る体系と稲作の全期間に有機リン系薬剤を1回のみ使用し他は非有機リン系薬剤を使用した体系の防除効果は高く、また両体系の差は認められなかった。以上のことから、有機リン系薬剤に対する耐性菌対策について一応の成果をあげることができた。しかし、近年稚苗移植水稻が普及するにつれ、第1表の無散布区にみられるように、穂いもちの発生が成熟末期の10月にはいつてから進展する傾向があり、耐性菌対策のための防除薬剤の検討のみならず、穂いもちに対する防除適期の再検討もしていく必要があるものと思われる。

摘 要

1. 1981年度に佐賀県内の穂いもちが多発した水田から分離したイネいもち病菌について、IBP, IPT 剤に対する MIC を測定したところ IBP, IPT に対して高い耐性を示す菌株の発生がうかがわれた。
2. 1982年度は現地対策試験を行った水田の穂いもち、穂いもちから分離した菌株について、菌糸伸長阻止率による IBP 剤に対する薬剤耐性を検定したところ、穂いもち、穂いもちの両時期に分離した菌株ともに IBP に

対して高い薬剤耐性を示した。

3. 高密度に IBP 剤に対する薬剤耐性菌の発生している水田で育苗期施薬による穂いもちに対する防除試験を行ったところ、IPT 粒剤は移植後35日をすぎると穂いもちが急激に進展したが、トリシクラゾール粒剤、プロベナゾール粒剤は移植後50~60日後でも十分な防除効果が認められた。

4. 穂いもちに対する体系防除による対策試験の結果、有機リン系薬剤のみによる体系の防除効果は劣り、非有機リン系薬剤による体系もしくは稲作の全期間をつうじて有機リン系薬剤を1回のみ使用し、他は非有機リン系薬剤を使用した体系は防除効果が高かった。

引 用 文 献

- 1) 郷直俊・矢尾板恒雄・青柳和雄・大崎 正雄・池田 宇一・桜井寿 (1977) 北陸病虫研報 25: 58-60.
- 2) 飯島章彦・寺沢 租・安坂茂芳 (1981) 同上 29: 68-71.
- 3) 三浦春夫・伊藤弘・高橋昭二 (1975) 日植病報 41: 415-417.
- 4) 中川俊昭・梅原吉広 (1980) 北陸病虫研報 29: 57-60.
- 5) 矢尾板恒雄・郷直俊・青柳和雄 (1982) 日植病報 48: 377-378.

(1983年4月30日 受領)

ダイズから分離されたインゲンモザイクウイルス-ダイズ系統

中野 正明・根岸 寛光¹⁾・岩崎 真人・新海 昭 (九州農業試験場)

Soybean strain of bean common mosaic virus isolated from soybean. Masaaki
NAKANO, Hiromitsu NEGISHI, Mabito IWASAKI and Akira SHINKAI (Kyushu national
agricultural experiment station, Chikugo, Fukuoka 833)

筆者らは、九州のダイズに発生しているウイルスについていくつかの分離株の性状を報告した⁸⁾。これらの中でダイズモザイクウイルス (SMV) に近いと考えていた分離株No.03についてさらに詳細に検討した結果、インゲンモザイクウイルス-ダイズ系統 (BCMV-S) と同定したので報告する。試験を行うにあたり、SMV 各系統の分離株及び抗血清を分譲いただいた北海道農業試験場飯塚典男氏、BCMV (北海道の分離株) とインゲン黄斑モザイクウイルス-エンドウモザイク系 (BCMV-P) の分離株及び抗血清を分譲いただいた植物ウイルス研究所土崎常男氏に御礼申しあげる。

方法及び結果

ウイルスの分離: 分離株 No.03 は、1979年福岡県筑後

市内で、巻葉・モザイク症状を呈していたダイズ株から病葉を採取し、汁液接種によってダイズ (品種: アキヨシ・ヒュウガ) で継代した後、*Chenopodium amaranticolor* の接種葉に生じた退緑斑から分離した。その後の継代はヒュウガで行った。

