

第4章 総合論議および結論

インゲンマメは北海道において古くから栽培されていたが、今日までウイルス病の発生実態、病原ウイルスに関する詳細な調査、研究は行われなかった。1981～1985年までの5年間、胆振、網走、十勝のインゲンマメ主要栽培地帯を対象にウイルス病の調査を行った結果、BCMV およびBYMVによるモザイク病とインゲンマメ黄化病の発生が認められた。

このうち、BCMVは種子伝染するため自家採種を行っている一部の農家では多発していたが、一般的に少発生であった。近年、北海道においてもインゲンマメ無病種子生産のための採種体系が確立し、ウイルスフリー種子が利用されるようになったことから、発病の年次間差も少なくなり、1980年以降少発生で推移したものと思われる（日本特産農作物種苗協会、1978）。このことから、ウイルスフリー種子の使用による本病の防除効果が極めて大きいことが示唆される。

CYVVによるつる枯病は全道各地に広く発生分布し、発生量も多かったのに対して、BYMVによるモザイク病の発生は極めて少なかった。つる枯病は胆振、網走管内の「大福類」に特に発生が多く、近年伝染源であるシロクローバーの汚染の進行や媒介アブラムシの多発とともに、年々発生が増加の傾向にあった。このうち特にアブラムシの発生量は大きな影響を与え、その発生動向は本病の発生の年次間差の要因となっている。

インゲンマメ黄化病はBYMVと同様にシロクローバーが伝染源で、その汚染の進行とともに発生が増大し、全道各地に広く認められた。特に「金時類」での発生が多く、近年十勝および網走管内の山間部では多発している。

北海道のインゲンマメに発生する上記3種類の主要病原ウイルスは、いずれもインゲンマメに甚大な被害を与える。なかでもCYVVに感染した「大福類」、「手亡類」は生育初～中期に感染すると株が枯死し、生育後期に感染した場合でも、種子

の肥大、成長が抑制され著しく減収する。BCMVによる被害も大きく、本実験においても特に種子伝染株は株の萎縮、葉の小型化などにより、健全株に比べて総莢数、成熟莢数、子実重が著しく減少した。本実験では収量調査を行わなかったが、インゲンマメ黄化病も著しい被害を与え、着莢数、子実数、子実重が減少するとされている（北海道立中央農業試験場・北海道立十勝農業試験場、1976）。

BCMVはインゲンマメに対する病原性の違いから、諸外国では多くの系統が報告されている。北海道内の各地から採集したBCMVの分離株をインゲンマメ各品種に接種した結果、病原性の大きく異なる系統は認められなかった。Drijfhout *et al.* (1978)の分類に従うと、これらの分離株はstrain group 1または2に属すると思われる。本ウイルスは寄主範囲が狭く、ほ場においては保毒種子が主要な伝染源と考えられる。従って、その種子伝染機構の解明と無病種子生産技術の確立は、本病の防除に極めて有効であることは論を待たない。

ウイルスの接種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比べ、ウイルスの移行、病徴出現および種子伝染率が高かった。接種時期を変えた場合接種時期が早いほど種子伝染率が高く、開花時あるいはそれ以降の接種の場合においては種子伝染率が著しく減少した。これらのことから、ウイルスの種子伝染率は開花受精と関係し、受精以前に花粉母細胞あるいは胚のう母細胞にウイルスが進入しなければならないことが示唆される。開花および発病と種子伝染の関係について調べた結果、発病以前に開花結実した種子は種子伝染を生じず、発病以後に開花結実した種子だけ種子伝染を生じた。このことから、ウイルスが種子伝染を生じるためには、開花受精までにウイルスが増殖、発病し、花粉母細胞および胚のう母細胞に進入することが必要と考えられる。

ほ場における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た。特に開花始め約1カ月以降に発病した株は全く種子伝染を生じなかった。この時期は既に開花を終えており、これらの諸結果は、開花後にウイルスが感染しても種子伝染を生じないとされている既報 (Fajardo, 1930; 萩田ら, 1975) の結果と符合した。

保毒種子内のウイルスの分布を調べた報告はこれまで少ない。発病株から採取した種子から免疫電顕法を用いてウイルスの検出を行った結果種子伝染率よりもウイルス検出率が若干高い値を示した。ウイルスの検出された種子が、すべて種子伝染を起こすか否かは今後の検討を要する。しかしながら、これらウイルスの検出された種子のうち、ウイルス濃度の低いものは受精後親植物から進入したもので種子伝染しないものと考え、ウイルス検出率が種子伝染率にさらに近似する。

種子内各部位別のウイルス濃度を調べた結果、未熟、完熟種子とも子葉中の濃度が最も高かった。子葉中のウイルスの存在と発病の関係を調べた結果、両者が完全に一致し、子葉に存在するウイルスが種子伝染に関与している可能性が示唆された。

未熟種子の種皮中のウイルス濃度は胚中のそれよりも高く、完熟種子では胚中の濃度の方が高かった。一方、貯蔵期間中における種皮中のウイルス濃度の変動について調べた結果、未熟種子の種皮中のウイルス濃度は高かったが、完熟種子では低かった。さらに、貯蔵期間を変えてもウイルス濃度の変化は少なかった。これらのことから、Jafarpour *et al.* (1979) の指摘のように、乾燥、成熟によるウイルスの不活化が、抽出の際の損失などにより種皮中のウイルス濃度が減少したと推定される。

ウイルスの種子伝染機構についての解明はいまだ不十分で、植物あるいは品種、さらには気温などの環境要因と種子伝染の関係など今後に残された問題も多い。これらの諸問題の解決が BCMV のより有効な防除に結びつくものと考えられる。

CYVV および BYMV は BCMV と同様に potyvirus 群に属し、インゲンマメの重要な病原

ウイルスである。しかしながら、これらのウイルスは BCMV と異なり寄主範囲はマメ科を中心に多くの植物に感染し、諸外国においては数多くの系統が報告されている。本邦においては井上 (1968) がインゲンマメから4系統を分離している。それに従うと、北海道のインゲンマメから既に BYMV-N (CYVV に相当) および O の2系統が分離されており (土崎ら, 1981), 本調査結果からも主体が CYVV で BYMV の発生が極めて少ないことが明らかになった。このことはほ場周辺のクローバー類の ELISA 検定結果からも明らかのように、本ウイルスに無病徴全身感染した野生のシロクローバーが北海道内各地に広く分布し、本病の伝染源として重要な役割を果たしているためであった。

寒天ゲル内拡散法を用いて病原ウイルスの血清学的関係を調べた結果、CYVV は BYMV-O と分枝線を形成し血清学的に異なった。BYMV の O 系統と P 系統は血清学的に同一であり (土崎ら, 1981), 本実験でも明らかのように B 系統と O 系統も同一であることからして、本邦に発生する BYMV の各系統は血清学的に同一であるが CYVV とは異なった。一方、CYVV は BCMV とは全く反応しなかった。これに対して BYMV の O 系統は BCMV と反応し、CYVV に比べ血清学的に近い関係にあることが判明した。CYVV と BYMV の異同についてはこれまで血清学的、生物学的に種々論議されてきた。近年、ウイルスゲノムの cDNA を用いた遺伝子解析が行われるようになり (Reddick and Barnett, 1983), CYVV および BYMV の各系統間の異同についても今後明らかにされると思われる。

インゲンマメ黄化病は SDV の黄化系統によって起こる。本ウイルスは luteovirus 群に属する (Tamada and Kojima, 1977)。植物体内のウイルス濃度が低く篩部局在性のため、病葉からのウイルス抽出および抗血清の作出は困難を極めた。Takanami and Kubo (1979) がウイルスの純化に酵素を導入して以来、SDV をはじめ多くの luteovirus 群ウイルスの純化収量が飛躍的に増大し、抗血清の作出も容易になった。本実験におい

てわい化系統の抗血清を用いて ELISA 検定を行った結果、わい化および黄化の 2 系統ともよく反応した。しかしながら、既報（玉田，1975；Kojima and Tamada，1976）の結果と同様に、系統間の判別はできなかった。

ウイルス病を防除するための基本は、病株を的確に判別することである。そのためにはウイルス病を迅速かつ正確に検定する必要がある。従来行われていた検定法は接種検定、電顕法ならびにスライド法など各種の手法がある。しかしながら、これらは検定のための労力、検定時間、検体処理数、検出感度などの点でそれぞれ一長一短があり充分なものと言えなかった。近年、ウイルス抗血清を利用した免疫電顕法や ELISA 法などの新しい手法が開発され、各種の植物ウイルスの診断に応用されてきた。本実験において免疫電顕法を BCMV および CYVV の検出に適用した結果、DN 法および接種検定に比べそれぞれ 100～1,000 倍検出精度が優れた。

BCMV の保毒種子の検定はこれまで病徴観察による肉眼判定で行われてきた。しかしながら、この方法では種子から生育させる場所や作業労力、さらに判定までに約 1 カ月以上を要するなど欠点が数多くあった。迅速で簡便な保毒種子の検定法を開発するために免疫電顕法の適用を行った。その結果、本法を用いて保毒種子からウイルスの検出が可能であることは前述したとおりであった。さらに本法を用いて保毒種子の集団検定が可能か否かについて検討した結果、0.1% の濃度の保毒種子を含んだ場合確実に検出できた。このことから、一度に 1,000 粒までの種子を集団検定できる可能性が示唆された。

ELISA 法は免疫電顕法と同様に、結果が迅速に判明し検出精度が高い。さらに免疫電顕法と異なり電子顕微鏡のような特殊な装置を必要としないため、現地においても簡単に検定ができる。また、一度に多量のサンプルを検定でき定量も可能など数多くの利点を有するため、今日ではパレイショのウイルス病など現地で実用化されている。本実験において CYVV の検出に利用した結果、本法は純化ウイルスで 1～5 ng/ml まで検出でき、接種

検定に比べ 10 倍検出精度が優れた。ジャガイモ葉巻ウイルス (PLRV) や SDV など luteovirus 群は汁液接種が不可能で、従来それらの診断は病徴による判定またはアブラムシを用いた接種検定で行ってきた。しかしながら、接種検定は労力を要するうえに、判定までに 1 カ月以上を必要とするため、実用的にはほとんど行われていなかった。本法はこれら診断が困難なウイルスにも有効に適用され、SDV の場合純化ウイルスで 16 ng/ml、罹病葉希釈汁液では 250 倍希釈まで確実に検出できた。

本法をウイルスの検定に適用するためには、他種ウイルスおよび他の系統に対する反応の有無が重要である。CYVV および BYMV は数種の系統があるが、家兎の抗血清から精製した PoAb を用いて系統間および他種ウイルスとの ELISA 反応を調べた。その結果、CYVV の PoAb に対して BYMV の系統、BCMV ならびにダイズモザイクウイルスは全く反応せず、カブモザイクウイルスとはウイルス濃度が高い場合に若干反応したが、実用的には CYVV だけを特異的に判別することが可能であった。一方、BYMV の O 系統の PoAb に対して、BYMV の 3 系統 (O, P, B) は血清学的に同一なため判別が不可能であり、さらに CYVV もかなり強い反応を示した。これらのことから、PoAb を用いた ELISA 検定では CYVV だけを特異的に検出可能であるが、BYMV の系統は特異的に検出不可能であった。

近年、異種抗原間に存在する特定の抗原決定基のみを認識し、系統間の判別を可能にする MoAb が作出され ELISA 検定に利用されている。本実験において、BYMV-S でマウスに免疫し作出したハイブリドーマは種々の性質の抗体を産生した。間接 ELISA 法を用いて抗体産生能の高いハイブリドーマを選抜しクローニングを行った結果、BYMV-S に特異的なもの、CYVV および BYMV-S の両者に反応するが BYMV-S に対する反応が弱く CYVV に強く反応するもの、CYVV および BYMV-S の両者に強く反応するもののそれぞれ 3 種類の抗体を産生する細胞株が得られた。その結果、MoAb を用いた ELISA 検定

によりS抗原を特異的に検出でき、PoAbを用いては判別不可能であったN抗原との判別が可能になった。しかしながら、血清学的に同一なBYMV-SとOならびにP系統との判別は、本実験で作出したMoAbを用いたELISA検定によっても困難で、これらの判別は3系統間を判別できるMoAbの作出によるか、または生物検定によるしかないものと思われる。同一試料に対してPoAbおよびMoAbを用いたそれぞれのELISAの吸光値を比較した結果、MoAbの吸光値の方が高い値を示した。これに対して、PoAbの場合中間値が多く非特異的な反応を生じている可能性が示唆された。以上の諸結果から、MoAbはウイルス系統間の判別が可能であるばかりでなく、反応がPoAbに比べて鮮明であった。抗体産生細胞は半永久的に保存可能であり、常に安定したMoAbを得ることができる。さらに少量の細胞をマウスに免疫することにより、多量の抗体を含む腹水が得られるなどの利点があり、今後PoAbに変わってELISA検定の主流となることが予想される。しかしながら、その作出のための労力は極めて多大である。最近アミノ酸分析によるウイルスの外被蛋白質の構造解析が行われ、系統間の違いが明らかにされている。今後ウイルス系統間の異なった蛋白質抗原のみを利用した、より簡便なMoAb作出法の開発が望まれる。

