

## 百合灰黴病菌的黏著現象

謝廷芳<sup>1,3</sup> 黃振文<sup>2</sup>、張志展<sup>2</sup>

1. 台中縣霧峰鄉 台灣省農業試驗所植物病理系
  2. 台中市 國立中興大學植物病理學系
  3. 連絡作者：電子郵件 tfsieh@wufeng.tari.gov.tw；傳真 04-3338162
- 接受日期：中華民國 88 年 2 月 1 日

### 摘 要

謝廷芳、黃振文、張志展. 1999. 百合灰黴病菌的黏著現象. 植病會刊 8:15-22.

百合灰黴病菌 (*Botrytis elliptica*) 孢子滴接在玻片上，於 20 C 靜置 60 分鐘後，約有 5% 孢子黏著，120 分鐘達 25%，160 分鐘達 75%，180 分鐘以後可達 80% 以上。以 polystyrene 和葵百合葉片 (cv. Star Gazer) 作為基質時，孢子亦有相似的黏著時程。滴接後 120 分鐘，孢子細胞內原生質體明顯顆粒化，並開始發芽。孢子黏著在玻片表面的百分率隨著孢子發芽率的增加而增加，未發芽的孢子黏著能力較差，而孢子發芽者可緊密地黏著在物體表面上。孢子黏著作用與物體表面的疏水性無明顯關係 ( $r=0.190$ ,  $>0.05$ )。本菌孢子的發芽形式有兩種，一為短而膨大型的發芽管，一為菌絲型發芽管。基質表面疏水性與孢子產生膨大型發芽管的現象有關，表面疏水性越高，孢子產生膨大型發芽管的百分率越高。孢子發芽後，在發芽管周圍可分泌黏膜物質，以助其黏著於基質表面。孢子經過呼吸作用抑制劑疊氮化鈉、氧化丙烯或 80 C 熱水浴 10 分鐘處理後，其黏著在玻片和百合葉片上的百分率明顯下降。綜合上述試驗顯示孢子的黏著作用與孢子的代謝活性有關。

關鍵詞：百合灰黴病菌、黏著作用、菌絲鞘、代謝活性、疏水性

### 緒 言

百合灰黴病菌 [*Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke] 的寄主範圍非常狹窄，在台灣發現僅可為害百合屬作物 (1)。在百合經濟栽培過程中，本病原菌普遍造成為害，是切花生產的限制因子之一。孢子是主要的侵染器官，而孢子附著 (attachment) 於植物體表面的動作是其發芽、侵入感染寄主的第一步 (18)。有關 *Botrytis* 屬的孢子與發芽管黏著過程少有研究報告。約於 110 年前，Ward 氏曾指出百合灰黴病菌 *B. elliptica* 的附著器官 (organs of attachment) 會分泌出一種蛋白質狀的黏稠膜 (glairy film) (21)。此外，在 *B. cinerea* 侵染寄主之前，孢子和發芽管周圍亦可見相似的黏性物質成鞘狀地圍繞著，並貼附在寄主表皮上 (2, 15)。Doss 氏等 (8, 9) 發現 *B. cinerea* 孢子的附著作用可分成兩個階段，其中第一階段：孢子藉由疏水性 (hydrophobic) 的薄弱物理力量立即黏著 (immediate adhesion) 於物體表面；隨後在第二階段：發芽孢子於發芽管周圍分泌黏性物質以助其黏著於物體表面，此階段稱後續黏著作用 (delayed adhesion)。由於 *B. elliptica* 孢子較 *B. cinerea* 孢子大，其黏著作用迄今研究厥如，因此本文

的主要目的在於探討 *B. elliptica* 的黏著作用，祈有助明瞭其侵染百合的先驅步驟。

### 材料與方法

#### 菌株來源、產孢與保存

由田中及新社地區採集罹患百合灰黴病的東方型百合 Casa Blanca 和 Star Gazer 植株，在室內利用 2% (w/v) 水瓊脂培養基 [water agar: agar (Difco Laboratory, Detroit, MI, USA) 20 g, distilled water 1 L] 進行單孢分離與病原性測定後，選取產孢能力較強的 *B. elliptica* B061 和 B066 兩菌株作為供試菌源。將二菌株培養於馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar, PDA, Difco Laboratory, Detroit, MI, USA) 斜面上，置於 20 C 黑暗的定溫箱中培養，待菌絲長滿後，切取小菌絲塊移入 10% V-8 培養基 [V8 juice agar: V8 juice (Campbell Soup Co., Camden, NJ, USA) 100 ml, CaCO<sub>3</sub> (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 2 g, agar 20 g, distilled water 900 ml] 平板上，或接種於高壓滅菌過之百合花瓣上，隨即移置於 20 C 定溫箱內，於近紫外光

