

小花蕙蘭假球莖腐敗病菌感染途徑之研究

黃巧雯¹ 黃晉興^{2,*} 李怡靜³ 陳純葳⁴ 賴思倫⁵ 謝廷芳⁶

摘要

黃巧雯、黃晉興、李怡靜、陳純葳、賴思倫、謝廷芳。2023。小花蕙蘭假球莖腐敗病菌感染途徑之研究。台灣農業研究 72(3):267–275。

由 *Fusarium oxysporum* 引起的假球莖腐敗病 (pseudobulb rot) 是台灣小花蕙蘭 (Oriental cymbidiums) 栽培的重要限制因子之一。農友為縮短植株生長期一般不採用組培苗，而是以慣行栽培之分芽繁殖為主，本研究嘗試比較組培苗、健株苗、病株苗及病株之第一代、第二代及第三代分株苗對假球莖腐敗病發生之影響，結果發現病株第一代分株苗移栽於盛有碎石栽培盆中，假球莖腐敗病的發病率高達 100%；且病株第二代與第三代分株苗移栽後，其植株發病率仍為中等偏高，顯示病株苗或來自罹病植株之分株苗，為本病害重要感染源之一，因此採用健康分株苗為防治本病害之重要策略。小花蕙蘭假球莖腐敗病菌分離株 (*F. oxysporum* Fo-50) 可在幼嫩與成熟假球莖傷口接種時，造成組織黑褐色腐敗病徵。另外，本研究進行傷口對假球莖腐敗病發生之影響試驗，結果發現剪根、假球莖針刺傷口及分拆分株苗產生傷口之植株接種假球莖腐敗病菌 (*F. oxysporum* Fo-50, Fo-51) 其發病率皆為 100%，顯著高於無傷口處理植株 (25% 或更低)，顯示傷口為病害發生的重要因素。接著進一步接種試驗中，於「寶山報歲蘭」或「玉華四季蘭」品種中，將植株分拆產生傷口後 3、7 及 28 d 之分株苗，接種假球莖腐敗病菌 (*F. oxysporum* Fo-50, Fo-51)，其發病率分別為高 (75.0–100%)、中 (50–75%) 及低等 (12.5–25%)。本研究結果可作為後續研擬小花蕙蘭假球莖腐敗病防治策略之重要參考依據。

關鍵詞：小花蕙蘭、假球莖腐敗病、鐮孢病菌、發病生態。

前言

小花蕙蘭 (又稱國蘭或東洋蘭) 為蘭科 (Orchidaceae)、蕙蘭屬 (*Cymbidium* spp.) 多年生草本植物，為蕙蘭屬中的建蘭 (或稱四季蘭)、報歲蘭、春蘭、寒蘭及九華蘭等植物的統稱，原產於亞熱帶地區，株型及花型較小，與大花型的大花蕙蘭 (虎頭蘭或東亞蘭) 具區別性 (Lo 2006; Hung *et al.* 2010)。目前台灣國蘭栽種面積約 70–100 ha，多數以雙層遮陰網室栽培，主要產地在南投 (29%)、嘉義 (26%)、台中 (20%)、雲林 (13%)、屏東 (4%)

及高雄 (3%) 等縣市。台灣所培育的小花蕙蘭以外銷為主，2011–2021 年小花蕙蘭每年外銷量在 450–680 Mg 間，外銷產值在 500–950 萬美元間 (財政部關務署統計資料庫，<https://portal.sw.nat.gov.tw/APGA/GA35>)，為台灣出口產值僅次於蝴蝶蘭與文心蘭之第三大蘭花產業。主要以裸根苗株形態，透過貿易商與中盤商輸銷韓國 (75%) 與中國大陸 (24%)，年銷售量約 2 千 4 百萬株，其中以四季蘭 (53%)、報歲蘭 (36%)、春蘭 (6%) 及其他小花蕙蘭 (5%) 等為主 (Lin 2015)。

