

出國報告（出國類別：研習）

## 赴泰國參加第 33 屆國際蔬菜訓練班

服務機關：行政院農業委員會農業試驗所

姓名職稱：周建銘助理研究員

派赴國家：泰國

出國期間：103 年 9 月 15 日至 103 年 10 月 10 日

報告日期：104 年 1 月 7 日

## 出國報告摘要：

參加由世界蔬菜中心(AVRDC-The World Vegetable Center)主辦，SATNET Asia 計畫及泰國 Kasetsart 大學協辦之第三十三屆國際蔬菜訓練課程第一單元(從種子到採收)(33rd International Vegetable Training Course, Module 1: Vegetables: from Seed to Harvest)，此次出國研習計畫係由 102 年度派赴世界蔬菜中心進行短期研究之 6 名研究人員中遴選 1 名參加農委會科技處國際農業科技合作出國研習計畫，赴泰國參加國際蔬菜訓練班；自 103 年 9 月 15 日至 103 年 10 月 10 日，共為期 26 天之訓練課程，共有台灣、韓國、香港、印尼、緬甸、寮國、柬埔寨、孟加拉、斯里蘭卡、奈及利亞、布吉納法索、史瓦濟蘭、吐瓦魯等 13 個國家、29 名學員參加此次課程。

本次課程內容著重在符合良好農業規範(Good Agricultural Practice, GAP)下的種子及種苗整合性病蟲害管理(Integrated Pest Management, IPM)，並提供包括種子生產(種原保存及種原庫管理介紹、蔬菜種子更新及高品質保存、建立及維持社區種子銀行、種子種苗生產實務、參訪種子公司)、種子檢查(真菌、細菌、病毒、線蟲等種傳病害介紹及實務訓練)、種子及種苗管理(水分管理、土肥管理、整合性病害管理、參訪示範溫室、參訪符合全球 GAP 之田區、田間整合性病害管理實務)及蔬菜育種(葫蘆科、茄科)等課程，並包含一部分農民田間學校(Farmer Field School, FFS)課程。此訓練透過一系列的課程包括學習、互動討論、實務訓練、實地參訪等多元學習模式，將符合 GAP 規範的種子及種苗 IPM 進行詳盡的介紹與訓練，並於課程最後兩天由各國參與學員發表發展行動計畫(Development Action Plan, DAP)以期瞭解各國之發展目標及藉由此次訓練後所研擬之發展行動計畫。

# 赴泰國參加第 33 屆國際蔬菜訓練班

## 目次

壹、訓練目的.....	4
貳、訓練過程.....	4
參、課程內容概述.....	7
肆、心得與建議事項.....	16
伍、附錄.....	18

## 本文

### 壹、訓練目的

本次係依農委會 102 年度派赴世界蔬菜中心進行短期研究之 6 名研究人員中遴選 1 名奉派參加農委會科技處國際農業科技合作出國研習計畫，赴泰國參加地 33 屆國際蔬菜訓練班，依個人植物病毒專長與興趣選擇參加第一單元：從種子到採收(From Seed to Harvest)。主要研習目的是針對種子種苗病害健康檢查及田間種苗病害管理學習，其他如種子管理(種原庫管理)、水分管理、土壤管理、瓜類及茄科育種、農民田間學院等課程則可補足自身背景知識外，也可了解世界蔬菜中心在全球化的概念下推行其種原、育種、生產及推廣等工作在泰國運作情形，並藉由此次研習機會認識世界各國研究人員或推廣人員了解其研究進行重點及方法。

### 貳、訓練過程

- 一、出國期間:中華民國 103 年 9 月 15 日至 10 月 11 日，為期 27 天
- 二、出席研習人員:農業委員會農業試驗所 植物病理組 助理研究員 周建銘
- 三、行程安排:

日期	課程內容及行程
9/15(一)	桃園-曼谷-Kasetsart 大學，課程及環境介紹
9/16(二)	Development action plan 簡介，Farmer field school 簡介
9/17(三)	嫁接課程及實作，種苗管理介紹及參訪 Agricultural Technology Cp'x

9/18(四)	種子健康檢查、管理及實作(真菌)
9/19(五)	種子健康檢查、管理及實作(細菌、病毒、線蟲)
9/20(六)	泰國曼谷大皇宮文化參訪
9/22(一)	土壤及水管理
9/23(二)	參與農民田間學院(Farmer field school)，灌溉系統管理
9/23(三)	種原及種原庫管理:植物遺傳資源保存，原生地( <i>in situ</i> )保存，種子更新及高品質保存
9/24(四)	種原及種原庫管理:種子更新及高品質保存，種原庫管理，建立及維持社區種子銀行(Community seed banks)
9/25(五)	種原及種原庫管理:建立及維持社區種子銀行，參訪 East West Seed International
9/29(一)	良好農業操作規範(GAP)簡介，參訪 GAP 農田
9/30(二)	參加農民田間學院，土肥管理及蚯蚓堆肥應用
10/1(三)	病蟲害綜合管理
10/2(四)	田間試驗設計及資料分析
10/3(五)	蔬菜真菌病害管理

10/6(一)	瓜類育種，茄科蔬菜育種
10/7(二)	參加田間農民學院，病蟲害綜合管理參訪
10/8(三)	蔬菜病毒病害管理
10/9(四)	DAP 準備
10/10(五)	DAP 發表
10/11(六)	Kasetsart University-曼谷-桃園

## 參、課程內容概述

此研習訓練課程包含理論及實務課程穿插，可讓研習人員在學習到知識後立即應用至實務面操作，課程內容涵蓋符合良好農業規範(Good Agricultural Practice, GAP)下的種子及種苗整合性病蟲害管理(Integrated Pest Management, IPM)，種子生產過程中所需注意的種苗種子生產、保存、管理及健康檢查等理論及實務課程，以及如何將農業技術推展至一般農民供其運用等實務課程。為期近一個月的課程，可大致區分為一、種子種苗管理及種子病害健康檢查，二、土壤及水管理，三、種源庫及種子銀行管理，四、良好農業操作規範及病蟲害整合管理，五、行動發展計畫(Development action plan)、農民田間學院(Farmer field school)及其他

