中華農業研究 28(3):207~216(1979)

木瓜毒素病純系病毒之分離與二種不同病徵型病毒之寄主範圍與物理性質之比較[1]

張 清 安[2]

摘要：本省之木瓜毒素病可於兩種藜科植物 (*Chenopodium amaranticolor* 及 *C. quinoa*) 上產生局部病斑。利用五種不同濃度之磷酸緩衝液，配合五種還原劑處理，均無法將 *C. amaranticolor* 上之單局部病斑回接至木瓜，但以相同之處理回接 *C. quinoa* 之單局部病斑却可獲得成功，所選用之五種不同濃度之磷酸緩衝液中以 0.025 M 之效果最佳，五種還原劑處理則以 0.1% 之 Sodium diethyldithiocarbamate (DIECA) 效果最好。*C. quinoa* 上之病斑出現後第六天單一局部病斑內所含病毒濃度達到最高，回接木瓜之成功率也最大。

利用上述方法已分離兩種在木瓜上產生不同病徵之純系病毒 (pure isolate)。其中病毒 I 可造成木瓜植株之萎凋，葉柄或莖幹彎曲下垂，葉子焦枯而全株死亡，病毒 II 則不會造成植株萎凋而僅於葉部產生明顯之嵌紋病徵。除木瓜外二病毒之寄主範圍均僅限於藜科及葫蘆科之瓜類植物，其中尤以南瓜上之病徵二者具最有顯著之差異。

經比較二病毒之物理性質後發現，二者在耐熱性、耐冷凍性、耐保存性、耐稀釋性及沉降離心力上亦有明顯之不同。

臺灣木瓜毒素病於民國 64 年首度於高雄縣燕巢、大樹和阿蓮等鄉鎮發生，短時間內即蔓延至南部各主要木瓜產區，如今全省各地除臺東地區外木瓜栽培事業已幾近停頓，其傳播之速，危害之烈，實爲本省植病史上所罕見。感病之木瓜葉片上會產生斑駁之嵌紋病徵，葉柄及莖部則出現水浸狀條斑或環斑，未達結果齡之植株得病後即停止生長無法結果，達到結果齡之植株被感染後，果實變小且產生水浸狀輪斑或同心圓斑，此種果實果肉硬、甜度低且失去木瓜特有之風味，嚴重影響木瓜品質及果農之收益。

王氏等 (1978) 根據本病毒之汁液傳播、寄主範圍、蚜蟲媒介及粒子形態等特性，確定其爲木瓜輪點病毒 (Papaya ringspot virus)[1,5]。此病毒自 1945 年 Linder et al[18] 在夏威夷首次報告以來，類似之病毒便陸續地在世界各地被發現[6,7,8,9,17]，但各地學者所使用之病毒名稱却十分分岐，例如 Florida 使用 Distortion ringspot virus[7,11]，Faint mottle ringspot virus[8,11]，而夏威夷則使用 ringspot virus[10]，這些病毒間之異同，由於缺乏直接實驗之證明，尚無定論，不過由此顯示此病毒可能有多種類型存在，因而造成使用名稱之差異。臺灣木瓜毒素病之類型研究尚屬起步階段，不過根據林氏 (1979) 之研究田間感病木瓜可區分成四種病徵型，接種於藜上所產生之局部病斑也發現有黃化型與壞疽型二種病斑[3]，因此推測臺灣之木瓜毒素病病毒也有不同之類型存在，而這些類型間之關係爲何，對木瓜生長之影響有何異同，不僅在學術上有探討之必要，在抗病育種上亦必

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 893 號。本研究乃行政院國家科學委員會研究專題 NSC—67B—0409—08(10) 之部分成果。

2. 本所植物病理系技佐。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

須儘速予以澄清，不過此類問題之研究均有賴於純系 (pure isolate)病毒之獲得方能進行，本研究之目的即在於探求分離單一純系病毒之方法，以了解不同類型病毒存在之可能性，並就初步分離所得之病毒加以比較，俾有助於抗病育種工作之進展。

材料與方法

本試驗係於網室中進行，試驗期間並定期噴佈殺蟲劑以杜絕媒介昆蟲之傳播與發生，罹病木瓜材料乃採自高雄縣大樹鄉及臺中縣霧峰鄉之典型發病植株，然後接種於自行栽培之健全日昇種木瓜苗上保存，試驗進行中除另有註明外均以 10 倍量 (ml/g) 之 0.025 M 磷酸緩衝液，pH 7.0，內含 0.1 % Sodium diethyldithiocarbamate (DIECA)，磨碎過濾後接種，接種時係以棉花團沾取汁液，於事先灑有 400 目金鋼砂的指示植物葉片上輕拭，三分鐘後再以自來水洗去多餘汁液。