投稿日期：2023 年 3 月 23 日；接受日期：2023 年 5 月 8 日。

* 通訊作者：jhuang@tari.gov.tw

¹ 農業部農業試驗所植物病理組助理研究員。台灣 台中市。

² 農業部農業試驗所植物病理組副研究員。台灣 台中市。

³ 農業部農業試驗所植物病理組計畫助理。台灣 台中市。

⁴ 農業部農業試驗所植物病理組聘用助理研究員。台灣 台中市。

⁵ 農業部農業試驗所花卉試驗分所產程開發系助理研究員。台灣 雲林縣。

⁶ 農業部農業試驗所研究員兼主任秘書。台灣 台中市。

根據《台灣植物病害名彙》(Tzean *et al.* 2019) 紀錄，台灣小花蕙蘭主要病害包括蕙蘭嵌紋病毒 (*Cymbidium mosaic virus*; CymMV) 與齒舌蘭輪斑病毒 (*Odontoglossum rigspot virus*; ORSV)；真菌性病害包括灰黴病 (*Botrytis cinerea*)、炭疽病 (*Colletotrichum gloeosporioides*)、葉枯病 (*Phyllosticta cymbidii*)、疫病 (*Phytophthora palmivora*、*P. multivesiculata*、*P. nicotianae*)、細斑病 (*Fusarium proliferatum*、*F. verticillioides*) 及假球莖腐敗病 (*F. oxysporum*)；細菌性病害為軟腐病 (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*)；線蟲則為葉芽線蟲 (*Aphelenchoides besseyi*、*A. bicaudatus*)、根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita*) 及南方根腐線蟲 (*Pratylenchus coffeae*)。其中由 *F. oxysporum* 引起的假球莖腐敗病 (pseudobulb rot) 則為限制台灣小花蕙蘭栽培之重要病害 (Huang *et al.* 2020)，造成假球莖組織黑褐化腐敗，進而導致地上部葉片黃化、萎凋及掉葉等現象，嚴重時假球莖連接根部組織亦出現褐化腐爛，腐爛蔓延至鄰近相連的假球莖或幼芽。台灣栽培業者習慣以分芽 (株) 繁殖為主，易造成分株苗移植後不久植株出現相同病害，嚴重影響移植存活率與收益。為了進一步釐清小花蕙蘭假球莖腐敗病發病生態，本研究針對假球莖腐敗病菌之傳播特性進行相關研究，期能掌握本病害主要感染源與傳播途徑，作為未來防治本病害之參考依據。

材料與方法

病原菌分離與保存

將田間罹患假球莖腐敗病之小花蕙蘭植株攜回實驗室，直接將罹病植株之假球莖病健部組織，以 0.5% (v/v) 次氯酸鈉漂洗消毒 30 s，繼而以 75% (v/v) 酒精消毒 30 s，最後再以無菌水漂洗 2 次；自然風乾後，利用滅菌過之解剖刀切取病健部相鄰組織置於 2% (w/v) 水瓊脂培養基 (water agar; WA) 上分離，將培養基置於室溫下 4–5 d，其分離所得之菌株置於馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar; PDA) 中純化後，待其產孢後進行單孢分離，所得之分

離株依據 Leslie *et al.* (2006) 與 Geiser *et al.* (2004) 之形態特徵及分子鑑定為 *F. oxysporum*；將分離株保存於 PDA 斜面培養基與無菌水保存管中，置於 10°C 保存備用。本研究使用供試菌株來源如下：Fo-50 菌株分離自台中市大甲區之四季蘭罹病植株，Fo-51 菌株分離自南投縣魚池鄉之四季蘭罹病植株。

不同來源分株苗之假球莖腐敗病原分離率

本試驗供試品種為「玉華四季蘭」(*C. ensifolium* 'Yu-hua')。供試組培苗來自市售之小花蕙蘭組織培養苗，健株苗與病株苗為分別由南投縣魚池鄉王氏與蘇氏 2 個園區所採集健康植株與罹病植株的分株苗，健株苗來自健康植株的假球莖旁第一代假球莖，病株苗來自罹病植株的假球莖；病株之第一代分株苗來自罹病植株的假球莖旁第一代假球莖；病株之第二代分株苗為罹病植株的假球莖株旁第二代假球莖；病株之第三代則為第三代假球莖。所收集來自不同來源的分株苗其假球莖與根系以 0.5% (w/v) 次氯酸鈉漂洗消毒 30 s，繼而以 75% 酒精消毒 30 s，最後再以無菌水漂洗 2 次，自然風乾後，利用滅菌過解剖刀剖開假球莖與根系部位，隨機切取內部組織置於 2% (w/v) WA 上培養 4–5 d，以光學顯微鏡 (Leica DM 2500, Leica, Wetzlar, Germany) 觀察鏹孢菌孢子著生方式與孢子形態，分離所得之菌株，單孢分離後移植至 PDA 中，進行菌落形態觀察，鑑定所分離的鏹孢菌菌株。計算 *F. oxysporum* 之分離率 (Isolation, %) = (由假球莖或根系分離出 *F. oxysporum* 之分株苗數/全部調查之分株苗數) × 100%。每處理為 50 株。

不同來源分株苗對假球莖腐病發生之影響

供試分株苗的來源如上述，將不同來源的分株苗，分別種植於盛有碎石栽培盆內，每處理 10 盆，共 3 重複，置於溫室內每天正常澆水管理，每週觀察並記錄發病情形，直到 12 wk 為止，本試驗重複 2 次。假球莖腐敗病之發病率計算公式如下：發病率 (Disease incidence, %) = (植株地上部或假球莖出現腐敗病徵之罹病植株數/調查植株之總數) × 100%。

