

四国地域におけるソラマメのウイルス病の発生状況

笹谷孝英・山本孝稀*・小金澤碩城
(四国農業試験場・* 中国農業試験場)

Incidence and distribution of virus diseases of faba bean (*Vicia faba*) plants in Shikoku island

By Takahide SASAYA, Takashi YAMAMOTO* and Hiroki KOGANEZAWA (Shikoku National Agricultural Experiment Station, 1-3-1 Senyu-cho Zentsuji, Kagawa 765; Chugoku National Agricultural Experiment Station)

In total 168 fields of faba bean (*Vicia faba*) plants from 66 towns in Shikoku island were surveyed for virus infection, and 130 faba bean plants with symptoms that indicated virus infection were collected at random from the fields. Viruses from these plants were detected on the basis of particle morphology, differential hosts, and serology. Broad bean necrosis virus was found in 10 samples, broad bean wilt virus in 12 samples, bean yellow mosaic virus (BYMV) in 78 samples, clover yellow vein virus (CYVV) in 10 samples, and watermelon mosaic virus2 in 2 samples of the faba bean plants examined. Ten viruses couldn't be identified on these basis. No virus was recovered from 21 samples of the faba bean plants although they exhibited viral-like symptoms. Of the 109 naturally infected faba bean plants examined, 97 were found to contain only one virus, however 12 were found to contain more than two viruses.

To make clear the prevalence of BYMV and CYVV, all the faba bean plants in three fields, which had the different planting density, were checked for the infection of BYMV and CYVV using DAS-ELISA. All the plants have been infected with BYMV until the harvest, whereas 2-8% of the faba bean plants have been infected with CYVV, and BYMV appeared to prevail more rapidly in the dense planting field than in the sparse planting field.

緒 言

ソラマメは冬作物として四国の多くの地域で栽培されており、特に、瀬戸内海沿岸の愛媛県や香川県では古くから栽培されている。また、瀬戸内海の島々では種子生産のための原種圃場も多く存在しており、ソラマメ種子が全国向けに多く生産されている。しかし、これらのソラマメにモザイクやえそ症状といったウイルス病特有の症状が発生し問題となってきている。特に春先から収穫期にかけて、えそ症状をともなった激しいモザイクを示すソラ

マメ株が多く見られるようになり、多発生の圃場では収穫が皆無となることもある。このようなウイルス病の発生は四国地域のみならず、東北地方でも報告されており、東北地方の太平洋沿岸ではウイルス病によりソラマメ栽培が不可能となっているところも出ている(御子柴ら, 1991; 中村ら, 1991)。また、インゲンマメ黄斑モザイクウイルス(BYMV)のように種子伝染性のウイルスもあり(Sasaya *et al.*, 1993)、四国地域のソラマメに発生するウイルス病の調査を行い、ウイルス病発生の実態を把握する必要がある。

本研究では四国地域のソラマメに発生するウイルス病の調査を行い、病原ウイルスの検出を試みた。また、普通寺市周辺の3圃場についてBYMVとクロロバ葉脈黄化ウイルス (CYVV) についての時期別発生状況を調査した。

材料および方法

1. ウイルス病発生状況調査と標本の採集

ウイルス病発生状況の調査および標本の採集は1990年の4月～5月と1991年3月～5月に行った。調査地はソラマメを多く栽培している瀬戸内海沿岸を中心に、66市町村の168圃場について行った(第1図)。また、標本の採集はウイルス症状を示したソラマメ130株を無作為にサンプリングし、 -80°C で凍結保存し、病原ウイルスの検出に供試した。



第1図 四国地域のソラマメのウイルス病発生状況調査地点

2. 病原ウイルスの検出

ウイルスの検出は電子顕微鏡によるウイルス粒子の観察、検定植物の反応およびDAS-ELISAによる血清反応の3種類で行った。

(1) ウイルス粒子の観察

サンプル葉を2% リンタングステン酸 ($\text{pH}7.0$) によりダイレクトネガティブ染色し、電子顕微鏡 (JEM-1200EX) を用いてウイルス粒子形態を観察した。

(2) 検定植物の反応

検定植物にはソラマメ (陵西一寸), エンドウ (30日絹莢, ウイスコンシン=パーフェクション), インゲンマメ (本金時), *Nicotiana glutinosa*, ペポカボチャ (ラージポンキン), *Chenopodium amaranticolor* を用い、サンプル葉を10倍量の0.1Mリン酸緩衝液 ($\text{pH}7.2$) で磨碎し、カーボラ

