

# 十字花科蔬菜抗根瘤病之研究<sup>1</sup>

林俊義<sup>2</sup> 黃秀華<sup>3</sup>

**摘要：**十字花科蔬菜根瘤病係由 *Plasmodiophora brassicae* (Woronin) 所引起，為十字花科蔬菜之重要根部病害，嚴重時會造成植株死亡。病原菌菌量在  $10^8$  propagules/ml 時對十字花科蔬菜之感染可達100%；溫度在22.5°C對根毛感染率及發病指數達到最高。抗病篩選之環境為在溫度為22.5°及病原菌之菌量濃度定為  $10^8$  propagules/ml，由日本引進之甘藍 (CR30—128 及 CR30—130) 之發病率為3.33%及6.33%，結球白菜 (祝勝、石井、野崎 70.90) 之發病率各為8.1%，10.1%，43.3%，及10%；青花菜 (HANAMORI、AT-SUMORI、SHIGEMORI) 之發病率各為13.2%，12.5%及25.6%。對根瘤病呈強抗病性。

**關鍵詞：**根瘤病、抗病品種篩選、十字花科蔬菜。

十字花科蔬菜根瘤病係一歷史悠久之病害，早在13世紀即有發生的記載<sup>(13)</sup>，其病原菌於1878年由俄人 Woronin 發現，命名為 *Plasmodiophora brassicae* Woronin<sup>(13)</sup>。本省於1933年首次由澤田兼吉報告嚴重發生於桃園、新竹一帶芥菜田<sup>(4)</sup>，1984年後陸續有謝及楊氏、謝、王氏及謝、黃氏等<sup>(13,10,11,12,16)</sup> 報告有關本病原菌在本省發生之分佈、病原菌之菌系、生態、抑病土及防治方法等。近年來由於本省蔬菜專業區之設立，尤其是以種植十字花科夏季蔬菜為主之高山地區，本病發生相當嚴重，造成農民重大損失。根據前人研究可以有效防治十字花科蔬菜根瘤病的方法有土壤消毒<sup>(8,17)</sup>、改進栽培方法及添加物處理土壤<sup>(17,2,6,7,9,18)</sup> 等，其中以添加含鈣化物處理土壤使用最為普遍，但是鈣化物長期大量施用，不僅有改變土壤性狀之虞，而且不經濟使用上又不方便。本研究即在於研擬快速大量篩選抗根瘤病十字花科蔬菜品種之方法，期能早日篩選出抗病品種推廣給農民，或作為育種之材料，以解決日益嚴重之十字花科蔬菜根瘤病。

## 材料與方法

### 一、病原菌之分離及休眠孢子接種液之製備

由清境地區十字花科蔬菜田中，採集根瘤病之病株，於室內將根瘤用水洗淨。置於果汁機中加入等重量比之蒸餾水後打碎3分鐘，打破液以5,000rpm (3,000xg) 離心30分鐘，取沉澱即為物以5毫升蒸餾水重新懸浮，如此重複三次離心重新懸浮後，所得沉澱即為根瘤病菌之休眠孢子，試驗時以蒸餾水稀釋為休眠孢子懸浮液至適當濃度後供接種用。未用之根瘤可於-20°C冷凍庫保存備用。

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告第 1811 號。
2. 本所所長。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。
3. 臺中區農業改良場助理研究員。臺灣省 彰化縣 大村鄉。

## 二、不同濃度之休眠孢子對根瘤形成之影響

將病原菌之休眠孢子以蒸餾水稀釋為 $10^5$ ， $10^6$ ， $10^7$ ，及 $10^8$ 個/ml 等四種不同接種濃度以蒸餾水為不接種對照。將10ml 之孢子懸浮液分別加入培養皿中（內含已發芽三天之甘藍30棵），每一處理接種四個培養皿，四小時後，將青江白菜種植於128格之穴盤中。栽培土為等量之泥炭土與四號真珠石配製而成；真珠石為南海蛭石股份有限公司出品；泥炭土則為荷蘭 Horafleur 002，於 $20^{\circ}\text{C}$ 之生長箱中，30天後，將植株小心拔起用流水將表面清洗乾淨，以根瘤大小作為感病等級之依據。另外各取20棵之根系浸於 Carmine 染劑染色一天，再鏡檢根毛感染率。

