

# 溫度對莧白銹菌 (*Albugo bliti*) 游走孢子囊 釋放游走孢子之影響

李敏郎<sup>1,3</sup> 謝文瑞<sup>2</sup>

1 台中縣 行政院農委會農業藥物毒物試驗所

2 台中市 國立中興大學植物病理學系

3 連絡作者：電子郵件 mllee@tactri.gov.tw，傳真：+886-4-23321478

接受日期：中華民國92年4月15日

## 摘要

李敏郎、謝文瑞, 2003. 溫度對莧白銹菌 (*Albugo bliti*) 游走孢子囊釋放游走孢子之影響. 植病會刊 12:77-84.

本試驗針對溫度對莧白銹菌 *Albugo bliti* 游走孢子囊釋放游走孢子之影響進行研究，以白莧 (*Amaranthus mangostanus*)、紅莧 (*A. mangostanus* forma *ruber*) 與烏莧 (*A. lividus*) 分離之莧白銹菌菌株之游走孢子囊接種於原寄主植物4天後，接種葉片上會產生游走孢子囊堆，游走孢子囊堆形成4天後，游走孢子囊釋放游走孢子的比率最高。成熟之游走孢子囊置於蒸餾水20-40 min 後，就開始釋放游走孢子，在4 hr 後，游走孢子釋放比率達到高峰。游走孢子囊釋放游走孢子的溫度介於12-28 °C，最適溫度為20-24 °C。游走孢子囊在32 °C 下不會釋放游走孢子，但是移置於20 °C 經4 hr 可使部份游走孢子囊釋放游走孢子，且游走孢子囊於36 °C 下經16天後，再放置於20 °C 時，仍有3.4% 釋放率，均顯示 *A. bliti* 對田間溫度變化之適應性極佳。此外如以游走孢子囊堆形成4天後之游走孢子囊為接種源，接種後植株葉片應保溼4 hr 以上，方可增加接種成功率。

關鍵詞：莧白銹菌、莧菜、溫度、游走孢子囊、游走孢子釋放

## 緒言

莧菜 (*Amaranthus* spp., edible amaranth) 屬莧科 (*Amaranthaceae*) 植物，可做為葉菜食用之莧菜種類有野莧 (*A. viridis* L.)、烏莧 (*A. lividus* L.)、白莧 (*A. mangostanus* L.) 與紅莧 (*A. mangostanus* L. forma *ruber* Makino)，後兩者屬商業栽培品種，而穀粒莧 (*A. hypochondriacus* L., *A. caudatus* L.) 則做為穀物粉添加物，補充一般穀物不足之鉀離子與離氨酸。莧菜由於生長快速 (18-23 天)、營養豐富、耐高溫 (40 °C) 等特性，為臺灣夏季主要葉菜類之一<sup>(1,4)</sup>。莧菜栽培適溫為22-30 °C，臺灣中北部主要在夏天栽培，南部則可終年種植。莧菜主要病害有由 *Albugo bliti* (Biv.) Kuntze 引起之白銹病 (white rust)<sup>(5)</sup>、由 *Pythium* spp. 引起之猝倒病 (damping-off) 與由 *Rhizoctonia solani* Kühn 引起之苗立枯病 (seedling blight) 及 *R. solani* AG 2-IIIB 引起之葉枯病 (foliage blight)<sup>(3)</sup> 等。由 *Albugo bliti* 引起之白銹病，罹病葉背上產生游走孢子囊堆 (sori)，造成葉表受害部位黃化、枯萎，嚴重時整葉脫落，植株枯死，因此嚴重影響品質與產量<sup>(2)</sup>。

*Albugo bliti* 為纖毛菌界 (Stramenopila)、露菌目 (Peronosporales)、白銹菌屬<sup>(6,10)</sup>，能形成無性世代之游走孢子囊 (zoosporangia)、游走孢子 (zoospores) 與有性世代之卵孢子 (oospores)。白銹菌游走孢子囊頂端破裂後，原生質向外形成泡囊 (vesicle)，然後自泡囊直接釋放游走孢子，稱間接發芽 (indirect germination)，而游走孢子則於泳動一段時間後靜止，此時游走孢子鞭毛脫落，形成靜止子 (cyst)，然後自靜止子一端產生一條發芽管，進行直接發芽 (direct germination)。卵孢子則在發芽後，於發芽管末端形成泡囊，再從泡囊釋放游走孢子<sup>(8,11,13)</sup>。白銹菌為害寄主植物的感染源為游走孢子，游走孢子靜止後，產生發芽管，以發芽管侵入寄主氣孔內<sup>(8)</sup>，分化成菌絲後，於寄主組織細胞間隙之間生長<sup>(12)</sup>。白銹菌在侵入寄主8-12 hr 後，形成吸器 (haustoria) 以吸取寄主細胞養分<sup>(9,12)</sup>，於寄主體內完成生長與繁殖，最後形成游走孢子囊與游走孢子囊堆。

由於白銹菌屬絕對寄生菌，無法以人工培養，因此在研究 *A. bliti* 之寄生性與生活史時，必須接種在寄主植物上，以得到游走孢子囊做為接種源。由於田間所採集之游走孢子囊釋放游走孢子的釋放率由0% 到70%，游走孢子

囊成熟度變異頗大，無法穩定供應試驗所需之接種源。因此本研究目的在探討游走孢子囊堆形成後，游走孢子囊的成熟度及溫度對游走孢子囊釋放游走孢子能力之影響，以了解田間游走孢子囊對溫度之適應性。

