由鐮孢菌*Fusarium*引起之馬拉巴栗基腐病之病原鑑定及防治藥劑篩選評估[1]

郭建志、廖君達[2]

摘　要

彰化縣溪州鄉馬拉巴栗(*Pachira macrocarpa*)植株基部於2010年11月間出現腐敗病徵，在本田期或是採收後兩週內即明顯罹病。罹病植株莖基部出現褐化、縊縮、表皮脫落及內部組織崩解腐爛等病徵，嚴重時會導致植株死亡。自2010年11月中旬至2011年5月下旬，陸續採集罹病苗木，以組織分離方式得到鐮孢菌屬(*Fusarium* spp.)及其他可疑真菌。將鐮孢菌屬菌株經接種後完成柯霍式法則，並依其形態特徵與核酸ITS及真核轉錄延長因子eEF-1α序列鑑定，確定病原菌為*Fusarium solani*。為利用藥劑來防治此病害，分別測試12種不同殺菌劑對馬拉巴栗基腐病分離株TCF-1菌絲生長的抑制情形，結果以50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍及25.9%得克利水基乳劑2,000倍對於TCF-1菌絲之抑制效果最佳。後續於溪州鄉設置兩塊試驗田，進行土壤灌藥與土壤灌藥搭配採收後根部浸藥等方式來評估對基腐病的防治效果，以50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍搭配66.5%普拔克溶液600倍，或24.9%待克利乳劑1,500倍搭配50%達滅芬可濕性粉劑3,000倍混合處理，可降低罹病率到10~20%，而對照組罹病率達30~60%。此外，將5編苗莖基部傷口以50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5%普拔克溶液600倍浸藥處理後，調查植株於本田罹病情形。經過藥劑處理的5編苗株罹病率僅4.7%，對照組為13.7%。試驗結果顯示馬拉巴栗5編苗株及採收前灌注土壤搭配採收後傷口浸泡藥劑處理，可以有效降低田間馬拉巴栗基腐病的發生。

關鍵字：馬拉巴栗、鐮孢菌、基腐病。

前　言

馬拉巴栗(Malabar chestnut)為木棉科的熱帶小喬木，學名為*Pachira macrocarpa*。原生於中美墨西哥一帶，於1931年由嘉義農業試驗分所引進，原作為果樹栽培以取代板栗。臺灣主要彰化溪州鄉及屏東栽種最多。栽培的馬拉巴栗多以外銷為主(約95%)(11)，主要的外銷國家包括日本、韓國、中國大陸、荷蘭與歐美等國(5)。根據2002年臺灣植物病害名彙，對於馬拉巴栗記載的病害共有4種(1)，最早的紀錄於1977年由張與謝兩氏鑑定*Phytophthora cinnamomi*

[1]行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第0810號。
[2]行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員、副研究員。

可引起根腐病[1]。之後安與柯兩氏於1990年發表*P. citrophthora*與*P. palmivora*亦可造成馬拉巴栗的疫病與根腐病[1]。此外，安氏等人發現，褐根病菌(*Phellinus noxius*)亦可以感染馬拉巴栗引起褐根病。亦發現根腐病菌(*Lasiodiplodia theobromae*)可造成馬拉巴栗苗編根腐病[3]。另，何氏等人於農家要覽報導茄形鐮孢菌(*Fusarium solani*)可造成馬拉巴栗的頸腐病[4]，而大陸方面則報導腐霉菌(*Pythium splendens*)亦可造成根基部腐敗現象[16]。近年來，在彰化溪州鄉所栽種的馬拉巴栗苗木，常發現莖基部腐敗之情形，尤其以2010年白露節氣前後，發病最為嚴重，且有擴大的趨勢。馬拉巴栗基腐病於田間發病時期可略分為單株苗期、田間5編株期及收穫後堆積於集貨場的成株期。在單株苗期及田間5編株期栽培田發現，單株苗期發病的病徵不明顯，從苗圃外觀來看與健康單株無異，當開始發病時，其頂端新葉呈現下垂缺水狀，且複葉平面與莖桿夾角變小，將此苗株拔起後，可發現土壤表面下方根基部位呈現縊縮現象，其根系減少，且橫切莖部包含維管束已呈現褐化現象，無仔細察覺易與健康苗株一起編織。近來發現農友從田間採收編織成苗，但堆積於集貨場後等待運送的期間，部份編株開始慢慢出現腐敗病徵，內部組織開始崩解褐化，表皮呈現軟化脫落現象，逐漸從根基部往上蔓延，嚴重時導致植株死亡，造成極大經濟損失，成為馬拉巴栗產業最主要的限制因子[6]。由於農友在田間挖掘苗木時會造成苗木根系斷裂及破損，或於編織場與集貨場編織修剪時亦會造成根部傷口，若傷口沒有進行保護處理，則容易增加病菌感染入侵之機會。因此，本文主要針對可能引起之馬拉巴栗基腐病之鐮孢菌*Fusarium*進行病原鑑定，並於田間分析藥劑防治之可行性，祈能應用於馬拉巴栗基腐病之管理策略。

