

福山植物園所發生的松材線蟲萎凋病及 受害樹種調查

張瑞璋^{1,2)} 陸聲山¹⁾

摘 要

福山植物園內之松樹於1994年萎凋枯死，經病原學探討證實係因感染松材線蟲所致。受害的樹種計有台灣華山松、濕地松、琉球松、展葉松、德達松、台灣二葉松和黑松等七種松科植物，其中以黑松和台灣二葉松受害最為嚴重，不論在苗圃或裸子植物區，兩地的發病率皆超過50%。我們從感病的黑松和琉球松組織分離到較高數量的松材線蟲；而從抗病的德達松和濕地松則分離到較低的線蟲量。比較裸子植物區受害樹種的松材線蟲含量，以琉球松每克鮮重含562隻為最多，其餘依次為黑松、台灣二葉松、濕地松、德達松和展葉松，所帶的松材線蟲量分別為340、132、32、22和9隻。

關鍵詞：松材線蟲、松樹萎凋病，受害樹種。

張瑞璋、陸聲山 1996 福山植物園所發生的松材線蟲萎凋病及受害樹種調查。台灣林業科學 11(2)：201-207。

Investigation of the Occurrence of Pine Wilt Disease and its Naturally Infected Hosts in the Fushan Botanical Garden

Ruey-Jang Chang^{1,2)} and Sheng-Shan Lu¹⁾

[Summary]

Decline and death of pine trees in the Fushan Botanical Garden in 1994 were demonstrated to be primarily caused by the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, according to our etiological studies. Our survey also indicated that seven *Pinus* species including: Taiwan armand pine (*P. armandii* var. *mastersiana*), slash pine (*P. elliotii*), Luchu pine (*p. luchuensis*), Mexican weeping pine (*P. patula*), loblolly pine (*P. taeda*), Taiwan red pine (*P. taiwanensis*) and Japanese black pine (*P. thunbergii*) were naturally infected by pine wood nematodes. Based on disease incidence, Japanese black pine and Taiwan red pine were the most susceptible species; more than 50% of the investigated plants were infected either at the nursery or at the gymnosperm area. The susceptible Japanese black pine and Luchu pine consistently yielded higher nematode populations than the resistant loblolly and slash pines. Populations of the pine wood nematode recovered from naturally infected

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

1995 年 12 月送審 1995 年 12 月通過 Received December 1995, Accepted December 1995.

pinus at the gymnosperm area were 562, 340, 132, 32, 22, and 9 individuals for Luchu pine, Japanese black pine, Taiwan red pine, slash pine, loblolly pine, and Mexican weeping pine, respectively.

Key words: *Bursaphelenchus xylophilus*, pine wilt disease, naturally infected host.

Chang, R. J. and S. S. Lu. 1996. Investigation of the occurrence of pine wilt disease and its naturally infected hosts in the Fushan Botanical Garden. Taiwan J. For. Sci. 11(2):201-207.

一、緒言

由松材線蟲 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) Nickle 所引起的松樹萎凋病 (Pine wilt disease)，自1985年證實在台灣發生後 (Tzean and Jan, 1985)，持續在本省各地蔓延，受害樹種以琉球松 (*Pinus luchuensis*) 和黑松 (*P. thunbergii*) 最為嚴重 (顏志恒, 1988)。據農林航空測量所於1994年利用航測技術調查結果，估計台灣北部約有3,260公頃的受害林地 (林忠彥, 個人通訊)；而筆者於1995年至各受害地區實地採樣調查，確定松材線蟲萎凋病在台灣西部，已往南擴散至台中清泉崗 (蔡東纂, 個人通訊)，東部則至花蓮玉里一帶，甚至在中橫沿線海拔約1,500公尺的德基發電廠亦有本病之蹤跡。

