

土肉桂根圈腐霉菌調查及其病原性測定

張 東 柱

台北市 台灣省林業試驗所森林保護系

接受日期：中華民國 82 年 4 月 9 日

摘 要

張東柱. 1993. 土肉桂根圈腐霉菌調查及其病原性測定. 植病會刊 2:66-70.

土肉桂根圈普遍存在腐霉菌 (*Pythium* spp.)，已鑑定種類包括 *Pythium deliense* Meurs, *P. oligandrum* Dreschler, *P. pleroticum* Ito, *P. spinosum* Sawada, *P. splendens* Braun, *P. ultimum* Trow var. *ultimum* 和 *P. vexans* de Bary 與一種未鑑定之 *Pythium* sp. 等 8 種。*P. splendens* 和 *P. vexans* 分佈最廣，全省五個土肉桂栽植區均可分離得到，而其它 *Pythium* spp. 分離率則較低。溫室測試上述八種腐霉菌對土肉桂扦插苗之致病性，發現 *P. splendens* 和 *P. vexans* 對土肉桂有 100% 感染率及 15-30% 致死率。其次是 *P. deliense* 對土肉桂有 40% 感染率及 5% 致死率。而其它種類腐霉菌除 *Pythium* sp. 不能感染及致死土肉桂外，都具有低的感染率 (15-35%) 及不能致死土肉桂。除 *P. deliense* 的最適生長溫度為等於或高於 35 °C 外，其餘腐霉菌的最適生長溫度均為 30 °C。

關鍵詞：腐霉菌、土肉桂、病原性。

緒 言

土肉桂 (*Cinnamomum osmophloeum* Kaneh.) 為台灣樟科特有樹種，原產於中南部海拔 400-1,200 公尺之天然闊葉樹林中 (1)。其枝葉、樹皮及根部皮層均富含桂皮醛精油。由於其全株富含精油且樹形優美，已被視為頗具推廣潛力之農地造林樹種之一。因過去過度之利用，目前在天然林中，大徑木已極為少見，甚有絕種之虞 (1)。由於其主要存在天然林中，因而其病害並未受到特別注意。至目前為止，其病害計有 *Phytophthora cinnamomi* Rands 引起之根腐萎凋病 (6)，*Calonectria theae* Loos 引起之黑腐病 (5)，和四種葉部病害；分別是 *Collectotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. 引起之炭疽病，*Phoma multirostrata* (Mathur, Menou & Thirum.) Dorenbosch & Boerema 及 *Diaporthe* sp. 引起之葉斑病和 *Cephaleuros virescens* Kunze 引起之藻斑病 (2,3)。

土肉桂的病害調查時，在五種土肉桂栽植區 (東和農場、嘉義農場、埔里農場、鄒梅農場和華林農場)，發現華林農場與嘉義農場有黃化萎凋死亡的現象，經根部分離與病原性測定，顯示其萎凋病與 *P. cinnamomi* 有關聯性 (6)。*P. cinnamomi* 只有在土肉桂發生萎凋的農場分離得到，且 *P. cinnamomi* 能導致

土肉桂苗萎凋死亡。但在分離 *P. cinnamomi* 時也同時分離到多種 *Pythium*，本文測定 *Pythium* spp. 對土肉桂之病原性及調查田間 *Pythium* spp. 之分佈情形，以瞭解 *Pythium* 與土肉桂之萎凋病是否有相關性。另外在苗圃根腐死亡的土肉桂苗也常可分離得到 *Pythium* spp.。本文報導 *Pythium* spp. 和土肉桂根腐及萎凋之關係。

材料與方法

腐霉菌之分離與鑑定

自全省五個土肉桂栽植區取樣，五個土肉桂栽植區分別是東和農場 (台東，退輔會)、嘉義農場 (嘉義，退輔會)、埔里農場 (南投，台糖公司)、鄒梅農場 (台北，土地銀行) 和華林農場 (台北，文化大學)。每一個地區隨機取樣選擇 25 棵約 7-8 年生的土肉桂，每一棵土肉桂離樹幹 1 m 內和距土表 20 cm 內隨機取樣 20 段根供分離用。取樣之根以自來水沖洗 1-2 hr 以除去附著在表面的土壤。將洗淨的根以衛生紙吸收多餘的水份，並將每一段根隨機切取 7 小片段，每一小片段長約 1-2 cm 及直徑小於 5 mm。上述之小片段根放置在選擇性培養基上 2-7 天。選擇性培養基是 10% V-8

