



# 芒果炭疽病之生物防治

莊再揚<sup>1</sup> 安寶貞<sup>2</sup>

1. 台北市國立台灣大學植物病蟲害學系
2. 台中縣霧峰鄉台灣省農業試驗所植物病理系

(接受日期：86年7月14日)

## 摘 要

莊再揚、安寶貞 1997 芒果炭疽病之生物防治 植保會刊 39: 227-240.

於1993~1996年間，連續在室內及田間測試拮抗細菌與酵母菌對芒果炭疽病的防治效果。四株拮抗細菌和五株拮抗酵母菌(包括 *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pichia ohmeri*, *Sporobolomyces* sp., 及 unidentified yeast)與病原菌同時接種於芒果傷口時，均能顯著抑制炭疽病斑的擴展，平均減少20%-45%，其中以 *B. subtilis* (Tp-Tu311)，*P. fluorescens* (TN-S221) 與 *P. ohmeri* (Y24-8) 等三個拮抗菌株能穩定而有效的抑制病斑擴展。此三菌株在芒果開花時噴施於花穗上，Y24-8能顯著提高著果率。套袋前將此三菌株噴施於芒果果實上，較殺菌劑 Bavistin 或 Bavistin+oil 更能減少採收後果實炭疽病的發生率。噴施拮抗菌並加以套袋的防治炭疽病效果較連續噴藥直到採收但不套袋者為佳。TN-S221，Tp-Tu311 與 Y24-8 三株拮抗菌若作果實的後熟處理，亦有減少發病的趨勢，而以 Tp-Tu311 效果較佳。測試拮抗菌 Tp-Tu311，TN-S221 與 Y24-8 對炭疽病菌菌絲生長與孢子發芽及附著器產生之影響，祇有 Tp-Tu311 會抑制菌絲生長，其餘兩者不會，且 Tp-Tu311 先在培養基培養一段時間後，再加入病原菌的抑制效果較佳。三株拮抗菌均不會抑制孢子發芽與附著器形成，但均會使其變形。Tp-Tu311 的作用特別明顯，可使發芽管和附著器膨大如疣狀，Y24-8 的作用不明顯，但會緊密貼附在孢子及發芽管的周圍。

(關鍵詞：芒果、炭疽病、炭疽病菌、生物防治)

## 緒 言

水果儲運期間會因後熟病害發生腐爛

而造成嚴重損失，藥劑處理是目前防治後熟病害最常用而有效的方法(1)，然而藥劑防治後熟病害的方法近年來受到嚴重的

關切，主要因為後熟病害病原菌業已對部份藥劑產生抗藥性，且藥劑殘留於水果及污染環境，可能危害人體健康，因此尋找替代策略防治後熟病害，普遍受到重視(12,22,23,29,30)。以拮抗菌替代藥劑防治後熟病害，已在一些後熟病害證明有效(6,7,8,13,14,15, 21,25,26,31)，惟其是否具商品價值則取決於生物防治效果的穩定性和經濟效益(12)。由於水果的儲運經常在特定的控制環境下進行(30)，容易利用少量拮抗菌在此種特定的條件下處理水果，可能有助於生物防治效果的穩定性和符合經濟原則，因此水果後熟病害生物防治的研究，近年有迅速的進展。雖然田間自然環境變異大，而導致生物防治效果不穩定(9,19,29)，然其具有取代部份化學藥劑而成為綜合防治一環的潛能(12)，目前還是普遍受到重視。但有關炭疽病生物防治研究的資料，無論在田間或後熟病害卻很少(16)。

芒果炭疽病為芒果產業最重要的病害之一，能危害芒果花穗、果實、葉片及幼嫩枝條，對芒果產量與品質影響至鉅(1,2,3)。在台灣引起本病的病原菌主要有二種，即 *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. 及 *C. acutatum* Simonds<sup>(4)</sup>，而以前者較為重要(1,2,3,4)。病原菌除了行傷口感染外，更具有潛伏感染的特性(1,2,24)；在果實成熟後才出現病斑，造成果實腐爛，不耐儲運。本省主要芒果品種“愛文(Irwin)”對炭疽病十分感病，因此本病成為台灣芒果外銷的限制因子(2)。關於芒果炭疽病的防治，主要是在田間定期噴施化學藥劑(24)，然因反覆噴施的結果，病原菌已對部份藥劑產生抗藥性(27)。另一方面，藥劑殘留在生食的果實上，可能對人體健康造成不良的影響，因此尋找替代措施極為重要。本文乃是報導以拮抗細菌和酵母菌於田間施用及作採收後果實處理防治芒果炭疽病的結果，並討論其可能的實用性。

## 材料與方法

### 供試菌株

本研究所用之拮抗細菌及酵母菌，係第一作者自香蕉果皮分離且對香蕉炭疽病具防治效果(8)，該等拮抗菌均培養於 PDAY (PDA supplemented with 0.1 % yeast extract) 備用。芒果炭疽病菌則選用第 II 菌群菌株 5-26 培養於 PDA 備用(4)。

### 拮抗菌對炭疽病病斑擴展的抑制效果

市場買回的愛文芒果經水洗陰乾後，以殺菌刀片在果實表面製造傷口(2 mm × 2 mm × 2 mm)，每個果實有五個傷口。每個傷口滴入 10 μl 的病原菌孢子懸浮液，待其陰乾後，立即滴入 10 μl 拮抗菌體懸浮液，並以滴入 10 μl 無菌水為對照。經處理的芒果放入塑膠袋內，置於溫室下，每兩天量病斑大小一次，直到第 10 天為止。每處理 5 重複，每個果實的 5 個傷口分別接種不同拮抗菌。試驗重複進行三次，試驗結果以 SAS 統計程式分析。

