Plant Pathology Bulletin 14:251-256, 2005

唐菖蒲萎凋病病原菌之選擇性培養基

陳昱初[1,2]　謝岱儒[1,3]　謝文瑞[1]

[1] 台中市 國立中興大學植病研究所
[2] 屏東縣 行政院農業委員會高雄區農業改良場
[3] 聯絡作者：電子郵件 muchoil@yahoo.com.tw，傳眞：+886-4-22877585
接受日期：中華民國 94 年 11 月 16 日

摘要

陳昱初、謝岱儒、謝文瑞. 2005. 唐菖蒲萎凋病病原菌之選擇性培養基. 植病會刊 14:251-256.

唐菖蒲萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum f.sp. gladioli*) 選擇性培養基每公升含 L-asparagine, 2 g; D-galactose, 20 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 g; $NaB_4O_7 \cdot 10H_2O$, 1 g; K_2HPO_4, 1 g; KCl, 0.5 g; Fe (EDTA), 5 mg; oxgall, 0.5 g; PCNB (pentachloronitrobenzene), 1 g; Benomyl (50% WP), 1 g; streptomycin sulfate, 0.3 g; Agar, 20 g成份，以 10％ 磷酸 (phosphoric acid) 溶液調整酸鹼值，不同酸鹼值之培養基具不同之功用。pH 4.0 時可抑制唐菖蒲萎凋病菌除外之所有供試菌株孢子發芽，同時只有唐菖蒲萎凋病菌與百合萎凋病菌 (*F. oxysporum* f.sp. *lilii*) 之菌絲可正常生長，但兩者之菌落形態明顯不同，在 pH 2.0 時僅唐菖蒲萎凋病菌菌絲可以生長。以 pH 4.0 之培養基分離人工製作之厚膜孢子病土，其回收率可達 96% 以上，最低密度可偵測到每克土壤中含有 50 個繁殖體。以 pH 2.0 之培養基分離唐菖蒲罹病植株及球莖組織可於三天內偵測出病原菌。

關鍵詞：唐菖蒲萎凋病、選擇性培養基、回收率、最低偵測密度

緒　言

由 *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Massey) Snyder & Hansen 所引起之唐菖蒲萎凋病造成植株黃化萎凋，球莖腐敗。病原菌可形成厚膜孢子殘存於土壤中，亦可以菌絲存在球莖中，是爲病害之主要感染源[3,5,6]。尖鐮孢菌 (*Fusarium oxysporum*) 在自然界大多以腐生性存在，有病原性記錄的分化型約 80 餘種[12]，在臺灣地區發現者有 20 餘種，這些不同分化型的尖鐮孢菌之菌落及病原菌孢子的形態類似不易區別[11,12]。以往研究分離鑑定 *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* 之方法爲利用 Nash PCNB[7] 或 Komada[4] 選擇性培養基從罹病組織或帶菌土壤中分離出 *Fusarium* spp. 或 *F. oxysporum*，然後經由病原菌菌落及孢子形態上之比對與病原性測定[11,12]，鑑定過程需時大約四個星期方能確認分離所得之菌株是否爲病原菌。有鑑於此，本研究主要目的在於發展鑑別唐菖蒲萎凋病菌之選擇性培養基，以便快速偵測唐菖蒲球莖及土壤中是否有病原菌之存在及其在發病田區土壤中之分佈。

材料與方法

唐菖蒲萎凋病尖鐮孢菌供試菌株

本試驗之唐菖蒲萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *gladioli*) 包括 Fog051 等 5 個供試菌株係自 1995-2004 年於臺灣之宜蘭、台中、彰化、南投、雲林、高雄及屏東各地唐菖蒲萎凋病發病田採集罹病植株及種球分離經病原性測定並完成柯霍氏法則而得。其他供試尖鐮孢菌菌株係保存於中興大學植物病理學系眞菌研究室之百合萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *lilii* , F016 等 6 個菌株)、絲瓜萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *luffae* , Folu-118)、胡瓜萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* , Foc-100)、豇豆萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* , Fot-81)、苦瓜萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *momordicae* , GF04)、洋香瓜萎凋病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *melonis* , Fom-111)、香蕉黃葉病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cubense* , BF026) 及 28 個腐生之尖鐮孢菌 (*F. oxysporum*) 菌株。所有菌株皆經單孢分離培養於

