

土壤放線菌與忌避植物於番石榴病害防治之應用

周浩平¹、陳昱初²

摘 要

番石榴病害種類繁多，且往往嚴重影響果實品質與產量。其中以立枯病及根瘤線蟲為目前番石榴栽培產業之最大限制因子，且尚未有合法登記之防治藥劑可供使用。農友在發覺植株異常時，往往已無法有效控制病害之發生及蔓延。本研究擬開發番石榴立枯病及根瘤線蟲之非農藥防治技術及管理模式，並進行田間試驗後以評估防治效果。本研究開發之放線菌(*Streptomyces saraceticus* KH400)固態介質，可施用於果樹根圈，亦可加水浸泡後進行修枝剪消毒，2010-2011 年間進行田間試驗，經 18 個月分之試驗與調查統計結果顯示土壤及修枝剪經放線菌處理後，立枯病罹病度僅 6.7%，相較農友慣行之修枝剪酒精消毒處理組(27.8%)與未處理對照組(48.5%)具有顯著之差異，而應用放線菌進行修枝剪消毒之處理組(22.6%)與修枝剪酒精消毒處理組(27.8%)彼此間則無顯著之差異；此一介質對根瘤線蟲防治效果亦佳，嚴重罹患根瘤線蟲之番石榴植株根圈經放線菌處理後，根瘤線蟲密度可由每 100 公克土壤 112 隻二齡幼蟲降至 27 隻二齡幼蟲，效果顯著；此外亦開發萬壽菊忌避植物栽培模式，導入萬壽菊栽培之番石榴果園，根瘤線蟲密度已由原來每 100 公克土壤 128 隻二齡幼蟲降至 32 隻二齡幼蟲，上述微生物防治技術目前於高雄大社、燕巢等地區之番石榴果園已有具體防治效果，未來持續評估其成效，並適時配合田間衛生管理、化學藥劑或其他非農藥資材應用，預期可控制疫情發生，達成病害綜合管理之目標。

關鍵語：番石榴立枯病、根瘤線蟲、放線菌、萬壽菊、綜合管理

前 言

番石榴為台灣重要經濟果樹之一。依據 99 年農業統計年報記載，台灣種植面積已達 7,164 公頃，產量 167,009 公噸，目前以高屏地區栽培面積最廣，占 2,976 公頃，台南地區占 1,600 公頃次之，中部地區以彰化縣栽培面積為 1,235 公頃最多，北部地區則以宜蘭縣栽培 287 公頃最多。台灣地區氣候高溫多濕，適合各種病害的發生與蔓延，番石榴生育期主要發生的病害有炭疽病(*Colletotrichum gloeosporioides* Penzig, Anthracnose)、黑星病

^{1,2}高雄區農業改良場作物環境課助理研究員及副研究員

(*Phyllosticta psidijcola*, Black spot)、瘡痂病(*Pestalotia psidii*, Guava scab)、番石榴立枯病(*Nalanthamala psidii*, Guava wilt)、疫病(*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, Fruit rot)、枝枯病(*Fusarium semitectum*等多種病原, Shoot blight)煤煙病(*Meliola psidii*等多種病原, Sooty moulds);藻斑病(*Cephlaeurops virescens* Kunze, Algal spot)以及根瘤線蟲(*Meloidogyne incognita*, Root knot nematode)等^(1,2,5,10,12)，其中以立枯病及根瘤線蟲為目前番石榴栽培產業之最大限制因子^(15,16)。

影響病害發生的環境因子包括溫度、濕度、果園通風、光照及土壤等，除影響病原微生物的生長、繁殖及殘存外，亦影響植株的生育，生長勢越強健的植株，對病害的抵抗力也會較高⁽¹³⁾。不同的病原微生物均有其不同的生長條件，關係著病害的發生及嚴重度。果農於番石榴發生病蟲害問題時，因缺少適當防治方法可供利用而頗感困擾。因此本試驗主要就番石榴立枯病與根瘤線蟲開發有效之非農藥防治方法，俾利農友進行病害防治工作，減少損失。

