

稻小粒菌核病之研究

II、田土中菌核之密度及不同水份潛勢對病菌生長之影響¹

簡錦忠 曾方明 謝麗娟²

摘要：調查本省11個水稻田土中小粒菌核病菌菌核的密度，以萬瓣篩出的菌核數最多為 410個/公克土，而雙龍 1 最少僅 7.2個/公克土。不同水份潛勢對小粒菌核病菌菌絲生長的影響，因溫度的不同而有差異，一般而言高溫下菌絲活力或菌核的形成能力對乾旱的忍受力較低溫時為強。雖然小黑菌絲生長速度較小球為慢，同時小球菌在各種水份潛勢下之菌核發芽率較小黑為強；但小黑菌的菌絲耐旱性及其在乾旱狀況下形成菌核的能力皆較小球菌為強。

水稻小粒菌核病菌（包括小黑菌核病菌 *Helminthosporium sigmoideum* Cav. var. *irregularare* Cralley et Tullis⁽¹⁵⁾ 及小球菌核病菌 *Leptosphaeria salvinii* Cattaneo. ⁽¹⁵⁾）為本省重要病害之一^(2,3)，受感染的稻株生育後期，葉鞘內部或莖內可形成大量的菌核，待水稻收割後殘留在稻穗中，或掉落到田土中的菌核即成為本病害主要的感染源及越冬體⁽²⁾。菌核的存活力極為頑強，很難用藥劑或栽培方法防治。

羅氏等⁽⁴⁾報告臺灣水稻小粒菌核病，第一期作主為小黑菌核病，第二期作主為小球菌核病；但許氏⁽¹⁾則認為小粒菌在本省之分佈並無期作與地理性的差異。菌核在土壤中的分佈以表土最多⁽⁵⁾。同時菌核在土壤中的腐生競生能力（Competitive saprophytic ability）很弱⁽⁶⁾，而自然界的風化作用⁽⁷⁾，土壤含水量^(1,7)及微生物⁽⁸⁾等對菌核之存活能力的影響非常大。

菌核是小粒菌核病菌作為感染水稻及傳播病害的來源，故了解影響菌核發芽，存活的因子是防治本病病害重要的課題。本研究將探討本省不同地區稻田田土中之菌核密度及其發芽率，不同溫度及水份潛勢（water potential）對小粒菌核病菌生長的影響，以供防治之參考。

材料與方法

一、病原菌的分離及培養：

病原菌的分離方法採用單胞分離法及病組織分離法，分離所得之菌株培養在消毒過的稻稈中，一個月後即可產生大量的菌核。

二、土壤中菌核的篩選方法：

水稻收穫後至本省中、南部採集水稻田中之表土（10公分以內），以篩選殘留於土中的菌核。篩選的方法是依據 Krause & Webster⁽⁹⁾的方法篩選。將所採到的水田土風乾、研碎、拌勻稱取

1. 臺灣省農業試驗所研究報告第1110號。本研究承中央加強農村建設補助〔71農建4.1—產—03（2）〕，文承蒙本所植病系主任林益昇博士之斧正，謹誌謝忱。

2. 本所植物病理系研究員、前助理、助理。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

40 公克土置於 500 ml 的燒杯內，加水至蓋滿土面，靜置隔夜。後加入 250 ml 的水用 waring blender 打碎 10~15 秒；用 20 mesh 的網篩篩過 (Tyler standard scale)，過篩物，再置於 100 mesh 的網篩上篩過，篩上物用洗瓶洗到 400 ml 的燒杯上加水到 300 ml，經 10~15 分鐘後菌核浮於水上，土粒則沈於杯底。將水面上的菌核小心的倒入 15 cm # 1 whatman 濾紙上用抽氣瓶抽乾水份後，計算菌核的數目。並將菌核分別以消毒 (1% 之 NaOCl 消毒 0.5 分鐘) 及未消毒兩種方法處理後，置於 2% 的洋菜平板中經 Far UV 每天照射 8 小時經 4 至 5 週後，取出置於解剖顯微鏡下，鏡檢其發芽情形。

