

緒 言

インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*) は、北海道が主産地で、全国の 85~90% の栽培面積を占める。北海道におけるインゲンマメ栽培の歴史は古く、1806 年に厚岸郡において栽培された記録がある。その後、1871 年に北海道開拓使が、外国から品種を導入し試作した。1886 年の北海道における最初の農業統計によれば、作付け面積は 159 ha にすぎなかったが、北海道の気候風土に適していたところから作付けが増大し、1910 年には約 1 万 4,000 ha を記録した。1918 年には全道で 13 万 6,000 ha に達し、インゲンマメ栽培面積のピークを示したが、以後減少し 1920 年代には 5~6 万 ha、1930 年代には 8~9 万 ha に推移した。その後作付け制限により 1945 年は一時 1 万 2,000 ha まで減少したが、再び徐々に増加し 1960 年には約 7 万 9,000 ha にまで回復した。しかし再び減少し 1970 年は約 6 万 8,000 ha、1980 年は 2 万 ha に至り現在 2 万 5,000 ha 前後に定着している。

このうち本研究において主として対象としたつる性種の高級菜豆は、洞爺湖周辺の西胆振地方および網走地方の北見市周辺の限定された地域で古くから栽培された。高級菜豆は手竹栽培のため機械化が難しく、多大の労力を必要とする。そのため大規模栽培に適さず、1944 年には約 5,700 ha の栽培面積を確保したが、以後徐々に減少し 1930 年代には 3,000 ha 台にまで減少し、1958 年には約 2,300 ha になった。その後毎年若干の増減はあるものの 2,500 ha 前後で現在に至っている (日本豆類基金協会, 1977; 北海道農務部, 1979, 1988)。

インゲンマメの栽培面積は、これまで世界大戦による国際価格の変動や国家の作付け制限などの経済的要因により大きく変遷してきたが、一方病害虫による被害も甚大で作付け面積の増減に少なからず影響を与えたものと思われる。

インゲンマメモザイクウイルス (bean common mosaic virus, 以下 BCMV と略す) によるモザイク病は、1920 年に最初に認められた (栗林, 1926)。

その後 1950 年代中期に道南地方の高級菜豆に多発生が認められた。種子汚染の進行とともに 1970 年代に再び激発し (日本特産農作物種苗協会, 1978)、現地で大きな問題となった。

インゲンマメ黄斑モザイクウイルス (bean yellow mosaic virus, 以下 BYMV と略す) によるつる枯病は、保毒源であるクローバー類の汚染の進行と共に近年増大の傾向にある。本病に感染した品種「大福」はつる枯れ症状を呈して枯死するため (菅野ら, 1980; 上田ら, 1981)、現地では深刻な問題となっている。しかしながら、本病の病原ウイルスはこれまで BYMV のえそ (N) 系統とされてきたが、近年 Clover yellow vein virus (以下 CYVV と略す) と改められた (高橋ら, 1989) ので、本論文では CYVV として報告する。

また近年十勝地方山間部の品種「大正金時」にインゲンマメ黄化病が多発生し問題となっている。

このように、近年インゲンマメウイルス病が増大し道内各地で問題となっているが、これまで道内におけるインゲンマメウイルス病の詳細な研究報告はなく、早急な防除対策の確立が現地から要望された。

筆者は 1978 年から 1985 年まで北海道立中央農業試験場において、インゲンマメウイルス病の発生生態と防除に関する研究を担当した。本報告はウイルス病の発生生態、病原ウイルス、診断、発生生態、防除について検討した結果を取りまとめたものである。

本研究を遂行するにあたり、元北海道立中央農業試験場病虫部長 (現日本チバガイギー株式会社) 高桑 亮博士、故富岡 暢氏ならびに前北海道立中央農業試験場病虫部長 (現全農) 赤井 純博士には本研究課題を与えられ、終始懇切なご指導を賜った。また北海道大学農学部教授四方英二郎博士には、終始有益なご教示を賜った。ここに衷心より感謝の意を表する。本研究を行うにあたり、

元北海道立中央農業試験場病理科長(現同場病虫部長)齋藤 泉博士, 元同場病理科研究職員(現同場微生物開発科長)玉田哲男博士には, 研究遂行上有益なご教示を頂いた。また元北海道立中央農業試験場長(現北海道拓殖短期大学教授)島崎佳郎博士, 中山利彦博士(現北海道てん菜協会), 馬場徹代博士(現北海三共株式会社), 前北海道立中央農業試験場長(現ホクレン)森 義雄氏には, 格別のご指導とご鞭撻を頂いた。また本研究を進めるにあたり, 日本豆類基金協会からは終始暖かいご援助とご鞭撻を頂いた。元北海道立中央農業試験場特別研究員故及川邦男氏, 同場研究職員伊藤平一氏には一部共同研究を実施し, 絶大なご協力とご支援を頂いた。農林水産省北海道農業試験場飯塚典男博士, 前北海道立中央農業試験場研究職員(現北海道立北見農業試験場)兼平 修氏には有益なご助言を頂いた。また北海道大学農学部助教授上田一郎博士には貴重な抗血清の分譲を頂いた。北

海道大学農学部助手大島一里氏にはモノクローナル抗体作出にあたり技術指導を受けた。発生実態調査および現地試験については胆振, 網走地区の農業改良普及所ならびに豆類ウイルスフリー種苗研究会のご協力を得た。各位に対してここに深甚なる感謝の意を表す。

本研究は主に北海道立中央農業試験場で実施したが, 同場病理科長児玉不二雄博士, 元同場病理科研究職員(現同場栽培第2科長)田村 修博士, 尾崎政春氏(現北海道立上川農業試験場専門技術員), 同場病理科研究職員近藤則夫氏ならびに臨時職員の諸氏には, 研究遂行上種々の便宜やご協力を頂いたことに対して, 心から感謝申し上げる。

また本論文の校閲の労をとられた北海道大学農学部教授四方英四郎博士, 同生越 明博士, 同喜久田嘉郎博士に対し, 重ねて深甚なる謝意を表する次第である。

第1章 既往の研究

I. インゲンマメモザイクウイルス (BCMV)

1. 被害

Ravinder *et al.* (1985)によれば、BCMVに感染したインゲンマメは葉数、葉面積、葉の乾物重、株当りの総乾物重、花数などが減少したと報告した。収量に与える影響についてはOmar *et al.* (1979)が24%減少するとし、Hampton(1975)は株当り莢数が50~64%、株当り子実重が53~68%減少することからして、ウイルス感染による莢数の減少が直接子実の減収につながると解析した。ほ場でウイルスが約40%発生した場合の子実重は約40%減少した(北海道立中央農業試験場, 1975)。鉢栽培したインゲンマメへ人工接種した場合生育が遅延し、草丈が低く開花が遅れる結果、子実重では50~65%の減収を示した(北海道立中央農業試験場, 1976)という報告もある。mung beanの場合では子実重で31~75%減収した(Kaiser and Mossahebi, 1974)。

しかしながら、つる性インゲンマメについて詳細に被害解析した報告はまだない。

2. 病原ウイルス

本ウイルスはStewart and Reddickが1917年に最初に報告して以来、今日まで数多くの系統が報告されている(Richards and Burkholder, 1943; van der Want, 1954; Dean and Wilson, 1959; Quantz, 1961; Skotland and Burke, 1961; Zaumeyer and Goth, 1964; Silbernagel, 1969; Alconero, 1972; Hubbeling, 1972; Alconero and Meiners, 1974; Drijfhout and Bos, 1977; Silbernagel *et al.*, 1986)。Drijfhout *et al.* (1978)は、既報の22系統をインゲンマメの標準品種に対する反応により、7つのグループに類別した。

物理的諸性質のうち、耐熱性は55~60°C (Zaumeyer and Goth, 1964; Silbernagel, 1969; Drijfhout and Bos, 1977), 60~62°C (Quantz,

1961), 60~65°C (Drijfhout and Bos, 1977), 耐希釈性は 10^5 倍 (Quantz, 1961), $5 \times 10^3 \sim 10^4$ 倍 (Silbernagel, 1969), $10^4 \sim 10^5$ 倍 (Drijfhout and Bos, 1977), $10^7 \sim 10^8$ 倍 (Drijfhout and Bos, 1977), 耐保存性は3日 (Zaumeyer and Goth, 1964; Silbernagel, 1969), 4日 (Quantz, 1961), 5日 (Drijfhout and Bos, 1977), 6日 (Drijfhout and Bos, 1977)とそれぞれ報告されている。

Moghal and Francki(1976, 1981)は、BCMVを含む6種類のpotyvirusを用いて寄主範囲、寒天ゲル内拡散法およびアミノ酸組成を比較し、それら相互の類縁関係を調べた。Tsuchizaki and Omura(1987)は、4種類の種子伝染性ウイルス相互間の寄主範囲、血清学的関係、外被蛋白質などの比較を行い、それらの類縁関係を調べた。

本ウイルスはモモアカアブラムシ(*Myzus persicae*)、マメアブラムシ(*Aphis craccivora*)、エンドウヒゲナガアブラムシ(*Acyrtosiphon pisum*)などにより非永続的に伝搬される(Zaumeyer and Kearns, 1936; Zettler, 1967)。Zaumeyer and Kearns(1936)によると、11種のアブラムシがウイルスを伝搬し、ニセダイコンアブラムシ(*Lipaphis erysimi*)、*Hayhurstia atrilolicis*、ミカンミドリアブラムシ(*Aphis citricola*)、モモアカアブラムシが80%以上の伝搬率を示した。一方、インゲンマメが寄主植物でないムギクビレアブラムシ(*Rhopalosiphum padi*)によっても伝搬されたという報告がある(Zettler, 1967)。アブラムシの吸汁時間は、短時間(10分あるいは100分以内)でよくウイルスを伝搬した(Zettler and Wilkinson, 1966; Zettler, 1967)。

保存に関する研究は少なく、塩化カルシウムを用いた乾燥保存で18カ月以内に感染力を失った(Zaumeyer, 1962)。これに対して、3年間感染力を保持したという報告もある(Bos and Benetti, 1979)。一方、真空凍結乾燥やペプトンの添加も有効であったとの報告もある(Chod and Polak,

1975)。

しかしながら、北海道内に発生する本ウイルスの系統の類別については明らかにされていない。また、凍結保存に対するウイルス活性への影響についても不明である。

3. 種子伝染

本ウイルスはインゲンマメで種子伝染するが、種子伝染率は品種および系統によって異なり、5% (Zaumeyer and Goth, 1964), 7~20% (Phatak, 1974), 2~66% (Smith and Hewitt, 1938), 16~37% (Silbernagel, 1969), 20~60% (Harrison, 1935), 20~80% (Drijfhout and Bos, 1977), 25~86% (Medina and Grogan, 1961), 50% (Reddick and Stewart, 1919; Burkholder and Muller, 1926), 34~89% (萩田ら, 1975)などのそれぞれ種子伝染率が報告されている。一方、インゲンマメ以外の植物においても, tepary bean (*Phaseolus acutifolius* var. *latifolius*) で7~22% (Provvidenti and Cobb, 1975), 7~34% (Lockhart and Fischer, 1974), phasemy bean (*Macroptilium lathyroides*) で5~33% (Provvidenti and Braverman, 1976), mung bean (*Vigna radiata*) で8~32% (Kaiser and Mossahebi, 1974), ジウロクササゲ (*Vigna sesquipedalis*) で37% (Snyder, 1942), ハタササゲ (*Vigna sinensis*) で25~40% (Sachchidanada *et al.*, 1973)の種子伝染率が報告されている。

種子伝染に影響を与える要因として、品種 (Medina and Grogan, 1961) および温度 (Crowley, 1957; Medina and Grogan, 1961) などの環境要因、感染時期 (Fajardo, 1930; 萩田ら, 1975)、感染葉位 (萩田ら, 1975) などがある。Medina and Grogan (1961) は、優性の抵抗性遺伝子を持った F_1 は種子伝染を生じないこと、花粉伝染の方が胚のう伝染に比べ、種子伝染率が高いことを示した。ウイルスの抵抗性遺伝に関する研究では、ウイルスの系統とインゲンマメ (Walkey and Innes, 1978) およびベニバナインゲン (Walkey and Taylor, 1979) 品種の抵抗性や、抵抗性遺伝子の種類 (Andersen and Down, 1954; Innes and Walkey, 1979; Walkey and Innes, 1979; Innes and

Walkey, 1980) について分析されている。

保毒種子の胚中に存在するウイルスは、種子の成熟、乾燥による影響を全く受けないが (Ekpo and Saettler, 1975; Jafarpour *et al.*, 1979), 種皮中のウイルスは減少した (Jafarpour *et al.*, 1979)。Hoch and Provvidenti (1978) は、休眠および発芽中の種子を用いてウイルス所在様式を超薄切片法により電顕観察した。一方、オートラジオグラフィを用いて、インゲンマメ茎頂の分裂組織中におけるウイルスの存否を調べた報告もある (Rubies-Autonell and Faccioli, 1985)。

しかしながら、つる性インゲンマメを用いた種子伝染に関する研究は少なく (萩田ら, 1975)、感染時期および感染葉位と種子伝染率、開花と種子伝染の関係など不明な点が多い。

4. 診断

Walkey and Webb (1984) は免疫電顕法を用いて、本ウイルスを含む potyvirus 群の類縁関係を調べた。Jafarpour *et al.* (1979) は ELISA 法を用いて、保毒種子中のウイルスを検出した。Dot immuno binding (DIB) 法により種子中のウイルスが検出され、免疫電顕法や病徴判定による検出結果とも一致したと報告されている (Lange and Heide, 1986)。

しかしながら、免疫電顕法を用いて保毒種子各部位のウイルス濃度、および保毒種子の集団検定を行った報告はない。

5. 発生生態と防除

発生生態と防除に関する報告は少ない。Hampton *et al.* (1983) は、アメリカ北西部に発生する BCMV の分離株を strain group に類別し、それぞれの発生頻度を調べた。ガラス室試験では、油剤散布により本ウイルスの伝搬防止効果が認められたが、ほ場試験では効果が認められなかった (Walkey and Dance, 1979)。

乾熱および温湯処理しても、種子中のウイルスは不活化しなかった (Reddick and Stewart, 1919)。ウイルス病を防除するためには、ウイルスフリー種子の使用、抵抗性品種の育成、早生系品種の使用による感染の回避などが推奨されている (Fajardo, 1930)。

しかしながら、アブラムシの発生量とほ場内におけるウイルス病の伝搬など、発生生態に関する詳細な研究報告はない。

II. Clover yellow vein virus (CYVV)

1. 被害

本ウイルスに感染したインゲンマメの種子および莢の収量や 100 粒重は減少し (Bednarek *et al.*, 1988), シロクローバーでは乾葉重, 節の数などが減少する (Gibson *et al.*, 1981)。

しかしながら, 北海道で栽培されているインゲンマメ主要品種の被害については不明である。

2. 病原ウイルス

本ウイルスは Hollings and Nariani (1965) が最初に報告した。諸外国においてはクローバー類 (Gibbs *et al.*, 1966; Pratt, 1968; Lucas and Harper, 1972; Barnett and Gibson, 1975; Lindsten *et al.*, 1976; Harville and Derrick, 1978; Leath and Barnett, 1981; Alconero, 1983; McLaughlin *et al.*, 1984; Forster and Musgrave, 1985; Demski *et al.*, 1986; Johnstone and McLean, 1987; McLaughlin and Boykin, 1988), インゲンマメ (Lisa and Dellavalle, 1983; Walkey *et al.*, 1987), ソラマメ (Munro, 1981), エンドウ (Kowalska, 1979), Winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*, Fox and Corbett, 1985) ニンジン (Howell and Mink, 1981), コエンドロ (Singh and Lopez-Abella, 1971), スターチス (Lawson *et al.*, 1985), グラジオラス (Nagel *et al.*, 1983) などから分離されている。

本邦においては近年スターチス (井上ら, 1985), エビネ (井上ら 1986) から分離された。

本ウイルスの寄主範囲はマメ科植物をはじめ比較的広い (Hollings and Nariani, 1965; Singh and Lopez-Abella, 1971; Hollings and Stone, 1974; Bos *et al.*, 1977; Fox and Corbett, 1985; 井上ら, 1985, 1986)。

ウイルス粒子は 670 nm (Hollings and Nariani, 1965), 750 nm (Fox and Corbett, 1985; 井上ら, 1985, 1986) および 700~800 nm (Varma

and Gibbs, 1967) のひも状とそれぞれ報告されている。

物理的諸性質のうち耐熱性は 30~40°C (Fox and Corbett, 1985), 48~50°C (Singh and Lopez-Abella, 1971), 55~60°C (Hollings and Stone, 1974; 井上ら, 1985, 1986) であり, 耐希釈性は 10^3 ~ 10^4 倍 (Singh and Lopez-Abella, 1971; 井上ら, 1985), 10^4 ~ 10^5 倍 (Fox and Corbett, 1985; Hollings and Stone, 1974; 井上ら, 1986) であり, 耐保存性は 8 日 (18°C) または 75 日 (0°C) 以上 (Hollings and Nariani, 1965; Hollings and Stone, 1974), 4~8 日 (井上ら, 1985, 1986), 6~10 日 (Fox and Corbett, 1985) とそれぞれ報告されている。

本ウイルスはモモアカアブラムシ (Hollings and Nariani, 1965; Singh and Lopez-Abella, 1971; Hollings and Stone, 1974; Fox and Corbett, 1985; 井上ら, 1985, 1986), エンドウヒゲナガアブラムシ (Hollings and Nariani, 1965; Hollings and Stone, 1974), チューリップヒゲナガアブラムシ (Singh and Lopez-Abella, 1971; Hollings and Stone, 1974), *Aulacorthum solani* (Singh and Lopez-Abella, 1971; Hollings and Stone, 1974) で非永続的に伝搬される。

本ウイルスと BYMV の血清学的関係は全く反応しなかった (Hollings and Nariani, 1965; McLaughlin *et al.*, 1984), 程度の差はあるが異なる (Varma and Gibbs, 1967; Pratt, 1969; Bos *et al.*, 1977; Jones and Diachun, 1977; Lisa and Dellavalle, 1983; Nagel *et al.*, 1983; Walkey and Webb, 1984; Foster and Musgrave, 1985; Lawson *et al.*, 1985; Barnett *et al.*, 1987; 高橋ら, 1989) と報告されている。

北海道のインゲンマメに発生する病原ウイルスの諸性質については詳細な研究はなく, さらに本邦における本ウイルスと BYMV および BCMV との血清学的関係も不明である。

3. 病原ウイルスの検出

ELISA 法を用いて本ウイルスが検出された (Leath and Barnett, 1981; Alconero, 1983; McLaughlin, 1983; McLaughlin *et al.*, 1984;

Forster and Musgrave, 1985; Lawson *et al.*, 1985; Barnett *et al.*, 1987)。免疫電顕法(Harville and Derrick, 1978; Walkey and Webb, 1984)およびラテックス凝集反応(Demski *et al.*, 1986)による本ウイルスの検出も報告されている。

しかしながら、モノクローナル抗体を用いたウイルスの検出に関する知見はほとんどない。

4. 発生生態と防除

本ウイルスの伝染源はシロクローバー(Gibbs *et al.*, 1966; Lucas and Harper, 1972; Lindsten *et al.*, 1976; Harville, 1978; Alconero, 1983; McLaughlin, 1983; McLaughlin *et al.*, 1984; Forster and Musgrave, 1985; McLaughlin, 1988), アカクローバー(Leath and Barnett, 1981; Alconero, 1983; McLaughlin, 1988), 他のクローバー類(Pratt, 1968; Barnett and Gibson, 1975; Lindsten *et al.*, 1976; Alconero, 1983; McLaughlin, 1983; Johnstone and McLean, 1987; McLaughlin, 1988)などの草地である。

