

利用中和亞磷酸溶液防治馬鈴薯青枯病

林靜宜^{1,*} 林慧如²

摘要

林靜宜、林慧如。2018。利用中和亞磷酸溶液防治馬鈴薯青枯病。台灣農業研究 67(4):377–386。

由青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) 引起之細菌性萎凋病為世界馬鈴薯生產栽培之限制因子之一，其防治相當困難，目前尚未有合適之化學藥劑可供防治，僅能以健康種薯、土壤處理及輪作等方式加以管理。本研究利用亞磷酸與氫氧化鉀以 1 : 1 (w/w) 方式配製成亞磷酸-氫氧化鉀中和液 (neutralized phosphoric acid solution; NPA) 後，於溫室中評估不同施用方法，連續施用 4 次後對馬鈴薯青枯病之防治效果。結果發現當 NPA 濃度為 0.08% 時，以土壤澆灌法處理之植株其罹病度為 40%，而利用葉片噴施法處理為 92%，顯示土壤澆灌法使用亞磷酸溶液的防治效果較葉片噴施法更能降低罹病度。進一步於溫室試驗中利用土壤澆灌法試驗不同濃度 NPA 對青枯病之防治效果，結果顯示使用 0.05–2.00% NPA 均可降低馬鈴薯青枯病之罹病度，其中以高濃度 1% 及 2% 效果最佳，罹病度皆為 0%；其次則為中濃度之 0.1–0.5% NPA，罹病度為 36.67–46.67%，低濃度 0.05% NPA 防治效果較不顯著，罹病度為 83.33%。然而，由於施用高濃度 2% NPA 時，會導致馬鈴薯植株生長出現矮化及地下部無法結薯的情形，故建議使用濃度不宜超過 1%，以避免藥害產生。目前利用 NPA 防治細菌性病害之作用機制尚未釐清，藉由本研究體外試驗發現，NPA 具抑制青枯病菌繁殖速度之效果，隨著亞磷酸濃度增加，抑制效果越顯著，惟仍無法完全抑制其繁殖及直接殺死病原細菌。

關鍵詞：亞磷酸、馬鈴薯、青枯病。

前言

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 屬茄科一年生草本植物，其塊莖富含澱粉、蛋白質、礦物質及維生素等養分，為世界重要糧食作物。在台灣，馬鈴薯以中南部為主要產區，普遍於秋、冬季裡栽種。根據 2016 年農業委員會農業統計年報 (<http://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/official/OfficialInformation.aspx>) 顯示，總種植面積為 2,724 ha，其中雲林縣栽培面積最大，其次分別為嘉義縣、台中市及台南市等地區。目前栽培品種主要有「克尼伯」(大葉種) 及「大西洋」等，其中以兼具鮮食與加工特性的「克尼伯」栽培面積最廣。因台灣氣候環境高溫多濕，有利於病蟲害孳生

危害而影響馬鈴薯生長，其威脅馬鈴薯生產的重要限制因子之一，係由青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*) 所引起之細菌性萎凋病或褐腐病 (brown rot)。病菌往往造成系統性感染，使馬鈴薯植株表現葉片失水、萎凋及維管束褐化等病徵，最終導致作物死亡以及嚴重的經濟損失 (Hayward 1991; Elphinstone 2005; Denny 2006)。

R. solanacearum 寄主範圍廣泛，可危害 54 科 450 種以上的寄主植物 (Denny 2006; Wicker *et al.* 2007)。青枯病菌為一複合種 (species complex)，由許多不同的菌系組成，在生理特性、遺傳表現及寄主範圍等方面具有豐富的多樣性 (Hayward 2000; Genin & Boucher

投稿日期：2018 年 4 月 17 日；接受日期：2018 年 6 月 4 日。

* 通訊作者：eris2024@dns.caes.gov.tw

¹ 農委會農業試驗所嘉義農業試驗分所植物保護系助理研究員。台灣 嘉義市。

² 農委會農業試驗所嘉義農業試驗分所植物保護系研究助理。台灣 嘉義市。

2004; Fegan & Prior 2005)。目前已發現可感染台灣之茄科作物的 *R. solanacearum* 菌系有寄主範圍較廣之第一生理小種 (Hsu 1991; Lin 2008)，以及主要對馬鈴薯、番茄具有強病原性的第三生理小種 (Chiou 2002; Wu *et al.* 2010; Wu *et al.* 2011)。其中，*R. solanacearum* 第三生理小種於冷涼環境容易大發生，此菌系所造成之馬鈴薯青枯病，又稱為褐腐病，罹病株地上部出現萎凋病徵，地下部薯塊 (tuber) 則出現褐腐徵狀，已成為嚴重危害溫帶地區馬鈴薯的青枯病菌 (Ciampi & Sequeira 1980)。台灣於 1999 年冬天在台中市神岡、后里地區首次發現 *R. solanacearum* 第三生理小種危害馬鈴薯，2006 年底至 2007 年 1 月間亦於雲林縣斗南及虎尾馬鈴薯產區造成大面積的萎凋病徵及經濟損失 (Chiou 2002; Wu *et al.* 2010; Wu *et al.* 2011)。