炭疽病菌在 25 °C 照光培養於 PDA 經 10 天後，洗下孢子，調整為 2 × 10<sup>4</sup> spores/ml。拮抗細菌與酵母菌則培養在 PDAY 斜面 2 天後，調整菌體濃度為 2 × 10<sup>8</sup> cells/ml。

### 拮抗菌對芒果著果率之影響

於 250 ml 三角瓶內分裝 75 ml PDBY 營養液 (Difco PDB 24 g, Yeast extract 1 g, Distilled water 1000 ml)，高壓殺菌後，分別加入拮抗菌 TN-S221 (*Pseudomonas fluorescens*)、Tp-Tu311 (*Bacillus subtilis*) 及 Y24-8 (*Pichia Ohmeri*)，在室溫下振盪培養 (130 rpm) 三天，以此菌液直接噴灑於正在開花的花穗上。採用單花穗處理，每種拮抗菌在每株芒果樹噴濕 10 花

穗，每處理噴 3 株芒果樹，俟生理落果結束後，調查每花穗的結果數。本試驗分別於 1993 年 2 月 1 日於台中中興大學葡萄中心及 2 月 16 日與 3 月 2 日以及 1994 年 3 月 21 日與 4 月 11 日於嘉義農業試驗分所處理愛文芒果，並於 1994 年 4 月 8 日在台中縣新社鄉處理愛文與金煌芒果。

### 田間防治試驗

將 TN-S221、Tp-Tu311 及 Y24-8 三株拮抗菌接種於 PDBY (Potato dextrose broth supplemented with 0.1 % yeast extract)，在室溫下振盪培養 (130rpm) 三天，調整菌體濃度約為  $10^8$ /ml。在玉井試驗田，於 1993 年 5 月 11 日以拮抗菌液與 Bavistin 20 g + Triton X-114 1 ml + water 10 公升及前述藥劑再加夏油乙 100 ml 等配方分別噴施全株愛文芒果後，立即套袋；而 1994 年 5 月 31 日則分別以拮抗菌及撲克拉錳 6,000 倍液噴施。另於 1995 年及 1996 年於芒果開花時開始噴施，每個月噴施一次，共四次。噴施時，以手動噴霧器噴灑全株，直到菌液滴下為止，每處理三棵芒果樹，最後一次噴施後並套袋。採收時，每棵樹採果 20 粒，以 Ethrel 2,000 倍液催熟，並逐日記錄病斑出現情形。

### 後熟處理之拮抗菌防病效果

將拮抗菌稀釋為  $10^8$ /ml，把市場上買回的爱文芒果浸在菌體懸浮液 2 ~ 3 分鐘後取出，放在塑膠籃內，置於室溫下，逐日觀察炭疽病出現的情形。每處理三重複，每重複 20 粒果實，試驗重複兩次。

### 炭疽病菌對各拮抗菌反應之比較

拮抗菌 TN-S221、Tp-Tu311 及 Y24-8 經培養於 PDAY 二天後，收集菌體，配製成菌體懸浮液濃度為  $10^8$ cfu/ml。炭疽病菌孢子由培養基上以無菌水洗下，配成

$10^4$ /ml 之孢子懸浮液。在凹玻璃內同時加入各 50  $\mu$ l 之拮抗菌與炭疽病菌孢子，將此凹玻璃置於濕室內，在 25 °C 培養 24 ~ 36 小時後，觀察炭疽病菌的孢子發芽及附著器的形成。每處理四重複，試驗重複兩次。

進行對峙培養時，將 PDAY 平板分成四個部份，在培養基邊緣分別滴上 10  $\mu$ l 的拮抗菌液，接種後 0、24 和 48 小時，再將炭疽病菌菌絲塊 (dia. 6mm) 接種到培養基中央，在 25 °C 培養 8 天後，觀察結果。每時間處理重複六個培養皿，試驗重複兩次。

## 結 果

### 拮抗菌對炭疽病斑擴展之抑制

四株拮抗細菌及五株拮抗酵母菌與病原菌同時接種於芒果傷口時，均能顯著抑制炭疽病斑的擴展，平均抑制 20 % ~ 45 % (表一)，三次試驗的結果雖稍不同，不過以 *P. fluorescens* (TN-S221)、*B. subtilis* (Tp-Tu311) 及 *P. ohmeri* (Y24-8) 等三個菌株能穩定而有效的抑制病斑擴展，平均分別抑制 45 %、42 % 及 34 %。

### 拮抗菌對芒果著果率之影響

將 TN-S221、Tp-Tu311 及 Y24-8 噴施於芒果花穗上，1993 年的三次試驗結果顯示 TN-S221 與 Tp-Tu311 對結果率並沒有影響，但 Y24-8 除在嘉義試驗所的第一次試驗外，其餘兩次試驗，均能顯著提高結果率 (表二)。1994 年在嘉義試驗分所的試驗，因蟲害發生嚴重，沒有取得結果。但以拮抗酵母菌 Y24-8 噴於台中縣新社鄉的爱文與金煌，均能顯著提高著果率 (表三)，在噴施拮抗菌後 35 天，愛文每花穗平均著果 8.2 個，對照組則僅有 4.6 個，增加 78 %；而在 80 天後，每花穗平