一、不同濃度之磷酸緩衝液對單局部病斑回接木瓜之影響：將罹病木瓜材料接種於藜科植物 *Chenopodiumamaranticolor* 及 *C. quinoa* 上，病斑出現後，以 pH 7.0 之 0.5, 0.25, 0.05, 0.025 及 0.0125 M 等五種不同濃度之磷酸緩衝液，將單一之局部病斑挑出磨碎，接種於木瓜幼苗上，每一個局部病斑接種一株木瓜，每處理接五株，重覆二次。

二、不同還原劑對單局部病斑回接木瓜之影響：依前法將單一局部病斑挑出，以含有 0.1 % So-

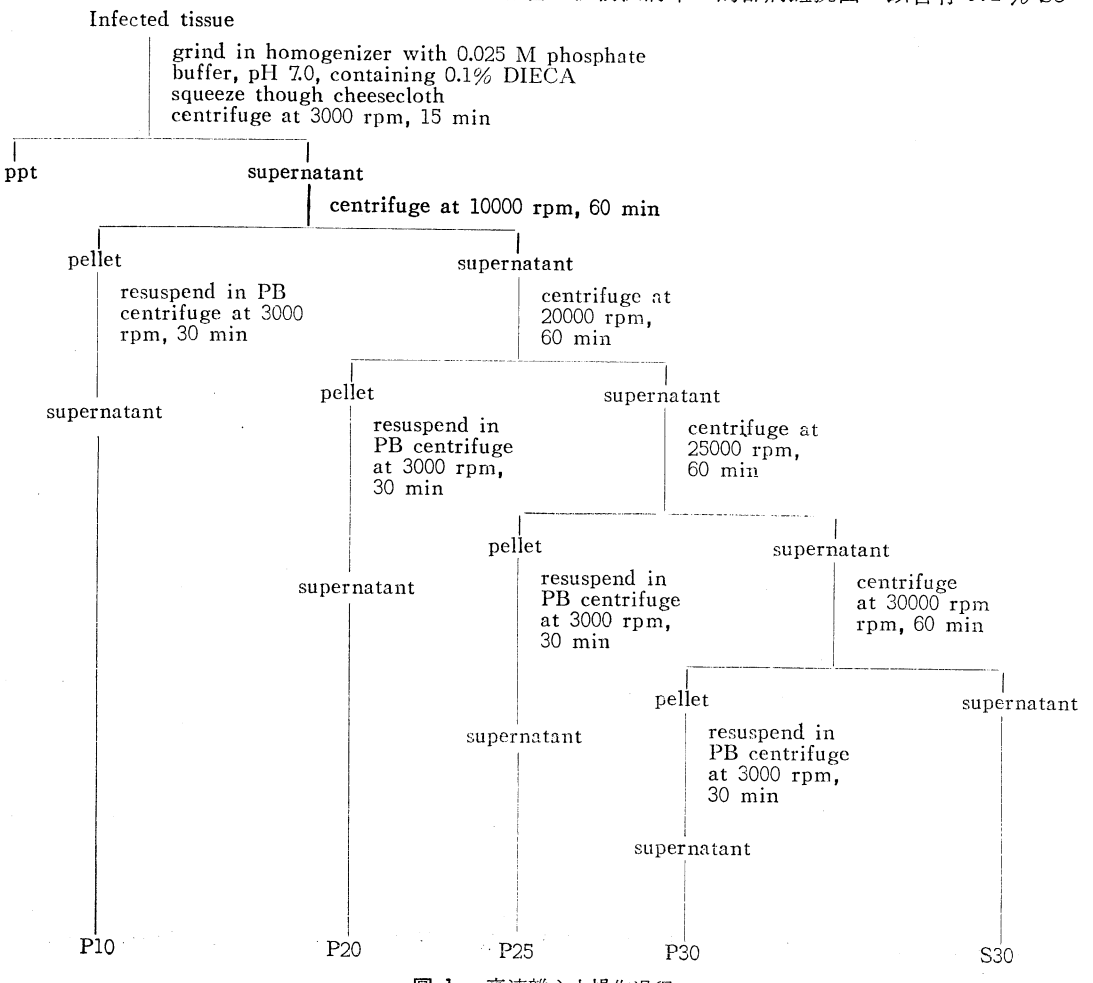


圖 1. 高速離心之操作過程

Fig. 1. Procedure of high speed centrifugation.

dium diethyldithiocarbamate, 0.25 % 2-Mercaptoethanol, 0.25 % Thioglycolic acid, 0.01 M Sodium sulfite 及 0.025 % L-Ascorbic acid 等五種還原劑之 0.025 M 磷酸緩衝液，pH 7.0 ，分別磨碎接種於木瓜苗上，每一處理接種十株，重覆二次。

三、測定病斑出現後單局部病斑內所含之病毒濃度及回接木瓜之感染率：罹病木瓜接種於 *C. quinoa* 上，待病斑出現後每隔二天挑取單局部病斑，接種於 *C. amaranticolor* 上測定病斑中所含病毒濃度，又接種於木瓜苗上以了解最適宜回接之時期，每次接種五株木瓜苗，重覆二次。

