

温帯性のシンビジウム属植物に発生するウイルス

¹近藤秀樹・²前田孚憲・¹丸山和之・¹松本純一・^{1,3}井上成信・¹鈴木信弘

¹岡山大学資源植物科学研究所 〒710-0046 岡山県倉敷市中央 2-20-1

²日本大学生物資源学部 〒252-8510 神奈川県藤沢市亀井野 1866

³岡山大学名誉教授

Occurrence of Viruses in the Temperate *Cymbidium* Species in Japan

¹Hideki Kondo, ²Takanori Maeda, ¹Kazuyuki Maruyama, ¹Jun-ichi Matsumoto, ³Narinobu Inouye and ¹Nobuhiro Suzuki

¹Institute of Plant Science and Bioresources, Okayama University, Kurashiki, Okayama 710-0046, Japan

²College of Bioresource Sciences, Nihon University, Fujisawa 252-8510, Japan.

³Professor Emeritus, Okayama University

Summary

A survey of virus diseases occurring in Temperate *Cymbidium* (Oriental Orchid) collected from commercial nursery and home gardens in Japan was conducted. Four viruses, *Odontoglossum ringspot virus* (ORSV), *Cymbidium mosaic virus* (CymMV), Orchid fleck virus (OFV) and a previously undescribed spherical virus, were found in 28 out of 38 *Cymbidium* plants tested. ORSV was detected from 11 plants belonging to *Cym. ensifolium*, *Cym. forrestii*, *Cym. goeringii*, *Cym. kanran*, *Cym. sinense* and *Cymbidium* spp. showing chlorotic streaks and/or mild mosaic. CymMV was isolated from only one plant of *Cymbidium* sp. with mosaic and faint necrotic spots on leaves. Four plants of *Cym. formosanum*, *Cym. kanran*, *Cym. sinense* and *Cymbidium* sp. showing mosaic and necrotic flecks were found to be infected with OFV. The undescribed spherical virus, ca. 28 nm diameter, was isolated from 12 stunted plants of *Cym. forrestii*, *Cym. goeringii* and *Cymbidium* spp. with chlorotic streaks on newly developed leaves. The virus was mechanically transmitted only to *Cymbidium* orchids. Particle morphology, serological properties, genomic organization, and phylogenetic analysis consistently indicate placement of the new virus into the genus *Sobemovirus*. The name *Cymbidium chlorotic mosaic virus* (CyCMV) is proposed for the novel virus.

緒言

温帯性シンビジウム (Temperate *Cymbidium*) はシュンラン (*Cymbidium goeringii* Reichenbach f.) やカンラン (*Cym. kanran* Makino) をはじめとする日本, 韓国, 中国などの温帯から亜熱帯地域原産の地生のシンビジウム属植物を含む。これらのランは園芸学的に東洋ラン (Oriental Orchid) と呼ばれ, 江戸時代にはすでに盛んに栽培されており, 現在も広く親しまれている。東洋ランの繁殖は主として株分けで行われ, 明治時代に持ち込まれた熱帯原産の洋ラン系のシンビジウムとは栽培様式が異なる。東洋ランではこれまでにウイルス病の発生は知られていたが (井上, 2001), 病原ウイルスの研究は洋ラン系シンビジウムが中心で, 東洋ランのウイルスの種類や発生状況の詳細は不明である。

ラン科植物の主要な病原ウイルスは, ポテックスウイルス属のシンビジウムモザイクウイルス (CymMV), トバモウイルス属のオドントグロッサムリングスポットウイルス (ORSV) ならびにディコラブドウイルス属 (ICTV 未承認) のランエゾ斑紋ウイルス (OFV) が知られている。これら

は世界のラン栽培地域に広く分布し, 多様なラン科植物に病気を引き起こしている (近藤ら, 2009)。さらに, 小球状やひも状ウイルスも多数知られており, ポティウイルス属の 27 種を筆頭に, 13 属 50 種以上のウイルスの発生が示唆されている (井上, 2001; Gibbs et al., 2000; 近藤ら, 2010, 未発表)。

