國立臺灣大學生物資源暨農學院

植物醫學碩士學位學程

碩士論文

Master Program for Plant Medicine College of Bioresources and Agriculture National Taiwan University Master Thesis

台灣北部甘藷基腐病及乾腐病之研究

Study on Foot Rot and Dry Rot of Sweet Potato in Northern Taiwan

王玉瑤

Yu-Yao Wang

指導教授:孫岩章 博士

Advisor: En-Jang Sun, Ph.D.

中華民國 103 年7月

July, 2014



誌謝

這份論文能夠完成,首先要感謝的是指導教授 孫岩章老師耐心指導以及種種 包容、種種關心,再來要感謝 郭章信博士、 楊宏仁分所長、 洪挺軒博士對本論 文初稿之細心指正與研究經驗分享,因為有您們,這份論文才能平安完成,擁有 今日的面貌!

感謝新北市萬里區李慶龍先生於病害調查及樣本方面熱情地提供諸多協助, 希望您田裡的病害問題有朝一日能得到解決。您是一位可敬的莊稼人,這段時間 叨擾了,感激不盡。

感謝植物醫學實驗室這個大家庭,每次當我快要放棄時,是大家讓我重拾繼 續向前的勇氣。謝謝筱娟學姐對器材、園藝工作的幫助以及提供實驗建議,辛苦 了,401 有你真好。感謝勝志學長一直以來的各種幫助和鼓勵,你真的很厲害,祝 未來學業、事業等等都能很有成就。感謝友倫學長載我上山採樣、提供實驗建議 以及鼓勵,祝農夫生涯順利。在此也要感謝我的同學們以及學弟妹,一起走了這 一遭,希望今年成功畢業的各位都能夠實現抱負,還在努力的都能早日過關!

感謝植醫學程的師長、同學們以及洪先生,在這裡學習是一件幸運的事,希 望未來能夠有機會再相聚一堂。

最後,要感謝在背後默默支持我的家人們,謝謝你們的耐心等待以及從各方 面給我愛和力量。即使未能盡善盡美,我終於完成了這一件挑戰,久等了。

中文摘要

甘藷基腐病(Phomopsis destruens)為國內近年來發生之新病害,造成甘藷莖腐、 萎凋及塊根腐爛等病徵,損失可達五至六成。甘藷乾腐病(Diaporthe batatatis)亦為 國內晚近被紀錄之病害,病徵及發病生態皆與基腐病具高度相似性。以往此兩種 病害之報導多集中於中南部,而臺灣北部之新北市金山區及萬里區之甘藷田亦於 2012 年開始出現類似病徵,故本研究自 2012 年 10 月起至新北市金山區、萬里區、 台北市文山區、大安區、新竹縣竹北市等地之甘藷田進行病害調查、採樣及病原 分離鑑定等工作。本研究總共自發病甘藷植株分離到 655 基腐型菌株及 64 乾腐型 菌株。基腐病菌之菌落於 potato dextrose agar 上之形態為菌絲灰白色至淺褐色平鋪 狀,不規則形並具有波浪狀邊緣,培養後期表面產生黑色柄子器,甲型分生孢子 單孢無色,長圓形,長寬為 6-9 × 3-4 μm;乾腐病菌於 PDA 上之形態為菌絲白色 平鋪狀,不規則形,邊緣葉狀,後期長出黑色柄子器,柄子器多具長喙,甲型分 生孢子單孢無色,擬紡錘形,長寬為 7-9 × 2-2.5 μm。經接種試驗,確認基腐病及 乾腐病菌皆可藉傷口感染塊根,而基腐病菌可藉傷口及葉痕感染莖部。上述甘藷 基腐病及乾腐病代表性菌株經 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS 序列分析比對,已確 認分別與 Phomopsis destruens 及 Diaporthe batatatis)有最高的相似度而完成菌種之 鑑定。,甘藷基腐病菌在30℃下有最高之生長速率,甘藷乾腐病菌則在25℃下有 最高之生長速率,兩種病原菌皆在 35℃下生長緩慢,15℃下仍可生長。基腐病菌 之孢子在黏質土壤中可殘存一週,菌絲在組織塊中埋於黏質土壤則可殘存一個月。 藥劑測試方面,共有 7 種對子囊菌有效之殺菌劑被選列進行測試,結果發現腐絕 快得寧、免賴得及甲基多保淨對此二病原之菌絲生長有最佳之抑制效果;在 3 種 非農藥資材中則以 4-4 式波爾多液對菌絲生長之抑制效果亦佳。盆苗之病害防治試 驗則發現以腐絕對基腐病及乾腐病具最高之防治潛力。

關鍵字:甘藷、基腐病、Phomopsis destruens、乾腐病、Diaporthe batatatis

iii

Summary



Foot rot of sweet potato, caused by Phomopsis destruens, is a new disease that occurred in recent years in Taiwan. This disease caused stem rot, wilt and root rot symptoms on sweet potato and reduce the yield up to 50-60%. Dry rot of sweet potato, caused by Diaporthe batatatis, is also a newly found disease in Taiwan, with quite similar symptoms and epidemic pattern to those of foot rot disease. In the past, both diseases were reported mostly in southern and central Taiwan, but since 2012 similar symptoms had been found in northern Taiwan, including Jinshan district and Wanli district, New Taipei City, causing great damage to the industry. Therefore we started to investigate the occurrence of these diseases since October, 2012. The diseased samples were diagnosed and collected from plantations located at Jinshan and Wanli district, New Taipei City, Daan and Wenshan district, Taipei City, as well as Zhubei, Hsinchu City. A total of 655 and 64 fungal isolates were obtained from diseased samples and preliminarily identified as *Phomopsis destruens* and *Diaporthe batatatis*, respectively. The colony of *P. destruens* isolates on PDA were grey to light brown, flat, irregular shape with undulate margin, producing black pycnidia on the surface in late stage. α -conidia one-celled, hyaline, oblong, 6-9 \times 3-4 μ m. The colony of *D. batatatis* isolates on PDA were white, flat, irregular shape with lobate margin in early stage, then producing black pycnidia with long beak in late stage. α -conidia one-celled, hyaline, fusoid, 7-9 \times 2-2.5 µm. After inoculation of both typical isolates on healthy roots through wound, the roots developed identical foot rot or dry rot diseases as those found in the field, fulfilled the Koch's Postulates for both diseases. The foot rot pathogen was also proven to be able to inoculate through stem wound and leaf scar. The optimal growth temperature for foot rot pathogen was 30°C, but for dry rot pathogen it was 25°C. They both can not grow well at 35° C, but can still grow at 15° C. The survival of condinia of foot rot pathogen in field soil was limited to within one week, although the pathogen in diseased tissue can survive for longer than one month. We have test 7 anti-ascomycetes fungicides for controlling both diseases. Results showed that thiabendazole+ oxine-copper, benomyl, and thiophanate-methyl were able to inhibit the mycelial growth of both pathogens. Among 3 non-pesticides, only the bordeaux mixture (4-4 type) showed some growth inhibition effects on the pathogens. However,

in pot plant tests, only thiabendazole showed good controlling results to both pathogens.

Key words: sweet potato, foot rot, Phomopsis destruens, dry rot, Diaporthe batatatis

目錄

		A COOM
口試委員會審究	定書	#
誌謝		ii
中文摘要		iii
Summary		iv
目錄		vi
圖目錄		viii
表目錄		X
第一章 肩	竹吉	1
第二章 育	前人研究	4
第三章 木	才料與方法	7
一、 臺灣	營北部甘藷基腐病及乾腐病之田間調查	7
二、 臺灣	營北部甘藷基腐病及乾腐病之病原分離及初步鑑定	7
(-)	甘藷塊根組織塊分離法	7
(二)	甘藷莖部組織塊分離法	7
(三)	甘藷基腐病菌及乾腐病菌之培養與保存	8
三、 甘壽	音基腐病及乾腐病菌分離株之病原性測定	8
(-)	供試健康甘藷苗之栽種與繁殖	8
(ニ)	甘藷基腐病及乾腐病菌株對塊根以菌絲塊接種之言	試驗8
(三)	甘藷基腐病菌株對莖部以菌絲塊接種之試驗	9
(四)	甘藷基腐病菌株以孢子懸浮液對葉痕之接種	9
四、 人工	-接種甘藷基腐病及乾腐病之病原再分離	10
五、 甘藷	善基腐病及乾腐病菌分離株之鑑定	10
(-)	甘藷基腐病菌及乾腐病菌 DNA 片段之 PCR 增幅。	及 ITS 序列分析10
(二)	甘藷基腐病菌及乾腐病菌之形態學鑑定	11
六、 溫度	医對甘藷基腐病菌及乾腐病菌生長速率之影響	11
七、甘語	音基腐病菌在土壤中之殘存	12
(-)	甘藷基腐病菌孢子在土壤中之殘存	12

(二)	甘藷基腐病菌於甘藷塊根組織中之殘存測定	
八、 藥劑	及非農藥資材對甘藷基腐病菌及乾腐病菌生長之影響	
(-)	藥劑及非農藥資材對病原菌菌絲生長之影響	
(二)	藥劑及非農藥資材對甘藷盆苗基腐病及乾腐病之防治	14
第四章 結	生果	15
一、 臺灣	北部甘藷基腐病及乾腐病之田間調查	15
二、 臺灣	北部甘藷基腐病及乾腐病之病原分離及初步鑑定	23
()	甘藷塊根組織塊分離法之結果	23
(二)	甘藷莖部組織塊分離法之結果	23
(三)	甘藷基腐病菌及乾腐病菌之培養與保存	23
三、 甘藷	基腐病菌及乾腐病菌分離株病原性測定	25
()	供試健康甘藷苗之栽種與繁殖	25
(二)	甘藷基腐病及乾腐病菌株對塊根以菌絲塊接種之結果	25
(三)	甘藷基腐病菌株對莖部以菌絲塊接種之結果	25
(四)	甘藷基腐病菌株以孢子懸浮液對葉痕接種之結果	26
四、 人工	接種甘藷基腐病及乾腐病之病原再分離	31
五、 甘藷	基腐病及乾腐病菌分離株之鑑定	32
()	甘藷基腐病菌及乾腐病菌 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS	序列分析32
(二)	甘藷基腐病菌及乾腐病菌之形態學鑑定	
六、 溫度	對甘藷基腐病及乾腐病菌生長速率之影響	44
七、 甘藷	基腐病菌在土壤中之殘存	45
(-)	甘藷基腐病菌孢子在土壤中之殘存	45
(二)	甘藷基腐病菌於甘藷塊根組織中殘存	45
八、 藥劑]及非農藥資材對甘藷基腐病菌及乾腐病菌生長之影響	47
(-)	藥劑及非農藥資材對病原菌菌絲生長之影響	47
(二)	藥劑及非農藥資材對甘藷盆苗基腐病及乾腐病之防治	47
第五章 言	┟論	55
參考文獻		60

圖目錄

	圖目錄
圖	1、新北市萬里區甘藷植株因基腐病造成之莖腐及萎凋病徵。17
圖	2、新北市萬里區甘藷植株因基腐病造成之莖腐初期病徵。18
圖	3、新北市萬里區甘藷塊根因基腐病造成之褐色腐敗病徵。18
圖	4、新北市萬里區甘藷塊根在冬季之組織殘體,表面橙色者為 Fusarium sp.之產
	孢構造。19
圖	5、新北市萬里區甘藷塊根在冬季殘存之基腐病塊根。19
圖	6、新北市萬里區甘藷植株在扦插後約2個月因基腐病造成之莖腐病徵。20
圖	7、新北市萬里區甘藷植株生長期間於節點位置發生之基腐初期病徵。20
圖	8、台北市文山區甘藷植株因乾腐病造成之莖腐病徵。21
圖	9、新北市萬里區甘藷植株因乾腐病造成之莖腐及萎凋病徵。21
圖	10、新北市萬里區甘藷塊根因乾腐病(左)及基腐病(中及右)造成之褐色腐敗病徵。
圖	11、基腐病菌株對台農 57號甘藷塊根以菌絲塊接種傷口之發病情形:(A)為接
	種後第 5 天,病斑呈略凹陷狀,白色箭號所指處為病斑邊緣。(B)接種
	後第7天,病斑半徑擴大約0.2公分,且開始感染芽基部。(C)接種後
	第11天,芽枯死,病部質地軟化,表面略凹陷且產生皺摺。(D)病根內
	部鬆軟,略呈海綿狀。
圖	12、甘藷基腐病菌株 WLP18 以菌絲塊接種莖部傷口之之發病情形,可見由傷
	口處產生褐色病斑並向上下擴大。
圖	13、如圖 12,甘藷莖部接種基腐病菌發病病斑處之縱剖面,可見莖內部空洞
	化,殘餘組織呈棉絮狀。
圖	14、甘藷莖部以甘藷基腐菌株孢子懸浮液對葉痕接種 15 天後之發病病徵,可
	見病斑由接種點向上下擴大。
圖	15、甘藷基腐病菌株 WLP31 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA
	序列。
圖	16、甘藷基腐病菌株 WLP37 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA
	序列。

圖 17、甘藷乾腐病菌株 WLD01 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA

序列。
圖 18、甘藷乾腐病菌株 DAD03 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA
序列。
圖 19、甘藷基腐病菌及乾腐病菌於光週期 12 小時,溫度 25℃環境下培養於 PDA
上之菌落及分生孢子形態:(A)基腐病菌培養 7 日之菌落形態,(B) 基
腐病菌培養28日之菌落形態,(C) 乾腐病菌培養7日之菌落形態,(D)
乾腐病菌培養28日之菌落形態,(E)基腐病菌分生孢子於光學顯微鏡400
倍下之形態,(F) 乾腐病菌分生孢子於光學顯微鏡 400 倍下之形態。42

表目錄

	表目錄
表	1、臺灣北部甘藷基腐病及乾腐病之田間病害調查結果。
表	2、由臺灣北部甘藷基腐及乾腐病根以組織塊分離法之分離結果。24
表	3、由臺灣北部甘藷基腐及乾腐莖部病斑以組織塊分離法之分離結果。24
表	4、甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株對塊根以菌絲接種傷口之結果。
表	5、甘藷基腐病菌分離株對莖部以菌絲塊接種傷口之結果。
表	6、甘藷基腐病菌分離株以孢子懸浮液對葉痕接種之結果。
表	7、甘藷基腐病菌株接種試驗後之病原再分離結果。
表	8、甘藷乾腐病病菌株接種試驗後之病原再分離結果。
表	9、甘藷基腐病菌株 WLP31 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列
	與 NCBI 網站基因庫比對之結果。
表	10、甘藷基腐病菌株 WLP37 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序
	列與 NCBI 網站基因庫比對之結果。
表	11、甘藷乾腐病菌株 WLD01 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序
	列與 NCBI 網站基因庫比對之結果。40
表	12、菌株 DAD03 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列與 NCBI
	網站基因庫比對之結果。41
表	13、甘藷基腐病菌分離株在 PDA 上於不同溫度下之生長速率。
表	14、甘藷乾腐病菌分離株在 PDA 上於不同溫度下之生長速率。
表	15、甘藷基腐病菌分離株孢子於土壤中之殘存變化。46
表	16、甘藷基腐病菌感染塊根組織於土壤中殘存之變化。46
表	17 甘藷基腐病菌感染塊根組織於病藷周圍土壤調查孢子殘存之變化。46
表	18、甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株以 7 種藥劑加入 PDA 進行毒食培養之菌
	落生長情形。49
表	19、以 7 種藥劑對甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株於 PDA 上測試菌絲生長抑
	制率之結果。49
表	20、甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株以 3 種非農藥資材加入 PDA 進行毒食培
	養毒食培養之菌落生長情形。50
表	21、以 3 種非農藥資材對甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株於 PDA 上測試菌絲

