

# 稻稈傳播水稻徒長病可能性之探討

林素禎<sup>1,\*</sup> 鄭春玉<sup>2</sup> 王朝儀<sup>2</sup> 吳宗哲<sup>2</sup> 陳啟予<sup>3</sup>

## 摘要

林素禎、鄭春玉、王朝儀、吳宗哲、陳啟予。2016。稻稈傳播水稻徒長病可能性之探討。台灣農業研究 65(1):92-102。

近年來由 *Fusarium fujikuroi* 引起的水稻徒長病 (bakanae disease of rice) 在台灣各地有逐漸嚴重的趨勢，為了瞭解稻稈是否可傳播此病害，本文將探討不同土壤中此病原菌在稻稈上之殘存能力，以作為此病害防治之參考。本研究在行政院農業委員會農業試驗所實驗室中進行，試驗中所使用之水稻徒長病菌 (*Fusarium fujikuroi*) 由國立中興大學植物病理學系提供，水稻品種為「台農 71 號」。試驗開始於 2013 年 4 月，稻稈接種病原菌培養 7 d 後加入土壤中，稻稈與土壤比例為重量比 1 : 100。稻稈加入土壤中，其病原菌初始濃度為  $2.0 \times 10^5$  cfu g<sup>-1</sup> soil，在第 14、28、60、90、120 及 150 d 後從土壤中取出稻稈，測定稻稈上病原菌之存活率。稻稈在土壤中 14 d 時，水稻徒長病菌存活率以屏東縣萬巒鄉土壤最高 (126%)，其次為桃園縣觀音鄉土壤 (53%)，第 3 為彰化縣芬園鄉土壤 (41%)，而彰化縣二林鎮土壤最低 (6%)。水稻徒長病菌在土壤中 14 d 的存活數之平方根，與土壤 pH 值成顯著直線負相關 ( $P < 0.05$ )，與有效性鉀含量成顯著直線正相關 ( $P < 0.05$ )，與其他土壤性質則無直線相關。稻稈在土壤中 60 d 時，水稻徒長病菌存活率以彰化縣芬園鄉土壤最高 (2.5%)，其次為桃園縣觀音鄉土壤 (1.1%)，第 3 為屏東縣萬巒鄉土壤 (0.7%)。本試驗結果顯示，水稻徒長病菌在上述 3 種土壤中具有感染下一季水稻的潛在能力，因此建議在類似這 3 種土壤理化性質的地區，須特別留意本病害的發生與防治。

**關鍵詞：**水稻、水稻徒長病菌、稻稈、土壤性質。

## 前言

水稻徒長病最早於 1828 年在日本已有本病害記載 (Ito & Kimura 1931)，為水稻栽培區普遍存在之病害，此病害所造成的損失在危害嚴重的地區可減產 40-50% (Ou 1985)。水稻徒長病在台灣最早於 1912 年由澤田氏所記載報告，此病害又稱馬鹿苗病，在農民口中俗稱「稻公」。病害發生在水稻之苗期及分蘖盛期，罹病植株呈現徒長，罹病苗常比健康苗高出 1/3-1/2 以上，病苗纖細黃綠色，葉幅變小，葉片與葉鞘之著生角加大 (Chang 2003)。此病害主要由受汙染之稻種帶菌傳播，近年來農

雖有做稻種消毒，田間還是普遍發生，尤其以台東、花蓮地區最為嚴重。該地區主要種植品種「高雄 139 號」及「台梗 2 號」，田間罹病率超過 10% (Huang & Chu 2009)。除了稻種帶菌會傳播此病害外，稻稈帶菌亦是另一個感染途徑，為了防止此病害之擴大，有必要對此病原菌在稻稈上之殘存能力進行研究。

水稻徒長病菌在水田中可存活 4 mo (Mandal & Chaudhuri 1988)，如果兩期稻作相隔時間不長，土壤中的感染源可感染插秧後的健康稻苗。Yu & Sun (1977) 報告指出，土壤接種徒長病菌分生孢子，當每克土壤含 645 個菌體時，即可引起稻苗徒長病。Sunder & Satyavir

投稿日期：2015 年 2 月 28 日；接受日期：2015 年 7 月 30 日。

\* 通訊作者：linmay@tari.gov.tw

<sup>1</sup> 農委會農業試驗所農業化學組助理研究員。台灣 台中市。

<sup>2</sup> 農委會農業試驗所農業化學組研究助理。台灣 台中市。

<sup>3</sup> 國立中興大學植物病理學系副教授。台灣 台中市。

(1998) 研究指出，於罹病田蒐集的稻稈在土壤中經過 5 mo 後，水稻徒長病菌之濃度仍高達  $1,750 \text{ cfu g}^{-1} \text{ soil}$ ，而在 10 mo 時還可檢測到病原菌。

以往稻稈大多焚燒後掩埋入土中，病原菌在稻稈焚燒過程中多數被殺死，但最近稻稈焚燒牽涉空氣污染之環保問題，故提倡稻稈直接掩埋至土中。如此一來，稻稈上之病原菌很容易藉由稻稈傳染至下一季水稻。台灣中部與南部地區兩期稻作相隔時間不長，土壤中的水稻徒長病菌可能會藉由稻稈感染插秧後的健康稻苗。稻稈上的水稻徒長病菌在土壤中的存活菌數，係稻稈能否引發水稻徒長病的關鍵因素 (Yu & Sun 1977)，而土壤性質是影響病原菌存活菌數的重要因子。有關土壤性質對水稻徒長病菌的影響之研究報導較少見，本文將探討土壤性質對水稻徒長病菌在稻稈上殘存能力之影響，以作為此病害防治之參考。

