

彩色海芋系統性壞疽病之病因診斷與鑑定

張怡珊¹、柯文華²、陳慶忠²、陳煜焜^{1,3}

¹ 台中市 中興大學植物病理學系

² 彰化縣大村鄉 台中區農業改良場

³ 聯絡作者，電子郵件：ykchen@nchu.edu.tw，傳真：+886-4-22877585

接受日期：中華民國 96 年 8 月 21 日

摘要

張怡珊、柯文華、陳慶忠、陳煜焜. 2007. 彩色海芋系統性壞疽病之病因診斷與鑑定. 植病會刊 16 : 149-156.

彩色海芋 (*Calla lily*, *Zantedeschia* spp.) 系統性壞疽徵狀的病因已鑑定是由洋桔梗壞疽病毒 (*Lisianthus necrosis virus*, LNV) 所引起。由病株分離得的病毒機械接種於彩色海芋後證實其病原性；接種於指示植物後也引起LNV的特定病徵，包括局部性和系統性壞疽病徵。穿透式電子顯微鏡鏡檢，可於病組織粗汁液樣本中觀察到直徑約 33 nm 的球形病毒顆粒。血清學試驗反應，包括酵素聯結免疫吸附分析 (ELISA) 和西方轉漬法 (western blotting)，均顯示所分離的病毒與洋桔梗壞疽病毒 (LNV) 有血清類緣相關。本研究證據顯示彩色海芋是繼洋桔梗與康乃馨之後在台灣地區所發現的洋桔梗壞疽病毒 (LNV) 天然寄主之一。

關鍵詞：彩色海芋、洋桔梗壞疽病毒、馬蹄蓮

緒言

海芋 (*Calla lily*, *Zantedeschia* spp.) 為天南星科 (*Araceae*) 馬蹄蓮屬 (*Zantedeschia*) 的重要經濟球根花卉作物，原產於中南非洲，一類為常綠性海芋，如白花海芋 (*Z. aethiopica*) 和香水海芋 (*Z. odorata*)；另一類則為落葉性海芋，如花色豐富的彩色海芋，包括星點葉白花海芋 (*Z. albomaculata*)、星點葉黃花海芋 (*Z. jucunda*)、黃花海芋 (*Z. elliottiana*)、黃金海芋 (*Z. pentlandii*)、粉紅海芋 (*Z. rehmannii*) 和其雜交品種。經濟栽培以紐西蘭為主要生產國，以色列、美國及荷蘭居次，其他較具產業規模的國家則包括日本、南非、義大利、肯亞、墨西哥、哥倫比亞及哥斯大黎加等國⁽²¹⁾。本國海芋的栽培，白花海芋以北部的陽明山竹子湖為主；彩色海芋則多分布於中北部，以台中、彰化為主要栽培區。海芋栽培所面臨的最大問題在於細菌性軟腐病 (*Bacterial soft rot*, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 和 *E. chrysanthmi*)^(27, 28) 及多種病毒的為害。

已知感染彩色海芋的病毒至少有 15 種，包括 *Alfalfa mosaic virus* (AMV)⁽³⁴⁾、*Arabis mosaic virus*

(ArMV)⁽³⁴⁾、*Bean yellow mosaic virus* (BYMV)、*Calla lily chlorotic spotted virus* (CCSV)⁽⁹⁾、*Calla lily latent virus* (CLLV)⁽⁷⁾、*Carnation mottle virus* (CarMV)⁽¹³⁾、*Cucumber mosaic virus* (CMV)^(12, 18, 33)、*Dasheen mosaic virus* (DsMV)^(14, 29, 30, 35)、*Impatiens necrotic spot virus* (INSV)、*Konjak mosaic virus* (KoMV)⁽²⁹⁾、*Potato virus X* (PVX)⁽³⁴⁾、*Tobacco rattle virus* (TRV)⁽³⁴⁾、*Tomato spotted wilt virus* (TSWV)^(5, 32)、*Turnip mosaic virus* (TuMV)^(6, 8)、*Zantedeschia mosaic virus* (ZaMV)^(4, 25)、*Zantedeschia mild mosaic virus* (ZaMMV)⁽²²⁾ 等。其中 ZaMV 與 KoMV 兩病毒的外鞘蛋白基因序列有 90% 以上的相同度，故 ZaMV 應是 KoMV 的一個系統 (strain)⁽³⁾。CMV、DsMV、TuMV、CLLV、CCSV、CarMV、ZaMV 及 ZaMMV 等已在本國的彩色海芋田間發生，其中 CLLV、CCSV、CarMV、TuMV 及 ZaMMV 則為國內學者於近年內所發現，且為全球初次報導者。

2003 年在彰化北斗地區發現全株具系統性壞疽病徵的彩色海芋病株。田間發現此病害時約有 10% 植株受害，但其病徵與發生之情形與發生於洋桔梗和康乃

馨之壞疽病害極為相似。電子顯微鏡初步鏡檢病組織粗汁液亦可觀察到直徑約 33 nm 的球形病毒顆粒。由於本病害引起系統性壞疽病徵不僅對地上部引發立即而顯著的危害，亦造成球莖永久性帶毒之問題，其為害之潛力實不容忽視，對產業之永續性發展顯然將有不利之影響。本研究敘述以生物分析法、電子顯微鏡技術及血清學技術等方法，診斷該彩色海芋新病害的病因。

