

4-4 式波爾多液對咖啡銹病防治效果評估

倪蕙芳¹ 許淑麗² 賴素玉² 張淑芬³ 林靜宜^{4,*}

摘要

倪蕙芳、許淑麗、賴素玉、張淑芬、林靜宜。2021。4-4 式波爾多液對咖啡銹病防治效果評估。台灣農業研究 70(1):43–53。

咖啡銹病為全世界咖啡產業最重要的病害，於全球咖啡產區普遍發生。本研究經調查發現台灣栽植的咖啡銹病發生期為 8–12 月，並於咖啡植株的下層葉發生較為嚴重。咖啡銹病菌孢子於含游離水 6 h 的條件下，以 20–25°C 發芽率最佳，發芽率可達 72% 以上，但 10°C 以下及 35°C 以上則不利於發芽。由於國內尚無核准使用之推薦藥劑提供咖啡銹病防治，因此本研究利用亞磷酸-氫氧化鉀中和液 (neutralized phosphorous acid solution; NPA) 及 4-4 式波爾多液作為咖啡銹病防治資材，進行防治效果試驗評估。田間試驗結果顯示，4-4 式波爾多液可降低咖啡銹病的罹病度，防治效果最為顯著。4-4 式波爾多液適當的使用時機與方法，經試驗後發現於雨季來臨前使用 1–2 次即可有效降低咖啡銹病的發生，於施用 3 mo 後之罹病度分別為 5.45% 與 4.23%，與對照組 35.47% 罹病度有顯著性差異。本研究亦發現咖啡銹病菌之孢子以 4-4 式波爾多液處理 6 h 後，其發芽率仍為 0%，顯示 4-4 式波爾多液確實可藉由抑制銹病孢子發芽進而降低銹孢子侵染而達到防治功效。此外，咖啡果實銅殘留量測定結果，顯示施用 1 次 4-4 式波爾多液後 3 mo，其果實上殘留之銅量為 8.43 mg kg⁻¹，遠低於歐洲執行委員會 (European Commission) 對咖啡豆訂定之銅容許量標準 (50.00 mg kg⁻¹)。因此，4-4 式波爾多液可安全使用於咖啡豆的生產，而本研究之結果未來有潛力可作為田間防治咖啡銹病之參考。

關鍵詞：波爾多液、亞磷酸、咖啡、銹病。

前言

咖啡 (*Coffea* spp.) 為茜草科 (Rubiaceae) 常綠灌木，原產於熱帶非洲。早於西元 575 年開始，葉門地區即有栽種與使用的紀錄，約於 1615 年歐洲地區開始飲用咖啡 (Mussatto *et al.* 2011)。自此，長久以來咖啡飲品已傳播至世界各地，並深受大眾喜愛，亦使咖啡成為世界重要的經濟作物。適合咖啡生長分布的區域約在以赤道為中心至南北迴歸線之間，因此全球咖啡主要產區集中於拉丁美洲、非洲及亞洲的熱帶或亞熱帶的大陸或島嶼。台灣地處北迴歸線，整體風土條件適合咖啡栽種，根據農

委會統計資料顯示 (<https://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/inquiry/InquireAdvance.aspx>)，台灣咖啡種植面積於 2008 年僅 608.32 ha，近年來隨著喝咖啡的人口數增加，對咖啡豆需求與日俱增，促使種植面積逐漸成長。至 2019 年面積已達 1,155.70 ha，已成為台灣近年來新興的經濟作物，目前則以阿拉比卡咖啡品種的種植最為常見。

咖啡生產的過程中常受到數種病蟲害威脅，台灣已知的咖啡病害種類有 *Cercospora coffeicola* 引起之褐眼病 (brown eyespot)、*Colletotrichum gloeosporioides* 引起之炭疽病 (anthracnose) 及 *Hemileia vastatrix* 引起之銹病 (rust; leaf rust)

投稿日期：2020 年 11 月 2 日；接受日期：2020 年 12 月 8 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副研究員兼系主任。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計畫助理。台灣 嘉義市。

³ 農委會農業試驗所嘉義農業試驗分所園藝系副研究員。台灣 嘉義市。

⁴ 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。

等，蟲害則有咖啡木蠹蛾 (*Zeuzera coffeae*)、東方果實蠅 (*Bactrocera dorsalis*) 及咖啡果小蠹 (*Hypothenemus hampei*) 等 (Chen 2007; Lin *et al.* 2010; Tzeng 2019; Ni *et al.* 2020)。其中，咖啡銹病最早是由英國探險家於 1861 年在肯亞的維多利亞湖附近之野生種咖啡上發現 (Talhinhas *et al.* 2017)，在台灣則由 Sawada 於 1922 年記錄後 (Tzeng 2019)，後續國內並無相關的詳細報告。咖啡銹病菌為絕對寄生真菌，主要藉其產生之夏孢子 (urediniospore) 經由風雨傳播。咖啡葉片為主要受感染的部位，多於初期葉面出現淺黃色圓斑，葉背則顯現黃橙色粉狀黴斑，尤其於產孢時最為明顯。當咖啡銹病發生嚴重時，植株之光合作用能力降低、提早落葉，進而影響果實生長導致品質與產量低下 (Cressey 2013)。咖啡銹病曾於斯里蘭卡大發生，導致斯里蘭卡的咖啡產業幾乎被摧毀 (Morris 1880)，隨後咖啡銹病陸續傳播至世界各地主要的咖啡生產國，使咖啡銹病成為影響咖啡生產之重要限制因子之一。近年，此病害於世界咖啡主要產區的中南美洲地區爆發大流行，造成中美洲 2013–2014 年咖啡產量較上一年度減少超過 17% (McCook & Vandermeer 2015)，並連帶影響之後的生產，嚴重發病的咖啡樹甚至三年後才能再開始結果，對當地咖啡產業造成重大打擊，同時也影響許多咖啡工人的生計 (Avelino *et al.* 2015)。

目前國外對於咖啡銹病的防治方法，主要有栽種抗病品種與使用化學藥劑防治 (Talhinhas *et al.* 2017)。由阿拉比卡 (*Coffea arabica*) 與羅布斯塔 (*Coffea canephora*) 的種間自然雜交品種 ‘Hibri de Timor’ (‘HDT’) 對咖啡銹病表現之抗性較強，但因風味及市場需求等因素，故商業栽培面積並不大，常作為抗病育種之種原 (Rodrigues *et al.* 1975; Talhinhas *et al.* 2017)。因此，現今主要的咖啡栽培區一般仍多採用銅劑及史托比類 (strobilurins) 的藥劑防治咖啡銹病 (McCook & Vandermeer 2015)。

