

靈芝引起的檳榔基腐病

蔡志濃¹ 安寶貞^{2,*} 林筑蘋³ 蔡惠玲⁴

摘要

蔡志濃、安寶貞、林筑蘋、蔡惠玲。2018。靈芝引起的檳榔基腐病。台灣農業研究 67(3):318–322。

自 2006–2012 年由台灣 7 處果園 (包括高雄市、屏東內埔與萬巒，及南投草屯) 分離為害檳榔的靈芝病原菌，共獲得 32 菌株。在田間，靈芝為害檳榔的根系與莖基部，造成根部與莖基部組織褐變腐敗，終至樹木死亡。罹病的檳榔樹基部與根系，則長出子實體-擔子果 (basidiocarp)。擔子果具短柄或無，正面菌蓋 (pileus) 褐色、紅褐色或暗褐色，具假漆狀光澤；背面菌孔面 (pore surface) 淡黃色或淡灰黃色，菌孔圓形或橢圓形。利用太空包木屑培養 (plastic bag sawdust culture)，也可以誘導靈芝菌形成擔子果，釋放擔孢子，惟形成的擔子果較田間自然生長者較小。以小麥-燕麥培養基培養靈芝菌種，接種後可以誘發接種之檳榔組織褐變，並可再分離到原接種靈芝菌，完成病原性測定。參考前人文獻，比較檳榔靈芝菌之子實體、菌孔及擔孢子的形態與大小，以及上網 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 資訊庫比對 ITS DNA (ITS1-5.8S rDNA-ITS2) 序列，證實為害台灣檳榔的靈芝菌為狹長孢靈芝 (*Ganoderma boninense*)。

關鍵詞：檳榔、狹長孢靈芝、*Ganoderma boninense*。

檳榔 (betel palm)，學名 *Areca catechu*，屬棕櫚科多年生常綠喬木，原產馬來西亞一帶 (Wikipedia 2018)。依據行政院農業委員會農糧署近年記載，我國目前之檳榔栽培面積約 5 萬公頃，主要分布在屏東、南投、嘉義、花蓮及台東等地 (<http://www.afa.gov.tw/>)。在檳榔園內偶而會見到植株枯萎與死亡情形，降雨後亦可見靈芝之子實體-擔子果 (basidiocarp) 自樹幹基部長出 (圖 1)；將罹病樹幹基部切開，可見內部組織褐色腐敗，發病組織與健康組織間之區別不明顯，嚴重時全株死亡，死亡植株的樹幹基部仍會繼續長出靈芝擔子果。田間觀察到的靈芝擔子果具短柄或無，菌蓋 (pileus) 正面褐色、紅褐色或暗褐色，具假漆狀光澤，背面菌孔面 (pore surface) 淡黃色或淡灰黃色。菌蓋大小 8.5–18.0 cm × 6.6–10.5 cm × 2.0–5.0 cm，平均值 12.7 cm

× 8.5 cm × 3.5 cm (圖 2)。



圖 1. *Ganoderma boninense* 在田間為害檳榔樹根部與莖基部，產生子實體之情形。

Fig. 1. Young basidiocarps of *Ganoderma boninense* produced on the root and basal stem of an infected betel palm tree.

