

## 四、種苗病理研究

### 一 本土藥用植物抗生活性及毒理研究

陳立耿、王靜瓊、羅英妃、張定霖

對抗生素具抗藥性之細菌感染為人類嚴重之疾病之一，因此開發新抗生物質為迫切之需求。台灣位居熱帶與亞熱帶地區植物資源豐富，極適合開發本土之植物資源。本計畫篩選菊科、樟科及芸香科共三

十五種本土植物之50%甲醇萃取物以連續稀釋微效價法檢測其抗金黃色葡萄球菌之活性，並以抑制脂多糖誘發RAW264.7巨噬細胞產生一氧化氮之模式探討其抗發炎活性，結果顯示七種植物萃取物具抑菌活性，其中以月桂具最佳抑菌效果 ( $MIC=250 \mu g/ml$ )，而白面風、肺炎草、芳香萬壽菊及高山艾則僅具微弱之抑菌效果 ( $MIC=1000 \mu g/ml$ )。而抗發炎活性顯示杭菊、菊芋、艾葉、角菜、月桂等五種

表4-1、十八種本土藥用植物之清除自由基作用及多酚類含量

| No. | Chinese name | Total phenolics<br>(mg of GAE /g) | SC <sub>50</sub> ( $\mu g/ml$ ) |                   |
|-----|--------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|
|     |              |                                   | DPPH                            | ABTS <sup>a</sup> |
| 1   | 茵陳           | 33.78                             | 8.80±0.006                      | 26.81±0.06        |
| 2   | 秋鼠麴草         | 7.63                              | 26.01±0.012                     | 20.01±0.06        |
| 3   | 大薊           | 4.60                              | 25.96±0.003                     | 29.19±0.03        |
| 4   | 鼠麴草          | 6.78                              | 41.51±0.005                     | 32.63±0.03        |
| 5   | 白面風          | 5.02                              | 94.70±0.002                     | 47.85±0.02        |
| 6   | 肺炎草          | 1.21                              | >500                            | 211.98±0.02       |
| 7   | 柳枝蒿          | 1.08                              | 12.60±0.006                     | 22.65±0.04        |
| 8   | 艾葉           | 6.13                              | 41.08±0.004                     | 34.15±0.06        |
| 9   | 甜萬壽菊         | 16.39                             | 17.03±0.002                     | 71.13±0.02        |
| 10  | 大頭艾納香        | 21.18                             | 10.66±0.012                     | 50.00±0.02        |
| 11  | 澤金紐扣         | 2.34                              | 215.06±0.003                    | 89.09±0.02        |
| 12  | 苦艾           | 4.48                              | 53.39±0.002                     | 61.72±0.04        |
| 13  | 芳香萬壽菊        | 30.48                             | 10.50±0.002                     | 41.16±0.03        |
| 14  | 山菊           | 13.43                             | 20.75±0.012                     | 73.53±0.04        |
| 15  | 山澤蘭          | 3.45                              | 174.37±0.017                    | 51.16±0.02        |
| 16  | 高山艾          | 3.90                              | 9.46±0.002                      | 41.07±0.02        |
| 17  | 月桂           | 19.77                             | 13.17±0.002                     | 25.58±0.06        |
| 18  | 佛手柑          | 3.82                              | 391.90±0.001                    | 75.11±0.06        |

植物萃取物具抗發炎活性，但月桂具顯著細胞毒性。此外，茵陳、柳枝瘡、大頭艾納香、芳香萬壽菊、高山艾及香葉樹等六種植物萃取物具顯著自由基清除活性。本計畫所篩選具活性之植物萃取物值得加以開發利用(表4-1)。

