

甘藷儲藏性病害及病因之研究

吳昭蓉¹ 楊宏仁² 林靜宜¹ 黃巧雯³ 許淑麗⁴ 賴素玉⁴ 倪蕙芳^{5,*}

摘要

吳昭蓉、楊宏仁、林靜宜、黃巧雯、許淑麗、賴素玉、倪蕙芳。2019。甘藷儲藏性病害及病因之研究。台灣農業研究 68(1):28–39。

甘藷儲藏病害為儲藏過程中造成損失的重要因子之一。為瞭解甘藷儲藏性病害發生情形，本研究由彰化大城及雲林水林兩地區採收甘藷中，挑選外觀健康之塊根，於 15°C 恆溫室中儲放 12 wk。儲藏期間每 2 wk 調查病害發生情形，並將罹病塊根進行組織分離。彰化大城之甘藷於 12 wk 時，504 條塊根裡有 436 條發生腐敗情形，雲林水林則是在 500 條塊根中有 233 條發生腐敗情形。分離出主要的真菌種類有 6 類，包括 *Diaporthe batatas*、*Fusarium* spp.、*Lasiodiplodia theobromae*、*Macrophomina phaseolina*、*Phomopsis destruens* 及其他 *Phomopsis* spp.。上述分離之真菌經柯霍式法則驗證，發現 *D. batatas*、*L. theobromae*、*M. phaseolina*、*P. destruens* 及其他 *Phomopsis* spp. 均可造成塊根腐敗，確為甘藷塊根儲藏病原，*Fusarium* spp. 則在塊根上未造成任何病徵。本研究之結果，可作為後續篩選甘藷儲藏性病害田間防治藥劑時重要之參考。

關鍵詞：甘藷、儲藏性病害、乾腐病、黑腐病、炭腐病。

前言

甘藷，學名 *Ipomoea batatas* (L.) Lam.，俗稱番薯、地瓜等，屬於旋花科 (Convolvulaceae) 甘藷屬 (*Ipomoea*) 植物，原產於南美洲，先傳播於大洋洲及紐西蘭，而後傳入熱帶亞洲及非洲。至 2011 年起，甘藷全球產量僅次於稻米、小麥、玉米、馬鈴薯，為世界第五大重要之糧食作物 (Regional Office for Asia and the Pacific, Food and Agriculture Organization of the United Nations 2014)。在台灣，氣候環境適合甘藷栽培，根據 2016 年農委會農業統計年報 (<http://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>) 顯示，我國甘藷栽培面積為 10,589 ha，年產量 242,030 Mg，以雲林、彰化、台南為主要產區。常見品種有塊根用之「台農 57

號」及「台農 66 號」，葉菜用品種則有「台農 71 號」及「桃園 2 號」。

已知甘藷採收時，如果於表面產生傷口，適當的濕度加上微生物入侵，易造成塊根腐敗 (Clark 1992)。因此，採後儲藏病害造成之損失，為甘藷儲藏的重要限制因子之一 (Ray & Ravi 2005)。由真菌造成甘藷採後儲藏性病害，主要有 *Lasiodiplodia theobromae* 引起之甘藷黑腐病 (Java black rot)，由 *Rhizopus stolonifer* 引起之軟腐病 (soft rot)，由鐮孢菌屬 (*Fusarium* spp.) 造成之根腐病，由 *Ceratocystis fimbriata* 引起之黑斑病 (black rot) 等，較次要者則有由 *Macrophomina phaseolina* 引起之炭腐病 (charcoal rot)，由 *Phomopsis destruens* 引起之基腐病 (foot rot)，由 *Diaporthe batatas* 引起之乾腐病 (dry rot) 及由 *Aspergil-*

投稿日期：2018 年 4 月 24 日；接受日期：2018 年 8 月 28 日。

* 通訊作者：hfni@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研究員兼分所所長。台灣 嘉義市。

³ 農委會農業試驗所植物病理組助理研究員。台灣 台中市。

⁴ 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。

⁵ 農委會農業試驗所嘉義農業試驗分所植物保護系副研究員兼系主任。台灣 嘉義市。

lus ochraceus、*Cochliobolus lunatus* 及 *Gliomastrix novae-zelandiae* 等引起之塊根腐敗。其中，*L. theobromae*、*Fusarium oxysporum* f. sp. *batatas* 及 *P. destruens* 除了使塊根腐敗外，也會在植株上造成病徵 (Harter *et al.* 1918; Ray & Nedunchezhiyan 2012; Clark *et al.* 2013; Huang *et al.* 2016)。目前已記錄在台灣引起甘藷塊根病害者，有 *C. fimbriata*、*Fusarium* spp.、*L. theobromae*、*R. stolonifer* (Hsu *et al.* 2002)、*D. batatas* (Wang 2014) 及 *P. destruens* (Huang *et al.* 2012) 等，*M. phaseolina* 在台灣雖無對甘藷危害報導，但已知會造成甜瓜炭腐病 (Tsay & Tung 1996) 及菜豆灰莖枯病 (Lin *et al.* 1995)。

台灣過去雖陸續有甘藷塊根病害發生之報導，但並無針對甘藷採收後，在低溫儲藏時，進行病害發生情形及菌相之調查。本篇報告以彰化大城及雲林水林採收之甘藷塊根為研究標的，調查採後儲藏病害之菌相及其分離率、觀察分離真菌形態並探討其病原性，確認台灣甘藷塊根上常見的採後儲藏病害種類，可作為未來篩選田間防治藥劑時之參考。

材料與方法

儲藏甘藷病害調查

採集 2015 年彰化大城地區及 2016 年雲林水林地區各 10 田區甘藷塊根，採收後置於通風陰涼處 1 wk 癒傷後，每一田區挑選約 50 條外觀完整無病斑之塊根，裝在塑膠籃中。儲藏於 15°C 走入式定溫室，2 wk 調查一次，檢視塊根腐敗發生情形，調查持續至儲藏後第 12 週為止。

罹病甘藷塊根菌相分離與真菌保存及形態觀察

於每 2 wk 調查過程中，如發現新出現腐敗病徵之塊根，則以自來水洗淨風乾後，剖開甘藷塊根。經以 75% 酒精表面消毒後，用滅菌解剖刀切取塊根剖面病健部，置於 pH 值 3.8 之 Potato Dextrose Agar (PDA) 培養基 [即 acidified PDA (APDA)，係高溫滅菌後之 300 mL PDA 培養基，降溫後加入 750 μ L 50% (v/v)

