

包籜矢竹簇葉病在陽明山 國家公園內分佈及病態組織學研究

The distribution and pathological histology
of Witches' broom of Sinobambusa kunishi,
in Yang Ming Shan National Park

研究生：施小玲 (R76604207)
Graduate student: Sheau-lin Shih

指導教授：曾顯雄 博士
Advisor: Dr. Shean-Shong Tzean

陽明山國家公園管理處



301-R01943

內政部營建署陽明山國家公園
管理處委託研究



中華民國七十八年九月

一、前言：

包籜矢竹(Sinobambusa kunishii) (圖 1) 在陽明山國家公園境內數量多，分布廣，為公園內植物生態中之優勢種，在七星山、竹子山、大屯山、小觀音山一帶有廣大群落出現，常呈純林分布(圖 1)，面積約574公頃，佔全國家公園面積的5%。

包籜矢竹屬禾本科(Gramineae)，秆直立、光滑，高可達6公尺，徑1~2.5公分，節間長20~35公分；側枝一般3，有時多數叢生。籜脫落性，初為淡綠紫色，後變成灰褐色，外側有密毛。葉1-3生於枝端，長橢圓披針形，長10~25公分，寬2~2.5公分，先端銳形，基部楔形，脈7~9條。每年四月中旬發新筍，可供食用。

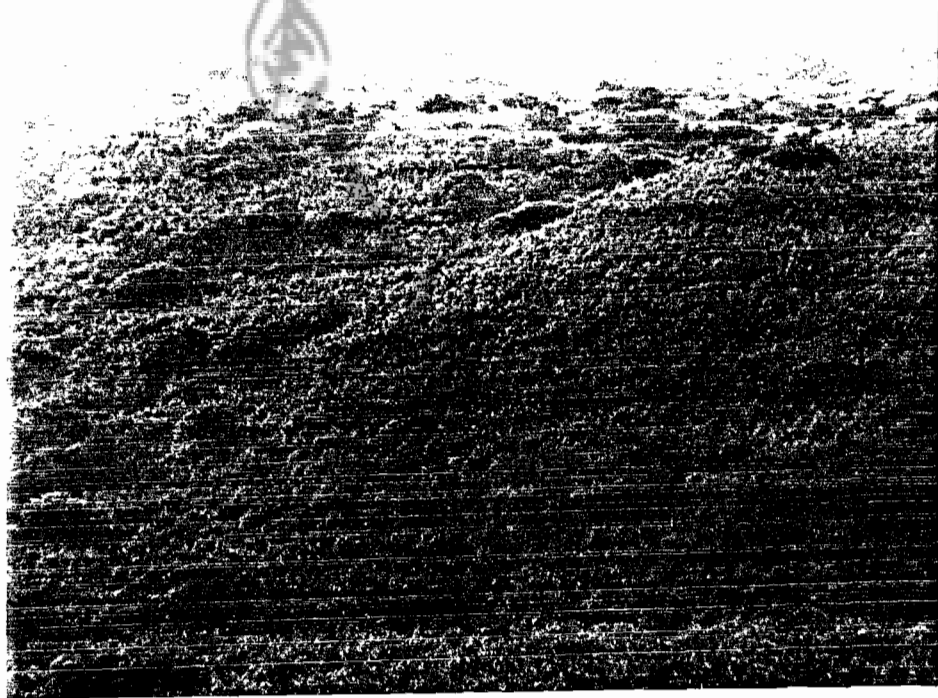
竹類簇葉病(witches' broom)首先於1908年報導在日本發生，病原為Aciculosporium take Miyake，是一種子囊菌(Ascomycetina)，寄主有13種；本病在台灣早有紀錄，直到1976年才由陳其昌教授確定其病原亦為 A. take，寄主有4種。在日本尚有Epichloe sasae Hara 引起日本女竹(Sasa spp.)發生簇葉病。

包籜矢竹簇葉病於民國七十五年首度由曾顯雄教授及簡相堂先生在陽明山公園內七星山區及大屯山區發現。病徵異於台灣其他竹類之簇葉病病徵；經初步分離鑑定病原菌的結果顯示，引起包籜矢竹簇葉病原菌為本省新紀錄種，亦為世界新種，目前暫定其學名為Epichloe sinobambusae。

本篇報告為根據77年8月至78年9月觀察包籜矢竹簇葉病在陽明山國家公園分布現況，及病理組織學觀察，並提出防治建議。



A



B

圖 1：包籜矢竹

A. 單株 B. 密生林

二、方法：

(一)病原分離觀察：

自78年2月至9月採取新鮮子座，剝除外層葉鞘，再經下列過程處理以分離病原：

- a. 75%酒精，表面殺菌10分鐘。
- b. 無菌水漂洗3次。
- c. 以無菌解剖刀將子座切成數段。
- d. 移入V-8或PDA或CYM培養基中，25℃恆溫培養。

另將新鮮子座以徒手切片法製備臨時標本片，以光學顯微鏡觀察病原型態。

(二)病理組織學觀察：

1. 石臘切片製備：

採取健康包籐矢竹小枝條先端，含捲曲新葉及第一節莖枝，病株先端含E. sinobambusae子座下方第一節莖枝，切取0.2×0.2×0.3cm 試材置於固定瓶中，經下列步驟處理：

- (1) 50% FAA固定過夜，抽氣1小時：

FAA: Formalin 5c.c + Acetic acid 5c.c + 50% Alcohol
90c.c.

