

Cymbidium から分離された odontoglossum ringspot virus の 1 系統の性質

井 上 成 信

Odontoglossum ringspot virus (ORSV) は最初 Jensen & Gold (1951) によってラン科の *Odontoglossum grande* に輪紋斑点を生じたウイルスに対し命名された。その後 ORSV はラン科の多種属の植物に発生し, *Cattleya* や *Cymbidium* では花に color breaking を原因することが知られている^{12-14, 21, 28)}。わが国でも著者によってラン科植物に ORSV の発生が著しく多いことが報告された⁶⁻⁹⁾。Paul *et al.* (1955) は ORSV の寄生性, 血清反応およびウイルスたんぱくサブユニットのアミノ酸組成などの性質について調べ, ORSV は tobacco mosaic virus (TMV) と遠縁関係にあるウイルスとして判別し報告した。一方, Pérez *et al.* (1956) は花に color breaking を生じた *Cattleya* から分離したウイルスを TMV と同定し報告した。その後ラン科植物から分離された Tobamovirus 群ウイルスを TMV の orchid strain (TMV-O) と呼称した報告がある^{4, 10, 17-19, 25, 28)}。

著者はわが国のラン科植物に発生している Tobamovirus 群ウイルスを ORSV と TMV-O のいずれに判別すべきかを明らかにする目的で, 多種属のランから分離されたウイルスの同定実験を行っている。その中で1968年葉に軽い退色斑を生じた *Cymbidium* から検出されたウイルスは, 寄生性や血清反応などの諸性状から, TMV とは明らかに異なり, したがって TMV-O と同定することも適当でなく, ORSV と同定された。本 ORSV は既報の ORSV⁹⁾ と寄生性に相違がみられた。本報告は本 ORSV の同定実験の結果について述べるものである。

本論に入るに当たり, 分析用遠心分離による沈降係数の測定に際し, ご教示とご便宜を賜った当研究所鈴木幸雄教授に深甚の謝意を表す。また実験に協力された光畑興二技官に謝意を表す。

実験材料および方法

供試ウイルス 実験に用いたウイルスは1968年9月倉敷市のラン営業栽培者の温室で採集した *Cymbidium* の葉に軽いモザイク症状を示す株から分離したものである。病原ウイルスは凍結乾燥して保存し, 実験には接種した *Cattleya* の病葉汁液を供試した。TMV (普通系) および TMV-tomato 系 (TMV-To) は当研究室保存のものをを用いた。

昭和57年12月3日受理

本研究の一部は文部省科学研究費補助金, 課題番号 44801 によって行われた。

汁液接種 接種源は *Cattleya* の病葉を 0.1 M りん酸緩衝液 (pH 7.0) 中で磨砕・搾汁して調整し、汁液接種はカーボランダムを用いる常法によって行った。接種結果の判定はラン科植物では 1 年以上病徴観察し、さらに DN 法試料の電顕観察によって感染の有無を確認した。ラン科以外の植物については接種後 20~30 日までの病徴観察を行ったのち、*Chenopodium amaranticolor* とツルナに戻し接種して確かめた。さらに一部の検定植物では必要に応じて DN 法試料のウイルス粒子の有無を電顕観察することによって確かめた。

物理性 物理性試験には *Cattleya* の病葉に 0.01 M りん酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて磨砕したものをガーゼで搾汁したのち、3,000 rpm 10 分間遠心分離した上清を用いた。検定植物には *C. amaranticolor* を用いた。

血清反応法 本ウイルス抗原には汁液接種を行った罹病 *Cattleya* 葉を、TMV 抗原には罹病タバコ (White Burley) 葉を、TMV-To 抗原には罹病トマト葉を、それぞれ生理食塩水を 10 倍量加えて磨砕したものをガーゼで搾汁したのち、3,000 rpm 15 分間遠心分離した上清を供試した。抗血清は当研究室作成保存の ORSV 抗血清 (Inouye 1966)、TMV 抗血清および TMV-To 抗血清を用いた。血清反応試験は微量凝集反応法と寒天ゲル内二重拡散法とにより 35°C で行った。

ウイルスの純化 汁液接種して発病した *Cattleya* の病葉を 0.1% thioglycolic acid を含む 0.1 M りん酸緩衝液 (pH 7.0) を 2 倍量加えて磨砕しガーゼで搾汁ののち、3,000 rpm で 20 分間遠心分離した。その上清をクロロホルム (1/3 vol) で処理後、8,000 g (20 分) と 77,000 g (60 分) の分画遠心を 2 回繰返し、さらに 10~40% の蔗糖密度勾配遠心分離 (150 分) を行ってウイルスを純化した。

分析用遠心分離 本ウイルスの純化標品の沈降係数 ($S_{20,w}$) は日立分析用超遠心機 282 型、ローター RA 60 HC を用いて Schlieren の沈降速度法により求めた。ウイルス試料は純化ウイルス (0.01 M りん酸緩衝液, pH 7.0 に溶解) の濃度を 1.8 mg/ml として用いた。

電顕観察 ウイルス粒子は 2% リンタングステン酸を用いた常法の DN 法により作成した試料および純化標品につき電顕 (日立 HU-12) で観察した。感染植物の超薄切片試料は病葉の細片を 6% グルタルアルデヒドと 1% 四酸化オスミウムとで 2 重固定し、エタノール脱水後、エポン樹脂に包埋して薄切りにし、醋酸ウラニルとクエン酸鉛で 2 重染色して電顕観察を行った。

実 験 結 果

1. 自然発病 *Cymbidium* における病徴

採集時 shoot の新葉にクサビ型退色斑および他の若い葉にモザイク斑と長い退色条斑がみられた。古い成熟葉には病徴はみられなかった。採集後に伸長した若い葉にも同様のモザイク斑および長型の退色斑を生じた (Plate I, 1)。

