

サギソウ (*Habenaria radiata*) から検出された新ひも状ウイルス, *Habenaria Mosaic Potyvirus*

井上成信・前田孚憲・光畑興二・I Wayan GARA*

Habenaria Mosaic Virus, A New Member of Potyvirus
from *Habenaria radiata* Orchid

Narinobu INOUE, Takanori MAEDA, Koji MITSUHATA
and I Wayan GARA

A potyvirus, isolated from *Habenaria radiata* showing severe mosaic in the leaves named habenaria mosaic virus (HaMV). HaMV was transmitted by inoculation of sap to 6 of 41 species from 4 of 12 families. Systemic infection was caused in *Habenaria radiata*, and local infection was produced in *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Spinacia oleracea*, *Tetragonia expansa* and *Gomphrena globosa*. HaMV was also transmitted by *Myzus persicae* in a non persistent manner, but not by *Aphis gossypii*. The virus has filamentous particles of c. 750×13 nm. Sap from inoculated *C. quinoa* was infective after dilution to 10⁻⁵ but not 10⁻⁶, after 10 min at 60°C but 65°C, or after 8-16 days at 20°C.

In ultrathin sections of diseased leaves of *Habenaria radiata* and inoculated *C. quinoa*, virus particles were found to disperse in the cytoplasm. Cylindrical inclusions were present in the cytoplasm of infected cells, as pinwheels, scrolls or tubes. The inclusions observed in negatively stained crude sap preparations exhibited fine linear striation at about 5.2 nm intervals.

The antiserum to HaMV produced by immunizing a rabbit had a titer of 1/512 (precipitin test). HaMV showed distant serological relationships to potyvirus; alstroemeria mosaic virus, bean yellow mosaic virus, calanthe mild mosaic virus, clover yellow vein virus, dendrobium mosaic virus, freesia mosaic virus, turnip mosaic virus and watermelon mosaic virus 2.

Key words : *Habenaria* orchid, *Habenaria* mosaic potyvirus,
Habenaria mosaic disease

緒 言

1974年7月、市販のサギソウの葉にモザイクを生じた株を購入し、DN法による病葉試料の電子顕微鏡観察を行ったところ、長さ約750 nmのひも状ウイルス粒子が見出された。そのウイルスを検出して調べたところ、サギソウに感染し、アカザ科、ツルナなどの植物に局部感染することが認められた。このウイルスはサギソウで初めて見出され、またその諸性状から既知ウイルスとは異なる新しいpotyvirusと考えられた。1991年5月にも同様のモザイク症状を現わした市販のサギソウからも同種ウイルスが検出された。

本ウイルスの命名に当たって、著者の一人井上は最初宿主サギソウの学名を牧野新日本植物図鑑(1977)²⁸⁾に指示された *Pecteilis radiata* Rafin. から引用し、1980年 *pecteilis mosaic virus* と仮称し口頭発表した¹³⁾。しかし、サギソウの学名には著者により *Pecteilis*^{10,28,29)}あるいは *Habenaria*^{20,34,35)}が採用されて分類されていたことが分かった。前川文夫博士は原色日本のランの著書²²⁾で *Habenaria radiata* (Thunb.) Spreng. を採用し、また最近ではこの属名を用いている著書が多い。1989年に改訂増補して出版された牧野新日本植物図鑑³⁰⁾では後者の *Habenaria* 名を採用しており、*H. radiata* (Thunb.) Spreng. の学名が定着してきたように考えられた。井上は本ウイルスの名称と最初に検出された宿主サギソウ名とのかかわりにおいて将来の混乱を避けるため、さきに仮称した *pecteilis mosaic virus*¹³⁾を *habenaria mosaic virus* (HaMV) と改め、若干の新しいデータを加えて、1983年国際植物病理学会議(メルボルン)で発表した¹⁴⁾。本報は、そのHaMVについての最初の記載として、その後さらに実験した抗血清の作製、血清反応の結果を加え、得られたその諸性状について記述のしたものである。

本論文を取り纏めるに当たり、サギソウの学名についての有益な助言を戴いた高知大学農学部教授澤寛博士並びに AIMV および FMV に対する抗血清を提供された Dr. H. Huttinga (IPO in The Netherlands) に深甚なる謝意を表す。

実験材料および方法

供試ウイルス：前述の1974年7月、葉にモザイクを生じたサギソウから分離したウイルス(Ha-1)を供試した。さらに1991年5月市販のサギソウ(金覆輪)の葉に同じくモザイクを起こしたウイルス(Ha-2)についても供試した。両供試宿主のサギソウの出所は明らかに出来なかった。ウイルスの実験のための保存はサギソウの病株を温室に保存するとともに、汁液接種によって感染した *Chenopodium quinoa* の病葉を凍結乾燥し、また実験中のウイルスの継代保存および増殖は *C. quinoa* を用いて温室で行った。

汁液接種：宿主範囲のための供試植物はラン科の健全なサギソウ、*Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium* の他に、アカザ科植物、タバコ、ツルナなど13科40種の植物を用いた。接種試験は病葉を0.1 M リン酸緩衝液(pH 7.0)で磨砕した汁液にカーボランダムを加え、常法によ