四、純系病毒之分離與寄主範圍之測定：依前三項之結果，將 *C. quinoa* 上之單局部病斑經三次之重覆接種篩選後，回接於木瓜苗上保存，進行寄主範圍測定時係依機械接種法接種於各種健全之供試植物上，30 天後再採取該植物回接於藜及木瓜上以了解其感染情形。

五、物理性質之測定：本試驗之各項物理性質均以 10 倍量 (v/w) 之前述緩衝液將木瓜葉片磨碎過濾後再經 3000 rpm 離心 15 分鐘之上澄液作爲 10 倍稀釋液，進行測定。**耐熱性**之測定係將 1.2 cc 之汁液密封於長 78 mm ，外徑 8 mm ，內徑 7 mm 之玻管中，埋入定溫之水浴 (water bath) 內處理 10 分鐘，隨即取出以自來水冷却，接種於藜上以決定病毒之耐熱性。測定**耐冷凍性**時係將汁液分成二組，一組置於 −30°C 下冷凍，另一組則置於 4°C 下做爲對照，24 小時後冷凍者使之自然解凍，而後二組均以 3000 rpm 離心 15 分鐘，取上澄液以半葉法接種於藜上以比較冷凍處理之影響。**耐稀釋性**測定時係以相同之緩衝液將汁液稀釋成六種濃度，再依拉丁方格設計接種於藜上以決定耐稀釋性。測定**耐保存性**時，則將汁液置於 20°C 定溫箱中，每日定時取出接種，以決定其耐保存性。測定不同高速離心後感染力之變化時，係根據圖 1 所示過程進行試驗，所得之各部上澄液亦依拉丁方格設計以比較感染力之變化。本試驗過程中除 3000 rpm 乃使用 Heraeus Minifuge 離心機外，其餘轉速均以 Hitachi 55 P-2 超速離心機之 RP 50-2 轉座 (rotor) 所進行。

結　　果

一、不同濃度之磷酸緩衝液對單局部病斑回接木瓜之影響 挑取 *C. amaranticolor* 及 *C. quinoa* 上之單局部病斑，以表一所示之五種不同濃度之磷酸緩衝液，分別磨碎接種於木瓜苗上，結果如表 1 所示，二局部病斑寄主中，唯有 *C. quinoa* 之局部病斑可以回接至木瓜上出現病徵，而 *C. amaranticolor* 之局部病斑則回接未獲成功。五種供試濃度中以 0.025 M 之效果最佳。

表 1. 不同濃度之磷酸緩衝液對局部病斑回接木瓜之影響

Table 1. Effect of different conc. of phosphate buffer, pH 7.0, on the re-inoculation of single lesion to papaya.

處　理 Treatment	發病木瓜數[a] No. of papaya infected	
	from *C. amaranticolor*	from *C. quinoa*
0.5 M	0	0
0.25 M	0	2
0.05 M	0	3
0.025 M	0	8
0.0125 M	0	4
water	0	2

a. 接種 10 株木瓜苗之發病數。
No. of papaya seedlings infected per 10 plants.

二、不同還原劑對單局部病斑回接木瓜之影響

根據前項之結果，選用最適回接之 0.025 M 之磷酸緩衝液，配合五種不同還原劑，依同法進行回接試驗。其結果如表 2 所示； *C. amaranticolor* 之局部病斑仍然無法回接至木瓜，而 *C. quinoa* 之局部病斑唯有以 0.01 M Sodium sulfite 所做之回接試驗未獲成功外，其餘四種還原劑均可回接成功，其中則以 0.1 % 之 Sodium diethyldithiocarbamate (DIECA) 之效果最佳。

表 2. 數種還原劑對局部病斑回接木瓜之影響

Table 2. Effect of several reducing agents on the re-inoculation of single lesion to papaya.

處理 Treatment [a]		發病木瓜數 [b] No. of papaya infected	
		from *C. amaranticolor*	from *C. quinoa*
0.1 %	DIECA	0	15
0.25 %	Mercaptoethanol	0	11
0.25 %	Thioglycolic acid	0	5
0.01 M	Sodium sulfite	0	0
0.025 %	L-Ascorbic acid	0	6

a. 0.025 M 之磷酸緩衝液，pH 7.0 所含之還原劑種類及濃度。
Reducing agents and its conc. contained in 0.025 M phosphate buffer, pH 7.0.

b. 接種 20 株木瓜苗之發病數。
No. of papaya seedlings infected per 20 plants.

