

# 牛樟苗期葉部病原真菌族群初探

劉則言<sup>1</sup>、張東柱<sup>1</sup>、吳家禎<sup>2</sup>

## 前言

牛樟(*Cinnamomum kanehirai* Hay.)為臺灣特有原生闊葉樹種，樹形優美且木材質地良好，主要分布在臺灣中低海拔山區，可被用於木材加工利用、精油萃取等，具有高經濟價值，為臺灣闊葉五木之一。由於牛樟樹在自然界中的族群分布不多，故現在國內多透過種子與扦插的方式來進行苗木的培育和篩選，保存臺灣特有物種並作為國內造林之用。

林木幼苗時期對病原菌的抵抗力較弱，無論是根、莖、葉，一旦受到病原菌的侵染，都可能影響植物全株的生長，甚至造成整個苗圃品質與產量的下降。國內對於牛樟種植過程所遭遇之問題，過去已有許多病害相關的研究，但隨著近年來氣候變遷造成的環境變化，可能影響病原菌的分布範圍、族群消長、侵染植物的時期，以及感染後對植物影響的嚴重度等，顯示植株在生長過程中所面臨的病害威脅，勢必將比以往更為嚴峻，甚至有些過去未被報導過的微生物，在環境變化的過程中，也可能因而轉變為潛在的病原菌，這些都是值得去關注的問題。

本文將以臺灣特有關葉樹種—牛樟為探討對象，回顧國內過去牛樟病害的相關研究，同時經由牛樟苗圃的實地調查與病原菌分離培養，初步勾勒牛樟感病葉片上真菌族群的存在情況，除了可與過去牛樟葉部病害的發生紀錄相互比對外，亦探討潛在的病原

真菌和可能的內生真菌，提出其可能對苗木生長過程所產生的影響，作為未來牛樟病害研究和耐抗病品系篩選之參考。

## 牛樟病原性真菌和內生真菌研究現況

國內過去對於牛樟病害的研究，依病原菌對樹木感染的部位，可分為葉部、莖部及根部病害。其中有些病害僅在苗期影響嚴重，又將之歸類為牛樟苗期病害。牛樟葉部病害主要包含由病原菌*Colletotrichum gloeosporioides*引起之炭疽病、*Hinomyces moricola*引起之輪斑病、病原菌*Cylindrocladium clavatum*引起之葉枯病。莖部病害主要有*Antrodia cinnamomea*引起之牛樟心材腐朽和*Calonectria kyotensis*引起之扦插苗黑腐病，後者可同時為害扦插苗的地部和地下部，造成黑腐的病徵。根部的病害主要有*Phellinus noxius*引起之褐根腐病以及*Pythium splendens*引起之扦插苗根腐病(表一)。

除了上述已被證實對牛樟具有侵染能力的病原真菌外，另外有一類存活於牛樟植株內，但不會造成寄主植物產生病徵的微生物，也就是所謂的「內生菌」。在牛樟內生菌的研究方面，目前所知仍相當有限，有少數研究分別對牛樟枝條和根部的內生真菌存在情形進行研究。結果發現牛樟莖部常見的內生真菌共涵蓋13科22屬，主要為*Pestalotiopsis*、*Colletotrichum*、*Nigrospora*和*Phomopsis*四屬真菌；此外，已知的牛樟根部內生菌則包含*Humicola fuscoatra*、*Cladosporium*

林業試驗所、<sup>1</sup>森林保護組、<sup>2</sup>育林組

表一 臺灣牛樟病害相關研究

牛樟病害名稱	病原真菌	感染部位	資料來源
炭疽病	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	葉、枝條、主莖	張東柱等，1997
輪斑病	<i>Hinomyces moricola</i>	葉	張東柱等
葉枯病	<i>Cylindrocladium clavatum</i>	葉	張東柱，1992
黑腐病	<i>Calonectria kyotensi</i>	葉、枝條、主莖、根	張東柱，1991
牛樟心材腐朽	<i>Antrodia cinnamomea</i>	主幹	Chang & Chou, 1995
褐根腐病	<i>Phellinus noxius</i>	根、根基部	張東柱等，1997
扦插苗根腐病	<i>Pythium splendens</i>	扦插苗根部	張東柱，1992

