

# 中華植物保護學會民國104年年會 論文摘要

**EN01** 銀葉粉蝨視覺偏好之探討—廖婉頤<sup>1</sup>、許如君<sup>1,2</sup>、楊恩誠<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>國立臺灣大學植物醫學碩士學位學程、<sup>2</sup>國立臺灣大學昆蟲學系) Visual preference of *Bemisia argentifolii*—Liao, W. Y.<sup>1</sup>, Hsu, J. C.<sup>1,2</sup>, Yang, E. C.<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup> Master Program for Plant Medicine, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan; <sup>2</sup> Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan)

銀葉粉蝨 (*Bemisia argentifolii*) 為設施栽培常見害蟲，除了藥劑防治外普遍使用顏色黏紙，利用昆蟲對特定光波長之偏好性來進行防治。此研究透過 (1) 不同顏色對比 (2) 不同誘引圖形 (3) 發光二極體 (Light-Emitting Diode, LED) 光源，來改善現有對銀葉粉蝨之顏色誘捕效力。誘引形狀、顏色對比實驗使用八角壓克力裝置在室內進行競爭實驗，並以現有商品化黏蟲紙作為材料，以同面積之菱形、圓形、正方形和三角形同時進行競爭，實驗結果顯示以圓形誘引效果最好，與菱形、三角形之間有顯著差異，但與正方形之間並無顯著差異。根據前者實驗，選出效果較好的圖形，將同樣大小黃色誘引圖形放在黑、綠、藍、白四種顏色之色紙前，測試不同背景色是否對粉蝨造成誘引效力的差異，結果顯示四種背景色中以綠色效果最好，且顯著高於其他三者。LED 實驗選擇以波長為 517 nm 之綠色LED 燈泡掛

載在黃色黏紙上，共有聚光型及散光型兩種燈泡與不另加燈泡等進行比較，實驗結果顯示有掛燈的黏紙平均誘得蟲數較高，但三者統計上無顯著差異。此研究初步探討各因子對粉蝨成蟲之誘引效力，後續仍須測試各因子於田間之誘引表現，以及各因子之間是否具協力、加成、拮抗等關係，期望能改良現有誘蟲裝置，提供農民在害蟲整合管理上另一資材之選擇。

**EN02** 四斑小瓢蟲的生物特性初探 (鞘翅目：瓢蟲科)—邱俞寧、吳柏叡、蕭文鳳 (國立嘉義大學植物醫學系嘉義市學府路300號) Preliminary study of *Scymnus quadrillum* (Coleoptera; Coccinellidae)—Chiu, Y. N., Wu, B. R., Hsiao, W. F. (Department of Plant Medicine, National Chiayi University, Chiayi 600, Taiwan)

本研究觀察於25°C下，四斑小瓢蟲 *Scymnus quadrillum* (鞘翅目：瓢蟲科) 取食芋頭上的棉蚜 (*Aphis gossipii*) 之捕食量和幼蟲發育齡期的影響。實驗期間並觀察到本蟲也會取食豆蚜 (*Aphis craccivora*) 及夾竹桃蚜 (*Aphis nerii*) 等蚜蟲。四斑小瓢蟲成蟲係自嘉義大學盆栽芋頭採回後，以取食芋頭 (*Colocasia esculenta*) 之棉蚜飼養作為蟲源。逢機挑取其後代之一齡幼蟲於25°C下進行生活史實驗，以一隻瓢蟲

為一重複，共72重複。四斑小瓢蟲之發育全期為卵、幼蟲、前蛹、蛹及成蟲，幼蟲四齡。以Chi(2015)年齡齡期之兩性生命表進行數據分析，由卵到成蟲的發育時間為 $17.43 \pm 1.39$ d，卵期 $3.64 \pm 0.08$ d，一齡到四齡幼蟲齡期分別是 $2.11 \pm 0.06$ d、 $1.36 \pm 0.06$ d、 $1.45 \pm 0.06$ d、 $2.49 \pm 0.1$ d，前蛹期 $1.6 \pm 0.07$ d，蛹期 $4.89 \pm 0.16$ d。四斑小瓢蟲取食一齡棉蚜之捕食量，由一齡幼蟲至成蟲之數量分別為 $2.58 \pm 0.22$ (n=24)、 $5 \pm 0.37$ (n=6)、 $21.33 \pm 3.37$ (n=6)、 $24.67 \pm 4.1$ (n=6)、 $16.5 \pm 4.52$ 隻(n=8)。本實驗仍在持續進行中。

**EN03** 偽菜蚜於青花菜上之生活史—劉偉誠、蕭文鳳(國立嘉義大學植物醫學系) Life cycle of *Lipaphis erysimi* fed on Broccoli crop—Liu, W. C., Hsiao, W. F. (Department of Plant Medicine, National Chiayi University, Chiayi 600, Taiwan)

本研究探討偽菜蚜(*Lipaphis erysimi*)(半翅目:常蚜科)之生活史。本蟲為寡食性(oligophagous)昆蟲，主要寄主植物為十字花科作物(Brassicaceae)。偽菜蚜成蟲自嘉義大學農田採回後，以盆栽種植之青花菜(*Brassica oleracea var. italica*)飼養，做為蟲源。並逢機挑取其產生之後代1齡若蟲進行15、20、25和30°C四種溫度之生活史實驗，以一隻為一重複，每個溫度50隻以上。結果指出偽菜蚜於15時存活率偏低，所有個體皆未成功蛻皮至成蟲；於20、25和30下之平均發育時間，在若蟲期為 $7.8 \pm 0.097$ 、 $5.84 \pm 0.175$ 、 $7.53 \pm 0.385$ 天；成蟲期為

$9.63 \pm 0.51$ 、 $7.56 \pm 0.803$ 、 $9.61 \pm 0.803$ 天；平均壽命 $16.29 \pm 0.656$ 、 $9.33 \pm 0.902$ 、 $13.62 \pm 0.897$ 天；平均產子代數 $46.72$ 、 $37.41$ 、 $28.33$ 隻/雌成蟲。利用Chi(2015)年齡齡期之兩性生命表進行數據分析，就生活史參數而言， $r$ 值依溫度低至高依序為 $0.2879/d$ 、 $0.3196/d$ 、 $0.2391/d$ ； $R_0$ 為 $42.47$ 、 $23.02$ 、 $18.55$ /female； $\lambda$ 為 $1.3336/d$ 、 $1.3765/d$ 、 $1.2701/d$ ； $T$ 為 $13.02$ 、 $9.81$ 、 $12.22$  d。

**EN04** 棉蚜(*Aphis gossypii*) 在芋頭上之生活史—陳冠勳、吳彥呈、蕭文鳳(國立嘉義大學植物醫學系嘉義市學府路300號台灣600) Life cycle of *Lipaphis erysimi* fed on taro—Chen, K. H., Wu, Y. C., Hsiao, W. F. (Department of Plant Medicine, National Chiayi University, Chiayi 600, Taiwan)

本研究探討棉蚜(*Lipaphis erysimi*) 在芋頭(*Colocasia esculenta*)上之生活史，作為防治之基本資料。棉蚜屬於半翅目(Hemiptera)常蚜科(Aphididae)，為雜食性昆蟲。本實驗之蟲源係採自嘉義大學農場種植的芋頭上，帶回飼養放在25°C恆溫生長箱內飼養一代後，再進行下列15、20、25和30°C四個溫度的飼養，自蟲源逢機選取初產下之一齡若蟲，以一隻為一重複，每個溫度重複50隻。每天觀察其發育與成蟲生殖之狀況並記錄。在上述四個溫度的世代長分別為 $15.83 \pm 1.128$ 、 $15.85 \pm 0.934$ 、 $13.92 \pm 0.655$ 、 $13.62 \pm 0.613$ d。利用Chi(2015)年齡齡期之兩性生命表進行數據分析，就生活史參數而言， $r$ 值溫度由

低到高為0.2636/d、0.3299/d、0.4653/d、0.4744/d； $R_o$ 為24.3、32.67、44.37、41.15/female； $\lambda$ 為1.3016/d、1.3909/d、1.5925/d、1.6071/d； $T$ 為12.1、10.57、8.15、7.84 d。上述結果顯示，棉蚜在芋頭上隨著溫度的升高，完成一個世代的時間也縮短。

**EN05** 錨紋瓢蟲成蟲性比與飼育密度對其產卵量與壽命之影響—余志儒 (行政院農業委員會農業試驗所) Longevity and fecundity of *Lemnia bipagiata* (Coleoptera : Coccinellidae) adult cultured in different sexual ratio and density—Yu, J. Z. (Taiwan Agricultural Research Institute, COA, Taichung, Taiwan)

本試驗在 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 $80\% \pm 15\%$  RH、L/D = 12/12 h生長箱內進行，每日提供足量的棉蚜 (*Aphis gossypii* Glover) 做為食餌，於12公升裝養蟲罐內飼養錨紋瓢蟲 (*Lemnia bipagiata* (Swartz)) 成蟲，比較不同性比例與飼育密度的飼養結果。結果顯示，在1、2、4、6及8雌配1雄不同性比的產卵前期，分別在4.5 - 6.8日之間，各處理間差異不顯著。雄成蟲壽命，以1雌配1雄處理為67.8日最短，其餘處理分別在87.5 - 112.8日之間，雄蟲並未因配多雌而減短壽命。不同性比處理的卵收穫數，平均每雌在774.4 - 1023.0粒之間，處理間差異不顯著。而2 - 8雌配1雄的每養蟲罐獲卵數分別為1雄配1雌的1.81、3.62、5.51及6.05倍，都不及雌蟲增加的倍數，其中又以8雌配1雄的落差最大。故1 - 6雌配1雄較為可考慮的性比。以4雌配1雄為基準蟲

量，在12 L裝養蟲罐中分別飼養2、4、6及8倍於基準蟲量，進行不同飼育密度試驗。由卵收穫數，分別為基準蟲量的2.12、4.37、6.23及6.86倍，其中8倍蟲量處理，卵收穫數亦大幅減少。因此，集體飼育成蟲時的飼育密度，以每罐4雌配1雄之2 - 6倍蟲量似較為可行。

**EN06** 棕櫚油浸漬神澤葉蟻的致死效果—余志儒、許北辰 (行政院農業委員會農業試驗所) Acaricidal efficacy of palm oil dipped against *Tetranychus kanzawai* (Acari: Tetranychidae) —Yu, J. Z., and Shu, P. C. (Taiwan Agricultural Research Institute, COA, Taichung, Taiwan)

神澤葉蟻 (*Tetranychus kanzawai* Kishida) 是台灣地區蔬果常見的重要害蟲，因體形小不易察覺，再加上發育快、生殖力強(Tsai et al. 1989; Gotoh and Gomi 2003)，在短時間內即可能形成大族群。蔬果栽植過程中，可能藉由苗的攜帶進入本田或設施內，是害蟲管理的漏洞之一。因此，有必要在定植前將棲息在苗上的害蟲百分百完全清除，才有防堵漏洞的意義，浸苗處理可能是解決的方式。本試驗係以浸漬方式，測試棕櫚油對神澤葉蟻的防除效果，以期應用於浸苗處理防堵神澤葉蟻被苗攜帶。棕櫚油購自美國SIGMA-ALDRICH Co.的R&D級產品。非離子界面活性劑，Span 80、Tween 80，購自日本Wako Pure Chemical Industries LTD.。棕櫚油的界面活性劑，HLB值為10.8 (Ahmad *et al.* 1996)。棕櫚油試劑之調製，依Griffin (1949) 的方法，將適量的Span 80、

Tween 80混合，經均質機 (homogenizer, Polytron® PT-MR 3100) 以3000 rpm攪拌5分鐘調製而成。棕櫚油與介面活性劑以1:1 (V/V) 混合，經6000 rpm均質攪拌2分鐘後，加入蒸餾水稀釋成5種濃度 (mL/L) 的乳化液，分別為每公升乳化液含棕櫚油10、5、2.5、1.25及0.625 mL。試驗分二個部份，有效濃度測試及浸漬時間測試。結果顯示，浸漬1秒鐘，對卵、幼若蟎及成蟎分別在2.5、5及5 mL/L具有100%的致死效果。而增加浸漬時間並未增加蟎的死亡率。因此，棕櫚油應用於浸苗處理的有效濃度必須低於5 mL/L，可在2.5-5 mL/L之間，且僅浸漬1秒鐘即可，惟對幼若蟎及成蟎的經濟有效濃度須再進一步測試。

**EN07** 石灰硫黃水溶液對葉蟎的致死影響—李啟陽、姚美吉 (行政院農業委員會農業試驗所應用動物組) Effect of lime sulfur solution on the mortality of spider mites—Lee, C. Y., Yao, M. C. (Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung City 41362, Taiwan)

本次報告試驗資材石灰硫黃水溶液其組成多硫化鈣之水溶液，橙黃色液體，溶於水，遇二氧化碳、酸分解，遇金屬鹽類形成不溶之硫化物，具殺菌、殺蟲、殺蟎作用。為我國農糧署所定可應用於有機栽培之病蟲害防治資材，然有機驗證基準所提列的部份可用資材，其蟲(蟎)害防治的效果常受質疑，是以本試驗將予以驗證，並提出試驗資材的防蟲(蟎)對象與推薦用量，以便實際嘉惠有機栽培的農民，使其有所遵循，並

且試驗設計是依據我國農藥委託試驗設計採逢機完全區集設計，第1次應用於木瓜及洋香瓜葉蟎防治的田間試驗。本年度評估石灰硫黃水溶液對神澤氏葉蟎 (*Tetranychus kanzawai* Kishida) 的影響並進行2次網室木瓜、1次洋香瓜葉蟎田間防治試驗。結果顯示在木瓜葉蟎防治試驗 27.5% 石灰硫黃水溶液稀釋 800 倍並添加介面活性劑 1,000 倍對葉蟎可達 90% 防治率。在洋香瓜葉蟎防治試驗 27.5% 石灰硫黃稀釋 800 倍並添加介面活性劑 1,000 倍對葉蟎可達 97% 防治率。試驗結果顯示 27.5% 石灰硫黃水溶液稀釋 800 倍並添加介面活性劑 1,000 倍具有與 1% 密滅汀乳劑 1,500 倍相似防治葉蟎效果。

**EN08** 鈣矽微粒促進水稻植株生長及保護—余俊瑩、許如君 (國立臺灣大學昆蟲學系) Calcium and silicon particles on rice growth and protection—Yu, C.Y., Hsu, J. C. (Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan)

在水稻 (*Oryza sativa*) 的生長過程中，鈣與矽元素都能使水稻植株更加強健，水稻通常藉由根部吸收此等元素，但效率不高，若能提高水稻吸收效率，應可使水稻變得更健壯。因此本研究使用顆粒較小且均質的鈣矽微粒，經葉面施肥觀察是否會促進水稻植株生長及降低害蟲為害。在整個水稻栽種期間合計共施用四次鈣矽微粒 (全氧化鈣 6.4% 及全氧化矽 6.0%稀釋500倍、1000倍使用及水的對照組)，前兩次於水稻分蘗後期施用，後兩次於抽穗期前期

施用。我們以感應耦合電漿原子發射光譜儀(Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy, ICP-OES)來分析植株及白米內的營養要素，並量測抽穗前的株高、根長及分蘗數等生長因素，最終調查田間的稻蟲科(Delphacidae)、葉蟬科(Cicadellidae)及二化螟 (*Chilo suppressalis*) 發生的數量。結果顯示水稻植株的矽元素含量及白米的金屬元素含量都會因施用鈣矽微粒而發生改變。而在水稻植株的生長上，使用鈣矽微粒的水稻植株會比較高，且分蘗數也較多。至於田間的害蟲數量調查，除了飛蟲的數量有受到影響外，其餘害蟲無明顯的差異。綜合上述，此等鈣矽微粒可以促進水稻植株生長及降低害蟲危害。

**EN09** 菊科植物應用於水稻田埂植被棲所營造之研究—翁崧夏、林立、陳任芳 (行政院農委會花蓮農業改良場)  
The application of compositae plants on the habitat manipulation of paddy rice ridge—Weng, S. -H., Lin L., Chen, J. -F. (Hualien District Agricultural Research and Extension Station, Jian, Hualien 973, Taiwan)  
本研究以生態服務系統的概念，種植開花植物於農田以增加植物多樣性達到營造天敵棲所之功能。近年來，本場於轄區內進行水稻田間植被棲所建構藉以營造生物多樣化來間接達到抑制害蟲發生的功能。2014年的研究結果共捕獲 45 科57種，操作田區 41 種多於慣行田區的 24 種，各功能群之物種數皆以生態營造操作田區較多，其中擬寄生者為稻苞蟲羽角姬小蜂(*Sympiesis parnarae*)，