2. 寄主範囲と病徴

13 科 45 種の植物に汁液接種を行ったところ、Table 1 に掲げたように、3 科 6 種に全身感染し、4 科 9 種に局部病斑がみられた。次の 10 科 30 種には感染しなかった：

Dendrobium, タバコ (*Nicotiana tabacum*: White Burley), *N. rustica*, *N. sylvestris*, トマト (*Lycopersicon esculentum*), キュウリ (*Cucumis sativus*), シロウリ (*C. melo* var. *Conomon*), カボチャ (*Cucurbita moschata*: 富津黒皮, 極早生小菊), ポンキン (*C. pepo*), スイカ (*Citrullus vulgaris*), トウガ (*Benincasa cerifera*), エンドウ (*Pisum sativum*), ソラマメ (*Vicia faba*), インゲン (*Phaseolus vulgaris*: 黒三度, トップク ロップ, マスターピース, 大手亡), ダルマササゲ (*Vigna catjang*), ジュウロクササゲ (*V. sesquipedalis*), アズキ (*V. angularis*), リョクトウ (*V. radiata*), ダイズ (*Glycine max*), *Cassia occidentalis*, クリムソクローバー (*Trifolium incarnatum*), レッドク ローバー (*T. pratense*), アルファルファ (*Medicago sativa*), ホウレンソウ (*Spinacia oleracea*), ゴボウ (*Arctium lappa*), シロゴマ (*Sesamum indicum*), コマツナ (*Bras sica rapa* var. *Komatsuna*), コカブ (*B. rapa*), トウモロコシ (*Zea mays*), テッポウ ヌリ (*Lilium longiflorum*).

主な感染植物における寄主反応を Table 1 に示し, またそれらの病徴を以下に記述する.

Table 1. Reaction of some species and varieties of plants to a strain of odontoglossum ringspot virus

Plant species	Symptoms	
	Inoculated leaves	Uninoculated tip leaves
<i>Cattleya</i>	RP	FCB
<i>Cymbidium</i>	mo	mo, FCB
<i>Odontoglossum</i>	N	Mo
<i>Oncidium</i>	N	mo
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Samsun	NS	—
cv. Samsun NN	NS	—
cv. White Burley	—	—
<i>N. clevelandii</i>	+	mo*
<i>N. glutinosa</i>	NS	—
<i>N. rustica</i>	—	—
<i>N. sylvestris</i>	—	—
<i>Datura stramonium</i>	NS	—
<i>Lycopersicon esculentum</i>	—	—
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	WNS, WRS	—
<i>C. quinoa</i>	WNS, WRS	—
<i>Beta vulgaris</i> var. <i>cicla</i>	NS	—
<i>Gomphrena globosa</i>	NS	—
<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. <i>Ôtebo</i>	—	—
<i>Tetragonia expansa</i>	WRS	—
<i>Zinnia elegans</i>	WRS	fcB

Mo: mosaic, mo: mild mosaic, FCB: flower color breaking, fcb: faint flower color breaking, N: necrosis, NS: necrotic spots, RP: line ring patterns, WNS: white necrotic spots, WRS: white necrotic ring spots, +: symptomless, —: no infection.

*: Virus not recovered, 1 month after inoculation, but recovered after one and a half month.

Cymbidium: 若い葉または根に接種すると、初め新しく生育した葉の下部に退色斑を生じ、のち次第に拡大ゆがみまたは伸長して幅広い明瞭な緑黄色斑となった。病斑出現葉が伸長すると、葉の下部には病斑が現われず、葉の中間部のみに病斑を生じたようになる (Plate I, 2)。温室の気温が下がる冬期 (最低 10~13°C) では退色斑の一部が赤褐色化した斑紋となった。退色斑は葉の成熟にともなって少し淡くなり、のちモザイク斑または長形退色斑となった。花卉には color breaking を生じた。

Cattleya: 接種葉に赤紫色の大きな紡錘形輪紋 (Plate I, 4) あるいは赤紫色の細い線からなる数重の輪紋を生じた (Plate I, 5)。輪紋線は次第に増加して10数重あるいは20数重になることもしばしばみられた。輪紋は葉が成熟すると淡くなり、のちめだたなくなった。全身感染し、花卉には color breaking を生じた。

Odontoglossum: 接種葉の裏面に紡錘形または円形の淡い褐色斑を生じ、のちさらにその外側に褐色斑を生じて2重になるものがあった。葉の表面には裏の病斑が葉肉表皮を透かしてみられたが、のちには褐色斑が表皮に達するものがあった。全身感染し、新葉に明瞭なモザイク斑を生じた (Plate I, 3)。

Oncidium: 接種葉では接種面と接種後伸長した面との境界附近に褐色斑点を生じた。褐色斑点は初め葉肉部に生じ、のち表皮が凹んだ1mm大のえそ斑点となった。上葉には淡いモザイク斑を生じた。

タバコ (Samsun NN): 接種葉に接種後4~5日頃0.5~0.7mm大の淡褐色の明瞭なえそ斑点を生じた (Plate I, 8)。全身感染はしなかった。一方、TMVを接種すると接種後2~3日でORSVによる斑点より大きいえそ斑点を生じた (Plate I, 9)。

Nicotiana clevelandii: 接種葉に灰白色のえそ輪点を少数生じた。全身感染したが、病斑の出現がかなり遅く、ゆるやかであった。上葉を検定植物に戻し接種すると、接種後1カ月では陰性で、1.5カ月後に陽性となり、その後新葉およびわき芽に退色斑が現われ、のち軽いモザイクとなった。葉は少し萎縮し、生育がやや不良であった (Plate I, 6)。

