

## 西瓜銀斑病毒病在西瓜上之發生生態

陳慶忠<sup>1,3</sup> 柯文華<sup>1</sup> 白桂芳<sup>1</sup> 葉錫東<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 彰化縣 行政院農業委員會台中區農業改良場

<sup>2</sup> 台中市 國立中興大學植物病理學系

<sup>3</sup> 聯絡作者，電子郵件：chenc@tdais.gov.tw；傳真：+886-4-8521140

接受日期：中華民國 93 年 11 月 17 日

### 摘要

陳慶忠、柯文華、白桂芳、葉錫東 2004. 西瓜銀斑病毒病在西瓜上之發生生態. 植病會刊 13 : 317-328.

西瓜銀斑病毒 (*Watermelon silver mottle virus*, WSMoV) 於 1988 年在台灣首次被鑑定，自此本病成爲西瓜栽培之一重要病毒病害。1991-1995 年間於彰化縣大城鄉調查西瓜銀斑病毒病罹病度與南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karney) 棲群密度，結果顯示夏、秋作高溫季節西瓜感染 WSMoV 較爲嚴重，而春作則較輕微。春作由於生育初期氣溫低及越冬後媒介昆蟲—南黃薊馬蟲口密度低以及病毒源少，西瓜受感染 WSMoV 的程度輕微。夏、秋作由於西瓜生育期間氣溫高、田間媒介昆蟲蟲源及病毒源均較豐富，以致發病較爲嚴重。夏、秋作西瓜罹病植株約於定植後 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。以迴歸分析法分析開花前即定植後四週之總降雨量與全期作南黃薊馬總蟲口密度之相關，結果 1991-1994 年夏作二者呈顯著相關，但春、秋作則相關不顯著。分析每週蟲口密度與其後第三週西瓜 WSMoV 罹病率之相關，結果 1993-1995 年春作及 1991-1994 夏作二者均呈顯著相關；1991-1993 秋作二者相關不顯著。WSMoV 感染西瓜除引起黃化型病徵外，在田間尚有一種銀斑型病徵，二者在血清類緣關係、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爲害；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。調查 11 種野生植物(雜草)中野莧及龍葵證明爲 WSMoV 之寄主植物，其中龍葵亦爲南黃薊馬之寄主植物。在田間野莧及龍葵都見於西瓜生育後期或收穫後方始表現病徵，推測此類雜草在冬季非瓜類栽培期扮演著 WSMoV 病毒源保存及傳遞的部份角色。

關鍵詞：西瓜、西瓜銀斑病毒、生態學、寄主植物

### 緒言

番茄斑萎病毒屬 *Tospovirus* 病毒爲具有酯質蛋白套膜 (lipoprotein envelope) 之單股 RNA 球形病毒，直徑約在 80-110 nm<sup>(38)</sup>，在病毒分類被列爲 *Bunyaviridae* 科之一屬，並以番茄斑萎病毒 (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) 爲其代表種<sup>(22)</sup>，是目前植物病毒中唯一經由薊馬類昆蟲以永續性方式傳播的病毒<sup>(33, 35)</sup>。其寄主植物範圍廣泛<sup>(11, 12, 32)</sup>，主要分佈於熱帶、亞熱帶及溫帶地區<sup>(12)</sup>，爲害作物包括菸草、馬鈴薯、花生、鳳梨、萵苣、番茄、甜椒、瓜類以及菊花、大理花、大岩桐、鳳仙花、海芋及蘭花等花卉作物，爲一世界性重要植物病毒。1995 第三屆國際病毒研討會根據病毒之核鞘蛋白的血清類緣關係，將 *Tospovirus* 屬病毒分爲四個血清群 (serogroup)<sup>(3, 4, 10, 15, 19, 20, 23, 31, 34, 40, 42)</sup>，即第一血清群 *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)、第二血清群 *Groundnut ringspot virus* (GRSV) 及 *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV)、第三血清群 *Impatiens necrotic spot virus* (INSV) 及第四血清群 *Watermelon silver mottle virus*

(WSMoV) 及 *Peanut bud necrosis virus* (PBNV)。1998 年第四屆國際病毒會議，根據病毒之血清類緣關係及病毒核鞘蛋白基因之胺基酸序列相同度，將此一病毒屬擴充至十個血清群，包含 13 個病毒種 (species)，新增的 *Watermelon bud necrosis virus* (WBNV)<sup>(27, 37)</sup> 與 WSMoV 及 PBNV 具有血清學關係，並列爲第四血清群，其他 *Peanut yellow spot virus* (PYSV)<sup>(36)</sup>，*Iris yellow spot virus* (IYSV)<sup>(17)</sup>，*Physalis severe mottle virus* (PSMV)<sup>(18)</sup>，*Chrysanthemum stem necrosis virus* (CSNV)<sup>(21)</sup>，*Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV)<sup>(21)</sup>，及 *Peanut chlorotic fan-spot virus* (PCFV)<sup>(16, 43)</sup> 與前四血清群無血清類緣關係，各自獨立形成新的血清群，分別列在第五至第十血清群。上述第四及 PCFV 兩個血清群主要分佈於亞洲地區，包括日本<sup>(26)</sup>、台灣<sup>(9, 41)</sup> 及印度<sup>(37, 39)</sup> 等，分佈於亞洲地區之 *tospoviruses*，主要經由南黃薊馬 (*Thrips palmi* Karny)<sup>(2, 39)</sup> 或小黃薊馬 (*Scirtothrips dorsalis* Hood) 媒介傳播<sup>(9)</sup>。

Yeh *et al.* 於 1988 年自田間西瓜及溫室的刺角瓜分離出西瓜銀斑病毒 (WSMoV)<sup>(41)</sup>。1990 年陳氏等證明此病毒

經由南黃薊馬 (*T. palmi*) 媒介傳播<sup>(2)</sup>。西瓜感染 WSMoV 主要病徵為節間縮短、植株矮化、幼葉黃化斑駁、葉片變窄小、皺縮、末梢直立、萎縮、壞疽、焦枯、果實脫落或變小、畸型，果皮呈壞疽斑或銀色斑駁黃化斑點<sup>(41)</sup>。本病毒在台灣自被鑑定並證實感染西瓜以來，已成為彰化、雲林沿海及花東及屏東西瓜生產栽培之一大障礙，此外嘉義、台南之洋香瓜生產亦受此病毒之感染<sup>(3)</sup>。WSMoV 除嚴重為害西瓜、洋香瓜外，冬瓜之生產亦受到嚴重之威脅<sup>(1)</sup>。

本研究對西瓜銀斑病毒病之發生生態包括田間病勢進展、媒介昆蟲南黃薊馬之棲群動態及 WSMoV 之其他瓜類及雜草寄主加予調查，以期對西瓜銀斑病毒病之流行學有較多之了解。此外，在田間西瓜銀斑病毒除引起上述黃化型病徵外，尚可觀察到一種罹病植株葉片呈銀色斑駁之病徵，此一類病徵的特性比較亦將於本文中提及。於此，謹就試驗結果提出報告，期能提供為田間西瓜銀斑病毒病綜合防治策略擬定之參考。

## 材料與方法

### 西瓜銀斑病毒病之發生生態調查

調查於 1993-1995 年春作；1991-1994 年夏作；1991-1993 年秋作就彰化縣大城鄉許姓瓜農之西瓜園分別進行十作次。調查田面積約 0.1 公頃 (同一農戶非固定田區)，種植西瓜 (富寶 2 號) 約 230-250 株 (畦寬 4.5m × 株距 1.2 m)。調查田之肥培及病蟲害管理依農民慣行方法進行，試驗期間並未限制殺蟲、殺菌劑之使用。春作視植株生長狀況於定植後第八或九週起；夏、秋作則於定植後第二週起進行調查工作。每週一次定期調查田間西瓜銀斑病毒病之病勢進展、田間南黃薊馬棲群密度。調查時以肉眼辨識產生黃化斑駁等典型西瓜銀斑病毒病之病徵，並採集發病植株葉片標本於室內以 WSMoV 核鞘蛋白製備之抗血清進行間接酵素連結免疫分析 (indirect enzyme-linked immunosorbent assay, indirect ELISA)。發病株一經確認即於調查田植株位置圖上加予標示，並於次週起停止採樣。田間南黃薊馬棲群密度於調查田中央部位完全逢機取樣，採取 40 個含 4 個葉片之心葉放入塑膠袋內於 -20℃ 冰凍，次日將塑膠袋周圍之薊馬蟲體挑出置入含 75 % 酒精容器內鏡檢鑑定南黃薊馬並計算蟲數。調查所得資料中，各期作總降雨量與南黃薊馬蟲口密度；各期作南黃薊馬總蟲口密度與西瓜銀斑病毒病罹病度；各期作西瓜開花前即定植後四週之總降雨量與全期作南黃薊馬總蟲口密度；每週蟲口密度與其後第三週西瓜銀斑病毒病罹病度等之相關進行迴歸分析。

### 其他瓜類寄主植物調查

1999-2000 年 6-9 月間於彰化縣大城、芳苑、二林及台中縣大肚等鄉鎮調查西瓜及冬瓜以外之瓜類包括胡瓜 (*Cucumis sativas* L.)、越瓜 (*C. melo* L. Conomon group)、洋香瓜 (*C. melon* L.)、南瓜 (*Cucurbita pepo* cv. Field pumpkin)、扁蒲 [*Lagenaria leucantha* (Duch.) Rusby]、絲瓜 (*Luffa aegyptia* Mill.) 及苦瓜 (*Momordica charantia* L.) 等瓜類作物罹染 WSMoV 之情形，如發現葉片出現黃斑、黃化環斑、銀斑、濃綠、皺縮等徵狀的植株均予採樣並於室