- (2) TBA系列脫水：

t-butanol	: 95% ethanol	: H ₂ O
10	40	50

20	50	30
35	50	15
55	45	0
75	25 (無水酒精)	0
100	0	0

每步驟各需 2小時。

- (3) 滲臘於60℃溫箱內操作，將小臘塊(paraffin)分次加入瓶中，至完全取代t-butanol為止，需時12~24小時。
- (4) 將滲臘完全之試材和液態臘一起倒入自製紙盒(paraffin boat)中，置於冷水中迅速冷卻凝固。
- (5) 以A0 820 Rotary Microtome 切取10u厚之切片
- (6) 張貼切片於載玻片上。

粘附劑：蛋白(albumin)：甘油(glycerol)=1:1

- (7) 染色和脫水：

- a.二甲苯(xylene)/10分鐘
- b.二甲苯：無水酒精(1:1)/3分鐘
- c.依100% - 95% - 85% - 70% - 50%酒精系列，各3分鐘
- d.1% Safranin之50%酒精溶液染色/4小時
- e.蒸餾水洗去多餘染劑
- f.50% - 70% - 85% - 95%酒精系列，各3分鐘
- g.0.5% fast green 之95%酒精溶液染色/3分鐘
- h.95%酒精洗去多餘染劑
- i.100%酒精/3分鐘/次/2次

J.100% 酒精：二甲苯(1:1)／3分鐘

k.二甲苯／5分鐘

l.加一滴巴爾森(balsam)蓋上蓋玻片。

2.掃瞄式電子顯微鏡(SEM)觀察：

- (1) 採取健康及發病之包籜矢竹小枝條，切取組織塊，在 2% glutaraldehyde 溶於 0.1M phosphate buffer pH7.2中，於 4℃ 固定 2小時。
- (2) 以 0.1M phosphate buffer 沖洗，15分鐘／次／3次。
- (3) 以丙酮系列脫水，自 50%、70%、80%、90%、95%、100% (2次)，每步需各需 15～20分鐘。
- (4) 臨界點乾燥(CPD)。
- (5) 表面覆金膜(Au coating)。
- (6) 以掃瞄式電子顯微鏡於加速電壓 15KV 下觀察，照相。

(三)包籜矢竹簇葉病分布現況調查

陽明山國家公園境內，沿汽車可通行之道路，觀察並記錄包籜矢竹簇葉病發生及分布。

三、結果：

1.病原分離觀察：

分別於 78年2月23日、3月30日、4月7日、4月16日、5月4日、6月28日、7月21日、9月3日八次採取新鮮子座。分離病原，於PDA獲得之純培養菌株，於培養基上一直未產孢。

在分離病原時，同時可分離得，Trichoderma sp.,
Neurospora sp., Aspergillus sp., Penicillium sp.,
Fusarium sp.。

以光學顯微鏡觀察 E. sinobambusae新鮮子座之徒手切片，可見長條形的子囊 (ascus)，及正在釋出成熟之小孢子 (part spores)，新鮮的小孢子具二隔膜，三個細胞所構成，中央細胞外被膨大的膜，外形似保齡球瓶 (圖 2)

2. 病徵發展：

自 77年8月至 78年7月觀察，小油坑及七星山之病株，病徵發展型態有極顯著差異，分別為有子座發生之巢狀及蔓狀簇葉病徵，另一為尚未發現有子座發生 (圖 3) 之簇葉病徵。在有子座發生之病枝先端於冬末春初在老化子座下方的側芽萌發 (圖 4)，小枝伸長，著生顯著矮縮葉片，節間縮短，入秋以後，病枝葉黃化，停止生長，待翌年 2月於黃化病枝先端膨大，形成子座；成熟子座藍紫色，自葉鞘彎曲而出，呈牛角狀 (圖 5)。子座發生 2~4月最多，4月以後逐漸減少，9月曾在七星山一帶發現極少子座；子座老化後，再由其下方的側芽萌發生長，仍著生矮縮葉片。入秋後，病枝及矮縮葉片枯萎黃化，如此循環發生，病徵逐漸擴大。著生有發育中子座的病株枝條，在採剪回實驗室後，未成熟子座不能繼續發育成熟。

圖2 E. sinobambusae的子座

- A. E. sinobambusae 在包攬矢竹枝條的一側發育凝柔組織，內分隔，多數腔室為子囊果（↑）
- B. 子囊果內有長條形子囊及緣絲（↑）
- C. 子囊果有頸，孔口突起於子座表面（↑）（40倍）
- D. 子囊（100倍）
- E. 子囊正在釋放小孢子（↑）（200倍）
- F. 新鮮釋出的小孢子（200倍）
- G. 小孢子。

