

## 降低栽植田水位及應用農業藥劑或 土壤添加物防治蕹菜青枯病<sup>1</sup>

邱安隆<sup>2</sup> 陳哲民<sup>3</sup>

### 摘要

採收前降低蕹菜栽植田水位並於採收後立即噴施 81.3%嘉賜銅混合可濕性粉劑 (81.3% Kasugamycin + Copper oxychloride, WP), 可有效地防治青枯病之發生率。採收前三天栽植田水位降至 2 公分以下, 且於採收後每分地栽植田施用 100 公斤石灰, 3-5 天後將溫泉水灌入蕹菜田, 維持水深 5-10 公分, 直至採收前三日再降低栽植田水位, 可顯著降低青枯病發生率, 使其成活率達 90-95%以上, 並可提高蕹菜株高。曬田期施用 58%腐植酸鉀, 能抑制青枯病發生, 提高蕹菜株高與鮮重, 若施用 48.5%鈣鎂肥反而抑制蕹菜植株生長並促進青枯病發生。

(關鍵字：蕹菜、青枯病、青枯病菌、腐植酸鉀)

### 前言

蕹菜 (*Ipomoea aquatica* Forsk.) 為一年或多年生蔓性草本植物, 可分為陸生及水生兩種栽培管理方式; 陸生栽培主要以種子直播方式進行栽植, 成株期進行採收, 如此不斷進行栽植與採收, 水生栽培以宿根性扦插方式繁殖, 全年連續採收, 通常一年僅栽植一次, 次年再行更新種植。蕹菜栽培期間主要病害有青枯病、白銹病、葉斑病及根腐病等(行政院農業委員會, 2001), 其中水生栽培之青枯病(Bacterial wilt) (圖一與圖二) 最難防治。水生栽培蕹菜之年採收次數可達 8-10 次, 當植株罹患青枯病, 年採收次數降為 3-5 次, 造成農友收益減少。青枯病菌(*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi) 屬於好氣性之革蘭氏陰性菌, 外型呈桿狀, 無鞭毛或單生至多生鞭毛, 當感染寄主作物時, 會引起植株葉部萎凋(Buddenhagen and Kelman, 1964; Kelman, 1953), 其寄主範圍包含三十多科, 兩百種以上之植物, 且大多數為草本植物(Hayward, 1994; Persley, 1986)。不同之青枯病菌菌系對寄主植物有不同病原性, 青枯病菌有三種生理小種(Gillings and Fahy, 1994; Buddenhagen, 1962), 其中蕹菜青枯病菌屬第一種生理小種(Race 1)(黃等 2001), 此與台灣主要的青枯病菌生理小種相同(Hong et al. 1990; Hsu, 1991), 而菌株生理生化特性屬第四生化型(biovar 4)(黃等 2001)。

---

<sup>1</sup>花蓮區農業改良場研究彙報第 184 號。

<sup>2</sup>行政院農業委員會花蓮區農業改良場助理研究員。

<sup>3</sup>行政院農業委員會花蓮區農業改良場副研究員兼課長。

青枯病菌主要藉由土壤、灌溉水、作物繁殖體、寄主植物根部與根部接觸及機械等傳播 (Buddenhagen and kelman, 1964; kelman, 1953), 其中以刀具採收蕹菜時製造的傷口, 最易導致青枯病菌之感染與傳播, 故傷口之維護為預防本病之重點。水生蕹菜為連續採收之高經濟作物, 考量化學藥劑殘留量對水生作物之不良影響, 如何開發一套非農藥防治蕹菜青枯病的方法, 是值得研究並廣為推廣。本試驗即針對安全且有效的化學藥劑或土壤添加物進行篩選,

