

枇杷白紋羽病及其病原菌¹

林益昇 段中漢²

摘要：枇杷白紋羽病於民國七十四年首自卓蘭發現。罹病枇杷的根部密生白色菌絲，致使葉片逐漸黃化、萎凋，最後植株死亡。病原菌經分離及鑑定後，證實為 *Rosellinia (Dematophora) necatrix*。將本菌菌絲培養於麥粒，接種在盆栽枇杷苗的根部，約經 60 天，可產生與田間病株相同的病徵。病原菌的子囊殼及分生孢子並未於田間發現。但將田間罹病的枇杷根置於室內黑暗且潮濕的環境下，可誘導其產生大量的子囊殼及分生孢子。分生孢子在本研究中未見其發芽，但單一子囊殼自動釋放之子囊孢子於 2% 水瓊脂上，却有 0~35% 的發芽率。本菌最適生長溫度為 20~28°C，最適生長水分潛勢為 0~-10bars。溫度在 8°C 以下，32°C 以上或水分潛勢在 -54bars 以下，本菌之生長完全受到抑制。

近年來，本省有多種果樹常因根部腐敗，導致罹病株萎凋死亡，原因不明。當調查此類病害時，在卓蘭的一處果園發現有幾株萎凋死亡的枇杷樹，經觀察一段時間後，發現病株向外呈輻射狀擴展，在果園內形成一塊病害區 (disease patch)。經診斷後證實，係病株根部受到白紋羽病菌 (*Rosellinia (Dematophora) necatrix* Prill) 感染所致。據文獻記載，白紋羽病菌屬多犯性，可引起多種果樹萎凋死亡^(3,4,7,10)。在本省，有關白紋羽病之研究甚少，僅臺灣大學陳道教授曾調查柑桔白紋羽病之發生情形 (六十九年農委會計畫報告)。「臺灣植物病害名彙」上亦僅登錄柑桔及茶樹白紋羽病之名稱而已⁽¹⁾。因此，本文謹就枇杷白紋羽病，描述其病徵並研究病原菌之生長特性及其子囊孢子之釋放與發芽等，以供日後白紋羽病診斷之依據及進一步研究之參考。

材料與方法

一、田間觀察與病原菌分離

自七十四年十月在卓蘭發現罹患白紋羽病的枇杷園後，即以雜草覆蓋部份罹病植株的莖基部。嗣後兩年，每隔三個月，前往該果園觀察病害的發展。另自田間採取罹患白紋羽病的枇杷根。携回研究室。將一部份病根洗淨，再以氯水 (5.25% 次氯酸鈉) 行表面消毒 10 秒鐘，然後切取長有白色菌絲的病根組織，在 2% 水瓊脂平板上分離病原菌。另一部份病根則分置於內裝潮濕細砂之有蓋塑膠盆中，置走廊或溫室遮陰處，誘導其形成子囊殼 (perithecia) 及分生孢子 (conidia)。

二、病原性測定

將分離所得的菌株分別培養於高壓殺菌過的麥粒，鋸木屑及馬鈴薯加土壤 (馬鈴薯、砂質壤土，1:4, w/w) 等三種不同的培養基質當中。在 24°C 黑暗的條件下，培養四週，供作接種源。供試植物係溫室內種在 10 吋素燒盆中之二年生「茂木」種枇杷。接種時，先將盆沿一側的表土挖出，使成一深約 10 公分的土穴，再埋入培養好的接種源，每盆 200 公克，每處理 5 盆。並以埋入同重之各種無菌培養基質之處理作對照。接種後的枇杷仍置於溫室中 (25~35°C)，每日澆水一次，觀察並記

