



第三章 田間管理作業

第一節 種苗病毒發生、檢定及防治

袁雅芬¹、陳金枝²、張清安³

¹種苗繁殖改良場

²農業試驗所

³朝陽科技大學生化科技所

台灣的自然環境十分適合國蘭之生長，加上台灣的栽培者技術高超，使得國蘭產業極為適合本地的發展。栽培過程中病害發生與防治對品質有很大的影響，防治時的藥劑成本亦佔生產成本很高的比例，尤其病毒病感染後無法在事後加以治療，必須以預防的方式面對才是根本之道。產業上國蘭的繁殖以分株方式進行，母株若感染病毒，其後代所有子芽都會產生病徵且逐漸衰弱，影響生育甚至產出之品質，病毒之預防對國蘭而言，比其他蘭花產業更為重要，因為其他蘭花透過種子播種後，實生苗可免於病毒感染，但國蘭實生繁殖後子代會發生性狀分離，除了育種，一般栽培業者並不採用，因此母株的保護以免於病毒之感染變得非常重要。

本文首先將就目前國內外已知可感染蕙蘭屬之病毒種類，以及影響栽培最劇的二種主要病毒的特性加以介紹，並且針對此二病毒的發生生態與防治對策詳加討論，其次簡介常用之病毒檢定技術以及現行的蘭花種苗驗證規範，提供國蘭栽培界的參考。

一、國內外已知可感染蕙蘭屬蘭花的病毒種類與特性

目前國際上已記錄可感染蘭花病毒種類已超過50種，其中已知可

感染蕙蘭屬蘭花 (*Cymbidium* spp.) 的病毒種類包括康乃馨斑駁病毒 (*Carnation mottle virus*, 以下簡稱 CarMV)、蕙蘭 (東亞蘭) 嵌紋病毒 (*Cymbidium mosaic virus*, 以下簡稱 CymMV)、東亞蘭黃化嵌紋病毒 (*Cymbidium chlorotic mosaic virus*, 以下簡稱 CymCMV)、東亞蘭微嵌紋病毒 (*Cymbidium mild mosaic virus*, 以下簡稱 CymMMV)、東亞蘭輪點病毒 (*Cymbidium ringspot virus*, 以下簡稱 CyRSV)、齒舌蘭輪斑病毒 (*Odontoglossum ringspot virus*, 以下簡稱 ORSV)、蘭花斑點病毒 (*Orchid fleck virus*, 以下簡稱 OFV)、菸草嵌紋病毒蘭花分離株 (*Tobacco mosaic virus orchid strain*, 以下簡稱 TMV-orchid)、番茄輪點病毒 (*Tomato ringspot virus*, 以下簡稱 TomRSV)、蕪菁嵌紋病毒 (*Turnip mosaic virus*, 以下簡稱 TuMV) 等10種。

CymMV與ORSV是目前蘭花上普遍發生，可感染蘭花種類最多的病毒，對蘭花產業經濟面影響最深重，是國際間在蘭花栽培上具高度共識認為需加強防範的兩種病毒，也是目前在文心蘭與蝴蝶蘭健康種苗驗證制度規範中必須檢定的病毒種類。CarMV為康乃馨上最常見的病毒，且廣泛分佈於全球各地，台灣之康乃馨及彩色海芋均有此病毒感染之紀錄。CarMV具有高度傳播性，可經由嫁接、植物間相互接觸及人為操作等方式傳佈，本病毒目前並無媒介昆蟲或種子傳播之記錄。TuMV為寄主範圍相當廣泛的馬鈴薯Y病毒屬 (*Potyvirus*) 病毒，主要感染十字花科作物，經由汁液傷口接觸傳播及蚜蟲以非永續型方式媒介傳播，因此維持無病毒之母本與清潔之栽培環境，避免蚜蟲之滋生，是控制此病毒之重要方法。TomRSV是一種線蟲傳播型病毒，此病毒目前在蘭花上之發生並不廣泛，重要性亦不高，但其重要關鍵在於此病毒為國際性的檢疫病毒而我國至今尚未有此病毒在任何作物上發生之紀錄。OFV也是目前國內尚未發生之檢疫病毒，目前在蘭花種類上分佈並不普遍，重要性遠低於ORSV及CymMV。CyRSV造成植株葉片呈現黃色輪點，若與CymMV複合感染病徵更形明顯，病毒特性穩定，廣泛發生於草本植物，寄主範圍廣，可經由植物葉部的接觸、汁液傳播，尤其是遭病毒污染的土壤或灌溉水，無法經蚜蟲傳播；目前此病毒之分佈仍不普遍，只在歐洲被發現，但是基於台灣均有種植兩種天然寄主蕙蘭及白色首宿，