	生長抑制率之結果。
表 22、以	2 種藥劑及 3 種非農藥資材對甘藷盆苗基腐病菌菌株 WLP31 之防治效
	果。
表 23、以	2 種藥劑及3種非農藥資材對於甘藷盆苗基腐病菌菌株 WLP37 之防治
	效果。
表 24、以	2 種藥劑及 3 種非農藥資材對於甘藷盆苗乾腐病菌菌株 WLD01 之防治
	效果。
表 25、以	2 種藥劑及 3 種非農藥資材對於甘藷盆苗乾腐病菌菌株 DAD03 之防治
	效果。

第一章 前言

一、甘藷簡介

甘藷(Ipomoea batatas (L.) Lam.)分類上屬旋花科(convolvucaceae),甘藷屬 (Ipomoea),產於以墨西哥為中心之熱帶美洲,臺灣最早在17世紀初之荷據時代由 福建傳入。臺灣之緯度位於熱帶及亞熱帶間,環境適合甘藷生長,且甘藷具食糧、 副食糧、飼料、工業及食品加工等多項用途,故成為國內重要之作物(賴,2005)。

臺灣甘藷栽培面積及產量據臺灣農業年報統計,於民國 35 年至 62 年間因做 為養豬飼料而達到最高,栽培面積達 20~24 萬餘公頃,年生產量為 200~340 餘萬 公噸。民國 62 年以後,養豬業逐漸企業化,且飼料漸被進口玉米替代,導致甘藷 需求量銳減,栽培面積及生產量逐年大幅減少,以民國 90 年之農業年報為例,全 臺甘藷栽種面積為 9,270 公頃,年產量為 18 萬 8 千餘公頃(賴, 2005)。

目前國內甘藷以食用、葉菜用及食品加工為主要用途,栽培地點遍及各縣市, 以雲林、台南、屏東、高雄及嘉義縣等地區最多,花蓮及臺東等東部地區最少。 其栽培季節則可分為春作(2~4 月間種植)、夏作(5~7 月間種植)、秋作(8~9 月間種 植)及裡作或晚秋作(10~11 月間種植),夏作及秋作最多,春作最少(賴,2005)。

國內甘藷品種共分兩大系,一為在來品種,一為改良品種。在來品種適應性 較大,但品質較差,改良品種品質優良,營養價值及利用價值高。目前臺灣各地 栽培之品種以各區農業改良場育成之改良品種為主,最普遍栽培者為台農 57 號及 台農 66 號,葉菜用品種則為台農 71 號及桃園 2 號(賴,2005)。以下介紹數種近年 來具代表性或特殊性之品種:

- 台農 57號:莖黃綠色,節間帶淡紫色,毛茸少,葉形五深裂或三深裂, 塊根表皮棕黃色,肉色橙黃,塊根紡錘形。短蔓,節間短,分枝多,藷 形整齊,適合春作及秋作,生育期約 5 個月。土壤以砂質壤土及有機質 壤土為宜,全臺各地均可種植。秋作每公頃 43 公噸,食味佳,適合蒸煮 食用或烘烤(賴,2005)。
- 台農 66號: 莖粗大且強硬,綠色,無毛茸,葉為盾形,頂葉亦為綠色, 塊根表皮淡棕紅色,表皮光滑,肉色橙紅。短蔓,半直立性,初期生育 極快,塊根形成較早,個數多,諸形整齊,小諸少;塊根粗蛋白質含量 稍高,食味優,儲藏期間萌芽性不高。秋作每公頃 41 公噸,主要用途為

食用及食品加工(賴,2005)。

3. 葉用甘藷台農 71號:株型半直立,莖色深綠,無茸毛,成熟葉呈鼻形, 深綠色。莖蔓長度中等,生長快速,種植期以每年 3~4 月種植最佳,種 植後 45天即可第一次採收,夏季 7~14日可採收一次,冬季約 20~25日 採收一次,且能在颱風過後短時間內恢復生長,具紓解夏季蔬菜供應不 足之功能。由於株型半直立,莖葉向上生長,適合機械採收(賴,2005)。

二、甘藷之栽培管理

甘藷在生育期間需要高温、充分日照及適當降雨量,臺灣位於亞熱帶,氣候 溫暖,故大部分地區全年均可種植。其生長適溫在20~30℃間,15℃以上才可發芽 及發根,10~15℃間呈休眠狀態,10℃以下則發生凍害;35℃以上生育減退。塊根 形成及產量增加之最適氣溫為22~24℃,最適土壤含水量為最高持水量之60~70%, 最適日照長度為12小時至13小時左右(賴,2005;賴和黃,2012)。

甘藷耐貧瘠及各種土質之土壤,然而一般以砂質壤土有利於塊根之形成與肥大;肥沃黏重土壤則使莖葉生長旺盛,不利於塊根發育;瘠薄壤土利於塊根形成, 但收量低。故最適栽種甘藷之土壤為含適量有機質,排水性和通氣性良好,肥沃 之砂質壤土或壤土,pH值5.2~6.7間為佳(賴,2005;賴和黃,2012)。

栽培甘藷時需作畦,畦高 20~30 公分,寬約 100 公分;選擇強健之先端苗扦 插栽植,以斜插法為主。生育期間依土質、氣候設計施肥及灌溉計畫;另依品種 及生長狀況,通常需要在雨水多或灌溉後數天翻蔓,以防止地上部節間發根,產 生扇藷,分散養分貯存。(賴,2005;賴和黃,2012)

一般而言,甘藷於插植後 5~6 個月採收,採收後若儲存於 15℃,相對濕度 85~90%之條件下,可保存長達一年,而國內甘藷受限於氣候高溫多濕及市場價格, 通常在採收後即製成加工產品或售出。(賴,2005;賴和黃,2012)

三、甘藷之病害

甘藷在國內曾被紀錄過之病害有:黑星病(Alternaria batataticola)、白絹病 (Athelia rolfsii)、黑斑病(Ceratocystis fimbriata)、葉斑病(Cercospora bataticola)、炭 疽病(Colletotrichum gleosporioides; Colletotrichum capsici)、黑腐病(Diplodia tubericola)、縮芽病(Elsinoe batatas)、蔓割病(Fusarium oxysporum f. batatas)、紫紋 羽病(Helicobasidium mompa Tanaka)、根瘤線蟲(Meloidogyne acrita; Meloidogyne incognita)、黑痣病(Monilochaetes infuscans)、簇葉病(Phytoplasma)、南方根瘤線蟲 (Pratylenchus coffeae)、角斑病(Pseudocercospora timorensis)、白腐病(Pythium spinosum)、軟腐病(Rhizopus nigricans)、腎形線蟲(Rutylenchulus reniformis)、菌核 病(Sclerotinia Sclerotiorum)、紋枯病(Thanatephorus cucumeris)(徐等, 2002)及根莖 腐病(游, 2008)。基腐病(Phomopsis destruens)於 2010 年首次被報導(楊等, 2010), 乾腐病(Diaporthe batatatis)則於 2011 年首次被紀錄(Shen and Chang, 2011)。此外尚 有病毒性病害 6種:黃斑病毒病、潛伏感染病毒病、捲葉病毒病、嚴重型病毒病、 嵌紋病毒病、紫環病毒病(賴, 2005)。目前國內對於甘藷之病毒性病害已建立健康 種苗制度(行政院農業委員會農業試驗所, 2012),而真菌性及細菌性病害於植物保 護手冊上則無推薦用藥,目前多以健康種苗、輪作、減少傷口(行政院農業委員會 農業試驗所, 2012)、淹水、以無病原之泥浆處理扦插苗、施用孫黃添加物、施用 苦土石灰或施用生物製劑等方式降低病害發生(葉, 2007)。

四、研究目的

甘藷基腐病及乾腐病之病原早在一世紀前即被紀錄與命名(Harter, 1913a; Harter, 1913b),然百年來少有相關研究資料,亦無有效之防治辦法。自 2008 年起, 花蓮縣、彰化縣、台南市、嘉義地區、台中地區等地皆陸續發生甘藷基腐病疫情(楊 等,2010;黃等,2012b),而新北市萬里區及金山區、台北市大安區及文山區、新 竹縣竹北市亦於 2012 至 2013 年間發現甘藷莖蔓上出現黑褐色病斑、莖部中空及 萎凋等病徵,收穫之塊根亦發生由一端褐化腐爛之異常情形,影響農民收益可達 四成至六成。經由初步分離,得知近年影響當地甘藷產量最嚴重之病害即為甘藷 基腐病,另亦有遭受甘藷乾腐病為害者。本研究之目的即為進一步了解此兩種病 害,並設法找出防治之道,以降低其造成之農產損失。

3

第二章 前人研究

一、甘藷基腐病(foot rot of sweet potato)

甘藷基腐病由 Phomopsis destruens 引起(舊名 Plenodomus destruens),屬於擬莖 點黴屬,尚未有正式之中文名稱(Biodiversity Research Center, Academia Sinica, 2003)。此病害最早於 1913 年在美國維吉尼亞州發生,由 Harter 氏鑑定為一新種, 命名為 Plenodomus destruens (Harter, 1913b)。後亦陸續在美國之愛荷華州、俄亥俄 州、密蘇里州、堪薩斯州、紐澤西州、馬里蘭州、加州(Harter et al., 1918)、阿根廷、 烏拉圭、巴西(Lopes et al., 1994)及臺灣(楊等, 2010)被紀錄到。病害造成之損失則 隨地區有大幅差異,例如維吉尼亞州之發病率可達 95%,然而在其他州則極低 (Harter and Weimer, 1929)。

基腐病菌已知為不完全菌(anamorphic fungus),尚未發現有性世代,無性世代 則易於病組織及人工培養基上產生柄子器(Harter, 1913b)。其培養於 PDA 上,置於 25°C 黑暗中 20 天後,菌絲為灰白色,培養基呈淡褐色,菌落稍有皺摺,邊緣不整 形,中央附近產生些許黑色柄子器,同時可觀察到透明白色之分生孢子自柄子器 上泌出(黃等,2012b)。柄子器球形至不規則形,具有頸及 2 層殼壁。其柄孢子分 為 2 種形態:一為無色單孢,長圓形(oblong) (Harter, 1913b)、卵形或圓筒形(黃等, 2012b),具有 2 油滴,長寬為 7-10 × 3-4 µm 之甲型分生孢子(α-conidia),產生於 病組織上及人工培養之環境;另一為無色,次紡錘形,5-15 µm 長之丙型分生孢子 (γ -conidia),僅產生於病組織上。常見於 *Phomopsis* 屬之乙型分生孢子(β -conidia) 則闕如(Harter, 1913b)。

由於缺乏典型之乙型分生孢子、無明顯子座及多腔狀構造,Harter (1913b)認 為基腐病菌較接近 Plenodomus 屬,因其形態與該屬內之其他真菌不同,故鑑定為 新物種,命名為 P. destruens。然而 Boerema 等人(1996)以巨觀及微觀特徵、對氫 氧化鈉(NaOH)反應及菌落生長特性等依據,重新整理莖點黴屬(Phoma)內成員之分 類及同物異名,將 Plenodomus 屬中之 38 個物種整併至 Phoma 屬下之 Sect. Plenodomus 中,另外 9 個物種則移至 Phomopsis 屬,故使原來命名為 Plenodomus destruens Harter (Harter, 1913b)之基腐病菌更名為 Phomopsis destruens (Harter) Boerema et al. (Boerema et al., 1996),並使用至今。

基腐病菌會由地基部附近感染莖部,亦有自節點上發生者;病菌開始侵染時

病程進展緩慢,約需 3~4 週才能造成褐色病斑(Clark and Moyer, 1988; Harter and Weimer, 1929),一旦病斑生成,則可在一週內朝上及下方擴大至 2~5 英吋,再一 週則植株萎凋(Harter and Weimer, 1929)。除感染莖部外,此病原菌亦會向下侵染甘 藷之塊根,造成塊根產生由連接莖部之一端開始之根腐病徵,病組織略呈海綿質 地,且褐化(Harter et al., 1918; Harter and Weimer, 1929)。根部之病斑擴大速度緩慢, 二至三週後才能使塊根完全腐爛。當採收時,塊根之染病範圍往往過小而易被忽 略,直至儲運期間才陸續擴大以致易被察覺。部份病藷甚至因病徵不明顯而被留 作下一季之種藷,導致基腐病之擴散(Harter et al., 1918; Harter and Weimer, 1929)。

不同甘藷品種間對基腐病之感病性具有差異,巴西之六個商業品種:Princess、 Brazlândia Roxa、Coquinho、Beauregard、Brazlândia Rosada及Brazlândia Branca 中,以Princess 最不感病,而Brazlândia Branca 則最為感病(Cavalcanti et al., 2002)。 臺灣之台農 57 號、台農 66 號、台農 71 號、台農 72 號、台農 73 號、桃園 2 號則 未有明顯之抗感病差異(沈等, 2013)。

目前已有數種藥劑初步證實對基腐病菌具抑制效果: 撲克拉錳、貝芬依滅列、 克熱淨、菲克利腐絕、貝芬撲克拉、滅特座、扶吉胺及貝芬菲克利於平板培養基 上可抑制菌絲生長(黃等, 2012a); 而以腐絕、PCNB、免賴得、依普同及蓋普丹浸 泡採自病田之扦插苗,可明顯降低發病率達 30 日(Lopes and Silva, 1993)。除藥劑 之外,清除罹病組織亦可顯著降低此病害之發生(沈等, 2013)。

二、甘藷乾腐病(dry rot of sweet potato)

甘藷乾腐病由 Diaporthe batatatis (無性世代 Phomopsis phaseoli, 異名 Diaporthe phaseolorum var. batatatis)引起,此病害於 1890 年首次被報導,起初鑑定為 Phoma batatae,後由 Harter 及 Field 確認為新種,命名為 Diaporthe batatatis (Harter, 1913a)。曾在美國之北卡羅萊納州、德克薩斯州、紐澤西州、維吉尼亞州、密西西比州、阿拉巴馬州及印地安納州發生(Harter et al., 1918)。

乾腐病菌具無性世代及有性世代,無性世代普遍存在於自然界,亦可人工培養,有性世代則僅偶爾出現於人工培養之環境。乾腐病菌之無性世代以柄子器作為產孢構造,其柄子器在組織上略呈球形,具有短頸,長寬為 60-130 × 60-110 μm。 甲型分生孢子長圓形至擬紡錘形 (fusoid), 無色, 具有 2 油滴, 偶爾具 3 油滴, 長

5

寬為 6-8 × 3-5 μm; 乙型分生孢子絲狀 (filiform),多呈鉤狀或略彎曲,少數接近 直線,長 16-30 μm; 丙型分生孢子則呈錐狀 (awl shaped),較乙型分生孢子短(Harter, 1913a)。其有性世代之子囊殼(perithecia) 著生在子座(stroma)上,子囊殼具 0.05-0.3 公分長,次圓柱形之長頸;子囊棍棒形至圓柱形,無柄,23-38 × 7-12 μm,內含 8 個子囊孢子。子囊孢子具一隔膜,無色,次橢圓形 (subelliptical),兩端鈍圓,於 隔膜處略為隘縮,2-4 油滴,8-12 × 4-6μm(Harter, 1913a)。

