

台灣葡萄病毒病害之現況及防治

楊佐琦、蕭芳蘭、莊佳茹

行政院農委會種苗改良繁殖場

摘 要

葡萄為台灣地區重要經濟果樹之一，民國九十年之栽培面積達 3243 公頃。其苗木大多以無性繁殖的方法繁殖，唯此種方法極易傳播病毒病害，導致病毒病害之擴散及蔓延。調查台灣地區葡萄主要栽培產區中之病毒病害，葡萄扇葉病毒(GFLV)、葡萄捲葉病毒(GLRV)-品系 1 與葡萄 A 病毒(GVA)之發生已普遍存在。GFLV 是葡萄(*Vitis vinifera*)之知名病害，以感染葉片呈扇狀而命名，GFLV 為 *Comoviridae* 科、線蟲傳播多面體病毒屬(*Nepovirus*)之球形病毒，直徑約 30nm。由兩個單股之核糖核酸(分子量分別為 1.4 及 2.4×10^6)及單一鞘蛋白胜勁鏈(54000Da)所組成。寄主僅限於葡萄屬(*Vitis* spp.)，亦可接種感染紅藜(*Chenopodium amaranticolor*)、珙藜(*Chenopodium quinoa*)、千日紅(*Gomphrena globosa*)及胡瓜(*Cucumis sativus*)等。劍線蟲(*Xiphinema index*)被證實為其媒介昆蟲，亦可經汁液傳播或嫁接傳染。GLRV 主要造成下位葉往下捲曲，為 *Closterovirus* 之成員，其顆粒體為長絲狀，長度約 1800~2200nm。目前有 7 個相關病毒，GLRaV-1、GLRaV-2、GLRaV-3、GLRaV-4、GLRaV-5、GLRaV-6 及 GLRaV-7。目前已知 GLRaV-3 之媒介昆蟲為桔粉介殼蟲(*Planococcus citri*)、長尾粉介殼蟲(*Pseudococcus longispinus*)、葡萄粉介殼蟲(*Pseudococcus matritimus*)及 *Pseudococcus viburni*，亦可藉由機械或嫁接傳染。GLRaV-1 之媒介昆蟲為 *Parthenolecanium corni* 及 *Neopulvinaria innumerabilis* 兩種軟殼介殼蟲。GVA 常造成葉片捲曲，葉片均勻變紅或黃並為害莖部形成層組織，造成陷莖現象，莖部局部腫起裂開。病毒顆粒體為長絲狀，長度約 800nm。媒介昆蟲主要為長尾粉介殼蟲(*Pseudococcus longispinus*)及桔粉介殼蟲(*Planococcus citri*)，亦可藉由機械或嫁接傳染。目前常用之病毒病害之診斷方法有病徵診斷法、指示植

物診斷法、光學顯微鏡檢查法、電子顯微鏡檢查法、血清檢查法以及反轉錄聚合鏈鎖反應技術(RT-PCR)等。防治方法主要需預防媒介昆蟲之發生，以殺線蟲劑燻蒸處理土壤殺死劍線蟲，以殺蟲劑定期防治桔、葡萄粉介殼蟲等媒介昆蟲；更新栽培時，應拔除植株再以系統性殺草劑除去殘留根系及雜草，以避免劍線蟲存活；選用抗病毒或劍線蟲之品種或種植無主要病毒之健康葡萄苗木。因此為克服台灣地區葡萄病毒病害之問題，中興大學與本場合作利用莖頂生長點去病毒技術培育成無主要病毒之健康種苗，供應台灣地區農民更新老化、劣勢葡萄老株。

關鍵字：葡萄、病毒、診斷、防治

前 言

葡萄為台灣地區重要經濟果樹之一，依臺灣農業年報之調查民國九十年之栽培面積達 3243 公頃。其苗木大多以無性繁殖的方法繁殖，唯此種方法極易傳播病毒病害，導致病毒病害之擴散及蔓延。據國外之報告，葡萄病毒已在世界各地普遍存在，且種類極多，其中以葡萄扇葉病毒(*Grapevine fanleaf virus*；簡稱 GFLV)、葡萄捲葉病毒(*Grapevine leafroll virus*；簡稱 GLRV)、葡萄 A 病毒或葡萄樹皮木栓化病毒(*Grapevine A virus* 或 *Grapevine corky bark-associated virus*；簡稱 GVA)等為害最為普遍(Boscia *et al.*, 1995；Credi and Giunchedi, 1996；Gohseen, 1977；Habibi *et al.*, 1995；Rubinson *et al.*, 1997；MacKenzie *et al.*, 1996)。

台灣葡萄品種多由日本及歐美等地區引進，病毒極易由國外引種時傳入，且經由無性繁殖或修剪枝條等過程而迅速蔓延。國內有關葡萄病毒之調查，陳等(1981)曾發現類似番茄斑點萎凋病毒(*Tomato spotted wilt virus*)之新病毒，楊等(1986)則鑑定得知番茄輪點病毒(*Tomato ringspot virus*)系統引起之巨峰葡萄黃斑病毒病。陳、葉(1988)另外發現有兩種長絲狀之 *Closterovirus* 病毒粒子存在葡萄捲葉病葉之韌皮組織中，Tzeng *et al.*(1994)更確定第三與第四型葡萄捲葉病毒之普遍發生，但推測仍有其他血清型之葡萄捲葉病毒存在。楊等(2000)經二年來調查組培苗病毒田間再感染之結果顯示，南投縣地區，葡萄 A 病毒(GVA)之發生率增為