って行った。接種結果の判定は接種後、ラン科植物では1年半、草本植物では20~30日頃までの病徴観察により、さらに *C. quinoa* への戻し接種ならびに必要な応じて病斑中のウイルス粒子の電顕観察を行って感染の有無を確かめた。

粗汁液中での安定性：ウイルスの不活化温度、希釈限度および保存限度の試験は汁液接種した *C. quinoa* 病葉汁液を、検定植物には *C. quinoa* または *C. amaranticolor* を用い、常法によって行った。局部病斑数は葉面積を測定し、1 cm² 当り内平均病斑数を算出し、病原性変化の傾向を調べた。

ウイルスの純化：接種7~10日目の *C. quinoa* の接種葉に3倍量 (v/w) の0.2%チオグリコール酸を含む0.5 M リン酸緩衝液 (PB, pH 7.0) を加えて磨砕し、2重のガーゼで搾汁した。粗汁液に1/4量 (v/v) の四塩化炭素を加え15分間攪拌したのち、3,000×g, 15分間遠心分離した。水層をとり、2% Triton X-100, 0.1 M NaCl および2%ポリエチレングリコール (#6,000) を加え60分間攪拌したのち、8,000×g, 20分間遠心分離した。得られた沈殿を0.1 M PB (pH 7.0) に懸濁した。懸濁液を8,000×g, 20分間遠心分離したのち、上清を3 ml の20%ショ糖溶液に重層し、Beckman 50.1 Ti ローターを用いて85,000×g, 150分間遠心分離した。沈殿を0.1 M PB に懸濁したのち、上清を10~40%ショ糖密度勾配に重層し、Beckman SW 27ローターを用いて85,600×g, 150分間遠心分離した。ウイルスのバンドを回収し、0.1 M PB に対して、一夜透析したものを精製ウイルスとした。

電顕観察：ウイルス粒子はパラフィルム上で病葉細片を2%リタングステン酸液の微滴中で押し潰し、1分後この液をコロジオン膜を張ったグリッドにのせ、余分の液をろ紙で吸い取り、電顕観察 (日立 HU-12 および日立 H-7100) を行った。病組織の超薄切片の電顕観察は、病葉の小片を6%グルタルアルデヒドと1%四塩化オスミウムとで二重固定し、エタノール脱水後、エポキシ樹脂に包埋して薄切りにし、その切片を酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色した試料について行った。

抗血清の作製：0.5 mg (0.5 ml) の精製ウイルスに等量 (v/v) の Freund's incomplete adjuvant を加え、乳化したものを2週間間隔で3回ウサギに筋肉注射した。その2週間後に1 mg のウイルスを同様に筋肉注射し、さらに2週間後に全採血した。

免疫電顕法：パラフィルム上に感染葉の小片を置き、少量の蒸留水を加え、ガラス棒を用いて軽く押し潰した。コロジオン支持膜を張ったグリッドを粗汁液に数十秒間浮かべたのち、0.15 M NaCl を含む0.02 M PB (PBS) pH 7.2 で数回洗浄した。グリッドを希釈した抗血清に浮かべ30°C で1時間反応させた。グリッドをPBSで2回、蒸留水で1回洗浄したあと、2% PTA (pH 6.5) で逆染色し、電顕観察した。

間接 ELISA 法：感染葉を0.05 M 炭酸緩衝液 (pH 9.6) を用いて磨砕し、同緩衝液で希釈した粗汁液をマイクロタイタープレート (Greiner) に1ウェル当り150 μl ずつ入れ、4°C に一夜置き、抗原を吸着させた。プレートを0.05% Tween 20 を含む PBS (PBST) で2回洗浄したあと、1%ウシ血清アルブミン (BSA) を加え、1時間ブロッキングを行った。PBST で1回洗浄したのち、0.2% BSA を含む PBST で2,000倍に希釈した抗血清をウェルに加え、37°C で3時間反応させたのち、PBST で3回洗浄した。次に2次抗体として3,000倍に希釈した抗ウサギ IgG-アルカリホスファターゼを加え、37°C で3時間反応させた。ウェルをPBST で4回洗浄したのち、基質として10%ジエタノールアミン (pH 9.8) に溶解した *p*-ニトロフェニルリン酸 (1 mg/ml) を加え、30°C に30分間置いて発色させたのち、405 nm にお

ける吸光度をマイクロタイタープレート (MPR-A4, 東ソー社) を用いて測定した。

結 果

1. 自然発生したサギソウの病徴

1974年7月に収集したサギソウ (Ha-1) は、新葉に退色斑点を、下葉には明瞭なモザイクを生じ、さらに葉がやや細り、よじれを起こして生育が悪かった (Plate I, 1)。また成熟した葉では退色斑の周りにえそを生じるものも見られた (Plate I, 2)。1991年5月に収集したサギソウ (金覆輪; Ha-2) では、前記と同様の退色斑およびモザイクの病徴を生じていた。また下部の成熟した葉には針点状の黒色えそ斑点または細くて長形のえそ斑が見られ、葉がやや萎縮し、生育不良であった (Plate I, 3)。