## 材料與方法

### 莧白銹菌菌株收集與繁殖

自雲林西螺與臺中后里，採集栽培之白莧、紅莧與野生之烏莧等受到莧白銹菌感染之植株(圖一、A-C)，分別移植至相互隔離之玻璃溫室與網室內，以 Abw, Abr, Abl 代號分別代表由白莧、紅莧與烏莧罹病株上所得之莧白銹菌菌株。將市售白莧、紅莧種子與自田間採集之烏莧種子，以 1% 次氯酸鈉溶液進行表面消毒 30 sec，再以無菌水漂洗三次，每次 1 min，將消毒後之種子分別撒播於含有栽培土之  $50 \times 30 \times 11 \text{ cm}^3$  大小之塑膠盆，移入 24 °C 植物生長箱內，當植株生育至 4 片展開葉時(以下簡稱 4 葉期)，將無病害感染之健康植株移入上述隔離之玻璃溫室與網室，與田間採集之罹病植株相鄰，使其自然感染莧白銹菌，為維持各菌株之活性，每星期播種一批種子，當其生育至 4 葉期時，移入罹病植株旁，藉此繁殖白銹菌。

### 游走孢子囊之收集

健康植株移入溫網室內，經自然感染 5-7 天後，罹病葉片上開始產生游走孢子囊堆(圖一 D)。將含有游走孢子囊堆之罹病葉片以消毒過之刀片切下後，以蒸餾水浸泡之棉花將葉柄保溼，置於有一層含水之濾紙與 V 型玻璃彎棒之塑膠培養皿(90 mm 直徑)內，一同移入 24 °C 定溫箱內保溼以維持葉片活性。待游走孢子囊堆破裂後，以鑷子及棉花棒刮取葉片上之游走孢子囊，放入 1.5 ml 塑膠離心管中，以 Parafilm "M"<sup>®</sup> (American National Can<sup>™</sup>) 封住瓶口蓋，置於室溫(25 °C)下，做為游走孢子囊懸浮液所需之游走孢子囊來源。

### 游走孢子囊懸浮液之製備

將上述收集之游走孢子囊加入 1 ml 蒸餾水，封好瓶蓋後以 Mini-Beadbeater<sup>™</sup> (Biospec Products) 3000 rmp 震盪 1 min，使游走孢子囊混合均勻後，將濃度調整成每毫升含  $1 \times 10^5$  游走孢子囊之游走孢子囊懸浮液備用。玻片以中性清潔劑浸泡清洗後，以蒸餾水再清洗一次，陰乾備用。將上述游走孢子囊懸浮液滴在上述處理過之玻片上，移入 V 型玻璃彎棒上，然後將玻片與彎棒移入內含一層溼濾紙之塑膠培養皿中，再以 Parafilm "M"<sup>®</sup> 將培養皿封好，形成溼室，以此一標準進行下列各項試驗。

### 游走孢子囊成熟所需時間

種植於溫室之健康莧科植株經 4-5 天自然感染後，當游走孢子囊堆在葉片上剛開始形成時，以上述方法進行切葉保溼，使其在 24 °C 定溫箱中持續發病。游走孢子囊成熟度之計算乃以每 2 天採集一次游走孢子囊堆，以游走孢子囊釋放游走孢子比率做為游走孢子囊成熟度之指標。將游走孢子囊懸浮液移入 24 °C 定溫箱後，每 2 hr 間隔以乳酚棉藍(lactophenol cotton blue)固定，並以光學顯微鏡計算游走孢子囊釋放率。游走孢子囊發芽屬間接發芽(圖二、A-D)，因此游走孢子囊釋放率(%) = (空游走孢子囊數 / 總游走孢子囊數) × 100。每處理 4 重複，每重複計算 100 - 200 游走孢子囊，本試驗共重複 3 次。以變方分析(analysis of variance, ANOVA)比較游走孢子囊在游走孢子囊堆形成後的成熟度。另一方面將接種後產生游走孢子囊堆之罹病葉，在游走孢子囊堆破裂後，分別收集游走孢子囊堆內與散落游走孢子囊堆旁之游走孢子囊，以上述方式測試游走孢子囊堆內及外的游走孢子囊釋放率，藉此了解游走孢子囊堆內外之游走孢子囊成熟度是否一致。

### 游走孢子釋放所需時間

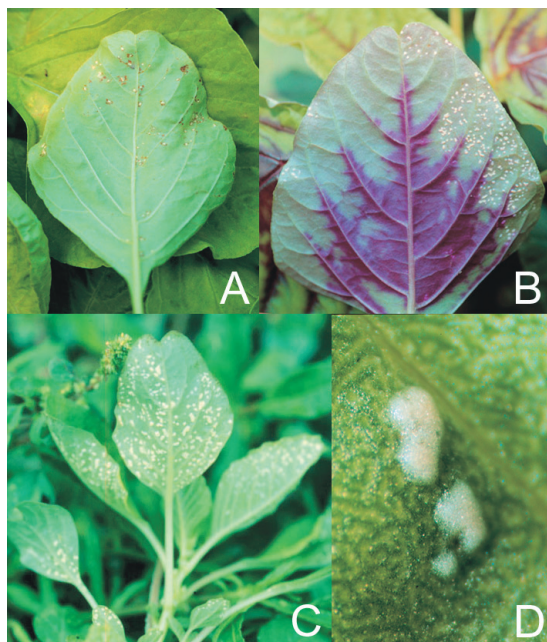
上述試驗結果指出游走孢子囊在蒸餾水中，4 hr 與 24 hr 的釋放率無顯著差異，因此本試驗乃針對成熟游走孢子囊釋放游走孢子所需之最短時間進行研究。仿上述決定游走孢子囊成熟度試驗，將計算游走孢子囊的時間間隔縮短為 20 min，連續進行 4 hr，重複數與計算方式同成熟度試驗，以 ANOVA 分析成熟游走孢子囊釋放游走孢子所需之最短時間，做為將來判定所收集之游走孢子囊是否已成熟之重要依據。