掠食者的橙瓢蟲(*Micraspis discolor*)、日本長腳蛛(*Tetragnathamaxillosa*)、螳水蠅(*Ochthera* sp.) 4種天敵物種於各功能群中之相對豐量較高。2015年第一期作研究顯示，利用菊科植物建構田埂植被之試驗田區內共捕獲 56 種無脊椎動物多於對照田區的 42 種；第二期作試驗田區內共捕獲84種無脊椎動物多於對照田區的 70 種。第一期作所捕獲的擬寄生性功能群所佔的相對豐度較對照田區高，且田間飛蟲類害蟲的族群數量不會驟升。第二期作的試驗田區所捕獲的捕食性和擬寄生性功能群的相對豐度分別為 10.2% 和 24.9%，高於對照田區的 5.2% 和 14.4%，且經資料分析顯示，試驗田區相較於對照田區具有維持農田天敵物種均勻度及歧異度的能力。此外，對照田區的害蟲相對豐度達65.7%高於試驗田區的42.5%，主要害蟲為黑條黑尾葉蟬，對照田區內數量高峰可達每採樣點平均約 63.3 隻，顯著高於試驗田區的 40 隻。本研究推論，若增加週遭菊科開花植物的種植可增加擬寄生性族群的數量和歧異度，提升水稻田區本身的免疫力達到農田生態平衡，間接避免主要害蟲族群驟升。由於不同農業操作管理、日照溫度和作物品種的確對無脊椎動物多樣性皆有相當程度的影響，日後將加強捕食性及擬寄生性天敵種類的鑑定，並探討環境因子與物種數量增減的相關性，以篩選適合的生態營造植物種類及操作模式，作為未來農業生物多樣性指標以及環境友善生態農法的推廣。

**EN10** 以菊科植物增加甘藍田區

天敵防治蚜蟲研究—林立 (花蓮區農業改良場作物環境課) Study on enhancing cabbage aphids control by sowing Asteraceae seeds—Lin, L. (Hualien District Agriculture Research and Extension Station, No.150, Sec. 2, Ji'an Rd., Ji'an Township, Hualien County 97365, Taiwan)

為研究以開花植物建構蚜蟲天敵喜愛之環境，103年在壽豐一有機專區將奶油黃萬壽菊撒播於甘藍菜田其中一畦，俟其開花時開始以肉眼及黏板方式調查害蟲及天敵之數量，結果顯示可明顯增加鄰近萬壽菊的甘藍上食蚜蠅數量，其數量為20公尺外的2倍，並明顯降低蚜蟲發生率30%，毗鄰萬壽菊的甘藍比20公尺遠處的產量多20%。而104年度的試驗增加易吸引寄生蜂的百日草處理，將之與萬壽菊共同混植後，同樣調查田區的食蚜蠅和蚜蟲數量，結果顯示寄生蜂和瓢蟲數量在距離開花植物1公尺處分別為20公尺的1.4倍和2倍，但蚜蟲和鱗翅目等害蟲數量並未隨著距離有明顯的變化，且不同距離的甘藍產量亦無明顯差異，顯示混植萬壽菊和百日草雖然能增加天敵數量，但對於甘藍重要害蟲並無防治的效果，由上述兩個試驗得知以單植奶油黃萬壽菊的方式於甘藍田區中可防治甘藍上的蚜蟲並能提升約20%產量。

**EN11** 爪哇擬青黴菌防治銀葉粉蝨效果評估—林立、呂柏寬 (花蓮區農業改良場作物環境課) Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Isaria* sp. to different developmental stages of *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae)—Lin,

Lu, P. -K. (Hualien District Agriculture Research and Extension Station, No.150, Sec. 2, Ji'an Rd., Ji'an Township, Hualien County 97365, Taiwan)

本場自花蓮縣吉安鄉之銀葉粉蝨 (*Bemisia argentifolii*) 蟲體上分離之蟲生病原真菌，本菌株經食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心鑑定為爪哇擬青黴菌 (*Isaria javanica*)。將此菌以 $1 \times 10^7$  conidia/mL濃度分別在20、25和30°C環境下針對銀葉粉蝨若蟲第2和第4齡期進行室內感染測試，結果顯示在施用後7天其感染死亡率介於56 - 82.7 %之間，成蟲之室內測試存活率也都維持在25%以下，自真菌與蟲體接觸至觀察到蟲體生長出菌絲約4天，但在卵的部分並無感染現象發生。田間測試使用 $2 \times 10^8$  conidia/mL濃度於網室番茄上，其銀葉粉蝨平均感染率為52.9%。本菌為一具有潛力之蟲生真菌，目前本場正進行製劑和量產開發研究，期望未來可有效應用於田間以減少用藥維護食安。

**EN12** 評估印棟素對荔枝細蛾 (*Conopomorpha sinensis* Bradley) 於黑葉荔枝上之防治效果—王泰權<sup>1</sup>、林玄學<sup>1</sup>、張仁育<sup>2</sup>、黃守宏<sup>1</sup>、張哲璋<sup>2</sup> (<sup>1</sup>行政院農業委員會農業試驗所嘉義農業試驗分所植物保護系、<sup>2</sup>行政院農業委員會農業試驗所嘉義農業試驗分所園藝系) Evaluation of control efficacy of Azadirachtin to litchi fruit borer (*Conopomorpha sinensis* Bradley) on 'Hak Ip' litchi (*Litchi chinensis* Sonn.)—Wang, T. C.<sup>1</sup>, Lin, H. H.<sup>1</sup>, Chang J.<sup>2</sup>,

Huang, S. H.<sup>1</sup>, Chang, J. W.<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Plant Protection, Chaiyi Agricultural Experiment Station, Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan Taiwan. Chaiyi, 600, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Horticulture, Chaiyi Agricultural Experiment Station, Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan. Chaiyi, 600, Taiwan)

荔枝細蛾 (*Conopomorpha sinensis* Bradley) 為荔枝果實生育期的重要害蟲，於不防治的情況下造成果實產量極大的損失。目前田間防治荔枝細蛾仍以化學藥劑為主，極少探討安全植物保護資材如印楝素及蘇力菌等藥劑於田間實際防治效果，本試驗以 4.5% 印楝素乳劑直接於‘黑葉’荔枝上進行對荔枝細蛾的藥效防治效果測試，於偏雌花盛開作為果實生育調查基準，以 4.5% 印楝素乳劑分別稀釋 1000 倍與 2000 倍作為試驗藥劑，噴水當作不施藥處理，並利用 2.4% 第滅寧水懸劑稀釋 1500 倍施藥 4 次與 5 次當作正對照組，每週調查荔枝細蛾於樹上果實產卵率及卵數、樹上果實入侵率及地上落果中帶蟲率，結果顯示荔枝細蛾於偏雌花盛開後第 4 - 5 週開始產卵，產卵率為 0 - 2%，平均每顆果實 0 - 0.02 粒蟲卵，此後產卵率與卵數慢慢上升，於第 10 - 11 週達到最高，產卵率為 38 - 74%，平均每顆果實具 0.6 - 1.62 粒蟲卵。樹上果入侵率於第 6 週開始發現，不施藥對照組與 2 種濃度印楝素處理於第 9 週開始危害率開始快速上升；於第 11 週達到最高為 90 -

94.6%，另外 2 組正常施藥處理（施藥 4 次與 5 次）為害率為 18 及 10%，地上落果入侵率於第 4 週初次發現，各處理區的地上落果帶蟲率隨著果實發育週期升高，於第 9 - 11 週最高，帶蟲率為 75 - 100%，本試驗結果顯示 4.5% 印楝素乳劑對荔枝細蛾防治效果不佳，可能為印楝素無觸殺成蟲效果及於田間受到氣候因子降解而影響其防治效果。

**EN13** 外銷荔枝園荔枝細蛾之藥劑篩選試驗—丁柔心、黃毓斌（行政院農業委員會農業試驗所應用動物組）Pesticide screening of litchi fruit borer (*Conopomorpha sinensis* Bradley) in litchi orchard—Ding, R. S., Huang, Y. B. (Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng Dist., Taichung 41362, Taiwan)

荔枝細蛾 (*Conopomorpha sinensis* Bradley) 為鱗翅目 (Lepidoptera) 細蛾科 (Gracilariidae)，為台灣荔枝及龍眼上常見之害蟲，危害時雌蟲將卵產於果實上，幼蟲孵化後即鑽入果實中蛀食果肉及種子，影響果實品質，取食於蒂頭時易造成落果，造成農民經濟上的損失，也為荔枝外銷的主要檢疫害蟲之一。目前荔枝細蛾之防治方法以藥劑防治為主，在開花期過後小果時期即開始噴藥防治，每 7-10 天施藥一次，連續施用 5~6 次，即可達防治之效。本試驗之目的為針對外銷荔枝園荔枝細蛾之防治藥劑進行篩選，以提供農民在施藥上更多的選擇。本試驗在台中太平地區進行荔枝細蛾之藥劑篩選，選用百利普芬 11% 乳劑、賜諾特 11.7% 水懸劑及第滅

寧2.4%水懸劑進行試驗，結果顯示出施用賜諾特處理的鮮果受害率由3.5%降至0%，效果較為明顯，其次為第滅寧及百利普芬，分別為3%降至1%及2.5%降至1.5%，而未噴藥的對照組之鮮果受害率則由2.5%增加至7.5%。由上述結果得知在荔枝果實成熟期連續施用賜諾特對荔枝細蛾有明顯防治效果。另外，計算百利普芬、賜諾特、第滅寧及對照組之落果率分別為2.31%、13.64%、10.49%及9.49%，得知此3藥劑對荔枝之落果率並無太大影響，且目視觀察並無明顯藥害，並不影響荔枝之生長。

**EN14** 小菜蛾對常用殺蟲劑感受性之探討—楊崇民、周桃美、高靜華（行政院農業委員會農業試驗所應用動物組） Susceptibility of diamondback moth (*Plutella xylostella*) to several common insecticides—Yang, C. M., Chou, T. M., Kao, C. H. (Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng Dist., Taichung 41362, Taiwan)

小菜蛾(*Plutella xylostella*)為台灣重要十字花科蔬菜害蟲，其抗藥性產生迅速，對許多現有登記藥劑皆已具有抗藥性，甚至是新上市之藥劑。2015年於高雄縣路竹鄉、彰化溪湖等蔬菜專區採集小菜蛾，進行藥劑感受性測試，分別以葉片浸藥及噴霧塔法測試3齡幼蟲對各類推薦藥劑之感受性程度。以目前推薦使用之22種化學藥劑供試，另以室內飼養之感性品系作為對照品系。以推薦濃度及兩倍濃度測試，結果依藥劑致死率之高低排序，前五名依序為賜諾特、

因滅汀、因得克、脫芬瑞及培丹。由於剋安勃在田間對小菜蛾效果不彰，包括與其它藥劑之混合劑。2015年測試目的除經常性之抗藥性測試外，更比較高雄路竹及彰化溪湖地區小菜蛾對剋安勃、氟大滅、阿巴汀及阿巴安勃之抗藥性消退情形，於首次田間採集測試後持續飼養，間隔3、6、10個月後再次測試其藥劑感受性，經6個月後藥劑致死率明顯提高。建議農民除應確實遵守植物保護手冊建議之用藥規範外，使用時可透過藥劑之確實停用及輪替，藉以達到延長藥劑田間使用壽命之效果。

**PP01** 油茶炭疽病發生調查及非農藥防治初探—寧方俞<sup>1</sup>、羅士凱<sup>1</sup>、蔡憲宗<sup>1</sup>、游喻婷<sup>2</sup>、廖婉頤<sup>3</sup>（<sup>1</sup>行政院農業委員會茶業改良場、<sup>2</sup>國立中興大學植物病理學系、<sup>3</sup>國立臺灣大學植物醫學碩士學位學程） Occurrence and non-pesticidal control of anthracnose of oiltea *Camellia*—Ning, F. Y.<sup>1</sup>, Lo, S. K.<sup>1</sup>, Tsai, H. T.<sup>1</sup>, Yu, Y. T.<sup>2</sup>, Liao, W. Y.<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Tea Research and Extension Station, COA, Yangmei, Taoyuan 326, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan; <sup>3</sup>Master Program for Plant Medicine, National Taiwan University, Taipei 106, Taiwan)

油茶為近年政府積極輔導新植及轉作的油料作物，由於過去多以粗放方式管理，其實際收量較不具經濟效益。隨著油茶產業的發展，油茶病蟲害造成的損失逐漸受到重視，其中，炭疽病引起的落果是最令農民頭痛的問題之一。由

於炭疽病菌可感染嫩梢、葉片、枝條、花芽及果實，易經由傷口感染，加以油茶品種混雜，各地區發生嚴重情形不一，且無核准登記農藥可供使用，增加防治之難度。因此，本研究目的為了解臺灣油茶炭疽病之發生概況，歸納出常見病徵類型並篩選市售商品化非農藥防治資材供農民使用。試驗始自2014年5月起，於新北市、桃園市、嘉義縣及台東縣等，共8個縣市21個油茶栽培區域調查炭疽病之發生情形，採集疑似炭疽病之罹病樣本共110個進行分離鑑定，挑選具病原性之炭疽病菌針對7種市售芽孢桿菌屬之生物農藥進行拮抗測試，並進一步以枯草桿菌搭配亞磷酸及木黴菌等組合進行田間防治試驗。油茶炭疽病之發生調查結果發現，其發生隨油茶之品種、株齡、管理方式及栽種區域有很大差異，罹病率在1%~31.57%之間，發病嚴重時甚至可達7成病落果。炭疽病於果實及葉片之病徵變化多，可概略歸納出4種常見的病徵類型。室內拮抗測試結果顯示，市售芽孢桿菌屬之生物農藥中以*Bacillus subtilis* Y1336菌株對油茶炭疽病菌株OT3-2菌絲生長抑制率較高。商品化之不同非農藥資材組合對炭疽病之田間防治效果，結果顯示枯草桿菌單劑及枯草桿菌亞磷酸二合一混劑，對油茶果實之罹病度及落果率有降低的趨勢。未來，隨著豐產品種選育後之單一品種大面積種植，更應密切注意田間炭疽病之發生，於發生初期及時防治，以減少經濟損失。

**PP02** 臺灣中部地區油茶植物病蟲害

調查初報—張哲銘、劉芝華、洪巧珍、蘇秋竹（行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥應用組） Preliminary report of key pests of oil tea in central Taiwan—Chang, C. M., Liu, Z. H., Hung, C. C., and Su, C. C. (Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan.)