乳酸溶液 (lactic acid)] 平板上。待分離之病組織長出菌絲或產孢後，切取單菌絲或挑單孢，移到 PDA 上培養。將分離的真菌，移至 2% 水瓊脂 (water agar; WA) 培養基上培養，並將菌絲塊切成約 0.5 cm \times 0.5 cm 方塊，置入裝無菌水之保存管中，於室溫及 10°C 冰箱中保存待用。此外，為促進菌株產孢，將木麻黃葉或甘藷莖節切成約 3 cm 小段，滅菌後放置於 2% 水瓊脂培養基上並移置菌絲塊於其上。待真菌於木麻黃葉或甘藷莖節上產孢時，挑取分生孢子置於載玻片上，並以干涉位相差顯微鏡 (differential interference contrast; DIC, Nikon 80i, Nikon, Tokyo, Japan) 觀察孢子形態，並以 NIS-Elements BR 3.0 軟體 (Nikon, Tokyo, Japan) 隨機挑選 50 個分生孢子，測量其長度及寬度。

病原菌分子鑑定

將菌株培養於 PDA 培養基上，待菌絲長出後，刮取菌絲置於 1.5 mL 微量離心管中。加入 0.5 N NaOH 溶液，以均質機將菌絲磨碎後，離心並吸取上清液。繼而加入 9 \times 體積之 0.1 M Tris buffer (pH 8.0)，進行混合後作為 PCR 反應之核酸模板 (Tsai 2005)。以 Taq DNA Poly (Protech) 聚合酶鏈鎖反應 (ITS) 片段時所使用之引子對為 ITS1 及 ITS4 (White *et al.* 1990)。增幅後產物，委由源資國際生物科技股份有限公司 (Tri-I Biotech Inc., New Taipei, Taiwan) 進行定序，定序結果在 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 資料庫中進行序列比對。

接種源的配製及病原性測定

接種時使用之菌株，包括 *D. batatas* Ph-832 菌株、*L. theobromae* B2715 菌株、*M. phaseolina* Mp-001 菌株、*P. destruens* SPPD-50 菌株及其他 *Phomopsis* spp. Ph-835 菌株，皆由儲藏後腐敗甘藷塊根上分離獲得。待測菌株於 PDA 上以無光照方式培養，除 *P. destruens* 以 20°C 培養外，其他病原菌以 25°C 培養。待菌落直徑達 4–6 cm 時，以滅菌之打孔器 (孔徑 0.5 cm) 切

取菌落邊緣之菌絲塊圓片備用，接種用之塊根先以清水洗淨，再以 75% 酒精消毒後風乾。接種方式分為打孔接種及削皮接種，打孔接種為以滅菌消毒之直徑 0.5 cm 打洞器於塊根製造深 1 cm，直徑 0.5 cm 之圓柱形孔洞，再將待測菌株之菌絲圓片放入孔洞 (Khatoon *et al.* 2017)；削皮接種，則是以滅菌之解剖刀在塊根表面薄薄削開一層約 1 cm × 1 cm 之表皮，表皮仍留一邊與塊根相連，輕輕把表皮挑開後，將菌絲塊圓片菌絲面朝下放入夾層，再將表皮覆蓋回去。另外，以不含菌絲之 PDA agar 圓塊置於打孔或削皮之薯塊傷口，作為對照。接種後塊根置於密封盒保濕，置於 25°C 下觀察，直到病徵出現為止。切取病健部進行組織分離，確認分離真菌種類與原接種菌株相同。

結果

甘藷儲藏後腐敗發生率及分離菌相之調查

調查 2015 年彰化大城地區「台農 66 號」甘藷及 2016 年雲林水林地區「台農 57 號」甘藷，其腐敗的發生率 (incidence)、分離菌相及不同週數分離到該菌之塊根數如表 1 所示。2015 年彰化大城地區之甘藷，隨著儲藏時間之增加，其腐敗發生率明顯增加。至 12 wk 時，504 條塊根中有 436 條腐敗，其中由腐敗塊根所分離之真菌以 *L. theobromae* 最多；6 wk 時共有 145 條塊根分離到該菌，且儲藏後 4–8 wk 為其高峰。次者為 *Fusarium spp.*，其高峰發生在 6–8 wk。其他則包含 *D. batatas*、*P. destruens*、*M. phaseolina* 及其他 *Phomopsis spp.* 等，其高峰多發生在儲藏 6 wk 時。2016

表 1. 2015 年彰化大城及 2016 年雲林水林甘藷於儲藏期間腐敗發生率、甘藷分離真菌種類及不同週數分離之甘藷條數。

Table 1. The incidence, fungal species and quantity of rotten roots in different periods of storage from Dacheng, Changhua in 2015 and Shueilin, Yunlin in 2016.

Year	Location	Species	Numbers of rotten roots						
			2 wk	4 wk	6 wk	8 wk	10 wk	12 wk	total
2015	Dacheng, Changhua	<i>Diaporthe batatas</i>	0	2	13	7	0	0	22
		<i>Fusarium spp.</i>	0	1	29	33	15	0	78
		<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1	55	145	64	18	1	284
		<i>Macrophomina phaseolina</i>	0	0	3	0	3	0	6
		<i>Phomopsis spp.</i>	0	1	12	3	3	0	19
		<i>Phomopsis destruens</i>	1	2	2	0	0	0	5
		Others	0	1	1	0	2	1	5
		No fungi isolated	3	7	4	0	1	2	17
		Incidence ²	5/504	74/504	283/504	390/504	432/504	436/504	–
2016	Shueilin, Yunlin	<i>Diaporthe batatas</i>	0	0	15	8	10	1	34
		<i>Fusarium spp.</i>	0	0	4	26	47	23	100
		<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	0	1	6	4	0	1	12
		<i>Macrophomina phaseolina</i>	0	0	2	1	0	2	5
		<i>Phomopsis spp.</i>	3	0	2	9	5	2	21
		Others	0	0	2	6	4	6	18
		No fungi isolated	0	2	4	11	7	9	33
				Incidence ²	3/500	6/500	41/500	106/500	179/500

² Incidence: accumulative numbers of rotten roots/total roots investigated.

年雲林水林地區收集之甘藷，至 12 wk 時，500 條調查塊根中有 223 條腐敗，分離到最多的真菌為 *Fusarium* spp.，其高峰集中在 8–10 wk 間，最多則在儲藏 10 wk 時，共分離到 47 株。次者為 *D. batatas*，在 6 wk 時分離到 15 株。其他包含 *L. theobromae*、*M. phaseolina* 及其他 *Phomopsis* spp.，分離到真菌塊根數最多的時期集中於儲藏後 6–8 wk 間。腐敗之塊根，無論是「台農 57 號」或「台農 66 號」，多數由塊根一端或兩端開始產生壞疽，且無法僅

由病徵判斷造成腐敗的真菌種類 (圖 1)。

病原菌之形態與分子鑑定

由腐敗塊根所分離的真菌根據外表形態之差異性，挑選了 Ph-832、Fu239、B2715、Mp-001、SPPD-50 及 Ph-835 菌株進行觀察及鑑定。Ph-832 於 PDA 培養基上呈現白色平鋪狀菌落 (圖 2A)，其上散生黑色顆粒狀柄子器 (pycnidia)，在人工培養基上產生分生孢子 (圖 2B)，短紡錘形，無色，單胞，常具有 2 油

