

東洋ランに発生するウイルスの検索・同定

近藤 秀樹・前田 孚憲・光畑 興二・井上 成信

Detection of the Viruses Occurring in Oriental *Cymbidium* in Japan

Hideki KONDO, Takanori MAEDA, Koji MITSUHATA
and Narinobu INOUE

A survey of virus diseases occurring in Oriental *Cymbidium* collected from a commercial nursery and home garden in Japan was conducted in 1991-1994. Identification of the viruses was based on particle morphology, symptomatology in indicator plants, ultrastructure of infected cells and serology.

Four viruses, odontoglossum ringspot tobamovirus (ORSV), cymbidium mosaic potexvirus (CyMV), orchid fleck virus (OFV) and a previously undescribed spherical virus, were found in 27 out of 37 *Cymbidium* plants tested. ORSV was detected from 11 plants belonging to *Cym. ensifolium*, *Cym. forrestii*, *Cym. goeringii*, *Cym. kanran*, *Cym. koran*, *Cym. sinense* and *Cymbidium* spp. showing chlorotic streaks and/or mild mosaic. CyMV was isolated from only one plant of *Cymbidium* sp. showing mosaic and necrotic spots on leaves. In negatively stained dip preparations from plants infected with ORSV and CyMV, rod shaped particles of ca. 310 nm and flexuous rod-shaped ca. 475 nm in length were observed, respectively. The viruses were reacted strongly with respective antiserum to each virus in immunosorbent electron microscopy and indirect ELISA. OFV was isolated from four plants of *Cym. formosanum*, *Cym. kanran*, *Cym. sinense* and *Cymbidium* sp. showing mosaic and necrotic flecks. The virus had non-enveloped, bullet-shaped particles about 40×120~150 nm in dip preparation. The undescribed spherical virus, ca. 28 nm diameter, was isolated from 11 plants of *Cym. forrestii*, *Cym. goeringii* and *Cymbidium* spp. showing stunting and chlorotic streaks on newly developed leaves. The virus

was mechanically transmitted only to *Cymbidium* orchids. Previously, we designated it as cymbidium chlorotic mosaic sobemovirus (CyCMV) (Kondo *et al.*, 1994), as the virus was considered to be a new member of the genus *Sobemovirus*.

Key words : Oriental *Cymbidium*, *Odontoglossum* ringspot tobamovirus, *Cymbidium* mosaic potexvirus, Orchid fleck virus, *Cymbidium* chlorotic mosaic sobemovirus.

緒 言

温帯性シンビジウム (temperate *Cymbidium*) は東洋ラン (Oriental *Cymbidium*, Oriental Orchid) と呼ばれ、広く親しまれている重要な花卉園芸作物の一種であるが、他のラン科植物と同様ウイルス病の発生が多く認められ、その被害が問題となっている (井上 1984, 1990)。東洋ランには主に花を觀賞する品種 (花物) だけではなく、葉の色彩や形の変化を觀賞する柄物と呼ばれる多くの品種が存在する。このため、東洋ランでは、ウイルスにより生じる花の病徴だけではなく、葉における病徴もその觀賞価値を大きく落とすことから、栽培上問題となっている。東洋ランは日本と中国の温帯から亜熱帯地域原産のシンビジウム (*Cymbidium*) であり、洋ランのシンビジウムとは種を異にしている。また、東洋ランは人工実生や成長点培養による繁殖が困難なことから、洋ランのシンビジウムのようにウイルスフリー苗の大量供給には至っておらず、繁殖は主として株分けによって行われている。さらに、その栽培様式も洋ランとは異なっていることから、東洋ランに発生するウイルスの種類やその発生様式は洋ランとは大きく異なることが考えられる。

わが国では、これまでに東洋ランの病原ウイルスとして、オドントグロッサムリングスポットウイルス (odontoglossum ringspot tobamovirus : ORSV), シンビジウムモザイクウイルス (cymbidium mosaic potexvirus : CyMV), ランえそ斑紋ウイルス (orchid fleck virus : OFV), シュンラン退緑斑ウイルス (cymbidium chlorotic mosaic sobemovirus : CyCMV), シンビジウム微斑モザイクウイルス (cymbidium mild mosaic carmovirus : CyMMV) の発生が報告されている (井上 1984, 1990, 近藤ら 1992, 1994, 1995, Chang *et al.* 1978)。東洋ランのウイルス病を防除するためには、まず病原ウイルスの発生生態を明らかにする必要があるが、これまでにこのような研究はほとんどなされていなかった。

著者らは、東洋ランにおけるウイルス病の発生状況を明らかにするため、1991~1994年にかけて、山口県ならびに岡山県下を中心にウイルスに罹病していると考えられる東洋ランを37株採集し、それぞれにつきウイルス検定を行った。その結果、ORSV, CyMV, OFV ならびに球状ウイルスが分離された。球状ウイルスは既に著者らがソベモウイルス属 (genus *Sobemovirus*) の新ウイルスとして報告している CyCMV であった (近藤ら 1994, Kondo *et al.* 1994)。本報告はこれら東洋ランにおけるウイルス病の発生調査の結果を取り纏めたものである。