材料與方法

病毒之來源、分離與純化

田間彩色海芋的罹病組織以 0.01M 磷酸緩衝液 (pH 7.2) 磨碎，機械接種於奎藜 (*Chenopodium quinoa* Willd.) 葉片，3-5 天後切取單斑同法接種於奎藜，經三次單離後的單斑接種於 *Nicotiana benthamiana* 保存，供為接種源及純化之用。另，研究過程使用的洋桔梗壞疽病毒洋桔梗分離株 (*Lisianthus necrosis virus-lisianthus isolate*, LNV-L)⁽¹⁰⁾ 和洋桔梗壞疽病毒康乃馨分離株 (*LNV-carnation isolate*, LNV-C)⁽¹¹⁾ 為研究團隊保存者。

病毒之純化則以 0.5 M 之磷酸緩衝液 (pH 7.2) 磨碎 *N. benthamiana* 之病葉，再以有機溶媒淨化之。病毒顆粒則以 PEG 6000 (8%) 配合高低速離心 (100,000 g，120 min 和 10,000 g，20 min) 交替處理，以達濃縮之目的。進一步純化則以硫酸銨密度梯度離心行之 (Beckman SW-41, 35000 rpm, 16 hr)^(10, 23)。

病毒寄主範圍之測定

以機械接種之方式將單離的病毒分別接種於莧科 (*Amaranthaceae*)、夾竹桃科 (*Apocynaceae*)、天南星科 (*Araceae*)、鳳仙花科 (*Balsaminaceae*)、石竹科 (*Caryophyllaceae*)、藜科 (*Chenopodiaceae*)、菊科 (*Compositae*)、十字花科 (*Cruciferae*)、葫蘆科 (*Cucurbitaceae*)、龍膽科 (*Gentianaceae*)、豆科 (*Leguminosa*)、車前草科 (*Plantaginaceae*)、茄科 (*Solanaceaceae*) 等常用之鑑別植物計 13 科 50 種，於溫室連續觀察 4-6 週並記錄病徵之表現。

病毒顆粒和病組織觀察

病組織粗汁液與純化的病毒顆粒均以 2% 醋酸鉍 (uranyl acetate) 陰染後觀察病毒形態⁽¹⁵⁾。病組織以 2% 戊二醛及 1% 四氧化銨固定後，經酒精系列脫水、LR White 樹脂包埋後進行超薄切片。病組織切片經醋酸鉍

及檸檬酸鉛 (lead citrate) 染色⁽³⁶⁾，以電子顯微鏡觀察病組織細胞內病毒及其引起的病變。

病毒外鞘蛋白之分析

以 SDS-polyacrylamide gel (SDS-PAGE)⁽²⁶⁾ 測定病毒外鞘蛋白次單位的種類數量及分子量。

病毒抗血清之製備與血清學試驗

純化的病毒顆粒與佐劑乳化後，注射於紐西蘭白兔後腿部位的肌肉，每週注射一次，連續施打四週。每次注射已乳化的抗原體積為 1 ml 內含病毒量為 0.2 mg。第五週起進行耳靜脈採血，收集的血清儲於 -80°C 或以飽和硫酸銨和管柱層析純化免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)⁽²⁰⁾。

血清學診斷技術

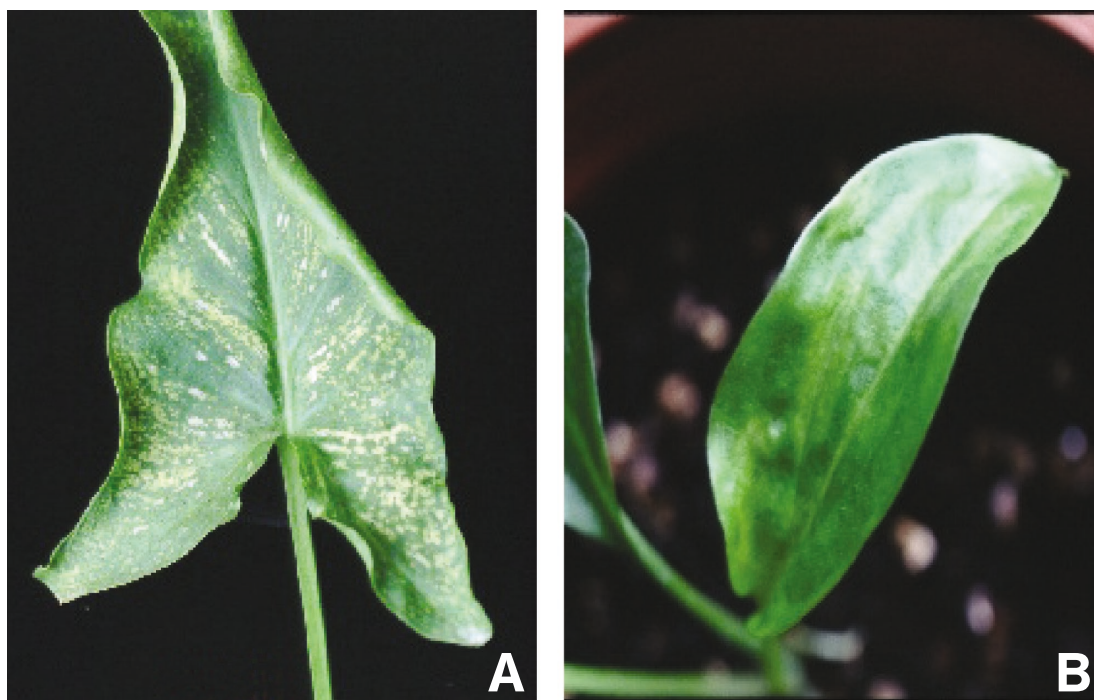
以酵素連結免疫分析法⁽²⁴⁾ 及西方轉漬法⁽¹⁶⁾ 測試供試的彩色海芋病毒與洋桔梗壞疽病毒及他種病毒之血清類緣關係，試驗方法均依前人所述。供試的 CMV⁽¹²⁾、CarMV⁽¹³⁾ 和 LNV-L⁽¹⁰⁾ 及其同源抗血清均為本研究團隊所保存者。

