

# 番椒微斑病毒 (*Pepper mild mottle virus*) 田間發生與 器械消毒管理

曹麗玉<sup>1,\*</sup>

## 摘要

曹麗玉。2018。番椒微斑病毒 (*Pepper mild mottle virus*) 田間發生與器械消毒管理。台灣農業研究 67(4):347–354。

應用間接酵素連結免疫分析法 (indirect enzyme-link immunosorbent assay; ELISA) 進行 9 種不同病毒：番椒黃化病毒 (*Capsicum chlorosis virus*; CaCV)、辣椒葉脈斑駁病毒 (*Chilli veinal mottle virus*; ChiVMV)、胡瓜嵌紋病毒 (*Cucumber mosaic virus*; CMV)、番椒葉脈斑駁病毒 (*Pepper veinal mottle virus*; PVMV)、番椒微斑病毒 (*Pepper mild mottle virus*; PMMoV)、馬鈴薯 Y 病毒 (*Potato virus Y*; PVY)、番茄斑萎病毒 (*Tomato spotted wilt virus*; TSWV)、煙草嵌紋病毒 (*Tobacco mosaic virus*; TMV)、番茄嵌紋病毒 (*Tomato mosaic virus*; ToMV) 的血清學檢測，定期調查高雄、屏東地區之甜椒簡易網室設施及露天栽培園之嵌紋型病毒病害發生種類。結果顯示，簡易網室及露天栽培之甜椒均以 PVMV、ChiVMV、PVY 及 PMMoV 4 種病毒感染為主，而露天栽培園之病毒感染情形明顯較簡易網室栽培嚴重。病毒複合感染對於植株造成的病徵比單一病毒感染之病徵嚴重，單獨感染多出現輕微的斑駁嵌紋，複合感染易造成葉片及果實嚴重畸形，造成植株矮化及生長停滯。PMMoV 可經由種子傳播，以種子直接研磨及種子直播穴盤可測出種子之病毒帶毒率。目前已檢測 20 批甜椒種子的帶毒率，其中綠色甜椒「群星」、「藍星」及彩色甜椒「北極星」各一批號測得 PMMoV 感染，病毒帶毒率分別為 13、18 及 17%。將人工汙染 PMMoV 病種子置於細網袋 (100 粒/袋)，分別以 12.5、15 及 20% 的磷酸三鈉溶液浸泡 10 min、20 min、30 min 後，以活水沖洗約 60 min，以 1% 次氯酸鈉去除種子表面雜菌，置於濕濾紙上使之萌芽，調查種苗發芽率及病毒帶毒率。其中，以 12.5% 磷酸三鈉溶液處理 30 min (病毒帶毒率 5%)、15% 磷酸三鈉溶液處理 30 min (病毒帶毒率 3%) 及 20% 磷酸三鈉溶液處理 20 min (病毒帶毒率 5%) 之去毒能力最好。大部分病毒可經由機械方式感染其他植株，在器械消毒試驗方面，以 5% 次氯酸鈉及 0.5% 次氯酸鈉在 3 次試驗中的去毒效果均可達 95% 以上，20% 脫脂奶粉去毒效果次之。

**關鍵詞：**番椒微斑病毒、器械消毒、種子消毒。

## 前言

番椒屬茄科 (*Solanaceae*) 番椒屬 (*Capsicum*)，其中具辛辣味者稱為辣椒 (hot pepper)，而不具辛辣味者稱為甜椒 (sweet pepper)，統稱為番椒 (pepper)，學名為 *Capsicum annuum* L. 番椒原產地為中美洲、南美洲熱帶地區。哥倫布於 1493 年首先帶回西班牙，於 15 世紀中葉於歐洲大陸流傳，16 世紀時傳至日本，17

世紀始傳到中國。台灣甜椒栽培始由美國於 1960 年之後引進栽培，週年均有生產，夏季多種植於中海拔地區，秋冬季則以中、南部地區栽培較多。依據 2016 年台灣農業統計年報資料記載，台灣地區全年作甜椒種植面積約為 1,255.7 ha，年產量約 17,323 Mg，其中以中部的南投縣、雲林縣、嘉義縣及南部的屏東縣為主要栽培區，分別占全國栽培面積的 28.7、

投稿日期：2017 年 10 月 20 日；接受日期：2018 年 5 月 14 日。

\* 通訊作者：tsly@fthes-tari.gov.tw

<sup>1</sup> 農委會農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所植物保護系助理研究員。台灣 高雄市。

