

# 番石榴立枯病菌之形態及生理特性<sup>1</sup>

謝式垵 梁文進 高清文 呂理藻<sup>2</sup>

(接受日期 民國 65 年 8 月 20 日)

**摘要:** 立枯病為番石榴最主要病害,其病原菌 *Myxosporium psidii* Sawada et Kurosawa 之同一菌絲可產生兩種透明無色,單胞之分生孢子,一為短橢圓形,成鏈,著生於有分枝之孢柄上,其平均大小為  $3.2 \times 5.7 \mu\text{m}$ ; 另一種為長橢圓形,著生於不分枝之孢柄上,平均大小為  $3.0 \times 7.8 \mu\text{m}$ 。培養環境影響兩種分生孢子生成之比例,但在枯死的寄主組織上,皆產生短橢圓形孢子。兩型孢子發芽後皆先生長橢圓形孢子,經 48~72 小時後短橢圓形孢子才大量產生。

病菌在馬鈴薯蔗糖平板培養基或 Czapek 氏瓊脂培養基上之菌落最初為白色,孢子形成後呈淡粉紅色,孢子的產生因光照時間的增加而增加。菌絲生長最適溫度為 30 C,孢子的發芽溫度以 36 C 為最佳。病原菌利用碳素源以蔗糖和葡萄糖為最好,而氮素源則以天門冬酰胺及甘氨酸等有機氮源較佳。在含 0~10% 葡萄糖液體培養基內,菌絲量隨著葡萄糖濃度之增加而增加。

番石榴 (*Psidium guajava* L.) 為本省重要果樹之一,生吃及其果汁、果漿為一般人所喜愛。近年來由於品種改良及栽培技術改進,週年皆可採收果實,更由於利潤極高,專業栽培面積已逐漸擴大。

近數年來,番石榴園經常有整株枯死現象,嚴重發生時,常導致廢耕。由病枝條上分離病原菌,經接種及再分離,證實此種枯死現象是由一種不完全菌 *Myxosporium psidii* Sawada et Kurosawa 引起<sup>(1)</sup>。經調查全省各栽培區,發現病株到處可見。

早在 1926 年黑澤<sup>(1)</sup> 就報告番石榴立枯病在臺灣之發生,其報告主要著重於病原菌在病株上之形態觀察,同時略從事該菌分生孢子之發芽及在 7 種不同培養基之生長研究。本病為臺灣特有之病害,因文獻中未見其他國家有此病發生的紀錄。茲將番石榴立枯病菌之形態及生理特性報告如下,部分結果已發表於 64 年度植物保護學會年會<sup>(2)</sup>。

## 材料與方法

**1. 病原菌之分離與觀察:** 病株枝條由員林、社頭、東山、永靖及鳳山等採集,經用 2% Clorox 表面擦拭消毒後,用消毒過之刀削去韌皮部,由變色之導管部分取一小塊放置在 2% 水瓊脂平板(W. A.) 或馬鈴薯蔗糖瓊脂平板 (P.S.A.) 上,經 28C 定溫箱培養 3 天後即可將材料中新長出的菌絲移植到新的 P. S. A 上而成純培養。供形態觀察之病原菌皆培養在 P. S. A 或 Czapek 氏培養基之平板 (CP) 或斜面 (C.S) 上。

1. 臺灣植物保護中心植物病理組研究報告第 6 號

2. 國立中興大學教授; 臺灣植物保護中心植物病理組研究助理及技正。

**2. 病原菌之生理性質：** 溫度對菌絲之生長及光線對分生孢子產生之影響在 Czapek 氏培養基平板上培養；有關各種碳素源、氮素源及磷素源濃度對菌絲生長之影響則以 Czapek 氏液體培養基培養。分生孢子發芽試驗則在水瓊脂平板上完成。

## 結 果

**1. 菌落形態：** 菌絲生長速度中等，在最適條件下 (30C) 約 7 天即可長滿有 CP 或 P.S.A 8 cm 直徑之培養皿。菌落在初期分生孢子未形成前為白色，形成後漸轉淡粉紅色。如菌落每天曝露短時間之間接光線，菌落上會形成明顯之同心輪紋 (圖 5)，但如連續曝露在日光燈 (40w) 下，或連續在黑暗中培養，則菌落不產生同心輪紋，前者菌落上可看到一層粉紅色的孢子堆，後者則沒有。