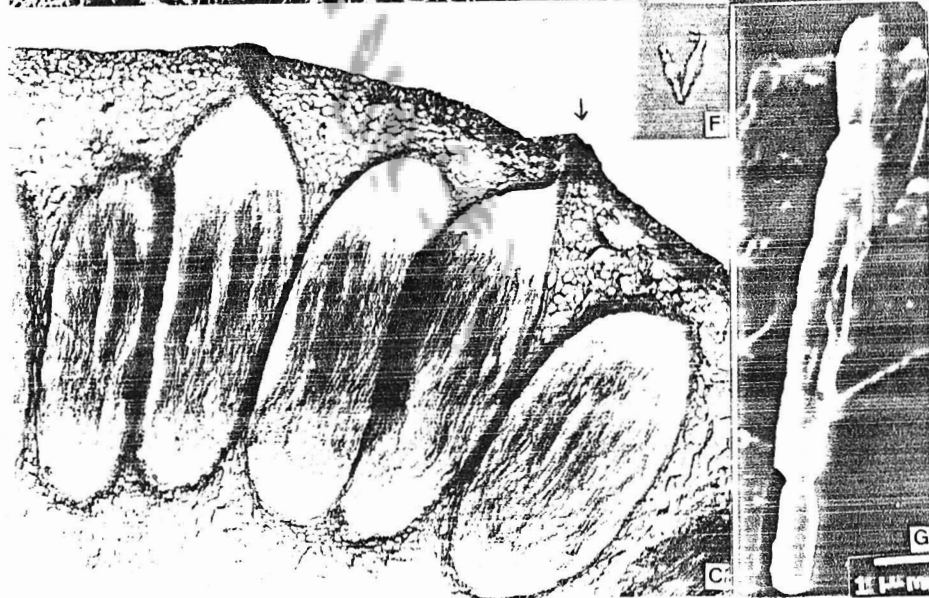
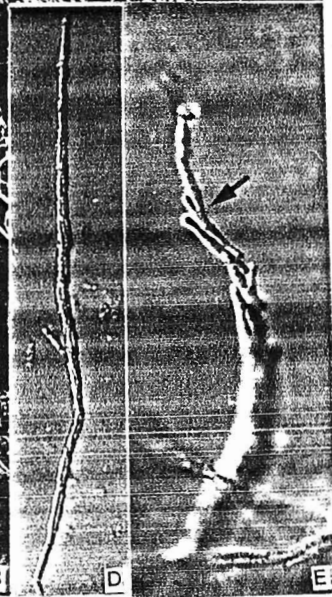
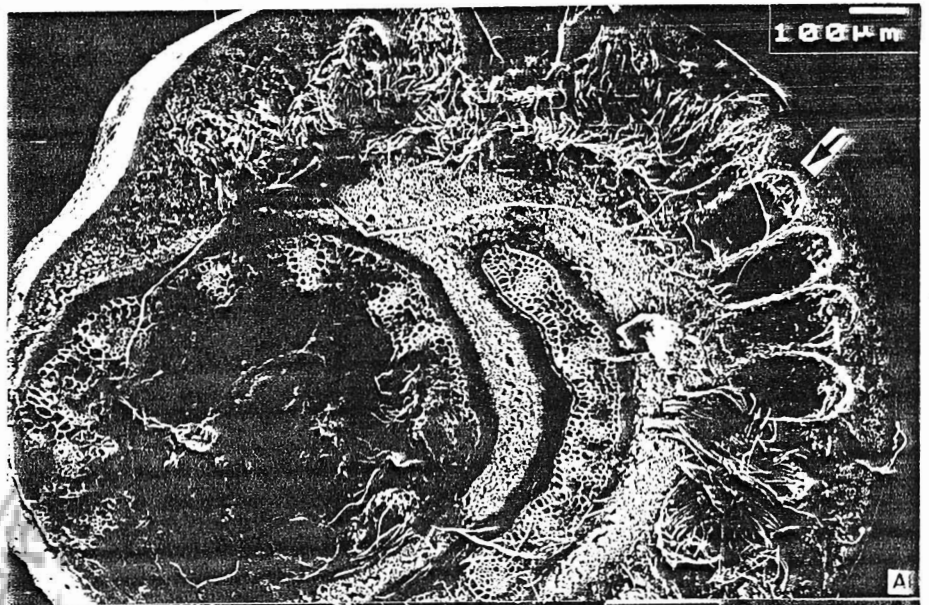




