水稻小粒菌核病組織學之研究

蔡 武 雄[1]

一、前　　言

小粒菌核病爲水稻生育後期重要病害之一，爲害莖部、葉鞘部，若疏於防治，導致植株倒伏，影響產量至鉅。民國57及58年度，嘉南地區第二期水稻發生普遍，經檢視，在莖內有許多黑色的菌核存在，故本病在水稻田仍爲一種具威脅性的病害。

本病係由小球菌核病病菌（*Helminthosporium Sigmoideum* Cav.）及小黑菌核病病菌（*H. sigmoideum* var. *irregulare* Cr. et Tullis）（圖版 1, 2）所引起，兩者在形態、生理、生態及分佈等均有相異之處，小球菌核病通常發生於排水不良的稻田及晚生品種，小黑菌核病則發生於排水良好之稻田及早生水稻品種。小球菌核病主要爲害厚膜組織（Sclerenchyma）及小維管束（Small vascular bundles），小黑菌核病主要爲害柔膜組織（Parenchyma）及大維管束（Large vascular Dundles）〔8〕。受害之植株到了後期，在莖內產生許多菌核，菌核在水稻收穫時，落於土壤中，或存在殘株內，當再次播種水稻時，菌核就隨着灌溉水到處漂浮，碰到水稻植株就發芽，產生暗褐色之附着器，附着器再產生侵入菌絲由表皮侵入，其次進入柔膜組織，再侵入鄰近之表皮細胞，被侵入之細胞變色。菌絲在葉鞘內蔓延，經表皮到達莖內部，結果使組織崩壞，水稻倒伏。其次在病患部所產生之分生胞子（圖版 3），亦可飛散到其他稻株，產生發芽管侵入，但據河合一郎（1953）〔2〕報告，由分生胞子傳染者較少，故主要傳播媒介爲菌核。

罹病稻株之所以會倒伏，主要是罹病莖組織內產生大量的纖維酵素（Cellulolytic enzyme）及果膠分解酵素（Pectolytic enzyme），將稻體纖維分解，粘度降低，致使組織崩潰而倒伏（圖版 4）。徐惠廸〔12〕，最近亦報告水稻小球和小黑菌核病病原菌對寄主果膠分解酵素之影響。

本報告係筆者於民國五十五年在中興大學完成，時承故系主任羅清澤教授之指導及助教丁東海先生之協助，得以完成，于此謹申謝忱。筆者在嘉義分所，經常與農民共赴水稻田，深覺小粒菌核病仍爲水稻值得注意之病害，故將過去之資料重新整理，發表於此，藉供參考。

二、材 與 與 方 法

供試水稻品種爲臺中在來1號（罹病性品種）、嘉南八號（中抗品種）及嘉農 242 號（抵抗性品種）及菱白供試接種。供試菌株爲 TT（小球菌核）QR（小黑菌核）及 OT（菱白小球菌核）。有關試驗方法於各項試驗中，分別述之。

三、試 驗 結 果

㈠ 寄主與病原菌間之相互作用。

⑴ 病原菌在不同抗性水稻品種細胞之活動與侵入後寄主胞細的活力。

將供試水稻品種臺中在來1號、嘉南八號、嘉農242號及菱白分種於植缽中，長至3—4葉片時，

1 嘉義農業試驗分所技士

由地莖部剪下，切下葉鞘（5公分左右）以無菌水漂洗10分鐘，取出置於已經消毒培養皿內之載玻片上，將菌核（以稻稈培養四星期）置於葉鞘上，以濾紙保持濕度，放在 28°C 之定溫箱中，經48小時後，以手切片鏡檢之。

