

## 台湾のラン科植物におけるウイルス病 の発生調査

井上成信・呂理榮\*

### 緒言

台湾は亜熱帯に属し、冬期気温が比較的高いため、ランの栽培には温室を必要とせず、強い陽光を遮断するだけといった簡単な設備で十分である。このような地の利を得て、ランの栽培が大へん盛んであり、中には1～2ヘクタールの面積に栽培されている例もみられ、また自宅の屋上や庭などで観賞用に栽培する人も非常に多い。一方、ランの葉にモザイクやえそ斑あるいは花に斑入りを生ずるなどのウイルス病の発生も多く、これが観賞価値を大きく落す原因となっている。

著者の一人井上は台湾植物保護中心の招請により、台湾のラン科植物におけるウイルス病の発生状況を調べる目的で、1982年3月15日から2カ月間、台湾各地のラン栽培園を調査した。また採集した植物についてはウイルスの検出並びに同定実験を行った。その結果、cymbidium mosaic virus (CyMV), odontoglossum ringspot virus (ORSV), cucumber mosaic virus (CMV) および bullet-shaped virus-like particles (OFV 様ウイルス) の4種の発生が確認された。台湾では既に CyMV<sup>8,11)</sup> と ORSV<sup>8)</sup> の発生が知られていたが、新たに CMV と OFV 様ウイルスが発見された。また CyMV と ORSV は台湾に広く分布していることも認められた。

本報告は台湾のラン科植物におけるウイルス病の発生調査と同定実験の結果について記述しているものである。

本研究は台湾植物保護中心 (PPC, 所長李国欽博士) からの補助金によって行った。ここに深甚の謝意を表す。また実験に協力された PPC 植物病理組張淳文氏、一部現地調査の案内と便宜を与えられたラン栽培者台中市三民路呉海瑞氏 および台中県大里郷張朱金璋氏、並びに本論文をまとめるに当たり、資料の整理に協力された当研究室光畑興二技官に対し謝意を表す。

### 実験材料および方法

#### 調査地域および材料

調査したランの栽培地は Table 1 に示したように、台湾の東海岸の中南部地域を除く5市9県41カ所であった。Cattleya 系や Cymbidium のように cymbidium mosaic virus や odontoglossum ringspot virus によって葉や花弁に特徴的な病徴<sup>3, 4, 12-15, 17-22,</sup>

昭和57年12月20日受理

\* 台湾植物保護中心 台湾、台中県霧峰鄉中正路 189

Table 1. Regions of field investigation of virus

City & Prefecture	No. of orchid nurseries surveyed	City & Prefecture	No. of orchid nurseries surveyed
Tai Pei Mun (台北市)	4	Chang Hua County (彰化県)	3
Tai Pei County (台北県)	1	Nan Tou County (南投県)	4
I Lan County (宜蘭県)	1	Chia Yi County (嘉義県)	1
Hsin Chu City (新竹市)	2	Tai Nan City (台南市)	3
Hsin Chu County (新竹県)	2	Tai Nan County (台南県)	5
Tai Chung City (台中市)	6	Kao Hsinng City (高雄市)	1
Tai Chung County (台中県)	7	Ping Tung County (屏東県)	1

27~38, 49) を現わすものについては、現地で先ずその病徴によってウイルスの判別ならびに発生状況を観察した。それぞれ特徴的な病斑を示した12属124株は採集して検査標本とした。採集標本は切葉では冷蔵庫(4°C)に保存し、鉢植え株は研究室に保存して逐次同定実験に用いた。

#### ウイルスの検査方法

ウイルスの診断は最初2% リンタングステン酸(PTA)を用いたダイレクトネガティブ染色法で作成した試料について、ウイルス粒子の形態を電顕観察した。桿状またはひも状粒子がみられなかった一部の標本については、病葉小片を1%四酸化オスミウム滴中でおしつぶして固定したのち、2% PTA 染色を行って電顕観察した。また他の一部の標本では病葉小片を10%ホルマリン液で前固定し、DN法によるPTA染色を行って電顕観察した。生物検定には数種の検定植物を用い、汁液接種は原株の病葉または接種で感染した病葉を0.1Mりん酸緩衝液で磨碎し、カーボランダムを用いた摩擦接種法により温室で行った。

アブラムシ伝搬にはモモアカアブラムシ(*Myzus persicae*)を用いた。1時間絶食させたアブラムシを30秒間 *Nicotiana glutinosa* の全身感染病葉上でウイルスを獲得吸汁させ、のち健全な *N. glutinosa* 葉上に移して4時間加害させた。アブラムシは接种植物1株当たり20匹ずつを放飼した。

血清反応試験はCyMV抗血清、ORSV抗血清およびCMV-Y抗血清を用い、前2者を用いた試験には微量凝集反応法、CMV-Y抗血清を用いた試験には抗血清寒天スライド法(SRD法)<sup>48)</sup>によって行った。微量凝集反応法に用いた粗汁液は検定葉に生理食塩水の10倍量を加えて磨碎し、ガーゼで搾汁したのち、3,000 rpmで10分間遠心分離した上清を供試した。SRD法は匠原・井上(1978)の方法に準じ、0.8%粉末寒天、0.85% NaCl、0.2% NaN<sub>3</sub>を0.05M Borate buffer (pH 8.0)に加熱溶解し、CMV-Y抗血清を25倍になるように加え、スライドガラス上にひろげ固化させた。その寒天上にろ紙円盤を並べ、その上に病葉と健全葉をそれぞれ24% NaCl液でおしつぶした汁液を含む組織をのせた。他の一つの方法は上記抗血清寒天に径4.5 mmの小穴を並べてあけ、一つの穴に対照として健全植物葉の粗汁液を、他方には病葉粗汁液を注入した。粗汁液は検定葉に5倍量の24% NaCl液を加えて磨碎し、3,000 rpmで15分間遠心分離した上清を用いた。このようにしたスライドガラスを湿室容器に入れて室温におき、ろ紙または穴の

周辺の寒天内に現われた沈降帯を観察し、この沈降帯の有無によって血清反応の判定を行った。

## 実 験 結 果

### 1. ウイルスの同定

採集病植物について、検定植物での接種反応、ウイルス粒子の形態、アブラムシ伝搬、血清反応などを調べた。得られた結果の所見から、cymbidium mosaic virus (CyMV), odontoglossum ringspot virus (ORSV) および cucumber mosaic virus (CMV) の3種のウイルスが同定された。なお電顕観察では bullet-shaped virus-like particles が認められたが、同定するに至らなかった。つぎにそれらウイルスの得られた結果について示す。

#### Cymbidium mosaic virus

このウイルスは台湾各地から採集された多くのランの病株から分離された。

(1) 寄主範囲と病徴 採集植物葉汁液 および ツルナの接種病葉を接種源として数種の検定植物に接種し、寄主反応を調べたところ、Table 2 に示すような結果が得られた。

Table 2. Reaction of some test plants to cymbidium mosaic virus

Source plants	Cattleya		Dendrobium	
	Symptoms		Symptoms	
Test plants	Inoculated leaves	Uninoculated leaves	Inoculated leaves	Uninoculated leaves
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	GRS	—	GRS	—
<i>C. quinoa</i>	CS, WNS	—	CS, WNS	—
<i>Gomphrena globosa</i>	—	—	—	—
<i>Datura alba</i>	GRS	—	GRS	—
<i>Nicotiana glutinosa</i>	—	—	—	—
<i>N. rustica</i>	—	—	—	—
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	—	—	—	—
<i>Tetragonia expansa</i>	CS	—	CS	—

CS: chlorotic spots, GRS: green ring spots, WNS: white necrotic spots, —: no infection.

