

四十年蟲媒病害研究之管見

陳慶忠^{1,2}

¹ 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究員(退休)

² 電子郵件：cccrobert@hotmail.com

接受日期：中華民國 97 年 2 月 1 日

摘要

從事蟲媒病害研究工作迄今 41 載。1967~1987 年主要研究項目包括水稻病毒(及類似)病害的媒介昆蟲黑尾葉蟬、玉米飛蟲及擬白背飛蟲的生態；水稻黃萎病、黃葉病及縞葉枯病之流行學，病害對水稻農藝性狀之影響，以及防治方法探討等。1980 年前後陸續發現水稻萎凋矮化病、水稻皺縮矮化病及稗草皺縮矮化病等飛蟲類傳播之病毒病害，推測這些病害的出現與其媒介昆蟲的長距離遷移行為有密切關聯。1985 年前後開始對水稻萎凋矮化病毒、縞葉枯病毒、皺縮矮化病毒、玉米條斑病毒及稗草皺縮矮化病毒等進行純化及基本性質探討。隨著臺灣水稻病蟲害發生相的改變，自 1988 年起將研究重點轉向薊馬傳播之番茄斑萎病毒屬病毒。先後參與西瓜銀斑病毒之電子顯微鏡、傳播及生態學等研究；並成功分離、鑑定花生黃化扇斑病毒、彩色海芋黃斑病毒及辣椒黃化病毒之蝴蝶蘭分離株等三種番茄斑萎病毒(tospoviruses)。1995 年起再將研究的觸角指向花卉作物病毒，先後自洋桔梗分離到洋桔梗壞疽病毒及蠶豆萎凋病毒並加以鑑定；自康乃馨分離並鑑定康乃馨斑駁病毒；自彩色海芋分離並鑑定彩色海芋黃斑病毒，自蝴蝶蘭上分離並鑑定辣椒黃化病毒之蝴蝶蘭分離株、蝴蝶蘭黃斑病毒等新病毒並建立快速診斷技術。

關鍵詞：蟲媒病害、媒介昆蟲、生態、流行學、病毒分離與鑑定

前言

1960 及 1970 年代糧食增產為國家重要農業政策，當時政府為保護稻作生產，於 1966 年成立全省水稻病蟲害發生預測系統，並在當時臺灣省政府農林廳轄下各區農業改良場設置專責水稻病蟲害發生預測人員 48 員，從事水稻病蟲害發生調查與防治工作。筆者於 1967 年元月自農林廳植保科調任臺中區農業改良場服務，隨即參與水稻黑尾葉蟬(*Nephotettix* spp.) 生態學的調查工作。由於飼養黑尾葉蟬的因緣，1969 年獲當時農復會邱人璋技正提攜參與農復會重點研究計畫一抗水稻病蟲害育種，負責黃萎病抗病品種檢定工作。1971 年起除黃萎病抗病水稻品種檢定外；亦著手進行黑尾葉蟬傳播水稻黃萎病(Rice yellow dwarf)等工作。1977~1979 年赴國立中興大學昆蟲研究所碩士班進修，這期間除從事水稻黃葉病(Rice transitory yellowing) 流行病學調查外，亦陸續在田間發現褐飛蟲(*Nilaparvata*

lugens (Stål)) 傳播之水稻萎凋矮化病毒(Rice wilted stunt virus)⁽⁵²⁾、水稻皺縮矮化病毒(*Rice ragged stunt virus*)⁽³⁴⁾；於田間調查皺縮矮化病之發生時，又發現稗草皺縮矮化病毒(*Echinochloa ragged stunt virus*)⁽³³⁾。至此，深感研究工作侷限於昆蟲傳播及病毒相關之調查，範圍過於狹窄，尤其對昆蟲所傳播之病毒則一無所悉，至感缺憾。1981~84 年再赴國立中興大學植病研究所博士班進修並以水稻皺縮矮化病毒與稗草皺縮矮化病毒之比較為題從事論文研究；由於接受植物病毒的訓練，乃著手水稻縞葉枯病毒(*Rice stripe virus*)⁽⁴²⁾、萎凋矮化病毒^(43, 69)及玉米條斑病毒(*Maize stripe virus*)⁽⁶⁶⁾等病毒之純化及基本性質研究。1985 年左右臺灣稻作病蟲害發生相起了明顯地變化。就整體而言，1985 年以後稻作發生之足以威脅生產的病蟲害種類減少，發生程度亦趨輕微。許多過去發生嚴重的水稻病蟲害如黃萎病、黃葉病、褐飛蟲、黑尾葉蟬等都不再是威脅生產的問題；而部份原為次要之病、蟲如白葉枯

病、縱捲葉蟲則崛起取代而成爲主要病蟲害。1988年起個人開始參與當時由葉錫東教授領軍的西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*) 研究團隊，主要從事薊馬傳播病毒、電子顯微鏡及生態學調查。二種新的 tospoviruses 即花生黃化扇斑病毒 (*Peanut chlorotic fan-spot virus*)⁽⁶⁴⁾ 與彩色海芋黃斑病毒 (*Cala lily chlorotic spot virus*)⁽⁶⁸⁾ 隨後即被分離、鑑定。1995年起除繼續西瓜銀斑病毒的生態學調查外，亦將研究觸角伸向花卉作物病毒。先後對洋桔梗、康乃馨、彩色海芋及蝴蝶蘭等花卉作物的部份新病毒從事分離與鑑定(以下本文使用新病毒意指國內或國外文獻未有發生記錄者)。此一階段新分離、鑑定的病毒有洋桔梗、康乃馨及彩色海芋上的洋桔梗壞疽病毒 (*Lisiansus necrosis virus*)^(25, 27, 37, 71) 及蠶豆萎凋病毒 (*Broad bean wilt virus*)⁽¹⁸⁾；康乃馨及彩色海芋上的康乃馨斑駁病毒 (*Carnation mottle virus*)^(53, 54, 63)；蝴蝶蘭上的辣椒黃化病毒蝴蝶蘭分離株 (*Capsicum chlorosis virus-Ph*)⁽⁶⁰⁾ 及蝴蝶蘭黃斑病毒 (*Phalaenopsis chlorotic spots virus*)⁽⁶¹⁾。有關 tospoviruses 及花卉上的新病毒研究，在後階段個人主要從事病毒分離、電子顯微鏡以及病毒之基本性質的探討；相關病毒的分子生物學研究則分別由國立中興大學植物病理學系葉錫東、陳煜焜、詹富智等教授的實驗室進行。

本文回顧個人研究生涯選定 1988 年做爲分界，分成二個階段。1967~1987 年爲第一階段，主要以糧食作物病毒(及類似)病害之媒介昆蟲的生態、傳播、病害之流行學、病毒病害對水稻農藝性狀之影響及防治方法爲探討重點，之後對上述部份病毒的基本性質進行探討。1988~2007 年爲第二階段，此一階段隨著政府農業政策面、農業昆蟲發生相等的改變，以及個人專業由昆蟲跨入病毒領域等影響，研究重點亦逐漸由糧食作物病毒轉向瓜類 tospoviruses 及花卉作物病毒發展；後階段正逢分子生物技術蓬勃發展期，在台灣分子生物技術亦紛紛應用於植物病毒領域之研究，許多新分離的病毒得以藉分生技術協助鑑定。本文除陳述糧食作物蟲媒病害之媒介昆蟲生態、傳播、流行學調查之重點成果外，並就個人研究生涯中參與分離、鑑定的新病毒予以摘要介紹。

糧食作物蟲媒病害之媒介昆蟲生態、流行學及新病毒鑑定 (1967-1987)

1960 與 1970 年代糧食增產爲國家重要農業政策，且由於當時稻作發生之病蟲害種類繁多，危害程度嚴重，因而稻作保護的工作也格外受到政府當局重視。在當時稻作蟲媒病害中以黑尾葉蟬傳播之水稻黃萎

病、黃葉病及斑飛蝨傳播之縞葉枯病發生最爲普遍。1980 年前後，一些境內未曾發生之新蟲媒病害—水稻萎凋矮化病⁽⁵²⁾、水稻皺縮矮化病⁽³⁴⁾、稗草皺縮矮化病⁽³³⁾等相繼發生，推測這些新病害的出現與其媒介飛蝨類昆蟲長距離遷移可能有所關聯⁽⁹⁶⁾。

媒介昆蟲之生態學調查

黑尾葉蟬 (*Nephotettix* spp.)

黑尾葉蟬在台灣爲傳播水稻黃萎病及黃葉病的媒介昆蟲^(75, 76)。根據筆者調查，1970 年代分佈於台灣的黑尾葉蟬計有三種即 *N. cincticeps* Uhler, *N. nigropictus* (Stal) 及 *N. virescens* (Distant)。當時三種黑尾葉蟬在全省之分佈比例分別爲 89.1%、10.6% 及 0.3%，三種蟲中以 *N. cincticeps* 分佈最廣，*N. nigropictus* 於台中以南地區相對增加，*N. virescens* 主要分佈於台東濱海地區⁽⁶⁾。黑尾葉蟬在中部地區年發生約 8~9 世代。野外燈光誘集資料顯示一年有二個高峰期分別於 7~8 月及 10~11 月出現，亦即第一、二期稻收穫中、後期^(5, 84)。1985 年代以後田間黑尾葉蟬密度明顯降低(根據台中場及嘉義分所誘蟲燈資料，數據未示)，此可能與水稻黃萎病、黃葉病之發生程度減輕有著密切的關係。

擬白背飛蝨 (*Sogatella vibix* (Haupt))

擬白背飛蝨爲稗草皺縮矮化病毒的媒介昆蟲^(21, 33)。田間主要寄主爲水稗草 (*Echinochloa crus-galli* Beauv. Var. *Oryzicola* Ohwi)。在室內以稗草葉片連續飼養，一年可完成 10 世代。本蟲在水稻田稗草上一個期作可發生三個世代，第二期稻發生在稗草上之第三世代蟲體，可能因蟲口密度太高，且水稻又非其寄主，往往造成稗草蝨燒現象。以不同寄主植物飼養擬白背飛蝨，觀察其生存及繁殖後代數量，在稗草及黑麥草上若蟲死亡率低且成蟲繁衍之仔蟲數較多；相反的，在高粱、玉米、小米、薏苡或百慕達草上，若蟲死亡率高，成蟲繁殖之仔蟲數少或不能繁殖。利用誘蟲燈及高空捕網均可採集到擬白背飛蝨成蟲，顯示本蟲可能屬於一種長距離遷移性昆蟲⁽⁴⁸⁾。

玉米飛蝨 (*Peregrinus maidis* Ashmead)

玉米飛蝨爲玉米條斑病毒 (*Maize stripe virus*) 的媒介昆蟲⁽⁹⁾。在室內定溫 (26 ± 2°C) 下飼養之卵期平均爲 8.5 日；多數若蟲脫皮 5 次羽化爲成蟲。若蟲各齡期發育所需時間分別爲 1 齡 4 日；2 齡 2.6 日；3 齡 3.2 日；4 齡 3 日；5 齡 4.3 日，若蟲期平均爲 17.1 日。成蟲壽命