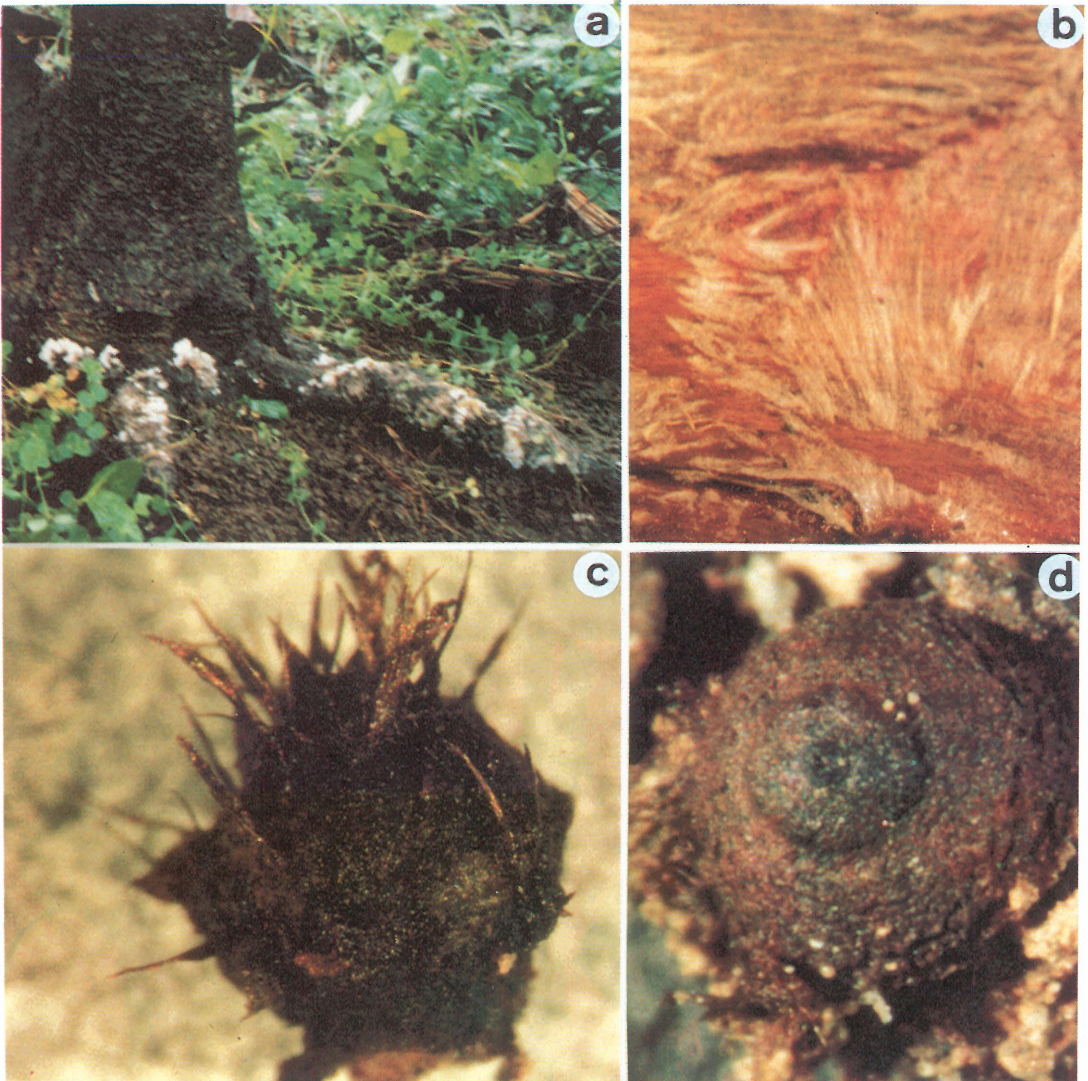
1. 臺灣省農業試驗所 研究報告第 1421 號。本研究承行政院農委會之經費補助，特致謝忱。

2. 本所植病系研究員，助理。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

錄病勢之發展，並重新分離接種之病原菌。病害程度以根腐指數（0 = 無病徵；1 = 根部受感染，但地上部無病徵；2 = 植株輕微萎凋；3 = 植株死亡，計算各株發病指數之加權平均值）表示之。

三、溫度對病原菌菌絲生長之影響

將病原菌培養在 PDA 平板上 5 天，切取菌落邊緣直徑 0.5 公分的新鮮菌絲塊，接種在 PDA 上。置不同溫度（8~36°C，間隔 4°C）之定溫箱中培養 7 天，量取其菌落直徑，每處理 4 重覆。



圖一、枇杷白紋羽病之病徵及病原菌之子囊殼

- a. 菌絲在根部表面蔓延。 b. 菌絲在根部皮層內擴展。
c. 成熟的子囊殼頂端生有許多剛毛。 d. 老化的子囊殼，剛毛脫落，頂端呈現盾狀構造，中央有口孔。

Fig 1. Symptoms of white root rot of loquat and perithecia of the pathogen. a. White mycelia of the pathogen on root surface; b. White mycelia of the pathogen aggregated on cortex of root; c. mature perithecium with many black rigid setae; d. Aged perithecium with a clypeus and an ostiole in the center.