### 一、種子種苗管理及種子病害健康檢查

課程內容包括種子的選擇及準備、種苗的培養土選擇、穴盤的選擇、種苗管理、種苗嫁接、種苗移植、種子病害健康檢查

(一)種子的選擇及準備:分析選擇育成品種(Improved varieties)或是當地品種(Local varieties)及選擇 OP 或是雜交種的優缺點。並說明優良的種子應具有高發芽率(High viability)及高活性(High vigor)特性。若不是從可信賴的種子公司購賣種子，應先消毒、化學藥劑處理或進行出芽測試(Pre-germinating)，課程中說明不同種子披衣的形式，以及常見的種子消毒方法:溫湯浸種(45C，20 分鐘)以去除細菌、次氯酸鈉處理(0.5%v/v，3 分鐘)進行消毒、70C 烘乾 3 日以去除病毒。

(二)培養土的選擇:說明壤土及泥炭土的差異，以及以色列及 Dr. Thongket 所開發的 coco peat(使用廢棄的椰殼纖維在洗滌去鹽後，經篩選適當大小混合珍珠石，再以蒸氣消毒後可使用)用以取代泥炭土。

(三)穴盤的選擇、種苗管理:說明選擇合適的穴盤大小及孔數會影響到種苗生長情況，正確的填土、種種子及適當的時機給水、肥料還有充足的陽光才能有良好的發芽及種苗生長。

(四)種苗嫁接:針對像镰胞菌萎凋病、細菌性萎凋病等土壤傳播病害除了利用土壤消毒或種植抗病品種外，使用抗病根砧是可行且簡便的方法，且種苗嫁接至根砧上亦可抗高鹽、耐土溫及增加養份吸收等特性。

(五)種苗移植:說明不同作物合適的移植時機，例如瓜類作物約 2-3 週，並挑選 "Ready" 的種苗進行移植，移植前兩小時需多量澆水有利移植。

(六)種子病害健康檢查:課程先闡述何謂四大植物病原及其分類，並依序說明真菌、細菌、病毒、線蟲的種傳病害，真菌種傳病害例如:大豆露菌病、小麥麥角病、辣椒炭疽病等，可使用之檢測方法 a. Dry seed examination b. Blotter method c. agar method d. seed symptom & Growing-on test e. embryo extract method。細菌種傳病害例如:在豆類上由 *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*、*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 及 *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* 引起之病害、十字花科黑腐病，可使用之檢測方法 a. Extraction b. Purification c. Pathogenicity test d. Biochemical test e. Serological test。重要的病毒種傳病害如: *Bean common mosaic virus*、*Barley stripe mosaic virus*、*Cucumber mosaic virus*、*Soybean mosaic virus* 等，課程中介紹可使用之檢測方法主要為 a. Biological test (接種測試及病徵觀察) b. Serological test (ELISA 及免疫電子顯微鏡觀察)。線蟲種傳病害如莖線蟲 *Ditylenchus dipsaci*、小麥腫癭線蟲 *Anguina tritici*、水稻白尖病 *Aphelenchoides besseyi*



等，可用之檢測方法包括 a.Baermann funnel technique b.Petridish extraction technique c.Cobb' s sieving and decanting technique。

\*實作課程:

(一)參訪 Agricultural Technology Complex:介紹自動灑水系統、水耕栽培(養液栽培)、介質栽培等栽培模式在其示範網室內運作情形。

(二)抗病根砧嫁接實作

簡易操作步驟(以茄子為根砧，蕃茄為接穗為例)如下:取 14-16 天的番茄苗作接穗-->挑選相同莖大小(直徑約 1.6~1.8mm)的接穗與根砧-->以 30 度或水平方式切取含兩子葉之茄子根砧-->同樣以 30 度或水平方式切取兩子葉或第一片本葉上之番茄接穗-->將番茄接穗插入橡皮管約一半位置-->將根砧插入另一半-->確認根砧與接穗有完全接觸-->將嫁接苗放入簡易嫁接溫室約 6-7 天(低光照、高濕度)

(三)種子病害健康檢查實作

真菌種傳病害檢查:目視檢查大豆種子病害為露菌病或 SMV 引起(Dry seed examination)、將種子規律放置於濾紙上觀察(Blotter method)、將種子規律放置於培養基上觀察(agar method)

細菌種傳病害檢查:過敏性反應測試

病毒種傳病害檢查:接種測試及病徵觀察

## 二、土壤及水分管理

(一)土壤管理:課程說明土壤特性、土壤品質管理及土壤生產與肥力管理。

土壤特性:物理特性包括質地、結構、濕度、通氣度及密度。化學特性包括植物養分濃度、酸鹼值、鹽度、CEC 值等。生化特性包括微生物豐富度、微生物族群量等；課程中並說明若植物樣份缺乏時造成的現象，若氮磷鉀鎂缺乏時易在老葉造成病徵、若鐵錳鋅硼鉬缺乏時易在新葉造成病徵，以番茄為例，若缺氮則矮化、下位葉褪綠或黃化；若缺磷則下位葉及莖變紅或紫，不開花結果；缺鉀則下位葉捲曲斑駁、葉緣褐化及枝條虛弱根系不佳；缺鈣則葉尖焦枯、不正常的深綠色葉片及枝條虛弱、尻府病發生；若缺磷則新葉黃化但葉脈仍為綠色；若缺鋅則新葉黃化斑駁、易萎凋；若缺硼則葉子捲曲、心腐等。

(二)水份管理:說明植物水分需求的計算公式為水份需求(mm/日)=蒸散作用( $E_{to}$ )x植物常數( $K_c$ )；說明灌溉頻率的依據及不同灌溉方式的效率，a.Flood irrigation : 35% - 50%、b.Good flood irrigation : 60%、c.Furrow irrigation : 55% - 60%、d.Surge irrigation in furrows : 80% - 85%、e.Under-tree basin irrigation in orchards : 75%-80%。說明滴灌方式的優點包括：避免水資源流失、避免 deep percolation、減少土壤表面水分蒸散、平均分配水源於田區、不受風吹影響、低耗能、可提供養液栽培管理佳及減少人力成本。缺點則包括初期有資金需求、需要維修保養、靠近植物的地方鹽分會累積等；並簡介 Netafim Typhoon®滴灌系統及 SpinNet、SuperNet 灑水系統。

