

莧菜白銹病之感染源與其病勢之進展

李敏郎^{1,2,3} 謝文瑞¹

1 台中市 國立中興大學植物病理學系

2 台中縣霧峰鄉 行政院農委會農業藥物毒物試驗所

3 連絡作者：電子郵件 mllee@tactri.gov.tw，傳真：+886-4-23321478

接受日期：中華民國92年5月29日

摘要

李敏郎、謝文瑞, 2003. 莧菜白銹病之感染源與其病勢之進展, 植病會刊 12:163-172.

西元 2001 年與 2002 年的 7 月中至 8 月底間，於西螺蔬菜專業區夏季莧菜連作田，調查由 *Albugo bliti* 引起的莧菜白銹病病勢之進展。試驗期間，溫度為 25-31 °C，相對溼度為 80 - 100%，每天溫度與相對溼度適合游走孢子囊釋放游走孢子的時間分別長達 11 - 14 與 9 - 12 hr。調查結果顯示莧菜植株高度與葉片數生長分別呈現指數 (exponential) 與邏輯 (logistic) 生長模式，其中葉片數與白銹病罹病率呈線性關係 ($R^2 > 0.9$)。莧菜播種前，空氣中無法偵測到莧菜白銹菌之游走孢子囊，惟每公克土壤中游走孢子囊之密度卻介於 220 - 260 個之間。莧菜真葉形成初期，其罹病之子葉與真葉係為田間第二次感染源的主要來源；若依空氣中游走孢子囊密度分析，莧菜 3 - 4 葉期則為大量產生第二次感染源之關鍵期。分析莧菜白銹病病勢進展之時間趨勢，均呈現 S 型非對稱之 Gompertz 生長曲線。莧菜白銹病病斑在植株上主要集中在由上向下數之第 4 - 8 葉位，其累計頻度介於 47 - 75%。以變異數對平均值之比值 (variance-to-mean ratio, VM) 及 Lloyd 氏指數 (Lloyd's index of patchiness, LIP) 分析白銹病於田間之空間分布，發現其於子葉期至一真葉期間歸屬於逢機分布 (VM = 1, LIP = 1)，隨後轉變成均勻分布 (VM = 0.006 - 0.96, LIP = 0.0008 - 0.68)。若以田間植株罹病率資料推估每次調查時所需之最適取樣數 (optimal sample size)，證明在精準度 0.2 - 0.25 且罹病率 10% 狀態下，在播種後 14 天的 3 - 5 葉期植株，至少需調查 300 株，方可確定田間是否發生白銹病。

關鍵詞：莧菜、白銹病、感染源、病勢進展、空間分布、最適取樣數

緒言

莧菜 (*Amaranthus mangostanus* L., edible amaranth) 具有生長快、營養豐富且耐高溫之特性，與莧菜同為國內夏季重要葉菜類之一⁽¹⁾。莧菜在生產過程中，極易遭受到白銹菌 *Albugo bliti* (Biv.) Kuntze 為害⁽²⁾，於葉表形成白色孢囊堆 (sori) 之病徵，此為白銹病或白泡病 (white rust, white blister) 名稱之由來。莧菜白銹病發生嚴重時，導致葉片黃化、脫落，嚴重影響品質與產量，為莧菜生產之主要限制因子。

白銹菌主要藉游走孢子發芽經氣孔侵入寄主組織，溫度^(8,12,21)、溼度、葉面上水膜持續時間長短^(7,25)、植株生長、植株密度⁽²⁸⁾與寄主植物之抗感性品種^(5,23)等均為影響白銹病發生之因子。十字花科蔬菜白銹病 (*A. candida* (Pers.) Kuntze) 之初次感染源已證實為卵孢子^(19,22,27)，然而有關莧菜白銹病之初次感染源，甚至導致田間蔓延猖獗之第二次感染源，其大量產生之關鍵期等相關資料尚付闕

如，因此無法掌握適當之防治時機而導致莧菜白銹病不易防治。

本研究乃針對莧菜植株生長，病原菌初次感染源與第二次感染源之來源及其密度與大量產生之關鍵期，病勢進展之時間趨勢⁽²⁶⁾與空間分布模式加以探討，分析田間初次感染源與第二次感染源產生之關鍵期，以提供莧菜白銹病之適當防治時機，同時依據莧菜白銹病罹病率之田間資料，建立調查田間發病時之最適採樣數 (optimal sample size)^(13,18)。

材料與方法

供試莧菜品種與莧菜白銹病試驗區之規劃

莧菜供試品種為市售之白莧 (*A. mangostanus*) 與紅莧 (*A. mangostanus* L. forma *ruber* Makino, edible red amaranth)，種子先以蒸餾水浸泡 8 hr 後，再進行播種。

2001年7月26日至8月20日、2002年7月22日至8月12日與2002年9月2日至9月23日期間，於西螺蔬菜專業區選擇一塊有機蔬菜連作田做為試驗區，調查莧菜生長與其白銹菌感染源對其病勢進展之影響，試驗區內各播種紅莧及白莧一畦(21.7 m×2.1 m / plot)，每畦分成六小區(3.6 m×2.1 m)。

大氣溫度與相對溼度之測定

由以往試驗已知溫度是影響游走孢子囊釋放游走孢子的主要因子之一⁽³⁾，因此在2001年7-8月與2002年7-8月以溫溼度記錄器(HOBO[®] Pro Series, Onset computer Co.)記錄田間大氣之溫度、露點持續時間與相對溼度資料，設定每15 min記錄一次大氣溫度、露點形成溫度與相對溼度，除分析試驗期間大氣日夜均溫與相對溼度外，也分析每天高於32°C與低於28°C之累計時間，藉此了解試驗期間之大氣溫度、露點持續時間與相對溼度變化情形。