馬鈴薯瓊脂(potato dextrose agar, PDA)培養基保存於室溫(25±1℃)供試。供試唐菖蒲種球爲Peter Pears品種直徑約1cm之小球。

藥劑篩選

以Komada培養基之成份加入目前常用於唐菖蒲種球消毒之不同化學藥劑來測試供試菌株之孢子發芽與菌絲生長。調配之培養基於溫度降至60℃時分別加入每公升含1 g之撲克拉、撲克拉錳、免賴得、腐絕、鋅錳乃浦、貝芬替、四氯異苯氰及依普同等8種藥劑(表一)，製成培養基平板供試。供試菌株經單孢培養於PDA斜面後以無菌水洗下孢子，再以無菌水調整孢子濃度爲10^3孢子/毫升，各取0.8 mL之孢子懸浮液，以酒精消毒後之L型玻璃棒均勻塗佈於加入各不同藥劑之培養基平板，置放在28℃培養7天後，觀察並記錄孢子發芽百分率。另挑取各菌株之單一孢子，移植於2%水瓊脂(water agar,WA)平板上在室溫下培養5天後，以3號打孔器(內徑0.65 cm)切取菌落邊緣菌絲塊，移至各不同成份培養基平板上，在28℃培養七天後，量取菌落大小並記錄生長情形。由前項測試結果選取具有抑制唐菖蒲萎凋病菌以外的供試菌株生長之藥劑，再以每公升含1 g、2 g、5 g及10 g測試藥劑的最有效抑制供試菌株孢子發芽及菌絲生長之濃度，測試方法同前項試驗所述。

選擇性培養基之酸鹼值

前項藥劑篩選結果顯示僅唐菖蒲與百合萎凋病菌供試菌株可生長於每公升含1 g免賴得之培養基，爲區分此二種萎凋病菌，待製備之培養基溫度降至50℃時，以10%磷酸(H_3PO_4, Hayashi Pure Chemical Ind., Co., Ltd)溶液調整加入藥劑之培養基酸鹼值，酸鹼值分別調整爲pH 6.5、5.5、4.5、4.0、2.0後製成平板。取培養於PDA斜面14天之供試菌株以無菌水洗下孢子，各菌株孢子之發芽及菌絲生長之測試方法與前項藥劑篩選相同。

選擇性培養基之測試

組織分離：將唐菖蒲萎凋病植株之罹病組織或球莖，及經由人工接種分離自屏東縣東港發病田之罹病植株莖基部，經病原性測定並完成柯霍氏法則之Fog051菌株後，發病之病株與球莖，從罹病種球、根、莖及葉片等褐變之病斑組織，切取3 mm × 3 mm之小塊，以1%次氯酸鈉水溶液消毒15-20 sec，再移到無菌水漂洗3 min，取出以紙巾吸乾表面殘留之水份後，放入製備之酸鹼值4.0及2.0選擇性培養基平板上，置於室溫培養，逐日於解剖顯微鏡觀察組織邊緣是否有菌絲長出。若有菌絲長出，則於解剖顯微鏡下，以消毒過之移植針挑取組織邊緣長出之單一菌絲尖端，移植於PDA斜面試管內培養，以做進一步之鑑定。