本ウイルスのシロクローバー(Musil *et al.*, 1988)およびインゲンマメ(Dwadash-Shreni and Stavely, 1984)各品種に対する抵抗性についても報告されている。

しかしながら、本ウイルスの発生生態と防除に関する報告は少なく、アブラムシによるウイルス伝搬および本ウイルスの防除法については不明である。

III. インゲンマメ黄斑モザイクウイルス (BYMV)

1. 被害

本ウイルスに感染したインゲンマメ(品種: Red Mexican U.I.34)は、株当りの莢数が30~33%, 子実数が6%, 子実重が40~45%減少し(Hampton, 1966, 1975), 茎および根の生体重が減少したと報告されている(Orellana and Fan, 1978)。

しかしながら、つる性インゲンマメを用いた被害に関する研究報告はない。

2. 病原ウイルス

本ウイルスはPierce(1934)が最初に報告した。その後諸外国においてはエンドウ(Hagedorn and Walker, 1950; Schroeder and Provvidenti, 1966; Taylor and Smith, 1968; Bos *et al.*, 1974), インゲンマメ(Grogan and Walker, 1948; Zaumeyer and Fisher, 1953; Hampton, 1967), ソラマメ(Taylor and Smith, 1968; Kaiser, 1973; Bos *et al.*, 1974; Thottappilly *et al.*, 1976; Randles *et al.*, 1980), ベッチ(McCord and Gudauskas, 1968), グラジオラス(Brierley and Smith, 1962; Nagel *et al.*, 1983), アカクローバー(Hanson and Hagedorn, 1952; Zaumeyer and Goth, 1963; Varma and Gibbs, 1967; Bos *et al.*, 1974; Jones and Diachun, 1977), ルーピン(Corbett, 1958; Bos *et al.*, 1974), カンナ(Moghal and Francki, 1976)など多くの植物から分離され、系統の数も多い。

本邦においてはダイズ(越水・飯塚, 1963; 高橋ら, 1980), シロクローバー(土崎ら, 1980; 秋田, 1981 a; 萩田, 1986), アカクローバー(久米ら, 1970; 土崎ら, 1980; 秋田, 1981 b; 萩田, 1986), アズキ(伊藤ら, 1975; 吉田・土崎, 1979), ホウレンソウ(藤沢・土崎, 1979; 藤沢ら 1982), クロタラリア(小室・岩木, 1968), インゲンマメ(木曾, 1974; 村山ら, 1975; 菅野ら, 1980; 土崎ら, 1981; 上田ら, 1981; 夏秋ら, 1982; 萩田, 1986)などから分離されている。

本ウイルスと pea mosaic virus(以下 PMV と略す), pea necrosis virus(以下 PNV と略す)および clover yellow vein virus(以下 CYVV と略す)の類縁関係は古くから論議された。PNV は、本ウイルスの1系統(Taylor and Smith, 1968; Bos *et al.*, 1974)とされる一方では、細胞質封入体や血清学的には遠い関係にあるとの報告もある(Beczner *et al.*, 1976)。Bos *et al.* (1977)は CYVV と PNV は同一ウイルスであり、CYVV と本ウイルスは別種であると結論した。Pratt (1969)は本ウイルスと CYVV の間では、血清反応と封入体の形成パターンが異なると報告した。一方、Jones and Diachun(1977)は本ウイルスと

CYVV の各分離株を、病徴および血清反応から三つのサブグループに分類し、Walkey and Webb (1984) および Lawson *et al.* (1985) は両者が血清学的に反応することを報告した。最近では、ウイルスゲノムの cDNA を用いたハイブリダイゼーションの解析から、本ウイルス、CYVV および PMV は類縁関係があるが、別種であるとの報告もなされた (Reddick and Barnett, 1983)。

本邦においては、井上 (1968) がインゲンマメに発生する BYMV を寄主範囲と病徴から 4 系統に分けた。北海道においては、既に N および O 系統がインゲンマメから分離されている (菅野ら, 1980; 土崎ら, 1981; 上田ら, 1981)。

Kaiser (1973) はソラマメで 0.2~1.0% 種子伝染する系統を報告した。

物理的諸性質のうち、耐熱性は 55~60°C (Thottappilly *et al.*, 1976), 58~60°C (Zaumeier and Goth, 1963), 60~62°C (Zaumeier and Fisher, 1953), 60~64°C (Hagedorn and Walker, 1950), 60~65°C (Brierley and Smith, 1962), 60~70°C (久米ら, 1970), 耐希釈性は $5 \times 10^2 \sim 10^3$ 倍 (Thottappilly *et al.*, 1976), $10^3 \sim 10^4$ 倍 (久米ら, 1970), $2 \times 10^3 \sim 4 \times 10^3$ 倍 (Zaumeier and Fisher, 1953; Zaumeier and Goth, 1963), $10^4 \sim 5 \times 10^4$ 倍 (Brierley and Smith, 1962), 10^5 倍 (Hagedorn and Walker, 1950), 耐保存性は 1~2 日 (Hagedorn and Walker, 1950; Brierley and Smith, 1962; Thottappilly *et al.*, 1976), 32 時間 (Zaumeier and Fisher, 1953), 2~3 日 (Zaumeier and Goth, 1963; 久米ら, 1970) とそれぞれ報告されている。

本ウイルスは 20 種以上のアブラムシによって伝搬される (Kennedy *et al.*, 1962)。Gaudchau (1978) はエンドウヒゲナガアブラムシの獲得吸汁時間は 25 秒で、接種吸汁時間は 2~4 時間が最適とした。インゲンマメよりエンドウの病葉を用いた方が、ウイルス伝搬率が高かった (Evans and Zettler, 1968)。アブラムシによるウイルスの伝搬率は、接種源の汁液接種による継代維持の繰り返し、温度や栄養状態による植物の感受性の変異、アブラムシのコロニーの新鮮さ、植物の個体差お

よび葉位差などにより変動する (Swenson and Sohi, 1961; Swenson, 1962)。ヘルパー成分の存在が伝搬率に影響を与えた (Pirone, 1981) という報告もある。

本ウイルスと BCMV は血清学的に遠い関係にある (Uyemoto *et al.*, 1972; Moghal and Francki, 1976) と報告されている。一方、Bercks (1960) は本ウイルスの抗血清に対しては両者は遠い関係にあるが、BCMV 抗血清に対しては近い関係にあると報告した。

本ウイルスには血清学的に異なる系統が存在することが、寒天ゲル内拡散法 (Jones and Diachun, 1977; Nagel *et al.*, 1983; Lawson *et al.*, 1985) や ELISA 法 (Lawson *et al.*, 1985; Barnett *et al.*, 1987) を用いて報告されており、本邦においても N 系統と O, P および CS 系統の反応が異なることが、寒天ゲル内拡散法で証明されている (Uyeda *et al.*, 1975; 土崎ら, 1981)。

3. 診 断

免疫電顕法に関する報告は少ない。四方・小島 (1978) は免疫電顕法により本ウイルスの反応像を詳細に観察した。Walkey and Webb (1984) は potyvirus 群の血清学的関係を免疫電顕法を用いて調べた。

上田・四方 (1980) は、ELISA 法が本ウイルスの検出に有効であることを示した。一方、本ウイルスには ELISA 反応の異なる系統が存在することが明らかにされた (Lawson *et al.*, 1985; Barnett *et al.*, 1987)。ELISA 法を用いてグラジオラス (Stein *et al.*, 1979)、クローバー類 (Leath and Barnett, 1981; Alconero, 1983)、マメ科植物 (McLaughlin *et al.*, 1984) などから本ウイルスが検出された。

しかしながら、北海道における本ウイルス系統間の ELISA 反応を詳細に研究した報告はない。また、本ウイルスのモノクローナル抗体に関する知見もほとんどない。

4. 発生生態と防除

本ウイルスの伝染源はアカクローバー (Hanson and Hagedorn, 1952; Hampton, 1967; Varma and Gibbs, 1967; 秋田, 1981 b; Leath

and Hagedorn, 1981; Alconero, 1983), シロクローバー(秋田, 1981 a), スイートクローバー(Corbett, 1958)などの草地である。

アブラムシに関して中沢(1974)は有翅虫の飛しょう消長を調べるための黄色水盤は、裸地の地上 20 cm に設置するのがよいと報告した。Jayasena and Randles(1984, 1985)は本ウイルスのまん延にモモアカアブラムシやチューリップヒゲナガアブラムシの有翅虫が関与していること、二次伝搬は感染源植物の外に集中的に発生することを明らかにした。

しかしながら、本ウイルスの発生生態とアブラムシによるまん延機作に関する知見は不十分である。

本ウイルスの防除に関しては処理区間を 400 m 離れた場合、浸透性殺虫剤を用いてアブラムシによる二次伝搬を防止できたと報告したのに対して(Leuck *et al.*, 1962), Jayasena and Randles(1985)は処理区間を 5 m 離れた条件下では、浸透性殺虫剤を用いてもウイルスの伝搬を防止できなかったと報告した。

本ウイルスの抵抗性遺伝に関して、インゲンマメおよびベニバナインゲン品種の抵抗性および抵抗性遺伝子の解析が行われた(Baggett, 1956; Dickson and Natti, 1968; Schroeder and Provvidenti, 1968; Provvidenti and Schroeder, 1973)。

しかしながら、北海道における本ウイルスの伝染源を詳細に調査した報告はない。また、アブラムシの発生量と本ウイルスのほ場内におけるまん延など、発生生態については不明な点が多い。

北海道におけるインゲンマメつる枯病の病原ウイルスは最近の研究により CYVV とされた(高橋ら, 1989)。従って、今日まで BYMV のえそ(N)系統とされてきた病原ウイルスも CYVV の可能性が大きいものと思われる。

IV. ダイズわい化ウイルス(SDV)

1. 病原ウイルス

ダイズわい化ウイルス(soybean dwarf virus,

以下 SDV と略す)は 1969 年に玉田らが最初に報告した。ダイズにおける病徴からわい化系統と黄化系統に分けた(玉田, 1973)。このうちインゲンマメに感染するのは黄化系統だけで、1973 年に玉田らはインゲンマメ黄化病と命名した。

本ウイルスに感染したインゲンマメは減収率 95%以上を示した(北海道立中央農業試験場・北海道立十勝農業試験場, 1976)。

2. 診断

本ウイルスは節部局在性のため(玉田, 1975; Tamada and Kojima, 1977)植物体内の濃度が低く、ウイルスの純化は困難を極めた。罹病葉 1 kg からの収量は 0.1~0.3 mg(Hewings *et al.*, 1986), 0.2~0.4 mg(Kojima and Tamada, 1976)とそれぞれ報告されている。本ウイルスの系統間に血清学的な差異は認められなかった(玉田, 1975; Kojima and Tamada, 1976)。D'Arcy and Hewings(1986)は ELISA 法を用いて 1.6 ng/ml まで低濃度のウイルスを検出した。

しかしながら、ELISA 法による本ウイルスの系統間の反応についてはこれまで不明であった。

3. 発生生態と防除

本ウイルスの黄化系統はシロ(ラジノ)クローバーが伝染源で(Tamada, 1970; 玉田, 1973; 玉田・馬場, 1973; 玉田, 1975; Tamada and Kojima, 1977), ジャガイモヒゲナガアブラムシによって伝搬される(Tamada, 1970; 玉田・馬場, 1973; 玉田, 1975; Tamada and Kojima, 1977)。谷村ら(1985)は生物検定法を用いて北海道内各地のラジノクローバーからウイルスの検出を行った。本ウイルスは永続(循環)型伝搬し、虫体内潜伏期間は 15~27 時間とされている(玉田, 1975)。ほ場では、有翅虫がウイルス伝搬の主体である(花田, 1974)。

本病を防除するために、浸透性殺虫剤の土壤施用が指導されている(北海道立中央農業試験場・北海道立十勝農業試験場, 1976)。

しかしながら、北海道におけるインゲンマメ黄化病の発生およびシロクローバーの保毒率の関係についてはこれまで解析されなかった。

以上北海道におけるインゲンマメの主要病原ウイルスである BCMV, CYVV, BYMV および

SDV に関する既往の研究のうち, 本報告に関連のあるものについてだけ記述した。

第2章 北海道におけるインゲンマメウイルス病の発生実態

北海道におけるインゲンマメウイルス病の発生実態を明らかにするため、1981年～1985年までの5年間、インゲンマメの主要栽培地帯におけるウイルス病の発生実態調査を行った。

1. 調査場所および方法

1981年は18市町村51筆、1982年は20市町村67筆、1983年は3市町村19筆、1984年は14市町村34筆、1985年は12市町村25筆の胆振、網走、

Table 1. The incidence of virus diseases in kidney bean (*phaseolus vulgaris*) cv. Ohfuku

Year	Locality	No. of fields surveyed	Total No. of plants examined	Diseased plants(%) ^{a)}		
				BCMV	CYVV	BYMV
1981	Toyoura	6	6,190	0	0.1	0
	Soubetsu	11	7,990	1.0	1.5	0
	Date	6	3,890	0	2.5	0
	Abuta	5	3,390	0.2	1.4	0
	Oketo	3	2,100	0	2.3	0.2
	Kitami	2	1,120	0.4	1.9	0.2
	Rubeshibe	1	820	0.7	0.5	0
1982	Toyoura	6	2,835	0	0.7	0.04
	Soubetsu	7	3,500	0.9	3.8	0
	Date	3	1,500	0.4	2.3	0
	Abuta	7	3,500	0.2	2.7	0.03
	Rubeshibe	1	380	0	2.6	0
	Oketo	3	1,500	0	2.6	0
	Kitami	3	1,500	0	2.9	0
1983	Soubetsu	11	5,740	0.1	1.1	0.03
	Date	2	1,000	0	1.7	0.1
	Abuta	6	3,000	0.03	0.1	0
1984	Toyoura	2	1,000	0	2.8	0
	Soubetsu	5	2,500	0.6	2.7	0
	Date	4	2,000	0.5	2.5	0
	Abuta	3	1,500	0.9	0.5	0
	Tohya	1	410	0	10.2	0
	Oketo	1	500	0	4.8	0
	Rubeshibe	2	1,000	12.8	2.9	0.1
1985	Soubetsu	3	1,410	0.1	2.8	0
	Date	2	1,000	0.4	0.9	0
	Abuta	3	1,440	0.8	1.3	0
	Tohya	1	500	0.4	6.2	0
	Kitami	2	1,000	0	1.0	0.2

a) Diseased plants were classified according to their typical symptoms.

十勝各支庁管内のインゲンマメのほ場を任意に抽出し、各年次とも7月下旬～8月下旬にウイルス病の調査を行った。調査方法は肉眼判定で行い、1ほ場について335～1,600株を任意に抽出し、BCMV, CYVV, BYMV および SDV のそれぞれ特有の病徴を現わした株の発病株率を調べた。

調査は品種：大福類(大福, 早生大福, 改良早生大福を含む)、品種：虎豆類(虎豆, 改良虎豆を含む)、品種：金時類(大正金時, 北海金時, 福白金時を含む)、品種：手亡類(姫手亡他を含む)について行った。

2. 調査結果

A. 大福類

1981～1985年までの5年間、「大福類」におけるウイルス病の発生実態の調査結果を Table 1 に示した。発生が認められたのは、BCMV および BYMV によるモザイク病および CYVV による

つる枯病であった。

BCMV については1981年の壮警町, 留辺蘂町, 1982年の壮警町, 1984年の虻田町, 留辺蘂町, 1985年の虻田町においてやや発生が多かった。

CYVV は調査した全市町村において発生が認められた。1981年の壮警町, 伊達市, 虻田町, 置戸町, 北見市, 1982年の壮警町, 伊達市, 虻田町, 留辺蘂町, 置戸町, 北見市において発生が多かった。1983年では壮警町, 伊達市, 虻田町においてやや発生が多かったが, 全般的に1981年および1982年に比べ発生が少なかった。1984年では洞爺村, 壮警町, 伊達市, 置戸町, 留辺蘂町, 1985年では洞爺村, 壮警町において比較的多い発生を示した。

BYMV は全般的に各年次において発生が少なく, 最も発生の多いほ場で1981年の置戸町, 北見市, 1985年の北見市で, いずれも発病株率0.2%

Table 2. The incidence of virus diseases in kidney bean cv. Toramame

Year	Locality	No. of fields surveyed	Total No. of plants examined	Diseased plants (%) ^{a)}			
				BCMV	CYVV	BYMV	SDV
1981	Abuta	1	500	0	0	0	19.0
	Tanno	1	700	0	0.7	0	1.0
	Rubeshibe	1	500	0	1.0	0	1.0
1982	Soubetsu	1	500	85.4	1.4	0	1.2
	Tohya	1	500	1.2	1.6	0	0
	Kitami	1	500	0	0	0	8.8
	Tanno	2	1,000	0	0	0	1.5
	Rubeshibe	1	500	0	0.2	0	5.6
1984	Tohya	2	1,000	0.4	1.2	0	0
	Oketo	1	500	0.2	0.6	0	1.2
	Rubeshibe	1	500	0.2	1.4	0	0.2
	Kitami	3	1,380	0.2	0.4	0	0.7
	Tanno	1	500	0	0.8	0	0.6
1985	Soubetsu	1	500	7.2	1.2	0.2	1.8
	Tohya	2	1,000	0.7	0.7	0	2.2
	Oketo	1	500	0	3.0	0	0
	Tanno	1	500	0	0	0	0.6
	Rubeshibe	2	1,000	0	0.3	0.5	2.3

a) See Table 1.

であった。

B. 虎豆類

1981～1985年(1983年を除く)までの4年間、「虎豆類」におけるウイルス病の発生実態の調査結果をTable 2に示した。発生が認められたのはBCMVおよびBYMVによるモザイク病、CYVVによるつる枯病およびSDVの黄化(Y)系統によるインゲンマメ黄化病の4種類であった。

BCMVについては、1982年および1985年の壮警町において多い発生を示した以外は、一般的に

少発生であった。

CYVVは1981年の留辺薬町、1982年の壮警町、洞爺村、1984年の留辺薬町、洞爺村、1985年の壮警町、置戸町において発生が多かった。

BYMVは全道的に発生が少なく、1985年の壮警町と留辺薬町にだけ発生が認められた。

インゲンマメ黄化病は1981年の虻田町、1982年の北見市、留辺薬町において発生が目立った。

C. 金時類

1981～1985年(1983年を除く)までの4年間、

Table 3. The incidence of virus diseases in kidney bean cv. Kintoki

Year	Locality	No. of fields surveyed	Total No. of plants examined	Diseased plants (%) ^{a)}			
				BCMV	CYVV	BYMV	SDV
1981	Memanbetsu	1	850	0	0.7	0	0
	Tsubetsu	2	1,000	0	0.5	0	1.8
	Ashoro	1	500	0	0.4	0	4.2
	Otofuke	1	700	0	0	0	3.6
	Shihoro	2	1,330	0	1.4	0	3.5
	Obihiro	2	1,190	0	0.3	0	5.4
	Ikeda	1	700	0	0.1	0	3.6
1982	Rubeshibe	2	1,000	0	1.2	0.2	11.6
	Memanbetsu	2	1,000	0	0	0	3.5
	Tsubetsu	2	1,000	0	0.3	0	21.6
	Ashoro	3	1,500	0	0.2	0	14.8
	Honbetsu	2	1,000	0	0.2	0	10.0
	Toyokoro	1	500	0	0.4	0	4.6
	Makubetsu	2	1,000	0	0.5	0	11.4
	Otofuke	5	2,500	0	0.8	0	5.8
	Shikaoi	2	1,000	0	0.3	0	3.9
	Memuro	2	1,000	0	0.3	0	0.5
Obihiro	2	1,000	0	0.2	0	2.0	
Ikeda	2	1,000	0	0	0	3.8	
1984	Tsubetsu	1	500	0	0.4	0	1.6
	Ashoro	2	1,000	0	0.3	0	0.8
	Shikaoi	1	500	0	0	0	0.6
	Ikeda	2	1,000	0	0.3	0	0.1
1985	Memanbetsu	1	1,175	0	0.8	0	1.2
	Ashoro	2	3,200	0	0.7	0	5.5
	Honbetsu	2	2,400	0	0.1	0	0.6
	Shikaoi	2	2,800	0	0	0	5.4

a) See Table 1.