ウイルス病を防除するためには伝染源の除去が重要である。BCMVは寄主範囲が狭く(Bos, 1971)、ほ場ではインゲンマメのみが寄主植物であり本病の唯一の伝染源と思われる。従って、本病を防除するためには発病株の除去とほ場外からの保毒虫によるウイルス伝搬を防止することが重要である。一方、CYVVは寄主範囲が比較的広く(Hollings and Nariani, 1965)、マメ科植物を中心に多くの植物に感染する。ほ場内における本病の発生分布は最外側の畦に多く、中心部において少ない傾向にあった。このことから、本病の伝染源がほ場周辺の雑草中に存在することが示唆された。ELISA検定の結果、ほ場周辺の雑草中シロクローバーだけからウイルスが検出され、本病の重要な伝染源であることが明らかになった。北海道

内各地のクローバー類からCYVVおよびBYMVの検出を行った結果、CYVVは全道各地に広く発生分布し、特に胆振、網走、十勝、上川管内の野生のシロクローバーに多く感染しており、このことが前述したように道内のインゲンマメにおけるCYVVの多発の一因となっていた。

SDVの伝染源はCYVVと同様にクローバー類である(Tamada, 1970; 玉田, 1973; 玉田・馬場, 1973; 玉田, 1975; Tamada and Kojima, 1977)。北海道内各地の野生のクローバー類からSDVの検出を行った結果、全道各地に広く発生分布し、シロクローバーでは胆振、十勝、網走、日高管内のインゲンマメおよびダイズ栽培地帯の山間部において保毒率が高く、最も高い町村では約60%から検出され、クローバー類のSDVによる汚染が進行していることが示唆された。しかしながら、クローバーから検出されたウイルスが黄化、わい化のいずれの系統であるかはELISA法では判別できず、今後の研究にゆだねたいと思う。

CYVVおよびSDVともに伝染源であるシロクローバーの保毒率は、インゲンマメおよびダイズの主要栽培地帯において高い傾向を示した。これはほ場でウイルスを保毒したアブラムシが秋にシロクローバーにウイルスを伝搬する結果、シロクローバーの保毒率も年々高まり、ウイルス病の発生も増大するものと思われる。CYVVやSDVのようにほ場外のクローバー類が伝染源となる場合、クローバー量の多少によりウイルス病の発生も異なってくる。しかしながら、野生のクローバー類を根絶することは困難であるので、できるかぎりクローバー類の少ない環境でインゲンマメを作付けするか、またはインゲンマメの生育期間中は除草を励行するなどして、ウイルス病の発生を軽減することも重要である。

現在までのところ、ウイルス病を直接防除する抗ウイルス剤は実用化されておらず、今後の研究が待たれるところである。そこで薬剤を用いてウイルスの媒介者であるアブラムシを防除し、間接的にウイルス病を軽減することが指導されている。BCMVの一次伝搬は他の汚染ほ場から有翅虫による持ち込みが主体であり、CYVVの場合も伝

染源は保毒シロクローバーとともに有翅虫が伝搬の主体である。このことは、ほ場内における BCMV および CYVV の発病株の分布が感染源から離れた位置に散在する傾向からも推定される。その後の二次伝搬は有翅虫、無翅虫により集合的に発生分布し、発病株が飛躍的に増大するものと考えられる。これらのことから、有翅虫による一次伝搬をできるかぎり防止することが本病の発生を軽減するために重要と思われる。浸透性殺虫剤の土壤施用および茎葉散布剤を用いてアブラムシの防除を行った区と無処理区を比較した結果、防除区のアブラムシ寄生数は無処理区に比べ著しく少なく、特に無翅虫の減少が著しく防除効果が認められた。これに対して、ウイルス病の発生は処理区間に差が認められず、伝搬防止効果は認められなかった。BCMV および BYMV などのように非永続型伝搬をするウイルスの場合、アブラムシ防除によるウイルス伝搬防止効果は認められないとする報告が多い (Shanks and Chapman, 1965; Lehmann *et al.*, 1976; Ferro *et al.*, 1980; Gabriel *et al.*, 1981; Jayasena and Randles, 1985)。Leuck *et al.* (1962) は処理区間を離れた条件下では、アブラムシ防除区は BYMV の二次伝搬を防止したと報告した。この例のように、処理区間の有翅虫の移動がなくほ場内のまん延のみを対象とした二次伝搬の防止効果は、アブラムシ寄生総数の少ない防除区において認められるが、本実験のように各処理区間が隣接し有翅虫が自由に処理区間を移動できる条件下では、防除区のアブラムシ寄生総数が見かけ上減少しても、他の処理区からの保毒虫の飛び込みによりウイルスが伝搬されることは充分可能である。従って、本実験のようにインゲンマメのほ場のみを対象としたアブラムシの防除だけでは、ほ場外からの保毒有翅虫の進入を阻止できず、ウイルス病の一次伝搬を防止することは困難である。

BCMV のような種子伝染するウイルス病においては、ウイルスフリー種子の使用が本病の防除に極めて有効であることは論を待たない。そこで現地に採種ほ場を設置する場合に、農家のインゲ

ンマメほ場からの隔離距離が問題となる。本実験の結果によると、採種ほ場から 200 m 以内にウイルス病に汚染したほ場が存在する場合、採種ほ場がウイルス病で汚染する確率が高く、しかも隔離距離が短いほど汚染率が高くなる傾向にあった。一方、高率に汚染したほ場が 200 m 以上離れて存在する場合においても、採種ほ場へのウイルス伝搬が起こった例も認められている。このことからして、採種ほ場と農家のインゲンマメほ場の隔離距離を一概に決めることは困難である。従って、採種ほ場の選定に当たっては、周囲にできるかぎりインゲンマメのない環境で作付けすることが望ましい。この場合農家で自家用に栽培している生食用のインゲンマメも重要な伝染源となるので注意が必要である。

ウイルス病の重要な防除法の一つに抵抗性品種の育成と利用がある。現在北海道で栽培されているインゲンマメの中には BCMV, CYVV, BYMV ならびに SDV に抵抗性の品種はない。北海道立中央農試において現在 BCMV および CYVV に抵抗性の品種の育成を行っており、有望な系統も得られている (番場・伊藤, 1987)。本実験において国内外のインゲンマメ品種にウイルスを汁液接種した結果、BCMV および BYMV のいずれにも抵抗性と思われる品種が認められた。これらは今後抵抗性品種育成の母材として活用する必要がある。

抵抗性品種がない現状において、ウイルス病を防除するためには一つの方法だけでは困難で、各種の方法を組み合わせた総合的な防除対策が必要である。BCMV のように種子伝染するウイルスに対しては健全種子の使用が重要である。一方、CYVV および SDV のようにウイルス伝染源がほ場外の雑草中に存在する場合は、作付けの環境を十分考慮し、あるいは除草を励行して伝染源を減らす対策が必要である。また、媒介アブラムシの防除、特にウイルス病発生初期における保毒有翅虫の飛来を防止し、ウイルス病の伝搬を防止することが重要である。

第5章 摘 要

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 および SDV について、発生分布、被害、病原ウイルス、診断法、発生生態、防除に関する研究を行った。

I. 北海道におけるインゲンマメウイルス病の発生実態

- 1) 1981～1985年までの5年間、胆振、網走、十勝管内におけるウイルス病の調査を行った。「大福類」では8市町村112ほ場を調査した結果、BCMV および BYMV によるモザイク病ならびに CYVV によるつる枯病の発生が認められた。BCMV は全般に発生が少なかったが、自家採種を行っている一部の農家では発生がめだつた。CYVV は全般に発生が多く、全道各地に広く発生していた。BYMV の発生は極めて少なかった。
- 2) 「虎豆類」では7市町村24ほ場を調査した結果、BCMV および BYMV によるモザイク病、CYVV によるつる枯病ならびにインゲンマメ黄化病の発生が認められた。BCMV は一部の地域で多い発生を示したが、全般に少発生であった。CYVV は全道各地に広く発生が認められたのに対して、BCMV の発生は極めて少なかった。インゲンマメ黄化病は全般に発生が多く、高い発病株率を示したほ場もみられた。
- 3) 「金時類」では13市町村50ほ場を調査した結果、BYMV によるモザイク病、CYVV によるつる枯病ならびにインゲンマメ黄化病の発生が認められた。CYVV は一部の地域でやや多い発生を示したが、全般的に少発生であった。一方、BYMV の発生はほとんど認められなかった。インゲンマメ黄化病は全道的に発生が多かった。
- 4) 「手亡類」では5市町村10ほ場を調査した

結果、BCMV および BYMV によるモザイク病、CYVV によるつる枯病ならびにインゲンマメ黄化病の発生が認められた。上記三種類のウイルス病はいずれも少発生であった。

- 5) 以上の調査結果から、北海道におけるインゲンマメのウイルス病は BCMV および BYMV によるモザイク病、CYVV によるつる枯病ならびにインゲンマメ黄化病の三種類が主要病害であった。このうち、「大福類」の CYVV によるつる枯病および「虎豆類」や「金時類」のインゲンマメ黄化病の発生が多かった。

II. 北海道におけるインゲンマメの病原ウイルス

1. インゲンマメモザイクウイルス (BCMV)

(1) 病徴と被害

- 1) 本ウイルスに感染したインゲンマメの病徴はモザイク(葉脈緑帯)が主体で、品種によっては巻葉症状を伴った。
- 2) 保毒種子の病徴の出現時期を調べた結果、初生葉にモザイク病徴を現わしたものが約40%で、残りの60%は本葉第一葉が展開後に病徴が現われた。ほ場における種子伝染による発病時期は6月下旬～7月上旬で、自然感染による発病は7月上旬～下旬頃から始まった。
- 3) 種子伝染による発病株は健全株に比べ、株当たり総莢数が減少し、成熟莢数が約50%、子実重が約60%の減少を示した。自然感染による発病株は健全株に比べ、株当たり成熟莢数が約10%、子実重が約10～25%の減少であった。

(2) 病原ウイルスの性質

- 1) 北海道内各地のインゲンマメ(品種:改良早生大福)から採集した BCMV に特有なモ

ザイク症状を現わした 26 分離株をインゲンマメ、ササゲ、アズキ、ダイズ、ソラマメ、エンドウ、ナタマメ、フジマメ、黄花ルーピンに汁液接種した結果、供試した 26 分離株間には寄主範囲と病徴に大きな差が認められなかった。

- 2) 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の物理的諸性質を調べた結果、耐熱性が 55~60°C, 耐希釈性が $10^6 \sim 10^7$ 倍, 耐保存性が 11 日以上 (20°C) であった。本分離株は乾燥, 凍結により活性が著しく低下した。
 - 3) 本ウイルスは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により伝搬された。
- (3) 種子伝染
- 1) ウイルスの接種葉から主茎への移行は接種 1 日後から始まった。上位葉に接種した方が下位葉に接種したものに比べ, また接種時期が早い方が接種時期の遅いものに比べ, ウイルスの接種葉から主茎への移行も早く, 発病も早かった。
 - 2) 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ものに比べ, 種子伝染率が高かった。接種時期を変えた場合, 接種時期が早いほど種子伝染率が高かった。「改良早生大福」の人工接種による種子伝染率は 12.9% であった。
 - 3) ウイルスを接種後, 発病以前に開花結実した種子は全く種子伝染を生じなかった。これに対して, 発病以後に開花結実した種子には種子伝染を生じたものもあった。
 - 4) 「改良早生大福」の場合, 保毒種子由来の発病株から採取した種子の種子伝染率は 15.8% であった。これに対して, ほ場で自然感染した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 10.2% であった。自然感染株の種伝染率は発病時期が遅いものほど低下し, 8 月 11 日以降に発病した株は種子伝染を生じなかった。
 - 5) 国内外のインゲンマメ 163 品種にウイルス

を汁液接種した結果, 病徴は黄斑, 葉脈えそ, モザイク症状で, 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。一方接種葉, 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。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。