三、不同水份潛勢之調配及試驗方法：

依據 Robinson & Stokes 之報告⁽¹⁷⁾，以 PDA 為基礎培養基，用 KCl 加入洋菜粉調配成含水量為 -1、-5.573、-10.012、-40.849、-63.257、-81.676 及 -110.143 bars 的培養基，倒成平板後，每皿移入以 V-8 juice agar 培養 5 天，直徑 5 mm 的菌絲塊 (disc)，置於 12、16、20、24、28 及 32°C 的定溫箱中培養；每種處理設三重覆。培養至第 4 天量取菌絲生長的情形；一個月後測量其菌核產生的情形。

四、不同水份潛勢對菌核發芽的影響：

將小黑菌核及小球菌核置於上述含不同水份潛勢之培養皿中，每皿置 50 粒菌核，每種水份潛勢放二皿；置於室溫下以 Far UV 照射，經 4~5 星期後，利用解剖顯微鏡鏡檢其發芽率。

結 果

一、不同採集地點之小粒菌核病菌核的密度及其發芽情形：

自本省 11 個調查地點中，由各區田土中所篩到的菌核數 (表 1) 中，以萬巒篩出的菌核數最多為 410 個/公克土；而雙龍 1 最少僅 7.2 個/公克土；其餘各地從田土中篩出的菌核數分別由 8 至 24 個/每公克土壤不等。菌核發芽時先產生發芽管，再由發芽管的頂端產生孢子，另外菌核雖沒有產生孢子

表 1. 不同地點所採集的菌核數及其發芽率

Table 1. The number and germination percentage of sclerotia collected from different location

| 採集地點 Location | 菌核數 (個/公克土) No. of sclerotia n/g. soil | 菌核發芽率 (%) Germination percentage of sclerotia | | | |
|-----------------------|--|--|---|-----------------|---|
| | | 未 Unsterilized | 毒 | 消 Sterilized | 毒 |
| 北山坑 1 Pei-shan-keng 1 | 11.5 | 2.7 | | 7.3 | |
| 北山坑 2 Pei-shan-keng 2 | 15.8 | 5.0 | | 11.3 | |
| 北山坑 3 Pei-shan-keng 3 | 20.8 | 7.3 | | 13.8 | |
| 南平 Nan-ping | 24.0 | 5.8 | | 16.7 | |
| 雙龍 1 Shuang-lung 1 | 7.2 | 3.5 | | 11.9 | |
| 雙龍 2 Shuang-lung 2 | 8.3 | 2.8 | | 21.8 | |
| 農試所 TARI | 10.8 | 6.3 | | 26.0 | |
| 內埔 Nei-pu | 17.6 | 5.8 | | 21.7 | |
| 屏東 Pin-tung | 13.1 | 0.4 | | 13.2 | |
| 麟洛 Lin-lo | 12.3 | 6.8 | | 24.4 | |
| 萬巒 Wan-luan | 410.0 | 12.4 | | 24.0 | |

，但可產生許多菌絲，在原來菌核的周圍凝成許多小的菌核；由此二種情形判斷菌核是否發芽。從觀察田土中所篩出的菌核發芽情形，顯示菌核發芽的方式有三：(1)菌核發芽管前端產生孢子但不產生菌核，(2)只產生菌核不產生孢子，(3)同時產生菌核及孢子。各地區菌核發芽率差異頗大，萬巒所篩到的菌核發芽率最高為 12.4%，最低為屏東僅 0.4%；同時由田土中所篩出的菌核經 1% 的次氯酸鈉消毒後，其發芽率均普遍提高，其中以農試所篩到的菌核發芽率最高為 26.0%，而北山坑 1 最低為 7.3%。

