

四、種子(苗)病理研究

一 孤挺花、山藥、芋等之特定病原之病理性指標與檢查技術建立

楊佐琦、蕭芳蘭

1. 酵素連結抗體免疫吸附法

間接法 (indirect ELISA) 檢測山藥、芋病毒：利用 indirect ELISA 的測試方法，當檢測樣品的 ELISA 讀值高出負對照組 2 倍以上時，即為正反應 (表 4-1)。得知山藥中，宜蘭原生種 8 株含有健康 1 株、1 株有 DsMV 血清反應、1 株有 TuMV 血清反應、2 株有 DsMV+TuMV 血清反應、1 株有 DsMV+POTY 血清反應、1 株有 DsMV

+TuMV+POTY 血清反應及 1 株有 ZaMMV+TuMV+POTY 血清反應。花蓮 3 號 6 株有 4 株有 DsMV 血清反應、1 株有 DsMV+CMV 血清反應及 1 株有 DsMV+TuMV 血清反應。台農 2 號 3 株有 1 株有 TuMV+POTY 血清反應、1 株有 ZaMMV+DsMV+TuMV+POTY 血清反應及 1 株有 ZaMV+ZaMMV+DsMV+CMV+TuMV+POTY 血清反應。陽明山刺薯 8 株有 1 株有 DsMV 血清反應、2 株有 TuMV 血清反應、1 株有 DsMV+TuMV 血清反應、2 株有 ZaMMV+TuMV+POTY 血清反應、1 株有 ZaMV+ZaMMV+TuMV+POTY 血清反應及 1 株有 ZaMMV+DsMV+CMV+TuMV+POTY 血清反應。名間長虹 4 株有健康 1

表 4-1、山藥病毒 (ELISA) 發生調查

地區	品種	樣品數	病毒血清反應樣品數								
			DsMV-T	DsMV-FL	DsMV-Agd.	ZaMV	ZaMMV	Poty	TuMV	CMV	無
種苗場	宜蘭原生種	39	-	-	9	0	1	3	6	0	27
種苗場	花蓮3號	35	-	-	12	0	0	1	9	1	21
種苗場	台農2號	33	-	-	32	1	6	31	33	7	0
種苗場	陽明山刺薯	10	-	-	4	1	4	4	9	1	0
種苗場	名間長虹	27	-	-	26	0	0	4	25	0	1
種苗場	中埔紅薯	32	-	-	29	1	2	6	32	1	0
種苗場	大汕	25	-	-	21	2	7	6	24	1	0
種苗場	銀杏薯	6	6	0	6	0	0	6	2	0	0
種苗場	日本長形山藥	10	1	0	2	0	0	0	0	0	8
種苗場	恆春山藥	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
種苗場	山藥(小)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
種苗場	山藥(大)	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
合計		220	8	0	142	5	20	61	140	11	59

- : 為無使用該血清檢驗

株、1株有DsMV血清反應、1株有DsMV+TuMV血清反應及1株有DsMV+TuMV+POTY血清反應。中埔紅薯 6株有2株有TuMV+POTY血清反應、2株有DsMV+TuMV+POTY血清反應、1株有ZaMV+ZaMMV+TuMV+POTY血清反應及1株有ZaMMV+DsMV+CMV+TuMV+POTY血清反應。大汕10株有1株有TuMV血清反應、1株有DsMV+TuMV血清反應、1株有TuMV+POTY血清反應、1株有ZaMMV+DsMV血清反應、1株有ZaMV+ZaMMV+TuMV血清反應、2株有ZaMMV+DsMV+TuMV血清反應、1株有ZaMMV+TuMV+POTY血清反應、1株有DsMV+TuMV+POTY血清反應及1株有ZaMMV+DsMV+TuMV+POTY血清反應。銀杏薯6株含4株有DsMV+POTY血清反應及2株有DsMV+TuMV+POTY血清反應。日本長形山藥10株含有健康8株、2株有DsMV血清反應。恆春山藥1株為健康。山藥(小)1株為健康。山藥(大)1株有DsMV血清反應。赴屏東縣高樹鄉、高雄縣甲仙鄉、台中縣后里鄉、大甲鎮、苗栗縣公館鄉等產區採樣，以酵素連結抗體免疫測定法

(ELISA) 檢測病毒種類，田間病毒感染情形調查結果，以DsMV發生率最高，台中縣達39/175；苗栗縣則為88/180；屏東縣亦以DsMV發生率最高達94/200，但這些地區皆有健康之芋頭植株之出現平均達50%。其中偶有蕪菁嵌紋病毒 (Turnip mosaic virus) 及胡瓜嵌紋病毒 (Cucumber mosaic virus) 之零星發生。后里鄉公館村芋頭20株含有健康10株，8株有DsMV血清反應及2株有DsMV+POTY血清反應。外埔真子村芋頭30株含有健康21株，4株有DsMV血清反應及5株有DsMV+POTY血清反應。大甲鎮義和三街芋頭40株含有健康27株，4株有DsMV血清反應，8株有DsMV+POTY血清反應及1株有ZaMV+DsMV+POTY血清反應。大甲鎮重義二街芋頭10株含有健康9株及1株有ZaMV+DsMV+POTY血清反應。后里鄉泰安村芋頭60株含有健康57株，1株有DsMV血清反應，1株有DsMV+POTY血清反應及1株有DsMV+CMV血清反應。大和芋25株有健康1株，1株有POTY血清反應，13株有DsMV+POTY血清反應及10株有ZaMV+DsMV+POTY血清反應(表4-2 4-5)。