2. 宿主範囲と病徴

供試ウイルス Ha-1および Ha-2分離株の宿主範囲の結果はほぼ同じであった。汁液接種した13科40種のうち、サギソウに全身感染し、*C. amaranticolor*, *C. quinoa*, ホウレンソウ、ツルナおよびセンニチコウの3科5種に局部感染した。感染植物における病徴を次に記述する。

サギソウ (*Habenaria radiata*) : 接種葉に黒褐色の針点状のえそ斑点を生じ、さらに葉脈に沿ってゆ合するものが見られた。生育中の葉に接種した場合、接種面の下部の伸長した部分に退色斑を生じ、上葉にモザイクを生じた (Plate I, 4-5)。サギソウは秋に地上部の葉が枯死して球茎で越冬し、翌春新葉が生育する。その新葉にモザイクを生じ、またときに黒褐色の針点状えそ斑点を生じる葉も見られた。

C. amaranticolor : 接種葉に灰褐色のえそ斑点を生じ、その周りが細く退色した (Plate I, 6)。葉が黄化してくると、えそ斑点の周りが緑色に残り、のち赤紫色の輪点となった。全身感染はしなかった。

C. quinoa : 接種葉に初め中心に緑灰色または灰白色のえそ斑点を伴う退色斑点を生じた。のち退色部の周縁が褐色になってえそ輪点となるものがあり、またその外側に少し退色斑が広がるものも見られた (Plate I, 7)。しかし大きくは広がらなかった。全身感染はしなかった。

ツルナ (*Tetragonia expansa*) : 接種葉に周りのぼけた大きめの薄い退色斑点を生じた。全身感染はしなかった。

センニチコウ (*Gomphrena globosa*) : 接種葉に淡褐色のえそ斑点を生じ、のち中心褐色、周りが灰白色になる局部病斑を形成した (Plate I, 8)。全身感染はしなかった。

ホウレンソウ (*Spinacia oleracea*) : 接種葉に薄い退色斑点を生じた。全身感染はしなかった。

本ウイルスは以下の11科34種の植物、*Cattleya*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, タバコ (*Nicotiana tabacum*; White Burley, Samsun), *N. rustica*, *N. glutinosa*, *N. clevelandii*, *N. sylvestris*, ペチュニア (*Petunia hybrida*)、トマト (*Lycopersicon esculentum*)、ピーマン (*Capsicum annuum* var. *angulosum*)、チョウセンアサガオ (*Datura stramonium*)、キュウリ (*Cucumis sativus*)、シロウリ (*C. melo* var. *conomon*)、スイカ (*Citrullus lanatus*),

コカブ (*Brassica rapa*), コマツナ (*B. rapa* var. *perviridis*), ダイコン (*Raphanus sativus*), エンドウ (*Pisum sativum*), ソラマメ (*Vicia faba*), インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris*: 山城黒三度), ササゲ (*Vigna sinensis*: 黒種三尺), アズキ (*V. angularis*), *Cassia occidentalis*, フダンソウ (*Beta vulgaris* var. *cicla*), トウモロコシ (*Zea mays*), フリージャ (*Freesia refracta*), ヒャクニチソウ (*Zinnia elegans*), ヒマワリ (*Helianthus annuus*), アスター (*Callistephus chinensis*), ヤグルマギク (*Centaurea cyanus*), キンセンカ (*Calendula arvensis*), ナデシコ (*Dianthus superbus*), シロゴマ (*Sesamum indicum*) には感染しなかった。

3. アブラムシによる伝搬

アブラムシによる伝搬試験は1時間絶食させたモモアカアブラムシおよびワタアブラムシを用いた。モモアカアブラムシによる試験では、罹病サギソウと *C. quinoa* (局部病斑を多数生じた接種葉) の葉上で30秒間探り挿入させ、検定植物のサギソウに1本宛に30匹, *C. quinoa* には1葉当り20匹移し、4時間自然吸汁させた後に殺虫した。ワタアブラムシによる試験では、罹病植物および接种植物ともに *C. quinoa* を用い、前者と同様に30秒間の探り挿入による獲得吸汁、4時間の自然吸汁をさせることによって伝搬の有無を調べた。*C. quinoa* では、伝搬された局部病斑が少ないため、いずれの葉も病斑部 DN 法試料の電顕観察によってウイルス粒子の有無を調べ、また形成された退色斑点を切り取って集め、その磨碎汁液を *C. amaranticolor* へ戻し接種することによっても伝搬の有無を確認した。実験の結果、モモアカアブラムシはウイルスの獲得吸汁30秒間の探り挿入によって、サギソウおよび *C. quinoa* へ容易にウイルスを移した。しかしワタアブラムシは同様の探り挿入によって *C. quinoa* の10葉を用いて試験したが、伝搬が陰性であった。ワタアブラムシによる伝搬については詳しく試験する必要がある。

その結果、本ウイルスはモモアカアブラムシによって非永続的に伝搬されることが認められた。

4. 粗汁液中での安定性

罹病 *C. quinoa* 葉の粗汁液中での本ウイルスの安定性は、不活化温度が60~65°C (10分)、希釈限度が 10^{-5} ~ 10^{-6} 、保存限度が16~32日 (20°C) であった。