內以 WSMoV 抗血清進行 indirect ELISA 分析。ELISA 分析產生專一性反應之材料另行包埋、超薄切片及電子顯微鏡觀察以確認病毒之感染。調查時並於胡瓜及洋香瓜上採集南黃薊馬以 WSMoV 抗血清進行 indirect ELISA 分析，測定帶毒蟲百分率。

### 野生寄主植物調查

1999-2001 年 8-11 月間於彰化縣大城、芳苑、二林及台中縣大肚等鄉鎮選擇西瓜銀斑病毒病發病較嚴重之田區，於西瓜生育後期或收穫後就瓜園或其附近田區調查野生雜草或其他植 (作) 物，如有葉片出現黃化斑駁、黃化環斑或濃綠、皺縮等徵狀者均予採樣，並以 WSMoV 抗血清進行 indirect ELISA 分析產生專一性反應之材料給予包埋、超薄切片及電子顯微鏡鏡檢以確認病毒感染。

### 雜草飼養南黃薊馬比較

於室內以野莧 (*Amaranthus viridis* L.) 及龍葵 (*Solanum nigrum* L.) 種子培育幼株供為飼養南黃薊馬之材料，飼養溫度為 26 ± 2℃。試驗時以圓形透明玻璃筒 (10cm × 30 cm) 罩住室內培育之 5-6 葉期野莧及龍葵幼株，每一組釋放室內飼養之南黃薊馬成蟲 5 對，每一供試植物處理重覆 3 次，觀察其生育情形。

### 電子顯微鏡觀察

超薄切片法 (ultra thin section)：田間採集之疑似感染 WSMoV 發病植物材料或南黃薊馬經以 WSMoV 抗血清進行 indirect ELISA 分析產生專一性反應者，分別以 2 % 戊二醛 (glutaraldehyde) 及 1 % 四氧化鉻 (osmium tetroxide) 進行前、後固定，再以酒精系列脫水和 LR White 樹脂滲透包埋後，以超薄切片機 (Reichert ultracut S) 切取 60-70 nm 厚度之切片，經 2 % 醋酸鉍溶液預染及檸檬酸鉛 (lead hydroxide chelated with citrate) 複染後以電子顯微鏡觀察罹病組織之病變情形。

### 間接酵素連結免疫分析

間接酵素連結免疫分析係依 Koenig (1981)<sup>(30)</sup> 之方法進行。供試植物葉片以 9 倍量 (W/V) 之塗覆緩衝液 (coating buffer, 1.59 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2.93 g NaHCO<sub>3</sub>, 0.2 g NaN<sub>3</sub>, 1000 ml H<sub>2</sub>O, pH 9.6) 研磨，吸取 200 μl 注入微量盤之孔穴中，於 37℃ 靜置 2.5 小時後用 PBST (8 g NaCl, 0.2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.9 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.2 g KCl, 0.2 g NaN<sub>3</sub>, 0.5 ml Tween-20, 1000 ml H<sub>2</sub>O, pH 7.4) 清洗 3 次。再加入以結合緩衝液 (conjugate buffer, 2 % PVP-40, 0.2 % ovalbumin, 1000 ml PBST) 稀釋 1000 倍 WSMoV 核鞘蛋白抗體。於 37℃ 靜置 2 小時，用 PBST 清洗 3 次，再加入標定鹼性磷酸酵素 (alkaline phosphatase) 的山羊抗兔子免疫球蛋白 G (goat anti-rabbit IgG alkaline phosphatase conjugate, Jackson ImmunoResearch Lab. Inc., USA) 稀釋倍數 1:5000 為二次抗體。最後於 37℃ 靜置 2 小時或 4℃ 過夜，水洗後，每穴加入 200 μl 以基質緩衝液 (substrate buffer, 97 ml diethanolamine, 800 ml H<sub>2</sub>O, 0.16 g NaN<sub>3</sub>, pH 9.8) 配製之鹼性磷酸酵素基質 (p-nitrophenyl phosphate, disodium, 1 mg/ml, Sigma) 試液反應 20-60 分鐘，每穴再加入 50 μl 之 3 M NaOH 停止反

應，並以 ELISA 測讀儀 (Bio-Tek Instruments, Burlington, VT, USA) 讀取波長 405 nm 之吸收值。分析之結果 A<sub>405</sub> nm 之讀值為健康對照之 3 倍以上者判定為正反應。試驗時以健康的各供試植物粗汁液做為負對照。

### 反轉錄聚合酶連鎖反應

反轉錄聚合酶連鎖反應 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 係將田間感染 WSMoV 之西瓜黃化病徵型及銀斑病徵型罹病葉片材料接種於菸草 (*Nicotiana benthamiana*) 發病後，分別取 0.1g 於液態氮中研磨成粉，利用植物全量 RNA 純化試劑組 (Omega, Taiwan) 進行全量 RNA (total RNA) 純化。根據 Chu *et al.*<sup>(15)</sup> 所發表可鑑定 *Tospovirus* 之簡併性引子對 (degenerate primers) (gL3637: 5'-CCTTTAACAGTDG AAACAT-3', gL4510c: 5'-TCATCRGARTGBACMATCCATCT-3')，以及另一組引子對 WSMoV N-gene-specific primers (NPBamH1: 5'-ACAGAAAGGTTAGCACTGAA-3', NPSac1: 5'-ACAGAGGACTCCACTCCCGG-3') 則是從 WSMoV 核鞘蛋白之核酸序列設計出之專一性引子。於 3 μl 之植物全量 RNA 中，分別加入 2 μl 之 20 μM 之 gL3637- gL4510c 及 NPBamH1- NPSac1 二引子對，利用 RT-PCR 試劑組 (Genemark Inc., Taiwan) 進行反應。進行 RT-PCR 反應時，於每一 50 μl 反應液中分別加入 3 μl RNA、10 μl 10 x PCR buffer、10 μl 2.5 mM dNTP、1 μl two-enzyme system (含 M-MLV reverse transcriptase 及 GneTaq polymerase)，及各 2 μl 之 20 μM gL3637-gL4510c 及 NPBamH1- NPSac1 兩組引子對，於熱循環反應儀 (GeneAmp PCR System 9700, Biosystems, USA) 中進行 RT 及 30 個 PCR 循環反應。反應程序為 50°C 30 分鐘的條件下進行第一股 cDNA 之合成，之後再進行 PCR 增幅反應。首先於 94°C 變性 (denature) 反應 2 分鐘，再進行 30 個循環反應，每一個循環反應之程序為 94°C 變性反應 (denature) 1 分鐘，55°C 黏合 (annealing) 反應為 1 分鐘，72°C 聚合反應為 2 分鐘，最後再於 72°C 進行延長 (extension) 聚合反應 10 分鐘。此一反應預估 gL3637/gL4510 及 WSMoV N-gene-specific primers 兩組引子對分別可增幅出大小約 890 及 689 bp 之核酸產物，反應結果以 1% 瓊脂膠體電泳進行分析。

## 結 果

### 西瓜銀斑病毒病之發生生態調查

春作西瓜於 1993-1995 年假彰化縣大城鄉許姓瓜農之西瓜園分別實施三次。供試西瓜 1993 年於 1 月 12 日、1994 年於 1 月 7 日、1995 年於 1 月 4 日定植。由於 1-3 月份自然氣溫低，供試西瓜生長緩慢，至 3 月中、下旬以後隨著自然氣溫逐漸上升，西瓜生育加速，田間感染 WSMoV 之植株於 4-5 月份陸續出現，5 月下旬西瓜採收完畢。各年次之西瓜銀斑病毒病之累計罹病率分別 4.2、10.1 及 10.8% (圖一 A, B, C)。春作西瓜之罹病率相對較低，且發病植株均於西瓜欲留果 (每期作每株西瓜只採收一粒果實，由於西瓜第一番花所結果實果皮太厚，瓜農通

