

蝴蝶蘭永續管理中黃葉病感染源之探討與管理

王智立^{1,2*}、曹維鈞¹、杜易禾¹、吳晨甄²、謝廷芳³

¹國立中興大學植物病理學系。

²國立中興大學植物醫學暨安全農業碩士學位學程。

³農業部農業試驗所。

* clwang@nchu.edu.tw

摘要

蝴蝶蘭為台灣重要的經濟花卉，但在溫室栽培與運輸過程中常受 *Fusarium phalaenopsisidis* (舊稱 *Fusarium solani* f. sp. *phalaenopsis*) 感染，造成普遍且嚴重的黃葉病，影響出口品質與產值。然而，目前對該病害的生態，包括感染源的分布及侵染機制尚未明確，導致防治策略難以精準執行。為釐清其感染來源與傳播方式，我們結合 CDMR 半選擇性培養基與專一性引子對 FphSP6F/FphSP6R，建立一套快速檢測流程，並針對蝴蝶蘭栽培環境進行系統性採樣與分析，發現病原菌廣泛分布於水牆及床架，甚至可能藉由蕈蚋傳播。研究結果不僅有助於瞭解病原生態，亦為防治策略提供科學依據，有助於精進蝴蝶蘭黃葉病的綜合管理對策，邁向永續管理之目標。

關鍵字：*Fusarium phalaenopsisidis*、半選擇性培養基、專一性引子對、檢測、蕈蚋

前言

蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis* spp.) 是台灣重要的經濟花卉，自1997年以來，其出口產值逐年增加，截至2024年，出口總額已達新台幣46億元，佔整體花卉出口產值的75% (單一農產品進出口量值—按國家別，農業統計資料查詢，農業部)。由於蝴蝶蘭可在溫室中進行全年生產，並擁有多樣化的品系供銷售，具有高度商業價值，因此成為台灣花卉產業中的重要支柱。然而，蝴蝶蘭在溫室栽培過程中容易受到多種病害侵襲，尤以 *Fusarium phalaenopsisidis* (舊稱 *Fusarium solani* f. sp. *phalaenopsis*) 引起的黃葉病最為普遍，且可在蝴蝶蘭的各生育階段發生 (Su *et al.*, 2010; Tsao *et al.*, 2024)。蝴蝶蘭出口以海運為主要

運輸方式，在裝箱運輸過程中，推測因植株處於長期黑暗條件下導致抗病性降低，而常促使黃葉病及炭疽病等病害發生。據業者表示，植株在出口前需經檢疫無病徵方可放行出口，但在長時間儲運過程中因植株衰弱，常於抵達目的地後出現黃葉病徵狀，進而造成經濟損失 (Liao *et al.*, 2012)。

蝴蝶蘭黃葉病研究回顧與進展

蝴蝶蘭黃葉病最早於1988年在日本沖繩縣被報導，感染植物包括 *Phalaenopsis* 屬及 *Doritaenopsis* 屬蘭花。病株根部變色腐敗，葉片萎凋，嚴重時可導致植株死亡，常在根部及周圍組織觀察到紅色子囊殼 (perithecia)。學者完成病原菌分離與柯霍氏法則驗證，並根據形態特徵將病原鑑定為



Nectria haematococca Berk. et Br. (*Fusarium solani*), 稱該病害為 *Nectria* blight (Morita *et al.*, 1992)。類似病害也曾於1997至2000年間在韓國京畿道的蘭園中被發現，部分蘭園發病率高達30% (Kim *et al.*, 2002)。研究人員自病株分離出54株 *Fusarium* 屬菌株，形態學鑑定結果包括42株 *F. solani*、5株 *F. oxysporum* 與7株 *F. proliferatum*，其中 *F. solani* 的分離率最高，學者因此認為其為造成根部褐化與壞死的主要病原 (Kim *et al.*, 2002)。

