

# 茭白與黑穗菌的相互關係

蔡正宏

## 摘要

茭白與黑穗菌間是一種共生的關係，黑穗菌需要植物製造的養分，但也會釋出以細胞分裂素為主的生長激素，讓茭白莖部膨大成為具經濟價值的蔬菜，因此共生狀態下植株與真菌的相對平衡是非常重要的，因為生育過於強健的植株，黑穗菌菌絲無法侵入，故無法刺激莖基部膨大者，會導致雄株的產生。而當植株生育、分蘖停滯，黑穗菌的菌絲潛育期縮短，黑穗菌產生大量孢子，形成黑棕色的冬孢子腔，同時因賣相不好，致失去商品價值，也就是俗稱的黑心或灰茭。另外在台灣所栽培的茭白品系中，利用RAPD分析植株、嫩莖及黑穗菌之DNA後，發現不同品種的植株遺傳差異相當微小，反而是黑穗菌的遺傳差異非常大，因此未來是否有可能以篩選黑穗菌的品種，並接種至茭白後即可育成理想的茭白品種，仍可進一步研究。

## 前言

茭白(*Zizania latifolia Turcz.*)在古代當作穀物利用，稱為『菰米』，至今於加拿大北部仍有原住民栽種，當地稱為野米(Wild Rice)。在華人地區經選種基部肥大呈肉質莖之植株當作蔬菜栽培，演變成今日之茭白筍。依據100年農業統計年報，臺灣茭白栽培面積為2,013公頃，年產量45,353,368公斤，主要產地集中南投縣埔里鎮，種植約1,700公頃，占全臺83%以上，平均產量每年2,400公斤/分地。中國浙江與江蘇為世界最大的茭白栽培地區，浙江就擁有26,000公頃以上的栽培面積，且每年600,000噸的收穫量，約2,300公斤/分地，因此對岸成為台灣茭白筍外銷最大的競爭對象。

黑穗菌(*Ustilago esculenta P. Henn.*)為擔子菌亞門黑穗菌屬高等真菌，菌絲發達，具有隔膜。此菌在幼嫩的茭白莖內，於適溫情況下，產生細胞生長素及細胞分裂素，刺激茭白莖部細胞組織不斷增殖膨大，乃形成顏色潔白，質軟味美的筍狀嫩莖；同時葉片光合作用所製造的養分也轉移蓄積於此，即成為茭白筍。茭白生長適溫為20~30℃，溫度超過30度或低於10度時會抑制黑穗菌生長導致不結筍，另外重要的生產關鍵還有乾淨的水質與豐沛的水量。茭白筍採收季節正逢高溫多濕，及多颱風豪雨的時期，一般蔬菜栽培不易，加上其搬運及貯藏較方便，已成為台灣夏季重要蔬菜之一。一般筍農栽培管理的技術皆相當老練，但由於個人土地面積有限，採用連作方式經營，又因為電照、刈頭等產期調節之技術發明，使得耕地土壤鮮少有休息機會；茭白為耐肥性作物，如果肥料不充足或乾

旱，則筍小，且厚膜孢子易顯現，因此農民習慣性的大量使用化學肥料，使土壤理化特性變差，而且連年種植同一作物加上長年淹水易造成某些微量元素的缺乏及土壤通氣性下降，加上近年氣候變遷等因素，都間接造成茭白筍產量年年下降之趨勢，歷年茭白筍產量由90年35,000公斤/公頃下降至100年24,000公斤/公頃。因此希望藉由了解茭白與黑穗菌間的相互關係，以克服臺灣茭白栽培所遭遇瓶頸，更能改善雄株及灰茭等品質問題。

## 內容

茭白植株莖部可分為地上與地下莖，地上莖為短縮莖(縱向生長)，每個節位都可以產生芽點，形成自己的短縮莖，當短縮莖達到10節以上，加上外界環境適合黑穗菌增生後，即可形成筍狀菌癭(Fungous gall)。地下莖則為匍匐莖(橫向生長)，先端的芽轉向地上生長，形成分株(圖一)。

表一、埔里鎮茭白歷年栽培面積與產量

年度	縣市鄉鎮名稱	種植面積	收穫面積	每公頃收量	收量
		公頃	公頃	公斤	公斤
86	埔里鎮	1,162.00	1,162.00	31,000	36,022,000
90	埔里鎮	1,257.00	1,257.00	35,000	43,995,000
94	埔里鎮	1,649.97	1,649.97	25,500	42,074,235
98	埔里鎮	1,756.91	1,756.91	24,100	42,341,531
99	埔里鎮	1,763.61	1,763.61	24,100	42,503,001
100	埔里鎮	1,766.24	1,766.24	24,061	42,497,400