本研究を行うに当たりウイルス罹病株の採集に御協力戴いた元山口大学農学部田原望武氏に謝意を表す。

材料および方法

ウイルス病の調査

1991～1994年にかけて山口県、岡山県、鹿児島県、茨城県下で採集した、葉にウイルス様症状を呈した東洋ラン37株をウイルス検定の対象とした。採集した東洋ランの種の内訳はスルガラン (*Cymbidium ensifolium*) 3株、イトラン (*Cym. formosanum*) 1株、シナシュンラン (*Cym. forrestii*) 4株、シュンラン (*Cym. goeringii*) 8株、カンラン (*Cym. kanran*) 4株、コラン (*Cym. koran*) 3株、ハウサイラン (*Cym. sinense*) 2株ならびに種が不明なものが12株であった。

ウイルスの検定方法

汁液接種 供試植物の育成および汁液接種はすべてガラス温室内(16～25°C)で行った。汁液接種は通常病葉を0.05 M リン酸緩衝液(pH 7.0)中で磨碎し、カーボラダムを用いる常法により行った。

電顕観察 ダイレクトネガティブ染色(DN)法によるウイルス粒子の電子顕微鏡(日立 H-7100B)観察は2%リンタングステン酸(PTA, pH 7.0)で染色した試料について行った。またウイルス粒子が確認できなかった標本については、前処理として標本の葉の細片を2%四酸化オスミウム溶液内で磨碎することによりウイルス粒子の固定を行った。この汁液をグリッドに取り、風乾後2%酢酸ウラニルにより逆染色を行って電顕観察した。感染植物の超薄切片は、まず病葉細片を6%グルタルアルデヒドと1%四酸化オスミウムで二重固定し、エタノールシリーズで脱水後、エポキシ樹脂に包埋、重合したものをLKB Ultratomeでガラスナイフを用い作製した。得られた超薄切片を酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色し、電顕観察を行った。

血清反応試験 ORSVならびにCyMVの検定は血清反応試験により行った。血清反応試験には当研究室保存のORSV Cy-1分離株(Inouye 1966)、CyMV Cy-16分離株(Inouye 1968)の抗血清または精製したIgGを用いた。免疫電顕法はMilne and Luisoni (1977)の方法に準じて行った。検定する標本葉を磨碎後、汁液をメッシュ上に取り、風乾後抗血清(それぞれの抗血清は100～200倍希釈して用いた)と37°Cで30分間反応させ電顕観察を行った。酵素結合抗体法(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)の間接法はKoenig (1981)の方法に準じて行った。IgGの濃度は1～2 μg/ml、酵素標識抗体(コンジュゲート、アフィニティー精製ALP標識抗ウサギIgG-ヤギ抗体)は3,000倍希釈で用いた。

結 果

1. 病原ウイルスの同定

ウイルス症状を呈した東洋ラン37株から病原ウイルスの分離・同定を試みたところ、ORSV, CyMV, OFV とソベモウイルス属の新ウイルスであるシュンラン退緑斑ウイルス(CyCMV)の4種が検出された。ここではこれら4ウイルスの同定実験(宿主範囲と病徴、ウイルス粒子の形態、血清反応試験、感染細胞内のウイルス粒子の存在様式)の結果について述べる。

オドントグロッサムリングスポットウイルス (ORSV)

1) 宿主範囲と病徴：山口県下で採集した葉に退緑条斑を示すコラン (*Cym. koran*; 高嶺の花) を接種源として、7科12種の検定植物に汁液接種した。洋ラン系のシンビジウム (*Cymbidium*: cv. Kenny "Wine Color") では全身感染し、特に新葉では明瞭な退緑条斑を呈した (Plate I-1)。その他の検定植物では Table 1 に示したように *Nicotiana benthamiana*, *Nicotiana clelandii* に全身感染し、*Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, フダンソウ (*Beta vulgaris*), センニチコウ (*Gomphrena globosa*), タバコ (*Nicotiana tabacum*), ツルナ (*Tetragonia expansa*) に局部病斑を形成した。しかし *Datura stramonium*, ササゲ (*Vigna unguiculata*), ゴマ (*Sesamum indicum*) には感染しなかった。

Table 1. Host reactions of four viruses isolated from cultivated Oriental *Cymbidium* plants

Test plant	ORSV	CyMV	OFV	CyCMV
<i>Beta vulgaris</i>	cs/-	+/-	cs/mo, cs	-/-
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	ns, nrs/-	cs, gs/-	cs/-	-/-
<i>Chenopodium quinoa</i>	ns, nrs/-	cs, gs/-	cs/mo, cs	-/-
<i>Datura stramonium</i>	-/-	ns, gs/-	-/-	-/-
<i>Gomphrena globosa</i>	ns/-	+/-	-/-	-/-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	+/+	+/-	-/-	-/-
<i>Nicotiana clelandii</i>	+ / mo	-/-	-/-	-/-
<i>Nicotiana tabacum</i>	ns, nrs/-	-/-	-/-	-/-
<i>Tetragonia expansa</i>	ns, nrs/-	cs, gs/-	cs/-	-/-
<i>Vigna unguiculata</i>	-/-	-/-	cs, ns/-	-/-
<i>Sesamum indicum</i>	-/-	cs, ns/+	-/-	-/-