材料與方法

病原菌分離與鑑定

一、病原菌之分離

以組織分離法分離病株莖基部腐敗部位與健部交界處部位，分別自根部、根部上10 cm、根與莖部交界處與基莖部腐敗處等4個部位。各切下約0.5×0.5 cm^2之組織塊，分別放入含有1%次氯酸鈉(Clorox)溶液中消毒1分鐘，移至無菌水中漂洗兩次後，將消毒後之組織放置在2%水瓊脂(Water Agar, WA)培養基與五氯硝苯蛋白凍瓊脂(quintozene peptone agar, PCNB)培養基中，培養於室溫約25~28℃，置於12小時光照(兩盞40-W日光燈，距離25 cm)的培養櫃上，待菌絲自組織長出後，切取單一菌絲尖端移至馬鈴薯葡萄糖瓊脂(potato dextrose agar, PDA)培養基上，觀察各分離株之生長情形與菌落型態，並於顯微鏡觀察孢子形態與大小，可供後續鑑定參考之依據。同時進行菌株編號，其代號分別為TCF-1、TCF-2、TCF-3。供試菌株以PDA平板於28℃定溫箱中培養，5天後以直徑0.4 cm之打孔器切取供試菌落邊緣，做為藥劑平板法測試用之接種源。

二、病原性接種測試

(一)幼苗根部接種

選取種植於泥炭土中3週大的馬拉巴栗5編株幼苗，利用70%酒精擦拭根部，以解剖刀縱切根部表皮組織，長與寬約1 cm的傷口，將培養於PDA平板上的馬拉巴利基腐病分離株TCF-1、TCF-2、TCF-3，每株分離株接種3株幼苗。以0.5 cm打孔器挖取菌絲塊，並將菌絲塊平貼於根部的傷口上，並利用滅菌後的紗布包起來，外圍以封口臘膜固定，對照組則貼上無菌絲之PDA塊，最後以12號袋套袋並保濕，24小時後解開袋口，置於室溫下連續觀察，並記錄發病情形。

(二)單株剪根接種

將自組織分離的菌株，分別培養於PDA斜面2~3週後，以其結果發現多數自病株4個部位上分離出的菌株，顏色初期白色後轉為淡黃色，後期有大小孢子的產生，初步判定為鐮孢菌屬(*Fusarium* spp.)的真菌。PDA表面產生出淡黃色之孢子褥，每管PDA斜面加入10ml的無菌水用滅菌後的秤藥匙刮取表面菌絲，以血球記數器調整成病原菌濃度為10^5~10^6 spores/ml接種液500 ml。利用剪根(root-prunting)接種法，將定植後約4個月大的馬巴拉栗單株共10株，根部剪除1/3長度以製造傷口後，其中以分離株TCF-1與TCF-2各接種4株，每根單株持續浸泡於接種源中20~30分鐘後，將其定植回泥炭土中[15]，對照組以無菌水取代，共接種2株，接著以12號夾鏈袋套袋保溼，24小時後解開袋子，放置於室溫下每日觀察病勢發展，並紀錄其發病情形。

三、病原菌鑑定

(一)分子序列鑑定

依據病原性測試結果，將具有病原性之菌株，培養在PDA培養基上，經7天後菌絲長滿整個培養皿，以滅過菌後的移植環刮取少量菌絲，移入滅菌後之1.5 ml的微量離心管中，利用植物基因體DNA純化試劑組(Plant Genomic DNA Purification kit, GeneMark)，抽取真菌基因體核酸，最後抽取之核酸溶於1.5 ml滅菌之離心管內。聚合酶連鎖反應(Polymerase chain reaction, PCR)將增幅具病原性菌株之rDNA中的ITS序列[14]及eEF-1α序列，所利用之引子對序列如下：

ITS1 (5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′) / ITS4 (5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′)

ef1 (5′-ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC-3′) / ef2-2(5′-AGGAACCCTTACCGAGCTC-3′)

引子濃度約10 μM，分別加入PCR各反應物，總反應體積20 μl，進行PCR反應，增幅其核糖體DNA (rDNA)之內轉錄間隔區(Internal trsncription spacer) ITS1及ITS4之區域序列以及真核轉錄延長因子(eukaryotic translation elongation factor-1, eEF-1α) DNA之EF1序列，並依其建議條件進行增幅[12,13,14]，簡述如下：增幅ITS區域序列之條件為，反應條件如下：先以95℃反應5 min，之後進行94℃ 45 sec，52℃ 45 sec，72℃ 2 min，共30個循環，最後再進行72℃ 7 min 1個循環；增幅eEF-1α區域序列之則為：先以95℃反應5 min，之後進行94℃ 45 sec，52℃ 45 sec，72℃ 2 min，共30個循環，最後再進行72℃ 7 min 1個循環[13,14]。本研究中所有之PCR反應均於GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA)中進行，後之PCR產物以1.5% (w/v) TAE (40 mM Tris, 20 mM Sodium Acetate，1 mM pH 7.5 EDTA)瓊

脂凝膠進行電泳分析，預期IST1/IST4及ef1/ef2-2均可增幅獲得約550 bp之條帶。另，將PCR產物送往源資生物科技公司進行定序後利用NCBI (National Center for Biotechnology Information)之資料庫進行具病原性菌株之序列分析比對。

