

土壤因子與拮抗菌對百合根腐病菌 (*Rhizoctonia solani*) 存活的影響

吳文希^{1,2} 鍾宜穎¹ 林美圻¹

1. 國立台灣大學植物病理學系

2. 聯絡作者: hoganwu@ccms.ntu.edu.tw; 傳真: 23660148

接受日期: 中華民國 89 年 9 月 10 日

摘要

吳文希、鍾宜穎、林美圻, 2000. 土壤因子與拮抗菌對百合根腐病菌 (*Rhizoctonia solani*) 的存活影響. 植病會刊 9:123-130.

立枯絲核菌係造成百合根腐病的主因之一, 當將纏據於無菌百合組織上的本菌, 置於壤土的不同生態條件下, 即 -1.37、-0.51、-0.23 及 -0.12 bar 之水份潛勢, 20、25、30 及 35 的土壤溫度, 及 5、10、20 及 30 公分的土壤深度中; 其中水份潛勢及時間顯著地影響立枯絲核菌之存活, 水份潛勢愈小, 時間越久, 病原的存活率愈少。當壤土中添加 *Bacillus megaterium* 18 或 S26, 24 ~ 40 天之後, 土中之微生物活性增加, 因而立枯絲核菌的族群減少; 當壤土中的水份潛勢為 -1.37 bar 或溫度為 35 時, 在其中添加拮抗細菌可有效地降低病原族群, 尤其是添加量為 10^{10} cfu/g 土壤時, 效果更形明顯。 *B. megaterium* 18 或 S26 並不會影響或抑制百合在壤土中之生長, 當壤土的水份潛勢為 -0.51 bar 時, 以 *B. megaterium* 18 或 S26 處理百合, 可顯著地 ($p=0.05$) 抑制立枯絲核菌對百合的侵害。

關鍵詞: 百合、立枯絲核菌、生態因子、*Bacillus megaterium*

緒言

百合根腐病是一種可由多種不同病原所引起之病害³⁾, 其中立枯絲核菌 (*Rhizoctonia solani*) 是最易被分離到, 且分佈最為廣泛的土媒病原⁽¹⁾。百合, 尤其是東方百合, 在本省的栽培面積逐年增加, 此乃本省民眾喜愛其花色、花姿及花香之故, 然不論栽培百合是為生產切花或種球, 百合的生長和立枯絲核菌一樣, 均會受到環境中生物及非生物因子之影響; 如何選擇適合百合栽培, 但又不適合立枯絲核菌感染百合的環境, 是擬有效實施有機農法時, 最先應探討的課題; 同時相關的生態因子是否會影響有效拮抗菌之活性, 及防治效果, 也需釐清, 俾使有機農法效果更形彰顯。是故本研究乃探討土壤水份潛勢、溫度、土壤深度, 及拮抗菌在壤土中對病原存活的影響, 病原及拮抗菌在不同土壤水份潛勢下對百合生長的影響, 以及拮抗菌在不同土壤水份潛勢下, 防治立枯絲核菌的功效分析。

材料與方法

取樣土壤質地與水份潛勢之測定

將田間取來的土壤稱取相當於乾重 50 g 之土壤置於 600 ml 的燒杯中, 加入 200 ml 蒸餾水充分攪拌之, 約 10 ~ 20 分鐘後, 以洗瓶將土壤懸濁液洗入金屬攪拌杯中, 並加入

10 ml 之 5% 偏磷酸鈉溶液, 攪拌 10 分鐘, 將懸濁液洗入 1000 ml 玻璃量筒內, 並加蒸餾水至 1000 ml, 依鮑氏比重計法 (Bouyoucos hydrometer method) 測定土壤質地⁽⁸⁾。

根據砂粒、粉粒及黏粒三者之百分比, 比照美國農部 (USDA) 之土壤質地分類三角形予以命名, 以求得田間土壤之質地類別。

供試土壤之水分潛勢之測定, 係根據 Pressure plate method⁽⁵⁾, 利用 pressure membrane extractor (Soil Moist Equipment Comp.) 測量田間土壤在不同張力 (單位: bar) 下, 土壤所保持之水分含量。即先測得飽和水量, 再測定特定壓力下之土壤水份含量, 代入 Campbell 方程式, 利用 excel 做乘冪迴歸, 並作出土壤特性曲線圖。

土壤水份潛勢、溫度和深度對立枯絲核菌存活之影響

先將百合的莖切成 0.5 公分大小之片段, 放入三角瓶中, 以高溫高壓殺菌釜 (autoclave) 滅菌 15 分鐘, 再將培養於馬鈴薯葡萄糖瓊脂平板上四天的立枯絲核菌, 以直徑 6 mm 之打孔器切取菌絲塊, 取兩塊菌絲塊放入前述三角瓶中培養 20 天, 將 1000 塊已被立枯絲核菌完全纏據之百合莖段自瓶中取出, 並以尼龍網包住, 每個尼龍網裝四個莖段, 而後以線捆住網口備用。