ラン科の *Cattleya*, *Cymbidium* および *Dendrobium* に全身感染し、*Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Datura alba* およびツルナに局部病斑を生じた。*Cymbidium* の葉にはモザイク斑とえそ斑を、*Cattleya* の葉にはえそ斑を、*Dendrobium* の葉にはモザイク斑を生じた。ツルナには接種葉に淡い退色斑点を生じ、*C. amaranticolor* には接種葉が黄化すると灰白色斑点の周りが緑色リング状に残る局部病斑を生じた (Plate III, 4)。タバコ (White Burley), *N. glutinosa*, *N. rustica* およびセンニチコウなどには感染しなかった。上記のような寄主反応は CyMV<sup>3, 7, 12, 15, 32, 35, 49, 50</sup> によるものとよく一致した。

(2) ウイルス粒子の形態 採集原株および汁液接種によって感染した病葉を DN 法で作成した試料について電顕観察したところ、ウイルス粒子は長さ 475~500 nm, 幅約 13 nm のひも状であった (Plate IV, 1).

(3) 血清反応 CyMV 抗血清に対する 採集植物葉汁液の微量凝集反応法による血清反応を調べたところ、電顕観察で 475~500 nm の長さのひも状ウイルスが見られた試料はいずれも凝集反応を生じた。一部の標本については、日本で発生している CyMV との血清学的関係を調べるため、CyMV 抗血清 (力価 2048 倍) の希釈段階をつくり反応試験

Table 3. Cross reactions of CyMV and ORSV to anti-CyMV serum and anti-ORSV serum in microagglutination test

Antiserum	Virus	Source of antigen	Antiserum dilution									
			8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	NaCl
CyMV	CyMV	<i>Cattleya</i> (2)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
	CyMV	<i>Cattleya</i> (71)	+++	+++	++	++	++	++	+	+	-	-
	ORSV	<i>C. quinoa</i> *(50)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ORSV	ORSV	<i>C. quinoa</i> *(50)	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
	CyMV	<i>Cattleya</i> (2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	CyMV	<i>Cattleya</i> (71)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+++~+: positive reaction, -: indicates no reaction, ( ): collection number,

\*: inoculated leaf.

を行った。その結果は Table 3 に示すように、抗血清の希釈 1024 倍または 2048 倍まで反応し、台湾に発生がみられる同ウイルスと日本に発生している CyMV<sup>15, 22)</sup> とは抗原性を同じくし、血清学的に同種ウイルスと判定された。

以上のようなことから、本ウイルスを CyMV と同定した。

#### Odontoglossum ringspot virus

このウイルスは CyMV と同様に台湾各地から採集した多くのランの病株から分離された。

(1) 寄主範囲と病徴 採集植物葉汁液およびツルナの接種病葉を接種源として数種の検定植物に接種し、寄主反応を調べたところ、Table 4 に示すような結果が得られた。ラン科の *Cattleya*, *Cymbidium*, ナス科の *N. clevelandii*, キク科のヒャクニチソウに全身感染し、*C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *Datura alba*, *N. glutinosa*, ツルナおよびセンニチコウに局部病斑を生じた。*Cattleya* には淡い赤紫色斑を (Plate III, 7), *Cymbidium* には最初新葉の下半部に退色斑を生じ、しだいに幅広い病斑となった。のち葉の伸長に伴い最初現われた退色斑の下部葉には病斑がみられず、また退色斑は葉の成熟とともにモザイクとなった。ヒャクニチソウには病斑がみられなかったが、上葉および花卉からの戻し接種によるウイルスの回収は陽性であった。*N. clevelandii* の上葉には淡いモザイク斑を生じ、少し萎縮した。局部感染した *C. amaranticolor*, *C. quinoa* およびツルナ (Plate III, 6) の接種葉には灰白色のえそ斑点またはえそ輪点を生じ、センニチコウにはえそ斑

Table 4. Reaction of some test plants to odontoglossum ringspot virus

Source plants Test plants	Cymbidium		Potinara	
	Symptoms		Symptoms	
	Inoculated leaves	Uninoculated leaves	Inoculated leaves	Uninoculated leaves
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	WNS	—	WNS	—
<i>C. quinoa</i>	WNS	—	WNS	—
<i>Gomphrena globosa</i>	NS	—	NS	—
<i>Datura alba</i>	NS	—	NS	—
<i>Nicotiana clevelandii</i>	+	mo		
<i>N. glutinosa</i>	NS	—	NS	—
<i>N. rustica</i>	—	—	—	—
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	—	—	—	—
<i>Tetragonia expansa</i>	WNS, WRS	—	WNS, WRS	—
<i>Zinnia elegans</i>	+	+		

mo: faint mosaic, NS: necrotic spots, WNS: white necrotic spots, WRS: white necrotic ring spots, +: infected symptomlessly, —: no infection.

を生じた。タバコ (White Burley) や *N. rustica* には感染しなかった。上記のような寄主反応は ORSV<sup>28, 45, 46)</sup> によるものとよく一致した。

(2) ウイルス粒子の形態 原株および汁液接種によって感染した病葉を DN 法で作成した試料について電顕観察したところ、ウイルス粒子は長さ約 300 nm, 幅約 18 nm の桿状であった (Plate IV, 3)。

(3) 血清反応 ORSV 抗血清<sup>44)</sup> に対する採集植物葉汁液の微量凝集反応法による血清反応を調べたところ、電顕観察で粒子の長さ約 300 nm の桿状ウイルスが見られた試料はいずれも凝集反応を生じた。一部の標本については、ORSV 抗血清の希釈段階をつくり、抗原には接種した *C. quinoa* の接種葉に 0.85 % NaCl 液を加えて磨砕し、3,000 rpm で 15 分間遠心分離した上清を用いて、血清反応試験を行ったところ、抗血清希釈の 512 倍まで反応がみられた (Table 3)。抗血清反応倍率は homologous 力価 (2048 倍) より少し低かったが、これは抗原に *C. quinoa* の接種葉を用いたことに関係もあり、日本に発生がみられる ORSV と台湾の本ウイルスとの抗原性に大きな違いがないものと思われた。

以上のようなことから、本ウイルスを ORSV と同定した。

### Cucumber mosaic virus

このウイルスは *Dendrobium* の葉に退色斑および花に斑入りを生じた病株から分離された。

(1) 寄主範囲と病徴 採集植物葉汁液および接種し感染したタバコ (White Burley) または *N. rustica* の全身感染病葉汁液を接種源として数種の検定植物に接種し寄主反応を調べたところ、Table 5 に示すような結果が得られた。ラン科の *Dendrobium* に全身感染して淡い退色斑を生じたが、葉の成熟に伴い病斑はめだたなくなった。タバコ (White Burley) (Plate III, 8), *N. glutinosa* および *N. rustica* には全身感染し明瞭なモザイク

