

行政院農業委員會所屬各機關因公出國人員
出國報告書

出國類別：研究

保加利亞及臺灣茄科作物抗病種原之交換與利用及植物病原特性研究
Phenotypic and Genotypic Characterization of Plant Pathogens of Tomato and Pepper Originated from Bulgaria and Taiwan and Development of Resistant Germplasm

服務機關：行政院農業委員會臺中區農業改良場

姓名職稱：沈原民 助理研究員

派赴國家：保加利亞

出國期間：2016年8月28日至9月10日

報告日期：2016年11月1日

一、緣起與目的

「保加利亞及臺灣茄科作物抗病種原之交換與利用及植物病原特性研究」是由臺灣大學生物資源暨農學院與保加利亞科學院植物生理與遺傳研究所共同提出，在臺灣科技部與中歐國家科學院簽署之基礎之人員交流架構下之計畫，由臺灣大學植物病理與微生物學系洪挺軒教授與保加利亞方的 Rossitza Rodeva 副教授共同主持。臺灣方面執行單位涵蓋臺灣大學植物病理與微生物學系、園藝暨景觀學系、行政院農業委員會臺中區農業改良場、農業試驗所等單位。早先因 Rossitza Rodeva 與我們在植物病理學領域有共同的研究方向，雙方互有電子郵件聯絡，促成一起提出此國際合作人員交流計畫，計畫通過後，於 2015-2016 年間，保加利亞方人員共來臺 2 次，臺方人員至保加利亞共 2 次，本次出國為計畫中最後一次訪問，藉此機會瞭解保加利亞農業研究與相關產業。

二、工作過程

日期	地點	行程
8/28(日) 8/29(一)	Taiwan→Bulgaria	桃園國際機場→保加利亞索菲亞國際機場(SOF)
8/30(二)	Sofia	1. 訪問保加利亞科學院植物生理與遺傳研究所 (Institute of Plant Physiology and Genetics, Bulgarian Academy of Sciences) 2. 訪問農業生物研究所 (Agrobiointitute)
8/31(三)	Sofia-Koprivshitsa - Starosel -Domlyan - Shipka	訪問番椒、番茄種植者及植物病害樣本採集
9/1(四)	Shipka- Kazanlak - Sadovo-Plovdiv	1. 訪問植物遺傳資源研究所(Institute for Plant Genetic Resources) 2. 訪問蔬菜生產者與番椒加工廠
9/2(五)	Plovdiv- Pazardzhik -Sofia	1. 參訪 Maritsa 蔬菜研究所 (Maritsa Vegetable Crops Research Institute) 2. 訪問茄科作物生產者、採集植物病害樣本
9/3(六)	Sofia-Stob- Rila	交通及資料彙整
9/4(日)	Rila- Blagoevgrad- Drakata- Melnik	有機農業農戶訪問

9/5(一)	Melnik- Petrich- Sandanski- Kyustendil	保加利亞西南方產業訪問
9/6(二)	Kyustendil- Sofia	交通天，其他行程因雨取消，彙整資料
9/7(三)	Sofia	訪問保加利亞科學院植物生理與遺傳研究所及溫室、討論計畫執行內容及未來方向
9/8(四)	Sofia	1. 參觀農業經濟研究所中央農業圖書館(Central Agricultural Library, Institute of Agricultural Economics) 2. 訪問保加利亞科學院生物多樣性及生態系統研究所(Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences)
9/9(五) 9/10(六)	Sofia→Taiwan	1. 參訪保加利亞科學院植物園 2. 保加利亞索菲亞國際機場(SOF) →桃園國際機場

三、保加利亞研究機構及蔬菜產業參訪

保加利亞的國土面積約臺灣的三倍(11 萬平方公里)，農地面積約五百萬公頃；人口約臺灣的三分之一(720 萬人)，農業人口約 26 萬人，農業人口占總人口比例 3.5%，該國生產量最大的三種農作物是牧草、玉米及小麥。保加利亞各領域的研發經費占該國國內生產毛額(Gross Domestic Product; GDP)的比例約 0.6%(農業研發占 GDP 的比例低於 0.1%)，一般認為偏低，保加利亞的目標是在 2020 年各領域的研發經費達 GDP 的 1.5%。掌管保加利亞農業的機構是農業與糧食部(Ministry of Agriculture and Food)，下轄農業知識與研發系統主要有國家農業顧問服務(National Agricultural Advisory Service)與農業科學院(Agricultural Academy)，國家農業顧問服務提供推廣、諮詢、檢測等服務，下轄 27 個區域農業顧問服務機構，而農業科學院主管公部門農業研發，下轄 25 個研究機構與 21 個試驗場。本次除訪問保加利亞科學院內的研究單位之外，也拜訪了多個農業科學院下的研究機構。

