

四、種子（苗）病害防治研究

一 重大植物有害生物監測調查、預警及官方防治

簡怡文、邱燕欣、袁雅芬、李美娟

本年度本場之農作物病蟲害診斷諮詢服務站共完成診斷服案件 44 件，其中診斷結果為病害者共 28 件，蟲害 9 件，其他 10 件（其中 3 件為複合感染）。

二 作物種苗病害檢測、驗證及防治技術之開發與應用

袁雅芬、簡怡文、李建勳、鍾文全

邱燕欣、李美娟

有關作物抗病育種之病害檢定技術建立，本年度已取得 15 個南瓜品系共 216 個樣本進行白粉病原菌接種試驗，並建立南瓜對白粉病抗性之病害等級：發病度 0- 健康；發病度 1- 病斑小於三分之一；發病度 2- 病斑約

為二分之一；發病度 3- 病斑大於三分之二；發病度 4- 全部；目前接種的品系中，品系 8 可能為較抗病之品種；品系 5、7 可能為稍具抗病性之品種。同時自不同地點收集白粉病原菌進行繁殖與保存（圖 4-2-1、圖 4-2-2）。

以濃度為 10^8 CFU/ml 的西瓜果斑病菌污染乾淨的西瓜種子，發芽後種子置床於 72 穴穴盤中，並以不同編號的根圈微生物菌液，澆灌處理上述接種的西瓜幼苗，篩選出的拮抗細菌編號 15-7、15-8、15-9 及 15-10 可使西瓜幼苗存活率較對照組增加 3 倍（表 4-2-1），

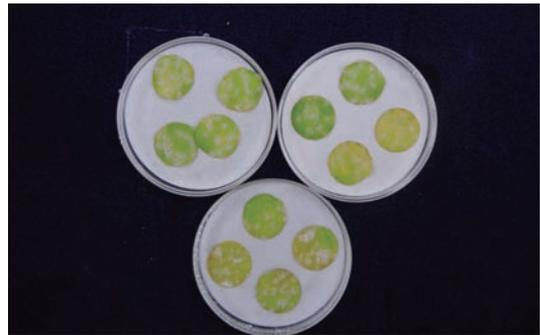


圖 4-2-2、南瓜葉片接種白粉病原菌後之發病情形

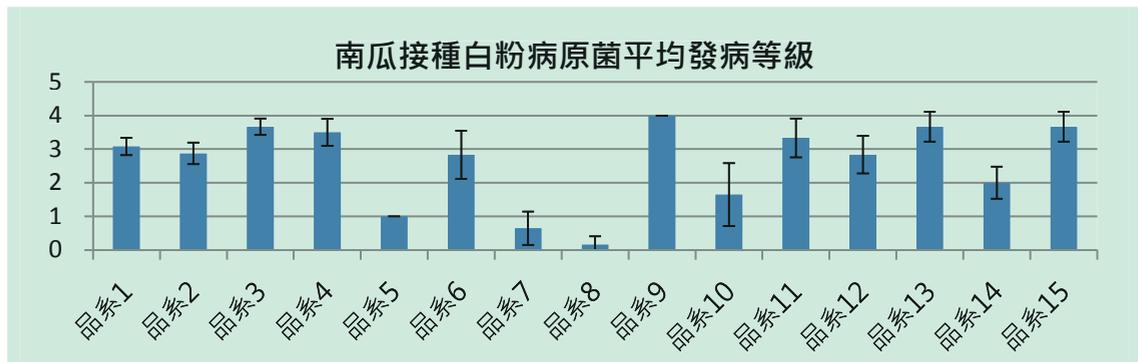


圖 4-2-1、不同南瓜品系接種白粉病原菌之結果

表 4-2-1、西瓜果斑病生物防治試驗

西瓜幼苗存活率			
處理	接種後 1 週	接種後 2 週	接種後 3 週
CK	44%	28%	11%
NB	28%	22%	11%
15-1	39%	28%	17%
15-2	33%	17%	11%
15-4	22%	17%	11%
15-5	39%	39%	33%
15-6	28%	28%	22%
15-7	44%	44%	39%
15-8	50%	39%	39%
15-9	44%	44%	39%
15-10	44%	44%	39%
15-11	39%	28%	28%
15-25	50%	50%	39%
14-12	44%	44%	44%

可做為生物農藥開發之用。

胡瓜栽培期間以亞磷酸溶液處理，調查對露菌病防治之影響，由調查結果顯示，使用亞磷酸溶液 500 倍與 1,000 倍噴施皆具有減緩或抑制露菌病發生的效果，但以亞磷酸溶液 500 倍處理之效果優於亞磷酸溶液 1,000 倍，且以連續噴施對抑制胡瓜露菌病發生的效果較為持久(表 4-2-2)。而在使用窄域油 300 倍、500 倍及苦楝油 300、500 倍對於葉發生率的調查結果顯示，雖然以窄域油及苦楝油處理對於葉發生率皆具有抑制的效果，但防治效果較為短暫(表 4-2-3)。