「金時類」におけるウイルス病の発生実態の調査結果を Table 3 に示した。発生が認められたのは CYVV によるつる枯病, BYMV によるモザイク病およびインゲンマメ黄化病で, BCMV によるモザイク病の発生は全く認められなかった。

CYVV は 1981 年の士幌町, 1982 年の留辺蘂町においてやや多い発生が認められた以外は, すべて 1% 以下の発生にとどまった。

BYMV は全道的にほとんど発生が認められず, 1982 年の留辺蘂町においてわずかに発生が認められただけであった。

インゲンマメ黄化病は全般的に発生が多かった。なかでも, 1982 年の留辺蘂町, 津別町, 足寄町, 本別町, 幕別町は発病株率 10% 以上を示し発生が目立った。1984 年は発生が少なかった。

D. 手亡類

1981 年, 1982 年および 1984 年の 3 年間, 「手亡類」におけるウイルス病の発生実態の調査結果を Table 4 に示した。発生が認められたのは BCMV および BYMV によるモザイク病, CYVV によるつる枯病および SDV-Y によるインゲンマメ黄化病の 4 種類であった。

このうち BCMV は発生がほとんど見られず, 1981 年の本別町の 1 ほ場でのみ発生が認められた。

CYVV は 1981 年の本別町, 1982 年の豊頃町,

鹿追町, 1984 年の足寄町で発生が認められたが, いずれも少発生であった。

インゲンマメ黄化病の発生は少なく, 1982 年の鹿追町において発生が認められただけであった。

3. 論議および結論

本邦に発生するインゲンマメのウイルス病は, 大別するとモザイク病, つる枯病および黄化病がある。モザイク病の病原ウイルスとして, BCMV (栗林, 1926; 赤井・吉谷, 1961), BYMV (井上, 1968), ラッカセイわい化ウイルス (土崎, 1973) およびキュウリモザイクウイルスのマメ科系統 (井上, 1968) がある。黄化病の病原ウイルスは SDV-Y (玉田ら, 1973; 玉田, 1975) である。

北海道におけるインゲンマメのウイルス病が最初に記載されたのは 1926 年 (栗林) であり, その後村山 (1941), 萩田ら (1975), 村山ら (1975), 菅野ら (1980), 土崎ら (1981), 上田ら (1981), 萩田 (1986) により報告されたが, 今日まで発生実態について詳細に調査報告されたものはなかった。1981 年～1985 年までの 5 年間, 北海道のインゲンマメ主要栽培地帯におけるウイルス病の発生実態について調査を行った結果, BCMV, CYVV, BYMV および SDV の発生が認められた。

BCMV は potyvirus 群に属し (Bos, 1971; Hollings and Brunt, 1981 a, 1981 b), 種子伝染性のウイルスで保毒種子に由来する発病株が 1 次

Table 4. The incidence of virus diseases in kidney bean cv. Tebou

Year	Locality	No. of fields surveyed	Total No. of plants examined	Diseased plants (%) ^{a)}			
				BCMV	CYVV	BYMV	SDV
1981	Ashoro	1	700	0	0	0	0
	Honbetsu	1	700	0.3	1.7	0.3	0
	Shikaoi	2	1,400	0	0	0	0
1982	Toyokoro	1	500	0	1.0	0	0
	Shikaoi	2	1,000	0	0.5	0	3.5
	Memuro	1	500	0	0	0	0
1984	Ashoro	1	500	0	1.6	0	0
	Toyokoro	1	410	0	0	0	0

a) See Table 1.

伝染源になる。ほ場においては主としてアブラムシにより伝搬されるが、その伝搬力は極めて高く、インゲンマメの生育初期に種子伝染による発病株2株を抜き取り除去したにもかかわらず、生育後期には発病株が10~40倍に増加した例も報告されている(日本特産農作物種苗協会, 1978)。このように、ほ場においては発病株のまん延増大が著しいため、自家採種を行っていた1976年以前においては保毒種子の混入が多く、ほ場におけるBCMVの発生が50%以上を示した(日本特産農作物種苗協会, 1978)。これに対して、ウイルスフリー種子の使用が普及し始めた1980年以降においてはその発生が激減した(日本特産農作物種苗協会, 1981)。本調査においても、一部の地域を除き全般的に発病株率が1%以下の少発生であり、健全種子の使用によるウイルス病の防除効果が現われていることがうかがえた。品種別ではつる性種の「大福類」および「虎豆類」に比較的発生が多く、わい性種の「金時類」および「手亡類」では発生が少なかった。地域的には「大福類」および「虎豆類」の作付けが多い胆振、網走管内でやや発生が多く、「金時類」および「手亡類」の作付けが多い十勝管内では発生が少なかった。「大福類」および「虎豆類」が「金時類」および「手亡類」に比べ、ウイルス病の発生が多い原因は、ウイルス抵抗性の差異、アブラムシ寄生密度の差異、発病株の抜き取り管理の徹底など考えられ、そのいずれが主因であるか今後の検討を要する。

BYMVはBCMVと同様にpotyvirus群に属するウイルスであるが(Bos, 1970b; Hollings and Brunt, 1981a, 1981b)、寄主範囲がBCMVに比べ広く、マメ科植物を中心に多くの植物に感染する(Bos, 1970a)。ほ場では、周辺に自生するクローバー類が主な伝染源とされている(Hanson and Hagedorn, 1952; Corbett, 1958; Hampton, 1966a, 1967; Jones and Diachun, 1976; 秋田, 1981a, 1981b; Alconero, 1983)。本調査ではBYMVの発生は極めて少なかった。

CYVVはBCMVおよびBYMVと同様にpotyvirus群に属するウイルスであるが(Hollings and Brunt, 1981a, b; Hollings and Stone,

1974)、インゲンマメ、クローバー類など比較的広い寄主範囲をもつ(Hollings and Stone, 1974; Hollings and Nariani, 1965; Bos *et al.*, 1977; Fox and Corbett, 1985; Singh and Lopez-Abella, 1971; 井上ら, 1986)。CYVVの発生に年次間差が認められ、1982年と1984年における発生が他の年次に比べ多かった。本病はクローバー類を伝染源とし(Gibbs *et al.*, 1966; Pratt, 1968; Lucas and Harper, 1972; Barnett and Gibson, 1975; Lindsten *et al.*, 1976; Harvilla and Derrick, 1978; Leath and Barnett, 1981; Alconero, 1983; McLaughlin, 1983; McLaughlin *et al.*, 1984; Forster and Musgrave, 1985; Demski *et al.*, 1986; Johnstone and McLean, 1987; McLaughlin and Boykin, 1988)、アブラムシにより伝搬されるので、本病の発生量の年次間差はほ場周辺の保毒クローバーの量とアブラムシ飛来数に起因すると推定された。品種別では「大福類」、「虎豆類」での発生が多く認められた。「金時類」でのCYVVの発生量が網走と十勝管内で大差がないことからして、この原因は地域や栽培環境の違いによるよりも、むしろ品種の特性やウイルスに対する抵抗性の違いによると思われるが、今後の検討を要する。地域別では胆振、網走管内での発生が多く、十勝管内で少なかったが、このことは栽培環境よりも作付け品種の違いによると思われる。

SDV-Yは「大福類」を除く3品種において発生が認められた。本ウイルスは接種試験の結果から、品種「大福」に感染しないことが報告されており(玉田ら, 1973; 玉田, 1975)、本調査においてもその発生を確認することができなかった。品種別では「虎豆類」と「金時類」での発生が多く、特に網走および十勝管内における発生が著しかった。これに対して、「手亡類」での発生は少なかった。本病に対する感染性および病徴にインゲンマメ品種間差が認められ、「大正金時」、「虎豆」は感受性が強いとされている(北海道立中央農業試験場・北海道立十勝農業試験場, 1976)。従って、本病の発生の品種間差は感受性の差に基づくものと思われる。年次別では、1982年と1985年におけ

る発生が他の年次に比べ多かった。本病はシロ(ラジノ)クローバーが主な伝染原で(Tamada, 1970; 玉田, 1973; 玉田・馬場, 1973; 玉田, 1975; Tamada and Kojima, 1977), ジャガイモヒゲナガアブラムシにより伝搬される(Tamada, 1970;

玉田・馬場, 1973; 玉田, 1975; Tamada and Kojima, 1977)。従って, 本病の発生量は BYMV と同様に, ほ場周辺に自生するクローバー類の保毒率とアブラムシの飛来数に依存すると思われる。

第3章 北海道におけるインゲンマメの病原ウイルス

第2章の発生実態の調査結果から、BCMV、CYVVおよびSDVが北海道におけるインゲンマメの主要病原ウイルスであることが判明した。本章では、各病原ウイルスについてその性質、検出法、発生生態および防除について検討を行い、結果を各病原ウイルスごとに記述した。

I. インゲンマメモザイクウイルス

1. 実験材料および方法

1) 供試ウイルス

北海道立中央農試ほ場において、BCMVに特有の病徴を示したインゲンマメ（品種：改良早生大福）のモザイク株から分離した後、インゲンマメ（品種：改良早生大福、大正金時）に汁液接種した。接種3週間以上経過した上葉または -20°C のフリーザで凍結保存したものを供試した。

2) ウイルス接種源の調製および接種方法

BCMVの罹病葉に、葉重の約10倍量の0.1 M りん酸緩衝液(pH 7.0, 0.5% 2-メルカプトエタノールを含む)を加え、直径9 cmの磁性乳鉢中で磨砕し接種源とした。接種方法はあらかじめカーボラングム(600メッシュ)を振り掛けた各植物の初生葉に、ガラスべらを用いて病汁液をなすり付けた後、直ちにじょろで流し落とした。

3) 供試アブラムシ

モモアカアブラムシは飼育ケージ内の健全カブ葉上において、マメアブラムシは直径12 cmのガラス円筒内の健全ソラマメ葉上において、それぞれ飼育したものを使用した。ムギクビレアブラムシは、北海道立中央農試ほ場内のトウモロコシから採集したものをを用いた。

4) ほ場試験とアブラムシの防除

ほ場試験では特記しない限り、インゲンマメ（品種：改良早生大福）を畦幅75 cm、株間50 cmの間隔では種した。栽培管理その他は農試慣行法に準じて行った。アブラムシの防除はエチルチオメ

トン(エカチンTD)粒剤を10 a当り5 kgをは種時に播溝施用した後、アブラムシの初発時から7~10日間隔で、MEP(スミチオン)乳剤の1,000倍液とMPP(バイジット)乳剤の1,000倍液を10 a当り100 l散布した。

5) アブラムシの調査

アブラムシの調査は特記しない限り、供試ほ場ごとに任意に5株連続で5カ所選定し、1株についてインゲンマメの生育初期では全葉、生育中~後期では5複葉に寄生するアブラムシ数を調べた。

6) 検定植物の育苗

実験に供試した植物は特記しない限り、すべてガラス室または温室(25~35 $^{\circ}\text{C}$)内において、4寸鉢には種し育苗した。アブラムシの防除は2~3週間間隔で適宜行った。

7) ウイルスの純化

高速遠心分離は特記しない限り、BeckmanL3-50型超遠心分離機を用い、42.1型ロータで40,000 rpm, 90分間行った。ショ糖密度勾配カラムは直径25 mm, 長さ89 mmのニトロセルロースチューブに、10% (6 ml), 20% (9 ml), 30% (9 ml), 40% (9 ml)の各ショ糖液を重層し、4 $^{\circ}\text{C}$ の冷室中で一晩静置して作成した。ショ糖密度勾配遠心分離はSW27型ロータで23,000 rpm, 180分間行った。ウイルス分画の採取はイスコ密度勾配分析装置(UA4型)を用いて行った。平衡密度勾配遠心分離は直径16 mm, 長さ102 mmのニトロセルロースチューブに、0.01 M りん酸緩衝液(pH 7.0)を用いて30%の濃度に調整した塩化セシウム液を入れ、ウイルス試料を入れ混合した後、SW27型ロータで25,000 rpm, 16時間遠心分離した。純化標品の紫外外部吸収スペクトルの測定は、日立200-10型ダブルビーム分光光度計を用いた。

8) 家兎への免疫

筋肉内注射は濃度1 mg/mlのウイルス液1 ml

に等量の Freund's incomplete adjuvant を加え乳化させた後、家兎の両ももに半量ずつ注射した。静脈内注射は濃度 1 mg/ml のウイルス液 1 ml を耳翼静脈に注射した。

9) 電顕観察

ダイレクトネガティブ染色 (DN) 法および免疫電顕法により作成した試料を 2% リンタングステン酸 (pH 7.0, PTA) で染色した後、日立 HS 7 D 型電子顕微鏡を用いて直接倍率 15,000 倍で観察した。免疫電顕法による粒子の測定は、シートメッシュ (150 メッシュ) のグリッド一目の粒子数を数え、任意にグリッド 3 カ所を選定した平均値で示した。

10) 免疫電顕法

手法は Milne and Luisoni (1977) のトラップデコレーション法に準じて行った。すなわち 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で希釈した抗血清をホルムバル支持膜を張ったシートメッシュ上にガラスキャピラリーで一滴載せた後、室温の湿室条件で 5 分間保持した。0.1 M リン酸緩衝液でシートメッシュを洗浄した後、ウイルス試料を一滴載せ、同様に 15 分間保持し反応させた。緩衝液で洗浄した後、再度希釈した抗血清を一滴載せ 15 分間保持した。緩衝液続いて蒸留水で洗浄した後、2% PTA で染色し電顕観察を行った。

2. 実験結果

1) 病徴と被害

BCMV は種子伝染性のウイルスであるが、ダイズにおけるダイズモザイクウイルス (越水・飯塚, 1963; 高橋ら, 1980) と異なり、保毒種子に病徴を現わさないので外観上健全種子と変わらない。葉の病徴は、Plate I の 1~4 に示したようにモザイク (葉脈緑帯) が主体で、インゲンマメの品種によっては巻葉症状を伴う場合もある。病徴の強さはインゲンマメの品種によって若干異なり、「大福類」は巻葉を伴った激しいモザイク症状を呈するが、「虎豆類」は一般に病徴が軽微で健病の判別が困難である。「金時類」および「手亡類」の病徴の強さは、「大福類」や「虎豆類」の中間に位置する。

保毒種子を播いた場合、Plate I の 5 に示したように初生葉の展開時にモザイク病徴を現わす場合と、本葉第一葉が展開後に病徴を現わす場合がある。北海道立中央農試のガラス室において、保毒種子をは種した後発芽した個体 63 株を調査した結果、初生葉に病徴が現われたもの 25 株 (39.7%) で、残りの 38 株 (60.3%) は本葉第一葉が展開後にモザイク病徴を現わした。ほ場における発病時期は「大福類」の主要栽培地帯の胆振と網走管内を比較した場合、は種期が違うため若

Table 5. Effect of BCMV on bean yields of kidney bean cv. Kairyō-Wase-Ohfuku

Date ^{a)}	No. of plants examined	Yields			
		No. of total pods/plant	No. of mature pods/plant	Weight of mature seed/plant	Weight decrease(%) due to infection
Jun. 20	2	34.5	22.5	35.1	62
Jul. 29	1	59.0	38.0	72.8	20
Aug. 2~6	6	54.7	33.8	67.3	26
11~19	26	47.5	35.2	75.9	17
21~26	35	50.0	37.9	82.0	10
Sept. 2	32	41.3	33.1	75.2	18
Healthy	8	46.6	42.8	91.5	0

a) Jun. 20 : seed infected plants.
 Jul. 29~Sept. 2 : naturally infected plants.

干異なり、胆振管内で6月下旬、網走管内では7月上旬には既に種子伝染株の病徴が現われていた。自然感染による発病は胆振管内では7月上旬から始まり、7月下旬～8月上旬に急激に増大するのに対して、網走管内においてはそれより10日くらい遅れて7月下旬から始まり、8月上旬～中旬に増加する。

以上の病徴による発病株を調査し、種子伝染および自然感染の発病時期別に採取して収量の比較を行った。1978年6月8日に北海道立中央農試ほ場にインゲンマメ(品種:改良早生大福)をは種した。一方、BCMV保毒種子をほ場の中心部に2株播き、ウイルス感染源とした。

インゲンマメの生育は順調に経過し開花始めは7月17日であった。9月28日に種子伝染および自然感染による発病株を発病月日別に収穫し、総莢数、完熟莢数、子実重について収量調査を行った。その結果をTable 5に示した。種子伝染株は健全株に比べ株当たり総莢数が減少し、成熟莢数が約50%、子実重が約60%の減少であった。自然感染による発病株は種子伝染株に比べ株当たり総莢数、株当たり成熟莢数、株当たり子実重のいずれにおいても勝ったが、健全株に比べると総莢数はほぼ同数かやや多かったのに対して、成熟莢数は約10%、子実重は約10～25%それぞれ減少した。自然感染株の場合、株当たり総莢数、成熟莢数、子実重のいずれにおいても発病時期別に大差がなかった。

2) 病原ウイルスの性質

a. マメ科植物に対する病原性

1979年7～8月に胆振および網走管内から採集したインゲンマメ(品種:早生系大福)のうち、BCMV特有のモザイク病徴を現わした26分離株を次の植物に汁液接種し、約3週間後に病徴観察を行った。

接種植物は、インゲンマメ(*Phaseolus vulgaris*) 9品種(山城黒三度、トップクロープ、マスターピース、黒種衣笠、ケンタッキークワンダー、マントル、大福、銀手亡、大正金時、ササゲ(*Vigna sesquipedalis*、黒種三尺)、アズキ(*Phaseolus angularis*、宝小豆)、ダイズ(*Glycine max*、白鶴の

子)、ソラマメ(*Vicia faba*、早生)、エンドウ(*Pisum sativum*、三十日絹莢)、ナタマメ(*Canavallia gladiata*)、フジマメ(*Dolichos lablab*)、黄花草薔皮(*Lupinus luteus*)であった。

供試したウイルス分離株はNo.1, 3, 4, 6～13が北見市、No.2, 5が訓子府町、No.14～16が留辺蘂町、No.17～21が豊浦町、No.22～26が虻田町の大福ほ場から採集した。

接種試験の結果をTable 6に示した。供試した26分離株はすべてインゲンマメにのみ病徴を現わしたが、ササゲ、アズキ、ダイズ、エンドウ、ソラマメなど他のマメ科植物には病徴を現わさなかった。インゲンマメのうち「大福」、「銀手亡」、「大正金時」、「トップクロープ」、「マスターピース」の5品種に対しては26分離株のすべてが感染し病徴を現わしたが、「黒種衣笠」、「ケンタッキークワンダー」、「マントル」の3品種に対しては全く病徴を現わさなかった。「山城黒三度」に対してはモザイク病徴を現わした分離株と、現わさなかったものとに分れた。なおウイルスの回収試験は行っていないので、無病徴感染の有無については不明である。

b. 物理的性質

本ウイルスの物理的性質を知るため、罹病葉粗汁液を用いて耐熱性、耐希釈性、耐保存性について下記の方法を用いて検討した。

耐熱性試験は0.1Mりん酸緩衝液(pH 7.0)を用いて葉重の10倍希釈した罹病葉粗汁液を45°C、50°C、55°C、60°C、65°C、70°Cの各温湯中に10分間保持した後、インゲンマメ(品種:改良早生大福)に汁液接種した。

耐希釈性試験は罹病葉を0.1Mりん酸緩衝液(pH 7.0)を用いて葉重の $10^1 \sim 10^{10}$ 倍までの10倍段階希釈系列を作り、各希釈液をインゲンマメに汁液接種した。

耐保存性試験は0.1Mりん酸緩衝液(pH 7.0)を用いて葉重の10倍希釈した罹病葉粗汁液を20°Cの恒温器中に1～11日間保持した後、インゲンマメに汁液接種した。

結果をTable 7に示した。本ウイルスの耐熱性は55～60°C、耐希釈性は $10^6 \sim 10^7$ 倍、耐保存性は

Table 6. Host range and symptoms of BCMV

Plants	Isolate number of the virus																										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
<i>Phaseolus vulgaris</i>																											
(Yamashiro- Kurosando)	L: -																										
(Top Crop)	S: M	M	M	m	VN	-	-	-	-	m	-	-	m	-	-	m	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	-
(Master Piece)	L: VN, YS	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN							
(Kurodane- Kinugasa)	S: -																										
(Kentucky Wonder)	L: -																										
(Mantle)	S: -																										
(Ohfuku)	L: -											VN	-	VN	VN	-	-	VN	VN	VN	VN						VN
(Gintebou)	S: Y, M	Y, M	Y, M	Y, M	Y, M	M	Y, M	Y, M	VN, M	YS, M	M	Y, M	Y, M	Y, M	Y, M	Y, M	Y, M	M	M	M						M	M
(Taisho- Kintoki)	L: VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN	VN
	S: VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN	VN	VN, M	VN, M	VN	VN, M	VN	VN	VN, M	VN	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M	VN, M
(Kurodane- Sanjaku)	L: -																										
	S: -																										
<i>Phaseolus angularis</i>																											
(Takara-shozu)	L: -																										
	S: -																										
<i>Glycine max</i>																											
(Shiro- Turunoko)	L: -																										
	S: -																										
<i>Pisum sativum</i>																											
(Kinusaya- Sanjuunichi)	L: -																										
	S: -																										
<i>Vicia faba</i>																											
(Wase- Soramame)	L: -																										
	S: -																										
<i>Canavallia gladiata</i>																											
	L: -																										
	S: -																										
<i>Dolichos lablab</i>																											
(Wase- Fujimame)	L: -																										
	S: -																										
<i>Lupinus luteus</i>																											
(Yellow lupin)	L: -																										
	S: -																										

L : local symptoms, S : systemic symptoms, M : mosaic, VN : veinal necrosis, YS : yellow spot
NS : necrotic spot, Y : yellowing, - : no symptoms.