目前已有許多研究報導顯示，亞磷酸 (phosphorous acid; H_3PO_3) 對卵菌類引起之病害 (Oomycetes diseases) 具有良好的防治效果 (Cohen & Coffey 1986; Ann 2001; Johnson *et al.* 2004)，其中以對各種作物之疫病研究最為廣泛且深入。近年來雖有研究證實可利用亞磷酸化合物來防治細菌性病害 (Norman *et al.* 2006; Wen *et al.* 2007; Wen *et al.* 2009; Lin & Wang 2011)，但相關研究報導並不多。此外，亞磷酸為強酸，水溶液的酸鹼值約為 pH 2.0–3.0，不適宜直接使用，需與鹼性物質中和至酸鹼值為 pH 5.5–6.5 後，才可施用於植物體。行政院農業委員會農業試驗所已研發出一種便捷的亞磷酸溶液配製法 (Ann *et al.* 2000)，並已技術轉移 (農試所技術轉移案 No.9, 2006) 至業者，使用者可自行配製。然而，亞磷酸溶於水後易氧化成磷酸而失去功效，因此最好配製後當日使用。

國內已廣泛應用亞磷酸來防治作物的疫病、晚疫病及白粉病等真菌病害 (Ann 2001)，卻少有應用在防治細菌性病害之研究報導。本研究即是探討中和後之亞磷酸溶液，以不同施用方式及不同濃度使用後對馬鈴薯青枯病之防治效果，以瞭解亞磷酸對青枯病發生之影響，並評估其防治應用之可行性。

材料與方法

試驗菌株來源與接種原製備

本研究使用之青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) 菌株為 RS1118 (第三生理小種，第二生化型)，係分離自嘉義市罹患青枯病之馬鈴薯植株 (Chuang *et al.* 2015)，並以甘油保存於 $-80^{\circ}C$ 供日後試驗使用。將保存於甘油的青枯病菌利用滅菌後之移植環畫線培養於 Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 培養基 [1 L 培養基中含 1 g 酪蛋白 (casein hydrolysate)，10 g 蛋白胨 (peptone)，5 g 葡萄糖 (glucose)，20 g 瓊脂 (agar)，經高溫滅菌後再加入 5 mL 之 1% TTC] (Kelman 1954)，再挑取單一菌落於 Yeast extract dextrose calcium carbonate (YDC) 培養基 [1 L 培養基中含 10 g 酵母抽出物 (yeast extract)，20 g 葡萄糖 (dextrose)，20 g 碳酸鈣 (calcium carbonate) 及 15 g 瓊脂] (Wilson *et al.* 1967)。經 48 h 增量培養後，以無菌水洗出成為細菌懸浮液。懸浮液利用光電比色計於 600 nm 波長下測定，調整其吸光值 (optical density; OD) 為 0.3，菌量濃度約為 10^8 CFU mL^{-1} 即為接種源。

亞磷酸-氫氧化鉀中和液 (neutralized phosphoric acid solution; NPA) 之製備

試驗使用之亞磷酸 (99% H_3PO_3) (禾康肥料有限公司，台灣台中市) 為白色透明結晶體，中和用之氫氧化鉀 (95.5% KOH) (禾康肥料有限公司，台灣台中市) 為白色薄片狀之產品。於配製溶液前，先依所需濃度 (0.05、0.08、0.1、0.2、0.5、1 及 2%) 計算相對之亞磷酸重量，再分別稱取等重量的亞磷酸及氫氧化鉀藥品。配製溶液時，先將亞磷酸加入無菌水中，待完全溶解後再加入氫氧化鉀溶解，中和後之 NPA 的酸鹼值約為 pH 6.1–6.4，中和後之 NPA 於配製完成後於當日使用。

不同施用方法對馬鈴薯青枯病之溫室防治效果

本研究以馬鈴薯栽培品種「克尼伯」(*Solanum tuberosum* L. var. 'Kennebec') 參試，將已萌芽之馬鈴薯種薯切塊，每小塊至少留有 1 芽眼。切塊後置陰涼處 1 d，再種植於內含泥炭土栽培介質之 4 吋軟盆中生長，2 wk 後作

為試驗接种植株。利用低濃度之 NPA (0.05% 及 0.08%) 分別進行葉片噴施或土壤澆灌兩種處理，每 7 d 施用 1 次，連續 4 次。葉片噴施法利用 2 L 氣壓式噴水壺將植株所有葉片噴布 NPA，而土壤澆灌法則以 50 mL NPA 直接灌注土壤中，於第 1 次施用後 3 d 進行馬鈴薯青枯病菌接種。接種時將 50 mL 之青枯病菌懸浮液 (10^8 CFU mL⁻¹) 直接灌注土壤中，每組分別接種處理 5 株馬鈴薯，以未處理 NPA (0.00% NPA) 之植株作為對照組，試驗共進行 2 次。接種後的植株於溫室中定期觀察其發病情形及罹病等級，並計算罹病度 (disease severity)。青枯病罹病等級分為 6 級，0 級：無病徵；1 級：植物有逆境徵兆；2 級：1–33% 葉片萎凋或黃化；3 級：34–66% 葉片萎凋或黃化；4 級：67–100% 葉片萎凋或黃化；5 級：植株完全萎凋 (Swanson *et al.* 2007)，由下列公式計算其罹病度。

