

四、種苗病理研究

一 孤挺花、山藥及芋病毒檢測技術與健康種苗繁殖體系之建立

王慧如、邱燕欣、楊佳琦

近年來孤挺花、山藥及芋等無性繁殖作物栽培面積雖逐漸增加，然卻缺乏有關生理性或病理性指標為基礎之種苗品質檢查標準。本研究以間接法酵素聯結抗體免疫吸附法 (Indirect-ELISA) 檢測孤挺花、山藥及芋頭植株是否感染病毒。孤挺花樣

品採集為孤挺花實生苗，計有169種父母本共485件，病毒檢測主要以孤挺花潛隱病毒 (Hippeastrum latent virus, HiLV) 為主，檢測結果顯示健康苗約佔98.6%，1.4%苗具有HiLV血清的反應。山藥品種測試以陽明山刺薯、中埔紅薯、宜蘭原生種、基隆山藥、大汕、台農一號、台農二號、名間長虹及花蓮3號等9種品種共計75株，檢測結果健康植株約佔20%、72%植株具有ZaMMV血清反應、49.3%植株具有DsMV血清反應及40%植株具有POTV

表4-1、山藥病毒ELISA檢測

品種	樣品數	病毒血清反應樣品數						
		ZaMV	ZaMMV	DsMV	CMV	TuMV	POTV	無
大汕	9	0	9	0	0	0	8	0
陽明山刺薯	15	0	15	5	0	0	11	0
中埔紅薯	13	0	9	11	0	0	1	2
宜蘭原生種	6	0	2	3	0	0	0	3
基隆山藥	5	0	4	1	0	0	1	1
台農一號	1	0	1	0	0	0	1	0
台農二號	7	0	7	7	0	0	5	0
名間長虹	13	0	4	7	0	0	1	6
花蓮3號	6	0	3	3	0	0	2	3
合計	75	0	54	37	0	0	30	15

表4-2、芋頭病毒ELISA檢測

品種	樣品數	病毒血清反應樣品數						
		ZaMV	ZaMMV	DsMV	CMV	TuMV	POTV	無
大甲芋檳榔心	127	3	1	10	8	9	37	78
日本大和芋	50	15	0	10	1	1	15	21
合計	177	18	1	20	9	10	52	99

血清反應，至於TuMV、CMV及ZaMV則無法在所有檢測植株發現有血清反應(表4-1)。芋頭檢測的病毒種類與山藥病毒相同，檢測結果為大甲芋檳榔心有78株為無病毒血清反應，大和芋則有21株為無病毒血清反應(表4-2)。

二 茄科作物符合優良農業操作標準的病害管理模式之建立

林上湖、鍾文全、邱燕欣、文紀鑒、楊佐琦

95年度健康馬鈴薯克尼伯種薯採用網室栽培方式，可量產無病毒原原種薯400 kg，已全數供地方採種單位生產使用。至於建立符合優良農業操作標準的馬鈴薯病害管理模式部分，已完成馬鈴薯原種及採種薯良好生產準則(TGAP)編撰並報會核定。馬鈴薯適合於砂質壤土及鬆軟之壤土栽培，進行土壤消毒及改良將有助於提高單位面積種薯產量。另馬鈴薯原種至採種薯之一系列田檢工作，目前仍無相關權責單位提出因應對策，未來如何規劃及落實執行將攸關產業發展。

三 無病原海芋種苗生產、種子微生物處理及驗證技術之研發與利用

王慧如、何書豪、邱燕欣、楊佐琦

種苗(子)為農業生產的基本材料，擁有健康的種苗，才能期望有良好的收成。為避免農作物因病蟲害遭受損失，健康種苗(子)的應用是病蟲害管理體系中極重要的一環。本試驗每三個月檢驗本場組織培養室所繼代增殖之海芋瓶苗六個品種，經ELISA檢測皆無病毒反應；以RT-PCR與ELISA法雙重檢驗目前重新更新之兩個品種母瓶皆無病毒反應。為考量種子處理均勻化及菌種於種子表面族群之變化，進一步以1.0% CMC為黏著劑將各處理披覆於種子後，於洋菜培養基進行立枯絲核菌對峙培養，除可有效拮抗立枯絲核菌之菌絲靠近種子，亦不會影響種子的發芽率。將供試甜椒及甘藍種子浸泡BS6-14與台鹽所生產之K菌S兩種有益微生物之菌液後，經室溫風乾，直接種植於含立枯絲核菌(*Rhizoctonia solani*)之病土中，相