材料與方法

一、供試菌株來源

有益微生物菌株來源主要自高屏地區栽培番石榴、蜜棗、辣椒、甘藍、萵苣、小白菜、菠菜、番茄、絲瓜、洋蔥、苦瓜、茄子、波斯菊與紅豆等作物之土壤及本場旗南分場之堆肥介質(2008-2011年間採集)；番石榴立枯病供試菌株則採集自高雄市燕巢區番石榴果園(NP05-NP11)以及國立台灣大學植物病理暨微生物學系沈偉強副教授所提供(NP01-NP04)。

二、放線菌篩選與鑑定

前述篩選所得之土壤微生物以放線菌培養基質(Actinomycete isolation Agar: Sodium caseinate 2 g/L, L-Asparagine 0.1 g/L, Sodium propionate 4 g/L, Dipotassium phosphate 0.5 g/L, Magnesium sulfate 0.1 g/L, Agar 15 g/L, final pH 7.0-8.0)篩選，再以番石榴立枯病菌株(NP01-NP11)於馬鈴薯瓊脂培養基(Potatosucrose agar, PSA)平板上以菌液圓盤法(paper disc)測試篩選出拮抗放線菌株^(3,7,11)，並送財團法人食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心進行鑑定。

三、放線菌增效基質製備與保存

放線菌之增量配方為利用農業廢棄物與穀物，包括大麥、玉米粉、黃豆、蚵殼粉、蝦蟹殼粉等天然物質^(3,4,6,7)，依不同比例混合測試放線菌生長情形，並開發出配方最適混合比例，同時調整pH值，以確認放線菌最佳生長條件，

找出配方最適比例，培養配方調製完成，即進行有益微生物增量，放線菌增量後為固態粉狀，即以 4°C 冷藏保存，使用時以市售泥炭土為基底直接進行混合稀釋，試驗處理之放線菌固態介質稀釋倍數為 200 倍⁽¹³⁾，接種量為 500 公克/株。

四、應用萬壽菊防治番石榴根瘤線蟲

萬壽菊種子品種為「金蜂」，購自屏東縣里港鄉穗耕種苗公司，以施灑之方式種植於番石榴樹幹基部處，每株番石榴植株施灑 50 公克之萬壽菊種子，另設置未栽植對照區，並比較蟲數消長作為評估防治效果。

五、改良型柏門氏漏斗線蟲分離法(modified Baermann's funnel method)

以 100 公克土壤或介質為單位，於 60 孔目網篩上，靜置清水 24 小時後，將指形管中收集之線蟲倒入鏡檢皿中檢視二齡幼蟲之數量^(1,11)。

六、試驗田選擇、規劃及調查方式

選定高雄市燕巢區、大社區之番石榴果園各一區，分別進行番石榴立枯病與根瘤線蟲之防治試驗。番石榴立枯病防治試驗分為五種處理(A.放線菌土壤處理、B.放線菌修枝剪處理、C.放線菌土壤處理+修枝剪處理、D.修枝剪 70%酒精消毒、E.未處理對照組)。每種處理進行三重複試驗，每重複 15 棵植株，每月調查植株發病情形，疑似發病者加以傷口處及土壤進行立枯病菌分離，就病徵表現(正常植株、下位葉變紅褐色、葉片黃化、葉片數漸少、全株枯萎等)將罹病指數分為 0 至 4 級(圖 1)，以罹病株數/總株數做為發病率，做為評估指標；根瘤線蟲則分為二種處理(A.放線菌土壤處理、B.未處理對照組)，並按月採集番石榴根圍土壤，配合改良型柏門氏漏斗線蟲分離法進行根瘤線蟲二齡幼蟲數計數(單位為蟲數/100 公克土壤)，依據蟲數消長作為評估指標。

七、統計分析

罹病指數區分如下^(12,15,16)：正常植株 0 級、下位葉變紅褐色 1 級、葉片黃化 2 級、葉片數漸少 3 級、全株枯萎 4 級等(圖 1)，並依下列公式算出罹病度：

$$\text{罹病度}(\%) = \frac{\sum(\text{指數} \times \text{該指數罹病株數})}{(4 \times \text{總調查株數})} \times 100$$

利用 SPSS V.17 統計數據，經變方分析(Analysis of Variance, ANOVA)進行顯著性測驗，再以費雪 LSD 法(Fisher Least Significant Difference)進行處理間平均值檢定，進行各處理平均值間的差異顯著性測驗，在 $p \leq 0.05$ 時視為差異顯著，以了解處理間之相關性。