幼嫩與成熟假球莖對小花蕙蘭假球莖腐敗病菌之感病性測定

將由小花蕙蘭假球莖腐敗病組織分離之 *F. oxysporum* 菌株 Fo-50 分離株培養於 PDA 培養基上，5–7 d 後，以無菌水將 PDA 上所產生之孢子洗下，製成孢子懸浮液 (1×10^6 spores mL⁻¹) 以供接種試驗。供試植物來自市售的「寶山報歲蘭」(*C. sinense* 'Bao-shan') 與「玉華四季蘭」(*C. ensifolium* 'Yu-hua')，置於溫室內正常管理至少 1 年時間確定植株健康後，選取幼嫩與成熟不同齡期假球莖後，先以沾有 75% 酒精的棉花擦拭組織表面進行消毒，再以無菌之針頭於接種處上針刺製造傷口，爾後以直徑長度約 2 cm 之棉花沾溼供試菌株孢子懸浮液後，分別覆蓋於已針刺製造傷口之假球莖上，再以透氣膠帶 (Nexcare, 3M micropore, 3M, Saint Paul, MN, USA) 黏貼於接種部位上方，每個處理接種 5 株供試植株，並以棉花沾溼無菌水作為對照組，接種後每週觀察記錄病徵發展情形。

傷口對小花蕙蘭假球莖腐敗病發生之影響

將供試菌株 *F. oxysporum* Fo-50 與 Fo-51 分離株分別培養於 PDA 培養基上，5–7 d 後以無菌水將 PDA 上所產生之孢子洗下並稀釋成 1×10^6 spore mL⁻¹ 孢子懸浮液備用。供試植物來自市售的「寶山報歲蘭」(*C. sinense* 'Bao-shan') 與「玉華四季蘭」(*C. ensifolium* 'Yu-hua')，置於溫室內正常管理至少 1 年時間以確定植株健康。本試驗將健康植株分為 4 個處理組，包括無人為傷口、假球莖針刺傷口、剪去 1/4 根長及分拆分株苗之傷口，分別栽種於盛有碎石栽培盆內，每盆澆灌 10 mL 孢子懸浮液於植株假球莖基部；對照組則澆無菌水，每處理 5 盆，共 3 重複，置於溫室內每天正常澆水管理與每週觀察發病情形，直到 12 wk 為止並記錄發病率，本試驗重複 2 次。

不同時間點的分株苗傷口對小花蕙蘭假球莖腐敗病發生之影響

供試菌株與健康植株如上述，本試驗分為以下 5 個處理組，包括當天分拆分株苗，以及分拆後第 3、7、14 及 28 d 的分株苗，分別種

植於盛有碎石栽培盆內，每盆澆灌 10 mL 孢子懸浮液於植株假球莖基部；對照組則澆無菌水，每處理 5 盆，共 3 重複，置於溫室內每天正常澆水管理與每週觀察發病情形，直到 12 wk 為止並記錄發病率，本試驗重複 2 次。

統計分析

各項處理之試驗資料利用 SAS Enterprise Guide 7.1 版統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA)，再以最小顯著性差異 (least significant difference; LSD) 測驗，在 5% 顯著水準下比較處理間平均值之差異。

結果

不同來源分株苗之假球莖腐敗病原分離率

本研究自市售之組培苗及南投縣魚池鄉王氏與蘇氏 2 個園區 (Experiment 1 與 Experiment 2) 取得之健株苗、病株苗及病株之第一代、第二代及第三代分株苗進行假球莖腐敗病菌 *F. oxysporum* 之病原分離，結果如表 1 所示，組培苗 2 次採樣中均未分離到 *F. oxysporum* 病原；第一次試驗中健株苗、病株苗及病株之第一代、第二代及第三代分株苗之分離率分別為 9.3%、100.0%、93.3%、54.7% 及 31.3%，而在第二次試驗採樣分離率則分別為 3.3%、100.0%、95.3%、49.3% 及 24.7%。以上試驗，病株苗與病株之第一代分株苗之分離率數值皆無顯著差異，其他處理組間則有具顯著差異。

不同來源分株苗對假球莖腐敗病發生之影響

比較組培苗、健株苗、病株苗、病株之第一代、第二代及第三代分株苗對小花蕙蘭假球莖腐敗病發生影響，試驗結果如表 1 所示，組培苗種植於盛有碎石栽培盆內，兩次試驗之假球莖腐敗病發病率皆為 0，若將健株苗種植後，兩次試驗之假球莖腐敗病發病率分別為 16.7% 與 10.0%；若將病株之第一代分株苗種植後，兩次試驗之假球莖腐敗病發生率皆為 100.0%，與病株苗種植後之植株 100% 之發病率無顯著性差異；若將病株之第二代分株苗種植後，兩次試驗之假球莖腐敗病發病率分

表 1. 小花蕙蘭組培苗、健株苗、病株苗及病株分株苗的假球莖腐敗病菌分離率，以及再種植的發病率。

Table 1. Pathogen isolation rates of plantlets and disease incidence of replanted Oriental cymbidiums which were infected by *Fusarium oxysporum* causing pseudobulb rot.