四、室內藥劑篩選試驗

以市售9種不同殺真菌劑做為室內藥劑篩選試驗之供試藥劑。供試藥劑包括50%撲克拉錳(Prochloraz–manganese)可濕性粉劑2,000倍(臺灣拜耳股份有限公司)、62.5%賽普護汰寧(Cyprodinil+fludioxonil)水份散性粒劑1,000倍(臺灣拜耳股份有限公司)、50%依普同(Iprodione)可濕性粉劑1,000倍(臺灣拜耳股份有限公司)、50%撲滅寧(Procymidone)可濕性粉劑1,500倍(臺灣住友化學股份有限公司)、33.5%快得寧(Oxine-copper)水懸劑1,000倍(安農股份有限公司)、37%護矽得(Flusilazole)乳劑1,500倍(臺灣杜邦股份有限公司)、66.5%普拔克(Propamocarb hydrochloride)溶液600倍(惠光化學股份有限公司)、25.9%得克利(Tebuconazole)水基乳劑2,000倍(臺灣拜耳股份有限公司)與24.9%待克利(Difenoconazole)乳劑1,500倍(臺灣先正達股份有限公司)(表一)，分別依上述藥劑之濃度配製成混有藥劑的PDA培養基[2,13]，以*F. solani*分離株TCF1為代表菌株，利用打孔器挖取直徑0.5 cm菌絲塊大小，放置於含有藥劑之PDA中央，對照組以無菌水取代藥劑，每日測量1次菌絲長度，待對照組處理之菌絲長至PDA邊緣時停止測量，並測量菌絲長度。

表一、馬拉巴栗基腐病室內篩選藥劑劑型及使用稀釋倍數

Table 1. Formulation and dilution factor of fungicides used in screening experiment

Code	Fungicide	Formulation	Dilution factor
1	Prochloraz–manganese	50% WP	2,000
2	Iprodione	50% WP	1,000
3	Procymidone	50% WP	1,500
4	Flusilazole	37% EC	1,500
5	Difenoconazole	24.9 EC	1,500
6	Cyprodinil+fludioxonil	62.5% WG	1,000
7	Oxine-copper	33.5% SC	1,000
8	Propamocarb hydrochloride	66.5% SL	600
9	Tebuconazole	25.9% EW	2,000

五、馬拉巴栗基腐病藥劑田間防治評估

(一) 5編成苗土壤灌注與浸根消毒

本試驗於2011年在溪州設置兩塊試驗田，分別以A和B代表，以7種不同藥劑組合成10種藥劑處理濃度進行根部土壤灌藥試驗，每種處理各10株5編成苗，每株施藥量為1.5 ml，均勻灌注在根部周圍。其中試驗田A於採收前2個月，每個月灌注1次，共2次，並於採收後其根部以浸藥方式處理30分鐘後，自然蔭乾後再進行堆疊作業；試驗田B於採收前2個月第1次灌藥，2週後灌藥1次，連續3次，採收後不浸藥處理即進行堆疊作業。此兩塊試驗田之

馬拉巴栗成苗堆疊後，每週調查1次罹病情形。連續調查4次。觀察並記錄其根基部腐敗情形。於2012年度8月份再於試驗田C，分別以2種藥劑，利用6種不同處理方式，共處理10株馬拉巴栗5編成苗，處理方式分別為：(一)採收前1個月，每隔14天土壤灌注藥劑1次，共計2次。(二)採收前1個月，土壤灌注藥劑1次加採收後浸根處理。(三)採收後浸根處理1次。(四)採收前1個月，土壤灌注藥劑1次與採收後噴植株根基部1次。(五)採收後根部噴藥一次。(六)不處理任何藥劑之對照組。前述土壤灌注藥劑為每株土壤灌注1.5L藥劑，而根部噴藥量為每株噴佈500 ml之處理藥劑。待處理完畢後統一堆積於集貨場中，每週進行發病率調查與罹病度調查，罹病度調查之分級如下：0：地上部及根系未發病；1：地上部外表健康，但根系已被菌感染，有腐敗現象；2：地上部基部外皮軟化縊縮，經手觸碰可容易剝離表皮；3：地上部莖幹呈現軟化腐敗現象；4：地上部上位莖萎凋及全株枯死。罹病度(%)＝Σ (指數×罹病株數) / (4×總調查株數)×100%，每週調查1次，共計4次。

(二) 5編幼苗編織後根部浸藥處理

本試驗於2012年4月，於溪州試驗田D選取適當大小之單株幼苗，利用人工編織方式編織成5編幼苗後，將其根部浸泡於3種處理溶液中，分別為處理I：50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混和66.5%普拔克溶液600倍。處理II、0.6%次氯酸鈉溶液。處理III：對照組，自來水不添加任何化學藥劑，共3種處理，每種處理均加入展著劑3,000倍，浸泡15~20分鐘後，將5編幼苗置於蔭涼處自然蔭乾,之後將其種植於試驗田D之畦上,每1個月調查1次罹病率，每種處理共調查3重複，每重複調查100叢，共計300叢，並記錄發病情形，每月調查1次，連續調查4個月，統計其發病率結果。