Harter (1913a)根據柄子器及子囊殼之特徵,將此病原菌歸類為 Diaporthe 屬, 並鑑定為新物種,命名為 Diaporthe batatatis,然而 Wehmeyer (1933)認為其與 D. phaseolorum 之形態差異過小,不足以獨立為單一物種,故將分類更正為 D. phaseolorum 之變異種,定名 D. phaseolorum var. batatatis。此一更正之學名被廣泛 接受,如 Kulik (1984)亦根據顯微形態特徵再次證實 D. phaseolorum var. batatatis 與 D. phaseolorum 其餘變異種之高度相似性。直到 Gomes 等人 (2013)以分子方法鑑 定 Diaporthe 屬內各物種之親緣關係,始確認 D. phaseolorum var. batatatis 與 D. phaseolorum 並無同源性,為不同物種,故將其正式學名改回最初之 D. batatatis。

乾腐病可發生於甘藷塊根及莖部(Harter, 1913a),塊根多由近莖部之一端發病, 病徵為藷塊表面產生淺褐色至深褐色之病斑,病斑下之組織則呈深褐色至黑褐色 並乾縮,最終木乃伊化(Clark and Moyer, 1988);於莖上則先造成黃化病斑,病蔓 萎凋後表面則形成大量柄子器(Harter, 1913a)。由於此病害之病徵與基腐病相近, 且病原之親緣性亦相當接近,故不易與基腐病區分(Clark and Moyer, 1988),然乾 腐病病斑擴大速度較基腐病慢,約需 4~8 週才會使塊根完全腐爛(Harter et al., 1918)。此病害多於倉儲期間發生,較少於田間發現病株(Harter and Weimer, 1929)。

6

第三章 材料與方法

一、 臺灣北部甘藷基腐病及乾腐病之田間調查

有關甘藷的根莖病害在國內已發表者有基腐病、乾腐病、根莖腐病、黑斑病、 軟腐病等,而臺灣北部地區新北市金山區及萬里區一直是有名的甘藷產區,早年 皆少有重大病害發生,卻自 2012 年起由農民反應發生嚴重之根莖部病害,故本研 究即對此加以有系統之研究與調查。

本研究自2012年10月至2014年3月於新北市金山區、萬里區、台北市及北部其他相關地區之甘藷田進行甘藷基腐病、乾腐病及相關病害之調查及採樣,除 休耕期間(每年11月至隔年3月)外,平均每1至2個月一次,並將採得之甘藷染 病枝條及染病塊根帶回實驗室進行分離。

二、 臺灣北部甘藷基腐病及乾腐病之病原分離及初步鑑定

(一)甘藷塊根組織塊分離法

此分離方法使用收集自新北市萬里區之甘藷染病塊根。將染病塊根浸泡於1% 次氯酸鈉水溶液中進行表面消毒1~5分鐘後,以清水漂洗2次各數分鐘,然後使 用解剖刀無菌操作削去表皮,於病健部切取約0.2公分×0.2公分大小之組織塊, 置於2% 瓊脂(water agar,以下簡稱WA)平板培養基上進行常溫培養。3~6天後切 取由病組織長出之菌絲尖端,置於馬鈴薯葡萄糖瓊脂(potato dextrose agar,以下 簡稱PDA)中進行培養,以供後續之鑑定及試驗。

(二)甘藷莖部組織塊分離法

此分離法使用收集自新北市萬里區、台北市文山區及新竹縣竹北市之甘藷病 枝條。分離前將帶有病斑之枝條切成適當長度,盡量保持病斑完整,浸泡於1%次 氯酸鈉水溶液中進行表面消毒1分鐘後,以無菌水漂洗2次,各數分鐘。表面消 毒後之病枝條,2013年8月前採集之樣本為使用解剖刀無菌操作削去表皮,於病 健部切取約0.1公分×0.2公分大小之組織塊;2013年9月後採集之樣本則使用 解剖刀無菌操作,將枝條縱剖至接近病斑處,以鑷子無菌操作將枝條沿纖維生長 方向撕開,露出病組織,於病健部切取0.1公分×0.2公分大小之組織塊。將切 下的組織塊置於 2% WA 平板培養基上進行常溫培養。3~6 天後切取由病組織長出 之菌絲尖端,置於 PDA 平板培養基中進行培養,以供後續之鑑定及試驗。

(三)甘藷基腐病菌及乾腐病菌之培養與保存

甘藷基腐病分離株除初次分離鑑定時使用 PDA 平板培養基外,後續則以孢子 液繼代於燕麥瓊脂(Oatmeal agar,以下簡稱 OMA)平板培養基或甘藷-燕麥瓊脂培 養基(sweet potato and oatmeal agar,簡稱 SPOMA),室溫照光培養或放置於光週期 12 小時之 25℃生長箱培養,另以 OMA 斜面培養基保存純系菌株。SPOMA 培養 基製備方法如下:100g甘藷(品種為台農 66 號或台農 57 號)切成約 0.8 公分 × 0.8 公分 × 0.8 公分之小丁,加入 400 mL 無菌水,高壓高溫滅菌 20 分鐘,冷卻 後經雙層棉布過濾。另取不含添加物之即食燕麥片 15 g,加入 400 mL 無菌水,高 壓高溫滅菌 20 分鐘,冷卻後經雙層棉布過濾。甘藷濾液及燕麥濾液皆以無菌水定 量成 500 mL,混合後添加 1.5~2%瓊脂粉,高溫高壓滅菌 20 分鐘後製成平板培養 基。

甘藷乾腐病分離株則使用 PDA 平板培養基,以菌絲塊繼代,室溫照光培養或 放置於光週期 12 小時之 25℃生長箱培養,另以 PDA 斜面培養基保存純系菌株。

三、 甘藷基腐病及乾腐病菌分離株之病原性測定

(一)供試健康甘藷苗之栽種與繁殖

供試之台農 66 號健康甘藷枝條係購自台南市新化區甘藷產銷班,種植於口徑 24 公分,高 24 公分之黑色塑膠軟盆,每盆 2~4 株,或口徑 15 公分,高 13 公分 之黑色塑膠軟盆,每盆 1 株。栽培介質為泥炭土(BVB No.4)與 3 號根基旺以 2:1 之 比例混合。盆栽放置於臺灣大學中非大樓頂樓,視生長狀況施用台肥 43 號。

(二)甘藷基腐病及乾腐病菌株對塊根以菌絲塊接種之試驗

材料為超市及傳統市場購買之健康台農台農 57 號或台農 66 號甘藷塊根,以 清水洗去土壤後再以 75%酒精對接種區進行表面消毒。解剖針以酒精燈加熱消毒 後,在甘藷塊根表面刺出孔徑約為 0.1 公分,深度約 0.2 公分之傷口做為接種點, 每一塊根上選 3 點,其中 2 點以培養於 OMA 或 PDA 上 4 週之純種分離株菌絲塊 接種,菌絲塊大小約為 0.1 公分 × 0.1 公分,以加熱減菌之解剖針壓入傷口內。 另1個傷口不接種,做為對照組。每一純種分離株各接種於5個甘藷塊根(10個接 種點,5個對照)。接種後即以 0.5 公分 × 0.5 公分之石蠟膜覆蓋保溼,並將接種 完之塊根置入透明保濕盒中,置於室溫下觀察發病情形。

(三)甘藷基腐病菌株對莖部以菌絲塊接種之試驗

材料為臺灣大學中非大樓頂樓栽種之健康甘藷植株,共進行 2 次試驗,分別 針對新北市萬里區不同日期採集之分離株,第一次試驗使用一代表性之分離株, 第二次採用 2 株具代表性之分離株。第一次接種使用 75%酒精對莖部接種區進行 表面消毒,再以酒精燈將挑針加熱消毒,在消毒後之甘藷莖上製造約 0.2 公分見 方之表皮刻傷,深度約 0.05 公分,每個接種點間距離 10 公分以上。於接種點以 培養於 OMA 或 PDA 上 4 週之純種分離株菌絲塊接種,菌絲塊大小約為 0.1 公分 × 0.1 公分,以加熱滅菌之挑針放置於傷口上。每一純種分離株各接種 10 個接種點, 另製造 4 個不進行接種之傷口做為對照組。接種完成後纏繞石蠟膜以局部保溼, 置於室溫下觀察發病情形。

第二次試驗時改為解剖刀加熱消毒後,在消毒後之甘藷莖表面切開約 0.2 公 分見方,深 0.1~0.2 公分之傷口,每個接種點間距離 10 公分以上。於接種點以培 養於 OMA 或 PDA 上 4 週之純種分離株菌絲塊接種,菌絲塊大小約為 0.1 公分 × 0.1 公分,以加熱滅菌之解剖刀壓入傷口內。每一純種分離株各接種 10 個接種點, 另製造 2 個不進行接種之傷口做為對照組。接種完成後纏繞石蠟膜以局部保溼, 另用透明塑膠袋罩住花盆 48 小時,以提高濕度。置於室溫下觀察發病情形。

(四)甘藷基腐病菌株以孢子懸浮液對葉痕之接種

植物材料為臺灣大學中非大樓頂樓栽種之台農 66 號健康甘藷植株。取純種甘 諸基腐病菌分離株培養於 OMA 上,約4 週以上產孢後,即加入無菌水,以消毒過 之三角型玻璃棒將柄子器及孢子液刮下,收集於 1.5 mL 微量離心管中,再以血球 計數器於複式顯微鏡下計算孢子懸浮液之濃度;將孢子懸浮液以無菌水稀釋至濃 度為 10⁶ spores/mL 備用。

接種時先選擇莖部葉片已自然脫落之葉痕,即使用 75%酒精對葉痕接種點進

9

行表面消毒,再以微量滴管吸取 5 μL 孢子懸浮液,滴於葉痕上,以石蠟膜包覆 保濕。每一純種分離株接種 10 個葉痕,另以無菌水滴於 5 個葉痕上做為對照組。 接種後之植株皆放置於室溫下觀察發病情形。

此接種方式共分為兩個處理:(1)接種於葉片剛脫落,離層尚潮濕之葉痕;(2) 接種於葉片脫落 24 小時以上,已乾燥之葉痕。

四、 人工接種甘藷基腐病及乾腐病之病原再分離

為完成柯霍氏法則第四條,以上三種接種法接種發病之病株皆進行病原再分離, 採用之再分離法同前述之組織分離法,再分離所得到之分離株皆與原接種之分離 株進行比對及鑑定。

五、 甘藷基腐病及乾腐病菌分離株之鑑定

(一)甘藷基腐病菌及乾腐病菌 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS 序列分析 1、病原菌之 DNA 萃取

由純培養並經上述病原性檢定後之分離株中挑選2株代表性甘藷基腐病菌及2 株乾腐病菌,前者先繼代培養於 OMA,乾腐病菌則繼代培養於 PDA,皆置於 25 C,12小時光週期之生長箱中7日後,刮取培養基表面之菌絲約0.2g置入1.5mL 微量離心管中,各加入40 μ L之0.5N氫氧化鈉溶液及一顆研磨用之鋼珠,使用 震盪機打碎菌絲後以10,000 g之轉速離心5分鐘。吸取5 μ L上清液轉移至另一 微量離心管內,加入455 μ L之100 mM, pH8.0 Tris-HCl,供後續實驗之使用。

2、 PCR 增幅

使用一般真菌 DNA 之通用性引子對 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 及 ITS5(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')進行聚合酵素連鎖反應以增幅該 片段之 DNA 序列。PCR 反應添加物為 18.7 μ L 之無菌水、2.5 μ L 10X Reaction buffer、0.5 μ L dTNP、1 μ L ITS4、1 μ L ITS5、0.3 μ L *Taq* polymerase 及 1 μ L DNA 萃取物。反應溫度為變性溫度 94°C、煉合溫度 58°C、聚合溫度 72°C,共 進行 30 個循環。 3、 PCR 產物之電泳分析及序列分析

取5 μLPCR 產物與1 μL染劑混合均勻,置於電泳膠片中,平放在加满 TBE 緩衝溶液水平式電泳槽內,添加 100 bp 大小之分子記號做為對照,以 120V 進行 電泳 20 分鐘,之後再以 EtBr 染色 10 分鐘,以無菌水褪染 20 分鐘後將電泳膠片 置於紫外線照相機中進行拍照。PCR 增幅所得之產物即交由基龍米克斯生物科技 股份有限公司進行核酸序列分析。

4、 序列比對分析

將序列分析後所得到之 DNA 序列送至 National Center for Biotechnology Information 網站以 Basic Local Alignment Search Tool 進行比對,得到與此 ITS 序列 相似度高且可能性高之菌種資訊。

(二)甘藷基腐病菌及乾腐病菌之形態學鑑定

將基腐病菌及乾腐病菌之分離株培養於 PDA 中,觀察其巨觀之菌落形態及利 用顯微鏡觀察微觀特徵。參考菌種鑑定之相關資料,進行比對鑑定其歸屬。

六、 温度對甘藷基腐病菌及乾腐病菌生長速率之影響

選取基腐病菌分離株 WLP31 及 WLP37,乾腐病菌分離株 WLD01 及 DAD03, 共4菌株,皆先培養於 PDA 平板培養基,於25℃、12 小時光週期之定溫生長箱 中培養6日,再以直徑0.4 公分之打孔器由菌落邊緣切取菌絲塊,接入9公分 PDA 平板培養基之正中央,再分別置放於15、20、25、30 及35℃之12 小時光週期梯 度定溫生長箱中,觀察溫度對菌絲生長速率之影響。

上述各分離株每溫度各做4重複,並於接種後每日1次以游標尺測量菌落生 長直徑,減去原始菌絲塊大小後,計算每日之生長速率。

11

七、 甘藷基腐病菌在土壤中之殘存

(一)甘藷基腐病菌孢子在土壤中之殘存

選擇已確認病原性之菌株 WLP31 及 WLP37,繼代培養於 OMA 上,約4 週後 可見其產孢,即加入無菌水,以消毒過之三角型玻璃棒將柄子器及孢子液刮下, 收集於15 mL 離心管中,再以血球計數器於複式顯微鏡下計算孢子懸浮液之濃度; 將孢子懸浮液以無菌水稀釋至濃度為 10⁶ spores/mL 備用。

試驗使用之土壤係採自新北市萬里區,性質為黏質壤土,於實驗前放置通風 陰涼處一個月以上,先以孔徑約0.4 公分之篩網篩去過大顆粒,即取各100g之土 壤加入10 mL上述之孢子懸浮液及25 mL 無菌水,均勻混合,使每克土壤中含有 10^5 個孢子,再分別秤取20g上述混有孢子之土壤,放於15 mL 離心管內,且使管 底緊密填滿,製造缺氧之環境。為增加離心管上側之通氣性,管蓋扣於離心管上 不旋緊,僅以石蠟膜纏繞固定,放置於約25至28℃之室溫下。放置第3天時各由 上述製備好之土壤樣本中每菌株隨機抽取三管,參考 Basic Plant Pathology Methods 中記載之土壤稀釋平板法 (Dhingra and Sinclair, 1985),將其試驗方式稍加修改, 進行土壤稀釋分離:取出土壤各1g,分別加入9 mL 無菌水震盪15分鐘後進行序 列稀釋,由稀釋至10^{-1、10⁻²,}以及10⁻³倍之樣本中各吸取100 μ L,滴於含有0.25% tween 20 之酸化 PDA 平板培養基上,以消毒過之三角玻璃棒均勻塗布。每個稀釋 濃度各做三重複,3至10 日後計算甘藷基腐病菌之菌落數量。

