

蘭花病毒病之檢定法(下)

農試所植病系副研究員／張清安



免疫點漬法檢定病毒，照片中顯示藍黑部份乃正反應結果。



雙重免疫擴散反應，樣品7，8號與抗血清間有白色沈澱帶出現，表示乃染病蘭株。

本省蘭花病毒抗血清檢定之發展與應用現況

目前筆者已製備有本省蘭花病毒中分佈最普遍的ORSV、CyMV及CMV之抗血清。由79年7月開始，筆者接受農委會及農林廳之委託，將蘭花病毒的檢定技術轉移至台南、桃園、台東改良場及台大蘭園等4處，並成立對外免費公開服務之蘭花病毒檢定中心，80

表3 幾種常用植物病毒血清檢定法優缺點比較

檢測法	優點	缺點
免疫擴散 SDS-DD	1.適合少量標本 2.設備簡單 3.可判讀血緣關係	1.血清用量多 2.不適用大量標本 3.靈敏度較低
ELISA	1.適用大量標本 2.血清用量少 3.靈敏度高	1.經費設備需求多
免疫點漬法	1.標本數目不拘 2.可採樣點漬後送檢 3.一個月內檢定無妨 4.檢定步驟可標準化 5.靈敏度高	1.稍具非特異性 2.只能目測判斷

年7月起又增加了花蓮改良場一處對外服務，希望蘭花業者多多利用。

三種血清檢定法之發展與應用

目前筆者已發展出適合不同狀況所需之血清檢定法，包括免疫擴散法 (SDS-immunodiffusion test)、酵聯抗體法 (ELISA) 及免疫點漬法 (Immunoblotting test) 等3種，此3種方法之優缺點則列於表3中。

1. 免疫擴散法 (SDS-immunodiffusion test)

此法乃於含有瓊脂 (Agar) 之培養皿中打上直徑0.5公分之孔穴，每組7個孔穴，中央孔穴1個而周圍等距排列6個，然後將供試之蘭花葉片磨汁加入周圍之孔穴中，而中央之孔穴則加入抗血清，經8~12小時後即可觀察結果，依中央孔穴與周圍孔穴間產生白色沈澱帶做為判別正反應之依據。

2. 酵聯抗體法 (ELISA)

此法乃利用Polystyrene材質所製成之96孔穴盤進行血清反應，其反應之原因為涉及其他研究領域故不在此詳述，但是基本上ELISA法對正反應之判別乃以呈色反應之深淺做為依據，此種呈色反應乃藉由聯結在抗體上之酵素與其基質反應所造成，呈色深淺可藉由儀器加以判讀並且分析其結果，因此正反應之判別十分客觀乃是此法之最大優點，而為其他病毒檢定法仰賴操作人依主觀經驗判定所不及。目前各蘭花病毒檢定中心均以此方法為主要之判別依據。各大醫院診斷人類疫病如AIDS、B型肝炎等也是以此方法為主。

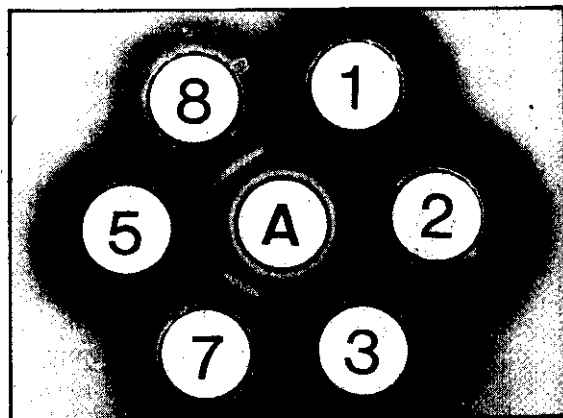
3. 免疫點漬法 (Immuno-printing test)

此法之發展主要是為了克服病毒檢定人員必需前往病害發生地點採樣之困擾，由栽培者直接採樣將樣品印漬於硝化纖維紙 (Nitrocellulose paper) 上，再將硝化纖維

紙郵寄至檢定中心進行抗血清反應，如此便可省去檢定人員必需親自往返採樣之奔波辛勞，而且根據我們的研究，印漬完成之硝化纖維紙在印漬後一個月內檢查均不會影響結果之正確性。免疫點漬法之原理，大致上與ELISA完全相同，也是依反應後顏色之深淺來判別。

