

# 立枯絲核菌引起山木麻黃和大花紫薇苗猝倒病

張東柱<sup>1,2)</sup>

## 摘要

山木麻黃和大花紫薇種子幼苗猝倒病於 1996 年在林業試驗所中埔分所溫室首次發現。罹病山木麻黃和大花紫薇幼苗地際部產生水浸狀黑褐色病斑，使部份或整個幼苗呈腐爛狀，最後全株猝倒死亡。經病組織分離與細胞核染色鑑定後，證實為立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani* Kühn) 所引起。將病原菌接種到栽培山木麻黃和大花紫薇幼苗的苗床，均可產生與自然界發生病害相同的病徵。山木麻黃和大花紫薇接種分離株 B82 與 B83 的發病率分別為 55-70% 與 50-65%。經分離接種的病組織也可獲得相同的病原菌。經與已知菌絲融合群配對，結果顯示為害山木麻黃和大花紫薇的紋枯病菌均屬 AG-4 菌絲融合群。此兩病原分離株菌絲最適生長溫度介於 20-28 °C 之間。當溫度低於 10 °C 或高於 36 °C，其菌絲生長緩慢。立枯絲核病菌引起山木麻黃和大花紫薇苗猝倒病為新病害。

關鍵詞：立枯絲核菌、山木麻黃、大花紫薇、猝倒病。

張東柱 1997 立枯絲核菌引起山木麻黃和大花紫薇苗猝倒病。台灣林業科學 12(1): 47-52。

## Damping-off of *Casuarina junghuhniana* and *Lagerstroemia speciosa* Caused by *Rhizoctonia solani*

Tun-Tschu Chang<sup>1,2)</sup>

### 【 Summary 】

Damping-off of *Casuarina junghuhniana* and *Lagerstroemia speciosa* seedlings was first observed in 1996 in the greenhouse of Chungpu Branch Station, Taiwan Forestry Research Institute. The diseased seedlings of *C. junghuhniana* and *L. speciosa* were covered with blackish-brown spots at the basal stems, were rotten in part or throughout the entire seedling, and eventually died. *Rhizoctonia solani* Kühn was isolated from the diseased tissues and was identified by nuclear staining. Seedlings of the two hosts were transplanted into soil incorporated with *R. solani*. After one month, disease incidences of *C. junghuhniana* and *L. speciosa* were 55-70% and 50-65%, when two *R. solani* isolates B82 and B83 were inoculated, respectively. The fungus was reisolated from diseased tissues. This is the first report of *R. solani* on these two hosts. Optimum temperatures for fungal growth *in vitro* were 20-28 °C. Temperatures below 12 °C or above 36 °C inhibited fungal growth.

1) 台灣省林業試驗所森林保護系，台北市南海路53號 Division of Forest Protection, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nan-Hai Rd., Taipei, Taiwan, ROC.

2) 通訊作者 Corresponding author

1996年9月送審 1996年10月通過 Received September 1996, Accepted October 1996.

**Key words :** *Rhizoctonia solani*, *Casuarina junghuhniana*, *Lagerstroemia speciosa*, damping-off.

**Chang, T. T.** 1997. Damping-off of *Casuarina junghuhniana* and *Lagerstroemia speciosa* caused by *Rhizoctonia solani*. Taiwan J. For. Sci. 12(1): 47-52.

## 一、緒言

山木麻黃 (*Casuarina junghuhniana* Miq.) 原產澳洲。主要用途為薪炭、防風砂與觀賞。本所自印尼引進不同山木麻黃種源進行適應性試驗，在中埔分所碑子頭工作站培育幼苗時，發現有猝倒病的現象，經病組織分離可獲得立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani* Kühn)。在相同溫室不同苗床的大花紫薇 (*Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers.) 也發現幼苗猝倒病的情形，經分離也可獲得立枯絲核菌。大花紫薇主要用途為觀賞。

本文報導立枯絲核菌可引起山木麻黃和大花紫薇幼苗猝倒病，同時鑑定此立枯絲核菌的菌絲融合群。立枯絲核菌引起山木麻黃和大花紫薇幼苗猝倒病為一新病害。

## 二、材料與方法

### (一) 病原菌的分離

將罹病山木麻黃幼苗和大花紫薇幼苗，以自來水沖洗黏附在根部表面的土壤及介質，並以 0.5% 次氯酸鈉表面消毒 1-2 分鐘。表面消毒後以濾紙吸乾。在無菌操作下將前述病組織切成長約 0.5-1 cm 長的片斷，並將其移入 V-8A 洋菜培養基 (10% V-8 juice, 0.02% CaCO<sub>3</sub>, 2% Bacto agar) 的培養皿，或移入 V-8A 培養基在滅菌後添加 100 ppm ampicillin, 50 ppm nystatin 和 10 ppm pentachloronitrobenzene, 此培養基主要用於分離 *Pythium* 和 *Phytophthora* 之選擇性培養基 (Ko et al., 1978)。培養皿放置在 25 °C 恆溫箱 1-3 日後，將生長自病組織的病原菌菌絲尖端移到 V-8A 培養基中培養，以供試驗及保存。