圖 3：包籬矢竹簇葉病病徵

A. 蔓狀 B. 巢狀 C. 中間型



A



B



C

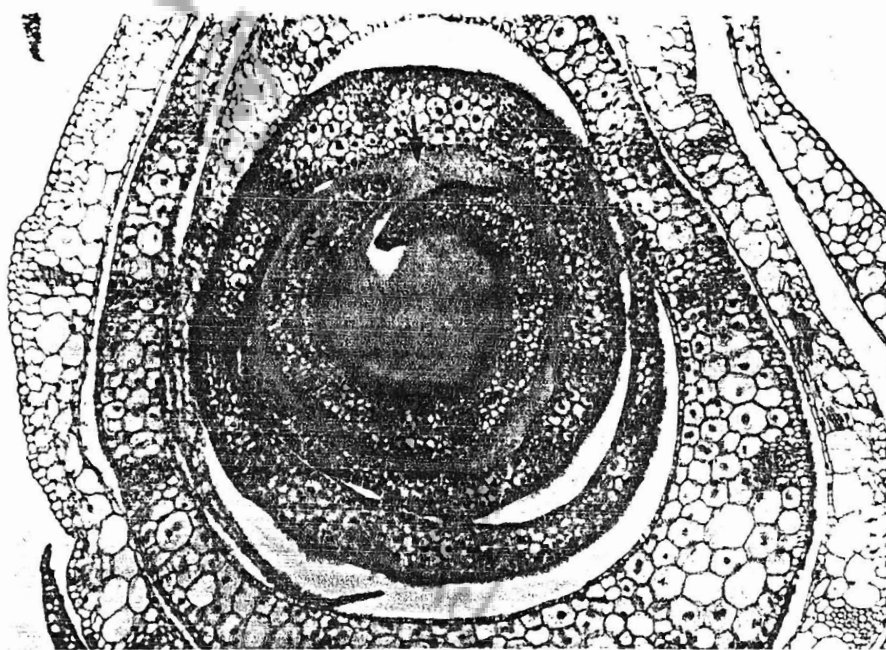
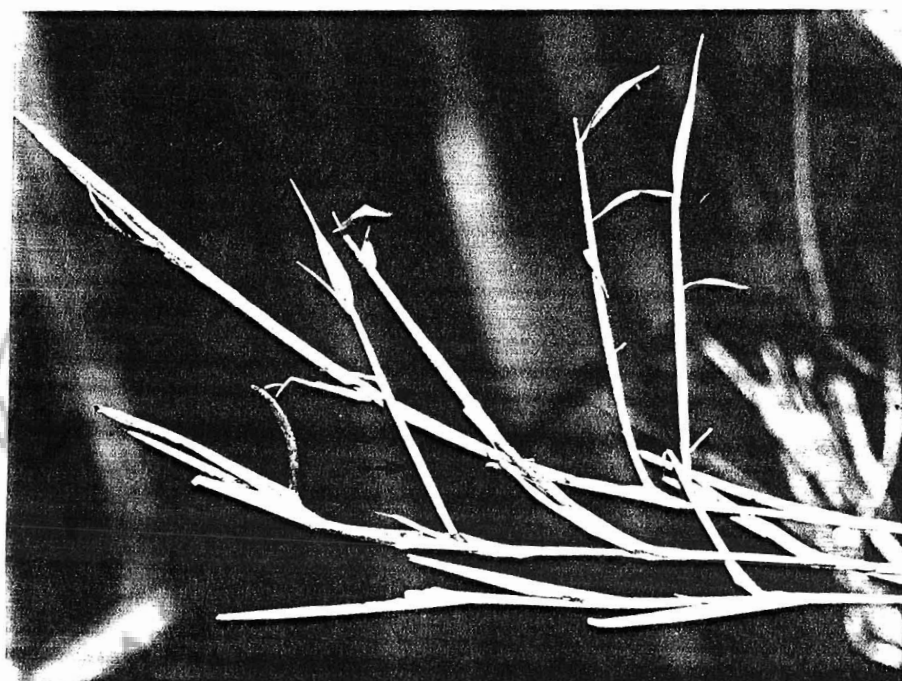
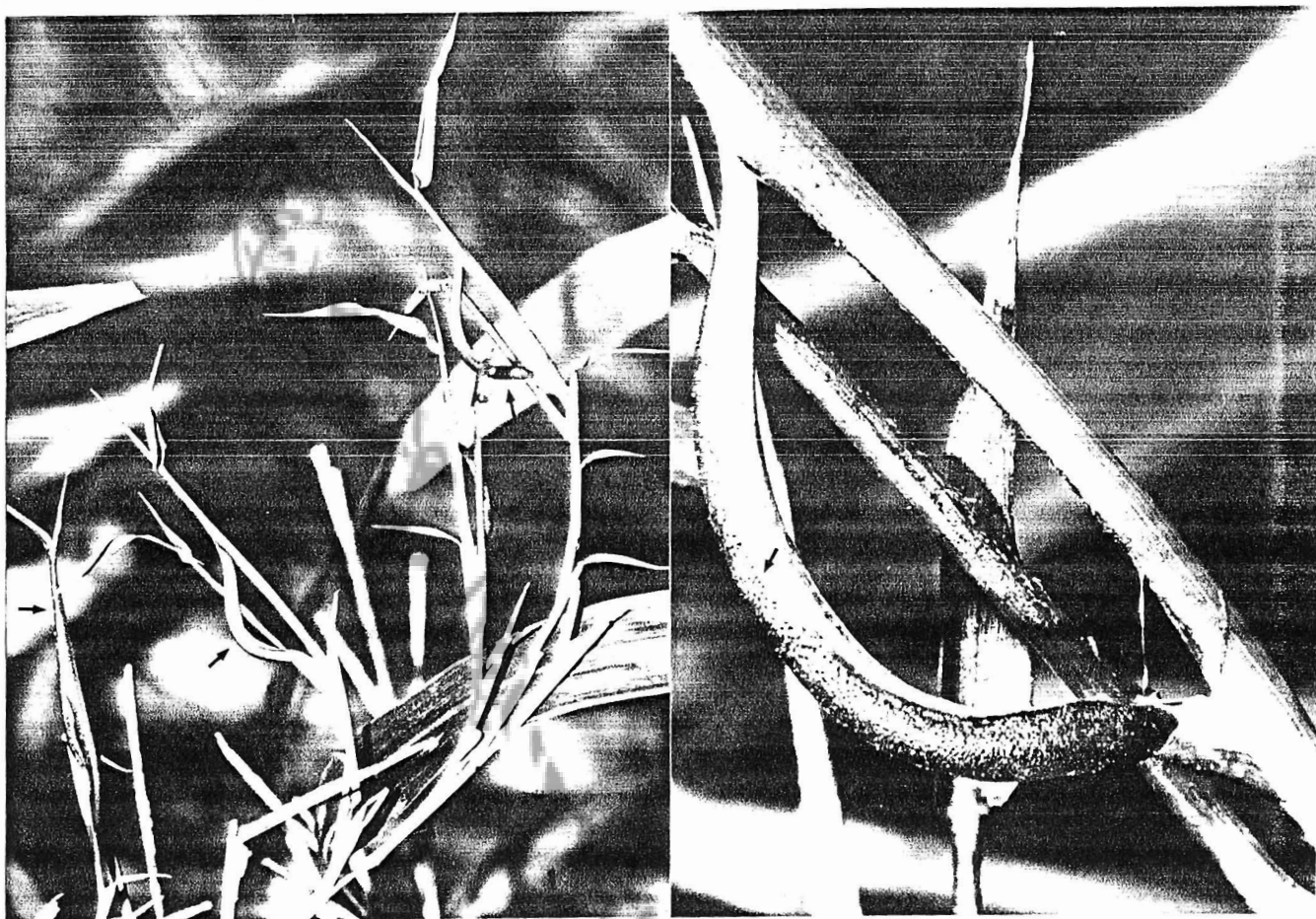


圖 4: A. 老化子座下方側芽萌發 (↑)