表 4-2-2、亞磷酸溶液不同濃度及噴施次數處理對胡瓜露菌病之影響

處理	定植後 4 週	定植後 5 週	定植後 6 週	定植後 7 週	定植後 8 週	定植後 9 週
A	0.07b	22.45b	30.50c	58.93a	80.68a	87.52a
B	0.09b	21.38b	37.44b	60.08a	81.76a	85.59a
C	0.21ab	19.46b	22.59cd	40.35b	54.34b	69.42c
D	0.02b	25.60b	26.15c	39.74b	58.17b	79.04b
CK	0.41a	40.33a	44.56a	64.19a	78.83a	88.71a

A 處理：亞磷酸 500 倍(噴 4 次)；B 處理：亞磷酸 1,000 倍(噴 4 次)；C 處理：亞磷酸 500 倍(噴 8 次)；D 處理：亞磷酸 1,000 倍(噴 8 次)；CK 處理：亞磷酸 500 倍

表 4-2-3、不同藥劑處理對胡瓜葉蟎防治之影響

處理	噴藥前 1 天	噴藥後 1 天		噴藥後 3 天		噴藥後 6 天	
	葉蟎數(隻)	葉蟎數(隻)	葉蟎發生率(%)	葉蟎數(隻)	葉蟎發生率(%)	葉蟎數(隻)	葉蟎發生率(%)
A	54.3	30.5	56.2	65.8	121.2	87.7	161.6
B	57.3	40.0	69.9	61.8	107.9	129.5	226.2
C	103.3	108.0	104.6	139.0	134.6	220.5	213.6
D	67.0	79.5	118.7	135.8	202.6	221.3	330.2
CK	21.0	19.8	94.1	36.5	173.8	96.8	460.7

A: 窄域油 300 倍；B: 窄域油 500 倍；C: 苦楝油 300 倍；D: 苦楝油 500 倍；CK: 對照處理；葉蟎發生率 = 噴藥後葉蟎數 / 噴藥前葉蟎數 × 100%

三 植物品種開發及種苗驗證之應用研究 - 植物種苗認驗證體系建立

簡怡文、邱燕欣、李美娟

1. 種苗檢測技術認驗證 TAF 實驗室設備建構及維護：

TAF 認證實驗室設備建置方面，目前已完成實驗室之規劃設計，且完成實驗室之桌櫃與儀器（核酸定量儀、聚合酵素梯度溫度連鎖反應儀、植物生長箱、微量分注器、桌上型離心機）之購置、校正與驗收。

2. 瓜類退綠黃化病毒及草莓潛隱輪斑病毒病毒認驗證體系建構：

參酌國內外文獻，已完成瓜類退綠黃化病毒（Cucurbit chlorotic yellows virus, CCYV）與草莓潛隱輪斑病毒（Strawberry latent ringspot virus, SLRSV）之檢測技術盤

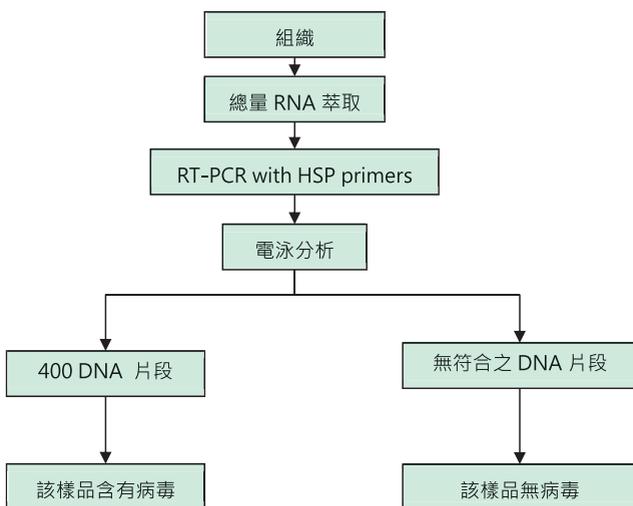


圖 4-3-1、瓜類退綠黃化病毒標準檢測流程

點。瓜類退綠黃化病毒目前檢測技術主要有：RT-PCR、Western blotting、ELISA 及 Immunoelectron microscopy；草莓潛隱輪斑病毒目前檢測技術主要有：RT-PCR、IC-RT-PCR、ELISA 與病徵判別。以不同的樣品進行各種檢測方法的方法測試，挑選最適合的檢測方法做為標準檢測流程，如圖 4-3-1、圖 4-3-2。

四 建立重要蘭花病毒 ORSV、CymMV 新檢測技術

邱燕欣、簡怡文、李美娟

建立親和性篩選系統 (peptides 12) 對於標地蛋白之親和性汰選技術，建立及生產與 CymMV 病毒鞘蛋白具親和性之噬菌體，篩選出可利用於 ELISA 檢測 CymMV 之噬菌體。本計畫已針對 CymMV 病毒材料，進