四、水分潛勢對病原菌菌絲生長的影响

將不同濃度的氯化鉀 (kcl) 溶液，加入玉米粉瓊脂培養基 (Corn meal agar, Difco) 製成平板，使成 -1.0, -5.6, -10.0, -14.4, -18.9, -23.2, -27.6, -32.0, -36.4, -40.8, -45.3, -54.2bars 等不同水分潛勢 (water potential) ⁽⁸⁾。然後將直徑 0.5 公分的新鮮菌絲塊接種於 PDA 平板上，置 24°C 之黑暗定溫箱中培養 7 天，量取其菌落直徑。每處理 4 重覆。

五、子囊孢子的放射與發芽

自七十六年六月起，每隔三天挑取枇杷病根上經人工誘導形成的子囊殼 6 個，分別置於 6 個裝有 2% 水瓊脂的培養皿蓋內，子囊殼即釋放其孢子於水瓊脂平板上。逐日計算孢子的釋放量與發芽率。

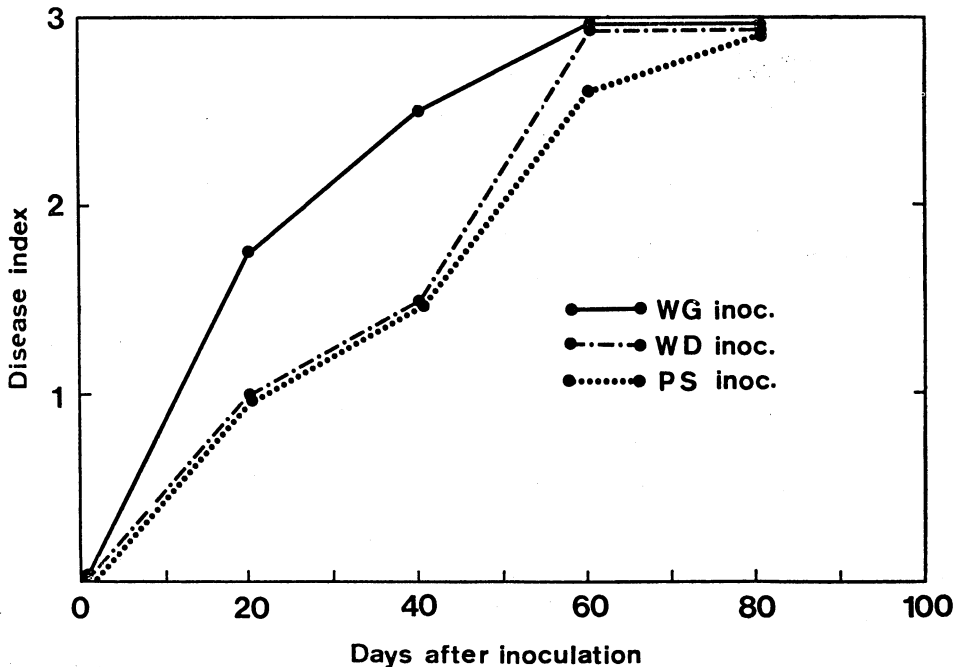
結 果

一、病 徵

白紋羽病菌最初先危害枇杷根部，產生大量白色的菌絲並在根部的皮層間蔓延，最後遍及整個根系 (圖一, b)。造成罹病植株的葉片逐漸黃化，褐變，繼而落葉，表現典型的萎凋型病徵。爾後，菌絲沿皮層部向莖部擴展，在田間，甚至達到離地約 1 公尺高的樹幹皮層內。在雨季潮濕的環境下，病原菌可自根部皮層生長至根表面，形成一層緻密的白色菌絲 (圖一, a)。在罹病果園內，由於病原菌在土壤中傳播，可形成一片輻射狀的發病區 (disease patch)。