$$\text{Disease severity} = \frac{\sum ni \times i}{N \times 5} \times 100\%$$

其中，i：發病等級；ni：發病 i 級的株數；N：調查的總株數。

不同濃度亞磷酸施用對馬鈴薯青枯病病勢進展之影響

將不同濃度之 NPA (0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 及 2.00%) 以土壤澆灌法進行處理，每株植物澆灌 50 mL NPA，每 7 d 施用 1 次，連續 4 次。第 1 次施用後 3 d 進行馬鈴薯青枯病菌接種，接種時將 50 mL 之青枯病菌懸浮液 (10^8 CFU mL⁻¹) 直接灌注土壤中，每組分別接種處理 6 株馬鈴薯，以未處理 NPA (0.00% NPA) 之植株作為對照組，試驗至少進行 2 次。接種後的植株，置於溫室中依上述青枯病罹病指數定期觀察其罹病等級及發病情形。

不同濃度亞磷酸對馬鈴薯生長之影響

分別將 50 mL 不同濃度之 NPA (0.05、0.10、0.20、0.50、1.00 及 2.00%) 利用土壤澆灌法處理種植 2 wk 後之植株，每 7 d 施用 1 次，

連續 4 次。每組分別接種處理 6 株馬鈴薯，未處理 NPA (0.00% NPA) 之組別則以 50 mL 無菌水澆灌植株，試驗進行 2 次。處理後的植株於溫室中生長，5 wk 後測量植株之株高、鮮重 (fresh weight) 及薯塊等之生長情形。

亞磷酸對青枯病菌之抑制能力測定

本試驗採濾紙圓盤法及液體培養法，進行亞磷酸對青枯病菌之抑制能力評估，分述如下。

濾紙圓盤法

將直徑 0.8 cm 之濾紙圓盤 (Advantec Toyo Kaisha, Tokyo, Japan) 分別置於 0.1、0.5、1.0 及 2.0% 之 NPA 中，於室溫下浸漬 10 min 後將濾紙圓盤取出陰乾，再放置於已塗布有 0.1 mL 細菌懸浮液 (濃度約為 10^8 CFU mL⁻¹) 之營養洋菜培養基 (nutrient agar; NA) 平板上 (直徑 9 cm)。每一培養平板放 4 個濾紙圓盤，並以無菌水處理之濾紙圓盤作為對照組。將各處理之培養平板放置於 27°C 無光照定溫箱內，培養 2 d 後，取出測量抑制圈大小 (扣除濾紙圓盤直徑 10 mm)。每處理 3 重複，試驗重複兩次。

液體培養法

事先以 0.22 μm 濾膜過濾 NPA，加入裝有 100 mL 之營養液體培養基 (nutrient broth; NB) (Difco Laboratories; Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) 的三角燒瓶中，並分別將其所含之 NPA 最終濃度調整為 0.1、0.5、1.0 及 2.0%。另以無菌水配製青枯病菌之細菌懸浮液，將濃度調整約為 10^8 CFU mL⁻¹，取 1 mL 之細菌懸浮液加入上述之 nutrient-NPA broth 三角燒瓶中，置於 25°C 之震盪培養箱中 (轉速約 2× g)，每處理 2 重複。於培養 0、1、2 及 3 d 後取出，利用系列稀釋平板法計算菌落數後，推估菌株之濃度。

統計分析

試驗資料利用 SAS 9.1 版統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA)，再以最小顯著性差異 (Fisher's least sig-

nificant difference; LSD) 測驗在 5% 顯著水準下，比較處理間平均值之差異。

結果

不同施用方法對馬鈴薯青枯病之溫室防治效果

本研究利用低濃度 NPA (0.05% 及 0.08%) 分別對馬鈴薯植株進行葉片噴施及土壤澆灌，每 7 d 施用 1 次，連續 4 次，於第 1 次施用後 3 d 進行馬鈴薯青枯病菌接種。於接種青枯病菌 21 d 後發現，以葉片噴施法使用 0.05% NPA 或 0.08% NPA 處理之馬鈴薯，其萎凋率 (wilt) 皆達 100%，而罹病度分別為 96% 及 92% (表 1)。同時，利用土壤澆灌法處理之馬鈴薯植株，使用 0.05% NPA 之植株萎凋率為 80%，罹病度為 68%；而使用濃度為 0.08% NPA 時，植株萎凋率為 60%，罹病度為 40% (表 1)；未處理 NPA (0.00% NPA) 僅接種青枯病菌之對照組植株，其萎凋率與罹病度皆達 100% (表 1)。由此可知，NPA 以土壤澆灌法使用對馬鈴薯青枯病之防治效果較以葉片噴施法更能降低青枯病發生之萎凋率及罹病度。