B. 萌發側芽葉片間有 E. sinobambusae (↑)



A

B

圖 5: E. sinobambusae 的子座

A. 不同成熟度的子座 (↑)

B. 子座表面孔口 (↑)

尚未發現有子座發生之病株，小枝叢生，節間縮短，著生葉片的大小介於健康葉片和巢狀及蔓狀病葉之間，本文將此病徵稱為中間型病徵。

3. 病理組織學觀察：

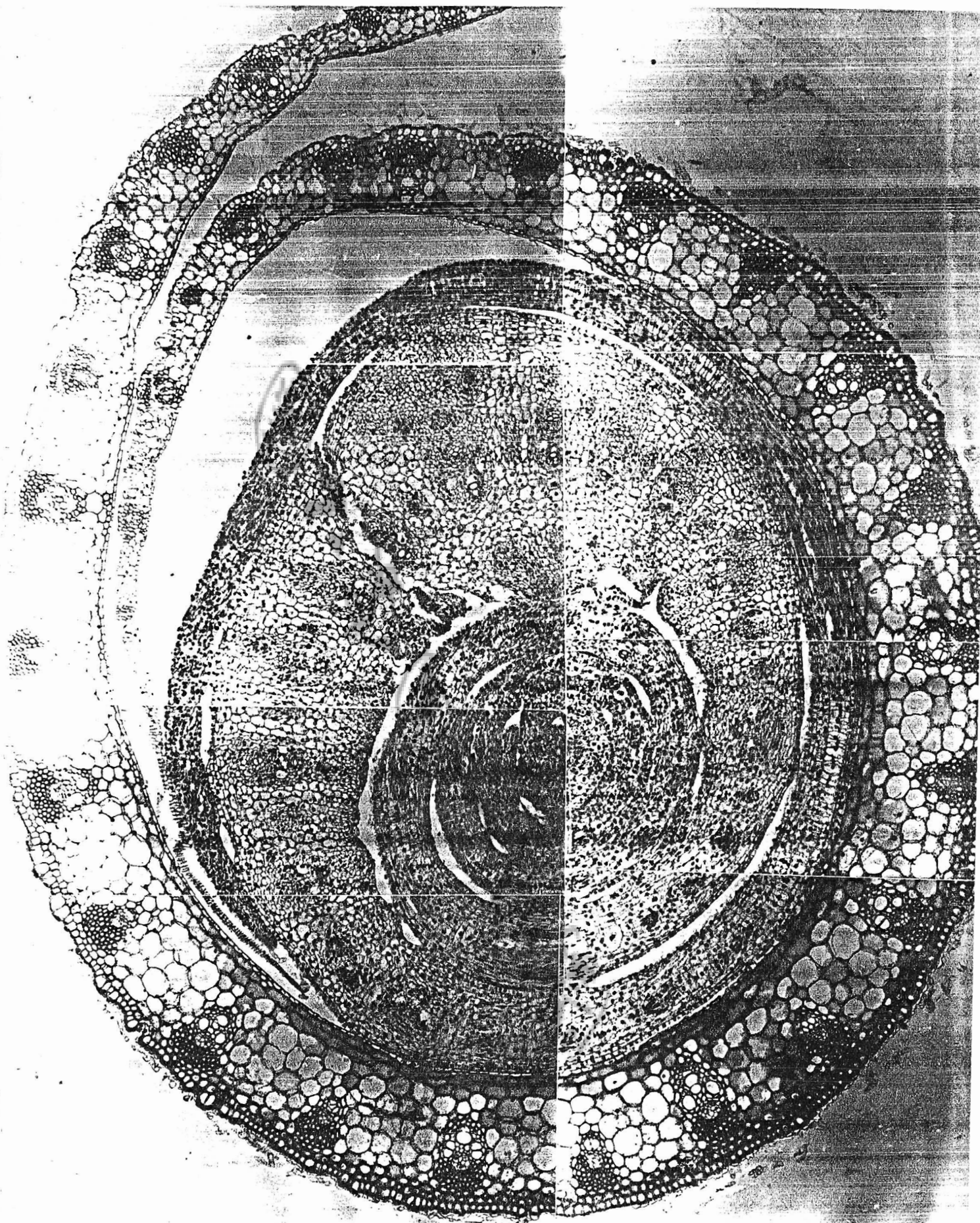
健康包籜矢竹小枝條先端，是由數片新葉向內捲曲而成（圖 6）。病株小枝條先端捲曲新葉之間的空隙內，可見病原 E. sinobambusae 生長，初沿新葉表面生長，最後將新葉間空間完全佔滿（圖 7），由中央新葉向外蔓延，菌絲與葉片之間界面明顯，菌絲未侵入葉肉組織，亦無吸器(haustorium)產生（圖 8）。E. sinobambusae 繼續生長至新葉外側，小枝條逐漸膨大，菌絲組織化，菌絲走向不同，排列成三層（圖 9），並形成擬柔組織(pseudoparenchymatous tissue)，子囊殼(ascocarp)在擬柔組織內發育，稱為子座(stroma)，子囊殼有頸，有緣後(periphyses)（圖 2）頸突起於子座表面，是為子囊殼孔口(Ostiole)（圖 5）。子囊殼長橢圓形，內有多數長條形子囊，子囊內有子囊孢子呈細絲形，在子囊內斷裂為小孢子，經脫水處理後，中央細胞外被膜消失，小孢子呈趕麵棍棒狀（圖 2）。未發現無性世代出現。

病徵發展晚期，子座發生後，E. sinobambusae 組織化的菌絲與包籜矢竹葉片二者界面仍十分清晰，矢竹葉肉細胞外形完整，未發現有 E. sinobambusae 侵入葉肉細胞間或細胞內腔（圖 8）。

