

國立臺灣大學生物資源暨農學院

植物病理與微生物學研究所

碩士論文

Department of Plant Pathology and Microbiology


College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

臺灣紅龍果莖部潰瘍病之研究

The Study on Pitaya Stem Canker Disease in Taiwan



葉洹瑜

Huan-Yu Yeh

指導教授：孫岩章 博士

Advisor: En-Jang Sun, Ph.D.

中華民國 101 年 7 月

July, 2012

國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

臺灣紅龍果莖部潰瘍病之研究
The Study on Pitaya Stem Canker Disease in Taiwan

本論文係 葉洹瑜 君 (R99633011) 在國立臺灣大學植物病理與微生物研究所完成之碩士學位論文，於民國一百零一年七月九日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

孫岩章 博士 孫岩章 (指導教授)
國立臺灣大學植物病理與微生物學系 教授

洪挺軒 博士 洪挺軒
國立臺灣大學植物病理與微生物學系 副教授

楊宏仁 博士 楊宏仁
行政院農委會農業試驗所嘉義分所 研究員兼分所長

張東柱 博士 張東柱
行政院農委會林業試驗所森林保護組 研究員

誌謝

本論文能完成，首先要感謝恩師 孫岩章教授於實驗方向、實驗結果與論文撰寫之殷切教導及耐心討論，並感謝承蒙 楊宏仁分所長、張東柱博士及 洪挺軒博士對本論文初稿之細心斧正。

由衷感謝屏科大蔡怡芳學姊提供其論文與實驗之心得及建議、江一蘆學長提供之意見，並感謝宜蘭縣壯圍鄉何信樂先生、宜蘭縣羅東鎮石松枝先生及花蓮縣玉里鎮李清秋先生等紅龍果果園主人，於病害調查及實驗材料上之提供與協助。

於研究進行期間，感謝本實驗室勝志、友倫、長和、柏寬、筱娟、鳳書、張元及其他學弟妹們於實驗上的建議、協助、鼓勵及陪伴。萬分感激 曾顯雄博士於菌株形態學鑑定之協助，及其實驗室內淳維、瑞亞、逸軒與賢斌於菌株分子鑑定實驗之指導、協助及實驗器材之提供。因為有你們的幫助，才能使研究順利進行，並順利完成本論文。

最後感謝我的父母及家人們，因為有你們的付出及支持，我才能夠健康地成長、無憂無慮地生活並完成碩士班之學業。

中文摘要

紅龍果為仙人掌科(Cactaceae),三角柱屬(*Hylocereus*)之多年生攀緣性多肉植物,病蟲害問題較少於其他作物,為臺灣新興果樹之一。近幾年來於臺灣各地之紅龍果果園常發現紅龍果莖部表面有黃點、紅點及潰瘍病徵,連果實表皮上也發現遭受黃點危害,造成賣相不佳,甚至果實腐爛。故本研究從 2011 年夏天開始至宜蘭、花蓮、彰化、南投及麥寮之紅龍果果園進行病害調查,採樣及病原分離、鑑定等工作,經病原分離所得到之分離株皆以菌落型態呈黑色之菌株佔最大比例,但分離率約僅為 50%。經三種病原性測試,包括針刺接種、金鋼砂接種及孢子懸浮液噴灑接種,發現皆可於紅龍果莖部表面產生與田間所見相同之病徵,並且可再分離得到相同之病菌,故確定此一黑色菌株為造成紅龍果莖部黃點、紅點及潰瘍病徵之病原菌。因本病最近已被發表報告並命名為莖部潰瘍病,故本研究採用此一名稱,稱之為紅龍果莖部潰瘍病。本病病原黑色菌株於 PDA 平板培養基上菌落初期白色,待長滿培養皿後,從菌落中央開始往外變黑,即見產生節生孢子。其節生孢子為圓柱形、鈍橢圓形到甕形,深褐色,厚壁,0 至 2 個隔膜,於病原菌接種之枝條上可發現產生柄子殼及分生孢子,分生孢子為橢圓形至卵形,端點圓形,0-1 個隔膜。依上述型態鑑定及 ITS 分子鑑定結果,可將本病菌鑑定為 *Neoscytalidium dimidiatum*。此病原菌菌絲最適生長溫度為 30-35°C,於 15°C 生長緩慢,於 40°C 之環境下仍可生長,對照病原性測試結果可得知溫度較高時有利於發病。在藥劑防治測試方面,發現以 24.9% 待克利乳劑(EC)及 23% 菲克利水懸劑(SC)對菌絲生長抑制效果最佳。本研究於田間調查、病原性測試之結果上皆證明本病原可產生局部莖腐,但目前尚無法排除其他微生物複合感染或二次感染之可能性,故仍需後續研究探討 *Neoscytalidium dimidiatum* 與局部莖腐之間的關係。

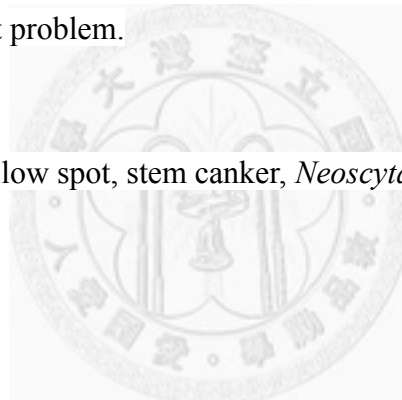
關鍵字：紅龍果；莖部黃點；莖部潰瘍病； *Neoscytalidium*

Summary

Pitaya, belongs to the genus *Hylocereus* and the family *Cactaceae*, is a perennial succulent plant with less pest problems than other crops, it is now an important fruit crop in Taiwan. In recent years we found a new pitaya stem disease with symptoms of yellow spots, red spots and cankers on the stems in many Taiwan areas. Even the pitaya fruits are also affected, causing fruit rot and yield or quality losses. Therefore, we initiated the study on this disease and started to visit Yilan, Hualien, Changhua, Nantou, and Mailiao counties to conduct the field investigation since summer, 2011. The diseased spots and canker were isolated to cultivate the pathogen. Isolation results show that a black colony isolate can be isolated from all diseased canker or yellow spots with dominant proportion although the isolation rate is only about 50%. Three pathogenicity test methods thereafter were applied to prove the cause-effect relationship, including the needle inoculation, carborundum-scrubbing and spore suspension spraying methods. All inoculated pitaya stem can produce the identical canker with or without yellow spot symptoms. The same pathogen can be reisolated from all the inoculated stems in all three methods, determining that the black isolates is the pathogen that cause the pitaya stem canker showing yellow spots, red spots, canker and even stem rot symptoms. As the disease was recently reported and named as pitaya stem canker, we adopted this as the disease name. The colony of black isolates on PDA plate is white in early stage then became black from colony center as its arthroconidia produced in arthric chain on aerial hyphae. Its arthroconidia are dark brown, thick-walled, 0-2 septate with shapes of cylindrical, truncate, oblong-obtuse to doliiform. The inoculated pitaya stem could found to produce pycnidia and conidia on infected lesion. The conidia have 0-1 septate, ellipsoidal to oval, with round apex. According to the morphology and the ITS

molecular identification results, the black isolates were identified as *Neoscytalidium dimidiatum*. The optimal temperature for hyphae growth of this fungus was 30-35°C. It grew slowly at 15°C and could grow even at 40°C. Therefore, higher temperature is in favor of the disease development. Results of chemical control tests, showing that 24.9% difenoconazole emulsifiable concentrate (EC) and 23% hexaconazole suspension concentrate (SC) were able to completely inhibit the mycelia growth of this pathogen. From the field investigation and pathogenicity test, we can prove that the stem rot can be caused by this pathogen. However, we could not exclude the possibility of complex infection or secondary infection with other microorganism. Therefore, further studies are required to investigate the relationship between *Neoscytalidium dimidiatum* and the stem rot problem.

Key words: pitaya, stem yellow spot, stem canker, *Neoscytalidium*



目錄

口試委員會審定書	i
誌謝	ii
中文摘要	iii
英文摘要	iv
目錄	vi
表目錄	ix
圖目錄	x
第一章 前言	1
一、紅龍果之簡介	1
二、紅龍果之栽培管理	2
三、研究目的	3
第二章 前人研究	5
一、紅龍果相關病害	5
二、 <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> 之介紹	6
第三章 材料與方法	8
一、紅龍果莖部病害之田間調查	8
二、紅龍果莖部潰瘍病之病原分離及初步鑑定	8
(一)組織塊分離法	8
(二)稀釋分離法	9
三、紅龍果莖部斑點分離株之病原性測試	9
(一)供試健康紅龍果枝條之栽種與繁殖	9
(二)紅龍果莖部分離株之針刺接種法	9
(三)紅龍果莖部分離株之金鋼砂磨擦接種法	10
(四)紅龍果莖部分離株之孢子懸浮液表面噴灑接種法	12

四、人工接種紅龍果莖部潰瘍病菌之病原再分離	12
五、紅龍果莖部潰瘍病分離株之鑑定	12
(一)紅龍果莖部潰瘍病菌 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS 序列分析	12
1、病原菌之 DNA 萃取	12
2、PCR 增幅	13
3、PCR 產物之電泳分析及序列分析	13
4、序列比對分析	13
(二)病原菌之形態學鑑定	14
六、溫度對紅龍果莖部潰瘍病菌生長速度之影響	14
七、藥劑對紅龍果莖部潰瘍病菌防治測試	14
第四章 結果	16
一、紅龍果莖部病害之田間調查	16
二、紅龍果莖部潰瘍病之病原分離及初步鑑定	22
(一)組織塊分離法	22
(二)稀釋分離法	22
三、紅龍果莖部分離株之病原性測試	30
(一)供試健康紅龍果枝條之栽種與繁殖	30
(二)紅龍果莖部分離株之針刺接種法	32
(三)紅龍果莖部分離株之金鋼砂磨擦接種法	47
(四)紅龍果莖部分離株之孢子懸浮液表面噴灑接種法	51
四、人工接種紅龍果莖部潰瘍病菌之病原再分離	54
五、紅龍果莖部潰瘍病分離株之鑑定	56
(一)紅龍果莖部潰瘍病菌 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS 序列分析	56
(二)病原菌之形態學鑑定	59
六、溫度對紅龍果莖部潰瘍病菌生長速度之影響	65
七、藥劑對紅龍果莖部潰瘍病菌防治測試	67

第五章 討論	70
一、紅龍果莖部病害之田間調查	70
二、紅龍果莖部潰瘍病之病原分離及初步鑑定	71
三、紅龍果莖部斑點分離株之病原性測試	71
四、人工接種紅龍果莖部潰瘍病菌之病原再分離	73
五、紅龍果莖部潰瘍病分離株之鑑定	73
六、溫度對紅龍果莖部潰瘍病菌生長速度之影響	73
七、藥劑對紅龍果莖部潰瘍病菌防治測試	74
參考文獻	76
附錄	80



表目錄

表 1	臺灣紅龍果莖部潰瘍病之田間病害調查結果。.....	17
表 2	紅龍果莖部病斑之組織塊分離法病原分離結果。.....	25
表 3	紅龍果莖部病斑之稀釋分離法分離結果。.....	25
表 4	以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個紅心黃點病斑之結果。.....	26
表 5	以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個潰瘍斑之結果。.....	27
表 6	以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個緊臨潰瘍斑下方莖部組織之結果。	28
表 7	以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個莖腐斑之結果。.....	29
表 8	紅龍果莖部分離株所得黑色菌株 CH17 針刺接種法病原性測試之結果。..	33
表 9	紅龍果莖部分離所得 24 分離株以針刺接種法接種後之發病結果。.....	34
表 10	紅龍果莖部分離所得 20 分離株以針刺接種法接種後之發病結果。.....	35
表 11	紅龍果莖部潰瘍病之病原再分離結果。.....	55
表 12	黑色菌株 CH17 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列至 NCBI 網站基因庫比對之結果。.....	58
表 13	紅龍果莖部潰瘍病菌分離株在不同溫度下之生長速度。.....	65
表 14	紅龍果莖部潰瘍病菌分離株於各藥劑培養基之菌落大小。.....	68
表 15	各藥劑對於紅龍果莖部潰瘍病菌分離株之菌絲生長抑制率。.....	68

圖目錄

圖 1、紅龍果莖部分離株針刺接種法示意圖。.....	10
圖 2、紅龍果莖部分離株金鋼砂磨擦接種後之保濕處理情況。.....	11
圖 3、宜蘭縣壯圍鄉紅龍果植株莖部之瘡痂病徵。.....	18
圖 4、宜蘭縣羅東鎮紅龍果植株莖部之紅色瘡痂病徵。.....	18
圖 5、花蓮縣玉里鎮紅龍果植株莖部之黃點、紅點及潰瘍病徵。.....	19
圖 6、花蓮縣玉里鎮紅龍果潰瘍病病株果實上出現之紅心黃點病徵。.....	20
圖 7、南投縣集集鎮、彰化縣大村鄉、雲林縣麥寮鄉紅龍果莖部之黃點、紅點、潰瘍病徵。.....	21
圖 8、利用膠帶黏貼紅龍果莖部潰瘍病黃點病斑發現到之褐色、節狀菌絲。.....	24
圖 9、臺大農場溫室中健康紅龍果盆栽之栽種情形。.....	30
圖 10、於臺大農場試驗田栽種之健康紅龍果植株。.....	31
圖 11、紅龍果莖部分離株黑色菌株 CH17 以針刺接種 14 天後之發病情形。.....	36
圖 12、紅龍果莖部分離株黑色菌株 CH17 以針刺接種不同天數後之病徵發展。.....	37
圖 13、紅龍果莖部分離株針刺接種法對照組之各期病徵發展情形。.....	38
圖 14、紅龍果莖部分離所得黑色菌株 CH28 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	39
圖 15、紅龍果莖部分離所得炭疽菌株 GH03 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	40
圖 16、紅龍果莖部分離所得鐮胞菌株 FH02 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	41
圖 17、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH02 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	42
圖 18、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH03 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	43
圖 19、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH04 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	44
圖 20、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH05 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	45
圖 21、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH06 針刺接種後之各期病徵發展情形。.....	46
圖 22、紅龍果莖部分離所得黑色菌株以金鋼砂磨擦接種 63 天後之發病情形。.....	48
圖 23、紅龍果莖部分離所得黑色菌株以金鋼砂磨擦接種 167 天後之發病情形。.....	49

圖 24、紅龍果莖部分離所得黑色菌株 CH17 以金鋼砂混合菌泥磨擦接種 62 天後， 枝條表面產生黃點及紅點。.....	50
圖 25、紅龍果莖部分離所得黑色菌株 CH17 孢子懸浮液表面噴灑接種之結果。	52
圖 26、以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅黑色菌株 CH17 之 DNA 片段電泳圖譜。	56
圖 27、黑色菌株 CH17 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA 序列。	57
圖 28、臺灣紅龍果莖部潰瘍病病菌 CH17 在 PDA 上生長初期之無色菌絲及無色節 生孢子。.....	60
圖 29、臺灣紅龍果莖部潰瘍病病菌 CH17 於 PDA 上生長後期之褐色菌絲及褐色節 生孢子。.....	61
圖 30、紅龍果莖部潰瘍病病菌 CH17 以金鋼砂磨擦接種發病之枝條可生出 <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> 之柄子殼。.....	62
圖 31、 <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> 柄子殼內之 Conidiogenous cells (A)，及分生孢子 (B)。.....	63
圖 32、紅龍果莖部潰瘍病病菌 <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> 以針刺接種法發病後出現 之黑色莖腐塊斑。.....	64
圖 33、紅龍果莖部潰瘍病病菌 6 分離株在不同溫度下之生長速度比較。.....	66
圖 34、各藥劑對於紅龍果莖部潰瘍病病菌分離株之菌絲生長抑制率比較圖。.....	69

第一章 前言

一、紅龍果之簡介

紅龍果屬於仙人掌科(Cactaceae)，三角柱屬(*Hylocereus*)之多年生攀緣性多肉植物，為臺灣近年來新興果樹之一(李，1999；王，1999；劉等，2004；邱，2009)，常見的品種大略上可區分為三種，分別為白肉種(*Hylocereus undatus* Britt. & Rose)、紅肉種(*Hylocereus polyrhizus* Britt. & Rose)以及紫肉種(*Hylocereus costaricensis* Britt. & Rose)，坊間常見之名稱有火龍果、龍珠果、仙蜜果、芝麻果等，已於2008年經果樹品種審議委員會正式統一定名為紅龍果(黃，2009；劉，2010)，英文名稱也有 pitaya、pitahaya、strawberry pear、dragon fruit 等稱呼，pitaya 是以安地列斯群島多鱗果實之意義命名(Eulogio and Noble, 1994)。

紅龍果原生於中南美洲熱帶雨林，最早為墨西哥南部、瓜地馬拉、哥斯大黎加及薩爾瓦多之原生植物(王，1997；劉，2010；Eulogio and Noble, 1994)，於1645年由荷蘭人引進繁(番)花種到臺灣，但因自交不親合、自然結果率低、果實小，無食用之價值，因此當時以庭園賞花栽培為主，1983年起陸續從越南及中南美洲引進可自花授粉之品種，近年來經過品種培育、選育得到果實大、甜度高且自交親合的品種(王，1997；劉等，2004；邱，2009；劉，2010)，使得紅龍果在臺灣種植的面積越來越大。

目前全臺紅龍果栽培面積已超過1000公頃，每公頃年產量約為23~27公噸，中南部地區為主要產區(邱，2009)，大約從四月起開始長出花苞、開花、結果，直到十一月結束(王，1997；邱，2009)。一般來說，白肉種果實產期為七月到十月，紅肉種為六月到十一月(邱，2007)。紅龍果營養價值高，果實富含維生素B₁、B₂、C及鈣、磷、鐵等礦物質，並含有一般植物少有的植物性白蛋白、植物苷色素(Betalains)和高量的水溶性膳食纖維(黃，2009；劉，2010)。

二、紅龍果之栽培管理

紅龍果喜歡溫暖、日照充足、雨量分布均勻之氣候(李, 1999; 邱, 2009), 紅龍果雖然喜歡溫暖的環境, 但是溫度太高時也會影響其開花結果, 使果實產量下降(Nerd *et al*, 2002), 雖然耐旱, 但其根系完全不耐浸水, 遇豪大雨及排水不良時, 會傷及根系, 因此土壤性質以通氣性及排水性良好且肥沃之砂質壤土為佳, 然而由於其根系淺且廣佈於表土層, 土表需終年保持濕潤以確保淺根系之活力, 冬天乾旱時, 仍需給予充足之水分, 供應枝條快速生長, 且避免水分不足影響果實生長, 產量降低(李, 1999; 邱, 2009; 邱 2010; 劉, 2010)。

紅龍果為多年生攀緣性多肉植物, 須攀附在牆壁或其他支柱上, 支撐其藤蔓莖往上生長, 小面積栽種者多栽種於籬笆、圍牆旁邊, 而大面積商業栽培者會立支撐架, 供紅龍果生長攀爬, 常見的栽種方式有水平棚架、立樁栽培、籬壁式、梯形式等(李, 1999; 劉, 2010), 以單柱式及隧道式栽培法為主要的經濟栽種方式(邱, 2007), 紅龍果植株行株距依支架形式而有所不同, 一般來說行距為 2.8~3.2 公尺, 株距單樁式為 2~2.5 公尺, 支撐架高度 1.2~1.8 公尺, 如此有利日照充足、植株生長及枝條管理(劉, 2010)。

四月到十月是紅龍果花蕾形成的生殖生長期(邱, 2009), 花芽自針狀葉腋內萌出, 花朵在日落後開始綻放, 到隔日太陽升起後即凋謝(李, 1999), 因此又稱做夜仙子, 英文名為 Night-Blooming Cereus(王, 1997)。紅龍果一年可開 10 次花以上, 一般白肉種約有 6~9 批次主要量產的花苞形成, 紅肉種則約有 10~12 批次, 由於每批次花苞出現的間隔日數約 15 天左右, 而從花苞到開花的天數約 17~18 天, 果實生育日數約 33~35 天, 因此為了避免果實過多, 分散養分之供應, 導致果實生長不良, 必須進行即早疏蕾及隔批留果之處理, 以提升果實的品質並錯開批次間的產期(邱, 2009)。

目前經濟栽培的白肉品種, 不需要進行人工授粉即可自行肥大, 但仍有一些紅肉品種, 因花器構造上的差異, 或是具有自交不親和性, 而需人工或異花授粉才能確保果形的肥大與增產(劉, 2010; 邱, 2012)。一般於謝花後 2 個星期內進行

套袋，套袋除了能減少一些病蟲害以外，尚能達成促進果色鮮豔、果形圓整及果萼細緻化的效果，增加商品價值(邱，2007；劉，2010)。

紅龍果相較於其他果樹而言，其病害種類較少(劉，2010)，國內相關研究文獻並不多，曾報導過之病害有 *Bipolaris cactivora* 引起之紅龍果果腐病(fruit rot)(王和林，2005)，另有 *Pantoea* sp.、*Fusarium oxysporum* 及 *Fusarium subglutinans* 混合或單獨造成之紅龍果莖腐病(stem rot)(蔡，2004)，Cactus virus X(劉等，2004)、*Zygocactus virus X* 及 *Pitaya virus X* 所產生之紅龍果病毒病害(毛，2008)，以及於 2012 年 6 月本研究同時進行時，由嘉義農業試驗分所發表之 *Neoscytalidium dimidiatum* 引起的紅龍果莖部潰瘍病(stem canker)(Chuang *et al.*, 2012)。