土壤分離：將供試之Fog051菌株，單孢培養於PDA斜面經二星期後，加入20 mL無菌水，以桌上型振盪器150 rpm振盪均勻，製成孢子懸浮液，吸取10 mL孢子懸浮液滴入於滅菌後之玉米砂(5%玉米粉、75%石英砂及20%蒸餾水約150 mL裝於容量500 mL三角燒瓶內)培養基，置於25℃培養箱培養28天後，取出拌入滅菌(121℃，30 min)之土壤中，加入體積比15%之無菌水(玉米砂：滅菌之土壤：無菌水＝42.5%：42.5%：15%)，混拌均勻後，置放室溫下陰乾四星期後製成每公克含有10^5厚膜孢子之人工病土[7]，

表一、本研究所使用之農業藥劑普通、中文、化學名稱及製造廠商

Table. 1. Common names, chinese names, chemical names and manufacturers of fungicides tested in this study

Common name	Chinese name	Chemical name	Manufacturer
Prochloraz	撲克拉	N-propyl-N-(2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl) -imidazole-l-carboxamide 25%EC	Schering
Prochlorate manganese	撲克拉錳	Dichlorotetrakis(N-propyl-N-(2-(2, 4, 6 -trichlorophenoxy)-ethyl)imidazole-1-carboxamide) manganese(II) 50%WP	Aventis
Benomyl	免賴得	Methyl-1-1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate 50%WP	Du pont
Mertect	腐絕	2-(4-thiazolyl)-benzimidazole 40%WP	Merck
Mancozeb	鋅錳乃浦	16% Manganese, 2% znic and 62% ethylenebisdithiocarbamate 80%WP	Du pont
Carbendazim	貝芬替	2-(methoxycarbonylamino)-benzimidazole 50%WP	BASF
Chlorothalonil	四氯異苯氰	Tetrachloro-isophthalonitrile 75%WP	Sinon
Iprodione	依普同	3-(3,5- dichlorophenyl)-1-isopropyl carbamoylhydantoin 23.7%WP	Rhone-Poulenc

然後秤取病土 10 g 加入盛有 90 mL之0.1％WA 之稀釋瓶中並加入 300 ppm 之新黴素 (Neomycin) 及四環黴素 (tetracycline,TC)，充分振盪均勻後做 10 倍系列稀釋 2 次至 10^2 厚膜孢子 /mL 土壤懸浮液，取 0.8 mL 懸浮液以消毒後之 L 型玻璃棒塗抹於不同酸鹼值之培養基平板上，共五個不同酸鹼值培養基處理，每一處理四重複，於 28℃ 培養七天後，觀察記錄菌落產生與否。另將唐菖蒲 Fog051 病原菌株製作病土，以屏東縣東港地區唐菖蒲栽種田區 pH 6.1 砂質壤土稀釋成每公克含有 1000、100、50 個繁殖體 (propagules)，各秤取病土 10 g，分別加入盛有 90 mL 之 0.1％ WA 之稀釋瓶中並加入 300 ppm 之新黴素及四環黴素，充分振盪混合均勻後，取 0.8 mL 混合液，均勻塗抹於酸鹼值 4.0 及 2.0 之培養基平板上，在 28℃ 培養 7 天後，觀察記錄菌落數目，再換算成每公克土壤中含繁殖體之密度，再按 (培養基實際測得土壤樣品中菌落數÷加入土壤中之病原菌繁殖體數) 公式計算回收率。

結　果

藥劑篩選

使用八種藥劑測試供試菌株之孢子發芽與菌絲生長時發現，唐菖蒲萎凋病菌於含濃度1 g/L之50 % 免賴得、1 g/ L 之 40% 腐絕、1 g/ L 之四氯異苯氰及 1 g/ L 之貝芬替之培養基上孢子及菌絲仍可發芽生長，而其中含免賴得之培養基上菌絲生長良好，孢子發芽率高達 97% (表二)，其它供試菌株之菌絲生長及孢子發芽則受到抑制。結果顯示除唐菖蒲萎凋病菌與百合萎凋病菌供試菌株以外，此含 1 g/ L 之 50% 免賴得培養基可以完全抑制其它所有供試菌株之生長，並據此結果進行調整培養基不同酸鹼值試驗，以區分唐菖蒲萎凋病菌與百合萎凋病菌菌株。