近年來隨著咖啡成為廣受國人喜愛的飲品及咖啡豆之經濟價值提高，使咖啡在台灣已成為新興的經濟栽培作物。然而，國內尚無核准

使用之推薦藥劑提供防治咖啡銹病，且多數農友朝向有機或友善環境的方式耕作咖啡。因此，需仰賴適當的整枝、修剪、合理化的施肥等耕作管理措施作為防治策略，以預防咖啡銹病發生。本研究利用亞磷酸-氫氧化鉀中和液 (neutralized phosphorous acid solution; NPA) 及 4-4 式波爾多液 (Bordeaux mixture) 作為防治資材，探討應用於咖啡銹病之防治效果及其適當的使用方式，以作為農友田間防治之參考。

材料與方法

咖啡銹病發生調查與病徵

本試驗以行政院農業委員會農業試驗所嘉義農業試驗分所之古坑農場內的咖啡園作為調查試區，於 2018 年進行咖啡銹病發生調查。試驗於調查試區內選定 8 株咖啡樹，每月調查病害發生情形。每株逢機調查上位層枝條 5 枝及下位層枝條 5 枝，每枝條以展開葉開始記錄 10 葉之罹病病斑面積級數，依下述罹病指數 (disease index) 分別觀察記錄上位層 50 葉、下位層 50 葉之罹病等級及發病情形，並計算罹病度 (disease severity)。罹病指數分為 3 級：0 級為無病徵、1 級為 < 10% 葉片面積出現病斑、2 級為 10–30% 葉片面積出現病斑及 3 級為 > 30% 葉片面積出現病斑 (Phiri *et al.* 2001)，再依照下列公式計算罹病度。罹病度 (%) = $\Sigma(\text{指數} \times \text{該指數罹病葉數}) / (3 \times \text{總調查葉數}) \times 100\%$ 。另外，將採集之病葉病斑以光學顯微鏡 (Nikon 80i, Nikon, Tokyo, Japan) 及桌上型掃描式電子顯微鏡 [scanning electron microscope (SEM), TM-1000, Hitachi, Tokyo, Japan] 進行病徵上病兆觀察。

溫度對咖啡銹病菌孢子發芽之影響

自田間無使用農藥栽培管理之咖啡園採集銹病罹病葉，收集葉背上新鮮黃橙色粉狀銹孢子堆，利用無菌水洗下銹孢子，製作供試孢子懸浮液 (約 200 spores μL^{-1})。再以滅菌之微量吸管吸取 30 μL 之孢子懸浮液，置於 3 凹載玻片之凹槽內。供試載玻片置於加有 1 mL 無菌

水之 9 cm 塑膠培養皿中保濕，分別置於 10、15、20、25、30、35 及 40°C 之定溫箱中培養。培養 6 h 後，於顯微鏡下逢機計算 100 個孢子之發芽率，每處理 2 皿，6 重複，本試驗重複進行 2 次。

4-4 式波爾多液與 NPA 之製備

波爾多液依加入之硫酸銅 (CuSO_4) 及生石灰 (CaO) 含量而有不同濃度的配方，本試驗使用 4-4 式波爾多液 (1 L 含有 4 g 硫酸銅與 4 g 生石灰)，將所需水量等分為兩桶，分別溶解等重量之硫酸銅與生石灰 (均購於聯合農業資材行，台灣嘉義縣)。再將硫酸銅溶液緩緩倒入石灰水中，並於倒入過程中不停攪拌以利兩者充分混合，完成配製後當日施用。

亞磷酸 (phosphorous acid; H_3PO_3) 為白色透明結晶體，具強酸性，需以氫氧化鉀中和後方能施用。本試驗使用 NPA 之濃度為 1 gL^{-1} ，分別稱取等重量的亞磷酸 (99% H_3PO_3) 及氫氧化鉀 (95.5% KOH) (均購於禾康肥料有限公司，台灣台中市)。配製溶液時，先將亞磷酸加入水中，待完全溶解後再加入氫氧化鉀溶解，並於配製完成後於當日使用 (Ann 2001)。

4-4 式波爾多液與 NPA 對咖啡銹病發生之影響

本試驗以嘉義農業試驗分所之古坑農場內的咖啡園作為試驗田區，並以田間自然發病方式進行藥效評估。藥劑採用葉面噴施方式，分為 4-4 式波爾多液與 1 gL^{-1} NPA 之 2 種處理組及不噴藥處理之對照組 (control check; CK)，使用之藥劑皆當日配製使用。每處理 4 重複，每重複 2 株植株。試驗於 2018 年 3–8 月進行施用，每個月施用 1 次，共使用 6 次。藥劑施用以背負式噴霧機進行，直至將整株咖啡植株均勻噴濕為止。最後 1 次噴施藥劑前 (8 月)，進行銹病發生情形調查 1 次，之後每月定期調查植株葉部銹病發生情形。調查方式如下：每株逢機調查 10 枝條，每枝條以展開葉開始記錄 10 葉之罹病病斑面積級數，依前述之罹病指數分別觀察記錄 100 葉之罹病等級及發病情形，並依前述公式計算罹病度。

4-4 式波爾多液使用時機對咖啡銹病發生之影響

此試驗於 2019 年以嘉義農業試驗分所之古坑農場的咖啡園作為試驗田，利用田間自然發病方式進行藥效評估。藥劑為 4-4 式波爾多液，採用葉面噴施方式。試驗採逢機完全區集設計，試區為 4 行區，重複 3 次，每重複 2 株植株。分為 3 種處理，A：雨季施用 1 次 (6 月)；B：雨季 (6 月) 及發病期前 (7 月) 分別施用 1 次；C：發病初期 (7 月) 施用 1 次及 CK：不做藥劑處理之對照組。施藥後每月調查植株銹病發生情形，連續調查 4 次。調查方式為每株逢機調查 10 枝條，每枝條以展開葉開始記錄 10 葉之罹病病斑面積級數，依前述之罹病指數分別觀察記錄 100 葉之罹病等級及發病情形，並依公式計算罹病度。

