

五、種子(苗)病理研究

一)組織培養瓶內苗病原檢測技術之建立

楊佐琦、蕭芳蘭

彩色海芋軟腐菌對組織培養瓶內苗之影響

彩色海芋生育期間常受軟腐菌 (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*; 簡稱為Ecc) 感染導致嚴重損失，為彩色海芋栽培上的主要限制因子。種球為軟腐菌的重要感染源，至於組織培養瓶內苗是否為感染源有待研究。故利用NA培養基培養Ecc代號ER5、ZL1等兩支菌株，以人工接種法接種到彩色海芋組織培養瓶內，結果發現，彩色海芋組織培養之母瓶、增殖瓶、發根瓶的培養基均適合Ecc生長、繁殖，而且Ecc接觸到組織培養瓶內苗的葉、莖或莖基部，於25°C、照光16小時、黑暗8小時的環境中，一星期內可侵入植株並迅速蔓延，造成瓶內苗整株軟腐，故Ecc無法在彩色海芋瓶內苗潛伏感染，一旦感染經過一星期便可用肉眼判斷出來。(圖5-1)

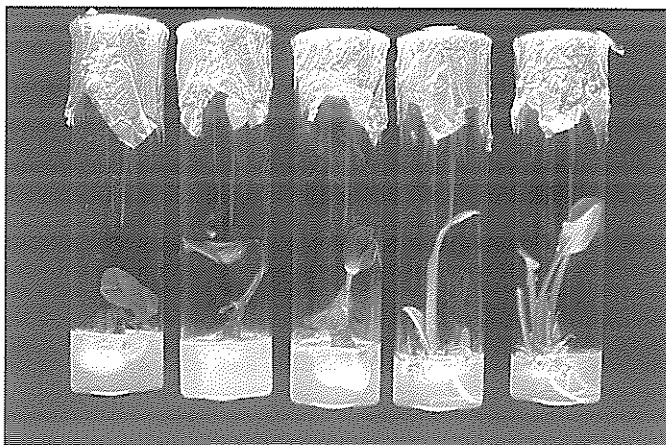


圖5-1、彩色海芋組織培養瓶內苗接種軟腐菌發病情形，左三瓶接種軟腐菌，右二瓶為對照組



圖5-2、蝴蝶蘭組培苗之葉片出現黃條斑之病毒病徵，經ELISA法確定為ORSV與CyMV之複合感染

以ELISA法偵測蝴蝶蘭培瓶內苗 (stage III) 與定植苗之ORSV與CyMV感染情形，結果除'K06805'為健康品種外，其餘五品種在組培瓶內苗與定植苗皆有二病毒之複合感染反應；另外測定組培瓶內苗之病毒分佈位置，根部病毒濃度較葉片高，為較佳取樣部位。在定植後7月測定比定植後4月測定之病毒濃度高，此可能與溫度高低有關，低溫狀況下，病毒分佈較一致與病毒濃度較穩定，檢測時較準確。(圖5-2)

二)種苗品質檢定技術之開發與認證體系之研究

楊佐琦、蕭芳蘭

完成2項委辦相關計畫，「彩色海芋新病毒病害之偵測技術開發與應用」已完成彩色海芋嵌紋病毒 (ZaMV) 鞘蛋白之選

殖、細菌表達fusion protein之純化，製成病毒抗血清，同時提供本場10ml之抗血清供彩色海芋品質認證用。「蝴蝶蘭與彩色海芋細菌性軟腐病菌鑑定與偵測技術之開發與應用」則已蒐集不同之細菌性軟腐病菌種，篩選、建立PCR分析用之專一性引子對，可明顯區分Ecc與Ech。(圖5-3)

調查蝴蝶蘭、文心蘭、百合與彩色海芋之病毒發生情形，建立蝴蝶蘭、文心蘭自母

本、組培苗與移植苗之ORSV、CyMV血清檢查技術、光學顯微鏡偵測技術與RT-PCR檢測技術等；建立彩色海芋自母本、組培苗與移植苗之DsMV、CMV與ZaMV血清檢查方法；以及百合自母本、組培苗與移植苗之CMV、LSV、LVX與TBV(LiMV)之血清檢查方法，供生產健康種球(苗)之HACCP控管用。