平均為 11.7 日，室內完成一個世代飼養所需時間平均為 37.3 日。在野外除玉米外，1988 年秋作在臺中場保存之薏苡品種中，代號 L-003 亦發現有本蟲棲息。在非玉米栽培期，甘蔗及牛筋草亦為其自然寄主。本蟲遷移能力弱，活動範圍狹窄，喜群聚於隱蔽處所如玉米心葉基部、葉背、葉鞘內或靠近地際部位之莖根部位，蟲體一觸光線即迅速向背光部位移動，除非剝開其棲息部位，否則不易估算其真正的棲群密度；本蟲所分泌之腺液（蜜露）常引來大量螞蟻，嚴重時甚至造成煤病而影響玉米葉片之正常光合作用。在田間本蟲主要發生於零星栽培之小規模玉米或甜玉米園，至於大規模集約栽培之玉米田則絕少發生，此可能與後者使用殺蟲劑較頻繁有關⁽³⁾。

蟲媒病害的傳播、流行學、產量損失及防除對策

黃萎病 (Rice yellow dwarf)

水稻黃萎病由菌質 (Phytoplasma) 所引起⁽⁸⁰⁾，經由三種黑尾葉蟬類昆蟲媒介傳播^(4, 75)，主要為害第二期水稻。其主要病徵為植株矮化，分蘖增多，葉片黃白化。本病在台灣最早發生於 1920 年代⁽⁹⁴⁾。1960 年代曾嚴重發生，1966 及 1970 年全省第二期稻受害面積最高分別達 37,084 及 34,573 公頃⁽⁷²⁾。1985 年以後發生面積銳減，在臺中地區至 1994 年起則未再見本病發生⁽⁹⁸⁾。黃萎病之流行學調查顯示越冬世代黑尾葉蟬成蟲於前一年第二期稻末期或再生稻黃萎病罹病株獲取病原，並於翌年第一期稻秧苗期或本田初期將病原傳播至水稻上；但因自然氣溫低，罹病水稻於第一期作後期方始表現病徵，並成為田間第三世代成蟲或第四世代若蟲之獲病原。第一期末期田間黑尾葉蟬密度增高，黃萎病株源增多，帶病蟲比率因而隨之升高。一旦第二期秧苗出現，大量帶病蟲即湧入苗圃感染，加以自然氣溫高遂造成第二期稻作嚴重被感染、發病^(7, 8, 46)。以上資料亦顯示保護第二期秧苗及插秧後初期稻株避免遭受攜帶病原之黑尾葉蟬感染是減少黃萎病發生之最佳時機。防除黃萎病的方法中以育苗箱使用系統性粒劑農藥對病害的防除效果最佳⁽¹⁰⁾。第二期作台南 5 號水稻（單本植）在稻齡 30 日（播種後）以內感染者幾無收量；稻齡在 50 至 70 日（分蘖期至孕穗期）感染者，減產約 28%；稻齡 90 天（孕穗期）感染者收量損失約 6.5%^(44, 58)。為提供黃萎病的抗病育種親本，1970~1975 年間於室內利用幼苗接種方法共計檢定 2610 個水稻品種（系）及 3 種野生稻。供試 752 個梗稻品種（系）均呈

感病性反應；供試 1858 個秈稻品種（系）顯示極抗之品種（系）包括 Firooz-1、Kabara、C4-63A、Blue-Bell、Faya、IR 1487-194-5-3-2、4bs-6-1、B 581A6-545 及 *O. nivera* (IRRI 編號 101512 及 101524) 等；本省之傳統品種如宜蘭菊仔 A、宜蘭菊仔 B 等在室內表現中度抗病，但在田間則呈現抵抗性^(36, 45)。

水稻黃葉病 (Rice transitory yellowing)

黃葉病於 1962 年由邱氏等首次證明由黑尾葉蟬傳播⁽⁷⁶⁾。陳、四方 (1971) 電子顯微鏡觀察證明是由 *Rhabdovirus* 所引起⁽⁷⁰⁾。陰染罹病葉片之粗汁液黃葉病毒 (Rice transitory yellowing virus, RTYV) 為槍彈型，粒子一端呈圓頭，另一端鈍平，大小為 96×120~140 nm⁽⁷⁰⁾。Chiu *et al.* 利用 Percoll 及 Sepharose CL-4B 管柱方法成功地部份純化黃葉病毒，病毒顆粒大小為 93nm×124 nm⁽⁷⁴⁾。黃葉病毒可經由三種黑尾葉蟬傳播^(72, 76, 87)。本病在台灣主要發生於第二期稻作；其病徵為病株自下方葉片變橘黃色與分蘖減少。1960~1962 年全省累計發生面積分別為 13,772、13,848、24,712 公頃（含當時所謂窒息病），發生範圍包括台中縣（石岡、東勢）、南投縣（魚池）、屏東縣（美濃、枋寮）等鄉鎮⁽⁷²⁾。1966~1978 年間全省年累積發生面積在 2,000~7,000 公頃間⁽⁷⁹⁾，以後發生面積逐年減少，1985 年以後台中區則未再發現本病的發生⁽⁹⁸⁾。黃葉病之流行學調查顯示，病毒主要經由媒介昆蟲體越冬，田間李氏禾 (*Leexsia hexandra*) 及大黍 (*Panicum masimum*) 亦為黃葉病病原之自然寄主。3~4 月份及 7~10 月份分別出現一個傳病蟲率之高峰期。12 月以後帶毒蟲率逐漸下降至 2 月份達全年之最低點，此亦即週年傳播圈中之最弱點。根據田間調查資料分析第二期水稻主要感染黃葉病時期為秧苗期，約佔全期作總罹病率之 70%，故第二期作播種前至秧苗期為防治黑尾葉蟬以減少黃葉病發生之最佳時機⁽⁹⁾。比較黑尾葉蟬對黃葉病、黃萎病及健株間之棲息偏好時發現黑尾葉蟬對黃葉病病株 (7%) 有顯著之非偏好棲息（拒斥）習性；但對黃萎病病株 (75%) 則呈相反現象⁽²⁸⁾。第一期作台南 5 號及台中 3 號於播種後 50 日以帶毒黑尾葉蟬接種黃葉病毒產量損失最嚴重，損失率分別為 80 及 91%；第二期作以播種後 25 日接種者產量損失最大，二供試品種之損失率分別為 74 及 88%⁽¹³⁾。黃葉病毒對黑尾葉蟬之生育有明顯之不良影響（若蟲發育期延長、產卵減少、成蟲壽命縮短）；而取食黃萎病株之蟲群的壽命則有延長現象⁽⁶²⁾。

水稻縞葉枯病 (Rice stripe)

水稻縞葉枯病在台灣於 1969 年首次記錄⁽⁸⁶⁾，本病經由斑飛蝨 (*Laodelphax striatellus* Fallen) 傳播⁽⁸⁵⁾。1970 年代即本病被報告之初期僅見零星發生並未對稻作生產構成威脅。至 1984 年第一期稻作，全省發病面積驟增，發生範圍亦迅速擴大。1984~1987 四年間全省第一、二期作合計之發生面積分別為 7662，11590，5917 及 4165 公頃，以第一期作發生較為嚴重⁽⁷⁹⁾。縞葉枯病之流行病學調查顯示中部地區冬季斑飛蝨可於水稻再生稻或小麥寄主繁殖二個世代，縞葉枯病毒藉斑飛蝨或感染之寄主植物體越冬而成爲翌年第一期稻作第一次傳染源。在田間於 6 月上旬(第一期作)及 10 月(第二期作)各出現一個帶毒蟲高峰期⁽⁵⁰⁾。第一期作縞葉枯病主要有二個感染期，第一個感染期在秧苗期及本田初期(插秧後 20 日止)，感染比率約佔全期作總發病率之 1~19%，主要感染蟲源爲越冬蟲；第二次感染蟲源主要來自本田繁殖之第一世代媒介蟲，主要感染期爲插秧後 40~60 日間，其感染比例約佔全期作總罹病率之 80% 以上。根據田間斑飛蝨棲群密度消長、縞葉枯病接種至發病所需潛伏期及田間病株出現時期等調查資料，推測中部地區第一期作水稻縞葉枯病主要感染時期在插秧後 40~60 日間，此可供爲田間媒介蟲藥劑防治時期擇定之依據^(47, 50)。水稻品種台農 67 號第一期作播種後 30 日(秧苗期)內接種者於盆栽及田間試驗情況下均引起 100% 之產量損失；播種後 60 日(分蘗期)接種者分別引起 90% 及 94% 產量損失；播種後 100 日(幼穗形成期)接種者兩種情況下分別引起 30% 及 23% 產量損失；播種後 110 日(孕穗期)接種者產量不再受到影響⁽⁴⁹⁾。水稻縞葉枯病毒 (*Rice stripe virus*, RSV) 之分類地位歸屬 *Tenuivirus group*⁽⁸¹⁾。電子顯微鏡觀察陰染罹病稻葉片粗汁液，縞葉枯病毒之核鞘蛋白呈螺旋狀構造，直徑約 9~11 nm，外形呈環狀或彎曲線形並呈分枝，最長 560 nm，多數爲 200~250 nm；罹病葉超薄切片，於韌皮部或葉肉細胞均可觀察到許多大小不一之電子線較深呈半透明之針狀或細束狀結晶內含體^(19, 42)。利用西方墨點法 (western blot) 及間接免疫酵素聯結抗體法 (indirect ELISA) 分析臺灣發生之三種類 *tenuiviruses* 的血清類緣關係顯示玉米條斑病毒與縞葉枯病毒具有部份血清類緣關係，縞葉枯病毒與萎凋矮化病毒具有微弱之血清類緣關係，而玉米條斑病毒與萎凋矮化病毒則無血清類緣關係⁽¹⁹⁾。

糧食作物新病毒之分離與鑑定

水稻萎凋矮化病毒 (Rice wilted stunt virus, RWSV)