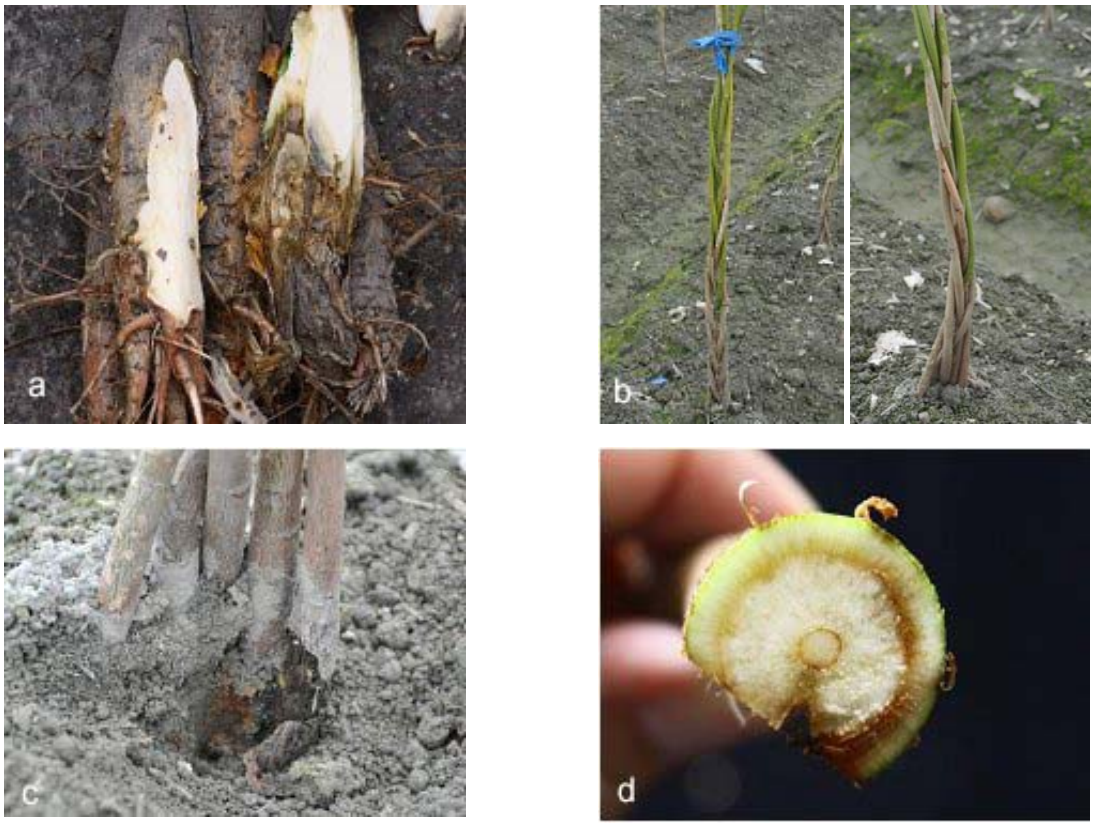
統計分析

上述所得數據使用Microsoft office Excel 2010及SAS 9.0進行統計分析，並以LSD進行最小顯著差異分析(least significant difference, LSD)，判定各處理間有無顯著差異。

結　果

一、病徵觀察與病原菌分離

由田間與集貨場攜回馬拉巴栗基部罹病樣本中，基部呈現腐敗軟化現象(圖一a)，表皮容易脫落，橫切莖基部，田間5編苗木通常發生1~2株產生基腐病徵(圖一b)，挖掘其地基部可發現已呈現褐化腐敗現象(圖一c)，橫切莖基部組織，其維管束部位亦呈現褐化現象(圖一d)。可分到多種複雜的微生物，但以*Fusarium*屬的分離比率最高，其純化後的分離株於PDA平板上顏色初為白色，後轉為淡黃色(圖二a)，培養於28℃定溫箱中，5天後可觀察到分生孢子的產生(圖二b)。放置室溫下1個月以上會產生黃色分生孢子褥，及深藍色的厚膜孢子。



圖一、馬拉巴栗基腐病田間病徵。a：馬拉巴栗成苗基部腐敗病徵。b：馬拉巴栗田間 5 編苗期地上部病徵。c：田間 5 編苗期莖基部褐化腐敗。d：橫切莖基部，維管束呈現褐化現象。

Fig. 1. Symptoms of Malabar chestnut basal rot in the field. a: Basal rot symptom of Malabar chestnut plant. b: The symptoms of upper part of Malabar chestnut five-weaved seedling. c: Browning and gangrenous symptoms on stem of five-weaved seedlings of Malabar chestnut. d: The cross section of stem showed browning symptom in the vascular bundle.

二、病原菌接種試驗

幼苗根部接種：馬拉巴栗5編幼苗根部經接種TCF-1、TCF-2及TCF-3菌株之菌絲塊後，觀察到第7天時開始出現病徵，接種部位產生腐敗縊縮現象(圖二c)，且有向上蔓延趨勢，與田間觀察類似。重新由發病部位亦可分離到相同*Fusarium* spp.菌株，對照組則是無病徵產生，且未分離到*Fusarium* spp.。

單株剪根接種：試驗馬拉巴栗單株經接種TCF-1、TCF-2及TCF-3後，持續觀察到第4週時，其莖基部開始出現腐敗軟化現象，且有縊縮情形，與田間發病情形類似(圖二d)。重新以相同的分離方式分離，亦可分離出與接種菌株相同特徵的*Fusarium*菌株，對照組則未顯現病徵，亦無分離到*Fusarium*菌株，由此完成柯霍式法則(Koch' postulates)的流程。顯示自田間罹病馬拉巴栗所分離*Fusarium* spp.菌株可感染並入侵馬拉巴栗植株，並造成基部腐敗的病徵。重複兩次接種試驗，均可得到相類似的結果[8]。



圖二、馬拉巴栗基腐病菌之分離與接種。a：病原菌純化於 PDA 平板上之情形。b：TCF-1 分離株於光學顯微鏡下之分生孢子型態，比例尺為 10 μm。c：3 週大 5 編幼苗接種 TCF-1~3 後 7 天發病情形。d：4 個月大之 5 編單株苗接種 TCF-1 與 TCF-2，30 天後發病情形。

Fig. 2. Isolation and inoculation of Malabar chestnut basal rot pathogen. a: The pure culture of isolate TCF-1 grown on PDA. b: Spore morphology of TCF-1 was observed by light microscope, scale=10 μm. c: Basal rot symptoms were caused by TCF-1, TCF-2 and TCF-3 at 7 days post-inoculation. d: Browning and constriction symptoms caused by TCF-1, TCF-2 at 30 days post-inoculation.

