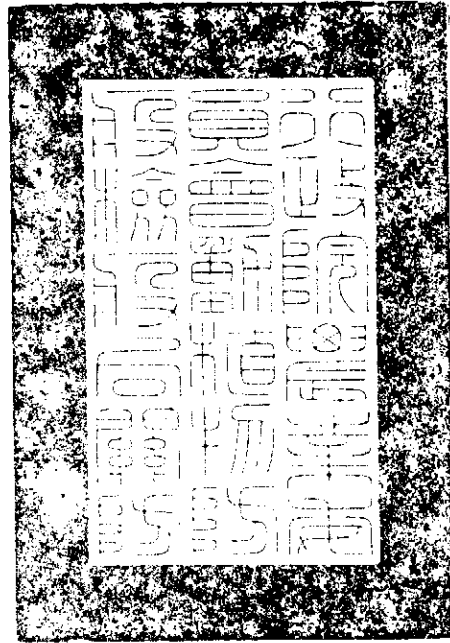


檔 號：  
保存年限：

# 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局 令

發文日期：中華民國95年4月28日  
發文字號：防檢三字第0951484298號  
附件：蝴蝶蘭種苗病毒驗證作業須知



訂定「蝴蝶蘭種苗病毒驗證作業須知」，並自即日生效。  
附「蝴蝶蘭種苗病毒驗證作業須知」。

副本：本局植物防疫組、秘書室法制科（均含附件）

局長 朱 華 聰

## 蝴蝶蘭種苗病毒驗證作業須知

一、行政院農業委員會動植物防疫檢疫局(簡稱防檢局)為防止病毒病藉由蝴蝶蘭種苗傳播蔓延，以提昇蝴蝶蘭種苗及其產品品質，特依據「植物種苗疫病蟲害驗證輔導要點」第三點訂定本須知。

二、本須知所稱蝴蝶蘭，指蘭科(Orchidaceae)中之蝴蝶蘭屬(*Phalaenopsis*)、朵麗蘭屬(*Doritis*)、朵麗蝶蘭屬(*Doritaenopsis*)與相關屬及其雜交種之植物。

所稱種苗，指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)。

所稱病毒，指會感染蝴蝶蘭之蕙蘭嵌紋病毒(*Cymbidium mosaic virus*，簡稱 CymMV)及齒舌蘭輪斑病毒(*Odontoglossum ringspot virus*，簡稱 ORSV)(附錄一)。

三、防檢局為辦理蝴蝶蘭種苗病毒驗證業務，委託行政院農業委員會種苗改良繁殖場(簡稱種苗場)為受理機關，負責申請案之受理及發證事宜；委託行政院農業委員會桃園區農業改良場、行政院農業委員會苗栗區農業改良場、行政院農業委員會臺中區農業改良場、行政院農業委員會臺南區農業改良場、行政院農業委員會高雄區農業改良場、行政院農業委員會臺東區農業改良場、行政院農業委員會花蓮區農業改良場及種苗場為檢查機關，負責繁殖圃之設置、操作管理及種苗查驗等檢查工作；委託行政院農業委員會農業試驗所或經防檢局認證核可之機關(構)為檢定機關，負責病毒之檢定工作。

四、申請驗證之種苗，包含瓶苗及定植苗。

申請瓶苗驗證者，應於母本進行初代無菌化分生繁殖前提出；申請定植苗驗證者，若源自瓶苗者，應於瓶苗出瓶定植前提出，若源自定植苗者，應於移植換盆前提出申請。

母本及各階段種苗之檢查時間，申請者應於申請書中載明。

五、申請種苗病毒驗證者應填具申請書，並繳交檢查費向受理機關提出申請。受理機關獲知檢查結果後，通知申請者繳交檢定費，始核發結果通知，符合規定之種苗另核發證明書。

六、各類繁殖圃設置及操作管理：

### (一) 母本保存園

1.設置條件：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設施內。

2.操作管理：

(1) 母本應在申請驗證前移入符合規定之母本保存園內。母本單株應標示品系並獨立編號，植株間不得相互接觸。

(2) 母本保存園應與其他培養場區隔，並嚴格控管人員出入，避免任何人為接觸造成感染之機會。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。