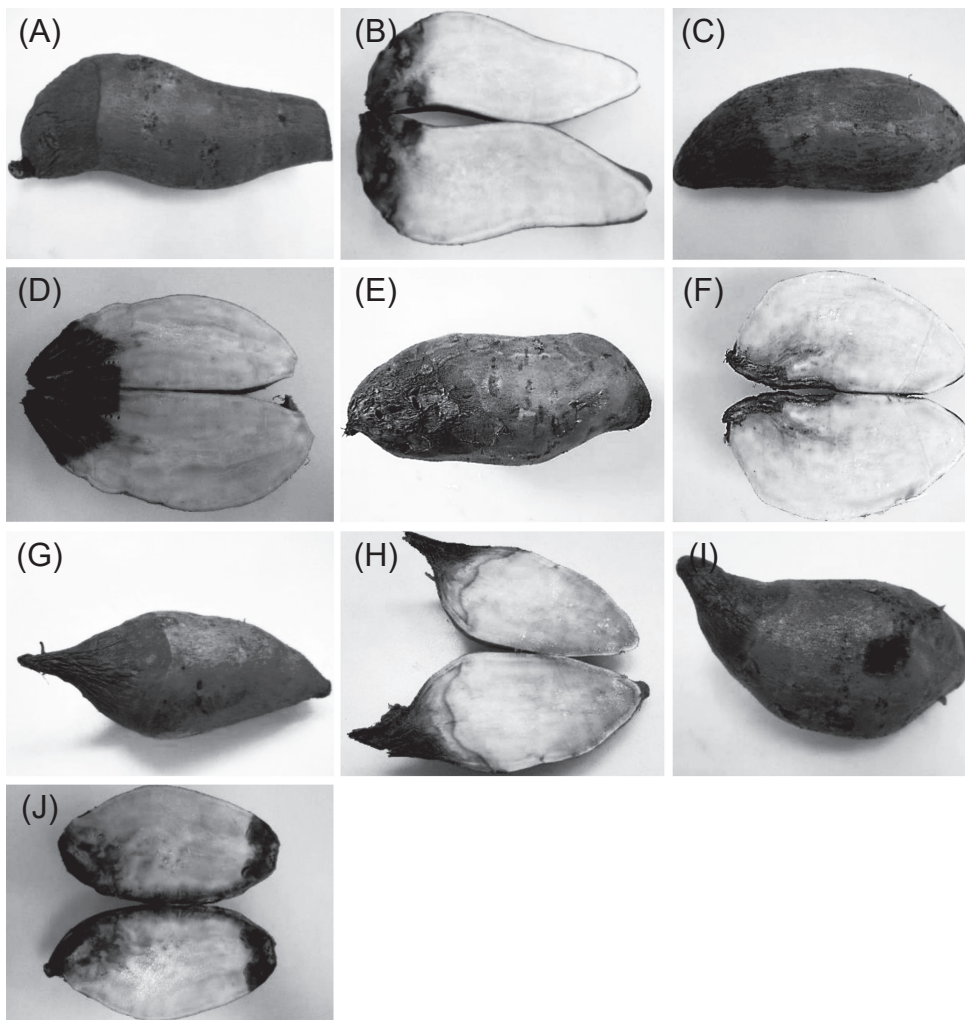


圖 1. 分離到 *Diaporthe batatas* (A、B)、*Fusarium* spp. (C、D)、*Lasiodiplodia theobroame* (E、F)、*Macrophomina phaseolina* (G、H) 及其他 *Phomopsis* spp. (I、J) 之「台農 57 號」儲藏期腐敗甘藷塊根外觀。

Fig. 1. The appearance of rotten sweet potatoes 'TN-57' that *Diaporthe batatas* (A, B), *Fusarium* spp. (C, D), *Lasiodiplodia theobroame* (E, F), *Macrophomina phaseolina* (G, H) or other *Phomopsis* spp. (I, J) were isolated.

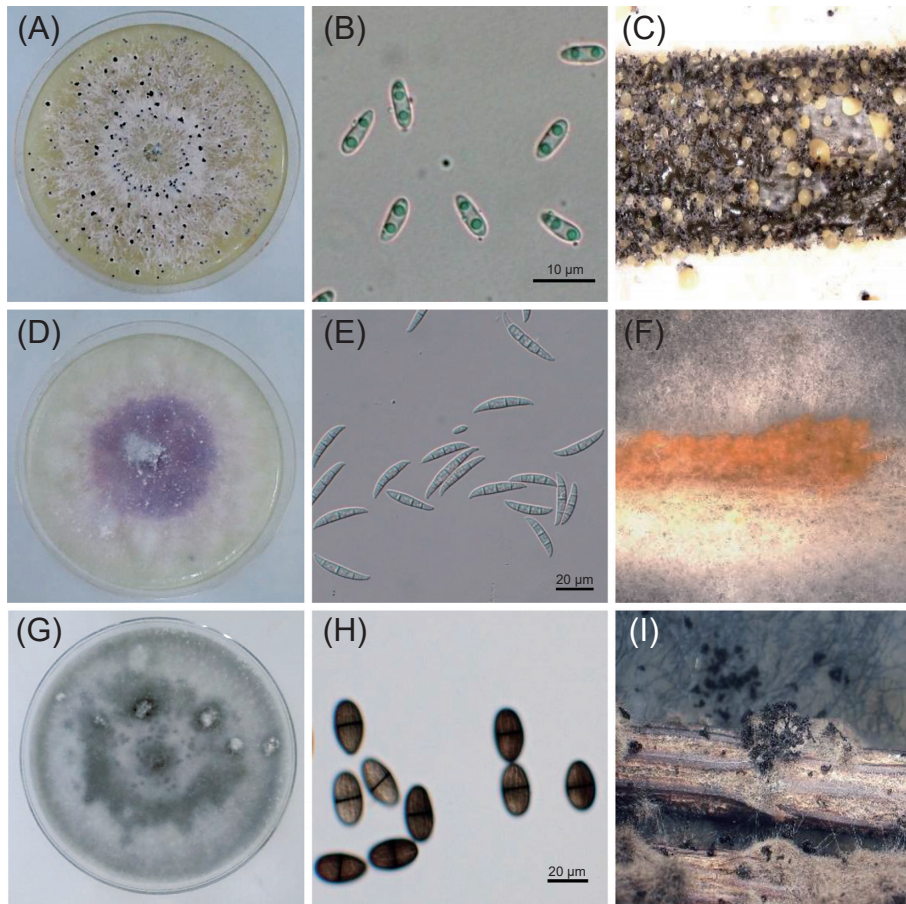


圖 2. *Diaporthe batatas* Ph-832 菌株在 Potato Dextrose Agar (PDA) 培養基之菌落 (A)、孢子 (B)、甘藷莖節上之產孢構造 (C)；*Fusarium* spp. Fu239 菌株在 PDA 培養基之菌落 (D)、孢子 (E)、木麻黃葉上之產孢構造 (F)；*Lasiodiplodia theobromae* B2715 菌株在 PDA 培養基之菌落 (G)、孢子 (H)、木麻黃葉上之產孢構造 (I)。

Fig. 2. The colony on Potato Dextrose Agar (PDA) (A), conidia (B) and sporulation on stem of sweet potato (C) of *Diaporthe batatas* strain Ph-832. The colony on PDA (D), conidia (E) and sporulation on *Casuarina equisetifolia* (F) of *Fusarium* spp. Fu239 strain. The colony on PDA (G), conidia (H) and sporulation on *Casuarina equisetifolia* (I) of *Lasiodiplodia theobromae* strain B2715.

