

東洋ラン (*Cymbidium* sp.) から分離された Orchid Fleck Virus の性状について

近藤秀樹・松本純一・前田孚憲・井上成信

Host Range and Some Properties of Orchid Fleck Virus
Isolated from Oriental *Cymbidium* in Japan

Hideki KONDO, Jun-ichi MATSUMOTO, Takanori MAEDA,
and Narinobu INOUE

Orchid fleck virus (OFV) was isolated from Oriental *Cymbidium* (*Cymbidium* sp.), showing chlorotic flecks on leaves. The virus was transmitted mechanically to *Chenopodium quinoa*, *C. murale* and *Beta vulgaris* by sap-inoculation and caused systemic infection. Local lesions were produced on *C. amaranticolor*, *Petunia hybrida*, *Tetragonia expansa* and *Vigna sinensis*. Sap from infected *T. expansa* was still infective after 10 min at 40°C but not after 10 min at 45°C, at a dilution of 10^{-3} but not 10^{-4} , and after 30 min at room temperature but not after 60 min.

The isolate of OFV had non-enveloped, bullet-shaped particles measuring about 40×120 -150 nm in dip preparations. However, bacilliform particles about 40×120 -140 nm were observed in ultrathin sections.

In ultrathin sections of virus-infected tissues, virus particles were detected both in the nuclei and in the cytoplasm. Moreover, the inclusions of low electron density (viroplasm) were also observed in the nuclei. Virus particles were found to attach at one end to the inner nuclear membrane. A number of particles surrounded by the inner membrane often showed an appearance like a spoked wheel.

Key words : Orchid fleck virus, Oriental *Cymbidium*, Non-enveloped rhabdovirus like particles

緒 言

わが国では、温帯性シンビジウム (*Cymbidium*) であるシュンラン、カンラン、スルガランなどは園芸学的に東洋ラン (*Cymbidium* 系: Oriental *Cymbidium*) と呼ばれて広く栽培されている。一方東洋ランを含む *Cymbidium* 属植物にはウイルス病の発生が非常に多く、これが園芸的価値を大きく落とす原因となっている (井上 1984, 1990)。わが国では、東洋ランの病原ウイルスとしてこれまでに *cymbidium mosaic virus* (CyMV), *odontoglossum ringspot virus* (ORSV) ならびに *cymbidium mild mosaic virus* (CyMMV) の発生が報告されている (井上 1984, 1990, 近藤ら 1992, 張ら 1975)。しかし、東洋ランの病原ウイルスとしてはこの3種のウイルス以外には知られていなかった。

著者らは1992年10月岡山市で採集した葉に退緑斑紋症状を示す東洋ランから、電顕観察により被膜を欠く弾丸状のウイルス様粒子を検出した。この病原ウイルスを分離し、その寄生性、粒子の形態および細胞内病変などを調べた結果、本ウイルスは東洋ランでは未記載のランえそ斑紋ウイルス (*orchid fleck virus*: OFV) の一系統と同定された。

OFVは土居ら (1969) によってえそ斑紋を示す *Cymbidium* から分離され、張ら (1973) により命名されたラン科植物の重要な病原ウイルスの一つであり、わが国では *Angulorea*, *Dendrobium*, *Odontoglossum*, *Oncidium*, *Pescatorea* などから分離されている (Chang *et al.* 1976)。OFVはラブドウイルス属 (*Rhabdoviridae*) に近似のウイルスとされているが、その形態学的特性から被膜を持つラブドウイルスには属さない新しいグループのウイルスと考えられている (Chang *et al.* 1978, Doi *et al.* 1977)。しかし、その諸性質はほとんど明らかにされておらず、OFVは分類学的位置づけが未解決の状態である。本報告ではこの東洋ランから分離されたOFVの同定実験の結果、特にその寄生性と形態学的特性を中心に述べる。