莧菜生長對白銹病病勢進展之影響

莧菜播種後，每隔3天調查植株高度、葉片數、密度與植株覆蓋直徑等，並分析生長速度與白銹病病勢發展之相關性。植株覆蓋直徑則為逢機測量採收前之植株葉片覆蓋之最大範圍直徑，藉此與植株密度相比，分析播種時種子數量是否適當。2001年每區採逢機調查30株植株高度、葉片數與罹病率及罹病程度，並依2001年之調查結果，得知莧菜葉片數與罹病率關係密切，因此進一步於2002年採方塊(quadrat, 0.2 m×0.2 m)抽樣法進行，每小區按對角線抽查五點，分析方塊內之植株葉片數、植株密度與罹病率及罹病程度之關係。以罹病率(disease incidence)及罹病程度(disease severity)做為病勢進展之分析變數，罹病率(%)=(罹病株數)/(調查株數)×100，罹病程度(%)=[(N₀×0 + N₁×1 + N₂×2 + N₃×3) / (N₁×3)]×100，N₀、N₁、N₂、N₃及N_t分別為該株植物葉片受白銹菌感染面積在0、0~1/4、1/4~1/2、>1/2四等級之葉片數及該調查植株之葉片總數^(6,14)。將調查所得之植株高度、葉片數等生長因子與罹病率及罹病程度進行複回歸分析，藉此推估莧菜生長因子中，何者與病害發生之關係最密切，同時分析植株密度與病害發生之關係，並將病勢進展以非線性迴歸方式推估，藉此明瞭莧菜白銹病之時間趨勢與模式。

病勢進展以Prism 3(GraphPad Software, Inc. San Diego, USA, 2002)軟體進行非線性迴歸分析，由於病勢進展均呈現S型非對稱(asymmetrical)之偏右分布(skewed to the right)曲線，不符合Logistic生長模式之S型對稱分布前提，因此以Gompertz生長模式進行分析，其曲線方程式為 $Y = K_{\max} \exp(-B \exp(-r_G X))$ ，其中Y與X分別為罹病率或罹病程度與播種天數，K_{max}、B與r_G則分別為罹病率之最大理論值、第一次病害比率之函數與病害在特定模式

下之增加速率(rate)，exp為罹病率或罹病程度之指數函數^(4,10,17)。

莧菜連作田土壤中莧菜白銹病初次感染源調查

由於初次感染源與病害發生有密切關係，為了解莧菜連作田土壤中初次感染源之密度與分布情形，因此每次田間試驗前，以對角線交叉之五點採樣法採集試驗區內土樣，每點採集500 g土壤攜回試驗室內，每次取樣1 g土壤與1 ml蒸餾水混合均勻，再取0.01 ml土壤懸浮液以0.01% acridine orange⁽¹⁶⁾與0.2% calcofluor white M2R⁽¹¹⁾染色，以螢光顯微鏡觀察並計算土壤中游走孢子囊數量，利用calcofluor white M2R將游走孢子囊染成藍色之特性，可於螢光顯微鏡下快速找到游走孢子囊後，再以acridine orange染色結果判定是否該游走孢子囊仍具活性，若呈現黃綠色螢光，則為仍具活性之游走孢子囊，若無法染成黃綠色，則為已釋放或死亡之游走孢子囊。本試驗共重複10次，計算土壤中游走孢子囊密度，對照組為未種植莧菜之田區土壤。而分布情形則以變異數對平均值比值(variance-to-mean ratio, VM)⁽⁹⁾之分散指數(index of dispersion)及Lloyd氏指數(Lloyd's index of patchiness, LIP)⁽¹⁵⁾分析。 $VM = s^2/\bar{x}$ ，其中s²、 \bar{x} 為取樣之變異數與平均值， $LIP = (\bar{x} + s^2/\bar{x} - 1)/\bar{x}$ ，而 $(\bar{x} + s^2/\bar{x} - 1)$ 稱為平均擁擠指數(mean crowding index)，當VM或LIP<1者屬均勻分布型態，VM或LIP=1者屬逢機分布型態，而VM或LIP>1者屬聚集分布型態。

莧菜白銹病第二次感染源密度調查

為了解白銹病發生期間，第二次感染源大量產生之關鍵期，以建立病害之適當防治時機，於2002年9月2日至9月23日期間，自播種日起以培養皿式空氣孢子採集器(Portable air sampler for agar plates, Burkard Manufacturing Co. Ltd.)收集空氣中游走孢子囊，收集時間為每次調查日期上午10-12點，每次採集時設定2分鐘(10 m³ air/min)收集空氣中游走孢子囊，孢子採集器內之2%水瓊脂平板培養基加入銅快得寧(1000 mg a.i./liter)殺菌劑製成。採樣區分成兩畦，每畦分成三區，每區收集中央位置之空氣中游走孢子囊，共收集六皿樣本。定點蒐集後攜回室內以棉藍染色鏡檢，每皿100個採樣點中，逢機抽樣10點，分析空氣中游走孢子囊密度與病勢進展之關係。

莧菜白銹病於植株上之分布及田間之空間分布

為明瞭莧菜不同葉齡之葉片上之白銹病是否呈現不同罹病情形，於2002年7-8月病害調查期間，記錄植株上每一葉序是否罹病。葉序為植株由上而下計算已展開之真葉，1為第一片已展開之真葉，2為第二片展開真葉，依此類推該植株之葉序。試驗結束後，累計所有葉序上罹病

葉數比率，分析每一葉序上白銹病發病之累計頻度，藉此了解莧菜白銹菌在植株上之垂直分布情形。除白銹病於植株上之垂直分布外，另外以上述 2002 年 7 - 8 月及 9 月兩次田間調查之罹病率資料為依據，以上述變異數對平均值比值 (VM)⁽⁹⁾ 及 Lloyd 氏指數 (LIP)⁽¹⁵⁾ 分析白銹病在田間之空間分布情形。

莧菜白銹病田間調查之最適取樣數分析

為了解莧菜白銹病於田間調查時，應採集多少植株樣本才可獲得正確之罹病率資料，由 2002 年兩次之田間植株罹病率資料，應用最適取樣數 (optimal sample size) 法^(13,18) 分析病害調查時應取之樣本數。最適取樣數法以 $N = (t \times s) / (D \times \bar{x})$ 推算而得最適取樣數 (N)，其中 t 值為 $t_{(\alpha/2, n-1)}$ 分布值，n 為調查之樣本數，n-1 為自由度，s 為莧菜白銹病罹病率之標準偏差 (standard deviation)，D 為精準度，即事前預估之平均值信賴區間，一般採 0.1 - 0.2， \bar{x} 為莧菜白銹病罹病率之算術平均值。本試驗以田間莧菜白銹病發病初期，即播種 14 天後之植株罹病率為分析對象，為方便田間推廣調查，將精準度 D 設為 0.2 及 0.25，而 \bar{x} 設為 1 - 20% 之間，藉此評估調查田間莧菜白銹病發生所需之最適取樣數。