## 作物種苗病害檢測與健康種苗生產技術之研發

楊佐琦、呂和華、文紀鑒、邱燕欣、  
林上湖、鍾文全

96年度健康馬鈴薯克尼伯種薯採用網室栽培方式，計量產無病毒原原種薯1000 kg，已全數供地方採種單位生產使用。另符合優良農業操作標準的馬鈴薯病害管理模式克正逐步推動之中。本次試驗已自田間收集瓜類病原真菌包括瓜類立枯病(*Rhizoctonia solani*)、炭疽病(*Colletotrichum lagenarium*)、洋香瓜萎凋病(蔓割病)(*Fusarium oxysporum*)、以及不可培養之瓜類白粉病(*Sphaerotheca fusca*)於溫室持續寄代種植感病之胡瓜，並針對本場選育之品種進行白粉病抗感病測試，在試驗後提供園藝學者評比之資訊，給於其抗病育種之材料參考。健康山藥母本選拔已經完成階段性目標，篩選出9株無病毒檢出之植株可以作為繁殖用之母本，提供農民作為健康種薯進行大量繁殖。本年度也重新至海芋母本園挑選適宜之母本，重新且切取生長點，逐批淘汰現

有之海芋瓶苗，而進入母瓶前，需經過RT-PCR與ELISA之雙重檢驗，目前以重新更新之母瓶有兩個品種皆無病毒檢出，也進行後代子瓶之生產預計進入生產線。在本次試驗中，所篩選之有益微生物雖能在培養基上，對於茄科疫病菌 *Phytophthora capsici* 有拮抗抑制之效果，造成疫病菌絲鬆散，但在實際應用於溫室之穴盤試驗中雖然不影響種子發芽之情形，但卻無法達到防治之效果。在豇豆種子處理試驗中，在經由表面消毒後，種皮內幾無經由 *Fusarium* sp. 之檢出，但是在1%的次氯酸鈉處理3分鐘後仍可在種臍處分離出 *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilui*，顯示該病原菌可能藉由種子種臍外部凹陷處藏匿。檢驗蘭園中感染植株造成軟腐的病原菌進一步檢驗菌株，利用聚合酶鏈鎖反應技術(專一性片段增幅反應)偵測目前所分離至受感染造成蘭花軟腐都為 *Pectobacterium chrysanthemi*，並且利用不同檢驗方法檢驗該菌株是否已具抗藥性，其中利用厚型圓盤濾紙法進行15種農藥對 *Pectobacterium* 屬病原菌的抑制試驗中得知，以20%歐索林酸可濕性粉劑1000倍對96年所分離之十株 *Pectobacterium* 屬病原菌的抑制效果較佳，但菌株間對藥劑的感受性不同，與95年所分離之菌株抗藥性較類似，但相較94年所測試之菌株則明顯觀察，普遍菌株抗銅能力下降，顯示因農政單位大力推動更替有效殺菌藥劑之行動之下，田間菌株之抗銅性已有改善，在實際觀察蘭花園區中，可發現另一由細菌感染

之病害-細菌性褐斑病 (*Acidovorax avenae* subsp. *avenae*) 則有發生率日益增加的趨勢，可能與其潛伏期較長，在停止細菌性用藥之下，族群擴散及增加不易被栽培者所觀察及移除，在颱風過後或管理不佳之狀況下，造成病害快速發生，應該加強宣導栽培業者對此病害之管理。

### 植物有害生物整合性管理模式之建立與應用—馬鈴薯

鍾文全、林上湖、邱燕欣

調查本場，雲林縣斗南與嘉義縣溪口地區馬鈴薯栽培期間的病害發生種類率，發現馬鈴薯的真菌病害主要以炭疽病、晚疫病、菌核病、白絹病、乾腐病及早疫病為主；細菌性病害以青枯病，瘡癰病與軟腐病為主；而病毒病則以捲葉病毒為主。利用馬鈴薯薯塊生物分析法評估木黴菌與放線菌對馬鈴薯瘡癰病菌生長的影響，發現木黴菌 *Trichoderma viride* 和 *T. harzianum* 與放線菌 *Streptomyces padanus* 可有效降低瘡癰病菌對馬鈴薯薯片的危害。評估農業有機廢棄物對馬鈴薯瘡癰病菌土中族群數目的影響，結果顯示添加1%蓖麻粕、苦茶粕、菜籽粕與芝麻粕可明顯降低瘡癰病菌土中的族群數目，而蝦蟹殼粉、大豆粕及米糠粉卻促進其族群數目的增加。比較不同農業有機廢棄物對木黴菌 *T. viride* 與 *T. harzianum* 的生長之影響，發現分別添加1%菜籽粕、米糠和芝麻粕可促進兩支木