洋ラン系のシンビジウムに感染するウイルスは, 我が国では 1960 年代に ORSV および CymMV が報告され, その後 1970 年代に OFV やカルモウイルス属と考えられるシンビジウム微斑モザイクウイルス (CymMMV) の発生が報告されている (表 1)。海外では, ORSV, CymMV, OFV 以外にも, 1960~70 年代に小球状ウイルスの *Cymbidium ringspot virus* (トンプスウイルス属) がイギリスで, *Tomato ringspot virus* (ネポウイルス属) がアメリカで報告された (表 1)。さらに, 韓国やインドでは未同定ながらポティウイルスの発生も確認されている (表 1)。

本研究では, 我が国で栽培されている温帯性のシンビジウム属植物 (東洋ラン) のウイルス病の発生状況を調査した。その結果, ORSV, CymMV,

OFV に加え，ソベモウイルス属に属すると考えられる新種のウイルス(和名: シュンラン退緑斑ウイルス, 英名: *Cymbidium chlorotic mosaic virus*, CyCMV と命名) が検出された。

表 1. *Cymbidium* 属植物に発生するウイルスのリスト

Virus name ^a	Reference
<i>Odontoglossum ringspot virus</i> , ORSV	Inouye 1966
<i>Cymbidium mosaic virus</i> , CymMV	Inouye 1966
Orchid fleck virus, OFV	土居ら 1966
<i>Cymbidium mild mosaic virus</i> , CymMMV ^b	張ら, 1975
<i>Cymbidium chlorotic mosaic virus</i> , CyCMV	近藤ら, 1994
<i>Cymbidium ringspot virus</i> , CyRSV	Hollings & Stone 1963
<i>Tomato ringspot virus</i> , TomRSV	Goff & Corbett 1977
Unidentified potyvirus	Chang et al. 1991
Unidentified potyvirus ^c	Singh et al. 2007

a. イタリック体のウイルス名は国際ウイルス分類委員会 ICTV により種として承認されたウイルス

b. カーネーションモットルウイルスと血清学的に近縁であることからその系統ではないかとされている(河野ら, 1994)

c. RT-PCR による配列解析のみ

材料および方法

ウイルス病の調査

本研究では, 1990 年代を中心に山口県, 岡山県, 鹿児島県, 茨城県, 大阪府で採集した葉にウイルス様症状を呈した東洋ランを対象とした。

汁液接種試験

汁液接種は罹病葉を 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) 中で摩砕し, カーボランダムを用いる常法により行った。宿主範囲試験の接種源の増殖と感染の有無を確認するための戻し接種には, ツルナを用いた。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。

電子顕微鏡観察

ウイルス粒子の確認は, コロジオン膜を張った銅製グリッドにウイルス感染が疑われる葉組織の汁液をのせ, 風乾後, 2% (w/v) 酢酸ウラニル (UA) あるいはリンタンゲステン酸溶液により逆染色し, 透過型電子顕微鏡 (日立 H-7100B, H-7650) で観察した。感染植物の超薄切片は, 病葉細片を 2 重固定・脱水し, エポキシ樹脂に包埋後, 切片を作製し電顕観察した。

血清反応試験

ORSV ならびに CymMV の検定には酵素結合抗体法 (ELISA) の間接法を用いた。一次抗体は当研究室保存の ORSV Cy-1 株ならびに CymMV Cy-16 株に対する抗血清から精製した IgG (1~2 μg/ml) を用いた。また, 2 次抗体には ALP 標識抗ウサギ IgG ヤギ抗体 (シグマ社製) を 3000 倍で用いた。

CyCMV の精製

CyCMV は, 洋ラン系のシンビジウムで増殖後, 感染葉汁液より PEG 濃縮, 分画遠心分離を経て,

塩化セシウム・ショ糖を用いた平衡密度勾配遠心分離で単一のバンドとして回収した。

CyCMV のゲノム塩基配列の解析

ウイルス RNA は, 得られた精製粒子より抽出し, エタノール沈殿で濃縮した。この RNA を鋳型にして, ランダムプライマー [pd(N)₆] で作製した cDNA ライブラリーから部分塩基配列を決定した。未決定領域は近傍の特異プライマーを作製して RT-PCR で増幅し, 末端領域は 5' RACE と 3' RACE により解析した (Kondo et al., 2006)。塩基配列決定は ABI PRISM 3100, ABI 3130xl (PE Applied Biosystems) を用いた。ウイルス配列の相同性検索は NCBI の BLAST サイトにて行った。ウイルスの分子系統解析は, MAFFT ver 6 (mafft.cbrc.jp/alignment/software/) で推定アミノ酸配列の多重整列後, PhyML 3.0 aLRT (www.phylogeny.fr/) により最尤法に基づく系統樹を作成した。