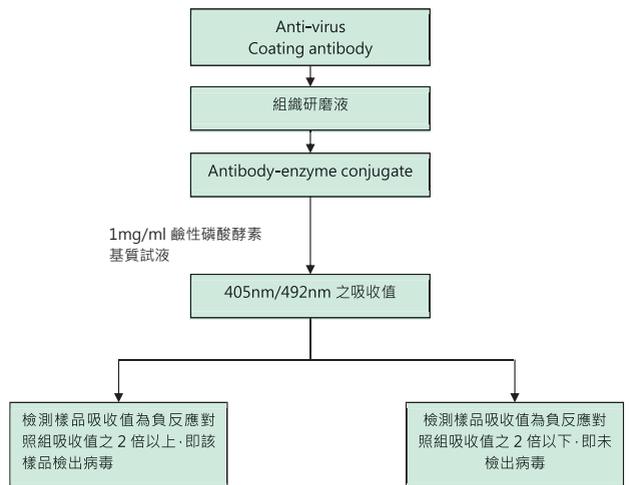


圖 4-3-2、草莓潛隱輪斑病毒標準檢測流程

行單斑分離及純化，並藉由 *E. coli* 表現系統大量表現重組 CymMV Coat Protein (CP)，進行 CymMV Coat Protein (CP) 蛋白純化，並以此蛋白作為 ligands，進行後續 peptide phage display library 親和性標定的篩選流程，選用 peptide phage display library (peptides 12) 系統進行挑選，已在 peptide phage display library(peptides 12) 挑選出 20 株噬菌體，以 ELISA 確認對於 ORSV Coat Protein (CP) 檢測能力，並進行辨別蛋白之特定序列之解序。

五 生產蕙蘭無特定病毒之種苗檢測系統之建立

邱燕欣、簡怡文、李美娟

蕙蘭屬植物包括了虎頭蘭及國蘭，因其株形、花色之變化，深受世人喜愛。台灣地區蕙蘭栽培面積計約 150 公頃，外銷出口總值約為 8-10 億，僅次於蝴蝶蘭，為防止蘭花病毒藉由蕙蘭種苗散佈蔓延，已知對蕙蘭栽培影響最大的病毒病為蕙蘭嵌紋病毒 (Cymbidium mosaic virus, CymMV) 和齒舌蘭輪斑病毒 (Odontoglossum ringspot virus, ORSV)，而蕙蘭繁殖方式可分為：以成株分株其假球

莖及新芽；或利用組織培養苗繁殖，若母株感染病毒，則其子代會因病毒病害發生而漸衰弱。因此以病毒檢測技術篩選無病毒之親本，並確保蕙蘭健康種苗之品質，為防止病毒全面散佈之對策。調查蕙蘭種苗病毒 ORSV、CymMV 之發生率，並調查蕙蘭健康種苗比率，研擬蕙蘭病毒驗證體系之對策。並以金剛砂進行人工接種方式將 ORSV 接種於國蘭-山川品系。於接種 4 週後，以 ELISA 檢測接種葉基部，確定接種成功，以每三個月進行國蘭各部位包括根尖、葉鞘、新梢、葉中段等部位進行 ELISA 檢測。101 年持續監控市場流通之蕙蘭種苗的病毒分佈，單一感染或複合感染的情況仍嚴重，但是農民無法由現行的栽培模式進行改善，65% 以上之母本感染病毒 CymMV、7% 為複合感染 CymMV 與 ORSV。

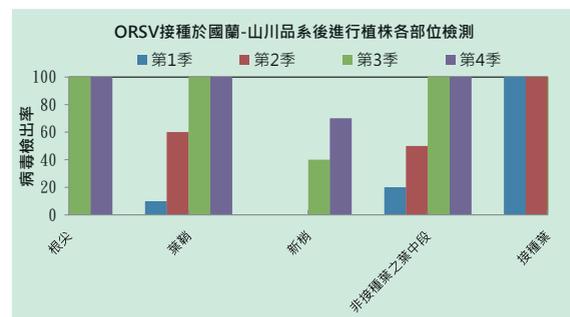


圖 4-5-1、季檢 ORSV 接種於國蘭-山川品系後進行植株各部位檢測

表 4-5-1、101 年調查東勢與新社兩家蕙蘭園，單園隨機檢測 100 株 (年產量估計 50,000 芽)。品種：報歲蘭-山川

蘭園別	CymMV	ORSV	CymMV 與 ORSV 複合感染	無 CymMV 與 ORSV 檢出
A	65%	12%	10%	13%
B	78.5%	9.5%	7%	5%

而以人工接種 ORSV 的國蘭-山川品系，除了新梢之外的部位，在第三季達到 100% 的檢出率。顯現出此一病毒在山川品系的穩定性及高移動性。

六 赴荷蘭研習健康種苗產程管理系統中產品品質與病理管控點之設立

邱燕欣、簡怡文、王至正、林上湖
李美娟

荷蘭於 1930 年代成立種球檢查實驗室至今已發展成熟之健康種苗體制，種苗病蟲害檢查制度的行政管理者由農業部植物保護署 (Plant Protection Service, PD) 負責，而荷蘭馬鈴薯及農藝作物種苗檢測服務中心 (Dutch