加上汁液傳播之特性，一旦發生此病毒病害，對蘭花產業有潛在之威脅，因此有必要加強對CyRSV之檢疫，以防範病毒之發生。

二、國內已發生重要的國蘭病毒種類與其特性

在目前有紀錄的五十多種蘭花病毒中，蕙蘭嵌紋病毒（*Cymbidium mosaic virus*, CymMV）及齒舌蘭輪斑病毒（*Odontoglossum ringspot virus*, ORSV）為廣泛分布於世界各地的蘭科作物，被國際間公認為影響蘭花產業最鉅的兩種病毒，造成產業的經濟嚴重損失。兩種病毒複合感染時，對某些蘭花品系甚至會造成花朵褐化、壞疽、條斑徵狀。近來筆者針對台灣國蘭之病毒發生進行調查，結果以CymMV及ORSV兩種病毒為主，下面就兩者之特性加以說明。

（一）蕙蘭嵌紋病毒（*Cymbidium mosaic virus*, CymMV）

1. 病徵

受CymMV 感染之國蘭植株，常見葉片出現黑色壞疽斑點或壞疽條紋等病徵（圖1），壞疽斑有時只出現於葉片下表面。部份國蘭會

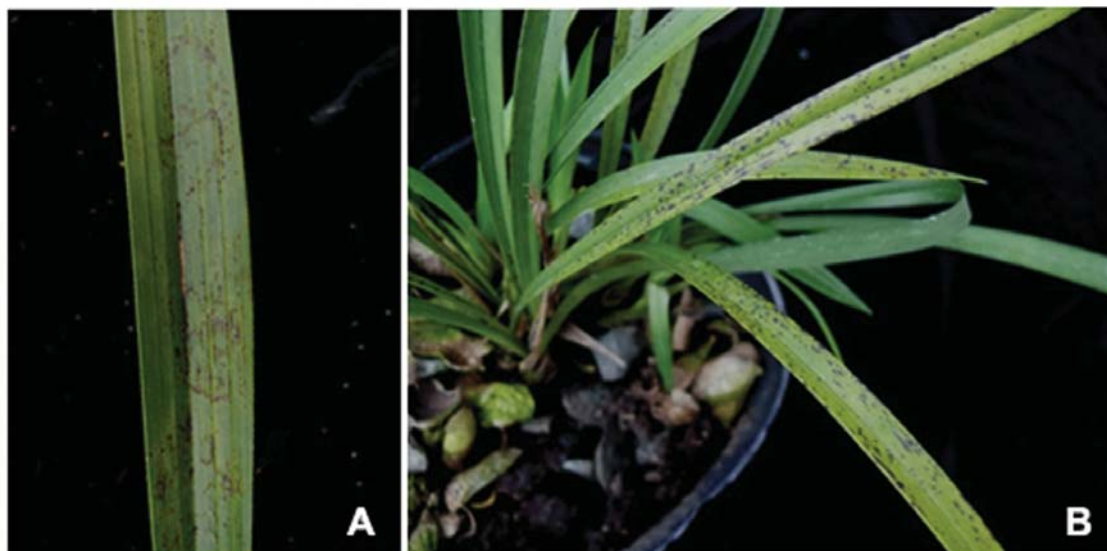


圖1.受CymMV 感染之國蘭植株，葉片出現黑色壞疽斑點或壞疽條紋等病徵（A、四季蘭；B、春蘭）。

產生黃綠斑駁之嵌紋 (mosaic) 或黃化條斑型 (chlorotic streak) 病徵 (圖2)。同一植株受CymMV與ORSV複合感染時，對病徵有加乘效應，病徵會遠比單獨感染時嚴重許多 (圖3)；部份品種感染病毒後並不表現任何病徵 (圖4)。



圖2.受CymMV 感染之國蘭植株葉片產生黃綠斑駁之嵌紋病徵。



圖3.同一植株受CymMV與ORSV複合感染時，呈現嚴重型病徵 (A、報歲蘭；B、鐵骨素心蘭)。

多數國蘭品種感染CymMV後，初期經常表現伴隨與葉脈平行之黃化長條紋，但後期常會出現褐色壞疽條斑，葉肉凹陷，此特性可以作為診斷之依據。但病徵之表現與品種特性有關，有些品種雖然感染，有時僅在少數芽體上出現病徵，或者隔代出現。另外部分品種例如山川報歲或金華山等，縱使感染病毒只要栽培環境良好，施肥適當，其病徵通常極為輕微不易肉眼辨識 (圖4)。這些品種只有在栽培者忽略換盆、施肥或澆水而導致生長失調時才會展現較明顯病徵。但多數品種如四季或觀音素心等