果菜培養基 (V-8 瓊脂: 10% V-8 juice, 0.02% CaCO₃ 和 2% Bacto agar) 滅菌後加入 100 ppm ampicillin, 50 ppm mycostatin 和 10 ppm pentachloronitrobenzene (7)。每一個平面培養基放置 7 小片根。在 25 °C 下培養 1-4 天。腐霉菌之菌絲自根生長出來, 將生長出的單一菌絲移植到玉米粉洋菜培養基 (Difco 公司出品) 供鑑定及其它試驗用。或採用雜草葉培養法 (8), 使腐霉菌形成游走子囊 (zoosporangium) 及游走孢子 (zoospores)。將雜草葉片剪成 2-3 cm 大小片段, 在水中煮沸 10 min, 每一直徑 6 cm 培養皿放兩片草葉, 然後將已在玉米粉洋菜培養基培養的菌株移植到含有草葉的培養皿並加入適量滅菌過的池塘水, 在 25 °C 定溫箱中培養, 每日鏡檢一次, 待發現形成游走子囊, 重新更換消毒過的池塘水, 以 100 倍的光學顯微鏡觀察游走子囊形態和游走孢子在泡囊 (vesicle)。藏精器 (antheridium) 和藏卵器 (oogonium) 的形態則主要觀察培養在 V-8 瓊脂和玉米粉洋菜培養基上形成者。

溫度對腐霉菌生長之影響

將土肉桂根部分離之腐霉菌, 包括 *P. oligandrum*, *P. deliense*, *P. vexans*, *P. splendens*, *P. spinosum*, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. pleroticum* 和 *Pythium* sp., 培養在 V-8 洋菜培養基上二至四天 (25 °C), 以直徑約 0.5 cm 之打孔器切取菌落邊緣之菌絲塊移植於 V-8 洋菜培養基上, 放置在 10, 15, 20, 25, 30, 和 35 °C 之恒溫箱中培養, 每一溫度處理四重覆, 重複一次。

腐霉菌對土肉桂之病原性測定

將測定的腐霉菌培養在 V-8 洋菜平面培養基上一星期, 以解剖刀將培養腐霉菌之瓊脂切成小片段 (約 3 × 3 × 3 mm³), 每 3000 ml 消毒的坩質砂壤土 (砂粒 36.67%, 黏粒 10.69%, 坩粒 52.64%) 加入一個培養皿的洋菜小片段接種源, 此土壤為供試之病菌土。將扦插在消毒介質的土肉桂苗 (約扦插 6-9 個月) 種植在病

菌土中, 每種腐霉菌之病菌土種植 20 棵土肉桂扦插苗。以消毒的坩質砂壤土種植土肉桂扦插苗當對照組。接種後兩個月取出扦插苗的根部進行腐霉菌的分離。將根部以自來水沖洗 2 hr 以洗去附著根部的土壤, 洗淨之根部以 0.5% NaClO 表面滅菌 3 min, 並以衛生紙吸乾 NaClO 溶液。消毒過的根部切成長度約 1 cm 之小片段並放置在 V-8 選擇性培養基 (7) 上。鑑定分離所得之腐霉菌是否與接種之腐霉菌相同。病原性測定時, 溫室的溫度介於 22-35 °C 之間。

結 果

土肉桂根部腐霉菌之種類與分佈

自全省五個土肉桂栽植區分離腐霉菌, 共獲得七種腐霉菌, 分別是 *P. splendens*, *P. vexans*, *P. deliense*, *P. oligandrum*, *P. spinosum*, *P. ultimum* var. *ultimum* 和 *P. pleroticum* 與一種未鑑定之 *Pythium* sp.。其中 *P. splendens* 和 *P. vexans* 均可在 5 個栽植區分離到, 且其出現率也很高, 都在 90% 以上 (表一)。*P. deliense* 和 *P. spinosum* 除分別在嘉義農場和埔里農場未出現外, 也在其它 4 個農場出現, 但其出現率較低, 只介於 5-30% 之間。*P. oligandrum*, *P. ultimum* var. *ultimum* 和 *Pythium* sp. 則分別在三個栽植區出現, 其出現率也很低。*P. pleroticum* 則只在東和農場和鄒梅農場出現, 其出現率介於 5-10% 之間。