20.2、18.5 及 12.3%。

台灣地區甜椒常見之病害如：病毒病、青枯病、細菌性斑點病、疫病、白粉病、炭疽病、菌核病等，其中甜椒的病毒病害根據國外文獻記載有 20 種以上 (Green & Kim 1991; Agronovsky 1993; Luis-Arteaga & Ponz 2003; Kenyon *et al.* 2014; Jo *et al.* 2017)。根據台灣植物病害名彙及相關研究，可感染甜椒的病毒種類有辣椒葉脈斑駁病毒 (*Chilli veinal mottle virus*; ChiVMV)、番椒葉脈斑駁病毒 (*Pepper veinal mottle virus*; PVMV)、馬鈴薯 Y 病毒 (*Potato virus Y*; PVY)、番椒黃化病毒 (*Capsicum chlorosis virus*; CaCV)、番茄斑萎病毒 (*Tomato spotted wilt virus*; TSWV)、胡瓜嵌紋病毒 (*Cucumber mosaic virus*; CMV)、番椒黃化捲葉病毒 (*Tomato yellow leaf curl virus*; TYLCV)、煙草捲葉病毒 (*Tobacco leaf curl virus*; TLCV)、甜椒微斑病毒 (*Pepper mild mottle virus*; PMMoV)、煙草嵌紋病毒 (*Tobacco mosaic virus*; TMV) 及番茄嵌紋病毒 (*Tomato mosaic virus*; ToMV) 等 11 種。上述病毒中，同屬於 *Tobamovirus* 病毒群的 TMV、ToMV、PMMoV 經由機械傳播外，其餘病毒均可經由媒介昆蟲傳播。其中，CMV (屬於 *Cucumovirus* 屬)、PVY、PVMV、ChiVMV (三者同屬於 *Potyvirus* 屬) 可經由蚜蟲傳播，TSMV 及 CaCV (二者同屬於 *Tospovirus* 屬) 經由薊馬傳播，TYLCV 及 TLCV (二者同屬於 *Begomovirus* 屬) 經由銀葉粉蝨傳播 (Zaitlin & Israel 1975; Broadbent 1976; Wetter & Conti 1988; Green & Kim 1991; Lin *et al.* 2005; Moury *et al.* 2005; Cheng *et al.* 2009; Shih *et al.* 2010; Yoshimoto *et al.* 2012; Cheng *et al.* 2013; Kenyon *et al.* 2014)。

PMMoV 為種傳病毒，對番椒的生產影響很大，除了造成果實的外觀產生畸型或變小，使得產品失去商業價值外，對產量影響也很大 (Wetter & Conti 1988; Adkins *et al.* 2001; Genda *et al.* 2005)。此類 *Tobamovirus* 病毒在環境中存活能力相當強，且容易經由機械方式感染其他植株，造成連作時的主要病害 (Scholthof 2004)。因此，在田間栽培時，手部及工作器械的消毒可降低病毒感染。有些消毒方法，如：

利用脫脂奶粉防治瓜類白粉病 (Bettiol 1999; Bettiol *et al.* 2008)、利用牛奶防治煙草嵌紋病毒 (Apple *et al.* 1963)，或漂白水消毒法 (Broadbent & Fletcher 1963; Broadbent 1976; Sánchez-Navarro *et al.* 2007; Lewandowski *et al.* 2010; Li *et al.* 2015) 皆有進一步確認及改進的空間。本試驗擬研究在現有田間栽培模式下，PMMoV 的自然傳播方式，比較幾種常用的消毒藥劑 (如：次氯酸鈉、磷酸三鈉鹽、酒精、脫脂奶粉等) 進行器械及手部消毒，降低田間病毒感染率。除確認坊間的消毒方法外，希望能從日常生活中尋求有效且易取得之消毒劑供農民在生產時使用，並建立田間標準操作方式以生產低帶毒種子及種苗，以提供種苗生產及農民參考使用。

## 材料與方法

### 調查甜椒病毒病害發生種類

採樣：調查南部地區 (高雄、屏東) 之簡易網室設施及露天栽培甜椒園之病毒病害發生種類，每園先以目視方式隨機調查 200 株，記錄有疑似病毒感染株數，並採集疑似病毒感染株葉片回到實驗室，用 9 種不同病毒 (CaCV、ChiVMV、CMV、PVMV、PMMoV、PVY、TSWV、TMV、ToMV) 抗血清以間接酵素連結免疫分析法 (indirect enzyme-link immunosorbent assay; ELISA) 檢測。

病毒抗血清來源：CaCV、ChiVMV、PVMV、PMMoV、PVY、TSWV、ToMV 係購自 Agdia® (Elkhart, IN, USA)，CMV、TMV 取自實驗室自行製備。