福山植物園位於林試所福山分所內，地處台北和宜蘭兩縣交界，海拔約400至1,400公尺，年均溫18.9℃，年雨量約3,200公厘 (林國銓, 1995)，為典型的溫帶雨林區，園內設有裸子植物區，栽植有12種松科 (Pinaceae) 植物。1994年五月間在園區內的苗圃發現松斑天牛 (*Monochamus alternatus*) 啃食松樹幼苗，此現象維持有二個月之久，至七月間，苗圃的松樹開始有黃化枯萎之病徵出現；八月間，裸子植物區內亦有多種松樹逐漸枯黃萎凋，陸續死亡，為探究是否遭松材線蟲感染所致，遂進行本試驗。此外，園區內受害的松樹種類，亦一併調查以確定其寄主範圍。

二、材料與方法

(一) 松科植物來源

福山植物園裸子植物區自1987年開始設置，

種植四屬12種的松科植物，包括：雪松 (*Cedrus deodara* Loud.)、台灣油杉 (*Keteleeria davidiana* var. *formosana* Hay.)、台灣雲杉 (*Picea morrisonicola* Hay.)、台灣華山松 (*Pinus armandii* var. *master-siana* Hay.)、濕地松 (*P. elliotii* Engelm.)、琉球松 (*P. luchuensis* Mayr.)、馬尾松 (*P. massoniana* Lambert)、台灣五葉松 (*P. morrisonicola* Hay.)、展葉松 (*P. patula* Schl. et Cham.)、德達松 (*P. taeda* Linn.)、台灣二葉松 (*P. taiwanensis* Hay.) 和黑松 (*P. thunbergii* Parl.)。由於各樹種苗木的來源不一，栽植的時間亦有所不同，但截至本調查為止，每棵松樹在裸子植物區至少種植一年以上。此外，福山植物園的苗圃亦有松科植物的幼苗，樹種有台灣雲杉、台灣華山松、台灣二葉松和黑松，這些苗木均種植在直徑約30公分的塑膠盆內，株齡則約3年以上。

(二) 病害調查

1994年8月24日於福山植物園苗圃進行病害調查，記錄各樹種黃化萎凋的株數以計算發病率，並收集各罹病幼苗之植株，做為病原線蟲之分離與鑑定之用。裸子植物區則於1994年9月2日和10月20日各進行一次病害調查，除分別記錄各樹種的發病率外，也以逢機方式，採集罹病植株之枝條，或以生長錐鑽取主幹約胸高位置的木質部樣品，每一受害樹種各取三個樣品做為估算病原線蟲族群數量之材料。

(三) 病原線蟲之分離

枝條經去掉樹皮後，取3-5克鮮重的罹病組織或木質部樣品，以滅菌過的剪刀剪成碎片，再利用改良式柏門氏漏斗分離法收集病原線蟲 (Adams and Morehart, 1982)。剪碎的罹病組織先置於以分析篩 (2 mm, mesh no. 10,

Bunsekifurui) 支持的拭鏡紙 (Kimwipes EX-L, Kimberly-Clark) 上, 再將裝有樣品的分析篩放在直徑18公分的漏斗中, 下接的橡皮管以夾子封口做為開關之用, 加蒸餾水至淹滿所有松樹組織為止, 待靜置12小時後, 收集下層液, 即可得病原線蟲懸浮液。

(四)病原線蟲之鑑定

將上述之線蟲懸浮液, 置於解剖顯微鏡下檢查, 以吸管挑取少許線蟲滴於載玻片上, 蓋好玻片, 以酒精燈過火固定 (2-3秒) 後再置於光學顯微鏡下觀察, 並量取線蟲各部位的長度, 參考 Nickle 氏所描述松材線蟲的形態特徵 (Nickle *et al.*, 1981) 做為鑑定的依據。

(五)接種源之製備

挑取約百隻的病原線蟲, 先置於無菌水中漂洗, 每次三分鐘, 再移入含孔雀綠和鏈黴素的混合消毒液中 (Malachite green 100 mg; streptomycin sulfate 100 mg; H₂O 1 L) 處理1分鐘後移入無菌水中漂洗。經表面無菌化之線蟲, 再放入長滿青變真菌 (*Ceratocystis sp.*) 的馬鈴薯洋菜培養基內生長, 於25°C下培養10-14天後, 將帶有大量病原線蟲的瓊脂塊, 利用上述改良式柏門氏漏斗分離法, 收集線蟲懸浮液, 再經一次低速離心 (1,000 g, 3 min) 後, 可得高純度之線蟲懸浮液, 此線蟲懸浮液經稀釋調配成每毫升約10,000隻線蟲之濃度, 以做為接種源。