油茶植物為山茶科山茶屬的常綠小喬木，主要分布於東亞地區，其茶籽成熟後可榨油，俗稱苦茶油。臺灣種植的油茶品種分為二種，一為栽培種油茶，俗稱大果種油茶(*Camellia oleifera*)；另一種為原生種山油茶，俗稱小果種油茶(*Camellia oleifera*)。國內油茶零星種植於北部、中南部及東部山區，其種植面積約為1,161公頃左右，有收穫的面積是1,123公頃。近年來，多起食安事件引發國人對食用油安全的高度重視；油茶過去主要作為造林樹種導致管理較為粗放，造成單位面積的產量偏低，現今純正苦茶油於市場上往往供不應求，為了因應未來油茶產業的推廣與發展，需先了解現有病、蟲害發生情形及其生態防治資料。本研究於103至104年間定期至臺中市新社區、苗栗縣三義鄉、三灣鄉、南庄鄉及雲林縣草嶺地區的標定油茶園進行病蟲害調查。將園區內罹病組織拍照、採集，於實驗室進行病原菌分離及鑑定，初步調查結果油茶病害包括炭疽病、茶餅病、藻斑病、枝枯病及煤煙病等。炭疽病幾乎全年發生，危害葉片、枝條及果實，於梅雨季後的高溫高溼環境大量發生，感染造成果實黑褐色斑點，進而於9月至10月大量落果及裂

果，為影響油茶產量的重大因素；茶餅病發生於冬季多雨時期(2-5月)，尤以小果種油茶危害狀況較嚴重，造成花芽、嫩葉及幼果之組織膨大變形，影響植株生長；藻斑病幾乎全年發生，濕度高、通風不良的油茶林中較嚴重，其中大果種油茶危害狀況嚴重於小果種油茶，葉的正反面皆可發生病斑，阻礙光合作用而影響植株發育。以捕蟲網於園區內進行蟲相調查，將捕捉到的活體帶回實驗室中鑑定，並培養於有健康油茶苗的蟲箱中，觀察蟲體是否能生存超過三天以確認是否取食油茶，並記錄危害狀況，調查確認的蛾類害蟲包括茶避債蛾、烏柏黃毒蛾、臺灣黃毒蛾、捲葉蛾及梨刺蛾等，蛾類幼蟲之密度隨其世代變化，嚙食葉肉及果實表皮；小型害蟲包括粉介殼蟲、刺粉蟲、蚜蟲、花薊馬及小綠葉蟬等，吸食植物汁液而造成葉片皺縮、花器危害並誘發煤煙病；黃斑椿象刺吸葉片及幼果，進而導致落果現象；另果實蠅族群密度較高時，亦發現叮過油茶果實的現象。調查結果顯示，害蟲危害葉片及幼果後會增加炭疽病的發生，進而造成裂果及落果，可能為嚴重影響油茶產量的主因，其危害相關性仍待深入探討。

**PP03** 利用油茶粕防治作物病害之初探—蔡依真、謝文棟（行政院農業委員會花蓮區農業改良場作物環境課植物保護研究室）Study on application of oil-tea camellia cake for plant disease control—Tsai, Y. C., Hsieh, W. T. (Hualien District Agricultural Research and Extension

Station, Jian, Hualien97365, Taiwan ROC) 油茶籽榨油後所產生之油茶粕，含有油脂、醣類、粗纖維、皂素、黃酮等多種物質，應用範圍極為廣泛，在農業上則常用於水稻福壽螺之防治，也有文獻指出其成分對十字花科幼苗立枯病及稻熱病等病原具有抑菌效果。本研究初步利用油茶粕及其萃取出物，探討其對作物病害發生之影響。測試油茶粕浸出液對青蔥銹病之孢子發芽影響，結果顯示1%油茶粕浸出液對其孢子發芽具90~95%抑制率，另直接噴施在青蔥植株上無藥斑之藥害現象。調查其對稻熱病等25株病原真菌之菌絲生長抑制情形，結果顯示對立枯絲核菌、稻熱病菌、龍鬚菜炭疽病菌及白絹病菌等菌株有50%以上抑制率。利用油茶粕和油茶粉混拌泥炭土後定植十字花科蔬菜幼苗，觀察對植株及立枯病發生之影響，結果施用油茶粕或粉處理後立即定植種子之發芽較不處理對照組略有延遲，7天後調查立枯病罹病率與對照組相較無顯著差異，然後續對幼苗生長勢有增加情形。本試驗將繼續評估油茶粕及其萃取出物對於作物生長及病害發生之防治效果，並釐清其防病機制及效果穩定性，希未來可建議農友應用於整合性作物健康管理，減少化學農藥使用。

**PP04** 利用抗病誘導物防治稻熱病及白葉枯病之田間試驗—蔡依真、陳任芳、謝文棟（行政院農業委員會花蓮區農業改良場作物環境課植物保護研究室）Field trials of resistance inducing materials on control of rice blast and

bacterial leaf blight—Tsai, Y. C., Chen, J. F. and Hsieh, W. T. (Hualien District Agricultural Research and Extension Station, Jian, Hualien97365, Taiwan ROC)

本研究於2012至2015年調查花蓮地區稻熱病發病情形，水稻田區普遍發病輕微，局部嚴重，罹病度較高地區主要集中於玉里鎮三民、大禹等近山邊田區早植水稻、客城地區，及富里、東里部分稻田。宜蘭縣田區稻熱病亦多屬輕微，以偏施氮肥田發病較為嚴重。有鑒於稻熱病對水稻產量影響甚鉅，且另一重要流行病害之白葉枯病為農友反映之難防治病害，故利用可誘導植株產生抗性之藥劑進行防病試驗及示範，以宣導預防勝於治療之觀念。2013年於三星鄉設置有機試驗田，調查結果顯示施用1000倍亞磷酸處理區可有效降低稻熱病發生約34.4%。2014年一期作於富里鄉田區進行試驗，示範區插秧後一個月及抽穗前施用撲殺熱粒劑，結果示範區之葉稻熱病及穗稻熱病罹病率均較對照區為低，且對照區有白葉枯病發生；二期作同試區調查白葉枯病罹病情形，撲殺熱施用之示範區罹病率較農友處理對照區低41.4%，惟孕穗期後未持續施藥預防，示範及對照區發病均隨東北季風盛行後顯著提升。2015年二期作於光復鄉設置示範田，插秧後40天分別施用撲殺熱粒劑及亞磷酸1000倍稀釋液，11月調查結果以亞磷酸處理區罹病率最低，僅13.5%，其次為撲殺熱處理區32.2%，發病最嚴重為農友處理對照區39.4%。綜上所述，推論於植株未發病前即時施用亞磷酸及撲殺熱等誘導抗病藥劑，可有

效預防田間稻熱病及白葉枯病發生，有助於農民降低後續施藥成本及減少農藥殘留風險。

**PP05** 鹽水選種對水稻徒長病發病之影響—蔡依真、陳任芳、吳純熙、胡逸琳（行政院農業委員會花蓮區農業改良場作物環境課植物保護研究室）Effects of paddy seeds selection using saline solution on the incidence of Bakanae disease—Tsai, Y. C., Chen, J. F., Wu, C.S. and Hu, Y. L. (Hualien District Agricultural Research and Extension Station, Jian, Hualien97365, Taiwan ROC)

近年來，宜花地區一期作水稻秧苗期及本田期徒長病發病率高，該病病徵為罹病苗常比健康苗高出1/3~1/2以上，病苗纖細呈黃綠色，病苗移植後大部分枯死，未死病株則至分蘖期又陸續再出現病徵。該病主要傳播途徑為稻種帶菌，故稻種消毒為主要防治手段。本研究為評估利用鹽水選種對稻種帶菌（*Gibberella fujikuroi*）及秧苗發病之影響，另以溫湯浸種進行處理，利用半選擇性培養基快速檢測稻種帶菌率，並持續追蹤至秧苗期之發病狀況，調查結果同一品種不同來源之稻種樣本帶菌率及發病情形有所差異，不同處理組中以得克利處理之帶菌率及發病率均最低，而在帶菌率高及發病嚴重的樣本，鹽水選種可顯著降低徒長病帶菌率及發病情形約50%以上，顯示健康稻種於徒長病病害管理中確具相當重要性；農友除利用藥劑消毒外，若能先行利用鹽水篩選得到健康種子，對後續病害防除將有一定

助益，本研究可做為慣行及有機農友育苗參考。

**PP06** 臺灣新興病害：植物菌質體感染長豇豆之探討—張哲銘、楊秀珠、余思葳、李祈益、蘇秋竹（行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥應用組） A new cowpea disease associated with phytoplasma in Taiwan—Chang, C. M., Yang, H. C., Yu, S. W., Li, C. Y., and Su, C. C. (Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan.)

長豇豆為一年生草本植物，原產於印度，在臺灣被稱為菜豆，為臺灣重要的豆科蔬菜。長豇豆喜溫暖、日照充足的氣候，耐熱耐旱，再生力亦強，又可全年供應，深受國人歡迎，主要產地以屏東、雲林、高雄、嘉義及彰化等縣市。本年度7月份首次發現疑似菌質體感染的長豇豆病株，於雲林縣水林鄉所採集的罹病株呈現花器葉化、葉片叢生、葉片黃化且明顯變小等病徵，全株病徵呈現系統性分布，與植物菌質體所引起之病徵相似，該園之發生率為4%，罹病植株幾無產量。抽取長豇豆病株之植物總量 DNA 後，以植物菌質體廣效性引子對 F1/F7 進行第一次 PCR 增幅。第一次的 PCR 產物稀釋 10 倍後，再以 R16F2n / R16R 進行第二次 PCR 增幅，經巢式 PCR 增幅後可產生 1.2 kb 大小的片段。進一步以得到的 F2nR2 序列，以 iphyclassifier 軟體模擬 17 種限制酵素的酶切作用進行 *in silico* RFLP analyses (限制酵素片段多型性分析)，依據公式計

算結果判定，分離自臺灣長豇豆的植物菌質體歸屬於 16Sr II-A 群；同時將 16S rDNA 基因片段，與基因庫 41 種植物菌質體菌系包括伊朗、澳洲、中國、緬甸及印度感染該地長豇豆之植物菌質體菌系，以進行親緣關係分析，結果顯示臺灣、澳洲、中國及緬甸危害長豇豆的植物菌質體皆歸屬於 16Sr II-A 分群，而危害印度及伊朗長豇豆的植物菌質體則分別歸屬於 16Sr I 群及 16Sr VI 分群。長豇豆罹病組織經超薄切片觀察，可於篩管內發現植物菌質體存在，菌質體呈現大小不一致之型態，於篩管細胞內具有典型之單位膜，但不具細胞壁。本文為首次報導植物菌質體感染長豇豆植株，有關此病害於臺灣產區之發生危害分布則有待深入探討。

**PP07** 木瓜幼苗接種叢枝菌根菌對土壤病害防治之探討—張耀聰、曾敏南、張廖伯勳（行政院農委會高雄區農業改良場作物環境課） The effects of arbuscular mycorrhizal fungi against soil-borne diseases of papaya seedling—Chang, Y. T., Tseng, M.N., Chang-Liao, P. S. (Crop environment section, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Changjhih, Pingtung 908, Taiwan)

木瓜 (*Carica papaya* Linn) 幼苗階段接種叢枝菌根菌 (arbuscular mycorrhizal fungi) 能使根系共生形成菌根，並具有有效促進幼苗根系生長、礦質營養分吸收及提升移植存活率，並能增強對土生病原菌之抵抗性。本研究將木瓜幼苗混合接種 5 種叢枝菌根菌，待其感

染形成菌根後，進行盆鉢試驗接種木瓜根腐病菌 (*Pythium aphanidermatum*)，並調查其發病情形，另外將木瓜幼苗與5種叢枝菌根菌 (*Entrophospora kentinensis*、*Glomus spurgum*、*Glomus intraradices*、*Glomus mosseae*及*Glomus etunicatum*) 混合接種與單獨接種，於兩季期間進行根腐病嚴重發病之木瓜連作田定植試驗，調查幼苗移植存活率及生長情況，由試驗結果指出，木瓜幼苗接種菌根菌種處理與對照組間感染發病致死百分率為26.7%:53.3%；連作田移植存活率試驗調查結果顯示，接種菌根菌處理之木瓜幼苗移植存活率均高於對照組，其中以單獨接種*G. etunicatum*及*G. mosseae*處理，幼苗移植存活率顯著高於對照組，分別為70%、55%及23.33%，顯示木瓜接種菌根菌對土壤病害具有耐受性，此外在苗高生長表現方面則以接種*Entrophospora kentinensis*處理顯著高於對照組。

**PP08** 分離自進口梨接穗之梨花枯病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 生理與遺傳特性分析—鄭日新、曾貞瑜、鄧文玲 (國立中興大學植物病理學系) Physiological and genetic characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolated from imported pear scions—Cheng, L., Tzeng, J. -Y., Deng, W. -L. (Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, South District, Taichung 402, Taiwan)

*Pseudomonas syringae* van Hall 1902, originally isolated from lilac (*Syringa*

*vulgaris* L.), is a complex species that infects many plant species under favorable conditions and is classified to different pathovars based on their compatibility with plants. Generally, *P. syringae* pathovars harbor different virulence factors and exhibit differential reactions upon interactions with plants, which cannot be easily revealed by physiological and biochemical tests. The common virulence factors include the type III secretion system (T3SS)-secreted effector proteins and non-ribosomal protein synthetase (NRPS)-synthesized phytotoxins, both are involved in interfering plant metabolism and defense responses to promote bacterial parasitism. Syringomycin and syringolin A were two major phytotoxins produced by *P. syringae* pv. *syringae*, pv. *aptata*, pv. *atofaciens*, pv. *japonica*, pv. *aceris*, pv. *lapsa*, and *P. fuscovaginae*. In Taiwan, where the humid subtropical climate is generally considered unsuitable for *P. syringae* infection, a few disease incidences, e.g. bacterial spot of carambola and angular leaf spot of cucurbits, have been recorded in the orchards and nurseries of southern Taiwan. In 2014, Japan-imported pear scions developed typical blossom blast symptom after they were grafted to local pear rootstocks. Suspect bacterial pathogen was isolated from the symptomatic plant tissues, and the colony morphology on King's B medium, LOPAT tests, and fatty acid methyl ester analysis (Agilent Technologies, Santa Clara,

CA) revealed the isolated bacteria shared similar characteristics of *P. syringae*. Koch's postulates were fulfilled by prick-inoculating the isolated bacteria to pear leaves, and the bacteria showing similar characteristics can be re-isolated from the symptomatic tissues of the inoculated plants. To determine the pathovar identity, *P. syringae* pear strains were inoculated to the pods of common bean by syringe infiltration, and the elicitation of brown necrosis in 3 days post inoculation was recorded as a typical feature of the pathovar *syringae* in comparison with water-soaked symptom induced by bean-pathogenic strains. Multilocus sequence typing (MLST) of 7 housekeeping genes (*rpoD*, *gyrB*, *acnB*, *cts*, *gap*, *pgi*, and *pfk*) revealed that the pear strains from the imported pear scions were phylogenetically separated from the other pear-pathogenic *P. syringae* pv. *syringae* found in other countries. Genome-wide comparison of *P. syringae* pv. *syringae* from different sources also showed that these strains contained various virulence factors, suggesting that *P. syringae* pv. *syringae* strains may have co-evolved with their host plants to achieve optimum infection under diverse environments. For accurately and quickly identifying the suspect pathogen from infected plant tissues, the nucleotide sequences of syringomycin and syringolin A biosynthesis genes and genes coding for the type III secretion system were used to develop standard PCR detection protocol. The application of PCR detection and plant

inoculation assay will ensure the correct identification of *P. syringae* pv. *syringae*.

**PP09** 萬代蘭細菌性褐斑病之研究—蔡佳欣<sup>1</sup>、黃淑苓<sup>1</sup>、洪子晴<sup>1</sup>、李佳蓉<sup>1</sup>、卓緯玄<sup>2</sup>、陳純葳<sup>1</sup> (行政院農委會農業試驗所植物病理組；<sup>2</sup>行政院農委會農業試驗所作物組) The study of bacterial brown spot on vanda—Tsai, C. H.<sup>1</sup>, Huang, S. L.<sup>1</sup>, Hong, Z. Q.<sup>1</sup>, Li, J. R.<sup>1</sup>, Jwo, W. S.<sup>2</sup>, Chen, C. W.<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, COA、<sup>2</sup>Crop Science Division, Agricultural Research Institute, COA)

2015年台南縣地區一處萬代蘭蘭園，部份的植株葉片出現水浸狀褐色壞疽病斑，嚴重時造成葉片黃化或乾枯，並易落葉，葉部罹病組織在光學顯微鏡下可見細菌大量泳出，在營養培養基 (nutrient agar) 分離出一種病原細菌，此菌經測試可誘導萬國土煙草葉片產生過敏性反應，屬革蘭氏陰性菌，以Biolog細菌鑑定系統測試此菌，結果顯示為 *Burkholderia glumae*。以16S rDNA序列分析後發現其與 *B. glumae* 相似度達99%以上。接種試驗中，以細菌懸浮液接種萬代蘭可造成與田間所見相似之葉部病徵，接種水稻稻穗造成與細菌性穀枯病相似病徵，證實所分離之細菌具病原性。

**PP10** 紅龍果細菌性果斑病初報—吳雅芳、黃士晃、吳盈慧、鄭安秀<sup>1</sup>、林志鴻<sup>2</sup> (<sup>1</sup>行政院農業委員會台南區農業改良場、<sup>2</sup>國立嘉義大學植物醫學

系) Bacterial fruit blotch disease of dragon fruit—Wu, Y. F., Huang, S. H., Wu, Y. H., Cheng, A. S.<sup>1</sup>, Lin, C. H.<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Tainan District Agricultural Research and Extension Station, COA; <sup>2</sup>Department of Plant Medicine, National Chiayi University, Chiayi)