國外相關研究報導也不多，僅有 *Enterobacter cloacae* 引起之紅龍果果實細菌性軟腐病(bacterial soft rot)(Masyahit *et al.*, 2009)、*Botryosphaeria dothidea* 引起之紅龍果莖斑病(stem spot)(Volencia-Botín *et al.*, 2003)、*Fusarium oxysporum* 引起之紅龍果基腐病(basal rot)(Wright *et al.*, 2007)、*Colletotrichum gloeosporioides* 引起之紅龍果炭疽病(anthraxnose)(Palmateer *et al.*, 2007；Takahashi *et al.*, 2008；Masyahit *et al.*, 2009b)、*Bipolaris cactivora* 引起之紅龍果果腐病(fruit rot)(Taba *et al.*, 2007；Tarnowski *et al.*, 2010)及紅龍果果斑病(fruit blotch)(Ben-Ze'ev *et al.*, 2011)以及 *Curvularia lunata*(Masratul Hawa *et al.*, 2009)這些病原菌引起紅龍果之相關病害曾經被正式報導過。

三、研究目的

由於國內外紅龍果病害相關研究資料甚少，時常有一些紅龍果莖部或果實上嚴重的問題，無法得知造成病變之原因，亦無有效之解決方法，就如本研究之對象紅龍果莖部所產生之黃色斑點病變，於近幾年來已在臺灣地區紅龍果果園肆虐，甚至據江一蘆君轉述，東南亞地區，如馬來西亞當地之紅龍果產業也遭受此黃點病害嚴重侵襲，造成紅龍果經濟產業上重大的損失。而於 2009 年，本研究室於花蓮地區進行無毒農業輔導計畫時，當地紅龍果農民即已提出紅龍果莖部產生黃色

斑點之問題，因病情相當嚴重，故農民極思得知此問題之病因及解決之道，因此乃開啟本研究之契機。因在花蓮所見之本病病徵主要為黃色至黃褐色斑點，故初步將之取名為紅龍果黃點病。

本研究因此乃為釐清造成紅龍果莖部各類黃色斑點或相關莖腐之病因，並測試防治此些紅龍果病害之方法，希望可以解決此一嚴重問題，以增加紅龍果果農之產量及收益。



第二章 前人研究

一、紅龍果相關病害

紅龍果果實之相關病害，於臺灣、日本及美國佛羅里達州皆有一些報導，如由 *Bipolaris cactivora* 造成紅龍果之果腐病(fruit rot)，其病徵在紅龍果果皮呈現凹陷及水浸狀產生，凹陷病斑呈現淡褐色，病斑會逐漸擴大而互相癒合，最終導致果實腐爛(王和林，2005；Taba *et al.*, 2007；Tarnowski *et al.*, 2010)。於以色列則有報告發現 *Bipolaris cactivora* 造成紅龍果之果斑病(fruit blotch)，使紅龍果果實上產生不規則之黃綠色斑點，中間夾雜褐色斑，而且會造成莖腐的情形(Ben-Ze'ev *et al.*, 2011)。在馬來西亞地區則有報導 *Enterobacter cloacae* 造成紅龍果果實之細菌性軟腐病(bacterial soft rot)，於紅龍果果實產生黃色至棕色之水浸狀軟腐病徵(Masyahit *et al.*, 2009)。

紅龍果莖部之相關病害，在臺灣之文獻記載有由 *Pantoea* sp.、*Fusarium oxysporum* 及 *Fusarium subglutinans* 混合或單獨造成之紅龍果莖腐病(stem rot)，其產生之病徵，初期呈現黃褐色軟腐病斑，後期則為乾枯黑褐斑(蔡，2004)。於墨西哥地區曾報導有 *Botryosphaeria dothidea* 造成之紅龍果莖斑病(stem spot)，使紅龍果莖部產生大小不一之褐色斑點，病斑偶會互相癒合而擴大(Volencia-Botín *et al.*, 2003)。在阿根廷則曾報導過 *Fusarium oxysporum* 感染紅龍果莖基部造成紅龍果接近土壤之基部腐爛(basal rot)，並逐漸向上侵染整個根砧，造成根砧死亡(Wright *et al.*, 2007)。在美國佛羅里達州、巴西以及馬來西亞曾有 *Colletotrichum gloeosporioides* 造成之紅龍果炭疽病(anthracoise)報導，其病徵集中於紅龍果莖部邊緣，為帶有褪色暈圈之淡紅褐色斑點，病斑中心後期呈現灰白並出現鮭肉色孢子堆(Palmateer *et al.*, 2007；Takahashi *et al.*, 2008；Masyahit *et al.*, 2009b)。在馬來西亞地區曾有報導 *Curvularia lunata* 造成紅龍果莖部產生淡粉紅色至米黃色之小型圓形壞疽斑，當病害逐漸擴展時，病斑會互相癒合而擴大(Masratul Hawa *et al.*,

2009)。至於病毒所造成之紅龍果病害方面，在臺灣曾有報導 Cactus virus X(劉等，2004)、Zygocactus virus X 及 Pitaya virus X 造成紅龍果之三角莖表面產生黃綠參雜之斑駁病徵，此三種病毒於分類上同屬於 *Potexvirus* 屬(毛，2008)。除此之外，於 2012 年 6 月由嘉義農業試驗分所發表之 *Neoscytalidium dimidiatum* 造成紅龍果莖部潰瘍病(stem canker)，其病徵初期在紅龍果莖部產生圓形、凹陷之小黃點，然後逐漸發展成潰瘍病徵，柄子殼會從潰瘍病徵表面突出，最終導致莖部腐爛(Chuang *et al.*, 2012)。

二、*Neoscytalidium dimidiatum* 之介紹

Neoscytalidium 是於 2006 年被提出歸屬於 Botryosphaeriaceae 下之新屬，當時該屬底下只有一個種 *Neoscytalidium dimidiatum*，為該屬模式種(Type species)。追溯本種命名之歷史，Natrass 於 1933 年描述來自梨樹及核桃樹之類似 *Dothiorella mangiferae* 的真菌時，發現有色分生孢子的存在，因此將其命名為 *Hendersonula toruloidea*。Sutton & Dyko 在 1989 年時將上述 *Dothiorella mangiferae* 及 *Hendersonula toruloidea* 修改命名為 *Natrassia mangiferae*，並將 *Hendersonula toruloidea* 所產生的另一種無性菌絲型態記錄為 *Scytalidium dimidiatum*。2005 年 Farr *et al.* 從基因序列分析及菌株型態分析，發現 *Natrassia mangiferae* 及 *Scytalidium dimidiatum* 為同種異名，因此將兩者之命名合併更改為 *Fusicoccum dimidiatum*，並發現該菌種之學名最早在 1882 年由 Penz. 命名為 *Torula dimidiata*。於 2006 年 Crous *et al.* 於 Botryosphaeriaceae 下設立新屬 *Neoscytalidium*，將 *Fusicoccum dimidiatum* 更改命名為 *Neoscytalidium dimidiatum*，因為可在該種中發現 *Scytalidium*-like 之無性菌絲型態，然而在 *Fusicoccum mangiferae* 中卻不存在，因此將其區分(Crous *et al.*, 2006)。

2008 年 Pavlic *et al.* 於猴麵包樹上發現了本屬之新種，並命名為 *Neoscytalidium novaehollandiae*，其和 *Neoscytalidium dimidiatum* 之差異僅在於兩者之分生孢子，其餘形態特徵都一樣，於 *Neoscytalidium novaehollandiae* 上多發現磚格形(muriform)、*Dichomera*-like 之分生孢子(Pavlic *et al.*, 2008)。 *Neoscytalidium* 屬的特徵為氣生菌絲體呈現粉狀，產生成串之節生孢子，節生孢子為圓柱形、鈍橢圓形到甕形，深褐色，厚壁，0 至 2 個隔膜(Crous *et al.*, 2006)。

關於 *Neoscytalidium dimidiatum* 引起之植物病害相關報導極少，於 2009 年有報告指出 *Neoscytalidium dimidiatum* 在義大利造成柑橘枝條枯萎(shoot blight)、潰瘍(canker)以及產生流膠(gummosis)之情形(Polizzi *et al.*, 2009)。以及 2012 年 6 月嘉義農業試驗分所發表之 *Neoscytalidium dimidiatum* 引起紅龍果莖部潰瘍病(stem canker)(Chuang *et al.*, 2012)。



第三章 材料與方法

一、紅龍果莖部病害之田間調查

本研究為了釐清自 2009 年在花蓮田間發現紅龍果莖部黃點病之原因，乃於 2011 年 8 月開始有系統地至紅龍果果園調查紅龍果莖部病害。從 2011 年 8 月至 2012 年 2 月間，計曾至宜蘭縣壯圍鄉何信樂先生之紅龍果果園以及宜蘭縣羅東鎮石松枝先生之果園進行紅龍果莖部病害調查及採樣；於 2011 年 10 月及 2012 年 3 月到花蓮縣玉里鎮李清秋先生之紅龍果產銷班果園進行紅龍果莖部病害調查。另於 2011 年 10 月至南投縣集集鎮、彰化縣大村鄉及雲林縣麥寮鄉進行紅龍果莖部病害調查及採樣。皆將上述調查地點取得之紅龍果莖部發病枝條帶回實驗室進行拍照、鏡檢及分離。

因本研究初步取名之紅龍果莖部黃點病已於 2012 年 6 月經嘉義農業試驗分所發表之文章中命名為紅龍果莖部潰瘍病(Chuang *et al.*, 2012)，故本研究後續文章之名稱皆以紅龍果莖部潰瘍病稱之。

二、紅龍果莖部潰瘍病之病原分離及初步鑑定

(一)組織塊分離法

此分離方法使用於宜蘭縣羅東鎮、宜蘭縣壯圍鄉、花蓮縣玉里鎮、南投縣集集鎮、彰化縣大村鄉以及雲林縣麥寮鄉收集的紅龍果病枝條。皆先用剪刀從紅龍果病枝條上剪下較大塊之含有病徵的組織塊，浸泡於 2%次氯酸鈉水溶液中進行表面消毒 30~60 秒後，以無菌水漂洗 2 次，各 5 分鐘，然後將組織塊置於乾淨無菌之培養皿中切成約 0.5 公分 x 0.5 公分大小之組織塊，置於 1/4 PDA 或 2%WA 平板培養基上進行常溫培養。待 4~5 天後切取從病組織長出之菌絲尖端，置於 PDA 中進行培養，以供後續之鑑定及試驗。

(二)稀釋分離法

此分離方法主要使用於花蓮縣玉里鎮採集之紅龍果病枝條，並且依照枝條上之病徵類型的不同分別進行分離，計分為(1)莖部之黃點、(2)紅心黃點、(3)潰瘍斑、(4)莖腐斑，及(5)緊臨潰瘍斑下方之莖部組織等，上述每種皆選取 20 個病徵點進行病原之分離，但莖腐斑是切取多株不同病健部共 20 處進行病原之分離。

分離時皆先以 75%酒精對紅龍果病枝條進行表面消毒，以消毒過之解剖刀切取只含一個病斑之組織塊，置入含有 1 mL 無菌水之 1.5 mL 微量離心管中，使用消毒過之研磨棒磨碎組織塊，靜置約 30 分鐘後吸取 0.3 mL 病組織液滴於 1/4 PDA 平板培養基上，即以消毒過之 L 型玻璃棒將病組織液均勻塗布於培養基表面，於 25°C 生長箱中培養，4 天後觀察初分離結果。因在同一培養皿中可能會長出多種可疑之病原，故依菌絲或菌落之不同，分別挑取移至 PDA 平板培養基中培養，之後以畫線平版法得到單菌落，移至 PDA 平板培養基中培養，得到純化分離株。所得之純種分離株皆培養於 PDA 平板培養基上以供後續之鑑定及試驗。

三、紅龍果莖部斑點分離株之病原性測試

(一)供試健康紅龍果枝條之栽種與繁殖

健康紅龍果植株係自宜蘭縣羅東鎮、壯圍鄉及花蓮縣玉里鎮等地之紅龍果果園取得，帶回實驗室於溫室中進行栽種、繁殖或直接供試驗使用。健康紅龍果之栽種方式有兩種，其一為將紅龍果栽種於直徑 22 公分，高 20 公分之塑膠盆，栽種介質為泥炭土(BVB No.4)與 3 號根基旺以 1:2 之比例混合，之後將紅龍果盆栽置於臺大農場之溫室中自然生長。另一為直接將紅龍果枝條栽種於臺大農場試驗田，每一枝條各立一竹竿支撐，供紅龍果後續之生長及攀爬，待其長出新枝條後可供後續之繁殖及試驗使用。

(二)紅龍果莖部分離株之針刺接種法

材料為臺大農場溫室中栽種之健康紅龍果植株，各選莖部共約 30 公分長之平

整莖部做為針刺接種區，皆使用 75%酒精對接種區進行表面消毒，再以經酒精燈加熱消毒過之解剖針於紅龍果接種區由下至上刺出 8 個接種點，穿刺點的孔徑約為 1 mm 深度約為 3 mm，點與點之間的間距約為 3 公分，如圖 1 所示，最上面與最下面之接種點為對照組，不進行接種，僅以解剖針刺出傷口，其他 6 個接種點則接種培養於 PDA 上 14 天之純種分離株。接種之分離株菌絲塊大小約為 1 mm x 1 mm，係以解剖針挑取菌絲塊壓入穿刺孔，接種完成之接種點即以約 5 mm x 5 mm 之透明膠帶黏貼以局部保濕，並置於溫室中觀察發病情形。

上述針刺接種方式總共進行三次試驗，第一次係針對花蓮縣玉里鎮組織塊分離法中所得之分離株，共接種 6 盆紅龍果盆栽。第二次係針對稀釋分離法分離潰瘍病徵所得之分離株及於繼代時產生之一輕微變異株，共 24 株分離株。此些皆依照菌落型態隨機排列接種點，但菌落型態相似之分離株接種點不連續，會於中間穿插另一菌落型態之分離株，共接種 24 盆紅龍果盆栽為 6 重複。第三次接種則為第二次接種後 15 天，再一次之重複接種。

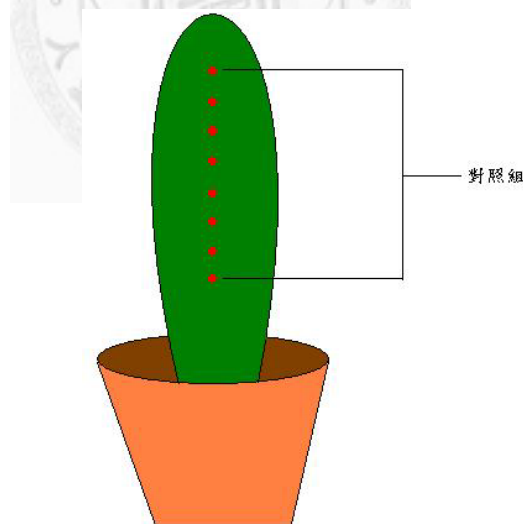


圖 1、紅龍果莖部分離株針刺接種法示意圖。

Figure 1. Diagram of dissecting needle stab inoculation method.

(三)紅龍果莖部分離株之金鋼砂磨擦接種法

植株材料為表面無病徵之紅龍果健康枝條，先以剪刀切成約 15-20 公分之莖段，

待切口收縮後才使用於試驗。各莖段選擇無傷口之莖面約 10 公分 x 4 公分為接種區，皆使用 75%酒精進行表面消毒，再將金鋼砂、培養於 PDA 上 14 天之純種分離株菌絲塊及無菌水置入滅菌過之研鉢，以消毒過之研磨杵將材料磨勻，之後再將磨勻之接種菌泥覆蓋於接種區，即以無菌擦手紙塗抹、磨擦之。接種完成之紅龍果莖段皆置於室溫之透明保濕盒中保濕，並觀察病徵之發展，如圖 2。

此接種方式共進行兩次試驗，第一次試驗所使用之分離株為花蓮縣玉里鎮組織塊分離法中所得之黑色菌株共 5 分離株之混合接種源，共分成 3 種處理：(1) 僅用金鋼砂磨擦表面做為對照組；(2) 先以金鋼砂磨擦表面後，再以分離株菌絲塊塗抹接種；(3) 使用金鋼砂與菌絲塊研磨過之菌泥接種，且將菌泥覆蓋於莖段表面。第二次試驗皆使用研磨過之菌泥並覆蓋於莖段表面，共分成 5 種處理：(1) 金鋼砂加花蓮縣玉里鎮組織塊分離法所得之黑色菌株；(2) 金鋼砂加菌落型態不同之菌株；(3) 金鋼砂加無菌 PDA 之對照組；(4) 僅用金鋼砂之對照組；(5) 枝條不處理之對照組。以上每一處理各三重複，約三個星期後除去莖段表面之金鋼砂、分離株混合菌泥並觀察其後續發病情形。



圖 2、紅龍果莖部分離株金鋼砂磨擦接種後之保濕處理情況。

Figure 2. Pitaya stem in transparent moist chamber after carborundum-scrubbing inoculation.

(四)紅龍果莖部分離株之孢子懸浮液表面噴灑接種法

植物材料為臺大農場長出之健康枝條，剪取約 15-20 公分之莖段帶回實驗室備用。純種紅龍果分離株皆培養於 PDA 上，約 14 天以上產孢之培養皿即加入無菌水，以消毒過之 L 型玻璃棒將培養皿表面菌絲及孢子刮下，收集於 50 mL 離心管中，因其氣生菌絲帶有節生孢子，故利用 vortex 震盪器震盪之，再以血球計數器於複式顯微鏡下計算孢子懸浮液之濃度，即將孢子懸浮液依所需濃度稀釋後置於加壓噴瓶中，均勻噴灑於紅龍果枝條表面，接種完成後之枝條皆置於透明保濕盒，放在 28°C 黑暗之生長箱中，觀察發病情形，如圖 2。另取僅噴無菌水之莖段做為對照組，每次接種皆至少 4 重複。

四、人工接種紅龍果莖部潰瘍病菌之病原再分離

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，採用的再分離方式為前述之稀釋分離法，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、紅龍果莖部潰瘍病分離株之鑑定

(一)紅龍果莖部潰瘍病菌 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS 序列分析

1、病原菌之 DNA 萃取

將上述接種後證實具病原性之分離株，繼代培養於 PDA，於 25°C，14 天後，刮取培養基表面之菌絲約 0.1 g 置入 1.5 mL 微量離心管中，加入 500 μ L 於 65°C 預熱之 CTAB 緩衝液[2% CTAB, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris(pH 8.0), 2% PVP-40]，使用研磨棒將微量離心管中之菌絲磨碎後，加入 3 μ L 2-Mercaptoethanol 以 vortex 混合均勻，置於 65°C 水浴槽 10~20 分鐘。加入 500 μ L CI[Chloroform : isoamylalcohol(24:1)]溫柔的上下旋轉混合，再以 13200 rpm 高速離心 2 分鐘，吸取上清液到乾淨的微量離心管中，加入 1 mL isopropanol 輕微上下旋轉混合將 DNA 沉澱並置於-20°C 中 1 小時，之後再於 4°C 中 13200 rpm 高速離心 10 分鐘，小心的

倒掉上清液。加入 500 μL 70% ETOH 輕微搖晃後放置 2 分鐘，再於 4°C 中 13200 rpm 高速離心 2 分鐘後，再次加入 500 μL 95% ETOH 輕微搖晃後放置 2 分鐘，於 4°C 中 13200 rpm 高速離心 2 分鐘，將其抽乾。之後加入 200 μL 無菌水將 DNA 回溶並加入 0.1 μL RNAs 去除 RNA，於 60°C 水浴槽中置放 20 分鐘後再次以 4°C，13200 rpm 高速離心，取其上清液供後續實驗使用。

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 18 μL 無菌水、2.5 μL 10X buffer、0.5 μL 10mM dNTP、primer ITS4 及 ITS5、2 μL DNA 萃取產物以及 1 μL Taq DNA polymerase，總體積為 25 μL 。將反應材料置於 PCR 機器中進行 PCR 反應。反應的溫度分別為變性溫度 94°C、煉合溫度 58°C、聚合溫度 72°C，共進行 35 個循環。

3、PCR 產物之電泳分析及序列分析

取 5 μL 之 PCR 產物與 1 μL 染劑混合均勻，置於電泳膠片中，平放在加滿 TBE 緩衝溶液水平式電泳槽內，添加 100 bp 大小之分子記號作為對照，以 120 V 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光照相機中進行拍照。PCR 增幅所得之產物交由源資國際生物科技股份有限公司進行核酸序列分析，從 ITS4 端及 ITS5 端兩個方向個別定序。

4、序列比對分析

將序列分析後所得到之兩段 DNA 序列(一段來自 ITS4 端，一段來自 ITS5 端)，送至 NCBI 網站進行 alignment，比較兩段序列並且除錯，組合成一較正確之序列後，一樣送至 NCBI 網站進行 Blast，得到與此 ITS 序列間相似度高且可能性高之菌種資訊。

(二)病原菌之形態學鑑定

將具有病原性之分離株培養於 PDA 中，巨觀觀察其菌落型態以及利用顯微鏡微觀觀察其菌絲、孢子特徵。參考菌種鑑定相關之文章、書籍，進行比對鑑定其歸屬。另諮詢國立臺灣大學植物病理與微生物學系 曾顯雄教授，協助病原菌之鑑定。