(六)病原性測定

以三年生之黑松幼苗做病原性測定, 用上述之病原線蟲懸浮液為接種源。先將電鑽在黑松地基部上方鑽孔以製造傷口, 傷口直徑0.2公分, 深約1公分。傷口塞入脫脂棉, 把總量約2,500隻之線蟲懸浮液滴入傷口內, 以透氣膠帶封口後, 置於25°C之生長培養箱中, 每天觀察記錄發病狀況。對照組則以無菌水取代線蟲懸浮液, 每種處理各接種三棵黑松, 試驗重複一次。

(七)統計分析

由於病原線蟲在同一樹種的數量差異頗大, 故本試驗的數據均以 SAS 套裝統計軟體做變方分析 (ANOVA), 其中樹種和樣品為定性獨立變異數 (qualitative independent variables)。樹種間病原線蟲數量之比較則以 Waller-Duncan Bayesian least significant difference (BLSLSD, K = 100) 之值來區分 ($P < 0.05$)。各樹種和樣品間的病原線蟲是否有統計上的差異以 *F*

statistics ($P < 0.05$) 來測定之。

三、結果

(一)病原線蟲之鑑定

將福山植物園內罹病的松樹組織剪成碎片, 利用改良式柏門氏漏斗分離法所分離的線蟲, 其體形皆呈長條狀, 具口針, 但基部結球細小, 中部食道球膨大, 約佔體寬之四分之三。雄蟲長約0.8公厘, 交接刺 (spicule) 前端呈圓盤狀, 尾端具交接尾囊 (bursa), 且呈典型鷹爪狀; 雌蟲長約0.9公厘, 具陰門孔蓋 (vulval flap), 雌雄皆具泳動性, 但蠕動緩慢, 這些特徵皆與松材線蟲相似 (Nickle *et al.*, 1981)。

(二)病原性測定

三棵黑松於接種後14-21天開始出現病徵, 初期祇有少許枝條末梢之針葉褪色黃化, 然後病勢逐漸擴展, 造成枝葉萎凋, 接種後28-35天, 全株轉為赤褐色而死亡, 表現出典型的松材線蟲萎凋病徵; 而接種無菌水的黑松對照組, 皆未發現萎凋黃化病徵。第二次接種亦得到相似的結果, 三棵接種的黑松全部死亡。將病株組織剪碎, 浸泡在無菌水中, 經4小時後, 均可在解剖顯微鏡下觀察到松材線蟲。

(三)苗圃受害樹種調查

福山植物園內之松科樹苗, 除雲杉 (*Picea morrisonicola*) 外, 其餘三種樹苗包括: 台灣華山松 (*Pinus armandii* var. *mastersiana*)、台灣二葉松 (*P. taiwanensis*) 和黑松 (*P. thunbergii*) 皆遭到萎凋病之侵襲 (Fig. 1)。在罹病植株上, 我們發現松斑天牛的咬痕, 從罹病組織內, 亦可分離到大量的松材線蟲。在苗圃所調查的受害樹種當中, 發病率皆超過65%, 尤其是台灣華山松高達90%的發病率, 甚至大於感病樹種的黑松 (Table 1)。比較三種受害樹種的線蟲含量, 以黑松每克鮮重帶有1,558隻松材線蟲為最高; 台灣二葉松每克帶有323隻松材線蟲為最低。黑松所分離的線蟲量, 明顯比台灣二葉松和台灣華山松高 (Table 1)。

(四)裸子植物區受害樹種調查

裸子植物區的12種松科植物, 除雪松 (*C. deodara*)、台灣油杉 (*K. davidiana* var. *formosana*)、台灣雲杉 (*Picea morrisonicola*)、台灣華山松 (*Pinus*