N. glutinosa: 接種葉に接種後4~5日目に小さなえそ斑点を生じた。全身感染はしなかった (Plate I, 7)。

Datura stramonium: 接種葉に接種後7~12日頃初め淡い緑褐色の斑点を生じ、のち淡褐色となった (Plate I, 10)。また輪点となるものもあった。病斑数はあまり多くなく、1葉当たり数個~20数個程度であった。斑点の大きさは径0.3~3.0mmで一定でなかった。古い成熟葉には局部病斑が現われにくかった。全身感染はしなかった。

ヒャクニチソウ: 接種葉に灰白色のえそ輪点を少数生じた。全身感染したが、葉に病徴がみられず、花に淡い color breaking を生じた。赤色花では濃赤色の幅1mm長さ2~3mm大の紡錘形の斑紋を生じたが、のち病斑は不明瞭となった。黄色花では病斑はみられなかった。いずれの花からも戻し接種によってウイルスは回収された。

ツルナ: 接種葉に接種後3~4日に灰白色の明瞭なえそ輪点を生じた。輪点のはのち2重になるものもあった。全身感染はしなかった。

Chenopodium amaranticolor: 接種葉に灰白色のえそ斑点ときにえそ輪点を生じた。全身感染はしなかった。

3. 物理性

罹病 *Cattleya* 葉粗汁液中での本ウイルスの不活化温度は 90~95°C (10分), 希釈限度は 1,000 万倍以上, 保存限度は 10 年以上 (20°C) であった. また著者は 1966 年 ORSV の不活化温度 (検定植物=ツルナ) を 70~75°C と報告した⁹⁾ が, 今回検定植物に *C. amaranticolor* を用いて再試験を行ったところ, 同分離株の不活化温度は 85~90°C である結果を得た.

4. ウイルスの純化

本ウイルスはクロロホルム処理, 分画遠心後, 蔗糖密度勾配遠心分離によって純化された. 純化試料には電顕観察で桿状粒子が多数認められた (Plate II, 5). 純化ウイルス標品の紫外吸収曲線は 248 nm および 268 nm にそれぞれ極小および極大吸収があり, $A_{max}/min=1.07$, $A_{260/280}=1.12$ であった (Fig. 1). さらに蔗糖密度勾配遠心分離によって生じたバンドの最も濃い部分のみを分画し (Plate II, 1-A), その試料を分析用超遠心分離によって調べた結果, 本ウイルスの沈降係数は $S_{20, w}=202$ と算出された (Plate II, 2).

5. 血清反応

(1) 微量凝集反応

ORSV 抗血清, TMV 抗血清および TMV-To 抗血清と本ウイルス (*Cattleya*), ORSV⁹⁾ (*Cattleya*), TMV (タバコ) および TMV-To (トマト) との各種組合せでの反応を微量凝集反応法で調べた. その結果を Table 2 に示した.

ORSV 抗血清は ORSV および本ウイルスといずれも 1/2048 希釈液まで反応したが, TMV では 1/8 あるいは 1/16 希釈液まで, TMV-To では 1/16 希

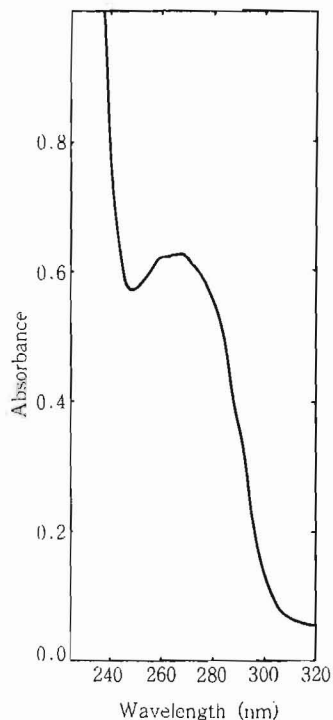


Fig. 1. Absorption spectrum of a purified ORSV preparation

Table 2. Homologous and heterologous titers of antisera

Antiserum	Antigen			
	TMV	TMV-To	ORSV	
			Cy-1	Cy-46
TMV	1/1024	1/256	1/64	1/64
TMV-To	1/128	1/512	1/8	1/8
ORSV	1/8, 1/16	1/16	1/2048	1/2048

Determined by microagglutination test.

Cy-1: Inouye 1966; Cy-46: the present virus; TMV: tobacco mosaic virus-type strain; TMV-To: TMV-tomato strain.

積液まで反応したにすぎなかった。TMV 抗血清は TMV と 1/1024 希釈液、TMV-To と 1/256 希釈液まで反応したが、ORSV および本ウイルスとは 1/64 希釈液までしか反応しなかった。TMV-To 抗血清は TMV-To と 1/512 希釈液、TMV と 1/128 希釈液まで反応したが、ORSV および本ウイルスとは 1/8 希釈液までしか反応しなかった。

(2) 寒天ゲル内拡散法

ORSV 抗血清および TMV 抗血清を用い、寒天ゲル内二重拡散法により本ウイルスおよび TMV 抗原との血清反応試験を行った。TMV 抗血清に対し TMV および本ウイルスとも反応帯を生じたが、本ウイルスの沈降帯は TMV に比べて弱く、TMV の沈降帯は長くシャープであり、また spur を生じた (Plate II, 3)。ORSV 抗血清に対し本ウイルスは明瞭な沈降帯を生じたが、TMV および TMV-To には反応帯がみられなかった (Plate II, 4)。

(3) 吸収試験

ORSV 抗血清および TMV 抗血清を homologous および heterologous なウイルスで吸収し、各吸収抗血清について交差反応を行った (Table 3)。ORSV 抗血清に対し ORSV 抗原を加えて吸収した吸収血清は ORSV および TMV と反応せず、抗体の完全吸収が認められた。一方、ORSV 抗血清に対し TMV 抗原を加えて吸収した吸収血清は TMV と

Table 3. Intragel cross-absorption tests with antisera to odontoglossum ringspot virus and tobacco mosaic virus

Antiserum	Antiserum absorbed with	Antigen	
		TMV	ORSV
ORSV	—	1/8, 1/16 ^{a)}	1/2048
	ORSV	0 ^{b)}	0
	TMV	0	1/1024
TMV	—	1/1024	1/64
	TMV	0	0
	ORSV	1/256	0

a) titer of antiserum in microagglutination tests.

b) 0: absence of reaction with antisera.