溫度對腐霉菌生長之影響

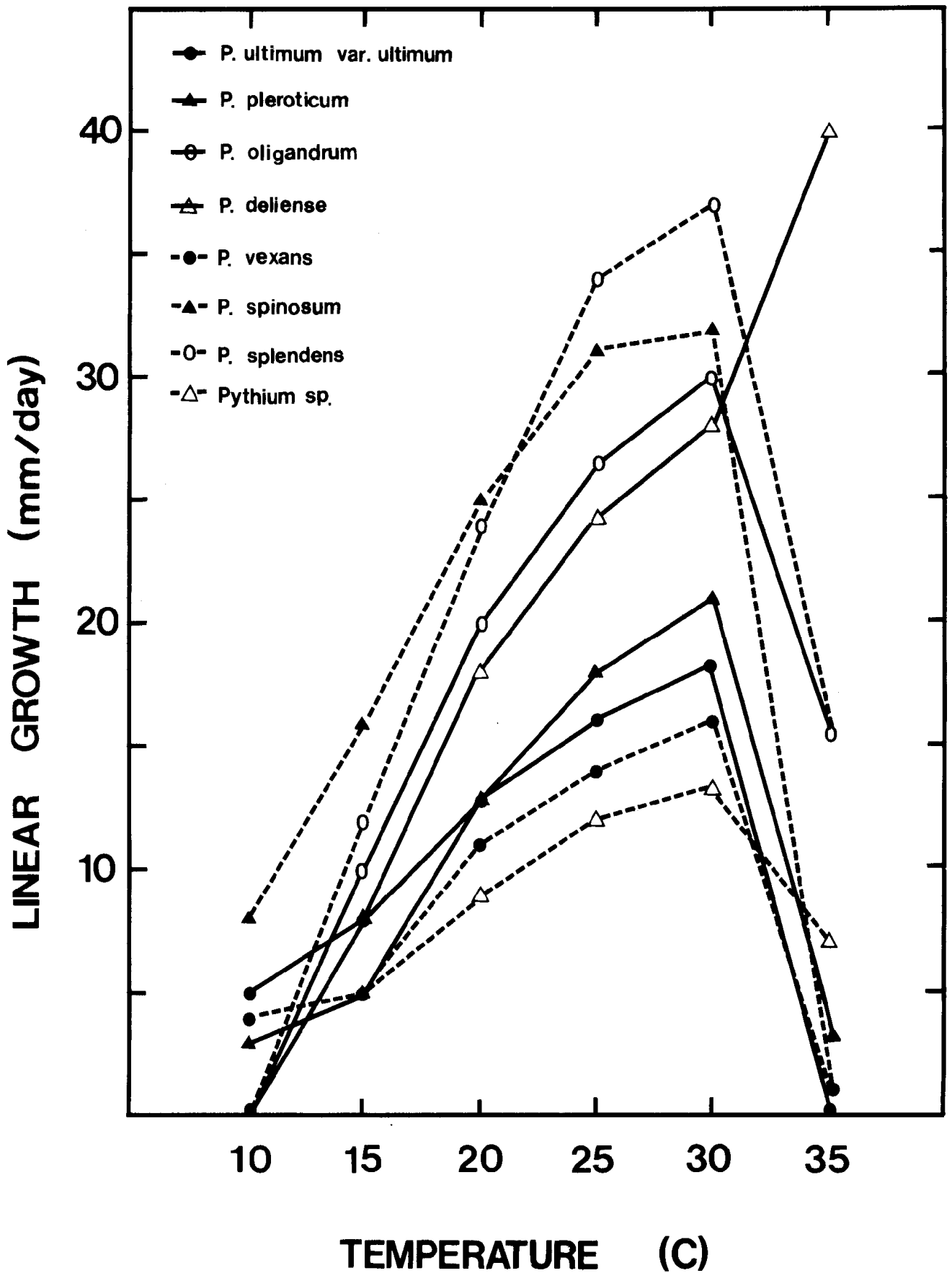
在 V-8 洋菜平面培養基上, 測定溫度與腐霉菌生長之關係, 其結果顯示 35 °C 為 *P. deliense* 之生長最適溫, 30 °C 則為其餘 7 種腐霉菌的生長最適溫。在 35 °C 時, 只有 *P. ultimum* var. *ultimum* 生長受完全抑制; 在 10 °C 時, 有 *P. oligandrum*, *P. deliense* 和 *P. splendens* 生長受完全抑制 (圖一)。