結 果

病徵反應與寄主範圍

田間彩色海芋病株呈系統性感染，葉緣捲起，葉面出現黃化斑及壞疽斑，未壞死處略呈嵌紋狀 (圖一、A)，嚴重者全葉壞疽或整株死亡。病毒分離株回接於彩色海芋組織培養苗 3-5 天後，接種葉出現黃化斑塊 (圖一、B)，後續病勢發展與田間罹病株者相似。

溫室中機械接種 13 科 50 種植物以測試供試病毒之寄主範圍。計有 28 種受測植物受感染，包括天南星科的彩色海芋 (*Zantedeschia* spp.)，莧科的雞冠花 (*Celosia argentea*) 和千日紅 (*Gomphrena globosa*)，藜科的葵藜 (*Chenopodium quinoa*)、紅藜 (*C. amaranticolor*) 和小葉灰藜 (*C. serotinum*)，菊科的萬壽菊 (*Tagetes erecta*) 和百日草 (*Zinnia elegans*)，葫蘆科的西瓜 (*Citrullus vulgaris*)、刺角瓜 (*Cucumis metuliferus*)、胡瓜 (*Cucumis sativa*)、洋香瓜 (*Cucumis melo*)、南瓜 (*Cucurbita moschata*)、矮南瓜 (*Cucurbita pepo* var. *Zucchini*)，龍膽科的洋桔梗 (*Eustoma russellianum*)，豆科的紅豆 (*Phaseolus radiatus* var. *aurea*) 和大豆 (*Glycine max*)，茄科的甜椒 (*Capsicum annuum* var. *grossum*)、曼陀羅 (*Datura stramonium*)、矮



圖一、洋桔梗壞疽病毒彩色海芋分離株引起的系統性壞疽病徵 (A)，以及回接於彩色海芋幼苗產生的病徵(B)。

Fig. 1. The systemic necrotic symptom caused by *Lisianthus necrosis virus* *Zantedeschia* strain (LNV-Z) (A) and the symptom in calla lily seedling after back-inoculated by LNV-Z (B).

牽牛 (*Petunia hybrida*) 和數種菸草如 *Nicotiana benthamiana*、*N. edwardsonii*、*N. hybrida*、*N. rustica*、*N. tabacum* Hicks、*N. tabacum* Van-Hicks、*N. tabacum* Sam Sum、*N. tabacum* White Burley 等。各寄主植物的病徵表現主要為接種葉產生黃化斑及壞疽斑，大多數均為局部性感染，病徵侷限於接種葉，僅在彩色海芋、紅藜、曼陀蘿及菸草 (*Nicotiana benthamiana*) 等四種寄主植物上病徵會蔓延導致系統性感染。系統性寄主的幼苗常於接種後 2-3 天因急性感染而造成植株萎凋倒伏，成株則未有此種急性病徵出現。

接種後於 4-6 週的觀察期間均未表現病徵的供試植物包括莧科的野莧 (*Amaranthus viridis*)，夾竹桃科的日日春 (*Vinca rosea*)，鳳仙花科的非洲鳳仙花 (*Impatiens walleriana*)，石竹科的西洋石竹 (*Dianthus barbatus*) 和五彩石竹 (*D. chinensis*)，十字花科的芥菜 (*Brassica juncea*)、甘藍 (*B. oleracea* var. *capitata*)、青江白菜 (*B. campestris* var. *Chinensis*) 和蘿蔔 (*Raphanus sativus*)，葫蘆科的冬瓜 (*Benincasa hispida*)，絲瓜 (*Luffa cylindrica*) 和扁蒲 (*Lagenaria siceraria*)，豆科的落花生 (*Arachis hypogaea*)，菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)，黑眼豇豆 (*Vigna unguiculata*)，豌豆 (*Pisum sativum*)，綠豆 (*V. radiata*)，車前草科的车前草 (*Plantago asiatica*)，茄科的辣椒 (*Capsicum annuum*)，番茄 (*Lycopersicum*

esculentum)，菸草 (*N. tabacum* Xanthi) 和龍葵 (*Solanum nigrum*) 等 22 種。

病毒之純化

純化之病毒於 220-320 nm 紫外光掃描時顯現典型的吸收圖譜，最高及最低吸收峰分別位於 260 nm 和 240 nm 處，A260/A240 值為 1.47。

