植保會刊 27：333～341 (1985)
Plant Prot. Bull. (Taiwan, R.O.C.) 27：333～341 (1985)

甘藷捲葉病病原的分離傳播及寄主範圍

鐘美麗　廖嘉信
臺灣省農業試驗所嘉義農業試驗分所

陳　脈　紀
國立中興大學植物病理學系

邱　人　璋
行政院農業委員會

（接受日期：民國74年6月24日）

摘　　要

經菸草粉蝨（*Bemisia tabaci* Genn.）之媒介，從病毒複合感染之甘藷葉片中，分離出甘藷捲葉病病原。罹病甘藷沿葉緣或葉尖向上捲曲，下表面葉脈有輕微突起現象。此病徵在甘藷生育初期及高溫季節較明顯，低溫或生育中、後期則有病徵消失現象。菸草粉蝨獲毒吸食一天即可傳播本病。蟲體吸食一天後，持續至第六天仍能傳播本病。每株接種蟲數達 20 隻以上時，其發病率達 75～100%。本病不經蚜蟲和機械接種方式傳播，亦不經種子傳播。寄主範圍限於旋花科植物，能感染 *Ipomoea nil*, *I. setosa* 及 *I. quamoclit* 等造成嚴重的捲葉，縮葉及矮化病徵。罹病的甘藷葉片以超薄切片法行電子顯微鏡檢查結果，在靱皮細胞之細胞質中觀察到寬約 18 nm，桿狀之顆粒集團，顆粒之斷面具中心孔，可能爲本病原之病毒顆粒。

（關鍵字：甘藷，系統性病害、粉蝨。）

ABSTRACT

Chung, Mei-lie[1], Chia-hsin Liao[2], Moh-jih Chen[3] and Ren-jong Chiu[4]. (1985) **The Isolation, Transmission and Host Range of Sweet Potato Leaf Curl Disease Agent in Taiwan.** Plant Prot. Bull. (Taiwan, R. O. C.) 27：333～341 (1,2. Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI. Chiayi, Taiwan, R. O. C. 3. National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R. O. C. 4. Council of Agriculture, Taipei, Taiwan, R. O. C.)

A leaf curl disease of swet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) was found in Taiwan. During the hot season (from May to September), the disease

symptoms of upward leaf curling and vein swelling occur mainly on young plants which were infected and remained almost symptomless in the other seasons. Similar symptoms appeared to be more severe than on sweet potato were also observed on *Ipomoea nil*, *I. quamoclit* and *I. setosa*.

The leaf curl symptoms were reproduced on healthy sweet potato seedlings by grafting or whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) transmission, while not by aphid, mechanical or seed transmission. In case mechanical inoculation to *I. nil*, sweet potato virus A (SPV-A) and/or sweet potato virus N (SPV-N) symptoms rather than leaf curl symptoms usually developed on the inoculated plants. This suggests that the leaf curl disease of sweet potato found in field is complexed by some other viral infection, and that whitefly transmits only the sweet potato leaf curl disease agent.

Further study indicated that whitefly acquires the disease agent by feeding on disease plant for more than 24 hours and infectivity persists throughout the life span, about 5 to 6 days. The disease can be transmitted by just two but not by only one whitefly. Effective transmission was obtained when 20-100 insects per plant were used.

Host range of the whitefly-transmitted disease agent appeared to be limited in Convolvulaceae. Electron microscopy of ultrathin sections from sweet potato plants which were affected by the leaf curl disease agent, revealed that virus-like, rod-shaped particles, approximately 18 nm in width, were present in the cytoplasm of phloem cells. The Involement of these virus-like particles in the leaf crul disease of sweet potato need to be further investigated.

(Key words: sweet potato, systemic disease, whitefly)

緒　　言

經粉蝨（Whitefly）傳播的植物病害多發生於熱帶，但亦可發生於亞熱帶及温帶地區[5,6]其病原有的經證明爲双球形病毒（Geminivirus)[8]或長型病毒[15,17]，但仍有許多由粉蝨傳播的病害仍未能在電子顯微鏡下觀察到其病原體[4,5,6]。機械接種法僅有少數病害有成功之報告[8]，大多數經粉蝨傳播的病害則非機械傳播者[4,5,6]，因此這一類病害之研究仍有待努力。國外經粉蝨傳播的甘藷病害自1957年起陸續見諸報告[7,9,10,11,14,16]。本省甘藷上亦有發現經蚜蟲傳播的甘藷黃斑毒素病（SPV-A）及媒介昆蟲未詳的潛伏感染毒素病（SPV-N）[2]。本文報告另一種甘藷系統性病害——經粉蝨傳播的甘藷捲葉病病原之分離，傳播特性及寄主範圍等。