反応しなかったが、ORSV とは 1/1024 希釈液まで反応し、特異抗体の吸収による減少が著しく少ないことが認められた。TMV 抗血清に対し TMV 抗原を加えて吸収した吸収血清は TMV および ORSV と反応せず、抗体の完全吸収が認められた。一方、TMV 抗血清に対し ORSV 抗原を加えて吸収した吸収抗血清は ORSV と反応しなかったが、TMV とは 1/256 希釈液まで反応し、特異抗体の残存が認められた。

以上の血清反応の結果は ORSV と本ウイルスとは同一抗原性を有し、血清学的に同一ウイルスであることを示している。しかし ORSV および本ウイルスと TMV および TMV-To との間には互に若干の共通抗原を有しているが、多量の異種抗原を含んでいることが認められた。

6. ウイルス粒子

DN 法試料および純化標品について粒子の大きさを 1/2000 mm の grating を基準として調べたところ、本ウイルス粒子は長さ約 300 nm、幅 18 nm の直桿状であった (Plate II, 5).

7. 感染植物の超薄切片像

感染 *Cattleya* や *Cymbidium* 葉の超薄切片像には細胞質内に散在または大集塊するウイルス粒子が認められた。粒子の集塊は細胞質内に充満して結晶配列するものが認められた (Plate III, 3, 5) が、粒子の側面を現わす集塊と横断面を現わす集塊が接して並ぶ大集塊もみられた (Plate III, 5)。ウイルス粒子が空胞内に突出して膨らんだ膜に包まれて結晶配列するものが認められ、また空胞内に散在した粒子もみられた (Plate III, 4)。集塊粒子の配列はある方向性を示したが、粒子が直角の方向に配列し、また傾斜基盤目状に並ぶ構造も認められた (Plate III, 1, 2)。

考 察

Jensen & Gold (1951) や著者 (1966) によって記載された ORSV の寄生性をみると、ラン科以外の植物ではヒヤクニチソウに全身感染し、*C. amaranticolor*, *C. quinoa*, センニチコウ、ツルナおよびフダンソウに局部感染するが、タバコ、*N. glutinosa* などには感染しない^{9, 11, 15}。それら感染植物における病徴は本ウイルスによる病徴と非常によく似ているが、本ウイルスはさらに *N. clevelandii* に全身感染し、Samsun および Samsun NN タバコ、*N. glutinosa*, *D. stramonium* にも局部感染することが認められた。*N. clevelandii* に全身感染し、Samsun や *N. glutinosa* などに局部感染することは Paul *et al.* (1956) が報告した ORSV と同じであったが、その ORSV 分離株は *D. stramonium* における寄生性を異にした。ラン科植物から分離され、タバコ (Samsun) や *N. glutinosa* に局部病斑を形成するウイルスとしては ORSV 以外に TMV の orchid strain (TMV-O) が報告されている^{4, 10, 16-19}。TMV-O は Zaitlin *et al.* (1954) が *Cattleya* から分離されたウイルスに対する抗血清が TMV と反応したことを報告して以来記載がみられるようになった。Kado *et al.* (1968) は TMV-O をさらに 5 つの系統に判別し、また ORSV が TMV-O と同じウイルスである考えを示し^{16, 17}、既報 ORSV^{9, 15, 24}) を含めてラン科植物には TMV-O が 7 系統存在することを記述している。本ウイルスの寄生性は Kado *et al.*¹⁷) の判別した 5 系統の中では White Burley タバコに感染しない "02, 07" 分離系に近似し、他の 4 系統とは明らかに異なる。Corbett (1967) が報告した TMV-O の Florida 分離系は *N. glutinosa* に接種 14 日後に局部病斑を形成し、*D. stramonium* には感染しないので、この点 *N. glutinosa* に局部病斑を 4~5 日後に形成し、*D. stramonium* に局部感染する本ウイルスと異なる。また Izadpanah *et al.* (1968) が記載した TMV-O の *Cattleya* blossom necrosis strain はセンニチコウに全身感染、*Cassia occidentalis* に局部感染し、*N. glutinosa* や Samsun タバコに感染しないので本ウイルスと寄生性を著しく異にする。本ウイルスの *D. stramonium* における局部病斑は接種後 7~12 日頃に形成され、その径が一定でなく 0.3~3.0 mm であって形成数も少なかったのに対し、

TMV では接種後 2 日目に多数形成されたので、両ウイルスの局部病斑の現われ方に大きな違いがみられた。Samsun や Samsun NN タバコにおける局部病斑は本ウイルスでは灰白色の小さなえそ斑点となる (Plate I, 8) が、TMV では大きな病斑となる (Plate I, 9)。本ウイルスはまた White Burley タバコやトマトに感染しないので、それらに全身感染する TMV²⁹⁾ とは明らかに異なる。