在著生子座的小枝條及老化子座下方伸出之側芽發展成的小



圖 6：健康包籐矢竹小枝條先端橫切面，由數片新葉捲曲成（20倍）



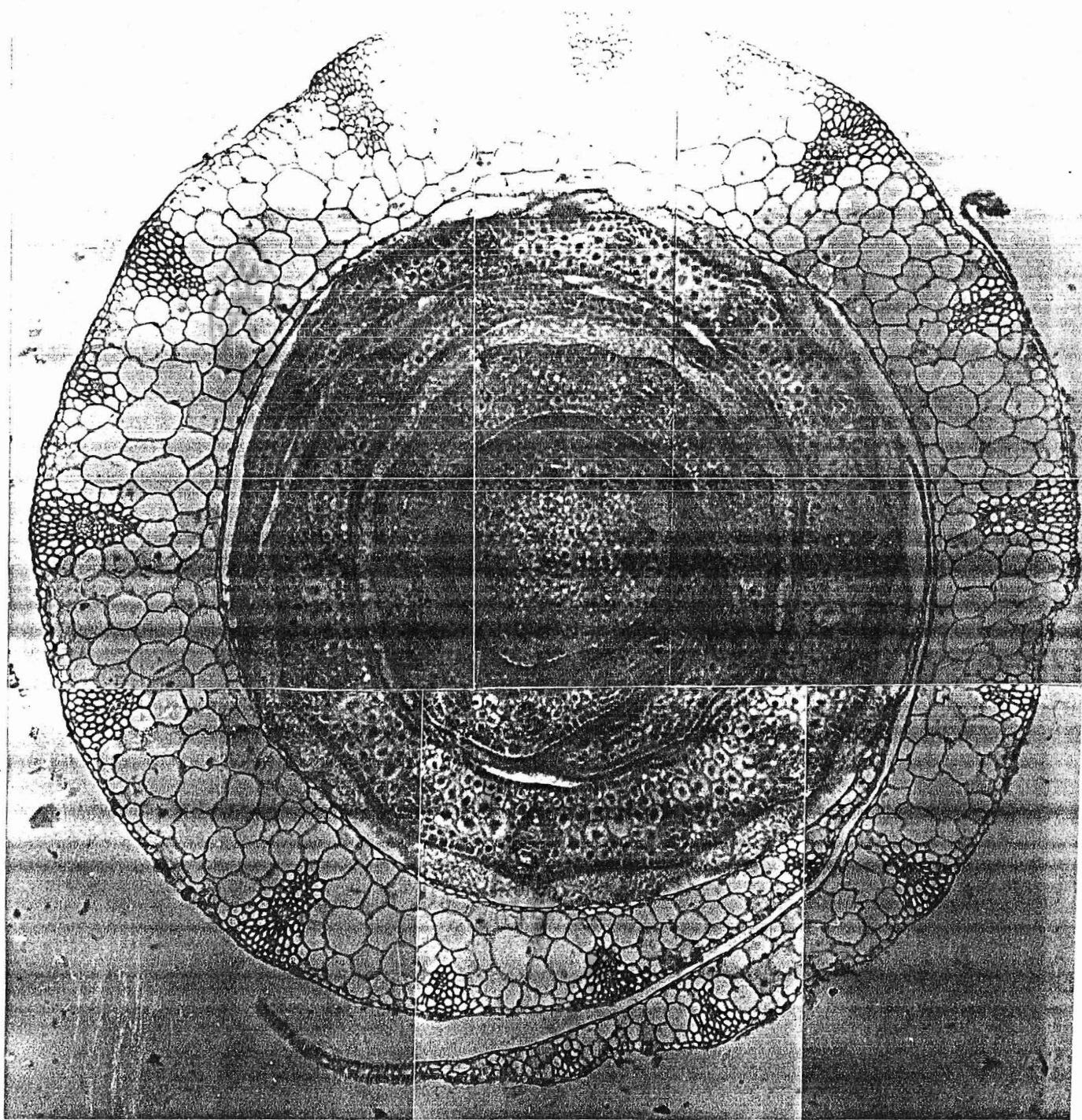
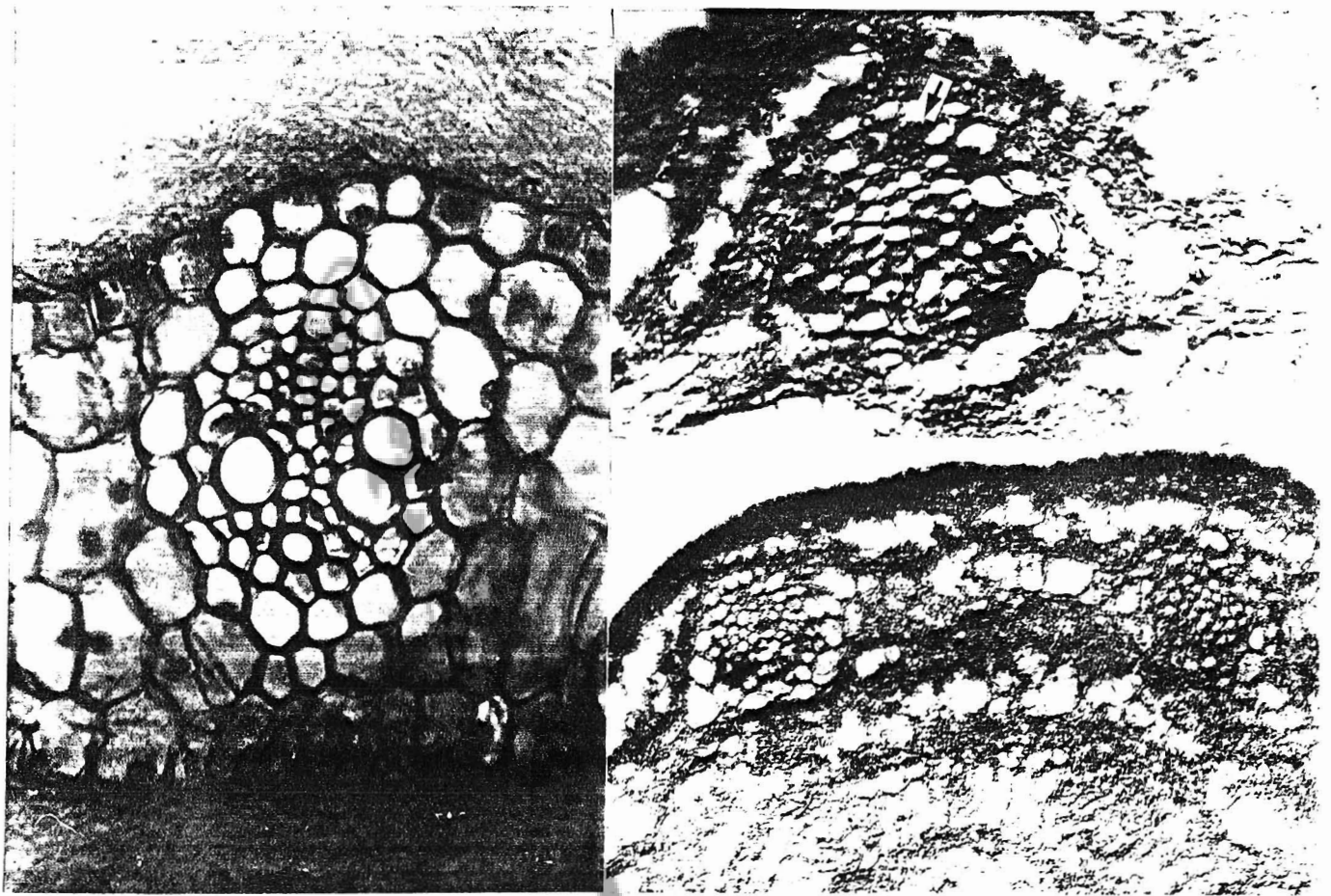


