2013 臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 060004

参展科別 植物學科

作品名稱 筆筒樹凋萎病防治法 -病原

Ophiodiaporthe cyathease sp. nov.拮抗菌

之篩選與應用

得獎獎項 四等獎

就讀學校 臺北市立建國高級中學

指導教師 傅春旭、魏宏仁

作者姓名 周郁勛、張博硯、郭芛宏

關 鍵 字 筆筒樹、拮抗作用

作者簡介



張博硯(左)、周郁勛(中)、郭芛宏(右)

大家好,我是周郁勛。從小就對生物有興趣,可惜不能常常做實驗,到了高一的時候,有了做科展的這個機會,終於能夠如願以償。在實際操作下,才發現實驗並不是想像中那麼容易,過程中有許多難題需要我們一一解決,好險有夥伴們一起。很高興能夠參加科展,向大家展示我們的心血。

大家好,我是張博硯。偶然機合下,讀了關於筆筒樹的介紹,著迷在優美的樹型身段,更驚愕於遍野的衰敗枯木。延續國中生物專題課培養的精神,在高中再一次動手做實驗,實地觀察與採集,增進愛惜萬物生命的態度。與夥伴們集思廣益,努力呈現最好的一面,順利完成作品,向大家分享我們的喜悅。能經歷以上種種,實為一大幸事。

大家好,我是郭芛宏,個性較沈默,常埋首於書卷中。國小時,因緣際會參加科展,因此喜歡參與科學研究,探索答案的過程。就讀江翠國中時,生物老師的專題實驗課是我最愛的課堂,從而對生命世界的精彩深深著迷。高中的專題研究,得以進入實驗室,在研究的過程中,與好夥伴一同學習更多的知識與技能,也很高興能在這次的科展分享我們的作品。

摘要

近年在台灣新發現的筆筒樹萎凋病,造成大量筆筒樹(Cyathea lepifera)枯萎死亡,對於此疾病的防治已成亟需解決的問題。先前的研究中,已確認病原菌為新屬真菌並命名為Ophiodiaporthe cyatheae sp. nov.。本研究則在於以生物交互作用方式進行防治,尋找拮抗菌,針對特性實際應用。

研究中因實驗素材與操作方法的差異分為細菌與真菌類拮抗菌兩大主軸,且皆成功自土壤中各分離出數種有應用潛力的拮抗菌。細菌方面,尋獲並經鑑定為Burkholderia gladioli,對於病原菌有良好抑制效果,然由於此菌本身安全性有疑慮,實用上仍有待商榷。真菌方面,拮抗菌以超寄生方式與快速的生長能力制伏了病原菌,期待透過比較消除病原菌的速度,篩選出其中最強大適切的拮抗菌種,運用於實際田間病殘株處理。

Abstract

Recently, the new discovered Cyathea lepifera languorous disease has caused huge amounts of Cyathea lepifera languor to death in Taiwan. Prevention of this disease has become an urgent problem to solve. In recent studies, the pathogen has been confirmed as a new genus of fungus which was named Ophiodiaporthe cyatheae sp. nov. Our research focuses on bio-control of this disease by bio-interactions, searching for antagonistic germs and actually applying these germs based on their properties.

Due to the differences between materials and operating, the experiments can be separated into two catalogs, antagonistic germs of bacteria and fungi. We have successfully separated several potential antagonistic germs. From the bacteria aspect, we found and confirmed a bacterium named Burkholderia gladioli, which inhibits the pathogen greatly. However, the safety of this bacterium is still under suspect, leaving problems to solve. On the other hand, antagonistic fungi can defeat the pathogen by hyperparasitism and the rapid growth. By comparing the speed of destroying the pathogens, the most powerful and appropriate antagonistic germ can be filtered, which can further be used in actual field processing.

