

四、種子(苗)病理研究

(一)組培苗病原檢測技術之研究

楊佐琦、蕭芳蘭

草莓、馬鈴薯在生育期間容易感染細菌性青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)，於利用組織培養大量生產草莓、馬鈴薯種苗的過程，青枯病菌是否會潛藏在草莓、馬鈴薯組織培養瓶內苗而不表現，移植到田間才顯現病徵，值得探討，因此進行下列試驗：

(一)以人工接種法將馬鈴薯青枯病菌代號PSP10菌株，接種到培養馬鈴薯組培苗之培養基內，結果培養馬鈴薯組培苗之母瓶、增殖瓶、發根瓶的培養基均適合青枯病菌生長、繁殖(表4-1)，顯示一旦青枯病菌進入馬鈴薯組培苗之各階段生產瓶內，48小時會繁衍至肉眼可觀察。

(二)利用TZC選擇性培養基偵測豐克、克尼伯、卡地娜等品種的馬鈴薯組織培養之增殖瓶瓶苗，並未發現感染馬鈴薯青枯病菌的植株，全是健康株，故田間之感染源可能來自土壤或灌溉水等。

(三)利用選擇性培養基TZC檢查草莓組織培養母瓶的瓶內苗，並未發現感染草莓青枯病菌的植株。

(四)溫室中種植草莓組培移植苗，經過2個月，草莓植株外觀無青枯病的病徵出現，故採取根、莖、葉、走莖等剪成1公分一小段，排放在TZC平板培養基上，培養48-72小時，結果培養基上植株片段兩端未出現粉紅色流體狀的青枯病菌(表4-2)。

表4-1、調查青枯病菌在馬鈴薯各階段組培培養基上生長情形

重複	檢測瓶數	組培階段		
		母瓶	增殖瓶	發根瓶
I	10	+	+	+
II	10	+	+	+
III	10	+	+	+
IV	10	+	+	+

註：“+”表示青枯病菌PSP10菌株接種到培養馬鈴薯組培苗之培養基上，經過48小時出現青枯病菌的菌落。

表4-2、調查溫室中草莓組培移植苗感染青枯病菌的情形

重複	檢測株數	根	莖	葉	走莖
I	20	—	—	—	—
II	20	—	—	—	—
III	20	—	—	—	—
IV	20	—	—	—	—

註：以選擇性培養基TZC偵測草莓組培移植苗之各部位，結果“—”表示於TZC培養基上並未顯現草莓青枯病菌。

(二)園藝作物優良種苗病理性指標之品質認證技術與體系之建立

楊佐琦、蕭芳蘭、孫永偉

- (1) 應用一組引子對與一步驟RT-PCR可同時偵測蝴蝶蘭與文心蘭之CyMV與ORSV二種病毒（圖4-1）。
- (2) 調查聖誕紅 PnMV；唐菖蒲 CMV與 ByMV；康乃馨CarMV、CLV、CERV、CRSV、CNFV、CMV等病毒，並建立血清及光學顯微鏡檢測技術（圖4-2）。
- (3) 完成百合LSV與TBV之RT-PCR分生檢測技術，可增進百合組培苗病毒檢測之靈敏度。
- (4) 完成二項委辦計畫，「感染彩色海芋之

芋頭嵌紋病毒之偵測技術開發與應用」，成功選殖獲得DsMV鞘蛋白，製備成DsMV抗血清。根據DsMV-ZAN的核酸序列設計出專一性引子對，DF3和DR0，可增幅出1436 bp大小的DsMV片段供RT-PCR檢測之用。「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」，應用去年發展之5A/5B及Y1/Y2引子對PCR偵測技術，偵測Erwinia軟腐細菌在蝴蝶蘭與彩色海芋生產體系中之存在情形，除應用研究室保存之菌株之外，亦自栽培場繼續分離Erwinia軟腐細菌作為供試菌株，以測試引子對之偵測效率。