表4-2、台中縣芋頭栽培區病毒發生調查

地 區	品 種	樣品數	病毒血清反應樣品數									
			DsMV-T	DsMV-FL	DsMV-Agd.	ZaMV	ZaMMV	Poty	TuMV	CMV	無	
后里泰安A	檳榔心	15	8	2	6	0	0	9	9	5	5	
后里公館	檳榔心	20	6	0	1	0	0	0	0	0	8	
后里泰安B	檳榔心	60	2	1	4	0	0	2	7	0	50	
外埔真子村	檳榔心	30	11	1	4	0	0	2	3	0	12	
大甲-義和三街	檳榔心	40	11	6	9	1	0	9	8	0	22	
大甲-重義二街	檳榔心	10	1	1	1	1	0	1	0	0	9	
合 計		175	39	11	25	2	0	23	27	5	106	

表4-3、苗栗縣公館鄉地區芋頭栽培區病毒發生調查

地 區	品 種	樣品 數	病毒血清反應樣品數								
			DsMV-T	DsMV-FL	DsMV-Agd.	ZaMV	ZaMMV	Poty	TuMV	CMV	無
福基村	高雄1號	50	21	1	21	0	0	8	0	0	22
石牆村	高雄1號	50	18	4	31	0	0	4	4	0	21
石牆村	檳榔心	20	1	1	1	0	0	1	0	0	19
館南村	高雄1號	40	17	3	27	0	0	3	14	0	11
館東村	高雄1號	20	3	2	8	0	0	2	7	0	7
合 計		180	60	11	88	0	0	18	25	0	80

表4-4、日本進口大和芋病毒發生調查

地 區	品 種	樣品 數	病毒血清反應樣品數								
			DsMV-T	DsMV-FL	DsMV-Agd.	ZaMV	ZaMMV	Poty	TuMV	CMV	無
斗南	大和芋	11	10	10	10	5	0	11	2	0	0
合 計		11	10	10	10	5	0	11	2	0	0

表4-5、屏東縣高樹鄉芋頭病毒發生調查

地 區	品 種	樣品 數	病毒血清反應樣品數								
			DsMV-T	DsMV-FL	DsMV-Agd.	ZaMV	ZaMMV	Poty	TuMV	CMV	無
廣福村	高雄一號	40	3	3	3	0	0	3	3	0	35
泰山村	高雄一號	40	18	1	23	0	0	4	11	0	17
舊庄村	檳榔心	40	8	0	11	0	0	6	3	0	27
高樹村	檳榔心	40	31	3	36	0	0	10	11	0	4
舊寮村	檳榔心	40	16	1	21	0	0	3	5	0	17
合 計		200	76	8	94	0	0	26	33	0	100

1. DsMV-T : Dasheen mosaic virus (DsMV) 抗血清來自台灣大學張雅君教授，病毒分離自海芋分離株。
2. DsMV-FL : DsMV抗血清來自美國佛羅里達大學F.W. Zettler教授，病毒分離自彩葉芋分離株。
3. DsMV-Agd. : DsMV抗血清購自美國Agdia公司，病毒分離自芋頭分離株。
4. ZaMV : Zantedeschia mosaic virus (ZaMV) 抗血清來自台灣大學張雅君教授，病毒分離自海芋分離株。
5. ZaMMV : Zantedeschia mild mosaic virus (ZaMMV) 抗血清來自台灣大學張雅君教授，病毒分離自海芋分離株。
6. Poty : 抗血清購自美國Agdia公司，對Potyvirus之病毒有通用反應。
7. TuMV : Turnip mosaic virus (TuMV) 抗血清購自美國Agdia公司。
8. CMV : Cucumber mosaic virus (CMV) 抗血清來自美國佛羅里達大學F.W. Zettler教授

