

エビネ (*Calanthe discolor* LIND) に発生した

モザイク病¹⁾

山本孝彜・石井正義

(四国農業試験場)

ま え が き

1978年愛媛県小松町および香川県善通寺市で入手し栽培していたエビネの葉に、1980年6月モザイク病徴を示すウイルス病が認められた。ウイルス粒子は電顕観察の結果500~600nmのひも状粒子であった。エビネでは、このようなウイルス病は未報告のものであると考え、病原ウイルスの寄主範囲、ウイルス粒子長の分布、病葉の超薄切片像の観察などについて試験を行ったので報告する。なお、本試験の一部は昭和55年度日本植物病理学会関西西部会大会で報告した。

本試験を行うにあたり貴重なシンビジウム・モザイク・ウイルスの抗血清および検定植物の種子を快く分譲して下さいました岡山大学農業生物研究所井上成信博士に対し深謝の意を表わす。

実験材料および方法

本試験に用いたエビネのモザイク病株は、1978年愛媛県小松町で入手した株(小松株)と同年香川県善通寺市で入手した株(善通寺株)およびこれらの株から株分けしたものである。エビネ株は温室内に保存し病徴を観察するとともに、抽出、展開したモザイク葉をそのつど採取して試験に供試した。

寄生性の試験には、病葉を2~3倍量の0.1Mりん酸緩衝液(pH 7.2)を加えて磨砕し、カーボランダム法で常法どおり各種植物に接種した。接種植物は20~30°Cの温室内で栽培した。

ウイルス粒子長の測定は、dipping法で2%リンタングステン酸(KPTA pH 7.0)で染色して電子顕微鏡で観察し、写真撮影し印画紙に引き伸ばして行った。

モザイク葉の超薄切片像の観察は、病葉の組織小片を5%グルタルデハイド(4°C, 16時間)、0.5%オスミウム酸(4°C, 16時間)で固定し、エタノールで脱水、エポキシ樹脂に包埋して超薄切片とした。切片は酢酸ウラニル、クエン酸鉛で染色して電顕観察した。

本ウイルスとシンビジウム・モザイク・ウイルスの抗血清との反応試験は、免疫電顕法と寒天ゲル内二重拡散法でしらべた。生理食塩水で20倍から200倍まで数段階に稀釈した抗血清を用いて、dipping法で電顕用のシートメッシュ上にとったウイルス粒子を直接染色して電顕観察した。また、モザイク病葉を0.05Mトリス-生理食塩水緩衝液(pH 7.2)で磨砕し、ガーゼで搾汁した搾汁液を用いて寒天ゲル内二

1) Mosaic disease of *Calanthe discolor* LIND.

By Takashi YAMAMOTO and Masayoshi ISHII

Proc. Assoc. Plant Prot. Shikoku, No. 16: 75~79 (1981)

重拡散法で反応をしらべた。搾汁液は凍結保存し、使用にあたっては2%レオニル SA, 0.2%エタノールアミン液を等量加えて用いた。

実 験 結 果

1. 原寄主の病徴

小松株、善通寺株ともに、葉では明瞭なモザイク病徴を示した。葉脈にそって黄緑色の病斑を生じ、モザイク病徴の激しい株では健全株に比べて生育は著しく劣った。葉、花のえそ症状は認められなかった(第1図, 1および2)。