5. ウイルス粒子

ウイルス粒子は、DN 法試料の電顕観察で幅約13 nm、長さ約750 nm のひも状であった (Plate I, 9)。

6. 血清反応

1) 免疫電顕法 Ha-1分離株の純化ウイルスを家兎に注射して得られた抗血清は微滴凝集反応法で病葉粗汁液中のウイルスと512倍まで反応した。その抗血清を用い、本ウイルス (Ha-1)¹⁴⁾, bean yellow mosaic virus (BYMV, エビネから)²⁵⁾, clover yellow vein virus (CIYVV, エビネから)¹⁶⁾, dendrobium mosaic virus (DeMV, *Dendrobium* から)¹¹⁾, turnip mosaic virus (TuMV, エビネから)²⁶⁾ の5分離株の血清反応を免疫電顕法で調べた。その結

果は Table 1 に示した。Homologous の Ha-1 分離株とは 2048 倍希釈まで反応したのに対し、CIYVV とは 128 倍、BYMV とは 32 倍、TuMV と DeMV とは 4 倍希釈まで反応したに過ぎなかった。つぎに Ha-1 分離株抗血清、さらに *Potyvirus* 属の *alstroemeria mosaic virus* (AIMV, Dr. Huttinga から分譲抗血清)、BYMV²⁵⁾、CIYVV¹⁹⁾、DeMV²³⁾、*freesia mosaic virus* (FMV, Dr. Huttinga から分譲抗血清)、potato virus Y (PVY)²⁴⁾ および TuMV²⁶⁾ に対する抗血清 (微滴凝集反応法による力価は前者から 512, 1024, 512, 512, 512, 1024, 1024, 1024 倍希釈) を用い、Ha-1 分離株粒子の血清反応を免疫電顕法で調べた。その結果は Table 1 に示したように、本ウイルスは homologous の Ha-1 分離株の抗血清と 2048 倍希釈まで反応したのに対し、CIYVV 抗血清とは 256 倍、FMV 抗血清とは 64 倍、BYMV 抗血清とは 32 倍まで反応し、AIMV、DeMV、PVY、TuMV に対する各抗血清とは殆ど反応しなかった。

Table 1. Reciprocal titers of homologous and heterogeneous antisera tested against 8 potyviruses by immuno-electron microscopy

Antiserum/or Antigen	Homologous titer*	Titer to HaMV	Titer of HaMV-antiserum to
Habenaria mosaic virus	512	2048	2048
Alstroemeria mosaic virus	1024	<4	—
Bean yellow mosaic virus	512	32	32
Clover yellow vein virus	512	256	128
Dendrobium mosaic virus	512	<4	<4
Freesia mosaic virus	1024	64	—
Potato virus Y	1024	<4	—
Turnip mosaic virus	1024	4	<4

* : All titers were obtained in microprecipitin test.

— : not tested.

2) 間接 ELISA 法 本ウイルス (Ha-1) および CIYVV に対する 2 種の IgG を用い、抗原として Ha-1、他の *Potyvirus* 属の *calanthe mild mosaic virus* (CalMMV, エビネから)⁶⁾、CIYVV¹⁶⁾、DeMV¹¹⁾、TuMV²⁶⁾、WMV-2Hab⁶⁾ および健全葉汁液を用いて DAS-ELISA 試験を行った。それらの結果は Fig. 1 に示した。Ha-1 分離株の IgG を用いた試験では、homologous の Ha-1 抗原と強く反応したが、他の 6 種の potyvirus とは弱い反応または反応しなかった。CIYVV の IgG を用いた試験では、homologous の CIYVV と強く反応したが、他の 6 種ウイルスとは弱い反応または殆ど反応しなかった。

それらの結果、サギソウから分離した本ウイルスは他の供試 potyvirus ; AIMV, BYMV, CalMMV, CIYVV, DeMV, FMV, PVY, TuMV および WMV-2 と血清学的に異なるウイルスであることが認められた。しかし CIYVV, BYMV および FMV と本ウイルスとは一部共通抗原が存在するようであった。

7. 細胞質内封入体

電顕観察により、細胞質内封入体の破片がサギソウの罹病葉、汁液接種した *C. quinoa* およびツルナなどの局部病斑組織の磨砕汁液中に見られた。封入体破片の形状は管状のもの、