台灣於2010年首次正式報導此病害，根據2005年起溫室觀察結果，黃葉病在感病植株中發病率可達30–70%。感病植株表現出根腐、葉基部壞死及黃化等典型病徵，80%的病株可分離出 *F. solani*，並經柯霍氏法則確認為病原菌 (Su *et al.*, 2010)。該病害與 *F. oxysporum* 所引起的灰斑病以及 *F. proliferatum* 所引起的黑斑病病徵可加以區別。*F. oxysporum* 感染造成葉片或葉鞘上出現圓形至不規則的黑色病斑，病斑周圍具黃色暈環，並可導致葉片與葉鞘黃化；*F. proliferatum* 亦造成黑色病斑，但僅部分品種會出現黃化病徵。人工接種試驗顯示，僅 *F. solani* 與 *F. oxysporum* 能誘發葉片黃化，*F. proliferatum* 無此現象 (Su *et al.*, 2012)。後續 Chung 等人 (2010) 對自蝴蝶蘭黃葉病株分離之菌株進行致病性試驗，測試寄主包括蝴蝶蘭 (*Phalaenopsis* sp.)、蕙蘭 (*Cymbidium* spp.)、嘉德麗雅蘭 (*Cattleya* sp.)、文心蘭 (*Oncidium* sp.) 及石斛蘭 (*Oncidium* sp.)，以及常見 *F. solani* 寄主如豌豆 (*Pisum sativum*)、菊花 (*Chrysanthemum indicum*)、甜瓜 (*Cucumis melo*) 及黃瓜 (*C. sativus*)。結果顯示，蝴蝶蘭黃葉病株分離株可造成蝴蝶蘭葉片嚴重黃化，在蕙蘭上則僅引起輕微病徵，其餘植物皆無病徵表現，因此以專化型的形式命名為 *F. solani* f. sp. *phalaenopsis*。

研究發現過去常用的 *F. solani* 包含多個

支序群 (clade)，因此稱之為 *Fusarium solani* species complex (FSSC)，為定義 FSSC 中的各支序群菌株，Schroers 等人 (2016) 指定了 *F. solani* 的模式標本，透過親緣演化分析證實其菌株隸屬於 FSSC 5 支序群，並將 FSSC 5 支序群定義為 *F. solani sensu stricto*。換言之，研究所識別的 FSSC 成員，若非 FSSC 5 支序群的菌株，皆屬於不同物種，需進一步釐清並重新進行命名與分類。為進一步澄清蝴蝶蘭黃葉病致病菌的分類地位，Tsao 等人 (2024) 自台灣中南部七縣市的蝴蝶蘭溫室中，採集罹病及健康植株樣本，共分離出 16 株菌株與 3 株自無徵狀植株分離的菌株，證實其具病原性。利用 7 段合併之基因序列，包括真核轉譯延長因子 1 alpha (translation elongation factor 1 alpha, *TEF1* α)、內轉錄間隔區 (internal transcribed spacer, ITS)、核糖體大次單元 (large subunit of ribosomal ribonucleic acid, *LSU*)、鈣調蛋白 (calmodulin, *CAM*)、ATP-檸檬酸裂解 (ATP citrate lyase 1, *ACLI*)、RNA 聚合 II 最大次單元 (the largest subunit of the RNA polymerase II, *RPB1*) 以及 RNA 聚合 II 第二大次單元 (the second largest subunit of the RNA polymerase II, *RPB2*)，進行與 *F. solani sensu stricto* (FSSC 5) 及相近支序群物種之親源演化分析。結果顯示，所有蝴蝶蘭黃葉病菌株，包括此前報告的 *F. solani* f. sp. *phalaenopsis* cpy01a (Chung *et al.*, 2011)，均聚集於一個高支持度的單系支序群 (monophyly)，並且不包含任何已知物種，表明蝴蝶蘭黃葉病原菌為一獨立新物種，基於其分子系統發育及形態特徵，該新物種被正式命名為 *Fusarium phalaenopsisidis* C.L. Wang & W.C. Tsao。