根毛感染率之分級乃根據每一視野中根毛被休眠孢子感染情形。0級為未受到感染，1級為1~10個，2級為10~30個，3級為30~50個，4級為50~80個，5級為80個以上之休眠孢子。發病之分級如下：0=無病徵（No symptoms），1=小結瘤（Small nodular galls），3=大結瘤或球形結瘤（Larger nodular or spherical galls），5-7=在主根或側根有大融合瘤（Increasingly large fusiform galls on lateral and main root），9=大結瘤延伸至胚軸（Large galls extending into hypocotyl）（圖1）<sup>(15)</sup>。

$$\text{發病等級} = \frac{\sum (0x_j + 1x_j + 3x_j + 5x_j + 7x_j + 9x_j)}{n x_i}$$

$n$  = 調查總數， $i$  = 等級， $j$  = 各級數目

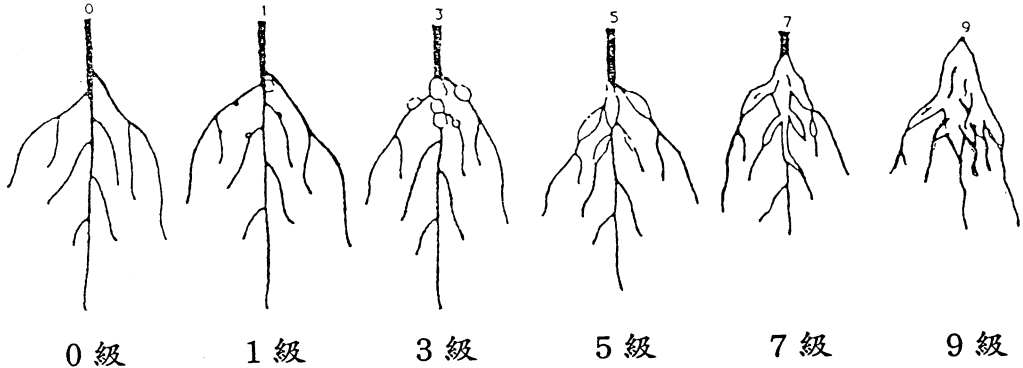


圖 1. 根瘤病發病之等級（0~9 級為健康至發病嚴重）

Fig. 1. Scale of disease incidence on clubroot, 0~9 indicate plants are healthy to severely infected

## 三、溫度對根瘤病感染之影響

將根瘤病之休眠孢子以蒸餾水稀釋為 $10^8$ 個/ml 之接種，以蒸餾水作為不接種對照。於培養皿中加入10ml 之休眠孢子接種液（培養皿內含已發芽三天之青江白菜30棵），每處理接種四個培養皿，四小時後，將青江白菜種植於128格之穴植盤中。栽培土為等量之泥炭土與四號真珠石配製而成；真珠石為南海蛭石股份有限公司出品；泥炭土則為荷蘭 Horafleur 002，分別放在 $15^{\circ}\text{C}$ ， $17.5^{\circ}\text{C}$ ， $20^{\circ}\text{C}$ ， $22.5^{\circ}\text{C}$ ，及 $25^{\circ}\text{C}$ 之生長箱中，30天後，將植株小心拔起用流水將根表洗淨，依根瘤大小紀錄發病等級。並各取20棵之根系浸於 Carmine 染劑染色一天，再鏡檢根毛感染率。

## 四、不同甘藍、結球白菜及青花菜品種對根瘤病之感受性測定

供試之甘藍品種方面包括由日本引進之 CR (93-130頂點)，CR (93-128) 及本省常見之品種高峰及初秋，共四個品種；結球白菜品種包括：由日本引進之祝勝 (CR)，石井 (CR APPARE F1)，野崎70、90及本省高山地區種植之結球白菜388及特慢，共六個品種。青花菜方面由日本引進