選擇性培養基對供試菌株生長之影響

以每公升培養基含 L-asparagine, 2 g; D-galactose, 20 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5 g; $NaB_4O_7 \cdot 10H_2O$, 1 g; K_2HPO_4, 1 g; KCl, 0.5 g; Fe(EDTA), 5 mg; Agar, 20 g; oxgall, 0.5 g; PCNB(pentachloronitrobenzene), 1 g; Benomyl(50% WP), 1 g； streptomycin sulfate, 0.3 g；用 10％ 磷酸溶液調整不同酸鹼值測試供試菌株菌絲生長，發現在 pH 4.0-1.8 之間，唐菖蒲萎凋病菌株菌絲可正常生長而其它菌株均受到抑制 (圖一)。以生長於WA 平板上之供試菌絲塊移植於 pH4.0 培養基平板上經 28℃ 培養七天後，只有唐菖蒲菌株及百合菌株可生長，而其它作物尖鐮孢菌萎凋病菌菌絲生長則受抑制。唐菖蒲萎凋病菌株在 pH2.0 的培養基上仍可緩慢生長，但可完全抑制百合萎凋病菌株菌絲之生長。

唐菖蒲萎凋病菌 (Fog051 菌株) 在培養基 pH 4.0 至 7.0 間之發芽率均在 97％ 以上，而百合萎凋病菌 (F016 菌株) 在 pH 6.5 及 7.0 時發芽率爲 12％，在 pH4.5 時百合萎凋病菌及其他尖鐮孢菌菌株之孢子均無法生長 (圖二、三)。

選擇性培養基測試

組織分離：利用 pH4.0 及 pH2.0 之培養基實際分

表二、不同化學藥劑對唐菖蒲及百合萎凋病菌菌絲生長與孢子發芽之影響

Table. 2. Effect of fungicides on mycelial growth and spore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f. sp. *lilii* (F016).

Fungicide[1]	Conc.(ppm)	Mycilial growth (colony size mm/7days)[2]		Spore germination (%)[3]	
		Fog051	F016	Fog051	F016
Prochloraz	1000	0d[4]	0d	0d[5]	0d
Prochlorate manganese	1000	0d	0d	0d	0d
Benomyl	1000	38.9b	17.6b	97b	21c
Mertect	1000	38.1b	14.0b	88b	88b
Mancozeb	1000	0d	0d	0d	0d
Carbendazim	1000	13.9c	8.1c	38c	18c
Chlorothalonil	1000	14.7c	5.9c	31c	11c
Iprodione	1000	0d	0d	0d	0d
CK(Komada medium)	0	56.8a	44.8a	97a	100a

[1] Each of fungicide was separately added into Komada medium.

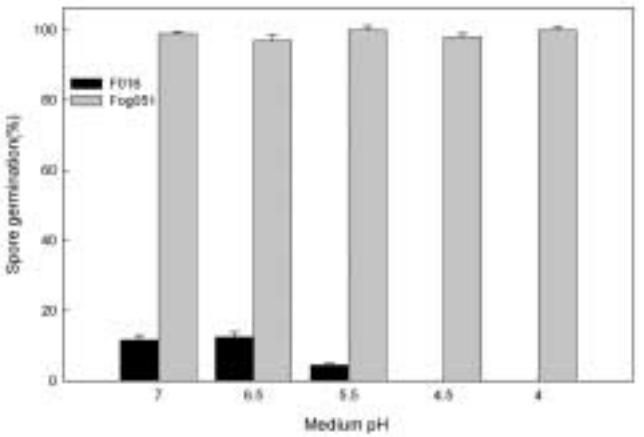
[2] Mycelial growth of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f. sp. *lilii* (F016) at 28℃ for 7 days.