圖4.受CymMV 感染之報歲蘭，其病徵極為輕微而不易肉眼辨識。



感染病毒後經常會表現明顯病徵而加速植株之老化與衰敗。因此仰賴病徵之表現作為判別感染之依據並不可靠，配合其他更敏感之方法進行檢測方為上策。

2. 病毒特性及傳播方式

CymMV為馬鈴薯X病毒屬 (*Potexvirus*) 之成員，根據文獻報告 *Potexvirus* 病毒群中只有馬鈴薯X病毒 (*Potato virus X*) 與CymMV有部份之血緣關係，而CymMV是唯一發生於蘭科植物之potexvirus，因此在鑑定上並不致於有太大困擾。其顆粒體呈現可彎曲之桿狀，長度平均約為480 nm，寬度約為13 nm。此屬病毒在細胞外之穩定性高，耐熱度為60-70 °C，在室溫下可存活至少25天 (ICTV dB description. <http://www.ictvdb.org/ICTVdB/00.056.0.01.007.htm>)。目前是蘭花栽培產區普遍發生的病毒種類，有超過30種蘭屬被紀錄可被CymMV感染。Zettler等也發現在這些蘭屬之639株野生蘭株中未有任何病毒感染之情形，而是以經由人工栽培一段時間之蘭株容易被測得有病毒發生，顯見病毒之感染與人工栽培有密切關係。利用人工接種方式CymMV也可以感染藜科、豆科及茄科植物，但是其天然寄主仍侷限於蘭科作物。

CymMV主要藉由機械性傷口感染，可經由病株汁液、操作器具、重覆使用之介質或栽培過病株的盆鉢、植株之間的接觸等而傳播，病毒特性相當穩定，可以在細胞外長期存活而污染栽培作業環境，然後再藉由機械性傷口傳染至健康蘭株；目前尚未發現有媒介昆蟲可傳播此病毒。若母本帶有病毒，則會透過分生組織培養苗途徑大量傳播予後代。國蘭以分株方式繁殖，容易隨母本帶毒繁殖而傳染。

(二) 齒舌蘭輪斑病毒 (*Odontoglossum ringspot virus, ORSV*)

1. 病徵

自然界的寄主以蘭科植物為主，目前之記錄至少有20屬的蘭花可被ORSV感染。ORSV最早於1951年在美國的*Odontoglossum grande* 上被發現，引起植株葉片之輪斑 (ringspot) 病徵。ORSV感染蘭

科植株後造成之病徵尚包括有嵌紋 (mosaic) (圖5)、斑紋 (mottle)、黃化條紋 (chlorotic streak)、花色條斑 (color breaking) 及壞疽型 (necrosis) 等均有記錄，有些蘭花品系感染 ORSV 後並不表現病徵。ORSV 若與 CymMV 複合感染同一植株，常會造成病徵加重現象。國蘭普遍發生 ORSV，多數品系在分株後的新生幼葉上可見明顯之嵌紋或條斑病徵 (圖6)，也有發生褐色輪斑者，不同之國蘭品系產生之病徵會有差異，有些品系亦不會形成病徵。

國蘭受病毒感染後之病徵表現，與品種之敏感度有關，部分



圖5.受ORSV感染之四季蘭(八寶奇珍)葉片近頂梢處出現嵌紋病徵。

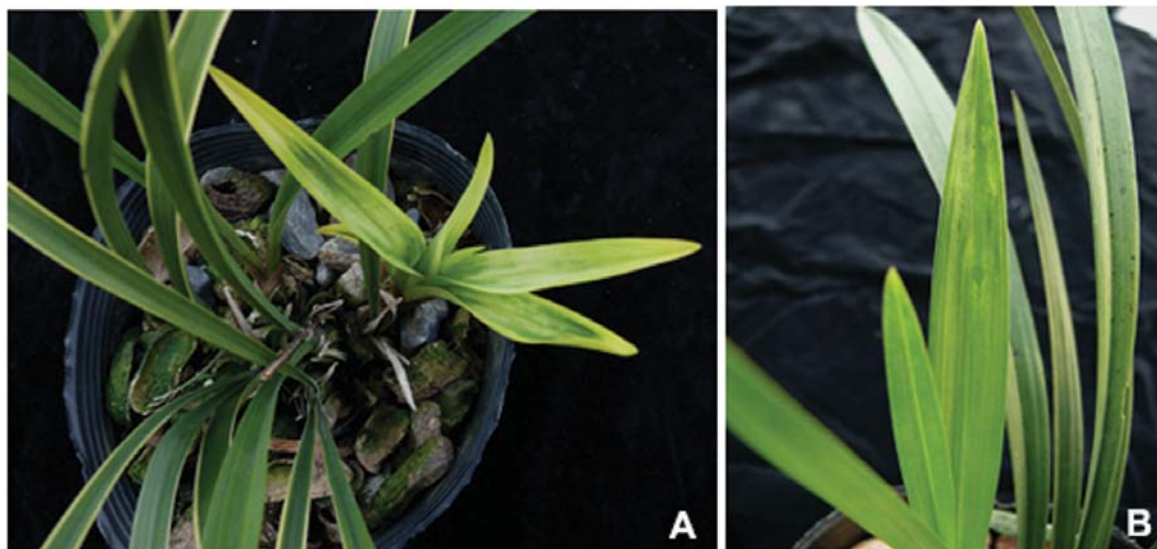


圖6.國蘭發生ORSV，多數品系在新分芽的幼葉上可見明顯之嵌紋或條斑病徵 (A、錦旗；B、玉花)。



品種有隔代出現病徵之情形。有些品種較為強壯如山川報歲或金華山等，縱使感染病毒只要栽培環境良好，施肥適當，其病徵通常極為輕微不易肉眼辨識。但是若栽培管理失當導致生長失調時就可能展現明顯病徵。因此仰賴病徵之表現作為判別感染之依據並不可靠。延遲或錯誤之診斷，常會導致病毒之擴大流行，因此能配合其他更敏感之方法進行檢測方為上策。