結 果

大氣溫度與相對溼度之測定

2001 與 2002 年之 7 - 8 月試驗期間，田間大氣每日均溫分別介於 26 - 31°C 與 25 - 30°C，日高溫均介於 28 - 38°C，夜低溫介於 24 - 27°C 與 24 - 26°C 之間，相對溼度則分別介於 81 - 98% 與 80 - 100% 之間，露點持續時間分別為 4.6 ± 3.1 hr 與 10.4 ± 4.2 hr (mean \pm standard deviation)，露點持續 1 hr 以上之時間則分別集中在晚上 21:00 點鐘至翌日 06:00 點鐘與上午 12:00 點鐘至翌日上午 08:00 點鐘。2001 與 2002 年試驗期間每天溫度高於 32°C 以上的時間，分別為 6.9 ± 2.8 hr 與 5.3 ± 3.2 hr，低於 28°C 以下者則分別長達 11.1 ± 3.7 hr 與 14.3 ± 3.6 hr，主要在傍晚 16:00 到翌日上午 09:00 之間；相對溼度高於 95% 者，2001 與 2002 年於試驗期間則每天長達 9.1 ± 3.7 hr 與 12.6 ± 3.6 hr，持續 1 hr 以上之主要時段分別在每天的 18:00 到翌日上午 06:00 與 16:00 到翌日上午 09:00 之間。

莧菜生長與白銹病病勢進展之關係

在植株高度方面，2001 年田間調查時，莧菜播種 11 天 1 - 2 葉期之植株高度為 1.8 - 2.0 cm，第 22 天 6 葉期為 6.5 - 8.5 cm，到第 25 天 7 葉期時之高度則達 13.3 - 20.9 cm，顯示莧菜播種後於第 22 - 25 天時之植株高度生長最快，紅莧與白莧植株高度之生長模式屬於指數生長

(exponential growth) 模式，分別為 $Y = 0.028 \exp(0.265X)$ ， $R^2 = 0.98$ 與 $Y = 0.089 \exp(0.199X)$ ， $R^2 = 0.98$ ，其中 Y 與 X 分別代表植株高度與莧菜播種後之生育天數，而 exp 為指數函數 (exponential function) (圖一、A)。

莧菜葉片數方面，在播種後第 11 天時，有 1 - 2 片完全展開之真葉，隨後每隔 2 - 3 天增加 1 片真葉，到第 25 天時，增加到 7 片真葉，紅莧與白莧葉片數生長則為邏輯 (logistic) 之 S 型模式，分別為 $Y = 0.962 + [6.831 / (1 + \exp(6.05 - 0.33X))]$ ， $R^2 = 0.99$ 與 $Y = 0.453 + [7.309 / (1 + \exp(6.01 - 0.35X))]$ ， $R^2 = 1.00$ (圖一、B)。2002 年資料則為莧菜播種後第 7, 14 及 21 天，分別產生 1-2, 2-4, 及 5-10 片真葉 (圖一、F)，類似 2001 年結果。

植株密度於 2002 年調查時，由於苗期曾疏苗一次，因此植株密度略微下降 (圖一、E)，分析採收前之紅莧與白莧植株葉片覆蓋直徑分別為 10.3 與 8.9 cm，換算成每平方公尺可分別生長 189 與 252 株，然而分析實際採收前之植株密度，紅莧與白莧每平方公尺則分別高達 264 與 348 株，明顯偏高 (圖一、E)。以方塊方式調查植株密度與罹病率之關係，不論每平方公尺的植株密度在 200 株以下，或 500 株以上，不論發病初期或末期，不因植株密度不同而罹病率有顯著差距 (圖一、E, H)。

以複回歸分析植株高度、葉數和罹病率之關係，結果顯示莧菜葉數與白銹病罹病率關係密切 ($R^2 = 0.95$, $p < 0.05$)，紅莧與白莧之線性回歸模式分別為 $Y_r = -0.22 + 0.12X$ ， $R^2 = 0.96$ ， $Y_w = -0.25 + 0.20X$ ， $R^2 = 0.94$ ，其中 Y_r 與 Y_w 代表紅莧與白莧白銹病罹病率，X 則為莧菜植株之葉片數 (圖二)。

莧菜白銹病之病勢進展

2001 年紅莧及白莧白銹病於播種第 11 天後之 1 - 2 葉期，子葉與完全展開之真葉受到感染而開始發病 (圖三)，其罹病率分別為 3% 與 7%，罹病程度分別為 0.8% 與 2.3%，第 18 天 4 葉期時，罹病率上升到 19.4% 及 79.4%，罹病程度亦上升到 2.4% 與 8.8%，第 25 天 7 葉期之罹病率則高達 65% 與 100% (圖一、D)，而罹病程度達 10.8% 與 18.6% (圖一、C)。2002 年紅莧及白莧白銹病之發病時間在播種 10 天後之子葉期與 1 葉期之間，罹病率分別為 0 及 0.2%，第 14 天 2 - 3 葉期時則上升到 5.3% 與 3.9%，第 17 天 3 - 4 葉期時則急劇上升到 74.6% 與 23.5%，第 21 天 5 - 6 葉期則達到高峰，分別為 96.0% 與 99.5% (圖一、H)；罹病程度亦呈現類似上升趨勢，在第 14 至 17 天，由 0.6% 及 0.7% 上升到 9.9% 及 1.7%，第 21 天時則達 17.9% 及 17.1% (圖一、G)。

以非線性回歸分析兩年莧菜白銹病之病勢進展，結果顯示 2001 年紅莧與白莧發病曲線為 $Y_r = 0.73 \exp(-1403 \exp(-0.38X))$ 與 $Y_w = 1.02 \exp(-18241 \exp(-0.63X))$ ， Y_r 及 Y_w

為紅莧及白莧白銹病罹病率，X 為播種後之天數(圖一、D)。2002 年紅莧與白莧發病曲線為 $Y_r = 0.97\exp(-179803\exp(-0.79X))$ 與 $Y_w = 7.00\exp(-35.68\exp(-0.14X))$ (圖一、H)。由上述分析，顯示白莧與紅莧白銹病病勢進展之時間趨勢，均為 S 型非對稱之 Gompertz 模式，即播種後至發病初期之遲滯期(lag phase) 與達到完全發病之穩定期(stationary phase) 之間曲線轉變情形並非對稱模式，兩者之間的直線為該曲線之指數增長期(log phase)，整個病勢進展呈現偏右分布情形。指數增長期間之發病率與時間關係，即為白銹病發病趨勢之病害增加速率(r_G)，結果顯示 2001 年白莧與 2002 年紅莧病害增加速率($r_G = 0.63, 0.79$) 分別高於同年度另一莧菜品種之病害增加速率($r_G = 0.38, 0.14$)。