17.5%；但仍無葡萄扇葉病毒(GFLV)與葡萄捲葉病毒(GLRV)-品系 1 之發生。而彰化與台中縣二地區，葡萄扇葉病毒之發生率則分別達 78.2%與 85%，葡萄 A 病毒之發生率亦分別增為 34.5%與 27.5%，葡萄捲葉病毒-品系 1 仍只在台中地區發現，且只有 5%發生率。顯示台灣除了 GLRV 之發生外，尚有 GFLV 與 GVA 之發現。

葡萄病毒病害常見之病徵

葡萄扇葉病毒的感染常造成三種病徵：1.葉畸形：葉片嚴重扭曲、不對稱、皺縮。有時黃化斑駁伴隨著葉片扭曲發生，枝芽也會變形長出不正常側芽、節間縮短、扁平狀枝條等。2.黃化嵌紋：藤蔓黃化，葉片先出現些許分散之黃斑，慢慢變成葉脈間斑駁，最後變黃。3.脈綠嵌紋：最初沿著成熟葉葉脈出現黃色條斑，蔓延至葉脈間。植株發病嚴重時導致葡萄生育受阻，葉片變小成扇狀，節間縮短，葉互生變成對生，植株逐漸衰弱，產量減少(罹病品種達 80%以上)，果實品質不佳與繁殖體之發根不良(Brunt *et al.*, 1996；Martelli and Savino, 1994)。

葡萄捲葉病毒感染植株比健康植株略為矮小，葉片、枝芽、主幹、根系等亦較健康植株稍小。在春季，病葉些微變小，隨著季節變化，則變成黃葉或紅葉，到晚夏下位葉往下捲曲。主脈仍維持綠色外，葉身可能呈紅或黃，視品種之花青素而定。此病延遲果實成熟，糖度降低 25～50%及著色不良，紅色或黑色品種之果實顏色變淡。(Brunt *et al.*, 1996；Goheen, 1970；Pearson and Goheen, 1994；Woodham *et al.*, 1984)。

葡萄樹皮木栓化病毒(GVA)造成之葉片病徵與葡萄捲葉病毒所引起之病徵相似，常造成葉片捲曲，葉片均勻變紅或黃並為害莖部形成層組織，造成陷莖現象，莖部局部腫起裂開，阻礙水分及養分之輸送，芽之開展延遲，數年後植株可能死亡(Brunt *et al.*, 1996；Pearson and Goheen, 1994)。

常見葡萄病毒之重要特性

GFLV 為 *Comoviridae* 科、線蟲傳播多面體病毒屬(*Nepovirus*)之球形病毒，直徑約 30nm。由兩個單股之核糖核酸(分子量分別為 1.4 及 2.4×

10^6)及單一鞘蛋白胜勁鏈(54000Da)所組成。可能普遍存在於世界各地。寄主僅限於葡萄屬(*Vitis* spp.)，亦可接種感染紅藜(*Chenopodium amaranticolor*)、珙藜(*Chenopodium quinoa*)、千日紅(*Gomphrena globosa*)及胡瓜(*Cucumis sativus*)等。劍線蟲(*Xiphinema index*)被證實為其媒介昆蟲，亦可經汁液傳播或嫁接傳染，應注意防範(Brunt *et al.*, 1996; Hewitt *et al.*, 1970)。

自然生態下本病毒由劍線蟲(*Xiphinema index*)媒介感染至其他健康葡萄植株根部，劍線蟲從病株根部獲毒取食後，在無寄主植物環境下可以維持 8 個月仍具感染力，幼蟲及成蟲皆能在其食道腔內帶病毒。此病毒亦可經汁液傳播或嫁接傳染，應注意防範。GFLV 在自然狀態下無法長距離散播，需由人為將帶病毒材料運送才會發生，主要是由於劍線蟲在土壤中之移行緩慢，每年在田間不會超過 1.3~1.5 公尺。另外雖有報告花粉會帶 GFLV，但本病毒並不會經種子傳播，也無其他天然雜草寄主。因葡萄地上部移除後，根部在土壤中仍能存活數年，只要小根內含有 GFLV，劍線蟲仍是病毒接種源，可危害下一代新栽培之葡萄植株(Brunt *et al.*, 1996; Ferris, 2001)。

