

利用水稻稻熱病之罹病葉保存稻熱病菌¹

謝麗娟² 張義璋² 陳純葳² 謝廷芳^{3,4}

摘 要

謝麗娟、張義璋、陳純葳、謝廷芳。2007。利用水稻稻熱病之罹病葉保存稻熱病菌。台灣農業研究 56:253-260。

本研究評估以罹稻熱病之水稻病葉保存稻熱病菌之可行性。取保存於 4°C 下經 0、2、4 及 5 年之稻熱病罹病葉，分別測定以病葉作為接種源之有效性、罹病葉之總產孢量以及病葉上單病斑之產孢能力。結果顯示以保存達 5 年之病葉供做接種源時仍具致病力，保存 2 年之罹病葉對稻苗具強感染力與剛採集之罹病葉間差異不顯著。保存 5 年之罹病葉經浸水濕潤後隔日之連續 2 天，仍均能持續產孢，保存 2 年和 4 年罹病葉之產孢量，則與剛採集者不具顯著性差異。保存 5 年之罹病葉上的病斑仍具產孢能力，且保存 2 年和 4 年之病斑產孢率仍甚高，與剛採集者差異不顯著。綜合本研究試驗結果，顯示以低溫保存之罹病葉確可供作水稻稻熱病菌之接種源，經 2 年保存之罹病葉仍具良好之致病和產孢能力，與新鮮採集之罹病葉間無顯著性差異。

關鍵詞：水稻、稻熱病、稻熱病菌、罹病葉保存法、接種源。

前 言

長久以來，水稻稻熱病之抗病育種工作就一直受到重視，但因稻熱病菌 (*Pyricularia oryzae* Cavara, 有性世代為 *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr.) 之變異性極大，致使稻熱病之抗病檢定工作變得複雜。短期間內欲精確地大量檢定各稻品種系之抗感病性，必須提供適合且一致之發病環境，包括利用溫室人工接種和田間自然發病方式 (Ou 1985)。依據 Ou (1985) 之記載人工接種法多以人工培養菌製成孢子懸浮液，再噴霧接種於植體上。但吾等經驗，稻熱病菌在培養基上之產孢能力不穩定，難以製作大量接種源，測定之菌株及稻品種系之數量均甚有限。另外，田間稻熱病菌的生理小種多，若只以少數菌株接種，並不足以代表田間多數菌株族群之變化，勢難以篩選出抗病幅度較廣之品種。田間自然感病之抗病檢定方式分為苗期檢定和本田期檢定。台灣早期多採本田期檢定，由水田式病圃淘汰罹病個體，Yang (1967) 指出此法因受氣候及環境因素影響，常有發病不均或不發病之現象，且費時費工，試驗設立苗期旱田稻熱病檢定圃。Ou (1985) 歸納苗期檢定適合發病之環境因子，以旱地苗圃較水秧田病圃為佳；須施重氮肥和維持高濕度，如每天以水噴霧 2 或 3 次；且於平均氣溫 24-28°C 之天候進行較適宜，而乾燥季節可先於傍晚噴水，再於夜間覆蓋塑膠布製造露水 (IRRI 1977; Ou 1985)。Ou (1963) 提出以條播栽植增加濕度，並據以建立國際統一稻熱病圃模式 (Ou 1965)。台灣嘉義分所亦採旱田病圃檢定，藉噴水保濕方式，促使田間自然發病 (Yang

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2300 號。接受日期：96 年 10 月 13 日。

2. 本所植物病理組技佐、前副研究員、約聘人員。台灣 台中縣 霧峰鄉。

3. 本所花卉研究中心研究員兼主任。台灣 雲林縣 古坑鄉。

4. 通訊作者，電子郵件：fhsieh@wufeng.tari.gov.tw；傳真：(05)5820835。

1967)。1981 年，農業試驗所霧峰總所亦於旱田病圃上利用塑膠布覆蓋保濕，創造有利發病條件，增進抗感病檢定之效果。另外，再考慮菌株區域性分布的問題，遂委請各地區農業改良場採集當地水稻罹病葉，做為旱田檢定圃之接種源，並覆蓋塑膠布，檢定結果良好。採用這種病葉接種法至今已 20 餘年之經驗，但稻熱病害並非每年均嚴重發生，常常無法提供足量接種源，因此本研究的目的即希望藉由罹病葉之保存，來持續性地提供有效接種源。