## 材料與方法

### 試驗土壤

選擇不同質地、母質與酸鹼值之土壤進行試驗，試驗土壤有 7 個，土壤採集地點、座標與地上植生如表 1。在土壤質地方面，選擇細質地土壤 (彰化縣竹塘鄉的粘板岩石灰性老沖積土，黏粒含量 23%，粉粒含量 48%，砂粒含量 29%，壤土) 與粗質地土壤 (彰化縣芳苑鄉的粘板岩石灰性老沖積土，黏粒含量 3%，粉粒含量 24%，砂粒含量 73%，砂質壤土) 各

1 個土壤。在母質方面，選擇紅壤、粘板岩沖積土與砂頁岩沖積土 3 種母質的土壤。紅壤為桃園縣觀音鄉的酸性土壤。粘板岩沖積土為屏東縣萬巒鄉的酸性土壤及彰化縣二林鎮的微鹼性土壤。砂頁岩沖積土為彰化縣芬園鄉的酸性土壤及台南市佳里區的微鹼性土壤。

### 土壤理化性質分析

採集上述試驗土壤，土壤樣品從田間採集後，風乾、磨碎、過篩，分析各項理化性質，包括土壤 pH 值 (酸鹼度)、EC 值 (電導度)、質地、有機質、有效性氮、磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅與硼。土壤 pH 值與 EC 值的測定方法為水土重量比 1:1，以酸鹼度測定儀 (Suntex SP-701) 及電導度測定儀 (Denver Instrument Model 20) 檢測之。土壤質地以粒徑分析儀 (Beckman Coulter LS 13 320) 分析，有機質以總有機碳分析儀 (Elementarvario MAX C) 測定後換算為有機質含量。有效性氮先用 2MKCl 抽出後，以自動分析儀 (Astoria Analyzer Series 300) 測定。有效性磷、鉀、鈣、鎂、鐵、錳、銅、鋅、硼以 Mehlich-3 method 抽出後，以感應耦合電漿分析儀 (Inductively coupled plasma spectrometry, ICP, HORIBA JobinYvon ULTIMA 2C) 測定。

### 稻稈準備

稻稈為水稻品種「台農 71 號」，將乾燥之稻稈洗淨後，剪切成 2 cm 長，置於烘箱 (Yamato DK810) 80°C 烘 48 h 後，放冷。稱取

表 1. 土壤採集處。

Table 1. Soil sampling sites.

No.	Sampling site	Coordinate		Cover plant
		N	E	
1	Chutang, Changhua County	23°51'24"	120°25'41"	Sweet potato
2	Fangyuan, Changhua County	23°56'55"	120°21'38"	Rice
3	Guanyin, Taoyuan County	25°00'39"	121°05'39"	Bamboo
4	Wanluan, Pingtung County	22°35'57"	120°35'13"	Weed
5	Erlin, Changhua County	23°53'44"	120°23'18"	Rice
6	Fenyuan, Changhua County	24°00'36"	120°39'35"	Weed
7	Chiali, Tainan County	23°11'01"	120°11'48"	Corn

0.5 g 稻稈，以鋁箔紙包好，放入 250 mL 燒杯中，經滅菌釜 (Yang Ta Min Instrument Co. YTM-B) 121°C，1.2 kg cm<sup>-2</sup> 滅菌 20 min 後備用。

### 病原菌製備與菌落數計數

水稻徒長病菌由國立中興大學植物病理系提供，以 1/2 PDA 培養基在 26°C 培養箱 (YIH DER LE-519) 中黑暗培養 7 d 作為病原菌來源。取滅菌後的稻稈，裝入直徑 5.5 cm 塑膠培養皿中，每皿放 0.5 g 稻稈。在稻稈上接種病原菌孢子懸浮液，每皿 5 mL，病原菌孢子濃度為  $1.0 \times 10^5$  spores mL<sup>-1</sup>。稻稈接種病原菌後，在 26°C 培養箱中黑暗培養 7 d，作為病原菌之接種源，並測定稻稈中水稻徒長病菌接種時之菌落數，其測定方法如下：上述加病原菌孢子懸浮液培養 7 d 的稻稈，以鑷子夾取稻稈 (含 5 mL 菌液，0.5 g 稻稈體積約 1.6 mL) 放入裝有 95 mL 無菌水的 250 mL 三角瓶中，接著將三角瓶放在振盪培養箱 (YIH DER LM-510RD) 中，於 26°C 轉速 150 rpm 振盪 1 h。振盪完後，取出三角瓶，此為稀釋倍數 10<sup>-1</sup>，吸取 10<sup>-1</sup> 稀釋液 10 mL 菌液，加入裝有 90 mL 無菌水的 250 mL 三角瓶中，此為稀釋倍數 10<sup>-2</sup>。依上述方法稀釋至 10<sup>-5</sup> 後，在稀釋倍數 10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup> 各取 0.1 mL 的菌液塗佈在孔雀綠瓊脂 (Malachite green agar) (Castellá *et al.* 1977) 培養基上，上述 3 個稀釋倍數各做 3 個培養皿 (直徑 9 cm)。接著將培養皿放在 26°C 培養箱中黑暗培養 11 d，計數培養基上水稻徒長病菌的菌落數。選擇菌落數在 30–300 之間的稀釋倍數作為計算基準 (Wollum 1982)，計算水稻徒長病菌之菌落數。孔雀綠瓊脂培養基配方如下：1,000 mL 的純水中含 15 g Peptone (BD Co., USA)，1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (日本片山試藥株式會社試藥一級)，0.5 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (日本片山試藥株式會社試藥一級)，20 g Agar (BD Co., USA)，2.5 mg malachite green oxalate (SIGMA-ALDRICH Co., USA)，0.1 g chloramphenicol (SIGMA-ALDRICH Co., USA)，0.05 g streptomycin sulfate (SIGMA-ALDRICH Co., USA)。

