

大蒜病毒之診斷鑑定

鄧汀欽 研究員

行政院農業委員會 農業試驗所植物病理組

電子郵件：tcde@wufeng.tari.gov.tw；傳真：04-2333-8162

摘要

感染大蒜的病毒種類繁多，且彼此容易交互感染，田間傳播又極為快速，系統性感染的寄主經無性繁殖幾代後，病毒病發生率達 100%，對大蒜之品質及產量影響極大。台灣的大蒜病毒種類先後記載計有：洋蔥黃萎病毒 (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV)、菸草嵌紋病毒 (*Tobacco mosaic virus*, TMV)、大蒜嵌紋病毒 (*Garlic mosaic virus*, GarMV)、大蒜潛隱病毒 (*Garlic latent virus*, GarLV)、分蔥潛隱病毒 (*Shallot latent virus*, SLV)、大蒜蟎媒長絲狀病毒 (*Garlic miteborne filamentous virus*, GarMbFV)、大蒜普通潛隱病毒 (*Garlic common latent virus*, GCLV)、韭蔥黃條斑紋病毒 (*Leek yellow stripe virus*, LYSV) 及分蔥黃條斑紋病毒 (*Shallot yellow stripe virus*, SYSV) 等。在大陸地區，除上述病毒外，還有 *Garlic virus A* (GarV-A) 及 GarV-B, -C, -D, -E, -X 等。此外世界上感染蔥屬植物的病毒尚有 *Garlic dwarf virus* (GDV)、*Garlic mite-borne virus*、*Garlic yellow streak virus*、*Iris yellow spot virus* (IYSV)、*Leek white stripe virus* (LWSV)、*Lettuce necrotic yellow virus* (LNYV)、*Tobacco necrosis virus* (TNV)、*Tomato black ring virus* (TBRV)、*Turnip mosaic virus* (TuMV) 等。本文僅就其中較重要的病毒種類，利用生物分析、病原型態觀察、血清檢測及分子檢測等方式來進行診斷鑑定作一說明。

關鍵詞：大蒜、蔥屬、病毒、生物分析、型態觀察、血清檢測、分子檢測

緒言

大蒜學名 *Allium Sativum* L.，世界各地都有種植，但以中國的栽培面積最大產量最高。因蒜頭、蒜苗、蒜薹均可食用，使大蒜的栽培遍及南北，且形成各具特色的地方品種。台灣本土的蒜種經多年來市場篩選，目前生產蒜頭的品種僅剩「黑葉」及「和美」兩種，生產青蒜的品種則以「花蒜」、「學甲軟骨」、「西螺白蒜」及「宜蘭白蒜」為主。大蒜輸入目前仍受管制，但自 1983 年專案開放

種植用蒜頭進口，每年即有上海「嘉定大蒜」、江蘇「太倉白蒜」及山東「蒼山大蒜」等約一千公噸渡海來台落地生根。而食用蒜頭在 1990-2000 年間也總共進口 21,612 公噸，曾經使得台灣各地市場充斥中國蒜頭，但是其中除針對莖線蟲外，蒜球進口時並未有特別的檢疫措施。

所有經濟栽培的大蒜僅能以鱗莖進行無性繁殖，因此品種更新不易，且系統性感染的病毒發生率極高，在栽培區大蒜植株經常與其他蔥屬作物混植，經由蚜蟲及蝽類媒介，傳播極為快速，多種病毒交互感染，有些地區病毒病發生率達 100% (翁與韓，1978)，對大蒜之品質及產量影響極大(林，1984)，為繁殖多年後蒜種性狀退化的因素之一。近年又因大量引進國外蒜頭，使得大蒜病毒問題更形複雜。在 1966 年的農業要覽已有大蒜毒素病的記載，但是台灣的大蒜病毒之研究始自 1975 年周氏的報告，先後記載感染蔥屬的病毒種類計有洋蔥黃萎病毒 (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV) (周，1975；Chen & Ko, 1979)、菸草嵌紋病毒 (*Tobacco mosaic virus*, TMV) (蘇等，1976)、大蒜嵌紋病毒 (*Garlic mosaic virus*, GarMV) (翁與韓，1978)、大蒜潛隱病毒 (*Garlic latent virus*, GarLV) (鄧等，1991)、分蔥潛隱病毒 (*Shallot latent virus*, SLV) (Barg et al., 1994)、大蒜蝽媒長絲狀病毒 (*Garlic mite-borne filamentous virus*, GarMbFV) (Barg et al., 1994)、韭蔥黃條斑紋病毒 (*Leek yellow stripe virus*, LYSV) (Barg et al., 1994)、大蒜普通潛隱病毒 (*Garlic common latent virus*, GCLV) (鄧等，1999) 及分蔥黃條斑紋病毒 (*Shallot yellow stripe virus*, SYSV) (Van der Vlugt et al., 1999) 等。在大陸地區，除上述病毒外 (周等，1989)，還有 *Garlic virus A* (GarV-A) 及 GarV-B, -C, -D, -E, -X 等 (Chen et al., 2001; Chen et al., 2004)。此外感染蔥屬植物的病毒在國外記錄尚有 *Garlic dwarf virus* (GDV) (Lot et al., 1994)、*Garlic mite-borne virus* (Koo et al., 1998; Yamashita et al., 1996)、*Garlic yellow streak virus* (Mohamed & Young, 1981)、*Iris yellow spot virus* (IYSV) (Gera et al., 1998)、*Leek white stripe virus* (LWSV) (Lot et al., 1996)、*Lettuce necrotic yellow virus* (LNYV) (Sward, 1990)、*Tobacco necrosis virus* (TNV) (Barg et al., 1994)、*Tomato black ring virus* (TBRV) (Bos, 1983)、*Turnip mosaic virus* (TuMV) (Gera et al., 1997) 等。