### 三、種源庫及種子銀行管理:

(一)Introduction to the Conservation of PGR:說明 AVRDC 為一非營利組織旨在透過四大主軸:種原、育種、生產及消費的研究中設法降低飢荒及微量元素缺乏造成的 "Hidden Hunger"，目前 AVRDC 保存的蔬菜種原種類包括茄科(蕃茄、番椒、茄子)、豆類

(綠豆、大豆)、蔥屬(洋蔥、大蒜、青蔥)、十字花科(白菜、花椰菜)、瓜類(胡瓜、南瓜)及其他原生蔬菜。課程中並大量說明解釋種原保存時常見專有名詞，而種原保存也由早期大量保存高產量品種造成基因歧度下降，到後來有保存 Genetic resources 的概念，直至今日種原保存的目標為建立 Genebank 做長短期的保存，並且也保存組織、細胞、DNA 等材料。目前世界上有許多蔬菜的 Genebanks，包括臺灣-AVRDC、USA-NPGS、中國-ICGR-CAAS、俄羅斯-VIR、韓國-RDA、日本-NIAS、德國-IPK 等，AVRDC 為世界最大的蔬菜種原庫，包括逾六萬種植物品系，涵括 63 個屬及 209 個種；Genebank 的運作步驟如下:Short-term storage-->Registration-->Passport information-->Regeneration and Characterization-->Preservation(LT)或 Utilization(MT)，保存時若是種子需控制溼度(4-7%)並保存在陰涼乾燥處，若為無性繁殖則需保存在 field genebanks。種子保存時依其保存與否及是否具活性可區分為 a.Orthodox&Intermediate seeds b. Recalcitrant seeds(Not viable) c.Orthodox seeds d.Intermediate seeds(Not viable)。AVRDC 分析收集的品系的養分，並運用這些保存的品系篩選具抗病性、抗旱、耐熱及耐鹽等特性的品種。課程的最後說明 AVRDC 建立的品系資料、並提供線上系統可向 AVRDC 申請植物品種使用。

(二)*In situ & Ex situ* conservation:首先介紹多種原生蔬菜:寬葉十萬錯 *Asystasia gangetica*、落葵 *Basella alba*、涎菜 *Corchorus olitorius*、水甕菜 *Ipomoea aquatica*、馬齒莧 *Portulaca oleracea*、山蘇 *Asplenium australasicum*、龍鬚菜 *Sechium edule*、木龍葵 *Solanum scabrum*，適當地保存原生蔬菜使得其種原多樣性可以維持且可以被取得有其必要性，因為有許多種原生蔬菜、植物正逐漸消失中。課程中介紹從 *In situ* conservation 到 *Ex situ* conservation 的保存方法:nature reserves

-->managed areas-->introduction to reserves-->on-farm management(farmer exchanges,new introductions)-->on-farm conservation(community genebanks)-->field genebanks-->seed genebanks(short-term; long-term)-->in vitro genebanks(slow growth; cryopreservation)-->pollen banks-->DNA libraries。針對社區種子銀行進行詳盡介紹，社區種子銀行(Community seed bank, CSB)具 on-farm conservation 的優點又可維持良好的品種。CSB 的目標在 a.保留蔬菜多樣性 b.種子銀行提供農民買賣與交換，其保存的策略在於"妥善的使用種子"，由 CSB 的成員提供原生種或已經改良過的當地品種以維持其多樣性，並鼓勵所有成員使用銀行的種子，提高種子交換以維持種子銀行。並介紹了種子生產、蒐集、處理及包裝、販售等概念，課程中並介紹 AVRDC 在菲律賓當地推行 CSB 的情形，以及分組討論如果我們要組織一個社區種子銀行，應有何種組織架構、以及應挑選何種作物做為優先栽培收種的對象，其原因為何。

#### 四、良好農業操作規範(GAP)及病蟲害整合管理

(一)作物品管系統及從 Quality GAP/私人公司到市場:課程說明 Quality GAP 在泰國運作情形，並解釋若要成功需要政府、農民及私人公司三方面配合；研究人員常忽略市場通路、也不夠了解田間真正狀況；而農民缺乏正確用藥觀念，不了解何謂 GAP，需要更多市場通路；市場面則需要便宜且具高品質的農產品。要獲得 GAP 認證，其流程如下:Farmer registration-->Give advice-->1st assessment-->Field inspection & evaluation-->評估時須評估水源、土壤、農藥使用及儲存、採收及品管記錄，Fail 則持續評估，成功的話獲得認證，一年生作物認證有效期一年、多年生作物有效期兩年。泰國

在 GAP 推動情形良好，已有 10 餘萬名農民認證通過，栽培作物種類有包括龍眼、榴蓮、芒果、蘆筍等 29 種作物。

(二)蔬菜真菌病害管理:課程說明病害三角環觀念，合適寄主、合適病原菌、合適環境都發生時將造成病害發生，區分 monocyclic(如 *Verticillium wilt*)及 polycyclic(如 *Soybean mosaic virus*)病害，而病害管理的策略包括 Prohibition(Quarantine & Embargo)、Intercept(Inspection)及 Elimination(Treatment)，可以執行的方法包括田間衛生(Sanitation)、耕作防治、輪作，使用有機添加物、殺菌劑及保護劑施用或進行生物防治等，

(三)蔬菜病毒病害管理:課程說明何謂病毒、病毒病徵包括 Mosaic、Mottle、Yellow、Chlorosis、ringspot、leaf curl、wilt 及 Stunting 等病徵、其傳播方式包括機械磨擦、花粉及種子傳播、蚜蟲、粉蝨及薊馬等昆蟲媒介傳播，而昆蟲媒介傳播模式可分為持續、半持續性、非持續等傳播模式、若要鑑定病毒，可以使用 TEM 進行觀察，或寄主範圍測試、或媒介昆蟲測試、分別運用血清學(ELISA、DIBA、免疫快篩試條等)及核酸鑑定技術(PCR、DNA Hybridization)可做更精確的病毒鑑定；病毒病害防治由於罹病後無藥可治，因此著重在預防，包括防病(Prevention):使用無毒健康種苗、栽種抗病品種、GMO 抗病品種、防治昆蟲媒介、交互保護；除病(Eradication):去掉感染株、去掉雜草及替代寄主、耕作防治、輪作等。