病毒形態及病組織之超薄切片觀察

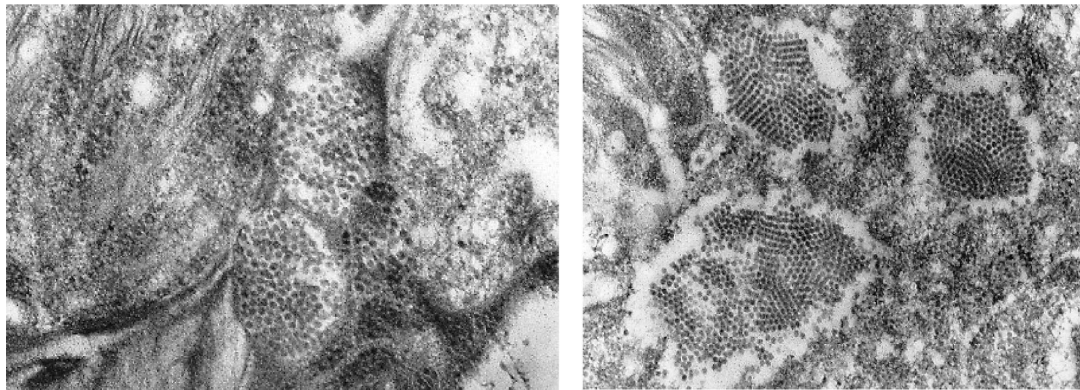
病葉粗汁液和純化的病毒懸浮液中均可觀察到直徑約 33 nm 的球形病毒顆粒。病組織的超薄切片中可觀察到病毒顆粒散佈或成團聚集於細胞質內。病毒聚集的方式有成不規則狀或成規則排列者 (圖二)，群聚的病毒團外並無未形成被膜狀的構造。

病毒外鞘蛋白分子量

解離的受測彩色海芋病毒鞘蛋白懸浮液中僅含一種蛋白次單位，估算其相對分子量約為 39 kDa (圖三)。

血清學試驗

以間接酵素聯結免疫吸附分析法 (indirect-

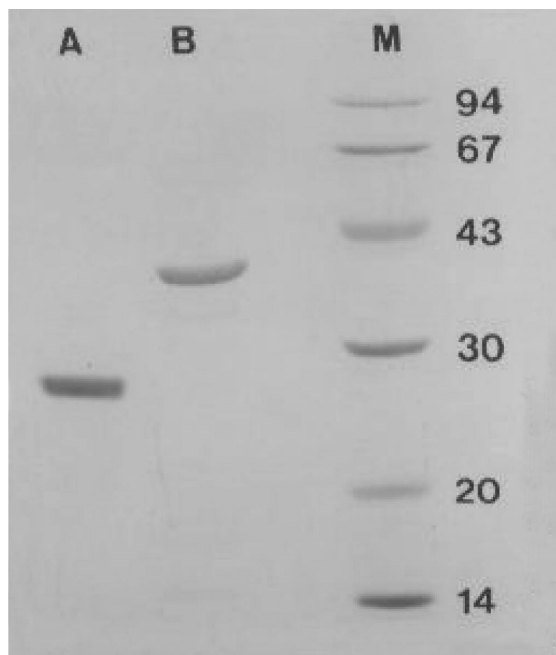


圖二、接種洋桔梗壞疽病毒彩色海芋分離株的葵藜病組織超薄切片，顯示球形病毒顆粒於細胞質內聚集成團(左)或聚集成規則之結晶狀(右)。

Fig. 2. Electron micrographs showing *Lisianthus necrosis virus Zantedeschia isolate (LNV-Z)* aggregated in cluster (left) or in crystal-like arrangement (right) in the cytoplasm of infected tissue of *Chenopodium quinoa*.

ELISA)、西方轉漬免疫分析(western blotting)進行試驗。結果顯示受測的彩色海芋病毒與同源抗血清，以及異源的洋桔梗壞疽病毒(LNV)抗血清均有正反應，但與CarMV及CMV的抗血清均無反應，顯示受測的彩色海芋病毒與洋桔梗壞疽病毒有血清類緣關係。彩

色海芋病毒的抗血清與純化的彩色海芋病毒、LNV以及兩病毒感染的 *Nicotiana benthamiana* 粗汁液之indirect-ELISA讀值均明顯高於對照處理之讀值，LNV抗血清的反應亦同(表一)。西方轉漬免疫分析亦顯示彩色海芋病毒和LNV具有血清類緣關係(圖三)。



圖三、洋桔梗壞疽病毒彩色海芋分離株(LNV-Z) 鞘蛋白次單位之SDS-PAGE圖譜。M：分子量標記(kDa)，A：CMV，B：LNV-Z。

Fig. 3. A SDS-polyacrylamide gel shows the patterns and the relative molecular size of the coat protein subunit of *Cucumber mosaic virus (CMV)* (lane A) and *Lisianthus necrosis virus (LNV)* (lane B). Lane M indicates the relative molecular weights of protein markers (kDa).