11 日以上 (20°C) であった。

c. アブラムシ伝搬

モモアカアブラムシ, マメアブラムシ, ムギク
ビレアブラムシの無翅幼虫を 30 分間絶食させた

後, インゲンマメの病葉上に 1~2 時間放置して
獲得吸汁させた。次にインゲンマメ(品種: 大福,
銀手亡)の幼植物上に, 1 株当たり 1~10 頭ずつ放
置して接種吸汁させた。18~20 時間後にピリミ

Table 7. Physical properties of BCMV

Thermal inactivation			Dilution end point			Longevity in vitro		
Temperature (°C)	No. of plants inoculated	No. of plants infected	Dilution	No. of plants inoculated	No. of plants infected	Days	No. of plants inoculated	No. of plants infected
45	6	6	10 ¹	6	6	1	6	6
			10 ²	6	6	2	6	6
50	6	6	10 ³	6	6	3	6	6
			10 ⁴	6	5	4	6	6
55	6	3	10 ⁵	6	5	5	6	6
			10 ⁶	6	2	6	6	4
60	6	0	10 ⁷	6	0	7	6	6
			10 ⁸	6	0	8	6	6
65	6	1				9	6	6
						10	6	6
70	6	1				11	6	6

カーブ (ピリマー) 水和剤の 1,000 倍液を散布して殺虫した後、病徴観察を行った。

アブラムシによる本ウイルスの伝搬試験の結果を Table 8 に示した。供試した 3 種ともウイルスを伝搬した。アブラムシの接種頭数を変えた場合においても、ウイルスの伝搬率に大差がなく割合低い結果であった。

d. ウイルスの保存と活性

ウイルス接種 10 日後のインゲンマメ (品種: 大正金時) の接種葉を用いて次の条件で保存した後、活性を調べた。

乾燥は病葉を塩化カルシウムまたはシリカゲルの入ったデシケータ中に入れ、(1) 4°C で 2 週間、

(2) 4°C で 4 週間、(3) 4°C で 2 週間、次に -20°C で

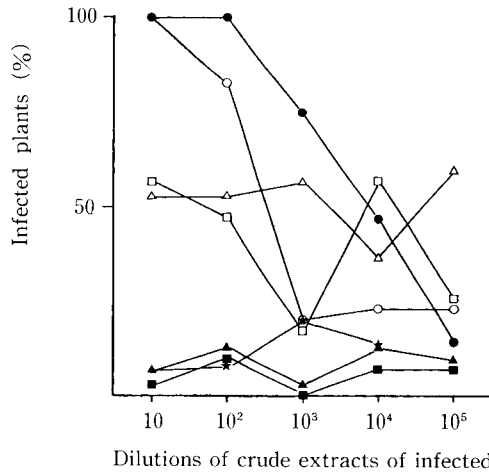


Fig. 1. Effect of freezing and freeze-drying on the infectivity of BCMV.

- : Frozen leaves stored at -20°C for one day.
- △ : " " for 15 days.
- ▲ : " " for 29 days.
- : Leaves dehydrated over CaCl₂ and stored at 4°C for 14 days.
- : " " for 28 days.
- ★ : Leaves dehydrated over CaCl₂ and stored at 4°C for 14 days and -20°C for 14 days.
- : Fresh infected leaves.

Table 8. Transmission of BCMV by aphids

Aphids	No. of aphids per plant	No. of plants infected ^{a)}
<i>Myzus persicae</i>	1	1/24
	5	1/11
<i>Aphis craccivora</i>	1	1/22
	5	1/24
<i>Rhopalosiphum padi</i>	5~7	1/22
	10	2/124

a) Number of plants infected/number of plants inoculated.

2週間それぞれ保存した。

凍結は、病葉を-20°Cのフリーザー中で24時間、15日間、29日間それぞれ保存した。

ウイルス活性の定量は病葉の希釈汁液をインゲンマメ(品種：銀手亡)に汁液接種し、発病株率を調べた。

結果をFig. 1に示した。生葉に比べ-20°Cあるいは塩化カルシウム中で保存した場合、著しく活性が低下した。活性の低下は保存期間が長いほど著しく、28~29日間保存した場合大部分のウイルスが失活した。

3) 種子伝染

a. ウイルスの感染、移行および発病

ウイルスが接種後、接種葉から主茎までの移行に要する時間、増殖し発病するまでに要する潜伏期間について、下記の方法でウイルスの接種時期、接種葉位を変えて検討を行った。

ウイルスの移行に関する試験は、1978年3月に北海道立中央農試の温室にて、4寸の駄温鉢に3粒ずつインゲンマメ(品種：改良早生大福)をは種した。実験1の場合、初生葉(初生葉期)および本葉第1葉(本葉第1葉期)にそれぞれウイルスを汁液接種した。接種15, 24, 39, 48, 63, 72, 87, 96, 111時間経過後に、接種葉を安全カミソリで切り落とし、病徴観察を行い発病株率を調べた。同様にして、実験2の場合初生葉(初生葉期)、本葉第1葉(本葉第1葉期)および本葉第2葉(本葉第2葉期)にウイルスを接種後、14日目まで毎日接種葉を切り落とし発病株率を調べた。

ウイルスの潜伏期間に関する試験は、1979年8月に北海道立中央農試ガラス室内の有底コンクリート枠ほ場(530×290×25cm)にインゲンマメ(品種：改良早生大福)をは種し、初生葉および本葉第6葉(本葉第7~8葉期)、本葉第2および第9葉(開花始期)にそれぞれウイルスを汁液接種した後病徴観察を行った。

以上の結果をTable 9に示した。本葉第1葉に接種した方が初生葉に接種したのに比べ、接種葉から主茎へのウイルスの移行開始時間および完了時間が短かった。次にウイルス接種時期および接種葉位とウイルスの移行日数の関係についてTable 10に示した。上位葉に接種した場合、接種

Table 9. Effect of detachment of the inoculated leaves on systemic infection of kidney bean plants with BCMV (Exp.1)

Detached hours after inoculation	Inoculation to	
	Primary leaf	1st trifoliolate
15	0/10 ^{a)}	2/12
24	3/14	4/13
39	1/12	7/14
48	1/14	2/16
63	7/8	11/13
72	2/7	15/15
87	3/3	13/13
96	2/2	14/14
111	11/11	14/14

a) Number of plants infected/number of plants inoculated.

Table 10. Effect of detachment of the inoculated leaves on systemic infection of kidney bean plants with BCMV (Exp.2)

Plant age at inoculation	Leaves of inoculation	Detached days after inoculation													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Primary leaf	Primary leaf	2/8 ^{a)}	— ^{b)}	5/5	6/6	9/9	9/9	9/9	8/8	8/8	9/9	9/9	7/7	9/9	9/9
1st trifoliolate leaf	1st trifoliolate leaf	6/9	4/10	9/9	8/8	9/9	9/10	5/5	7/7	8/8	9/9	8/8	8/8	8/8	9/9
2nd trifoliolate leaf	Primary leaf	0/5	2/6	5/7	5/6	6/6	4/4	—	6/6	6/6	6/6	5/5	—	—	—
	2nd trifoliolate leaf	2/5	3/5	3/4	4/4	5/5	6/6	—	5/5	4/4	5/5	5/5	—	—	—

a) Number of plants infected/number of plants inoculated.

b) Not tested.

Table 11. Effect of leaf stage for inoculation with BCMV on kidney bean plants cv. Kairyō-Wase-Ohfuku

Leaf stage at inoculation	Inoculated leaves	Latent period in plants (weeks)	Mosaic symptoms ^{a)}
7th~8th trifoliolate leaf	6th trifoliolate leaf	2	+
	Primary leaf	3~4	+
Beginning of flowering	9th trifoliolate leaf	3	+
	2nd trifoliolate leaf	3~4	+
A week after flowering	9th trifoliolate leaf	4	+
	2nd trifoliolate leaf	4	+

a) + : Symptoms appeared.

時期にかかわらず接種1日後にウイルスの移行が始まり、3~4日後に移行が完了した。同時期に葉位を変えて接種した場合、上位葉に接種した方が下位葉に接種したのに比べ、ウイルスの移行開始時間および完了時間が短かった。

ウイルスの接種時期および接種葉位と潜伏期間の関係について Table 11 に示した。発病までの潜伏期間は接種時期が同じ場合、上位葉に接種した方が下位葉に比べ短く、接種葉位が同じ場合、接種時期が早い方が短かった。

b. 人工接種によるウイルスの種子伝染

ウイルスの種子伝染機構を解明するため、接種時期および接種葉位を変えた場合のウイルスの種子伝染率について下記の方法を用いて調べた。

実験1では使用したインゲンマメおよびウイルスの接種時期、接種方法は前項(1-2-3)-a)と同様に行った。

実験2では1980年3月に北海道立中央農試温室内のコンクリート枠ほ場にインゲンマメ(品種:改良早生大福)をは種した。本葉第1葉および第5葉(本葉第5~6葉期)、本葉第1葉および第4~9葉(本葉第9~10葉期)、本葉第2葉および第7~11葉(本葉第11~12葉期)にそれぞれウイルスを汁液接種した。

インゲンマメが完熟後、莢を収穫し接種時期および葉位別に種子伝染率を調査した。その結果を実験1の場合 Fig. 2, 実験2の場合 Fig. 3 にそれぞれ示した。実験1, 2とも同時期に接種した場

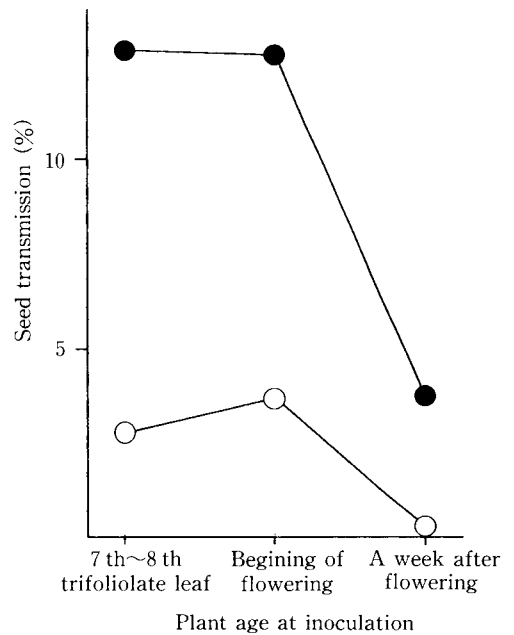


Fig. 2. Effect of BCMV in different growing stages on seed transmission. (Exp.1)

● : Upper leaves, ○ : Lower leaves.

合、上位葉に接種した方が下位葉に接種したものに比べ、常に種子伝染率が高かった。接種時期を変え上位葉、下位葉にそれぞれ接種した場合、いずれにおいてもインゲンマメの生育の早い時期に接種した方が種子伝染率が高く、接種時期が遅れるに従い種子伝染率が低下する傾向にあった。本

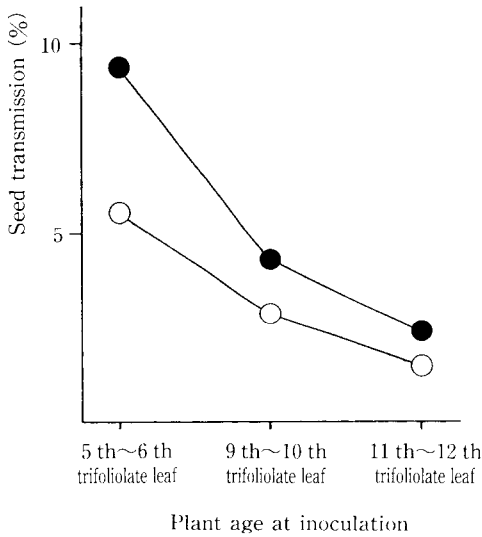


Fig. 3. Effect of BCMV in different growing stages on seed transmission. (Exp.2)
 ● : Upper leaves, ○ : Lower leaves.

実験において最も種子伝染率が高かったのは、実験 1 の本葉第 6 葉に接種した場合の 12.9% であった。また、開花始以降に接種した場合の種子伝染率は低く、0.3% であった。

c. インゲンマメの開花および発病と種子伝染
 BCMV の種子伝染はインゲンマメの開花、受精と密接な関係がある。そこでウイルスの感染後、インゲンマメが発病する以前に開花結実した莢、および発病後に開花結実した莢についてそれぞれ種子伝染率を調べた。

実験に使用したインゲンマメおよびウイルスの接種方法は、前項 (I-2-3)-a) と同様に行った。ウイルスを接種後、各株別に発病月日と莢の開花日を調べた。莢の完熟後、収穫し種子伝染率の調査を行った。なお開花日不明の種子は調査から除いた。

その結果を Table 12 に示した。発病前に開花

Table 12. Effect of flowering date and symptom appearance on seed transmission of BCMV

Date of inoculated	Date of symptom observed	Period of flowering	Flowering before symptom observed		Flowering after symptom observed		
			No. of seedlings infected/No. of seeds examined (Seed transmission, %)		No. of seedlings infected/No. of seeds examined (Seed transmission, %)		
May. 7	May. 26	Apr. 26-Jul. 29	0/57	(0)	5/78	(6.4)	
		Apr. 28-Jul. 27	0/15	(0)	2/15	(13.3)	
		May. 2-Jul. 6	0/27	(0)	12/48	(25.0)	
		May. 4-Jul. 10	0/5	(0)	5/67	(7.5)	
	May. 31	Apr. 25-Jul. 1	0/3	(0)	1/30	(3.3)	
		May. 13-Jul. 11	0/12	(0)	7/51	(13.7)	
	Jun. 2	Apr. 25-Jul. 2	Apr. 25-Jul. 2	0/16	(0)	3/95	(3.2)
			May. 1-Jul. 23	0/6	(0)	0	
		May. 6-Jul. 10	May. 6-Jul. 10	0/38	(0)	0/47	(0)
			May. 6-Jul. 18	0/16	(0)	0/3	(0)
Jun. 5	May. 12-Jul. 20	May. 12-Jul. 20	0		1/30	(3.3)	
		Apr. 28-Jul. 9	0/19	(0)	1/79	(1.3)	
May. 21	Jun. 2	Apr. 28-Jul. 5	0/24	(0)	7/69	(10.1)	
		Apr. 28-Jul. 12	0/14	(0)	0/10	(0)	
	Jun. 9	Apr. 20-Jul. 23	0/25	(0)	0/29	(0)	
		May. 9-Jul. 18	0/16	(0)	0/9	(0)	
	Jun. 12	May. 1-Jul. 20	0/11	(0)	1/41	(2.4)	
		May. 1-Jul. 22	0/9	(0)	1/47	(2.1)	
	Jun. 17	May. 1-Jul. 26	0/13	(0)	1/13	(7.7)	
	Jun. 28	Apr. 30-Jul. 16	0/97	(0)	1/29	(3.4)	
May. 29	Jun. 30	Apr. 26-Jul. 25	0/64	(0)	0	(0)	
		Apr. 28-Jul. 18	0/28	(0)	1/37	(2.7)	
Total			0/515	(0)	49/827	(5.9)	

結実した種子は、供試した22株の合計で515粒あったが、すべて種子伝染を生じなかった。これに対して、発病後に開花結実した種子は種子伝染したが、株別の種子伝染率はウイルスの接種月日、葉位によって異なり、最も種子伝染率が高い種子では、調査48粒中12粒（種子伝染率25%）が発病した。

d. ほ場における自然感染株の発病時期と種子伝染

ほ場において自然感染により発病したインゲンマメを発病月日別に収穫し、種子伝染率を調べた。

材料および方法は前項（I-2-1）と同じものを使用した。

9月28日に発病株を収穫し、10～11月に種子伝染率の調査を行った。その結果をTable 13に示した。種子伝染による発病株から採取した種子は種子伝染率が15.8%であった。これに対して、自然感染による発病株から採取した種子の種子伝染率はそれよりも低く、最も高い場合で7月29日に発病した株の10.2%であった。自然感染株の種子伝染率は発病時期が遅れるに従い低下し、8月2～6日に発病した株の種子伝染率は約1～2%で、8月11日以降に発病した株は種子伝染を生じなかった。

e. インゲンマメ品種に対する病原性と種子伝染

マメ科植物に対する接種試験の結果から、本ウイルスはインゲンマメに強い病原性を持つことが明らかになった。そこでインゲンマメ品種に対す

Table 13. Seed transmission of kidney bean plants cv. Kairyo-Wase-Ohfuku naturally infected with BCMV

Date of symptom appeared ^{a)}	No. of plants infected	No. of seeds examined	No. of seedlings infected	Seed transmission (%)
Jun. 20	2	95	15	15.8
Jul. 29	1	98	10	10.2
Aug. 2	1	89	1	1.1
	3	308	3	1.0
	6	129	3	2.3
	11	371	0	0
	15	420	0	0
	19	1,812	0	0
	21	647	0	0
	22	1,626	0	0
	25	652	0	0
	26	875	0	0
Sept. 2	32	3,181	0	0

a) Jun. 20: the infected plants were originated from virus-infected seeds.

