

一種與大理花嵌紋病相關之花椰菜嵌紋病毒 之分子特性分析

趙鴻宇¹ 陳煜焜^{1,2}

1 台中市國光路 250 號 國立中興大學 植物病理學系

2 聯絡作者，電子郵件：ykchen@nchu.edu.tw

接受日期：中華民國 101 年 5 月 2 日

摘要

趙鴻宇、陳煜焜. 2012. 一種與大理花嵌紋病相關之花椰菜嵌紋病毒之分子特性分析. 植病會刊 21: 101-114.

大理花(*Dahlia pinnata* or *D. variabilis*)葉片呈現嵌紋、黃脈與葉脈鑲帶等疑似病毒感染之病徵。電子顯微鏡觀察可發現罹病組織粗汁液含有直徑約 45 nm 的球形病毒顆粒，也可在罹病葉部細胞內觀察到花椰菜嵌紋病毒屬(*Caulimovirus*)典型的內含體，研判疑由大理花嵌紋病相關病毒所引起。萃取罹病大理花組織總量 DNA，配合大理花嵌紋病相關病毒各基因的引子對進行 PCR 反應。選殖各段基因的 PCR 產物並進行核苷酸序列解析。結果顯示病毒基因組的長度(7942 bp)和結構(6 ORF)與 *Caulimovirus* 類似，而核苷酸序列則與 *Dahlia common mosaic virus*-New Zealand (DCMV-NZ)完整序列有高達 98.3%的相同度。各個 ORFs 的核苷酸序列與胺基酸序列亦都和 DCMV-NZ 以及 *Dahlia mosaic virus*-Holland (DMV-Holland)有 90% 以上的相同度；但和同是大理花嵌紋病相關的 DMV-Portland 及 DMV-D10 則有明顯的差異性。本研究解析台灣地區一個大理花嵌紋病相關之病毒的分子特性，證實該病毒為大理花普通嵌紋病毒的台灣分離株(*Dahlia common mosaic virus* Taiwan isolate, DCMV-TW)。

關鍵字: 大理花嵌紋病、大理花嵌紋病毒、大理花普通嵌紋病毒、花椰菜嵌紋病毒屬

緒言

大理花(*Dahlia pinnata* Cav. 或 *D. variabilis*)，又名大麗花、大麗菊、天竺牡丹，為菊科(family *Asteraceae*)、大理花屬(genus *Dahlia*)之花卉作物。現有栽培者均為雜交品種，台灣地區主要栽培於中部一帶。

大理花的病害眾多，僅真菌及卵菌類引起者至少就有

36 種，重要者如白粉病(*Golovinomyces cichoracearum*)、灰黴病(*Botrytis cinerea*)、萎凋病(*Verticillium dahliae*)、菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*)和白絹病(*Athelia rolfsii*)等⁽⁹⁾；細菌類的 *Erwinia carotovora* 和 phytoplasmas⁽¹⁷⁾；以及根瘤線蟲(*Meloidogyne* spp.)亦常見諸報導。感染大理花的病毒較具經濟重要性者有 *Dahlia mosaic virus* (DMV)、

Cucumber mosaic virus (CMV)、*Tomato spotted wilt virus* (TSWV)、*Impatiens necrotic spot virus* (INSV)、*Tobacco streak virus* (TSV)；較不具威脅的則有 *Tobacco ringspot virus* (TRSV)、*Beet mosaic virus* (BtMV)、*Beet yellows virus* (BYV)、*Chrysanthemum virus B* (CVB)、*Tobacco mosaic virus* (TMV)等⁽²⁾。我國曾有的大理花病害記錄則包括白粉病(*E. cichoracenum*; *Sphaerotheca fucsa*)⁽¹⁴⁾、灰黴病(*Botrytis cinerea*)⁽¹³⁾、炭疽病(*Colletotrichum gloeosporioides*)⁽¹⁵⁾、疫病(*Phytophthora capsici*)⁽³⁾、根瘤線蟲(*Meloidogyne incognita*, *M. javanica*)⁽³⁵⁾、根腐線蟲(*Pratylenchus coffeae*)⁽¹⁵⁾、以及大理花嵌紋病毒(*Dahlia mosaic virus*, DMV)⁽²⁰⁾。

大理花嵌紋病(dahlia mosaic disease)早在 1928 年即被發現，是一種藉由蚜蟲傳播的雙股環狀 DNA 病毒 - 大理花嵌紋病毒(*Dahlia mosaic virus*, DMV) - 所引起^(4, 5)。DMV 感染大理花引起全株生長不良，葉片褪綠(chlorosis)、畸形(deformation)、嵌紋(mosaic)、葉脈透化(vein clearing)或葉脈鑲帶(vein banding)等病徵，並伴隨花瓣發育不良及顏色不全等現象⁽¹⁾，病徵因大理花品種而異，亦常見被感染而無病徵表現者⁽⁷⁾。目前已知大理花嵌紋病由三種在分類上屬於花椰菜嵌紋病毒科(簡稱花嵌病毒科，Family *Caulimoviridae*)、花椰菜嵌紋病毒屬(簡稱花嵌病毒屬，Genus *Caulimovirus*)的病毒單獨或複合感染所引起。此三種病毒分別是大理花嵌紋病毒(DMV)⁽²⁹⁾、大理花普通嵌紋病毒(*Dahlia common mosaic virus*, DCMV)^(11, 26)和 DMV 的變種病毒(DMV-D10)^(25, 27)。大理花嵌紋病相關的 DMV 和 DCMV 其基因體全長含 7900-8100 對塩基(base pair, bp)，具有 6 個主要的開放轉譯框架(open reading frame, ORF)，ORF 1-6 依序分別對應移動蛋白(movement protein, MP)、蚜蟲傳播因子(aphid transmission factor, ATF)、去氧核糖核酸附著蛋白(DNA binding protein, DNAbp)、外鞘蛋白(coat protein, CP)、聚合酶多體蛋白(polymerase polyprotein, PP)及內含體蛋白(inclusion body protein, IB)，其中聚合酶多體蛋白(PP)包含蛋白酶(protease, PR)、反轉錄酶(reverse transcriptase, RT)和 RNase H 等酵素^{(11, 19, 25,}

26, 28)。而 DMV-D10 的基因架構雖與 DMV、DCMV 者相似，但其 ORF 4 (CP)有缺失，只具有轉譯胺基端(N terminal) 100 個胺基酸的長度，且與 ORF 5 合併成 ORF 4/5，故其全長僅 7046 bp⁽²⁵⁾。此外，DMV-D10 的 ORF 2 的序列與其他的 caulimoviruses 無相關性，且不具有 ATF 的功能。除此之外，DMV-D10 其餘的基因架構與各 ORF 的核苷酸與胺基酸序列均與 DMV、DCMV 以及其他的 caulimoviruses 近似或有相關性⁽²⁵⁾。台灣地區早有大理花嵌紋病毒(DMV)感染大理花之報導，研究內容主要是利用光學及電子顯微鏡技術診斷出國內販售之大理花有 DMV 感染之實例⁽²⁰⁾，但病毒之血清及分子特性則闕如。本研究以聚合酶連鎖反應技術(polymerase chain reaction, PCR)增幅大理花嵌紋病相關病毒之基因片段，經選殖及解序取得其各開放轉譯框架之完整基因序列，與已知之大理花嵌紋病相關的花嵌病毒(caulimoviruses)之基因序列進行比較，配合大理花的病徵和罹病細胞內之病毒顆粒與內含體之觀察，結果顯示所研究的大理花嵌紋病為大理花普通嵌紋病毒(*Dahlia common mosaic virus*, DCMV)所引起。

材料與方法

大理花病組織與病毒之來源

大理花病株位於台北市內，採有明顯的嵌紋(mosaic)、葉脈黃化(vein chlorosis)與葉脈鑲帶(vein banding)等病徵的病葉為供試材料，並保存於-80°C 冰櫃中備用。