滴，長 $7.21 \mu\text{m} \pm 0.07 \mu\text{m}$ ，寬 $2.53 \mu\text{m} \pm 0.02 \mu\text{m}$ 。在甘藷莖節上產生乳白色顆粒狀產孢構造 (圖 2C)，*D. batatas* Ph-832 菌株 ITS 序列 (accession No. MG827239) 經與 NCBI 資料庫比對，確認和 *D. batatas* 相似度最高 (accession No. KP995194)，根據形態及分子比對結果，鑑定為 *D. batatas*。Fu239 於 PDA 培養基上產生中央紫色之白色菌落 (圖 2D)，分生孢子鐮刀形 (圖 2E)，兩端尖細，多隔，長 $32.6 \mu\text{m} \pm 0.73 \mu\text{m}$ ，寬 $4.93 \mu\text{m} \pm 0.06 \mu\text{m}$ ，在木麻黃葉上形成橘色黏狀分生孢子堆 (圖 2F)。Fu239

菌株 ITS 序列 (accession No. MH747099) 經與 NCBI 資料庫比對，確認和 *Fusarium* sp. 相似度最高 (accession No. KF246479)。依據其菌落外觀、孢子形態及分子比對結果，鑑定為 *Fusarium* sp.。B2715 菌株於 PDA 培養基上產生白色毛狀菌落，菌落中央深灰色 (圖 2G)，分生孢子卵形近球狀 (圖 2H)，黑色，單隔，長 $22.53 \mu\text{m} \pm 0.26 \mu\text{m}$ ，寬 $12.44 \mu\text{m} \pm 0.16 \mu\text{m}$ ，在木麻黃葉上形成黑色球狀柄子器 (圖 2I)。B2715 菌株 ITS 序列經與 NCBI 資料庫比對 (accession No. MH789983)，與 *L. theobro-*

mae 相似度最高 (accession No. MF580791)。依據菌落外觀、孢子形態及產孢構造等，鑑定為 *L. theobromae*。Mp-001 在 PDA 培養基形成深灰黑色平鋪狀菌絲 (圖 3A)，分生孢子長卵形 (圖 3B)，單胞，無色，長 $22.04 \mu\text{m} \pm 0.25 \mu\text{m}$ ，寬 $9.98 \mu\text{m} \pm 0.08 \mu\text{m}$ ，在木麻黃葉上產生黑色顆粒狀柄子器 (圖 3C)。其 ITS 序列 (accession No. MG827241) 經與 NCBI 資料庫比對，和 *M. phaseolina* 相似度最高 (accession No. KJ780774)，依據其菌落外觀、孢子形

態及分子比對結果，鑑定為 *M. phaseolina*。SPPD-50 在 PDA 培養基上產生淡桔色菌落，邊緣不整形 (圖 3D)，在人工培養基上產生分生孢子 (圖 3E)，圓筒狀或卵形，單胞，無色，兩端具圓形油滴，長 $7.67 \mu\text{m} \pm 0.12 \mu\text{m}$ ，寬 $3.82 \mu\text{m} \pm 0.04 \mu\text{m}$ ，在木麻黃葉上產生乳白色球狀產孢構造 (圖 3F)。SPPD-50 菌株 ITS 序列經與 NCBI 資料庫比對，與 *P. destruens* 序列 (accession No. JX421687) 相似度為百分之百，依據其菌落外觀及孢子形態，鑑定為 *P.*

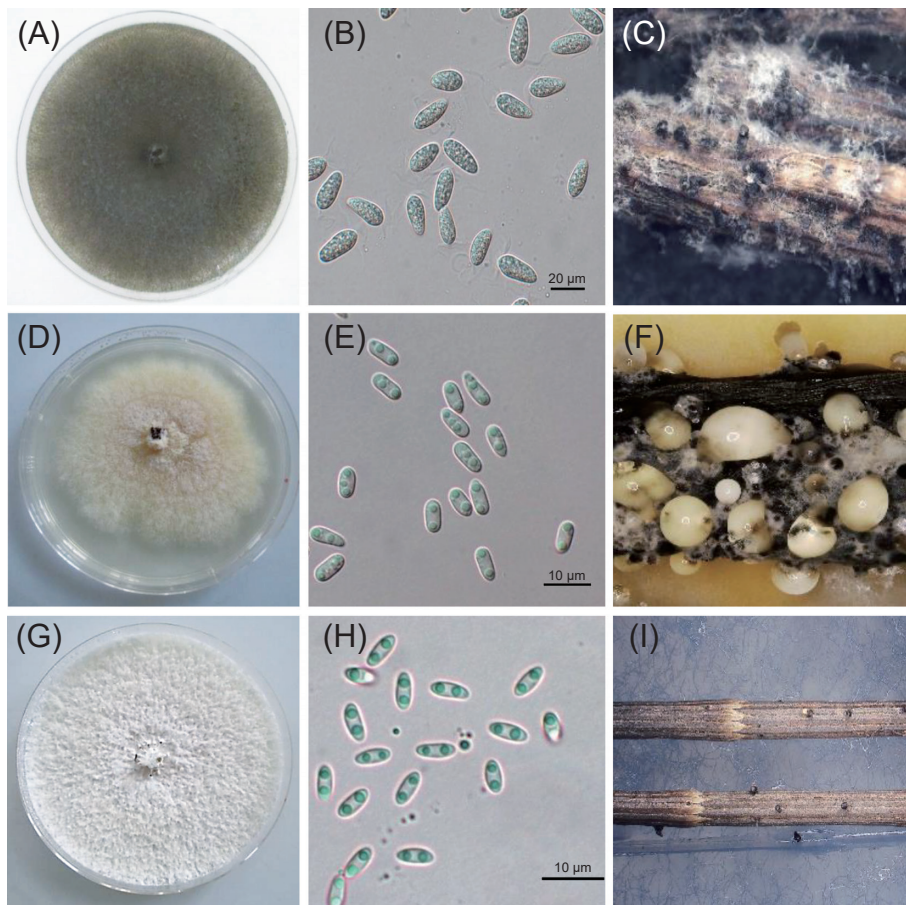


圖 3. *Macrophomina phaseolina* Mp-001 菌株在 Potato Dextrose Agar (PDA) 培養基之菌落 (A)、孢子 (B)、木麻黃葉上之產孢構造 (C)；*Phomopsis destruens* SPPD-50 菌株在 PDA 培養基之菌落 (D)、孢子 (E)、甘藷莖節上之產孢構造 (F)；其他 *Phomopsis* spp. Ph-835 菌株在 PDA 培養基之菌落 (G)、孢子 (H)、木麻黃葉上之產孢構造 (I)。