4-4 式波爾多液對病原菌孢子發芽之影響

生體外 (*in vitro*) 試驗：自田間無農藥栽培管理之咖啡園採集銹病罹病葉，挑選葉背上新鮮黃橙色粉狀銹孢子堆，利用當日配製之 4-4 式波爾多液洗下銹孢子，製作供試孢子懸浮液 (約 $200 \text{ spores } \mu\text{L}^{-1}$)。再以滅菌之微量吸管吸取 $30 \mu\text{L}$ 之孢子懸浮液，置於 3 凹載玻片之凹槽內。供試載玻片置於加有 1 mL 無菌水之 9 cm 塑膠培養皿中保濕，培養皿置於 25°C 之定溫箱經 6 h 後，於顯微鏡下逢機計算 100 個孢子之發芽率，每處理 2 皿，6 重複。本試驗重複進行 2 次，另以無菌水處理作為對照組。

本試驗亦於植體咖啡葉上進行，將 4-4 式波爾多液均勻噴灑至植體咖啡葉之正反兩面，待表面藥劑風乾後摘下作為試驗材料來源。試驗使用之孢子懸浮液 (約 $200 \text{ spores } \mu\text{L}^{-1}$)，則是利用無菌水將田間咖啡罹病葉背上新鮮黃橙色粉狀銹孢子堆洗下製成。再以滅菌之微量吸管吸取 $20 \mu\text{L}$ 之孢子懸浮液，滴至葉背上，選用葉片為已完全展開且未革質化之咖啡新葉。供試葉片置於加有 1 mL 無菌水之 9 cm 塑膠培養皿中保濕，培養皿置於 25°C 之定溫箱經 6 h 後，加入 $20 \mu\text{L}$ 染色劑 (trypan blue,

Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) 進行染色。30 min 後，於顯微鏡下隨機計算 100 個孢子之發芽率，每處理 2 皿，6 重複。本試驗重複進行 2 次，另以無藥劑處理作為對照組。

4-4 式波爾多液處理之植株葉片與果實銅殘留量測定

試驗於嘉義農業試驗分所之古坑農場的咖啡試驗田，將 4-4 式波爾多液以背負式噴霧機進行植株葉面噴施，直至將整株咖啡植株均勻噴濕為止。此試驗處理 2 株植株，3 重複。另以無藥劑處理作為對照組。待施用之藥劑風乾之後，每重複組採集 50 g 之植株葉片送至 SGS 台灣檢驗科技股份有限公司 (台灣高雄市)，進行重金屬銅含量分析 (定量極限 2.00 mg kg^{-1})，以感應耦合電漿原子發射光譜儀 (inductively coupled plasma optical emission spectrometer; ICP-OES) 分析。之後每月送驗一次，共檢測 4 次，藉以觀察咖啡葉片銅殘留量的消退情形。果實之銅殘留量測定，則於施藥 3 mo 後採集紅色咖啡果實，每重複組採集 50 g，利用與咖啡葉片檢測相同方式進行重金屬銅含量分析。

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

結果

咖啡銹病發生調查與病徵觀察

咖啡銹病發生調查結果顯示，8–12 月為銹病發生期，其他月分並未觀察到病害發生。上層葉 8–9 月之罹病度低於 5%，而 10–12 月之罹病度皆高於 10%，其中罹病高峰點落於 10–11 月之間，其罹病度可達 15% (圖 1)。下層葉於 8 月之罹病度低於 2%，9–12 月之罹病度皆高於 14%。其中，罹病高峰點落於 10 月，其罹病度可達 26%，其次為 11 月之 24% (圖 1)。咖啡銹病於葉片之初期病徵為葉面出現淡黃色圓斑 (圖 2A)，葉背則出現黃橙色粉狀斑

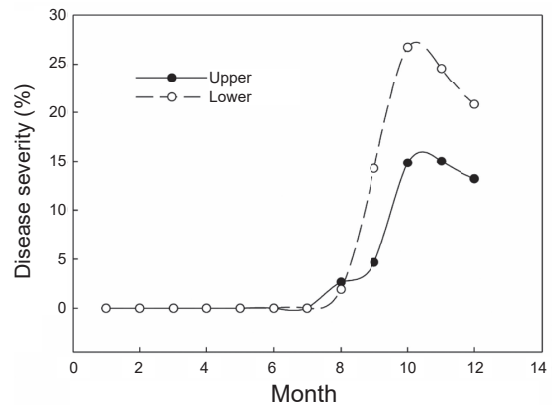


圖 1. 咖啡銹病於上層葉與下層葉之罹病度調查。

Fig. 1. Disease severity of coffee leaf rust observed in the branches of the upper and lower canopy of coffee plants.

(圖 2B)，產孢時最為明顯，後期葉面病斑褐化壞疽。將罹病組織進一步以 SEM 觀察，發現下表皮的夏孢子堆多由氣孔產出 (圖 2C)，且夏孢子呈長橢圓形或腎形，表面具刺狀構造 (圖 2D)。

溫度對咖啡銹病菌孢子發芽之影響

本研究進行溫度對咖啡銹病菌孢子發芽之影響，結果如圖 3 所示。於溫度 10、35 及 40°C 時，孢子在游離水中 6 h 仍無法發芽，然而在 20–25°C 含游離水的條件下，發芽率最佳，均達 72% 以上的發芽率，其次為 30°C 時的發芽率為 65.5%；而在 15°C 時之發芽率為 61.7%。

4-4 式波爾多液與 NPA 對咖啡銹病發生之影響

為了篩選對咖啡銹病具有效果之防治資材，本試驗分別利用 4-4 波爾多液及 NPA (1 gL^{-1}) 單位不分行進行田間藥效測試，皆於 3–8 月期間每月施用一次。調查結果顯示，未施用藥劑之對照組於 8 月開始發生咖啡銹病，罹病度為 2.30%，9 月時上升至 9.45%，10 月為 20.79%，11–12 月之罹病度則皆高於 17% (圖 4)，並有落葉的現象。NPA 處理組亦於 8 月開始發生咖啡銹病，罹病度 0.68%，9 月時為 4.13%，10 月之罹病度上升至 16.50%，至