ングムを用いて汁液接種した。なお、接種試験は 20°C ～ 25°C に調整した温度制御温室で行い、時期を変え2回以上接種試験を繰り返した。また、電子顕微鏡観察で棒状ウイルスの観察されたものは 15°C 以下の温室で接種試験を行った。

(3) DAS-ELISAによる血清試験

ELISAは二重抗体法により、BYMV 90-2 (笹谷ら, 1993), CYVV 90-1 (笹谷ら, 1994), BBNV 91-4, WMV2-9 (M) (山本ら, 1984), ZYMV-42ZY (岩崎ら, 1988), CMV-42CM (岩崎ら, 1988) の抗血清を用いた。 γ -グロブリンのコーティングは 37°C で4時間、抗原液はソラマメ粗汁液をPBST (10mM リン酸緩衝液, $\text{pH}7.2$, 0.15M NaCl, 0.05% Tween-20) で500倍希釈したものを、 4°C で一晩、標識抗体の処理は 37°C で4時間行った。また、 γ -グロブリンと標識抗体の希釈濃度はそれぞれ、BYMV 90-2が $2.5 \mu\text{g/ml}$ と $1/400$ 希釈、BBNV 91-4は $1.0 \mu\text{g/ml}$ と $1/800$ 希釈、CYVV 90-1, WMV2-9 (M), ZYMV-42ZYおよびCMV-42CMは $1.0 \mu\text{g/ml}$ と $1/400$ 希釈とした。

3. BYMVおよびCYVVの時期別発生状況

1991年11月～1992年5月まで普通寺市近郊の3圃場 (圃場A: 普通寺市木徳室ノ辻, 圃場B: 普通寺市北西山, 圃場C: 綾歌町岡田下) においてBYMVとCYVVの発生状況を時期別に調査した。調査した3圃場とも栽培品種はお多福で、10月上旬に種子を播種し、10月中旬に圃場定植、5月下旬に収穫を行った。なお、栽培期間中はアブラムシ防除のための農薬は散布しなかった。栽培株数は圃場Aが174株、圃場Bが145株、圃場Cが194株であった。また、各圃場で栽植密度が異なり、圃場Aでは畦幅を1.1m、株間を0.3mと密植状態で栽培しており、圃場Bは畦幅を1.3m、株間を0.6m (標準的な栽植密度)、圃場Cは畦幅を3.0m、株間を1.0mと粗植状態で栽培されていた。調査は11月下旬より1ヶ月ごとに4月までの6回 (11月27日, 12月26日, 1月20日, 2月26日, 3月28日および4月27日) と収穫前の5月12日の計7回行い、ウイルス症状を示したすべての株の病葉をサンプリングし、BYMV 90-2あるいはCYVV 90-1の抗血清を用いたDAS-ELISAにより、BYMVおよびCYVV感染の有無を確認した。また、無病徴感染の有無を知るために12月26日, 2月26日と5月12日の計

3回圃場内全株について、BYMV90-20あるいはCYVV90-1抗血清を用いた、DAS-ELISA検定を行いウイルス感染の有無を調査した。

結 果

1. ウイルス症状を示したソラマメ株の発生状況

四国地域の168圃場についてウイルス症状の発生状況を調査した(第1表)。ソラマメ圃場が比較的多く存在している香川県や愛媛県の瀬戸内海沿岸の圃場では、ウイルス症状の発生が多く、70%以上の株がウイルス症状を示している圃場が半数以上を示していた。一方、ソラマメの栽培が多くない徳島県や高知県の圃場では、ウイルス症状はあまり発生しておらず、多発生の圃場はほとんど観察されなかった。また、ウイルス症状を示した株が全く観察されなかった圃場は9圃場で、そのうち7圃場は高知県の圃場であった(第1表)。

2. 病原ウイルスの検出

ウイルス症状を示したソラマメからの病原ウイ

ルスの検出状況を第2表に示した。ウイルス症状を示した130株中109株でウイルスが検出され、BBNVが10株、BBWVが12株、BYMVが78株、CYVVが10株、WMV2が2株であった。特にBYMVの検出が多く、ウイルス症状を示した株の

第1表 四国地域のソラマメのウイルス症状株の発生状況

	ウイルス症状株の発生状況 ^{a)}				調査圃場数
	なし	少	中	多	
香川県	0	8	10	43	61
愛媛県	1	26	6	16	49
徳島県	1	18	3	0	22
高知県	7	21	4	4	36
合 計	9	73	23	63	168

a) 多は圃場中70%以上の株がウイルス症状を示していた圃場, 中は40%以上70%未満の株が症状を示していた圃場, 少は40%未満が症状を示していた圃場, なしは症状を示した株の観察されなかった圃場。