投稿日期：2017 年 12 月 29 日；接受日期：2018 年 2 月 24 日。

* 通訊作者：pjann@tari.gov.tw, pjann5039@gmail.com

¹ 農委會農業試驗所植物病理組副研究員。台灣 台中市。

² 農委會農業試驗所植物病理組前研究員兼組長。台灣 台中市。

³ 農委會農業試驗所植物病理組助理研究員。台灣 台中市。

⁴ 農委會農業試驗所植物病理組研究助理。台灣 台中市。

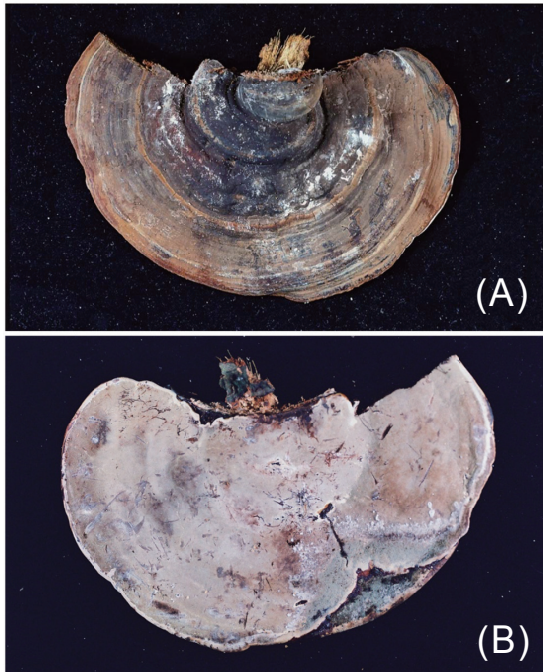


圖 2. 田間採集之 *Ganoderma boninense* 成熟子實體的背面 (A) 與腹面 (B)。

Fig. 2. A mature basidiocarp of *Ganoderma boninense* collected from a diseased betel palm tree in the field showing upper side pileus (A) and lower side pore surface (B).

採集檳榔罹病組織與靈芝擔子果，採集地點分別包括高雄市 (2006 年)、屏東內埔 (2007、2011、2012 年) 與萬巒 (2010 年)、及南投草屯 (2012 年) 等 7 處檳榔園。將罹病組織及靈芝擔子果菌體切成 0.5 cm × 0.5 cm 大小，經次氯酸鈉水溶液 (0.5% NaClO) 滅菌 1 min 後，將罹病組織與擔子果菌體移置於人工製作之馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar; PDA) 平板培養基上，放置於室溫 24–28°C 下培養，分離病原菌。經 2–3 d 後，具有扣子體 (clamp connection) 及鹿角菌絲 (trichocysts) 的菌體自分離組織之邊緣長出，經單菌絲分離後，共獲得 32 菌株 (包括分離自罹病菌株組織 18 菌株與擔子果菌株 14 菌株)。分離自罹病組織與擔子果之菌株，在 PDA 培養基上的培養形態特徵完全相同，菌落初期為白色，菌落背面為淡黃色，逐漸轉為褐色至暗褐色，培養基嚴重龜裂 (圖 3)。在 PDA 上之菌絲平滑，具扣子體，菌落表面長有大量的鹿

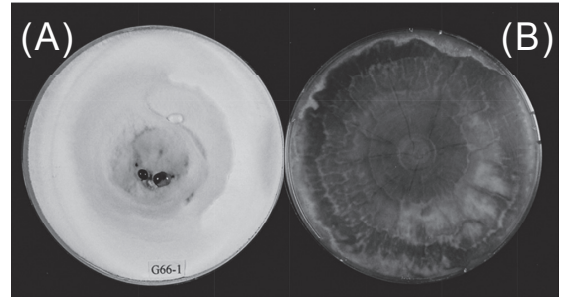


圖 3. *Ganoderma boninense* isolate R206008 於 24°C 在馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar; PDA) 培養基上生長 30 d 的菌落形態。正面 (A) 與背面 (B)。

Fig. 3. Characteristics of colony morphology of a *Ganoderma boninense* isolate R206008 grown on potato dextrose agar (PDA) at 24°C for 30 d showing upper surface (A) and under surface (B).

