

## 唐菖蒲萎凋病原菌之選擇性培養基

陳昱初

由 *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Massey) Snyder & Hansen 所引起之唐菖蒲萎凋病造成植株黃化萎凋，球莖腐敗。病原菌可形成厚膜孢子殘存於土壤中，亦可以菌絲存在球莖中，是為病害之主要感染源。尖鏟孢菌 (*Fusarium oxysporum*) 在自然界大多以腐生性存在，有病原性記錄的分化型約 80 餘，在臺灣地區發現者有 20 餘種，這些不同分化型的尖鏟孢菌之菌落及病原菌孢子的形態類似不易區別。以往研究分離鑑定 *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* 之方法為利用 Nash PCNB 或 Komada 選擇性培養基從罹病組織或帶菌土壤中分離出 *Fusarium* spp. 或 *F. oxysporum*，然後經由病原菌菌落及孢子形態上之比對與病原性測定，鑑定過程需時大約四個星期方能確認分離所得之菌株是否為病原菌。有鑑於此，本研究主要目的在於發展鑑別唐菖蒲萎凋病菌之選擇性培養基，以便快速偵測唐菖蒲球莖及土壤中是否有病原菌之存在及其在發病田區土壤中之分佈。

唐菖蒲萎凋病菌由於缺乏鑑別檢測之方法，因此本菌在田間土壤之分佈資料尚付闕如。一般研究人員為有效偵測植物病原菌之初次感染源與探究其生態行為，多設法研製選擇性或半選擇性培養基，作為調查與偵測工具。Nash PCNB 及 Komada 選擇性培養基可分別有效分離土壤中的鏟孢菌 (*Fusarium* spp.) 及尖鏟孢菌種 (*Fusarium oxysporum*)，但是對唐菖蒲萎凋病尖鏟孢菌之分化型 (*F. oxysporum* f. sp. *gladioli*) 則無專一性。以 Komada 培養基為基礎每公升分別加入 1 g 50% 免賴得、1 g 40% 腐絕、1 g 四氯異苯氫及 1 g 貝芬替之培養基，唐菖蒲萎凋病菌及百合萎凋病菌菌絲仍可生長，其中以在每公升含 1 g 50% 免賴得之培養基上菌絲生長最快，且孢子發芽率最高，其它三種藥劑顯然對唐菖蒲及百合萎凋病菌孢子發芽有程度不等之抑制作用 (表 2)。以 Komada 培養基為基礎每公升加入 1 g 50% 免賴得可濕性粉劑後，於 50°C 時以 10% 磷酸調整酸鹼值為 pH 4.0 測試供試菌株孢子之發芽及菌絲生長，結果唐菖蒲萎凋病菌菌株之大孢子 (macroconidia)，小孢子 (microconidia) 及厚膜孢子 (chlamydospores) 發芽生長正常，而其它供試菌株之孢子經培養七天後仍無發芽 (圖 2、3)，顯然每公升加入 1g/L 之免賴得藥劑可抑制大部份尖鏟孢菌菌株孢子的發芽。但是 pH 4.0 之培養基並不能抑制百合萎凋病菌菌絲的生長，但其菌落生長速度明顯與唐菖蒲萎凋病菌不同容易區別。如果把培養基之酸鹼值調整至 pH 2.0 時，唐菖蒲萎凋病菌之菌絲仍然能緩慢生長，但百合萎凋病菌則停止生長 (圖 1)。唐菖蒲萎凋病菌以厚膜孢子及病株殘體存活於土壤及種球，如以厚膜孢子製成人工病土置放於

溫室經 30 天後，以 pH 4.0 之選擇性培養基分離病土中的病原菌繁殖體，其回收率可達 96%，最低可偵測出 50 個繁殖體/每公克土壤(圖 4)，但是以此選擇性培養基實際應用於分離種植唐菖蒲的田間土壤，則不容易偵測到病原菌，究其原因可能是花農嚴格執行種球之浸藥消毒，田間一旦發現病害時就避免連作，以輪作方式降低土壤中病原菌密度，這也說明了近年來臺灣唐菖蒲種植區萎凋病很少發生的原因，田間病原菌密度如低於每克土壤含 50 個繁殖體時，選擇性培養基則失去其功效，但仍可利用病原菌增殖法偵測出病原菌之存在。而 pH 2.0 之培養基應用在病組織分離時，能於三天內偵測到唐菖蒲種球罹病部位是否由該病原菌引起，可快速有效提供進口種球之檢驗。本研究所研發之選擇性培養基對供試菌株雖具專一性，但是尚有許多尖鏢孢菌分化型尚需作進一步測試。