(4) 病原ウイルスの診断

- 1) 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, 長さ 750~800 nm のひも状粒子であった。
- 2) インゲンマメ罹病葉からウイルスの純化を行い, 罹病葉 100 g から約 1 mg を得た。
- 3) 純化ウイルスで家兎を免疫して, リングテストで力価 512 倍の抗血清を得た。
- 4) 免疫電顕法によるウイルスの検出を行った。免疫電顕法の条件は, 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で 3,200 倍に希釈した抗血清を用い, 試料の反応時間は 24 時間 (4°C) が最適であった。
- 5) インゲンマメ罹病葉の粗汁液を用いてウイルス検出精度の比較を行った。その結果, DN 法では 10^4 倍希釈, 接種検定では 10^5 倍希釈までそれぞれ検出できたのに対して, 免疫電顕法は 10^5 倍希釈まで検出できた。さらに, 試料にインゲンマメ健全葉汁液を 1% 加えた場合, 10^7 倍希釈まで検出できた。
- 6) 発病株から採取した種子を用いて免疫電顕法でウイルスの検出を行った結果, 「改良早生大福」, 「大正金時」の 2 品種ともウイルス検出率が種子伝染率より若干高かった。
- 7) 未熟, 完熟した保毒種子中のウイルス濃度は, 未熟種子では中濃度の種子が多く, 各部位別では子葉>種皮>胚の順に高かった。これに対して, 完熟種子では低濃度の種子が多く, 各部位別では子葉>胚>種皮の順に高かった。
- 8) 「改良早生大福」の場合, 未熟種子の種皮中のウイルス濃度が比較的高かったのに対して, 完熟後 15°C で 4 カ月または 28 カ月間貯蔵した種子の種皮中のウイルス濃度は低かつ

た。これに対して、完熟後 15°C で 9 カ月間貯蔵した「大正金時」の種皮中からはウイルスが全く検出されなかった。

- 9) 子葉中のウイルスの存否と発病との関係について調べた結果、子葉からウイルスの検出された種子はすべてモザイク病徴を現わし、子葉からウイルスの検出されなかった種子は全く発病しなかった。
- 10) 健全種子に保毒種子を重量比 0.1%, 0.05% の割合で混合し、免疫電顕法でウイルスの検出を行った結果、0.1% の試料からはすべてウイルスが検出されたのに対して、0.05% の試料からは検出されない場合もあった。
- (5) 発生生態と防除
 - 1) 1978~1980 年の 3 年間、インゲンマメほ場におけるアブラムシ類の寄生消長と本病の発病経過を調査した。アブラムシの初発は 6 月中~下旬で、インゲンマメの初生葉期であった。寄生数のピークは、無翅虫が 7 月上旬または 8 月中旬頃であったのに対して、有翅虫は 6 月下旬または 7 月中旬頃であった。総寄生数は 1980 年が最も多かった。発病株のまん延は 7 月下旬から始まり、8 月上~下旬以降に急激に増大した。
 - 2) ほ場内においては 8 月上旬までの発病株は散在し、それ以降に発病した株は集合して発生分布する傾向が認められた。
 - 3) 1978~1980 年の 3 年間、胆振、網走管内の農家ほ場と中央農試において採種栽培試験を行った。その結果、試験ほ場から 200 m 以内に本病に汚染した農家ほ場がある場合、試験ほ場に本病が発生する場合が多かった。
 - 4) 浸透性殺虫剤および茎葉散布剤を用いてウイルス伝搬防止試験を行った。その結果、防除区はアブラムシの寄生数が少なく防除効果が認められたが、ウイルス病の発生は処理区間に差がなく、伝搬防止効果は認められなかった。また、機械油を用いてウイルス伝搬防止試験を行った結果、効果が認められなかった。

II. Clover yellow vein virus (CYVV)

(1) 病徴と被害

- 1) 本ウイルスに感染したインゲンマメの病徴は葉脈、茎、莢にえそあるいは巻葉症状を呈し、株が枯死または萎縮する。感染から発病までの潜伏期間は 1~2 週間であった。
- 2) 本病に感染すると、株当りの英数が 70~100%, 総重量が 90~100%, 子実重が 85~100% それぞれ減少し、100 粒重も減少した。

(2) 病原ウイルスの性質

- 1) インゲンマメ (品種: 改良早生大福) のえそ症状株から分離した病原ウイルスを 10 科 50 種の植物に汁液接種し、寄主範囲と病徴を調べた。その結果、病徴を現わした植物はインゲンマメ、エンドウ、ソラマメ、アカローパー、アルサイクローパー、コモンベッチ、*Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, ホウレンソウ、ツルナの 10 種であった。シロクローパーは無病徴全身感染した。
- 2) 本ウイルスの物理的諸性質を調べた結果、耐熱性は 50~55°C, 耐希釈性は $10^6 \sim 10^7$ 倍、耐保存性は 10 日以上 (20°C) であった。
- 3) 本ウイルスはモモアカアブラムシにより伝搬された。
- 4) 寒天ゲル内拡散法により CYVV, BYMV および BCMV の血清学的関係を調べた。その結果、CYVV は BYMV の各系統と分枝線を形成し血清学的に遠い関係にあったが、BCMV とは全く反応しなかった。BYMV の普通系統は BCMV と分枝線を形成し類縁関係が認められた。

(3) 病原ウイルスの診断

- 1) インゲンマメ (品種: 改良早生大福) のえそ症状株から分離した病原ウイルスは、長さ約 750~800 nm のひも状粒子であった。
- 2) ソラマメ罹病葉からウイルスの純化を行い、罹病葉 100 g から約 4 mg を得た。
- 3) 純化ウイルスで家兎を免疫して、リングテストで力価 1,024 倍の抗血清を得た。

- 4) 免疫電顕法によりウイルスの検出を行った。免疫電顕法の条件は、0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で6,400倍に希釈した抗血清を用いた場合に最も良好であった。
 - 5) ソラマメ罹病葉の粗汁液を用いてウイルス検出精度の比較を行った結果、免疫電顕法では 10^6 倍希釈まで検出できたのに対して、DN法では 10^4 倍希釈、接種検定では 10^3 倍希釈までであった。
 - 6) ELISA法によりウイルスの検出を行った。CYVV抗体を用いたELISAの条件は抗体濃度 $1\mu\text{g/ml}$ 、酵素結合抗体濃度400倍が最適であった。
 - 7) ソラマメ罹病葉の粗汁液を用いてウイルス検出精度の比較を行った結果、ELISA法では 10^4 倍希釈まで検出できたのに対して、接種検定では 10^3 倍希釈までであった。
 - 8) ELISA法によりCYVVの純化試料は 5ng/ml 、BYMVのソラマメモザイク系統のそれは 1ng/ml まで検出できた。CYVV抗体に対してBYMVのソラマメモザイク系統、BCMV、ダイズモザイクウイルス(SMV)は全く反応しなかったが、カブモザイクウイルス(TuMV)はウイルス濃度が高い場合若干反応した。一方、ソラマメモザイク系統および普通系統の抗体に対してCYVVは反応が認められた。
 - 9) CYVVは北海道内各地のインゲンマメに広く発生分布し、えそ症状株の約70%から検出された。
 - 10) 国内外394品種にウイルスを汁液接種した後、発病しなかった25品種にELISA検定を行った結果、22品種は陰性でウイルス抵抗性であった。
 - 11) モノクローナル抗体(MoAb)の作出を行った。ミエローマ細胞とBYMVのソラマメモザイク系統で免疫したマウスの脾細胞との細胞融合の結果、マウス1頭につき347個のハイブリドーマが形成された。ハイブリドーマの選抜およびクローニングの結果、ソラマメモザイク系統に特異的な抗体を産生する細胞株(1E4-2, 2E7-3)とCYVVおよびソラマメモザイク系統の両者に反応する抗体を産生する細胞株(1F11-2, 1A3-1)を得た。
 - 12) 各抗体産生細胞株をマウスに免疫し、1頭から約6~8mlの腹水を得た。リングテストにより力価を測定した結果、256~2,048倍であった。
 - 13) 三種類のMoAbを用いたELISAの条件は、抗体濃度はいずれも $1\mu\text{g/ml}$ 、酵素結合抗体濃度は1E4-2および1F11-2株が400倍、1A3-1株が800倍であった。
 - 14) MoAbを用いたELISA法によりCYVVは $0.125\mu\text{g/ml}$ 、ソラマメモザイク系統は $0.625\mu\text{g/ml}$ まで検出できた。ソラマメ罹病葉を用いた場合、1E4-2株はソラマメモザイク系統、1F11-2株はCYVVにそれぞれ特異的に反応し、1A3-1株は両ウイルスに反応した。
 - 15) 農家ほ場から採集したマメ科植物(インゲンマメ、アカクローバー、シロクローバー)から、ポリクローナル抗体(PoAb)およびMoAbを用いてウイルスの検出を行い比較した結果、PoAbの場合系統の判別が困難な例や非特異反応を生じている例が認められた。また、同一試料に対する両者のELISA値を比較した場合、MoAbの方がPoAbに比べ高い傾向を示した。
- (4) 発生生態と防除
- 1) 農家ほ場における本病の発生分布は、ほ場の最外側の畦に最も多く、中心部では少なかった。ほ場周辺に自生するシロクローバーから病原ウイルスが検出されたが、アオビユ、イヌタデ、エゾノギシギシ、シロザ、アカクローバー、オオバコ、タニソバ、ミチヤナギ、ヤブマメ、エゾタチカタバミからは検出されなかった。
 - 2) CYVVは北海道各地に広く発生分布し、特に胆振、網走、上川管内のシロクローバーから多く検出された。一方BYMVは十勝、日高管内のアカクローバーから多く検出された。

- 3) アブラムシを捕獲するための粘着式トラップの設置場所は、ほ場周辺の裸地の低位置(地上 30 cm)が良好であった。
- 4) 1981~1985年に粘着式トラップおよび黄色水盤を用いて、有翅アブラムシ類の飛来調査を行った。アブラムシの捕獲は6月下旬から始まり、インゲンマメの初生葉期であった。飛来のピークは年次により異なり、1981年が7月中旬、1982年が8月中旬、1983年が7月下旬、1984年が8月上旬、1985年が8月下旬に認められた。捕獲総数は1985年が最も多かった。
- 5) インゲンマメに寄生するアブラムシの初発日は7月上旬で、寄生のピークは1981年が7月上旬および下旬、1982年が7月下旬および8月下旬のそれぞれ2回認められた。寄生総数は1982年が著しく多かった。
- 6) ほ場内における自然感染株は8月下旬に増大し、分布は散在していた。現地ほ場においては、7月下旬に比べ8月下旬では発病が著しく増大し、約20倍増大したほ場もみられた。
- 7) 浸透性殺虫剤および茎葉散布剤を用いてウイルス伝搬防止試験を行った。その結果、防除区はアブラムシの寄生数が少なく防除効果が認められたが、ウイルス病の伝搬防止効果は認められなかった。

3. ダイズわい化ウイルス (SDV)

(1) 病徴

- 1) 本ウイルスに感染したインゲンマメの病徴は退緑、黄化し、甚だしい場合は株全体が黄化する。古い葉では不定形のえそを生じ、黒いすす状の糸状菌が付着する場合もある。

(2) 病原ウイルスの診断

- 1) わい化系統に感染したダイズ(品種:白鶴の子)罹病葉からウイルスの純化を行い、罹病葉1 kgから約0.6 mgを得た。
- 2) 純化ウイルスを家兎に免疫して、リングテストで力価2,048倍の抗血清を得た。
- 3) ELISA法によるウイルスの検出を行った。ELISAの条件を検討した結果、抗体濃度1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、酵素結合抗体濃度800倍が最適であった。
- 4) わい化および黄化系統とも純化ウイルスで16 ng/mlまで、罹病葉粗汁液で250倍希釈まで検出できた。ELISAの吸光値は系統間に差が認められなかった。
- 5) 病原ウイルスは北海道内各地に広く発生分布し、特にシロクローバーでは十勝、日高管内、アカクローバーでは網走管内で多く検出された。