### 游走孢子囊釋放游走孢子與游走孢子發芽適溫

為避免氣溫對玻片與培養皿低溫處理之干擾，所有玻片與培養皿在發芽試驗進行前 2 hr，均放在所要處理溫度的定溫箱中；同時為避免游走孢子囊在水中迅速發芽，游走孢子囊懸浮液從製備到滴在玻片上，均在 5 min 內完成。游走孢子囊懸浮液以 8 - 36 °C (間隔 4 °C) 處理 4 hr 後，以乳酚棉藍固定，計算其游走孢子囊釋放游走孢子的比率。每處理 4 重複，每重複計算 100 - 200 游走孢子囊釋放率與游走孢子發芽率。游走孢子囊釋放率同游走孢子囊成熟所需時間試驗所述方式計算，游走孢子發芽屬直接發芽，直接產生發芽管(圖二 E, F)，因此游走孢子發芽率(%) = (游走孢子發芽數 / 總游走孢子數) × 100。藉此比較最適合游走孢子囊釋放游走孢子與游走孢子發芽的溫度範圍。本試驗共重複 3 次。

### 32 °C 對游走孢子囊活性之影響

上述試驗結果顯示莧白銹菌所有菌株在 28 °C 以上之



圖一、田間白莧 (A)、紅莧 (B) 與烏莧 (C) 感染白銹菌 (*Albugo bliti*) 產生之病徵。罹病葉片上之白色突起不規則形狀孢囊堆 (D)。

**Fig. 1.** Symptoms of white rust occurred on various amaranths (A) *Amaranthus mangostanus*, (B) *A. mangostanus* forma *ruber*, and (C) *A. lividus* caused by *Albugo bliti* in the field. (D) Irregular, white protuberant sori on the infected leaf.

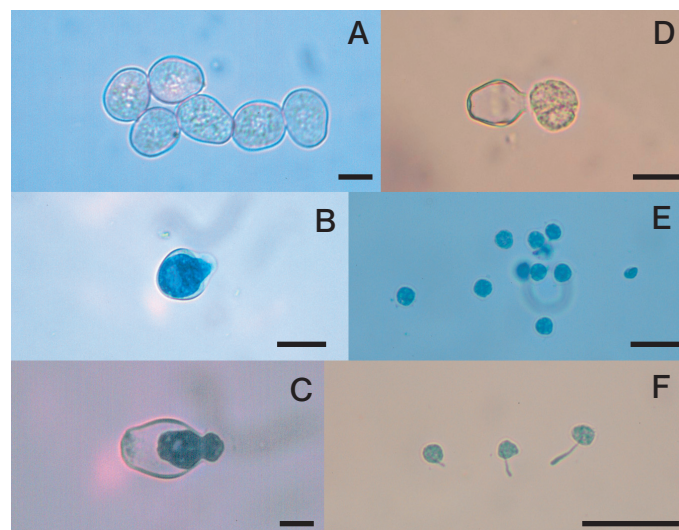
高溫下，其游走孢子囊釋放游走孢子的能力明顯地受到抑制，因此本試驗欲了解在 32 °C 溫度狀況下，游走孢子囊是被溫度殺死還是受到抑制。將游走孢子囊懸浮液 ( $1 \times 10^5$  sporangia/ml) 置於 32 °C 定溫箱中 4 及 24 hr 後，分別移入 20 °C 定溫箱中經 4 hr 後，以乳酚棉藍染色，計算游走孢子囊釋放游走孢子比率，20 °C 與 32 °C 處理為其對照組。

### 36 °C 對游走孢子囊活性之影響

在游走孢子囊堆形成 4 天後，收集游走孢子囊放入 1.5 ml 塑膠離心管中，將瓶蓋以 Parafilm 膜封好後移入 36 °C 定溫箱中，每天取出少量游走孢子囊製成游走孢子囊懸浮液，在 20 °C 定溫箱中經 4 小時後，以乳酚棉藍染色，計算其游走孢子囊釋放游走孢子比率。每 3 天自 36 °C 處理之游走孢子囊保存管中取樣，重複游走孢子囊釋放游走孢子試驗，直到第 16 天為止。本試驗每處理 4 重複，每重複計算 100-200 游走孢子囊，本試驗共重複 3 次。

### 統計分析

所有試驗均以 JMP<sup>®</sup> version 5 (SAS Inc., Cary, NC, 1989-2002) 進行 ANOVA 分析，如有顯著差異時，再進行 *t* test 或 Duncan's new multiple range test。若數據與處理間呈現趨勢時，則採迴歸分析，藉此推估兩者變化之關係。



圖二、莧白銹菌游走孢子囊釋放游走孢子 (間接發芽) 與游走孢子發芽 (直接發芽) 情形。A. 游走孢子囊。B. 游走孢子囊頂端突起。C. 原生質自突起處向外擠出。D. 游走孢子在游走孢子囊外之泡囊內分化。E. 游走孢子將泡囊擠破後，於空游走孢子囊附近泳動情形。F. 靜止子發芽，形成發芽管。線長 = 10 μm。

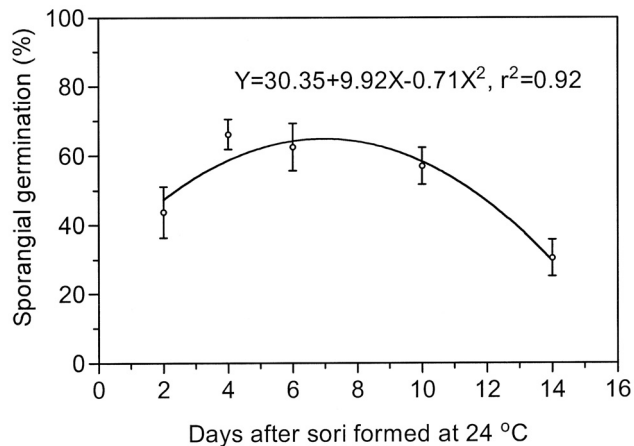
**Fig. 2.** Indirect germination of sporangia and direct germination of zoospores of *Albugo bliti*. A. sporangia. B. Protuberance on the tip of sporangium. C. Cytoplasm squeezed from sporangium. D. Zoospores formed within the vesicle outside the sporangium. E. Zoospores swimming around the empty sporangium. F. Cyst zoospores germinated and formed germ tube. Bar = 10 μm.