上述放置第1週、2週及3週時,各隨機抽取三管,分別取出(1)距離管口最接近,處於有氧環境下之土壤,及(2)管底之缺氧土壤各1g,以進行稀釋分離,測定 土壤中基腐病菌之殘存數量。

(二)甘藷基腐病菌於甘藷塊根組織中之殘存測定

試驗使用之土壤採自新北市萬里區,性質為黏質壤土,於實驗前放置通風陰 涼處一個月以上,以RO水調整濕度後分裝於口徑15公分之黑色軟盆內備用,各 盆土壤高度約10公分。植物材料為超市及傳統市場購買之健康台農66號甘藷塊 根,以清水洗去土壤後再以75%酒精進行表面消毒,即以已確認病原性之WLP31 分離株,以菌絲塊填入傷口進行接種,並以石蠟膜覆蓋保溼,將接種完之塊根置 入透明保濕盒中,等待發病。確認塊根成功發病後,即將染病塊根平放於軟盆中, 每盆放入一條完整塊根,並覆土至塊根最高處恰好被土壤覆蓋。然後將埋有塊根 之軟盆放置於臺灣大學中非大樓頂樓,除非土表接近乾燥,否則不於軟盆中補充 水分。

本試驗期間為 2013 年 12 月至 2014 年五月,每個月於上述病根樣本中隨機抽 取5 條,依照前述之根部組織塊分離法進行組織分離;另自 2014 年 1 月起,每個 月採集此5 條病根組織周圍 1.5 公分內之土壤 5 g,分別加入 45 mL 之無菌水震盪 15 分鐘,序列稀釋至 10⁻²、10⁻³及 10⁻⁴倍,各吸取 100 µL,滴於含有 0.25% tween 20 之酸化 PDA 平板培養基上,以消毒過之三角玻璃棒均匀塗布。每個稀釋濃度各 做三重複,3 至 10 日後計算甘藷基腐病菌之菌落數量。

八、 藥劑及非農藥資材對甘藷基腐病菌及乾腐病菌生長之 影響

(一)藥劑及非農藥資材對病原菌菌絲生長之影響

由於臺灣農業主管單位所出版之植物保護手冊尚未對甘藷基腐病及甘藷乾腐 病推薦防治藥劑,故從防治子囊菌真菌類病害之藥劑中選取腐絕快得寧、免賴得、 甲基多保淨、待克利、菲克利及克收欣等 7 種藥劑,另由對真菌性病害有抑制力 的非農藥資材中選出五倍子水萃液、大黃水萃液及 4-4 式波爾多液等三種資材進行 防治測試。五倍子及大黃水萃取液之製備方式為將市售之乾燥藥材壓碎或切碎成 約 0.5~1 公分見方之小塊並秤重,加入藥材乾重 10 倍之蒸餾水後,於高溫高壓滅 菌釜中加熱 20 分鐘,冷卻後濾去藥渣,液體部份定量回原體積,所得溶液即為 10 倍之中藥材水萃液。

將經證明具有病原性之甘藷基腐病菌分離株 WLP18 及甘藷乾腐病菌分離株 WLD01 培養於 PDA 平板培養基,於 25℃、12 小時光週期之定溫生長箱中培養 5 日,即以直徑 0.4 公分之打孔器由菌落邊緣切取菌絲塊,分別移植於添加 53%腐 絕快得寧可濕性粉劑 530 ppm (指有效成份之百萬分之一)、50%免賴得可濕性粉劑 167 ppm、70%甲基多保淨可濕性粉劑 700 ppm、24.9%待克利水懸劑 83 ppm、23% 菲克利水懸劑 77 ppm、50%貝芬替水懸劑 250 ppm 及 44.2%克收欣水懸劑 221 ppm 等藥劑之 PDA 平板培養基上,或含有五倍子水萃取液 200 ppm (原始濃度)、大黃 水萃取液 200 ppm 及 4-4 式波爾多液等非農藥資材之 PDA 平板培養基上,並以不 添加藥劑之 PDA 平板培養基做為對照組,上述皆培養於 25℃,12 小時光週期之 梯度定溫生長箱中,每處理各四重複,每日一次以游標尺測量菌落生長直徑,減 去原始菌絲塊大小後求取平均,計算各藥劑對分離株菌絲生長速度之抑制效果。

(二)藥劑及非農藥資材對甘藷盆苗基腐病及乾腐病之防治

從防治子囊菌真菌類病害之藥劑中選擇腐絕及菲克利等兩種藥劑,以及由對 真菌性病害有抑制力的非農藥資材中選出五倍子水萃液、大黃水萃液及 4-4 式波爾 多液等三種資材,進行對甘藷盆苗基腐病及乾腐病之防治測試。中藥水萃取液之 製備方法如前述實驗,另將濾出之藥渣留下備用。

供試植株材料為臺灣大學中非大樓頂樓栽種之台農 66 號健康甘藷盆苗,盆苗 除負對照組外,每盆皆以濃度 10⁵ spores/mL 之甘藷基腐病或甘藷乾腐病孢子懸浮 液 20 mL 澆灌於植株莖基部接種。接種 36 小時後即於土表施用藥劑及非農藥資材。 其中之藥劑及非農藥資材為水溶液或水懸液者,皆以噴瓶噴灑於植株四周之介質 表面,每盆每次施用約 70mL;藥渣則以 1 L 乾燥泥炭土(BVB No.4)添加乾重 20 g 資材之比例均勻混於泥炭土中,加水使之溼潤後鋪於盆栽介質表面,每盆施用約 330 mL,而後每 30 天皆追加施用藥劑或資材一次。實驗期間每週紀錄發病率及罹 病級數,並計算其危害嚴重度,並觀察是否發生藥害。發病率及罹病級數皆以株 為單位紀錄,罹病級數分為:(1)0 級:健康,(2)1 級:發生萎凋現象,葉片下垂, (3)2 級:落葉且莖上可見深褐色病斑,(4)3 級:接近枯死。各組甘藷苗之為害嚴重 度以下列公式計算:

為害嚴重度 = $\frac{\sum 罹病級數 × 株數}{3 × 調查總株數} × 100%$

本實驗含對照組共分為十種處理:(1)40%腐絕可濕性粉劑1000倍(400 ppm)、 (2)23%菲克利水懸劑3000倍(77 ppm)、(3)五倍子水萃取液1000倍(1000 ppm)、(4) 五倍子藥渣、(5)大黃水萃取液1000倍(ppm)、(6)大黃藥渣、(7)4-4式波爾多液、(8) 正對照組,接種病原菌,不做任何處理、(9)噴水對照組,不接種病原菌,噴灑無 菌水以便判明噴灑液體是否會造成藥害;及(10)負對照組,不接種病原菌,不做任 何處理。每組十二重複,所得數值以LSD (least significant difference)檢測探討各組 危害嚴重度是否有顯著差異。

第四章 結果

一、 臺灣北部甘藷基腐病及乾腐病之田間調查

於2012年10月至2014年3月間,至新北市金山區、萬里區、台北市及北部 其他相關地區之甘藷田進行甘藷基腐病及甘藷乾腐病之田間調查,其結果如表 1, 並概述如下:

> 1、2012年10月:新北市金山區及萬里區之甘藷產季即將結束,田區已 收穫數次,尚餘部份甘藷未採收。據萬里區李慶龍君及附近農民指稱, 自2012年起甘藷根腐及莖腐問題約可造成四成至六成之損失,除在田間 已發病之塊根外,部份塊根尚會於倉儲期間發病。經實際調查田間之莖 部病徵為:病斑呈深褐至黑色,略凹陷,多超過10公分,內部接近完全 中空,為較晚期之病徵(圖1),且易與其餘莖部病害或傷口造成之枯蔓混 淆。多由地際部發病,亦有由匍匐於地表之蔓上發病者(圖2),部份病株 發生萎凋;塊根多由與莖相連處發病,病斑外觀呈現褐色微軟狀,略凹 陷或不凹陷(圖3)。以上皆為甘藷基腐病之典型病徵。

- 2、2013年1月:新北市金山區及萬里區之甘藷田已休耕,採收後之剩餘莖 蔓及塊根大多堆置於田地邊緣並經火焚燒,但田間仍殘留少數塊根。裸 露於地表之殘根多遭昆蟲及線蟲等生物蛀食,並可於表面觀察到 Fusarium sp.等腐生性強之真菌構造(圖 4),而土壤中仍存在可觀察到典 型基腐病徵之新鮮塊根(圖 5)。
- 3、2013年4月:新北市萬里區之甘藷剛開始扦插,田間扦插苗尚處於發根 階段。發現部份扦插苗之切口處發生褐化,長度約2公分以內,然不似 病徵,後續分離亦未分得病原菌。
- 4、2013年6月:新北市金山區及萬里區之甘藷基腐病開始發生,發病率約為5~10%,皆由地基部或匍匐於地表之莖部開始發病(圖 6),並未觀察到由扦插苗切口發病者。其莖部發病部位逐漸轉為深褐色至黑色,略凹陷。
- 5、2013年8月:新北市金山區及萬里區之甘藷陸續發病,發病率約為20~30%, 病徵為莖上之深褐色至黑色斑,後期全株萎凋,塊根則由連接莖處產生 深色病斑,逐漸擴大,病組織較健康組織濕軟。莖部之初期病斑多位於

節點位置。

- 6、2013年9月:新北市金山區及萬里區甘藷之發病率約為30~35%,病徵同 8月者,仍觀察到許多初期病斑發生於莖部之節點位置(圖 7)。
- 7、2013年10月:萬里區之甘藷已採收,田間殘株及殘體狀況近似於2012年10月者,然可觀察到少數殘餘塊根重新長出莖葉,而部份重新萌發之甘藷植株上亦出現甘藷基腐病之病徵。
- 8、2014年3月:萬里區甘藷田休耕已至末期,一個月內即會再次整地進入 扦插季節。經冬季之數次寒流後,田間已無含莖葉之完整甘藷植株,土 壤中則尚存有健康塊根及罹病之塊根。
- 9、甘藷乾腐病之病徵與基腐病相似,於莖上可造成莖腐病斑及萎凋病徵(圖 8 及圖 9),於塊根上可造成褐色病斑(圖 10)。研究期間,採得乾腐病樣 本之時間與地點共有:2013年1月(新北市萬里區)、3月(台北市文山區) 及12月(台北市大安區);2014年2月(新竹縣竹北市)及3月(新北市萬里 區)。

表 1、臺灣北部甘藷基腐病及乾腐病之田間病害調查結果。

Table 1. The results of field investigation on sweet potato foot rot and dry rot disease in northern Taiwan.

地點	莖部及地上部病徵	塊根病徵
新北市萬里區	深褐至黑色病斑、萎凋、莖上產	褐色略凹陷病斑,多由連
	生黑色柄子器。	接莖部之一端發生。少數
		自隨機位置發生。
新北市金山區	深褐至黑色病斑、萎凋。	褐色略凹陷病斑,由連接
		莖部之一端發生。
台北市大安區	深褐至黑色病斑。	-
台北市文山區	深褐至黑色病斑。	-
新竹縣竹北市	深褐至黑色病斑。	-



圖 1、新北市萬里區甘藷植株因基腐病造成之莖腐及萎凋病徵。

Figure 1. The symptom of stem rot and wilt on sweet potato caused by *Phomopsis destruens* at Wanli, New Taipei City.



圖 2、新北市萬里區甘藷植株因基腐病造成之莖腐初期病徵。

Figure 2. Initial symptom of foot rot disease on sweet potato stem at Wanli district, New Taipei City.



圖 3、新北市萬里區甘藷塊根因基腐病造成之褐色腐敗病徵。

Figure 3. The typical symptom of foot rot on storage root of sweet potato root found at Wanli, New Taipei City.



圖 4、新北市萬里區甘藷塊根在冬季之組織殘體,表面橙色者為 Fusarium sp.之產 孢構造。

Figure 4. Debris of diseased sweet potato roots with orange color of *Fusarium* on the surface found in winter at Wanli, New Taipei City.



圖 5、新北市萬里區甘藷塊根在冬季殘存之基腐病塊根。

Figure 5. Volunteer sweet potato roots showing foot rot symptons in winter at Wanli, New Taipei City.



圖 6、新北市萬里區甘藷植株在扦插後約2個月因基腐病造成之莖腐病徵。 Figure 6. The symptom of foot rot disease on sweet potato stems found at Wanli, New Taipei City, after two months of growth from a cutting.



圖 7、新北市萬里區甘藷植株生長期間於節點位置發生之基腐初期病徵。

Figure 7. Initial symptom of foot rot disease on the node of sweet potato stem found at Wanli, New Taipei City.



圖 8、台北市文山區甘藷植株因乾腐病造成之莖腐病徵。

Figure 8. The symptom of dry rot disease on sweet potato stem found at Wenshan District, Taipei City.



圖 9、新北市萬里區甘藷植株因乾腐病造成之莖腐及萎凋病徵。

Figure 9. The symptom of dry rot disease including the stem rot and wilt on sweet potato found at Wanli, New Taipei City.



圖 10、新北市萬里區甘藷塊根因乾腐病(左)及基腐病(中及右)造成之褐色腐敗病 徵。

Figure 10. The symptom of dry rot (Left) and foot rot (Middle and right) on sweet potato roots found at Wanli district, New Taipei City.

二、臺灣北部甘藷基腐病及乾腐病之病原分離及初步鑑定
(一)甘藷塊根組織塊分離法之結果

甘藷塊根組織塊分離法之分離結果如表 2 所示。由新北市萬里區採得之甘藷 基腐病及乾腐病染病塊根,共得到 341 菌株,其在 PDA 上之菌落形態呈邊緣不規 則狀,菌絲灰白色至淺褐色,後期長出黑色柄子器,並會使培養基顏色略為變深, 從其特性可歸為基腐病菌 Phomopsis destruens 分離株(以下簡稱基腐病菌株),編號 為 WLRP 後加兩位數;另得 8 株菌絲呈羽狀生長,菌落邊緣不規則,菌絲白色, 後期長出黑色柄子器,柄子器多具長喙之 Diaporthe batatatis 分離株(以下簡稱乾腐 病菌株),編號為 WLRD 後加兩位數。以分離之組織塊數計算,上述合計 349 株菌 株來自 532 條組織塊,平均分離率為 67%。

(二)甘藷莖部組織塊分離法之結果

甘藷莖組織塊分離法之分離結果如表 3 所示。由新北市萬里區採得之甘藷基 腐病及乾腐病染病枝條共得到 256 株基腐病菌株(編號為 WLP 後加兩位數),及7 株乾腐病菌株(編號為 WLD 後加兩位數);於台北市大安區採得之染病枝條分得 16 株基腐病菌株(編號為 DAP 後加兩位數),24 株乾腐病菌株(編號為 DAD 後加兩位 數)。於台北市文山區採得之染病枝條分得 12 株基腐病菌株(編號為 WSP 後加兩位 數),1 株乾腐病菌株(編號為 WSD 後加兩位數)。另於新北市金山區採得 22 株基 腐病菌株(編號為 JSP 後加兩位數),於新竹縣竹北市採得 8 株基腐病菌株(編號為 ZBP 後加兩位數),24 株乾腐病菌株(編號為 ZBD 後加兩位數)。上述若以分離之組 織塊數計算,各地之分離率為 21~100%。

(三)甘藷基腐病菌及乾腐病菌之培養與保存

甘藷基腐病分離株以孢子液繼代於 OMA 平板培養基或 SPOMA 培養基,室溫 照光培養或放置於光週期 12 小時之 25℃生長箱培養;甘藷乾腐病分離株則使用 PDA 平板培養基,以菌絲塊繼代,室溫照光培養或放置於光週期 12 小時之 25℃ 生長箱培養,皆純培養之菌株用於後續試驗。上述繼代培養及保存迄今均屬良好。

23

表 2、由臺灣北部甘藷基腐及乾腐病根以組織塊分離法之分離結果。

Table 2. The isolation of foot rot and dry rot pathogens from diseased sweet potato roots found in northern Taiwan by tissue block isolation method.

