



甜瓜萎凋病菌的檢測方法



一、商品化名稱：甜瓜萎凋病菌的檢測方法

二、開發團隊資訊

單位 (系 / 所)	姓名	職稱
植物醫學系	林盈宏	教授
植物醫學系	張再得	研究助理

三、開發理念

針對外銷種子是否帶菌的檢疫方式，目前國際間常透過培養皿檢查法 (agar plate method) 及吸濕紙法 (blotter method) 等方法，需先對種子進行培養，再利用顯微鏡觀察的方式，確認種子是否帶有限制輸出入之病原菌 (如參考圖一所示) (Tsedaley, 2015; Heagi *et al.*, 2013)，此方法花費時間較長，且容易有錯判的情形。而於 1986 年所發展之聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 具備快速、靈敏且專一的特點，目前已被大量的應用多種領域中做為檢測分析之工具。在 1996 年時，即時聚合酶連鎖反應 (real-time PCR) 被發展出來，其相較於 PCR，具備更高特異性且分析時間更短的優點。因此本計畫主持人設計對「甜瓜萎凋病 (菌)」具特異性的螢光探針與核酸增幅引子，搭配最佳化的種子取樣方式，即可用來專一性的於種子抽樣樣品檢測甜瓜萎凋病 (菌)，藉此可加速對此高度危害性病原真菌進行更簡易、便利且快速的診斷。

四、技術競爭力及產業應用性

本發明專利只要搭配即時聚合酶連鎖反應即可於各種子批次中，專一地檢測「甜瓜萎凋病 (菌)」。可有效縮短「甜瓜萎凋病 (菌) 種子健康檢查」之時程 (由一個月縮短為 2-3 小時)，可用來協助傳統耗時的檢測法，以達到快速監測種子批次，提供進出口檢疫與防堵甜瓜萎凋病散布的依據，因此相當具有競爭優勢。本研究專利成果將可

用於協助世界各地供應甜瓜種子與種苗的農民、業者、選種與育種單位、植物病原檢測機構及農藥公司等各項業務範疇。

五、商品化成果說明

本計畫已設計出對甜瓜萎凋病菌檢測用專一性之引子 (參考圖二)，經試驗證實對甜瓜萎凋病菌具檢測專一性。本計畫根據該甜瓜萎凋病菌專一性核酸序列，設計出檢測用之螢光探針，並以「即時聚合酶連鎖反應」測試該檢測用探針之最佳反應濃度，開發出可用於即時聚合酶連鎖反應檢測甜瓜萎凋病菌帶菌種子之「專一性引子及探針」，並已提出台灣發明專利申請 (參考圖三)。目前該檢測系統對甜瓜萎凋病菌基因組核酸 (genomic DNA) 與該標的核酸標準品核酸 (standard DNA) 及其菌絲體 (mycelium)，經試驗證實具高度檢測靈敏度。此外，本計畫已將本即時聚合酶連鎖反應技術導入甜瓜萎凋病菌之帶菌種子檢測上，可快速檢測帶菌種子批次 (每批 400 顆種子)，且具有高度的再現性。

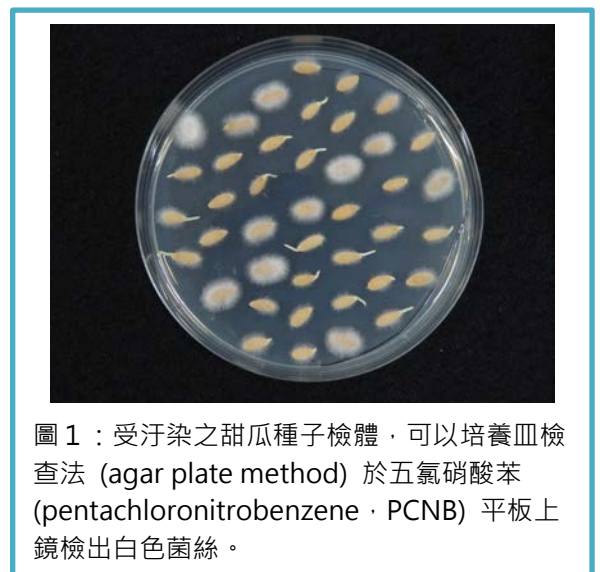


圖 1：受汙染之甜瓜種子檢體，可以培養皿檢查法 (agar plate method) 於五氯硝酸苯 (pentachloronitrobenzene, PCNB) 平板上鏡檢出白色菌絲。