圖 1. 番石榴立枯病罹病指數分級，正常植株 0 級、下位葉變紅褐色 1 級、葉片黃化 2 級、葉片數漸少 3 級、全株枯萎 4 級(由左至右)

Fig 1. The index of guava wilt, 0 : normal plant, 1 : Turning red-brown of lower leaves, 2 : yellowing of leaves, 3 : Diminishing of leaf numbers, 4: Wilting of entire plant.(from left to right)

結果與討論

一、有益微生物分離、篩選與鑑定

2008-2011 年間自高屏地區栽培番石榴、蜜棗、辣椒、甘藍、萵苣、小白菜、菠菜、番茄、絲瓜、洋蔥、苦瓜、茄子、波斯菊與紅豆等作物之土壤及本場旗南分場之堆肥成品分離得土壤微生物菌株共計 457 株 (KH1-KH457)，經放線菌培養基質 (Actinomycete isolation Agar) 與番石榴立枯病菌拮抗試驗篩選後，獲得拮抗放線菌 7 株，送食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心鑑定後，分別為 *Streptomyces lydicus* KH46、*S. coelicolor* KH269、*S. saraceticus* KH331、*S. saraceticus* KH400 以及其他株 *Streptomyces* 屬的拮抗細菌(表 1)，其中以以 *S. saraceticus* KH400 菌株針對番石榴立枯病具有最佳之拮抗效果(圖 2)，平均抑制距離可達 1.8cm。

表 1. 針對番石榴立枯病菌 (*Nalanthamala psidii*, Guava wilt) 具有拮抗效果之放線菌株

Table 1. Strains of actinomycetes antagonistic to *Nalanthamala psidii*.

Actinomycetes strains	Radius of Inhibitory zone(cm)				Average (cm)
	I ¹	II ¹	III ¹	IV ¹	
<i>Streptomyces lydicus</i> KH46	1.1	1.3	0.8	1.0	1.05
<i>S. coelicolor</i> KH269	1.4	1.6	1.6	1.5	1.53
<i>S. saraceticus</i> KH331	1.5	1.7	1.7	1.6	1.63
<i>S. saraceticus</i> KH400	1.6	1.8	2.0	1.8	1.80
<i>Streptomyces</i> spp.	1.2	1.0	0.8	1.0	1.00
<i>Streptomyces</i> spp.	1.2	1.1	0.8	0.9	1.00
<i>Streptomyces</i> spp.	0.7	1.1	1.0	1.0	0.95

¹ Means repeat experiments.



圖 2. 應用放線菌培養基質可自土壤中直接篩選出放線菌(左)，其中 *S. saraceticus* KH400 菌株針對番石榴立枯病具有最佳之拮抗效果，平均抑制距離可達 1.8cm(右)

Fig 2. Actinomycetes could be isolated by Actinomycete isolation agar(Left), the best antagonistic effect to *Nalanthamala psidii* is *S. saraceticus* KH400 strains, the average inhibition zone is up to 1.8cm.(Right)

二、放線菌增效基質製備與保存

本研究擬以 *Streptomyces saraceticus* KH400 菌株配合增效配方，建立非無菌固態增量(Non-sterile solid propagation system, NSSPS)培養系統，增效配方包括大麥、黃豆、蚵殼粉、蝦蟹殼粉等天然物質，並以建立最適混合比例及pH值，分別為大麥 3%、玉米粉 3%、黃豆 2%、蚵殼粉 0.6%、蝦蟹殼粉 0.5%等，並可有效增進放線菌生長及產孢效率。此固態配方與放線菌於非無菌培養下，以 10^8 cfu/ml之接種濃度、pH 7.2 為最佳生長模式，培養 6 天後可獲得高達 1.9×10^{11} cfu/ml之菌量(圖 3)，增量完成之放線菌固態介質(圖 4)可直接保存於 4°C 備用。

圖 3. 放線菌 *S. saraceticus* KH400 菌株如以 10^8 cfu/ml之接種濃度、pH 7.2 環境下，以增效配方培養 6 天後可獲得高達 1.9×10^{11} cfu/ml之菌量。

Fig 3. The population of *S. saraceticus* KH400 strain was up to 1.9×10^{11} cfu/ml when inoculation of 10^8 cfu/ml with pH 7.2 for 6 days.