二、不同水份潛勢對小粒菌核病菌菌絲生長及菌核形成的影響：

不同水份潛勢對小粒菌核病菌菌絲生長試驗，在接種後第四天菌絲尚未長滿培養皿時量取菌落的大小。由圖 1、2. 獲知以下四點結果(1)無論小黑或小球的菌絲在各種水份潛勢中的生長以 28 °C 時為最好。(2)在各種溫度下小黑或小球菌絲的耐旱性亦有不同，溫度為 12、16 及 20 °C 時，無論小黑或小球的菌絲均無法在 -63.257 bar 時生長；溫度為 24、28 及 32 °C 時，小黑或小球菌之菌絲不能在 -81.676 bar 下生長，但在 -63.257 bar 時仍可生長。由此可知小黑或小球在高溫 (24、28 及 32 °C) 狀況下之耐旱性較低溫 (12、16 及 20 °C) 狀況下為強。(3)各種溫度下，水份潛勢為 -1、-5.573 及 -10.012 bar 時小球菌絲生長速度較小黑為快，但在 -40.849 bar 或 -63.257 bar 時小黑菌則較小球菌生長快速。因此小黑菌絲生長勢雖較小球菌為劣，但其耐旱性則較強。(4)最適於小黑或小球菌絲生長的水份潛勢，隨溫度不同而不同；在 12 °C 時小黑最適水份潛勢為 -10.012 bar，小球之最適生長水份潛勢為 -5.573 bar；在 16、20 及 24 °C 時小黑之最適水份潛勢為 -5.573 bar，但小球則為 -1 bar；而在 28 °C 及 32 °C 時最適小黑生長之水份潛勢為 -5.573 bar，小球則為 -1 bar。

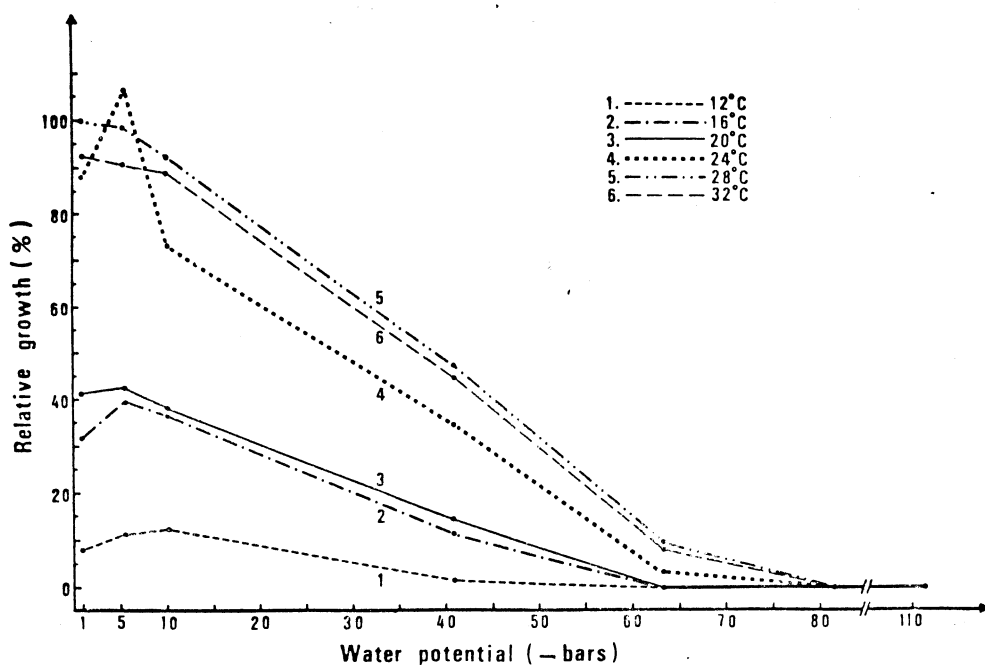


圖1. 小黑菌核病菌在不同溫度及水份潛勢下培養14天，與在 28°C 及 -1 bar 情況下的菌絲生長相對百分率

Fig 1. Relative growth percentage of *Helminthosporium sigmoideum* var. *irregulare* after 14 days at different temperatures and water potentials comparing to the condition at 28°C and -1 bar.