結果

温帯性シンビジウムのウイルス発生状況

山口県と岡山県を中心に採集したウイルス様症状を呈す東洋ラン 38 株のウイルス病の調査を行った (表 2)。その内訳はスルガラン (*Cymbidium ensifolium* (L.) Swartz) 3 株, イトラン (*Cym. formosanum* Hayata) 1 株, シナシュンラン (*Cym. forrestii* Rolfe) 4 株, シュンラン (*Cym. goeringii*) 9 株, カンラン (*Cym. kanran* Makino) 4 株, コラン (*Cym. koran*) 3 株, ホサイラン (*Cym. sinense*) 2 株, 種が不明 12 株であった (表 2)。なお, イトランとシナシュンランは現在シュンランの同種とされているようであるが, ここでは別種として標記した。

表 2. 温帯性シンビジウムにおけるウイルスの発生状況

Species	No. of plants tested	No. of plants ORSV infected	No. of plants CymMV infected	OFV	CyCMV
<i>Cym. ensifolium</i>	3	2	0	0	0
<i>Cym. formosanum</i>	1	0	0	1	0
<i>Cym. forrestii</i>	4	1	0	0	1
<i>Cym. goeringii</i>	9	1	0	0	7
<i>Cym. kanran</i>	4	1	0	1	0
<i>Cym. koran</i>	3	1	0	0	0
<i>Cym. sinense</i>	2	1	0	1	0
<i>Cym. spp.</i>	12	4	1	1	4
Total	38	11	1	4	12

a. ELISA, 指標植物による生物検定, 電子顕微鏡によるウイルス粒子の観察により病原ウイルスを検定した。

上記の東洋ランの病原ウイルスを調べたところ, ORSV, CymMV, OFV ならびにソベモウイルス属の新ウイルスである CyCMV であった (詳細は後述) (図 1, 表 2)。ORSV はスルガラン, シナシュンラン, シュンラン, カンラン, コラン, ホサイランなど合計 11 株から分離された (表

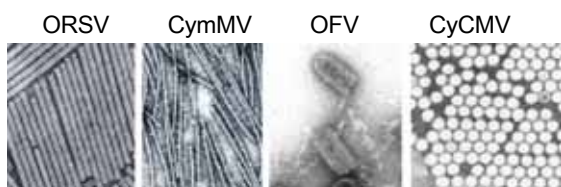


図2. 温帯性シンビジウムから分離された病原ウイルスの精製粒子。ネガティブ染色による電子顕微鏡写真。

2). ORSVが分離された原株のほとんどは、葉に退緑条斑や軽いモザイク症状を示していた(図1)。特に新芽が出ているものでは明瞭な退緑条斑を示していた。また、花に軽い斑入り症状を示す株の認められた。CymMVは軽いえそ斑を伴う明瞭なモザイクを呈した東洋ラン(品種不詳, 赤芽素心)1株からのみ検出された(図1, 表2)。OFVは退緑斑あるいはえそ斑点を生じているイトラン, カンラン, ホウサイランなど計4株から検出された(図1, 表2)。CyCMVは新芽に明瞭な退緑斑や退緑状斑症状を示すシナシュンラン, シュンランなど12株から分離された(図1, 表2)。なお、花の病徴はORSVの一部を除き不明である。

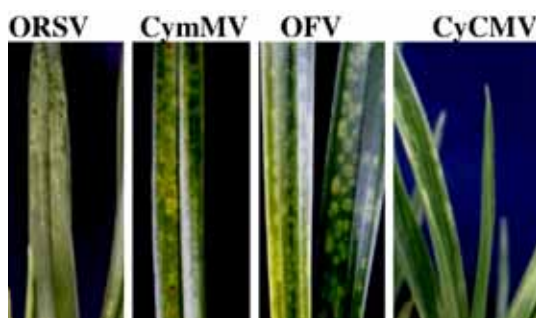


図1. 温帯性シンビジウムのウイルス感染株の病徴。ORSV: *Cymbidium kanran*.; CymMV: *Cymbidium* sp. (赤芽素心); OFV: *Cymbidium* sp.; CyCMV: シュンラン。