感染源之探討與研究動機

黃葉病可發生於各栽培階段的蝴蝶蘭植株中，是許多業者指出的常見病害，更是儲

運時的常見問題。因此，研究者針對儲運過程中病害的發生防治進行模擬試驗。Liao等人 (2012) 以撲克拉錳 (prochlorate manganese) 與幾丁聚糖 (chitosan) 處理後，進行黃葉病人工接種，並將植株以紙箱包裝，靜置於 18 °C 黑暗冷藏庫中 20 與 26 天，以模擬輸美過程，結果顯示儲運前的藥劑防治策略效果不穩定，此外，該研究特別指出，未接種之對照組亦自然發病，推測病原菌可能早已潛伏於植株中。這也突顯了當前最核心的問題：植株在出貨前看似健康，但可能已帶菌，待條件適合時發病，使得後端的藥劑處理效果大打折扣，因此，如何減少植株感染病害，釐清病原菌之殘存及傳播生態，為防治黃葉病的重要資訊，包括：(1) 系統性地重新評估其感染來源，與 (2) 探討病原菌如何在蝴蝶蘭植株間傳播，作為防治策略的依據。

現階段黃葉病防治之困境與限制

瞭解病害的發生來源對於制定有效的管理策略具有重要意義。例如，Sneideris 等人 (2020) 針對小麥赤黴病菌 *Fusarium graminearum* 進行為期三年的田間調查，針對不同來源進行分離與偵測。結果顯示，從雜草中分離出 *F. graminearum* 的比例高達 50%，遠高於從土壤 (<10%) 或植物殘體 (4%) 中的分離率，顯示雜草可能為主要的初始接種源，進而突顯雜草管理在小麥赤黴病防治中的關鍵性 (Sneideris *et al.*, 2020)。此外，水稻徒長病主要透過種子傳播，因此種子處理與消毒被視為防治該病害的有效策略之一 (An *et al.*, 2023；Watanabe, 1974)。說明掌握病害的初始接種源及傳播方式，為擬定病害防治策略的重要依據。

相較之下，有關蝴蝶蘭黃葉病菌之感染來源的系統性研究仍相當有限。根據蘇等人 (2016) 發表於台灣蘭花育種者資訊網之報導 ([https://www.tobs.org.tw/discuz/forum.](https://www.tobs.org.tw/discuz/forum.php?mod=viewthread&tid=451)

[php?mod=viewthread&tid=451](https://www.tobs.org.tw/discuz/forum.php?mod=viewthread&tid=451))，其利用解剖刀自三種不同栽種年限 (3 年、10 年與 20 年) 之蝴蝶蘭溫室中，針對多個環境位置 (地面、植床、內牆、水牆及風扇) 刮取粉塵並以 water agar 培養基進行分離，以探討潛在感染源。研究結果顯示，隨著溫室使用年限的增加，各環境來源中分離出黃葉病病原之比例亦隨之上升。在使用 20 年的溫室中，除風扇的分離率為 0 % 外，其餘位置的分離率介於 5 % 至 65%，報導內容提供了病原菌可能殘存的重要資訊。然而，*Fusarium* 屬的真菌為環境中常見的微生物，包含病原菌及許多非病原菌，分離病原菌時易受到雜菌及其他非病原菌 *Fusarium* 的干擾，容易導致許多假陽性的誤判；再者，僅以形態特徵進行真菌鑑定，難以準確鑑定病原菌的親緣種。因此，針對蝴蝶蘭黃葉病病原菌之感染來源仍需進一步研究，並建議輔以分子診斷技術，以提升鑑定的準確性。另一方面，病原菌如何在植株間傳播，為病害防治上不可或缺的重要資訊。

開發蝴蝶蘭黃葉病原菌之半選擇性培養基

為了探討病原菌於環境中的潛在來源，選擇性或半選擇性培養基可作為一有效工具，以便從複雜的微生物群中分離特定目標菌 (Tsao, 1970)。針對 *Fusarium* 屬真菌，傳統常使用含五氯硝基苯 (PCNB) 的半選擇性培養基 (Leslie and Summerell, 2008)。然而，PCNB 被列為可能造成人類致癌與污染空氣，其使用具有潛在風險，因此促使許多學者開發針對特定病原菌的替代性選擇性培養基 (Nishimura, 2007)。例如，Jung 等人 (2013) 針對 *F. graminearum* 開發添加毒素 toxoflavin 的選擇性培養基，利用該病原對 toxoflavin 的抗性以區辨其他真菌，成功地提供環境監測與族群變化研究的有力工具。此外，也已開發針對 *F. oxysporum* 自土壤中分離之選擇性培養