黴菌的生長。進一步將菜籽粕、芝麻粕和廢棄香菇太空包混合後，培養上述兩支木黴菌，發現 *T. viride* 與 *T. harzianum* 兩支木黴菌的族群數目可提高至  $6.5 \times 10^9$  與  $8.8 \times 10^9$  cfu/mL。

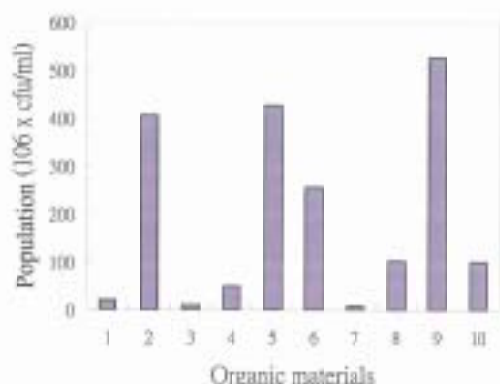


圖4-1、不同農業有機廢棄物對 *Streptomyces scabies* 生長之影響。

1: 芝麻粕；2: 大豆粕；3: 苦茶粕；  
4: 菜籽粕；5: 米糠粉；6: 花生粕；  
7: 蓖麻粕；8: 肉骨粉；9: 蝦蟹殼粉；  
10: 對照組

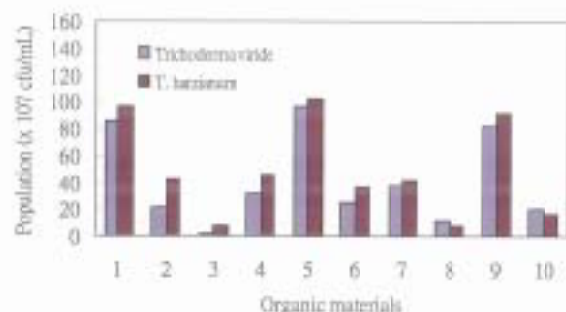


圖4-2、不同農業有機廢棄物對木黴菌 *Trichoderma viride* 和 *T. harzianum* 生長之影響。

1: 菜籽粕；2: 花生粕；3: 蓖麻粕；  
4: 大豆粕；5: 芝麻粕；6: 肉骨粉；  
7: 蝦蟹殼粉；8: 苦茶粕；9: 米糠粉；  
10: 對照組

#### 四 生質能源及休耕輪作疫病、蟲害管理模式建立—小油菊

鍾文全、邱燕欣、鄭榮櫻

調查本場與嘉義縣義竹鄉、鹿草鄉地區之小油菊栽培期間的病蟲害發生種類，發現小油菊的真菌性病害主要以炭疽病、白絹病，及葉斑病為主，細菌性病害以青枯病為主，而病毒病以黃化捲葉病毒為主；有害昆蟲則以沫蟬、潛蠅、菊鳥羽蛾及金龜子為主。以 *Alternaria* 半選擇性培養基偵測進口與本場生產的小油菊種子，證明種子有葉斑病菌 (*Alternaria porri*) 的存在。篩選葉斑病菌的防治藥劑，發現依滅列具有抑制葉斑病菌菌絲生長與孢子發芽的效果。利用對峙培養法，發現木黴菌

