

四、種子(苗)病害防治研究

一 臺日植物品種權檢定技術、馬鈴薯水耕栽培及種子(薯)病害檢測技術交流 - 重要外銷種子種病原檢測技術交流

蘇士閔

本場於本(105)年10月3至7日邀請日本農研機構(NARO)蔬菜花卉研究所(NIVFS)植物病理專家窪田昌春博士來臺技術交流。訪臺期間於本場與農試所植物病理組各進行專題演講1場，參與人員合

計約80人；拜訪欣樺種苗公司與國立中興大學植物病理學系進行技術交流。目前日本市場對我國高品質熱帶蔬果作物種子仍有需求，未來在重要種傳病原檢測上有待持續交流與溝通。以西瓜為例，日方對我國輸日西瓜種子攜帶細菌性果斑病菌之檢測要求，包含須採用PCR或LAMP技術進行分子檢測，或採用傳統的幼苗長出試驗進行病徵觀察；目前我方已在進行檢測作業流程之建立，希冀能儘速提供國內業者服務。



圖 4-1、窪田昌春博士於 10 月 4 日拜訪種苗場並進行專題演講



圖 4-2、窪田昌春博士於訪臺期間拜訪欣樺種苗公司、農業試驗所、國立中興大學植物病理學系及茶業改良場魚池分場進行技術交流，並於農業試驗所植物病理組進行第二場專題演講

二 植物種子種苗認驗證體系之建立 - 國際重要種傳病害檢測體系之建立

蘇士閔、陳蕙瑤

本計畫參考已發表之 PCR 檢測方法，建立一可針對瓜類細菌性果斑病菌 (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) 之檢測作業流程以提供檢測服務。瓜類細菌性果斑病 (Bacterial fruit blotch, BFB) 是瓜類作物重要種子傳播性病害之一，本試驗以改良式 WFB68 培養液培養人工污染細菌性果斑病菌之西瓜種子樣品。將不同帶菌率之種子樣品加入培養液中，於 30°C 震盪培養 24 小時。使用專一性引子對 SEQID4/SEQID5 檢測瓜類細菌性果斑

病。結果顯示樣品帶菌率 0.25%、0.1%、0.016% 皆可由 PCR 方式測出病原菌，經電泳分析觀察到 246 bp 的 Aac 專一性條帶。

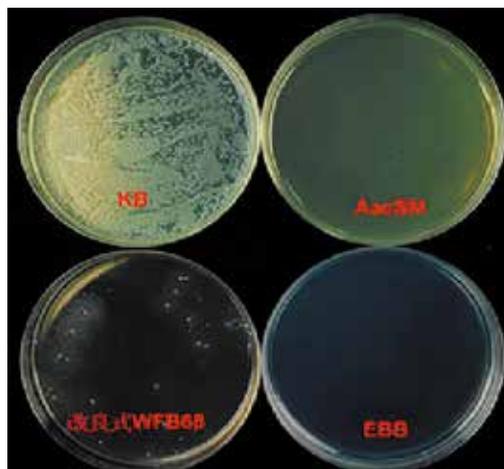


圖 4-3、利用改良式 WFB68 選擇性培養基可有效偵測得較低濃度、具活力的瓜類細菌性果斑病菌



圖 4-4、使用專一性引子對 SEQID4/SEQID5 進行 PCR 檢測瓜類細菌性果斑病菌。可測得帶菌率 0.016% 之種子樣品上的瓜類細菌性病原菌，經電泳分析可觀察到 246 bp 的 Aac 專一性條帶

三 出口種子檢疫病原標準檢測技術之建立

蘇士閔、邱燕欣、王慧如、簡良芬

出口種子檢疫病原標準檢測技術之建立：已擬訂甜瓜萎凋病菌第二生理小種 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 2) (採用 PCR 法)、瓜類細菌性角斑病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) (採用 PCR 法)、西瓜銀斑病毒 (Watermelon silvery mottle virus) (採用 ELISA 法) 與矮南瓜黃化嵌紋病毒 (Zucchini yellow mosaic virus) (採用 ELISA 法) 檢測作業流程，目前持續進行種子樣品測試。

