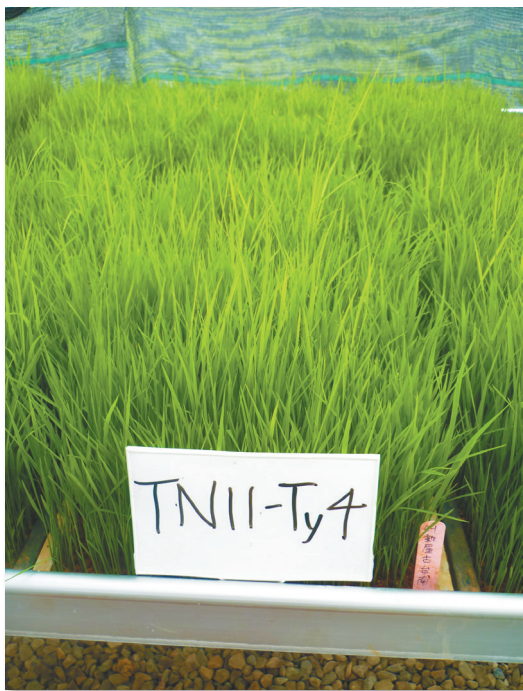


應用鑑別性培養基 與 Real-time PCR 技術檢測水稻徒長病

作物環境課 副研究員吳信郁 分機310

水稻徒長病由病原真菌 *Gibberella fujikuroi* (無性世代 *Fusarium fujikuroi*) 所引起，臺灣最早記載於1912年澤田氏報告，農民俗稱「稻公」，秧苗期罹病植株呈現不正常的徒長、纖細瘦弱、葉幅變小及葉片與葉鞘著生角度加大，最後導致植株失水枯黃而死亡。本田期罹病株稻桿徒長修長，葉片下垂呈淡黃色，基部數節上長不定根，不久節上生出白色菌絲，最後全株被暗白色至淡紅色的菌絲及孢子覆蓋，病株無法結穗並提



▲圖1. 秧苗期水稻徒長病病徵。

早死亡。近幾年來水稻徒長病在臺灣各地有逐漸嚴重的趨勢，98年第一期作在臺東及花蓮地區嚴重危害，尤其以水稻品種高雄139號及臺稈2號最猖獗，造成40%的減損率，因此，中興大學及各區農業改良場針對水稻徒長病進行病原菌鑑定、稻種帶菌檢測、種子罹病率調查與鑑別性培養基開發等相關研究。

針對種子病原菌檢測常用的方法，係利用鑑別性培養基與專一性引子偵測。開發鑑別性培養基的必要性，是因為 *F. fujikuroi*、*F. proliferatum* 及 *F. verticillioide*s 皆為水稻最常見的 *Gibberella fujikuroi* species complex (GFSC) 的種類，雖然病原性有差異，*F. fujikuroi* 為臺灣水稻徒長病之主要病原，而 *F. proliferatum* 及 *F. verticillioide*s 對水稻苗期具有弱病原性，並不會造成徒長病徵，僅造成水稻幼苗植株輕微白化及矮化，但3種的真菌形態相似，若以過去常用於分離 *Fusarium* 屬的五氯硝基苯(PCNB)選擇性培養基分離病原菌，水稻種子中約有半數為 *Fusarium fujikuroi*，但 *Fusarium fujikuroi* 及 *Fusarium proliferatum* 的比例卻有4:1，因此，極容易高估種子帶菌率，造成種子病原菌檢查錯誤。由中興大學植物病理系開發的鑑別性培養基，選擇去除抑菌物質 Komada medium 為基礎培養基，添加不同抑菌物質如放線菌酮、大克爛、依普同、腐絕、福多寧、氯黴素及氯化鋰，發展出 FFC 鑑別性培養基，當

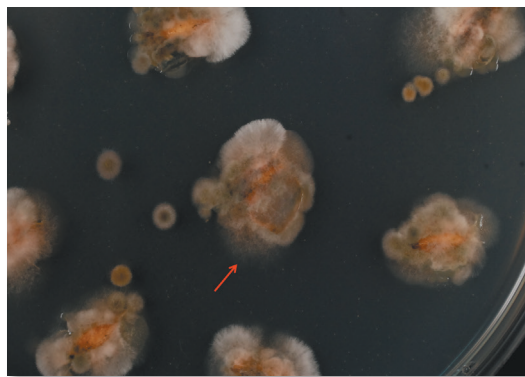
▲圖2. 本田期水稻徒長病病株。

*Fusarium fujikuroi*及*Fusarium proliferatum*兩菌於FFC培養基培養，在第5天時菌落尚小，形態相似，且皆具鏈狀著生孢子與多瓶狀枝，但到第7天時*F. proliferatum*的菌落會明顯大於*F. fujikuroi*，且菌落菌絲偏白，背面色素沉澱為非常淡之橘色，然而這些菌落特徵僅能在多數狀況下進行初步判斷，尚無法精準鑑定。

Amatulli等人(2012)利用水稻徒長病在轉譯延長因子片段【Transcription elongation factor 1 α (TEF1- α)】上具有識別性的區域，設計水稻徒長病菌的專一性引子對，利用即時聚合酶鏈鎖反應(Real-time PCR)技術，能偵測存在於水稻罹病組織與種子內的病原菌。中興大學植物病理系利用轉譯延長因子片段序列比對鑑定之結果，分離之*F. fujikuroi*皆為*G. fujikuroi*(有性態名稱)，而*F. proliferatum*則皆為*G. intermedia*(有性態名稱)，顯示以此片段針對相似種之分子鑑定是明確有效的。

水稻徒長病病原菌的鑑定，必須藉由分子生物學鑑定技術的協助，輔以形態鑑定，利用鑑別性培養基與Real-time PCR技術，能正確快速鑑定分離株，但稻種帶菌檢測與種子罹病率調查相關研究，以Real-time PCR技術對大量稻種進行檢測，無法反應受汙染稻種所佔比例，更不能預測育苗盤上秧苗發病

情形，況且所需試驗材料及儀器設備費用頗為昂貴，因此，鑑別性培養基仍是最適合且價廉的方法。各區農業改良場由桃園縣、新竹縣、苗栗縣、台中市、南投縣、彰化縣、雲林縣、嘉義縣、台南市、高雄市、屏東縣、台東縣、花蓮縣、宜蘭縣等14個縣市，收集298個稻種樣品，利用鑑別性培養基進行帶菌率檢測，結果發現一期作稻種帶菌率相對較二期作為高，帶菌率檢出大於10%的樣品，調查其育苗期的發病率也偏高，顯示稻種帶菌率為水稻徒長病發生的重要關鍵因子，稻種病原菌的檢測確有其必要性。



▲圖3. 水稻徒長病病原菌鑑別性培養基開發，有助於稻種帶菌率快速檢測(中興大學陳啟予教授提供)。