病組織超薄切片之電子顯微鏡觀察

切取數塊 1 mm³ 大小之罹病大理花新鮮葉片組織，以 2% 戊二醛(2% glutaraldehyde)進行前固定(室溫下 2 小時)，經 0.1 M 磷酸緩衝液(pH 7.2)水洗三次(每次 15 分鐘)後，以 1% 四氧化鐵(osmium tetroxide)進行後固定(4°C、2 小時)，0.1M 磷酸緩衝液(pH 7.2)水洗三次後接續以 50%、70%、85%、95%、100% 酒精進行序列脫水(dehydration)。脫水完全之組織塊置入 50% 包埋樹脂(100% LR White : 100%

ethanol = 1:1, v/v)進行滲透(infiltration), 完成後移置組織塊於 LR White 樹脂中, 於 60°C 進行聚合反應 24 小時以上。包埋完成之組織塊以 Leica 超薄切片機(ultra microtome)進行超薄切片(厚度 70-90 nm), 隨後以 2% 醋酸鈾(uranyl acetate)及 2% 檸檬酸鉛(lead citrate)雙重染色, 於穿透式電子顯微鏡(JEM -1400, JOEL, Japan)進行觀察。

病組織全量 DNA 萃取與純化

取具有病徵的大理花葉片組織 20 mg, 利用 AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences, USA)依廠商建議步驟進行之。組織以液態氮處理並研磨至粉末狀, 加入 G-A 緩衝液及 RNase A 後, 將混合液體移入微量離心管中並於 65°C 下靜置 15 分鐘。再加入 G-B 緩衝液及 4°C 預冷的 DV 緩衝液, 混合均勻後離心 2 分鐘(14000 g), 重覆加入 DV 緩衝液和離心過程後收集下層液。DNA 懸浮液以 Spin-filter 和 BV 緩衝液處理後, 以 Miniprep column 吸附 DNA, 經和 W1、W2 緩衝液洗滌後, 以 Eluent 回溶即得純化的 DNA。以純化 DNA 為模板, 進行核酸片段增幅。

引子對設計

自 NCBI Genbank 選已知之大理花嵌紋病毒(DMV) ORF 5 之序列, 包括 AY309479、EU155198、EU155199、EU155200、EU155201、EU199202 等序列進行排比, 選出序列保守的區段, 設計簡併式引子對 DCMV 1F/1R(表一)。第一段增幅出的 cDNA 片段經選殖與解序, 得知與 DCMV (JN032736)最為近似。後續引子對以 DCMV 序列為本, 設計專一性引子對(表一)。

聚合酶連鎖反應(PCR)

取 6 μl 純化之罹病大理花總量 DNA 為模板, 依序加上、下游引子(表一)各 1 μl (10 μM)、0.6 μl 的 Taq DNA 聚合酶(Invitrogen, USA)、4 μl 的 10X Taq reaction buffer [500mM KCl, 17.5mM MgCl₂, 100mM Tris-HCl (pH 9.0), 1% Trion X-100]、3 μl 的 2.5 mM dNTP 和 24.4 μl 的 ddH₂O。均勻混合後置於聚合酶連鎖反應機器(PTC-200, MJ

表一、用於增幅大理花普通嵌紋病毒台灣分離株(DCMV-TW)特定 cDNA 片段的引子對及其序列

Table 1. Primer pairs used for amplifying specific cDNA fragments of the Dahlia common mosaic virus Taiwan isolate (DCMV-TW)

Primer pairs	Sequences (5'-3')	Position	Size (bp)
DCMV 1F	GCAGGAC/TTATGCTTAGCC	3467-3484	1156
DCMV 1R	GGAAATTAATTTTCTC	4622-4607	
DCMV 2F	GAAGATGATATCCCACCTC	2139-2157	1394
DCMV 2R	TGTGTTGGGAGAATTTTCCC	3532-3513	
DCMV 3F	GCTTAGGCATAATACTCTCT	4563-4582	1422
DCMV 3R	CTTCATCATAATGGGAGAAC	5984-5965	
DCMV 4F	GGTCCATTAACATTGACCAT	0794-0813	1496
DCMV 4R	CAATATCGAGGATATTGTTG	2289-2270	
DCMV 5F	CGGCAAAGGACAAGGTATCT	5890-5909	1510
DCMV 5R	GCTGCATCCTCTGCAAGGCG	7399-7380	
DCMV 6F	GAAGGCTAGATAGCAGTGAA	7333-7352	1571
DCMV 6R	TTCCACAGATCTGTTCTAGC	0961-0942	

Research Inc., MA, USA)進行聚合酶連鎖反應。首先於 94°C 進行變性反應(denature) 5 分鐘，隨後進行 40 個循環反應，每一循環反應為變性反應(94°C) 45 秒，黏合反應(50°C) 1 分 45 秒，聚合反應(72°C) 1 分鐘，最後於 72°C 延長聚合反應 10 分鐘。

病毒核酸片段選殖、定序及序列和類緣分析

以 1%瓊脂膠體電泳(agarose gel electrophoresis)分析 PCR 產物，並利用純化套組(DNA Clean/Extraction Kit, 傑恩馬克, 台中, 台灣)進行純化。將純化產物選殖於 TOPO TA 選殖套組(TOPO TA Cloning Kit, Invitrogen, USA)。利用質體抽取套組 (Mini-prep kit, 傑恩馬克, 台中, 台灣)抽取質體 DNA，以限制酵素 *EcoRI* 酶切，篩選出具有符合預期大小片段之質體 DNA，送至國立中興大學生物科技發展中心進行核酸序列解析。全長度之病毒 DNA 分 6 次進行增幅與選殖(圖三、A)。

病毒基因體序列與演化類緣關係之分析，採用 Vector NTI 軟體進行之。將解析完成之序列以 Assemble 逐一跨疊組成全長度序列，再與 DCMV-NZ (JN032736)進行排比 (align)，決定各個 ORF 的區域。全長度序列與各個 ORF 的序列以及已知的 Caulimovirus 病毒相關序列輸入 Vector NTI 程式中，以 AlignX 進行序列比對分析序列相同度。再以 ClustalX2 將檔案轉成 aln 形式，以 MEGA4 儲存為 meg 形式並以 Bootstrap Test of Phylogeny 中的 Neighbor-Joining 畫出親緣演化樹圖。使用的序列除本研究的病毒之序列(AB740270、AB740271、AB740272、AB740273、AB740274、AB740275)之外，亦包括已知的 caulimoviruses 完整及各 ORF 序列: DCMV (JN032736), DMV-Holland ORFs 1-6 (EU090952 – EU090957), DMV-Portland ORFs 1-4 (AY291585 – AY291588) / ORFs 5-6 (AY309479 - AY309480), DMV-D10 ORF 1 (EU096520) / ORF 3 (EU096521) / ORF4-5 (EU096522) / ORF 6 (EU096523), *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) (V00141), *Carnation etched ring virus* (CERV) (X04658), *Eupatorium vein clearing virus* (EVCV) (EU569831), *Figwort mosaic*

virus (FMV)(X06166), *Horseradish latent virus* (HRLV) ORFs 1-6 (AY534728 - AY534733), *Lamium leaf distortion associated virus* (LLDV) (EU554423), *Mirabilis mosaic virus* (MiMV) (AF454635), *Strawberry vein banding virus* (SVBV) (X97304)等。