基，可應用於病害流行病學調查與防治規劃。

然而，目前針對蝴蝶蘭黃葉病原菌之相關研究仍付之闕如，尚缺乏有效工具用以調查感染源。因此，本研究開發蝴蝶蘭黃葉病菌之半選擇性培養基 CDMR，以建立初步的環境監測流程 (Tu, 2023)。首先自蝴蝶蘭之常見非黃葉病原菌株 (如 *Trichoderma* spp.、*Penicillium* spp. 及其他 *Fusarium* spp.) 以及黃葉病原菌 *Fusarium phalaenopsisidis*，進行對不同農藥之感受性試驗。藉此篩選可有效抑制多數非目標微

生物之藥劑，並製備促使黃葉病原菌生長優於其他菌種之培養基。實驗結果顯示，CDMR 培養基對非黃葉病菌菌絲體的抑制率達 90%，而對黃葉病菌僅為 53%，證實其具備半選擇性效能。進一步測試 CDMR 對其他種 *Fusarium*，如 *F. oxysporum*、*F. proliferatum*、*F. sacchari* 之孢子發芽抑制效果，結果顯示除 *F. oxysporum* 外，其他菌種之孢子發芽皆受到明顯抑制 (Tu, 2023)，因此後續應用 CDMR 於蝴蝶蘭黃葉病菌之篩選分離 (圖一)。



圖一、使用 CDMR 半選擇性培養基自溫室環境分離病原結果。自床架、水牆及蠅蚋樣本以 CDMR 半選擇性培養基進行分離後，於第3天觀察到疑似 *Fusarium phalaenopsisidis* 之粉紅色菌落，以箭頭標示其位置。

Fig 1. Isolation of the pathogen from greenhouse environments using CDMR semi-selective medium. Samples collected from benches, evaporative cooling pads, and fungus gnats were plated on CDMR semi-selective medium. On day 3 of incubation, pink colonies resembling *Fusarium phalaenopsisidis* were observed, indicated by arrows.

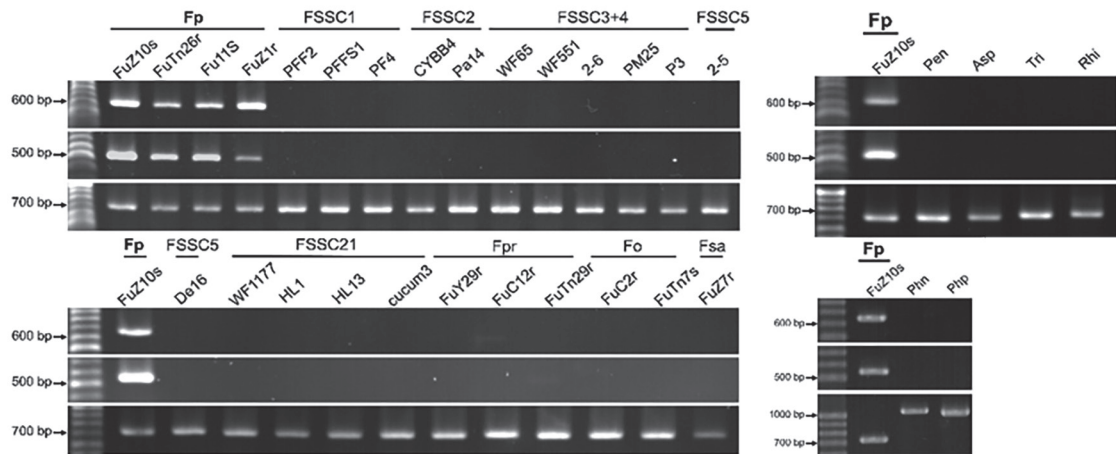
建立黃葉病原菌專一性分子檢測引子對

儘管半選擇性培養基能有效降低雜菌干擾，但CDMR仍可能分離出其他複合種 *Fusarium* 或與病原菌親緣相近之非目標菌株，因此需輔以分子檢測工具以達準確鑑定之目的。目前植物病原真菌之分子鑑定方法，常用聚合 連鎖反應 (polymerase chain

reaction, PCR)、即時聚合 連鎖反應 (real-time polymerase chain reaction) 及恆溫環狀擴增法 (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 等技術 (Hariharan and Prasannath, 2021)，均可大幅提升診斷效率。過去已有針對 *Fusarium solani* species complex (FSSC) 設計專一性引子對，例如利用 *TEF1* α 基因設計之引子對，可針對 FSSC 中物種進行PCR檢測 (Arif *et al.*, 2012)；另有研究透過擴增片