**2. 病原菌之形態：** 菌絲為透明無色，直徑 1.2~4.0  $\mu\text{m}$ ，具隔膜。同一條菌絲任何部位都可以分別產生兩種完全不同之分生孢子柄及分生孢子。一種為單一，沒分枝，其直徑和菌絲相同，末端分生孢子著生處略為狹小而成尖形，長度介於 10~70  $\mu\text{m}$  之間，此型孢柄在菌絲末端發生多。其孢柄上著生長橢圓形之分生孢子，單室透明，跟孢柄連在一起之一端較尖，另一端為圓鈍形，其大小在 2% 水瓊脂平板上為 2.5~5.0 $\times$ 7~12.5  $\mu\text{m}$ ，平均 3.0 $\times$ 7.8  $\mu\text{m}$ 。孢子成熟後脫離孢柄，孢柄可連續長出分生孢子，分生孢子具黏性物質，脫離後之孢子大多和孢柄平行，並在其尖端聚集成堆，如球狀，每堆 2~20 多個不等，但以 10~15 個較多 (圖 2)。另一種孢柄在其末端有掃帚狀分枝 (圖 1)，分枝簡單，只有 3~4 條，其頂端長出短橢圓形，單室透明之分生孢子，其大小在 2% 水瓊脂平板上為 2.7~3.7 $\times$ 5.4~7  $\mu\text{m}$ ，平均 3.3 $\times$ 5.7  $\mu\text{m}$ 。孢子相連或唸珠狀。上述兩型分生孢子之產生因病菌培養環境及產生場所而異，在枯死寄主枝條上洗出者多為短橢圓形孢子，每串可多達 20 多個，在 20C 或更低溫之培養環境下產生者多數為長橢圓形孢子，短橢圓形孢子較少。在 Czapek 氏液體培養基內碳素源為鼠李糖 (Rhamnose) 或花楸糖 (Sorbitol) 時則只產生長橢圓形孢子，沒有短橢圓形孢子，如碳素源為可溶性澱粉、花楸糖醇 (Sorbitol) 或葡萄糖，則長橢圓形和短橢圓形孢子之比為 10:1；如為半乳糖或糊精 (Dextrin) 則兩型孢子數量比約為 1:1。

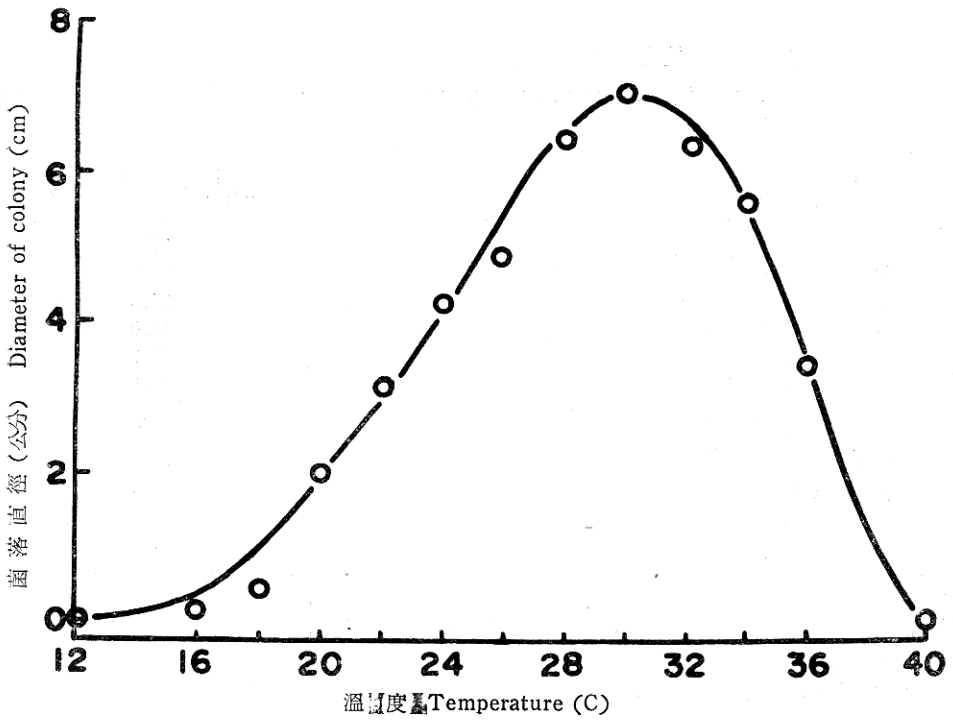
### 3. 病原菌之生理性質：

(1) 溫度對菌絲生長之影響： 把病菌培養在 12~40C，而最適溫度為 30C，在此溫下病菌在 Czapek 氏平板上約一星期即可在 8 cm 之培養皿中長滿。此菌略偏嗜高溫，36C 生長亦良好，但 16C 或更低溫時都不生長 (圖 6)。

