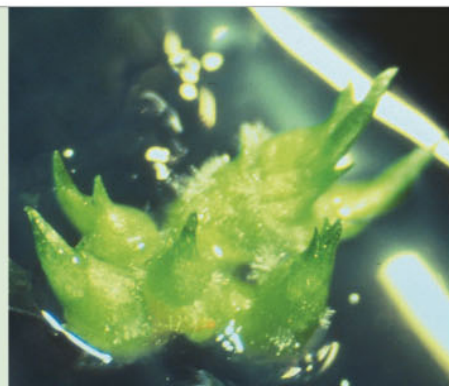


防治蘭花病毒病——利用莖頂生長點培養再生健康種苗

除了為培育新品種採用有性繁殖外，大多數的蘭花是利用組織培養無性繁殖，以便能在短期內大量生產品質均一穩定、無特定病原的健康種苗，供切花或盆花生產之用，因此母株及繁殖過程均需定期進行病毒檢驗。對於已感染病毒的種原，由於至今仍無有效的藥劑可除去病毒，多利用生長點培養法配合熱前處理來降低病毒活性，也是目前主要去毒化的技術。



病毒除了影響蘭花植株生長外，常造成葉片、花瓣的畸型，或產生黑斑、輪斑、壞疽、著色不均勻等病斑，嚴重影響蘭花品質。最近常有農民詢問，蘭花感染了病毒後有無補救的方法？

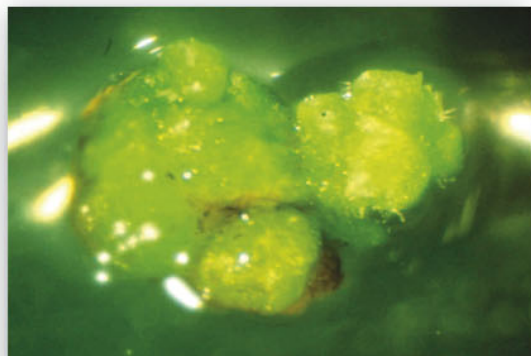
目前已知的蘭花病毒有28種，其中以東亞蘭嵌紋病毒(Cymbidium mosaic virus, CyMV)及齒舌蘭輪點病毒(Odontoglossum ringspot virus, ORSV)最為普遍，影響也最為顯著。然而對於無性繁殖作物而言，植株一旦感染病毒，終其一生甚至後代終將成為帶病原的植株。蘭花產業若要在台灣

永續經營，生產健康種苗是非常重要的。培育抗病品種雖然為防治蘭花病毒病的根本之道，但是在常見及重要的蘭花經濟栽培種中，目前尚未發現有抗病毒種原可作為育種親本。

利用莖頂生長點培養去除病毒

莖頂是植物生長分化的中心，學者們已發現病毒在植物體內有分佈不均的特性，通常莖頂分生組織不含病毒或含量甚低，因此藉由莖頂生長點培養可再生健康種苗。

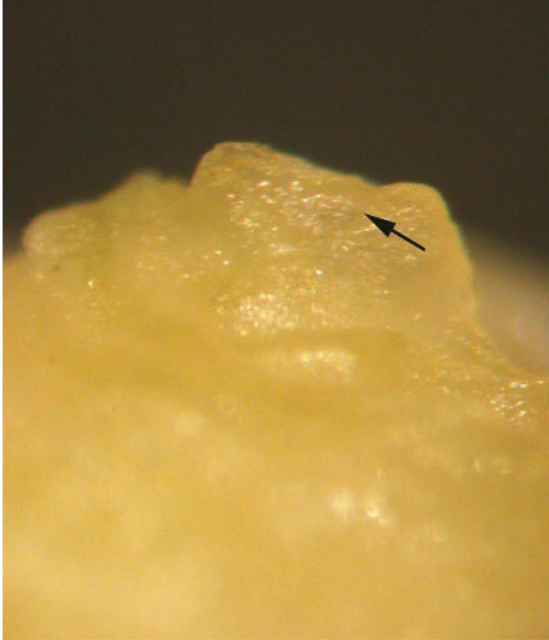
以繁殖為目的者，通常切取較大的莖



生長點培養由培植體長出芽體或擬原球體



蘭花產業的永續經營有賴健康種苗為基礎



剝除外圍葉片後可看到文心蘭莖頂生長點

頂組織作為培植體；若是以去病毒為目的的無性繁殖，可取用較小的培植體。唯生長點培養的培植體越小，獲得無病毒植株再生的機率則較大，但相對地，培養成活率也越低。為了顧及成活率，通常取用帶有一片葉原體的生長點(約0.1-0.3mm大小)，並配合熱療或藥劑前處理，就可能去除病毒。