### (二) 病原性的測定

分別將分離自山木麻黃 (菌株 B82) 及大花紫薇 (菌株 B83) 的立枯絲核菌培養在 V-8A 培

養基上，一星期後，分別切取菌絲塊，並接種於已滅菌的玉米砂中 (100 g 砂土, 3 g 玉米粉, 15 mL 蒸餾水)，約 3-4 星期取出曬乾，再以 1:4 (w/w) 與陽明山土混合後，裝入塑膠盆中，種植山木麻黃及大花紫薇之種子幼苗，每盆 20 株，各四重複，另以未加病土者為對照，置於溫室中 (溫度範圍 28-35 °C)，一個月後記錄其發病率。

### (三) 細胞核的染色

將菌株培養在 V-8A 培養基三日，自菌落邊緣取出少量菌絲。放置在載玻片上，在菌絲的兩旁各滴一滴的 3.0% KOH 和鹼性 safranin 溶液 (6 mL 的 0.5% w/v safranin O 水溶液, 10 mL 的 3.0% (w/v) KOH 水溶液, 5 mL 甘油和 79 mL 蒸餾水) (Bandoni, 1979)，將蓋玻片覆蓋在菌絲與溶液上，以顯微鏡觀察細胞核的數目，細胞核將染成深紅色。

### (四) 菌絲融合群的鑑定

供試已知標準菌絲融合群之多核立枯絲核菌菌株 AG-1 至 AG-10, 及 AG-BI, 上述已知標準菌株承台灣省農業試驗所和台灣大學植病系贈送。

自山木麻黃及大花紫薇分離之兩菌株由細胞核染色得知其每一細胞具有兩個以上的細胞核，因此為立枯絲核菌，將此兩菌株分別與已知之菌絲融合群菌株在 2% WA 培養皿上進行對峙培養，於 28 °C 下培養 1-2 日後，以光學顯微鏡檢視菌絲融合的情形。

### (五) 溫度對菌絲生長的影响

將新培養的立枯絲核菌兩菌株的菌落切成直徑 0.5 cm 當接種源，並培養在含有 PDA (Bacto potato-dextrose-agar) 和 MEA (2% Bacto malt-extract, 2% Bacto agar) 培養基的培養皿 (直徑 9 cm) 的邊緣，放置在不同溫度 (12, 16, 20, 24, 28, 32 和 36 °C) 無光培養箱中培養，每一處理 4 重

複。實驗進行 2 次。

### 三、結果

#### (一) 病徵與病原菌分離

山木麻黃和大花紫薇幼苗猝倒病在發病初期，地際部產生水浸狀黑褐色病斑，此病斑迅速擴大，使部份或整個幼苗呈腐爛狀，最後全株猝倒死亡。受為害的苗圃常呈塊狀病區 ( Figs. 1, 2 )。在病株表面，有時候可看到白色的菌絲，鮮見菌核，菌核初呈白色，後變褐色。

使用 V-8A 培養基分離時，有 85-95% 的病組織在三日內可觀察到立枯絲核菌的生長。在使用分離 *Phytophthora* 與 *Pythium* 之 V8A 選擇性培養基分離時，有 80-90% 的病組織在三日內仍可觀察到立枯絲核菌的生長。上述兩種培養基上均未能分離到 *Phytophthora* 和 *Pythium*。自山木麻黃與大花紫薇分離之兩株立枯絲核菌，其營養菌絲特性均符合立枯絲核菌三點特徵：(1)菌絲



Fig. 1. Damping-off of *Casurina junghuhniana*.



Fig. 2. Damping-off of *Lagerstroemia speciosa*.