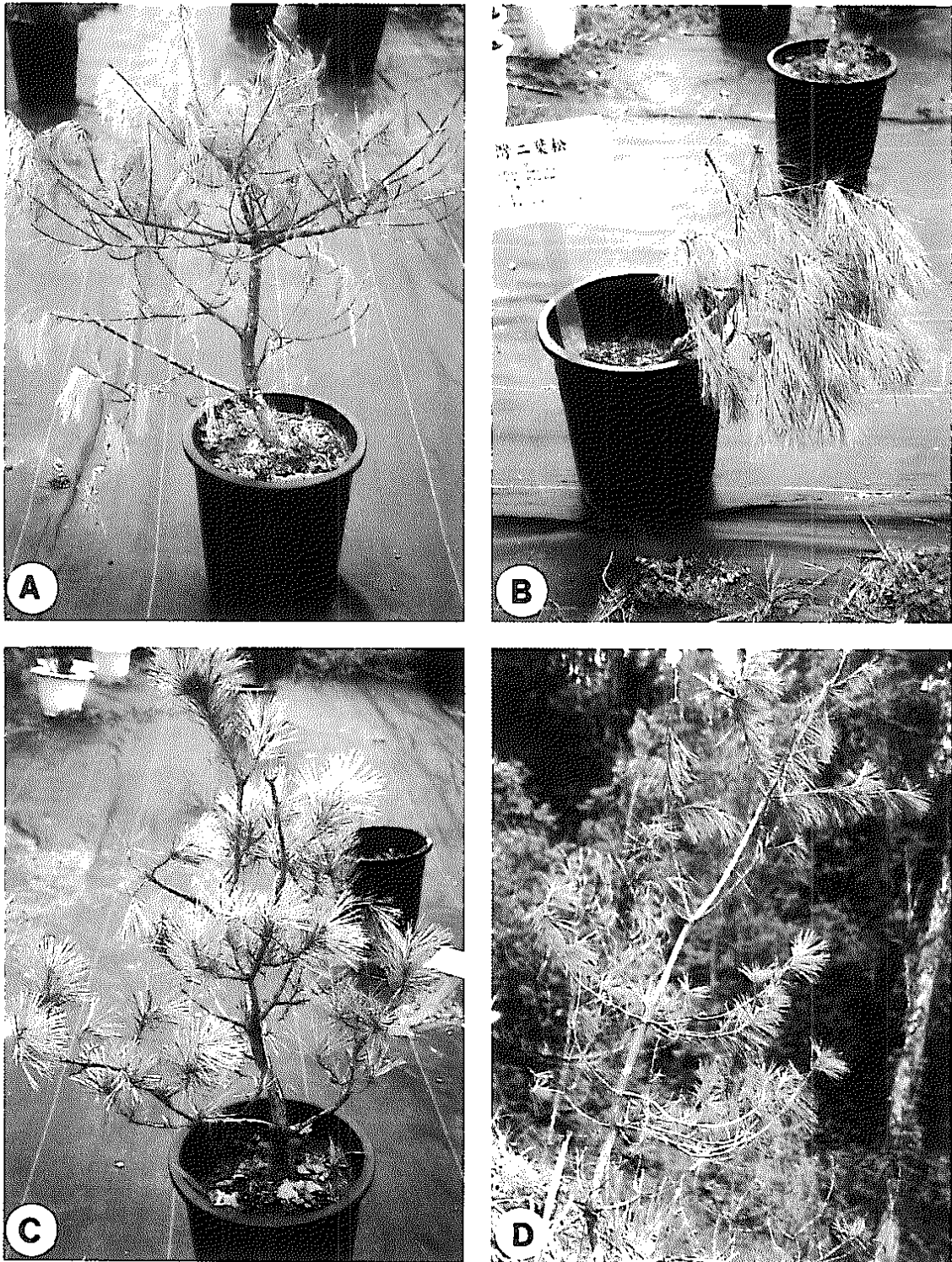


Fig. 1. Symptoms of pine wilt disease on (A) Taiwan armand pine (*Pinus armandii* var. *mastersiana*) (B) Taiwan red pine (*P. taiwanensis*) and (C) Japanese black pine (*P. thunbergii*) at the nursery, and on (D) Taiwan red pine (*P. taiwanensis*) at the gymnosperm area of the Fushan Botanical Garden.

