

# 台灣地區番茄黃化捲葉病之調查及其 對六個品種番茄生長之影響

林彥仁<sup>1</sup> 陳滄海<sup>2,4</sup> 賴博永<sup>3</sup>

1 駐印尼技術團 國際合作發展基金會

2 屏東縣內埔鄉 國立屏東科技大學植物保護系

3 屏東縣內埔鄉 國立屏東科技大學熱帶農業與國際合作研究所

4 聯絡作者：電子郵件 thchen@mail.npu.edu.tw，傳真：+886-8-7740293

接受日期：中華民國92年2月10日

## 摘要

林彥仁、陳滄海、賴博永. 2003. 台灣地區番茄黃化捲葉病之調查及其對六個品種番茄生長之影響. 植病會刊12:109-121.

番茄黃化捲葉病係由粉蟲傳播的雙生病毒所引起，乃世界上番茄生產之重要限制因子。本研究旨在瞭解台灣地區番茄黃化捲葉病之發生及其對番茄生長之影響，以作為田間流行病研究及病害防治的參考。本研究首先以目視病徵法於台灣10個重要番茄栽培縣，進行黃化捲葉病田間罹病率調查，隨後逢機採集罹病株之葉片以酵素連結抗體法(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)做雙生病毒(Geminivirus)檢測，再配合電子顯微鏡觀察病毒粒子及罹病植株細胞內病變情形。調查結果顯示台灣地區番茄約有17% 罹染番茄黃化捲葉病，其中以高雄縣之34% 最嚴重，南投縣之2% 最輕微；分析結果顯示不同期作及不同栽培地區對田間目視罹病率、ELISA 檢測及實際罹患番茄黃化捲葉病等結果，都有極顯著的影響。電子顯微鏡觀察，可以在罹病番茄葉片組織內發現雙生病毒粒子；而在罹病番茄葉片的韌皮細胞中可以觀察到細胞核核仁異常腫大，且內含病變的纖維環(fibrillar ring)、顆粒內含體(granular inclusion)等現象。網室內，不同生長期接種雙生病毒對番茄在病徵初次出現所需日數之影響，因品種不同差異頗大；接種病毒日數多寡對大部分番茄品種在病徵初次出現之日數影響不大；不同生長期接種病毒對番茄罹病率之影響，因品種不同略有差異；接種病毒時間長短(日數多寡)對番茄罹病率完全沒有影響。田間不同品種番茄罹染雙生病毒對病徵初次出現所需平均日數，並無顯著影響，而不同生育期番茄罹染病毒對病徵初次出現之平均日數卻有極顯著影響；相同田間定置期，感染病毒與否對各品種番茄之始花期均無顯著影響，而不同田間定置期對各品種番茄之始花期則均有極顯著影響；聖女品種番茄之株高在移植後44, 51, 58天等生育期受病毒感染與否之影響極顯著，但移植後66天受病毒感染與否之影響不顯著；農友301品種番茄之株高在移植後51天受病毒感染與否之影響顯著，但移植後44, 58, 66天受病毒感染與否之影響不顯著；西施、亞蔬33號及亞蔬6號三個品種番茄之株高在移植後44, 51, 58, 66天受病毒感染與否之影響均不顯著。

關鍵詞：番茄黃化捲葉病、番茄黃化捲葉病毒、番茄捲葉病毒、病害調查、生長影響

## 緒言

番茄黃化捲葉病毒(*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)及番茄捲葉病毒(*Tomato leaf curl virus*, ToLCV)乃造成番茄黃化捲葉病(tomato yellow leaf curl disease)的主要病毒<sup>(14,20,29)</sup>。二者分類上同屬 *Geminiviridae* 科，*Begomovirus* 屬之雙生病毒，生物特性非常相似，二者粒子直徑皆為 20 - 30 nm，核酸由單股環狀之去氧核糖核酸(ssDNA)所構成<sup>(21)</sup>。依國外文獻記載番茄受 TYLCV 感染

後，葉片會出現葉緣及葉脈間黃化、嵌紋、葉片變小、畸形、上捲或下捲、鬆脆等病徵，並造成不正常落花、落果、成熟期不一致及產量降低<sup>(29,31,32)</sup>；而受 ToLCV 感染後，葉片會出現嵌紋、葉片變小、上捲或下捲、鬆脆，植株矮化、叢生等病徵，也會造成開花數減少、落花、果實變小及產量降低<sup>(20,37)</sup>。ToLCV 的寄主範圍很窄，僅限於茄科之曼陀蘿、番茄與煙草<sup>(2)</sup>，而 TYLCV 的寄主範圍，比一般同為粉蟲傳播的其他雙生病毒廣，其最主要之寄主植物包括菊科(Asteraceae)，莧科(Amaranthaceae)，香芹

科(Apiaceae)，豆科(Leguminosae)，錦葵科(Malvaceae)，茄科(Solanaceae)，蕁麻科(Urticaceae)，車前草科(Plantaginaceae)，及馬齒莧科(Portulacaceae)等九個科約15種的作物及雜草，而其中除曼陀蘿、番茄、黑萐蔔(*Hyoscyamus desertorum*)受TYLCV感染後會顯現明顯病徵外，其餘寄主皆為無病徵感染<sup>(4,26,33)</sup>。ToLCV及TYLCV主要靠銀葉粉蟲(*Bemisia argentifolii* Bellows & Perring)以持續型循環式(persistent type)傳播<sup>(12,15,35)</sup>，銀葉粉蟲屬於同翅目(Homoptera)粉蟲科(Aleyrodidae)，原屬煙草粉蟲(*Bemisia tabaci*)的一個生物小種，通稱為B品系或聖誕紅品系，因其生態、生理及型態均有別於其他品系<sup>(6,30)</sup>，因此1994年美國的昆蟲學家將其提升為一新種，稱之為銀葉粉蟲<sup>(7,9)</sup>。由於銀葉粉蟲寄主植物多達600種以上，生命週期短<sup>(31)</sup>，對化學殺蟲劑又極易產生抗藥性<sup>(32)</sup>，因此導致番茄黃化捲葉病的快速傳播。TYLCV自1964年首度於以色列被發現後<sup>(11)</sup>，已對許多熱帶及亞熱帶國家的番茄生產造成毀滅性的經濟損失，成為世界上影響番茄生產之最重要病毒<sup>(8,14,16,17,24,31,32,34)</sup>。而ToLCV於1948年在印度首度被發現<sup>(38)</sup>，至今也是熱帶及亞熱帶地區影響番茄生長的重要病毒之一<sup>(20,38)</sup>。依文獻記載<sup>(31)</sup>，可經粉蟲傳播感染番茄之雙生病毒計有*Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV)、*Tomato leaf curl virus* (ToLCV)、*Tomato yellow dwarf virus* (TYDV)、*Tomato golden mosaic virus* (TGMV)、*Tomato yellow mosaic virus* (ToYMV)、*Tomato mottle virus* (TMoV)、*Chino del tomato virus* (CdTV)、*Serrano golden mosaic virus* (SGMV)、*Sinaloa tomato leaf curl virus* (STLCV)、*Tomato leaf crumple virus* (TLCrV)等十種，其中ToLCV及TYDV兩種雖曾在台灣地區被正式報告<sup>(20)</sup>，但因為病徵上的差異，過去ToLCV一直被認為是唯一造成台灣地區番茄黃化捲葉病之主要病原。台灣地區目前雖仍無番茄黃化捲葉病毒(TYLCV)危害之相關正式報告，但因近年來田間番茄受病毒危害情形相當嚴重，其病徵又與國外報導TYLCV為害者頗為酷似，且共同傳媒銀葉粉蟲也普遍存在，因此學者專家懷疑除ToLCV外，番茄黃化捲葉病毒(TYLCV)是否可能存在於台灣，只是長久以來一直被誤為是其他病毒，而未予重視及正式追蹤探討。本研究的目的即在針對由雙生病毒所引起之番茄黃化捲葉病全面調查其在田間發生情形並探討其對台灣地區番茄生長之影響，以作為田間流行病學研究及病害防治之參考。