### 試驗處理

採集之試驗土壤有 7 個 (如表 1)，其中觀音鄉土壤母質為紅壤，加入矽酸鈣 (日本片山試藥株式會社試藥一級)，提高土壤 pH 值作為其對照，使試驗處理土壤為 8 個。矽酸鈣的添加量為每 50 g 土壤加 0.5 g CaSiO<sub>3</sub>。每個土壤各秤取 50 g，各 4 重複，置於塑膠杯中。將已接種水稻徒長病菌並培養 7 d 之稻稈混入土壤中，稻稈與土壤比例為重量比 1:100，加水 20 mL，以鋁箔紙封口，秤重，記錄總杯重，定期加水保持土壤水分含量。稻稈與土壤放在農業試驗所應用微生物實驗室室溫下培養，室溫溫度範圍為 24–28°C，在第 14、28、60、90、120 及 150 d 後從土壤中取出所有稻稈 (體積約 4 mL cup<sup>-1</sup>)。以鑷子夾取稻稈放入裝有 95 mL 無菌水的 250 mL 三角瓶中，接著將三角瓶放在振盪培養箱中，於 26°C 轉速 150 rpm 振盪 1 h。振盪完後，取出三角瓶，此為稀釋倍數 10<sup>-1</sup>，吸取 10<sup>-1</sup> 稀釋液 10 mL 菌液，加入裝有 90 mL 無菌水的 250 mL 三角瓶中，此為稀釋倍數 10<sup>-2</sup>。依上述方法稀釋至 10<sup>-4</sup> 後，在稀釋倍數 10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup> 及 10<sup>-4</sup> 各取 0.1 mL 的菌液塗佈在孔雀綠瓊脂培養基上，上述 4 個稀釋倍數各做 3 個培養皿 (直徑 9 cm)。接著將培養皿放在 26°C 培養箱中黑暗培養 11 d，計數培養基上水稻徒長病菌的菌落數，選擇每皿菌落數在 30–300 之間的稀釋倍數做為計算基準，計算水稻徒長病菌之菌落數。

### pH 值與鉀含量對水稻徒長病菌生長之影響

不同 pH 值對水稻徒長病菌生長之影響：取 100 mL 去離子水加入 250 mL 燒杯中，加 2.4 g 馬鈴薯葡萄糖 (Potato dextrose broth, BD Co., USA) 及 1.5 g Agar (BD Co., USA)，加熱使培養基溶解，以 1% HCl 及 1% KOH 將培養基 pH 值分別調整至 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5 及 8.0。pH 值調整完後將培養基倒至 500 mL 三角瓶中，蓋上矽膠蓋，以兩層鋁箔紙封口，放入滅菌鍋中，以 121°C、1.2 kg cm<sup>-2</sup> 滅菌 20 min。取出培養基放冷至 50–60°C 時分裝至直徑 9 cm 培養皿中，每皿 15 mL，放冷，

備用。將水稻徒長病菌切成正方形 0.5 cm × 0.5 cm 菌塊，放在培養基中央，每處理 4 重複。培養皿以石蠟膜封口，放入培養箱中 25°C 黑暗培養 11 d，測量病菌生長最長直徑與最短直徑，計算其平均直徑。

不同鉀含量對水稻徒長病菌生長之影響：在不同鉀含量試驗中，鉀離子之濃度為 0、60、125、250 及 500 mg kg<sup>-1</sup>，以 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (聯工化學廠公司 EP 級 1 級) 為試藥。取 100 mL 去離子水加入 250 mL 燒杯中，加 1.2 g 馬鈴薯葡萄糖 (Potato dextrose broth, BD Co., USA)，並加入所需要的 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 試藥。攪拌溶解後，測量溶液之 pH 值。加 1.5 g Agar (BD Co., USA) 後，以兩層鋁箔紙封口，放入滅菌鍋中，以 121°C、1.2 kg cm<sup>-2</sup> 滅菌 20 min。取出培養基放冷至 50–60°C 時分裝至直徑 9 cm 培養皿中，每皿 15 mL，放冷備用。選擇水稻徒長病菌生長最外圈之菌絲作為接種源，以滅菌竹籤沾取病原菌少許，放在培養基正中央，每處理 6 重複。培養皿以石蠟膜封口，放入培養箱中 26°C 黑暗培養 14 d，測量病菌生長最長直徑與最短直徑，計算其平均直徑。

## 相關性分析

水稻徒長病菌在稻稈上之存活菌落數與土壤理化性質是否有相關，需經相關性分析，當簡單相關性分析結果顯著，表示水稻徒長病菌在稻稈上之存活菌落數與土壤理化性質間存在直線相關。相關性分析可在 Excel 試算表管理軟體中進行。Excel 在「資料分析」裡提供了「相關係數」的計算，但不提供相關係數的顯著性測驗，不過可以透過輸入公式或函數來進行。相關係數 ( $r$ ) 的顯著性測驗可利用  $t$  檢定 (Yu 1981)，公式如下：

$$|t| = \frac{|r|}{\sqrt{\frac{1-r^2}{n-2}}} > t_{(\alpha/2, n-2)}$$

式中  $n$  為樣本數， $t_{(\alpha/2, n-2)}$  為  $\alpha$  顯著水準下自由度等於  $n-2$  的雙尾  $t$  臨界值。 $t$  臨界值的計算，可利用 Excel 的 TINV 函數，其格式為：TINV (probability, degree\_freedom)，