黑穗菌屬於真菌界擔子菌亞門黑穗菌目，利用光學顯微鏡觀察懸浮培養的黑穗菌，其無性繁殖以菌絲生出分生孢子；而有性繁殖利用具親和性的兩個菌絲或細胞結合，形成雙核次生菌絲，之後產生厚膜冬孢子，因為屬於較高等的真菌，菌絲發達，具有隔膜。利用電子顯微鏡觀察茭白植株中的黑穗菌，大部分的黑穗菌在皮質被發現，尤其在維管束的周邊充滿了菌絲及菌絲團，根部與葉片組織中卻沒有發現任何菌絲，菌絲出現在短縮莖部的皮質薄壁細胞頻率較高。菌絲團大量地出現在莖部維管束周圍及薄壁組織中，縱向相鄰的細胞中擠滿了菌絲團，甚至由大量菌絲取代了原本的組織，有些較長的菌絲會有分支的狀況，另一些較短菌絲間會產生很多的短枝，形成菌絲聚合體，而此部分很有可能是形成冬孢子(厚

膜孢子)的場所，也就是灰茭的形成。而維管束中菌絲分布在導管細胞、伴細胞的周圍及維管束鞘細胞之中，但從未發現菌絲直接存在於木質部或是韌皮部的管胞中。在莖部薄壁組織中，菌絲會生長在細胞間隙與細胞中，菌絲直接壓迫到細胞壁上使其凹陷，但宿主的細胞膜與細胞功能卻不受影響，是完整且正常運作的。菌絲發育後期，會使寄主細胞原生質分離，並使細胞壁開始破裂，導致茭白組織內形成菌腔，多數細胞會繼續破裂，使菌腔擴大，後續便準備厚膜孢子形成。當菌絲成功入侵宿主細胞後，宿主細胞的細胞膜呈現凹陷狀且緊緊地包圍菌絲鞘，從而形成了絕對寄生的接口。此接口與大多數絕對繼生菌的作用相同：

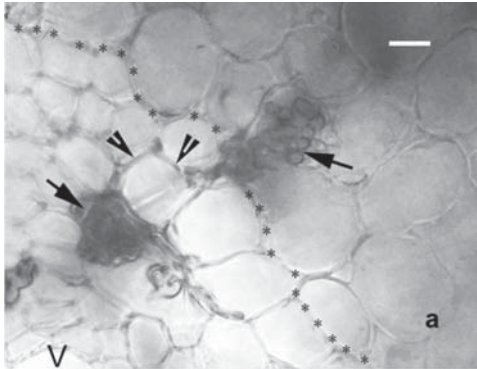
1. 真菌會分泌一些物質引導細胞的同化產物流向真菌內。
2. 保持細胞與真菌間訊息的相互傳遞。

試驗中亦觀察到，通常只在離地面20-25cm的短縮莖中才能發現到菌絲的分布，因此對於以分株作無性繁殖的茭白，留種時所取節位顯得相當重要，一般農民傳統認為越底部的節位，所繁殖出的茭白會越好，但依照試驗呈現結果，推測應該是以越接近土面20cm左右的短縮莖節作為繁殖體，其內部菌絲較旺盛且密度較高，但是不是也因此黑穗菌間變異較大，仍需試驗才可證實。試驗中也觀察了短縮莖的芽點部位，發現莖上所有的芽點皆被黑穗菌入侵，菌絲由較成熟的節間區域，沿著細胞間隙或薄壁細胞入侵新的芽點，並佔據了大部分的芽點組織(圖二)，當芽點發育成幼芽與葉片時，幼芽中菌絲的分布模式與芽點中是非常相似的，但菌絲沒有跟著延伸到葉片組織中，只保持在葉鞘與葉片的交界處。