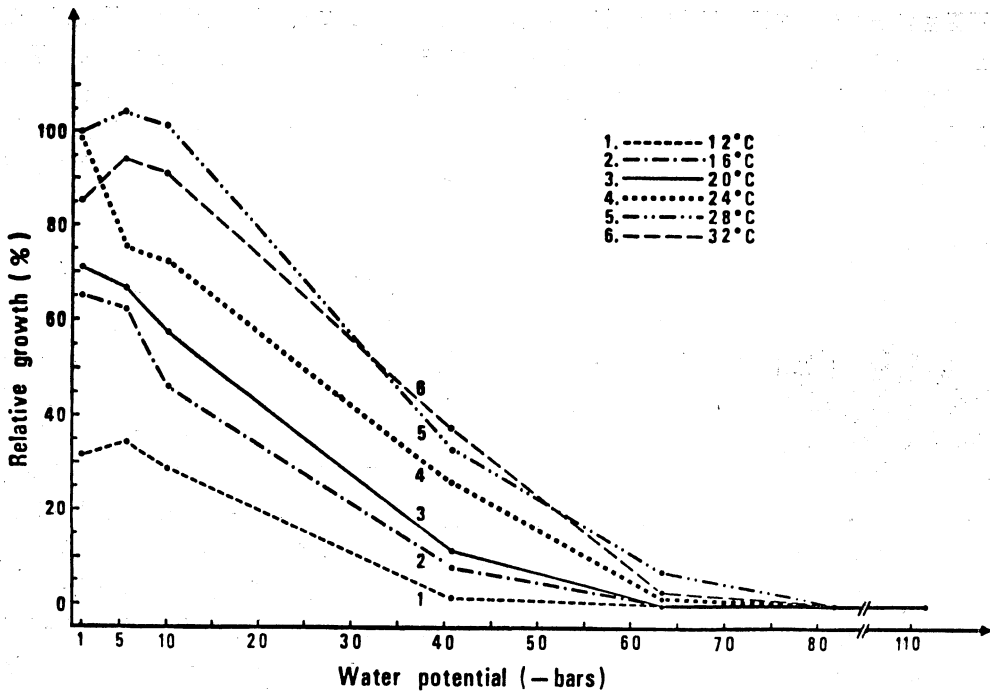


圖2. 小球菌核病菌在不同溫度及水份潛勢下培養14天，與在 28 °C 及 -1 bar 情況下的菌絲生長相對百分率

Fig 2. Relative growth percentage of *Leptosphaeria salvinii* after 14 days at different temperatures and water potentials comparing to the condition at 28°C and -1 bar.

表2. 不同溫度及水份潛勢對稻小粒菌核病菌菌核形成的影響

Table 2. The effect of water potential on the formation of sclerotia of rice stem rots pathogen at different temperature

| 水份潛勢 Water potential (bar) | 溫度 Temperature (°C) | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | 12 | | 16 | | 20 | | 24 | | 28 | | 32 | |
| | S.B.** | S.R.** | S.B.** | S.R.** | S.B.** | S.R.** | S.B.** | S.R.** | S.B.** | S.R.** | S.B.** | S.R.** |
| | 小黑 | 小球 | 小黑 | 小球 | 小黑 | 小球 | 小黑 | 小球 | 小黑 | 小球 | 小黑 | 小球 |
| -1 | -* | + | ++ | + | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++ |
| -5.573 | - | ± | + | + | ++ | + | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ |
| -10.012 | - | ± | + | ± | + | + | ++ | ++ | +++ | +++ | +++ | ++ |
| -40.849 | - | - | ± | - | + | - | ++ | ± | +++ | + | +++ | + |
| -63.257 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| -81.676 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | × | × |
| -110.143 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | × | × |

註：接菌後30天調查 Data were recorded 30 days after inoculation.

*+越多表示培養皿內菌核產生量越多 The more sclerotia were produced the more "+" were taken note on.

