

研究簡報

臺灣相思樹維管束萎凋病之首次報導

施欣慧¹⁾ 蔡佳彬²⁾ 歐玠皚³⁾ 李國維³⁾ 傅春旭⁴⁾ 陳啟予^{3,5)}

摘 要

相思樹(*Acacia confusa* Merr.)為臺灣原生樹種且廣泛分布於臺灣中低海拔地區，亦為常見之造林樹種。2018年首次於高雄六龜地區發現相思樹維管束之萎凋現象。苗木初期之徵狀為地上部枝葉呈現缺水狀，全株逐漸萎凋而致枯死。檢視根系，主根則呈現黑褐色化壞死，且莖基部之維管束組織亦呈現褐化。分離並純化罹病組織之病原菌，再結合真菌形態特徵及IGS序列(nuclear ribosomal DNA intergenic spacer, 簡稱IGS)分析結果，此病原菌鑑定為*Fusarium oxysporum* f. sp. *koae*，此為臺灣新紀錄尖鐮孢菌之專化型。此外，調查六龜苗圃相思樹種子育苗之發病率，顯示約有60%~70%之相思樹實生苗會因罹患此病害而死亡，為相思樹實生苗重要之苗期病害。

關鍵詞：相思樹、維管束萎凋病、*Fusarium oxysporum* f. sp. *koae*。

施欣慧、蔡佳彬、歐玠皚、李國維、傅春旭、陳啟予。2020。臺灣相思樹維管束萎凋病之首次報導。台灣林業科學35(3):251-5。

¹⁾ 林業試驗所蓮華池研究中心，55543 南投縣魚池鄉五城村華龍巷43號 Lienhuachih Research Center, Taiwan Forestry Research Institute, 43 Hualong Lane, Yuchih Township, Nantou 55543, Taiwan.

²⁾ 林業試驗所六龜研究中心，84443 高雄市六龜區中興里198號 Liouguei Research Center, Taiwan Forestry Research Institute, 198 Chungging Village, Liouguei District, Kaohsiung 84443, Taiwan.

³⁾ 國立中興大學植物病理學系，40227 台中市南區興大路145號 Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, 145 Xingda Rd., South Dist., Taichung 40227, Taiwan.

⁴⁾ 林業試驗所保護組，10066 台北市南海路53號 Division of Forest Protection, Taiwan Forestry Research Institute, 53 Nanhai Rd., Taipei 10066, Taiwan.

⁵⁾ 通訊作者 Corresponding author, e-mail:chiyu86@dragon.nchu.edu.tw

2020年6月送審 2020年9月通過 Received June 2020, Accepted September 2020.

Research note

First Report on Vascular Wilt of *Acacia confusa* in Taiwan

Hsin-Hui Shih,¹⁾ Jia-Bin Tsai,²⁾ Jie-Hao Ou,³⁾ Guo-Wei Lee,³⁾
Chuen-Hsu Fu,⁴⁾ Chi-Yu Chen^{3,5)}

【 Summary 】

Taiwan acacia (*Acacia confusa* Merr.) is a native tree, is widely distributed at low and mid-elevations in Taiwan, and is commonly used for afforestation. A symptom of vascular wilt of Taiwan acacia was observed in Lioukuei District, Kaohsiung City in 2018. Seedlings initially appeared dehydrated, and gradually the entire seedling became wilted, eventually resulting in death. Black-brown necrosis occurred on the main roots and the cut ends of basal stems. The pathogen was isolated and purified from necrotic tissues. A fungus could be obtained from all affected seedlings. Judging from morphological features, this fungus is *Fusarium oxysporum*. Sequencing of the nuclear ribosomal DNA intergenic spacer (IGS) region of this fungus was performed, which suggested that this fungus is *F. oxysporum* f. sp. *koae*. This is the first report of this fungus in Taiwan. This fungus accounted for a 60%~70% mortality of seedlings at a Taiwan acacia nursery in Lioukuei. It is apparently an important disease in Taiwan acacia nurseries.