2. 病毒特性及傳播方式

ORSV乃菸草嵌紋病毒屬 (*Tobamovirus*) 之成員，顆粒體呈現短桿狀，長度約300 nm。ORSV耐熱性強達95 °C的溫度，在寄主細胞外其性質比CymMV穩定很多，可以存活的時間較久。根據日籍學者Inouye之報告，ORSV在20 °C下，於細胞外可存活至少10年之久，為穩定性極高的植物病毒。以往文獻認為ORSV應為菸草嵌紋病毒之蘭花系統 (*Tobacco mosaic virus orchid strain, TMV-O*)，但也有相當多之學者證實ORSV為獨立之tobamovirus而非屬於TMV之一系統。最近日本學者Isomura等更提出核酸序列分析之證據，支持ORSV乃異於TMV之獨立病毒。目前學界目前普遍認同ORSV為異於TMV之一種發生於蘭花上最普遍之tobamovirus病毒。

ORSV普遍發生於栽培種之蘭花，與CymMV並列為蘭花上發生最普遍之病毒，其分佈應已遍及世界各地商業生產之蘭園。主要透過機械性傷口方式傳播，可經由被病毒污染的手、器具或栽培盆鉢等而散播，因此整個生產過程中包括組織培養流程所有可能造成組織傷口的操作或栽培過程中對植株的修剪、切花等都可能傳播病毒，甚至植株之間的碰觸或摩擦，都可能是病毒的傳染途徑；目前尚未發現有媒介昆蟲可傳播此病毒；除蘭花外，ORSV尚可經由人工接種方式感染藜科及茄科等植物，但自然界寄主以蘭科植物為主；母本帶毒透過組織培養更會大量傳播此病毒的發生。國蘭以分株方式繁殖，容易隨母本帶毒而傳染。受感染的植株若顯現嚴重型病徵便失去商品價值。

三、國蘭病毒病傳播途徑與預防方法

國外報告指出，在野生蘭株中未發現有任何病毒感染之情形，因此推測蘭花病毒之發生與人工栽培有密切關係。蘭花病毒最初從何而來已無法追究，但病毒廣泛存在世界各地蘭園的確是現存的事實。由病毒傳播途徑的研究結果顯示蘭花病毒之普遍發生與人工栽培時所採取的無性繁殖方式有絕對密切之關係。國蘭之栽培一向以分株繁殖為主，病毒之傳播主要靠母本垂直傳染至子代。當然栽培過程中相互的葉片摩擦，或人為的接觸傳染也可能造成病毒之入侵，尤其國蘭栽培者常在分株過程中集中篩選，甚至浸藥處理，這樣子的處理方式最容易導致植株間相互的摩擦擠壓，提供病毒藉由傷口入侵的最佳機會。

許多國蘭玩家喜歡將植株種植在高級美觀之盆具上，這些盆具經常重複使用，甚至有些人會將栽培過之介質如珍珠石、日本石或蛇木屑重複使用，這些介質上很可能殘留前一感病植株之病毒，而在重複使用時將病毒傳到其他植株。許多玩家甚至喜歡運用各種方式清洗國蘭蘭株之葉片，使之光亮閃爍以凸顯其精緻與價值。然而清洗過程中所使用之海綿或絨布便成為傳染病毒之有效媒介，此類海綿或絨布若不拋棄，重複使用之結果常會造成病毒嚴重與廣泛之散佈。再者，近年來組織培養大量繁殖國蘭的技術日趨成熟，此種方式必須在進入組培前透過病毒檢測篩選出無病毒感染之親本作為繁殖材料，否則組培技術將造成國蘭病毒全面散佈之媒介。

目前病毒病的發生仍無有效的藥劑可以防除病毒，因此「預防重於治療」是目前對病毒防治的主要概念。徹底了解所發生的病毒病種類及其傳播途徑，可以有效杜絕病毒的傳入與傳播。以國蘭目前主要發生的CymMV及ORSV而言，兩者尚未有媒介昆蟲傳播之可能，其傳播途徑主要是透過機械性傷口侵入，由污染有病毒病組織液的任何器具或栽培資材、甚至是污染的手及植株間的碰觸等途徑而傳播。此外，國蘭目前主要是透過分株繁殖，因此選擇健康無病毒的植株為母本，才能確保植株的栽培品質，若栽培過程中注意隨時拔除或妥善隔離出現病徵的植



株、盆鉢的清潔管理、防除小蝸牛或昆蟲的取食植株造成機械性傷口而發生病毒傳播的機會、園內隨時保持整潔及隨時清除植株殘體等任何可以避免受病毒污染的措施，對於病毒病的防治而言是積極而有效的策略。針對國蘭病毒病防治管理之可行對策分述如下。

