

行政院農業委員會林務局委託研究計畫系列 100-00-5-04

釋放小花蔓澤蘭銹病菌天敵 *Puccinia*
spgazzinii 防治入侵之小花蔓澤蘭 (3/4)



委託機關：行政院農業委員會林務局

執行機關：國立台灣大學

中華民國 101 年 01 月

中文摘要

經追蹤病徵、病原及其相關分子標記調查，顯示前期計畫中，於 2008 年 5 月所釋放之小花蔓澤蘭銹病菌天敵 (*Puccinia spegazzinii*) 已於野地建立族群。於野外進行系統性調查，發現除原釋放點高雄地區以外，台南、嘉義、雲林、南投等並未施放過銹病菌之地點，皆可發現銹病菌侵染小花蔓澤蘭，尤其以地處山坡、丘陵地；鄰近溪流、水庫之台南、嘉義等地，銹病菌侵染最為顯著、嚴重。此銹病菌傳播潛在距離半徑已逾 100 公里，面積達 300 平方公里以上。台東縣斑鳩、賓朗、關山、綠色隧道等地亦有銹病零星發生，此現象可能係人工定期伐除已感染銹病菌之小花蔓澤蘭藤蔓有關。未來選擇適宜地點，多點、多次釋放，對於抑制小花蔓澤蘭之族群覆蓋率，恢復生態多樣性，成效可期，未來應就潛力地點設置永久樣區，以驗證其成效。

關鍵字：小花蔓澤蘭、古典生物防治、生物多樣性、銹病菌天敵

英文摘要

To control the spread and devastating effects caused by the invasive *Mikania* alien weed, the classic biological control (CBC) by introducing the natural fungal enemy from native habitats was conducted. The released rust *Puccinia spegazzinii* has established its population in the released sites. The follow up investigation, monitoring and survey indicated the rust has spread to several southern and central Taiwan countries, i.e. Kaohsiung, Tainan, Chiayi and Yunlin. The incidence and severity were particularly evident in habitats in the shady hill side or nearby creek, reservoir or ditches. In several locations in the eastern county, Taitung, the sporadic occurrence of the rust infection was accessed. The lower severity of the infected weed by the rust partly may due to the constant vine slashing. Several permanent experimental plots have been selected and will be evaluated the efficacy of CBC on reducing the coverage of the *Mikania* weed, and restoring the balance of ecology and biodiversity in the long term.

Keywords: *Mikania micrantha*, classic biological control, biodiversity, *Puccinia spegazzinii*

研究團隊

執行單位：國立臺灣大學植物病理與微生物學系

研究主持人：曾顯雄教授

研究人員：張孝齊、黃子葳、余淳維、邱世豪

協同研究人員：巫宣毅 助理研究員

行政院農業委員會花蓮區農業改良場

曾敏南 助理研究員

行政院農業委員會高雄區農業改良場

周泳成 研究員

行政院農業委員會台東農業改良場

陳惠美 博士

林湘鳳 技術員

亞洲—世界蔬菜研究中心

前言

小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha*) 原產於中南美洲加勒比海沿岸國家，於原產地長期共演化之結果，已受當地之昆蟲或病原微生物之制約，並不造成任何之顯著為害，與當地之生態系和諧共存。但二十世紀初期就被南亞、東南亞一些國家，引進種植當為綠色植被，由於其旺盛之生命力，生長勢和拓植能力，經 50 年至 100 年間已蔓延遍佈大洋洲、澳洲、印尼、巴布亞紐幾內亞、馬來西亞、印度、中國廣東、香港。至於小花蔓澤蘭何時入侵台灣，雖不可考，但由中研院植物所與台灣大學植物系於屏東所採集之標本紀錄顯示，至少於 1986 年已於南台灣立足，其後短短 20 幾年向北蔓延已超過 150 公里以上；據台灣特有種生物研究中心之調查顯示，全台 23 縣市，除台北縣市、新竹市，以及離島之金門、馬祖、澎湖外，至少已有 18 縣市，共約 5 萬多公頃之農林棲地，皆已被入侵。

小花蔓澤蘭極具優異之生長、生殖遺傳特性，又可產生數量驚人之種子，發育後之藤蔓善於攀沿、纏勒，繁盛之莖葉覆蓋鄰近之灌木甚或喬木，致使被攀附之植物，無法進行光合作用，生長衰微，最後枯死，故被認為最具侵略性之入侵雜草，俗稱「綠癌」。

小花蔓澤蘭之入侵除造成農林作物之經濟層面損失外，對於本土生態系之生物多樣性、結構也產生巨大影響，為防止其蔓延猖獗為害，政府所轄之農政單位無不卯足全力進行防治。目前施行之防治方法不外乎化學性之殺草劑，或物理性之剷除，但兩者皆為治標，且不符成本效益，也常有「雜草鋤不盡，春風吹又生」之嘆！而「生物防治」也許是峰迴路轉，柳暗花明，或許可帶來一線生機。

由英聯邦國際農業署 (Commonwealth Agricultural Bureau International, CABI) 引入小花蔓澤蘭之銹病菌天敵 *Puccinia spegazzinii*，於亞蔬-世界蔬菜中心 (以下簡稱亞蔬) 基改溫室檢測其致病性和寄生範圍，檢測結果顯示此銹病菌極具寄生之專一性；此外，也經行政院防檢局同意，並於林務局屏東區林管處下六龜工作站苗圃，以及扇平地區小花蔓澤蘭蔓延之處，釋放此銹病菌天敵，並已成功感染蔓生之小花蔓澤蘭，建立族群。擬將初步成效，推廣至國內小花蔓澤蘭之猖獗危害之地區，並進行為期五年之成效評估追蹤，期望可顯著抑制小花蔓澤蘭之蔓延危害，回復生態平衡。

計畫目的

1. 利用古典生物防治來監控台灣野外入侵種植物小花蔓澤蘭破壞台灣植被生態之嚴重問題，即引進其真菌天敵銹病菌 *Puccinia spegazzinii* 來進行生物防治工作，以恢復本土生態系平衡。
2. 本期計畫旨在利用野外調查，持續監測前期已釋放之銹病菌天敵傳播、感染情況，並評估永久樣區之設立可能性及地點，進行長期監控此一防治模式，以便評估其效益及永續防治之可能性。

工作項目及材料方法

一、銹病菌接種原的再建立

1. 於高雄市、台南市、嘉義市等地區，在之前野外調查發現銹病菌感染小花蔓澤蘭情形較嚴重之地區，剪取葉片上已有明顯銹病菌病斑的小花蔓澤蘭藤蔓約 20-30 公分，並以切花保水管維持水分。
2. 採集當天即送至亞蔬基因改造溫室，於溫室中剪取罹病小花蔓澤蘭藤蔓，扦插至保水性較佳之土壤中，於接種濕室中培養。
3. 同時亦將之前於基改溫室中培養之健康小花蔓澤蘭植株，置於該接種濕室下層。
4. 維持接種濕室中的高濕度，使在野外已被銹病菌感染之小花蔓澤蘭能持續給予銹病菌成熟之寄主環境，待其擔孢子成熟後，感染基改溫室中健康之小花蔓澤蘭植株，以持續繁殖此一接種原。