角菌絲；菌絲直徑平均 2.25–(2.73)–3.75 μm；該菌不具有厚膜孢子。利用太空包木屑培養 (plastic bag sawdust culture) 來促進供試檳榔靈芝菌株形成擔子果，太空包 (24 cm × 18 cm × 5 cm) 由農委會農業試驗所植物病理組菇類研究室提供，每包太空包約含 500 g 介質，其配方 (體積比) 為，粗木屑 (saw dust)：細木屑：米糠 (rice bran)：0.25% CaCO₃ = 6：3：1.5：0.1，攪拌均勻後，再加水攪拌使含水量約為 65%。供試菌株，則包括 R206008 與 R210222 (分別分離自高雄檳榔罹病組織與屏東萬巒檳榔靈芝子實體)。靈芝菌先在 PDA 上於 24°C 無光照培養 5 d，每個太空包接種 5 塊菌塊 (7.5 mm × 7.5 mm × 3.0 mm)，置於 24°C 下無光照培養，等菌絲長滿整個太空包時 (約需 1–1.5 mo)，除去頂端塑膠袋外膜，放置於溫室 (28–32°C) 消毒過河沙或土壤上，並以泥炭苔 (peat moss) 保濕。約 1–2 wk 後太空包內的靈芝菌開始出菇，長出擔子果，約 2–3 wk 後擔子果成熟並開始釋放擔孢子 (basidiospore)。擔子果較田間觀察者較小，大小 7.0–(8.3)–10.0 cm × 5.5–(6.7)–7.5 cm × 1.2–(1.5)–2.5 cm；具短柄或無，菌蓋褐色至紅褐色，具假漆狀光澤。腹面菌孔面淡黃或淡灰色，具圓形或近圓形菌孔 (pore)，孔徑大小 180–(211.5)–250 μm × 130–(155.5)–180 μm (圖 4A)，內長有擔子 (basidium)，每擔子上長有 4 個擔孢子。擔孢子黃褐色，狹長擬紡錘型 (fusoid)，大小 11–(11.58)–12 μm

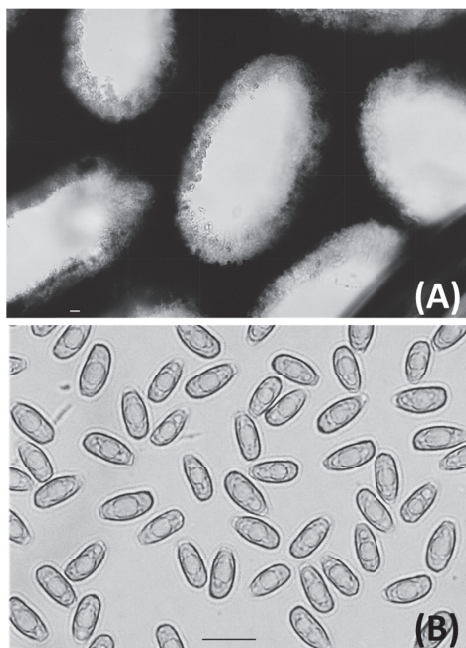


圖 4. 人工培養 *Ganoderma boninense* 菌株 R206008 於太空包上形成子實體，產生菌孔 (A) 與擔孢子 (B) 之情形。Bar = 10 μm 。

Fig. 4. Artificial production of basidiocarps of a *Ganoderma boninense* isolate R206008 on sawdust medium. Formation of pores (A) and basidiospores (B). Bar = 10 μm .

$\times 4$ -(4.78)–6 μm ，孢子長寬比平均 (L/W) 2.0–(2.46)–2.9 (圖 4B)。測量溫度對檳榔靈芝之菌絲生長之影響，將供試菌株 R206008 與 R210222 於 24 $^{\circ}\text{C}$ 培養在 PDA 上 5 d，然後將菌絲塊 (7.5 mm \times 7.5 mm \times 3.0 mm) 移植於 PDA (直徑 9 cm) 的邊緣，放置於 8、12、16、20、24、28、32、35 及 36 $^{\circ}\text{C}$ ，每處理 2 重複，結果顯示檳榔靈芝菌之菌絲生長溫度範圍為 12–36 $^{\circ}\text{C}$ ，最適生長溫度為 24–28 $^{\circ}\text{C}$ (圖 5)。對照 Steyaert (1975) 與 Ho & Nawawi (1985) 發表的報告，從台灣檳榔上分離的菌株，無論菌蓋、菌孔、或擔孢子方面，其形態、色澤及大小部分均十分相符。尤其擔孢子非常狹長，長寬比平均達 2.46，因此菌種的形態鑑定為 *Ganoderma boninense* Pat.，中文名“狹長孢靈芝”。