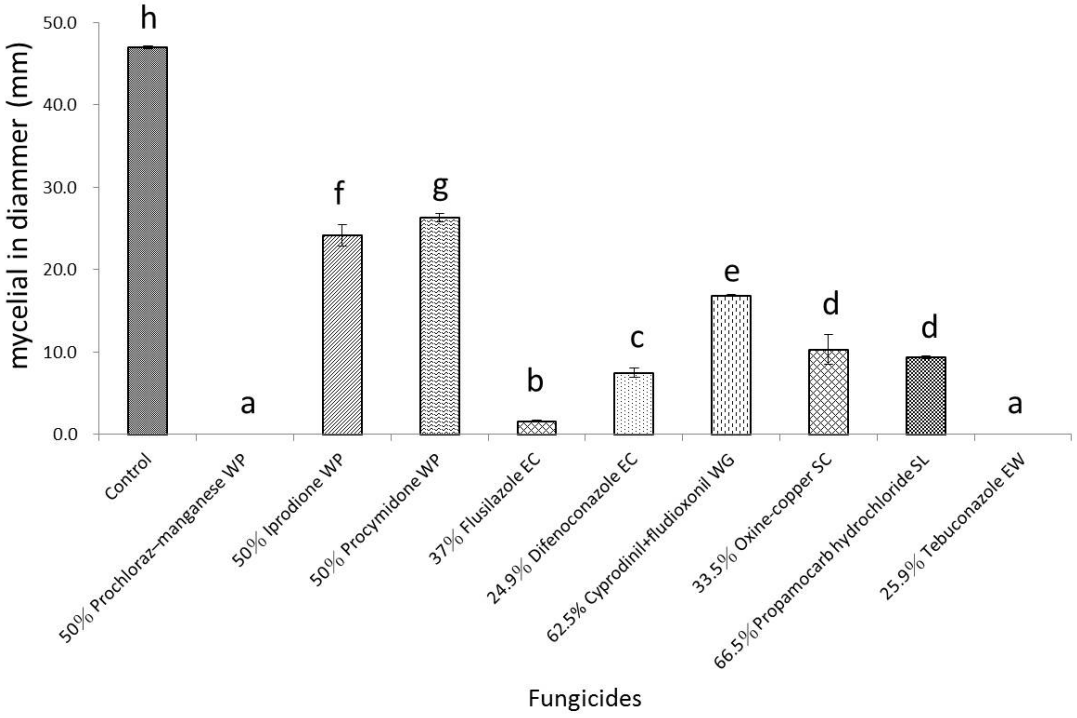
三、病原菌鑑定

由馬拉巴栗基部腐敗病組織分離之菌株於PDA上其菌株初期為白色，後轉淺黃色，放置室溫1週後有小孢子與大孢子的產生，大孢子具3~5個隔膜，大小平均為37.3×3.5 μm，小孢子以假頭狀排列於分生孢子梗上，依其傳統形態特徵鑑定為*Fusarium solani* [9]。隨後，進一步利用真菌ITS序列以及鐮孢菌種間之轉錄延長因子(eEF-1α)序列進行分子輔助鑑定。定序後之序列上傳於NCBI基因庫中比對，與*F. solani* (Mart.) Sacc 1842 (HQ384397.1)的序列相似度分別為97%與98%，可確定TCF-1、TCF-2及TCF-3皆為*F. solani*。

四、室內藥劑篩選試驗

待7天後對照組菌絲長滿PDA上後，計算TCF-1菌株生長直徑(mm)，50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍、37%護矽得乳劑1,500倍、25.9%得克利水基乳劑2,000倍、33.5%銅快得寧水懸劑1,000倍、66.5%普拔克溶液600倍及24.9%待克利乳劑3,000倍，TCF-1菌絲長度均小於10.5

mm，其餘3種藥劑處理菌絲長度均大於15 mm以上(圖三)，相較其他藥劑處理的抑制結果要好，經防檢局考量得克利及護矽得非延伸使用藥劑，故上述其餘4組試驗殺真菌劑可做為田間馬拉巴栗防治藥劑試驗，此外防檢局與農業試驗所亦推薦3組藥劑分別為鋅錳滅達樂、滅普寧與達滅芬，共7組藥劑，為後續田間馬拉巴栗土壤根部灌注藥劑與浸根消毒試驗。



圖三、9 種不同種類藥劑添加於 PDA 中對馬拉巴栗基腐病分離株 TCF-1 菌絲生長之影響。
Fig. 3. Effect of nine fungicides on mycelial growth of the TCF-1 on PDA.