表一、拮抗菌對芒果炭疽病斑擴展之抑制效果

Table 1. Effect of antagonists on lesion expansion inhibition on mango anthracnose

Antagonist <sup>1)</sup>	Lesion size (mm)			
	Exp-1	Exp-2	Exp-3	Average
<b>Bacterium</b>				
TN-S221	7.2 bc <sup>2)</sup>	10.2 b	8.8 ab	8.7 c
TN-Y511	7.8 bc	14.6 a	9.6 ab	10.7 bc
TN-Y21	11.0 b	16.2 a	9.0 ab	12.1 b
Tp-Tu311	5.2 c	13.8 ab	8.4 b	9.1 c
<b>Yeast</b>				
Y11-1	7.4 bc	15.8 a	11.0 ab	11.4 b
Y11-2	10.8 b	14.2 ab	10.2 ab	11.7 b
Y23-10	11.2 b	14.2 ab	9.2 ab	11.5 b
Y24-7	11.2 b	13.2 ab	10.2 ab	11.5 b
Y24-8	11.0 b	12.8 ab	7.6 b	10.5 bc
Control	17.2 a	17.2 a	13.0 a	15.8 a

<sup>1)</sup> TN-S221 and TN-Y511 are identified as *Pseudomonas fluorescens*, Tp-Tu311 and TN-Y21 are *Bacillus subtilis*, Y11-1 and Y11-2 are *Sporobolomyces sp.*, Y24-7 and Y24-8 are *Pichia ohmeri*, and Y23-10 is an unknown yeast.

<sup>2)</sup> Means in each column followed by the same letter are not significantly different at  $P=0.05$  according to Duncan's multiple range test.

表二、拮抗菌對芒果著果率之影響 (1993)

Table 2. Effect of antagonists on fruit set of mango in 1993

Antagonist	Fruit/inflorescence <sup>1)</sup>		
	Exp-1	Exp-2	Exp-3
TN-S221	1.5 a <sup>2)</sup>	2.1 ab	0.0 b
Tp-Tu311	2.4 a	1.7 ab	0.1 b
Y24-8	1.9 a	2.5 a	1.2 a
Control	2.1 a	1.0 b	0.1 b

<sup>1)</sup> Exp-1 and Exp-2 were conducted in Chiayi Agricultural Experiment Station, and Exp-3 in Grape Research Center, National Chung Hsing University.

<sup>2)</sup> Means in each column followed by the same letter are not significantly different at  $P=0.05$  according to Duncan's multiple range test.

表三、拮抗菌對芒果著果率之影響 (1994)

Table 3. Effect of antagonists on fruit set of mango in 1994

Cultivar	Days after spray	Fruit/inflorescence <sup>1)</sup>	
		Y24-8	Control
Irwin	35	8.2	4.6
	80	2.7	0.3
Kinghuang	35	2.5	1.4
	80	0.6	0.2

<sup>1)</sup> Yeast Y24-8 (*Pichia ohmeri*) at a concentration of  $10^8$  cell /ml was sprayed to inflorescence on April 8, 1994. Each value is an average of 18 inflorescences for Irwin, and 23 inflorescences for Kinghuang.

均著果 2.7 個，對照組只剩下 0.3 個，增加 9 倍。金煌在噴施拮抗菌 35 天後，每花穗平均著果 2.5 個，對照組為 1.4 個，亦增加 78 %；在 80 天後噴施拮抗菌者仍有 0.6 個，而對照組只剩 0.2 個，增加 3 倍。

#### 田間防治試驗

1993 年的試驗結果顯示，套袋芒果能顯著降低炭疽病的發生 (表四)，不套袋芒果於採收後放置 4 天，炭疽病出現率已達 20.8 %，以後迅速增加，第 7 天達 79.2 %，而第 11 天達 100 %；反之，套袋芒果於第 6 天才出現炭疽病，第 11 天發病率為 60 %，即使到第 15 天，仍舊約有 12 % 的芒果沒有出現炭疽病。

套袋芒果於套袋前，施用一次藥劑 Bavistin 或 Bavistin + oil 並不能增加防治效果 (表四)。Bavistin 處理的芒果，反而加速炭疽病的出現，雖然 Bavistin + oil 沒有促進發病，但部份果實的皮孔變大，使果皮外觀變得粗糙。套袋前噴施一次拮抗菌，三株供試拮抗菌均能減少炭疽病的發生 (表四)，但 Tp-Tu311 處理者，效果較不明顯，而 TN-S221 與 Y24-8 處理者效果顯著，特別是 TN-S221 在採收後第 10 ~ 15 天，與祇套袋者呈顯著差異。值得一提的，在 TN-S221 與 Y24-8 處理的芒果，催熟後，果皮顯得特別光滑。