壹、前言

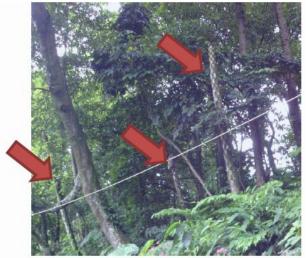
一、研究動機

筆筒樹是台灣、乃至世界上珍貴的大型樹蕨物種,在野生森林生態占一席之地。近年來從報導與實地觀察中,卻發現這重要的物種感染了前所未有的萎凋病,大片大片筆筒樹青翠的葉片,竟漸漸枯黃,直至失去生機、脫落,變成矗立林木間的枯槁枝幹。

閱讀科普書籍《新聞中的科學》後,我們認識了筆筒樹萎凋病這種新型 植物疾病。我們一向對於蕨類植物頗有興趣,又在野外目睹了疫情的嚴重, 訝異的同時,更覺身負防治病原的責任。希望能以實驗,採行大自然中可行 的生物防治方法—拮抗菌,有效應用,協助對疫情的控制。



圖一 健康筆筒樹

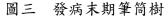


圖二 步道旁的死亡筆筒樹(箭頭處)

二、研究材料

本研究為取得筆筒樹病原菌,向陽明山天蕊農莊取得一株染病進程達中 末期的筆筒樹,觀察染病特徵與型態,並自病健部分離以及純化菌株。再由 專家檢視鑑定,確認與先前研究結果吻合,為病原菌 Ophiodiaporthe cyatheae sp. nov.。實驗中用於接種的筆筒樹來源則包括土城承天禪寺附近步道旁山坡地及烏來地區。土壤樣本以台北植物園、承天禪寺、台北象山等地步道為樣區,以鏟子取植物根部附近深度約1~5公分的土壤,以夾鏈袋密封帶回。其中每區各約取20個土壤樣本。







圖四 切取病健部



圖五 病原菌純菌 (Ophiodiaporthe cyatheae sp. nov.)

三、研究目的

自土壤中篩選拮抗菌,利用生物防治方式,應用於筆筒樹萎凋病之防治。

貳、研究方法或過程

一、研究儀器與試藥

無菌操作台(海天)

恆溫生長箱(SANYO MIR-254)

照相設備

PDA 培養基

WA 培養基

選擇性培養基

(培養基配製配方如附件一)

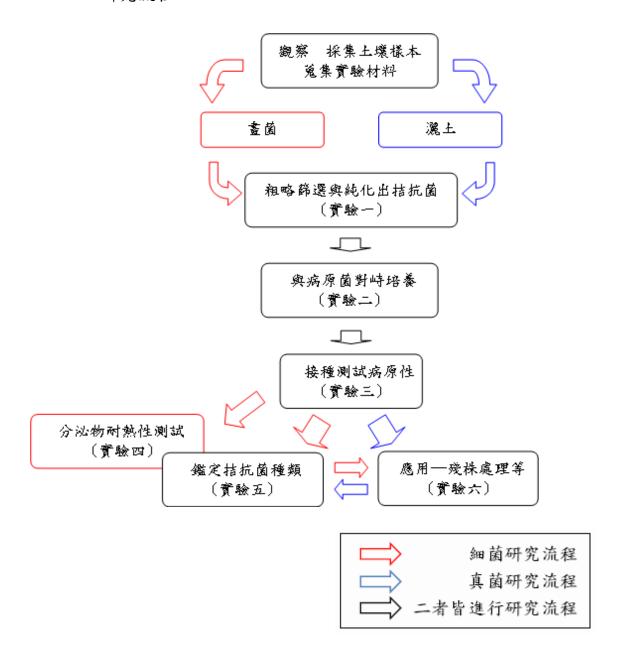


圖六 無菌操作台



圖七 恆溫生長箱

二、研究流程



三、研究方法

(一) 篩選拮抗菌

甲、 細菌拮抗菌

- 1. 秤取1公克新鮮土樣,加入10ml無菌水稀釋。
- 2. 以 0.5cm 打孔器取下病原菌絲尖端,接於 PDA 培養基一側,待 其生長到培養皿的三分之一左右。此過程約需四到六天。

- 3. 以接菌環沾土壤液,畫於培養基另一側,每種土樣畫兩皿。
- 4. 置入生長箱待其生長,觀察交互作用。
- 5. 選取有拮抗作用的細菌,純培養於 9cmPDA 培養基備用。