地點	組織塊數	病根數	Phomopsis	Diaporthe	基腐菌	乾腐菌
			destruens	batatatis	分離率	分離率
			菌株數	菌株數	(%)	(%)
新北市金山	532	63	341	8	64	1.5
區及萬里區						

表 3、由臺灣北部甘藷基腐及乾腐莖部病斑以組織塊分離法之分離結果。

Table 3. The isolation of foot rot and dry rot pathogens from diseased sweet potato stems found in northern Taiwan by tissue block isolation method.

地點	組織塊數	病株數	Phomopsis	Diaporthe	基腐菌	乾腐菌
			destruens	batatatis	分離率	分離率
			菌株數	菌株數	(%)	(%)
新北市	452	52	256	7	57	1.5
萬里區						
新北市	32	4	22	0	69	0
金山區						
台北市	40	5	16	24	40	60
大安區						
台北市	56	7	12	1	21	1.8
文山區						
新竹縣	32	4	8	24	25	75
竹北市						

三、 甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株病原性測定

(一)供試健康甘藷苗之栽種與繁殖

自台南市新化區甘藷產銷班取得之健康台農 66 號甘藷枝條共約 600 枝,種植 於口徑 24 公分,高 24 公分之黑色塑膠軟盆,每盆 2~4 株,或口徑 15 公分,高 13 公分之黑色塑膠軟盆,每盆 1 株。栽培介質為泥炭土(BVB No.4)與 3 號根基旺 以 2:1 之比例混合,視生長狀況施用台肥 43 號。共於臺灣大學中非大樓頂樓栽種 24 公分大小之健康甘藷盆栽約 160 盆,供後續繁殖及試驗使用。

(二)甘藷基腐病及乾腐病菌株對塊根以菌絲塊接種之結果

本接種法以市售之健康台農 57 號或台農 66 號甘藷塊根為材料,接種莖部組 織分離法分得之基腐病菌分離株 WLP18 及乾腐病菌分離株 WLD01。甘藷塊根表 面消毒後以解剖針在表面刺出傷口,並以解剖針壓入菌絲塊接種。此接種法共進 行2次,結果列於表 4,並敘述如下:

- 基腐病菌株之接種:本次試驗於 2013 年 3 月進行,使用之菌株為 WLP18,接 種後 5 天塊根開始發病,表面呈凹陷狀,並由接種點為圓心逐漸向四周擴大(圖 11A 及 B),10 天後 10 個接種點皆發病,且接種點附近的芽皆枯死(圖 11C), 最後整個塊根腐爛鬆軟(圖 11D)。對照組除一個點略隆起外,其餘皆未出現病 徵。
- 2、乾腐病菌株之接種:本次試驗於 2014 年1月進行,使用之菌株為 WLD01, 接種後約 30 天開始發病,病徵極似接種基腐病菌之塊根,但擴大速度極慢, 至 45 日止共 5 點發病,對照組則未發病。
- (三)甘藷基腐病菌株對莖部以菌絲塊接種之結果

本接種法選取健康之甘藷盆苗,以消毒過之挑針於接種區刻傷約 0.2 公分見 方,深 0.1~0.2 公分之傷口,壓入約 0.1 公分 × 0.1 公分大小之菌絲塊,觀察後 續發病情形,以莖部接種點周圍組織是否轉黑後向上下擴大,且莖中空化為發病 與否之判斷依據(甘藷莖受創後會變色及產生疤痕組織,若未擴大,則判定為未發 病),此接種法共進行 2 次,所得結果列於表 5,並敘述如下:

1、 第一次接種結果:本次試驗於 2013 年 3 月進行,皆以莖部組織塊分離法
分得之分離株 WLP18 為接種源,接種於7株甘藷扦插苗,共14 個接種點,其中10 個接種 WLP18 分離株,其餘4 個為對照組。於接種後28 日發現3 個接種點產生褐色病斑並擴大,且內部組織空洞化如棉絮狀(如圖12 及圖 13),至第40 日止共有5 個接種點發病,而其餘接種點皆未發病。

2、第二次接種結果:本次試驗於 2014 年 5 月進行,以莖部組織塊分離法分 得之分離株 WLP31 及 WLP37 為接種源,接種於 10 株甘藷扦插苗,分別 接種各 10 個接種點,另製造兩個接種點為對照組。於接種後 6 日發現 1 個接種點產生褐色病斑並擴大,至第 15 日,接種 WLP31 及 WLP37 之所 有接種點皆已發病,而對照組未發病。

(四)甘藷基腐病菌株以孢子懸浮液對葉痕接種之結果

本接種法選取健康之甘藷盆苗,使用莖部組織塊分離法分得之分離株 WLP31 及 WLP37 為接種源,以微量滴管吸取 5 µL 孢子懸浮液滴於已落葉之葉痕上,並 以石蠟膜包覆保濕。每一純種分離株接種 10 個葉痕,另以無菌水滴於 5 個葉痕上 做為對照組。本試驗共分為兩個處理:(1)接種於葉片剛脫落,離層尚潮濕之葉痕; (2)接種於葉片脫落 24 小時以上,已乾燥之葉痕。試驗結果列於表 6,並分述如下:

- 接種於新葉痕者:WLP31 分離株接種之葉痕於接種後第15 天開始發病, 由接種點之節上或側枝處產生深色病斑,並向上下擴大(如圖14),WLP37 分離株接種之葉痕則於接種第11 天後開始發病。截至第25 天止,經 WLP31 接種之接種點共6個點發病,WLP 接種者則共7個點發病。
- 2、 接種於老葉痕者:WLP31 接種之葉痕於接種後第10天開始發病,病徵同 接種於新葉痕者,WLP37 接種者則於接種後第16天發病。截至第25天 止,WLP31 接種之葉痕共3點發病,WLP37 接種者共1點發病。

表 4、甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株對塊根以菌絲接種傷口之結果。

Table 4. The pathogenicity of foot rot and dry rot isolates on sweet potato storage root by wound inoculation with mycelium disc.

接種菌株	接種點數	發病點數	發病率
基腐菌 WLP18	10	10	100%
乾腐菌 WLD01	10	5	50%

表 5、甘藷基腐病菌分離株對莖部以菌絲塊接種傷口之結果。

Table 5. The pathogenicity of foot rot isolates on sweet potato stem by wound inoculation with mycelium disc.

接種點數	發病點數	發病率
10	5	50%
10	10	100%
10	10	100%
	接種點數 10 10 10	接種點數發病點數10510101010

表 6、甘藷基腐病菌分離株以孢子懸浮液對葉痕接種之結果。

Table 6. The pathogenicity of foot rot isolates on sweet potato stem by dropping spore suspensions on the leaf scar.

處理	接種菌株	接種點數	發病點數	發病率
接種於新葉痕	WLP31	10	6	60%
	WLP37	10	7	70%
接種於舊葉痕	WLP31	10	3	30%
	WLP37	10	1	10%



圖 11、基腐病菌株對台農 57號甘藷塊根以菌絲塊接種傷口之發病情形:(A)為接 種後第5天,病斑呈略凹陷狀,白色箭號所指處為病斑邊緣。(B)接種後第7天, 病斑半徑擴大約0.2 公分,且開始感染芽基部。(C)接種後第11天,芽枯死,病部 質地軟化,表面略凹陷且產生皺摺。(D)病根內部鬆軟,略呈海綿狀。

Figure 11. The symptom development on sweet potato roots of cultivar Tainung 57, after wound inoculation with mycelium disc of foot rot isolate: (A)After 5 days, the inoculation point showed a dark and slightly sunken lesion. (BAfter 7 days, the lesion enlarged about 0.2 cm, with shoot became infected.(C)After 11 days, the shoot wilt and dead, with infected area slightly sunken and shrink. (D) The interior part of the infected root turned soft, spongy structure.



圖 12、甘藷基腐病菌株 WLP18 以菌絲塊接種莖部傷口之之發病情形,可見由傷 口處產生褐色病斑並向上下擴大。

Figure 12. The symptom development on sweet potato stem after wound inoculation with mycelium disc of foot rot isolate WLP18. The inoculation point turned into a brown necrotic lesion, and extended both upward and downward.



圖 13、如圖 12,甘藷莖部接種基腐病菌發病病斑處之縱剖面,可見莖內部空洞 化,殘餘組織呈棉絮狀。

Figure 13. Longitudinal section of sweet potato stem after wound inoculation with foot rot isolate as in fig 12. The stem became hollow with cottony structure.



圖 14、甘藷莖部以甘藷基腐菌株孢子懸浮液對葉痕接種 15 天後之發病病徵,可 見病斑由接種點向上下擴大。

Figure 14. The symptom development on sweet potato stem after inoculation with spore suspensions of foot rot isolate on the leaf scar for 15 days, showing the necrotic lesion on the stem and extended both upward and downward.

四、 人工接種甘藷基腐病及乾腐病之病原再分離

為完成柯霍氏法則,上述各接種法產生之甘藷基腐病及甘藷乾腐病病斑皆利用前述之組織塊分離法進行病原再分離。其結果如表 7 及表 8,並分述如下:

- 根部傷口接種法之再分離結果:即取表 4 接種發病之病斑進行再分離結果,菌株 WLP18之10 個接種點中皆分得甘藷基腐病菌,再分離率為100%。
 菌株 WLD01 之 10 個接種點中有 5 個發病並分得甘藷乾腐病菌,再分離 率為 50%。
- 2、 莖部傷口接種法之再分離結果:即取表 5 接種發病之病斑進行再分離結果,菌株 WLP18 之 10 個接種點中皆分得甘藷基腐病菌,再分離率為 100%。
- 表 7、甘藷基腐病菌株接種試驗後之病原再分離結果。

Table 7. The reisolation rates of sweet potato foot rot isolates after pathogenicity tests.

原接種試驗	菌株編號	接種點數	P. destruens 分離數	分離率
				(%)
塊根傷口接種試驗	WLP18	10	10	100
莖部傷口接種試驗	WLP18	10	10	100

表 8、甘藷乾腐病病菌株接種試驗後之病原再分離結果。

Table 8. The reisolation rates of sweet potato dry rot isolates after pathogenicity tests.

原接種試驗	菌株編號	接種點數	D. batatatis	分離率
			分離數	(%)
塊根傷口接種試驗	WLD01	10	5	50

五、 甘藷基腐病及乾腐病菌分離株之鑑定

(一)甘藷基腐病菌及乾腐病菌 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS 序列分析

將甘藷基腐病菌分離株 WLP31 及 WLP37,甘藷乾腐病菌分離株 WLD01 及 DAD03 利用 PCR 增幅、ITS 序列分析及序列比對分析進行分子鑑定。其利用引子 對 ITS4 及 ITS5 進行 PCR 增幅後所得之電泳圖譜如圖 26,得到大小約為 500 bp 之 DNA 片段,經序列分析得 DNA 序列如圖 15 至圖 18,將序列資料送上 NCBI 網站之基因庫進行 BLAST 比對,得到結果如表 9 至表 12。可得知 WLP31 及 WLP37與Phomopsis destruens (Accession# JX421690.1)相似度達99%,分數亦最高; 而 WLD01 及 DAD03 則與 Diaporthe batatatis (Accession# KC343040.1)相似度達 99%,分數亦最高。 (二)甘藷基腐病菌及乾腐病菌之形態學鑑定

本研究之基腐病菌及乾腐病菌分離株皆以 PDA 培養,放置於光週期 12 小時, 溫度 25℃之環境下 4 週後,觀察巨觀形態及微觀形態特徵,結果如圖 19,並分述 如下:

- 基腐病菌之菌落在培養基上,從側面觀察呈平鋪狀(flat),自上方觀察,形狀 為不整形(irregular),邊緣波浪狀(undulate),菌絲灰白色,並常使培養基呈 淡褐色至褐色。通常黑色之柄子器會於培養7-21日時陸續產生,不同菌株在 PDA上產生柄子器的能力差異極大,部份菌株之柄子器可散佈於整個菌落內, 多達數百個,亦有僅在菌落中央產生數個柄子器者。柄子器產生後,分生孢 子會由其自然開口泌出,肉眼觀察時為白色混濁之液滴。 經挑取分生孢子堆以光學顯微鏡觀察,發現其甲型分生孢子具黏性,單孢, 透明無色,長圓形,具有2油滴,長寬為6-9×3-4µm,平均長寬為7.6×3.5µm, 平均長寬比為2.17。
- 乾腐病菌之菌落在培養基上呈平鋪狀,不整形,邊緣接近葉狀 (lobate),菌絲 白色,通常不使培養基變色。培養 9-12 日後即產生大量具長喙之黑色柄子器, 分生孢子不泌出。

以光學顯微鏡觀察,此乾腐病菌之甲型分生孢子為單孢,透明無色,擬紡錘形,具有 2-3 油滴,長寬為 7-9 × 2-2.5 μm,平均長寬為 7.6 × 2μm,平均長 寬比為 3.72。 1 TCTACCCTGAATCCGAGGTCAATTTTCAGAAGTTGGGGGGTTTAACGGCAG 51 GGCACCGCCAGGGCCTTCCAGAGCGAGATATAACTACTACGCTCGGGGTC CTGGCGAGCTCGCCACTGGATTTCAGGGCCTGCCCCCTTAAAAAAGGCAG 101 151 TGCCCCATCACCAAGCCAGGCTTGAAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGC 201 ATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGA 251 TTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTT 301 CATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCATTTA 351 401 451 GCGCCGAGGCAACAGTGGTATAAGTTCACAAAGGGTTTCTGGGTGCGCCG 501 GGGCGCGTTCCAGCAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCAACGGAGACCTTG 551 TTACGACTTTTTACTTCCA 圖 15、甘藷基腐病菌株 WLP31 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA

序列。

Figure 15.The ITS DNA sequences of sweet potato foot rot isolate WLP31 after PCR amplification using the primer pair of ITS4 and ITS5.

1 CCTACCCTGGATCCGAGGTCAATTTTCAGAAGTTGGGGGGTTTAACGGCAG 51 GGCACCGCCAGGGCCTTCCAGAGCGAGATATAACTACTACGCTCGGGGTC CTGGCGAGCTCGCCACTGGATTTCAGGGCCTGCCCCCTTAAAAAAGGCAG 101 151 TGCCCCATCACCAAGCCAGGCTTGAAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGC 201 ATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGA 251 TTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTT 301 CATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCATTTA 351 401 451 GCGCCGAGGCAACAGTGGTATAAGTTCACAAAGGGTTTCTGGGTGCGCCG 501 GGGCGCGTTCCAGCAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCAACGGAGACCTTG 551 TTACGACTTTTTACTTCCA 圖 16、甘藷基腐病菌株 WLP37 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA

序列。

Figure 16. The ITS DNA sequences of sweet potato foot rot isolate WLP37 after PCR amplification using the primer pair of ITS4 and ITS5.