六、溫度對紅龍果莖部潰瘍病菌生長速度之影響

選取四株經病原性測試得知具有病原性之分離株 CH17、CH21、CH26、CH28 及兩株於繼代培養時發現之變異株 CH17-x、CH21-x，皆培養於 PDA 平板培養基，於 35°C、12 小時光週之梯度定溫生長箱中培養 5 天，即以直徑 0.55 公分之打孔器切取菌絲塊，各接入 9 公分 PDA 平板培養基之正中央，再分別置放於 15、20、25、30、35、40°C 之 12 小時光週梯度定溫生長箱中，觀察溫度對菌絲生長速度之影響。

上述各分離株每溫度各做 3 重複，並於接種後每日早晚 2 次以游標尺測量菌落生長直徑，求取平均，減去原始菌絲塊大小後，計算每日之生長速率。

七、藥劑對紅龍果莖部潰瘍病菌防治測試

因臺灣農業主管單位所出版之植物保護手冊，並無任何對於紅龍果莖部潰瘍病之記錄及推薦用藥，而文獻中有關 Botryosphaeriaceae 科相關病害之防治用藥也幾乎沒有，唯一查到的是番荔枝黑腐病有一推薦用藥賽普護汰寧。故從防治子囊菌真菌類病害之藥劑中選取待克利、菲克利、亞托敏、免賴得及甲基多保淨等五種藥劑進行防治測試。

將經證明具有病原性之 CH17、CH21、CH26、CH28，四株分離株培養於 PDA 平板培養基，經 35°C、12 小時光週之梯度定溫生長箱中培養 2 日，即以直徑 0.55 公分之打孔器切取菌落邊緣之菌絲塊，分別移植於添加 24.9%待克利乳劑 3000 倍 (83 ppm)、23%菲克利水懸劑 4000 倍(57.5 ppm)、23%亞托敏水懸劑 2000 倍(115 ppm)、50%免賴得可濕性粉劑 1000 倍(500 ppm)及 70%甲基多保淨可濕性粉劑 1000

倍(700 ppm)等藥劑之 PDA 平板培養基上，並取不添加藥劑之 PDA 平板培養基做為對照組，皆培養於 35°C、12 小時光週之梯度定溫生長箱中，每處理各五重複，於每日早晚兩次以游標尺測量菌落生長直徑，求取平均，減去原始菌絲塊大小後，計算各種藥劑對於分離株菌絲生長速度之抑制效果。



第四章 結果

一、紅龍果莖部病害之田間調查

於 2011 年 8 月~2012 年 3 月間，至國內重要紅龍果果園進行紅龍果莖部病害之調查，調查的地點主要有宜蘭縣壯圍鄉何信樂先生之紅龍果果園、宜蘭縣羅東鎮石松枝先生之紅龍果果園、花蓮縣玉里鎮李清秋先生之紅龍果果園以及南投縣集集鎮、鹿谷鄉、彰化縣大村鄉、雲林縣麥寮鄉紅龍果果園，記錄各地點之紅龍果莖部潰瘍病發生情形，並將病枝條帶回實驗室進行拍照、鏡檢及分離。其田間病害調查所得之結果如表 1，並概述如下：

1. 宜蘭縣壯圍鄉：於 2011 年 8 月~2012 年 2 月間，至何信樂先生之紅龍果果園，調查該處紅龍果莖部病害發生情形，發現該處紅龍果植株生長狀態良好，莖部相較於其他地點較健康，莖部病徵僅有瘡痂(圖 3)及似病毒造成之褪綠斑，沒有發現紅龍果莖部潰瘍病之典型黃點病徵。

2. 宜蘭縣羅東鎮：於 2011 年 8 月~2012 年 2 月間，至石松枝先生之紅龍果果園，調查該處紅龍果莖部病害發生情形，發現該處紅龍果植株莖部表面有紅色瘡痂病徵(圖 4)，但沒有紅龍果莖部潰瘍病之典型黃點病徵。

3. 花蓮縣玉里鎮：於 2011 年 10 月及 2012 年 3 月間，至李清秋先生之紅龍果果園，調查該處紅龍果莖部病害發生情形，發現該處紅龍果植株大多生長良好，但於局部區域可發現典型莖部潰瘍病之嚴重發生，在枝條上之病徵有黃點、紅點、潰瘍之病徵存在(圖 5A)，有些病枝條有局部莖腐的情形(圖 5B)，另發現上述黃點及紅點之分佈呈現淚斑狀分佈，如圖 5A 及圖 5B 皆存此現象。又從紅龍果莖部潰瘍病病株上之果實亦可發現有紅心黃點之病徵(圖 6)。

4. 南投縣、彰化縣、雲林縣：於 2011 年 10 月，至此三縣之紅龍果果園進行紅龍果莖部病害之調查及採樣，包括南投縣集集鎮、彰化縣大村鄉及雲林縣麥寮鄉。此些地區之紅龍果果園皆可發現紅龍果莖部潰瘍病之發生，其病枝條上有黃點、

紅點、潰瘍之病徵存在(圖 7A)，有些病枝條有局部莖腐的情形(圖 7B)。但在南投縣鹿谷鄉及信義鄉中海拔之紅龍果植株卻沒有發現到任何紅龍果莖部潰瘍病之典型病徵。

表 1 臺灣紅龍果莖部潰瘍病之田間病害調查結果。

Table 1. The results of field investigation on pitaya stem canker disease in Taiwan.

地點 Location	莖部出現病徵 Symptoms on stem	出現紅龍果莖部潰瘍病之 典型病徵 Occurrence of pitaya stem canker disease symptoms
宜蘭縣壯圍鄉	瘡痂	否
宜蘭縣羅東鎮	紅色瘡痂	否
花蓮縣玉里鎮	紅心黃點、紅點、潰瘍、 局部莖腐	是
南投縣集集鎮	紅心黃點、紅點、潰瘍、 局部莖腐	是
南投縣鹿谷鄉	無	否
彰化縣大村鄉	紅心黃點、紅點、潰瘍、 局部莖腐	是
雲林縣麥寮鄉	紅心黃點、紅點、潰瘍、 局部莖腐	是



圖 3、宜蘭縣壯圍鄉紅龍果植株莖部之瘡痂病徵。

Figure 3. Scab symptoms on pitaya stem in Zhuangwei, Yilan.



圖 4、宜蘭縣羅東鎮紅龍果植株莖部之紅色瘡痂病徵。

Figure 4. Red dish scab symptoms on pitaya stem in Luodong, Yilan.

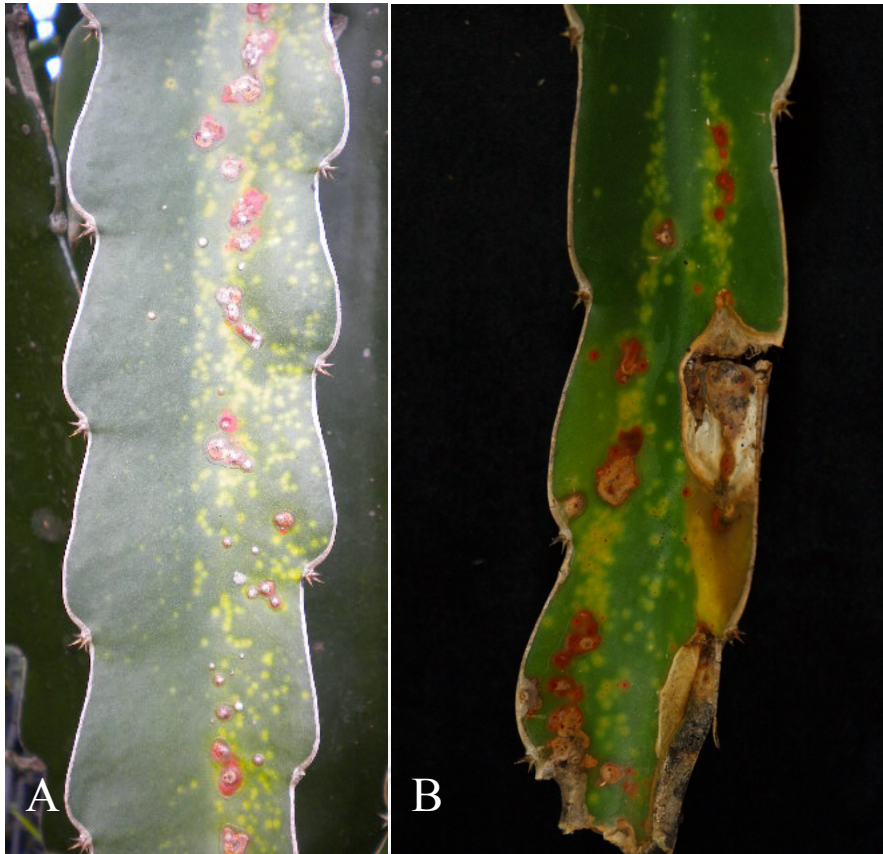


圖 5、花蓮縣玉里鎮紅龍果植株莖部之黃點、紅點及潰瘍病徵(A)，在另一枝條上之淚斑狀分佈及莖腐病徵(B)。

Figure 5. Stem canker symptoms on pitaya stem in Yuli, Hualien, including yellow spots, red spots and canker symptoms (A), another stem showing tear streak distribution of canker symptoms with stem rot lesions (B).



圖 6、花蓮縣玉里鎮紅龍果潰瘍病病株果實上出現之紅心黃點病徵。

Figure 6. The pitaya fruit with canker symptoms found at Yuli, Hualien.

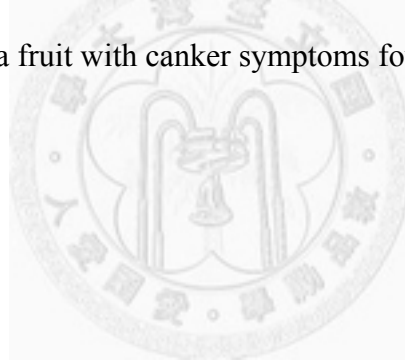




圖 7、南投縣集集鎮、彰化縣大村鄉、雲林縣麥寮鄉紅龍果莖部之黃點、紅點、潰瘍病徵(A)，少數則另有局部莖腐病徵(B)。

Figure 7. Pitaya stems with yellow spots, red spots, and canker symptoms found at Jiji, Nantou., Dacun, Changhua., and Mailiao, Yunlin (A)., some stem showed the stem rot symptoms (B).

二、紅龍果莖部潰瘍病之病原分離及初步鑑定

(一)組織塊分離法

此分離方法使用於宜蘭縣羅東鎮、宜蘭縣壯圍鄉、花蓮縣玉里鎮、南投縣集集鎮、彰化縣大村鄉及雲林縣麥寮鄉等地區，所採集之紅龍果莖部潰瘍病枝條，於分離前利用透明膠帶黏貼黃點病斑，可發現有褐色、分節之菌絲存在於病斑表面(圖 8)，其菌絲寬度約為 5~10 μ m。

本研究以組織塊分離法之分離結果如表 2 所示。由於田間調查時於宜蘭縣羅東鎮及宜蘭縣壯圍鄉皆未發現紅龍果莖部潰瘍病之典型黃點病徵，其分離結果也未見黑色菌株，故未予以記錄。而自花蓮縣玉里鎮之紅龍果莖部潰瘍病病枝條以組織塊分離法分離，共得到 36 株真菌分離株，其中 20 株菌落型態相同，為初期白色再轉黑色之分離株，(以下簡稱為黑色菌株)，並將其編號為 CH 後加兩位數(如附錄一)，然因屬初步分離，未記錄其來源之斑點數，故無法估算正確之分離率。又自南投縣集集鎮、彰化縣大村鄉及雲林縣麥寮鄉採集到之紅龍果莖部潰瘍病病枝條，利用組織塊分離法，共得到 47 株真菌分離株，內含黑色菌株共有 14 株，若以分離之來源點數計算，此 47 株分離株係來自 17 個病斑，而 14 株黑色菌株係來自其中 8 個病斑，分離率為 47%，此些分離株之編號為 CC 後加兩位數(如附錄一)。

(二)稀釋分離法

此分離方法主要使用於花蓮縣玉里鎮採集之紅龍果莖部潰瘍病病枝條，依照病枝條上觀察到之病徵類型的不同，分別進行稀釋分離，分為黃點病斑、紅心黃點病斑、潰瘍病斑、緊臨潰瘍斑下方之莖部組織以及莖腐斑等。上述每種皆選取 20 個病徵點進行病原分離，故來源點皆為 20 個，於 4 天後紀錄初步分離細菌/真菌結果，初步細菌/真菌分離結果指的是尚未詳細鑑定前，每一來源點於培養皿上長出細菌、真菌或什麼都不長之皿數，因在同一培養皿可能同時長出細菌、真菌，故初步細菌/真菌分離結果得到的數目可能會大於 20。之後再行詳細觀察，並依照

其菌落型態進行鑑別及記錄。此一稀釋分離法之分離總結果如表 3 所示，並分述如下：

1.黃點病斑分離結果：初步細菌/真菌分離結果於 20 皿中，僅有其中 5 皿長出少數幾個細菌斑點，只 1 皿長出一個真菌斑點(表 3)，且非屬黑色菌株因此判斷為未分離到可疑病原，故未進行後續純化培養。

2.紅心黃點病斑分離結果：初步細菌/真菌分離結果於 20 皿中有 10 皿長出真菌菌落，然而其餘 10 皿兩者皆未見(表 3)，將 10 皿長出之真菌菌落純化培養後共得到 21 株分離株，依照各個分離株之菌落型態可分為 7 類，各種類之分離率皆不超過 25%(表 4)。

3.潰瘍病斑分離結果：初步細菌/真菌分離結果，發現 20 皿中真菌、細菌皆有生長，但是真菌佔大多數(表 3)，從此些培養皿中分離純化，共得到 23 株真菌分離株，其編號如附錄一。依照其菌落型態共可分為 8 類，其中黑色菌株分離率達 50%，其餘種類之分離率皆不超過 15%(表 5)。

4. 緊臨潰瘍斑下方莖部組織分離結果：初步細菌/真菌分離結果於 20 皿中只有 10 皿長出真菌菌落，其餘 10 皿兩者都不長(表 3)，由此分離共得到 20 株真菌分離株，其菌落型態共有 6 類，各種類之分離率皆不超過 30%(表 6)。

5.莖腐斑分離結果：初步細菌/真菌分離結果於 20 皿中，有 5 皿長出少數細菌菌落，有 6 皿長出真菌(表 3)，由此共分離得到 9 株真菌分離株，且依照菌落型態可分為 6 類，各種類之分離率皆不超過 10%(表 7)。

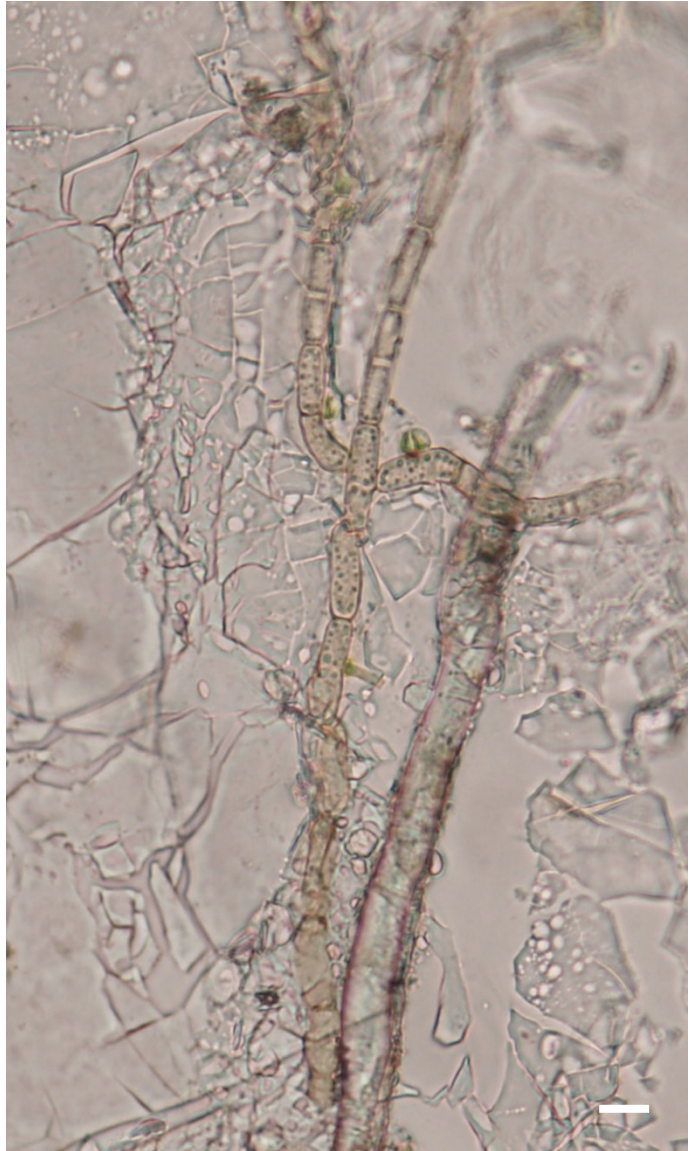


圖 8、利用膠帶黏貼紅龍果莖部潰瘍病黃點病斑發現到之褐色、節狀菌絲。(Bar = 10 μ m)

Figure 8. Brown disarticulating hyphae found on the surface of canker spots of pitaya stem obtained with adhesive tape. (Bar = 10 μ m)

表 2 紅龍果莖部病斑之組織塊分離法病原分離結果。

Table 2. The isolation result from pitaya stem lesions by tissue block isolation method.

地點 Location	分離株數 Number of isolates	來源斑點數 Number of source lesion	黑色菌株數 Number of the black isolates	黑色菌株之分離率 (%) Isolation rate of the black isolates(%)
花蓮縣玉里鎮	36	N/A*	20	N/A*
南投縣集集鎮				
彰化縣大村鄉	47	17	8	47
雲林縣麥寮鄉				

*因初步試驗未詳細記錄斑點數，故分離率從缺

表 3 紅龍果莖部病斑之稀釋分離法分離結果。

Table 3. The isolation result from pitaya stem lesions by dilution method.

病徵類型 Type of symptom	細菌/真菌比 Ratio of bacteria/fungi	分離株數 Number of isolates	來源斑點數 Number of source lesion	黑色菌株數 Number of the black isolates	黑色菌株之分離率 (%) Isolation rate of the black isolates(%)
黃點	5 細菌 1 真菌	0	20	0	0
紅心黃點	0 細菌 10 真菌	21	20	1	5
潰瘍斑	細菌、真菌皆有， 真菌佔大多數	23	20	10	50
緊臨潰瘍病下方 之莖部組織	0 細菌 10 真菌	20	20	0	0
莖腐斑	5 細菌 6 真菌	9	20	1	5

表 4 以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個紅心黃點病斑之結果。

Table 4. The isolation result from 20 red-center yellow spots on pitaya stems by dilution method.

菌落類型 Type of colony	分離率 Isolation rate
初期白色再轉黑色菌落	1/20 (5%)
炭疽菌菌落	4/20 (20%)
鐮胞菌菌落	5/20 (25%)
未知菌落 1*	3/20 (15%)
未知菌落 2*	2/20 (10%)
未知菌落 3*	2/20 (10%)
未知菌落 4*	1/20 (5%)

*未知菌落 1：紫黑色徽狀菌落

未知菌落 2：白色菌落

未知菌落 3：米黃色孔洞狀菌落

未知菌落 4：黃白相間之菌落

表 5 以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個潰瘍斑之結果。

Table 5. The isolation result from 20 canker spots on pitaya stems by dilution method.

菌落類型 Type of colony	分離率 Isolation rate
初期白色再轉黑色菌落	10/20 (50%)
炭疽菌菌落	3/20 (15%)
鐮胞菌菌落	2/20 (10%)
未知菌落 1*	2/20 (10%)
未知菌落 2*	1/20 (5%)
未知菌落 3*	1/20 (5%)
未知菌落 4*	1/20 (5%)
未知菌落 5*	1/20 (5%)

*未知菌落 1：白綠相間之羽毛狀菌落

未知菌落 2：同心圓狀白色菌落，其上有黑色角狀物

未知菌落 3：土黃色粉狀菌落

未知菌落 4：紫黑色黴菌狀菌落，菌落上有多條明顯凹陷痕

未知菌落 5：白色帶點黑色之棉狀菌落，其上有黑色線狀物突出

表 6 以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個緊臨潰瘍斑下方莖部組織之結果。

Table 6. The isolation result from 20 stem tissue beneath the canker spot on pitaya stems by dilution method.

菌落類型 Type of colony	分離率 Isolation rate
初期白色再轉黑色菌落	0/20 (0%)
炭疽菌菌落	6/20 (30%)
鐮胞菌菌落	5/20 (25%)
未知菌落 1*	2/20 (10%)
未知菌落 2*	2/20 (10%)
未知菌落 3*	1/20 (5%)
*未知菌落 1：米黃色同心圓粉狀菌落	
未知菌落 2：黑色徽狀菌落	
未知菌落 3：白色羽毛狀菌落	

表 7 以稀釋分離法分離紅龍果莖部潰瘍病 20 個莖腐斑之結果。

Table 7. The isolation result from 20 stem rot lesions on pitaya stems by dilution method.