probability 為雙尾機率值 (故若指定顯著水準為 0.05，只需直接輸入 0.05 即可，不必再除以 2)，而 degree\_freedom 為自由度。Excel 的絕對值及開方根函數分別為 ABS 及 SQRT。將兩資料集的相關係數 ( $r$ ) 與樣本數 ( $n$ ) 帶入上述公式中計算  $t$  檢定的實測值。當  $t$  的實測值大於其臨界值，表示兩資料集存在顯著的直線相關關係。本文中病原菌菌落數先予開方根轉換 (square-root transformation)，再利用 Excel 的 CORREL 函數，計算病原菌菌落數開方根轉換後之數值與土壤理化性質之相關係數 ( $r$ )。得到相關係數後，利用上述公式與 Excel 的 TINV 函數，算出  $t$  檢定的實測值和臨界值，當  $t$  檢定的實測值大於  $t$  檢定的臨界值時，即表示病原菌菌落數開方根轉換後之數值與土壤理化性質存在有直線相關，反之，則表示兩資料集無直線相關。但無法認定兩資料集無任何關係或互相獨立，也有可能是其他二次以上的關係。

## 資料統計與分析

本文中水稻徒長病菌的存活率及在培養基上生長所量測的直徑，皆利用 SAS 套裝統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA)，若處理效應顯著 ( $P < 0.05$ )，則再利用最小顯著性差異 (least significant difference; LSD) 測驗以比較各處理平均間之差異性。

## 結果與討論

### 試驗土壤之理化性質分析

試驗土壤的理化性質如表 2 所示，細質地的竹塘土壤其黏粒含量比粗質地芳苑土壤多 20%，兩個土壤之 pH 值皆為微鹼性。竹塘土壤的有機質比較高 (3.7%)，但磷的有效性較低 (54 mg kg<sup>-1</sup>)，可能是因鈣的含量較高 (5,355 mg kg<sup>-1</sup>)，形成難溶性之磷酸化合物所致。母質為紅壤之觀音土壤，其有效性磷、鈣與鐵含量都很低，加入矽酸鈣後其土壤 pH 值由 6.0 上升至 6.5，有效性鈣含量亦明顯增加；萬巒鄉土壤與二林鎮土壤之母質皆為粘板岩沖積土，萬巒鄉土壤 pH 值為 4.3，二林鎮土壤 pH

表 2. 試驗前土壤之理化性質分析。

Table 2. The physical and chemical properties of tested soils before experiment.

Sampling site	pH (1:1)	EC ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	Clay (%)	OM (%)	N ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	P ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	K ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Ca ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Mg ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Fe ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Mn ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Cu ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Zn ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	B ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
Chutang	7.5	616	23	3.7	127	54	135	5,355	226	409	115	8.9	9.0	2.0
Fangyuan	7.6	319	3	1.5	4	164	189	3,483	167	373	127	6.1	9.4	1.0
Guanyin	6.0	169	28	1.2	21	1	230	446	159	50	24	0.8	1.6	0.3
Guanyin + $\text{CaSiO}_3$	6.5	373	28	1.2	16	2	205	1,911	147	65	26	1.0	2.0	0.3
Wanluan	4.3	408	30	2.4	93	511	344	555	178	543	28	1.5	3.9	0.2
Erlin	7.6	843	24	2.5	46	50	192	3,704	322	618	80	4.3	6.0	1.7
Fenyuan	5.1	319	25	2.3	59	156	219	939	155	656	6	0.8	4.5	0.3
Chiali	7.5	404	22	1.2	12	256	209	1,951	324	645	62	1.1	7.5	1.1

值為 7.6，兩者相差 3.3 unit。二林鎮土壤的有效性磷含量較低 ( $50 \text{ mg kg}^{-1}$ )，鈣的含量較高 ( $3,704 \text{ mg kg}^{-1}$ )，萬巒鄉土壤的有效性磷含量較高 ( $511 \text{ mg kg}^{-1}$ )，鈣含量較低 ( $555 \text{ mg kg}^{-1}$ )。芬園鄉土壤與佳里區土壤之母質皆為砂頁岩沖積土，芬園鄉土壤 pH 值為 5.1，佳里區土壤 pH 值為 7.5，兩者相差 2.4 unit。芬園鄉土壤的有效性鈣含量較低 ( $939 \text{ mg kg}^{-1}$ )，佳里區土壤的有效性鈣含量適中 ( $1,951 \text{ mg kg}^{-1}$ )。

### 不同處理時間對水稻徒長病菌在稻稈上存活菌落數之影響

稻稈接種病原菌培養 7 d 後，在 Malachite green agar 培養基上之菌落數為  $1.0 \times 10^7 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw，此為稻稈在加入土壤時病原菌之初始濃度。稻稈在土壤中 14、28、60、90、120 及 150 d 後從土壤中取出，測定稻稈上病原菌的存活菌落數。由表 3 可知，稻稈上存活的病原菌菌落數在土壤中 14 d 時為  $5.9 \times 10^5$ – $1.3 \times 10^7 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw，在土壤中 28 d 時為  $5.6 \times 10^4$ – $2.0 \times 10^6 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw，在土壤中 60 d 時為  $1.7 \times 10^4$ – $2.6 \times 10^5 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw，在土壤中 90 d 時為  $1.7 \times 10^3$ – $3.6 \times 10^4 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw，在土壤中 120 d 時為  $0$ – $4.2 \times 10^3 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw，在土壤中 150 d 時為  $0$ – $3.3 \times 10^3 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw。