病毒之檢測

洋蔥黃萎病毒 (*Onion yellow dwarf virus*, OYDV)

生物分析: 主要感染洋蔥 (*Allium cepa*) 和分蔥 (*Allium cepa* var. *ascalonicum*)，引起全株黃化、萎縮，在葉及花軸上形成黃色條斑，嚴重時呈捲曲彎曲狀。雖然洋蔥上的 OYDV 並不能傳至大蒜，但是一般認為臺灣大蒜黃萎型病症即是由 OYDV 所引起(周，1975；Chen & Ko, 1979)，中國大蒜的嵌紋病徵亦證實由 OYDV 所致(周等，1989)，近年亞蔬的年報亦認為 OYDV 是臺灣大蒜上由

蚜蟲傳播的主要 *Potyvirus*。利用接種試驗，OYDV 不感染韭蔥 (*Allium porrum*) 及 LYSV 不感染洋蔥和分蔥的特性可作鑑定判別 (Bos,1983)。

病原型態: 屬於 *Potyviridae* 科, *Potyvirus* 屬。陰染法電子顯微鏡可觀察病毒顆粒。鞘蛋白 subunit 分子量估計為 30kDa (Bos,1976)。

血清檢測: OYDV 在蒜株內分佈不均, 檢測取樣時宜採新葉的葉尖, 才有較高的病毒濃度 (Dovas, et al., 2002)。抗原與 LYSV 抗體有交互反應。已製備複合病毒抗血清可供 ELISA、IEM、或 Western blot 試驗以偵測病毒。市售的 ELISA 檢定試劑有: Agdia CAB20101、BIOREBA Art.160212、DSMZ AS-0231、AS-0447、Loewe Phytodiagnostic Biochemica. 07111、Sanofi 51236。

分子檢測: 依 Takaichi et al., 1998 所述取樣本葉片 50mg, 以 ISOGEN 組劑 (Nippon Gene), 進行全量 RNA 萃取, 用 Amersham First strand cDNA Synthesis Kit 以 oligo(dT) 為引子合成第一股 cDNA。以 OYDV CP gene 設計引子對 OL2:GATAAGGATGTGGATGCAGG 及 OR1:CGATTAGCTGCCCTCTAAC 為引子, 混合 cDNA 及 Takara PCR 組劑。於熱循環反應儀中進行 27 個 PCR 循環反應, 程序為 95°C 下變性 1 分鐘, 57°C 下煉合 1 分鐘, 72°C 下聚合 1 分鐘。反應完成後, 以 1% 瓊脂凝膠進行水平電泳, 其中含有 OYDV 之樣本可以產生一條 601bp 的專一片段。相關核酸鑑定資料: NCBI Taxonomy id.: 43130, GenBank accession: AJ293278、AF228414、AB000845、AB000843、AB000841、AB000840、AB000839、AB000838、AB000837、AB000836、D73378、AF071226、AB000472、AB000474、AB000473、Y11826。

韭蔥黃條斑紋病毒 (*Leek yellow stripe virus, LYSV*)

生物分析: LYSV 主要感染韭蔥, 造成黃色條斑, 少感染洋蔥及分蔥。可利用接種試驗, 依判別寄主反應作為與 OYDV 的鑑別 (Bos et al., 1978)。

病原型態: 屬於 *Potyviridae* 科, *Potyvirus* 屬。陰染法電子顯微鏡可觀察病毒顆粒, 超薄切片的組織觀察有風車狀內含體的發生。鞘蛋白 subunit 分子量估計為 34kDa。

血清檢測: LYSV 與 OYDV 有血清交互關係。已製備抗血清供 ELISA、IEM、或 Western blot 試驗以偵測 LYSV。市售的 ELISA 檢定試劑有: Agdia CAB20301, BIOREBA Art.160312, DSMZ AS-0225, Sanofi 51227。

分子檢測: Lunello et al., 2005 以 one-step IC-RT-PCR, 並設計廣效性的引子對: upper(P1): 5'-CGGGGCCCTWGGNMAAGCRCCATWYAT-3' 及 lower(P2): 5'-CGGAGCTCTNCCRTTYTCRATRCACCA-3', 可同時偵測 4 種感染蔥屬的病毒, 包括 OYDV, LYSV, SYSV 及 TuMV。其方法如 ELISA, 病毒經 IgG 捕捉附著於微量盤後, 用 Promega Access RT-PCR system kit 以上述引子對為引子進行 RT, 經 37°C 45 分鐘合成 cDNA, 再將材料移至微量離心管進行 PCR, 經 94°C 變性 2 分鐘, 隨後進行 5 個循環反應, 程序為 94°C 下變性 30 秒, 37°C 下煉合 30 秒, 68°C 下聚合 1 分鐘, 再進行 40 個 PCR 循環反應, 程