第2表 四国地域のソラマメから検出されたウイルス

粒子の形態	検 定 植 物 の 反 応 ^{a)}							血清反応 ^{b)}	検出ウイルス ^{c)}	
	ソラマメ	エンドウ(30)	エンドウ(WP)	インゲンマメ	C.amaranticolor	ペポカボチャ	N.glutinosa		ウイルス	検出数
棒状	M, N ^{d)}	M, N	M, N	-	CS, NS	-	-	BBNV	BBNV	4
球状	M	M, (N)	M	(CS)	NS, (M)	-	CS, (M)	-	BBWV	7
ひも状	M	M	-	(CS), (M)	CS, (M)	-	-	BYMV	BYMV	68
ひも状	N	N	-	N	NS, (N)	NS	-	CYVV	CYVV	8
ひも状	M	M, N	M	-	CS	M	-	WMV2	WMV2	1
球状	M	M, N	M	-	NS, (M)	-	-	-	不明	4
ひも状	NS, (M)	(M), (N)	-	(M)	(CS), (NS)	-	-	-	不明	5
棒状+球状	M, N	M, N	M, N	-	M	-	CS	BBNV	BBNV+BBWV	1
棒状+ひも状	M, (N)	M, (N)	M, (N)	-	CS	-	-	BBNV+BYMV	BBNV+BYMV	3
棒状+ひも状	M, N	M, N	M, N	-	NS	-	-	BBNV	BBNV+ 不明	1
球状+ひも状	M	M, (N)	M	CS, (M)	M	-	M	BYMV	BBWV+BYMV	3
ひも状	N	N	-	N	NS, (N)	NS	-	BYMV+CYVV	BYMV+CYVV	2
ひも状	M	M	M	-	CS	M	-	BYMV+WMV2	BYMV+WMV2	1
棒状+球状+ひも状	M, N	M, N	M, N	-	CS	-	CS	BBNV+BYMV	BBNV+BBWV+BYMV	1
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21
合 計									130	

a) 検定植物のエンドウ(30)およびエンドウ(WP)はそれぞれエンドウの品種30日絹莢およびウイスコンシンパーフェクションを示した。

b) 血清反応はBBNV, BYMV, CYVV, CMV, WMV2あるいはZYMVの抗血清を用いたDAS-ELISAによった。

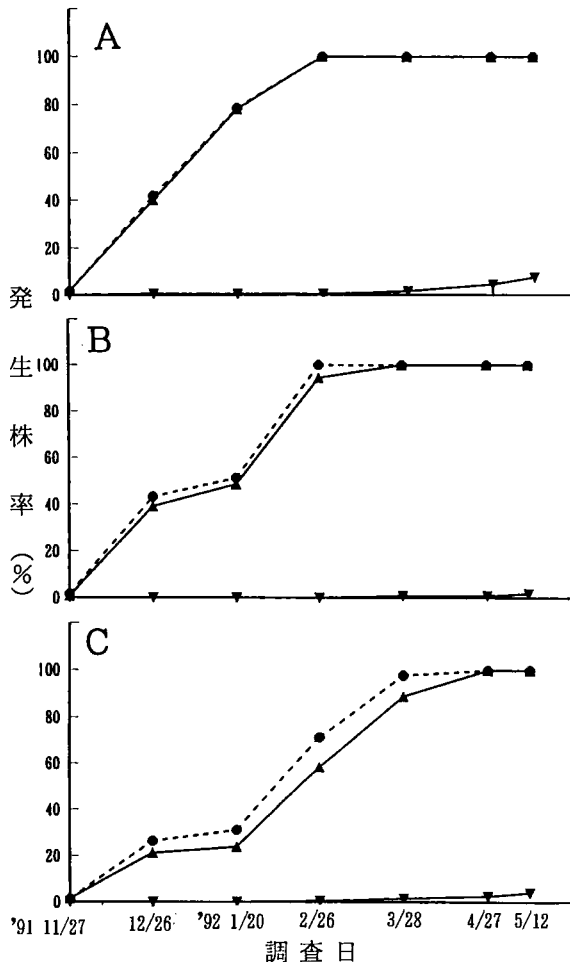
c) 検出されたウイルスはソラマメえそモザイクウイルス(BBNV), ソラマメウルトウイルス(BBWV), インゲンマメ黄斑モザイクウイルス(BYMV), クローバ葉脈黄化ウイルス(CYVV), カボチャモザイクウイルス-2(WMV2)であった。