(四)蚯蚓運用於有機廢棄物管理:蚓糞肥(Vermicompost)為有機質經蚯蚓分解後的產物，蚓糞肥對作物栽培養分吸收有極大的幫助，蚯蚓的種類也非常多種，包括溫帶品種(*Eisenia fetida*、*Eisenia andrei*、*Lumbricuss rubellus*、*Eisenia hortensis*)及熱帶品種(*Eudrilus eugeniae*、*Perionyx excavatus*)，在生產蚓糞肥時原則上蚯蚓越多越好，

但若是想培養蚯蚓則需有適當條件:適溫 15-25 °C、濕度 80-90 %、適當的透氣性、Ammonia < 0.5 mg/l、Salt < 0.5 %、pH 值介於 5-9、暗室及具通風系統。課程中並介紹了蚯蚓培養基床(Bedding)種類及飼養方式以及蚯蚓的生活史。

五、行動發展計畫(Development action plan)、農民田間學院(Farmer field school)、育種及其他

(一)葫蘆科及茄科蔬菜育種:課程說明蔬菜育種因為有太多品種可以選擇、許多不同的特性及地區偏好性不同(Local preference)以及私人種子公司逐漸提升的育種能力使得蔬菜育種跟一般作物育種具差異性。其中地區偏好性影響最大，各地區飲食消費習慣不同，使得每個地區的育成品種外觀、特性大不相同，以茄子來說，泰國人喜歡蒂頭為綠色的(若不是綠色，消費者認為不新鮮)，胡瓜則為淺綠色短小的品種為佳(鮮食用)，苦瓜台灣多種植白玉苦瓜，但在泰國及南亞地區則喜歡綠色苦瓜，南瓜、洋香瓜各地區偏好也不相同。而育成的品種可以是純系、F1 雜交種、自由授粉及 clones。蔬菜育種的方法包括 introduction、Line breeding、Population breeding、Hybrid breeding、Clone breeding。目前的蔬菜育種主要目標包括 a.產量 b.儲藏期 c.高品質 d.抗病及抗蟲 e.廣適應性 f.對非生物因子的耐受性等；並介紹許多亞蔬育成且釋出的番茄、辣椒、甜椒、大豆品種；說明  $P = G + E + (G \times E)$ ，植物的外表型受基因型及環境的影響，若能在不同地區試種，然後選擇各地區特性皆差異不大的品系，此品系被視為有潛力具廣環境適應性。並說明亞蔬在南瓜、苦瓜及胡瓜的育成過程。

(二)農民田間學院:此課程皆為戶外實作課程，我們雖參與其中，但主要的授課對象為當地農民，宣導目標為病蟲害整合管理及農藥安全用藥，推廣講師為政府單位人員，

講授課程活潑生動，而且常讓學員充分討論並發表意見，為了讓學員了解一些觀念，也會採用遊戲、設計實驗、小組討論及實際操作等方式讓學員參與，例如為了讓農民了解有機資材具跟化學防治的類似效果，會分組進行試驗並於有結果時討論成效，或是利用簡單的跑台方式，可以評估學員的知識吸收程度，或是提供如木黴菌、天敵等有機資材介紹外，也實際讓學員自行製作木黴菌的麥粒菌種，由學員反應狀況即可知成效不錯。

(三)實驗設計:由於參加訓練班學員背景不同，此課程著重基本實驗設計與生物統計概念，Dr. Didit 深入淺出地講述實驗設計與生物統計的基本概念，並於最後設計五道題目供參加學員分組討論後上台解答。

(四)行動發展計畫(DAP):設計一個自己的 DAP，此課程在訓練班最初課程即講述應如何進行，包括分析後選擇目標族群、描述 DAP 的任務與目標、描述 DAP 的含括地理範圍、描述 DAP 的目標族群，其目標應保持"SMART"原則:S-pecific、M-easurable、A-ttainable、R-esult-oriented、T-ime-bound、並說明執行的策略及方法、最後須有一套評估的方法；而於訓練班的課程最後兩日則為發表自己的 DAP 的時間，此 DAP 應符合此訓練班主題及課程中所學到的知識，筆者發表題目為:Study of *Maize chlorotic mottle virus* transmission in Taiwan，由於此一病害亦在泰國有發生，學員反應不錯，評審老師認為目標明確可行，且評估條件合理，亦有運用到課程中所學知識。

## 肆、心得與建議事項

筆者因前一年至亞蔬中心總部進行短期研究 3 個月，爾後又被遴選參加第 33 屆國際蔬菜訓練班共 1 個月的學程，雖然與亞蔬中心的人相處時間不長，但明顯感受到與台灣政府機關研究單位不同的研究氛圍，其研究人員對研究投入的時間密集度高，且不同領域的資訊流通性強，雖然研究人員都非常忙碌，但也幾乎都會撥出時間參加 coffee break，除了閒聊，也有許多的研究資訊流通、研究的發想在此產生，或許由於其機關為非營利組織，在此研究氛圍下，其研究進展筆者認為相當順利，不斷的有新的品種育成並推出至世界各地，而且研究人員不斷的有新的文章發表，亦有助於紀錄並公布其品種特性，有利於各地研究學者取用。其研究人員或許有搭配秘書的關係，其處理行政業務的時間似乎較少，也常看到研究人員專心投入研究的情形，即使舉辦訓練班或研討會，繁雜的行政工作也不會落到研究人員頭上中斷研究工作進行，其組織內的分工良好，各司其職。