- 僅很少菌絲生長 only a little mycelial growth.

× 完全沒有生長 no growth.

** S. B. Small black disease pathogen

S. R. Small round disease pathogen

小粒菌核病菌在馬鈴薯培養基中培養，隨著菌絲的生長，菌核會在接種源的周圍慢慢的形成；待菌絲長滿培養皿時則大量而快速的形成菌核，菌核由菌絲凝聚而成，初為白色，成熟後成為黑色。小粒菌核病菌在不同水份潛勢，置於各種溫度下培養30天後，調查其形成菌核的能力。結果如表2.所示。12°C 時小黑在各種水份潛勢下皆無法產生菌核；而小球在-1、-5.573及-10.012 bar 時尚能形成少量的菌核。小黑在16、20、24、28及32°C 等溫度中，水份潛勢若高於 -40.849 bar 時皆能形成菌核，若低於-63.257 bar 時則不能形成菌核。而小球在 16 及 20 °C，水份潛勢低於-40.849 bar 時不能形成菌核；但溫度為 24、28 及 32 °C 時水份潛勢必須低於 -63.257 bar 時，小球菌才無法形成菌核。同一水份潛勢下小黑菌核形成量隨溫度的升高而漸增；而小球菌核形成量亦隨溫度升高而增多至 28 °C 時達最高峯，而溫度再增加至 32 °C 時菌核形成量則減少。同一溫度下無論小黑或小球菌核形成量皆隨水份潛勢的降低而降低。除 12 °C 外在各種溫度及水份潛勢下小黑形成的菌核數都較小球為多。在 32 °C 時水份潛勢在 -81.676 bar 以下，無論小球或小黑的菌核經一個月的培養仍無法生長。

三、不同水份潛勢對小粒菌核病菌菌核發芽的影響：

以稻稈為基質所培養的小球、小黑菌核置於各種含有不同水份潛勢的培養基中置於室溫下 (26 ± 2 °C) 的發芽率 (圖 3)，顯示菌核的發芽率隨着水份潛勢的下降而降低，至 -63.257 bar 時，二菌之菌核皆無法發芽。在水份潛勢為-1 bar 時菌核發芽率最高，小黑為42.55%，而小球為96.40%。小球菌在含各種水份潛勢之培養基內的菌核發芽率皆顯著的較小黑菌為高。

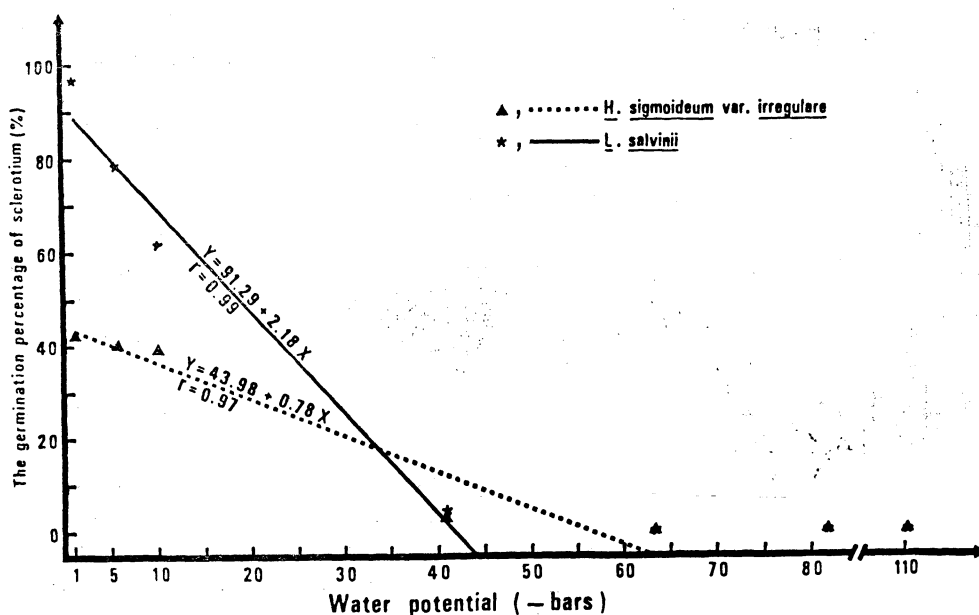


圖3. 水稻小粒菌核病菌菌核在不同水份潛勢下的發芽率

Fig 3. The germination percentage of sclerotia of rice stem rot pathogens at different water potential.