本研究を行うに当たりウイルス罹病株の採集ならびに実験に御協力戴いた光畑興二技官に謝意を表する。

材料および方法

供試ウイルス 岡山市ならびに山口県防府市で葉に退緑斑紋症状を示す数種の東洋ランを採集した。それらのうち、本実験には岡山市で採集した東洋ラン (*Cymbidium* sp.) から以下の方法で分離したウイルスを供試した。明瞭な症状を呈していた原株の病葉の磨砕液を数種の植物に接種し、ツルナに形成された局部病斑を接種源に、さらにツルナを用い単一病斑分離を3回繰り返すことによって、単独のウイルスを得た。電顕観察でウイルス粒子を確認後、ツルナで継代培養して各種実験に供試した。

汁液接種 汁液接種は罹病葉を0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) 中で磨砕し、カーボランダムを用いる常法により温室内 (16~25°C) で行った。宿主範囲試験の接種源ならびに感染の有無を確認するための戻し接種には、ツルナあるいは *Chenopodium quinoa* 用いた。病徴の観察および戻し接種の結果の判定は、接種後25~40日頃まで行った。さらに必要に応じて電顕観察によりウイルス粒子の有無を確認した。

粗汁液中での安定性 罹病葉粗汁液中でのウイルスの安定性の試験には、4°C 下でツルナの病葉に0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加え磨砕した後、ガーゼで搾汁したものをい

た。また、検定植物としてはツルナを用い、各処理区ごとに接種葉での病斑形成の有無により判定した。

電顕観察 ウイルス粒子の電顕観察は以下のようにして行った。まず前処理として罹病葉細片を2%四酸化オスミウム溶液内で磨砕し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(日立H-7000B)観察に供した。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、エタノール脱水後、エポキシ樹脂に包埋してLKB Ultratomeで作製した。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。

結 果

1. 原株での病徴

本ウイルスが分離された原株である東洋ラン (*Cymbidium* sp.) には葉に紡錘形あるいは長形の軽い退緑斑紋症状が認められた (Plate I, 1)。また、退緑部の一部にえそ斑が形成され、病葉が古くなると次第にえそが融合して不完全なえそ輪紋を生じた。しかし、この病株の新たに展開した新葉には病徴が認められなかった。

また、本ウイルスの原株の病徴に類似し、被膜を欠く弾丸状のウイルス粒子が検出された他の東洋ラン数株の病徴についても以下に記載する。本ウイルスの原株と同じ場所で採集したホウサイラン (*Cymbidium sinense*) は原株同様に古い病葉にえそ輪紋を生じた (Plate I, 2)。山口県防府市内で採集したイトラン (*Cymbidium formosanum*; 雲南白花) およびカンラン (*Cymbidium kanran*; 桃山ならびに白鷺) はそれぞれ新葉に退緑斑紋症状が認められた (Plate I, 3)。これらには、新葉の退緑斑紋症状にえそがともなうものも認められた。またイトランでは新芽に明瞭なえそ斑症状が観察された (Plate I, 4)。

2. 宿主範囲と病徴

ツルナあるいは *C. quinoa* を接種源として11科41種の植物に汁液接種を行った結果を Table 1 に示した。本ウイルスは1科3種に全身感染、4科5種に局部感染し、その他の植物には感染が認められなかった。以下に感染した植物における病徴を示す。

フダンソウ (*Beta vulgaris*) : 接種葉に接種後10~14日で1.0 mm 程度の退緑斑を生じ、その後この病斑は2.0~3.0 mm 大の明瞭な退緑斑に進展した。また退緑斑の一部にはえそを伴うものが認められた。時に全身感染して接種30日前後で葉脈透過や退緑斑点を生じ、その後明瞭なモザイクになった (Plate I, 5)。

C. quinoa : 接種葉に接種後10~14日で1.0~1.5 mm 大の明瞭な退緑斑が形成された (Plate I, 6)。また退緑斑の一部にはえそを伴うものが認められた。全身感染して接種後25~30日で上葉に退緑斑、葉脈透過などが認められ、その後葉の萎縮、奇形症状を呈した。