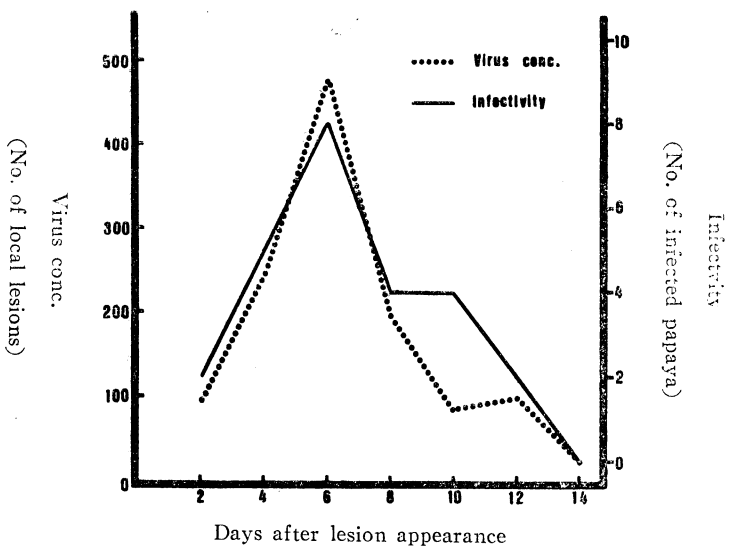


圖 2. 病斑出現後單局部病斑內所含之病毒濃度及回接木瓜之感染率

Fig. 2. Virus conc. of single lesion after lesion appearance and its infectivity of re-inoculation to papaya.

三、測定病斑出現後單局部病斑內所含之病毒濃度及回接木瓜之感染率

罹病木瓜接種於 *C. quinoa* 上，待局部病斑出現後每二天測定一次單局部病斑所含病毒濃度，結果以病斑出現後第六天之局部病斑所含之病毒濃度最高，而且此時回接木瓜之成功率亦最高。

四、純系病毒之分離與寄主範圍之測定

根據前三項之結果，選用 0.025 M 之磷酸緩衝液，pH 7.0, 配合 0.1 % 之 DIECA，於 *C. quinoa* 之局部病斑出現後第六天挑取接種至 *C. quinoa* 上，如此重覆操作三次後將最後一代病斑回接至木瓜苗上，結果由高雄縣大樹鄉及臺中縣霧峰鄉所採集之木瓜病株上分離出二種在木瓜上造成不

表 3. 兩種純系病毒之寄主範圍及反應

Table 3. Host reactions of two isolates of Papaya ringspot virus.

供試植物 Test plants	寄主反應 Reactions		回接試驗 Recover test	
	Virus I	Virus II	Virus I	Virus II
Chenopodiaceae 藜科				
Chenopodium amaranticolor	L-L	L-L	−	−
C. quinoa	L-L	L-L	+	+
Cucurbitaceae 葫蘆科				
Cucurbita moschata 鳳凰南瓜	V-C	M. V-N	+	+
Cucumis sativus 胡瓜	( )	( )	+	+
Cucumis melo				
(新玉甜瓜)	M	M	+	+
(洋香瓜)	M	M	+	+
Luffa cylindrica 絲瓜	−	−	−	−
Citrullus vulgaris				
(小鳳西瓜)	M	M	+	+
Momordica charantia 苦瓜	−	−	−	−
Lagenaria siceraria 扁蒲	−	−	−	−
Lenguminosae 荳科				
Arachis hypogaea 花生	−	−	−	−
Cassia ocidentalis 啡啡豆	−	−	−	−
C. obtusifolia	−	−	−	−
Glycine max 大豆	−	−	−	−
Pisum sativum 豌豆	−	−	−	−
Phaseolus vulgaris 菜豆	−	−	−	−
Vigna sinensis 豇豆	−	−	−	−
Solanaceae 茄科				
Capsicum annum 辣椒	−	−	−	−
Lycopersicum esculentum 蕃茄	−	−	−	−
Datura stramonium 曼陀羅	−	−	−	−
Nicandra physaloides	−	−	−	−
Nicotiana glutinosa 煙草	−	−	−	−
N. tabacum var. B49 煙草	−	−	−	−
N. debnyii 煙草	−	−	−	−
Solanum melongena 茄子	−	−	−	−
Petunia hybrida 矮牽牛	−	−	−	−
Amaranthaceae 莧科				
Amaranthus viridis 野莧	−	−	−	−
Gomphrena globosa 千日紅	−	−	−	−
Cruciferae 十字花科				
Brassica chinensis 白菜	−	−	−	−
B. oleracea 甘藍	−	−	−	−
Compositae 菊科				
Chrysanthemum coronarium 茼蒿	−	−	−	−

L-L : Local lesion 局部病斑；V-C : Vein clearing 葉脈透化； M : Mosaic 嵌紋； V-N : Vein necrosis 葉脈壞疽； ( ) : Symptomless host 無病徵寄主； − : No infection 無感染； + : successfully recovered 回接成功。

同病徵之純系病毒（pure isolate），根據分離所得之次序暫定名爲 Virus I 及 Virus II。Virus I 感染木瓜植株後並不形成嵌紋病徵，而僅於新葉出現葉脈透化（vein-clearing）時即發生萎凋死亡，小型植株得病時則整個莖部彎曲下垂萎凋（圖7），大型植株得病則葉柄無力下垂，隨後葉部焦枯而死（圖7）。Virus II 感染之植株在任何情況下均不發生萎凋，而於葉部造成典型之嵌紋病徵（圖7）。此二病毒之寄主範圍經測定後如表三所示，除木瓜外二者均只能感染藜科及葫蘆科之瓜類植物，在西瓜、洋香瓜及甜瓜上所造成之病徵二者無法分辨，但在南瓜上之病徵二病毒則有顯著不同，Virus I 僅形成葉脈透化，而 Virus II 則造成明顯嵌紋及下位葉之葉脈壞疽（Vein necrosis）病徵（圖7）。