表二 牛樟內生真菌相關研究

內生真菌	存在部位	資料來源
<i>Pestalotiopsis</i> spp. <i>Guignardia</i> spp. <i>Colletotrichum</i> spp. <i>Nigrospora</i> spp. <i>Phomopsis</i> spp. <i>Neofusicoccum</i> spp.	枝條	吳舒雅等，2017
<i>Humicola fuscoatra</i> <i>Cladosporium halotolerans</i> <i>Rhizopycnis vagum</i>	根	林瑞進等，2017

*halotolerans*、*Rhizopycnis vagum*等。這些內生真菌的存在，有可能會影響植株的生長、環境適應、甚至對病原菌的抗感病性等(表二)。

### 牛樟苗圃葉部病害發生與病原真菌存在情形

本文經由調查臺灣北部牛樟扦插苗圃的病害發生情形，來了解牛樟苗所面臨的病害問題現況，並經由組織分離培養的方式，探討牛樟感病葉片中的真菌族群存在情形。本次調查可在牛樟扦插苗圃中，發現牛樟葉部的炭疽病、輪斑病、葉枯病以及牛樟莖部的黑腐病等病害發生的情形(圖1~圖4)，其中又以炭疽病發生的比例較高。此外，有不少的葉片上，可見到非典型的炭疽病或輪斑病病徵，是受環境影響造成病徵的變化，還是植



圖1 牛樟扦插苗葉部病害—牛樟炭疽病。

株葉部受到不止單一病原菌的為害，又或者是在主要病原菌如炭疽病菌侵染植物後，有其他的次級病原菌對感病葉片進行二次感染所導致，仍需要更進一步的研究。

為了解牛樟病葉中病原菌與內生真菌



圖2 牛樟扦插苗葉部病害—牛樟輪斑病。



圖3 牛樟扦插苗葉部病害—牛樟葉枯病。



圖4 牛樟扦插苗病害—牛樟黑腐病。

的存在情形，這裡也分別將不同感病程度的病葉進行表面消毒和組織分離，並將分離出的真菌菌株，以型態和核酸序列的比對，來確認病葉內真菌存在情況。初步發現，牛樟感病葉片內真菌族群，以炭疽病菌屬真菌(*Colletotrichum* spp.)所占比例最高，其次為*Neopestalotiopsis*屬真菌，接著依序有*Pseudopestalotiopsis*、*Calonectria*、*Coniella*、*Trichoderma*、*Aspergillus*、*Nigrospora*、*Diaporthe*、*Guignardia*、*Neofusicoccum*、*Nigrospora*、*Pestalotiopsis*等共12屬不同的真菌(圖5)。與過去對牛樟枝條與根部内生真菌存在情形相比對，可以發現其中*Colletotrichum*、*Guignardia*、*Neofusicoccum*、*Nigrospora*、*Pestalotiopsis*五屬真菌同時可在牛樟的葉片和

枝條中被發現，顯示葉片與枝條的内生真菌有一定程度的相似性。但若是與目前已知的牛樟根部内生真菌相比，則會有明顯的差異。

若是對牛樟葉部具病原性之真菌進行分析則可發現，本文自牛樟病葉上分離到的真菌中占比最高的炭疽病菌屬真菌，該屬病原真菌中的*C. gloeosporioides*過去除了有為害牛樟扦插苗之葉片、枝條和主莖的紀錄外，亦可為害多種草本和木本植物，嚴重時亦有可能造成植株的枯死。此外，*Calonectria*屬真菌中的*Calonectria kyotensis*過去就被發現會造成國內牛樟扦插苗黑腐病，且可同時為害苗的地上部和地下部，嚴重時亦可能造成苗木的死亡。除了前述的兩種真菌已被證實為牛樟的主要真菌性病害外，其他自病葉中分離出的真菌，如*Neopestalotiopsis*、*Pseudopestalotiopsis*、*Pestalotiopsis*此3屬真菌，過去雖無為害牛樟的紀錄，但該屬真菌已知可感染多種果樹、景觀樹木、茶樹等木本植物的葉片，其又占牛樟感病葉片中真菌族群的一定比例，是否會對牛樟葉片或植株苗期的生長產生負面的影響，仍需要進一步的釐清。

