

食用紅甘蔗品質劣變原因之探討¹

III.紅甘蔗嵌紋病之無毒化

楊瓊儒 楊涌祚 鄭墨珠²

前 言

紅甘蔗種植地區遍佈全省，多年來由農民自理栽培，已普遍感染嵌紋病，此種病原是一種系統性病害，一旦感染之蔗種，隨著無性繁殖體，後代可繼續保持病原，紅甘蔗品質之退化，可能起因於此種病毒，國外曾報導紅甘蔗因此等病毒之為害，致使產糖量減少40% (Lee & Madalla 1922)⁽⁵⁾，Kunkel (1924)亦報導蔗莖收量因而減少78%⁽⁵⁾。

田間植株一旦感染嵌紋病，沒有有效的方法來防治它，利用無毒作的方法，推出大量的健株於田間，以期稀釋病株之數量，是此防治方法之前題。而為了達到無毒化的目的，最常用且有效的方法是熱療處理及生長點組織培養^(12,15)。

Rands & Dopp 將甘蔗嵌紋病株置於46°C，達到六個月之久，也不能除去此病毒⁽⁹⁾。Edgerton (1958)亦指出在不殺死蔗莖芽體的原則，無法破壞蔗莖中的病毒⁽⁹⁾。而Benda利用一系列溫度隔日溫湯浸種方法，可獲得健株，病苗以54.8，56.5，57.3及57.3°C或54.8，57.3，57.3及57.3°C溫浸，每日各處理七分鐘可使A、B和D系統之嵌紋病毒不活化，以54.8°C及55.8°C溫浸，每日處理10.5分鐘，可使H和I系統不活化⁽⁹⁾。為了探討此一系列溫浸法對紅甘蔗嵌紋病毒之不活化，是否有確效，故亦設計一系列的溫浸法試驗之。

利用頂端生長點組織培養，獲得無毒化健株，於甘蔗嵌紋病已見報告^(1,2,11)。本試驗之目的，欲利用此方法，以獲得紅甘蔗無毒化之健苗。

材料及方法

試驗材料：由埔里採集紅甘蔗梢頭部，其葉片皆呈黃白褪綠且有壞疽現象之嵌紋病，一部份供做溫湯浸種處理，一部份供做頂端生長點組織培養。

試驗方法：(A)溫湯浸處理：將梢頭部切成15~20公分長度，含有3~4個芽體，去除一部份苞葉，以高靈敏度之溫水浴槽浸種，由於處理時間短暫，僅為7~10.5分鐘，為了克服蔗莖收入浴槽時，會導致溫度稍微下降，立即倒入少許熱水，使溫度回昇至處理溫度。處理過程中，時時加以攪拌，以期水浴水之溫度均勻。每處理各重複40個，處理後，種植於鋪滿消毒過輕礫石之育苗箱內，長出小苗後，為防止蚜蟲再傳播嵌紋病，每隔10天噴灑75%歐松水溶性粉劑1,500倍稀釋液。

處理方式：(1)對照組：無溫湯浸種

(2)連續四天內，每天各以55，56，57及57°C處理七分鐘

(3)連續四天內，每天各以55，57，57及57°C處理七分鐘

(4)連續二天內，每天各以55，56°C處理10.5分鐘

(5)連續四天內，每天各以50，52，54及56°C處理七分鐘

(6)連續四天內，每天皆以54°C處理10分鐘

¹本文承臺灣省政府補助經費及本文第一作者承國科會70學年度獎助，謹誌申謝

²臺中區農業改良場助理研究員、副研究員及技術助理員

爲了了解各處理無毒化情形，由臺南區農業改良場朴子分場贈送玉米5號及11號種子，做爲指示植物。先調查各處理之心葉是否仍具有嵌紋病病徵，記錄之，並剪下心葉，在緩衝液(PH7.0)中，研磨成汁，以脫脂綿花沾取汁液，塗抹於灑有金剛砂之玉米葉片上，並標識之，接種一分鐘後，再水清水沖洗^(3,6,8)，將玉米苗置於網室內觀察，並定期噴灑殺蚜蟲劑。