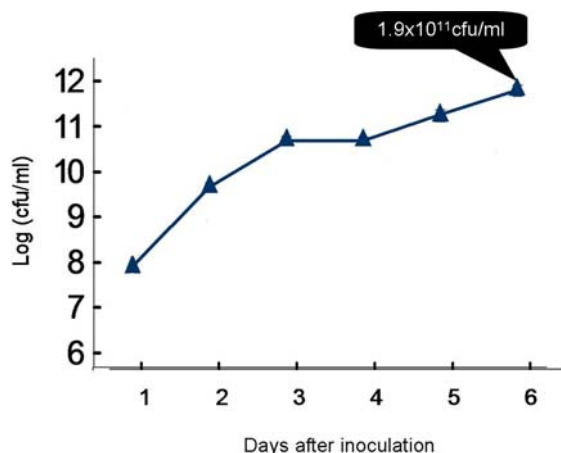




圖 4. *S. saraceticus* KH400 放線菌應用增效配方量產後呈現白色固態粉狀
 Fig 4. The white solid-state powder on growing medium after production of *S. saraceticus* KH400.

三、應用放線菌 *S. saraceticus* KH400 固態介質防治番石榴立枯病

經 18 個月分(2010.06-2011.11)之試驗與數據分析結果，顯示土壤及植株修剪經放線菌處理後，立枯病罹病度僅約 6.7%，相較農友慣行之修枝剪酒精消毒處理組(27.8%)與未處理對照組(48.5%)具有顯著之差異(圖 5)，此外 2010 年 9 月下旬以及 2011 年 8 月下旬分別有凡那比以及南瑪都等颱風侵台，對番石榴立枯病發病率具有大幅助長之情形，在枝條修剪處甚至可見番石榴立枯病菌孢子著生(圖 6)，但處理 C 發病率仍較低，顯示土壤處理亦能有效抑制番石榴立枯病發病，此研究亦顯示番石榴立枯病菌由土壤中侵入感染之可能性，故農友日後在進行立枯病防治亦須同時針對土壤著手進行防治工作。

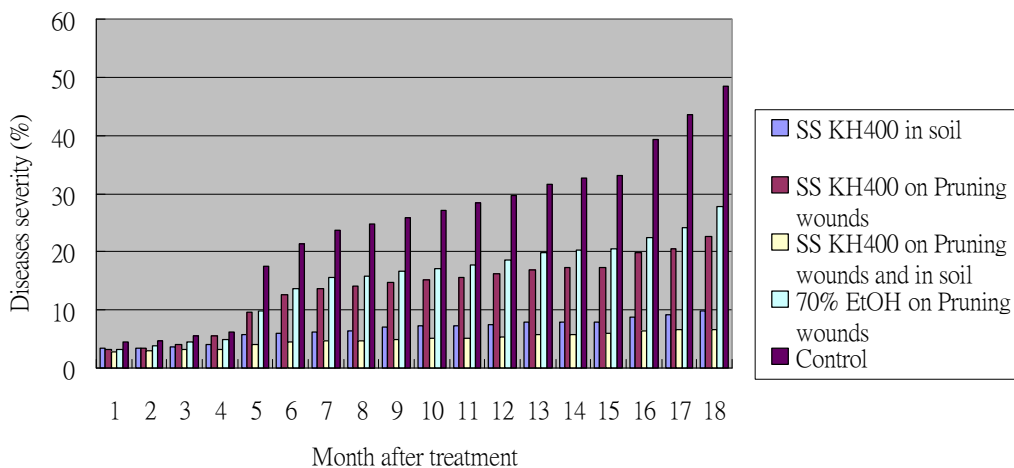


圖 5. 不同月份各處理間番石榴立枯病罹病度變化情形(數值為 3 重複平均值)
 Fig 5. The Diseases severity of guava wilt by different months(n=3).



圖 6. 颱風過後番石榴修剪枝條處可見番石榴立枯病菌之菌絲及孢子著生
Fig 6. Generation of mycelia and spores of *Nalanthamala psidii* on pruning wounds after typhoon.