1. 保加利亞科學院植物生理與遺傳研究所 (Institute of Plant Physiology and Genetics, Bulgaria Academy of Science)

2010 年，保加利亞科學院植物生理學研究所與遺傳學研究所合併，成為植物生理與遺傳研究所，主要研究有基因表現調控(Regulation of gene expression)、基因體動態與穩定性(Genome dynamics and stability)、應用遺傳學及植物生物技術(Applied genetics and plant biotechnologies)、實驗藻類學(Experimental algology)、植物-土壤交互作用(Plant-soil interactions)、光合作用活性及調控(Photosynthesis – activity and regulation)、植物生長與發育調控(Regulators of plant growth and development)。

本計畫的合作對象是在應用遺傳學及植物生物技術及基因體動態與穩定性研究室，包括 Dr. Rossitza Rodeva 副教授、Dr. Elena Balatcheva 助理教授、Dr. Vasilissa Manova 助理教授，另外我們也和 Dr. Lubomir Stoilov 教授、Zornitca Stoyanova 研究助理等人會面討論。他們工作的地點在市區本部之外的郊區，主要原因是植物生理與遺傳研究所是由先前的兩個研究所合併，使得同一個研究所內有不同工作地點，未來郊區的研究室將搬遷回本部。本次我們一起在實驗室內討論實驗方法及內容，並檢視溫室內種植不同品種番椒，當時有各式各樣保加利亞番椒品種種植在溫室內，同時也試種與臺灣交流的番椒品種。

未來雙方交流與研究的方向包括炭疽病菌、疫病菌等植物病原接種於不同品種番椒上感病、抗病之反應；感染茄科植物之病毒實驗方法、資訊

交流與研究；植物病原真菌相關實驗交流；茄科作物品種交流等。



保加利亞科學院植物生理與遺傳研究所
內實驗室一景



番茄果實接種植物病原菌試驗狀況

2. 農業生物研究所(Agrobioinstitute)

農業生物研究所是一個科學研究機構，隸屬於農業科學院(Agricultural Academy)，設立於2000年，其前身最早是1985年設立的Central Laboratory of Molecular Genetics and Genetic Biotechnology。農業生物研究所的每年的預算在60萬至85萬歐元之間，其中約39%來自國家預算、39%來自國家科學基金(National Science Fund)的計畫、18%來自歐盟計畫。農業生物研究所與索菲亞大學生物學系(Faculty of Biology, Sofia University)位在同一棟大樓內，農業生物研究所除進行研究外，也認可培育「遺傳學」、「植物保護」博士學位的育成。研究所內共約50位人員。研究單位畫分成研究群，研究群的領域有：生物逆境(Biotic stress)、非生物逆境(Abiotic stress)、分子遺傳學(Molecular genetics)、植物遺傳資源(Plant genetic resources)、豆科植物功能性遺傳學(Functional genetics Legumes)、穀類作物功能性遺傳學(Functional genetics Cereals)研究群。

這一次我們拜訪了生物逆境研究群主持人 Dr. Slavtcho Slavov 副教授以及穀類作物功能性遺傳學研究群主持人 Dr. Elena Todorovska 教授。以下就生物逆境研究群作較詳細的介紹：生物逆境研究群有2位教授、1位副教授與2位助理教授、1位助理、1位專家、2位技術人員，研究領域有植物細菌與真菌性病害診斷；免疫方法鑑定植物病毒性病害；植物病原接種區分不同品種植物抗感病測試；基因導入植物以增加植物對真菌、細菌、害蟲的抗性；轉基因植物DNA與RNA分析；植物病害抗性基因分子標誌分析；RAPD區分植物病原菌；寄生性植物DNA標誌分群等。目前，Dr. Slavtcho Slavov 與我們的合作對象 Dr. Rossitza Rodeva 在疫病菌