電子顕微鏡観察: 1~2% リンタンゲステン酸を用い DN 法で観察した結果、病葉からは長さ約 750nm、幅約 13nm のひも状ウイルス粒子が多数認められた。

汁液接種による植物の反応: 汁液接種は、1% リン酸 2 カリウム 水溶液またはリン酸緩衝液 (0.05M または 0.1M, pH 6.8~7.4) を用いカーボランダム法で行った。ダイズでの病徴は第1表に示したように、ヒュウガなどの13品種・系統では上葉に巻葉・モザイク症状を生じた。またアキヨシなどの7品種・系統では接種葉及び上葉ともにえそ斑点・葉脈えそを生じ、上葉は萎縮した。アキ

¹⁾ 現在 農蚕園芸局植物防疫課。

第1表 No.03に対するダイズの品種反応

全身感染し巻葉、モザイク症状
ヒュウガ、ホウギョク、ゴガク、アソムスメ、アソマサリ、農林4号、刈羽滝谷28号、十勝長葉、白豆、Harosoy、白鳳1号、九州66・83号
全身感染しえそ斑点、葉脈えそ、萎縮症状
アキヨシ、アキシロメ、フクユタカ、黄色秋大豆、秋大豆2号、遠四軒、奥羽3号
全身感染しない
アキセンゴク、コガネダイズ、ヒゴムスメ、オリヒメ、農林2号、ネマシラズ、奥羽13号、九州72・76・88・90号

第2表 No.03に対するインゲンマメの品種反応

全身感染しモザイク症状
つるなし金時、大正金時、丸長鶏、福粒中長、虎豆、大正白金時、マスターピース、Duked Red
全身感染しえそ症状、時に上葉枯死
改良大手亡、ケンタッキーワンダー
接種葉のみにえそ斑点、葉脈えそ
Topcrop, Idaho Refugee
接種葉、上葉ともに病徴なし
Pinto U.I. 72, Pinto U.I. 111

ヨシの幼苗期に接種した場合には、莢にもえそが入り変形した。アキセンゴクなど11品種・系統では上葉は無病徴で、ELISA⁹⁾でもウイルスは検出されなかった。インゲンマメでも第2表に示したように、品種によって反応が異なった。その他の4科20種の反応は第3表に示したが、アズキ、ツルマメ、マングビーン、フジマメ、ササゲ、レンゲ、ゴマ、*Chenopodium quinoa*の上葉にモザイク症状が認められた。*C. amaranticolor*の接種葉には退緑斑が生じることがあった。エンドウ、ソラマメ、ナンキンマメ、ジュウロクササゲなど2科10種には病徴は認められず、ELISAでも上葉からウイルスは検出されなかった。なお罹病ダイズ及びインゲンマメ（マスターピース）から得られた種子には、明瞭な褐斑が認められた。

種子伝染：汁液接種によって発病した検定植物から得られた種子を網室内に播種し、発病の有無を調査した。発芽個体数でダイズ354個体（17品種）、インゲンマメ63個体（5品種）、アズキ297個体（12品種）について、第2本葉展開時まで観察したが、種子伝染は認められなかった。

アブラムシ伝搬：ダイズアブラムシとジャガイモヒゲナガアブラムシを用い、獲得吸汁前絶食30～60分、獲得吸汁5～15分、接種吸汁15～60分で行った。獲得吸汁源としては発病したヒュウガを用い、ヒュウガ、アキヨシに株当たり2～5頭で接種した。ダイズアブラムシでは接

第3表 No.03の寄主範囲(ダイズ・インゲンマメを除く)