圖 7: 包箴矢竹病株小枝條先端, E. sinobambusae 在葉片間空隙生長



A B
C

圖 8：

- A. 包籜矢竹簇葉病病枝，於子座發生後，E. sinobambusae 仍未侵入葉肉組織，細胞外形完整 (100 倍)。
- B. A. take 引起桂竹簇葉病，菌絲侵入葉肉細胞間 (↑) (100 倍)。
- C. 桂竹葉肉組織完全瓦解 (40 倍)。

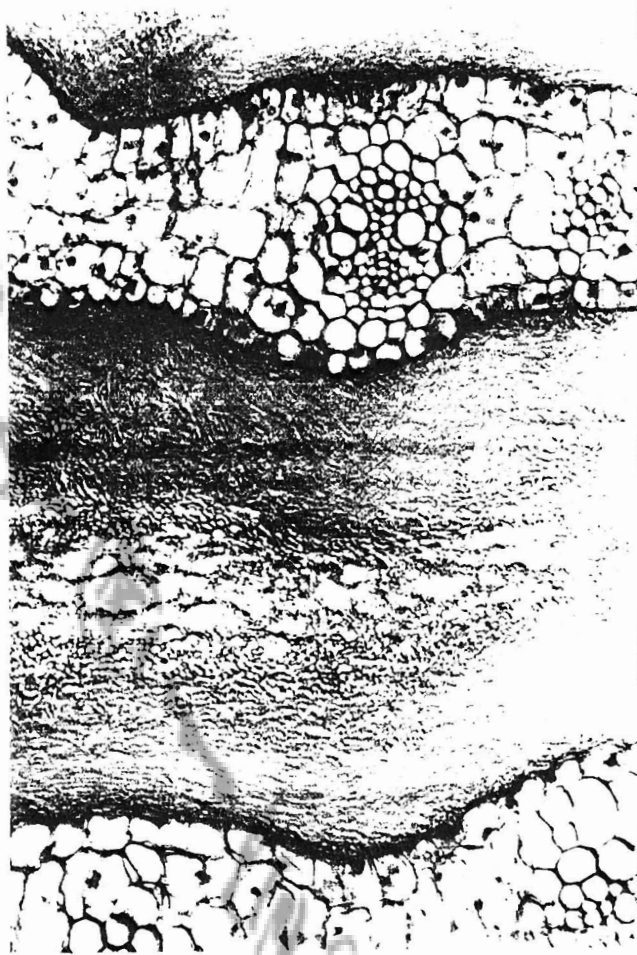


圖 9：矢竹葉面與 E. sinobambusae 界面明顯，菌絲因走向不同，排列成三層。

枝條，其組織中未發現 E. sinobambusae 存在，但在後者小枝條先端可見 E. sinobambusae 出現在捲曲新葉葉片之間隙內（圖 4）。無子座發生病株組織中未發有 E. sinobambusae 存在。

4. 包籜矢竹簇葉病發生現況

陽明山國家公園內，七星山、竹子山、大屯山一帶，均可發現包籜矢竹簇葉病病株。於 78 年 2 月底發現在小油坑附近的步道及往于右任墓公路兩側的包籜矢竹簇葉病發生嚴重，病株先端有大量子座正在發育。但是，一個多月後，在小油坑附近的步道經國家公園修剪，已將大部分病株砍除，只餘少數病株。目前，往于右任墓道路兩旁的包籜矢竹簇葉病發展良好，蔓狀，巢狀及中間型病徵都有出現，其餘地區未見嚴重發病。

四、討論：

包籜矢竹簇葉病病原 E. sinobambusae 在矢竹小枝先端捲曲新葉間發展的方式與桂竹 (Phyllostachys makinoi) 簇葉病病原 A. take 在桂竹小枝先端蔓延的型式相同。病徵發育至晚期，子座發生後，E. sinobambusae 仍未侵入台灣矢竹葉片；但是桂竹簇葉病於子座發生後，A. take 侵入桂竹葉肉組織，並瓦解葉肉細胞（圖 8），二病原在寄主體內行為模式迥異。根據病理組織學觀察，E. sinobambusae 不破壞寄主細胞，亦未發現有吸器產生，因此推測 E. sinobambusae 可能是經由擴散作用自寄主獲取養分維持生長發育。中間型病株未發現有 E. sinobambusae 存在，原因待進一步求證。

植物發生簇葉病的機制，一般認為是寄主體內荷爾蒙量受到干擾失去平衡(inbalance)導致的，目前已肯定 Corynebacterium fascians 感染豆類引起的帶化病(fasciation)或簇葉病，是病原菌產生七種 Cytokinins 佔有重要角色。

此外，病原菌分泌的毒素可能作用於植物荷爾蒙反應代謝的部位或附近，也可以表現植物荷爾蒙的效應而引起簇葉病徵發展。已經證實 Fusicoccum amygdali 分泌的 Fusicoccin 可以抵消植物荷爾蒙 ABA 的作用，在非 F. amygdali 寄主植物上，Fusicoccin 作用似 IAA，並可取代 GA₃ 打破小麥種子休眠。雖然 Fusicoccin 作用機制與植物荷爾蒙的作用方式不完全相同，但可以表現植物荷爾蒙的效應，因此，E. sinobambusae 引起包籜矢竹簇葉病的機制，是因寄主體內植物荷爾蒙異常或是由 E. sinobambusae 的代謝物質的作用，必須進一步證實。

陽明山國家公園境內，在清康熙年間，仍是茂密的森林，同治於至光緒初年，由於居民濫墾、放牧、農耕、加上日據時代大規模造林作業，使天然林相幾乎消失；雖然公園境內植物生態景觀曾經歷人為大力干擾，包籜矢竹生育地並未遭受毀滅性的破壞，現在陽明山國家公園內，包籜矢竹屬優勢樹種，在七星山、竹子山、大屯山、小觀音山一帶有廣大群落，並出現純林分布。