Fig. 3. The colony on Potato Dextrose Agar (PDA) (A), conidia (B) and sporulation on *Casuarina equisetifolia* (C) of *Macrophomina phaseolina* strain Mp-001. The colony on PDA (D), conidia (E) and sporulation on stem of sweet potato (F) of *Phomopsis destruens* strain SPPD-50. The colony on PDA (G), conidia (H) and sporulation on *Casuarina equisetifolia* (I) of other *Phomopsis* sp. strain Ph-835.

destruens。Ph-835 在 PDA 培養基上產生具濃密白色菌絲的菌落 (圖 3G)，分生孢子為短紡錘形 (圖 3H)，單胞，無色，兩端具圓形油滴，長 $5.93 \mu\text{m} \pm 0.06 \mu\text{m}$ ，寬 $2.49 \mu\text{m} \pm 0.03 \mu\text{m}$ ，在甘藷莖節上產生乳白色圓形產孢構造 (圖 3I)。依據菌落外觀、孢子形態、產孢構造以及菌株 ITS 序列 (accession No. MH746018) 分子比對結果，初步鑑定為 *Phomopsis* sp.。另外，由分離菌株中隨機挑選 3 株進行 ITS 序列分析 (Ph-845、Ph-846、Ph-855)，其序列與 Ph-835 相似度皆為百分之百。

病原性測定

以 *D. batatas* Ph-832 菌株在甘藷塊根上進行打洞接種，21 d 後，傷口周圍組織變軟。由外觀看，病斑與健部分界雖不明顯 (圖 4A)，但剖開塊根，內部組織呈現水浸狀並變軟，藷肉褐化現象不明顯 (圖 4B)。由塊根內部病健部處進行組織分離，可再次分離出 *D. batatas*，若以削皮接種，則塊根不發病。*L. theobromae* B2715 菌株以削皮方式接種，發病速度快，接種後 3 d 塊根表面已開始產生病

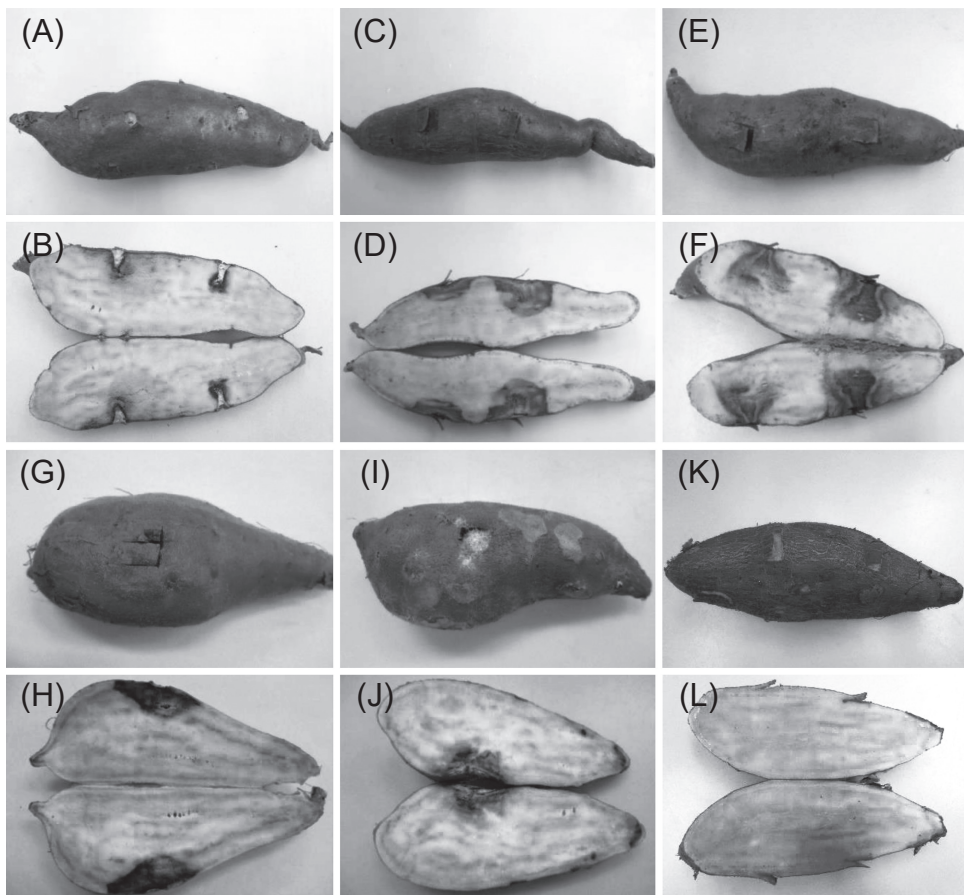


圖 4. *Diaporthe batatas* 菌株 Ph-832 以打孔接種於「台農 57 號」甘藷 (A、B)；*Lasiodiplodia theobromae* 菌株 B2715 (C、D)、*Macrophomina phaseolina* 菌株 Mp-001 (E、F)、*Phomopsis destruens* 菌株 SPPD-50 (G、H)、其他 *Phomopsis* sp. 菌株 Ph-835 (I、J) 以削皮接種於「台農 57 號」甘藷以及對照組 (K、L)。

Fig. 4. The symptoms on sweet potato 'TN57' after *Diaporthe batatas* strain Ph-832 (A, B) drilling-hole inoculation. The symptoms on sweet potato 'TN57' after *Lasiodiplodia theobromae* strain B2715 (C, D), *Macrophomina phaseolina* strain Mp-001 (E, F), *Phomopsis destruens* strain SPPD-50 (G, H) and *Phomopsis* sp. strain Ph-835 (I, J) inoculation by way of peeling. Inoculation with agar as control (K, L).