栽培健康種苗乃防治國蘭病毒病之必要策略，購買或交換蘭株過程中應確定是否感染病毒才能作適當的處理，包括丟棄或隔離栽培。另外，平時在栽培管理上應注意執行下列措施以全面杜絕病毒病之感染：

- 1.組織培養繁殖者，應建立專用無病毒品種保存園，此保存園需與一般栽培繁殖場分開管理。園內所有植株應獨立編號，植株間不得相互接觸。保存園應嚴格控管人員出入，並嚴禁任何人為接觸植株造成感染之機會。經過病毒檢定確定無病毒之種源方才引入。所有植株最好能定期一年一次或二次進行病毒篩檢，並即時淘汰感染植株。
- 2.植株換盆所遺之介質或盆具應避免重複使用。若需重複使用，可以用0.5%之市售漂白水浸泡至少五分鐘以上，以清水洗滌後再使用。
- 3.分株、移植時避免將所有植株置於同一容器內浸泡藥劑。
- 4.避免過度密植，徒增植株間發生磨擦造成機械性傷害之機會。工作人員應避免管理時任意碰觸蘭株，且應拒絕來訪參觀者觸摸蘭株。
- 5.隨時注意蘭株之生長情形，若發現異狀迅速加以隔離避免其接觸其他植株。移出過程中需絕對避免碰觸其他植株，最好以報紙包覆後再移動之。
- 6.澆水時避免過度激烈沖刷，徒增植株間葉片磨擦受傷機會。
- 7.避免立體式栽植，或使澆水有在不同植株上相互傳染之機會。
- 8.國蘭分株過程中若使用刀具應加以消毒，每分切一株後即更換刀具，避免傳染。刀具消毒的方法可參考下列的說明。平常栽培管理時筆者建議事先以高溫消毒之方式準備大量刀片置於工作袋中，由工作人員隨身攜帶，必要時可隨時取出應用，但仍須把握避免重複使用同一刀具於不同蘭株之原則。使用過之工具可回收消毒處理後再用。
- 9.常用之工具消毒方法有如下幾種：
 - (1) 乾熱消毒法：利用烘箱在180℃至少維持1小時。
 - (2) 濕熱消毒法：以沸水煮沸至少15分鐘。

- (3) 火焰消毒法：將工具上接觸過植物汁液之部位以火焰燒烤至少10-20秒。
- (4) 化學藥品消毒法：以5% 氫氧化鈉或3% 磷酸三鈉溶液浸漬至少1分鐘。如果使用0.5%次氯酸鈉（即稀釋10倍之漂白水）則需浸漬至少30秒以上，且以新鮮配製之溶液效果較佳，置放愈久則處理之時間需加長，配製隔夜後不得再使用。

四、病毒檢定技術

進行母本與種苗的病毒檢定，可防範病毒藉由蕙蘭種苗繁殖過程而大面積傳播，影響植株生長與商品價值。植物病毒檢定技術包括：病徵目視診斷法、指示植物接種生物檢定法、病毒內含體顯微鏡觀察診斷法、電子顯微鏡觀察技術、血清檢定與核酸檢測技術，其中病徵診斷法與內含體觀察須由專業而經驗豐富者才能做正確的判斷，且部分植物病毒病害的病徵與微量元素缺乏引起的病徵相似，易導致誤判；指示植物接種生物檢定法，此法雖然成本低廉，但是須有隔離溫（網）室栽培植物及病毒接種後的7-10天觀察期；透過電子顯微鏡可觀察病毒顆粒體型態與測量大小，可初步得知病毒之分類屬性，除需專業人員操作與判斷外，儀器相當昂貴，目前仍以學術性觀察病毒顆粒作為鑑定之研究為主。

植物病毒顆粒結構主要由外部的鞘蛋白及內部的核酸為主，因此植物病毒檢測技術可分為兩個主流：一為針對鞘蛋白的抗血清檢定技術-酵素連結免疫吸附反應（Enzyme-linked immunosorbent assay, 簡稱ELISA）；另一則針對內部核酸物質的核酸檢測技術，屬於RNA病毒者使用反轉錄-核酸聚合酶連鎖反應（Reverse transcription-polymerase chain reaction, 簡稱RT-PCR），屬於DNA病毒者則使用PCR即可。以下分別加以介紹：



(一) 酵素連結免疫吸附反應 (Enzyme-linked immunosorbent assay, 簡稱ELISA)

此技術係利用”抗體與抗原”的專一性結合，經由標定於抗體上酵素之作用，將檢測結果以顏色變化呈現，輔以儀器讀取其吸光度數據，俾憑判斷正負反應。因其抗體抗原結合順序差異或酵素連接抗體與抗原的直接與間接性，又可分為直接法與間接法，目前以間接法應用較廣。ELISA技術因操作方便，適用於大量樣品之病毒檢測，加上結果之再現性與穩定性均深獲各界肯定，因此，已於種苗業界廣泛使用。

(二) 反轉錄-核酸聚合酶連鎖反應(Reverse transcription-polymerase chain reaction, 簡稱RT-PCR)