表 1. 本研究所使用之農業藥劑普通、中文、化學名稱及製造廠商

Common name	Chinese name	Chemical name	Manufacturer
Prochloraz	撲克拉	N-propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl)-imidazole-1-carboxamide 25%EC	Schering
Prochlorate manganese	撲克拉錳	Dichlorotetrakis(N-propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl)imidazole-1-carboxamide)manganese(II) 50%WP	Aventis
Benomyl	免賴得	Methyl-1-1-(butylcarbomoyl)-2-benzimidazolecarbamate 50%WP	Du pont
Mertect	腐絕	2-(4-thiazolyl)-benzimidazole 40%WP	Merck
Mancozeb	鋅錳乃浦	16% Manganese, 2% znic and 62% ethylenebisdithiocarbamate 80%WP	Du pont
Carbendazim	貝芬替	2-(methoxycarbonylamino)-benzimidazole 50%WP	BASF
Chlorothalonil	四氯異苯氰	Tetrachloro-isophthalonitrile 75%WP	Sinon
Iprodione	依普同	3-(3,5-dichlorophenyl)-1-isopropyl Rhone-carbamoylhydantoin 23.7%WP	Rhone-Poulenc

表 2. 不同化學藥劑對唐菖蒲及百合萎凋病菌菌絲生長與孢子發芽之影響

Fungicide <sup>1</sup>	Conc.(ppm)	Mycelial growth (colony size mm/7days) <sup>2</sup>		Spore germination (%) <sup>3</sup>	
		Fog051	F016	Fog051	F016
		Prochloraz	1000	0d <sup>4</sup>	0d
Prochlorate manganese	1000	0d	0d	0d	0d
Benomyl	1000	38.9b	17.6b	97b	21c
Mertect	1000	38.1b	14.0b	88b	88b
Mancozeb	1000	0d	0d	0d	0d
Carbendazim	1000	13.9c	8.1c	38c	18c
Chlorothalonil	1000	14.7c	5.9c	31c	11c
Iprodione	1000	0d	0d	0d	0d
CK(Komada medium)	0	56.8a	44.8a	97a	100a

1. Each of fungicide was separately added into Komada medium.

2. Mycelial growth of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f. sp. *lilii* (F016) at 28°C for 7 days.

3. Spore germination of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f. sp. *lilii* (F016) at 28°C for 7 days.

4. Means (n=4) in the same column followed by the same letter are not significantly different ( $P=0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

