

# 台灣立枯絲核菌抑菌土壤之篩選

莊再揚<sup>1</sup>、安寶貞<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> 國立台灣大學植物病理與微生物系。台北市。

<sup>2</sup> 農業試驗所植物病理組。台中霧峰。

<sup>3</sup> 聯絡作者，Email: pjann@tari.gov.tw; pjann5039@gamil.com，傳真：04-23302308。

## 摘要

莊再揚、安寶貞。2021。台灣立枯絲核菌抑菌土壤之篩選。植物醫學63(1): 9-12。

由台灣14個縣市採集331個耕作田土壤，經測試後，只有10個土壤樣品為*Rhizoctonia solani* AG-4之抑菌土，僅佔3%，其中3樣品採自雲林的虎尾與斗南，2個採自屏東九如，2個採自花蓮鶴岡，3個採自台東市附近。而供試的10個森林土壤，則有3個為抑菌土，佔30%。將6個不同抑菌性土壤作接種試驗，其中2個抑菌土與2個半抑菌土均能降低蘿蔔幼苗立枯病。選取抑菌性不同的62個土壤樣品，測定pH值、有機質含量及土壤質地，經統計分析後，發現這些土壤理化性質與抑菌性無關。抑菌土對不同菌絲融合群AG-1、AG-2、AG-3及AG-4菌絲生長的抑制能力亦不一致。抑菌土對其他5種真菌與1種卵菌（包括*Alternaria alternata*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Bipolaris maydis*, *Phytophthora capsici* 及 *Sclerotium rolfsii*）的抑制能力亦不同。

關鍵詞：立枯絲核菌、立枯病、抑菌土、生物防治

## 緒言

立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani* Kuhn) 為我國重要之土壤病原菌，寄主範圍廣泛<sup>(14)</sup>。一般土壤病害以藥劑防治為主，但農藥污染問題甚受關切，因此非化學農藥的防治方法便甚受重視，其中包括生物防治。生物防治涵括範圍甚廣，抑病土壤 (disease-suppressive soil) 之利用亦為其中之一。Tousoun<sup>(13)</sup>曾討論抑病土在植物病害防治的利用價值。Baker & Cook<sup>(2)</sup>進一步將抑病土壤分為三類，其機制可能為生物性<sup>(4, 5, 9, 10)</sup>、非生物性<sup>(12)</sup>及生物性與非生物性之混合<sup>(7)</sup>。Kobayashi & Ko<sup>(8)</sup>利用土壤平板法<sup>(6)</sup>調查夏威夷土壤，發現14%的土壤對立枯絲核菌的菌絲生長具有抑制作用，而抑病土壤 (pathogen-suppressive soil) 中

有40%為抑病土。又不同來源的菌系融合群對拮抗微生物的感受性亦不同<sup>(3, 11)</sup>，此表示不同菌絲融合群對某一菌絲融合群的抑病土之反應亦可能不同。在台灣，立枯絲核菌可危害多種作物，但有關其抑病土的研究卻沒有，本研究報告之目的乃調查本菌抑病土是否存在。另外探討不同菌絲融合群的菌株對抑病土的反應是否相同。