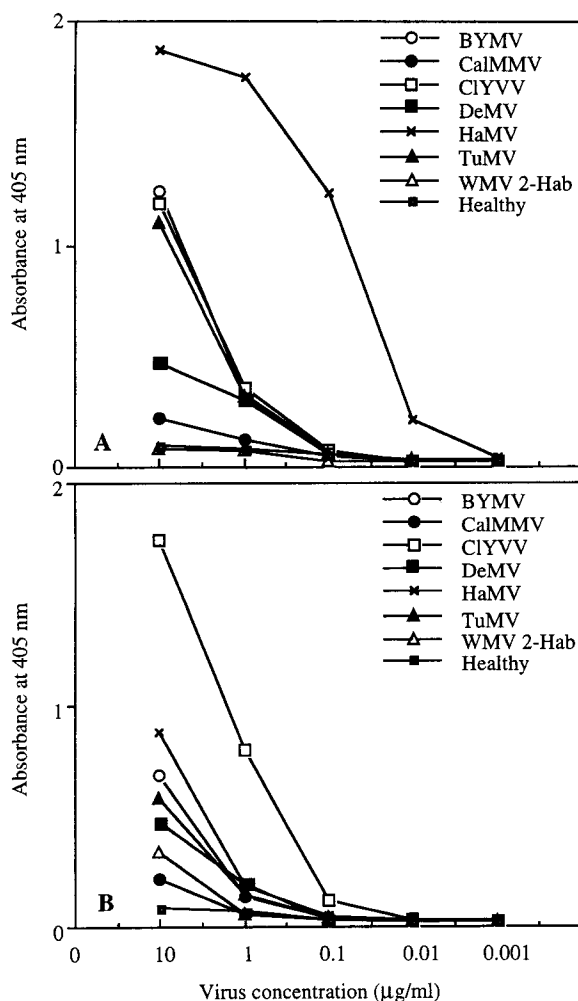


Fig. 1 Serological relationship between HaMV and six other potyviruses infecting orchids examined by I-ELISA using antisera against HaMV(A) and CIYVV(B).

幅広い鉾先状、四角状、何層かになった三角状のもの、また上記の形態の破壊された形状のものなどであった (Plate II, 5-7)。それらの封入体の面には約5.2 nmの直線微細構造が見られた。

8. 罹病細胞超薄切片の電顕観察

サギソウおよび *C. quinoa* の病植物葉の超薄切片像を観察したところ、どちらの植物でもほぼ同様の所見が得られた。細胞質内に風車状、管状、楕円形または輪状の封入体が見られ、また層板状の長断面も見られた (Plate II, 1-3)。しかし封入体切片像の形状は輪状のものが多かった (Plate II, 1-2)。ウイルス粒子は細胞質内に散在し、ときに小集会しているもの、また粒子の横断面と思われるものが見られた (Plate II, 1-4)。

考 察

サギソウから分離されたウイルスは粒子の大きさや形態、アブラムシの伝搬性、病組織超薄切片像に見られる細胞質内風車状封入体の形成などから、*Potyvirus* に所属する。このウイルスはサギソウに全身感染し、また *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, ホウレンソウ、ツルナおよびセンニチコウに局部感染し、寄主範囲の狭い寄生性をもった。

ラン科植物から検出された potyvirus には、bean yellow mosaic virus (BYMV)^{9,21,25,27}, calanthe mild mosaic virus (CalMMV)⁶, dendrobium mosaic virus (DeMV)¹¹, clover yellow vein virus (CIYVV)¹⁶, turnip mosaic virus (TuMV)²⁶, さらに最近サギソウの2番目のウイルスとして検出された watermelon mosaic virus 2 (WMV-2)⁷がある。*Dendrobium* から検出された寄生性の狭い DeMV は *Dendrobium* に容易に汁液感染し、ツルナに感染しないので、*Dendrobium* に感染しないサギソウからの本ウイルスとは容易に判別される。エビネからの CIYVV と BYMV はマメ科植物に感染、TuMV はアブラナ科に全身感染、WMV-2はカボチャやシロウリに感染するので、それらの植物に感染しない本ウイルスは寄生性を大きく異にしている。

本ウイルスの寄生性は狭いが、球根類や草本花卉植物に発生している potyvirus にも同様に寄生性の狭いウイルスがある。*Iris* mild mosaic virus (IMMV)^{3,8}は *C. quinoa* に感染するが、ツルナに感染せず、また *iris* severe mosaic virus (ISMV)^{5,8}は *C. amaranticolor*, *C. quinoa* およびツルナに感染しない。FMV¹⁷〔最初 Dr. Brunt が記載した *freesia* streak virus は現在 *freesia* mosaic virus (FMV) に統一された⁵〕はフリージャに全身感染する。ユリ科に感染する leek yellow stripe virus (LYSV)^{1,2,31}は *C. amaranticolor* や *C. quinoa* に局部感染するが、潜在期間が3週間と長く、またツルナに感染しない。ネギ類に発生する onion yellow dwarf virus (OYDV)^{32,33}は *C. amaranticolor* や *C. quinoa* に局部感染するが、ツルナとセンニチコウに感染しない。Tulip breaking virus (TBV)³⁶はチューリップとユリにしか感染しない。Vallota mosaic virus (ValMV)¹²は *C. amaranticolor* や *C. quinoa* の接種葉に退色斑点を生じ、またツルナに退色輪点の局部病斑を形成する。*Alstroemeria* mosaic virus (AlMV)^{15,18}および *narcissus* yellow stripe virus (NYSV)¹⁸はセンニチコウやホウレンソウに感染しない。寄主範囲の狭いこれらのウイルスは寄生性の点で本ウイルスと異なる。