C. murale : 接種葉に接種後14~20日で2.0~3.0 mm 大の明瞭な退緑斑が形成された。また、全身感染して接種後20~30日で上葉に非常に淡い葉脈透過や葉の奇形症状を示した。

C. amaranticolor : 接種葉に接種後14~20日で灰白色のえそをとともう輪郭がはっきりしない退緑斑が形成された。全身感染はしなかった。

ツルナ (*Tetragonia expansa*) : 接種葉に接種後10日程度で退緑斑の形成がはじまり、その

Table 1. Host range of OFV isolated from Oriental *Cymbidium*

<i>Systemic susceptible plant species</i>	
Chenopodiaceae	<i>Beta vulgaris</i> , <i>Chenopodium murale</i> , <i>C. quinoa</i>
<i>Local susceptible plant species</i>	
Aizoaceae	<i>Tetragonia expansa</i>
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium amaranticolor</i>
Leguminosae	<i>Vigna sinensis</i>
Solanaceae	<i>Nicotiana glutinosa</i> , <i>Petunia hybrida</i>
<i>Non-susceptible plant species</i>	
Amaranthaceae	<i>Gomphrena globosa</i> , <i>Celosia argentea</i>
Caryophyllaceae	<i>Dianthus barbatus</i> , <i>Dianthus caryophyllus</i>
Chenopodiaceae	<i>Spinacia oleracea</i>
Compositae	<i>Calendula officinalis</i> , <i>Callistephus chinensis</i> , <i>Centaurea cyanus</i> , <i>Helianthus annuus</i>
Cruciferae	<i>Brassica campestris</i> , <i>B. oleracea</i> , <i>Raphanus sativa</i> , <i>Matthiola incana</i>
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i> , <i>Cucurbita moschata</i>
Leguminosae	<i>Glycine max</i> , <i>Phaseolus vulgaris</i> , <i>Pisum sativum</i> , <i>Vicia faba</i> , <i>V. unijuga</i> , <i>Trifolium incarnatum</i> , <i>T. pratense</i> , <i>T. repens</i>
Gramineae	<i>Oryza sativa</i> , <i>Triticum aestivum</i> , <i>Zea mays</i>
Pedaliaceae	<i>Sesamum indicum</i>
Solanaceae	<i>Nicotiana benthamiana</i> , <i>N. clevelandii</i> , <i>N. rustica</i> , <i>N. tabacum</i> , <i>Datura stramonium</i> , <i>Solanum melongena</i>

後14~20日で2.0~3.0 mm 大の明瞭な退緑斑となった。また灰白色のえそ斑を形成する場合や退緑斑の周辺にえそを伴うこともあった。全身感染はしなかった。

ササゲ (*Vigna sinensis*) : 接種葉に接種後7日程度で針点状のえそ斑を生じ、これが拡大し2~5 mm 大の明瞭な退緑斑が形成され、後にえそ斑点となった (Plate I, 7)。ササゲは供試した2品種 (黒種三尺・赤種三尺) のいずれもほぼ同様な病徴であった。全身感染はしなかった。

ペチュニア (*Petunia hybrida*) : まれに接種葉に接種後14~20日で退緑斑が形成された。全身感染はしなかった。

Nicotiana glutinosa : まれに接種葉に無病徴感染した。

数種のラン科植物 (*Cymbidium* 属植物の洋ラン系ならびに東洋ラン系, *Calanthe*, *Dendrobium*, *Phalaenopsis* など) に対する本ウイルスの寄生性は現在調査中である。

3. 粗汁液中での安定性

罹病ツルナ葉汁液中での本ウイルスの安定性は、不活化温度が40~45°C (10分)、希釈限界が 10^{-3} ~ 10^{-4} 、保存限度が室温で30~60分であった。