菌株 TT 及 QR 在不同的水稻品種上呈現不同的反應。在抵抗性品種嘉農 242 號，菌絲侵入寄主細胞後，寄主細胞即起過敏性的反應（Hypersensitivity），細胞質起變化（圖5），細胞壁變厚變黑（圖6），將菌絲抑制，使不能繼續蔓延。在中抗品種嘉南八號，亦表現出抗病現象，細胞質及細胞壁褐變（圖7）。在感病性品種臺中在來1號表現罹病性反應（Susceptibility），菌絲可蔓延生長，有時在菌絲上及菌絲旁有微小之顆粒存在（圖8）。菌株 OT 接種在水稻及茭白時，水稻上者不見菌絲蔓延，於茭白者可侵入且菌絲在寄主組織內蔓延極速。

(2) 寄主細胞內侵入菌絲之活力：

將接種的葉鞘置於 28°C 之定溫箱中，經 48 小時後，以手切片鏡檢之。此切片置於培養皿內，保持濕度，再置於 28°C 之定溫箱中，經 20 小時後，以 0.8M KNO_3 浸漬 10 分鐘，觀察原生質分離的情形及被侵細胞細胞性質的變化。

菌絲侵入寄主細胞後（圖9）經24小時觀察，並未見菌絲繼續生長。此可能是做成切片以後，稻體之生活力已經消失，侵入菌絲得不到養分以致菌絲死亡。若將此等切片浸漬於 0.8M KNO_3，原生質不發生分離現象，但若將接種於生活稻株的被侵細胞內表皮浸於 0.8M KNO_3 時，則可發生原生質分離現象。（圖 10），當病原菌侵入寄主細胞後，寄主細胞之呼吸及代謝作用加速、Polyphenol 增加，尤其在菌絲鄰近細胞爲然，因爲 Phenol 系物質的累積，使細胞褐變，致菌絲死亡[4]，所以本試驗結果知在嘉農 242 號接種者寄主細胞常褐變，使菌絲不再蔓延，不能再侵入其他細胞。

(3) TT, QR 及 OT 在水稻及茭白上交互接種

OT 係從茭白上分離之小球菌核，其生理性質與病原性和 TT 及 QR 不同。OT 對茭白有很強的病原性，但對水稻病原性甚微或無致病性。爲了進一步瞭解 OT 對水稻是否有病原性存在，乃將 OT 接種在水稻臺中在來1號及茭白上，並將 TT、QR 兩菌株接種在水稻及茭白上，以觀察其交互反應之情形。接種方法係用消毒過的脫脂棉，包相當量的菌核，包紮離地基部約十公分高度處，保持濕度，置於溫室。其結果在所有組合皆有附着器之產生侵入痕之存在，及組織內菌絲之進展，所不同者乃病斑之大小而已。即 TT 及 QR 兩菌株在臺中在來1號生長良好，可產生明顯的病斑（圖11）在茭白則產生較小的病斑。OT 在臺中在來1號可見小斑點型的病斑，在茭白上產生長條形之大病斑，故 TT，QR 及 OT 對水稻及茭白彼此間有病原性存在，僅是有強弱之別而已。以手切片鏡檢時，TT，QR 及 OT 菌株，均可產生附着器（圖 12），附着器產生侵入絲由氣孔侵入（圖13）。

(二) 病株倒伏的原因

(1) 病原菌侵入稻體水位高度之比較

將臺中在來1號種於植缽中，長至相當的高度時，以水位控制在離地基部2、5、及10公分的高度，後在水面上以菌核漂浮接種[11]，經1星期後觀察不同水位的發病率，其結果如表1.

離地際部越高，病原菌侵入越容易，其發病率亦高。由本試驗所得之病斑極少，小者僅菌核之大小而已，大者亦僅1公分左右，與脫脂棉接種所形成之大型病斑大不相同，據小野小三郎報告[17]深水侵入後，若不排水，則菌之侵入多，但菌之進展小，其被害度中等；深水侵入後，若早期排水，則菌之侵入多，菌的進展大，其被害度亦大。本試驗水位控制一定，未加排水，病菌進展慢，故所形成的病斑很小。深水位容易侵入之原因，據中田、河村兩氏謂，在水深的場合，葉鞘之皮下厚膜組織較薄，對病原菌貫穿抵抗力較弱，故水深時發病率較高。

表 1. TT 及 QR 菌株侵入稻體水位高度比較

Table 1. Comparison of invasion of isolates TT and QR under different water line.