稻稈在土壤中 14 d 時，萬巒土壤的病原菌數最高 ( $1.3 \times 10^7 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)，比原加入量高，觀音土壤的病原菌數次之 ( $5.6 \times$

$10^6 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)，芬園土壤的病原菌數第 3 高 ( $4.2 \times 10^6 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)，而二林土壤的病原菌數最低 ( $5.9 \times 10^5 \text{ cfu } 0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)。稻稈在土壤中 28 d 後病原菌的菌落數隨時間增長而下降，以在二林土壤中的病原菌菌落數下降最快。Sunder & Satyavir (1998) 研究指出稻稈上的水稻徒長病菌在土壤中菌落數先增加後降低。病原菌菌落數比原加入時增加表示土壤環境適合病原菌生長，由稻稈與土壤中得到養分大量繁殖，當土壤與稻稈養分耗盡時，病原菌數量則逐漸降低。本研究所使用的萬巒鄉土壤與 Sunder & Satyavir (1998) 的研究結果相似。另外，Sunder & Satyavir (1998) 的研究指出，稻稈在土壤中 14 mo 後完全分解，而在 10 mo 時還可檢測到水稻徒長病菌。本研究所使用之觀音鄉紅壤在 4 mo 後已檢測不到病原菌，而二林鎮土壤在 5 mo 後亦檢測不到病原菌。除了土壤種類可影響病原菌在稻稈的存活時間外，土壤水分亦會影響病原菌在稻稈的存活時間，根據 Mandal & Chaudhuri (1988) 研究指出，水稻徒長病菌適合在土壤水分 12–36% 生長，而在低含水量 (4.8%) 與高含水量 (48%) 下，水稻徒長病菌在土壤中存活菌落數下降速度較快。Sunder & Satyavir (1998) 試驗中土壤之含水量為 15.2%，適合病原菌生長，而本文試驗土壤保持水分含量為 50%，水分含量較高，對病原菌生長較不利，所以病原菌在稻稈存活的時間較短。

稻稈在土壤中 60 d 時，水稻徒長病菌菌

表 3. 不同土壤中水稻徒長病原菌在稻稈上不同期間之菌落數。

Table 3. The pathogen survival counts of bakanae disease inoculated in rice straws under different incubation periods in different soils.

Days after incubation	Mean colony forming unit (cfu) per 0.5 g of straw							
	Chutang	Fangyuan	Guanyin	Guanyin + CaSiO <sub>3</sub>	Wanluan	Erlin	Fenyuan	Chiali
0	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$
14	$3.9 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6$	$5.6 \times 10^6$	$3.0 \times 10^6$	$1.3 \times 10^7$	$5.9 \times 10^5$	$4.2 \times 10^6$	$2.1 \times 10^6$
28	$1.9 \times 10^5$	$5.6 \times 10^4$	$6.0 \times 10^5$	$3.4 \times 10^5$	$5.9 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$	$2.0 \times 10^6$	$1.9 \times 10^5$
60	$5.6 \times 10^4$	$4.4 \times 10^4$	$1.1 \times 10^5$	$5.6 \times 10^4$	$7.8 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$	$2.6 \times 10^5$	$2.1 \times 10^4$
90	$1.4 \times 10^4$	$1.7 \times 10^3$	$2.5 \times 10^3$	$3.3 \times 10^3$	$4.2 \times 10^3$	$1.7 \times 10^3$	$3.6 \times 10^4$	$7.5 \times 10^3$
120	$4.2 \times 10^3$	$3.3 \times 10^3$	0	0	$3.3 \times 10^3$	$8.0 \times 10^2$	$2.5 \times 10^3$	$1.7 \times 10^3$
150	$3.3 \times 10^3$	$2.3 \times 10^2$	0	0	$1.7 \times 10^2$	0	$2.5 \times 10^2$	$1.7 \times 10^2$

落數以彰化縣芬園鄉土壤最高 ( $2.6 \times 10^5$  cfu  $0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)，其次為桃園縣觀音鄉土壤 ( $1.1 \times 10^5$  cfu  $0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)，第 3 為屏東縣萬巒鄉土壤 ( $7.8 \times 10^4$  cfu  $0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)，最低為彰化縣二林鎮土壤 ( $1.7 \times 10^4$  cfu  $0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw) 與台南市佳里區土壤 ( $2.1 \times 10^4$  cfu  $0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw)。0.5 g 稻稈乃埋在 50 g 土壤中，若以每 g 土壤為計數單位，水稻徒長病菌初始濃度  $1.0 \times 10^7$  cfu  $0.5 \text{ g}^{-1}$  of rice straw  $50 \text{ g}^{-1}$  of soil，平均每公克土壤含量為  $2.0 \times 10^5$  cfu。而彰化縣芬園鄉土壤、桃園縣觀音鄉土壤與屏東縣萬巒鄉土壤，這 3 個土壤在水分含量 50% 經過 2 mo 後，平均每公克土壤中的水稻徒長病菌菌落數仍在 1,500 cfu 以上。依據 Yu & Sun (1977) 報告指出，當每公克土壤含 645 個菌體時，即可引起稻苗徒長病。由上述結果可知，當土壤中水稻徒長病菌菌落數在  $2.0 \times 10^5$  cfu  $\text{g}^{-1}$  soil 以上，且水稻兩期作相隔 2 mo 時，則彰化縣芬園鄉土壤、桃園縣觀音鄉土壤與屏東縣萬巒鄉土壤，這 3 個土壤有可能引發秧苗之徒長病。