General Inspection Service for Agricultural Seed and Seed Potatoes, NAK) 為負責馬鈴薯種薯、雜草種子及農藝作物種子的檢查。荷蘭在馬鈴薯種薯生產策略與產程管理上與我國現行系統不同，尤其在於收成後庫存管理、批次管理與認證追蹤上皆有技術及系統建立，相較目前於台灣並無此管理系統，尤其在馬鈴薯種薯生產驗證方面，荷蘭以深厚之技術背景建立制度化的認證控管體系 (圖 4-6-1、荷蘭種薯供應體系)，使其種薯產業遍及世界各國，相較台灣馬鈴薯種薯認證制度正處於發展推行階段，荷蘭成功之經驗值得台灣借鏡學習，因此種苗場在 2011 年特別設定荷蘭作為研習健康種苗產程管理系統中產品品質與病理管控點之設立之重點國家，進行相關種薯認證體制之學習與觀摩。

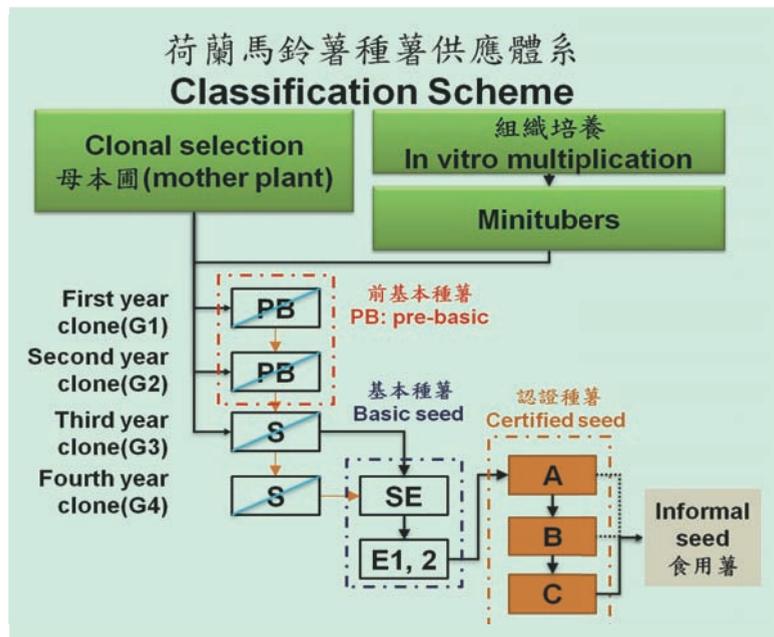


圖 4-6-1、荷蘭種薯認證結構

七 符合目標市場外銷國之種子苗驗證技術盤點與研發

邱燕欣、王慧如、簡怡文、李美娟

本計畫為符合目標市場外銷國之種子苗驗證技術盤點與研發，文獻搜尋並比較國際試驗室間檢測番茄嵌紋病毒(Tomato Mosaic Virus, ToMV)的檢測方式保括 ELISA、RT-PCR、ICRT-PCR 等檢測技術，本計畫前期合成針對 ToMV 專一之引子對以及植體之 Internal control primer set, 可建立 RT-PCR 偵測受檢檢體內之 ToMV, 確定檢測之正確率。現今檢測技術包括了 ELISA、RT-PCR 與結合兩項技術之 ICRT-PCR, 目前雖以 ICRT-PCR

能到達較高之檢測濃度，但因時效性與成本考量仍 RT-PCR 較為國際間使用檢測。本計畫已針對 ToMV 設計專一性之引子對，可準確檢測出檢體內之病毒存在。在植體接種試驗上，藉由 ELISA 之比對，RT-PCR 檢測濃度可高於 ELISA 之 100 倍，為確認 RT-PCR 之檢測準確性(圖 4-7-1)，也設計屬於番茄植體 RNA 放大的引子對，以確認 RT-PCR 試驗結果之判定。並在 2012 擬定檢測流程一式，通過 TAF 試驗室技術認證。

八 外銷重要蔬菜番茄及甜椒種子滅菌處理技術之研究

蘇士閔、林利娜、黃玉梅

本計畫利用氯化鉀電解水、熱水及殺菌劑進行種子滅菌處理試驗，以減少甜椒與番茄種子攜帶細菌性斑點病菌的情形。利用不同 HClO 濃度氯化鉀電解水處理人工污染甜椒種子試驗結果(表 4-8-1)顯示，10 ppm 處理 5 ~ 30 分鐘，可降低種子帶菌率至 0 ~ 7.5%，50 ~ 500 ppm 處理 1 ~ 30 分鐘，可

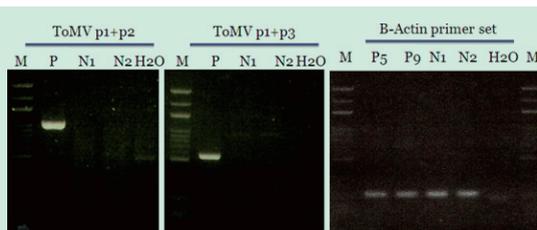


圖 4-7-1、可經 RT-PCR 專一增幅出罹病組織之 ToMV 片段約 500bp 及 Tomato 之 β -actin RNA 片段約 110bp。

表 4-8-1、不同 HClO 濃度之氯化鉀電解水處理人工污染甜椒種子之滅菌效果

HClO 濃度 (ppm)	處理時間 (min)	帶菌率 (%)	發芽率 (%)	雜菌率 (%)
0(CK)	1	53.5	60.7	42.7
	5	46.1	58.9	31.2
	10	44.7	57.8	32.3
	30	28.9	78.9	52.5
500	1	0	89.0	12.0
	5	0	92.7	2.0
	10	0	95.1	1.9
	30	0	96.9	6.1

