

菊花去病毒技術簡介

A brief introduction to techniques of virus elimination from *Chrysanthemums*

吳省寬¹、邱燕欣²、王慧如³、文紀鑾⁴

一、前言

菊花 (*Chrysanthemum x morifolium* Ramat. (pro sp.) (syn. *Dendranthema grandiflora*, *D. grandiflorum*)) 為菊科菊屬之宿根草本花卉，是臺灣重要切花及盆花材料。根據 106 年行政院農業委員會統計資料顯示，國內菊花栽培面積約為 648.5 公頃，產值達 11 億元，其中以彰化為主要產區，種植面積達 612 公頃。

菊花主要以扦插苗繁殖為主，首要挑選優良性狀的植株作為原種母本，在栽培管理過程，必須避免原種母本受到系統性病原如病毒、類病毒、真菌或是細菌感染，對於栽培各個環節包括人員、環境、水、介質進行管理，並定期進行病原檢定，因為繁殖母本若不慎感染植物病原，後續繁殖之扦插苗可能成為帶原者，嚴重可能影響切花品質或造成病原藉種苗進行長距離散播，造成產業栽培的隱憂。

據國際研究文獻指出，常見感染菊花病毒種類包含菊花嵌紋病毒 (*Chrysanthemum virus B*, CVB)、番茄種子不稔病毒 (*Tomato aspermy virus*, TAV)、番茄斑萎病毒 (*Tomato spotted wilt*

virus, TSWV) 等，類病毒種類則有菊花矮化病毒 (*Chrysanthemum stunt viroid*, CSVd) 和菊花褪綠綠斑駁病毒 (*Chrysanthemum chlorotic mottle viroid*, CChMVd) (Mitrofanova *et al.*, 2018)。植株若感染病毒或類病毒，除可能影響植株生長，也易表現出黃化 (圖 1)、簇生矮化等徵狀 (圖 2)，甚至影響花苞數 (圖 3)，病害嚴重發生時，不僅使得菊花產量與品質降低，同時亦造成花農棄園嚴重損失 (圖 4)，尤其類病毒如 CSVd 具耐熱特性，易於田間操作時，因摘除側芽的修剪刀具接觸傷口而交互感染或是病毒藉由媒介昆蟲 - 蚜蟲傳播 (圖 5)，植株遭受病毒或類病毒感染，無法以藥劑防治，一旦重要母本受到感染，除了重新田間篩選母本材料更新外，可藉由去病毒技術獲得無特定病原 (Specific Pathogen Free, SPF)，甚至是無病原 (Pathogen Free, PF) 的繁殖材料。

Milošević 氏等 (2012) 文獻指出現今去除病毒的技術包含 1. 莖頂生長點 (Shoot tip meristem)、2. 熱療處理 (Thermotherapy)、3. 化學藥劑處理 (Chemotherapy) 及 4. 超低溫保存 (Cryotherapy) 等方法，部分試驗會

¹ 種苗改良繁殖場繁殖技術課 聘用助理

² 種苗改良繁殖場繁殖技術課 助理研究員

³ 種苗改良繁殖場繁殖技術課 臨時人員

⁴ 種苗改良繁殖場繁殖技術課 副研究員兼課長

文獻報告

搭配多種去除病毒的技術，以達到較高的去病毒效力，然後再藉由病原檢測技術如血清診斷 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 或反轉錄聚合酶連鎖反應

(Reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR) 作進一步確認，因此，本文乃針對菊花去病毒技術進行介紹，藉以提昇菊花產業在國際間的競爭力。



圖 1. 杭菊受 CVB 病毒感染後，罹病植株 (A) 出現葉脈間黃化病癥，(B) 為無病毒感染之杭菊植株。



圖 2. 杭菊受病毒與類病毒複合感染後，出現簇生矮化病癥（箭頭處）。



圖 3. 杭菊受病毒感染後 (A)，與無病毒感染之植株比較 (B)，植株生長勢弱化外，影響花苞數。



圖 4. 病害嚴重發生之田區，農民棄園損失嚴重外，可能藏匿害蟲（病原）成為感染來源。



圖 5. 田間媒介昆蟲 - 蚜蟲傳播病原，造成病蟲害快速蔓延。

二、菊花去病毒技術

(一) 莖頂生長點 (Shoot tip meristem)