並改變薤菜栽植方式進行田間試驗，期能獲得顯著性的防治成果，以降低病害發生率。

## 材料與方法

### 青枯病菌之分離及鑑定

自薤菜栽植田選取罹患青枯病之植株，先將根部泥土以自來水洗淨，以紙巾吸乾根表水分，切取病株莖部組織隨即放入內含無菌水之試管中震盪，轉速為 50 rpm(Hotech, Taiwan)，經三分鐘後，以移植環沾取懸浮液劃線於改良的 SM1 平板培養基(Tsai et al. 1985)，置於 30°C 生長箱中培養 48 至 72 小時，挑取似青枯病的菌落，劃線於 TZC(triphenyl tetrazolium chloride) 選擇性培養基，再挑取中央為粉紅色，外圍為白色之流質狀青枯病菌，培養於 BUGM™ 平板 (Biolog Universal Growth Medium, Biolog Inc.) 上，於 30°C 中，培養 18 小時後，以棉花沾取新生成之菌落，並懸浮於 20 ml 之 0.85 % 生理食鹽水中，測其吸光值，並調整吸光值為 0.53-0.59，將菌株懸浮液滴於 Biolog GN 平板之孔穴中，每穴加入 150 $\mu$ l 之菌液，經 30°C 定溫培養 24 小時後，以 Biolog 判讀機鑑定之 (Biolog Microstation system, USA) (Baillie et al. 1995)。

### 農業藥劑與酸性土壤改良劑對防治薤菜青枯病之篩選與應用

#### (一)不同農業藥劑對薤菜青枯病防治之影響

選取對細菌具抑制作用之農業藥劑，包括抗生素類或銅劑類之藥劑，於礁溪鄉薤菜栽培區進行田間試驗，處理方式為採收前三日進行薤菜栽植田排水，將水位降至二公分以下，採收後當天與採收後第 7 天噴施殺菌劑。處理藥劑包括 47 % 鏈土黴素(Streptomycin + Oxytetracycline)可濕性粉劑 1000 倍、27.12 % 三元硫酸銅(Tribasic copper sulfate)水懸劑 500 倍、81.3 % 嘉賜銅(Kasugamycin + Copper oxychloride)可濕性粉劑 1000 倍、68.8 % 多保鏈黴素(Thiophanatemethyl + Streptomycin)可濕性粉劑 1000 倍、12.5 % 鏈黴素(Streptomycin)溶液 1000 倍及未噴藥對照組等六處理。田間設計採逢機完全區集，四重複，小區面積 4 $\times$ 2 公尺，試驗重複兩次。

#### (二)酸性土壤改良劑防治青枯病之影響

薤菜田採收後施用石灰(lime)，每公頃 1000 公斤，並於七天後進行第二次施用，經 14 天後進行薤菜青枯病防治率調查。處理分為施用石灰及未施用石灰等兩處理，田間設計採逢機完全區集，四重複，每重複 100 株。在進行病害防治率調查時，同時分析植株外型及葉綠素含量，以亮度計及葉綠素計(SPAD-502, Minolta, Japan)分別測量薤菜植株莖部及葉部之亮度與葉綠素含量，並調查植株莖長與鮮重。

#### 土壤添加物對薤菜青枯病防治之影響

處理分為 58% 腐質酸鉀(Humic acid potassium salt)、57% 氰氮化鈣(Calcium cyanamide)、鈣鎂肥(Calcium magnesium；包含 41% 氧化鈣、6.5% 氧化鎂、1% 氧化矽)及對照組，每公頃 1000 公斤，處理後 30 天調查薤菜青枯病罹病度、株高、鮮重及莖部節間數，調查罹病度方法為每一小區之各重複逢機選取二十五株，若植株葉部萎凋即屬感病，植株莖長及鮮重以直

尺及天平直接量取，亦是每一小區之各重複逢機選取二十五株。田間設計採逢機完全區集，四重複，小區面積 4×2 公尺，試驗重複兩次。

## 結果與討論

青枯病菌學名原先定為 *Pseudomonas solanacearum*，於 1992 年屬名改稱 *Burkholderia* spp.，1995 年再更改為 *Ralstonia* spp.(Yabucchi et al. 1992；Yabucchi et al. 1995)。青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum* biovar 2)之菌量數目隨著土壤溫度之降低而呈下降趨勢(var Elsas et al. 2000)，此病菌喜高溫多濕，攝氏 28.6 – 29.7 度時，易感染寄主作物(Hsu, 1991)，溫度介於攝氏 28-36 度，薤菜青枯病發生嚴重(黃等 2001)。在宜蘭縣礁溪地區，每年三月至十月，水生薤菜植株易受青枯病菌感染，產生葉片失水且下垂現象，此時葉片尚呈翠綠狀，以小刀將罹病莖部縱切，維管束常呈褐化狀(圖三)，將褐化之維管束置於內含清水之透明玻璃杯中數分鐘，可觀察到罹病莖部傷口處湧出白色霧狀物，初步應可判斷此為青枯病菌，若能以 SM1 與 TZC 選擇性培養基培養，再以 Biolog 系統鑑別法鑑定，更可確認病原。在礁溪地區罹病薤菜植株，以 SM1 與 TZC 選擇性培養基(Schaad,1988；Tsai et al. 1985)進行病原菌分離，經 BUGM™ 平板培養，以 Biolog 系統判別機進行鑑定，由二十二株細菌分離株中鑑定四株為青枯病菌。