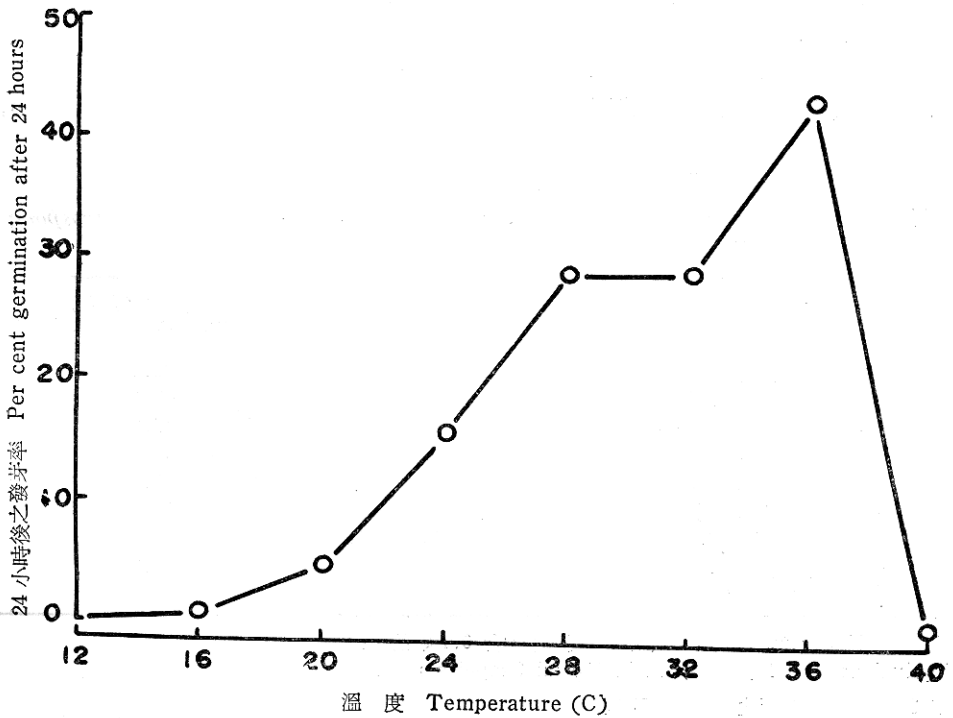
(2) 溫度對分生孢子發芽之影響： 由病株枝條上採集之短橢圓形孢子，以無菌水加極少量之 Tween-20 製成孢子懸浮液，塗抹在 2% 水瓊脂平板上，而後放置在 12~40C，每隔 4C 一處理之定溫箱內，24 小時後取出，用 Cotton blue 溶在 lactophenol 液固定殺死，於顯微鏡下隨機計數其發芽率，每一處理最少計算一千個分生孢子，其結果如圖 7。分生孢子之發芽率在 36C 時最好，達 44%，32C 及 28C 次之，皆為 28%，16C 以下，40C 以上皆不能發芽，孢子收自平板或斜面培養一週者，其結果亦同，惟短橢圓形孢子和長橢圓形孢子數量比約為 5:1，而長橢圓形孢子之發芽率却比短橢圓形者高，約多 2~3 倍。

不論長橢圓形或短橢圓形孢子，發芽後於菌絲上皆先產生長橢圓形孢子，48~72 小時後，短橢圓形孢子才大量產生 (圖 3, 4)。

(3) 碳素源對菌絲生長之影響： Czapek 氏液體培養基之碳素源由蔗糖、葡萄糖、棉子糖 (Raffinose)、半乳糖、花楸糖醇 (Sorbitol)、糊精、果糖、麥芽糖、鼠李糖 (Rhamnose)、澱粉和花楸糖 (Sorbitol) 分別單獨使用，各用量為 2%。在 125ml 三角瓶內裝 30 ml，每處理五瓶，接種