協和 (HANAMORI, ATSUMORI, SHIGEMORI)，與本省栽培品種綠王，共四個品種。將上述各品種種子30粒放在九公分之培養皿中催芽，發芽三天後，以含 $10^8$ 個/ml 之休眠孢子液進行接種處理，每一品種接種 4 個培養皿，四小時後將種子種植於128格之穴盤中，所用土壤介質配方與前述試驗相同，於 $22.5^{\circ}\text{C}$ 之生長箱中，培植30天後，將植株小心拔起用流水將根表洗淨，紀錄發病等級，並以同法檢查每一品種之根毛感染率。

### 五、田間試驗

將本省常見及由國外引進之十字花科作物 (表 1)，育苗經過30天以後，移植於清境榮光新村之發病田 (本試驗田前期發病率為80%)，定期前往調查各品種發病之情形。

表 1. 十字花科作物田間試驗品種  
Table 1. Tested varieties to clubroot on Crucifers in field

作物	來源
甘 藍	
CR 93—128	Dr. Hiroaki Yoshikawa
CR 頂點 93—128 (多惠)	Dr. Hiroaki Yoshikawa
高 峰	本 省
初 秋	本 省
CR 祝勝結球白菜	高農株式會社
CR APPARE F1 (石井)	石井育種場
野 崎 70	野崎採種場
野 崎 90	野崎採種場
結球白菜 388	本 省
結球白菜 特慢	本 省
青 花 菜	
HANAMORI	協和種苗株式會社
ATSUMORI	協和種苗株式會社
SHIGEMORI	協和種苗株式會社
綠 王	本 省

## 結 果

### 一、接種不同濃度之根瘤病菌休眠孢子對根瘤形成之影響

經試驗結果顯示：根瘤之形成與接種之休眠孢子濃度成正相關 (表 2、3)，甘藍在孢子濃度為 $10^5$ 個/ml 之處理，經目視檢查並未發病，但用 Carmine 染色後鏡檢根毛感染率為55%，在 $10^6$ — $10^8$ 個/ml 處理下，根毛感染率可達100%，且由目視即可檢查根結瘤情形 (圖 2)。依據此試驗結果以下有關之試驗均將病原菌接種濃度定為 $10^8$ 個/ml。

表 2. 根瘤病菌休眠孢子接種濃度對青江白菜幼苗根毛感染之影響

Table 2. The relationship of inoculum density of *Plasmodiophora brassicae* resting spores on the infection rate of clubroot.

Inoculum density (resting spores/ml)	Root incidence <sup>z</sup> (%)	Root infection <sup>y</sup> index
10 <sup>5</sup>	55	1.30
10 <sup>6</sup>	100	3.45
10 <sup>7</sup>	100	4.75
10 <sup>8</sup>	100	5.0
CK	0	0

<sup>z</sup> data was obtained by observation in microscopy, 30 roots were detected for each treatment.

<sup>y</sup> index were from "0" to "5" where "0" indicated the root was not infected, and "5" indicated each root was infected by more than 80 resting spores.

表 3. 根瘤病菌休眠孢子接種濃度對青江白菜幼苗根瘤病發病之影響

Table 3. The effect of inoculum density of *Plasmodiophora brassicae* resting spores on the severity of clubroot.

Inoculum density (resting spores/ml)	Disease incidence <sup>z</sup> (%)	Disease index <sup>y</sup>
10 <sup>5</sup>	0	0
10 <sup>6</sup>	0	0
10 <sup>7</sup>	12	0.4
10 <sup>8</sup>	68	5.1
CK	0	0

<sup>z</sup> data was obtained by observation in microscopy, 30 roots were detected for each treatment.

<sup>y</sup> indexes were from "0" to "5" where "0" indicated the root was not infected, and "5" indicated each root was infected by more than 80 resting spores.