4. DN 法試料におけるウイルス粒子の形態

本ウイルスが分離された原株から2%リンタングステン酸 (pH 7.0) を用いた常法によりDN 法試料を作製し電顕観察したところ、ウイルス粒子は検出されなかった。そこで四酸化オスミウムで固定後、酢酸ウラニルにより逆染色した試料の電顕観察を行ったところ、病原ウ

ウイルス粒子と考えられる弾丸状粒子が少数検出された。同様に、本ウイルスを汁液接種し形成されたツルナの局部病斑からも同様の粒子が多数観察された (Plate I, 8)。さらに試料によっては短桿状粒子もまれに検出された (Plate I, 9)。これらのウイルス粒子は非常に不安定で固定処理を行っても、いくつかの粒子ではその先端部の部分崩壊が認められた。ウイルス粒子の大きさは2,000分の1 mm の grating の幅を基準として測定した結果、本ウイルスは弾丸状粒子の場合、長さが約120~150 nm、幅が約40 nm で、約5 nm 間隔のピッチが認められた。短桿状粒子の大きさもほぼこの範囲にあった。さらに、試料によっては宿主細胞由来の膜系や細胞破片などに弾丸状や短桿状粒子の先端部が吸着している像もしばしば観察された (Plate I, 10, 11)。

5. 罹病葉超薄切片の電顕観察

原株の退緑斑形成部位ならびに、本ウイルスに感染したツルナと *C. quinoa* 接種葉に形成された局部病斑部分の超薄切片を作製し電顕観察を行った。これらのどの試料においても、感染細胞の核内ならびに細胞質内にウイルス粒子が多数観察された。ここでは特にツルナにおける細胞内所見について述べる。感染細胞の核内にはウイルス感染により特異的に認められる電子密度の高い封入体 (viroplasm) が認められ、さらにその内部や周辺には配列または散在した多数のウイルス粒子が観察された (Plate II, 1)。また核内の viroplasm 以外の部位に層状に配列したウイルス粒子の横断面も観察された (Plate II, 2)。さらにこの viroplasm の周辺にウイルス粒子が配列している像も認められた (Plate II, 3)。感染細胞の核膜付近ではウイルス粒子の一端が核膜へ吸着しているものや、さらに核膜に続く膜系に包まれた車軸状などに配列したウイルス粒子の集団が細胞質側にいくつか観察された (Plate II, 4)。しかしウイルス粒子が単独で膜に包まれたものは観察されなかった。

超薄切片像で認められたウイルス粒子は、その輪郭が若干不明瞭であったが、多くは DN 法試料中で観察される粒子形態とは異なり、短桿状であった。さらにこれらのウイルス粒子の大きさを測定したところ、長さ約120~140 nm、幅約40 nm のものが最も多かった。

考 察

ラン科植物に発生するウイルスのうち植物ラブドウイルス様粒子としてはわが国、ブラジル、ドイツ、アメリカ、台湾および韓国など世界で少なくとも9種類が報告されている (Zettler *et al.* 1990, 井上 1977, 井上・呂 1983, Chang *et al.* 1991)。これらのウイルスはその形態学的特性から laelia red leafspot virus (Peters 1977) など典型的なラブドウイルス属と思われるものと、OFV をはじめとするウイルス粒子が被膜を持たず形態的にラブドウイルスのヌクレオキャプシド (nucleocapsid) に類似したものとに分けられる (Peters 1981)。ラン科植物に発生する病原ウイルスの記載としては後者のものが圧倒的に多い。

本報のウイルスは原株での病徴、粒子が被膜を欠く弾丸状あるいは短桿状であること、感染細胞内には viroplasm が認められ、さらにその寄生性などから OFV であると同定された。

本分離株のラン科植物以外の草本植物に対する寄生性を見ると、*C. quinoa*, *C. murale*, フダンソウに全身感染し、*C. amaranticolar*, ツルナ、ペチュニア、ササゲなどの接種葉に局部病斑を形成し、*N. glutinosa* には時に接種葉に無病徴感染した。本ウイルスは