乙、 真菌拮抗菌



圖八 實驗一操作

- 把土樣置於空培養皿中,在陰涼處風乾。風乾後壓碎並過篩,取 土壤細碎部分。
- 2. 以 0.5cm 打孔器取下病原菌絲尖端,接於 PDA 培養基一側,待 其生長到培養皿的三分之一左右。此過程約需四到六天。
- 3. 秤取 0.10 克土樣,直線狀灑於培養基另一側,每種土樣灑兩皿。
- 4. 置入生長箱待其生長,觀察交互作用。
- 5. 選取有拮抗作用的真菌,以鑷子挑取孢子接至 WA 培養基。
- 6. 生長數天後,取菌絲部分,以PDA培養基純培養之後備用。

(二) 對峙培養病原菌與拮抗菌

甲、 細菌拮抗菌

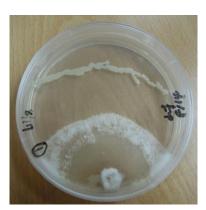
- 1. 以 0.5cm 打孔器將病原菌絲尖端取下,靠著器壁接於 9cmPDA 培養基上。
- 2. 數天後,選取病原菌絲已生長約 1.0~1.5cm 之培養基。
- 3. 以接菌環沾菌後在距病原菌絲前端 5cm 處畫弧,接入細菌拮抗

菌。

4. 每天記錄生長狀況,觀察交互作用或抑制的情形。

乙、 真菌拮抗菌

- 1. 以 0.5cm 打孔器將病原菌絲尖端取下,靠著器壁接於 9cmPDA 與 WA 培養基上。
- 2. 數天後,選取病原菌絲已生長約1.0~1.5cm之培養基。
- 3. 取新鮮菌絲尖端一小塊接於距離病原菌絲前端 5cm 處,接入真菌拮抗菌。
- 4. 每天記錄生長狀況,觀察交互作用或超寄生的情形。





圖九、實驗二操作(細菌、真菌)

(三)接種測試拮抗菌對於筆筒樹的病原性

甲、 細菌拮抗菌



圖十 實驗三操作(接種)

- 1. 將篩選出的細菌拮抗菌配置成10⁹個/ml 菌液。
- 2. 以小針筒注射 0.1ml 菌液於小棵筆筒樹頭部。
- 3. 另外取筆筒樹於頭部注入清水作為對照組。
- 4. 每組做四株筆筒樹,每二週記錄筆筒樹生長狀況。

乙、 真菌拮抗菌

- 1. 將篩選出的真菌拮抗菌配置成10⁶個/ml 孢子懸浮液。
- 2. 以小針筒注射 0.1ml 孢子懸浮液於小棵筆筒樹頭部。
- 3. 另外取筆筒樹於頭部注入清水作為對照組。
- 4. 每組做四株筆筒樹,每二週記錄筆筒樹生長狀況。

(四) 細菌拮抗菌分泌物質耐熱性測試



圖十一 實驗四操作

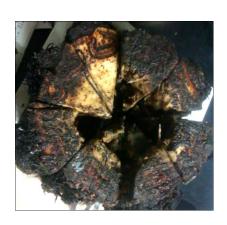
- 1. 取對峙培養實驗中拮抗菌與病原菌之間含抑制性分泌物的 PDA 培養基部分。
- 2. 以滅菌釜重新高溫高壓滅菌,製成小培養基。
- 3. 以純 PDA 培養基作為對照組。
- 4. 中央放置病原菌,一星期後觀察結果。

(五) 鑑定細菌拮抗菌種類

- 1. 將拮抗菌繼代畫菌培養後,郵寄至專業的實驗室。
- 2. 進行基因比序及測試實驗。

(六) 真菌拮抗菌殘株處理

- 1. 取筆筒樹殘塊病健部一層,分割為大小約 10x10x5 立方公分殘塊。
- 搭配選擇性培養基,對分割後殘塊分離病原菌,取可分離出病原菌的殘塊進行實驗。
- 3. 將篩選出的真菌調配成10⁶個孢子/ml 的孢子懸浮液。以清水作 為對照組。
- 均勻噴灑孢子懸浮液於筆筒樹殘塊,以塑膠袋密封,置於空曠室外地。
- 每兩星期以選擇性培養基分離一次,每組做四塊,觀察分離率變化。
- 6. 當連續三次分離率皆為 0 時,視為病原菌已被消滅。