二、小花蔓澤蘭之銹病菌天敵*Puccinia spegazzinii*之接種

1. 選取屏東小花蔓澤蘭肆虐嚴重危害之處，包括六龜苗圃，先以GPS定位。
2. 於黃昏時刻，將已嚴重罹患小花蔓澤蘭侵染之小花蔓澤蘭幼株當為二次接種源，將野外小花蔓澤蘭之藤蔓纏繞靠接在幼苗上，套袋並於其內置一潤濕擦手紙以維持濕度，2天後去除塑膠袋，待後續觀察其侵染情形。
3. 接種前後，分析比較處理前後罹患小花之面積大小，該處理地區物種多樣性多寡之差異性。
4. 比較單位面積小花蔓澤蘭感染銹病菌之感染率；受感染之枝條之感染面積，受感染之枝葉、重量、種子數目等。
5. 每一到二個月追蹤調查病勢進展，以及植被多樣性之變化，當為評估生態平衡是否已經恢復之指標。

三、已施放小花蔓澤蘭銹病菌天敵之感染情況監測

1. 前期計畫已於高雄六龜、扇平地區；台東賓朗、斑鳩地區；花蓮鳳林、吉安地區施放小花蔓澤蘭銹病菌天敵。
2. 每一到二個月，到施放地區及其附近，以畫同心圓的方式向外搜尋適合觀察的樣區，記錄樣區內小花蔓澤蘭生長的情形，以及該處之小花蔓澤蘭是否有被銹病菌感染，GPS定位每個觀察地點，進行樣區內巨觀與微觀之拍照，並採集已感染銹病菌之小花蔓澤蘭枝條，攜回實驗室內進行分子鑑定及病原性檢測，確認該侵染之銹病菌為前施放之銹病菌天敵。

3. 野外調查後，將GPS定位數據匯入地圖，藉此追蹤調查病勢發展及擴散區域，另調查時藉由拍照，記錄該區域內植被多樣性之變化，亦可當為評估生態平衡是否已經恢復之指標。

四、野外銹病菌天敵感染小花蔓澤蘭等級評估

1. 於野外調查時，小花蔓澤蘭被銹病菌感染產生病斑，觀察植株之葉背病斑數，當為評估基準。
2. 目前將感染情況劃分為4等級：等級1為單片葉片平均病斑數小於3個，即較零星的發病狀態；等級2及3是為較等級1之感染情況更為明顯，單片葉子上病斑數分別為5個及10個以上；而等級4則是單片小花蔓澤蘭單片葉子上銹病菌病斑達20個，明顯發病
3. 依據上述標準，評估各調查地點之感染等級數值。

五、銹病菌之分子鑑定

1. 於野外採集之銹病菌樣品，攜回實驗室後，抽取其總體 DNA，
2. 以聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction) 增幅 rRNA 基因序列上之 ITS (Internal transcribed spacer) 序列進行分子鑑定，另外也增幅 18S 及 28S rRNA 之基因序列來進行比對與參考。
3. 將分子鑑定結果製表，確定各地採回之銹病菌樣品，為前期計畫所釋放之銹病菌天敵菌株。

六、永久監測樣區之設立評估

1. 本次計劃於野外調查時，也同時評估之後能規劃成永久樣區之地點，擬向行政院農委會林務局及防檢局申請於罹受小花蔓澤蘭嚴重危害之田林區域，釋放此銹病菌天敵，並建立起長久之監測樣區，目前標定區域為屏東或高雄、台東、花蓮等已施放過之區域，以容易觀察且不易被破壞之地點為佳，以利之後進行多次施放銹病菌與科學量化統計生物量之研究。
2. 連續五年內，每三個月追蹤銹病菌施放處，鄰近植被被其它種銹病菌感染之情形，建立小花蔓澤蘭銹病菌天敵 *Puccinia spegazzinii* 之寄生專一性、病原性之資料，以作為進一步生物防治成效之參考。

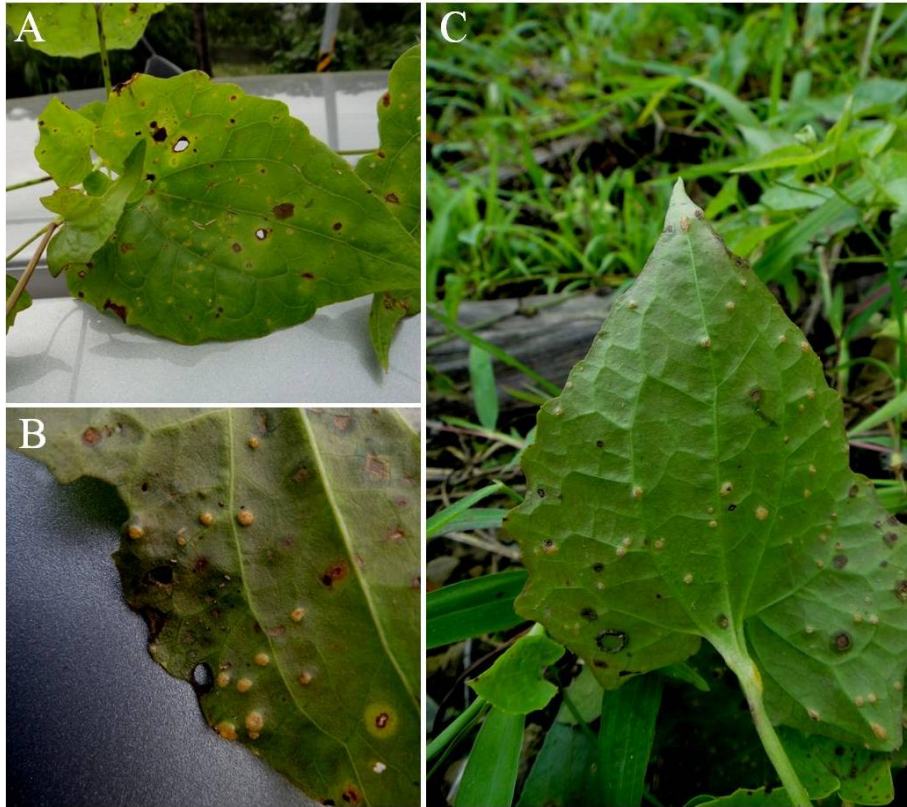
結果與討論

一. 小花蔓澤蘭之銹病菌天敵 *Puccinia spegazzinii* 之接種

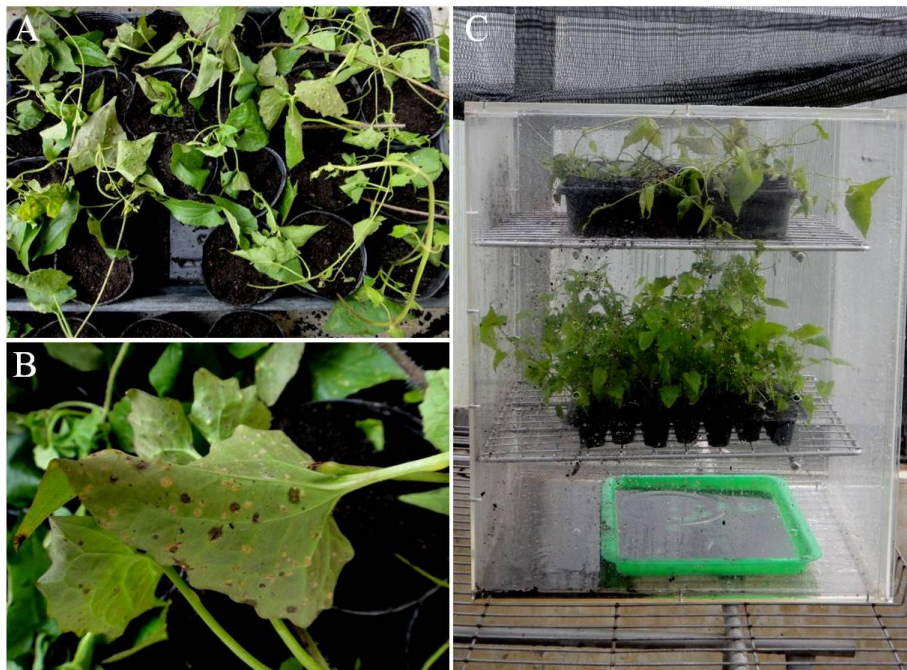
本實驗室目前已採集野外感染銹病菌之小花蔓澤蘭，採集後以扦插法再度繁殖，以此培養二次接種源，並與亞蔬於今年度下半年再次進行合作，於其基改溫室內繁殖銹病菌 *P. spegazzinii* 之永久接種原。先請農業藥物毒物試驗所謝玉貞博士提供小花蔓澤蘭之種子與小花蔓澤蘭之扦插小苗，於亞蔬基改溫室中進行銹病菌寄主之建立。