材料與方法

一、病株來源及甘藷品種（系）捲葉病發生情形調查：

供分離甘藷捲葉病病原用之原始病株爲紅心甘藷臺農63號田間自然感染株。從民國69年4月至71年2月，每隔一週至田間調查保存於嘉義農業試驗分所的320甘藷品種（系）之自然發病情形。

二、甘藷捲葉病病原之分離：

分嫁接法及菸草粉蝨接種法，藉以選定分離病原之適當方法。

1. 嫁接法：取甘藷原始病株嫩莖2～3公分長，嫁接於3～5葉期之 *Ipomoea nil* 'Scarlet O'Hara' 之幼植株上，嫁接後置於隔離網室中，待病徵出現後分離病原。

2. 利用菸草粉蝨分離法：從甘藷園中捕

回菸草粉蝨，飼養於棉花 Austin 品種葉片上，取其子代在同種棉花轉移飼養三代以上後，餵食於*I. nil*, *I. setosa* 及甘藷實生菌 48 小時，並觀察一個月以上，確定爲無毒蟲後，於棉花上大量飼養。每次分離試驗取 200 隻有翅成蟲，於原始病株上餵毒24小時後，平均移置於 6 株子葉期之 *I. nil* 上，再經 24 小時後，以萬靈可濕性粉劑 (Lannate W. P.) 1000倍液噴灑除蟲。

三、甘藷捲葉病之傳播：

從原始病株經粉蝨傳播分離出甘藷捲葉病原後，保存於 *I. nil* 或無病毒甘藷上，供以下各試驗之接種源用。

1. 粉蝨餵毒期間與傳病率之關係：粉蝨餵毒於 *I. nil* 病葉經0.5～48小時，取出約200隻有翅成蟲，接種於 6 株 *I. nil* 健苗，24小時後除蟲，再置於溫室中觀察一個月以上。

2. 接種粉蝨蟲數與發病率之關係：不帶毒粉蝨群餵毒於 *I. nil* 之病株 24小時後，取 1～100 隻接種於單株 *I. nil* 健苗，4 重複，24小時後除蟲，置於溫室中觀察一個月以上。

3. 粉蝨帶毒期間：取不帶毒粉蝨成蟲約 300 隻餵毒於 *I. nil* 病株，24 小時後取出病株，每天移入 4 株 *I. nil* 健苗供試，至第七天供試蟲大部分死亡爲止。

4. 蚜蟲傳播試驗：桃蚜(*Myzus persicae Sulzer*)，棉蚜 (*Aphis gossypii* Glover) 及玉米蚜 (*Rhapalosiphum maidis* Fitch)，分別飼養於芥菜，芋及玉米葉片上，至少經三代，然後餵食於 *I. nil* 健株48小時，並觀察一個月以上，確定爲無毒蟲者，供傳播試驗用。餵毒前，供試蚜蟲均經飢餓處理 1 小時以上。接種源取自罹患甘藷捲葉病的 *I. nil* 病株。

5. 機械傳播試驗：取 *I. nil* 或甘藷病葉，分別加10倍量 (V/W) 的 0.1M, pH7.0 磷酸緩衝溶液混合研磨，取其汁液塗抹於已撒佈 600 mesh 金鋼砂之 *I. nil* 子葉。另一試驗中經粉蝨接種後第 6 天，仍未出現病徵的 *I. nil* 葉片及第 18 天病徵明顯的葉片，分別加 10 倍的 0.1M, pH7.0 磷酸緩衝溶液混合研磨，經 3,000 rpm 離心10分鐘，取上澄液，以25號皮下針注射於 *I. nil* 葉片下表面主脈，每株約注射 0.2ml，或以針刺法接種於子葉及第一片本葉。

6. 種子傳播試驗：收集 *I. nil* 病株上的種子 300 粒，種植於經蒸氣消毒的土壤中，並以 *I. nil* 健株上收集的種子爲對照，於溫室中觀察45天以上。