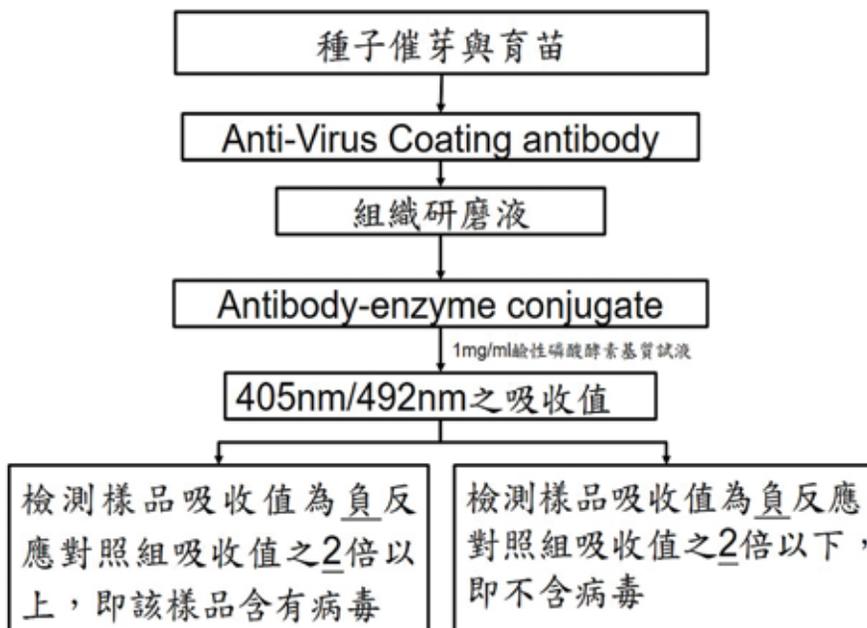


圖 4-5、夏南瓜黃化嵌紋病毒與西瓜銀斑病毒檢測流程示意圖

四 病害防治有機資材應用種子披衣處理之研究

蘇士閔、徐麗芬、江筱擘、蔡雅竹

本年度計畫目的係建立一玉米種子簡易披衣處理方法。經測試水、低筋麵粉與太白粉利用於有益微生物製劑的拌菌效果顯示，整體而言以水的表現較佳。經處理之玉米種子在枯草桿菌與木黴菌

分離率上，各處理間無差異，分離率皆達 100%，發芽率則介於 80~98%。在紋枯病防治效果上，以枯草桿菌 1:100 處理之玉米種子防治效果最佳，可降低紋枯病發生率 23%。在利用專一性引子對確認露菌病接種結果方面，該引子對能穩定偵測到甘蔗病株上的露菌病菌，成功增幅出一 697bp 專一性條帶；但在玉米病株上偵測結果仍不穩定。

種子披衣比例	罹病率(%) ¹	幼苗出土率(%)
木黴菌1:20	71	47 ab
木黴菌1:40	50	13 cd
木黴菌1:60	50	40 abc
木黴菌1:80	90	67 a
木黴菌500X(澆灌)	60	33 bcd
CK	67	40 abc
滅達樂	0	7 d

種子披衣比例	罹病率(%) ¹	幼苗出土率(%)
枯草桿菌1:100	43	47 ab
枯草桿菌1:120	71	47 ab
枯草桿菌1:160	75	80 a
枯草桿菌1:200	81	73 ab
枯草桿菌300X(澆灌)	57	47 ab
CK	67	40 bc
滅達樂	0	7 c

¹罹病率(%)=罹病數/幼苗出土數



圖、接種 *Rhizoctonia solani* 之玉米幼苗紋枯病徵。玉米種子披衣比例(A)木黴菌1:80、(B)枯草桿菌1:160

圖 4-6、玉米種子披衣處理添加不同比例有益微生物木黴菌與枯草桿菌對紋枯病之防治效果

五 豇豆種傳病害滅菌處理技術之研究

蘇士閔、江筱擘

本計畫目標係蒐集自然攜帶萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*,

Fot) 之市售豇豆種子進行滅菌處理試驗。本年度共蒐集市售豇豆種子 25 批進行 Fot 帶菌率檢測，檢測結果於屏東白仁 (0.3%)、紫仁花莢 (0.3%)、青皮三尺 (農會種) (0.5%)、紅花仁淡青皮 (0.3%)、高雄青莢 (0.3%)、農友 131 (1.0%)、紫茵二

號(0.3%)、農友矮生(0.3%)等8個品種測得種帶Fot的情形，各品種Fot帶菌率極

低且於種子批之分布情形不均勻，未能有效進行滅菌處理試驗(表4-1)。

表 4-1、豇豆各品種 FOT 分離率、其他真菌分離率及發芽率情形比較

豇豆品種	FOT 分離率 (%)	其他真菌分離率 (%)	發芽率 (%)
農友矮生	0.3	5.3	95
麗人	0	4.5	94
農友 101	0	23.3	99
白皮	0	0.8	94
紫茵	0	6.5	96
屏東白仁	0.3	4.0	96
紫仁花莢	0.3	3.0	100
青皮三尺(農會種)	0.5	10.0	98
黑仁青莢	0	5.8	94
紅仁目豆	0	1.8	100
紅花仁淡青皮	0.3	31.0	99
高雄青莢	0.3	0.8	97
白鶴	0	3.8	99
農友 131	1.0	8.5	96
紫茵二號	0.3	6.0	98
矮腳豇豆	0	0.3	95
肥箬豆	0	0.3	97
八月豆	0	1.0	99
種苗場 101 年	0	4.0	99

六 馬鈴薯軟腐病血清檢定技術建立

王慧如、連珮君、邱燕欣

依聯合國糧農組織統計資料指出，2014 年全球馬鈴薯栽培面積約 1,910 萬公頃，總產量約為 4.77 億公噸，每公頃平均

產量約為 20.27 公噸，前五大馬鈴薯生產國家為中國、印度、俄羅斯、烏克蘭與美國。農糧署農情報告資源網 104 年統計資料顯示，臺灣全年收穫面積約為 2,518 公頃，主要集中於雲林、嘉義、臺中等縣市，總生產量約為 6.42 萬公噸，每公頃平均