材料與方法

供試稻熱病菌與水稻

於本所農場試驗田建立旱田病圃，分別於 2001、2002、2004 和 2006 年之 3、4 月間，撒播台農 67 號稻苗圃，讓其自然發病，俟生長至 4 至 5 葉片，且罹病病斑面積率達 20-25% 時，採集罹病株，俟陰乾後以報紙包裹，裝入塑膠袋內，置 4℃ 冰箱冷藏保存。至 2006 年 5 月止，保存期限共計達 5、4、2 和 0 年。本研究分別由保存 5、4、2 年及當年剛採集之罹病株作為供試材料，各取 10 和 50 株病株之罹病葉當供試接種源。

2006 年 5 月間，於溫室中栽植台農 67 號稻苗，以 4x4x5 cm³ 之小塑膠盒播種，每小盒點播 10 顆，俟生長至 4 至 5 葉片稻齡時供接種。

不同保存期罹病葉作為接種源之致病力

接種時以上述 4 個保存期罹病葉，各取 10 和 50 株罹病株作為接種源。先將供試罹病葉浸水 4 hrs 使葉面伸展開後，再於傍晚分別懸掛於 4 至 5 葉齡期之水稻台農 67 號稻苗葉上方距 30 cm 處。每處理懸掛接種 9 小盒，設有 3 重複。並以透明塑膠袋包覆保濕，翌晨約經 17 hrs 後掀開，傍晚時再覆蓋保濕，如此反覆處理 3 天，經一週後調查各處理稻苗之罹病株率和罹病度。

不同保存期罹病葉上病原菌之產孢量

取上述 4 個保存期之病葉，各取 10 和 50 株罹病株，如上述方法亦先浸水 4 hrs 後，並以自來水沖洗各罹病葉病斑上老舊孢子，再於傍晚置於塑膠袋內保濕使重新產孢，翌晨經 17 hrs 後，以 100 mL 無菌水洗出孢子，並以血球計數器計數其孢子數，再換算 1 mL 水之孢子量。當日傍晚將各處理病葉再置塑膠袋內，翌晨亦以 100 mL 無菌水洗出孢子，並計數其孢子量。各處理設 3 重複。

不同保存期罹病葉病斑上病原菌之產孢能力

分別剪取上述 4 個保存期罹病葉上之單病斑各約 50 個，先以 1% 次氯酸鈉 (NaOCl₃) 消毒 1 分鐘後，以無菌水漂洗三次，移置於 2% (W/V) 水瓊脂 (Water Agar) 平板上，於室溫下放置二週後，以解剖顯微鏡鏡檢並分別記錄 4 個保存期之各 50 個病斑之產孢與否，再換算成產孢率。產孢率 (%) = (可產孢之病斑數 / 總檢查病斑數) × 100%。

病害調查方法

罹病株率係以罹病株數佔總接種株數之百分率在 1/3 以下者訂為 1 級，1/3-2/3 為 2 級，2/3 以上為 3 級。罹病度係依 IRRI 菲律賓稻米研究所訂罹病病斑面積佔全葉總面積之百分率為其判定依據，未發現病斑者為 0 級，罹病面積率在 1% 以下者訂為 1 級，1-5% 為 3 級，6-25% 為 5 級，26-50% 為 7 級，51-100% 為 9 級 (International Rice Testing Program 1980)。

結 果

不同保存期罹病葉作為接種源之致病力

由四個保存期 5、4、2 和 0 年，且分 10 和 50 病株病葉等二種接種量分別接種稻苗之結果顯示，各處理之平均罹病株率，以保存 2 年之 50 病株處理者之 1.6 為最高。其中以 10 病株接種量處理時，稻苗罹病株率不受接種源罹病葉之保存期影響，即其間差異不顯著；而以 50 病株接種量處理時，以保存 0 年和 2 年罹病葉接種之稻苗罹病株率較高，且差異不顯著。另外，以 10 和 50 病株接種量處理時，其 5、4、2 和 0 年保存期接種之平均罹病度，分別為 0.7、0.9、1.9、2.3 及 0.9、1.2、2.4、2.7。其中均以保存 0 年和 2 年之罹病度較高且兩者之間不具顯著差異（表 1）。顯示保存達 5 年之罹病葉仍具致病力，其中已保存 2 年之罹病葉之致病力仍甚強，與剛採集者之間差異不顯著。