本ウイルスの粒子の長さは約750 nmで、AlMV¹⁵, BYMV^{19,21,25,27}, CIYVV¹⁶, IMMV^{3,8}, ISMV^{5,8}および ValMV¹²などとほぼ同じであるが、LYSV^{1,2,31}の粒子は約820 nm, FMV¹⁷は850 nm, OYDV³²は780 nm で長い。本ウイルス罹病葉の超薄切片像には細胞質内に環状の封入体が多く見られ、風車状は少なかった。この管状封入体の形状は、Edwardson and Christie⁴の分類に当てはめると *Potyvirus* 属の Subdivision I に属すると思われる。しかし切片像にこの環状の封入体が主である構造はその Subdivision I に属する DeMV¹¹や ValMV¹²のような風車状構造が普通によく見られる所見に比べ特徴的であった。

サギソウからの本ウイルスに対する抗血清は potyvirus の AlMV¹⁵, BYMV²⁵, CalMMV⁶, CIYVV¹⁶, DeMV¹¹, FMV¹⁷, TuMV²⁷ および WMV-2⁷ と弱く反応するか、反応しない。また同様に前記 AlMV, BYMV, CIYVV, DeMV, FMV, PVY および TuMV に対する抗血清は本ウイルスと反応しないか、弱い反応であった。

これらのことから、サギソウの potyvirus は新しいウイルスと考え、habenaria mosaic virus (HaMV) と命名した。

HaMV はサギソウに感染し、葉にモザイクを現わす。本ウイルス病に罹病したサギソウは葉にモザイクを生じて生育が悪く、またよじれなどやや変形し、花着きが悪い。サギソウの花は、白色であるため斑入りが認められないが、発育が悪く、やや小型である。故に本病に罹ったサギソウは被害が大きく、著しく観賞効果が落ちる。

摘 要

1974年7月、市販されていたサギソウの葉に明瞭なモザイクを現わし、葉がややよじれ症状を呈した病原ウイルスを調べたところ、potyvirus が検出された。本ウイルスは13科40種に汁液接種したところ、サギソウに全身感染し、*C. amaranthicolor*, *C. quinoa*, ホウレンソウ、ツルナ、センニチコウの3科5種の植物に局部感染が認められた。本ウイルスはまたモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) によって非永続的に伝搬された。ウイルス粒子は長さ約750 nm、幅約13 nm のひも状であった。病葉粗汁液中の不活化限界は耐希釈性が 10^{-5} ~ 10^{-6} 、耐熱性が60~65°C (10分)、耐希釈性が8~16日 (20°C) であった。

純化ウイルスを家兎に注射して免疫し、力価512倍 (微滴凝集反応法) の抗血清が得られた。本ウイルスおよびCIYVV に対する抗血清を用い、ELISA 法により本ウイルス株、BYMV, CalMMV, CIYVV, DeMV, TuMV, WMV-2との血清反応試験、さらに本ウイルス、AIMV, BYMV, CIYVV, DeMV, FMV, PVY, TuMV とそれらのウイルスに対する抗血清との相互血清反応を免疫電顕法によって調べたところ、本ウイルスは血清学的に他の供試 potyvirus とは異なるウイルスであることが認められた。

電顕により観察したサギソウや *C. quinoa* などの病葉組織の超薄切片像には細胞質内に風車状、輪状、管状および層板状などの封入体の形成が認められた。また病葉からの PTA 染色による DN 法試料には封入体の層板状の破片が認められ、それらの面には線間隔約5.2 nm の平行微細構造が観察された。

本ウイルスを habenaria mosaic virus (HaMV) と命名し、和名をサギソウモザイクウイルス、サギソウの病名をモザイク病とした。

HaMV は1991年5月にも同様葉にモザイクを生じた市販のサギソウからも検出された。

キーワード：サギソウ、サギソウモザイクウイルス、サギソウのモザイク病

引 用 文 献

1. Bos, L. 1981. Leek yellow stripe virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 240.
2. Bos, L., Huijberts, N., Huttinga, H. and Maat, D. Z. 1978. Leek yellow stripe virus and its relationships to onion yellow dwarf virus; characterization, ecology and possible control. Neth. J. Pl. Path. 84: 185-204.
3. Brunt, A. A. 1986. Iris mild mosaic virus. AAB Descriptions of plant viruses. No. 324.
4. Edwardson, J. R. Christie, R. G. and Ko, N. J. 1984. Potyvirus cylindrical inclusions Subdivision-IV.