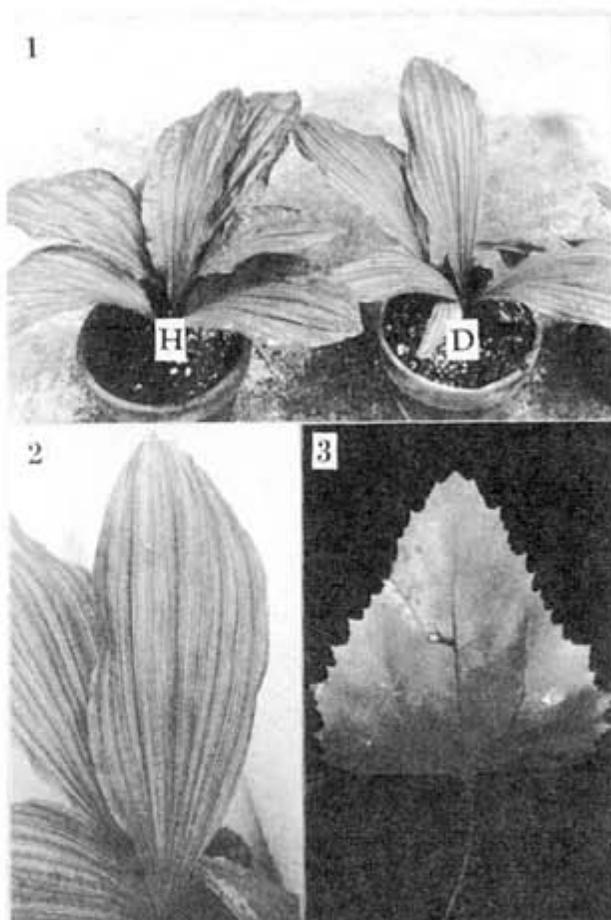
2. 寄主範囲

5科10種類の植物に汁液接種した結果は第1表に示した。

Chenopodium amaranticolor では接種後10~14日後に、接種葉に直径2~3mmのえそ病斑を生じた。また、葉脈にそってえそを生じ、その周囲の部分の部分が黄化した(第1図の3)。えそ症状の激しい葉は落葉した。*C. quinoa* では接種後10~14日後に接種葉に直径2~3mmの黄色の退色斑を生じた。これらの植物ではいずれも病斑部から500~600nmのウイルス粒子が回収された。*C. amaranticolor*, *C. quinoa* 以外の植物には感染はみられなかった。小松株、善通寺株ともに同一の結果を得た。

3. ウイルス粒子の形態, 粒子長の分布

小松株、善通寺株それぞれ約160個の粒子について観察し大きさを測定した。粒子長は600~700nmの間に分布のピークがあり650nm前後のひも状粒子が最も多かった。1200~1280nmの間にも小さいピークがあった(第2図, 第3図の1)。これは2個の粒子の端がくっついたものと考えられる。粒子幅は約12~14nmのひも状粒子であった。第2図には小松株の粒子, 粒子長の測定結果を示したが、善通寺株についても小松株とほとんど同じであった。

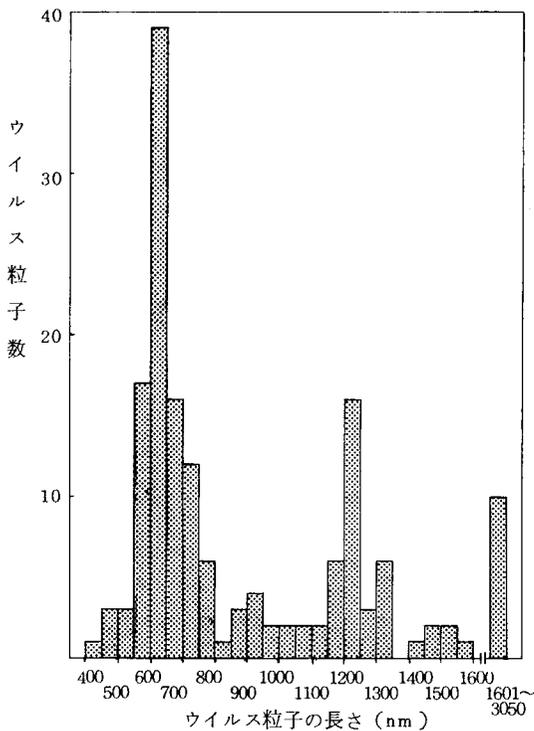


第1図 エビネのモザイク病株(1-D, 小松株)と健全株(1-H), 葉の病徴(2)および *Chenopodium amaranticolor* の接種葉の病徴(3)