Key words: *Acacia confusa*, vascular wilt, *Fusarium oxysporum* f. sp. *koae*.

Shih HH, Tsai JB, Ou JH, Lee GW, Fu CH, Chen CY. 2020. First report on vascular wilt of *Acacia confusa* in Taiwan. Taiwan J For Sci 35(3):251-5.

相思樹(*Acacia confusa* Merr.)為臺灣原生樹種，廣泛分布於中、低海拔地區，由於其木材適合作為薪炭材、香菇栽培、高級家具和地板用之板材等用途，因此，為臺灣低海拔常見造林樹種之一。依據林務局2014年第4次全國森林資源調查成果，相思樹人工造林面積可達10,748公頃，為臺灣闊葉樹人工造林面積最大者。目前相思樹亦為政府獎勵樹種之一，近年來，林業試驗所研究人員為培育優質之相思樹品系，由臺灣地區各地選拔優良母樹，建立新的種子園，並陸續進行後裔試驗，期能選育出優質之相思樹種苗。

2018年11月，於高雄六龜地區發現之相思樹之實生苗，在育苗期間，經常發生苗木突然呈現黃化、缺水狀，經數日後，整株苗木則會萎凋死亡(Fig. 1A)。檢視根部時，外圍細小根系

大多健康，未有被病原菌感染之跡象，然而以大量清水清洗根系土壤後，會發現實生苗之主根有褐化變色情形(Fig. 1B)；針對靠近莖基部之枝條進行橫切面觀察，亦可發現其維管束有褐化之情形。依據《臺灣植物病害名彙》記載，相思樹的根部真菌性病害共有4種，分別為：靈芝根腐病、幼苗猝倒病、褐色膏藥病、褐根病等(Hsu 2002)，而此四種病原菌所造成之病徵明顯與六龜地區發現之相思樹萎凋病徵不同。

以大量清水將萎凋狀之相思樹實生苗根系清洗乾淨後，切取根系及莖基部之病、健交界組織，以75%酒精浸泡5秒鐘，於無菌之濾紙上陰乾後，置於含有100 ppm綠黴素(chloramphenicol)之水洋菜平板培養基(water agar, 簡稱WA)上，於室溫培養1—2天。待菌絲長出組織外後，以解剖刀切取單菌絲，移

至馬鈴薯抽取物平板培養基(potato dextrose agar, 簡稱PDA)上培養。初步鏡檢結果顯示, 本試驗所有收集之罹病苗木之根系和莖基部組織上, 皆分離出相同之真菌(分離率100%)。此菌培養於PDA培養基上的菌落生長快速, 呈現白色至淺紫色(Fig. 1C), 分生孢子(conidia; Fig. 1D)大量產生, 呈卵圓形、橢圓形或腎形, 0(~3)個隔膜(septa), 大小約 $5\sim 22$ (~38) \times $1.8\sim 5$ μm ; 厚膜孢子(chlamydospore; Fig. 1E)於較老之菌落產生, 呈單生(singly), 偶爾可見成對(in pairs), 壁光滑, 大小約 $6.5\sim 13$ \times $5\sim 9$ μm 。此菌依形態初步鑑定為*F. oxysporum*。純化之菌株除保存在個人實驗室外, 同時亦送到財團法人食品工業研究所生物資源保存及研究中心(Netherlands and Bioresource Collection and Research Center, 簡稱BCRC)進行保存(菌種編號: FU31194)。