[3] germination of F. *oxysporum* f. sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f. sp. *lilii* (F016) at 28℃ for 7 days.

[4] Means (n=4) in the same column followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple range test.

圖一、唐菖蒲及百合萎凋病菌在不同酸鹼值選擇性培養基上之生長

Fig. 1. Effect of pH of the selective medium on the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f.sp. *lilii*.(F016) at 28℃ for 7 days.



圖二、選擇性培養基酸鹼值對唐菖蒲及百合萎凋病菌孢子發芽之影響。Fog051：唐菖蒲萎凋病菌株；F016：百合萎凋病菌株。

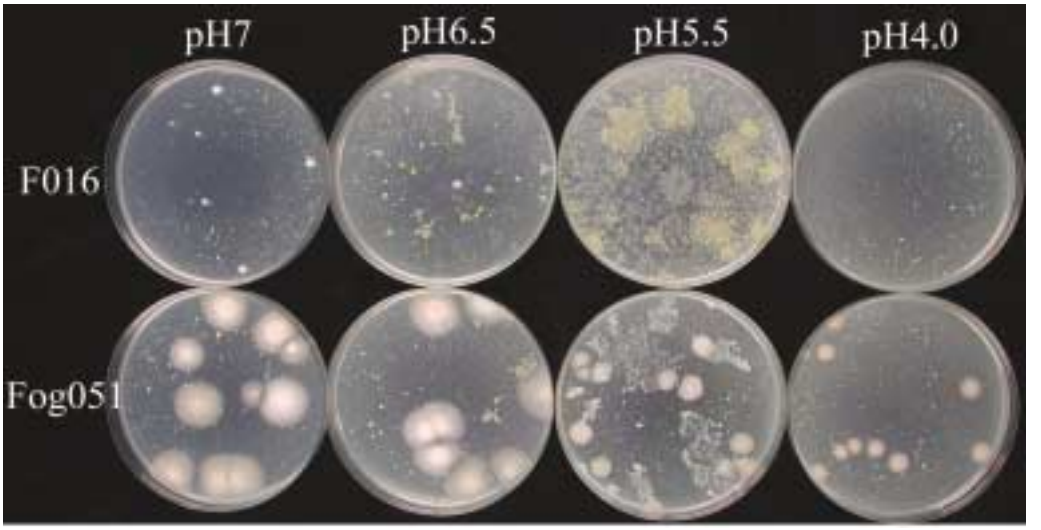
Fig. 2. Effect of medium pH on spore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f.sp. *lilii*.(F016) at 28℃ for 7 days. Variable mean ± standard error of the mean ; means of four replicates.

離罹病植株之根部及種球，將分離後之尖鐮孢菌經病原性測試完成柯霍氏法則後，發現所分離之菌株均屬唐菖蒲萎凋病菌。

土壤分離：利用 pH4.0 之培養基可測得每公克土壤帶菌之最低密度爲 50 個以上之病原菌繁殖體，分離所得之唐菖蒲萎凋病菌菌落邊緣整齊，初期呈白色，三天之後轉爲橘紅色，易與其它菌落分辨出來 (圖四)，但是以此培養基分離唐菖蒲種植田區之土壤，並未分得萎凋病菌。