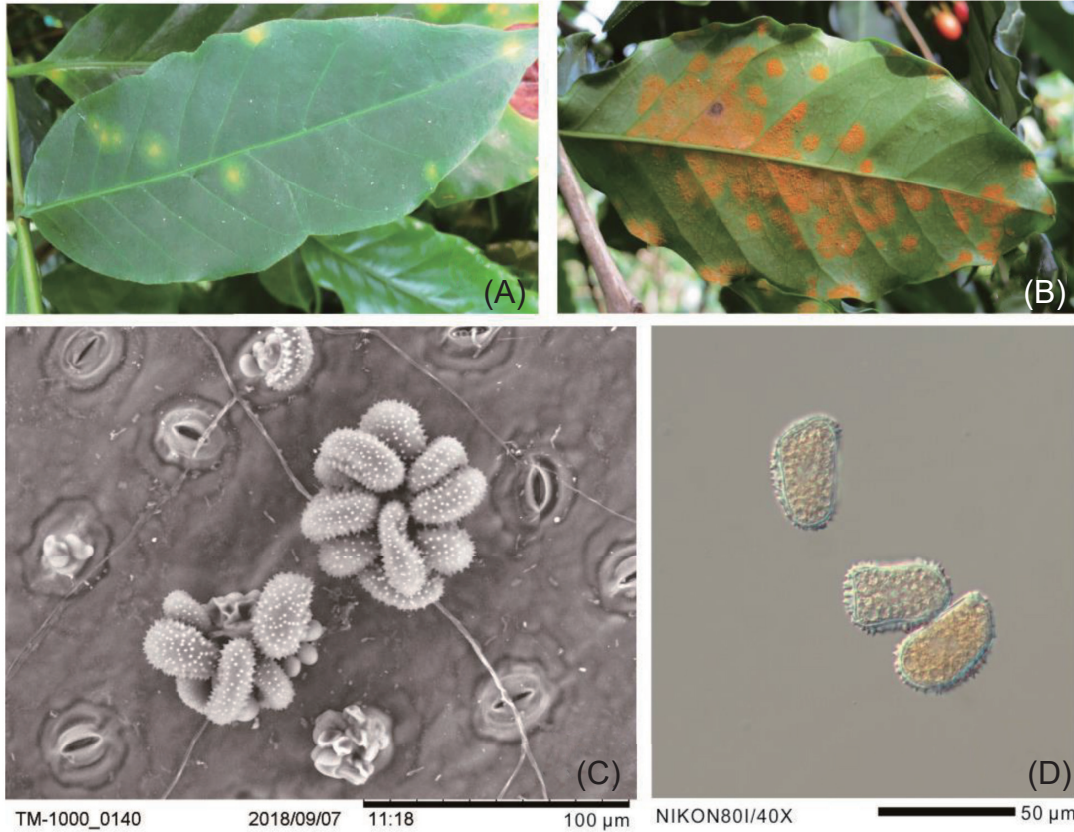


圖 2. 由 *Hemileia vastatrix* 引起的咖啡銹病葉片病徵與孢子型態。(A) 感染初期葉面出現淡黃色圓斑；(B) 為葉背上黃橙色粉狀斑；(C) 以 SEM 觀察葉背夏孢子堆；及 (D) 光學顯微鏡下觀察之孢子型態。

Fig. 2. The symptoms caused by *Hemileia vastatrix* on coffee leaves and morphology of urediniospore. (A) Yellowish spots on the coffee leaf in initial stage; (B) orange, powdery blotches occur on the underside of leaves; (C) scanning electron micrographs of urediniosporic sorus on the underside of a coffee leaf; and (D) light microscope of urediniospore.

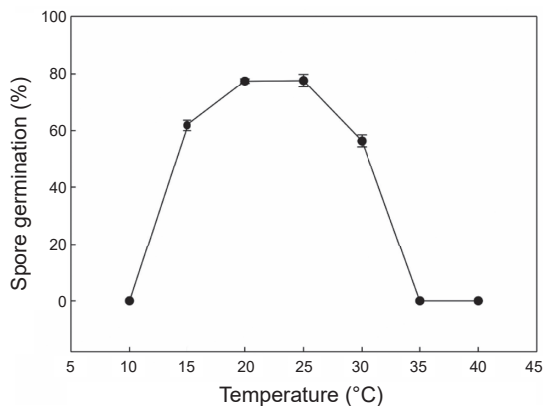


圖 3. 溫度對 *Hemileia vastatrix* 孢子發芽之影響。

Fig. 3. Effect of temperature on the spore germination of *Hemileia vastatrix*.

11-12 月時罹病度已高於 20% (圖 4)。至於施用波爾多液之處理組，8-9 月期間並未觀察到銹病的病徵出現，直至 10 月開始發生咖啡銹病，罹病度為 0.29%，11-12 月期間內的罹病度皆低於 0.13% (圖 4)。

4-4 式波爾多液使用時機對咖啡銹病發生之影響

本試驗分別將 4-4 式波爾多液於雨季施用 1 次 (處理 A)、雨季及發病初期分別施用 1 次 (處理 B) 及發病初期施用 1 次 (處理 C)，共 3 種施用方式藉以探討使用時機及次數對防治咖啡銹病之效果。結果顯示，雨季施用 1 次之處理 A，於 8 月調查之咖啡銹病罹病度僅

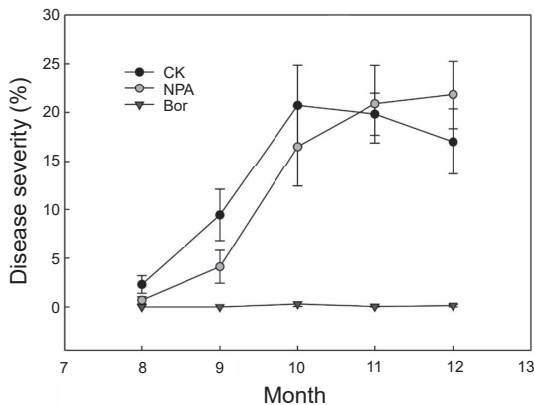


圖 4. 4-4 式波爾多液 (Bor) 與亞磷酸-氫氧化鉀中和液 (NPA) (1 g L^{-1}) 對防治咖啡銹病發生之效果。CK: 對照組, 不作藥劑處理。

Fig. 4. Effect of 4-4 Bordeaux mixture (Bor) and neutralized phosphorous acid solution (NPA) (1 g L^{-1}) on disease severity of coffee leaf rust, respectively. CK: mock control.