紅龍果是仙人掌科熱帶果樹，原生於中南美洲，臺灣最早於1945年由荷蘭人引入，於2002~2003年間達到種植高峰，全臺種植面積逾1,000公頃，然而因大量搶種、果實品質不佳與栽培技術不成熟等因素，種植面積開始逐年遞減。近幾年由於農業單位之重視及農民在品種改良及栽培技術上日漸成熟，品質大幅提昇，且國內自2009年3月起禁止越南紅龍果進口，及2010年白肉種紅龍果外銷日本拓展成功等因素，紅龍果市場價格穩定，再次掀起種植風潮。依據農業年報統計，目前全臺種植面積約1675公頃，以彰化縣最多，其次依序為屏東縣、南投縣、台南市及嘉義縣等。目前臺灣已知的紅龍果病害以真菌性病害為主，包括果腐病、炭疽病、潰瘍病、濕腐病等，除高溫高濕季節偶有細菌性軟腐病發生之外，並未有細菌性病害的正式報導。104年9月臺南市新市區農民發現田間有些果實於綠果時表皮提早轉色，切開有果皮增厚，維管束褐化的現象，當果實成熟時罹病部位果皮顏色較深，且易裂果，經採樣鏡檢，其果皮及莖部維管束有褐化現象，顯微鏡下可見細菌的菌流，分離病原菌培養在馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (PDA) 平板上，菌落初呈乳白色漸轉為褐色，在 KB 培養基上無螢光，可引起煙草葉片過敏性

反應。經接種於紅龍果果實上造成與田間相同的病徵，並回分完成柯霍式法則，以BioLog™微生物鑑定系統鑑定為 *Burkholderia caryophylli*，此病原菌原報導於康乃馨、滿天星及星辰花之萎凋病，將本研究室保存之星辰花萎凋病菌株與紅龍果上分離的菌株分別接種於紅龍果與星辰花上，均可造成病徵。此病害首次發現於紅龍果果實上，尚未有相關的報導，因此依據其病徵表現，命名為紅龍果細菌性果斑病。

**PP11** 具防治細菌性軟腐病之潛力菌株篩選及研發—蔡濰安、施雨伸(行政院農業委員會花蓮區農業改良場作物環境課植物保護研究室) Screening and development of rhizosphere microorganism against soft rot disease—Tsai, W. A., Shih, Y. S. (Hualien District Agricultural Research and Extension Station, Jian, Hualien 97365, Taiwan ROC)

細菌性軟腐病 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (PCC)，為革蘭氏陰性、兼性厭氧細菌，本病害寄主範圍廣泛包含十字花科、天南星科及百合科等作物，感染後之植株會腐爛並發出惡臭，且於田間及倉儲內傳染性皆強。由於細菌性病害感染後難以藥劑防治，又目前可防治本病害之藥劑侷限，因此本研究由宜花地區田間採集土壤，篩選具有商品化潛力之菌株。試驗選用熱處理法從177處土樣篩選芽孢桿菌，並利用平板對峙培養法、螯鐵法及抑制群聚能力等方法篩選實驗室潛力拮抗菌株，再進行胡蘿蔔活體測試。結果

顯示實驗室篩選出最有潛力之四之拮抗菌B01、B02、B31、B32於胡蘿蔔活體實驗之罹病度(Disease severity)平均為未防治組之50%。田間試驗以拮抗菌B01防治海芋細菌性軟腐病，結果顯示以 $10^6$ cfu/ml B01處理之田間罹病率(Disease incidence)為200倍鏈黴素處理之67%，且病程發展為200倍鏈黴素處理之0.7倍。本試驗將持續篩選並進行十字花科及蔥科蔬菜軟腐病之防治效果測試，以期未來能開發出具田間防治軟腐病之潛力菌株。

**PP12** 改進 XF-26 化學培養基配方用以培養台灣分離之導管侷限細菌*Xylella fastidiosa*及 *X. taiwanensis*—納彬、徐筱筑、張宗仁、詹富智、鄧文玲 (國立中興大學植物病理學系) Modification of chemically defined medium XF-26 for in-vitro cultivation of *Xylella fastidiosa* and *X. taiwanensis* isolated in Taiwan—Nabin Sharma, Hsu, S. -C., Chang, C. J., Janand, F. -J., Deng, W. -L. (Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, South District, Taichung 402, Taiwan)

Strains of *Xylella fastidiosa* (PD) and *X. taiwanensis* (PLS) are plant pathogenic bacteria that were respectively isolated from grapevine and pear tree in Taiwan. The bacteria are nutritionally fastidious and require a complex nutrient for explanta growth. The Taiwan *Xylella* PD and PLS strains can grow on PD2 but not on the chemically defined XF-26 medium that

contains all the nutrients previously shown to be sufficient for in-vitro cultivation of *X. fastidiosa* strains isolated in North America. To develop a defined medium that supports good growth of the Taiwan *Xylella* strains, different medium formulations modified from the original XF-26 were tested. A basal medium containing 20 amino acids, which was formulated by adding 3 amino acids, i.e. aspartic acid, glutamic acid, and tyrosine, to XF-26, resulted in good growth of Taiwan PD and PLS strains. By omitting the 3 amino acids one by one or in combination from the basal medium, tyrosine was found to be an essential nutrient for Taiwan PD and PLS strains, and the bacteria can grow in the XF-26 medium supplemented with tyrosine (XF-26-tyr). Moreover, replacing asparagine with aspartic acid in XF-26-tyr also supported the growth of the Taiwan PD and PLS strains. To simplify the preparation of the chemically defined medium, the stock solutions of 17 amino acids were substituted by 0.4% (w/v) casamino acid solution that contains 18 amino acids that include tyrosine. The modified XF-26 (mXF-26) was demonstrated to support good growth of the Taiwan-isolated *Xylella* strains.

**PP13** 應用*Bacillus* spp.防治西瓜果斑病—張俊傑、林宜賢 (國立屏東科技大學植物醫學系) Application of *Bacillus* spp. to control bacterial fruit blotch caused by *Acidovorax citrulli* on watermelon—Chang, J. J., Lin, Y. H. (Department of Plant

Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Neipu, Pingtung 912, Taiwan)

由*Acidovorax citrulli*所引起之西瓜細菌性果斑病，為西瓜生產之重要限制因子。此病害主要以帶菌之種子為主要初次感染源，於種子發芽時入侵子葉，再藉雨水或噴灌使病原菌散播至鄰近之植株。隨病害之發展使果實造成大面積汙斑，嚴重影響商品價值。因此，解決種子帶菌之問題為防治細菌性果斑病發生之重要策略。目前解決種子帶菌問題大多以化學藥劑處理為主，而化學藥劑處理並無法有效解決種子帶菌問題，發展微生物於此病害之防治或許為可考量的方向。本篇報告中，首先篩選由土壤分離之*Bacillus* spp.菌株，結果顯示*Bacillus* spp. PMB04、PMB05與DR81三個菌株對*acidovorax citrulli*具有較佳之拮抗能力，其中DR81具有最強之拮抗能力。接著利用16S rDNA 進行菌株定序與比對，結果顯示PMB04與PMB05菌株為*B. amyloliquefaciens*，DR81則為*B. thuringiensis*。進一步評估具拮抗特性之PMB04、PMB05與DR81菌株在防治細菌性果斑病之能力，分別進行葉片接種與種子處理。在葉片的接種上，相較於對照組僅PMB04與PMB05可明顯抑制病害之發生。在種子的處理中，亦僅有PMB04與PMB05可有效降低幼苗之罹病率，且以PMB05之防治效果最佳，防治率達97.8%。由前述之結果推測，拮抗作用非為防治西瓜果斑病之唯一因子。因此，進一步分析在拮抗菌與病原菌共同存在下之H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>快速產生與癒傷葡聚糖

累積，探討此些拮抗菌株是否具有提升植物免疫能力之效果。結果顯示PMB04與PMB05均能增加果斑病菌於葉片中所誘導之H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>與callose累積。說明此二菌株可強化植物免疫之防禦訊號。綜合上述，PMB04與PMB05在防治細菌性果斑病上具有優異之效果，且其防治機制可能與拮抗微生物所提升之植物免疫有關。

**PP14** PFLP之磷酸化為提升阿拉伯芥之PAMP-triggered immunity所需—陳姿誼、洪銓佑、林宜賢（國立屏東科技大學植物醫學系） Phosphorylation of plant ferredoxin-like protein is required for intensifying PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis thaliana*—Chen, T. -Y., Hong, C. -Y., Lin, Y. -H. (Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan) 植物病原菌小分子被植物細胞表面受器辨識後所觸發的免疫反應稱為PAMP-triggered immunity (PTI)。此免疫反應為植物辨識病原菌後的首道防禦路徑。已有多篇文獻證明PTI的訊號可被外源的plant ferredoxin-like protein (PFLP)所提高，並能使多種植物產生抵抗細菌性病害之能力。目前亦已發現PFLP所含有之casein kinase II磷酸化區域為強化植物抗病性所必需，但其磷酸化反應之發生與增強抗病是否有關則仍未知。利用胺基酸點突變方式，將PFLP之截短型蛋白，PEC，經單一胺基酸置換所獲得之無法磷酸化的PECT90A 與模擬磷酸化的PECT90D分別進行分析。在過敏性反

應之結果顯示，此兩種蛋白皆無法提升HrpZ誘導之過敏性反應，可推測PEC蛋白在植物中的實際磷酸化可能為提升抗病所必需。為進一步了解PFLP磷酸化與植物細胞內casein kinase II是否相關並隨後參與提升植物抗病性之過程，本研究利用阿拉伯芥casein kinase II插入突變株分別於過敏性反應、激活化氧的產生、癒傷葡聚糖的累積及軟腐病菌接種進行分析。結果證明，casein kinase II為PFLP在上述反應中所必需。由此推測PFLP在植物中被casein kinase II的磷酸化在提升植物抗病性上扮演重要之角色。由於PFLP已證明與強化PTI有關，為了解PFLP在強化PTI的過程中於mitogen-activated protein kinase (MAPK)之訊號傳遞路徑上所扮演之角色，以其指標基因的表現進行探討。結果顯示，PFLP可以強化由flg22<sub>psl</sub>所誘導的*FRK1*之表現。同時，PFLP亦可強化由HrpZ誘導的*WRKY22/29*基因表現，說明PFLP確實會增加PTI於MAPK路徑中之訊號傳遞。此外，在本研究中亦證實PFLP所提升HrpZ誘導的*WRKY22*基因表現需要casein kinase II之參與。然而，PFLP對*WRKY29*的表現則可能不需要casein kinase II之參與。由上述結果說明，PFLP可藉由被casein kinase II之磷酸化強化部分MAPK路徑之訊號傳遞。本研究亦證明阿拉伯芥於HrpZ誘導下，PFLP可藉由casein kinase II增強水楊酸之防禦路徑。綜合上述，PFLP之磷酸化可多元地提升植物之PTI防禦訊號於細菌性病害之抗病性，且此防禦訊號之提升亦與casein kinase II高度相關。

**PP15** 香蕉黃葉病菌檢測用特異性光譜診斷技術之開發—林依佳、黃湘珊、楊峻毓、林盈宏(國立屏東科技大學植物醫學系) Development of a specific spectral diagnostic method for detection of Fusarium wilt of banana—Lin, Y. J., Huang, S. S., Yang, J. Y., Lin, Y. H. (National Pingtung University of Science and Technology, Neipu, Pingtung 912, Taiwan)

香蕉黃葉病由*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc)所引起，此病害會造成香蕉發生系統性的萎凋，為香蕉栽培時的限制因子之一。且此病原菌能以厚膜孢子之方式殘存於土壤中，因此開發一個具有特異性之檢測技術為避免病害發生的可行策略之一。拉曼光譜(Raman spectral)為一個已被少量用於食品、環境衛生與工業上之檢測技術，其是利用拉曼散射(Raman scattering)原理，依據特異性指紋圖譜(Specific fingerprint)來進行檢測(Detection)及診斷(Diagnosis)。本研究即期望開發一個具有特異性之光譜診斷方法應用於檢測香蕉黃葉病，以避免病害之發生而造成香蕉產業上的危害。本研究於全台各地區廣泛收集供試菌株，並以拉曼光譜儀(Raman spectrometer)進行檢測分析，目前已能以Foc之分生孢子(Conidia)與菌絲(Hyphae)之特異性拉曼光譜，快速區分(Differentiation)出黃葉病菌檢體。顯示了應用拉曼光譜進行檢測香蕉黃葉病菌，是有其檢測應用可行性。未來將進一步分析其準確性與再現性，並將進一步用以檢測田間不同病程之患病香蕉組織與土壤等不同檢體，藉此建立一個快

速且能夠實現現地檢測之黃葉病(菌)檢測平台，及早檢測以避免香蕉黃葉病菌的傳播與危害。

**PP16** 篩選兩種水稻種原對水稻根瘤線蟲 *Meloidogyne graminicola* 之抗性與抗性機制初探—歐陽皓其<sup>1</sup>、陳珮臻<sup>1</sup>、蔡東纂<sup>1</sup>、李長沛<sup>2</sup> (國立中興大學<sup>1</sup>、行政院農業委員會農業試驗所<sup>2</sup>) Identification of root-kont nematode (*Meloidogyne graminicola*) resistance(s) and its mechanism in rice germplasm—Qouyang H. Q.<sup>1</sup>, Chen, P.<sup>1</sup>, Tsay, T. T.<sup>1</sup>, Li, C. P.<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan, <sup>2</sup>Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung 413, Taiwan)

水稻(*Oryza sativa* L.)為重要的穀類作物，全球超過1/3人口仰賴稻米作為主要糧食。水稻根瘤線蟲為主要限制水稻生長之生物性因子之一。國外研究許多高產量的水稻栽培品系皆對其不具抗性，台灣本土的水稻品種對根瘤線蟲抗感性之資料則尚未建立。野生稻種常保有對病蟲害的抗性及環境壓力耐受性，可以做為稻作改良上重要的基因提供者。本研究篩選了31種野生稻種及野生稻導入系(introgression lines)；103年農委會公告之28種優良水稻推廣品種，並對其抗性機制做初步探討。31種野生稻品系的初步篩選結果顯示導入系NT-3(Tainung 67 X *Oryza officinalis*)、NT-6(Tainung 67 X *O. officinalis*)以及來自非洲的NT-58(*O. longistaminata*)、NT62(*O. punctata*)、NT-66(*O. glaberrima*)、NT-

72(*O. barthii*)等品系表現出對水稻根瘤線蟲良好的抗性潛力，其平均結瘤數分別為3.4、7.5、4.8、5.4、2.8與敏感品系IR64平均結瘤數24相較偏低。28種栽培稻篩選結果中，台中秈10號與台東30號品系兩者有許多2級根瘤指數(結瘤率11~30%)的個體，與IR64皆為3、4級根瘤指數(結瘤率31~70%)相比，推測兩者應為耐病品系。其餘栽培品種結果則與敏感品系IR64差異不大，顯示台灣目前常用之水稻栽培品系普遍缺乏對根瘤線蟲抗性。將具抗性同源導入系NT3、NT6與敏感品系IR64的根部進行切片觀察，皮層平均厚度IR64(308.6 $\mu$ m)、NT3(371.8 $\mu$ m)、NT6(413.9 $\mu$ m)三者間有明顯差異。中柱平均厚度IR64(344.0 $\mu$ m)、NT3(351.5 $\mu$ m)兩者間無明顯差異但與NT6(418.8 $\mu$ m)有顯著差異。同源導入系NT3、NT6中，抗性較高的NT-3根部皮層與中柱較敏感的NT6有較厚的情形，顯示組織構造差異可能為決定抗性的因子之一。利用水稻根部對水稻根瘤線蟲測試誘引率，IR64、NT3、台東30、台中秈10與TNG67於接種後0、12、24小時對水稻根瘤線蟲誘引率皆於12小時後始有上升趨勢，但各品種之間的誘引率在各時間點下於統計上無顯著差異，暗示其抗性應與寄主誘引無關，而是取決於線蟲入侵後植株其他生理反應是否可抑制線蟲發育。

**PP17** 兩種鏈黴菌應用於南方根瘤線蟲病害綜合防治之潛力—黃榮揚、陳珮臻、蔡東纂 (國立中興大學植物病

理學系) The potential of 2 *Streptomyces* strains in IPM of Southern Root-knot nematode—Huang, C. Y., Chen, P., Tsay, T. T. (Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan)