(*Phytophthora* spp.)研究有合作關係，想瞭解不同品種茄科作物對疫病菌抗病能力的差異，篩選抗疫病感染的作物品種。



農業生物研究所所在的地點



農業生物研究所實驗室與討論空間



與 Dr. Slavtcho Slavov、Dr. Rossitza Rodeva 合影

3. 植物遺傳資源研究所(Institute for Plant Genetic Resources "K. Malkov"; IPGR Sadovo)

植物遺傳資源研究所位在保加利亞南方的小鎮薩多沃(Sadovo)，隸屬於農業科學院(Agricultural Academy)，植物遺傳資源研究所有 2,700 英畝(acres)可耕地，其中 1,550 英畝為試驗田，1,150 英畝用以生產種子，植物遺傳資源研究所內有國家種原庫、植物園、標本館、實驗室等。現有人員 125 位，有 78 位在學術部門，46 位在生產部門，有 2 位教授、8 位副教授、10 位助理教授。工作目標是將植物遺傳資源妥善收集、保存、研究、利用；執行主要作物育種計畫；應用生物技術於植物育種與植物遺傳資源利用。植物遺傳資源研究所能夠養成「作物育種及種子生產」及「植物育種」之博士學位。

植物遺傳資源研究所的國家種原庫是保加利亞主要保存植物種原的單位，分為三級：長期保存的種子存在 -18°C ，活動式保存的種子存在 6°C ，可保存 3-10 年，用以交換的種子則在國內或與國際合作夥伴交換。目前有 67,150 以上的登錄號，含 2,670 種植物，目前多數種原保存資料能

在歐洲植物種原收集的資料庫「EURISCO」(<http://eurisco.ecpgr.org/>)中取得，現在 EURISCO 內保加利亞植物遺傳資源研究所的種原資料有 59,292 筆。

此次與我們會面的是植物病理學研究室 Dr. Petar Chavdarov 副教授，他不單是研究人員，同時也是農民、商人，他管理 220 英畝的田地，每日顧用 26 個工人，種植的作物有番茄、萵苣、番椒等，他的番茄種植期間是 5 月初到 8 月底，可鮮食或製成罐頭，但今年受細菌性病害 *Clavibacter michiganensis* 影響，收成不佳。他的萵苣一年可種植 3 次，分別在 3 月、5 月、8 月種植，本年度價格好，但有少數植株受立枯病菌 *Rhizoctonia solani* 感染死亡。另外，番椒採收後可送至臨近的加工廠，製成保加利亞飲食常見的番椒罐頭。



薩多沃植物遺傳資源研究所



與 Dr. Petar Chavdarov、Dr. Rossitza Rodeva、Dr. Elena Balatcheva、土壤科學、農業技術與植物保護研究所(Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection)的 Dr. Nikolay Petrov 與農民合影



受 *Clavibacter michiganensis* 影響之番茄



Rhizoctonia solani 感染使萵苣乾枯或缺株



番椒罐頭工廠使用加工機械之情況



番椒罐頭工廠製成罐頭狀況

4. Maritsa 蔬菜研究所 (Maritsa Vegetable Crops Research Institute)

Maritsa 蔬菜研究所位在保加利亞第二大城普羅夫迪夫(Plovdiv)，是該國蔬菜相關研究、應用、及推廣單位，屬於農業科學院(Agricultural Academy)的研究機構，共有二十多位研究人員，研究分為兩個部門，分別是育種、品種保存與引進部門(Breeding, Variety Maintenance and Introduction)與蔬菜生產技術部門(Technologies in Vegetable Crops Production)實驗室進行組織培養、品質管理、生理學、病毒免疫、細胞學、分子生物學、植物病理學、昆蟲學及農業化學研究。Maritsa 蔬菜研究所的研究方向包括育成優良性狀之蔬菜品種，以及改進蔬菜生產體系。截至目前已育成 300 餘種蔬菜品種或 F1 雜交種。Maritsa 蔬菜研究所能夠授予「作物育種及種子生產」、「蔬菜作物生產」及「植物保護」博士學位。