Table 5. Reaction of some test plants to cucumber mosaic virus

Source plants  Test plants	<i>Dendrobium</i>		<i>Dendrobium</i>	
	Symptoms		Symptoms	
	Inoculated leaves	Uninoculated leaves	Inoculated leaves	Uninoculated leaves
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	NS	—	NS	—
<i>C. quinoa</i>	CS	—	CS	—
<i>Gomphrena globosa</i>	NS	CS, Mo	NS	CS, Mo
<i>Datura alba</i>	GRS	—	GRS	—
<i>Nicotiana glutinosa</i>	CS	Mo	CS	Mo, mal
<i>N. rustica</i>	CS	VC, Mo	CS	VC, Mo
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	CS	VC, Mo	CS	VC, Mo
<i>Tetragonia expansa</i>	CS	CS, WN	CS	—
<i>Vicia faba</i>	NS	—	NS	—
<i>Vigna sesquipedalis</i> cv. Kurodane-Sanjaku	NS	—	NS	—

CS: chlorotic spots, GRS: green ring spots, Mo: mosaic, mal: malformation, NS: necrotic spots, VC: vein clear, WN: white necrosis, —: no infection.

を生じた。ツルナには接種葉に退色斑点を生じたが、分離株によっては全身感染し、退色斑点と灰白色のえそ斑点、上葉にモザイクを生じた。またソラマメやササゲには局部病斑を形成し、全身感染しなかった。

(2) ウィルス粒子の形態 原株および汁液接種によって感染したタバコの全身病葉をホルマリンで前固定後、DN 法による PTA 染色を行って電顕観察したところ、ウィルス粒子は径約 28-30 nm の球状であった (Plate IV, 2)。

(3) アブラムシによる伝搬 *Dendrobium* から検出した球状ウィルスについて、接種源に *N. glutinosa* の病葉を、また接種植物に *N. glutinosa* を用い、アブラムシによる伝搬試験を行った。その結果、本ウィルスはモモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) により非永続的に容易に伝搬された。

(4) 血清反応 本ウィルスに感染したタバコ (White Burley) および *N. glutinosa* の病葉磨砕液と CMV-Y 抗血清との間で、簡易寒天ゲル内拡散法による血清反応試験を行ったところ、試料の周りの寒天中に特異的な沈降帯を生じた (Plate IV, 5)。

以上のようなことから、本ウィルスを CMV と同定した。

#### Bullet-shaped virus-like particles

DN 法試料で桿状またはひも状粒子が認められなかった標本で、その病葉小片を 1% 四酸化オスミウム滴中でおしつぶして固定したのち、PTA 染色した試料を電顕観察したところ、葉に退色斑やえそ斑点を生じた *Laeliocattleya* と *Cymbidium* に少数の弾丸型粒子がみられた。その粒子の形態から orchid fleck virus (OFV)<sup>2)</sup> またはその類似ウィルス<sup>1, 23, 39-41)</sup> ではないかと考えられたが、同定実験を行っていないので、本報ではこのような形状のウィルスの発生がみられたということのみ記述する。

## 2. ウイルスの発生状況

### 自然発生による病徴

採集された株で同定実験により明らかにされたウイルスの種類別に見た自然発生の主な病徴を次に示す。

#### (a) CyMV が検出された植物の病徴

*Calanthe*: 新葉には退色斑を生じ、それがゆ合した形状の長い退色条斑を示した。また葉に濃淡の明瞭なモザイクを生じた (Plate I, 1)。古い葉では濃淡が淡いモザイクを示した。

*Cattleya* 系 (*C.*, *Bc.*, *Blc.*, *Lc.*, *Slc.*): 種または品種によって若干病徴を異にしたので、その中の特徴的な主な病徴をタイプ別に示す (以下同じ)。

A: 淡い退色斑または葉脈に沿った長い退色条斑を示した。

B: 葉先過半部の面に 1~3 mm 大のえそ斑点を多数生じた。斑点は隣接のものと接してゆ合し、広い黒褐色斑となる部分もみられた。葉の裏面には小さい黒色の斑点を示した (Plate I, 5)。

C: 葉肉部および葉面に黒褐色のえそ斑を生じ、また斑点がゆ合して葉脈に沿って連なり、長いえそ条斑を示した。えそが表皮に現われた部位では表皮がへこむえそ斑を示した (Plate I, 2, 4)。葉の裏面にもえそを生じ、ゆ合して葉脈に沿った長いえそ条斑となり、また表皮にへこみを生じた (Plate I, 3)。

*Cymbidium*: A: 葉脈間に円形、紡錘形または長方形の退色斑あるいは中心に緑色を残す紡錘形または長方形などの退色輪紋を示した。退色斑は細いものや葉脈間に不定形に現われるものがあった (Plate I, 7)。古い葉では淡い退色斑とともに黒褐色のへこんだ不定形えそ斑を多数生じた。えそ斑は葉脈に沿って連なり長いえそ条斑となるものもみられた (Plate I, 6)。

B: 針点状の小さなえそ斑を多数生じ、またゆ合して 1 mm 大のものや葉脈に沿ったえそ条斑となるものがあった (Plate I, 8)。

*Dendrobium*: 葉に長方形の退色斑を生じ、その濃淡の境界が不明瞭なモザイクを示した。退色斑は葉脈間の隣接のものとゆ合し、長い退色条斑となるものもみられた。

*Denphalaenopsis*: 葉に退色斑およびえそ斑点を示した。

*Doritaenopsis*: 葉に退色斑によるモザイクを示した。退色斑は不定形で、円形、長方形、輪紋あるいは長方形輪紋などの形状を示した (Plate I, 9)。局所的にえそ斑点を生じ、表皮にへこみを生じた。

*Phalaenopsis*: 葉に黒褐色~黒色の斑点を現わし、表皮にへこみを生じた。えそ斑が葉肉部に生じ、その部分の表皮が健全にみえるものもあった。えそ斑は葉脈にそってゆ合連結し、不規則な形状のへこんだ長い条斑として現われた (Plate I, 10)。

*Rhynchostylis*: 葉に黒色の斑点を生じ、拡大して大きな斑点となるものでは中心にへこみがみられた。黒斑は隣接のものとゆ合し、葉が黒色汚染様症状を示した (Plate I, 11)。

*Vanda*: A: 葉に 1~2 mm 大の褐色~黒褐色のへこんだえそ斑点またはえそ条斑を示した (Plate I, 12)。

B: 黒褐色の斑点および葉脈が黒褐色になる条斑を示した。また斑点が隣接のものといひ合し、広い濃褐色斑となる部分がみられた (Plate I, 13).

**(b) ORSV が検出された植物の病徴**

*Cattleya* 系 (C., Bc., Blc., Lc., Slc.): A: 葉に明瞭な症状はみられなかったが、局所的に淡い小さな赤紫色斑を示した。

B: 葉に病徴がみられなかったが、赤色の濃い花卉に退色性の明瞭な斑入りを示した (Plate II, 1, 2).

C: 葉に病徴がみられなかったが、ピンク色の花卉に増色性の斑入りを示した。

D: 葉に紡錘形または楕円形の濃赤紫色の斑点あるいは輪紋を生じた (Plate I, 14).

