

五、種苗病理研究

(一) 利用組織培養技術去除彩色海芋之芋頭嵌紋病毒

彩色海芋為本省未來發展之重要球根花卉之一，色彩亮麗豐富，曲線柔美，深受消費者喜愛，切花單價頗高，目前約有十公頃之栽培面積，然種球多賴紐西蘭進口。由於彩色海芋主要以分株法繁殖，病毒病為種球生產與切花栽培上之主要障礙之一，而芋頭嵌紋病毒(dasheen mosaic potyvirus)為彩色海芋上發生最嚴重之病毒，感染之植株葉片與佛焰苞扭曲變形影響商品價值甚鉅。在許多栽培品種中無病毒之母株獲取困難，亟需

利用組織培養相關技術去除此病毒，方能取得無病毒母瓶。本試驗結果得知培養基中添加不同濃度2-thiouracil與ribovirin對芽體形成的影響，二種藥劑對Black Magic與Best Gold品種而言，2-thiouracil各處理組均有明顯抑制芽體之形成，僅有5-8個芽形成；而ribovirin則形成較多之芽體數，約為10-15個芽形成。本試驗針對形成之芽體進行ELISA病毒檢查，2-thiouracil及Ribovirin此二藥劑對病毒皆有抑制效果，其中20 ppm以上之濃度可提高去除病毒之比率；Ribovirin對去除Best Gold品種中之病毒效果比Black Magic佳。

表一、培養基中添加不同濃度2-thiouracil對彩色海芋種球芽體與去病毒之影響

品 種	芽體形成數					
	CK	10 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm	200 ppm
Black Magic	15/24	8/24	6/26	5/26	5/26	5/26
Best Gold	6/18	6/31	5/30	6/26	8/32	5/29
	發霉數					
	0/24	3/24	1/26	0/26	0/26	1/26
Best Gold	4/18	9/31	4/30	6/26	2/32	6/29
	病毒反應芽體數/檢查芽體數					
	8/12	4/6	2/5	2/4	0/4	1/5
Best Gold	5/8	4/5	2/4	1/4	3/5	2/4

表二、培養基中添加不同濃度ribavirin對彩色海芋種球芽體與去病毒之影響

品 種	芽體形成數				
	CK	10 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm
Black Magic	15/24	8/24	12/26	13/26	14/26
Best Gold	6/18	15/31	10/30	11/26	12/32
	發霉數				
	0/24	1/24	1/26	0/26	2/26
Best Gold	4/18	0/31	1/30	3/26	2/32
	病毒反應芽體數/檢查芽體數				
	8/12	2/8	7/10	9/12	5/10
Best Gold	5/8	2/14	1/5	2/8	2/7

(二) 無主要病毒葡萄組織培養苗木之田間病毒再感染

葡萄為台灣地區重要經濟果樹之一，民國八十七年之栽培面積達3110公頃。其苗木大多以無性繁殖的方法繁殖，唯此種方法極易傳播病毒病害，導致病毒病害之擴散及蔓延。為解決病毒感染葡萄影響品質之問題，本場利用莖頂生長點去病毒技術培育成無主要病毒之健康種苗，供應台灣地區農民栽種更新老化、劣勢葡萄老株。本研究旨在探討台灣地區葡萄主要栽培產區中之無主要病毒葡萄苗罹受病毒再感染之百分率，經二年來調查、檢測之結果顯示，南投縣地區，葡萄A病毒(GVA)之發生率增為17.5%；但仍無葡萄扇葉病毒(GFLV)與葡萄捲葉病毒(GLRV)-品系1之發生。而彰化與台中縣二地區，葡萄扇葉病毒之發生率則分別達78.2%與85%，葡萄A病毒之發生率亦分別增為34.5%與27.5%，葡萄捲葉病毒-品系1仍只在台中地區發現，且只有5%發生率。研究中另觀察GFLV形成結晶性病毒內含體和GVA或GLRaV1形成不定形內含體等特性，以佐證血清檢查之結果，並顯示台灣除了GLRV之發生外，尚有GFLV與GVA之發現。

(三) 添加有機物防治百合根部病害

百合為重要的球根花卉，栽培所需的種球主要從荷蘭進口，種球常攜帶基腐病菌(*Fusarium oxysporum*)，危害百合根部，影響切花品質及收益；擬試驗添加有機物到介質中，期能防止百合生育期間根部病害的蔓延。將攜帶百合種球基腐病菌(*Fusarium oxysporum*)的介質分別與兩種有機添加物FBN-5A或TSL-01按照不同的體積比率混拌均勻，FBN-5A與介質之比率為1:600, 1:800, 1:1000, 1:1200, TSL-01與介質之比率為1:100, 1:133, 1:200, 拌好後分別放置0天及7天兩種處理。百合一代種球先以撲克拉2000倍+福賽得1000倍+展著劑VC900 2000倍等藥劑浸30分鐘，再種到拌菌(104cfu/ml *Fusarium oxysporum*)及添加有機物FBN-5A或TSL-01的介質，放置溫室觀察有機物抑菌的情形，本試驗的百合品種為亞洲型百合Minstreel。試驗結果顯示介質混拌有機物FBN-5A或TSL-01，不論放置0天或7天之處理，再配合百合一代種球種植前浸藥處理，可減輕亞洲型百合Minstreel二代種球基腐病的發生率14.2-18% (表一)