1994 年的田間試驗結果亦顯示套袋能延遲芝果炭疽病的出現 (表五)，未套袋芒果於採收催熟後 4 天，發病已達 100 %，而套袋者為 86 %，即使放置 7 天，仍有部分芒果不出現炭疽病病斑。本年度以三種拮抗菌或撲克拉錳處理並無減少炭疽病發生的效果。在 1995 年之芒果採收後，以 Ethrel 2,000 倍催熟，因第一次催熟沒有成功，經六天後，再做第二次催熟，經三天後，全部芒果變黑，無法比較炭疽病的發生程度。但在另外一批試驗中，噴施拮抗菌的芒果樹做正常管理，即仍然施用殺菌劑，與不套袋者比較，經 Ethrel 催熟六天後，可以顯著減少發病，但與提早套袋者 (果實大小約 4 公分左右) 比較，TN-S221 及 Tp-Tu311 處理者並無顯著差異，而 Y24-8 的效果較差 (表六)。在 1996 年同時作套袋處理的情形下，採收芒果經 Ethrel 催熟六天後，噴施拮抗菌 Y24-8 對炭疽病的防治效果較農民自行噴藥者為差，但噴施 TN-S221 與 Tp-Tu311 拮抗菌者與噴藥處理之差異不明顯，若連續噴施多種藥劑直到採收而不加以套袋的話，其防治效果則較拮抗菌為差 (表七)。噴施三種拮抗菌的防治效果有差異；芒果採收催熟後六天，以 TN-S221、Tp-Tu311 及 Y24-8 處理者炭疽病出現率分別為 73.3 %、77.8 % 和 91.75 %。

表四、田間試驗採收後芒果之炭疽病發生率 (1993)

Table 4. Percentage of disease incidence of mango anthracnose from ripening fruit in field trial in 1993

Treatment	Days after harvest											
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Bagging												
TN-S221	0.0 b <sup>1)</sup>	0.0 b	3.5 c	17.1 b	22.1 c	28.8 c	28.8 cd	30.4 c	35.5 cd	43.9 d	50.5 b	62.4 b
Tp-Tu311	0.0 b	0.0 b	8.3 bc	23.3 b	36.7 bc	45.0 bc	48.3 bcd	60.0 b	61.7 bc	66.7 bcd	76.7 ab	83.3 ab
Y24-8	0.0 b	0.0 b	3.3 c	18.3 b	20.0 c	23.3 c	23.3 d	25.0 c	30.0 d	53.3 cd	75.0 ab	75.0 ab
Bavistin	0.0 b	5.0 b	35.6 b	52.8 ab	65.2 ab	75.9 ab	75.9 ab	84.2 ab	84.2 ab	84.2 ab	92.9 a	92.9 a
Bavistin + oil	0.0 b	0.0 b	5.0 bc	31.7 b	48.3 bc	50.0 bc	55.0 bc	71.7 b	73.3 ab	76.7 abc	78.3 ab	83.3 ab
Control	0.0 b	0.0 b	23.3 c	31.7 b	38.3 bc	53.3 bc	60.0 b	60.0 b	61.7 bc	73.3 abc	83.3 a	88.3 a
No bagging												
Control	20.8 a	54.2 a	70.8 a	79.2 a	91.7 a	91.7 a	91.7 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a	100.0 a

<sup>1)</sup> Means in each column followed by the same letter are not significantly different at  $P=0.05$  according to Duncan's multiple range test.

表五、田間試驗採收後芒果之炭疽病發生率 (1994)

Table 5. Percentage of disease incidence of mango anthracnose from ripening fruit in field trial in 1994

Treatment	Days after harvest			
	4	5	6	7
Bagging				
TN-S221	92.5	98.0	98.0	100.0
Tp-Tu311	90.9	100.0	100.0	100.0
Y24-8	86.7	100.0	100.0	100.0
Prochlorate				
manganese	81.0	96.5	100.0	100.0
Control	86.0	95.0	98.3	100.0
No bagging				
Control	100.0	100.0	100.0	100.0

表六、田間試驗採收後芒果之炭疽病發生情形 (1995)

Table 6. Disease incidence of mango anthracnose from ripening fruit in field trial in 1995

Treatment	Percent of spot/fruit > 15	
	4 day <sup>1)</sup>	6 day
Bagging		
TN-S221	32	52
Tp-Tu311	24	50
Y24-8	25	75
Early bagging	16	48
No bagging	71	91

<sup>1)</sup> Days after ripening of mango fruit treated with Ethrel.

### 後熟處理之防病效果

TN-S221、Tp-Tu311 和 Y24-8 等三株拮抗菌及殺菌劑 TBZ 處理市場買回的芒果，與對照組比較，均有減少發病的趨勢 (圖一)，而拮抗菌與 TBZ 的防病效果無顯著差異，其中 Tp-Tu311 處理者似較

TBZ 處理者的效果為佳。

### 炭疽病菌對拮抗菌反應之比較

測試的三株拮抗菌均不會抑制孢子發芽和附著器形成 (表八)，而祇有 Tp-Tu311 在培養基上會對芒果炭疽病菌絲生長產生抑制圈，而 TN-S221 與 Y24-8 菌株不會有抑制圈出現。拮抗菌 Tp-Tu311 接種後不同時間加入炭疽病菌，其抑制情形會有差異 (表九)；接種拮抗菌 48 小時後再接種炭疽病菌菌絲所產生的抑制圈顯著大於兩者同時接種者。在抑制圈中央加上 10 $\mu$ l PDB (Potato dextrose broth) 時，雖然抑制圈會稍微縮小，但不會消失。在顯微鏡下觀察，Tp-Tu311 會造成病原菌的發芽管和附著器普遍膨大變形，TN-S221 亦會造成發芽管畸形，但附著器仍保持正常，而 Y24-8 很少造成發芽管與附著器變形，但會緊密貼附在孢子與發芽管周圍。

