

四、種子（苗）病理研究

一) 無病毒豇豆種子推廣與品質驗證制度建立

楊佐琦、蕭芳蘭、詹竹明

依擬定之「豇豆無病毒種子驗證作業須知（草案）」，已完成 28 個品系試種之繁殖用種子生產之病毒發生調查，並以 ELISA 檢定 39 疑似病株，無 CMV 之感染，4 株有 BICMV 之血清反應，6 株有 POTY 之血清反應。拔除病株後，篩選出健康株作為更新量產優良豇豆品系之無病毒種子，供將來採種、推廣用。協助申請無病毒豇豆種子發芽率檢查，合格後完成無病毒豇豆種子包裝工作，共計 1573 公斤，充分供應農民栽種用。完成『豇豆種子病毒檢定驗證作業須知』法制作業，編印豇豆種子病毒檢定驗證申請手冊，供栽培業者索取。種苗場與中國種苗改進協會合作辦理三場說明會，分別在 92 年 7 月 30 日於屏東縣里港鄉農會果菜包裝處理中心、8 月 6 日於雲林縣莿桐鄉農會以及在 12 月 22 日在九如鄉農會舉辦，針對萎凋病、病毒病防治及豇豆種子病毒檢定驗證作業須知進行專題介紹。



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、張雅君、曾國欽

建立玫瑰之桃環痘輪斑病毒 (*Prunus necrotic ringspot virus*, PNRSV)、蘋果嵌紋病毒 (Apple mosaic virus, ApMV)、山芥子菜嵌紋病毒 (Arabidopsis mosaic virus, ArMV) 及草莓潛伏輪斑病毒 (Strawberry latent ringspot virus, SLRSV); 菊花之菊花 B 病毒 (Chrysanthemum virus B, CVB)、番茄無子病毒 (Tomato aspermy virus, ToAV) 與番茄斑萎病毒 (Tomato spotted wilt virus, TSWV) 等間接法-酵素連接抗體免疫測定法 (Indirect-ELISA) 之血清學檢查技術，供本場各項試驗研究用。CVB 普遍存在 5 個菊花品種，在「小金紅」與「秀鳳」上發現 TAV 之感染，金盞菊上亦發現 TAV 之感染。玫瑰之病毒以 ApMV 較普遍，以 RT-PCR 可偵測玫瑰上 PNRSV 之 300bp 專一性條帶。製備的海芋嵌紋病毒 (ZaMMV) 抗血清，以 I-ELISA 測試不會與芋頭嵌紋病毒 (DsMV) 及海芋嵌紋病毒 (ZaMV) 反應。設計專一性的 ZUNF1a 與 ZUNR1a 引子對，RT-PCR 增幅出 311 bp 的 cDNA 片段。5A/5B 及 Y1/Y2 引子對對細菌性軟腐病罹病植株進行 PCR 時，能增幅出 500 bp 或 434bp 的條帶，對罹病植株根圍土壤進行偵測時，顯示利用 LB 進行增量可提高對田土中帶軟腐細菌之偵測效率。自田間所分離之 32 株有益螢光菌株中可分別對 Ech. 與 Ecc 產生抑制效果。