圖六、溫度對番石榴立枯病菌菌絲生長之影響  
Fig. 6. Effect of temperature on the mycelial radical growth of *M. psidii*



圖七、溫度對分生孢子發芽之影響  
Fig. 7. Effect of temperature on the conidial germination of *M. psidii*

表一、 碳素源對番石榴立枯病菌生長之影響

Table 1. Effect of various carbon sources on the growth of *Myxosporium psidii*

碳 素 源* Carbon source	菌絲乾重量 (毫克)** Mycelium dry weight (mg)
蔗 糖 (Saccharose)	65.2
葡 萄 糖 (Dextrose)	57.8
棉 子 糖 (Raffinose)	35.3
半 乳 糖 (Galactose)	48.0
花 楸 糖 醇 (Sorbitol)	46.8
糊 精 (Dextrin)	43.9
果 糖 (Fructose)	42.4
麥 芽 糖 (Maltose)	28.8
鼠 李 糖 (Rhamnose)	24.9
澱 粉 (Starch)	22.4
花 楸 糖 (Sorbose)	20.9
對 照 (Control)	4.1

\* 各碳素源濃度為每 300ml Czapek 氏液體培養基中含 6 公克。  
Six grams of each carbon source in 300 ml Czapek's medium.

\*\* 在 30 C 培養 21 天之五重複平均。  
Incubated for 21 days at 30 C, average of 5 replications.

後放置在 30C 定溫箱內 21 天，然後測定菌絲乾燥重量，結果如表一。番石榴立枯病菌可利用所試之 11 種碳素源，而以蔗糖為最佳，依次為葡萄糖、棉子糖、半乳糖、花楸糖醇、糊精和果糖，至於麥芽糖、鼠李糖、澱粉和花楸糖略差。

(4) 氮素源對菌絲生長之影響：Czapek 氏液體培養基之氮素源分別以天門冬醯胺 (Asparagine)、甘氨酸(Glycine)、磷酸二氫鉍、硝酸鉀、硝酸鉍、硝酸鈉、硫酸鉍和氯化鉍單獨使用，氮素

表二、 氮素源對番石榴立枯病菌生長之影響

Table 2. Effect of various nitrogen sources on the growth of *Myxosporium psidii*

氮 素 源* Nitrogen sources	菌絲乾重量 (毫克)** Mycelium dry weight (mg)
天門冬醯胺 (Asparagine)	82.2
甘 氨 酸 (Glycine)	65.1
磷酸二氫鉍 ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ )	47.2
硝 酸 鉀 ( $\text{KNO}_3$ )	41.3
硝 酸 鉍 ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )	37.7
硝 酸 鈉 ( $\text{NaNO}_3$ )	34.2
硫 酸 鉍 ( $\text{NH}_4$ ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	34.3
氯 化 鉍 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )	33.0
對 照 (Control)	6.7

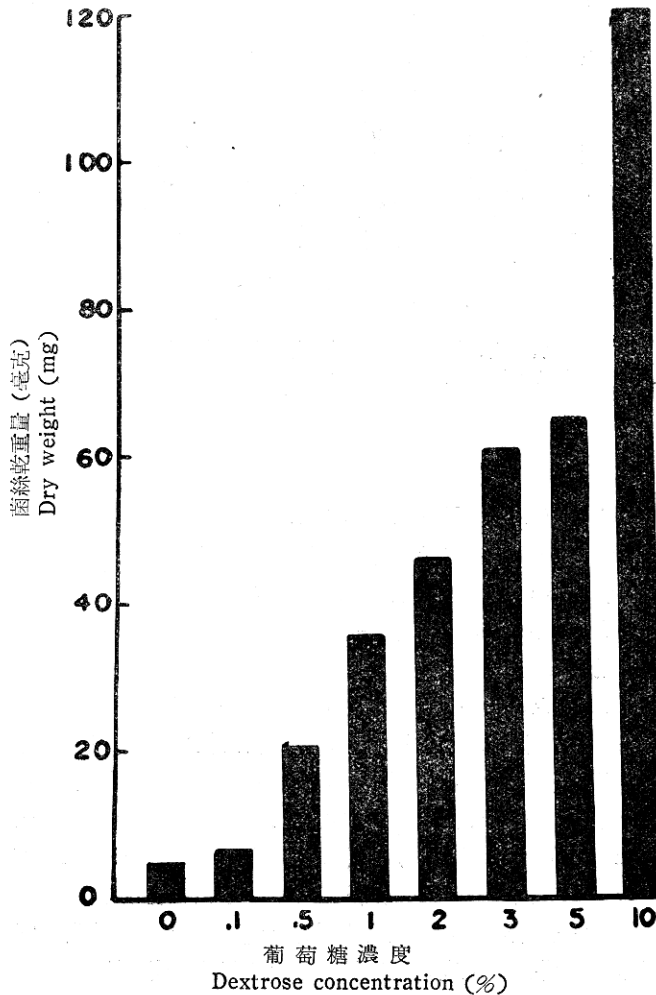
\* 氮素濃度為 300 ml Czapek 氏液體培養基中均含 0.1 g 的氮。  
Equivalent of 0.1 g nitrogen in 300 ml Czapek's medium.

