馬鈴薯種薯供應試驗

(第二報)馬鈴薯X毒素病抗血清之製造及力價之檢定

郭　國　柱

一、前　言

馬鈴薯種薯之生產最重要的問題是如何來控制毒素病的發生，如能避免毒素病之傳染，所產之種薯就可以說是優良種薯了。在多種馬鈴薯毒素病中以X毒素病最爲普遍，也最麻煩，因爲植株感染該種病毒後，常不易顯出病徵，因此人工淘汰困難，而引起該病之蔓延，以接種方法雖然可檢出染病植株，但手續較煩雜，所需時間較長，所以不甚理想；因此目前多用抗血清來檢定，這種方法比較簡單，馬上可以檢別，並且相當正確。

二、抗血清之製造

(1) X Virus 汁液（抗原）：將男爵種馬鈴薯縮葉毒素病(Rugose mosaic)罹病病株葉片摘下搾液後用紗布過濾，裝入薄壁之玻璃試管，置於60°C溫水內10分鐘，使汁液中YVirus 不活性化，將此液以摩擦法接種於蕃茄，感染之蕃茄作爲 X Virus 之給源。

(2) 注射材料：將上述之感染蕃茄嫩葉搾液後，以 Bowden and Pirie 法，精製後供爲應用。

(3) 家兎之注射：於民國49年12月22日將購買之家兎4隻（每隻2～3公斤左右）開始第一次注射，即每隻使用精製液 2cc 由耳靜脈注射後，每隔7天使用精製液 3cc 注射到第四次，第四次注射後5天即於1月17日，採一份血液（由心臟抽出）檢定其免疫力價，於1月19日第五次之注射。（家兎4隻中1隻於1月16日死去剩3隻）

(4) 血清之製造：第五次注射後6天，即於1月25日以頸動脈抽血法抽出全血，3隻總採血量250cc，經精製後得血清 120cc，以防腐爲目的加二萬分之一之 Merzonin 後，裝入 2cc Ample 內，貯藏於冰箱（約1°C）以供應用。

三、製造之抗血清免疫力價之檢定

爲了明瞭所製造之抗血清之力價，用日本製造之抗血清爲對照作檢定。

(1) 抗原價之檢定：

a. 使用之抗原：利用男爵種馬鈴薯將其葉片搾出汁液，凍結16小時後溶解，再以離心機經過3,000 r.p.m. 30分鐘分離後倒出清澄汁液，以下列稀釋倍數用生理食鹽水稀釋，供爲檢定之用。

b. 使用之抗血清：使用本所製造之抗血清及日本製造之抗血清以生理食鹽水稀釋爲16倍供試驗之用。

c. 檢定方法：將各種稀釋濃度之抗原液 0.25cc 加抗血清 0.25cc（另使用生理食鹽水爲對照），兩液混合後置於37°C溫水2小時，第一次檢查，後置於3～5°C之冷室經過4小時，第二次檢查；再經過16小時後檢查第三次，檢查時使用凝集鏡 (Agglutinoscope) 檢視混合液之絮狀沈降物之情形。

d. 檢查結果：

檢定次別	抗原稀釋倍數 / 抗血清來源	2	4	8	16	32	64	128	256	512	CK
第一次	日本(16倍稀釋數)	+	?	—	—	—	—	—	—	—	—
	本所(16倍稀釋數)	+	?	—	—	—	—	—	—	—	—
第二次	日本(16倍稀釋數)	++	+	+	?	—	—	—	—	—	—
	本所(16倍稀釋數)	++	+	+	?	—	—	—	—	—	—
第三次	日本(16倍稀釋數)	+++	+++	++	++	+	+	?	—	—	—
	本所(16倍稀釋數)	+++	+++	++	++	+	+	?	—	—	—