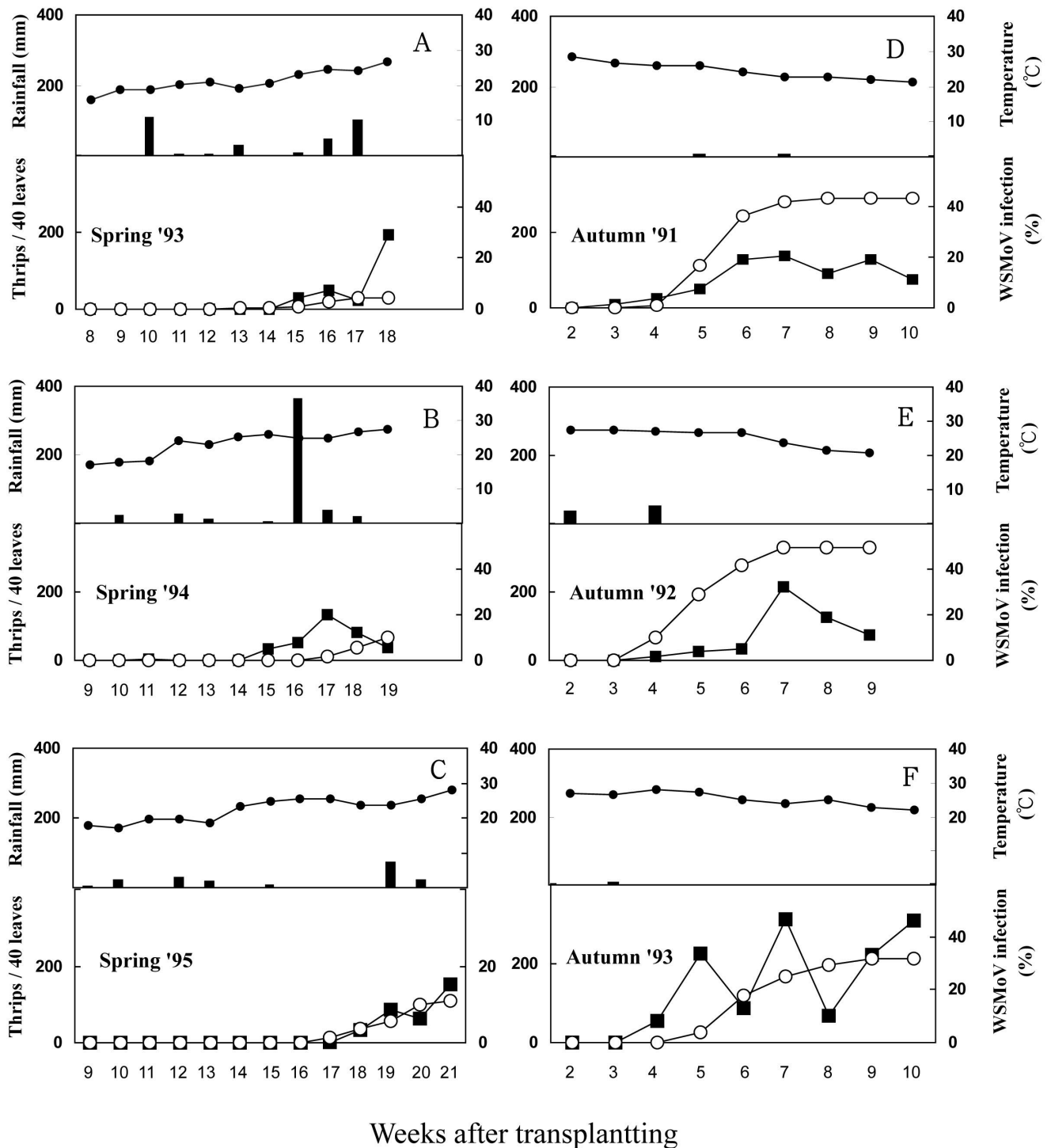
常留第二番花所結之果實做為採收果) 之中果期以後方始出現病徵，因此西瓜實際受 WSMoV 感染而導致產量及品質受影響之程度較輕微。田間南黃薊馬也受 1-3 月份自然氣溫低的影響，蟲口密度極低，直到 4 月下旬以後方能偵測到蟲體 (田間首次偵測到南黃薊馬之日期及蟲口密度分別為 1993 年 4 月 23 日, 31 隻/40 心葉; 1994 年 4 月 28 日, 35 隻/40 心葉; 1995 年 5 月 1 日, 1 隻/40 心葉)。隨著氣溫上升，蟲口密度亦逐漸升高，至 5 月下旬蟲口密度達高峰期 (1993 年 5 月 13 日, 195 隻/40 心葉; 1994 年 5 月 12 日, 134 隻/40 心葉; 1995 年 6 月 1 日, 153 隻/40 心葉) (圖一 A, B, C)，此時已屆西瓜收穫末期。

夏作西瓜於 1991-1994 年在同一農戶之瓜園實施。供試西瓜於 1991 年 5 月 29 日、1992 年 5 月 21 日、1993 年 5 月 23 日及 1994 年 5 月 24 日分別定植。田間西瓜感染 WSMoV 之植株於定植後四週左右開始出現病徵，四期作試驗中除 1993 因生育初、中期雨量多，田間蟲口密度低，導致該期西瓜之罹病率較低 (7.2%) 外，其餘 1991、1992 及 1994 之罹病率分別為 21.6、23.5 及 33.8% (圖一 G, H, I, J)。夏作西瓜南黃薊馬出現之時機與西瓜生育初期之下雨量有密切之關係，1991 年定植後即 6 月上、中旬雨量少，南黃薊馬約於西瓜定植後二週內開始出現 (田間首次偵測到南黃薊馬之日期及蟲口密度為 6 月 11 日, 115 隻/40 心葉) (圖一 G)，但 1993 年西瓜定植後雨量較多，南黃薊馬出現時機明顯後延 (該作西瓜移植後第二週即偵測到南黃薊馬，但隨著因連續大雨田間再偵測到薊馬之日期及蟲口密度為 7 月 17 日, 6 隻/40 心葉) (圖一 I)。雖然 1993 及 1994 年南黃薊馬出現較晚，但田間西瓜出現病徵之時間並未見明顯延後。由於夏作田間病徵出現之時機正值欲留果之開花授粉期或幼果期，以致植株感染病毒發病後嚴重影響瓜實之發育，對西瓜果粒大小、瓜形及品質均有不良之影響。

秋作西瓜於 1991-1993 年在同一農戶之瓜園實施。供試西瓜於 1991 年 9 月 6 日、1992 年 9 月 3 日及 1993 年 8 月 29 日分別定植。秋作西瓜田間感染 WSMoV 之植株約於移植後 3-4 週開始表現病徵，且多數之罹病植株在隨後之二週密集出現，1991、1992 及 1993 各年次之西瓜銀斑病毒病之累計罹病率分別為 41.1、49.6 及 31.6% (圖一 D, E, F)。三個試驗年次均於 9 月下旬開始偵測到南黃薊馬 (各年次田間首次偵測到南黃薊馬之日期及蟲口密度分別為 1991 年 9 月 26 日, 24 隻/40 心葉; 1992 年 9 月 23 日, 10 隻/40 心葉; 1993 年 9 月 21 日, 56 隻/40 心葉)，而於 10 月中旬達密度高峰期 (各年次田間南黃薊馬出現高峰期之日期及蟲口密度分別為 1991 年 10 月 17 日, 136 隻/40 心葉; 1992 年 10 月 14 日, 217 隻/40 心葉; 1993 年 10 月 13 日, 309 隻/40 心葉)。由於田間大量病徵出現之時機正值欲留果之開花或幼果期，以致秋作西瓜植株罹病後產量與品質受損之程度比夏作尤為嚴重。

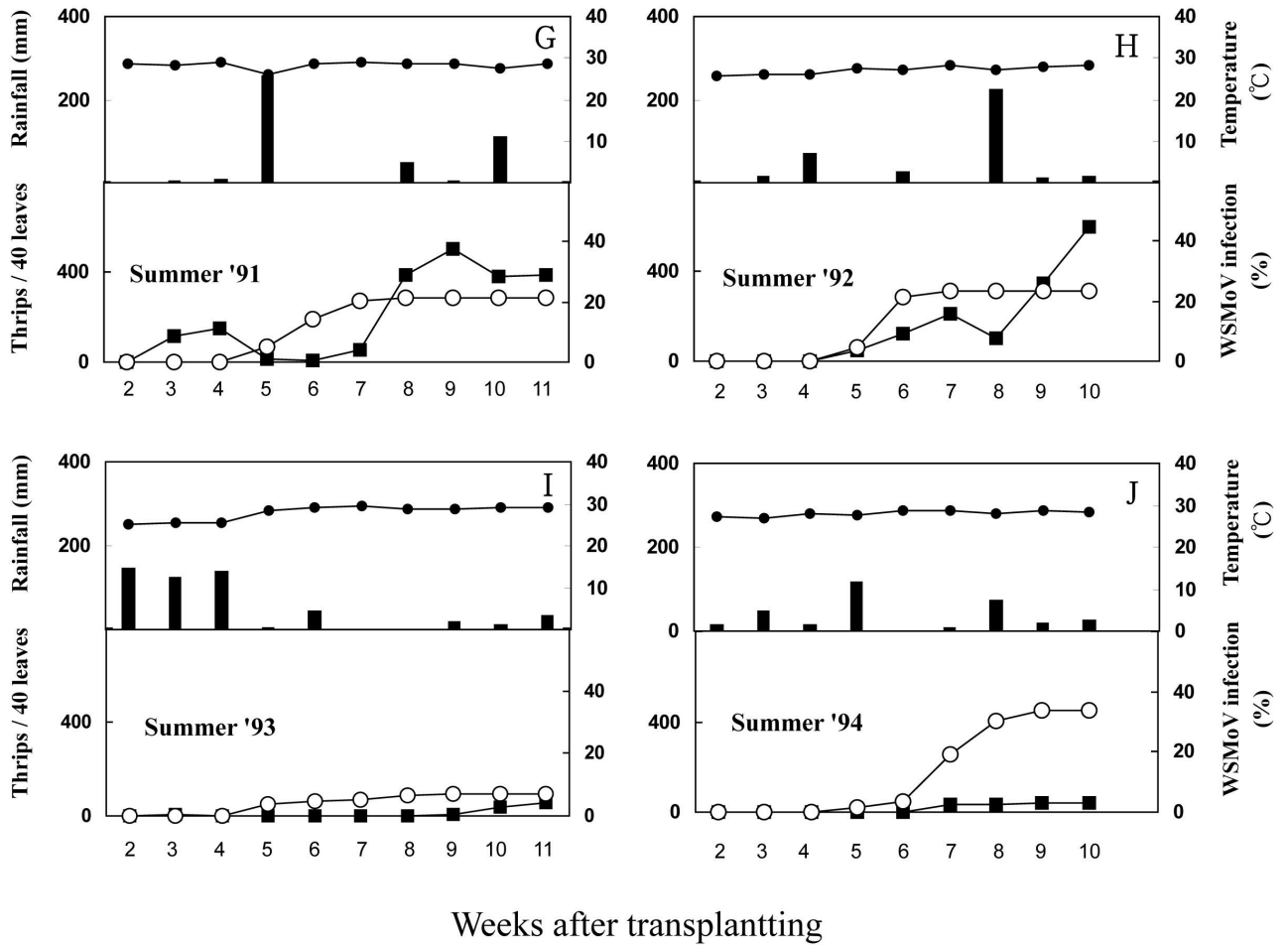
### 迴歸分析雨量、蟲口密度與罹病率之相關

利用迴歸法分析各年度之春作 (1993-1995)、夏作 (1991-1994) 及秋作 (1991-1993) 各期作之總降雨量與南黃薊馬總發生密度 (每週調查一次之全期作累計蟲數) 間之相關性，結果二者無顯著相關 ( $R^2=0.015-0.213$ ,  $p=0.256-0.753$ )；另分析上述各試驗年度不同期作別之總降雨量與