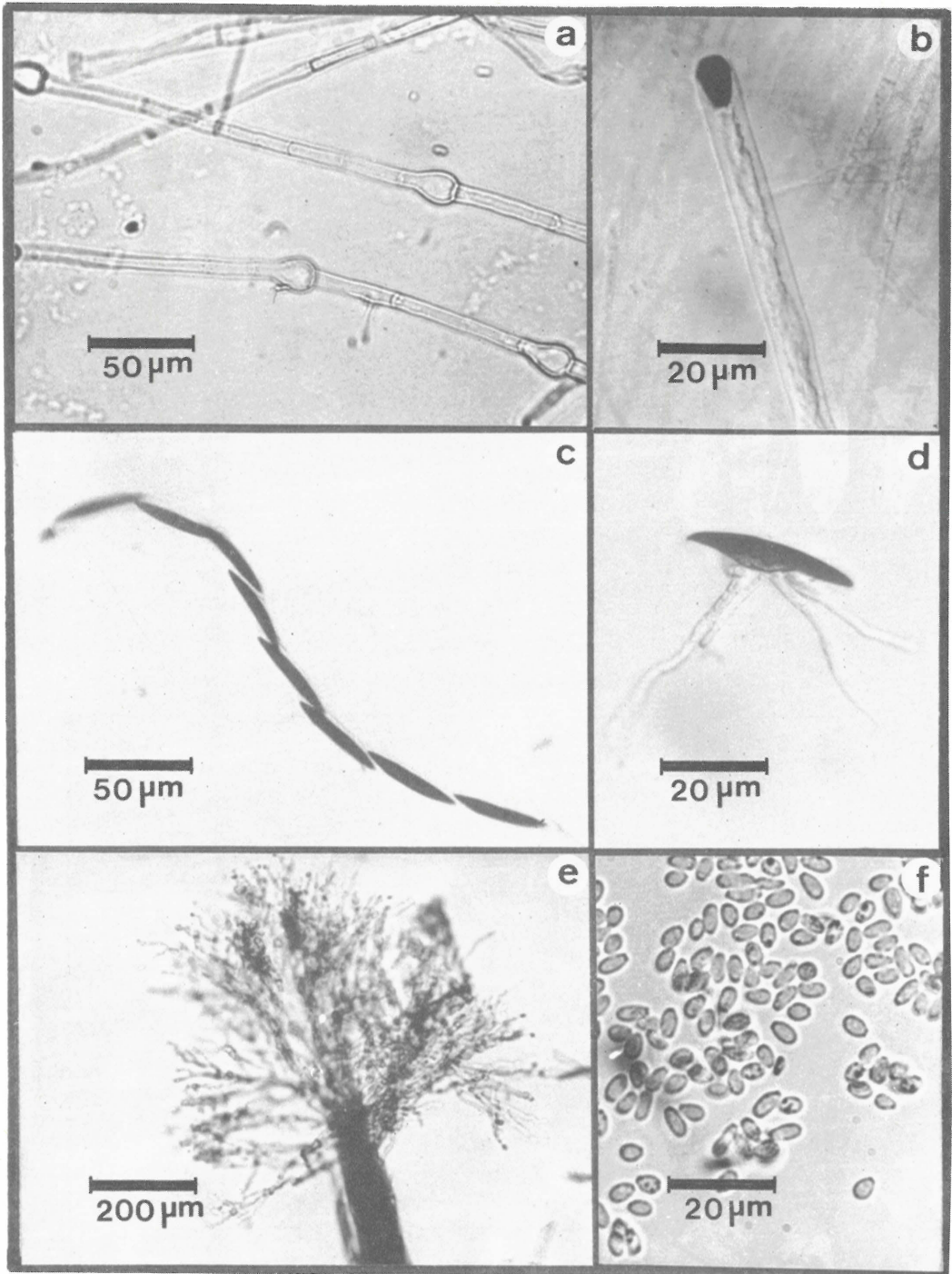
二、病原性測定

以麥粒，鋸木屑或馬鈴薯加土壤作為培養基質所製成的白紋羽病菌接種源，皆可使枇杷致病，而以麥粒菌種的效果最好，病徵表現最為迅速。但接種 80 天後，各接種源皆可使接種之枇杷死亡，而對照處理仍然健康 (圖二)。重新分離接種死亡的枇杷植株，可獲得與接種源相同的病原菌。