此次我們與 Maritsa 蔬菜研究所所長 Dr. Daniela Ganeva 副教授、副所長 Dr. Miroslav Mihov 教授、番椒育種家 Dr. Velichka Todorova 副教授、分子遺傳學家 Dr. Nasya Tomlekova 副教授、植物病毒學家 Dr. Gancho Pasev 助理教授、植物病毒學家 Dr. Dimitrina Kostova 副教授、蔬菜育種家 Dr. Nikolay Velkov 助理教授等人交換臺保兩國蔬菜育種資訊，進行植物病原資訊交流以及參訪實驗室。



與 Maritsa 蔬菜研究所所長 Dr. Daniela Ganeva、Dr. Nasya Tomlekova、Dr. Nikolay Velkov 等人，以及 Dr. Rossitza Rodeva、Dr. Elena Balatcheva、Dr. Nikolay Petrov 合影



與 Maritsa 蔬菜研究所植物病毒研究室 Dr. Gancho Pasev、Dr. Dimitrina Kostova 等人合影

5. 玫瑰、精油及藥用植物研究所(Institute of roses, essential and medical cultures; IREMC)

玫瑰、精油及藥用植物研究所(Institute of roses, essential and medical cultures; IREMC)位在保加利亞中部的玫瑰主要產區卡贊勒克(Kazanlak)，隸屬於農業科學院(Agricultural Academy)，負責玫瑰及其他精油植物的研究與應用服務，工作方向涵蓋：玫瑰、精油植物、藥用植物的引進、選拔與繁殖；精油植物、藥用植物處理、加工技術開發；精油、藥物、植物萃取物、種子、化妝品分析與認證；植物源精油、化妝品生產。目前 IREMC 引入的植物基因資源有 216 種，選拔建立的種類超過 40 種，擁有品種權的種類有 19 種。IREMC 現有試驗田 100 公頃，溫室面積 1 公頃，種植保存百餘種玫瑰、精油植物與藥用植物，另外有工業級精油蒸餾裝置，可進行 10,100 與 5,000 公升容量蒸餾。IREMC 有 6 個主要的實驗室，分別是精油及藥物實驗室、土壤化學物理分析實驗室、植物化學分析實驗室、微生物分析實驗室、藥物及化妝品產品分析實驗室、以及介面活性劑分析實驗室。

保加利亞精油玫瑰的育種方向趨向高產量、高精油含量，也同時顧及抗低溫逆境、抗病的能力。由於卡贊勒克的精油玫瑰普遍被認為具有良好的性狀，育種材料通常包括卡贊勒克的 *Rosa damascena*，其中一種可靠且

常被推薦的雜交育種方式是 *R. damascena* 搭配具有抗銹病的 *R. gallica* 之組合。因為玫瑰精油的產量(玫瑰叢產花量、花內精油含量等)與種植地的氣候條件(溫度、濕度、雨量、風)息息相關，選育適合當地氣候的品種是玫瑰與精油產量增加的關鍵，例如卡贊勒克的年均溫約 11°C，年雨量約 654mm，研究人員會檢視各品種在特定氣候條件下產量的穩定性、適應性，並應用經濟指標評估。而為了使保加利亞精油玫瑰具有競爭力，育成高精油含量的品種至關重要，精油含量高於 0.05% 是高產量育種目標。另外，低溫是造成玫瑰精油含量損失的主要原因，有些案例因低溫損失的精油達 80%，一般在當地較冷的季節是一月中過後，溫度在 -8°C 至 7°C 之間，嚴寒時可能低溫到 -30°C，抗低溫的特性可能與糖類含量及花青素累積有關。

目前 IREMC 育成的精油玫瑰品種有「Svezhen」、「Iskra」、「Eleina」、「Yanina(Janina)」，選育出的 Svezhen 品種平均花重 2.37g，花量每分地 732kg，精油含量 0.054%；選育出的 Iskra 品種平均花重 2.39g，花量每分地 604kg，精油含量 0.047%；化學誘變產生的 Eleina 品種平均花重 2.43g，花量每分地 667kg，精油含量 0.052%，具有抗低溫特性，增加對銹病與玫瑰黑斑的抗性；而 Yanina(Janina) 品種由放射線誘變產生，平均花重 2.4g，花量每分地 562kg，精油含量 0.045%。