由台北、桃園、台中、彰化、南投、雲林、嘉義、台南、高雄、屏東、宜蘭、花蓮及台東等13縣市的耕作地採集土壤，深度0-15 cm，共計331土壤樣本。地上部作物相則包括水稻、雜作、蔬菜、果樹及花卉等52種作物及當時未種植地。土壤採集後，經2 mm篩網過篩，調節為約65%田間含水量，置於塑膠袋中一星期後，製成土壤平板供試。在24°C無光照環境下，將*R. solani* AG-4 菌株（分離自蘿蔔，菌株代號AG-4-1）培養在10% V-8 培養基 2 天後，移植菌塊（長寬約0.5 cm）至 50% V-8 蔬菜汁 (juice)(pH 6) 中，在24°C 無光照環境下培養5天，倒掉培養液，以無菌水淋洗菌絲二次，加入無菌水，繼續培養10-14天。將菌絲以均質機7500 rpm/3 min打碎，再以三層篩網(140-, 125-, 80- um) 過濾，所得濾液經7700g離心10 min，倒掉上層液，沈澱物以蒸餾水震盪混合，即為厚膜孢子 (monilioid cell) 懸浮液<sup>(1)</sup>。將厚膜孢子懸浮液等體積混合20% V-8 蔬菜汁 (pH 6) 10 min，以克服土壤靜菌作用。取2滴厚膜孢子懸浮液置於土壤平板表面，在24°C濕室環境下培養6小時，經rose bengal 染色 (1% rose Bengal, 5% phenol及0.01% CaCl<sub>2</sub>) 10 min，再經褪色液 (5.5N NaOH + 0.5N NaCl) 褪色後，在顯微鏡下計算厚膜孢子發芽率，每土壤平板計算100個孢子，每土壤樣品二平板，以厚膜孢子發芽率低於50%者、發芽率51-80%者與高於80%者分別視為抑菌土、半抑菌土 (pathogen-semi suppressive soil) 與導菌土 (pathogen-conducive soil)。結果絕大部份的土壤無法抑制*R. solani* AG-4-1 厚膜孢子的發芽，發芽率達80%以上者佔66.5%，只有10個土壤為抑菌土，僅佔3% (表一)。這10個土壤中，有3樣品採自雲林的虎尾與斗南，2個採自屏東九如，2個採自花蓮鶴岡，3個採自台東市附近。儘管供試耕地土壤之抑

## 10 J. Plant Med.

表一、立枯絲核菌*Rhizoctonia solani* AG-4厚膜孢子 (monilioid cells) 在台灣耕作土壤平板上之發芽率

**TABLE 1.** Summary of germination of monilioid cells of *Rhizoctonia solani* AG-4 on Taiwan cultivated soils

Germination (%) <sup>1</sup>	Number of soil
11-20	1 (0.3%)
21-30	1 (0.3%)
31-40	5 (1.5%)
41-50	3 (0.9%)
51-60	15 (4.5%)
61-70	26 (7.9%)
71-80	60 (18.1%)
81-90	146 (44.1%)
91-100	74 (22.4%)
Total	331 (100%)

<sup>1</sup> Germination rates of monilioid cell of *R. solani* on the soil surface.

表二、立枯絲核菌*Rhizoctonia solani* AG-4厚膜孢子 (monilioid cells) 在台灣森林土壤平板上之發芽率

**TABLE 2.** Germination of monilioid cells of *Rhizoctonia solani* AG-4 on forest soil

Location of soil sample	Germination (%) <sup>1</sup>
Lanhawchu-1 (Natural forest)	39.8
Lanhawchu-2 (Natural forest)	42.3
Lanhawchu-3 (Natural forest)	49.7
Tungpu-1 (Natural forest)	52.9
Tungpu-2 (Natural forest)	67.2
Tungpu-3 (Natural forest)	54.0
Hosau-1 (Nursery)	75.4
Hosau-2 (Nursery)	80.0
Hosau-3 (Nursery)	67.3
Hosau-4 (Natural forest)	59.0

<sup>1</sup> Germination of monilioid cell of *R. solani* on the soil surface.

菌土比例很低，但森林土壤卻不同，其抑制厚膜孢子發芽的比例卻相當高（表二），在10個供試的森林土壤中，就有3個土壤的厚膜孢子發芽率低於50%，佔30%。而且與耕作土壤比較，厚膜孢子在森林土壤之發芽率均偏低。

選取2個抑菌土（#322, #327），3個半抑菌土（#304, #307, #412）及1個導菌土（#23）共7個土壤，與0.5%的接種源〔將菌株AG-4-1接種於剝碎馬鈴薯土壤混合培養基中（馬鈴薯：土壤=1:4）培養7天，並經710與105 μm濾網過濾，停留在105 μm篩網上的即為接種源〕混合後，再接種蘿蔔種子，每盆10粒種子，共3盆，試驗重複一次，經7天後，顯示2個抑菌土與2個半抑菌土（#304, #307）均能降低立枯病的發病率（表三），發病率平均在20-32%之間，可視為抑菌土 (disease-suppressive