Chang *et al.* (1976, 1991) の既報の OFV と同様に、その寄生性は主にアカザ科やナス科植物に認められた。しかし本分離株は 3 種のアカザ科植物に全身感染し、またツルナに局部病斑を形成し、タバコに非感染であるなど、その寄生性が既報の OFV と異なった。さらに、新たにフダンソウならびにササゲに本ウイルスの感染が確認された。Chang *et al.* (1976) によると、OFV は 30°C 以上の温度条件が感染および病徴発現に適しているとしている。これに対し本ウイルスはより低い温度 (16~25°C) でもアカザ科植物、ツルナ、ササゲなどに容易に感染し明瞭な局部病斑を形成した。しかし冬季になると感染力が低下し、病斑形成が全般的に遅くなった。さらに OFV は結果でも示した様に粗汁液中での安定性が低く、接種源粗汁液中において短時間で不活化すると推定されるため、汁液接種試験は再検討する必要があると思われた。

本東洋ラン分離株のラン科植物への寄生性は現在調査中であるが、類似病徴を示す東洋ラン数株を同時に調査したところ、電顕観察で OFV 様粒子が検出されたことから、他の東洋ランでもその発生が示唆された。既に述べたように OFV は数種のラン科植物で発生が知られているが、現在のところ OFV の伝搬経路は不明である。結果でも示した様に OFV はその粗汁液中での安定性が非常に低いので ORSV や CyMV で問題になっているような機械的な接触伝搬の可能性は低く、その伝搬には何らかの媒介者の関与が考えられる。

Lesemann and Doraiswamy (1975) によればラン科植物に発生する被膜を欠くラウドウイルス様粒子は、DN 法でその大きさが 40~50 nm×105~120 nm、感染細胞の超薄切片では 30~32×100~128 nm の範囲であると報告されている。しかし、DN 法試料中での OFV 粒子はこれより少し大きい 40×150 nm とされている (Chang *et al.* 1976)。本ウイルスは DN 法試料の観察ではそのほとんどが約 40×120~150 nm の弾丸状粒子であり、感染細胞の超薄切片像では約 40×120~140 nm で既報の OFV とほぼ一致していた。本ウイルスは結果で述べたように DN 法では弾丸状あるいは時に短桿状粒子として、超薄切片像では短桿状粒子として観察された。この様に本ウイルスでは観察方法により粒子形態が異なるが、これは DN 法試料ではウイルス粒子の固定が完全でないため短桿状粒子の片側の末端部分が崩壊し弾丸状粒子として観察されたものと考えられる。

本ウイルスの超薄切片像での一連の細胞内所見では、核内には封入体 (viroplasm) が観察され、その周辺や内部にウイルス粒子が認められた。特に viroplasm の周辺にはそれを囲む様に配列した粒子集団が観察された。さらにウイルス粒子が核膜近くに移動しその一端が核膜内膜に吸着し、いくつかの粒子がまとまって車軸状に膜に囲まれた状態で成熟し細胞質側に移行していると推定される像が多数観察された。DN 法による電顕観察では粒子の一端が膜に吸着したものが観察されており、超薄切片像で認められた膜に吸着した粒子の所見と一致する。本研究で得られた細胞内所見は、Chang *et al.* (1976) の結果と同様、OFV 粒子が単独で被膜を持つ粒子ではない (個々の粒子として被膜を持たない) ことを支持している。またこれらの細胞内所見は他のいくつかの被膜を欠くラウドウイルス様粒子で報告されている所見と類似点が多く認められた (Kitajima *et al.* 1974, Lesemann and Begtrup 1971, Lesemann and Doraiswamy 1975, Petzold 1971)。