### 土壤性質對水稻徒長病菌在稻稈上存活率之影響

水稻徒長病菌存活率因土壤種類不同而有明顯差異，如表 4 所示。稻稈在土壤中 14 d 時，水稻徒長病菌其存活率以屏東縣萬巒鄉土壤最高 (126%)，其母質為非石灰性粘板岩沖積土，土壤 pH 值為 4.3。其次為桃園縣觀音鄉土壤 (53%)，其母質為紅壤，土壤 pH 值為 6.0。第 3 為彰化縣芬園鄉土壤 (41%)，其母質為非石灰性砂頁岩沖積土，土壤 pH 值為

5.1。水稻徒長病菌存活率最低為彰化縣二林鎮土壤 (6%) 與彰化縣芳苑鄉土壤 (12%)，其母質皆為石灰性粘板岩沖積土，其土壤 pH 值皆為 7.6。稻稈在土壤中 14 d 時，細質地的竹塘鄉土壤病原菌存活率 (37%) 比粗質地的芳苑鄉土壤病原菌存活率高 25%；母質為紅壤之觀音鄉酸性土壤病原菌存活率 (53%) 比添加  $\text{Ca-SiO}_3$  的觀音鄉土壤高 24%；母質為粘板岩沖積土的萬巒鄉酸性土壤病原菌存活率 (126%) 比相同母質但含石灰質之二林鎮微鹼性土壤高 120%；母質為砂頁岩沖積土的芬園鄉酸性土壤病原菌存活率 (41%) 比相同母質但含石灰質之佳里區微鹼性土壤高 21%。

### 水稻徒長病菌在稻稈上的存活數與土壤性質之相關性分析

水稻徒長病菌在稻稈上的存活數與土壤性質之相關性分析，如表 5。稻稈上病原菌存活數非常態分布，須先經開方根轉換後再與土壤性質進行相關性分析，由表 5 可知水稻徒長病菌在稻稈上的存活數之平方根與土壤 pH 值、EC 值、質地、有機質、有效性氮含量、有效性磷含量、有效性鉀含量、有效性鈣含量、有效性鎂含量、有效性鐵含量、有效性錳含量、有效性銅含量及有效性鋅含量與有效性硼含量之相關係數，分別為 -0.858、-0.409、0.562、0.150、0.491、0.593、0.755、-0.577、-0.485、-0.104、-0.535、-0.334、-0.463 及 -0.575。在 Excel 軟體中輸入公式或函數計算出  $t$  檢定的實測值和臨界值，由表 5 中可知，土壤 pH 值與有效性鉀含量之  $t$  檢定的實測值大於臨界值，表示土壤 pH 值、有效性鉀含量

表 4. 不同土壤中水稻徒長病原菌在稻稈上不同期間之存活率。

Table 4. The pathogen survival rates of bakanae disease inoculated in rice straws under different incubation periods in different soils.

Days after incubation	Survival rate of pathogen (%)							
	Chutang	Fangyuan	Guanyin	Guanyin + $\text{CaSiO}_3$	Wanluan	Erlin	Fenyuan	Chiali
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
14	37.0 bc <sup>z</sup>	12.0 e	53.0 b	29.0 cd	126.0 a	6.0 e	41.0 bc	20.0 de
28	1.8 cd	0.5 d	5.8 b	3.3 c	5.7 b	3.1 c	19.3 a	1.8 cd
60	0.5 cd	0.4 cde	1.1 b	0.5 cd	0.7 bc	0.2 e	1.8 a	0.2 de

<sup>z</sup> Means within each raw followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Fisher's protected LSD test.

表 5. 土壤性質與水稻徒長病菌在稻稈上 14 天的存活數之相關性分析。

Table 5. Correlation analysis between soil properties and the pathogen survival counts of bakanae disease after 14 d incubation in rice straws.

Sampling site	Concentration of pathogen of rice straw (cfu 0.5 g <sup>-1</sup> )	Square-root of concentration of pathogen (1 : 1)	pH	EC (μS cm <sup>-1</sup> )	Clay (%)	OM (%)	N (mg kg <sup>-1</sup> )	P (mg kg <sup>-1</sup> )	K (mg kg <sup>-1</sup> )	Ca (mg kg <sup>-1</sup> )	Mg (mg kg <sup>-1</sup> )	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	B (mg kg <sup>-1</sup> )
Chutang	3.9 × 10 <sup>6</sup>	1,975	7.5	616	23	3.7	127	54	135	5,355	226	409	115	8.9	9.0	2.0
Fangyuan	1.2 × 10 <sup>6</sup>	1,095	7.6	319	3	1.5	4	164	189	3,483	167	373	127	6.1	9.4	1.0
Guanyin	5.6 × 10 <sup>6</sup>	2,366	6.0	169	28	1.2	21	1	230	446	159	50	24	0.8	1.6	0.3
Guanyin + CaSiO <sub>3</sub>	3.0 × 10 <sup>6</sup>	1,732	6.5	373	28	1.2	16	2	205	1,911	147	65	26	1.0	2.0	0.3
Wanluan	1.3 × 10 <sup>7</sup>	3,606	4.3	408	30	2.4	93	511	344	555	178	543	28	1.5	3.9	0.2
Erlin	5.9 × 10 <sup>5</sup>	768	7.6	843	24	2.5	46	50	192	3,704	322	618	80	4.3	6.0	1.7
Fenyuan	4.2 × 10 <sup>6</sup>	2,049	5.1	319	25	2.3	59	156	219	939	155	656	6	0.8	4.5	0.3
Chiali	2.1 × 10 <sup>6</sup>	1,449	7.5	404	22	1.2	12	256	209	1,951	324	645	62	1.1	7.5	1.1
Correlation coefficient (r) <sup>z</sup>			-0.858	-0.409	0.562	0.150	0.491	0.593	0.755	-0.577	-0.485	-0.104	-0.535	-0.334	-0.463	-0.575
t-test measured values (t <sub>m</sub> ) <sup>y</sup>			4.097*	1.099	1.666	0.370	1.381	1.803	2.820*	1.729	1.357	0.256	1.550	0.868	1.280	1.719
t-test critical values [t(α/2, n-2)] <sup>x</sup>			2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447	2.447