0.95%, 9 月時之罹病度為 5.45%, 10 月上升至 13.73%, 11 月則大幅增加至 48.02% (圖 5)。若於雨季及發病初期分別施用 1 次之處理 B, 其罹病度 8-9 月期間皆低於 2.00%, 10 月微幅上升至 4.23%, 11 月則增加至 16.72% (圖 5)。於發病初期施用 1 次波爾多液之處理 C 防治結果發現, 8 月及 9 月其罹病度分別為 19.33% 與 19.23%, 10 月微幅上升至 22.57%, 11 月則增加至 73.45% (圖 5)。而不做藥劑處理之對照組 (CK), 其 8 月調查之咖啡銹病罹病度為 18.22%, 9 月之罹病度已上升至 35.47%, 10 月為 41.60%, 11 月大幅增加至 77.63% (圖 5)。

4-4 式波爾多液對病原菌孢子發芽之影響

本研究進行 4-4 式波爾多液對咖啡銹病菌孢子發芽之影響, 分別於載玻片 (*in vitro*) 與已完全展開且未革質化之咖啡新葉上進行試驗。結果發現於 25°C 的條件下, 無論是於載玻片與新鮮咖啡葉上進行試驗, 以 4-4 式波爾多液處理之孢子在游離水中 6 h 後仍無法發芽, 而無藥劑處理之對照組均可達 60% 以上的發芽率 (表 1)。

植株葉片與果實之銅殘留量測定

為瞭解歸類於銅劑之波爾多液使用後, 殘

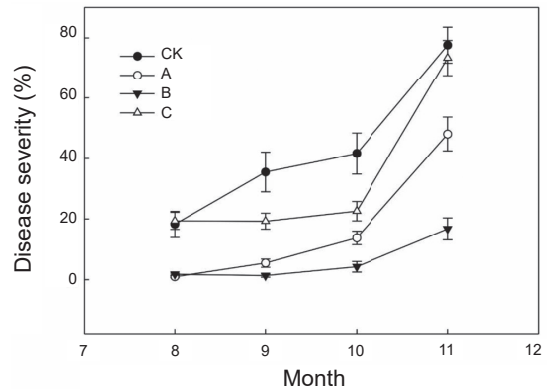


圖 5. 4-4 式波爾多液施用時機對防治咖啡銹病之影響。A: 雨季 (6 月); B: 雨季 (6 月) 及發病初期 (7 月) 分別施用 1 次; C: 發病初期 (7 月) 施用 1 次; 及 CK: 不做藥劑處理之對照組。

Fig. 5. Application timing of 4-4 Bordeaux mixture for the management of coffee leaf rust. A: application once on rainy season (June); B: each application once on rainy season (June) and at initial stage of coffee leaf rust emerging (July); C: application once at initial stage of coffee leaf rust emerging (July); and CK: mock control.

表 1. 4-4 式波爾多液對咖啡銹病菌孢子發芽之影響。

Table 1. Bordeaux mixture effect on spore germination of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) at 25°C after 6 h of incubation.

Treatment	Spore germination (%) ^y	
	<i>In vitro</i> ^y	Detached leaves ^x
4-4 Bordeaux mixture	0 a ^w	0 a
CK ^v	60.1 b	60 b

^z Spore germination (%) = (numbers of spore germinated/100 spores) × 100%.

^y *In vitro*, the experiment was conducted on microslide.

^x Detached leaves, the experiment was conducted on coffee leaves.

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

^v CK: control check. Treated with distilled water.

留於咖啡葉片上之銅量的消退情形, 本研究每月採集咖啡葉片進行重金屬銅含量分析。結果顯示, 使用 4-4 式波爾多液後之當日 (6 月) 銅殘留量達 $493.00 \text{ mg kg}^{-1}$, 使用後 1-2 個月 (7-8 月) 銅殘留量仍分別有 $472.00 \text{ mg kg}^{-1}$ 及 $333.00 \text{ mg kg}^{-1}$, 直到使用後 3 個月 (9 月) 銅殘留量下降至 91.00 mg kg^{-1} ; 另外, 咖啡果實於

9月時進行採集送檢，銅殘留量為 8.43 mg kg^{-1} (表 2)。無藥劑處理之對照組，無論是葉片或果實，其銅殘留量皆低於為 8.43 mg kg^{-1} (表 2)。

討論

咖啡銹病為影響全球咖啡產量最重要的真菌病害之一，在全球咖啡產地普遍發生 (Silva *et al.* 2006)，嚴重影響咖啡生產及農民經濟收入。根據前人研究調查顯示，台灣台南市東山地區之咖啡銹病於雨季開始發生，高溫多濕的 8–12 月發生嚴重 (Chen 2007)。而本研究於 2018 年病害發生調查結果發現，雲林縣古坑地區之咖啡銹病亦發生於 8–12 月。銹病菌 (*H. vastatrix*) 主要利用夏孢子侵入感染寄主植物，而侵入感染時，溫度與游離水的存在為感染成功的必要條件；本研究發現咖啡銹病菌孢子於含游離水的條件下， $15\text{--}30^\circ\text{C}$ 發芽率皆高於 61%，其中以 $20\text{--}25^\circ\text{C}$ 發芽率最佳。台灣月均溫約為 $15\text{--}30^\circ\text{C}$ 之間，適宜咖啡銹病菌孢子發芽，因此在台灣銹病的蔓延與進展，游離水的存在為關鍵要素。故台灣咖啡銹病多見於雨季，長期乾季則不利發病。台灣一年之中以 5–6 月的梅雨季及 7–9 月的颱風季降雨最多，連續降雨使咖啡園區大多處於高濕環境，葉表的游離水膜極利於銹病菌夏孢子的侵染。然而，近年因全球暖化及氣候變遷的因素，極端天氣事件頻傳，降雨量亦受到影響。根據氣象局觀測資料查詢系統 (<http://e-service.cwb.gov.tw/HistoryDataQuery/index.jsp>) 年報表顯示，2018 年古坑地區 5 月降雨量僅 51 mm，降水日數僅 4 d，而 6–8 月期間之每月降雨量皆大於 365 mm，降水日數每月亦大於 20 d，9 月及之後的降雨量及降水日數則大幅減