針對所獲得之菌株, 進行分子序列分析以獲得更精確之鑑定。將純化之菌株培養於PDA上, 7~14天後, 刮取菌株之菌絲, 依據Sambrook & Russell (2001)的DNA萃取方法進行DNA萃取, 供聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, 簡稱PCR)使用。本試驗PCR所使用之引子對為NL11 (5'-CTGAACGCCTCTAAGTCAG)和CNS1 (5'-GAGACAAGCATATGACTAC), 可增幅出一段核糖體核酸的非轉錄基因間隔區序列(nuclear ribosomal DNA intergenic spacer, 簡稱IGS) (O'Donnell et al 2009)。將純化之PCR產物送至國立中興大學生物科技發展中心, 利用ABI PRISM 377 DNA sequencer進行定序, 定序時, 除了使用和PCR相同之NL11和CNS1引子對外, 另外加入此段序列中間之NLa (5'-TCTAGGGTAGGCKRGTGTC)和

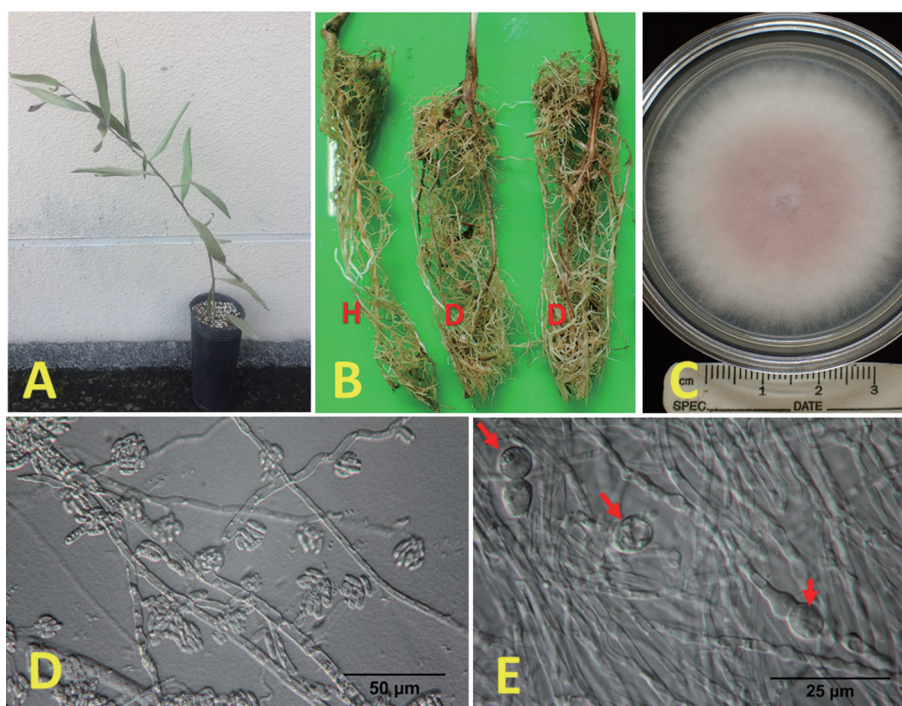


Fig. 1. A, Wilting symptom of *Acacia confusa* infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *koeae*. B, Symptoms of diseased roots (H, healthy; D, diseased). C~E, Morphological characteristics of *F. oxysporum* f. sp. *koeae*; C, colony on PDA; D, conidiophores and conidia; E, chlamydospores (red arrows).

CNSa (5'-TCTCATRTACCCTCCGAGACC)引子對進行定序(O'Donnell et al. 2009)。本試驗菌株定序完成之IGS序列已登錄至日本DNA資料庫(DNA Data Bank of Japan, 簡稱DDBJ)(Mashima et al. 2016), 並取得序列編號: LC484268。將此段核酸序列下載至美國生物技術資訊中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)資料庫, 進行核酸基因庫序列群組程式(Basic Logical Alignment Search Tool, BLAST)之相似度比對後, 與*F. oxysporum* f. sp. *koae* (NRRL38885)菌株之IGS序列具有100%相似度。*Fusarium oxysporum* f. sp. *koae*為相思樹屬(*Acacia*)植物之病原菌, *A. confusa*、*A. koa*和*A. koaia*皆為其寄主(Gardner 1980)。受*F. oxysporum* f. sp. *koae*感染之植株呈現缺水萎凋、根系和莖部維管束有變色褐化等病徵(Gardner 1980), 與本研究中受感染之相思樹病徵一致。因此, 經由病徵、病原菌形態和分子序列分析顯示, 於臺灣地區發現之相思樹萎凋病判斷應為此病原菌*F. oxysporum* f. sp. *koae*所引起, 此病原菌為臺灣新紀錄病害與病原專化型。後續將進行接種條件及方式之測試, 完成柯霍氏法則之驗證。

