

植物病毒疫苗簡介

文／圖 ■ 彭瑞菊、黃容萱

前言

植物病毒病（傳統稱為毒素病或“瘋櫟”），為系統性感染之病害，於植物體的各部位皆有病毒存在，輕微者造成葉片嵌紋、皺縮、斑駁、黃化、斑點、植株矮化、節間縮短、果實畸形等病徵，嚴重則造成植株衰弱、枯萎或整株死亡。而植物病毒病害的防治策略，過去一直都著重在預防，如種植抗病品種、防治媒介昆蟲為主，一旦植物罹患病毒病，提供農民的建議都是拔除病株、注意田間衛生等，而現在利用輕症病毒交互保護的概念所製成的植物疫苗，成為解決病毒問題的新選擇，就像人類打疫苗產生抗體抵抗病毒一樣，植物也可以藉由接種疫苗來防治病毒感染。本文簡介輕症植物病毒疫苗應用於防治病毒病害，期望大眾能對這項生物技術及其開發的產品有更深入的了解。

發展沿革

防治病毒病目前有二方法，一為轉殖抗性基因，另一為交互保護作用。基改作物抗性因國內法規及食安問題，窒礙難行，而交互保護始於1929年McKinney首先

發現，植物受一病毒感染後，對同類型病毒感染具有免疫力，而應用上接種輕症病毒株 (mild strain) 後誘導植物產生對強毒力病毒株 (severe strain) 之抗性；1934年由Kunkel提出由輕症病毒株防治植物病毒病害的構想，直到1951年Grant和Costa以弱毒力病毒株防治柑橘南美立枯病毒 (*Citrus tristeza virus*, CTV) 證實其交互保護效果。而Posnette和Todd在1955年同樣以輕症病毒株防治當時在迦納流行的可可腫肢病毒 (*Cocoa swollen shoot virus*)。由此可見交互保護可用於病毒病害的防治，目前除了上述兩種病毒以外，在南瓜、甜瓜、西瓜、洋香瓜的矮南瓜黃化嵌紋病毒 (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV)、在番茄和青椒上的番茄嵌紋病毒 (*Tomato mosaic virus*) 以及在木瓜上的木瓜輪點病毒 (*Papaya ringspot virus*, PRSV) 皆可藉由輕症病毒株的接種防治病毒病害。

作用機制

輕症植物病毒疫苗藉由使植物感染對其本身無不良影響，或影響小的輕症病毒病徵（圖一），植物因為受輕症病毒的保

護而對同類型的強毒力病毒具有抗病能力，達到防治的目的。植物病毒疫苗所需要的輕症病毒株，目前主要有幾個取得的來源，包括：(1) 在田間觀察到輕微病毒症狀的植株上進行輕症病毒株的分離及篩選；(2) 利用DNA重組或是使用誘變方式（例如：亞硝酸誘變）產生；(3) 針對受病毒感染的植物進行熱處理來獲取輕症病毒株。而交互保護作用機制普遍認為主要可能有三，其一就是交互保護具轉基因植物產生的RNA媒介抗性 (RNA-mediated resistance)，即後轉錄基因沉默機制 (post-transcriptional gene silencing, PTGS) 類似之RNA靜默機制 (RNA silencing)，但保護性病毒 (protective virus) 需在宿主中持續引發交互保護作用，才可以經由PTGS機制消除入侵的病毒 (invading virus)。再則就是宿主植物中的保護性病毒可提供蛋白媒介抗性 (protein-mediated resistance)，干擾攻擊性病毒的脫鞘作用 (uncoating)；亦可使用缺失的複製酶干擾病毒的正常複製功能，或隔離宿主植物中對入侵病毒複製與轉移所

必需的關鍵因子。第三則是宿主植物的先天性免疫機制，例如由病毒感染所誘導的水楊酸路徑防禦反應，可對不具有序列同源性之病毒提供基礎的防禦反應。

輕症病毒疫苗商品化現況

從實驗室所分離、生產的輕症病毒株，經過溫室及田間試驗確認對植物的保護效果後，下一個階段目標便是將其開發成商品，提供農民於田間實際應用防治病毒病。全世界目前已有五種輕症病毒株登記為有效成分，包括商品名Agroguard™Z、Curbit®、日本京都微研のキュービオZY-02、PMV®-01及V10等（表一、圖二）。Agroguard™ Z、Curbit®來自同一個輕症病毒株ZYMV-WK PV-593，矮南瓜黃化嵌紋病毒 (ZYMV) 的自然突變株，商品中的輕症病毒株是由人工感染的櫛瓜葉片中所萃取的植物濾液。而日本京都微研所開發のキュービオZY-02是由輕症病毒株ZYMV-2002組成，此病毒株的獲取方法主要是以冷熱



