

如何申辦蝴蝶蘭種苗病毒驗證

蔡瑜卿*

一、前言

蝴蝶蘭產業廣泛應用分生繁殖技術後，病毒檢驗的需求日顯重要，但蝴蝶蘭業者對於政府部門實施蝴蝶蘭種苗病毒驗證制度有著不同的意見，因此行政院農業委員會動植物防疫檢疫局改以輔導業者建立健康的母本保存園，協助母本的病毒檢定，經過3年輔導漸漸顯出成效後，終於在95年4月正式公告實施蝴蝶蘭種苗病毒驗證制度。95年底共有6家業者正式提出申請，預估未來二年內可生產出780萬株健康高品質的蝴蝶蘭種苗，相信隨著蘭花種苗病毒驗證制度之施行，我國蘭花種苗的品質將向前邁進一大步，在國際市場上更具競爭力。以下為說明如何申辦蝴蝶蘭種苗病毒驗證，以及檢查、檢定的程序與方法，並希望蝴蝶蘭業者能踴躍提出申請。

二、驗證標的及有效期限

蝴蝶蘭種苗病毒驗證制度所指蝴蝶蘭，包括蝴蝶蘭屬(*Phalaenopsis*)、朵麗蝶蘭屬

(*Doritis*)、朵麗蝶蘭屬(*Doritaenopsis*)與相關屬及其雜交種之植物；驗證的項目包括以組織分生培養技術所培育之組織培養瓶苗(簡稱瓶苗)及組織培養定植苗(簡稱定植苗)；主要檢定病原為蕙蘭嵌紋病毒(CymMV)及齒舌蘭輪斑病毒(ORSV)；符合驗證規定生產之種苗發給蝴蝶蘭種苗病毒驗證證明書，有效期限為發證日起三個月。

三、申請案之提出

擬申請種苗病毒驗證之蝴蝶蘭業



驗證種類-組織培養瓶苗及定植苗。

* 種苗改良繁殖場 助理研究員



驗證種類-組織培養瓶苗及定植苗。



繁殖用母本應與其他栽培生產的植株隔離栽培，標示編號，每株葉片根部不得接觸。

者，請依下列程序向受理機關提出申請。

(一) 受理機關

受理機關為行政院農業委員會種苗改良繁殖場（簡稱種苗場）。

地址：台中縣新社鄉大南村興中街46號

洽詢電話：(04)25825425

郵政劃撥：戶名『種苗改良繁殖場』，帳號00218046

(二) 申請時間

1.申請瓶苗驗證者，於母本進行初代無菌化分生繁殖前1-2個月前提出。

2.申請定植苗驗證者：

A.於母本進行初代無菌化分生繁殖前2個月前提出申請。

B.若源自經驗證合格之瓶苗者，應於瓶苗出瓶定植前2周前提出申請。

C.若源自經驗證合格之定植苗者，應於移植換盆前2周前提出申請。

(三) 申請程序

1.檢具申請書利用掛號郵寄或直接至種苗場申請辦理。

2.每件申請案收取檢查費1,000元，可利用郵政劃撥繳交，劃撥單上請註明申辦蝴蝶蘭種苗病毒驗證、蘭園（或公司）名稱及負責人姓名。

四、申請書填寫須知

(一) 申請書為四聯式，請向種苗場索取。

(二) 驗證項目分為「瓶苗」及「定植苗」兩種，依需求自行選定驗證項目。

(三) 申請蝴蝶蘭「瓶苗」驗證者，請寫「蝴蝶蘭種苗病毒驗證申請書」，填寫內容包括申請書與附表「各級繁殖圃資料」，說明如

產業動態

下：

1.母本資料：該蝴蝶蘭屬名、品種名稱或代號及該批品種之母本株數（以盆為單位）及母本保存園名稱、地址、聯絡人及聯絡電話。

2.瓶苗資料：

A.每一品種批號申請驗證數量(即預定的生產數量)與瓶苗預定生產完成並領取證明書的時間。

B.組培瓶苗如委託專業之組織培養場生產者，請填寫該組培場資料，並先行告知組培場本批蝴蝶蘭組培瓶苗申請種苗病毒驗證，請其依「蝴蝶蘭種苗病毒驗證作業須知」中之組織培養場設置與管理作業規範生產，檢查機關將前往檢查生產設備、操作程序與採樣檢定。

C.組培瓶苗之母瓶與子瓶階段如分別由不同的組織培養場生產，二者資料均須填寫，以便檢查機關將前往檢查。

D.同一品系不同單株之瓶苗是否會混合成同一編號?會在那一階段混合?請事先與組織培養場取得共識，並予以註明。

E.子瓶交貨情形是整批或分批?需要分批採樣檢定嗎?預定領取一張證明書或分批領證?預定領證時間?請依據銷售計畫自行考量後，並於申請書中註明。

(四) 申請蝴蝶蘭「定植苗」驗證者：

1.由母本階段開始檢定者，請填寫「蝴蝶蘭種苗病毒驗證申請書」，除填寫母本、母本保存園及瓶苗、組織培養場的資料外，請填寫定植苗資料，包括每一品種代號、申請驗證的種苗規格、數量及定植苗培養場資料，以及定植苗是整批或分批出貨?預定領取一張證明書或分批領證?預定領證時間?請依據銷售計



組織培養操作工具須經高溫消毒，並隨批號更換。



畫自行考量後，並於申請書中註明。

- 2.若該批預定驗證之定植苗來源為經病毒驗證之瓶苗或定植苗，請填寫「蝴蝶蘭定植苗病毒驗證申請書」，請檢附原核發之驗證證明書影本，並填寫屬名、品種名稱或代號、申請驗證的數量及本次定植苗培養場地址。