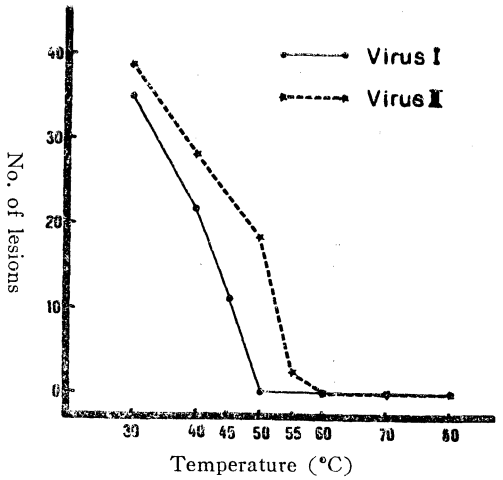


圖 3. Virus I 及 Virus II 之耐熱性測定

Fig. 3. Determination of thermoinactivation point of Virus I and II.

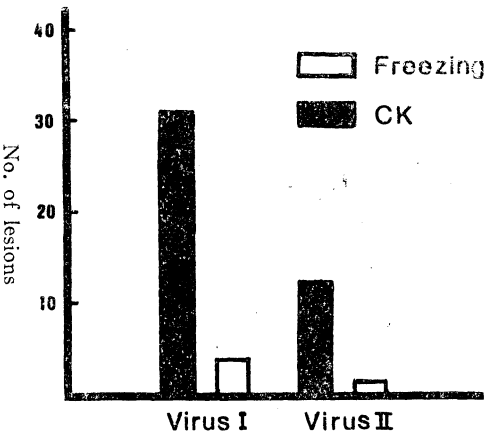


圖 4. Virus I 及 Virus II 之耐冷凍性測定

Fig. 4. Virus I and II after freezing and thawing.

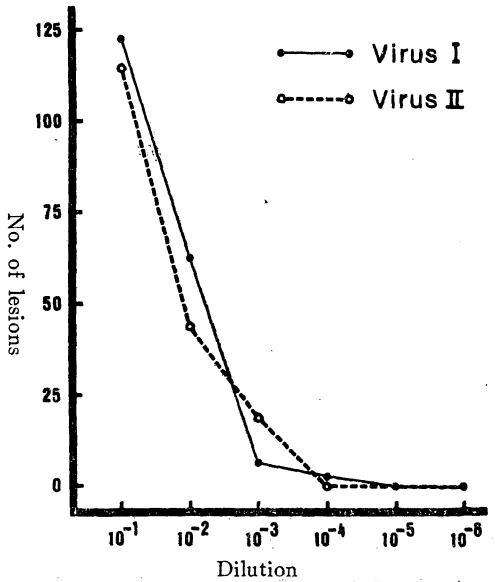


圖 5. Virus I 及 Virus II 之耐稀釋測定

Fig. 5. Determination of dilution end point of Virus I and II.

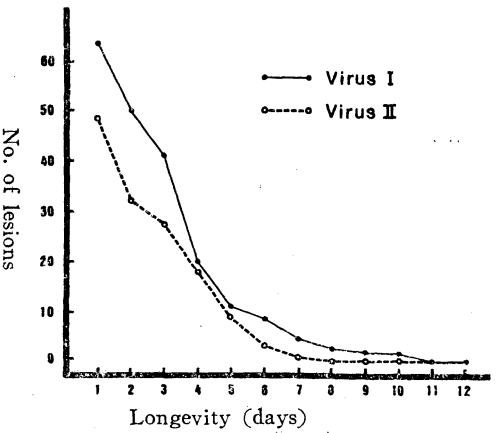


圖 6. Virus I 及 Virus II 之耐保存性測定

Fig. 6. Determination of longevity in vitro of Virus I and II.

五、物理性質之測定與比較：

前述二病毒汁液經不同溫度熱水處理之結果，Virus I 之耐熱性爲 45—50°C，而 Virus II 較高爲 55—60°C（圖3）。汁液經 −30°C 冷凍24小時後，感染力兩病毒均有顯著降低，Virus I 僅保有對照處理之 12.5 %，而 Virus II 則保有 11.1 %，但二者相較之下，Virus I 之感染力仍高出 Virus II 2倍左右（圖4）。二病毒之耐稀釋性經測定結果，Virus I 爲 10^{-4}-10^{-5}，而 Virus II 爲 10^{-3}-10^{-4}（圖5）。汁液保存於 20°C 定溫箱中，Virus I 可保有 10-11 天之感染力，而 Virus II 僅保有 7-8 天（圖6）。比較依圖 1 所示過程操作所得之五種試料之感染力，結果如表4所示，Virus II 須於 30000 rpm (69400g) 下方能完全沉降，而 Virus I 於 25000 rpm (48200 g) 下即可完全沉降。

表 4．不同高速離心後病毒感染力之變化

Table 4. Infectivity of each fraction after high speed centrifugation.

