

## 山口県のダイズに発生するウイルス病の病原ウイルス

亀谷 満朗<sup>1)</sup>・村上 公朗<sup>1)</sup>・谷口 晃弘<sup>1)</sup>・板倉 秋子<sup>1)</sup>・中尾 圭一<sup>1)</sup>

・鍛冶原 寛<sup>2)</sup>・井上 興<sup>3)</sup>・伊藤 真一<sup>1)</sup>・田中 秀平<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 山口大学農学部・<sup>2)</sup> 山口県農業試験場・<sup>3)</sup> 山口県徳山農林事務所)

**Viruses isolated from soybean in Yamaguchi prefecture.** Mitsuro Kameya-Iwaki<sup>1)</sup>, Kimiaki Murakami<sup>1)</sup>, Akihiro Taniguchi<sup>1)</sup>, Akiko Itakura<sup>1)</sup>, Keiichi Nakao<sup>1)</sup>, Hiroshi Kajihara<sup>2)</sup>, Takashi Inoue<sup>3)</sup>, Shin-ichi Ito<sup>1)</sup> and Shuhei Tanaka<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup> Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Yoshida, Yamaguchi 753 - 8515, Japan <sup>2)</sup> Yamaguchi Agricultural Experimental Station, Oouchi-Mihori, Yamaguchi 753-0214, Japan <sup>3)</sup> Tokuyama Agriculture & Forestry Office, Mouri, Tokuyama 745-0004, Japan

**Key words:** causal viruses, soybean, virus diseases

### 緒 言

ダイズは植物性タンパク質源作物として世界的に広く栽培されており、日本においてもそのまま食用として用いるほか、味噌、醤油、豆腐、納豆などの加工食品の原料として用いられている。また、水田転換作物などとして栽培されるとともに、国産ダイズの需要の増大から栽培面積がやや増大している。

このダイズにウイルス病が発生し、収量の減少のほか褐斑粒などを生じて商品価値を低下させている。病原ウイルスとしては、「日本植物病名目録」(日本植物病理学会編, 2000)によれば、わが国においては13種類程度知られているが、中でもダイズモザイクウイルス (SMV)、ダイズわい化ウイルス、アルファルファモザイクウイルス、ラッカセイわい化ウイルス (PSV) などの発生が多い。

山口県においてダイズは中部、北部などにおいて広く栽培されており、栽培面積はやや増大している。ダイズについては種子生産体制もあり、一般的にはウイルス病の発生は少なくなっていると思われるが、地域によってはかなり多く見られる。

そこで、山口県のダイズに発生するウイルスを調査し、その防除対策の確立に資することを目的として、1997、1998年に主なダイズ栽培地である美東町、阿東町、福栄村などで病株を採集し、それらの病原ウイルスの分離と同定を行った。

### 材料及び方法

供試植物はガラス室で育成し、定期的に殺虫剤を散布してアブラムシなどの発生を防いだ。

汁液接種は0.1% 2-メルカプトエタノール添加0.05M リン酸緩衝液 (PB, pH7.0) とカーボランダムを用いた常法によって行った。

ウイルスの分離は *Chenopodium quinoa* での局部病斑分離で行ったが、S97-12については局部病斑植物がないため2頭のアブラムシで伝搬した株を用いた。

供試アブラムシは実験室内の健全コカブで飼育したモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) とササゲ上で飼育したマメアブラムシ (*Aphis craccivora*) を用いた。アブラムシ伝搬試験は獲得吸汁前絶食を2時間、獲得吸汁時間を10分間、接種吸汁を1回目に2時間、2回目に1夜、3回目に24時間とした。接種吸汁後殺虫剤を散布し、ガラス室で病徴を観察した。

血清試験は寒天ゲル拡散法、SDS 寒天ゲル拡散法、免疫電子顕微鏡法によって行った。用いた抗血清のうち、*Peanut stunt virus* 抗血清は果樹研究所 吉田幸二氏、*Bean common mosaic virus* 抗血清は果樹研究所 中野正明氏、*Bean yellow mosaic virus* (BYMV) 抗血清は中央農業総合研究センター 本田要八郎氏より分譲されたものである。寒天ゲル拡散法において用いた寒天ゲルの組成は0.01 M PB (pH 7.0), 0.02% NaN<sub>3</sub>, 0.001 M EDTA, 0.85% NaCl, 1% agar であった。また、SDS 寒天ゲル拡散法においては0.01 M PB (pH 7.0) に0.8% noble agar, 0.5% SDS, 1.0% NaN<sub>3</sub> を溶かした寒天ゲルを用い、抗原としては病葉に10倍量の3% SDS を加え、磨砕し、100℃で5分間熱湯処理したものをを用いた。