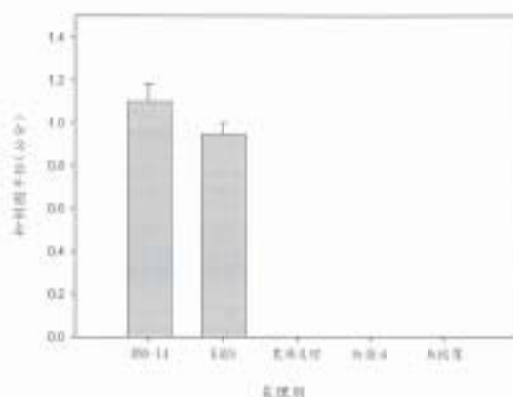


圖4-1、以低濃度(1%) CMC為黏著劑將各處理披覆於番茄種子後，於洋菜培養基與立枯絲核菌進行對峙培養，72小時後，量測抑制圈大小，農藥處理為50%免賴得可濕性粉劑之1000倍稀釋液

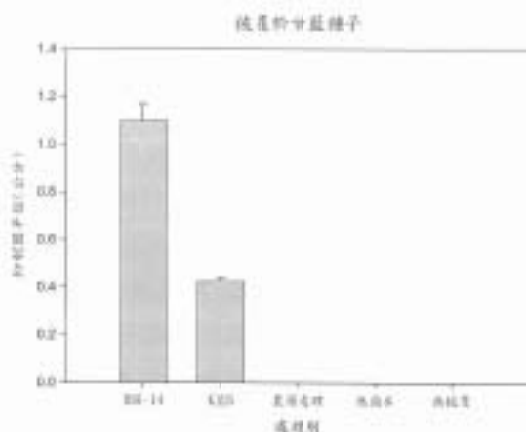


圖4-2、以低濃度 (1%) CMC為黏著劑將各處理披覆於甘藍種子後，於洋菜培養基與立枯絲核菌進行對峙培養，72小時後，量測抑制圈大小，農藥處理為50%免賴得可濕性粉劑之1000倍稀釋液

較於二組對照：(1) 無處理及 (2) 農藥處理：以50%免賴得可濕性粉劑1000倍浸泡種子之處理者，皆有顯著抑病之能力 (圖4-1、圖4-2)，而披覆CMC+有益微生物之菌量約為至每顆甘藍種子 2×10^5 cfu，保存種子至4°C，兩個月後尚可檢測每顆甘藍種子約 10^3 - 2×10^4 cfu具活性的菌量。

四 細菌性軟腐病抗藥性調查與管制策略之研究

邱燕欣、楊佐琦

台灣的蝴蝶蘭產業已朝集中、精緻管理，過去業者為了照顧產值高的蘭園，不惜成本、濫施農藥或連續使用單一藥劑，不但效果有限，並且容易產生軟腐病

菌 (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *E. chrysanthemi*) 抗藥性的問題。本試驗即利用聚合酶鏈鎖反應技術 (專一性片段增幅反應) 偵測中南部五家蘭園中受軟腐病菌感染的植株，發現造成蘭花軟腐病的菌原均屬於 *E. chrysanthemi*。進一步利用厚型圓盤濾紙法進行15種常用防治細菌性病害農藥 (表4-3) 對 *Erwinia* 屬病原菌是否已具抗藥性，發現所分離之十四株 *Erwinia* 屬病原菌中，同一蘭園分離之菌株之抗藥性相似，而蘭園間則可區分。供試菌株編號14、15、20、21、22、27僅歐索林酸1000倍稀釋液對其具抑制性，其餘14種藥劑皆無抑制效果；鏈黴素1,000倍稀釋液、歐