引用文献

- 1) Adams, D. B. and Kuhn, C. W. (1977). Seed transmission of peanut mottle virus in peanuts. *Phytopathology* 67 : 1126-1129.
- 2) 赤井重恭・吉谷啓作 (1961). 菜豆モザイク病に関する研究 (予報). *日植病報* 26 : 227 (講要).
- 3) 秋田 滋 (1981 a). 草地におけるクローバ・ウイルス病の発生生態に関する研究. I. シロクローバのウイルス病の種類と発生量. *草地試研報*. 18 : 55-68.
- 4) 秋田 滋 (1981 b). 草地におけるクローバ・ウイルス病の発生生態に関する研究. II. アカクローバのウイルスと病徴. *草地試研報*. 20 : 93-102.
- 5) Alconero, R. (1983). Viruses infecting six species of perennial clover (*Trifolium* spp.) in field evaluations of plant introductions and cultivars. *Plant Disease* 67 : 1270-1271.
- 6) Alconero, R., Meiners, J. P. and Santiago, A. (1972). A new strain of common bean mosaic in Puerto Rico. *Phytopathology* 62 : 667 (abstr.).
- 7) Alconero, R. and Meiners, J. P. (1974). The effect of environment on the response of bean cultivars to infection by strains of bean common mosaic virus. *Ibid.* 64 : 679-682.
- 8) Allen, T. C. (1965). Field spread of potato virus A inhibited by oil. *Plant Dis. Repr.* 49 : 557.
- 9) Andersen, A. L. and Down, E. E. (1954). Inheritance of resistance to the variant strain of the common bean mosaic virus. *Phytopathology* 44 : 481 (abstr.).
- 10) Asjes, C. J. (1975). Control of the spread of tulip breaking virus in tulips with mineral-oil sprays. *Neth. J. Pl. Path.* 81 : 64-70.
- 11) Athow K. L. and Bancroft, J. B. (1959). Development and transmission of tobacco ringspot virus in soybean. *Phytopathology* 49 : 697-701.
- 12) Baggett, J. R. (1956). The inheritance of resistance to strains of bean yellow mosaic virus in the interspecific cross *Phaseolus vulgaris* × *P. coccineus*. *Plant Dis. Repr.* 40 : 702-707.
- 13) 番場宏治・伊藤平一 (1987). 高級菜豆育種の現状と問題点. *農及園* 62 : 855-860.
- 14) Bar-Joseph, M. and Garnsey, S. M. (1981). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) : principles and applications for diagnosis of plant viruses. *In Plant diseases and vectors : ecology and epidemiology* (Maramorosch, K., and Harris, K. F. eds.). Academic Press, New York. pp.35-59.
- 15) Barnett, O. W. and Gibson, P. B. (1975). Identification and prevalence of white clover viruses and the resistance of *Trifolium* species to these viruses. *Crop Science* 15 : 32-37.
- 16) Barnett, O. W., Randles, J. W. and Burrows, P. M. (1987). Relationships among Australian and North American isolates of the bean yellow mosaic potyvirus subgroup. *Phytopathology* 77 : 791-799.
- 17) Beczner, L., Maat, D. z. and Bos, L. (1976). The relationships between pea necrosis virus and bean yellow mosaic virus. *Neth. J. Pl. Path.* 82 : 41-50.
- 18) Bednarek, J., Kobylko, T., Mamajko, A. and Maj, Z. (1988). Reaction of selected varieties of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to

- infection by clover yellow vein virus (CIYVV). *Acta Agraria et Silvestria, Agraria* 27 : 3-11.
- 19) Bennett, C. W. (1969). Seed transmission of plant viruses. *Adv. Virus Res.* 14 : 221-261.
 - 20) Bercks, R. (1960). Serologische untersuchungen zur differenzierung von isolaten des *Phaseolus*-virus 2 und ihrer verwandtschaft mit *Phaseolus*-virus 1. *Phytopath. Z.* 39 : 120-128.
 - 21) Bos, L. (1970 a). The identification of three new viruses isolated from *Wisteria* and *Pisum* in The Netherlands, and the problem of variation within the potato virus Y group. *Neth. J. Pl. Path.* 76 : 8-46.
 - 22) Bos, L. (1970 b). Bean yellow mosaic virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses, No.40.
 - 23) Bos, L. (1971). Bean common mosaic virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses, No.73.
 - 24) Bos, L. and Benetti, M. P. (1979). Direct electron microscopy and serology with plant viruses in leaf material dried and stored over calciumchloride. *Neth. J. Pl. Path.* 85 : 241-251.
 - 25) Bos, L., Kowalska, C. and Maat, D. Z. (1974). The identification of bean mosaic, pea yellow mosaic and pea necrosis strains of bean yellow mosaic virus. *Ibid.* 80 : 173-191.
 - 26) Bos, L., Lindsten, K. and Maat, D. Z. (1977). Similarity of clover yellow vein virus and pea necrosis virus. *Ibid.* 83 : 97-108.
 - 27) Bossennec, J. M. and Maury, Y. (1978). Use of the ELISA technique for the detection of soybean mosaic virus in soybean seeds. *Ann. de Phytopathologie* 10 : 263-268.
 - 28) Bradley, R. H. E. (1963). Some ways in which a paraffin oil impedes aphid transmission of potato virus Y. *Can. J. Microbiol.* 9 : 369-380.
 - 29) Bradley, R. H. E., Moore, C. A. and Pond, D. D. (1966). Spread of potato virus Y curtailed by oil. *Nature* 208 : 1370-1371.
 - 30) Bradley, R. H. E., Wade, C. V. and Wood, F. A. (1962). Aphid transmission of potato virus Y inhibited by oils. *Virology* 18 : 327-329.
 - 31) Brierley, P. and Smith, F. F. (1962). Three cowpea mosaic viruses from gladiolus. *Plant Dis. Repr.* 46 : 335-337.
 - 32) Brlansky, R. H. and Derrick, K. S. (1979). Detection of seedborne plant viruses using serologically specific electron microscopy. *Phytopathology* 69 : 96-100.
 - 33) Burkholder, W. H. and Muller, A. S. (1962). Hereditary abnormalities resembling certain infectious diseases in beans. *Ibid.* 16 : 731-737.
 - 34) Casper, R. (1977). Testung von *Prunus avium*-samen auf prune dwarf virus mit dem ELISA-verfahren. (Assay of *Prunus avium* seed for prune dwarf virus by ELISA method.) *Phytopath. Z.* 90 : 91-94.
 - 35) Cheo, P. C. (1955). Effect of seed maturation on inhibition of southern bean mosaic virus in bean. *Phytopathology* 45 : 17-21.
 - 36) Chod, J. and Polak, J. (1975). Preservation of the antigens of some plant viruses by means of lyophilization and very low temperatures. *Vedecke Prace Vyzkumnych Ustavu Rostlinne Vyroby v Praze-Ruzyni.* No.20 : 151-159.
 - 37) Clark, M. F. and Adams, A. N. (1977). Characteristics of the microplate method of plant viruses. *J. gen. Virol.* 34 : 475-483.

- 38) Cockbain, A. J., Bowen, R. and Vorra-urai, S. (1976). Seed transmission of broad bean stain virus and Ecthes Ackerbohnenmosaik-Virus in field beans (*Vicia faba*). *Ann. appl. Biol.* 84 : 321-332.
- 39) Corbett, M. K. (1958). A virus disease of lupines caused by bean yellow mosaic virus. *Phytopathology* 48 : 86-91.
- 40) Couch, H. B. (1955). Studies on seed transmission of lettuce mosaic virus. *Ibid.* 45 : 63-70.
- 41) Crowley, N. C. (1957). Studies on the seed transmission of plant virus diseases. *Aust. J. Biol. Sci.* 10 : 449-464.
- 42) Crowley, N. C. (1959). Studies on the time of embryo infection by seed-transmitted viruses. *Virology* 8 : 116-123.
- 43) D'Arcy, C. J. and Hewings, A. D. (1986). Enzyme-linked immunosorbent assays for study of serological relationships and detection of three luteoviruses. *Plant Pathology* 35 : 288-293.
- 44) Demski, J. W., Bays, D. C. and Khan, M. A. (1986). Simple latex agglutination test for detecting flexuous rod-shaped viruses in forage legumes. *Plant Disease* 70 : 777-779.
- 45) Dean, L. L. and Wilson, V. E. (1959). A new strain of common bean mosaic in Idaho. *Plant Dis. Repr.* 43 : 1108-1110.
- 46) Derrick, K. S. (1973). Quantitative assay for plant viruses using serologically specific electron microscopy. *Virology* 56 : 652-653.
- 47) Dickson, M. H. and Natti, J. J. (1968). Inheritance of resistance of *Phaseolus vulgaris* to bean yellow mosaic virus. *Phytopathology* 58 : 1450.
- 48) Drijfhout, E. and Bos, L. (1977). The identification of two new strains of bean common mosaic virus. *Neth. J. Pl. Path.* 83 : 13-25.
- 49) Drijfhout, E., Silbernagel, M. J. and Burke, D. W. (1978). Differentiation of strains of bean common mosaic virus. *Ibid.* 84 : 13-26.
- 50) Dwadash-Shreni, V. C. and Stavely, J. R. (1984). Comparative resistance of *Phaseolus vulgaris* cultivars to clover yellow vein virus using various inoculation methods. *Plant Disease* 68 : 555-558.
- 51) Ekpo, E. J. A. and Saettler, A. W. (1975). Multiplication and distribution of bean common mosaic virus in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Dis. Repr.* 59 : 939-943.
- 52) Eslick, R. F. and Afanasiev, M. M. (1955). Influence of time of infection with barley stripe mosaic on symptoms, plant yield, and seed infection of barley. *Ibid.* 39 : 722-724.
- 53) Evans, I. R. and Zettler, F. W. (1968). Comparative aphid-transmissibility of bean yellow mosaic virus from pea and bean correlated with cytoplasmic inclusions. *Phytopathology* 58 : 727 (abstr.).
- 54) Fajardo, T. G. (1930). Studies on the mosaic disease of the bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ibid.* 20 : 469-494.
- 55) Ferro, D. N., MacKenzie, J. D. and Margolies, D. C. (1980). Effect of mineral oil and a systemic insecticide on field spread of aphid-borne maize dwarf mosaic virus in sweet corn. *J. Econ. Entomol.* 73 : 730-735.
- 56) Ford, R. E. (1966) Recovery of pea streak virus from pea seed parts and its transmission by immature seed. *Phytopathology* 68 : 589-543.
- 57) Forster, R. L. S. and Musgrave, D. R. (1985). Clover yellow vein virus in white clover (*Trifolium repens*) and sweet pea (*Lathyrus*

- odoratus*) in the North Island of New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 28 : 575-578.
- 58) Fox, M. and Corbett, M. K. (1985). Winged bean mosaic caused by clover yellow vein virus. *Plant Disease* 69 : 352-354.
- 59) 藤沢一郎・土崎常男 (1979). 北海道のホウレンソウから分離されたウイルス. *日植病報*. 45 : 566 (講要).
- 60) 藤沢一郎・土崎常男・飯塚典男 (1982). ホウレンソウより分離された bean yellow mosaic virus, tobacco mosaic virus および beet necrotic yellow vein virus. 同上 48 : 592-599.
- 61) 福本文良 (1981). ウイルスの保存法. *植物防疫* 35 : 182-187.
- 62) 福本文良・栃原比呂志 (1983). カブモザイクウイルスの保存に及ぼす各種添加物の影響. *日植病報* 49 : 220-227.
- 63) 福本文良・栃原比呂志 (1984). タバコ輪点ウイルスとダイコンひだ葉モザイクウイルスの保存に及ぼす各種添加物の影響. 同上 50 : 158-165.
- 64) Fukumoto, F. and Tochihara, H. (1985). Effect of various additives on the preservation of southern bean mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 51 : 415-420.
- 65) Gabriel, W., Szulc, J. and Wislocka, M. (1981). Influence de la distance des sources d'infection sur l'effet de traitements a l'aide d'insecticides systemiques sur la propagation des virus Y et M de la pomme de terre. *Potato Res.* 25 : 1-11.
- 66) Gaudchau, M. (1979). Studies on the transmission of bean yellow mosaic virus (BYMV) by aphids. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 85 : 347-357.
- 67) Gibbs, A. J., Varma, A. and Woods, R. D. (1966). Viruses occurring in white Clover (*Trifolium repens* L.) from permanent pastures in Britain. *Ann. appl. Biol.* 58 : 231-240.
- 68) Gibson, P. B., Barnett, O. W., Skipper, H. D. and McLaughlin M. R. (1981). Effect of three viruses on growth of white clover. *Plant Disease* 65 : 50-51.
- 69) Grogan, R. G., Hall, D. H. and Kimble, K. A. (1959). Cucurbit mosaic viruses in California. *Phytopathology* 49 : 366-376.
- 70) Grogan, R. G. and Schnathorst, W. C. (1955). Tobacco ringspot virus-the cause of lettuce calico. *Plant Dis. Repr.* 39 : 803-806.
- 71) Grogan, R. G. and Walker, J. C. (1948). A pod distorting strain of yellow mosaic virus of bean. *J. Agr. Res.* 77 : 301-314.
- 72) Grogan, R. G., Welch, J. E. and Bardin, R. (1952). Common lettuce mosaic and its control by the use of mosaic-free seed. *Phytopathology* 42 : 573-578.
- 73) Hagedorn, D. J. and Walker, J. C. (1950). The relation of bean virus 2 to pea mosaic in Wisconsin. *Ibid.* 40 : 684-698.
- 74) 萩田孝志 (1986). 北海道におけるインゲンのインゲン黄斑モザイクウイルスの発生. *北海道立農試集報* 54 : 31-38.
- 75) 萩田孝志・仙北俊弘・小島誠・四方英四郎・村山大記 (1975). 北海道におけるマメ類ウイルス病に関する研究. 第2報 インゲンモザイクウイルスの種子伝染について. *北大農邦紀要* 9 : 160-164.
- 76) Halbert, S. E., Irwin, M. E. and Goodman, R. M. (1981). Alate aphid (Homoptera : Aphididae) species and their relative importance as field vectors of soybean mosaic virus. *Ann. appl. Biol.* 97 : 1-9.
- 77) Halk, E. L. and De Boer, S. H. (1985). Monoclonal antibodies in plant disease research. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23 : 321-350.
- 78) Hamilton, R. I. and Nichols, C. (1978).

