

# 大豆紅冠腐病之研究現況與展望

吳秉祐<sup>1</sup>、曾敏南<sup>2</sup>、周國隆<sup>2</sup>、林盈宏<sup>3</sup>、張皓巽<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 國立台灣大學植物病理與微生物學系，台北市，台灣。

<sup>2</sup> 農業部高雄區農業改良場，屏東縣，台灣。

<sup>3</sup> 國立屏東科技大學植物醫學系，屏東縣，台灣。

\* 聯絡作者，E-mail: hxchang@ntu.edu.tw

## 摘要

吳秉祐、曾敏南、周國隆、林盈宏、張皓巽。2024。大豆紅冠腐病之研究現況與展望。植物醫學66(1\_2): 31-40。

大豆紅冠腐病是由病原真菌 *Calonectria ilicicola* 引起的土傳性病害，主要造成根部及冠部腐爛，影響種子品質及產量，近年來在世界重要大豆產區危害日益嚴重。在台灣，本病害自2017年發現以來主要發生在高雄及屏東的毛豆產區，然而近年危害範圍漸增，並有往北移動之情形。*Calonectria ilicicola* 寄主範圍廣泛，可以微菌核的形式長時間殘存，因此不易防治。目前日本及美國建議之防治策略包括種子殺菌劑處理、輪作、土壤消毒、延後種植等方式，由於國內目前尚未有防治紅冠腐病之推薦方法，本文統整相關研究結果，以提供未來防治及研究工作之參考。

關鍵詞：大豆、紅冠腐病、*Calonectria ilicicola*

## 緒言

大豆 (*Glycine max* (L.) Merr.) 是台灣重要作物，經濟部位包括成熟乾燥之大豆種子，以及未成熟之毛豆。大豆栽培面積在國產雜糧政策推動之下，從2013年471公頃，提升至2022年4102公頃；毛豆則為重要之出口作物，近年栽培面積達8000公頃，外銷產值穩定達每年新台幣20億元以上，為台灣出口產值第三名之農作物，僅次於蝴蝶蘭及稻米<sup>(31)</sup>。在適當防治管理下，病蟲害並非慣行大豆栽培的主要限制因子，氣候（例如雨量、颱風）、品種及播種時期對產量的影響較大<sup>(56)</sup>。然而2017年在台灣被發現由病原真菌 *Calonectria ilicicola* 引起之紅冠腐病<sup>(29)</sup>，近年來在高雄及屏東地區危害逐漸嚴重，尤其在部分田區之春作穩定發生，未來可能成為台灣大豆產業之重要威脅，除高屏地區外，2022年也曾在嘉義之大豆產區發現紅冠腐病，顯示此病害可能已由南往北擴散。紅冠腐病在日本為大豆栽培

之主要限制因子，在全世界大豆產區如美國、巴西、中國、韓國也都有被報導，對產量影響可達13–30%<sup>(17)</sup>。在美國，紅冠腐病以往被視為南部大豆產區之風土性病害，然而2018年起在中西部之主要大豆產區陸續發現紅冠腐病危害，因而開始受到農業及研究單位重視<sup>(22)</sup>。考量紅冠腐病之重要性以及國內目前尚未有防治紅冠腐病之推薦方法，本文統整國內外相關研究以提供未來防治及研究工作參考。

## 紅冠腐菌病原菌特性

紅冠腐菌 (*Calonectria ilicicola* Boedijn & Reitsma) 屬於真菌界子囊菌門，本病菌最早被報導可感染花生造成黑根腐病，被命名為 *Calonectria crotalariae*<sup>(4)</sup>，1993年經Crous等人重新檢視標本，認為其有性階段形態與較早發表之 *C. ilicicola* 相同，因此更正為現名；而其無性階段之原命名 *Cylindrocladium crotalariae* 不符拉丁文原則，因此更正為 *Cylindrocladium parasiticum*<sup>(8)</sup>。2013年單一真菌，單一學名（one fungus, one name）的命名原則被確立後<sup>(50)</sup>，無性階段名稱已較少被使用。本病菌目前已被報導可感染67種植物，其中包括重要經濟作物大豆、花生、木瓜、酪梨、火鶴、藍莓等<sup>(11)</sup>。在台灣，僅有在火鶴<sup>(6)</sup>及大豆<sup>(29)</sup>上被報導。雖然紅冠腐病菌寄主範圍廣泛，但族群間似乎存在病原性差異，例如感染大豆之紅冠腐菌對花生的病原性較弱<sup>(19)</sup>，反之亦然<sup>(12)</sup>，可見病原菌之寄主偏好性值得更深入研究。紅冠腐菌有性階段產生紅褐色子囊殼及鐮刀型子囊孢子，無性階段可產生桿狀分生孢子，其菌絲可形成深褐色之厚膜孢子（chlamydospores）並聚集形成微菌核（microsclerotia），微菌核是主要的傳播及殘存構造<sup>(9)</sup>。

紅冠腐菌可培養於多種培養基如馬鈴薯瓊脂培養基（potato dextrose agar, PDA）、麥芽瓊脂培養基（malt extract agar）、酵母蛋白胨培養基（yeast peptone agar）及燕麥培養基（oat meal agar）上<sup>(17, 23)</sup>。根據文獻記載，25–28°C為紅冠腐菌最適生長溫度，培養於12小時光照週期生長較佳<sup>(23)</sup>，28°C為產

生分生孢子最適溫度<sup>(17)</sup>，28—30°C有助於子囊殼的產生，24—28°C皆可產生微菌核，12°C以下及32°C以上難產生微菌核<sup>(16)</sup>。