序為 94°C 下變性 30 秒，50°C 下煉合 30 秒，68°C 下聚合 2 分 30 秒，最後一個循環中之 68°C 下聚合延長為 7 分鐘。反應完成後，以 2% 瓊脂凝膠進行水平電泳，其中含有 LYSV 之樣本可以產生一條 566bp 的專一片段，OYDV 可以產生一條 489bp 的專一片段，SYSV 可以產生一條 508bp 的專一片段，TuMV 可以產生一條 594bp 的專一片段。相關核酸鑑定資料：NCBI Taxonomy id. : 42004，GenBank accession : AF228415、AY007693、D11118、D85436、AF071525、AB005612、AB005611、AB005610、X89711。

分蔥黃條斑紋病毒 (*Shallot yellow stripe potyvirus, SYSV*)

生物分析:利用接種試驗，依判別寄主洋蔥、分蔥、韭蔥及青蔥(*Allium fistulosum*)之反應作為鑑別(Van der Vlugt et al., 1999)。

病原型態:屬於 *Potyviridae* 科，*Potyvirus* 屬。陰染法電子顯微鏡可觀察病毒顆粒。鞘蛋白 subunit 分子量估計為 29.5kDa。

血清檢測:SYSV 市售的 ELISA 檢定試劑有：Agdia CAB34600, DSMZ AS-0233/1, AS-0452, AS-0452/1。

分子檢測:以上述 Lunello et al., 2005 的方法，SYSV 可以產生一條 508bp 的專一片段。相關核酸鑑定資料：NCBI Taxonomy id. : 62059, GenBank accession : AJ223826、Y11747。

分蔥潛隱病毒 (*Shallot latent virus, SLV*)

生物分析:利用接種試驗，依判別寄主反應作為鑑別。可應用的有：洋蔥、分蔥、韭蔥、青蔥及紅藜(*Chenopodium amaranticolor*)、奎藜(*C. quinoa*)、番杏(*Tetragonia expansa*)及蠶豆(*Vicia faba*)等(Bos,1978)。

病原型態:屬於 *Flexiviridae* 科，*Carlavirus* 屬。陰染法電子顯微鏡可觀察病毒顆粒。鞘蛋白 subunit 分子量估計為 29-31kDa。

血清檢測:已製備 SLV 抗血清供 ELISA、IEM、或 Western blot 試驗以偵測病毒。SLV 有 3 類型，但只需要一種 SLV 抗體即可檢出各型的 SLV 或 GarLV (Tsuneyoshi et al., 1998)。同時經直接組織印漬免疫分析(Direct tissue blotting immunoassay, DTBIA) (Lin et al, 1990)檢測病毒在植株內的分佈，顯示 SLV 罹病蔥苗全株組織均有病毒反應，因此病毒檢測時因採樣偏差造成偽陰性的機率相當低。市售的 ELISA 檢定試劑有：Agdia CAB34200、BIOREBA Art.160812、DSMZ AS-0512/1, AS-0512/2, AS-0512/3, AS-0512/4, AS-0512。

分子檢測:取樣本葉片，利用全量 RNA 純化組劑 (Viogene, Plant RNA Extraction Miniprep System)，進行 RNA 萃取。以 SLV 專一性引子對 SLV-F:GTAACGTGCAGAACTTGCC 及 SLV-R:AACCTCCAGTAACCTCAGC 為引子，利用反轉錄試劑組合成第一股 cDNA。於熱循環反應儀中進行 35 個 PCR 循環反應，程序為 94°C 下變性 1 分鐘，56°C 下煉合 1 分鐘，72°C 下聚合 1.5 分鐘，最後一個循環中之 72°C 下聚合延長 8 分鐘。反應完成後，各取 10

μ l PCR 產物注入 1% 瓊脂凝膠，以 100 V 之電壓進行水平電泳 50 分鐘。比對健株及罹病株出現之不同 DNA 片段，其中含有 SLV 之樣本可以產生一條約 1.3 Kbp 的專一片段，無此現象者即視為負反應。供比對的核酸鑑定資料有：NCBI Taxonomy id.：12172，及 GenBank accession：AB004803、AB004802、AB004457、AB004456、AB004544。

大蒜普通潛隱病毒(Garlic common latent virus, GCLV)

生物分析：GCLV 可經蚜蟲傳播，單獨感染在蒜株並不造成病徵，利用接種試驗，依判別寄主反應作為鑑別(Van Dijk, 1993)。

病原型態：屬於 *Flexiviridae* 科，*Carlavirus* 屬。陰染法電子顯微鏡可觀察病毒顆粒，超薄切片的組織病變觀察，未有風車狀內含體的發生。鞘蛋白 subunit 分子量估計為 32-35kDa。