表 4-8-1、不同 HClO 濃度之氯化鉀電解水處理人工汙染甜椒種子之滅菌效果 (續)

HClO 濃度 (ppm)	處理時間 (min)	帶菌率 (%)	發芽率 (%)	雜菌率 (%)
200	1	0	95.7	6.0
	5	0	88.6	8.0
	10	0	97.4	4.8
	30	0	91.5	0
100	1	0	98.9	7.0
	5	1.0	94.9	6.0
	10	0	90.3	6.0
	30	0	100.0	11.3
50	1	2.8	88.7	28.4
	5	0	87.1	4.6
	10	0	95.3	32.6
	30	0	91.1	12.6
10	1	29.2	78.0	42.0
	5	7.5	92.3	44.7
	10	0	52.9	79.6
	30	4.7	80.9	70.1

降低種子帶菌率至 0 ~ 2.8%，對照組帶菌率則為 28.9 ~ 53.5%。而經電解水處理帶菌種子發芽率多在 80% 以上，對照組發芽率則為 57.8 ~ 78.9%。利用不同 HClO 濃度氯化鉀電解水處理人工汙染番茄種子之試驗結果 (表 4-8-2) 顯示，經 10 ppm 以上處理之番茄種子，可降低種子帶菌率至 0 ~ 2.0%，對照組帶菌率則為 6.2 ~ 13.5%。而經電解水處理帶菌種子發芽率與對照組發芽率均在 81.5% 以上。利用熱水處理人工汙染甜椒種子的試驗結果 (表 4-8-3) 顯示，45°C 處理 10 分鐘之帶菌率為 24.0%，處理 30 分鐘以上可降低帶菌率至

0.9 ~ 4.0%。50、55 及 60°C 處理 10 分鐘上可完全除滅病原菌。60°C 處理 30 分鐘以上會顯著降低發芽率至 0 ~ 7.1%，其他處理之發芽率則在 87% 以上。挑選部分細菌與真菌病害防治藥劑進行人工汙染甜椒種子之滅菌處理，試驗結果 (表 4-8-4) 顯示漂白水處理 10 分鐘以上即可完全除滅種子上之病原菌，且 60 分鐘內不影響種子發芽表現最佳。嘉賜銅處理 10 分鐘以上可有效降低種子帶菌率，處理 6 小時以上可完全除滅種子上之病原菌，且不影響種子發芽。

表 4-8-2、不同 HClO 濃度之氯化鉀電解水處理人工汙染番茄種子之滅菌效果

HClO 濃度 (ppm)	處理時間 (min)	帶菌率 (%)	發芽率 (%)
0	1	9.7	90.2
	5	13.5	90.4
	10	12.3	81.5
	30	6.2	84.3
500	1	0	93.9
	5	0	93.0
	10	0	92.0
	30	0	91.0
200	1	0	86.8
	5	0	92.0
	10	1.0	86.8
	30	0	93.7
100	1	2.0	91.9
	5	0	88.8
	10	0	91.3
	30	0	90.0
50	1	0	95.9
	5	0	94.6
	10	0	98.1
	30	0	95.6
10	1	2.0	96.9
	5	0	93.3
	10	1.8	94.4
	30	0	95.1

表 4-8-3、不同溫度之熱水處理人工汙染甜椒種子之滅菌效果

熱水溫度 (°C)	處理時間 (min)	帶菌率 (%)	發芽率 (%)	雜菌率 (%)
45	10	24.0	93.2	14.4
	30	4.0	94.9	12.1
	60	0.9	95.1	4.8
50	10	0	96.1	6.8
	30	0	91.9	4.0
	60	0	96.7	13.0
55	10	0	94.7	18.7
	30	0	94.2	16.1
	60	0	87.0	10.0
60	10	0	88.8	11.1
	30	0	7.1	16.3
	60	0	0	12.5

表 4-8-4、不同殺菌劑處理對人工汙染甜椒種子之滅菌效果

藥劑 / 濃度 (ppm)	帶菌率 (%)						發芽率 (%)					
	處理時間											
	10 min	30 min	60 min	6 hr	14.5 hr	24 hr	10 min	30 min	60 min	6 hr	14.5 hr	24 hr
嘉賜銅 /2000	27	17	3	0	0	0	82	94	98	79	81	94
多保鏈黴素 /2000	99	98	99	100	88	100	53	52	39	23	24	63
鏈四環黴素 /2000	88	60	76	27	10	7	58	77	61	90	89	96
氫氧化銅 /1000	68	49	53	0	0	0	61	73	77	72	81	91
歐索林酸 /2000	57	42	15	22	3	27	99	99	100	84	55	96
福多寧 /500	96	99	95	98	92	95	6	6	3	0	7	4
四氯異苯腈 /280	98	99	100	100	100	91	2	18	4	1	7	21
免賴得 /600	95	87	95	65	76	12	17	28	11	41	50	86
亞托敏 /1000	88	96	96	95	84	94	10	12	4	1	16	11
依得利 /1000	94	87	92	92	92	89	28	23	7	1	9	5
0.6% 漂白水	0	0	0	0	0	0	99	99	79	8	5	0
無菌水 (CK)	92	95	92	98	95	91	10	7	3	0	1	6