今回の調査では、ORSVは全体の29%にあたる11株、CyCMVは32%の12株から分離された。一方、OFVは11%の4株から、CymMVは3%の1株から検出された。まお、これらのウイルスによる重複感染は認められなかった。ウイルスが検出された東洋ランの採集地域は、ORSVは山口市、岡山市、倉敷市、指宿市と土浦市より、CymMVは山口市、OFVは防府市と岡山市であった。CyCMVは当初は山口市、防府市、宇部市と山口県下に限られていたが、2008年に大阪府で採集した株からCyCMVが分離された。

分離ウイルスの粒子形態と細胞内所見

今回得られたウイルスの代表的な4分離株(詳細は後述)について精製を行い、ウイルス粒子の形態を観察した。その結果、ORSVは長さ約310nmの棒状粒子、CymMVは約475nmの僅かに

屈曲性のあるひも状であることがそれぞれ確認された(図2)。また、OFVは約110nmの桿菌状あるいは弾丸状粒子であった。CyCMVは直径約28nmの球状粒子であった(図2)。

ウイルス感染組織の超薄切片を観察し、その細胞内所見を調べた(図3)。ORSVの感染組織では、ウイルス粒子が細胞質内に散在あるいは集塊して存在し、層状に結晶配列した像も多数観察された。また、CymMVでも細胞質内にウイルス粒子の集塊が確認された(図3)。一方、OFV感染細胞では、図3左下に示されたように、核領域の大部分にはウイルスにより誘導されるパイロプラズム(ウイルス工場)と呼ばれる電子密度の異なる領域が形成されていた。その周囲にはウイルス粒子が整列して黒い線状に観察された。CyCMVでは細胞質、特に液胞と考えられる膜構造内に粒子が多数集積あるいは散在している像が観察された(図3)。

指標植物を用いた汁液接種試験

汁液接種試験には以下の4分離株を用いた。ORSV-Koは山口県で採集した葉に退緑条斑を示すコラン(高峯の花)から、CymMV-Aは前述の山口県で採集したシンビジウムから、OFV-Kanは岡山県で採集した葉に紡錘形や長形の軽い

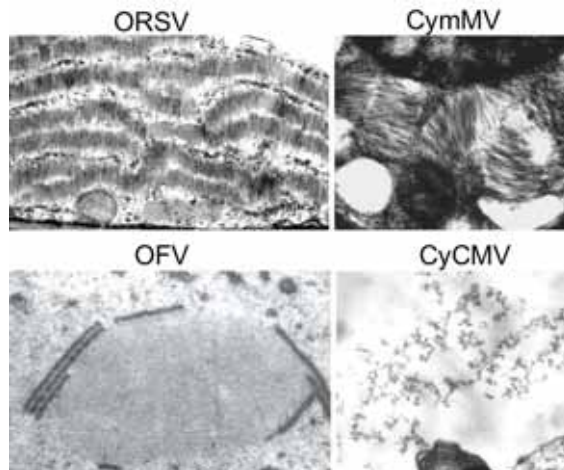


図3. 温帯性シンビジウムから分離された病原ウイルス感染細胞の超薄切片像。ORSV: ツルナの葉肉細胞細胞質内に層状に配列した粒子, CymMV: シンビジウムの葉肉細胞細胞質内のウイルス集塊, OFV: ツルナ葉肉細胞の核領域に形成されたパイロプラズムとその外縁部に整列した粒子, CyCMV シュンラン葉の葉肉細胞細胞質の液胞内に集積した粒子。

た退緑斑紋症状を示した株から、CyCMV Cym92-20は山口県で採集した葉の萎縮と新芽に明瞭な退色斑を示すシュンランからそれぞれ分離したウイルス株である(図1)。これらのウイルス株を洋ラン系のシンビジウムに接種したところ、原株で認められた症状に類似した病徴が確認された(データ省略)。