d) 検定植物の反応はCSは退緑斑点, Mはモザイク, Nはえそ症状, NSはえそ斑点, ()はときには発生, -は病徴なしを示した。

60%以上の株から検出された。単独感染は97株であったが、2種以上のウイルスが複合感染していたものは12株で単独感染の割合が多かった。また、電子顕微鏡観察あるいは検定植物の反応でウイルス感染は確認されたが、ウイルス種を診断できなかったものが10株あった。

3. BYMVおよびCYVVの時期別発生状況

今回の調査で発生が顕著であったBYMVと、BYMVと近縁で性状の似ているCYVVについて、時期別発生状況を知るため、普通寺周辺の3圃場でのウイルス発生を調査し、ウイルス症状を示している株についてはDAS-ELISAによりBYMVあるいはCYVV感染の有無を検定した(第2図)。定植1カ月後の11月27日の調査において、すでに圃場Aの3株、圃場Bの1株、圃場Cの3株でBYMV感染が確認され、圃場Aは2月26日、圃場Bは3月28日、圃場Cは4月27日までに圃場内すべてのソラマメでBYMV感染が確認された。一方、CYVVも調査3圃場とも発生が確認されたが、その発生株率は10パーセント以下であった。次に、時期を変えて3回、無病徴株を含めた圃場内のソラマメ全株についてDAS-ELISAによりBYMVとCYVV感染の有無を調査した(第3表)。12月26日の調査では、密植栽培の圃場Aで174株中127株(73%)でBYMVの感染が確認された。このうちでウイルス症状を示したソラマメの96%でBYMV感染が確認され、無病徴株の56%からもBYMVが検出された。一方、粗植栽培の圃場Cでは194株中52株(27%)でBYMVの感染が確認され、ウイルス症状を示した株の80%で、無病徴株の8%でBYMVが検出された。また、栽植密度が圃場Aと圃場Cの中間の圃場Bでは120株中69株(58%)でBYMVが検出され、検出率は圃場Aと圃場Bの間であった。2月26日の調査では圃場Aではすべての株からBYMVが検出されたが、圃場Bは111株中105株(95%)、圃場Cでは193株中121株(63%)でBYMVが検出された。収穫前の5月12日の調査では、調査圃場のすべての株からBYMVが検出された。一方、CYVVは12月26日の調査では、圃場Aの1株でのみ検出され、5月12日の調査でも調査した3圃場すべてで検出されたが、その検出率は2~8%であった。また、全調査期間を通じて、CYVVは無病徴株からは検出されなかった。



第2図 農家圃場におけるBYMVおよびCYVVによるウイルス症状の時期別発生状況

Aは普通寺市木徳室ノ辻, Bは普通寺市北西山, Cは綾歌町岡田下の農家圃場。

---●--- はウイルス症発生株率, —▲— はBYMV感染株率, —▼— はCYVV感染株率を示した。

考 察

日本のソラマメにはBYMV, ソラマメウイルストウイルス (BBWV), クローバ葉脈黄化ウイルス (CYVV), エンドウ種子伝染モザイクウイルス (PSbMV), カボチャモザイクウイルス2 (WMV2), アルファルファモザイクウイルス (AMV), ソラマメえそモザイクウイルス (BBNV), レンゲ萎縮ウイルス (MDV), クローバ萎黄ウイルス (CIYV), キュウリモザイクウイルス (CMV), ソラマメ黄色

第3表 DAS-ELISAによる圃場ソラマメからのBYMVとCYVVの検出

調査日	調査圃場 ^{a)}	調査数	ウイルス症株 ^{b)}			無病徴株 ^{c)}		
			BYMV 検出	CYVV 検出	検出されず	BYMV 検出	CYVV 検出	検出されず
'91-12-26	圃場 A	174	70(96)	1 (1)	3 (4)	57(56)	0 (0)	44(44)
	圃場 B	120	47(90)	0 (0)	5(10)	22(32)	0 (0)	46(68)
	圃場 C	194	41(80)	0 (0)	10(20)	11 (8)	0 (0)	132(92)
'92- 2-26	圃場 A	174	174(100)	1 (1)	0 (0)	0	0	0
	圃場 B	111	105(95)	0 (0)	6 (5)	0 (0)	0 (0)	6(100)
	圃場 C	193	113(82)	1 (1)	25(18)	8(15)	0 (0)	47(85)
5-12	圃場 A	174	174(100)	13 (8)	0 (0)	0	0	0
	圃場 B	111	111(100)	2 (2)	0 (0)	0	0	0
	圃場 C	193	193(100)	8 (4)	0 (0)	0	0	0

a) 圃場 A は普通寺市木徳室ノ辻, 圃場 B は普通寺市北西山, 圃場 C は綾歌町岡田下.