## 材料與方法

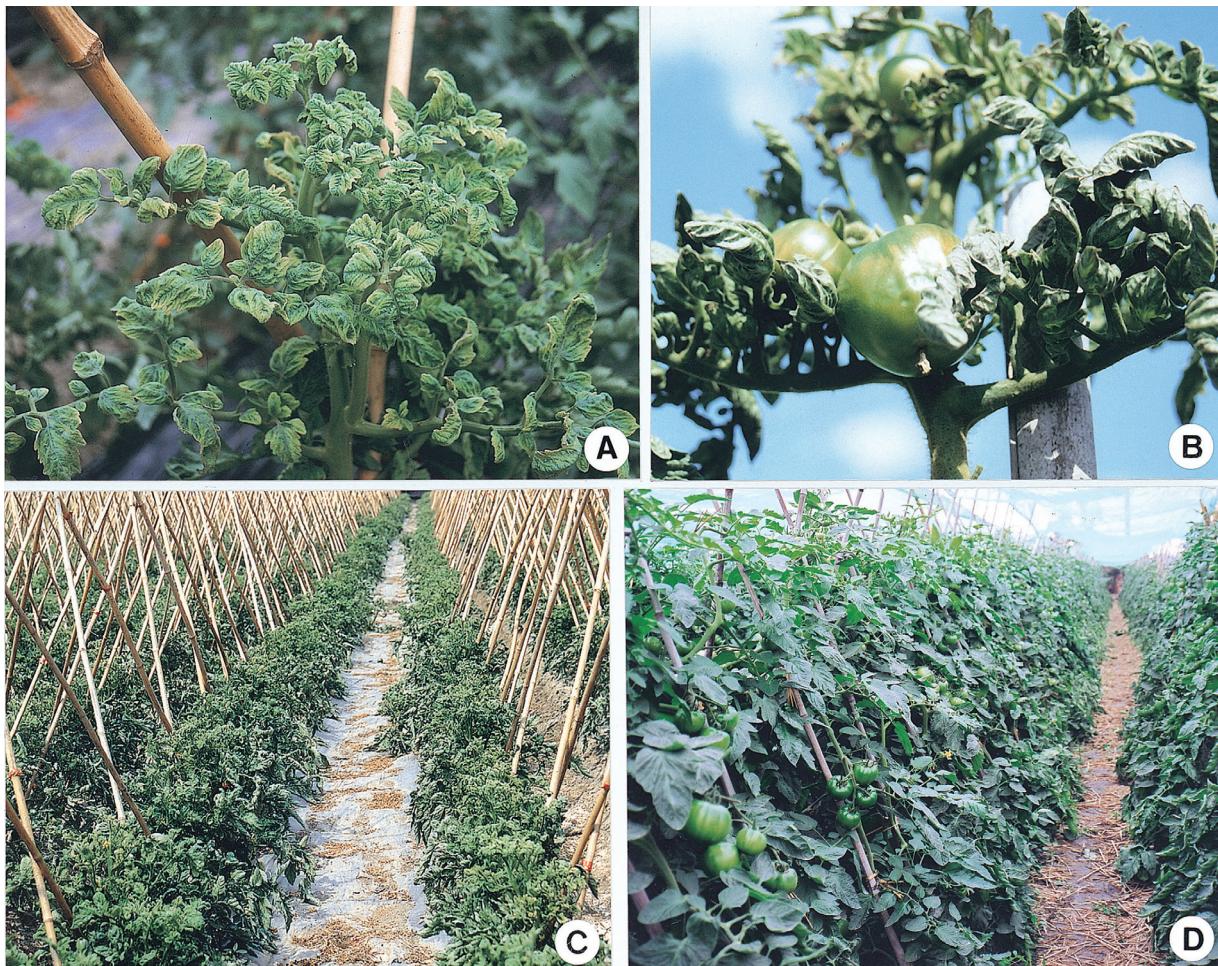
### 田間病害發生調查

本實驗於2000年10月至2001年4月間，參考2000年農業統計年報<sup>(1)</sup>，選定占總栽培面積93%之十個番茄栽

培縣，分2000年10月至2001年1月(winter crop)及2001年2月至2001年4月(1st crop)兩季，選定番茄主要產地鄉鎮，依田間實際種植番茄情形選取4-8區為代表進行番茄田間罹染黃化捲葉病情形調查。除以病徵目視法，於罹染番茄黃化捲葉病之田區中調查番茄呈現葉片黃化，變小，捲葉，植株叢生等病徵(圖一)之比率，調查期間並訪談當地農民所栽培的番茄品種、種苗來源、移植時間、栽培面積、粉蟲多寡、防治藥劑、產量損失情形、以及自何年起類似病害開始發生等基本資料。總計調查區域包括新竹縣竹東鎮、芎林鄉，南投縣南投市，彰化縣埔鹽鄉、溪湖鎮，雲林縣油車里、甘厝里，嘉義縣太保市、水上鄉、朴子鎮、六腳鄉，台南縣西港鎮、官田鄉、後營鄉、七股鎮，高雄縣大寮鄉、大樹鄉，屏東縣萬丹鄉、東港鎮，台東縣台東市、鹿野鄉、關山鎮與花蓮縣吉安鄉等23個鄉鎮地區的113個田區。為避免因其他因素可能出現之類似病徵<sup>(32)</sup>，而造成目視法可能的誤判，每次田間調查，皆同時自每一調查田區逢機採集目視罹病株不同植株4-12片病葉，以酵素連結抗體法(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)進行病毒血清學檢測，據以估算病徵確由番茄黃化捲葉病所造成之比率。

本研究使用之ELISA檢測方法係參照英國的ADGEN公司所研發之TAS-ELISA Protocol (TYLCV)流程進行，其步驟如下：將coating buffer與coating antibody (Pab)以1000:1充分混合後將100 μl注入反應盤之well中，於37 °C下靜置4小時，以PBST (wash buffer)清洗well三次，每次3分鐘，取病葉片0.1g加1ml extraction buffer充分研磨混合後取100 μl注入well中，於4 °C下靜置至少16小時，再以PBST洗well三次，每次3分鐘，將antibody probe (Mab)與Mab buffer以1:2000比率充分混合後取100 μl注入well中，於37 °C下靜置2小時，以PBST清洗well三次，每次3分鐘，將goat anti-mouse IgG-AP與Mab buffer以1:2000比率充分混合後取100 μl注入well中，於37 °C下靜置1小時，以PBST清洗well 3次，每次3分鐘，將P-nitrophenyl phosphate, disodium phosphatase substrate (Sigma 104)溶於substrate buffer後取100 μl注入well中反應30分鐘、60分鐘後利用光譜儀測其在405 nm波長下吸收值。之後綜合田間目視罹病率及ELISA檢測兩項結果，依此估算出田間實際番茄黃化捲葉病之罹病率。

因罹病(infection)與否係一種二元變數(binary variable)，其觀測值只有0(未罹病)與1(罹病)兩種，故必須進行適當的變數轉換(variable transformation)以進行分析。本研究利用SAS統計分析軟體中之Proc GENMOD (Generalized Linear Models，廣義線型模式)，以對數轉換(logit transformation)，或即以logit函數做為聯結函數(link function)，探討不同期作及不同栽培地區對田間目視罹病率、室內ELISA檢測結果及田間實際番茄黃化捲葉病罹病率之影響，並進行罹染率的比較。



圖一、田間番茄黃化捲葉病發生情形。(A、B) 番茄葉緣、葉脈間黃化、上捲或下捲；(C) 病害嚴重發生田區；(D) 健康田區。

**Fig. 1.** Field symptoms of tomato yellow leaf curl disease. (A,B) Yellowing along leaf margins and between veins, and leaf curled upward or downward on tomato; (C) tomato field showing serious disease; (D) Healthy tomato field.

### 電子顯微鏡觀察

取經 ELISA 檢測初步認定受 geminivirus 感染之黃化捲葉病番茄病葉，依陳及洪<sup>(3)</sup>所述步驟分別進行 2% 醋酸鈎負染以及超薄切片製片後於穿透式電子顯微鏡下觀察雙生病毒粒子及病組織中細胞病變情形，以進一步確認 geminivirus 感染。

### 番茄不同生育期接種病毒及病毒接種不同日數對病徵初次出現所需日數及罹病率之影響

自全台罹病率調查中，選出農友 301、西施及亞蔬 33 號大果種及聖女、亞蔬 6 號及驕女小果種等六個農民種植較普遍的番茄品種為供試品種。將該六品種於 2001 年 3 月 29 日播種於育苗盆中，再於 4 月 25 日將苗移植到育苗袋中，之後依不同生育期分別於 4 月 25 日(移植後 0 天)，5 月 11 日(移植後 16 天)，5 月 28 日(移植後 32 天)分三批次，將健康苗以每批次每品種 15 株原則移置於內有已在

病株獲毒(geminiviruses)取食之銀葉粉蟲的隔離設施中，進行帶毒粉蟲接種取食。大果品種取食時間分別為 1、2、3 日，小果品種則分別為 1、2、3、4、5 日，依批次將粉蟲接種取食後之植株分批(每批次每品種 3 株)移置於乾淨無病毒污染的網室中，觀察記錄病徵初次出現所需日數並以 ELISA 檢測確認病毒感染，最後再進行統計分析比較不同番茄品種受影響之差異性。在病徵初次出現所需日數之影響方面，本試驗中，因為不同品種的反應相差甚大，即品種與接種時期或品種與接種日數等交感作用極為顯著，因此依品種別分別做變方分析，又因為觀測重複次數不相等或處理等級數不同，因此利用 SAS 統計分析軟體中之一般線性模式(General Linear Models)統計程序(Proc GLM)進行分析。此外為進一步探討不同接種病毒時期及接種病毒日數對病毒感染率的影響，利用 SAS 統計分析軟體中之 Proc GENMOD (Generalized Linear Models，廣義的線型模式)以分析 ELISA 檢測結果，並依品種個別作分析。