燈 (黑燈管 Black Light Blue, F10T8BLB, Sankyo Denki, Japan) 距 7 cm 下, 每天照射 12 小時, 7 至 10 天後, 本菌即可產孢。隨後按 Doss 氏等保存菌種的方法, 將本菌保存在 5 C 的燕麥粉砂 (3% oatmeal in fine silica sand) 中備用 (7)。接種時, 以無菌水將孢子洗下, 經二層紗布過濾, 再以離心機 (Sigma 3K12, Laboratory centrifuges, Martin Christ, West Germany) 3000 × g 離心 10 分鐘, 去除上層液, 加入無菌水再離心, 連續三次, 然後以血球計數器 (hemacytometer) 計量, 並加水調整至所需濃度。

### 百合灰黴病菌孢子於蓋玻片上的附著時程

將 25  $\mu$ l 的灰黴病菌孢子懸浮液 (每毫升含  $10^5$  孢子) 滴在高壓滅菌過之 18 × 18 mm 蓋玻片上, 然後置於 20 C、100% 相對濕室的濕室中。每隔 20 分鐘, 取出蓋玻片將之傾斜 45 °角, 以裝水的 1 ml 定量吸管, 由離玻片高 5 cm 處向原滴接孢子懸浮液之處滴水 30 滴 (每滴約 17  $\mu$ l), 以洗去玻片表面的孢子 (3), 隨後立即於顯微鏡下計算存留於玻片附著處之孢子數量, 並與未沖洗前之孢子數量相比較, 求出孢子粘著在玻片上之百分比。同時亦計量附著孢子的發芽率。本試驗進行二次。

### 各種質材對灰黴病菌孢子附著的影響

將裁成 6 × 2 cm 的 PP 塑膠布 (polyphenylene oxide)、PE 塑膠布 (polyethylene) 和玻璃紙 (cellophane paper)、塑膠培養皿底皿 (polystyrene, Falcon Plastics, Oxnard, CA, USA)、26 × 76 mm 載玻片和 18 × 18 mm 蓋玻片 (cover glass, Matsunami glass industries, Ltd., Osaka, Japan) 等六種質材, 經去離子水漂洗三次, 每次 5 分鐘, 取出各質材平置於高壓滅菌過之濾紙上, 於無菌操作台上風乾, 存放於室溫下備用。以口徑 15 mm 打孔器切取水洗過之百合葉片 (*Lilium oriental* hybrid cv. Star Gazer), 製成葉片圓盤備用。另外, 取含 2% (w/v) 水瓊脂培養基平板 (water agar plate) 做為質材。將 25  $\mu$ l 的灰黴病菌孢子懸浮液 (每毫升含  $10^5$  孢子) 滴在上述各種質材的表面上, 然後置於 20 C、100% 相對濕室的濕室中。二小時後, 取出接種液處理過之各種質材, 將其表面傾斜 45 °角, 依上述水洗方式沖洗接種處, 隨後立即於顯微鏡下計算留存於各質材上之孢子數量, 並與未沖洗前之孢子數量相比較, 求出孢子粘著於各質材之百分比。同時亦計算附著孢子的發芽率, 換算發芽孢子的被沖離率。每項試驗各進行二次。取出各種質材, 小心地在各質材表面上加一滴 25  $\mu$ l 蒸餾水, 置於平放的解剖顯微鏡上 (Olympus Optical Co. Ltd, Japan), 質材表面與接物鏡平行, 解剖顯微鏡接上射影鏡頭 (Panasonic color CCTV camera, Digital wv-CL120, Matsushita Communication industrial Co. Ltd, Japan), 將水珠影像投射於電視螢光幕上, 以量角器量取水珠與玻片的

角度。角度越大表示質材表面的疏水性 (hydrophobic) 越強。

### 黏著物質的染色

將滴有 25  $\mu$ l 孢子懸浮液的玻片, 於 20 C 下靜置 6 小時後, 取出玻片, 於孢子接種處滴上 50  $\mu$ l 的印度墨水 (India ink), 任其風乾後, 再以無菌水洗去墨水, 並加入少許無菌水, 蓋上蓋玻片, 於顯微鏡下鏡檢。

### 掃描式電子顯微鏡觀察黏著物質

將滴有 25  $\mu$ l 孢子懸浮液的玻片, 於 20 C 下靜置 6 小時後, 以 2% 戊二醛 (2% glutaraldehyde-p-formaldehyde in sodium cacodylate buffer at pH 7.2) 於室溫下前固定 2 小時, 以 sodium cacodylate buffer 漂洗三次, 每次 10 分鐘。再以 1% 銼酸 (1% osmium tetroxide in sodium cacodylate buffer) 後固定 1 小時, 以緩衝液漂洗三次, 每次各 10 分鐘。然後以系列稀釋酒精脫水處理, 並以液態二氧化碳作臨界點乾燥 (HCP-2, Hitachi Koki Co. Ltd., Tokyo, Japan)。取出乾燥後之樣品, 以雙面膠粘貼於鋁製的載物台上, 於離子覆被機 (ion coater, IB-2, Giko Engineering Co. Ltd., Japan) 上裹覆一層厚約 15 nm 的金膜, 隨後在 15 kV 電壓之日立 S-570 掃描式電子顯微鏡 (Hitachi S-570, Hitachi Co. Ltd., Tokyo, Japan) 下, 觀察百合灰黴病菌黏著於玻片上的情形。