目前普遍發生於蘭花上的兩種病毒核酸檢測法係建立於物種間獨特的核酸序列，然後依此序列設計出該物種人工合成的短片段專一性核酸引子對，再配合核酸聚合酵素連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, 簡稱PCR) 技術，此技術乃利用一種分離自細菌的耐高溫核酸複製酵素，在適宜的變溫循環程式下，針對目標病毒的特定區域核酸進行快速複製，約經2小時30個循環左右，即可複製出約10億倍的核酸，再經由電泳分析以肉眼判別所增幅的核酸條帶。植物病毒核酸大多屬於RNA，故在變溫循環前，須先以病毒反轉錄酵素 (reverse transcriptase) 進行反應，將RNA反轉錄成DNA分子，簡稱RT-PCR。

由於PCR係針對病毒蛋白前驅物-核酸分子進行檢測，因此較ELISA技術更敏感，可更早偵測到病毒的存在。近年，隨著動植物疫病快速檢測診斷之需求，學者更將分子生物學、酵素動力學、電子學、光學與訊號處理等技術結合成生物晶片 (Biochip)，應用於植物病毒的檢測。惟仍以ELISA、RT-PCR較為常用，蘭花種苗驗證規範亦明訂以此兩種技術進行病毒檢定。

五、目前已施行的蘭花種苗驗證規範

為防範病毒藉由蘭花種苗傳播，行政院農業委員會動植物防疫檢疫局（以下簡稱防檢局）已針對文心蘭及蝴蝶蘭種苗訂定驗證規範，並正式公告實施。以下就目前已實施的蘭花種苗驗證規範作一介紹：

(一) 驗證標的

目前防檢局所規範者為文心蘭與蝴蝶蘭的組織培養瓶苗及出瓶的定植苗，為確保種苗來源為無病毒母本，亦對母本檢查與保存有所規範。

主要檢定病毒在文心蘭部分，母本需檢定胡瓜嵌紋病毒(*Cucumber mosaic virus*, 簡稱CMV)、蕙蘭嵌紋病毒(*Cymbidium mosaic virus*, 簡稱CymMV)及齒舌蘭輪斑病毒(*Odontoglossum ringspot virus*, 簡稱ORSV)，文心蘭瓶苗、定植苗則僅檢定CymMV及ORSV；蝴蝶蘭則不論母本、瓶苗、定植苗皆檢定CymMV及ORSV。