Jul. 29～Sept. 2: naturally infected plants.

る病原性と種子伝染率について検討した。

供試品種は、北海道立十勝農試の保存品種163を用いた。

1982年6月に北海道立中央農試のファイロンハウスにおいてインゲンマメをは種し、初生葉（本葉第1葉期）にウイルスを汁液接種した後、約3週間後に病徴と発病株率を調査した。9月に収穫した後、種子伝染率を調査した。

その結果をTable 14に示した。病徴は主に黄

Table 14. Symptoms and rate of seed transmission of kidney bean cultivars infected with BCMV

Cultivars	Symptoms on		No. of seedlings infected / No. of seeds examined (Seed transmission, %)
	Inoculated leaf	Upper leaves	
Muroran-Ingen-Ruiji	Yellow spot	Mosaic	0/3 (0)
Shiro-Kintoki	〃	〃	0/6 (0)
Du Petit Potager	〃	〃	0/4 (0)
White Kidney	〃	〃	2/7 (28.6)
Tres H. de Massy	〃	〃	— ^{a)}
Chcvalier	〃	〃	0/4 (0)
Fukujiro-Kintoki	〃	〃	—

Cultivars	Symptoms on		No. of seedlings infected /No. of seeds examined (Seed transmission, %)
	Inoculated leaf	Upper leaves	
Benimame	Yellow spot	Mosaic	2/14 (14.3)
Taisho-Kintoki	//	//	0/1 (0)
" (Nakasatsunai)	//	//	1/5 (20.0)
Shin-Kintoki	//	//	0/4 (0)
Kitahara-Beninaga	//	//	0/5 (0)
Taishonaga	//	//	0/5 (0)
Naga-Kintoki	//	//	0/10 (0)
Ki-Ingen	//	//	0/4 (0)
Houzan-Kogane	//	//	1/4 (25.0)
Hakkoh	//	//	0/9 (0)
Ohgon-Saitou	//	//	0/13 (0)
Sutton's Selected	//	//	6/11 (54.5)
Oxblood	//	//	0/5 (0)
Shiki-Mame	//	//	0/16 (0)
Kidney Beans	//	//	4/8 (50.0)
Showa-Kintoki	//	//	0/1 (0)
Dark Red Kidney	//	//	2/6 (33.3)
Red Kidney	//	//	2/13 (15.4)
Rossinha	//	//	0/1 (0)
Limelight	//	//	4/16 (25.0)
Hokkai-Kintoki	//	//	0/2 (0)
Sho-Nagauzura	//	//	0/8 (0)
Tsunetomi-Nagauzura	//	//	1/10 (10.0)
Nagauzura	//	//	—
Tenashi-Nagauzura	//	//	0/1 (0)
Tenashi-Biruma	//	//	—
Ball Uribe	//	//	0/3 (0)
Antioquia-1	//	//	0/3 (0)
Feijao Escrivao	//	//	2/8 (25.0)
Uribe Redondo	//	//	—
Inepuisable	//	//	0/17 (0)
Contesse de Chambord	//	//	2/9 (22.2)
Kievskaja 5	//	//	1/5 (20.0)
Tokachi-Shirokintoki	//	//	—
Tori-Ingen	//	//	2/24 (8.3)
Mexico 489	//	//	0/15 (0)
Nagauzura (Memuro)	//	//	0/4 (0)
Maruuzura (Otofuke)	//	//	0/2 (0)
Chunaga-Uzura	//	//	1/11 (9.1)
Kairyō-Chunaga	//	//	1/4 (25.0)
Sho-Toramame	//	//	0/2 (0)
Taoka-Mame	//	//	0/6 (0)
Yellow Eye Bean	//	//	1/5 (20.0)
White Marrow	//	//	—
India(Rajma)-1	//	//	0/5 (0)
Shoryu-Toramame	//	//	—

Cultivars	Symptoms on		No. of seedlings infected /No. of seeds examined (Seed transmission, %)
	Inoculated leaf	Upper leaves	
Toramame	Yellow spot	Mosaic	—
Kidney Horn	"	"	2/13 (15.4)
Red Kidney No. 1	"	"	—
Black Eye	"	"	1/10 (10.0)
Pencil Pod Black Wox	"	"	—
Master Piece	"	"	1/10 (10.0)
Ever Green	"	"	2/9 (22.2)
Green Tekoa	"	"	—
Yamashiro-Maruzaya-Sando-Saitou	"	"	1/13 (7.7)
Black Valentine	"	"	0/16 (0)
Kurosando	"	"	2/14 (14.3)
Giant Stringless	"	"	2/16 (12.5)
Akasando-Saitou	"	"	0/15 (0)
Take-Kintoki	"	"	0/5 (0)
Yellow String Bean	"	"	—
Saxa	"	"	2/12 (16.7)
Dwarf Horticultural	"	"	1/8 (12.5)
Long Fellow	"	"	0/7 (0)
Full Measure	"	"	0/13 (0)
Gokuwase-Maruzaya-Saitou	"	"	1/14 (7.1)
Ki-Uzuramame	"	"	—
Sasagi	"	"	0/5 (0)
Anego-Mame	"	"	0/10 (0)
Tori-Anego	"	"	0/19 (0)
Bakei-5gou	"	"	0/4 (0)
Burpee's New Kidney No. 1	"	"	1/13 (7.7)
Shiromaru-Uzura	"	"	—
White Case Back	"	"	0/6 (0)
Case Knife	"	"	0/1 (0)
Bakei-3gou	"	"	1/6 (16.7)
Kotonikuro	"	"	0/20 (0)
Kentucky Wonder	"	"	0/7 (0)
Ohmaru-Uzura-Saitou	"	"	0/2 (0)
White Haricot	"	"	0/8 (0)
Giant Stringless G. P.	"	"	1/21 (4.8)
Kikuchi-Nagauzura	"	"	0/9 (0)
Kumamoto-Ingen	Yellow spot	Mosaic	0/2 (0)
Lingot	Veinal necrosis	"	0/11 (0)
Kinugasa-Saitou	"	"	8/28 (28.6)
Pea Bean	"	"	—
Improved White Navy	"	"	—
Small White	"	"	—
Large White	"	"	0/1 (0)
Kintoki-Shozu	"	"	2/15 (13.3)
Moldavskaja Bomba U.	"	"	0/11 (0)

Cultivars	Symptoms on		No. of seedlings infected /No. of seeds examined (Seed transmission, %)
	Inoculated leaf	Upper leaves	
Tenashi-Ohtebou	Veinal necrosis	Veinal necrosis	—
Ohtebou (Memuro)	Veinal necrosis	Veinal necrosis	0/1 (0)
Shotebou	〃	Mosaic	—
Ohtebou	〃	〃	1/3 (33.3)
Kairyō-Ohtebou	〃	〃	1/3 (33.3)
Ohtebou (Makubetsu)	〃	〃	1/8 (12.5)
Gintebou	〃	〃	0/4 (0)
Wase-Ohfuku (Kitami)	〃	〃	0/2 (0)
Cocoa la creme	Yellow spot	Veinal necrosis Mosaic	0/2 (0)
Granda	Yellow spot	Veinal necrosis	0/6 (0)
Beni-Kintoki	Yellow spot Veinal necrosis	Veinal necrosis	1/11 (9.1)
Himetebou	Yellow spot Veinal necrosis	Veinal necrosis Mosaic	—
Tenashi-Tsurukintoki	Veinal necrosis	Mosaic	0/3 (0)
Pearl Bean	〃	〃	5/29 (17.2)
Taisho-Ohtebou	〃	〃	0/5 (0)
Blue Lake Hybrid	〃	〃	1/4 (25.0)
Shiroji-Biruma	〃	〃	0/14 (0)
Fukuryū-Chunaga	Necrotic ring spot	Mosaic	0/3 (0)
Otafuku	No	Veinal necrosis Mosaic	—
Chilleam Arrowz Beans	No	Mosaic	0/12 (0)
Black Valentine B	〃	〃	0/4 (0)
Gokuwase-Murasakizaya-Saitou	〃	〃	5/16 (31.3)
Blue Butter	〃	〃	0/11 (0)
Flageolet Rouge	〃	〃	0/5 (0)
Anthracnose Resistant 22	〃	〃	0/9 (0)
Dneprovskaja Bomba	〃	〃	0/9 (0)
Kransnodskaja 19305	〃	〃	0/8 (0)
Tsuru-Kintoki (Sarabetsu)	〃	〃	1/2 (50.0)
Naga-Toramame	〃	〃	0/1 (0)
Ohfuku-5	〃	〃	—
5823-C-B-4	〃	〃	0/1 (0)
Chevrier	〃	〃	0/5 (0)
Kintoki	〃	〃	0/5 (0)

Cultivars	Symptoms on		No. of seedlings infected /No. of seeds examined (Seed transmission, %)
	Inoculated leaf	Upper leaves	
Aozaya-Kurosando-Saitou	No	Mosaic	0/14 (0)
Kurosando-Saitou	"	"	1/9 (11.1)
Osetinskaja 302	Yellow spot Veinal necrosis	No	0/8 (0)
Canellini	Yellow spot	No	0/12 (0)
Hosonaga-Hassun	"	"	0/5 (0)
Nukamai-Mame	"	"	—
Shironaga-Uzura	"	"	0/8 (0)
Michelite	"	"	0/27 (0)
Navy Beans	"	"	0/25 (0)
Sanilac Pea Beans	"	"	0/19 (0)
Michelet a. l. c.	No	No	0/12 (0)
Caniees	"	"	0/15 (0)
Pea Beans	"	"	0/13 (0)
Cornell 49=242	"	"	0/4 (0)
Murasakizaya	"	"	—
Feijao Blaque Valentine	"	"	0/26 (0)
Widusa (Netherlands)	"	"	0/8 (0)
Tender Long	"	"	0/13 (0)
Kinugasa-Saitou	"	"	0/6 (0)
Kuro-Kintoki	"	"	0/15 (0)
Murasaki-Mame	"	"	0/23 (0)
Kentucky Wonder B. S. P.	"	"	0/15 (0)
Aozaya-Shakugosun-Saitou	"	"	0/26 (0)
Kairyō-Ohhirazaya- Shakugosun-Saitou	"	"	0/22 (0)
Indian Chief	"	"	0/17 (0)
Shoritsu-Zairai-Saitou	"	"	0/7 (0)
Ideal Market	"	"	0/22 (0)
Jolanda	"	"	0/26 (0)
G. N. 31	"	"	0/14 (0)
G. N. 123	"	"	0/20 (0)
Amanda	"	"	0/12 (0)
B. O. 19	"	"	0/7 (0)

a) Not tested.

斑，葉脈えそ，モザイク症状の単独か併発によるものであった。このうち接種葉が黄斑，上葉がモザイク症状を現わしたものが最も多かった。感受性品種の種子伝染率は品種により異なり，最も高い品種で55%であった。これに対して，接種葉お

よび上葉とも無病徴で抵抗性と思われるものが20品種認められた。

4) 病原ウイルスの診断

a. 粒子の形態

インゲンマメのモザイク株から分離した病原ウ

ウイルスの粒子の形態を電子顕微鏡で観察した。

北海道立中央農試のほ場内において、インゲンマメ（品種：改良早生大福）のモザイク株から採取した病葉を DN 法を用いて電顕観察した。

その結果、粒子の長さ約 750～800 nm のひも状粒子が多数観察された。粒子の中には切断された断片と思われる短粒子も少数観察された。粒子の屈曲の程度は大小様々であった。

b. ウイルスの純化

良質なウイルス抗血清を作出するためには、免疫源として高純度のウイルス標品が必要である。そこでインゲンマメ罹病葉を用いてウイルスの抽出および精製を行った。

純化材料は、接種 28～45 日後のインゲンマメ（品種：改良早生大福）の上葉（モザイク症状）を

20°C のフリーザー中で凍結保存したものを使用した。純化の方法は、Moghal and Francki(1976) に準じて Fig. 4 に示した方法で行った。

純化ウイルスの紫外部吸収曲線を Fig. 5 に示した。本ウイルスは波長 260 nm に最大値, 240 nm に最小値を示す核蛋白特有の吸収曲線を示し, 260 nm/280 nm は 1.40 であった。 $A_{260} = 2.8$ を 1 mg/ml と仮定して純化標品の収量を算出すると、罹病葉 100 g から約 1 mg のウイルスが得られた。純化ウイルスを電顕観察した結果、Plate V の 1 に示したようにひも状粒子が多数観察された。

c. ウイルス抗血清の作出

純化ウイルスをウサギに免疫し抗血清の作出を行った。

純化ウイルス（1回 1 mg）をウサギに筋肉注射

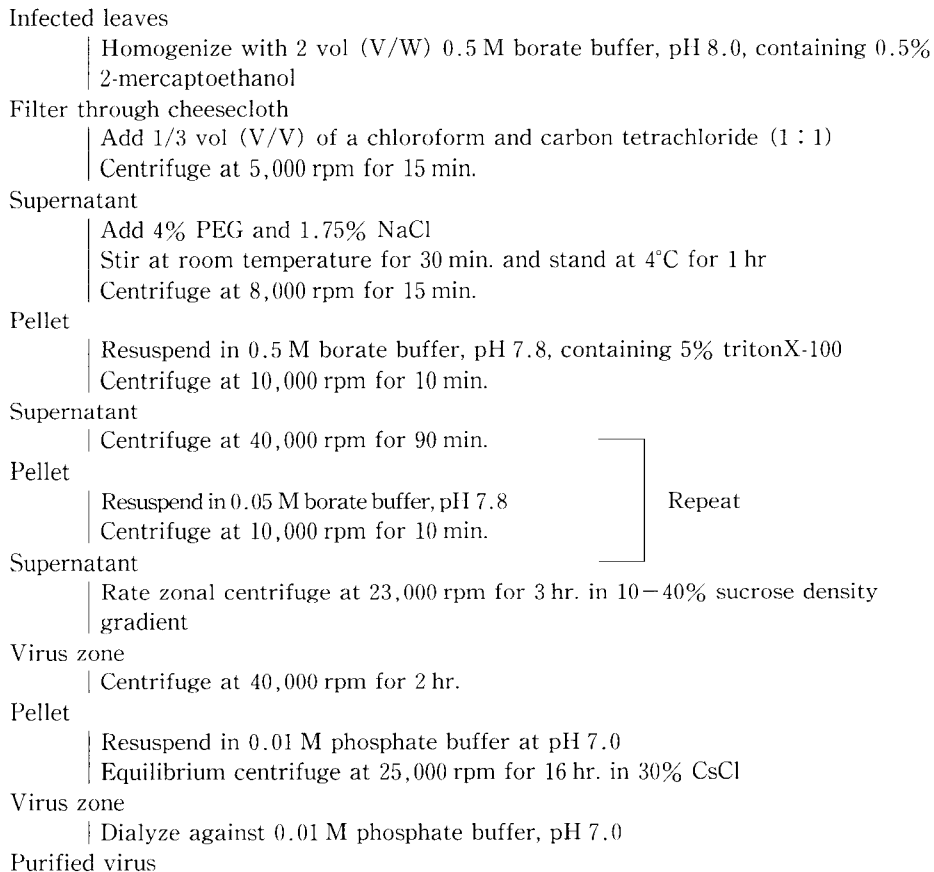


Fig. 4. Purification of BCMV

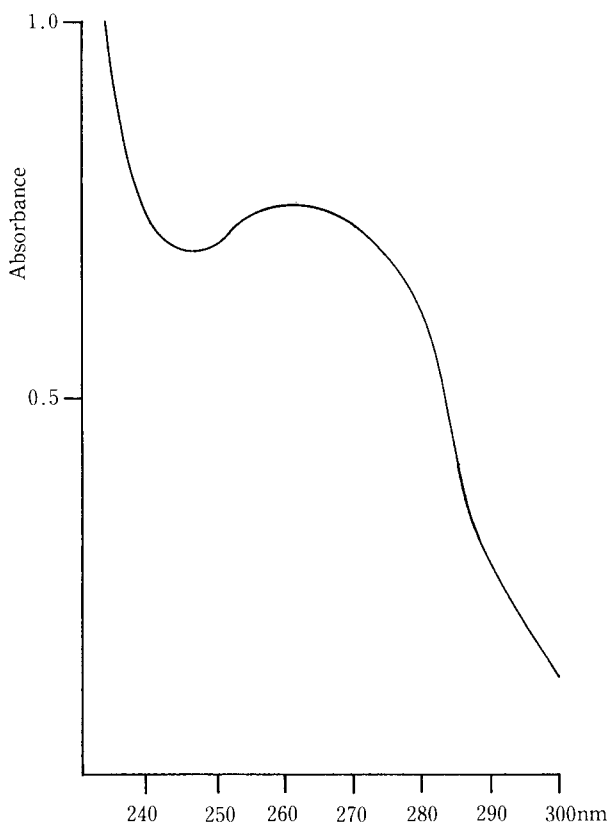


Fig. 5. UV absorption spectrum of purified BCMV.

4回、静脈注射1回それぞれ1週間間隔で行い免疫した。最終注射10日後に部分採血を行い、リングテストによる力価の測定を行った結果、512倍希釈まで沈降帯が認められた。

d. 免疫電顕法

a) 緩衝液の種類と濃度

免疫電顕法を行うにあたり、抗血清希釈用緩衝液の種類およびその最適濃度について検討を行った。

緩衝液は0.05 M ペロナール, 0.05 M カコジル酸, 0.05 M リン酸, 0.1 M リン酸の各緩衝液をいずれも pH 7.0 に調整し使用した。ウイルス試料はインゲンマメ (品種: 改良早生大福) 罹病葉の10倍希釈粗汁液を使用した。試料を免疫電顕法で処理した後、電顕観察に供した。

その結果を Table 15 に示した。0.1 M リン酸

Table 15. Effect of buffer solutions for trapping BCMV by immune electron microscopy

Buffer solutions ^{a)}	No. of virus particles detected ^{b)}
0.05 M barbital	4,445
0.05 M cacodylate	455
0.02 M phosphate	490
0.05 M phosphate	2,625
0.1 M phosphate	10,360

a) Buffered solutions were adjusted to pH 7.0.

b) Average number of virus particles in three grid squares at $\times 15,000$.

Table 16. Effect of dilution of antiserum for trapping BCMV by immune electron microscopy

Antiserum dilution	No. of virus particles detected ^{a)}
50	980
100	910
200	1,890
400	2,100
800	3,710
1,600	13,720
3,200	17,850
6,400	2,380
Physical saline solution	490

a) Same as b) in Table 15.

緩衝液 (pH 7.0) を用いた場合、最も多数のウイルス粒子数が観察され、抗血清の希釈用緩衝液として最適であった。

b) 抗血清濃度の検討

0.1 M リン酸緩衝液を用いて、抗血清の最適希釈濃度について検討した。

ウイルス試料および粒子の測定は前項 (I-2-4)-d-a) と同様に行った。抗血清を0.1 M リン酸緩衝液で50~6,400倍までの2倍希釈系列を作り、希釈した各抗血清をトラップ用で使用し、デコレーション用には1,000倍希釈のものを使用した。

その結果を Table 16 に示した。50倍から3,200倍までは抗血清の希釈倍数が大きくなるに

従いウイルス粒子数が増加し、3,200倍希釈において最も多くの粒子数が観察された。

c) 試料と抗血清の反応時間

免疫電顕法を行う場合のウイルス試料と抗血清の反応時間について検討した。

ウイルス試料および粒子の測定は前項(1-2-4)-d-a)と同様に行い、抗血清は3,000倍希釈のものを使用した。試料と抗血清の反応時間は15分(室温)、1時間(4°C)、4時間(4°C)、24時間(4°C)で行った。

Table 17. Effect of reaction time for trapping BCMV by immune electron microscopy

Hours for trapping ^{a)}	No. of virus particles detected ^{b)}
0.25	2,450
1	4,830
4	7,910
24	43,750

a) Temperature for trapping were at room temperature for 15 min. and then at 4°C for 1~24 hrs.

b) Same as b) in Table 15.