間接酵素連結免疫分析法：秤取葉片樣品 0.3 g，以 3 mL 之 15 mM 碳酸鈉緩衝液 (sodium carbonate buffer, pH 9.6) 研磨均勻後靜置。上澄液加入 ELISA 反應盤內，每個樣品 2 重複，置於 37°C 定溫箱進行 4 h 的覆膜反應 (coating reaction)。其後，以 1× PBST (phosphate buffered saline with tween-20) 緩衝液 (137 mM NaCl, 1.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.05% Tween 20, pH 7.4) 沖洗 3 次；加入病毒抗血清後置於 37°C 定溫箱反應 2 h；以 1× PBST 緩衝液沖洗 3 次後，加入以 1× PBST 緩衝液稀釋的黏附鹼

性磷酸酵素之山羊抗兔二次抗體 (Alkaline Phosphatase-conjugated AffiniPure Goat anti-Rabbit immunoglobulin, Jackson, West Grove, PA, USA) 置於 37°C 定溫箱反應 2 h；以 1× PBST 緩衝液沖洗 3 次後，最後加入濃度為 1mg mL<sup>-1</sup> 之鹼性磷酸酵素反應基質 (p-nitrophenyl phosphate, Sigma-Aldrich, St. Louis, MS, USA) 進行呈色反應。反應 30–60 min，以 ELISA 判讀儀 (Emax<sup>TM</sup> Microplate Reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) 讀取 OD<sub>405nm</sub> 之吸收值，作為評估病毒濃度高低之依據。樣品讀值大於健康葉片之 2 倍者，視為正反應。

### 檢測甜椒種子 PMMoV 帶毒率

收集市售甜椒品種 (系或批號) 10 種以上。每批種子隨機檢測 1,000 粒種子 (每 10 粒為一個樣品)，樣品先加入液態氮研磨後，再以 PMMoV 抗血清及上述間接 ELISA 進行檢測，計算各批種子之帶毒率。

### PMMoV 帶毒器械獲得方式

以徒手沾取 PMMoV 病組織研磨液 (病組織採自接種 PMMoV 之圓葉煙草 *Nicotiana benthamiana*)，每克罹病葉片加入 10 mL 100 mM 磷酸鈉緩衝液 (100 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 100 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.2)，塗抹健康植株或以剪刀沾取病組織研磨液修剪健株後，以目視觀察病徵計算傳毒比率並以 ELISA 確認。

### 操作器械消毒試驗

仿效坊間以手部及修剪器械修剪枝條摘心整蔓，使用沾有 PMMoV 病組織汁液的工具及手進行修剪，惟工具及手均先充分浸泡 (或搓洗) 於 10%、20% 脫脂奶粉 (Anchor<sup>®</sup>, Auckland, New Zealand) 溶液，分別處理不同時間 (分別浸泡 10 s、20 s、30 s 至 1 min)，再用清水沖洗或浸泡後再行修剪，以目視病徵及 ELISA 評估消毒效果。

### 操作器械消毒試驗—化學消毒藥劑消毒試驗

測試化學藥劑消毒之最佳稀釋度。配製

不同稀釋濃度 (0.5%、5%、10%) 之次氯酸鈉 (hypochloride, Chlorax<sup>®</sup>, Oakland, CA, USA)、不同稀釋濃度 (75%、100%) 酒精 (absolute alcohol, Sigma-Aldrich, St. Louis, MS, USA) 溶液備用。沾有 PMMoV 病組織汁液的工具均先分別浸泡於上述溶液，並分別處理不同時間 (分別浸泡 10 s、20 s、30 s 至 1 min)，再用清水沖洗或浸泡後進行修剪，以目視病徵及 ELISA 評估消毒效果。

### 種子消毒試驗

將以人工污染的 PMMoV 病種子置於細網袋 (每袋 100 粒)，分別以 12.5、15 及 20% 的磷酸三鈉 (Trisodium phosphate, Sigma-Aldrich, St. Louis, MS, USA) 溶液浸泡 10 min、20 min、30 min 後，以活水沖洗約 60 min。以 1% 次氯酸鈉去除種子表面雜菌，置於濕濾紙上使之萌芽，調查種苗發芽率及病毒帶毒率。