1977 年 9 月於台中縣東勢鎮明正里發現水稻呈現極度矮化，並有植株於抽穗前枯萎死亡或抽穗異常現象；室內傳播試驗證實它可經由褐飛蝨以永續性方式傳播⁽⁵²⁾。在田間分離到三種病徵型即萎凋矮化型(簡稱 GSW)，主要引起稻株極度矮化，分蘗減少或略爲增加端視接種品種及季節而定，部份梗稻品種感染後稻莖呈扭曲狀、植株常見於抽穗前枯萎死亡。另二病徵型 GSB 及 GSY，均引起植株矮化，分蘗顯著增加，但罹病植株不致提早枯萎死亡。以台南 5 號、台中 65 號、台中在來 1 號及 Shan-san-sa-san 等品種接種試驗比較不同病徵型，結果三種病徵型在高溫季節均會引起不同程度的分蘗增加現象，其中 GSB 分蘗增加現象最爲明顯；而低溫季節，僅 GSB 仍會引起分蘗增加⁽³⁰⁾。根據褐飛蝨傳播特性、病徵特性及血清類緣關係等比較，推論 GSW、GSB 及 GSY 應爲草狀矮化病毒 (*Rice grassy stunt virus*, RGSV) 的三種病徵型，其中 GSW 爲其最嚴重之病徵型，故根據其病徵特性稱之爲水稻萎凋矮化病^(11, 30)。水稻萎凋矮化病毒經由褐飛蝨以永續性方式傳播，傳病蟲率平均約 22% (範圍 15.2~30.4%)；病毒在蟲體內之潛伏期爲 5~14 日，平均 7.6 日；媒介昆蟲一旦獲毒開始傳病即能終身保持傳病能力，不能經卵傳播；褐飛蝨最短獲毒時間爲 2 小時，最短接種時間爲 1 小時^(12, 31)。在田間第二期作台南 5 號水稻品種稻齡 30、40、50 及 60 日接種 RWSV，產量損失分別爲 94、78、58 及 39%；台中秈 3 號稻齡 30、40、50 日接種者，產量損失分別爲 96、59 及 42%。以上二品種於稻齡 30 日以前接種者皆無收量⁽¹⁰⁾。1979~1983 年間於台中縣東勢鎮明正里調查第二期稻萎凋矮化病之罹病率爲 0.8~4.5%。採集褐飛蝨測定帶毒蟲率結果顯示 12 月至翌年 5 月，田間無法偵測到帶毒蟲；6 或 7 月帶毒蟲體開始出現；9~11 月帶毒蟲率達高峰期。在田間每隔 10 天插秧一次，測定秧苗自然感染率週年消長，顯示其與帶毒蟲有相似之消長趨勢，以上現象顯示病毒源有可能是隨著褐飛蝨長距離遷入⁽¹⁴⁾。水稻萎凋矮化病毒爲水稻草狀矮化病毒之一系統，在植物病毒分類歸屬於 *Tenuivirus group*⁽⁸¹⁾。純化之 RWSV 病毒樣品以 2% 醋酸鈣陰染，電子顯微鏡觀察其核蛋白直徑約 6~7 nm，呈環狀或線狀，長度 83~650 nm，多數爲 100~250 nm。罹病葉超薄切片可觀察到大型之束狀內含體^(19, 43)。

水稻皺縮矮化病毒 (*Rice ragged stunt virus*, RRSV)

水稻皺縮矮化病最早是 1976 年於印尼發生⁽⁸³⁾。1978 年 10 月筆者於嘉義農試分所水稻品種試驗田發現

部份水稻植株葉片呈濃綠皺縮之異常徵狀，室內傳播試驗證實它可經由褐飛蝨傳播^(29, 34)。1980 年代初期本病常見零星發生於第二期稻，中部地區主要發生地包括臺中縣石岡、東勢鎮明正里，苗栗縣卓蘭，臺中市，南投縣名間等地。罹病水稻主要徵狀為植株矮化、葉色濃綠、質地易碎；葉面常呈凸凹狀起伏皺縮，葉緣一邊呈現缺刻前後相續，邊緣組織轉呈白色，葉尖端常作螺旋狀捲曲，新葉展開時受到抑制；罹病稻莖或葉片沿葉脈常見產生白色條狀突起；罹病株能抽穗，但穗形很小，多為不稔實粒，穀殼呈黑褐色⁽²⁹⁾。RRSV 經由褐飛蝨以永續性方式傳播，傳病蟲率約 22%；病毒在蟲體內之潛伏期為 5~14 日，平均 7.6 日；褐飛蝨最短獲毒時間為 2 小時，最短接種時間為 1 小時⁽²⁹⁾。罹病水稻葉片組織先以 2% 戊二醛或 1% acrolein 混合 2.5% 戊二醛之混合液於 24°C 固定過夜，移出置蒸餾水中磨碎，其粗汁液與等量之 0.1% Bacitracin 混合，再經 PTA 陰染，電子顯微鏡鏡檢可檢視到完整之球形病毒顆粒，直徑 75~80 nm，具雙層鞘蛋白，外層具 A-spikes 突起，內層具 B-spikes 突起。A-spikes 呈乳頭狀，寬約 10~12 nm，長約 8 nm，附著於外層鞘蛋白上，其基部與內層之 B-spikes 相銜接。在電顯下亦經常觀察到僅具 B-spikes 之亞粒子，直徑約 55~60 nm；B-spikes 基部寬約 25~27 nm，長約 10~13 nm⁽²³⁾。過去文獻均認為 RRSV 與 *Fijivirus* 相似，不具外層鞘蛋白及 A-spikes 構造^(22, 82, 93, 97)，以致造成 RRSV 分類歸屬的矛盾問題。筆者等首次提出明確之電子顯微鏡觀察證據，證明經過適當固定步驟之 RRSV 病毒顆粒可以觀察到雙層鞘蛋白及著生於外鞘上之 A-spikes⁽²³⁾。RRSV 帶毒褐飛蝨蟲體之腦、複眼、唾腺、前腸、中腸、後腸、馬氏管、脂肪體、貯精囊、肌肉及皮膚等組織器官之超薄切片均可觀察到病毒粒子⁽²²⁾。純化之 RRSV 病毒以 SDS 裂解，於 10% 聚丙烯酰胺膠體電泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)，可得 10 條 dsRNA 基因段 (genome)，總分子量分別為 18.15×10^6 ($0.6 \sim 2.98 \times 10^6$)；以 7.5~15% 聚丙烯酰胺膠體電泳經裂解之病毒蛋白，可得 129×10^3 ， 123×10^3 ， 63×10^3 及 35×10^3 daltons 四種主要蛋白⁽³⁸⁾。利用免疫電子顯微鏡方法證實 RRSV 與稗草皺縮矮化病毒 (ERSV) (見下節) 具有血清類緣關係⁽¹⁵⁾。以上病毒形態、核酸、鞘蛋白及血清學等證據均顯示 RRSV 及 RRSV 二者為類似，但不相同之病毒。根據媒介昆蟲、病毒形態及構造、核酸基因段之數目與大小等特性，Plant reovirus 分類成三屬即 *Phytoreovirus*, *Fijivirus* and *Oryzavirus*。Oryzavirus 屬以 *Rice ragged stunt virus* 為典型種^(81, 88)。

稗草皺縮矮化病毒 (*Echinochloa ragged stunt virus*, ERSV)

1979 年 10 月於東勢明正里第二期稻進行田間調查時發現雜生於水稻田之水稗植株葉片產生與水稻皺縮矮化病病徵酷似之病徵，起初以為稗草是水稻皺縮矮化病毒的寄主植物，但經以褐飛蝨進行傳播試驗失敗，遂展開進一步的研究。稗草皺縮矮化病之主要病徵為植株明顯矮化、分蘖增多、葉色濃綠及葉緣形成鋸狀缺刻，並於罹病莖葉形成白色脈紋突起；罹病株多不能抽穗，能抽穗者抽穗期明顯延遲，產生空穀粒，由於其病徵酷似水稻皺縮矮化病，故將之命名為稗草皺縮矮化病 (*Echinochloa ragged stunt*)^(21, 33)。除水稗外，在田間小米、小麥亦為其自然寄主植物；試驗寄主包括黑麥草、玉米、水稻、龍爪稷、白茅、野稗及看麥娘等 7 種⁽¹⁵⁾。稗草皺縮矮化病毒經由擬白背飛蝨以永續性方式傳播；病毒在蟲體內之潛伏期為 9.3 日 (6~17 日)；最短獲毒及接種時間分別為 2 小時及 30 分鐘；病毒不能經卵傳播，亦不能以機械方法傳播，但以病毒粗汁液注射稗草幼苗主脈，約有 5% 注射株會表現病徵^(15, 21)。在植物病毒分類稗草皺縮矮化病毒 (ERSV) 歸屬 *Reoviruridae* 科 Plant reovirus 群 *Oryzavirus* 屬之一種⁽⁸¹⁾。ERSV 病毒顆粒為球形，完整之病毒顆粒直徑 75~80 nm，具雙層鞘蛋白，外層具 A-spikes 突起，內層具 B-spikes 突起。ERSV 帶毒媒介昆蟲擬白背飛蝨之組織器官超薄切片於電子顯微鏡可觀察到直徑 50~66nm 之病毒粒子，以結晶狀集積於 viroplasm 或分佈於細胞質內；有時亦可觀察到直徑約 75nm 之大型粒子或於 viroplasm 內觀察到直徑 40~45nm 知未成熟粒子；病毒粒子亦分佈於帶毒媒介昆蟲體之腦、複眼、腸道、胃盲囊、馬氏管或脂肪體等組織器官內⁽²²⁾。純化之病毒以 SDS 裂解，於 10% 聚丙烯酰胺膠體電泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)，可得 10 條 dsRNA 基因段，總分子量為 17.89×10^6 ($0.61 \sim 2.8 \times 10^6$)；以 7.5~15% 聚丙烯酰胺膠體電泳經裂解之病毒蛋白，可得 127×10^3 ， 123×10^3 ， 63×10^3 及 34×10^3 daltons 等四種主要蛋白⁽³⁸⁾。ERSV 與 RRSV 的病毒顆粒、病毒蛋白及 dsRNA 基因體的大小、數目均相似。ERSV 10 條 dsRNA 基因體的末端序列，都含有一段序列為 5' GAUAAU...GGUGC 3' 的保留性末端序列，這段保留性末端序列與 *Phytoreovirus* 屬及 *Fijivirus* 屬病毒的不同但與 RRSV 的相同，這些結果確認 ERSV 與 RRSV 同被歸類於 *Oryzavirus* 病毒屬^(88, 100)。

玉米條斑病毒 (*Maize stripe virus*, MS_{St}V)

1987 年 10 月於台中市北屯區發現玉米植株明顯矮

化，葉片呈現自基部延伸至葉尖之淡黃色大型條斑或整個葉片呈黃化現象之異常徵狀。室內傳播試驗證實本病可經由玉米飛蟲傳播。根據病徵、昆蟲傳播特性、病毒形態及血清類緣關係，鑑定本病是玉米條斑毒所引起^(3, 66)。MStV 經由玉米飛蟲以永續性方式傳播，傳病蟲率平均約 21%；媒介蟲之最短獲毒時間為 30 分鐘；在蟲體內之潛伏期平均為 21 日 (10~40 日)；病毒可經卵傳播，經卵傳播率為 34%，經卵傳播蟲平均於孵化後 15.7 日 (8~40 日) 開始表現傳病能力⁽³⁾。玉米飛蟲主要棲息於零星小規模栽培之玉米或甜玉米，至於大規模集約栽培之玉米田則絕少發生，此可能與後者殺蟲劑使用較頻繁有關。本蟲喜好棲息於玉米植株之較隱蔽部位，活動範圍狹窄，遷移能力弱，加以傳毒效率低等因素，此可能為本病在中部地區發生範圍不致擴大的重要原因⁽³⁾。純化之病毒樣品以 2% 醋酸鈉陰染，電子顯微鏡觀察顯示 MStV 之核蛋白呈螺旋狀構造，直徑約 11~12 nm，多呈環狀，最長者 705 nm，多數 200~350 nm⁽⁶⁶⁾。MStV 罹病玉米葉粗汁液陰染，可觀察到出現頻率極高之一種片狀結晶物質，罹病玉米葉片超薄切片則可觀察到電子線較深半透明呈規則排列之絲狀結晶內含體⁽¹⁹⁾。在植物病毒分類上 MStV 歸屬於 *Tenuivirus* 屬的一種⁽⁸¹⁾。利用西方墨點法及間接免疫酵素聯結抗體法分析臺灣發生之三種 *tenuiviruses* 之血清類緣關係顯示：MStV 與 RSV 具有部份相似之血清類緣關係，而與 RWSV 則無血清類緣關係⁽¹⁹⁾。