試驗結果之數據均以平均值±標準偏差 (mean ± standard deviation) 表示。

## 結 果

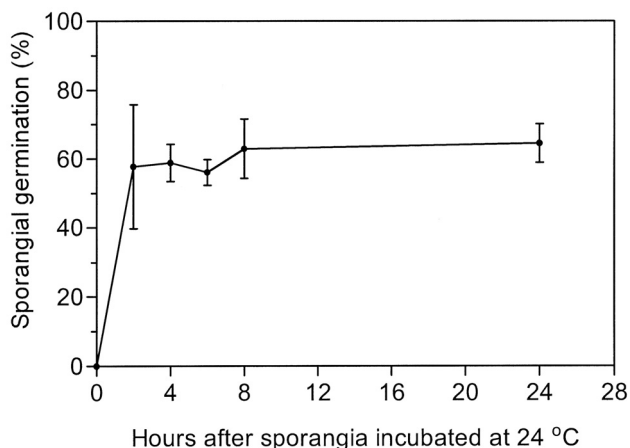
### 游走孢子囊成熟所需時間

莧白銹菌 Abl 菌株游走孢子囊在水中之釋放率隨時間逐漸增加，至第 8 hr 時，釋放率呈現穩定狀態，Abl 游走孢子囊在在水中經 2, 4 及 24 hr 處理之釋放率分別為  $58 \pm 18\%$ ,  $59 \pm 5\%$ , 與  $65 \pm 6\%$ ，並無顯著差異 (圖四)。游走孢子囊堆形成後，不同天數所得之莧白銹菌 Abl 於水中經 24 hr 之游走孢子囊釋放率呈現先上升後下降之趨勢。Abl 菌株在游走孢子囊堆形成 2 天後，其游走孢子囊釋放率為  $43.8 \pm 7.3\%$ ，第 4 天的游走孢子囊釋放率最高，達  $66.2 \pm 4.4\%$ ，隨後逐漸下降，第 14 天時，下降到  $30.5 \pm 5.3\%$ ，游走孢子囊成熟曲線為  $Y = 30.35 + 9.92 \cdot X - 0.71 \cdot X^2$ ,  $r^2 = 0.92$ ，其中 Y 及 X 分別為游走孢子囊釋放游走孢子之比率及游走孢子囊堆形成後之天數 (圖三)。連續 10 天調查同一游走孢子囊堆內、外之游走孢子囊成熟度，結果顯示游走孢子囊堆內、外之游走孢子囊雖然成熟度不一致，以 *t*



圖三、莧白銹菌烏莧菌株游走孢子囊釋放游走孢子之情形。當莧白銹菌孢子囊堆形成後，每隔兩天測試游走孢子囊釋放游走孢子之比率。游走孢子囊於 24 °C 定溫箱中，經 4 及 24 hr 後釋放游走孢子之比率。

**Fig. 3.** Zoospore discharge of sporangia of *Albugo bliti* collected from *Amaranthus lividus*. Sporangial germination was tested with two days intervals after sori formed. Sporangial germination in distilled water was recorded after incubation at 24 °C for 4 and 24 hr.



圖四、莧白銹菌烏莧菌株 (Abl) 成熟游走孢子囊釋放游走孢子所需時間。在 24 °C 定溫箱中，經 0, 2, 4, 6, 8, 12, 及 24 hr 後，游走孢子囊釋放游走孢子情形。

**Fig. 4.** Time required for the germination of mature sporangia of *Albugo bliti* collected from *Amaranthus lividus*. Sporangial germination in distilled water was recorded after incubation at 24 °C for 2 to 24 hr with 2-hr intervals.

test 分析結果並無顯著差異，但是游走孢子囊堆外之游走孢子囊釋放率仍比游走孢子囊堆內者高，分別為 76 ± 31% 與 64 ± 21%。

### 游走孢子釋放所需時間

測試成熟游走孢子囊於水中釋放游走孢子所需之最短時間，結果顯示游走孢子囊釋放游走孢子的速度非常快，

當游走孢子囊與蒸餾水混合 20 min 後，就能迅速釋放游走孢子，游走孢子囊釋放率介於 10.7 ± 2.9% - 12.1 ± 11.3% 之間，除 20 與 240 min 處理之 Abl、Abr 與 Abw 菌株游走孢子囊釋放率無顯著差異外，其餘處理時間之 Abl 菌株游走孢子囊釋放率均顯著高於 Abr 與 Abw 菌株 ( $p < 0.05$ ) (圖五)。分析供試菌株游走孢子囊在水中須靜置多久就達到游走孢子釋放高峰，結果顯示 Abl、Abr 與 Abw 菌株游走孢子囊在靜置 80 min 與 4 hr 後之釋放率，分別為 56.8 ± 17.4% 與 64.4 ± 14.4%，39.5 ± 7.0% 與 37.5 ± 4.1% 及 32.4 ± 8.6% 與 39.0 ± 2.6%，以 ANOVA 分析，結果都指出 80 min 與 4 hr 處理間無顯著差異。

### 游走孢子囊釋放游走孢子與游走孢子發芽適溫

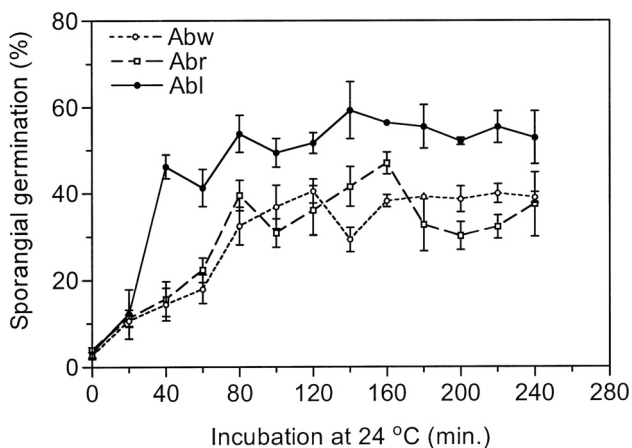
莧白銹菌 Abl 與 Abr 菌株游走孢子囊在 12 - 20 °C 時之釋放率呈現直線上升趨勢，20 - 24 °C 則為穩定狀態，隨溫度上升，釋放率急劇下降，32 - 36 °C 時，呈現明顯抑制情形(圖六、A)。