Table 1. Incidence of pine wilt and populations of *Bursaphelenchus xylophilus* at the nursery of the Fushan Botanical Garden.

Plant species	No. of plants investigated	Disease incidence (%)	Population ¹⁾ (No. of nematodes/g)
<i>Picea morrisonicola</i>	4	0	0 a ²⁾
<i>Pinus armandii</i> var. <i>mastersiana</i>	20	90	677 b
<i>Pinus taiwanensis</i>	9	67	323 b
<i>Pinus thunbergii</i>	17	82	1,558 c

¹⁾ Populations of pine wood nematodes were determined by the modified Baermann funnel method (Adams and Morehart, 1982).

²⁾ Values in each column followed by the same letter do not differ significantly according to Waller-Duncan's test ($P < 0.05$).

Table 2. Disease development and incidence of pine wilt at the gymnosperm area of the Fushan Botanical Garden in 1994.

Plant species	No. of plants investigated	Disease incidence(%) on 2 Sep.	Disease incidence(%) on 20 Oct.
<i>Cedrus deodara</i>	10	0.0	0.0
<i>Keteleeria davidiana</i> var. <i>formosana</i>	9	0.0	0.0
<i>Picea morrisonicola</i>	5	0.0	0.0
<i>Pinus armandii</i> var. <i>mastersiana</i>	5	0.0	0.0
<i>Pinus elliotii</i>	9	11.1	11.1
<i>Pinus luchuensis</i>	7	14.3	14.3
<i>Pinus massoniana</i>	11	0.0	0.0
<i>Pinus morrisonicola</i>	1	0.0	0.0
<i>Pinus patula</i>	2	50.0	50.0
<i>Pinus taeda</i>	12	25.0	33.3
<i>Pinus taiwanensis</i>	14	50.0	64.3
<i>Pinus thunbergii</i>	8	62.5	75.0

Table 3. Populations of *Bursaphelenchus xylophilus* on diseased pine trees collected from the gymnosperm area of the Fushan Botanical Garden on 20 Oct. 1994.

Plant species	Population (No. of nematodes/g) ¹⁾
<i>Pinus elliotii</i>	32 d ²⁾
<i>P. luchuensis</i>	562 a
<i>P. patula</i>	9 e
<i>P. taeda</i>	22 de
<i>P. taiwanensis</i>	132 c
<i>P. thunbergii</i>	340 b

¹⁾ Populations of pine wood nematodes were determined by the modified Baermann funnel method (Adams and Morehart, 1982).

²⁾ Values in each column followed by the same letter do not differ significantly according to Waller-Duncan's test ($P < 0.05$).

armandii var. *mastersiana*)、馬尾松 (*P. massoniana*) 和台灣五葉松 (*P. morrisonicola*) 外，其餘六種松樹皆遭到松材線蟲的感染，受害樹種包括：濕地松 (*P. elliotii*)、琉球松 (*P. luchuensis*)、展葉松 (*P. patula*)、德達松 (*P. taeda*)、台灣二葉松 (*P. taiwanensis*) 和黑松 (*P. thunbergii*) (Table 2)。受害的松樹大都於1994年八月間開始出現病徵，且以黑松和台灣二葉松所種植的地帶為中心，形成一個直徑約20-30公尺的發病區，上述六種受害松樹皆栽植在此發病區。當1994年9月2日，我們做第一次病害調查時，黑松和台灣二葉松的發病率均已達50%，約50天後，我們做第二次病害調查，只有德達松、台灣二葉松和黑松的發病株各增加一棵，病勢之進展明顯緩和下來。至1995年十月為止，未見新感染的病株。受害最嚴重的樹種依然是黑松和台灣二葉松，而濕地松、琉球松和展葉松雖然屬受害樹種，但在所調查的植株當中各祇發現一棵罹病株 (Table 2)。比較各受害樹種的松材線蟲含量，以琉球松每克鮮重含562隻為最多，其餘依次為黑松、台灣二葉松、濕地松、德達松和展葉松，所帶的松材線蟲量分別為340、132、32、22和9隻 (Table 3)。