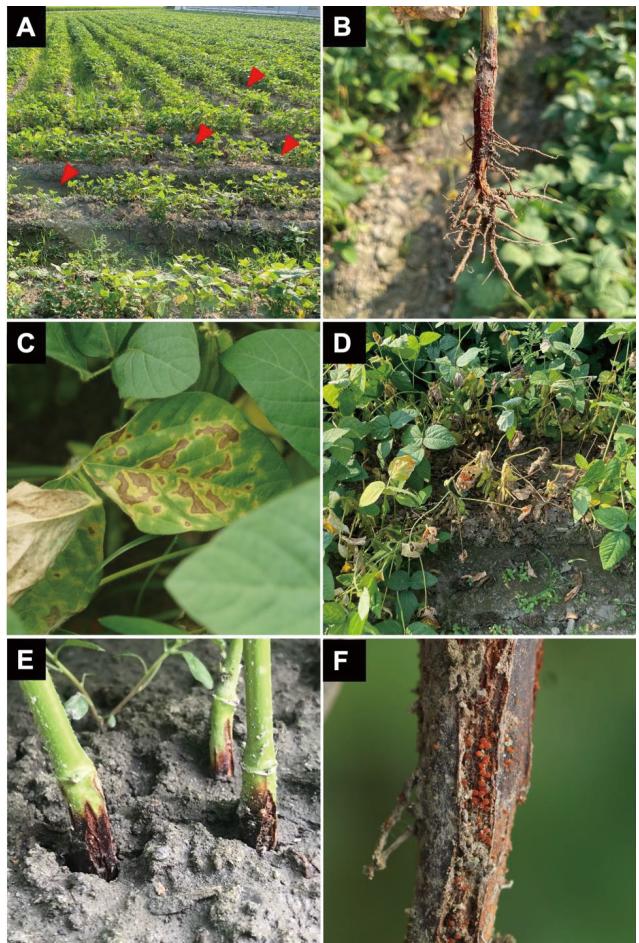
### 病徵及發生生態

紅冠腐病能感染大豆的種子以及各個生長階段的根部與冠部。病菌若在種子萌發或幼苗階段感染，嚴重時會造成幼苗在出土前即死亡或是出土後造成幼苗猝倒，存活的植株生長會明顯比未受感染的植株緩慢（圖一A），根系也會較小，隨著病徵發展植株根系會褐化腐爛<sup>(23)</sup>，此時若將植株自地面拔出，可以觀察到多數支根因腐敗脫落僅剩短短的主根的「鉛筆根」病徵<sup>(36)</sup>（圖一B）。

大豆生長期主要可分為萌芽出土後，葉片生長至開花前的營養生長期（vegetative stage），及開花後至結莢成熟的生殖生長期（reproductive stage）。為方便區分，農藝學上以英文字首V及R加上數字，代表營養及生殖生長期的不同階段。紅冠腐病的葉部病徵通常發生在R3（果莢開始發育，beginning pod）至R5（種子開始發育，beginning seed）階段<sup>(23)</sup>，相當於種植後50至60天左右。初期症狀包括上位葉產生小型黃化斑點，隨病徵發展這些斑點會擴大，並導致葉脈間黃化和壞疽（圖一C）。葉部病徵在田間通常分布不均勻，在容易積水、潮濕或排水不良的田區較容易出現，受影響的植株也可能出現萎凋或提早落葉的病徵<sup>(23)</sup>（圖一D）。紅冠腐病的葉部病徵容易與其他病害混淆，例如美國常見的大豆猝死病（sudden death syndrome）或是藥害等非生物性因素，故不適合當作唯一確病判斷依據。

區分紅冠腐病與其他根基部病害主要是觀察其在莖基部產生的病徵及病兆。紅冠腐病在莖基部產生深褐色或磚紅色的病徵（圖一E），將變色的莖泡在水中數分鐘後放在紙巾上，可觀察到紅色色素隨者水分擴散而渲染開來。此外，在植株較成熟或病徵發展後期，常可觀察到病菌產生磚紅色的子囊殼病兆。子囊殼尺寸約介於280—400 × 300—550 μm，可能出現在莖基部及主根、根瘤上，此為判斷紅冠腐病感染之重要依據（圖一F）。在台灣田間大豆莖潛蟻感染有時也會造成莖基部產生紅色的病徵，然而仔細觀察可觀察莖潛蟻感染的孔洞，縱切時可觀察到髓部有莖潛蟻取食造成的孔道，且紅色色素不易隨水分量開。

本病菌在田間主要的初次感染源是殘存在土壤或植物殘體中的微菌核<sup>(44)</sup>，微菌核在田間可經由流水、耕犁機械移動及揚塵風力傳播<sup>(25, 36)</sup>，並可在田間殘存長達七年<sup>(36)</sup>。子囊孢子及分生孢子並非主要的傳播方式<sup>(25)</sup>。紅冠腐菌的感染效率與溫度有關，研究指出最適感染溫度為25—30°C，30°C以上感染率隨溫度上升而降低，土壤溫度至40°C時幾乎無法感染<sup>(26)</sup>。研究也指出早期感染會造成較嚴重的病徵，在播種後即接種時根部感染的比率約為播種後1至8週接種的兩倍<sup>(27)</sup>，而筆者也觀察到類似現象，早期接種對植株之植株病徵等級、地上部及地下部鮮重的影響皆顯著高於播種後18天接種（圖二）。