### 界面活性劑對孢子附著的影響

將 0.1% (v/v) Nonidet P-40, 0.1% (v/v) Triton X-100 和 0.1% (w/v) SDS (Sodium dodecyl sulfate) 等三種界面活性劑加入百合灰黴病菌孢子懸浮液中, 混合均勻後, 取 25  $\mu$ l 滴於 18 × 18 mm 蓋玻片和直徑 15 mm 的百合葉片圓盤之葉背上, 每處理五重複, 以不加界面活性劑之孢子懸浮液作為對照組。在 20 C 下靜置 2 小時, 取出玻片和葉片圓盤, 依上述沖洗法將滴液洗去, 計量依舊停留於接種處之孢子數目, 並換算孢子黏著百分率。本項試驗重複二次。另將玻片滴接孢子懸浮液後, 靜置於 20 C 濕室下 20 小時, 取出玻片後洗去滴液, 隨即浸入 1 N 的 NaOH 和 KOH 水溶液中, 經 24 小時處理後, 再依上述水洗法沖洗, 並於顯微鏡下鏡檢孢子附著的情形。

### 抑制孢子代謝對孢子附著的影響

為了終止百合灰黴病菌孢子的代謝活性, 將 0.02% (w/v) 呼吸作用抑制劑疊氮化鈉 [sodium azide (Sigma)] 加入孢子懸浮液中或將孢子懸浮液以 80 C 水浴處理 10 分鐘。另外, 將接種本菌後, 產孢良好之百合花瓣置於 100 ml 三角燒瓶內, 並加入含 0.2 ml 氧化丙烯 [propylene oxide (Sigma)] 的棉花球, 封口後置於 20 C 下燻蒸二小

時，再將此處理之孢子製成懸浮液備用。取上述三種已終止代謝處理的孢子懸浮液各 25 μl 滴於蓋玻片和百合葉片圓盤上，每處理五重複，並以不做任何處理的孢子懸浮液作為對照組，在 20 C 下靜置 4 小時後，取出玻片和葉片圓盤，依上述沖洗法將接種液洗去，計量依舊停留於接種處之孢子數目，換算孢子黏著百分率。本試驗重複進行二次。

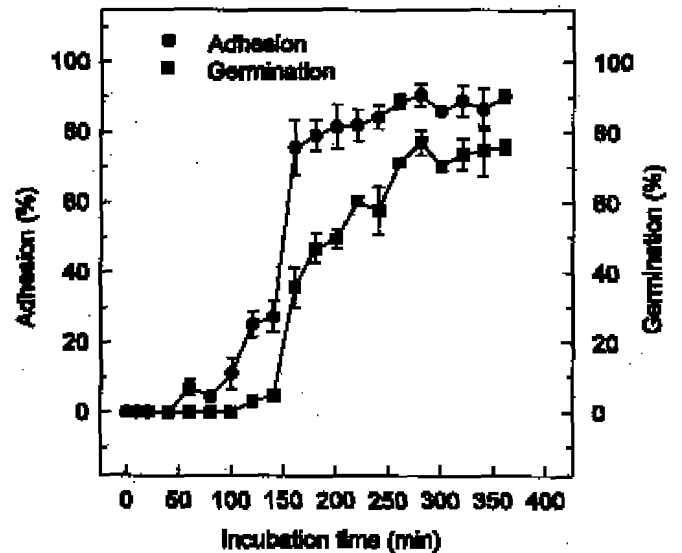
## 結 果

### 百合灰黴病菌在玻片上的附著時程

百合灰黴病菌孢子滴在玻片上 60 分鐘後，約有 7% 孢子黏著，80 分鐘為 5%，100 分鐘為 10%，120 分鐘達 25%，160 分鐘達 75%，180 分鐘以後可達 80% 以上（圖一）。滴接後 120 分鐘，孢子細胞內原生質體明顯顆粒化，並開始產生短的發芽管。滴接後 140 至 280 分鐘為孢子發芽盛期（圖一）。孢子黏著在玻片表面百分率 (Y) 隨著孢子發芽率 (X) 的增加而增加，並呈顯著正相關 ( $Y=9.997+1.153X$   $r=0.930$ ,  $<0.01$ )。未發芽的孢子黏著能力較差，惟孢子發芽後可緊密地黏著在玻片表面上（圖一）。以相同的方式，將孢子滴接於蓋玻片、塑膠培養皿和百合葉片上，所得孢子的黏著曲線和時程均與上述情形一致，只是黏著百分率稍有不同。

### 各種質材對灰黴病菌孢子附著的影響

將孢子懸浮液滴於各種不同疏水性質材上，測定孢子之黏著百分率，結果發現孢子黏著作用與質材表面的疏水性無顯著相關，在 2、4 和 20 小時測定時，兩者之直線迴歸相關係數分別為  $r=0.190$ 、 $0.218$  和  $0.698$  ( $>0.05$ ) (表



圖一、百合灰黴病菌孢子黏著與發芽的時程。  
Fig. 1. Time course for conidial adhesion and germination of *Botrytis elliptica* on glass slide at 20C.