不同保存期罹病葉上病原菌之產孢量

取分別保存 5、4、2 和 0 年之罹病葉各 10 和 50 個病株，經水洗後使重新產孢，結果由二次水洗之平均產孢量，分別為 6、77、161、69 和 26、165、174、239 conidia / 1 mL，均以 50 個病株之平均產孢量高於 10 個病株者。比較 4 個保存期之罹病葉產孢量，除以 50 個病株量經第二次水洗處理者，各個保存期之間無差異外，其餘以 50 個病株經第一次水洗和以 10 個病株經兩次水洗處理時，產孢量皆以保存 0 年、2 年和 4 年者為較高，且其間無顯著差異。另外，觀察第一次水洗和第二次水洗後隔天之產孢情形，發現經連續 2 天水洗後的罹病葉均能持續產孢，尤其以剛採集保存 0 年之 50 株處理者，第二次水洗後之產孢量 312 個為最多，約為第一次水洗後之產孢量（166 個）的 2 倍。比較經兩次水洗後罹病葉之產孢量，除以 50 個病株保存 5 年之罹病葉，以第一次水洗較第二次高者外，其餘各處理之兩次水洗間之產孢量均無顯著性差異存在（表 2）。

表 1. 不同保存期之稻熱病罹病葉作接種源接種稻苗後稻熱病之發生情形

Table 1. The comparison of disease index and severity of rice blast on seedlings inoculated with *Pyricularia oryzae* infecting rice plants after storing for different periods of time

Preservation period (year)	No. of diseased plants as inoculum							
	10				50			
	Disease index ^z		Severity ^y		Disease index		Severity	
Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range	
0	1.0° a ^x	0-3°	2.3 a	0-6°	1.0° ab	0-3°	2.7 a	0-6°
2	1.2° a	0-3°	1.9 ab	0-6°	1.6° a	0-3°	2.4 a	0-6°
4	0.8° a	0-3°	0.9 b	0-5°	0.7° b	0-2°	1.2 b	0-5°
5	0.5° a	0-2°	0.7 b	0-3°	0.6° b	0-3°	0.9 b	0-5°

^z Disease index is expressed as three scales: 1° = less than 1/3 plants infected; 2° = 1/3-2/3 infected; 3° = more than 2/3 infected. Data were recorded one week after inoculation.

^y Disease severity is expressed as nine scales: 0 = no symptoms, 1 = less than 1%; 3 = 1-2%; 5 = 3-10%; 6 = 11-25%; 7 = 26-50%; 8 = 51-75%; 9 = more than 75% of leaf areas infected. Data were recorded one week after inoculation.

^x Means in the same column followed by the same letters are not significantly different at $P = 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

不同保存期罹病葉病斑上病原菌之產孢能力

測定保存達 5、4、2 和 0 年之罹病葉上單病斑之平均可產孢率，各為 47.9、76.1、92.3 和 93.0%，以病葉保存 0 年、2 年和 4 年罹病葉之病斑可產孢率較高且差異不顯著（表 3），顯示病斑保存 5 年仍具產孢能力，惟可產孢率明顯下降；已保存 2 年和 4 年罹病葉之病斑可產孢率甚高，與剛採集之罹病葉之間無顯著性差異存在。

討 論

稻熱病屬世界重要之水稻流行病害，一旦大發生，即造成嚴重的產量損失。對農民而言，較經濟有效的防治方法為種植抗病品種，新育出之抗病品種在推廣幾年後，容易失去其抗性而罹病化，有學者認為抗病品種之罹病化與稻熱病菌複雜多變的生理型有關 (Ou 1985; Wu 1978; Chien *et al.* 1989)。稻熱病菌的生理分化問題最早由 Sasaki (1922, 1923) 提出，隨後各稻米生產國家也陸續研究報告，並各自訂定出判別品種作為其國內稻熱病菌生理小種分類之依據 (Hung *et al.* 1961; Ahn & Chung 1962; Goto *et al.* 1967; IRRI. 1964; Latterell *et al.* 1965)，國際稻米研究所更經過多次檢討

表 2. 比較不同保存期稻熱病罹病葉上病原菌之產孢量

Table 2. Comparison of sporulation amount of *Pyricularia oryzae* on blast diseased leaves after preserving different periods of time

Preservation period (year)	Sporulation (spore/mL)					
	10 diseased plants			50 diseased plants		
	I	II	Average	I	II	Average
0	78 ab A ^z	60 ab A	69	166 ab A	312 a A	239
2	196 a A	126 a A	161	200 ab A	148 a A	174
4	66 ab A	88 ab A	77	260 a A	70 a A	165
5	0 b A	12 b A	6	40 b A	12 a B	26

^z Means in a column followed by the same lowercase letters and in a raw followed by the same uppercase letters, respectively, are not significantly different at $P = 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

表 3. 不同保存期稻熱病罹病葉之單一病斑上病原菌之可產孢率 (%)

Table 3. Percentage of sporulated lesions on blast diseased leaves after storing at 4°C for different periods of time

Preservation period (years)	Sporulated lesions (%) ^z		
	I ^y	II	Average
0	98.2	87.7	93.0 a ^x
2	86.3	98.2	92.3 a
4	69.2	83.0	76.1 a
5	48.9	46.9	47.9 b

^z Sporulated lesions (%) = (no. of sporulated lesions / no. of total observed lesions) × 100%

^y No. of trials.