## 結果

### 調查甜椒病毒病害發生種類

調查 2015 年南部地區 (高雄、屏東) 之甜椒簡易網室設施及露天栽培園之病毒病害發生種類，採集疑似病毒感染植株葉片以 9 種不同病毒 (CaCV、ChiVMV、CMV、PVMV、PMMoV、PVY、TSWV、TMV、ToMV) 抗血清以間接 ELISA 分析法檢測，檢測的病毒中以 ChiVMV 感染率最高 (25–30%)、PVMV 感染率次之 (22–27%) (表 1)。1–5 月及 8–12 月簡易網室及露天栽培之甜椒，均以 PVMV、ChiVMV、PVY 及 PMMoV 感染為主，而露天栽培園之病毒感染情形明顯較簡易網室栽培嚴重 (圖 1)。病毒單獨感染多出現輕微的斑駁嵌紋，複合感染易造成葉片及果實嚴重畸型或頂芽壞疽，造成植株矮化及生長停滯。

### 檢測種子帶毒 (PMMoV) 率

PMMoV 可經由種子傳播，故將種子以液態氮直接研磨 (每批種子隨機檢測 1,000 粒種子，每 10 粒為一個樣品) 調查各批種子之 PMMoV 病毒帶毒率。目前已檢測綠色甜椒「群

表 1. 2015 年高屏地區甜椒嵌紋型病毒病害發生調查。

Table 1. Investigation of the virus diseases on sweet pepper from Kaohsiung and Pintung areas in 2015.

| Virus incidence <sup>z</sup> | Location area |       |          |       |
|------------------------------|---------------|-------|----------|-------|
|                              | Pintung       | Yanpu | Fengshan | Luzhu |
| ChiVMV                       | 25            | 28    | 30       | 27    |
| PVMV                         | 27            | 25    | 27       | 22    |
| PVY                          | 18            | 21    | 15       | 18    |
| PMMoV                        | 14            | 17    | 13       | 12    |
| CMV                          | 8             | 10    | 10       | 7     |
| TMV、ToMV                     | 8             | 5     | 12       | 10    |
| TSWV、CaCV                    | 3             | 7     | 4        | 7     |

<sup>z</sup> Percentage of virus infection. ChiVMV: *Chilli veinal mottle virus*; PVMV: *Pepper veinal mottle virus*; PVY: *Potato virus Y*; PMMoV: *Pepper mild mottle virus*. CMV: *Cucumber mosaic virus*; TMV: *Tobacco mosaic virus*; ToMV: *Tomato mosaic virus*; TSWV: *Tomato spotted wilt virus*; and CaCV: *Capsicum chlorosis virus*.