待小花蔓澤蘭自發芽生長已一個月左右，扦插小苗也已生長至可提供接種實驗之大小（高度約 30- 50 公分），故準備開始進行銹病菌接種原之建立工作。計畫預定自台灣各縣市有發現銹病菌族群之地點採集銹病菌回亞蔬，依不同地點進行接種原之建立，此一方式是考量已於台灣野外成功感染小花蔓澤蘭之銹病菌其生長適性已較適應台灣之野外環境，且其感染能力也經野外之生長壓力篩選過，於之後施放去感染樣區內之小花蔓澤蘭可能較為理想，另也將以不同採集地點進行分類，期望篩選出感染能力較強之銹病菌菌株，作為永久接種原，並針對這些篩選過之銹病菌，於亞蔬進行族群量之長期繁殖與維持。

另從前期計畫經驗中，採集已感染銹病菌之小花蔓澤蘭藤蔓後，越早送至亞蔬基改溫室，後續接種效果越好，因此本次在建立接種原實驗上，參考曾經調查過發現有較好感染情形，且近亞蔬之樣區為目標採集地點。此次計畫中，採集地點分別位於高雄市省道 20 號及 21 號路邊，以及台南市與嘉義縣省道 3 號路邊的調查樣區，該地點之小花蔓澤蘭有較多被銹病菌感之病斑，且病斑也較年輕或銹病菌之冬孢子堆即將成熟（圖一）。在採集當天即送至亞蔬基改溫室，並扦插於保水性較好之土壤，和健康之小花蔓澤蘭共同培養於接種濕室中（圖二）。截至今年計畫結束，銹病菌接種原建立已有初步成效，於基改溫室中培養之健康小花蔓澤蘭在經過與罹病之小花蔓澤蘭共同培養於接種濕室後，已出現銹病菌感染之病徵，接下來將持續培養繁殖此一銹病菌，進行明年度永久樣區施放銹病菌時使用。



圖一、於野外採集，欲進行銹病菌接種原繁殖之小花蔓澤蘭染病情況，及葉背之孢子堆。



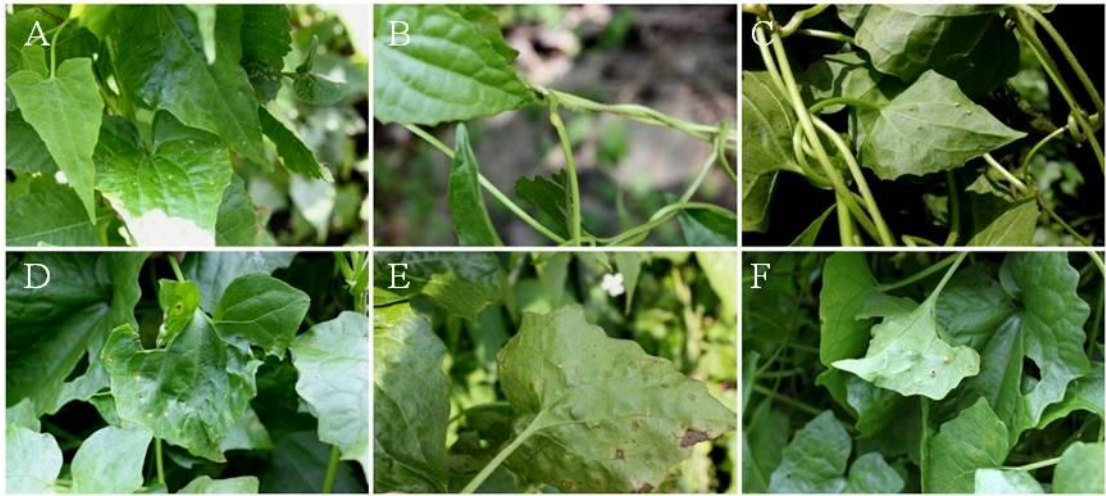
圖二、於基改溫室中進行銹病菌接種原再建立之情形圖。(A-B) 將採集之染病小花蔓澤蘭扦插於土壤中；(C) 於接種濕室中共同培養扦插好之染病小花蔓澤蘭與健康之小花蔓澤蘭。

二、野外調查銹病菌擴散傳播範圍與感染小花蔓澤蘭之嚴重程度評量

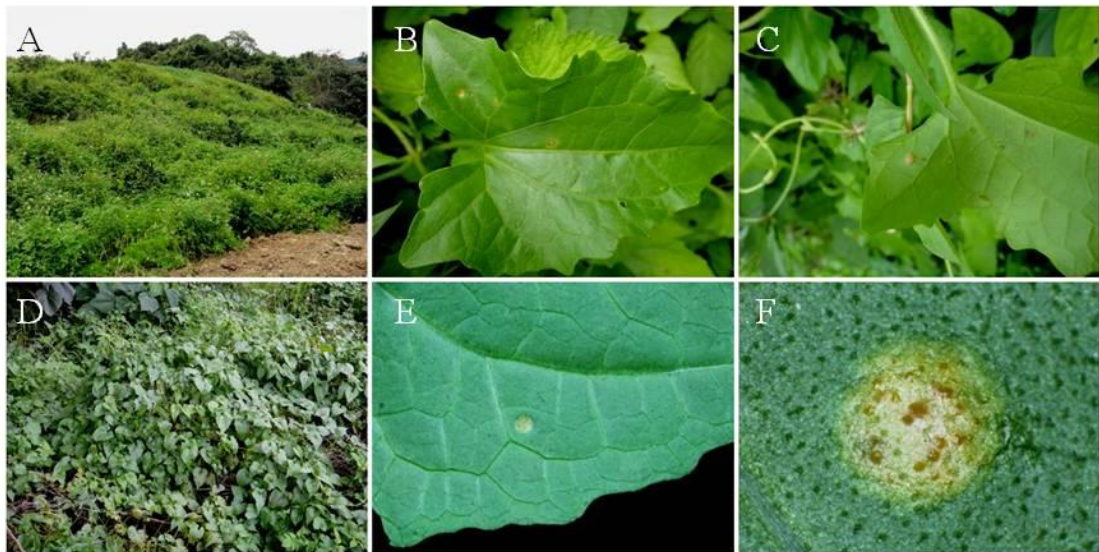
今年度的野外銹病菌傳播感染範圍仍以中南部與東部幾個縣市為主，包括花蓮縣、台東縣、高雄市、台南市、嘉義縣、南投縣及彰化縣等，調查之路線以開車能夠到達的地點為主，各縣市調查之結果與路線分述如下。