菌落類型 Type of colony	分離率 Isolation rate
初期白色再轉黑色菌落	1/20 (5%)
炭疽菌菌落	0/20 (0%)
鐮胞菌菌落	2/20 (10%)
未知菌落 1*	2/20 (10%)
未知菌落 2*	1/20 (5%)
未知菌落 3*	1/20 (5%)
未知菌落 4*	1/20 (5%)

*未知菌落 1：黑白相間棉狀菌落

未知菌落 2：墨綠色徽狀菌落

未知菌落 3：白色同心圓粉狀菌落

未知菌落 4：白色菌落

三、紅龍果莖部分離株之病原性測試

(一)供試健康紅龍果枝條之栽種與繁殖

計自宜蘭縣羅東鎮、壯圍鄉及花蓮縣玉里鎮之紅龍果果園取得之健康紅龍果枝條共約 200 多枝，於臺大農場溫室以直徑 22 公分，高 20 公分之塑膠盆，栽培介質為泥炭土(BVB No.4)與 3 號根基旺以 1:2 之比例混合栽種，共栽種約 130 盆紅龍果盆栽(圖 9)。

此外，於臺大農場試驗田規劃 5 畦，每畦栽種約 13 株紅龍果，共 65 株，於每株紅龍果旁立一竹竿支撐，供其攀爬生長，於天氣溫暖後新枝條開始大量生長(圖 10)，上述之健康紅龍果盆栽及新生之健康紅龍果枝條即可供後續繁殖及試驗使用。



圖 9、臺大農場溫室中健康紅龍果盆栽之栽種情形。

Figure 9. The cultivation of healthy pitaya in NTU green house.



圖 10、於臺大農場試驗田栽種之健康紅龍果植株。

Figure 10. The cultivation of healthy pitaya plants in Experimental Farm of NTU.

(二)紅龍果莖部分離株之針刺接種法

本接種法選取健康之紅龍果盆栽，以消毒過之解剖針於接種區刺出 8 個直徑 1 mm，深 3 mm 之接種點，最上及最下之接種點當作對照組，不接任何菌，其餘 6 個接種點以解剖針將切取之 1 mm x 1mm 菌絲塊壓入其中，所有接種點皆以透明膠帶覆蓋保濕，於臺大農場溫室中栽培，觀察後續發病情形，以接種點呈現紅色且有向外擴張之跡象者當作發病與否之依據，此針刺接種法總共進行過 3 次，其結果分述如下：

1.第一次結果：此次試驗皆以組織塊分離法分得之黑色菌株 CH17 為接種源，計取 6 盆紅龍果盆栽進行試驗，共 48 個接種點，其中 36 個接種 CH17 分離株，剩餘 12 個為對照組。所得結果列如表 8，於接種後 14 天即發現有 33 個接種點產生上述紅點且擴大之發病情形(圖 11B)，其餘 3 點及對照組皆未產生典型病徵(圖 11A)。於接種後 32 天即撕除表面之透明膠帶，發現病徵續有擴大，有些接種點周圍組織且有黃化、褐化、擴大為莖腐之情形(圖 12)，而所有對照組及未發病之 3 點仍然維持原樣，故此一接種之發病率為 92%。

2.第二次結果：第二次試驗以稀釋分離法分離潰瘍斑所得之 23 株分離株(CH21~30、GH01~05、FH01~02 及 UH01~06)及於繼代時發現之一輕微變異株(CH27-x)，共 24 株為接種源，計選取 24 盆紅龍果盆栽進行試驗，共 192 個接種點，依照菌落型態隨機排列接種點，但於同一紅龍果枝條上菌落型態相似之分離株其接種點不連續。所得結果列如表 9，發現於接種 2 天後，除對照組外其餘接種點皆變紅，3 天後撕除表面之透明膠帶，發現有些接種點開始有典型紅點斑之發病情形，於後續觀察可發現紅斑逐漸擴大、造成潰瘍，有少數周圍逐漸黃化、褐化、擴大成莖腐，總計 192 接種點中有 59 個接種點發病，其對照組及各菌落類型分離株之病徵發展列如圖 13~21。若比對各接種點所接種分離株之菌落型態，可發現如表 9 所示：發病者幾乎都是接種黑色菌株，黑色菌株於本次試驗中有 11 株，共 66 個接種點，其中 55 個接種點有發病之情形產生，發病率為 83%。

3.第三次結果：本次試驗為重複第二次之試驗，但是於試驗中發生一些失誤，故將刪除失誤之菌株，剩餘 20 個分離株進行接種測試，包含 CH21~29、GH01~04、FH01~02、UH01~05。結果與第二次試驗之結果相似，於接種 2 天後，可觀察到接過菌之接種點變紅，3 天後撕除透明膠帶，可發現有些接種點已出現典型病徵，後續觀察發現其病徵逐漸擴大，其發病點數為 46 個，如比對各個接種點及其接種之分離株菌落型態，仍可發現發病點之接種源幾乎皆為黑色菌株，除去前述失誤者，黑色菌株於本次試驗中有 9 株，共 54 個接種點，其中 41 個接種點發病，發病率為 76%(表 10)。

表 8 紅龍果莖部分離株所得黑色菌株 CH17 針刺接種法病原性測試之結果。

Table 8. The pathogenicity test result of inoculation with CH17 isolate on pitaya stem by needle inoculation method.

菌落類型 Type of colony	接種菌株 Inoculation isolates	接種點數 Number of inoculation points	發病點數 Number of diseased points	發病率(%) Diseased rate (%)
黑色菌株	CH17	36	33	92
對照組	—	12	0	0

表 9 紅龍果莖部分離所得 24 分離株以針刺接種法接種後之發病結果。

Table 9. The inoculation result of 24 different colony isolates from pitaya stems by needle inoculation method.

菌落類型 Type of colony	接種菌株 Inoculation isolates	接種點數 Number of inoculation points	發病點數 Number of diseased points	發病率(%) Diseased rate (%)
黑色菌株	CH21~30, CH27-x	66	55	83
炭疽菌菌落	GH01~05	30	3	10
鐮胞菌菌落	FH01, FH02	12	0	0
未知菌落 1	UH01, UH02	12	1	8
未知菌落 2	UH03	6	0	0
未知菌落 3	UH04	6	0	0
未知菌落 4	UH05	6	0	0
未知菌落 5	UH06	6	0	0
對照組	—	48	0	0

表 10 紅龍果莖部分離所得 20 分離株以針刺接種法接種後之發病結果。

Table 10. The inoculation result of 20 different colony isolates from pitaya stems by needle inoculation method.

菌落類型 Type of colony	接種菌株 Inoculation isolates	接種點數 Number of inoculation points	發病點數 Number of diseased points	發病率(%) Diseased rate (%)
黑色菌株	CH21~29	54	41	76
炭疽菌菌落	GH01~04	24	4	17
鐮胞菌菌落	FH01, FH02	12	1	8
未知菌落 1	UH01, UH02	12	0	0
未知菌落 2	UH03	6	0	0
未知菌落 3	UH04	6	0	0
未知菌落 4	UH05	6	0	0
未知菌落 5	—	0	0	0
對照組	—	48	0	0

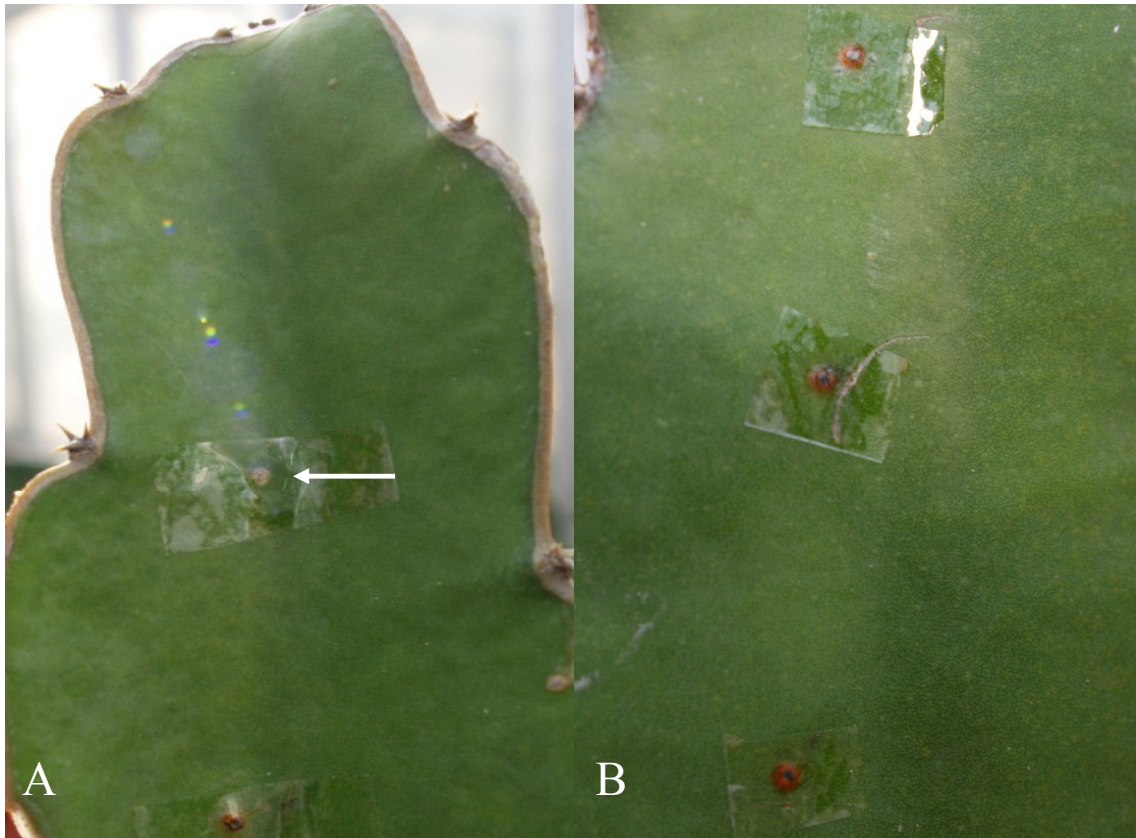


圖 11、紅龍果莖部分離株黑色菌株 CH17 以針刺接種 14 天後之發病情形：(A)為對照組，(B) 為接種點變紅且向外擴大。

Figure 11. The symptom development of pitaya stem after 14 days of inoculation with CH17 isolate: (A) Control point, (B) diseased plant inoculated with CH17, showing red lesion and gradually enlarged.

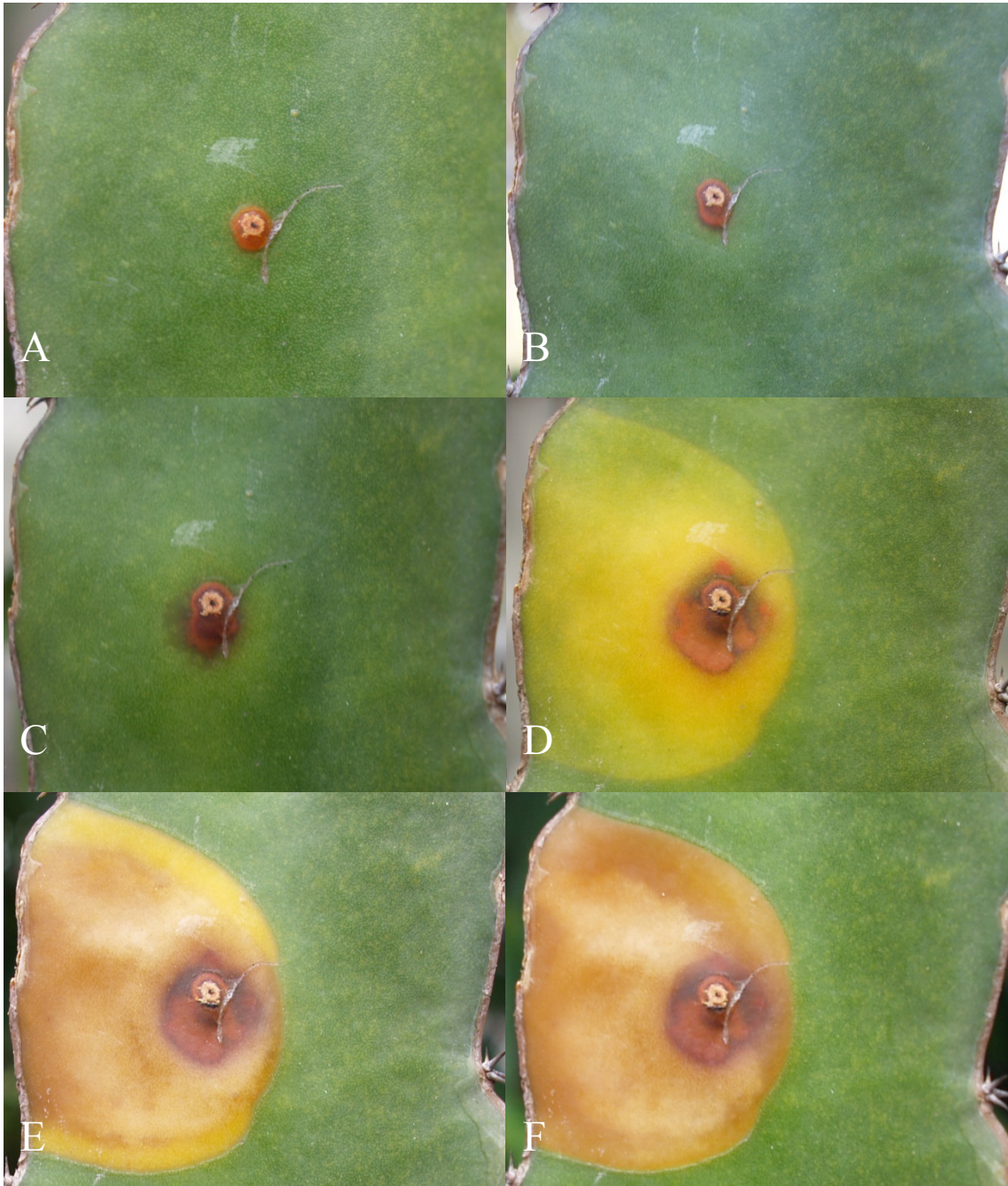


圖 12、紅龍果莖部分離株黑色菌株 CH17 以針刺接種不同天數後之病徵發展：
(A)32 天，(B)39 天，(C)42 天，其紅點明顯擴大，(D)46 天，已出現莖腐初期徵兆，
(E)51 天，(F)53 天。

Figure 12. The symptom development of pitaya stem at different days after inoculation with CH17 isolate: (A) 32 days, (B) 39 days, (C) 42 days, the red spot obviously enlarged, (D) 46 days, the initial stage of stem rot occur, (E) 51 days, (F) 53 days.

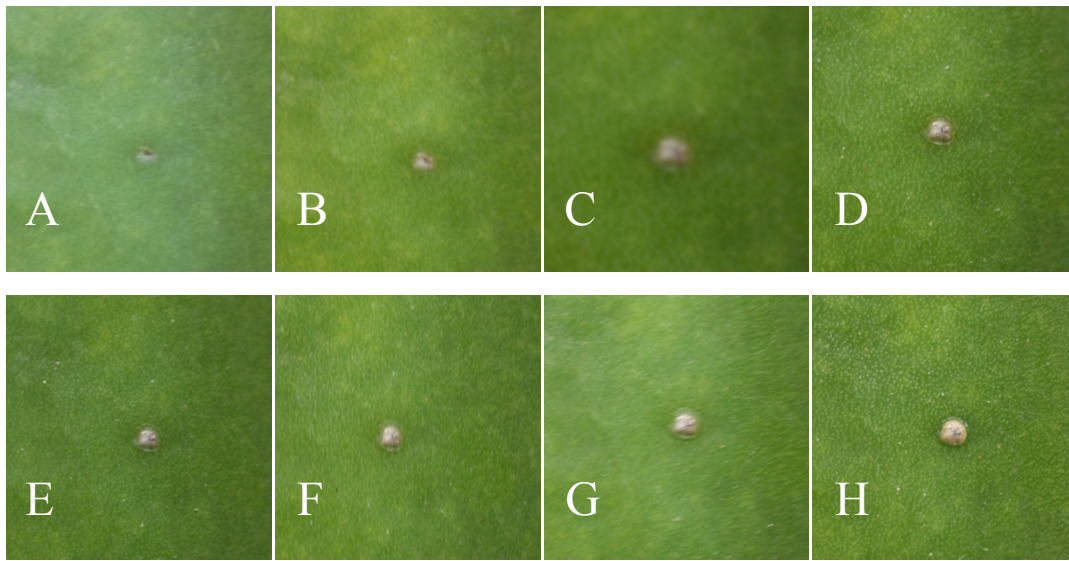
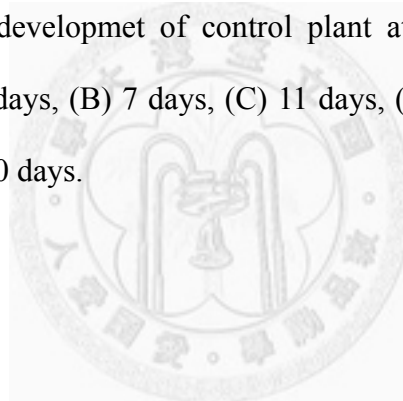


圖 13、紅龍果莖部分離株針刺接種法對照組之各期病徵發展情形：(A)4 天，(B)7 天，(C)11 天，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天。

Figure 13. The symptom developmet of control plant at different period by needle inoculation method: (A) 4 days, (B) 7 days, (C) 11 days, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days.



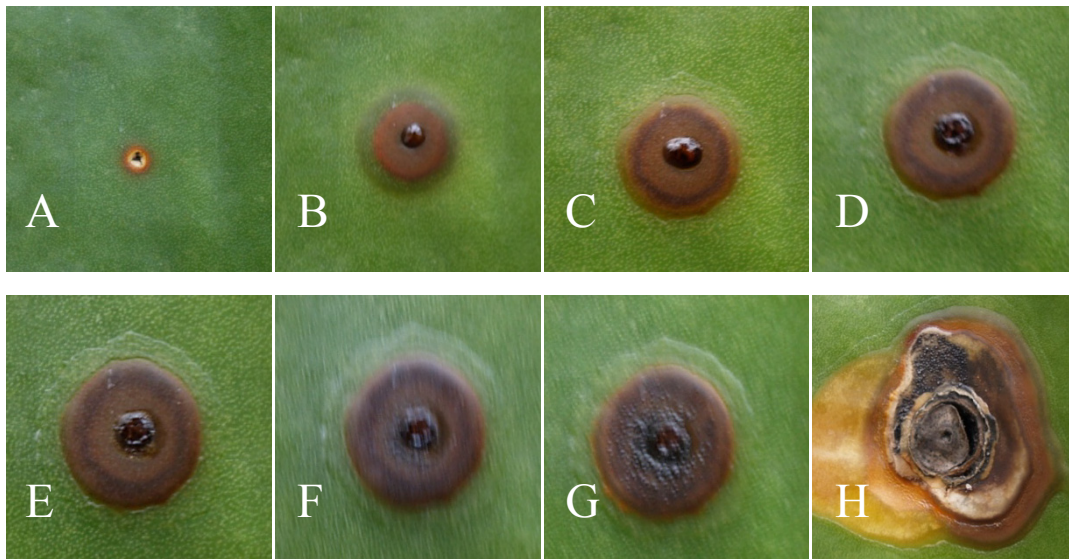


圖 14、紅龍果莖部分離所得黑色菌株 CH28 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天後，紅點明顯擴大，轉變成潰瘍斑，(C)11 天後，潰瘍斑逐漸擴大，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，潰瘍斑周圍產生莖腐斑，且有黑色柄子殼產生。

Figure 14. The symptom development of pitaya stem canker at different period after inoculation with black isolate CH28: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, the red spot obviously enlarged and became canker, (C) 11 days, canker enlarged, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, tissue around the canker rotted, with black pycnidia on it.

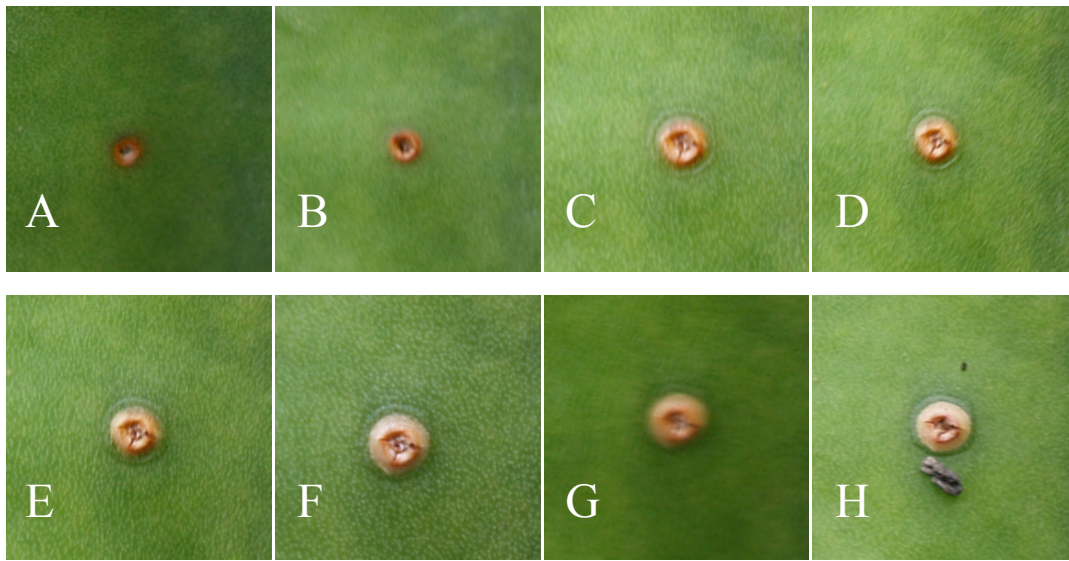


圖 15、紅龍果莖部分離所得炭疽菌株 GH03 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天，(C)11 天後，接種點開始形成瘡痂，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，瘡痂大小仍不變。

Figure 15. The symptom development of pitaya stem at different period after inoculation with *Gloeosporium* isolate GH03: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, (C) 11 days, the inoculation points turning into scab, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, the size of scab remain the same.