針對此病害進行田間觀察試驗, 觀察試驗場所位於高雄六龜地區相思樹育苗苗圃中。研究人員取不同母樹來源之相思樹種子約1490粒, 以冷水浸泡過夜, 膨大種子再以億力浸泡2小時, 放置於封口袋內的水苔中, 室溫保濕培育; 此外, 將未膨大之種子再以熱水浸泡過夜後, 取膨大種子重複上述處理方式。1個月後, 約有1040粒種子發芽, 發芽率約70%。將發芽種子移植到蛭石等比例混合珍珠石人工介質中培育, 後續每隔1個月, 調查相思樹種子苗之存活率。調查結果顯示, 移植之相思樹種子苗經2個月後, 苗木存活率約80%; 3~4個月後, 存活率降為60%, 至5~6個月後, 存活率則降至30~40%, 死亡之苗木呈現病徵皆為植株呈現缺水狀, 經數日後則全株枯死, 檢視主根和莖基部維管束組織皆有褐化變色之情形。隨機取樣分離病株之根系, 皆可分離出病原菌*F. oxysporum* f. sp. *koae*, 顯示相思樹萎凋病為相

思樹實生苗重要之病害之一。

相思樹萎凋病最早發生在夏威夷的相思樹(*A. koa*)上, 由於*A. koa*相思樹為夏威夷特有種, 亦為當地第二常見樹木, 因此, 此病害在當地為相思樹重要病害之一。文獻記載, 其除了會造成相思樹實生苗死亡外, 在野外地區成熟的*A. koa*相思樹亦會受到感染(Anderson et al. 2002)。在感染初期, 樹冠層會局部出現梢枯(dieback), 再由感染點往外擴張, 接著, 整個樹冠層出現落葉、萎黃(chlorosis)及萎凋(wilt)病徵, 最後導致樹木死亡。早期臺灣地區相思樹育苗多以種子培育為主, 近年來為選育優良之相思樹品系, 於各地蒐集優良母樹, 建立種子園, 進行後裔試驗, 在種子育苗過程中, 首次發現相思樹萎凋病, 經觀察試驗顯示, 此病害已對相思樹種子苗培育期間造成重大危害, 然而臺灣針對此病害之研究並不多。因此, 有關相思樹萎凋病在臺灣地區感染途徑、發病生態及防治方法仍待後續進一步深入研究及探討, 以解決臺灣相思樹育苗之困境。

引用文獻

- Anderson RC, Gardner DE, Daehler CC, Meinzer FC. 2002. Dieback of *Acacia koa* in Hawaii: ecological and pathological characteristics of affected stands. *For Ecol Manage* 162:273-86.
- Gardner DE. 1980. *Acacia koa* seedling wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *koae*, f. sp. nov. *Phytopathology* 70:594-7.
- Mashima J, Kodama Y, Kosuge T, Fujisawa T, Katayama T, Nagasaki H, et al. 2016. DNA Data Bank of Japan (DDBJ) progress report. *Nucleic Acids Res* 44:D51-7.
- O'Donnell K, Gueidan C, Sink S, Johnston PR, Crous PW, Glenn A, et al. 2009. A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens within the *Fusarium oxysporum* species complex. *Fungal Genet Biol* 46:936-48.
- Sambrook J, Russell RW. 2001. *Molecular*

cloning: a laboratory manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Tsu ST. 2002. List of plant diseases in Taiwan. Taipei, Taiwan: The Plant Protection Society of the Republic of China. [in Chinese].