*Cymbidium*: A: 葉に少数の淡い退色斑を生じ、えそ斑はみられなかった (Plate II, 5).

B: 新葉に明瞭な退色斑がクサビ形または長い条斑として現われた (Plate II, 4). 古い葉に淡い退色斑がモザイク様状に現われたが、その症状はよく観察しないとわからないような不明瞭なものであった。

C: 葉に淡いモザイク斑を示し、淡い白桃色の花卉に少数の増色性斑入りを生じた (Plate II, 7).

D(東洋ラン): 葉に境界の不明瞭な淡い退色斑を生じ、モザイク症状を呈した。

*Epidendrum*: 葉に淡い赤紫色斑を生じ、また葉の中央部が一部少し細まり、小さなえそ斑点を生じた。

*Potinara*: 葉の中央部より先端部に明瞭な赤紫色斑を生じた。葉の裏には全面に赤紫色からなるモザイク症状がみられた (Plate II, 6).

**(c) CMV が検出された植物の病徴**

*Dendrobium*: A: 一部の若い葉に葉を横断して彎曲する幅広い退色斑がみられた (Plate III, 1). 新葉には淡い退色斑点を生じた。そのような退色斑は少数の葉にみられたのみで、株全体としてはめだつものでなかった。花卉は白色であったので、斑入りはみられなかったが、バルブの上部に着生した花は生育が悪く、小形であった (Plate III, 3).

B: 葉に部分的に淡い退色斑を少数現わした。濃ピンク色の花卉に退色性の斑入りを生じた (Plate III, 2).

**(d) Bullet-shaped virus-like particles がみられた植物の病徴**

*Cymbidium*: 葉にえそ斑点および斑点の連なった長形えそ斑を生じた。えそ斑点がゆが合して幅広いえそ斑となるものもみられた。

*Laeliocattleya* (Lc.): 葉に緑褐色のえそ斑点および長形のえそ斑を生じた (Plate III, 9).

**ウイルス病の発生状況と分布**

台湾の5市9県に所在する41カ所のラン栽培園を調査した結果、ウイルス病の発生が非常に多いことが認められた。とくに *Cattleya* 系と *Cymbidium* には CyMV や ORSV によると思われた特徴的な病徴<sup>1, 12-15, 26-30, 32-34, 37, 43, 50</sup> を現わした株が各地で非常に多く観察された。*Cattleya* 系や *Cymbidium* が栽培された調査地38カ所の内、1カ所を除く



すべての栽培園に CyMV あるいは ORSV の一方または両者の発生が認められた。ウイルス病症状株がみられなかった1栽培園は近年実生苗やメリクロン苗を主に栽培し始めたところであった。この栽培園にウイルス病が全くないという証明はしていないが、それらしきものがみられなかった。

採集標本 12 属 124 株におけるウイルスの診断の結果、前項同定実験で示したように、CyMV, ORSV, CMV および bullet-shaped virus-like particles の4種の発生が確認された。

Table 6. Detection of viruses in orchid plants collected from different part in Taiwan

Plant	Sample surveyed	Sample infected with				
		CyMV	ORSV	(CyMV+ORSV)	CMV	OFV-like
<i>Calanthe</i>	3	3	1	(1)		
<i>Cattleya</i> (C., Bc., Blc., Lc., Slc.)	53	28	19	(9)		1
<i>Cymbidium</i>	35	15	22	(6)		1
<i>Dendrobium</i>	12	2			5	
<i>Denphalaenopsis</i>	3	1				
<i>Doritaenopsis</i>	1	1				
<i>Epidendrum</i>	2		1			
<i>Oncidium</i>	1					
<i>Phalaenopsis</i>	3	3				
<i>Rhynchostylis</i>	1	1				
<i>Potinara</i>	1		1			
<i>Vanda</i>	9	4				
Total	124	58	44	(16)	5	2

( ): double infection of CyMV and ORSV, OFV-like: bullet-shaped virus-like particles observed by electron microscopy.

Table 6 は検出されたウイルスをラン科植物の属別に表わしたものである。表にみられるように CyMV は *Calanthe*, *Cattleya* 系, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Denphalaenopsis*, *Doritaenopsis*, *Phalaenopsis*, *Rhynchostylis* および *Vanda* に, ORSV は *Calanthe*, *Cattleya* 系, *Cymbidium*, *Epidendrum* および *Potinara* に, CMV は *Dendrobium* に, bullet-shaped virus-like particles は *Laeliocattleya* と *Cymbidium* に発生が認められた。検査した *Cattleya* 系では 53 株中 CyMV が 28 株, ORSV が 19 株, *Cymbidium* では 35 株中 CyMV が 15 株, ORSV が 22 株であった。この発生株数はウイルス病の発生率を示すものではないが, *Cattleya* 系と *Cymbidium* に CyMV と ORSV の発生が多いことを示している。また CyMV と ORSV の混合感染が *Calanthe* では CyMV の 3 株中 1 株, *Cattleya* 系では CyMV の 28 株中 9 株, *Cymbidium* では CyMV の 15 株中 6 株にみられた。これらの混合感染株の病徴はいずれも CyMV による特徴的な病徴を示していた (Plate II, 8, 9)。

Table 7 はウイルスの発生を地域別に表わしたものである。表から CyMV と ORSV

Table 7. Distribution of CMV, CyMV, ORSV and OFV-like virus in Taiwan

City & Prefecture	Sample surveyed	Sample infected with			
		CyMV	ORSV	(CyMV+ORSV)	CMV OFV-like
Tai Pei Mun (台北市)	19	10	8	(3)	3
Tai Pei County (台北県)	5	2	3	(1)	
I Lan County (宜蘭県)	4		3		
Hsin Chu City (新竹市)	2	1	1		
Hsin Chu County (新竹県)	3	1	3	(1)	
Tai Chung City (台中市)	29	12	3	(3)	1
Tai Chung County (台中県)	20	12	9	(5)	
Chang Hua County (彰化県)	4		1		
Nan Tou County (南投県)	12	5	7	(1)	1
Chia Yi County (嘉義県)	2	1	1		
Tai Nan City (台南市)	3	1	1		
Tai Nan County (台南県)	13	7	4	(2)	1
Kao Hsiung City (高雄市)	4	3			
Ping Tung County (屏東県)	4	3			1

( ): double infection of CyMV and ORSV, OFV-like: bullet-shaped virus-like particles observed by electron microscopy.