正確的病毒檢定對蘭花栽培之可能影響

上述數種病毒檢定法之發展一直是朝著簡單、易行、快速、敏感等方向不斷改進，截至目前血清檢定法之發展成熟，幾乎已經達成上述四大目標。但是究竟有了此種快速敏感的病毒檢定法對蘭花之栽培可能有些什麼影響呢？筆者在許多場合裡最常被業者詢及的問題是“既然蘭花的病毒病無藥可治，就算您檢查到，如不能治好它有何用處？”，誠然!!蘭花的病毒病一經感染即無法以任何方式復原感病植株，但是所謂的預防重於治療，如果我們可以提早知道病株之藏身處而採取適當的方法加以預防，則其他未感染植株必然可以保留健康狀態直至永遠，至少病害得以維持現狀而不會繼續惡化。因為許多初期染病之蘭株，或者生長壯旺的蘭株染病後經常不顯現明顯徵狀，此種植株若不經科學性的檢定，無法判別其感染狀態，不能提



ELISA反應檢定結果，黃色部份乃正反應，無色部份乃負反應。

→ 早隔離的結果會造成其源源不斷的釋出病毒而污染其他健全蘭株，增加全園發病率。

另外許多業者常將特性優良的品種以組織培養的方式大量分生繁殖，倘若該品種為病毒帶原者，則所繁殖後代全面皆是帶毒

苗，造成病毒的快速蔓延。如果有快速敏感的檢定方法，則所有欲進行分生繁殖的優良性狀植株可進行檢定，待確定無病毒感染後再行繁殖，如此也可避免病毒藉由分生苗之販賣而四處蔓延。

農業資訊

體外胚胎共同培養

前農委會畜產科技正／黃嘉

將1粒已受精而且已有另外的遺傳基因被放進去的綿羊卵子，放在以組織培養液培育的綿羊輸卵管細胞一起，這種培育早期綿羊胚胎到第6天的方法，稱為體外胚胎共同培養embryo coculture，是由美國農業研究所ARS發展出來的，認為輸卵管細胞能分泌幫助幼胚發育的物質。

以往的做法是將牛、羊的受精卵先放在兔子輸卵管中5天，然後取出移植到牛、羊的子宮中。這種方法的優點是成功率較高，缺點是手術費工夫，而且在取出幼胚時要殺死兔子，亦不能隨時觀察幼胚的發育情形。

用體外胚胎共同培養的優點是能隨時觀察幼胚的發育是否正常，例如到第3天時是否有8個細胞。用這種新的體外培育胚胎，到3日齡時移植到母羊子宮有30%的成功；6日齡（空心球期）有20%的成功率。

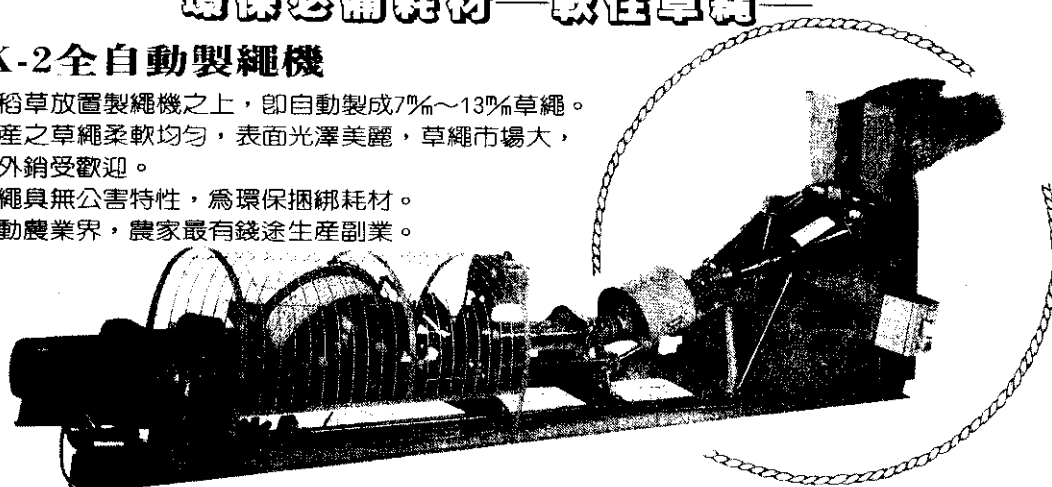
譯自Agricultural Research 1991年7月號

◎豐洲^{自動化}農業機械◎ _{高效率}

環保必備耗材——軟性草繩——

FK-2全自動製繩機

- 將稻草放置製繩機之上，即自動製成7%~13%草繩。
- 生產之草繩柔軟均勻，表面光澤美麗，草繩市場大，內外銷受歡迎。
- 草繩具無公害特性，為環保捆綁耗材。
- 轟動農業界，農家最有錢途生產副業。



豐洲企業股份有限公司
嘉義縣民雄鄉建國路一段45號
TEL: (05) 2262265 · 2263666
FAX: (05) 2266997

- * 本公司現金收購草繩，每公斤保證價格8~10元，歡迎農友契約生產。
- * 農林廳指定推廣機種，每台補助20,000元，餘額低利農機貸款。