圖一、1991-1995 年不同期作西瓜銀斑病毒病之罹病率、南黃薊馬族群密度與溫度、雨量調查結果摘要。每週西瓜銀斑病毒病累積罹病率 (○)，南黃薊馬蟲口數 (■)，平均溫度 (●) 及累積雨量 (棒柱)。

Fig.1. Weekly surveys of the infection rates (○) of watermelon by *Watermelon silver mottle virus*, total number of *Thrips palmi* (■), average temperature (●) and total rainfall (bar graph) during various experimental seasons of 1991 to 1995.



圖一、1991-1995 年不同期作西瓜銀斑病毒病之罹病率、南黃薊馬族群密度與溫度、雨量調查結果摘要。每週西瓜銀斑病毒病累積罹病率(○)，南黃薊馬蟲口數(■)，平均溫度(●)及累積雨量(棒柱)。(續前頁)

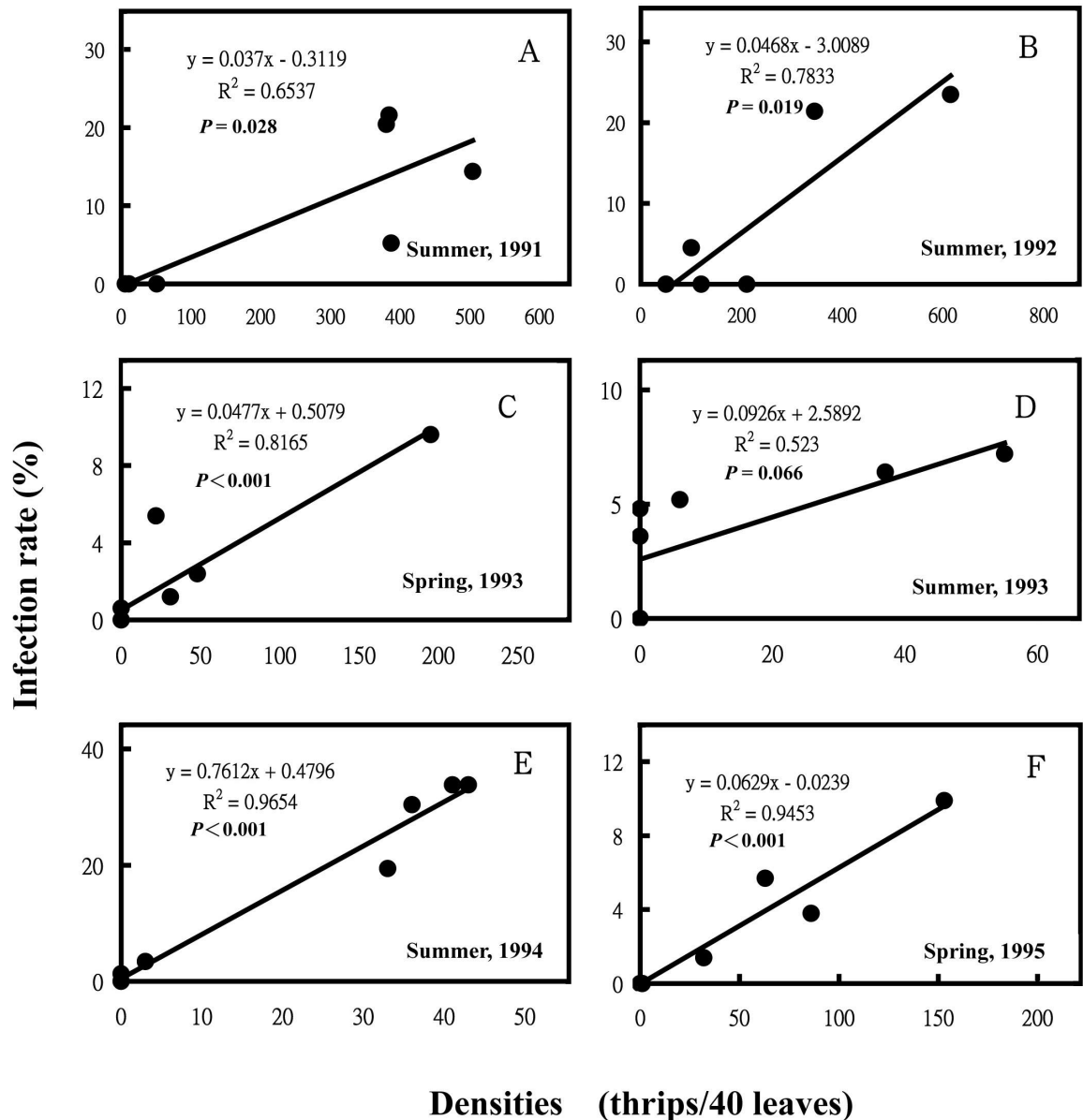
Fig.1. Weekly surveys of the infection rates (○) of watermelon by *Watermelon silver mottle virus*, total number of *Thrips palmi* (■), average temperature(●) and total rainfall( bar graph ) during various experimental seasons of 1991 to 1995. (continue)

該期作 WSMoV 總罹病率之相關性結果亦無顯著相關 ( $R^2=0.4589$ ,  $p=0.0314$ )。分析上述各試驗年度之春、夏、秋作西瓜開花前(定植後四週)的累積總降雨量與該期作南黃薊馬之累積蟲口密度的相關性，二者在夏作呈極顯著相關 ( $R^2=0.9647$ ,  $p < 0.0001$ )，於春、秋二作則相關不顯著(春作  $R^2=0.0176$ ,  $p=0.6976$ ；秋作  $R^2=0.086$ ,  $p=0.1438$ )；而上述各試驗年度各期作之累積蟲口密度與該期作之總罹病度，二者相關不顯著 ( $R^2=0.0251$ ,  $p=0.6839$ )。

若僅就各期作之每週蟲口密度與其後第三週所調查之西瓜 WSMoV 罹病率相關性探討，則二者於春、夏二作呈顯著相關。春作於 1993、1994 及 1995 年之相關係數分別為  $R^2=0.8165$ ,  $p < 0.0001$ 、 $R^2=0.8488$ ,  $p < 0.0001$  及  $R^2=0.9453$ ,  $p < 0.0001$  (圖二 C, F)。夏作於 1991、1992、1993 及 1994 年之相關係數則分別為  $R^2=0.6537$ ,  $p=0.028$ ； $R^2=0.7833$ ,  $p=0.019$ ； $R^2=0.5230$ ,  $p=0.066$  及  $R^2=0.9654$ ,  $p < 0.0001$  (圖二 A, B, D, E)；秋作則相關性不顯著，其 1991、1992 及 1993 年之相關係數分別為  $R^2=0.0011$ ,  $p=0.949$ ； $R^2=0.2323$ ,  $p=0.411$  及  $R^2=0.1277$ ,  $p=0.431$ 。

### 其他瓜類寄主植物調查

田間採集之胡瓜 (*C. sativas* L.)、越瓜 (*C. melo* L. Conomon group)、洋香瓜 (*C. melo* L.)、南瓜 (*Cucurbita pepo* cv. Field pumpkin)、扁蒲 [*L. leucantha* (Duch.) Rusby] 及絲瓜 (*L. aegyptia* Mill.) 之部份樣品以 indirect ELISA 分析對 WSMoV 抗血清均產生專一性反應。胡瓜、洋香瓜及南瓜感染 WSMoV 之罹病葉呈黃化嵌紋，葉面呈凹凸皺縮狀；越瓜罹病葉呈濃綠色，葉面亦呈凹凸皺縮狀；扁蒲之罹病葉葉面亦呈凹凸皺縮狀，葉色則呈淡銀色斑駁；絲瓜之罹病葉出現許多黃化環斑(圖三 A, B, C, D, E, F)。前述罹病植物葉片組織經包埋、超薄切片及電子顯微鏡鏡檢均可觀察到類似 tospovirus 之病毒顆粒(圖五 B, C, D)，其中扁蒲、越瓜、南瓜及絲瓜等罹病葉片組織超薄切片，於電子顯微鏡觀察到病毒顆粒的機率相對較西瓜、冬瓜、洋香瓜及胡瓜為低。調查期間亦於胡瓜及洋香瓜採集南黃薊馬，並以 WSMoV 抗血清進行 indirect ELISA 分析，結果帶毒蟲率分別為 9.2% (12/130) 及 8.3% (7/84)。在田間除西瓜、冬瓜、洋香瓜及胡瓜外，扁蒲、越瓜、南瓜及絲瓜觀察到疑似感染 WSMoV 病徵的植株比例甚低，顯示這些瓜類在野外實際感染 WSMoV 的情形較少。2000 年 8 月於大



圖二、南黃薊馬每週蟲口密度與調查後第三週西瓜 WSMoV 罹病率之相關分析(1993 及 1995 春作；1991-1994 夏作)

Fig.2. Regression analysis of the relatedness between the total number of *Thrips palmi* and the infection rate of watermelon by *Watermelon silver mottle virus* three weeks after each weekly field survey of vector population during springs of 1993 and 1995, and summers of 1991 to 1994.