台灣根瘤線蟲病害以南方根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita*) 為主，它在全球造成15%的產量損失，感染病株根部造成瘤狀腫大，地上部生長不良。本研究評估兩種生物防治菌結合化學藥劑進行防治之可行性。以本實驗室保存之鏈黴菌 *Streptomyces plicatus* B4-7 菌株與 *Streptomyces saraceticus* 31 菌株，在PSA平板上與4種殺線蟲劑、1種殺蟲劑、4種殺菌劑測試藥劑相容性。結果顯示殺蟲劑與殺線蟲劑無論是同時與鏈黴菌施用或是延後24小時施用，皆不會影響鏈黴菌生長。四種殺菌劑在同時施用下會對生物防治鏈黴菌產生不等的抑制效果，其中嘉賜銅、氫氧化銅對B4-7有強烈抑制效果，而SS31則會被鏈黴素抑制；但使用放線菌生長24小時後再施用藥劑，則可提升鏈黴菌與測試藥劑之相容性。以1%燕麥、2%米糠與2%黃豆砂糖三種培養液增量生物防治菌，並分析鏈黴菌作用於南方根瘤線蟲之機制。以30倍稀釋的B4-7燕麥培養液處理根瘤線蟲卵後，得到最低卵孵化率47.8%，且稀釋30倍使用為最低有效濃度。以10倍稀釋的B4-7培養液浸泡根瘤線蟲二齡幼蟲 (J2) 48小時後得到33.9至35.9%的致死率，比起10倍稀釋的SS31培養液處理有較高的致死率。為分析培養液浸泡後，失去活性的線蟲是否為可恢復泳動力，J2先以

稀釋30倍的B4-7培養液浸泡兩天後，將無活性蟲體移至無菌水中浸泡，一天後記錄蟲體致死率。結果顯示J2經B4-7黃豆砂糖培養液處理有19.1%死亡率，另有14.5%的J2在清水浸泡後恢復泳動力，表示J2經B4-7培養液處理後有部分蟲體是呈現麻痺現象。為了測試由麻痺回復之J2是否仍具有侵染能力，將B4-7培養液處理後之200隻J2接種至菜豆根系，五天後進行根系染色，兩次試驗結果顯示J2入侵數分別為13.2與15.4隻，與清水處理對照組之42.3與37.6隻相比有顯著差異。研究結果顯示，鏈黴菌 *S. saraceticus* 31、*S. plicatus* B4-7可與化學藥劑在田間使用，且鏈黴菌 *S. plicatus* B4-7具有防治南方根瘤線蟲的潛力，亦可發展為病害綜合管理的策略之一。

**PV01** Potexvirus屬病毒簡併式核酸偵測技術開發—周建銘<sup>1</sup>、陳君弢<sup>2</sup>、簡依萱<sup>1</sup>、寧方俞<sup>3</sup>、陳金枝<sup>1</sup>、鄧汀欽<sup>1</sup> (<sup>1</sup>行政院農業委員會農業試驗所、<sup>2</sup>動植物防疫檢疫局新竹分局、<sup>3</sup>茶業改良場) Development of Potexvirus detection method by degenerate RT-PCR—Chou, C. M.<sup>1</sup>, Chen, C. T.<sup>2</sup>, Chien, Y. H.<sup>1</sup>, Ning, F. Y.<sup>3</sup>, Chen, C. C.<sup>1</sup>, Deng, T. C.<sup>1</sup> (Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, COA, Taichung 413, Taiwan; <sup>2</sup>Hsinchu Branch, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, COA, Dayuan, Taoyuan 337, Taiwan; <sup>3</sup>Tea Agronomy Section, Tea Research and Extension Station, COA, Yanmei, Taoyuan 324, Taiwan)

Potexvirus屬病毒種類繁多，其中包含數種具廣寄主範圍且有高危害性之檢疫病毒如可感染百合之(*Plantago asiatica mosaic virus*, PIAMV)及可感染多種茄科作物之香瓜茄病毒(*Pepino mosaic virus*, PepMV)。而國內已發生之Potexvirus主要集中於四類作物，包括感染紅龍果之仙人掌X病毒(*Cactus virus X*, CVX)、紅龍果X病毒(*Pitaya virus X*, PiVX)、蟹爪蘭X病毒(*Zygocactus virus X*, ZyVX)；感染茄科作物之馬鈴薯X病毒(*Potato virus X*, PVX)；感染花卉作物如蕙蘭嵌紋病毒(*Cymbidium mosaic virus*, CymMV)、*Nerine virus X*, NVX及百合X病毒(*Lily virus X*, LVX)；感染竹子之竹嵌紋病毒(*Bamboo mosaic virus*, BaMV)等8種病毒。目前國內發生之Potexvirus皆已有相關之血清學及專一性核酸鑑定技術，而關於廣效性之核酸檢測技術則較為缺乏，本研究蒐集現有登錄於Genbank之31個不同之Potexvirus屬病毒全長度序列，其病毒全基因體序列核酸兩兩比對相似度範圍為16.58%至72.36%，可找出8個序列保守區域，分別位於病毒RNA聚合酶(RdRp)、鞘蛋白(CP)及poly(A) tail區域，依此設計9組引子對，依不同排列組合進行touchdown PCR增幅不同Potexvirus(包含PIAMV、CymMV、NVX、CVX、PiVX、BaMV、PVX)，共有PotexDF1/PotexDR3、PotexDF2/PotexDR3及PotexDF3/PotexDR3三組引子對組合可增幅出所有供試potexvirus屬病毒之預期大小片段，其中PotexDF3/PotexDR3進行PCR增幅黏合溫度為44°C時，不同分離株目標增幅條

帶皆清晰可見。以設計之簡併式引子對(PotexDF3/PotexDR3)針對PIAMV感染之百合植物檢體及CVX、PiVX或ZyVX複合感染之紅龍果檢體進行檢測，檢測結果顯示12個受PIAMV感染百合檢體及21個受CVX、PiVX或ZyVX複合感染紅龍果檢體皆可增幅出預期條帶，另針對17個田間BaMV感染竹子進行檢測，則有12個樣本可檢出；對不同Potexvirus病毒進行測試，檢測Potexvirus感染之植物檢體，針對CVX之靈敏度可達 $8 \times 10^{-3}$  ng/ul，針對PIAMV及BaMV之靈敏度可達 $8 \times 10^{-2}$  ng/ul，針對PVX之靈敏度可達 $8 \times 10^{-1}$  ng/ul，由結果可知此簡併式核酸檢測技術具有相當靈敏度，且可針對不同田間作物樣本進行偵測。

**PV02** 紅龍果病毒免疫快篩試紙條開發—周建銘<sup>1</sup>、蔡錦慧<sup>1</sup>、簡依萱<sup>1</sup>、廖吉彥<sup>1</sup>、鄧汀欽<sup>1</sup>、劉芳麟<sup>2</sup>、陳宗祺<sup>3</sup>、陳金枝<sup>1</sup> (<sup>1</sup>行政院農業委員會農業試驗所植物病理組、<sup>2</sup>一邱雅士有限公司、<sup>3</sup>亞洲大學生物科技系) Development of pitaya virus immunostrip—Chou, C. M.<sup>1</sup>, Tsai, C. H.<sup>1</sup>, Chien, Y. H.<sup>1</sup>, Liao, J. Y.<sup>1</sup>, Deng, T. C.<sup>1</sup>, Liu, F. L.<sup>2</sup>, Chen, T. C.<sup>3</sup>, Chen, C. C.<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Plant Pathology Division, Agricultural Research Institute, COA, Wufeng, Taichung 413, Taiwan; <sup>2</sup>Idiotslab company limited, Dali, Taichung 412, Taiwan; <sup>3</sup>Department of Biotechnology, Asia University, Wufeng, Taichung 413, Taiwan)

紅龍果為近年國內新興果樹作物，由於其具有枝條扦插繁殖容易、人力需求較低、幼年性短，產量高且產期分散

及病蟲害少栽培管理容易等優點，農民搶種使得紅龍果栽培面積短時間內由2008年796公頃的栽培面積翻倍至2014年的1,676公頃的栽培面積，大面積栽培也使得病害管理問題逐漸浮現，而紅龍果的病毒病害在台灣目前已知有仙人掌X病毒(*Cactus virus X*, CVX)、紅龍果X病毒(*Pitaya virus X*, PiVX)及蟹爪蘭X病毒(*Zygocactus virus X*, ZyVX)三種Potexvirus屬病毒，本研究利用自製之仙人掌X病毒免疫球蛋白(Immunoglobulin, IgG)進行紅龍果病毒免疫快篩試紙條研發，測試自製之CVX免疫球蛋白與膠體金不同pH值及濃度之配對條件，墨點轉漬法結果顯示pH7.1及pH7.6條件下CVX免疫球蛋白濃度達300ug/ml以上處理之紅龍果病毒免疫膠體金可與感染CVX或CVX及ZyVX複合感染病株紅龍果汁液順利產生反應，健康對照則無反應，將conjugate pad浸潤於CVX免疫膠體金並將快篩試條組裝後進行測試並以ELISA及multiplex RT-PCR測試結果為對照，同時比較不同樣本萃取液對檢測能力之影響，共檢測50個樣本，結果顯示以水為樣本萃取液之試紙條病株檢出率為78%，以1xPBS為樣本萃取液之試紙條檢測病株檢出率60%，ELISA及RT-PCR檢測之檢出率分別為60%及76%，分析紅龍果病毒免疫快篩試紙條檢測靈敏度，當病株紅龍果汁液以1xPBS或水稀釋至 $10^{-2}$ 時仍可檢出，與ELISA的靈敏度相近。

**PV03** 可檢測多種百香果potyviruses之多元抗體製備與應用—陳金枝、江芬

蘭、鄭櫻慧、鄧汀欽(行政院農業委員會農業試驗所植物病理組) Preparation and application of a polyclonal antibody for the detections of different potyviruses infecting *Passiflora* spp.—Chen, C. C., Chiang, F. L., Cheng, Y. H., and Deng, T. C. (Dept. of Plant Pathology, Taiwan Agricultural Research Institute, COA, Taichung, Taiwan ROC)

百香果(*Passiflora* spp.) 又稱西番蓮、雞蛋果、時計果等，有“果汁之王”稱號。百香果為具有高經濟價值的水果，台農1號為國內百香果之主力品種，以嫁接苗作為種苗繁殖生產及銷售。病毒為影響百香果品質及產值最鉅之病害因素，因此種苗之無特病毒檢定以控管品質，乃確保百香果產值之重要關鍵。國際間百香果病毒紀錄約二十種，國內已知6種包括(1)東亞百香果病毒(*East asian passiflora virus*簡稱EAPV)，其AO分類群引起木質化，IB分類群引起輕微斑駁病徵；(2) *Cowpea aphid-borne mosaic virus*，CABMV)；(3)胡瓜嵌紋病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)；(4) *Begomovirus*屬之聖誕紅捲葉病毒(*Euphorbia leaf curl virus*, EuLCV)及木瓜捲葉廣東病毒(*Papaya leaf curl Guangdong virus*, PaLCuGDV)。本研究針對百香果Potyvirus屬病毒包括EAPV-AO、EAPV-IB及CABMV之個別鞘蛋白全長度基因區域，及上述病毒鞘蛋白同源區核酸片段(EAPVc)進行選殖，將其分別構築於pET28b表現載體上，於*E. coli*(Rosetta)細菌生合成系統中表現病毒之蛋白，預估分子量分別為EAPV-AO

34.5 kDa、EAPV-IB 32.5 kDa、CABMV 30.5 kDa及同源區EAPVc 25 kDa，純化各種表現蛋白作為製備多元抗體之抗原來源以及檢測用正對照標準品。由上述病毒之鞘蛋白同源區(EAPVc)之表現蛋白所製作之多元抗體(anti-EAPVc)於間接式-酵素連結免疫吸附反應 (Enzyme linked immune-sorbent assay, indirect ELISA)及西方墨點法(western blotting)中，均可同時檢測出紀錄上可感染百香果之6種potyviruses包括EAPV-AO、EAPV-IB、CABMV、PaVY (*Passiflora virus* Y)、SMV (*Soybean mosaic virus*)及BYMV (*Bean yellow mosaic virus*)；於ELISA檢測中，anti-EAPVc亦可同時檢出其他作物之多種potyviruses病毒，為可應用於特定potyviruses之廣效性抗體，且於檢測田間百香果罹病毒株樣品時，若將anti-EAPVc及anti-EAPV-AO抗體以等比例混合使用，則可強化對百香果病毒之檢出效果。由本研究所開發之4種百香果potyviruses多元抗體，均已實務應用於百香果種苗繁殖之病毒檢定，作用於強化健康種苗之病毒監測確保種苗之品質。

**PV04** 檢疫病毒*Cymbidium ringspot virus*多元抗體製備及其檢測應用—陳金枝、江芬蘭、王孝允、黃美容 (行政院農業委員會農業試驗所植物病理組) Application of the prepared polyclonal antibody against *Cymbidium ringspot virus* on virus detection—Chen, C. C., Chiang, F. L., Wang, H. Y., and Huang, M. R. (Dept. of Plant Pathology, Taiwan Agricultural

Research Institute, COA, Taichung 413, Taiwan ROC)

*Cymbidium ringspot virus* (CymRSV) 屬於蕃茄叢矮病毒屬(*Tombusvirus*) 的球形病毒，為單股RNA核酸，鞘蛋白分子量約為41 kDa，病毒顆粒大小約為直徑30nm，可透過病毒汁液傳播。此病毒普遍發生於草本植物上，但目前只在歐洲被發現而分佈仍不普遍，國內尚無此病毒之發生。本研究製備CymRSV之多元抗體，針對國外已於發表之CymRSV全長度鞘蛋白核酸片段進行基因合成後，構築於pET28b表現載體，並於*E. coli* (Rosetta)宿主中進行表現蛋白誘導，預估此表現蛋白(代號BEP189)分子量大小約為41.7 kDa。以此表現蛋白為抗原所製備出之多元抗體(#189)於間接式-酵素連結免疫吸附反應 (Enzyme linked immune-sorbent assay, indirect ELISA)及西方墨點法(western blotting)反應中均可與其同源之表現蛋白及購買商品化之CymRSV檢測用標準品 (DSMZ & Agdia公司出品) 產生正反應；而於西方墨點法中，此兩種市售之CymRSV多元抗體對BEP189均產生正反應，且#189多元抗體對此市售CymRSV正對照品均於預估41.7 kDa蛋白分子量處產生正反應條帶，此等交叉反應結果顯示本研究所研製之CymRSV多元抗體可成功應用於CymRSV之免疫檢測。而於蘭花樣品之實際檢測評估上，於RT-PCR檢測中以已開發之CymRSV引子對(CyR236u/CyR777d)針對文心蘭36棵及嘉得利亞蘭 10棵樣品均未檢出CymRSV病毒之特定核酸片段，此等樣品進一步於indirect ELISA檢測中，

#189及市售DSMZ抗體均未檢出此病毒反應；但市售Agdia抗體檢出正反應者包括文心蘭29棵及嘉得利亞蘭 10棵，後續於西方墨點法中顯示Agdia抗體對此等蘭花樣品有非專一性反應，印證其於indirect ELISA所檢出之正反應乃屬偽陽性。由上述免疫檢測比較結果，顯示本研究所開發之CymRSV多元抗體可正確檢測蘭花樣品，適於本病毒之血清檢定，可有效地應用於對CyRSV之檢防疫監測，以防範病毒發生之風險。

**PV05** 矮南瓜黃化嵌紋病毒經種傳播的特性之確認及其檢測—鄧江欽、蔡錦慧、林玫珠、林羿廷、周建銘 (行政院農業委員會農業試驗所植物病理組) Confirmation of seed transmissibility of Zucchini yellow mosaic virus on cucurbits and procedures for detection—Deng, T. -C., Tsai, C. H., Lin, Y. -T., Lin, M. -J., Chou, C. -M. (Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan, Council of Agriculture)

矮南瓜黃化嵌紋病毒(*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV)於1985年在台灣被分離與鑑定(許秀惠等)，屬於*Potyvirus*，靠蚜蟲以非永續性方式傳播，在胡瓜、絲瓜、苦瓜、冬瓜、南瓜、甜瓜及西瓜終年發生，當時認為ZYMV無經種子傳播的能力，但1986年Davis & Muzuki報告指出南瓜種子帶有18.9%的ZYMV。此後經多年論證，在2011年ZYMV可經種子傳播的現象才被定調 (Simmons *et al.*)，因此近來瓜類種子進出口有關ZYMV的檢疫備受關注。