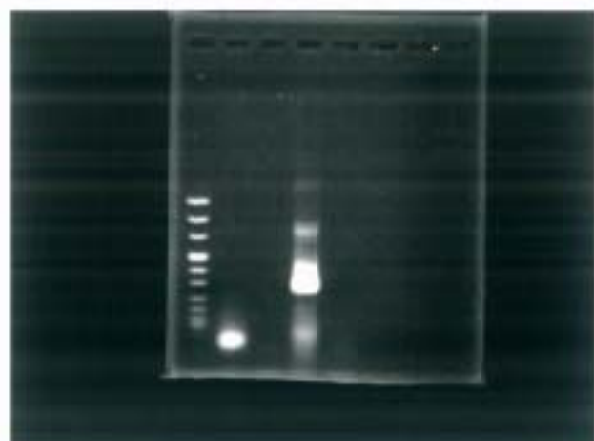


圖 4-1、以一組核酸引子對反轉錄聚合酶連鎖反應 (RT-PCR) 偵測感染玫瑰上 PNRSV 在 1.2 % 電泳洋菜膠體之 300bp 專一性條帶圖譜。

表 4-1、以 ELISA 檢測法調查菊花病毒

品種	樣品數	病徵	病毒血清反應數		
			CVB	TAV	TSWV
西施粉線 (桃紅色)	10	黃斑嵌紋	4	0	0
世界一黃色)	10	Symptomless	9	0	0
紅線	10	Mild mottle	10	0	0
紅壽	8	Symptomless	6	0	0
大紅壽	7	Symptomless	6	0	0
合計	45		35	0	0

表 4-2、以 ELISA 檢測法調查田尾地區菊花病毒

品種	樣品數	病毒血清反應數			
		CVB	TAV	CMV	CVB+TAV
小紅娘	5	5	0	0	0
小金紅	10	6	0	0	3
秀鳳	88	0	11	0	11
合計	103	11	11	0	14

表 4-3、以 ELISA 檢測法調查溫室菊科植物病毒

品種	樣品數	病毒血清反應數		
		CVB	TAV	CMV
金盞菊	32	0	8	0
黃波斯	2	0	0	0
向日葵	8	0	0	0
合計	42	0	8	0

表 4-4、以 ELISA 檢測法調查玫瑰病毒

品種	地點	樣品數	病毒血清反應數						
			ArMV	ApMV	PNRSV	ArMV+ ApMV	ArMV+ PNRSV	ApMV+ PNRSV	ArMV+ ApMV+ PNRSV
黛安娜	A	20	7	5	0	6	1	0	0
黛安娜	B	15	4	0	0	8	0	0	2
新香檳	B	1	0	0	0	0	0	0	0
甜心	B	10	5	0	0	4	0	1	0
新香檳	B	28	4	4	0	11	0	0	0
甜心	B	1	1	0	0	0	0	0	0
佳娜紅	B	15	6	0	0	4	0	0	0
合計		90	27	9	0	33	1	1	2

ArMV = *Arabid mosaic virus*; ApMV = *Apple mosaic virus*; PNRSV = *Prunus necrotic ringspot virus*.

表 4-5、種苗場玫瑰保存圃之病毒檢測

品種	地點	樣品數	病毒血清反應數		
			ArMV	ApMV	PNRSV
拉菲爾	3	Symptomless	1	1	0
新絕代佳人	3	Symptomless	2	2	0
巨星	3	Symptomless	0	0	0
白色新娘	3	Symptomless	0	2	0
新香檳	6	Symptomless	0	3	0
金葉 BB	5	Symptomless	0	4	0
黛安娜	3	Symptomless	0	0	0
牛紅 1 號	3	Symptomless	0	0	0
佳娜紅	3	Symptomless	0	1	0
陽光	4	線條斑	0	3	0
福神 77	3	Symptomless	0	0	0
第一特獎	3	Symptomless	0	2	3
胭脂	3	Symptomless	0	3	0
波霸	3	Symptomless	0	2	0
曼哈頓	3	Symptomless	0	0	0
新雙色	3	Symptomless	0	0	0
紫夫人	3	Symptomless	0	2	1
鐮射	3	Symptomless	0	0	0
天使之顏	3	葉緣黃化	0	0	0
艾琳卡	3	Symptomless	0	1	0
迪奧	4	Symptomless	0	0	0
漂亮寶貝	3	Symptomless	0	2	0
少女	3	Symptomless	0	0	0
彩衣	4	mosaic	0	2	0
未知名	10	Symptomless	0	2	0
合計	90		3	35	4

ArMV = *Arabid mosaic virus*; ApMV = *Apple mosaic virus*; PNRSV = *Prunus necrotic ringspot virus*.