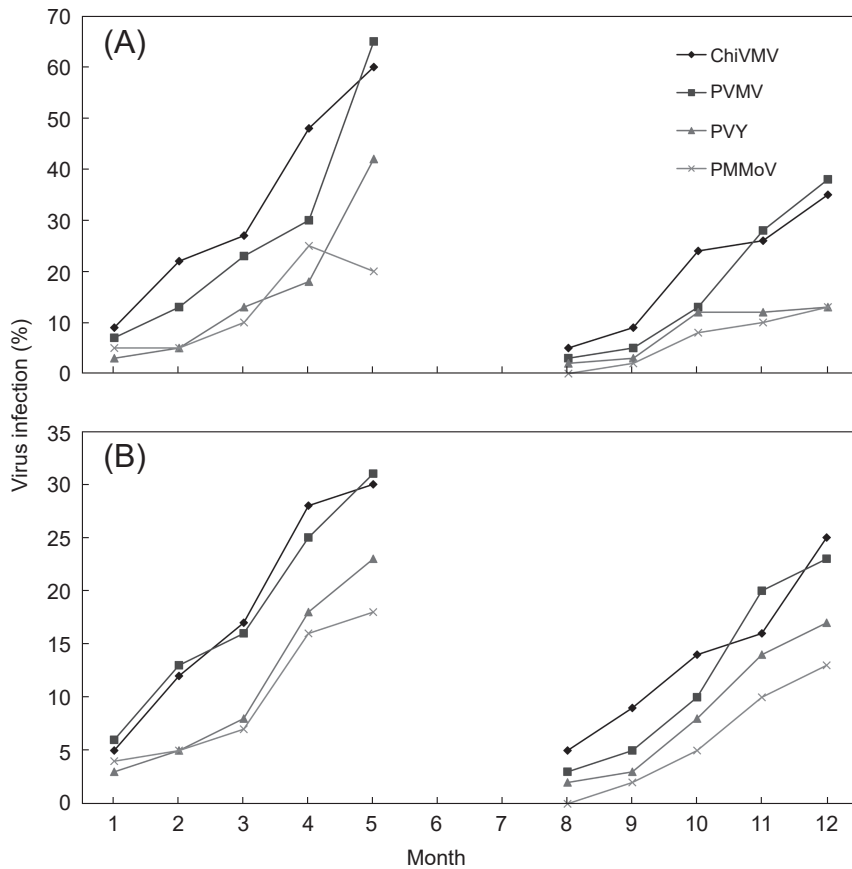


圖 1. 2015 年 1-12 月 4 種病毒於 (A) 露天栽培甜椒園 (B) 簡易網室甜椒園之感染情形。

Fig. 1. Investigation of the 4 virus diseases on pepper in (A) open fields and (B) net-greenhouses from January to December in 2015. ChiVMV: *Chilli veinal mottle virus*; PVMV: *Pepper veinal mottle virus*; PVY: *Potato virus Y*; and PMMoV: *Pepper mild mottle virus*.

星」、「女王星」、「藍星」各 4 批號及彩色甜椒「北極星」、「麗妃星」、「金明星」各 3 批號的種子帶毒率調查，其中綠色甜椒「群星」、「藍星」及彩色甜椒「北極星」各 1 批號測得 PMMoV 感染，病毒感染率分別為 63、78 及 62%。此 3 批帶有 PMMoV 種子播入穴盤（每批種子隨機直播 100 粒種子），待長出 3 片真葉後以 PMMoV 抗血清進行檢測，PMMoV 檢出率為 13、18 及 17%。

### 操作器械消毒試驗

有些病毒可經由機械方式造成的傷口感染其他植株，因此在田間栽培時，注意手部及器械的消毒可降低病毒傳播的速率。在本次器械消毒試驗，測試 20% 及 10% 脫脂奶粉、市售家用漂白水（5% 次氯酸鈉、0.5% 次氯酸鈉）、酒精（95%、75%）及磷酸三鈉鹽對於修剪工具去毒效果，其中以 5% 次氯酸鈉及 0.5% 次氯酸鈉在 3 次試驗中的去毒效果均可達 95% 以上，20% 脫脂奶粉去毒效果次之（表 2）。

### 種子消毒試驗

將人工污染的 PMMoV 病種子置於細網袋，以 3 種不同濃度的磷酸三鈉溶液分別浸泡 10 min、20 min、30 min 後，以活水沖洗約 60 min，經過 1% 次氯酸鈉去除種子表面雜

菌，種子發芽率均可維持在 80% 以上。在 3 次的種子消毒試驗中，結果顯示以 12.5% 磷酸三鈉溶液處理 30 min（平均病毒帶毒率 5%）、15% 磷酸三鈉溶液處理 30 min（平均病毒帶毒率 3%）及 20% 磷酸三鈉溶液處理 20 min（平均病毒帶毒率 5%）之去病毒能力最好（表 3）。

## 討論

台灣地區的甜椒栽培方式有設施栽培和露天栽培，檢視甜椒隨機採集樣本來源，樣本採集自設施栽培甜椒者，病毒發病率介於 2–10% 之間；樣本採集自露天栽培田區，病毒發病率差異很大，介於 52–85%。以 PVMY、ChiVMV 及 PVY、PMMoV 感染為主。甜椒病毒病害發生調查的檢測樣本中，PMMoV 多與 PVMY、ChiVMV 複合感染。甜椒於台灣多為露天栽培，彩色甜椒多以設施栽培為主，病毒感染植株常呈現局部集中發生而呈現塊狀分布，又甜椒為連續採收作物，且栽培過程需持續進行側芽摘除，故推測病毒可能經由去芽或採果所造成的傷口進行傳播。一植行中若有 1、2 株罹病，藉整枝摘芽就可迅速傳播開（Broadbent 1963; Broadbent & Fletcher 1963; Wetter & Conti 1988; Green & Kim 1991）。

由於上述因素，本研究嘗試以常用消毒

表 2. 受 PMMoV 污染剪刀（或刀片）浸泡不同消毒藥劑對於 PMMoV 之去毒效果。

**Table 2.** Incidence of *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) infection on pepper plants resulting from preliminary disinfection screens using virus-contaminated razor knives or blades.