結 果

大理花病徵

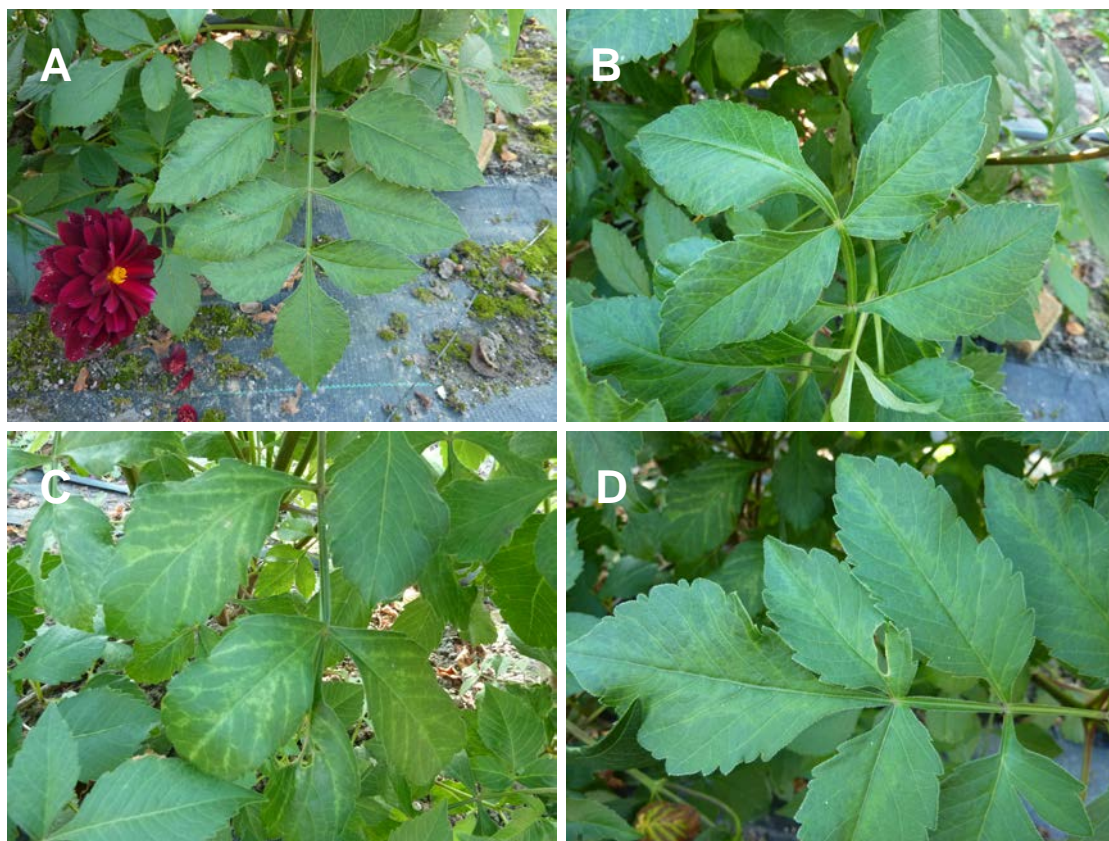
大理花病株位於台北市內，全株生長狀況良好，未有矮化或異常狀，但部份葉片則有明顯的嵌紋(mosaic)、葉脈黃化(chlorotic vein)與葉脈鑲帶(vein banding)等病徵(圖一)，亦有部份葉片無病徵表現。

電子顯微鏡之病部超薄切片觀察

罹病細胞內可觀察到與花椰菜嵌紋病毒屬病毒(caulimoviruses)特有的內含體極為相似的構造(圖二)。花椰菜嵌紋病毒的內含體有高電子密度型(electron-dense inclusion body)與低電子密度型(electron-lucent inclusion body)。試片中觀察到類似花椰菜嵌紋病毒屬病毒高電子密度型內含體的構造，有圓形、橢圓形、或不整形者，均不具有外膜。其大小不一，小者直徑約 1-2 μm ，大者直徑可大至 5 μm 以上。單一個體的內含體外圍為一圈高電子密度(深黑色)基質，內部則為淺色”空泡”狀(圖二，A 和 B)，病毒顆粒散佈於深色及淺色基質中。較大型的內含體似由數個單一個內含體合併而成，深色基質內散見數個淺色”空泡”區域，亦可見病毒顆粒散佈其間(圖二，C 和 D)。單離的低電子密度型內含體未在鏡檢過程中發現，但有疑似兩種內含體合併而成者(圖二，C)。

聚合酶連鎖反應

最初的 cDNA 片段係由引子對 DCMV 1F 及 1R 所增幅出，長度為 1156 bp (表一和圖三)。經選殖定序後發現與 DCMV-NZ (JN032736)的 ORF 5 部份序列最為近似，有 99%的序列相同度。即以 DCMV-NZ 的序列為本，設計後



圖一、大理花普通嵌紋病毒(DCMV)引起之大理花病徵。A 和 B 為嵌紋(mosaic)，C 為黃脈(chlorotic veins)，D 為葉脈鑲帶(vein banding)。

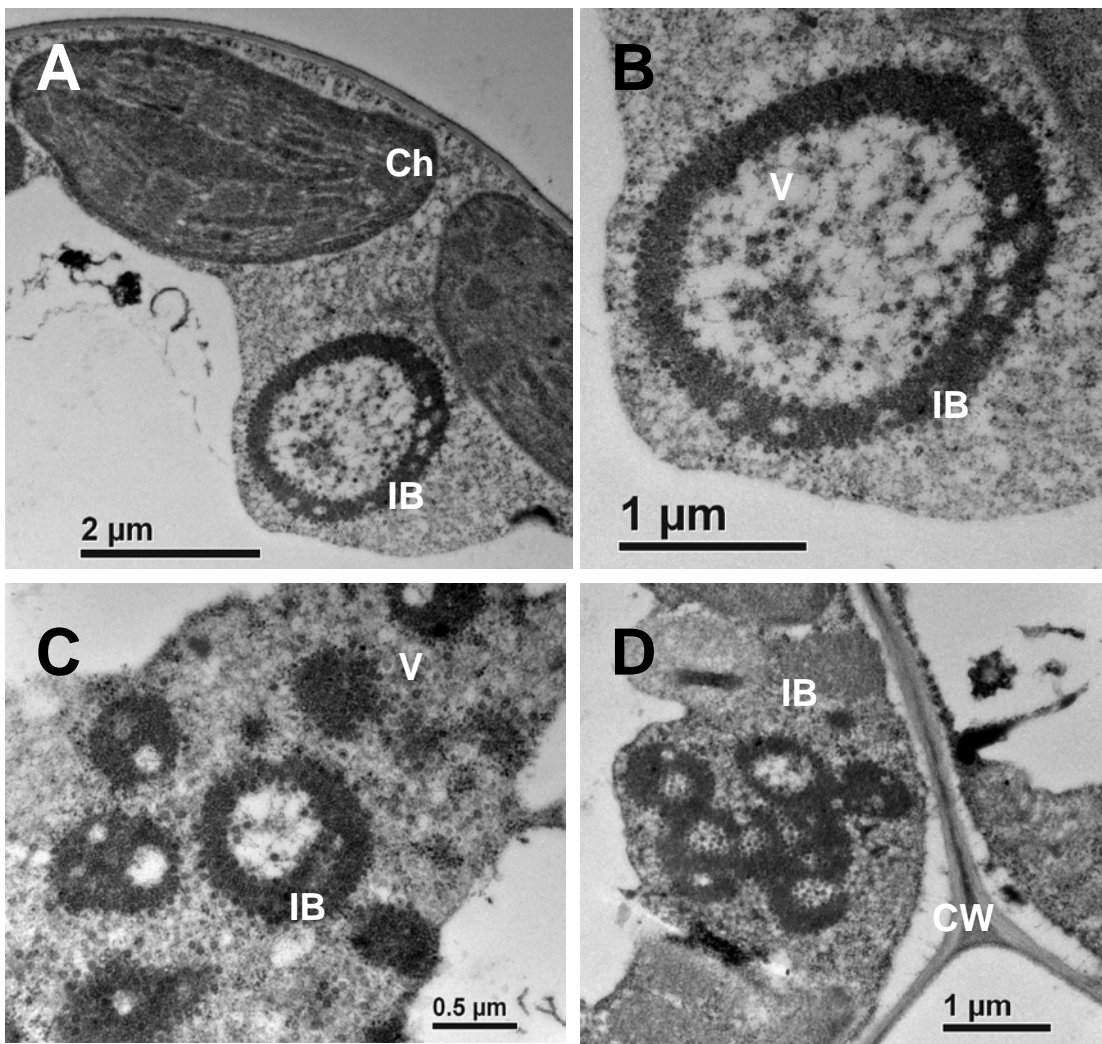
Fig. 1. Symptoms of mosaic (panels A and B), chlorotic veins (panel C), and vein banding (panel D) of dahlia disease caused by Dahlia common mosaic virus (DCMV).