瓜類及花卉作物蟲媒病毒病害研究 (1988~2007)

1988 年左右以後筆者將研究重點轉向瓜類 *tosspoviruses* 及花卉作物病毒，在此一階段除參與西瓜銀斑病毒之電子顯微鏡觀察、薊馬傳播及生態學調查外，先後亦成功分離、鑑定花生黃化扇斑病毒、彩色海芋黃斑病毒及辣椒黃化病毒蝴蝶蘭分離株等三個新 *tosspoviruses*。在花卉作物病毒方面對洋桔梗、康乃馨、彩色海芋、蝴蝶蘭的部份病毒進行調查、分離與鑑定。

番茄斑萎病毒屬 (TOSPOVIRUS) 病毒 之研究

西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV)

1988 年葉氏等首次自刺角瓜及西瓜上成功分離西

瓜銀斑病毒^(102, 103)；並經證明經由南黃薊馬 (*Thrips palmi*) 以永續性方式傳播；1、2 齡幼蟲可獲毒傳病，成蟲則無法獲毒傳病^(65, 103)。Chiu *et al.* (1994) 發展利用 Percoll 梯度 (Percoll density gradient) 部份純化瓜類 *tosspoviruses* 方法⁽⁷³⁾；葉錫東教授對 WSMoV 各種分子生物學特性及血清學性質等有深入地探討^(77, 101)。在西瓜銀斑病毒的研究團隊，筆者有幸參與薊馬傳播及流行學調查工作。西方花薊馬傳播番茄斑萎病毒 (*Tomato spotted wilt virus*) 之潛伏期為 3-4 日或更長⁽⁹⁹⁾。筆者探討南黃薊馬獲毒至傳毒之較明確潛伏期，結果顯示南黃薊馬傳播 WSMoV 似有永續性及非永續性傳播現象 (陳慶忠未發表資料)，此尚待進一步探討證實。陰染 WSMoV 部份純化汁液或以 2%GA 固定並以 2%UA 溶液陰染罹病冬瓜葉片組織粗汁液，於電子顯微鏡可觀察到 75~100nm 近似球形病毒顆粒或為具一層外套膜 (envelope) 之病毒顆粒，顆粒外表具有小突起 (projections)^(35, 73)。罹病冬瓜葉片之超薄切片，可觀察到葉肉細胞內許多近似球形之病毒顆粒，具明顯之外套膜，多數粒子之直徑介於 70~92nm 間；病毒粒子主要分佈在葉肉細胞靠近細胞壁附近之細胞質內，通常 10 餘病毒顆粒或更多病毒顆粒聚集而成染色較深之團堆 (cluster)，病毒團堆外圍偶而可見不甚明顯之膜狀物，或整堆套著在腔室內⁽³⁵⁾。感染 WSMoV 之西瓜、冬瓜、胡瓜、洋香瓜、越瓜、扁蒲、南瓜及絲瓜等罹病株葉片，利用超薄切片、電子顯微鏡方法均可觀察到 *tosspoviruses* 病毒顆粒；此外，超薄切片帶毒之南黃薊馬的後腸部位，亦可觀察到直徑 65-102 nm 類似 *tosspoviruses* 之病毒顆粒⁽⁵⁶⁾。流行病學調查顯示夏、秋作高溫季節西瓜感染 WSMoV 較為嚴重，而春作則較輕微。春作由於生育初期氣溫低、越冬後南黃薊馬蟲口密度低以及田間病毒源少，西瓜受到 WSMoV 感染的程度輕微。夏、秋作則因西瓜生育期間自然氣溫高、田間媒介蟲源及病毒源均相對較豐富，以致發病較為嚴重。夏、秋作西瓜約於定植後 3~4 週開始顯現病徵，發病高峰期於隨後之二週出現，由於發病盛期正值西瓜欲留果 (每期作每株只留一採收果) 之開花或幼果期以致罹病西瓜所結之瓜實生育受到嚴重影響。WSMoV 感染西瓜除引起黃化焦枯型病徵外，在田間尚有一種產生銀斑 (silver mottle) 之病徵，二種分離株在血清類緣關係、核酸層次、病毒形態及薊馬傳播特性比較並無差異。中部地區最常見感染 WSMoV 之瓜類作物除西瓜、冬瓜外，洋香瓜及胡瓜亦受到嚴重感染為害；田間南瓜、絲瓜、扁蒲、越瓜等雖也能偵測到罹病株，但罹病率極低。在田間野莧及龍葵等二種雜草被證明為 WSMoV 之寄主植物，其中龍葵亦為南黃

薊馬之寄主植物；這些雜草在冬季非瓜類栽培期可能扮演著 WSMoV 病毒源保存及傳遞的部份角色⁽⁵⁶⁾。南黃薊馬傳播之西瓜銀斑病在實際防除面 (1) 以栽培抗病品種為上上策，(2) 瓜類主要生育期迴避高溫季節亦可減少感染，(3) 避免連作 (包括附近田區)。至於病害流行地域高溫季節欲栽培瓜類作物或連作田欲利用殺蟲劑防治南黃薊馬以期減少發病的程度，難度甚高⁽⁵⁵⁾。

花生黃化扇斑病毒 (*Peanut chlorotic fan-spot virus*, PCFV)

1992 年 10 月於嘉義縣鹿草鄉溝渠旁種植之花生田發現部份植株沿葉片主脈兩側向外產生大型扇狀環斑，中心部並具環狀輪圈；發病中、後期全葉黃化或於病斑區產生褐色或焦枯現象⁽⁶⁴⁾。陰染花生罹病組織粗汁液於電子顯微鏡下可觀察到直徑 75-100 nm 類似 tospoviruses 之病毒顆粒，新分離株與 TSWV-NY、*Impatiens necrotic spot virus* (INSV) 及 WSMoV 均無血清類緣關係，乃根據其病徵特性命名為花生黃化扇斑病毒^(32, 64)。以罹病葵藜葉片粗汁液機械接種 30 種植物，結果受到感染者有奎藜、菸草、蔓陀蘿等 19 種，多數接種植物均於接種葉產生黃化或壞疽病斑；在豇豆 (*Vigna sinensis*) 於未接種上位葉產生系統性黃化斑駁；在菸草 (*Nicotiana bethamiana*) 偶亦可於未接種之上位葉產生系統性壞疽斑點。陰染罹病花生葉片粗汁液以電子顯微鏡可觀察到大小 75~100 nm 之球形或豆莢形病毒粒子；超薄切片花生、豇豆、奎藜等罹病葉片組織，亦可觀察到與粗汁液陰染相似之病毒顆粒，多數病毒顆粒聚集成束，由內質網包圍或包含於液泡內；病毒顆粒主要分佈於靠近細胞壁之細胞質內^(20, 32)。PCFV 經由小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis* Hood) 以永續性方式媒介傳播^(20, 32)。PCFV 核鞘蛋白與番茄斑萎病毒屬血清型 I (TSWV)、血清型 II (GRSV)、血清型 III (TCSV) 及血清型 IV (WSMoV) 並無血清類緣關係⁽¹⁰¹⁾，因此根據其核鞘蛋白血清性狀於 1998 年第四屆 *Tospovirus* 屬國際病毒研討會議中被列為第十血清型 (Serotype)。PCFV 基因體 sRNA 全長 2833 個核苷酸，包含有兩個轉譯架構、中央非轉譯區及 5' 和 3' 非轉譯區；其中非結構性蛋白 (NSs) 基因位在病毒股上，對應產生 51.5kDa 的蛋白，與其他番茄斑萎病毒屬的病毒相較，其胺基酸的相同度有 19.3~54.2%。而 PCFV 的核鞘蛋白基因位在病毒的互補股上，對應產生一個 31.1kDa 的蛋白，與其他番茄斑萎病毒屬的病毒相較，有 22.3~67.5% 的胺基酸相同度。此外在其基因體核酸的 3' 亦具有 5' -AUUGCUCU-3' 的序列，這段保留性末端序列與其它 tospoviruses 相同，因此從遺傳分子

的結果證實 PCFV 是 *Tospovirus* 屬中之一新種⁽⁷⁸⁾。

新分離、鑑定之 tospoviruses 尚包括彩色海芋黃斑病毒及蝴蝶蘭上辣椒黃化病毒蝴蝶蘭分離株將於下節花卉作物病毒介紹。

花卉作物病毒研究

洋桔梗 (*Eustoma russellianum* (Don.) Griseb)

在洋桔梗上筆者參與分離、鑑定胡瓜嵌紋病毒^(39, 51)、洋桔梗壞疽病毒^(25, 26)、蠶豆萎凋病毒^(18, 40, 41)、蕪菁嵌紋病毒⁽²⁾及番茄嵌紋病毒^(91, 92)等五種病毒，其中洋桔梗壞疽病毒及蠶豆萎凋矮化病毒在台灣感染經濟作物均為初次發生。洋桔梗壞疽病毒係經由真菌傳播⁽⁸⁹⁾，雖非蟲媒病毒，但基於其在國內首次記錄之理由，於此亦予以介紹。

洋桔梗壞疽病毒 (*Lisianthus necrosis virus*, LNV)

1995 年 3 月在彰化縣永靖鄉一洪姓花農塑膠布溫室栽培之洋桔梗 (*Eustoma russellianum* (Don.) Griseb) 發現疑似病毒感染之異常徵狀。經分離及初步血清學鑑定證明是洋桔梗壞疽病毒所引起⁽²⁶⁾。田間自然感染之洋桔梗植株，發病初期於上位葉出現許多淡黃色圓斑並逐漸轉化成壞疽斑點，偶也會出現輪紋狀的斑點，有時鄰近許多斑點融合成斑塊。發病嚴重時甚至導致被害葉萎凋或頂梢枯死；類似的病徵也在發病嚴重之植株的花梗和花莖出現；罹病株明顯矮化、葉片變小，開花受到抑制，花呈畸形，或花瓣出現褪色狀條紋⁽²⁶⁾。以罹病葵藜粗汁液機械接種 54 種植物，28 種產生壞疽性斑點，其中 *Nicotiana bethamiana* 及 *N. tabacum* 等兩種菸草產生系統性病徵。陰染罹病葉粗汁液，電子顯微鏡下鏡檢可觀察到直徑約 32 nm 之球型病毒；罹病之洋桔梗葉片及花瓣超薄切片，於電子顯微鏡下可於葉肉細胞或花瓣細胞內觀察到大量病毒顆粒分散於細胞質內，有時則許多病毒顆粒排列成結晶狀之類似內含體構造^(25, 67)。1995 年 5 月於彰化縣永靖鄉康乃馨雜交系 (小可愛, Kooij Echo kgr, Holland) 上採集產生黃色斑點之罹病葉片，經初步分離後利用 LNV 日本洋桔梗分離株及台灣洋桔梗分離株的抗血清進行酵素聯結免疫反應分析，確認分離自康乃馨上之分離株與洋桔梗壞疽病毒具有血清類緣關係⁽²⁷⁾。LNV 極易以機械方式傳播，在田間病毒則可經由病土傳播⁽²⁷⁾；而據日本 Iwaki 等 (1987) 報告 LNV 可經由真菌 (*Olpidium* spp.) 傳播⁽⁸⁹⁾。雖然 LNV 最早於 1983 年由日