表4-3、植物保護手冊常用於防治細菌性病害之推薦用藥

編號	藥劑
1	12.5%鏈黴素溶液1000倍
2	12.5%鏈黴素溶液3000倍
3	68.8%多保菌素混合可濕性粉劑1000倍
4	2%嘉賜敵素可濕性粉劑1000倍
5	16.5%鏈土黴素混合可濕性粉劑1000倍
6	20%歐索林酸可濕性粉劑1000倍
7	55%噻硫銀銅可濕性粉劑500倍
8	27.12%三元硫酸銅水懸性粉劑500倍
9	73%拌波爾多混合可濕性粉劑500倍
10	81.3%嘉賜敵素混合可濕性粉劑1000倍
11	85%鹼性氫氧化銅可濕性粉劑500倍
12	76.5銅滅達樂混合可濕性粉劑1000倍
13	40%波快得寧混合可濕性粉劑500倍
14	77%氫氧化銅混合可濕性粉劑500倍
15	72%波爾多可濕性粉劑500倍

索林酸1,000倍稀釋液對供試菌株編號16、17、18、19具抑制性；多保鏈黴素1,000倍稀釋液、鏈土黴素1,000倍稀釋液、歐索林酸1000倍稀釋液對供試菌株編號23、24、25、26具抑制性（表4-4）。此

外，利用含有不同濃度之無機Cu與鏈黴素之NA培養基進行各菌株生長抑制測試，不僅可確認病原菌其抗藥性之程度，還可確定施藥步驟是否為加重藥劑濃度還是換不同作用機制之藥劑（表4-5）。

表4-4、自不同地區蘭園所分離14株*Erwinia*屬病原菌對不同藥劑的感受性

藥劑編號 菌株編號	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
CK無鹼水	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
6	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* 濾紙直徑為0.8公分，抑制圈大小品估標準如下：‘-’表示抑制圈小於1.0公分；‘+’表示抑制圈介於1.0-1.8公分；‘++’表示抑制圈介於1.8-2.8公分；‘+++’表示抑制圈介於2.8-3.8公分；‘++++’表示抑制圈大於3.8公分。

表4-5、自不同地區蘭園所分離14株*Erwinia*屬病原菌對不同濃度之無機Cu與鏈黴素的感受性

菌株代號 添加物	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
CK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 50ppm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 100ppm	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-

表4-5、自不同地區蘭園所分離14株*Erwinia*屬病原菌對不同濃度之無機Cu與鏈黴素的感受性(續)

菌株代號		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
添加物															
S	500ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S	1000ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cu	100ppm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cu	200ppm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cu	300ppm	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
Cu	400ppm	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Cu	500ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cu	1,000ppm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

-：該測試培養基對於該測試菌株不具抑制效果。+：該測試培養基對於該測試菌株具抑制效果。

五 病毒對蝴蝶蘭生育影響之研究

沈翰雅

蝴蝶蘭為我國現階段重點發展之花卉，但病毒易導致其生長緩慢、開花率與花梗長度等品質降低，進而影響售價與外銷。蝴蝶蘭常見的病毒種類包括齒舌蘭輪斑病毒(ORSV)、東亞蘭嵌紋病毒(CyMV)等。本場以蝴蝶蘭「世芥F688C」品種為材料，建立健康與單一、複合感染ORSV、CyMV病毒的擬原球體(PLB)組織培養瓶苗。擬原球體(PLB)組織培養瓶苗每二個月繼代培養一次，已完成7次繼代培養，其平均增殖倍率調查至95年12月2日以對照組(CK)最高為5.46倍，其次依序為CyMV(C)的4.47倍、CyMV與ORSV複合感染(C+O)的4.12倍。

蝴蝶蘭組培苗移植至溫室四個月後觀察其生育狀況之結果顯示(圖4-3)，葉片

數以CyMV與ORSV複合感染(C+O)最高為3.6片，其次依序為對照組(CK)的3.3片、CyMV(C)的2.9片。幅寬以CK最高為6.47cm，其次依序為C的6.02cm、C+O的5.82cm。第二葉葉面積則以CK最高為7.26cm²，其次依序為C的5.91cm²、C+O的5.46cm²。由於幅寬與葉面積能代表蝴蝶蘭植株的大小與生長勢，因此，未感染病毒的蝴蝶蘭種苗之生育狀況仍優於單一與複合感染CyMV與ORSV者。



圖4-3、蝴蝶蘭組培苗移植至溫室四個月後觀察其生育狀況之結果。圖左為對照組(CK)；中為感染CyMV植株；右為CyMV與ORSV複合感染植株