(B)頂端生長點組織培養：將紅甘蔗梢頭部先以萬力可濕性粉劑1000倍稀釋液浸泡一小時，再種植於消毒過的輕礫石中，俟長出小苗後，以利刀片割取小苗，在無菌箱內環剝葉片，並於解剖顯微鏡下，以細注射針挑取出頂端生長點，大小約爲1~2mm，移至改良式Murashige及skoog 兩氏培養基中，置於28°C生長箱內，每日照光16小時，俟分化形成5~7公分小苗後，挖取出小苗，種植於消毒過的砂壤土中，保持適當濕度，成活後，再移植至網室內。

改良式Murashige及Skoog兩氏培養基⁽¹⁰⁾成分如下：

Murashige & Skoog mineral salts

Myo-Inositol 100mg/l

Nicotinic acid 0.5mg/l

Pyridoxine 0.5mg/l

Thiamine 0.1mg/l

NAA 1.0mg/l

Glycine 2.0mg/l

Sucrose 30g/l

Agar powder 10g/l

以0.2N KOH或0.2N HCl 調整PH值爲5.6

結果與討論

試驗結果顯示，所直用之溫湯浸種法，皆未能使紅甘蔗嵌紋病毒不活化，如再接再種於玉米葉片上，皆能呈現嵌紋病病徵，而且亦影響芽體之存活率，約爲65~77%

由於甘蔗芽體爲一種休眠狀態的植物體，故熱療處理的效果，主要是熱對病毒的影響，更重要的，在於植物體能忍受比病毒所能忍受的溫度更高，且更久的時間

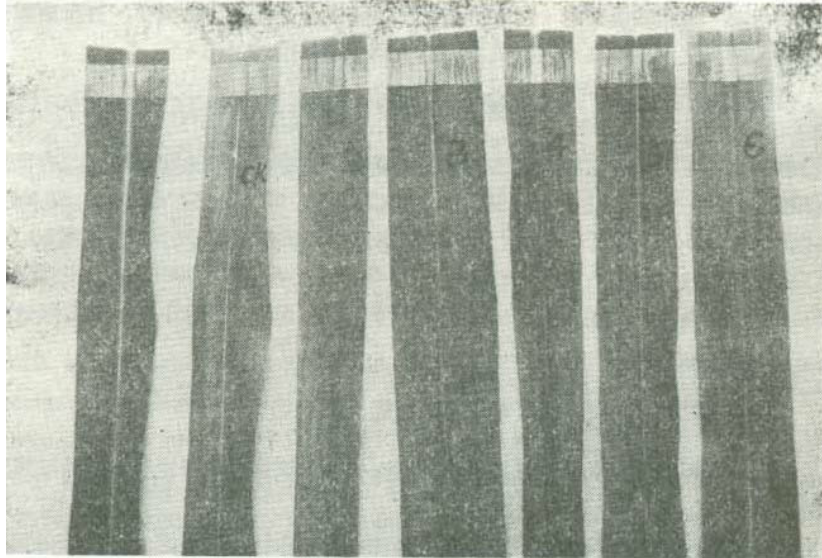
Benda所做的一系列溫度溫浸法，並不完全能使病毒不活化，例如Chunnee品系，以54.8，57.3，及57.3°C，每日處理十分鐘，可使D系統不活化者，有31%，但未能達到完全治療效果，而且甘蔗品系與病毒系統之間有所組合，亦即此種組合能影響病毒不活化的結果，例如：能達到不活化者，爲Chunnee品系—A、B、C系統；POJ234品系—A、B、I系統；CP52~68品系—H系統；CP69—402品系—D系統⁽⁹⁾。由此可見，試驗結果與病毒系統、寄主品系及(或)寄主—病毒之關係有所關連，這或許可以說明本試驗的溫浸處理未能使毒素不活化之因，甘蔗品系與病毒系統及二者之間相互組合皆能影響試驗結果。此Benda所供試的蔗莖爲單芽體，而本試驗則以3~4個芽體爲一單位，這可能亦會影響結果的表現。