Local/systemic symptoms: cs=chlorotic spot; gs=green spot; mo=mosaic; ns=necrotic spot; nrs=necrotic ringspot; +=symptomless infection; -=no infection

2) ウィルス粒子の形態：DN 法試料を電顕観察したところ、病葉からは長さ約310 nm、幅約18 nm の棒状ウィルス粒子が認められた (Plate I-5a)。

3) 血清反応試験：ORSV 抗血清を用いた病葉の免疫電顕法では、ウィルス粒子の周辺に抗体の付着が観察された (Plate I-6)。

4) 感染細胞内のウィルス粒子の存在様式：ツルナ葉の感染細胞の超薄切片像では細胞質内に散在あるいは集塊した多数のウィルス粒子が認められた。また粒子が層状に結晶配列した像も観察された (Plate II-1)。

以上宿主範囲と病徴、ウィルス粒子の形態、血清反応試験などの結果よりコランから分離されたウィルスは ORSV と同定された。

シンビジウムモザイクウイルス (CyMV)

1) 宿主範囲と病徴：山口県で採集した葉にえそをとともなうモザイク症状を示す東洋ランのシンビジウム (*Cymbidium* sp.; 赤芽素心) を接種源にして7科12種の検定植物に汁液接種した。洋ラン系のシンビジウム (Kenny "Wine Color") にはモザイク症状を示した (Plate I-2)。また Table 1 に示したようにゴマに全身感染し、*C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *D.*

stramonium, ツルナに局部病斑を形成し、センニチコウ, *N. benthamiana*, フダンソウに無病徴で局部感染した。しかし、ササゲ, タバコ, *N. clevelandii*には感染しなかった。

2) ウイルス粒子の形態：病葉を DN 法で電顕観察したところ、長さ約475 nm, 幅約13 nm のひも状ウイルス粒子が多数検出された (Plate I-5b)。

3) 血清反応試験：CyMV 抗血清を用いた病葉の免疫電顕法では、ウイルス粒子の周辺に抗体の付着が観察された (Plate I-7)。

4) 感染細胞内のウイルス粒子の存在様式：シンビジウム病葉の感染細胞の細胞質内にはウイルス粒子の集塊が認められた (Plate II-2)。

以上宿主範囲と病徴、ウイルス粒子の形態、血清反応試験などの結果より東洋ランから分離された粒子長さ約475 nm のウイルスは CyMV であると同定された。

ランえぞ斑紋ウイルス (OFV)

1) 宿主範囲と病徴：岡山県で採集した葉に紡錘形や長形の軽い退緑斑紋症状を示すカンラン (*Cym. kanran*; 白鷺) を接種源にして7科12種の検定植物に汁液接種した。洋ラン系のシンビジウム (Melody Fair "Marilyn Monroe") に原株と同様の退緑斑紋症状を示した (Plate I-3)。また Table 1 に示したように *C. quinoa*, フダンソウに全身感染し, *C. amaranticolor*, ツルナ, ササゲに局部病斑を形成した。センニチコウ, *D. stramonium*, *N. benthamiana*, *N. clevelandii*, タバコ, ゴマなどには感染しなかった。

2) ウイルス粒子の形態：病葉汁液をオスミウム固定後酢酸ウラニルで逆染色した試料を電顕観察したところ、長さ約120~150 nm, 幅約40 nm の弾丸状粒子が観察された。また細胞由来の膜系と考えられるものに吸着した粒子の集団も観察された (Plate I-5c)。

3) 感染細胞内のウイルス粒子の存在様式：ツルナ葉の局部病斑の超薄切片像の電顕観察では、ウイルス粒子は感染細胞の核内に散在するか、あるいは集塊として認められた。また核膜間隙には、膜系に包まれた車輪状に配列した粒子の集団が多数観察された (Plate II-3)。細胞質内においても、同様な車輪状に配列した粒子の集団が観察された (Plate II-4)。

以上宿主範囲と病徴、ウイルス粒子の形態ならびに感染細胞内での所見よりカンランから分離された弾丸状ウイルスは OFV であると同定された。

シュンラン退緑斑ウイルス (CyCMV)

1) 宿主範囲と病徴：山口県で採集した新芽に退緑条斑を生じたシュンランを接種源にして7科12種の検定植物に汁液接種した。洋ラン系のシンビジウム (Melody Fair "Marilyn Monroe") では新葉に明瞭な退緑条斑 (Plate I-4) やモザイク症状が認められた。しかし Table 1 に示したように *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, フダンソウ, センニチコウ, *D. stramonium*, *N. benthamiana*, *N. clevelandii*, タバコ, ツルナ, ササゲ, ゴマには感染しなかった。

2) ウイルス粒子の形態：病葉を DN 法で電顕観察したところ、直径約28 nm の球状粒子が多数検出された (Plate I-5d)。

3) 感染細胞内のウイルス粒子の存在様式：シンビジウム病葉の退緑斑部の超薄切片像の電顕観察では、感染細胞の細胞質内、特に液胞と考えられる細胞内間隙に粒子が散在または集塊して観察された (Plate II-5, 6)。