圖 2. 接種濃度對根瘤形成之影響

Fig. 2. The relationship of inoculum density of *Plasmodiophora brassicae* to clubroot

二、溫度對根瘤病發減之影響

由圖 3 顯示：根瘤病菌在植株上發病率及發病指數之最適的溫度為22.5°C，並在接種14天後時發

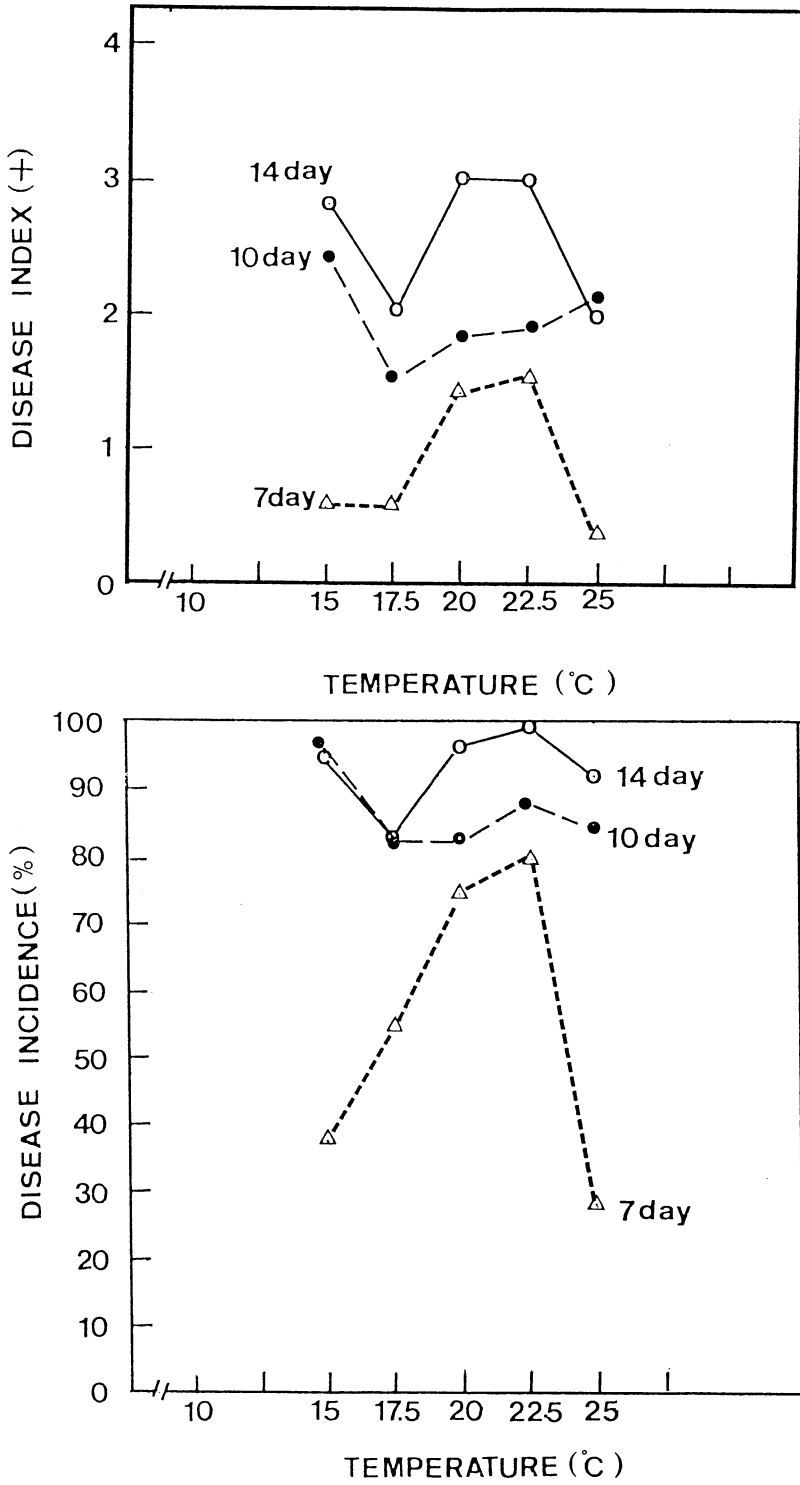


圖 3. 溫度對根瘤病發生之影響

Fig. 3. Effect of temperature on the disease incidence of crucifers to clubroot

病率幾乎可達100%，發病指數達到3級。根據溫度及濃度之試驗結果選定 $10^8$ 休眠孢子/ml 為接種標準濃度，而 $22.5^{\circ}\text{C}$ 為接種環境溫度，進行不同十字花科作物對根瘤病之感受性測定。