以曾經施放過小花蔓澤蘭銹病菌天敵的施放點為中心，向外延伸調查銹病菌族群的傳播與建立。高雄縣的扇平、寶來、甲仙等地區都能穩定發現被銹病菌感染的小花蔓澤蘭葉片（圖三），其中以靠近原施放地點扇平坡坎附近的山壁最為明顯。

在台東縣的觀察除了原施放地點賓朗果園以及之前曾經發現銹病菌的斑鳩分場及綠色隧道仍能觀察到銹病菌感染小花蔓澤蘭的病斑外，沿著省道 9 號往花蓮的方向於公路旁也有發現兩處的小花蔓澤蘭葉片上有零星被銹病菌感染的病斑，其中最北的觀察點為台東縣之關山鎮（圖四），距離原施放地點賓朗果園估計有超過 25 公里以上。此區域之野外調查中也發現銹病菌的病斑數量較以往曾經觀察到的數量要少且較零星，有可能是因為原施放地點賓朗果園及觀察到銹病菌擴散的斑鳩分場、綠色隧道這幾個地點在過去一年內都曾進行野草剷除的工作，因此非常有可能破壞了原本已經建立穩定族群的銹病菌，外加台灣今年氣候較為悶熱，降雨的天數、與量都較往年為少，也有可能降低銹病菌族群繁殖的能力與擴散範圍。



圖三、高雄縣地區小花蔓澤蘭被銹病菌天敵於野外感染之情形。(A-C) 扇平地區 (N22°96'20.8", E120°66'55.3")，於小花蔓澤蘭葉片與莖上能觀察到明顯銹病菌病斑；(D-F) 省道 20 線往甲仙方向公路邊 (N23°07'08"2, E120°65'54"5)。



圖四、台東縣地區小花蔓澤蘭被銹病菌天敵於野外感染之情形。(A-C) 原銹病菌施放地點台東縣賓朗果園 (N23°48'53.7", E121°04'16.4")；(D-F) 台東縣關山鎮省道 9 號公路邊 (N23°00'46.3", E121°09'02.0")。

而於台灣西部幾個縣市如台南縣、嘉義縣、南投縣的野外調查中也可發現已有多處的小花蔓澤蘭被銹病菌感染，其中以嘉義縣省道 3 號繞過曾文水庫東邊較潮濕的山壁上，能夠發現被銹病感染較嚴重的小花蔓澤蘭葉片，一片葉片甚至都能觀察到 15 個以上的銹病菌病斑（圖五，A-F），顯示野外較潮濕的環境可能較利於銹病菌的繁殖與感染。於省道 3 號沿途每隔 5 公里及搜尋適合觀察的樣區中顯示，能夠發現銹病菌的病斑地點相當多，也顯示銹病菌於嘉義縣山區已經建立相當數量的族群。

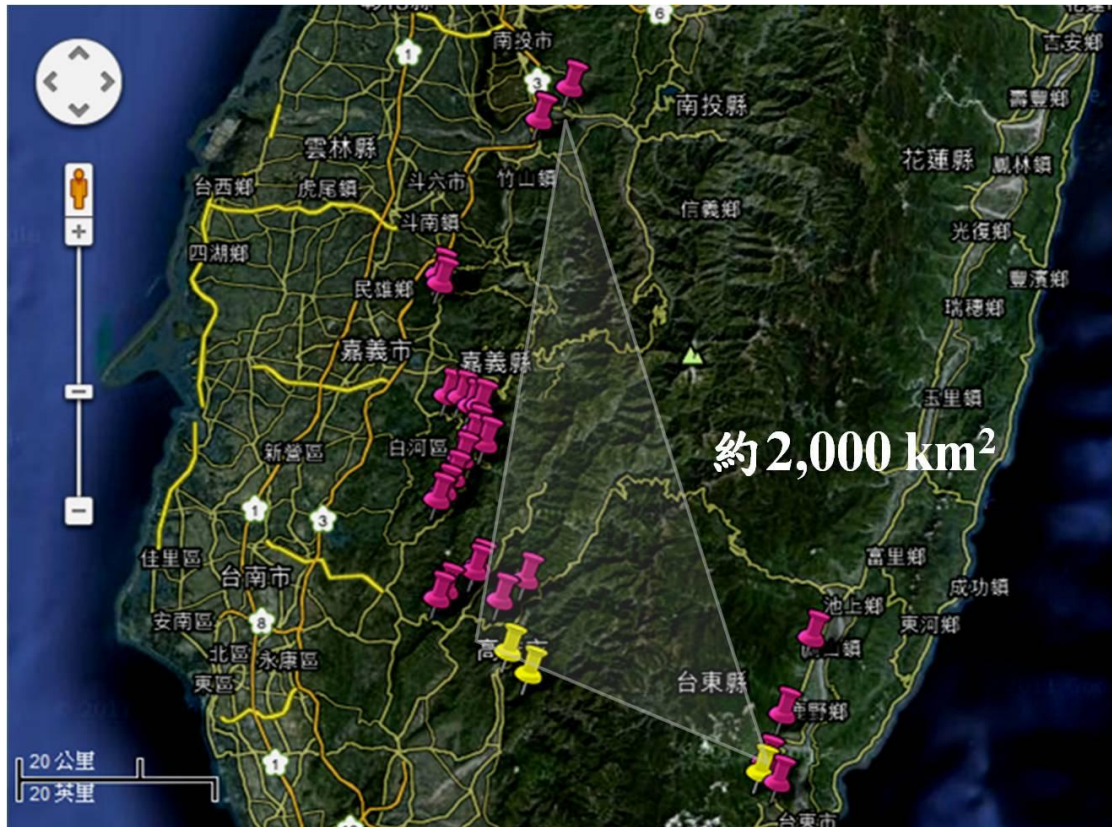
另外於南投縣集集鎮往民間鄉的 152 縣道(綠色隧道)路邊的樣區中也同樣發現被銹病菌嚴重感染的小花蔓澤蘭葉片（圖五，G-H），此觀察地點的銹病菌如果確定是來自於曾經施放過銹病菌天敵的高雄六龜或台東賓朗果園，此傳播路徑將高達 100 公里以上。

簡單估算目前野外調查發現有銹病菌族群之地點，以三角形面積估算，銹病菌於台灣中部與南部之散播面積將有可能達到 2,000 km² 以上（圖六）。且由於橫越台灣東西部之公路數量較少，以開車之野外調查方式有許多地點將無法到達，但其生態環境往往較平地更適合銹病菌族群之著根與繁衍，故於台灣零星且單次施放小花蔓澤蘭之自然天敵銹病菌於台灣之成效，很有可能較預期理想，唯需更精準掌握施放次數、時節、時間、與施放銹病菌的量，方能將此一銹病菌於台灣之族群穩固起來，並能深入探討其控制小花蔓澤蘭之蔓延實際之進程推算與成效。

今年野外調查之結果，感染等級詳見表一，其中高雄市、台南縣、嘉義縣及南投縣之觀察樣區內銹病菌感染小花蔓澤蘭之情形較好，而這些地點多是丘陵地靠近山壁且較潮濕的環境，故將來永久樣區之選定也會以此基準當參考進行評量。另外在野外調查中發現，感染等級 4 之小花蔓澤蘭，其生長狀況往往較其他觀察地點為差，推測可能同時也遭到其它本土真菌之侵染。