| Treatment <sup>z</sup>                    | Incidence of PMMoV infection |              |              |
|---|------------------------------|--------------|--------------|
|   | I                            | II           | III          |
| 20% NFDM (wt vol <sup>-1</sup> )          | 3/20 (15%)                   | 2/20 (10%)   | 2/20 (10%)   |
| 10% NFDM (wt vol <sup>-1</sup> )          | 4/20 (20%)                   | 4/20 (20%)   | 3/20 (15%)   |
| 5% NaOCl [Clorax <sup>®</sup> (1 : 1)]    | 0/20 (0%)                    | 0/20 (0%)    | 0/20 (0%)    |
| 0.5% NaOCl [Clorax <sup>®</sup> (1 : 10)] | 0/20 (0%)                    | 1/20 (5%)    | 1/20 (5%)    |
| 95% Alcohol                               | 4/20 (20%)                   | 3/20 (15%)   | 3/20 (15%)   |
| 75% Alcohol                               | 5/20 (25%)                   | 4/20 (20%)   | 3/20 (15%)   |
| 3% TSP (wt vol <sup>-1</sup> )            | 5/20 (25%)                   | 4/20 (20%)   | 3/20 (15%)   |
| Fire (20 s)                               | 0/20                         | 0/20         | 0/20         |
| Mock (water)                              | 20/20 (100%)                 | 20/20 (100%) | 20/20 (100%) |

<sup>z</sup> Each razor blade was contaminated for 30 s in sap from a PMMoV-infected pepper plant, briefly rinsed in deionized water, followed by a 1 min disinfection. NFDM: nonfat dry milk; TSP: trisodium phosphate.

表 3. PMMoV 罹病種子浸泡不同濃度及處理時間之磷酸三鈉對於 PMMoV 之去毒效果。

**Table 3.** Incidence of *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) infection on pepper seeds resulting from preliminary disinfection screens using different concentrations and treatment times.

| Treatment <sup>z</sup> | Incidence of PMMoV infection |     |     |
|------------------------|------------------------------|-----|-----|
|                        | I                            | II  | III |
| 12.5% TSP (10 min)     | 32%                          | 37% | 28% |
| (20 min)               | 21%                          | 27% | 23% |
| (30 min)               | 7%                           | 5%  | 4%  |
| 15% TSP (10 min)       | 31%                          | 34% | 31% |
| (20 min)               | 23%                          | 28% | 27% |
| (30 min)               | 4%                           | 3%  | 3%  |
| 20% TSP (10 min)       | 28%                          | 32% | 29% |
| (20 min)               | 5%                           | 7%  | 3%  |
| (30 min)               | -                            | -   | -   |
| Mock (water)           | 88%                          | 91% | 85% |

<sup>z</sup> PMMoV infected seeds were placed in a net bag (100 seeds per bag), soaked in 12.5%, 15%, and 20% trisodium phosphate solution for 10 min, 20 min, and 30 min, respectively. TSP: trisodium phosphate.

藥劑進行器械消毒試驗。次氯酸是很有效的殺毒藥劑(稀釋濃度 0.5–10.0%)，可用於避免 *Tobamovirus* 經由受感染的修剪刀片傳播 (Kamenova & Adkins 2004; Lewandowski *et al.* 2010)。在本研究的修剪器械消毒試驗方面，以 Clorax 漂白水 (5% 次氯酸) 或 1 : 10 (0.5% 次氯酸) 浸泡 1 min 之去毒效果最好，20% 脫脂奶粉去毒效果次之。稀釋 10× 的家用漂白水 (0.5% 次氯酸鈉) 去毒效果雖好，但必需注意稀釋後要儘快使用 (不要超過 1 d)，以免影響消毒效果。20% 脫脂奶粉去除效果可達 85%，但使用過程中容易有沉澱分層的問題，未來使用時可添加 0.1% Tween 20 來改善 (Belliol 1999; Sánchez-Navarro *et al.* 2007; Lewandowski *et al.* 2010)。

由於 PMMoV 亦可經由帶毒種子進行病毒傳播，故調查市售甜椒種子 PMMoV 帶毒率。已完成綠色甜椒「群星」、「女王星」、「藍星」及彩色甜椒「北極星」、「麗妃星」、「金明星」共 20 批號的種子帶毒率調查，其中綠色甜椒「群星」、「藍星」及彩色甜椒「北極星」各一批號測得 PMMoV 感染，病毒感染率分別為 23、18 及 27%。

PMMoV 病種子以不同濃度的磷酸三鈉溶液浸泡處理，在 3 次的種子消毒試驗中，結果

顯示以 12.5% 磷酸三鈉溶液處理 30 min (平均病毒帶毒率為 5%)、15% 磷酸三鈉溶液處理 30 min (平均病毒帶毒率 3%) 及 20% 磷酸三鈉溶液處理 20 min (平均病毒帶毒率 5%) 之去病毒能力最好，可提供種苗生產業者參考使用。並且，建議種苗生產公司與農民應建立無病毒種子篩檢制度，配合田間媒介昆蟲防治及其他肥培管理措施，應可有效降低本病之發生及其引起之農業損失。