產量約為 25.51 公噸，每公頃種薯需求量大約為 1.2 公噸，每公頃栽培株數約為 3.5-4 萬株，估計每年食用薯之種薯 (G5) 需求量大約為 3021.6 公噸。馬鈴薯細菌性軟腐病為全球馬鈴薯產地之重要細菌病害，可在馬鈴薯各時期發生，影響地下部之塊莖，造成薯塊之腐爛，在地上部之植株造成莖腐病徵，薯塊上之軟腐病徵包括輕微的維管束褐變到完全腐爛之情形，本試驗研究完成 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*(Pcc) 12851 之抗原製備，經免疫反應進行血清製備，獲得 50ml 之血清，藉由 poly A+G 管柱離心法純化完成 10ml，回收量為 2.76mg/ml 之 IgG。專一性測試，軟腐病檢定用之 IgG，可以檢定田間所分離之軟腐病菌株，不會對於供試之馬鈴薯細菌性病害如瘡痂病及青枯病，或是馬鈴薯表皮分離之非病原細菌產生呈色訊號，靈敏度分析，可以偵測到 10^2 cfu/ml 之菌體濃度。馬鈴薯感染軟腐病後，若氣候適宜會在地上部造成腐敗軟化的病徵，但是一旦氣候乾燥，菌體仍可於薯球膨大期，潛伏於薯球臍部，可能造成隔年栽種田間初次的感染源，檢定販售之一般食用薯薯球，經薯球病原檢定方式取樣檢測，可以檢測到軟腐病的存在（數據未呈現），因此掌握田間檢查時，人員的巡視判斷外，收穫後及栽種前，可以考量於內部管控加入採收後薯球細菌性病害之檢定，把關薯球品質，也可降低田間發病的可能性。

七 葡萄重要病毒 GLRaV-3、GVA 檢測血清製備

王慧如、邱燕欣

葡萄分為歐洲葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 及美洲葡萄 (*V. labrusca* L.)，英文名 Grape，為多年生溫帶果樹，依用途區分可分為鮮食用及釀酒原料兩大類，臺灣目前以鮮食用品種「巨峰」*Vitis vinifera* 'Kyoho' 栽培面積最大，而以內銷市場為主。國產鮮果葡萄由於產期調節技術的成熟及國內消費者之偏好，面對進口葡萄的競爭仍有一定優勢，依臺灣農業年報統計全臺種植面積約為 3,000 公頃，以臺中市、彰化縣、南投縣、苗栗縣為主要栽培區域。由於葡萄苗木以無性繁殖為主，易造成病毒隨苗木蔓延，目前已知有多種病毒於臺灣地區造成葡萄危害，如葡萄扇葉病毒 (Grapevine fanleaf virus; GFLV)、葡萄捲葉病毒 (Grapevine leafroll virus; GLRV)、葡萄 A 病毒 (Grapevine virus A; GVA) 與番茄輪點病毒 (Tomato ringspot virus)、葡萄栓皮病毒 (Grapevine corky bark-associated virus) 等，可造成植株生育受阻、果實品質不佳等影響。其中葡萄捲葉病毒為 *Closterovirus* 屬之病毒，本研究以大腸桿菌表現轉殖之 GLAaV-3 與 GVA 重組外鞘蛋白，作為生產標的病毒之蛋白來源，生產重要作物之檢測血清，將本場自產 GVA 與 GLRaV-3 血清與國外公司之血清產品進行比較，建立檢測數據及確立檢測效力。檢測結果顯示，本場生產之血

清背景值相較高，可能為間接法造成之放大反應。自國外購自 BIOREBA、AGDIA 以及 MSDS 等三家商用血清進行比較。經直接法比對本場所生產之 GLRaV-3 檢定血清，檢測呈色效力與 AGDIA 同，靈敏度反應較 BIOREBA 低。

八 草莓炭疽病害非農藥防治管理技術開發

連珮君、邱燕欣

草莓為臺灣地區重要的小漿果作物，草莓育苗期於 4 月初至 9 月底，於 11 月下旬開始採收果實，早期為防範青枯病及病毒病，開啟以組織培養方法生產無病原健康種苗，有效防範種苗帶病問題，近年

草莓產業之種苗多由農民自行留種生產，導致因天雨等災害造成病害藉由種苗、土壤及雨水傳播為害，本計畫期研發適用於防治草莓炭疽病的微生物製劑，減少化學農藥的用量，降低農藥殘留對人體健康與環境生態的危害風險。105 年利用含矽肥料添加物與進行枯草桿菌液肥對草莓炭疽病之防治效力比較，以 14 週處理一次含矽肥料添加物與枯草桿菌液肥，結果顯示含矽肥料處理別組能增進對炭疽病之抗病性，以豐香植株相較對照組 73% 炭疽病的發病率，處理組噴灑 1000X 含矽酸鉀與 500X 的 B12 菌株降低炭疽病為害達 35% 效果具顯著差異，田間栽培試驗持續進行中。