五、驗證程序

(一)蝴蝶蘭種苗病毒驗證作業流程，詳如流程圖。

(二)種苗場於受理申請案後，通知檢查機關(各區域改良場)之檢查人員前往現場先行檢查各級繁殖圃的設置及操作管理，符合規範者始進行取樣做病毒檢定，病毒檢定單位為農業試驗所，各階段檢定結果於完成後五個工作日內，由種苗場發給驗證結果通知書，符合規定之種苗另由種苗場核發蝴蝶蘭種苗病毒驗證證明書。

六、各級繁殖圃設置及操作管理規定

為杜絕任何足以造成病毒感染及傳播之人為操作、植株接觸及昆蟲或軟體動物入侵設施之機會，申請人應符合之有關各級繁殖圃設置及操作管理規定摘要如下：

(一)母本保存園

- 1.母本應隔離栽培於具阻隔病毒媒介昆蟲及軟體動物侵染之母本保存園設施內。
2.該設施應與其他培養場區隔，並嚴格控

管人員出入，避免任何人接觸造成感染之機會。

- 3.母本單株應標示品系並獨立編號，植株間不得相互接觸。
4.栽培期間使用之盆鉢、介質、器具及花梗固定用器材等，應採用全新資材。
5.修剪之工具應經作業須知附錄二所述方式消毒，並以單株單剪方式為之，以避免植株間之相互污染。
6.定期防治病毒媒介昆蟲及軟體動物之措施。

7.建立管理資料，記錄母本之種植日期及病蟲害防治措施等資料。

(二)組織培養場

- 1.具備高溫高壓消毒設備、置放瓶苗之培養空間、生產病毒驗證瓶苗之無菌操作台及相關儀器設備。
2.建立組織培養母瓶所進行之植物材料消毒與接種，及各階段繼代增殖作業，應於繁殖無病毒瓶苗之無菌操作台內進行。
3.無菌操作台內所使用之工具應經作業須知附錄二所述方式消毒。工具與操作盤應隨材料批號更換。操作人員工作前應行必要之消毒以避免病原污染。
4.經檢定未測出病毒感染之母瓶瓶苗始得進行繼代增殖。
5.建立管理記錄，記錄母瓶及各繼代增殖子瓶瓶苗之移植日期、數量等資料。

(三) 定植苗培養場

1. 設施應具阻隔病毒媒介昆蟲及軟體動物入侵之功能。
2. 瓶苗定植過程若需浸泡殺菌藥劑或洗滌，同一批號瓶苗以使用經消毒處理之單一容器為限，不得混用。
3. 同一批待驗證瓶苗或定植苗之移植應由專人負責，並不得與其他非驗證瓶苗或定植苗之移植混同進行。
4. 移植操作應在消毒工作台上進行，並以新鮮配製之 0.5%~0.6 % 次氯酸鈉 (NaClO) 溶液處理台面一分鐘以上，再以乾淨紙巾擦乾。
5. 操作人員應著專用工作服，進行移植操作前應以肥皂充分洗手，完成不同批號之瓶苗或定植苗定植後，應重複前述之台面消毒處理及充分洗手後方能進行其他批號種苗之移植。工作服應每日更

換，並應以 0.5%~0.6 % 次氯酸鈉 (NaClO) 溶液處理一分鐘以上後清洗。

6. 移植時應使用全新盆鉢及栽培介質。移植後之定植苗應整齊排列於植床上，避免葉片重疊，並明確標示來源批號、移植日期及數量。
7. 建立管理紀錄，記錄定植苗之定植日期及病蟲害防治措施等資料。

七、病毒檢定種類、方法及收費標準：

(一) 病毒檢定種類：母本、瓶苗及定植苗所檢定之病毒種類，均為 CymMV 及 ORSV。

(二) 檢定方法：

1. 母本進行二次檢定，第一次檢定採用酵素聯結抗體免疫測定法(簡稱 ELISA)，通過之母本間隔一至二個月進行第二次檢定，第二次採用反轉錄聚合酶連鎖反



定植苗移植後整齊排列於植床上，標示批號、移植日期及數量。

- 應法(簡稱RT-PCR)。
- 2.瓶苗階段於母瓶建立時及子瓶出貨前各進行一次採樣檢定，瓶苗檢定均以RT-PCR檢定法。
 - 3.定植苗階段於出貨前1個月通知種苗場安排採樣，以RT-PCR法檢定。

(三)檢定費：

依樣品數及所採用檢定方法核計，每一樣品包含CymMV及ORSV二種病毒之檢定，採用ELISA者收取30元，採用RT-PCR者收取300元，並於採樣後核發病毒檢定結果通知前繳交。

八、驗證標準

為確保蝴蝶蘭組培分生種苗之母本來源係經檢定為符合無CymMV及ORSV病

毒及增殖過程管控病毒之傳播，訂定病毒感染分級標準。

(一) 瓶苗

- 1.母瓶瓶苗及其所增殖之子瓶瓶苗，經檢定均無CymMV及ORSV病毒。
- 2.符合之種苗發給蝴蝶蘭種苗病毒驗證證明書，驗證有效期限為發證日起三個月。

(二) 定植苗

- 1.定植苗來源為符合規定之瓶苗或定植苗。
- 2.檢測之病毒感染分級標準如下：
 - (1)特優：無CymMV及ORSV病毒。
 - (2)優良：所抽驗之樣品中CymMV或ORSV檢出率低於5%。

蝴蝶蘭種苗病毒驗證流程圖