血清檢測：已製備 GCLV 抗血清供 ELISA、IEM、或 Western blot 試驗以偵測病毒。其抗體具種別性只與 GCLV 反應，不與 SLV 交互反應(鄧等，1999)。市售的 ELISA 檢定試劑有：Agdia CAB20400, BIOREBA Art.160412, DSMZ AS-0230。

分子檢測：依 Tsuneyoshi et al., 1998 所述以 ISOGEN 組劑 (Nippon Gene)，進行全量 RNA 萃取，用 *NotI*-d (T)₁₈ 為引子合成第一股 cDNA。以 GCLV gene 設計引子對：upper (CAR-V3): 5'-GCTAGACATTGGTAGCCTTAGG-3' 及 lower (PC-R4):ACCGATTCAACTGGAAGAATTCGCGG-3' 為引子，混合 cDNA 及 PERKIN ELEMER PCR 組劑。於熱循環反應儀中進行 30 個 PCR 循環反應，程序為 94°C 下變性 30 秒，55°C 下煉合 30 秒，72°C 下聚合 1 分鐘。反應完成後，以 1% 瓊脂凝膠進行水平電泳，其中含有 GCLV 之樣本可以產生一條約 1.26kbp 的專一片段。相關核酸鑑定資料：NCBI Taxonomy id.: 47900, GenBank accession：AF228416、AB004805、AB004804、AB004566、X81138。

大蒜蟎媒長絲狀病毒 (Garlic mite-borne filamentous virus, GarMbFV)

生物分析：根據亞蔬的調查報告，台灣大蒜以 MbFV 發生頻率最高。*Garlic mite-borne filamentous virus* (GarMbFV) 係造成大蒜嵌紋病複合感染的病毒群其中之一，這群病毒 ICTV 確認分類地位的有 GarMbFV, *Garlic virus A* (GarV-A), -B, -C, -D, -E, -X 及 *Shallot virus X*。*Allexivirus* 專感染蔥科作物，經由蟎類不經蚜蟲傳播。利用接種試驗，依判別寄主反應作為鑑別(Yamashita., et al., 1996)。

病原型態：屬於 *Flexiviridae* 科，*Allexivirus* 屬。陰染法電子顯微鏡可觀察病毒顆粒，超薄切片的組織病變觀察，未有風車狀內含體的發生。鞘蛋白 subunit 分子量估算為 28kDa。

血清檢測：已製備 GarV-C 抗血清供 ELISA、IEM、或 Western blot 試驗以偵

測 allexiviruses。其抗體具種別性，不與其他 potyviruses 或 carlaviruses 反應。市售的 ELISA 檢定試劑有：DSMZ AS-0229, AS-0450, AS-0515/1, AS-0515/2。

分子檢測：Chen et al., 2004 比對現有 allexiviruses 已報告的基因設計引子對，以偵測同屬的病毒：Allex-CP(+):5'-TGGRCXTGCTACCACAAYGG-3' 及 Allex-NABP(-):5'-CCYTTCAGCATATAGCTTAGC-3' (X=A, T, C, G; Y=T, C; R=A,G)。先以 QIAGEN RNeasy Plant Mini Kit，進行全量 RNA 萃取，再用 M-MLV Reverse transcriptase 組劑 (Life Technologies Ltd) 以 M4T(5'-GTTTTCCCAGTCACGAC(T)₁₅-3') 為引子合成第一股 cDNA。混合 cDNA 及 Takara LA Taq PCR 組劑。於熱循環反應儀中進行 27 個 PCR 循環反應，程序為 95°C 下變性 1 分鐘，57°C 下煉合 1 分鐘，72°C 下聚合 1 分鐘。反應完成後，以 1% 瓊脂凝膠進行水平電泳，可以產生一條 750bp 的專一片段。將此片段轉殖至 pGEM-T(Promega)，以進行序列分析，才能鑑別病毒種類。相關核酸鑑定資料：NCBI Taxonomy id. : 140568, GenBank accession : GV-A (AB010300)、GV-B (NC_001800、U89243、AB010301)、GV-C (AB010302)、GV-D (AB010303)、ShVX (L76292)、GMbMV (D49443)、MbFV (L38892)。

菸草嵌紋病毒 (*Tobacco mosaic virus, TMV*)

生物分析：可利用大蒜葉汁液磨擦接種試驗，依判別寄主反應鑑別(Yamanaka et al., 1998)。但回接並不易感染大蒜，TMV 存活力強，田間殘存的病毒粒子可能係沾附在蒜體表面。

病原型態：屬於 *Tobamovirus* 屬，未知科名。陰染法電子顯微鏡可觀察病毒顆粒。鞘蛋白 subunit 分子量估計為 18kDa。

血清檢測：已製備病毒抗血清供 ELISA、IEM、或 Western blot 試驗以偵測病毒。市售的 ELISA 檢定試劑有：Agdia CAB57400、DSMZ AS-0040, AS-0041, AS-0042, AS-0043, AS-0073、及 Sanofi 51257。