その結果を Table 17 に示した。反応時間が長くなるに従いウイルス粒子数が増加し、24時間反応させた場合最も多くの粒子が観察された。

d) 免疫電顕法、ダイレクトネガティブ染色

法および接種検定によるウイルスの検出罹病葉粗汁液を用いて免疫電顕法、ダイレクトネガティブ染色(DN)法および接種検定によるウイルスの検出を行い、検出精度の比較を行った。

0.1 M リン酸緩衝液を用いてインゲンマメ(品種：改良早生大福)罹病葉生体重の $10^1 \sim 10^8$ までの10倍希釈系列を作り、各希釈液の半量をインゲンマメ(品種：大手亡)の初生葉に汁液接種し残りの半量を免疫電顕法およびDN法によりウイルスの検出を行った。

免疫電顕法は、試料にインゲンマメ健全葉の汁液を1%加えた場合と、加えなかった場合の両者について調べた。その結果を Table 18 に示した。DN法では 10^4 倍希釈までウイルスが検出できたのに対して、免疫電顕法は 10^5 倍希釈まで、さらに試料にインゲンマメ健全葉汁液を加えた場合 10^7 倍希釈まで検出できた。これに対して、接種検定では 10^5 倍希釈までであった。

Table 18. Sensitivity of immune electron microscopy(IEM), direct negative staining(DN) and inoculation test for detecting BCMV in leaf extracts

Dilutions of leaf extracts	Average number of virus particles detected ^{a)}			BCMV-infected ^{b)} (%)
	IEM ^{c)} (Plus 1% leaf extract)	IEM	DN	
10^1	158,004	104,597	1,201	100
10^2	20,420	16,447	647	100
10^3	2,864	2,662	49	100
10^4	233	2	4	83
10^5	52	1	0	50
10^6	11	0	0	0
10^7	2	0	0	0
10^8	0	0	0	0

a) Same as b) in Table 15.

b) Six healthy kidney bean plants "Ohtebou" were inoculated at expanded primary leaf stage.

c) Add 1%(V/V) leaf extract of healthy kidney bean plants to a final volume of each dilution.

e) 種子からのウイルス検出

インゲンマメ種子からウイルスの検出を行い、検出率と種子伝染率の関係および種子中のウイルス濃度について検討した。

供試種子はインゲンマメ 2 品種を用いた。「改良早生大福」の保毒種子は、1979 年北海道立中央農試ほ場において生育初期に自然感染した発病株から採種したもので、その種子伝染率は 17.6% (調査 131 株中 23 株発病) であった。「大正金時」の保毒種子は、1981 年 1～5 月に北海道立中央農試の温室内においてウイルスを汁液接種し発病した株から採種したもので、その種子伝染率は 19.5% (調査 190 株中 37 株発病) であった。各種子を殺菌水中で 16 時間浸した後、吸水した種子重の 10 倍量の 0.1 M りん酸緩衝液を加えて磨砕し、3,000 rpm, 10 分間遠心分離した後免疫電顕法で調べた。

その結果を Table 19 に示した。試験は各品種 2 回ずつ行い、合計では「改良早生大福」が供試 78 種子中 18 種子 (検出率 23.1%) から、「大正金時」が供試 110 種子中 26 種子 (検出率 23.6%) から Plate VI の 1 に示したようにウイルスが検出された。グリッド 1 目のウイルス粒子数を 1～100 (低濃度), 101～1,000 (中濃度), 1,001 以上 (高濃度) に類別し、保毒種子のウイルス濃度を調べた結果、「改良早生大福」の場合保毒種子 18

粒中 15 粒から、「大正金時」の場合保毒種子 26 粒中 22 粒から高濃度のウイルスが検出された。

f) 種子内各部位からのウイルス検出

インゲンマメの未熟, 完熟の保毒種子を用いて、子葉, 胚, 種皮の各部位からウイルスの検出を行うとともに、そのウイルス濃度について調べた。

殺菌水中に 16 時間浸し、吸水させたインゲンマメ (品種: 大正金時) の完熟種子から種皮を分離し、残りの部分を安全カミソリで背線に沿って両断し、子葉と胚を分離した。各部位を殺菌水で洗浄した後、吸水重の 10 倍量の 0.1 M りん酸緩衝液を加えて磨砕し、3,000 rpm, 10 分間遠心分離した後免疫電顕法で調べた。

その結果を Table 20 に示した。保毒種子の場合 10 試料中子葉 10, 胚 7 からウイルスが検出されたが、種皮からは全く検出されなかった。これに対して、健全種子の場合いずれの部位からもウイルスが検出されなかった。子葉および胚から検出されたウイルスの濃度を調べた結果、両者とも個体間に濃度差が認められたが、胚のウイルス濃度が子葉よりも高い傾向であった。

g) 種子の成熟過程における種子体内のウイルス濃度の変動

未熟, 完熟種子からウイルスの検出を行い、種子の成熟過程におけるウイルス濃度の変動を調べた。

Table 19. Detection of BCMV in kidney bean seeds

Cultivars	Exp. no.	No. of seeds tested	No. of infected seeds	Infected seeds (average) (%)	No. of seeds classified according to average No. of virus particles detected ^{a)}			
					0	1-100	101-1,000	1,000<
Taisho- ^{b)} kintoki	Exp.1	70	12	17.1	58	2	1	9
	Exp.2	40	14	35.0 (23.6)	26	0	1	13
Kairyo- ^{c)} Wase- Ohfuku	Exp.1	48	9	18.8	39	1	1	7
	Exp.2	30	9	30.0 (23.1)	21	1	0	8

a) Same as b) in Table 15.

b) Infection rate by BCMV is 19.5%.

c) Infection rate by BCMV is 17.6%.

Table 20. Detection of BCMV in kidney bean seeds by immune electron microscopy

Seeds ^{a)}	No. of BCMV-infected parts/seeds tested			Average No. of virus particles detected ^{b)} (range)		
	Cotyledon	Embryo	Seed coat	Cotyledon	Embryo	Seed coat
Infected	10/10	7/10	0/10	10,774 (369-21,991)	19,939 (601-61,450)	0
Healthy	0/10	0/10	0/10	0	0	0

a) Seeds were collected from the infected kidney bean plants inoculated with BCMV at primary leaf stage.

b) Same as b) in Table 15.

Table 21. Detection of BCMV in mature and immature kidney bean seeds

Seeds	No. of seeds tested	No. of infected seeds	No. of seeds classified according to average No. of virus particles detected			
			0 ^{a)}	1-100	101-1,000	1,000<
Immature	20	20	0	5	13	2
Mature	20	13	7	9	0	4

a) Same as b) in Table 15.

Table 22. Detection of BCMV in various parts of mature and immature kidney bean seeds by immune electron microscopy

Seeds	No. of BCMV-infected parts in seeds			Average No. of virus particles detected ^{a)} (range)		
	Cotyledon	Embryo	Seed coat	Cotyledon	Embryo	Seed coat
Immature	2/2	2/2	2/2	20,425 (2,600-38,250)	910 (220-1,600)	1,744 (1,744)
Mature	4/4	4/4	4/4	33,393 (20,350-48,500)	22,950 (16,830-29,070)	30 (2-80)

a) Same as b) in Table 15.

北海道立中央農試ガラス室内のコンクリート砕土壌にインゲンマメ（品種：改良早生大福）をは種し、初生葉にウイルスを汁液接種した。発病株から未熟種子（は種 88 日後の莢肥大期）、完熟種子（は種 111 日後の完熟期）を任意に採種した後、種子からウイルスの検出を行った。

結果を Table 21 に示した。各供試種子 20 粒中未熟種子 20、完熟種子 13 からウイルスが検出さ

れた。保毒種子のウイルス濃度を調べた結果、未熟種子では中濃度の種子が、完熟種子では低濃度の種子がそれぞれ最も多かった。

次に未熟および完熟した保毒種子をそれぞれ子葉、胚、種皮に分け、ウイルスの検出を行った結果を Table 22 に示した。未熟種子の場合、供試した 2 試料ともすべての部位からウイルスが検出された。ウイルス濃度は種子個体間の差が認められ

Table 23. Detection of BCMV in seed coats of mature and immature kidney bean seeds

Cultivars	Seeds	No. of BCMV-infected /total seed coats tested	Average No. of virus particles detected(range) ^{a)}
Kairyō- Wase-Ohfuku	Immature	15/15	55 (4-257)
	Mature ^{b)}	13/15	2 (1-3)
	Mature ^{c)}	5/5	2 (1-5)
Taisho-kintoki	Mature ^{d)}	0/21	0

a) Same as b) in Table 15.

b) Stored for 4 months at 15°C after harvest.

c) Stored for 28 months at 15°C after harvest.

d) Stored for 9 months at 15°C after harvest.

たが子葉が最も高く、次いで種皮、胚の順であった。これに対して完熟種子の場合、供試した4試料のすべての部位からウイルスが検出され、子葉>胚>種皮の順にウイルス濃度が高かった。

h) 種皮からのウイルス検出

種子の成熟、乾燥、保存の過程における種皮中のウイルス濃度の変動を調べるため、種皮からウイルスの検出を行った。

実験に使用したインゲンマメ種子は、「改良早生大福」が1981年9月採種の未熟種子、同10月採種の完熟種子、1979年採種の完熟種子、「大正金時」が1981年5月採種の完熟種子で、いずれも北海道立中央農試ガラス室にてウイルスの人工接種による発病株から採種した。

結果をTable 23に示した。1981年産の「改良早生大福」の未熟種子は供試した15種皮のすべてからウイルスが検出され、種皮中の平均粒子数は55であった。同完熟種子は供試した15種皮中13種皮からウイルスが検出され、平均粒子数は2であった。1979年産「改良早生大福」は供試した5種皮すべてからウイルスが検出され、平均粒子数は2であった。これに対して、「大正金時」は21種皮供試したが、いずれからもウイルスは全く検出されなかった。

i) 子葉からのウイルス検出と発病

鉢栽培したインゲンマメ子葉中のウイルスの有無と発病の関係について調べた。

北海道立中央農試温室においてインゲンマメ(品種：大正金時)の保毒種子をは種し、発芽後直

Table 24. Relations between BCMV particles in cotyledons and seed transmission

No. of seeds tested	No. of seeds	Average No. of virus particles detected in cotyledons(range) ^{a)}	Mosaic symptoms
53	13	1,952 (24-13,121)	+
	40	0	-

a) Same as b) in Table 15.

ちに子葉の1片を切離し免疫電顕法で調べた。一方、同一個体の病徴判定による発病の有無をは種約40日後に行った。

その結果をTable 24に示した。供試53株中子葉からウイルスが検出されたのは13株で、これらはすべてモザイク病徴を現わした。これに対して、子葉からウイルスが検出されなかったものは40株であったが、発病したものは全く認められなかった。

j) 保毒種子の集団検定

これまでの実験結果から、免疫電顕法により個々の保毒種子からウイルスの検出が可能であった。本項では保毒種子を健全種子に混合しウイルスの検出を行い、保毒種子の集団検定の可能性について検討した。

殺菌水中に浸し吸水させたインゲンマメ(品種：大正金時)種子を半切し、一方を免疫電顕法でウイルスの有無を調べた。ウイルスの検出された保毒種子の残りの半量を安全カミソリで切り刻み、別に準備した殺菌水中に浸し吸水させたイン

ゲンマメの健全種子に重量比で0.1%, 0.05%になるようそれぞれ加えた後, 吸水した種子重の10倍量の0.1 M リン酸緩衝液を加えて磨砕し免疫電顕法で調べた。試料中にはインゲンマメの健全葉汁液を終末濃度1%になるよう加えた。

その結果を Table 25 に示した。保毒種子を0.1%の割合で健全種子に混ぜた場合, 供試した9試料のすべてからウイルスが検出され, 粒子数の範囲は3~30であった。保毒種子を0.05%の割合で混ぜた場合, 9試料中8試料からウイルスが検

出され, 粒子数の範囲は1~7であった。

5) 発生生態と防除

a. アブラムシの発生消長と本病の発生推移

1978年~1980年の3年間, インゲンマメほ場におけるアブラムシ類の発生消長および本病の発病経過について調査を行った。

品種は「改良早生大福」を使用し, 各年次における試験の概要は次のとおりである。

1978年の試験：6月8日は種, 面積1.8 a (20畦×20株)

1979年の試験：5月23日は種, 面積1.7 a (16畦×26株)

1980年の試験：5月19日は種：面積3.2 a (14畦×60株)

試験は防除区, 無防除区の2区制で行った。ウイルス感染源として, 1978年の試験においては保毒種子をほ場の中央に1株は種した。1979年の試験ではほ場の中央のインゲンマメ4株に, 1980年の試験では16株(8株ずつ2カ所)にウイルスを汁液接種した。アブラムシの調査は1回につき1978年の試験では100株, 1979年の試験では100

Table 25. Detection of BCMV in seed homogenates by immune electron microscopy

Seeds	No. of infected seeds/No. of seeds tested	Average No. of virus particles detected(range) ^{a)}
Infected: healthy(1:999)	9/9	10(3-30)
" (1:1,999)	8/9	3(1-7)
Healthy seeds	0/6	0

a) Same as b) in Table 15.

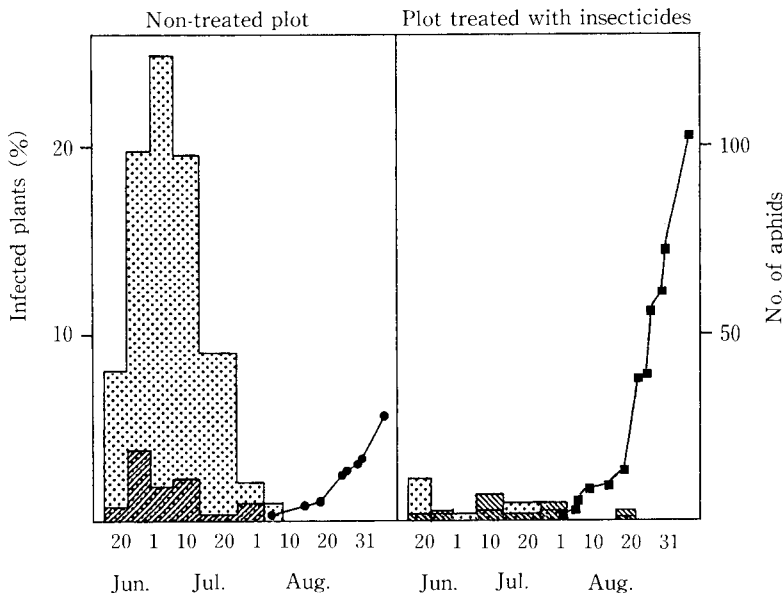


Fig. 6. Relations of aphid numbers and incidence of BCMV in 1978. Histograms show number of aphids on 100 kidney bean plants. : Alatae, : Apteræ, ●, ■ : Infected plants.

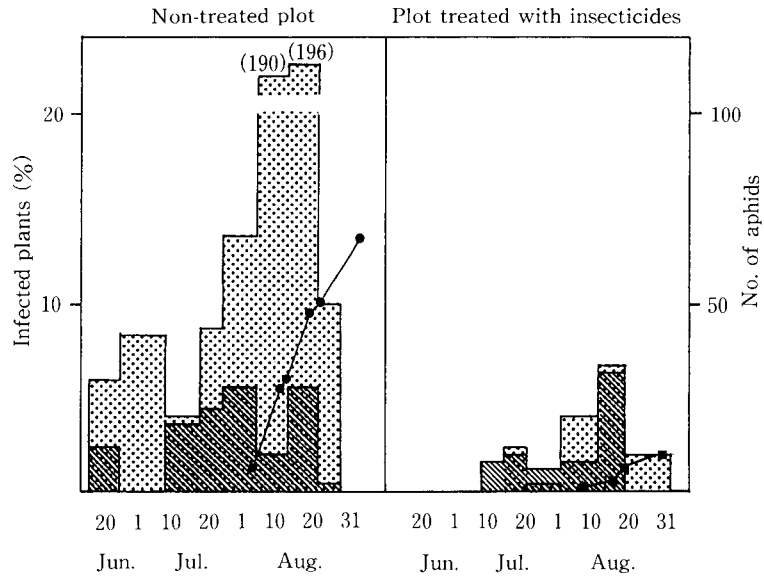


Fig. 7. Relations of aphid numbers and incidence of BCMV in 1979. Histograms show number of aphids on 100 kidney bean plants.
 ▨ : Alatae, ▤ : Apterale, ●, ■ : Infected plants.

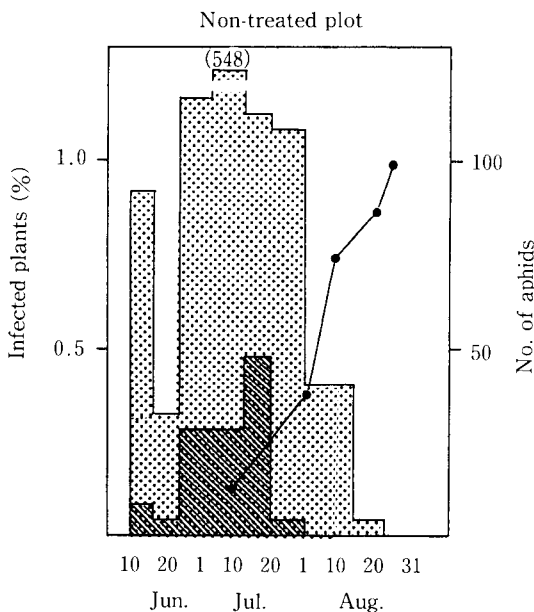


Fig. 8. Relations of aphid numbers and incidence of BCMV in 1980. Histograms show number of aphids on 100 kidney bean plants.
 ▨ : Alatae, ▤ : Apterale, ● : Infected plants.