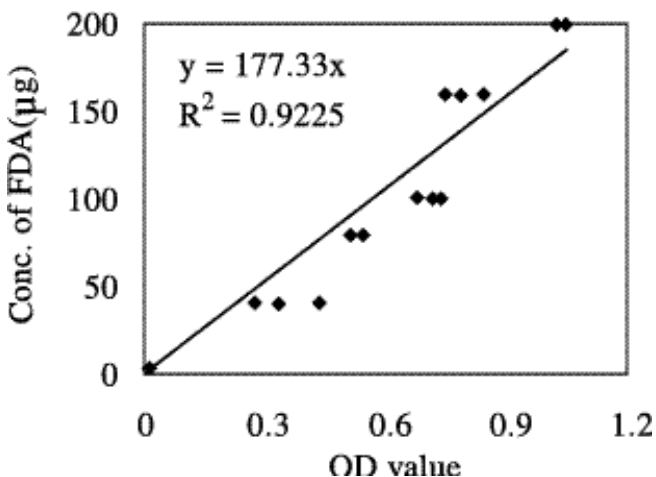
將田間取來的土壤風乾後, 加水調配水份潛勢, 分別

成 -1.37、-0.51、-0.23 及 -0.12 bar，再分別裝於深 40 公分，直徑 11.5 公分的圓形金屬桶中，將上述包有莖段之尼龍網，分置於前述桶內，置於深度 5、10、20 和 30 cm 處，每處深度放 15 個尼龍網袋。將處理好之金屬桶置於 20、25、30 和 35 的恆溫培養箱中，之後每隔 10 天自各種不同水份潛勢、深度和溫度處理處，取出 3 個尼龍網，共取五次。

任意取出尼龍網袋內四片百合莖段，切成 12 小塊，均勻放在水瓊脂平板上，共三重複，之後置於 28 恆溫培養箱中培養 2 天，觀察百合的組織上立枯絲核菌之生長情形。

土壤微生物活性之測定

以 fluorescein diacetate (FDA) 被水解後的呈色程度，測定土壤總微生物的活性⁽⁹⁾，首先以 0、40、80、100 和 200 μg 的 FDA 製成標準曲線；然後再測栽培介質中的總微生物水解 FDA 的程度，與標準曲線 ($y = 177.33x$, $R^2 = 0.9225$) (圖一) 比對後得知微生物活性。



圖一、不同濃度 fluorescein diacetate (FDA) 水解後在 500 nm 光波下之標準曲線。

Fig. 1. Standard curve of hydrolyzed fluorescein diacetate at various concentrations under 500 nm light.

添加拮抗微生物對立枯絲核菌存活之影響

將 *Bacillus megaterium* 18 與 S26 兩株拮抗菌培養在馬鈴薯葡萄糖瓊脂平板上，三天後，再以無菌蒸餾水將平板上之細菌洗出，置於燒杯中，再調配細菌懸浮液之濃度至 10^6 CFU/ml, 10^8 CFU/ml 及 10^{10} CFU/ml，分別倒入風乾土壤內，調配水份潛勢至 -0.12 bar，裝於深 7.5 公分，直徑 9.5 公分的圓形玻璃罐中，將上述包有百合莖段之 15 個尼龍網袋放在罐內深度 5 cm 處，每隔 8 天自各處理取

出 3 個尼龍網袋，共取 5 次，試驗重複兩次。

將以同樣方式培養之 *B. megaterium* 18 與 S26 兩株拮抗菌，調配濃度至 10^6 CFU/ml，分別倒入風乾之土壤內，調配水份潛勢成 -1.37 bar，裝於深 40 公分，直徑 11.5 公分的圓形金屬筒中，將上述包有莖段之 15 個尼龍網袋放在筒內深度 30 cm 處，每 8 天自各處理取出 3 個尼龍網袋，共取 5 次，試驗重複兩次。

不同土壤水份潛勢下立枯絲核菌對百合鱗片球生長之影響

將經高溫高壓滅菌的土壤調製成，水份潛勢分別為 -1.37、-0.51、-0.23 和 -0.12 bar (依序之水份含量 (W/W) 為 15, 18.75, 22.5 及 26.25%)。測試時，水份潛勢的固定，為每日加消耗之水份重量。之後將百合鱗片球 (Casablanca) 種植於不同水份潛勢之土壤盆鉢中。土壤共有兩種處理，為不經任何處理之健康對照組，及接種含 5% (V/V) 立枯絲核菌的發病對照組。於 1999 年 12 月 21 日調配各種水份潛勢土壤後即種植，每種處理有四盆 (重複)，每盆種植 4 粒種球，種植後的第二個月記錄百合的出土數、株高、葉片數、鮮重、根數和病害指數。病害指數的區分及計算方式如同前期研究⁽³⁾。

不同土壤水份潛勢下拮抗微生物對百合鱗片球生長之影響

將培養在馬鈴薯葡萄糖瓊脂平板上兩天之拮抗菌 *B. megaterium* #18 與 S26，調配成濃度為 10^9 CFU/ml 之懸浮液；取百合鱗片球 (Casablanca) 浸泡於此濃度之懸浮液中 1 小時，而後將百合鱗片球 (Casablanca) 種植於水份潛勢為 -1.37、-0.51、-0.23 和 -0.12 bar 之土壤盆鉢中。共四種處理，分別為土壤未經任何處理之對照組，接種 3% (V/V) 立枯絲核菌之發病對照組，和種球浸泡 *B. megaterium* #18 和 S26 細菌懸浮液後種植於土壤中的處理組。於 1999 年 12 月 21 日種植，每種處理四盆，每盆種植 4 粒種球，於種植後的第二個月記錄百合的出土數、株高、葉片數、鮮重、根數和病害指數。