現存陽明山國家公園境內的矢竹純林，相當於農業生態系中單一栽培(monoculture)植物相，但是簇葉病發生不如預期的嚴重，推測原因有二：

1. 矢竹族群內抗病性(Resistance)差異：農業生態系中選植單一品種，農藝性狀一致對病害感病性表現一致，屬於垂直抗病性

(Vertical resistance)，病害一旦發生，極易發展成流行病，引起嚴重損失。陽明山國家公園境內的矢竹純林，非人為選種栽植，在其天然族群中保存有多種不用的抗病型式 (different forms of resistance)，對病原侵入表現出不同程度的抗性，具有緩和病害發生的作用，表現出水平抗病性 (Horizontal resistance) 的效果，因此，包籜矢竹純林中，簇葉病沒有預期的嚴重發生。

2. 密生純林提供保護作用

晚冬，E. sinobambusae在病枝上發生子座並發育成熟，釋出大量接種源，正逢東北季風帶有豐沛雨水，E. sinobambusae藉風雨協助傳布，觀察中發現矢竹簇葉病株多發生於道路旁迎風面的位置，在矢竹密生純林中步道兩旁深入 1公尺，即極少出現病株，顯示位於內側的矢竹受到迎風矢竹的保護，感染機會減少，降低簇葉病發病率。

五、經營管理之建議：

包籜矢竹簇葉病在陽明山國家公園境內分佈與發病情行，不如預期的嚴重，若不採取任何防治措施，不會危及包籜矢竹族群生存，包籜矢竹簇葉病病枝及未成熟子座在脫離寄主植物後，不能繼續生存發育，因此，建議公園管理處可以在子座成熟之前，局部剪除病株，即能有效控制包籜矢竹簇葉病的蔓延。

包籜矢竹簇葉病的病原菌 S. kunishii 很可能是臺灣的新記錄種，目前尚未發現有其他寄主植物，因此，該病原菌在真菌學、植物生態

學、植物病理學上具有不可忽視的重要性，建議公園管理處採取適當保育措施在防治包籐矢竹簇葉病時，不作全面性剪除，保留部分病株，使 *S. kunishii* 得以延續族群及提供學術研究用。

國立自然科學博物館
植物所
包籐矢竹簇葉病
S. kunishii

摘 要

根據78年8月至79年9月觀察陽明山公園國家公園境內，包籜矢竹由E. sinobambusae引起的簇葉病，病徵可分為典型蔓狀及巢狀病徵，二者均於病株枝條先端著生牛角狀藍紫色子座，另一種中間型病徵，未觀察到子座發生。

E. sinobambusae 在蔓狀，巢狀病枝先端捲曲新葉間空間生長，菌絲無侵入葉肉細胞間隙及細胞內腔的現象，且無吸器發生。中間型病枝組織內無菌絲存在。

公園境內大屯山、七星山、竹子山一帶，包籜矢竹簇葉病發生嚴重；防治建議為在子座成熟季節局部剪除病枝，即可有效降低接種源數量，控制病害蔓延。

Abstract

Observation of witches' broom of Sinobambusa kunishii caused by Epichloe Sinobambusae around the Yang-ming shan National park area from August 1988 to September 1989, revealed at least three types of witches' broom symptoms. They are elongative type, rosette type and middle-type, respectively. Both elongative and rosette types bear stroma.

The young shoot of S. kunishii is composed of a few newly formed leaves and E. sinobambusae spreaded along the interspace of leaves only. Neither intercellular, intracellular hyphae nor haustorium being formed within the leaf tissue of S. kunishii. Likewise, there is no hyphae within diseased tissues of intermediate-symptome type.

Though S. kunishii witches' broom spread widely but with low severity around Ta-Tun Shan, Chi-Hsing Shan, Chu-Tsu Hu areas. The disease actually did not impose a potential threat to the vegetation of S. Kunishii in this area.

It's suggested to cut the stroma-bearing shoot off before the stroma getting maturation. Through this practice, it should effectively decreased the inoculum density and deter the causal fungus from establishment.

參考文獻

1. 三宅市郎 1908. 竹の天狗巢に就て(豫報)。植物學雜誌 22: 305-307。
2. 林納生、林維治、江濤、張添榮 1981. 台灣竹簇葉病調查與研究，中華林學季刊 14: 135-148。
3. 林維治 1976. 台灣竹亞科植物之分類(續)。台灣省林業試驗所報告第271號。
4. 原攝祐 1923. マダケのズム天狗巢に就ちる，静岡縣農會報 : 300。
5. 陳其昌 1970. 台灣竹類之新病害—天狗巢。台大農學院研究報告 11(2) : 101-112。
6. 蔡淑華 1975. 植物組織切片技術綱要。茂昌圖書有限公司。
7. 歐世瓊 1984. 竹類簇葉病之防治之檢討，行政院國科會專案補助計劃，台灣森林病蟲害研究發展之評估 P.68-72。
8. 篠原正行 1965. マダケのズム巢病に關する研究Ⅰ。病徴 病原 形態，日本大學獸醫學部學術研究報告 22: 42-60。
9. 篠原正行 1966. マダケのズム巢病に關する研究Ⅱ，分生孢子 子囊孢子 發芽，日本大學獸醫學部學術研究報告 22: 27-37。
10. 篠原正行 1967. マダケのズム巢病に關する研究Ⅲ，病原菌之分離 接種，日本大學獸醫學部學術研究報告 25: 7-20。
11. 簡相堂 1986. 竹類簇葉病病原學及簇葉形成機制之探討。國立台灣大學植物病蟲害學研究碩士論文。128 pp。
12. 黃增泉，謝長富，楊國禎，湯惟新 1986. 陽明山國家公園植物生態景觀資源，內政部營建署陽明山國家公園管理處印製。96頁。
13. 陳文杰、蔡清彥 1986. 陽明山國家公園之氣候。內政部營建署陽明山國家公園管理處印製。62頁。

14. Agrios G. N. 1978. Plant pathology. Academic Press N.Y. 703pp.
15. Day P.R., G.J. Jellis 1987. Genetics and Plant Pathogenesis. Blackwell Scientific Publications, London, pp.
16. Misaghi I.J. 1982. Physiology and Biochemistry of Plant Pathogen Interactions. Plenum press, USA, 287pp.
17. Vanderplank J.E. 1984. Disease Resistance in plants. Academic Press, INC. London, pp.