幅黃葉病菌 DNA，且不對其他非目標菌株產生條帶訊號（圖二）(Tsao *et al.*, 2024)。與過往多數基於保守性管家基因之引子設計 (Arif *et al.*, 2012) 相較，Tsao 等人 (2024) 運用全基因組資訊鎖定病原相關基因、毒力因子及效應蛋白，以此序列設計專一性引子對，具備三項優勢：

1. 可辨識屬內獨特序列與非編碼區；
2. 效應物與毒力因子有助界定宿主範圍；
3. 腐生真菌中不具病原毒力相關基因，可避免誤檢，作為病原菌檢測之理想標的。



圖二、引子對專一性測試。為評估所設計引子對的專一性，實驗中使用兩組引子：FphSP1F/FphSP1R (上方膠圖) 與 FphSP6F/FphSP6R (中間膠圖)，用以檢測 *Fusarium phalaenopsisidis* (Fp)。V9G/ITS4 (下方圖框) 則用於驗證所有受試分離株之 DNA 品質。FSSC1, *Fusarium petrophilum*; FSSC2, *Fusarium keratoplasticum*; FSSC3+4, *Fusarium falciforme*; FSSC5, *Fusarium solani*; FSSC21, *Fusarium solani-melonigenae*; Fpr, *Fusarium proliferatum*; Fo, *Fusarium oxysporum*; Fsa, *Fusarium sacchari*; Phn, *Phytophthora nicotianae*; Php, *Phytophthora palmivora*; Pen, *Penicillium* sp.; Asp, *Aspergillus* sp.; Tri, *Trichoderma* sp.; Rhi, *Rhizopus* sp.

Licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)



黃葉病菌之環境監測與生態研究

結合 CDMR 半選擇性培養基與專一性引子對 FphSP6F/FphSP6R，本研究建立一套可應用於感染源調查之流程。首先，利用 CDMR 培養基從病株中分離出疑似 *F. phalaenopsidis* 粉紅色菌落 (圖一)，再以 FphSP6F/FphSP6R 進行 PCR 確認，所有分離株經分子驗證後皆為黃葉病菌。為進一步探討病原菌之潛在感染源，針對 20 處蝴蝶蘭溫

室設施進行環境樣本採樣 (包括空氣、床架、水牆及蕈蚋)，均利用上述檢測流程進行分析。結果顯示，床架樣本中分離率最高，其次為水牆，空氣樣本則僅有少數 (表一)。值得注意的是，於黃色黏蟲紙上所採得之蕈蚋屍體亦可分離出黃葉病菌，顯示其與病原菌之傳播具潛在關聯性。然而，因屍體於黏蟲紙上可能已有菌體增生或分解，未來需進一步調查活體蕈蚋是否為攜帶並傳播病原菌之媒介。

表一、蝴蝶蘭黃葉病菌於溫室之分離情形。

Table 1. Isolation of *Fusarium phalaenopsidis* from greenhouse.

	Air collected from greenhouse center	Air collected near the door of greenhouse	Benches	Evaporative cooling pads	Fungus gnats
Occurrence rate in greenhouse facilities (%)	15	0	100	60	35

* All samples were collected from facilities of 20 greenhouses and plated onto CDMR semi-selective medium. Suspected *F. phalaenopsidis* colonies grown on CDMR medium were further confirmed using the species-specific primer pair FphSP6F/R.