菌株 Isolate	水位高度 Height of water line (cm)	調查株數 No. of plant examined	發病株數 No. of plant infected	發病率 % of infection
T T	2	86	12	14.1
	5	91	28	30.8
	10	100	43	43.0
Q R	2	90	13	14.4
	5	77	33	42.9
	10	68	40	66.7

(2) 病原菌侵入葉鞘的情形

將消毒過的脫脂棉吸滿無菌水及相當量的 TT 及 QR 兩菌株菌核分別包紮於三個水稻品種之葉鞘上保持濕度，經一星期以後，從病患部剪下，橫切面鏡檢，其結果菌核附着於葉鞘後，先形成褐色的附着器，附着器下產生侵入絲，貫穿表皮細胞，然後到達表皮下之厚膜組織，使厚膜組織變色（圖 14），有時從表皮細胞直接到達維管束，TT 菌株能使維管束變色，且能侵入導管中（圖15）。QR 菌株僅能使維管束變色，並未見菌絲侵入導管中。病原菌侵入維管束後，再侵入柔細胞（圖 16），最後到達莖部，此種情形在所用不同抗性之三品種上皆相同。

(3) 病原菌所分泌的酵素及其活力

將 TT 及 QR 菌株培養於酵素培養基[3]，(KNO_3, 2.0g; K_2HPO_4, 1.0g; Kcl, 0.5g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5g; glucose (Pectin or cellulose), 30.0g; $Fecl_3$, trace; 及 H_2O 1000 ml.) 經一星期後以離心機分離 (3,600 r.p.m.)，將分離所得之酵素液置於低溫下保存，以供試用。測定時，將 10 ml 之 Cellulolytic solution 及 Pectin solution (pH4.0) 與 2 ml 的酵素液混合，然後加入 2 ml 的 Mcllvaine butter (pH4.0) 將上述反應液置於三角瓶內，放入 30°C 之恆溫槽，經 10,20,30,40, 50,60 分鐘分別取出 6 ml 的反應液以粘度計 (Ostwald Z300 及 Ostwald Z100) 測之，然後將所測得的時間分別代入下列公式以求粘度下降的百分比，其結果如圖 17。

$$\text{Percentage loss of viscosity} = \frac{To - Tt}{To - Tw} \times 100$$

To: 當酵素液加入反應液後即測得下降秒數，此可以加熱之酵素液代之。

Tt: 經過某一段時間以後所測得的下降秒數。

Tw: 以蒸餾水代替反應液而測得之下降秒數。

(4) 病株內纖維素之崩解

以 TT 及 QR 菌株，接種在臺中在來 1 號、嘉南八號及嘉農 242 號，二星期後從病患部剪下，切成小段，越短越好，以自來水冲洗乾淨，置於 70°C 烘乾箱烘乾，研成粉末，此粉末先以熱水再以冷水各浸漬 12 小時，再乾燥之，以此材料 0.5g 加入 20ml 之氧化銅氨溶液[10] (Copperoxidase ammonium solution) 裝於三角瓶，置於暗處，3 天後取出過濾，再以粘度計測之。對照所用者係健全部。其結果如圖 18，即 QR 菌株對生體纖維之崩解作用較 TT 菌株爲強。本試驗中在抗病性水稻品種，下降的速度反較罹病性品種爲速，即病原菌對此稻體之分解作用更爲顯著，此可能受