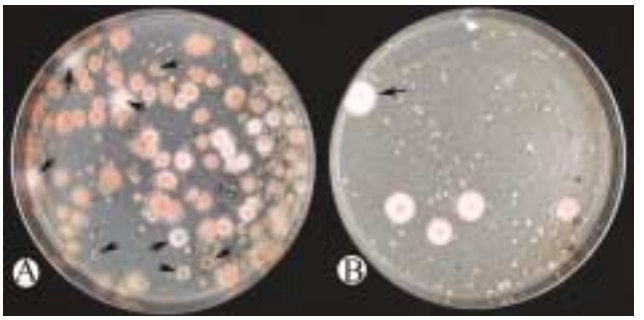
討 論

唐菖蒲萎凋病菌由於缺乏鑑別檢測之方法，因此本菌在田間土壤之分佈資料尚付闕如[2,3,9]。一般研究人員爲有效偵測植物病原菌之初次感染源與探究其生態行爲，多設法研製選擇性或半選擇性培養基，作爲調查與偵測工具[1,4,7,8,10,13]。Nash PCNB[7]及 Komada[4]選擇性培養基可分別有效分離土壤中的鐮孢菌 (*Fusarium* spp.) 及尖鐮孢菌種 (*Fusarium oxysporum*)，但是對唐菖蒲萎凋病尖鐮孢菌之分化型 (*F.oxysporum f. sp. gladioli*) 則無專一性。以 Komada 培養基爲基礎每公升分別加入 1g 50% 免賴得、1g 40% 腐絕、1g 四氯異苯氰及 1g 貝芬替之培養基，唐菖蒲萎凋病菌及百合萎凋病菌菌絲仍可生長，其中以在每公升含 1g 50% 免賴得之培養基上菌絲生長最快，且孢子發芽率最高，其它三種藥劑顯然對唐菖蒲及百合萎凋病菌孢子發芽有程度不等



圖三、選擇性培養基酸鹼值對唐菖蒲及百合萎凋病菌孢子發芽之影響

Fig. 3. Effect of the selective medium pH on spore germination of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* (Fog051) and *F. oxysporum* f.sp. *lilii*.(F016) at 28℃ for 7 days. A 0.8 ml of spore suspension (1×10^3 spores / ml) was smeared on each plate.



圖四、選擇性培養基分離人工製作病土中之唐菖蒲萎凋病菌 (A) 每克土壤加入 1×10^3 繁殖體後所分離到的菌落 (B) 每克土壤加入 5×10^1 繁殖體後所分離到的菌落。黑色箭頭標示非唐菖蒲萎凋病菌落。

Fig. 4. Recovery of propagules of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* from the infested soil. Colonies recovered from soil infested with 1×10^3 propagules /g soil (A), and 5×10^1 propagules /g soil (B). Arrows indicate colonies of contaminants.

之抑制作用 (表二)。以 Komada 培養基爲基礎每公升加入 1g 50% 免賴得可濕性粉劑後，於 50℃ 時以 10% 磷酸調整酸鹼值爲 pH4.0 測試供試菌株孢子之發芽及菌絲生長，結果唐菖蒲萎凋病菌菌株之大孢子 (macroconidia)，小孢子 (microconidia) 及厚膜孢子 (chlamydospores) 發芽生長正常，而其它供試菌株之孢子經培養七天後仍無發芽 (圖二、三)，顯然每公升加入 1g/ L 之免賴得藥劑可抑制大部份尖鐮孢菌菌株孢子的發芽。但是 pH 4.0 之培養基並不能抑制百合萎凋病菌菌絲的生長，但其菌落生長速度明顯與唐菖蒲萎凋病菌不同容易區別。如果把培養基之酸鹼值調整至pH 2.0 時，唐菖蒲萎凋病菌之菌絲仍然能緩慢生長，但百合萎凋病菌則停止生長 (圖一)。

唐菖蒲萎凋病菌以厚膜孢子及病株殘體存活於土壤及種球，如以厚膜孢子製成人工病土置放於溫室經 30 天後，以 pH 4.0 之選擇性培養基分離病土中的病原菌繁殖體，其回收率可達 96%，最低可偵測出 50 個繁殖體/每公克土壤 (圖四)，但是以此選擇性培養基實際應用於分離種植唐菖蒲的田間土壤，則不容易偵測到病原菌，究其原因可能是花農嚴格執行種球之浸藥消毒，田間一旦發現病害時就避免連作，以輪作方式降低土壤中病原菌密度，這也說明了近年來臺灣唐菖蒲種植區萎凋病很少發生的原因，田間病原菌密度如低於每克土壤含 50 個繁殖體時，選擇性培養基則失去其功效，但仍可利用病原菌增殖法[9]偵測出病原菌之存在。而 pH 2.0 之培養基應用在病組織分離時，能於三天內偵測到唐菖蒲種球罹病部位是否由該病原菌引起，可快速有效提供進口種球之檢驗。本研究所研發之選擇性培養基對供試菌株雖具專一性，但是尚有許多尖鐮孢菌分化型尚需作進一步測試。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