圖二、枇杷幼苗接種白紋羽病菌的發病情形

Fig 2. Disease indexes of loquat plantlets inoculated with mycelia of *Rosellinia necatrix*. Disease indexes were determined by a scale of 0=Symptomless; 1=Root infected but symptomless aboveground; 2=Mild wilt; 3=Dead. WG inoc.: Wheat grain inoculum; WD inoc.: Wood dust inoculum; PS inoc.: Potato, soil (1:4, w/w) inoculum.



圖三、枇杷白紋羽病菌

- a. 菌絲。 b. 以 Melzer's 試劑染成藍色的子囊頂端。 c. 子囊及子囊孢子。
 d. 子囊孢子發芽。 e. 分生孢子柄束。 f. 分生孢子。

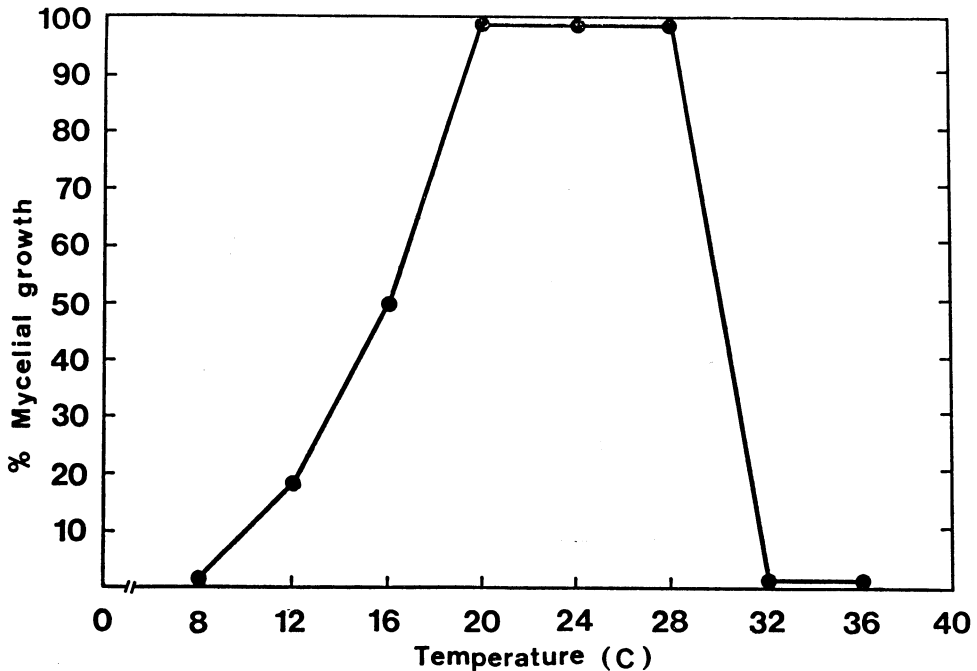
Fig 3. The pathogen of white root rot of loquat (*Rosellinia (Dematophora) necatrix*): a. Mycelia; b. Apical apparatus of ascus stained blue by Melzer's reagent; c. Ascus and ascospores; d. Germination of ascospore; e. Synnema; f. conidia.