### 結 果

1997、1998年に山口県の主なダイズ栽培地である阿東町、福栄村、美東町、旭村、鹿野町、油谷町などを調査

した。これらの地域においてウイルス症状を示すもののがかなりあったが、とくに阿東町徳佐、福栄村、美東町で多かった。病徴としては、モザイク、斑紋や細かい縮葉を示すものが多かった。2年間で70株を採集し、数種検定植物に汁液接種し、病徴のタイプによりグループ分けした。代表的な株の反応を第1表に示した。これらから分離されたウイルスの宿主範囲、伝染方法、粗汁液中の安定性、粒子の形態、血清学的類縁関係について調べたところ、S97-11は *Peanut stunt virus* (PSV)、S97-12

は *Soybean mosaic virus* (SMV)、S97-21は *Bean common mosaic virus* soybean strain (BCMV-S)、S98-43は *Bean common mosaic virus* blackeye cowpea mosaic strain (BCMV-B) と同定された。

#### *Peanut stunt virus*

S97-11株はモザイクと軽い縮葉症状を示していた。ウイルスは *C. quinoa* での局部病斑分離を3回繰り返し、S97-11-1として以下の実験を行った。

第1表 数種検定植物に対する接種試験

ダイズ病株	<i>C. quinoa</i>	ダイズ (鶴の子)	ダイズ (奥原早生)	インゲンマメ (本金時)	ササゲ (黒種三尺)	タバコ (KY-57)	<i>N. glutinosa</i>
S97-11	L	VC, M	M	M	L, M	L, M	M
S97-12	-	VC	M	M	-	-	-
S97-21	L	M	M	M	-	-	-
S98-43	L	M	M	M	M	-	-

L: 局部病斑, VC: 葉脈透化, M: モザイク, -: 無病徴

第2表 4種ウイルスの宿主範囲

科名	種名	S97-11-1	S97-12-1	S97-21-1	S98-43-1
アカザ	フダンソウ	L/-	-/-	-/-	-/-
	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	L/-	-/-	L/-	L/-
	<i>C. quinoa</i>	L/-	-/-	L/-	L/-
	ハウレンソウ	L/s	-/-	L/-	-/-
ヒユ	センニチコウ	-/M	-/-	-/-	l/-
	ツルナ	L/-	-/-	l/-	l/s
アブラナ	コカブ (金町)	-/-	-/-	-/-	-/-
	コマツナ (丸葉)	-/-	-/-	-/-	-/-
	ハクサイ (野崎春蒔1号)	l/-	-/-	-/-	-/-
	ダイコン (亀戸)	-/-	-/-	-/-	-/-
マメ	ダイズ (鶴の子)	-/M	-/M	-/M	-/M
	ダイズ (奥原早生)	-/-	-/M	-/M	-/M
	インゲンマメ (トップクローブ)	L/M	l/-	l/-	-/-
	インゲンマメ (本金時)	L/M	-/M	L/M	L/M
	エンドウ (三十日絹莢)	-/M	-/-	l/-	-/-
	ソラマメ (早生)	L/M	-/-	l/-	l/s
	ササゲ (黒種三尺)	L/M	-/-	-/-	-/M
ナス	ラッカセイ	l/s	*	-/-	l/-
	ピーマン (京波)	-/M	-/-	-/-	-/-
	ダチュラ	-/M	*	-/-	-/-
	トマト (福寿2号)	l/-	-/-	-/-	-/-
	<i>N. glutinosa</i>	-/M	-/-	-/-	-/-
	タバコ (KY-57)	L/M	-/-	l/-	l/-
ウリ	バチュニア	-/M	*	l/-	l/-
	スイカ	-/-	-/-	*	*
	メロン (アールス)	l/-	-/-	*	*
	シロウリ (東京早生)	-/-	-/-	-/-	-/-
	キュウリ (落合節成)	l/-	-/-	-/-	-/-
	カボチャ (芳香青皮栗)	L/-	l/-	-/-	-/-
キク	ユウガオ	l/-	*	*	*
	キンセンカ	l/-	-/-	*	-/-
	ジニア	l/-	-/-	-/-	-/-