- (3) 培育過程中植株若需修剪或整理，使用之工具應經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。
- (4) 母本保存園應施行防治病毒媒介昆蟲及軟體動物之措施。
- (5) 母本保存園應建立管理資料，記錄母本之種植日期及病蟲害防治措施等資料，供檢查人員現場查驗時參考。

## (二) 組織培養場

1. 設置條件：生產瓶苗之組織培養場(簡稱組培場)，應具備高溫高壓消毒設備、置放瓶苗之培養空間、繁殖無病毒瓶苗之無菌操作台及相關儀器設備。
2. 操作管理：組培場管理人員應記錄母本之編號、瓶苗生產數量及批號。瓶苗各繁殖階段之管理應符合以下規定：
  - (1) 進入組織培養繁殖之初代培植體，應延續母本編號給與適當批號以利追蹤，各繼代增殖瓶苗亦同。屬於同一品系不同單株所誘發產生之培養植體，在母本擁有者與組培場雙方共識下，得混合成為單一母瓶或重複母瓶，並分別予以適當編號，其數目由雙方決定並告知受理單位，以為後續採樣之依據。
  - (2) 為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) 經檢定未測出病毒感染之母瓶瓶苗始得進行繼代增殖。
  - (4) 繁殖無病毒種苗之無菌操作台內所使用之工具應經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。
  - (5) 組培場應建立管理資料，以記錄母瓶及各繼代增殖子瓶瓶苗之移植日期等資料，供檢查員現場查驗時參考。

## (三) 定植苗培養場

1. 設置條件：申請定植苗病毒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。
2. 操作管理：
  - (1) 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全新或經消毒過後之單一容器為限，不同批號不得混用。
  - (2) 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。
  - (3) 移植操作應於消毒工作台上進行，並以新鮮配製之千分之五至千分之六次氯酸鈉溶液處理台面一分鐘以上，再以乾淨紙巾擦乾。
  - (4) 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，並應以千分之五至千分之六次氯酸鈉溶液處理一分鐘後清洗。

- (5) 瓶苗或定植苗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，且應依一般預防病毒傳播之要領進行栽培管理。
- (6) 定植苗培養場應建立管理紀錄，記錄定植苗之定植日期及病蟲害防治措施等資料，供檢查人員現場查驗時參考。

七、病毒檢定種類、檢查程序及檢查方法：

(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) 檢查程序及方法

1. 母本

- (1) 母本保存園之設置及操作管理應符合第六點第一款規定，經檢查人員檢查確認後，始得進行後續採樣檢定。
- (2) 檢查人員進行檢查時，除查證保存園設置及操作管理是否符合規定外，並以單株為單位，切取受檢植株之適當葉片及根部，置於封口塑膠袋中，標明植株號碼後送交檢定機關進行病毒檢定。採樣時各單株應使用單一工具。
- (3) 母本應進行二次檢定，間隔一至二個月，第一次檢定採用酵素聯結抗體免疫測定法(簡稱 ELISA)，第二次檢定採用反轉錄聚合酶連鎖反應法(簡稱 RT-PCR)。
- (4) 檢定機關應於完成檢定後五個工作日內，將結果通知檢查機關及受理機關。受理機關應於接獲檢定結果五個工作日內，通知申請者繳交檢定費，並於申請者繳費後核發結果通知。
- (5) 申請者應將各檢定階段確認感染病毒之母本立即移出保存園，檢查人員應擇期前往現場確認，未依規定移除感染母本者，即終止該申請案之後續驗證程序。