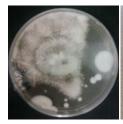




圖十二 實驗六操作(殘塊裁切、分離)

參、研究結果與討論

一、篩選拮抗菌





圖十三 篩選拮抗菌實驗結果 (細菌、真菌)

我們觀察到某些細菌冒出的位置周圍,具有小小一圈病原菌沒有生長的部分。推測可能是因為細菌會分泌能抑制病原菌的物質,或者有可能是細菌已先一步將其周圍培養基的養分耗盡,以致病原菌不易生長。總計挑選出8株細菌。

真菌部分,從土壤長出了各種各樣的真菌。一些種類生長速度迅速,與病原菌接觸後覆蓋到病原菌的上方,使病原菌無法向前行。原因可能由於此類真菌確實會對病原菌產生超寄生的交互作用,也可能是生長速度快速,亦造成病原菌無養分可用而裹足不前,沒有寄生,而是競爭的關係。計挑選有39株真菌。

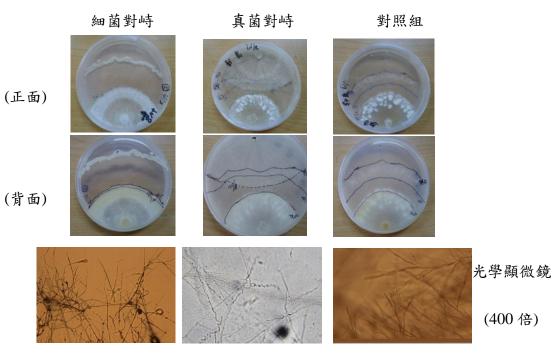
二、對峙培養病原菌與拮抗菌

對於前一實驗初步篩選出的菌種,本實驗可以更清楚明白與病原菌的交 互關係,進一步確定是否具有拮抗性。

我們觀察到,有部分細菌在對峙培養時,無法有效遏止病原菌的前進,直到兩者發生交疊,病原菌皆暢行無阻,影響效果並不理想。但有些細菌株在畫菌之後,明顯觀察到病原菌的生長速率減緩,至於停止,數日後甚至開始萎縮消退,空出透明的培養皿。我們以顯微鏡觀察,發現相較於正常對照組的菌絲型態,這些實驗組病原菌菌絲前端的部分較細而萎縮,表現不健康的狀態。我們因而推測這些細菌正是可以分泌有效化學物質達到抑制病原菌

效果者,是為細菌拮抗菌,共計四株。

採用不同營養成分的培養皿共做了兩次真菌對峙培養實驗,其中在PDA培養基上,實驗菌種生長快速,實驗時程短,但菌絲濃密不易觀察。以WA培養基,生長速度較緩,菌絲較稀薄,卻讓我們更容易釐清其間作用。顯微鏡下,我們看見真菌種菌絲纏繞住病原菌菌絲,即超寄生,對於消滅與清除病原菌具一定能力。然而,先前雖構想自在此實驗中比較出各株真菌間的優劣,卻發現生長速率在伯仲之間,故需後續實驗一分高下。



圖十四 對峙培養實驗結果

三、接種測試拮抗菌對於筆筒樹的病原性

將拮抗菌實際應用是我們的目標,故其本身對筆筒樹的病原性是重要決定因素。若拮抗菌本身即對筆筒樹具有病原性,則該拮抗菌應用的作用及範圍都將受到限制。

四株細菌對於病原菌有很好的抑制效果,在此實驗中,我們觀察到接種細菌拮抗菌的筆筒樹並未如生病的筆筒樹一樣枯萎凋零,和對照組無異,對

筆筒樹無病原性。

我們挑選出四株真菌進行實驗。經過實驗之後,筆筒樹群均未有太大變 化,可以排除這幾株真菌的病原性。

此結果更強化二者可以實際利用的潛力



圖十五 測試病原性實驗結果

四、細菌拮抗菌分泌物質耐熱性測試

對峙培養實驗中有效的四株細菌拮抗菌皆抑制了病原菌的生長,推測是由細菌的分泌物造成此現象。故從培養基取細菌本體外、抑菌圈內的空白區域,加熱再製成小培養基,接入病原菌做測試。我們發現全部的病原菌都無法生長,表示此種分泌物質具有耐熱性。這項結果再度確定了病原菌的停止生長是由於細菌的分泌物所致,也讓我們了解此物質的耐熱度強,後續運用操作上能有更佳的彈性。另外在防治上,若有效成分具有耐熱的穩定性,製程中較不易受到破壞,能夠更方便的製成生物制劑。