全身感染しモザイク症状
アズキ(12品種 ^a)、ツルマメ(2系統)、マングビーン(M7A, early elect, glossy green)、ササゲ(Black eye)、ナタマメ、フジマメ(赤花、白花)、レンゲ、ゴマ、 <i>Chenopodium quinoa</i>
接種葉のみに退緑斑
<i>C. amaranticolor</i>
接種葉のみにえそ斑点
エビスグサ
接種葉、上葉ともに病徴なし
エンドウ(絹莢三十日、グリーントップ、仏国大莢)、ソラマメ(サヌキ長莢、大粒長莢)、ジュウロクササゲ(黒種三尺)、ナンキンマメ(タチマサリ、ナカテユタカ)、スイトビー、ラジノクロパー、 <i>Phaseolus lathyroides</i> 、トマト、タバコ(ホワイタバレー)、 <i>Nicotiana glutinosa</i>

a 供試品種：大納言、岩手大納言、大館1号、大館2号、早生大粒1号、茶穀早生、栄小豆、光小豆、宝小豆、アカネダイナゴン、ハヤテショウズ、早生夏小豆

種58株のうち31株が発病、ジャガイモヒゲナガアブラムシでは接種10株のうち8株が発病し、両種による本ウイルスの伝搬が認められた。

ウイルスの純化と抗血清の作製：純化はヒュウガの罹病葉を用い、Rossの方法¹⁰⁾に準じて行った。純化試料のウイルス粒子を第1図に示した。純化ウイルスとアジ

第1図 純化ウイルス粒子(×45,000)

ュバンドとの混合液をウサギの筋肉及び皮下に1週間おきに3回、その1週間後に純化ウイルス液を静脈に1回注射を行い、力価512倍(microprecipitin法による)の抗血清を得た。

血清試験：部分純化試料を用い、0.5% 3,5-ジヨードサリチル酸リチウムを含む0.8%寒天ゲル内二重拡散法で行った。結果は第2図と第4表に示した。No.03及びBCMV抗血清に対して、No.03とBCMVの沈降帯は

第2図 二重拡散法による血清反応

左: BCMV 抗血清に対する反応 右: No. 03 抗血清に対する反応 BC: BCMV, A: SMV-A, 03: 分離株 No. 03, H: 健全

第4表 ゲル内二重拡散法による血清反応

抗血清	ウ イ ル ス				
	No.03	BCMV	SMV-A	SMV-D	BYMV-P
No.03	+	+	+	+	—
BCMV	+	+	+	+	—
SMV-A	+	+	+	+	—
SMV-D	+	+	+	+	—
BYMV-P	—	—	—	—	+

+: 同一組合せの沈降帯と融合する +*: 分枝線を生じる。—: 反応しない

融合し, No. 03と SMV (A, D 両系統), BCMV と SMV との間では分枝線を形成した。また BYMV-P 抗血清に対しては, No. 03, SMV, BCMV とともに反応は認められなかった。

考 察

ウイルス粒子の形態及びアブラムシによる非永続伝搬性から, 分離株 No. 03 は Potyvirus 群に属すると認められる。この群のウイルスで, 本邦のダイズでの発生が認められているものには SMV^{6,12)}, BYMV^{6,12)}, アズキモザイクウイルス (AzMV)²⁾ がある。また, ダイズへの寄生性が接種試験によって認められているものにナンキンマモットルウイルス (PnMV)³⁾, BCMV⁴⁾ がある。これらウイルスと寄主範囲を比較すると, No. 03 はソラマメ, エンドウ, ナンキンマメに感染が認められないことから, BYMV, PnMV とは異なると考えられる。また, BYMV とは血清的にも異なっていた。SMV, AzMV, BCMV の寄主範囲は狭く限られており, 互いに異なっていると井上³⁾ は述べているが, 分離株や品種によっては SMV がアズキに感染したり¹²⁾, BCMV がダイズに感染したりする例^{4,14)} もある。No. 03 はダイズ, アズキ, インゲンマメのいずれにもよく感染し, これら以外にも上記3ウイルスが感染する植物の多くに感染が認められる。このため SMV, AzMV, BCMV に近い