表一、腐霉菌在不同土肉桂栽植區的種類及分佈情形

TABLE 1. Species and distributions of *Pythium* obtained from different experimental trial farms

Species	% of <i>Pythium</i> obtained ¹				
	Tung-ho (東和農場)	Chia-yi (嘉義農場)	Pu-li (埔里農場)	Chow-may (鄒梅農場)	Hwa-ling (華林農場)
<i>P. splendens</i>	100	100	95	90	90
<i>P. vexans</i>	100	100	100	100	100
<i>P. deliense</i>	10	0	15	5	20
<i>P. oligandrum</i>	20	5	5	0	0
<i>P. spinosum</i>	30	20	5	0	30
<i>P. ultimum</i> var. <i>ultimum</i>	10	0	0	15	20
<i>P. pleroticum</i>	5	0	0	10	0
<i>Pythium</i> sp.	0	10	5	5	0

¹ Percentage of *Pythium* obtained from different farms was based on a total of 25 plants tested.



圖一、溫度對腐霉菌 *Pythium deliense*, *P. oligandrum*, *P. pleroticum*, *P. spinosum*, *P. splendens*, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. vexans* 和 *Pythium* sp. 在 V-8 瓊脂上之生長影響。
 Fig. 1. Effect of temperature on mycelial growth of *Pythium deliense*, *P. oligandrum*, *P. pleroticum*, *P. spinosum*, *P. splendens*, *P. ultimum* var. *ultimum*, *P. vexans* 和 *Pythium* sp. on V-8 agar plate.

腐霉菌對土肉桂之病原性測定

接種後兩個月記錄死亡率及利用根部組織分離檢測感染率。土肉桂之根常呈黃黑褐色，健康的根與腐敗的根不易區別，因此不做根腐之記錄。*P. splendens* 引起土肉桂扦插苗根 100% 之感染率及 30% 之致死率。*P. vexans* 對土肉桂也有 100% 之感染率及 15% 之致死率。*P. deliense* 則對土肉桂有 40% 之感染率及 5% 之致死率。*P. oligandrum*, *P. spinosum*, *P. ultimum* var. *ultimum* 和 *P. pleroticum* 對土肉桂根具有低感染率 (15-35%)，但不引起土肉桂之死亡。*Pythium* sp. 則無法感染及致死土肉桂之扦插苗 (表二)。

討 論

利用選擇性培養基分離未經表面消毒之土肉桂根部病菌，共獲得七種已鑑定腐霉菌和一種未鑑定腐霉菌。由於土肉桂的根部未經表面消毒，因此有些被分離的腐霉菌可能沒有感染其根部而只是存在其根部附近的土壤。在病原性測定試驗中分離腐霉菌時則利用 0.5% NaClO 做表面消毒，結果顯示只有 *Pythium* sp. 未感染土肉桂根外，其餘 7 種腐霉菌皆可感染其根部。雖然在此試驗中顯示 *Pythium* sp. 未能感染土肉桂，但並不表示在自然界沒有感染土肉桂根部之可能。因病原性測定所用之接種源來自培養在洋菜培養基之菌塊，或許此方法不適合 *Pythium* sp. 使其具有感染土肉桂根部之能力。因此欲瞭解 *Pythium* sp. 對土肉桂是否具有感染能力，需進一步測試不同接種方法。

腐霉菌對土肉桂病原性測定試驗顯示，至少有三種腐霉菌 (*P. splendens*, *P. vexans* 和 *P. deliense*) 可以致死土肉桂苗，尤其以 *P. splendens* 和 *P. vexans* 的致病能力較強。謝氏 (4) 曾對台灣腐霉菌做較有系統之調查，他也發現腐霉菌是可以引起森林苗木立枯病之重要病原菌。作者對土肉桂枯死或正枯死苗進行分離工作，也常發現存在 *P. splendens* 和 *P. vexans*。由組織分離及病原性測定顯示，腐霉菌之感染可引起土肉桂苗之死亡現象。在五個土肉桂栽植區中，華林農場和嘉義農場的土肉桂有萎凋現象，同時在這兩個地區可分離得到 *Phytophthora cinnamomi*。其它三個地區沒有萎凋現象也沒有 *P. cinnamomi* 存在，且 *P. cinnamomi* 也可引起幼苗萎凋，結果顯示萎凋與 *P. cinnamomi* 有相聯性 (6)。腐霉菌除在兩個萎凋地區可以分離得到外，在其他三個沒有萎凋地區也可以分離得到，可見土肉桂之萎凋和腐霉菌之出現並沒有相關性。因此田間土肉桂之萎凋現象可能不是腐霉菌所引起。腐霉菌一般被認為是弱病原性之菌類 (8)。一種植物常被多種腐霉菌感染，但只有在環境不利寄主的情況下才可引起植物病害；而腐霉菌較常引起幼苗立枯死亡。由接種試驗顯示，腐霉菌也可引起土肉桂苗根腐立枯，但其致病性似乎不強，因其致死率很低 (0-30%)。