病毒 Virus	離心後試料之感染力[a] Infectivity of each fraction				
	P 10	P 20	P 25	P 30	S 30
Virus I	92	232	35	0	0
Virus II	57	171	17	5	0

a. 五個葉片上局部病斑數之平均值。
Average number of local lesions on 5 leaves.

討　論

田間作物在自然情況下常會同時受到二種以上病毒複合感染，乃一般所確認之事實 ([4,12,15,19])，因此純系病毒之分離乃是病毒研究工作能否順利而正確進行之先決條件，自今已有多種方法成功地被應用在純系病毒之分離上 ([4,10,17])，其中應用最廣的要算是單局部病斑回接法，利用此種方法 Cook (1970) 即成功地將 Papaya ringspot virus 及 Papaya mosaic virus 加以區分 [10]，又 Kulkarni (1970) 也以同樣方法分離出造成 Papaya decline 之三種病毒 [17]。感染本省木瓜之病毒可在指示植物藜 (*C. amaranticolor* 及 *C. quinoa*) 上形成局部病斑 [1,2]，但根據位氏等之報告 *C. amaranticolor* 上之局部病斑無法回接於木瓜上 [2,3]，因此無法獲得確定之純系病毒。

本研究之回接試驗中選用了五種不同濃度之磷酸緩衝液配合五種還原劑，亦無法將 *C. amaranticolor* 之單局部病斑回接於木瓜，此原因推測乃與該植物所含之大量抑制物質 (inhibitor) 有關 [20,24]。但利用 *C. quinoa* 所做之相同試驗中，卻可將其單局部病斑回接至木瓜上，試驗結果發現以 0.025 M 磷酸緩衝液，pH7.0，配合 0.1 % DIECA 於病斑出現後第六天挑取進行回接之成功率最高。

利用上述方法本試驗已分離到二種在木瓜上表現不同病徵之病毒，感染 Virus I 之木瓜在初期葉脈透化病徵出現後即發生萎凋現象，大型植株僅葉柄下垂凋萎，小型植株則整個莖部軟化彎曲下垂而死亡，但 Virus II 感染之木瓜植株則不發生萎凋，而可於葉片上產生典型之嵌紋病徵。經比較二者之寄主範圍及反應後發現，除南瓜外二病毒在其他寄主上之反應完全相同，根據此種結果二病毒與文獻中所記載的 Papaya ringspot virus 在寄主範圍及反應上應屬相同。

Thomson (1960) 會指出利用不同方法或於不同環境下對同一病毒所作之試驗，常有差異出現 [13]。因此本研究在比較上述兩病毒之各項物理性質時，均於同一環境下使用相同方法同時進行試驗，以期消除由於環境，寄主、試驗方法等所造成之誤差。結果在耐熱性、耐稀釋性，耐冷凍性及耐保