### 三、不同甘藍品種對根瘤病之感受性

根據前述試驗結果選定 $10^8$ 休眠孢子/ml 為接種用標準濃度而 $22.5^{\circ}\text{C}$ 為接種環境溫度，進行不同十字花科作物對根瘤病之感受性測定，結果如表4所示，由日本引進之二種甘藍品種，對本省之根瘤病菌較本省品種具有抵抗性，在高達每一毫升中含有 $10^8$ 之孢子濃度下，發病率只有0.33~6.33%之間，本省高山地區常種之高峰及初秋品種之罹病率則高達75.6%及100%。

表 4. 不同甘藍品種對根瘤病之抗性

Table 4. Varietal susceptibility to clubroot on cabbage

Various	Disease incidence <sup>z</sup> (%)	Disease index <sup>y</sup>
CR 93-128	3.33	0.10
CR 頂點 93-128 (多惠)	6.33	0.23
高 峰	75.6	2.35
初 秋	100.0	4.45

<sup>z</sup> data was obtained by observation in microscopy, 30 roots were detected for each treatment.

<sup>y</sup> indexes were from "0" to "5" where "0" indicated the root was not infected, and "5" indicated each root was infected by more than 80 resting spores.

### 四、不同結球白菜品種對根瘤病之感受性

根據前述試驗結果選定 $10^8$ 休眠孢子/ml 為接種用標準濃度， $22.5^{\circ}\text{C}$ 為接種環境溫度，進行不同十字花科作物對根瘤病之感受性測定，結果如表5所示，由日本引進之四種結球白菜品種除野崎70外，對本省之根瘤病菌均較本省品種具有抵抗性，在高達每一毫升中含有 $10^8$ 之孢子濃度下，發病率只有8.1~10.8%之間，本省高山地區常種之結球白菜388品種發病率則高達55.3%，另一品種特慢則屬於中感品種發病率為38.9%。

表 5. 六種不同結球白菜品種對根瘤病之感受性測定

Table 5. Susceptibility of six chinese cabbage varieties to clubroot disease

Various	Disease incidence <sup>z</sup> (%)	Disease index <sup>y</sup>
CR 祝勝結球白菜	8.1	0.08
CR APPARE F1 (石井)	10.8	0.21
結球白菜		
野崎 70	43.3	1.1
野崎 90	10	0.1
結球白菜 388	55.3	3.56
結球白菜 特慢	38.9	1.30

<sup>z</sup> data was obtained by observation in microscopy, 30 roots were detected for each treatment.

<sup>y</sup> indexes were from "0" to "5" where "0" indicated the root was not infected, and "5" indicated each root was infected by more than 80 resting spores.

### 五、不同青花菜品種對根瘤病之感受性測定

由表 6 顯示：由日本引進之三種青花菜品種比本省目前栽培之品種綠王對根瘤病菌較具抵抗力，三者之中以 ATSUMORI 及 HANAMORI 較具抗病性，發病率各為 12.5% 及 13.2%，另一品種 SHIGEMORI 發病率為 25.6%。在相同的接種條件下本省之栽培品種綠王發病率則高達 78.1%。

表 6. 不同青花菜品種對根瘤病之感受性測定  
Table 6. Varietal susceptibility to clubroot on Broccoli

Various	Disease incidence <sup>z</sup> (%)	Disease index <sup>y</sup>
HANAMORI 青花菜	13.2	0.18
ATSUMORI 青花菜	12.5	0.43
SHIGEMORI 青花菜	25.6	0.67
綠 王	78.1	4.40

<sup>z</sup> data was obtained by observation in microscopy, 30 roots were detected for each treatment.

<sup>y</sup> indexes were from "0" to "5" where "0" indicated the root was not infected, and "5" indicated each root was infected by more than 80 resting spores.