分子檢測：除非病毒系統鑑定，須分析核酸系列，否則一般 TMV 偵測不須動用分子檢測。相關核酸鑑定資料：NCBI Taxonomy id. : 12242

結 果

生物分析：利用接種試驗，鑑別 OYDV、LYSV、SYSV、GMbFV、GCLV、SLV 及 TMV 之判別寄主反應整理如表 1。結果如下：(1)OYDV 感染洋蔥卻不感染韭蔥，青蔥可被 OYDV 無病徵感染，但對 LYSV 免疫。(2)LYSV 接種 *C. amaranticolor* 及 *C. quinoa* 所造成的局部病斑比 SLV 接種形成的慢且大。(3)SLV 會感染青蔥、洋蔥、蒜及韭等蔥屬植物，其特性是無病徵潛隱感染，但在韭蔥造成輕微退綠條斑局部病斑寄主有：紅藜、奎藜、番杏及蠶豆等。

(4)GCLV 機械接種不感染蔥、洋蔥及韭等作物，但接種至奎藜時，葉片出現退綠斑點。(5)GarMbFV 機械接種不感染蔥、洋蔥及青蔥等作物，但接種至 *C. murale* 時，葉片出現退綠斑點。(6)TMV 寄主範圍廣，與其他病毒容易區別。

表 1 OYDV、LYSV、SYSV、SLV、GCLV、GMbFV 及 TMV 之判別寄主反應

判別寄主	OYDV	LYSV	SYSV	SLV	GCLV	GMbFV	TMV
洋蔥 (onion) <i>Allium cepa</i>	S	R	S	S	R	I	-
分蔥 (shallot) <i>A. cepa</i> var. <i>ascalonicum</i>	S	R	S	S	R		-
青蔥 (Welsh onion) <i>A. fistulosum</i>		I	I	S	R	I	-
韭蔥 (leek) <i>A. porrum</i>	R	S	I	S	S	Latent (S)	-
大蒜 (garlic) <i>A. sativum</i>	S	S		S	S	S	(-)
紅藜 <i>Chenopodium</i> <i>amaranticolor</i>	-	LL	-	LL	R	Latent (L)	LL
<i>Chenopodium</i> <i>murale</i>	-	LL	-	LL	LL	LL	
奎藜 <i>Chenopodium</i> <i>quinoa</i>	-	LL	-	LL	LL	Latent (L)	LL
千日紅 <i>Gomphrena</i> <i>globosa</i>	-	-		-	-	LL	LL
<i>Nicotiana</i> <i>glutinosa</i>	-	-	-	-	-	-	LL
番杏 <i>Tetragonia</i> <i>expensa</i>				LL	-	Latent (S)	
蠶豆 <i>Vicia faba</i>	-	-		LL	-	-	

R: resistant (抵抗性), S: susceptible (感病性), I: immune (不感染), Latent (無病徵感染), (L):局部性, (S):系統性, LL: local lesion (局部病斑), -: not infected 接種後未感染。

病原型態: 陰染法電子顯微鏡，3 個 potyviruses 病毒顆粒長度約為 770 - 820nm (OYDV)、820nm (LYSV)、750nm (SYSV)；2 個 carlaviruses 病毒顆粒長度分別為 650nm (SLV)及 700nm (GCLV)；1 個 allexivirus (GarMbFV)病毒顆粒長度約為 700-800nm；1 個 tobamovirus (TMV)病毒顆粒大小約為 300×18nm。

血清檢測: 以自製 SLV 抗血清進行 Western blot 偵測不同來源的 isolates 為例，其結果如圖 1。同時經直接組織印漬免疫分析(DTBIA)檢測病毒在植株內的分佈，結果如圖 2，顯示 SLV 罹病蔥苗全株組織均有病毒反應，

分子檢測: 以 SLV-F 及 SLV-R 為專一引子對，經 RT-PCR 後其中含有 SLV 之樣本，如圖 3 可獲得一約 1.3 K bp 之 DNA 產物。

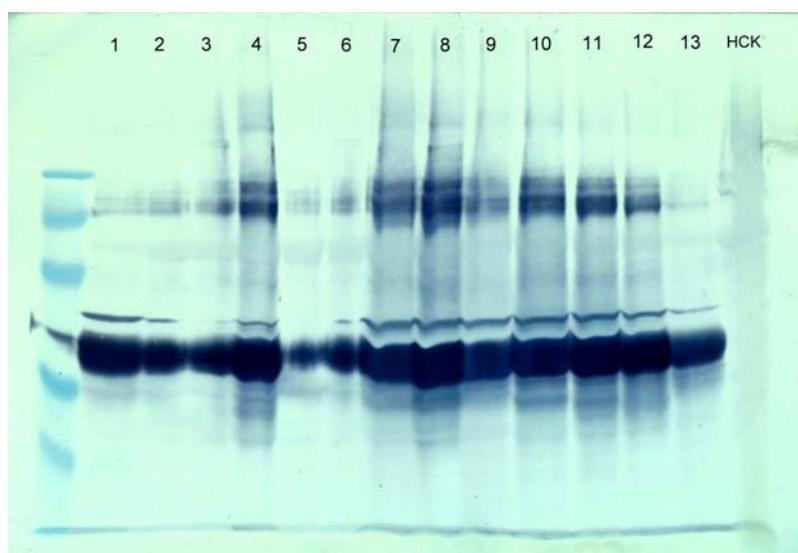


圖 1 以 SLV 抗體進行 Western blot，不同來源的 isolates 反應結果。

STD: BioRad Prestained SDS-PAGE Standards (Low range)