6. 農業經濟研究所中央農業圖書館(Central Agricultural Library, Institute of Agricultural Economics)

保加利亞農業科學院(Agricultural Academy)農業經濟研究所成立於 1935 年，主要進行農業經濟之基礎、應用及政策研究、執行分析、政策與技術輔助計畫、授予博士學位及教育、舉辦學術與專家會議、以及作諮詢顧問。研究方向包括：歐盟一般農業政策及在保加利亞之執行狀況；保加利亞農業政策；鄉村區域發展；農業金融系統；組織及經濟結構；市場與競爭力；可持續農業與農業環境；歐盟市場下之食品加工產業。

中央農業圖書館收集農業領域之文獻，約存有 50 萬冊專門參考資料，是保加利亞最大的農業文獻收集中心，雖然近年來因支持經費下降使得經營狀況不如以往，但仍有許多未電子化的文獻，尤其是以保加利亞語撰寫的文獻研究者需來此取得。

7. 保加利亞科學院生物多樣性及生態系統研究所(Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences)

保加利亞科學院生物多樣性及生態系統研究所成立於 2010 年，整併原先的動物學研究所、植物學研究所、以及基礎生態學中央研究室。現在研究所內有四個系，分別是植物、真菌多樣性及資源系；動物多樣性及資源系；水生生物生態系統系；生態系研究、環境風險評估及保育生物學系。研究領域有生態學、生物多樣性、環境保育、永續利用生物資源等。

此次我們拜訪真菌學研究室的 Dr. Dimitar Stoykov，他專門進行子囊菌的分類學研究，由於人力、經費的限制，目前他們沒有蓬勃的人力資源投入真菌分類、也未常態地應用分子生物學工具輔助研究，僅利用傳統形態分類仍持續產出真菌學分類報告。如果要瞭解保加利亞真菌誌或其他生物誌，可參考 Red Data Book of the Republic of Bulgaria 的資料。



農業經濟研究所中央農業圖書館辦公室



保加利亞科學院生物多樣性及生態系統研究所

8. 保加利亞科學院植物園

保加利亞科學院植物園位在維托沙山(Vitosha mountain)山腳，原先隸屬於保加利亞科學院植物學研究所，目的是收集植物作學術研究並保存生物多樣性，以及提供一般大眾教育參訪，另外也與其他機構交換種子、並販售植物給來訪者。植物園收集的植物種類 4,500 種以上，種植在溫室內超過 3,000 種植物，是巴爾幹半島收集最多種植物的溫室。收集主題包括亞洲的植物，有 450 種以上，其中許多是臺灣常見的園藝植物；不同的玫瑰種類，從保加利亞境內及其他國家的玫瑰達 110 種；還有不同種類的花卉，例如蘭花，花卉種類達 200 種。由於須在此溫帶氣候地區種植熱帶、亞熱帶的植物，溫室在冬季須加熱保溫。每年到此植物園的訪客有 10,000 人以上。

9. 保加利亞蔬菜農民訪問

首先我們來到保加利亞中部巴爾幹山博泰夫峰(Botev Peak)南方的

Domlyan 拜訪種植茄科作物的農民，他並未接受過學校教育，種植的方式較為粗放，番茄與番椒約在 5 月種植，在 9 月之後結束當季生產，包括番茄與番椒都直接種植在地面，未搭設施亦無棚架或其他支撐，田間可發現植株受具有病毒感染的病徵比例高，番椒果實上可發現真菌感染，另外也有機會看到菟絲子攀附在植株上。



拜訪 Domlyan 地區的農民



番茄直接種植在地面，無支撐



辣椒種植狀況



具有病毒病害病徵的番椒



番椒果實受真菌性病害感染



菟絲子寄生於作物上

9 月 2 日，我們到保加利亞南方普羅夫迪夫(Plovdiv)附近的帕扎爾吉克(Pazardzhik)拜訪當地多位農民，他們有露天種植，也有塑膠布遮雨設施，種植番椒、番茄、茄子、瓜類作物等。值得注意的是，我們在這個區域發現番茄具有番茄黃化捲葉病(Tomato Yellow Leaf Curl Disease)的病徵，