斑(圖 4C)，並有軟化現象；5 d 時剖開塊根，內部組織大部分已褐化變軟，諸肉內部褐化部分與健部分界明顯(圖 4D)。*M. phaseolina* Mp-001 菌株以削皮方式接種，塊根於接種處產生病斑(圖 4E)，剖開可見內部由接種處開始產生炭黑色病組織，稍外圍之組織有紅棕色褐化情況，與健部分界不明顯(圖 4F)。由塊根內部病健部處進行組織分離，可再次分離出 *M. phaseolina*。*P. destruens* SPPD-50 菌株以削皮方式接種，塊根表面產生病斑(圖 4G)，切開塊根，內部組織褐化腐爛鬆軟(圖 4H)，並散發臭味。*Phomopsis* sp. Ph-835 菌株以削皮方式接種，表面產生淺褐色塊斑(圖 4I)，切開塊根，內部褐化，組織鬆軟(圖 4J)。另外，針對 *Fusarium* spp. 數個菌株進行接種，皆未成功在塊根上產生腐敗病徵。另對照組之諸塊，無論以打孔接種或削皮接種，均不發病。

討論

本篇為台灣首篇探討甘藷於 15°C 低溫儲藏條件下，甘藷塊根腐敗發生情形及其可能致病因子之報告。甘藷為我國重要的糧食作物之一，然而因為產量大多集中於 1、2 月，為能延長市場供應時間，因此利用低溫儲藏，以抑制塊根發芽及鮮重減少，但仍無法避免儲藏性病害之發生。甘藷儲藏之適溫約為 12–16°C (Owunmen 1978; Kader 1985; Picha 1986; Li 2013)，本篇報告以 15°C 作為儲藏溫度，可有效抑制「台農 57 號」及「台農 66 號」甘藷塊根發芽，同時不至於造成寒害。然而，國內外研究指出，此儲藏條件下，如無良好癒傷處理，塊根仍可能因病害損失 10–65% 產量 (Ray & Balagopalan 1997; Li 2015)。本研究持續調查儲藏 12 wk 期間甘藷塊根的腐敗發生情形，結果顯示彰化大城及雲林水林塊根經 12 wk 儲藏後，至少都有 40% 以上的腐敗發生率，且腐敗情形約於儲藏後 6–8 wk 開始大量發生。由此可知，低溫雖能抑制塊根發芽，但不足以完全遏止甘藷在儲藏期的損失，還需配合田間病害有效防治，及避免儲運時感染，以雙管齊下之方式，才能有效降低甘藷塊根在儲藏期的減損。

本研究將主要分離到的真菌歸為 6 類，其中基腐病之病原 *P. destruens* 與其他 *Phomopsis* spp. 為同一屬，同時 *D. batatas* 的無性世代亦屬於 *Phomopsis* spp.。從菌落形態上看，*P. destruens* 在 PDA 培養基上產生淡桔色菌落，邊緣不整形，相對於其他 *Phomopsis* spp. 在 PDA 培養基上產生白色平鋪緻密菌絲層有明顯區隔，與 *D. batatas* 在 PDA 培養基上形成菌絲較稀疏的白色菌落及著生黑色顆粒狀柄子器也不同；此外，*D. batatas* 及 *P. destruens* 在酸化之 APDA 培養基上生長緩慢，*Phomopsis* spp. 菌絲可在 7 d 之內長滿直徑 6 cm 之 PDA 培養基。另外，經由接種試驗，受 *P. destruens* 侵染之塊根有明顯臭味，*D. batatas* 與其他 *Phomopsis* sp. 接種則無此情形。*Phomopsis* spp. 之鑑定依據包含孢子形態、分子比對，以及利用病原性或毒性以區別，但其分生孢子形態及大小範圍相近，往往不足以區隔種 (van der Aa *et al.* 1990; Rehner & Uecker 1994)。若僅以 ITS 片段進行分子比對，則容易因序列相似度過高而發生誤判。除形態及分子鑑定外，亦可利用病原寄主範圍及病原性進行區別，但病原菌對寄主的病原性強弱差異是相對的，而非絕對的有或無 (Schilder *et al.* 2005)，容易產生判斷上的困難。綜合以上因素，使 *Phomopsis* spp. 之鑑定相形困難，無法順利鑑定到種名。

在儲藏病害造成之病徵方面，本研究結果顯示，儲藏期腐敗之甘藷，大多呈現一端或兩端褐化，而分離出不同真菌的塊根之間並無明顯差異，以致於無法僅由外觀判定儲藏病害之種類，與國外文獻描述病徵不盡相同。以 *D. batatas* 為例，其儲藏期之病徵會從甘藷一端開始褐化，與本篇報告相同，但除此之外，亦會伴隨出現塊根乾癟、皺縮，組織變硬及木乃伊化等病徵。*L. theobromae* 也會從一端褐化、變黑，但隨著病勢發展，塊根表面會產生黑色塊狀質地緊密的菌絲組織，亦為田間常見黑腐病的典型病徵；*M. phaseolina* 則先在甘藷皮層形成紅棕色壞疽，隨病勢發展及蔓延，壞疽中央變為炭黑色，而邊緣仍然呈現紅棕色；*P. destruens* 則會沿著莖基部蔓延到塊根，並

在儲藏期蔓延，造成褐色壞疽病徵 (Huang *et al.* 2012; Clark *et al.* 2013)。本研究在儲藏期觀察到的採後病害病徵與國外文獻 (Harter *et al.* 1918; Clark 1992; Clark *et al.* 2013) 相異，推測可能的原因，或許與甘藷品種、菌株特性有關。而低溫儲藏條件亦可能影響其病勢發展，進而影響病徵表現，如 *L. theobromae* 可能因此未產生黑色緻密菌絲構造。此外，本研究的調查方法，是觀察到罹病塊根即挑出進行組織分離，而未放任其病勢持續發展成典型病徵，也是本研究未觀察到病藷表現出典型病徵的可能原因之一。另外，*M. phaseolina* 雖未在儲藏性病害的調查中觀察到典型病徵，然而接種實驗中，出現了中央炭黑，周圍紅棕色的病徵，則與國外文獻 (Ray & Nedunchezhiyan 2012) 描述相符。

本研究中，在儲藏期不同週數時，分離到的真菌菌相比例亦不相同。以彰化大城為例，分離到最多的是 *L. theobromae*，在 4–8 wk 時大量出現，而 *Fusarium* spp. 雖僅次於 *L. theobromae*，但大多在儲藏後期開始發生，以 8 wk 時分離最多。調查雲林水林儲藏甘藷，分離到最多的是 *Fusarium* spp.，也多集中在儲藏後期的 8–12 wk，而其他真菌，如 *D. batatas*，*L. theobromae* 及 *M. phaseolina* 則在儲藏前期相對有較多分離數。菌相於不同時期發生的原因，可能與塊根本身細胞及生理活性有關。一旦塊根的細胞及生理活性隨著儲藏期的延長而下降，則侵染的條件也將轉為對腐生性強的病原菌較有利。儲藏後期時，塊根的活性大幅下降，其腐敗可能為生理性，組織分離時無法分離到任何真菌，或者分離得到的真菌可能為腐生菌，而非病原菌。

為確認由塊根上分離之真菌具病原性，而非塊根腐敗後生長之腐生菌，進行接種試驗。結果 *D. batatas*、*L. theobromae*、*M. phaseolina*、*P. destruens* 及部分 *Phomopsis* spp. 可造成塊根腐敗，具有病原性，與國外報導 (Ray & Balagopalan 1997; Khatoon *et al.* 2017) 造成甘藷儲藏性病害的病原一致。*Fusarium* spp. 則未能造成病徵，其原因可能為接種方式與條件不利於發病，也可能由腐敗塊根上分離的 *Fusar-*

ium spp. 中，至少有一部分是不具病原性的腐生菌。*Fusarium* spp. 在自然界扮演多重角色，除為病原菌之外 (Ploetz & Palmateer 2007; Taylor *et al.* 2017) 之外，*Fusarium* spp. 亦可能為腐生菌甚至是內生真菌，相關研究同時指出這些腐生或內生菌可能具有防治病原菌的潛力 (Fracchia *et al.* 2000; Bacon *et al.* 2008; Barik *et al.* 2010)。