## 不同品種及不同生育期番茄罹染疑似黃化捲葉病毒對田間植株生長之影響

將聖女、農友301、西施、亞蔬33號及亞蔬6號等五個品種於2001年3月14日在網室中播種於育苗盤並進行苗期管理，4月4日將苗換移大號育苗盆，並置於田間覆有細絹網的簡易網室中，網室中除定期噴阿巴汀等殺蟲劑外，並放置黃色黏版，以確保植株不受病毒感染。將健壯植株分別於4月4日(移植後0天)、5月2日(移植後28天)及5月18日(移植後44天)等不同生長期，分三批次移置於有污染源(帶病毒粉疊)的田間，並依逢機完全區集設計(Randomized Complete Block Design, RCBD)，四重複的田間設計方法放置，每小區每品種之株數為五株，單行植，株距為40公分。最後針對每批次之不同品種之罹染病毒與否、最初病徵出現所需日數、始花期及株高等生育情形做調查記錄，並利用SAS統計分析軟體中之一般線性模式(General Linear Models)統計程序(Proc GLM)依品種個別進行分析，探討不同定置時期及不同品種對病徵初次出現所需日數的影響、不同定置時期及罹染病毒與否對番茄株高及始花期的影響。

## 結果

### 田間病害發生調查

田間調查範圍及各地區田間目視罹病率調查、ELISA檢測及田間實際罹染番茄黃化捲葉病之結果，如表一所示。

表一、以目視病徵法及酵素連結抗體法調查台灣田間番茄黃化捲葉病發生情形

Table 1. Survey of tomato yellow leaf curl disease by symptom visual inspection and enzyme-linked immunosorbent assay

County	Areas surveyed <sup>1</sup>			Field survey <sup>2</sup>			TYLCV-suspect <sup>3</sup>			AI <sup>4</sup> (%)
	Ext. (ha)	L	F	Total plants	Infected plants	P1 (%)	S	SP	P2 (%)	
Pingtung	2.96	2	13	71,769	8,459	12	82	43	52	6
Kaohsiung	1.51	2	10	36,472	14,888	41	98	82	84	34
Tainan	3.75	4	17	50,818	14,167	28	130	113	87	24
Chiayi	1.62	4	14	30,744	10,738	35	87	69	79	28
Yunlin	2.05	2	11	38,516	13,888	36	97	66	68	25
Changhua	1.45	2	10	33,851	10,046	30	84	75	89	26
Nantou	0.49	1	4	11,398	414	4	22	12	55	2
Taitung	1.33	3	9	28,059	1059	4	29	23	79	3
Hualien	3.43	1	17	68,841	18,059	26	85	15	18	5
Hsinchu	0.44	2	8	8,108	1,256	15	35	13	37	6
Total	19.03	23	113	378,576	92,974	25	749	511	68	17

<sup>1</sup>. Areas surveyed: Ext.- extent, L-total number of surveyed location, F-total number of surveyed field.

<sup>2</sup>. Field survey: surveys on tomato plants showing yellow leaf curl symptom by visual inspection. P1= (infected plants/total plants surveyed) x 100%.

<sup>3</sup>. Tomato leaves showing yellow leaf curl symptoms in the field were collected and Tomato yellow leaf curl virus suspect (TYLCV-suspect) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). S: total number of samples assayed, SP: total number of sample TYLCV-suspect detected, P2=(SP/S) x 100%.

<sup>4</sup>. AI: actual disease incidence caused by TYLCV-suspect infection in field. P3 = (P1xP2)/100.

列。田間目視罹病率調查，總共調查番茄378,576株，罹病株有92,974株，罹病率約為25%，其中以高雄縣41%罹病率最高，其次依序為雲林、嘉義、彰化等縣，分別有36%、35%、30%之罹病率，而南投縣及台東縣的罹病情形最輕微，罹病率僅有4%。採自台灣各地田間罹病株之病葉樣本共749個，經以TYLCV抗體進行ELISA檢測，結果呈正反應者計有511個，檢出率為68%。其中以彰化縣之樣品的89%所佔比率最高，其次為台南縣、高雄縣，分別為87%及84%，而花蓮縣檢出率最低，僅有18%，其次為台東縣，約有37%。綜合田間目視罹病率及ELISA檢測等兩項結果，顯示台灣全區田間於2000年10月至2001年4月番茄實際罹患疑似TYLCV geminivirus之平均比例約為17%。其中以高雄縣最嚴重，約有34%受geminivirus病毒感染，其次為嘉義縣之28%的罹病率，再次為彰化縣、雲林縣及台南縣，罹病率分別為26%、25%及24%，而罹病率最低者為南投縣及台東縣，僅有2%及3%。分析結果如表二，顯現不同期作及不同地區對田間目視罹病率、室內ELISA檢測及實際罹患疑似TYLCV geminivirus等結果，都有極顯著的差異影響。其中目視罹病率以第一期作之高雄縣最嚴重，而冬季裡作之南投縣最輕微；ELISA geminivirus檢出率以第一期作之台南縣最高，而第一期作之花蓮縣最輕微；實際罹病率以第一期作之高雄縣最嚴重，而冬季裡作之南投縣最輕微。

### 病毒粒子及罹病細胞之電子顯微鏡觀察

將ELISA檢測呈現TYLCV正反應較強之葉片樣品以

2% 酢酸鈦醣作負染色後，應用穿透式電子顯微鏡(TEM)，可在罹病番茄葉片粗汁液中觀察到典型雙生病毒顆粒；在罹病番茄植株之葉部組織超薄切片中可於韌皮細胞觀察到細胞核核仁異常腫大(圖二A)、核仁內具病變的纖維環(fibrillar ring)、纖維區(fibrillar region)(圖二B)等現象。

### 番茄不同生育期接種病毒及病毒接種不同日數對病徵初次出現所需日數及罹病率之影響

分析不同生育期接種病毒及病毒接種不同時間長短對不同番茄品種在病徵初次出現所需日數之影響，顯示不同生育期接種病毒對病徵初次出現所需日數的影響，在農友301、亞蔬33號及亞蔬6號等三品種上，極顯著，在聖女品種上顯著，而在西施及驕女兩品種上則不顯著。病毒接種不同日數對病徵初次出現所需日數的影響，在聖女及亞蔬6號兩品種上顯著，其餘四個品種則不顯著。而不同生育期接種病毒及病毒接種不同日數之交互作用對病徵初次

出現所需日數的影響，僅在亞蔬33號品種上極顯著，其餘五個品種皆不顯著。在不同生育期接種病毒及病毒接種不同日數之情形下，各品種之病徵初次出現平均所需日數如表三所列，聖女品種在接種病毒日數1日之情形下，接種時期為移植後16天或32天，其病徵出現所需平均日數最長為11.3天，而接種時期為移植後16天，接種病毒日數為2及5日，其病徵出現所需平均日數最短為9天。農友301品種在接種時期為移植後32天，接種病毒日數1日之情形下，其病徵出現所需平均日數最長為11.7天，而接種時期為移植後0天，接種病毒日數為1及3日，其病徵出現所需平均日數最短為8.3天。西施品種在接種病毒日數3日接種時期為移植後16天及32天之情形下，其病徵出現所需平均日數最長為10.7天，而接種時期為移植後0天，接種病毒日數為1及2日，其病徵出現所需平均日數最短為8.7天，但所有病徵出現所需平均日數並無顯著差異。亞蔬33號品種在接種時期為移植後16天，接種病毒日數1日及3日以及在接種時期為移植後32天，接種病毒

表二、不同期作及地區對台灣田間番茄疑似感染番茄黃化捲葉病毒之病徵目視罹病率、血清學檢測值及田間實際罹病率之影響

Table 2. Influence of different crop seasons and localities on disease incidence of tomatoes suspect of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV-suspect) infection evaluated by field symptom visual inspection and enzyme-linked immunoassay (ELISA)