圖4-1、以一組核酸引子對反轉錄聚合酶連鎖反應(RT-PCR)偵測感染文心蘭之齒舌蘭輪斑病毒(ORSV)與東亞蘭嵌紋病毒(CyMV) RNA在1.2%電泳洋菜膠體圖譜。行1：CyMV單獨感染文心蘭之葉片RNA萃取原液；行2：健康文心蘭之根RNA萃取原液；行3：健康文心蘭之根RNA萃取液稀釋10倍；行4：健康文心蘭之根RNA萃取液稀釋100倍；行5：CyMV單獨感染文心蘭之根RNA萃取原液；行6：CyMV單獨感染文心蘭之根RNA萃取液稀釋10倍；行7：CyMV單獨感染文心蘭之根RNA萃取液稀釋100倍；行M：標準pUC混合DNA梯級標誌；行9：ORSV單獨感染文心蘭之根RNA萃取原液；行10：ORSV單獨感染文心蘭之根RNA萃取液稀釋10倍；行11：ORSV單獨感染文心蘭之根RNA萃取液稀釋100倍；行12：CyMV單獨感染文心蘭之葉片RNA萃取原液；測試之黏合溫度分別為52℃。

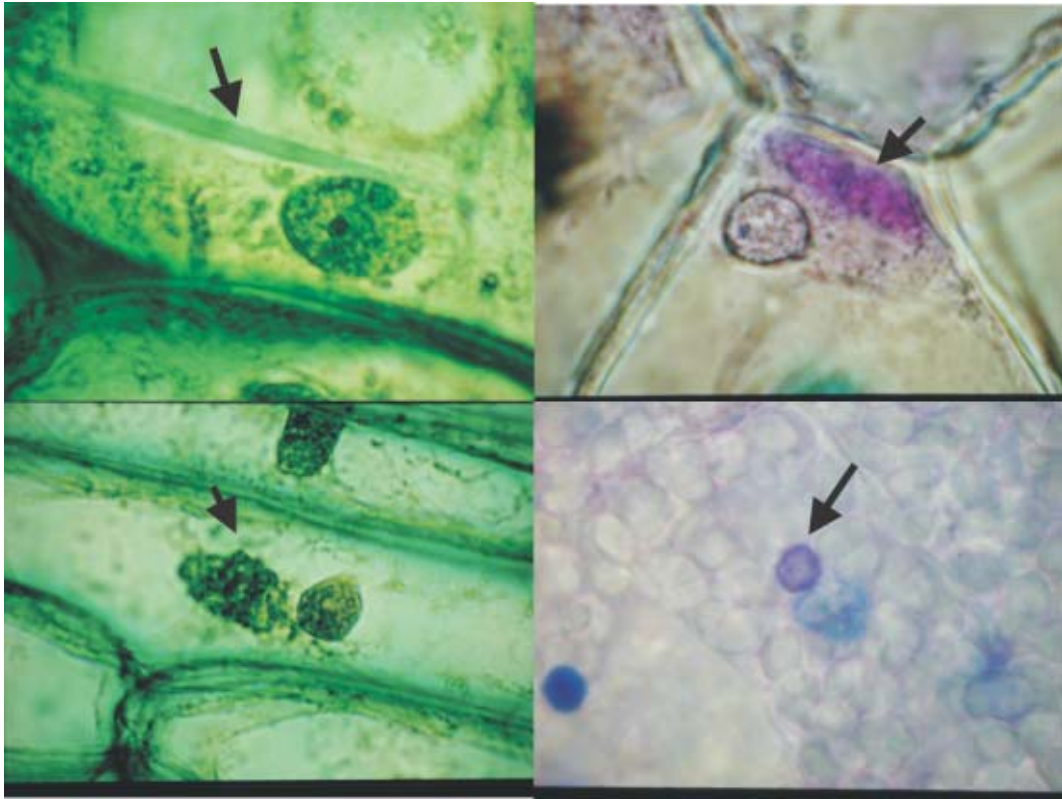


圖4-2、齒舌蘭輪斑病毒(ORSV)在蝴蝶蘭表皮細胞之細胞質中形成披針狀結晶型內含體，被橙綠蛋白質染劑(Orange-Green Combination)染成綠色，紫紅核酸染劑(Azure A)染成紫紅色(左上)。東亞蘭嵌紋病毒(CyMV)在蝴蝶蘭表皮細胞之細胞壁附近形成似帶狀之內含體，被橙綠蛋白質染劑染成綠色，亦被紫紅核酸染劑染成紫紅色(右上)。菜豆黃化嵌紋病毒(ByMV)在唐菖蒲表皮細胞之細胞質中形成絲狀細胞質內含體，被橙綠蛋白質染劑(Orange-Green Combination)染成綠色(左下)；胡瓜嵌紋病毒(CMV)在唐菖蒲、彩色海芋及百合葉肉組織中行成中空狀結晶型內含體，紫紅核酸染劑(Azure A)染成紫紅色(右下)。→：病毒內含體。