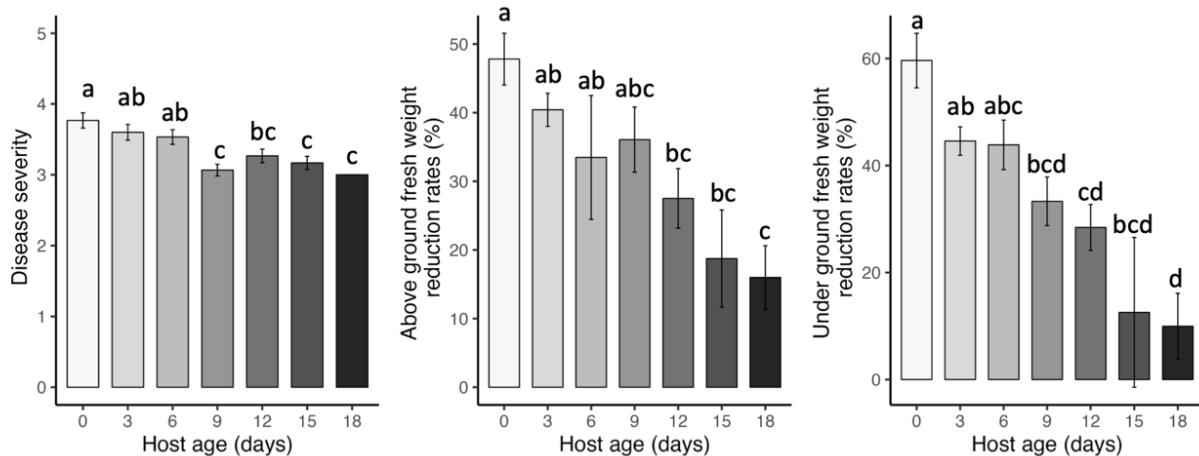


圖一、大豆紅冠腐病之病徵及病兆。A：箭頭處為紅冠腐病造成之缺株及植株生長緩慢；B：嚴重根腐造成「鉛筆根」病徵；C：葉脈間黃化和壞疽；D：植株提早落葉及萎凋；E：莖基部產生深褐色或磚紅色的病徵；F：磚紅色的子囊殼

**Fig. 1.** Symptoms and signs of soybean red crown rot. A: The arrows indicate post or pre-germination damping-off seedlings or slow-growth plants after infected by *Calonectria ilicicola*; B: Severe root rot and "pencil-like root" symptoms; C: Interveinal chlorosis and necrosis; D: Early defoliation and wilting of plants; E: Dark brown or brick-red symptoms at the stem base; F: Brick-red perithecia of *C. ilicicola* produce on a soybean stem.

### 病原菌之分離

紅冠腐菌可藉由組織分離方法或直接從病兆處挑取子囊殼並放置於含有抗生素（100 ppm ampicillin）的50% PDA上分離。組織分離方法步驟如下：切下莖基部病健部位，浸泡於95%酒精1分鐘後，再浸泡於含2%次氯酸鈉及0.05% Tween 20溶液30秒進行表面消毒，消毒後於無菌之蒸餾水清洗兩次，將水份瀝乾後，放置於含有抗生素的50% PDA，培養於25—28°C，12小時光照/黑暗循環，5—7天後檢查長出之真菌。選擇性培養基可用來提升分離率，或自土壤中分離微菌核，常用



圖二、紅冠腐病對不同年齡「高雄九號」大豆造成之影響。A：病徵嚴重度；B：地上部鮮重減少百分率；C：地下部鮮重減少百分率。

**Fig. 2.** Relationship between soybean (Kaohsiung No. 9) plant age and disease severity (DS) and fresh weight (FW) reduction caused by *Calonectria illicicola*.

The seed and plant were transplanted to the pot containing peat soil with 3% barley-silica sand inoculum or mock inoculum at 0, 3, 6, 9, 12, 15, and 18 days after sowing. Each pot containing one plant and five pots were included in one experiment. The experiment was repeated three times. DS and FW were measured at 21 days after transplanted. DS was determined by six-grade scores according to Wu et al. 2023. The FW reduction rates were calculated by (mean FW of mock plant - FW of the inoculated plant) divided by the mean FW of the mock plant. A: Disease severity; B: Above ground FW reduction rates; C: Under ground FW reduction rates. Values represent the means  $\pm$  standard error ( $n = 15$ ). The Kruskal-Wallis and the Dunn's test were used to determine significant difference at  $\alpha = 0.05$ .

於分離紅冠腐病菌的兩種選擇性培養基包括 Phipps 培養基<sup>(43)</sup>和 Ochi 與 Nakagawa 發表的配方<sup>(39)</sup>（表一）。若要自土壤中分離微菌核，土壤需通過三層篩網（425  $\mu\text{m}$ 、250  $\mu\text{m}$ 、38  $\mu\text{m}$ ）篩選，以水徹底沖洗後，將留在38  $\mu\text{m}$ 的篩網上之微菌核移至選擇性培養基培養<sup>(39)</sup>。

### 病原菌之保存

紅冠腐菌可透過繼代培養來短期保存，大約每十天取菌落邊緣的菌絲繼代一次，較不容易產生菌絲弱化現象。建議以25–50%甘油或大麥粒對紅冠腐菌進行長期保存，又以大麥粒保存方法較為穩定<sup>(38)</sup>。大麥粒保存法為將大麥穀粒與蒸餾水以1:5的比例混合，放入塑膠菌種袋中，袋口裝套環後塞入棉花，再以秤藥紙封口（圖三），菌種袋以高壓滅菌釜滅菌1小時後，冷卻24小時後再滅菌一次，冷卻後將切成0.5 cm的紅冠腐菌培養基小塊放入混合，100 g的大麥粒約放入10塊左右接種源即可。混合後於28°C培養，每7天將搓揉袋子讓菌絲與麥粒充分混合，21–30天後取出，於無菌操作台中吹乾，以菌種保存管分裝於-80°C冷凍保存。製作成功的接種麥粒應呈現顆粒狀並發出類似土壤或灰塵的味道，若有發酵味或麥粒軟爛則可能是在製作過程中有發生污染，應予以移除。

### 病原菌接種源製作

紅冠腐病菌可以製作高粱穀粒接種源<sup>(21)</sup>、蛭石麥麩接種源<sup>(18)</sup>、或麥粉石英砂接種源，其中又以麥粉石英砂接種源的感染結果更為均勻一致（unpublished data），且此種接種源可產生

表一、分離紅冠腐病菌之選擇性培養基配方

**TABLE 1.** Selective medium for isolation *Calonectria illicicola*.

Phipps medium	Ochi et al. 2021
Glucose	15 g
Yeast extract	0.5 g
KNO <sub>3</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	0.5 g
Agar	20 g
Distilled water	Add to 1 Liter
	Distilled water Add to 1 Liter
The following chemicals amended after autoclaves:	
Tergitol	1 ml
Thiabendazole (10 mg active ingredient suspended in 50 ml water)	1 ml
Chloramphenicol (1 g dissolved in 50 ml ethanol)	1 ml
Chlortetracycline hydrochloride (0.5 g dissolved in 50 ml of 50% ethanol)	1 ml
Chloramphenicol (1 g dissolved in 50 ml ethanol)	0.5 ml