少。因此，2018 年台灣之雨季集中於 6–8 月間。此外，銹病菌自感染至病斑表現的潛伏期 (incubation period; IP) 約需 3–6 wk，所以到了大量病徵表現觀察到時，常是在乾早期間 (Pohlan & Janssens 2010)。是故本研究調查結果，為雨季的 8 月開始銹病發生，於雨季結束後之 10–11 月則為罹病度的高峰期。另一方面，本研究發現咖啡銹病於下層葉發生的罹病度較上層葉嚴重，可能與咖啡的下層葉有上層葉的遮阻，且又接近地面，致使下層葉濕度較高，可使游離水存在的時間較久，進而提升病原感染率有關。亦有文獻指出，咖啡成熟葉對銹病較為感病，而未展開之嫩葉則對銹病較有抗性 (Waller 1982)。未來可調查更多咖啡園區以瞭解咖啡銹病是否均於下層葉發生較為嚴重，並考慮栽培管理方式如遮陰條件、修枝時間及方式等因素對病害發生之影響，藉以釐清咖啡銹病罹病度與葉片層之相關性。

有鑑於國內尚無核准之推薦藥劑提供農民防治咖啡銹病使用，本研究利用 1 gL^{-1} 之 NPA 及 4-4 式波爾多液作為防治資材，評估兩者應用於咖啡銹病之防治效果。田間試驗結果顯示，兩者皆可降低咖啡銹病的罹病度，其中以 4-4 式波爾多液防治功效最為顯著，NPA 僅能降低銹病發病初期之罹病度。目前已有許多研究報導證實亞磷酸對卵菌類引起之病害 (oomycetes diseases)、作物的疫病、晚疫病及白粉病等真菌病害具有良好的防治效果 (Cohen & Coffey 1986; Ann 2001; Johnson *et al.* 2007)，亦可應用於咖啡炭疽病之防治 (Ogoshi *et al.* 2013)。亞磷酸防治真菌病害之作用機制，目前已被證實除了可間接誘導植物增強抗病性之外，也能藉由直接抑制病原菌之菌絲或孢子發芽以達到保護寄主的目的 (Grant *et al.*

表 2. 施用 4-4 式波爾多液 1 次後咖啡葉片之銅殘留量。

Table 2. Residue of copper (Cu) after application once with 4-4 Bordeaux mixture.

Treatment	Cu (mg kg^{-1})				
	No. of leaves		No. of berries		
Sampling date	2019/6/19	2019/7/10	2019/8/19	2019/9/18	2019/9/18
4-4 Bordeaux mixture	493.00	472.70	333.00	90.97	8.43
CK ^z	4.93	3.40	1.70	1.60	1.60

^z CK: control check.

1990; Guest & Bompeix 1990)。近來則有研究證實，亞磷酸錳 (manganese phosphite) 於溫室與田間試驗，皆可降低咖啡銹病的發生，防治率可達 58–63% (Costa *et al.* 2014; Monteiro *et al.* 2016)。其防治效果與本研究中使用之 NPA 相較，亞磷酸錳的防治效果較為顯著。其可能原因為亞磷酸可誘導植物增強抗病性之外 (Monteiro *et al.* 2016)，另添加之錳元素可促進咖啡植株內酚化物 (total soluble phenols; TSP) 與木質素 (lignin) 之生合成，進而增強咖啡之抗銹病能力有關 (Pérez *et al.* 2020)。本研究以 NPA 施用結果發現，能小幅降低咖啡銹病發病初期之罹病度，未來可進一步探討 NPA 對銹病孢子發芽之影響及提高 NPA 濃度，或施用頻度對防治咖啡銹病之功效，藉以釐清 NPA 對咖啡銹病的作用機制。

波爾多液為廣效保護性殺菌劑，對多數之真菌性及細菌性病害均具有防治功效。目前 72% 波爾多為瓜類露菌病、楊桃細菌斑點病及柑橘潰瘍病等病害之防治推薦用藥。波爾多液中的主要殺菌成分是二價銅離子 (Cu^{2+})，銅離子可影響與真菌孢子發芽相關之酵素活性，進而抑制孢子發芽或是造成病原菌細胞代謝異常 (Liu *et al.* 2015)。本研究結果亦發現咖啡銹病菌之孢子以 4-4 式波爾多液處理 6 h 後，其發芽率仍為 0%，顯示 4-4 式波爾多液可藉由抑制銹病孢子發芽而達到防治功效。本研究之田間試驗也證實，4-4 式波爾多液對咖啡銹病具有極佳之防治效果。然而，植物亦會吸收銅離子，若過量施用容易造成藥害，同時也會增加銅於土壤的累積量，造成汙染。因此，本研究進一步探討 4-4 式波爾多液之使用次數與時機對防治咖啡銹病功效之影響。由每月咖啡銹病罹病度的調查結果顯示，使用 1 次 4-4 式波爾多液後的 3 mo 內，罹病度調查曲線平緩，可見罹病度增加幅度小，表示施用 1 次 4-4 式波爾多液的防治時效約可持續 3 mo。而第 4 個月罹病度大幅提高，表示波爾多液已失去防治的效果。若依施用時機的防治功效來看，於 6 月施用之防治成效較 7 月發病前期施用之效果佳，因波爾多液為保護性藥劑，於 6 月施用亦即是雨季來臨前期施用，可藉由預防性施用有效抑制咖啡銹病的感染源，降低雨季過後

的發病率；若於 7 月發病前期施用，時序已進入雨季，高溫多濕的環境極利於咖啡銹病菌的侵入感染，甚至咖啡植株已開始發病。故於病原菌之感染源密度較高的條件下，使用波爾多液的防治效果較不顯著。若施用 4-4 式波爾多液的次數增加為 2 次，則防治效果可較只施用 1 次更為明顯，於施用後的 3 mo 內咖啡銹病的罹病度皆低於 5%，其防治時效也能延長至 4 mo，於第 4 個月之罹病度仍低於 20%。此外，近年在氣候變遷等因素影響之下，降雨型態變化劇烈，亦影響每年雨季開始的時間，依氣象局觀測資料查詢系統 (<http://e-service.cwb.gov.tw/HistoryDataQuery/index.jsp>) 年報表顯示 2018 年古坑地區之雨季集中於 6–8 月，5 月降雨量僅 51.0 mm，降水日數僅 4 d；然而 2019 年之雨季則提早為 5–8 月，5 月降雨量已達 218.5 mm，降水日數為 18 d；6–8 月期間之每月降雨量皆大於 270.0 mm，每月降水日數亦大於 20 d。由於雨季有利咖啡銹病的發生，若雨季提早，亦會影響咖啡銹病的蔓延與進展。本研究即發現 2018 年與 2019 年之銹病罹病度調查中，無藥劑處理之對照組於同期 8 月之罹病度具有顯著的差異，2018 年罹病度為 2.30% 而 2019 年為 18.22%。綜上所述，4-4 式波爾多液之施用建議可於雨季前使用 1–2 次來防治咖啡銹病，以降低咖啡豆收成期 (9–10 月) 前銹病之危害率。