討 論

本研究結果顯示，造成彩色海芋系統性壞疽症狀的病因乃是洋桔梗壞疽病毒(*Lisianthus necrosis virus*,

表一、酵素聯結免疫吸附法測試洋桔梗壞疽病毒彩色海芋分離株(LNV-Z)和洋桔梗壞疽病毒洋桔梗分離株(LNV-L)之血清類緣相關性

Table 1. Serological relationships between *Lisianthus necrosis virus Zantedeschia isolate (LNV-Z)* and *Lisianthus necrosis virus Lisianthus isolate (LNV-L)* as determined by indirect ELISA

Antigens	Antisera ¹		
	LNV-Z	LNV-L	CMV
Purified viruses ²			
LNV-Z	1.124*	1.021	0.029
LNV-L	0.984	1.365	0.024
CMV	0.033	0.023	1.674
Leaf extracts ³			
LNV-Z	0.865	0.798	0.165
LNV-L	0.811	0.827	0.176
CMV	0.187	0.198	1.221
Healthy	0.106	0.101	0.153

¹ Antisera were applied at a 2000-fold dilution

² Purified viruses were used at a concentration of 500 ng

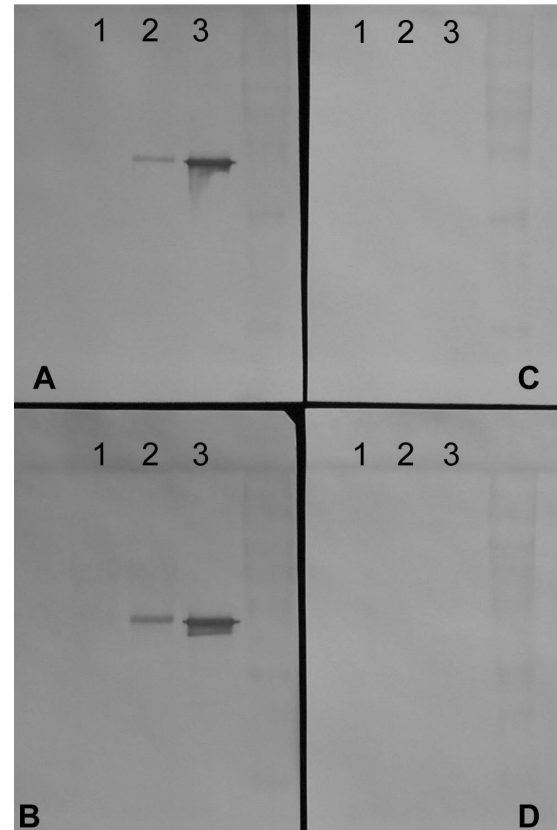
³ Leaf extracts were used at a 200-fold dilution

* Average value of A₄₀₅.

LVN)。洋桔梗壞疽病毒最初由日人Iwaki等人首先報導⁽²³⁾，為害洋桔梗引起葉片和植株產生壞疽斑點或輪點，花瓣形成褪色條斑，植株矮化等症狀。病毒為直徑約 30 nm 之球型顆粒，生體外性狀相當穩定，可經機械接種感染 10 科 21 種植物，大部分產生局部性壞疽病斑，少數寄主植物如千日紅 (*Gomphrena globosa*)、菸草 (*Nicotiana clevelandii*) 和洋桔梗則產生系統性感染，病徵仍為壞疽斑點或輪點，而非嵌紋或黃化病徵。自然界中則藉油壺菌屬真菌 (*Olpidium* sp.) 傳播。病毒之外鞘由單一蛋白次單位所組成，分子量約為 35.5 kDa；基因組成為 ssRNA。利用純化之病毒顆粒可製備高力價之抗血清，但血清學試驗結果顯示其與同為油壺菌傳播且造成寄主植物產生壞疽病徵之菸草壞疽病毒 (*Tobacco necrosis virus*, TNV; *Necrovirus*)、胡瓜壞疽病毒 (*Cucumber necrosis virus*, CNV; *Tombusvirus*)、香瓜壞疽病毒 (*Melon necrotic spot virus*, MNSV; *Carmovirus*) 及 *Carnation ringspot virus*, CRSV; *Dianthovirus*) 均無血清類緣相關。依其傳播方式被歸類為壞疽病毒屬 (*Necrovirus*) 之可能成員 (tentative member)^(17, 38)。然而，最新證據顯示 LVN 的分類依其基因體核酸之結構與序列應將之歸類為 *Tombusvirus* 屬的成員。Chang *et al.*⁽²⁾ 分析 LVN 的洋桔梗分離株的基因體核酸序列 (Acce. No. QD011234) 發現其與 *Tombusvirus* 屬的病毒基因組核酸有 70% 以上的相同度，其中又與同屬的 *Pear latent virus* (PeLV) 有高達 97% 的相同度，因而認為 LVN 應可確定其為 *Tombusvirus* 屬的成員。