表 3. 分離された 4 種ウイルスの検定宿主の反応^a

Test plant	ORSV	CymMV	OFV	CyCMV
<i>Beta vulgaris</i>	cs/-	+/-	cs/mo,cs	-/-
<i>Chenopodium quinoa</i>	ns,nrs/-	cs,gs/-	cs/mo, cs	-/-
<i>Che. amaranticolor</i>	ns,nrs/-	cs,gs/-	cs/-	-/-
<i>Datura stramonium</i>	-/-	ns,gs/-	-/-	-/-
<i>Gomphrena globosa</i>	ns/-	+/-	-/-	-/-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	+/+	+/-	-/-	-/-
<i>Nicotiana clevelandii</i>	+/mo	-/-	-/-	-/-
<i>Nicotiana tabacum</i>	ns,nrs/-	-/-	-/-	-/-
<i>Tetragonia expansa</i>	ns,nrs	cs,gs/-	cs/-	-/-
<i>Vigna unguiculata</i>	-/-	-/-	cs,ns/-	-/-
<i>Sesamum indicum</i>	-/-	cs,ns/+	-/-	-/-

Local/systemic symptoms: cs=chlorotic spot; gs=green spot ;mo=mosaic; ns=necrotic spot; nrs=necrotic ringspot; +=symptomless infection ;-=-infection

12科28種の検定植物に対する汁液接種試験では、各ウイルスで病徴は大きく異なった(表3)。特徴的な点は、ORSVの場合、ナス科のタバコ(*Nicotiana tabacum*)に局部病斑を示し、*N. clevelandii*では全身感染してモザイク症状を示した。CymMVではダチュラ(*Datura stramonium*)(ナス科)やゴマ(*Sesamum indicum*)(ゴマ科)に局部感染した。OFVではアカザ科のフダンソウ(*Beta vulgaris*)やキノア(*Chenopodium quinoa*)に全身感染した。これらの宿主反応は、洋ラン系分離株と大きく異なることはなく、東洋ランのウイルスの判別にも生物検定が有効であると考えられた。なお、CyCMVは供試した植物への感染は確認できなかった。

CyCMVの性状および遺伝子解析

汁液接種試験や血清学的な予備実験の結果、CyCMVが新規ウイルスであることが示唆されたので、Cym92-20分離株の詳細なウイルス学的な性状解析を行った。感染葉から得た精製ウイルスは(図2)、SDS-PAGEにより約 30 kDaのCPと、アガロースゲル電気泳動で単一の1本鎖(ss)RNA(約4 kb)を包含することが示された(図4)。また、シンビジウムの感染葉からは複製中間体とされる約4 kbpと1 kbpの2種の感染特異的2本鎖(ds)RNAが検出された(図4)。これら性状や宿主域が極端に狭い(シンビジウム

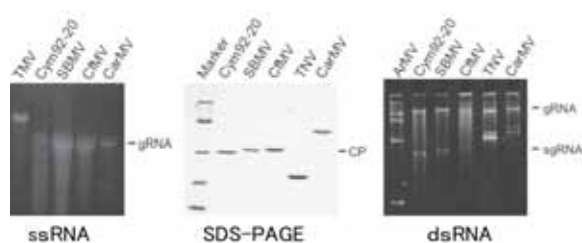


図 4. CyCMV のウイルス核酸、CP ならびに感染特異的 dsRNA の性状。左図：変性条件下でのウイルスゲノム RNA のアガロース電気泳動像(EtBr 染色)。中図：CP の SDS-PAGE による解析(CBB 染色)。右図：感染葉から精製したウイルス特異的 dsRNA の PAGE による泳動像(EtBr 染色)。対照、ソベモ(SBMV, CfMV)、ネクロ(TNV)、カルモ(CarMV)ウイルス。

属に限定)などの特徴から、CyCMVはソベモウイルスの新規ウイルス種と考えられた。そこでCyCMVに対する抗血清を作製し、ソベモウイルスのインゲンマメ南部モザイクウイルス(SBMV)やコックスフットモットルウイルス(CfMV)、その他の属の数種球状ウイルスの抗血清を用いて免疫電顕法、寒天ゲル内二重拡散法を行った。その結果、CyCMVと他の球状ウイルスには明確な血清学的類縁関係は認められなかった(データ省略)。以上の結果から、CyCMVは新規のウイルスであると考えられた。