## 引用文獻

- Adkins, S., E. M. Lamb, P. D. Roberts, M. D. Gooch, L. Breman, and K. D. Shuler. 2001. Identification of *Pepper mild mottle virus* in commercial bell pepper in Florida. *Plant Dis.* 85:679.
- Agranovsky, A. A. 1993. Virus diseases of pepper (*Cap-sicum annuum* L.) in Ethiopia. *J. Phytopathol.* 138:89–97.
- Apple, J. L., J. F. Chaplin, and T. J. Mann. 1963. Comparison of the *Nicotiana glutinosa* resistance factor and milk in controlling mosaic in flue-cured tobacco. *Tob. Sci.* 7:46–53.
- Bettiol, W. 1999. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. *Crop Prot.* 18:489–492.
- Bettiol, W., H. S. A. Silva, and R. C. Reis. 2008. Effectiveness of whey against zucchini squash and cu-

- cumber powdery mildew. *Sci. Hortic.* 117:82–84.
- Broadbent, L. 1963. The epidemiology of Tomato mosaic III. Cleaning virus from hands and tools. *Ann. Appl. Biol.* 52:225–232.
- Broadbent, L. 1976. Epidemiology and control of *Tomato mosaic virus*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 14:75–96.
- Broadbent, L. and J. T. Fletcher. 1963. The epidemiology of tomato mosaic IV. Persistence of virus on clothing and glasshouse structures. *Ann. Appl. Biol.* 52:233–241.
- Cheng, Y. H., R. Y. Wang, C. C. Chen, C. A. Chang, and F. J. Tan. 2009. First report of *Pepper veinal mottle virus* in tomato and pepper in Taiwan. *Plant Dis.* 93:107.
- Cheng, Y. H., T. C. Deng, C. C. Chen, C. P. Kuan, and C. A. Chang. 2013. Identification and occurrence of *Pepper mottle virus* isolated from peppers in Taiwan. *J. Taiwan Agric. Res.* 62:360–371. (in Chinese with English abstract)
- Genda, Y., K. Sato, O. Nunomura, T. Hirabayashi, J. Ohnishi, and S. Tsuda. 2005. Immunolocalization of *Pepper mild mottle virus* in *Capsicum annuum* seeds. *J. Gen. Plant Pathol.* 71:238–242.
- Green, S. K. and J. S. Kim. 1991. Characteristics and Control of Viruses Infecting Peppers: A Literature review. *Asian Vegetable Research and Development Center*. Taipei, Taiwan. 60 pp.
- Jo, Y., H. Choi, S. M. Kim, S. L. Kim, B. C. Lee, and W. K. Cho. 2017. The pepper virome: Natural co-infection of diverse viruses and their quasispecies. *BMC Genomics* 18:453.
- Kamenova, L. and S. Adkins. 2004. Transmission, in planta distribution, and management of *Hibiscus latent Fort Pierce virus*, a novel tobamovirus isolated from Florida hibiscus. *Plant Dis.* 88:674–679.
- Kenyon, L., S. Kumar, W. S. Tsai, and J. D. Hughes. 2014. Virus diseases of peppers (*Capsicum* spp.) and their control. *Adv. Virus Res.* 90:297–354.
- Lewandowski, D. J., A. J. Hayes, and S. Adkins. 2010. Surprising results from a search for effective disinfectants for *Tobacco mosaic virus*-contaminated tools. *Plant Dis.* 94:542–550.
- Li, R., F. Baysal-Gurel, Z. Abdo, S. A. Miller, and K. S. Ling. 2015. Evaluation of disinfectants to prevent mechanical transmission of viruses and a viroid in greenhouse tomato production. *Virol. J.* 12:5.
- Lin, F. C., T. T. Hsieh, and C. L. Wang. 2005. Occurrence of whiteflies and their integrated management in Taiwan. p.245–257. *in: Proceedings of the International Seminar on Whitefly Management and Control Strategy*. October 3–8, 2005. Taichung, Taiwan. Food and Fertilizer Technology Center and Agricultural Research Institute Press. Taichung, Taiwan.
- Luis-Arteaga, M. and F. Ponz. 2003. Potato virus Y. p. 34–37. *in: Compendium of Pepper Diseases*. (Perezny, K. L., P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg, eds.) APS Press. Saint Paul, MN. 88 pp.
- Moury, B., A. Palloix, C. Caranta, P. Gognalons, S. Souche, K. G. Selassie, and G. Marchoux. 2005. Serological, molecular, and pathotype diversity of *Pepper veinal mottle virus* and *Chili veinal mottle virus*. *Phytopathology* 95:227–232.
- Sánchez-Navarro, J. A., M. C. Cañizares, E. A. Cano, and V. Pallás. 2007. Plant tissue distribution and chemical inactivation of six carnation viruses. *Crop Prot.* 26:1049–1054.
- Scholthof, K. B. G. 2004. Tobacco mosaic virus: A model system for plant biology. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:13–34.
- Shih, S. L., W. S. Tsai, L. M. Lee, J. T. Wang, S. K. Green, and L. Kenyon. 2010. First report of *Tomato yellow leaf curl Thailand virus* associated with pepper leaf curl disease in Taiwan. *Plant Dis.* 94:637.
- Wetter, C. and M. Conti. 1988. *Pepper mild mottle virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 330. Commonwealth Mycological Institute. Kew, UK. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=330> (visit on 3/17/2010)
- Yoshimoto, R., H. Sasaki, T. Takahashi, H. Kanno, and M. Nanzyo. 2012. Contribution of soil components to adsorption of *Pepper mild mottle virus* by Japanese soils. *Soil Biol. Biochem.* 46:96–102.
- Zaitlin, M. and H. W. Israel. 1975. *Tobacco mosaic virus* (type strain). CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses: No. 151. Commonwealth Mycological Institute. Kew, UK. <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=151> (visit on 12/15/2008)