圖十六 耐熱性測試實驗結果

五、鑑定拮抗菌種類

篩選而得細菌的拮抗菌品種,我們送交<u>謝奉家</u>實驗室鑑定後,確認四株細菌拮抗菌皆為同一菌種 Burkholderia gladioli(鑑定報告如附件二)。

由文獻得知,伯克氏菌屬在農業方面可作為生物降解、生物控制及促進 植物生長之根圈微生物。然而此屬某些品種對於動物或人體可能具有潛在威 脅性,所以對於應用此種拮抗菌的適切性尚待評估,須請教相關專家學者, 確認實際運用是否可行。我們自此結果得到一次教訓,合適的生物制劑,除 了具有拮抗效果外,更需注意使用上的安全。對於環境以及人體的影響,不 得不謹慎以對!

六、真菌拮抗菌殘株處理

取得殘株之後,我們將樹幹病健部一層切割成八小塊。初步分離結果中, 八塊裡有六塊成功利用選擇性培養基分離出了病原菌,可以進行實驗,也驗 證選擇性培養基的配置與實驗方法無誤。

雖然我們已盡力加快實驗進程,由於筆筒樹殘株取得之不易,以致一再 延宕,至此,本實驗尚未完成最終結果。但預期添加拮抗菌之實驗組,病原 菌將早一步消失,是優於對照組的殘株處理的方式。另外也可以比較出各拮 抗菌間的優劣。

肆、結論與應用

一、結論

從土壤中分離得細菌及真菌拮抗菌,並證實對病原菌皆具有良好拮抗性。

- 2. 篩選所得的細菌拮抗菌以分泌物質抑制病原菌的生長。此物質可以耐熱,且對筆筒樹無病原性經確認為 Burkholderia gladioli。然此拮抗菌本身的潛在威脅性未明。另外,可評估與嘗試單獨萃取有效成分,進行防治。
- 篩選所得的真菌拮抗菌以超寄生方式與強勢的生長能力成為病原菌的則星,且對筆筒樹無病原性。預期可以應用在殘株處理上。

二、應用

我們從細菌拮抗菌分離出的分泌物質在製成生物制劑方面有很大的希望, 然而其菌種對於人類或是環境影響的不確定性卻阻礙此物質的發展可能。若 能分析其成分,單獨提取其中有效部分,相信能夠直接應用在萎凋病的防治 上。

爆發病情至今已有大量筆筒樹死亡,當前處理死亡的殘株時是以黑色塑 膠袋包裹並曝曬的方式,需要耗時近半年才能消滅上面的病原菌。若實驗成 功,能夠直接減少需要的時間,得以縮減不少人物力成本,亦不失為符合環 保原則的作法。

伍、參考文獻

- 异文希 《植物病理學》再版 臺北市 茂昌圖書有限公司 p.19~50、
 p.319~341 1986 年
- 郭城孟 《台灣維管束植物簡誌【第壹卷】》初版 臺北市 行政院農業委員會 1999 年
- 3. 傅春旭等人 2012 年 台灣筆筒樹萎凋之研究(簡報資料)
- 4. 傅春旭 2012 年 筆筒樹萎凋病病原鑑定及監測調查(簡報資料)
- 5. 傅春旭 2011 年 樹木褐根病防治之研究(簡報資料)
- 6. 聯合報教育版撰文 《新聞中的科學 6》-〈全台傳疫情! 二級保育筆筒樹 恐滅絕〉初版 臺北市 寶瓶文化 2011 年

附件一 培養基配置方式

一、PDA 培養基

- 1. Potato Dextrose Agar 15.6g + 蒸餾水 400mL。
- 2. 置入滅菌釜以 120℃ 加熱 40 分鐘。
- 3. 待其降溫至約 50~60°C 後分裝至 9cm 培養皿 30 皿中。
- 4. 冷卻凝固後裝袋備用。