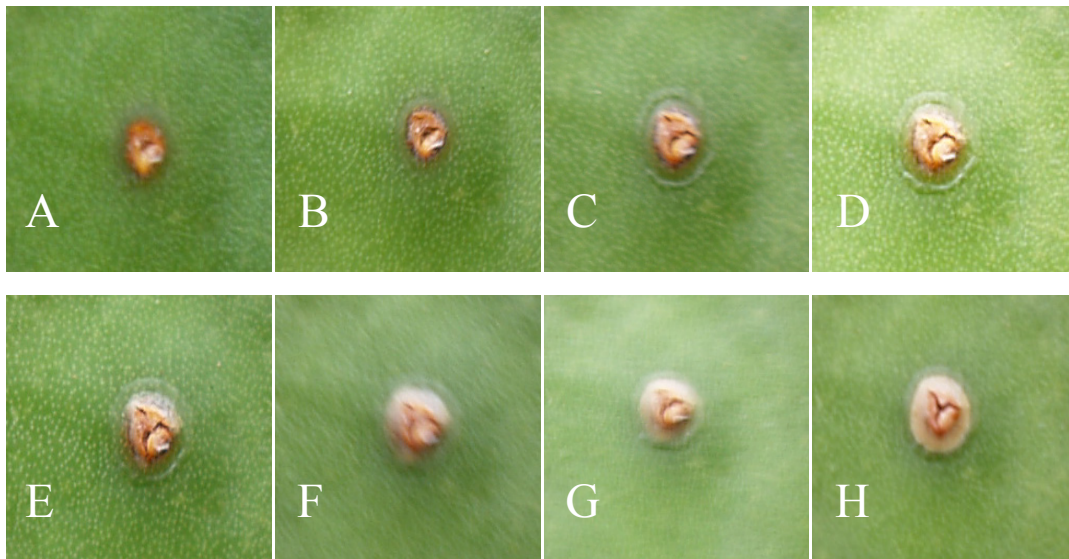


圖 16、紅龍果莖部分離所得镰胞菌株 FH02 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天，(C)11 天後，接種點開始形成瘡痂，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，瘡痂大小仍不變。

Figure 16. The symptom development of pitaya stem at different period after inoculation with *Fusarium* isolate FH02: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, (C) 11 days, the inoculation points turning into scab, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, the size of scab remain the same.

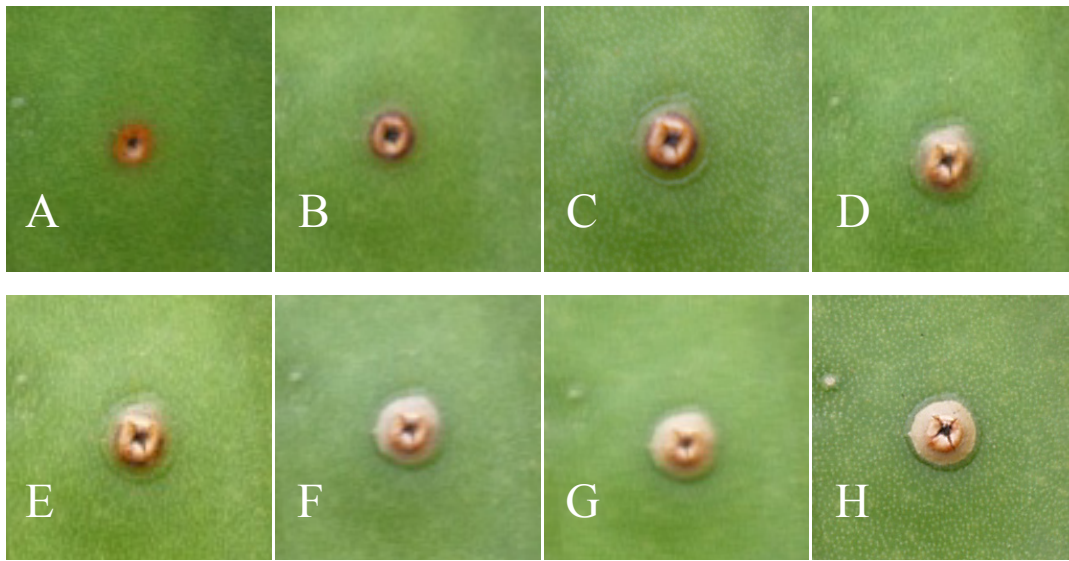


圖 17、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH02 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天，(C)11 天後，接種點開始形成瘡痂，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，瘡痂大小仍不變。

Figure 17. The symptom development of pitaya stem at different period after inoculation with unknown isolate UH02: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, (C) 11 days, the inoculation points turning into scab, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, the size of scab remain the same.

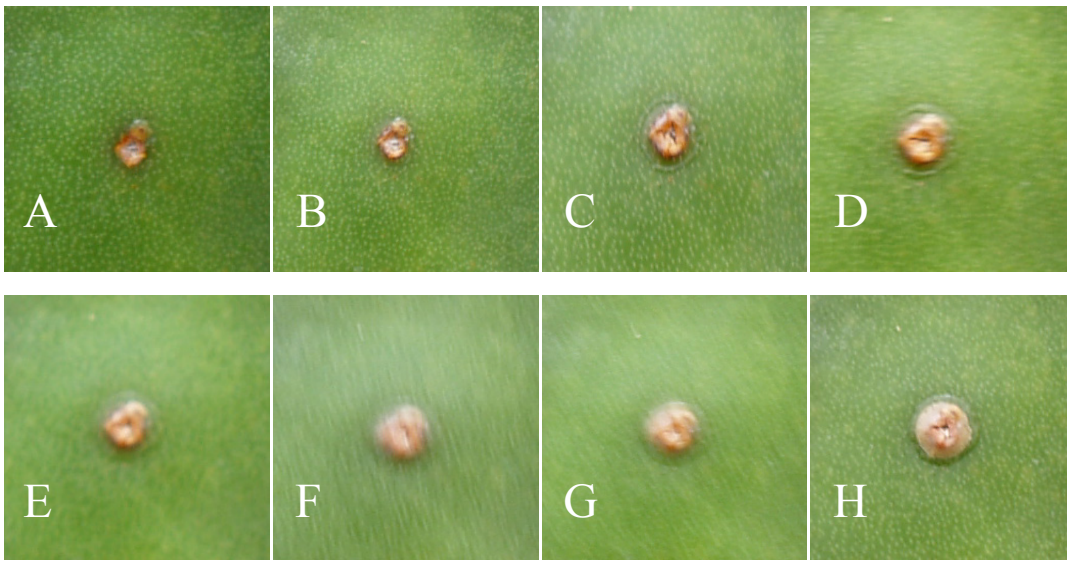


圖 18、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH03 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天，(C)11 天後，接種點開始形成瘡痂，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，瘡痂大小仍不變。

Figure 18. The symptom development of pitaya stem at different period after inoculation with unknown isolate UH03: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, (C) 11 days, the inoculation points turning into scab, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, the size of scab remain the same.

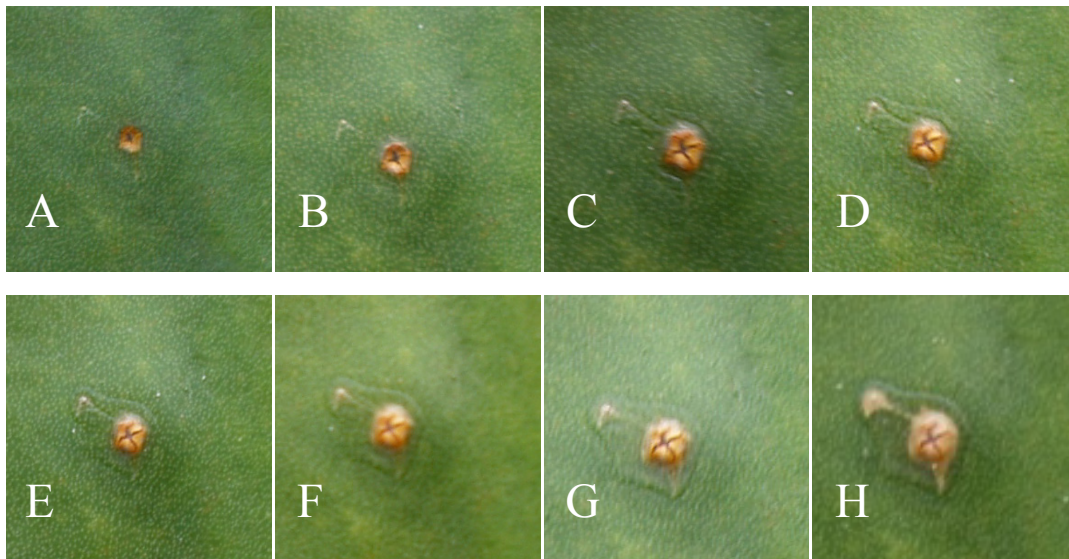


圖 19、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH04 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天，(C)11 天後，接種點開始形成瘡痂，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，瘡痂大小仍不變。

Figure 19. The symptom development of pitaya stem at different period after inoculation with unknown isolate UH04: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, (C) 11 days, the inoculation points turning into scab, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, the size of scab remain the same.

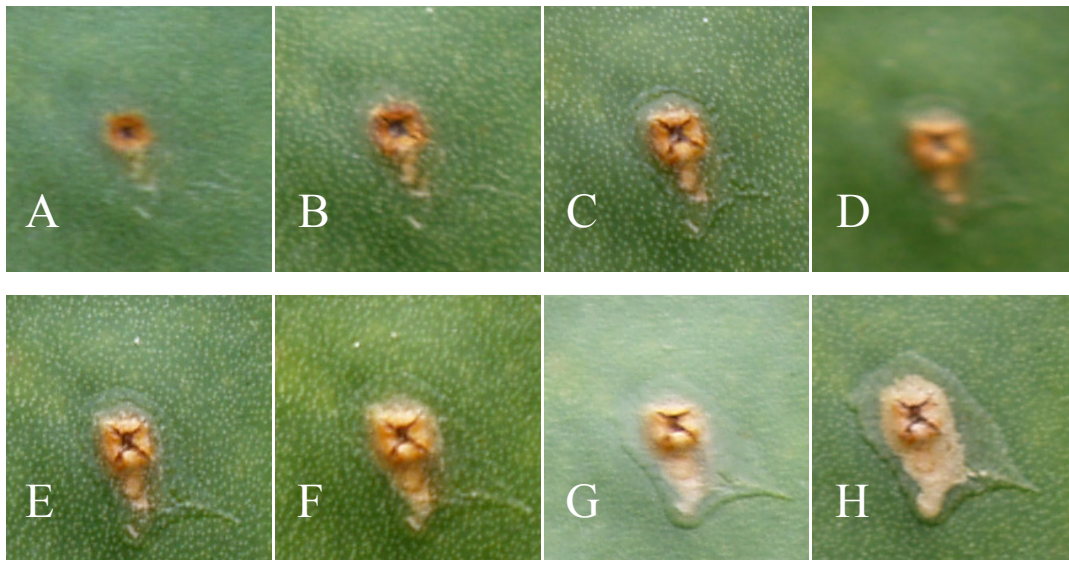


圖 20、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH05 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天，(C)11 天後，接種點開始形成瘡痂，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，瘡痂大小仍不變。

Figure 20. The symptom development of pitaya stem at different period after inoculation with unknown isolate UH05: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, (C) 11 days, the inoculation points turning into scab, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, the size of scab remain the same.

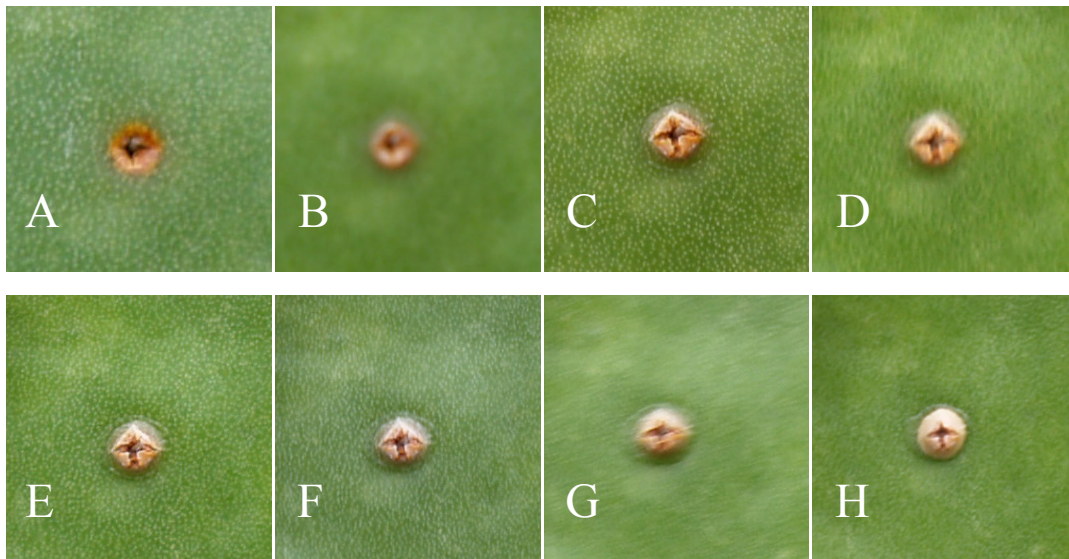


圖 21、紅龍果莖部分離所得未知菌株 UH06 針刺接種後之各期病徵發展情形：(A)4 天後，接種點紅化，(B)7 天，(C)11 天後，接種點開始形成瘡痂，(D)16 天，(E)19 天，(F)21 天，(G)23 天，(H)40 天後，瘡痂大小仍不變。

Figure 21. The symptom development of pitaya stem at different period after inoculation with unknown isolate UH06: (A) 4 days, inoculation points turn red, (B) 7 days, (C) 11 days, the inoculation points turning into scab, (D) 16 days, (E) 19 days, (F) 21 days, (G) 23 days, (H) 40 days, the size of scab remain the same.

(三)紅龍果莖部分離株之金鋼砂磨擦接種法

本接種法選取莖部表面無病徵之紅龍果健康枝條，切成 15 公分之莖段，依照處理方式之不同，將金鋼砂、無菌水及相關材料置於研鉢中磨勻，將金鋼砂泥塗抹於接種區進行接種，發病之定義為產生田間紅龍果莖部潰瘍病之黃點病徵，此金鋼砂磨擦接種法共進行過 2 次，分別敘述於下：

1. 第一次試驗：共有三種處理，對照組為僅用金鋼砂磨擦枝條表面者，於後續觀察中皆維持原樣，無典型病徵產生(圖 22A；圖 23A)。而先以金鋼砂磨擦再以黑色菌株菌落塊磨擦接種者，於 2 週後莖部表面即產生紅點及潰瘍之情形，如圖 22B 為接種 63 天後表面出現之紅點、黃點及潰瘍斑。而先將金鋼砂、無菌水、五黑色菌株(CH10、CH17-20)菌絲塊磨勻成金鋼砂菌泥塗抹接種者，63 天後發現枝條表面出現黃點病徵，將其表面之金鋼砂菌泥去除後，可發現其下有紅點及大量之黃點(圖 22C)，接種 77 天後，部分枝條表面即有局部莖腐情形，接種 167 天後，黃點病徵更加明顯，而局部莖腐部位則呈乾枯(圖 23B)。

2. 第二次試驗：共有五種處理，皆使用金鋼砂菌泥接種法，並置於 23°C 光照定溫生長箱中觀察病徵之發展，在接種 3 週後，即除去表面之金鋼砂菌泥，結果於接種 62 天後可觀察到金鋼砂加黑色菌株 CH17 菌泥者之枝條表面產生黃點病徵(圖 24)，於後續觀察發現部份枝條有局部莖腐之產生，而其他非黑色菌株之接種結果其枝條皆無黃點之產生，顯示皆不具病原性。

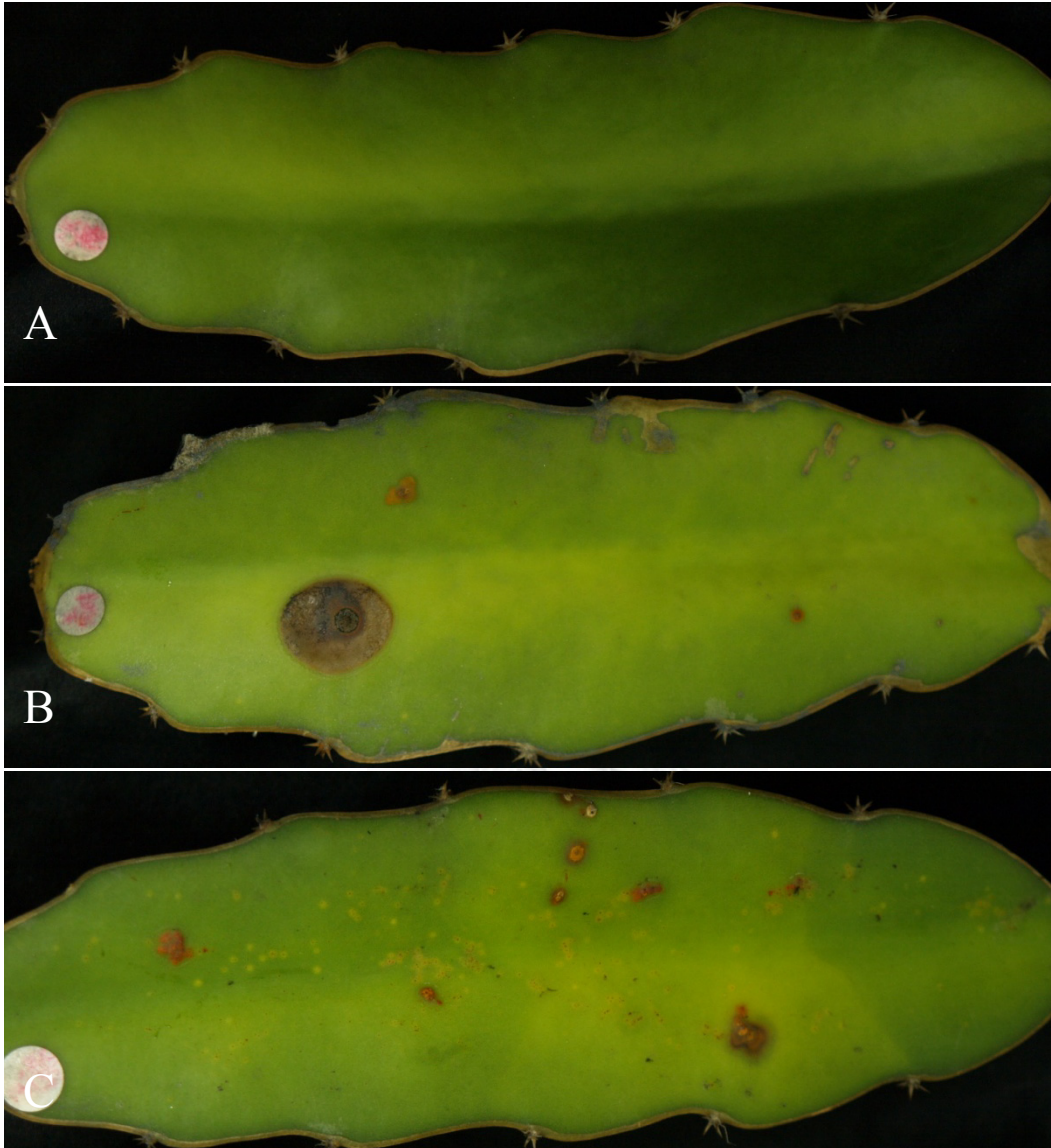


圖 22、紅龍果莖部分離所得黑色菌株以金鋼砂磨擦接種 63 天後之發病情形：(A) 對照組，(B)先以金鋼砂磨擦後再以菌絲塊磨擦接種者，出現之紅點、黃點及潰瘍斑，(C)金鋼砂混合 5 黑色菌株之菌泥塗抹接種者，可發現有大量黃點及紅點。

Figure 22. The symptom development of pitaya stem canker after 63 days by carborundum-scrubbing inoculation method: (A) Control, (B) pitaya stem scrubbed with carborundum then inoculated with mycelium pellet, showing red spots, yellow spots and canker, (C) pitaya stem inoculated with mixture of carborundum and mycelium pellet of 5 black isolates, showing numerous yellow spots and red spots.