\*\* 在 30 C 培養 21 天之五個重複平均。  
Incubated for 21 days at 30 C, average of 5 replications.

之用量為每 300 ml 培養液用 0.1 公克氮素，其他步驟和碳素源同，其結果（表二）以有機氮之利用情形較佳，而天門冬醯胺較甘胺酸為佳，無機氮之利用情形相差有限，以磷酸二氫鉍較好。

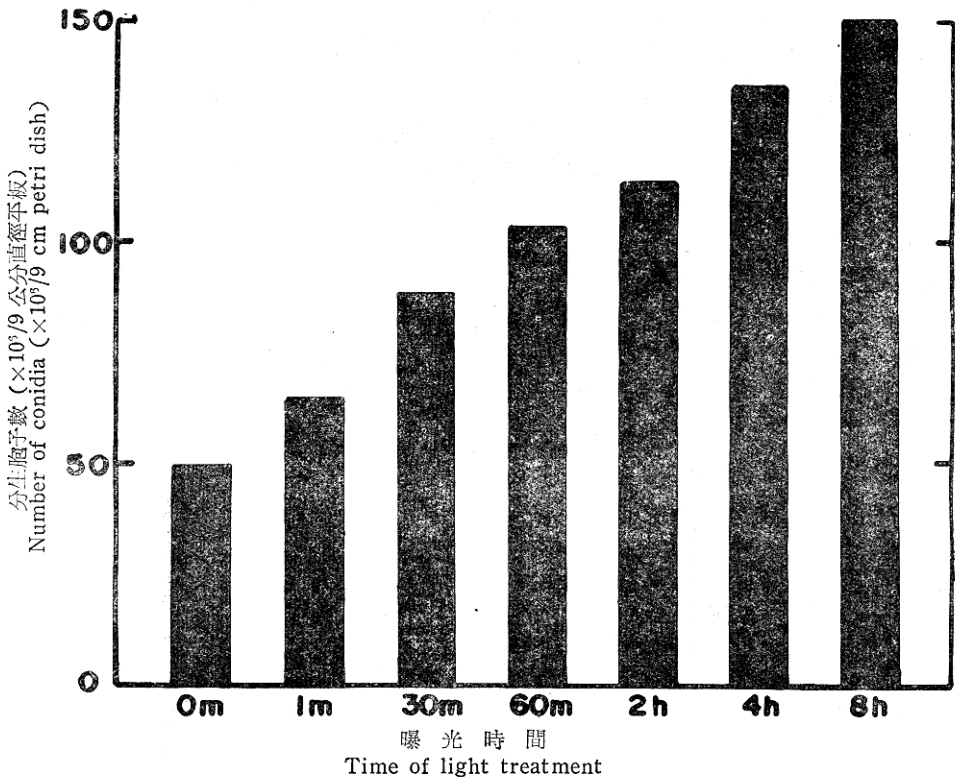
(5) 碳素源濃度對菌絲生長之影響：Czapek 氏液體培養基之碳素源使用葡萄糖，其濃度為 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 5 和 10%，試驗和培養方法如碳素源之試驗，結果菌絲乾重量隨著葡萄糖用量之增加而增加，葡萄糖用量在 10% 時，菌絲乾重量達 120 mg 之多（圖 8）。