咖啡除了果實可作為咖啡豆的來源之外，近年來研究發現咖啡葉富含綠原酸等抗氧化及抗發炎能力的成分 (Tsai 2019)，故可利用田間栽培管理時整枝修剪下來之咖啡葉製成相關衍生產品，如咖啡葉茶等，可提高咖啡產業的附加價值，達成循環經濟效益。目前衛生福利部已預告訂定咖啡葉用於食品原料之相關規定，為瞭解波爾多液使用後銅於咖啡葉上之殘留情形，以避免危害人體健康。本研究對咖啡葉片上之銅量的消退情形進行檢測，結果顯示施用 4-4 式波爾多液後 3 mo，咖啡葉片上之銅量仍有 91.00 mg kg^{-1} 。因此，若以咖啡葉為生產販售標的，則不建議使用波爾多液作為咖啡銹病之防治資材。咖啡果實於施用 1 次 4-4 式波爾多液後的 3 mo，其殘留銅量為 8.43 mg kg^{-1} 。而咖啡豆因有果皮及果肉包裹，並未直接接觸

銅，且製成咖啡生豆前須經一系列清洗、去果肉、曝曬或烘烤等工序，咖啡生豆上殘留之銅量應可低於果實上之殘留銅量。參考歐洲執行委員會 (European Commission) 網站查詢咖啡豆之銅最大殘留容許量 (maximum residue limits; MRL) 為 50.00 mg kg⁻¹ (https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/max_residue_levels_en)，因此食用上較無疑慮。

由於咖啡銹病主要靠露水和雨水傳播，葉片游離水有利於孢子的發芽與侵染。因此，適當整枝修剪及調整栽培密度，可改善咖啡園環境光照及通風性，減少游離水存在的時間，亦能降低病害發生。此外，加強田間衛生，去除罹病葉及果實殘體以減少田間感染源、適當施肥，維持樹勢良好，但仍需避免氮肥過度施用，均是預防咖啡銹病發生的耕作防治策略。最後，適當使用防治資材以進行早期保護，避免對咖啡產量及品質產生巨大影響，影響農民收益。本研究已證實 4-4 式波爾多液對咖啡銹病之防治效果佳，建議可於雨季前使用 1-2 次 4-4 式波爾多液來防治咖啡銹病，但若以咖啡葉為生產標的，則不建議使用。波爾多液為應用範圍廣且效果好之植物病害防治資材，亦是有機農業規範中可合法使用的防治資材種類，可降低對生態環境的衝擊，而且價格便宜、使用方式簡便，對農民助益良多。以上資訊，可提供相關農政單位擬定咖啡銹病防治策略之參考。

誌謝

本研究承行政院農業委員會農業試驗所嘉義分所曾添水與張釗明先生協助試驗進行，特此致謝。

引用文獻

- Ann, P. J. 2001. Control of plant diseases with non-pesticide compound-phosphorous acid. *Plant Prot. Bull.* 10:147-154. (in Chinese with English abstract)
- Avelino, J., M. Cristancho, S. Georgiou, P. Imbach, L. Aguilar, G. Bornemann, P. Läderach, F. Anzueto, A. J. Hruska, and C. Morales. 2015. The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008-2013): Impacts, plausible causes and proposed solutions. *Food Sec.* 7:303-321. doi:10.1007/s12571-015-0446-9
- Chen, F. J. 2007. Preliminary Survey of Pests and Diseases of Coffee at Dong-shan Area and Screening of Agrochemicals for Rust. Master Thesis, Department of Biotechnology, National Kaohsiung Normal University, Kaohsiung, Taiwan. 72 pp. (in Chinese with English abstract)
- Cohen, Y. and M. D. Coffey. 1986. Systemic fungicides and the control of oomycetes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24:311-338. doi:10.1146/annurev.py.24.090186.001523
- Costa, B. H. G., M. L. V. de Resende, P. M. Ribeiro Júnior, S. M. Mathioni, M. A. Pádua, and M. B. da Silva Júnior. 2014. Suppression of rust and brown eye spot diseases on coffee by phosphites and by-products of coffee and citrus industries. *J. Phytopathol.* 162:635-642. doi:10.1111/jph.12237
- Cressey, D. 2013. Coffee rust regains foothold. *Nature* 493:587. doi:10.1038/493587a
- 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*. *Australas. Plant Pathol.* 19:115-121. doi:10.1071/APP9900115
- Guest, D. I. and G. Bompeix. 1990. The complex mode of action of phosphonates. *Australas. Plant Pathol.* 19:113-115. doi:10.1071/APP9900113
- Johnson, D. A., D. A. Inglis, and J. S. Miller. 2007. Control of potato tuber rots caused by oomycetes with foliar applications of phosphorous acid. *Plant Dis.* 88:1153-1159. doi:10.1094/PDIS.2004.88.10.1153
- Lin, M. Y., Y. F. Wu, and S. K. Chen. 2010. Monitoring survey of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, and its control in the field. *Res. Bullet. Tainan Dist. Agric. Improve. Sta.* 56:35-44. (in Chinese with English abstract)
- Liu, H., B. Zhang, T. Wu, Y. Ding, X. Ding, and Z. Chu. 2015. Copper ion elicits defense response in *Arabidopsis thaliana* by activating salicylate- and ethylene-dependent signaling pathways. *Mol. Plant* 8:1550-1553. doi:10.1016/j.molp.2015.07.008
- McCook, S. and J. Vandermeer. 2015. The big rust and the red queen: Long-term perspectives on coffee rust research. *Phytopathology* 105:1164-1173. doi:10.1094/PHYTO-04-15-0085-RVW
- Monteiro, A. C. A., M. L. V. de Resende, T. C. T. Valente, P. M. Ribeiro Junior, V. F. Pereira, J. R. de Costa, and J. A. G. da Silva. 2016. Manganese phosphite in coffee defence against *Hemileia vastatrix*, the coffee rust fungus: Biochemical and molecular analyses. *J. Phytopathol.* 164:1043-1053. doi:10.1111/jph.12525