黃葉病菌接種源的管理

由病原菌在蝴蝶蘭溫室的生態研究可知，溫室中的空氣、床架、水牆及蕈蚋皆可分離到病原菌，考量 *Fusarium* spp. 的生物特性，推測床架上的病原菌可能源自於罹病植株產孢後，經澆水淋洗後殘留其上；水牆上的病原菌可能源自於溫室外；空氣中的病原菌可能源自於水牆或床架；蕈蚋上的病原菌可能源自於罹病植株。因此可由下列方向進行管理：(1) 罹病植株的移除及隔離為管理上的重點；(2) 定期施用抑制孢子發芽的藥劑進行環境消毒；(3) 防治蕈蚋，減少植株間二次傳播的可能性。

結語

本研究所建立之蝴蝶蘭黃葉病菌半選擇

性培養基的分離與分子鑑定流程，不僅有助於瞭解病原菌的生態與感染源，更為蝴蝶蘭黃葉病之防治策略提供科學依據。後續研究將進一步驗證及探討蕈蚋在黃葉病菌傳播上的重要性，並釐清其自然的田間感染機制，以作為制定防治策略之重要參考資訊。實務上可考慮應用前人所報導之化學或生物性防治資材 (Liao *et al.*, 2012; Su *et al.*, 2022)，抑制病原菌入侵。管理層面應關注蕈蚋作為病原菌傳播媒介之潛在風險，並透過環境的濕度控制、出瓶苗培養基的清理及適當藥劑進行族群；於植株出貨前則可再次處理水苔與根部區域，以降低病原殘留風險。整合上述措施，將有助於精進蝴蝶蘭黃葉病之綜合性病害管理策略，邁向永續管理之目標。

參考文獻

1. An, Y. N., Murugesan, C., Choi, H., Kim, K. D., & Chun, S. C. (2023). Current studies on bakanae disease in rice: host range, molecular identification, and disease management. *Mycobiology*, 51(4), 195-209.
2. Arif, M., Chawla, S., Zaidi, M. W., Rayar, J. K., Variar, M., & Singh, U. S. (2012). Development of specific primers for genus *Fusarium* and *F. solani* using rDNA sub-unit and transcription elongation factor (TEF-1 α) gene. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 444-447.
3. Casasnovas, F., Fantini, E. N., Palazzini, J. M., Gaj Merlera, G., Chulze, S. N., Reynoso, M. M., & Torres, A. M. (2013). Development of amplified fragment length polymorphism (AFLP) derived specific primer for the detection of *Fusarium solani* aetiological agent of peanut brown root rot. *Journal of Applied Microbiology*, 114(6), 1782-1792.
4. Chung, W. C., Chen, L. W., Huang, J. H., Huang, H. C., & Chung, W. H. (2011). A new 'forma specialis' of *Fusarium solani* causing leaf yellowing of *Phalaenopsis*. *Plant Pathology*, 60(2), 244-252.
5. Hariharan, G., & Prasannath, K. (2021). Recent advances in molecular diagnostics of fungal plant pathogens: a mini review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 600234.
6. Jung, B., Lee, S., Ha, J., Park, J. C., Han, S. S., Hwang, I., ... & Lee, J. (2013). Development of a selective medium for the fungal pathogen *Fusarium graminearum* using toxoflavin produced by the bacterial pathogen *Burkholderia glumae*. *The plant Pathology Journal*, 29(4), 446.
7. Kim, W. G., Lee, B. D., Kim, W. S., & Cho, W. D. (2002). Root Rot of Moth Orchid Caused by *Fusarium* spp. *The Plant Pathology Journal*, 18(4), 225-227.
8. Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2008). *The Fusarium Laboratory Manual*. John Wiley & Sons.
9. Liao, G. J., Hsieh, T. F., H. T., & Chen HongRong, C. H. (2012). Effect of chemical treatment on prevention of *Fusarium* yellow of phalaenopsis seedlings under simulated conditions of shipment. *Journal of Taiwan Agricultural Research*, 61(2), 124-131.
10. Morita, Y., Arie, T., Kawarabayashi, S., Suyama, K., NAMBA, S., Yamashita, S., & Tsuchizaki, T. (1992). A new disease of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* caused by *Nectria haematococca*. *Japanese Journal of Phytopathology*, 58(3), 452-455.
11. Nishimura, N. (2007). Selective media for *Fusarium oxysporum*. *Journal of General Plant Pathology*, 73, 342-348.
12. Schroers, H. J., Samuels, G. J., Zhang, N., Short, D. P., Juba, J., & Geiser, D. M. (2016). Epitypification of *Fusisporium* (*Fusarium*) *solani* and its assignment to a common phylogenetic species in the *Fusarium solani* species complex. *Mycologia*, 108(4), 806-819.
13. Su, J. F., Lee, Y. C., Chen, C. W., Hsieh, T. F., & Huang, J. H. (2010). Sheath and root rot of *Phalaenopsis* caused by *Fusarium solani*. In *I International Orchid Symposium* 878 (pp. 389-394).