### 六、田間試驗

由表 7 結果顯示：由日本引進之十字花科蔬菜甘藍 (CR 93-128, CR 93-130)、結球白菜 (祝勝、野崎 70 及 90、石井) 及青花菜 (HANAMORI, ATSUMORI, SHIGEMORI) 對本省高山地區之根瘤病菌系 (ECD 16/0/31) 較有抗性，而本省目前之栽培品種對於根瘤病菌則抵抗力較弱。

表 7. 十字花科蔬菜田間發病率  
Table 7. Varietal susceptibility to clubroot on Crucifers in field test

Crops	Disease incidence (%)					
	30 <sup>z</sup>	45	60	75	90	97
甘 藍						
CR 93-128	0	0	0	0	0	0
CR 頂點 93-130 (多惠)	0	0	0	0	0	0
高 峰	6.5	18.5	35.5	40.0	50.5	56.0
初 秋	15.5	20.67	33.5	45.5	68.5	72.67
結球白菜						
CR 祝勝結球白菜	0	0	0	0	0	0
CR APPARE F1 (石井)	0	0	0	0	0	0
野 崎 70	0	0	0	2.8	3.0	3.5
野 崎 90	0	0	0	0	0	0
結球白菜 388	4.5	8.0	12.0	18.0	20.0	25.0
結球白菜 特慢	2.5	5.0	8.0	10.5	13.0	14.5
青 花 菜						
HANAMORI	3.2	3.2	3.5	4.0	4.5	5.0
ATSUMORI	0	0	0	0	0	0
SHIGEMORI	0.6	0.6	0.8	2.4	2.5	5.0
綠 王	5.5	8.0	9.0	12.5	14.0	16.0

<sup>z</sup> 移植後天數

## 討 論

根瘤病是十字花科蔬菜重要的根部病害，植株發病後地上部葉片首先呈萎凋狀，其萎凋現象在中午天氣炎熱時最為明顯，被害植株隨著病勢的發展，下位葉黃化，植株矮化，在苗期如被感染會導致植株早期死亡。在地下部則可見明顯腫大之根瘤，根瘤形狀呈紡錘形或不規則形，較大或較久之根瘤常因其他微生物之感染而腐爛，導致植株死亡，腐爛之根瘤會發出惡臭<sup>(5)</sup>。本病原菌對根毛之感染與溫度有很大的關係，溫度在16°C以下時，植株根毛未見形成游走孢子囊，根毛感染率在24°C時最多，但溫度在28°C時其根毛感染率則下降<sup>(1,3,12,2)</sup>；筆者之試驗結果亦有相似之情形，但根毛感染率及發病指數以22.5°C時最高（圖2、3），此點與前人之研究較為不相同<sup>(3)</sup>，但實際田間根瘤病之發生則以18°C最為適宜，溫度過高或過低皆不適合本病之發生<sup>(1,2,3,12)</sup>。筆者由日本引進甘藍、結球白菜、青花菜等抗病品種，依據Toxopeus之基準進行對本省主要根瘤菌菌系（ECD16/0/31）<sup>(10)</sup>之抗病篩選工作。試驗結果顯示對本省高山地區之菌系（ECD16/0/31）有很好的抗病性（表4、表5及表6）。青花菜抗病品種（HANAMORI，ATSUMORI，SHIGEMORI）之品質與本省之栽培品種（綠王）無差異（品種試吃），可直接推廣給農民種植；引進之甘藍品種則品質較本省種植之初秋品種差（品種試吃比較口感方面），則可作為育種的材料。但對於這些抗病品種之抗病機制、基因控制因子，並未有更多的資料可供參考，則有待更進一步之研究。

## 誌 謝

本研究承蒙 Dr. Hiroaki Yoshikawa, 日本高農株式會社、石井育種場及協合種苗株式會社提供甘藍、結球白菜及青花菜之種子，農林廳八十三年度提供經費，謹致謝忱。