2. 瓶苗

- (1) 組培場之設置及操作管理應符合第六點第二款規定，經檢查人員檢查確認後，始得進行後續採樣。
- (2) 檢查人員以母瓶編號為單位，抽取各母瓶內瓶苗送交檢定機關進行病毒檢定，每一母瓶編號至少抽取一瓶，每一母瓶隨機抽取五個培植體混合為一個樣品，檢定方法採用 RT-PCR。
- (3) 檢定機關應於完成母瓶瓶苗檢定後五個工作日內，將結果通知檢查機關及受理機關。受理機關應於接獲檢定結果後五個工作日內，通知申請者繳交檢定費，並於申請者繳費後核發結果通知。組培場應於接獲結果通知後，立即將不符合分級標準規定之母瓶批號移除，始得進行符合分級標準規定批號之繼代增殖及後續驗證程序。
- (4) 申請者若委託不同組培場進行繼代繁殖，應於申請時註明，且繼

代繁殖組培場之設置及操作管理亦應先經檢查人員查證，符合第六點第二款規定者，始得進行後續驗證程序。

- (5) 組培場完成子瓶繼代繁殖後，應主動通知受理機關安排檢查時程。進行子瓶瓶苗之檢查時，檢查人員應核對合格母瓶編號，並抽樣送檢定機關進行檢定。每一編號至少抽取三個子瓶，每一子瓶逢機抽取五個培植體混合為一個樣品，檢定方法採用 RT-PCR。
- (6) 檢定機關應於完成檢定後五個工作日內，將結果通知檢查機關及受理機關，受理機關應於接獲結果後五個工作日內，通知申請者繳交檢定費，並於繳費完成後，始核發結果通知，符合規定之種苗另核發證明書。

### 3. 定植苗

- (1) 定植苗培養場之設置及操作管理應符合第六點第三款規定，經檢查人員檢查確認後，始得進行後續採樣檢定。採樣檢定時間由申請者自行預估並於申請書中載明，若有變動應立即通知受理機關。
- (2) 定植苗之檢查，由檢查人員抽樣送檢定機關進行檢定，定植苗其來源為符合規定之瓶苗或定植苗者，抽樣比例為千分之五，若其來源為未符合規定之定植苗，抽樣比例為百分之一，檢定方法採用 ELISA。
- (3) 檢定機關應於完成檢定後五個工作日內將結果通知檢查機關及受理機關，受理機關應於接獲結果後五個工作日內通知申請者繳交檢定費，並於申請者繳費後核發結果通知，符合規定之種苗另核發證明書。

## 八、驗證標準及有效期限：

### (一) 瓶苗

母瓶及其所增殖之子瓶瓶苗經抽樣後，以 RT-PCR 檢定確認無病毒感染者，發給瓶苗病毒檢定證明書。驗證有效期限為自發證日起三個月。

### (二) 定植苗

1. 定植苗來源應為符合本須知規定之瓶苗或定植苗，定植苗培養場之設置及操作管理應符合本須知之規定，並由檢查人員現場查驗確認。
2. 定植苗經檢查人員抽樣並送交檢定機關，依檢測結果符合病毒感染分級標準者，發給定植苗病毒檢定證明書，驗證有效期限為自發證日起三個月。檢定之病毒感染分級標準如下：
  - (1) 特優：所抽驗之樣品中未檢出 CymMV 及 ORSV。
  - (2) 優良：所抽驗之樣品中 CymMV 或 ORSV 檢出率低於百分之五。

## 九、收費標準：

- (一) 檢查費：每件申請案收取新臺幣一千元。
- (二) 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 者收取新臺幣三十元，  
採用 RT-PCR 者收取新台幣三百元。