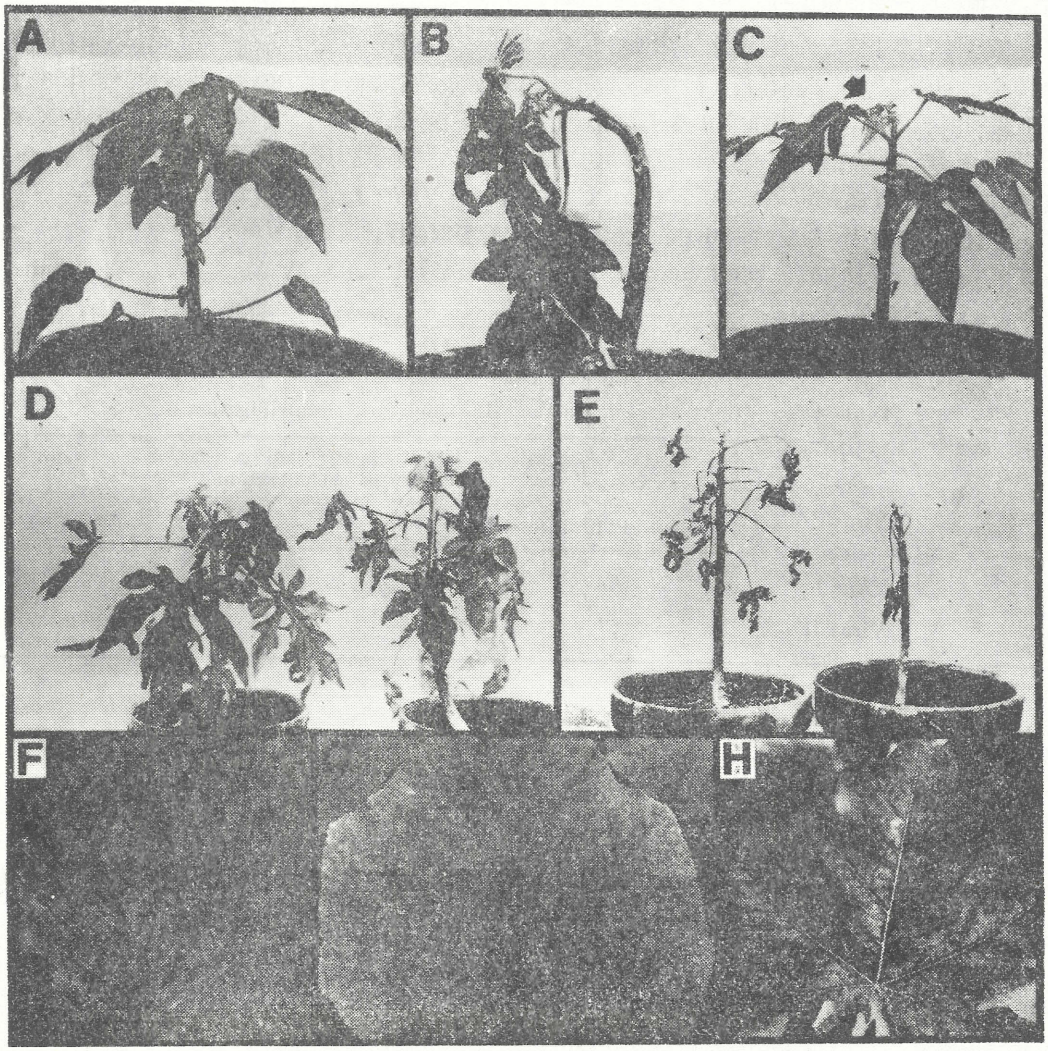


圖 7. 兩種純系病毒在木瓜及鳳凰南瓜上之病徵

A：健全木瓜苗。B：病毒Ⅰ感染木瓜苗所造成之萎凋病徵。 C：病毒Ⅱ在木瓜苗上所形成之新葉黃化病徵。D：病毒Ⅰ感染大型木瓜植株初期形成葉柄下垂之病徵。 E：病毒Ⅰ感染木瓜後造成之萎凋死亡病徵。F：病毒Ⅱ在鳳凰南瓜下位葉所形成之葉脈壞疽病徵。 G：病毒Ⅱ在鳳凰南瓜上位葉所形成之嵌紋病徵。H：病毒Ⅱ在木瓜葉上所形成之嵌紋病徵。

Fig. 7. Symptoms on squash and papaya caused by Virus I and II.

A : healthy papaya. B : wilting papaya seedling caused by Virus I. C : chlorotic young leaves of papaya caused by Virus II. D : Early stage of wilting symptom infected by Virus I. E : lethal symptom of papaya caused by Virus I. F : lower leaf of squash showing vein necrosis symptom infected by Virus II. G : upper leaf of squash showing mosaic symptom caused by Virus II. H : mosaic symptom of papaya caused by Virus II.

存性上二病毒均有顯著之差異。又根據 Kojima [16] 之方法，利用不同離心力測定病毒沉降反應之試驗中，Virus I 於 25000 rpm (48200g) 下即可完全沉降而 Virus II 則須於 30000 rpm (69400g) 下方能完全沉降，顯示二病毒沉降所須離心力 Virus II 較 Virus I 大，此可能是二者分子量不同

所致[4]，但根據目前之結果尚無法確定。

由以上結果顯示，此二病毒除了在木瓜及南瓜上所表現之病徵絕然不同外，在物理性質上更有相當大之差異。但是此二病毒間關係爲何，到底是二種不同之病毒或者是同一種病毒之不同系統（strain），依目前之結果尚無法遽下結論，必須有賴於進一步的實驗，如病毒之純化，血清學之研究及電子顯微鏡之觀察方能確定，不過有此二種病徵型不同的病毒存在，已是無可否認之事實，這不但證明了臺灣木瓜毒素病確有不同類型存在，更重要的是爲抗病育種學者提供了有力之參考，俾使日後之抗病育種工作能够更加正確成功地進行。