討 論

羅氏等⁽⁵⁾於1966年調查小粒菌核病菌在土壤中垂直分佈的情形，發現菌核大部份分佈在10公分以內的表土；本試驗調查本省11點水稻田土中菌核的密度，因調查地點的不同，田土中菌核的數量差異很大，最多之點每公克土可採到410個菌核，最少僅7.2個。土壤中所篩出之菌核的發芽率相當低

^(5,9)，本試驗田土中之菌核發芽率僅 0.4 ~ 12.4%，若經 1% NaOCl 消毒後可提高為 7.3%~26.0%；Webster 等⁽¹⁹⁾報告，如果取自稻稈內的新鮮菌核之發芽率可高達76~92%。因此除了土壤中之微生物具有靜菌作用⁽⁸⁾外，菌核本身的老化程度也可能是影響菌核發芽的重要因子。

同一種真菌之不同繁殖體的生理功能所需的最適水份潛勢並不完全一樣，如 *Phytophthora* species 中，*P. megasperma* 在 low organic nutrient agar medium 上之菌絲生長最適水份潛勢在 -1~-2 bars⁽¹⁸⁾，而其胞囊在土壤中的 matric potentials (ψ_m) 大於 -25 mb 時才能釋出游走子^(11,12)。小粒菌核病菌也有類似情形，小黑、小球菌在水份潛勢為 -63.257 bar 時菌絲生長被抑制；小球菌在 -40.849 bar 時菌核形成受抑制，小黑菌則在 -63.257 bar 時才完全不能形成菌核；而無論小黑或小球菌之菌核在 -40.849 bar 時仍然有發芽能力。在低溫下菌核較能承受不良環境，小粒菌核病菌之菌核在 20 °C 時可以存活 3 年，25 °C 時可以存活 10~13 個月，而 35 °C 時僅能存活 4 個月⁽¹³⁾；同時菌核在土壤中濕度越低時的存活力越高⁽⁹⁾。小黑、小球對乾旱的忍受程度也受溫度的影響，一般而言在較高的溫度下菌絲的活力或菌核形成的能力對乾旱的忍耐力較低溫度為強，此可能與本菌是高溫菌（最適生長溫度為 25—32 °C）^(12,15,16) 有關。雖然小黑之菌絲生長（圖 1、2），菌核發芽率（圖 3）較小球為劣，但本省小黑菌分布較多之原因可能與小黑之生活力較強（如發芽速度快，產胞量多，可形成擬菌核，耐濕性強等）⁽¹⁾，小黑菌之菌絲耐旱性強與其在乾旱狀況下形成菌核的能力較小球為強有關。