## 討 論

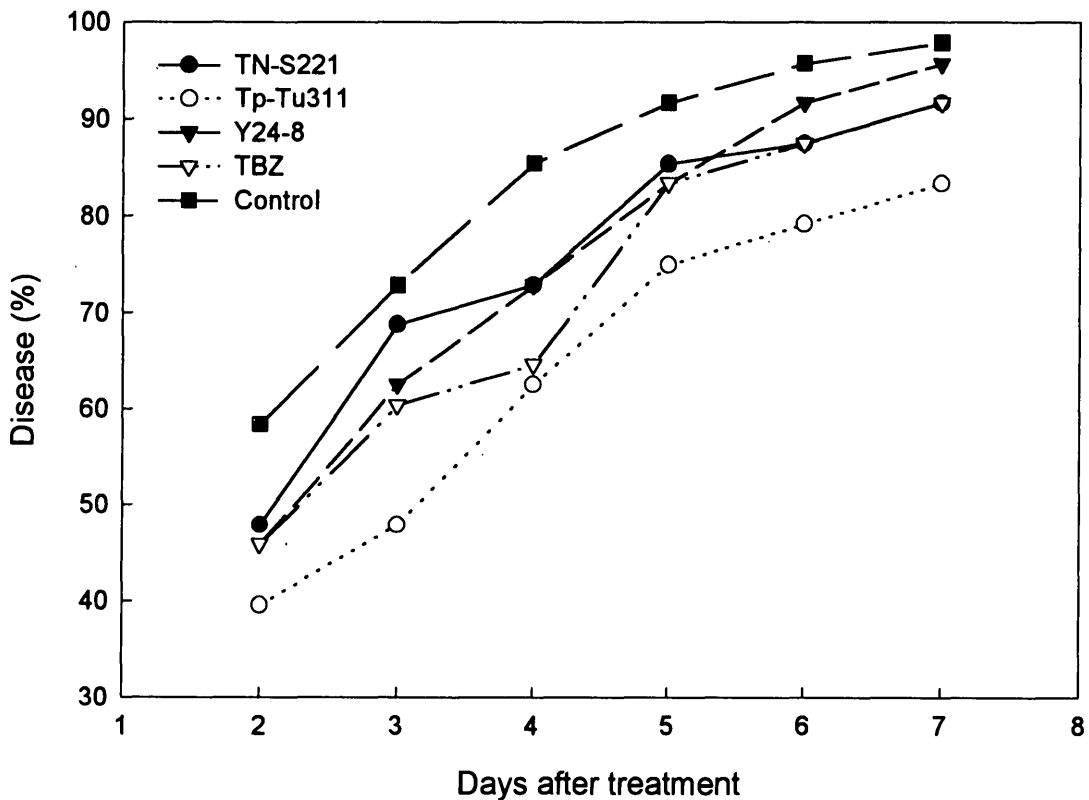
本試驗供試的 4 株拮抗細菌與 5 株拮抗酵母菌均能顯著抑制芒果炭疽病斑的擴展，與抑制香蕉炭疽病斑擴展的結果相

表七、拮抗菌田間試驗採收後芒果之炭疽病發生情形 (1996)

Table 7. Percentage of disease incidence of mango anthracnose from ripening fruit in field trial in 1996

Treatment	Number of fruit	Days after harvest	
		3 day <sup>1)</sup>	6 day
Bagging			
TN- S221	25	49.3	73.3
Tp- Tu311	18	48.1	77.8
Y24-8	8	50.0	91.7
Fungicides <sup>1)</sup>	100	34.9	66.0
No bagging	83	81.3	94.3

<sup>1)</sup> Fungicides including anthracol, prochlorate manganese, mancozeb and delan were sprayed on the mango trees during the periods from flowering to fruit bagged.



圖一、拮抗菌處理採收後芒果對炭疽病發生之影響。

Fig. 1. Effect of postharvest treatment with antagonists on development of mango anthracnose.



表八、拮抗菌對芒果炭疽病菌孢子發芽及附著器形成之影響

Table 8. Effect of antagonists on conidial germination and appressorial formation of mango anthracnose fungus

Antagonist added after spore inoculation	Spore germination (%)			Appressorium formation (%)		
	TN-S221	Tp-Tu311	Y24-8	TN-S221	Tp-Tu311	Y24-8
0 hr	98.7 a <sup>1)</sup>	37.8 a	79.6 a	68.0 a	8.7 a	62.1 a
4 hr	94.6 b	44.5 a	73.9 a	65.2 a	22.8 a	54.0 a
6 hr	96.1 ab	37.8 a	55.5 a	62.5 a	10.6 a	48.6 a
Control	99.5 a	45.3 a	58.0 a	58.3 a	17.4 a	45.3 a

<sup>1)</sup> Means in each antagonist isolate followed by the same letter are not significantly different at  $P=0.05$  according to Duncan's multiple range test.

表九、拮抗菌對芒果炭疽病菌菌絲在PDA平板生長之抑制情形

Table 9. Effect of antagonists on mycelial growth of mango anthracnose fungus on PDA plate

Mycelium added after antagonist inoculation	Inhibition zone (mm)		
	TN-S221	Tp-Tu311	Y24-8
0 hr	0	41.0 b <sup>1)</sup>	0
24 hr	0	51.5 ab	0
48 hr	0	67.5 a	0

<sup>1)</sup> Means in each antagonist isolate followed by the same letter are not significantly different at  $P=0.05$  according to Duncan's multiple range test.