亞磷酸濃度對病勢進展之影響

利用土壤澆灌法分別將 6 種不同濃度 NPA 澆灌馬鈴薯植株，於接種 11 d 後發現，未處理 NPA 之對照組 (0.00% NPA) 與 0.05% NPA 澆灌之馬鈴薯植株已出現萎凋病徵，罹病度分別為 5% 及 11.67% (圖 1)。其他 5 種濃度

NPA (0.10、0.20、0.50、1.00 及 2.00%) 處理之組別，則未發現萎凋情形。接種 14 d 後，除了以 1.00% 及 2.00% NPA 澆灌之馬鈴薯植株未出現萎凋情形之外，其他 4 種 NPA 濃度處理組，皆可觀察到萎凋病徵出現。其中，罹病度大於 25% 的處理分別為 0.00% NPA (罹病度為 46.67%) 及 0.05% NPA 處理組 (罹病度為 28.35%)，而以 NPA 濃度 0.10、0.20 及 0.50% 澆灌之組別，罹病度皆低於 20%，分別為 13.33、16.67 及 8.33% (圖 1)。接種 18 d 後，0.00% NPA 罹病度為 66.67%，但 1.00% 及 2.00% NPA 澆灌之馬鈴薯植株仍未出現萎凋，其他 4 種 NPA 濃度處理組，以 0.05% NPA 澆灌之植株罹病度最高，達 50.00%；利用 NPA 濃度為 0.10、0.20 及 0.50% 澆灌者，罹病度皆低於 30.00%，分別為 25.00、23.33 及 21.67% (圖 1)。接種 22 d 後，0.0% NPA 罹病度為 73.33%，而 1.00% 及 2.00% NPA 澆灌之馬鈴薯植株仍未觀察到萎凋情形。但澆灌 0.05% NPA 之植株罹病度達 70.00%，NPA 濃度為 0.10、0.20 及 0.50% 澆灌者，罹病度皆低於 40.00%，分別為 36.67、36.67 及 28.33% (圖 1)。接種 28 d 後，0.00% NPA 罹病度已達 100.00%，澆灌 0.05% NPA 之植株罹病度為 83.33%，NPA 濃度為 0.10、0.20 及 0.50% 澆灌者，罹病度皆低於 50.00%，分別為 41.65、46.67 及 36.67%。然而，利用 1% 及 2% NPA 澆灌之馬鈴薯植株仍未觀察到萎凋情形 (圖 1)。綜上所述，濃度 0.10% 以上之 NPA 具有延遲青枯病發生的效果，能有效降低植株之罹

表 1. 亞磷酸-氫氧化鉀中和液不同施用方法對馬鈴薯青枯病發生之影響。

Table 1. Effects of neutralized phosphoric acid solution (NPA) by foliar spray and soil drench treatments on disease development of potato bacterial wilt.

Treatment	Foliar spray		Soil drench	
	Wilt (%) ^z	DS (%) ^y	Wilt (%)	DS (%)
NPA-0.05% + RS1118 ^x	100 ^w	96	80	68
NPA-0.08% + RS1118	100	92	60	40
NPA-0.00% + RS1118	100	100	100	100

^z Wilt (%): percentage of completely wilted plants.

^y DS (%): disease severity = $[(\text{Number of diseased plants in each disease index} \times \text{disease index}) / (\text{total number of plants inoculated} \times 5)] \times 100\%$.

^x RS1118: *Ralstonia solanacearum* strain 1118.

^w Wilt and DS of potato was recorded 21 days post inoculation (dpi).

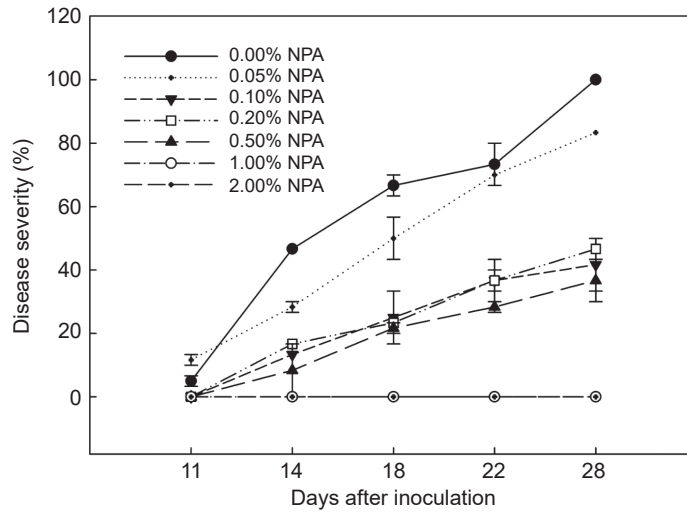


圖 1. 不同濃度之亞磷酸-氫氧化鉀中和液對馬鈴薯青枯病發生之影響。

Fig. 1. Effects of soil drench with different concentrations of neutralized phosphoric acid solution (NPA) on disease severity of potato bacterial wilt disease in greenhouse. Treatment means and standard errors were calculated from two independent experiments.