莧白銹菌之游走孢子囊釋放游走孢子後，在游走孢子泳動一段時間後，會靜止下來產生發芽管，當發芽管接觸到玻片時，會形成附著器 (appressoria) (圖七)，其中莧白銹菌 Abl 菌株游走孢子囊於 12 °C 經 4 hr 後雖能釋放游走孢子，但是並未觀察到游走孢子發芽情形。16 - 24 °C 處理者所釋放之游走孢子可直接在玻片上發芽，發芽管亦形成附著器，28 °C 處理之游走孢子僅有少數發芽，但是發芽管均無法形成附著器。莧白銹菌 Abr 菌株之游走孢子於 20 - 28 °C 時可產生發芽管，24 - 28 °C 時可行成發芽管與附著器，最適合 Abr 游走孢子發芽溫度為 24 °C。

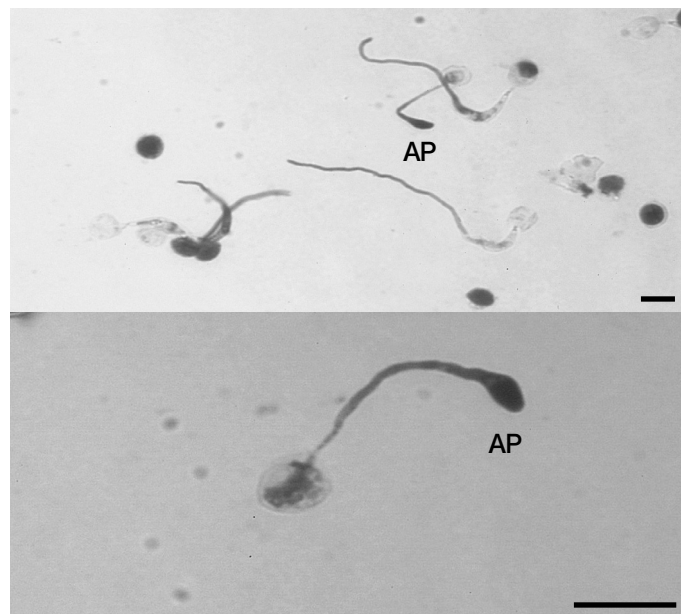
### 32 °C 對游走孢子囊活性之影響

莧白銹菌 Abl, Abr 及 Abw 菌株游走孢子囊置於 32 °C 經 4 hr 及 24 hr 後，再放置於 20 °C 4 hr，其釋放率均有顯著提高情形，但是游走孢子囊於 32 °C 經 24 hr 後，雖可藉 20 °C 恢復釋放率，與 32 °C 經 4 hr 後再置於 20 °C 4 hr 者相比，除 Abr 菌株外，Abl 及 Abw 之釋放率均呈現顯著下降現象。Abl, Abr 及 Abw 游走孢子囊經 32 °C 處理 4 hr 後，再以 20 °C 經 4 hr 後，其釋放率由 2.0 ± 0.8%, 1.0 ± 1.4% 及 1.3 ± 1.5% 顯著地提高到 69.2 ± 1.5%, 35.2 ± 1.5% 及 40.8 ± 2.6%，與 20 °C 單獨處理者之 75.0 ± 1.4%, 12.9 ± 3.8% 及 24.8 ± 2.9% 相比，呈現顯著差異 ( $p < 0.002$ ) (圖八、A)。莧白銹菌放置 32 °C 24 hr 後，再置於 20 °C 4 hr 之游走孢子囊釋放率，Abl, Abr 及 Abw 游走孢子囊釋放率由 1.3 ± 1.5%, 2.2 ± 2.5% 及 1.8 ± 1.5% 分別提高到 25.0 ± 3.7%, 30.5 ± 2.5% 及 15.3 ± 9.3%，與 20 °C 處理者之 83.5 ± 2.6%, 26.8 ± 1.8% 及 44.5 ± 1.7% 相比，除 Abr 菌株無顯著差異外，Abl 及 Abw 則呈現顯著差異 ( $p < 0.001$ ) (圖八、B)。

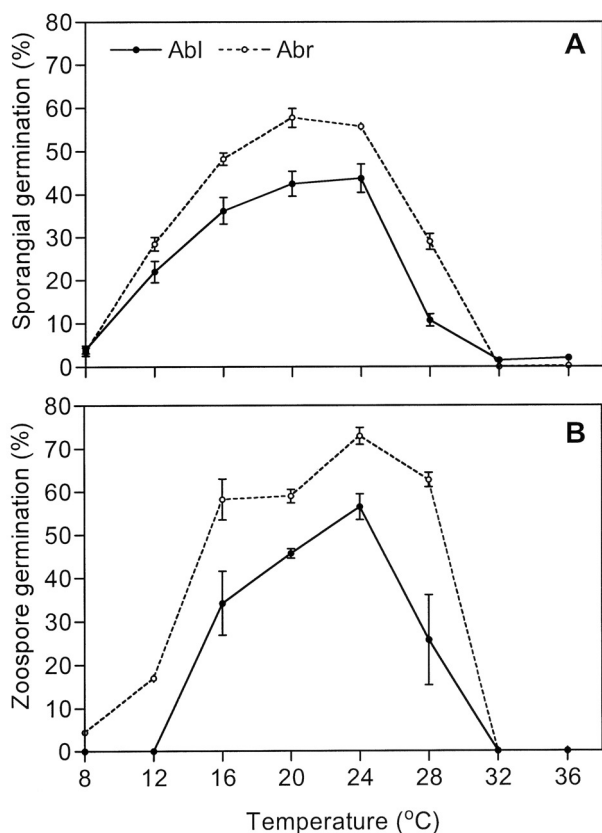




圖五、莧白銹菌游走孢子囊連續 4 hr 釋放游走孢子情形。Abw, Abr 與 Abl 分別代表莧白銹菌白莧、紅莧與烏莧菌株。  
**Fig. 5.** Sporangial germination of *Albugo bliti* in distilled water incubated at 24°C for 4 hr with 20-min intervals. Abw, Abr, and Abl were isolates of *A. bliti* collected from *Amaranthus mangostanus*, *A. mangostanus* forma *ruber*, *A. lividus*, respectively.