四、寄主範圍測定：分離出來的甘藷捲葉病原保存於 *I. nil* 做爲接種源。接種方法爲取帶毒粉蝨接種於供試植株幼苗經24小時，每一種供試植株至少接種 6 株。

五、電子顯微鏡檢查：(1)陰染法：將甘藷或*I. nil* 病葉小片置於 2 %磷鎢酸 (PTA) 溶液 (pH7.0) 中，以刀片切碎後將其粗汁液滴於有 Formar 支持膜，並以碳素增強之銅網 (Copper grids) 上，靜放片刻後以濾紙小片吸去過多的液體，俟乾燥後以電子顯微鏡觀察之。(2)超薄切片法：將 *I. nil* 葉片病徵明顯的部位切成 5 mm×1 mm 大小之小片，於低溫下，固定於 5 %戊二醛及 1 %四氧化鋨各 2 小時，經脫水後包埋於環氧樹脂內[12]。超薄切片以 Leiz Fernández-Moran 型切片機行之，嗣以醋酸鈾及酒石酸鉛双重染色[13]後行電子顯微鏡觀察。

結　　果

一、病徵：自然感染之病株葉片邊緣向上捲曲，下表面葉脈輕微突起，於每年 3 、 4 月間伏藷後長出之幼芽上最爲明顯，採蔓移植於本田後，則有病徵消失現象 (Masking)，病葉上常同時可觀察到直徑約 0.1～0.2 mm 之黃斑。從病株採得之塊根再行發芽，亦可得相同病徵。經二年的田間病徵調查結果，320 甘藷品種 (系) 中，有 112 品種 (系) 出現類似病徵，葉片全緣的品種 (系) 多由葉緣向上表面捲曲，葉片具缺刻者，則由葉尖向上捲曲。利用菸草粉蝨從自然感病的臺農63號甘藷葉片純分離甘藷捲葉病原，再接種於相同品種的無病毒甘藷幼苗上，則僅出現捲葉及葉脈向下表面稍突起的病徵，病葉上則未觀察到有黃斑病徵。此外，梨皮，Leeland Bunch Puerto Rico 等品種亦有相同的結果。

二、病原之分離

1．嫁接法：甘藷病株嫁接於 *I. nil*，約2週後 *I. nil* 新長出之側芽葉片縐縮，向下捲曲，葉脈黃化或透化（Vein clearing），植株矮化，上述病徵可再經嫁接法使健康的 *I. nil* 苗出現相同的病徵。惟取此病株葉片汁液，以機械接種法回接於 *I. nil* 或甘藷實生苗，則僅得葉脈黃化或黃斑等病徵，而無葉片縮小及捲曲等徵狀。以電子顯微鏡觀察可見到700～900 nm 之長型病毒，顯示原始病株內除含捲葉病病原外，亦有複合感染甘藷 SPV-A及SPV-N 等病毒[2]。以嫁接法將原始病株嫁接於健康的 *I. nil*，其複合病因均可感染 *I. nil*，因此無法將捲葉病原單獨分離出來。

2．病原之純分離：利用菸草粉蝨餵毒於原始病株24小時後，接種於 *I. nil* 幼苗，每株接種20～30隻，接種後12～14天新葉縐縮，向下捲曲，但無葉脈黃化、透化等病徵，植株顯著矮化，生育受阻，約一個月後老葉開始黃化，但葉脈顏色較綠，仍可開花結實，重複三次均得相同結果。取此病蔓嫁接於 *I. nil* 健株，或經粉蝨媒介，可均得相同病徵，但以病葉汁液機械接種於 *I. nil* 健康苗，則無病徵出現。取病徵開始出現後一週的 *I. nil* 病蔓，以菸草粉蝨傳播或以嫁接法回接於臺農63號甘藷健康苗，則於新芽葉片上可觀察到捲葉及下表面葉脈輕微突起等病徵（圖 1 A, B），由此病株