的分枝在其起源處有縊縮(2)菌絲分枝在距分枝點處不遠有隔膜(3)菌絲常成直角或銳角分枝。菌絲無色至黃褐色，菌絲寬度為 4.5-7.5 μm。菌落最初白色至乳白色，最後呈黃褐色。自山木麻黃菌株 B82 形成較多的菌核，自大花紫薇菌株 B83 則鮮見菌核。菌核初白色，後變成黃褐色及深褐色 ( Fig. 3 )。

#### (二) 病原性測定

將分離自山木麻黃的立枯絲核菌菌株 B82, 分別接種於山木麻黃和大花紫薇的幼苗，一個月可分別獲得 65-70% 和 55-65% 的發病率 ( Table 1 )。分離自大花紫薇的立枯絲核菌菌株 B83, 分別接種於大花紫薇和山木麻黃的幼苗，一個月可分別獲得 50-65% 和 55-60% 的發病率 ( Table 1 )。接種病原之幼苗可獲得與原來感病苗圃相同的病徵。將接種感病之幼苗表面消毒後，放置在 V8A 和 PDA 培養基，可以獲得與原來接種相同之病原菌。對照處理在接種試驗期間仍然健康。

#### (三) 細胞核染色與菌絲融合群鑑定

利用鹼性 safranin 溶液進行細胞核染色，結果顯示兩分離株 B82 和 B83 均為多核型的立枯

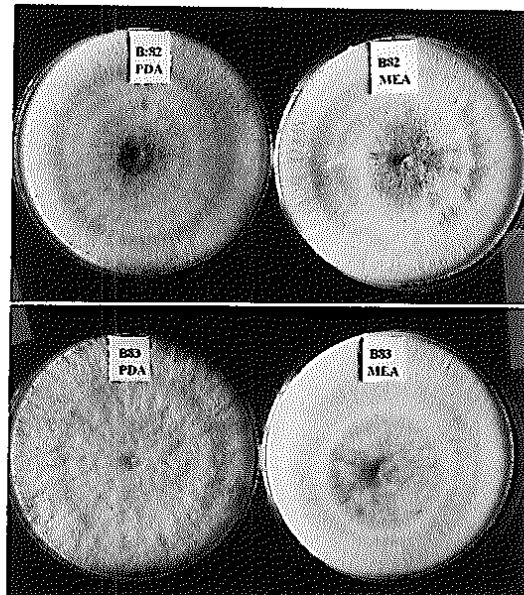


Fig. 3. Colony morphology of two *Rhizoctonia solani* isolates B82 and B83 on PDA and MEA media at 25 °C for 10 days.

絲核菌 ( Fig. 4 ) 。 B82 的每個細胞的細胞核自 2 個到 11 個，而 B83 的細胞核則自 3 個到 12 個。兩分離株的細胞核數目大多介於 4-7 個 ( Table 2 ) 。

B82 和 B83 兩菌株經與已知多核菌絲融合群菌株進行菌絲融合後，結果顯示 B82 和 B83 均屬於 AG-4 菌絲融合群 ( Fig. 5, Table 3 ) 。

(四) 溫度對病原菌絲生長的影響

B82 和 B83 兩菌株的溫度生長曲線非常類似，其在 12-36 °C 之間均可生長，以 20-28 °C 生長較佳。溫度低於 12 °C 或高於 36 °C，本菌的生長較緩慢 ( Fig. 6 ) 。



Fig. 4. Nuclear behavior of *Rhizoctonia solani* by using alkaline safrania solution for nuclear stain. Arrows indicate nuclei. Bar=30 mm.

Table 1. Pathogenicity of two *Rhizoctonia solani* isolates B82 and B83 on *Casuarina junghuhniana* and *Lagerstroemia speciosa*

Plant species	Isolate <sup>2)</sup>	Disease incidence (%) <sup>1)</sup>	
		Exp. I	Exp. II
<i>Casuarina junghuhniana</i>	B82	70	65
	B83	60	55
<i>Lagerstroemia speciosa</i>	B82	55	65
	B83	50	65

<sup>1)</sup>Percentage of plants killed was an average of four replicates.

<sup>2)</sup>Fungal isolates B82 and B83 were isolated from *C. junghuhniana* and *Lagerstroemia speciosa*, respectively.

Table 2. Nuclear behavior of two *Rhizoctonia solani* isolates B82 and B83

No. of nuclei	No. of cells <sup>1)</sup>	
	B82	B83
2	2	
3	4	12
4	10	10
5	38	27
6	28	34
7	14	10
8	10	3
9	2	3
10	1	1
11	1	1
12		1

<sup>1)</sup>One hundred cells of *R. solani* were counted.