圖三、製作用以保存紅冠腐菌之大麥培養基示意圖。

**Fig. 3.** Barley grain medium for long-term preservation of *Calonectria ilicicola*.

大量微菌核，較能模擬自然狀態下之接種情況。麥粉石英砂製作方法為麥粉52 g（帶殼大麥以打碎機打碎），石英砂468 g（需事先以清水清洗過後烘乾），加入50 ml 無菌水混合之後放入菌種袋中，依照前述製作大麥保存培養基的方法滅菌後，接種1/2盤培養10天並切成0.5 cm小塊之紅冠腐菌，於28°C培養21天，培養過程中每7天充分混合。在盆栽試驗中，接種源以3% (v/v) 比例與土壤混合進行接種。

### 紅冠腐菌致病及病原性研究

紅冠腐菌雖然可以造成在葉部造成脈間黃化及壞疽病徵，但在莖和具病徵的葉片上都難以檢測到紅冠腐菌的存在，而將菌絲塊直接貼在不同大豆組織上，無論有無製造傷口，都只有在根及下胚軸可以成功感染並造成病徵擴展<sup>(24)</sup>，這些證據顯示葉部病徵並非由紅冠腐菌直接感染造成，紅冠腐菌感染大豆上具有組織特異性。若將大豆葉片浸漬於紅冠腐菌之培養濾液中，可造成相同之葉部病徵，顯示此病徵可能是由紅冠腐菌產生之植物毒素所造成<sup>(20)</sup>。Ochi等發現PF1070A分子可能是紅冠腐菌產生與病原性有關的植物毒素（phytotoxin），此毒素分子是由四個氨基酸組成的環形結構，可以在苜蓿上的葉片上造成黃化病徵，並且在17個紅冠腐菌的分離株中，該毒素的產生

量與病原性呈現高度正相關<sup>(40)</sup>，然而其功能性及相對應的基因仍需要進一步驗證。

在組織病理學的研究中發現大豆會利用形成周皮（periderm）來防止病原入侵，以及產生膠質（gum）阻塞導管以避免紅冠腐菌或其分泌的毒素經導管移動。這些免疫反應或可解釋在田間許多大豆植株感染後仍能存活，而少部分個體可能因為免疫反應造成的微管束堵塞，使其輸送水分之功能失調造成萎凋或死亡<sup>(54)</sup>。

### 分子鑑定及診斷

紅冠腐菌可以  $\beta$ -tublin 基因進行鑑定<sup>(10)</sup>。在田間，大豆根部常有2種以上的病原菌複合感染的情形，使用分子診斷技術有助於增加診斷效率及準確性。目前在紅冠腐病的檢測上可使用即時定量聚合酶連鎖反應（qPCR）<sup>(37)</sup>及恆溫環形核酸擴增法（LAMP）<sup>(30, 55)</sup>，在台灣，根據汪的研究，使用TaqMan探針為基礎的即時定量聚合酶連鎖反應可準確偵測土壤及植株中的紅冠腐菌<sup>(46)</sup>（表二）。

### 大豆紅冠腐病之防治方法

#### 耕作防治

由於紅冠腐病菌寄主範圍廣泛，並且能在土壤及植物殘體中長時間殘存，目前主要的防治策略以耕作防治為主。由於紅冠腐病屬於單循環病害，因此主要防治策略首重清除或降低初次感染源。研究顯示微菌核的發芽與病原菌的感染效率與溫度有關，因此播種時的土壤溫度會影響紅冠腐病的危害程度<sup>(26)</sup>，在美國及日本的田間試驗皆顯示，延後播種時間，待土壤溫度提高後播種<sup>(26, 36)</sup>，可降低病害的發生。在台灣也觀察到類似的現象，紅冠腐病主要發生在高屏地區的毛豆春作，秋作較少發生，由於秋作播種時土壤溫度較高，春作播種時土壤溫度低，顯示土壤溫度可能與危害程度有關。綜合以上結果，配合土壤溫度調整播種時期可降低病害的發生，然而施行上仍需考慮當地氣候條件、品種特性及對產量的影響，在台灣，實務上較難以調整播種時期來防治紅冠腐病。

根據Akamatsu 等人對日本北部五個縣的大豆生產田間進行了多年的綜合調查，發現田間病史、連續種植大豆的年份、播種日期和中耕次數等四個因素對紅冠腐的發生率和嚴重程度有顯著影響，其中，田間病史與紅冠腐病發生率及嚴重度之相關性最高<sup>(2)</sup>，這些結果顯示連作有助於紅冠腐病的發生，而輪作可能是適當的防治方法。而日本及美國的研究也發現，輪作非寄主作物如水稻、玉米皆有助於降低田間紅冠腐病初次感染源族群，進而降低紅冠腐病的嚴重度<sup>(36, 41)</sup>，在台灣雖未有相關研究數據，但根據農民反饋，毛豆田輪作水稻似乎能降低紅冠腐病的嚴重度，未來需進一步研究確認可供輪作作物種類及實際效果。此外，大豆間作玉米也被報導可以增加大豆病原性相關蛋白（pathogen-related protein）表現及誘導根系分泌抗紅冠腐病