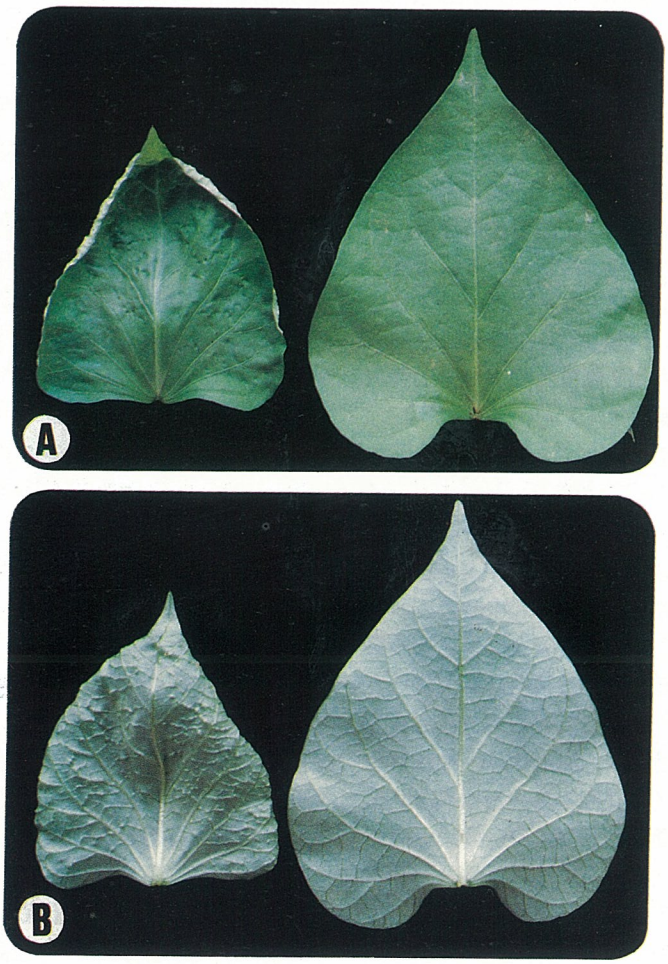


圖 1．甘藷捲葉病病徵 A．上表面：(左) 病葉（右）健葉。B．下表面：(左) 病葉（右）健葉。
Fig. 1. Sweet potato leaf curl disease symptom on sweet potato cultivar Tainung 63 A) upperside B) underside, Left: diseased, Right: healthy leaf.

採得之塊根再行發芽，亦有相同病徵出現，在其生育期中未觀察到有黃斑病徵。取病徵明顯的 *I. nil* 或甘藷葉片行陰染法或取其超薄切片行電子鏡顯微鏡檢查，均未檢出 SPV-A 或 SPV-N 病毒，但於靱皮細胞之細胞質中觀察到桿狀，寬度約18nm之顆粒集團（圖2A, B, C），顆粒之斷面具有中心孔（圖2C），但健康葉則無此種顆粒，因此本顆粒可能爲本病原之病毒顆粒。由本試驗與上項嫁接試驗之結果證明供試甘藷原始病株爲複合感染，包括有 SPV-A 或 SPV-N 病毒及捲葉病原，而菸草粉蝨可將甘藷捲葉病原從病毒複合感染中分離出來。

三、甘藷捲葉病之傳播：

1. 粉蝨餵毒期間與發病率之關係列於表1，顯示菸草粉蝨獲毒吸食1天，即可媒介傳播此病。

2. 接種蟲數與發病率之關係：試驗結果列於表2，顯示接種蟲數愈多，發病率愈高。試驗中每株植物接種兩隻粉蝨，雖亦有傳毒成功之機會，但當接種所用蟲數增至每株20隻，傳毒較爲穩定。

3. 粉蝨帶毒期間：在試驗期間，供試蟲體死亡迅速，試驗結果列於表3。結果顯示蟲體獲毒吸食一天後，其傳病能力能持續至第六天，第七天後供試蟲體已大部分死亡。

4. 蚜蟲傳播試驗：供試三種無毒蚜蟲餵食於病徵明顯的*I. nil*新鮮葉片上，分別經0.5，1，5，10，30分鐘，1，2，4，8小時及1，2，3天等，再分別接種於健康的 *I. nil* 幼苗24小時，每一試驗至少接種3株植物，每株接種5隻蟲，接種後置於溫室中觀察一個月以上，重複二次，均未發現有傳毒現象。

5. 機械傳播試驗：試驗結果顯示無論以汁液塗抹法，注射或針刺法接種，均未能接種成功。

6. 種子傳播試驗：由 *I. nil* 病株上採收之種子，在溫室中種植，均未發現有捲葉病發生，顯示本病不經 *I. nil* 種子傳毒。

四、寄主範圍：用機械接種法接種於各供試植物，均未觀察到有傳毒現象。用帶毒粉蝨群於蟲箱內接種，結果如表4，顯示本病原除感染甘藷外，僅感染旋花科植物之 *I. nil*，*I. setosa* 及 *I. quamoclit*。供試之藜科、十字花科、禾本科、茄科、谷科、錦葵科及茄科植物等，均未觀察到有異常現象。

