

# 綠竹無病毒種苗 檢定方法

廖高宗

竹嵌紋病毒(*Bamboo mosaic virus*, BaMV)分類上屬於馬鈴薯病毒群(Potexvirus group)，病毒粒子為長絲狀，具單股核糖核酸(single-stranded RNA)基因體，核酸外有鞘蛋白包圍，且有附屬之衛星核酸(satellite RNA)和缺失性RNA(defective RNA)。此病毒嚴重危害台灣地區栽培之竹類作物，常見於綠竹、麻竹等竹園，若管理不善會造成竹筍產量減少及品質下降。

綠竹嵌紋病毒檢測常見方法有直接目測法、電子顯微鏡觀察法、抗血清檢定法、核酸檢測法及快速檢測試劑套組。直接目測法即為病徵診斷法，綠竹若感染BaMV，葉片會呈現黃綠相間的嵌紋典型病徵，竹桿及竹籜會出現褐色條紋，故又稱褐條病，竹筍組織木質化及產生黃褐色筍釘，筍籜也會出現褐色條紋。

電子顯微鏡觀察法是可以直接觀察到病毒顆粒外觀的方法，一般病毒顆粒大小是以奈米(nm)計算，例如：BaMV約為 $500 \times 15$ nm大小的長絲狀粒子。

抗血清檢定法是目前實驗室最普遍被採用檢測綠竹嵌紋病毒的方法，因為操作容易，可以在短時間內檢測大量樣品，其中又以酵素連結免疫法(ELISA)最常用。其原理是利用病毒鞘蛋白做為抗原，然後將純化病毒注入兔子等動物體內，經由免疫反應後產生初級抗體(抗血清)，再抽取兔子等動物血液製備抗血清。ELISA檢定步驟，首先將植株汁液固定在96孔盤中，再加入抗血清與病毒連結，最後加入呈色酵素與抗血清結合，若汁液中含病毒呈色劑顯示出黃色反應，且病毒量愈多色澤愈深，以上方法為直接酵素連結免疫法(direct ELISA)；另外還有間接酵素連結免疫法(indirect ELISA)，其檢定步驟中多加入二級抗體與初級抗體結合，因有放大作用而使病毒檢測更加靈敏，本場目前採用的主要檢測方法即為間接ELISA。

核酸檢測法是目前病毒檢測較新的方法，一般植物病毒多為RNA病毒，BaMV亦屬於RNA病毒，故必須以反轉錄聚合酶連鎖反應(reverse transcription

PCR, RT-PCR)進行檢測，一般而言RT-PCR比ELISA靈敏。目前已發展出最新的即時聚合酶連鎖反應(real-time PCR)，其檢測過程不用進行洋菜膠體電泳分析，檢測時間大量縮短，非常適合應用在植物病蟲害檢測上，但檢測材料及儀器昂貴為其缺點。



圖1.綠竹嵌紋病毒罹病株葉片呈現黃綠相間嵌紋典型病徵。

快速檢測試劑套組是針對作物特定病原所開發出的快速檢測方法，只要簡短數個步驟即可檢測出BaMV，可惜市場需求規模小，故目前已停產。



圖2.綠竹嵌紋病毒罹病株竹桿及竹籜出現褐色條紋，故又稱褐條病。



圖3.以綠竹心葉研磨取汁進行ELISA檢測。



圖4.自動酵素免疫分析儀讀取吸光值，呈黃色反應者為罹病株樣品。



圖6.本場建立綠竹無病毒健康種苗，定期做ELISA篩檢。

## 參考文獻

- 汪澤宏。2007。即時聚合酶連鎖反應(Real-time PCR)在植物病蟲害檢測上之應用。農政與農情181:104-106。
- 袁雅芬、簡怡文、鍾文全、張定霖、楊佐琦。2009。病毒檢測技術在種苗產業之應用。農政與農情204:77-84。
- 徐堯輝、胡仲祺、陳信宏、張世忠。2004。竹嵌紋病毒快速檢測試劑套組之開發與應用。農政與農情146:75-78。
- 徐堯輝、陳信宏。2007。竹嵌紋病毒診斷鑑定作業流程。動植物疫病害蟲診斷鑑定作業流程植物疫病。p.145-148。