一)。滴接後 2 小時，本菌在 2% 水瓊脂培養基上的黏著百分率最高，其次是在塑膠培養皿表面和玻片上。滴接後 4 小時，黏著情形亦然，只是在百合葉片上的黏著率與玻片上黏著率間無差異。滴接後 20 小時，本菌在各質材上的黏著百分率顯著增加 (表一)。至於發芽孢子被沖離率依各種質材的疏水性而異，除玻片外，疏水性越高發芽孢子沖離率越多 (表一)。本菌孢子的發芽形式有兩種，一為短而膨大型的發芽管，一為菌絲型的發芽管。質材表面疏水性與孢子產生膨大型發芽管的現象有關，惟與總孢子發芽率間關係不顯著。質材表面疏水性越高，孢子產生膨大型發芽管的百分率越高 (表二)。在水洗試驗中發現孢子經滴

表一、百合灰黴病菌在不同質材上黏著作用的評估

TABLE 1. Assessment of adhesion of *Botrytis elliptica* conidia to different substrata at 20C

Substratum	Adhesion <sup>1</sup> (%)			Detached (%) of germinating spores 20 h after inoculation	Contact angle (degree)
	2 h <sup>2</sup>	4 h	20 h		
Polyphenylene oxide	10 c <sup>3</sup>	20 d	55 c	39 a	86.6 a
Polyethylene	10 c	19 d	63 c	33 ab	77.9 b
Polystyrene	42 b	75 b	82 ab	23 cd	43.7 c
Glass slide	33 b	55 bc	74 b	29 bc	20.6 e
Cover glass	8 c	20 d	84 ab	15 d	23.3 d
Cellophane	2 c	41 c	85 ab	16 d	9.4 f
Water agar	92 a	96 a	93 a	5 e	8.6 f
Lily leaf	12 c	55 bc	76 b	29 bc	76.1 b

<sup>1</sup>. Washing procedure was followed the method described by Braun and Howard (3).

<sup>2</sup>. Hours after inoculation.

<sup>3</sup>. Data followed by the same letter in each column do not differ significantly ( $\alpha=0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.

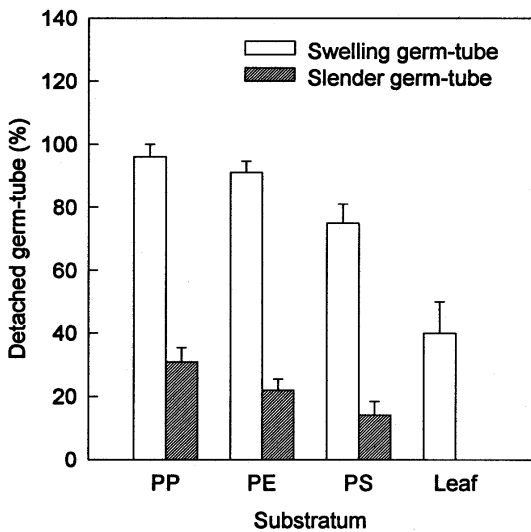
接後 16 小時，無論孢子附著於 polyphenylene oxide、polyethylene、polystyrene 或葵百合葉片上，膨大型發芽管的附著率均較一般菌絲型發芽管的附著率差 (圖二)。

表二、不同質材對百合灰黴病菌孢子發芽方式的影響

TABLE 2. Effect of various substrata on conidial germination of *Botrytis elliptica* at 20C for 16 h

Substratum	Germination (%)		
	Swelling germ-tube	Slender germ-tube	Total
Polyphenylene oxide	25 a	65 b	90 ab
Polyethylene	22 a	69 b	91 ab
Polystyrene	23 a	63 b	86 b
Glass slide	5 b	90 a	95 a
Cover glass	4 b	91 a	95 a
Cellophane	0 b	97 a	97 a
Water agar	0 b	95 a	95 a
Lily leaf	25 a	46 c	71 c

Data followed by the same letter in each column do not differ significantly ( $\alpha=0.05$ ) according to Duncan's multiple range test.



圖二、比較百合灰黴病菌膨大型和細長菌絲型發芽管在不同質材表面上的沖離率。

Fig. 2. Comparison between detached percentage of swelling and slender germ-tubes of conidia of *Botrytis elliptica* from surfaces of four substrata. PP = Polyphenylene oxide, PE = Polyethylene, PS = Polystyrene, Leaf = Leaf disks of oriental lily cv. Star Gazer.