表一、1997-1999年無病毒葡萄苗之田間病毒再感染之追蹤調查

Locations/ Prefecture	Sample No. ¹⁾	% with GVA ²⁾				% with GFLV				% with GLRaV1			
		Oct. 1997	Jun. 1998	Nov. 1998	Jun. 1999	Oct. 1997	Jun. 1998	Nov. 1998	Jun. 1999	Oct. 1997	Jun. 1998	Nov. 1998	Jun. 1999
Nantou	40	0	0	10	17.5	0	0	0	0	0	0	0	0
Changhwa	55	0	1.8	—	34.5	12.7	27.3	—	78.2	0	1.8	—	0
Taichung	40	— ³⁾	20	—	27.5	—	37.5	—	85	—	5	—	5
Miaoli	5	—	0	—	0	—	0	—	20	—	0	—	0

¹⁾ Samples were collected randomly about 10% from the total grape plants.

²⁾ Infection percentage was calculated according to the ELISA tests that positive ones had A405 nm values more than two times of the value of healthy control.

³⁾ — = not tested.

(與CK2比較)，至於有機物的添加量，建議FBN-5A與介質之體積比1：1000，TSL-01與介質之體積比1：200；有機物FBN-5A或TSL-01先與介質混拌7天後再種植百合可增進防病效果。

表一、合成有機添加物對亞洲型百合 (*Minstreet*)基腐病(*Fusarium oxysporum*) 發生之影響

添加物	罹病率 (%)	
	0天	7天
TSL-01		
100X	12.0d	8.0d
133X	12.0d	9.2d
200X	10.0d	6.0d
FBN-5A		
600X	13.5d	12.0d
800X	14.5d	9.0d
1000X	12.5d	8.5d
1200X	23.5c	5.5d
CK1(介質拌菌種球不浸藥)	73.2a	70.1a
CK2(介質拌菌種球浸藥)	24.2c	23.5c
CK3 (介質不拌菌種球不浸藥)	40.2b	40.3b

* 介質拌百合基腐病菌(10^4 cfu/ml *Fusarium oxysporum*)，再拌有機物TSL-01 1:100，1:133，1:200 (v/v)，或FBN-5A 1:600，1:800，1:1000，1:1200 (v/v)，拌好後分別放置0天及7天兩種處理。百合種球先以撲克拉2000倍+福賽得1000倍+展著劑VC900 2000倍浸30分，再種百合種球到帶菌介質中，放置溫室，種球直徑1.2-1.6公分

(四) 聖誕紅病毒之檢定技術與無病毒繁殖體系之建立

聖誕紅(*poinsettia*)學名為*Euphorbia pulcherrima* Wild，為本省重要之盆栽花卉之一，每年可生產供應約80萬盆，產地集中於桃園縣、苗栗縣及南投縣。聖誕紅花色亮麗豐富，深受消費者喜愛，為本省聖誕節至春節之應節盆花，亦是我國第一個列入植物種苗法的花卉作物，對未來市場競爭潛力更為重要。然種苗主要以扦插法繁殖，病毒病為種苗生產與盆花栽培上之主要障礙之一，而聖誕紅捲葉病毒為聖誕紅上發生最嚴重之病毒，感染之植株葉片與花苞扭曲變形影響商品價值甚鉅。本計畫於卓蘭、新社等地區收集聖誕紅多栽培品種中如Peterstar之"Marble"、"White"、"Red"栽培品種與Gutbier V-14 "Pink" 品種，經與Agdia公司購買之聖誕紅嵌紋病毒(*poinsettia mosaic tymovirus*; PnMV) 抗血清與煙草嵌紋病毒(*tobacco mosaic tobamovirus*; TMV) 抗血清以indirect-ELISA法偵測病毒發生率，結果發現除了一株野生聖誕紅無PnMV之反應外(A_{405} 讀值為0.137)，其餘44株樣品皆有其血清反應(A_{405} 讀值為0.85-1.39)；有些品種亦有煙草嵌紋病毒之血清反應(33/45有正反應)。PnMV接種之*Nicotiana benthamiana*新葉出現微黃化嵌紋現象，以Azure A染色後以光學顯微鏡檢查法檢查其病毒內含體，無論在聖誕紅或*Nicotiana benthamiana*之葉片表皮細胞或韌皮組織中皆可觀察到染成紫紅色之不定型與結晶型內含體。而TMV感染之聖誕紅表皮細胞中可觀察被orange-green combination染成綠色結晶型內含體。PnMV 與TMV感染之聖誕紅有時會出現微嵌紋與葉片微捲之病徵，但高溫下病徵易消失。

表一、聖誕紅病毒檢查

品 種	採樣數	樣品數		
		TMV	PnMV	Healthy
PLA Jacobsen "Peterstar Marble"	6	6	6	0
PLA Jacobsen "Peterstar White"	4	4	4	0
Gutbier V14 "Pink"	4	4	4	0
PLA Jacobsen "Peterstar Red"	21	14	21	0
Wild type	10	5	9	1