<sup>z</sup> Correlation coefficients (r) were analyzed from the concentrations of pathogen and soil properties. The concentrations of pathogen were square-root transformed prior to analysis.  
<sup>y</sup> t-test measured values (t<sub>m</sub>) = ABS(r)/SQRT[(1-r<sup>2</sup>)/(n-2)]. 'r' is the correlation coefficient, 'n' is the sample number, 'ABS' and 'SQRT' are the statistical functions in Excel software.  
<sup>x</sup> t-test critical values [t(α/2, n-2)] = TINV (probability, degree\_freedom), 'α/2' is the two-tailed probability, 'n-2' is the degree of freedom, 'TINV' is the statistical function in Excel software, 'degree\_freedom' is the degree of freedom.  
 \* t<sub>m</sub> > t(α/2, n-2). At probability = 0.05, n-2 = 6.

與水稻徒長病菌存活數的平方根有直線相關，土壤 pH 值與水稻徒長病菌存活數的平方根之相關係數為負數，所以兩者為直線負相關，表示在高 pH 值的土壤中其水稻徒長病菌存活數較低；有效性鉀含量與水稻徒長病菌存活數的平方根之相關係數為正數，所以兩者為直線正相關，表示在高有效性鉀含量的土壤中其水稻徒長病菌存活數較高。有關 pH 值與有效性鉀含量是否為造成水稻徒長病菌存活數多寡之主要原因，抑或是其他變數所引起的間接影響，需要進一步測試。本文下一部分將探討 pH 值與鉀含量對水稻徒長病菌生長之影響。

### pH 值與鉀含量對水稻徒長病菌生長之影響

在不同 pH 值對水稻徒長病菌生長之影響試驗中，不同 pH 值處理為 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5 及 8.0 等 7 個 pH 值，上述各處理培養皿在培養箱中 25°C 黑暗培養 11 d 後，其病原菌直徑分別為 4.3 cm ± 0.1 cm、5.0 cm ± 0.0 cm、5.2 cm ± 0.1 cm、6.1 cm ± 0.3 cm、6.2 cm ± 0.2 cm、6.3 cm ± 0.3 cm、6.6 cm ± 0.2 cm。以 pH 8.0 處理之水稻徒長病菌菌落直徑最大，明顯比病原菌在 pH 5.0–7.0 之生長好 ( $P < 0.05$ )，病原菌菌落直徑最小為 pH 5.0。由上述結果可知，水稻徒長病菌在高 pH 值的培養基上生長較好。

在不同鉀含量對水稻徒長病菌生長之影響試驗中，不同鉀添加量處理為 0、60、125、250 及 500 mg kg<sup>-1</sup>，鉀添加後其溶液 pH 值分別為 4.9 ± 0.1、5.0 ± 0.0、4.9 ± 0.1、4.9 ± 0.0 及 5.0 ± 0.0，K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 添加對溶液 pH 值無明顯影響。上述各處理培養皿在培養箱 26°C 中培養 14 d，測量病原菌生長之直徑，隨著鉀添加量增加，病原菌直徑依序為 5.5 cm ± 0.3 cm、6.2 cm ± 0.5 cm、5.9 cm ± 0.2 cm、6.1 cm ± 0.2 cm 及 6.3 cm ± 0.3 cm。培養基中添加鉀 60–500 mg kg<sup>-1</sup> 可明顯促進水稻徒長病菌之生長 ( $P < 0.05$ )，而鉀添加量 60、125、250 及 500 mg kg<sup>-1</sup> 等 4 處理間的水稻徒長病菌之生長無明顯差異 ( $P > 0.05$ )。這表示 1/2 PDA 培養基添加鉀 60 mg kg<sup>-1</sup> 後，鉀含量已不是水稻

徒長病菌生長之限制因子。

綜合上述結果可知，水稻徒長病菌在高 pH 值的 PDA 培養基上生長較好，在 1/2 PDA 培養基中添加鉀 60 mg kg<sup>-1</sup> 可促進水稻徒長病菌之生長。但超過 60 mg kg<sup>-1</sup> 後，對病原菌在培養基上生長無明顯影響。此結果與本文中稻稈上的水稻徒長病菌在高 pH 值的土壤中存活數較低，在高鉀含量的土壤中存活數較高之結果不同。這說明土壤中有其他因子影響水稻徒長病菌的存活數，土壤 pH 值與鉀含量的影響是間接的關係。Alabouvette (1986) 研究指出抑病土壤可降低作物土壤傳播性病害之嚴重程度，即使是在土壤中含有很高的病原菌接種密度，他認為土壤的抑病能力是由於微生物間的養分競爭。本文中水稻徒長病菌在高 pH 值的土壤中存活數較低，這可能是因高 pH 值下細菌與放線菌數量較低 pH 值時多 (Guo 1985)，與水稻徒長病菌養分競爭，造成病原菌存活數下降。微生物的養分競爭是否為造成病原菌存活數下降之主要原因，尚需進一步研究來確認。