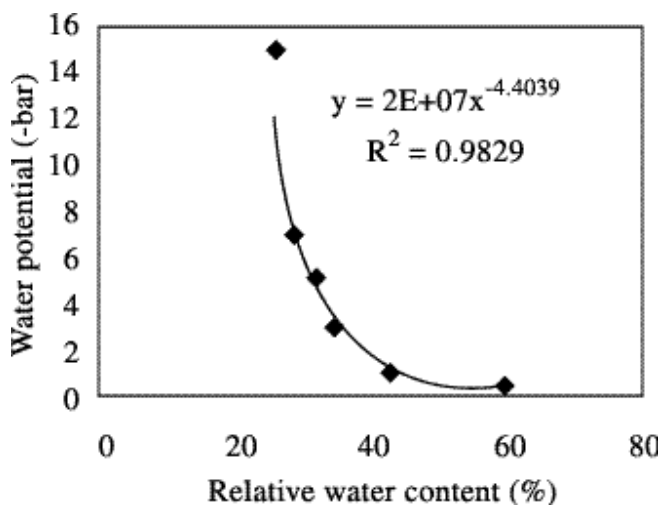
不同土壤水份潛勢下拮抗菌防治百合立枯絲核菌的成效分析，將培養在馬鈴薯葡萄糖瓊脂平板上兩天之拮抗菌 *B. megaterium* #18 與 S26，調配成濃度約為 10^9 CFU/ml，取鐵砲與亞洲型百合雜交 (Longiflorum x Asiatic) 之 (LA) 雜交種百合鱗片球，浸泡於此濃度之細菌懸浮液中 1 小時，而後將百合鱗片球種植於前述四種不同水份潛勢之土壤盆鉢中。共有六種處理，分別為土壤未經任何處理之對照組，接種 3% (V/V) 立枯絲核菌之發病對照組，種球浸泡 *B. megaterium* #18 和 S26 細菌懸浮液後，種植於無病菌土或接種於含 3% (V/V) 立枯絲核菌的處理組。第一次試驗於 2000 年 3 月 9 日種植，每種處理有四盆，每盆種植 4

粒種球，以同樣方式於 2000 年 5 月 4 日進行第二次溫室試驗，兩次試驗皆在種植後的第一、二、三、四週和第二個月，記錄出土數，自第二週後記錄株高和葉片數，二個月後採收種球和洗根，記錄百合的鮮重、根長和病害指數。

結 果

取樣土壤質地之特性與水分潛勢

採收之田間土壤的各粒組含量，砂粒為 44.47%，黏粒為 20.83%，粉粒為 34.7%，依美國農部 (USDA) 之土壤質地分類三角形命名，得知測試之土壤類別為壤土。利用 Pressure plate method 測定在不同之張力 (單位：bar) 下土壤所保持之水分含量，套入 Campbell equation, $h = a \left(\frac{1}{s} \right)^b$ ，利用 excel 做乘幕回歸，獲得 $y = 0.0289X^{-4.4039}$ ， $r^2 = 0.9829$ ，水分特性曲線參數 $a = 0.0289$ 和 $b = 4.4039$ ，並作出土壤特性曲線圖 (圖二)，將使用之土壤水份含量 (W/W) 15、18.75、22.5 和 26.25% 代入公式 $y = 0.0289X^{-4.4039}$ ，得知四種處理之土壤水份潛勢依序分別為 -1.37、-0.51、-0.23 和 -0.12 bar。



圖二、測試壤土之水份特性曲線

Fig. 2. Characterization of soil moisture in tested loam soil. Where h being water potential (bar), s being the water content (%) = original soil weight - weight of dried soil / weight of dried soil, s being the content of saturated water (%) = original soil water + water added / weight of dried soil.

土壤水份潛勢、深度和溫度對立枯絲核菌存活之影響

第一次的試驗，以天數、溫度、土壤水份潛勢和深度當作試驗之四因子，其中天數有五個變級，其餘三因子有四個變級，總共有 320 種處理組合，利用 SAS 電腦程式

進行資料分析所得變方分析 (表一)，天數和水份潛勢對立枯絲核菌之存活有極顯著地 ($P=0.01$) 影響；天數和水份潛勢、天數和溫度間有極顯著地 ($P=0.01$) 交感效應，即兩者間之共同作用對立枯絲核菌的存活有極顯著地 ($P=0.01$) 影響。第二次之試驗，所得變方分析 (表一)，天數和水份潛勢對立枯絲核菌之存活有極顯著地 ($P=0.01$) 影響，天數和水份潛勢、天數和溫度、深度和水份潛勢、深度和溫度間有極顯著地 ($P=0.01$) 交感效應，即兩者間之共同作用對立枯絲核菌的存活有極顯著地 ($P=0.01$) 影響。