CROP <sup>1</sup>	COUNTY <sup>2</sup>	R1 <sup>3</sup>			R2 <sup>4</sup>			R3 <sup>5</sup>		
		PRED <sup>6</sup>	LOWER	UPPER	PRED	LOWER	UPPER	PRED	LOWER	UPPER
1	1	0.07751	0.07573 <sup>7</sup>	0.07934	0.36729	0.26038	0.48907	0.06461	0.06298	0.06628
1	2	0.25490	0.25115	0.25868	0.78576	0.68146	0.86278	0.20310	0.19967	0.20657
1	3	0.16107	0.15704	0.16519	0.53511	0.37891	0.68471	0.14944	0.14554	0.15342
1	4	0.23066	0.22632	0.23506	0.42724	0.30106	0.56367	0.17216	0.16842	0.17596
1	5	0.13999	0.13649	0.14357	0.72246	0.54429	0.85015	0.13724	0.13372	0.14083
1	7	0.03632	0.03304	0.03992	0.54545	0.34144	0.73527	0.01448	0.01244	0.01684
1	8	0.30188	0.29699	0.30681	0.71313	0.58154	0.81640	0.26561	0.26096	0.27031
2	1	0.22981	0.22528	0.23440	0.71546	0.59605	0.81077	0.18625	0.18208	0.19048
2	2	0.54848	0.54168	0.55527	0.94078	0.89534	0.96721	0.45783	0.45071	0.46498
2	3	0.40539	0.39957	0.41124	0.83293	0.73990	0.89731	0.36795	0.36222	0.37370
2	4	0.51565	0.50969	0.52161	0.76365	0.66866	0.83800	0.40796	0.40198	0.41396
2	5	0.36629	0.36068	0.37195	0.91853	0.84589	0.95861	0.34515	0.33961	0.35073
2	6	0.15491	0.14720	0.16295	0.37143	0.22939	0.53980	0.08350	0.07767	0.08972
2	8	0.60560	0.59948	0.61168	0.91502	0.85217	0.95263	0.54512	0.53871	0.55151
2	9	0.03774	0.03557	0.04004	0.79310	0.60951	0.90398	0.02587	0.02408	0.02780
2	10	0.26233	0.25906	0.26563	0.15789	0.09749	0.24555	0.03955	0.03812	0.04104
between crop (df=1)		14368.8 <sup>**8</sup>			41.4 <sup>**</sup>			11813.7 <sup>**</sup>		
between country (df=9)		37008.7 <sup>**</sup>			234.0 <sup>**</sup>			52355.0 <sup>**</sup>		

1. Crop: 1-from October 2000 to January 2001, 2-from February 2001 to April 2001.

2. County: 1-Pingtung, 2-Tainan, 3-Chiayi, 4-Yunlin, 5-Changhua, 6-Hsinchu, 7-Nantou, 8-Kaohsiung, 9-Taitung, 10-Hualien.

3. R1: the rate of TYLCV-suspect infection in the field by visual inspection. R1 = (infected plants/total plants surveyed) x 100%.

4. R2: the rate of TYLCV-suspect detected by ELISA test. R2 = (total number of sample

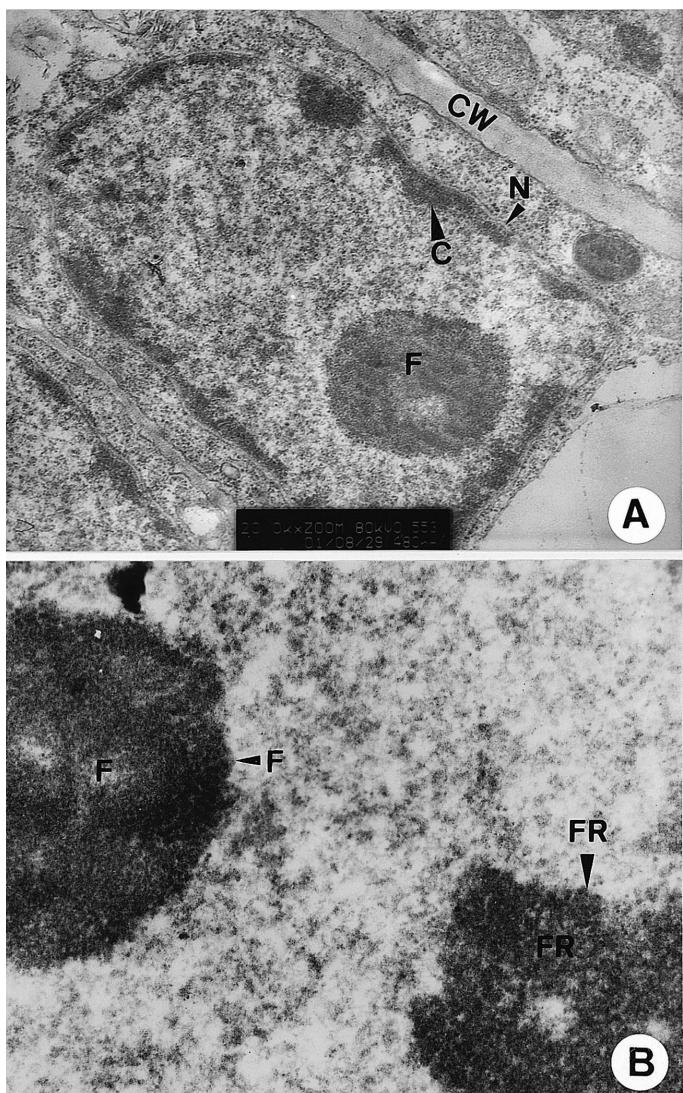
TYLCV-suspect detected/total number of samples assayed) x 100%.

5. R3: actual infection rate of TYLCV-suspect in the field. R3 = (R1 x R2) x 100.

6. PRED: the predicted value given by the fitted generalized linear model.

7. Two infection rates are not significantly different at 0.05 probability level if their 95% confidence intervals overlap.

8. \*\*: denotes statistical significance at 0.01 probability level.  $\chi^2$ : chisquare statistic. df:degree of freedom.



**圖二**、罹染番茄黃化捲葉病之番茄病葉組織經超薄切片電子顯微鏡觀察之勒皮細胞病變。(A) 細胞核核仁腫大，染色質被侷限於外緣緊臨核膜；(B) 核仁內核質凝聚成纖維區及纖維環。

**Fig. 2.** Electron micrograph of cytopathological changes in phloem cell of the diseased tomato leaf showing yellow leaf curl symptom. (A) Nucleolus hypertrophy and chromatin confined to periphery around the nuclear membrane; (B) Aggregate of nucleolar matter into fibrillar region and ring. C: chromatin; CW: cell wall; F: fibrillar region; FR: fibrillar ring; N: nuclear membrane.

日數1日之情形下，其病徵出現所需平均日數最長為13天，而接種時期為移植後0天，接種病毒日數為1日，其病徵出現所需平均日數最短為7.3天。亞蔬6號品種在接種時期為移植後16天，接種病毒日數3日之情形下，其病徵出現所需平均日數最長為15天，而接種時期為移植後32天，接種病毒日數為5日，其病徵出現所需平均日數最短為10.3天。驕女品種在接種時期為移植後16天，接種病毒日數1日之情形下，其病徵出現所需平均日數最

長為11天，而接種時期為移植後16天，接種病毒日數為1日，其病徵出現所需平均日數最短為8天。

依品種個別分析不同生育期接種病毒及病毒接種不同日數對不同番茄品種在罹病率之影響，結果如表四。聖女、亞蔬33號及驕女等三個品種在不同生育期接種病毒及病毒接種不同日數下對病毒罹染率均未呈現顯著的影響；而農友301、西施及亞蔬6號等三個品種在病毒接種不同日數下對病毒罹染率亦未呈現顯著的影響，但於不同生育期接種病毒，對病毒罹染率則分別呈現顯著、顯著及極顯著的影響。

#### 不同品種及不同生育期番茄罹染疑似黃化捲葉病毒對田間植株生長之影響

分析不同品種及不同生育期罹染病毒後病徵初次出現所需之日數，發現前者對病徵初次出現所需之平均日數，並無顯著影響，但不同生育期罹染病毒對病徵初次出現之平均日數卻有極顯著影響。供試五個番茄品種在不同生育期定置於有病毒源的田間，其病徵出現之平均日數如表五，顯示品種間對初次病徵出現之所需平均日數，並無顯著差異存在，但不同的田間定置日期，即不同生育期罹染病毒，其初次病徵出現之所需平均日數卻有顯著差異存在，其中以生育期為移植後0天罹染病毒者，病徵出現之平均日數最長，需22.2天，而移植後28天感染病毒者，病徵出現之平均日數最短，僅需13天。

分析感染病毒與否及不同田間定置期對各品種番茄始花期之影響，顯示相同定置期，感染病毒與否對各品種之始花期均無顯著影響，而不同定置期對各品種之始花期則均有極顯著影響。在不同定置期及感染病毒與否之情形下，各品種之平均始花日數如表六，聖女品種之始花期，以無病毒感染，定置期為移植後0天者，所需日數最短，為29.5天，而無病毒感染，定置期為移植後28天者，所需日數最長，達39.7天。農友301品種之始花期，以受病毒感染，定置期為移植後0天者，所需日數最短，為31.4天，而無病毒感染，定置期為移植後28天者，所需日數最長，達44天。西施品種之始花期，以受病毒感染，定置期為移植後0天者，所需日數最短，為30.8天，而受病毒感染，定置期為移植後28天者，所需日數最長，達41.8天。亞蔬33號品種之始花期，以無病毒感染，定置期為移植後0天者，所需日數最短，為29天，而受病毒感染，定置期為移植後28天者，所需日數最長，為44.3天。亞蔬6號品種之始花期，以無病毒感染，定置期為移植後0天者，所需日數最短，為29天，而無病毒感染，定置期為移植後28天者，所需日數最長，為42.4天。