Plant source	Experiment 1		Experiment 2	
	Isolation rate (%) of pathogen from plantlet ^z	Disease incidence (%) of replanted plants ^y	Isolation rate (%) of pathogen from plantlet	Disease incidence (%) of replanted plants
Tissue culture plantlet	0.0 e ^x	0.0 e	0.0 d	0.0 d
Healthy plantlet	9.3 d	16.7 d	3.3 d	10.0 d
Disease plantlet	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
The 1 st generation shoot from the diseased plant	93.3 a	100.0 a	95.3 a	100.0 a
The 2 nd generation shoot from the diseased plant	54.7 b	73.3 b	49.3 b	76.7 b
The 3 rd generation shoot from the diseased plant	31.3 c	46.7 c	24.7 c	43.3 c

^z Isolation rate (%) = (Number of pseudobulbs or root colonized by *Fusarium oxysporum*/Total number of plantlets) × 100%.

^y Disease incidence (%) = (Number of plants which showed symptom of pseudobulb rot/Total number of plants) × 100%.

^x Means within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% by least significant difference (LSD) test.

別為 73.3% 與 76.7%；若將病株之第三代分株苗種植後，兩次試驗發病率分別為 46.7% 與 43.3%，與其他處理組間呈現顯著性差異。

幼嫩與成熟假球莖對小花蕙蘭假球莖腐敗病菌之感病性測定

將假球莖腐敗病菌 Fo-50 菌株孢子懸浮液，分別接種在幼嫩與成熟假球莖，每週觀察病徵表現，結果發現於接種後 3 wk，幼嫩與成熟假球莖之葉莖部仍正常，只有在接種處內部組織開始出現些微黑褐色壞疽病斑 (圖 1A、1C)。接種後 5 wk，幼嫩假球莖之葉莖部出現褐化病徵，假球莖內部組織黑褐色腐敗，並延伸到鄰近相連假球莖 (圖 1B)；成熟假球莖之葉片則出現些微黃葉病徵，其內部組織出現黑褐色腐敗並延伸到鄰近假球莖 (圖 1D)，此病徵經過病原分離後仍可分離到 *F. oxysporum*。

傷口對小花蕙蘭假球莖腐敗病發生之影響

將假球莖腐敗病菌 Fo-50 與 Fo-51 兩菌株孢子懸浮液分別接種於「寶山報歲蘭」(*C. sinense* 'Bao-shan') 與「玉華四季蘭」(*C. ensifolium* 'Yu-hua') 之無人為傷口、假球莖針刺傷口、剪去 1/4 根長及分拆分株苗之傷口植株，置於溫室內 12 wk 後，結果如表 2 所示。以「寶山報歲蘭」品種而言，將兩菌株分別接種於剪去 1/4 根長、假球莖針刺傷口及分拆分株苗所產生傷口的植株，其假球莖腐敗病之發病率皆

為 100%；將 Fo-50 與 Fo-51 兩菌株分別接種於無人為傷口的植株，其發病率皆為 25.0%，相對於將菌接種於有傷口植株處理的表現，兩者之間具顯著性差異。另以「玉華四季蘭」品種而言，將兩菌株分別接種於剪去 1/4 根長、假球莖針刺傷口及分拆分株苗所產生傷口的植株，其假球莖腐敗病之發病率皆為 100%；將 Fo-50 與 Fo-51 兩菌株接種於無人為傷口的植株，其發病率分別為 12.5% 與 25.0%，相對於將菌接種於有傷口植株處理的表現，兩者之間具顯著性差異，對照組以無菌水接種其發病率皆為 0。

不同時間點的分株苗傷口對小花蕙蘭假球莖腐敗病發生之影響

將假球莖腐敗病菌 Fo-50 與 Fo-51 兩菌株孢子懸浮液，分別接種於「寶山報歲蘭」與「玉華四季蘭」之不同時間點的分株苗，包括當天分拆分株苗與分拆後 3、7、14 及 28 d 的分株苗，置於溫室內 12 wk 後，結果如表 3 所示。以「寶山報歲蘭」品種而言，兩菌株接種在當天分拆的分株苗傷口時，植株發病率皆為 100%，然於分拆後 3、7、14 及 28 d 的分株苗傷口接種 Fo-50 分離株時，其假球莖腐敗病發病率分別為 100%、50.0%、50.0% 及 25.0%；接種 Fo-51 分離株之發病率分別為 75.0%、50.0%、25.0% 及 12.5%。另外，以「玉華四季蘭」品種而言，在當天分拆分株苗