株, 1980年の試験では25株で行った。ウイルス病の調査はインゲンマメの発芽後8月下旬まで毎日全株調査し, 発病株率を調べた。

アブラムシの発消長と本病の発生推移について, Fig. 6, 7, 8に示した。アブラムシ数は100複葉あたりに換算して示した。無防除区でみると, アブラムシの初発日は1978年が6月21日, 1979年が6月18日, 1980年が6月13日で, いずれもインゲンマメの初生葉期であった。1978年の場合無翅虫は初発時にかなりの寄生が認められ, その後漸増し7月上旬の本葉第2葉期に寄生のピークが認められたが, 8月に入ってからほとんど認められなかった。有翅虫の寄生数は6月下旬に最も多く, 以後漸減した。1979年の場合前年と発消長が異なり, 無翅虫は初発後7月下旬までほぼ一定の寄生数で推移したが, その後急激に増加し8月中旬に寄生数がピークに達した後急激に減少した。有翅虫は6月下旬と7月中旬以降に寄生が認められた。1980年の場合無翅虫は初発後6月下旬に一度寄生数が減少したが, その後急激に増加し1978年と同様に7月上旬に寄生数のピークに達した。有翅虫は初発後漸増し, 7月中旬に寄生

数のピークを示した後減少した。1978年から1980年までのアブラムシの発生消長は3カ年とも異なりましたが、発生量は1980年が最も多く、1978年が最も少なかった。一方、ウイルス病の発生状況は1978年の場合防除区で発生が多く、7月下旬から認められ、8月下旬に急激に増大した。1979年の場合無防除区で発生が多く、7月下旬から認められ、8月上旬以降急激に増大した。1980年の場合7月上旬から発生が認められ、8月下旬まで漸増したが発生量は前2カ年に比べ少なかった。

b. ほ場における発病株の分布

農家ほ場における本病の発生分布をみると、ほ場内に散在している場合もあるが、ほ場の中央や端に集中して発生している例も認められた。そこで本項ではほ場内における発病株の分布について調べた。

試験は1978～1979年の2年間前項（I-2-5）-a）で使用したほ場において行った。ほ場内における試験区の位置をFig. 9に示した。発病調査はインゲンマメの発芽後、8月下旬まで毎日全株について行った。

調査の結果をFig. 10, 11に示した。1978年では

防除区においてウイルス病の発生が多く、発病株の分布をみると、7月29日～8月6日までの発病

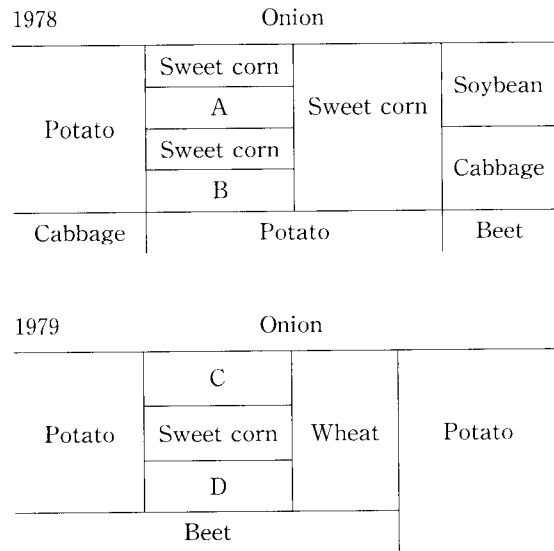


Fig. 9. Location of kidney bean plots in a field in 1978 and 1979.
A, C : Non-treated kidney bean plots.
B, D : Kidney bean plots treated with insecticides.

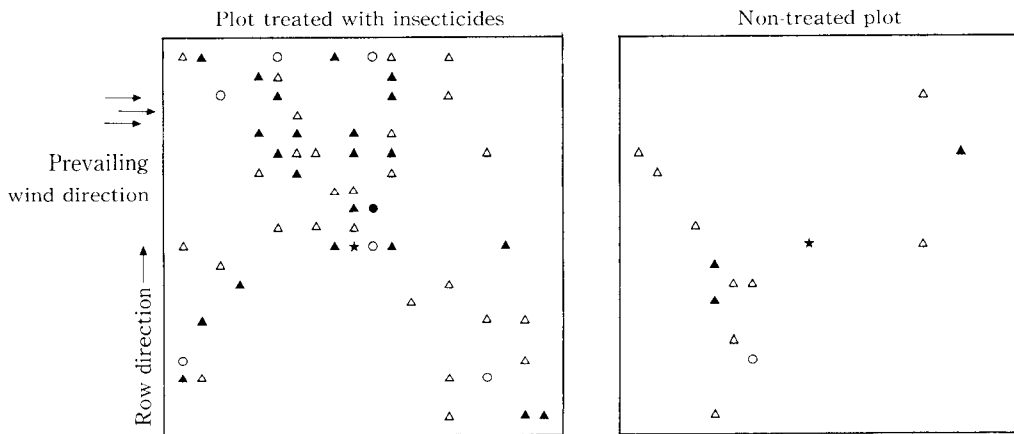


Fig. 10. Spread of BCMV in a kidney bean field in 1978.
★ : Infected plants originated from BCMV-infected seeds,
● : Naturally infected plants on July. 29,
○ : Naturally infected plants between Aug. 2 and 6,
▲ : Naturally infected plants between Aug. 11 and 19,
△ : Naturally infected plants between Aug. 21 and 26.

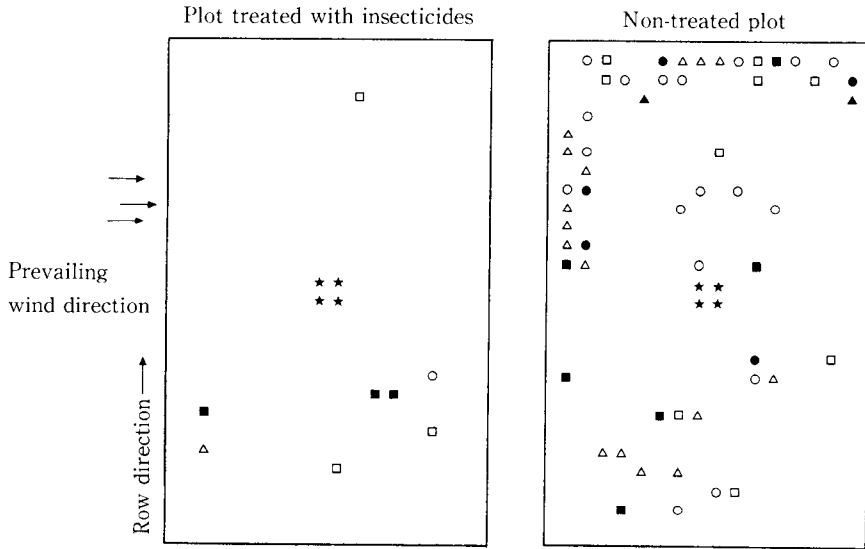


Fig. 11. Spread of BCMV in a kidney bean field in 1979.
 ★ : Infected plants inoculated with BCMV at the primary leaf stage,
 ● : Naturally infected plants on July. 31,
 ○ : Naturally infected plants on Aug. 7,
 ▲ : Naturally infected plants on Aug. 9,
 △ : Naturally infected plants on Aug. 15,
 ■ : Naturally infected plants on Aug. 18,
 □ : Naturally infected plants on Aug. 28.

株数は少なかったが、ウイルス感染源から遠く離れたほ場の端に散在していた。8月11日以降の発病株は、その時までに発病していた株の周囲に集中して発生する傾向が認められた。1979年では無防除区で発生が多かった。7月31日に発病した株はウイルス感染源から離れたほ場の端に散在している場合が多く、それ以後の発病株は集中的に発生している傾向が認められた。

c. ほ場周辺の環境と本病の発生

ウイルスフリー種子を用いて採種栽培試験を行い、周辺の農家は場までの距離およびウイルス汚染状況と採種試験ほ場におけるウイルス病の発生状況を調査した。

採種栽培試験は北海道立中央農試の他胆振、網走管内の大福栽培地域で行い、ほ場の選定に当たっては原則的に農家ほ場から200m以上離れていることを条件にした。1978年北見市(豊田, 豊地), 虻田町(入江), 豊浦町(桜), 中央農試の5カ所, 1979年北見市(上常呂, 豊田), 虻田町(入

江), 豊浦町(大和), 中央農試の5カ所, 1980年北見市(柏木, 豊田), 虻田町(花和), 豊浦町(大和), 中央農試の5カ所でそれぞれ実施した。試験ではウイルスフリー種子を使用し, アブラムシ防除区2処理(エチルチオメトン粒剤単用区, エチルチオメトン粒剤とMPP乳剤の併用区)および無防除区の3処理について, 1区420~800株で行った。ただし1980年の試験ではエチルチオメトン粒剤とMPP乳剤の併用区を除いた2処理で行った。MPP乳剤は約2週間間隔で2~3回散布した。発病調査は7月上, 下旬, 8月下旬の3回行い, 発病株は調査時に抜き取り除去した。

その結果をTable 26に示した。採種試験ほにおけるウイルス病の発生は1978年では豊浦町と中央農試で認められた。1979年は全般的に最も発生が多く, 北見市(上常呂), 虻田町, 豊浦町, 中央農試の4カ所で発生が認められた。1980年は発生が少なく, 虻田町と中央農試で若干認められた程度であった。

Table 26. Effect of distance from a virus source on the spread of BCMV

District	Year	Locality	Infected plants (%)		Distance between A and B (m)
			Seed fields ^{a)} (A)	Commercial fields (B)	
Abashiri	1978	Kitami (Toyota)	0	0	200
		" (Houji)	0	0.1	560
	1979	" (Kamitokoro)	1.4	0	200
		" (Toyota)	0	0	200
	1980	" (Kashiwagi)	0	0.03	50
		" (Toyota)	0	0.9	100
Iburi	1978	Abuta (Irie)	0	(1)0.1(2)0.1	(1)5 (2)5
		Toyoura (Sakura)	0.7	(1)0 (2)1.3	(1)50(2)300
	1979	Abuta (Irie)	1.6	(1)3.9(2)3.2	(1)0(2)10
		Toyoura (Yamato)	0.2	3.9	120
	1980	Abuta (Hanawa)	0.1	3.9	200
		Toyoura (Yamato)	0	0	50
Sorachi	1978	Naganuma	3.1	High	200
	1979	"	1.2	"	230
	1980	"	0.2	"	200

a) Virus-free seeds were used.

d. アブラムシ防除によるウイルス病の伝搬防止試験

本病を防除するため、アブラムシ防除薬剤および機械油を用いてウイルス病の伝搬防止効果について検討した。

試験は北海道立中央農試ほ場で行い、1978年の試験ではエチルチオメトン粒剤単用区、エチルチオメトン粒剤と茎葉散布剤の併用区、エチルチオメトン粒剤と機械油の併用区、機械油単用区、無処理区の5区制で、1区面積0.75 a (200株)の2反復で行った。機械油はラビサンスプレー500倍液を使用し、10 a 当り 100 ℓ を茎葉散布剤の散布日に併せて散布した。保毒種子を1区当り5株ずつは種しウイルス感染源とした。1979年の試験ではエチルチオメトン粒剤1回施用区、2回施用区、エチルチオメトン粒剤と茎葉散布剤の併用区、機械油単用区、無処理区の5区制で、1区面積0.6 a

(160株)の2反復で行った。エチルチオメトン粒剤2回施用区は種時に播溝施用した後、7月6日(本葉6~7葉期)に株元施用した。機械油はラビサンスプレーの200倍液を使用した。6月22日に1区当り10株のインゲンマメにウイルスを汁液接種し感染源とした。茎葉散布剤は両年ともMEP乳剤およびMPP乳剤を合計5回散布した。

アブラムシ調査は1978年に1区50株で9回、1979年に1区25株で7回行った。発病調査は1978年では7月13, 24日, 8月2, 15日の4回、1979年では7月2, 24日, 8月7, 30日の4回行った。

その結果をTable 27, 28に示した。アブラムシ寄生数は全調査の合計で示した。1978年の試験ではアブラムシ寄生数はエチルチオメトン粒剤単用区、エチルチオメトン粒剤と茎葉散布剤の併用区、

Table 27. Effect of insecticides and oil spraying on the incidence of BCMV on kidney bean fields (1978)

Treatments	Infected plants(%)				No. of aphids counted ^{a)}	
	Jul. 13	Jul. 24	Aug. 12	Aug. 15	Alatae	Apterae
Disulfoton + fenthion + fenitrothion	0.5	3.1	16.0	37.0	16	8
Disulfoton	0.8	5.0	13.4	31.1	21	25
Disulfoton + Petroleum oils	0	1.0	6.3	27.5	18	41
Petroleum oils	0	3.6	14.0	30.0	46	399
Non-treated	0.5	4.4	12.7	29.2	28	332

a) Total number of aphids counted on 900 kidney bean plants.

Table 28. Effect of insecticides and oil spraying on the incidence of BCMV on kidney bean fields (1979)

Treatments	Infected plants(%)				No. of aphids counted ^{a)}	
	Jul. 2	Jul. 24	Aug. 7	Aug. 30	Alatae	Apterae
Disulfoton + fenthion + fenitrothion	0	0.3	10.1	31.7	33	30
Disulfoton treated twice	0	0	9.2	28.9	31	36
Disulfoton treated once	0	0.5	8.9	34.2	30	46
Petroleum oils	0	0	11.6	33.0	61	261
Non-treated	0	0	9.8	31.4	47	199

a) Total number of aphids counted on 350 kidney bean plants.

エチルチオメトン粒剤と機械油の併用区はいずれも無処理に比べ、有翅虫および無翅虫の寄生が少なく、特に無翅虫に対する防除効果が大きかった。これに対して、機械油単用区は無処理に比べ有翅虫および無翅虫とも寄生数が多く、アブラムシに対する防除効果は認められなかった。一方、ウイルス病は7月中旬から発生し始め、7月下旬には全区で発生が認められた。8月15日の最終調査ではいずれの区も27~37%の発病株率を示し、処理区間の差が認められなかった。1979年の試験ではアブラムシ寄生数はエチルチオメトン粒剤1回、

2回施用区、エチルチオメトン粒剤と茎葉散布剤の併用区は無処理に比べ、有翅虫および無翅虫いずれも寄生数が少なく、特に無翅虫に対する防除効果が大きかった。これに対して、機械油単用区は無処理に比べ、有翅虫および無翅虫とも寄生数が多く、アブラムシの防除効果は認められなかった。一方、ウイルス病は7月下旬から発生が始まり、8月上旬には全区で発生が認められた。8月30日の最終調査ではいずれの区も28~33%の発病株率を示し、処理区間の差が認められなかった。

6) 論議および結論

BCMV は種子伝染性のウイルスで、保毒種子は発芽後初生葉期からモザイク病徴を現わすことはすでに述べた。このようにインゲンマメの生育の早い時期から病徴を現わすために、種子伝染株の収量に与える影響は大きいものと考えられる。BCMV の感染が収量に与える影響については Omar *et al.* (1979) が 24% の減収を報告している。また、Hampton (1975) はウイルス感染によって株当り莢数が 50~64%、株当り子実重が 53~68% それぞれ減少し、ウイルス感染による莢数の減少が直接子実の減収につながると報告している。最近では、Ravinder *et al.* (1985) が詳細に減収要因を分析し、ウイルス感染によって葉数、葉面積、葉の乾物重、株当りの総乾物重、花数などが減少したと報告している。

北海道立中央農試畑作部において、1975 年にほ場で BCMV に感染したインゲンマメ (品種：早生系大福) の収量を調べた結果、ウイルスが約 40% 発生した場合の 10 a 当りの子実重は約 40% 減少した (北海道立中央農業試験場, 1975)。同じく 1976 年に鉢栽培した「大福」および「虎豆」の 2 品種を用いて BCMV の人工接種による収量への影響を調べた結果、接種区は無接種区に比べ、草丈、葉数、株当り子実重ともに著しく劣り、子実重では「虎豆」が 65%、「大福」が 50% の減収を示した (北海道立中央農業試験場, 1976)。これらのことから、ウイルスに感染した場合生育が遅延し、草丈が低く、開花が遅れるために減収すると思われる。この傾向は種子伝染株の場合より一層顕著になり、開花が遅れて未熟莢が多くなり、成熟莢および子実重の減少をもたらしたと思われる。

本実験においてはインゲンマメの生育調査を行っていないので、発病株の草丈および開花期などは不明であるが、種子伝染株の場合株当り成熟莢数、子実重ともに著しく減少し、本病の収量に与える影響が大きいことを示した。これに対して自然感染による発病株の場合減収の程度は比較的軽く、子実重で 10~25% 程度の減少にとどまった。この様に自然感染株の減収が少なかった原因

は、ウイルスの感染時期がすでにインゲンマメの開花期を過ぎた 7 月 29 日以降であったためインゲンマメの生育および種子の肥大に与える影響が少なかったものと思われる。これらのことから、BCMV がインゲンマメの収量に与える影響は感染時期が早いほど大きく、特に種子伝染による発病株の減収が著しいことが明らかになった。

インゲンマメ (品種：改良早生大福) のモザイク株から分離した病原ウイルスは粒子の長さ、免疫電顕法による血清反応、物理的性質、マメ科植物における病徴、アブラムシによる伝搬、さらに種子伝染などの諸性質からインゲンマメモザイクウイルス (BCMV) と同定した (井上, 1968; Bos, 1971)。BCMV は Stewart and Reddick が 1917 年に報告して以来今日まで数多くの系統が報告されている (Richards and Burkholder, 1943; van der Want, 1954; Dean and Wilson, 1959; Quantz, 1961; Skotland and Burke, 1961; Zaumeyer and Goth, 1964; Silbernagel, 1969; Alconero *et al.*, 1972; Hubbeling, 1972; Alconero and Meiners, 1974; Drijfhout and Bos, 1977; Silbernagel *et al.*, 1986)。それら系統の違いは主にインゲンマメの品種に対する病原性の差異に基づいている。そこで北海道の各地から採集した 26 分離株をインゲンマメ 9 品種を含むマメ科植物 14 種に接種した結果、インゲンマメを除いた他のマメ科植物 (ササゲ、アズキ、ダイズ、エンドウ、ソラマメ) には感染しなかった。インゲンマメの品種に対する病徴は山城黒三度にモザイクを現わしたものと現わさなかったものとに分れたが、他の品種に対しては同じであった。従って、本実験で供試した 26 分離株中には、マメ科植物特にインゲンマメに対して大きく病原性の異なる系統は認められなかった。Drijfhout *et al.* (1978) は既報の BCMV 22 系統をインゲンマメの標準品種に対する反応により 7 つのグループに類別した。それに従うと、本実験に供試した分離株はインゲンマメ品種の「Great Northern U. I. 123」、「Michelite」、「Great Northern U. I. 31」、「トツクロップ」、「Widusa」、「Amanda」に全身感染しないので、strain group の I または II に属

すると思われた。

本分離株の耐熱性は 55~60°C で、既報の Mexican (Silbernagel, 1969), Florida (Zaumeyer and Goth, 1964), NL-7 (Drijfhout and Bos, 1977) の各系統と同じであったが、PV1 (Quantz, 1961), NL-8 (Drijfhout and Bos, 1977) より若干低かった。耐希釈性は $10^6 \sim 10^7$ 倍で、NL-8 系統にほぼ近い値であったが、Mexican, Florida, NL-7, PV1 の各系統に比べ希釈倍数が高かった。耐保存性は 11 日 (20°C) 以上で、Mexican, Florida, NL-7, NL-8, PV1 の各系統に比べ保存限界が長かった。しかしながら、ウイルスの物理的性質は同じ条件で実験を行わないかぎり厳密な比較は困難であり、今回の実験結果のみで系統の異同を論じることは困難と思われる。

BCMV はモモアカアブラムシ、マメアブラムシ、エンドウヒゲナガアブラムシなどにより非永続伝搬を行う (Zaumeyer and Kearns, 1936; Zettler, 1967)。Zaumeyer and Kearns (1936) は 11 種のアブラムシがウイルスを伝搬し、なかでもニセダイコンアブラムシ、*Hayhurstia atriplicis*, ミカンミドリアブラムシ、モモアカアブラムシが 80% 以上の高い伝搬率を示したと報告した。Zettler (1967) は 11 種のアブラムシがウイルスを伝搬し、そのうちモモアカアブラムシが最も高い伝搬率 (51%) を示し、ムギクビレアブラムシも低率 (7%) であるがウイルスを伝搬したと報告した。ムギクビレアブラムシがウイルスを伝搬したのは本実験結果とも一致した。アブラムシの吸汁時間とウイルス伝搬率の関係について Zettler (1967) はアブラムシの獲得および接種吸汁が短時間 (10 分以内) の場合によくウイルスを伝搬したと報告した。Zettler and Wilkinson (1966) はモモアカアブラムシを用いたインゲンマメへの伝搬試験で、100 秒以上吸汁させた場合伝搬率が著しく劣ったと報告した。これらのことから、本実験においてアブラムシによるウイルスの伝搬率が低かった一因として、獲得および接種吸汁時間が長かったためと思われた。非永続型ウイルスのアブラムシ伝搬ではダイズモザイクウイルスのトウモロコシアブラムシ (*Rhopalosiphum maidis*,