台灣地區第一個受壞疽病毒危害的病例，於 1995 年在洋桔梗 (*Lisianthus*, *Eustoma ressellianum*) 上發現，並經診斷為洋桔梗壞疽病毒⁽¹⁰⁾。除了感染洋桔梗的分離株 (LVN-L)⁽¹⁰⁾ 之外，又在康乃馨 (*carnation*, *Dianthus caryophyllus*) 上亦曾發現一分離株，經與 LVN-L 比對其形態、寄主範圍及血清類緣關係後，確定為 LVN 的康乃馨分離株 (LVN-C)⁽¹¹⁾。此兩分離株 (LVN-L 和 LVN-C) 與日本之 LVN 除有血清學上之類緣相關性之外，寄主範圍亦有雷同之處；然而，病毒顆粒的尺寸及組成病毒外鞘次單位分子量則有差異：台灣地區的分離株之病毒顆粒 (32-33 nm) 及外鞘蛋白次單位分子量 (38-40 kDa) 均較日本分離株者大^(10, 11, 23)。就此兩特徵而言，LVN-L 和 LVN-C 則與 *Carmovirus*、*Dianthovirus* 或 *Tombusvirus* 較為近似^(10, 11)。此項論點於 LVN-L 的基因體核酸被解序後獲得類似的結論⁽²⁾。

Tombusvirus 屬的病毒與 *Necrovirus* 屬者同屬於 *Tombusviridae* 科，病毒顆粒亦為正二十面體的球型顆粒，但表面略呈顆粒狀，直徑約為 32-35 nm，病毒外



圖四、西方轉漬分析所呈現之圖譜。植物粗汁液取自健株 (lane 1)、LVN-L 感染 (lane 2)、以及 LVN-Z 感染之菸草 (*Nicotiana benthamiana*)，經 SDS-PAGE 及西方轉漬後以稀釋 2000 倍的 LVN-Z 抗血清 (blot A)、LVN-L 抗血清 (blot B)、CMV 抗血清 (blot C)、CarMV 抗血清 (blot D) 偵測後，顯示受測之彩色海芋病毒與 LVN 有血清類緣關係。

Fig. 4. Western blots probed with polyclonal antibody (diluted 1: 2000) against *Lisianthus necrosis virus* *Zantedeschia* isolate (LVN-Z) (blot A), LVN-lisianthus isolate (LVN-L) (blot B), *Cucumber mosaic virus* (CMV) (blot C), and *Carnation mottle virus* (CarMV) (blot D) indicating the tested *zantedeschia* virus (LVN-Z) is serologically related to *Lisianthus necrosis virus*. Lanes 1, 2, and 3 indicate the crude sap extracted from healthy, LVN-L inoculated, and LVN-Z inoculated *Nicotiana benthamiana*.

鞘由 180 個分子量為 40-41 kDa 的蛋白次單位所組成。基因組成為單股正意股 (single-stranded, positive sense) RNA，5' 端無 cap 構造且 3' 端無 poly (A) tail^(17, 38)。*Tombusvirus* 在自然界的傳播與 *Necrovirus* 類似，都可藉油壺菌屬真菌 - *Olpidium bornovanus*- 的游走子⁽³¹⁾ 或藉由土壤中尚未證實媒介來傳播 (non-vector soil transmission)^(1, 37)。

LVN 自被發現迄今將近二十年，除台灣地區連續發現兩個新分離株 (LVN-L 和 LVN-C) 之外國際上並未

表二、洋桔梗壞疽病毒 (*Lisianthus necrosis virus*, LNV) 分離株的判別寄主列表Table 2. List of differential hosts for differencing isolates of *Lisianthus necrosis virus*

Differential hosts	Isolates of LNV		
	Carnation	Lisianthus	Zantedeschia
<i>Amaranthaceae</i>			
<i>Gomphrena globosa</i>	/ ¹	NS *	NS *
<i>Caryophyllaceae</i>			
<i>D. chinensis</i>	/	CS	/
<i>Solanaceae</i>			
<i>Capsicum annuum</i>	NS *	CS *	/
<i>C. annuum</i> var. <i>grossum</i>	/	NS	NS
<i>Datura stromonium</i>	CS	NS *	CS *
<i>Nicotiana tabacum</i> van Hicks	CS	NS	CS
<i>N. tabacum</i> Xanthi	NS	NS	/

¹ NS, CS and / indicate necrotic spots, chlorotic spots and no reaction, respectively.

* indicates systemic reaction to the infection.

再有其他病例發現之報導，其分佈似乎如 TNV 般有其侷限性。然而，由本研究的結果得知分離自彩色海芋的病毒株與 LNV-L 和 LNV-C 的性狀相似且有血清類緣關係，顯示其應是 LNV 的彩色海芋分離株 (*Lisianthus necrosis virus* — *Zantedeschia* strain, LNV-Z)。由上述或可推論 LNV 在自然界之分布和為害範圍可能不若原先所推想般地狹隘。根據最初的報導 LNV 可經 *Olpidium* sp. 傳播 ⁽²³⁾，隨後的研究亦顯示 LNV 可經由土壤傳播 ⁽¹⁰⁾，但未能證實其媒介為油壺菌。從本土發現的三個 LNV 分離株雖來自不同的寄主，但卻發生於鄰近地區 (彰化永靖北斗等地)，顯示該地區土壤中存在 LNV 傳播媒介的可能性。雖然研究團隊已證實 LNV 可經土壤傳播的特性，但尚未能成功分離出可能的傳播媒介 ⁽²⁰⁾。LNV 的傳播媒介若能釐清將有助於此病毒及其相關病害之防治。