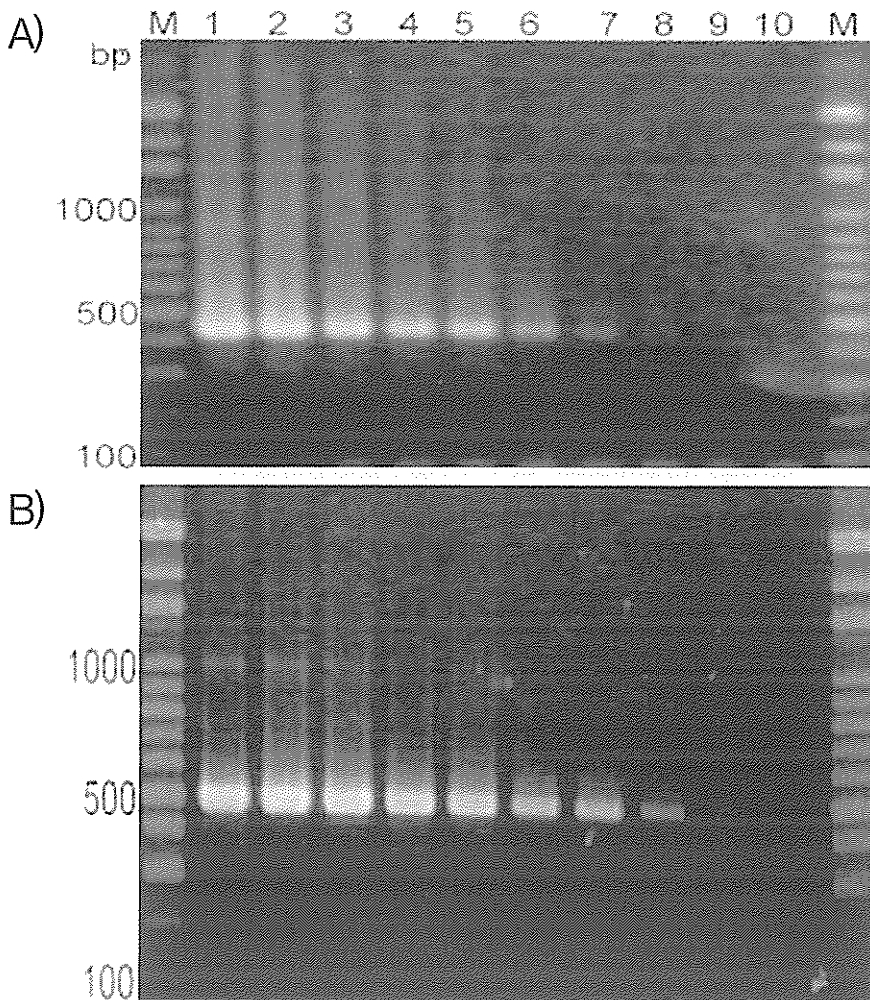


圖5-3、利用引子對5A/5B及Y1/Y2之聚合酵素連鎖反應偵測軟腐病菌*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ZL1或*Erwinia chrysanthemi* Sph1菌株全DNA之靈敏度

三) 無病毒豇豆種子推廣與品質 認證建立

楊佐琦、詹竹明、黃天民

無病毒豇豆原原種繁殖：於32目網室中繁殖豇豆種子，生產期間以血清法及病徵檢查法等控管病毒病害、真菌性病害與蟲害等，更新篩選出優良之原原種供採種用。

無病毒豇豆採種田繁殖：於32目網室中繁殖，並依長豇豆病蟲害防治曆及採種相關

程序，繁殖合格之豇豆種子1086公斤。無病毒豇豆種子推廣地區：屏東縣里港、高樹、鹽埔鄉，高雄縣美濃鎮、彌陀鄉與彰化縣埤頭鄉等計154.6公頃。(表5-1)

已建立各主要病蟲害-BICMV、CMV、煤黴病、白粉病、萎凋病、鱗翅目害蟲、潛蠅、薊馬、葉蟬等之主要監控點(critical check point)與各種容許標準，供品質認證用。

表5-1、90年度無病毒豇豆種子之分配與實際推廣面積

鄉	鎮	開會分配面積 (公頃)	實際推廣面積 (公頃)
屏東縣	高樹鄉	30	20
	里港鄉	70	61.6
	鹽埔鄉	22	22
	九如鄉	12	12
	屏東市農會	4	4
高雄縣	彌陀鄉	5	3
	大樹鄉	10	5
	美濃蔬菜生產合作社	6	5
彰化縣	埤頭鄉	20	20
	嘉鹿果菜生產合作社	2	2
合計		181	154.6