が各地に広く分布していることが認められる。また両ウイルスの混合感染株もかなり広い地域でみられる。

CMV は台北市、台南県および屏東県で発生が認められた。この地域は台湾の北部と南部に位置し、CMV もまた広く分布している可能性が示唆された。

## 考 察

台湾の5市9県におけるランの栽培園41カ所について、ウイルス病の発生状況調査を行ったところ、その全域にわたってウイルス病の発生が認められた。今までに台湾ではCyMV<sup>8,11)</sup>とORSV<sup>8)</sup>の2種の発生が知られていたが、今回の調査でCyMVとORSVの他に、新たにCMVとbullet-shaped virus-like particlesの発生が確認された。

CyMV は *Calanthe*, *Cattleya* 系 (*C.*, *Bc.*, *Blc.*, *Lc.*, *Slc.*), *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Denphalaenopsis*, *Doritaenopsis*, *Phalaenopsis*, *Rhynchostylis* および *Vanda* から検出された。そのうち台湾では *Calanthe*, *Denphalaenopsis*, *Doritaenopsis* および *Rhynchostylis* の4種属が新たにCyMVの自然発生植物として認められた。とくに *Cattleya* 系と *Cymbidium* に発生が多かった。CyMV が発生した植物では、葉に激しいモザイクまたはえそ斑を生ずるものが多く、被害が大きい。検定植物に対する寄生性は *C. quinoa*, *Datura alba* およびツルナなどに局部病斑を生じ、*C. amaranticolor* では接種葉が黄化すると緑色輪点を残す局部病斑を生ずるなど、既報のCyMV<sup>8,4,7,15,29,33,35,49,50)</sup>と同じであった。血清反応の結果でも、台湾に発生しているCyMVと日本で報告されている<sup>15,22)</sup>のものとは抗原性を同じくし、両者は血清学的にも同一系統と考えられた。

ORSV は *Calanthe*, *Cattleya* 系, *Cymbidium*, *Epidendrum* および *Potinara* から検出された。そのうち台湾では *Calanthe*, *Cattleya* 系, *Epidendrum* および *Potinara* の 4 種属が新たに ORSV の自然発生植物として認められた。ORSV は一般に葉における病徴が比較的軽いが, *Cattleya* や *Cymbidium* では花に斑入りを生じ, 観賞価値を大きく落とす原因となっている。このウイルスは多くの報告にみられるように病植物中での濃度が高く<sup>14, 26, 45)</sup>, 病葉粗汁液中で 10 年以上病原性が保持されている<sup>26)</sup> など極めて安定であり, また伝染性が高いウイルス<sup>14, 16)</sup> であるため, 伝染の機会が多く, これが CyMV とともに発生の多い原因となっているように思われた。とくに *Cattleya* や *Cymbidium* で長年栽培されている株に発生が多くみられた。検定植物に対する寄生性は *N. clevelandii* とヒャクニチソウに全身感染し, センニチコウ, Samsun NN タバコ, *C. amaranticolor*, *C. quinoa* およびツルナなどに局部病斑を生じた。このような寄主反応は著者の一人井上が報告した日本に発生がみられる ORSV の一系統<sup>26)</sup> と非常によく似ている。また両国の ORSV は血清学的にも大きな違いがないものと思われた。しかし多くの分離株についての比較実験を行う必要がある。

CMV は台北市, 台南県 および 屏東県の *Dendrobium* から検出された。*Dendrobium* における CMV の発生は日本<sup>17, 18)</sup> とブラジル<sup>44)</sup> で認められているに過ぎなかったが, 今回の調査で, 台湾にも *Dendrobium* に CMV の発生があることが確認された。*Dendrobium* の葉の病徴は軽微なものが多く, 被害が少ないと思われたが, 花に斑入りを生じ, また生育も悪く小形で, 観賞価値を落とす, 検定植物に用いたタバコ, *N. glutinosa*, *N. clevelandii* ソラマメ および ササゲなどにおける寄主反応は日本で *Dendrobium* から検出された CMV<sup>17, 18)</sup> と大体同じであった。しかしエビネから検出した CMV<sup>25)</sup> とは病原性を異にした。ツルナでは分離株によって局部病斑を形成し, 全身感染しないものと, 全身感染するものとがみられた。CMV は上記 3 か所で発見されたが, 他の地域においても *Dendrobium* に発生の可能性がうかがえる。これは CMV がアブラムシによって容易に伝搬されること, またアブラムシはランの蕾や花弁などに着生するので, 屋外栽培が多い台湾ではアブラムシの飛来が容易であることなどから考えられる。

電顕観察により, bullet-shaped virus-like particles が退色斑やえそ斑点を生じた *Cymbidium* や *Laeliocattleya* に見出された。これは同定実験を行っていないが, その粒子の形状から orchid fleck virus<sup>2)</sup> か, その類似ウイルス<sup>1, 23, 39-41)</sup> と思われた。台湾にもこのタイプのウイルスの発生が示唆された。

台湾全域にわたってランにウイルス病の発生が認められたが, とくに *Cattleya* 系や *Cymbidium* に多かったことは, これらの植物が古くから栽培され, しかも栽培株数が多く, その感受性も高い<sup>16)</sup> ことがあげられる。また聞き取り調査によれば, ラン栽培者がウイルス病の性状についての知識が十分でなく, したがって確実な防除策がとられていないとのことであり, それがウイルス病発生の多い理由の一つにあげられるようにも思われた。ある地のラン協会の展示会場で, *Cattleya* の花に明瞭な斑入りを生じた株が陳列されているのをみかけた。これは斑入りが珍品として出品されたようであったが, ORSV に原因する病斑であった (Plate II, 1)。

台湾に発生する CyMV, ORSV および CMV に系統が存在するか否かは明らかにするに至らなかったが, 調べた範囲における寄主反応や血清反応の結果の所見では, これらの

ウイルスは日本のランに発生しているもの<sup>14, 15, 17, 18, 22)</sup>と同一系統であると考えられた。これは日本と台湾とはたがい古くから多数のランの搬入搬出が行われたので、これに伴ってウイルスの分散があったことによるように思われた。

今回の調査で、台湾では上記4種のウイルスの発生が確認されたが、ラン科植物にはその他 cymbidium mild mosaic virus<sup>6)</sup>, cymbidium ringspot virus<sup>10)</sup>, dendrobium mosaic virus<sup>18, 21)</sup>, pecteilis mosaic virus<sup>24)</sup>, tobacco mosaic virus-orchid strain<sup>5, 38, 47)</sup>, tomato ringspot virus<sup>9)</sup>, vanda mosaic virus<sup>42)</sup>などの発生が知られているので、これらのウイルスについても今後さらに調査する必要がある。

## 摘 要

1982年3月15日から5月14日までの2カ月間、台湾の5市9県に所在するランの栽培園41カ所についてウイルス病の発生状況を調べた。また採集標本12属124株についてはウイルスの検出並びに同定実験を行った。

その結果、CyMV, ORSV, CMV および bullet-shaped virus-like particles の4種の発生が確認された。CMV と bullet-shaped virus-like particles は台湾では新たに発見されたウイルスである。また CyMV と ORSV の発生がとくに多く、台湾全域に分布していた。

CyMV は *Calanthe*, *Cattleya* 系, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Denphalaenopsis*, *Doritaenopsis*, *Phalaenopsis*, *Rhynchostylis* および *Vanda* から検出された。ORSV は *Calanthe*, *Cattleya* 系, *Cymbidium*, *Epidendrum* および *Potinara* から検出された。CMV は *Dendrobium* から検出された。また bullet-shaped virus-like particles は *Laeliocattleya* および *Cymbidium* に見出された。台湾で分離された CyMV, ORSV および CMV は寄生性や血清反応の結果から、日本のラン科植物 (CMV では *Dendrobium*) に発生している CyMV および CMV と同じ性状のものが多く、同じ系統と考えられた。CyMV と ORSV は *Cattleya* 系と *Cymbidium* に発生が多かったが、両ウイルスの混合感染もまた *Calanthe*, *Cattleya* 系および *Cymbidium* に認められた。

## 文 献

1. Begtrup, J. 1972. Structure of a bacilliform virus in *Dendrobium* as revealed by negative staining. *Phytopath. Z.* 75: 268-273.
2. 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.
3. Corbett, M. K. 1959. Chlorotic ringspot of *Vanda* orchid caused by *Cymbidium* mosaic virus. *Florida State Horticultural Soc.* 72: 398-403.
4. Corbett, M. K. 1960. Purification by density-gradient centrifugation, electron microscopy, and properties of cymbidium mosaic virus. *Phytopathology* 50: 346-351.
5. Corbett, M. K. 1967. Some distinguishing characteristics of the orchid strain of tobacco mosaic virus. *Phytopathology* 57: 164-172.