三、病原菌的形態

病原菌的菌絲初呈無色，壁平直，寬約 $5\sim 8\mu$ ，罹病組織上聚生成白色菌絲層。在瓊脂培養基上，菌絲生長至後期，細胞壁會加厚並轉呈褐色，同時形成許多黑色不規則形的薄片狀菌核。部份菌絲在隔膜處有膨大現象（圖三，a），為本菌在形態上的重要特徵。罹病組織置於黑暗潮濕的環境下，經三週後，會在根表面產生大量的孢柄束（Synnemata）及分生孢子。孢柄束黑色，叢生，頂端著生大量的分生孢子（圖三，e）。分生孢子無色，半透明，橢圓形，大小為 $3.8\sim 5.6\times 2.8\sim 3.8\mu$ （圖三，f）。再經數月後，約在每年三月中旬開始產生子囊殼，至五月下旬陸續成熟。子囊殼著生在一層由菌絲組成的 hyhal subiculum 上，而非埋生於子座（stroma）或植物組織內。初生子囊殼內充滿特化的菌絲體，呈黃褐色黏稠狀。成熟的子囊殼呈黑褐色，碳質，圓球形，直徑為 $1.7\sim 2.3\text{mm}$ 。殼頂有盾狀物（clypeus），中央有孔口，頂上並生有許多黑色硬質的剛毛（setae）（圖一，C，d）。殼內為子囊與側絲混生；子囊圓柱形，壁膜單層，透明，成熟後亦不溶解，其頂端以 Melzer's 試劑染色，呈深藍色反應（圖三，b），子囊大小為 $250\sim 380\times 8\sim 10\mu$ ，內有 8 個子囊孢子（圖三，c）。子囊孢子深褐色，長形，兩端尖細，單細胞，大小為 $36\sim 56\times 6\sim 8\mu$ 。在其縱軸位置的中段，有一條發芽縫（germ slit），長度約為子囊孢子全長的三分之一（圖三，d）。依據上述特徵，枇杷白紋羽病菌鑑定為 *Rosellinia (Dematophora) necatrix* Prill。

四、溫度對病原菌菌絲生長的影響

病原菌於 $12\sim 28^\circ\text{C}$ 皆可生長，而以 $20\sim 28^\circ\text{C}$ 生長最佳。 12°C 以下或 28°C 以上，則本菌之生長受抑制（圖四）。



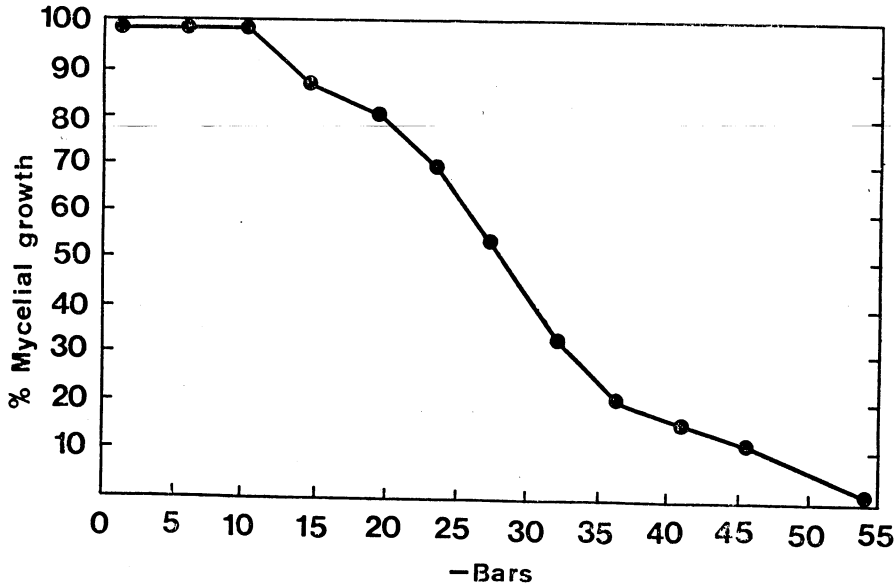
圖四、溫度對枇杷白紋羽病菌菌絲生長的影響

Fig 4. Effect of temperature on the mycelial growth of *Rosellinia necatrix*. Measures were taken 7 days after inoculation.