表4-6、文心蘭繼代培養之增殖倍率與病毒檢測統計表

接種 繼代代數		O 倍率	C 倍率	O+C 倍率	O-P 倍率	C-P 倍率	O+C-P 倍率	CK 倍率	
每月 繼代	R1	1.4	1.1	1.7	2.3	1.6	1.1	1.0	O: 文心蘭萃取之ORSV C: 文心蘭萃取之CyMV
	R2	2.0	1.9	1.8	2.0	2.9	3.8	1.9	
一次	R3	1.1	1.0	1.3	1.4	1.0	1.4	1.2	O+C: 文心蘭萃取之ORSV 與CyMV複合感染
	R4	2.0	2.0	2.0	2.0	2.5	1.5	2.5	
	R5	2.3	2	1.8	1.8	1.8	1.9	1.5	
二月 繼代	R6	1.3	1.6	2.3	2.1	2.6	2.2	2.3	O-P: 蝴蝶蘭萃取之ORSV C-P: 蝴蝶蘭萃取之CyMV
	R7	2.3	2	1.8	1.8	1.8	1.9	1.5	
一次	R8	2.1	2.5	2.3	1.7	2.0	2.5	2.2	O+C-P: 蝴蝶蘭萃取之 ORSV與CyMV複合感染 CK: 對照組
	R9	1.9	1.7	1.9	2.0	2.3	2.0	1.7	
	R10	1.3	2.3	1.8	1.8	2.0	2.4	2.3	
	R11	1.7	1.1	1.9	1.4	1.8	1.5	1.6	
二個月繼代一 次平均倍率		1.77 ^b	1.87 ^{ab}	1.83 ^{ab}	1.80 ^b	2.08 ^a	2.10 ^a	1.95 ^{ab}	ELISA-O: 受檢植株經ELISA 檢測具ORSV反應之比例 ELISA-C: 受檢植株經ELISA 檢測具CyMV反應之比例

2. 生物檢定法 (指示植物接種法)

選取宜蘭原生種 (#4、#5及#7)，花蓮3號 (#10、#11及#12)，台農2號 (#15)，陽明山刺薯 (#19、#20及#21)，中埔紅薯 (#30和#32)為接種源，分別接種於紅藜、珪藜、番杏及千日紅上。接種後14天觀察並無發現病徵。之後將接種之葉片採取進行indirect ELISA也無正反應出現。至於取日本長形山藥 (#34)、山藥 (大) (#43)為接種源，分別接種於菸草、曼陀蘿、海芋BM、海芋PP及千日紅上。接種後14天後觀察，發現長形山藥 (#34) 接種於菸草病徵為微嵌紋，接種於曼陀蘿為嚴重局部病徵，接種於海芋BM為嵌紋病徵，接種於海芋PP為黃斑嵌紋，接種於千日紅則無病徵。山藥 (大) (#43) 接種於菸草為嵌紋

病徵，接種於海芋BM為黃斑嵌紋病徵，接種於海芋PP為黃斑嵌紋病徵，接種於千日紅及曼陀蘿則皆無病徵。之後將接種之葉片採取進行indirect ELISA測試，結果發現長形山藥 (#34) 接種於草無病毒反

表4-7、山藥接種指示植物病徵調查

接種植物	接種源 ^a	
	日本長形 山藥 #34	日本長形 山藥 #43
菸草	mM	M
千日紅	-	-
曼陀蘿	SLL	-
海芋 (BM)	M	黃斑嵌紋
海芋 (PP)	黃斑嵌紋	黃斑嵌紋

a: —為接種但無病徵；M為嵌紋；Mm為微嵌紋；SLL為嚴重局部病徵。

應，接種於千日紅有POTY血清反應，接種於曼陀蘿有CMV+POTY+TuMV血清反應，接種於海芋BM有POTY+TuMV血清反應，接種於海芋PP則無病毒反應。山藥(大)(#43)接種菸草無病毒反應，接種於千日紅有POTY血清反應，接種於曼陀蘿、海芋BM及海芋PP皆無病毒反應(表4-7)。

3. 山藥、芋頭病毒RNA之抽取及反轉錄聚合瓷連鎖反應(RT-PCR)

抽取宜蘭原生種(#4、#5、#7)，花蓮3號(#10、#11、#12)，台農2號(#15)，陽

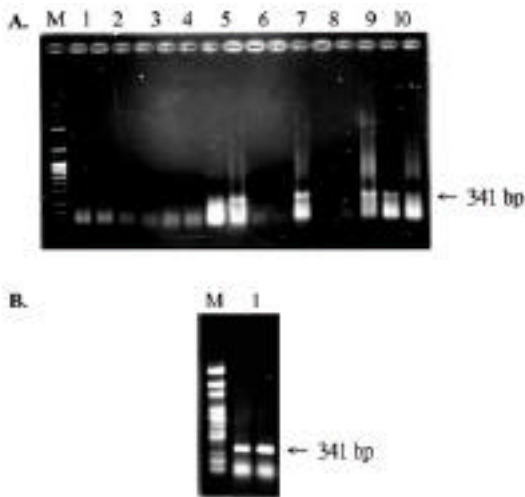


圖4-1、山藥病毒利用POTYU341、POTYD341之primer進行RT-PCR電泳圖譜。

(A) Lane 1：山藥#4；lane 2：山藥#5；lane 3：山藥#7；lane 4：山藥#10；lane 5：山藥#11；lane 6：山藥#12；lane 7：水；lane 8：山藥#15；lane 9：山藥#19；lane 10：山藥#20；lane 11：山藥#15；lane 12：山藥#19；lane 13：山藥#20；lane 14：山藥#21；lane 15：山藥#30；lane 16：山藥#32。(B) Lane 1：山藥#27；lane 2：山藥#28。