黏著物質的染色與觀察

孢子發芽後，在發芽管周圍可分泌黏膜物質。以印度

墨水(India ink)做陽染處理，發現在孢子發芽後，於膨大型發芽管或菌絲型發芽管周圍可被黑色墨水染上 (圖三、A 和 B)。以掃描式電子顯微鏡觀察亦發現在膨大型發芽管與菌絲型發芽管之周圍有蛋白般之黏性物質泌出，並擴展至玻片 (圖三、C 和 D) 和葉表面上 (圖三、E 和 F)，此結果與以印度墨水染色時所觀察的結果相符。

界面活性劑對孢子附著的影響

界面活性劑可打破孢子的疏水特性，使孢子易於分散於水中。將 0.1% 界面活性劑 P-40、Triton X-100 和 SDS 加入孢子懸浮液中，滴接於蓋玻片和百合葉片上，經 1 和 2 小時後，孢子未發芽前，以水沖洗孢子懸浮液，結果發現三種界面活性劑均可明顯降低孢子附著於蓋玻片和百合葉片上的百分率 (表三)。另外，將黏著孢子的玻片浸於 1 N 的 NaOH 或 KOH 水溶液中 24 小時，取出水洗後可去除所有附著於玻片上的孢子。

表三、界面活性劑對百合灰黴病菌孢子黏著作用的影響

TABLE 3. Effect of surfactant on adhesion of conidia of *Botrytis elliptica* to cover glass and lily cuticle at 20C

Detergent <sup>1</sup>	Adhesion (%)			
	Cover glass		Lily leaf	
	1 h	2 h	1 h	2 h
Nonidet P-40	0.0	0.0	1.2 ± 1.0	3.0 ± 1.2
Triton X-100	0.0	0.0	0.8 ± 0.6	1.0 ± 0.3
SDS	0.0	0.0	0.0	0.3 ± 0.5
Water	7.0 ± 1.4	12.3 ± 2.0	11.3 ± 2.9	14.4 ± 0.7

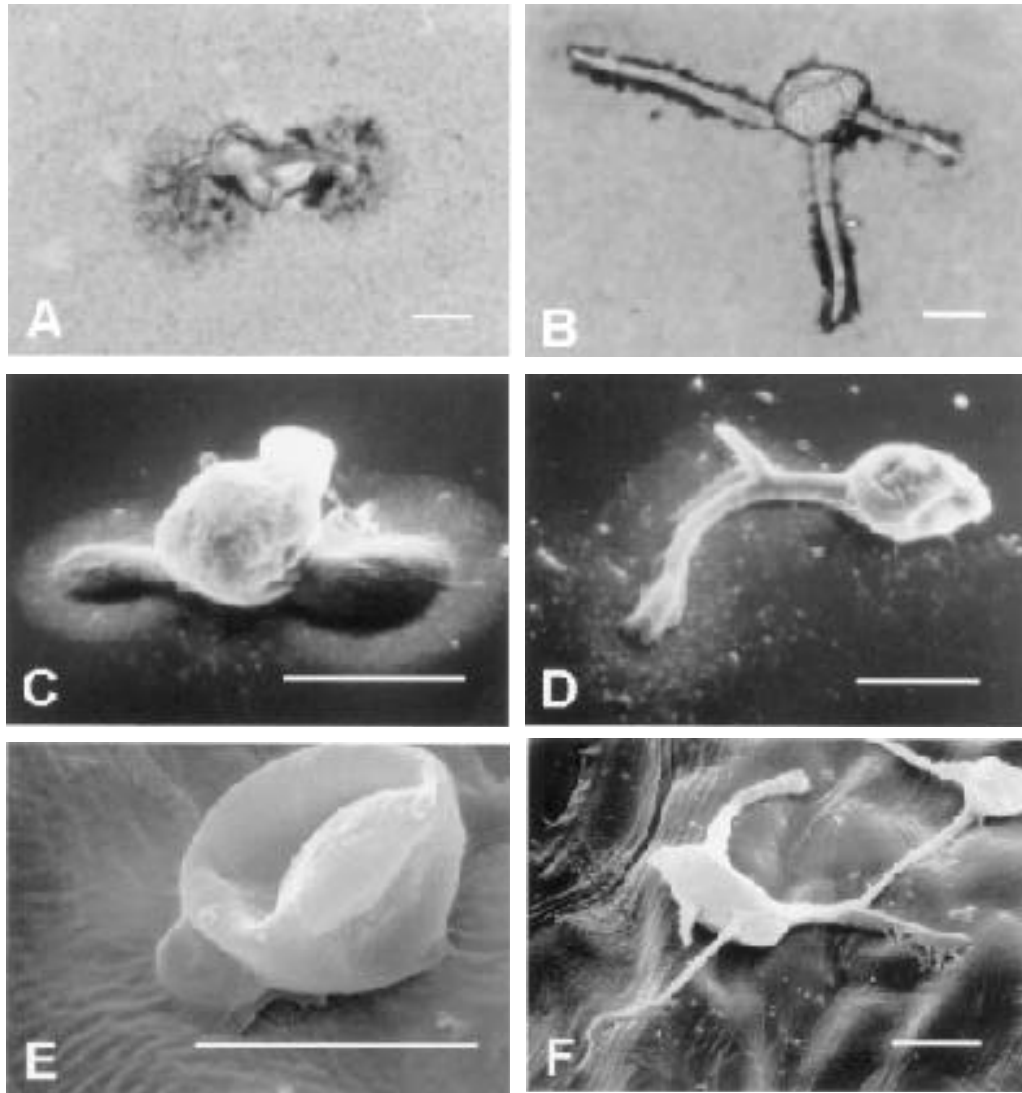
<sup>1</sup> Conidial suspensions were prepared in solution containing 0.1% (v/v) Nonidet P-40, Triton X-100 or 0.1% (w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS).