表二、紅冠腐病菌鑑定及檢測引子

**TABLE 2.** Primers for identification and detection of *Calonectria ilicicola*.

Techniques	Target genes	Name	Primer sequences (5'-3')	PCR condition	Amplicon length (bp)	References
Polymerase chain reaction (PCR)	$\beta$ -tubulin	T1	AAC ATG CGT GAG ATT GTA AGT	96 °C 5min; 30 cycle of		
		Bt2b	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	96 °C 30s, 52 °C 30s, 72 °C 60s; 72 °C 5 min	600	(10)
TaqMan qPCR	Intergenic spacer (IGS)	CiIGSF	TCC ATT GCC TCT ATT TAT CCT GC	95 °C 10 min;		
		CiIGSR	GCG TAA AGA TTT TCC AAC CCG	50 cycles of 95 °C 15 s,	146	(37)
		Probe-CiPro	ACC ACA GCA CAA CAC GCA CAA C	60 °C 30 s		
Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)	$\beta$ -tubulin	F3	CGA CAG CAA CAA AGC TCG A			
		B3	AGA TGG TCT GCC AGA AAG C			
		FIP (F1C + F2)	CGG TCT GGA GGT GGA CCT AGA- AGA CCC CAA GCA CGA TGT G	62.5°C		(30)
		BIP (B1C + B2)	TCC AGC TTC CAA AAA CTG CC CTA- GCA CCA ATT TGG TTA CCC T			

物質，進而減少紅冠腐病之危害<sup>(14)</sup>。

在降低田間初次感染源方面，研究顯示淹水可以降低土壤中微菌核的活性。另外，利用熱水消毒土壤也可以顯著減少紅冠腐病的發生程度<sup>(36)</sup>，但此方法成本過高不適合田間實際使用。未來研究可考慮評估成本較低土壤消毒方法，例如烏肥（氯氮化鈣）、孫黃SH土壤添加物（蔗渣粉4.4%、稻殼粉8.4%、蚵殼粉4.25%、尿素8.25%、硝酸鉀1.01%、過磷酸鈣13.16%、矽酸鹽渣60.5%）等對紅冠腐病之防治效果。

## 非農藥防治

亞磷酸鉀已知可以誘導植物免疫反應，在多種作物上已被證實可用來預防多種病害如白粉病、疫病<sup>(1)</sup>。在大豆上，亞磷酸鉀已被報導可抑制大豆疫病的發生<sup>(15)</sup>，而近年在日本青森縣4年溫室試驗及3年田間試驗顯示在大豆六葉時期以葉面施用500倍亞磷酸鉀可顯著抑制紅冠腐病的發生。需注意亞磷酸鉀的施用時期對防治效果似乎非常重要，此篇報告提及在播種及兩片葉時期施用亞磷酸鉀都無法提高大豆對紅冠腐病的抗性<sup>(53)</sup>。

矽元素同樣已知可提高多種作物對病害的防治效果，在大豆上，矽被報導可以減低大豆斑點病 (*Cercospora sojina*)、疫病、銹病及露菌病的危害<sup>(34)</sup>。而近年也有報告報導每公斤土壤施用0.5-3 g的矽酸鈉可以顯著減少紅冠腐病的嚴重度<sup>(48)</sup>。

生物防治方面，目前已被報導具有防治潛力的菌種包含 *Bacillus*、*Pseudomonas* 以及 *Trichoderma*。其中自雞糞中分離

出三個對紅冠腐菌具有抑制效果的 *Bacillus subtilis* 分離株，經盆栽及田間試驗證實對紅冠腐病有顯著抑制效果，目前在日本已商品化<sup>(45)</sup>。*Pseudomonas protegens* Cab57、*Pseudomonas* sp. OFT2和OFT5可產生揮發性的抗菌有機物質 (antifungal volatile organic compounds) 及二次代謝物抑制紅冠腐菌生長，並在盆栽試驗展現部分的防治效果<sup>(49)</sup>。*Trichoderma* sp. T-29在盆栽試驗中防治效率可達79%<sup>(32)</sup>。除此之外，也有研究報導大豆接種叢枝菌根菌 (arbuscular mycorrhizal fungi) *Glomus mosseae* 及慢生根瘤菌 *Bradyrhizobium* sp. BXYD3，可透過誘導大豆根部產生抗菌物質降低紅冠腐菌的危害<sup>(13)</sup>。另有自大豆種子中分離之 *Bacillus altitudinis* 能抑制紅冠腐菌造成之種腐，然而此抑制能力與細菌跟品種之間的相容性，及在該品種種子上的定殖能力有關，不相容的品種接種 *B. altitudinis* 無法產生抑制效果，甚至會抑制種子發芽，此外，*B. altitudinis* 在相容品種上，在接種後21天仍可存在於莖頂組織，但在根部接種後9天就無法偵測到，顯示其在不同組織的定殖能力不同，此研究結果顯示在使用生物防治時需考慮不同品種及組織間的相容性，方能達到最佳防治效果<sup>(51)</sup>。

## 農藥防治

目前已有多種農藥被報導對紅冠腐病的菌絲或孢子發芽具有抑制效果，包括得克利、護汰寧、克收欣、待克利、亞托敏、百克敏、腈硫酰、益發靈、鋅猛乃浦、蓋普丹、撲克拉、氟派瑞、邁隆、picoxystrobin 等<sup>(28, 33, 42, 52)</sup>。在溫室試驗中，目前

已知種子處理賽普護汰寧（有效成份為賽普洛、護汰寧）<sup>(52)</sup>、Cruiser MAXX（有效成分為賽速安、護汰寧、滅達樂）混合 Saltro（有效成份為派滅芬）、Ilevo（有效成分為氟派瑞）<sup>(21)</sup>、或以土壤澆灌蓋普丹、得克利、克收欣<sup>(33, 42)</sup>可以顯著減少紅冠腐病菌對大豆幼苗期根部的危害程度。在實際田間使用中，得克利雖然在日本登記為紅冠腐病防治用藥，在播種時於畦面施用，然而防治率雖可達23.3% – 78.8%<sup>(33)</sup>，卻會抑制幼苗生長，因此實際未被廣泛使用<sup>(17)</sup>。Cruiser MAXX 及 Saltro分別在日本及美國登記為種子處理用紅冠腐病防治用藥，但根據目前的文獻報導，Cruiser MAXX在田間防治紅冠腐病的效果並不一致<sup>(17)</sup>，而Saltro則是在2023年才在美國登記使用在紅冠腐病上，尚未搜尋到相關的田間試驗結果。