GLRV 為 *Closterovirus* 之成員，其顆粒體為長絲狀，長度約 1800~2200nm。目前有 7 個相關病毒，稱為葡萄捲葉相關病毒-1(*Grapevine leaf roll-associated virus-1*，簡稱為 GLRaV-1)、GLRaV-2、GLRaV-3、GLRaV-4、GLRaV-5、GLRaV-6 及 GLRaV-7，其血清學並無相關性。普遍存在於世界各葡萄栽培地區。寄主僅限於葡萄屬(*Vitis* spp.)。目前已知 GLRaV-3 之媒介昆蟲為桔粉介殼蟲(*Planococcus citri*)、長尾粉介殼蟲(*Pseudococcus longispinus*)、葡萄粉介殼蟲(*Pseudococcus matritimus*)及 *Pseudococcus viburni*，亦可藉由機械或嫁接傳染。GLRaV-1 之媒介昆蟲則為 *Parthenolecanium corni* 及 *Neopulvinaria innumerabilis* 兩種軟殼介殼蟲。此類病毒除可由粉介殼蟲、軟殼介殼蟲媒介感染至其他健康葡萄植株，主要是經嫁接傳染或扦插苗傳播，應注意防範(Golino *et al.*, 2002)。

GVA 為 *Closteroviridae* 之 *Vitivirus* 屬之成員，其顆粒體為長絲狀，長度約 800nm。其他血清型或分離株有 *Grapevine virus B* (GVB)、

Grapevine virus C (GVC)與 *Grapevine virus D* (GVD)等。普遍存在於世界各葡萄栽培地區。寄主僅限於葡萄屬(*Vitis* spp.)，亦可機械接種感染 *Nicotiana glutinosa*、*N. clevelandii* 及 *N. benthamiana*。媒介昆蟲主要為長尾粉介殼蟲(*Pseudococcus longispinus*)及桔粉介殼蟲(*Planococcus citri*)，亦可藉由機械或嫁接傳染(Golino *et al.*, 2002)。

此類病毒可能由長尾粉介殼蟲以半永續性方式媒介感染至其他健康葡萄植株。長尾粉介殼蟲獲毒取食 15 分鐘後，在 *N. clevelandii* 上餵食可保留病毒達 15 小時，然在飢餓狀態下，保留病毒達 48 小時。但此病毒主要經嫁接傳染或扦插苗傳播，應注意防範(La Notte *et al.*, 1997)。

主要葡萄病毒之診斷技術

1. 病徵診斷法：在春季較易觀察到如上述之 GFLV 造成之葉畸形、黃化嵌紋或脈綠嵌紋等病徵；在秋季較易觀察到如上述之 GLRV 造成之向下捲葉、GVA 造成的莖部局部腫起裂開等病徵。
2. 指示植物診斷法：人工汁液摩擦接種 GFLV 至紅藜(*Chenopodium amaranticolor*)、珙藜(*Chenopodium quinoa*)、千日紅(*Gomphrena globosa*)及胡瓜(*Cucumis sativus*)等指示植物，觀察其病徵之表現。或者以不同之嫁接技術嫁接 GFLV 至指示植物 *Vitis rupestris* ‘St. George’ 上，22~24°C 溫度下，觀察其病徵表現如下：(a) 病徵急速表現期：嫁接 3~4 週後出現黃斑、輪點、條斑、局部病斑(嵌芽接或綠體接法)。(b) 慢性病徵表現期：生長緩慢，葉嚴重變形、黃化或葉片輕微變形。嫁接 GLRV 至紅色果實系之 *Vitis vinifera* 栽培種(Pinot noir, Cabernet franc, Merlot, Barbera, Mission 等)，在 22°C 溫度下，4~6 週葉片向下捲曲與紅化(綠體接法)，6~8 月至 2 年出現類似病徵(田間檢測)。在 2.5% Nicotine 水溶液中研磨汁液摩擦接種 GVA 至草本指示植物 *Nicotiana clevelandii* 或 *N. benthamiana*，低於 25°C 下 10~12 天後出現系統性葉脈透化與黃化(Tanne *et al.*, 1993；Tzeng *et al.*, 1994)。
3. 光學顯微鏡檢查：從 GFLV 感染之葡萄葉片表皮組織中，可觀察到被紫紅核酸染劑(Azure A)染成紫紅色之不規則形結晶性內含體。從

GLRaV1 或 GVA 感染之葡萄葉片韌皮部薄壁組織中，可觀察到被紫紅核酸染劑染成紫紅色之不規則形內含體，特性與 *Closterovirus* 之內含體特性相近(楊等, 2000)。

4. 電子顯微鏡檢查：利用電子顯微鏡檢查以陰染法處理之汁液中是否含直徑約 30nm 之 GFLV 球形顆粒體、長度約 1800~2200nm 長絲狀之 GLRV 病毒、或為長度約 800nm 長絲狀病毒之 GVA 病毒(陳等, 1981；陳、葉, 1988；楊等, 1986)。
5. 血清檢查法：以購買之抗血清(Bioreba AG、Agdia 或 Sanofi 等公司生產之病毒抗血清)，行酵素聯結抗體免疫測定法(enzyme-linked immunosorbent assay；ELISA)檢測 GFLV、GLRaV1-7、GVA 等病毒(Rubinson *et al.*, 1997；Tzeng *et al.*, 1994；楊等, 2000)。
6. 反轉錄聚合鏈連鎖反應技術(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)：以近年來廣被使用之反轉錄聚合鏈連鎖反應技術檢測 GFLV、GLRaV1-7、GVA 等病毒(Esmenjaud *et al.*, 1994；Rowhani *et al.*, 1993，1995)。
7. 核酸探針檢測技術：Fuchs 等人(1991)以 cDNA 探針偵測葡萄汁 GFLV。