參 考 文 獻

1. 王惠亮、王金池、邱人璋、孫明賢・1978・臺灣木瓜輪點病研究初版・植物保護學會會刊 20：133-139。
2. 位國慶・1978・臺灣木瓜輪點病之研究・國立中興大學植病研究所第八屆畢業碩士論文 pp. 79。
3. 林正忠、蘇鴻基・1979・木瓜嵌紋病毒與交叉免疫之初步研究・臺灣省農業試驗所特刊 12：63-67。
4. 張清安・1977・兩種感染煙草形成脈綠嵌紋病病毒之分離與比較。國立中興大學植病研究所第七屆畢業碩士論文・pp. 87
5. 陳脈紀、劉顯達、王惠亮、位國慶、邱人璋・1976・木瓜輪點病之電子顯微鏡觀察（摘要）植物保護學會會刊 18(4)：399
6. Conover, R. A. 1962. Virus diseases of papaya in Florida. Phytopathology 52：6. (Abst.)
7. Conover, R. A. 1964. Distortion ringspot a severe virus disease of papaya in Florida. Florida State Hort. Soc. 77：440-444.
8. Conover, R. A. 1964. Mild mosaic and faint mottle ringspot two papaya virus disease of minor importance in Florida. Florida State Hort. Soc. 77：444-448.
9. Cook, A. A. 1972. Virus diseases of papaya. Florida Agr. Expt. Sta. Tech. Bull. No. 750, 19. pp.
10. Cook, A. A. and D. M. Milbrath. 1971. Virus diseases of papaya on Oahu (Hawaii) and identification of additional diagnostic host. Plant Dis. Reptr. 55：785-788.
11. De Bokx, J. A. 1965. Host and eletron microscopy of two papaya virus. Plant Dis. Reptr. 49：742-746.
12. Fulton, R. W. 1978. Superinfection by strains of Tobacco streak virus. Virology 85：1-8.
13. Hitchborn, J. H.. and A. D. Thomson. 1960. Variation in plant viruses. Adv. Virus Research 7：167-191.
14. Jensen, D. D. 1949. Papaya virus diseases with special reference to papya ringspot. Phytopathology 39：191-211.
15. Kassanis, B. 1963. Interactions of viruses in plants. Advan. Virus Res. 10：219-225.
16. Kojima, Maloto. 1974. Studies on potato leaf-roll virus. Journal of the Faculty of Agriculture Hokkaido University Vol. 57, Pt. 4, 369.
17. Kulkarni, H. Y. 1970. Decline viruses of pawpaw *Carica papaya* L. in East Africa. Ann. Appl. Biol. 66：1-9.
18. Lindner, R. C., D. D. Jensen, and W. Ikeda. 1945. Ring-spot：new papaya plunderer. Hawaii Farm and Hone 8 (10)：10-22, 14.
19. Rochow, W. F., and A. F. Ross. 1955. Virus multiplication in plants doubly infected by PVX and PVY. Virology 1：10.
20. Saksena, K. N., and G. I. Mink. 1969. Properties of an inhibitor of apple chlorotic leafspot virus from *Chenopodium quinoa*.
21. Singh, A. B. 1969. A new virus disease of *Carica papaya* in India. Plant Dis. Reptr. 53：267-269.
22. Smith, K. M. 1931. On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as

revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. Proc. Roy. Soc. (London) B109 : 251-266.

23. Story, G. E. and R. S. Halliwell. 1969. Identification of distortion ringspot virus disease of papaya in Dominica Republic. Plant Dis. Reptr. 53 : 757—760.

24. Thompson, A. D., and B. A. Pedie. 1965. Studies on a virus inhibitor from Chenopodium leaves. New Zealand J. Agri. Res. 8 : 825-831.

Isolation and comparison of two isolates of papaya ringspot virus in Taiwan [1]

Chin-An Chang [2]

Summary

Both *Chenopodium amaranticolar* and *C. quinoa* can be used as local lesion hosts for Papaya ringspot virus. None of the single lesions from *C. amaranticolor* can be re-inoculated to papaya seedlings by using 5 different concentration of phosphate buffer, pH 7. O, and 5 kinds of reducing agents, whereas the single lesion from *C. quinoa* can be successfully re-inoculated to papaya in the same experiment. Among the treatment, 0.025 M of phosphate buffer containing 0.1% Sodium diethyldithiocarbamate (DIECA) is the best combination for the re-inoculation of single lesion of *C. quinoa* to papaya. The maximum virus concentration of one single lesion of *C. quinoa* is 6 days after lesion appearance, this is also the best favorable stage for re-inoculation.

Following this procedures, we have obtained two isolates of Papaya ringspot virus which designated it as Virus I and Virus II. Virus I can cause the papaya plant wilting, while Virus II produces conspicuous mosaic only. The host ranges of these two isolates are both limited in Chenopodiaceae and Cucurbitaceae. Among the hosts, squash is the only one whose symptom caused by these two isolates is extremely different.

Thermoinactivation point of Virus I is 45—50 c which is lower than that of Virus II whose is 55—60 c. Dilution end point of Virus I is 10^{-4}—10^{-5} but Virus II is at 10^{-3}—10^{-4}. Longevity in vitro of Virus I is 10—11 days whereas Virus II has only 7—8 days.

Freezing the crude sap of these two isolates at −30 c for 24 hr retains 12.5 % and 11.1 % infectivity for Virus I and II respectively.

Particles of Virus I can all be sedimentated after centrifuging at 25000 rpm (48200g), while Virus II needs 30000 rpm (69400g) for particle sedimentation.

According to the result, we consider that the causal agents of papaya virus disease in Taiwan may exist different strain or viruses, it needs further study to clarify this quesiton.

---

1. Contribution No. 893 from Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported by National Science Council under the project NSC-67B-0409-08 (10).

2. Junior plant pathologist, Department of Plant Pathology, TARI. Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, ROC.