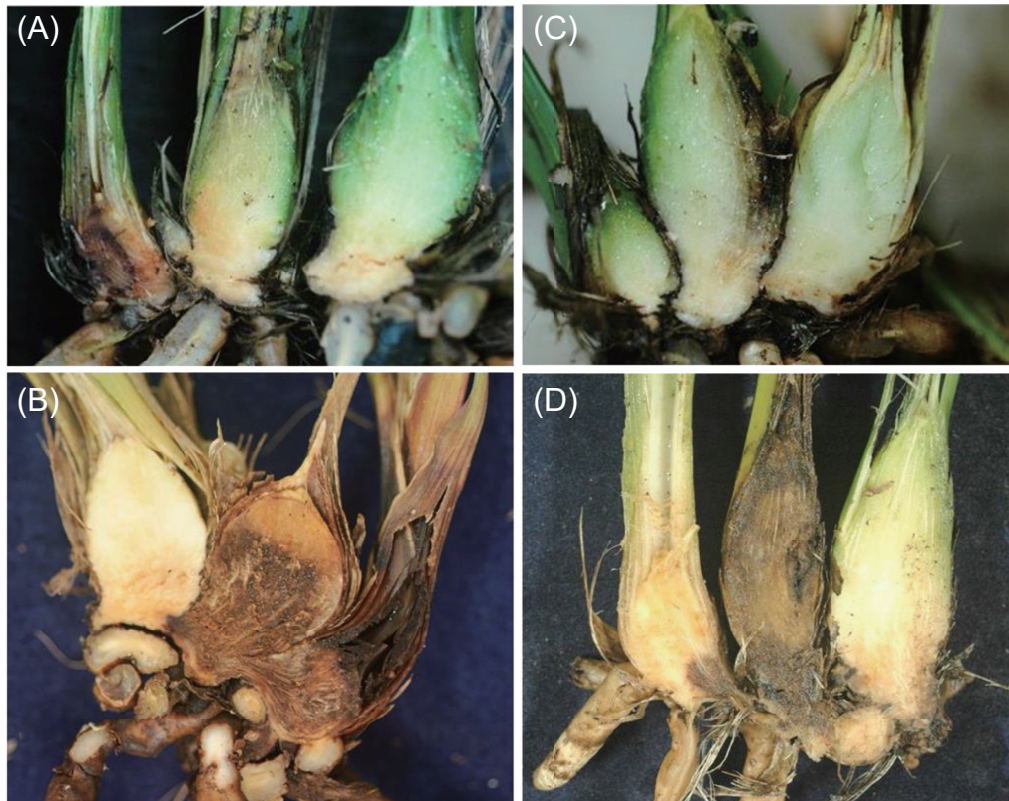


圖 1. 幼嫩與成熟假球莖對小花蕙蘭假球莖腐敗病菌 (*Fusarium oxysporum*) 之病原性測定。(A、B) 健康幼嫩假球莖與 (C、D) 成熟假球莖，接種 *F. oxysporum* Fo-50 之 (A、C) 3 wk 與 (B、D) 5 wk 後之病徵表現。

Fig. 1. Pathogenicity tests of *Fusarium oxysporum* on Oriental cymbidiums. Symptoms of (A, B) young and (C, D) mature pseudobulbs by inoculation with *F. oxysporum* Fo-50 on the wounded pseudobulbs (A, C) 3 wk and (B, D) 5 wk after inoculation.

表 2. 傷口對小花蕙蘭假球莖腐敗病發生之影響。

Table 2. Effect of wounds on the disease incidences of Oriental cymbidiums pseudobulb rot inoculated with *Fusarium oxysporum* Fo-50 and Fo-51 isolates for 12 wk.

Treatment	Disease incidence (%) ^z			
	<i>C. sinense</i> 'Bao-shan'		<i>C. ensifolium</i> 'Yu-hua'	
	Fo-50	Fo-51	Fo-50	Fo-51
no-wound	25.0 b ^y	25.0 b	12.5 b	25.0 b
roots-wounded	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
pseudobulbs-wounded	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a
seedlings-wounded	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a

^z Disease incidence (%) = (Number of plants which showed symptom of pseudobulb rot/Total number of plants) × 100%.

^y Means within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% by least significant difference (LSD) test.

與分拆後 3 d 的分株苗傷口接種兩菌株時，發病率皆達 100% 無差異性；然對分拆後 7、14 及 28 d 的分株苗傷口接種 Fo-50 分離株時，

其假球莖腐敗病發病率分別為 62.5%、50.0% 及 25.0%；接種 Fo-51 分離株則其發病率分別為 75.0%、37.5% 及 12.5%，相對於當天分拆

表 3. 分株苗產生傷口後於不同天數接種病原菌，對小花蕙蘭假球莖腐敗病發生之影響。

Table 3. Effect of inoculation timing of *Fusarium oxysporum* Fo-50 and Fo-51 to the pseudobulbs separated from the mother plants on disease incidence of pseudobulb rot of Oriental cymbidiums 12 wk after inoculation.

Days after pseudobulbs were separated	Disease incidence (%) ^z			
	<i>C. sinense</i> 'Bao-shan'		<i>C. ensifolium</i> 'Yu-hua'	
	Fo-50	Fo-51	Fo-50	Fo-51
0	100.0 a ^y	100.0 a	100.0 a	100.0 a
3	100.0 a	75.0 a	100.0 a	100.0 a
7	50.0 b	50.0 b	62.5 b	75.0 b
14	50.0 b	25.0 bc	50.0 b	37.5 c
28	25.0 c	12.5 c	25.0 c	12.5 d

^z Disease incidence (%) = (Number of plants which showed symptom of pseudobulb rot/Total number of plants) × 100%.

^y Means within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% by least significant difference (LSD) test.