九 披衣添加殺菌劑處理對貯藏後十字花科種子活力之影響

黃玉梅、陳怡秀

為增加十字花科披衣種子防病之附加價值，於披衣處理過程添加不同濃度殺菌劑(四

氯異苯)，經貯藏 12 個月後試驗結果顯示：供試之十字花科蔬菜種子發芽率以殺菌劑稀釋 700 倍有較佳的發芽率，在高濃度 100 倍處理中發芽率顯著低於 700 倍(表 4-9-1)。在出土率的表現，青花菜種子以稀釋濃度 700 倍處理有較佳的出土率為 80%，而花椰菜種出土率皆為 80% 以上，但對甘藍種子影響較

表 4-9-1、披衣添加殺菌劑處理對貯藏後十字花科蔬菜種子發芽率及出土率之影響

處理	青花菜		花椰菜		甘藍	
	發芽率	出土率	發芽率	出土率	發芽率	出土率
Control	93ay	86a	99a	89a	99a	92ab
Coatedz	77bc	77abc	90bc	88a	71cd	79cd
Black spot	84ab	86a	95ab	88a	93ab	91ab
Coated+B	52d	64d	85c	86ab	55d	73de
Coated+B+100X	67c	77abc	88bc	83ab	77bc	64e
Coated+B+300X	77bc	75bc	87bc	85ab	81abc	95a
Coated+B+500X	67c	68cd	85c	80b	85abc	89abc
Coated+B+700X	79bc	80ab	91abc	81b	90ab	83bcd

^z：為披衣種子，其他處理經黑斑病浸種及回乾處理。

^y：Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan' s multiple range test at 5% level.

表 4-9-2、披衣添加殺菌劑處理對貯藏後十字花科蔬菜種子發病率之影響

處理	青花菜	花椰菜	甘藍
Control	23b	21bc	25cd
Coatedz	23b	21bc	32bc
Black spot	27ab	26ab	36b
Coated+B	31a	29a	66a
Coated+B+100X	22b	13de	31bc
Coated+B+300X	21b	13de	30bcd
Coated+B+500X	21b	16cd	22de
Coated+B+700X	8c	8e	14e

^z：為披衣種子，其他處理經黑斑病浸種及回乾處理。

^y：Means with the same letters in a column are not significantly different by Duncan' s multiple range test at 5% level.

顯著，在濃度提高至 100 倍顯著低於對照組，出土率由對照組的 92% 至下降至 64% (表 4-9-1)。播種後並調查黑斑病發病率 (表 4-9-2)，試驗作物添加殺菌劑之種子中以稀釋濃度 700 倍有較低的發病率，青花菜種子之發病率由對照組 23% 及黑斑病浸種 27% 降低至 8%，花椰菜種子之發病率由對照組 21% 及黑斑病浸種 29% 降低至 8%，及甘藍種子之發病率由對照組 25% 及黑斑病浸種 66% 降低至 14% (表 4-9-2)。由試驗結果得知：披衣處理過程添加殺菌劑 (四氯異苯青) 亦可降低十字花科蔬菜黑斑病的發病比率，經貯藏 12 個月後在甘藍種子最為顯著其發病率降低 40% 以上。

十字花科種子健康檢查驗證體系之建立

蘇士閔、陳莉蓮、林利娜、黃玉梅

隨著頻繁的國際種子貿易，種子傳播性病害 (seed-borne diseases) 在不同國家與地區之間的傳播也成為各國農業生產的重要課題。除國家級的檢疫程序外，種子的終端使用者 - 農民也逐漸重視種子帶菌的問題。本研究為協助種子檢查室進行 ISTA 種子健康檢查認證，依 ISTA 規定之檢測方式與品質管理要求，建立十字花科種子黑腐病菌檢測流程並提高操作人員熟練度，以申請十字花科種子

