香菇太空包堆肥抑制胡瓜猝倒病發生的特性

王佩瑾1 黃振文^{2,3}

- 1. 行政院動植物防疫檢疫局台中分局
- 2. 台中市國立中興大學植物病理學系
- 3. 聯絡作者:電子郵件 jwhuang@dragon.nchu.edu.tw , 傳真 886-4-2851676

接受日期:中華民國 89年10月21日

摘 要

王佩瑾、黃振文. 2000. 香菇太空包堆肥抑制胡瓜猝倒病發生的特性. 植病會刊 9:137-144.

利用四種香菇太空包生長基質與不同腐熟程度之香菇太空包堆肥栽培胡瓜幼苗,發現完熟的香 菇太空包堆肥 (Spent forest mushroom compost; SFMC) 最適於胡瓜幼苗的生長,故本試驗選 SFMC 作 為栽培胡瓜幼苗的介質。將胡瓜猝倒病菌 Pythium aphanidermatum Pa104 和 Pa105 菌株以游走子懸浮 液接種於 SFMC 與荷蘭泥炭苔 (Bas Van Burren No.4 peat moss; BVB) 兩介質中,結果發現 SFMC 抑制 胡瓜猝倒病發生的效果比 BVB 優異。熱蒸汽 (100 , 20 min) 與高溫高壓 (121 , 15lb, 20 min) 處 理無法有效破壞 SFMC 抑制胡瓜猝倒病的功效。探討 SFMC 與 BVB 兩介質之水溶性浸出液對本菌兩 菌株產生游走子的影響,結果發現 SFMC 水溶性浸出液較 BVB 浸出液具有抑制本菌產生游走子的效 果。當 SFMC 浸出液的 pH 值維持在 7 至 9 間,對本菌兩菌株之發芽管的抑制效果最為顯著。高溫高 壓處理兩介質後抽取水溶性浸出液,或由介質抽取浸出液後經高溫高壓處理,皆可部份降低兩者水溶 性浸出液抑制病原菌發芽管的生長,惟介質先經熱處理再抽取浸出液者,其抑制病原菌靜止子 (encysted zoosproes) 之發芽管生長的效果較為顯著。利用 SFMC 培育之胡瓜根、莖及子葉較 BVB 所 培育者更具有抵抗 P. aphanidermatum 纏據的效果;惟兩者所培育之胡瓜根系經蒸餾水漂洗後,抗菌 效果隨即下降,致使本菌纏據植體的比率因而提高。SFMC 所培育之植株的根與莖比 BVB 所培育者 含有較高量的過氧化酵素活性,惟由 SFMC 所培育之胡瓜子葉卻比 BVB 培育者含有較低的過氧化酵 素活性。此外,由 SFMC 培育之胡瓜子葉含有 K、Ca、Mg、NH4⁺-N 和 NO3⁻-N 的量均顯著較 BVB 所培育者高。

關鍵詞:胡瓜猝倒病菌、農業廢棄物、香菇太空包堆肥、栽培介質、抑菌介質

緒言

西元 1970 年代,歐美先進國家提出永續農業經營對

自然環境保育的重要呼籲後,科學家們便積極將有機農業技術、生物防治及非農藥防治技術列為研究的重點。 Loehr 氏 ⁽¹⁷⁾ 與 Hoitink & Fahy 兩氏 ⁽¹⁴⁾ 報導農業廢棄物的妥善處理,不但可成功配製成作物生長的栽培介質與有機添加劑外,尚可維護農業的永續及保護自然生態的平衡。 王氏 ⁽¹⁾ 報導台灣農業廢棄物中,稻殼、樹皮及菇類太空包生長基質三者較具有開發成為容器栽培介質的可行性,惟欲將廢棄菇類太空包生長基質開發作為栽培介質,須經過堆積發酵處理,才能使其有效回歸到作物的生產線上。