- Serological methods for detection of pea seed-borne mosaic virus in leaves and seeds of *Pisum sativum*. *Phytopathology* 68 : 539-543.
- 79) Hampton, R. O. (1966 a). Bean yellow mosaic : field spread from red clover. *Ibid.* 56 : 147 (abstr.).
- 80) Hampton, R. O. (1966 b). Nature of bean yield reduction by bean yellow mosaic virus. *Ibid.* 56 : 147 (abstr.).
- 81) Hampton, R. O. (1967). Natural spread of viruses infectious to beans. *Ibid.* 57 : 476-481.
- 82) Hampton, R. O. (1975). The nature of bean yield reduction by bean yellow and bean common mosaic viruses. *Ibid.* 65 : 1342-1346.
- 83) Hampton, R. O., Silbernagel, M. J. and Burke, D. W. (1983). Bean common mosaic virus strains associated with bean mosaic epidemics in the northwestern United States. *Plant Disease*. 67 : 658-661.
- 84) 花田 勉(1974). ジャガイモヒゲナガアブラムシのダイズインゲン上での生育の違いについて. 北日本病害虫研報 25 : 66.
- 85) Hanson, E. W. and Hagedorn, D. J. (1952). Red clover, a reservoir of legume viruses in Wisconsin. *Phytopathology*. 42 : 467 (abstr.).
- 86) Harrison, A. L. (1935). Mosaic of the Refugee bean. *New York St. Agr. Exp. Sta. Bull.* 656, 19 pp.
- 87) Harville, B. G. and Derrick, K. S. (1978). Identification and prevalence of white clover viruses in Louisiana. *Plant Dis. Repr.* 62 : 290-292.
- 88) Havranek, P. H. and Laska, P. (1972). The course of the migration of cucumber mosaic virus in a vegetable locality. *Sci. Agric. Bohemoslov* 3 : 213-225.
- 89) Hewings, A. D., Damsteegt, V. D. and Tolin, S. A. (1986). Purification and some properties of two strains of soybean dwarf virus. *Phytopathology* 76 : 759-763.
- 90) Hoch, H. C. and Provvidenti, R. (1978). Ultrastructural localization of bean common mosaic virus in dormant and germinating seeds of *Phaseolus vulgaris*. *Ibid.* 68 : 327-330.
- 91) 北海道農務部 (1979). 豆類・雑穀便覧. 290 pp.
- 92) 北海道農務部 (1988). 麦類・豆類・雑穀便覧. 151 pp.
- 93) 北海道立中央農業試験場 (1975). 昭和50年度畑作試験成績書. pp.24-27.
- 94) 北海道立中央農業試験場(1976). 昭和51年度畑作試験成績書. pp.17-18.
- 95) 北海道立中央農業試験場・北海道立十勝農業試験場(1976). インゲン黄化病の生態と防除に関する研究. 昭和50年度北海道農業試験会議普及奨励事項成績. 北海道農務部, pp.200-215.
- 96) Hollings, M. and Brunt, A. A. (1981 a). Potyvirus group. C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant Viruses, No.245.
- 97) Hollings, M. and Brunt, A. A. (1981 b). Potyviruses. *In Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis* (Kurstak, E. ed.). Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. pp. 257-332.
- 98) Hollings, M. and Lelliott, R. A. (1960). Preservation of some plant viruses by freeze-drying. *Plant Pathology* 9 : 63-66.
- 99) Hollings, M. and Nariani, T. K. (1965). Some properties of clover yellow vein virus, a virus from *Trifolium repens* L. *Ann. appl. Biol.* 56 : 99-109.
- 100) Hollings, M. and Stone, O. M. (1974). Clover yellow vein virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses, No.131.

- 101) Howell, W. E. and Mink, G. I. (1981). Viruses isolated from wild carrot and poison hemlock. *Plant Disease* 65 : 277-279.
- 102) Hubbeling, N. (1972). Resistance in beans to strains of bean common mosaic virus. *Meded. Fak. Landbwetensch. Gent.* 37 : 458-466.
- 103) 飯塚典男 (1973). ダイズにおけるウイルスの種子伝染. *東北農試研報.* 46 : 131-139.
- 104) Innes, N. L. and Walkey, D. G. A. (1979). Gene for resistance to bean common mosaic virus in cvs. *Seafarer* and *Aurora* of *Phaseolus vulgaris*. *J. agric. Sci. Camb.* 93 : 129-131.
- 105) Innes, N. L. and Walkey, D. G. A. (1980). The genetics of resistance to two strains of bean common mosaic virus in three cultivars of *Phaseolus vulgaris* L. *J. agric. Sci.* 95 : 619-630.
- 106) 井上成信・前田孚憲・飯野尚之・光畑興二 (1985). *Statice* (*Limonium sinuatum*) から分離された Clover yellow vein virus の一系統. *日植病報* 51 : 354.
- 107) 井上成信・前田孚憲・光畑興二 (1986). エビネから分離された Clover yellow vein virus について. *日植病報* 52 : 550.
- 108) 井上忠男 (1961). 麦斑葉モザイクウイルスの種子伝染機構および花粉伝染について農学研究 48 : 117-122.
- 109) Inouye, T. (1962). Studies on barley stripe mosaic in Japan. *Ber. Ohara Inst. Landw. Biol.* 11 : 413-496.
- 110) 井上忠男 (1968). 本邦のマメ科植物に発生する PVY 群ウイルスの寄生性の比較ならびに判別植物によるウイルス検索法. *農学研究* 52 : 11-29.
- 111) Irwin, M. E. and Goodman, R.M. (1981). Ecology and control of soybean mosaic virus. *In Plant diseases and vectors : ecology and epidemiology* (Maramorosch, K. and Harris, K. F. eds.). Academic Press, New York. pp.181-220.
- 112) 伊藤 洋・小島 誠・四方英四郎・村山大記 (1975). 北海道におけるマメ類ウイルス病に関する研究. 第3報 アズキより分離されたウイルスについて. *北大農邦紀要* 9 : 165-175.
- 113) Jafarpour, B., Shepherd, R. J. and Grogan, R. G. (1979). Serologic detection of bean common mosaic and lettuce mosaic viruses in seed. *Phytopathology* 69 : 1125-1129.
- 114) Jayasena, K. W. and Randles, J. W. (1984). Patterns of spread of the non-persistently transmitted bean yellow mosaic virus and the persistently transmitted subterranean clover red leaf virus in *Vicia faba*. *Ann. appl. Biol.* 104 : 249-260.
- 115) Jayasena, K. W. and Randles, J. W. (1985). The effect of insecticides and a plant barrier row on aphid populations and the spread of bean yellow mosaic potyvirus and subterranean clover red leaf luteovirus in *Vicia faba* in South Australia. *Ibid.* 107 : 355-364.
- 116) Johnstone, G. R. and McLean, G. D. (1987). Virus diseases of subterranean clover. *Ann. appl. Biol.* 110 : 421-440.
- 117) Jones, R.T. and Diachun, S. (1976). Identification and prevalence of viruses in red clover in central Kentucky. *Plant Dis. Repr.* 60 : 690-694.
- 118) Jones, R. T. and Diachun, S. (1977). Serologically and biologically distinct bean yellow mosaic virus strains. *Phytopathology* 67 : 831-838.
- 119) Kaiser, W.J. (1973). Biology of bean yellow mosaic and pea leaf roll viruses affecting *Vicia faba* in Iran. *Phytopath. Z.* 78 : 253-263.
- 120) Kaiser, W. J. and Mossahebi, G. H. (1974). Natural infection of mungbean by bean common mosaic virus. *Phytopathology*

- 64 : 1209-1214.
- 121) Kaper, J. M. and Waterworth, H. E. (1981). Cucumoviruses. In Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis (Kurstak, E. ed.). Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. pp.257-332.
- 122) Kennedy, B. W. and Cooper, R. L. (1967). Association of virus infection with mottling of soybean seed coats. *Phytopathology* 57 : 35-37.
- 123) Kennedy, J. S., Day, M. E. and Eastop, V. F. (1962). A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. *Comm. Inst. Ent.*, London. 114 pp.
- 124) 木曾 皓 (1974). インゲン黄斑モザイクウイルス (エソ系) の被害と防除. 今月の農薬, 18 : 42-46.
- 125) Kohler, G. and Milstein, C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256 : 495-497.
- 126) Kojima, M. and Tamada, T. (1976). Purification and serology of soybean dwarf virus. *Phytopath. Z.* 85 : 237-250.
- 127) 小室康雄・岩木満朗 (1968). クロタラリアから分離されたインゲン・黄斑モザイク・ウイルスとタバコ・輪点・ウイルス. 日植病報 34 : 7-15.
- 128) 越水幸男・飯塚典男 (1963). 大豆のウイルス病に関する研究. 東北農試研報 27 : 103 pp.
- 129) Kowalska, C. (1979). Viruses infecting pea (*Pisum L.*) in Poland. *Genetica Polonica* 20 : 211-215.
- 130) 久米宏毅・田中貞之・村山大記 (1970). アカクローバーから分離したインゲン黄斑モザイクウイルス (Bean yellow mosaic virus) の一系統について. 北大農邦紀要 7 : 435-448.
- 131) 栗林数衛 (1926). 菜豆「モザイク」病の種子伝染に就て. 病虫害雑誌 13 : 199-210.
- 132) 草葉敏彦・名畑清信 (1975). 機械油散布によるチューリップ・ブレーキング・ウイルスの防除について. 北陸病虫害研報 23 : 100-104.
- 133) Lange, L. and Heide, M. (1986). Dot immunobinding (DIB) for detection of virus in seed. *Can. J. Pl. Path.* 8 : 373-379.
- 134) Lawson, R. H., Brannigan, M. D. and Foster, J. (1985). Clover yellow vein virus in *Limonium sinuatum*. *Phytopathology* 75 : 899-906.
- 135) Leath, K. T. and Barnett, O. W. (1981). Viruses infecting red clover in Pennsylvania. *Plant Disease* 65 : 1016-1017.
- 136) Lehmann, W., Claus, S. and Karl, E. (1976). Der Einfluss verschiedener Pflanzentypen und ihrer chemischen Behandlung auf die Anzahl der Prohesaugstiche und die Dauer des ersten Einstichs von Aphiden. *Arch. Phytopathol. Pflanzen.* 12 : 345-354.
- 137) Leuck, D. B., Wells, H. D. and Beck, E. W. (1962). Systemic insecticides for indirect control of bean yellow mosaic virus in seed fields of yellow lupine. *Plant Dis. Repr.* 46 : 240-242.
- 138) Lindsten, K., Brishhammar, S. and Tomenius, K. (1976). Investigation on relationship and variation of some legume viruses within the potyvirus group. *Meddelanden Statens Vaxtskyddsanstalt* 16 : 289-322.
- 139) Lisa, V. and Dellavalle, G. (1983). Clover yellow vein virus in climbing bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *Phytopathologia Mediterranea* 22 : 49-52.
- 140) Lister, R. M. (1978). Application of the enzyme-linked immunosorbent assay for detecting viruses in soybean seed and plants. *Phytopathology* 68 : 1393-1400.
- 141) Lockhart, B. E. L. and Fischer, H. U.