四、討論

福山植物園內所發生的松樹萎凋病，經本試驗證實是由於松材線蟲感染所致，受害的樹種計有台灣華山松、濕地松、琉球松、展葉松、德達松、台灣二葉松和黑松等七種松科植物。除台灣華山松之葉為5針一簇，在分類上屬於單維管束亞屬 (*Haploxyton*) 外，其餘六種松樹之葉皆為2或3針一簇，屬於雙維管束亞屬 (*Diploxyton*) 之松樹，而台灣華山松只在苗圃出現病徵，於裸子植物區卻未有病害之發生，此現象是否顯示5針一簇的松樹，其對松材線蟲的抗病性較2或3針一簇的松樹高？我們的試驗結果並沒有直接的證據支持此論點，其原因亦可能與2或3針一簇之松樹種類較多，樹種在裸子植物區之分佈和松斑天牛取食的偏好 (feeding preference) 有關 (Adams and Morehart, 1982; Walsh and Linit, 1984)。

苗圃的松樹曾遭大量松斑天牛的侵襲，松斑

天牛不僅啃食台灣華山松、台灣二葉松和黑松，連台灣雲杉和紅檜 (*Chamaecyparis formosensis*) 也遭受攻擊，但台灣雲杉和紅檜並未出現病徵，亦未分離到松材線蟲。而在裸子植物區的受害樹種，雖然全部屬於雙維管束亞屬的松樹，但罹病的植株只局限在直徑約20-30公尺的環狀地帶，主要以台灣二葉松和黑松的族群為中心，病害呈輻射狀向外擴散，屬於感病樹種的琉球松 (李明仁, 1985、1986; Enda, 1988) 因種植在發病帶邊緣，故七棵中只有一棵遭感染。五針一簇的台灣華山松和台灣五葉松則與發病帶的核心相距約40公尺，或許因距離的阻隔而未被感染。

從本試驗的病害調查中，得知台灣二葉松、台灣華山松、濕地松和德達松皆可在自然狀況下，遭松材線蟲感染而發病，而且台灣二葉松和台灣華山松均出現相當高的發病率，並帶有大量的松材線蟲，顯示台灣二葉松和台灣華山松對松材線蟲的感受性，並不樂觀，此與李明仁 (1986) 在試驗室的接種報告明顯不同，曾顯雄 (1989) 亦認為台灣二葉松為抗病樹種，而濕地松和德達松更是多位學者公認的抗病或耐病樹種 (曾顯雄, 1989; Futai and Furuno, 1979)。事實上，松樹對松材線蟲的抗感病性測定，受感染源的濃度，寄主的生理狀況 (樹齡)，環境因子及樹種間遺傳變異的能力影響頗大 (Tamura and Dropkin, 1984; Futei and Furuno, 1979; 周國梁和程瑚瑞, 1993)，福山植物園內的松樹遭大量松斑天牛的侵襲，受到天牛啃食的松科植物，除台灣雲杉外，其餘樹種皆有發病的記錄，這些樹種大部分種植在受害的環狀發病區，故本試驗受害樹種的種類及發病率的高低，可做為這些樹種對松材線蟲相對抗病性之參考。出現病徵的樹種並不一定是感病的品種，同樣的，未發病的樹種亦不表示為抗病的品種，感病性的琉球松和雪松 (Kondo *et al.*, 1982; Mamiya, 1983)，即因種植在未發病地帶，而逃過松材線蟲的危害。我們不清楚為何在1995年未發現新感染的病株，整個病害的進展完全停頓，松斑天牛亦不再出現，也許病害發生之際，我們即捕殺相當數量的松斑天牛，並將病株砍除做線蟲分離之用，松斑天牛無法繁殖，致病害不再發生。