本 Iwaki (1985) 等人所發現⁽⁹⁰⁾，但因當時尚未有 LNV 基因體的組成及核酸序列的資訊，故 LNV 依據血清學及其物理特性，暫被歸類在 *Tombusviridae* 科 *Necrovirus* 屬。然而由 LNV 洋桔梗分離株 (LNV-L) 及康乃馨分離株 (LNV-C) 全基因體序列之選殖、定序及序列分析，結果顯示 LNV 基因體全長為 4764 個核苷酸 (nucleotide, nt)，對應轉譯出五個蛋白，此基因體的組成與 *Tombusvirus* 較近似，而與 *Necrovirus* 相似度較低；與 *Tombusvirus* 核酸序列相同度為 73.2% 至 97.2% 之間。因此，根據 LNV 基因體的組成及核酸序列顯示，LNV 應被重新歸類於 *Tombusvirus* 屬而非 *Necrovirus* 屬⁽¹⁾。LNV 在田間大肆發生僅見於 1995 年 3 月彰化縣永靖鄉江姓花農之設施花圃，其他地區僅見零星發生。由於江姓花農發病嚴重之該批洋桔梗苗係由丹麥進口，推測此病害之發生與進口種苗有關⁽²⁵⁾。

蠶豆萎凋病毒 (*Broad bean wilt virus, BBWV*)

1995 年 8 月於彰化縣田尾鄉設施內栽培之洋桔梗發現葉片出現輪斑狀病徵之異常植株。罹病株於下方葉片出現黃化斑點或淡綠至濃綠之多環輪斑，終呈壞疽斑點⁽⁴⁸⁾。經電子顯微鏡觀察及血清學初步鑑定證實上述洋桔梗異常植株是由蠶豆萎凋矮化病毒所引起^(40, 41)。室內傳播試驗顯示 BBWV 可經由桃蚜 (*Myzus persicae* Sulzer) 以非永續性方式媒介傳播；棉蚜 (*Aphis gossypii* Glover) 則未能成功傳毒⁽⁵⁷⁾。罹病葉片粗汁液以 2% 醋酸鈷陰染，電子顯微鏡可觀察到直徑約 28nm 之多角球形病毒；超薄切片洋桔梗、奎藜、菸草 (*Nicotiana rustica*) 及矮牽牛之罹病葉片於葉肉細胞之細胞質內亦可觀察到類似之病毒顆粒；另外在罹病奎藜葉片之葉肉細胞細胞質內可觀察到晶格狀構造 (lattice structure) 之結晶體及不定形含病毒顆粒之內含體⁽⁵⁷⁾。純化經由機械接種發病之奎藜或菸草 (*N. rustica*) 可得到直徑約 28nm 之多角球形病毒顆粒；利用 SDS-PAGE 電泳分離病毒鞘蛋白，得到 24 及 43 kDa 兩種鞘蛋白次單位。DAS-ELISA 及 indirect ELISA 分析顯示新分離之病毒為 Fabavirus 成員之蠶豆萎凋病毒 -2 (*Broad bean wilt virus-2, BBWV-2*) 之一系統 (strain)，與 BBWV-1 僅具微弱之血清類緣關係，Fabavirus 在台灣之發生為首次記錄^(40, 57)。

康乃馨 (*Dianthus caryophyllus* L.)

筆者參與分離、鑑定二個康乃馨病毒即康乃馨斑駁病毒⁽⁶³⁾ 及洋桔梗壞疽病毒^(27, 37)。兩種新分離病毒均非經昆蟲傳播，唯基於其係國內首次發生，亦於此做簡要介紹 (洋桔梗壞疽病毒已於上節提及)。

康乃馨斑駁病毒 (*Carnation mottle virus, CarMV*)

2002 年 4、5 月間於彰化縣北斗鎮田尾鄉及永靖鄉田間栽種之康乃馨雜交品系小可愛發現類似感染病毒引起之異常徵狀。罹病株上方分蘖即心葉附近葉片產生許多黃化壞疽斑點或黃化斑駁等徵狀。罹病葉片粗汁液經陰染於電子顯微鏡可觀察到直徑約 33 nm 之球形病毒顆粒；血清學試驗初步顯示新分離病毒與康乃馨斑駁病毒具有血清類緣關係；超薄切片罹病組織於葉肉細胞之細胞質內可觀察到病毒顆粒，呈分散或結晶狀排列，大小與陰染法之病毒顆粒相似；純化 CarMV 病毒顆粒大小與粗汁液陰染相似。電泳分析得一分子量約 40 kDa 之鞘蛋白次單位⁽⁶³⁾。進一步針對 CarMV 鞘蛋白基因保守區域設計專一性引子對，利用反轉錄聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 增幅 CarMV 康乃馨分離株鞘蛋白基因，並進行選殖及定序，將所得之 1047-nt (nucleotides) 鞘蛋白基因核酸序列與基因庫 (GenBank) 中已發表之各 CarMV 分離株鞘蛋白基因序列進行比對分析，經比對後發現與 CarMV 各分離株間具 95.6~97.9% 之核酸序列相同度 (nucleotide identity) 及 98~99.1% 的胺基酸序列相同度 (amino acid identity)。綜合以上試驗結果，分離自台灣康乃馨引起黃化斑駁病徵之病毒鑑定為 CarMV 的一分離株，同時 CarMV 感染康乃馨在台灣亦為首次記錄⁽⁶³⁾。

彩色海芋 (*Zantedeschia* spp.)

彩色海芋上筆者共參與分離、鑑定四個病毒即洋桔梗壞疽病毒⁽⁷¹⁾、康乃馨斑駁病毒⁽⁵³⁾、蕪菁嵌紋病毒⁽¹⁷⁾ 及彩色海芋黃斑病毒^(59, 68, 95)，其中彩色海芋黃斑病毒為新的記錄種。

彩色海芋黃斑病毒 (*Cala lily chlorotic spot virus, CCSV*)

2001 年 3 月在彩色海芋 (*calla lily, Zantedeschia* spp.) 病毒發生的調查工作中，自彰化縣北斗鎮黃姓花農栽培之彩色海芋園發現部份海芋植株之上位 3~4 葉片出現淡綠至黃化斑⁽⁶⁸⁾。陰染新分離病毒株罹病葉粗汁液或病組織超薄切片，電子顯微鏡均可觀察到直徑 75~105nm 具有外膜之近似球形病毒顆粒。以罹病蕪菁葉片組織粗汁液機械接種 36 種植物結果 24 種對之呈感受性，其中 11 種主要為瓜類作物呈系統性感染。新分離病毒株可經由南黃薊馬以永續性方式傳播。Indirect ELISA 及 Western blot 顯示其與 WSMoV 具有血清類緣關係，但與 INSV、TSWV、PCFV 則無⁽²⁴⁾。葉錫東教授實驗室從新分離病毒株之罹病植物抽取總

核酸，利用 WSMoV N- 基因專一性引子對進行 RT-PCR 反應無法產生 DNA 片段，但在其 L- 基因體核酸的 3' 亦具有 5' -AUUGCUCU-3' 的序列這段保留性末端序列與其它 tospoviruses 相同，顯示其為一種 tospovirus，乃根據其病徵特性命名為彩色海芋黃斑病毒⁽²⁴⁾。其基因體 S RNA 全長 3,172 個核苷酸，包含有兩個轉譯架構、中央非轉譯區及 5' 和 3' 非轉譯區。其中非結構性蛋白 (NSs) 基因與其他番茄斑萎病毒屬的病毒相較，其胺基酸的相同度有 20.1~65.1%。而 PCFV 的核鞘蛋白基因與其他番茄斑萎病毒屬的病毒相較，有 19.9~66.1% 的胺基酸相同度。此外，在其 L- 基因體核酸的 3' 亦具有 5' -AUUGCUCU-3' 的序列這段保留性末端序列與其它 tospoviruses 相同，因此從遺傳分子的結果證實 CCSV 是 Tospovirus 屬中之一新種⁽⁹⁵⁾。

蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis orchids*)

在蝴蝶蘭上筆者共計參與分離、鑑定三個新的病毒即辣椒黃化病毒^(60, 106)、蝴蝶蘭黃斑病毒^(61, 105) 及康乃馨斑駁病毒⁽¹⁰⁴⁾。

辣椒黃化病毒蝴蝶蘭分離株 (*Capsicum chlorosis virus-Ph, CaCV-Ph*)

2002 年 10 月於彰化縣大村鄉台大蘭園及福興鄉大和蘭園，採集到蘭花葉片產生大型黃化輪斑、壞疽斑或全葉出現一個大黃化圓斑之異常株。電子顯微鏡觀察 (陰染、超薄切片) 初步顯示是由 tospoviruses 所引起。血清學試驗結果顯示新分離病毒株與 WSMoV 抗血清產生微弱專一性反應⁽⁶⁰⁾。進一步進行病毒的 L-RNA 高度保留區 (conserved region) 序列之分析，確認此引起黃化壞疽斑點的蝴蝶蘭病毒是屬於番茄斑萎病毒屬，故再針對該病毒之核鞘蛋白 (nucleocapsid, N) 基因進行增幅及比對並完成病毒回接至蝴蝶蘭之試驗，結果顯示引起蝴蝶蘭大型黃化輪斑及黃化壞疽斑點病徵的病原是辣椒黃化病毒 (*Capsicum chlorosis virus, CaCV*)，故將此由蝴蝶蘭上分離之 CaCV 定名為 CaCV-Ph^(104, 106)。由田間調查發現 CaCV-Ph 零星分佈於各蘭園，而在南部之部份蘭園夏、秋季發病情形相當嚴重，估計發病率達 10% 以上。雖然傳播 CaCV-Ph 之薊馬種類尚未確認，但加強溫室管理以防薊馬類昆蟲的侵入，當可有效減少病毒的傳染蔓延。

蝴蝶蘭黃斑病毒 (*Phalaenopsis chlorotic spots virus, PhCSV*)