而此行參加國際蔬菜訓練班特別針對種子與種苗的病蟲害管理有全面性的了解，包含基礎的種子、苗期水份、土壤管理、病蟲害管理及種植前的種子健康檢查到種源庫、社區農民學院、實驗設計、育種目標等課程都吸收到不少以前未特別注意的基礎知識，課程深度不深，但將其整合起來有助於參加學員通盤了解未來自己回國後面對此類問題時有全面性思考的概念。而由參加的過程中發現，農業研究的最終目標還是要推廣、應用，深入的研究有其必要性，但需考慮到市場、農民需求，發展簡單可行的資材(如 Coco peat、蚓糞肥)，或是讓病害鑑定簡單、快速(病毒免疫快篩試條)，這些研究投入後立即有成果顯現而且為農民或農企業所需要的，農民或農企業也在可負擔的情況下立刻可以應用。此外，參訓過程中亦認識了不少各地研究機構人員，皆有不同專長，在今日網路流通，即使回國後也能持續保持聯絡，也有助於將來研究工作若有國外資訊需求時增加一個可以取得



的管道。另外，此日之前已得知筆者研究之玉米褪綠斑駁病毒在泰國有發生紀錄，很幸運地，該發表教授 Dr. Pissawan 就在訓練班所在的 Kasetsart 大學，筆者自行連絡前往與 Dr. Pissawan 進行了一場 meeting，由於其文章多以泰文發表，但經過該會議後，也了解了當初泰國發生的褪綠斑駁病毒與現今台灣發生的玉米褪綠斑駁病毒已有不同，且由其實驗數據可知道許多有用的訊息，Dr. Pissawan 並指點筆者研究方向，算是此行額外的收穫。