同(8)。其中效果較穩定的 *P. fluorescens* (TN-S221)、*B. subtilis* (TP-Tu311) 及 *P. ohmeri* (Y24-8) 等三個菌株做採收後芒果的防腐處理，其效果與殺菌劑 TBZ 沒有顯著差異，均有減少發病的趨勢。此3株拮抗菌於1993~1996在玉井芒果園作生物防治試驗，均有減少採收芒果炭疽病發生的趨勢，但施用方法及年度不同，其防治效果的變異大，其中以 *P. fluorescens* (TN-S221) 效果較為穩定，而 *B. subtilis* (Tp-Tu311) 與 *P. ohmeri* (T24-8) 的效果較不穩定。Koomen & Jeffries<sup>(17,18)</sup> 根據對芒果炭疽病菌孢子發芽與菌絲生長的抑制

情形，篩選出強抑制力的拮抗菌 *B. cereus* (Isolate 204) 及 *P. fluorescens* (Isolate 558)，此2株拮抗菌做採收芒果後熟處理亦有減少炭疽病發生的趨勢，但其中對孢子發芽具最強抑制能力的 Isolate 558 做田間生物防治試驗，卻不能有效防治芒果炭疽病。他們將此種生物防治失敗的原因歸於 Isolate 558 施用於田間會迅速死亡，無法建立有效的拮抗菌族群<sup>(16)</sup>。

Leben<sup>(19)</sup> 認為拮抗菌在田間生物防治效果不穩定的原因，主要受環境因子變化及拮抗菌生物特性的影響，這些因素使拮抗菌在田間迅速死亡，導致防治失敗，例

如他們將拮抗菌株 A180 於田間噴施在胡瓜葉片經一天後，拮抗菌的存活率低於 1% (20)。我們的試驗結果顯示田間生物防治失敗的原因除了上述因素外，病原菌的族群密度可能亦扮演著重要角色。因 1993 年只在套袋前噴施一次拮抗菌，對採收後芒果炭疽病有顯著的防治效果 (表四)，但 1994 年的防治效果並不理想 (表五)，若以祇有套袋而不施用拮抗菌的對照組做比較，顯然地，1994 較 1993 年發病嚴重；即可能 1994 年的病原菌密度較 1993 年為高。本試驗所使用的 9 株拮抗菌在抑制香蕉炭疽病斑擴展試驗中，發現其抑制效果隨著病原菌孢子濃度增加而降低；另外在田間試驗亦發現，當對照組炭疽病斑出現較多時，拮抗菌的防治效果會降低 (8)。此意味著當病原菌密度高時，生物防治效果不彰。

比較拮抗菌與殺菌劑在三年的田間防治試驗之防病效果，在 1993 年，3 株拮抗菌的防病效果顯著優於 Bavistin 及 Bavistin 加礦物油的處理；1994 年之拮抗菌效果與 Prochlorate manganese 效果相當，但 1996 年之拮抗菌防病效果則遜於殺菌劑。造成這些結果不一致的原因可能與使用藥劑種類、噴藥次數及病原菌密度或抗藥菌系出現有關。我們在另外試驗發現芒果炭疽病菌部份菌株已對 Bavistin 產生抗藥性 (莊再揚，未發表資料)，此可能為 1993 年噴施 Bavistin 之防治效果較差的原因；1994 年可能因病原菌密度較高，以致拮抗菌與殺菌劑均不能有效防治炭疽病，導致兩者之間沒有顯著差異；1996 年拮抗菌每月噴施一次，但化學防治由農民自行噴藥，約每 10~14 天噴藥一次，可能較密集的噴藥，以致藥劑處理的效果較拮抗菌處理者為佳；如果兩者處理的噴施次數相同，也許拮抗菌與殺菌劑防病效果沒有顯著差異，唯是否真的如此，則需進一步的試驗證明。Koomen &

Jeffries<sup>(17)</sup> 由芒果組織分離的拮抗菌 *B. cereus* (Isolate 204) 及 *P. fluorescens* (Isolate 558)，做採收後芒果處理，可以減少炭疽病的發生，但田間施用卻無防病效果，不過他們認為若能大量篩選拮抗菌，芒果炭疽病之生物防治仍具有實用的潛能 (16)。Andrews<sup>(5)</sup> 認為妥規劃拮抗菌篩選策略，可增加拮抗菌生物防治的效果。本試驗所使用的拮抗菌是以二段式方法篩選出來 (8)。即在培養基上具拮抗作用的微生物，每 10 株混合為一組，測試對香蕉炭疽病斑的抑制效果，選取有抑制效果的組合，再測定每組合中個別微生物對炭疽病斑的抑制效果，如此篩選出有效的拮抗菌，其在田間蕉園施用後，亦能穩定而有效的減少採收蕉果後熟後的炭疽病斑數。此種二段式篩選出拮抗菌的防病效果較為穩定，可能為此拮抗菌較組合中其他的微生物具較強的競爭能力，否則在第一階段的 10 個菌株混合測試就無法表現出防病效果。由於在第二階段篩選出的拮抗菌較具競爭優勢，在田間施用時，對施用環境中的其他微生物亦可能有較佳的競爭能力，而表現出較穩定的生物防治效果，因此本試驗在芒果園施用防治炭疽病，仍能表現出與殺菌劑相當的防治效果。此外，Tp-Tu311 對 *Rhizoctonia solani* 引起的苗立枯病亦有穩定的防治效果 (莊再揚，未發表資料)，相反的，Spalding<sup>(28)</sup> 以對核果類褐腐病 (Brown rot) 具良好防治效果的 *B. subtilis* strain B3 處理後熟芒果，卻無防病效果。