四、應用放線菌 *S. saraceticus* KH400 固態介質防治番石榴根瘤線蟲

經 18 個月(2010.06-2011.11)之試驗與數據分析結果，顯示土壤經放線菌處理後，可大幅降低根瘤線蟲二齡幼蟲密度。2010 年 6 月於大社區試驗果園採集土壤分析結果，根瘤線蟲二齡幼蟲密度達每 100 公克土壤 112 隻二齡幼蟲，植株樹幹基部處可見膨大之結瘤情形(圖 7)，顯示根瘤線蟲發生已相當嚴重，果園內植株大多已出現黃化生長不良之情形，經每月一次放線菌施用及調查，至 2011 年 11 月份根瘤線蟲二齡幼蟲密度已降至每 100 公克土壤 27 隻二齡幼蟲(圖 8)，植株亦恢復生機，與對照組每 100 公克土壤 117 隻二齡幼蟲相較下有顯著差異，亦較原來蟲體密度降低約 3 倍，而根據試驗數據顯示，蟲體密度有逐月份下降之趨勢，未來將持續調查，蟲體密度應可降至



圖 7. 番石榴樹幹基部之膨大之結瘤情形
Fig 7. Nodulation and enlargement on the crown of guava.

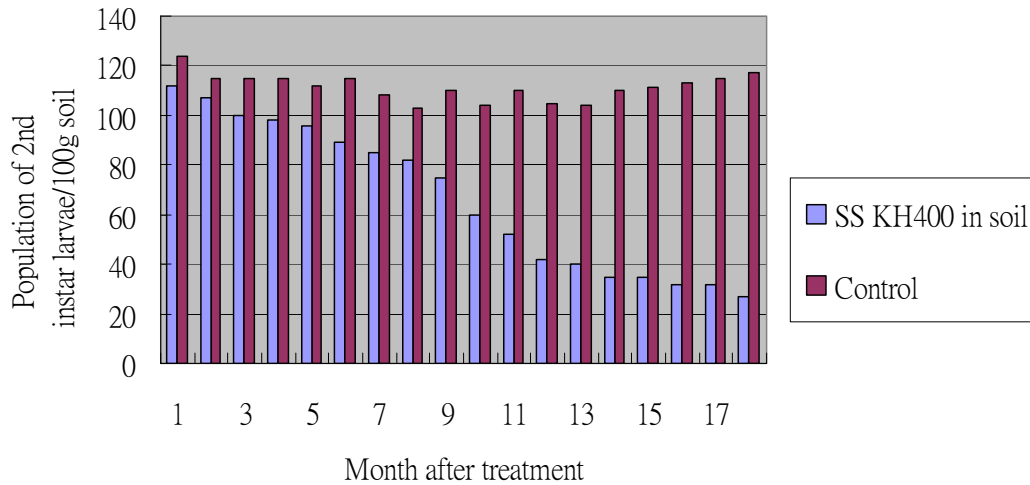


圖 8. 不同月份各處理間番石榴根瘤線蟲二齡幼蟲族群變化情形

Fig 8. The population of root knot nematode at 2nd instar larvae by different months

危害水平之下。由於放線菌能夠分泌出幾丁質分解酵素，而線蟲的體壁及蟲卵的主要成分正是幾丁質，因此推測放線菌能夠分解線蟲或其蟲卵，達到防治線蟲的效果^(3,4,6,7,11)，故經由試驗結果證明放線菌確有防治土壤線蟲之潛力。

五、應用萬壽菊防治番石榴根瘤線蟲(圖 9)

經 18 個月分(2010.06-2011.11)之試驗與數據分析結果，顯示萬壽菊栽培可大幅降低根瘤線蟲二齡幼蟲密度，2010 年 6 月於大社區試驗果園採集土壤分析結果，根瘤線蟲二齡幼蟲密度達每 100 公克土壤 128 隻二齡幼蟲，顯示根瘤線蟲發生已相當嚴重，果園內植株大多已出現黃化生長不良之情形，經萬壽菊栽培後，至 2011 年 11 月份根瘤線蟲二齡幼蟲密度已降至每 100 公克土壤 32 隻二齡幼蟲(圖 10)，與對照組每 100 公克土壤 135 隻二齡幼蟲相較下有顯著差異，經由試驗結果證明萬壽菊確有防治土壤線蟲之潛力。



圖 9.應用萬壽菊防治番石榴根瘤線蟲，左方為對照區，右方為萬壽菊栽培區
 Fig 9. Application of African marigold to control root-knot nematode of guava, The left is control area and the right is African marigold cultivation area.