在病原性測定方面，利用 Ko & Kunimoto (1986) 開發的小麥-燕麥培養基 (wheat-oat medium) 來培養靈芝病菌，將供試靈芝菌菌株

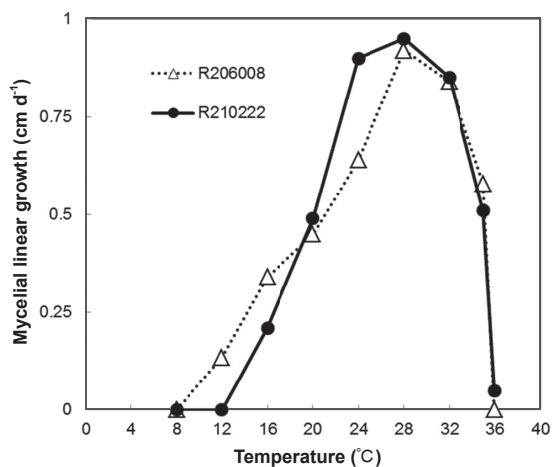


圖 5. *Ganoderma boninense* 菌絲在馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar; PDA) 培養基於不同溫度下之直線生長情形。

Fig. 5. Effect of temperatures on mycelial linear growth of *Ganoderma boninense* on potato dextrose agar (PDA).

R206008 與 R210222 於 24 $^{\circ}\text{C}$ 下培養 1–3 mo 後為接種源，供接種檳榔幼苗 (1 年生以下)。接種時，參考 Ann & Ko (1988) 開發的方法，將幼苗葉柄基部經酒精 (70% alcohol) 消毒後，用解剖刀輕輕刮去表面組織，將約 1–2 g 的接種源覆蓋於傷口上，並用透氣帶 (MicroporeTM, 3M Company, MN, USA) 固定，再以鋁箔紙包覆，置於溫室陰涼處 (24–28 $^{\circ}\text{C}$)，每菌株接種 5 株。1 mo 後檢視傷口，結果顯示有 30% 接種傷口褐變，直徑約 2–3 cm，罹病組織可以分離到原接種病原菌，而沒有傷口接種的對照處理則沒有發病。

在分子鑑定方面，進行 ITS1-5.8S rDNA-ITS2 (簡稱 ITS) 核酸序列定序與分析比對。將檳榔靈芝菌分離得到的菌株 7 株 (含 R206008 與 R211005 菌株)，培養於上覆玻璃紙 (cellophane) 的 PDA 培養基上，於 24 $^{\circ}\text{C}$ 下培養 7 d 後，收取菌絲。經冷凍乾燥後，抽取 DNA，再利用 its5 與 its4 引子對 (White *et al.* 1990) 以聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction; PCR) 進行增幅 ITS rDNA 及其序列直接定序，此部分委託昕穎生物科技公司 (Seeing Bioscience Company, Taipei, Taiwan) 進行。結果定序出一長度 597 bp 的核酸序列，所有 7 株靈芝菌的相同度 (identity) 為 99.16–100%。此外，將 R206008 與

R211005 菌株的核酸序列上傳到 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 網站，利用 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 搜尋軟體與 GenBank 資料庫收錄的核酸序列進行比對，最相近的菌種 (species) 與菌株為 *Ganoderma boninense* isolate GB001，與其 ITS 核酸序列 (Accession number KX092000.1) 相同度達 99.5%，僅有 3 個鹽基相異。此外，並將菌株 R206008 與 R211005 的基因序列的資訊登錄於 GenBank 資料庫中，Accession number 分別為 MG200172 與 MG200173。