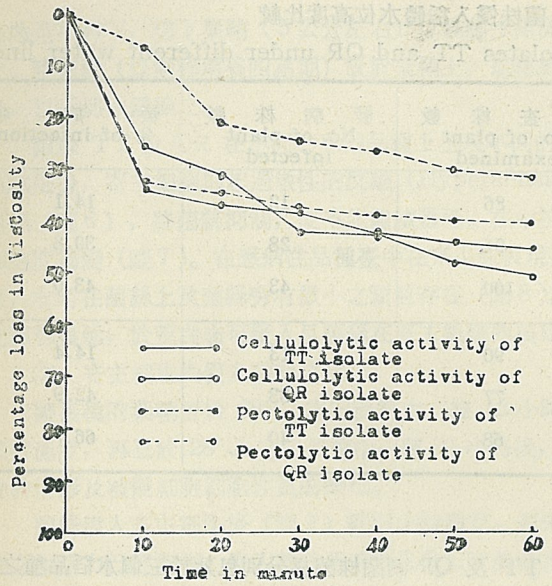


圖 17. 纖維酵素及果膠酵素之活性

Fig. 17. Activities of celluloytic and pectolytic enzymes

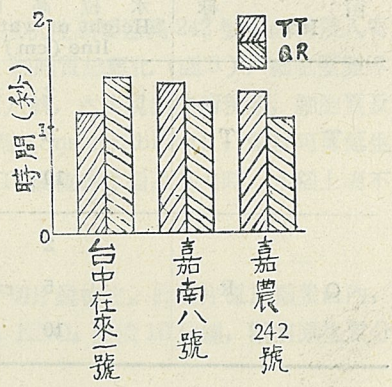


圖 18. 病株內纖維之崩解

Fig. 18. The degradation of cellulose in rice plants

溫度及菌核發芽率等因子所影響，小球菌在30°C最適侵入水稻體，小黑菌在 25°C 最適侵入水稻體，小黑菌核之發芽率顯較小球菌之發芽率高[8]。

四、討論與結論

水稻小粒菌核病爲水稻重要病害之一，發生於稻體下方之葉鞘部或莖部，若初期疏於防治，到水稻生長後期，稻體發生倒伏，檢視倒伏之莖內，有許多菌核存在，這些菌核爲本病之主要傳染源。本病係由小球菌核及小黑菌核兩菌所引起，不同水稻品種對兩菌呈現不同的反應，在罹病性品種，菌絲蔓延極速，與寄主之共生期較長。在抗病性品種，寄主呈現過敏性反應，病原菌與寄主之共生期較短，故菌絲侵入寄主後很快就死亡。在罹病性品種，可發現菌絲周圍有顆粒狀的小點，偶而亦可發現寄主細胞有褐色之顆粒物質產生。在抗病性品種，菌絲侵入後，寄主細胞產生褐色之顆粒物質，細胞褐變，細胞內有菌絲被困死。據 Tomiyama 報告[4,6,13]，馬鈴薯晚疫病病菌在抵抗性之馬鈴薯品種中，寄主呈現一連串之過敏性反應，最後寄主細胞褐變死亡，寄主褐變的原因是由於產生 Polyphenol 之緣故。稻熱病對不同的水稻品種亦呈現不同的反應[9]，在弱抵抗性品種，菌絲可伸展到許多細胞，且在菌絲周圍可發現顆粒物質，在抗病性品種則原生質顆粒化，產生 Polyphenol，細胞褐變死亡。S. Akai[14] 在 Histology of Defense in plants 一章中亦論及罹病組織的反應，本病所以能使植株倒伏，主要是病原菌分泌酵素，將水稻體之組織崩解之故，本菌所分泌之酵素以 Pectin 及 Cellulose 分解酵素爲主[10]，對商品纖維素之分解作用以小黑菌稍強，接種於生體稻者亦以小黑菌之分解能力強。有時在抗病性水稻品種粘度下降反較罹病性品種爲速，此可能受溫度及菌核發芽率不同所致。對 Pectin 質之作用，TT 較 QR 爲強，對 Cellulose 之作用 TT 與 QR 甚爲相近。TT、QR 及 OT 菌株在不同抗性之水稻上交互接種均可產生病斑，只是病原性之間有差異性存在。