圖七、莧白銹菌游走孢子於 24 °C 經 8 hr 於玻片上之發芽及發芽管形成附著器 (AP) 情形。線長 = 10 μm。  
**Fig. 7.** Appressorium (AP) formed on glass slide after zoospores in distilled water was incubated at 24°C for 8 hr. Bar = 10 μm.



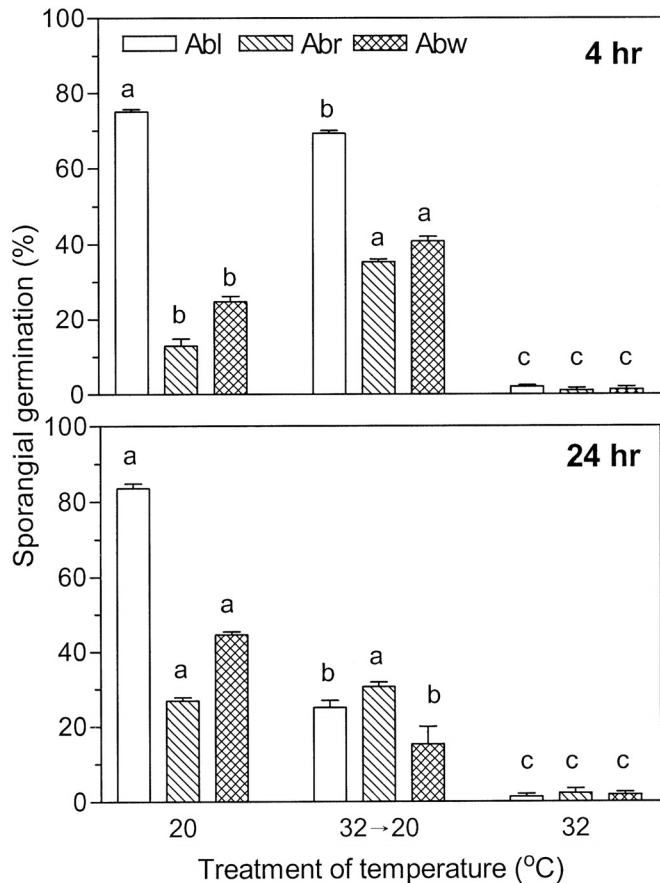
圖六、溫度對莧白銹菌烏莧 (Abl) 與紅莧 (Abr) 菌株之游走孢子囊釋放游走孢子 (A) 與游走孢子發芽 (B) 之影響。  
**Fig. 6.** Effect of temperatures on the sporangial (A) and zoospore (B) germination of *Albugo bliti* Abl and Abr isolates collected from *Amaranthus lividus* and *A. mangostanus* forma *ruber*, respectively. Sporangial germination in distilled water after 4 hr incubation at different temperatures.

### 36 °C 對游走孢子囊存活之影響

莧白銹菌 Abl 菌株之游走孢子囊保存在 36 °C 定溫箱中 1 及 4 天後，再放回 20 °C 4 hr 之游走孢子囊釋放率為 41.0 ± 6.9% 與 40.6 ± 5.4%，以 *t* test 分析兩者並無顯著差異，但是自第 10 天起，游走孢子囊釋放率顯著受到影響，降到 22.6 ± 5.0%，隨時間增加，釋放率越來越低，到第 16 天時，降到 3.4 ± 1.9% (圖九)。

### 討論

本試驗結果指出影響莧白銹菌游走孢子囊釋放游走孢子的主要因素為游走孢子囊成熟與否及溫度之影響。游走孢子囊產生為芽頂生殖 (blastic) 模式，也就是最老、最成熟的游走孢子囊在游走孢子囊串 (sporangial chain) 的頂端，最年輕、未成熟的游走孢子囊位於游走孢子囊串的底端，也就是連接游走孢子囊柄 (sporangiophore) 的地方，當游走孢子囊不斷在游走孢子囊堆內產生時，由最成熟之游走孢子囊擠破游走孢子囊堆頂，散落在游走孢子囊堆外，而留在游走孢子囊堆內的則是成熟與尚未完全成熟的游走孢子囊所組成，因此在比較游走孢子囊堆內、外之游走孢子囊釋放率時，雖然呈現 12% 的差異而 *t* test 卻無顯著差異的原因，便在於游走孢子囊堆內為成熟與未成熟游走孢子囊所組成之故，由此也證實同一游走孢子囊堆內之游走孢子囊屬陸續成熟的芽頂生殖模式。莧白銹菌由接種到游走孢子囊成熟所需的時間，由試驗結果指出莧菜接種