ORSV 抗血清および TMV 抗血清を用いた homologous な組合せと heterologous な組合せによる微量凝集反応の結果では本ウイルスと ORSV との間の抗原性に差が認められず、その両ウイルス株と TMV との間にはそれぞれ特異抗体の存在が認められた。また cross absorption test においても heterologous なウイルスで吸収したそれぞれの抗血清には homologous なウイルスに対する特異抗体が多量に残存し、さらに寒天ゲル内二重拡散法による交叉反応においても TMV は本ウイルスの沈降線に対し spur が形成された。このような結果は Paul *et al.*^{23,24)} が報告した TMV 抗血清および ORSV 抗血清と TMV および ORSV との血清学的関係にみられる ORSV の性質と酷似し、本ウイルスは TMV と血清学的に一致せず遠縁関係にあることが認められた。このような血清学的関係は TMV-O と TMV との間にもみられる^{4,10)}。

本報で得られた純化標品の UV 吸収スペクトルは極小値 248 nm, 極大値 268 nm で、この値は ORSV^{23,24)} と全く同じであったが、沈降係数は 202 S と計算され、ORSV の 219 S および 212 S より低い値を示した。Corbett (1967) は TMV-O の沈降係数を、TMV の 187 S を対照に 194 S と報告している。本ウイルスの粒子の長さは 300 nm で、ORSV^{1,2,9,2-24)} と一致した。Regenmortel *et al.* (1964) はラテックス粒子を標準に ORSV の長さを測定したところ 317 nm の値となったが、この値はラテックスの収縮による結果生じたものと結論し、粒子のほんとうの長さは 300 nm であるとした。TMV-O の粒子の長さは 308 nm⁹⁾, 320 nm⁴⁾, あるいは 324 nm¹⁰⁾ と報告され、いずれも ORSV^{1,9,23,24)} や TMV^{1,29)} より長い。ウイルスの不活化温度は 90~95°C (10分) で、これは ORSV や TMV とほぼ同じであった。著者は 1966 年に ORSV⁹⁾ の不活化温度を 70~75°C と報告した (検定植物にツルナ) が、その後検定植物に *C. amaranticolor* を用いて再度実験を行ったところ、85~90°C の結果を得たので、前報 ORSV 分離株⁹⁾ の不活化温度をここに 85~90°C と訂正する。本ウイルスの保存限度は 10 年後においても病原性の低下がほとんどみられず、極めて安定であった。このことはウイルスの防除上よく認識しておかなければならない重要な事柄である。

以上のようなウイルスの諸性質から、TMV-O 系の中で、タバコに全身感染しない分離系は TMV よりもむしろ ORSV に類似しているように思われる。またそのような TMV-O と ORSV との関係にみられる寄主範囲や血清学的性質は TMV-O と TMV の普通系との間にみられるそれらの関係ほど大きな相違がみられない。TMV-O と ORSV はともにラン科植物の同じような症状を呈する株から分離されるウイルスであり、TMV-O と記載された中の分離株によっては Kado *et al.*^{16,17)} が考えるように ORSV と同一であるかもしれないが、タバコに全身感染する系統は ORSV と明らかに異なる。現在 TMV-O と ORSV との明確な判別法が示されていないので、この点を正確に論議することは困難であり、今後さらに詳細な比較研究を行った上で、納得できる判別法を示す必要があるように思う。本ウイルスは同定実験の結果が示すような諸性状から TMV²⁹⁾ と同定するこ

とには無理があり、したがって Kado *et al.*¹⁷⁾, Corbett⁴⁾ および Lawson^{18,19)} が記載した TMV-O 系統とすることも適切であるとは考えられず, Jensen & Gold¹⁵⁾ が命名し, Paul *et al.*^{23,24)}, Matthews²⁰⁾, Gibbs^{5,20)} および著者^{6~9)} その他多くが分類している *odontoglossum ringspot virus* と同定した。

摘 要

本報は葉に軽いモザイク症状を示した *Cymbidium* から分離したウイルスについて、その諸性質を調べ、同定を行った。

13 科 45 種の植物に汁液接種を行ったところ、ラン科の *Cattleya*, *Cymbidium*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, ラン科以外では ヒヤクニチソウと *N. clevelandii* に全身感染し, *D. stramonium*, タバコ (Samsun NN), ツルナ, *C. amaranticolor*, *C. quinoa* など 4 科 9 種に局部感染が認められた。 *Dendrobium*, White Burley タバコ, トマト, インゲンなど 10 科 30 種には感染がみられなかった。粗汁液中での不活化温度は 90~95°C (10 分), 希釈限度は 1,000 万倍以上, 保存限度は 10 年以上 (20°C) であった。

Cattleya の病葉から得た本ウイルスの純化標品の紫外線吸収曲線は $\text{min}=248 \text{ nm}$, $\text{max}=268 \text{ nm}$ であり, $A_{260/280}=1.12$ であった。沈降係数は $S_{20}, w=202$ と測定された。ウイルス粒子は長さ 300 nm, 幅 18 nm の直桿状であった。

感染植物超薄切片で、ウイルス粒子は細胞質内に散在または大集塊として認められた。

微量凝集反応法で、ORSV 抗血清および TMV 抗血清は heterologous な組合せのウイルスより homologous の組合せに強く反応した (Table 2)。寒天ゲル内二重拡散法で調べたところ、TMV 抗血清に対し ORSV および本ウイルスは弱く、TMV は強く反応し、Spur が形成された。ORSV 抗血清に対しては ORSV および本ウイルスはよく反応したが、TMV は反応しなかった。また cross-absorption test (Table 3) で本ウイルスおよび ORSV と TMV との間に異種特異抗体の存在が認められた。また本ウイルスと ORSV は血清学的に同一であり、ORSV と TMV とは遠縁関係にあることが認められた。

以上の所見から本ウイルスは *odontoglossum ringspot virus* と同定された。

文 献

1. Brandes, J. and Bercks, R. 1965. Gross morphology and serology as a basis for classification of elongated plant viruses. *Adv. Virus Res.* 11: 1-24.
2. Brandes, J. and Wetter, C. 1959. Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. *Virology* 8: 99-115.
3. Chagas, C. M., Noronha, A. and July, J. R. 1977. Occurrence of a virus complex on *Cymbidium* in Brazil. *Biologoco* 43: 72-77.
4. Corbett, M. K. 1967. Some distinguishing characteristics of the orchid strain of tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 57: 164-172.
5. Gibbs, A. and Harrison, B. 1976. *Plant Virology, The Principles*: p. 292. Edward Arnold Ltd., London.
6. 井上成信. 1964. ランのウイルス病について. (I), *Cymbidium* に発生するウイルス病. *日本蘭協会誌* 10: 6~10.