- 1: 韭(SLVcl) 接種 *Chenopodium quinoa*
 - 2: 韭(SLVcl) 接種韭 *Allium tuberosum*
 - 3: 韭(SLVcl) 接種蔥 *Allium fistulosum*
 - 4: 蔥(SLVwo) 接種 *Chenopodium quinoa*
 - 5: 蔥(SLVwo) 接種韭 *Allium tuberosum*
 - 6: 蔥(SLVwo) 接種蔥 *Allium fistulosum*
 - 7: 北蒜(GLV) 接種 *Chenopodium quinoa*
 - 8: 象蒜(SLVeg) 接種 *Chenopodium quinoa*
 - 9: 蒜 13(SLVg13) 接種 *Chenopodium quino*
 - 10: 612(SLVg612) 接種 *Chenopodium quino*
 - 11: 韭 3(SLVcl3) 接種 *Chenopodium quino*
 - 12: 蔥 4(SLVwo4) 接種 *Chenopodium quinoa*
 - 13: 蔥 5(SLVwo5) 接種 *Chenopodium quinoa*
- HCK: Healthy *Chenopodium quinoa*

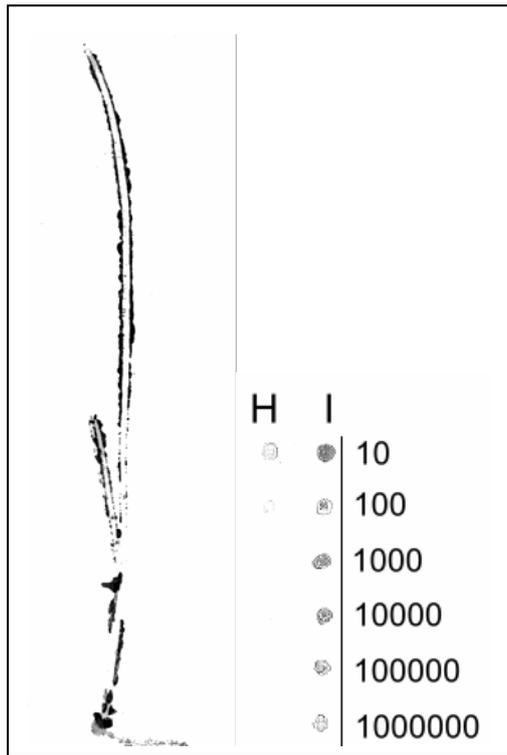


圖 2 利用直接組織印漬免疫分析檢測 SLV 在蔥株組織分佈(左圖)，健康(H)及 SLV 感染(I)的蔥葉淬液經十倍系列稀釋以點漬免疫分析之結果(右圖)