近年來,邱與黃兩氏⁽⁴⁾發現菇類太空包堆肥具有抑制 番茄根腐病菌,甘藍根瘤病菌及南方根瘤線蟲等功效,隨 後筆者初步研究也發現香菇太空包堆肥具有抑制胡瓜猝倒 病發生的現象。至於香菇太空包堆肥為何具有抑制該等植物病原菌的效果?原因尚不清楚。因此,本文主要目的在於探討香菇太空包堆肥與荷蘭泥炭苔對胡瓜猝倒病發生的影響,進而追蹤該堆肥的抑病原因,祈有助於瞭解及掌握香菇太空包堆肥再利用的可行之道。

材料與方法

供試植株與接種源

自農友種苗公司購買胡瓜 (*Cucumis sativus* L.,) 種子 (春燕品種) 作為供試植物。胡瓜種子經自來水流動沖洗半天後,置於內徑 18 公分的大培養皿中 (底部放置兩層紗布加水保濕),在 28 定溫箱中催芽 12 小時,然後取出發芽的種子,作為播種之用。

病原菌 Pythium aphanidermatum (Edson) Fitzp Pa104 與 Pa105 兩菌株為本研究的接種源,兩菌株係由胡瓜猝倒 病罹病株分離獲得,對胡瓜具病原性。在中興大學病害管 理研究室利用馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (PDA) 保存兩菌株備 用。

接種源及靜止子 (encysted zoospores) 的製備

游走子接種源. 在 32 定溫箱,將 Pa104 與 Pa105 兩菌株培養於 V-8 培養基 24 小時後,切取含有菌絲之洋菜圓盤 (Agar disc) (直徑 0.4 公分) 25 片,分別移入 30 ml 去離子水內,在 28 ,12 小時後,即可產生大量游走子懸浮液,供試驗之用。

靜止子之製備. 將游走子懸浮液移置於離心機 (Sigma 3K15) 內,經 12,000 rpm 離心 30 min,即可於離心管底部 0.1 ml 處獲得大量靜止子,作為供試之需。

供試介質

試驗過程,所用之介質包括:未生長過香菇之太空包 基質 (Raw growth medium, RGM), 生長過香菇之太空包 基質 (Raw forest mushroom growth medium, RFM)、生長 過香菇且污染雜菌之太空包基質 (Raw forest mushroom growth medium contaminated with other microorganisms, RFM (c))、腐熟香菇太空包堆肥 (Spent forest mushroom compost, SFMC) 及荷蘭泥炭苔 (Bas Van Burren NO.4 peat moss, BVB); 其中 SFMC 採自台中縣新社鄉生長過香菇 之太空包基質,去除塑膠袋後,將基質打鬆,置於堆肥 場,隨即加入硝酸銨 (3 kg/m³) 及過磷酸鈣 (2 kg/m³) 均勻 混合,再以黑色塑膠布覆蓋,每隔七日翻堆乙次,經九十 天後即製成腐熟香菇太空包堆肥成品。 BVB 則由荷蘭 Maasland公司出品,是目前大宗進口作為園藝介質之資 材,試驗前購自農業資材行,不再進行堆積發酵處理,直 接供作試驗用。

介質水溶性浸出液的製造

介質 (SFMC、BVB、RGM、RFM、RFM(C))分別與去離子水按 1:1 體積比 (V/V) 混合,在振盪器震盪 (100 rpm) 一小時,靜置 24 小時,移至離心機,以 5000 rpm 離心 30 分鐘,然後將上層液倒入置有兩張濾紙之抽氣漏斗,經抽氣馬達機抽取濾液,作為供試之需。

香菇生長基質與香菇太空包堆肥對胡瓜生長的影響

取香菇生長基質 RGM、RFM、RFM (C) 及香菇太空 包堆肥各 300 ml,移入內徑 11 公分塑膠花盆中,隨後於 每一花盆種植 5 粒發芽的胡瓜種子,每一處理五重複,同 時以商品化的 BVB 作為對照。種植 12 天後,記錄胡瓜株高及株重。

介質對胡瓜猝倒病發生的影響

取 SFMC 及 BVB 介質各 300 ml,並分別接種 P. aphanidermatum Pa104 與 Pa105 游走子 50 ml (每 ml 含 1.5×10^4 個游走子) 均勻混合後,分別裝填於內徑 11 公分塑膠花盆中,每盆播種胡瓜種子五粒,每一處理有五重複,12 天後,記錄胡瓜猝倒病的發生百分率。