植物ラウドウイルス属は細胞内での増殖様式により大きく細胞質増殖型 (subgroup I ; cytoplasm-associated) と核増殖型 (subgroup II ; nucleus-associated) に大別されている (Peters 1981)。OFV などはラウドウイルスのヌクレオキャプシドと形態が類似しており、そ

の細胞内の存在様式は核増殖型ラブドウイルスと同様に核内に粒子が多数検出される。しかし、既に述べてきたようにその細胞内所見や被膜を持つ成熟粒子が認められない点でこれらと明らかに異なっている。Francki *et al.* (1991)によれば、国際ウイルス分類委員会 (ICTV) では OFV, citrus leprosis virus (Kitajima *et al.* 1972) など4種のウイルスをラブドウイルス属の中で被膜を欠くラブドウイルス様粒子 (non-enveloped rhabdovirus like-particle) として分類しているが、これらがラブドウイルス属とは別の新しいグループに属するとも考えられる。しかしこれらラブド様ウイルスは病原の分離・増殖が難しいために、それらの諸性質はほとんど明らかにされておらず、その分類学的考察は形態学的な側面のみから行われているにすぎない。しかし、本論文で示したように OFV はアカザ科植物やツルナに感染し、その病葉から多数のウイルス粒子が検出されたことから、これら草本植物が OFV の増殖宿主として有効であることが示唆された。それらの病葉を用い OFV を純化し、粒子の理化学的・血清学的性質、遺伝子構造などを明らかにすれば、OFV ならびにラン科植物に発生する他のラブド様ウイルス間での類縁関係やそれらの分類学的位置づけを明確にできるであろう。

摘 要

1992年10月岡山市内で採集した葉に退緑斑点症状を示す東洋ラン (*Cymbidium* sp.) より分離されたウイルスはランえそ斑紋ウイルス (orchid fleck virus; OFV) と同定された。

本ウイルスは汁液接種を行った11科41種の植物のうち、アカザ科の *Chenopodium murale*, *C. quinoa*, *Beta vulgaris* の3種に全身感染し、ツルナ, *C. amaranticolor*, ササゲ, ペチュニア, *Nicotiana glutinosa* の4科5種に局部感染した。本ウイルスは病葉粗汁液中では安定性が低く、ツルナ粗汁液中での安定性は耐熱性40~45°C, 耐希釈性 10^{-3} ~ 10^{-4} , 耐保存性30~45分であった。

DN 法試料の電顕観察ではウイルス粒子は長さ120~150 nm, 幅約40 nm の被膜のない弾丸状であった。感染葉の超薄切片では約120~140×40 nm の短桿状粒子として観察された。感染細胞の超薄切片像ではウイルス粒子が各種細胞に観察された。また感染細胞の核内には封入体 (viroplasm) が認められ、その周辺や内部に粒子が集塊あるいは散在して認められた。さらに核膜近傍ではウイルス粒子が核膜内膜に吸着したものが認められ、その細胞質側には車輪状などに配列した膜系に包まれた粒子集団が認められた。