b) ウイルス症状を示した株の中で BYMV の検出されたものの株数, CYVV の検出されたものの株数, 両ウイルスとも検出されなかったものの株数を示し, カッコ内はウイルス症状を示した株に対するそれぞれの割合を示した.

c) 無病徴の株の中で BYMV の検出されたものの株数, CYVV の検出されたものの株数, 両ウイルスとも検出されなかったものの株数を示し, カッコ内は無病徴株に対するそれぞれの割合を示した.

輪紋ウイルス (BBYRV), ソラマメ葉脈黄化ウイルス (BBYVV) の発生が確認されている (大木, 1992). 今回の調査では四国地域のソラマメには BBNV, BBWV, BYMV, CYVV および WMV2 の発生が確認され, 特に BYMV の発生が顕著であった. また, 普通寺市近郊の 3 圃場における調査においても, ウイルス症状を示したソラマメの 80% 以上で BYMV 感染が確認されたことより, 当地域でのソラマメのウイルス病は BYMV によるものが大多数であることが明らかとなった.

BYMV は低率ではあるがソラマメで種子伝染し, 種子伝染により BYMV 感染したソラマメが圃場内に持ち込まれ, それらが 1 次伝染源となることが明らかとなっている (Sasaya *et al.*, 1993). 普通寺市近郊の 3 つの圃場における 11 月 27 日の調査で数パーセントではあるが BYMV の感染が確認されたが, これらの株は第 1 葉からウイルス特有のモザイク症状を示している点より, 種子伝染により圃場内に持ち込まれたものであると考えられた. これら種子伝染した BYMV が 1 次伝染源となり, その後の圃場内での BYMV 蔓延に寄与したものと推定された. 一方, BYMV とかなり近縁で性状の似ている CYVV (Barnett *et al.*, 1985; Barnett *et al.*, 1987; Jones *et al.*, 1977) は BYMV より宿主

範囲が広く, 多くのマメ科雑草に感染している (奥田ら, 1992) にも関わらず BYMV ほど蔓延しなかったのは, CYVV はソラマメにおいて種子伝染が確認されておらず, BYMV のように 1 次伝染源となる CYVV が圃場内に持ち込まれ難かったためであると推察された.

アブラムシなどで非永続伝搬されるウイルスの蔓延速度と栽培植物の栽植密度とは密接な関係があることが報告されている. Jones (1993) は BYMV とルーピンにおいて, 粗植栽培した方が密植栽培したルーピンより BYMV の蔓延が速いことを示した. 氏は BYMV 感染したルーピンは数週間で枯死してしまい 2 次伝染源として圃場内の他の健全なルーピンに伝染せず, 主な伝染源は飛来アブラムシであること, ならびに, 密植栽培ではルーピンによる被度が高くなり, 飛来アブラムシを誘引しなくなるためであると推察した. しかし, 今回の実験ではソラマメの栽植密度が高いほど BYMV の蔓延速度は速く, 12 月 26 日の調査で栽植密度の高い圃場 A の 174 株中 127 株 (73%) で BYMV 感染が確認されたが, 栽植密度の低い圃場 C では 194 株中 52 株 (27%), 圃場 B は圃場 A と圃場 C の中間の 120 株中 69 株 (58%) で BYMV 感染が確認され, 圃場 A は 2 月 26 日, 圃場 B は 3 月 28 日, そして, 圃場 C

は4月27日の調査で圃場内すべての株がBYMV感染していたことが確認された。このことはBYMV感染したソラマメは枯死してしまうことはなく2次伝染源となり、圃場内のアブラムシにより容易に他の健全ソラマメに伝搬されていく点、ルーピンに比べソラマメの被度は低く、しかもBYMVの感染はソラマメ栽培の初期に起こり、ソラマメの被度が低いときにBYMV感染してしまう点であると考えられた。また、Jayasenaら(1984)はソラマメにおけるBYMVの伝搬について圃場内のアブラムシにより7週間内にBYMV感染株から1m四方の株に効率よく伝染してしまうことを示しており、以上の点より、ソラマメ圃場では粗植栽培よりは密植栽培の方がBYMV蔓延しやすいと考えられた。また、今回調査を行った3圃場ともアブラムシの防除を行なわなかったことが、ウイルス蔓延に大きく寄与したと考えられた。