^x Means in the same column followed by the same letter are not significantly different at $P = 0.05$ according to Duncan's multiple range test.

會，選拔出 8 個水稻品種作為國際判別品種 (Yamasaki & Takasaka 1980; Goto *et al.* 1967; Ling & Ou 1969)。報告指出在同一田區同一品種水稻上存在有各種不同的生理小種 (Chien 1967)，且在不同年度各地區各生理小種出現的頻度亦不相同 (Chien 1969, 1978)，甚至同一病斑上可分離得到分屬不同生理小種的單孢菌株 (Chien 1968; Ou & Ayad 1968)，研究學者均建議選拔抗病品種時應選擇當地優勢生理小種作為接種源。但只使用幾種當時的稻熱病菌優勢小種來篩選抗病品種，往往於品種推廣大面積種植後隨即失去其抗病性。Yamasaki & Takasaka (1980) 及 Yamanaka & Yamaguchi (1987) 等指出，抗稻熱病品種之罹病化受稻熱病菌變異之影響最大，由於新抗病品種推廣致使原優勢生理小種無法為害，因而使得新的生理小種、外來生理小種，或本來較弱勢的生理小種隨即出現並增加其密度比例，並隨著該品種種植面積增加逐漸成為優勢生理小種。Chien (1989) 等人的實驗亦得到相同的結果，抗稻熱病品種的台農 70 號自 1985 年推出後，廣受歡迎，栽種面積急速擴大，1987 年隨即罹病化。此外，Ou (1971) 認為一菌系內的眾多菌株，在判別品種上的反應雖然相同，但對判別品種以外的品種反應很可能不同，所以小種的判別結果，視所用的判別品種數而定，如果接種時只用特定菌株代表一菌系容易造成結果誤判，例如 Tu & Chang (1992) 指出除 16 個判別品種外，增加台農 70 號與台南 9 號 2 個水稻品種，接種 168 個稻熱病菌株，會使原本 5 個生理小種變成 15 個。Ou (1985) 提倡田間抗性品種篩選，必須要將待測水稻植株暴露在當地所有生理小種皆存在的地區。然而，將所有生理小種製成孢子懸浮液，並以人工接種方式篩選既費時又費力，且這些菌株在繼代培養中的病原性會有逐漸遞減的趨勢 (Chien 1968) 與變異的風險 (Chien 1969)；另外，由於台灣地理環境與田間栽培品種混雜，稻熱病菌生理型之變化更為複雜。本所為創作台灣所有生理小種皆存在的環境，以選拔出較優良的抗病品種，將各地採集之罹病葉一起作為旱田檢定圃之接種源，近 20 餘年來之檢定結果成效良好。然而，稻熱病並非每年均嚴重發生，無法持續供應足量接種源，因此希望藉由新鮮病葉之保存，以作為持續供應有效接種源之法，本研究結果證明本法確具可行性。

本研究探討以罹病葉保存稻熱病菌，取經 5、4、2 和 0 年等四個不同時期之稻熱病罹病葉，分別測定以罹病葉作為接種源接種稻苗之致病力，罹病葉之產孢量，以及罹病葉上各單一病斑之產孢能力。結果顯示保存達 5 年之罹病葉作為接種源時仍具致病能力，而經保存 2 年之罹病葉的致病力仍甚強，與剛採集者無顯著性差異；保存 5 年之罹病葉經水洗後連續 2 天均能持續產孢，以保存 2 年和 4 年之罹病葉的產孢量與剛採集者較高，且無顯著性差異；另外，發現保存 5 年之罹病葉上的單一病斑仍具產孢能力，尤其以保存 2 年和 4 年罹病葉上之病斑的可產孢率仍甚高，與剛採集者之單病斑可產孢率間無顯著性差異。綜合本試驗結果，證實以冷藏保存稻熱病罹病葉作為接種源之可行性，且發現罹病葉經冷藏保存 2 年仍具良好之致病與產孢能力，與新鮮採集之罹病葉間無顯著差異性存在。