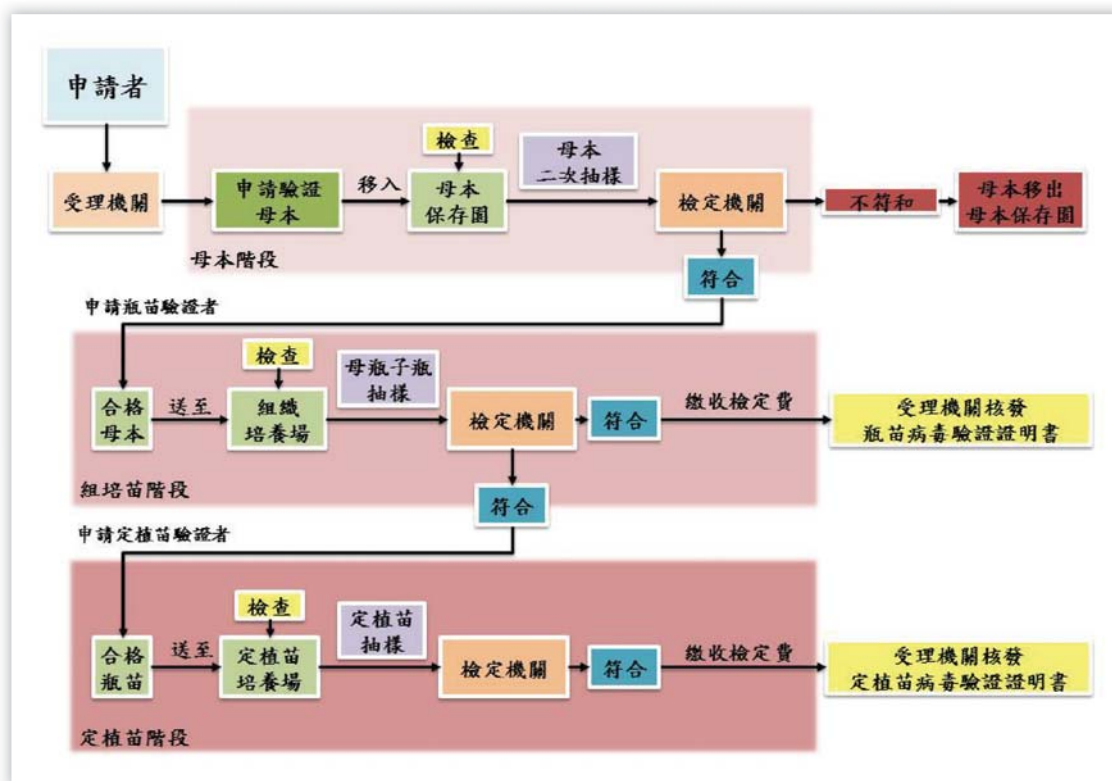


圖7. 蘭花健康種苗驗證流程。



(二) 驗證程序

驗證流程如圖7所示，申請者提出申請，經受理後須將母本移入符合規定的保存園，再進行2次病毒檢定後，申請者將不合格（檢出病毒）的母本移出，保存園中只留下無病毒母本。

合格的無病毒母本，送到經檢查符合規範的組織培養場進行組織培養，所得到的母瓶、子瓶皆須按規定抽樣進行病毒檢定，瓶苗合格者可核發證明書。

合格瓶苗可移入符合規範的定植苗培養場進行出瓶定植，由檢查人員依規定抽樣進行病毒檢定。

(三) 各級繁殖圃設置標準

1. 母本保存園：母本應隔離栽培於具阻隔病毒媒介昆蟲及軟體動物入侵功能之設施內，並與其他培養場區隔。
2. 組織培養場：生產蘭花瓶苗的組織培養場應具備高溫高壓消毒設備、置放瓶苗的培養空間、繁殖無病毒瓶苗之無菌操作台及相關儀器設備。
3. 定植苗培養場：申請驗證之定植苗培養場設施應具阻隔病毒媒介昆蟲及軟體動物入侵之功能。

(四) 繁殖圃操作管理規定

1. 母本保存園：母本單株應標示品系並獨立編號；母本保存園應嚴格控管人員出入；應使用全新資材；修剪採單株單剪，修剪工具應依規定方式消毒；應定期實施病毒媒介昆蟲及軟體動物之防治措施，並建立管理紀錄。
2. 組織培養場：除紀錄母本編號、瓶苗數量與批號、母瓶及子瓶移植日期，尚包括母瓶編號方式、組培材料消毒與接種及各階段作業應於無菌操作台內進行、人員與工具的消毒規範。

- 3.定植苗培養場：同一批瓶苗或定植苗移植須由專人負責；操作人員與工作台之消毒方式；瓶苗定植如需浸泡藥劑或洗滌，限同一批號者始可用消毒過的單一容器；移植應用全新資材；定植苗應排列整齊，葉片不可重疊，且應標示清楚，定植苗培養場應採行預防病毒傳播之措施，紀錄定植日期及病蟲害防治措施。

(五) 驗證標準及有效期限

驗證之蘭花種苗依檢定病毒感染分級，瓶苗可分為2級：特優級系指無CymMV及ORSV者；優良級則為無CymMV者。至於定植苗則分3級：特優級與優良級之標準如瓶苗；標準級則為抽驗樣品中CymMV感染率低於5%者。各級種苗均有核發病毒檢定證明書，有效期限為3個月。

目前國蘭種苗尚無驗證規範，且其繁殖方式主為分株繁殖，而上述蘭花種苗驗證規範是以蘭花組織培養流程規劃檢查及檢定程序，未來如有需建立國蘭之種苗驗證體系，可以參考現行規範，參照國蘭種苗生產流程，配合國蘭目前的產業現況，在不衝擊產業現況而能提升國蘭商品經濟價值的原則下，予以規劃適合國蘭的病毒驗證的程序。

六、參考文獻

- 1.王惠亮、王志農、張清安。2004。齒舌蘭輪斑病毒台灣系統基因序列譯讀與分析。植物病理學會刊 13:97-106。
- 2.邱燕欣、王慧如、何書豪、楊佐琦。2008。馬鈴薯病毒病害及其檢測技術。農業世界 294:26-39。
- 3.張世忠。2007。檢測診斷生技產品與其市場。農科新世紀 8:9-14。
- 4.張世忠、胡仲祺、陳義信、陳信宏。2004。植物病毒診斷試劑套組之研發與利用。農政與農情 127:72-74。
- 5.張世忠、陳信宏、胡仲祺。2007。植物病毒快速檢測套組的研發趨勢與迷思。農科新世紀 8:29-35。
- 6.張清安。1994。蘭花病毒病之特性與防治。p. 129-148。蘭花經濟栽培技術。賴本智等主編。行政院青年輔導委員會創業輔導叢書