存在於牛樟葉片中的*Coniella*和*Nigrospora*兩屬真菌，在國內的研究相對較少，在108年的台灣植物病害名彙中，並無造成樹木病害的紀錄。然而*Coniella diplodiella*有被報導是

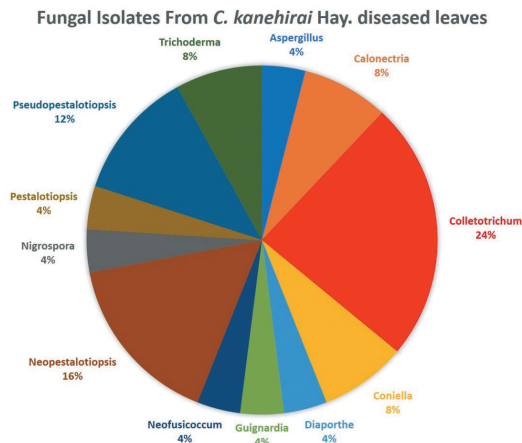


圖5 牛樟病葉組織內真菌族群存在情形。

造成國內葡萄白腐病的病原真菌，可侵染為木質藤本植物葡萄的葉片和幼嫩枝條，在國外的研究中也有該屬真菌感染桉樹的報導。而*Nigrospora*屬中，則有多種真菌被報導在國內造成禾本科植物(如水稻和甘蔗)和其他多種草本植物的病害。這些真菌的存在，是僅以內生菌的方式不會對牛樟的生長產生威脅，又或者是可能威脅牛樟生長的潛在病原真菌，都是值得注意的議題。而其他內生真菌如*Trichoderma*和*Aspergillus*屬真菌，存活在相同的植物組織中，對病原真菌和潛在病原真菌會有怎樣的影響，是否因生存空間的競爭或其他生理生化特性來相互拮抗，進而抑制或減緩病害的發生，更是近年相當熱門且有趣的研究方向。

### 牛樟面對的潛在病害威脅

關於微生物與植物間的互動關係，可概分為共生和寄生兩種類型。以植物病原菌來說，其寄生的形式又可分為活物寄生型(biotrophic)、死物寄生型(necrotrophic)和半活物寄生型(hemibiotrophic)，主要是依據病原

菌在侵染寄主細胞的過程中，是否會造成寄主細胞的死亡來區分。本文分離之牛樟葉部病原菌中，炭疽病菌即是以半活物寄生的方式，前期先以活物寄生的方式侵染寄主活細胞，而後再轉為死物寄生，殺死寄主細胞並迅速在寄主體內擴展。然而對於其他分離到的葉部真菌，有許多是屬於一般認為病原性較弱，卻又可感染多種寄主植物之真菌，這些真菌單獨存在是否足以造成牛樟病害，仍有待完成病原菌接種實驗來證明。但更有可能的是，這些真菌以類似於動物病害中的伺機性病原菌(Opportunistic Pathogen)的方式存在，也就是這些真菌平常雖會存活於寄主體內，但並不會對寄主產生不良的影響，僅在寄生健康狀況不佳時，才開始造成顯著的傷害，這也提供我們另一個評估樹木病害問題的方向。

### 未來展望

牛樟為國內特有的闊葉樹種，其生長過程中所遭遇之病害問題，過去以造成牛樟樹白腐朽的褐根病菌和牛樟心材腐朽菌(牛樟芝)較受到關注。本文回顧過去牛樟生長各時期所遭遇的病害威脅，並透過牛樟葉部病害發生現況的調查，了解牛樟葉部真菌族群的存在情形，除了可作為過去牛樟病害研究之延續外，針對潛在具病原性的真菌，未來可進一步評估其對牛樟苗木生長過程所產生的影響。此外，內生菌的存在常與植物抵抗外來病原菌的威脅和促進生長相關，若能針對特有樹種牛樟的內生菌族群，結合次世代解序和微生物分離培養技術，展開更完整的調查與分析，將有機會找出有別於過去發現的有益微生物，成為相當重要的森林微生物資源，對於未來牛樟病害的防治或抗感病性研究，也提供另一個思考的面向。☼