高溫高壓對 SFMC 及 BVB 介質抑制胡瓜猝倒病發生的影響

SFMC 及 BVB 兩種介質,分別以熱蒸氣(100 ,20 min)、高溫高壓滅菌(121 、15 lb、20 min)處理及不作任何處理後,以游走子接種法將 P. aphanidermatum Pa104與 Pa105 接種於兩介質中,再分別裝填於 60 格規格的穴盤中,隨後於每穴種植胡瓜種子 1 粒,每一處理種 12粒,各有四重複,12 天後,調查胡瓜猝倒病的發生百分率。

介質水溶性浸出液對 P. aphanidermatum 產生游走子的影響

取 SFMC 及 BVB 兩介質的水溶性浸出液各 10 ml, 注入內徑 9 公分培養皿後,移入 P. aphanidermatum Pa104與 Pa105 各 8 片菌絲圓盤 (在 V-8 培養基上 24 hr,切取 0.9 公分菌絲圓盤),在 28 生長箱中,每隔 3 小時置換新的介質浸出液一次,連續進行八次。每次取出的浸出液,以微注射器法 (16) 取樣,在顯微鏡鏡檢游走子的產量,逐一累計每次游走子的總產量。另以去離子水加入菌絲圓盤充作對照組,其中各處理均重複三次。

不同酸鹼值之介質水溶性浸出液對 P. aphanidermatum 靜止子發芽率及發芽管長度的影響

將 SFMC 及 BVB 浸出液,以 0.1 N 鹽酸及 0.1 N 氫氧化鈉之 100 倍稀釋液調整至 pH4、5、6、7、8 及 9,然後將本菌 Pa104 與 Pa105 的靜止子注入含有不同酸鹼值之 SFMC 與 BVB 浸出液的平面凹槽玻片中,在 28 ,4 小時後,利用顯微鏡觀察靜止子的發芽百分率及發芽管的長度。此外,以不同酸鹼值的去離子水充作對照,各處理四重複。

熱蒸氣或高溫高壓對介質水溶性浸出液抑制 P. aphanidermatum 靜止子發芽管的影響

本試驗分成熱蒸氣 (100 , 20 min) 或高溫高壓 (121 , 15 lb , 20 min) 處理 SFMC 或 BVB 介質之水溶性浸出液及先將 SFMC 與 BVB 介質透過熱蒸氣或高溫高壓處理後,再抽取水溶性浸出液等兩組方式,其中各處理皆以間歇方式連續進行三次,另外以不作任何處理者為對照組。浸出液降溫後,分別把本菌靜止子混於各浸出液中,

在 28 ,4 小時後,利用顯微鏡觀察,記錄靜止子的發芽管長度。試驗過程並以去離子水作為對照,其中各處理重複四次。

SFMC與BVB介質影響胡瓜植體抗拒P. aphanidermatum 纏據的效果

支根接種與莖基部接種試驗 . 將胡瓜種子種植於 SFMC 與 BVB 兩介質中,經7天後,拔取胡瓜幼苗分成 蒸餾水清洗根系及不清洗根系等兩組,隨後分別移置於大 培養皿 (內徑 18 公分) 中保濕, 取主根為主軸, 左右各挑 取等長的支根各兩條,將各支根末端移入墊高的玻片凹槽 內,採根尖接種法進行接種。其中各支根接種 Pa104 或 Pa105 菌株的游走子懸浮液 10 μl (1.5 x 10⁴ zoospores/ml), 每一處理有 5 棵胡瓜幼苗,各有四重複數。此外,莖基部 接種法是將 SFMC 與 BVB 栽培 7 天的胡瓜幼苗, 切除根 系後,在切離的莖基部接種 10 µl 游走子懸浮液,各處理分 別接種 10 棵胡瓜莖基部, 置於大培養皿中保濕, 在28, 36 小時後,由接種點依次每隔 0.5 公分切取一支根或莖部 片段, 然後依序排列於 Corn meal-pimaricin-rose bengal streptomycin-benomyl agar 選擇性培養基 (20) 上分離培養病 原菌,在36,3天後,觀察記錄 P. aphanidermatum Pa104 與 Pa105 感染植體的百分率。