由兩次試驗得知天數和水份潛勢兩因子對立枯絲核菌在百合莖段上存活之影響最大，且兩者互有交感作用存在，當土壤水份潛勢越大，則立枯絲核菌存活愈久，當莖段埋於土中的時間愈久，則立枯絲核菌存活愈少 (表二)，其中時間因子之影響尤其明顯，而土壤深度 5 到 30 公分和溫度 20 到 35 對立枯絲核菌在百合莖段上之存活並無顯著性地 ($P=0.05$) 影響。

添加拮抗微生物對立枯絲核菌存活之影響

將每隔八天 (處理後第 8、16、24、32、40 天) 取出之土壤樣品，測定吸光值，代入公式和立枯絲核菌之存活百分率互相比較。添加不同濃度之兩種拮抗菌於土壤中，並放置百合莖段於兩種環境下，一為 30、-0.12 bar、5 cm，另為 35、-1.37 bar、30 cm，土壤內微生物水解 FDA 之能力，即微生物的活性，皆在第 8 天到第 16 天時有下降趨勢，但第 24 天以後即明顯地上升，在第 40 天時微生物活性最高，相對地立枯絲核菌之存活則與日漸減。分別比較這兩種環境下的微生物活性，在溫度 30，土壤水份潛勢 -0.12 bar 下的微生物活性較溫度 35，土壤水份潛勢 -1.37 bar 為大，且各處理間差異較大，以添加拮抗菌濃度達 10^{10} CFU/ml 的處理，其中之土壤微生物活性最大，立枯絲核菌之存活率亦低，未加拮抗菌之處理土中，立枯絲核菌之存活率較高。而在溫度 35，土壤水份潛勢為 -1.37 bar 之環境下，各處理間之微生物活性較無明顯差異，和立枯絲核菌之存活率亦無明顯之相關性，但未加拮抗菌之處理土，立枯絲核菌之存活率明顯地 ($P=0.05$) 較添加拮抗菌者為高。

不同土壤水份潛勢下立枯絲核菌對百合鱗片球生長之影響

將百合鱗片球 (Casablanca) 種植於水份潛勢為 -1.37、-0.51、-0.23 和 -0.12 bar 之土壤盆鉢中，在出土率、株高和病害指數方面，以種植於 -0.51 bar 的健康對照組百合為最佳 (表三)，但各個健康對照組間除在 -0.51 bar 下的株高顯著地比在 -0.23 bar 者高外，其餘，並無顯著性 ($P=0.05$) 差異，而在鮮重和新根數方面，種植於 -0.51 bar 的百合明顯地 ($P=0.05$) 較種植於 -0.12 bar 的百合為佳。而種植於含 3% (V/V) 立枯絲核菌之發病對照組，則以生

表一、不同環境因子(天數、溫度、土壤深度與水份潛勢)對立枯絲核菌於百合莖段上殘存之影響分析^{1,2}Table 1. Analysis of four factors (time, temperature, soil depth, soil water potential) on the survival of *Rhizoctonia solani* in stem debris of lily^{1,2}.

Factors	DF		Mean square		F value		Pr (F)	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Time (days)	4	4	1433.991016	561.801328	494.95** ³	208.89**	0.0001	0.0001
Soil depth	3	3	1.361198	4.162781	0.47	1.55	0.7036	0.2100
Soil water potential	3	3	69.915365	71.852865	24.13**	26.72**	0.0001	0.0001
Soil temperature	3	3	0.748698	3.066031	0.26	1.14	0.8553	0.3417
Time × depth	12	12	1.070182	1.829161	0.37	0.68	0.9729	0.7807
Time × water potential	12	12	40.319661	18.205807	13.92**	6.77**	0.0001	0.0001
Time × temperature	12	12	7.376953	6.443245	2.55**	2.40**	0.0037	0.0073
Depth × water potential	9	9	1.405642	10.469642	0.49	3.89**	0.8836	0.0002
Depth × temperature	9	9	3.044531	6.297920	1.05	2.34*	0.4009	0.0173
Water potential × temperature	9	9	2.893142	3.647115	1.00	1.36	0.4423	0.2213
Temperature × depth × water	36	27	1.823828	3.131196	0.63	1.16	0.9506	0.3903

¹. Analysis of variances by means of SAS computer system.². The factor of days consisted of 5 levels (i.e. 10,20,30,40,50 days), Four levels were arranged for soil depth (5, 10, 20, 30 cm), water potential (i.e. -1.37, -0.51, -0.23, -0.12 bar), and temperature (i.e. 20, 25, 30, 35 °C). Totally, 320 data were analysed.³. ** significantly at $P=0.01$, * at $P=0.05$.⁴. I: the first test; II: 2 nd test.表二、立枯絲核菌在不同土壤水份潛勢下之存活之總數¹Table 2. Effect of soil water potentials on survivability of *Rhizoctonia solani* on lily stem in soil

Days	No. of propagules of <i>R. solani</i> under different water potential									
	-1.37 bar		-0.51 bar		-0.23 bar		-0.12 bar		Sum	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
10	185.52	104.3	178.5	143.6	172.0	140.0	158.5	117.0	694.5	504.9
20	152.5	29.9	148.5	39.5	163.0	48.1	152.0	92.6	616.0	210.1
30	44.5	7.8	43.0	20.3	73.0	31.4	158.0	72.5	318.5	132.0
40	0.0	3.3	2.0	21.0	8.5	15.8	44.0	50.5	54.5	90.6
50	0.5	2.3	16.0	5.9	4.0	5.4	30.5	0.3	51.0	13.9
Sum	383.0	147.6	388.0	230.3	420.5	240.7	543.0	332.9	1734.5	951.5

¹. Four pieces of lily tissues were taken out from every treatment. They were cut into 48 small pieces and placed onto water agar under 28 °C for 2 days before examining the presence of *R. solani*. Each treatment consisted of 3 replicates.². Each data was the sum of survived propagules of *R. solani* cultured from 288 infested lily tissues.³. I: the first test; II: 2 nd test.