防治方法

1. 防治媒介昆蟲：以殺線蟲劑燻蒸處理土壤，例如每公頃施用1000公升之1,3-Dichloropropene或Nemacur等殺死劍線蟲(Brunt *et al.*, 1996；Ferris, 2001)。以殺蟲劑定期防治桔、葡萄粉介殼蟲等媒介昆蟲。
2. 適當更新栽培方法：更新栽培時，應拔除植株再以系統性殺草劑除去殘留根系及雜草，以避免劍線蟲存活。犁開表土深約 30~60 公分，加速殘留葡萄根系之死亡(Brunt *et al.*, 1996；Ferris, 2001)。
3. 選用抗病毒或劍線蟲之品種：從 *Vitis vinifera* × *Muscadinia Rotundifolia* (VR)之品系中篩選出抗 GFLV 之 VR O39-16 (Walker *et al.*, 1994)。
4. 種植無主要病毒之健康種苗：為解決葡萄病毒罹病株品質不良之問題，Ayuso and Pena-Iglesias (1978)、Barlass *et al.* (1982)、Blazina *et al.* (1991)、Martelli (1979)與 Monette (1986)等利用熱療法或配合莖頂生長

點組織培養法，冀求能繁殖無毒化健康苗以防治病毒病害。以無毒化健康苗更新衰老園，配合田間管理作業上之衛生習慣，乃目前被認為最有效之防治方法。因此為克服台灣地區葡萄病毒病害之問題，中興大學與本場合作利用莖頂生長點去病毒技術培育成無主要病毒之健康種苗，供應台灣地區農民更新老化、劣勢葡萄老株。自民國 86 年起已生產供應巨峰 33,000 餘苗、蜜紅 3,500 餘苗與砧木 7,000 餘苗。

5. 法規防治：訂定如「歐洲暨地中海地區植物保護組織」(EPPO)之葡萄健康種苗驗證程序以確保葡萄苗木之健康(OEPP/EPPO, 1998)，並同時避免由國外帶入苗木而引入其他重要病原危害我國葡萄產業。

討 論

國外有關獲得無病毒葡萄種苗之研究，Monette (1986)與 Blazina *et al.* 等人 (1991)利用熱療法處理組培苗；而 Ayuso and Pena-Iglesias (1978)、Barlass 等人 (1982)、與 Martelli 等人 (1979)則切取莖頂生長點行組織培養，皆能繁殖無毒化健康苗。楊等(2001)利用血清法篩選無三種主要病毒之芽體，再配合莖頂生長點組織培養方式，亦可獲取無主要病毒之組培苗，供應台灣地區葡萄產業之更新栽培用。將來若能建立無病毒之母本園，直接切取芽體之莖頂組織培養，必能降低生產成本，提高產品之品質與國際競爭力。

健康種苗之供應，取決於良好之病毒檢查技術與體系。目前葡萄病毒之抗血清檢測藥劑，主要購自國外 Bioreba AG、Agdia 或 Sanofi 等公司生產之病毒抗血清，然其抗血清品質並不穩定，加上病毒品系之差異，檢測之誤差可能會發生。今已朝 RT-PCR 檢測技術開發，期能達到雙重檢測無病毒之母本園之葡萄苗，更確實執行無主要病毒組培苗之供應。

經楊等(2000)田間採樣調查，1999 年春作無病毒葡萄苗之病毒再感染率比 1997 年秋作之病毒再感染率高出許多，其可能原因有二：(一)、葡萄苗隨栽培時間之增長，病毒再感染率受媒介昆蟲、線蟲或栽培器具(修枝剪)等之傳播而增加。依據蔡、林(1988)之線蟲病害調查，在彰化、南投及苗栗三縣之葡萄園中皆發現有媒介葡萄扇葉病毒之劍線蟲

(*Xiphinema* spp.)族群(Hewitt *et al.*, 1958)。章(1988)之蟲害調查，台灣地區葡萄園中發現有葡萄介殼蟲(*Hemiberlesia implicata*)及柑桔粉介殼蟲(*Planococcus citri*)之危害，其中柑桔粉介殼蟲是葡萄 A 病毒與葡萄捲葉病毒-3(GLRaV-3)之媒介昆蟲(Agran *et al.*, 1990；Carbaleiro and Segura, 1997)。(二)、春作期間葡萄苗之萌芽、新梢之生長與葉片之發育皆逢低溫期，病毒之複製及增殖、移行較秋作時之高溫期穩定，因此以 ELISA 法檢測病毒之濃度較秋作者高。