ウイルスと考えられるが, 寄主範囲だけではいずれかの判別は難しい。飯塚・柚木²⁾ がダイズから分離した AzMV も寄主範囲が広く, No. 03 に近いが, 彼らはアズキでの種子伝染性を同定の決め手とした。しかし, No. 03 はアズキでの種子伝染が認められなかったため AzMV とは同定できなかった。また, ダイズ, インゲンマメでも種子伝染は認められず, この点でも判別はできなかった。

血清的類縁関係について土崎ら¹³⁾ はマングビーンからの分離株が BCMV, AzMV, ササゲモザイクウイルス (CAMV) の沈降帯と融合し, SMV とは分枝線を形成したと報告し, これを BCMV と同定している。本試験では AzMV, CAMV との比較は行っていないが, 同様の結果であり, No. 03 は BCMV に近縁と考えられた。

以上のことと, 九州各地のダイズで発生が認められることから, 本ウイルスをインゲンモザイクウイルス-ダイズ系統 (BCMV-S) としたい。

BCMV については, 寄生性の異なる多くの系統が報告されている。特に, アメリカに存在する各種系統に対するインゲンマメ品種の反応は, Topcrop と Idaho Refugee に対して全身感染せず¹¹⁾, 本試験と同様であった。また, インゲンマメ以外の植物に寄生性が認められていない報告もあるが⁷⁾, ほとんどの系統はササゲにも感染が認められている。ダイズに全身感染した報告としては, 萩田¹⁾, 伊藤ら⁴⁾, ZAUMEYER and GOTH¹⁴⁾ の例があり, アズキへの全身感染は井上³⁾, 土崎ら¹³⁾, ZAUMEYER and GOTH¹⁴⁾ が認めている。これらの他にもレンゲ⁴⁾, フジマメ⁴⁾, ソラマメ¹⁴⁾, エビスグサ¹⁴⁾, ジュウロクササゲ¹⁴⁾, *Phaseolus lathyroides*¹⁴⁾, マングビーン^{5,13)} などに全身感染の報告がある。また, *Chenopodium amaranticolor* に局部感染する場合もある^{5,13)}。このように系統によって寄主範囲はさまざまであるが, BCMV-S はこれらの中では広い寄主範囲を持っているようである。

BCMV のインゲンマメでの種子伝染は, これまで報告されているほとんどの系統で認められているが, 現時点では BCMV-S の種子伝染は認められていない。この点については, 今後さらに検討する必要がある。また, BCMV-S は, 先に述べた AzMV²⁾ と寄主範囲に近いことや, BCMV と AzMV とが血清的に近い関係にあることが土崎ら¹³⁾ の試験から推察されることなどから, 今後 BCMV と AzMV との関係が整理された時点でその所属について再度検討する必要がある。

引用文献

- 1) 萩田孝志・仙北俊弘・小島誠・四方英四郎・村山大記 (1974) 北大邦文紀 9: 160-164.
- 2) 飯塚典男

・柚木利文 (1976) 北日本病虫研報 27: 72. 3) 井上忠男 (1968) 農学研究 52: 11-29. 4) 伊藤洋・小島誠・四方英四郎・村山大記 (1975) 北大邦文紀 9: 165-175. 5) KAISER, W. J. and MOSSAHEBI, G. H. (1974) Phytopathology 64: 1209-1214. 6) 越水幸男・飯塚典男 (1963) 東北農試研報 27: 1-103. 7) 村山大記・四方英四郎・小島誠・仙北俊弘・梶原一義・上田一郎 (1974) 北大邦文紀 9: 155-159. 8) 中野正明・岩崎真人・新海昭 (1980) 九病虫研会報 26: 31-33. 9) 根岸寛光・岩崎真人・中野正明・新

海昭 (1983) 同上 29: 9-12. 10) Ross, J. P. (1967) Phytopathology 57: 465-467. 11) SILBERNAGEL, M. J. (1969) 同上 59: 1809-1812. 12) 高橋幸吉・田中敏夫・飯田格・津田保昭 (1980) 東北農試研報 62: 1-130. 13) 土崎常男・岩木満朗・THONGMEEARKOM, P., SARINDU, N. and DEEMA, N. (1982) 日植病報 48: 130 (講要). 14) ZAUMEYER, W. J. and GOTH, R. W. (1964) Phytopathology 54: 1378-1385.