圖五、中南部地區小花蔓澤蘭被銹病菌天敵於野外感染之情形。(A-B) 嘉義縣省道3號355km處路邊山路 (N23°13'10.7", E120°32'46.9"); (C-D) 嘉義縣省道3號346km處路邊山壁 (N23°15'04.9", E120°34'23.7"); (E-F) 嘉義縣省道3號305km處路邊小山路 (N23°21'06.6", E120°34'56.5"); (G-H) 南投縣縣道152號54.5km處集集鎮往名間方向路邊坡地 (N23°49'41.8", E120°45'43.8")。



圖六、野外調查之銹病菌族群分佈位置與面積估算圖。

表一、野外調查銹病菌感染小花蔓澤蘭之評量表。1：銹病菌病斑零星，每片葉子約 1-3 個銹病菌病斑；2：每片葉子有 5 個以上的銹病菌病斑；3：每片葉子有 10 個以上的銹病菌病斑；4：每片葉子有約 20 個以上的銹病菌病斑，且小花蔓澤蘭生長情形較差。

No.	地點	衛星定位	等級	Note
1	扇平	N22°96'20.8", E120°66'55.3"	2	高雄市
2	寶來	N23°10'80.5", E120°70'28.2"	3	高雄市
3	省道 20 號往甲仙方向	N23°07'08.2", E120°65'54.5"	3	高雄市
4	賓朗果園斜坡	N22°48'53.4", E121°04'14.3"	1	台東縣
5	斑鳩分場	N22°49'43.5", E121°04'37.2"	1	台東縣
6	綠色隧道	N22°47'58.1", E121°05'47.8"	1	台東縣
7	省道 9 號鹿野鄉路邊	N22°53'57.9", E121°06'15.8"	1	台東縣
8	省道 9 號關山鎮路邊	N23°00'46.3", E121°09'02.0"	1	台東縣
9	省道 20 號玉井往甲仙方向路邊山壁	N23°04'22.9", E120°32'45.2"	1	台南市
10	省道 21 號往那瑪夏方向路邊山地	N23°06'47.9", E120°36'24.2"	1	高雄市
11	省道 21 號往那瑪夏方向褒忠福玄壇	N23°07'12.0", E120°36'44.4"	3	高雄市
12	省道 3 號 355 km 路邊小斜坡	N23°13'10.7", E120°32'46.9"	4	台南市
13	省道 3 號 351.5 km 路邊山壁	N23°13'52.4", E120°33'32.9"	1	嘉義縣
14	省道 3 號 346 km 路邊	N23°15'04.9", E120°34'23.7"	4	嘉義縣
15	省道 3 號 340 km 路邊	N23°16'43.1", E120°35'13.6"	1	嘉義縣
16	省道 3 號 335 km 路邊	N23°18'26.5", E120°36'05.7"	1	嘉義縣
17	省道 3 號 333 km 路邊	N23°18'10.6", E120°37'26.9"	1	嘉義縣
18	省道 3 號 327 km 路邊	N23°19'14.1", E120°36'26.3"	1	嘉義縣
19	省道 3 號 322.5 km 路邊	N23°21'27.7", E120°36'56.2"	3	嘉義縣
20	省道 3 號 315 km 路邊	N23°21'30.4", E120°36'04.5"	1	嘉義縣
21	省道 3 號 310 km 路邊	N23°22'14.1", E120°35'08.7"	2	嘉義縣
22	省道 3 號 300.5 km 路邊	N23°22'23.6", E120°33'46.9"	4	嘉義縣
23	省道 3 號 275 km 路邊岔路	N23°32'21.3", E120°33'06.7"	1	嘉義縣
24	省道 3 號 273.5 km 梅山鄉三疊溪旁	N23°33'05.5", E120°33'03.6"	1	嘉義縣
25	省道 3 號 229 km 往名間的公路邊	N23°46'46.1", E120°42'43.7"	1	南投縣
26	152 縣道 54.5 km 集集鎮往名間路邊	N23°49'41.8", E120°45'43.8"	3	南投縣
27	台南市縣道 179 號 2.5km 路邊山壁	N23°05'05.0", E120°33'42.8"	2	台南市

三、生物安全性考量

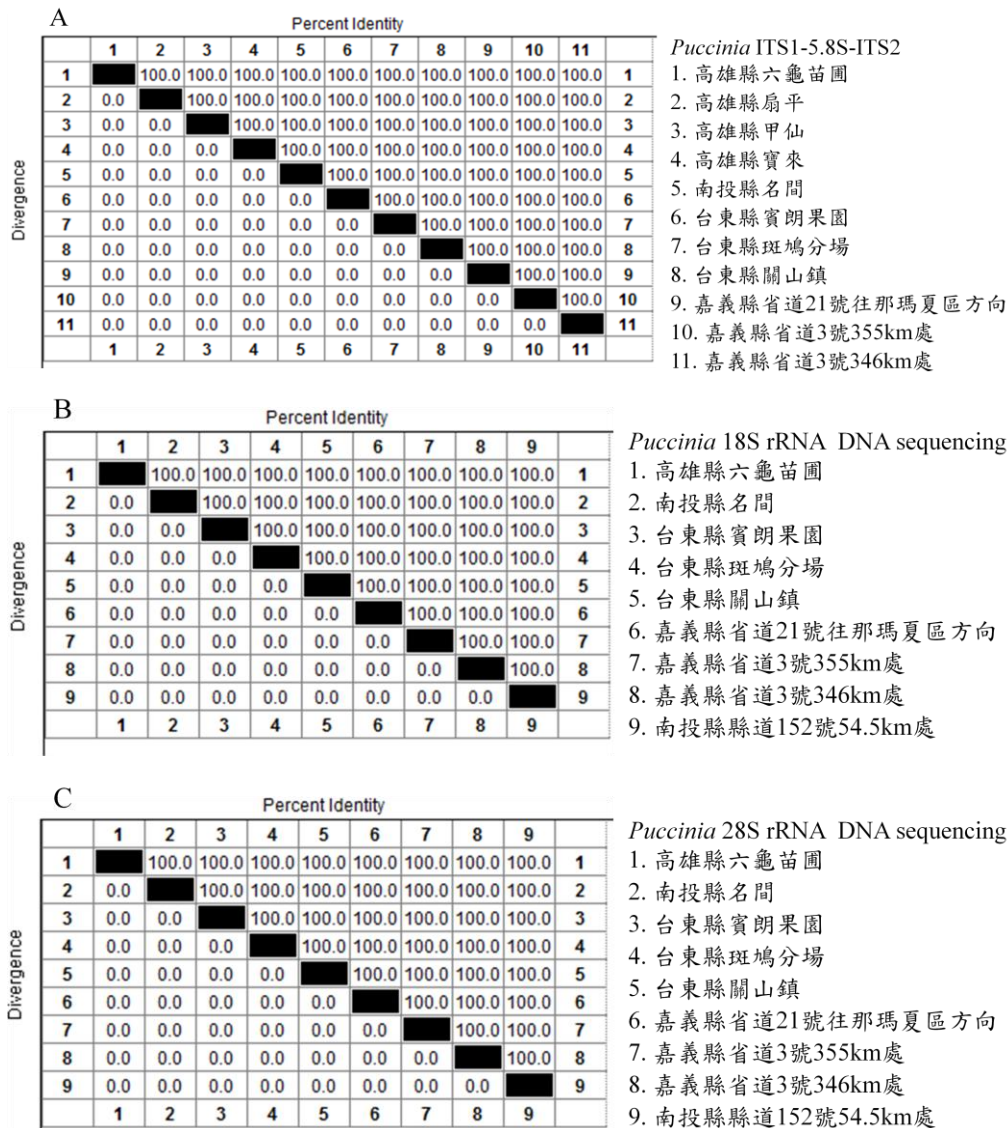
本實驗室曾經對受到銹病菌 *Puccinia spegazzinii* 感染之小花蔓澤蘭周邊其它植物進行是否有受到該種銹病菌所感染之調查，幾種台灣本土植物如針刺草等，有出現疑似銹病菌感染之病斑，但經過切片觀察後發現和從國外引進之 *P. spegazzinii* 其孢子型態等構造不相同，而且在無被銹病菌感染之小花蔓澤蘭附近也曾發現類似的病斑，故感染這些台灣本土植物之銹病菌和小花蔓澤蘭之天敵銹病菌部為同種，也可證明引進之 *P. spegazzinii* 對於台灣其他植物具有相當高的安全性。本實驗室也會持續追蹤並針對這些感染本土植物之銹病菌進行分子檢測，並記錄野外調查時所觀察到感染情形的月份、氣候，作為後續安全性評估的參考。