抑制孢子代謝對孢子附著的影響

孢子經呼吸作用抑制劑疊氮化鈉、氧化丙烯處理及 80 C 水浴浸泡 10 分鐘後，滴接於蓋玻片和百合葉片上，經 4 小時後鏡檢，發現各處理之孢子未發芽，且不分泌黏性物質。水洗後，發現孢子黏著在玻片和百合葉片上的百分率明顯下降 (表四)。另外將經 80 C 處理 10 分鐘的孢子懸浮液，滴接於上述各種不同疏水性質材上，發現除了 2% 水瓊脂培養基平板上可黏著多量 (61.8 ± 3.2%) 的孢子外，其餘質材均無孢子附著的現象。本試驗結果證明孢子的黏著作用與孢子的代謝活性有關。

討 論

真菌附著於物體表面的過程有二種：一為被動附著 (passive attachment)，可藉由趨化性、疏水性或孢子附絲



圖三、百合灰黴病菌孢子和發芽管分泌黏著物質的觀察。以印度墨水陽染膨大型發芽管 (A) 及菌絲型發芽管 (B) 之分泌物；以 SEM 觀察玻片上膨大型 (C) 及菌絲型 (D) 發芽管之分泌物；SEM 觀察葵百合葉片上膨大型 (E) 及菌絲型 (F) 發芽管之分泌物。

**Figs. 3.** Patterns of ensheathing film distribution surrounding *Botrytis elliptica* conidia and germlings. India ink used as a positive stain for the hyphal sheath. A visible region surrounding swelling (A) and slender (B) germlings was obviously notable with this staining protocol. Conidium was also surrounded by an India ink-staining fungal sheath. Conidium was dropped on cover glass. A thin layer of extracellular matrix was visible surrounding the swelling (C) and slender (D) germlings, but not around conidium on this view. Conidia were inoculated on surface of lily leaf. A mucilageous material secreted by conidium and germ tube (E and F) was visible on the cuticle of leaf surface. (Bar = 20  $\mu\text{m}$ )

附著於基質上；一為主動附著 (active attachment)，可藉由接觸反應導致胞外黏質物產生和分泌，孢子發芽後發芽管包被菌絲鞘 (hyphal sheath) 或附著器分泌黏質物等黏著於基質或寄主上 (12)。多數植物病原真菌的孢子附著與基質的疏水性有關，疏水性越高，孢子附著力越強 (8, 11, 13, 16, 19, 20, 22)。本研究利用 Braun 和 Howard (1994) 的水洗方法測定孢子附著於不同基質的情形 (3)，發現 *B. elliptica* 孢子在滴接 60 分鐘後，只有 7% 孢子附著於玻片上，且未發芽孢子附著率與質材表面的疏水性間不具相關

性。

Doss 氏等 (1993) 以氮氣流和水流方式研究未發芽的 *B. cinerea* 孢子對基質的附著率，發現孢子於加水後 30 分鐘內可藉基質的疏水性而附著，此種附著率與孢子的活性無關 (8)。Sela-Buurlage 氏等 (1991) 以不影響 *Colletotrichum musae* (Berk. & M. A. Curtis) Arx 孢子活力的 Triton X-100 和 SDS 界面活性劑濃度處理孢子，亦可抑制孢子的黏著作用。他們認為孢子表面蛋白質的疏水性參與黏著作用 (19)。筆者研究發現百合灰黴病菌孢子懸浮

表四、代謝抑制劑對百合灰黴病菌孢子黏著作用的影響

TABLE 4. Effect of metabolic inhibitors on conidial adhesion of *Botrytis elliptica* to cover glass and lily leaf at 20C for 4 h

Treatment <sup>1</sup>	Adhesion (%)	
	Cover glass	Lily leaf
Sodium azide	0.0	3.0 ± 0.7
Propylene oxide	0.0	0.0
80C-hot water	0.0	0.0
Check (Water)	15.3 ± 2.5	57.5 ± 3.5

<sup>1</sup>. Conidia of *B. elliptica* were treated. Propylene oxide: conidia harvested from lily petals were steamed with propylene oxide for 2 h at 20C and suspended in sterile water. Sodium azide: Conidia suspension was added into 0.02% (w/v) sodium azide. 80C-hot water: conidia suspension was treated with 80C-water bath for 10 min. Check was non-treated conidial suspension.