- Phytopathology 74 : 1111-1114.
5. Edwardson, J. R. and Christie, R. G. 1991. The potyvirus group. Vol. I. II. III. Monograph No. 16 -II, Agric. Exp. Sta., Inst. of Food and Agric. Sci. Univ. of Florida.
 6. Gara, I. W., Kondo, H., Maeda, T., Tamada, T. and Inouye, N. 1997. Calanthe mild mosaic virus, a new potyvirus from *Calanthe* orchid. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 63 : 266. (abs.)
 7. Gara, I. W., Kondo, H., Maeda, T., Tamada, T. and Inouye, N. 1997. Stunt disease of *Habenaria radiata* caused by a strain of watermelon mosaic virus 2. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 63 : 113-117.
 8. Hammond, J., Brunt, A. A., Derks, A. F. L. M., Inouye, N., Barnett, O. W., Allen, T. C., and Lawson, R. H. 1985. Virus infecting bulbous iris, A clarification of nomenclature. Acta Hort. No. 164 : 395-397.
 9. Hammond, J. and Lawson, R. H. 1988. A strain of bean yellow mosaic virus is aphid-transmitted from orchid. Acta Hort. No. 234 : 365-370.
 10. 橋本 保・神田 淳・村川博実. 1991. 野生ラン. pp. 295. 家の光協会.
 11. Inouye, N. 1976. Dendrobium mosaic virus. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 16 : 165-174.
 12. Inouye, N. and Hakkaart, F. 1980. Preliminary description of a potyvirus from *Vallota speciosa*. Neth. J. Pl. Path. 86 : 265-275.
 13. 井上成信. 1980. サギソウから分離されたひも状ウイルス—pecteilis mosaic virus. 日植病報 46 : 414. (講要)
 14. Inouye, N. 1983. Habenaria mosaic virus, a new member of the Potyvirus group. Fourth Inter. Cong. of Pl. Pathol. Abs. of Papers. 117.
 15. 井上成信・前田孚憲・Huttinga, H. 1991. アルストロメリアから分離された2種のウイルス, arabis mosaic virus と alstroemeria mosaic virus. 日植病報 58 : 135. (講要)
 16. Inouye, N., Maeda, T. and Mitsuhashi, K. 1988. A strain of clover yellow vein virus isolated *Calanthe* sp. Acta Hort. No. 234 : 61-68.
 17. 井上成信・光畑興二. 1983. フリージャから分離された freesia streak virus について. 日植病報. 49 : 113-114. (講要)
 18. 井上成信・光畑興二・前田孚憲. 1992. 花卉園芸植物から検出された Potyvirus 群ウイルスの宿主反応の研究. 平成元～3年度特定研究「生物相互における情報認識と応反応に関する研究」研究成果報告書 81-87.
 19. 兼重 寛・前田孚憲・井上成信. 1991. クロッカスから分離された bean yellow mosaic virus (BYMV) の諸性質並びに BYMV3 系統の血清学的類縁関係. 農学研究 62 : 225-240.
 20. 北村四郎・村田 源・小山鉄夫. 1968. 原色日本植物図鑑, 下. 草本編〔III〕 pp. 464. サギソウ. p. 7. 保育社.
 21. Lesemann, D. -E. and Koenig, R. 1985. Identification of bean yellow mosaic virus in *Masdevallia*. Acta Hort. 164 : 347-354.
 22. 前川文夫. 1971. 原色日本のラン. pp. 495. サギソウ. p. 91. 誠文堂新光社.
 23. 前田孚憲・植田正浩・近藤秀樹・井上成信. 1995. Dendrobium mosaic virus の精製並びにわが国のラン科植物に発生する他の Potyvirus 血清学的類縁関係. 日植病報 61 : 275. (講要)
 24. 前田孚憲・日高 操・日高 醇. 1975. 長崎県のジャガイモに発生した病害について 第2報. 日植病報

- 41: 284. (講要)
25. 松本純一・前田孚憲・井上成信. 1993. エビネから分離された Bean yellow mosaic virus の諸性質. 日植病報 59: 65. (講要)
26. 松本純一・前田孚憲・井上成信. 1993. エビネから分離された turnip mosaic virus (TuMV) について. 日植病報 59: 333-334. (講要)
27. Matsumoto, J., Maeda, T. and Inouye, N. 1994. Bean yellow mosaic virus and turnip mosaic virus, two potyviruses infecting *Calanthe* sp. in Japan. XXIV Int. Horticult. Congress. Abstracts p. 205 (P-17-11).
28. 牧野富太郎. 1977. 牧野新日本植物図鑑 (前川文夫・原寛・津山尚編修). pp. 1060. さぎそう. p. 881. 北隆館.
29. 牧野富太郎. 1986. 原色牧野植物大図鑑 (本田正次編修). pp. 906. サギソウ. p. 775. 北隆館.
30. 牧野富太郎. 1989. 改訂増補新日本植物図鑑 (小野幹雄・大場秀章・西田誠編修). pp. 1453. サギソウ. p. 1065. 北隆館.
31. Noda, C. and Inouye, N. 1989. Leek yellow stripe virus isolated from an ornamental *Allium* plant in Japan. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 55: 208-215.
32. 野田千代一・井上成信. 1989. 観賞用アリウムから分離された onion yellow dwarf virus について. 日植病報 55: 532. (講要)
33. 野田千代一. 1989. 観賞用 *Allium* 属植物から検出されたウイルスの分類・同定並びに病原学的研究. 岡山大自然科学研究科卒論. pp. 115, Plate 28.
34. 大井次三郎. 1978. 日本植物誌. pp. 1383. サギソウ. p. 343. 至文堂.
35. 小田倉正圀. 1987. 最新の野生ラン全科 (梅田衛・大橋秀昭・小田倉正圀・木村なほ・堀内一博・三橋俊治共著). pp. 212. 湿地のラン. サギソウ. p. 25. 新企画出版局.
36. van Slogteren, D. H. M. 1971. Tulip breaking virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 71.

Explanation of Plates

Plate I.