14. Su, J. F., Lee, Y., Chen, C., Huang, J., & Hsieh, T. F. (2012). Field surveys for *Fusarium* diseases of *Phalaenopsis* in Taiwan. *Plant Pathology Bull* 21, 115-130.
15. Su, J. F., Chien, L. Y., Lin, T. C., Chen, C. W., & Hsieh, F. C. (2022). *Bacillus amyloliquefaciens* Nana 11, a potential biocontrol agent against *Phalaenopsis* yellowing leaf. *Journal of Plant Medicine*, 64(2), 63-71.
16. Sneideris, D., Ivanauskas, A., Prakas, P., Butkauskas, D., Treikale, O., Kadziene, G., ... & Suproniene, S. (2020). Population structure of *Fusarium graminearum* isolated from different sources in one area over the course of three years. *Phytopathology*, 110(7), 1312-1318.
17. Tu, Y. H. (2023). Development and application of detection methods for *Fusarium solani* f. sp. *phalaenopsis* causing leaf yellows of phalaenopsis. Master's thesis. National Chung Hsing University, Taichung City, Taiwan (R.O.C.).
18. Tsao, P. H. (1970). Selective media for isolation of pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 8(1), 157-186.
19. Tsao, W. C., Li, Y. H., Tu, Y. H., Nai, Y. S., Lin, T. C., & Wang, C. L. (2024). Identification and molecular detection of the pathogen of *Phalaenopsis* leaf yellowing through genome analysis. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1431813.
20. Watanabe, Y. (1974). The possibility of soil transmission in bakanae disease and the contamination of seeds with causal fungus during the hastening process of seed germination. *Bulletin of the Tokai-Kinki National Agricultural Experimental Station*, 27, 35-41.

Sustainable Management of Leaf Yellowing Disease in *Phalaenopsis*: Focus on Investigation and Management of Inoculum Sources

Chih-Li Wang^{1,2*}, Wei-Chin Tsao¹, Yi-He Tu¹, Chen-Chen Wu², Ting-Fang Hsieh³

¹ Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan

² Master Program for Plant Medicine and Good Agricultural Practice, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.

³ Taiwan Agricultural Research Institute, Ministry of Agriculture, Taiwan

* clwang@nchu.edu.tw

Abstract

Phalaenopsis orchids are one of the most important ornamental export crops in Taiwan. However, during greenhouse cultivation and transportation, they are frequently infected by *Fusarium phalaenopsisidis* (formerly *Fusarium solani* f. sp. *phalaenopsis*), resulting in leaf yellowing disease that compromises export quality and market value. Despite its detrimental impact, the ecological aspects of this disease including the distribution of inoculum sources and infection pathway remain poorly understood, hindering the implementation of effective control strategies. To elucidate inoculation sources and dissemination pathways of the pathogen, we established a rapid detection protocol by integrating CDMR semi-selective medium with the specific primer pair FphSP6F/FphSP6R. A systematic sampling and analysis of the orchid cultivation environment revealed that the pathogen was widely distributed on cooling pads and bench structures, and may even be vectored by fungus gnats. These findings provide critical insights into the ecology of *F. phalaenopsisidis* and offer a scientific basis for more precise and effective disease management strategies, contributing to the sustainable management of leaf yellowing disease in *Phalaenopsis* production.

Key words: *Fusarium phalaenopsisidis*, Semi-selective medium, Specific primers, Detection, Fungal gnat