長於水份潛勢 -0.12 bar 土壤中的百合為最差，病害指數高達 100%，以種植於 -1.37 bar 之百合病害指數為最低，甚至和健康對照組無顯著性地 ($P=0.05$) 差異。

不同土壤水份潛勢下拮抗微生物對百合鱗片球生長之影響

Bacillus megaterium #18 與 S26 施用於百合鱗片球，在土壤水份潛勢為 -1.37 bar 和 -0.51 bar 的處理組，百合的出土數、鮮重、根數和病害指數方面，均和未處理拮抗菌和未接種立枯絲核菌的健康對照組無顯著性 ($P=0.05$) 差異 (表四)，和接種 3% (V/V) 立枯絲核菌之發病對照組呈顯著性 ($P=0.05$) 差異，而在 -0.23 及 -0.12 bar 之兩種土

壤水份潛勢下的百合，其生長情形在各個處理組間並無顯著性 ($P=0.05$) 差異 (數據未發表)。

不同土壤水份潛勢下拮抗菌防治百合立枯絲核病菌的成效分析

將 *B. megaterium* #18 與 S26 施用於百合鱗片球後，種植於含 3% (V/V) 立枯絲核菌之四種水份潛勢土壤中，在土壤水份潛勢為 -1.37 bar 和 -0.51 bar 的處理組，百合的出土率明顯地 ($P=0.05$) 較未處理拮抗菌之對照組為高 (表五)，其中拮抗菌 *B. megaterium* S26 的施用和病害對照組比較，總鮮重呈明顯地 ($P=0.05$) 增加，並且病害指數在 -0.51 bar 時也顯著地 ($P=0.05$) 降低。而另外兩種土壤

表三、在四種不同土壤水份潛勢下立枯絲核菌對百合鱗片球生育影響之分析¹Table 3. Effects of *Rhizoctonia solani* on the development of lily bulblets under four different water potentials.¹

Water potential (bar)	Treatment ²	Emergent rate (%)	Height (cm)	No. of leaves	Fresh wt. (g)	Root length (cm)	Total root number	No. of healthy root	No. of new root	Disease severity (%) ⁴
-1.37 bar	Healthy soil	93.75 ab ³	11.71 ab	4.81 a	2.42 ab	12.31 a	6.63 a	4.44 a	2.00 ab	6.25 de
	Diseased soil	68.75 abc	11.75 ab	4.38 a	3.09 a	11.38 ab	6.00 a	3.44 ab	1.63 bc	25.00 cd
-0.51 bar	HS	100.00 a	14.70 a	5.00 a	2.91 a	9.31 abc	6.31 a	3.63 a	2.69 a	0.00 e
	DS	50.00 c	3.15 cd	1.56 bc	0.98 d	5.50 c	3.44 b	1.25 cd	0.94 c	57.50 b
-0.23 bar	HS	87.50 ab	9.06 b	3.50 ab	1.69 c	7.63 bc	6.56 a	3.50 ab	2.00 a	6.25 de
	DS	62.50 bc	8.13 bc	3.56 ab	1.92 bc	7.56 bc	4.81 ab	2.00 bc	1.63 bc	41.25 bc
-0.12 bar	HS	87.50 ab	11.75 ab	4.44 a	2.07 bc	7.69 bc	5.75 a	3.25 ab	1.50 bc	17.50 de
	DS	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 c	0.00 d	0.00 d	100.00 a

¹. Data were recorded two months after planting bulblets of Casa blanca lily.

². HS: healthy soil; DS: diseased soil, soil infested with 5% (V/V) *R. solani*.

³. Data, mean of 4 replicates (4 bulblets/ replicate), followed by the same letter were not different significantly ($P=0.05$) by Duncan's New Multiple Range Test.

⁴. Disease scale was classified as six categories, i.e. 0: health, 1: 1-25%, 2: 26-50%, 3: 51-75%, 4: 76-100% stem tissues rotted, 5: bulblet rotted completely. Disease severity = (disease category \times no. of plants of the same disease category / 5 \times total tested plants) \times 100%.