圖一、左圖為洋香瓜苗期接種輕症病毒株ZAC一週後所產生的輕微葉脈病徵；右圖為洋香瓜感染ZYMV的嵌紋、皺葉病徵

表一、淡紫菌TNZZS6菌株之寄主範圍

商品名	病毒種類	標的害物	登記國家	核准日期	適用植物	劑型	施用方法
Agroguard™Z	ZYMV-WK PV-593	矮南瓜黃 化嵌紋病 毒 (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV)	美國	2007	Cucurbitaceae 葫蘆科	液體	在溫室或其他環境 下以噴射注射 (jet injection)，將本微生物 農藥直接噴灑在葫蘆科 作物幼苗。
Curbit®			歐盟	2013			
京都微研” キュービオ ZY-02			日本	2008			
PMV®-01	Pepino mosaic virus, strain CH2, isolate 1906	香瓜茄嵌紋 病毒 (Pepino mosaic virus, PepMV)	美國	2018	Solanaceae 番茄	水懸劑	藉由低容量 (low- volume) 噴灑方式施用 在番茄幼苗以作為誘導 源。
			歐盟	2015			
			加拿大	2018			
V10	Mild pepino mosaic virus, strain LP, isolate VX 1		歐盟	2017			藉由在溫室中噴灑或機 械接種於作物上，防止 番茄被重症香瓜茄嵌紋 病毒株感染。使用時以 12~15 bar的壓力向下 噴灑施用。
	Mild pepino mosaic virus strain CH2, isolate VC 1			2017			

資料來源：梁瑩如、黃莉欣 (2021)。美歐日植物病毒疫苗之商品登記案例研析。臺灣農業科學，10期，頁49-76



圖二、國外之輕症植物病毒疫苗商品。由左至右之商品名稱分別為キュービオZY-02、PMV®-01、V10

(圖片來源：KYOTOBIKEN官網<https://www.kyotobiken.co.jp/products/plant.html#>；Biobest官網<https://www.biobestgroup.com/en/biobest/products/biological-disease-control-15998/plant-vaccine-19439/pmv%C2%AE-01-11597/>；Koppert官網<https://www.koppert.com/v10/>)



圖三、洋香瓜臺南13號之疫苗處理組和病毒對照組之生長情形比較。圖左側為ZAC疫苗處理組，右側為ZYMV病毒對照組

處理被感染之植株葉片後獲得減毒輕症病毒株，原體的生產則是將接種ZYMV-2002輕症病毒株的南瓜葉片磨碎成汁液，再經過濃縮、過濾之後加入安定劑，以冷凍乾燥法製成可濕性粉劑。PMV[®]-01是由PepMV CH2品系1,906分離株所組成，而V10則是由兩個PepMV輕症病毒株所組成，病毒株的來源皆是香瓜茄嵌紋病毒 (PepMV) 的自然突變株。臺灣目前沒有已登記之輕症植物病毒疫苗商品，相關管理方式和規範仍在規劃、建立中。

輕症植物病毒疫苗目前主要是以自然環境中所分離的輕症病毒株與作物進行交互保護，這樣的防治策略優勢在於輕症病毒株未經人為的基因修飾或編輯，不會有「基改」的疑慮，農民和消費者的接受度較高，且因輕症病毒株對於寄主有高度的專一性，傳播性低，在自然環境中會快速喪失病毒活性，且長期試驗結果顯示對人類沒有致病性或感染性，對周圍環境的風險

低，是極具開發潛力的病毒病害防治策略。本場與國立中興大學植物病理學系葉錫東教授及亞洲大學醫學檢驗暨生物技術學系陳宗祺教授合作進行矮南瓜黃化嵌紋病毒突變之輕症病毒疫苗 (ZYMV AC, ZAC) 的接種試驗，在溫室試驗中對洋香瓜的ZYMV病毒感染有顯著的防治效果 (圖三)，未來將繼續朝著商品化的目標努力。

結語

輕症植物病毒疫苗應用已成為全球防治病毒病害的新趨勢，但其交互保護作用因具有高度寄主專一性，不易應用於其他不同品種的作物上，此部分還需病毒專家持續研究，使輕症植物疫苗應用更廣泛。若能藉由輕症植物病毒疫苗的運用，在植物感染病毒後控制病害發生的嚴重程度，除了能讓農民的種植有穩定的產量和品質以外，也可降低利用化學農藥防治媒介昆蟲的使用量，同時兼顧消費者食用的安全性以及生態環境的永續。