液中添加界面活性劑，可顯著地促使未發芽孢子的附著率降低，顯示本菌孢子附著基質時亦應有疏水性參與交互作用，惟因本試驗的水洗方式無法達到驗證的目的。

Doss 氏等 (1995) 指出 *B. cinerea* 孢子的附著分成二階段，除上述藉由基質之疏水性作用力而附著外，另一則為孢子發芽期間的後續黏著作用 (9)。在孢子發芽過程中，孢子和發芽管周圍可分泌黏性物質，此黏質物與孢子的黏著作用有關 (2, 15)。本研究觀察 *B. elliptica* 孢子的發芽階段，同樣在發芽管周圍明顯覆上一層黏膜物質，而孢子黏著百分率隨其發芽率的增加而增加。多數植物病原菌的孢子、發芽管和附著器可分泌黏稠性物質，以助其黏著於植物體表面 (18)。雖然此種黏著物質常可在病原真菌發芽階段被發現，但是真正證明此物質與孢子黏著有關的試驗研究並不多見 (5, 6, 9, 10, 11, 14)。本研究利用呼吸作用抑制劑疊氮化鈉、氧化丙烯和 80 C、熱水浴 10 分鐘等處理 *B. elliptica* 孢子，發現孢子黏著在玻片和百合葉片上的百分率明顯下降。同樣的，*Cochliobolus heterostrophus* (Drechsler) Drechsler (3)、*Colletotrichum indemuthianum* (Sacc. et Magn.) Br. et Car. (22) 和 *Nectria heamatococca* Berk. et Br. (*Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1) (12) 的孢子黏著現象亦可被疊氮化鈉和 cycloheximide 等代謝抑制劑所打破。另外黏著在基質上的孢子可被 1N NaOH 和 KOH 去除，相同結果亦發生在 *B. cinerea* (9) 和 *Puccinia sorghi* Schw. (4) 的孢子上，顯示孢子的黏著作用與其分泌的黏性物質有關。

本菌孢子發芽時可產生短而膨大型及一般菌絲型二種發芽管，目前尚不知其產生的決定因子為何。由試驗發現質材表面疏水性越高，孢子產生膨大型發芽管的百分率越高。在水洗試驗發現，孢子經滴接後 16 小時，無論孢子附著於 polyphenylene oxide、polyethylene、polystyrene 或葵百合葉片上，膨大型發芽管的附著率均較一般菌絲型發

芽管的附著率低。可能原因為膨大型發芽管之附著面積較一般菌絲型發芽管的附著面積小之故。其中葉片上膨大型發芽管被沖除的百分率較其他質材少，其原因是部分膨大型發芽管已侵入表皮組織。雖然發芽管分泌的黏稠物質與病原菌的黏著作用有關，但一般相信其亦扮演著保護菌體免於受寄主代謝毒質的作用、或可降低菌體乾燥速率以抗拒環境的急速變化，或是提供孢子發芽管生長的良好環境 (17, 18)。

## 謝 辭

本研究承行政院農業委員會 85 科技-1.6-糧-11(1-2) 經費補助，特致謝忱。

## 引用文獻

- 謝廷芳、黃振文 1998 百合灰黴病之發生條件與病勢進展。植保會刊 40: 227-240。
- Blackman, V. H., and Welsford, E. J. 1916. Studies in the physiology of parasitism. II. Infection by *Botrytis cinerea*. Ann. Bot. (London) 30: 389-398.
- Braun, E. J., and Howard, R. J. 1994. Adhesion of *Cochliobolus heterostrophus* conidia and germlings to leaves and artificial surfaces. Exp. Mycol. 18: 211-220.
- Chaubal, R., Wilmot, V. A., and Wynn, W. K. 1991. Visualization adhesiveness, and cytochemistry of the extracellular matrix produced by urediniospore germ tubes of *Puccinia sorghi*. Can. J. Bot. 69: 2044-2054.
- Clement, J. A., Martin, S. G., Porter, R., Butt, T. M., and Beckett, A. 1993. Germination and the role of extracellular matrix in adhesion of uredospores of *Uromyces viciae-fabae* to synthetic surfaces. Mycol. Res. 95: 585-593.
- Deising, H., Nicholson, R. L., Haug, M., Howard, R. J., and Mendgen, K. 1992. Adhesion pad formation and the involvement of cutinase and esterases in the attachment of uredospores to the host cuticle. Plant Cell 4: 1101-1111.
- Doss, R. P., Chastagner, G. A., and Riley, K. I. 1984. Techniques for inoculum production and inoculation of lily leaves with *Botrytis elliptica*. Plant Dis. 68: 854-856.
- Doss, R. P., Potter, S. W., Chastagner, G. A., and Christian, J. K. 1993. Adhesion of nongerminated *Botrytis cinerea* conidia to several substrata. Appl. Environ. Microbiol. 59: 1786-1791.
- Doss, R. P., Potter, S. W., Soeldner, A. H., Christian, J. K., and Fukunaga, L. E. 1995. Adhesion of germlings of *Botrytis cinerea*. Appl. Environ. Microbiol. 61: 260-265.