キーワード：ランえそ斑紋ウイルス, 東洋ラン, 被膜を欠くラブドウイルス様粒子

引 用 文 献

- 張 茂雄・荒井 啓・土居養二・與良 清, 1973. ランにえそ斑紋を生ずる短桿形ウイルス, ランえそ斑紋ウイルス (Orchid flecken 仮称) について. 日植病報 39: 171 (講演要旨).
- 張 茂雄・土居養二・與良 清, 1975. シンビジウム・微斑モザイク・ウイルス (cymbidium mild mosaic virus: CyMMV; 新称) について. 日植病報 41: 286 (講演要旨).
- 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., Chun, H. H., Baek, D. H. and Chung, J. D. 1991. Studies on the viruses in orchids in Korea. (2) Dendrobium mosaic virus, odontoglossum ringspot virus, orchid fleck virus, and unidentified potyvirus. Korean J. Plant Pathol. 7: 118-129.
- 土居養二・荒井 啓・與良 清. 1969. マサキのモザイク病およびシンビジウムの輪紋病より見出された短桿 (bacilli form) ウイルス粒子の所在様式. 日植病報 35: 388 (講演要旨).
- Doi, Y., Chang, M. U. and Yora, K. 1977. Orchid fleck virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 183, pp 3.
- Francki, R. I. B., Fauquet, C. M., Knudson, D. L. and Brown, F. 1991. Classification and nomenclature of viruses. 5th Rep. Int. Comm. Taxon. Viruses. Arch. Virol. Suppl. 2. pp 450.
- 井上成信. 1977. ラン科植物 *Colmanara* から分離された短桿形ウイルスについて. 日植病報 43: 373-374 (講演要旨).
- 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. 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.
- Kitajima, E. W., Müller, G. W., Costa, A. S. and Yuki, W. 1972. Short, rod-like particles associated with Citrus leprosis. Virology 50: 254-258.
- Kitajima, E. W., Blumenschein, A. and Costa A. S. 1974. Rodlike particles associated with ringspot symptoms in several orchid species in Brazil. Phytopath. Z. 81: 280-286.
- 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.
- Lesemann, D. and Begtrup, J. 1971. Elektronenmikroskopischer Nachweis eines bazilliformen Virus in *Phalaenopsis*. Phytopath. Z. 71: 257-269.
- Lesemann, D. and Doraiswamy, S. 1975. Bullet-shaped virus -like particles in chlorotic and necrotic leaf lesions of orchids. Phytopath. Z. 83: 27-39.
- Peters, D. 1981. Plant rhabdovirus group. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No.224, pp 6.
- Peters, K.-R. 1977. Orchid viruses: a new rhabdovirus in *Laelia* red leafspots. J. Ultrastruct. Res. 58: 166-171.
- Petzold, H. 1971. Der elektronenmikroskopische Nachweis eines bacilliformen Virus an blattfleckenkranken Dendrobien. Phytopath. Z. 70: 43-52.
- Zettler, F. W., Ko, N.-J., Wisler, G. C., Elliott, M. S. and Wong, S.-M. 1990. Viruses of orchids and their control. Plant Dis. 74: 621-626.

Explanation of plates

Plate I.

1. *Cymbidium* sp. naturally infected with OFV, showing mild chlorotic flecks.
2. *Cymbidium sinense* naturally infected with OFV, showing necrotic ringspots.
3. *Cymbidium kanran* naturally infected with OFV, showing chlorotic flecks.
4. *Cymbidium formosanum* naturally infected with OFV, showing necrotic spots on newly developed leaves.
5. Systemic symptoms induced by OFV on *Beta vulgaris*, showing mosaic.
6. Chlorotic local lesions induced by OFV on an inoculated leaf of *Chenopodium quinoa*.
7. Necrotic local lesions induced by OFV on an inoculated leaf of *Vigna sinensis*.
8. Bullet-shaped particles in leaf dip preparation from OFV infected *Tetragonia expansa* leaves. Bar represents 100nm.
9. Bacilliform particles in leaf dip preparation from OFV infected *T. expansa* leaves. Bar represents 100nm.
10. Bullet-shaped particles associated with membrane system (arrows) in leaf dip preparation. Bar represents 100nm.
11. Bacilliform particles associated with membrane system (arrows) in leaf dip preparation. Bar represents 100nm.

Plate II.

Thin sections of *T. expansa* mesophyll cells infected with OFV. Bars represent 500nm.

1. Appearance of virus particles in and around the viroplasm. Side by side arrangements of virus particles in the nucleus.
 2. Arrangement of virus particles in the nucleus.
 3. Appearance of virus particles around the viroplasm.
 4. Virus particles surrounded by the inner nuclear membrane in the perinuclear space, forming "spoked wheel" structures and associated with the inner nuclear membrane (arrows).
- N : nucleus ; NE : nuclear membrane ; V : virus ; VP : viroplasm ; CW : cell wall.