四、銹病菌之分子鑑定

於野外調查中如發現有銹病菌感染小花蔓澤蘭情況較理想的地點，且銹病菌族群量較多的情況，會採集一些帶有銹病菌冬孢子堆之小花蔓澤蘭葉片樣本回實驗室裡進行銹病菌之分子鑑定。

本實驗室目前有採集葉片的地點有高雄縣六龜苗圃、扇平、甲仙、寶來；台東縣賓朗果園、斑鳩分場、關山鎮；台南縣省道 21 號往高雄市那瑪夏區路邊；嘉義縣省道 3 號曾文水庫東邊地區；以及南投縣集集鎮、民間鄉等地。

抽取銹病菌的總體 DNA 後，利用 rRNA 的基因序列來進行分子鑑定，PCR 所使用的引子有三對，分別能放大 18S rRNA、ITS、及 28S rRNA 的 DNA 片段，以 DNASTAR 軟體分析序列，可發現目前實驗室於野外採集之銹病菌樣本，於此三段 DNA 片段的序列皆相同（圖七），即這些銹病菌樣本於基因背景應為同一菌種。而利用 28S rRNA 的 DNA 序列於 NCBI 網站進行比對，與 *Puccinia spegazzinii* 此種相似度高達 99%（圖八），可以確定此種銹病菌即為當初引進之小花蔓澤蘭銹病菌天敵，顯示本實驗室自野外採集之銹病菌樣本皆為當初引進、釋放之小蔓澤蘭生物防治銹病菌菌種，該菌種確已於台灣野外建立族群，並持續侵染小花蔓澤蘭。



圖七、野外採集之銹病菌樣品其 rRNA 基因序列之比對結果。(A) ITS1-5.8S rRNA 基因序列-ITS2 序列比對結果；(B) 18S rRNA 基因序列比對結果；(C) 28S rRNA 基因序列比對結果。

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
EU851148.1	<i>Puccinia speqazzinii</i> strain R160 28S ribosomal RNA gene, partial seq	1720	1720	100%	0.0	99%
EU851150.1	<i>Puccinia speqazzinii</i> strain R189 28S ribosomal RNA gene, partial seq	1716	1716	100%	0.0	99%
GU936637.1	<i>Puccinia crnici-oleracei</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1605	1605	100%	0.0	97%
DQ354516.1	<i>Dietelia portoricensis</i> internal transcribed spacer 2, complete sequen	1598	1598	100%	0.0	97%
AY222048.1	<i>Puccinia silvatica</i> voucher TUB 011528 large subunit ribosomal RNA q	1589	1589	100%	0.0	97%
GU936634.1	<i>Uromyces trifolii</i> 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1580	1580	100%	0.0	97%
DQ354513.1	<i>Puccinia menthae</i> internal transcribed spacer 2, complete sequence;	1565	1565	100%	0.0	97%

圖八、以 28S rRNA 基因序列於 NCBI 網站上比對之結果。其結果顯示目前實驗室所採集分析之銹病菌樣品應皆為 *Puccinia speqazzinii* 這個種無誤。

五、永久樣區之評估與選定

本實驗室曾於 2008 年及 2009 年間於台灣幾個縣市野外施放過自英國引進之小花蔓澤蘭天敵銹病菌 *Puccinia spegazzinii*，並也於鄰近原施放地點的一些區域發現有被銹病菌感染之小花蔓澤蘭，顯示此一銹病菌已在台灣建立族群並開始進行傳播。故本實驗室便持續追蹤此一引進之銹病菌於台灣野外傳播之範圍與感染小花蔓澤蘭之情形。

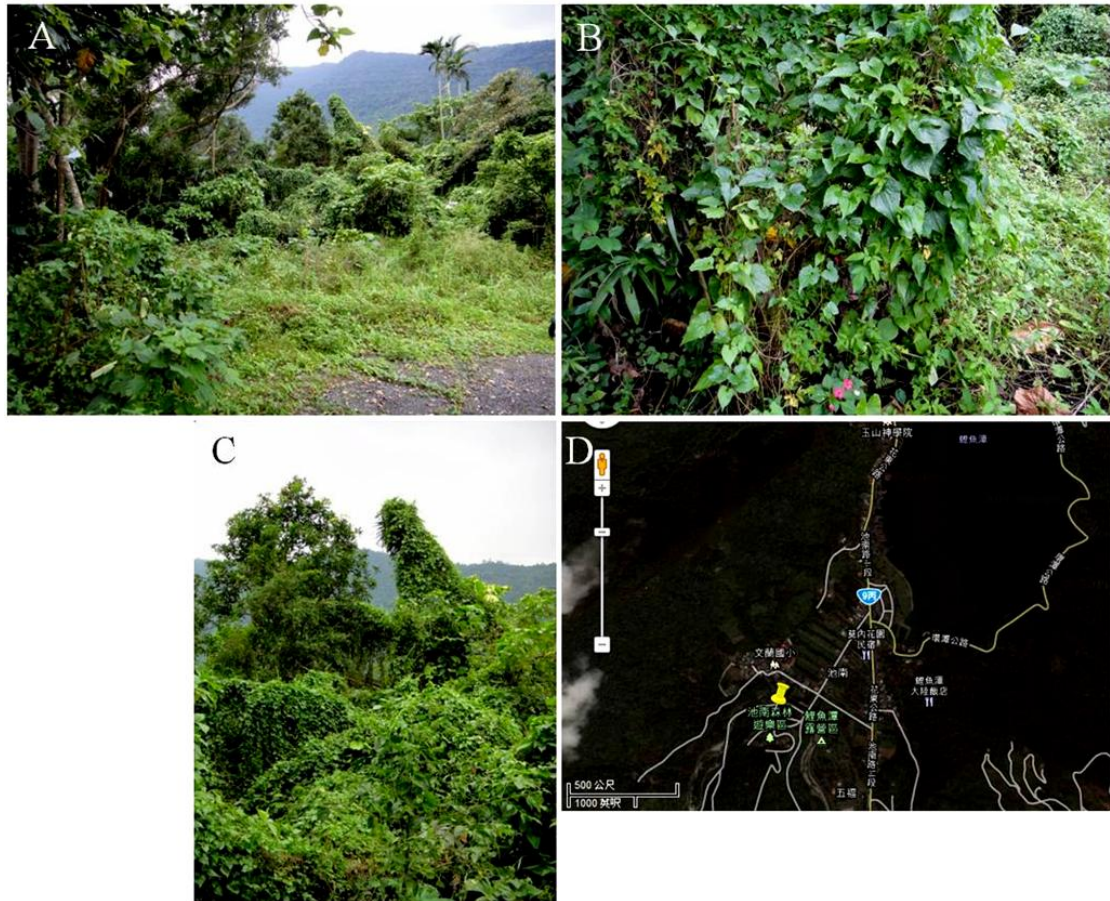
雖然曾於花蓮縣吉安鄉與林田山等處施放過銹病菌，但於今年的野外調查中卻發現花蓮縣原施放地點與其鄰近區域帶有小花蔓澤蘭之植被中並無再發現銹病菌族群的存在，其原因推測可能為颱風因素，或人工伐除所造成之小花蔓澤蘭植被之破壞，導致銹病菌侵染情況不佳。另外於台東縣賓朗果園銹病菌原施放地點，和斑鳩分場、綠色隧道等之前都能發現銹病族群之地點，目前也僅能發現零星銹病菌病斑，也都非常可能和定期性的人工伐除工作相關，故選定、建立日後方便觀察、管理，且不易被破壞的野外區域當成永久樣區，實為目前非常急切的工作目標，且須與當地政府機關進行協調合作，加強永久樣區之維護，才能在長期監測銹病菌天敵生物防治小花蔓澤蘭效益上做出評估。