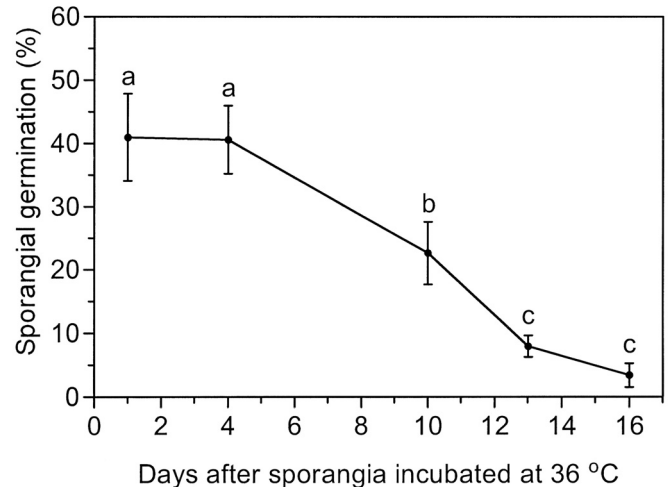


圖八、32 °C 對莧白銹菌游走孢子囊活性之影響。Abl、Abr 及 Abw 分別代表莧白銹菌烏莧、紅莧與白莧菌株。20, 32：游走孢子囊分別在 20 與 32 °C 經 4 hr 及 24 hr 後之游走孢子囊釋放率。32→20：游走孢子囊先於 32 °C 經 4 hr 及 24 hr 後，移置 20 °C 再經 4 hr 後之游走孢子囊釋放率。同一菌株上之相同字母，依鄧肯氏新多變域分析顯示在 20、32→20 與 32 °C 處理間在 p=0.05 時無顯著差異。

Fig. 8. Effect of 32 °C on the sporangial germination of *Albugo bliti*. Abl, Abr and Abw isolates were *A. bliti* collected from *Amaranthus lividus*, *A. mangonstanus* forma *ruber*, and *A. mangonstanus*, respectively. 20, 32: sporangial germination in distilled water was recorded after incubation at 20 °C and 32 °C for 4 hr (A) and 24 hr (B), respectively. 32→20: sporangial germination in distilled water was recorded at 32 °C for 4 hr (A) and 24 hr (B), then transferring to 20 °C for further 4 hr to stimulate the sporangia germination. The same letter within the same isolate among the 20, 32→20 and 32 °C treatments, was not differed significantly according to the Duncan's new multiple range test while p = 0.05.

4 - 5 天後會在葉片上形成游走孢子囊堆，再經過 4 - 6 天後，游走孢子囊堆開始破裂釋放出游走孢子囊，此時游走孢子囊釋放游走孢子的比率最高，因此由游走孢子囊堆破裂情形可推估游走孢子囊成熟情形 (圖三)，而此時所收集之游走孢子囊成熟度最佳，可提供試驗所需之穩定接種源。

雖然莧白銹菌成熟之游走孢子囊於水中只要 20 min



圖九、36 °C 高溫對莧白銹菌游走孢子囊存活之影響。莧白銹菌烏莧菌株游走孢子囊保存於 36 °C 定溫箱中，每 3 天一次，連續測試 16 天之游走孢子囊釋放游走子的活性。誤差線上之相同字母，依鄧肯氏新多變域分析顯示兩者在 p=0.05 時無顯著差異。

Fig. 9. Effect of 36 °C on the sporangia germination of *Albugo bliti*. Sporangia of *A. bliti* collected from *Amaranthus lividus* were maintained at 36 °C incubator for 16 days and germination was tested with 3-day intervals. The same letter above the bar was not differed significantly according to the Duncan's new multiple range test while p = 0.05.

就可見到游走孢子，然而以 Duncan's multiple range test 分析，則指出 80 min 與 24 hr 處理者之游走孢子囊釋放率無顯著差異 (圖五)，因此可將此做為判斷游走孢子囊成熟與否之指標，即將採集之部份游走孢子囊加入水中，於 80 min 後計算游走孢子囊釋放率，做為該批游走孢子囊是否適合進行試驗之依據。本試驗在室內進行發芽試驗時，由於所採集的罹病切葉都保持在 24 °C 狀態，因此游走孢子囊釋放率非常穩定，在 Edie & Ho<sup>(8)</sup> 研究蕁菜白銹菌 (*A. ipomoeae-aquaticae*) 時，進行試驗之游走孢子囊都是在早上自野外收集的，早上的氣溫不會高於 25 °C，因此游走孢子囊釋放率可以維持較穩定的比率。然而夏季自田間與溫網室所得之游走孢子囊釋放率非常不穩定，釋放比率偏低，是否因莧白銹菌之寄生莧菜生長需要高溫 (30 °C)<sup>(5)</sup>，而試驗室內通常維持在室溫 (25 °C)，兩者所採集時之溫度不同所致？因此，為求試驗時接種源之穩定性，夏季採集之罹病葉先在 24 °C 保溼 2 - 4 hr 後，才收集游走孢子囊做為接種源，如此可獲得穩定之游走孢子囊釋放率。

莧白銹菌游走孢子囊以間接發芽，即釋放游走孢子方式為主，Edie & Ho<sup>(8)</sup> 觀察蕁菜白銹菌 (*A. ipomoeae-aquaticae*) 游走孢子囊發芽時，於 15 °C 處理中有少數游走孢子囊直接發芽，而同為卵菌綱之疫病菌 (*Phytophthora palmivora*) 游走孢子囊則受營養刺激，可行直接發芽方式<sup>(7)</sup>，然而莧白銹菌游走孢子囊是否受營養刺激而行直接發

芽之可能性，則有待試驗證實。當莧白銹菌游走孢子發芽後，會在玻片上形成附著器(圖七)，將游走孢子接種於寄主葉片上時，游走孢子發芽管於葉表上亦能形成附著器，在觀察莧白銹菌游走孢子發芽侵入過程中，游走孢子常靜止在氣孔上方或附近，因此以發芽管直接自氣孔侵入最為方便，然而此一附著器之形成，對白銹菌侵入感染所扮演的角色，是否為必要條件，則有待試驗證實。