表4-2、進口與本場採種小油菊種子攜帶葉斑病菌 (*Alternaria porri*) 的百分率與經由種子傳播葉斑病菌的種苗百分率

| 種子        | 帶菌比率 (%) |      | 罹病率 (%) |      |
|-----------|----------|------|---------|------|
|           | 末消毒      | 表面消毒 | 末消毒     | 表面消毒 |
| <b>進口</b> |          |      |         |      |
| Gondar 1  | 3        | 0    | 25      | 0    |
| Gondar 2  | 18       | 3    | 14      | 4.6  |
| Gondar 3  | 22       | 6    | 19      | 7.2  |
| Tana 1    | 32       | 6.8  | 23      | 5.6  |
| Tana 2    | 0        | 0    | 0       | 0    |
| Tana 3    | 0        | 0    | 0       | 0    |
| Tana 4    | 16       | 5.6  | 14      | 2.5  |
| <b>本場</b> |          |      |         |      |
| 94 採種     | 23       | 2.4  | 20      | 4.5  |
| 95 採種     | 25       | 4.2  | 18      | 3.2  |

*Trichoderma viride* 和 *T. harzianum* 兩菌株可纏繞寄生在白絹病菌的菌絲上。以小油菊莖片生物分析法評估木黴菌兩菌株對白絹病菌纏繞小油菊莖片的情形，發現 *T. viride* 和 *T. harzianum* 兩菌株可有效降低白絹病菌對小油菊莖片的纏繞能力。比較不同農業有機廢棄物對木黴菌 *T. viride* 與 *T. harzianum* 的生長之影響，發現添加1%菜籽粕、米糠和芝麻粕可促進兩支木黴菌的生長。進一步將菜籽粕、芝麻粕和廢棄香菇太空包混合後，培養上述兩支木黴菌，可使 *T. viride* 與 *T. harzianum* 兩支木黴菌族群數目分別提高至  $6.5 \times 10^9$  與  $8.8 \times 10^9$  cfu/mL。

表4-3、不同殺菌劑對 *Alternaria porri* 孢子發芽與菌絲生長的影響

| 殺菌劑   | 孢子發芽率 (%) | 菌絲生長 (cm) |
|-------|-----------|-----------|
| 四氯異苯晴 | 36.8 c    | 2.4 b     |
| 三奈隆   | 94.0 a    | 1.8 b     |
| 依普同   | 25.5 c    | 1.0 bc    |
| 撲克拉錳  | 55.6 b    | 0.9 bc    |
| 撲克拉   | 47.9 b    | 0.9 bc    |
| 依滅列   | 10.5 d    | 0.0 c     |
| 對照組   | 96.2 a    | 8.0 a     |



圖4-3、不同木黴菌菌株拮抗白絹病菌之情形

## 五 茄科作物符合優良農業操作標準的病害-管理模式之建立

楊佳琦、林上湖、鍾文全、邱燕欣、  
文紀鑒

96年度健康馬鈴薯克尼伯種薯採用網室栽培方式，計量產無病毒原原種薯1000 kg，已全數供地方採種單位生產使用。另符合優良農業操作標準的馬鈴薯病害管理模式克正逐步推動之中；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，另誘導劑之利用為未來下一波種薯生產提供一新的思考方向。至於馬鈴薯原種至採種薯一系列田檢工作，地區農會與生產者多有正面需求，惟目前仍無相關因應對策，未來如落實，關係未來種薯質與量之發展。

## 六 病毒對蝴蝶蘭種苗生育之影響

沈翰祖、張義弘、楊佳琦、廖玉珠、  
孫永偉、陳駿季

本試驗為確認齒舌蘭輪斑病毒(ORSV)、東亞蘭嵌紋病毒(CymMV)單一感染與複合感染，對蝴蝶蘭組培苗增殖倍率、種苗生育狀況之影響，並建立高敏感度的病毒檢測與定量技術，期應用此一定量技術，確認病毒對蘭花不同的生育階段與植株不同部位之影響。以蝴蝶蘭「世芥F688C」品種為材料，建立健康與單一、複合感染ORSV、CymMV病毒的擬原球體(PLB)組織培養瓶苗，其中PLB平均增殖倍率以對照組(CK)最高，其次依序為CymMV(C)、CymMV與ORSV複合感染(C+O)；而組培苗移植至溫室觀察其生育狀況之結果顯示，葉片數以C+O最高，其次依序為CK、C；幅寬與第二葉面積則