表三、蘿蔔幼苗種植在添加5% 立枯絲核菌*Rhizoctonia solani* AG-4剝碎馬鈴薯接種源之抑菌土壤、半抑菌土壤及導菌土壤，感染猝倒病之發病率

**TABLE 3.** Damping off of radish seedlings planted in soils infested with 0.5% chopped potato inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-4

Code of soil sample	Pathogen germination <sup>1</sup> (%)	Disease incidence (%)
#23	90.5	60.0 a <sup>2</sup>
#304	57.7	32.2 b
#307	65.6	32.2 b
#322	11.8	20.0 b
#327	37.8	25.6 b
#412	67.9	60.0 a

<sup>1</sup> Germination of monilioid cell of *R. solani* on the soil surface.

<sup>2</sup> Means within the column followed by the same letters are not significantly different at P=0.05.

表四、四個台灣立枯絲核菌*Rhizoctonia solani* AG-4抑病土壤 (disease-suppressive soil) 的理化特性

**TABLE 4.** Physi-chemical properties of soils suppressive to *Rhizoctonia* damping-off of radish seedlings

Code of soil sample	pH	Organic matter (%)	Soil texture (%) <sup>1</sup>			soil texture
			Sand	Silt	Clay	
#304	3.7	3.3 a <sup>2</sup>	48.8 d	40.0 a	11.2 a	SL
#307	4.0	12.3 b	6.8 a	65.0 c	28.2 b	SiCL
#322	7.6	5.0 a	26.2 b	49.0 b	24.8 b	L
#327	6.5	4.7 a	34.2 c	41.6 a	24.2 b	L

<sup>1</sup> L:loam; SL:sandy loam; SiCL:silt clay loam.

<sup>2</sup> Means within the column followed by the same letters are not significantly different at P=0.05.

soil)。而#412土壤處理的發病率為60%，與導菌土#23處理的發病率無差異，則視為非抑病土。

探討土壤理化性質與抑菌土之關係，選取厚膜孢子發芽率不同的62個土壤樣品，測定其土壤酸鹼值 (pH)、有機質含量及土壤質地，經統計分析 (p<0.05, LSD test) 後，這些土壤理化特性均與土壤之抑菌性無顯著相關，而4個已知抑病土的理化性質差異抑很大（表四），其pH值由3.7至7.6，有機質含量在3.3%-12.3%之間，土壤則包括壤土、砂土及粉質粘壤土。

探討土壤對其他AG群的的抑菌情形，顯示其他菌絲融合群AG1、AG2及AG3在50% V-8蔬菜汁產生的厚膜孢子很少，且發芽率很低，但在馬鈴薯葡萄糖培養液 (PDB)(Difco) 培養可以產生大量厚膜孢子，但是這些厚膜孢子在V-8蔬菜汁中發芽率都不高，均在34%以下。因此無法以厚膜孢子發芽率來比較不同土壤之抑菌性，故改採用菌絲在土壤表面生長速率來比較。不同菌絲融合群在土表經培養2天後，其生長速率並不一致（表五），#72的土樣為抑菌土，能極顯著抑制4個AGs菌的菌

表五、*Rhizoctonia solani*不同菌絲融合群在土壤平板表面生長2天之長度

**TABLE 5.** Mycelial growth of different anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* on soil surface 2 days after inoculation

Code of soil sample	Mycelial growth (mm)			
	AG1	AG2	AG3	AG4
#23	10	14	5	20
#72	2	7	3	10
#322	15	4	10	25
#327	4	7	5	18