第1表 罹病エビネの汁液接種による各種植物への反応

接 種 植 物 (品 種)	病 徴	
	接 種 葉	全 身 葉
<i>Nicotiana tabacum</i> (ブライトエロー)	—	—
<i>Nicotiana glutinosa</i>	—	—
<i>Datura stramonium</i>	—	—
<i>Petunia hybrida</i>	—	—
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	ns, nl	—
<i>Chenopodium quinoa</i>	cs	—
センニチコウ	—	—
ヒャクニチソウ	—	—
キュウリ (久留米落H型)	—	—
メロン (アールスフェボリット)	—	—

cs ; 退色斑点, ns ; えそ斑点, nl ; えそ症状, — ; 感染が認められず。



第2図 ウィルス粒子長の分布 (小松株)

4. モザイク病葉の超薄切片像の観察

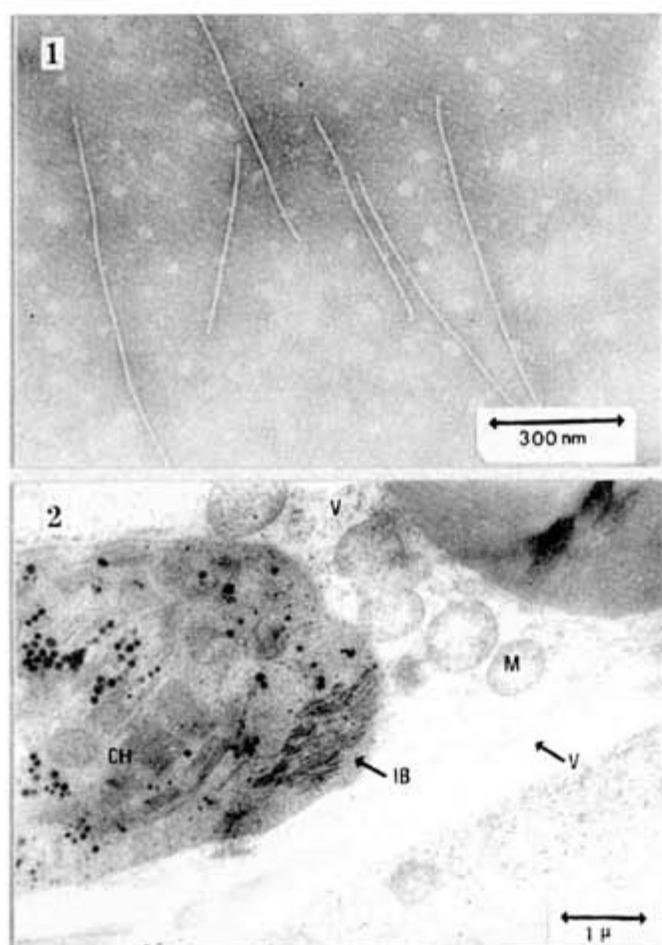
病葉組織の観察では、ほとんどの細胞質中にウィルスが集塊となって、あるいは散在して認められた。また、ウィルス粒子が認められた細胞では、クロロプラスト中にラメラ構造とは異なったエレクトロンデンスの高い繊維状の封入体が認められた (第3図の2)。第3図の2には小松株の結果を示したが、普通寺株でも同様であった。

5. 本ウィルスとシンビジューム・モザイク・ウィルス (CyMV) - 抗血清との反応

小松株、普通寺株のエビネ病葉粗汁液とCyMV-抗血清は、免疫電顕法でも、寒天ゲル内二重拡散法でも反応しなかった。

考 察

本報告のウィルスは、上述の病徴、寄



第3図 エビネ・モザイク病の(1)ウイルス粒子と病葉の(2)超薄切片像(小松株) IB: 葉緑体中の封入体, V: ウイルス粒子, M: ミトコンドリア, CH: 葉緑体

生性、粒子の形態、CyMV-抗血清との反応などの試験結果から判断して、ラン科植物では未報告のウイルスとして扱って差し支えないものと考えられる。供試した小松株と善通寺株は、同じ病原ウイルスと考えられる。