7. 井上成信. 1965. ランのウイルス病について. (II), *Cymbidium* に発生するウイルス病. 日本蘭協会誌 11 : 1~6.
8. 井上成信. 1966. ランのウイルス病について. (III), *Cattleya* に発生するウイルス病. 日本蘭協会誌 12 : 2~5.
9. Inouye, N. 1966. A virus disease of *Cymbidium* caused by odontoglossum ringspot virus. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 13 : 149-159.
10. Izadpanah, K., Thompson, M. R. and Thornberry, H. H. 1968. Orchid virus: Characterization of a type of tobacco mosaic virus isolated from *Cattleya* plants with infectious blossom necrosis. Phytopath. Zeit. 63 : 272-286.
11. Jensen, D. D. 1952. Virus diseases of orchids. II. Calif. Agric. 6(2) : 7, 15, 16.
12. Jensen, D. D. 1953. Virus diseases of *Cymbidiums*. Amer. Orchid Soc. Bull. 22 : 800-804.
13. Jensen, D. D. 1955. Orchid disorders, with special reference to virus diseases. Amer. Orchid Soc. Bull. 24 : 756-766.
14. Jensen, D. D. 1959. Virus diseases of orchids. (The Orchids. ed. by Withner, C. L.) : 431-458. The Ronald Press Company.
15. Jensen, D. D. and Gold, H. A. 1951. A virus ringspot of *Odontoglossum* orchid: symptoms, transmission and electron microscopy. Phytopathology 41 : 648-653.
16. Kado, C. I. and Jensen, D. D. 1964. *Cymbidium* mosaic virus in *Phalaenopsis*. Phytopathology 54 : 974-977.
17. Kado, C. I., van Regenmortel, M. H. V. and Knight, C. A. 1968. Studies on some strains of tobacco mosaic virus in orchids. 1. Biological, chemical and serological studies. Virology 34 : 17-24.
18. Lawson, R. 1970. Virus-induced color-breaking in *Cattleya* orchid flowers. Amer. Orchid Soc. Bull. 39 : 395-400.
19. Lawson, R. H. 1970. Etiology of flower necrosis in *Cattleya* orchid. Phytopathology 60 : 36-40.
20. Matthews, R. E. F. 1981. Plant Virology. 2nd ed. p 897. Acad. Press, London.
21. Murakishi, H. H. 1958. Serological and morphological relationships among orchid viruses. Phytopathology 48 : 137-140.
22. Newton, N. and Rosberg, D. W. 1952. Electronmicroscope studies of a new orchid virus complex. Phytopathology 42 : 79-82.
23. Paul, H. L. 1975. Odontoglossum ringspot virus. CMI/AAB, Descriptions of Plant Viruses. 155 : p 4.
24. Paul, H. L., Wetter, C., Wittmann, H. G. and Brandes, J. 1965. Untersuchungen am Odontoglossum ringspot virus, einem Verwandten des Tabakmosaik-Virus. I. Physikalische, chemische, serologische und symptomatologische Befunde. Z. Vererbungsl. 97 : 186-203.
25. Pérez, E. J., Adsuar, J. and Sala, O. 1956. Tobacco mosaic virus in orchids in Puerto Rico. Phytopathology 46 : 650-654.
26. Pérez, E. J. and Cortés-Monllor, A. 1960. Survey for the presence of tobacco mosaic, *Cymbidium* mosaic and other viruses in orchids. J. Agr. Univ. Puerto Rico. 44 : 138-149.

27. Regenmortel, M. H. V., van Hahn, J. S. and Powle, L. G. 1964. Internal calibration of electron micrographs with an orchid virus. *S. African J. Agr. Sci.* 7 : 159-164.
28. Thornberry, H. H. and Philippe, H. R. 1964. Orchid disease: *Cattleya* blossom brown necrotic streak. *Plant Dis. Repr.* 48 : 936-940.
29. Zaitlin, M. and Israel, H. W. 1975. Tobacco mosaic virus (type strain). *CMI/AAB. Descriptions of Plant Viruses.* 151 : p 5.
30. Zaitlin, M., Schechtman, A. M., Bald, J. G. and Wildman, S. G. 1954. Detection of virus in *Cattleya* orchids by serological methods. *Phytopathology* 44 : 314-318.

Host range and properties of a strain of odontoglossum ringspot virus in Japan

Narinobu INOUE

Summary

A virus isolated from *Cymbidium* with faint mosaic and chlorotic streak was identified as a strain of odontoglossum ringspot virus on the basis of symptoms, host range, properties of particles, serology and electron microscopy. The virus was transmitted by sap inoculation to 14 of 45 species from 6 of 13 families. Systemic infection was caused in *Cattleya*, *Cymbidium*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Nicotiana clevelandii* and *Zinnia elegans*, and local infection was produced in *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Beta vulgaris* var. *cicla*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* (cvs. Samsun, Samsun NN) and *Tetragonia expansa*, but no infection was obtained in *Dendrobium*, *Lycopersicon esculentum*, *N. rustica*, *N. sylvestris*, *N. tabacum* (cv. White Burley), *Phaseolus vulgaris* and 26 other species of 10 families. Sap from *Cattleya* was infective after dilution to 10^{-7} , after 10 min at 90°C but not 95°C, or after 10 years at 20°C. The thermal inactivation point of another isolate of ORSV⁹⁾ proved to be 85-90°C when *C. amaranticolor* was used as the indicator plant, although it was 70-75°C in previous report dealing with a different indicator.