10. Epstein, L., Laccetti, L. B., Staples, R. C., and Hoch, H. C. 1987. Cell- substratum adhesive protein involved in surface contact responses of the bean rust fungus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 30: 373-388.
11. Hamer, J. E., Howard, R. J., Chumley, F. G., and Valent, B. 1988. A mechanism for surface attachment in spores of a plant pathogenic fungus. *Science* 239: 288-290.
12. Jones, M. J., and Epstein, L. 1989. Adhesion of *Nectria haematococca* macroconidia. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 35: 453-461.
13. Kuo, K. C., and Hoch, H. C. 1996. Germination of *Phyllosticta ampellicida* pycnidiospores: prerequisite of adhesion to the substratum and the relationship of the substratum wettability. *Fun. Gen. Biol.* 20: 18-29.
14. Kwon, Y. H., and Epstein, L. 1993. A 90-kDa glycoprotein associated with adhesion of *Nectria haematococca* macroconidia to substrata. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 6: 481-487.
15. McKeen, W. E. 1974. Mode of penetration of epidermal cell walls of *Vicia faba* by *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 64: 461-467.
16. Mercure, E. W., Kunoh, H., and Nicholson, R. L. 1994. Adhesion of ungerminated conidia of *Colletotrichum graminicola* to artificial hydrophobic surfaces. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 45: 421-440.
17. Moloshok, T. D., Leinhos, G. M. E., Staples, R. C., and Hoch, H. C. 1993. The autogenic extracellular environment of *Uromyces appendiculatus* urediospore germlings. *Mycologia* 85: 392-400.
18. Nicholson, R. L., and Epstein, L. 1991. Adhesion of fungi to the plant surface. Prerequisite for pathogenesis. Pages 3-23 in: *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*. G. T. Cole and H. C. Hoch, Eds., Plenum Press, New York.
19. Sela-Buurlage, M. B., Epstein, L., and Rodrigues, R. J. 1991. Adhesion of ungerminated *Colletotrichum musae* conidia. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39: 345-352.
20. Terhune, B. T., and Hoch, H. C. 1993. Substrate hydrophobicity and adhesion of *Uromyces* urediospores and germlings. *Exp. Mycol.* 17: 241- 252.
21. Ward, H. M. 1888. A lily disease. *Ann. Bot. (London)* 2: 319-383.
22. Young, D. H., and Kauss, H. 1984. Adhesion of *Colletotrichum lindemuthianum* spores to *Phaseolus vulgaris* hypocotyls and to polystyrene. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 616-619.

### Abstract

Hsieh, T. F.<sup>1,3</sup>, Huang, J. W.<sup>2</sup>, and Chang, C. C.<sup>2</sup> 1999. Adhesive phenomena of *Botrytis elliptica*. Plant Pathol. Bull. 8:15-22. (<sup>1</sup> Department of Plant Pathology, Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-feng 413, Taichung, Taiwan ; <sup>2</sup> Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan ; <sup>3</sup> Corresponding author, E-mail: tfhsieh@wufeng.tari.gov.tw , Fax No: 886-4-3338162)

The nonspecific attachment of conidial germlings of *Botrytis elliptica* to various surfaces of substrata was examined. Washing experiments showed that 7% of the conidia began adhering to glass slides 60 min after dropping that was just prior to germination; after 120 min, approximately 25% of the conidia resisted washing and remained firmly attached; not until 180 min were over 80% of conidia able to attach to the glass slide. Similar results were obtained from conidia dropped to surfaces of polystyrene and oriental lily leaf disks. The protoplasts of conidia obviously appeared granular and started germinating 120 min after inoculation at 20C. Attachment of conidia to the substrata was increased with the increment of conidial germination. A nongerminated conidium was significantly less able than a germinated conidium to adhere to the surface of a substratum. There was no correlation ( $r=0.190$ ,  $P>0.05$ ) between conidial adhesion and hydrophobicity of substrata. Conidia germinated with swelling and slender germ-tubes were observed. The hydrophobic substrata induced production of a swelling in germ-tubes from conidia. Light microscopy and SEM observations showed that an ensheathing material secreted from conidia and germ tubes appeared around the germlings of *B. elliptica*. Attachment of conidia was prevented by metabolic inhibitors such as sodium azide, propylene oxide and 80 °C-hot water. The results suggested that metabolic activity of the pathogen was required for conidial adhesion.

Key words: *Botrytis elliptica*, adhesion, hyphal sheath, metabolic activity, hydrophobicity.