分析感染病毒與否及不同田間定置期對各品種番茄株高之影響。顯示聖女品種番茄於5月18日(移植後44天)之株高受病毒感染與否之影響為極顯著，受不同定置期之

表三、六個品種番茄在不同接種時期及不同接種日數下接種疑似番茄黃化捲葉病毒其初次病徵出現所需平均日數

Table 3. Average days of first symptom appearance inoculated with Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) suspect under different inoculation stage and different inoculation time on six tomato varieties

IS <sup>1</sup> (dat)	DI <sup>2</sup> (day)	Time for the first symptom appeared (day)				
		Varieties				
	Santa	Farmers301	FB	AVRDC33	AVRDC6	Jolly
0	1	—	8.3d <sup>3</sup>	8.7a	7.3d	—
0	2	—	9.0cd	8.7a	8.0d	—
0	3	—	8.3d	9.0a	8.7d	—
16	1	11.3a	10.0bc	9.0a	13.0a	14.0ab
16	2	9.0c	8.7d	9.3a	11.7bc	14.3a
16	3	9.3bc	9.0cd	10.7a	13.0a	15.0a
16	4	9.6bc	—	—	—	13.0bc
16	5	9.0c	—	—	—	12.3c
32	1	11.3a	11.7a	10.0a	12.7ab	11.0d
32	2	10.7ab	11.3a	10.0a	13.0a	10.7d
32	3	10.7ab	11.0ab	10.7a	11.3c	10.7d
32	4	—	—	—	—	10.7d
32	5	—	—	—	—	10.3d

<sup>1</sup>. IS: inoculation stage; dat: days after transplanting.<sup>2</sup>. DI: inoculation time (day).<sup>3</sup>. Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 0.05 probability level according to Fisher's protected LSD".

影響為顯著，受兩者交感影響為極顯著；於 5 月 25 日(移植後 51 天)之株高受病毒感染與否之影響仍為極顯著，但受不同定置期之影響為不顯著，受兩者交感影響則為顯著；6 月 1 日(移植後 58 天)之株高受病毒感染與否之影響為顯著，但受不同定置期及兩者交感影響則為顯著；於 6 月 9 日(移植後 66 天)株高受病毒感染與否及不同定置期之影響均為不顯著。其實際平均株高，不論是移植後 44 天、51 天、58 天或 66 天，均以未受病毒感染，定置期為移植後 0 天之植株最高，依序分別為 96.5、106.5、109 及 110 公分，而以受病毒感染，定置期為移植後 0 天之植株最低，依序分別為 55、63.3、69 及 65.1 公分。

農友 301 品種番茄之株高僅於 5 月 25 日(移植後 51 天)之株高受病毒感染與否之影響為顯著，其他生育日期之株高受病毒感染與否及不同定置期之影響則均為不顯著。而平均株高以受病毒感染，定置期為移植後 0 天者最高，於移植後 44 天、51 天及 58 天之株高依序為 50.8、59.5 及 62.8 公分，而未受病毒感染，定置期為移植後 0 天之植株最低，依序為 35、36.5 及 37 公分，於 6 月 9 日(移植後 66 天)則以受病毒感染，定置期為移植後 28 天之植株最高為 61 公分，而未受病毒感染，定置期為移植後 0 天之植株最低，為 37.5 公分，其中移植後 58 天及移植後 66 天兩生育日期之平均株高均沒有顯著差異。

西施品種番茄之株高僅於 5 月 25 日(移植後 51 天)之株高受不同定置期之影響為顯著，其他生育日期之株高受病毒感染與否及不同定置期之影響則均為不顯著。其平均

株高以 5 月 18 日(移植後 44 天)未受病毒感染，定置期為移植後 44 天者最高為 58 公分，而受病毒感染，定置期為移植後 28 天之植株最低為 40.6 公分，然平均株高間沒有顯著差異，於移植後 51 天、58 天及 66 天則均以受病毒感染，定置期為移植後 44 天之植株最高，分別為 64.5、68.5 及 77.5 公分，最低者則依序是受病毒感染，定置期為移植後 28 天者之 42.8 公分及受病毒感染，定置期為移植後 0 天者之 42.4 及 35.7 公分。

亞蔬 33 號品種番茄不同生育期之株高受病毒感染與否之影響不顯著，而移植後 44 天、51 天及 66 天等生育期受不同定置期之影響為顯著，移植後 58 天受不同定置期之影響則為極顯著。其株高於移植後 44 天、51 天、58 天及 66 天等不同生育日期均以未受病毒感染，定置期為移植後 0 天之植株最高，分別為 72、84、90 及 95 公分，最低者則依序是受病毒感染，定置期為移植後 28 天者之 49.2 公分、受病毒感染及未受病毒感染，定置期均為移植後 28 天者為 56.2 公分及未受病毒感染，定置期為移植後 28 天者之 57 及 47.2 公分。

亞蔬 6 號品種番茄不同生育日期之株高受病毒感染與否及不同定置期之影響均不顯著。其株高於移植後 44 天、51 天、58 天及 66 天等不同生育日期均以受病毒感染，定置期為移植後 44 天之植株最高，分別為 69、80、80 及 87 公分，而最低者則均為受病毒感染，定置期為移植後 0 天者，分別為 53.8、56.4、57.9 及 52.7 公分。

表四、六個品種番茄在不同接種時期及不同接種日數下接種疑似番茄黃化捲葉病毒之病毒感染率

Table 4. The infection rate of six tomato varieties inoculated with *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) suspect under different inoculation stage and inoculation time

Var. <sup>1</sup>	IS <sup>2</sup>	DI <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	PRED	Lower limit	Upper limit
A	16	1	1.00000	0.90733	0.40991 <sup>5</sup>	0.99281
A	16	2	0.66667	0.78813	0.29557	0.97057
A	16	3	0.66667	0.63788	0.19466	0.92773
A	16	4	0.66667	0.66667	0.15351	0.95663
A	16	5	0.33333	0.33333	0.04337	0.84649
A	32	1	0.66667	0.75934	0.24132	0.96904
A	32	2	0.66667	0.54521	0.14433	0.89496
A	32	3	0.33333	0.36212	0.07227	0.80534
B	0	1	1.00000	0.81912	0.30564	0.97899
B	0	2	0.66667	0.89792	0.40962	0.99111
B	0	3	1.00000	0.94962	0.53467	0.99678
B	16	1	0.33333	0.19073	0.02787	0.65958
B	16	2	0.33333	0.31404	0.05981	0.76714
B	16	3	0.33333	0.49523	0.12319	0.87262
B	32	1	0.33333	0.65682	0.21318	0.93113
B	32	2	1.00000	0.78803	0.3118	0.96826
B	32	3	1.00000	0.88848	0.42407	0.98853
C	0	1	1.00000	1.00000	0.00000	1.00000
C	0	2	1.00000	1.00000	0.00000	1.00000
C	0	3	1.00000	1.00000	0.00000	1.00000
C	16	1	1.00000	0.61336	0.18772	0.91590
C	16	2	0.33333	0.61336	0.18772	0.91590
C	16	3	0.33333	0.43994	0.10697	0.83743
C	32	1	0.33333	0.71997	0.25742	0.95017
C	32	2	1.00000	0.71997	0.25742	0.95017
C	32	3	0.66667	0.56006	0.16257	0.89303
D	0	1	1.00000	0.97612	0.63158	0.99898
D	0	2	1.00000	0.80587	0.28985	0.97686
D	0	3	0.66667	0.88467	0.38401	0.98952
D	16	1	1.00000	0.74673	0.23262	0.96631
D	16	2	0.00000	0.23041	0.03664	0.70209
D	16	3	0.33333	0.35619	0.07325	0.79477
D	32	1	0.66667	0.94381	0.50472	0.99640
D	32	2	0.66667	0.63039	0.19599	0.92268
D	32	3	1.00000	0.75914	0.28459	0.96150
E	0	1	0.00000	0.00000	0.00000	1.00000
E	0	2	0.00000	0.00000	0.00000	1.00000
E	0	3	0.00000	0.00000	0.00000	1.00000
E	16	1	1.00000	0.83333	0.32708	0.98093
E	16	2	0.66667	0.83333	0.32708	0.98093
E	16	3	0.66667	0.83333	0.32708	0.98093
E	16	4	0.66667	0.83333	0.32708	0.98093
E	16	5	1.00000	0.66667	0.22592	0.93200
E	32	1	0.66667	0.83333	0.32708	0.98093
E	32	2	1.00000	0.83333	0.32708	0.98093
E	32	3	1.00000	0.83333	0.32708	0.98093
E	32	4	1.00000	0.83333	0.32708	0.98093
E	32	5	0.33333	0.66667	0.22592	0.93200
F	16	1	0.66667	0.66667	0.15351	0.95663
F	16	2	1.00000	1.00000	0.00000	1.00000
F	16	3	0.66667	0.66667	0.15351	0.95663
F	32	1	0.66667	0.66667	0.15351	0.95663
F	32	2	1.00000	1.00000	0.00000	1.00000
F	32	3	0.66667	0.66667	0.15351	0.95663

<sup>1</sup>. Var.:A-Santa; B-Farmers 301; C-Faminine Beauty; D-AVRDC 33; E-AVRDC 6; F-Jolly.<sup>2</sup>. IS: Inoculation stage on days 0, 16, and 32 after seedlings transplanted<sup>3</sup>. DI: Inoculation time (day)<sup>4</sup>. R: Infection rate. PRED: The predicted value given by the fitted generalized linear model.<sup>5</sup>. Two infection rates are not significantly different at 0.05 probability level if their 95% confidence intervals overlap.