胡瓜子葉接種. 摘取 SFMC 與 BVB 介質培育的胡瓜子葉24片,排列於玻片上,於子葉中央接種本菌 Pa104 與 Pa105 游走子懸浮液 10 µ1 (1.5 × 104 zoospores/ml) 後,將載有子葉玻片移入大培養皿中保濕,在 28 ,4 天後,記錄各處理子葉出現黃化斑點的直徑,並求取平均值充作本菌感染子葉的指標。

胡瓜植體之過氧化酵素活性分析

本試驗係採用 Guaiacol buffer 法 $^{(13)}$ 分析胡瓜植體的 過氧化酵素活性。首先取由 SFMC 與 BVB 介質培育 7 天的 胡瓜根、莖及子葉各 0.5~g 加入 5~ml 磷酸緩衝液 (0.1~M~, pH=7.0) 及少量海砂,移入冰浴中的研缽內研磨,藉以獲取萃取液。在 2~ 萃取液經 20,000~rpm 離心 20~分鐘後,取上層液備用。將上層液 0.1~ml 加入含 $3.6\times10^{-3}~M$ guaiacol 之磷酸緩衝液 (0.04~ml guaiacol 加入 100~ml 0.1~M 磷酸緩衝液,pH=6) 2~ml, $H_2O~0.4~ml$ 及 $0.0135~M~H_2O_2~0.2~ml$ 迅速混合,放入光譜吸收儀(Shimadzu UV-200S Double Bean Spectrophotometer),在波長 470~nm 測量其反應初期吸收值變化,並計算單位時間內之反應速率。

胡瓜植體化學分析

在 SFMC 與 BVB 介質培育的胡瓜植體,經自來水清洗附著之灰塵及雜物後,再用去離子水清洗,隨後將新鮮植體置於 70 烘乾 72 小時以上,達恆重後取出,以磨植

機磨碎後,利用硫酸與雙氧水灰化法分解植體粉末。首先稱取 0.5 克植體粉末加入 100 ml 之回流分解管,並注入 50 ml 濃硫酸,振盪後靜置過夜。高溫爐預熱至 100 ,移入分解管在 100 加熱 1 小時後,以每分鐘 1 的速率增加,將溫度升高至 150 ,加熱 30 分鐘,續將溫度持續增加以每分鐘 1 的增加速率增溫至 200 ,待各管內有白煙出現,拿出爐外降溫後,加入 0.5 ml 30% 雙氧水,待分解液無劇烈反應時,再移入爐中持續加熱,以每分鐘 1 的增加速率增溫至 300 ,加熱 1 小時,續取出各管,待冷卻後再加入 0.5 ml 30% 雙氧水,當分解液無劇烈反應時,再移入高溫爐內持續加熱,反覆前一步驟直至澄清為止,隨後取冷卻量達 50 ml 的過濾液,注入 100 ml 塑膠瓶中備用。最後以蒸餾法測定植體的全氮量 ⁽⁹⁾;以誘導耦合電漿光譜 ⁽⁵⁾測定植體之鉀、鈣及鎂含量。

結 果

香菇太空包生長基質與香菇太空包堆肥對胡瓜生長 的影響

經香菇菌生長過之新鮮未腐熟生長基質 (RFM) 及腐熟香菇太空包堆肥 (SFMC) 均適宜胡瓜幼苗的生長 (表一)。其中胡瓜株高、株重均比對照組 BVB 培育之胡瓜優良。未生長過香菇的基質 (RGM) 及污染雜菌的香菇太空包生長基質 [RFM (C)] 則有顯著抑制胡瓜生長的現象 (表一)。顯示腐熟的香菇太空包堆肥具有充作栽培介質的潛力。