(1983年5月6日 受領)

酵素結合抗体法によるインゲンモザイクウイルス-ダイズ系統 及びダイズモザイクウイルスの検出

根岸 寛光¹⁾・岩崎 真人・中野 正明・新海 昭 (九州農業試験場)

Detection of soybean strain of bean common mosaic virus and soybean mosaic virus by ELISA. Hiromitsu NEGISHI, Mabito IWASAKI, Masaaki NAKANO and Akira SHINKAI (Kyushu National Agricultural Experiment Station, Chikugo, Fukuoka 833)

筆者らは、九州地域におけるダイズウイルス病の発生生態について研究しているが、そのためには多数の野外試料を検定する必要がある。そこで、本報ではダイズモザイクウイルス (SMV) 及びインゲンモザイクウイルス-ダイズ系統 (BCMV-S)⁵⁾ の両抗血清を利用して ELISA による両ウイルスの検出を試みた。

本研究を行うにあたり、九州大学農学部岩井 久氏から SMV-B 抗血清、北海道農業試験場飯塚典男氏から SMV-A 及び D 系統、植物ウイルス研究所土崎常男氏から 4 種のウイルスを分譲して頂いた。各氏に感謝の意を表する。

材料及び方法

抗原試料: BCMV-S (分離株 No. 03) と SMV-A 及び D はダイズ (品種ヒュウガ) に、BCMV 及びインゲン黄斑モザイクウイルス (BYMV) はインゲンマメ (つるなし金時)、アズキモザイクウイルス (AzMV) はアズキ (岩手大納言)、ササゲモザイクウイルス (CAMV) はササゲ (Black eye) にそれぞれ接種し、発病したモザイク葉を抗原として供試した。また、各健全葉を対照とした。

ELISA: 抗体及び酵素結合抗体の作製並びに各溶液のマイクロプレート (CK 223-24, 三光純薬) への処理方法は、特記しないかぎり CLARK and ADAMS¹⁾ に従っ

た。また、プレートの再使用はしなかった。各溶液処理後のウェルの洗浄については、まずプレートを振って内溶液をほぼ空にし、さらに弾力のある台に置いたペーパータオル上にプレートを強く叩きつけて完全に除去した。ついで、洗浄ピンを用いて各ウェルに PBS-Tween をあふれるほど注ぎ、上述のように除去した。基質液は各ウェルに 0.2ml 入れ、室温で約 2 時間反応させた。反応停止後の試料は、水で 4 倍に希釈して水に対する吸光度 (A_{405}) を測定した。なお、1 試料あたり 2 ウェルの反復を行った。使用した抗血清は、BCMV-S 及び SMV-B の抗血清で、力価はマイクロプリシピン法でそれぞれ 512 倍と 256 倍であった。

結果及び考察

BCMV-S 抗血清を用いた ELISA (BC 系と略)

抗体及び酵素結合抗体の濃度: 抗体濃度 1.25~10 µg/ml の 4 段階と酵素結合抗体 100~1,600 倍の 5 段階を組合せて、BCMV-S 発病葉と健全ダイズ葉を抗原として反応を調べた。抗体及び酵素結合抗体ともに高濃度ほど病葉で高い吸光度が認められたが、健全葉でも若干の反応が認められた。また、抗体より酵素結合体の濃度段階による影響が大きかった。抗体濃度 2.5 µg/ml の場合での酵素結合抗体濃度の吸光度に及ぼす影響を第 1 図に示した。反応が肉眼で容易に判定でき、なるべく少量の抗体及び酵素結合抗体を用いることが望しいので、抗体 2.5

¹⁾ 現在 農林水産省農蚕園芸局植物防疫課