表五、不同田間定置期處理對五個不同品種番茄之黃化捲葉病病徵初次出現所需日數的影響

Table 5. The influence of days tomato plants moved to field post transplant on the time required for the first symptom of tomato yellow leaf curl disease shown

DMF <sup>1</sup> (days)	Days required for the first symptom appeared					Mean
	Varieties					
	Santa	F301	FB	AVRDC33	AVRDC6	
0	21.8	24.7	22.7	20.8	20.8	22.2a <sup>2</sup>
28	14.9	12.1	11.3	11.9	14.7	13.0c
44	17.9	16.6	17.4	16.7	18.7	17.5b
Mean	18.2a	17.8a	17.1a	16.5a	18.1a	17.5

1. DMF: days move to field after transplant.

2. Means in the same column follow by a common letter are not significantly different at 0.05 probability level according to Fisher's protected LSD".

表六、五個品種番茄在不同田間定置期及罹染疑似番茄黃化捲葉病毒與否下之平均始花日數

Table 6. Mean days to flowering of five tomato varieties influenced by days tomato plants moved to field post transplant and Tomato yellow leaf curl virus-suspect (TYLCV-suspect) infection.

I <sup>1</sup>	DMF <sup>2</sup> (dat)	Mean days to flowering				
		Varieties				
	Santa	F301	FB	AVRDC33	AVRDC6	
N	0	29.5c <sup>3</sup>	32.0b	30.2b	29.0b	29.0b
N	28	39.7a	44.0a	41.6a	43.2a	42.4a
N	44	35.3b	—	40.0a	44.0a	42.3a
Y	0	32.5bc	31.4b	30.8b	31.8b	29.6b
Y	28	38.9a	43.0a	41.8a	44.3a	42.1a
Y	44	35.0b	—	41.0a	43.3a	42.0a

1. I: Virus infection; N: no infection. Y: infection.

2. DMF: Date move to field; dat: Days after transplant.

3. Means in the same column follow by a common letter are not significantly different at 0.05 probability level according to Fisher's protected LSD".

## 討 論

本研究田間病害發生調查，範圍涵蓋十個番茄主要栽培縣，依 2000 年農業年報記載<sup>(1)</sup>，其面積約占全台灣番茄總種植面積之 93%，顯示調查範圍應已頗具代表性。綜合田間目視病徵調查及 ELISA 檢測結果顯示，實際田間罹患疑似 TYLCV 病毒感染之比率約有 17%，不同地區及不同栽培季都有程度上的差異，其中以雲、嘉、南地區及彰化、高雄等縣罹病率較高，以上幾個地區位於台灣中南部，乃台灣蔬果種植最集中，面積最廣且氣候變化不大之區域，因此提供了傳媒粉蟲一個適當又完整的繁殖條件，這可能是造成罹病率較高的主要原因；而南投縣罹病率低的主要原因，由田間現場觀察可能是因氣候極度濕冷，不適傳媒粉蟲繁殖所致；至於台東縣罹病率低的主因，則可

能是因其地特有的強風不利傳媒粉蟲繁殖所造成；至於花蓮縣，其田間目視罹病率高達 26%，但 ELISA 檢測卻只有 18%，乃全省所佔比率最低者，因此推測可能尚有其他會引起與疑似 TYLCV 感染黃化捲葉極近似病徵之病毒存在，詳情有待進一步探討。

由於粉蟲是 TYLCV 唯一傳媒<sup>(12,24,31)</sup>，許多報告均指出田間粉蟲成虫數量的多寡與番茄罹染 TYLCV 之比例有密切正相關之關係<sup>(13,25,28)</sup>，因此田間粉蟲成虫數量及棲息習性，在田間目視病徵調查時，亦被列為調查參考項目，唯粉蟲數量調查因農民持續密集地以藥物控制病蟲害，導致很難在每一個被調查田區皆能得到確切的數據，但與雲、嘉、南及彰化、高雄等罹病率較高地區之番茄農民於田間訪談時，一致指出，粉蟲一直很多，往往剛噴完藥後地上及灌溉溝裡總會佈滿粉蟲屍痕，雖然短時間內數量變得很少，但經過一至二星期後，粉蟲數量又會大量增加；此外筆者發現在部分罹病極嚴重、或採收末期的田區，農民已不再噴藥，粉蟲數量往往多到有群飛現象，該類田區自然成為附近地區 geminivirus 的主要感染源；而粉蟲成虫棲息習性，依觀察發現，在正常情形下主要棲息於葉背，但當粉蟲數量多到有群飛現象時，不管老葉、新葉之葉面、葉背，幾乎都佈滿了粉蟲；田間調查過程中，番茄田附近之作物相亦同時被調查記錄，發現部分番茄植區，雖然被孤立於一大片正在整地但尚未插秧的水稻田中，或四周盡為工廠及住家所包圍，但其罹染病毒情形，仍與四周種滿各類蔬菜的田區無異，因此研判傳媒可能借助風力或移植苗輕易到達任何地方，1997 年 Polston 及 Anderson<sup>(32)</sup>報告指出，藉由風力，TYLCV 於一年內經傳媒迅速由牙買加傳入多明尼加，因此判斷在已有病毒感染源的地區之作物相，相較之下應不是造成病害蔓延之絕對影響因素；另外由田間實際觀察發現，鮮食、加工及櫻桃番茄等不同用途之番茄品種感染病毒後之病徵表現，略有差異，其中鮮食大果番茄之病徵大致為葉緣及葉脈間出現嚴重黃化、有的並有嵌紋，葉片面積變小，葉緣向上或向下捲曲，皺縮等；櫻桃番茄之病徵則為新葉葉緣及葉脈間黃化，葉片面積嚴重變小，葉質硬、脆，皺縮，但葉緣不一定捲曲等；至於加工番茄則是葉緣及葉脈間輕微黃化，皺縮及上捲或下捲等。在與農民於田間訪談時，農民亦指出，番茄隨著罹病時間越長，病徵會越嚴重，而越早罹病造成的損失越大，嚴重者甚至必須廢園，此情形與 Nakhla 等人<sup>(28)</sup>於 1994 年所描述在多明尼加發生情形及 Al-Musa<sup>(5)</sup>於 1982 年所描述在約旦發生情形皆一樣。

針對田間調查結果經分析不同期作及不同地區對罹病率的影響，顯示不同期作及不同地區對田間目視罹病率、ELISA 檢測及實際罹患疑似 TYLCV 病毒等結果，都有極顯著的差異。Pico 等人<sup>(31)</sup>於 1996 年報告在眾多受 TYLCV 病毒為害之國家中，會因季節不同，而致病毒罹患情形及經濟損失程度不一，此與本研究結果相似，探究

原因，可能與各地區之不同氣候、溫度、栽植習慣及番茄品種等，有相當密切關係。

本研究所用 ELISA 流程係以罹病樣品作抗原 (antigen)，以一次 TYLCV 多源抗體及一次 TYLCV 單源抗體作偵測，再以酵素基質作呈色反應，並經儀器測讀吸收值，以檢測 TYLCV，因此在疑似 TYLCV 的確認上，應已相當可靠。進一步的電子顯微鏡觀察，在罹病番茄葉片組織內可以看到與國外<sup>(10,36)</sup> 報告相同之典型的雙生病毒粒子；而應用超薄切片技術更可在罹病番茄植株之葉部組織中的韌皮細胞觀察到細胞核核仁異常腫大、核仁內具病變的纖維環、顆粒內含體、以及有病毒顆粒聚集但卻沒有結晶堆列現象，該情形與 Francki 等人<sup>(19)</sup> 及 Pico 等人<sup>(31)</sup> 所描述之 TYLCV 電子顯微鏡病理觀察結果相吻合，且此種病變過程及現象在其他許多種受 *genimviyuses* 感染的寄主組織中亦會發生，因此進一步推斷疑似 TYLCV 乃番茄黃化捲葉病可能的重要病因之一。網室中不同生長期番茄接種病毒及不同接種病毒日數對病徵初次出現日數的影響，分析結果顯示不同番茄品種之表現，不盡相同，可能與各品種自身的遺傳背景有關；而不同生長期接種病毒及不同接種病毒日數對病毒罹病率的影響之探討，顯示接種病毒日數多寡對所有番茄品種之病毒罹病率，完全沒有影響，Mehta 等人<sup>(27)</sup> 試驗證實銀葉粉蟲接種 15 分鐘即可傳毒，當時間延長到 24 小時，傳毒率最高，本試驗中，最少接種時間為 24 小時，顯然地已達傳毒率最高臨界點，因此再增加接種病毒日數，對病毒罹病率而言已完全沒有影響。而不同生長期接種病毒對病毒罹染率之影響，則不同番茄品種之表現略有差異，其中亞蔬 6 號番茄品種為極顯著，西施及農友 301 番茄品種為顯著，而聖女、驕女及亞蔬 6 號等番茄品種則均為不顯著，其原因可能亦與各品種自身的遺傳背景有關。