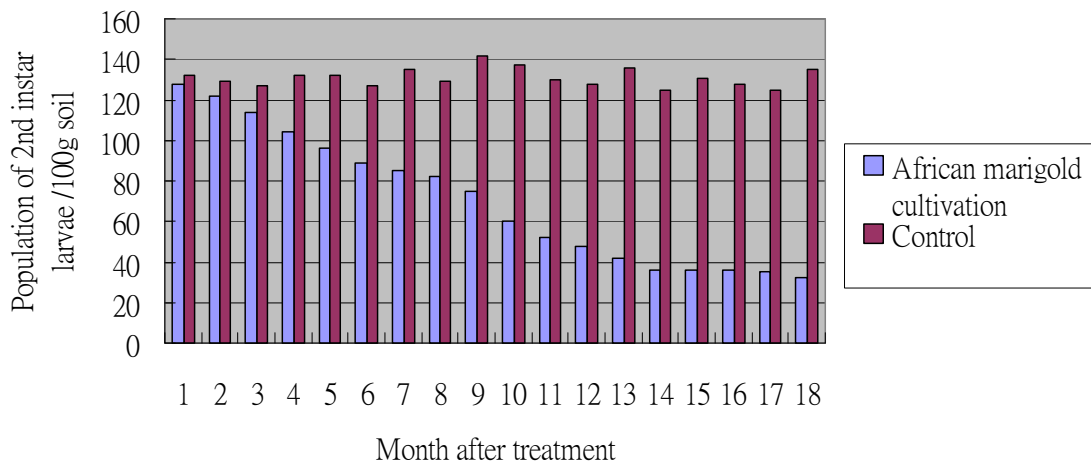


圖 10. 不同月份各處理間番石榴根瘤線蟲二齡幼蟲族群變化情形
 Fig 10. The population of root knot nematode at 2nd instar larvae by different months.

參考文獻

1. 王國強. 1989.臺灣的根瘤線蟲病害. P.1-14. 植物線蟲病害防治研討會專集. 臺灣省農業試驗所特刊 25 號.
2. 呂理榮、高清文、王金池、梁文進、謝式埤鈺. 1976. 番石榴立枯病病徵、接種及病組織之產孢. p. 403. 植保學會年會論文摘要.
3. 林俊義. 1995. 台灣非農藥方法防治植物病蟲害. P.150-158. 永續農業研

究與推廣之進展研討會專刊。

4. 高清文. 1989. 作物病害非農藥防治法. P.135-140. 有機農業研討會專刊.
5. 高清文、呂理燊. 1977. 番石榴立枯病之發生與防治. P.994. 植保中心病理組技術專刊第1號.
6. 黃振文. 1993. 開發有機添加劑防治作物病害的系列研究. P.227-237. 永續農業研討會專輯.
7. 黃振文. 1995. 農業廢棄物防治作物病害的展望. P.151-158. 植物保護新科技研討會專輯.
8. 黃炤雄、蔡雲鵬、林奕耀、杜金池、黃修斌. 1972. 臺灣植物寄生線蟲. P.61. 中研院植物研究所專刊第一號.
9. 梁文進、謝式垵鈺、張義璋. 1974. 番石榴立枯病. P.171. 植保學會年會論文摘要.
10. 孫守恭. 2001. 臺灣果樹病害(三版). P.429. 世維出版社.
11. 蔡東纂. 1997. 有機添加物在防治作物線蟲病害之永續作為. P.154-162. 健康清潔植物培育研習會研討會專刊.
12. 謝式垵鈺、梁文進、高清文、呂理燊. 1976. 番石榴立枯病之形態及生理特性. 植保會刊. 18:309-317.
13. 羅朝村. 1996. 生物防治在作物病害管理上的應用與發展. P.141-150. 植物保護新科技研討會專輯.
14. Lim, T. K. and K. C. Khoo. 1990. Guava in Malaysia, Production, Pests and Diseases. p. 260. Tropical Press SDN. BHD.(Malaysia).
15. Lin, C. C. and Z. C. Chen. 1992. Morphogenesis of *Myxosporium psidii* perfect stage. Pl. Prot. Bull. 34(4):348.(Abstr.)
16. Snowdon, A. L. 1990. A colour atlas of post-harvest diseases and disorders of fruit and vegetables Vol. 1: General Introduction and fruits. Wolfe Sci. Ltd. Press. London.