介質對胡瓜猝倒病發生的影響

SFMC 具有顯著抑制胡瓜猝倒病發生的效果 (表二), 而 BVB 介質則不具抑病的功效。在含有 Pa104 或 Pa105 病原菌之 BVB 介質中,胡瓜植株發生猝倒病達 100%, 幾乎所有幼苗皆死亡;而在 SFMC 的胡瓜幼苗均無猝倒病發生(表二)。

高溫高壓對 SFMC 及 BVB 介質抑制胡瓜猝倒病發生的影響

熱蒸氣 (100 , 20 min) 或高溫高壓滅菌 (121 , 151b, 20 min) 過之 SFMC 與 BVB,接種病原菌 Pa104 與 Pa105 後,隨即栽種胡瓜種子,結果發現 SFMC 介質中,Pa104 引起胡瓜猝倒病的發病率由 0 增加到 4.2 或 10.4% 左右;但是 Pa105 菌株在兩種處理的介質中,引起胡瓜猝倒病的發生率均介於 2.1 - 4.2% 間 (表三)。至於 BVB 不管有無高溫高壓處理,接種在介質中的 Pa104 與 Pa105 菌株引起胡瓜猝倒病之發病百分率間均維持在 45.8 - 52.0% 與 56.2 - 75.0% 左右,彼此間無顯著差異。

表一、腐熟與未腐熟之不同階段的香菇太空包生長基質與 荷蘭泥炭苔充作栽培介質對胡瓜生長 12 天之影響

Table 1. Effect of Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) and shiitake (forest mushroom) growth media with different composting phase on growth of cucumber seedlings for 12 days in the greenhouse

Medium ¹	Plant height (cm)	Fresh weight (g/plant)
RGM	$5.98 c^2$	4.21 c
RFM	11.18 a	17.30 a
RFM (C)	7.84 b	9.02 b
SFMC	11.90 a	16.47 a
BVB	7.10 bc	8.96 b

^{1.} RGM: raw growth medium for cultivation of forest mushroom; RFM: raw forest mushroom growth medium; RFM (C): raw forest mushroom growth medium contaminated with other microorganisms; SFMC: spent forest mushroom compost.

表二、香菇太空包堆肥與荷蘭泥炭苔影響胡瓜猝倒病 (Pa104 與 Pa105 菌株) 發生的效果

Table 2. Effect of spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) on damping-off of cucumber seedlings caused by *Pythium aphanidermatum* isolates Pa104 and Pa105

Medium -	Damping-off (%)			
- Wicuiulli –	Pa104	Pa105		
SFMC	$0^1 b^2$	0 b		
BVB	100 a	100 a		

^{1.} Data were recorded 12 days after sowing.

表三、高溫高壓處理過之香菇太空包堆肥 (SFMC) 與荷蘭 泥炭苔 (BVB) 對胡瓜猝倒病發生的影響

Table 3. Effect of autoclaved and steam-heated spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) on damping-off of cucumber seedlings caused by *Pythium aphanidermatum* isolates Pa104 & Pa105

	Damping-off (%)					
Treatment	Pa1	04	Pal	Pa105		
	SFMC	BVB	SFMC	BVB		
Autoclaved (121 ,15lb,20min)	$10.4^{1} b^{2}$	52.0 a	2.1 a	75.0 a		
Steamed (100 ,20min)	4.2 a	56.2 a	6.2 a	68.7 a		
None (CK)	0.0 a	45.8 a	4.2 a	56.2 a		

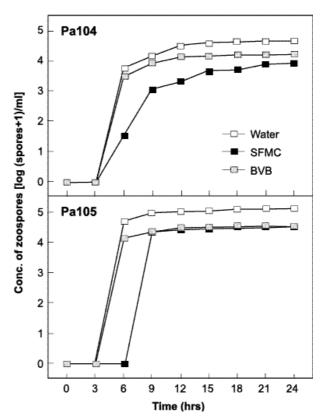
^{1.} Data were recorded 12 days after planting seeds in the growth chamber at 28 .