エビネに発生するウイルスとしては、すでに井上(1973, 井上ら, 1980)によってインゲン黄斑モザイクウイルス(BYMV)、キュウリ・モザイクウイルス(CMV)が報告されている。この他ラン類に発生するウイルスとしては、シンビジュウム・モザイクウイルス(CyMV 井上, 1964, 1965, 1966a) オドントグロサム・リングスポットウイルス(ORSV, 井上, 1964, 1965, 1966a), シンビジュウム・ネクロティック・リングスポットウイルス(Cymbidium necrotic ringspot virus, 井上,

1964, 1968), デンドロビウム・モザイクウイルス(Dendrobium mosaic virus, 井上, 1973), キュウリ・モザイクウイルス(CMV, 井上, 1966b)が報告されている。

これらのウイルスのうち、BYMVとDendrobium mosaic virusは粒子長750nmのPVY群に属するウイルスで、感染細胞中ではPVY群ウイルス特有のピンホイール型の封入体が認められた。ORSVは粒子長およそ275~300nmの棒状粒子で、*Chenopodium amaranticolor*, センニチコウなどに局部感染し、ヒャクニチソウに全身感染が認められている。CMVおよびCymbidium necrotic ringspot virusは直径約30nmの球状粒子である。これら5種類のウイルスは、粒子の形態、寄生性、感染細胞内所見から考えて明らかに本ウイルスとは別のものである。

ラン類に最も広く分布しているCyMVは、粒子長480~500nmのひも状粒子で、本ウイルスに最も近いと考えられた。しかし、CyMVは本ウイルスよりも粒子長で約150nm短いこと、チョウセンアサガオに局部感染すること、CyMVの抗血清と本ウイルスが反応しないことなどから、本ウイルスはCyMVとは別のウイルスと考えられる。

上述の結果から、本ウイルスはラン科植物では未報告のウイルス病と考え、今後本ウイルス病をエビネ・モザイク病 (*Calanthe mosaic disease*) として扱いたい。病原ウイルスについては試験中であるが、ウイルス粒子の形態のみから考えると、*Carlavirus group* (HARRISON, 1971) に属するウイルスではないかと考えられる。

摘 要

エビネに発生したウイルス病についてその病徴、病原ウイルスの粒子の形態、粒子長の分布、寄主範囲、感染細胞の超薄切片像の観察、シンビジュウム・モザイク・ウイルス (*CyMV*) との血清学的な関係についてしらべた。

1. 本ウイルス病はエビネ葉で明瞭なモザイク病徴を示し、汁液接種で *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* に局部感染した。
2. ウイルス粒子は長さ約 600 ~ 650nm, 幅12~14nm のひも状であった。
3. エビネ罹病葉の超薄切片像の観察では、ウイルス粒子は細胞質中に集塊となって、あるいは散在しており、また、葉緑体中に繊維状の封入体が認められた。
4. 本ウイルスとシンビジュウム・モザイク・ウイルス (*CyMV*) 一抗血清とは反応しなかった。
5. 以上の結果から本ウイルス病はラン科植物では未報告のウイルス病で、エビネ・モザイク病 (*Calanthe mosaic disease*) と命名した。

引 用 文 献

- HARRISON, B. D. et al (1971) : Sixteen groups of plant viruses. *Virology*, 45 : 356~363.
- 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.
- 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.
- 井上成信 (1966a) : 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.
- 井上成信 (1966b) : *Dendrobium* から分離された *CMV* について. 日植病報, 32 : 82.
- 井上成信 (1968) : ランのウイルス病について. 植物防疫, 22, 427 ~ 431,
- 井上成信 (1973) : *Dendrobium* から分離された新ウイルス. 日植病報, 39 : 367~368.
- 井上成信・前田孚憲・光畑興二 (1980) : エビネに発生した *Cucumber mosaic virus*. 日植病報, 46 : 88.