在近一、二十年來，水稻稻熱病之抗病檢定，農業試驗所總所都以罹病葉作為稻熱病菌接種源進行接種，即以台灣各地所採集之罹病葉片先接種於健康秧苗，製作大量罹病葉後再行採集提供為接種源之用。多年檢定之結果相當一致與穩定，不但可節省勞力，更可避免以單一或少數菌株接種之缺失，抗感病品種系發病均勻，抗感病性表現差異明顯，所篩選出之稻品種系，多能抗台灣各地稻熱病菌菌株族群，抗病幅度廣且田間之抗病性亦較穩定。本研究再利用 4℃ 冷藏保存罹病葉以供作稻熱病菌之接種源，使能持續性地提供接種之用。由試驗期間產生之罹病葉，均可利用本法收集保存以作為往後之接種源材料，此確為既實用又簡便之保存法。據此，雖無植物病理專業技術之抗病育種人員，亦得以依本法既便利又有效率地從事抗病檢定或篩選工作。

引用文獻 (Literature cited)

- Ahn, C. J., and H. S. Chung. 1962. Studies on the physiological race of rice blast fungus, *Piricularia oryzae*, in Korea. Seoul University Journal, Biology and Agriculture (D). 11:77-83. (in Korean with English abstract)
- Atkins, J. G., Alice L. Robert, C. R. Adair, K. Goto, T. Kozaka, M. Yamada, P. Yanagita, and S. Matsumoto. 1967. An international set of rice varieties for differentiating races of *Piricularia oryzae*. Phytopathology 57:297-301.
- Chien, C. C. 1967. Studies on the Physiological Races of the Rice Blast Fungus, *Piricularia oryzae* Cav. Bull. Taiwan Agric. Res. Inst. Special. Pub. No. 26. 63 pp. (in Chinese)
- Chien, C. C. 1968. Studies on the pathogenicity of the different monocultures of *Piricularia oryzae* Cav. Isolated from a single blast lesion. Agric. Res. 17:22-29. (in Chinese with English abstract)
- Chien, C. C. 1969. Variation of the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae* Cav. p.11-30. in: Rice Diseases. (Chiu, R. J. ed.) Joint Commission on Rural Reconstruction Pub. Taipei, Taiwan. (in Chinese with English abstract)
- Chien, C. C. 1978. Levels of host in relation to the incidence of rice blast. p.225-245. in: Diseases and Insect Pests of Rice: Ecology and Epidemiology. (Chiu, R. J. ed.) Joint Commission on Rural Reconstruction Pub. Taipei, Taiwan. (in Chinese with English abstract)
- Chien, C. C., L. C. Hsieh, and Y. C. Chang. 1989. Studies on the break-down of resistance in rice cultivar Tainung 70 to rice blast. J. Agric. Res. China 38:72-79. (in Chinese with English abstract)
- Goto, K., T. Kozakz, K. Yanagita, M. Yamada, S. Matsumoto, K. Shindo, J. G. Atkins, A. L. Robert, and C. R. Adair. 1967. U.S.-Japan cooperative research on the international pathogenic races of the rice blast fungus, *Piricularia oryzae* Cav. and their international differentials. Phytopathol. Soc. Jpn. 33(Extra Issue):1-87.
- Hung, C. H., C. C. Chien, and S. Y. Lin. 1961. Study on the physiological races of *Piricularia oryzae* Cav. Agric. Res. 10:27-34.
- International Rice Research Institute. 1964. Study of the pathogenic race in the Philippines. p.131-136. in: 1964 Annual Report of the IRRI, Los Banos, Laguna, Philippines.
- International Rice Research Institute. 1977. Annual Reports of IRRI for 1964-79.
- International Rice Testing Program. 1980. Standard Evaluation System for Rice. 2nd ed. IRRI, Philippines, 44 pp.
- Latterell, F. M., M. A. Marchetti, and B. R. Grove. 1965. Coordination of effort to establish an international system for race identification in *Piricularia oryzae*. p.257-274. in: The Rice Blast Disease. Johns Hopkins Press. Baltimore, Maryland, USA.
- Ling, K. C., and S. H. Ou. 1969. Standardization of the international race numbers of *Pyricularia oryzae* Cav. Phytopathology 59:339-342.
- Ou, S. H. 1963. Rice blast disease and breeding for its resistance in Thailand, with notes on other rice disease. FAO Expanded Technical Assistance Program Report No. 1673. 26 pp.