表四、兩種不同土壤水份潛勢下，立枯絲核菌和拮抗菌對百合鱗片球生長之影響

Table 4. Effects of *Rhizoctonia solani* or antagonistic bacterium on the development of lily bulblets under 2 kinds of water potential.¹

Water potential (bar)	Treatment ²	Emergent rate (%)	Height (cm)	No. of leaves	Fresh wt. (g)	Root length (cm)	Total root number	No. of healthy root	No. of new root	Disease severity (%) ⁴
-1.37	Healthy soil	83.34 a ³	9.92 a	4.09 a	1.97 a	7.17 ab	2.33 ab	1.75 ab	1.67 a	16.67 b
	Diseased soil	16.67 b	0.50 b	0.50 b	0.23 b	3.33 b	2.00 b	0.50 b	0.33 b	65.00 a
	Bm #18	100.00 a	12.75 a	5.33 a	2.25 a	9.33 a	5.75 a	3.17 a	2.67 a	8.33 b
	Bm S26	83.34 a	10.85 a	4.33 a	2.11 a	10.00 a	4.82 a	2.17 a	1.92 a	16.67 b
-0.51	Healthy soil	100.00 a ⁵	7.67 a	2.49 b	1.38 b	6.67 b	5.08 a	2.50 a	2.17 ab	0.00 b
	Diseased soil	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 c	100.00 a
	Bm #18	100.00 a	17.75 a	6.50 a	2.70 a	10.75 a	5.75 a	2.42 a	1.92 b	0.00 b
	Bm S26	91.67 a	10.09 b	3.92 b	1.73 b	10.92 a	5.50 a	3.25 a	2.92 a	8.33 b

¹. Data were recorded two months after planting bulblets of Casa blanca lily.

². Diseased soil: soil infested with 3% (V/V) *R. solani*; Bm: healthy soil amended with *Bacillus megaterium* #18 or s26.

³. Data, mean of 4 replicates (4 bulblets/ replicate), followed by the same letter in the same water potential were not different significantly ($P=0.05$) by Duncan's New Multiple Range Test.

⁴. Disease scale was classified as six categories, i.e. 0: health, 1: 1-25%, 2: 26-50%, 3: 51-75%, 4: 76-100% stem tissues rotted, 5: bulblet rotted completely. Disease severity = (disease category \times no. of plants of the same disease category / 5 \times total tested plants) \times 100%.

水份潛勢下，百合無出土的情形。

第二次之試驗，在土壤水份潛勢為 -1.37 bar 的處理組，以 *B. megaterium* S26 的施用，在種植後的第一個星期記錄，百合的出土率明顯地 ($P=0.05$) 較未處理拮抗菌之發病對照組為高，之後則無顯著性地差異。在土壤水份潛勢為 -0.51 bar 的處理組，拮抗菌 *B. megaterium* S26 的施用，可明顯地 ($P=0.05$) 降低病害指數，而在另外兩種土壤水份潛勢下，*B. megaterium* #18 與 S26 之施用，和接種立枯絲核菌之發病對照組相比，並無顯著性地 ($P=0.05$) 差異 (數據未發表)。

討 論

立枯絲核菌為土壤棲息菌，具有很強的競爭腐生能力，在無寄主的環境下能在土中存活⁽⁴⁾，土壤中的數種因子如溫度和水分潛勢皆會影響其腐生存活能力^(6,7)。一般而言，立枯絲核菌在水份潛勢高時生長較佳，如纏據在大豆上的立枯絲核菌 AG-4 腐生存活能力在 -2 ~ -15 bars 下最佳，在 -1500 bars 時已喪失其腐生的能力⁽¹³⁾；本試驗中所測試之立枯絲核菌也屬 AG-4，在百合組織上之存活，以 -0.12 bar 的狀況下最好，在 -1.37 bar 時存活情形即不如 -0.12 bar，表示潮濕土壤利於存活，此可能和土壤中其

表五、在-1.37 及-0.51 的土壤水份潛勢下拮抗菌防治立枯絲核菌感染百合鱗片球之功效分析¹Table 5. Effects of antagonistic bacterium to protect lily bulblets from the infection with *Rhizoctonia solani* under the conditions of two soil water potentials.¹

Water potential	Treatment ²	Emergent rate (%)	No. of healthy root	No. of new root	Fresh wt (g)	Disease severity (%)
-1.37	HCK	100.00 a ³	2.50 a	2.44 a	1.62 a	12.50 bc
	DCK	25.00 d	0.63 b	0.63 b	0.34 c	78.75 a
	#18+non-infested soil	93.75 ab	2.38 a	2.38 a	1.62 a	6.25 c
	S26+non-infested soil	56.25 bcd	2.06 a	2.06 a	1.03 b	45.00 ab
	#18+Rs-infested soil	43.75 cd	1.44 ab	1.44 ab	0.94 b	57.50 a
	S26+Rs-infested soil	75.00 abc	1.88 a	1.88 a	1.20 ab	41.25 abc
0.51	HCK	100.00 a	3.75 a	3.50 a	2.70 a	5.00 c
	DCK	37.50 b	1.00 c	1.06 c	0.52 d	81.25 a
	#18+non-infested soil	100.00 a	3.06 a	3.06 ab	1.79 b	7.50 c
	S26+non-infested soil	100.00 a	2.81 ab	2.81 ab	1.68 b	7.50 c
	#18+Rs-infested soil	56.25 b	1.50 bc	1.50 bc	0.97 cd	52.50 b
	S26+Rs-infested soil	56.25 b	2.44 abc	2.44 abc	1.32 bc	48.75 b

¹ Data were recorded two months after planting bulblets of the hybrid of Longiflorum × Asiatic on March 9 of 2000.² HCK: healthy CK, DCK: diseased CK, i.e. bulblets were planted in soil infested with 3% (V/V) *R. solani*. Bulblets were dipped into *Bacillus megaterium* 18 or S26 (10^9 cfu/ml) firstly and then planted into soil infested with or without *R. solani* (3%, V/V).³ Data, mean of 4 replicates (4 bulblets/ replicate), followed by the same letter in the same water potential were not different significantly ($P=0.05$) by Duncan's New Multiple Range Test.⁴ Disease scale was classified as six categories, i.e. 0: health, 1: 1-25%, 2: 26-50%, 3: 51-75%, 4: 76-100% stem tissues rotted, 5: bulblet rotted completely. Disease severity = (disease category × no. of plants of the same disease category / 5 × total tested plants) × 100%.