明山刺薯(#19、#20、#21)，中埔紅薯(#30、#32)、銀杏薯(#27、#28)的山藥病毒RNA，再利用POTYD341、POTYU341 primer進行RT-PCR反應。結果發現台農2號(#15)、陽明山刺薯(#21)、中埔紅薯(#30)、銀杏薯(#27、#28)有增幅出341 bp的基因片段(圖4-1)。再將其分別以DEPC稀釋 10^{-1} 和 10^{-2} 倍進行RT-PCR，結果發現原液與稀釋 10^{-1} 倍皆有增幅出341 bp的基因片段而稀釋成 10^{-2} 者則無(圖4-2)。最後分別用Trireagent和TriSolution Reagent 2種不同藥劑抽取陽明山刺薯(#21)，中埔紅薯(#30)之全RNA，進行RT-PCR反應，同樣有增幅出341 bp的基因片段(圖4-3)，但中埔紅薯(#30)用Trireagent抽RNA之

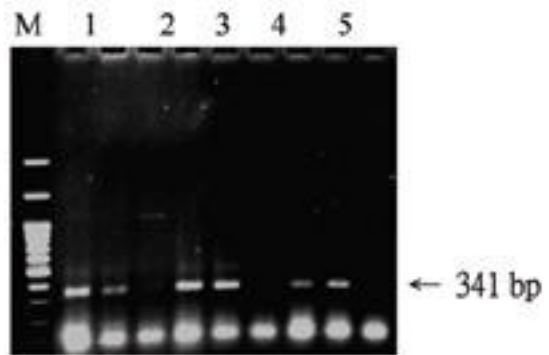


圖4-2、山藥#15、#21和#30之RNA稀釋 10^{-1} 和 10^{-2} 倍，利用POTYU341、POTYD341之primer進行RT-PCR電泳圖譜。

lane 1：#15原液；lane 2：#15稀釋 10^{-1} 倍；lane 3：#15稀釋 10^{-2} 倍；lane 4：#21原液；lane 5：#21稀釋 10^{-1} 倍；lane 6：#21稀釋 10^{-2} 倍；lane 7：#30原液；lane 8：#30稀釋 10^{-1} 倍；lane 9：#30稀釋 10^{-2} 倍。

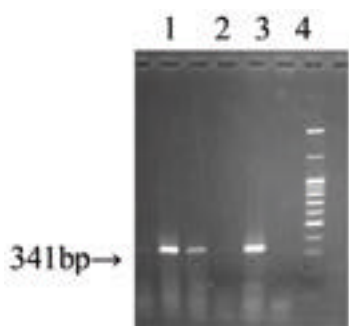


圖4-3、不同藥劑抽取山藥#21和#30全RNA，POTYU341、POTYD341之引子對進行RT-PCR電泳圖譜。

lane 1：#21用Triagent抽取RNA；lane 2：#21用TriSolution Reagent抽取RNA；lane 3：#30用Triagent抽取RNA；lane 4：#30用TriSolution Reagent抽取RNA；lane 5：水。

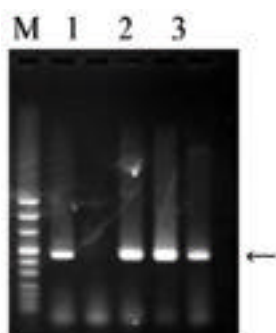


圖4-4、芋頭病毒利用DF2、DRO之primer進行RT-PCR電泳圖譜。

Lane 1：芋頭#50；lane 2：芋頭#59；lane 3：芋頭#89；lane 4：芋頭#106；lane 5：芋頭#107。

RT-PCR反應者無此條帶 (band) 出現。其次，抽取芋頭 #50、#59、#89、#106及#107全RNA，再利用DRO、DF2 primer進行RT-PCR反應。結果發現芋頭 #50、#89、#106和#107有增幅出450 bp的基因片段而芋頭#59則無 (圖4-4)。

4. 委辦之孤挺花病毒病害之偵測方法

在台灣孤挺花的葉片及花軸普遍有因病毒感染所引起的嵌紋病徵。篩選種苗改良繁殖場屏東種苗中心所栽植之孤挺花嵌紋病罹病葉或經三次單斑分離之奎藜來純化病毒。純化後在離心管中僅見一乳白色帶。孤挺花嵌紋病葉純化病毒之紫外光吸光值最高在 258 nm，最低在 248 nm， A_{\max}/A_{\min} 之比值為 1.007， A_{260}/A_{280} 之比值為 1.269。在電子顯微鏡下，從其形狀及長度判斷，此一病毒可能為一Closterovirus。除了花粉與胚珠之外，病毒普遍存在孤挺花病株組織中但不會經由種子傳播。從孤挺花嵌紋病株所純化之病毒免疫注射於紐西蘭雌兔所製得之抗血清，在SDS免疫擴散反應 (SDS-immunodiffusion) 中，僅與三次單斑分離之病毒形成一條反應帶，與純化之病毒則形成二條反應帶。抗血清與三次單斑分離之病毒交互吸收後所製備的免疫球蛋白，在ELISA試驗中，仍能與純化之病毒反應，但與三次單斑分離之病毒則無任何反應。純化病毒之鞘蛋白在SDS