五、馬拉巴栗基腐病藥劑田間防治評估

5編成苗田間試驗一：於2011利用室內藥劑篩選結果，選取4組對於TCF-1菌絲抑制效果較佳的藥劑與動植物防疫檢疫局推薦的3組藥劑，共7組藥劑於彰化縣溪州鄉試驗田A與B進行田間土壤灌藥及採收後根部浸藥處理，包含對照組共計10種處理。結果顯示以土壤灌注兩組混合藥劑，搭配採收後根部傷口浸藥30分鐘的處理，可降低發病率至10%，相較對照組發病率達60%為低，罹病度則由27.5%降為2.5% (表二)。

5編成苗田間試驗二：於2012年8月份，在彰化縣溪州鄉試驗田C，以50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5%普拔克溶液600倍藥劑，6種不同處理方式，每種處理均加入展著劑3,000倍，進行田間土壤灌注藥劑及收獲後根部噴藥與浸藥處理，經過4週的調查結果顯示，以土壤灌注藥劑搭配採收後根部噴施藥劑或根部傷口浸藥處理均無發病情形，對照組之罹病度則為10%。另外只有進行土壤藥劑灌注處理後之罹病度為5%。

表二、10 組藥劑處理後之馬拉巴栗基腐病發病率與罹病度結果

Table 2. Disease incidence and severity of basal rot on Malabar chestnut with 10 different fungicide treatments

Fungicide	Dilution factor	Soil and roots treatment		Soil treatment	
		Incidence[1] (%)	Severity[2] (%)	Incidence (%)	Severity (%)
50% Prochloraz –manganese WP	2000	20.0	10.0	20.0	5.0
24.9% Difenoconazole EC	1500	30.0	10.0	10.0	5.0
66.5% Propamocarb hydrochloride SL	600	22.0	5.5	50.0	12.5
58% Mancozeb+metalaxyl WP	400	10.0	2.5	40.0	10.0
75% Mepronil WP	1000	20.0	10.0	30.0	7.5
33.5% Oxine-copper SC	2000	20.0	7.5	30.0	7.5
50% Dimethomorph WP	3000	30.0	10.0	0.0	0.0
50% Prochloraz –manganese WP 66.5% Propamocarb hydrochloride SL	2000 600	10.0	2.5	11.0	2.8
24.9% Difenoconazole EC 50% Dimethomorph WP	1500 3000	10.0	5.0	20.0	5.0
Control	--	60.0	27.5	30.0	15.0

[1] The disease incidence was rated the ratio of disease plant in all test plants.

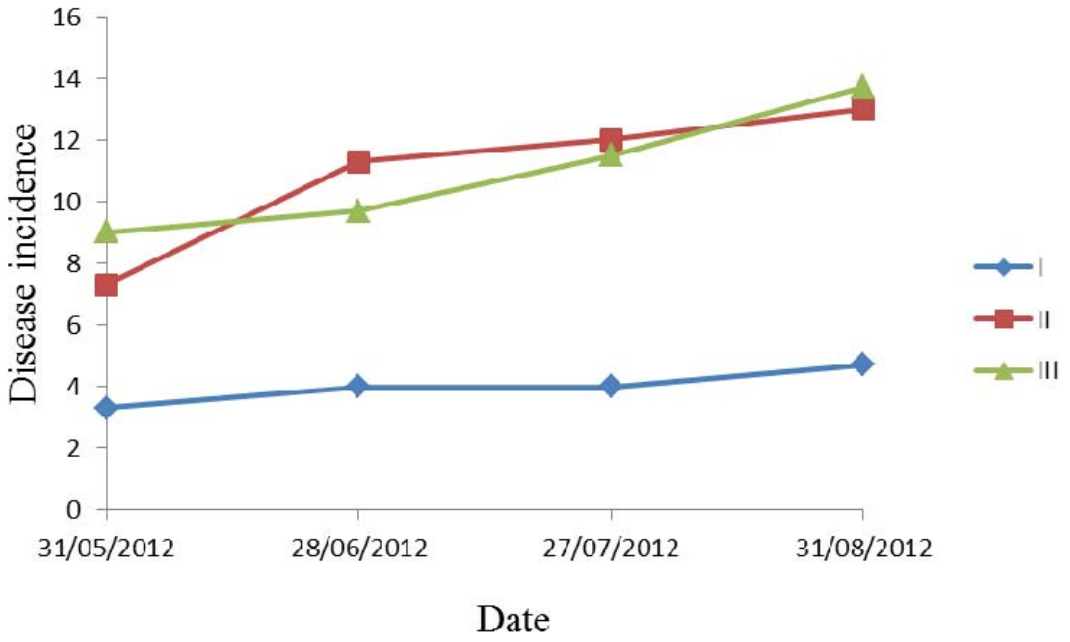
[2] The disease severity was calculated as described in materials and methods.

馬拉巴栗幼苗編織後根部浸藥處理：於試驗田D選取適當大小之馬拉巴栗單株幼苗，於編織場內進行人工編織後之5編苗，以3種方式處理，將編織後的5編苗浸泡於藥劑中15~20分鐘，自然蔭乾，並回種於本田區，待種植完後，每月調查1次發病率，連續調查4次。經4次調查結果顯示，以50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5%普拔克溶液600倍處理，其發病率低於6%以下，而漂白水處理及對照組處理之發病率則皆高於10%以上(圖四)，同時農友亦自行選用50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5%普拔克溶液600倍、33%鋅錳乃浦水懸劑600倍與35%滅達樂水懸劑2,000倍共四組藥劑處理，其結果與處理I相當，顯示5編苗編織時，人為傷口以50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5%普拔克溶液600倍浸泡，可以降低回植於本田期之基腐病發病率。

討　論

近幾年來在本場轄區溪州鄉馬拉巴栗栽培田區，於田間栽培場與集貨場內均發生根基部腐敗病徵，尤以白露時節前後發生嚴重，經本場調查發現此病害可由多種土壤病原菌所引起，發病初期外觀無明顯徵狀，但之後外觀慢慢出現皺縮現象，其內部組織開始崩解軟化，目前鑑定結果顯示，茄形鐮孢菌(*F. solani*)、疫病菌(*P. palmivora*)、根腐病菌(*L. theobromae*)均可引起類似的根基部腐敗現象[1,3,4]。觀察與探究馬拉巴栗栽培作業時，在幼苗編織階段、編織成苗及收獲階段，均會由人為造成大量傷口，其中幼苗編織過程進行人為除葉及斷根之作業，