1 CTTACCCTTGATCCGAGGTCAATTTTCAGAAGTTGGGGGGTTTAACGGCAG 51 GGCACCGCCAGGGCCTTCCAGAGCGAGATGTAACTACTACGCTCGGGGTC 101 151 TGCCCCATCACCAAGCCAGGCTTGAAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGC 201 ATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGA 251 TTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCGTTCTT 301 CATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTCATTTA 351 401 451 GCCGAGGCAACAGTGGTATAAGTTCACAAAGGGTTTCTGGGTGCGCCAGG GGCGCGTTCCAGCAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCAACGGAGACCTTGT 501 551 TACGATTTTTACTTCCA 圖 17、甘藷乾腐病菌株 WLD01 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA

序列。

Figure 17. The ITS DNA sequences of sweet potato dry rot isolate WLD01 after PCR amplification using the primer pair of ITS4 and ITS5.

1 CGGGCTTTCTACCTGATCCGAGGTCAATTTTCAGAAGTTGGGGGGTTTAAC 51 GGCAGGGCACCGCCAGGGCCTTCCAGAGCGAGATGTAACTACTACGCTCG 101 GGGTCCTGGCGAGCTCGCCACTAGATTTCAGGGCCTGCCCCCTGAGGGA 151 GGCAGTGCCCCATCACCAAGCCAGGCTTGAAGGGTTGAAATGACGCTCGAA 201 CAGGCATGCCCTCCGGAATACCAGAGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTC 251 GATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTCGCTGCG 301 TTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTC 351 401 CCGCCGGCGGGCTGCTCCCGTCTCCGGGGGGGCCTCAGCTAAGAGGCCGG 451 CCTGCGCCGAGGCAACAGTGGTATAAGTTCACAAAGGGTTTCTGGGTGCG CCAGGGGGGGGGGGTTCCAGCAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCAACGGAGAC 501 551 CTTGTTACGATTTTTACTTCCA 圖 18、甘藷乾腐病菌株 DAD03 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA

序列。

Figure 18. The ITS DNA sequences of sweet potato dry rot isolate DAD03 after PCR amplification using the primer pair of ITS4 and ITS5.

表 9、甘藷基腐病菌株 WLP31 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列 與 NCBI 網站基因庫比對之結果。

Table 9. The identity comparison of ITS DNA sequences of sweet potato foot rot isolate WLP31 submitted to NCBI gene bank.

Accession	Description	Max	Total	Query	E value	Max
		score	score	coverage		ident
JX421690.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JX421689.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JX421688.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JX421687.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JN848791.1	Plenodomus	963	963	97%	0.0	99%
	destruens					
KC343040.1	Diaporthe	913	913	98%	0.0	97%
	phaseolorum					
GU270102.1	Diaporthe	896	896	88%	0.0	99%
	phaseolorum					
KJ476153.1	Diaporthe	891	891	100%	0.0	96%
	sp.					
GU270103.1	Diaporthe	891	891	88%	0.0	99%
	phaseolorum					
FJ799941.1	Diaporthe	891	891	100%	0.0	96%
	sp.					

表 10、甘藷基腐病菌株 WLP37 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列與 NCBI 網站基因庫比對之結果。

Table 10. The identity comparison of ITS DNA sequences of sweet potato foot rot isolate WLP37 submitted to NCBI gene bank.

Accession	Description	Max	Total	Query	E value	Max
		score	score	coverage		ident
JX421690.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JX421689.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JX421688.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JX421687.1	Phomopsis	968	968	97%	0.0	99%
	destruens					
JN848791.1	Plenodomus	963	963	97%	0.0	99%
	destruens					
KC343040.1	Diaporthe	913	913	98%	0.0	97%
	phaseolorum					
GU270102.1	Diaporthe	896	896	88%	0.0	99%
	phaseolorum					
KJ476153.1	Diaporthe	891	891	100%	0.0	96%
	sp.					
GU270103.1	Diaporthe	891	891	88%	0.0	99%
	phaseolorum					
FJ799941.1	Diaporthe	891	891	100%	0.0	96%
	sp.					

表 11、甘藷乾腐病菌株 WLD01 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列與 NCBI 網站基因庫比對之結果。

Table 11. The identity comparison of ITS DNA sequences of sweet potato dry rot isolate WLD01 submitted to NCBI gene bank.

Accession	Description	Max	Total	Query	E value	Max
		score	score	coverage		ident
KC343040.1	Diaporthe	994	994	98%	0.0	99%
	phaseolorum					
AB899789.1	Diaporthe	909	909	100%	0.0	97%
	endophytica					
JQ936148.1	Diaporthe	904	904	100%	0.0	96%
	phaseolorum					
JF441186.1	Phomopsis	904	904	97%	0.0	97%
	sp.					
HM211226.1	Fungal sp.	904	904	100%	0.0	96%
KJ174411.1	Phomopsis	902	902	97%	0.0	97%
	sp.					
KC507270.1	Diaporthe	900	900	100%	0.0	96%
	sp.					
KC507238.1	Diaporthe	900	900	99%	0.0	97%
	sp.					
KF436407.1		898	898	92%	0.0	98%
JQ936146.1	Diaporthe	898	898	100%	0.0	96%
	phaseolorum					

表 12、菌株 DAD03 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列與 NCBI 網站基因庫比對之結果。

Table 12. The identity comparison of ITS DNA sequences of sweet potato dry rot isolate DAD03 submitted to NCBI gene bank.

Accession	Description	Max	Total	Query	E value	Max
		score	score	coverage		ident
KC343040.1	Diaporthe	1003	1003	98%	0.0	99%
	phaseolorum					
AB899789.1	Diaporthe	915	915	99%	0.0	97%
	endophytica					
JF441186.1	Phomopsis	913	913	98%	0.0	97%
	sp.					
JQ936148.1	Diaporthe	909	909	99%	0.0	97%
	phaseolorum					
KC507238.1	Diaporthe	907	907	99%	0.0	97%
	sp.					
FJ612924.1	Fungal sp.	907	907	99%	0.0	97%
KJ598863.1	Diaporthe	905	905	90%	0.0	99%
	phaseolorum					
DQ159945.1	Phomopsis	905	905	99%	0.0	96%
	sp.					
JQ936146.1	Diaporthe	904	904	99%	0.0	96%
	phaseolorum					
JN672606.1	Diaporthe	904	904	89%	0.0	99%
	phaseolorum					



圖 19、甘藷基腐病菌及乾腐病菌於光週期 12 小時,溫度 25℃環境下培養於 PDA 上之菌落及分生孢子形態:(A)基腐病菌培養 7 日之菌落形態,(B) 基腐病菌培養 28 日之菌落形態,(C) 乾腐病菌培養 7 日之菌落形態,(D) 乾腐病菌培養 28 日之 菌落形態,(E)基腐病菌分生孢子於光學顯微鏡 400 倍下之形態,(F) 乾腐病菌分 生孢子於光學顯微鏡 400 倍下之形態。

Figure 19. The colony and conidia morphology of sweet potato foot rot and dry rot pathogens cultured on PDA at 25°C under 12 hours of light per day: (A) The foot rot colony cultured for 7 days. (B) The foot rot colony cultured for 28 days. (C) The dry rot colony cultured for 7 days. (D) The dry rot colony cultured for 28 days. (E) The α -conidia of foot rot pathogen. (F) The α -conidia of dry rot pathogen.

六、 溫度對甘藷基腐病及乾腐病菌生長速率之影響

本試驗於 15、20、25、30、35℃共 5 種溫度下,比較三株甘藷基腐病菌分離 株 WLP18、WLP31 及 WLP37,與三株甘藷乾腐病菌分離株 WLD01、DAD02、 DAD03 之生長速率。結果如表 13 及表 14,甘藷基腐病菌三株分離株於 30℃下有 最高之生長速率,甘藷乾腐病三株分離株則在 25℃下有最高之生長速率。

表 13、甘藷基腐病菌分離株在 PDA 上於不同溫度下之生長速率。

Table 13. Growth rate of sweet potato foot rot isolates PDA under different temperature.

分離株	菌絲生長速率(公分/day)						
	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C		
WLP18	0.024	0.023	0.213	0.284	0.027		
WLP31	0.169	0.183	0.141	0.243	0.014		
WLP37	0.157	0.181	0.171	0.200	0.009		

表 14、甘藷乾腐病菌分離株在 PDA 上於不同溫度下之生長速率。

Table 14. Growth rate of sweet potato dry rot isolates PDA under different temperature.

分離株	菌絲生長速率(公分/day)					
	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	
WLD01	0.393	0.542	0.743	0.752	0.128	
DAD02	0.450	0.542	0.718	0.485	0.046	
DAD03	0.399	0.579	0.776	0.383	0.023	

七、 甘藷基腐病菌在土壤中之殘存

(一)甘藷基腐病菌孢子在土壤中之殘存

濃度 10⁶ spores/mL 之基腐病菌菌株 WLP31 孢子懸浮液以 10%之重量比均匀 混入採自新北市萬里區之黏質壤土中,使土壤中孢子濃度為 10⁵ spores/g_{sol},調整 土壤濕度至 35%,裝填至容量 15 mL 之離心管內,每管裝填 20 g。於第 3 天及第 1 週、2 週及 3 週時分別取出管內最上端及最下端之土壤各一克,加入 9 mL 無菌 水中震盪 15 分鐘後進行序列稀釋,由稀釋至 10⁻¹、10⁻²,以及 10⁻³ 倍之樣本中各 吸取 100 μL,滴於含有 0.25% tween 20 之酸化 PDA 平板培養基各 3 皿上,並均 勻塗布,室溫培養,3 至 10 日後計算甘藷基腐病菌菌落數量。

本試驗結果如表 15,第3日時混有菌株 WLP31 孢子之土壤中孢子濃度為 2.3 × 10³ spores/g_{soil},為原濃度之 2.3%,混有菌株 WLP37 孢子之土壤中孢子濃度亦為 2.3 × 10³ spores/g_{soil},為原濃度之 2.3%;第1週時,WLP31 土樣於近管口處之土 壤中孢子濃度為 1 × 10³ spores/g_{soil},管底未測得活菌落,WLP37 土樣於管底處之 土壤中孢子濃度為 3.3 × 10² spores/g_{soil},近管口處未測得活菌落;第2 及第3 週皆 無法分得甘藷基腐病菌菌落,故推算土壤中具活性之孢子濃度為 0 spores/g_{soil}。

(二)甘藷基腐病菌於甘藷塊根組織中殘存

將採自新北市萬里區之土壤以RO水調整濕度後分裝於口徑15 公分之黑色軟 盆內,並取得健康台農 66 號甘藉塊根,接種已確認病原性之 WLP31 分離株,發 病後平放於軟盆之土壤中。自 2013 年 12 月至 2014 年 5 月,每個月隨機抽取 5 條, 進行組織分離;另自 2014 年 1 月起,每個月採集病諸周圍 1.5 公分內之土壤行稀 釋分離,各做 3 皿重複。

此試驗之結果如表 16 及表 17,發現甘藷基腐病菌於染病塊根組織中之分離 率於第 0 週為 100%,第 4 週為 97.5%,第 8 週起則皆為 0%。週邊土壤中之孢子 濃度則於第 4 週升至 4.7 × 10² spores/g_{soil},於第 12 週升至 2 × 10² spores/g_{soil},其 餘週數皆未分得甘藷基腐病菌菌落。

表 15、甘藷基腐病菌分離株孢子於土壤中之殘存變化。

公離株 虚理		孢子濃度(spores/g _{soil})				
24 FUE-121-		第3天	第1週	第2週	第3週	
WLP31	離心管表面	2.3×10^{3}	1×10^{3}	0	0	
	離心管底	2.3×10^{3}	0	0	0	
WLP37	離心管表面	2.3×10^{3}	0	0	0	
	離心管底	2.3×10^{3}	3.3×10^2	0	0	

Table 15. The survival situation of conidia of sweet potato foot rot isolate in soil.

表 16、甘藷基腐病菌感染塊根組織於土壤中殘存之變化。

Table 16. The survival situation of conidia of sweet potato foot rot pathogen inside the buried diseased roots in soil.

分離株	分離率(%)								
	第0週	第4週	第8週	第12週	第16週	第20週			
WLP31	100	97.5	0	0	0	0			

表 17 甘藷基腐病菌感染塊根組織於病藷周圍土壤調查孢子殘存之變化。

Table 17. The survival situation of conidia of sweet potato foot rot pathogen in soil near the buried diseased roots.

分離株	孢子濃度(spores/g _{soil})*								
	第0週	第4週	第8週	第12週	第16週	第 20 週			
WLP31	0	4.7×10^2	0	2×10^{2}	0	0			

*本試驗未於土壤中添加基腐病菌孢子,僅將接種基腐病菌之塊根埋於土壤中,待 塊根表面產生柄子器並泌出分生孢子,或塊根分解後,土中始能分離出基腐病菌 落。 八、 藥劑及非農藥資材對甘藷基腐病菌及乾腐病菌生長之

影響

(一)藥劑及非農藥資材對病原菌菌絲生長之影響

本項共選取 7 種防治子囊菌真菌類病害之藥劑: 腐絕快得寧、免賴得、甲基 多保淨、待克利、菲克利、貝芬替及克收欣,與 3 種對真菌有抑制力之非農藥資 材:五倍子水萃液、大黃水萃液,及 4-4 式波爾多液。依照其建議稀釋倍數各加入 PDA。其菌絲生長抑制率係待對照組長滿培養皿時量取實驗組之菌落大小,或量 取第十日之實驗組與對照組之菌落大小,扣除原菌絲塊大小後依下列公式計算 之:

菌絲生長抑制率 = $\frac{$ 對照組 - 實驗組 × 100% 對照組

本實驗結果如表 18 至表 21,藥劑部份發現共有 4 種對兩種病原菌之抑制率 皆達 100%者,分別為腐絕快得寧、免賴得、甲基多保淨、菲克利,待克利對基腐 病菌之抑制率為 100%,對乾腐病菌則為 98%;貝芬替對基腐病菌之抑制率為 100%, 對乾腐病菌抑制率為 99%;克收欣則對基腐病菌之抑制率為 89%,對乾腐病菌抑 制率為 76%。

非農藥資材部份,4-4 式波爾多液對兩種病原菌之抑制率皆為100%,五倍子對基腐病菌之抑制率為43%,乾腐病菌為4%;大黃對基腐病菌之抑制率為29%, 乾腐病菌為1%。

(二)藥劑及非農藥資材對甘藷盆苗基腐病及乾腐病之防治

試驗之植物材料為栽培於臺灣大學中非大樓頂樓之健康台農 66 號盆苗,每盆 4 株,每種處理皆使用 3 盆盆苗共 12 株。藥劑則從防治子囊菌真菌類病害之藥劑 中經上述菌絲抑制試驗篩選較佳之腐絕及菲克利等兩種,另由非農藥資材中選出 五倍子水萃液、大黃水萃液及4-4式波爾多液等三種資材,並依據上一試驗之結果, 將五倍子水萃液及大黃水萃液之濃度由 200 ppm 提高至 1000 ppm。另取濾出之藥 渣加入測試。上述盆苗除負對照組外,皆以濃度 10⁵ spores/mL 之孢子懸浮液 20 mL 澆灌接種。於 36 小時後於土表施用藥劑或非農藥資材及藥渣,且每 30 天追加施 用藥劑及資材一次。每週紀錄發病率及罹病級數,計算為害嚴重度,並觀察是否 發生藥害。

本實驗含對照組共分為十種處理:(1)40%腐絕可濕性粉劑1000倍(400 ppm)、 (2)23%菲克利水懸劑3000倍(77 ppm)、(3)五倍子水萃取液1000倍(ppm)、(4)五倍 子藥渣、(5)大黃水萃取液1000倍(ppm)、(6)大黃藥渣、(7)4-4式波爾多液、(8)正 對照組,接種病原菌,不做任何處理、(9)噴水對照組,不接種病原菌,噴灑無菌 水;及(10)空白對照組,不接種病原菌,不做任何處理。本項試驗結果如表22至 表25,至第12週止,甘藷基腐病分離株WLP31接種之盆苗共有6組發病,分別 為:五倍子水萃取液(30.6%)、五倍子藥渣(19.4%)、大黃水萃取液(13.9%)、大黃藥 渣(41.7%)、4-4式波爾多液(8.3%)及接菌對照組(8.3%),其餘處理罹病度皆為0%; 各組間未有顯著差異。分離株WLP37接種之盆苗以腐絕處理、以五倍子水萃液處 理、負對照組(噴水)及空白對照組罹病度皆為0%,其餘處理之罹病度分別為:菲 克利55.6%、五倍子藥渣25%、大黃水萃取液58.3%、大黃藥渣22.2%、4-4式波 爾多液33.33%,以及接菌對照組25%;各組間未有顯著差異。甘藷乾腐病分離株 WLD01接種之盆苗除大黃水萃取液(8.3%)及接菌對照組(16.7%)以外,其餘處理之 罹病度皆為0%;各組間未有顯著差異。DAD03除正對照組(33.33%)外,其餘處理 之罹病皆為0%,各組間未有顯著差異。此試驗中所有盆苗皆未發生藥害。

表 18、甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株以7種藥劑加入 PDA 進行毒食培養之菌 落生長情形。

Table 18. The colony size of sweet potato foot rot and dry rot isolates on PDA added with 7 fungicides as poisoning culture test.