他微生物活性降低有關。

在不同溫度、水份潛勢和土壤深度下，從每十天回收並測試百合莖段上立枯絲核菌存活的兩次試驗結果得知，接種立枯絲核菌之莖段埋於土中的時間愈久，則病菌存活愈少。其中水份潛勢對該菌在百合莖段上存活之影響最大，當土壤水份潛勢越大，則立枯絲核菌存活愈久。而土壤深度 5 至 30 公分和溫度 20 至 35 對立枯絲核菌在百合莖段上之存活並無顯著性地 ($P=0.05$) 影響。由於台灣地區之溫度大多介於 20 ~ 35 ，對於立枯絲核菌之腐生能力並不造成威脅，因此最好在低於 20 及土壤水份潛勢少於 -0.51 bar 的環境下種植百合，既符合百合之生長習性，自然就較能抵抗立枯絲核菌。立枯絲核菌是一種好氣性真菌，所以一般多存在於土壤表層部位⁽¹⁾；其菌核的活性和數目亦隨著土壤深度的增加而減少⁽¹²⁾；在綠豆莖部潰瘍病 (stem canker) 發病嚴重的田間土壤，分離立枯絲核菌，在 10 公分以內之表土菌量最高，40 公分以上之深土就分不到此病原之存在⁽¹⁰⁾。而本實驗中，土壤深度 5~30 公分對立枯絲核菌之存活沒有影響，但深度與水份潛勢或深度與溫度間存在著交感效應，當深度 5 公分而水分潛勢 -0.12 bar、溫度 30 時，立枯絲核菌存活數目最高，此與其在表土存活數較高之前人研究相符^(10,12)。

Fluorescein diacetate (FDA) 水解作用是一種簡單靈敏又可快速測量土中微生物活性之方法⁽¹⁴⁾，FDA 本身非螢光性物質，但可被微生物產生之多種酵素分解而後產生螢

光，故 FDA 被水解的量和土中微生物活性有直接的相關性，當病原菌 *Pythium ultimum* 生長受強烈抑制時，此土壤 FDA 的水解量亦高⁽⁹⁾。添加不同濃度之兩種拮抗菌 *B. megaterium* #18 和 S26 於土壤中，並放置百合莖段於較適立枯絲核菌存活 (30 ， -0.12 bar, 5 cm) 與較不適立枯絲核菌存活之環境 (35 ， -1.37 bar, 30 cm)，而在這兩種環境下，土壤內微生物水解 FDA 之能力，在第 24 天後明顯地上升，在第 40 天時微生物活性最高，相對地立枯絲核菌之存活則與日漸減，但未加拮抗菌之處理土，立枯絲核菌之存活率明顯地 ($P=0.05$) 較添加拮抗菌者為高，由此實驗可知，添加高濃度 *B. megaterium* #18 和 S26 可增加土中的微生物活性，而立枯絲核菌之存活會明顯的受到微生物活性之抑制，因此在微生物活性較強之土壤中，立枯絲核菌之存活量應會降低。

實際在溫室中測試土壤水份潛勢對百合生長之影響，在出土率、株高和病害指數方面，以種植於 -0.51 bar 的情形下，百合生長最佳，比在 -0.12 bar 的情況下，可顯著地產生多的鮮重和新根數。種植於含 3% (V/V) 立枯絲核菌之土壤中，以水份潛勢 -0.12 bar 土壤中的百合生長最差，病害指數高達 100%，以種植於 -1.37 bar 之百合病害指數為最低，甚至和健康對照組無顯著性地 ($P=0.05$) 差異，可知百合喜歡排水和通氣良好的環境，在過於潮濕和緻密的土壤當中，其生長勢較差；又立枯絲核菌喜存於潮濕的土壤中，當土壤水份潛勢越大，則立枯絲核菌存活愈久，故相