本病主要由存在於田間之菌核爲傳染媒介，故燒燬殘株，未成熟稻藁不做肥料及改善耕種方法[5]，同時注意排水，應可減少本病之爲害。

五、摘　　要

1. 水稻小粒菌核病，病原菌在罹病性水稻品種，菌絲蔓延生長，菌絲周圍有顆粒物質，有時寄主細胞亦有褐色顆粒產生，在抗病性品種，呈現過敏性反應，寄主細胞顆粒化，褐變致使侵入菌絲死亡。

2. 葉鞘接種，經 24～48 小時後，以手切片鏡檢後再放置一天，侵入之菌絲不見繼續生長。寄主細胞浸漬於 0.8M NO_3 時原生質不分離，但在生體稻接種者原生質可分離。

3. TT 及 QR 菌株接種在茭白時，能侵入產生病斑。由茭白分離之 OT 菌株反接水稻時亦能侵入產生病斑。

4. 本菌主要由灌溉水位侵入，水位越高，侵入越佳。

5. 本菌侵入過程，由菌核發芽，形成附着器，由葉鞘侵入經表皮組織、厚膜組織、維管束、柔膜細胞最後到達莖部。

6. 本菌分泌之酵素以 Pectin 及 Cellulose 酵素爲主，對 Pectin 質之作用以 TT 爲強，對 Celluloss 之作用 TT 及 QR 菌株甚爲接近。

六、參 考 文 獻

1. 小野小三郎 1950. 稻小粒菌核病に關わる研究の概況　農業及園藝 25：589～593.
2. 河合一郎 1953. 稻小粒菌核病の生態と防ぎ方　農業及園藝 28：977～980.
3. 三澤正生、加藤　盛 1955. 小粒菌核病の生理　日植病報 20：65～70.
4. 富山宏平 1955. 馬鈴薯疫病抵抗性の細胞學之研究Ⅱ. 寄主細胞の變化と侵入菌絲の生死の關係日植病報 19：149～154.
5. 河合一郎 1955. 稻小粒菌核病の耕種的防除法　農業及園藝 30：705～708.
6. 富山宏平 1956. 馬鈴薯疫病抵抗性の細胞生理學之研究 Ⅲ. 疫病菌の侵入を受けた細胞之褐變に至る過程の時間の測定　日植病報 20：165～169
7. 小野小三郎 1959. 稻の病害とその防除法 pp. 101～111 養賢堂.
8. 農林省振興局植物防疫課 1960. 稻熱病及で稻小粒菌核病の發生機作びに發生生態に關わる研究.
9. 戸苅義次、山田登、林武 1961. 作物生理講座 4：150～158.
10. 三澤正生、加藤　盛 1962. 小粒菌核病によるイネの倒伏について　日植病報27：102～108.
11. 明日山秀文等 1962. 植物病理實驗法 pp. 200～201
12. 徐惠廸 1968. 水稻小球和小黑菌核病病原菌對寄主果膠分解酵素之影響　植物保護學會會刊 10(1)：7～13
13. Tomiyama, K. 1956. Cell physiological studies on the resistance of potato plant to phytophthora infestans Ⅳ. On the movement of cytoplasm of the host cell induced by the invasion of phytoph thora infestans. Phytopath. Soc Japan. 21：54～62.
14. Horsfall, J. G. and Dimond, A. E. 1959. Plant Pathology. 1：392～429.

HISTOLOGICAL STUDIES ON STEM ROT OF RICE PLANT

By

Wu-Hsiung Tsai[1]

Summary

1. When stem-rot fungi invade in the host cells of susceptible varieties, Penetrating hyphae spread and grew well, but a number of small granules could be noticed beside the hyphae and sometimes brown granules appeared in the host cell. On resistant varieties, hypersensitive reaction with dark brown granules within infected cells was apparent and the whole cell later discolored which turns dark or black-bro wn afterwards.