L: 局部病斑, M: モザイク, l: 接種葉における無病徴感染, s: 上葉における無病徴感染, -: 感染が認められなかった, \*: 試験しなかった。

宿主範囲については8科30種の植物に汁液接種したところ、8科25種に感染が認められた(第2表)。多くのマメ科、ナス科植物に感染が見られた。ダイズについては、山口県で広く栽培されている4品種(オオツル、タマホマレ、ニシムスメ、アキヨシ)に接種したところ、全身感染が認められなかった。調査した圃場でのダイズ品種が不明であるが、在来品種が栽培されていた可能性がある。

アブラムシ伝搬性については、モモアカアブラムシによりインゲンマメからインゲンマメに半永続的に、タバコからタバコへは非永続的に容易に伝搬された。種子伝染については、ダイズ(鶴の子)では認められなかったが、インゲンマメ(トップクropp、本金時)ではそれぞれ18%、3%の伝染が認められた。

粗汁液中の安定性について、インゲンマメ(本金時)のモザイク病葉を用いて *C. quinoa* で検定したところ、不活化温度は60~70℃(10分間)、希釈限界は $10^{-3}$ ~ $10^{-5}$ 、保存限界は室温で21~28日であった。

タバコ(KY-57)の病葉を用い、Takanami(1981)の方法にポリエチレングリコール沈澱を加えた方法により純化し、電子顕微鏡観察したところ、径約30nmの球状粒子が観察された。この純化試料を用いて寒天ゲル拡散法により *Cucumber mosaic virus*, *Tomato aspermy virus*, PSV との血清学的類縁関係を調べたところ、PSV との間に明瞭なバンドを生じた。

これらの結果から、S97-11-1をPSVと同定した。アブラムシ伝搬様式については従来の報告と一部異なるが、わが国で報告されているPSV-J(土崎1973)、PSV-Y 5(小坂1997)についても同じ試験を行ったところ、同様な結果が得られた。

### **Soybean mosaic virus**

阿東町で採集したS97-12株は斑紋症状を示していた。数種植物への接種試験において、明瞭な局部病斑植物がなかったため、罹病ダイズ上で獲得吸汁させたモモアカアブラムシを1株あたり2頭移して伝搬させ、発病した株をS97-12-1として以下の実験に用いた。

宿主範囲を調べるため8科26種の植物に汁液接種したところ、2科3種に感染が認められ、全身感染した植物はダイズとインゲンマメ(本金時)だけであった(第2表)。モモアカアブラムシにより非永続的に伝搬され、ダイズ(奥原早生)で約5%の種子伝染が認められた。

粗汁液中の安定性は、不活化温度が55~60℃(10分間)、希釈限界が $10^{-3}$ ~ $10^{-4}$ 、保存限界は14日間(室温)であった。

粒子の形態はダイレクトネガティブ染色(DN)法で観察したところ、ひも状で長さ720~730nmにピークが見られた。また、免疫電子顕微鏡法で血清学的関係を調べたところ、SMVの抗血清と明瞭な反応が見られた。

これらの結果から、S97-12-1はSMVと同定された。さらに、ダイズ4品種(十勝長葉、白豆、奥羽3号、Harosoy)の反応から、AまたはB系統と判定された。

### **Bean common mosaic virus soybean strain**

阿東町で下葉に大型の褐色病斑を生じている株を採集し、S97-21とした。数種検定植物への接種試験で *C. quinoa* に不明瞭な局部病斑を生じたので、*C. quinoa* での局部病斑分離を3回行いS97-21-1として以下の実験を行った。

宿主範囲を調べるため8科26種の植物に接種したところ、4科10種に感染が認められた(第2表)。ダイズ(鶴の子、奥原早生)ではモザイクを生じた後下葉に大型の褐色病斑を生じた。山口県の主要なダイズ品種であるアキヨシ、オオツル、タマホマレ、ニシムスメに接種したところ、アキヨシとニシムスメにモザイクとえそ斑点、オオツルにはモザイクを生じ、タマホマレには感染が認められなかった。

本ウイルスはモモアカアブラムシとマメアブラムシによりダイズからダイズへ非永続的に伝搬された。ダイズ(奥原早生、ニシムスメ)での種子伝染は認められなかった。

粗汁液中の安定性は、不活化温度が55~60℃(10分間)、希釈限界が $10^{-3}$ ~ $10^{-4}$ 、保存限界が5~7日(室温)であった。

SDS寒天ゲル拡散法により血清学的関係を調べたところ、BCMV-S. *Peanut stripe virus* (PStV)、SMVに対する抗血清との間に沈降帯が見られ、SMVとの間にはスパーが認められた。BYMVに対する抗血清との間には沈降帯は見られなかった。