病度，其中以濃度 1.00% 及 2.00% NPA 效果最佳，於 28 d 的觀察期皆未有萎凋的病徵產生。

亞磷酸濃度對馬鈴薯生長之影響

選用 NPA 濃度為 0.10、0.50、1.00 及 2.00% 澆灌馬鈴薯植株，於處理後 5 wk 收取馬鈴薯之地上部測量其鮮重、株高及地下部薯塊生成情形。結果顯示，施用 2.00% NPA 會對植株之生長產生不良影響，出現抑制植株薯塊形成的現象。此外，施用 2.00% NPA 之植株鮮重平均為 9.96 g，與對照組的植株平均鮮重為 12.39 g 及施用 1.00% NPA 的植株平均鮮重

12.43 g 具有顯著之差異 (表 2)；株高方面，施用 2.00% NPA 對植株可產生輕微矮化的情形，其平均株高為 16.75 cm，與對照組雖無顯著之差異，但與施用其他濃度 NPA 之植株平均株高為 21.33–22.33 cm 相比，則有顯著性差異 (表 2)。

亞磷酸對青枯病菌抑制能力之測定

利用濾紙圓盤法進行培養基上之抑制能力試驗，結果發現以 0.1、0.5、1 及 2% NPA 處理之濾紙圓盤周圍皆無抑制圈之形成 (資料未顯示)，青枯病菌正常生長。由此可知，NPA 對青枯病菌無直接毒殺效果。

表 2. 不同濃度之亞磷酸-氫氧化鉀中和液對馬鈴薯生長之影響。

Table 2. Effects of soil drench with different concentrations of neutralized phosphoric acid solution (NPA) on growth of potato in greenhouse.

NPA treatment (%)	Fresh weight (g)/plant	Plant height (cm)	Tuber formation
0.0	12.39 a ^z	20.33 ab	Yes
0.1	10.78 ab	22.33 a	Yes
0.5	10.37 ab	21.33 a	Yes
1.0	12.43 a	22.17 a	Yes
2.0	9.96 b	16.75 b	No

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

於液體培養法進行青枯病菌生長抑制能力試驗之結果顯示，將不同濃度之 NPA，加入營養液體培養基中，並未明顯影響培養基之酸鹼值，其 pH 值約為 7 左右。此外，NPA 可降低青枯病菌族群繁殖速度，但無法完全抑制，亦無直接毒殺青枯病菌的效果。與未加入 NPA 之對照組比較，隨著 NPA 濃度升高，菌株繁殖速度受到抑制的程度愈強，菌量濃度增加越慢 (圖 2)。其中，以 2.0% NPA 效果最為顯著，於 3 d 觀察期中，青枯病菌濃度皆維持與起始濃度相近，約為 $6.4 \text{ Log CFU mL}^{-1}$ ，其次為 0.5% NPA 及 1.0% NPA。青枯病菌濃度於培養 1 d 後，菌量濃度增加約至 $6.6\text{--}6.7 \text{ Log CFU mL}^{-1}$ ，2 d 後之菌量濃度即無明顯增加的現象；而加入 0.1% NPA，對青枯病菌族群繁殖速度亦有降低的效果，但其抑制效果不若其他 NPA 濃度強，菌株於培養 1 d 後菌量濃度增加約至 $7.5 \text{ Log CFU mL}^{-1}$ ，之後呈緩慢增加的現象 (圖 2)。

討論

亞磷酸原本用途為植物緩效性磷肥的一種 (MacIntire *et al.* 1950)，自 1980 年代系統性殺

菌劑「福賽得」(fosetyl-Al, aluminum tris-oethyl phosphonate) (Cohen & Coffey 1986) 被發現其代謝產物中的亞磷酸離子為主要抑制卵菌類病害之物質後，關於亞磷酸防治病害及其作用機制即引發廣泛的研究。目前亞磷酸已被開發成農藥及肥料，用於多種真菌病害之防治，尤其是疫病、露菌病等均有良好之防治成效 (Ann 2001)。於茄科作物病害防治方面，已證實利用地上部噴施法可減緩番茄及馬鈴薯疫病之病勢進展，並明顯降低其罹病度 (Tsai *et al.* 2009)。另外對番茄與番椒等作物之疫病，亦具防治效果 (Fenn & Coffey 1989)。近年來，已有研究報導指出亞磷酸對細菌病害亦有防治效果，如天竺葵、番茄之青枯病 (Norman *et al.* 2006; Lin & Wang 2011) 及番茄細菌性斑點病 (Wen *et al.* 2007; Wen *et al.* 2009)。本研究結果顯示，在溫室試驗條件下，利用土壤澆灌法施用亞磷酸，可有效防治馬鈴薯青枯病之發生及降低罹病度，濃度高時效果越顯著，若是利用葉面噴施法則其防治效果不佳。雖然亞磷酸於植物內的下移性良好 (Ann 2001)，但由於青枯病為土壤傳播性細菌，可於土壤中存活，並經由根部接觸或根部傷口等方式傳播。本研究採用土壤澆注法進行病原菌接種，以土