莧菜連作田土壤中之莧菜白銹病初次感染源調查

以 acridine orange 與 calcofluor white M2R 染色種植前之試區土樣，結果顯示 2001 年與 2002 年莧菜種植前之游走孢子囊密度分別為 220 ± 76 與 260 ± 73 sporangia/g soil (mean \pm standard error)，其 VM 分別為 3.8×10^{-4} 與 48.3×10^{-4} ，Lloyd 值分別為 0.995 與 0.996，VM 與 LIP 值均小於 1，顯示土壤中游走孢子囊之分布屬均勻分布。未種植莧菜之田土則無法偵測到白銹菌游走孢子囊。

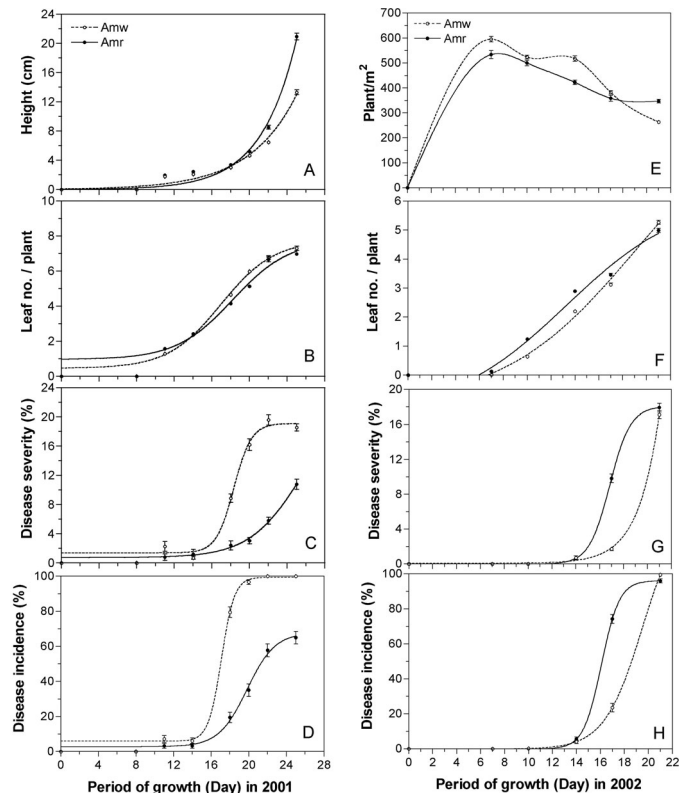
莧菜白銹病第二次感染源之密度調查

莧菜生育期間，以培養皿式空氣孢子採集器(圖四、A, B) 收集空氣中游走孢子囊，分析空氣中游走孢子囊密度與白銹病發生之關係，結果顯示紅莧播種前，空氣中游走孢子囊密度為 0，播種 7 天後子葉與 1 葉期之罹病率與空氣中游走孢子囊密度均為 0，病害在第 10 天 2 葉期左右開始發生，罹病率為 0.1%，但是此時空氣中仍未能收集到游走孢子囊，第 14 天 3 葉期時，罹病率達 11.6%，然而空氣中游走孢子囊密度仍低於 1 sporangium/ m^3 air，第 17 天 4 葉期之罹病率與游走孢子囊密度分別為 16.6% 與 202 sporangia/ m^3 air，此時可在培養基見到大量游走孢子囊(圖四、C, D)，第 21 天 5 葉期時，兩者關係則分別為 77.1% 與 2083 sporangia/ m^3 air(圖五)。

莧菜白銹病於植株上之分布及田間之空間分布

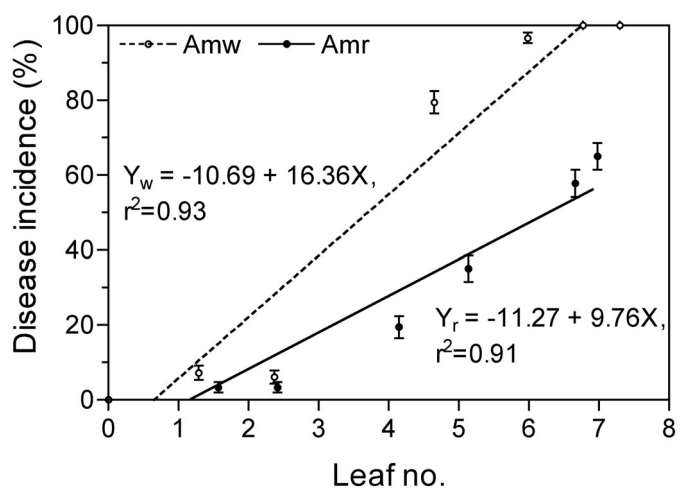
田間莧菜植株葉片，不論葉齡大小均能感染白銹病，以人工接種，亦獲得相同結果。調查田間莧菜植株葉片上之白銹病累計頻度分布，所有葉序均可罹病，主要集中在植株中位葉，葉序 4 - 8 之罹病葉比率介於 46.9-52.8%，葉序 5 - 7 之罹病葉比率最高，介於 71.0 - 72.8%，其中又以葉序 6 之罹病比率最高(圖六)。

分析 2002 年 7 - 8 月及 9 月莧菜白銹病在田間之空間分布，結果顯示播種第 10 - 11 天時之 VM 值為 1，屬逢機



圖一、2001 - 2002 年白莧(Amw) 與紅莧(Amr) 生長勢與白銹病發病曲線。由上而下分別為莧菜高度(A)、植株密(E) 與葉片數(B, F) 及其白銹病之罹病程度(C, G) 與罹病率(D, H)。

Fig. 1. Relationships among growth of *Amaranthus mangostanus* (Amw) and *A. mangostanus* forma *ruber* (Amr), and disease incidence of white rust caused by *Albugo bliti* in 2001 and 2002. Vertical axes were plant height (A), plant density (E), leaf no. / plant (B, F), disease severity (%) (C, G) and disease incidence (%) (D, H) of white rust from top to bottom.



圖二、莧菜葉片數與其白銹病罹病率之關係。Amw 與 Amr 分別代表白莧與紅莧。

Fig. 2. Relationship between leaf number and disease incidence (%) of white rust caused by *Albugo bliti*. Amw and Amr represent *Amaranthus mangostanus* and *A. mangostanus* forma *ruber*, respectively.