分株苗傷口達 100% 發病率，兩者之間具顯著性差異。

討論

小花蕙蘭為台灣第三大外銷花卉，是具經濟重要性的其中一類蘭花植物 (Hung *et al.* 2015)，透過本研究之田間病害調查顯示，由 *Fusarium oxysporum* 引起的小花蕙蘭假球莖腐敗病 (pseudobulb rot) 普遍發生於栽培園區，嚴重時發病率達 50%。Yao *et al.* (2018) 指出在 2016 年中國福建省由 *F. oxysporum* 引起的四季蘭 (*Cymbidium ensifolium*) 莖腐病 (stem rot) 發生率為 15–35%，顯示本病害為限制小花蕙蘭栽培生產的重要病害之一 (Huang *et al.* 2020)。*F. oxysporum* 寄主範圍廣泛，包含菊花屬 (*Chrysanthemum* spp.)、石竹屬 (*Dianthus* spp.)、非洲菊屬 (*Gerbera* spp.)、唐菖蒲屬 (*Gladiolus* spp.) 及百合屬 (*Lilium* spp.) 等具觀賞價值的植物，此病原主要危害儲藏器官之球莖部位 (storage of bulbs and corms)，而後呈現維管束萎凋 (vascular wilt)、球莖與根部腐爛 (crown and root rot) 兩種病徵表現，造成許多高經濟價值觀賞植物的嚴重經濟損失 (Lecomte *et al.* 2016; Srivastava *et al.* 2018)，如 *F. oxysporum* f. sp. *gladiodi* 造成墨西哥的唐菖蒲 (*gladiodi*) 60–80% 損失 (Barrera-Necha *et al.* 2009)。另 Lee *et al.* (2002) 指出 1996–2000 年間在韓國的蕙蘭屬 (*Cymbidium*) 植物出現葉片基部、假球莖及根部枯萎、腐爛病徵之發

生率高達 40%，其中 *F. oxysporum* 為主要的病原菌，顯示 *F. oxysporum* 是多種具經濟價值作物的重要病原菌之一 (Gullino *et al.* 2015; Lecomte *et al.* 2016; Srivastava *et al.* 2018)。*F. oxysporum* 是一種複合種 (complex species) 其寄主範圍廣泛，因 *F. oxysporum* 通常具寄主專一性 (host-specificity) 特性，可再細分為分化型 (*formae specialis*) 與小種 (races)，目前已超過 70 種 *forma speciales* (Armstrong & Armstrong 1981; Srivastava *et al.* 2018)，Huang *et al.* (2020) 指出 *F. oxysporum* 引起小花蕙蘭假球莖腐敗病外，在大花蕙蘭-虎頭蘭亦造成類似病徵，但在文心蘭、仙履蘭、嘉得麗雅蘭及石斛蘭等蘭花則未見病徵產生，推測可能具有分化型存在，未來仍有待釐清。

本研究為瞭解本病害之主要感染源與感染途徑，由試驗結果顯示病株苗之假球莖腐敗病菌分離率達 100.0%，將病株苗種植於盛有碎石栽培盆內，假球莖腐敗病之發病率亦達 100.0%；健株苗之假球莖腐敗病菌分離率約 3.3–9.3%，將健株苗種植後，假球莖腐敗病之發病率則為 10.0–16.7%；組培苗之假球莖腐敗病菌分離率為 0，將組培苗種植後，假球莖腐敗病之發病率為 0，顯示栽植健康分株苗甚為重要，分株苗為本病害傳播之主要途徑，因此防治本病害首重取得健康的分株苗。分株苗來源最好來自組織培養苗，才能有效降低苗株被感染風險，但由於目前小花蕙蘭組織培養增殖倍率低，且所需時間長、成本相較一般分

株苗高，因此台灣栽培業者仍以分芽繁殖小花蕙蘭苗株為主 (Du Puy & Cribb 2007; Hsu 2010)。此外，病株之第一代、第二代及第三代分株苗之假球莖腐敗病菌分離率，分別有 93.0–95.0%、49.0–54.0% 及 24.0–31.0%，將病株之第一代、第二代及第三代分株苗分別種植於盛有碎石栽培盆內，其假球莖腐敗病發病率分別為 100.0%、75.0% 及 45.0%，調查得知分株苗隨著罹病植株的假球莖分化多代，腐敗病發病率則降低，但仍有 4 成以上發病率，顯示種植來自罹病植株之分株苗，後續在田間發生假球莖腐敗病的風險亦相當高。另據文獻紀錄作物萎凋病 (*Fusarium* diseases)，如仙客來萎凋病 (*cyclamen wilt*) 與康乃馨、球莖作物及菊科萎凋病 (Tompkins & Snyder 1972; Gullino *et al.* 2015; Garibaldi & Gullino 2017) 等，皆可透過種子 (seeds, seed debris) 或繁殖材料 (propagation material) 進行病害傳播，故建議業者栽植小花蕙蘭時，應選擇來自組培苗或健康植株的分株苗。另本研究將假球莖腐敗病菌 Fo-50 孢子懸浮液，直接接種於幼嫩與成熟假球莖上，由結果顯示對幼嫩或成熟的假球莖內部組織，皆會造成黑褐色腐敗並延伸至鄰近假球莖，在地上部的葉片則出現黃化病徵，顯示只要假球莖腐敗病菌存在於假球莖內部，無論是幼嫩或成熟的假球莖，皆會呈現典型假球莖腐敗病的病徵。