估計有病徵的比率達 20% 以上，而保加利亞從未記錄過由 Begomovirus 所引起的番茄黃化捲葉病等病毒，由於此地位於保加利亞南方，而保加利亞南方臨接的國家希臘明確記錄有不同種類的番茄黃化捲葉病危害番茄，我們推估可能帕扎爾吉克或普羅夫迪夫的臨近區域現正受到番茄黃化捲葉病威脅，我們將與保加利亞農業科學院(Agricultural Academy)土壤科學、農業技術與植物保護研究所(Institute of Soil Science, Agrotechnologies and Plant Protection)的病毒學家 Dr. Nikolay Petrov 合作，嘗試釐清此問題，如果確認偵測到黃化捲葉病病毒，詳細研究後將是保加利亞的新記錄病害。



帕扎爾吉克露天種植的番茄



塑膠布遮雨設施



設施內番茄栽培



當地番茄採收後狀況



另一設施內部
番茄栽培狀況



帕扎爾吉克當地具番茄黃化捲葉病徵的植株

9月4日，我們到保加利亞西南邊，靠近桑丹斯基(Sandanski)的 Darkata 拜訪作有機農業的農民。依據聯合國糧食及農業組織的資料，保加利亞有機農業的農地面積占有所有農地面積的 1%。我們拜訪的農戶有土地 120 公頃，種植茄科果菜類作物、豆科作物、馬鈴薯、紅蘿蔔、小葉菜類等，其中番茄與番椒種植在溫室內，溫室側面材料為玻璃，而上方是可打開的網子，溫室內為了能夠周年生產並縮短冬季的生產期，在冬季於溫室內進行加溫處理，為了進行受粉與病蟲害防治，農民能夠購買產品化的受粉蜂、有機農業病蟲害防治資材使用。這個有機農場生產的農產品價格為慣行農業價格的 3-4 倍，一大部份是在里拉山脈(Rila Mountains)與皮林山脈(Pirin Mountains)之間班斯科(Bansko)的 Moravsko 渡假村銷售，結合觀光渡假與在地農產，目前此渡假村在旅遊資訊網站獲得高度評價；另一部份農產品則在有機農業農產品的通路販售。



Darkata 有機栽培農民的玻璃溫室



農民有充足的工作空間放置植物幼苗、農機具及物流車



田間萵苣種植狀況



溫室內的番茄栽培與受粉蜂箱

六、心得與建議

1. 在茄科作物炭疽病的鑑定方面，保加利亞科學院植物生理與遺傳研究所已有相當的經驗，他們當地有臺灣所沒有的炭疽病物種，例如 *Colletotrichum coccodes*，並依炭疽病的多樣性開發 High-Resolution Melting 鑑定方法，未來可嘗試交流病原菌的核酸或序列，依所開發出來的測定方法作區分，另外，關於傳統認定之炭疽病物種 species complex 的區分，目前有許多學者著墨，未來雙方可持續合作交流，瞭解本地的病原菌多樣性。
2. 感染臺灣茄科作物的番茄黃化捲葉病有許多不同的種類，而我們在保加利亞當地發現疑似番茄黃化捲葉病的樣本，可能為當地的新病害，未來可透過臺灣本地的研究資料與保加利亞方面交流，取得新的學術資料。
3. 保加利亞方面因經濟狀況與政治或其他因素，投資在科學或農業研究的經費相對較少、研究人員的待遇對新進人員較不具吸引力，即便如此，研究人員仍然盡力向歐盟或其他國家爭取計畫，而且在有限的資源中仍努力拓展方向、產出成果，值得瞭解學習。本次與保加利亞合作交流已達成原先設定之目標，過程對等、互惠，在雙方互相瞭解後並無太大的困難，後續延伸出的主題包括交換之茄科作物品種適應性評估並作為育種材料、炭疽病菌與疫病菌等植物病原真菌特性分析及感染不同品種作物之狀況、感染茄科植物之病毒實驗方法、資訊交流與研究等，未來值得進一步交流或發展共同研究計畫。