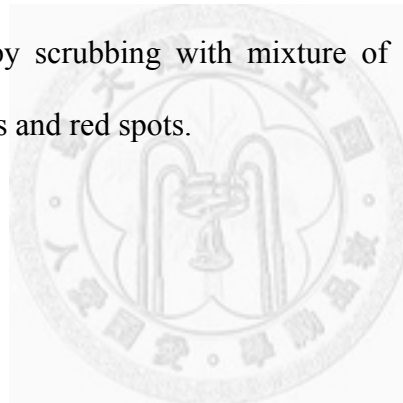
圖 23、紅龍果莖部分離所得黑色菌株以金鋼砂磨擦接種 167 天後之發病情形：(A) 對照組，(B) 金鋼砂混合 5 黑色菌株之菌泥塗抹接種者，產生黃點、紅點、潰瘍斑及局部莖腐。

Figure 23. The symptom development of pitaya stem canker after 167 days by carborundum-scrubbing inoculation method: (A) Control, (B) pitaya stem inoculated with mixture of carborundum and mycelium pellet of 5 black isolates, showing yellow spots, red spots, canker, and stem rot.



圖 24、紅龍果莖部分離所得黑色菌株 CH17 以金鋼砂混合菌泥磨擦接種 62 天後，枝條表面產生黃點及紅點。

Figure 24. The symptom development of pitaya stem canker after 62 days of inoculation with black isolate CH17 by scrubbing with mixture of carborundum and mycelium pellet, showing yellow spots and red spots.



(四)紅龍果莖部分離株之孢子懸浮液表面噴灑接種法

以無菌水洗下於 PDA 上培養 14 天之 CH17 分離株，使用血球計數器計算其孢子濃度約為 8.3×10^6 conidia / mL，以無菌水稀釋 10 倍，調成濃度為 8.3×10^5 conidia / mL，置於加壓噴瓶中，均勻噴灑於枝條表面，接種後置於透明保濕盒中觀察，發病之定義為產生田間紅龍果潰瘍病之黃點病徵。結果於接種 3 天後即可看到部分枝條表面產生細小紅點斑，接種 8 天後枝條表面可見到明顯之紅點及黃點病斑，接種 14 天後其病斑更為明顯，且有少數衍生周圍變黃、局部莖腐之情形(圖 25H)，而對照組則未產生任何典型病徵(圖 25A~D)。



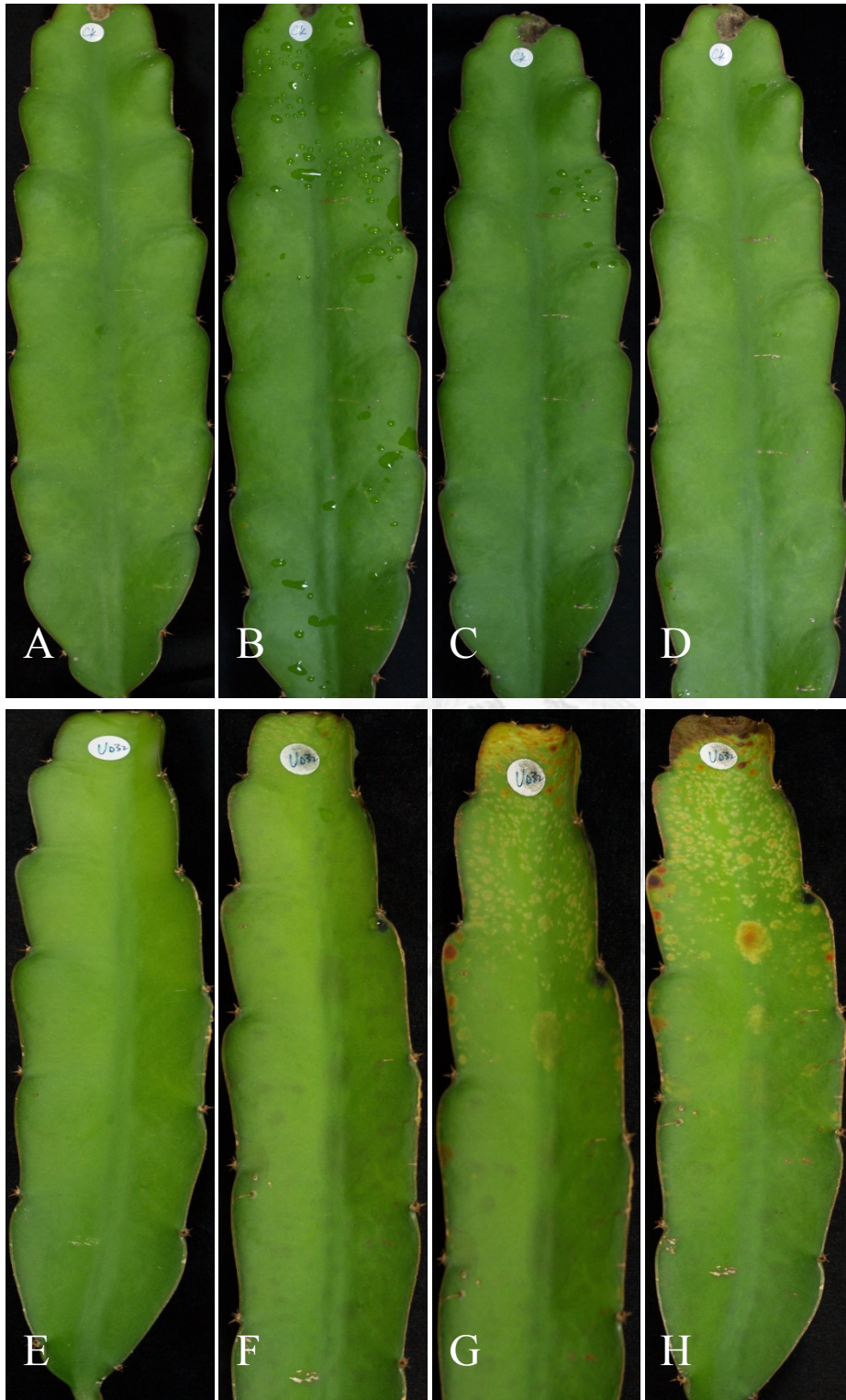


圖 25、紅龍果莖部分離所得黑色菌株 CH17 孢子懸浮液表面噴灑接種之結果。對照組(A, B, C, D)皆無異狀，(A)為處理前，(B)為處理 8 天後，(C)為 14 天後，(D)為 17 天後。接種 CH17 者，枝條表面產生黃點、紅點、潰瘍及局部莖腐之病徵，(E)為接種前，(F)為接種 8 天後，(G)為 14 天後，(H)為 17 天後。

Figure 25. The symptom development of pitaya stem canker after different days of inoculation with black isolate CH17: The control (A, B, C, D) remain health, (A) Before spray, (B) 8 days after spray, (C) 14 days, (D) 17 days. Stem inoculated with CH17, showing yellow spots, red spots, canker and stem rot symptoms. (E) Before spray, (F) 8 days after spray, (G) 14 days, (H) 17 days.



四、人工接種紅龍果莖部潰瘍病菌之病原再分離

為完成柯霍氏法則第四條，所有經針刺接種法、金鋼砂磨擦接種法及孢子懸浮液噴灑法等所產生之紅龍果莖部潰瘍病病斑，皆利用前述之稀釋分離法進行病原再分離。其結果如表 11，並分述如下：

1. 花蓮縣玉里鎮組織塊分離株針刺接種之再分離結果：即取表 8 接種發病之病斑進行再分離結果，共 20 個分離點之培養皿中有 5 皿未分得任何病菌，其餘 15 皿皆長出黑色菌株，再分離率為 75%。

2. 潰瘍病斑稀釋分離株針刺接種之再分離結果：即取表 9 接種發病之病斑進行再分離結果，共 20 個分離點之培養皿中有 3 皿未分得任何病菌，另外 3 皿只長細菌，其餘 14 皿皆長出黑色菌株，再分離率為 70%。

3. 重複潰瘍病斑稀釋分離株針刺接種之再分離結果：即取表 10 接種發病之病斑進行再分離結果，共 20 個分離點之培養皿中皆長出黑色菌株，其中有 3 皿混有一些細菌菌落，再分離率為 100%。

4. 金鋼砂磨擦接種法之再分離結果：即取圖 24 接種發病之病斑進行再分離結果，共 20 個分離點之培養皿皆帶有少數細菌菌落，這些細菌菌落之型態皆不一樣，其中 12 皿長出真菌，經純化後，其中 5 皿長出黑色之菌株，其餘 7 皿各為型態不一之其他菌株，再分離率為 25%。

5. 孢子懸浮液噴灑接種法之再分離結果：即取圖 25 接種發病之病斑進行再分離結果，共 20 個分離點之培養皿皆帶有少數細菌菌落，這些細菌菌落之型態皆不一樣，其中 6 皿長出真菌，經純化後，此 6 皿皆長出黑色之菌株，再分離率為 30%。

表 11 紅龍果莖部潰瘍病之病原再分離結果。

Table 11. The reisolation result of pitaya stem canker isolates after pathogenicity tests.

原接種試驗 Pathogenicity tests	斑點數 Number of spots	黑色菌株 Number of the black isolates	黑色菌株之再分離率 (%) Reisolation rate of the black isolates (%)
表 8 花蓮黑色菌株 CH17 針刺接種 發病株	20	15	75
表 9 黑色菌株針刺接種發病株	20	14	70
表 10 黑色菌株針刺接種發病株	20	20	100
圖 24 金鋼砂磨擦接種發病株	20	5	25
圖 25 孢子懸浮液噴灑接種發病株	20	6	30



五、紅龍果莖部潰瘍病分離株之鑑定

(一)紅龍果莖部潰瘍病菌 DNA 片段之 PCR 增幅及 ITS 序列分析

經病原性測試後，將確定擁有病原性之黑色菌株 CH17，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、ITS5 進行 PCR 增幅後所得之電泳圖譜如圖 26，得到大小約為 1000 bp 之 DNA 片段，經 ITS4 端及 ITS5 端序列分析得到兩條 DNA 序列，將兩條序列 alignment 除錯後得到大小為 864 bp 之 DNA 序列，如圖 27，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 12，與 *Neoscytalidium dimidiatum* (Acession# FJ648577.1)相似度高達 99%且分數也是最高。

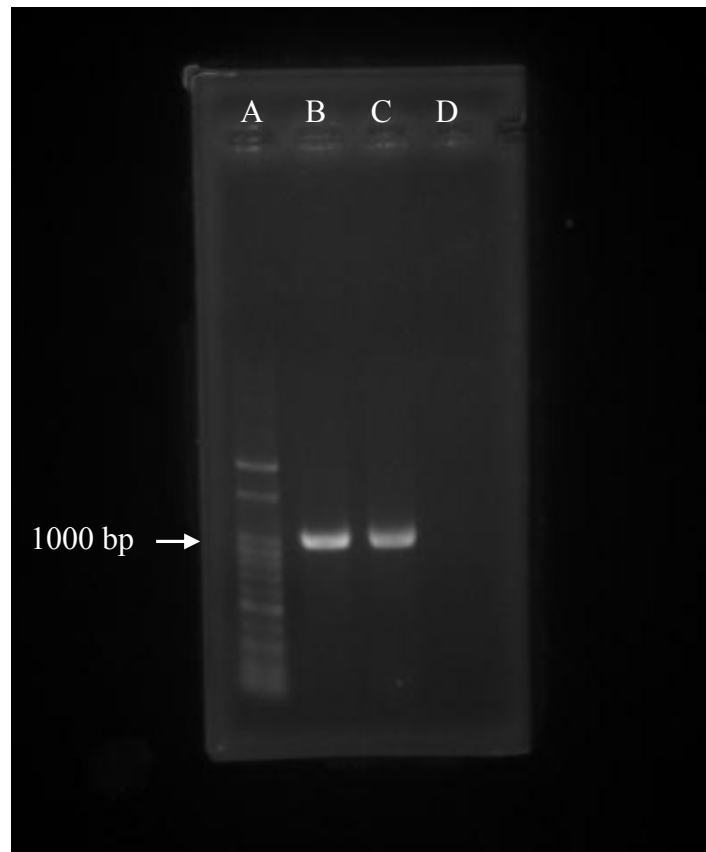


圖 26、以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅黑色菌株 CH17 之 DNA 片段電泳圖譜。A 欄為分子記號，B 及 C 欄為 CH17 之 PCR 增幅片段，D 欄為對照組。

Figure 26. Electrophoresis pattern of CH17 PCR products which use primer ITS4 and ITS5 to amplify. A column is molecular marker, B and C column are PCR products of CH17, D column is control.

1 AAAAGGTTTCGTCCGGCGGGCGGGCGCCGTGCGCTCCAAAGCGAGGTGTTTT
51 CTACTACGCTCGAGGCAAGACGCCACCGCCGAGGTCTTCGAGGCGCGCCC
101 GCGGAAGGGCGGTGCCCAACACCAAGCAGAGCTTGAGGGTTGTGATGACG
151 CTCGAACAGGCATGCCCCTCGGAATACCGAGGGGCGCAATGTGCGTTCAA
201 AGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTC
251 GCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTT
301 TAGTTTATTGATTGTTTTTCAGACGGCAACGTTCACTGACCGGAGTTTGA
351 TGGTCCTCTGGCGGGCGCTGGCCACCCCCGGACGGAGGGCGGCCGCGGA
401 GGACCGCGGCCCGCCAAAGCAACAGAGGTGGGTACACAAAGGGTGGGAGG
451 ATCGGGCCGGAGCCCGAATCAACTCGGTAATGATCCTTCCGCAGGTTTAC
501 CTACGGAACGGCTCTCGTCGCAGTGACTTACCCCCAGCTTTCGCTGGGG
551 GCCCGACTATATCTTAAGCGCGGCCGGGAGGCCGCACCCACTTCCACTTA
601 GTCTGTGAACCTTCCCCGTATCCAGGCCGGCTGGACGTAGGGGCTTGGCT
651 GCGGATCGTCCAATCTCTACACCGTTCTTACCGCACCCCGTGCCGTTAAC
701 ACGGGCCCCCGCGAGGTTTCCCCCGCGGGTTGGTAGGCAGAGCTCTAAGG
751 ATGTCCCCGCAATTCGAAAGTGTCGCCGGCCCCGCAGGCCGACTTGCGAGT
801 CCCCTTTGTTTTATAGTCGCGGGGCATCTCCCTCTTGCGAGGGGCGCATT
851 TCAAGGCTTCGATA

圖 27、黑色菌株 CH17 以引子對 ITS4/ITS5 進行 PCR 增幅後所得之 DNA 序列。

Figure 27. DNA sequences of CH17 PCR products which use primer ITS4 and ITS5 to amplify.

表 12 黑色菌株 CH17 以引子對 ITS4/ITS5 經 PCR 增幅所得之 DNA 序列至 NCBI 網站基因庫比對之結果。

Table 12. The identification result of CH17 DNA sequences submitted to NCBI gene bank.

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
FJ648577.1	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	1585	1585	100%	0.0	99%
FM211431.1	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	1480	1480	93%	0.0	99%
FM211430.1	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	1480	1480	93%	0.0	99%
FM211427.1	<i>Scytalidium hyalinum</i>	1480	1480	93%	0.0	99%
FM211428.1	<i>Scytalidium hyalinum</i>	1480	1480	93%	0.0	99%
JF271754.1	<i>Neofusicoccum mangiferae</i>	1474	1474	100%	0.0	97%
FM211450.1	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	1474	1474	93%	0.0	99%
FM211449.1	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	1474	1474	93%	0.0	99%
FM211448.1	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	1474	1474	93%	0.0	99%
FM211447.1	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	1474	1474	93%	0.0	99%

(二)病原菌之形態學鑑定

本研究所得引起紅龍果莖部潰瘍之黑色菌株，經比對 *Neoscytalidium dimidiatum* 相關分類鑑定之文章或書籍，得知 Crous *et al.* (2006)發表之 Botryosphaeriaceae 親緣性分析及 Pavlic *et al.* (2008)發表之論文，說明 *Neoscytalidium* 屬之下目前列有 2 種 *N. novaehollandiae* 和 *N. dimidiatum*，兩種之差異僅在分生孢子，即 *N. novaehollandiae* 上有磚格形(muriform)、*Dichomera*-like 之分生孢子，其餘形態特徵皆同(Pavlic *et al.*, 2008)。而本屬之鑑定特徵為具氣生菌絲並產生成串之節生孢子，其節生孢子為圓柱形、鈍橢圓形或甕形，深褐色，厚壁，0 至 2 個隔膜(Crous *et al.*, 2006)。

而本研究中 CH17 之 PDA 培養亦皆可發現菌落初期呈白色，待長滿培養皿即由菌落中間開始向外變黑，最後全菌落及培養基皆變黑。於顯微鏡下觀察可發現此些氣生菌絲於生長初期已具明顯分隔，即為無色節生孢子(圖 28)，而在變黑之菌中皆可觀察到褐色菌絲及褐色節生孢子($8.33 \pm 1.08 \times 4.13 \pm 0.90 \mu\text{m}$)(圖 29)。故經比對及請臺大植微系 曾顯雄教授確認後，證明 CH17 之特徵與 Crous *et al.* (2006) 所發表者相同，即為 *Neoscytalidium* 屬。

另如圖 24 以 CH17 進行金鋼砂接種產生病徵之枝條，經橫切剝除部分表皮，發現可長出柄子殼如圖 30。將此些柄子殼($866 \pm 237 \times 142 \pm 31 \mu\text{m}$)取下於顯微鏡觀察，可發現其 Conidiogenous cells(圖 31A)及分生孢子($12.82 \pm 1.44 \times 5.44 \pm 0.70 \mu\text{m}$) (圖 31B)。其分生孢子為橢圓形至卵形，端點為圓形，0-1 個隔膜，經比對相關論文之描述及圖片，因未見磚格形分生孢子，故此 CH17 黑色菌株可鑑定為 *Neoscytalidium dimidiatum*。

另一方面，發現從針刺接種法所得發病之枝條，在後續觀察中可發現產生圖 32A 所示之黑色小點，且可黏貼到與上述 *N. dimidiatum* 相同之分生孢子(圖 32B)，故判斷黑色小點應為柄子殼。

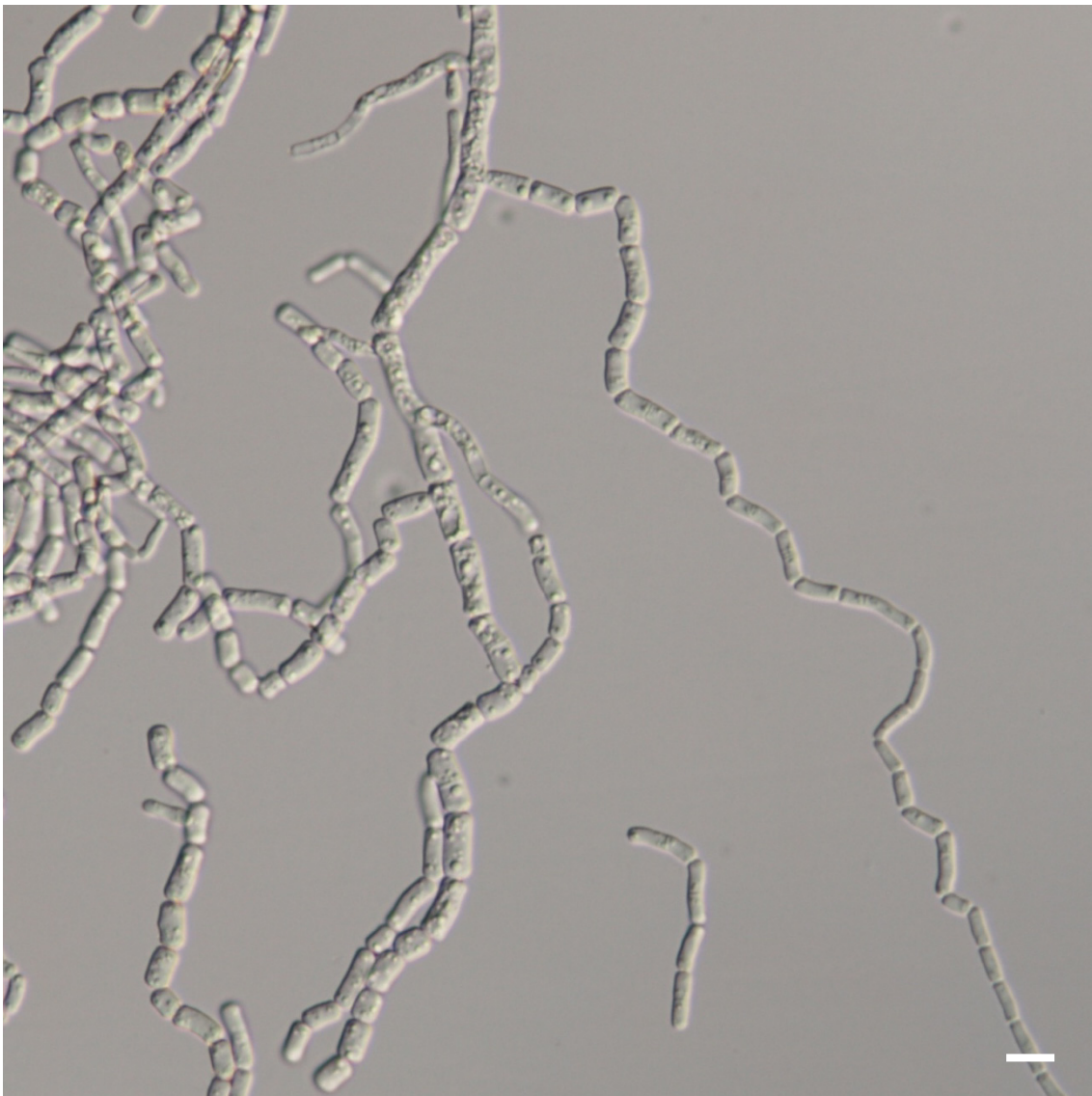


圖 28、臺灣紅龍果莖部潰瘍病病菌 CH17 在 PDA 上生長初期之無色菌絲及無色節生孢子。(Bar = 10 μm)