如欲以田間藥劑施用作為防治甘藷採後病害的方式，應考慮各個病原菌特性、在田間感染或傳播的情形，以及是否具潛伏性等因素，以掌握正確的施藥時間與時機。在田間感染的情況中，*P. destruens* 造成甘藷基腐病，除了塊根腐敗外，也會在田間使莖基部褐化乾枯，植株黃化枯萎 (Huang *et al.* 2012; Huang *et al.* 2016)。目前已知甘藷基腐病可藉由種植前淹水、去除田間病殘體、健康種苗及使用推薦藥劑腐絕及貝芬菲克利等進行田間防治，因此在發病田間尤應注意上述管理措施，發病田區所採收之甘藷盡量勿做儲藏，以避免後續儲藏性病害的發生。*L. theobromae* 除危害塊莖外，亦可造成甘藷莖部潰瘍 (Huang *et al.* 2017)。除此之外，*L. theobromae* 為多犯性真菌，造成其他根莖類作物，如芋頭、山藥、樹薯塊根或塊莖腐敗，其防治方法包括選用健康的塊根或塊莖作為種源，並在種植前進行適當的風乾或消毒，在排水良好的地上種植，以及輪作。另外，在山藥上亦有利用枯草桿菌或木黴菌進行防治的報導 (Reddy 2015)。*M. phaseolina* 寄主範圍廣，可在豆類、穀物、水果上造成病害 (Ndiaye 2007)，且可藉由土壤、種子傳播，感染後植物組織變黑，並產生小粒黑色菌核，而成為初次感染源。本病原防治方式，可藉由土壤消毒、清除田間殘體的方式來進行 (Tsay & Tung 1996)。在潛伏特性上，*L. theobromae* 在柑桔未成熟青果上潛伏感染，並於採收後儲藏期發病 (Adisa & Obinyereokwu 2004)；*Phomopsis* spp. 在葡萄果實上潛伏感染，且病原菌於開花期已存在於花器上 (Pscheidt & Pearson 1989)。可知在本研究中報導的病原菌種類，至少有 *L. theobromae* 和 *Phomopsis* spp. 兩種具潛伏感染特性。應從田間栽培時期以適當藥

劑進行防治，阻止病原菌入侵，並配合前述其他耕作防治方式，降低田間病原菌族群數量，減少病原菌於採收後由傷口入侵機率。

本篇報告在調查時，並未分離到 *R. stolonifer*，其已知為甘藷採後儲藏病害重要的病原菌 (Ray & Nedunchezhiyan 2012; Khatoon *et al.* 2017)。*R. stolonifer* 在甘藷上造成軟腐病，如塊根本身有傷口，將有助於侵染，且最適侵染溫度為 20°C (Clark *et al.* 2013)，而 Scruggs & Quesada-Ocampo (2016) 指出當溫度及相對濕度較低時，例如在 13°C 且相對濕度低於 90% 環境下，*R. stolonifer* 在塊根上的侵染明顯趨緩，且在 2–5°C 時，其菌絲生長及孢子發芽幾乎完全停滯 (Amiri *et al.* 2011)。本篇報告一開始挑選外觀完整無病徵之健康塊根，且於低溫下儲藏，條件不利於 *R. stolonifer* 之侵染，可能為本研究中未分離到該病原菌之原因，或許亦暗示良好的低溫儲藏條件可有效防止軟腐病在採後儲藏期發生。

本篇報告調查台灣甘藷採後儲藏性病害之種類及發生情形，確認其病原性，研究結果可作為後續甘藷採收後病害防治時之依據。對於儲藏性病害防治之研究，除可針對前述病原菌進行化學藥劑防治外，亦可依病原菌特性，進行耕作防治，如淹水、清除田間殘體、輪作、土壤消毒、使用健康種藷等，或進行其他物理、生物防治之研究，以作為病害防治之參考。

誌謝

本研究承行政院農業委員會農業試驗所嘉義分所農藝系賴永昌主任及黃哲倫助理研究員提供甘藷田及健康種苗，以及陳幸葵小姐、江瑞麟及蔡佳達先生協助試驗進行，特此誌謝。

引用文獻

Adisa, V. A. and O. A. Obinyereokwu. 2004. Studies on the latent infection of *Botryodiplodia theobromae* Pat. on *Citrus sinensis* (L.) Osbeck fruit. *Mycopathologia* 102:165–167.

Amiri, A., W. Chai, and G. Schnabel. 2011. Effect of nutrient status, pH, temperature and water potential on

germination and growth of *Rhizopus stolonifer* and *Gilbertella persicaria*. *J. Plant Pathol.* 93:603–612.

Bacon, C. W., A. E. Glenn, and I. E. Yates. 2008. *Fusarium verticillioides*: Managing the endophytic association with maize for reduced fumonisins accumulation. *Toxin Rev.* 27:411–446.

Barik, B. P., K. N. Tayung, P. N. Jagadev, and S. K. Dutta. 2010. Phylogenetic placement of an endophytic fungus *Fusarium oxysporum* isolated from *Acorus calamus* rhizomes with antimicrobial activity. *Eur. J. Biol. Sci.* 2:8–16.

Clark, C. A. 1992. Postharvest diseases of sweet potatoes and their control. *Postharv. News Inf.* 3:75–79.

Clark, C. A., D. M. Ferrin, T. P. Smith, and G. J. Holmes. 2013. *Compendium of Sweet Potato Disease, Pests, and Disorders*. 2nd ed. APS Press. St. Paul, MN. 160 pp.

Fracchia, S., I. Garcia-Romera, A. Godeas, and J. A. Ocampo. 2000. Effect of the saprophytic fungus *Fusarium oxysporum* on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of plants in greenhouse and field trials. *Plant Soil* 223:177–186.

Harter, L. L., J. L. Weimer, and J. M. R. Adams. 1918. Sweet-potato storage-rots. *J. Agric. Res.* 15:337–368.

Hsu, S. T., T. T. Chang, C. A. Chang, J. L. Tsai, and T. T. Tsai. 2002. *List of Plant Diseases in Taiwan*. 4th ed. Taiwan Phytopathology Society. Taichung, Taiwan. 386 pp. (in Chinese)

Huang, C. W., M. F. Chuang, S. S. Tzean, H. R. Yang, and H. F. Ni. 2012. Occurrence of foot rot disease of sweet potato caused by *Phomopsis destruens* in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 21:47–52. (in Chinese with English abstract)

Huang, L. F., B. P. Fang, K. M. Li, S. J. Ye, J. Y. Chen, Z. X. Luo, and Z. Y. Wang. 2016. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing a stem canker on sweet potato in China. *Plant Dis.* 100:1948.