CyCMVの遺伝子解析

Cym92-20 分離株を用い、ウイルス RNA の全塩基配列を決定した。CyCMV ゲノムは全長 4,083 塩基からなり、4 種の ORF で構成されていた(図5)。既知のソベモウイルスと比較したところ、ORF1 は RNA サイレncing抑制遺伝子(P1)、ORF2a はセリンプロテアーゼ、ORF2b は RNA 依存 RNA ポリメラーゼ(RdRp)、ORF3 は外被蛋白質

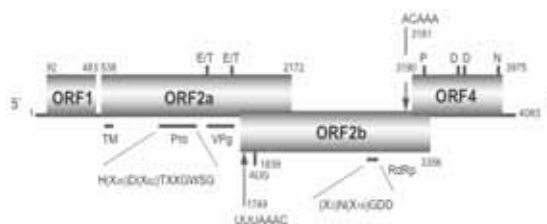


図 5. CyCMV ゲノム構造。グレーボックスは推定 ORF を示す上側のアミノ酸配列は推定のプロテアーゼ切断ドメイン。下段黒線部は推定の機能ドメイン。

(CP)をコードすると推測された。

さらに、ORF2a の3 末端側にはソベモウイルスに共通の slippery 配列(UUUAAAC)が確認されたことから、ORF2b は1フレームシフトによりORF2aの融合蛋白質として発現すると考えられた。他のソベモウイルスとのアミノ酸配列の比較では、相同性が最も高いORF2b蛋白質の場合で49~62%であった。ウイルス間で最も保存性が高いと考えられる複製酵素関連遺伝子2aの読み過ごし蛋白質(2a-2b)のアミノ酸配列を基にした分子系統解析では、CyCMVはソベモウイルスのクラスターに含まれることが確認されたが、その分岐から独立したウイルス種であることが示唆された(図6)。以上の結果などから、CyCMVはソベモウイルス属の新規のウイルス種であることが判明した。

考 察

本研究では、我が国の温帯性シンビジウム属植物(東洋ラン)のウイルス発生調査を行い、

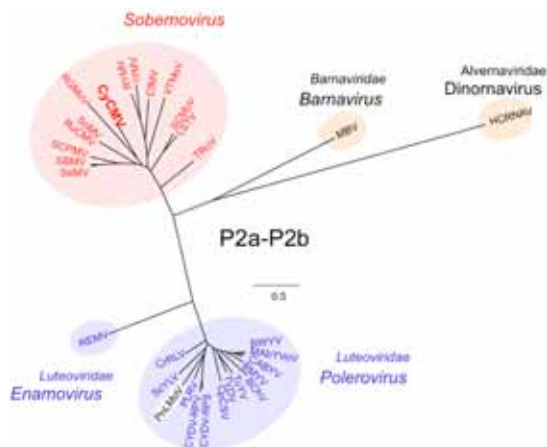


図6. CyCMV および類縁ウイルスの複製酵素(2a-2b)のアミノ酸配列を用いた分子系統樹。ソベモウイルス属、ポレロウイルス属およびエナモウイルス属以外に、菌類ウイルスのバルナウイルス属、珪藻類ウイルスのディノルナウイルス属を含む。系統樹の表示はFigTreeV1.3.1を用いた。

ORSV, CymMV, OFV, 新ウイルスである CyCMV を検出した。いずれのウイルスも葉に明瞭なウイルス症状を示すなど、宿主である東洋ランの鑑賞価値を大きく低減させることが判明した。