- (1974). Chronic infection by seedborne bean common mosaic virus in Morocco. *Plant Dis. Repr.* 58 : 307-308.
- 142) Loebenstein, G., Alper, M. and Deutsch, M. (1964). Preventing aphid-spread cucumber mosaic virus with oils. *Phytopathology* 54 : 960-962.
- 143) Loebenstein, G., Alper, M. and Levy, S. (1970). Field tests with oil sprays for the prevention of aphid-spread viruses in peppers. *Ibid.* 60 : 212-215.
- 144) Loebenstein, G., Deutsch, M., Frankel, H. and Sabar, Z. (1966). Field tests with oil sprays for the prevention of cucumber mosaic virus in cucumbers. *Ibid.* 56 : 512-516.
- 145) Lucas, L. T. and Harper, C. R. (1972). Mechanically transmissible viruses from Ladino-clover in North Carolina. *Plant Dis. Repr.* 56 : 774-776.
- 146) Mandahar, C. L. (1981). Virus transmission through seed and pollen. *In* Plant diseases and vectors (Maramorosch, K. and Harris, K. F. eds.). Academic Press, New York. pp.241-292.
- 147) McCord, R. W. and Gudauskas, R. T. (1968). Properties of a strain of bean yellow mosaic virus isolated from vetch, *Vicia sativa*. *Phytopathology* 58 : 1294-1297.
- 148) McDonald, J. G. and Hamilton, R. I. (1972). Distribution of southern bean mosaic virus in the seed of *Phaseolus vulgaris*. *Ibid.* 62 : 387-389.
- 149) McKinney, H. H. and Greely, L. W. (1965). Biological characteristics of barley stripe mosaic virus strains and their evolution. U.S. Dep. Agr. Tech. Bull. No.1324, 84 pp.
- 150) McLaughlin, M. R. (1983). Viruses infecting forage legumes in Tennessee. *Plant Disease* 67 : 490-492.
- 151) McLaughlin, M. R., Barnett, O. W., Gibson, P. B. and Burrows, P. M. (1984). Enzyme-linked immunosorbent assay of viruses infecting forage legumes. *Phytopathology* 74 : 965-969.
- 152) McLaughlin, M. R. and Boykin, D. L. (1988). Virus diseases of seven species of forage legumes in the southeastern United States. *Plant Disease* 72 : 539-542.
- 153) Medina, A. C. and Grogan, R. G. (1961). Seed transmission of bean mosaic viruses. *Ibid.* 51 : 452-456.
- 154) Milne, R. G. and Luisoni, E. (1977). Rapid immune electron microscopy of virus preparations. *In* Methods in virology (Maramorosch, K. and Koprowski, H. eds.). Academic Press, New York. pp.265-281.
- 155) Moghal, S.M. and Francki, R.I.B. (1976). Towards a system for the identification and classification of potyviruses I. Serology and amino acid composition of six distinct viruses. *Virology* 73 : 350-362.
- 156) Moghal, S.M. and Francki, R.I.B. (1981). Towards a system for the identification and classification of potyviruses II. Virus particle length, symptomatology, and cytopathology of six distinct viruses. *Ibid.* 112 : 210-216.
- 157) Munro, D. (1981). Clover yellow vein virus in broad bean. *Australasian Plant Pathology* 10 : 61-62.
- 158) 村山大記 (1941). 荳科植物のモザイク病の種子伝染に関する研究. 札幌農林学会報 34 : 40-74.
- 159) 村山大記・四方英四郎・小島 誠・仙北俊弘・梶原一義・上田一郎 (1975). 北海道におけるマメ類ウイルス病に関する研究. 第1報 インゲンより分離されたウイルスについて. 北大農邦紀要 9 : 155-159.
- 160) Misil, M., Smrz, J. and Vacek, V. (1986). Susceptibility of cultivars of the white clover collection to viruses and incidence of

- viruses in 1977-1984. Sbornik UVTIZ, Qchrana Rostlin 22 : 265-271.
- 161) Nagel, J., Zettler, F. W. and Hiebert, E. (1983). Strains of bean yellow mosaic virus compared to clover yellow vein virus in relation to gladiolus production in Florida. *Phytopathology* 73 : 449-454.
- 162) 中沢啓一 (1974). 黄色水盤による有翅アブラムシ発生消長調査の標準化. 第2報 黄色水盤の設置場所に関する検討. 広島農試報告 33 : 33-37.
- 163) 夏秋啓子・山下修一・土居養二・長井雄治 (1982). Bean yellow mosaic virus (BYMV) の1系統によるインゲンマメつる枯病について. 日植病報 48 : 130 (講要).
- 164) Nelson, M. R. and Knuhtsen, H. K. (1973 a). Squash mosaic virus variability : epidemiological consequences of differences in seed transmission frequency between strains. *Phytopathology* 63 : 918-920.
- 165) Nelson, M. R. and Knuhtsen, H. K. (1973 b). Squash mosaic virus variability : review and serological comparisons of six biotypes. *Ibid.* 63 : 920-926.
- 166) 財団法人豆類基金協会 (1977). 北海道における豆類の品種. 294 pp.
- 167) 財団法人特産農作物種苗協会 (1978). 豆類ウイルスフリー種苗研究会試験成績(昭和51年度). 21 pp.
- 168) 財団法人特産農作物種苗協会 (1981). 豆類ウイルスフリー種苗研究会試験成績(昭和55年度). 72 pp.
- 169) Omar, R. A., El-Khadem, M. and Dief, A. A. (1979). Studies on a seed-borne bean common mosaic virus. III. Effect of the virus on yield, biological and chemical characters of bean seeds. *Egyptian J. Phytopathology* 10 : 63-70.
- 170) Orellana, R.G. and Fan, F. F. (1978). Nodule infection by bean yellow mosaic virus in *Phaseolus vulgaris*. *Applied and Environmental Microbiology* 36 : 814-818.
- 171) Phatak, H. C. (1974). Seed-borne plant viruses-identification and diagnosis in seed health testing. *Seed Sci. Technol.* 2 : 3-155.
- 172) Pierce, W. H. (1934). Viroses of the bean. *Phytopathology* 24 : 87-115.
- 173) Pirone, T. P. (1981). Efficiency and selectivity of the helper-component-mediated aphid transmission of purified potyviruses. *Ibid.* 71 : 922-924.
- 174) Pratt, M. J. (1968). Clover yellow vein virus in north America. *Can. Pl. Dis. Surv.* 48 : 87-92.
- 175) Pratt, M. J. (1969). Clover yellow vein virus in north America. *Plant Dis. Repr.* 53 : 210-212.
- 176) Provvidenti, R. and Braverman, S.W. (1976). Seed transmission of bean common mosaic virus in phasemy bean. *Phytopathology* 66 : 1274-1275.
- 177) Provvidenti, R. and Cobb, E. D. (1975). Seed transmission of bean common mosaic virus in tepary bean. *Plant Dis. Repr.* 59 : 966-969.
- 178) Provvidenti, R. and Schroeder, W.T. (1973). Resistance in *Phaseolus vulgaris* to the severe strain of bean yellow mosaic virus. *Phytopathology* 63 : 196-197.
- 179) Quantz, L. (1961). Untersuchungen uber das Gewohnliche Bohnenmosaikvirus und das Sojamosaikvirus. *Phytopath. Z.* 43 : 79-101.
- 180) Raccach, B., Gal-On, A. and Eastop, V. F. (1985). The role of flying aphid vectors in the transmission of cucumber mosaic virus and potato virus Y to peppers in Israel. *Ann. appl. Biol.* 106 : 451-460.
- 181) Randles, J. W., Davies, C., Gibbs, A. J. and Hatta, T. (1980). Amino acid composition

- of capsid protein as a taxonomic criterion for classifying the atypical S strain of bean yellow mosaic virus. *Aust. J. Biol. Sci.* 33 : 245-254.
- 182) Ravinder, T., Rao, N. G. and Singh, B. G. (1985). Growth and yield of French bean infected with bean common mosaic virus. *J. Research, Andhra Pradesh Agricultural University* 13 : 18-22.
- 183) Reddick, B. B. and Barnett, O. W. (1983). A comparison of three potyviruses by direct hybridization analysis. *Phytopathology* 73 : 1506-1510.
- 184) Reddick, D. and Stewart, V. B. (1919). Transmission of the virus of bean mosaic in seed and observations on thermal death-point of seed and virus. *Ibid.* 9 : 445-450.
- 185) Richards, B. L. and Burkholder, W. H. (1943). A new mosaic disease of beans. *Ibid.* 33 : 1215-1216.
- 186) Roberts, I. M. and Harrison, B. D. (1979). Detection of potato leafroll and potato mop-top viruses by immunosorbent electron microscopy. *Ann. appl. Biol.* 93 : 289-297.
- 187) Rose, D. G., McCarra, S. and Mitchell, D. H. (1987). Diagnosis of potato virus Y^N : a comparison between polyclonal and monoclonal antibodies and a biological assay. *Plant Pathology* 36 : 95-99.
- 188) Ross, J. P. (1963). Interaction of the soybean mosaic and bean pod mottle viruses infecting soybeans. *Phytopathology* 53 : 887 (abstr.).
- 189) Rubies-Autonell, C. and Faccioli, G. (1985). Distribution of bean common mosaic and bean yellow mosaic viruses in bud tips of *Phaseolus vulgaris* L. *Phytopathologia Mediterranea* 24 : 241-244.
- 190) Ryden, K., Brishammar, S. and Sigvald, R. (1983). The infection pressure of potato virus Y^o and the occurrence of winged aphids in potato fields in Sweden. *Potato Res.* 26 : 229-235.
- 191) Sachchidanada, J., Singh, S., Prakash, N. and Verma, V.S. (1973). Bean common mosaic virus on cowpea in India. *Z. Pflkrankh. Pflschutz.* 80 : 88-91.
- 192) Schroeder, W. T. and Provvidenti, R. (1966). Further evidence that common pea mosaic virus (PV 2) is a strain of bean yellow mosaic virus (BV 2). *Plant Dis. Reprtr.* 50 : 337-340.
- 193) Schroeder, W. T. and Provvidenti, R. (1968). Resistance of bean (*Phaseolus vulgaris*) to the PV 2 strain of bean yellow mosaic virus conditioned by the single dominant gene *By*. *Phytopathology* 58 : 1710
- 194) Shanks, C. H. and Chapman, R. K. (1965). The effects of insecticides on the behavior of *Myzus persicae* Sulzer and its transmission of potato virus Y. *J. Econ. Entomol.* 58 : 79-83.
- 195) Shepherd, R. J. (1972). Transmission of viruses through seed and pollen. *In Principles and techniques in plant virology* (Kado, C. I. and Agrawal H. O. eds.). Van Nostrand-Reinhold, Princeton, New Jersey. pp.267-292.
- 196) 四方英四郎・小島 誠 (1978). 植物ウイルス抗原抗体反応の電子顕微鏡観察. *日植病報.* 44 : 28-34.
- 197) Silbernagel, M. J. (1969). Mexican strain of bean common mosaic virus. *Phytopathology* 59 : 1809-1812.
- 198) Silbernagel, M. J., Mills, L. J. and Wang, W. Y. (1986). Tanzanian strain of bean common mosaic virus. *Plant Disease* 70 : 839-841.
- 199) Simons, J. N. (1957). Effects of insecti-

- cides and physical barriers on field spread of pepper veinbanding mosaic virus. *Phytopathology* 47 : 139-145.
- 200) Singh, G. P., Arny, D. C. and Pound, G. S. (1960). Studies on the stripe mosaic of barley, including effects of temperature and age of host on disease development and seed infection. *Ibid.* 50 : 290-296.
- 201) Singh, R. P. and Lopez-Abella, D. (1971). Natural infection of coriander plants by a strain of clover yellow vein virus. *Phytopathology* 61 : 333-334.
- 202) Skotland, C. B. and Burke, D. W. (1961). A seed-borne bean virus of wide host range. *Ibid.* 51 : 565-568.
- 203) Smith, F. L. and Hewitt, W. B. (1938). Varietal susceptibility to common bean mosaic and transmission through seed. *Calif. Agr. Exp. Sta. Bull.* 621 18 pp.
- 204) Snyder, W. C. (1942). A seed-borne mosaic of asparagus bean, *Vigna sesquipedalis*. *Phytopathology* 32 : 518-523.
- 205) Stein, A., Loebenstein, G. and Koenig, R. (1979). Detection of cucumber mosaic virus and bean yellow mosaic virus in gladiolus by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Plant Dis. Repr.* 63 : 185-188.
- 206) Stewart, V. B. and Reddick, D. (1917). Bean mosaic. *Phytopathology* 7 : 61 (abstr.).
- 207) 菅野 徹・上田一郎・仙北俊弘・四方英四郎 (1980). インゲン (大福) の蔓枯症状について. *日植病報*, 46 : 101 (講要).
- 208) Swenson, K. G. (1962). Bean yellow mosaic virus transmission by *Myzus persicae*. *Aust. J. biol. Sci.* 15 : 468-482.
- 209) Swenson, K. G. and Sohi, S. S. (1961). Factors determining the rate of bean yellow mosaic virus transmission by the aphid *Myzus persicae*. *Phytopathology* 51 : 67 (abstr.).
- 210) 高橋幸吉・田中敏夫・飯田 格・津田保昭 (1980). 日本におけるダイズのウイルス病と病原ウイルスに関する研究. *東北農試研報* 62 : 130 pp.
- 211) 高橋亘・上田一郎・四方英四郎 (1989). Clover yellow vein virus (BYMV-No.30) の外被蛋白質遺伝子の cDNA クローニングと塩基配列の決定. *日植病報* 55 : 534(講要).
- 212) Takanami, Y. and Kubo, S. (1979). Enzyme-assisted purification of two phloem-limited plant viruses : Tobacco necrotic dwarf and potato leafroll. *J. gen. Virol.* 44 : 153-159.
- 213) Tamada, T. (1970). Aphid transmission and host range of soybean dwarf virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 36 : 266-274.
- 214) 玉田哲男 (1973). ダイズ矮化ウイルスの系統. *日植病報* 39 : 27-34.
- 215) 玉田哲男 (1975). ダイズ矮化病に関する研究. *北海道立農試報告* 25 : 144 pp.
- 216) 玉田哲男・馬場徹代 (1973). ダイズ矮化病の生態と防除. *植物防疫* 27 : 277-281.
- 217) 玉田哲男・馬場徹代・村山大記 (1973). ダイズ矮化ウイルス黄化系統によるインゲン黄化病. *日植病報* 39 : 152 (講要).
- 218) 玉田哲男・後藤忠則・千葉一美・諏訪隆之 (1969). ダイズ矮化病. *同上* 35 : 282-285.
- 219) Tamada, T. and Kojima, M. (1977). Soybean dwarf virus. *C. M. I./A. A. B. Descriptions of Plant Viruses*, No.179.
- 220) 谷村吉光・松川 勲・番場宏治 (1985). ダイズ矮化病の抵抗性の育種的研究 4. 北海道および東北地方北部のラジノクローバにおけるダイズ矮化病ウイルス保毒率について. *北海道立農試集報* 52 : 85-93.
- 221) Taylor, R. H. and Smith, P. R. (1968). The relationship between bean yellow mosaic virus and pea mosaic virus. *Aust. J. biol. Sci.* 21 : 429-437.
- 222) Thottappilly, G., Harris, K. F. and Bath, J.