續各組引子對(DCMV 2F/2R、DCMV 3F/3R、DCMV 4F/4R、DCMV 5F/5R 和 DCMV 6F/6R)。各組引子對序列、引子對所對應的位置及預計增幅之片段大小與片段涵蓋之區域詳示如表一和圖三(A)。各組引子對均可分別自大理花病組織之總量 DNA 增幅出符合預計大小的 cDNA 片段(圖三、B)。

大理花嵌紋病相關病毒的基因結構

聚合酶連鎖反應增幅的片段經選殖與定序後，各片段依序跨疊即得本研究之大理花嵌紋病相關病毒的基因全長度序列。其基因全長含 7942 塩基對(base pair, bp)，具有 6 個開放轉譯框架(open reading frame, ORF)，與花椰菜嵌紋病毒屬(genus *Caulimovirus*)的病毒之基因長度與結構類似。基因長度與結構的分析顯示，本研究的大理花

嵌紋病相關病毒應是花椰菜嵌紋病毒屬的成員。ORF1 長度為 969 塩基對(bp 1-969)，其基因產物是移動蛋白(MP 或 P1)。ORF 2 具有 480 塩基對(bp 962 – 1441)，對應蚜蟲傳播因子(ATF 或 P2)。ORF 3 具有 363 塩基對(bp 1438 – 1801)，對應去氧核糖核酸附著蛋白(DNAbp 或 P3)。ORF 4 具有 1518 塩基對(bp 1785 – 3302)，基因產物為病毒的外鞘蛋白(CP 或 P4)。ORF 5 具有 2019 塩基對(bp 3299 – 5317)，對應產生聚合酶多體蛋白(PP 或 P5)。ORF 6 具有 1515 塩基對(bp 5444 – 6958)，基因表現產生內含體蛋白(IB 或 P6)。ORFs 1-6 的基因庫序列登錄碼(accession numbers)分別是 AB740270、AB740271、AB740272、AB740273、AB740274、AB740275。



圖二、大理花普通嵌紋病毒(DCMV)在罹病大理花細胞內形成單離的內含體(inclusion body, IB) (A 和 B)，不同時期的內含體(C)和數個內含體癒合形成的典型內含體(D)。內含體(IB)內外之黑色實心點為 DCMV 病毒顆粒(V)，Ch 為葉綠體，CW 為細胞壁。

Fig. 2. An isolated inclusion body (A and B), and inclusion bodies in DCMV-infected dahlia leaf cells panels. A and B showed an isolated inclusion body, while panels C and D are inclusion bodies in different stage. Black dots resided in inclusion bodies are DCMV virus particles(V). IB: inclusion body, Ch: chloroplast, CW: cell wall.

大理花嵌紋病相關病毒的類源分析

本研究解析之病毒全長度基因核苷酸序列與已知的大理花嵌紋病相關病毒相對應的基因序列進行比較，結果顯示其與大理花普通嵌紋病毒紐西蘭病毒株(Dahlia common mosaic virus New Zealand isolate, DCMV-NZ)的序列(JN032736)最為近似，有 98.3%的核苷酸相同度(nucleotide identity)，而與其他同屬(genus *Caulimovirus*)病毒的核苷酸相似度則介於 49.6% - 62.3%之間(表二)。由

此推定本研究解析之病毒應是大理花普通嵌紋病毒的台灣分離株(Dahlia common mosaic virus Taiwan isolate)，以 DCMV-TW 簡稱之。演化親緣關係之分析顯示 DCMV-TW 確與花椰菜嵌紋病毒屬的病毒(caulimoviruses)有類緣相關，且與 DCMV-NZ 最為近緣；而在同屬病毒之間則與 *Mirabilis mosaic virus* (MiMV)和 *Figwort mosaic virus* (FMV)較為近緣且成一類(cluster)(圖四)。

表二、大理花普通嵌紋病毒台灣分離株(DCMV-TW)與花椰菜嵌紋病毒屬(*Caulimovirus*)之病毒各基因核苷酸序列相同度(%)之比較

Table 2. Comparison of nucleotide sequence identities (%) between ORFs of Dahlia common mosaic virus Taiwan isolate (DCMV-TW) to that of other members of *Caulimovirus*

Virus*	Full-length	ORF 1	ORF 2	ORF 3	ORF 4	ORF 5	ORF 6
DCMV-NZ	98.3	97.6	97.2	98.1	98.7	99.1	99.1
DMV-Holland	NA**	98.3	97.4	98.3	98.7	98.9	99.0
DMV-Portland	NA	79.3	67.5	60.3	61.6	68.1	77.7
DMV-D10	NA	59.7	NA	50.1	NA	55.2	53.9
CaMV	51.7	61.1	49.0	50.5	52.8	61.9	47.9
CERV	54.3	54.8	53.3	50.5	52.2	63.3	46.8
EVCV	51.7	59.1	55.2	49.4	51.4	58.1	44.6
FMV	57.7	61.4	58.8	48.2	54.4	68.1	54.2
HRLV	NA	60.0	55.0	54.8	51.5	60.3	50.3
LLDV	52.7	55.9	48.7	54.8	52.7	62.2	47.8
MiMV	62.3	71.1	63.3	53.1	56.1	75.4	58.9
SVBV	49.6	51.1	49.3	46.6	48.0	56.2	48.6

* , DCMV: Dahlia common mosaic virus (JN032736), DMV: *Dahlia mosaic virus*, DMV-Holland ORFs 1-6 (EU090952 – EU090957), DMV-Portland ORFs 1-4 (AY291585 – AY291588)/ORFs 5-6 (AY309479-AY309480), DMV-D10 ORF 1 (EU096520)/ORF 3 (EU096521)/ORF4-5 (EU096522)/ORF 6 (EU096523), CaMV: *Cauliflower mosaic virus* (V00141), CERV: *Carnation etched ring virus* (X04658), EVCV: *Eupatorium vein clearing virus* (EU569831), FMV: *Figwort mosaic virus* (X06166), HRLV: *Horseradish latent virus* ORFs 1-6 (AY534728-AY534733), LLDV: *Lamuim leaf distortion virus* (EU554423), MiMV: *Mirabilis mosaic virus* (AF454635), SVBV: *Strawberry vein banding virus* (X97304).

** , NA indicates the sequences are not available in the Genbank .

大理花普通嵌紋病毒台灣分離株(DCMV-TW)各 ORF 的序列與類源分析

由於目前在遺傳資訊資料庫登錄全長度序列的大理花嵌紋病相關病毒僅 DCMV-NZ 一個病毒株，因此 DCMV-TW 與其他大理花嵌紋病相關病毒(DMV 與 DMV-D10)以及花椰菜嵌紋病毒屬的病毒之比較以各 ORF 之序列分別行之(表二與表三)。

DCMV-TW 的 ORF 1 (AB740270)是病毒的移動蛋白

基因 (movement protein gene)，與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的核苷酸序列的相同度分別為 96.7% 與 98.3%；與 DMV-Portland 和 DMV-D10 則分別為 79.3% 與 59.7%；與同屬其他病毒則介於 51.1% (*Strawberry vein banding virus*, SVBV) – 71.1% (MiMV)之間 (表二)。移動蛋白(MP)的胺基酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的相同度分別為 96.6% 與 97.5%；與 DMV-Portland 和 DMV-D10 則分別為 78.2% 與 46.5%；與同屬其他病毒則介於 30.5% (SVBV) – 69.5% (MiMV)之間 (表三)。MP 的