PAGE反應中有兩條反應帶形成，其分子量大小分別約為39及33 kDa。在西方轉漬 (western blotting) 反應裡，純化病毒之鞘蛋白與未經病毒交互吸收之免疫球蛋白亦有兩條反應帶形成 (對應其分子量大小為39及33 kDa)，但與三次單斑分離之病毒交互吸收過之免疫球蛋白僅形成一條反應帶 (對應其分子量大小為33 kDa)，由此結果顯示三次單斑分離之病毒之鞘蛋白大小約為39 kDa。抽樣ELISA檢定農委會種苗改良繁殖場屏東種苗研究中心所栽植之

孤挺花嵌紋病株結果顯示大部分有混合感染的情形。以電子顯微鏡觀察孤挺花嵌紋病株的葉片超薄切片，有觀察到風車狀內含體，故在本研究所發現的另一病毒極可能是一 potyvirus，其鞘蛋白大小約為 33 kDa，至於其是否為 *Hippeastrum mosaic virus*，有待繼續研究。以農委會農業試驗所植病系張清安博士所提供的 LPV (*Lycoris potyvirus*) 之 IgG ELISA 檢定純化之孤挺花病毒與三次單斑分離之病毒均呈正反應，但純化之孤挺花病毒與三次單斑分離之病毒在 SDS 免疫擴散反應中卻沒有與 LPV 抗血清形成反應帶。由結果顯示，本研究中所發現的孤挺花病毒與張博士所發現的 *Lycoris potyvirus* 有血清關係，但不是同一病毒。三次單斑分離純化後之 D₁₃C 病毒在離心管中距液面約 1.5 公分處可見一白色環帶，光度吸收值 A_{max} 在 258 nm，A_{min} 在 247 nm，A_{max}/A_{min} 之比值為 1.03，A₂₆₀/A₂₈₀ 之比值為 1.208；在電子顯微鏡下，以陰染法觀察 D₁₃C 病毒感染的奎藜之葉片粗汁液，病毒粒子長度大部分在 700-780nm，純化後長度為 560-600nm，從其形狀及長度判斷，此一病毒可能為一 Carlavirus；經 ELISA 檢定 D₁₃C 病毒存在孤挺花各部位組織中，會經由種子傳播。純化之 D₁₃C 病毒免疫注射於紐西蘭雌兔所製得之抗血清，在 SDS 免疫擴散反應 (SDS-immunodiffusion) 中，僅與 D₁₃C 病毒形成一條反應帶，與其他八種病毒均沒有反應；D₁₃C 純化病毒與其他五種病毒抗血清都沒有反應。D₁₃C 純化病毒之鞘蛋白質在 SDS-PAGE 反應中各只有一條蛋白質帶形

成，其分子量大小分別約為 35.4 kDa。在西方轉漬 (western blotting) 反應裡，D₁₃C 純化病毒之鞘蛋白質與 D₁₃C 免疫球蛋白形成一條反應帶 (對應其分子量大小為 35.4 kDa)。抽樣 ELISA 檢定行政院農業委員會種苗改良繁殖場屏東種苗研究中心及台灣新高生物技術有限公司組培之孤挺花苗，結果顯示大部分有複合感染的情形。D₁₃C 及 D₃N 病毒與張清安博士所提供的金花石蒜嵌紋病毒 (1+2) 有血清關係；D₁₃C 病毒亦與鄧汀欽博士所提供的大蒜嵌紋病毒 (H) 有血清關係；但 D₁₃C 均不與此兩種病毒抗血清反應。

二 鐮孢病菌之抗病檢定技術的建立

鍾文全、邱燕欣、楊佐琦

1. 鐮孢菌培養濾液對蘿蔔、番茄與絲瓜幼苗毒性測定

十種番茄品種與品系、十二種絲瓜品種及十二種蘿蔔品種之切根幼苗，分別浸於 2-2 濃度的番茄萎凋病菌、絲瓜萎凋病菌及蘿蔔黃葉病菌培養濾液中，經 48 小時後，觀察各幼苗之萎凋指數，發現南星、東光 1 號、西江與美稜等四品種的萎凋指數屬於 1 級，七喜、七美及三福品種的萎凋指數屬 2 級，三喜品種的萎凋指數則屬於 3 級，此結果相似於病土接種法；矸仔長、超雲大根、夏峰二號及魯蘿蔔三號等蘿蔔品種的萎凋指數屬於 3 級，二號大梅

花、關白大根及竹北金交等蘿蔔品種的萎凋指數屬於2級，早生矸仔、大梅花及晚生梅花的萎凋指數屬於1級，此結果與病土接種法有點出入；所測試的番茄品種或品系均對萎凋病菌 race 1 具抗性，萎凋指數屬0級，除本場的92000×94000品系對 race 2 具有抗性(萎凋指數屬0級)以外，其餘商業品種的萎凋指數均屬於3級，此結果相似於病土接種法。顯然絲瓜與番茄品種之抗感性檢定，未來應可以病菌之培養濾液來區分品種間的抗感性差異。至於，利用葉片圓盤法及莖段片法評估番茄、絲瓜及蘿蔔品種對尖鏽孢菌濾液的抗感性，發現此兩種方法無法有效評估番茄、絲瓜及蘿蔔品種間的抗感性反應(表 4-8 表