討　論

經粉蝨傳播的甘藷病毒除 Holllings[10]等報告的甘藷 Mild mottle virus 由長 950 nm 之病毒引起之外，Sheffield[16] 報告的甘藷 Virus B, Girardeau and Ratcliffe[7] 報告的甘藷嵌紋病，Hildebrand[9] 報告的甘藷黃萎病，Lobenstein and Harpaz[11]報告的 Vein clearing 病及 Schaefer and Terry[14]報告的甘藷 Chlorotic stunt 病等，均仍未經證明確由病毒所引起。本省甘藷捲葉病在甘藷及其他旋花科寄主植物上的病徵，與上述各種經粉蝨傳毒的甘藷病害均不相同，但極類似於新海[8]報告發生於日本的甘藷捲葉病。

甘藷捲葉病在甘藷生育中後期，或氣溫較低時，病徵有消失現象，因此未曾受到重視，此一病害普遍發生於本省甘藷栽培品種，楊[1]氏報告甘藷捲葉現象爲品種特性，但無病徵說明及照片可資比對，因此無法進一步比較。甘藷捲葉病寄主範圍試驗結果顯示，除旋花科植物外，其他作物可能不受感染。本病害不經機械、種子及蚜蟲傳播，但本病爲一系統性病害，因此本病在田間除藉媒介昆蟲傳播外，無性繁殖帶病種苗亦可能爲病害傳播的主要途徑之一。

在田間甘藷捲葉病常伴有黃斑病徵等，經上述試驗結果，證明屬複合感染，經分離出來而具明顯捲葉病徵之葉片，以超薄切片法行電子顯微鏡檢查之結果，在靱皮細胞之細胞質中觀察到桿狀，寬度約 18nm 之顆粒集團，可能爲本病原之病毒顆粒，惟其形狀特殊，而對其純化顆粒之病原性尚未闡明，擬再進行深入探討。

謝　辭

本試驗承行政院農業委員會重點研究計畫補助經費，試驗期間承李分所長良鼎力支持，供試菸草粉蝨承林業試驗所張技正玉珍鑑定，供試蚜蟲承鳳山熱帶園藝試驗分所王惠亮先生提供，特此誌謝。