表三、大理花普通嵌紋病毒台灣分離株(DCMV-TW)與花椰菜嵌紋病毒屬(*Caulimovirus*)之病毒各基因之胺基酸序列相同度(%)之比較Table 3. Comparison of amino acid sequence identities (%) between ORFs of Dahlia common mosaic virus Taiwan isolate (DCMV-TW) to that of other members of *Caulimovirus*

Virus*	ORF 1	ORF 2	ORF 3	ORF 4	ORF 5	ORF 6
DCMV-NZ	96.6	94.5	94.2	98.0	99.0	98.4
DMV-Holland	97.5	95.1	91.7	97.8	98.7	98.2
DMV-Portland	78.2	59.8	43.5	48.5	68.4	75.1
DMV-D10	46.5	NA**	35.7	NA	57.4	35.4
CaMV	51.7	37.2	38.2	31.2	58.5	23.1
CERV	42.4	34.1	31.3	30.3	59.5	24.4
EVCV	48.5	40.1	25.4	27.3	52.9	20.0
FMV	51.5	47.3	34.0	38.6	71.3	31.3
HRLV	48.0	39.6	36.3	30.9	58.2	25.9
LLDV	44.1	34.7	39.8	34.7	57.1	21.4
MiMV	69.5	54.4	37.6	35.8	77.8	45.9
SVBV	30.5	14.4	14.6	27.1	49.0	21.2

*, DCMV: Dahlia common mosaic virus (JN032736), DMV: *Dahlia mosaic virus*, DMV-Holland ORFs 1-6 (EU090952 – EU090957), DMV-Portland ORFs 1-4 (AY291585 – AY291588)/ORFs 5-6 (AY309479- AY309480), DMV-D10 ORF 1 (EU096520)/ORF 3 (EU096521)/ORF4-5 (EU096522)/ORF 6 (EU096523), CaMV: *Cauliflower mosaic virus* (V00141), CERV: *Carnation etched ring virus* (X04658), EVCV: *Eupatorium vein clearing virus* (EU569831), FMV: *Figwort mosaic virus* (X06166), HRLV: *Horseradish latent virus* ORFs 1-6(AY534728-AY534733), LLDV: *Lamium leaf distortion virus* (EU554423), MiMV: *Mirabilis mosaic virus* (AF454635), SVBV: *Strawberry vein banding virus* (X97304).

**, NA indicates the sequences are not available in the Genbank .

胺基酸序列中也具備 *caulimoviruses* 應有的 putative transport domain - GNLAYGKFMFTVY，但第四個胺基酸 alanin (A)在 DCMV-TW 的 MP 中則為 cycteine (C)。MP 的演化親緣分析顯示 DCMV-TW 與 DMV-Holland、DCMV-NZ、DMV-Portland 和 MiMV 成一類(圖五、A)。

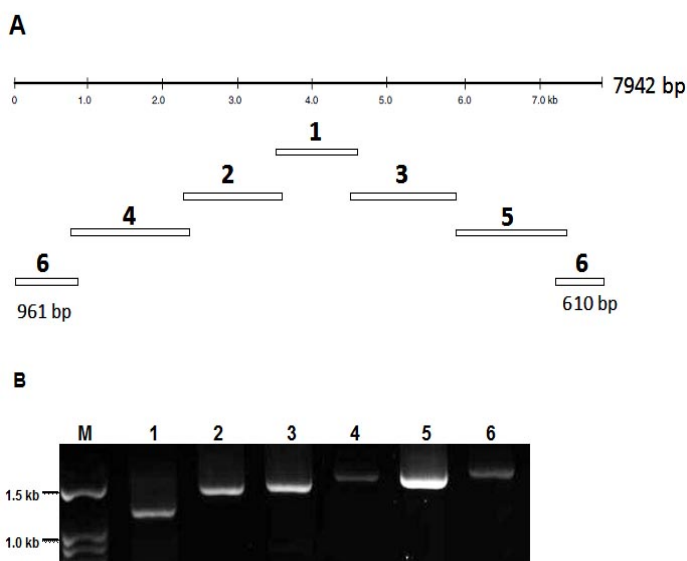
ORF 2 是 *caulimoviruses* 的蚜蟲傳播因子(ATF)，DCMV-TW 的 ORF 2 (AB740271)的核苷酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的 ORF 2 核苷酸序列的相同度分別為 97.2% 與 97.4%；與 DMV-Portland 者則為

67.5%；與同屬其他病毒則介於 49.0% (CaMV) – 63% (MiMV)之間(表二)。ATF 的胺基酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的相同度分別為 94.5% 與 95.1%；與 DMV-Portland 者則為 59.8%；與同屬其他病毒則介於 14.4% (SVBV) – 54.4% (MiMV) 之間(表三)。*Caulimoviruses* 的 ATF 與病毒顆粒接觸的 motif (IXG, X 表任何胺基酸)在 DCMV-TW 為 IIG，位在 ATF 蛋白 C 端最末處(aa 158-160)。演化親緣分析顯示 DCMV-TW 與 DMV-Holland、DCMV-NZ 近似，與 DMV-Portland 和

MiMV 成一類(圖五、B)。

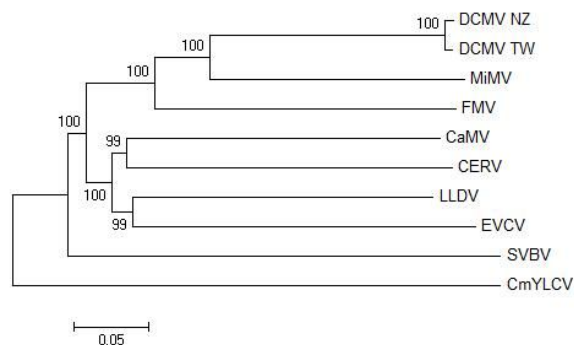
ORF 3 表現產生去氧核糖核酸附著蛋白(DNA binding protein, DNAbp), DCMV-TW 的 ORF 3 (AB740272) 的核苷酸序列與對應於 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的相同區域之核苷酸序列相同度分別為 98.1% 與 98.3%; 與 DMV-Portland 和 DMV-D10 者則分別為 60.3%和 50.1%; 與同屬其他病毒則介於 46.6% (SVBV) – 54.8% (HRLV 和 LLDV)之間(表二)。DNAb 的胺基酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的相同度分別為 94.2% 與 91.7%; 與 DMV-Portland 和 DMV-D10 者則分別為 43.5%和 35.7%; 與同屬其他病毒則介於 14.6% (SVBV) – 39.8% (LLDV)之間(表三)。演化親緣關係顯示 DCMV 的三個病毒株可和 DMV-D10 成一類, DMV-Portland 則與 MiMV 同一類(圖五、C)。

Caulimoviruses 的 ORF 4 是病毒的外鞘蛋白(coat protein, CP), DCMV-TW 的 ORF 4 (AB740273)的核苷酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的對應序列之相同度均為 98.7%; 與 DMV-Portland 者則僅 61.6%; 與同屬其他病毒則介於 48.0% (SVBV) – 56.1% (MiMV)之間(表二)。DCMV-TW CP 的胺基酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的相同度分別為 98.0% 與 97.8%; 與 DMV-Portland 者則僅有 48.5%相同度; 與同屬其他病毒則介於 27.1% (SVBV) – 38.6% (FMV)之間(表三)。Caulimoviruses 的 CP 有一個“鋅指區(zinc finger)”(或稱 cysteine motif), 是與 RNA-binding 有關的區域(motif), 其序列常是 CX₂CX₄HX₄C。這個區域在 DCMV-TW CP 上則為 CWICTEEGHYANEC (aa 441-454)。演化親緣關係上, DCMV-TW 與 DMV-Holland、DCMV-NZ、DMV-Portland 和 MiMV 較為近緣(圖五、D)。