## Investigation of *Pepper mild mottle virus* on Peppers and the Disinfection of Cutting Tools in Taiwan

Li-Yu Tsao<sup>1,\*</sup>

### Abstract

Tsao, L. Y. 2018. Investigation of *Pepper mild mottle virus* on peppers and the disinfection of cutting tools in Taiwan. J. Taiwan Agric. Res. 67(4):347–354.

Pepper samples showed virus-like symptoms were collected from Kaohsiung and Pintung areas for virus detection by indirect enzyme-linked immunosorbent assay (indirect-ELISA) using antisera specific to nine viruses- *Capsicum chlorosis virus* (CaCV), *Chilli veinal mottle virus* (ChiVMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Pepper mild mottle virus* (PMMoV), *Pepper veinal mottle virus* (PVMV), *Potato virus Y* (PVY), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV), and *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). The results showed that ChiVMV was the most prevalent, followed by PVMV. Most samples detected were mix-infected with ChiVMV and PMMoV. Complex infections were likely to cause severe malformation of leaves and fruits, resulting in dwarfing and growth stagnation. In most cases, the symptoms caused by infections of more than two different viruses were more serious than that infected by a single virus. PMMoV could transmit by seed. Seed disinfection was a critical process in preventing virus spread during propagation and production. To directly address the concern, we estimate the efficacy of different disinfectants for treating virus-contaminated seeds. PMMoV can be transmitted through seeds. Direct seed-grinding and grown-out seedlings could be used to measure the PMMoV infection rate of seeds. PMMoV could be detected in 3 of 20 lots of pepper seeds in the grinding sap by ELISA. The PMMoV infection was measured and the virus infection rates were 13%, 18%, and 17%, respectively. The artificially PMMoV-contaminated seeds were placed in a fine mesh bag (100 bags) and soaked in 12.5%, 15%, and 20% trisodium phosphate solution for 10 min, 20 min, and 30 min, respectively, and then rinsed with running water for about 60 min. 1% sodium hypochlorite was used to remove the bacteria on the surface of the seed and put it on wet filter paper to make it germinate. The virus infection rates of the seedlings were investigated, in which the solution was treated with 12.5% trisodium phosphate solution for 30 min (the virus infection rate was 5%). Treatment with 15% trisodium phosphate solution for 30 min (virus infection rate 3%) and 20% trisodium phosphate solution for 20 min (virus infection rate 5%) had the best ability to remove PMMoV. In terms of equipment disinfection tests, the detoxification effect of 5% sodium hypochlorite and 0.5% sodium hypochlorite in three tests can reach 95% or more, followed by 20% skim milk powder.

**Key words:** *Pepper mild mottle virus*, Disinfection of cutting tools, Seed disinfection.

---

Received: October 20, 2017; Accepted: May 14, 2018.

\* Corresponding author, e-mail: tsly@fthes-tari.gov.tw

<sup>1</sup> Assistant Research Fellow, Department of Plant Protection, Fengshan Tropical Horticultural Experiment Branch, Taiwan Agriculture Research Institute, Kaohsiung, Taiwan, ROC.