6. 張 茂雄, 土居養二, 与良 清. 1975. シンビジウム微斑モザイクウイルス cymbidium mild mosaic virus: CyMMV について. 日植病報 41: 286.
7. Francki, R. I. B. 1970. Cymbidium mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses No. 27: p 3.
8. 周 廷光. 1980. 台湾蘭花毒素病害之研究 摘自中国園芸 26: 124-142.
9. Goff, L. M. and Corbett, M. K. 1977. Association of tomato ringspot virus with a chlorotic leaf streak of *Cymbidium* orchids. Phytopathology 67: 1096-1100.
10. Hollings, M., Stone, O. M. and Barton, P. J. 1977. Pathology, soil transmission and characterization of cymbidium ringspot, a virus from *Cymbidium* orchids and white clover (*Trifolium repens*). Ann. Appl. Biol. 85: 233-249.
11. 謝式坪鈺, 韓 又新. 1975. 台湾発生之喜姆比蘭嵌紋毒素病. 摘自中国園芸 21: 292-298.
12. 井上成信. 1964. 1965. ランのウイルス病について. (I), (II). *Cymbidium* に発生するウイルス病. 日本蘭協会誌 10: 6-10, 11: 1-6.
13. 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.
14. Inouye, N. 1966. A virus disease of *Cymbidium* caused by odontoglossum ringspot virus. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 13: 149-159.
15. Inouye, N. 1968. Virus disease of *Cymbidium* and *Cattleya* caused by cymbidium mosaic virus. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 14: 161-170.
16. 井上成信. 1968. Cymbidium mosaic virus 及び odontoglossum ringspot virus の伝搬に関する 2, 3 の実験. 農学研究 52: 89-97.
17. 井上成信. 1969. *Dendrobium* から分離された cucumber mosaic virus. 農学研究 53: 49-60.
18. 井上成信. 1971. ランのウイルス病について. (V) *Dendrobium* に発生するウイルス病. 日本蘭協会誌 17: 3-7.
19. 井上成信. 1972. *Cattleya* 系の花のえそ症状株から分離されたウイルス. 農学研究 54: 71-78.
20. 井上成信. 1974. ランのウイルス病. (VI) *Cattleya* 系の花のえそ病. 日本蘭協会誌 20: 3-5.
21. Inouye, N. 1976. Dendrobium mosaic virus. Ber. Ohara Inst. landw. Biol. Okayama Univ. 16: 165-174.
22. 井上成信. 1977. 抗血清を利用した cymbidium mosaic virus および odontoglossum ringspot virus の診断法. 農学研究 56: 1-13.
23. 井上成信. 1977. ラン科植物 *Colmanara* から分離された 短桿状ウイルスについて. 日植病報 43: 373-374.
24. 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.
25. 井上成信, 前田孚憲, 光畑興二. 1982. エビネから分離された cucumber mosaic virus. 農学研究 53: 49-60.
26. 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.
27. Jensen, D. D. 1951. Mosaic or black streak disease of *Cymbidium* orchid. Phytopathology 41: 401-414.
28. Jensen, D. D. 1953. Virus diseases of *Cymbidiums*. Amer. Orchid Soc. Bull., 22: 800-804.

29. Jensen, D. D. 1955. Orchid disorders, with special reference to virus diseases. Amer. Orchid Soc. Bull. 24 : 756-766.
30. Jensen, D. D. 1959. The Orchids. Edited by Carl L. Withner. pp. 431-458.
31. Jensen, D. D. and Gold, A. H. 1951. A virus ringspot of *Odontoglossum* orchid: symptoms, transmission, and electron microscopy. Phytopathology 41 : 648-653.
32. Jensen, D. D. and Gold, A. H. 1955. Hosts, transmission and electron microscopy of cymbidium mosaic virus with special reference to *Cattleya* leaf necrosis. Phytopathology 45 : 327-334.
33. Kado, C. I. 1964. Viruses, Villains of orchid disorders. Amer. Orchid Soc. Bull., 33 : 943-948.
34. Kado, C. I. 1964. Cymbidium mosaic: symptomatology and properties of the virus. The Orchid Digest, April : 164-168.
35. Kado, C. I. and Jensen, D. D. 1964. Cymbidium mosaic virus in *Phalaenopsis*. Phytopathology 54 : 974-977.
36. Kado, C. I., Regenmortel, M. H. V. van 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.
37. Lawson, R. 1970. Virus-induced color-breaking in *Cattleya* orchids flowers. Amer. Orchid Soc. Bull. 39 : 395-400.
38. Lawson, R. H. 1970. Etiology of flower necrosis in *Cattleya* orchids. Phytopathology 60 : 36-40.
39. Lesemann, D. und Begtrup, J. 1971. Elektronenmikroskopischer Nachweis eines bazilliformen Virus in *Phalaenopsis*. Phytopath. Z. 71 : 257-269.
40. Lesemann, D. and Doraiswamy, S. 1975. Bullet-shaped virus-like particles in chlorotic and necrotic leaf lesions of orchids. Phytopath. Z. 83 : 27-39.
41. Lesemann, D. und Doraiswamy, S. 1975. Nachweis und elektronenmikroskopische Charakterisierung von „langen“, bullet-förmigen Viruspartikeln in kultivierten Orchideen. Phytopath. Z. 84 : 201-214.
42. Murakishi, H. H. 1952. A mosaic of *Vanda* orchids. Phytopathology 42 : 179-182.
43. Murakishi, H. H. 1958. Host range, symptomatology, physical properties and cross-protection studies of orchid virus isolates. Phytopathology 48 : 132-137.
44. Nobrega, N. R. 1947. Uma doenca de virus em orquidea. O Biológico 13 : 62, Plate 1.
45. Paul, H. L. 1975. Odontoglossum ringspot virus. CMI/AAB Descriptions of plant viruses No. 155 : p 4.
46. Paul, H. L., Wetter, C., Wittman, H. G. and Brandes, J. 1965. Untersuchungen am odontoglossum ringspot virus einem Verwandten des Tabakmosaik-virus. Z. Vererbungsl. 97 : 189-203.
47. Pérez, E. J., Adsuar, J. and Sala, O. 1956. Tobacco mosaic virus in orchids in Puerto Rico. Phytopathology 46 : 650-654.
48. 匠原監一郎, 井上忠男. 1978. キュウリモザイクウイルス検出診断のための簡易寒天ゲル内拡散法. 日植病報 44 : 543-553.