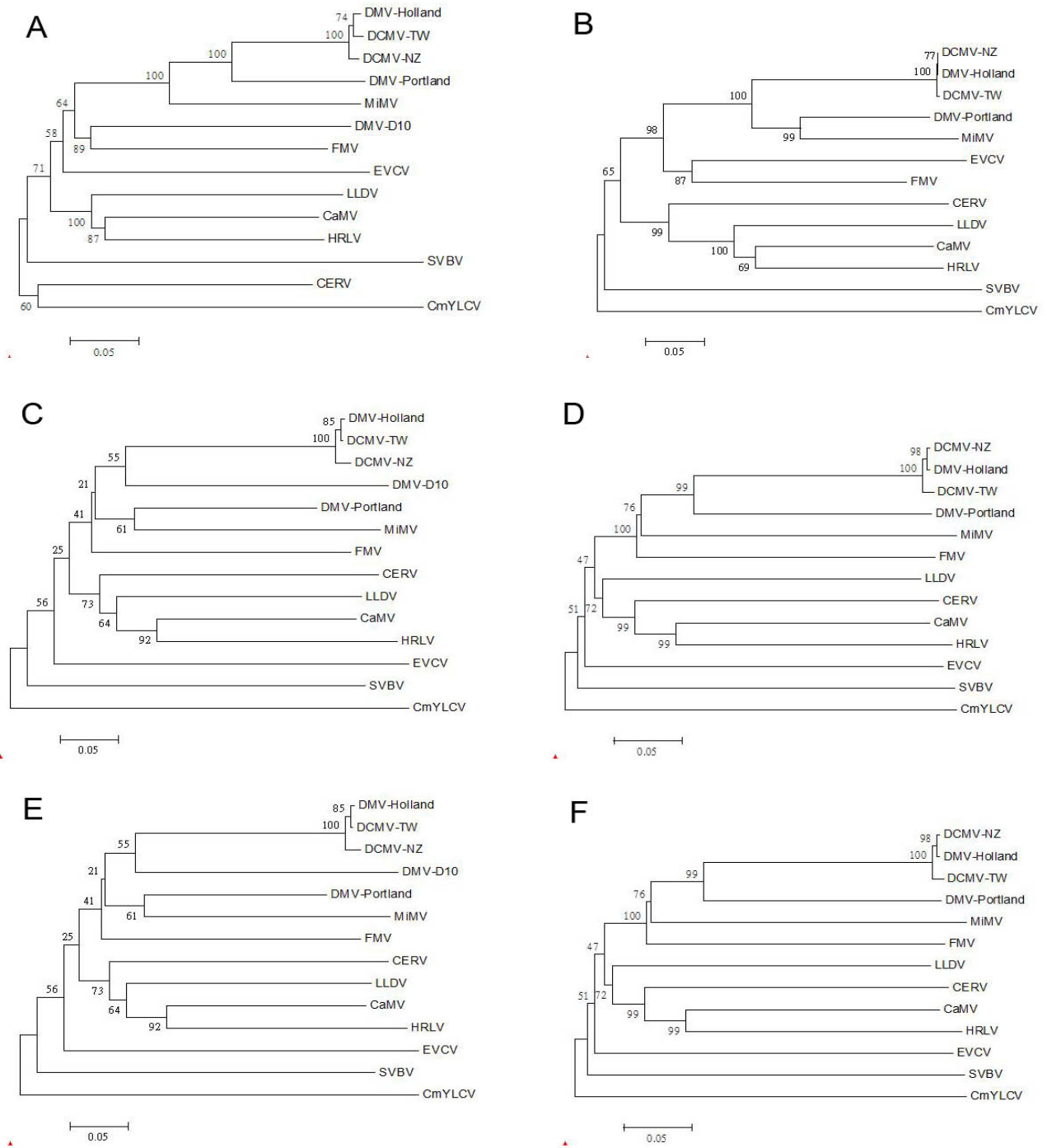
圖三、DCMV-TW 引子對 1-6 (表一)所增幅之相對應 cDNA 片段之位置圖(A)及各引子對自大理花罹病組織全量 DNA 增幅之片段(1-6)(B)。

Fig. 3. The representation of locations of the corresponding clones amplified by primer sets 1-6 (Table 1) (A) and the corresponding PCR products amplified from total DNA of diseased dahlia (B).



圖四、花椰菜嵌紋病毒屬病毒全長度基因組序列之親緣演化樹圖。

Fig. 4. Phylogenetic trees based on the full length genome of the viruses of the genus *Caulimovirus*. DCMV: Dahlia common mosaic virus, DCMV-NZ (JN032736); CaMV: *Cauliflower mosaic virus* (V00141); CERV: *Carnation etched ring virus* (X04658); EVCV: *Eupatorium vein clearing virus* (EU569831); FMV: *Figwort mosaic virus* (X06166); LLDV: *Lamium leaf distortion virus* (EU554423); MiMV: *Mirabilis mosaic virus* (AF454635); SVBV: *Strawberry vein banding virus* (X97304). CmYLV: *Cestrum yellow leaf curling virus* (AF364175) as outgroup.



圖五、花椰菜嵌紋病毒屬之成員各開放轉譯架(ORF)之親緣演化樹圖。

Fig. 5. Phylogenetic trees of the different open reading frames (ORF) of viruses of the genus *Caulimovirus*. A to F indicate the ORFs 1 through 6. DCMV: Dahlia common mosaic virus, DCMV-NZ (JN032736), DMV: *Dahlia mosaic virus*, DMV-Holland ORFs 1-6 (EU090952 – EU090957), DMV-Portland ORFs 1-4 (AY291585 – AY291588)/ORFs 5-6 (AY309479-AY309480), DMV-D10 ORF 1 (EU096520)/ORF 3 (EU096521)/ORF4-5 (EU096522)/ORF 6 (EU096523), CaMV: *Cauliflower mosaic virus* (V00141), CERV: *Carnation etched ring virus* (X04658), EVCV: *Eupatorium vein clearing virus* (EU569831), FMV: *Figwort mosaic virus* (X06166), HRLV: *Horseradish latent virus* ORFs 1-6 (AY534728-AY534733), LLDV: *Lamium leaf distortion virus* (EU554423), MiMV: *Mirabilis mosaic virus* (AF454635), SVBV: *Strawberry vein banding virus* (X97304). *CmYLV*: *Cestrum yellow leaf curling virus* (AF364175) as outgroup.

DCMV-TW 的 ORF 5 (AB740274) 是 caulimoviruses 的複製酵素基因(polymerase gene)，具有三個主要區域(domains)分別是 aspartic protease、反轉錄酵素(reverse transcriptase)和 RNase 等 domains，基因表現產生多蛋白複製酵素(polyprotein polymerase, PP)。DCMV-TW ORF 5 與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的核苷酸序列的相同度分別為 99.1% 與 98.9%；與 DMV-Portland 和 DMV-D10 則分別為 68.1% 與 55.2%；與同屬其他病毒則介於 56.2% (SVBV) – 75.4% (MiMV)之間(表二)。複製酵素(PP)的胺基酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的相同度分別為 99.0% 與 98.7%；與 DMV-Portland 和 DMV-D10 則分別為 68.4% 與 57.4%；與同屬其他病毒則介於 49.0% (SVBV) – 77.8% (MiMV)之間(表三)。ORF5 (PP)的演化親緣分析顯示與 ORF1 (MP)(圖五、A)極為類似，DCMV-TW 與 DMV-Holland、DCMV-NZ、DMV-Portland 和 MiMV 成一類(圖五、D)。

ORF 6 是 caulimoviruses 的內含體蛋白基因(inclusion body protein gene)，其表現產物為內含體蛋白(inclusion body protein, IB)，DCMV-TW 的 ORF 6 (AB740275)的核苷酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的對應序列之相同度分別為 99.1% 與 99.0%；與 DMV-Portland 和 DMV-D10 者則分別為 77.7% 和 53.9%；與同屬其他病毒則介於 44.6% (EVCV) – 58.9% (MiMV)之間(表二)。DCMV-TW PP 的胺基酸序列與 DCMV-NZ 及 DMV-Holland 的相同度分別為 98.4% 與 98.2%；與 DMV-Portland 和 DMV-D10 者則分別為 75.1% 和 35.4%；與同屬其他病毒則介於 20.0% (EVCV) – 45.9% (MiMV)之間(表三)。演化親緣關係則與前述的 ORFs 類似，DCMV-TW 與 DMV-Holland、DCMV-NZ、DMV-Portland 較為近緣(圖五、F)。