本試驗顯示 *B. subtilis* (Tp-Tu311)、*P. fluorescens* (TN-S221) 及 *P. ohmeri* (Y24-8) 對芒果炭疽病的生物防治機制可能不同。因在培養基上，Tp-Tu311 會對芒果炭疽病菌產生明顯的抑制圈，且此抑制圈不會因添加營養而消失，又在顯微鏡下觀察，它可讓孢子的發芽管和附著器產生變形；TN-S221 雖不會產生明顯的抑制

圈，亦無法由其培養濾液中偵測到 Pyrrol-nitrin 的產生（莊再揚，未發表資料），但亦會讓發芽管產生畸形；Y24-8 亦不會產生抑制圈，而且對發芽管與附著器形成幾乎不造成影響，但會成群緊密貼附在發芽管的周圍。因此 Tp-Tu311 的防病機制可能為抗生作用 (antibiosis)，Y24-8 則可能為競爭作用 (competition)，而 TN-S221 雖然無法使偵測到 Pyrrolnitrin 抗生物質的產生，但會讓發芽管畸形，亦可能產生其他抗生物質或酵素，故其主要作用機制應為競爭作用，但可能亦有抗生作用參與。

Koomen & Jeffries 所分離的拮抗菌 *P. fluorescens* (Isolate 558)，亦不能產生抗生物質，但會產生 siderophore 競爭營養<sup>(16)</sup>。Droby & Chalutz<sup>(10)</sup> 綜合論述後熟病害的生物防治機制，認為 *B. subtilis* 之作用機制為抗生作用，*P. fluorescens* 亦為抗生作用，而酵母菌則為競爭作用，其中酵母菌 *P. guilliermondii* 不僅競爭果實傷口處的營養，亦會環繞附著在病原菌菌絲周圍，產生細胞壁分解酵素，使菌絲衰弱變形。

酵母菌 Y24-8 噴施於愛文與金煌芒果花穗，能顯著提高著果率，其部份原因可能其對炭疽病菌具拮抗作用，減少病原菌的侵入感染，另外原因可能此菌株在液體培養基上會產生特殊味道，能誘引授粉昆蟲，增加果實的受粉率。目前芒果園是以放置腐魚誘引綠蠅產卵增加其後代，以增加果實受粉率（林宗賢 & 吳文哲，未發表資料），然這種方法會產生惡臭，影響果園周遭的環境品質，將來若能開發 Y24-8 使用，也許可以取代目前放置腐魚的方法，改善環境品質。

綜觀四年的試驗結果，*P. fluorescens* (TN-S221) 的防病效果較為穩定，*B. subtilis* (Tp-Tu311) 次之，而 *P. ohmeri* (Y24-8) 的效果較差。但芒果開花時若噴施 Y24-8，卻可顯著提高著果率，因此這 3 株拮抗菌具有實用的潛能，將來可能取

代部份殺菌劑的使用，成為芒果炭疽病綜合防治策略中的一環。

## 謝 辭

本研究由行政院農業委員會補助經費 (82 科技-2.3-糧-03(16-1)、83 科技-2.4-糧-27(6-1)、84 科技-2.4-糧-23(3-1)、85 科技-1.6-糧-28(3-1))，謹此誌謝。

## 引用文獻

1. 安寶貞、黃瑞卿、陳茂發 1994 環境因子對檬果炭疽病發生之影響。植病會刊 3: 34-44。
2. 安寶貞、陳茂發、黃瑞卿 1997 氣象因子與檬果炭疽病及黑斑病發生生態之影響。氣象因子與作物病蟲害發生研討會論文專輯 29-40 頁。杜金池、楊純明主編。中華農業氣象學會出版。台中縣霧峰鄉。
3. 楊秀珠、呂理燦 1988 檬果炭疽病菌之形態與生理性質。植保會刊 30: 325-336。
4. 翁豐嶽、莊再揚 1995 台灣芒果炭疽病菌之分群。植保會刊 37: 295-309。
5. Andrews, J. H. 1985. Strategies for selecting antagonistic microorganisms in relation to biological control. Pages 31-44 in: Biological Control on the Phylloplane. C. E. Windels & S. E. Lindow, eds. APS Press, St. Paul, Minnesota.
6. Chalutz, E., and Wilson, C. L. 1990. Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii*. Plant Dis. 74: 134-137.
7. Chalutz, E., Ben-Arie, R., Droby, S.,