4-10)。

2. 代謝毒質Fusaric acid的抽取

仿應江勇與西村正暘兩位學者萃取 Fusaric acid 之方法，自蘿蔔黃葉病菌、番茄萎凋病菌及絲瓜萎凋病菌之菌絲培養濾液中萃取 Fusaric acid，然後進行不同濃度 Fusaric acid 對蘿蔔、絲瓜及番茄幼苗的抗感性反應，發現蘿蔔黃葉病菌的 Fusaric acid 在 35 ppm 濃度、番茄萎凋病菌的 Fusaric acid 在 40 ppm 濃度及絲瓜萎凋病菌的 Fusaric acid 在 30 ppm 濃度下，可有效篩選出各植物的抗感性反應程度，且結果與培養濾液浸根法相類似。顯然，利用培養濾液或 Fusaric acid 應可作為尖鏽孢菌抗病育種過程中的初步篩選工作。

表4-8、蘿蔔黃葉病菌培養濾液對蘿蔔品種抗感性之反應

品 種	抗感病程度	病土接種法 (罹病率 %)	濾液浸根法 (萎凋指數) ¹	莖段片法 (罹病率 %)	葉片圓盤法 (罹病率 %)
矸仔長	感病	92	3	35	42
超雲大根	感病	83	3	28	25
夏峰二號	感病	78	3	39	35
矸仔短	感病	75	2	52	50
魯蘿蔔三號	感病	77	3	62	12
魯蘿蔔二號	感病	69	2	40	62
二號大梅花	中抗	39	2	30	35
關白大根	中抗	30	2	52	12
竹北金交	中抗	31	2	30	45
早生矸仔	抗病	10	1	50	50
大梅花	抗病	18	1	25	42
晚生梅花	抗病	16	1	45	38

¹萎凋的程度分為四級-0級：無葉片黃化萎凋，1級：子葉黃化與萎凋，2級：真葉萎凋，3級：植株枯萎死亡。

表4-9、絲瓜萎凋病菌培養濾液對絲瓜品種抗感性之反應

品 種	抗感病程度	病土接種法 (罹病率 %)	濾液浸根法 (萎凋指數) ¹	莖段片法 (罹病率 %)	葉片圓盤法 (罹病率 %)
明豐1號	感病	100	3	80	0
明豐2號	感病	100	3	50	25
三喜	感病	98	3	10	0
東光	感病	100	3	29	38
白絲瓜	感病	100	3	35	45
平安	中抗	54	2	52	23
東光1號	中抗	46	2	68	80
七喜	中抗	39	2	23	23
七美	中抗	36	2	10	56
三福	中抗	31	2	40	50
南星	抗病	10	1	30	45
西江	抗病	2	1	35	85

¹萎凋的程度分為四級-0級：無葉片黃化萎凋，1級：子葉黃化與萎凋，2級：真葉萎凋，3級：植株枯萎死亡。

表4-10、番茄萎凋病菌 (Race 2) 培養濾液對番茄品種抗感性之反應

品種/品系	抗感病程度	病土接種法 (罹病率 %)	濾液浸根法 (萎凋指數) ¹	莖段片法 (罹病率 %)	葉片圓盤法 (罹病率 %)
農友301	感病	100	3	25	10
農友202	感病	100	3	0	0
亞蔬4號	感病	100	3	80	54
花蓮亞蔬5號	感病	100	3	60	23
亞蔬6號	感病	100	3	12	80
亞蔬9號	感病	100	3	54	12
亞蔬10號	感病	100	3	32	32
花蓮13號	抗病	8	0	62	54
920004 × 920002	抗病	4	0	0	40
Bony Best	感病	100	3	0	10

¹萎凋的程度分為四級-0級：無葉片黃化萎凋，1級：子葉黃化與萎凋，2級：真葉萎凋，3級：植株枯萎死亡。

三 有機添加物與螢光菌提昇彩色海芋種球與開花品質

蕭芳蘭

以農業廢棄物豆粕、作物殘渣、菜籽粕及穀殼等製成有機添加物，可促進植株生長、增進土壤肥力、改善通氣性及幫助有益微生物的增殖。此外，螢光細菌 (*Fluorescent pseudomonads*) 屬於 *Pseudomonas*，為格蘭氏陰性之桿菌，在 King's 培養基上產生螢光色素。此類細菌廣泛存在於根部且能在根部群集，主要以 *Pseudomonas fluorescens* Migula 和 *P. putida* (Trevisan) Migula 兩類為主。螢光細菌可產生鐵離子載運物 (siderophore)，對

鐵離子具有極高的親和性，有助於提供植物細胞生長所需的鐵。本試驗利用介質添加螢光細菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 或農業廢棄物香菇太空包堆肥、菜籽粕、血粉、穀殼等製成有機物 FBN-5A、TSL-01 種植彩色海芋，試驗結果顯示：有機物 FBN-5A 與螢光菌 FPS67 複合添加至介質，產生加成作用，增進彩色海芋 PP 品種的種球重量 48~80% (表 4-11)，增加 BM 品種的花莖長度 5.1~9.3 公分 (表 4-13)；另外，單獨添加有機物 TSL-01 增進彩色海芋 PP 品種的種球重量 5-102% (表 4-12)，增加 BM 品種的花苞長 0.8~1.4 公分、花苞寬 0.4~0.9 公分、花苞高 0~0.9 公分、花莖長 4.4~9.4 公分 (表 4-14)。