按上表在第一次即兩液混合後置於 37°C 溫水 2 小時檢查，其抗原稀釋到 2 倍時亦可看到稍有沈澱，稀釋到 4 倍時似有一點沈澱，但似有可疑，在第二次即第一次檢查後置於 3～5°C 之冷室，經過 4 小時檢查，結果稀釋 2 倍其沈澱較多，稀釋 4 倍及 8 倍者稍有沈澱，稀釋16倍者似有一點沈澱，仍似有疑問，在第三次即第二次檢查後，繼續置於 3～5°C 經過16小時檢查，結果稀釋 2 倍及 4 倍者沈澱甚多，稀釋 8 倍及16倍，澱較多，32倍及64倍者稍有沈澱，稀釋 128 倍者似有一點沈澱，仍似有疑問。

(2) 抗血清免疫力價之檢定：

a. 使用之抗原：使用在上項所用之男爵種葉片精製搾取，使用時不稀釋。

b. 使用之抗血清：使用本所製造之血清及以日本製造之血清爲對照，使用時以生理食鹽水稀釋。

c. 檢定方法：將各種稀釋濃度之抗血清 0.25cc，加抗原 0.25cc（另用食鹽水爲對照），兩液混合後置於 37°C 溫湯 2 小時後檢查第一次，後置於3～5°C之冷室經過 4 小時檢查第二次，再經過16小時後檢查第三次，檢查時使用凝集鏡 (Agglutinoscope) 檢視混合液之絮狀沈降物之情形。

d. 檢定結果：

檢定次別	抗血清稀釋倍數 / 抗血清之來源	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	CK
第一次	日本	++	++	++	+	+	+	?	—	—	—
	本所	++	++	++	+	+	+	?	—	—	—
第二次	日本	+++	++	++	++	+	+	+	?	—	—
	本所	+++	++	++	++	+	+	+	?	—	—
第三次	日本	+++	+++	++	++	++	+	+	+	?	—
	本所	+++	+++	++	++	++	+	+	+	?	—

按上表在各種稀釋倍數本所製造的和日本製造的反應均相等。

即在第一次檢查時，兩種抗血清稀釋 4 倍、8 倍及16倍者沈澱較多，32倍、64倍及 128 倍者稍有沈澱，256倍者似有一點沈澱，512倍及 1,024 倍者和對照者即無沈澱，於第二次檢查時兩種抗血清稀釋 4 倍者沈澱甚多，8 倍、16倍及32倍者次之，64倍、128 倍及 256倍者均稍有沈澱，512倍者似有一點沈澱，1,024 倍者和對照者即無沈澱，第三次檢查時亦以兩種抗血清稀釋 4 倍及 8 倍者沈澱甚多，16倍、32倍及64倍者次之，128倍、256倍及 512倍者稍有沈澱，1,024倍者似有一點沈澱，對照者即無沈澱。

(3) 討　論

在本所製造之X毒素病抗血清，以男爵種葉汁檢定其力價結果，於每次檢定均與日本製造之抗血清反應相同，並在第三次檢定時，稀釋 512 倍尙可檢出有沈澱，可謂本所製造之X毒素病抗血清不遜於日本製造者，並可實際應用。

四、摘　　要

爲利用抗血清檢定馬鈴薯X毒素病，而利生產優良馬鈴薯種薯起見，於1961年（民國50年）1月在本所製造馬鈴薯X毒素病抗血清，結果得精製血清 120cc，並爲了明瞭該抗血清之免疫力價，使用男爵種馬鈴薯葉汁，並以日本製造之同樣之抗血清以沈澱反應作比較結果，兩種抗血清反應均相同，卽可證明本所製造之抗血清甚有應用價值。

EXPERIMENT ON SEED POTATO PRODUCTION (2) THE PREPARATION AND TEST OF ANTISERUM TO POTATO VIRUS X

by

K. C. KUO

SUMMARY

The utilization of antiserum has been recognized as an easy and effective method to find latency potate virus X.

The author prepared 120 c. c. of antiserum by Bowder and Pirie method, furthermore compared its efficiency with products of Japan, and the result may be satisfied.