介質水溶性浸出液對 Pythium aphanidermatum 產生 游走子的影響

在 SFMC 水溶性浸出液中,本菌 Pa104 與 Pa105 菌株釋放出來的游走子量,遠比在 BVB 水溶性浸出液中少。比較兩菌株在兩介質水溶性浸出液及水中每三小時釋放游走子的情形,結果發現 Pa104 菌株從 0 - 24 小時所釋放游走子量均較 BVB 少。至於 Pa105 菌株在 SFMC 水溶性浸出液產生游走子的時間則較在 BVB及水中延緩三小時,其中 Pa105 在 SFMC 水溶液中第六小時菌株尚未釋放游走子,在九小時後 Pa105 菌株在 SFMC 與 BVB 浸出液中釋放游走子量則無差異,但皆比在水中的釋放量少(圖一)。

不同酸鹼值之 SFMC 及 BVB 水溶性浸出液對 P. aphanidermatum 靜止子發芽率及發芽管長度的影響

不同酸鹼值之 SFMC 與 BVB 介質水溶性浸出液不會 影響 P. aphanidermatum (Pa104 與 Pa105) 的發芽百分率,



圖一、香菇太空包堆肥及荷蘭泥炭苔的水溶性浸出液對 Pythium aphnidermatum (Pa104 與 Pa105 菌株) 產生游走子 的影響。

Fig. 1. Effect of filtrates water-extracted from spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) on zoospore production of *Pythium aphanidermatum* (isolates Pa104 and Pa105) at 28

^{2.} Means (n=5) followed by the same letter in each column do not differ significantly at P<0.05 according to Duncan's multiple range test.

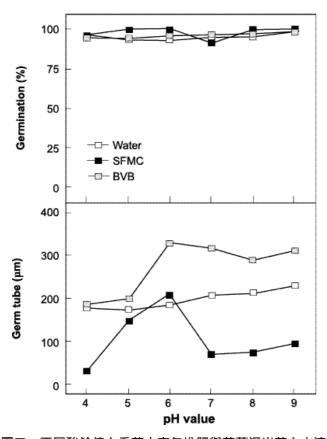
^{2.} Data followed by the same letter are not significantly different (P<0.05) according to Duncan's multiple range test.

Means (n=5) within a column by the same letter are not significantly different at P<0.05 according to Duncan's multiple range test

但卻會影響到病原菌的發芽管生長長度。當 SFMC pH 值在 4-6,隨 pH 上升,發芽管生長長度漸增長;惟在 pH 6-9 間,則隨 pH 上升,發芽管長度呈現下降的現象。在 pH 值 4 及 7-9 之間,SFMC 浸出液抑制 P. aphanidermatum 發芽管生長的效果高於 BVB 浸出液與去離子水的處理(圖二)。

熱蒸氣與高溫高壓對 SFMC 及 BVB 介質浸出液抑制 P. aphanidermatum 發芽管的影響

熱蒸氣 (100 , 20 min) 或高溫高壓滅菌 (121 , 15lb, 20 min) 處理 SFMC 與 BVB 介質之水溶性浸出液,結果發現兩處理可部份抵銷 SFMC 與 BVB 浸出液抑制 Pa104 與 Pa105 發芽管生長的效果 (表四)。 SFMC 與 BVB 介質浸出液抽取後再經熱處理,其抑菌效應明顯喪失,使得 P. aphanidermatum 發芽管的長度較不處理者長約 110-240 µ m (表五)。 比較表四與表五的數據,發現介質經高



圖二、不同酸鹼值之香菇太空包堆肥與荷蘭泥炭苔之水溶性浸出物液對 Pythium aphanidermatum (Pal04 菌株) 靜止子的發芽率與發芽管長度的影響。

Fig. 2. Effect of filtrates with different pH values water-extracted from spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) on germination and germ tube length of encysted zoospores of *Pythium aphanidermatum* (isolate Pa104) for 4 hrs at 28.

