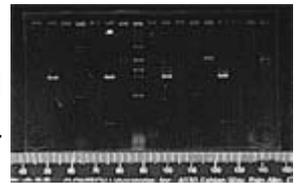


生物技術應用於作物病害之檢測

陳任芳 1999-12 花蓮區農業專訊 30:20-21

作物病害鑑定一般以病原外觀形態、生理生化特性及病原性測定或血清學檢定等方法為主，但多耗時、費力，亦常因精準度不足，或有誤判的情形，因此，發展出專一性及靈敏度高，可快速的偵測診斷技術則有其必要，對病害生態和防治之研究頗有助益。近年來分子生物學的發展迅速，生物技術因其具有快速、專一性及靈敏的特性，目前已有多種核酸探針(DNA probe)及聚合酵素連鎖反應(PCR)技術被發展應用於鑑定及偵測植物病原菌的研究。而這樣的工作事實上和刑事案件做「DNA 比對」的目的是雷同的。

然而「DNA 的比對」對一般人而言，可能感覺熟悉但又很陌生，因為媒體常報導有關家屬認親、印證殺人兇手等社會新聞，或有提到利用「DNA 比對」的工作；但「DNA」是什麼？它的中文名字叫做「去氧核糖核酸」，攸關遺傳基因特性的表現，但對不是學生物的大多數人而言，要解釋 DNA 的作用，基因是什麼？恐怕答案是沒見過，不知道！因此，我們用簡單一點的解釋，應該可說「DNA 比對」的工作就是在找標誌，只有至親的人才擁有相同的標誌，但這個標誌不是肉眼可見，而且很微小的，必須靠現代的生物科技去進行才可找到。



利用生物技術偵測不同來源之病害樣本，由圖可顯示屬同親源性

作物病害的鑑定一般可直接由病徵配合組織分離觀察，或利用鑑別性或選擇性培養基分離鑑定，再進一步利用植物接種或其他如血清測試、簡單的生理生化特性測試等予以確認。但有些病原之系統分類、生長需求、生理特性、致病機制、及代謝途徑等相關之研究仍屬有限。病毒的診斷方法，在傳統上則大都使用血清檢定法，但若病毒濃度偏低時，則無法將病毒順利檢出。病害的防治通常是預防勝於治療，是故亟需在病害未大發生前即可預先得知病原是否存在，尤其是在進口植物的檢疫及健康種苗的病害檢定上，更需要快速、有效又正確的診斷方法。也就是說在病原菌已侵入而尚未造成病害時，為確保作物的健康，利用生物科技的方法將潛在的植物病害元凶找出來，因此分子生物學上廣泛應用之聚合酵素連鎖反應(PCR)或反轉錄聚合酵素連鎖反應(RT-PCR)及核酸探針雜配法(cDNA probe hybridization)，皆是提升病害檢定技術靈敏度之解決途徑。

然而生物技術在植物病害檢測上的應用，多數仍在起步階段，真正推廣提供應用於田間的診斷或檢疫工作上仍為數有限。同時因未能完全掌握供比對的核酸片段的穩定性與不同來源標本之反應性前，其未來之發展及應用，仍有賴進一步之測試方能達成。目前國內開發研究較具規模的有：蘭花的齒舌蘭輪斑病毒、喜姆比蘭嵌紋病毒，已可應用組織轉印法直接對蘭花葉片進行偵測；另外水稻白葉枯病菌、細菌性軟腐病菌、滿天星細菌性萎凋病菌及檬果細菌性黑斑病均可在罹病組織偵測到；而在真菌病害方面雖在開發上較困難，但如百合灰黴

病菌、茄科疫病菌、荔枝露疫病菌及茭白黑穗菌等的分析鑑定；白絹病菌、炭疽病菌、鏟胞菌及腐霉等的病原性及生理小種的鑑別研究亦日益增進。

當專一性核酸探針製備及偵測分析方法穩定成熟時，只要在田間有疑似感染病害均可快速獲得結果；例如本省主要稻作病害——水稻白葉枯病菌的偵測，在水稻白葉枯病的專一性核酸探針製備完成後，當有疑似感染的水稻田時即可採集罹病葉、田水及土壤，經由無菌水浸泡和初步過濾、離心後，以 P C R 放大分析後，在電泳膠上若看得到和水稻白葉枯病菌探針相同位置產生單一反應條帶，且和其他不同菌類之探針不會有反應條帶產生，則可證實田間水稻已感染白葉枯病；在田間尚未大量發生前即可藉此偵測技術快得知病菌的存在，進而預測病害的發生，可提供預警以加強防備。

由於生物技術偵測檢定的專一性高，因此，尋找病原菌的特定核酸片段，其先前研究工作需耗費不少時日及經費，而植物病害病原種類繁多，難以一一開發，因此目前以無法直接鏡檢、病原菌體易混淆者、及管制性病原為優先開發標的。同時生物技術所需的設備費用較高且操作人員須經專業訓練，才能分析判讀結果，因此生物技術的應用常因經費及專業技術之限制，而無法普遍被採行。檢定人員必須能由所得之標本快速初步判別病原類別，進而選擇所要使用的核酸探針及操作方法，才能真正達到快速、準確的診斷。但也因該法極為敏感，操作過程須極細心，試驗器皿的重複使用，即可能造成交互污染而影響結果的精準性，試驗材料間之不慎污染，均會造成結果之誤判，因此，適當增加試驗材料之重複數，與試驗場所及器皿的清潔維護，操作人員的嚴格訓練都是採行該法時應予考量的課題。而提升人員之操作品質，則是未來此技術實際應用於產業上的必要考量；另外，生物技術偵測方法之材料製備程序遠較其他傳統檢測方法繁瑣，此亦可能影響產業界應用之意願。但無論如何，生物技術的應用將成為作物病害偵測重要的工具，是為目前亟需開發的方向。