由於 LNV 經常引起壞疽性的病徵，在田間被誤判為真菌性或細菌性病害之可能性甚高，導致 LNV 引起之病害、為害之經濟作物種類和所引起之損失一直未被察覺。由於 LNV 不若 TNV 般被侷限於寄主植物之根部，其於侵入後可迅速轉移至地上部引發立即而顯著的危害，再加上 LNV 是一性狀相當穩定的病毒 ^(10, 23)，在粗汁液中可存活九週以上，可於土中殘存達八年之久 ⁽¹⁹⁾，且其傳播媒介普遍存在於土壤中，其為害之潛力可能不容忽視。

比較 LNV 的彩色海芋病毒分離株 (LNV-Z)、洋桔梗分離株 (LNV-L) 和康乃馨分離株 (LNV-C) 等三病毒的寄主範圍可發現三者極為近似，且所引發的癥狀亦以黃化斑及壞疽斑為主。由三病毒之寄主範圍可歸納出判別植物 (表二) 供生物診斷之用。

謝 辭

本研究蒙 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局支持研究經費 [計畫編號：93-農科-1.9.1-檢-B1 (4)]，謹申謝忱。

引用文獻

1. Campbell, R. N. 1996. Fungal transmission of plant viruses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 34: 87-108.
2. Chang, C. H., Yeh, S. D., Chen, C. C., and Jan, F. J. 2007. Complete genome sequence and genetic organization of *Lisianthus necrosis virus* suggests it should be re-delineated from *Necrovirus* into *Tombusvirus*. *Arch. Virol.* (in press).
3. Chang, Y. C. 2003. *Zantedeschia mosaic virus*. Pages 50-54 in Fan, G.Y. eds. *Illustration for Plant Protection* vol. 12 — Protection of calla lily. BAPHIQ. Taipei. 94pp.
4. Chang, Y. C., Chen, Y. L., and Chung, F. C. 2001. Mosaic disease of calla lily caused by a new potyvirus in Taiwan. *Plant Dis.* 85: 1289.
5. Chatzirassiliou, E. K., Livieratos, I., Jenser, G., and Katis, N. I. 2000. Ornamental plants and thrips populations associated with *Tomato spotted wilt virus* in Greece. *Phytoparasitica* 28: 257-264.
6. Chen, C. C., Chang, C. A., Tsai, H. T., Cheng, Y. H., Chao, C. H., and Yeh, S. D. 2000. First detection of turnip mosaic virus on calla lily. *Plant Pathol. Bull.* 9: 184. (in Chinese)
7. Chen, C. C., Chang, C. A., Tsai, H. T., and Hsu, H. T. 2004. Identification of a potyvirus causing latent