今回低率ではあったがソラマメにおいてWMV2の発生が確認され、WMV2はウリ類のウイルスとして有名であり、キュウリをはじめとした多くのウリ科作物に被害を及ぼしている。WMV2の越冬植物としてソラマメは重要な役割を演じていると言われており(山本ら, 1984)、今回の調査でもソラマメはWMV2の越冬植物であることが再確認された。

摘 要

四国地域の66市町村の168ソラマメ圃場についてウイルス病の発生を調査した。それらの圃場の中からウイルス症状を示したソラマメ株を無作為に130株サンプリングし、電子顕微鏡観察、検定植物の反応および血清反応により病原ウイルスを検定した。ウイルス症状を示した130株中109株でウイルスが検出され、BBNVが10株、BBWVが12株、BYMVが78株、CYVVが10株、WMV2が2株であった。単独感染していたものは97株であり、2種以上のウイルスが複合感染していたものは12株で、複合感染よりは単独感染のものの方が多かった。次に、今回の調査で発生の多く確認されたBYMVと、BYMVと近縁なCYVVについて農家圃場での時期別発生状況を明らかとするために、ソラマメの栽植密度の異なる3圃場で、DAS-ELISAを用いてBYMVとCYVVの発生を調査した。その結果、収穫前までに圃場内の全株がBYMVに感染してしま

ったが、CYVV感染した株は圃場内の2~8%であった。また、BYMVの蔓延速度は密植栽培された圃場の方が粗植栽培された圃場より速い傾向がうかがわれた。

引用文献

- Barnett, O.W., McLaughlin, M.R., Baum, R. H., Burrows, P.M. and Scott, S.W.(1985): Differentiation of potyviruses of the bean yellow mosaic subgroup. *Acta Hort.*, 164 : 209~216.
- 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.
- 岩崎真人・稲葉忠興(1988):カボチャ台接ぎ木キュウリの萎凋株から分離されたキュウリモザイクウイルスおよびズッキーニ黄斑モザイクウイルス。四国植防,23 : 61~71.
- 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.
- Jones, R.A.C.(1993) : Effects of cereal borders, admixture with cereals and plant density on the spread of bean yellow mosaic potyvirus into narrow-leaved lupins (*Lupinus angustifolius*). *Ann. appl. Biol.*, 122 : 501~518.
- Jones, R. T. and Diachun, S. (1977): Serologically and biologically distinct bean yellow mosaic virus strains. *Phytopathology*, 67 : 831~838.
- 御子柴義郎・藤沢一郎・本多健一郎(1991):やませ地帯の春まきソラマメウイルス防除試験。北日本病虫研報,42 : 57~60.
- 中村茂雄・本蔵良三(1991):宮城県内で発生したソラマメえそモザイク症の病原ウイルス。北日本病虫研報,42 : 53~54.
- 大木 理(1992):日本に発生する植物ウイルス一覧。植物防疫,特別増刊号, : 1~16.

- 奥田誠一・長谷川睦己・夏秋知英・梶 和彦・
夏秋啓子・寺中理明 (1992) : 福島県で発生し
たインゲンマメつる枯病の病原ウイルス(クロー
バ葉脈黄化ウイルス) について. 日植病報, 58 :
298~304.
- Sasaya, T., Iwasaki, M. and Yamamoto, T.
(1993) : Seed transmission of bean
yellow mosaic virus in broad bean (*Vicia
faba*). Ann. Phytopath. Soc. Japan, 59 :
559~562.
- 笹谷孝英・岩崎真人・山本孝彜 (1993) : ソラマメ
より分離されたインゲンマメ黄斑モザイクウイ
ルス (BYMV) の性状と栽培条件の違いが種子
伝染率におよぼす影響. 四国植防, 28 : 15~22.
- 笹谷孝英・岩崎真人・山本孝彜 (1994) : ソラマメ
より分離されたクローバ葉脈黄化ウイルス
(CYVV) の性状. 四国植防, 29 : 7~15.
- 山本孝彜・石井正義・勝部利弘・大畑貫一 (1984) :
カボチャモザイクウイルスの伝染病学的研究. 四
国農試報告, 44 : 26~140.