## 引用文獻

1. 王肇芬。1986。十字花科蔬菜根瘤病抑病土之調查及抑病機制之研究。國立中興大學植物病理研究所第十六屆碩士論文。
2. 黃勝智。1986。育苗土添加鈣化物防治十字花科蔬菜根瘤病之研究。國立中興大學植物病理研究所第十六屆碩士論文。
3. 楊慶鴻。1984。土壤添加物防治十字花科蔬菜根瘤病之研究。國立中興大學植物病理研究所第十四屆碩士論文。
4. 澤田兼吉。1933。臺灣產菌類調查報告第四篇。臺灣總督府農業試驗所報告第61號。
5. 謝文瑞。1993。十字花科蔬菜根瘤病蔬菜保護研討會專刊新一號。257—272頁。中華植物保護學會出版325。
6. Anderson, W. C., Gabrielson, R. L., Haglund, W. A., and Baker, A. S. 1976. Clubroot control in crucifers with hydrated lime and PCNB. *Plant Dis. Repr.* 60: 561—565.
7. Campbell, R. N., Greathead, A. S., Myers, D. F., and de Boer, G. J. 1985. Factors related to control of clubroot of crucifers in the Salinas Valley of California. *Phytopathology* 75: 665—670.
8. Colhoun, J. 1983. Observations on the incidence of clubroot disease of Brassicaceae in limed soils in relation to temperature. *Annu. Appl. Biol.* 40: 639—644.
9. Dobson, R. L., Gabrielson, R. L., Baker, A. S., and Bennett, L. 1983. Effects of lime particle size and distribution and fertilizer formulation on clubroot disease caused by *Plasmodiophora brassicae*. *Plant Dis.* 67: 50—52.
10. Hsieh, W. H., and Huang, Y. H. 1988. Pathotype differentiation in *Plasmodiophora brassicae* with the European clubroot differential set in Taiwan. *Plant Prot. Bull.(Taiwan, R. O. C.)* 30: 393—398.
11. Hsieh, W. H., and Wang, J. F. 1986. Investigation on suppressive soils of clubroot of crucifers in Taiwan. *Plant Prot. Bull.(Taiwan, R. O. C.)* 28: 353—362.
12. Hsieh, W. H., and Yang, C. H. 1985. Investigation on the clubroot and the susceptibility of crucifers in



Taiwan. Plant Prot. Bull.(Taiwan, R. O. C.) 27: 3—10.

13. Karlin, J. S. 1968. The Plasmodiophorales. 2nd ed. Hafner Publishing Company, N. Y.
14. Rowe, R. C. 1980. Evaluation of radish cultivars for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) race 6 for midwestern United States. Plant Dis. 65: 462—464.
15. Toxopeus, H. 1977. Outlines of breeding programs for clubroot resistance in brassica crops. pp. 124—126. In: Woronin+100, International Conference on Clubroot. Department of plant pathology, College of Agricultural and Life Science, University of Wisconsin Madison.
16. Wang, J. F., and Hsieh, W. H. 1986. Studies on the suppressive factors and characteristics of suppressive soils of clubroot in crucifers. Plant Prot. Bull.(Taiwan, R. O. C.)28: 363—370.
17. White, J. G., and Buczacki, S. T. 1979. Observations on suppression of clubroot by artificial or natural heating of soil. Trans. Br. Mycol. Soc. 73: 271—275.
18. White, J. G., and Buczacki, S. T. 1977. Control of Clubroot by soil particle sterilization with particular reference to the treatment of small natural loci of infection. Annu. Appl. Biol. 87: 337—343.

# Studies on Resistance of Crucifers to Clubroot Disease Caused by *Plasmodiophora brassicae*<sup>1</sup>

Chien-Yih Lin<sup>2</sup> and Shiou-Hwa Huang<sup>3</sup>

## Summary

Clubroot disease of crucifers, caused by *Plasmodiophora brassicae* Woronin, is the most important soil-borne disease on crucifers. The optimal temperature for root hair infection and disease incidence to clubroot are 22.5C. When inoculum density is at 10<sup>8</sup> propagules/ml, higher disease percentage occurs. The disease incidence of cabbage cultivars : CR 30-128 and CR 30-130 to clubroot are 3.33% and 6.33% separately. CR APPARE F1 and CR of chinese cabbage are 10.8% and 8.1% respectively. Hanamori, Atsumori and Shigemori of broccoli are 13.2%, 12.5% and 25.6% respectively. They are highly resistant varieties.

Key words: Clubroot, Resistant, Cabbage, Chinese cabbage, Braccoli.

---

1. Contribution No. 1811 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Director of Taiwan Agricultural Research Institute. Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Assistant Specialist of Taichung District Agricultural Improvement Station. Dahtsuen, Changhua, Taiwan, ROC.