松材線蟲在松樹內的數量是否可決定樹種間抗感病性，亦是值得探討之問題。我們的結果顯

示, 從感病的黑松和琉球松組織可分離到較高數量的松材線蟲; 而從抗病的德達松和濕地松則分離到較低的線蟲量 (Tables 2、3)。Tamura 和 Dropkin (1984) 以人工接種方法來測試松樹對松材線蟲的抗感病性, 發現抗病的芒刺松 (*P. echinata*) 和傑弗利松 (*P. jeffreyi*), 其體內的松材線蟲量遠比感病的歐洲赤松 (*P. sylvestris*) 低; Adams 和 Morehart (1982) 亦認為從感病的樹種所分離到的松材線蟲量會比抗病的樹種高。在我們的分離試驗中, 台灣華山松和台灣二葉松經常帶有相當高數量的松材線蟲, 顯示台灣的松材線蟲對這二種台灣本土的松樹具有威脅性; 相對的, 從展葉松所分離到低數量的松材線蟲, 或許也意味該樹種對松材線蟲具有某種程度的抵抗力。

誌謝

本文承蒙福山分所林則桐先生提供樹種資料, 張淵順先生協助標本採集, 陳嘉全先生協助實驗工作, 邱菊英小姐幫忙文稿打字, 特此誌謝。

引用文獻

- 李明仁 1985 松材線蟲引起之台灣琉球松萎凋病。嘉義農專學報 12: 57-68。
- 李明仁 1986 台灣松類對松材線蟲之抵抗力。中華林學季刊 19: 27-33。
- 林國銓 1995 本所福山植物園經營管理重點。林試所簡訊 2(3): 22-23。
- 周國梁、程瑚瑞 1993 馬尾松 (*Pinus massoniana*) 感染松材線蟲 (*Bursaphelenchus xylophilus*) 的研究。植物病理學報 23(1): 81-84。
- 曾顯雄、顏志恆 1989 台灣松材線蟲萎凋病之發生及防治。植物線蟲病害防治研討會專集, 15-32頁。
- 顏志恆 1988 松樹萎凋病之研究及其防治。台大植病研究所碩士論文, 169頁。
- Adams, J. C., and A. L. Morehart. 1982. Decline and death of *Pinus* spp. in Delaware caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. J. Nematol. 14:382-385.
- Enda, N. 1988. The damage of pine wilt disease in Taiwan. Forest Pests 37:6-11.
- Futai, K., and T. Furuno. 1979. The variety of resistances among pine-species to pine wood nematode, *Bursaphelenchus lignicolus*. Bull. Kyoto Univ. For. 51:23-36.
- Kondo, E., A. Foudin, M. Linit, M. Smith, R. Bolla, R. Winter, and V. Dropkin. 1982. Pine wilt disease - nematological, entomological, and biochemical investigation. University of Missouri-Columbia Agr. Exp. Sta., Publication SR282. 56 pp.
- Mamiya, Y. 1983. Pathology of the pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*. Annu. Rev. Phytopathol. 21: 201-220.
- Nickle, W. R., A. M. Golden, Y. Mamiya, and W. P. Wergin. 1981. On the taxonomy and morphology of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner 1934) Nickle 1970. J. Nematol. 13:385-392.
- Tamura, H., and V. Dropkin. 1984. Resistance of pine trees to pine wilt caused by the nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. J. Jap. For. Soc. 66:306-312.
- Tzean, S. S., and S. T. Jan. 1985. The occurrence of pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Taiwan. Proc. 6th. R. O. C. Symposium on Electron Microscopy p.38-39.
- Walsh, K. D., and M. J. Linit. 1984. Feeding preferences of the adult pine sawyer, *Monochamus carolinensis* (Coleoptera: Cerambycidae), for four pine species. Environ. Entomol. 13:1164-1166.