許多農民栽培無病毒葡萄組培苗前先行清園，但因(1)土壤未先行藥劑消毒，帶病毒之劍線蟲可能仍殘存於土壤與雜草根系中，(2)無病毒葡萄苗之栽植與老舊株同園並種，(3)有些與老舊株園比鄰栽種，隔離距離未達 500 公尺以上，柑桔粉介殼蟲媒介之 GVA 與 GLRV 等病毒再感染之比例偏高，無病毒苗更新衰老園之效果將大打折扣。(4)台灣各鄉鎮栽培更新無病毒葡萄苗之數量有限，無法全鄉鎮栽培區一次更新種植。緣此，因應各鄉鎮之需求及有計畫之更新無病毒葡萄苗，於地區性或集團地方同時更新，方能在媒介昆蟲與線蟲繁殖快速之台灣達成應有之防治經濟效應(楊等, 2000)。

誌 謝

本研究蒙行政院農業委員會 88-科技-1.1-糧-11(45)、動植物防疫檢疫局 91-公務-1.2-植防-02(5-1)等計畫補助，台中場林嘉興先生、中興大學徐思東先生與本場陳宏光先生之協助調查，本場林麗月與王賢燕小姐之協助實驗工作，特表謝忱。

引用文獻

- 章加寶。1988。臺灣葡萄蟲害之調查及其防治。葡萄產業研究與發展研討會專刊pp.144-158。台灣省農業試驗所。
- 張莉莉。1986。葡萄莖頂生長點組織培養之研究。國立中興大學園藝研究所碩士論文pp.80。
- 陳慧璘、葉漢民。1988。臺灣葡萄毒素病之調查及檢定。葡萄產業研究與發展研討會專刊pp.124-130。台灣省農業試驗所。

- 陳慧璘、曾德賜、陳脈紀。1981。台灣葡萄黃化萎縮病(新毒素病)之初步研究。科學發展 9:584-591。
- 楊一郎、鄧汀欽、陳脈紀。1986。台灣葡萄汁液傳播性黃斑病毒病之發生。中華農業研究 35:504-510。
- 楊佐琦、廖玉珠、沈再發。2000。無主要病毒葡萄組織培養苗木之田間病毒再感染。植物種苗 2:37-48。
- 楊耀祥、徐思東、陳駿季、楊佐琦、廖玉珠。2001。葡萄健康種苗生產體系之建立。健康種苗在植物病害防治之應用研討會專刊 103-109 中華民國植物病理學會出版。
- 蔡東纂、林奕耀。1988。臺灣葡萄根瘤線蟲之發生與防治。葡萄產業研究與發展研討會專刊pp.131-134。台灣省農業試驗所。
- Agran, M. K., Di Terlizzi, B., Boscia, D., Minafra, A., Savio, V., Martelli, G. P., and Askri, F. 1990. Occurrence of grapevine virus A (GVA) and other closteroviruses in Tunisian grapevines affected by leafroll disease. Vitis 29:43-48.
- Ayuso, P. and Pena-Iglesias, A. 1978. Shoot apex (meristem) grafting: A novel promising technique for the regeneration of virus infected grapevines. VI Conference on Virus and Virus Diseases of the Grapevine. Monografias INIA.
- Barlass, M., Skene, K. G. M., Woodham, R. C., and Krake, L. R. 1982. Production of virus-free vines by apical culture. Ann. Appl. Biol. 101:291-295.
- Blazina, I., Ravnkar, M., Zolnir, M., Korosek-Koruza Z., and Gogala, N. 1991. Regeneration of GFLV-free grapevines and synchronization of micropropagation *in vitro*. Acta Hort. 289:87-88.
- Boscia, D., Masammat, K. M., Abu-Zurayk, A. R., and Martelli, G. P. 1995. Disease and pest outbreaks. Jordan. Rugose wood of the grapevine in Jordan. Arab and Near East Pl. Prot. Newsl. 21:32.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J., Watson, L., and

- Zurcher, E. J. 1996. Plant Virus Online: Descriptions and Lists from VIDE Database. Version:20th August 1996. URL <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>
- Carbaleiro, C. and Segura, A. 1997. Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planacoccus citri*. Plant Dis. 81:283-287.
- Christie, R. G. and Edwardson, J. R. 1977. Light and electron microscopy of plant virus inclusions. Fla. Agric. Exp. Stn. Monogr. 9. 155pp.
- Clark, M. F. and Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34:475-483.
- Credi, R. and Giunchedi, L. 1996. Grapevine leafroll-associated viruses and grapevine virus A in selected *Vitis vinifera* cultivars in northern Italy. Plant Pathol. 46:1110-1116.
- Esmenjaud, D., Abad, P., Pinck, L., and Walter, B. 1994. Detection of a region of the coat protein gene of grapevine fanleaf virus by RT-PCR in the nematode vector *Xiphinema index*. Plant Dis. 78:1087-1090.
- Ferris, H. 2001. Xiphinema index. Oct. 18, 2001. URL <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Taxadata/G143S3..HTM>
- Fuchs, M., Pinck, M., Etienne, L., and Pinck, L., and Walter, B. 1991. Characterization and detection of grapevine fanleaf virus by using cDNA probes. Phytopathology 81:559-565.
- Gohheen, A. C. 1970. Virus and virus-like diseases of the grapevines. in : Frazier N. W. (ed.) Virus Diseases of Small Fruits and Grapevines. p. 209-212 University of California, Berkeley.
- Gohheen, A. C. 1977. Virus and virus-like diseases of grapes. HortScience 12:465-469.
- Golino, D. A., Sim, S. T., Gill, R., and Rowhani, A. 2002. California mealybugs can spread grapevine leafroll disease. California Agric.