- E. (1976). Identification of a top-rolling strain of bean yellow mosaic virus from Michigan broad bean. *Phytopath. Z.* 85 : 183-187.
- 223) Thresh, J. M. (1976). Gradients of plant virus diseases. *Ann. appl. Biol.* 82 : 381-406.
- 224) 土崎常男 (1973). 日本でインゲンより分離された Peanut Stunt Virus について. *日植病報* 39 : 67-72.
- 225) 土崎常男・後藤忠則・藤沢一郎・吉田幸二 (1981). 北海道のマメ科植物, 野菜に発生するウイルス病について. *北海道農試研報* 131 : 71-93.
- 226) Tsuchizaki, T. and Omura, T. (1987). Relationships among bean common mosaic virus, blackeye cowpea mosaic virus, azuki bean mosaic virus, and soybean mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 53: 478-488.
- 227) 土崎常男・興良 清・明日山秀文 (1971). ササゲおよびアズキにおけるウイルスの種子伝染. III 胚感染と種子伝染との関係. *日植病報* 37 : 11-16.
- 228) 土崎常男・吉田幸二・藤沢一郎・後藤忠則 (1980). 北海道各地に発生するクローバ・モザイク病の病原ウイルス. *日植病報* 46 : 100-101 (講要).
- 229) Uyeda, I., Kojima, M. and Murayama, D. (1975). Purification and serology of bean yellow mosaic virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 41 : 192-203.
- 230) 上田一郎・四方英四郎 (1980). インゲン黄斑モザイクウイルスの enzyme-linked immunosorbent assay による検出. *日植病報* 46 : 556-558.
- 231) 上田一郎・菅野 徹・中曾根恒一・仙北俊弘・四方英四郎 (1981). インゲン“大福”の蔓枯れ症状の病原ウイルスについて. *北大農邦紀要* 13 : 69-80.
- 232) Uyemoto, J. K. and Grogan, R. G. (1977). Southern bean mosaic virus : evidence for seed transmission in bean embryos. *Phytopathology* 67 : 1190-1196.
- 233) Uyemoto, J. K., Provvidenti, R. and Schroeder, W. T. (1972). Serological relationship and detection of bean common and bean yellow mosaic viruses in agar gel. *Ann. appl. Biol.* 71 : 235-242.
- 234) Vanderveken, J. (1972). Inhibition de la transmission due virus de la mosaïque de la luzerne par *Myzus persicae* a l'aide d'huile. *Parasitica* 28 : 39-45.
- 235) Vanderveken, J. J. (1977). Oils and other inhibitors of nonpersistent virus transmission. *In Aphids as virus vectors* (Harris, K. F. and Maramorosch, K. eds.). Academic Press, New York. pp.435-454.
- 236) van der Want, J. P. H. (1954). Onderzoekingen over virusziekten van de boon (*Phaseolus vulgaris* L.). *Med. Inst. plziektenk. Onderz.* 85 : 84 pp.
- 237) Van Regenmortel, M. H. V. (1982). Serology and immunochemistry of plant viruses. Academic Press, New York. 302 pp.
- 238) Varma, P. and Gibbs, A. J. (1967). Preliminary studies on sap-transmissible virus of red clover (*Trifolium pratense* L.) in England and Wales. *Ann. appl. Biol.* 59 : 23-30.
- 239) Voller, A., Bartlett, A., Bidwell, D. E., Clark, M. F. and Adams, A. N. (1976). The detection of viruses by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *J. gen. Virol.* 33 : 165-167.
- 240) Vorra-urai, S. and Cockbain, A. J. (1977). Further studies on seed transmission of broad bean stain virus and *Echtes Ackerbohnenmosaik virus* in field beans (*Vicia faba*). *Ann. appl. Biol.* 87 : 365-374.
- 241) Walkey, D. G. A. and Dance, M. C. (1979).

- The effect of oil sprays on aphid transmission of turnip mosaic, beet yellows, bean common mosaic and bean yellow mosaic viruses. *Plant Dis. Repr.* 63 : 877-881.
- 242) Walkey, D. G. A. and Innes, N. L. (1978). Resistance of dwarf French bean to bean common mosaic and bean yellow mosaic viruses. *J. natn. Inst. agric. Bot.* 14 : 428-432.
- 243) Walkey, D. G. A. and Innes, N. L. (1979). Resistance to bean common mosaic virus in dwarf beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. agric. Sci., Camb.* 92 : 101-108.
- 244) Walkey, D. G. A. and Taylor, J. D. (1979). Resistance of United Kingdom cultivars of runner beans to bean common and yellow mosaic viruses and to halo-blight. *J. natn. Inst. agric. Bot.* 15 : 113-116.
- 245) Walkey, D. G. A. and Webb, M. J. W. (1984). The use of a simple electron microscope serology procedure to observe relationships of seven potyviruses. *Phytopath. Z.* 110 : 319-327.
- 246) Walkey, D. G. A., Webb, M. J. W., Bolland, C. J. and Ding, X. (1987). Virus diseases in the Yemen Arab Republic. In 37th Annual Report 1986/87, National Vegetable Research Station 68-69.
- 247) 山口 昭 (1964). 罹病葉凍結による植物ウイルスの保存. *日植病報* 29 : 52-53.
- 248) 吉田幸二・土崎常男 (1979). 北海道のアズキから分離されたウイルス. *同上* 45 : 565 (講要).
- 249) Zaumeyer, W. J. (1962). Longevity of several legume viruses. *Phytopathology* 52 : 486-487.
- 250) Zaumeyer, W. J. and Fisher, H. H. (1953). A new necrotic-lesion-producing strain of yellow bean mosaic. *Ibid.* 43 : 45-49.
- 251) Zaumeyer, W. J. and Goth, R. W. (1963). Red clover necrosis virus, the cause of a streak of peas. *Plant Dis. Repr.* 47 : 10-14.
- 252) Zaumeyer, W. J. and Goth, R. W. (1964). A new severe symptom-inducing strain of common bean mosaic virus. *Phytopathology* 54 : 1378-1385.
- 253) Zaumeyer, W. J. and Kearns, C. W. (1936). The relation of aphids to the transmission of bean mosaic. *Ibid.* 26 : 614-629.
- 254) Zettler, F. W. (1967). A comparison of species of Aphididae with species of three other aphid families regarding virus transmission and probe behavior. *Ibid.* 57 : 398-400.
- 255) Zettler, F. W. and Wilkinson, R. E. (1966). Effect of probing behavior and starvation of *Myzus persicae* on transmission of bean common mosaic virus. *Ibid.* 56 : 1079-1082.

Studies on Viral Diseases and Causal Viruses of Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Hokkaido

by
Takashi HAGITA

Summary

The Kidney bean (*P. vulgaris* L.) is one of the economically important crops of Hokkaido. Bean common mosaic virus (BCMV), clover yellow vein virus (CYVV) and soybean dwarf virus (SDV), which are major causal viruses of kidney bean in Hokkaido, were studied for their occurrence, geographical distribution, damage to kidney bean, classification, diagnosis, spread in a field and control.

I. Occurrence and geographical distribution of kidney bean viral diseases in Hokkaido

A survey of viral diseases in kidney bean plants was carried out in Iburi, Abashiri and Tokachi districts of Hokkaido from 1981 to 1985. The number of fields and localities surveyed were as follows; cv. "Ohfuku" in 112 fields of 8 localities, cv. "Toramame" in 24 fields of 7 localities, cv. "Kintoki" in 50 fields of 13 localities and cv. "Tebou" in 10 fields of 5 localities. As a result, CYVV was found to be severe on the kidney bean cvs. "Ohfuku" and "Toramame" in various areas of Hokkaido, but was rarely found in the cvs. "Kintoki" and "Tebou". BCMV and bean yellow mosaic virus (BYMV) occurred slightly in all areas of Hokkaido, but BCMV was especially prevalent in some kidney bean fields cvs. "Ohfuku" and "Toramame" where healthy seeds were not used. The presence of SDV was severe on the kidney bean cvs. "Toramame" and "Kintoki" in various areas of Hokkaido.

The results mentioned above demonstrated that the four causal viruses were present in the kidney bean fields of Hokkaido. Out of these viruses, CYVV and SDV were the main causal viruses.

II. Causal viruses of kidney bean in Hokkaido

1) Bean common mosaic virus (BCMV)

Most of the kidney bean cultivars infected with BCMV showed mosaic symptoms and some were accompanied by leaf-rolling symptoms. The kidney bean plants infected by seed transmission were first found in a field during late-June and early-July. The naturally-infected plants were found in a field during early and late-July. A diseased kidney bean plant cv. "Kairyō-Wase-Ohfuku" infected by seed transmission showed decreased total pod number, an approximately 50% reduction in number of matured pods and an approximately 60% loss in seed yield compared to

healthy plants. A naturally-infected kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" showed an approximately 10% drop in number of matured pods and 10-25% in seed yield.

Twenty six isolates of BCMV were obtained from the infected kidney bean plants cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" showing mosaic symptoms in various areas of Hokkaido. These isolates were studied in terms of their host range and symptoms affecting kidney bean, cowpea (*Vigna sesquipedalis*), adzuki bean (*Phaseolus angularis*), soybean (*Glycine max*), broad bean (*Vicia faba*), pea (*Pisum sativum*), horse bean (*Canavallia gladiata*), hyacinth bean (*Dolichos lablab*) and yellow lupin (*Lupinus luteus*). There was no appreciable difference in pathogenicity to the nine plant species among 26 isolates of the virus tested.

The physical properties of the virus isolate obtained from naturally infected kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" showing mosaic symptoms were examined. The thermal inactivation point was between 55 and 60°C. The dilution end point was between 10^{-6} and 10^{-7} . Infectivity survived in crude sap over 11 days at 20°C and decreased noticeably upon drying and freezing.

The virus isolate was transmissible by aphids, *Myzus persicae*, *Aphis craccivora* and *Rhopalosiphum padi*.

The virus moved from the inoculated leaf to the stem one day after inoculation. The time for movement of the virus from the inoculated leaf to the stem was shorter and symptoms appeared faster when the virus was inoculated on the upper leaf at a younger stage of kidney bean plant development than that on a lower leaf at an older stage.

The rate of seed transmission was higher when the virus was inoculated on the upper leaf than the lower one at the same time. The younger the stage of kidney bean plant inoculated with the virus, the higher the rate of seed transmission. The rate of seed transmission of the virus in kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" artificially inoculated at the seedling stage was 12.9%. When the kidney bean plants were inoculated with the virus, all the seeds produced before appearance of symptoms were healthy, whereas some of the seeds produced after appearance of symptoms were diseased. The rate of seed transmission of the virus in diseased kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" by seed transmission was 15.8%, whereas the highest rate of seed transmission in naturally infected kidney bean plant in a field was 10.2%. The rate of seed transmission of the virus in naturally infected kidney bean plant decreased with a late date of symptom development. The naturally infected kidney bean plants showing first symptoms after August 11 did not produce diseased seeds.

A total of 163 cultivars of kidney bean collected from around the world, including Japan, were inoculated with the virus and the symptoms produced were observed. Most showed yellow spots on inoculated leaves and mosaics on the upper leaves. Twenty out of 163 kidney bean cultivars did not show any visible symptoms. It was suggested that these cultivars were resistant to the virus. The highest rate of seed transmission of the virus in kidney bean cultivars tested was 55%.

The virus obtained from the kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" showing mosaic symptom was filamentous in shape and 750-800 nm in length. The virus was readily purified from systemically infected kidney bean plants. Yields up to 10 mg/kg leaf tissue were obtained. An antiserum giving a ring interface test titer of 1/512 was obtained.