Purified ORSV preparations had an $A_{260/280}$ ratio of 1.12 and the sedimentation coefficient ($S_{20, w}$) was 202 S. ORSV had straight, rigid particles c. 18×300 nm.

In ultrathin sections of diseased plant leaf tissues, virus particles were observed both dispersed and aggregated in the cytoplasm.

Serological cross reaction tests revealed that ORSV and type TMV were distantly related: In microprecipitin tests, the antisera against ORSV and type TMV were found to react much more strongly with the homologous virus than with the heterologous virus. A test with agar gold diffusion method (Table 2) and cross-absorption tests (Table 3) also indicated that the antisera contained homologous virus specific antibodies.

Explanation of Plates

Plate I.

1. Symptoms on a leaf of *Cymbidium* naturally infected with ORSV.
2. Systemic symptoms on a leaf of *Cymbidium*, five and a half months after inoculation of ORSV onto roots, showing chlorosis and mosaic.
3. Systemic symptoms on a leaf of *Odontoglossum* infected with ORSV, showing mosaic.
4. Symptoms on an inoculated leaf of *Cattleya* infected with ORSV, showing reddish-purple rings.
5. Symptoms on an inoculated leaf of *Cattleya* infected with ORSV, light reddish-purple concentric rings.
6. Systemic symptoms on a leaf of *Nicotiana clevelandii* infected with ORSV, showing mosaic, two and a half months after inoculation.
7. Local lesions of ORSV on an inoculated leaf of *N. glutinosa*, 17 days after inoculation.
8. Local lesions of ORSV on an inoculated leaf of *N. tabacum* cv. Samsun NN, 4 days after inoculation.
9. Local lesions of TMV-OM on an inoculated leaf of *N. tabacum* cv. Samsun NN, 4 days after inoculation.
10. Local lesions of ORSV on an inoculated leaf of *Datura stramonium*, 23 days after inoculation.

Plate II.

1. Bands produced on a sucrose density-gradient column 150 min after centrifugation of purified ORSV preparation from *Cattleya* infected with ORSV.
2. Schlieren pattern of sedimentation of purified ORSV (isolated from zone A of Plate II, 1), 6 min after reaching a speed of 23,000 rpm.
- 3, 4. Agar gel diffusion tests. Tas: TMV antiserum, Oas: ORSV antiserum, T: TMV, To: TMV tomato strain, O: ORSV.
5. Purified ORSV particles negatively stained with 2% phosphotungstate, pH 7.0. Bar represents 100 nm.

Plate III.

- Ultrastructures of mesophyll cells of *Cymbidium* infected with ORSV.
- 1, 2. Virus particles dispersed in the cytoplasm. Bar represents 250 nm.
 3. Virus particle aggregates in the cytoplasm. Bar represents 1 μ m.
 4. Virus particle aggregates in the cytoplasm and disperses in the vacuole. Bar represents 1 μ m.
 5. Virus particle aggregates in the cytoplasm. Bar represents 1 μ m.

Plate I.