肚鄉農會集貨場邊採集之絲瓜葉片產生黃化輪斑之樣品(圖三E)包括絲瓜葉片、藤蔓、葉柄、心芽、鬚及果實等部位經進行 indirect ELISA 分析，結果絲瓜之藤蔓、葉柄及果實對 WSMoV 抗血清並無專一性反應產生，而葉片、心芽及鬚根則產生專一性反應，其中以鬚根之病毒濃度最高。

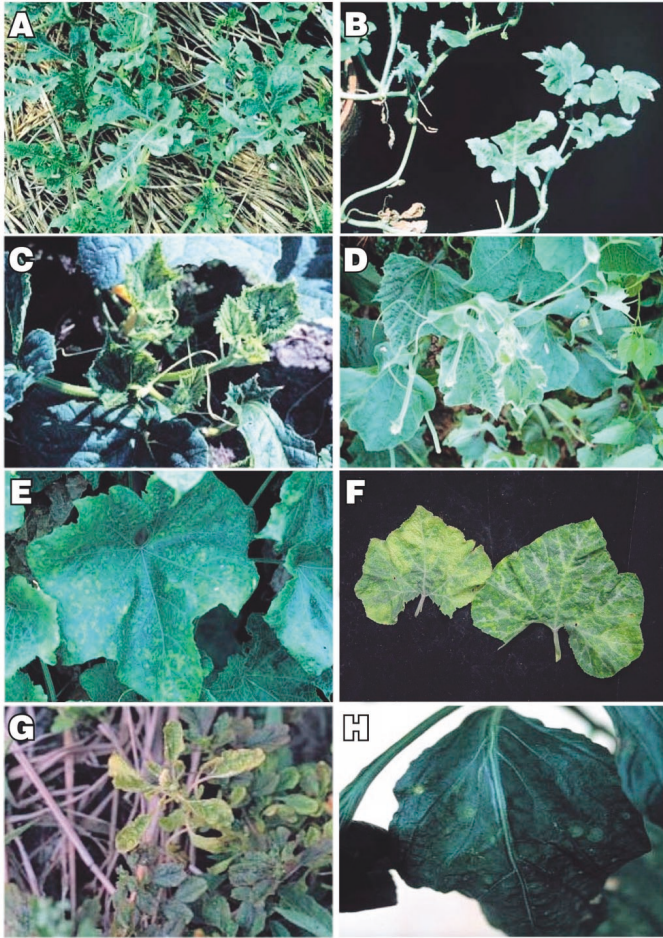
**其他寄主植物調查**

1999-2000 年 8-9 月於彰化縣大城、芳苑、二林及臺中縣大肚等鄉鎮調查西瓜園附近之野生雜草或其他植物(作物)。遇有出現黃化、黃化環斑或皺縮等徵狀者均予採樣。採集樣品包括黃槿 (*Hibiscus tiliaceus* L.)、木薯 (*Manihot utilissima* Pohl.)、黃秋葵 (*Abelmoschus esculentus* L.)、牽牛花 [*Ipomoea nil* (L.) Roth]、豇豆 (*Vigna*

*sesquipedalis* Fruwirth)、茄子 (*Solanum melongena* L.)、番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.)、葉下紅 [*Emilia sonchifolia* (L.) DC. var. *javanica* (Burm. F.)]、龍葵 (*Solanum nigrum* L.) 及野萵 (*Amaranthus viridis* L.) 等，經以 WSMoV 抗血清進行 indirect ELISA 分析結果番茄、黃槿、葉下紅、烏莧及龍葵之部分供試材料對 WSMoV 抗血清產生專一性反應。

**電子顯微鏡觀察**

田間疑似感染 WSMoV 之瓜類罹病材料經 indirect ELISA 分析產生專一性反應者，進一步進行包埋、超薄切片及電子顯微鏡觀察，結果胡瓜、洋香瓜、越瓜、扁蒲、南瓜、及絲瓜(圖四B)等罹病葉片葉肉細胞之細胞質內均



圖三、不同寄主植物感染西瓜銀斑病毒 (WSMoV) 後引起之病徵。(A) 西瓜(銀斑病徵型)，(B) 銀斑病徵型病毒分離株以南黃薊馬接種西瓜幼苗，(C) 胡瓜，(D) 扁蒲，(E) 絲瓜，(F) 南瓜、(G) 野苋及 (H) 龍葵。除 (B) 係南黃薊馬傳播者外其餘皆為田間攝得之病徵。

Fig. 3. Symptoms on various host plants infected by *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV). (A) silver mottle type symptom on watermelon, (B) silver mottle type symptom on watermelon seedling, and symptoms on (C) *Cucumis sativas*, (D) *Lagenaria leucantha*, (E) *Luffa aegyptia*, (F) *Cucurbita pepo* cv. Field pumpkin, (G) *Amaranthus viridis* and (H) *Solanum nigrum*. All symptoms were photographed in the fields except watermelon seedlings (B) which were inoculated by *Thrips palmi* experimentally.

可觀察到類似 tospovirus 之球形病毒顆粒。在絲瓜之鬚根亦可觀察到類似之病毒顆粒。野生雜草包括野苋及龍葵之罹病葉組織亦可觀察到類似 tospovirus 之病毒顆粒(圖四C, D)，但黃槿、葉下紅及番茄則未觀察到類似之病毒顆粒。另外於西瓜園採集之南黃薊馬經 indirect ELISA 分析確認為 WSMoV 之帶毒蟲體，共包埋 27 隻蟲體之後腹部，電子顯微鏡鏡檢計 12 隻帶毒蟲於後腸部位可觀察到直徑約 65-102 nm 類似 tospovirus 之病毒顆粒(圖四E, F)，部份標本於類似 tospovirus 病毒顆粒附近可觀察到許多長條管狀物，其周圍有膜狀物包被(圖四F 箭頭)，此是否病毒複製

時，核酸利用薊馬腸道細胞之內質網做為病毒外套膜材料之複製過程的一部份，仍有待進一步探討證明。

### 雜草飼養南黃薊馬比較

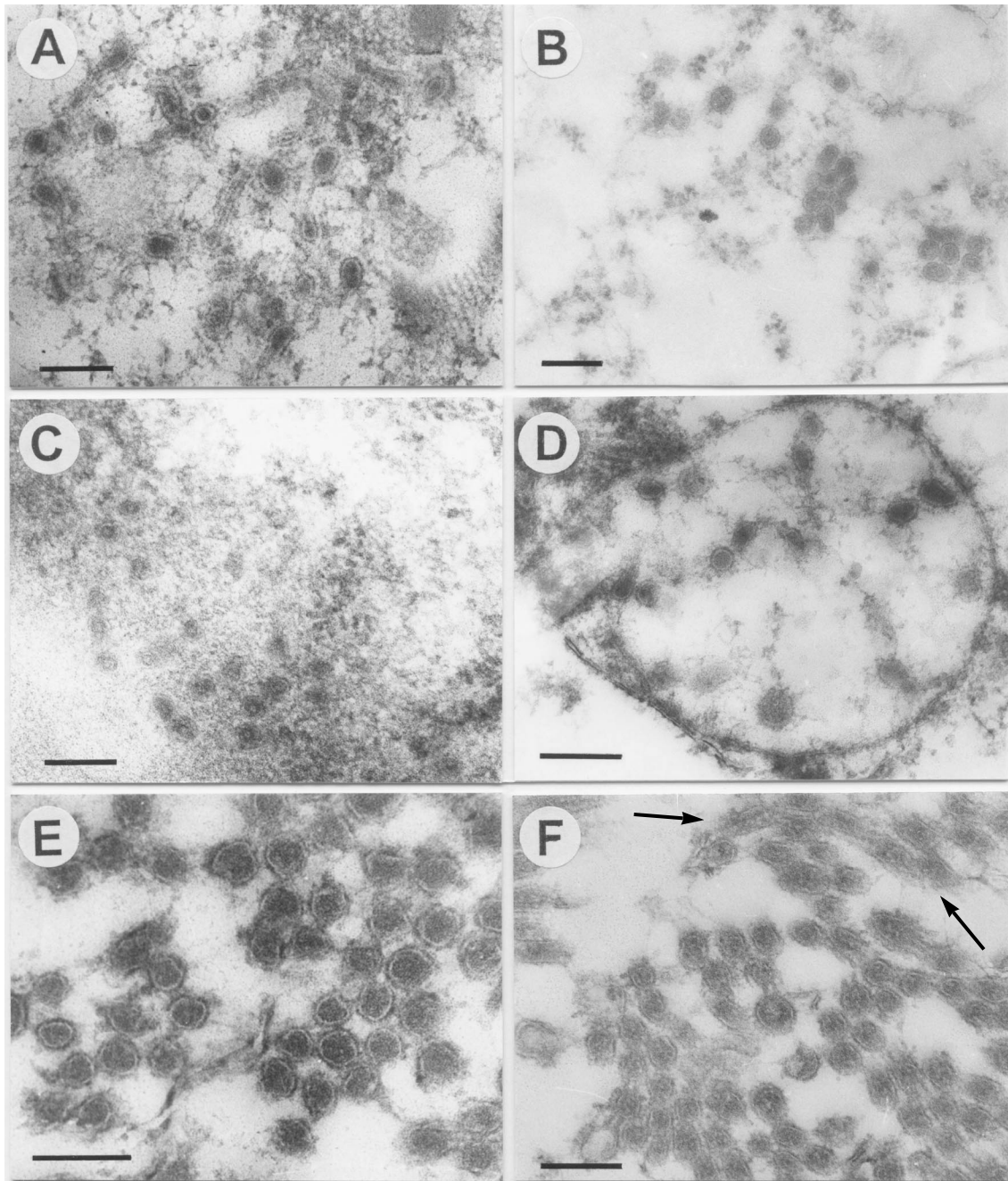
於室內以 5-6 葉期之野苋及龍葵分別飼養南黃薊馬。每種供試植物分成 3 組，每組釋放 5 對成蟲，即每種植物共釋放 30 隻成蟲。結果以野苋飼養者活存超過 1 日者 7 隻，超過 2 日者 0 隻；以龍葵飼養時，第 1 組繁殖 13 隻若蟲，其中 4 隻羽化為成蟲；第 2 組繁殖 8 隻若蟲，其中 2 隻羽化為成蟲；第 3 組繁殖 19 隻若蟲，其中 7 隻羽化為成蟲，以上結果初步證明南黃薊馬應可以在龍葵繁殖後代。由於田間龍葵上經常有南黃薊馬寄生，故推測龍葵可能為南黃薊馬之野生寄主植物。