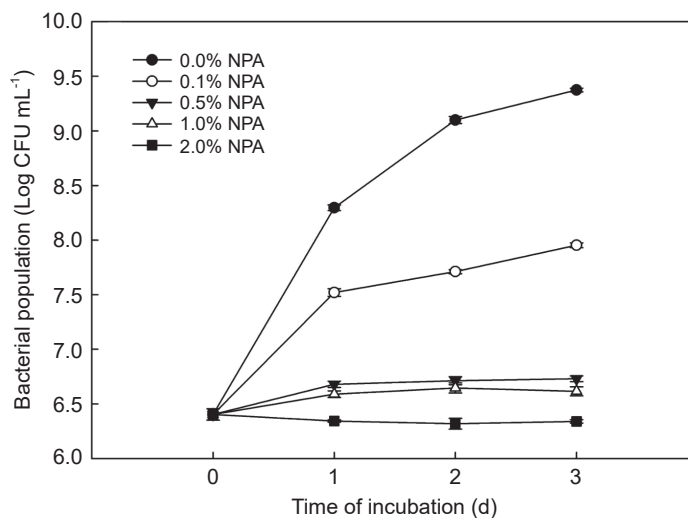


圖 2. 亞磷酸-氫氧化鉀中和液對馬鈴薯青枯病菌生長之影響。

Fig. 2. Effect of different concentrations of neutralized phosphoric acid solution (NPA) on growth of *Ralstonia solanacearum* strain 1118 (RS1118) in nutrient broth culture. Treatment means and standard errors were calculated from two independent experiments.

壤澆灌法施用時可直接且快速地產生作用，因此較葉面噴施法使用亞磷酸的效果明顯。此外，Norman *et al.* (2006) 及 Lin & Wang (2011) 之研究結果亦顯示，利用土壤澆灌法每株施用 50 mL 之亞磷酸可有效防治天竺葵及番茄青枯病的發生。

關於亞磷酸防治真菌病害之作用機制，目前已被證實者包括直接抑制病原菌之菌絲或孢子發芽以達到保護寄主的功效，與間接誘導植物增強抗病性 (Grant *et al.* 1990; Guest & Bompeix 1990)，但全程詳細的機制尚未完全明瞭。本研究經由生體外試驗結果顯示，亞磷酸可抑制青枯病菌之繁殖速度，且隨著亞磷酸濃度增加，抑制效果越顯著，但無法完全抑制其繁殖亦無法直接殺死病原細菌 (圖 2)。此結果或許可說明於溫室試驗中，澆灌濃度 0.1% 以上之 NPA 具有明顯延遲青枯病發生並減緩病勢進展的原因 (圖 1)。然而，一旦植株受到病原菌感染後，即便使用亞磷酸，植株仍會逐漸萎凋、死亡。前人研究亦發現相似的結果，生體外利用 0.50% 及 0.75% 亞磷酸，可降低番茄細菌性斑點病菌 (*Xanthomonas perforans*) 的繁殖速度，且 0.50% 及 0.75% 亞磷酸之抑制效果相當；於溫室試驗中，利用葉面噴施法使用亞磷酸亦能降低病勢之進展，但未觀察到亞磷酸具有誘導植株增強抗性之效果 (Wen *et al.* 2009)。此外，Norman *et al.* (2006) 之研究結果亦顯示 1.00% 亞磷酸可抑制青枯病菌的生長，且連續澆灌 2 次或 4 次之亞磷酸至盆鉢內的土壤中，能有效保護天竺葵不受感染。於本研究中亦顯示亞磷酸具有類似抑菌劑之作用，藉此達到防治病害之效果，但仍需進一步闡明相關的作用機制。

亞磷酸之酸鹼值低，須與強鹼物質進行中和，使酸鹼值為 pH 5.5–6.5 後施用才能避免對植物造成藥害 (Ann 2001)。行政院農業委員會農業試驗所已研發出一種簡便的亞磷酸溶液配製法 (Ann *et al.* 2000)，將適量之亞磷酸與中和劑氫氧化鉀以 1 : 1 (w/w) 等量秤重，接著將亞磷酸先行溶解於水中後，再加入氫氧化鉀溶解，中和後之 NPA 酸鹼值即為弱酸性 (pH 6.0–6.8)，可安全使用，對植物不會產生藥害。

除了亞磷酸溶液之酸鹼值可對植物生長造成影響之外，因不同植物對亞磷酸的感受性不同，一旦使用濃度超出植物所能承受之範圍，亦會對植物造成傷害。相關研究顯示，連續每周澆灌 5 次 2% 亞磷酸，會造成天竺葵植株葉片黃化與其乾重 (dry weight) 減輕之影響，而使用 1.00% 亞磷酸，則無上述的不良作用 (Norman *et al.* 2006)。本研究結果發現，施用高濃度 2.00% NPA 可有效防治青枯病發生，但是卻導致馬鈴薯植株出現輕微矮化的現象，同時影響植株地下部薯塊的生成，降低生產能力；而 1.00% NPA 則不會對植株薯塊生成能力造成影響，且能提供良好之防治效果。因此，使用之 NPA 濃度建議不宜超過 1.00%，才能避免馬鈴薯產生藥害。亞磷酸為磷肥的一種，有助於植物的生長 (Rickard 2000)，但於本研究中，使用 0.10–1.00% NPA 對馬鈴薯之植株高度及其鮮重未有顯著之增加，可能與馬鈴薯種植於盆鉢中 (4 吋黑色軟盆)，生長受到限制有關。未來將進一步進行田間測試，以瞭解 NPA 對馬鈴薯生長之影響。