Halbert *et al.*, 1981), ジャガイモ Y ウイルスのムギクビレアブラムシ (Ryden *et al.*, 1983), キュウリモザイクウイルスのミカンミドリアブラムシ (Racah *et al.*, 1985) の例にみられるように、非寄主植物において重要なウイルスの媒介者となる場合もあるので、BCMV のウイルス伝搬についてもインゲンマメを寄主とする種はもちろんであるが、他の種についても注意する必要がある。

植物ウイルスの研究上、病原ウイルスの活性を安定的に保存することが必要である。病原ウイルスの保存法としては凍結、乾燥、真空凍結乾燥、化学物質の添加など種々の方法がある (福本, 1981)。山口 (1964) によると、6 種類のウイルス罹病葉を -20°C で保存しても 1 年間感染力の低下が認められなかったと報告されている。Bos and Benetti (1979) は 43 種類のウイルス罹病葉を塩化カルシウム中で 20 年間保存しても、電顕で容易にウイルスが検出でき感染力も保持されると述べた。Hollings and Lelliott (1960) は 39 種類のウイルスの病葉汁液を凍結乾燥した場合、最長 11 カ月感染力が保持されると報告した。福本・栃原 (1983, 1984, 1985) はウイルスの凍結および凍結乾燥保存に、グリシン、ペプトン、グリセリン、ぶどう糖などの添加が有効であるとした。

BCMV の保存については、塩化カルシウムによる乾燥保存で Zaumeyer (1962) は 18 カ月以内に感染力を失ったとし、一方 Bos and Benetti (1979) は 3 年間感染力を保持したと述べている。両者の違いは実験に使用したウイルスの系統および保存容器の密封度合いの差が原因と思われる。Chod and Polak (1975) によると、真空凍結乾燥により 12 カ月感染力を保持し凍結保存およびペプトンの添加も有効であると報告されている。本実験では罹病葉の凍結および乾燥による感染力の保持期間について検討した結果、約 1 カ月保存しても感染力を保持した。しかしながら、保存期間が長くなるに従い感染力は著しく低下した。保存方法としての凍結および乾燥の間には、優劣の差が認められなかった。保存期間については 1 カ月程度しか検討しなかったため、最長の感染力保持期間は不明だった。今後さらに各種添加物の影響

も含め、長期の保存法について検討する必要がある。

BCMV はインゲンマメのほか数種の植物で種子伝染する。インゲンマメにおける種子伝染率は品種およびウイルスの系統によって異なる。Reddick and Stewart (1919), Burkholder and Muller (1926) は 50%, Harrison (1935) は 20~60%, Smith and Hewitt (1983) は 2~66%, Medina and Grogan (1961) は 25~86%, Drijfhout and Bos (1977) は 20~80%, Phatak (1974) は 7~20%, Lockhart and Fischer (1974) は 34%, Silbernagel (1969) は 16~37%, Zaumeyer and Goth (1964) は 5%, Kaiser and Mossahebi (1974) は 7%, 萩田ら (1975) は 34~89% のそれぞれ種子伝染率を報告している。Smith and Hewitt (1938) はインゲンマメ 51 品種の種子伝染率を調べ、6.8~36.1% であったと報告した。本実験でも Table 14 に示したように、供試した 165 品種の種子伝染率は 0~54.5% の間に分布した。一方、インゲンマメ以外の植物での種子伝染率については、teparty bean で Lockhart and Fisher (1974) は 7~34%, Provvidenti and Cobb (1975) は 7~22%, phasemy bean で 5~33% (Provvidenti and Braverman, 1976), mung bean で 8~32% (Kaiser and Mossahebi, 1974), ジウロクササゲで 37% (Snyder, 1942), ハタササゲで 25~40% (Sachchidanada *et al.*, 1973) の報告がある。

ウイルスの種子伝染に影響を与える要因として、品種 (Grogan *et al.*, 1952; Eslick and Afanasiev, 1955; Grogan and Schnathorst, 1955; Grogan *et al.*, 1959; Singh *et al.*, 1960; Medina and Grogan, 1961; Ross, 1963; McKinney and Greely, 1965; Kennedy and Cooper, 1967), ウイルスの系統 (Bennett, 1969; Shepherd, 1972; Nelson and Knuhtsen, 1973 a, 1973 b; Adams and Kuhn, 1977), 温度などの環境要因 (Smith and Hewitt, 1938; Crowley, 1957, 1959; Singh *et al.*, 1960; Medina and Grogan, 1961; Inouye, 1962), 感染時期 (Fajardo, 1930; Couch, 1955; Crowley, 1959; 越水・飯塚, 1963;

萩田ら, 1975; Mandahar, 1981), 感染葉位 (萩田ら, 1975; Mandahar, 1981) などが考えられる。本実験において感染時期, 感染葉位が種子伝染率に及ぼす影響について検討した結果, Fig. 2, 3 に示したように, 接種時期が早いほど, あるいは下位葉よりも上位葉に接種した方が種子伝染率が高かった。このことから, 接種時期および感染葉位が異なる場合, ウイルスの移行および増殖に差異があると考えられたのでさらに実験を行った結果, 同時期にウイルスを接種した場合, 上位葉に接種した方が下位葉に接種した場合より, ウイルスが主茎へ移行するのが早く病徴も早く出現した。同様に, 同一葉位にウイルスを接種した場合, 接種時期が早いほどウイルスの移行および病徴の出現が早かった。以上の諸結果から, 同時期にウイルスを接種した場合上位葉に接種した方が, また同一葉位にウイルスを接種した場合は接種時期の早い方が, ウイルスの移行および増殖が早く進行し, 花器感染への機会が増大して種子伝染率が高くなると推定した。感染時期の早晩が種子伝染率に影響することは, すでに多くの報告 (Fajardo, 1930; Couch, 1955; Athow and Bancroft, 1959; Crowley, 1959; 越水・飯塚, 1963; 萩田ら, 1975) がある。BCMV は接種葉からの移行が 24~48 時間以内に起こるとした Ekpo and Saettler (1975) の報告があり, 本実験の結果とも一致した。

BCMV の種子伝染は開花時期と密接に関係し, 開花後にウイルスが感染しても種子伝染しないとされている (Fajardo, 1930; 萩田ら, 1975)。本実験の結果, 病徴が現われる以前に開花結実した種子は, 種子伝染を生じず, 病徴が現われた後に開花結実した種子でのみ種子伝染を生じた。このことは, 開花後に感染しても種子伝染を起こさないという既報の結果 (Fajardo, 1930; 萩田ら, 1975) とも一致した。「大福類」および「虎豆類」などのつる性種は開花期間が長いので, ウイルスフリー種子を生産するためには, 病株の抜き取りをいつごろまでに行えばよいかが問題となる。ほ場における自然感染株の発病時期別の種子伝染率を調べた結果, 8 月中旬以降に発病した株は保毒

種子を全く含まなかった。従って無病種子を生産するためには、少なくとも開花始め約1カ月後までの発病株を抜き取ることが重要であると考えた。

ウイルスの検定法はこれまで接種法および電顕法などが行われてきたが、接種検定では判定までに1カ月以上を要するうえ、広い場所と多大の労力を必要とした。一方、電顕法では種類の同定が困難であった。これらの欠点を補う方法として近年ELISA法や免疫電顕法が利用されており、本実験では免疫電顕法による検出を行った。本法について検討した結果、0.1Mりん酸緩衝液で3,000倍希釈した抗血清をトラップ用に使った場合、最も多くのウイルス粒子が検出された。また試料と抗血清の反応時間が長くなるほど検出される粒子数が増加し、ジャガイモ葉巻ウイルス(Roberts and Harrison, 1979)の例と同様の結果が得られた。さらにPlate VIの2に示したように、抗体が付着したウイルス粒子の反応像から同形同大のCYVV粒子との判別も可能であった。本法によって他の多くのウイルス(Derrick, 1973; Brlansky and Derrick, 1979)と同様に多数のBCMV粒子を検出でき、DN法に比べ1,000倍、インゲンマメへの接種検定に比べ100倍低濃度のウイルス粒子も検出でき、検出精度が優れていることが明らかになった。さらに汁液の段階希釈倍数にほぼ比例した粒子数が検出されたことからして、タバコモザイクウイルス(Derrick, 1973)で行われたようにウイルスの定量にも適用できると思われた。発病株から採種したインゲンマメの種子伝染率と免疫電顕法による種子からのウイルス検出率が符合するかどうか調べた結果、既報のダイズモザイクウイルス(飯塚, 1973; Brlansky and Derrick, 1979)、ダイズ萎縮ウイルス(飯塚, 1973)、タバコリングスポットウイルス(Brlansky and Derrick, 1979)、アズキモザイクウイルス・ササゲモザイクウイルス(土崎ら, 1971)、レタスマザイクウイルス・オオムギ斑葉モザイクウイルス(Brlansky and Derrick, 1979)と同様に、BCMVについても保毒種子の検出率が種子伝染率に近い値を示した。従って、ウイルスの検出さ

れた種子の大部分は種子伝染すると思われた。しかしながら、供試した2品種とも保毒種子の検出率が種子伝染率よりもやや高かったので、ウイルスの検出された種子のすべてが種子伝染するかどうかは今後の検討が必要である。

保毒種子から検出されたウイルス濃度は、グリッド1目の粒子数が1,001以上の高濃度の種子がほとんどであったが、100以下の低濃度の種子も認められた。このことは、成熟胚中のウイルス濃度差は小さいと報告したダイズモザイクウイルス・ダイズ萎縮ウイルス(飯塚, 1973)、タバコリングスポットウイルス・オオムギ斑葉モザイクウイルス・ダイズモザイクウイルス・レタスマザイクウイルス(Brlansky and Derrick, 1979)の場合と異なった。これに対して飯塚(1973)および土崎ら(1971)は保毒した未熟胚には高濃度のウイルスを含むものと低濃度のウイルスを含むものがあり、後者の場合はウイルスが受精後親植物から直接進入したもので種子伝染には関係しないと報告した。本実験で得た低濃度の保毒種子が種子伝染に関係しないかどうかは不明であるが、保毒種子の検出率が種子伝染率に近い値であることから、種子伝染しないと考えて良さそうである。保毒種子の胚、子葉からすべてウイルスが検出されたのに対して、種皮からは全く検出されなかった。そこで子葉中のウイルスの存否と発病の関係を調べた結果、両者がよく一致した。このことから、既報のダイズモザイクウイルス(越水・飯塚, 1963)、オオムギ斑葉モザイクウイルス(井上, 1961)、アズキモザイクウイルス・ササゲモザイクウイルス(土崎ら, 1971)と同様に、インゲンマメモザイクウイルスの場合も胚中に存在するウイルスが種子伝染に関係することが明らかになった。

種子の成熟、乾燥の影響について調べるため未熟、完熟種子からウイルスの検出を行った結果、未熟胚のウイルス検出率が種子伝染率よりも高かった。このことはダイズモザイクウイルス(飯塚, 1973)、アズキモザイクウイルスおよびササゲモザイクウイルス(土崎ら, 1971)の例と同様であった。部位別のウイルス濃度は胚では未熟種子より

も完熟種子の方が高く、種皮では未熟種子の方が高かった。これらのことから、種子の成熟過程でウイルスが不活化し、減少するとされている南部インゲンマメモザイクウイルス(Cheo, 1955; Crowley, 1959; McDonald and Hamilton, 1972; Uyemoto and Grogan, 1977), pea streak virus (Ford, 1966), broad bean stain virus (Cockbain *et al.*, 1976; Vorra-urai and Cockbain, 1977), Ecthes Ackerbohnmosaik virus (Cockbain *et al.*, 1976; Vorra-urai and Cockbain, 1977) ピーナッツモットルウイルス (Adams and Kuhn, 1977) と異なり、インゲンマメモザイクウイルスの場合、胚中のウイルスは種子の成熟、乾燥による影響を全く受けないという Ekpo and Saettler (1975) および Jafarpour *et al.* (1979) の報告と同様の結果を得た。種皮中のウイルスが減少したのは、Jafarpour *et al.* (1979) の指摘のようにウイルスの不活化か、ウイルス抽出の際の損失によるためと思われる。以上の結果から、未熟種子から高率に検出されたウイルスの多くは種皮中に存在し、受精以降に親植物から進入したものと推定される。

長期間保存した後の種皮中のウイルスの変動については、「改良早生大福」では完熟後 28 カ月間保存した種子の種皮から少量のウイルスが検出されたのに対して、「大正金時」では 9 カ月間しか保存していない種子の種皮からでも全く検出されなかった。両者の差異が何によって起こるかは不明である。また種皮から検出されたウイルスが感染力を持つか否かも今後の検討を要する。

近年、免疫電顕法および ELISA 法を利用して保毒種子を早期かつ簡便に検出しようとする試みが、インゲンマメモザイクウイルス (Jafarpour *et al.*, 1979) を始め prune dwarf virus (Caspar, 1977), ダイズモザイクウイルス (Bossennec and Maury, 1978), タバコリングスポットウイルス・オオムギ斑葉モザイクウイルス (Lister, 1978; Brlansky and Derrick, 1979), レタスマザイクウイルス (Brlansky and Derrick, 1979; Jafarpour *et al.*, 1979), エンドウ種子伝染性モザイク

ウイルス (Hamilton and Nichols, 1978) などで報告されている。それらの報告によると、重量比 0.1~1% の範囲まで保毒種子を含んだ場合ウイルスの検出が可能であった。Jafarpour *et al.* (1979) は、インゲンマメ種子から ELISA 法により BCMV の検出を行い、重量比 0.05% までの保毒種子を含んだ場合検出可能であったと報告している。本実験では免疫電顕法により重量比 0.1% までの保毒種子を含んだ場合確実に検出できた。以上の結果から、病徴観察による肉眼判定に比べ、免疫電顕法は短時間で結果が判明し、広い場所を必要とせず、少ない労力で保毒種子の集団検定が可能になった。

BCMV は種子伝染性のウイルスで保毒種子が第 1 次伝染源であるが、ほ場内でのまん延はアブラムシによる伝搬が主体となる。そこでアブラムシの発生消長と本病の発生推移について 1978~1980 年の 3 年間調査した。その結果、アブラムシの初発期は 6 月中~下旬で、その後漸増し、寄生数のピークは 1978 および 1980 年 7 月上旬で終息期は 8 月上旬、1979 年はピークが 8 月中旬で終息期は 8 月下旬であり、インゲンマメの全生育期間中におけるアブラムシ寄生数のピークは 1 回であった。有翅虫は初発期から数多く出現し、7 月中~下旬までのインゲンマメの生育の前半に比較的多く認められたが、寄生数のピークはアブラムシ総寄生数のピークにほぼ一致した。一方、農試ほ場におけるウイルス病の発生は年次により差が認められ、1978 年が最も多く、1980 年が最も少なかった。1980 年はアブラムシの寄生数が最も多かったにもかかわらずウイルス病の発生は少なく、1978 年の防除区はアブラムシの総寄生数が最も少なかったにもかかわらず、3 年間の試験期間中でウイルス病の発生が最も多かった。ウイルス病の発生の多かった 1978, 1979 年での発生推移を見ると、ほ場内でまん延するのは 8 月以降で、特に 8 月中~下旬に急激に発病が増大した。ウイルスが感染してから発病するまでを約 3 週間程度と考えると、7 月下旬~8 月上旬に保毒虫による感染の増大があったと推定される。

ウイルス伝搬の主体が有翅虫または無翅虫のい

ずれかを明らかにするためほ場内における発病株の分布について調べた。その結果、1978、1979年とも8月上旬までの発病株数は少なかったが、感染源から離れた位置に散在して発生する傾向が認められ、8月上旬以降の発病株は逆に連続的あるいは集中的に発生分布する傾向が認められた。このことから、8月上旬までの発病株は有翅虫が、それ以降の発病株は有翅虫および無翅虫がそれぞれ主に伝搬したと推定した。Irwin and Goodman (1981)によると、ダイズモザイクウイルスのほ場内における発生は風下側が風上側よりも多く分布し、感染源から離れるに従い発病株が少なくなるとされている。試験面積が小さかったことにもよるが、本実験の結果からはその傾向が認められなかった。

本病は寄主範囲が狭く (Bos, 1971), ほ場ではインゲンマメの発病株のみがウイルス伝染源と考えられる。そこで周囲に発病株のない環境で健全種子をまいた場合、本病の発生を防ぐことができるか否かを検討した。その結果、試験ほ場15カ所中8カ所でBCMVの発生が認められた。これら8カ所の試験ほ場は1例を除いてすべて周囲に発病株を含む農家ほ場があった。試験ほ場でのウイルス病の発生は周囲の農家ほ場のウイルス汚染が多く、試験ほ場からの隔離距離が少ないほど多い傾向を示した。周囲の農家ほ場に発病株がなかったにもかかわらず、試験ほ場内にBCMVが発生した原因としては、農家ほ場内に調査で見つからなかった発病株が存在したか、あるいは試験ほ場の近くで栽培している家庭菜園に発病株が存在した可能性も考えられた。採種栽培する場合、農家ほ場からの隔離距離はSimons (1957), Havranek and Laska (1972)によると感染源から100 m, Thresh (1976)は8 km隔離すればウイルスの汚染を防ぐことができるとした。本実験の場合、高率に汚染しているほ場が200 m離れていても、採種ほ場へのウイルス伝搬は非常に多く起こった。一方、ウイルス汚染の少ないほ場が隣接しても、採種ほ場内でのウイルス病の発生は認められなかった。これらのことから、採種ほ場の隔離距離は周囲の農家ほ場のウイルス汚染状況によって変

わるもので、一概に決めることは困難と思われるが、採種栽培を行う場合はできるかぎり周囲にインゲンマメのほ場のない環境で作付けすることが重要である。

BCMVの防除法の一つとして媒介昆虫のアブラムシを防除し、ウイルスの伝搬を軽減する方法が古くから行われてきた。しかしながら、BCMVのような非永続型ウイルスの場合、アブラムシ防除を行ってもウイルスのまん延を阻止できなかった例 (Ferro *et al.*, 1980; Gabriel *et al.*, 1981; Jayasena and Randles, 1985) や反対にまん延を助長した例 (Shanks and Chapman, 1965; Lehmann *et al.*, 1976) も報告されている。本実験において、土壌施用剤や茎葉散布剤を用いてアブラムシの防除を行った結果、防除区は無防除区に比べアブラムシ寄生数をよく抑え有効であったが、ウイルス病の発生は同程度であった。BCMVの様な非永続型ウイルスは、保毒虫が健全植物を数秒吸汁するだけでウイルスを伝搬することができる。従って、アブラムシが殺虫剤の影響を受け死ぬ前に健全株へウイルスを伝搬することが可能なため、防除区ではアブラムシの減少ほどウイルス病は減少しなかったものと推定される。このことから、アブラムシの防除のみによってウイルス病を防ぐことは困難と思われる。

アブラムシによるウイルスの伝搬防止に鉍物油が有効であることは、ジャガイモYウイルス (Bradley, 1963; Bradley *et al.*, 1962, 1966; Loebenstein *et al.*, 1970), キュウリモザイクウイルス (Loebenstein *et al.*, 1964, 1966, 1970), アルファルファモザイクウイルス (Vanderveken, 1972), ビート萎黄ウイルス (Vanderveken, 1977), ジャガイモAウイルス (Allen, 1965), チューリップモザイクウイルス (Asjes, 1975; 草葉・名畑, 1975) など数多く報告されている。その作用機作はアブラムシのウイルス獲得および接種吸汁を油剤が阻害するため (Bradley, 1963) とされているが、なお不明の点が多い。Walkey and Dance (1979)によると、油剤散布はガラス室試験ではBCMVに有効であったが、ほ場では効果がなかったと報告されている。本実験においても油