分布型態，第 14、17 與 21 天之 VM 值分別介於 0.89 - 0.96、0.26 - 0.84 與 0.004 - 0.23 之間，屬均勻分布型態，而 LIP 分析結果與 VM 法一致，且由 VM 及 LIP 值呈現下降，而趨向 0，顯示白銹病在田間之空間分布上，由發病初期之時機發生迅速地趨於一致 (uniform) (表一)。

莧菜白銹病田間調查之最適取樣數分析

分析田間莧菜白銹病罹病率資料顯示，在發病初期，



圖三、白莧播種 11 天後子葉感染白銹病之葉表(單箭頭)與葉背(雙箭頭)病徵。

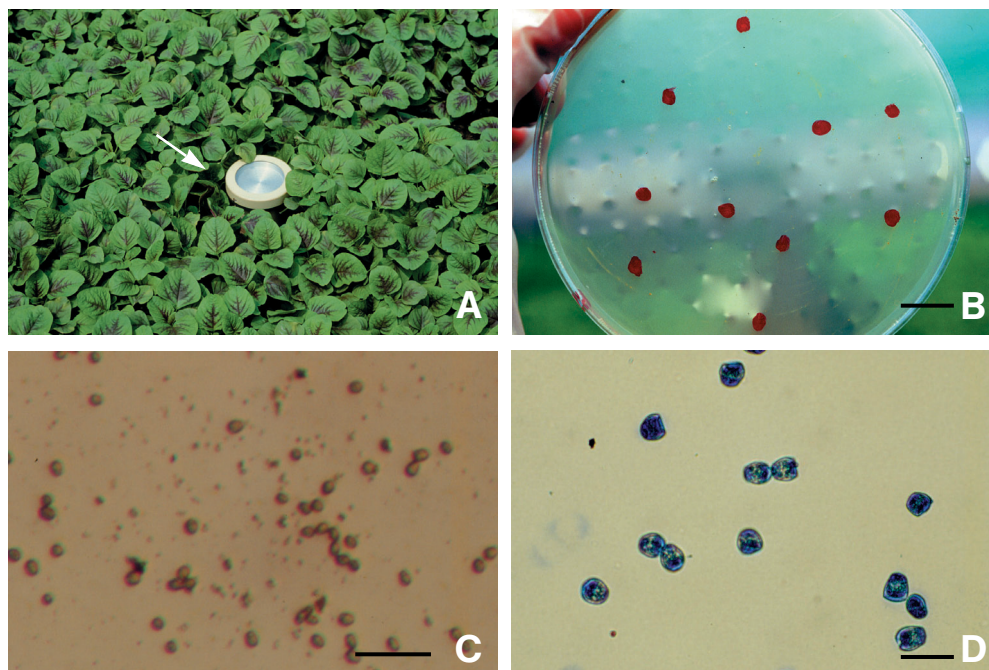
Fig. 3. Symptoms of white rust on upper (single arrow) and lower epidermis (double arrows) of cotyledon of edible amaranth after seeds sowed 11 days.

即播種後第 14 天之罹病率介於 3 - 7% 時，以白莧為例，精準度設為 0.2 與 0.25 時，所需之理論取樣數介於 2812 - 516 株與 1799 - 331 株之間，當罹病率達 12% 時，理論取樣數迅速降至 176 株與 112 株之間，顯示罹病率越低則理論採樣數越多，但是在同一罹病率情形下，將精準度降低至 0.25，其理論取樣數則可採用精準度為 0.2 時之取樣數的 64% 數量調查即可(表二)。

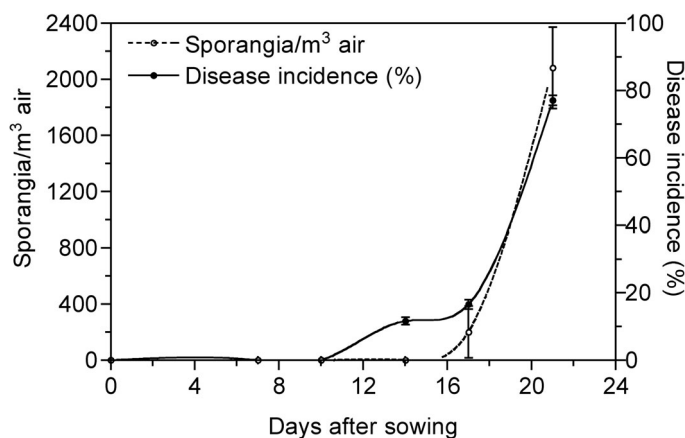
討 論

根據作者先前研究結果，溫度介於 12 - 28°C 之間則適合莧白銹菌游走孢子囊釋放游走孢子⁽³⁾，而本研究顯示莧菜生育期間，每日下午 16:00 點鐘起氣溫開始下降到翌日上午 9:00 點鐘，在長達 10 hr 以上時段裡，均適合白銹菌游走孢子囊釋放游走孢子，因此傍晚噴藥防治白銹病，以阻斷游走孢子之釋放，較早上或高溫噴藥適當，因高溫施藥易產生藥害。

莧菜植株密度雖然不會影響田間初次發病的時間及罹病率(圖一)，然而植株密度過高，在葉片相互覆蓋情形下，植株間的相對溼度增高，使得莧菜葉背表面水膜存在時間延長導致植株受害時間延長，因此葉片數對於病害蔓延之速度具關鍵性的影響(圖二)。莧菜 2 葉期後之葉片數增加快速，使得植株間之葉片覆蓋率增加，莧菜因葉表水分不易蒸散揮發而有利於白銹病之發生，試驗中雖然無葉