溫泉水生薤菜 (*Ipomoea aquatica* Forsk.) 為礁溪地區極具特色之本土性葉菜用作物之一，年採收次數 8-10 次，公頃年產值約四百萬元。近年來青枯病發生日益嚴重 (黃等 2001；邱、陳 2002)，導致年採收次數降為 3-5 次，造成農友收益減少，為確保溫泉水生薤菜正常生長及永續發展，確立青枯病菌是否為主要病原，並瞭解此病菌特性，作為阻斷青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)傳播途徑之依據。青枯病菌屬於細菌，在有水的適當環境增殖極快，易經由傷口感染，由此點觀之，其傳播途徑，初步判斷以刀具採收薤菜時所殘遺之傷痕，最易導致青枯病菌之感染與傳播(Buddenhangen and kelman, 1964；kelman, 1953)。然而，水生薤菜以刀具收穫後地上部的莖及地下部的根系必然造成傷口，種植薤菜於第一次採收前，薤菜植株生育良好，採收後由於植株根系及莖部均有傷口，再次生長發育的薤菜植株，有罹患青枯病的情形發生，由此得知傷口確實是引起青枯病菌感染薤菜植株的主要途徑，因此如何保護傷口，為預防本病之重點，而噴施殺菌劑保護傷口應是預防青枯病菌侵入的策略之一。

薤菜採收前降低栽植田水位並於採收後立即噴施 81.3%嘉賜銅混合可濕性粉劑 (81.3% Kasugamycin + Copper oxychloride)，能有效防治青枯病之發生(表一)，其原因可能為薤菜經採收後，所製造的植株傷口受藥劑噴施，具有直接抑制病原菌生長而降低植物病原菌的感染。在嘉賜銅藥劑配方中，Kasugamycin 是於 1963 年，由 *Streptomyces cacaoi* 分泌所產生之系統性藥劑，最初在日本應用在水稻稻熱病(Rice blast)之防治，而另一藥劑配方 Copper oxychloride 則應用在防治多種真菌性病害，如葡萄露菌病(Downy mildew of grape)，具有毒殺孢子並且呈非專一性的破壞菌體蛋白質的作用，但因銅離子極易造成植物細胞的死亡，而導致藥害，故施用此類型藥劑時需特別注意其濃度(Ware, 1993)。另外，銅劑噴施於葉表時，不易因雨水而沖刷掉，且易殘留在葉部表面並累積於土壤中，而有農業藥劑殘留之疑慮，如在美國佛羅里

達州，即發生柑橘植株因施用銅劑，多年累積於土壤中的銅，對柑橘植株產生藥害；相對的，此類型藥劑也有防治植物病害優勢，即較有機殺菌劑具有長期保護植物的功效(Ware, 1993)。