### 抗病品種

抗病品種是最經濟有效以及環境友善的病害防治方法。在過往的研究中，有些品種例如 'Braxton' 、'Cajun' 、'Forrest' 、'Corsoy 79' 、'Williams 82' 、'Mukden' 、'Tokyo' 、PI 54610等被報導對紅冠腐病較具抗性<sup>(5, 20, 47)</sup>，然而這些品種抗性在不同的研究中並不一致。而台灣目前的品種中，「高雄13號」對紅冠腐耐病力較佳<sup>(7)</sup>，而實驗室接種發現不同品種間對於紅冠腐病造成的種腐抗性具有差異，其中黑豆品種「台南11號」、「台南3號」及「恆春黑豆」對種腐的抗性較強，但在根腐方面並沒有發現對紅冠腐病具有高度抗性的品種<sup>(51)</sup>。近期一篇研究針對299個大豆種原進行篩選，發現五個品系具有高度抗性，分別為PI 602496、PI 567731、PI 587880A、PI 424412、PI 407196，進一步以全基因關聯分析（genome-wide association study）發現有兩個單核苷酸多態性（single-nucleotide polymorphism，SNP）ss715612097及ss715627013與紅冠病抗性有顯著關聯，而單倍型分析的結果顯示座落於這兩個SNP附近的三個基因Glyma.08G074600、Glyma08G074700、Glyma.12G043600可能與抗性最為有關<sup>(3)</sup>。除了大豆之外，三個野生大豆G. soja品系Gs-7（JP30157）、Gs-9（JP30159）及Gs-27（JP36084）也被報導對紅冠腐病展現高度抗性<sup>(18)</sup>。這些結果未來可望應用於紅冠腐病抗病育種中。

### 未來研究展望

大豆紅冠腐病過去多為區域性風土病，相較於其他大豆病害較少受到關注，然而可能因為氣候變遷，此病害近年來陸續在世界各地被報導，例如在美國紅冠腐病從南部擴散到中西部<sup>(22, 35)</sup>，在日本從本島擴散到北海道地區<sup>(18)</sup>。紅冠腐病對產量的影響不容小覷，需密切關注此病害在全世界及台灣的發展，病原菌的族群演替，以防對台灣重要之毛豆產業造成影響。

目前紅冠腐病尚未有單一的防治方法，考量大豆種子與幼苗的感病性較高，嚴重時將造成缺株或幼苗倒伏的狀況，學界目前研究方向主要針對種子殺菌劑處理<sup>(21, 52)</sup>。種子處理可雖減

少早期感染造成的損失，然而不可忽視的是，在實驗結果（圖二）及前人文獻<sup>(27)</sup>中皆顯示紅冠腐病在大豆生育時期均可感染，而在接種源濃度高的情況下，後期感染也能造成嚴重冠部感染及主根腐敗等病徵，故未來應針對此發病生態進行著墨，若後期感染對產量損失仍劇，則應思考種子處理以外之防治策略。以目前紅冠腐病的研究進展，抗病品種應該是最重要之研究方向，未來除利用已報導之抗病品種作為親本進行育種外<sup>(3)</sup>，還可利用重組自交系（recombinant inbred lines）來定位抗病相關的數量性狀基因座，及針對抗病基因座研發分子標誌。除抗病品種外，減少田間感染源，即微菌核的數量，應該是最有效的方式。日本之研究已證實，以邁隆燙蒸或熱水處理皆能有效減少紅冠腐病的發生<sup>(33, 36)</sup>，然而前者毒性高對生態破壞大，後者成本高不易施行，目前台灣有較低成本及對環境影響較小的土壤消毒資材，未來應可建立相關試驗確認其效果。

### 引用文獻

- Achary, V. M. M., Ram, B., Manna, M., Datta, D., Bhatt, A., Reddy, M. K., et al. 2017. Phosphate: a novel P fertilizer for weed management and pathogen control. *Plant Biotechnol. J.* 15:1493 – 1508.
- Akamatsu, H., Fujii, N., Saito, T., Sayama, A., Matsuda, H., Kato, M., et al. 2020. Factors affecting red crown rot caused by *Calonectria illicicola* in soybean cultivation. *J. Gen. Plant Pathol.* 86:363 – 375.
- Antwi-Boasiako, A., Jia, S., Liu, J., Guo, N., Chen, C., Karikari, B., et al. 2024. Identification and genetic dissection of resistance to red crown rot disease in a diverse soybean germplasm population. *Plants* 13:940.
- Bell, D. K., and Sobers, E. K. 1966. A peg, pod, and root necrosis of peanuts caused by a species of *Calonectria*. *Phytopathology* 56:1361 – 1364.
- Berner, D. 1991. Distribution and management of soybean resistance to *Calonectria crotalariae*, the causal pathogen of red crown rot of soybean. Doctoral Dissertation. Louisiana State University.
- Chen, Y.-K., Kuo, C.-H., and Chen, L.-C. 1998. Cylindrocladium root and petiole rot of *Spathiphyllum* spp. new to Taiwan. *Jpn. J. Phytopathol.* 64:481 – 484.
- Chou, K.-L. 2021. New vegetable soybean variety: Kaohsiung No. 13 (Green Crystal). Agricultural technology report No. 160. Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture. Taiwan. (In Chinese).
- Crous, P. W., Wingfield, M. J., and Alfenas, A. C. 1993.