- Ou, S. H. 1965. A proposal for an international program of research on the rice blast disease. p.441-446. *in*: The Rice Blast Disease. The Johns Hopkins Press. Baltimore, Maryland.
- Ou, S. H. 1971. A new approach to rice breeding for blast disease resistance. p.31-48. *in*: Rice Diseases. (Chiu, R. J. ed.) Joint Commission on Rural Reconstruction Pub. Taipei, Taiwan. (in Chinese with English abstract)
- Ou, S. H. 1985. Blast. p.109-201 *in*: Rice Diseases 2nd ed. (Ou, S. H.ed.). Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 380 pp.
- Ou, S. H., and M. R. Ayad. 1968. Pathogenic races of *Pyricularia oryzae* originating from single lesions and monoconidial cultures. *Phytopathology* 58:179-182
- Sasaki, R. 1922. Existence of strains in rice blast fungus. I. *J. Plant Prot. Tokyo* 9:631-644. (in Japanese)
- Sasaki, R. 1923. Existence of strains in rice blast fungus. II. *J. Plant Prot. Tokyo* 10:1-10. (in Japanese)
- Tu, C. C., and Y. C. Chang. 1992. Plant breeding for disease resistance. p.233-250. *in*: The Proceedings of Symposium on Non-Chemical Control of Plant Pests and Diseases. The Plant Protection Society of the Republic of China Pub. Taichung, Taiwan. (in Chinese with English abstract)
- Wu, H. K. 1978. Types of resistance to rice blast disease. p.213-224. *in*: Disease and Insect Pests of Rice: Ecology and Epidemiology. (Chiu, R. J. ed.) Joint Commission on Rural Reconstruction Pub. Taipei, Taiwan. (in Chinese with English abstract)
- Yamanaka, T., and T. Yamaguchi. 1987. Rice Blast Disease. Yokendo. Japan. (in Japanese)
- Yamasaki, Y., and J. Takasaka. 1980. Rice Blast Disease and Breeding of Resistant Cultivars. Hakuyuusya Press. Tokyo. Japan. 599 pp. (in Japanese)
- Yang, S. C. 1967. The use of non-irrigated nursery for breeding blast resistance of rice. *J. Taiwan Agric. Res.* 16(3):1-7. (in Chinese with English abstract)

Use of Rice Blast Diseased Leaves for Preservation of *Pyricularia oryzae*¹

Lih-Jiuan Hsieh², Yih-Chang Chang², Chun-Wei Chen²
and Ting-Fang Hsieh^{3,4}

Abstract

Hsieh, L. J., Y. C. Chang, C. W. Chen, and T. F. Hsieh. 2007. Use of rice blast diseased leaves for preservation of *Pyricularia oryzae*. J. Taiwan Agric. Res. 56:253-260.

The objective of this study was to evaluate the potential for using rice blast diseased leaves to preserve *Pyricularia oryzae*. Fresh detached blast diseased leaves and leaves stored at 4°C for 2, 4 and 5 years were used as the inoculum sources to infect rice seedlings. They were also used to determine the amount of pathogen spores produced on diseased leaves, and the sporulated percentage of the observed lesions. The results showed that after 5-year storage the diseased leaves were still capable of initiating rice blast on rice seedlings. The diseased leaves stored for 2-year had a higher infectivity than those stored for 4 or 5 year, but had no significant difference in infectivity with those on fresh leaves. After soaking in water for 4 hours, the diseased leaves stored for 5 years sporulated continuously for 2 days. The amounts of pathogen spores produced on fresh diseased leaves and leaves stored for 2 or 4 years were not significantly different. The lesions from diseased leaves stored for 5 years were still able to sporulate. The lesions on diseased leaves stored for 2 or 4 years had higher percentage of sporulation than those stored for 5 years, and this ability to sporulate was not significantly different from those on fresh leaves. Our result showed that it is feasible to use diseased leaves stored at 4°C for more than 2 years as the source of inoculum of *P. oryzae*.

Key words: Rice, Rice blast, *Pyricularia oryzae*, Blast-disease-leaf preservation method, Inoculum source.

1. Contribution No.2300 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: October 13, 2007.

2. Respectively, Research Assistant, Former Associate Researcher and Contract Employee, Plant Pathology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Senior Researcher and Director, Floriculture Research Center, ARI, KuKeng, YunLin, Taiwan, ROC.

4. Corresponding author, e-mail:tfhsieh@wufeng.tari.gov.tw; Fax:(05)5820835.