宜蘭縣礁溪地區水生薺菜平均約一個月採收一次，且為連續性採收，考量農業藥劑殘留於薺菜植體及土壤等問題，目前並不鼓勵利用化學藥劑防治薺菜青枯病，而以非農藥防治病害方式，即採收前三天降低栽植田水位於 2 公分以下，並於採收後，每分地栽植田灑施 100 公斤石灰，經 3-5 天後，將溫泉水灌入薺菜田，維持水深 5-10 公分，直至採收前三日再降低栽植田水位，重覆上述田間管理工作，採用此方式能顯著防治薺菜青枯病發生，成活率達 90-95 %以上(圖四)，並可提高薺菜植株生長高度與節間長度(表二)，但對薺菜莖部外表亮度及葉部葉綠素含量並無顯著性 ( $p=0.05$ ) 差異存在(表三)；上述改良栽培管理法，與目前農民慣行法不同，其中最大不同點在於農友通常於採收時未降低水位至 2 公分以下，且採收後未施用石灰，若採收時未降低田間水位，易使青枯病菌經水傳播至傷口，直接侵入感染薺菜植株，故採收前降低栽植田水位確實可直接降低薺菜青枯病菌感染。至於採收後立即施用石灰，可直接保護莖部傷口免受青枯病菌的侵入，因石灰的主成分為鈣離子，具有降低多種植物病原菌所引起的病害，如 *Rhizoctonia*、*Sclerotium*、*Botrytis*、*Fusarium* 等病原菌，且鈣離子是植物細胞壁的成分，有強化植體、提高抗病性作用(Agrios, 1988；楊 1993)。鈣因可促進植株根系的生長環境(楊 1993)，有利薺菜生長，故薺菜節間長度與株高自然增加，惟鮮重並無增加，是否為石灰施用劑量或其他因素影響，仍待進一步探討分析。溫泉水生薺菜最大特色為熱炒後口感甚佳，且莖部不易變黑，於降低薺菜栽植田水位並添加石灰對莖部顏色無顯著差異存在，故此種非農藥防治青枯病的方式應可被農友及消費者接受。

栽植前施用 58%腐植酸，同時採收後立即施用含石灰成分物質能有效地防治青枯病之發生(表四)。腐植酸(humic acid)是腐植質(humic substances)中的一種酸，能溶於鹼液，但不溶於強酸(pH 1)液，腐植酸主成分是種類繁多酚類聚合物所組成，其形成方式主要經由殘體分解的產物中，由微生物酵素合成作用或土壤催化作用而形成的聚合物，其顏色較深，具親水性且呈酸性，可增加鈣、磷及鐵的有效性，並增加土壤離子交換能力(cation exchange capacity)及保肥力，間接對植株生長有益(楊 1988)，由此推論添加 58%腐植酸鉀能有效地降低其病害發生率。氰化鈣是一種農藥肥料(pesticidal fertilizer)，兼具農藥與肥料功效(鍾 2001)，施用此物質能有效地抑制薺菜青枯病發生率(表四)。未來將探討不同比例腐植酸對薺菜生長及青枯病防治率及腐植酸對青枯病菌之抑菌作用進行相關試驗，期能更了解腐植酸的應用效果。

## 誌 謝

本試驗成果報告承蒙中國文化大學吳文希教授斧正，試驗田之選擇及田間試驗由林慶元、林茂泉、陳定琳、陳漢欽及礁溪鄉農會推廣股人員游勝魁股長等人協助，謹此致謝。

## 參考文獻

1. 行政院農業委員會中部辦公室 2001 葉菜類 83-88 頁 蔬菜病蟲害綜合防治專輯 南投。

- 2.邱安隆、陳哲民 2002 溫泉蕹菜青枯病綜合防治 植物病理學會刊 11: 236.(摘要)
- 3.黃晉興、許秀惠、林俊義 2001 蕹菜青枯病之發生 植物病理學會刊 10: 187-194.
- 4.楊秋忠 1993 土壤有機物及有機質 303-356 頁 土壤與肥料 台中 393 頁.
- 5.鍾仁賜 2001 肥料有關用詞解釋 240-249 頁 肥料要覽 王銀波編 中華土壤肥料學會出版 台北 308 頁.
- 6.Agrios, G. N. 1988. Environmental effects on infectious plant disease development. Pages 147-155 in: Plant Pathology. Academic press. USA, 803pp.
- 7.Baillie, L. W. J., M. N. Jones, P. C. B. Turnbull, and R. J. Manchee. 1995. Evaluation of the Biolog system for the identification of *Bacillus anthracis*. Lett. Appl. Microbiol. 20: 209-211.
- 8.Buddenhagen, I. W. and A. Kelman. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Rev. Phytopathol. 2: 203-230.
- 9.Buddenhagen, I. W., L. Sequeira, and A. Kelman. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathol. 52: 726(Abstr.)
- 10.Gillings, H. R. and P. Fahy. 1994. Genomic fingerprinting: towards a unified view of the *Pseudomonas solanacearum* species complex. Pages 95-112 in : Bacterial wilt. The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. A. C. Hayward & G. L. Hartman, eds. CAB International, Wallingford, UK. 259pp.
- 11.Hayward, A. C. 1994. The host of *Pseudomonas solanacearum*. Pages 9-24 in: Bacterial wilt : The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. A. C. Haward and G. L. Hartman, eds. CAB International, Wallingford, UK.
- 12.Hong, W. F., S. T. Hsu, and K. Tseng. 1990. Bacterial wilt of perilla caused by *Pseudomonas solanacearum*. Plant Prot. Bull. 322:327-328.(Abstr.)
- 13.Hsu, S. T. 1991. Ecology and control of *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. Plant Prot. Bull. 32: 72-79.
- 14.Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. N. Carolina Agric. Exp. Sta. Tech. Bull. 99: 194pp.
- 15.Persley, G. J. 1986. Ecology of *Pseudomonas solanacearum*, the causal agent of bacterial wilt, Pages 71-76 in : Bacterial wilt disease in Asia and the South Pacific. G. J. Persley, ed. Pro. Int. Workshop PCARRD. ACIAR Proc. 145pp.
- 16.Schaad, N. W. 1988. Laboratory Guide for identification of plant pathogenic bacteria. 2nd edition, APS Press, St. Paul. Minnesota, USA, 164pp.
- 17.Tsai, J. W., S. T. Hsu. and L. C. Chen.1985. Bacteriocin-producing strains of *Pseudomonas solanacearum* and their effect on development of bacterial wilt of tomato. Plant Prot. Bull. 27: 267-278.
- 18.van Elsas, J. D., P. Kastelein, P. van Bekkum, J. M. van der Wolf, P. M. de Vries, and L. S. van