- 56:196-201.
- Habili, N., Fazeli, C. F., Ewart, A., Hamilton, R., Cirami, R., Saldarelli, P., Minafra, A., and Rezaian, M. A. 1995. Natural spread and molecular analysis of grapevine leafroll-associated virus 3 in Australia. *Phytopathology* 85:1418-1422.
- Hewitt, W. B., Martelli, G., Dias, H. F., and Taylor, R. H. 1970. Grapevine Fanleaf Virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses No. 28.
- Hewitt, W. B., Raski, D. J., and Goheen, A. C. 1958. Nematode vector of soil-borne fanleaf virus of grapevines. *Phytopathology* 48:586-595.
- Hoefert, L. H., McCreight, J. D., and Christie, R. G. 1992. Microwave enhanced staining for plant virus inclusions. *Biotech. Histochem.* 67:40-44.
- La Notte, P., Buzkan, N., Choueiri, E., Minafra, A., and Martelli, G. P. 1997. Acquisition and transmission of grapevine virus A by the mealybug *Pseudococcus longispinus*. *J. Pl. Pathol.* 78:79-85.
- MacKenzie, D. J., Johnson, R. C., and Warner, C. 1996. Incidence of four important viral pathogens in Canadian vineyards. *Plant Dis.* 80:955-958.
- Martelli, G. P. 1979. Identification of virus diseases of grapevine and production of disease-free plants. in :the International Symposium on Virus Diseases and Bacterial Canker of Grapevine, p. 127-136. 29-30 May, 1978, Pelen, Bulgaria.
- Martelli, G. P. and Savino, V. 1994. Fanleaf degeneration. in: *Compendium of Grape Diseases*. p. 48-49. Person, R. C. and Goheen, A. C. (eds.) APS Press, St. Paul, MN.
- Monette, P. L. 1986. Elimination *in vitro* of two grapevine nepoviruses by an alternating temperature regime. *J. Phytopathol.* 116:88-91.
- OEPP/EPPO. 1998. Certification scheme for pathogen-tested material of grapevine varieties and rootstocks. EPPO Standards-Certification

Scheme PM4/8:55-64.

- Pearson, R. C. and Goheen, A. C. 1994. Compendium of Grape Diseases. P.47-54. APS Press, St. Paul, MN.
- Rowhani, A., Chay, C., Golino, D. A., and Falk, B. W. 1993. Development of a polymerase chain reaction technique for the detection of grapevine fanleaf virus in grapevine tissue. *Phytopathology* 83:749-753.
- Rowhani, A., Maningas, M. A., Lile, L. S., Daubert, S. D., and Golino, D. A. 1995. Development of a detection system for viruses of woody plants based on PCR analysis of immobilized virions. *Phytopathology* 85:347-352.
- Rubinson, E., Galiakporov, N., Radian, S., Sela, I., Tanne, E., and Gafny, R. 1997. Serological detection of grapevine virus A using antiserum to a nonstructural protein, the putative movement protein. *Phytopathology* 87:1041-1045.
- Tanne, E., Shlamovitz, and Spiegel-Roy, P. 1993. Rapidly diagnosing grapevine corky-bark by *in vitro* micrografting. *HortScience* 28:667-668.
- Tzeng, H. L. C., Chen, M. J., and Tzeng, D. D. S. 1994. The occurrence of grapevine leafroll diseases among the main grapevine cultivars and breeding stocks in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 3:156-167.
- Walker, M. A., Wolpert, J. A., and Weber, E. 1994. Field screening of grape rootstock selections for resistance to fanleaf degeneration. *Plant Dis.* 78:134-136.
- Woodham, R. C., Antcliff, A. J., Krake, L. R., and Taylor, R. H. 1984. Yield differences between Sultana clones related to virus status and genetic factors. *Vitis* 23:73-83.