粒子の形態をDN法で観察したところ、ひも状粒子が観察され、長さ747nmにピークが見られた。

これらの結果から、S97-21-1を *Bean common mosaic virus soybean strain* と同定した。

### **Bean common mosaic virus blackeye cowpea mosaic strain**

旭村でモザイクを生じていた株を採集し、S98-43とした。*C. quinoa* における局部病斑分離を3回行い、S98-43-1として以下の実験を行った。

宿主範囲を調べるため8科26種の植物に接種したとこ

ろ、5科11種に感染が認められた(第2表)。これは BCMV-S とよく似ているが、ササゲに明瞭な病徴を生じる点が特徴である。

本ウイルスはササゲからササゲにモモアカアブラムシにより非永続的に伝搬された。ササゲ(黒種三尺)で約1%の種子伝染が認められた。

粗汁液中の安定性は、不活化温度が55~60℃(10分間)、希釈限界が $10^{-4}$ ~ $10^{-6}$ 、保存限界は1~3日(室温)であった。

SDS 寒天ゲル拡散法により血清学的関係を調べたところ、BCMV-S、PStV、SMV に対する抗血清との間に沈降帯を生じ、さらに SMV との間にはスパーを生じた。BYMV に対する抗血清との間には沈降帯は見られなかった。

粒子の形態を DN 法で観察したところ、ひも状粒子が観察され、長さ743nm にピークが見られた。

これらの結果から S98-43-1 を *Bean common mosaic virus* blackeye cowpea mosaic strain と同定した。

#### 考 察

山口県のダイズに発生するウイルス病について2年間調査したところ、4種類のウイルスの発生が明らかとなった。これらのうちでは SMV、BCMV-S、PSV の発生が多く、BCMV-B の発生は一部地区のみであった。今回の実験は汁液伝染可能なウイルスについて行ったが、1997年に一部地域でわい化症状のものも観察された。

近年ダイズの SMV 抵抗性品種の育成が進められ、そのような品種が広く栽培されていると思われるが、依然として SMV の発生は多い。今回検出された SMV は A または B 系統であり、特殊な系統でないため農家自身が品質などの面から従来の品種を栽培している可能性が高いと思われる。

PSV については近年西日本各地のダイズに発生していることが知られており、褐斑粒の発生率の高いこともあり、今後注意する必要がある。

BCMV-S は中野ら(1983)により九州ではじめて報告されたものであるが、山口においてもかなり広く発生している可能性がある。そして、多くは下葉に明瞭な症状を生じる程度であるが、品種によっては激しいえそを生じることがあり、新品種導入の際には注意する必要がある。

ある。

BCMV-B については最新の ICTV 報告(Berger et al. 2000)において、従来の Blackeye cowpea mosaic virus が BCMV に再分類されたことから、系統として表記した。

各地においてダイズの増産が進められているが、ウイルス病の発生により収量の低下や褐斑粒などによる商品価値の低下などが起こるため、健全な種子の生産と普及やウイルス病防除法の改善が望まれる。

#### 摘 要

山口県において、1997、1998年の2年間ダイズのウイルス病を調査し、病原ウイルスの同定を行った。ウイルス症状株70株を採集し、数種検定植物に汁液接種したところ、4グループのウイルスが検出された。それぞれについて、宿主範囲、伝染方法、粗汁液中の安定性、粒子の形態、血清学的類縁関係を調べたところ、*Peanut stunt virus*、*Soybean mosaic virus*、*Bean common mosaic virus* soybean strain、*Bean common mosaic virus* blackeye cowpea mosaic strain と同定された。これらのうち、前3種ウイルスの発生が多かった。

#### 引 用 文 献

- Berger, P.H. et al. (2000) Potyviridae. In Virus Taxonomy (van Regenmortel et al. eds.) pp. 703-724. Academic Press, New York.
- 小坂能尚(1997). ダイズウイルス病の病原ウイルスと防除法に関する研究. 京都府農業研究所研究報告 20: 1-100.
- 中野正明・根岸寛光・岩崎真人・新海昭(1983) インゲンマメモザイクウイルス-ダイズ系統. 九州病害虫研究会報 29: 6-9.
- Takanami, Y. (1981) A striking change in symptoms on cucumber mosaic virus-infected tobacco plants induced by a satellite RNA. Virology 109: 120-126.
- 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.
- 日本植物病理学会編日本植物病名目録(2000) ダイズ. 日本植物防疫協会, p. 30.

(2003年3月12日受領; 5月14日受理)