- Overbeek. 2000. Survival of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, the causative agent of potato brown rot, in field and microcosm soils in temperate climates. *Phytopathol.* 90: 1358-1366.
19. Ware, G. W. 1993. The pesticide book. Pages 139-153 in: *Fungicides and bactericides*. Thomson publications, University of Arizona, USA. 384pp.
20. Yabucchi, E., Y. Kosako, H. Oyaizu, I. Yano, H. Hotta, Y. Hashimoto, T. Ezaki, and M. Arakawa. 1992. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Homes 1981) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 36: 1251-1275.
21. Yabucchi, E., Y. Kosako, I. Yano, H. Hotta, and Y. Nishiuki. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. *Microbiol. Immunol.* 39: 897-904.



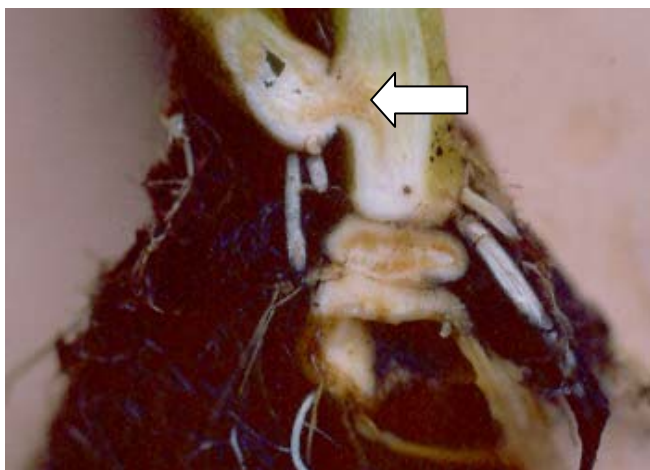
圖一、蕹菜受青枯病菌感染，葉部呈現萎凋現象

Fig. 1. Leaf wilt of water convolvulus caused by *Ralstonia solanacearum*



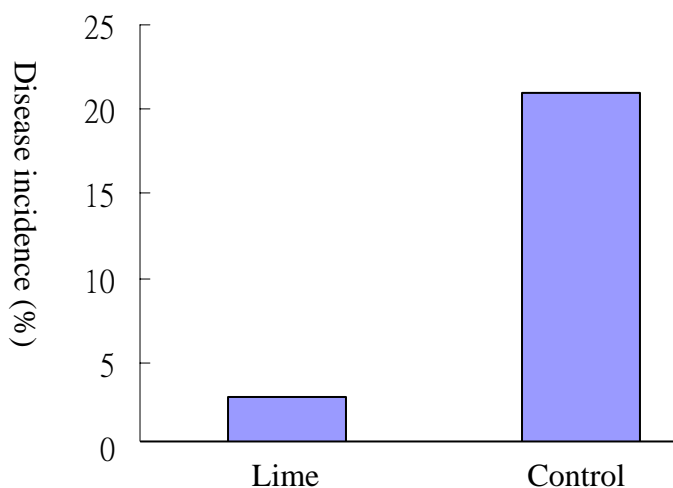
圖二、蕹菜受青枯病菌感染，植株呈現枯死現象

Fig. 2. Death of water convolvulus caused by *Ralstonia solanacearum*



圖三、蕹菜罹患青枯病其植株莖部維管束出現褐化情形

Fig. 3. Vascular browning caused by *Ralstonia solanacearum* on stem of water convolvulus