以上宿主範囲と病徴，ウイルス粒子の形態ならびに感染細胞内での所見などの結果より，東洋ランから分離された球状ウイルスは CyCMV であると同定された。

2. 東洋ランにおけるウイルス病の発生状況

1991～1994年にかけて山口県，岡山県下などで採集した東洋ランにおけるウイルス病の発生状況を調べた。ウイルスの同定は原株の病徴，電顕観察によるウイルス粒子の検出ならびに生物検定により行った。さらに ORSV ならびに CyMV の同定には間接 ELISA 法を併用して行った。その結果，前項のウイルス同定試験で示したものを含め，調査した東洋ラン37株のうち約73%にあたる27株からウイルスが検出され，ORSV，CyMV，OFV ならびに CyCMV の4種のウイルスが同定された (Table 2)。それらのうち，ORSV はスルガラン，シナシュラン，シュラン，カンラン，コラン，ハウサイランなど合計11株から分離された。ORSV が分離された原株のほとんどは，葉に退緑斑症状やモザイク症状を示していた。特に新芽が出ているものでは明瞭な退緑条斑を示していた。また，花に軽い斑入り症状を示す株も認められた。CyMV は，葉にえそをとともなうモザイク症状を呈する東洋ラン1株からのみ分離された。OFV は葉に退緑斑紋症状を示したイトラン，カンラン，ハウサイランなど計4株から検出された。また，古い葉にえそ輪紋症状を示すものもあった。CyCMV は，新芽において明瞭な退緑条斑やモザイク症状を示す，シナシュラン，シュランなど11株から分離された。これら CyCMV が分離された東洋ランは株の生育が悪く，やや萎縮したものが多く，花芽もほとんどついていなかった。また葉における病徴は生育にともない不明瞭になった。今回検出されたこれら4種のウイルスの東洋ランにおける発生率はそれぞれ約 ORSV30%，CyMV3%，OFV11%，CyCMV30%であった。しかし，これらのウイルスによる東洋ランでの混合感染は認められなかった。また，これらの4種のウイルスによる東洋ランの花における病徴は現在試験中である。

4種のウイルスが検出された東洋ランが採集された地域は以下のとおりである。ORSV は山口市，岡山市，倉敷市，指宿市ならびに土浦市より採集したのから分離されたことから，各地に広く分布しているものと考えられた。また CyMV は山口市のみから，OFV は防府市

Table 2. Incidence of four viruses in cultivated Oriental *Cymbidium* in this survey*

Species	Virus				No. infected/ No. tested
	ORSV	CyMV	OFV	CyCMV	
<i>Cym. ensifolium</i>	2	0	0	0	2/3
<i>Cym. formosanum</i>	0	0	1	0	1/1
<i>Cym. forrestii</i>	1	0	0	1	2/4
<i>Cym. goeringii</i>	1	0	0	6	7/8
<i>Cym. kanran</i>	1	0	1	0	2/4
<i>Cym. koran</i>	1	0	0	0	1/3
<i>Cym. sinense</i>	1	0	1	0	2/2
<i>Cym. spp.</i>	4	1	1	4	10/12
Total	11	1	4	11	27/37

*The samples were tested by ELISA, bioassay and electron microscopy

ならびに岡山市のものから検出された。CyCMV は山口市、防府市、宇部市でのみ検出され、その発生は山口県下に限られていた。

考 察

現在までにラン科植物に発生する病原ウイルスは世界で約28種以上が (Zettler *et al.* 1990), またわが国では12種が報告されている (井上 1992)。このうち今回の東洋ランにおける発生調査では、ORSV, CyMV, OFV ならびに未記載のウイルスである CyCMV が検出された。

ORSV はわが国では17種 (交配種を含む) 以上のラン科植物から分離されており (井上 1992), シンビジウムにおける ORSV の発生の記載や性状についての報告はこれまでに多くなされている (Jensen and Gold 1951, Inouye 1966, 井上 1983 など)。わが国の東洋ランにおいても、ORSV の発生はこれまでいくつかの報告があるが (井上 1984, 1990, 近藤ら 1992), 台湾や韓国においても報告されている (井上・呂 1983, Park *et al.* 1990, Chang *et al.* 1991)。かつて葉にモザイク症状を呈した東洋ランは栽培者間で“金砂”と呼ばれ、非常に珍重されていたが、井上 (1984, 1990) はこれが ORSV 感染により生じた病徴であることを示している。今回の発生調査では、調べた東洋ラン37株のうち約30%にあたる11株から ORSV が分離され、また東洋ランを採集した地域のすべてからこのウイルスが分離されたことから、ORSV はわが国の東洋ランに広く発生、分布していることが示唆された。ORSV に感染していた東洋ランは生育がやや不良であり、また葉に明瞭な退色条斑やモザイク症状を呈していたことから、それらの観賞価値が著しく低下していた。特にこのウイルスが感染するとカトレアやシンビジウムでは花に斑入りを生じ、問題となるが、東洋ランでも感染株のうち数株で花に斑入り症状が認められた。