五、水分潛勢對病原菌菌絲生長的影響

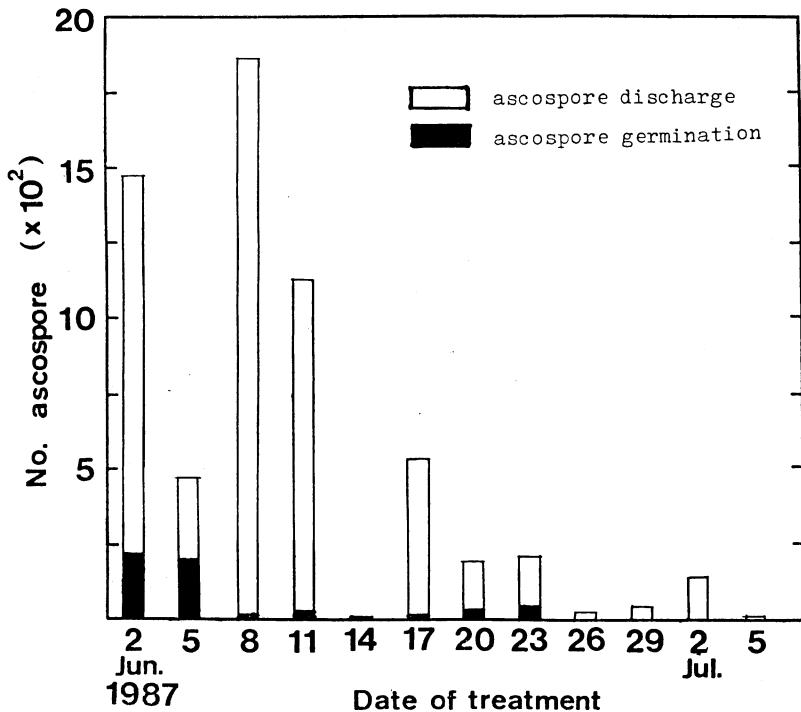
病原菌在不同水分潛勢的玉米粉瓊脂培養基上，其菌絲生長的長度隨水分潛勢的下降而減少。水

分潛勢在-10 bars 以下，菌絲生長開始降低，-25~-30 bars 僅有50%，而-54 bars 以下，則完全抑制（圖五）。是項結果表示本菌利於潮濕的環境下生長，對乾燥的忍受能力較差。



圖五、水分潛勢對枇杷白紋羽病菌菌絲生長的影響

Fig 5. Effect of osmotic water potential on the mycelial growth of *Rosellinia necatrix*. Water potential was adjusted with KCl. Measures were taken 7 days after inoculation.



圖六、枇杷白紋羽病菌子囊孢子在不同時間的釋放量與發芽率

Fig 6. The amounts of ascospore released and germination of *Rosellinia necatrix*. Each column stands for the results of six perithecia treated on the same date.

六、子囊孢子的放射與發芽

子囊殼黏附在裝有2%水瓊脂的培養皿蓋內，經20—30分鐘後，即開始自動噴射子囊孢子。每次處理之各個子囊殼，其孢子釋放量及發芽率不具規則性。所有處理之子囊殼，其孢子釋放的期限，至多5日。當子囊殼停止釋放孢子後，殼內尚留有許多成熟的孢子。由處理的結果得知，6月2日，5日，8日，11日，17日等次之處理，其孢子的釋放量較多，6個子囊殼的釋放總量各為1,446, 473, 1,483, 1,136, 538個子囊孢子。其餘時間之處理，其孢子釋放量均偏低，6個子囊殼的釋放總量均在200個子囊孢子以下。而各子囊殼所釋放的孢子在2%水瓊脂上的發芽率最高為35%，大部份在10%以下，甚且完全不發芽（圖六）。

討 論

兩年之田間調查，除原在卓蘭地區發現枇杷白紋羽病外，亦僅在臺中縣之和平鄉及南投縣之信義鄉發現橫山梨、葡萄及桃樹的白紋羽病。其他果樹在田間萎凋症狀的原因不詳，尚待鑑定。

白紋羽病菌 (*Rosellinia necatrix*) 在分類上屬於 Xylariaceae 科，Martin 氏曾將部份之 *Rosellinia spp.* 歸併於與其同科之 *Hypoxyylon* 屬，白紋羽病菌 (*R. necatrix*) 即為其中一例⁽⁶⁾。該氏認為這些菌的子囊殼 (perithecium) 是包埋在一明顯的硬殼子座 (Stroma) 內。唯此觀點，未被普遍接受。一般植病學者仍稱白紋羽病菌為 *R. necatrix*。根據本文作者的觀察，亦證實枇杷白紋羽病菌的子囊殼並未埋生於子座內，而僅是具有一層較厚的碳質子囊殼壁，並著生在一層黑色菌絲層 (hyphal subiculum) 上。