本實驗室今年預設永久樣區之可能合適地點包括屏東、台東、高雄及花蓮等地區，每縣市選定兩觀察點為永久樣區，進行長期之監控與統計，並考量台灣氣候對於銹病菌族群繁殖的影響，也有可能需進行單一地點多次施放的策略，希望能將銹病菌族群於某些特定區域做規模較大、較頻繁的施放，將此一小花蔓澤蘭天敵銹病菌 *P. spegazzinii* 之族群穩固於台灣野地。故於今年野外調查時，亦進行該地點之現場環境評估。永久樣區之評估條件為：

- 1) 小花蔓澤蘭生物量充足之地點
- 2) 高度約為 500 公尺左右之丘陵地，濕度較高且有遮蔭之環境
- 3) 方便管理與進行野外調查。

由於之前曾於花蓮縣小規模的銹病菌施放似乎未成功，所以於花蓮縣的永久樣區將會選擇更能有效率管理且不易被破壞之地點，搜尋目標以靠近花蓮區農改場附近或是其能夠管轄之野外地點為主，沿著 9 丙公路沿路探查，直至池南路附近之池南國家森林遊樂區（圖九），總共搜尋了 11 個地點，分別衛星定位記錄並照相，以供後續參考。由於池南國家森林遊樂區屬農改場管轄之地，故能與農改場合作，較易進行管理，且能將樣區拉線獨立出來，其林相植被也比較不易遭人為破壞，故將其設為最優先考量地點，也會再與農改場進行協調，再選定其它地點當成重複實驗之樣區與不施放銹病菌之對照組樣區。

其餘縣市如屏東、高雄與台東等地，評估後，應還是前期計畫施放過銹病菌的地點較為合適之永久樣區地點，如高雄地區之前施放地點為六龜苗圃，該地區之管理單位為屏東林區管理處六龜工作站，前期計畫中已有合作經驗，且此地樣區較為隱密，設立後如加強樣區之隔離、管理，應可避免人為因素破壞於野外建立之銹病菌族群。永久樣區選定後，銹病菌於該地點的施放次數會分成單次施放與多次施放的樣區，並比較其效益。



圖九、花蓮縣池南國家森林遊樂區停車場之小花蔓澤蘭樣區 (N23°55'10.6', E121°30'05.6")。(A-C) 樣區內小花蔓澤蘭之分佈及生長情形；(D) 該樣區之地理位置圖。

結論與展望

前期計畫中，於台灣野外施放銹病菌的方式為在幾個選定的區域進行單次施放，因此如果原施放地點的小花蔓澤蘭植被遭砍伐除去，銹病菌雖已成功進行侵染，但族群之建立仍可能遭到破壞。且本計畫今年至高雄調查時，扇平地區於去年颱風過境時，遭受嚴重土石流侵襲，至今地理景觀及道路尚未完全恢復，而當地之受銹病菌天敵侵染之小花蔓澤蘭族群已消失殆盡，目前僅有風災過後，又重新生長、蔓延之小花蔓澤蘭族群。另對於銹病菌天敵於野外侵染小花蔓澤蘭之效果，截至目前研究顯示，稍遜於前期計畫中，於亞蔬基改溫室中所做之結果。基於上述幾點，應儘速建立永久樣區，並於該樣區定期施放銹病菌天敵，以供長期監測其於田間、野外侵染小花蔓澤蘭之情形。樣區之設立應審慎評估，以較容易觀察且由政府機關管轄的地區為優先，定期以科學化的調查方式統計小花蔓澤蘭在該單位面積內的生物量與種子數量、品質，期能進行數據之量化，對於長期之銹病菌天敵防治小花蔓澤蘭可有更精確的參考依據。另亦能區隔該銹病菌天敵與本土銹病菌，免除未來作為生物防治時大量施用之生物安全疑慮。

野外調查的結果中也顯示銹病菌其喜好較潮濕且氣溫約為 20°C 以上，但不超過 32°C 的環境中，日光也是其生長快速的重要條件之一，但在小花蔓澤蘭蔓延最為嚴重的南台灣，近幾年因全球氣候變遷，夏季溫度常都高於銹病菌最適生長範圍的情形，且今年台灣地區降雨量與降雨天數比起往年都降低許多，颱風過境次數亦減少，因此銹病菌於台灣野外的繁殖、侵染能力皆會受到干擾，而有下降的情況產生，此非人為之大自然氣候變遷，很有可能會對已建立之銹病菌族群於台灣後續的繁衍與傳播造成明顯影響。明年計畫也將持續至未曾野外調查之地點進行調查工作，期能更瞭解於台灣近兩三年的自然環境與氣候變遷下，銹病菌天敵族群於台灣分佈之情形，這也將會提供之後設計以銹病菌防治入侵植物小花蔓澤蘭之標準作業流程有非常重要的參考。

若要以引進之銹病菌天敵抑制小花蔓澤蘭之生長，目前計畫評估需每年於適當之季節，適時於適宜之小花蔓澤蘭之棲地，多點、多次釋放銹病菌天敵，未來待此研究成熟後，應儘速技轉至公部門，於各地小花蔓澤蘭猖獗處，定期施放該銹病菌天敵，以收生物防治之效。