經編織後再回種於本田中，尚未完全癒合之傷口則容易成為病原菌入侵之途徑[6,7]。此外，收獲階段農友以手鋸去除株稍及挖掘根部之作業方式同樣也會造成大量傷口，給予田間病原菌入侵之機會，且編織場所環境衛生沒有妥善消毒清洗時，病原菌容易藉由傷口感染，進而造成腐敗現象。馬拉巴栗單株苗期若受到基腐病菌感染，外觀病徵並不明顯，若未仔細檢查，外觀看來與健康單株無異，但仍有些微病徵可以判別。初期受感染之病株，其頂端新端呈現下垂缺水狀態，且複葉平面與莖桿夾角變小，若將受害植株拔起，可見土表下方之根部組織已呈現腐壞縊縮病徵，且根系減少，剖開內部之維管束組織亦呈現褐化崩解現象。此時，若編織時未注意根部已受感染之單株苗，進而一同編織成5編苗，於田間則會繼續感染入侵，進而造成基腐病害的發生。本試驗中利用馬拉巴栗基腐病分離株TCF-1、TCF-2及TCF-3，利用製造傷口方式接種於馬拉巴栗3週大幼苗及4個月大之單株苗根部，分別經過7天與30天後，可產生與田間相類似的莖基部腐敗病徵，證實傷口確實可以讓供試菌株TCF-1、TCF-2及TCF-3入侵並造成感染，並產生褐化腐敗病徵。



圖四、5 編幼苗編織後以藥劑浸根處理後，回植於田間之發病率調查結果。I：50%撲克拉錳可濕性粉劑 2,000 倍混合 66.5%普拔克溶液 600 倍。II：0.6%次氯酸納消毒水。III：對照組不添加任何藥劑。

Fig. 4. Disease incidence of basal rot on replanted Malabar chestnut after fungicide treatments on Malabar chestnut. Fungicide treatments includedI, 50% Prochloraz-manganese WP mix 66.5% Propamocarb hydrochloride SL; II, 0.6% NaOCl; III, Control.

進一步利用兩組引子對分別對真菌之ITS區間序列與鐮孢菌種間之轉錄延長因子序列進行PCR反應，增幅出專一性核酸片段，經解序後之DNA序列，利用NCBI資料庫上網比對，兩組解序序列比對結果，皆為*Fusarium solani*，且相似值達97%以上。本研究利用室內藥劑篩選方式，篩選出4組藥劑可以抑制*Fusarium solani*的生長，並利用防檢局推薦之3種藥劑進行田間土壤灌藥試驗，並經由兩年的試驗結果顯示，以50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5%普拔克溶液600倍混合藥劑，並加入展著劑3,000倍，在收穫前1個月進行土壤灌注藥劑2次，並於收穫後以同樣混合藥劑噴施根部傷口處或是根部浸藥的方式，處理後堆積於集貨場中，其基腐病之發病率僅有10~20%最為推薦。相較於對照組處理，其發病率可高達30~60%左右，顯示以此組藥劑施用於田間，可以有效減少與降低馬拉巴栗基腐病的發生並說明收穫後之處理可增加對馬拉巴栗根部傷口的保護，降低病原菌入侵後之風險。馬拉巴栗由種子、育苗、單株苗期、5編苗期，經採收到出貨，生育期間會遭逢許多不同的病原菌危害，包括疫病、根腐病與基腐病等，若無適當的防治措施，日後則會造成農友的經濟損失，本研究除了篩選有效防治藥劑外，更需要田間栽培管理來配合，方能有效的控制馬拉巴栗基腐病害的發生。針對馬拉巴栗田間病害管理措施，建議如下：(一)種子播種圃管理：經常發生基腐病害或其他病害之苗圃區，可以利用與水稻田輪作，降低土壤中病原菌的密度，創造不適合病原菌存活之環境。(二)本田期栽培管理：本田應築高畦，有利於排水，積水過高或排水不良田區，誘發病害的機率較高。(三)幼苗編織階段：此階段大多是在編織場或是集貨場進行作業，對於修編修剪的刀具必須消毒，降低機械傳播的可能性，同時移除或燒毀編織場周圍丟棄的罹病株，並以漂白水消毒作業環境。當編織完成後可浸泡於50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5%普拔克溶液600倍或24.9%待克利乳劑1,500倍混合50%達滅芬可濕性粉劑3,000倍兩組藥劑中10~15分鐘，待自然風乾後再回植於本田中。(四)成株採收前後處理：5編成株可於採收前1個月選用50%撲克拉錳可濕性粉劑2,000倍混合66.5 %普拔克溶液600倍或24.9%待克利乳劑1,500倍混合50%達滅芬可濕性粉劑3,000倍等2種組合藥劑，進行土壤灌注處理1~2次，待採收後可將馬拉巴栗根部噴藥或浸泡方式於上述任1組混合藥劑15分鐘，之後堆積於集貨場中自然風乾，以避免病原菌自傷口入侵，造成潛伏感染[10]。以上管理策略可以有效降低病原菌的數量，減少基腐病害的發生，以確保馬拉巴栗外銷品質。