ORSV は少なくとも 35 属以上のラン科植物に感染することが知られているが(井上,2001), 我が国でも多くのランに発生していると考えられる。今回の調査で約 29%の個体(11 株)から ORSV が検出され、調査した地域すべてでウイルスが分離されたことから、ORSV は我が国の東洋ランにも広く発生、分布していることが示唆された。ORSV に感染した東洋ランは、生育がやや不良であり、葉に明瞭な病斑が観察された。ORSV はカトレヤや洋ラン系のシンビジウムで発生が多いことが知られているが、花に斑入りが生じる点でも問題となる(井上,2001)。東洋ランの場合でも、一部感染株で花の斑入り症状が確認された。既知 ORSV の CP 遺伝子の相同性は約 95.5~100%程度であるが、明確な系統は知られていない。ORSV-Kei 分離株について CP 配列を調べたところ、韓国、中国、台湾、シンガポール、アメリカ、インド、ブラジルなどのシンビジウム属植物を含む多くの分離株と塩基配列が完全に一致していた(近藤,未発表)。このことから、海外のウイルス株と同一配列の ORSV が東洋ランにも発生していると考えられた。

CymMV は ORSV とならびラン科植物で最も被害大きいウイルスで、少なくとも 43 属以上のランに感染する(井上,2001)。しかし、今回の発生調査ではモザイク症状を示す 1 株だけ(3%)が分離された。洋ラン系のシンビジウムでは、CymMV に感染するとえそを伴う激しいモザイク症状を示すことが多い(井上,2001)。今回の東洋ラン分離株を洋ラン系シンビジウムに接種し

たところ、そのような激しい症状は観察されなかった。このことから、洋ラン系分離株とは病原性が異なる可能性が示唆された。CymMV は塩基配列情報から 2 つのサブグループに分けられるが、今後東洋ラン分離株の配列の解析を進め、そのタイプ分けを進めたい。なお、CymMV の検出割合が低い理由は不明であるが、タイワンホウサイランでは明瞭なえそ症状を伴う場合があるので(井上,2001)、今回、栽培中に容易にウイルス病と判断ができる CymMV 感染株の多くがすでに破棄されていた可能性も否定できない。

OFV は我が国では CymMV や ORSV の様に蔓延しておらず、その被害の報告も限定的である。しかし、世界的にウイルスが分布すること、また CymMV や ORSV と同様、非常に多くのラン科植物から検出されることから、ランの栽培では注意すべきウイルスである(近藤ら,2009)。東洋ランの病徴は、CymMV や ORSV とは異なり典型的なもので判別が比較的容易である。OFV はエビネ属植物にも発生が多いことから、同時に栽培するときには、媒介者であるオンシツヒメハダニを介した東洋ランへのウイルス感染に注意が必要である(Kondo et al., 2003; 近藤ら, 2009)。また、OFV には塩基配列レベルで分けられる 2 つのサブグループが存在するが、東洋ランのウイルスは多くの日本産分離株と同じくサブグループ 1 のようである(近藤,未発表)。

CyCMV は本研究により新規のソベモウイルス種であることが明らかになった。また、そのゲノム構造はソベモウイルス特有のものであった。ソベモウイルス属の宿主域は非常に狭く、ほとんどが分離された宿主と同属植物に限られるが、CyCMV もシンビジウムにのみ感染した。ソベモウイルスの伝搬はハムシ類によることが知られているが、CyCMV の媒介生物はわかっていない。一方、機械的な汁液接種が比較的容易であることから、CyCMV は栽培管理の過程で人為的に伝搬されるケースも多いと推測される。このウイルスに感染すると、シュンランは生育不良を起し花付きが悪くなり、葉にも明瞭な退色斑を引き起こす。今回の調査では当初は山口県下の株に発生が限られていたが、2008 年に大阪府でも新たに検出されたことから、西日本地域で栽培されるシュンランなどに広く分布すると考えられた。特に約 32%の個体(12 株)で CyCMV が検出されたことから、このウイルスの蔓延には今後十分注意を払う必要がある。CyCMV の診断法については、血清診断、遺伝子診断法が確立されたので、今後の普及に期待したい。なお、CyCMV は洋ラン系のシンビジウムに実験条件下で激しい病徴を引き起こしたが、野外で洋ラン系のシ