- Cylindrocladium parasiticum* sp. nov., a new name for *C. crotalariae*. Mycol. Res. 97:889 – 896.
9. Crous, P. W. 2002. Taxonomy and pathology of *Cylindrocladium (Calonectria)* and Allied Genera. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. 294 pp.
  10. Crous, P. W., Groenewald, J. Z., Risède, J.-M., Simoneau, P., and Hywel-Jones, N. L. 2006. *Calonectria* species and their *Cylindrocladium* anamorphs: species with sphaeropedunculate vesicles. Stud. Mycol. 50: 415 – 430.
  11. Farr, D. F., and Rossman, A. Y. 2024. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. (Retrieved March 1, 2024, from <https://fungi.ars.usda.gov/>)
  12. Gai, Y., Deng, Q., Chen, X., Guan, M., Xiao, X., Xiang, X., et al. 2017. Phylogenetic diversity of *Calonectria ilicicola* causing Cylindrocladium black rot of peanut and red crown rot of soybean in southern China. J. Gen. Plant Pathol. 83:273 – 282.
  13. Gao, X., Lu, X., Wu, M., Zhang, H., Pan, R., Tian, J., et al. 2012 Co-inoculation with rhizobia and AMF inhibited soybean red crown rot: from field study to plant defense-related gene expression analysis. PLoS One 7:e33977.
  14. Gao, X., Wu, M., Xu, R., Wang, X., Pan, R., Kim, H.-J., et al. 2014. Root interactions in a maize/soybean intercropping system control soybean soil-borne disease, red crown rot. PLoS One 9:e95031.
  15. Guo, M., Li, B., Xiang, Q., Wang, R., Liu, P., and Chen, Q. 2021. Phosphite translocation in soybean and mechanisms of *Phytophthora sojae* inhibition. Pestic. Biochem. Physiol. 172:104757.
  16. Hunter, B. B., and Barnett, H. L. 1976. Production of microsclerotia by species of *Cylindrocladium*. Phytopathology 66:777.
  17. Jiang, C.-J., and Xie, X. 2023. Soybean red crown rot: Current knowledge and future challenges. Plant Pathol. 72:1557 – 1569.
  18. Jiang, C.-J., Sugano, S., Ochi, S., Kaga, A., and Ishimoto, M. 2020. Evaluation of *Glycine max* and *Glycine soja* for resistance to *Calonectria ilicicola*. Agronomy 10:88.
  19. Kim, K. D. Russin, J. S., and Snow, J. P. 1998. Variability in virulence of *Calonectria ilicicola* isolates on soybean. Plant Pathol. J. 14:571 – 577.
  20. Kim, K. D. 1994. Susceptibility in soybean to red crown rot and characteristics of virulence in *Calonectria crotalariae*. Doctoral Dissertation. Louisiana State University.
  21. Kleczewski, N. M., and Geisler, S. 2022. Screening of selected commercially available seed treatments for their impacts on red crown rot of soybean in a controlled setting. Plant Dis. 106:2060 – 2065.
  22. Kleczewski, N., Plewa, D., Kangas, C., Phillipi, E., and Kleczewski, V. 2019. First report of red crown rot of soybeans caused by *Calonectria ilicicola* (Anamorph: *Cylindrocladium parasiticum*) in Illinois. Plant Dis. 103:1777.
  23. Kleczewski, N.M., Bradley, C.A., Hartman, G., Kandel, Y., Mueller, D.S., and Rodriguez Salamanca, L. 2023. A diagnostic guide for red crown rot of soybean. Plant Health Prog. 24:123 – 129.
  24. Kobayashi, M., Win, K. T., and Jiang, C.-J. 2021. Soybean hypocotyls prevent *Calonectria ilicicola* invasion by multi-layered defenses. Front. Plant Sci. 12:813578.
  25. Kucharek, T. 2000. Cylindrocladium black rot (CBR) of peanut, soybean, and forage legumes in Florida. Plant Path. Fact Sheet. PP-139. Florida IFAS Cooperative Extension. Available at <http://plantpath.ifas.ufl.edu/takextpub/FactSheets /pp0139.pdf>
  26. Kuruppu, P. U., Schneider, R. W., and Russin, J. S. 2004. Effects of soil temperature on microsclerotia of *Calonectria ilicicola* and soybean root colonization by this fungus. Plant Dis. 88: 620 – 624.
  27. Kuruppu, P. U., Schneider, R. W., and Russin, J. S. 2004. Factors affecting soybean root colonization by *Calonectria ilicicola* and development of red crown rot following delayed planting. Plant Dis. 88:613 – 619.
  28. Li, N., Wang, Z., He, G., Xiang, M., and Zhang, Y. 2019. Pathogen identification and fungicide screening of the peanut black rot. Chin. J. Trop. Crops 40:552-557. (In Chinese).
  29. Liu, H. H., Shen, Y. M., Chang, H. X., Tseng, M. N., and Lin, Y. H. 2019. First report of soybean red crown rot caused by *Calonectria ilicicola* in Taiwan. Plant Dis. 104:979.
  30. Lu, C., Dai, T. T., Zhang, H. F., Zeng, D. D., Wang, Y. C., Yang, W. F., and Zeng, X. B. 2022. A novel LAMP assay using hot water in vacuum insulated bottle for rapid detection of the soybean red crown rot pathogen *Calonectria ilicicola*. Australas. Plant Pathol. 51:251 – 259.
  31. MOA. 2022. Agricultural Statistics Yearbook. Retrieved March 1, 2024, from <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>.
  32. Nakagawa, A. 2004. Composition and method for biological control of soybean black root rot. Patent JP4310466B2 (filed 2016-09-29).
  33. Nakagawa, A., and Ochi, S. 2006. Control effect of some chemicals on the incidence of soybean root necrosis caused by *Calonectria ilicicola*. Annu. Rep. Kanto-Tosan Plant Prot. Socitey 53:13 – 21. (In Japanese).