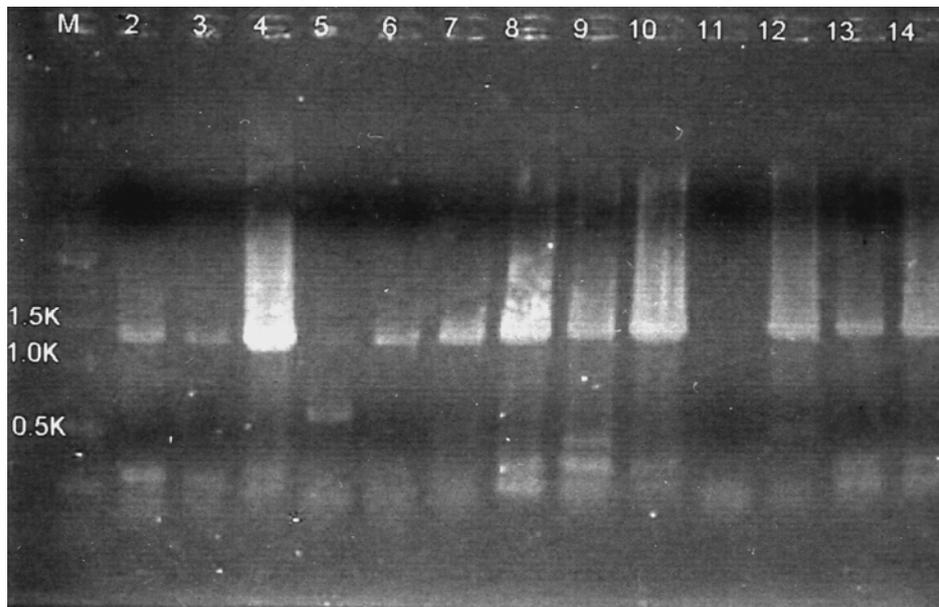


圖 3 以 SLV-F 及 SLV-R 為專一引子對，其中含有 SLV 之樣本(11 除外)經 RT-PCR 後可獲得一約 1.3 K bp 之 DNA 產物。

討 論

臺灣大蒜嵌紋型病徵在田間發病率達 100% (翁與韓, 1978; 蘇等 1976), 其病徵在葉上出現與主軸平行長短不等之黃條斑, 嚴重時病株顯著矮小。報告指出造成大蒜嵌紋病的 GarMV 屬於 *Potyvirus* (蘇等 1976; La, 1973; Lee, 1979), 但是近年經血清學及分子生物學進一步鑑定造成大蒜嵌紋病的 *Potyvirus* 應是 OYDV 或 LYSV 或其複合感染所致 (Barg et al., 1997; Van Dijk, 1993a), 目前國際間已無所謂的大蒜嵌紋病毒。但仍有舊核酸鑑定資料: NCBI Taxonomy id.: 12200, GenBank accession: AF314146、E03283、E03282。

農試所在 1991 年已完成大蒜潛隱病毒 (*Garlic latent virus*, GarLV) 的鑑定與發生報告 (鄧等, 1991)。雖然 *Garlic latent virus* 早在 1979 年即由 Lee et al. 發表命名, 日本 (Fukami et al. 1989; Sako et al., 1991; Tsuneyoshi et al., 1998)、臺灣 (鄧等, 1991)、中國 (周等, 1989; Chen et al., 2004)、美洲 (Marys et al., 1994; Stobbs, et al., 1996) 及西班牙 (Pena-Iglesias & Ayuso, 1982) 學者沿用之, 但 Van Dijk 認為 GarLV 即是其分蔥潛隱病毒的大蒜系統 (garlic strain of *shallot latent virus*, SLV-G) (Van Dijk, 1993b), 因此以往臺灣的 GarLV, 目前在國際間稱為 SLV-G。可用 SLV 血清檢定試劑進行偵測。以 GarLV 為名的核酸鑑定資料有 NCBI Taxonomy id.: 12458, GenBank accession: AF314147、AB004686、AB004685、AB004684、AB004567、AB004565、AB004458、D73379、D11161、Z68502、X67134。

總之感染大蒜的病毒種類繁多, 與其他感染蔥屬的病毒交互感染後, 可能加速病毒的變異演化, 唯有隨時更新資訊, 與時俱進改進診斷鑑定技術, 才能掌控檢疫及防疫的實際狀況。

引用文獻

- 林俊義。1984。大蒜嵌紋病對大蒜產量與品質之研究。中國園藝 30:165-172。
- 周廷光。1975。台灣石蒜科作物病毒之研究。台灣農業 11(4):119-137。
- 周桂珍、曹鳴慶、裘季燕、孫東玲。1989。京郊大蒜病毒病的研究及其鱗莖中病毒的脫除。植物病理學報 19:145-149。
- 翁榮南、韓又新。1978。大蒜嵌紋病毒之研究。植保學會 76 年年會論文摘要:3。
- 鄧汀欽、蔡淑妮、蔡財旺。1991。大蒜潛隱病毒在臺灣之發生及其生物特性。中華農業研究 40:333-345。
- 鄧汀欽、蔡錦惠、廖吉彥、張清安。1999。大蒜普通潛隱病毒之分離與鑑定。植物病理學會刊 8:218-219(摘要)。

- 蘇鴻基、陳永茂、劉慧卿。 1976。 大蒜嵌紋病之病原研究。 植保會刊 18:397 (摘要)。
- Barg, E., Lesemann, D.-E., Vetten, H. J., and Green, S. K. 1994. Identification, partial characterization and distribution of viruses infecting *Allium* crops in south and south-east Asia. *Acta Hort.* 358:251-258.
- Barg, E., Lesemann, D.-E., Vetten, H. J., and Green, S. K. 1997. Viruses of Alliums and their distribution in different Allium crops and geographical regions. *Acta Hort.* 433:607-616.
- Bos, L. 1976. Onion yellow dwarf virus. CMI /AAB Descriptions of Plant Viruses. No. 158. Kew, Surrey, England.
- Bos, L. 1983. Viruses and virus diseases of Allium species. *Acta Hort.* 127:11-29.
- Bos, L., Huijberts, N., Huttinga, H., and Maat, D. Z. 1978. Leek yellow stripe virus and its relationships to onion yellow dwarf virus; characterization, ecology and possible control. *Neth. J. Plant Pathol.* 84:185-204.
- Chen, J., Chen, J., and Adams, M. J. 2001. Molecular characterization of a complex mixture of viruses in garlic with mosaic symptoms in China. *Arch. Virol.* 146:1841-1853.
- Chen, J., Zheng, H.-Y., Antoniow, J. F., Adams, M. J., Chen, J.-P., and Lin, L. 2004. Detection and classification of allexiviruses from garlic in China. *Arch. Virol.* 149: 435 – 445.
- Chen, M. J., and Ko, N. J. 1979. Etiological studies on viruses of garlic in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 21:220-225.
- Dovas, C. I., Mamolos, A. P. M., and Katis, N. I. 2002. Fluctuations in concentration of two potyviruses in garlic during the growing period and sampling conditions for reliable detection by ELISA. *Annal. Appl. Biol.* 140: 21-28.
- Fukami, M., Natsuaki, K. T., Motoyoshi, F., and Tomaru, K. 1989. Simple and rapid detection of garlic latent virus from Welsh onions by gelatin particle agglutination test. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* 55: 671-675.
- Gera, A., Cohen, J., Salomon, R., and Raccach, B. 1998. Iris yellow spot tospovirus detected in onion (*Allium cepa*) in Israel. *Plant Dis.* 82: 127.
- Gera, A., Lesemann, D. E., Cohen, J., Franck, A., Levy, S., and Salomon, R. 1997. The natural occurrence of turnip mosaic potyvirus in *Allium ampeloprasum*. *J. Phytopathology* 145: 289-293.
- Koo, B. -J., Chang, M. -U., and Choi, Y. -D. 1998. Garlic mite-borne virus isolated from cultivated garlic in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 14: 136-144.
- La, Y. -J. 1973. Studies on garlic mosaic virus, its isolation, symptom expression in test plants, physical properties, purification, serology and electron microscopy. *Korean J. Plant Protection* 12: 93-107.