前項費用之收支依照預算程序辦理。

十、防檢局為鼓勵蝴蝶蘭組培場及定植苗培養場申請種苗病毒驗證，得成立評選委員會，評選優良之「蝴蝶蘭種苗病毒驗證示範生產場」。

## 附錄一、受檢病毒基本資料

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

#### (一)病徵

感染 CymMV 之蝴蝶蘭有產生壞疽型病徵之傾向，病徵如黑色壞疽斑點(spots)及壞疽條紋(line patterns)等，產生之部位除葉部外，花部亦有可能出現壞疽而影響外觀。壞疽斑有時僅出現於葉片下表面，而不發生於上表面，故常被誤認為真菌感染所致。部分蘭屬感染 CymMV 後，亦會產生黃綠斑駁之嵌紋(mosaic)或黃化條斑型(chlorotic streak)病徵，惟有些蘭花種類於感染 CymMV 後並不表現任何可辨識病徵，此種現象特別常見於蝴蝶蘭及文心蘭。目前絕大多數市場熱門品系之蝴蝶蘭，即使已感染 CymMV，惟在苗期並不會表現病徵，通常至開花後植株衰弱時，病徵才逐漸顯現。雖然蘭株在生育旺期感染 CymMV 不表現病徵，但事實上其生育速度與植株大小可能都已受到抑制，對肥料之反應亦會較正常植株遲鈍。惟植株若發生 CymMV 與 ORSV 複合感染時，儘管處於生育旺期，仍會展現明顯病徵。根據血清學分析結果，此種複合感染病株體內病毒濃度遠比單獨感染之植株為高，因此特別具有傳染之危險性，蘭園中若複合感染之植株愈多，則病毒之傳播速度愈快。

#### (二)病毒特性及傳播方式

CymMV 為馬鈴薯 X 病毒屬 (*Potexvirus*)之成員，此屬病毒在細胞外之穩定性雖不及煙草嵌紋病毒屬，但亦為已知病毒屬中性質極為穩定之一屬。其顆粒體為稍可彎曲之桿狀，長度約 450 nm。細胞外耐熱度為 60-70 °C，在室溫下可存活 25 天。目前也尚未發現可以傳播 CymMV 之媒介昆蟲，其傳播途徑與 ORSV 完全相同，均藉由機械性傷口入侵及感染。

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

#### (一)病徵

根據文獻報告，可被 ORSV 感染之蘭花種類超過 20 個屬以上，不同之蘭屬或種所產生之病徵常有差異。ORSV 最早在 *Odontoglossum grande* 上被發現時，所記載之病徵為輪斑(ringspot)，此外嵌紋(mosaic)、斑紋(mottle)、黃化條紋(chlorotic streak)、花色條斑(color breaking)、甚至壞疽型(necrosis)等病徵，均有紀錄。一般而言，ORSV 在蝴蝶蘭上產生黃綠斑駁之嵌紋型病徵之傾向較 CymMV 為高，尤其單獨感染 ORSV 之蝴蝶蘭通常不會有壞疽型之病徵出現。惟有部分蝴蝶蘭品系單獨感染 ORSV 後並不表現病徵，

僅於開花後植株衰弱時才顯現病徵。此外，ORSV 與 CymMV 複合感染同一株蘭花後，會促使病徵加重，罹病組織內病毒濃度因相乘作用而大幅提高，此種病株具極高之傳染性。

## (二)病毒特性及傳播方式

ORSV 為煙草嵌紋病毒屬(*Tobamovirus*)之一員，顆粒體為短硬桿狀，長度約 300 nm。該屬病毒之共同特性為性質極穩定，在寄主細胞外耐熱性強，於高達 95°C 的溫度下，仍可存活相當時日。根據日籍學者之報告，ORSV 在 20°C 下，於細胞外可存活至少 10 年之久，為穩定性極高的傳染性病毒。本病毒只能經由機械性傷口入侵植物體內，在組織培養或田間栽培管理過程中，所有可能造成表面傷口之操作，包括傳接、修剪、切花甚至植株葉片間之摩擦，都可能是病毒入侵感染之途徑。截至目前，尚未證實 ORSV 可被任何專一性之媒介昆蟲傳播，但是栽培過程中任何可能在蘭株上造成機械性損傷之昆蟲或小型動物如蟑螂、蝸牛等，亦有促成 ORSV 病毒傳播之可能，應注意防範。



## 附錄二、蝴蝶蘭繁殖園設備及操作工具高溫消毒方法

蝴蝶蘭各級繁殖園之設備及操作工具之高溫消毒方法如下：

- 一、高溫高壓消毒法：利用高溫高壓殺菌釜在攝氏 121 度、15 磅下至少維持 15 至 30 分鐘。
- 二、乾熱消毒法：利用烘箱在 180°C 至少維持 1 小時。
- 三、濕熱消毒法：以沸水浸泡至少 15 分鐘。
- 四、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。