- Morris, D. 1880. Note on the structure and habit of *Hemileia vastatrix*, the coffee-leaf disease of Ceylon and Southern India. *J. Linnean Soc. Bot.* 17:512–517. doi:10.1111/j.1095-8339.1880.tb01240.x
- Mussatto, S. I., E. M. S. Machado, S. Martins, and J. A. Teixeira. 2011. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food Bioproc. Tech.* 4:661–672. doi:10.1007/s11947-011-0565-z
- Ni, H. F., C. Y. Lin, and C. J. Wu. 2020. Etiology and fungicide screening of coffee brown eye spot disease. *J. Taiwan Agric. Res.* 69:241–254. (in Chinese with English abstract) doi:10.6156/JTAR.202009_69(3).0006
- Ogoshi, C., M. S. de Abreu, B. M. da Silva, H. S. Neto, P. M. Ribeiro Júnior, and M. L. de Resende. 2013. Potassium phosphite: A promising product in the management of diseases caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in coffee plants. *Biosci. J.* 29(Suppl. 1):1558–1565.
- Pérez, C. D. P., E. A. Pozza, A. A. Pozza, W. H. Elmer, A. B. Pereira, D. da Silva Gomes Guimarães, A. C. A. Monteiro, and M. L. V. de Rezende. 2020. Boron, zinc and manganese suppress rust on coffee plants grown in a nutrient solution. *Eur. J. Plant Pathol.* 156:727–738. doi:10.1007/s10658-019-01922-9
- Phiri, N. A., R. J. Hillocks, and P. Jeffries. 2001. Incidence and severity of coffee diseases in smallholder plantations in northern Malawi. *Crop Prot.* 20:325–332. doi:10.1016/S0261-2194(00)00161-7
- Pohlan, H. A. J. and M. J. J. Janssens. 2010. Growth and production of coffee. p.102–134. *in: Soils, Plant Growth and Crop Production. Volume III.* (Verheye, W. H., ed.) Eolss Publishers Co. Ltd., Oxford, UK. 492 pp.
- Rodrigues, C. J., Jr., A. J. Bettencourt, and L. Rijo. 1975. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. *Annu. Rev. Phytopathol.* 13:49–70. doi:10.1146/annurev.py.13.090175.000405
- Silva, M. D. C., V. Várzea, L. Guerra-Guimarães, H. G. Azinheira, D. Fernandez, A. S. Petitot, B. Bertrand, P. Lashermes, and M. Nicole. 2006. Coffee resistance to the main diseases: Leaf rust and coffee berry disease. *Braz. J. Plant Physiol.* 18:119–147. doi:10.1590/S1677-04202006000100010
- Talhinhas, P., D. Batista, I. Diniz, A. Vieira, D. N. Silva, A. Loureiro, S. Tavares, A. P. Pereira, H. G. Azinheira, and L. Guerra-Guimarães. 2017. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: One and a half centuries around the tropics. *Mol. Plant Pathol.* 18:1039–1051. doi: 10.1111/mpp.12512
- Tsai, T. Y. 2019. Investigating the Major Compounds and Bioactivities in Coffee Leaves. Master Thesis, Department of Biochemical Science and Technology, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan. 60 pp. (in Chinese with English abstract)
- Tzeng, S. S. 2019. List of Plant Disease in Taiwan. 5th ed. Taiwan Phytopathology Society. Taichung, Taiwan. 311 pp. (in Chinese)
- Waller, J. M. 1982. Coffee rust- epidemiology and control. *Crop Prot.* 1:385–404. doi:10.1016/0261-2194(82)90022-9

Evaluation of Control Efficacy of 4-4 Bordeaux Mixture Against Coffee Rust

Hui-Fang Ni¹, Sui-Li Hsu², Su-Yu Lai², Shu-Fen Chang³, and Ching-Yi Lin^{4,*}

Abstract

Ni, H. F., S. L. Hsu, S. Y. Lai, S. F. Chang, and C. Y. Lin. 2021. Evaluation of control efficacy of 4-4 Bordeaux mixture against coffee rust. *J. Taiwan Agric. Res.* 70(1):43–53.

Coffee rust disease caused by *Hemileia vastatrix* is one of the main limiting factors of coffee production worldwide. In Taiwan, coffee rust disease mainly occurs from August to December, and lower coffee tree canopy has more disease severity. With free water at 20–25°C, the spore germination ratio over 72% in 6 h. Spore germination was inhibited under 10, 35 and 40°C. Because currently recommended fungicides are not available for control coffee rust in Taiwan, the work present here was to evaluate the effects of neutralized phosphorous acid and 4-4 Bordeaux mixture on coffee rust, respectively. In field experiments, both materials suppressed the coffee rust disease with a reduction in disease severity, and noticeable suppression efficiency was found on the coffee trees sprayed with 4-4 Bordeaux mixture. Applicable timing and frequency of spraying 4-4 Bordeaux mixture were also conducted in field. The results indicated that spraying 1–2 times before rainy season was effective in suppress coffee rust disease. The disease severity was 5.45% at 3 mo after spraying once, while disease severity was 4.23% at 3 mo after spraying twice. *In vitro* inhibition of germination of *H. vastatrix* urediniospores was observed and indicated that 4-4 Bordeaux mixture exert some toxic effects to the fungi. In addition, coffee berries showed 8.43 mg kg⁻¹ of copper residues at 3 mo after spraying 4-4 Bordeaux mixture. The copper residues of coffee berries observed in this study are far under the European existing maximum residue levels for copper compound of coffee bean. Thus, it suggests that 4-4 Bordeaux mixture may be used for controlling coffee rust effectively and safely. The study provides important reference for management of coffee rust disease in Taiwan in the future.

Key words: Bordeaux mixture, Neutralized phosphorous acid, Coffee, Coffee rust disease.

Received: November 2, 2020; Accepted: December 8, 2020.

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

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

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

³ Associate Research Fellow, Department of Horticulture, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.

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