適合白銹菌游走孢子囊間接發芽與游走孢子直接發芽之溫度範圍介於 12 - 28 °C 與 16 - 28 °C 之間(圖六)，此一溫度範圍可做為監控田間是否發生莧菜白銹病之溫度指標，即田間溫度介於 16 - 24 °C 時，則必須注意防範莧菜白銹病發生。分析 32 °C 經 4 hr 與 24 hr 處理後，再以 20 °C 經 4 hr 回復受高溫抑制之游走孢子囊活性，32 °C 經 24 hr 處理者釋放率除 Abr 菌株外，均下降到原先一半左右(圖八、B)，顯示 32 °C 高溫處理之游走孢子囊釋放率隨時間而呈現下降情形，此點亦由 36 °C 處理之存活試驗獲得證實(圖九)，然而本試驗進行時，僅以 20 °C 處理 4 hr，對於回復 24 hr 長期受到 32 °C 高溫影響之游走孢子囊活性而言，是否因 20 °C 處理時間不夠所造成，若將 20 °C 處理時間延長為 24 hr 後，是否就可回復到原先活性，則有待試驗證實。另一方面本試驗乃以恆溫培養箱進行，而田間溫度不可能長期維持在一定溫度，以臺灣中部夏季氣溫資料顯示，每天高於 32 °C 以上的時間不會超過 6 hr，因此換算 32 °C 經 24 hr 持續處理時間，相當於 4 天連續高溫時間，而每天適合莧白銹菌游走孢子囊釋放游走孢子的時間，則長達 10 hr 以上(未發表資料)，是否意味著由於夏季莧菜栽培期間，每天大氣溫度都適合白銹病游走孢子囊釋放游走孢子，因此莧菜白銹病一但發生後而蔓延快速的原因，則有待田間試驗證實。

## 謝 辭

本研究謝謝周欣宜小姐協助試驗之進行。部份經費由 90AS-1.2.2-PI-P4 支持。

## 引用文獻

1. 王三太、蕭吉雄. 1996. 臺灣莧菜栽培簡介. 臺灣省農試所技術服務季刊 28: 14-17。
2. 李敏郎、郭克忠. 1998. 臺灣莧菜白銹病之發生. 植保會刊 40: 439-440 (摘要)。
3. 林信甫、謝廷芳、黃振文. 2002. 莧菜葉枯病菌之鑑定與侵染過程. 植病會刊 11: 33-44。
4. 黃涵. 1981. 溫度對二種高營養價值之熱帶蔬菜—莧菜、甕菜—發芽、生長及乾物量之影響. 臺灣大學農學院研究報告 21:88-105。
5. 澤田兼吉. 1922. 露菌亞族(Suborder Peronosporineae)白銹菌科(Family Albuginaceae)白銹菌屬(Genus *Albugo*). p. 22-27. 臺灣產菌類調查報告第 2 篇. 臺灣總督府中央研究院農業部報告第 2 號. 台北. 173 pp。
6. Barr, D. J. S. 1992. Evolution and kingdoms of organisms from the perspective of a mycologist. *Mycologia* 84:1-11.
7. Clerk, G. C. 1972. Germination of sporangia of *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. *Ann. Bot.* 36:801-807.
8. Edie, H. H., and Ho, B. W. C. 1970. Factors affecting sporangial germination in *Albugo ipomoeae-aquaticae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:205-216.
9. Kajornchaiyakul, P., and Brown, J. F. 1976. The infection process and factors affecting infection of sunflower by *Albugo tragopogi*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66:91-95.
10. Patterson, D. J. 1989. Stramenopila: Chromophytes from a Protistan Perspective. Pages 357-379 in: *The Chromophyte Algae: Problems and Perspectives*. J. C Green, B. S. C. Leadbeater, and W. L. Diver ed. Oxford Univ. Press, New York, 429 pp.
11. Petrie, G. A., and Verma, P. R. 1974. A simple method for germinating oospores of *Albugo candida*. *Can. J. Plant Sci.* 54: 595-596.
12. Verma, P. R., Harding, H., Petrie, G. A., and Williams, P. H. 1975. Infection and temporal development of mycelium of *Albugo candida* in cotyledons of four *Brassica* species. *Can. J. Bot.* 53: 1016-1020.
13. Verma, P. R., and Petrie, G. A. 1975. Germination of oospores of *Albugo candida*. *Can. J. Bot.* 53: 836-842.

## ABSTRACT

Lee, M. L.<sup>1,3</sup>, and Hsieh, W. H.<sup>2</sup> 2003. Effect of temperature on the sporangial germination of *Albugo bliti*. Plant Pathol. Bull. 12:77-84. (<sup>1</sup> Department of Pesticide Application, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taichung hsien, Taiwan, R.O.C.; <sup>2</sup> Department of Plant Pathology, National Chung Hsing Univeristy, Taichung, Taiwan, R.O.C.; <sup>3</sup> Corresponding author, E-mail:mllee@tacri.gov.tw, Fax:+886-4-23321478)

The effect of temperature on the discharge of zoospores from sporangia of *Albugo bliti* (Biv.) Kuntze was studied. Sporangia of three isolates, Abw from *Amaranthus mangostanus* L., Abr from *Am. mangostanus* L. forma *ruber* Makino, and Abl from *Am. lividus* L. respectively, were used to inoculate on their original host plants. Sori formed on leaves 4 days after inoculation. The highest percentage of discharged zoospores was obtained from 4-day-old sori. Zoospores would be quickly discharged within 20-40 min as mature sporangia were incubated in distilled water at 24°C, furthermore, the highest amount of discharged zoospores could be obtained 4 hr after treatment. The temperatures for sporangia to discharge zoospores ranged from 12 to 28°C, while 20 - 24°C was optimal. The zoospore discharging capability of sporangia was inhibited at 32°C, which could be partially recovered by subsequently transferring these sporangia to 20°C for 4 hr, and still remained 3.4% at 20°C for 4 hr after sporangia were incubated previously at 36°C for 16 days, both suggest that *A. bliti* have already adapted well to the variation of temperatures in field. Conclusively, in order to undertake a successful inoculation of *A. bliti* to amaranth, mature sporangia from 4-day-old sori should be used and inoculated leaves should be kept under moist condition for at least 4 hr.

Keywords: white rust, *Albugo bliti*, amaranth, temperature, sporangia, germination