2003 年 8 月於彰化縣大村鄉台大蘭園發現蝴蝶蘭

植株葉片引起黃化斑徵狀。經分離、電子顯微鏡觀察，證實係由長絲狀病毒所引起。新分離病毒病毒顆粒大小 15×750-800 nm、具一 34.7 kDa 核鞘蛋白、病毒耐熱性 45-50°C。血清學試驗顯示新病毒分離株可與廣泛檢測馬鈴薯 Y 病毒屬 (*Potyvirus*) 病毒之單株抗體有強烈血清免疫反應，故判斷此病毒可能屬於馬鈴薯 Y 病毒屬⁽⁶¹⁾。由病毒核酸之增幅及鞘蛋白 (coat protein, CP) 基因序列之分析結果得知此蝴蝶蘭病毒分離株為一新發現之馬鈴薯 Y 病毒屬病毒，經病毒回接試驗確認此病毒為引起蝴蝶蘭葉片出現黃化斑點之病原，故將其命名為蝴蝶蘭黃化斑點病毒 (*Phalaenopsis chlorotic spot virus, PhCSV*)⁽¹⁰⁵⁾。

結 語

從事蟲媒病害研究逾 40 載，前階段研究領域以媒介昆蟲為主，工作範圍涵括媒介昆蟲生態、蟲媒病害傳播、病害流行學及防治方法；後階段參與植物病毒之分離、鑑定，涉獵之病毒種類包括 plant reovirus、tenuivirus、tospovirus、comovirus、carmovirus、tombushvirus 及 potyvirus 等。每每伏案沉思不免聯想著地處亞熱帶及熱帶地區交界的臺灣，地形自平地而高山呈現出熱帶、亞熱帶、溫帶及亞寒帶的複雜風貌，此間生態環境多變且生物資源豐沛，也相對造成豐富的植物病蟲害 (包含病毒) 種類及多樣性的病蟲相，此亦正闡明農業在臺灣遭受著比其它地區 (如溫帶) 更多的病蟲害問題與挑戰。個人長期執著守志在農業第一線從事蟲媒病害相關之研究工作，在此也願記下些許經驗心得。

電子顯微鏡技術由於其過程繁瑣 (採樣、包埋、切片、看片、判讀)、枯燥，此項技術隨著時代的變遷在國內植物病毒界似不再受到青年朋友的喜愛，以筆者過去的經驗，電顯確是鑑定植物病毒種類初步探討的利器之一，許多植物病毒如大型球形病毒 (tospovirus, plant reovirus)、絲狀病毒 (potyvirus)、子彈形病毒 (rhabdovirus) 等極容易在利用陰染或超薄切片方法藉電子顯微鏡觀察時辨認；當然它也不是萬能，如雙星病毒或小形球形病毒，尤其當供試材料病毒濃度很低時則不易觀察到。

長期服務於地區農業改良場從事蟲媒病害研究並參與農業推廣工作，在蟲媒病害的研究過程中，難免面對新的病毒問題，個人總是會從昆蟲及病毒二個面向做初步思考，而在解決問題的過程中，若面臨自己試驗能力不及或個人研究室儀器設備不足的情況時，則會尋求其他單位專家協助解決。一旦問題獲得圓滿解決且產出好的結果，於撰寫報告準備發表時，合作

雙方都能相互尊重彼此的貢獻；如此的合作方式對於解決問題速度及成效均有裨益，參與研究的雙方也都是贏家，更能建立永久性的合作夥伴關係。長期以來感覺這種合作模式頗適合在農業第一線工作的基層人員；對於擁有更高技術層次及精密試驗設備，卻因肩負教學任務而較少有時間接觸田間的大學教授，此種合作關係也成為獲得解決農民問題的試驗材料之捷徑。

筆者在學士、碩士階段接受昆蟲學訓練並參與蟲媒病害研究，初期主要從事昆蟲傳播植物病害及其相關之流行病學調查等工作，對於植物病毒領域，頗有隔行如隔山之憾；爾後於博士學程接受植物病毒訓練並經長期的工作歷練，方逐漸體會昆蟲與植病間密不可分的关系。若以農業推廣層次之實際面考量，反倒覺得先期在大學植物病蟲害系的養成階段，植病與昆蟲二者的雙重訓練比較符合職場的現實需要；在事事講究專業分工的今天，如此的論調或許會招來開倒車之議，但大學階段如果植病系與昆蟲系的學生能盡量互相多選修研習彼此的基本課程，此等跨領域的訓練，不論往後進入職場或進修，對問題都會有較為多元的思考面向。

參考文獻

1. Chang, C. H., Yeh, S. D., Chen, C. C., and Jan, F. J. 2008. Complete genome sequence and genetic organization of *Lisianthus necrosis virus* suggests it should be re-delineated from Necrovirus into Tombusvirus. Arch. Virol. (in press).
2. Chao, C. H., Chen, C. C., Chang, C. C., and Chen, C. C. 2000. Identification of a turnip mosaic virus isolate causing systemic yellow spotting on *Lisianthus*. Plant Pathol. Bull. 9: 115-122. (in Chinese)
3. Chao, C. H., Chen, C. C., Chiang, H. W., and Wang, E. S. 1988. The occurrence of Maize stripe virus in Taiwan. Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 21: 23-31. (in Chinese)
4. Chen, C. C. 1970. Comparative transmission of rice yellow dwarf by three *Nephotettix* leafhoppers in Taiwan. Plant Prot. Bull. 12: 160-165. (in Chinese)
5. Chen, C. C. 1970. Ecological studies of green rice leafhoppers in Taiwan (IV) Ecological studies of *Nephotettix impicticeps*. Plant Prot. Bull. 12: 79-90. (in Chinese)
6. Chen, C. C. 1972. The distribution of *Nephotettix* leafhoppers in Taiwan. Plant Prot. Bull. 14: 41-45. (in Chinese)
7. Chen, C. C. 1977. Some epidemiological studies on rice yellow dwarf disease especially emphasized on the transmission cycle. National Science Council Monthly 5: 98-105. (in Chinese)

附表一、筆者參與鑑定之植物病毒種類

Appendix table 1. List of plant viruses identified in Taiwan with the author taking part in identification work

Viruses	Taxonomy	Vectors	locations / Year	Natural hosts	New record in		References
					domestic	abroad	
<i>Rice ragged stunt virus</i>	Plant reovirus	<i>Nilaparvata lugens</i>	Chiayi / 1978	rice	●		15, 29, 34
<i>Echinochloa ragged stunt virus</i>	Plant reovirus	<i>Sogatella vibix</i>	Tungshih / 1979	<i>Echinochloa</i>		●	15, 21, 33
Rice wilted stunt virus	<i>Tenuivirus</i>	<i>N. lugens</i>	Tungshih / 1977	rice		●	30, 52, 65
<i>Maize stripe virus</i>	<i>Tenuivirus</i>	<i>Peregrinus maidis</i>	Taichung / 1987	corn	●		3, 66
<i>Watermelon silver mottle virus</i>	<i>Tospovirus</i>	<i>Thrips palmi</i>	Changhua / 1988	cucurbits	●		65, 103
<i>Peanut chorotic fan spot virus</i>	<i>Tospovirus</i>	<i>S. dorsalis</i>	Chiayi / 1992	peanut		●	32, 64, 78
<i>Cala lily chlorotic spot virus</i>	<i>Tospovirus</i>	<i>T. palmi</i>	Changhua / 2001	calla lily		●	68, 95
<i>Capsicum chlorosis virus-Ph</i>	<i>Tospovirus</i>	Thrip (?)	Changhua / 2002	<i>Phalaenopsis</i>		●	60, 106
<i>Lisianthus necrosis virus</i> *	<i>Tombusvirus</i>	—	Changhua / 1995	<i>Lisianthus</i> etc.	●		25, 26
<i>Broad bean wilt virus</i>	<i>Comovirus</i>	aphids	Changhua / 1995	<i>Lisianthus</i>	●		18, 40, 41
<i>Carnation mottle virus</i> *	<i>Carmovirus</i>	—	Changhua / 2002	carnation etc.	●		63
<i>Phalaenopsis chlorotic spot virus</i>	<i>Potyvirus</i>	aphids	Changhua / 2003	<i>Phalaenopsis</i>		●	61, 105

* A non-insect borne plant virus.

8. Chen, C. C. 1978. Epidemiological studies on rice yellow dwarf. Pages 139-166. *In*: Proceedings of a symposium on diseases and insect pests of rice at the Taiwan Plant Protection Center, Wufeng, Taichung, May 17-21, 1977. Joint Commission on Rural Reconstruction, R.O.C. (in Chinese)
9. Chen, C. C. 1979. Epidemiological studies on rice transitory yellowing with special reference to its transmission by the rice green leafhoppers. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station* 4:1-61. (in Chinese)
10. Chen, C. C. 1981. Effect of wilted stunt disease on the growth and yield of the rice plant. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station* 5: 51-62. (in Chinese)
11. Chen, C. C. 1981. Rice wilted stunt in Taiwan. *IRRN* 6: 13.
12. Chen, C. C. 1983. Some factors affecting transmission of rice wilted stunt by the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal). *Plant Prot. Bull.* 25: 245-251. (in Chinese)
13. Chen, C. C. 1984. Effects of rice transitory yellowing virus on yield and yield components. *Plant Prot. Bull.* 26: 11-22. (in Chinese)
14. Chen, C. C. 1984. Some epidemiological studies on rice wilted stunt. *Plant Prot. Bull.* 26: 315-321. (in Chinese)
15. Chen, C. C. 1985. Studies on the Echinochloa ragged stunt and its comparison with rice ragged stunt. Doctor thesis of Graduate Institute of Plant Pathology, National Chung-Hsing University, 150 pp. (in Chinese)
16. Chen, C. C., Chang, N. T., Wang, E. S., and Ko, W. H. 1980. Control of rice virus disease by granular chemicals in seedling boxes. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station* 3: 42-47. (in Chinese)
17. Chen, C. C., Chao, C. H., Chen, C. C., Yeh, S. D., Tsai, H. T., and Chang, C. A. 2003. Identification of *Turnip mosaic virus* isolates causing yellow stripe and spot on calla lily. *Plant Dis.* 87: 901-905.
18. Chen, C. C., Chao, C. H., and Chen, Y. K. 1996. Etiological studies of *Lisianthus* ring spot disease in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 38: 371(abstract). (in Chinese)
19. Chen, C. C., Chao, C. H., Chen, Y. K., and Tsai, J. H. 1996. Comparative studies on the partial properties of three tenuiviruses occurring in Taiwan. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station* 50: 29-43. (in Chinese)
20. Chen, C. C., Chao, C. H., and Chiu, R. J. 1996. Studies on host range, transmission and electron microscopy of peanut chlorotic fan-spot virus in Taiwan. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station* 52: 59-68. (in Chinese)
21. Chen, C. C., Chen, M. J., and Chiu, R. J. 1986. Echinochloa ragged stunt: Symptomatology, host range and transmission. *Plant Prot. Bull.* 28: 371-381.
22. Chen, C. C., Chen, M. J., Chiu, R. J., and Hsu, H. T. 1989. Morphological comparisons of Echinochloa ragged stunt and rice ragged stunt viruses by electron microscopy. *Phytopathology* 79: 235-241.
23. Chen, C. C., Chen, M. J., Chiu, R. J., and Hsu, H. T. 1997. Rice ragged stunt virus (*Oryzavirus*) possesses an outer shell and A-spikes. *Plant Prot. Bull.* 39: 383-388.
24. Chen, C. C., Chen, T. C., Lin, Y. H., Yeh, S. D., and Hsu, H. T. 2005. A chlorotic spot disease on calla lilies (*Zantedeschia* spp.) is caused by a tospovirus serologically but distantly related to *Watermelon silver mottle virus*. *Plant Dis.* 89: 440-445.
25. Chen, C. C., Chen, Y. K., and Hsu, H. T. 2000. Characterization of a virus infecting *Lisianthus*. *Plant Dis.* 84: 506-509.
26. Chen, C. C., Chen, Y. K., Ko, W. F., and Chen, M. J. 1995. Isolation and identification of *Lisianthus* necrosis virus. *Plant Prot. Bull.* 37: 445 (Abstract). (in Chinese)
27. Chen, C. C., Chen, Y. K., Ko, W. F., and Hsu, H. T. 2002. Characterization of *Lisianthus necrosis virus* (genus *Necrovirus*) isolated from *Dianthus caryophyllus*. *Plant Pathol. Bull.* 11: 137-146. (in Chinese)
28. Chen, C. C., and Chiu, R. J. 1980. Factors affecting transmission of rice transitory yellowing virus by green leafhoppers. *Plant Prot. Bull.* 22: 297-306.
29. Chen, C. C., and Chiu, R. J. 1981. Rice ragged stunt and its effect on the growth of rice plant. *Plant Prot. Bull.* 23: 67-75. (in Chinese)
30. Chen, C. C., and Chiu, R. J. 1982. Three symptomatologic types of rice virus diseases related to grassy stunt in Taiwan. *Plant Dis.* 66: 15-18.
31. Chen, C. C., and Chiu, R. J. 1989. Transmission of rice wilted stunt virus by brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal). *Bull. Of Taichung Dis. Agri. Impro. Station* 23: 3-10.
32. Chen, C. C., and Chiu, R. J. 1996. A tospovirus infecting peanut in Taiwan. *Acta Hort.* 431: 57-67.
33. Chen, C. C., Chiu, R. J., Chen, M. J., Wang, E. S., and Ko, W. F. 1980. Studies on the Echinochloa ragged stunt virus disease of rice plant in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 22: 425-426 (Abstract). (in Chinese)
34. Chen, C. C., Chiu, R. J., and Wang, E. S. 1979. Rice ragged stunt disease, a new virus disease in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 21: 447 (Abstract). (in Chinese)
35. Chen, C. C., Ho, H. M., Chang, T. F., Chao, C. H., and Yeh, S. D. 1995. Characterization of a tospovirus-like