Table 3. Anastomosis group (AG) test of two *Rhizotonia solani* isolates B82 and B83

Standard isolate	Test isolate	
	B82	B83
AG-1 IA	—	—
AG-1 IB	—	—
AG-1 IC	—	—
AG-2-1	—	—
AG-2-2 IV B	—	—
Ag-2-2IV	—	—
AG-3	—	—
AG-4	+	+
AG-5	—	—
AG-6HG-I	—	—
AG-6GV	—	—
AG-7	—	—
AG-8	—	—
AG-9	—	—
AG-10	—	—
AG-BI	—	—



Fig. 5. Hyphal fusion between hyphae of isolate B82 and standard AG-4 of *Rhizoctonia solani*. Arrow indicates fusion hyphae. Bar=40  $\mu$ m.

#### 四、討論

台灣地區對 *Rhizoctonia* spp. 之研究過去大多限於多核菌絲融合群 (*R. solani*)，其寄主範圍與菌絲融合群的情形為：AG-1 有 7 科 10 屬，AG-2 有 6 科 7 屬，AG-3 有 1 科 1 屬，AG-4 有 10 科 12 屬，AG-5 有 1 科 1 屬，AG-6 有 1 科 1 屬和 AG-7 有 1 科 1 屬 (王子政、謝式焯鈺, 1993; 杜金池、張義璋, 1983; 蔡武雄、吳金助, 1981; 羅朝村等, 1990)，而其中並沒有木本植物之研究報導。本文報導立枯絲核菌菌絲融合群 AG-4，為害山木麻黃和大花紫薇的種子幼苗猝倒病，為新寄主病害記錄。

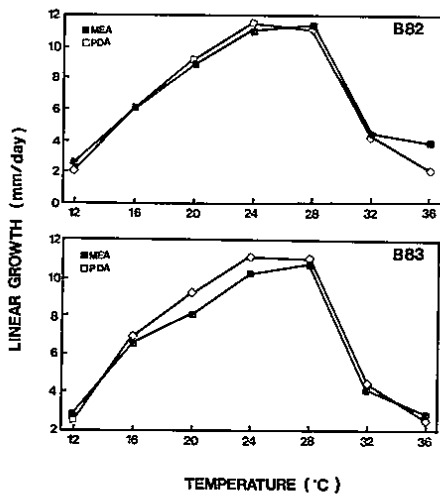


Fig. 6. Effect of temperature on the mycelial growth of *Rhizoctonia solani* on PDA and MEA media.

根據杜金池及張義璋 (1983) 之報告指出台灣立枯絲核菌之融合菌絲群中 AG-4 屬於寄主範圍廣泛之多犯性病原菌。

由於立枯絲核菌為一多犯病原菌 (吳文希, 1988; Kuninaga *et al.*, 1979; Tu and Chang, 1978)，其可引起作物所產生的病徵，可包括種腐、幼苗猝倒、根腐、莖腐、基腐、冠腐、芽腐、葉枯或萎凋等。至於為害山木麻黃和大花紫薇種苗之病徵，以幼苗猝倒為主，受害種苗最後均猝倒死亡。

#### 謝誌

本文承蒙中埔分所何坤益先生提供部份幼苗，許惠墉小姐幫忙文稿打字，特此誌謝。

#### 引用文獻

- 王子政、謝式焯鈺 1993 台灣絲核菌引起之草皮病害及菌絲融合群。植病會刊 2: 111-118。
- 吳文希 1988 立枯絲核菌之性質與防治。國立編譯館。台北市。259 頁。
- 杜金池、張義璋 1983 近年來本省 *Rhizoctonia* 屬病原真菌研究之回顧。植保會刊 25: 213-230。
- 蔡武雄、吳金助 1981 菱紋枯病。植保會刊 23: 51-53。
- 羅朝村、杜金池、蔡武雄 1990 康乃馨莖腐病菌之融合菌群與病原性的測定。植保會刊 32: 158-161。
- Bandoni, R. J. 1979. Safranin as a rapid nuclear stain for fungi. *Mycologia* 71: 873-874.
- Ko, W. H., H. S. Chang, and H. J. Su. 1978. Isolates of *Phytophthora cinnamomi* from Taiwan as evidence for an Asian origin of the species. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 71: 496-499.
- Kuninaga, S., R. Yokosawa, and A. Ogoshi. 1979. Some properties of anastomosis group 6 and BI in *Rhizoctonia solani* Kühn. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 45: 207-214.
- Tu, C. C., and Y. C. Chang. 1978. Studies on the anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*

Kühn in Taiwan. J. Agri. Res. China 27: 325 - 343.