表 4-10-1、農委會種苗改良繁殖場種子檢查室十字花科黑腐病菌檢測流程

1. 試驗組	將樣本種子浸泡在經預冷的 NaCl 溶液中 (每 1000 顆種子加入 10 ml NaCl 溶液) 以 150 rpm (震盪培養基型號) 在室溫中震盪 2 小時後，再將種子萃取液以 NaCl 溶液進行序列稀釋至 10 的 4~5 次方後，吸取各不同倍率稀釋液及原液各 100 μ l 滴至 FS 及 mCS20ABN 選擇性培養基上，並以滅菌 L 型玻棒進行塗佈，於 28 \pm 2 $^{\circ}$ C 培養 4~5 天。
2. 正對照組	準備一 Xcc 標準菌株，以 NaCl 溶液製成懸浮液後序列稀釋，吸取各不同倍率稀釋液及原液各 100 μ l 滴至 FS 及 mCS20ABN 選擇性培養基上，並以滅菌 L 型玻棒進行塗佈後，於 28 \pm 2 $^{\circ}$ C 培養 4~5 天。
3. 空白對照組	將未浸泡過種子的 NaCl 溶液序列稀釋後，吸取各不同倍率稀釋液及原液各 100 μ l 滴至 FS 及 mCS20ABN 選擇性培養基上，並以滅菌 L 型玻棒進行塗佈後，於 28 \pm 2 $^{\circ}$ C 培養 3-4 天。
4. 培養情形觀察	<p>4.1 Xcc 在 FS 選擇性培養基上呈淡綠色黏稠狀小型菌落，周圍有澱粉水解透化圈，記錄前可放置於 4 $^{\circ}$C 數小時使透化圈更明顯。</p> <p>4.2 Xcc 在 mCS20ABN 選擇性培養基上呈淡黃色黏稠狀菌落，周圍有澱粉水解透化圈，記錄前可放置於 4 $^{\circ}$C 數小時使透化圈更明顯。</p> <p>4.3 記錄 Xcc 可疑菌落及其他菌落的數量。</p> <p>4.4 將可疑菌落移植至 YDC 培養基上再培養，每一可疑菌落使用一個培養基避免交互污染，並將正對照組中的 Xcc 菌落再培養於 YDC 培養基上作為對照。於 28\pm2 $^{\circ}$C 培養 24~48 小時，觀察其生長情形。</p> <p>4.5 Xcc 在 YDC 培養基上呈淡黃色黏稠菌落並具流動性。</p> <p>4.7 記錄每一個再培養菌落的測試結果。</p>
5. 病原性測試	<p>5.1 以移植針刮取少量於 YDC 培養基上培養 24~48 小時的菌落，在培育至 4~6 片真葉的甘藍植株上，選擇最年輕的兩片真葉，於接近葉緣之主葉脈選擇 6 點進行穿刺接種，每一菌株使用 3 棵甘藍植株。</p> <p>5.2 以 Xcc 標準菌株進行穿刺接種作為負對照組，以無菌水進行穿刺接種做為空白對照組。</p> <p>5.3 培養於 20-25 $^{\circ}$C 植物生長箱 / 溫室中，於接種後 10~14 天檢查植株是否出現 V 形黃化、壞疽、葉脈黑褐化等病徵。與接種 Xcc 標準菌株之植株上的病徵進行比較並記錄之。</p>

黑腐病菌項目檢測認證。未來也規畫進一步取得其他種子健康檢查項目的認證，以提供國內出口種子病理檢驗的服務。為準備種子檢查室十字花科種子黑腐病菌檢測認證工作，已依國際種子檢查協會規定之檢測方式建立

表 4-10-2、利用 FS 及 mCS20ABN 選擇性培養基檢測十字花科種子攜帶不同比例之人工汙染 Xcc 種子之靈敏度測試

Treatment ¹⁾	Xcc	
	FS	mCS20ABN
0 (Check)	- ²⁾	-
0.5	+	+
0.2	+	+
0.1	+	+
0.05	+	+
0.03	+	+
0.02	+	+

¹⁾ Samples with different Ratio of artificial infested seed (%)

²⁾ " - " means no Xcc was detected and " + " means Xcc was detected.

適合本實驗室之十字花科種子黑腐病菌檢測流程。實際以人工汙染種子進行檢測流程的測試，可於 FS 及 mCS20ABN 兩種選擇性培養基上觀察到測試菌落的標準型態；在病原性測試也可將分離出之黑腐病菌菌株接種於甘藍葉片上顯示出典型病徵；靈敏度測試結果亦可測得達 0.02% 的帶菌率。



圖 4-10-2、於甘藍葉片上穿刺接種經檢測流程分離出之 Xcc 菌株，顯示出典型的 V 形黃化壞疽病徵

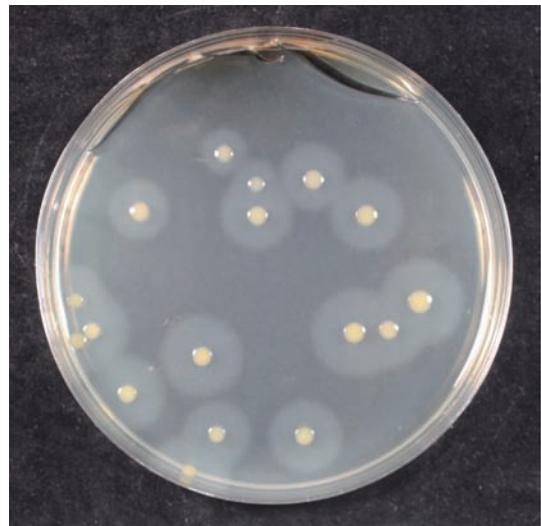
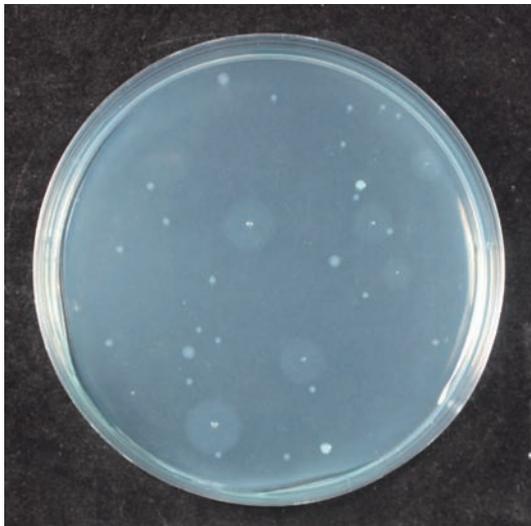