熱療或藥劑前處理

高溫可以降低病毒活性或去活性，所以莖頂生長點培養並配合熱處理是最常用於植物的去病毒的方法。這種方法是在不傷及植株的情況下，將整株或局部暴露於35-40℃的熱水或熱氣中，其中以熱氣處理的方式對植株的損傷較小，也較常被應用。處理時間則依植物及病毒種類之不同而異，可由數週至數個月不等。唯需注意的是，並非所有的病毒都可以用熱處理去除，一般而言，熱處理對小球型病毒較對桿狀或絲狀病毒有效，容易去除病毒活性。

在藥劑方面，已證實repairing可以除

去馬鈴薯等少數作物的病毒，一般將ribavirin直接加入培養基，由植株根部吸收，配合熱處理及莖頂生長點培養可以提高去病毒率，唯成功例子不多。

除了培植體大小外，芽的生長位置及取材季節也會影響去病毒成效。頂芽由於生長勢最強，其成功率較側芽為高，早春及晚秋所切取的芽較夏冬容易培養。

文心蘭去病毒技術

以文心蘭為例，感染CyMV、ORSV或兩者複合感染的植株，在進行莖頂生長點培養前的熱處理，其熱療箱設定為日溫35℃/夜溫25℃、濕度80%，可全株放入熱療箱，或僅芽體熱處理，而根部外露維



CyMV感染文心蘭造成的病徵



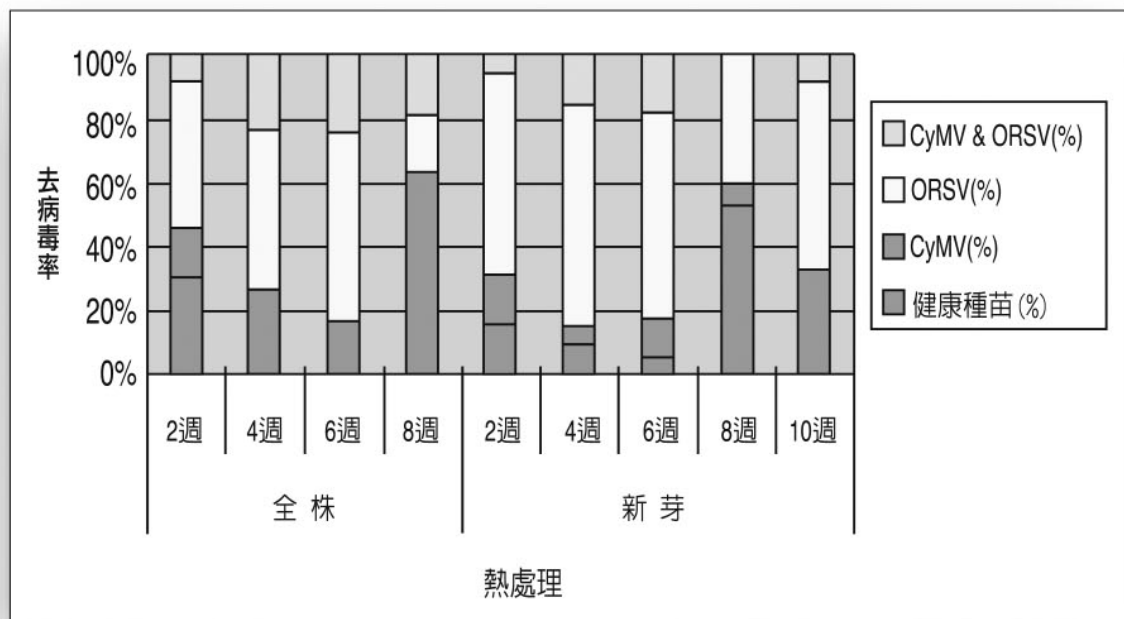
文心蘭遭CyMV及ORSV複合感染後造成嚴重嵌紋病徵

持在室溫。無論是全株或僅芽體處理，熱處理8週後，植株生長勢已很弱，全株處理者更是奄奄一息。經2-10週熱處理後的新芽，可用刀片將芽體自基部切離，然後利用軟刷及清潔劑刷除芽體表面的灰塵或雜菌，再以75%酒精擦拭，並將材料放入0.5%次氯酸鈉溶液或稀釋10倍的漂白水（需添加1-2滴展著劑），於超音波震盪器震盪消毒10分鐘後，於無菌操作台內，再小心剝除芽體外圍的葉片，直到露出葉腋基部芽體。再以0.2%次氯酸鈉溶液消毒5分鐘，經無菌水洗滌3次後，取出材料放入已滅菌的培養皿（內裝有濾紙）備用。