目前台灣種植小花蕙蘭以慣行的分芽繁殖方式為主，分株時會造成分株苗產生傷口，本研究發現無論剪去 1/4 根長、假球莖針刺傷口及分拆分株苗所產生之傷口等植株，直接接種假球莖腐敗病菌 (Fo-50、Fo-51) 12 wk 後，「寶山報歲蘭」與「玉華四季蘭」之發病率皆為 100.0%，而無傷口處理之植株發病率僅 12.5–25.0%，且多發生於幼株，顯示病原菌易由傷口侵入感染，且無傷口植株之幼株較成株易感病。另在不同時間點的分株苗傷口上接種假球莖腐敗病菌 (Fo-50、Fo-51) 時，12 wk 後發現當天分拆分株苗與分拆後 3 d 之分株苗，無論是「寶山報歲蘭」或「玉華四季蘭」，其發病率皆在 75.0–100% 之間，推測可能原因為當天分拆分株苗較衰弱或傷口未癒合完全，以致較易受病原菌感染，尤其以分拆 3 d 內的分

株苗最易感染病原菌；而分拆後 7 d 的分株苗仍有 5 成以上發病率；然而，分拆後 28 d 之「寶山報歲蘭」與「玉華四季蘭」2 品種分株苗，其發病率皆小於 20%，顯示分拆後分株苗放置陰涼處時間越久，雖可達傷口癒合效果，但卻不符合目前台灣小花蕙蘭產業生產栽培現況。因此，未來應可再進行傷口處理的溫室與田間相關試驗，以確認保護傷口的最佳操作方法，作為農友處理分株苗的參考依據。

綜合本研究結果顯示，來自罹病植株之分株苗，為小花蕙蘭假球莖腐敗病傳播的主要來源，故建議栽培業者應選擇組培苗或健康植株的分株苗進行種植，而分拆分株苗植株較為衰弱，傷口未完全癒合，較易受到存活於介質中病原菌的危害，尤其以分拆 3 d 內分株苗最易感染病原菌，未來仍須持續進行分株苗傷口保護措施與其他防治方法 (如物理防治、化學防治及生物防治等) 等相關試驗，提供適當的防治策略，實際解決產業生產所面臨的瓶頸。