ンビジウムに発生しているかは不明である。

既に述べたが、シンビジウム属植物にはカルモウイルス属の CymMMV や海外では2種の球状ウイルス、未同定ポティウイルスなどの報告がある。しかし、今回の調査ではこれらウイルスは検出されなかった。なお、CymMMV に近縁なカーネーション微斑モザイクウイルスのミルトニア分離株は、実験的にシンビジウムに無病徴(潜在)感染することが知られている(井上, 2001)。さらに、インドで報告されたシンビジウムのポティウイルス(表1)は我が国のエビネ属植物に蔓延するエビネ微斑モザイク(CaIMMV)に近似のウイルスである(近藤ら, 2010)。これらのウイルスが我が国のシンビジウムに発生しているかはいまのところわかっていない。今後は、上記のウイルスを含むウイルス病の発生実態の詳細を解明し、シンビジウムにおけるウイルス病制御に向けた研究が加速されることに期待したい。なお、温帯性シンビジウムにはカンラン、コラン、ホウサイランといった我が国の絶滅危惧種が含まれるため、将来的に遺伝資源保護や自生地の回復などを進める場合、本研究で明らかにされたウイルス病の発生には十分留意する必要がある。

謝 辞

本研究の一部は故 I Wayan Gara 博士との共同研究で行った。また、光畑興二氏、廣門知沙女子、中村玲子女子、野田瑞紀女子には実験遂行にご協力いただいた。玉田哲男博士、Ida Bagus Andika 博士、千葉壮太郎博士には有益なご助言をいただいた。罹病個体の採集には、田原望武博士にご協力を頂いた。なお、本研究の一部は文部科学省の科学研究補助費の援助で行われた。以上、記して感謝申し上げます。

引用文献

- Gibbs A, Mackenzie A, Blanchfield A, Cros P, Wilson C, Kitajima EW, Nightingale M, Clements M (2000) Viruses of orchids in Australia: Their identification, biology and control. *Aus Orchid Rev* 65:10-21
- 井上成信 (2001) 原色ランのウイルス病 診断・検定・防除. 農山漁村文化協会, 東京. pp196
- Kondo H, Maeda T and Tamada T (2003) Orchid fleck virus: *Brevipalpus* mite transmission, biological properties and genome structure. *Experimental and Applied Acarology* 30:215-223
- Kondo H, Maeda T, Shirako Y, Tamada T (2006)

Orchid fleck virus is a rhabdovirus with an unusual bipartite genome. *J Gen Virol* 87:2413-2421

近藤秀樹, 前田孚憲, 野田瑞紀, 鈴木信弘, 玉田哲男 (2009) ランえそ斑紋ウイルスのダニ伝搬様式, 分子系統および診断技術に関する研究. NIOC 2009記録 8-13

近藤秀樹・I Wayan Gara・前田孚憲・丸山和之・松本純一・井上成信・鈴木信弘 (2010) ラン科植物に発生するポチウイルスの外被蛋白質遺伝子の同定と分子系統学的解析. 名古屋国際ラン会議NIOC2010記録10-15

摘 要

山口県ならびに岡山県下を中心に温帯性のシンビジウム属植物(東洋ラン)のウイルス病の発生調査を行った。ウイルス病様の症状を示す38株の植物を採集し、これらから病原ウイルスを調べた結果、オドントグロッサムリングスポットウイルス(ORSV)、シンビジウムモザイクウイルス(CymMV)、ランえそ斑紋ウイルス(OFV)ならびに未記載の小球形ウイルスが確認された。ORSVは退緑条斑や軽いモザイク症状を示すスルガラン、カンラン、コラン、ホウサイランなどから分離された。CymMVは軽微なえそ斑を伴うモザイクを呈した東洋ラン分離された。OFVは退緑斑あるいはえそ斑点を生じているイトラン、カンラン、ホウサイランなどから検出された。小球形ウイルスは新芽に明瞭な退緑斑や退緑状斑症状を示すシナシユンラン、シユンランなどから分離された。ウイルス粒子は直径約28nmで、シンビジウム属以外の植物には感染が認められなかった。この小球形ウイルスは基本性状とゲノム塩基配列からソベモウイルスに属す新規ウイルス種と判明し、シユンラン退緑ウイルス(CyCMV)と命名した。今回の発生調査では、東洋ランからはORSVならびに新ウイルスのCyCMVがもっとも多く分離され、OFVは4株から、CymMVは1株から検出された。またこれらのウイルスによる重複感染は認められなかった。