當潮濕的土壤較利於此菌生存而對百合危害較大，是故生產百合時，勢必注意土壤水份潛勢，以避免無謂之損失。

Bacillus megaterium #18 與 S26 的施用，對百合生長的影響，和未處理和未接種立枯絲核菌的健康對照組無顯著性 ($P=0.05$) 差異，可知 *B. megaterium* #18 與 S26 在各種土壤水份潛勢下，皆不會影響百合的生長。另外將 *B. megaterium* #18 與 S26 施用於百合鱗片球，而後種植於含 3% (V/V) 立枯絲核菌之四種水份潛勢的土壤中，生長在土壤水份潛勢為 -1.37 bar 或 -0.51 bar 的百合之出土率，明顯地 ($P=0.05$) 較未處理拮抗菌之發病對照組為高，而 *B. megaterium* S26 的施用，還可明顯地 ($P=0.05$) 增加百合地下部重量和總鮮重，並且降低病害指數，而水份潛勢較大的兩種處理組，則無此種效果產生，可能因為當土壤很潮濕時，已使百合生長勢衰敗至拮抗菌都無法彰顯其功效；而在百合較適合生存的土壤環境下，百合本身的生長較佳，加上拮抗菌的輔助，於是即可明顯表現抑制病害的效果。由此可知，水份潛勢是影響百合生長、立枯絲核菌存活，及拮抗菌活性之一項重要限制因子。

謝 詞

本計畫承蒙國科會 (計畫編號 NSC89-TSC-7-002-004) 及台糖公司經費補助，謹此致謝。

引用文獻

1. 吳文希. 1988. 植物土媒病原學 (立枯絲核菌之性質及防治). 吳文希編著. 國立編輯館出版. 台北. 259pp.
2. 謝廷芳、張義章、杜金池. 1996. 百合苗枯病之發生. 植病會刊 5:80-84.
3. 鍾宜穎、吳文希. 2000. 利用 *Bacillus megaterium* 防治百合 *Rhizoctonia* 根腐病. 植病會刊. 9: 61-70.
4. Blair, I. D. 1943. Behavior of the fungus *Rhizoctonia solani* in the soil. Ann. Appl. Biol. 30: 118-127.
5. Campbell, G. 1974. A simple method for determining unsaturated conductivity from moisture retention data. Soil Sci. 117: 311-314.
6. Doornik, A. W. 1980. Some factors affecting the parasitic and saprophytic activity of *Rhizoctonia solani*. Acta. Hort. 109: 387-394.
7. Elmer, O. H. 1942. Effect of environment on prevalence of soil-borne *Rhizoctonia*. Phytopathology 32: 972-977.
8. Gee, G.W., and Bauder, J.W. 1986. Particle size Analysis. in Methods of Soil Analysis, Physical and Mineralogical Methods-Agron. Monograph no. 9 (2nd ed.) A. Klute ed. P. 383-411. Am. Soc. Agron. Soil Sci., Madison, Wisconsin, USA.
9. Inbar, Y., Boehm, M. J., and Hoitink, H. A. Y. 1991. Hydrolysis of fluorescein diacetate on sphagnum peat container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium utimum*. Soil Biol. Biochem. 23(5):479-483.
10. Kaiser, W.J. 1970. *Rhizoctonia* stem canker disease of mungbean (*Phaseolus aureus*) in Iran. Plant Dis. Rep. 54: 246-250.
11. Kannaiyan, S., and Prasad, N. N. 1981. Effect of mechanical composition of soil on the survival of *Rhizoctonia solani*. Sci. Culture 47: 103.
12. Naiki, T., and Ui, T. 1978. Ecological and morphological characteristics of the sclerotia of *Rhizoctonia solani* produced in soil. Soil. Biol. Biochem. 10(6):471-478.
13. Ploetz, R.C. and Mitchell, D.J. 1985. Influence of water potential on the survival and saprophytic activity of *Rhizoctonia solani* AG4 in natural soil. Can.J. Bot. 63: 2364-2368.
14. Schnurer, J., and Rosswall, T. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. Appl. Environ. Microbiol. 43: 1256-1261.

ABSTRACT

Wu, W.S.^{1,2}, Chung, I.Y.¹, and Lin, M.S.¹ 2000. Effect of ecological factors and antagonist on the survival of *Rhizoctonia solani* on lily stem. Plant Pathol. Bull. 9:123-130. (¹ Department of Plant Pathology, National Taiwan University, Taipei, TAIWAN, ROC; ² Corresponding author, E-mail: hoganwu@ccms.ntu.edu.tw, FAX: 02-23660148)

Rhizoctonia solani was one of the most important pathogens to cause root rot of lilies. *Rhizoctonia solani*-colonized lily tissues were used to test the survivability of *R. solani* under various soil conditions. Loam soil was used in this study. Four different water potentials (i.e. -1.37, -0.51, -0.23, and -0.12 bar), temperatures (20, 25, 30 and 35 °C), and soil depths (5, 10, 20 and 30 cm) were the variables. Among them, water potential and time were the critical factors to influence the survivability of *R. solani*. Low soil water potential (< -0.51 bar) and long time periods (> 50 days) decreased the survival rate of the studied pathogen. When soil amended with antagonist *Bacillus megaterium* 18 or S26 for 24-40 days, the activities of soil microbes increased and the population of *R. solani* decreased. When the water potential and temperature of

loam soil were maintain at -1.37 bar and 35 °C, the soil amended with *B. megaterium* #18 or S26 (10^{10} cfu/ g soil, especially) decreased the population of *R. solani* significantly. *Bacillus megaterium* did not affect the growth of lilies adversely. When soil water potential was kept at -1.37 or -0.51 bar, the presence of *B. megaterium* 18 or S26 protected effectively lilies from the infection with *R. solani*.

Key words: lily, *Rhizoctonia solani*, ecological factors, *Bacillus megaterium*.