利用病毒在植物細胞移行方式及分佈不均的特性，在植物生長分裂旺盛的細胞組織中病毒含量較少，透過切取莖頂分生組織 (圖 6) 進行組織培養，達到去病毒的目的。去病毒材料可直接從田間取得或利用組培苗，經消毒後於解剖顯微鏡下操作，去除包覆葉片使莖頂組織裸露，技術上通常取莖尖越小，去病毒效果越好，但應用此方式之培植體大小與去病毒成功率成反比，但成活率呈正比，因此必須建立莖頂培養的最適培養配方，搭配熟練之操作技術，才得以獲得較佳的去病毒結果。

據尤氏等 (2013) 研究結果顯示 0.3-1.0 mm 培植體大小成活率為 6-90%，去病毒率則由 66.6% 降至 6.6%，若先以較大的莖頂 (0.7-1.0 mm) 培植體進行培養後，再切取較小莖頂進行培養 (0.3-0.7 mm) 培植體成活率則提升至 60%，且去病毒率提升至 43.3%。

(二) 熱療結合莖頂培養

(Themothepathy combined with meristem)

將植株或培養組織置於高溫環境，使病毒鈍化或完全失去活性，應用此方法結合莖頂組織培養技術，需考量進行處理之溫度、時間長短，過高過低等不適宜之溫度條件，除造成植株存活不利影響外，亦可能達不到去病毒之效果。

據 Jeon 氏等 (2012) 針對去除 CSVd 病毒之研究顯示，利用莖頂 (1-4 個葉原基) 於 37°C 熱療 2-4 週之培植體存活率為 35.5-

37.8%，去病毒率為 25.0-29.4%，隨熱處理時間延長，培植體存活比例隨之下降。

(三) 化學藥劑處理結合溫度處理

(Chemotherapy combined with temperature treatment)

選用抗病毒藥劑如 Thiouracil, Ribavirin 添加至培養基內，透過藥劑干擾病毒 DNA 或 RNA 合成，達到抑制病毒複製目的，抗病毒劑可結合莖頂培養，去病毒效果更佳，但抗病毒劑本身也影響組培苗生長，濃度過高反而造成苗株毒害死亡，使用前仍應進行處理時間及濃度測試。

依 Ram 氏等 (2005) 針對去除 CVB 病毒之研究顯示培養基添加 40 mg·dm⁻³ 之 2-Thiouracil 藥劑，可獲得 26.7 % 之去病毒培植體，如配合 38°C 熱療 4 周亦可獲得 12 % 之去病毒培植體。Savitri 氏等 (2013) 針對去除 CVB 病毒之研究顯示培養基添加 100 mg·L⁻¹ 之 Ribavirin 可獲得約 60% 去病毒培植體，如配合低溫處理 (4°C) 處理 3 週，則可獲得 100 % 之去病毒培植體。

(四) 超低溫冷凍保存處理

(cryopreservation)

超低溫保存處理原為植物遺傳資源長期保存方法，近年來農研機構當作新穎的方式利用於植物去病毒上，此法利用液態氮及低溫阻礙病毒感染途徑。據 Jeon 氏等人 (2016) 研究以超低溫保存處理配合組織培養技術，能獲得菊花無病毒苗，但操作該試驗必需考慮冷凍保存液成分、液態氮處理時間、培植體大小、低溫前處理，以及標地病原於植體內之含量等。

三、結語

去病毒技術雖各有其效果，然就單一之方法很難完全去除病毒，或需花費更長時間處理，因此針對不同作物應用去病毒技術需相互配合使用，以期達到較佳之去病毒效果，才能獲得無特定病毒之種苗，進而提供產業培育及量化繁殖。



圖 6. 菊花 - 卡洛琳品種之莖頂分生組織