表 4-11、介質添加有機物 FBN-5A 與螢光菌 FPS67 對彩色海芋 PP 品種一代球之開花與種球的影響

處理 FBN-5A	種球 增重 (比值)	與對 照組 比較(%)	子球個數		花數 單位: 個數	花苞高 單位: cm	俯視			粗/細
			子球 (大)	子球 (小)			花苞 (長)	花苞 (寬)	花莖 (長)	
50X	4.47	96	0	6	6	9	5.3	4.5	28.8	2.4
100X	4.65	100	1	0	8	9.6	5.4	4.5	32.9	2.4
150X	4.14	89	0	0	7	9.4	5.3	4.4	34	2.4
200X	4.77	102	1	1	5	8.6	5.3	4.4	36.5	2.4
FPS67	6.66	143	2	0	0	0	0	0	0	0
50X+FPS67	8.32	178	0	2	0	0	0	0	0	0
100X+FPS67	6.9	148	0	1	0	0	0	0	0	0
150X+FPS67	7.57	162	1	0	4	8.8	4.6	4.2	29	2.2
200X+FPS67	8.42	180	4	1	2	9.5	5.2	4	32	2.4
CK	4.67	100	2	4	5	9.1	5.2	4.4	32.2	2.4

種球增重比值：BM 品種彩色海芋採收後種球重量 ÷ 種植前種球重量

表4-12、介質添加有機物TSL-01與螢光菌FPS67對彩色海芋PP品種一代球之開花與種球的影響

處理 TSL-01	種球 增重 (比值)	與對 照組 比較(%)	子球個數		花數 單位: 個數	花苞高 單位: cm	俯視			粗/細
			子球 (大)	子球 (小)			花苞 (長)	花苞 (寬)	花莖 (長)	
50X	6.36	138	4	1	5	9.7	5.2	4.4	30.3	2.5
100X	7.29	158	6	4	7	9.5	5.5	4.7	31.4	2.4
150X	4.81	105	2	0	9	9.4	5.4	4.6	32.6	2.6
200X	9.31	202	2	1	2	9.5	5.2	4.3	30.8	2.4
FPS67	8.00	174	0	0	2	8.5	4.8	4.6	28.0	2.3
50X+FPS67	6.32	137	0	0	5	8.5	5.0	4.7	28.2	2.2
100X+FPS67	5.54	120	0	3	3	8.3	4.8	4.3	22.3	1.9
150X+FPS67	5.29	115	0	0	5	9.9	5.4	4.4	31.0	2.4
200X+FPS67	4.91	107	1	1	7	8.8	4.8	4.4	26.8	2.3
CK	4.60	100	3	1	6	8.8	5.1	4.7	27.7	2.1

種球增重比值：BM品種彩色海芋採收後種球重量 ÷ 種植前種球重量

表4-13、介質添加有機物FBN-5A與螢光菌FPS67對彩色海芋BM品種二代球之開花與種球的影響

處理 FBN-5A	種球 增重 (比值)	與對 照組 比較(%)	子球個數		花數 單位: 個數	花苞高 單位: cm	俯視			粗/細
			子球 (大)	子球 (小)			花苞 (長)	花苞 (寬)	花莖 (長)	
50X	1.33	099	40	34	7	09.7	7.6	6.3	76.6	3.8
100X	1.54	114	51	38	8	09.3	6.9	7.1	75.4	3.8
150X	1.35	100	60	49	2	10.5	8.0	7.0	83.0	4.3
200X	1.24	092	60	51	6	09.5	7.8	7.7	76.0	4.1
FPS67	1.37	101	53	78	4	09.9	8.1	8.0	80.0	4.4
50X+FPS67	1.84	136	28	29	5	10.5	7.5	7.5	84.4	4.3
100X+FPS67	1.90	141	27	26	6	10.2	7.5	7.7	85.2	4.2
150X+FPS67	1.51	112	40	45	9	11.1	8.3	7.8	88.6	4.5
200X+FPS67	1.64	121	52	38	7	10.7	8.2	7.9	84.6	4.4
CK	1.35	100	39	94	6	10.6	8.3	8.3	79.3	4.3