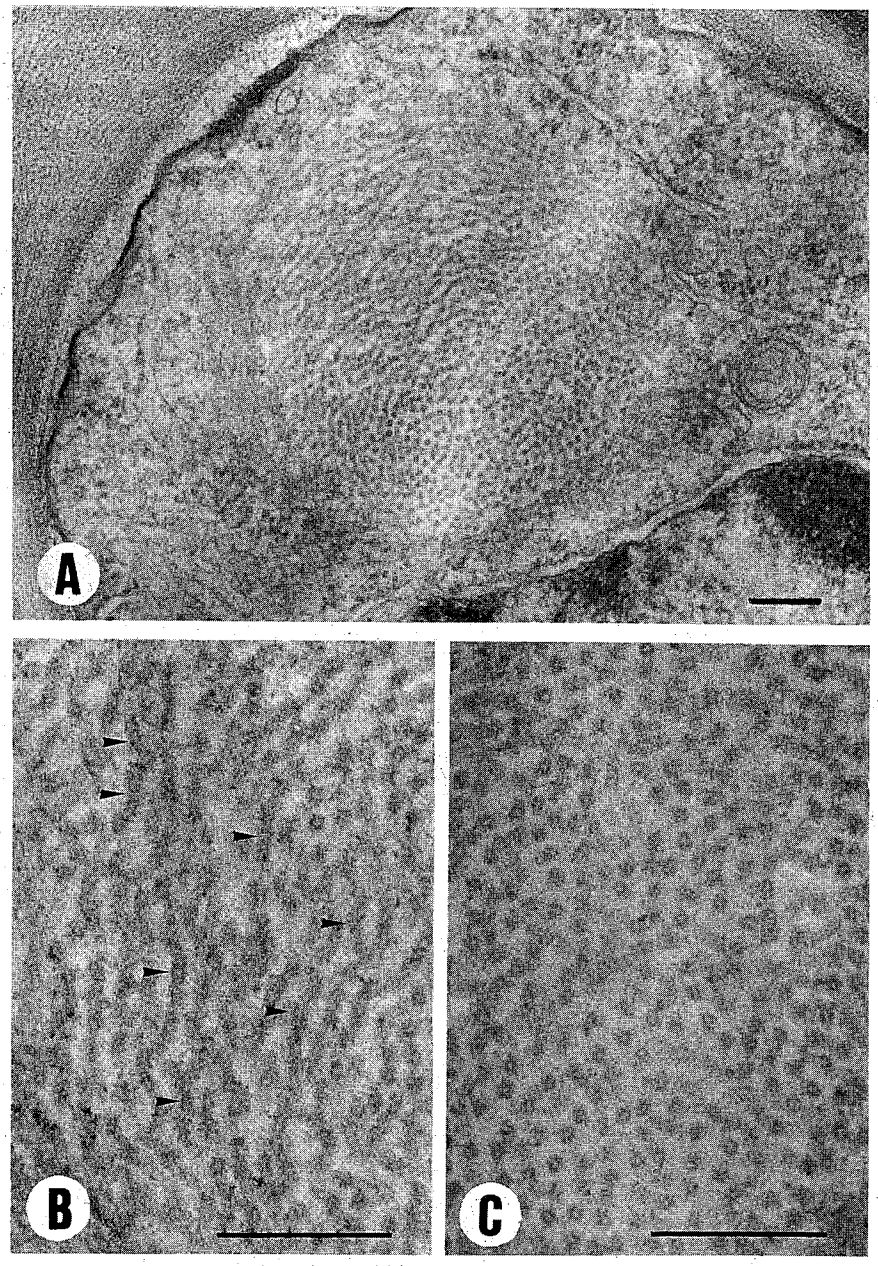


圖 2. A. 罹病葉靱皮部細胞質中之類似病毒集團。B. A圖之部份放大。可觀察到桿狀之類似病毒顆粒（箭頭）。C. A 圖之部份放大。顆粒之斷面可見中心孔（線條長度爲 200 nm）。

Fig. 2. A) virus-like aggregate in the cytoplasm of a phloem cell from infected sweet potato B) High magnification view of a portion of (A). Note the rod-shaped, virus-like particles (arrows). C) High magnification view of a portion of (A). shows the central pores of the particles (bar represents 200 nm).

表 1. 粉蝨餵毒期間與甘藷捲葉病發率之關係

Table 1. Transmission of sweet potato leaf curl disease with whiteflies (*Bemisia tabaci*) after different acquisition feeding period on infected *Ipomoea nil*

Experiment	Duration of acquisition feeding (hr.)								
	0	0.5	1	2	4	8	12	24	48
I	0/6[1)]	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	4/6	5/6
II	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	5/6	6/6

1) No. plants infected/No. plants tested. In these experiments, *I. nil* was used as the test plant and the infection feeding period was 24 hours.

表 2. 接種帶毒粉蝨蟲數與甘藷捲葉病發病率之關係

Table 2. Relationship between the number of whiteflies (*Bemisia tabaci*) per plant and the number of *I. nil* plants infected

Experiment	Number of test insects per plant								
	0	1	2	5	10	20	40	80	100
I	0/4[1)]	0/4	1/4	0/4	2/4	4/4	3/4	4/4	4/4
II	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	4/4	4/4	4/4	4/4

1) No. plants infected/No. plants tested. The sweet potato leaf curl disease infected *I. nil* was used as the source of the inoculum.

表 3. 粉蝨帶毒期間

Table 3. Transmission of sweet potato leaf curl disease by *Bemisia tabaci* in successive transfers[1)]

Experiment	Days after acquisition feeding							
	1	2	3	4	5	6	7	CK
I	4/4[2)]	2/4	2/4	1/4	0/4	D		0/4
II	4/4	1/4	2/4	2/4	1/4	0/4	D	0/4
III	4/4	2/4	1/4	1/4	1/4	1/4	D	0/4
IV	3/4	2/4	2/4	1/4	1/4	1/4	D	0/4

1) The sweet potato leaf curl disease infected *I. nil* was used as the source of the inoculum and young healthy *I. nil* plants were used as the test plant.

2) No. plants infected/No. test plants
D: Most of the test insects were dead.