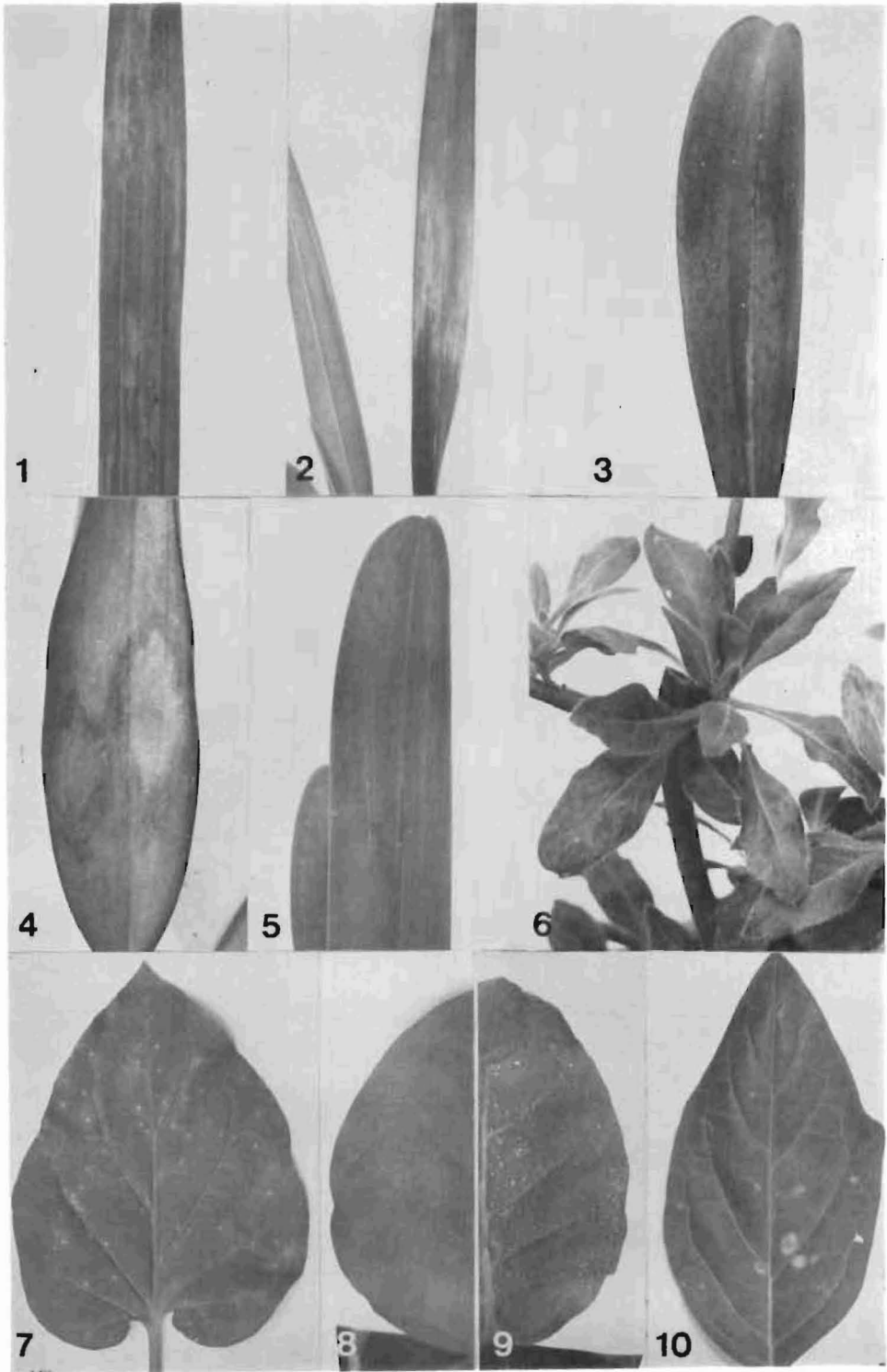


Plate II.

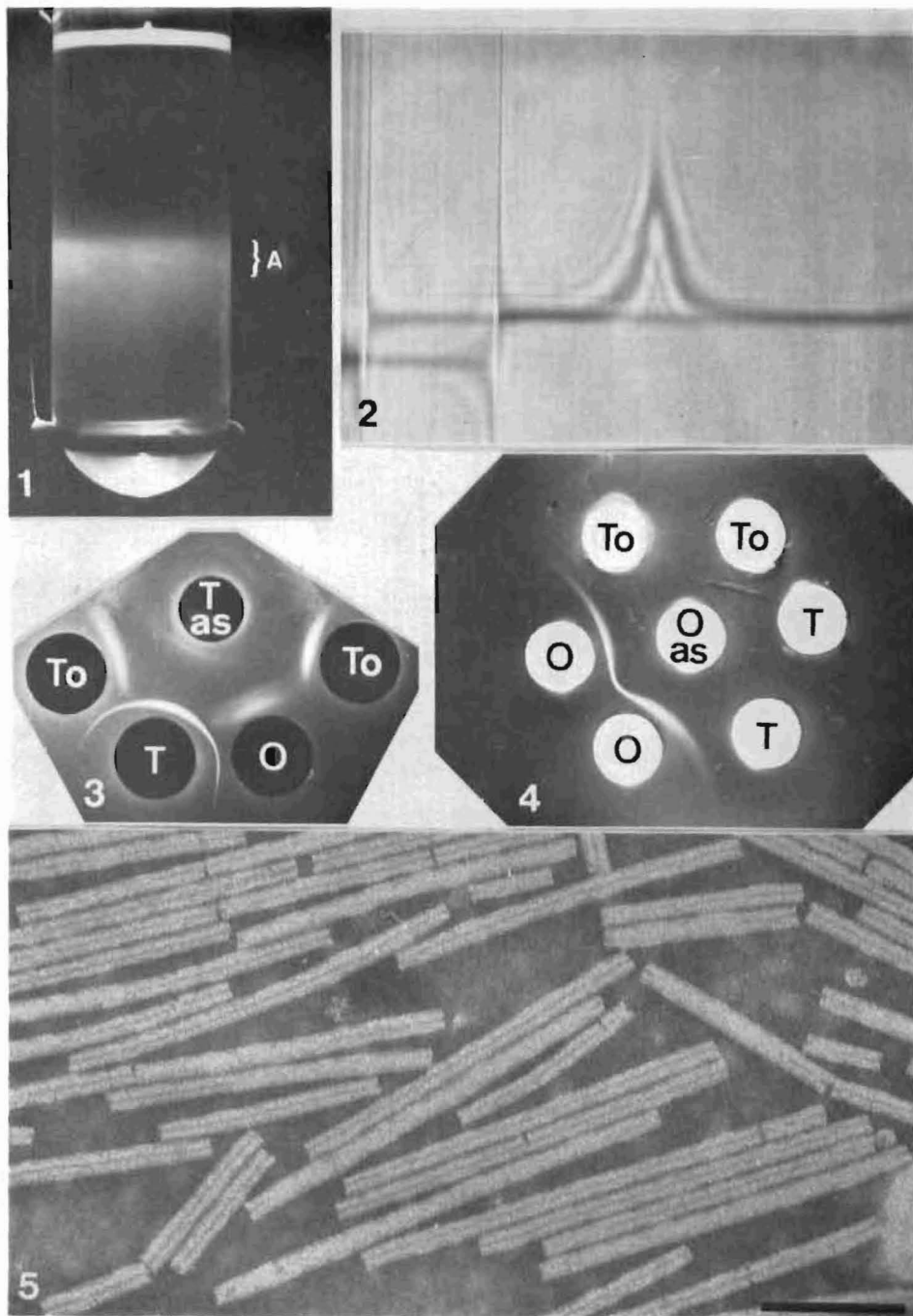


Plate III.