2. Leaf-sheath was inoculated with sclerotia in the laboratory. Thin sections of inner epidermis were examined under microscope 24~48 hours after inoculation. The sections were put in a moist chamber for further examination. The invading hyphae didn't grow any further even 24 hours later. Then they were dipped in 0.8 M KNO_3 solution, plasmolytic activity didn't exist in those cells, while the phenomenon could be observed apparently in the infected cells of rice plants inoculated in the green house.

3. When isolates TT and QR were inoculated into wateroat, the pathogens penetrated the host tissues, spread in all direction and produced black spots on the leaf sheath. The same result was obtained as OT isolate from wateroat was inoculated to rice plant.

4. Degree of infection to rice plants by the causal organisms was depended upon the irrigation water level, the higher the water level, the better the invasion.

5. Appressoria were formed from the germinating sclerotia on the top of their germ tubes. It penetrated leaf sheath through epidermal tissues, sclerenchymatous tissues, vascular bundles, parenchymatous and finally reached the culm of the host.

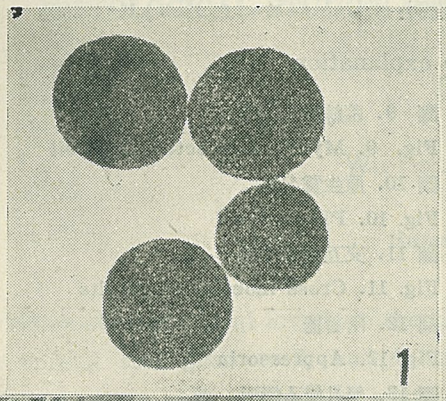
6. Both pectolytic and cellulolytic enzymes were produced by these pathogens. In the degradation for pectin TT isolate was more active than QR isolate, while for cellulose both isolates, TT and QR, had same degree of activity.

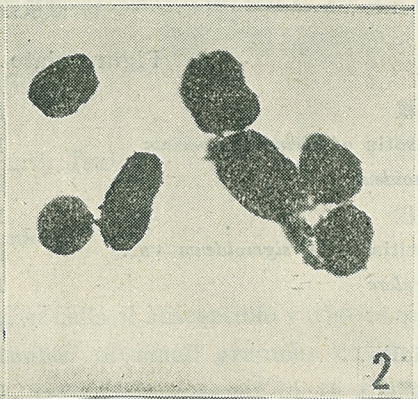
1. Junior Pathologist, Department of Plant Protection, Chia-yi Agricultural Experimen Station.

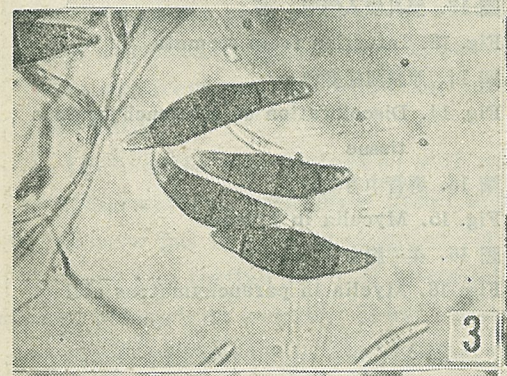
圖版說明:

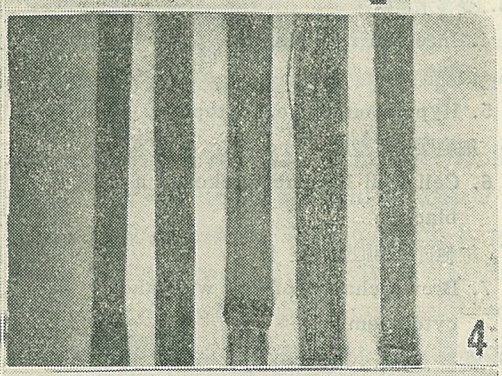
Figure plate explanation

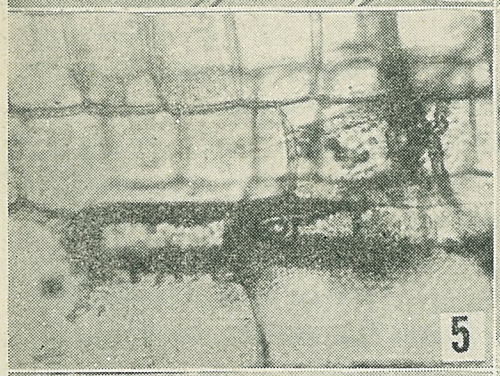
圖 1. 小球菌核
Fig. 1. Sclerotia of *Helminthosporium sigmoideum*
圖 2. 小黑菌核
Fig. 2. Scleritia of *H. sigmoideum* var. *irregulare*
圖 3. 分生胞子
Fig. 3. Conidia
圖 4. 受害水稻植株
Fig. 4. Infected rice plants
圖 5. 細胞質咊過敏性反應
Fig. 5. Hypersensivity of cytoplasm
圖 6. 細胞壁變厚變黑
Fig. 6. Cell well become thickened a nd blacken
圖 7. 細胞質及細胞壁褐變
Fig. 7. Brown change of cell wall and cytoplasm
圖 8. 菌絲上有微小顆粒存在
Fig. 8. Small granules was found on the hyphae
圖 9. 菌絲侵入細胞
Fig. 9. Mycelum infected into cell
圖 10. 原生質分離
Fig. 10. Plasmolysis
圖 11. 交互接種情形
Fig. 11. Cross inoculation results
圖 12. 附着器
Fig. 12. Appressoria
圖 13. 氣孔侵入情形
Fig. 13. Infection from stomata
圖 14. 厚膜組織變色
Fig. 14. Discoloration of sclerenchymatous tissue
圖 15. 導管中有菌絲
Fig. 15. Mycelia in xylem
圖 16. 柔細胞中有菌絲
Fig. 16. Myelia in parenchymatous cell