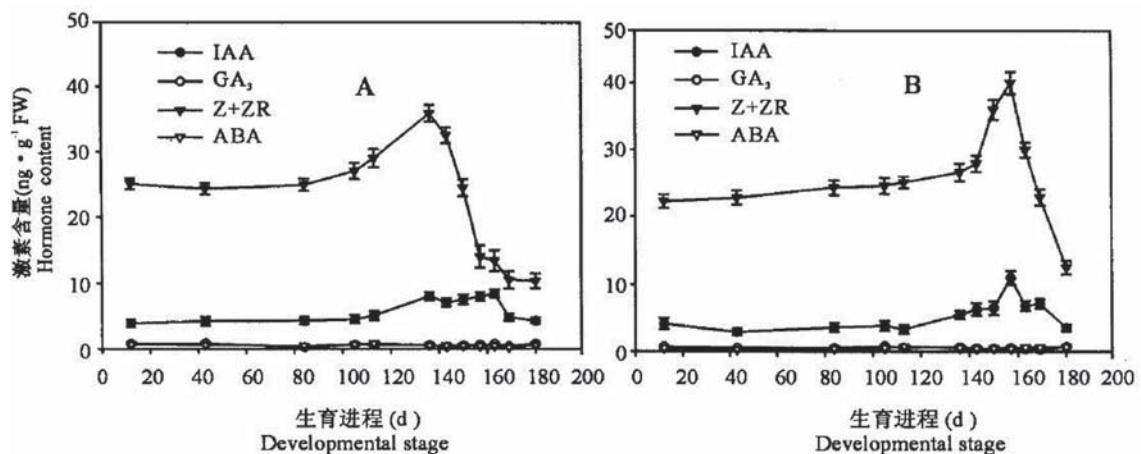
圖一、茭白植株型態





圖二、黑穗菌由植株較成熟部位(星號左半邊)侵入新生芽點(星號右半邊箭頭處)

由上述得知黑穗菌與茭白間形成一種共生關係，再此共生狀態下，黑穗菌的活性與植株生育的相對平衡就顯得相當重要，因為收穫目標不單純是植株或是菌所構成，任何一方過於強勢都會造成品質的偏差。在文獻中普遍認為，細胞分裂素和生長素負責食用嫩莖的形成，一開始孕筍時期的細胞分裂素含量會不斷上升然後到筍生育中後期開始下降，而IAA則是起伏較平緩，只在筍的發育中期有些微上升(圖三)。受黑穗菌感染的細胞比未受感染的細胞，在細胞分裂素含量多了35倍。因此推測當茭白的地母莖分生新芽後，黑穗菌會迅速感染芽點，則頂芽以下3~4節幼莖，因病菌分泌生長素(Auxin)及細胞分裂素(Cytokinin)等荷爾蒙物質，刺激嫩莖薄壁細胞之分裂增且細胞體積增加，而形成肥大可供食用的組織，即為茭白筍。未分化成明顯節位的幼莖組織中，菌絲分布較密，已經具有節或節間的組織則分部少，隨組織愈老化成熟，菌絲越少。在較老的直立莖和匍匐莖中，很少有菌絲分布。黑穗菌一般分布在分蘖芽細胞質豐富、生理活動較為旺盛的部位，而在液泡化程度較高的組織中則幾乎消失(在植物細胞中，液胞化作為一種正常現象，隨着細胞的生長成熟而發生，並形成巨大的液泡)。



圖三、茭白嫩莖發育過程中，內部賀爾蒙含量變化。

茭白栽培過程中，影響收穫量與品質最大的，即雄株與灰茭的產生，也就是植株與黑穗菌間失去了平衡。一些生育強健的植株，黑穗菌菌絲無法侵入，故無法刺激莖基部膨大者，稱為雄株，一般雄株都會開花，茭白花屬圓錐花序，雌雄同株，但雌雄異花或同花。花序上(頂)部著生雌花，中段生兩性花或畸形花，基部則為雄花(圖4)。其實在北美還有很多原住民栽培茭白，但收穫的是種子，華人稱菰米，歐美則稱野生稻(*Zizania palustris*、*Z. aquatica*)，野生稻的核型與茭白(*Z. latifolia*)有很大之差異。茭白之核型不對稱，顯示其為演進型。野生稻*Z. palustris*和*Z. aquatica*(均  $n=15$ )在減數分裂時之染色體行動均正常，但*Z. latifolia* ( $n=17$ )有24.3%的花粉母細胞在肥厚期或第一中期顯示有2個或以上之單價染色體或染色體斷片。在第一後期，更有62.6%之花粉母細胞具有染色體橋隨伴或不隨伴著無中節染色體斷片，或染色體形不均等數分離者，簡單解釋為減數分裂中期(metaphase I)染色體不均等分離，導致不稔性，因此在華人地區栽種之茭白雖會開花，但不節種子。雄茭內部結構上可以觀察到幼莖組織細胞出現液泡化比正常的分蘖早，液泡化的程度也比較高，顯示這些組織的細胞已成熟，能向菌絲提供的營養顯然不足，從而降低了菌絲入侵能力。因此，當產生腋芽原基時，菌絲因入侵能力弱而未能進入腋芽原基。

灰茭又俗稱黑心，因為植株生育、分蘖停滯，營養物質大多已為菌絲所消耗，促使菌絲縮短潛育期黑穗菌的菌絲潛育期縮短，黑穗菌產生大量孢子，形成黑棕色的冬孢子腔。冬孢子是在不利的條件下才容易發生，冬孢子形成，可以幫助真菌在不利條件下存活。因此文獻中提到兩個行程灰茭的主要原因：1.當邀白質株生長勢越弱，灰茭的形成機率越高。2.正常茭變灰茭的過程為突變造成。3.灰茭與正常茭是由不同的黑穗菌生理小種所導致，不同黑穗菌生理小種，造成的治致病情況不同，致病力越強的小種，產生灰茭的機率越高。因此也間接解釋目前推廣茭白必須年年選種的重要性。