最後在田間探討不同番茄品種於不同的生育期下罹染病毒後，其相關園藝性狀所受的影響，在病徵初次出現所需平均日數上，顯示各番茄品種在相同的生育日期下罹染病毒後，品種間並無顯著差異，但在不同的田間定置日期(不同生育期罹染病毒)，卻有顯著差異存在，在本研究三個罹染病毒之生育期，移植後 0 天、移植後 28 天、及移植後 44 天，其病徵初次出現之平均日數分別為 22.2 天、13 天及 17.5 天，差異很大，另外其結果亦與室內試驗所得，移植後 0 天、移植後 16 天、及移植後 32 天，其病徵初次出現之平均日數分別約為 8.4 天、10.9 天及 11 天之結果，明顯差異，推測原因，似以大氣環境不同，間接影響植株生長情形，並造成溫度及光度上的差異，進而影響病毒增殖，為可能原因，然而如何影響，目前仍無相關文獻，因此有待進一步探討。本研究發現罹染病毒與否對各品種番茄之始花期均無顯著影響，顯示番茄罹染病毒後，其始花期仍依品種原有特性如常進行；而不同定置期對各品種之始花期均有極顯著影響，推測原因可能係番茄在未

移植田中作病毒接種而仍保留於簡易網室內之期間室內與室外之大氣環境相異，造成各品種之生長產生差異。另外罹染病毒與否對各品種番茄之株高，皆有不同程度之影響，雖然絕大多數於罹染病毒後，仍會長高，不過成長方式變成不正常的叢生且節間明顯縮短但節數增多，枝幹也變得僵硬易脆，在與農民於田間訪談時，農民亦指出，目前番茄"瘋叢"情形跟以往不一樣，過去番茄"瘋叢"後即不再長高，但現在番茄"瘋叢"後仍繼續長高。

綜合與台灣地區種番茄農民訪談結果，顯示番茄黃化捲葉病的猖獗，約始於 1993 - 1994 年間，爾後逐年嚴重，嚴重者甚至必須廢園(筆者於雲林、彰化、嘉義、台南、高雄、花蓮等地區做田間調查時，皆發現部分廢園田區)，而防治上也越來越困難，令人訝異的是，仍有許多農民不知該病係經由粉蟲傳播，甚至不相信長久以來即存在田間的粉蟲會傳播病毒，遑論了解粉蟲傳毒重要性，因此在防治上出現許多不當方法(如僅割除有病徵之葉片並隨手丟於地上) 及死角(如放任粉蟲於番茄廢園中大量繁殖)，因此許多在台灣已流行多年的番茄品種，已無法正常種植生產，而農民從事番茄生產的風險也大大增加；雖然抗病品種是最具長程而有效之防治方法，且近年來政府及種苗業者也致力於抗病品種的發展，但仍僅有耐病品種應用於市場上，然而如前所述，如果不能配合其他綜合防治策略，難保病毒不會在短時間內產生突變而對現有的耐病品種造成威脅，因此充分了解寄主、傳媒與病毒及其相互間的關係，再配合抗病育種工作以及全面性的田間管理，實為綜合防治策略的根本。本研究調查證實番茄黃化捲葉病確已在台灣地區的番茄生產上造成了相當大的危害，綜觀美洲及歐洲地區，面對番茄黃化捲葉病，其防治工作往往是跨國性的，然而仍無法避免該病繼續蔓延，其防治之困難，可見一般。在病毒病原的確認上，本研究從病徵觀察，TYLCV ELISA 檢測，以及細胞病變的電子顯微鏡觀察等結果顯示，疑似 TYLCV 可能是造成台灣地區番茄黃化捲葉病的主要病原之一，筆者曾將部分取自嘉義縣、高雄縣、屏東縣及台東縣的番茄病葉，經 ELISA 檢測呈現 TYLCV 正反應較強者，送請亞洲蔬菜研究發展中心(AVRDC) 作聚合酶連鎖反應(PCR) 檢測，其結果卻顯示皆為 ToLCV-Tw，顯然本研究中所應用之 ADGEN 公司之 TYLCV 單源抗體亦會與 ToLCV-Tw 發生交互反應(cross reaction) 而無法明確區分 TYLCV 與 ToLCV，此可能應為兩者擁有相同的抗原決定部位(epitope) 所致，而此結果與 Dry 等人<sup>(18)</sup> 報告 TYLCV 及 ToLCV 在血緣上極為相近之現象頗為吻合。另外由訪談中得知，AVRDC 曾在雲、嘉、南及花東等地區做過番茄黃化捲葉病田間取樣調查，其結果證實均為 ToLCV-Tw 感染，但在新竹地區則曾檢測到少量其他種類雙生病毒，只是目前尚未廣泛流行(亞洲蔬菜研究發展中心，蔡文錫，私人通信) 顯示台灣地區番茄植株上除 ToLCV 外，尚有其他種雙生病毒存在。Hong

及Harrison<sup>(22)</sup>指出，靠粉蟲傳播的雙生病毒，如果不共存於同一地域(geographical region)，則其抗原決定部位自然不一樣，然而如共存於同一地域，則會有許多相同的抗原決定部位；Kirthi等人<sup>(23)</sup>亦指出，共同感染(co-infection)及超益互助(synergism)是雙生病毒間的普遍現象，藉此雙生病毒達到基因重組、突變及進化，而高頻率的基因重組更有助於產生新病毒，因此可以預見由雙生病毒引起之病害其防治將越來越費力。本研究結果確認台灣地區番茄黃化捲葉病主要係由雙生病毒所引起，而番茄罹染該病毒後，其病徵初次出現所需日數，與光線、溫度以及品種及生長期，都可能有關係，但不受獲毒日數多寡影響。罹染病毒對同生長期之番茄之始花期無影響，但對不同生長期之番茄之始花期則有顯著影響；因此番茄栽培期間受雙生病毒感染時機之早晚將明顯影響番茄之生長，早期防治傳播粉蟲將有助於病害管理及番茄正常生長。對株高的影響，除聖女品種番茄外，大部分的番茄品種皆不顯著。本調查研究證實番茄黃化捲葉病確已在台灣地區的番茄田中大量發生，如何有效防治台灣地區的番茄黃化捲葉病對相關的政府單位、業者及農民，都將是一重大考驗。