### 反轉錄-聚合酶連鎖反應(RT-PCR)

為進一步釐清 WSMoV 黃化病徵型與銀斑病徵型病毒分離株在分子層次上之關係，本試驗利用 Chu *et al.*<sup>(15)</sup> 所發表之可鑑定 *Tospovirus* 之簡併性引子對 TSWV L RNA (gL3637/ gL4510c) 及從 WSMoV 核鞘蛋白之核酸序列設計出之專一性引子 NPBamH1/ NPSac1，就兩種病徵型病毒分離株進行 RT-PCR 反應，結果兩種病徵型病毒分離株確實均可分別增幅出一大小約 900 (圖五 A) 及 700 bp (圖五 B) 之核酸片段而與預估值相符之核酸產物。以上結果證實在分子層次上兩種病徵型同屬 WSMoV。

### 西瓜銀斑病毒病之銀斑病徵型

彰化縣濱海地區栽培之西瓜感染 WSMoV，除 Yeh *et al.* (1992)<sup>(41)</sup> 所報告之黃斑病徵型即罹病株引起節間縮短、植株矮化、幼葉黃化斑駁、葉片變窄小、皺縮、末梢直立、萎縮、壞疽、焦枯、果實脫落或變小畸型，果皮呈壞疽斑或銀色斑駁黃化斑點等病徵外，在田間尚有一種罹病西瓜葉片出現銀色斑駁之病徵(圖三 A, B)，引起此類病徵之罹病植株矮化、葉片變小等受影響的程度明顯較黃斑病徵型輕微，對西瓜生育及結果之影響也較小。究竟銀斑病徵型與黃斑病徵型病毒株是否為相同病毒，經以兩種病徵型田間罹病葉片粗汁液總抗原進行 indirect ELISA 分析結果，均對 WSMoV 核鞘蛋白多元抗體產生專一性反應。以兩種病徵型之田間罹病葉粗汁液機械接種 *N. benthamiana* 之罹病葉抽取總量核酸進行 RT-PCR 反應結果 degenerate primers 組兩種病徵型均產生約 900 bp 之核酸片段，而 WSMoV N-gene specific primers 組兩種病徵型亦均產生約 700 bp 之核酸片段(圖五 A, B)，顯示兩種病徵型同為 WSMoV 血清群 (serogroup) 之病毒。銀斑病徵型之田間罹病葉組織經包埋、超薄切片、電子顯微鏡鏡檢亦可觀察到類似黃化病徵型之 tospovirus 病毒顆粒<sup>(41)</sup> (圖四 A)。此外，經以室內飼養之南黃薊馬吸食銀斑病徵型病葉後，再餵食健康西瓜幼苗，約經 2 週開始於接種株葉片產生銀斑病徵(圖二 B)，證明銀斑病徵型亦如同黃化型病徵型均經由南黃薊馬傳播<sup>(2)</sup>。以上結果顯示兩種 WSMoV 病徵型應為相似病毒所引起，惟兩種病徵型之病毒株是否為相同病毒，或銀斑病徵型病毒株是黃斑病徵型之一病毒系統 (strain)，此尚需進行核酸解序方能確認。



圖四、西瓜銀斑病毒 (WSMoV) 罹病植物組織或帶毒南黃薊馬超薄切片之電子顯微鏡圖。(A) 西瓜 (銀斑病徵型), (B) 絲瓜, (C) 野萹及 (D) 龍葵等罹病植物之葉肉細胞的細胞質內, 電顯可觀察到類似 tospovirus 的病毒顆粒。(E) 以間接酵素聯結免疫分析法確認為帶毒的南黃薊馬蟲體後腸可檢視到類似 tospovirus 的病毒顆粒, (F) 病毒顆粒包含於管狀膜內(箭頭)。橫線=200 nm。

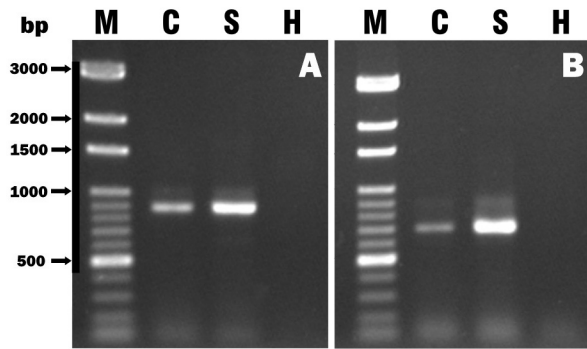
Fig.4. Electron micrographs of the ultrathin sections of *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) -infected leaf of some host plants and hind-gut of viruliferous *Thrips palmi*. (A) Ultrathin sections showing double-shelled WSMoV particles reside in the cytoplasm of infected mesophyll cell of watermelon showing symptoms of silver mottle, (B) of *Luffa aegyptia* cv. P. Mill, (C) of *Amaranthus viridis* L., (D) of *Solanum melongena* L., (E) tospovirus-like particles can be observed in the ultrathin sections obtained from hind-gut of viruliferous *Thrips palmi* from which the existence of WSMoV has been confirmed with indirect ELISA, (F) tospovirus-like particles surround with membranous tube (arrow). The bars represent 200 nm.

### 討 論

彰化縣濱海地區(包括二林、大城、芳苑等鄉鎮)年可栽培三作西瓜即春作、夏作及秋作。主要栽植西瓜品種為

富寶二號。夏、秋作西瓜感染西瓜銀斑病毒病之程度較春作明顯嚴重,其原因可歸納為(1)春作西瓜生育初期自然氣溫低,WSMoV 媒介昆蟲南黃薊馬密度低;反觀夏、秋作西瓜生育初期自然氣溫高,南黃薊馬繁殖速度快,且經





圖五、以反轉錄-聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 增幅 WSMoV 接種於菸草 (*Nicotiana benthamiana*) 發病之黃化病徵型及銀斑病徵型病毒分離株之鞘蛋白基因所得之 cDNA 電泳圖譜。

Fig.5. Electrophoretic patterns of RT-PCR fragments amplified from total RNA extracted from *Nicotiana benthamiana* leaves infected by WSMoV chlorotic mottle symptom (lane C) and by WSMoV silver mottle symptom (lane S). The cDNA fragments were amplified by using degenerated primers gL3637/gL4510c (for TSWV L RNA) (A), and NPBamH1/NPSac1 (N-gene-specific to WSMoV) (B) in RT-PCR. Total RNA extracted from healthy *N. benthamiana* (lane H) was used as negative control. M indicates size marker (Gen 100 DNA ladder).