表六、*Rhizoctonia solani* 的導菌土與抑菌土對其他真菌與卵菌孢子之發芽抑制情形

**TABLE 6.** Germination of different fungi and oomycetes on soils suppressive or conducive to *Rhizoctonia solani*

Fungus	Propagule type	Germination (%)			
		#23 <sup>1</sup>	#72	#322	#327
<i>Alternaria alternata</i>	Conidium	85.6	54.9	90.4	90.0
<i>Curvularia lunata</i>	Conidium	30.8	57.5	18.4	40.5
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	Macroconidium	82.6	33.5	60.7	67.5
<i>Bipolaris maydis</i>	Conidium	18.8	94.5	14.4	15.2
<i>Phytophthora capsici</i>	Sporangium	95.5	3.5	91.0	89.0
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Sclerotium	6.7	83.4	9.7	0.0

<sup>1</sup> Soil sample #23 is conducive soil ; #72, #322 and #327 are suppressive soil.

絲生長，#327的土樣次之，但#322的土樣除了對AG2有抑制作用外，對另外三個AGs之抑制情形很差，與#23導菌土類似。

探討四種供試土壤（含一種導菌土#23與三種抑菌土#72、#322及#327）對5種真菌及1種卵菌（*Alternaria alternata* (Franch) Keissler, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Fusarium oxysporum* Schltdl. f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder and Hansen, *Bipolaris maydis* (Y. Nisik & C. Miyake) Shoemaker, *Phytophthora capsici* Leonion及*Sclerotium rolfsii* Sacc.) 孢子發芽的抑制能力，結果差異很大（表六）。其中#72抑菌土壤與其他三種土壤對真菌的抑制情形恰好相反，而抑菌土#327與導菌土#23卻有相同的抑菌範圍。抑菌土#322亦大致相同，但對*C. lunata*之抑制能力較#23與#327土壤為強。

在331個供試的耕地土壤中，僅有10個土壤對立枯絲核菌有抑制性（佔3.0%）（表一），其頻率遠低於夏威夷土壤的調查結果14%（8），顯示不同地區土壤、氣候及耕作制度下，病原菌之活性顯著不同。台灣天然林土壤對病原菌之抑制性比開發為苗圃者為強（表二），可能與天然林土壤之理化特性與微生物相較複雜有關，而且維持動態平衡，因而對病菌具較強的抑制作用，一旦開發為苗圃，則此種動態平衡遭到破壞，降低其

抑制作用。以此類推，耕作土壤的動態平衡受破壞最為嚴重，因此本試驗中，僅有少數耕作土壤對病原菌具抑制性。至於動態平衡遭到破壞則需進一步探討。

本試驗的四個抑菌土與半抑菌土（#322, #327, #304, #307）的酸鹼值在3.7-7.6之間，差異很大。又這些抑菌土壤之有機質含量與土壤質地差異亦很大（表四），可能各抑菌土壤之抑菌機制不盡相同，需要進一步深入探討。土壤抑菌性對*R. solani*不同融合群之差異有時很大，雖然#72抑菌土可有效抑制4個AGs的菌絲生長，但#322與#327抑菌土的結果卻不一樣（表五），可能與不同菌絲融合群的生理差異與營養需求不同有關，例如除AG4外，AG1、AG2及AG3在50% V-8蔬菜汁產生的厚膜孢子很少，且發芽率很低，其原因亦需要深入研究。Wiseman 等人<sup>(15)</sup>曾探討澳洲小麥"barepatch"病害的抑病土，發現高壓滅菌後的抑病土會失去抑病力，但在加入10% 抑病土後又會恢復其抑病性，顯示抑菌機制與生物因子有關。本試驗的各抑菌土亦可深入研究，探討其抑菌機制是否與生物性有關。