アメリカにおいてランから分離されたタバモウイルスをタバコモザイクウイルス (tobacco mosaic tobamovirus: TMV) のラン系統 (orchid strain of TMV, TMV-O) とした記載があるが (Corbett 1967, Kado *et al.* 1968, Lawson 1970 など), ORSV との異同やそれらの詳細な性質は明らかにされていない。近年, TMV-O 分離株のうちいくつかは ORSV とは異なり, TMV と近縁であることが示されている (Dore *et al.* 1987)。また, 隣国の韓国でシンビジウムから TMV が分離されたことが報告されていることから (Choi *et al.* 1993), ラン科植物には少なくとも ORSV と TMV の2種のタバモウイルスが発生していると考えられる。これまでのところ, わが国のラン科植物での TMV-O の発生は認められていないが (井上 1983, 近藤 1992), TMV はラン科植物以外の多くの植物で発生していることから, ラン科植物での TMV の発生についても今後充分注意が必要であろう。

CyMV は, ORSV とならび, ラン科植物で最も問題とされているウイルスで, わが国では37種 (交配種を含む) 以上のラン科植物から分離されている (井上 1992)。今回の発生調査では, 調査した37株のうち1株からのみ分離されたただけであった。CyMV は多くのラン科植物に明瞭なモザイク症状を引き起こすことが知られており, 特にシンビジウム (洋ラン) にはえそをとともう非常に激しいモザイクを起こすことが知られている (Inouye 1968)。東洋ランに対する CyMV の病原性は詳しくは調べられていなかったが, 今回 CyMV が分離された東洋ランの原株では, 比較的軽いえそをとともうモザイク症状が観察された。しかし, こ

の CyMV 分離株を洋ラン系のシンビジウムに接種した結果、CyMV 特有の激しい症状を引き起こさなかったことから、これまで知られている他の CyMV 分離株とは若干病原性の点で異なるものと考えられた。CyMV は ORSV と同様に感染植物体内でのウイルス濃度が非常に高く、植えかえや株分け等の作業により容易に伝搬すると考えられるにもかかわらず、ORSV と比較して CyMV の検出頻度は非常に低かった。この理由については明らかではないが、東洋ランは洋ランのシンビジウムに比較して CyMV に対する感受性が低いのかも知れない。また、今回分離された CyMV はこれまでに報告されている洋ランからの CyMV より病原性が弱かったことから、東洋ランに発生する CyMV は特有の系統であるとも考えられる。今後、東洋ランから多くの CyMV を分離しそれらの病原性を調べるとともに、洋ランを含む他のラン科植物から分離された CyMV を各種の東洋ランに接種することによりこれらの点が明らかになるとと思われる。

OFV はわが国では 6 種のラン科植物から分離されているが、ORSV、CyMV のように多種属には発生が認められていない (Chang *et al.* 1976, 井上ら 1995)。東洋ランでは、著者らがすでにその発生を記載しているが (近藤ら 1995)、今回の調査では、調べた 37 株のうち 4 株から OFV が分離された。このウイルスは汁液接種が可能であるが、汁液接種ではシンビジウムには非常にまれにしか感染しないことから、管理作業等による機械伝搬はほとんどないと考えられた。したがって OFV の伝搬には何らかの媒介虫の介在も考えられる (近藤ら 1995)。OFV 粒子は形態学的にはラブドウイルスのヌクレオキャプシドに類似しているが、ウイルスゲノムや構成タンパク質の性状は不明で、その明確な分類は行われていない (Chang *et al.* 1976, 近藤ら 1995)。諸外国では、多種属のラン科植物において、形態学的に OFV に類似したいくつかの病原ウイルスの発生が報告されている (Zettler *et al.* 1990)。しかしこれまでのところ、OFV とこれらのウイルスとの関係については明らかにされていない。一方 OFV と異なり、被膜を持つラブドウイルス科 (*Rhabdoviridae*) に属すると考えられるいくつかのウイルスの発生がシンビジウムを含むラン科植物で報告されているが (Hakkaart *et al.* 1980, Lawson and Ali 1975, Peters 1977)、このようなウイルスはまだわが国では知られていない。

上記の 3 種のウイルス以外に球状ウイルスが分離されたが、これはソベモウイルス属の新ウイルスで、筆者らが既にシュンラン退緑斑ウイルス (cymbidium chlorotic mosaic sobemovirus : CyCMV) と命名したものである (近藤ら 1994, Kondo *et al.* 1994)。これまでにシンビジウムに発生する球状ウイルスとしては、CyMMV、トマト輪点ウイルス (tomato ringspot nepovirus) (Goff and Corbet 1974)、cymbidium ringspot tombusvirus (Hollings and Stone 1963) が知られているが、CyCMV はこれらの球状ウイルスとは諸性状が明らかに異なる (近藤ら 1994, Kondo *et al.* 1994)。CyCMV はシンビジウム属植物には容易に汁液伝染するが、これまでのところ、他の数種のラン科植物や検定植物には感染が認められていない。また CyCMV は今回の調査ではその発生が山口県下に限られていたが、発生頻度が高かったことより、今後は他の地域での発生調査も行い、発生生態を調べる必要がある。