### 引用文獻

- Alabouvette, C. 1986. Fusarium-wilt suppressive soils from the Châteaurenard region: Review of a 10-year study. *Agronomie* 6:273–284.
- Castellá, G., M. R. Bragulat, M. V. Rubiales, and F. J. Cabañes. 1997. Malachite green agar, a new selective medium for *Fusarium* spp. *Mycopathologia* 137:173–178.
- Chang, Y. C. 2003. Bakanae disease of rice. p.256–262. in: *Monograph of Plant Protection Ser. 8: Plant Protection of Rice.* (Zou, H. J. and J. P. Shi, eds.) Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan. Taipei, Taiwan. 448 pp. (in Chinese)
- Guo, K. S. 1985. Soil organisms. p.105–126. in: *Soil Science.* (Guo, K. S., ed.) Tzi-Yi Press. Taipei, Taiwan. 801 pp. (in Chinese)
- Huang, T. C. and S. C. Chu. 2009. The occurrence and control of rice bakanae disease in Taiwan. p.29–43. in: *Proceedings of Symposium on Achievements and Perspectives of Rice Protection in Taiwan.* July 9, 2009. Chiayi, Taiwan. Chiayi Agricultural Experiment Station, TARI. Chiayi, Taiwan. (in Chinese with English abstract)

- Ito, S. and J. Kimura. 1931. Studies on the 'bakanae' disease of the rice plant. Rep. Hokkaido Agric. Exp. Stn. 27:1-95.
- Mandal, D. N. and S. Chaudhuri. 1988. Survivability of *Fusarium moniliforme* Sheld under different moisture regimes and soil conditions. Intl. J. Tropical Plant Dis. 6:201-206.
- Ou, S. H. 1985. Rice Diseases. 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute Press. Kew. 380 pp.
- Sunder, S. and Satyavir. 1998. Survival of *Fusarium moniliforme* in soil, grains and straws of paddy. Indian Phytopathol. 51:47-50.
- Wollum, A. G., II. 1982. Culture methods for soil microorganisms. p.781-802. in: Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. (Page, A. L., R. H. Miller, and D. R. Keeney, eds.) American Society of Agronomy. Madison, WI. 1159 pp.
- Yu, C. H. 1981. Applied Statistics. Chao-Jen Pub. Taichung. 516 pp. (in Chinese)
- Yu, K. S. and S. K. Sun. 1977. Studies on inoculum potential and incubation period of rice bakanae disease. Plant Prot. Bull. 19:245-250. (in Chinese with English abstract)

# Epidemical Study of *Fusarium fujikuroi* by Rice Straws

Su-Chen Lin<sup>1,\*</sup>, Chun-Yu Zheng<sup>2</sup>, Chao-Yi Wang<sup>2</sup>, Zong-Zhe Wu<sup>2</sup>, and Chi-Yu Chen<sup>3</sup>

## Abstract

Lin, S. C., C. Y. Zheng, C. Y. Wang, Z. Z. Wu, and C. Y. Chen. 2016. Epidemical study of *Fusarium fujikuroi* by rice straws. J. Taiwan Agric. Res. 65(1):92–102.

In recent years, the bakanae disease of rice caused by *Fusarium fujikuroi* seems getting serious in Taiwan. In order to evaluate the infectiousness of rice straws on this disease development, various soil types were chosen to study the survival capability of the pathogen on rice straws. These results will be referred as measures in the disease control. This study was conducted in the laboratory of Taiwan Agricultural Research Institute. The pathogen of bakanae disease was provided by the Department of Plant Pathology of Nation Chung Hsing University. The straws of the rice cultivar 'TNG71' were used. The experiment was conducted in April, 2013. The pathogen was inoculated in the rice straws and incubated for 7 days as initial inoculum. The mixing ratio between straw and soil was 1:100 (w/w) and the initial concentration of inoculum was  $2.0 \times 10^5$  cfu g<sup>-1</sup> soil. The straw samples were retrieved from the tested soils after 14, 28, 60, 90, 120 and 150 days incubation, respectively. The survival rates of pathogen were determined by serial dilution plate method. The result indicated that after 14 days incubation, the highest survival rate of pathogen was in Wanluan soil, Pingtung County (126%), followed by Guanyin soil, Taoyuang County (53%) and Fengyuang soil, Changhua County (41%). The lowest one was found in Erlin soil, Changhua County (6%). It showed that the square root of bakanae pathogen survival counts after 14 days incubation were strongly negatively linear-correlated with soils pH ( $P < 0.05$ ), strongly positively linear-correlated with available potassium concentrations ( $P < 0.05$ ), and none-linear correlated with other soil properties. After 60 days incubation, the first three soil samples containing higher survival rate of the pathogen were from Fengyuang, Changhua County (2.5%), Guanyin, Taoyuang County (1.1%), and Wanluan, Pintong County (0.7%), respectively. Due to the long persistence (60 days) in these three types of soils, the pathogen was considered with the capability of infecting the following rice crop and the soil types were conducive to bakanae disease. Thus, we recommended that precaution on the occurrence and prevention of bakanae disease should be taken in these areas.

**Key words:** Rice, *Fusarium fujikuroi*, Rice straw, Soil properties.

---

Received: February 28, 2015; Accepted: July 30, 2015.

\* Corresponding author, e-mail: linmay@tari.gov.tw

<sup>1</sup> Assistant Research Fellow, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

<sup>2</sup> Research Assistants, Agricultural Chemistry Division, Taiwan Agriculture Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

<sup>3</sup> Associate Professor, Department of Plant Pathology, Nation Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.