另外茭白的品種間差異，一直是研究人員們好奇的問題，文獻中發現所蒐集台灣的10種茭白(3個主要品系青殼、赤殼和敢當)，雖然存在外表形態上的差異，但是遺傳差異非常非常少，RAPD分析後，不同品系間黑穗菌的遺傳差異反而非常大。三個品種的茭白在植物部分無法以RAPD做有效鑑別，推測因茭白的栽培長年以無性繁殖選種方式，栽培品種已趨近所謂“營養系”，存在於三品種間的歧異度非常小。而三品種的黑穗菌歧異度介於30-50%之間，歧異度相當高，在選種上，人為選拔壓力僅限於避免灰茭或雄株，所以是厚膜孢子形成的早晚。但本試驗只限於三個族群間的黑穗菌歧異度，而同一族群單株與單株之間的歧異度尚無研究。

## 結論

茭白與黑穗菌間的相互關係存在著互利卻又相互競爭的關係，其中灰茭與雄

株會因為兩者間的平衡失調而產生，如果寄主向菌絲所提供的營養不足，則可導致1.是菌絲在寄主體內的繁殖和侵入能力減弱—雄茭，2.是菌絲過早節束潛育期而進入繁殖階段—灰茭，因此每年的選種是勢必執行，且母莖的切取方式也因為對黑穗菌存在節位及活性而應有所改變。目前依照分析結果，茭白植體間的差異度非常微小，而菌種間差異卻明顯，因此未來是否能透過篩選黑穗菌的品種，來達到增加品質與產量的目的，又或如何將黑穗菌接種入茭白，都是相當值得探討的研究方向。

### 參考文獻

1. 江解增、邱屈娟、韓秀芹、曹碯生、朱慶森。2004。茭白生育過程中地上各部位內源激素的含量變化。武漢植物學研究。22(3): 245-250。
2. 呂理燾、高清文。1982。茭白筍組織之電子顯微鏡觀察。植物保護學會會刊。24: 247-252。
3. 洪聖峰、陳舜英。2000。茭白作物之演化、利用與育種方向。農政與農情。366: 93-97。
4. 劉政道。1977。茭白外部形態及其花器構造之研究。中國園藝。23(6): 281-289。
5. Cheng, L. J. and D. Guo. 2006. The Biochemical Changes during Stem Swelling in *Zizania latifolia*. Acta Horticulturae Sinica. 6:741.
6. Chung, K. R. and D. D. Tzeng. 2004. Nutritional Requirements of the Edible Gall-producing Fungus *Ustilago esculenta*. Journal of Biological Sciences. 4(2): 246-252.
7. Din, X., X. S. Xu, and W. Chen. 1991. A Preliminary Study on the Development of "Male" and Smutted Tillers of *Zizania Caduciflora Hand*. Journal of Wuhan Botanical Research. 9(2):115-120.
8. Doehlemann G., K. V. D. Linde, D. Amann, D. Schwammbach, A. Hof, A. Mohanty, D. Jackson and R. Kahmann. 2009. A Secreted Effector Protein of *Ustilago Maydis*, is Required for Successful Invasion of Plant Cells. PLoS Pathog. 5(2):e1000290.
9. Doehlemann G., R. Wahl, M. Vranes, R. P. de Vries, and J. Kamper. 2008. Establishment of Compatibility in the *Ustilago maydis/maize* Pathosystem. J Plant Physiol. 165:29-40.
10. Huang, C. S. 1978. Cytological and agronomical studies on American wild-rice, *Zizania palustris* and its related species. Journal of the Agricultural Association of China. 103: 20-42.
11. Hung, S. F., T. L. Chang, I. Z. Chen, D. C. N. Chang. 2006. Anatomic Observation of the Symbiotic Cobs (*Zizania latifolia* Turcz.) and *Ustilago esculenta* P. Henn. J. Taiwan Soc. Hort. Sci. 52(3) : 291-296.

12. You, W., Q. Liu, K. Zou, X. Yu, H. Cui and Z. Ye. 2011. Morphological and Molecular Differences in Two Strains of *Ustilago esculenta*. *Curr Microbiol.* 62(1):44-54.
13. Zhang, J. Z., F. Q. Chu, D. P. Guo, K. D. Hyde and G. L. Xie. 2012. Cytology and ultrastructure of interactions between *Ustilago esculenta* and *Zizania latifolia*. *Mycol Progress.* 11:499-508.