圖4-1、蝴蝶蘭植株感染CymMV、ORSV病毒之生育情形。CK：為健康植株；CymMV+ORSV：為複合感染CymMV、ORSV病毒之植株；CymMV：為單一感染CymMV病毒之植株

以CK最高，其次依序為C、C+O。利用 Real-time PCR進行病毒定量的結果顯示 CymMV病毒鞘蛋白基因檢出量於葉片後段含量最低，並遠低於其他部位；其次為植株基部、根部前半、葉片中段、葉片尖端

；以根部後半含量最高且遠高於其他部位。檢測ORSV病毒鞘蛋白基因檢出量於植株基部含量最低；其次為根部後半、根部前半、葉片後段、葉片尖端；以葉片中段含量最高且遠高於其他部位。

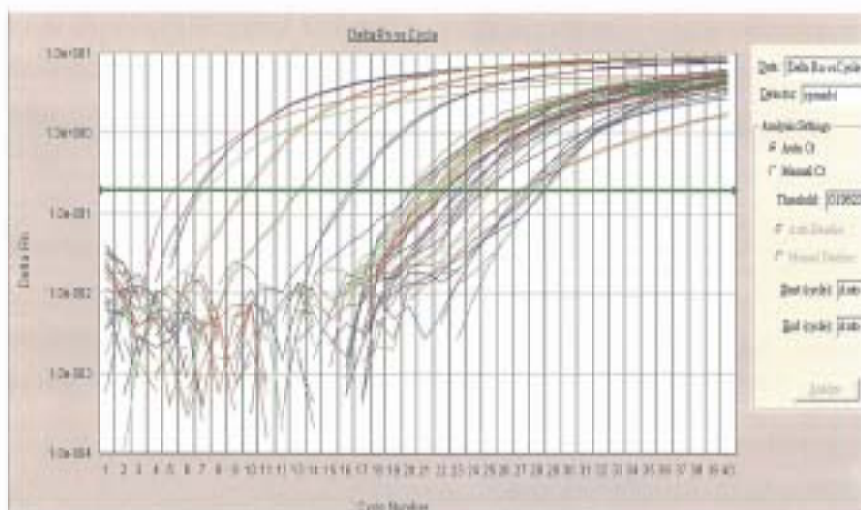


圖4-2、利用Real-time PCR針對蝴蝶蘭植株不同部位進行病毒定量

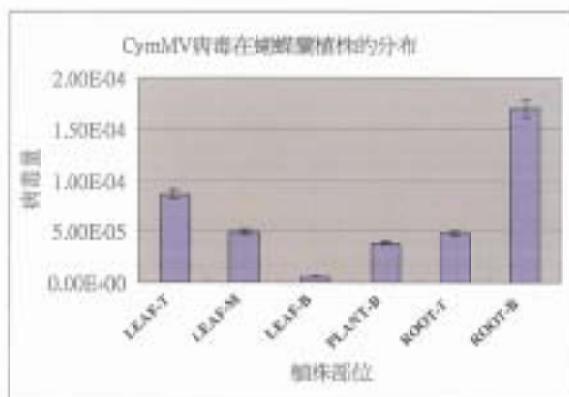


圖4-6、利用Real-time PCR針對蝴蝶蘭植株不同部位進行CymMV病毒鞘蛋白基因進行定量。LEAF-T：葉片尖端；LEAF-M：葉片中段；LEAF-B：葉片後段；PLANT-B：植株基部；ROOT-T：根部前半；ROOT-B：根部後半