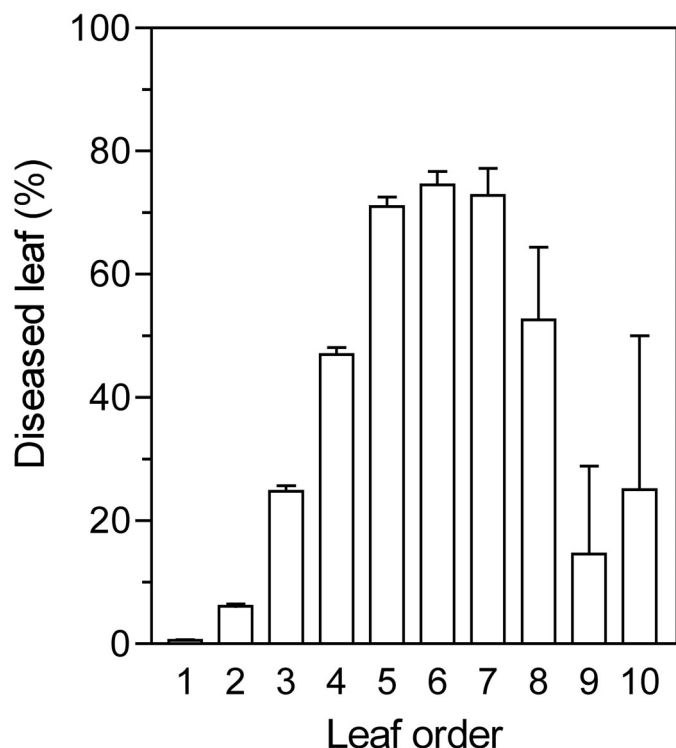


圖四、空氣中莧白銹菌游走孢子囊收集情形。A. 培養皿式空氣孢子採集器(箭頭)。B. 培養皿上之 100 個採集點；橫線 = 1cm。C. 平板上，游走孢子囊散佈情形；橫線 = 100 μm。D. 將採集點之培養基，以乳酚棉藍染色後檢查情形；橫線 = 40 μm。
Fig. 4. Collection of sporangia of *Albugo bliti* from air in the field of *Amaranthus mangostanus* forma *ruber* by a portable air sampler. A. Portable air sampler (arrow, Burkard Manufacturing Co. Ltd.). B. 100 sample spots (red) on the agar plate. Bar = 1 cm. C. Sporangia distributed on plate. Bar = 100 μm. D. Sporangia stained with lactophenol cotton blue. Bar = 40 μm.



圖五、莧菜連作田空氣中莧白銹菌游走孢子囊密度與病勢進展之關係。

Fig. 5. Relationship between sporangial densities in the air and disease incidence of white rust in amaranth monoculture field.



圖六、莧菜採收前之白銹病於植株不同葉序之分布。葉序為植株由上向下計算之已展開之真葉位置。

Fig. 6. Distribution of white rust on leaf order per amaranth plant before harvest. Leaf order was the position number of unfolded leaf counted from top per plant.

背水膜持續時間資料，但是大氣相度溼度介於 80 - 100% 之間，高於 95% 且持續 1 hr 以上之時段每天長達 9 - 12 hr，主要時間也是集中在傍晚 16:00 點鐘到翌日上午 9:00 點鐘，然而在田間調查時，上午 10 - 12 點鐘仍可見到葉背水膜的存在，筆者先前試驗亦證實莧白銹菌游走孢子囊僅需 20 - 40 min 後就可釋放游走孢子，4 hr 後達到高峰⁽³⁾，

顯然地葉表上水分或葉表間之相對溼度是病害發生之重要因子之一。田間露點資料分析顯示，露點持續 1 hr 以上之時間分別為晚上 21:00 至翌日 06:00 點鐘與中午 12:00 至翌日 08:00 點鐘，每天長達 4.6 hr 與 10.4 hr，因此莧菜在傍晚露水形成後到隔天上午期間，可能是莧白銹菌游走孢子囊釋放游走孢子感染莧菜的重要時段，而此一適合莧白銹病發生之條件與時間，也是第二次感染源產生後，病害趨勢急劇上升的重要因素之一，然而莧菜葉面水分存在時間是否類似菠菜白銹病 (*A. occidentalis* Wilson) 於 12 - 22°C 適溫下，僅需持續 3 hr 就可發病，而其它溫度則需 6 - 12 hr 之現象類似⁽²⁵⁾，則待試驗證實。另一方面，由於植株密度過高，在進行化學防治時，受到葉片相互重疊覆蓋之影響，無法噴佈到所覆蓋之全部葉片，造成後期防治效果不佳，因此除化學防治與抗病品種外，適當減少莧菜播種之種子數量，藉此調整植株密度來縮短葉面水膜持續時間，以紅莧與白莧葉片覆蓋直徑分析，每方公尺植株密度在 190 及 250 株時較為適宜，當可減少莧白銹菌的為害，也是可行之病害管理方式之一。

白莧與紅莧白銹病病勢進展之時間趨勢，均呈現 S 型非對稱之 Gompertz 曲線^(4,10,18)，即播種至發病初期之遲滯期 (lag phase) 與達到發病高峰之穩定期 (stationary phase) 之間並非對稱關係，而兩者間之直線，即為該曲線之對數增長期 (log phase)，於 Gompertz 曲線模式中，便以斜率 (r_G) 代表其病害增加速率情形。莧菜播種前，田間空氣中並未偵測到游走孢子囊，但是在莧菜連作田土壤中可偵測到游走孢子囊，即其初次感染源，雖然密度不高，但是分布均勻，據筆者分析土壤混合莧白銹菌游走孢子囊後，游走孢子囊仍可於土壤中釋放游走孢子 (未發表資料)，說明莧白銹菌游走孢子囊可做為存活構造，類似疫病菌 (*Phytophthora colocasiae* Racib.)⁽²⁰⁾ 及猝倒病菌 (*Pythium ultimum* Trow.)⁽²⁴⁾ 游走孢子囊特性，然而對於莧白銹菌游走孢子囊存活時間之長短，則待進一步試驗證實。因此當莧菜播種後因灌溉水或雨水飛濺的緣故，將土壤中的游走孢子囊傳播到子葉，游走孢子囊受葉表水分刺激而釋放游走孢子，游走孢子發芽後自子葉氣孔完成侵入感染與繁殖 (圖三)，形成第二次感染源，此時為病勢進展曲線之遲滯期。當莧菜生育至 3 - 4 葉期時，植株間葉片重複覆蓋使葉表水膜持續時間延長，增加莧白銹菌感染機會，這些都是造成第二次感染源在 3 - 4 葉期時大量發生的主要原因 (圖一、五)，此時為病勢進展曲線之指數增長期。在進行第二次感染源調查時，孢子採集器乃置於植株間，而非距離植株垂直上方一段距離，例如置於上方 1 m 處，是否仍可收集到游走孢子囊，則有待試驗證實。若能配合風速計調查連作田不同高度之游走孢子囊密度資料，則有助於決定莧菜連作田白銹病之罹病區範圍，進而決定連作田之空間距離，避免下一期作與上一期罹病田過於接近，導致莧菜連作障礙。

表一、田間莧菜白銹病之空間分布

Table 1. Spatial distribution of white rust of amaranth in field

Amaranth varieties and investigated items	Period of growth (days)				
	7	10	14	17	21
July-August, 2002					
<i>Amaranthus mangostanus</i> forma <i>ruber</i>					
VM ¹	-	-	0.96	0.25	0.04
LIP ²	-	-	0.68	0.03	0.003
Sample size	427	400	338	287	278
<i>Am. mangostanus</i>					
VM	-	1	0.96	0.80	0.006
LIP	-	1	0.67	0.40	0.0008
Sample size	476	419	414	306	211
September, 2002					
<i>Am. mangostanus</i> forma <i>ruber</i>					
VM	-	1	0.87	0.84	0.20
LIP	-	1	0.16	0.06	0.002
Sample size	928	941	833	734	817

¹ VM, variance-to-mean ratio = s^2/\bar{x} , where s^2 and \bar{x} is variance and mean of disease incidence of amaranth white rust in field. VM is expected to be < 1 for a regular spatial pattern, = 1 for a random pattern, and > 1 for an aggregated pattern.