討 論

大理花(dahlia, *Dahlia pinnata* or *D. variabilis*)罹患大理花嵌紋病(dahlia mosaic disease)出現嵌紋、葉脈黃化、葉脈鑲帶及矮化等病徵，一般咸認為與大理花嵌紋病毒

(*Dahlia mosaic virus*, DMV)有關^(4, 5)。DMV 是花椰菜嵌紋病毒科(family Caulimoviridae)、花椰菜嵌紋病毒屬(genus *Caulimovirus*)的成員，其基因組為雙股去氧核糖核酸(double-stranded DNA, dsDNA)，大小約 8000 對塩基(base pair, bp)。DMV 病毒顆粒呈球形，直徑約 40-50 nm，自然界中藉蚜蟲傳播，實驗室內可機械傳播之，但其寄主範圍窄，僅感染有限的菊科(Asteraceae)植物^(4, 5, 6, 19)。近年來陸續在美國^(8, 24, 25, 28)、墨西哥⁽⁸⁾、荷蘭^(23, 26)、立陶宛⁽³¹⁾、埃及⁽¹⁾和紐西蘭^(11, 27)等國家發現與大理花嵌紋病相關的新興 caulimoviruses。目前已知有三種 *Caulimovirus* 屬的病毒可單獨或複合感染引起大理花嵌紋病，分別是大理花嵌紋病毒(DMV)⁽²⁹⁾、大理花普通嵌紋病毒(DCMV)^(11, 26)和大理花嵌紋病毒-D10 (DMV-D10)^(25, 28)。DCMV 早期被認為是 DMV 的分離株，如 DMV-Holland (EU090952 – EU090957)⁽²⁶⁾。根據病毒分類的原則，*Caulimovirus* 屬病毒的 ORF 5 [polymerase (RT+ RNase H)] 的核苷酸序列差異達 20% 以上是鑑別種間差異的條件之一⁽¹⁹⁾。分子證據顯示，比較各個 ORF (ORFs 1-6) 的核苷酸序列後，可視 *Dahlia common mosaic virus* (DCMV)⁽¹¹⁾ 和 *Dahlia mosaic virus-Holland* (DMV-Holland)⁽²⁶⁾ 是與 *Dahlia mosaic virus* (DMV) (AY291585 – AY291588, AY309479-AY309480) 為不同種的 *Caulimovirus*。*Dahlia common mosaic virus* (DCMV) 之名由紐西蘭研究團隊提出⁽¹¹⁾，以便與 *Dahlia mosaic virus* (DMV) 區別。DCMV 已被列為 *Caulimovirus* 屬的暫定種(tentative species)⁽¹⁹⁾。本研究受測病毒之 6 個 ORF 的核苷酸序列與胺基酸序列均與 DCMV-NZ 和 DMV-Holland 有分別高達 97% 和 91% 以上的相同度(表二、三)，顯示受測病毒應是大理花普通嵌紋病毒的台灣分離株(DCMV-TW)。有些 *Caulimovirus* 的基因會併入寄主植物的基因體，因此被視為是內源性植物反轉錄病毒(endogenous plant retrovirus, EPRV)⁽³⁴⁾。已知 DMV-D10 的基因組會併入大理花的基因體內，也被視為是一種 EPRV，但尚無發現 DMV 與 DCMV 有此特性⁽¹⁾。DMV-D10 雖不具備形成病毒顆粒與被蚜蟲傳播的能力，但可經種子傳播且種傳率可高達 100%^(24, 25)。因此，歐美

地區田間檢測大理花嵌紋病相關病毒的發生率，發現被單一病毒感染病株均以 DMV-D10 最普遍，DCMV 次之，DMV 再次之，兩種或三種病毒複合感染者亦常見^(7, 24)。台灣地區有關於大理花嵌紋病的研究僅有早期利用顯微鏡診斷技術檢查大理花病株，發現罹病細胞內有 *Caulimovirus* 特有的內含體，認為是受大理花嵌紋病毒 (DMV) 的感染⁽²⁰⁾。試驗過程中亦曾使用 PCR 配合 DMV-D10 的專一性引子對⁽²⁴⁾檢測同一受測之大理花樣本，也可以增幅出符合預計大小的 cDNA 片段(資料未示出)。以 DMV-D10 具有 EPRV 的特性，在該病株中有 DCMV 與 DMV-D10 同時存在，是合理的推測。

感染大理花的病毒至少有 10 種以上⁽²⁾，供試植株除檢測 DNA 病毒外，並未檢測是否感染其他病毒，因此不能排除其他病毒亦是造成病徵的可能因子。不過，以受測病株之組織粗汁液機械接種於奎藜 (*Chenopodium quinoa*)，三週後奎藜接種葉上仍無局部性病斑形成(資料未示出)，至少可排除可感染 *C. quinoa* 的部份大理花 RNA 病毒，如 CMV、TSWV、INSV、TSV、TRSV、BtMV、BYV、和 TMV 等感染之可能性。

花椰菜嵌紋病毒屬的病毒會在寄主細胞內形成具有鑑別性的內含體(inclusion body)^(10, 21, 22, 30, 33)，此類內含體呈圓或橢圓形，高電子密度的深色基質內有低電子密度的淡色圓形區域存在，淺色區域宛若空泡，故有稱此類內含體為空泡狀內含體(voculate inclusion)者⁽²⁰⁾。花椰菜嵌紋病毒屬病毒的內含體是病毒複製、顆粒合成與儲存的處所⁽¹⁶⁾，故可見病毒顆粒散布其中。此屬病毒的內含體有兩種：一為高電子密度型內含體(electron-dense inclusion body)，另一種則是低電子密度型(electron-lucent inclusion body)。前者基質由 ORF 6 的產物 - 內含體蛋白(IB)所組成；後者的基質是 ORF 2 的產物 - 蚜蟲傳播因子(ATF)所組成^(12, 16, 18)。所觀察的大理花罹病細胞內常見高電子密度的內含體構造(圖二)，驗證病況是由 *Caulimovirus* 感染所致。多數的內含體為高電子密度型，呈圓形，較小(直徑約 1-2 μm)，內部呈“空泡”狀，外緣則由高電子密度成分圍圍之(圖二、A 和 B)，亦可見病毒散布其中。此種小型的內含

體與典型 *Caulimovirus* 的內含體^(10, 21, 30)似有差異，然而此單離狀的內含體應是處於形成的初期或中期階段，隨病程進展，單離狀的內含體會癒合成典型的內含體(圖二、C 和 D)。罹病細胞內有不同階段的內含體亦可見於其他 caulimoviruses，如 *Cauliflower mosaic virus* (CaMV)、*Figwort mosaic virus* (FMV)和 *Strawberry vein banding virus* (SVBV)感染的細胞^(22, 32, 33)。

本研究提出細胞病理學及分子生物學的證據，顯示台灣地區有大理花普通嵌紋病毒(DCMV)的發生。雖無從得知其分子特性，但 DMV 在本國早有報導⁽²⁰⁾。大理花的繁殖向以無性繁殖法行之，病毒檢測是獲得健康種苗必備的程序，以 PCR 和 RT-PCR 配合大理花嵌紋相關的 DNA 病毒專一性或簡併性引子對檢測本國大理花的帶病毒率有其必要性。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