馬鈴薯青枯病的防治首重預防，田間一旦發病後，病勢進展非常快速，防治十分困難。本研究發現利用土壤澆灌法施用 0.10–1.00% NPA 可有效防治青枯病之發生，降低罹病度。由於青枯病菌可藉由傷口、受污染的水源、種苗或病土傳播，若能配合健康種薯及注意田間衛生等方法，方能發揮最佳防治效果。以上資訊，可提供相關農政單位擬定馬鈴薯青枯病防治策略之參考。此外，亞磷酸為非化學合成農藥，研究指出亞磷酸鈉於 50,000 mg L⁻¹ 高劑量下，對老鼠無致癌性 (Quest *et al.* 1991)，對人畜無毒，採收的農作物沒有農藥殘留的問題，亦不會造成環境汙染及衝擊生態環境。而且亞磷酸價格便宜、使用方式簡便，對農民助益良多。

誌謝

本研究工作承本研究室同仁林江美華小姐及陳幸葵小姐協助試驗進行與倪蕙芳主任及黃哲倫助理研究員於文稿之指正，特此誌謝。

引用文獻

- Ann, P. J. 2001. Control of plant diseases with non-pesticide compound-phosphorous acid. *Plant Pathol. Bull.* 10:147–154. (in Chinese with English abstract)
- Ann, P. J., T. F. Hsieh, J. N. Tsai, I. T. Wang, and C. Y. Lin. 2000. A simple method for use of phosphorous acid and spectra of disease control. *Plant Pathol. Bull.* 9:179. (abstract in Chinese)
- Chiou, Y. S. 2002. Characteristics of strains of *Ralstonia solanacearum* recently affecting potatoes in central Taiwan. Master Thesis, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. Taichung, Taiwan. 46 pp. (in Chinese with English abstract)
- Chuang, M. F., S. F. Lo, and C. Y. Lin. 2015. Effect of temperature on virulence of *Ralstonia solanacearum* biovars and response of potato cultivars (lines) to bacterial wilt. *J. Taiwan Agric. Res.* 64:89–98. (in Chinese with English abstract)
- Ciampi, L. and L. Sequeira. 1980. Influence of temperature on virulence of race 3 strains of *Pseudomonas solanacearum*. *Amer. Potato J.* 57:307–317.
- Cohen, Y. and M. D. Coffey. 1986. Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:311–338.
- Denny, T. P. 2006. Plant pathogenic *Ralstonia* species. p.573–644. *in: Plant-Associated Bacteria.* (Gnanamanickam, S. S., ed.) Springer. Dordrecht, The Netherlands. 712 pp.
- Elphinstone, J. G. 2005. The current bacterial wilt situation: A global overview. p.9–28. *in: Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex.* (Allen, C., P. Prior, and A. C. Hayward, eds.) APS Press. St. Paul, MN. 510 pp.
- Fegan, M. and P. Prior. 2005. How complex is the *Ralstonia solanacearum* species complex? p.449–461. *in: Bacterial Wilt Disease and the Ralstonia solanacearum Species Complex.* (Allen, C., P. Prior, and A. C. Hayward, eds.) APS Press. St. Paul, MN. 510 pp.
- Fenn, M. E. and M. D. Coffey. 1989. Quantification of phosphonate and ethyl phosphonate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. *Phytopathology* 79:76–82.
- Genin, S. and C. Boucher. 2004. Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:107–134.
- Grant, B. R., R. H. Dunstan, J. M. Griffith, J. O. Niere, and R. H. Smillie. 1990. The mechanism of phosphonic (phosphorous) acid action in *Phytophthora*. *Aust. Plant Pathol.* 19:115–121.
- Guest, D. and G. Bompeix. 1990. The complex mode of action of phosphonates. *Aust. Plant Pathol.* 19:113–115.
- Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 29:65–87.
- Hayward, A. C. 2000. *Ralstonia solanacearum*. p.32–42. *in: Encyclopedia of Microbiology.* Vol. 4. (Lederberg, J., ed.) Academic Press. San Diego, CA. 1142 pp.
- Hsu, S. T. 1991. Ecology and control of *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 33:72–79. (in Chinese with English abstract)
- Johnson, D. A., D. A. Inglis, and J. S. Miller. 2004. Control of potato tuber rots caused by oomycetes with foliar applications of phosphorous acid. *Plant Dis.* 88:1153–1159.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:693–695.
- Lin, C. H. 2008. Application of Population Profiling and Detection of *Ralstonia solanacearum* on Integrated Management of Tomato Bacterial Wilt. Ph.D. Dissertation, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. Taichung, Taiwan. 101 pp.
- Lin, C. H. and J. F. Wang. 2011. Phosphorous acid salt: A promising chemical to control tomato bacterial wilt. SP-IPM Technical Innovation Brief 13. http://www.spipm.cgiar.org/c/document_library/get_file?p_l_id=17830&folderId=18484&name=DLFE-3821.pdf (visit on 2/12/2018)
- MacIntire, W. H., S. H. Winterberg, L. J. Hardin, A. J. Sterges, and L. B. Clements. 1950. Fertilizer evaluation of certain phosphorus, phosphorous, and phosphoric materials by means of pot cultures. *Agron. J.* 42:543–549.
- Norman, D. J., J. Chen, J. M. F. Yuen, A. Mangravita-Novo, D. Byrne, and L. Walsh. 2006. Control of bacterial wilt of geranium with phosphorous acid. *Plant Dis.* 90:798–802.
- Quest, J. A., K. L. Hamernik, R. Engler, W. L. Burnam, and P. A. Fenner-Crisp. 1991. Evaluation of the carcinogenic potential of pesticides. 3. Alette. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 14:3–11.
- Rickard, D. A. 2000. Review of phosphorus acid and its salts as fertilizer materials. *J. Plant Nutr.* 23:161–180.
- Swanson, J. K., L. Montes, M. Mejia, and C. Allen. 2007. Detection of latent infections of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 in geranium. *Plant Dis.*