引用文獻

- Armstrong, G. M. and J. K. Armstrong. 1981. *Formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. p.391–399. in: *Fusarium: Disease, Biology, and Taxonomy*. (Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and R. J. Cook, eds.) Pennsylvania State University Press. University Park, PA. 457 pp.
- Barrera-Necha, L. L., Garduno-Pizana, C., Garcia-Barra, L. J. 2009. *In vitro* antifungal activity of essential oils and their compounds on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (Massey) Snyder and Hansen. *Plant Pathol. J.* 8:17–21. doi:10.3923/ppj.2009.17.21
- Du Puy, D. and P. Cribb. 2007. *The Genus Cymbidium*. Kew publishing. Royal botanic gardens, London, UK. 369 pp.
- Garibaldi, A. and M. L. Gullino. 2017. *Fusarium* wilts of some ornamental compositae. p.205–211. in: *Fusarium Wilts of Greenhouse Vegetable and Ornamental Crops*. (Gullino, M. L., J. Katan, and A. Garibaldi, eds.) American Phytopathological Society. St. Paul, MN. 256 pp. doi:10.1094/9780890544822.024
- Geiser D. M., M. del Mar Jiménez-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. doi:10.1023/B:EJPP.0000032386.75915.a0
- Gullino M. L., M. L. Daughtrey, A. Garibaldi, and W. H. Elmer. 2015. *Fusarium* wilts of ornamental crops and their management. *Crop Prot.* 73:50–59. doi:10.1016/j.cropro.2015.01.003
- Hsu, J. H. 2010. The role of pseudobulb in the birth of orchids. p.154–162. *in*: 99 Years Special Discussion Collection. (Tsai, Y. F., ed.) Taichung Dist. Agric. Res. Ext. Sta. Taichung, Taiwan. 248 pp. (in Chinese)
- Huang, C. W., J. H. Huang, Y. C. Li, C. W. Chen, and T. F. Hsieh. 2020. Pseudobulb rot of *Cymbidium* caused by *Fusarium oxysporum*. *J. Taiwan Agric. Res.* 69:65–76. (in Chinese with English abstract) doi:10.6156/JTAR.202003_69(1).0005
- Hung, H. C., F. M. Wei, and C. S. Chang. 2010. Chinese Orchids Production Operations Manual. Taichung Dist. Agric. Res. Ext. Sta. Taichung, Taiwan. 135 pp. (in Chinese)
- Hung, H. C., M. L. Chen, and Y. F. Tsai. 2015. Chinese Cymbidium Industry Conference. Taichung Dist. Agric. Res. Ext. Sta. Taichung, Taiwan. 168 pp. (in Chinese)
- Lin, C. L. 2015. Taiwan cymbidium industry overview. p.3–20. *in*: Proceeding of Chinese Cymbidium Industry Conference. November 17, 2015. Nantou, Taiwan. Taichung Dist. Agric. Res. Ext. Sta. Taichung, Taiwan. 168 pp. (in Chinese)
- Lo, Y. F. 2006. Guidelines for cymbidium cultivation and management. p.43–55. *in*: Handbook of Cultivation and Management of Cymbidium. (Wang, C. L., F. Z. Li, and J. Y. Wong, eds.) Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan. Taipei, Taiwan. 121 pp. (in Chinese)
- Lecomte C., C. Alabouvette, V. Edel-Hermann, F. Robert, and C. Steinberg. 2016. Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: A review. *Biol. Control.* 101:17–30. doi:10.1016/j.biocontrol.2016.06.004
- Lee, B. D., W. G. Kim, W. D. Cho, and J. M. Sung. 2002. Occurrence of dry rot on *Cymbidium* orchids caused by *Fusarium* spp. in Korea. *Plant Pathol. J.* 18:156–160. doi:10.5423/PPJ.2002.18.3.156
- Leslie, J. F., B. A. Summerell, and S. Bullock. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Iowa State University Press. Ames, IA. 388 pp.
- Srivastava, S., C. Kadooka, and J. Y. Uchida. 2018. *Fusarium* species as pathogen on orchids. *Microbiol. Res.* 207:188–195. doi:10.1016/j.micres.2017.12.002
- Tompkins, C. M. and W. C. Snyder. 1972. Cyclamen wilt in California and its control. *Plant Dis. Rep.* 56:493–497.
- Tzean, S. S., K. C. Tzeng, C. A. Chang, T. T. Tsai, and H. F. Yen. 2019. List of Plant Diseases in Taiwan. 5th ed. Taiwan Phytopathology Society. Taichung, Taiwan. 329 pp. (in Chinese)
- Yao, J. A., P. Huang, C. Z. Lan, and Y. D. Yi. 2018. Stem rot on *Cymbidium ensifolium* (Orchidaceae) caused by *Fusarium oxysporum* in China. *Can. J. Plant Pathol.* 40:105–108. doi:10.1080/07060661.2017.1411976

Study on the Pathway of Infection by Pathogen of Oriental Cymbidiums Pseudobulb Rot

Chiao-Wen Huang¹, Jin-Hsing Huang^{2*}, Yi-Ching Li³, Chun-Wei Chen⁴, Szu-Lun Lai⁵, and Ting-Fang Hsieh⁶

Abstract

Huang, C. W., J. H. Huang, Y. C. Li, C. W. Chen, S. L. Lai, and T. F. Hsieh. 2023. Study on the pathway of infection by pathogen of Oriental cymbidiums pseudobulb rot. *J. Taiwan Agric. Res.* 72(3):267–275.

Pseudobulb rot disease caused by *Fusarium oxysporum* is a major limiting factor of Oriental cymbidiums cultivation in Taiwan. In order to shorten the growth period, farmers usually use a shoot diving method for propagation instead of using tissue culture plantlets. However, the disease incidence of pseudobulb rot was up to 100% when the 1st generation shoot from the diseased mother plant were replanted in pots. Furthermore, the replanted plants of the 2nd and 3rd generation shoots from the diseased mother plants showed moderate high disease incidences, suggesting that the disease plantlets or generation shoots come from the disease plant were the major inoculum source. In the artificial inoculation tests, both the young and mature Oriental cymbidiums pseudobulbs showed similar disease incidence after individual inoculation with wound treatment. In another inoculation test, with wound treatment, including on roots, pseudobulbs, and seedlings, the inoculated plants showed 100% disease incidences, significantly higher than the no wound treatment (25% or less), indicating that wound was an important factor to promote the disease development. In the further inoculation tests, both of the most popular cultivars (*C. sinense* 'Bao-shan' cultivar and *C. ensifolium* 'Yu-hua' cultivar) showed high (75.0–100%), moderate (50–75%) and low (12.5–25%) disease incidence on the replanted plantlets 3, 7 and 28 days after pseudobulbs were separated, respectively. The results of this study provides an important reference for developing the further control measures of pseudobulb rot disease in Taiwan.

Key words: *Cymbidium*, Pseudobulb rot, *Fusarium oxysporum*, Disease ecology.

Received: March 23, 2023; Accepted: May 8, 2023.

* Corresponding author, e-mail: jhhuang@tari.gov.tw

¹ Assistant Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

² Associate Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

³ Project Assistant, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

⁴ Contract Assistant Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

⁵ Assistant Research Fellow, Department of Production Process Development, Floricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Yunlin County, Taiwan, ROC.

⁶ Research Fellow and Secretary General, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.