本研究では調査した東洋ランの検定株数が少なかったため、ウイルス病の発生実態の一部を解明したにすぎないが、少なくとも ORSV と CyCMV の検出率が高かったことから、東洋ランではこれらのウイルスの発生に最も注意を払う必要があると考えられる。また CyMV

や OFV も、他の多種属のラン科植物に広く発生していることから、東洋ランの病原ウイルスとして重要であると考えられる。ところで、東洋ランはわが国の山野に広く自生しているが、これまでに調べたいくつかの自生の東洋ランにはウイルス病の発生は認められていない（未発表）。また、Zettler *et al.* (1990) は16種639株の野生のラン科植物では ORSV, CyMV の発生は認められなかったことを報告している。これらのことから、多くの場合は自生ランが一旦栽培されたことにより、既に存在する他の罹病株がウイルスの伝染源となり、新たなウイルス感染が起こったと考えられる。特に ORSV や CyMV では、人為的な機械伝搬によりウイルス病が伝搬していると考えられるが、OFV, CyCMV 等ではその伝染経路が未だに不明であり、何らかの媒介者の存在が考えられる。今後ウイルス病防除の観点からこれらの伝染経路を明らかにすることが重要であると考えられる。

さらに今回は検出されなかったが、東洋ランには球状ウイルスである CyMMV の発生も報告されている (Chang *et al.* 1978)。またその他シンビジウム属植物全般ではカブモザイクウイルス (turnip mosaic potyvirus) や未同定のポチウイルス (potyvirus) の発生も報告されているが (井上 1992, Chang *et al.* 1991)、これらもまた今回の調査では検出されなかった。今後はこれらのウイルスも含め、東洋ランにおけるウイルス病の詳細な発生実態を明らかにするため、より広範な発生調査をする必要がある。また東洋ランに発生する病原ウイルスと他のラン科植物に発生する多くのウイルスやその系統との類縁関係を明確にすることも重要であると考えられる。

摘 要

1991～1994年にかけ山口県ならびに岡山県下を中心に東洋ラン (シンビジウム属) のウイルス病の発生調査を行った。ウイルス病様の症状を示していた37株の東洋ランを採集し、これらから病原ウイルスの分離、同定を試みた結果、オドントグロッサムリングスポットウイルス (ORSV)、シンビジウムモザイクウイルス (CyMV)、ランえそ斑紋ウイルス (OFV) ならびにソベモウイルス属の新ウイルスであるシュンラン退緑斑ウイルス (CyCMV) の発生が認められた。

ORSV は退緑条斑や軽いモザイク症状を示すスルガラン、カンラン、コラン、ハウサイランなどから分離された。CyMV は明瞭なえそ斑を伴うモザイクを呈した東洋ラン (品種不詳、赤芽素心) から分離された。ORSV ならびに CyMV に感染した植物の DN 法試料中には電顕観察でそれぞれ長さ約310 nm の棒状粒子と約475 nm のひも状粒子が観察され、免疫電顕法と間接 ELISA 法では、これらのウイルスはそれぞれのウイルスに対する抗血清とよく反応した。OFV は退緑斑あるいはえそ斑点を生じているイトラン、カンラン、ハウサイランなどから検出された。その粒子形態は長さ約120～150 nm、幅約40 nm の被膜のない弾丸状あるいは桿菌状であった。CyCMV は新芽に明瞭な退緑斑や退緑条斑症状を示すシナシュンラン、シュンランなどから分離された。この球状ウイルスは直径約28 nm で、シンビジウム属以外の植物には感染が認められなかった。

今回の発生調査では、東洋ランからは ORSV ならびに新ウイルスの CyCMV がもっとも多く分離され、OFV は4株から、CyMV は1株から検出された。またこれらのウイルスによる重複感染は認められなかった。