- 三-17。行政院青年輔導委員會出版。148 pp。
- 7.張清安。1996。植物病毒鑑定及診斷新技術。p. 35-45。植物保護新科技研討會專刊。臺灣省農業試驗所特刊第57號。臺灣省農業試驗所編印。207 pp。
 - 8.張清安。1998。植物病毒個論（一）~蘭花病毒。農業世界 137：14-20。
 - 9.張清安。2001。病毒病害。p. 57-74。植物保護圖鑑系列-洋蘭保護。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局出版。127 pp。
 - 10.張清安。2005。種傳病毒之特性、檢測與管理。植物病理學會刊 14：77-88。
 - 11.張清安。2005。植物保護技術專刊系列1-蘭花病毒病。張清安編著。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局出版。62 pp。
 - 12.張清安。2007。蘭花種苗病毒檢測與相關產業發展趨勢。植物種苗生技 9：42-48。
 - 13.張清安。2007。蘭花病毒檢測技術發展現況。農科新世紀 8：22-28。
 - 14.張清安、李紅曦、陳金枝、林玫珠、王昭萍。2003。台灣文心蘭種苗病毒驗證制度之研擬與展望。植病會刊 12：141-148。
 - 15.莊琮亮、張家禎、林啟萬。2007。動植物快速檢測診斷晶片與研發趨勢。農科新世紀 8：41-48。
 - 16.路光暉。2004。生物晶片在防疫檢疫害蟲鑑定上之應用。植物重要防疫檢疫害蟲診斷鑑定研習會：p. 119-125。 <http://www.baphiq.gov.tw/public/Attachment/84161523271.pdf>
 - 17.葉瑩。2007。動植物疫病蟲害檢測診斷政策及生技研發趨勢。農科新世紀 8：2-8。
 - 18.鄧汀欽。種子健康驗證體系之種傳病毒的檢測。 <http://www.baphiq.gov.tw/public/Attachment/851310391371.pdf>
 - 19.Chang, C., Chen, C. Y., Hau, Y. H., Wu, J. T., Hu, C. C., Chang, W. C. and Lin, N. S. 2005. Transgenic resistance to *Cymbidium mosaic virus* in *Dendrobium* expressing the viral capsid protein gene. Transgenic Res. 14: 41-46.

- 20.Chng, C. G., Wong, S. M., Mahtani, P. H., Loh, C. S., Goh, C. J., Kao, M. C. C., Chung, M. C. M. and Watanabe, Y. 1996. The complete sequence of a Singapore isolate of odontoglossum ringspot virus and comparison with other tobamoviruses. *Gene* 171: 155-161.
- 21.Edwardson, J. R. and Zettler, F. W. 1988. Odontoglossum ringspot virus. p. 233-247. In : *The Plant Viruses*. Vol. 2. Van Regenmortel, M. H. V. and Fraenkel-Conrat, H. (eds). Plenum Publishing Corporation, New York, USA.
- 22.Eun, A. J. C., Huang, L., Chew, F. T., Li, S. F. Y. and Wong, S. M. 2002. Detection of two orchid viruses using quartz crystal microbalance (QCM) immunosensors. *J. Virol. Methods*. 99: 71-79.
- 23.Hollings, M. and Stone, O. M. 1963. Cymbidium ringspot (a previously underscribed virus). *Repy. the Glasshouse Crops Res. Inst. For.* 1962: 90.
- 24.Hollings, M. and Stone, O. M. 1970. Carnation mottle virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*. No. 7.
- 25.Holling, M. and Stone, O. M. 1977. Cymbidium ringspot virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*. No. 178.
- 26.Holling, M., Stone, O. M. and Barton, R. J. 1977. Pathology, soil transmission and characterization of cymbidium ringspot, a virus from Cymbidium orchids and white clover (*Trifolium repens*). *Ann. Appl. Biol.* 85: 233-248.
- 27.Inouye, N. 1983. Host range and properties of a strain of odontoglossum ringspot virus in Japan. *Nogaku Kenkyu* 60: 53-67.
- 28.Isomura, Y., Matumoto, Y., Murayama, A., Chatani, M., Inouye, N. and Ikegami, M. 1991. Molecular cloning, sequencing and expression in *Escherichia coli* of the odontoglossum ringspot virus virus coat protein gene. *J. Gen. Virol.* 72: 2247-2249.
- 29.Jensen, D. D. 1950. Mosaic of Cymbidium orchids. *Phytopathology*. 40: 966-967.
- 30.Jensen, D. D. and Gold, H. A. 1951. A virus ringspot of odontoglossum



- orchid symptoms, transmission and electron microscopy. *Phytopathology*. 41: 618-653.
31. Paul, H. L. 1975. *Odontoglossum* ringspot virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses, No. 155.
 32. Provvidenti, R. 2002. Turnip mosaic potyvirus. p. 1340-1343. In: *Viruses of Plants. Descriptions and lists from the VIDE database*. Brunt, A., Crabtree, K., Dallwitz, M., Gibbs, A. and Watson, L. (eds.) CAB International, Oxon, UK.
 33. Siegmann, B. J., Elliott, M. S. and Zettler, F. 1998. Relative incidences of CymMV, ORSV and CymRSV in commercial, private and public orchid collections. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 111: 41-43.
 34. Webster, C. G., Wylie, S. J. and Jones, M. G. K. 2004. Diagnosis of plant viral pathogens. *Cur. Sci.* 86: 1604-1607.
 35. Wong, S. M., Chang, C. G., Lee, H. Y., Tan, K. and Zettler, F. W. 1994. Incidence of *Cymbidium* mosaic and *Odontoglossum* ringspot viruses and their significance in orchid cultivation in Singapore. *Crop Prot.* 13: 235-239.
 36. Zettler, F. W., Ko, N. J., Wisler, G. C., Elliot, M. S. and Wond, S. M. 1990. Viruses of orchids and their control. *Plant Dis.* 74: 621-626.