49. White, N. H. and Goodchild, D. J. 1955. Mosaic or black streak disease of *Cymbidium* and other orchid hybrids. J. Austral. Inst. Agric. Sci., march : 36-37.
50. 与那覇哲義, 花城良広, 田盛正雄. 1975. 沖縄で見出された cymbidium mosaic virus について. 琉球大学農学術報 22 : 131-138.

## Survey on the viruses in orchids in Taiwan

Narinobu INOUE and Lii Sin LEU

### Summary

A survey of viruses infecting orchids was made from March 15 to May 14, 1982, on 124 samples of 12 genera of orchids collected in 41 nurseries in Taiwan. Identification of the viruses was based on particle morphology, symptomatology in indicator plants and serology. Cymbidium mosaic virus (CyMV), odontoglossum ringspot virus (ORSV) and cucumber mosaic virus (CMV) were isolated from the orchid and bullet-shaped virus-like particles were found in some orchids by electron microscopy.

CyMV was isolated from *Calanthe*, *Cattleya alliance*, *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Dendrophalaenopsis*, *Doritaenopsis*, *Phalaenopsis*, *Rhynchostylis* and *Vanda*. The virus is transmitted systemically to *Cattleya*, *Cymbidium* and *Dendrobium*. Local lesions were formed on *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Datura alba* and *Tetragonia expansa*. It reacted with anti-CyMV serum.

ORSV was isolated from *Calanthe*, *Cattleya alliance*, *Cymbidium*, *Epidendrum* and *Potinara*. The virus is transmitted systemically to *Cattleya*, *Cymbidium*, *Nicotiana clevelandii* and *Zinnia elegans*. Local lesions were formed on *C. amaranticolor*, *C. quinoa*, *D. alba*, *Gomphrena globosa*, *N. glutinosa* and *T. expansa* but no infection was obtained in *N. tabacum* cv. White Burley and *N. rustica*. It reacted with anti-ORSV serum.

CMV was isolated from *Dendrobium*. The virus showed almost the same reaction on indicator plants as the CMV isolated from *Dendrobium* in Japan. It reacted with anti-CMV-Y serum in radial immunodiffusion test.

Bullet-shaped virus-like particles were observed in negatively stained dip preparations, after prefixation with OsO<sub>4</sub>, from leaves of *Cymbidium* and *Laeliocattleya* showing chlorotic and necrotic lesions.

Double infection of CyMV and ORSV was found in *Calanthe*, *Cattleya alliance* and *Cymbidium*. It was noticed that CyMV and ORSV occurred on many genera orchids and were distributed widely in Taiwan. The reactions in indicator plants and serological tests for CyMV, ORSV and CMV from orchids in Taiwan were taken to be almost the same as those for CyMV, ORSV and CMV (from *Dendrobium*) found in orchids in Japan.

## Explanation of Plates

Plate I. 1-13. Symptoms of CyMV in leaves of naturally infected orchids.

1. Mosaic in *Calanthe* sp.
- 2,3. Chlorosis and necrosis in *Lc.* Amber Glow 'Kathleen' AM/HOS. (2): Upper surface, (3): lower surface.
4. Necrosis in *Lc.* Boldesca.
5. Necrosis in *Cattleya* Moscombe 'Grace' AM/TOS.
6. Mosaic and Necrosis in *Cymbidium* sp.
7. Mosaic in *Cymbidium* sp.
8. Small necrotic spots in *Cymbidium astronaut.*
9. Mosaic and necrotic spots in *Doritaenopsis* sp.
10. Necrotic spots and streak in *Phalaenopsis* sp.
11. Necrotic spots in *Rhynchostylis gigantea* 'Sakai Ratlara'.
12. Chlorosis and necrosis in *Vanda* Karen Ono  $\times$  V. Hilo Queen.
13. Necrotic spots in *Vanda* sp.
14. Patterns of reddish-purple ring caused by ORSV in leaf of naturally infected *Cattleya* sp.

Plate II. 1-7. Symptoms of ORSV in leaves and flowers of orchids.

- 1,2. Color breaking in flower of *Cattleya alliance.*
3. Reddish-purple ring spots in *Cattleya* Moscombe 'Grace' AM/TOS.
4. Mosaic and elongate chlorotic streak in *Cymbidium* sp.
5. Faint mosaic in *Cymbidium* sp.
6. Patterns of reddish-purple ring in *Potinara* Estelle Smith 'China Dragon' AM/TOS.
7. Color breaking in flowers of *Cymbidium* sp.
8. Necrosis in leaf of *Blc.* Memoria. Crispin Rosales naturally infected with both CyMV and ORSV.
9. Necrosis in leaf of *Cymbidium* sp. naturally infected with both CyMV and ORSV.

Plate III.

1. Chlorosis of leaf of *Dendrobium* Mount Fuji naturally infected with CMV.
2. Color breaking in flowers of *Dendrobium* sp. naturally infected with CMV.
3. Dwarfed flowers of *Dendrobium* Mount Fuji naturally infected with CMV (except for basal portion).
4. Local lesions in *Chenopodium amaranticolor* induced by CMV.
5. Local lesions in *Datura alba* induced by CMV.
6. Local lesions in *Tetragonia expansa* induced by CMV.
7. Systemic reddish-purple fleck on *Cattleya* sp. induced by ORSV.
8. Systemic mosaic in *Nicotiana tabacum* cv. White Burley induced by CMV.
9. Necrotic spots on leaf of *Lc.* Gila Wilderness 'Takara Sienne' PC/JOS in which bullet-shaped virus-like particles were found.

Plate IV.

1. CyMV particles in crude sap, *Cattleya*, stained with 2% phosphotungstic acid (PTA). Bar represents 100 nm.
2. CMV particles in crude sap, *Nicotiana glutinosa*, stained with PTA, after prefixation of diseased leaf with 10% formalin. Bar represents 50 nm.
3. ORSV particles in crude sap, *Cymbidium*, stained with PTA. Bar represents 100 nm.
4. Particles of CyMV and ORSV in crude sap, *Cattleya*, stained with PTA. Bar represents 100 nm.
5. Radial immunodiffusion test for CMV. Agar contains anti-CMV-Y serum of 1/25 vol. Immunoreaction after 7 hrs at room temperature. D-1, 2: Crude sap of *N. glutinosa* systemically infected with CMV isolated from *Dendrobium* (Collection number, D-1: 87, D-2: 116), H: Crude sap of healthy *N. glutinosa*.



Plate I.



Plate II.