1. Awuah, R. T., and Lorbeer, J. W. 1986. A sorbose-based selective medium for enumerating propagules of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* race 2 in organic soil. Phytopathology 76:1202-1205.
2. Chen, Y. C., Huang, Y. H., and Hsieh, W. H. 2004.

Dissemination and spatial distribution analysis of gladiolus fusarium wilt in Kaohsiung-Pingtung area. Plant Pathol. Bull. 13:177-182. (in Chinese with English abstract)
3. Hsieh, S. P. Y. 1985. Ecology and control of gladiolus Fusarium wilt. Plant Prot. Bull. 27:247-256.
4. Komada, H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. Rev. Plant Protec. Res. 8:114-125.
5. Magie, R. O. 1966.Gladiolus Fusarium disease development and control. Gladiolus 41:106-110.
6. Massey, L. M. 1926. Fusarium rot of gladiolus corms. Phytopathology 16:509-523.
7. Nash, S. M., a nd Snyder, W. C. 1962. Quantitative estimation by plate counts of propagules of the bean root rot Fusarium in field soil. Phytopathology 52:567-572.
8. Papavizas, G. C. 1967. Evaluation of various media and antimicrobial agents for isolation of Fusarium from soil. Phytopathology 57:848-852.
9. Roebroeck, E. J. A., Groen, N. P. A., and Mes, J. J.1990. Detection of laten *Fusarium oxysporum* in gladiolus corms. Acta.Hortic. 266:469-476.
10. Sun, E. J., Su, H. J., and Ko, W. H. 1978. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 from soil or host tissue by cultural characters. Phytopathology 68:1672-1673.
11. Sun, S. K. 1975. Ecology of pathogenic Fusaria in soil. Plant Prot. Bull. 17:216-232. (in Chinese with English abstract)
12. Sun, S. K., and Huang, J. W. Plant Fusarium Diseases in Taiwan. Shih Wei Press. Taichung. 170 pp. (in Chinese)
13. Tsao, P. H. 1970. Selective media for isolation of pathogenic fungi. Annu. Rev. Phytopathol. 8:157-186.

ABSTRACT

Chen, Y. C.[1,2], Hsieh, T . J .[1,3] and Hsieh, W. H.[1] 2005. Development of a selective medium for detecting *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli*. Plant Pathol. Bull. 14:251-256. ([1] Graduate Institute of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan ; [2] Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Pingtung, Taiwan.;[3] Corresponding author, E-mail: muchoil@yahoo.com.tw , Fax:+886-4-22877585)

A medium selective for isolation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* was developed by amending the Komada medium with 0.1% benlate. The medium supported good growth and high spore germination rate of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*, but strongly inhibited the growth and germination of 7 other *formae speciales* and 28 saprophytic *Fusarium oxysporum*. At pH 4, the medium completely inhibited spore germination of all isolates *F. oxysporum* tested but not *F. oxysporum* f. sp. *gladioli*. Only *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* and *F. oxysporum* f. sp. *lilii* were capable of growth but with distinct colony morphology on this medium. *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* was the only fungi tested capable of growth on the medium at pH 2. The modified Komada medium at pH 4 recovered 96 % of condia of *F. oxysporum* f. sp. *gladioli* added to soil, and the medium at pH 2 was capable of detecting the pathogen in gladiolus corms within 3 days.

Key words：*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*, selective medium, pathogen detection