² LIP, Lloyd's index of patchiness = $(\bar{x} + s^2/\bar{x} - 1) / \bar{x}$. Values of LIP have similar interpretations with regard to spatial pattern as values of VM.

表二、莧菜白銹病之最適取樣數分析

Table 2. Analysis of optimal sample size of white rust of amaranth

Disease incidence (%) ¹	Optimal sample size ²			
	<i>Amaranthus mangostanus</i>		<i>Am. mangostanus</i> forma <i>ruber</i>	
	D=0.2	D=0.25	D=0.2	D=0.25
1	25304	16195	34392	22011
2	6326	4049	8598	5503
3	2812	1799	3821	2446
4	1582	1012	2150	1376
5	1012	648	1376	880
6	703	450	955	611
7	516	331	702	449
8	395	253	537	344
9	312	200	425	272
10	253	162	344	220
11	209	134	284	182
12	176	112	239	153
13	150	96	204	130
14	129	83	175	112
15	112	72	153	98
16	99	63	134	86
17	88	56	119	76
18	78	50	106	68
19	70	45	95	61
20	63	40	86	55

¹ Disease incidence (%) = No. of amaranth infected / total amaranth accounted x 100%.

² Optimal sample size could be inferred quickly from this table according to the predetermined D value and different disease incidence levels. Optimal sample size (N) = $(t \times s / D \times \bar{x})^2$, where t is the distribution under $\alpha/2=0.025$ and degree of freedom by (sample size-1), s is the standard deviation of disease incidence of amaranth white rust, D is the precision levels defined, and \bar{x} is the mean of disease incidence of amaranth white rust in field.

由莧白銹菌此一絕對寄生菌引起之莧菜白銹病，應以抗病品種為主要防治策略，但是在其病害發生後之病勢進展，不論植株密度高低，由病勢進展曲線之病害增加速率 (r_g) 分析，病害爆發的關鍵期在莧菜播種後第 14 - 18 天 3 - 4 葉期 (圖一、五)，若由植株感染到發病所需時間為 4 - 5 天推算，真正導致病害爆發的關鍵期應為播種後第 10 - 14 天 1 - 3 葉期，而由空氣中游走孢子囊密度分析，播種後第 14 - 17 天 3 - 4 葉期之莧菜罹病率雖無顯著增加，但是第二次感染源之密度卻上升 1000 倍 (圖五)，以防治成本與效益而言，在田間第二次感染源尚未建立族群前，即於 1 - 2 葉期之防治時機進行防治，雖然此時罹病率與罹病程度並不嚴重，但由於本病害在田間蔓延迅速，因此更要小心防範，方可收事半功倍之效。由於本試驗乃以莧菜連作田進行，因此對於初次感染源密度高低是否影響病勢進展趨勢，則有待試驗證實。

田間病害調查時，第一個問題在於取樣單位、取樣數與取樣之時間間隔要如何決定，才能獲得正確的田間病害發生資料。分析莧菜白銹病在植株上之分布，顯示莧白銹菌可為害植株所有葉序，包括子葉在內，因此田間莧菜白銹病之取樣單位應為整株葉片與子葉。田間病害調查時之取樣數多少，往往決定病害資料之可信度與所花費之成本，然而田間莧菜連作田白銹病初期發病率介於 3 - 12% 之間 (圖一、五)，此時用藥防治尚可阻止莧菜白銹病之蔓延，因此調查時，應特別注意此一關鍵時期，然而綜合最適取樣數之理論值與田間實際調查情形，則建議於子葉期至一葉期間，先逢機調查 60 株莧菜白銹病罹病率，先求得罹病率平均值後，再設定所需之精準度，一般田間推廣

使用時，精準度採用0.2或0.25，然後依據最適取樣數理論值進行調查(表二)，本研究結果顯示於播種10-14天後之莧菜白銹病發病初期，其調查樣本數應不少於300株，此時植株為1-3葉期，因此尚可於田間應用，然而此試驗結果，是否可適用不同區域之白銹病病勢進展情形，或是可以分層取樣或系統取樣等方式⁽¹³⁾，在不減少精準度情形而降低取樣數，使田間調查工作符合經濟成本，則待進一步試驗與分析。

由本研究得知夏季莧菜連作前，若前期曾發生白銹病，每克土壤中行走孢子囊密度超過200個時，則應進行土壤消毒以降低初次感染源，若子葉期與一葉期按最適取樣數調查時發現白銹病，其罹病率雖不高於3%，由於本病病勢進展快速緣故，則應立即進行藥劑防治以降低第二次感染源之發生與密度，就可達到合理而有效之防治效果。

謝 辭

本研究係第一作者博士論文的一部份。研究期間感謝周欣宜、江淑幸、黃秋玲、鄒雪玲及王怡靜小姐的協助。又行政院農委會藥毒所農藥應用組黃莉欣小姐給予空間分布統計之建議。部份研究經費承農委會90農科1.2.2-藥-P4與91農科1.2.1-藥-P6科技計畫補助，特誌謝忱。