- 1-3. Symptoms of naturally infected *Habenaria radiata* with habenaria mosaic virus (HaMV), showing mosaic and necrotic spots. 1-2: Ha-1 and 3: Ha-2 isolates.
- 4-5. Symptoms of *H. radiata* inoculated with HaMV, showing mosaic.
6. Local lesions of HaMV in inoculated leaf of *Chenopodium amaranticolor*.
7. Local lesions of HaMV in inoculated leaf of *C. quinoa*.
8. Local lesions of HaMV in inoculated leaf of *Gomphrena globosa*.
9. Particles of HaMV in leaf-dip preparation from naturally infected *H. radiata* leaf stained with 2% sodium phosphotungstate, pH 7.0. Bar represents 100 nm.

Plate II.

- 1-4. Electron micrographs of ultrathin sections of the mesophyll cells of *H. radiata* infected with HaMV, showing tubular inclusions, pinwheels, scrolls, laminate aggregates and dispersion of virus particles. Bars represent 300 nm (1-3) and 200 nm (4).
- 5-7. Fragments of cylindrical inclusions in negatively stained sap of the leaves of *Tetragonia expansa* (5) and *C. quinoa* (6-7) infected with HaMV. Bar represents 100 nm.

Plate I.

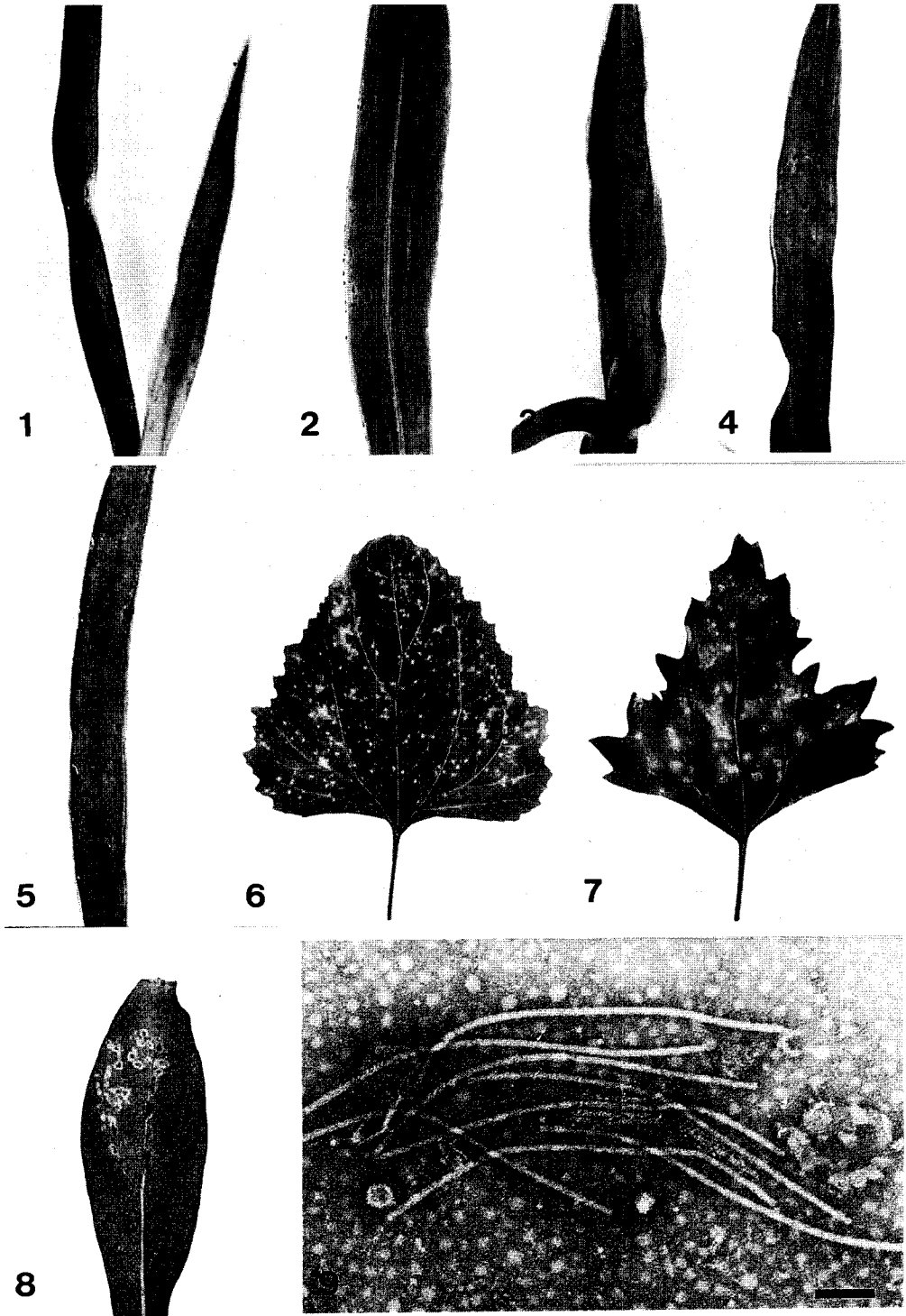


Plate II.