Figure 28. Young hyaline hyphae and hyaline arthroconidia of isolate CH17 of pitaya stem canker pathogen on PDA medium. (Bar = 10 μm)



圖 29、臺灣紅龍果莖部潰瘍病病菌 CH17 於 PDA 上生長後期之褐色菌絲及褐色節生孢子。(Bar = 10 μm)

Figure 29. Mature brown hyphae and brown arthroconidia of isolate CH17 of pitaya stem canker pathogen on PDA medium. (Bar = 10 μm)

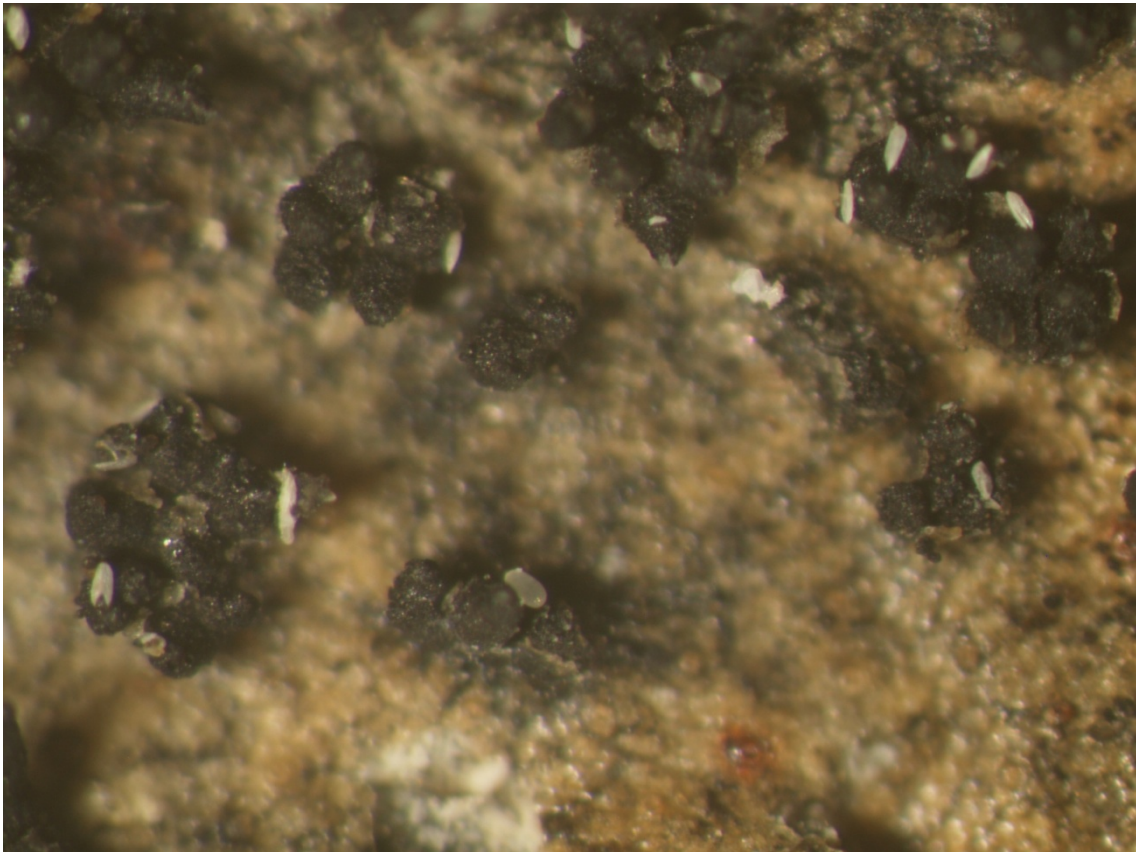


圖 30、紅龍果莖部潰瘍病病菌 CH17 以金鋼砂磨擦接種發病之枝條可生出 *Neoscytalidium dimidiatum* 之柄子殼。

Figure 30. Pycnidia of *Neoscytalidium dimidiatum* developed on surface of diseased pitaya stem after inoculation with CH17 by carborundum-scrubbing inoculation method .

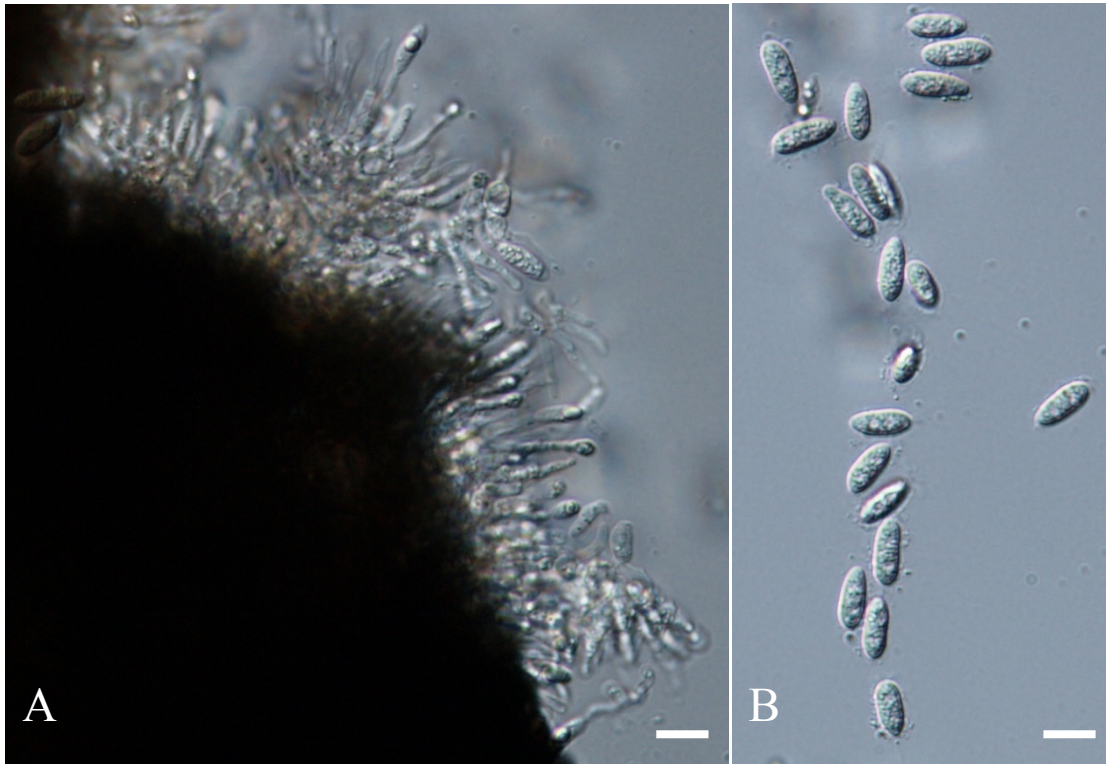


圖 31、*Neoscytalidium dimidiatum* 柄子殼內之 Conidiogenous cells (A)，及分生孢子 (B)。(Bar = 12 µm)

Figure 31. The conidiogenous cells in the pycnidia of *Neoscytalidium dimidiatum* (A), and conidia (B). (Bar = 12 µm)

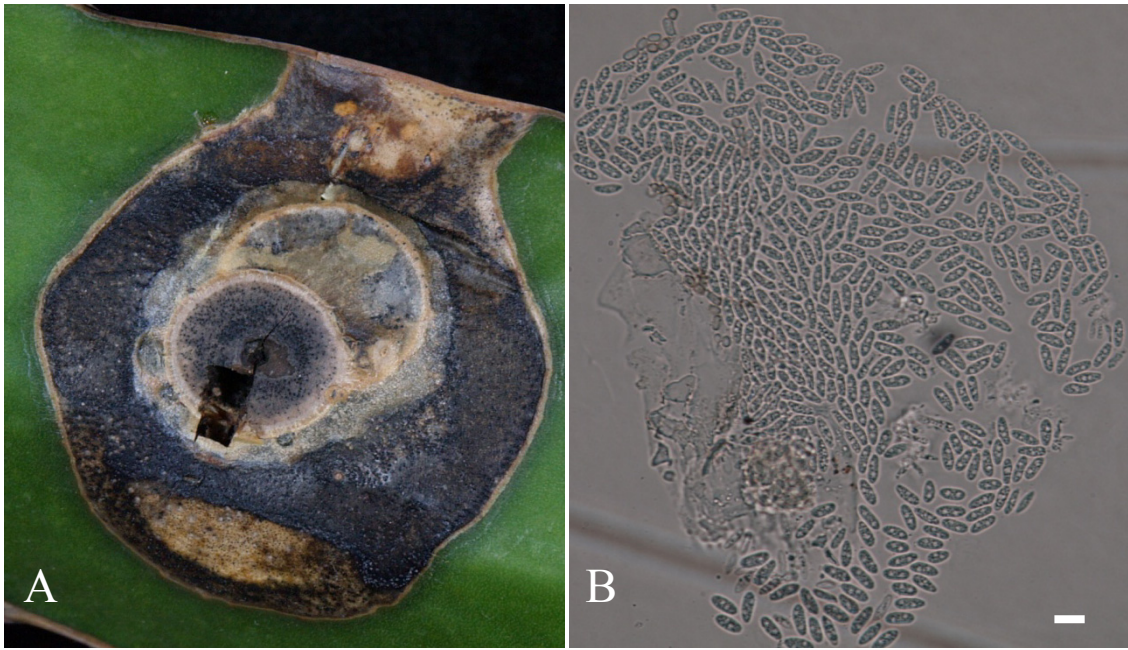


圖 32、紅龍果莖部潰瘍病病菌 *Neoscytalidium dimidiatum* 以針刺接種法發病後出現之黑色莖腐塊斑(A)，其含有甚多黑色柄子殼(圖中之方型缺口為再分離時所產生)，而利用透明膠帶黏貼此一黑色塊斑表面可觀察到大量之分生孢子(B)。(Bar = 12 μ m)

Figure 32. The black rot spot on pitaya stem after inoculation with stem canker pathogen, *Neoscytalidium dimidiatum*(A), showing numerous black pycnidia on it, with numerous conidia under microscope on adhesive tape (B). (Bar = 12 μ m)

六、溫度對紅龍果莖部潰瘍病菌生長速度之影響

本試驗於 15、20、25、30、35、40°C 共 6 種溫度下，比較四株經病原性測試得知具有病原性之分離株 CH17、CH21、CH26、CH28 及兩株於繼代培養時發現之變異株 CH17-x、CH21-x，結果如表 13 及圖 33。發現除了 CH21-x 變異株外，所有分離株皆可於 40°C 下生長。而所有分離株於 30°C 或 35°C 下生長速度最快，但變異株之生長速度皆較慢。

表 13 紅龍果莖部潰瘍病菌分離株在不同溫度下之生長速度。

Table 13. Growth rate of pitaya stem canker disease isolates under different temperature.

分離株 Isolate	菌絲生長速度(cm/day)* Growth rate of hyphae (cm/day)					
	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C
CH17	0.114 _b	0.610 _a	0.901 _b	1.180 _{bc}	1.150 _{bc}	0.726 _b
CH21	0.070 _c	0.493 _{ab}	1.128 _a	1.628 _a	1.656 _a	0.812 _b
CH26	0.019 _d	0.213 _c	0.801 _b	1.371 _b	1.532 _a	0.989 _a
CH28	0.166 _a	0.606 _a	1.164 _a	1.239 _{bc}	1.288 _b	0.874 _{ab}
CH17-x	0.000 _d	0.108 _c	0.420 _c	0.684 _d	0.328 _d	0.158 _c
CH21-x	0.028 _d	0.442 _b	0.810 _b	1.053 _c	1.107 _c	0.000 _c

*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)。

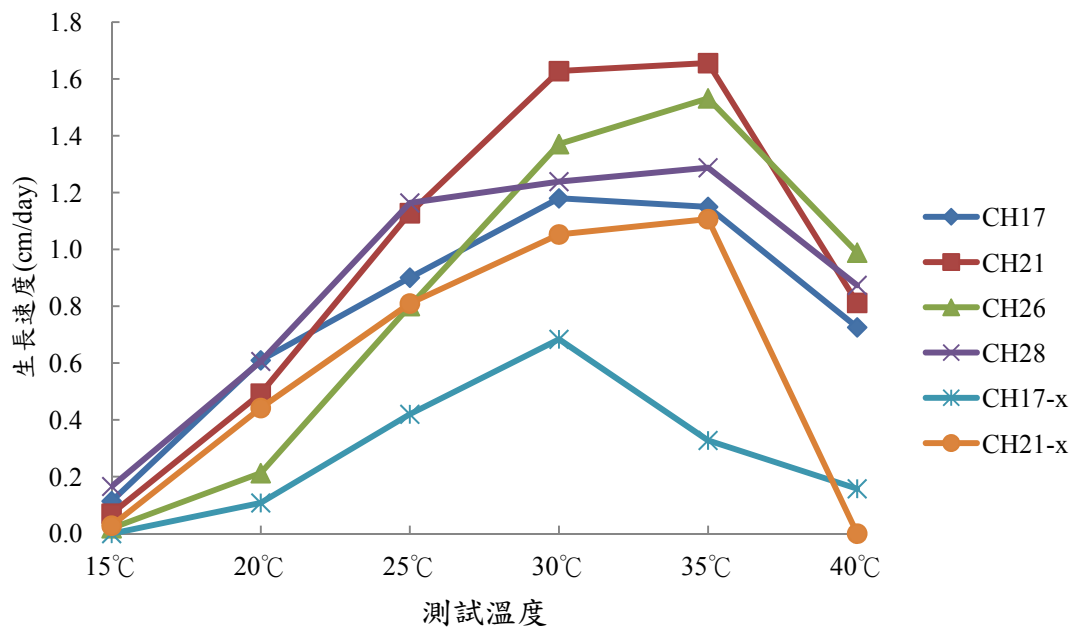
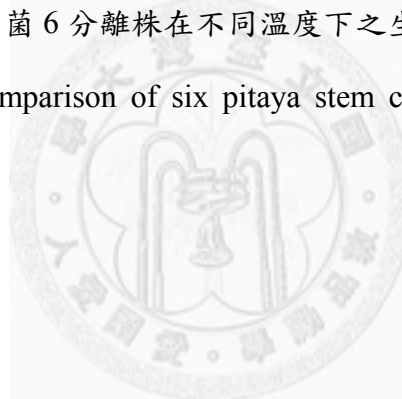


圖 33、紅龍果莖部潰瘍病菌 6 分離株在不同溫度下之生長速度比較。

Figure 33. Growth rate comparison of six pitaya stem canker disease isolates under different temperature.



七、藥劑對紅龍果莖部潰瘍病菌防治測試

選取五種防治子囊菌真菌類病害之藥劑：待克利、菲克利、亞托敏、免賴得及甲基多保淨。依照其建議稀釋倍數各加入 PDA 使其各含 24.9%待克利乳劑 3000 倍(83 ppm)、23%菲克利水懸劑 4000 倍(57.5 ppm)、23%亞托敏水懸劑 2000 倍(115 ppm)、50%免賴得可濕性粉劑 1000 倍(500 ppm)及 70%甲基多保淨可濕性粉劑 1000 倍(700 ppm)之藥劑。其菌絲生長抑制率係等對照組長滿 PDA 培養皿後，量取尚未長滿之實驗組，分別扣除原有菌落直徑再依下列公式計算之：

$$\text{菌絲生長抑制率} = \frac{\text{對照組} - \text{藥劑組}}{\text{對照組}} \times 100\%$$

本項試驗結果如表 14、表 15 及圖 34，發現 5 種藥劑中以 24.9%待克利乳劑 3000 倍(83 ppm)及 23%菲克利水懸劑 4000 倍(57.5 ppm)，對所有分離株抑制菌絲生長的能力最強，皆達 95%，而 50%免賴得可濕性粉劑 1000 倍(500 ppm)對於所有分離株之菌絲生長抑制率皆達 94%以上，另 70%甲基多保淨可濕性粉劑 1000 倍(700 ppm)對菌絲生長之抑制率可達 83%以上。唯有 23%亞托敏水懸劑 2000 倍(115 ppm)對於本次試驗所有分離株之菌絲生長抑制效果較低，抑制率最高僅達 52%。

表 14 紅龍果莖部潰瘍病菌分離株於各藥劑培養基之菌落大小。

Table 14. The colony size of pitaya stem canker disease isolates in different fungicide medium.

分離株 Isolate	菌落半徑(cm)* The radius of colony (cm)					
	83 ppm 待克利	57.5 ppm 菲克利	115 ppm 亞托敏	500 ppm 免賴得	700 ppm 甲基多保淨	PDA
CH17	0.082 _a	0.204 _a	3.661 _a	0.213 _a	0.656 _a	3.790 _a
CH21	0.000 _b	0.000 _c	2.000 _c	0.000 _c	0.351 _c	2.540 _b
CH26	0.000 _b	0.101 _b	2.013 _c	0.108 _b	0.695 _a	4.201 _a
CH28	0.092 _a	0.130 _b	2.494 _b	0.088 _b	0.462 _b	3.685 _a

*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 15 各藥劑對於紅龍果莖部潰瘍病菌分離株之菌絲生長抑制率。

Table 15. The inhibition rate of different fungicide to pitaya stem canker disease isolates.

分離株 Isolate	菌絲生長抑制率(%) Inhibition rate (%)					
	83 ppm 待克利	57.5 ppm 菲克利	115 ppm 亞托敏	500 ppm 免賴得	700 ppm 甲基多保淨	PDA
CH17	98	95	3	94	83	0
CH21	100	100	21	100	86	0
CH26	100	98	52	97	83	0
CH28	98	96	32	98	87	0

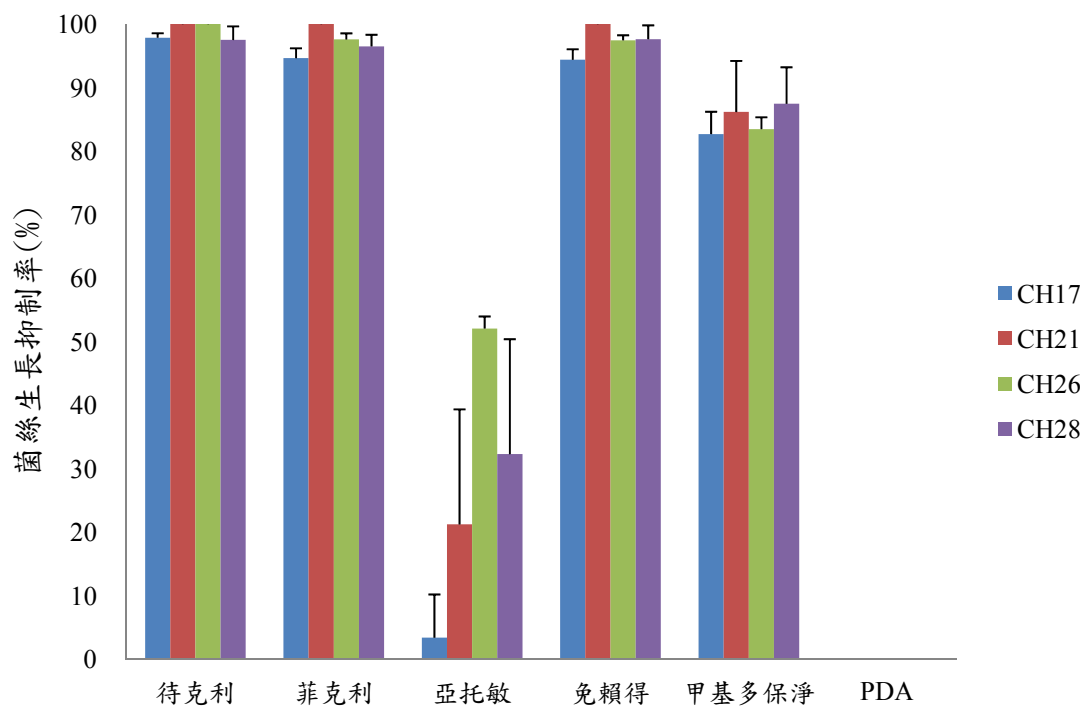


圖 34、各藥劑對於紅龍果莖部潰瘍病菌分離株之菌絲生長抑制率比較圖。

Figure 34. Comparison of inhibition rate of different fungicide to pitaya stem canker disease pathogen isolates.