Detection of the virus was carried out by immune electron microscopy (IEM). The optimum dilution of antiserum was 1/3,200 and the optimum incubation time was 24 hr at 4°C. The virus in leaf extracts of diseased kidney bean plants was detected in dilution up to 10^{-4} by direct negative (DN) method and up to 10^{-5} by IEM. Furthermore, the virus was detectable in dilution up to 10^{-7} by IEM when the leaf extract of healthy plant was added to each dilution at a ratio of 1% (V/V). The rate of detection of the virus in seeds obtained from the diseased kidney bean plants cvs. "Kairyo-Wase-Ohfuku" and "Taisho-Kintoki" was slightly higher than corresponding rates of seed transmission of the virus. The virus concentration was moderate in immature seeds and high in mature ones. The virus concentration descended in the order of cotyledon, seedcoat and embryo in parts of immature seeds and cotyledon, embryo and seedcoat in mature seeds. The virus concentration in seedcoats of immature kidney bean seed cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" was relatively high, while that of mature seeds stored at 15°C for 4 or 28 months after harvest was low. The virus was not detectable in seedcoats of mature kidney bean seed cv. "Taisho-Kintoki", which was stored at 15°C for 9 months. The seeds obtained from diseased kidney bean plants were soaked in sterilized water and were cut in half. Some were used for detection of the virus by IEM and others were sown in a greenhouse and their symptoms were observed after plant emergence from the soil. Results showed that symptoms and serology correlated perfectly. Of 53 seedlings tested, 13 were positive in the IEM test and later developed mosaic symptoms. The virus was detected by IEM in all the seed extracts tested containing diseased seeds at a rate of 0.1% (W/W) and from some of them containing diseased seeds at a rate of 0.05% (W/W).

The relationship between the occurrence of the virus and the number of aphids was studied for three years from 1978 to 1980. The aphids were first caught at the primary leaf stage of the kidney bean plant from mid to late-June. The population of apterous aphids reached a maximum in early-July or mid-August, while that of alate aphids peaked in late-June or mid-July. The total number of aphids was highest in 1980. Spread of the virus was first recognized in late-July and the rate of infection increased rapidly after early or late-August. There was a tendency for naturally-infected plants found before early-August to be scattered at random in a field, while those which were found after were clustered.

The relationship between the occurrence of the virus and the distance from the virus source plants was studied for three years from 1978 to 1980. It was found that insecticides could not prevent infection by viruliferous aphids migrating in the kidney bean field if there were virus source plants within a distance of 200 m from the site.

Systemic insecticides and chemicals sprayed on foliage of the plant were applied to prevent virus infection. As a result, all insecticide treatments were effective in reducing the population of aphids on kidney bean plants. No appreciable difference in the occurrence of the viral disease was shown between insecticide treatment and non-treatment. Mineral oils were ineffective in preventing virus infection.

2) Clover yellow vein virus (CYVV)

The kidney bean plant infected with CYVV displayed necrosis on leaves, stems and pods. Some showed leaf-rolling and stunting symptoms and died. The latent period of the virus was

between one and two weeks.

A diseased kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" showed reductions of 70-100% in number of pods, 90-100% in total weight of plant, and 85-100% in seed yield and in 100 grain weight compared to healthy plants.

The isolate obtained from the infected kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" showing necrosis was studied in terms of its host range and symptoms affecting the plants of 50 species belonging to 10 families. Symptoms appeared on the following plants; kidney bean, pea, broad bean, red clover (*Trifolium pratense*), alsike clover (*Trifolium hybridum*), common vetch (*Vicia sativa*), *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, spinach (*Spinacia oleracea*), New Zealand spinach (*Tetragonia expansa*). White clover (*Trifolium repens*) were systemically infected without any visible symptoms.

The physical properties of the virus were examined. The thermal inactivation point was between 50 and 55°C. The dilution end point was between 10^{-6} and 10^{-7} . Infectivity survived in crude sap over 10 days at 20°C.

The virus was transmissible by *Myzus persicae*.

The serological relationships among CYVV, BYMV and BCMV were examined by the agar-gel double diffusion method. CYVV formed a spur after reaction with each strain of BYMV, indicating they were serologically related but not identical. Serological reactions were not observed between CYVV and BCMV. The ordinary strain of BYMV formed a spur in reaction with BCMV, indicating they were serologically related.

The virus obtained from kidney bean plant cv. "Kairyo-Wase-Ohfuku" showing necrosis was filamentous in shape and 750-800 nm in length. The virus was readily purified from the tip leaves of systemically infected broad bean plants. Yields up to 40 mg/kg leaf tissue were obtained. An antiserum giving a ring interface test titer of 1/1,024 was obtained.

IEM was applied to detect the virus. The optimum dilution of antiserum in 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0) was 1/6,400. The virus in leaf extracts of diseased broad bean plants was detected in dilution up to 10^{-6} by IEM, up to 10^{-4} by DN method and up to 10^{-3} using an inoculation test to *C. amaranticolor*.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was applied to detect the virus. The optimum concentration of γ -globulin for coating of the wells was 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, and the optimum dilution of enzyme-antibody conjugate was 1/400. The virus in leaf extracts of diseased broad bean plants was detected in dilution up to 10^{-4} by ELISA and up to 10^{-3} in inoculation test to *C. amaranticolor*. The virus in purified preparations of CYVV and broad bean mosaic strain of BYMV was detectable in concentrations up to 5 ng/ml and 1 ng/ml, respectively. In ELISA test, CYVV antibody did not react to broad bean mosaic strain of BYMV, BCMV, soybean mosaic virus at all, and only slightly reacted to turnip mosaic virus at high virus concentration. CYVV, however, did react to broad bean mosaic and ordinary strains of BYMV antibodies.

CYVV was widely distributed throughout Hokkaido and was detected from 70% of kidney bean plants showing necrosis. A total of 394 cultivars of kidney bean collected from around the world, including Japan, were inoculated with CYVV and the symptoms produced were observed. Twenty two out of 394 kidney bean cultivars showed no visible symptoms, and CYVV could not be

detected in them by ELISA suggesting that these cultivars were resistant to CYVV.

Monoclonal antibodies against BYMV were developed by fusing mouse spleen cells immunized with broad bean mosaic strain of BYMV with mouse myeloma cells for the production of cell clones secreting antibodies, and 347 hybridoma cell lines/mouse were obtained. The following stable cell lines were obtained by selection of hybridoma and cloning; 1 E 4-2 and 2 E 7-3 secreted antibodies reacting only with BYMV, and 1 F 11-2 and 1 A 3-1 secreted antibodies reacting with BYMV and CYVV. Six to 8 ml of ascitic fluid were obtained by injecting hybridoma cells into mice. The titers of the ascitic fluid were 256-2,048 in a ring interface test.

ELISA using three monoclonal antibodies was applied to detect the viruses. The optimum concentration of each γ -globulin for coating of the wells was $1 \mu\text{g/ml}$, and the optimum dilutions of enzyme-antibody conjugate were 1/400 for 1 E 4-2 and 1 F 11-2 and 1/800 for 1 A 3-1. The virus in purified preparations of CYVV and broad bean mosaic strain of BYMV was detectable in concentrations up to $0.125 \mu\text{g/ml}$ and $0.625 \mu\text{g/ml}$, respectively. In ELISA test using leaf extracts of diseased bean plants, 1 E 4-2 and 1 F 11-2 were reactive only with broad bean mosaic strain of BYMV and CYVV, respectively, whereas 1 A 3-1 was reactive with both viruses.

ELISA detection of CYVV from leguminous plants (kidney bean, red clover, white clover) collected in and out of a field using polyclonal and monoclonal antibodies was carried out. As a result, it was sometimes observed that polyclonal antibodies were not distinguishable between CYVV and BYMV and reacted non specifically to the healthy plants. ELISA values obtained from monoclonal antibodies tended to be generally higher than those from polyclonal antibodies in ELISA tests using the same diseased leaf extracts.

Viral disease occurred mostly on the edge of a field and rarely in the center. The virus was detected in wild white clovers and not from *Amaranthus retroflexus*, *Polygonum longisetum*, *Rumex obtusifolius*, *Chenopodium album*, red clover, *Plantago asiatica*, *Polygonum nepalense*, *Polygonum aviculare*, *Aphicarpaea edgeworthii* var. *japonica*, *Oxalis stricta*. CYVV was widely distributed throughout Hokkaido and was especially prevalent in wild white clovers in Iburi, Abashiri and Kamikawa districts, whereas the ordinary strain of BYMV was largely detected in wild red clovers in Tokachi and Hidaka districts.

A suitable location to place a sticky trap for catching alate aphids was examined. It was concluded that the trap should be set at lower position, approximately 30 cm above the ground in bare land near the field. The number of alate aphids caught using a yellow water pan trap and sticky trap was examined from 1981 to 1985. The alate aphids were first caught at the primary leaf stage of the kidney bean plant. The population of flying aphids reached a maximum in mid-July of 1981, mid-August of 1982, late-July of 1983, early-August of 1984 and late-August of 1985. The total number of alate aphids caught was highest in 1985. The aphids were first found on the leaf of kidney bean plants in early July. The peak numbers of aphids on kidney bean plants were observed in early and late-July of 1981 and late-July and late-August of 1982. The total number of aphids on kidney bean plants was extremely large in 1982.

Spread of the virus within a field increased in late-August with naturally infected plants scattered at random in a field. The number of infected plants increased rapidly in late-August in the Iburi district. In one field, the number of infected plants increased approximately 20-fold in

late-August as compared to late-July.

Systemic insecticides and chemicals sprayed on plant foliage were applied to prevent virus infection. Insecticide treatments were effective in reducing the population of aphids on kidney bean plants but not in preventing virus infection.

3) Soybean dwarf virus (SDV)

Kidney bean plants infected with SDV showed chlorosis and yellowing on the leaves. Severely infected plants became entirely yellowing. Necrotic patches appeared on the older leaves and black sooty filamentous fungus sometimes adhered to them.

The virus was purified from soybean plants systemically infected with dwarf strain of SDV. Yields up to 0.6 mg/kg leaf tissue were obtained. An antiserum giving a ring interface test of 1/2,048 was obtained.

ELISA was applied to detect the virus. The optimum concentration of γ -globulin for coating of the wells was 1 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$, and the optimum dilution of enzyme-antibody conjugate was 1/800. The dwarf and yellowing strains of SDV were detectable in concentrations up to 16 ng/m ℓ in purified preparations and 1/250 in leaf extracts of diseased soybean plants. There was no appreciable difference in ELISA values between diseased leaf extracts of the two strains of SDV.

SDV was widely distributed throughout Hokkaido and was largely detected in white clovers in Tokachi and Hidaka districts and in red clovers in Abashiri district.

Explanation of plates

Plate I

Kidney bean plants showing mosaic caused by BCMV.

1. Kidney bean cv. Ohfuku.
2. " cv. Toramame.
3. " cv. Kintoki.
4. " cv. Tebou.
5. Primary leaf from a infected seed of kidney bean cv. Kintoki.

Plate II

Kidney bean plants showing necrosis caused by CYVV.

1. Kidney bean cv. Ohfuku.
2. " cv. Toramame.
3. " cv. Kintoki.
4. " cv. Tebou.
5. Pods of kidney bean cv. Ohfuku.

Plate III

Kidney bean plants showing mosaic caused by BYMV-O(ordinary strain).

1. Kidney bean cv. Ohfuku.
2. " cv. Toramame.
3. " cv. Kintoki.

Plate IV

Kidney bean plants showing interveinal yellowing caused by SDV-Y(yellowing strain).

1. Kidney bean cv. Toramame.
2. " cv. Kintoki.

Plate V

Electron micrograph of virus particles from purified preparation negatively stained in 2% phosphotungstate. The bar represents 300 nm.

1. BCMV
2. CYVV
3. SDV-D

Plate VI

1. Electron micrograph of BCMV particles from extract of infected seeds mixed with BCMV antiserum. The flexuous particles were decorated with antibody. The bar represents 300

nm.

2. Electron micrograph of a mixture from purified preparation of BCMV and CYVV mixed with BCMV antiserum. Only the BCMV particles were decorated with antibody. The bar represents 300 nm.

Plate VII

Immunodiffusion tests in agar gel diffusion plates containing lithium 3, 5-diiodosalicylate using antisera and purified preparations of BCMV, BYMV and CYVV. Peripheral wells contain purified preparations of BCMV, CYVV and the following isolates of BYMV for all tests: A=CYVV, B=BYMV-No. 102 isolate obtained from red clover, C=BYMV-No. 121 isolate obtained from kidney bean, D=BYMV-S isolate obtained from broad bean, E=BCMV and F=0.01 M phosphate buffer. Center wells (a) contain undiluted whole antisera: 1=CYVV antiserum, 2=BYMV-S antiserum and 3=BCMV antiserum.