目前已發表之嵌紋病毒有A、B、D、H、I及M等六個系統^(12,13,14)，本省則有A、B，A+B及D等四個系統，其中紅甘蔗嵌紋病多爲D系^(7,16)，而劉氏以另一種鑑定法，認爲紅甘蔗多屬於壤疽型病原⁽⁴⁾。這些系統之間，學者們亦發現它們對熱的忍受性有所不同⁽⁶⁾。

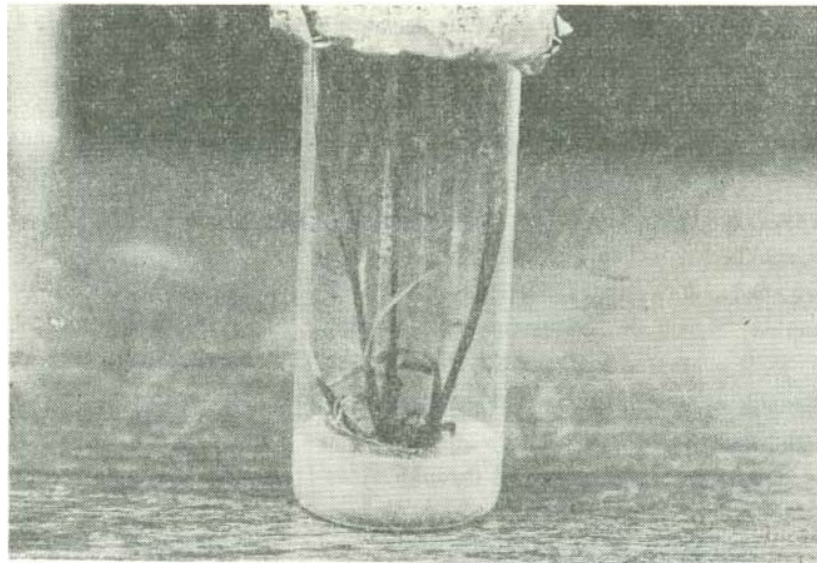
利用頂端生長點組織培養之方法，可獲得無嵌紋病毒之健株，如圖一、二所示，健株的葉片比較濃綠且不呈現嵌紋病病徵，而對照無處理病株或熱療處理者卻呈現淡黃白，間有綠色條斑，呈現嵌紋病病徵。

呂氏所用培養基爲添加25%椰子汁之Vacin及Went兩氏培養基，其成活率不高^(1,2)。Hendre等採用改良式White氏培養基，分化形成根部，如用含有GA₃、椰子汁及indole butyric acid之

液體培養基，則可使根部以上的部位生長⁽¹¹⁾。本試驗，採用改良式Murashige及Skoog兩氏培養基，大約3~5個月後，可形成5~7公分之小苗，但是組織塊分化過程中成活率亦不高，值得探討突破之。據呂氏報告，未能成活者，大多在生長初期或分化過程中，極易褐變⁽¹⁾。本試驗亦有相同的現象，可能是紅甘蔗本身含有某種物質與氧氣接觸後發生褐變，但加入活性碳(300mg/l)後，有所改善，且成活之植株生長勢較優，葉片較寬大。



圖一：紅甘蔗嵌紋病頂端生長點組織培養(T)與熱療處理(2~6)之比較
Fig 1 : Comparison between apical meristem culture (T) and hot water treatments (2-6) of edible sugarcane mosaic virus.



圖二：紅甘蔗頂端生長點組織培養
Fig 2 : Apical meristem culture of edible sugarcane

呂氏切取生長點組織片後，浸入7%漂白粉5分鐘，再移置三角瓶內之培養液⁽¹⁾。本試驗則完全不需要表面消毒，只要在無菌下，直接以無菌之細注射針挑取，移至培養基上，即可達到無菌的效果，不需再多一道消毒手續。

由於頂端生長點組織培養法，所得植株成活率極低，今後是否能利用熱療處理後的植株，挑取較大的生長點組織塊，加以培養，以提高成活率，目前正試驗中。

不可否認的，這些無毒化的植株種植於田間後，遲早會被再感染嵌紋病毒，又須以健株取代之，故建立一個檢疫苗圃，是相當重要的，所有的健株在這苗圃中不斷地大量繁殖，再推廣種植，淘汰病株，以大量的健株替換之，期使紅甘蔗品質再提高，為刻不容緩的工作。