34. Nascimento, K. J. T., Debona, D., França, S. K. S., Gonçalves, M. G. M., DaMatta, F. M., and Rodrigues, F. Á. 2014. Soybean resistance to *Cercospora sojina* infection is reduced by silicon. *Phytopathology* 104:1183 – 1191.
35. Neves, D., Mehl, K. M., and Bradley, C. A. 2023. First report of red crown rot, caused by *Calonectria ilicicola*, and its effect on soybean in Kentucky. *Plant Health Prog.* 24:303-305.
36. Nishi, K., Sato, F., Karasawa, T., Fukuda, T., and Takahashi, H. 1999. Ecology and control of root necrosis of soybean caused by *Calonectria crotalariae*. *Bull. Natl. Agric. Res. Cent.* 30:11 – 109. (In Japanese).
37. Ochi, S., and Kuroda, T. 2020. Developing a qPCR assay for the quantification of *Calonectria ilicicola* in soil of soybean field. *Trop. Plant Pathol.* 46:186 – 194.
38. Ochi, S., and Nakagawa, A. 2010. A simple method for long-term cryopreservation of *Calonectria ilicicola* on barley grains. *J. Gen. Plant Pathol.* 76:112 – 115.
39. Ochi, S., and Nakagawa, A. 2012. Improved quantitative method for isolating *Calonectria ilicicola* from naturally infested soils. *J. Gen. Plant Pathol.* 78:147 – 150.
40. Ochi, S., Yoshida, M., Nakagawa, A., and Natsume, M. 2011. Identification and activity of a phytotoxin produced by *Calonectria ilicicola*, the causal agent of soybean red crown rot. *Can. J. Plant Pathol.* 33:347 – 354.
41. Padgett, G. B., Kuruppu, P. U., and Russin, J. S. 2016. Red crown rot. Pages 79 – 80 in: Compendium of Soybean Diseases and Pests, 5th ed. G. L. Hartman, J. C. Rupe, E. J. Sikora, L. L. Domier, J. A. Davis, and K. L. Steffey, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
42. Park, S.-W., Kang, B.-K., Kim, H.-S., Woo, S.-H., and Kim, H.-T. 2007. Selection of fungicides for the control of soybean black root rot caused by *Calonectria ilicicola*. *Korean J. Pestic. Sci.* 11:18 – 26. (In Korean).
43. Phipps, P. M., Beute, M. K., and Barker, K. R. 1976. An elutriation method for quantitative isolation of *Cylindrocladium crotalariae* microsclerotia from peanut field soil. *Phytopathology* 66:1255 – 1259.
44. Rowe, R. C., Johnston, S. A., Beute, M. K. 1974. Formation and dispersal of *Cylindrocladium crotalariae* microsclerotia in infected peanut roots. *Phytopathology* 64:1294 – 1297.
45. Tsurumi, T., Morita, S., Maseda, A., Takakai, F., Kaneta, Y., Tomotaka, A. et al. 2020. Isolation and application of *Bacillus* isolates to suppress soil-borne diseases of soybean. *Soil Microorg.* 74:13 – 19. (In Japanese).
46. Wang, X.-R. 2023. Development of molecular detection protocols for soybean plant and soil infected by *Calonectria ilicicola*. Master Thesis. National Pingtung University of Science and Technology.
47. Welker, W. L. 2022. Studies on red crown rot of soybean: incidence in Illinois, fungicide seed treatments, and host resistance. Master Thesis. University of Illinois Urbana – Champaign.
48. Win, K. T., Maeda, S., Kobayashi, M., and Jiang, C.-J. 2021. Silicon enhances resistance to red crown rot caused by *Calonectria ilicicola* in soybean. *Agronomy* 11:899.
49. Win, K.T., Kobayashi, M., Tanaka, F., Takeuchi, K., Oo, A.Z., and Jiang, C.-J. 2022. Identification of *Pseudomonas* strains for the biological control of soybean red crown root rot. *Sci. Rep.* 12:14510.
50. Wingfield, M. J., De Beer, Z. W., Slippers, B., Wingfield, B. D., Groenewald, J. Z., Lombard, L., et al. 2012. One fungus, one name promotes progressive plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13:604 – 613.
51. Wu, P.-H., and Chang, H.-X. 2023. Colonization of *Bacillus altitudinis* on the compatible soybean varieties to provide seed rot resistance. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2023.11.27.568843>.
52. Wu, P.-H., Tseng, M.-N., Lin, Y.-H., Kuo, C.-H., and Chang, H.-X. 2023. Identification of cyprodinil+ fludioxonil to manage soybean red crown rot using the microplate-based high-throughput screening and pot assay. *Plant Dis.* 107:1481 – 1490.
53. Yagihashi, S., and Iwama, S. 2021. Reduction effect of soybean black root rot by foliar application of liquid phosphite fertilizer. *Annu. Rep. Soc. Plant Prot. North Jpn.* 35 – 40. (In Japanese).
54. Yamamoto, R., Nakagawa, A., Shimada, S., Komatsu, S., and Kanematsu, S. 2017. Histopathology of red crown rot of soybean. *J. Gen. Plant Pathol.* 83:23 – 32.
55. Ye, W.-W., Zeng, D.-D., Miao, X., Jin, Y., Wang, Y.-C., and Zheng, X.-B. 2020 A LAMP-assay-based specific microbiota analysis reveals community dynamics and potential interactions of 13 major soybean root pathogens. *J. Integr. Agric.* 19:2056 – 2063.
56. Zeng, F.-S., and Lian, D.-J. 1979. Discussion on the possibility and limiting factors of increasing soybean yield and improvement strategies. *Sci. Agric.* 28:217 – 248. (In Chinese).

## ABSTRACT

Ping-Hu Wu<sup>1</sup>, Min-Nan Tseng<sup>2</sup>, Kuo-Lung Chou<sup>2</sup>, Ying-Hong Lin<sup>3</sup>, and Hao-Xun Chang<sup>1\*</sup>. 2024. Research status and prospects on

soybean red crown rot. J. Plant Med. 66(1\_2): 31-40.

\*Corresponding author, E-mail: hxchang@ntu.edu.tw

Soybean red crown rot is a soilborne disease caused by the fungal pathogen *Calonectria ilicicola*, which primarily infects roots and crown of soybean plants, ultimately impacting seed quality and yield. This disease has been increasingly alarmed across major soybean-producing regions worldwide in recent years. In Taiwan, the disease was first identified in 2017 and initially impacted edamame production areas in Kaohsiung and Pingtung. However, the disease has steadily intensified and spread northward, posing a significant threat. *Calonectria ilicicola* has a broad host range, and the microsclerotia can remain viable in soil for several years, making it difficult to control. Current control strategies include seed fungicide treatment, crop rotation, soil sterilization, and delayed planting. As there are no recommended methods for controlling red crown rot in Taiwan, this review compiles relevant research results to provide a reference for future control and research efforts.

**Keywords:** soybean, red crown rot, *Calonectria ilicicola*