## 伍、附錄

### (一)照片集錦



圖 1、開訓當日大合照



圖 2、筆者與香港及韓國學員分組討論目前自己國家面臨的農業困境



圖 3、至 Agricultural Technology complex 參訪水耕蔬菜栽培



圖 4、至 Agricultural Technology complex 參訪介質栽培



圖 5、現場教學抗病根砧嫁接



圖 6、種子健康檢查-Blotter method



圖 7、種子健康檢查-目視檢查



圖 8、種子健康檢查-出芽測試



圖 9、出芽測試結果檢查

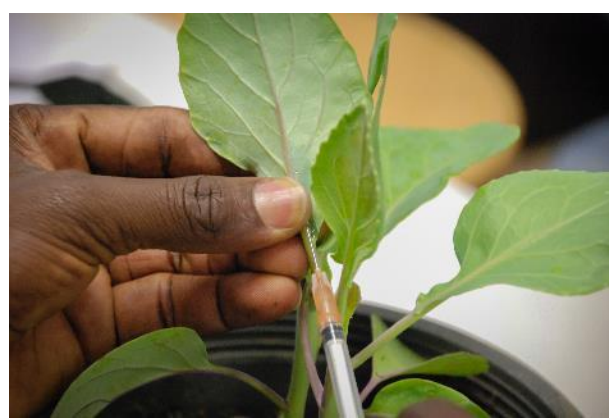


圖 10、過敏性反應測試





圖 11、病毒接種試驗



圖 12、課程結束全體合照



圖 13、參訪生物防治中心



圖 14、草蛉飼養



圖 15、Assassin bug 飼養



圖 16、生動活潑的農民田間學校上課情形





圖 17、Dr. Andrea 示範種子出芽測試



圖 18、參觀其種源庫之種子儲藏空間



圖 19、說明種子儲藏方式



圖 20、Dr. Andrea 說明種源庫資料建檔情形



圖 21、參觀 East-West 種子公司前須消毒



圖 22、參觀 East-West 種子公司-2





圖 23、育種人員官能測試南瓜口味



圖 24、不同冬瓜品系篩選



圖 25、參訪 Global GAP 認證通過農場的農藥儲藏室



圖 26、農場的豆類以網室栽培隔絕害蟲與病毒病



圖 27、秋葵栽培使用誘引劑誘引害蟲



圖 28、蚓糞肥實物介紹





圖 29、農民田間學校跑台測試學員農業知識



圖 30、學員操作種子出芽檢查



圖 31、參觀通過 GAP 認證的農場



圖 32、說明其冷藏庫儲藏前作業



圖 33、說明授粉如何進行



圖 34、授粉試驗實作





圖 35、筆者進行授粉作業



圖 36、農民田間學校田間觀察發芽率



圖 37、種子出芽測試結果



圖 38、現場麥粒菌種實作以進行生物防治

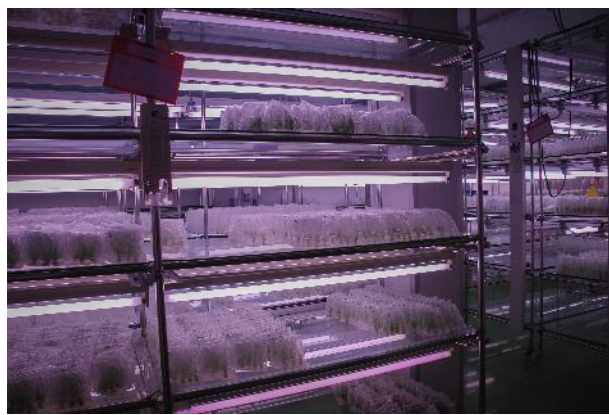


圖 39、參觀組培中心



圖 40、機械化栽培蘆筍種苗





圖 41、跑台測試學員病害診斷



圖 42、說明以 ELISA 免疫反應檢測病毒

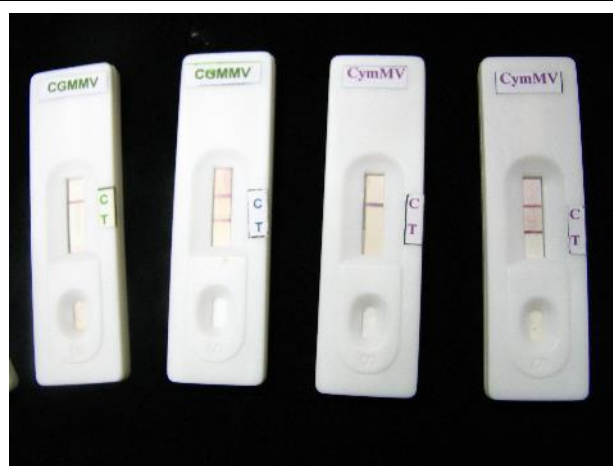


圖 43、已開發出多種免疫快篩試條可供使用



圖 44、說明核酸檢測病毒



圖 45、筆者發表 DAP 情形



圖 46、頒發結訓證書及大合照



## Study of *Maize chlorotic mottle virus* in Taiwan

Chou, Chien-Ming

33<sup>rd</sup> IVTC

AVRDC-ESEA, Kasetsart University Kampaen Saen campus

2014/10/10

<http://www.tari.gov.tw>



### Outline

- ◆ Introduction to the environment of Taiwan.
- ◆ What is *Maize chlorotic mottle virus*?
- ◆ DAP of Study of *Maize chlorotic mottle virus* transmission in Taiwan.

<http://www.tari.gov.tw>



## Introduction-Taiwan



1. Land area is about 36,000 Km<sup>2</sup>.  
2/3 mountain or slope lands  
29 % plains.

2. Avg. Tep. In summer 25°C-30°C  
In winter 15°C-20°C  
Avg. Rainfall. ~2500mm

3. Frequently Typhoons in summer and autumn.

http://www.tari.gov.tw

## Introduction- Corn cultivated in Taiwan

1. Corn cultivated area : ~18,000 ha/year  
(1/3 are green corn, 2/3 are forage corn)
2. Over 30 corn varieties are circulated in Taiwan in one year.



Sweet Corn

White Corn

Waxy Corn

Forage Corn

Feed Corn

http://www.tari.gov.tw/subject/et.asp?item=200627&stNode=60228&mp=2448&pi=0



## Disease symptom in the field



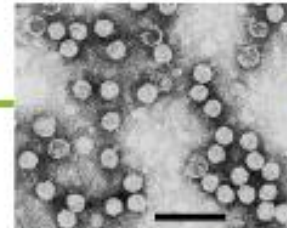
Symptom of MCMV infected maize





## Maize chlorotic mottle virus, MCMV

- **Taxonomy:** (+)ssRNA Virus : Tombusviridae: Machlomovirus
- **Current distribution:** Peru, Mexico, USA, Brazil, Argentina, eastern Africa, China and Taiwan.



<http://www.dpwweb.net/notes/showem.php?genus=Machlomovirus>



1118 www.tari.gov.tw



## Maize chlorotic mottle virus, MCMV

- **Symptoms:** Systemic stunting, chlorotic mottling, necrosis, shortened male inflorescences with few spikes and partially filled ears.



Fig. 2. Symptoms of maize chlorotic mottle virus infection include leaf chlorosis and tissue necrosis beginning at leaf edges.



CLN/MLND in Kenya



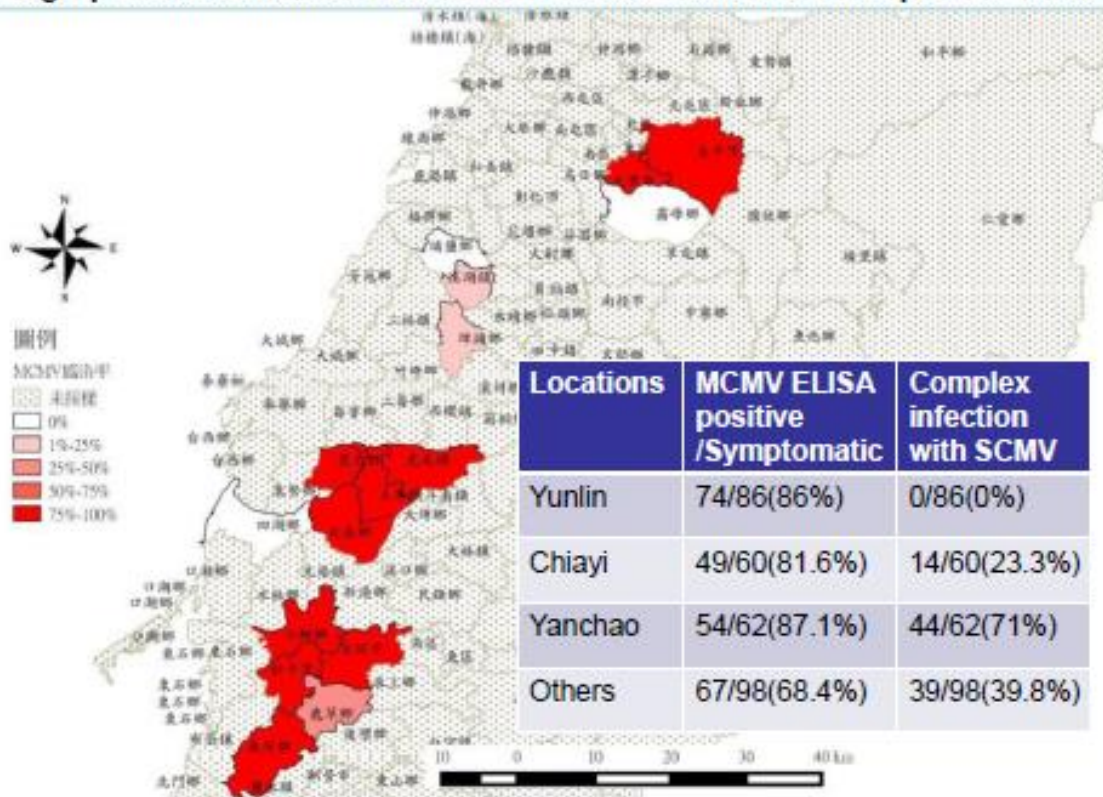
CLN/MLN in Taiwan

(Uyemoto, 1980, Wangai, 2012)