Ganoderma boninense 是東南亞國家油棕 (oil palm) 的重要病原菌 (Lim *et al.* 1992)，造成很大的經濟損失。本試驗經由靈芝的形態特徵，比較 Steyaert (1975) 及 Ho & Nawawi (1985) 等所描述狹長孢靈芝之形態特徵與 ITS 核酸序列比對，證實為害台灣檳榔的靈芝病害亦由該菌 (狹長孢靈芝) 引起。

誌謝

本文承蒙柯文雄教授修正英文，謹此誌謝。

引用文獻

- Ann, P. J. and W. H. Ko. 1988. Root rot of macadamia caused by *Ganoderma lucidum* and *Kretzschmaria clavus* in Taiwan. *J. Agric. Res. China.* 37:424–429.
- Ho, Y. W. and A. Nawawi. 1985. *Ganoderma boninense* Pat. from basal stem rot of oil palm (*Elaeis guineensis*) in Peninsular Malaysia. *Pertanika* 8:425–428.
- Ko, W. H. and R. K. Kunimoto. 1986. A rapid method for screening macadamia seedlings for resistance to *Kretzschmaria clavus*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 52:336–337.
- Lim, T. K., G. F. Chung, and Ko, W. H. 1992. Basal stem rot of oil palm caused by *Ganoderma boninense*. *Plant Pathol. Bull.* 1:147–152.
- Steyaert, R. L. 1975. *Ganoderma boninense*. *CMI Descr. Pathog. Fungi Bact.* 45:444.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes for phylogenetics. p.315–322. *in: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.* (Innis, M.A., D. H. Gelfand, J. J. Snirsky, and T. J. White, eds.) Academic Press. San Diego, CA. 482 pp.
- Wikipedia. 2018. *Areca catechu*. https://en.wikipedia.org/wiki/Areca_catechu (visit on 2/24/2018)

Basal Stem Rot of Betel Palm Caused by *Ganoderma boninense* in Taiwan

Jyh-Nong Tsai¹, Pao-Jen Ann^{2,*}, Chu-Ping Lin³, and Hui-Ling Tsai⁴

Abstract

Tsai J. N., P. J. Ann, C. P. Lin, and H. L. Tsai. 2018. Basal stem rot of betel palm caused by *Ganoderma boninense* in Taiwan. *J. Taiwan Agric. Res.* 67(3):318–322.

From 2006 to 2012, a total of 32 isolates of *Ganoderma* sp. were isolated from betel palm in seven orchards located at Kaohsiung City, Neipu and Wanluan of Pingtung County, and Caotun of Nantou County in Taiwan. In the field, *Ganoderma* could infect root and stem base of betel palm, causing root and stem base brown rot and necrosis, and eventual death. Basidiocarps emerging from stem base of the diseased betel palm were stipitate, or sessile. Upper surface of pileus was brown to dark, red-brown, and laccate. Pore surface was pale yellow to grey and pores were circular to oval. Basidiocarps could be produced when cultured on sawdust medium, but were smaller in size than those grown in the field. Inoculation of purified *Ganoderma* isolates on betel palm showed brown rot symptom, and the same *Ganoderma* was reisolated, confirming the pathogenicity. Based on morphological characteristics, including fruiting body, pore surface and basidiospores, and result of ITS region (ITS1-5.8S rDNA-ITS2) sequence similarity searching, done via Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) provided from National Center for Biotechnology Information (NCBI), *Ganoderma* infecting betel palm in Taiwan was identified as *Ganoderma boninense*.

Key words: Betel palm, *Ganoderma boninense*.

Received: December 29, 2017; Accepted: February 24, 2018.

* Corresponding author, e-mail: pjann@tari.gov.tw, pjann5039@gmail.com

¹ Associate Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

² Former Research Fellow and Director, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

³ Assistant Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

⁴ Research Assistant, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.