引用文獻

- 王三太、蕭吉雄 1996. 本省莧菜栽培簡介. 臺灣省農試所技術服務季刊28:14-17。
- 李敏郎、郭克忠 1998. 臺灣莧菜白銹病之發生. 植保會刊40:439-440 (摘要)。
- 李敏郎、謝文瑞 2003. 溫度對莧白銹菌 (*Albugo bliti*) 行走孢子囊釋放行走孢子之影響. 植病會刊12:77-84。
- Berger, R. D. 1981. Comparison of the Gompertz and logistic equations to describe plant disease progress. *Phytopathology* 71:716-719.
- Chauhan, S. K., and Sharma, J. B. 2001. Inheritance of white rust resistance in Indian mustard incorporated from *Brassica napus*. *Ind. J. Genet. Plant Breed.* 61:250-252.
- Dainello, F. J., Black, M. C., and Kunkel, T. E. 1990. Control of white rust of spinach with partial resistance and multiple soil applications of metalaxyl granules. *Plant Dis.* 74:913-916.
- Dainello, F. J., and Jones, R. K. 1984. Continuous hours of leaf wetness as a parameter for scheduling fungicide applications to control white rust in spinach. *Plant Dis.* 68:1069-1072.
- Edie, H. H., and Ho, B. W. C. 1970. Factors affecting sporangial germination in *Albugo ipomoeae-aquaticae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:205-216.
- Elliott, J. M. 1977. Some Methods for the Statistical Analysis of Samples of Benthic Invertebrates. 2nd ed. Vol. 25. Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ. Cumbria, UK: Ambleside.
- Gompertz, B. 1825. On the nature of the function expressive of the law of human mortality. *Philos. Trans. R. Soc. London* 36:513-585.
- Gull, K., and Trinci, A. P. I. 1974. Detection of areas of wall differentiation in fungi using fluorescent staining. *Arch. Microbiol.* 96:53-57.
- Kajornchaiyakul, P., and Brown, J. F. 1976. The infection process and factors affecting infection of sunflower by *Albugo tragopogi*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66:91-95.
- Karandinos, M. G. 1976. Optimum sample size and comments on some published formulae. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 22:417-421.
- Khangura, R. K., and Sokhi, S. S. 1991. A new method to calculate area under disease progress curves (AUDPC) in white rust (*Albugo candida*) in Brassica. *Plant Dis. Res.* 6:134-138.
- Lloyd, M. 1967. Mean crowding. *J. Anim. Ecol.* 36:1-30.
- Mote, R. F., Muhm, R. L., and Gigstad, D. C. 1975. A staining method using acridine orange and auramine O for fungi and mycobacteria in bovine tissue. *Stain Technol.* 50:5-9.
- Neher, D. A., and Campbell, C. L. 1992. Underestimation of disease progress rates with the logistic, monomolecular, and Gompertz models when maximum disease intensity is less than 100 percent. *Phytopathology* 82:811-814.
- Neher, D. A., and Campbell, C. L. 1997. Determining sample size. Pages 12-15 in: Exercises in Plant Disease Epidemiology. L. J. Francl and D. A. Neher ed. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA, 233 pp.
- Petrie, G. A. 1986. *Albugo candida* on *Raphanus sativus* in Saskatchewan. *Can. Plant Dis. Surv.* 66:43-47.
- Quitugua, R. J., and Trujillo, E. E. 1998. Survival of *Phytophthora colocasiae* in field soil at various temperatures and water matric potentials. *Plant Dis.* 82:203-207.
- Raabe, R. D., and Pound, G. S. 1952. Relation of certain environmental factors to initiation and development of the white rust disease of spinach. *Phytopathology* 42:448-452.
- Sakai, Y. 1981. Epidemiology of hiroshimana (*Brassica rapa* subvar. *hiroshimana*) white rust. *Bull. Hiro. Pref. Agric. Exp. St.* 44:63-72.
- Somers, D. J., Rakow, G., and Rimmer, S. R. 2002. *Brassica napus* DNA markers linked to white rust resistance in *Brassica juncea*. *Theor. Appl. Genet.* 104:1121-1124.
- Stanghellini, M. E., and Hancock, J. G. 1971. The

- sporangium of *Pythium ultimum* as a survival structure in soil. *Phytopathology* 61:157-164.
25. Sullivan, M. J., Domicone, J. P., and Payton, M. E. 2002. The effects of temperature and wetness period on the development of spinach white rust. *Plant Dis.* 86:753-758.
26. Verma, P. R., Harding, H., Petrie, G. A., and Williams, P. H. 1975. Infection and temporal development of mycelium of *Albugo candida* in cotyledons of four Brassica species. *Can. J. Bot.* 53:1016-1020.
27. Verma, U., and Bhowmik, T. P. 1988. Oospores of *Albugo candida* (Pers. ex Lev.) Kunze - its germination and role as the primary source of inoculum for the white rust disease of rapeseed and mustard. *Inter. J. Trop. Plant Dis.* 6:265-269.
28. Verma, U., and Bhowmik, T. P. 1996. Effect of crop density on the incidence of white rust and seed yield in Indian mustard. *Ann. Plant Prot. Sci.* 4:185-187.

ABSTRACT

Lee, M. L.^{1,2,3}, and Hsieh, W. H.¹ 2003. Inoculum sources of amaranth white rust and its disease development. *Plant Pathol. Bull.* 12:163-172. (¹ Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C.; ² Department of Pesticide Application, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taichung hsien, Taiwan, R.O.C.; ³ Corresponding author, email: mllee@tactri.gov.tw; Fax:+886-4-23321478)

During July-August in 2001 and 2002, disease development of amaranth white rust caused by *Albugo bliti* were investigated continuously in amaranth monoculture fields at Hsilo in the central Taiwan. During the experimental periods, the recorded temperatures and relative humidities were 25-31°C and 80-100% respectively, and duration of optimal temperature and relative humidity for sporangial germination lasted 11-14 hr and 9-12 hr everyday, respectively, were the suitable conditions for the disease development. Increase of plant height and leaf numbers of amaranth exhibited the exponential and logistic growth model, respectively, during 2001's trial. Relationship between leaf numbers and amaranth white rust showed the linearity ($R^2 > 0.9$). Before trials, the primary inoculum densities of *A. bliti* in soil varied between 220 and 260 sporangia/g soil were detected and no sporangium was trapped from the air. Based on the analysis of sporangial density in the air, the infected cotyledons and diseased leaves of seedlings were the main sources of the secondary inocula which produced maximally at 3-4 leaf stage. Disease development of white rust exhibited the Gompertz model with an asymmetric sigmoid curve. The accumulated frequencies of diseased leaf numbers on the 4th to 8th leaf order from the top were varied between 47-75%. Indices of dispersion, variance-to-mean ratio (VM) and Lloyd's index of patchiness, both were used in spatial analysis of white rust in the field. Spatial pattern of white rust in the field was random at cotyledon and one leaf stage (VM=1, LIP=1), and quickly became regular pattern (VM=0.006-0.96, LIP=0.0008-0.68). The results obtained from the disease incidence inferred the optimal sample size needed at least 300 samples to decide whether white rust was occurred when the precision level was set at 0.2-0.25 and disease incidence was at 10% after seeds were sowed 14 days later.

Keywords: edible amaranth, white rust, inoculum, disease development, spatial pattern, optimal sample size