キーワード：東洋ラン，オドントグロッサムリングスポットウイルス，シンビジウムモザイクウイルス，ランエゾ斑紋ウイルス，シュンラン退緑斑ウイルス

引用文献

- Chang, M. U., Arai, K., Doi, Y. and Yora, K. 1976. Morphology and intracellular appearance of orchid fleck virus. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 42: 156-167.
- Chang, M. U., Doi, Y. and Yora, K. 1978. Isolation of cymbidium mild mosaic virus. *Korean J. Plant Protection* 17: 131-138.
- Chang, M. U., Chun, H. H., Baek, D. H. and Chung, J. D. 1991. Studies on the viruses in orchids in Korea. 1. Dendrobium mosaic virus, odontoglossum ringspot virus, orchid fleck virus, and unidentified potyvirus. *Korean J. Plant Pathol.* 7: 118-129.
- Choi, H. S., Yu, H. Y., Lee, K. H. and Kim, J. S. 1993. Tobacco mosaic virus isolated from *Cymbidium* spp. *RDA J. Agr. Sci. Crop Protection* 35: 339-348.
- Corbett, M. K. 1967. Some distinguishing characteristics of the orchid strain of tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 57: 164-172.
- Dore, I., Dekker, E. L., Porta, C. and Van Regenmortel, M. H. V. 1987. Detection by ELISA of two tobamoviruses in orchids using monoclonal antibodies. *J. Phytopathology* 20: 317-326.
- Goff, L. and Corbett, M. K. 1974. A strain of tomato ringspot virus associated with chlorotic mottle of *Cymbidium*. *Proc. Amer. Phytopath. Soc.* 1: 149 (Abstract).
- Hakkaart, F. A. and Balen, E. V. 1980. Een rhabdovirus in *Cymbidium*. *Vakblad voor de Bloemisterij* 35: 34-35.
- Holling, M. and Stone, O. M. 1963. *Cymbidium* ringspot (a previously undescribed virus). *Rep. Glasshouse Crops Res. Sta.*: 90.
- Inouye, N. 1966. A virus disease of *Cymbidium* caused by odontoglossum ringspot virus. *Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ.* 13: 149-159.
- Inouye, N. 1968. Virus disease of *Cymbidium* and *Cattleya* caused by cymbidium mosaic virus. *Ber. Ohara. Inst. landw. Biol. Okayama Univ.* 14: 161-170.
- 井上成信. 1983. *Cymbidium* から分離された odontoglossum ringspot virus の 1 系統の性質. *農学研究* 60: 53-67.
- 井上成信. 1984. 花卉植物のウイルス. *遺伝* 38: 201-214.
- 井上成信. 1990. ランの病害. *植物防疫* 44: 177-181
- 井上成信. 1992. 花卉園芸植物特にラン科植物のウイルス病に関する研究. *日植病報* 58: 505-507.
- 井上成信・呂 理榮. 1983. 台湾のラン科植物におけるウイルス病の発生調査. *農学研究* 60: 91-110.
- 井上成信・松本純一・前田孚憲・光畑興二・近藤秀樹・田原望武. 1995. エビネの新病害, 黄色斑紋モザイク病の病原ウイルス. *日植病報* 60: 785.
- Jensen, D. D. and Gold, H. A. 1951. A virus ringspot of *Odontoglossum* orchid: symptoms, transmission and electron microscopy. *Phytopathology* 41: 648-653.
- Kado, C. I., Van Regenmortel, M. H. and Knight, C. A. 1968. Studies on some strains of tobacco mosaic virus in orchids. I. Biological, chemical and serological studies. *Virology* 34: 17-24.

- Koenig, R. 1981. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant virus. *J. Gen. Virol.* 55: 53-61.
- 近藤秀樹・前田孚憲・井上成信. 1992. 東洋ラン・*Cymbidium* 属植物から分離された odontoglossum ringspot tobamovirus (ORSV) について. *岡大資生研報* 1: 21-34.
- 近藤秀樹・前田孚憲・井上成信. 1994. シュンランから分離された Sobemovirus: *Cymbidium* chlorotic mosaic virus (新称). *日植病報* 60: 396-397 (講演要旨).
- Kondo, H., Maeda, T. and Inouye, N. 1994. Some viruses isolated from Oriental *Cymbidium* in Japan. Abstracts of XXIVth International Horticultural Congress p204.
- 近藤秀樹・前田孚憲・井上成信. 1995. 東洋ラン (*Cymbidium* sp.) から分離された orchid fleck virus の性状について. *岡大資生研報* 3: 151-161.
- Lawson, R. H. 1970. Virus-induced color-breaking in *Cattleya* orchid flowers. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 39: 395-400.
- Lawson, R. H. and Ali, S. 1975. Ultrastructure of white-streaked *Dendrobium phalaenopsis* orchid flowers infected with a rhabdovirus. *J. Ultrastruct. Res.* 53: 345-353.
- Milne, R. G. and Luisoni, E. 1977. Rapid immune electron microscopy of virus preparations. *In* "Methods in Virology, Vol. 6" (Maramorosch, K. and Koprowski, H., eds.), 265-281. Academic Press, New York.
- Park, W. M., Yoon, K. E., Chung, S. Y. and Ryu, K. H. 1990. Identification of Odontoglossum ringspot virus isolated from *Cymbidium goeringii* Reichenbach in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 6: 387-392.
- Peter, K. R. 1977. Orchid viruses: a new rhabdovirus in *Laelia* red leafspots. *J. Ultrastruct. Res.* 58: 166-171.
- Zettler F. W., Ko, N. J., Wisler, G. C., Elliot, M. S. and Wong, S. M. 1990. Viruses of orchids and their control. *Plant Dis.* 74: 621-626.

Explanation of plates

Plate I.

1. Systemic symptoms induced by ORSV on *Cymbidium* (cv. Kenny "Wine Color"), showing chlorotic streak.
2. Systemic symptoms induced by CyMV on *Cymbidium* (cv. Kenny "Wine Color"), showing mosaic.
3. Systemic symptoms induced by OFV on *Cymbidium* (cv. Melody Fair "Marilyn Monroe"), showing chlorotic and necrotic flecks.
4. Systemic symptoms induced by CyCMV on *Cymbidium* (cv. Melody Fair "Marilyn Monroe"), showing chlorotic mosaic.
5. Electron micrograph of virus particles in leaf dip preparations. Bar represents 100 nm.
 - a. Rod shaped particles from ORSV infected *T. expansa* leaves.
 - b. Flexuous filamentous particle from CyMV infected *T. expansa* leaves.
 - c. Bullet-shaped particles associated with membrane system from OFV infected *T. expansa* leaves.
 - d. Isometric particles from CyCMV infected *Cymbidium goeringii* leaves.
6. Immunosorbent electron microscopy of a preparation of ORSV by treatment with ORSV Cy-1 antiserum. Bar represents 100 nm.
7. Immunosorbent electron microscopy of a preparation of CyMV by treatment with CyMV Cy-16 antiserum. Bar represents 100 nm.