Huang, C. W., H. R. Yang, C. Y. Lin, S. L. Hsu, W. C. Ko, and H. F. Ni. 2017. Screening of fungicides for foot rot of sweet potato caused by *Phomopsis destruens*. *J. Taiwan Agric. Res.* 66:66–73. (in Chinese with English abstract)

Kader, A. A. 1985. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. University of California. Davis, CA. 192 pp.

Khatoon, A., A. Mohapatra, and K. B. Satapathy. 2017. Studies on fungi associated with storage rot of Sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] root tubers in Odisha, India. *Intl. J. Micro. Myco.* 5(2):1–7.

Li, H. C. 2013. Storage temperature affects quality of fresh tuberous roots of sweet potato during storage

- period. *J. Taiwan Agric. Res.* 62:174–183. (in Chinese with English abstract)
- Li, H. C. 2015. Effect of curing and hot water treatment on the storage of sweet potato. *Crop Environ. Bioinform.* 12:95–104. (in Chinese with English abstract)
- Lin, Y. S., T. C. Yang, and C. H. Kuo. 1995. Diseases of beans and green manure crops. p.186–198. *in: Taiwan Agricultural Encyclopedia Vol. 2.* 3rd ed. (Council of Agriculture, Executive Yuan, ed.) Feng Nien. Taipei, Taiwan. 4700 pp. (in Chinese)
- Ndiaye, M. 2007. Ecology and Management of Charcoal Rot (*Macrophomina Phaseolina*) on Cowpea in the Sahel. Ph.D. Dissertation. University of Wageningen, Wageningen, The Netherlands. 114 pp.
- Owunmen, I. C. 1978. *The Tropical Tuber Crops: Yams, Cassava, Sweet potato, and Cocoyams.* Wiley. New York. 234 pp.
- Picha, D. H. 1986. Weight loss in sweet potatoes during curing and storage: Contribution of the transpiration and respiration. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111:889–892.
- Ploetz, R. C. and A. J. Palmateer. 2007. First report of *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* on roselle in the United States. *Plant Dis.* 91:639.
- Pscheidt, J. W. and R. C. Pearson. 1989. Time of infection and control of *Phomopsis* fruit rot of grape. *Plant Dis.* 73:829–833.
- Ray, R. C. and C. Balagopalan. 1997. Postharvest Spoilage of Sweet Potato. Central Tuber Crops Research Institute. Kerala, India. 31 pp.
- Ray, R. C. and V. Ravi. 2005. Spoilage of sweet potato in tropics and control measures. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45:623–644.
- Ray, R. C. and M. Nedunchezhiyan. 2012. Postharvest fungal rots of sweet potato in tropics and control measures. *Fruit, Veg. Cereal Sci. Biotech.* 6:134–138.
- Reddy, P. P. 2015. *Plant Protection in Tropical Root and Tuber Crops.* Springer India. New Delhi, India. 336 pp.
- Regional Office for Asia and the Pacific, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2014. *FAO Statistical Yearbook 2014: Asia and the Pacific Food and Agriculture.* Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. 195 pp.
- Rehner, S. A. and F. A. Uecker. 1994. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer phylogeny and host diversity in the coelomycete *Phomopsis*. *Can. J. Bot.* 72:1666–1674.
- Schilder, A. M. C., O. Erincik, L. Castlebury, A. Rossman, and M. A. Ellis. 2005. Characterization of *Phomopsis* spp. infecting grapevines in the Great Lakes region of North America. *Plant Dis.* 89:755–762.
- Scruggs, A. C. and L. M. Quesada-Ocampo. 2016. Cultural, chemical, and alternative control strategies for *Rhizopus* soft rot of sweet potato. *Plant Dis.* 100:1532–1540.
- Taylor, A., I. L. Sims, A. C. Jackson, and J. P. Clarkson. 2017. First report of *Fusarium oxysporum* causing a vascular wilt of statice (*Limonium sinuatum*) in the U.K. *Plant Dis.* 101:1040.
- Tsai, H. L. 2005. Development of Techniques for Detection of Latent Infection and Molecular Identification of Mango Anthracnose Fungi. Master Thesis, Department of Plant Pathology and Microbiology, National Taiwan University. Taipei, Taiwan. 92 pp. (in Chinese with English abstract)
- Tsay, J. G. and B. K. Tung. 1996. Charcol rot (*Macrophomina phaseolina*) and botryodiplodia decline (*Botryodiplodia theobromae*) of melons in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 5:199. (Chinese abstract)
- van der Aa, H. A., M. E. Noordeloos, and J. de Gruyter. 1990. Species concepts in some larger genera of the Coelomycetes. *Stud. Mycol.* 32:3–19.
- Wang, Y. Y. 2014. Study on Foot Rot and Dry Rot of Sweet Potato in Northern Taiwan. Master Thesis, Master Program for Plant Medicine, National Taiwan University. Taipei, Taiwan. 61 pp. (in Chinese with English abstract)
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. p.315–322. *in: PCR Protocols: A Guide to Methods and Application.* (Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, eds.) Academic Press. San Diego, CA. 482 pp.

Study on Sweet Potato Storage Disease and Etiology

Chao-Jung Wu¹, Hong-Ren Yang², Ching-Yi Lin¹, Chiao-Wen Huang³, Sui-Li Hsu⁴, Su-Yu Lai⁴, and Hui-Fang Ni^{5,*}

Abstract

Wu, C. J., H. R. Yang, C. Y. Lin, C. W. Huang, S. L. Hsu, S. Y. Lai, and H. F. Ni. 2019. Study of sweet potato storage disease and etiology. *J. Taiwan Agric. Res.* 68(1):28–39.

Post-harvest storage disease is one of the important limiting factor of sweet potato production. To investigate the incidence of post-harvest storage disease on sweet potato, healthy roots from Dacheng Township, Changhua County and Shueilin Township, Yunlin County were collected and stored under 15°C for 12 wk, and fungi on rotten roots were isolated every 2 wk in period of storage. After 12 wk of storage, 436 of 504 roots from Dacheng Township and 223 of 500 roots from Shuelin Township were rotten, and isolated fungal species included *Diaporthe batatas*, *Fusarium* spp., *Lasiodiplodia theobromae*, *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis destruens* and other *Phomopsis* spp. Pathogenicity tests were conducted, and results showed that *D. batatas*, *L. theobromae*, *M. phaseolina*, *P. destruens* and some *Phomopsis* spp. were virulent, and could cause rotten symptoms on sweet potatoes, revealing the pathogenicity of these species. On the contrary, roots inoculated with *Fusarium* spp. did not show symptom. This study provides important reference for further fungicides screening to control the post-harvest disease of sweet potato in Taiwan.

Key words: Sweet potato, Storage disease, Dry rot, Black rot, Charcoal rot.

Received: April 24, 2018; Accepted: August 28, 2018.

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

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

² Research Fellow and Director, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.

³ Assistant Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

⁴ Research Assistants, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.

⁵ Associate Research Fellow and Head, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.