Current Status of Grapevine Viruses and Their Control Means in Taiwan

Tso-Chi Yang, Fang-Lan Shiau, and Chia-Ju Chung

Taiwan Seed Improvement and Propagation Station,

Taichung Pref., Taiwan

ABSTRACT

The grapevine is one of most widely planted fruit crops in Taiwan, covering an area of approximately 3243 hectares in 2001. Vegetative cutting is the major means for grapevine propagation. However, it also provides the transmission pathway of several important viruses through the world. Based on the survey results, *Grapevine fanleaf virus* (GFLV), *Grapevine leafroll associated virus 1* (GLRaV1) and *Grapevine virus A* (GVA) occurred commonly in the grapevine-cultivated area in Taiwan. GFLV was named by resulting in fanleaf symptom on leaves of *Vitis vinifera*, belonging to *Nepovirus*, and have isometric virions, 30nm in diameter. Host reactions of GFLV only limited to *Vitis* spp., however also can be mechanical inoculated onto *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Gomphrena globosa*, and *Cucumis sativus*. The nematode, *Xiphinema index*, was proved to be the transmission vector of GFLV. GLRV, belonging to *Closterovirus*, normally infected grapevines with leaf-rolling-downward symptoms and its filamentous particles approximately 1800-2200 nm in length are commonly associated with the phloem tissue. Up to now, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GLRaV-4, GLRaV-5, GLRaV-6, and GLRaV-7 were respectively reported to be associated with leafroll diseases but were serologically unrelated. The transmission vectors of GLRaV-3 were *Planococcus citri*,

Pseudococcus longispinus, *Pseudococcus matritimus* and *Pseudococcus viburni*, but also can be graft-transmissible or mechanically transmitted. Moreover, GLRaV-1 could be transmitted by *Parthenolecanium corni* and *Neopulvinaria innumerabilis*. GVA affected vines have impaired growth vigor, leafroll, stem-pitting, and may decline and die within a few years. In addition to GLRV, GVA is also a filamentous virus which is 800 nm in length, and it could be likewise transmitted by *Pseudococcus longispinus* and *Planococcus citri*. Up to now, several means were commonly used to diagnose the grapevine viruses such as symptoms resulted from viruses mentioned above, grafting onto susceptible rootstocks or inoculating onto indicator plants, light microscopy, electron microscopy, serology and reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). Control methods for grapevine viruses included mealybug and nematode control system, choice of resistant varieties to viruses or vectors, and replanting of virus-free seedlings. To improve the fruit quality and quantity reduced deleteriously by virus infection year by year, specific-viruses-free grapevine seedlings were propagated and provided using *in vitro* technique by the Taiwan Seed Improvement and Propagation Station and the National Chung-Hsing University.

Key words: Grapevine, Viruses, Diagnosis, Control

表一、1997-1999 年無病毒葡萄苗之田間病毒再感染之追蹤調查

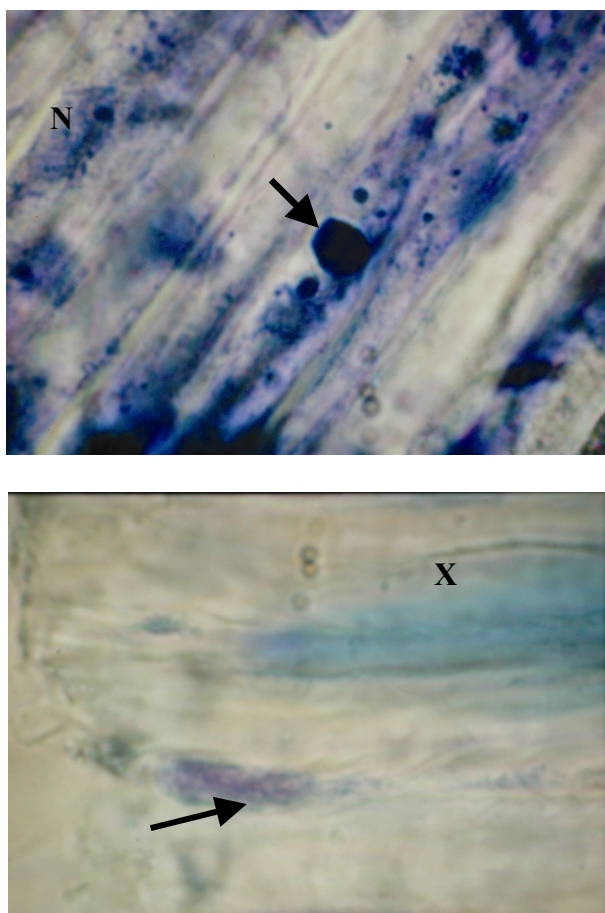
Table 1. Virus re-infection of specific-viruses-free grape seedlings grown in the fields during 1997 to 1999

地區	樣品數	有 GVA 反應%				有 GFLV 反應%				有 GLRaV1 反應%			
		% with GVA ²⁾				% with GFLV				% with GLRaV1			
Locations/ Prefecture	Sample No. ¹⁾	86/10 Oct. 1997	87/6 Jun. 1998	87/11 Nov. 1998	88/6 Jun. 1999	86/10 Oct. 1997	87/6 Jun. 1998	87/11 Nov. 1998	88/6 Jun. 1999	86/10 Oct. 1997	87/6 Jun. 1998	87/11 Nov. 1998	88/6 Jun. 1999
南投 Nantou	40	0	0	10	17.5	0	0	0	0	0	0	0	0
彰化 Changhwa	55	0	1.8	—	34.5	12.7	27.3	—	78.2	0	1.8	—	0
台中 Taichung	40	— ³⁾	20	—	27.5	—	37.5	—	85	—	5	—	5
苗栗 Miaoli	5	—	0	—	0	—	0	—	20	—	0	—	0

1) Samples were collected randomly about 10% from the total grape plants.