1118 www.tari.gov.tw



## Geographical distribution of MCMV in maize in south central part of Taiwan



## Paper review-MCMV transmission methods

- **Transmission:** It's transmitted by vectors including
  - **thrips**
    - ✓ *Frankliniella williamsi* (Cabanas, 2013)
    - ✓ *Frankliniella occidentalis* (Zhao et al., 2014)
  - **chrysomelid beetle**
    - ✓ ?*Diabrotica virgifera*, Western corn rootworm,
    - ✓ ?*D. barberi*, Northern corn rootworm
    - ✓ ?*D. undecimpunctata howardi*, Southern corn rootworm
    - ✓ ?*Chaetocnema pulicaria*, Corn flea beetle
    - ✓ ?*Systema frontalis*, Redheaded flea beetle
    - ✓ *Oulema melanopa*, cereal leaf beetle (Nault et al., 1978)
  - **mechanical inoculations**
  - **seeds**



*Frankliniella williamsi*  
(曾清田, 1997)



*Diabrotica virgifera*



*Chaetocnema pulicaria*



*Oulema melanopa*

## Paper review-MCMV seed transmission

Materials	Method	Infected/ total	Seed trans.	Ref.
Inoculated <i>Panicum miliaceum</i> , <i>Setaria lutescens</i> , <i>S. Viridis</i>	Bioassay, ELISA	0/3653	0%	Bockelman et al., 1982
Inoculated 14 maize inbreds & 5 maize hybrids	Bioassay, ELISA	0/4051	0%	Bockelman et al., 1982
Natural infected maize	Grow out test, ELISA	17/42000	0.04%	Jensen et al., 1991
Maize seeds mixed within soybean seeds imported from US	Grow out test, ELISA, RT-PCR	2/600	0.33%	龔海燕等， 2010
Maize seeds from Germany	Grow out test, ELISA, RT-PCR	3/600	0.5%	劉洪義等， 2011
Maize seeds from Thailand	Grow out test, ELISA	1 variety/6 variety*2 0 seeds	-	雷屈文等， 2013
Maize seeds from Thailand	ELISA, RT-PCR	2/100	2% seed carry	雷屈文等， 2013

### DAP-Study of MCMV transmission in Taiwan

#### Objectives

**A. MCMV seed transmission ratio? Seed coat contamination or seed borne?**


**B. What is the MCMV transmission vector(s) in Taiwan?**

**(→ Any possible control methods?)**

**Target Group**

**MCMV  
(Maize chlorotic  
mottle virus)**



 *Taiwan Agricultural Research Institute*

## Activities

- A-1. Seed health test of used maize seeds from farmer by ELISA.
- A-2. Seed health test of infected maize seeds from farmer's fields under different seed collection treatment.

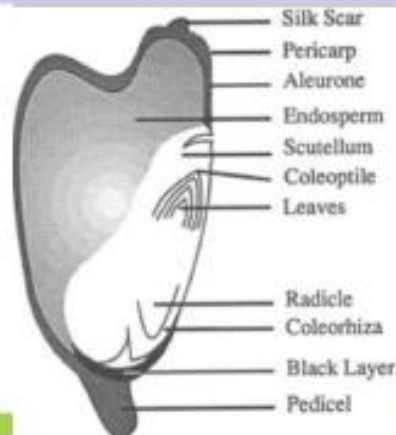






## Activities

**A-3. Checking MCMV infected into maize embryo or just contaminated on seed coat by tissue blot and ELISA.**



1119 / www.tari.gov.tw



## Activities

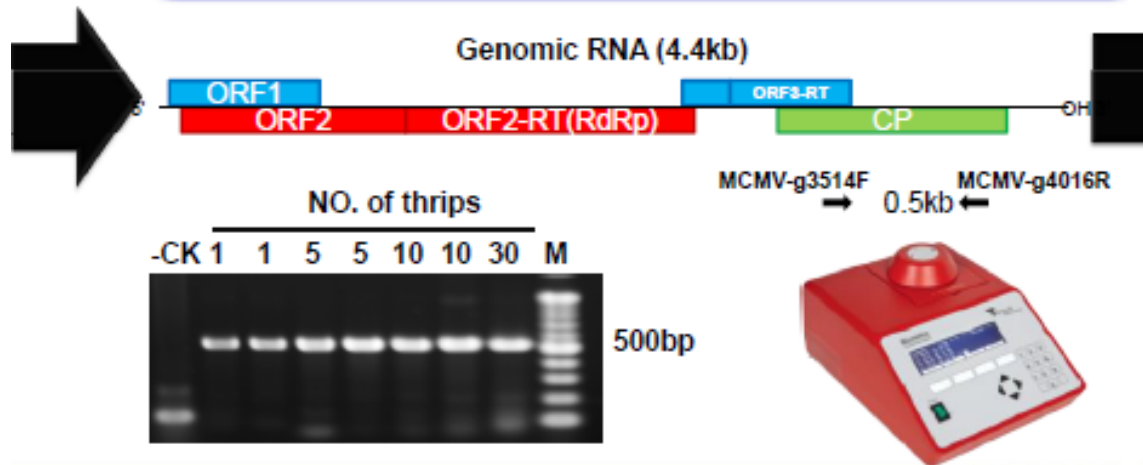
**B-1. Monitoring the dynamics of insects and MCMV in MCMV prone maize fields with sticky traps and detect virus by ELISA .**



1119 / www.tari.gov.tw

## Activities

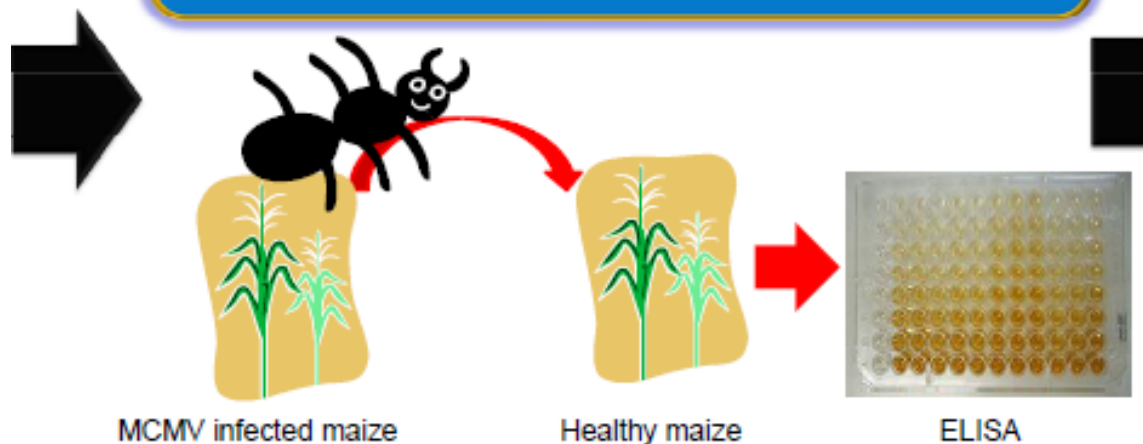
**B-2. Detecting the possible insect vectors is carrying the MCMV particles or not by RT-PCR.**