- virus isolated from wax gourd. *Plant Prot. Bull.* 37: 117-131. (in Chinese)
36. Chen, C. C., Ho, H. H., Ko, W. H. and Chang, C. C. 1972. Screening tests for resistance to yellow dwarf in rice. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station No.2.* 60 pp. (in Chinese)
 37. Chen, C. C., and Hsu, H. T. 2002. Occurrence of a severe strain of *Lisianthus necrosis virus* in imported carnation seedlings in Taiwan. *Plant Dis.* 86: 444 (Note).
 38. Chen, C. C., Hsu, Y. H., Chen, M. J., and Chiu, R. J. 1989. Comparison of proteins and nucleic acids of *Echinochloa* ragged stunt and rice ragged stunt viruses. *Intervirology* 30: 278-284.
 39. Chen, C. C., and Hu, C. C. 1999. Purification and characterization of a cucumovirus from *Lisianthus rusellianus*. *Plant Prot. Bull.* 41: 179-198. (in Chinese)
 40. Chen, C. C., Hu, C. C., Chen, Y. K., and Hsu, H. T. 2002. A fabavirus inducing ringspot disease in *Lisianthus*. *Acta Hort.* 568: 51-57.
 41. Chen, C. C., Hu, C. C., and Hsu, H. T. 2001. Characterization of a fabavirus isolated from diseased *Lisianthus*. *Phytopathology* 91: S17. (Abstract)
 42. Chen, C. C., and Huang, W. L. 1993. Purification, partial characterization and serological properties of rice stripe virus. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 41:* 33-42. (in Chinese)
 43. Chen, C. C., Huang, W. F., Ko, W. F., and Chao, C. H. 1994. Purification, characterization and serological analysis of rice wilted stunt virus. *Plant Pathol. Bull.* 3: 45-53.
 44. Chen, C. C., and Ko, W. H. 1975. Effect of yellow dwarf disease on the Agronomic characters of the rice plant. *Plant Prot. Bull.* 17: 250-262. (in Chinese)
 45. Chen, C. C., and Ko, W. H. 1976. Studies on the varietal resistance of rice plant to Yellow dwarf II. Screening test for varietal resistance to yellow dwarf in rice plant. *Plant Prot. Bull.* 18:207-217. (in Chinese)
 46. Chen, C. C., and Ko, W. H. 1978. Survey on the age distribution of rice green Leafhoppers and remaining ryd-diseased plants during overwintering period in Taichung area. *Plant Prot. Bull.* 20: 1-7. (in Chinese)
 47. Chen, C. C., and Ko, W. H. 1986. Studies on the time of rice stripe virus infection and field experiments on disease control. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 12:* 51-59. (in Chinese)
 48. Chen, C. C., and Ko, W. H. 1987. Investigations on the life history, host plants and field occurrence of *Sogatella longifurcifera*. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 17:* 31-40. (in Chinese)
 49. Chen, C. C., and Ko, W. H. 1988. Effects of the stripe virus on rice yield and yield components. *Plant Prot. Bull.* 30: 259-268. (in Chinese)
 50. Chen, C. C., and Ko, W. H. 1989. Epidemiological studies on rice stripe virus disease in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 31: 290-303. (in Chinese)
 51. Chen, C. C., Ko, W. H., and Chen, Y. K. 1998. Purification and characterization of a cucumovirus from *Lisianthus rusellianus*. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 60:* 1-18. (in Chinese)
 52. Chen, C. C., Ko, W. H., and Chiu, R. J. 1978. Transmission of rice wilted stunt. *Plant Prot. Bull.* 20: 376 (Abstract). (in Chinese)
 53. Chen, C. C., Ko, W. F., Jan, F. J., Lin, C. Y., and Hsu, H. T. 2002. Characterization of *Carnation mottle virus* isolated from calla lily (*Zantedeschia* spp.). *Plant Pathol. Bull.* 11: 242. (Abstract)
 54. Chen, C. C., Ko, W. F., Lin, C. Y., Jan, F. A., and Hsu, H. T. 2003. First report of *Carnation mottle virus* in calla lily (*Zantedeschia* spp.). *Plant Dis.* 87: 1539 (Note).
 55. Chen, C. C., Ko, W. H., and Pai, K. F. 2006. Ecology of *Watermelon silver mottle virus* on wax gourd (*Benincasa hispida*). *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 91:* 1-19. (in Chinese)
 56. Chen, C. C., Ko, W. H., Pai, K. F., and Yeh, S. D. 2004. Ecology of *Watermelon silver mottle virus* disease on watermelon in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 13: 317-328. (in Chinese)
 57. Chen, C. C., Ko, W. F., Taso, S. L., and Chao, C. H. 2001. Isolation and identification of a *Fabavirus* from lisianthus. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 70:* 51-63. (in Chinese)
 58. Chen, C. C., Ko, W. H., Wang, E. S., and Hu, D. Q. 1977. Effect of yellow dwarf on rice plants as determined by the time of symptom appearance. *Plant Prot. Bull.* 19: 251-256. (in Chinese)
 59. Chen, C. C., Ko, W. H., and Yeh, S. T. 2006. Field survey of virus disease and characterization of a new tospovirus on calla lily in central Taiwan. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station 92:* 35-45. (in Chinese)
 60. Chen, C. C., Ko, W. F., Zheng, Y. X., and Jan, F. J. 2003. Isolation of a tospovirus causing chlorotic and necrosis spots symptoms on moth orchids (*Phalaenopsis* spp.). *Plant Pathol. Bull.* 12: 293 (Abstract).
 61. Chen, C. C., Ko, W. F., Zheng, Y. X., and Jan, F. J. 2005. Isolation and characterization of a potyvirus causing chlorotic spots on *Phalaenopsis* orchids. *Plant Pathol. Bull.* 14: 296 (Abstract).
 62. Chen, C. C., and Kuan, C. C. 1980. The effect of the rice transitory yellowing virus on its insect vector. *Department Bull. of Entomolgy, NCHU* 15: 237-242.