枇杷白紋羽病菌迄未能在田間或數種人工培養基上產生子囊殼，僅能取枇杷病根在室內以人工誘導方式促其形成。其原因可能與濕度或其他因子有關。我們曾用19個單子囊孢子的菌株混合培養在消毒過的麥粒、稻穀、玉米、蔗渣或枇杷枝條上，在室內經半年之培養，亦未能使其產生子囊殼。但其中培養在枇杷枝條上者，可產生少量的孢柄束及分生孢子，此亦證實有性世代與無性世代的關係。

病原菌的分生孢子在本試驗過程中，從未見其發芽。誘導形成的病原菌子囊殼僅在六月間釋放少量之子囊孢子，而且發芽率大部份偏低。而留在子囊殼內未釋放的子囊孢子在2%水瓊脂培養基上亦未見其發芽。由此推測白紋羽病菌的孢子在病害的發生與傳播上，或許作用不大。而病原菌在較高的水分潛勢 (water potential) 下生長較佳，又本菌的菌絲在潮濕的土壤裡可見其作數公分的移行。因此，罹病組織可能才是白紋羽病菌殘存的場所與感染的來源。

引用文獻

1. 未具名·1979·「臺灣植物病害名彙」。臺北市。404 p.
2. Muller, E., and von Arx, J. A. 1973. Pyrenomycetes: Mliolales, Coronophorales, Sphaeriales. Pp. 121-122. In Ainsworth, C. C., Sparrow, F. K. and Sussman, A. S. (eds.) The Fungi. IV A. Academic Press, New York.
3. Hansen, H. N., Thomas, Harold E. and Thomas, H. Earl 1937. The connection between *Dematophora necatrix* and *Rosellinia necatrix*. Hilgardia 10: 561-565.
4. Harold, E. T., Hansen, H. N., and Thomas, H. E. 1934. *Dematophora* root rot. Phytopathology 24: 1145.
5. Hollday, P. 1980. "Fungus diseases of tropical crops" pp. 433-441. University Press Cambridge.
6. Martin, P. 1967. Studies in the Xylariaceae: II. *Rosellinia* and the Primo-cinerea section of *Hypoxyylon*. J. S. African Bot. 33: 315-328.
7. Raabe, R. D., and Zentmyer, G. A. 1955. Susceptibility of avocades to *Dematophora* root rot. Pl. Dis. Repr. 39: 509-510.
8. Robinson, R. A., and Stokes, H. R. 1949. Tables of osmotic and activity coefficients of electrolytes

in an aqueous solution at 25 C. Favad. Soc. Trans. 45 : 612—624.

9. Roger, J. D. 1979. The Xylariaceae : Systemic, Biological and Evolutionary aspects. Mycologia 71 : 1—42.
10. Szejnberg, A., and Madar, Z. 1980. Host range of *Dematophora necatrix*. the cause of white root rot disease in fruit trees. Pl. Dis. 64 : 662—664.

White Root Rot of Loquat and Its Pathogen¹

Yi-Sheng Lin and Chung-Hang Duan²

Summary

White root rot of loquat caused by *Rosellinia (Dematophora) necatrix* was first found in Cholan, Taiwan in 1985. The infected plants appeared leaf yellowing in the beginning and ended up wilt of the trees. Symptoms were reproduced in the greenhouse within 60~80 days after inoculation of the loquat plantlets with *R. necatrix*. The conidia and perithecia of the pathogen were not observed in the field, but, they were induced on the infected roots after they were incubated in a moist chamber under shade for months. The conidia did not germinate on water agar and potato dextrose agar. The ascospores discharged on water agar from each perithecium had 0~35% germination rate. Optimum temperature and osmotic water potential for fungal growth in vitro were 20~28 C and 0~-10 bars, respectively. Temperature below 8 C or above 32 C or osmotic water potential below -54 bars completely inhibited the fungal growth.

1. Contribution No. 1421 from Taiwan Agricultural Research Institute. This study was supported in part by the Council of Agriculture, Executive Yuan, R. O. C.

2. Plant pathologist and assistant, respectively, Department of Plant Pathology, Taiwan Agricultural Research Institute, Wu-feng 41301, Taichung, Taiwan, R. O. C.