本研究以本土材料實驗證實ZYMV經種子傳播的特性，同時研擬出瓜類種子檢疫檢驗的標準程序。過程中以ZYMV接種胡瓜，結果在「新嬌」、「萬吉」、「彩綠二號」、「華燕」、「鳳燕」等品種因具有部份抗性，果實與種子以間接法ELISA檢驗均無ZYMV檢出。同時「秀綠」、「文秀」、「阿秀」、「F-1786」等胡瓜品種則極感病，取其罹病株果實，在新鮮種子中可測得26%帶有ZYMV，且病毒僅存在於種皮；新鮮種子乾燥15天後，全數供試種子的種皮或胚乳均無法驗出ZYMV。另從西瓜罹病株的果實檢測，果蒂、果底、果中柱、果皮、外果肉及內果肉均有ZYMV分佈，未成熟的種子則比成熟的種子帶有較多病毒，西瓜「甜美人」比「黑美人」的種子較容易測出ZYMV。置於10°C冰箱保存3年的「甜美人」西瓜種子，仍有60%可檢出ZYMV。據此研擬瓜類種子帶ZYMV的標準檢測流程，包括群體測試的採樣及統計分析、供試樣品製備、檢驗方法及檢測結果的表示等。於2012 -2015年間，共檢測65個批號(Seed lot)的瓜類種子，每個批號送驗的樣本(Submitted sample)至少1000粒種子，供試樣本(Working sample)取690粒種子進行群體測試：以1粒(10組)、3粒(10組)、5粒(10組)、10粒(10組)、100粒(5組)為標準。每次試驗共45組樣本，以等量(w/v)純水振盪洗滌或研磨萃取種子液為供試材料。檢測方法以自製的ZYMV 抗血清所製備的試劑進行間接法ELISA為主，必要時輔以RT-PCR (Yakoubi *et al.*, 2008)確認檢測結果。其

中甜瓜(1/29個批號)、南瓜(8/15個批號)及西瓜(3/13個批號)的種子有ZYMV檢出，胡瓜8個批號全數未檢出。陽性反應的ZYMV檢出率以Seedhealth程式(蔣國司等，2007)計算，從  $0.14 \pm 0.30\%$  到  $18.42 \pm 11.04\%$  不等，其中ELISA陽性臨界反應的南瓜種子樣本經RT-PCR檢測，可明確顯示ZYMV的存在；但以出芽試驗(Growing out Test)檢測同批種子，未能發現病株。

**PV06** 台灣山茶病毒病害研究初探—彭冠甄<sup>1</sup>、陳滄海<sup>1</sup> (<sup>1</sup>屏東科技大學植物醫學系) The preliminary study on camellia viral disease in Taiwan—Peng, K. C.<sup>1</sup>, Chen, T. H.<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Neipu, Pingtung 912, Taiwan)

茶花(*Camellia japonica*)為世界多國栽植的重要花木，品種超過兩千個以上，因花形、花色、葉形各有不同，各國早有許多愛好者栽培研究並成立茶花協會，同是山茶屬的油茶(*C. oleifera*)、茶葉(*C. sinensis*)、茶梅(*C. sasanqua*)在產業上也有一定之重要性。2013年在茶花具黃斑病徵的葉片中發現一種約1800 nm之超長型絲狀病毒，依長度判斷可能為Closteroviridae科病毒。美國、加拿大、紐西蘭、歐洲等國也曾發生山茶之病毒病害，然因病毒分離困難，病毒詳細的生物特性及傳播方式尚未明瞭。本研究在台灣多處進行茶花病毒病害調查，透過田間調查瞭解此病害在台灣之分布及發生，在台北市、新北市、新竹

市、南投縣、高雄縣、屏東縣茶花植株上均有發現病徵，調查了1550棵茶花植株，觀察到有病徵出現的品種已超過132種，山茶葉部主要有黃斑、圓斑、花紋斑三種病徵。負染色觀察病毒之型態，大部分為超過1000 nm之超長絲病毒，也有少部分100 - 280 nm之桿狀病毒，在油茶和茶梅上也已觀察到超長絲狀之病毒顆粒。透過機械接種嘗試分離病毒，但尚未成功分離。因種子苗成長速度慢，茶花栽培上多以扦插、嫁接為主，透過嫁接觀察病毒傳播情形，健株上20天即出現有病徵之葉片，然病毒是否會透過種子或其他方式媒介則需進一步研究。因病毒在田間病徵易受環境因素影響而改變，目前將透過自行設計的Closteroviruses簡併式引子對進行RT-PCR檢測，以進一步了解病毒所屬的屬以及種。

**PV07** 瓜類褪綠黃化病毒的基因沉默抑制子和致病因子之研究—康雅琪<sup>1</sup>、陳宗祺<sup>2</sup>、葉錫東<sup>1</sup> (<sup>1</sup>中興大學植物病理學系；<sup>2</sup>亞洲大學生物科技學系) Study on the gene silencing suppressor and pathogenicity determinant of Cucurbit chlorotic yellows virus—Kang, Y. -C.<sup>1</sup>, Chen, T. -C.<sup>2</sup>, Yeh, S. -D.<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Biotechnology, Asia University, Taichung, Taiwan)

In response to the host defense activity, plant viruses produce particular proteins, so-called “RNA silencing

suppressor (RSS)” , to counteract the RNA silencing mechanism of hosts. Cucurbit chlorotic yellows virus (CCYV) is a new species of the genus *Crinivirus* (the family *Closteroviridae*) that is semi-persistently transmitted by silverleaf whitefly. The CCYV virions are localized in phloem tissues of infected plants and possess two segmented ssRNA molecules, RNA1 and RNA2, encapsidated individually in two separated flexuous particles. The previous studies reported that some criniviruses use a particular multiple RSS strategy to suppress host RNA silencing, e.g. the P22, major coat protein (CP) and minor coat protein (CPm) of *Tomato chlorosis virus* (ToCV) and the P22 and RNaseIII of *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV). Therefore, using multiple RSSs to counteract host silencing defense may be a common strategy in criniviruses. In this study, two strategies, the attenuated *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) vector (ZAC) containing a mutated HC-Pro gene lost the both activities of pathogenicity and RSS and agro-infiltration-triggered gene silencing, were used to identify the possible pathogenicity determinant and RSS of CCYV. Our results showed that the P22 completely compensates the dysfunction of the mutated HC-Pro *in planta* suggesting that the P22 is the pathogenicity determinant and RSS of CCYV. Subsequently, five consensus amino acid residues within the P22 of CCYV were point-mutated and expressed by ZAC

to analyze the function of P22. Results showed that the L127 is the key residue for P22 functioning in pathogenicity, but not in RSS.

**PV08** 利用核鞘基因序列保留區段設計簡併引子對組進行番茄斑點萎凋病毒血清群種類之鑑定—劉魯垣<sup>1</sup>、陳宗祺<sup>2</sup>、陳滄海<sup>3</sup>(<sup>1</sup>屏東科技大學農園生產系博士班、<sup>2</sup>亞洲大學生物科技學系、<sup>3</sup>屏東科技大學植物醫學系) Development of degenerate primer sets identification of tospovirus species in the TSWV serogroup—Liu, L. -Y.<sup>1</sup>, Chen, T. -C.<sup>2</sup>, Chen, T. -H.<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Department of Plant Industry, NPUST, Pingtung, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Biotechnology, Asia University, Wufeng, Taichung, Taiwan; <sup>3</sup>Department of Plant Medicine, NPUST, Pingtung, Taiwan)

*Tospovirus*病毒屬為世界性重要經濟危害的植物病毒之一，寄主範圍廣泛，能感染82科900種以上的重要經濟作物。主要造成寄主作物斑點(spot)、黃化(chlorosis)、斑駁(mottle)、矮化(stunting)、萎凋(wilting)及壞疽(necrosis)等重要的病徵；本病毒屬重要的兩個血清群分別是危害歐洲區域的番茄斑點萎凋病毒血清群(TSWV serogroup)及亞洲區域的西瓜銀斑病毒血清群(WSMoV serogroup)，其中TSWV血清群為我國重要的檢疫病毒之一，本病毒血清群主要有番茄斑點萎凋病毒(*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)、鳳仙花壞疽斑點病毒(*Impatiens necrotic spot virus*, INSV)、水仙百合壞疽條紋病毒(*Alstroemeria*

necrotic streak virus, ANSV)、菊花莖部壞疽病毒(*Chrysanthemum stem necrosis virus*, CSNV)、番茄黃化斑點病毒(*Tomato chlorotic spot virus*, TCSV)、甜瓜嚴重嵌紋病毒(*Melon severe mosaic virus*, MeSMV)、花生輪斑病毒(*Groundnut ringspot virus*, GRSV)、辣椒壞疽斑點病毒(*Pepper necrotic spot virus*, PNSV)、矮南瓜致死黃化病毒(*Zucchini lethal chlorosis virus*, ZLCV)。本研究利用比對該病毒血清群核鞘(nucleocapsid, N)基因序列並分析其基因序列內的保留區域(conserved region)設計簡併引子(degenerate primer), 分別為FT1、FT2、FT3、FT4及FT5、rt1、rt2、rt3、rt4及rt5, 彼此分別交叉配對, 成為25組簡併引子對, 在TSWV、ANSV、INSV、TCSV、GRSV、CSNV及MeSMV等七種病毒N基因選植株質體進行PCR測試, 除了FT1/rt5、FT2/rt5、FT3/rt5、FT4/rt5及FT5/rt5完全沒任何反應外, 其餘的引子對組在測試各病毒種時, 各引子對會分別出現不同有無反應的PCR產物且呈現特定組成的電泳圖譜, 其引子對放大的PCR產物分別為200~800bp區間等不同大小的片段。將上述反應的引子對, 分別地挑選(FT2/rt1、FT2/rt2、FT2/rt3、FT2/rt4)及(FT4/rt1、FT4/rt2、FT4/rt3、FT4/rt4)及(FT5/rt1、FT5/rt2、FT5/rt3、FT5/rt4), 與感染TSWV及INSV菸草萃取的病毒RNA進行RT-PCR測試, 結果顯示與N基因選植株質體所呈現的電泳圖譜一致, 並成功地區分此二病毒, 這顯示該簡併引子對組, 未來在應用於實際感染TSWV血清群之病毒種鑑定上, 具有

很好的潛力。本次研究的目的主要探討病毒N基因保留區域應用於病毒種鑑定的可行性, 所設計的簡併引子對組, 其PCR產物出現的有無反應及電泳呈現的特定圖譜的建立, 未來可做為該血清群鑑定病毒種的參考依據。

**PV09** 設計具TSWV血清群專一性的簡併引子對以快速偵測檢疫的*Tospovirus*屬病毒—劉魯垣<sup>1</sup>、陳宗祺<sup>2</sup>、陳滄海<sup>3</sup> (<sup>1</sup>屏東科技大學農園生產系博士班、<sup>2</sup>亞洲大學生物科技學系、<sup>3</sup>屏東科技大學植物醫學系) Design of TSWV serogroup-specific primer pairs for prompt detection of quarantine *Tospovirus* species—Liu, L.-Y.<sup>1</sup>, Chen, T.-C.<sup>2</sup>, Chen, T.-H.<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Department of Plant Industry, NPUST, Pingtung, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Biotechnology, Asia University, Wufeng, Taichung, Taiwan; <sup>3</sup>Department of Plant Medicine, NPUST, Pingtung, Taiwan)

*Tospovirus*病毒屬之番茄斑點萎凋病毒血清群(TSWV serogroup), 寄主範圍廣, 為我國重要的檢疫病毒之一, 主要危害歐洲區域的溫室作物, 造成嚴重的經濟損失, 本病毒血清群的病毒除了番茄斑點萎凋病毒(Tomato spotted wilt virus, TSWV)之外, 其他成員包括鳳仙花壞疽斑點病毒(*Impatiens necrotic spot virus*, INSV)、水仙百合壞疽條紋病毒(*Alstroemeria necrotic streak virus*, ANSV)、菊花莖部壞疽病毒(*Chrysanthemum stem necrosis virus*, CSNV)、番茄黃化斑點病毒(*Tomato chlorotic spot virus*, TCSV)、甜瓜嚴重

嵌紋病毒(Melon severe mosaic virus, MeSMV)、花生輪斑病毒(Groundnut ringspot virus, GRSV)、辣椒壞疽斑點病毒(Pepper necrotic spot virus, PNSV)及矮南瓜致死黃化病毒(Zucchini lethal chlorosis virus, ZLCV)皆未於台灣發現。本研究自TSWV血清群病毒的核鞘(nucleocapsid, N)基因序列內的保留性區域(conserved region)成功地設計出一組專一性簡併引子對(degenerate primer pairs): FT1-u/rt1, 可增幅出約500bp大小片段的PCR產物, 並以目前研究室選殖的N基因質體DNA進行血清群種內及群間的專一性測試分析, 結果顯示本研究室目前蒐集的七種TSWV血清群的病毒種: TSWV、ANSV、INSV、TCSV、GRSV、CSNV及MeSMV, 經兩組引子對進行PCR反應後, 都呈現正反應, 而其他血清群病毒則不會有任何反應, 包括西瓜銀斑病毒血清群(WSMoV serogroup)、鳶尾花黃化斑點病毒血清群(IYSV serogroup)、大豆葉脈壞疽病毒血清群(SVNaV serogroup)及花生黃化斑點病毒血清群(GYSV serogroup)等。在病毒RNA檢測方面, 利用本研究室所收集七種TSWV血清群病毒RNA進行RT-PCR檢測, 其結果顯示與病毒N基因質體DNA所進行PCR的反應結果一致, 皆可產生出500bp左右的專一性片段, 經定序後比對與現有病毒種完全相符合。在病毒分離株(isolate)測試方面, 以本研究室收集的兩株TSWV分離株(分別為來自彩色海芋的Z和彩椒的HN)之RNA進行RT-PCR反應, 結果與前述實驗一致。上述結果顯示, FT1-u/rt1及FT2-u/rt1這兩組引子

對都可以針對TSWV血清群的病毒有效地檢出, 未來此組引子對將可應用在防疫檢疫或種苗產業上進行快速的病毒篩檢。

**PV10** Identification of Groundnut chlorotic fan-spot virus from diseased cowpea—Wang, Y. -C.<sup>1</sup>, Zheng, K. -Y.<sup>2</sup>, Sun, J. -H.<sup>1</sup>, Chen, T. -C.<sup>1</sup> (Department of Biotechnology, Asia University, Wufeng, Taichung, Taiwan, <sup>2</sup>Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences) 自罹病豇豆中鑑定出花生黃化扇斑病毒之感染—王筠棋<sup>1</sup>、鄭寬瑜<sup>2</sup>、孫靜樺<sup>1</sup>、陳宗祺<sup>1</sup> (<sup>1</sup>亞洲大學生物科技學系、<sup>2</sup>雲南省農業科學院生物技術與種質資源研究所)

A diseased cowpea (*Vigna unguiculata*) sample showing severe symptoms of concentric ringspots and necrotic spots on leaves was collected from Shuilin Township, Yunlin County in June 2015. An expected DNA fragment was amplified from the diseased cowpea sample using the *Tospovirus*-universal degenerate primers by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The virus isolate, denoted tospo-SL, was obtained from a diseased cowpea leaf through three times single lesion isolation on *Chenopodium quinoa* leaves. Subsequently, tospo-SL was mechanically inoculated onto healthy cowpea leaves to cause chlorotic and necrotic spots. The crude sap of diseased

cowpea and tospo-SL-inoculated *C. quinoa* leaves positively reacted with antibodies against the nucleocapsid protein (NP) of Groundnut chlorotic fan-spot virus (GCFSV) in indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The viral RNA of tospo-SL was purified and used for genome sequencing by the Illumina Miseqnext-generation sequencing (NGS) system. Twelve *de novo* assembled contigs mapping to the genome of GCFSV were obtained. A contig with 2818 nucleotides (nt), consisting of the complete open reading frames (ORFs) of NS and NP, shows 97% nt identity with the S RNA of GCFSV. Two contigs with 1075 nt and 3626 nt, mapping to the M RNA of GCFSV, show 95% and 95% nt identity with NS and glycoprotein genes of GCFSV, respectively. A 8415-nt deduced L RNA sequence assembled from 8 contigs, containing a large ORF, shows 97% nt identity with L RNA of GCFSV. Our results indicated that the tospo-SL is an isolate of GCFSV. This is the first report of GCFSV infecting cowpea in Taiwan.