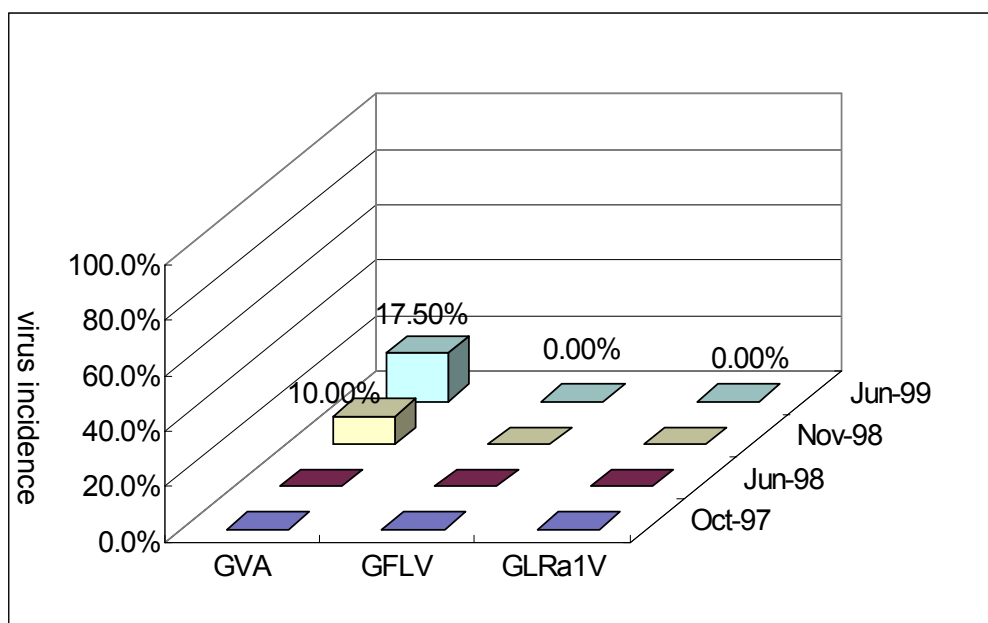
2) Infection percentage was calculated according to the ELISA tests that positive ones had A_{405} nm values more than two times of the value of healthy control.

3) — = not tested.



圖一、感染 GFLV 之葡萄葉片表皮組織經紫紅核酸染劑染色後，於細胞內觀察到之不規則形結晶性內含體(→)(上)；感染 GVA 或 GLRaV1 之葡萄葉片韌皮部薄壁組織中，可觀察到被染成紫紅色之不規則形內含體(→)(下)。N：細胞核；X：木質部組織

Figure 1. Light micrograph of irregular, crystalline inclusions(→)induced by GFLV in grapevine leaf epidermal tissues stained with Azure A(top)and irregular inclusions (→)induced by GVA or GLRaV1 in grapevine phloem tissues stained with Azure A (bottom). N : nucleus ; X : xylem



圖二、南投縣田間栽種無主要病毒葡萄組培苗之病毒再感染情形

Figure 2. Virus re-infection of specific-viruses-free grapevine seedlings grown in Nantou county.



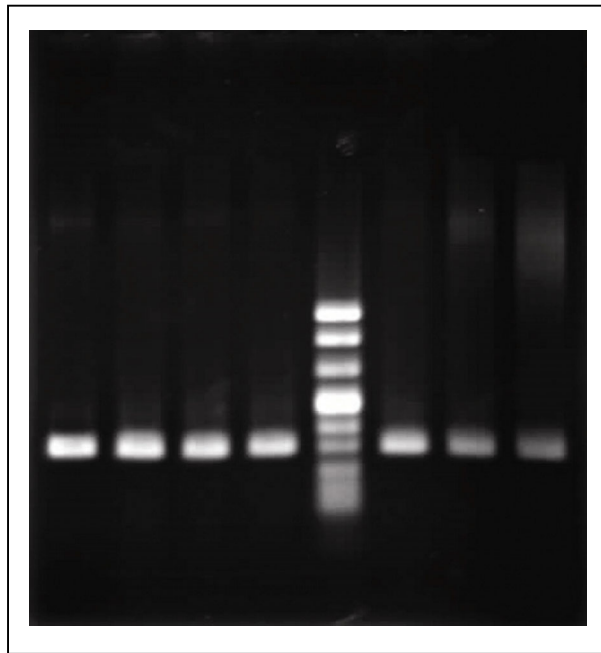
圖三、葡萄捲葉病毒及葡萄 A 病毒複合感染造成之葉片黃化、葉片向下捲曲之病徵

Fig. 3. Yellowing, vein-banding and leaf rolling downward associated with grapevine infected with GLRV and GVA.



圖四、葡萄扇葉病毒與葡萄捲葉病毒複合感染造成節間縮短、枝芽簇生之現象

Fig.4. Shorten nodes and clustering branches on grapevine affected by GFLV and GLRV.



圖五、以反轉錄聚合鏈連鎖反應技術(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)檢測 GFLV。

Fig. 5. Detect GFLV using Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) .