在無菌箱內於顯微鏡下切取帶有一片葉原始體的生長點，進行培養。培養基可採用添加有蔗糖2%、tryptone 0.3%、NAA 0.1ppm及BA 0.5ppm之1/3-1/4的MS巨量無機鹽類（或以KC配方替代）固體

培養基，培養條件為25℃、16小時照光、光強度1000 lux。由於培養初期培植體傷口會釋出褐色物質，因此培養初期需勤換培養基，或以液體濾紙橋培養減輕褐化，提高培養成活率。經過1-2個月的培養，培植體會逐漸膨大轉綠，約有43-56%培植體會形成芽體或擬原球體，此時可將材料移到1500-2000 lux的光強度下培養。待形成芽體及小植株後，再移入含有活性碳0.3%、tryptone 0.3%、香蕉泥5%及NAA 0.5ppm且經修正的KC或MS固體培養基，培育成小苗。

經由熱處理及生長點培養所再生的小苗，經病毒檢定後得知，無論是何種熱處理方式都無法完全去病毒，進行8週熱處理所再生的植株有53-63%可為健康種苗，部份植株仍含有CyMV或ORSV，其中以ORSV最難去除。此一結果與國外



文心蘭經由熱處理及生長點培養去病毒率比較

學者的結論相同。由文獻得知，CyMV屬於稍彎曲的桿狀病毒，性質穩定，細胞外耐熱度為60-70℃；ORSV則屬於煙草嵌紋病毒屬(tobamovirus)的一員，性質極為穩定，在寄主細胞外，耐熱度高達95℃，且可存活相當時日。因此蘭花植株一旦感染ORSV，即使利用熱處理及生長點培養也難以完全去除。

定期病毒檢測很重要

台灣素有「蘭花王國」的美譽，除了擁有優良的蘭花品種外，農民精湛的栽培技術，使台灣生產的蘭花馳名國際，目前蘭花已成為我國加入WTO後少

數具有國際競爭力的產業之一。分生育苗技術的發展，使在短期內可得到多數擬原球體形成，為蘭花組織培養的一大發現。對於不幸已感染病毒病的蘭花品種而言，利用熱前處理配合莖頂生長點培養，可以得到部分無病毒植株的再生，但是並不能得到絕對去病毒的效果，尤其是ORSV，非常難以去除，在去蘭花病毒過程中，培植體仍需嚴格的病毒檢測。唯有確定母瓶不含有病毒後，才可進行微體大量繁殖，並應於繁殖過程中定期抽樣檢驗，才能真正生產健康種苗。🌱

文 | 台南區農業改良場

植物保護

濕冷天候應注意防範的病害

花卉灰黴病：灰黴病為冬季花卉洋桔梗、玫瑰、聖誕紅、蘭花及百合等作物重要病害。請農友在連續陰雨之前立即施藥，即可有效控制病害。如田間已發生病害，應先將已罹病之花朵或葉片摘除，帶離園區，進行清園工作，以降低田間病原菌密度，隨即進行施藥防治工作，才可收事半功倍之效。此外改善田間排水與通風也是預防灰黴病的重要措施。

馬鈴薯及番茄晚疫病：台灣地區馬鈴薯與番茄晚疫病新菌系具有強致病力，且較耐高溫，由於南部地區早晚溫差大，清晨時候可看到植株葉片有露水附著，

此環境適於晚疫病的發生，如果再碰上伴隨雨霧的寒流來襲，病害在田間的蔓延極為快速。請農友在連續陰雨之前立即施藥，即可有效控制病害。如田間已有病害發生，除需立即施藥外，清園工作更不可少，此外，改善田間排水與通風，也是預防晚疫病的重要措施。

蔬菜菌核病：菌核病主要危害萵苣、甘藍、花椰菜及蘿蔔。在連續陰雨後，應注意菌核病的發生，於病害發生初期立即施藥，並將已罹病之植株燒燬，避免菌核產生，以降低田間病原菌密度，才可收事半功倍之效。🌱