種球增重比值：BM品種彩色海芋採收後種球重量 ÷ 種植前種球重量

表4-14、介質添加有機物 TSL-01 與螢光菌 FPS67 對彩色海芋 BM 品種二代球之開花與種球的影響

處理 TSL-01	種球 增重 (比值)	與對 照組 比較(%)	子球個數		花數 單位: 個數	花苞高 單位: cm	俯視			粗/細
			子球 (大)	子球 (小)			花苞 (長)	花苞 (寬)	花莖 (長)	
50X	1.63	93	76	31	7	10.1	8.4	8.0	80.3	4.2
100X	1.81	103	66	34	6	10.2	7.8	7.5	83.6	4.2
150X	1.92	109	66	31	4	9.9	7.8	7.8	80.0	4.4
200X	2.07	118	87	45	4	10.8	7.8	7.5	85.0	4.7
FPS67	2.06	117	52	89	1	12.8	9.5	8.0	81.0	4.7
50X+FPS67	1.66	094	66	38	8	10.3	8.2	8.1	84.1	4.3
100X+FPS67	1.98	113	61	55	7	9.6	7.2	7.0	82.4	4.0
150X+FPS67	1.95	111	62	34	6	10.7	8.7	8.2	83.4	4.5
200X+FPS67	1.84	105	60	47	7	10.3	8.5	8.0	80.1	4.3
CK	1.76	100	51	75	5	9.9	7.0	7.1	75.6	4.2

種球增重比值：BM 品種彩色海芋採收後種球重量 ÷ 種植前種球重量

四 彩色海芋組培苗瓶內病原檢測 及防治技術之建立

楊佐琦、蕭芳蘭、鍾文全、文紀鑾

以間接酵素聯結免疫球蛋白法 (ELISA)，每月定期檢測本場所生產六種彩色海芋組培苗品種之增殖瓶，每批每次抽取總生產瓶數 5%，發現無受到 CMV、DsMV 與 ZaMV 等三種病毒的感染。再將每批抽取剩餘的六種品种植株栽植在隔離的網室內，經三個月後，植株亦無 CMV、DsMV 與 ZaMV 等三病毒病徵的產生。其次，利用圓盤濾紙法進行培養基上的抗生素篩選試驗，測試 7 種抗生素對 17 支彩色海芋組培瓶內苗污染細菌的抑制效果，

結果顯示：Tetracycline HCl 的抑制效果最佳，抑制作用達到 ”+++” 以上的有 11 支菌株，其次是 Cefotaxime sodium，抑制作用達到 ”+++” 的有 8 支菌株。7 種抗生素對 17 支彩色海芋組培瓶內苗的污染菌各有不等程度的抑制作用，但找不到一種抗生素可以抑制所有的污染細菌 (表 4-16)。此外，利用不同濃度 sorbic acid (0, 0.5, 1, 2, 4g/l) 添加於培養基中去除組織培養彩色海芋 (cv. Pacific Pink and Neroli) 瓶苗中的內生菌 (*Pasteurella volantium*)，經培養 20 天後，發現二品種在高濃度下均造成叢生芽體死亡，低濃度下僅有 5-20 芽成活，此二品種在 5 處理間均發現菌斑，故品種與處理間均無差異 (表 4-15)。再者，利用 sterilizer control tube 作為培養基確效指示

劑在組織培養上，培養基在高溫高壓滅菌鍋是否完全殺菌是很重要的問題，傳統利用靜置法(約2星期)，缺點是耗時長，利

用sterilizer control tube可在滅菌後由顏色從紅轉褐到綠判別，如果殺菌完全，則管內液體立刻轉成綠色。

表4-15、不同濃度之sorbic acid對彩色海芋 (cv. Pacific Pink and Neroli) 芽體生長之影響

sorbic acid	Pacific Pink		Neroli	
	增殖倍率 (X)	芽體高度 (cm)	增殖倍率 (X)	芽體高度 (cm)
0 g/l (ck)	1.8a	7.1a	1.5a	8.1a
0.5g/l	0b	1.0c	0b	1.0c
1.0g/l	0b	0.7c	0b	0.8c
2.0g/l	dead	dead	dead	dead
4.0g/l	dead	dead	dead	dead

X. Ten replications were tested for each treatment and 25 samples for each replication.

y. Means followed by the different letter are significantly ($p=0.05$) according to Duncan's Multiple Range Test.

表4-16、抗生素對彩色海芋組培瓶內苗污染細菌的抑制效果

菌株\處理	GS	R	CS	SS	PB	T-HCl	GS+SS	CK
組1	+	++	+++	+	+	+++	++	-
組2	+	+++	+++	++	+	+++	++	-
組4	+	++	+++	++	+	+++	+	-
組5	+	-	-	-	-	-	+	-
組7	+	++	+	+	+	+++	+	-
組8	+	++++	+++	++	+	++++	++	-
組10	+	++	+++	++	+	+++	+	-
組12	-	-	-	-	+	-	-	-
組15	+	++	+++	+	-	+++	+	-
組17	-	-	-	-	+	-	-	-
組18	+	++	-	+	+	++	+	-
組19	++	+++	+++	++	+	+++	++	-
組21	+	++	-	+	+	++	+	-
組33	+	+++	-	+	+	+++	+	-
組34	+	++	-	+	+	+++	+	-
組35	++	++	+++	++	+	+++	++	-
組37	+	-	-	-	-	-	+	-

GS: Gentamicin sulfate, R: Rifampicin, CS: Cefotaxime sodium, SS: Streptomycin sulfate, PB: Polymyxin B, T-HCl: Tetracycline HCl *濾紙直徑為0.5公分，抑制圈大小表示法：“-”：<0.6公分，“+”：0.6~1.5公分，“++”：1.5~2.5公分，“+++”：2.5~3.5公分，“++++”：>3.5公分