參考文獻

1. 許永華 1979 稻小球菌核病菌與小黑菌核病菌的比較研究 臺灣大學植物病蟲害研究所碩士論文。
2. 陳其昌、簡錦忠、黃添福 1961，稻菌核性病害之研究 第一報 施肥，品種對於菌核性病害之關係 農業研究 10：40—47。
3. 黃益田 1978 小粒菌核病菌之生態 水稻病蟲害：生態學與流行學（邱人璋編）p. 287-302 中國農村復興聯合委員會刊。
4. 羅清澤、謝式埤鈺 1964 水稻小粒菌核病之研究 植保會刊 6：1—15。
5. 羅清澤、丁東海 1966 水稻小粒菌核病生態學之研究 植保會刊 8：27—33。
6. Bockus, W. W. R. K. Webster and T. Kosuge 1978. The competitive saprophytic ability of *Sclerotium moryzae*. derived from sclerotia. *Phytopathology* 68：417-421.
7. Keim, R. and R. K. Webster 1974. Effect of soil moisture and temperature on viability of sclerotia of *Sclerotium oryzae*. *Phytopathology* 64：1499-1502.
8. Keim, R. and R. K. Webster 1975. Fungistasis of sclerotia of *Sclerotium oryzae*. *Phytopathology* 65：233-237.
9. Krause, R. A. and R. K. Webster 1978. Sclerotial production, viability determination and quantitative recovery of *Sclerotium oryzae* from soil. *Mycologia* 64：1333-1337.
10. Mac Donald, J. D. and J. M. Duniway 1978. Influence of the matric and osmotic components of water potential on zoospore discharge in *Phytophthora*. *Phytopathology* 68：751-757.
11. Mac Donald, J. D. and J. M. Duniway 1978. Influence of soil texture and temperature on the mortality of *Phytophthora cryptogea* and *P. megasperma* zoospores. *Phytopathology* 68：1627-1630.
12. Nakata, K. and E. Kawamura 1939. Studies on sclerotial disease of rice. Bureau Agric. Minist. Agric. For Japan Agric. Exp. Str. Records 139, 175pp. [Jap.]
13. Nisikado, Y. and K. Hirata 1937. Studies on the longevity of sclerotia of certain fungi, under controlled environmental factors. *Rev. Appl. Mycol.* 17：123-129.
14. Ou, S. H. 1972. Stem rot. p. 231-247. in Rice diseases. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 368pp.

15. Park, M. and L. S. Bertus 1932. Sclerotial disease of rice in ceylon. 2. *Sclerotium oryzae* Catt. Ceylon J. Sci., Sect. A, 11 : 343-359. (Rev. Appl. Mycol. 11 : 599.)
16. Park, M. and L. S. Bertus 1934. Sclerotial diseases of rice in Ceylon. 4. *Sclerotium oryzae* A strain. Ceylon K. Sci., Sect. A, 12 : 11-23. (Rev. Appl. Mycol. 15 : 114, 1936.)
17. Robinson, R. A. and H. R. Stokes 1949. Tables of osmotic and activity coefficients of electrolytes in aqueous solution at 25°C. Farad. Soc. Trans. 45 : 612-624.
18. Sung, J. -M. and R. J. Cook 1981. Effect of water potential on reproduction and spore germination by *Fusarium roseum* 'Graminearum', 'Culmorum', and 'Avenaceum'. Phytopathology 71 : 499-504.
19. Webster, R. K., J. Bolstad, C. M. Wick and D. H. Hall 1976. Vertical distribution and survival of *Sclerotium oryzae* under various tillage methods. Phytopathology 66 : 79-101.

Studies on Stem-rot Disease of Rice¹

II. The Population Density of Sclerotia in Rice Paddy and the Effect of Water Potential on the Growth of the Pathogen.

C. C. Chien², F. M. Thseng³, and L. C. Shieh³

Summary

The population density of the sclerotia causing stem rot in paddy rices was surveyed at 11 locations in Taiwan. The highest population, 410 sclerotia/g soil, was recorded in Wan-Luan, and the lowest, 7.2 sclerotia/g soil, in Shuang-lung. The effect of water potential on the mycelial growth of rice stem rot pathogens varied among temperatures. In general, the ability of mycelial growth and the sclerotial formation were more endurable to drought in higher temperatures (24, 28, 32 °C) than in lower temperatures (12, 16, 20 °C). Although the rate of mycelial growth and sclerotial germination of the small round disease pathogen were superior to that of small black disease pathogen in all different to drought water potentials. However, the resistance of mycelium to drought and the ability of sclerotial formation under drought condition, the small round disease pathogen was inferior to the small black disease pathogen.

1. Contribution No. 1110 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2, 3. Senior Plant Pathologist and Research Assistant, respectively, Department of Plant Pathology, TARI, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, ROC.