	菌落生長半徑(公分)*							
分離株	腐絕快得寧	免賴得	甲基多保淨	待克利	菲克利	貝芬替	克收欣	PDA
	530 ppm	167 ppm	700 ppm	83 ppm	77 ppm	250 ppm	221 ppm	
基腐菌	0	0	0	0	0	0	0.20	1.85
WLP18								
乾腐菌	0	0	0	0.08	0.01	0.04	0.96	4.05
WLD01								

*菌落生長半徑係指對照組已長滿時實驗組之菌落半徑或第10日時之菌落半徑。

表 19、以7種藥劑對甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株於 PDA 上測試菌絲生長抑 制率之結果。

Table 19. The mycelium inhibition rate of 7 fungicides against sweet potato foot rot and dry rot isolates on PDA.

	菌絲生長抑制率(%)*								
分離株	腐絕快得寧	免賴得	甲基多保净	待克利	菲克利	貝芬替	克收欣	PDA	
	530 ppm	167 ppm	700 ppm	83 ppm	77 ppm	250 ppm	221 ppm		
基腐菌	100	100	100	100	100	100	89	0	
WLP18									
乾腐菌	100	100	100	98	100	99	76	0	
WLD01									

*菌絲生長抑制率係於對照組已長滿或已滿十日時量取實驗組之菌落半徑計算、

表 20、甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株以3種非農藥資材加入 PDA 進行毒食培養毒食培養之菌落生長情形。

Table 20. The colony size of sweet potato foot rot and dry rot isolates on PDA added with 3 non-pesticide materials as poisoning culture test.

	菌落生長半徑(公分)*							
分離株	五倍子水萃取液	大黃水萃取液	4-4 式波爾多液	PDA				
	200 ppm	200 ppm		1 D/X				
基腐菌	1.12	1.40	0	1.98				
WLP18								
乾腐菌	3.89	4.00	0	4.05				
WLD01								

*菌落生長半徑係指對照組已長滿時實驗組之菌落半徑或第10日時之菌落半徑。

表 21、以3種非農藥資材對甘藷基腐病菌及乾腐病菌分離株於 PDA 上測試菌絲 生長抑制率之結果。

Table 21. The mycelium inhibition rate of 3 non-pesticide materials against sweet potato foot rot and dry rot isolates on PDA.

	菌絲生長抑制率(%)*						
分離株	五倍子水萃取液	大黃水萃取液	4-4 式波爾多液	ΡΓΛ			
	200 ppm	200 ppm 200 ppm					
基腐菌	43	29	100	0			
WLP18							
乾腐菌	4	1	100	0			
WLD01							

*菌絲生長抑制率係於對照組已長滿或已滿十日時量取實驗組之菌落半徑計算 之。 表 22、以2種藥劑及3種非農藥資材對甘藷盆苗基腐病菌菌株 WLP31 之防治效果。

Table 22. The effects of 2 fungicides and 3 non-pesticide materials on disease incidence and severity of sweet potato foot rot caused by WLP31 in pot test.

發病率(%)*				為害嚴重度(%)**		
第4週	第8週	第12週	第4週	第8週	第12週	
0	0	0	0 _a	0 _c	0 _c	
0	0	0	0 _a	0 _c	0 _c	
0	25.0	33.3	O _a	22.2 _{ab}	30.6 _{ab}	
0	16.7	25.0	0 _a	11.0 _{abc}	19.4_{abc}	
0	8.3	16.7	O _a	5.6 _{bc}	13.9 _{bc}	
0	25.0	41.7	0 _a	33.3 _a	41.7 _a	
0	0	8.3	O _a	0 _c	8.3_{bc}	
0	0	16.7	O _a	0 _c	8.3_{bc}	
0	0	0	O _a	0 _c	O _c	
0	0	0	0_{a}	0 _c	O _c	
	第 4 週 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0	 一發病率(第 4 週 0 0 0 0 25.0 0 16.7 0 8.3 0 25.0 0 0<!--</td--><td>發病率(%)*第4週第8週第12週〇〇〇〇〇〇〇25.033.3〇16.725.0〇25.041.7〇25.041.7〇〇8.3〇016.7〇〇0〇〇0〇〇0〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇</td><td>發病率(%)* 第4週 第8週 第12週 第4週 の の の Q_a の 25.0 33.3 Q_a の 16.7 25.0 Q_a の 16.7 25.0 Q_a の 8.3 16.7 Q_a の 25.0 41.7 Q_a 0 25.0 41.7 Q_a 0 0 8.3 Q_a 0 0 0 8.3 Q_a 0 0 0 8.3 Q_a</td><td>登病率(%)* 為害嚴重度 第4週 第8週 第12週 第4週 第8週 0 0 0 O_a O_c 0 0 0 O_a O_c 0 25.0 33.3 O_a 22.2$_{ab}$ 0 16.7 25.0 O_a 11.0$_{abc}$ 0 8.3 16.7 O_a 5.6$_{bc}$ 0 25.0 41.7 O_a 33.3$_a$ 0 0 8.3 O_a O_c 0 0 16.7 O_a O_c 0 0 16.7 O_a O_c 0 0 0 16.7 O_a O_c</td>	發病率(%)*第4週第8週第12週〇〇〇〇〇〇〇25.033.3〇16.725.0〇25.041.7〇25.041.7〇〇8.3〇016.7〇〇0〇〇0〇〇0〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇〇	發病率(%)* 第4週 第8週 第12週 第4週 の の の Q_a の 25.0 33.3 Q_a の 16.7 25.0 Q_a の 16.7 25.0 Q_a の 8.3 16.7 Q_a の 25.0 41.7 Q_a 0 25.0 41.7 Q_a 0 0 8.3 Q_a 0 0 0 8.3 Q_a 0 0 0 8.3 Q_a	登病率(%)* 為害嚴重度 第4週 第8週 第12週 第4週 第8週 0 0 0 O_a O_c 0 0 0 O_a O_c 0 25.0 33.3 O_a 22.2 $_{ab}$ 0 16.7 25.0 O_a 11.0 $_{abc}$ 0 8.3 16.7 O_a 5.6 $_{bc}$ 0 25.0 41.7 O_a 33.3 $_a$ 0 0 8.3 O_a O_c 0 0 16.7 O_a O_c 0 0 16.7 O_a O_c 0 0 0 16.7 O_a O_c	

*發病率之各週數據均為十二次重複之平均值。

**為害嚴重度係由罹病級數(0-3 級)乘以株數計算,各週數據均為十二次重複之平均值。依據最小顯著差異法(Least significant difference)檢定,字母相同者表示兩者間無顯著差異(p<0.05)。

表 23、以2種藥劑及3種非農藥資材對於甘藷盆苗基腐病菌菌株 WLP37 之防治效果。

Table 23. The effects of 2 fungicides and 3 non-pesticide materials on disease incidence and severity of sweet potato foot rot caused by WLP37 in pot test.

處理	發病率(%)*				為害嚴重度(%)**		
	第4週	第8週	第12週	第4週	第8週	第12週	
4000 ppm 腐絕	0	0	0	0 _a	0 _c	0 _c	
77 ppm 菲克利	0	41.7	58.3	0 _a	19.4 _{abc}	55.6 _a	
1000 ppm 五倍子	0	0	0	0 _a	0 _c	O _c	
水萃取液							
2%五倍子藥渣	0	16.7	25.0	0 _a	11.1_{bc}	25_{bc}	
1000 ppm 大黄水	0	33.3	58.3	0 _a	22.2 _{ab}	58.3 _a	
萃取液							
2%大黃藥渣	0	16.7	25.0	0 _a	13.9 _{abc}	22.2 _{bc}	
4-4 式波爾多液	0	33.3	33.3	0 _a	33.3 _a	33.3 _{ab}	
正對照組	0	8.3	25.0	0 _a	8.3 _{bc}	25_{bc}	
負對照組(噴水)	0	0	0	0_{a}	0 _c	O _c	
負對照組	0	0	0	0 _a	0 _c	O _c	

*發病率之各週數據均為十二次重複之平均值。

**為害嚴重度係由罹病級數(0-3 級)乘以株數計算,各週數據均為十二次重複之平均值。依據最小顯著差異法(Least significant difference)檢定,字母相同者表示兩者間無顯著差異(p<0.05)。

表 24、以2種藥劑及3種非農藥資材對於甘藷盆苗乾腐病菌菌株 WLD01 之防治效果。

Table 24. The effects of 2 fungicides and 3 non-pesticide materials on disease incidence and severity of sweet potato dry rot caused by WLD01 in pot test.

處理	發病率(%)*			為害嚴重度(%)**		
-	第4週	第8週	第12週	第4週	第8週	第12週
4000 ppm 腐絕	0	0	0	0 _a	O _b	0 _b
77 ppm 菲克利	0	0	0	0 _a	Ob	0 _b
1000 ppm 五倍子	0	0	0	0 _a	Ob	0 _b
水萃取液						
2%五倍子藥渣	0	0	0	0 _a	Ob	0 _b
1000 ppm 大黄水	0	8.3	8.3	0 _a	5.5 _a	8.3 _{ab}
萃取液						
2%大黃藥渣	0	0	0	0 _a	O _b	0 _b
4-4 式波爾多液	0	0	0	0 _a	O _b	0 _b
正對照組	0	8.3	16.7	0 _a	2.8 _{ab}	16.7 _a
負對照組(噴水)	0	0	0	0 _a	O _b	0 _b
負對照組	0	0	0	0 _a	Ob	0 _b

*發病率之各週數據均為十二次重複之平均值。

**為害嚴重度係由罹病級數(0-3 級)乘以株數計算,各週數據均為十二次重複之平均值。依據最小顯著差異法(Least significant difference)檢定,字母相同者表示兩者間無顯著差異(p<0.05)。

表 25、以2種藥劑及3種非農藥資材對於甘藷盆苗乾腐病菌菌株 DAD03 之防治效果。

Table 25. The effects of 2 fungicides and 3 non-pesticide materials on disease incidence and severity of sweet potato dry rot caused by DAD03 in pot test.

處理	發病率(%)*			為害嚴重度(%)**			
	第4週	第8週	第12週	第4週	第8週	第 12 週	
4000 ppm 腐絕	0	0	0	0_{ab}	0_{ab}	0_{ab}	
77 ppm 菲克利	0	0	0	0_{ab}	0_{ab}	0_{ab}	
1000 ppm 五倍子	0	0	0	O_{ab}	0_{ab}	0_{ab}	
水萃取液							
2%五倍子藥渣	0	0	8.3	O_{ab}	0_{ab}	2.8 _{ab}	
1000 ppm 大黄水	0	0	0	O_{ab}	0_{ab}	0_{ab}	
萃取液							
2%大黃藥渣	0	0	0	O_{ab}	0_{ab}	O_{ab}	
4-4 式波爾多液	0	0	0	O_{ab}	0_{ab}	0_{ab}	
正對照組	33.3	33.3	33.3	8.3 _a	33.3 _a	33.3 _a	
負對照組(噴水)	0	0	0	0_{ab}	0_{ab}	0_{ab}	
負對照組	0	0	0	0_{ab}	0_{ab}	0_{ab}	

*發病率之各週數據均為十二次重複之平均值。

**為害嚴重度係由罹病級數(0-3 級)乘以株數計算,各週數據均為十二次重複之平均值。依據最小顯著差異法(Least significant difference)檢定,字母相同者表示兩者間無顯著差異(p<0.05)。

第五章 討論



一、臺灣北部甘藷基腐病及乾腐病之田間調查

依據 2012 年 10 月至 2014 年 3 月間之調查結果,田間甘藷基腐病於耕作初期 其實是很輕微的(不到 10%),直至採收前兩個月左右發病率才逐漸升高,這可能和 基腐病菌本身之生長特性及氣溫皆有關聯。而病田地點分散於新北市、台北市及 新竹縣,嚴重度與地區並無顯著關聯性,故此病在臺灣北部地區應不為風土性病 害,而可能與國內其他縣市之基腐病疫情有關聯。

基腐病之侵染位置以地基部為主,傷口及節點(葉痕)次之,節間較少發生,扦插苗之切口亦極少發生。也就是說,病害好發的位置幾乎皆位於地表上下三公分內,此現象與Harter et al. (1918) 之觀察相符,其原因可能和地表之微氣候或基腐病菌在土壤中的活性有關。此外,亦表示進行種苗消毒時不可僅消毒扦插苗之切口附近,需將扦插後會位於地基部以下,及地表三公分內之莖段完整消毒。

而根據孢子液與組織之殘存試驗結果,田間經集中焚燒,並露天放置之植物 殘體應不殘留具活性之甘藷基腐病菌,土壤中殘留的新鮮塊根及其再發芽長成之 甘藷苗乃為基腐病菌可越冬,感染下一季甘藷植株之關鍵。

本研究發現甘藷乾腐病於研究期間則多於早春、晚秋及冬季採得,此現象可 能係因基腐病在夏季之嚴重度遠高於乾腐病,病徵又極為相似,使乾腐病之樣本 相對不易採得,亦可能為此二病害之好發季節有所差異,或對溫度之適應力,或 殘存能力不同所導致,然欲釐清此現象之成因,尚需進一步之研究。