圖四、施用石灰對溫泉蕹菜青枯病防治效果

Fig 4. Effect of lime application on incidences of bacterial wilt of water convolvulus

表一、不同殺菌劑種類對蕹菜青枯病防治率之影響

Table 1. Effects of fungicides on incidences of control bacterial wilt of water convolvulus in the fields

Treatment <sup>1</sup>	Disease incidence (%)
Streptomycin + Oxytetracycline (16.5%鏈土黴素可濕性粉劑)	7 <sup>2</sup> ab <sup>3</sup>
Tribasic copper sulfate (27.12%三元硫酸銅水懸劑)	11 a
Kasugamycin + Copper oxychloride (81.3%嘉賜銅可濕性粉劑)	4 b
Thiophenatemethyl + Streptomycin	8 ab

( 68.8%多保鏈黴素可濕性粉劑)	
Streptomycin	12 a
( 12.5%鏈黴素溶液)	
Control	10 a
( 對照組)	

1. Pesticides were applied onto fields of convolvulus for 2 times( 7 days / interval ). Fourteen days after the last application, the disease incidence of each treatment was recorded.
2. Mean was the average of two tests. Each treatment of one test consisted of four replications, 100 plants / replication.
3. Data in the same column followed by different letters were significantly (  $p = 0.05$  ) different by Duncan's new multiple range test.

表二、石灰對蕹菜莖部節間長度與植體鮮重及株高之影響

Table 2. Effect of lime on the length of stem internodes, fresh weight and plant height of water convolvulus

Treatment	Internodes length (cm)	Fresh weight (g)	Plant height (cm)
Lime	4.98 <sup>1</sup> a <sup>2</sup>	5.90 a	35.35 a
Control	4.26 b	5.30 a	26.00 b

1. Mean was the average of two tests. Each treatment of one test consisted of four replications, 100 plants / replication.
2. Data in the same column followed by different letters were significantly (  $p = 0.05$  ) different by Duncan's new multiple range test.

表三、石灰對蕹菜莖部顏色及葉部所含葉綠素之影響

Table 3. Effect of lime on color of stem and leaf chlorophyll of water convolvulus

Treatment	Stem of L <sup>1</sup>	Stem of a <sup>1</sup>	Stem of b <sup>1</sup>	Chlorophyll index
Lime	63.56 <sup>2</sup> a <sup>3</sup>	-16.75 a	33.21 a	35.24 a
Control	63.69 a	-16.45 a	33.02 a	35.44 a

1. L is white light color, a is red green color and b is yellow blue color.
2. Mean was the average of two tests. Each treatment of one test consisted of four replications, 25 plants / replication.
3. Data in the same column followed by different letters were significantly (  $p = 0.05$  ) different by Duncan's new multiple range test.

表四、土壤添加物對蕹菜青枯病發生率與植株生長之影響

Table 4. Effect of soil amendment on disease severity and plant growth of water convolvulus

Treatment	Disease incidence(%)	Plant height (cm)	Fresh weight (g)	Internodes length (cm)
-----------	----------------------	-------------------	------------------	------------------------



	)			
Humic acid potassium salt (58%腐植酸鉀)	0 <sup>1</sup> c <sup>2</sup>	21.2 a	12.7 a	5.6 a
Calcium cyanamide (57%氰氮化鈣)	0.4 c	15.6 b	9.5 b	5.3 a
Calcium magnesium 48.5%鈣鎂肥	6 a	12.5 c	9.3 b	5.1 a
Control (對照組)	3.4 b	13.2 c	10.4 b	5.2 a

1. Mean was the average of four replications, 25 plants / replication, repeated twice.
2. Data in the same column followed by different letters were significantly ( $p = 0.05$ ) different by Duncan's new multiple range test.