**PV11** Generation of transgenic *Nicotiana benthamiana* plants conferring resistance against Cucurbit chlorotic yellows virus—Chien, W.-C.<sup>1</sup>, Li, J.-T.<sup>1</sup>, Yang, C.-F.<sup>2</sup>, Yeh, S.-D.<sup>2</sup>, Chen, T.-C.<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Department of Biotechnology, Asia University, Wufeng, Taichung, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan) 抗瓜類

褪綠黃化病毒轉基因菸草 *Nicotiana benthamiana* 之育成—簡婉竹<sup>1</sup>、李如婷<sup>1</sup>、楊景富<sup>2</sup>、葉錫東<sup>2</sup>、陳宗祺<sup>1</sup> (<sup>1</sup>亞洲大學生物科技學系；<sup>2</sup>中興大學植物病理學系)

The genus *Crinivirus* of the family *Closteroviridae* has a positive-sense single-stranded bipartite RNA genome, denoted RNA1 and RNA2. Criniviruses infect several important economic crops to cause particular symptoms of interveinal chlorosis and yellowing of leaves that leads to plant weakness and death. Four criniviruses *Tomato chlorosis virus* (ToCV), *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV), *Sweet potato chlorotic stunt virus* (SPCSV) and Cucurbit chlorotic yellows virus (CCYV) have been reported in Taiwan that are transmitted by silverleaf whitefly (*Bemisia argentifolii* Bellows & Perring) in a semi-persistent manner. CCYV is the most important crinivirus infecting melon and watermelon caused large yield losses in Taiwan. The transgenic approach for triggering RNA silencing is the most effective measure for control of plant RNA viruses. In this study, the transgene construct pBCr-CCP22 consisting of the conserved regions of RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and heat shock protein 70 homologue (Hsp70h) genes linked with the non-translatable p22 open reading frame (ORF), the suppressor of plant gene silencing, of CCYV was used to generate transgenic *Nicotiana benthamiana* plants. A total of 14 transgenic *N. benthamiana*

R<sub>0</sub> lines were challenged with CCYV by transmission of silverleaf whitefly for evaluation of resistance by observation of symptom development until 7 weeks post-inoculation. Five highly resistant transgenic lines without showing symptoms were obtained, and the accumulation of transgene-specific siRNAs was detected to demonstrate the resistance is mediated by RNA silencing. Here we provide a new approach for control of CCYV.

**PT01** 利用非農藥資材於田間防治水稻稻熱病之效果評估—陳以錚、王玉瑤、曾敏南 (行政院農業委員會高雄區農業改良場) Evaluation of applying non-pesticide materials to control rice blast in fields—Chen, Y. J., Wang, Y. Y., Tseng, M. N. (Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Pingtung 908, Taiwan)

水稻為臺灣主要糧食作物，栽培期間廣受多種病害因子干擾，其中由稻熱病菌 *Pyricularia oryzae* Cavara. 所引起的稻熱病 (rice blast) 最為重要；目前化學防治仍為主要防治方法。然臺灣地區稻熱病菌已被證實在田間出現抗史托比類藥劑之族群；因此，篩選出合適的替代性防治方法已成當務之急。本研究先前發現多種非農藥資材可在溫室中提高水稻抗病之能力，並降低白葉枯病的發生，因此進一步挑選其中幾種資材評估其防治稻熱病之效果。2015年一期稻作期間，選擇屏東崁頂及長治兩處稻熱病好發田區進行田間防治試驗，利用氯化

鐵、水楊酸及矽酸鉀和其混合配方等資材，以噴施水及稻熱病推薦化學用藥三賽唑為正負對照組。資材於水稻插秧30天後，進入分蘗旺盛期開始施用，每7天施用一次，連續4次，並於抽穗後調查水稻穗頸稻熱病的罹病度。調查結果發現，崁頂試驗田在各處理間之穗頸稻熱病罹病度則在22.9到43.3%之間，以氯化鐵及矽酸鉀加水楊酸兩處理為最佳，相對於水處理具顯著差異 ( $p \leq 0.05$ )；長治試驗田試驗則表明各處理間穗頸稻熱病罹病度為21.2到54.6 % 之間，其中以三賽唑21.2 % 最佳，矽酸鉀處理35.0 % 其次，相對於水處理54.6 % 差異顯著 ( $p \leq 0.05$ )。進一步將各處理之水稻採收後評估各種資材對水稻米質及產量的影響，結果發現各處理之稻米產量在每公頃8,582到12,344公斤之間，其中以化學藥劑處理11820到12,344公斤為最佳，水處理8,582公斤最低。矽酸鉀及水楊酸等資材產量在每公頃10,313到11,109公斤之間，與化學藥劑處理統計不具顯著差異 ( $p \leq 0.05$ )。米質檢測中除水處理完整米粒數量顯著低於化學藥劑 ( $p \leq 0.05$ ) 外，其他資材對稻米品質皆無不良影響。本研究結果顯示矽酸鉀及水楊酸等資材對水稻品質無不良影響，且具有在田間防治稻熱病之潛力。未來將持續探討相關資材適合田間操作之配方、施用時機及間隔等，並評估其相關成本以供防治實務之參考。

**PT02** 應用 *Streptomyces hygroscopicus* KHY11 做為木瓜重要病害防治製劑之潛力評估—陳泰元、張逸軒

(行政院農業委員會高雄區農業改良場)  
Assessment of the potential of *Streptomyces hygroscopicus* KHY11 on controlling important papaya diseases (Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan.)

疫病及根腐病為造成木瓜田間連作障礙之主要因素，尤其在雨季時特別嚴重。木瓜疫病之實行防治方式以化學農藥為主，易衍生農藥殘留及病原菌產生抗藥性等問題；木瓜根腐病則無政府推薦用防治藥劑。本研究目的在評估分離自有機田土壤中之*Streptomyces hygroscopicus* KHY11菌株（以下簡稱KHY11）對木瓜兩種病害的防治效果。拮抗試驗結果顯示KHY11於PDA平板上對木瓜疫病菌及根腐病菌皆有極佳的拮抗效果；防治試驗以黃豆做為其增量培養基質，測試於對木瓜果實疫病及根腐病之防治效果，結果顯示處理KHY11之木瓜，果實疫病發病率僅20%，較對照組100%的發病率減少80%；就罹病程度而言，KHY11處理組之罹病度僅5%，對照組則為70%，差異顯著 ( $p \leq 0.05$ )。在根腐病的防治方面，以50倍稀釋之KHY11培養菌液處理之木瓜苗，其發病率僅20%，較對照組70%的發病率顯著減少50% ( $p \leq 0.05$ )，其次為100倍及500倍稀釋處理組，發病率分別為30%及40%。另於高雄市美濃區木瓜田，定植後每2週澆灌KHY11培養菌液一次，經處理4個月後調查發現，對照組之木瓜根腐病發病率為44%，顯著高於KHY11處理 ( $p \leq 0.05$ )。因此，*Streptomyces*

*hygroscopicus* KHY11為極具木瓜重要病害防治潛力之生物製劑菌株，未來將進一步探討其作用機制及改進其量產配方，以利發展為生物防治製劑。

**PT03** 天然資材根瘤線蟲防治藥劑之開發—黃郁容、王靜茹、何明勳 (行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥化學組) Development of natural plant protection products against *Meloidogyne* spp—Huang, Y. R., Wang, J. R., Ho, M. H. (Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung 413, Taiwan )

由於國民健康及環保意識抬頭，對於農作物之農藥殘留安全的重視逐漸提高，越來越多農民投入無毒或降低化學農藥使用的生產方式行列，然台灣氣候溫暖潮濕極適合病蟲害的發生，因此需要有更多低毒性、低殘留的防治資材，來供農民使用。本研究以篩選天然來源低毒性之有效成分，配合適當指標成分穩定性及含量控制流程，開發低毒性之防治藥劑。目前初步由文獻中已知柑橘類的果皮及肉桂兩種天然物之有效成分具有抑制線蟲的潛力，因此分別收集榨汁後廢棄的檸檬果皮，以及市面上食品常見的肉桂粉，初步以這兩種天然來源以不同的萃取方法取得其萃取液。以廢棄的檸檬果皮而言，廢棄果皮不易保存，因此測試了將果皮打碎後的過濾液體和果皮進行冷凍乾燥成的固體乾粉兩種型態，再分別用溶劑和熱水以超音波震盪進行萃取，初步結果顯示兩種材料及其萃取方式，萃取效率以打碎萃取液

後沉澱固體用溶劑萃取效率較高，80克果皮可萃到12.8mg指標成分，並以液相層析儀建立指標成分檸檬烯分析方法，檢量線 $R^2$ 為0.9991，滯留時間為18.38分鐘。另外，肉桂粉是常見也方便取得的食品添加物，而從文獻得知肉桂粉中的肉桂醛和肉桂酸具有抑制線蟲的效果，所以初測試將肉桂粉以溶劑萃取後以分析標準品來對照兩支有效成分的含量，測試結果顯示在肉桂粉中皆有含有兩種有效成分，其中以肉桂醛所佔的比例較高，0.5克肉桂粉可萃得10 $\mu$ g肉桂酸及肉桂醛175 $\mu$ g，分析方法檢量線 $R^2$ 值分別為0.9992、1.0000，滯留時間為12.05、17.30。本試驗結果，針對兩種天然來源產品以不同的萃取方法來開發成天然資材，相較於市售殺線蟲劑，天然來源萃取物具有較低毒性，另一方面也可重複利用農作物的廢棄物來減少環境汙染問題，後續將同時提高萃取效率及開發成適當配方製劑，利用建立之指標成分分析方法進行含量品管，以開發成可供日後線蟲防治藥劑的新選擇。

**PT04** 增益植物健康之多功能蘇力菌研究—曾經洲<sup>1</sup>、胡斐婷<sup>1</sup>、郭雪<sup>1</sup> (<sup>1</sup>行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所生物藥劑組) Study of multifunctional *Bacillus thuringiensis* resources enhanced plant health—Tzeng, C. C.<sup>1</sup>, Hu, F. T.<sup>1</sup>, Kuo, S.<sup>1</sup> (<sup>1</sup>Biopesticide Division, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung 413, Taiwan)

選擇良好殺蟲效果之蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*, *Bt*)，探討促

進生長、抑制病原菌等附加效果。供試鮎澤蘇力菌 (*Bt* subsp. *aizawai*, *Bta*) 及庫斯蘇力菌 (*Bt* subsp. *kurstaki*, *Btk*) 不同品系之五菌株 (*Bta* A603、*Bta* Ab12、*Bta* ABTS1857、*Btk* E911 及 *Btk* ABTS351)，以聚合酶連鎖反應 (PCR) 進行基因檢測，皆可檢出帶有溶磷 (Phosphate solubilization)、吲哚-3-乙酸 (Indole-3-acetic acid, IAA)、嵌鐵物質 (Siderophore)、1-胺基環丙烷-羧酸脫胺酶 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase, ACCD)、幾丁質分解酶 (Chitinase) 及  $\beta$ -1,3-葡萄糖聚糖水解酶 ( $\beta$ -1,3-glucanase) 相關之基因；藉由生化分析，發現供試蘇力菌菌株均有 IAA 生成、溶磷反應，以及尿素分解酶、幾丁質分解酶及硝酸還原酶的產生；與植物病原菌共同培養也產生明顯之對峙效果；在高鹽環境下也仍有 IAA 及尿素分解酶的生成。半田間試驗顯示蘇力菌具促進作物生長、增長植物根系、協助肥料利用、耐鹽以及降低病原菌危害等效用。田間試驗也顯示促使結球甘藍重量增加。結果證實蘇力菌除殺蟲能力外，兼具促生、增進肥效、抑菌及減緩高鹽逆境等多項特性，可提升作物健康、品質及產量。

**PT05** 天然植物保護資材-亞磷酸之貯存安定性試驗—林振文、廖秀英 (行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥化學組) Natural plant protection product-Test of storage stability of phosphorous acid—Lin, J. W., Liao, H. Y. (Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic

Substances Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan)

亞磷酸(Phosphorous acid)是一種化工原料，當用於防治農林作物之病害防治時，屬於天然之植物保護資材，亞磷酸分子式 $H_3PO_3$ ，在水中解離成亞磷酸根，亞磷酸及亞磷酸根之英文名稱為phosphonate及phosphonite。亞磷酸及亞磷酸根可防治植物上的卵菌綱病菌(oomycetes)，其藥效一方面來自直接抑制卵菌綱病菌的代謝過程-氧化磷酸化，另一方面誘導植物的自體防禦機制產生，最終達到抑制卵菌綱病菌之效果。文獻指出亞磷酸可防治*Phytophthora cactorum*引起的草莓果腐病(strawberry leather rot)，亦可防治早期的九層塔露菌病、葡萄露菌病(Downy mildew)，以及抑制Phytophthora所引起的番茄與青椒的根腐病(root and crown rot)等病害。本研究協助植物保護資材之商品化，測試中和亞磷酸製劑的貯存安定性等理化性質，因此建立亞磷酸的含量分析方法，在54°C兩週的耐熱試驗，進行是否經過耐熱處理的亞磷酸有效成分分析，「鉬酸鉍化學法」與「離子層析法」之亞磷酸分析結果都顯示，兩週熱處理後的有效成分仍保有對照組之95%以上，顯示亞磷酸對54°C安定，推估可以貯存1.5~2年。鉬酸鉍化學法雖然分析感度遠高於層析法，但濃度與呈色之線性 $r^2$ 值較差，重複性也不如層析儀器結果，而且可能受到砷與鐵的干擾。由於亞磷酸有效成分分析不需要很高的分析感度，因此，在本研究目的上，「離子層析法」

仍是比較恰當的分析方法。

**PT06** 白殭菌微生物農藥之濃懸乳劑製劑技術開發—林振文、廖秀英（行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥化學組）Development of suspoemulsion technique for *Beauveria bassiana* biopesticide—Lin, J. W., Liao, H. Y. (Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan)

安全性之微生物農藥因為較無安全上之顧慮，一般來說可免除殘留量檢驗，透過適當使用這些微生物農藥，可以有效減少化學農藥之使用。微生物農藥除了熟知的蘇力菌，也包括蟲生真菌類，蟲生真菌約有100個屬，超過800種真菌對昆蟲具有致病能力，重要的蟲生病原真菌包括白殭菌(*Beauveria bassiana*)、黑殭菌(*Metarhizium anisopliae*)以及綠殭菌(*Nomuraea rileyi*)等，其中白殭菌之寄主種類高達700餘種，對多種重要害蟲具有防治潛力。此外，也發現菌株之病原性表現有區域性的不同，通常，當地發現的分離株對當地的害蟲有較好的防治效果。發芽率以及生長速率是篩選優良菌株的重要指標，另外，能夠快速穿透昆蟲體壁之能力也很重要，由於分生孢子之殺蟲效果比芽生孢子好，有些培養基中會添加葡萄糖以促進分生孢子。製劑方面，文獻資料顯示植物油製劑(oil formulation)之害物控制效果較好，也有很多種類的蔬菜油都被測試過，以不同濃度製成分生

孢子之植物油製劑。本研究中將白殭菌開發為濃懸乳劑(suspoemulsion)，濃懸乳劑含有不溶性固體(如孢子)以及不溶於水的有機液體(如植物油)，實際上，濃懸乳劑就是一種結合水懸劑及水基乳劑的劑型，相關規格檢驗項目包括乳化安定性、懸浮率、自動分散性、起泡性、分散安定性，目前兩種植物油製成含有50%植物油的白殭菌濃懸乳劑，具有良好的乳化安定性。

**PT07** 茉莉花油抑制葡萄銹病之效果及有效成分之分析—孫佩君<sup>1</sup>、陳麗鈴<sup>1</sup>、蘇惠珍<sup>2</sup>(<sup>1</sup>國立屏東科技大學植物醫學系、<sup>2</sup>美和科技大學) Inhibitory effects of jasmine oil on grape rust and chemical analysis of the active components—Sun, P. C.<sup>1</sup>, Chern, L. L.<sup>1</sup>, Su, H. J.<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Plant medicine Science, National Pingtung University of Science and Technology, Neipu, Pingtung 91201, Taiwan; <sup>2</sup>Department of Nursing, Meiho University, Neipu, Pingtung 912, Taiwan)

葡萄銹病由銹病菌 *Phakopsora ampelopsidis* 引起，為重要之葡萄病害，發生嚴重時，罹病葉片迅速枯死後落葉，嚴重影響葡萄之品質與產量。目前雖有推薦藥劑做病害防治，但為降低施用藥劑對環境的污染、避免抗藥性菌株之出現、以及生產安全食品，仍須研發非農藥防治資材。乳化植物油可抑制多種真菌性病害，例如乳化葵花油防治白粉病效果卓著，乳化之亞麻油可防治花生銹病，但乳化油對葡萄銹病之防治效果仍未知。本研究以葉片圓盤法測試包