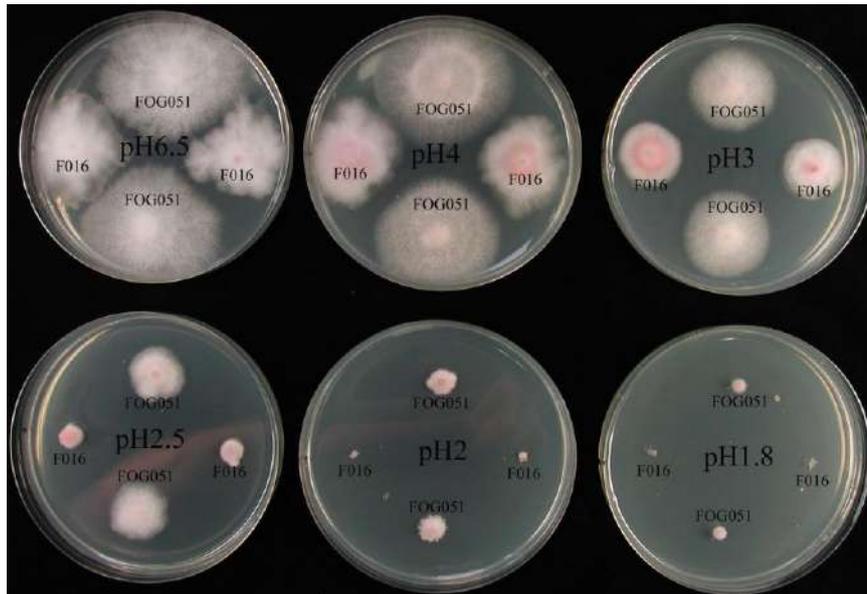


圖 1. 唐菖蒲及百合萎凋病菌在不同酸鹼值選擇性培養基上之生長

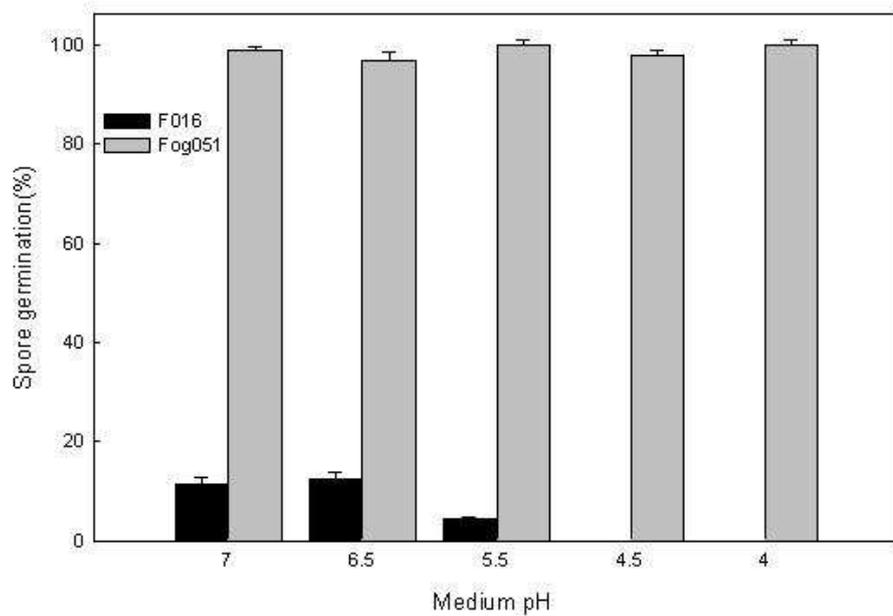


圖 2. 選擇性培養基酸鹼值對唐菖蒲及百合萎凋病菌孢子發芽之影響。  
Fog051：唐菖蒲萎凋病菌株；F016：百合萎凋病菌株。

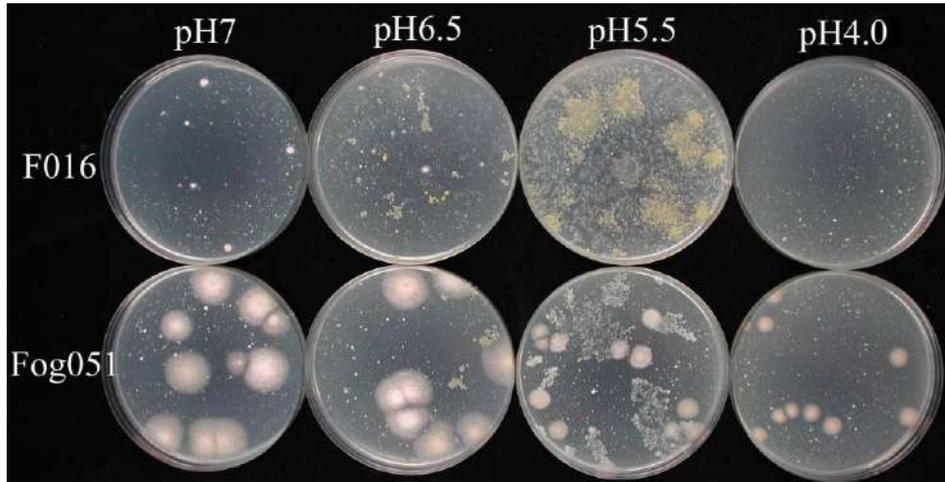


圖 3. 選擇性培養基酸鹼值對唐菖蒲及百合萎凋病菌孢子發芽之影響

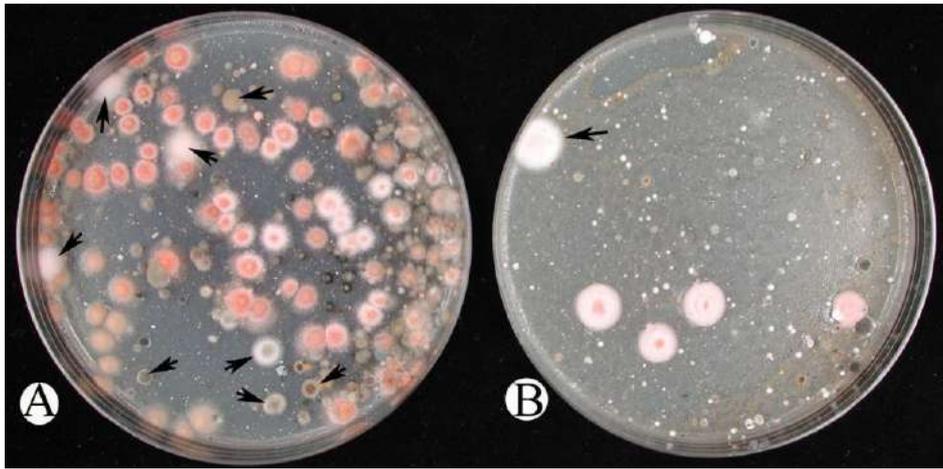


圖 4. 選擇性培養基分離人工製作病土中之唐菖蒲萎凋病菌(A)每克土壤加入  $1 \times 10^3$  繁殖體後所分離到的菌落(B)每克土壤加入  $5 \times 10^1$  繁殖體後所分離到的菌落。黑色箭頭標示非唐菖蒲萎凋病菌落。