過前一作種植西瓜或其他作物田間累積之薊馬蟲源較多，媒介蟲源族群建立迅速，助長病毒之傳播。此種推論可從圖一之調查結果即春作西瓜移植後 15-17 週；夏作 3-5 週；秋作 3 週於田間開始可偵測到南黃薊馬的蟲體得到佐證。(2) 春作之前田間因無瓜類作物栽培，即使仍有少數雜草攜帶病毒，但畢竟 WSMoV 之病毒源是相對較少；根據調查春、夏作西瓜 WSMoV 之罹病率分別為 4.2-10.8% 及 7.2-33.8%，夏、秋作因前作種植瓜類，病毒源相對較多，其中秋作又比夏作豐富。春作西瓜生育初期氣溫低，媒介蟲源及病毒源少，因此推測春作西瓜銀斑病毒病發生輕微之主要原因是逃避感染的結果。而夏、秋季西瓜銀斑病毒病主要於定植後 30-40 天發病，該時期正值西瓜之二番花的開花授粉期或幼果期，植株一旦感染、發病，勢必對西瓜品質造成較嚴重影響。WSMoV 感染西瓜呈現系統性病徵，發病株如在 1 公尺處之子蔓葉片開始表現病徵，則病徵僅在 1 公尺以後之子蔓葉片繼續出現，而 1 公尺以前之子蔓葉片則無病徵出現。換句話說 1 公尺以後之子蔓所結之瓜實才會受病毒的影響，發病以前所結之瓜實受影響之程度則不明顯。

Tospoviruses 引起之病毒病害的流行可能涉及多種因子交互作用的結果，這些影響因子如寄主植物之植齡及對病毒之感受性、病毒源、媒介昆蟲以及環境因子等 (5, 6, 7, 14, 24)。環境因子中，溫度影響西瓜的生長速度，同時也影響南黃薊馬之繁殖速率。雨量亦為影響西瓜銀斑病毒病發生之重要因子，西瓜生育初期若雨量多且集中，除直接影響西瓜生育外，大雨亦會壓抑薊馬的蟲口密度，而間接減少西瓜 WSMoV 之傳染機率。以本試驗 1993 夏作為例，5 月下

旬至 6 月下旬連續下雨累計雨量達 456 mm，導致該期作西瓜上南黃薊馬棲群密度延至 7 月中旬以後方始明顯上升，而該期作西瓜銀斑病毒病之罹病度僅 7.2%，明顯低於其他調查年次 (圖一 I)。Cho (1987) (14) 指出在夏威夷，高莖上薊馬之蟲口數與雨量呈負相關，但蟲口密度低時則相關性不明顯。本試驗分析各試驗期作之全期總降雨量與每週調查一次之全期作累計南黃薊馬蟲口密度間相關性不顯著；但夏作開花前 (定植後四週) 之總降雨量與全期作蟲口密度間呈極顯著相關，而春、秋作則無相關。Cho (1987) (14) 亦指出，在夏威夷高莖上 TSWV 之罹病度與每月薊馬之誘集平均蟲數呈顯著之正相關，惟蟲口密度低時相關性不顯著。本試驗亦分析各試驗年次春、夏、秋全期作蟲口密度與全期作總罹病率間無顯著相關；分析每週蟲口密度與其後第三週 (感染 WSMoV 至發病之潛伏期約三週) 罹病率之關係，結果春、夏作年二者呈顯著相關，秋作相關性不顯著。除氣象因素外，Brown (1998) (8) 指出在美國喬治亞州落花生感染 TSWV 之風險與其耕作方式如栽培時期、植株密度、前作種植作物種類及當作花生田附近種植作物種類等都會影響落花生之 TSWV 的罹病度。台灣中部地區自然的環境下西瓜栽培感染 WSMoV 時，均與矮南瓜嵌紋病毒 (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV)、胡瓜嵌紋病毒 (*Cucumber mosaic virus*, CMV)、木瓜輪點病毒西瓜系統 (*Papaya ringspot virus*, PRV-W) 或甜瓜脈綠嵌紋病毒 (*Melon vein-banding mosaic virus*, MVbMV) 等蚜蟲傳播之病毒複合感染 (二種或二種以上)，因此個別病毒對西瓜產量及品質之影響難予分別評估。

在彰化濱海地區西瓜銀斑病毒病主要引起黃斑型病徵 (41)，但在田間亦常可觀察到罹病西瓜葉片產生銀色斑駁之病徵 (圖三 A)，表現此類病徵之植株的株長、葉片大小、果實等受影響之程度均較黃斑型輕微。經以酵素聯結免疫分析、反轉錄-聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) (圖五)、電子顯微鏡觀察 (圖四 A) 及經由南黃薊馬傳播 (圖三 B) 等特性比較結果無法區分此二類病徵型病毒分離株，此尚需藉由核酸定序方能做較明確之比較。

根據調查結果，WSMoV 之田間寄主仍然以西瓜、冬瓜、洋香瓜及胡瓜等瓜類作物為主，其他瓜類植物包括扁蒲、絲瓜、南瓜及越瓜雖經偵測證實能感染 WSMoV，但在田間實際發病之植株出現機率甚低。本試驗發現 WSMoV 抗血清對多種野生植物 (雜草) 如黃槿、葉下紅、番茄、烏荳及龍葵等產生專一性反應，其中龍葵及野荳之罹病葉片組織經超薄切片於電子顯微鏡鏡檢亦可檢視到類似 tospovirus 之病毒顆粒 (圖四 E, F)。此外，除室內證實南黃薊馬可在龍葵上繁殖後代外，在田間的龍葵亦常可檢視到南黃薊馬成蟲及若蟲體，故龍葵應為南黃薊馬之野生寄主。在田間野荳及龍葵通常於西瓜生育後期始會出現病徵，這種現象可能與南黃薊馬之取食習性有關，亦即於西瓜生育期薊馬偏好取食西瓜，到西瓜生育後期由於植株老化或因外在因素如颱風、豪雨導致西瓜植株死亡，薊馬在無可選擇的情況下，轉而取食或刺探 (probing) 瓜園之雜草並傳播病毒，一旦 WSMoV 感染雜草、發病，遂成為病毒源之保存及傳遞者。雜草寄主在番茄斑萎病毒病有較多之研究，Hobbs *et al.* (1996) (25) 及 Johnson *et al.* (1995) (28) 均指出在美國路易士安納州甜椒、番茄栽培時，菊科之 *Sonchus asper*, *Lactuca floridana* 及 *Ranunculus sardous* 等

三種野生雜草是 TSWV 的保存寄主 (reservoirs)，亦是 TSWV 媒介昆蟲菸草花薊馬 (*Frankliniella fusca*) 的寄主植物，上述雜草的生長時間是十二月至翌年五月，而甜椒、番茄於四月開始栽培，冬季雜草上可以檢視到 *F. fusca* 之各種齡期之蟲體，證明 *F. fusca* 是該地區 TSWV 的重要媒介昆蟲；在夏威夷之蔬菜生長區 *Amaranthus spinosus* L.、*A. viridud* L.、*Chenopodium murale* L.、*Malva parviflora* L.、*Verbesina encelioides* (Cav.) Gray 等雜草是 TSWV 及西方花薊馬 (*F. occidentalis*) 之寄主植物<sup>(12)</sup>，另外，*Arctium lappa*、*Bidens pilosa*、*S. oleraceous*、*Verbesina encelioides* 及 *Xanthium saccharatum* 等五種雜草是 TSWV 的重要保存寄主<sup>(13)</sup>；在印度，菊科之 *Ageratum coryzoides* 是 TSWV 的重要保存寄主<sup>(34)</sup>；在日本，*S. oleraceous* 及 *Youngia japonica* 是奈良縣番茄栽培時 TSWV 之保存寄主<sup>(29)</sup>。由於野生保毒植物保存病毒的時期正值罹病作物之非栽培期，它對病毒病害之病害環 (disease cycle) 的延續扮演著極重要的角色。從病害流行學的觀點，鏟除 WSMoV 之保毒植物應多少具有切斷病害環的功能，此或能俾益西瓜銀斑病毒病的防除。