## 引用文獻

1. Aragaki, M., Yahata, P. S. and Uchida, J. Y. 1985. Monilioid cell propagules in *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 75:1363 (Abstract).
2. Baker, K. T., and Cook, R. J. 1974. *Biological Control of Plant Pathogens*. W. H. Freeman, San Francisco, 433pp.
3. Baker, K. T., Flentje, N. T., Olsen, C. M., and Stretton, H. M. 1967. Effect of antagonists on growth and survival of *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 57:591-597.
4. Chet, I. and Baker, R. 1980. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology* 70:994-998.
5. Henis, Y., Ghaffar, A. and Baker, R. 1978. Integrated control of *Rhizoctonia solani* damping-off of radish: Effect of successive planting, PCNB and *Trichoderma harzianum* on pathogen and disease. *Phytopathology* 69:1164-1169.
6. Ho, W. C. and Ko, W. H. 1980. A simple medium for selective isolation and enumeration of soil actinomycetes. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan*. 46:634-638.
7. Kao, C. W. and Ko, W. H. 1986. Suppression of *Pythium splendens* in a Hawaiian soil by calcium and microorganisms. *Phytopathology* 76:215-220.
8. Kobayashi, N. and Ko, W. H. 1985. Nature of suppression of *Rhizoctonia solani* in Hawaii soils. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 84:691-694.
9. Locke, J. C. and Lumsden, R. D. 1985. Use of *Gliocladium virens* for control of *Rhizoctonia solani* on snapdragon,

## 12 J. Plant Med.

- chrysanthemum, and poinsettia crops in the greenhouse. *Phytopathology* 75(11):1307 (Abstract).
10. Liu, S. D. and Baker, R. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70:404-412.
  11. Olsen, C. M., Flentje, N. T. and Baker, K. F. 1967. Comparative survival of monobasidial cultures of *Thanatephorus cucumeris* in soil. *Phytopathology* 58:79-87.
  12. Stover, R. H. 1962. Fusarial Wilt (Panama diseases) of Banana and Other *Musa* Species. Comm. Mycol. Inst. Kew Survey. 117pp.
  13. Toussoun, T. A. 1975. Fusarium-suppressive soils. Pages 141-151. in *Biology and Control of Soil-borne Plant Pathogen* (Bruehl, G. W. ed.). Ann. Phytopath. Soc., St. Paul. Minnesota. 216pp.
  14. Tu, C. C. and Chang, Y. C. 1983. A review on the research of plant pathogenic *Rhizoctonia* in recent years in Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 25:213-229. (in Chinese with English abstract)
  15. Wiseman, M. B., Neate, S. M., Keller, K. O. and Smith, S. E. 1996. Suppression of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 8 in Australia and its biological nature. *Soil Biol. Biochem.* 28:721-732.

of six species of fungi and oomycetes on the tested soil, including *Alternaria alternata*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, *Bipolaris maydis*, *Phytophthora capsici* and *Sclerotium rolfsii*, the inhibitory spectrums of suppressive soils were also different.

**Keywords:** *Rhizoctonia solani*, damping-off, suppressive soil, biocontrol

## ABSTRACT

Chuang, T. Y. and Ann, P. J.\*. 2021. Study on the soil suppressive to *Rhizoctonia solani* in Taiwan. *J. Plant Med.* 63(1): 9-12.

\*Corresponding author, E-mail: pjann@tari.gov.tw

Among 331 cultivated soils collected from 14 countries of Taiwan, only 10 soil samples were defined as being suppressive to *Rhizoctonia solani* AG4 when the germination of monilioid cells was less than 50%. Three of these suppressive soils were collected from central part of Taiwan, two from southern Taiwan, and the other five from eastern Taiwan. Among 10 forest soils tested, three soil samples were suppressive to the pathogen. When six soils with different germination rate were selected to mix with 0.5% chopped potato-soil inoculum as infested soils, two pathogen-suppressive soils and 2 out of 3 semi-suppressive soil were also suppressive to the damping-off of radish seedlings caused by the pathogen AG-4. Based on the data of soil analysis among 62 soil samples, soil pH, organic matter content and soil texture were not correlated to the germination of monilioid cells statistically. Mycelial growth of different anastomosis groups (AG-1, AG-2, AG-3 and AG-4) varied in different suppressive soils. In the spore germination test