1. Abdel-Salam, A. M., Al Khazindar, M. M., Eid, S. G., and Pappu, H. R. 2010. Caulimoviral sequences in *Dahlia variabilis* in Egypt. *African Journal of Biotechnology* 9: 6835-6839.
2. Albouy, J. 1995. Dahlia. Pages 265-273 in: *Virus and Virus-like Diseases of Bulb and Flower Crops*. G. Loebenstein, R.H. Lawson, and A.A. Brunt ed. John Wiley and Sons. 543pp.
3. Ann, P.J., Kunimoto, R., and Ko, W.H. 1990. Phytophthora wilt of carnation in Taiwan and Hawaii. *Plant Protection Bulletin* 32:145-157.(in Chinese)
4. Brunt, A.A. 1971a. Some hosts and properties of dahlia mosaic virus. *Ann. Appl. Biol.* 67: 357-368.
5. Brunt, A.A. 1971b. Dahlia mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 51.
6. Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L., and Zurcher, E.J. 1996. *Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database*. (URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>)

7. Eid, S., Druffel, K.L., Saar, D.E., and Pappu, H.R. 2009. Incidence of multiple and distinct species of caulimoviruses in dahlia (*Dahlia variabilis*). HortScience 44: 1498-1500.
8. Eid, S., Saar, D.E., Druffel, K.L., and Pappu, H.R. 2011. Plant pararetroviral sequences in wild *Dahlia* species in their natural habitats in Mexican mountain ranges. Plant Pathol. 60: 378-383.
9. Farr, D.F., Bills, G.F., Chamuris, C.P., and Rossman, A.Y. 1989. Fungi on Plants and Plant Products in the United States. APS Press. 1252pp.
10. Fujisawa, I., Rubio-Huertos, M., Matsui, C., and Yamaguchi, A. 1967. Intracellular appearance of cauliflower mosaic virus particles. Phytopathology 57: 1130-1132.
11. Hadfield, J., Linderme, D., Shepherd, D.N., Bezuidenhout, M., Lefeuvre, P., Martin, D.P., and Varsani, A. 2011. Complete genome sequence of a dahlia common mosaic virus isolated from New Zealand. Arch. Virol. 156: 2297-2301.
12. Himmenbach, A., Chapdelaine, Y., and Hohn, T. 1996. Interaction between *Cauliflower mosaic virus* inclusion body protein and capsid protein: implications for viral assembly. Virology 217: 147-157.
13. Hsieh, H.J. 1978. Note on new records of host plants of *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. In Taiwan. Plant Protection Bulletin 20: 369. (in Chinese)
14. Hsieh, H.J. 1983. Note on host plants of powdery mildew fungi found in Taiwan - host plants of *Sphaerotheca fuliginea*. Plant Protection Bulletin 25: 109. (in Chinese)
15. Hsu, S.T., Chang, T.T., Chang, C.A., Tsai, J.L., and Tsai, T.T. 2002. List of Plant Diseases in Taiwan. Taiwan Phytopathological Society Press. 386pp.
16. Hull, R. 2002. Mathew's Plant Virology. Academic Press. 1001pp.
17. Kaminska, M., and Bliwa, H. 2008. Mixed infection of dahlia plants in Poland with apple proliferation and aster yellows phytoplasmas. Plant Pathol. 57: 363.
18. Khelifa, M., Journou, S., Krishnan, K., Gargani, D., Esperandieu, P., Blanc, S., and Drucker, M. 2007. Electron-lucent inclusion bodies are structures specialized for aphid transmission of caulimovirus. J. Gen. Virol. 88: 2872-2880.
19. King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., and Lefkowitz, E.J. 2012. Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press. 1327pp.
20. Ko, N.J., and Chen, M.J. 1982. Light and electron microscopic diagnosis for the occurrence of *Dahlia mosaic virus* in Taiwan. Plant Protection Bulletin 24: 201-204. (in Chinese)
21. Lawson, R.H., and Hearon, S.S. 1980. Carnation etched ring virus inclusions: serology and ultrastructure of alkaline-treated inclusions. Phytopathology 70: 327-332.
22. Morris, T.J., Mullin, R.H., Schlegel, E.D., Cole, A., and Alosi, M. 1980. Isolation of a caulimovirus from strawberry tissue infected with strawberry vein banding virus. Phytopathology 70: 156-160.
23. Nicolaisen, M. 2003. Partial molecular characterization of *Dahlia mosaic virus* and its detection by PCR. Plant Dis. 87: 945-948.
24. Pahalawatta, V., Druffel, K., and Pappu, H. R. 2007. Seed transmission of *Dahlia mosaic virus* in *Dahlia pinnata*. Plant Dis. 91: 88-91.
25. Pahalawatta, V., Druffel, K.L., Wyatt, S.D., Eastwell, K.C., and Pappu, H.R. 2008. Genome structure and organization of a member of a novel and distinct species of the genus *Caulimovirus* associated with dahlia mosaic. Arch. Virol. 153: 733-738.
26. Pappu, H.R., Druffel, K.L., Miglino, R., and van Schadewijk, A.R. 2008a. Nucleotide sequence and genome organization of a member of a new and distinct *Caulimovirus* species from dahlia. Arch. Virol. 153: 2145-2148.
27. Pappu, H. R., Hammett, K. R. W., and Druffel, K. L. 2008b. *Dahlia mosaic virus* and *Tobacco streak virus* in *Dahlia* (*Dahlia variabilis*) in New Zealand. Plant Dis. 92:

- 1138.
28. Pappu, H. R., Wyatt, S. D., and Druffel, K. L. 2005. *Dahlia Mosaic virus*: molecular detection and distribution in *Dahlia* in the United States. *HortScience* 40: 697-699.
29. Richins, R.D. and Shepherd, R.J. 1983. Physical maps of the genomes of dahlia mosaic virus and mirabilis mosaic virus – two members of the caulimovirus group. *Virology* 124: 208-214.
30. Rubio-Huertos, M., Matsui, C., Yamaguchi, A., and Kamei, T. 1968. Electron microscopy of X-body formation in cells of cabbage infected with Brassica virus 3. *Phytopathology* 58: 548-549.
31. Samuitiene, M., Navalinskiene M., Eid, S.G., and Pappu H.R. 2009. Dahlia mosaic-associated caulimoviruses in dahlia in Lithuania. On line. *Plant Health Progress*. Doi:10.1094/PHP-2009-0303-01-BR.
32. Shalla, T., Shepherd, R.J., and Petersen L.J. 1980. Comparative cytology of nine isolates of cauliflower mosaic virus. *Virology* 102: 381-388.
33. Shepherd, R.J., Richins, R.D., Duffus, J.E., and Handley, M.K. 1987. Figwort mosaic virus: properties of the virus and its adaptation to a new host. *Phytopathology* 77: 1668-1673.
34. Staginnus, C., and Richert-Poggeler, K.R. 2006. Endogenous pararetroviruses: two faced travelers in the plant genome. *Trends Plant Sci.* 11: 485-491.
35. Tsay, T. T., Cheng, T. H., Heng, H. Y., Lin, Y. Y., and Wu, W. S. 1995. Occurrence and control of nematode disease on bulbous flowers. *Plant Pathol Bull.* 4: 180-192. (in Chinese)

ABSTRACT

Chao, H.Y. and Chen, Y.K.*, 2012. Molecular characterization of a dahlia mosaic-associated *Caulimovirus*. *Plant Pathol. Bull.* 21: 110-114. (Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; *Corresponding author, Email: ykchen@nchu.edu.tw; Fax: +886-4-22877585)

Dahlia plants (*Dahlia pinnata* or *D. variabilis*) with symptoms of mosaic, chlorotic veins, and vein banding on leaves were collected in Taipei area in 2011. Both virus-like particles with diameter of about 45-50 nm and typical inclusion bodies of *Caulimovirus* were observed in the sections of diseased leaf tissues by electron microscopy, indicating the infection of a *caulimovirus* in dahlia plants. We amplified, cloned, and determined the sequences of the virus. The full-length genome (7942 bp) of the virus consisted of 6 major open reading frames (6 ORFs). Comparisons based on nucleotide and amino acid sequences of each ORF with that of members of *Caulimovirus* showed that the studied virus is a Taiwan isolate of the Dahlia common mosaic virus (DCMV-TW).

Key words: dahlia mosaic disease, *Dahlia mosaic virus*, Dahlia common mosaic virus, genus *Caulimovirus*