(三)病毒豇豆種子推廣與品質認證 建立

楊佐琦、詹竹明、黃天民

- (一) 民國91年3月25日於本場技術課田間網室播種一分地，已採收50公斤健康原種種子，精選20公斤並經病毒檢查合格。
- (二) 於民國91年1月3日，於本場屏東分場春作田間網室採種四分地，秋作採種八分地，共計可採收1100公斤健康種子，足

以供應本年度台灣之無病毒豇豆種子178.17公頃(約1070公斤)之需求，供農民使用。唯因高屏地區萎凋病嚴重、農會體制重整推廣人員無力配合推廣下，今年種子提取量僅達322公斤。

- (三) 無病毒豇豆採種示範，春作於屏東縣里港地區田間隔離網室播種三分地，共採收230公斤種子，所採收種子亦通過病毒檢查標準，並於6月14日舉行採種示範觀摩會，超過70餘位產、官、學與農

民參加，產業界紛表興趣進行採種工作。春作亦於雲林縣莿桐鄉田間隔離網室播種三分地，已經採收450餘公斤種子，所採收種子亦通過病毒檢查標準；秋作於彰化縣埤頭鄉無病毒豇豆進行採種示範，於一期稻作後進行一分地採種，共計採收約170公斤種子，於九十一年九月二十三日舉行採種示範觀摩會，超過60餘位產、官、學與農民參加。無病毒豇豆採種示範所生產之合格種子共計850公斤可充分供應明年度農



圖4-3、於溫室中生產無病毒豇豆原種種子



圖4-5、於屏東縣里港鄉網室中示範生產無病毒豇豆種子

(四) 有機添加物與螢光細菌增進彩色海芋種球品質

蕭芳蘭

利用有機添加物增加作物生產近年來受到廣泛的探討，其主要原料為作物殘渣、豆

民栽種。

(四) 針對主要病蟲害建立病理性指標驗證制度，豇豆無病毒種子驗證作業須知，於本年2月5日第一次委員會中初步建立針對黑眼豇豆嵌紋病毒(BICMV)與胡瓜嵌紋病毒(CMV)之無病毒豇豆種子作業須知草案，已於8月9日假種苗場進行第二次委員會，逐條修正作業須知草案。預定明年度可配合健康種子生產技術之逐步轉移給民間業者，充分繁殖供應農民優良健康種子。



圖4-4、CMV與BICMV二種病毒複合感染造成之嵌紋與葉片捲曲病徵



圖4-6、於屏東縣里港鄉舉辦無病毒豇豆種子採種示範觀摩會情形

粕、菜籽粕、穀殼及血粉等，可促進植株生長、增進土壤肥力、改善通氣性及促進有益微生物的增殖。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 培育彩色海芋種球，試驗結果顯示：單獨添加有機物 FBN-5A 50 倍、100 倍、150 倍、200 倍比對照組種球增加重

量為 1-9 %，單獨添加有機物 TSL-01 50 倍、100 倍、150 倍、200 倍比對照組種球增加重量為 9-35 %，單獨添加螢光細菌 FPS67 比對照組種球增加重量為 7 %；複合添加螢光細菌 FPS67 與有機物 FBN-5A 50 倍、100 倍、150 倍、200 倍比對照組種球增加重量為 3-51 %，複合添加螢光細菌 FPS67 與有機物 TSL-01 50 倍、100 倍、150 倍、200 倍比對照組種球增加重量為 9-23 % (表 4-3)。其中複合添加螢光細菌 FPS67 與有機物 FBN-5A 50 倍的效果最好，比對照組增重 51 %；其次是單獨添加 TSL-01 200 倍，比對照組增重 35 %。

表 4-3、螢光細菌與有機物混合添加至介質對彩色海芋養球的影響

處 理	種球增重百分率(%)	與對照組比較(%)
FBN-5A 50X	628	101
FBN-5A 100X	664	107
FBN-5A 150X	639	103
FBN-5A 200X	678	109
TSL-01 50X	698	112
TSL-01 100X	680	109
TSL-01 150X	783	126
TSL-01 200X	838	135
FPS67	665	107
FPS67 + FBN-5A 50X	938	151
FPS67 + FBN-5A 100X	643	103
FPS67 + FBN-5A 150X	757	122
FPS67 + FBN-5A 200X	711	114
FPS67 + TSL-01 50X	748	120
FPS67 + TSL-01 100X	678	109
FPS67 + TSL-01 150X	681	109
FPS67 + TSL-01 200X	767	123
CK	622	100