## 謝 辭

本研究蒙中興大學農藝系林俊隆教授協助數據分析，以及亞洲蔬菜研究發展中心蔡文錫先生協助以PCR確認病毒，特此誌謝。

## 引用文獻

- 行政院農委會. 2000. 農業統計年報. p. 76-77。
- 陳信宏. 1996. 銀葉粉蟲傳播番茄捲葉病毒之研究. 國立中興大學昆蟲學系碩士論文。
- 陳滄海、洪建龍. 1996. 薑科觀賞植物嵌紋病—一種蚜媒傳播potyvirus引起之新病害. 植病會刊5:169-175。
- Abou-Jawdah, Y., Maalouf, R., Shebaro, W. and Soubra, K. 1999. Comparison of the reaction of tomato lines to infection by tomato yellow leaf curl geminivirus in Lebanon. Plant Pathol. 48:727-734.
- Al-Musa, A. 1982. Incidence, economic importance, and control of tomato yellow leaf curl in Jordan. Plant Dis. 66:561-563.
- Bethke, J. A., Paine, T. D., and Nuessly, G. S. 1991. Comparative biology, morphometrics, and development of two populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on cotton and poinsettia. Ann. Entomol. Soc. Am. 84:407-411
- Bellows, T. S. Jr., Perring, T. M., Gill, R. J., and Headrick, D. H. 1994. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 87:195-206.
- Brown, J. K., and Bird, J. 1992. Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. Plant Dis. 76:220-225.
- Brown, J. K., Frohlich, D. R., and Rosell, R. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? Ann. Rev. Entomol. 40:511-534.
- Cherif, C., and Russo, M. 1983. Cytological evidence of the association of a geminivirus with the tomato yellow leaf curl disease in Tunisia. Phytopathol. Z. 108:221-225.
- Cohen, S., and Harpaz, I. 1964. Periodic, rather than continual, acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius). Ent. Exp. Appl. 7:155-166.
- Cohen, S., and Nitzany, F. E. 1966. Transmission and host range of the tomato yellow leaf curl virus. Phytopathology 56:1127-1131.
- Cohen, S., Kern, J., Harpaz, I., and Ben-Joseph, R. 1988. Epidemiological studies of the tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in the Jordan Valley, Israel. Phytoparasitica 16: 259-270.
- Cohen, S., and Antignus, Y. 1994. Tomato yellow leaf curl virus, a whitefly-borne geminivirus of tomatoes. Adv. Dis. Vector Res. 10:259-288.
- Czosnek, H., Ber, R., Antignus, Y., Cohen, S., Navot, N., and Zamir, D. 1988. Isolation of the tomato yellow leaf curl virus-a geminivirus. Phytopathology 78 : 508-512.
- Czosnek, H., Navot, N., and Laterrot, H. 1990. Geographical distribution of tomato yellow leaf curl virus. A first survey using a specific DNA probe. Phytopathol. Medit. 29:1-6.
- Czosnek, H., and Laterrot, H. 1997. A worldwide survey of tomato yellow leaf curl viruses. Arch. Virol. 142 : 1391-1406.
- Dry, I. B., Rigden, J. E., Krake, L. R., Mullineaux, P. M., and Rezaian, M. A. 1993. Nucleotide sequence and genome organization of tomato leaf curl geminivirus. J. Gen. Virol. 74:147-151.
- Francki, R. I. B., Milne, R. G., and Hatta, T. 1985. Geminivirus group.Pages 33-46 In: Atlas of plant virus. Vol.1. CRC Press. Inc. Florida, 222pp.
- Green, S. K., and Kalloo, G. 1994. Leaf curl and yellowing viruses of pepper and tomato: an overview. Asian Vegetable Research and Development Center Tech. Bull. 21:14-35.
- Harrison, B. D. 1985. Advances in geminivirus research. Ann. Rev. Phytopathol. 23:55-82.
- Hong, Y. G., and Harrison, B. D. 1995. Nucleotide sequence from tomato leaf curl viruses from different countries: evidence for three geographically separate branches in evolution of coat protein of whitefly-transmitted geminiviruses. J. Gen. Virol. 76:2043-2049.
- Kirthi, N., Maiya, S. P., Murthy, M. R. N., and Savithri, H. S. 2001. Evidence for recombination among the tomato leaf curl virus strain/species from Bangalore,

- India. Arch. Virol. 147:255-272.
24. Makkouk, K. M., Shehab, S., and Madjalani, S. E. 1979. Tomato yellow leaf Curl: incidence, yield losses and transmission in Lebanon. *Phytopathol. Z.* 96:263-267.
25. Mazyad, H. M., Nakhla, M. K., El-Amrety, A. A., and Dos, S. A. 1986. Further studies on the epidemiology of tomato yellow leaf curl virus in Egypt. *Acta Hort.* 190 : 121-130.
26. Mansour, A., and A1-Musa, A. 1992. Tomato yellow leaf curl virus: host range and vector-virus relationships. *Plant Pathol.* 41:122-125.
27. Mehta, P., Wyman, J. A., Nakhla, M. K., and Maxwell, D.P. 1994. Transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus by *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 87:1291-1297.
28. Nakhla, M. K., Maxwell, D. P., Martinez, R. T., Carvalho, M. G., and Gilbertson, R. L. 1994. Widespread occurrence of the Eastern Mediterranean strain of tomato yellow leaf curl geminivirus in tomatoes in the Dominican Republic. *Plant Dis* 78:926.
29. Nakhla, M. K., and Maxwell, D. P. 1998. Epidemiology and management of tomato yellow leaf curl disease. Pages 565-583 In: Hadidi, A., Khetarpal, R. K., and Koganezawa, H.(ed.). *Plant Virus Disease Control*. APS Press, Minnesota, 684pp.
30. Perring, T. M., Cooper, A. D., Rodriguez, R. J., Farrar, C. A., and Bellows, T. S. 1993. Identification of a whitefly species by genomic and behavioral studies. *Science* 259:74-77.
31. Pico, B., Diez, M. J., and Nuez, F. 1996. Viral disease causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The tomato yellow leaf curl virus-A review. *Sci. Hort.* 67:151-196.
32. Polston, J. E., and Anderson, P. K. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the western hemisphere. *Plant Dis.* 81:1358-1369.
33. Polston, J. E., McGovern, R. J. and Stansly, P. A. 1994. Tomato yellow leaf curl virus. *UF/IFAS*. <http://hammock.ifas.ufl.edu>.
34. Rojas, A., Kvarneden, A. and Valkonen, J. P. T. 2000. Geminiviruses infecting tomato crops in Nicaragua. *Plant Dis.* 84:843-846.
35. Rubinstein, G., and Czosnek, H. 1997. Long-term association of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) with its whitefly vector *Bemisia tabaci*: effect on the insect transmission capacity, longevity and fecundity. *J. Gen. Virol.* 78:2683-2689.
36. Russo, M., Cohen, S., and Martelli, G. P. 1980. Virus-like particles in tomato plants affected by the yellow leaf curl virus. *J. Gen. Virol.* 49:209-213.
37. Saikia, A. K., and Muniyappa, V. 1989. Epidemiology and control of tomato leaf curl in Southern India. *Trop. Agric.* 66:350-354.
38. Vasudeva, R. S., and Sam Raj, J. 1948. A leaf-curl disease of tomato. *Phytopathology*. 38: 364-369.

## ABSTRACT

Lin, Y. J.<sup>1</sup>, Chen, T. H.<sup>2,4</sup>, and Lai, P. Y.<sup>3</sup> 2003. Survey of Tomato Yellow Leaf Curl Disease and Its Effects on the Growth of Six Tomato Varieties in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 12:109-121. (<sup>1</sup>Agricultural Technical Mission in Indonesia, International Cooperation and Development Fund, R. O. C.; <sup>2</sup> Department of Plant Protection, National Pingtung University of Science and Technology, Taiwan, R. O. C.; <sup>3</sup> Graduate Institute of Tropical Agriculture and International Cooperation, National Pingtung University of Science and Technology, Taiwan, R. O. C.; <sup>4</sup> Corresponding author, E-mail: thchen@mail.npu.edu.tw, Fax: +886-8-7740293)

Tomato yellow leaf curl disease caused by whitefly-transmitted geminivirus is a serious production constraint of tomato worldwide. The objective of this research is to study the disease incidence and the influence of tomato yellow leaf curl disease on tomato growth in Taiwan. Results of this study could be used as reference for epidemic study and disease control in the field. Field symptom visual inspection was conducted first to estimate the incidence of the tomato yellow leaf curl disease (TYLCD) in the field. The areas inspected included ten major tomato-growing counties in Taiwan. Then leaves were collected from TYLCD tomato plants in the field, and subjected to enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the laboratory for serological detection of geminiviruses. Finally, transmission electron microscope (TEM) was used to observe geminivirus particles and the cellular changes of infected plants to identify viral agents in those TYLCD plants. The survey indicates that an incidence of about 17% of tomato crop showed yellow leaf curl symptom in Taiwan. Kaohsiung county was the worst, having 34% disease incidence. Nantou county had the least incidence of 2%. The disease incidence of field survey, as well as the ELISA and actual *Tomato yellow leaf curl virus*-suspect (TYLCV-suspect) infection in the field were significantly affected by two tomato planting factors, different crop season and different area. Particles of geminivirus occurred in the leaf tissue, and cytopathological changes in phloem cells of tomato leaf infected by TYLCV-suspect were observed by TEM. The changes included nucleolus hypertrophy, segregation of nucleolar material into granular and fibrillar ring. In the greenhouse, among six tomato varieties tested, the influence of geminivirus inoculation stage on the days of first symptom appearance were significantly different however there was no difference in the days of the first symptom appearance among the varieties irrespective of the duration of inoculation. The influence of virus inoculation stage on the rate of virus infection showed some differences, and there was no difference whether increasing inoculation days. In field test, the influence of virus inoculation stage on the days of first symptom appearance was significantly different, but was not different among tomato varieties. It was not significantly different among tomato varieties on days to flowering treated at the same day that tomato plants moved to field post transplant, but was significantly different treated at the different day. For Santa variety, the influence of geminivirus infection on plant height was significantly different in 44, 51 and 58 days post tomato transplant, but was not different in 66 days. For Farmers 301 variety, the influence of geminivirus infection on plant height was significantly different in 51 days post tomato transplant, but was not different in 44, 58 and 66 days. For three tomato varieties, namely Faminine Beauty, AVRDC6 and AVRDC33, there were no difference on plant height affected by geminivirus infection observed in 44, 51, 58 and 66 days post tomato transplant.

**Key words:** Tomato yellow leaf curl disease, *Tomato yellow leaf curl virus*, *Tomato leaf curl virus*, disease survey, disease effect on growth