- infection in calla lilies. *Plant Dis.* 88: 1046.
8. Chen, C. C., Chao, C. H., Chen, C. C., Yeh, S. D., Tsai, H. T., and Chang, C. A. 2003. Identification of *Turnip mosaic virus* isolates causing yellow stripe and spot on calla lily. *Plant Dis.* 87: 901-905.
9. Chen, C. C., Chen, T. C., Lin, Y. H., Yeh, S. D., and Hsu, H. T. 2005. A chlorotic spot disease in calla lilies (*Zantedeschia* spp.) is caused by a tospovirus serologically but distantly related to *Watermelon silver mottle virus*. *Plant Dis.* 89: 440-445.
10. Chen, C. C., Chen, Y. K., and Hsu, H. T. 2000. Characterization of a virus infecting lisianthus. *Plant Dis.* 84: 506-509.
11. Chen, C. C., Chen, Y. K., Ko, W. H., and Hsu, H. T. 2002. Characterization of Lisianthus necrosis virus (genus *Necrovirus*) isolated from *Dianthus caryophyllus*. *Plant Pathol. Bull.* 11: 137-146. (in Chinese)
12. Chen, C. C., Ko, W. H., and Chen, Y. K. 1998. Purification and characterization of a *Cucumber mosaic virus* isolated from *Lisianthus russellianus*. *Res. Rept. Taichung Dist. Agri. Impr. Sta.* 60: 1-18. (in Chinese)
13. Chen, C. C., Ko, W. F., Lin, C. Y., Jan, F. J., and Hsu, H. T. 2003. First report of *Carnation mottle virus* in calla lily (*Zantedeschia* spp.). *Plant Dis.* 87: 1539.
14. Chen, J., Chen, J. P., Chen, J. S., and Adams, M. J. 2001. Molecular characterization of an isolate of *Dasheen mosaic virus* from *Zantedeschia aethiopica* in China and comparisons in the genus *Potyvirus*. *Arch. Virol.* 146: 1821-1829.
15. Christie, S. R., Purcifull, D. E., Crawford, W. E., and Ahmed, N. A. 1985. Electron microscopy of negatively stained clarified viral concentrates obtained from small tissue samples with appendices on negative staining techniques. *Fla. Agr. Sta. Bull.* No. 872. 45pp.
16. Dijkstra, J., and de Jager, C. P. 1998. *Practical Plant Virology - Protocols and Exercises*. Springer-Verlag, Berlin. 459pp.
17. Fauquet, C. M., Mayo, M. A., Maniloff, J., Desselberger, U. and Ball, L. A. 2005. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press. 1259pp.
18. Fletcher, J. D. 1987. New plant disease records in New Zealand: Additional hosts of alfalfa mosaic virus and cucumber mosaic virus. *New Zealand J. Agri. Res.* 30: 505-506.
19. Fuller, M. S. 1978. *Lower Fungi in the Laboratory*. University of Georgia Press, 190pp.
20. Harlow, E., and Lane, D. 1988. *Antibodies — A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Press. 726pp.
21. Ho, Y. S., Liu, M. T., Chen, J. J., and Shen, J. F. 2000. *Technical Handbook for Calla Lily Cultivation*. Taiwan Seed Service. Taichung. 55pp. (in Chinese).
22. Huang, C. H., and Chang, Y. C. 2005. Identification and molecular characterization of *Zantedeschia* mild mosaic virus, a new calla lily-infecting potyvirus. *Arch. Virol.* 150: 1221-1230.
23. Iwaki, M., Hanada, K., Maria, E. R. A., and Onogi, S. 1987. Lisianthus necrosis virus, a new necrovirus from *Eustoma russellianum*. *Phytopathology* 77: 867-870.
24. Koenig, R. 1981. Indirect ELISA methods for the broad specificity detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 55: 53-62.
25. Kwon, S. B., Ha, J. H., Yoon, J. Y., and Ryu, K. H. 2002. *Zantedeschia mosaic virus* causing leaf mosaic symptom in calla lily is a new potyvirus. *Arch. Virol.* 147: 2281-2289.
26. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
27. Lee Y. A., Chen, K. P., and Chang, Y. C. 2002. First report of bacterial soft rot of white flowered calla lily caused by *Erwinia chrysanthemi* in Taiwan. *Plant Dis.* 86: 1273.
28. Lee, Y. Y. 1994. *The Studies on Bacterial Soft Rot of Calla Lily in Taiwan*. Master Thesis. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. 63pp. (in Chinese).
29. Lesemann, D. E., and Winter, S. 2002. Konjac mosaic virus, Dasheen mosaic virus and unknown Potyviruses infecting *Zantedeschia* spp. and other cultivated Araceae. *Acta. Hort.* 568: 135-142.
30. Liang, Y. G., Yang, T. C., and Chen, C. T. 1994. Identification of dasheen mosaic virus in Taiwan by immunolabellings. *Rep. Taiwan Sugar Res. Inst.* 143: 41-50.
31. McLean, M.A., Campbell, R.N., Hamilton, R.I. and Rochen, D. 1994. Involvement of the Cucumber necrosis virus coat protein in the specificity of fungus transmission by *Olpidium bornovanus*. *Virology* 204: 840-42.
32. Mertelik, J., and Mokra, V. 1998. Tomato spotted wilt virus in ornamental crops, vegetables and weeds in the Czech Republic. *Acta. Virol.* 42: 347-351.
33. Mokra, V., and Gotzova, B. 1994. Identification of virus infections in *Dieffenbachia* and *Zantedeschia* in Czechoslovakia. *Acta. Hort.* 377: 361-362.
34. Pham, K., Langveld, S. A., Lammers, M. E. C., and Derks, A. F. L. M. 2002. Detection and identification of potyviruses in *Zantedeschia*. *Acta. Hort.* 568: 143-148.

35. Rana, G. L., Vovlas, C., and Zettler, F. W. 1983. Manual transmission of dasheen mosaic virus from *Richardia* to nonaraceous hosts. *Plant Dis.* 67: 1121-1122.
36. Reynolds, E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17: 208-212.
37. Rochon, D., Kakani, K., Robbins, M. And Reade, R. 2004. Molecular aspects of plant virus transmission by Olpidium and Plasmodiophoid vectors. *Ann. Rev. Phytopathol.* 42: 211-241.
38. van Regenmortel, M. H. V., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L. Carstens, E. B., Estes, M. K., Lemon, S. M., Maniloff, J., Mayo, M. A., McGeoch, D. J., Pringle, C.R. and Wickner, R.B. (eds) 2000. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Academic Press, San Diego, USA.

ABSTRACT

Chang, Y. S.¹, Ko, W. H.², Chen, C. C.², and Chen, Y. K.^{1,3}. 2007. Characterization of a calla lily-infecting isolate of Lisianthus necrosis virus. *Plant Pathol. Bull.* 16: 149-156 (¹ Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan; ² Taichung District Agricultural Improvement Station, DarChun, Changhua 515, Taiwan; ³ Corresponding author, Email: ykchen@nchu.edu.tw, FAX: +886-4-22877585)

Lisianthus necrosis virus (LNV) was identified from calla lily plants showing systemic necrosis. Virus was isolated from infected plants and was mechanically inoculated to calla lily and some indicator plants which developed characteristic symptoms of LNV infection, including necrotic local spots on inoculated leaves or systemic necrosis in whole plant, after inoculation. Electron microscopic examinations revealed spherical virus particles of 33 nm in diameter in the preparations of infected calla lily and inoculated indicator plants. The sap extracted and virus purified from inoculated plants gave strong positive reactions to LNV antiserum in ELISA and western blot tests indicating the serological relatedness between tested calla lily virus and LNV. In addition to lisianthus and carnation, calla lily is the third natural host of LNV found in Taiwan.

Key words: Calla lily, Lisianthus necrosis virus, *Zantedeschia*