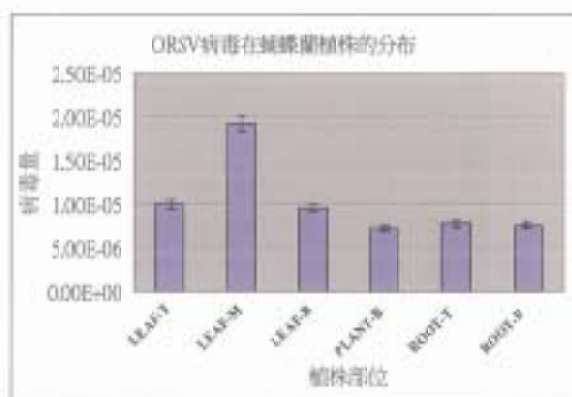


圖4-7、利用Real-time PCR針對蝴蝶蘭植株不同部位進行ORSV病毒鞘蛋白基因進行定量。LEAF-T：葉片尖端；LEAF-M：葉片中段；LEAF-B：葉片後段；PLANT-B：植株基部；ROOT-T：根部前半；ROOT-B：根部後半

## 七 本土香辛植物成分分析及鑑定

王靜瑾、羅英妃、吳倩芳、張定霖

本研究以17種常見之菊科及18種唇形科香草萃取物進行體外細胞實驗，觀察是否具有細胞毒性，並分析其抗發炎之潛力。在抑制LPS誘導RAW264.7細胞產生一氧化氮試驗之結果顯示：菊科中以大花咸豐草及南美蟛蜞菊；唇形科中以法國亞

種薰衣草、法國薰衣草、普羅旺斯薰衣草、針葉迷迭香、金毛鼠尾草、三色鼠尾草及粉萼鼠尾草效果明顯。然而，本次樣品於100  $\mu\text{g/ml}$ 對於癌細胞株 (T24、HeLa及HepG<sub>2</sub>) 無明顯毒性，但於高濃度下 (500  $\mu\text{g/ml}$ ) 相對正常細胞株3T3顯示較高的毒性。降低濃度後 (250  $\mu\text{g/ml}$ )，普遍毒性下降，僅鰾腸細胞毒性大於50%。故這些植物萃取物雖具有開發的潛力，未來相關毒性試驗亦須進行評估。

表4-4、十七種本土菊科植物對NO之抑制活性及細胞毒性

| 中文名   | 抗發炎活性             |                                       | 細胞毒性 CI (%)      |
|-------|-------------------|---------------------------------------|------------------|
|       | NO inhibition (%) | IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) |                  |
| 小花蔓澤蘭 | 21.23 $\pm$ 2.60  |                                       | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 大花咸豐草 | 65.11 $\pm$ 2.28  | 72.09                                 | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 白花蠟薔薇 | 19.98 $\pm$ 4.78  |                                       | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 紫萼草   | 27.84 $\pm$ 2.76  |                                       | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 莖薔薇   | 26.40 $\pm$ 8.93  |                                       | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 偏基草   | 34.22 $\pm$ 3.20  |                                       | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 馬蘭    | 24.80 $\pm$ 0.48  |                                       | 3.58 $\pm$ 3.00  |
| 兔耳菜   | 17.94 $\pm$ 0.87  |                                       | 9.53 $\pm$ 6.09  |
| 鰾腸    | 33.56 $\pm$ 5.63  |                                       | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 細葉山艾  | 39.11 $\pm$ 1.69  |                                       | 1.04 $\pm$ 0.64  |
| 黃花鼠尾草 | 35.38 $\pm$ 1.50  |                                       | 1.04 $\pm$ 1.80  |
| 異葉六稜菊 | 33.35 $\pm$ 4.94  |                                       | 11.41 $\pm$ 2.23 |
| 雙花蟛蜞菊 | 35.47 $\pm$ 5.05  |                                       | 9.63 $\pm$ 2.45  |
| 紫花蠟薔薇 | 27.85 $\pm$ 5.61  |                                       | 0.28 $\pm$ 0.49  |
| 六神草   | 28.34 $\pm$ 3.48  |                                       | 4.18 $\pm$ 2.80  |
| 鼠麴草   | 14.49 $\pm$ 1.80  |                                       | 0.00 $\pm$ 0.00  |
| 肺炎草   | 2.14 $\pm$ 3.71   |                                       | 2.14 $\pm$ 7.12  |

50% MeOH萃取

處理劑量：100  $\mu\text{g/ml}$