圖 4-10-1、Xcc 在 FS 選擇性培養基上會呈現淡綠色黏稠狀的小型菌落，周圍會出現澱粉水解透化圈（左圖），在 mCS20ABN 選擇性培養基上會呈現淡黃色黏稠狀的菌落，周圍也會產生澱粉水解透化圈（右圖）

十一 作物病蟲害防治用藥調查、研析及其合理化應用技術開發改進

李建勳

胡瓜為台灣重要蔬菜種類之一，目前台灣胡瓜栽培方式以露天或網室栽培方式為主，設施栽培栽培面積較少。但因栽培期間高溫多濕且降雨頻繁，容易受到病蟲害侵襲，嚴重危害植株生長，影響產量及品質甚鉅。有鑑於消費者對蔬果衛生安全的要求日益重視，因此本年度擬針對胡瓜主要病蟲害進行非農藥防治處理。

胡瓜定植後一週分別噴施亞磷酸溶液(500倍、1,000倍)，每週噴施一次，分別連續噴施四次、八次，並以不噴施亞磷酸做為對照處理，試區開始發生露菌病後，調查噴施亞磷酸溶液對露菌病防治之影響，由調查結果顯示(表4-11-1)，使用亞磷酸溶液500倍與1,000倍噴施皆具有減緩或抑制露菌病發生的效果，但以亞磷酸溶液500倍處理之效果優於亞磷酸溶液1,000倍，且以連續噴施八次對抑制胡瓜露菌病發生的效果較為持久。

在胡瓜葉防治處理，於試區出現葉後分別噴施窄域油300倍、500倍及苦楝油300倍、500倍進行防治，並以不噴施防治藥劑做為對

表 4-11-1、亞磷酸溶液不同濃度及噴施次數處理對胡瓜露菌病之影響

處理	單株罹病指數 (%)					
	定植後 4 週	定植後 5 週	定植後 6 週	定植後 7 週	定植後 8 週	定植後 9 週
A	0.07 ^b	22.45 ^b	30.50 ^c	58.93 ^a	80.68 ^a	87.52 ^a
B	0.09 ^b	21.38 ^b	37.44 ^b	60.08 ^a	81.76 ^a	85.59 ^a
C	0.21 ^{ab}	19.46 ^b	22.59 ^{cd}	40.35 ^b	54.34 ^b	69.42 ^c
D	0.02 ^b	25.60 ^b	26.15 ^c	39.74 ^b	58.17 ^b	79.04 ^b
CK	0.41 ^a	40.33 ^a	44.56 ^a	64.19 ^a	78.83 ^a	88.71 ^a

播種期:101.03.01 定植期:101.03.13

A 處理: 亞磷酸 500 倍 (噴施四次)

C 處理: 亞磷酸 500 倍 (噴施八次)

CK 處理: 對照處理 (未噴施亞磷酸)

B 處理: 亞磷酸 1,000 倍 (噴施四次)

D 處理: 亞磷酸 1,000 倍 (噴施八次)

註 1 :

$$\text{罹病指數 (Disease Index)} = \frac{\sum a \times b}{N \times K} \times 100\%$$

a: 該級數的葉片數

b: 級數

N: 所有調查的葉片數

K: 最高級數

註 2 :

0	無病斑
1	病斑不明顯
2	病斑面積: 小於 25%
3	病斑面積: 25~50%
4	病斑面積: 50~75%
5	病斑面積: 大於 75%

照處理，防治後開始調查各區葉發生率，由調查結果顯示(表4-11-2)，以窄域油300倍、500倍處理雖然葉發生率皆較對照處理為低，但葉發生率仍呈現上升的現象，防治效果並不理想。

表 4-11-2、不同藥劑處理對胡瓜葉蟻防治之影響

處理	噴藥前 1 天	噴藥後 1 天		噴藥後 3 天		噴藥後 6 天	
	葉蟻數(隻)	葉蟻數(隻)	葉蟻發生率(%)	葉蟻數(隻)	葉蟻發生率(%)	葉蟻數(隻)	葉蟻發生率(%)
A	54.3	30.5	56.2	65.8	121.2	87.7	161.6
B	57.3	40.0	69.9	61.8	107.9	129.5	226.2
C	103.3	108.0	104.6	139.0	134.6	220.5	213.6
D	67.0	79.5	118.7	135.8	202.6	221.3	330.2
CK	21.0	19.8	94.1	36.5	173.8	96.8	460.7

A: 窄域油 300 倍 B: 窄域油 500 倍 C: 苦楝油 300 倍 D: 苦楝油 500 倍 CK: 對照處理