謝 辭

本研究承行政院國科會 NSC 82-0409-B-054-010 及農委會 82 科技 -2.7- 林 -18 (12) 計畫經費補助，國立台灣大學謝煥儒教授協助鑑定腐霉菌及林試所林讚標博士提供土肉桂苗，謹此致謝。

表二、腐霉菌對土肉桂之病原性測定

TABLE 2. Pathogenicity of *Pythium* spp. to *Cinnamomum osmophloeum*¹

Species	Infection rate (%)	Mortality rate (%)
<i>P. splendens</i>	100	30
<i>P. vexans</i>	100	15
<i>P. deliense</i>	40	5
<i>P. oligandrum</i>	30	0
<i>P. spinosum</i>	35	0
<i>P. ultimum</i> var. <i>ultimum</i>	15	0
<i>P. pleroticum</i>	15	0
<i>Pythium</i> sp.	0	0

¹ Percentage of Plants infected and killed was based on a total of 20 plants tested.

引用文獻

- 胡大維. 1992. 土肉桂的分佈，營養系收集與營養系庫的建立. p. 1-6. 林業叢刊第 38 號—土肉桂專論. 林讚標編，台灣省林業試驗所. 120 pp.
- 張東柱. 1992. 土肉桂病害. p. 63-73. 林業叢刊第 38 號—土肉桂專論. 林讚標編，台灣省林業試驗所. 120 pp.
- 張東柱. 1993. 三種土肉桂葉部新病害. 林試所研究報告季刊 8:51-59.
- 謝煥儒. 1982. 台灣木本植物病害調查報告 (五) 引進木本植物之病害. 台灣省林業試驗所報告 37: 號. 10 pp.
- Chang, T. T. 1992. A new disease of *Cinnamomum osmophloeum* caused by *Calonectria theae*. *Plant Pathol. Bull.* 1:153-155.

6. Chang, T. T. 1993. Decline of two *Cinnamomum* species associated with *Phytophthora cinnamomi* in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 2:1-7.
7. Ko, W. H., Chang, H. S., and Su, H. J. 1978. Isolates of *Phytophthora cinnamomi* from Taiwan as evidence for an Asian origin of the species. Trans. Br. Mycol. Soc. 71:496-499.
8. Van der Plaats-Niterink, A. J. 1981. Monograph of the Genus *Pythium*. Studies in Mycology No. 21. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Netherlands. 242 pp.

ABSTRACT

Chang, T. T. 1993. Investigation and pathogenicity tests of *Pythium* species from rhizosphere of *Cinnamomum osmophloeum*. Plant Pathol. Bull. 2:66-70. (Taiwan Forestry Research Institute, Taipei, Taiwan, R.O.C.)

Eight *Pythium* spp. including *P. deliense* Meurs, *P. oligandrum* Dreschsler, *P. pleroticum* Ito, *P. spinosum* Sawada, *P. splendens* Braun, *P. ultimum* Trow var. *ultimum*, *P. vexans* de Bary and *Pythium* sp. were isolated from roots of *Cinnamomum osmophloeum*. Of these, *P. splendens* and *P. vexans* were the most widespread and obtained from all five experimental trials of *C. osmophloeum*, while others are lower isolation rate. During the pathogenicity tests in the greenhouse, the results showed that *P. splendens* and *P. vexans* exhibited 100% infection rate and 15-30% mortality rate to *C. osmophloeum*; *P. deliense* was 40% infection rate and 5% mortality rate; *Pythium* sp. did not cause any infection to *C. osmophloeum*; others had low infection rate (15-35%) and nil mortality rate. Optimum temperature for growth of *P. deliense* was 35 C or higher, while that of others were 30 C.

Key words: *Pythium* spp., *Cinnamomum osmophloeum*, pathogenicity.