二、WA 培養基

- 1. Agar 4g + 蒸餾水 400mL。
- 2. 置入滅菌釜以120℃加熱40分鐘。
- 3. 待其降溫至約 50~60°C 後分裝至 9cm 培養皿 30 皿中。
- 4. 冷卻凝固後裝袋備用。

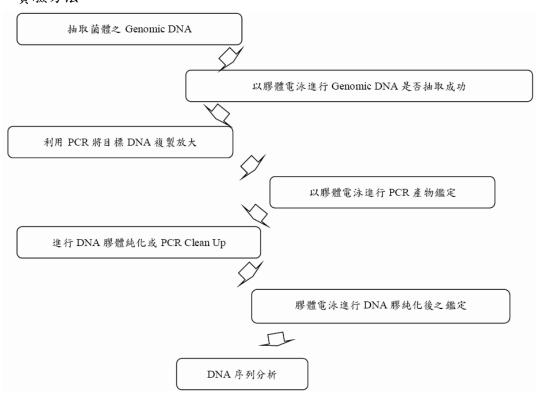
三、選擇性培養基

- 1. Potato Dextrose Agar 15.6g + 蒸餾水 400mL。
- 2. 置入滅菌釜以 120℃ 加熱 40 分鐘。
- 3. 待其降溫至約 50~60°C 後,加入殺紋寧、賽座滅、滅芬農各 1mL(稀釋 4000 倍)以及硫腈客敏 1g 和 Ampicillin 4g。
- 4. 分裝至 9cm 培養皿 30 皿中。
- 5. 冷卻凝固後裝袋備用。

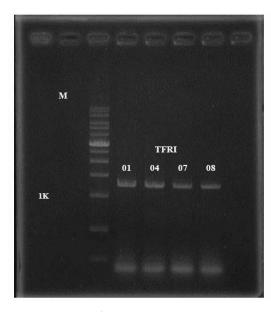
附件二 謝奉家博士實驗室細菌拮抗菌鑑定報告

篩獲 4 株菌株以 gyrB 基因初步比對與菌種鑑定(節錄)

實驗方法



實驗結果



圖一 以PCR 技術將目標 DNA 複製放大進行膠體電泳確認目標 DNA 約為 1.2 kb

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> <u>score</u>	<u>Query</u> coverage	△ <u>E</u> <u>value</u>	<u>Max</u> <u>ident</u>
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequenc	1799	1883	90%	0.0	96%
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequenc	1395	1474	90%	0.0	90%
AY996876.1	Burkholderia multivorans strain FCF11 GyrB (gyrB) gene, par	1236	1236	85%	0.0	88%
CP000570.1	Burkholderia pseudomallei 668 chromosome I, complete sequ	1234	1317	79%	0.0	90%
CP000086.1	Burkholderia thailandensis E264 chromosome I, complete se	1230	1313	84%	0.0	88%

圖二、TFRI-01 _gyrB-44R NCBI BLAST

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> <u>score</u>	<u>Query</u> coverage	<u>∆ E</u> <u>value</u>	<u>Max</u> <u>ident</u>
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequenc	2017	2090	92%	0.0	98%
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequenc	1618	1686	92%	0.0	92%
AY996876.1	Burkholderia multivorans strain FCF11 GyrB (gyrB) gene, par	1424	1424	92%	0.0	89%
CP000570.1	Burkholderia pseudomallei 668 chromosome I, complete sequ	1419	1490	92%	0.0	89%
AY987924.1	Burkholderia dolosa strain LMG 18942 GyrB (gyrB) gene, par	1413	1413	92%	0.0	89%

圖三、TFRI-01_gyrB-41F NCBI BLAST

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> score	<u>Query</u> <u>coverage</u>	△ <u>E</u> value	<u>Max</u> <u>ident</u>
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequenc	1807	1891	91%	0.0	96%
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequenc	1419	1498	91%	0.0	90%
CP000570.1	Burkholderia pseudomallei 668 chromosome I, complete sequ	1254	1337	84%	0.0	89%
CP000086.1	Burkholderia thailandensis E264 chromosome I, complete se	1254	1337	84%	0.0	89%
CP003781.1	Burkholderia pseudomallei BPC006 chromosome I, complete	1249	1331	84%	0.0	89%