(6) 光線對分生孢子產生之影響：將本菌在 Czapek 氏平板培養基於 30C 定溫箱內培養三天後，折除所包之鋁鉚，於室溫下 (26~28 C) 開始曝露不同時間之間接光，每天曝露時間分別為 1, 30, 60 分鐘，2, 4 和 8 小時，其他黑暗時間放置 30C 之定溫箱內。曝光處理連續四天後以血球計算盤，計數其產孢量，結果如圖 9。產孢量隨著曝光時間之增長而增加，無曝光處理之產孢量仍不少，每 9cm 直徑之平板可產生  $5 \times 10^7$  個孢子。曝光時間愈久，其孢子環愈寬厚，愈明顯，分生孢子愈多，即光線可刺激本菌產生孢子（圖 5）。而置窗邊者雖無孢子環出現，但孢子量頗多。



圖八、不同葡萄糖濃度對番石榴立枯病菌生長之影響

Fig. 8. Effect of dextrose concentration on the growth of *M. psidii*



圖九、不同曝光時對番石榴立枯病菌產生孢子之影響

Fig. 9. Effect of light treatment on the sporulation of *M. psidii*

### 討 論

*Myxosporium*, *Gloeosporium* 及 *Collectotrichum* 三屬為 Melanconiaceae 科內可引起炭疽病者<sup>(3)</sup>。*Gloeosporium* 和 *Collectotrichum* 過去是根據剛毛產生與否來區別，*Myxosporium* 不產生剛毛，過去和 *Gloeosporium* 之差別在於前者寄生於木本植物之莖上而後者在草本植物上<sup>(4)</sup>。如今 *Collectotrichum* 和 *Gloeosporium* 已合併在一起，而採用前者名稱<sup>(6)</sup>。*Myxosporium* 和這兩者的差別，有待分類學家之深入研究。

番石榴立枯病 *Myxosporium psidii* 最大的特徵是同一菌絲上可以產生兩種完全不同型之分生孢子；長橢圓形及短橢圓形。黑澤<sup>(1)</sup>最初敘述本菌時，主要是根據病枝上所形成之孢子堆，病枝條上之孢子大多數為成鏈狀之短橢圓形孢子，但黑澤亦曾提及培養基上亦能觀察到長橢圓形孢子。兩種孢子之形成，因培養基成份及其他環境因子之差異而變化，何種因子促成產生何種孢子，有待今後進一步研究。根據 Clements 和 Shear 兩氏<sup>(4)</sup>，*Myxosporium* 屬於 Melanconiaceae 之 Hyalosporeae，其分類特徵之一為分生孢子不成鏈狀著生，本菌分生孢子即有成鏈狀及非成鏈狀兩種同時存在，且在自然界成鏈狀為一顯著特徵，本菌列入 *Myxosporium* 是否恰當，實仍待商榷。

本菌菌絲之生長和孢子發芽最適溫度皆偏高溫，這和田間番石榴立枯病徵之表現和進展在夏天較快速，而在冬天較緩慢是相符合的<sup>(5)</sup>。

和很多病原真菌類似，*M. psidii* 對有機氮之利用比無機氮好，菌絲在高濃度之醣類下生長很

好，葡萄糖濃度在 10% 時，菌絲生長比在 5% 高出 1 倍，顯然本菌可在高滲透壓下生長。

### 參 考 文 獻

1. 黑澤英一. 1926. パンシロウの立枯病, 臺灣博物學會會報 83:47-61.
2. 謝式梓鈺、梁文進、高清文、呂理榮. 1975. 番石榴立枯病菌之形態與生理, 植物保護學會會刊 17(4):5  
(摘要)
3. Bessey, E. A. 1950 Morphology and Taxonomy of Fungi. The Blakiston Co, Toronto, Philadelphia 791p.
4. Clements, F. E. and C. L. Shear. 1931. The Genera of Fungi. Hafner Publishing Company. New York & London 496p.
5. Leu, L. S., C. W. Kao, C. C. Wang, W. C. Liang and S. P. Y. Hsieh. Symptoms, and inoculation of guava wilt incited by *Myxosporium psidii* (Unpublished).
6. Sutton, B. C. 1973. Coelomycetes. In G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow and A. S. Sussman (ed.) "The Fungi an Advanced Treatise" vol. 4A. 513-582p. Academic Press, New York & London.