括芝麻油等27種植物油對葡萄銹病之抑制效果。測試的油類以Tween 20乳化並加水稀釋200倍(4500 ppm)。葡萄葉片以直徑1.5cm的打洞器製成圓盤後以乳化油處理3次，隨即接種，對照組以無菌水處理。每圓盤接種20  $\times$  10<sup>5</sup> *P. ampelopsidis* 夏孢子懸浮液(10<sup>5</sup> spores/ml 0.1% Tween 20)，7-10天後觀察發病情形。結果顯示乳化茉莉花油抑制葡萄銹病的效果最好，發病率為0%，對照組發病率為100%。孢子發芽試驗顯示乳化茉莉花油可抑制 *P. ampelopsidis* 夏孢子發芽。將其稀釋至800倍仍可降低47%以上之罹病度。探討處理次數對防治效果之影響，結果顯示處理乳化茉莉花油2次，即能顯著降低病害的發病率及發病度。殘效測試顯示處理乳化茉莉花油後1天接種，仍可完全抑制病害發生。將茉莉花油通過矽膠管柱層析純化，移動相使用不同比例之正己烷(N-Hexane)及丙酮(Acetone)，利用薄色層層析法將成分相近的沖提物進行合併而獲得J1、J2、J3三個部份。孢子發芽測試顯示J1對 *P. ampelopsidis* 夏孢子發芽抑制率高達97%。將J1再次進行管柱層析，並改變移動相組成比例，獲得J1-1、J1-2、J1-3。孢子發芽測試結果顯示J1-1 (200 ppm) 及J1-2 (200 ppm) 可分別降低孢子發芽率99%及98%以上。透過高效液相層析質譜(HPLC mass)以及核磁共振光譜儀(NMR)做化學結構分析，將J1-1及J1-2分別鑑定為二甲苯麝香(musk xylene)和葵子麝香(musk ambrette)，透過化學分析及生物檢測，我們鑑定出本研究所用之茉莉花油抑制銹病的有效成份，此為首次

有研究顯示此二化合物可抑制銹病。

**PT08** 克蠅添加替代乃力松藥劑之誘殺效能研究—黃毓斌、丁柔心（行政院農業委員會農業試驗所應用動物組）Study on the attract-kill efficacy of alternating Naled of mixing with cuelure—Huang, Y. B.<sup>1</sup>, Ding, R. S. (Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng Dist., Taichung 41362, Taiwan)

克蠅(cuelure)為瓜實蠅(*Bactrocera cucurbitae* (Coquillett))雄性誘引劑，田間使用時添加乃力松作為搭配之藥劑，藉此誘殺雄蟲。但田間使用時發現添加乃力松後，其主成分加速分解，致使誘引效能大為降低。本試驗係以克蠅添加乃力松為對照，選用阿巴汀、賽滅寧、第滅寧及賜諾殺四種常見藥劑作為克蠅添加藥劑。於南投魚池絲瓜園中進行為期11週，探討其對瓜實蠅雄蟲之誘引效能及持效性之差異，並分析各藥劑之分解衰退情形。在試驗結果得知，克蠅添加阿巴汀、賽滅寧、第滅寧、賜諾殺及乃力松之誘蟲總數分別為3650、7024、4562、3522及1577隻，對瓜實蠅雄蟲誘引效能以添加賽滅寧為最佳，乃力松則為最差。而克蠅與各藥劑之衰退分析結果得知，搭配乃力松時，克蠅之濃度約在第2-3週即明顯下降，然搭配其它4種藥劑時，其克蠅含量之衰退速率較為緩慢。此結果與田間實際誘殺測試時，克蠅添加乃力松之組合在第3週後誘蟲數即明顯下降之結果吻合。由上述試驗結果得知，瓜實蠅雄性誘引劑-克蠅搭配賽滅寧之誘引力及持續效果為5種藥劑中

最佳，另阿巴汀、第滅寧及賜諾殺亦不會造成克蠅本身加速分解，因此皆可作為替代乃力松添加藥劑之潛力。

**PT09** 5種市售的新尼古丁、合成除蟲菊及有機磷殺蟲劑的二元混用對褐飛蟲的毒效與不同類藥劑間交互作用的評估—賴慶庭、楊永裕（國立屏東科技大學植物醫學系）Toxicity of the binary mixtures of 5 marketed neonicotinoid, pyrethroid, organophosphate insecticides to Brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) and evaluation of the interaction between different kinds of insecticides—Lai, C.-T., Yang, Y.-Y. (Plant Medicine Department, National PingTung University of Science & Technology)

褐飛蟲(*Nilaparvata lugens* (Stål))廣泛分布於亞洲季風區之水稻產區，其危害造成許多國家嚴重的糧食損失。害蟲的抗藥性問題日益嚴重，但新型藥劑的開發往往需要付出高昂的金錢與時間成本，因此如何將現有的防治藥劑做最有效的利用是害蟲抗藥性管理 (Resistance Management) 的重要課題。雖然殺蟲劑輪用被認為是減輕害蟲抗藥性最有效的策略，但其並不符合許多農民的用藥習慣，而且也不適用於那些已出現多重抗性的害蟲。本研究參考前人文獻與植保手冊推薦之褐飛蟲防治藥劑，選擇了陶斯松 (有機磷劑)、百滅寧 (合成除蟲菊類) 及益達胺、可尼丁、賽速安等三種新尼古丁類殺蟲劑，接著以1:1、1:10、10:1的比例進行不同作用機制藥劑的二元混用，並採用水稻浸苗法(rice seedling

dipping method)進行生物檢測，在求得這些藥劑單用與混用時的半數致死濃度(LC<sub>50</sub>)後，進一步依這些藥劑的合用指數(Combination Index; CI)評估藥劑在混合後的交互作用。結果顯示，陶斯松與百滅寧在三種不同的混合比下有較明顯的協力作用，其中又以1:1比例混合的協力效果最強；但與三種新尼古丁類殺蟲劑混合的處理則幾乎都為拮抗作用。百滅寧與新尼古丁類藥劑間的交互作用則以相加作用、協力作用佔多數，其中百滅寧 + 賽速安 (10:1)、百滅寧 + 可尼丁 (10:1) 與百滅寧 + 益達胺 (1:10) 等三種組合有較明顯的協力作用。綜合以上結果，有機磷加上新尼古丁類的混劑可能不適合用於褐飛蟲的防治，而除蟲菊類搭配有機磷或新尼古丁藥劑混用對褐飛蟲的防治效果，與其交互作用背後的生化機制則有待更進一步的試驗證明。

**PT10** 牛筋草酮醇酸還原異構酶表現質體構築及在大腸桿菌表現之探討—陳佩吟、柯燕珍（行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥化學組）Construction of an expression plasmid for Ketol-acid reductoisomerase (KARI) of *Eleusine indica* and its expression in *Escherichia Coli*.—Chen, P. Y., Ko, Y. C. (Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan)

酮醇酸還原異構酶 (Ketol-Acid Reductoisomerase, KARI) 為支鏈胺基酸 (Leu、Val、Ile) 生物合成關鍵酶之

一，雜草能自行合成支鏈胺基酸，而哺乳動物無法合成，藉由抑制 KARI 活性中斷支鏈胺基酸合成，促使雜草死亡達到除草目的，是開發高安全性及環境友善除草劑的關鍵標靶。本研究以危害嚴重且具抗藥性的牛筋草為對象，KARI 為研究標的，探討牛筋草 KARI 的基因序列，構築牛筋草 KARI 的表現質體，以及其在大腸桿菌中的 KARI 表現。已完成牛筋草 KARI 基因序列定序，核酸長度為 1737bp。依據牛筋草 KARI 基因序列及 pET 表現載體序列，設計特殊性引子對，引子對 5 端及 3 端分別含有限制酶切位，Bam HI 及 Not I，再利用聚合酶連鎖反應大量複製 KARI 基因，並進行 pET-KARI 表現載體選殖，完成 4 個表現質體構築，分別為：pET-29a-KARI、pET-30a-KARI、pET-32a-KARI 及 pET200-KARI。將不同的表現質體分別轉殖到大腸桿菌 (*Escherichia coli* BL21) 菌株，在 37°C 下，利用異丙基-β-D-硫代半乳糖苷 (IPTG) 進行誘導，24 小時後收集菌體並進行蛋白質萃取，結果顯示 pET29a-KARI 及 pET30a-KARI 可大量表現可溶性蛋白。以 2-Acetolactate 當受質及 NADPH 提供電子測量 KARI 的活性，結果顯示 pET29a-KARI 活性為 106.2 mU/mg、pET30a-KARI 活性為 95.6 mU/mg，完成牛筋草 KARI 體外大量表現系統建置。

**PT11** 油茶粕中茶皂素之定量分析—柯燕珍、林俊樺、陳佩吟（行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥化學組）Quantitative analysis of Tea Saponin in *Camellia meal*.—Ko, Y. C., Lin, J. H., and

Chen, P. Y. (Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan)

油茶粕為苦茶油產業的副產物，茶皂素含量高達10-15%，為植物保護資材的天然活性成分，是極具產品開發潛力的材料，為了開發穩定品質的產品，須建立有效成分定量分析方法。茶皂苷目前在市面上並無標準品，對於產品品質的管控難以掌控。本研究應用皂苷的呈色反應特性，以與茶皂素結構相似的三萜類皂苷「 $\beta$ -Escin」作為定量的參考標準品，在含有香草醛的濃硫酸下進行呈色反應，於波長 560 nm 下偵測吸光值。結果顯示，於標準檢量線範圍20 - 100 $\mu$ g/mL 有良好的線性迴歸，以濃度為 x 軸、吸光值為 y 軸，線性迴歸方程式  $y = 3.237x + 0.0112$ （線性迴歸相關係數 ( $r^2$ ) 0.997）。檢測油茶粕中純化之茶皂素，含量為74.46%，相對標準偏差 (RSD) 0.71%，成功完成油茶粕中茶皂素之定量分析方法開發。

**PT12** 油茶粕中茶皂素萃取及純化製程開發—柯燕珍、林俊樺、陳佩吟 (行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥化學組) Development of tea saponin extraction and purification process in Camellia meal—Ko, Y. C., Lin, J. H., and Chen, P. Y. (Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan)

油茶粕為苦茶油產業的副產物，茶皂素

含量高達10-15%，為植物保護資材的天然活性成分，是極具產品開發潛力的材料。茶皂素為五環三萜類化合物，具有親水性醣基和疏水性皂苷元，屬於天然非離子型界面活性劑。本研究以茶皂素為標的，油茶粕為原料，進行茶皂素萃取與純化製程建立，利用超音波輔助95%甲醇溶液萃取技術提高茶皂素萃取率與縮短製程時間，經由離心過濾和減壓濃縮取得粗萃液，並應用茶皂素於不同有機溶劑的溶解度差異進行液液萃取，去除雜質，將茶皂素沉澱，最後以冷凍乾燥技術製成粉末，取得粗茶皂素粉末，油茶粕中茶皂素之純化製程提取率為14.13%。

**PT13** 國內甘藍菜小菜蛾雙窗口抗藥性管理策略之初探—許如君<sup>1,2</sup>、張嘉哲<sup>2</sup>、賴信順<sup>3</sup>、黃毓斌<sup>4</sup>、廖婉頤<sup>2</sup>、葉庭維<sup>1</sup>、邱安隆<sup>5</sup>(<sup>1</sup>國立台灣大學昆蟲學系、<sup>2</sup>國立台灣大學植物醫學碩士學位學程、<sup>3</sup>行政院農業委員會農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所、<sup>4</sup>行政院農業委員會農業試驗所、<sup>5</sup>行政院農業委員會動植物防疫檢疫局) Preliminary study of two-window resistance management strategies on diamondback moth (*Plutella xylostella*) in Taiwan—Hsu, J. C.<sup>1</sup>, Chang, C. C.<sup>1</sup>, Liao, W. Y.<sup>1</sup>, Yeh, T. W.<sup>2</sup>, Lai, H. S.<sup>3</sup>, Huang, Y. P.<sup>4</sup>, Chiu, A. L.<sup>5</sup> (<sup>1</sup>Master Program for Plant Medicine, National Taiwan University, Taiwan、<sup>2</sup>Department of Entomology, National Taiwan University, Taiwan、<sup>3</sup>Fengshan Tropical Horticultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research

Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan、<sup>4</sup>Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan、<sup>5</sup>Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan)

甘藍菜是國人喜愛的蔬菜之一，但其上為害的小菜蛾是造成甘藍過量用藥的主因，因小菜蛾能在極短時間內產生出抗藥性，抗藥性程度在全世界的節肢動物中被認為僅次於二點葉蟎，是農民防治的最大挑戰。我們參照澳洲作物永續協會及夏威夷大學的作法，針對甘藍小菜蛾進行抗藥性管理，嘗試發展雙窗口管理策略，將國內甘藍菜之兩季栽培各推薦不同輪用藥劑，每7天輪替一次，藥劑連用不超過兩次。栽種初期的用藥以對寄生蜂為害較小的蘇力菌為主，之後輪替有效之新穎藥劑（如賜諾特、汰芬隆、剋安勃及氟大滅、因滅汀及克凡派），排列以需較長之安全採收期或效果較好的藥劑為先，再依序輪用不同作用機制相異的殺蟲劑，最後在採收後期，使用對人類較安全且殘留性低的賜諾殺與蘇力菌進行最後的防治。目前已於高雄梓官及雲林褒忠各進行一季的田間試驗，以有策略性用藥的試驗田與農民自由用藥的對照田相比，在成本、小菜蛾發生數及殺蟲劑殘留等都以我們推薦抗藥性管理策略為佳。此管理策略可有效防治小菜蛾，亦可降低防治成本及生產出較優質的農產品。

**PT14** 農藥霧滴粒徑與飄散研究—黃郁容、徐榮志、何明勳（行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所農藥化學組）Study on Droplet Size and spray drift phenomena for pesticide application—Huang, Y. R., Syu, R. J., Ho, M. H. (Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung 413, Taiwan)

農藥噴灑為了增加霧化效果常使用較高的壓力使霧滴粒徑細化，然而較細的霧滴增加了隨風飄散到非目標區域之風險，不但減少標的物之附著量而降低有效性外，更使鄰田作物甚至非目標區域受到汙染與危害。因此，本研究利用鐳射粒徑分析儀測量出農民慣用噴頭於在常用壓力下之霧滴粒徑分佈大小，並建立霧滴在不同風速下飄散距離之量測方法，有助於了解田間農藥噴霧飄散的情況，藉此了解如何在降低飄散及有效發揮藥效上達成平衡。本研究初步測試黃銅可調式圓錐噴頭、黃銅五孔噴頭、白鐵扇形D-4噴頭及白鐵扇形D-5噴頭，以國際噴頭測試分級使用壓力300 KPa(約40 psi)噴施時，霧滴粒徑Dv(50)介於114.67~138.43 $\mu\text{m}$ ，若以美國農業生物工程師學會(ASABE)霧滴粒徑分類標準S572.1，皆屬於非常細(Very Fine)的霧滴，而一般推薦可做為降低飄散的粒徑為細、中等以上霧滴，然而實際上農民田間常用之動力噴霧機壓力為使用20kg/cm<sup>2</sup>噴施，霧滴粒徑Dv(50)分別又降低了約30-70 $\mu\text{m}$ ，因此對於霧滴飄散而言，使用這些噴頭於高壓噴施時其飄散風險有可能會增加許多。另外，為了測試不

同粒徑大小霧滴可能之飄散距離，因此建立一飄散量測方法，測試不同風速下造成可能飄散的距離，初步以美國已有粒徑標準分級的噴頭XR8001(40psi，粒徑 $D_v(50)=121.8\pm 1.61$ )、XR8004(40psi，粒徑 $D_v(50)=206.93\pm 1.19$ )模擬向下噴施地上栽培作物時情況進行測試，顯示小粒徑的XR8001風速於1m/s時飄散已達3公尺，風速3m/s以上時，飄散距離達5公尺以上；粒徑較大的XR8004，在風速2m/s以下時，飄散距離為0.5公尺，風速3m/s以上時，飄散距離為4公尺以上，再初步選用一種國內農民常用於水稻田、蔬菜田之白鐵扇形噴頭進行測試比較，其粒徑 $D_v(50)$ 與XR8001差不多，因此於風速1m/s時飄散距離同為3公尺，但將風速提高至2m/s以上後，飄散距離已達5

公尺以上，比較兩者粒徑分佈來看，白鐵扇形K-5比XR8001具有多一倍粒徑小於 $50\mu\text{m}$ 以下霧滴，因此低風速時有可能造成霧滴飄移的距離較遠。然而以目前台灣農藥噴頭的使用情況而言，一樣是黃銅五孔噴頭或白鐵扇形噴頭，然其不同製造廠製造出來的孔徑、型式造就不同霧滴大小，並無一致的分級標準，且大多習慣使用極為高壓的噴霧方式進行噴施，細小的霧滴極易造成飄散的風險提高，後續我們將繼續累積不同噴施條件下之飄散數據，以及了解更多農民慣用噴頭粒徑大小，以開發降低飄散之有效方法，如改良使用適中的噴頭或調整降低噴施壓力，或是添加抗飄散助劑等等，來達到最終減少霧滴飄移兼具藥效有效發揮之目標。