Plate I.

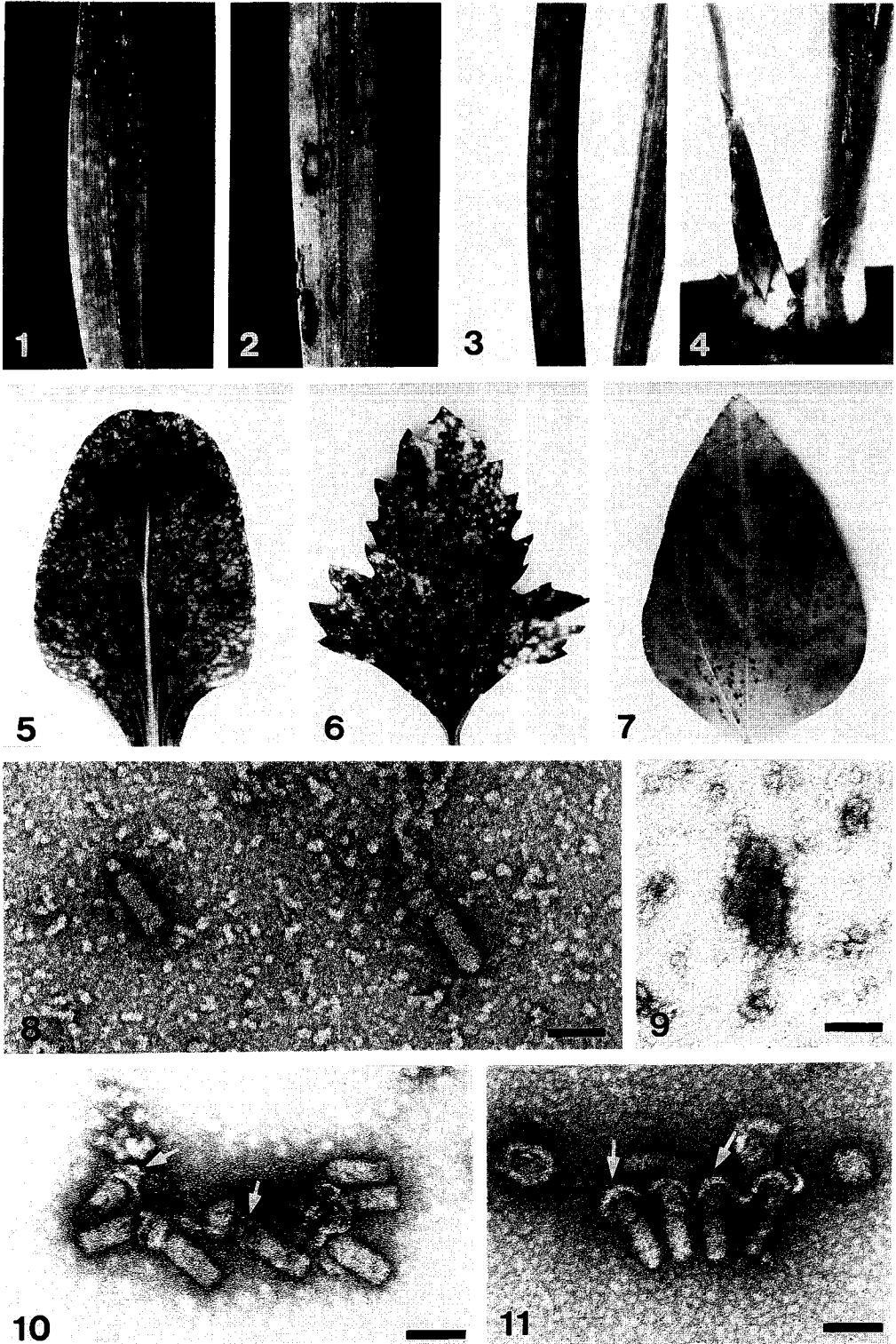


Plate II.