表 4. 利用粉蝨傳播測定各供試植物對甘藷捲葉病的反應
Table 4. Reactions of various plant species to sweet potato leaf curl disease transmitted by *Bemisia tabaci*

Test plant	Symptom[1)]
Amaranthaceae	
Amaranthus spinosus	—
Gomphrena globosa	—
Chenopodiaceae	
Chenopodium amaranticolor	—
Chenopodium murale	
Chenopodium quinoa	—
Cruciferae	
Brassica rapa	—
Convolvulaceae	
Ipomoea bona-nox	—
Ipomoea hederaceae	—
Ipomoea nil	Lc. Cr. Sl. St. S.
Ipomoea setosa	Lc. Cr. Sl. St. S.
Ipomoea quamoclit	Lc. Cr. Sl. St. S.
Ipomoea crassicaulis	—
Gramineae	
Avena sativa	—
Leguminosae	
Dolichos lablab	—
Phaseolus vulgaris	—
Vicia faba	—
Vigna sinensis	—
Malvaceae	
Gossypium hirsutum	—
Hibiscus sabdariffa	—
Solanaceae	
Capsicum annuum	—
Lycopersicum esculentum	—
Nicotiana benthamiana	—
Nicotiana debneyi	—
Nicotiana sylvestris	—
Nicotiana tabacum 'Havana'	—
Nicotiana tabacum 'Judy's Pride'	—
Nicotiana tabacum 'Xanthi'	—
Petunia hybrida	—
Physalis floridana	—

1) —: No infection, Lc: Leaf curl, Sl: Small leaf, St: Stunt, S: Systemic infection

引 用 文 獻

1. 楊一郎。1972。臺灣甘藷斑紋毒素病傳播之研究。臺灣農業季刊 8(4):124-134.
2. 廖嘉信、簡義忠、鐘美麗、邱人璋、韓又新。1979。臺灣甘藷毒素病之研究 I 甘藷黃斑型毒素病 中華農業研究 28(3):127-138.
3. 新海 昭。1978。かんじよ葉捲症狀に關する調查報告。 38 p. 農林水產技術會議事務局。
4. Bird, J., and K. Maramorosch. eds. 1975. Tropical diseases of Legumes. Academic Press, New York. p. 3-88.
5. Bird, J., and K. Maramorosch. 1978. Viruses and virus-diseases associated with whiteflies. Adv. Virus Res. 22: 55-110.
6. Costa, A.S. 1976. Whitefly-transmitted plant diseases. Ann. Rev. Phytopath. 14:429-449.
7. Girardeau, J.H. Jr., and T.J. Ratcliffe. 1960. The vector-virus relationship of the sweet potato whitefly and a mosaic of sweetpotatoes in South Georgia. Pl. Dis. Reptr. 44:48-50.
8. Goodman, R. M. 1981. Geminiviruses. *In* Kurstak, E. (ed.). Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis. Elsevier, Amsterdam. p. 879-910.
9. Hildebrand, E. M. 1960. The feathery mottle virus complex of sweet potato. Phytopathology 50:751-757.
10. Hollings, M., O. M. Stone, and K. R. Bock. 1976. Purification and properties of sweet potato mild mottle, a whitefly borne virus from sweet potato (*Ipomoea batatas*) in East Africa. Ann. Appl. Biol. 82:511-528.
11. Lobenstein, G., and I. Harpaz. 1960. Virus diseases of sweet potatoes in Israel. phytopathology 50:100-104.
12. Luft, J. H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9:409-414.
13. Millonig, G. 1961. A modified procedure for lead staining of thin sections. J. Biophys. Biochem. Cytol. 11:736-739.
14. Schaefers, G. A., and E. R. Terry. 1976. Insect transmission of sweet potato disease agents in Nigeria. Phytopathology 66:642-645.
15. Sela, I., I. Assouline E. Tanne, S. Cohen, and S. Marco. 1980. Isolation and characterization of a rod-shaped, whitefly-transmissible, DNA-containing plant virus. phytopatology 70:226-228.
16. Sheffield, F. M. L. 1957. Virus diseases of sweet potato in East Africa. I. Identification of the viruses and their insect vectors. Phytopathology 47:582-591.
17. Yamashita, S., Y. Doi, K. Yora, and M. Yoshino. 1979. Cucumber Yellows virus: Its transmission by the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), and the yellowing disease of cucumber and muskmelon caused by the virus. Ann. Phytopath. Soc. Japan. 45:487-496.