此外,本研究中未曾發現基腐病與乾腐病感染同一莖蔓或塊根之情形,但此 二病害是否會造成複合感染或二次感染,仍是有趣且值得探討之議題。

二、臺灣北部甘藷基腐病及甘藷乾腐病之病原分離及初步鑑定

由於甘藷本身極易氧化及發生一些特殊之生理反應,導致染病根莖組織中之 變色範圍不一定等同病斑實際範圍,若於變色區與非變色區之交界處切取組織塊, 不僅無法分得基腐病或乾腐病菌,亦不會長出其他微生物,鏡檢亦無法觀察到任 何微生物之存在。故在進行組織分離時應以組織之質地作為病健部之判斷依據(無 論莖部或者根部,病組織皆明顯較健康組織鬆軟),或於變色區與非色區之交界, 往變色區延纖維生長方向切取略呈長條形之組織塊,較能正確取得病健部組織。

因已知基腐病菌在植物殘體內之殘存能力不高,病斑破損後容易遭其他微生物取代,或菌絲生長速度不及多數真菌,不易分離,故嘉義農業試驗分所(黃等, 2012b)在必要時改以採取孢子液之方式分離。本研究則盡量在樣本新鮮時進行組織 分離,以縱剖加上撕開莖部之方法,使工具盡量不碰觸病健部,降低污染機率。 一般而言,病斑未破損之病蔓在適當條件下最多約可保存5日,罹病塊根則約可 保存10-14日以上。

基腐病及乾腐病菌於莖部中主要以菌絲形態存在於髓部,表皮之菌絲密度則 相對較少。老熟病斑內部則可見棉絮狀,灰褐色之病組織,將此種病組織置於複 試解剖顯微鏡下觀察,可見菌絲存在於鬆散、排列雜亂之植物細胞間。病組織髓 部細胞中之澱粉體數量較健康之髓部細胞多。

純化後之甘藷基腐病株若以 PDA 繼代,易發生菌落生長緩慢且產孢不佳之情 形,此種生長狀況常伴隨培養基顏色轉深至褐色;以市面販賣之 OMA 粉末培養, 菌絲生長速度略優於 PDA,產生柄子器之數量較多,此現象與嘉義農業試驗分所 (黃等,2012a)之觀察相似,另外以此種 OMA 培養基腐病菌時,培養基仍會轉為 褐色。

本實驗另觀察到以即食燕麥片製作之 OMA 或 SPOMA 培養甘藷基腐病菌,且 使用孢子液繼代之菌株,1 皿僅培養1 菌落之情形下,菌絲約可於 8-10 日長滿9 公 分培養皿,菌落形狀趨近圓形,並能產生大量柄子器,培養基不轉為褐色,3-4 週 後逐漸由白色混濁狀轉為澄清,近乎透明無色,且此種培養基之透化現象常由柄 子器周圍開始發生。若1 皿培養多個菌落,則可觀察到每個菌落周圍之培養基顏 色明顯轉深,產孢情形亦不佳。

Harter (1913)亦曾於研究中測試基腐病菌於多種培養基上之生長情形,並發現 其在 corn meal agar 及 rice agar 上之生長及產孢情形皆佳,然在他的試驗裡並未使 用 OMA,故此2種培養基與 OMA 何者較適合培養基腐病菌,又基腐病菌為何在 以穀物作為營養源之培養基上生長較佳,仍尚待未來進一步之探討。

基腐病菌除上述對不同培養基之反應外,若於無光環境下培養此菌,則菌落 顏色略呈黃褐色並幾乎無法產生柄子器,培養14天後移至照光環境下亦無法恢復 正常之菌落形態,故培養期間需照光,且培養初期為需光關鍵期。故如在培養基

腐病菌時產孢量較低,其原因之一即可能為缺乏照光所造成。此外,本研究中發 現柄子器之生長方向與光線方向似具正相關性,若由培養皿底側照光,可觀察到 許多柄子器出現在培養基內部,朝培養皿底側生長。

乾腐病則可在 PDA 上生長良好並產生許多之柄子器,以三角玻棒刮洗菌落表面,破壞柄子器後,分生孢子即會釋出。繼代時偶爾亦會出現一些不具長喙,孢子堆會自然泌出之變異菌株。

三、甘藷基腐病及甘藷乾腐病菌分離株病原性測定

經本試驗中之各接種法,確認用於試驗之基腐病及乾腐病分離株皆具病原性。 葉痕接種法證實甘藷基腐病可經由葉痕侵染莖部,且已乾燥之葉痕亦可被侵染, 這解釋了田間之甘藷莖為何多由節點發病。

Harter (1913b)曾以噴灑孢子液之方式接種基腐病菌於甘藷莖部並成功發病, 然作者未對初始之發病位置做詳細描述,故無法確切得知該病菌是否擁有直接由 植物表皮侵染之能力。然甘藷莖部基腐病在田間之發病位置除地基部外,多位於 葉痕上,僅少數發生於無明顯傷口之節間,故此病害之侵染途徑應仍以葉痕為主。

四、人工接種甘藷基腐病及甘藷乾腐病原再分離

本試驗中各種接種法之再分離率皆高,多數可達100%。影響再分離率之最重要因子為病斑是否新鮮,若莖部表面病斑出現已逾一週,則可分得基腐病菌之機率立即大幅下降;塊根中之基腐病及乾腐病菌則可存活2週以上。

五、甘藷基腐病及甘藷乾腐病菌分離株之鑑定

由新北市萬里區採得之分離株 WLP31 及 WLP37,經分子鑑定,與嘉義農業 試驗分所上傳之 P. destruens 菌株序列(編號 JX421690.1)相似度最高,並依菌落外 觀鑑定為 Phomopsis destruens。分離株 WLD01 及 DAD03 則與荷蘭 CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre 上傳之 Diaporthe batatatis 菌株序列(編號 KC343040.1)相 似度最高。

台中農業試驗分所(沈原民,個人通訊)亦曾上傳乾腐病之序列資料至 NCBI (編號 GQ453407.1),然此序列與 KC343040.1、WLD01 及 DAD03 之相似度略低,在樹狀圖上亦不相近,卻與 NCBI 上其餘 P. destruens 之菌株序列資料較為相近。由

於荷蘭上傳之 KC343040.1 序列即為 Gomes et al. (2013)研究中之菌株,故仍應可判定 WLD01 及 DAD03 確實為 Diaporthe batatatis。

六、溫度對甘藷基腐病及甘藷乾腐病菌生長速率之影響

根據本試驗結果,甘藷乾腐病菌在 25℃下生長速率最快,35℃下仍可生長, 未完全失去活性,而15℃下亦維持最高速率 50%以上之生長速率。根據氣象統計 資料,可推測此種病害在台北市、新北市及新竹縣幾乎全年皆具生長能力,且好 發於溫暖季節。

甘藷基腐病菌則於 30℃時有最高之生長速率,然而 20℃下,其中兩株分離株 表現出次高之生長速率,25℃則為第三高。此與嘉義農業試驗分所(黃等,2012a) 之研究結果,基腐病菌於 20-25℃下具有最佳生長速率,以及 Harter (1913)所述, 基腐病菌於 17.2-24.5℃下具有最佳生長速率之結果皆不甚相符。觀察本研究溫度 試驗中 20℃、25℃及 30℃之菌落外觀,可發現 25℃下培養之菌落顏色普遍較其他 兩組溫度下之菌落顏色深,培養基轉色現象亦較明顯,以光學顯微鏡觀察,發現 此種菌落中存在許多泡狀菌絲,甚至出現原生質滲漏之現象,顯示菌絲細胞因某 些原因死亡,導致生長速率緩慢。

然而,25℃下培養之分離株中有少數幾皿生長速率明顯較高,以顯微鏡觀察 此些菌落,發現泡狀菌絲之數量明顯較生長緩慢者少,且培養基中出現大量結晶。 推測這些結晶應為基腐菌產生,並與其菌絲可正常生長有關。

七、甘藷基腐病菌在土壤中之殘存

無論孢子殘存或組織殘存實驗之結果,皆顯示甘藷基腐病菌之殘存能力極低, 孢子於一週內即已降至近乎無法偵測之濃度,而存在於塊根組織內之菌絲約可在 土壤中存活一個月,塊根腐爛及破損後基腐菌之數量即快速減少,取而代之的是 大量 Geotrichum sp.,此時亦會出現數量較少之 Fusarium sp.及 Pythium sp.等腐生 性強之微生物。直到第4~5個月,塊根組織幾乎完全分解時 Geotrichum sp.之族群 量才會逐漸下降,土壤之菌相緩慢被 Fusarium sp.、Aspergillus sp.及 Penicillium sp. 等宿存於土壤中之真菌取代。

根據田間觀察之經驗,亦只有新鮮之藷塊殘體中才含有具活性之基腐病菌, 較老之殘體則多被Fusarium sp.等多種真菌盤據,若將這些老熟殘體進行組織分離, 也無法分得 P. destruens。

Harter (1913b) 則曾將柄子器以落葉及土壤覆蓋,放置越冬,又將長有柄子器 之植物殘體置於露天環境下越冬,並皆分得具活性之孢子,故認為基腐病菌具有 足以越冬之殘存能力。本研究亦曾假設若此病原能於土中殘存,則最可能之方式 即是藉由柄子器保護孢子,抵抗不利之環境,然實驗發現甘藷殘體在土壤中極易 遭節肢動物蛀食,及遭腐生性微生物分解,約實驗開始後2個月即難以在其表面 取得完整之柄子器,由殘體釋放至土壤中之孢子濃度亦極低。於自然環境中,基 腐病菌必須面對更多干擾與競爭,故實際殘存能力尚待更多驗證。

此外,根據田間調查結果,直至休耕末期(三月),土壤中仍存有剛發病之塊 根,這些塊根在整地時難以完全清除,故即使基腐病菌在自然環境中之殘存能力 不高,田間仍可持續存有新鮮而具有致病力之初次接種源。

八、藥劑及非農藥資材對甘藷基腐病及甘藷乾腐病菌生長之影響

根據新北市金山區及萬里區之病害調查結果,基腐病極少從扦插苗切口發生, 且此病害好發於耕作後期,故 Lopes 等人(1993)以藥劑浸泡扦插苗之防治方式在田 間並不一定能有效抑制病害,僅對表面帶菌之種苗有效。針對土壤中已帶菌,又 難以徹底清園之田區,保護地基部或許即為可行之研究方向。

甘藷基腐病及乾腐病菌在平板培養基上對一般廣效性之殺子囊菌劑皆敏感, 然因其存在於土壤中,土壤之緩衝能力可能造成藥效被稀釋,導致防治難度增加。 盆栽試驗結果顯示,即使已提高非農藥資材濃度,五倍子、大黃及波爾多液之防 治效果仍不明顯;腐絕則最有抑制病害之潛力。由於目前植保手冊上尚未列出任 何可用於防治甘藷病害之藥劑,故能防治基腐病及乾腐病之無毒資材仍有其研究 價值。考慮此二病害之發病生態,建議未來可選擇他種中草藥資材及生物製劑, 施用於植穴中,尋求有效之防治方法。

参考文獻

- 行政院農業委員會農業試驗所。2012。甘藷健康管理技術操作手冊。行政院 農業委員會農業試驗所。
- 沈原民、劉興隆、趙佳鴻。2013。甘藷基腐病之病原及其對六種不同甘藷品
 種之感受性分析。植物保護學會會刊 55(2): 25-33。
- 3、徐世典、張東柱、張清安、蔡進來、蔡東纂。2002。臺灣植物病害名彙第四版。中華民國植物病理學會。386頁。
- 4、 游加興。2008。葉用甘藷根莖腐病之研究。臺灣大學植物病理與微生物學研究所學位論文。
- 5、楊宏仁、倪蕙芳、曾顯雄。2010。甘藷基腐病發生初報。中華民國植物病理 學會刊 19(1):77。
- 6、 黃巧雯、倪蕙芳、楊宏仁。2012a。甘藷基腐病生長特性及防治研究初報。中華民國植物病理學會刊 21(2):153。
- 7、 黃巧雯、莊明富、曾顯雄、楊宏仁、倪蕙芳。2012b。由 Phomopsis destruens 引起之甘諸基腐病。中華民國植物病理學會會刊 21(1): 47-52。
- 8、 葉俊巖。2007。甘藷主要病害防治。桃園區農業專訊 60:28-31。
- 9、 賴永昌。2005。甘藷。臺灣農家要覽(一)。豐年社。57-68。
- 10、賴永昌、黃哲倫。2012。食用甘藷栽培技術及品種介紹。農業試驗所嘉義分所。
- 11 Biodiversity Research Center, Academia Sinica. 2003. TaiBNET catalogue of life in Taiwan. http://taibnet.sinica.edu.tw/home eng.php
- 12 Soerema, G. H., Loerakker, W. M. and Hamers, M. E. C. 1996. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) III. 2. Misapplications of the type species name and the generic synonyms of section *Plenodomus* (Excluded species). Persoonia 16(2): 141 190.
- 13 · Cavalcanti, L. S., Coêlho, R. S. B. and Perez, J. O. 2002. Reação de cultivares de batata-doce à podridão-do-pé, em condições de campo. Ciência Rural 32: 699-701.
- 14 · Clark, C. A. and Moyer, J. W. 1988. Compendium of sweet potato diseases. American Phytopathological Society.
- 15 Dhingra, C. D. and Sinclair, J. B. 1985. Basic plant pathology methods, CRC Press,

INC. 211-213.

16 Gomes, R., Glienke, C., Videira, S., Lombard, L., Groenewald, J. and Crous, P. 2013. *Diaporthe*: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi 31: 1-41.

臺

- 17 Harter, L. L. 1913a. A dry rot of sweet potatoes caused by *Diaporthe batatatis*.
 Bulletin. U.S. Department of Agriculture. Bureau of Plant Industry ; no. 281, Washington : U.S. G.P.O.
- 18 Harter, L. L. 1913b. Foot rot, a new disease of the sweet potato. phytopathology 3: 243-245.
- 19 · Harter, L. L. and Weimer, J. L. 1929. A monographic study of sweet-potato diseases and their control, U.S. Department of Agriculture, National Agricultural Library, Alternative Farming Systems Information Center.
- 20 · Harter, L. L., Weimer, J. L. et al. 1918. Sweet-potato storage-rots. Agricultural Research XV(6): 337-382.
- 21 Kulik, M. M. 1984. Symptomless Infection, Persistence, and Production of Pycnidia in Host and Non-Host Plants by *Phomopsis batatae*, *Phomopsis phaseoli*, and *Phomopsis sojae*, and the Taxonomic Implications. Mycologia 76(2): 274-291.
- 22 Lopes, C. A., Boff, P. and Duarte, V. 1994. Foot rot of sweet potato in Brazil. Pesq. Agropec Bras. 29: 1407-1410.
- 23 \ Lopes, C. A. and Silva, J. B. C. 1993. Management measures to control foot rot of sweet potato caused by *Plenodomus destruens*. International Journal of Pest Management 39(1): 72-74.
- 24 Shen, Y.-M. and Chang, S.-T. 2011. First record of *Diaporthe phaseolorum* var. *batatae* in Taiwan. Taichung District Agricultural Research and Extension Station.
- 25 Wehmeyer, L. E. 1933. The genus *Diaporthe Nitschke* and its segregates. University of Michigan studies. Scientific series, v. 9. University of Michigan Press. 349.