摘 要

以溫湯浸種方式，下列任一處理皆無法使紅甘蔗嵌紋病毒不活化，且影響芽體之存活率，其處理分別如：連續四天內，每天各以(1)55，56，57，57°C(2)55，57，57，57°C(3)50，52，54，56°C處理七分鐘或(4)每天各以54°C處理十分鐘，及(5)連續二天內每天各以55，56°C處理10.5分鐘。

取紅甘蔗嵌紋病病株頂端生長點(1~2mm)，培養於加入活性碳(300mg/l)之改良式Murashige及Skoog兩氏培養基中，經3~5個月後，可分化形成5~7公皆小苗，且為無嵌紋病毒之植株。

參考文獻

1. 呂理榮，1972：應用頂端生長點培養及組織培養由甘蔗嵌紋病病株得健株，臺糖試驗研究彙報57：57~63。
2. 呂理榮，1978：利用頂端生長點及癒合組織培養法由感染系統性病害之甘蔗株得健株之研究，植保會刊20(1)：77~82。
3. 劉錫彬，1949：甘蔗嵌紋病人工接種法之比較研究，臺糖試驗研究彙報4：210~220。
4. 劉錫彬，1950：臺灣甘蔗嵌紋病病原之研究 I 生理型之鑑定，臺糖試驗研究彙報6：72~99。
5. 羅宗爵，1947：關於「甘蔗嵌紋病」問題，糖試1(15)：7~8。
6. Abbott, E. V. 1961. Mosaic. From "Sugarcane diseases of the world" Vol. 1, Elsevier Publishing company p. 407-430.
7. Annual Report 1978-79, Taiwan Sugar Research Institute 55pp.
8. Bain, D.C. 1944. The use of abrasives for inoculating sugarcane seedlings with the mosaic virus., *Phytopathology* 34 : 844-845
9. Benda, G.T.A. 1971. Control of sugarcane mosaic by serial heat treatment., *Int. Soc. Sugar Cane Technol. Proc.* 14 : 955-990
10. Gamborg, O.L. & Wetter, L. R. 1975. Plant tissue culture methods., Plant Biochemistry Section, Saskatoon, Saskatchewan, Canada
11. Hendre, R. R. ; Masarenhas, A.F. ; Nadgir, A.L. ; Pathak, M. & Jagannathan, V. 1975. Growth of mosaic virus-free sugarcane plants from apical meristems., *Indian Phytopath.* 28 : 175-178
12. Hollings, M. 1965. Disease control through virus-free stock., *Ann. Rev. Phytopathol.* 3 : 367-396
13. Koike, H& Gillospie, Jr. A.G. 1976. Strain M, a new strain of sugarcane mosaic virus., *Plant disease Repr.* 60(1) : 50-56
14. Lauden, L.L 1974. USDA finds new strain Mof mosaic virus in Louisiana., *Sugar Bulletin* 52 : 4

15. Nyland, G.&Gheen, A.C. 1969. Heat therapy of virus diseases of perennial plants. *Ann. Rev. Phytopath.* 7 : 331-354
16. Poon, S. Y. & Kuo, T.T. 1980. Plant pathology in Taiwan P.56-57 National science council R.O.C

Disease Control of Edible Sugarcane Mosaic Virus through Virus Free Stock

C. R. Yang, Y. Z. Yang, M. C. Cheng⁽¹⁾

Summary

The results of the hot-water treatments showed that edible sugarcane mosaic virus was not inactivated by 7-min. treatments at daily intervals at temperatures of 55, 56, 57 and 57°C, respectively, or 55, 57, 57 and 57°C, respectively, or 50, 52, 54 and 56°C, respectively for four days. Neither did by 10-min. treatments at daily intervals at temperature of 54°C for four days, nor by 10.5-min. treatments at temperatures of 55°C and 56°C for two days.

However, the mosaic virus-free edible sugarcane seedling was obtained by apical meristem culture in which an excised apical dome (1-2mm) was cultured on modified Murashige and Skoog medium supplemented with active carbon (300mg/l).

(1) Assistant Specialist, senior specialist, assistant, Taichung District Agricultural Improvement Station, Taichung, Taiwan, R.O.C.