圖四、TFRI-04_gyrB-44R NCBI BLAST

Sequences producing significant alignments:

Sequences producing significant diliginitents.								
Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> score	<u>Query</u> <u>coverage</u>	$\triangle \frac{E}{\text{value}}$	<u>Max</u> <u>ident</u>		
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequenc	1982	1982	93%	0.0	98%		
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequenc	<u>1567</u>	1567	91%	0.0	92%		
AB220893.1	Burkholderia gladioli gyrB for DNA gyrase subunit B, partial c	1406	1406	62%	0.0	99%		
AB190639.1	Burkholderia gladioli gene for DNA gyrase subunit B, partial (1400	1400	62%	0.0	99%		
AB239178.1	Burkholderia gladioli gyrB gene for DNA gyrase subunit B, pa	1395	1395	62%	0.0	99%		

圖 五 、TFRI-04 _gyrB-41F NCBI BLA

Sequences producing significant alignments:

Sequences producing significant dilginilents.								
Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> score	<u>Query</u> <u>coverage</u>	$\triangle \frac{E}{\text{value}}$	<u>Max</u> <u>ident</u>		
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequenc	1733	1817	86%	0.0	96%		
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequenc	1384	1462	86%	0.0	90%		
CP000570.1	Burkholderia pseudomallei 668 chromosome I, complete sequ	1266	1348	78%	0.0	90%		
CP003781.1	Burkholderia pseudomallei BPC006 chromosome I, complete	1260	1342	78%	0.0	90%		
CP000124.1	Burkholderia pseudomallei 1710b chromosome I, complete se	1260	1342	78%	0.0	90%		

圖六、TFRI-07_gyrB-44R NCBI BLAST

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> score	<u>Query</u> <u>coverage</u>	$\triangle \frac{E}{\text{value}}$	<u>Max</u> <u>ident</u>
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequenc	1792	1876	86%	0.0	97%
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequenc	1415	1494	86%	0.0	91%
CP000570.1	Burkholderia pseudomallei 668 chromosome I, complete sequ	1266	1348	86%	0.0	88%
CP000086.1	Burkholderia thailandensis E264 chromosome I, complete se	1266	1348	86%	0.0	88%
CP003781.1	Burkholderia pseudomallei BPC006 chromosome I, complete	1254	1337	86%	0.0	88%

圖七、TFRI-07_gyrB-41F NCBI BLA

Sequences producing significant alignments:

Dequences producing significant anguments						
Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> <u>score</u>	<u>Query</u> coverage	$\triangle \frac{E}{\text{value}}$	<u>Max</u> <u>ident</u>
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequence	1792	1876	86%	0.0	97%
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequence	1415	1494	86%	0.0	91%
CP000570.1	Burkholderia pseudomallei 668 chromosome I, complete sequence	1266	1348	86%	0.0	88%
CP000086.1	Burkholderia thailandensis E264 chromosome I, complete sequence	1266	1348	86%	0.0	88%
CP003781.1	Burkholderia pseudomallei BPC006 chromosome I, complete sequence	1254	1337	86%	0.0	88%

圖八、TFRI-08_gyrB-44R NCBI BLAST

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	<u>Max</u> score	<u>Total</u> score	<u>Query</u> <u>coverage</u>	△ <u>E</u> value	<u>Max</u> <u>ident</u>
CP002599.1	Burkholderia gladioli BSR3 chromosome 1, complete sequenc	1895	1895	89%	0.0	98%
CP001503.2	Burkholderia glumae BGR1 chromosome 1, complete sequenc	<u>1502</u>	1502	89%	0.0	92%
AB220893.1	Burkholderia gladioli gyrB for DNA gyrase subunit B, partial c	1406	1406	63%	0.0	99%
AB190639.1	Burkholderia gladioli gene for DNA gyrase subunit B, partial (1400	1400	63%	0.0	99%
AB239178.1	Burkholderia gladioli gyrB gene for DNA gyrase subunit B, pa	1395	1395	63%	0.0	99%

圖九、TFRI-08_gyrB-41F NCBIBLA

評語

研究主題有助於解決台灣本地筆筒樹的凋萎病問題,且已篩有候選菌種,但 仍需有較完整的後續探討,方能確知有效成分及實際應用的可行性。