三) 海芋軟腐病菌之簡易接種方法

蕭芳蘭、楊佐琦、莊佳茹

利用牙籤沾菌刺傷法及 CVP 選擇性培養基法挑選出 ER1、ER5、ER7、ER12、ER16 等 5 個 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 菌株具病原性，再利用細菌懸浮液澆灌 Black Magic (BM) 品種盆栽彩色海芋基部，接種方法無論刺傷或不刺傷種球，植株產生軟腐現象之菌株分別為 ER1、ER5、ER7、ER12、ER16，與牙籤沾菌刺傷法接種之結果相同。以 10 個菌株 (6 個種苗場分離，4 個來自興大植病系) 測試 BM

品種彩色海芋切離葉接種軟腐菌法做為抗病篩選技術之可行性，結果 5 個具病原性菌株及 4 個來自興大植病系的菌株均於 BM 品種彩色海芋切離葉接種處產生大小不一的軟腐病斑，而不具病原性菌株 En4 與無菌水之處理並未造成 BM 品種彩色海芋切離葉軟腐 (表 4-6)。此外，以 BM 品種彩色海芋組培苗與開花球於種植後一個月、二個月、三個月、四個月、五個月，分別測試人工接種軟腐菌至切離葉與種球之發病情形，結果組培移植苗與開花植株的切離葉或種球均會產生軟腐病徵 (表 4-7、4-8)。

表 4-6、彩色海芋切離葉接種軟腐菌試驗

Isolate	Maceration area (cm ²)
ZF1	9.0 × 4.0
ZH1	7.6 × 4.8
ZL1	5.5 × 2
ZS1	0.5 × 0.3
ER1	9.0 × 4.8
ER5	6.5 × 3.5
ER7	7.2 × 2.6
ER12	10 × 3.8
ER16	5.2 × 2.5
En4	0
CK	0

The central part of detached leaf from Black Magic calla lily was pricked and inoculated with 20 μ l of bacterium suspension (10⁷cfu/ml), then it was kept in a moisture bag and recorded 24 hrs after inoculation

表 4-7、Black Magic 品種彩色海芋組培移植株切離葉與種球接種軟腐菌擴展速率

month	1		2		3		4		5	
isolat	ER5	ZL1	ER5	ZL1	ER5	ZL1	ER5	ZL1	ER5	ZL1
RDL1	0.38	0.38	2.5	2.5	1.56	2.5	1.56	2.5	1.56	2.5
RDL2	1.56	0.76	2.5	2.5	1.56	1.56	2.5	2.5	1.14	2.5
RDL3	1.14	0.66	2.5	2.5	2.5	1.56	2.5	2.5	-	-
RDL4	0.76	0.38	2.5	1.56	1.56	2.5	2.5	2.5	-	-
RDL5	-	-	2.5	2.5	-	-	-	-	-	-
RDL6	-	-	2.5	1.56	-	-	-	-	-	-
RTuber	1.56	1.14	2.5	2.5	2.5	1.14	2.5	0.58	1.56	0.38

* $R = (A2 - A1) \div (T2 - T1)$, 'R' = development rate of soft rot area or volume, 'A' = soft rot area or volume, 'T' = time; 'DL1-DL2-DL3-DL4-DL5-DL6' = number of the detached leaf from outside to inside of plant.

表 4-8、Black Magic 品種彩色海芋開花株切離葉與種球接種軟腐菌擴展速率

month	1		2		3		4		5	
isolat	ER5	ZL1	ER5	ZL1	ER5	ZL1	ER5	ZL1	ER5	ZL1
RDL1	1.06	0.51	1.14	1.14	1.56	1.08	0.76	0.55	1.07	0.97
RDL2	-	0.57	1.14	1.14	1.14	1.14	1.14	0.79	1.14	1.14
RDL3	-	-	-	-	0.76	1.14	1.14	1.14	1.09	1.14
RTuber	2.5	2.5	2.5	1.56	2.5	1.14	0.76	1.14	1.14	0.08

* $R = (A2 - A1) \div (T2 - T1)$, 'R' = development rate of soft rot area or volume, 'A' = soft rot area or volume, 'T' = time; 'DL1-DL2-DL3-DL4-DL5-DL6' = number of the detached leaf from outside to inside of plant.