- (in Chinese)
63. Chen, C. C., Lin, C. Y., Ko, W. H., and Jan, F. J. 2003. Isolation and characterization of *Carnation mottle virus* from carnation. *Plant Pathol. Bull.* 12: 199-208. (in Chinese)
 64. Chen, C. C., Shy, J. F., Ko, W. F., and Chiu, R. J. 1993. Identification of tomato spotted wilt-like virus on peanut in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 2: 251 (Abstract).
 65. Chen, C. C., Shy, J. F., and Yeh, S. D. 1990. Thrip transmission of tomato spotted wilt virus from watermelon. *Plant Prot. Bull.* 32: 331 (Abstract). (in Chinese)
 66. Chen, C. C., Tsai, J. H., Chiu, R. J., and Chen, M. J. 1993. Purification, characterization and serological analysis of maize stripe virus in Taiwan. *Plant Dis.* 77: 367-372.
 67. Chen, C. C., Taso, S. L., and Hsu, H. T. 2001. Diagnosis of *Lisianthus necrosis virus* infection by light and electron microscopy and serological assays. *Plant Pathol. Bull.* 10: 105-114. (in Chinese)
 68. Chen, C. C., Taso, S. L., Ko, W. F., Yeh, S. T., and Chao, C. H. 2002. Isolation and identification of tospovirus from cala lily. *Special Publication of Taichung Dis. Agri. Impro. Station.* No 52: 75-76 (Abstract) (in Chinese)
 69. Chen, C. C. and Wang, U. H. Some physical and chemical properties of rice wilted stunt virus. *Bull. Taichung Dis. Agri. Impro. Station* 8: 9-14. (in Chinese)
 70. Chen, M. J., and Shikata, E. 1971. Electron microscopy of rice transitory yellowing virus. Pages 179-197. *In: Proceedings of a symposium on rice diseases at JCRR, Taipei, September 9-12, 1969. Joint Commission on Rural Reconstruction, R.O.C.*
 71. Chen, Y. K., Jan, F. J., Chen, C. C., and Hsu, H. T. 2006. A new natural host of *Lisianthus necrosis virus* in Taiwan. *Plant Dis.* 90: 1112. (Note)
 72. Chiu, R. J. 1971. Transitory yellowing of rice. Pages 155-178. *In: Proceedings of a symposium on rice diseases at JCRR, Taipei, September 9-12, 1969. Joint Commission on Rural Reconstruction, R.O.C.*
 73. Chiu, R. J., Chen, C. C., and Hsu, H. T. 1994. Purification and characterization of a Tospovirus systemically infecting cucurbits in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 3: 198-208.
 74. Chiu, R. J., Hsu, Y. H., Chen, M. J., Chen, C. C., Lee, R. C. R., Lin, M. C., Lin, S. M., and Kuo, T. T. 1990. Purification and partial characterization of rice transitory yellowing virus. *Phytopathology* 80: 777-783.
 75. Chiu, R. J., Jean, J. H., and Chen, M. H. 1966. Transmission of yellow dwarf of rice by two leafhoppers in Taiwan. *Plant Proc. Bull.* 8: 275-286.
 76. Chiu, R. J., Lo, T. G., Pi, C. T., and Chen, M. H. 1965. Transitory yellowing of rice and its transmission by the leaf-hopper, *Nephotettix apicalis apicalis* (Motsch.). *Bot. Bull. Acad. Sinica (Taiwan)* 6: 1-18.
 77. Chu, F. H., Chao, C. H., Chung, M. H., Chen, C. C., and Yeh, S. D. 2001. Completion of the genome sequence of *Watermelon silver mottle virus* and utilization of degenerate primers for detecting tospoviruses in five serogroups. *Phytopathology* 91: 361-368.
 78. Chu, F. H., Chao, C. H., Peng, Y. C., Lin, S. S., Chen, C. C., and Yeh, S. D. 2001. Serological and molecular characterization of *Peanut chlorotic fan-spot virus*, a new species of the genus *Tospovirus*. *Phytopathology* 91: 856-863.
 79. Department of Agriculture and Forestry, Taiwan Provincial Government. 1969-1988. Annual report of Plant Protection of Taiwan. (in Chinese)
 80. Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K., and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma or PLT group-like organisms found in phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or Paulownia witches' broom. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* 33: 259-266
 81. Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U., and Ball, L. A. 2005. *Virus Taxonomy. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Virology Division, International Union of Microbiological Societies. 1259 pp.
 82. Hagiwara, K., Minobe, Y., Nozu, Y., Hibino, H., Kimura, I., and Omura, T. 1986. Component proteins and structure of rice ragged stunt virus. *J. Gen. Virol.* 67: 1711-1715.
 83. Hibino, H., Roechan, M., Sudarisman, S., and Tantera, D. M. 1977. A virus disease of rice (*Kerdi hampa*) transmitted by brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal), in Indonesia. *Contr. Centr. Res. Inst. Agric. Bogor* No. 35. 15 pp.
 84. Ho, S. H. and Chen, C. C. 1968. Ecological studies on rice green leafhoppers in Taiwan (I). *Plant Prot. Bull.* 10: 15-36.
 85. Hsieh, C. Y. 1973. Transmission of rice stripe virus by *Laodelphax striatellus* Fallen in Taiwan. *Plant Proc. Bull.* 15: 153-162.
 86. Hsieh, S. P. Y., and Chiu, R. J. 1969. Rice stripe, a new virus disease in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 11: 75 (Abstract). (in Chinese)
 87. Hsieh, S. P. Y., Chiu, R. J., and Chen, C. C. 1970. Transmission of rice transitory yellowing virus by *Nephotettix impicticeps*. *Phytopathology* 60: 1534.

(Abstract)

88. Hsu, H. T., and Chen, C. C. 2004. Genus *Oryzavirus*. Pages 326-330 in: *Viruses and virus diseases of Poaceae (Gramineae)*. H. Lapierre & P.A. Signoret eds. Institut National De La Recherche Agronomique (INRA), Paris, France
89. Iwaki, M., Hanada, K., Maria, E. R. A., and Onogi, S. 1987. *Lisianthus necrosis virus*, a new necrovirus from *Eustoma russellianum*. *Phytopathology* 77: 867-870.
90. Iwaki, M., Maria, E. R. A., Hanada, K., Onogi, S., and Zenbayashi, R. 1985 Three viruses occurred in *Lisianthus* plants. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 52: 355.
91. Jan, F. A., Chen, C. C., and Hsu, H. T. 2003. Identification of *Tomato mosaic virus* infection in *Lisianthus* in Taiwan. *Plant Dis.* 87: 1537 (Note).
92. Jan, F. J., Zheng, Y. X., Chao, C. H., Ko, W. F., Chang, C. C., and Chen, C. C. 2003. Identification of a tobamovirus causing yellow mottle and stunting symptoms on lisianthus in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 12: 122-132. (in Chinese)
93. Kawano, S., Uyeda, I., and Shikata, E. 1984. Particle structure and double-stranded RNA of rice ragged stunt virus. *J. Fac. Agric. Hokkaido Uni.* 61: 408-418.
94. Kurosawa, E. 1940. On the rice yellow dwarf occurring in Taiwan. *Journal of Plant Protection, Japan* 27: 161-166. (in Japanese)
95. Lin, Y. H., Chen, T. C., Hsu, H. T., Liu, F. L., Chu, F. H., Chen, C. C., Lin, Y. Z., and Yeh, S. D. 2005. Serological comparison and molecular characterization for verification of calla lily chlorotic spot virus as a new tospovirus species belonging to *Watermelon silver mottle virus* serogroup. *Phytopathology* 95: 1482-1488.
96. Liu, C. H., Cheng, C. H., Chen, C. C., Wang, S. S., and Chu, Y. I. 1989. Immigrations of planthoppers from oversea to Taiwan in 1987. *Chinese J. Entomol.* 9: 1-11. (in Chinese)
97. Milne, R. G. 1980. Does rice ragged stunt virus lack the typical double shell of the reoviridae? *Intervirology* 14: 331-336.
98. Taichung District Agricultural Improvement Station. 1972-1975. Annual report of pests and diseases forecasting of rice. (in Chinese)
99. Wijkamp, I., and Peters, D. 1993. Determination of the median latent period of two tospovirus in Multiplication of tomato spotted wilt virus in its vector, *Frankliniella occidentalis*, using a novel leaf disk assay. *Phytopathology* 83: 456-463.
100. Yan, J., Uyeda, I., Kimura, I., Shikata, E., Chen, C. C., and Chen, M. J. 1994. *Echinochloa* ragged stunt virus belongs to the same genus as rice ragged stunt virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 60: 613-616.
101. Yeh, S. D., Chao, C. H., Cheng, Y. H., and Chen, C. C. 1996. Serological comparison of four distinct tospoviruses by polyclonal antibodies to purified nucleocapsid proteins. *Acta Hort.* 431: 122-134.
102. Yeh, S. D., Cheng, Y. H., Jih, C. L., Chen, C. C., and Chen, M. J. 1988. Identification of tomato spotted wilt virus infecting horn melon and watermelon. *Plant Prot. Bull.* 30: 419. (Abstract)
103. Yeh, S. D., Lin, Y. C., Cheng, Y. H., Jih, C. L., Chen, M. J., and Chen, C. C. 1992. Identification of tomato spotted wilt-like virus on watermelon in Taiwan. *Plant Dis.* 76: 835-840.
104. Zheng, Y. X. 2007. Identification and characterization of new *Phalaenopsis* orchids-infecting viruses and developing new transgenic approach broad-spectrum resistance to viruses by expressing designed siRNA-generating synthetic nucleotides. Doctoral Dissertation, Department of Plant Pathology National Chung Hsing University. 172 pp.
105. Zheng, Y. X., Chen, C. C., Chen, Y. K., and Jan, F. J. 2008. Identification and characterization of a potyvirus causing chlorotic spot on *Phalaenopsis* orchids. *Eur. J. Plant Pathol.* (in press)
106. Zheng, Y. X., Chen, C. C., Yang, C. J., Yeh, S. D., and Jan, F. J. 2008. Identification and characterization of a tospovirus causing chlorotic ringspots on *Phalaenopsis* orchids. *Eur. J. Plant Pathol.* 120: 199-209.



Ching-Chung Chen

Dr. Chen was born in Hsin Chu county, Taiwan in 1942. He received his B. S. degree from the Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taiwan in 1965. He started his job in the former Plant Protection Division, Department of Agriculture and Forestry, Taiwan Provincial Government in July 1966, then transferred to Taichung District Agricultural Improvement Station in January 1967 and worked there until he retired in January 2008. He intermittently completed his master and doctoral degrees in the Departments of Entomology and the Department of Plant Pathology of National Chung Hsing University in 1978 and 1985, respectively. As an entomologist and plant pathologist, he pursued studies on vectors and vector-borne plant diseases. In the early stage of his career, he focused his works on the transmission, ecology, epidemiology and control of diseases of rice yellow dwarf, rice transitory and rice stripe and their vectors, such as *Nephotettix* spp, *Sogatella vibix* and *Peregrinus maidis*. Since 1985, he devoted his efforts into the identification of new and emerging plant viruses of crops, including *Rice ragged stunt virus* (RRSV) of rice; *Echinochloa ragged stunt virus* (ERSV) of *Echinochloa*; *Maize stripe virus* (MStV) of corn; Tospoviruses of peanut (Peanut chlorotic fan-spot virus, PCFV) and cala lily (Cala lily chlorotic spot virus, CCSV); *Lisianthus necrosis virus* (LNV) and *Broad bean wilt virus* (BBWV) of lisianthus; *Carnation mottle virus* (CarMV) of carnation, cala lily and lisianthus; *Capsicum chlorosis virus-Ph* (CaCV-Ph) and *Phalaenopsis chlorotic spot virus* (PhCSV) in *Phalaenopsis* orchid.

ABSTRACT

Ching-Chung Chen^{1,2} 2008. Forty Years of My Devotion to the Studies of Insect-borne Diseases. *Plant Pathol. Bull.* 17: 1-16 (¹ Retired senior researcher; Taichung District Agricultural Research & Extension Station, COA, Changhua, Taiwan; ² Corresponding author, E-mail: cccrobert@hotmail.com)

For the last 41 years of my career as a Plant Pathologist, I pursued studies on vectors and vector-borne plant diseases at the Taichung District Agricultural Research & Extension Station in Taiwan. From 1967 to 1987, my research interest focused on ecological studies of *Nephotetix* spp., *Peregrinus maidis*, and *Sogatella vibix*. Early work during this period on transmission of rice yellow dwarf and rice transitory yellowing by *Nephotetix* spp, and on epidemiology of these and also rice stripe provided bases for the development of control measure of these major vector-borne rice maladies in Taiwan. Rice wilted stunt virus (RWSV), rice ragged stunt virus (RRSV), and *Echinochola* ragged stunt virus (ERSV) were identified in early 1980's and the disease distributions found to correlate to the long-distance migration of their respective vectors. Virions of RWSV, RSV, MStV, RRSV and ERSV were later purified and their physical and biochemical properties determined. In the late 1980', a switching of my research interest occurred and it was geared to the thrips-borne tospoviruses , emphasizing electron-microscopy, transmission, physical, chemical, biological, and immunological studies. The main subjects included Watermelon silver mottle, Peanut chlorotic fan-leaf, Calla lily chlorotic spot, and Capsicum chlorosis tospoviruses. Since 1995, viral diseases of ornamental plants have become the major subjects to draw my research efforts, from which some results appeared else where.

Key words: insect-borne disease, insect vector, ecology, epidemiology, isolation, identification