## 謝 辭

本試驗承行政院國家科學委員會經費補助，特誌謝忱。

## 引用文獻

1. 陳慶忠、何鴻銘、張彩鳳、趙佳鴻、葉錫東 1995. 冬瓜上類似番茄斑點萎凋病毒之鑑定及分離. 植保會刊 37:117-131。
2. 陳慶忠、柯文華 1994. 南黃薊馬傳播西瓜銀斑病毒. 植病會刊 3:244 (摘要)。
3. 葉錫東、曲芳華 1999. 番茄斑萎病毒屬病毒之發生與快速偵測技術之新發展. 植病會刊 8:125-132。
4. Adam, G., Lesemann, D. E., and Vetter, H. J. 1991. Monoclonal antibodies against tomato spotted wilt virus: characterization and application. *Ann. Appl. Biol.* 118:87-104.
5. Bailey, S. F. 1938. Thrips of economic importance in California. *Cal. Agric. Exp. Stn. Circ.* 346. 77 pp.
6. Bald, J. G. 1937. Investigations on "spotted wilt" of tomatoes. III. Infection in field plots. *Aust. Coun. Sci. Ind. Res. Bull.* 106. 32 pp.
7. Black, L. L., Hobbs, H. A., and Kammerlohr, D. S. 1996. Resistance of *Capsicum chinense* lines to *Tomato spotted wilt virus* isolates from Louisiana, USA, and inheritance of resistance. *Acta Hort.* 431:393-401.
8. Brown, S., Todd, J., Culbreath, D., Shokes, F., Baldwin, J., and Beasley, J. 1998. An integrated management strategy for Tomato Spotted wilt of peanut in Georgia. Pages 75-76 in: *Recent progress in Tospovirus and thrips research*. D. Peters and R. Goldbach eds. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
9. Chen, C. C. and Chiu, R. J. 1996. A tospovirus infecting peanut in Taiwan. *Acta Hort.* 431:57-67.
10. 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.
11. Cho, J. J., Mau, R. F. L., Consalves, D., and Mitchell, W. C. 1985. Reservoir source of tomato spotted wilt virus and its insect vector in Hawaii. *Phytopathology* 75: 1287.
12. Cho, J. J., Mau, R. F. L., Consalves, D., and Mitchell, W. C. 1986. Reservoir weed hosts of tomato spotted wilt virus. *Plant Dis.* 70:1014-1017.
13. Cho, J. J., Mau, R. F. L., German, T. L., Hartmann, R. W., Yudin, L. S., Gonsalves, D., and Provvidenti, R. 1989. A multidisciplinary approach to management of tomato spotted wilt virus in Hawaii. *Plant Dis.* 73:375-383.
14. Cho, J. J., Mitchell, W. C., Mau, R. F. L., and Sakimura, K. 1987. Epidemiology of tomato spotted wilt virus disease on crisphead lettuce in Hawaii. *Plant Dis.* 71:505-508.
15. 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.
16. 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.
17. Cortes, I., Livieratos, I. C., Derks, A., Peters, D., and Kormelink, R. 1998. Molecular and serological characterization of iris yellow spot virus, a new and distinct tospovirus species. *Phytopathology* 88:1276-1282.
18. Cortes, I., Pereira, A., Goldbach, R., Peters, D., and Kormelink, R. 1998. An RT-PCR procedure to amplify S RNA sequences of distinct tospoviruses. Pages 35-37 in: *Recent progress in Tospovirus and thrips research*. D. Peters and R. Goldbach eds. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
19. de Avila, A. C., de Haan, P., Kormelink, R., Resende, R.O., Goldbach, R., and Peters, D. 1993. Classification of tospovirus based on phylogeny of nucleoprotein gene sequence. *J. Gen. Viro.* 74:153-159.
20. de Avila, A. C., Huguenot, C., de Oliveira Resende, R., Kitakima, E. W., Goldbach, R., and Peters, D. 1990. Serological differentiation of 20 isolates of tomato spotted wilt virus. *J. Gen. Virol.* 71:2801-2827.
21. de Avila, A. C., Pozzer, L., Bezerra, I., Kormwlink, R., Prins, M., Peters, D., Nagata, T., Kitajima, E., and Resende, R. 1998. Diversity of tospoviruses in Brazil. Pages 32-34 in: *Recent progress in Tospovirus and thrips research*. D. Peters and R. Goldbach eds. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

22. Francki, R. I. B., Fauquet, C. M., Knudson, D. L., and Brown, F. 1991. Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Arch. Virol. Suppl. 2.
23. Gonsalves, D., and Trujillo, E. E. 1986. Tomato spotted wilt virus in papaya and detection of the virus by ELISA. Plant Dis. 70:501-506.
24. Harding, J. A. 1961. Effect of migration, temperature, and precipitation on thrips infestations in South Texas. J. Econ. Entomol. 54:77-79.
25. Hobbs, H. A., Johnson, R. R., Story, R. N., and Black, L. L. 1996. Weed hosts and thrips transmission of tomato spotted virus in Louisiana. Acta Hort. 431:291-297.
26. Iwaki, M., Honda, Y., Hanada, K., Tochiyama, H., Yonaha, T., Hokama, K., and Yokoyama, T. 1984. Silver mottle disease of watermelon caused by tomato spotted wilt virus. Plant Dis. 68:1006-1008.
27. Jain, R. K., Pappu, R. H., Pappu, S. S., Reddy, M. K., and Vani, A. 1998. Watermelon bud necrosis tospovirus is a distinct virus species belonging to serogroup IV. Arch. Virol. 143:1637-1644.
28. Johnson, R. R., Black, L. L., Hobbs, H.A., Valverde, R. A., Story, R. N., and Bond, W. P. 1995. Association of *Frankliniella fusca* and three winter weeds with tomato spotted wilt virus in Louisiana. Plant Dis. 79:572-576.
29. Kobatake, H., Osaki, T., and Inouye, T. 1984. The vector and reservoirs of tomato spotted wilt virus in Nara Prefecture. Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 50:541-544.
30. Koenig, R. 1981. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 55:53-62.
31. Law, M. D., and Moyer, J. W. 1990. A tomato spotted wilt like virus with a serologically distinct N protein. J. Gen. Virol. 71:933-938.
32. Peters, D. 1998. An updated list of plant species susceptible to tospoviruses. Pages 107-110 in: Recent progress in Tospovirus and thrips research. Peters, D., and Goldbach, R. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.
33. Peters, D., Wijkamp, F., van de Wetering, F., and Goldbach, R. 1996. Vector relations in the transmission and epidemiology of tospoviruses. Acta Hort. 431:29-42.
34. Reddy, D.V. R., Amin, P.W., McDonald, D., and Ghanekar, A. M. 1983. Epidemiology and control of groundnut bud necrosis and other diseases of legume crops in India caused by tomato spotted wilt virus. Pages 93-102 in: Plant virus epidemiology. R. T. Plumb and J. M. Thresh eds. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
35. Reddy, D.V. R., and Wightman, J. A. 1988. Tomato spotted virus: Thrips transmission and control. Adv. Dis. Vector Res. 5:203-220.
36. Satyanarayana, T., Gowda, S., Lakshminarayana Reddy, K., Mitchell, S. E., Dawson, W. O., and Reddy, D.V. R. 1998. Peanut yellow spot virus is a member of a new serogroup of *Tospovirus* genus based on small (S) RNA sequence and organization. Arch. Virol. 143:353-364.
37. Singh, S. J., and Krishnareddy, M. 1996. Watwemelon bud necrosis: a new tospovirus disease. Acta Hort. 431:68-77.
38. van Kammen, A., Henstra, S., and Le, T. S. 1966. Morphology of tomato spotted wilt virus. Virology 30:574-577.
39. Vijaya Lakshmi, K., Wightman, J. A., Reddy, D. V. R., Ranga Rao, G. V., Buiel, A. a. M., and Reddy, D. D. R. 1995. Transmission of peanut bud necrosis by *Thrips palmi* in India. Pages 179-184 in: Thrips biology and management. B. Parker, L. M. Skinner, and T. Lewis eds. Plenum Press, NY, USA.
40. Wang, M., and Gonsalves, D. 1990. ELISA detection of various tomato spotted wilt virus isolates using specific antisera to structural proteins of the virus. Plant Dis. 74:154-158.
41. 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.
42. 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 protein. Acta Hort. 431:122-134.
43. Yeh, S. D., Peng, Y. C., Chao, C. H., and Chen, C. C. 1998. Peanut chlorotic fan-spot virus is serologically and phylogenetically distinct from other tospoviruses. Pages 42-43 in: Recent progress in Tospovirus and thrips research. D. Peters and R. Goldbach eds. Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

## ABSTRACT

Chen, C. C.<sup>1,3</sup>, Ko, W. F.<sup>1</sup>, Pai, K. F.<sup>1</sup>, and Yeh, S. D.<sup>2</sup> 2004. Ecology of *Watermelon silver mottle virus* disease on watermelon in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 13: 317-328. (<sup>1</sup> Taichung District Agriculture Improvement Station, Tatsuan, Changhua, Taiwan; <sup>2</sup> Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; <sup>3</sup> Corresponding author, E-mail: chence@tdais.gov.tw; Fax: +886-4-8521140)

*Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) has become a devastating disease of watermelon in central Taiwan since it was firstly identified in 1988. The survey of the relatedness between disease incidence and population density of the viral vector - *Thrips palmi* Karny had been conducted during the crop seasons from 1991 to 1995. The collected data showed that the disease incidences were low during the spring season due to the low temperature, the low population density of *T. palmi*, and sparse source of WSMoV in the early stage of growing watermelons. On the contrary, the heavy incidences were observed during summer and autumn seasons due to increase in the temperature, vector population, and virus sources. In summer and autumn crop seasons, the symptoms of WSMoV emerged at 3 to 4 weeks after transplanting and progressed during the following weeks which were the flourishing and fruit-forming stages of the single target fruit of each transplant. Consequently, the watermelon plants and fruits were severely affected. Significant correlations can be observed between the total rainfall before flourishing (4 weeks after transplanting) and the total number of *T. palmi* during summer crops in 1991 to 1994, but not in spring and autumn crops. Correlations between the weekly population density of *T. palmi* and the disease incidence after every third week of each field survey of the vectors could also be observed in spring crops of 1993 to 1995 as well as in summer crops of 1991 to 1994, but not be observed in autumn crops of 1991 to 1993. Two types of symptoms, i.e. chlorotic mottle and silver mottle, have been observed in the field when watermelons were infected by WSMoV. However, the individual viral isolates obtained from watermelons showing different symptoms were indistinguishable in morphological, serological, molecular assays and thrip transmission. In addition to watermelon (*Citrullus vulgaris*) and wax gourd (*Benincasa hispida*), cucurbits, such as *Cucumis melo* and *Cucumis sativas*, were also seriously infected by WSMoV in the fields of central Taiwan. WSMoV could also be detected in *Cucumis melo* Conomon group, *Cucurbita pepo* cv. Field pumpkin, *Luffa aegyptia* and *Lagenaria leucantha*, however, with a relatively low rate. Weed plants, *Solanum nigrum* and *Amaranthus viridis*, have been confirmed as natural hosts of WSMoV with serological and electron microscopic approaches, while *S. nigrum* has also been proved experimentally to be a host of *T. palmi*. These weeds are possible alternative hosts of WSMoV and habitant of *T. palmi* in the field during the winter season when no other cucurbits were grown.

Key words : watermelon, *Watermelon silver mottle virus*, ecology, host plants