- Lee, Y. W., Yamazaki, S., Osaki, T., and Inouye, T. 1979. Two elongated viruses in garlic, garlic latent virus and garlic mosaic virus. *Ann Phytopathol. Soc. Japan* 45: 727-734.
- Lin, N. S., Hsu, Y. H., and Hsu, H. T. 1990. Immunological detection of plant viruses and a mycoplasma-like organism by direct tissue blotting on nitrocellulose membranes. *Phytopathology* 80: 824-828.
- Lot, H., Delecolle, B., Boccardo, G., Marzachi, C., and Milne, R. G. 1994. Partial characterization of reovirus-like particles associated with garlic dwarf disease. *Plant Pathology* 43: 537-546.
- Lot, H., Rubino, L., Delecolle, B., Jacquemond, M., Turturo, C., and Russo, M. 1996. Characterization, nucleotide sequence and genome organization of leek white stripe virus, a putative new species of the genus Necrovirus. *Arch. Virol.* 141: 2375-2386.
- Lunello, P., Ducasse, D., and Conci, V. 2005. Improved PCR detection of potyviruses in *Allium* species. *European J. Plant Pathology* 112: 371-378.
- Marys, E., Carballo, O., and Izaguirre-Mayoral, M. L. 1994. Isolation and characterization of viruses present in four clones of garlic (*Allium sativum*) in Venezuela. *J. Phytopathology* 142: 227-234.
- Mohamed, N. A., and Young, B. R. 1981. Garlic yellow streak virus, a potyvirus infecting garlic in New Zealand. *Annal. Appl. Biol.* 97: 65-74.
- Pena-Iglesias, A., and Ayuso, P. 1982. Characterization of Spanish garlic viruses and their elimination by in vitro shoot apex culture. *Acta Hort.* 127:183-193.
- Sako, I., Nakasone, W., Okada, K., Ohki, S., Osaki, T., and Inouye, T. 1991. Yellow streak of rakkyo (*Allium chinense* G. Don), a newly recognized disease caused by garlic latent virus and onion yellow dwarf virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 57: 65-69.
- Stobbs, L. W., Cerkauskas, R. F., and VanSchagen, J. G. 1996. First report of garlic latent virus in Ontario. *Plant Dis.* 80: 343.
- Sward, R. J. 1990. Lettuce necrotic yellow rhabdovirus and other virus infecting garlic. *Australian Plant Pathol.* 19(2):46-51.
- Takaichi, M., Yamamoto, M., Nagakubo, T., and Oeda, K. 1998. Four garlic viruses identified by reverse transcription-polymerase chain reaction and their regional distribution in northern Japan. *Plant Dis.* 82: 694-698.
- Tsuneyoshi, T., Matsumi, T., Deng, T. C., Sako, I., and Sumi, S. 1998. Differentiation of *Allium* carlaviruses isolated from different parts of the world based on the viral coat protein sequence. *Arch. Virol.* 143:1093-1107
- Van der Vlugt, R. A. A., Steffens, P., Cuperus, C., Barg, E., Lesemann, D.-E., Bos, L., and Vetten, H. J. 1999. Further evidence that shallot yellow stripe virus (SYSV) is

- a distinct potyvirus and reidentification of Welsh onion yellow stripe virus as a SYSV strain. *Phytopathology* 89:148-155.
- Van Dijk, P. 1993a. Survey and characterization of potyviruses and their strains of *Allium* species. *Neth. J. Plant Pathol.* 99 (Suppl. 2): 1-48.
- Van Dijk, P. 1993b. Carlavirus isolates from cultivated *Allium* species represent three viruses. *Neth. J. Plant Pathol.* 99: 233-257.
- Yamanaka, T., Komatani, H., Meshi, T., Naito, S., Ishikawa, M., and Ohno, T. 1998. Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of Tobacco mosaic virus strain Cg. *Virus Genes* 16: 173-176.
- Yamashita, K., Sakai, J., and Hanada, K. 1996. Characterization of a new virus from garlic (*Allium sativum* L.), garlic mite-borne mosaic virus. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* : 62: 483-489.