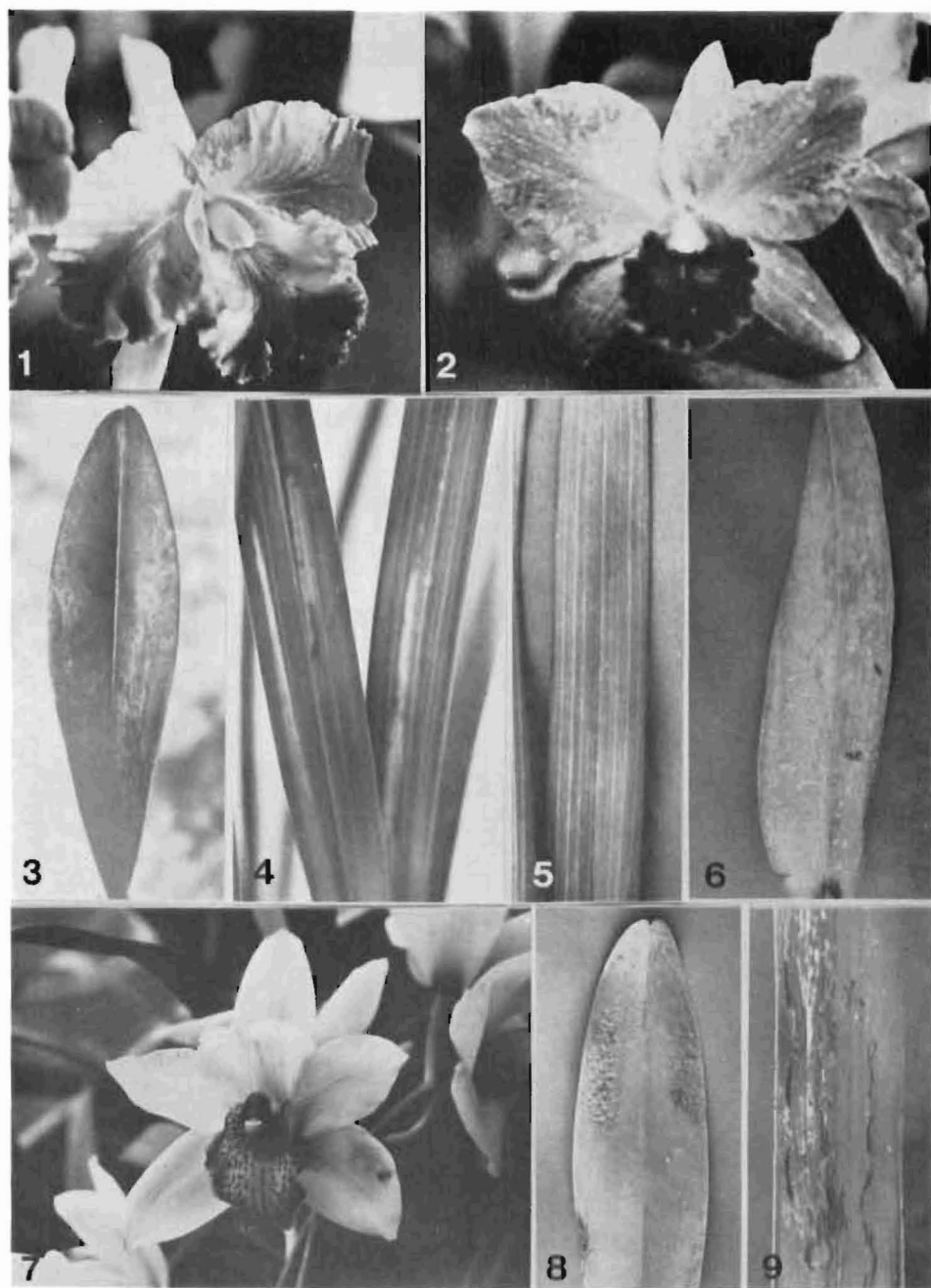


Plate III.

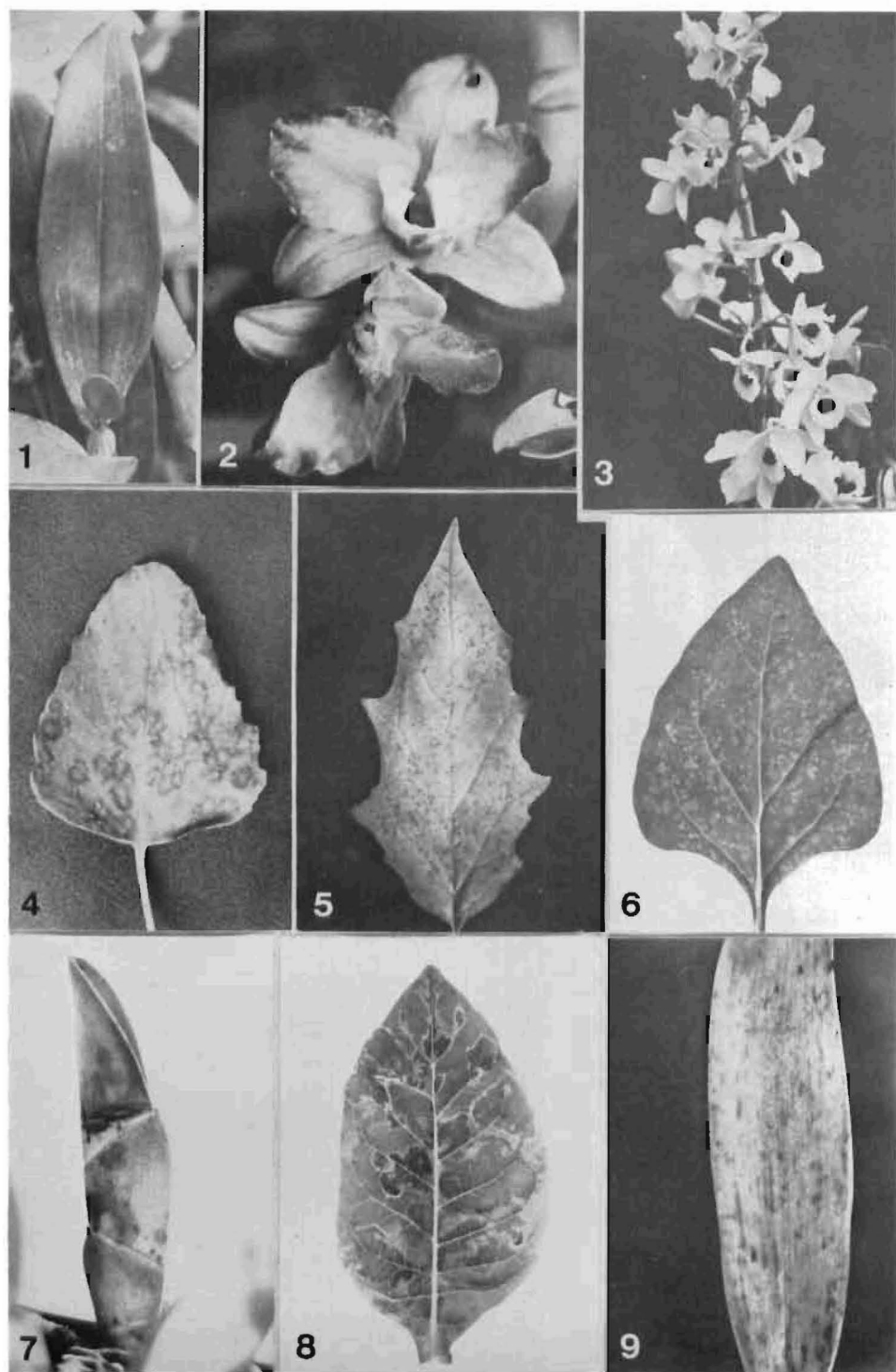


Plate IV.