誌　　謝

本研究報告感謝場內長官支持，作物病蟲害發生預測研究室黃冬青小姐與洪玉玲小姐協助實驗及植物保護研究室謝正雄先生協助田間藥劑試驗，承蒙同領域的前輩及本場研究同仁對於實驗內容的建議與指教，俾使本研究能順利完成，特申謝忱。

參考文獻

1. 中華民國植物病理學會　2002　臺灣植物病害名彙第四版　p.189。

2. 李敏郎、陳隆鐘、陳天枝　2004　百合灰黴病菌之室內藥劑篩選與其田間防治效果　植保會刊 46: 1-13。
3. 安寶貞、蘇俊峯、楊正偉、徐子惠、楊智凱、蔡幸君、陳麗鈴　2012　*Lasiodipodiathio bromae* 引起的馬拉巴栗苗木失編與馬拉巴栗根腐病田間防治之初步成效　中華民國植物病理學會論文宣讀摘要集。
4. 何婉清、張清安、安寶貞、許秀惠　2005　臺灣農家要覽增修訂三版農作篇(三)　p. 233-234　植物保護章「盆花及觀賞植物病害」病害篇。
5. 沈榮壽　2005　臺灣農家要覽增修訂三版農作篇(二)　p.877-882　五.觀葉植物 (四)馬拉巴栗。
6. 郭建志、廖君達　2011　馬拉巴栗基腐病之發生與管理　臺中區農情月刊 142: 4。
7. 郭建志、廖君達　2012　馬拉巴栗病害發生與管理策略馬拉巴栗專輯　臺中區農業專訊 77: 20-27。
8. 陳鏡汶、陳麗鈴、賀心平、陳麗筠　2010　馬拉巴栗莖腐病之研究　中華民國植物病理學會論文宣讀摘要集。
9. 黃振文、孫守恭　1995　臺灣產鐮孢菌　p. 62-66　世維出版社。
10. 廖君達、郭建志　2012　引起馬拉巴栗基腐病之*Fusarium solani*之鑑定與防治　臺中區農業改良場100年度科技計畫研究成果發表會論文集　p.107-113。
11. 蔡宛育、陳彥樺、陳姿翰　2011　淺談「馬拉巴栗」　臺中區農情月刊 140: 3。
12. Amatulli, M. T., D. Spadaro, M. L. Gullino and A. Garibaldi. 2010. Molecular identification of *Fusarium* spp. associated with bakanae disease of rice in ltaly and assessment of their pathogenicity. Plant Pathol. 59: 839-844.
13. David, M. G., M. M. J. Gasco, S. Kang, I. Makalowska, N. Veeraraghavan, T. J. Ward, N. Zhang, G. A. Kuldau and K. O'Donnell. 2004. Fusarium-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. Eur. J. Plant Pathol. 110: 473-479.
14. Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky and T. J. White. 1990. PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Presss, New York.
15. Reid, T. C., M. K. Hausbeck and K. Kizilkaya. 2002. Use of fungicides and biological controls in the suppression of Fusarium crown and root rot of asparagus under greenhouse and growthchamber conditions. Plant Dis. 86: 493-498.
16. Tan, Z. Q., F. H. Yan, Z. R. Yi. 2009. Identification of the pathogen causing the foot rot on *Pachira macrocarpa*. Plant Prot. 35(7): 125-127.

Identification of *Fusarium* spp. Caused to the Malabar Chestnut Basal Rot and Evaluation on the Selected Fungicide [1]

Chien-Chih Kuo and Chung-Ta Liao[2]

ABSTRACT

The basal rot symptoms of Malabar chestnut, *Pachiramacrocarpa*, had been discovered in Sijhou Township, Changhua County on November, 2010. The basal rot symptoms are developed during growth season in fields or transportation post-harvest. The symptomless infested plants may further develop basal rot symptoms or plant death to cause huge economic loss. In this study, three *Fusarium* spp. strains, TCF-1, TCF-2, and TCF-3, were isolated. These strains had been demonstrated as Malabar chestnut basal rot pathogens by Koch's postulate. In addition, these strains were further identified as *Fusarium solani* by their morphological characters and sequence blasted of ITS and eEF1-α DNA fragments. In order to control this disease of Malabar chestnut with fungicides, twelve fungicides were also evaluated in this study. Results showed the mycelium growth of TCF-1 was completely inhibited by 50% of Prochloraz-manganese WP 2000x dilution. Disease incidences and severities of basal rot were greater reduced by 58% Mancozeb+metalaxyl WP 400x and mixture of 50% Prochloraz-manganese WP 2000x and 66.5% Propamocarb hydrochloride SL 600x than that by 50% Prochloraz-manganese 2000x only in two field trails. Moreover, this disease was reduced more significantly by these fungicides through combination of soil treatment and root immersion. Another field trial also showed disease incidence of Malabar chestnut basal rot was significantly reduced by applying mixture of 50% Prochloraz-manganese WP 2000x and 66.5% Propamocarb hydrochloride SL 600x on root before replanting in the field. Therefore, we concluded that application of mixture of 50% Prochloraz-manganese WP 2000x and 66.5% Propamocarb hydrochloride SL 600x on root of Malabar chestnut and soil was a good strategy to control basal rot disease.

Key words: *Pachira macrocarpa*, Fusarium, basal rot.

---

[1] Contribution No. 0810 from Taichung DARES, COA.

[2] Assistant Researcher and Associate Researcher Respectively of Taichung DARES, COA.