Plate II.

1. Thin sections of *T. expansa* mesophyll cells infected with ORSV. Aggregate of virus particles in the cytoplasm. Bar represents 1000 nm.
2. Thin sections of *Cymbidium* leaf cells infected with CyMV. Aggregate of virus particles in the cytoplasm. Bar represents 1000 nm.
- 3, 4. Thin sections of *T. expansa* mesophyll cells infected with OFV. Virus particles surrounded by the inner nuclear membrane in the perinuclear space, forming "spoked wheel" structures and associated with the inner nuclear membrane. Bars represent 1000 nm.
- 5, 6. Thin section of leaf cell infected with CyCMV of *Cymbidium* cv. Kenny "Wine Color". Virus particles can be seen in aggregates in the vacuoles. Bars represent 1000 nm.

Plate I.

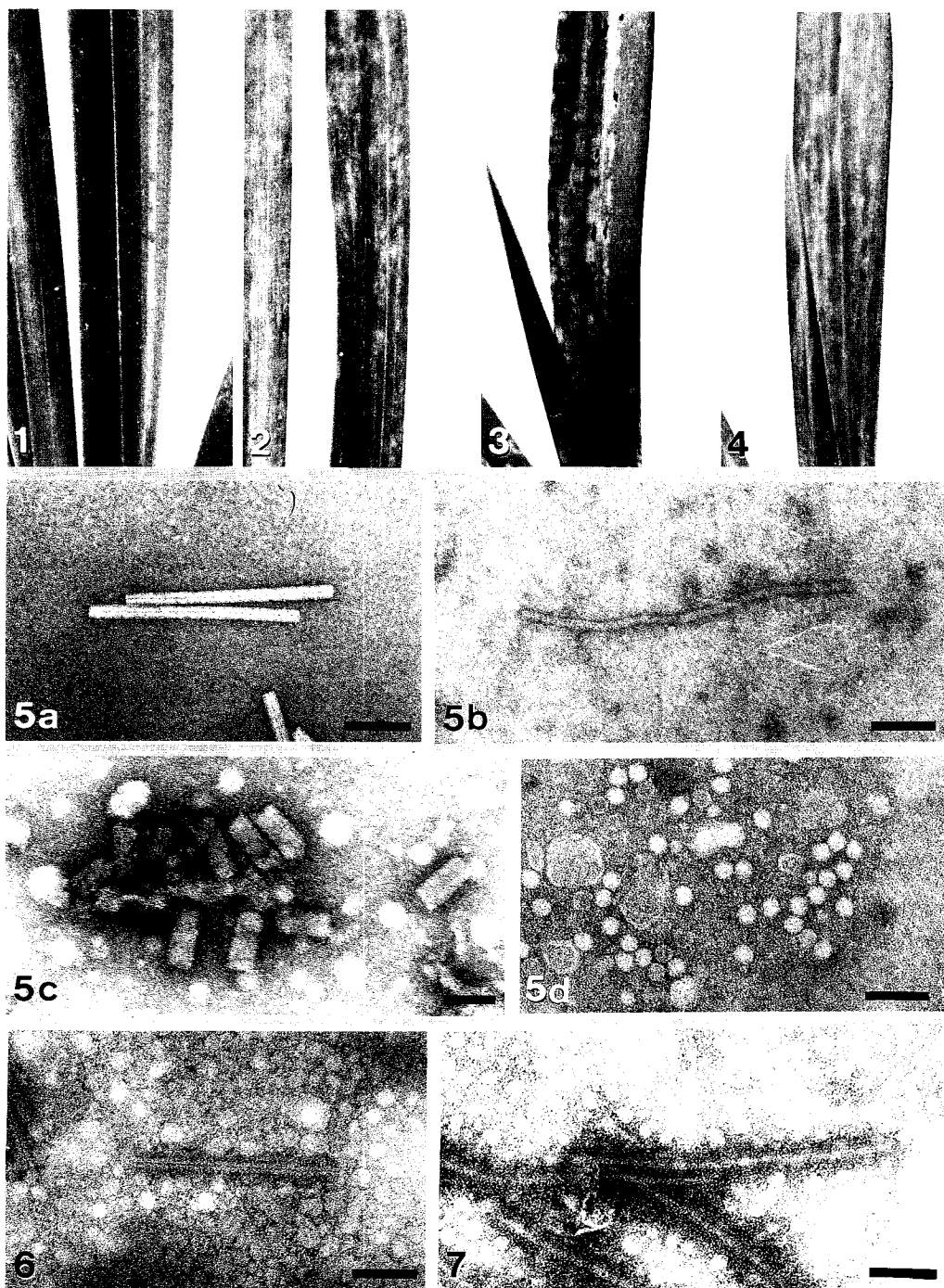


Plate II.