- Cohen, L., Weiss, B., and Wilson, C. L. 1988. Yeasts as biocontrol agents of post-harvest diseases of fruits. *Phytoparasitica* 16: 69.
8. Chuang, T. Y., and Yang, H. J. 1993. Biological control of banana anthracnose. *Plant Pathol. Bull.* 2: 71-77.
9. Cook, J. R., and Baker, K. F. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. APS Press, St. Paul, Minnesota. 539 pp.
10. Droby, S., and Chalutz, E. 1994. Mode of action of biocontrol agents of postharvest disease. Pages 63-76 in: *Biological Control of Postharvest Diseases: Theory and Practice*. C. L. Wilson & M. E. Wisniewski, eds. CRC Press, Boca Raton, FL.
11. Eckert, J. W., and Ogawa, J. M. 1985. The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23: 421-454.
12. Jacobsen, B. J., and Backman, A. 1993. Biological and cultural plant disease control: alternatives and supplements to chemicals in IPM systems. *Plant Dis.* 77: 311-315.
13. Janisiewicz, W. J. 1988. Biological control of diseases of fruits. Pages 153-166 in: *Biocontrol of Plant Diseases*, Vol. 2. N. C. Mukerjee and K. L. Grag, eds. CRC Press, Boca Raton, FL.
14. Janisiewicz, W. J. 1988. Biocontrol of postharvest diseases of apples with antagonist mixture. *Phytopathology* 78: 194-198.
15. Janisiewicz, W. L., and Roitman, J. 1988. Biological control of blue mold and gray mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopathology* 78: 1697-1700.
16. Jeffries, P., and Koomen, I. 1992. Strategies and prospects for biological control of diseases caused by *Colletotrichum*. Pages 337-357 in: *Colletotrichum: Biology, Pathology, and Control*. J. A. Bailey and M. J. Jeger, eds. CAB International, UK.
17. Koomen, J., and Jeffries, P. 1993. Effect of antagonistic microorganisms on the post-harvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. *Plant Pathology* 42: 230-237.
18. Koomen, I., Dodd, J. C., Jeger, M. J., and Jeffries, P. 1990. Post-harvest biocontrol of anthracnose disease of mangoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 50: 137-138.
19. Leben, C. 1985. Introductory remarks: biological control strategies in the phylloplane. Pages 1-5 in: *Biological Control on the Phylloplane*. C. E. Windels & S. E. Lindow, eds. APS Press, St. Paul, Minnesota.
20. Leben, C., Daft, G. C., Wilson, J. D., and Winter, H. F. 1965. Field tests for disease control by an epiphytic bacterium. *Phytopathology* 55: 1375-1376.
21. McLaughlin, R. J., Wilson, C. L., Droby, S., Ben-Arie, R., and Chalutz, E. 1992. Biological control of postharvest diseases of grape, peach, and apple with the yeasts *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii*. *Plant Dis.* 76: 470-473.
22. Nelson, M. R. 1989. Biological control: the second century. *Plant Dis.* 73: 616.
23. Norman, C. 1988. EPA sets new policy on pesticides canker control of stone

- fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. Plant Dis. 68: 753-756.
24. Ploetz, R. C., Zentmyer, G. A., Nishijima, W. T., Rohrbach, K. G., and Ohr, H. D. 1994. Compendium of Tropical Fruit Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota. 88 pp.
  25. Robert, R. C. 1990. Postharvest biological control of gray mold of apple by *Cryptococcus laurentii*. Phytopathology 89: 526-530.
  26. Singh, V., and Deverrall, B. J. 1984. *Bacillus subtilis* as a control agent against fungal pathogens of citrus fruit. Trans. Br. Mycol. Soc. 83: 487-490.
  27. Spalding, D. H. 1982. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases. Plant Dis. 66: 1185-1186.
  28. Spalding, D. H. 1986. Evaluation of various treatments for control of postharvest decay of Florida mangoes. Proc. Florida State Hort. Soc. 99: 97-99.
  29. Wilson, C. L., and Pusey, P. L. 1985. Potential for biological control of postharvest plant diseases. Plant Dis. 69: 375-378.
  30. Wilson, C. L., and Wisniewski, M. E. 1989. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. Annu. Rev. Phytopathol. 27: 425-441.
  31. Wilson, C. L., Franklin, J. D., and Pusey, P. L. 1987. Biological control of Rhizopus rot of peach with *Enterobacter cloacae*. Phytopathology 77: 303-305.

## ABSTRACT

**Chuang, T. Y.<sup>1</sup>, and Ann, P. J.<sup>2</sup> 1997. Biological control of mango anthracnose.** Plant Prot. Bull. 39: 227-240. (<sup>1</sup> Department of Plant Pathology and Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C; <sup>2</sup> Department of Plant Pathology, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, R.O.C.)

Antagonistic bacteria and yeasts were investigated for control of mango anthracnose disease in laboratory and in field during 1993-1996. Four antagonistic bacterium isolates and 5 yeast isolates, including *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pichia ohmeri*, *Sporobolomyces* sp. and unidentified yeast, were individually assayed against *Colletotrichum gloeosporioides* by coinoculating antagonist and pathogen in artificial wounds of mango fruits. Results showed that all test antagonists were able to inhibit lesion expansion of mango anthracnose significantly by reducing 20 %-45 % of lesion size in average. Among nine test antagonists, *B. subtilis* (Isolate Tp-Tu311), *P. fluorescens* (Isolate TN-S221) and *P. ohmeri* (Isolate Y24-8) were consistent and effective to inhibit lesion expansion at three separate experiments. Isolate Y24-8 significantly increased fruit set when these 3 antagonistic isolates were sprayed onto mango inflorescence. Compared with fungicide Bavistin and Bavistin+oil treatment, these antagonists also significantly reduced anthracnose development of ripening fruits after harvest when the fruit was sprayed with antagonists before bagging in field. Efficacy of control for mango anthracnose by spraying antagonists and bagging was better than by spraying fungicides but not bagging. Postharvest treatment of mango fruit with antagonists TN-S221, Tp-Tu311 and Y24-8 tended to decrease the anthracnose development and Tp-Tu311 was the best for controlling the disease. These 3 antagonists did not affect conidial germination and appressorial formation of the fungus, and only Tp-Tu311 inhibited mycelial growth. Swelling of germ tubes and appressoria was obviously occurred when Tp-Tu311 was added into conidial suspension of the fungus. However, this phenomenon was less observed in TN-S221 and Y24-8 treatment. Many cells of Y24-8 were able firmly to attach to spores and germ tubes of the pathogen.

(Key words: mango, anthracnose disease, *Colletotrichum gloeosporioides*, biocontrol)