參考文獻

- 孔國輝。2000。薇甘菊的形態、分類與生態資料補記。熱帶亞熱帶植物學報 8(2):128-130。
- 王均俐。2000。小花蔓澤蘭種子發育與萌芽階段之生物與藥劑防除。台灣林地雜草—小花蔓澤蘭之防治成果報告 2:1-29。林務局。
- 郭耀綸。2000。小花蔓澤蘭之個體生態學調查。台灣林地雜草—小花蔓澤蘭之防治成果報告。林務局。
- 陳仁昭。2000。小花蔓澤蘭生物防治及天敵調查成果報告。台灣林地雜草-小花蔓澤蘭的防治成果報告 3:13-28。林務局。
- 陳滄海。2000。小花蔓澤蘭植株之藥劑、生物防治及天敵調查成果報告。台灣林地雜草—小花蔓澤蘭之防治 3:1-23。林務局。
- 曾國洋，周昌弘。2003。台灣蔓澤蘭屬植物之族群遺傳變異。小花蔓澤蘭危害與管理研討會專刊 p1-p8，153pp。中華民國雜草學會。
- 馮蕙玲，曹洪麟，梁曉東，周霞，葉萬輝。2002。微甘菊在廣東的分佈與危害。熱帶亞熱帶植物學報 10: 263-270。
- 黃忠良。2000。不同生境和森林內薇甘菊 (*Mikania micrantha* H. B. K.) 的生存與危害狀況。熱帶亞熱帶植物學報，8 (2):131-138。
- 蔣慕琰，徐玲明，陳富永。2002。入侵植物小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha* Kunth) 之確認。植物保護學會會刊 44: 61-65。
- Adams, E. B. and Line, R. F. 1984. Biology of *Puccinia chondrillina* in Washington. *Phytopathology*. 74:742-745.
- Alud, B. A. and Mcrae, C. 1997. Emerging technologies in plant protection-herbicides. *Proceeding 50th N.Z. Plant Protection Conf.* 1997: 191-194.
- Amsellem, Z., Cohen, B. A. and Gressel, J. 2002. Engineering hypervirulence in a mycoherbicide fungus for efficient weed control. *Nature Biotechnology*.20: 1035-1039.
- Auld, B. A., Hetherington, S. D. and Smith, H. E. 2003. Advances in bioherbicide formulation. *Weed Biology and Management*. 3: 61-67.
- Barreto, R. W., and Evans, H.C. 1995. The mycobiota of the weed *Mikania micrantha* in southern Brazil with particular defense to fungal pathogens for biological control. *Myco. Res.* 99:343-352.
- Barton, J. 2004. How good are we at predicting the field host-range of fungal pathogens used for classical biological control of weeds? *Biol. Cont.* 31:99-122.
- B. L. and Lee, G. A. 1980. The influence of environmental factors on infection of rush skeltonweed (*Chondrilla juncea*) by *Puccinia chondrillina*. *Weed Sci.* 29:364-367.
- Chandramohan, S., Charudattan, R., Sonoda, R. M. and Singh, M. 2002. Field

- evaluation of a fungal pathogen mixture for the control of seven weedy grasses. *Weed Science* 50: 204-213.
- Chen, N., Hsiang, T., and Goodwin P. H. 2003. Use of green fluorescent protein to quantify the growth of *Colletotrichum* during infection of tobacco. *Journal of Microbiological Methods* 53: 113-122.
- Cock, M. J. W., Ellison, C. A., Evans, H. C. and Ooi, P. A. C. 2000. Can failure be turned into success for biological control of Mile-a-minute weed (*Mikania micrantha*). *Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds* pp. 155-167.
- Cock, M. J. W. 1982. Potential biological control agents for *Mikania micrantha* HBK from the neotropical region. *Tropical Pest Management* 28: 242-254.
- Cullen, J. M., Kable, P.F. and Catt, M. 1973. Epidemic spread of rust imported for biological control *Nature* 244: 462-464.
- Ellison, C. A., Evans, H. C., Djeddour, D. H. and Thomas, S. E. 2008. Biology and host range of the rust fungus *Puccinia spegazzinii*: alien weed *Mikania micrantha* in Asia. *Biol. Cont.* 45:133-145.
- Ellison, C.A. and Murphy, S. T. 2001. *Puccinia spegazzinii* de Toni (Basidiomycetes: Uredinales) A Potential Biological Control Agent for *Mikania micrantha* Kunth. Ex H.B.K. (Asteraceae). *Bioscience Report*, U. K. Centre, 50pp.
- Ellison, C.A. 2001. Classical biological control of *Mikania micrantha*. In: *Alien Weeds in Moist Tropical Zones, Banes and Benefits*. (eds K.V.Sankran, S.T. Murphy & H. C. Evans). Kerala Forestry Research Institute, India and CABI Bioscience, UK Centre (Ascot), UK, pp. 131-138.
- Evans, H. C. 1999. Biological control of weed and insect pests using fungal pathogens, with particular reference to Sri Lanka. *Biocontrol News and Information* 20:63-68.
- Goh, T-K., Wong, Y-S. 1999. In vivo and in vitro observations of *Cercospora mikanjacola* from Hong Kong : morphology, microcycle conidiation, and potential biocontrol of *Mikania* Weed. *Fungal Science* 14 (1,2) : 1- 10.
- Gruyter, J. D. and Scheer, P. 1998. Taxonomy and pathogenicity of *Phoma exigua* var. *populi* var. nov. causing necrotic bark lesions on poplars. *Journal of Phytopathology* 146: 411-415.
- Harley, K. L. S. and Forno, I. W. 1992. *Biological control of weeds a handbook for practitioners and students*. Inkata Press, Melbourne, Australia, 74 pp.
- Hintz, W. and Shamoun, S. 1996. Environmental fate and risk assessment of a novel forest-weed biological control. *Proceedings and papers from the 1996 Risk Assessment Research Symposium*.
- Hoagland, R. E. 2001. Microbial allelochemicals and pathogens as bioherbicidal

- agents. *Weed Technology* 15: 835-857.
- Julien, M. H. and M.W. Griffiths. 1998. Biological control of weeds. A world catalogue of agents and their targets weeds CABI, Wallingford, UK, 223 pp.
- Littlefield, L.J. 1981. *Biology of the Plant Rusts, An Introduction*. Iowa State Univ. Press. Ames Iowa. 103pp.
- Palit, S. 1981. *Mikania* a growing menace in plantation forestry in West Bengal, Indian. Forester. 107(2) 119- 126.
- Parisi, A., Piattelli, M., Tringali, C. and Di San Lio G. M. 1993. Identification of the phytotoxin mellein in culture fluids of *Phoma tracheiphila*. *Phytochemistry*. 32: 865-867.
- Bithell, S. I. and Stewart, A. 2001. Pathogenicity of *Phoma exigua* var. *exigua* on Californian thistle. *New Zealand. Plant Protection*. 54:179-183
- Rai, M. K. 1989. *Phoma sorghina* infection in human being. *Mycopathologia*. 105: 167-170.
- Roustae, A., Dechamp-Guillaume, G., Gelie, B., Savy, C., Dargent, R. and Barrault, G. 2000. Ultrastructural studies of the mode of penetration by *Phoma macdonaldii* in sunflower seedlings. *Phytopathology* 90: 915-920.
- Walker, H. L. and Riley, J. A. 1982. Evaluation of *Alternaria cassiae* for biocontrol of sicklepod (*Cassia obtusifolia*). *Weed Sci*. 30: 651-654.
- Wood, A. R. and Morris, M. J. 2007. Impact of the gall-forming rust fungal *Uromycladium tepperianum* on the invasive tree. *Acacia saligna* in South Africa: 15 years of monitoring. *Biol. Cont.* 41:68-77.
- Xu, X. L. and Ko, W. H. 1998. A quantitative confined inoculation method for studies of pathogenicity of fungus on plants. *Bot. Bull. Acad. Sinica* 39: 187-190.
- Zhang, L. Y., Ye, W. H., Cao, H. L. and Feng, H. L. 2004. *Mikania micrantha* H.B.K. in China- an overview. *Weed Res.* 44: 42-49.
- Zhang, W., Wolf, T. M., Bailey, K.L., Mortensen, K. and Boyetchko, S. M. 2003. Screening of adjuvants for bioherbicide formulations with *Colletotrichum* spp. and *Phoma* spp. *Biol. Cont.* 1 26: 95-108.