第五章 討論

一、紅龍果莖部病害之田間調查

紅龍果莖部不明黃點病已經在臺灣各地紅龍果果園猖獗多年，但過去一直缺乏較有系統之研究，是以本研究自 2011 年夏天起，即至宜蘭、花蓮、南投、彰化、雲林等地進行病害調查。結果發現除了宜蘭地區的紅龍果果園尚未發現莖部潰瘍病，其餘 4 縣皆已發現紅龍果莖部潰瘍病之蹤跡，但在南投鹿谷鄉及信義鄉中海拔之紅龍果植株也未發現莖部潰瘍病，推斷可能是該處氣溫較低，不利病害之發生。

本病之病徵較複雜，包含黃點、紅點、潰瘍甚至局部莖腐之病徵，唯依據本研究病原分離及病原性測定之結果，可確認黃點、紅點、潰瘍病斑及紅心黃點等皆為同一病害，而以紅點斑為關鍵病徵，其紅心之大小應是病原入侵、病勢發展速度不一所導致。此與嘉義農業試驗分所 Chuang *et al.* (2012)對本病病徵之描述，亦屬一致。

從田間病徵之分佈(如圖 5)，可發現紅龍果莖部潰瘍病之病徵常呈現淚斑狀或連續緊臨分佈之情形，故可推測此病害應是由病原菌所引起，且可藉由雨水傳播。

有關本病局部莖腐之情形，可能與另一由 *Pantoea* sp.、*Fusarium* sp.等混合感染造成之莖腐病(stem rot)(蔡，2004)有些混淆。唯本研究發現莖部潰瘍病亦會擴展成局部莖腐，只是並非百分之百，且再分離率並非 100%，故無法排除其他微生物二次感染或病原菌之複合感染，此似有待後續更多之研究以求確認。

有關莖部潰瘍病是否會感染果實的問題，依據花蓮縣玉里鎮李清秋先生之述說，認為本病可在病株之果實產生紅心黃點病徵(如圖 6)，發病嚴重時且會造成腐爛，而此一問題在本論文中尚未完全釐清，即有待後續之研究。

二、紅龍果莖部潰瘍病之病原分離及初步鑑定

由於本病病徵包含黃點(紅心黃點)、紅點、潰瘍及莖腐，故本研究最開始自各類型之病徵進行分離，但初步以組織塊分離所得之病原十分紛歧，故乃進一步以稀釋分離法對每一病斑之每一部位進行詳細之分離，但最後確認「黑色菌株」之分離率確實偏低，這是本病一大特點。

雖然本病之分離率常不一致，但每次分離所得仍以黑色菌株所佔之比例最高，如在組織塊分離中可達47%(表2)，而在稀釋分離法中(表3)潰瘍斑可分離到50%，紅心黃點卻只有5%，莖腐斑亦只有5%。

由於上述之黃點(紅心黃點)已確認是本病所引起，但其分離率卻只有5%，推論在黃點病斑上之病原菌數量可能不多，可能是受到紅龍果本身之防禦機制所抑制，此一黃點初期病徵可能發展甚慢，似可佐證其受寄主防禦之情形。而本病之潰瘍斑可能為病原菌突破紅龍果防禦機制後所產生之病徵，故其病原分離率較高，可達50%，但仍非100%，亦顯示本病病原並非非常強勢。

因如上述只有潰瘍斑之病原分離率最高，故本研究針對緊臨潰瘍斑之下方莖部組織進行稀釋分離，結果發現其病原分離率皆為0%(如表3，表6)，此亦可說明本病病原無法穿越潰瘍病斑以外之組織，亦說明其為非強勢之病菌。

三、紅龍果莖部斑點分離株之病原性測試

如同前述，本病之病徵可包含黃點、紅點、潰瘍及莖腐四種，而病原菌在此4類病斑上之分離率只有在潰瘍斑上較高，故本病之病原性測試十分重要。經以針刺接種法、金鋼砂接種法及孢子懸浮液噴灑接種，發現皆可產生典型病徵，加上其後之再分離也皆有相當可信之再分離率(如表11)，故本病之柯霍氏法則驗證應已完成，即可確信所分離到之黑色菌株即為本病之病原菌。

本研究最初以針刺接種法接種時，產生之主要病徵為紅點及潰瘍，加上少數有局部莖腐。推斷針刺接種法無法產生黃點之原因是因為針刺傷口較大(1 mm)，

不似金鋼砂磨擦接種法之傷口極微小，而孢子懸浮液噴灑接種時甚至連傷口都沒有，故在後二法皆可產生初期之黃點斑，針刺接種法則無。

本病以針刺接種之發病速度似依氣溫而異，在第一次試驗於 2012 年 2 月 16 日進行時，因氣溫較低，平均氣溫約 16°C，故發病需約 14 天。而後兩次試驗之時間 2012 年 3 月底及 2012 年 4 月，當時天氣溫暖，平均氣溫約 23°C，因此發病較快速，約 3~4 天可發生紅點及潰瘍之病徵，與溫度對菌絲生長結果比較，可知溫度較高時發病快速，溫度較低時則發病緩慢。

本病以金鋼砂磨擦接種健康紅龍果枝條後，可產生與田間紅龍果莖部潰瘍病株相同之黃點、紅點、潰瘍及莖腐斑病徵，因金鋼砂造成的傷口極小，故可用以模擬田間機械傷口導致病原入侵之情形。但用金鋼砂磨擦接種產生病徵之時間長達 60 天，原因可能為溫度偏低及相對濕度偏低所致，因此一試驗皆於定溫生長箱中進行，當時之溫度皆為 23°C，此與後來溫度試驗所得之最適生長溫度 30°C 或 35°C 相差甚遠，且接種後之保濕盒皆未完全密閉，相對濕度僅約 30%，因此發病速度緩慢，相對於孢子懸浮液噴灑法將接種莖段置於高濕透明保濕盒，溫度 28°C，發病速度即約 3 至 8 日可見初期病徵。

本研究進行孢子懸浮液接種試驗時已先完成溫度試驗，故將生長箱溫度調到 30°C(但實際上電子式溫濕度計顯示為 28°C)，並將保濕盒密閉，使相對溼度達 100%，且全程不照光(因為紅龍果屬於 CAM 型植物，氣孔於黑暗中開啟)。經由此法可得知黑色菌株可經由氣孔侵染紅龍果，並且發病快速，於上述環境下接種 3 天後即可觀察到部分枝條表面有微小紅點產生，於後續觀察中逐漸產生黃點、紅點、潰瘍及局部莖腐之病徵。

本研究於孢子懸浮液接種時，觀察到其枝條上之黃點病徵似乎較大且不規則，其原因可能與上述高濕、黑暗處理有關，另因孢子懸浮液接種試驗所使用之枝為幼嫩枝條，其防禦能力較低，因此病原菌較易侵入及擴散，產生的黃點亦較大而不規則。

在針刺接種法、金鋼砂磨擦接種法及孢子懸浮液接種法之後，皆可觀察到局部莖腐之發生(其比例約為 10~20%)，因孢子懸浮液接種沒有製造傷口，故可確定黑色菌株侵染確實可造成莖腐。而另兩種接種方式皆有人為傷口，故難以排除其他腐生菌造成局部莖腐之可能性。

四、人工接種紅龍果莖部潰瘍病菌之病原再分離

本研究經針刺接種法、金鋼砂磨擦接種法及孢子懸浮液噴灑法等所產生之紅龍果莖部潰瘍病病斑，經再分離皆可獲得原接種之黑色菌株，故可完成柯霍氏法則之驗證，確定黑色菌株為紅龍果莖部潰瘍病之病原菌。

上述針刺接種法之再分離率可達 70%，而金鋼砂磨擦接種法選取黃點病徵進行再分離時，僅有 25%之再分離率，且孢子懸浮液噴灑接種法選取黃點病徵進行再分離時，亦僅有 30%之再分離率，故推測其分離率低之原因與其屬初期病徵有關，因黃點之分離率本就偏低。

五、紅龍果莖部潰瘍病分離株之鑑定

經由分子鑑定及型態鑑定，可以確定黑色菌株 CH17 分離株為 *Neoscytalidium dimidiatum*，然而其他黑色菌株分離株僅由型態鑑定確認屬於 *Neoscytalidium* 屬，尚未分別培養其柄子殼，觀察其分生孢子型態，故無法確認種名。依目前各黑色菌株在菌落型態、培養特性上並未發現有特別之差異，且本病為新病害，故推測臺灣目前之紅龍果莖部潰瘍病皆是由 *N. dimidiatum* 所引起的。

六、溫度對紅龍果莖部潰瘍病菌生長速度之影響

從溫度試驗結果可以得知此病原菌在 30°C 及 35°C 菌絲生長速度最快，於 40°C 之環境下，病原菌仍可持續生長，15°C 時菌絲生長速度緩慢。因此推測紅龍果莖部潰瘍病於夏天高溫時發生較嚴重，於冬天時發病將較緩慢或靜止。

七、藥劑對紅龍果莖部潰瘍病菌防治測試

從藥劑試驗結果可得知待克利及菲克利對於病原菌菌絲生長之抑制效果最佳，作者利用游標尺初期測量時認為菌絲可生長，於後來試驗觀察發現這些菌絲完全不會於培養基上繼續生長，僅是從原接種菌絲塊上稍為向外生長，落於培養基上後即停止生長，故測量這些數據時會有偏差，如圖 34 及表 14、15 中可見待克利及菲克利有非 100%抑制的結果，但其實應該是 100%之抑制菌絲生長。

而在試驗中另發現待克利培養基中之原接種菌絲塊上會產生大量氣生菌絲，但菲克利培養基中之原接種菌絲塊就無此情形發生，推測菲克利較易於 PDA 上移動至原接種菌絲塊上，抑制菌絲之生長。

免賴得對於病原菌絲生長抑制效果在初期效果十分良好，抑制率高達 100%，但大約在試驗後 48 小時，發現各病原菌分離株開始逐漸向外生長，克服免賴得之抑制效果，其原因仍待未來之探討。

甲基多保淨雖然對菌絲生長有一些抑制效果，但效力較差，因此病原菌可於其上緩慢生長。於免賴得及甲基多保淨之培養皿上可觀察到病原菌菌絲生長非常濃密且白，於菌落中央已有變黑之情形。

亞托敏對病原菌之抑制效果最差，抑制率最高只達 52%，可能因為亞托敏之作用機制為藉由阻礙位於 ubiquinol oxidising 位置中的 cytochrome b 和 cytochrome c1 傳遞電子作用，進而抑制真菌粒線體呼吸作用(行政院農業委員會藥物毒物試驗所，2011；李，2007)，而本研究之病原菌或許擁有其他酵素可替代亞托敏抑制之酵素功能，因此不會受到亞托敏藥劑之強烈抑制，然亞托敏可誘導植物產生系統性抗病，此乃培養基測試無法得知之效果，故未來仍需以田間試驗再次確認(Anand *et al.*, 2007)。

於本藥劑試驗測量初期可發現 CH17 之亞托敏實驗組生長速率快於對照組，但最終仍是對照組先長滿培養皿。而於藥劑試驗中 CH21 之對照組相較於其餘對照組長得較慢，故於預計之實驗時間結束前尚未長滿培養皿，此可能是實驗上的誤差，需要後續進一步之探討。

根據藥劑測試結果，建議未來可選取待克利、菲克利、亞托敏、免賴得或甲基多保淨等藥劑進行田間試驗，找出能有效防治紅龍果莖部潰瘍病之藥劑。然紅龍果相關病蟲害較少，多數紅龍果果園為有機栽培，故未來也需要尋找有效之非農藥防治方法。



參考文獻

1. 王群光。1997。紅龍果的栽培及遠景(上)。豐年半月刊 47: 39-43。
2. 王群光。1999。仙蜜果的魅力-生態平衡栽培法的實踐經驗。台灣仙蜜果事業股份有限公司。台北。290 頁。
3. 王智立、林正忠。2005。紅龍果果腐及仙人掌莖腐病。植病會刊 14: 269-274。
4. 毛青樺。2008。蟹爪蘭 X 病毒與紅龍果 X 病毒之分子特性與偵測。國立臺灣大學植物病理與微生物學研究所碩士論文。105 頁。
5. 行政院農業委員會藥物毒物試驗所。2011。農藥作用機制分類檢索。行政院農業委員會藥物毒物試驗所編印。38 頁。
6. 李雪如。1999。火龍果之栽培繁殖。高雄區農業專訊 28: 3。
7. 李敏郎。2007。植物殺菌劑之使用介紹。台灣健康產業關鍵技術之研發與應用植物保護實務與農藥使用: 121-142。
8. 邱禮弘。2007。國產優良品牌紅龍果生產管理技術作業標準。國產優良品牌蔬果生產管理技術作業標準。行政院農業委員會編印。第 417-428 頁。
9. 邱禮弘。2009。紅龍果有機栽培技術。有機農業產業發展研討會專輯 特刊 96 號。行政院農業委員會臺中區農業改良場編印。第 133-139 頁。
10. 邱禮弘。2010。紅龍果合理化施肥技術。作物合理化施肥專輯 特刊 100 號。行政院農業委員會臺中區農業改良場編印。第 313-314 頁。
11. 邱禮弘。2012。優質紅龍果著果期間的管理事項。臺中區農情月刊 149: 05。
12. 黃乃芸。2009。紅龍果。健康世界 287:73-74。
13. 劉碧鵬。2010。台灣紅龍果的栽培。行政院農業委員會農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所編印。32 頁。
14. 劉命如、洪建龍、劉瑞芬。2004。引起紅龍果斑駁病徵之 *Cactus virus X* 的鑑定與免疫檢測。植病會刊 13: 27-34。

15. 蔡怡芳。2004。紅龍果莖腐病病因之探討。國立屏東科技大學植物保護系碩士論文。121 頁。
16. Anand, T., Raguchander, T., Karthikeyan, G., Prakasam, V., and Samiyappan, R. 2007. Chemically and biologically mediated systemic resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) against *Pseudoperonospora cubensis* and *Erysiphe cichoracearum*. *Phytopathologia Mediterranea* 46: 259-271.
17. Ben-Ze'ev, I. S., Assouline, I., Levy, E., and Elkind, G. 2011. First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel. *Phytoparasitica* 39: 195-197.
18. Chuang, M. F., Ni, H. F., Yang, H. R., Shu, S. L., Lai, S. Y., and Jiang, Y. L. 2012. First report of stem canker disease of pitaya (*Hylocereus undatus*, *H. polyrhizus*) caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan. *Plant Disease* 96(6): 906.
19. Crous, P. W., Slippers, B., Wingfield, M. J., Rheeder, J., Marasas, W. F. O., Philips, A. J. L., Alves, A., Burgess, T., Barber, P., and Groenewald, J. Z. 2006. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. *Studies in Mycology* 55: 235-253.
20. Eulogio, P. B., and Noble, P. S. 1994. Pitaya (*Stenocereus* spp., Cactaceae) : an ancient and modern fruit crop of Mexico. *Economic Botany* 48: 76-83.
21. Masratul Hawa, M., Salleh, B., and Latiffah, Z. 2009. First report of *Curvularia lunata* on red-fleshed dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) in Malaysia. *Plant Disease* 93(9): 971.
22. Masyahit, M., Sijam, K., Awang, Y., and Satar, M. G. M. 2009. First report on bacterial soft rot disease on dragon Fruit (*Hylocereus* spp.) caused by *Enterobacter cloacae* in Peninsular Malaysia. *International Journal of Agriculture and Biology* 11: 659-666.

23. Masyahit, M., Sijam, K., Awang, Y., and Satar, M. G. M. 2009b. In vitro assay of factors affecting the growth of pathogens associated with diseases on dragon fruit (*Hylocereus* spp.) in Peninsular Malaysia. *Plant Pathology Journal* 8(4): 144-151.
24. Nerd, A., Sitrit, Y., Kaushik, R. A., and Mizrahi, Y. 2002. High summer temperatures inhibit flowering in vine pitaya crops (*Hylocereus* spp.). *Scientia Horticulturae* 96: 343-350.
25. Palmateer, A. J., Ploetz, R. C., van Santen, E., and Correll, J. C. 2007. First occurrence of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on pitahaya. *Plant Disease* 91(5): 631.
26. Pavlic, D., Wingfield, M. J., Barber, P., Slippers, B., Hardy, G. E. St. J., and Burgess, T. I. 2008. Seven new species of the Botryosphaeriaceae from baobab and other native trees in Western Australia. *Mycologia* 100(6): 851-866.
27. Polizzi, G., Aiello, D., Vitale, A., Giuffrida, G., Groenewald, J. Z., and Crous P. W. 2009. First report of shoot blight, canker, and gummosis caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on citrus in Italy. *Plant Disease* 93(11): 1215.
28. Taba, S., Miyahira, N., Nasu, K., Takushi, T., and Moromizato, Z. 2007. Fruit rot of strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. *Journal of General Plant Pathology* 73: 374-376.
29. Takahashi, L. M., Rosa, D. D., Basseto, M. A., de Souza, H. G., and Furtado, E. L. 2008. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* on *Hylocereus megalanthus* in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes* 3: 96-97.
30. Tarnowski, T. L. B., Palmateer, A. J., and Crane, J. H. 2010. First report of fruit rot on *Hylocereus undatus* caused by *Bipolaris cactivora* in South Florida. *Plant Disease* 94(12): 1506.

31. Volencia-Botín, A. J., Sandoval-Islas, J. S., Cárdenas-Soriano, E., Michailides, T. J., and Rendón-Sánchez, G. 2003. *Botryosphaeria dothidea* causing stem spots on *Hylocereus undatus* in Mexico. *New Disease Reports* 7:25.
32. Wright, E. R., Rivera, M. C., Ghirlanda, A., and Lori, G. A. 2007. Basal rot of *Hylocereus undatus* caused by *Fusarium oxysporum* in Buenos Aires, Argentina. *Plant Disease* 91(3): 323.



附錄

附錄 1、本研究分離所得臺灣紅龍果莖部分離株之編號及其來源。

Appendix 1. Number and source of isolates derived from pitaya stems in Taiwan in this research.

分離株編號 Number of isolates	來源地 Source	分離部位 Part of isolation	菌株歸類 Isolate classified
CH01	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH02	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH03	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH04	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH05	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH06	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH07	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH08	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH09	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH10	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH11	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH12	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH13	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH14	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH15	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH16	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH17	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH18	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH19	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH20	花蓮縣玉里鎮		黑色菌株
CH21	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH22	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH23	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH24	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH25	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH26	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH27	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH28	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株

接續下頁

分離株編號 Number of isolates	來源地 Source	分離部位 Part of isolation	菌株歸類 Isolate classified
CH29	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH30	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	黑色菌株
CH31	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	黑色菌株
CH32	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	黑色菌株
CC01	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC02	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC03	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC04	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC05	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC06	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC07	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC08	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC09	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC10	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC11	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC12	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC13	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
CC14	彰化縣、南投 縣、雲林縣	莖部黃點	黑色菌株
GH01	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	炭疽菌菌落
GH02	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	炭疽菌菌落

接續下頁

分離株編號 Number of isolates	來源地 Source	分離部位 Part of isolation	菌株歸類 Isolate classified
GH03	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	炭疽菌菌落
GH04	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	炭疽菌菌落
GH05	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	炭疽菌菌落
GH06	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	炭疽菌菌落
GH07	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	炭疽菌菌落
GH08	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	炭疽菌菌落
GH09	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	炭疽菌菌落
GH10	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	炭疽菌菌落
GH11	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	炭疽菌菌落
GH12	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	炭疽菌菌落
GH13	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH14	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH15	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH16	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH17	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH18	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH19	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH20	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
GH21	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	炭疽菌菌落
FH01	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	鐮胞菌菌落
FH02	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	鐮胞菌菌落
FH03	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	鐮胞菌菌落
FH04	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	鐮胞菌菌落
FH05	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	鐮胞菌菌落
FH06	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	鐮胞菌菌落

接續下頁

分離株編號 Number of isolates	來源地 Source	分離部位 Part of isolation	菌株歸類 Isolate classified
FH07	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	鐮胞菌菌落
FH08	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	鐮胞菌菌落
FH09	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	鐮胞菌菌落
FH10	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	鐮胞菌菌落
FH11	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	鐮胞菌菌落
FH12	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	鐮胞菌菌落
FH13	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	鐮胞菌菌落
FH14	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	鐮胞菌菌落
FH15	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	鐮胞菌菌落
FH16	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	鐮胞菌菌落
UH01	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	白綠相間之羽毛狀菌落
UH02	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	白綠相間之羽毛狀菌落
UH03	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	同心圓狀白色菌落，其上有黑色角狀物
UH04	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	土黃色粉狀菌落
UH05	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	紫黑色黴菌狀菌落，菌落上有 多條明顯凹陷痕
UH06	花蓮縣玉里鎮	潰瘍斑	白色帶點黑色之棉狀菌落，其 上有黑色線狀物突出
UH07	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	白色菌落
UH08	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	白色菌落
UH09	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	米黃色孔洞狀菌落
UH10	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	黃白相間之菌落
UH11	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	黃白相間之菌落
UH12	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	紫黑色黴狀菌落
UH13	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	紫黑色黴狀菌落
UH14	花蓮縣玉里鎮	紅心黃點	紫黑色黴狀菌落

接續下頁

分離株編號 Number of isolates	來源地 Source	分離部位 Part of isolation	菌株歸類 Isolate classified
UH15	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	米黃色同心圓粉狀菌落
UH16	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	米黃色同心圓粉狀菌落
UH17	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	白色羽毛狀菌落
UH18	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	黑色徽狀菌落
UH19	花蓮縣玉里鎮	緊臨潰瘍斑下方 之莖部組織	黑色徽狀菌落
UH20	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	墨綠色徽狀菌落
UH21	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	白色同心圓粉狀菌落
UH22	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	白色菌落
UH23	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	黑白相間棉狀菌落
UH24	花蓮縣玉里鎮	莖腐斑	黑白相間棉狀菌落