<http://www.tari.gov.tw/>

## Activities

**B-3. Complete the MCMV transmission test of insect vector candidate(s) by biological test.**



<http://www.tari.gov.tw/>



## Outputs (Key Performance Indicators)

Items	Expected benefit	Value (unit)
Published Article	Researchers and farmers can learn the current research progress of MCMV	1
Data analysis and database establishment	Understanding the relationships between insect vectors and MCMV could help us to develop the control strategy	48
Research team development	The research team including plant virologist, entomologist and breeder could investigate the epidemiology completely.	1
Promotional materials	Improvement of the knowledge of farmers could let the farmers learn correct control methods.	1
Monitoring and disease/pest forecasting and control service	Monitoring the density of insect vectors and epidemiology could help us to forecast the disease to prevent its outbreak.	12

<http://www.tari.gov.tw/>



## Outcomes

### Transmission mechanism

- Clarification of the transmission vectors and seed transmission mechanism of MCMV

### Control strategy development

- Control methods and strategy can be developed based on the transmission mechanism we clarified.

### Disease resistance maize breeding

- Deciding the orientation of disease resistance maize breeding based on the transmission we clarified.

<http://www.tari.gov.tw/>



## References

1. Bockelman, D. L., J. K. Uyemoto, and L. E. Clafin. 1982. Host range and seed transmission studies of *Maize chlorotic mottle virus* in grasses and corn. *Plant Dis.* 66: 216–218.
2. Jensen, S. G. 1985. Laboratory transmission of *Maize chlorotic mottle virus* by 3 species of corn rootworms. *Plant Dis.* 69: 864–868.
3. Jensen, S. G., D. S. Wysong, E. M. Ball, and P. M. Higley. 1991. Seed transmission of *Maize chlorotic mottle virus*. *Plant Dis.* 75: 497–498.
4. Jiang, X. Q., L. J. Meinke, R. J. Wright, D. R. Wilkinson, and J. E. Cambell. 1992. *Maize chlorotic mottle virus* in Hawaiian-grown maize: vector relations, host range and associated viruses. *Crop Prot.* 11: 248–254.
5. Lommel, S. A., T. L. Kendall, N. F. Siu, and R. C. Nutter. 1991. Characterization of *Maize chlorotic mottle virus*. *Phytopathology* 81: 819–823.
6. Nault, L. R., L. S. Negi, C. L. Niblett, D. T. Gordon, W. E. Styer, and M. E.
7. Coffey. 1978. Transmission of *Maize chlorotic mottle virus* by chrysomelid beetles. *Phytopathology* 68:1071–1074.
8. Niblett, C. L., and L. E. Clafin. 1978. Corn lethal necrosis a new virus disease of corn in Kansas. *Plant Dis. Rep.* 62: 15–19.
9. Nutter, R. C., K. Scheets, L. C. Panganiban, and S. A. Lommel. 1989. The complete nucleotide-sequence of the *Maize chlorotic mottle virus* genome. *Nucleic Acids Res.* 17:3163–3177. ,

<http://www.tar.gov.tz>

## References

10. Scheets, K. 1998. Maize chlorotic mottle machlomovirus and *Wheat streak mosaic rymovirus* concentrations increase in the synergistic disease corn lethal necrosis. *Virology* 242: 28–38. ,
11. Scheets, K. 2008. Machlomovirus, pp. 259–263. In B.W.J. Mahy and M.H.V.v. Regenmortel (eds.), *Encyclopedia of Virology*. Academic, Oxford, London, United Kingdom.
12. Stenger, D. C., and R. French. 2008. Complete nucleotide sequence of a *Maize chlorotic mottle virus* isolate from Nebraska. *Arch. Virol.* 153: 995–997. ,
13. Teyssandier, E. E., E. Dal Bo, and S. F. Nome. 1983. Maize virus diseases in Argentina, pp.93–99. In *Proceedings, International Maize Virus Disease Colloquium and Workshop, 2–6 August 1982*, Wooster, OH. Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, OH.
14. Uyemoto, J. K., D. L. Bockelman, and L. E. Clafin. 1980. Severe outbreak of corn lethal necrosis disease in Kansas. *Plant Dis.* 64: 99–100.
15. Xie, L., J. Z. Zhang, Q. A. Wang, C. M. Meng, J. A. Hong, and X. P. Zhou. 2011. Characterization of *Maize chlorotic mottle virus* associated with maize lethal necrosis disease in China. *J. Phytopathol.* 159: 191–193.

<http://www.tar.gov.tz>



**Chou, Chien-Ming**



**Country:** Taiwan (R.O.C.)

**Organization:**

Taiwan Agricultural Research Institute (TARI)

**Position:** Assistant researcher

**Area of interest:** Plant virus diagnosis, virus resistance breeding, virus disease transmission and epidemiology

**Current Projects:**

1. Virus resistance screening of cucumber and melon and the application of virus-resistant Cucurbitaceae molecular marker. (ZYMV on cucumber and CCYV on melon.)
2. Study of Maize chlorotic mottle virus transmission
3. Development of the detection kits of polyclonal antibody and fast molecular detection reagents for the important viral pathogen infecting crops. (Potexvirus on orchids, pitaya, potato and bamboo)

<http://www.tari.gov.tw/>



---

**Thank you for your attention!!**

<http://www.tari.gov.tw/>

