花き花木】防除方法の試験研究成果. p. 7. http://www.pref.fukuoka.lg.jp/uploaded/life/73/73366_16285400_misc.pdf (2013. 6. 28参照)
13. 香川県農業経営課. かがわアグリネット. 9月 キクの矮化病対策について. http://www.pref.kagawa.jp/agrinet/dougubako/09/kaki/kiku_9_2.htm (2013. 6. 28参照)
14. 北海道病害虫防除所. [平成4年度新発生病害虫]. <http://www.agri.hro.or.jp/boujoshou/sinhassei/html/92/0405.htm> (2013. 6. 28参照)
15. 島根県. 病害虫データベース. キク矮化病. <http://www.pref.shimane.lg.jp/nogyogijutsu/gijutsu/byougaityuu/cyl21.html> (2013. 6. 28参照)
16. Hosokawa, M., Matsushita, Y., Uchida, H. and Yazawa, S. Direct RT-PCR method for detecting two chrysanthemum viroids using minimal amounts of plants tissue. J. Virol. Meth. 131, 28-33 (2005)
17. 服部裕美, 中村恵章, 平野哲司, 大石一史. キク矮化病の伝染を防止する器具の消毒方法の検討. 園芸学会東海支部. 平成24年度研究発表要旨. 1 (2012)