- 91:828–834.
- Tsai, J. N., P. J. Ann, I. T. Wang, S. Y. Wang, and C. Y. Hu. 2009. Control of phytophthora late blight of potato and tomato with neutralized phosphorous acid. *J. Taiwan Agric. Res.* 58:185–195. (in Chinese with English abstract)
- Wen, A., B. Balogh, M. T. Momol, J. B. Jones, S. M. Olson, L. S. Ritchie, P. D. Roberts, R. Systma, and C. W. Meister. 2007. Management of bacterial spot of tomato with phosphorous acid containing compounds. *Phytopathology* 97:S121.
- Wen, A., B. Balogh, M. T. Momol, S. M. Olson, and J. B. Jones. 2009. Management of bacterial spot of tomato with phosphorous acid salts. *Crop Prot.* 28:859–863.
- Wicker, E., L. Grassart, R. Coranson-Beaudu, D. Mian, C. Guilbaud, M. Fegan, and P. Prior. 2007. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:6790–6801.
- Wilson, E. E., F. M. Zeitoun, and D. L. Fredrickson. 1967. Bacterial phloem canker, a new disease of Persian walnut trees. *Phytopathology* 57:618–621.
- Wu, Y. F., C. H. Lin, T. M. Chen, Y. F. Huang, S. H. Chen, J. H. Wang, and A. S. Cheng. 2010. Ecological survey of brown rot potato in Dounan, Yunlin. *Plant Pathol. Bull.* 19:87. (in Chinese with English abstract)
- Wu, Y. F., C. H. Lin, J. F. Wang, and A. S. Cheng. 2011. Population density of *Ralstonia solanacearum* potato strain, phylotype II/race 3/biovar 2, and incidence of potato bacterial wilt in fields Dounan, Yunlin County. *Plant Pathol. Bull.* 20:68–77. (in Chinese with English abstract)

Control of Bacterial Wilt of Potato with Neutralized Phosphorous Acid

Ching-Yi Lin^{1,*} and Hui-Ju Lin²

Abstract

Lin, C. Y. and H. J. Lin. 2018. Control of bacterial wilt of potato with neutralized phosphorous acid. *J. Taiwan Agric. Res.* 67(4):377–386.

Ralstonia solanacearum is the causal agent of the plant disease known as bacterial wilt, which is a serious threat to potato industry worldwide. Control of bacterial wilt is very difficult, largely being dependent on good crop management practices such as the uses of healthy tubers, pathogen-free soil and crop rotation. A greenhouse study was conducted to determine effects of neutralized phosphoric acid solution (NPA) on control of bacterial wilt of potato. The disease severity of inoculated potato plants was decreased to 40% when 0.08% NPA applied as soil drench, whereas the disease severity of inoculated potato plants was 92% by foliar spray application of 0.08% NPA. The results indicated that soil drench application of NPA provided better disease control than the foliar spray. Concentration effects of NPA on control of bacterial wilt of potato were evaluated through soil drench. A significant reduction in disease severity was observed at 0.10% and 2.00% NPA 28 days after inoculation and the disease severity ranging from 0.00% to 46.67%. At low concentration of 0.05% NPA, disease severity slightly decreased to 83.33%. However, treatment with a high concentration of 2.00% NPA was found to stunt potato growth and inhibit tuberization in greenhouse. Thus, application of NPA concentration more than 1.00% is not feasible. The mechanism of action of NPA is still unclear, as it only affects multiplication of *R. solanacearum* *in vitro*.

Key words: Phosphoric acid, Potato, Bacterial wilt.

Received: April 17, 2018; Accepted: June 4, 2018.

* Corresponding author, e-mail: eris2024@dns.caes.gov.tw

¹ Assistant Research Fellow, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.

² Research Assistant, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.