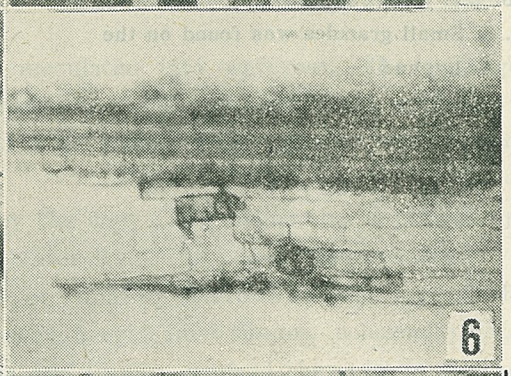

1

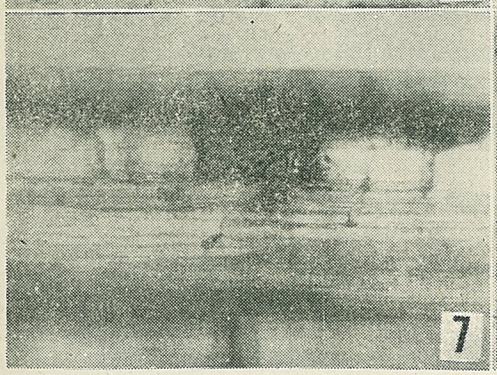

2

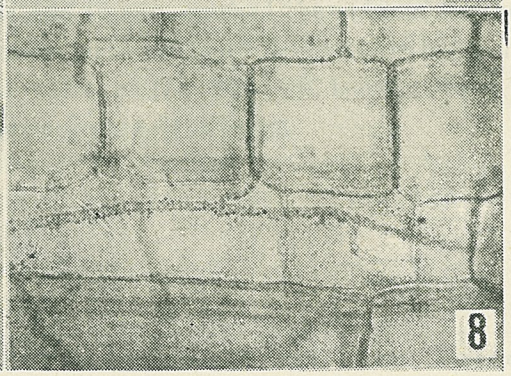

3

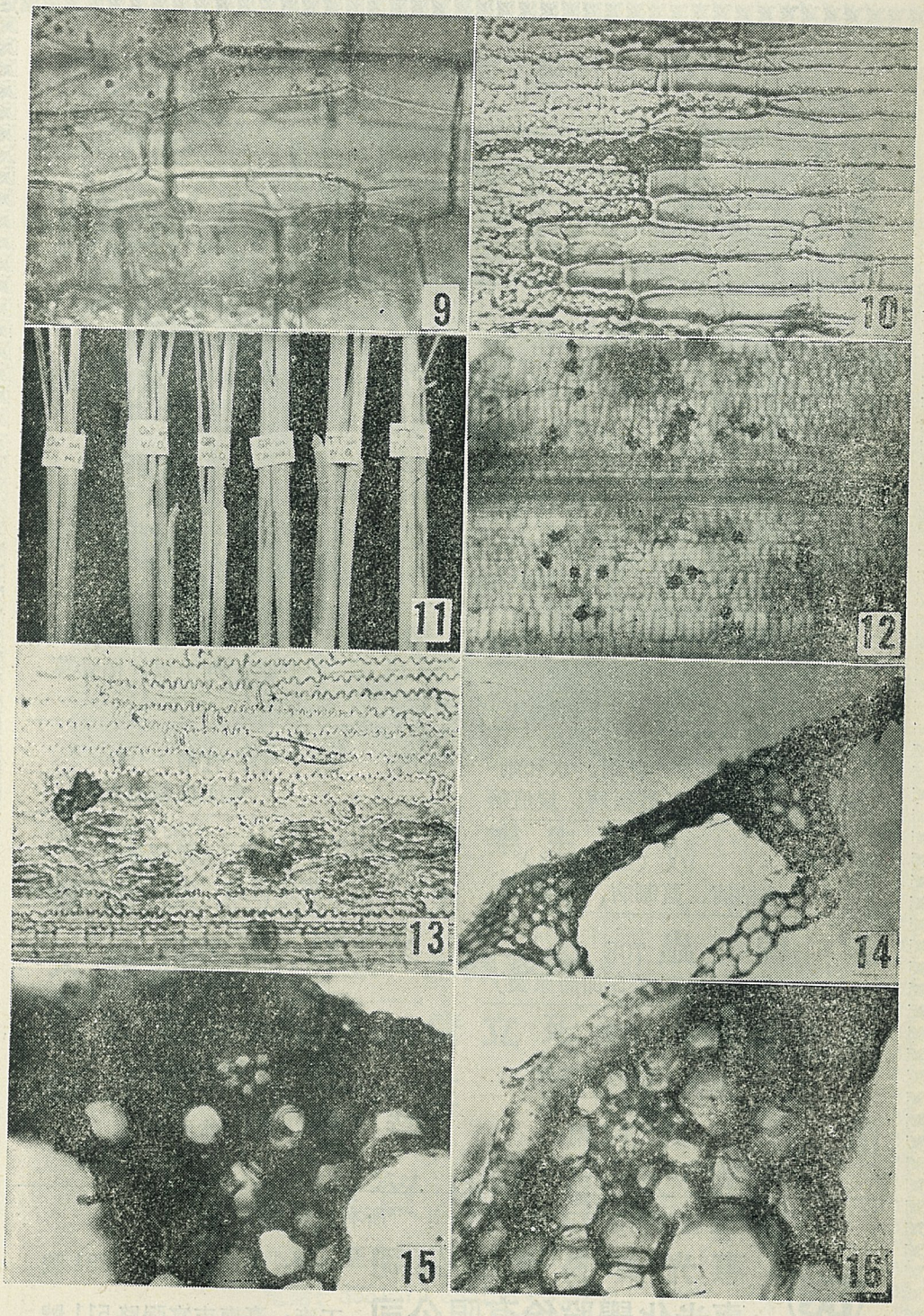

4


5


6


7


8


9
10
11
12
13
14
15
16