表四、熱蒸氣或高溫高壓滅菌之香菇太空包堆肥與荷蘭泥 炭苔水溶性浸出液對 Pythium aphanidermatum (Pa104 和 Pa105菌株) 靜止子之發芽管生長的影響

Table 4.Effect of filtrates water-extracted from steam-heated or autoclaved spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas van Burren No.4 peat moss (BVB) on germ-tube growth of encysted zoospores of *Pythium aphanidermatum* (isolates Pa104 and Pa105) for 4 hrs at 28

	Germ tube length (µm)					
Treatment 1	Pa1	04	Pa105			
	SFMC	SFMC BVB SFMC		BVB		
Autoclaved (121 ,15lb,20min)	$49.8 c^2$	63.5 c	36.6 c	49.1 c		
Steamed (100 ,20min)	32.4 b	52.4 b	28.9 b	33.8 b		
None (CK)	21.2 a	22.2 a	22.7 a	23.5 a		

Observation was conducted at the 4th hr after encysted zoospores were put into filtrate.

表五、香菇太空包堆肥及荷蘭泥炭苔水溶性浸出液經不同 熱處理後對 *Pythium aphanidermatum* (Pa104 與 Pa105 菌 株) 靜止子發芽管生長的影響

Fig 5. Effect of autoclaved and steam-heated filtrates water-extracted from spent forest mushroom compost (SFMC) or Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) on germ-tube growth of encysted zoospores of *Pythium aphanidermatum* (isolate Pa104 and Pa105) for 4 hrs at 28

	Germ tube (µm)					
Treatment ¹	Pa1	.04	Pa105			
	SFMC	BVB	SFMC	BVB		
Autoclaved (121 ,15lb,20min)	$288.0 c^2$	198.8 b	291.5 b	233.0 b		
Heated (100 ,20min)	158.9 b	177.9 b	274.4 b	225.4 b		
None (CK)	44.6 a	52.3 a	52.9 a	59.7 a		

Observation was conducted at the 4th hr after encysted zoospores were put into filtrate.

溫高壓後抽取水溶性浸出液比介質抽取浸出液再經熱處理者具有較強抑制本菌發芽管生長的效果。

由 SFMC 與 BVB 兩介質培育胡瓜植體抗拒 P. aphanidermatum 纏據的影響

由 SFMC 所培育之胡瓜幼苗根和莖受 P. aphanidermatum Pa104 與 Pa105 菌株纏據率均較 BVB 介

^{2.} Means (n=4) within the same column followed by the same letter are not significantly different (*P*<0.05) according to Duncan's multiple range test.

^{2.} Means (n=4) within the same column followed by the same letter are not significantly different (*P*<0.05) according to Duncan's multiple range test.

質所培植的植株少 20 - 25% 左右 (表六)。此外,SFMC 所培育之子葉也有顯著抗拒 Pa104、Pa105 感染的效果(表六)。由 SFMC 與 BVB 所培育之胡瓜幼苗根系,經蒸餾水漂洗與不漂洗兩種處理,結果表七顯示胡瓜根系經漂洗後,SFMC 或 BVB 栽植之胡瓜根系受 P. aphanidermatum Pa104 纏據比例及感染長度,均分別較未漂洗者高出 30%與 15% 或 0.8 與 0.25 公分左右。顯然,兩介質培育之胡瓜根系經漂洗後,其抑制 P. aphanidermatum Pa104 感染的效果均有下降的趨勢。

胡瓜植體之過氧化酵素活性分析

SFMC 與 BVB 培育 7 天的胡瓜幼苗的根、莖及子葉,分別採用分光計法分析比較不同部位植體之過氧化酵素活性的差異,發現由 SFMC 培育之胡瓜的根與莖的過氧化酵素活性均顯著高於由 BVB 栽培之植體。惟 SFMC 所培育之胡瓜子葉的過氧化酵素活性卻較 BVB 培植者低(圖三)。

表六、在香菇太空包堆肥及荷蘭泥炭苔介質培育胡瓜幼苗 七天後, Pythium aphanidermatum (Pa104 與 Pa105 菌株) 纏據其根、莖、子葉的比較

Table 6. Infection of plant parts of cucumber seedlings, which were grown in spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) for 7 days, by *Pythium aphanidermatum* (isolates Pa104 and Pa105)

	Infection (%)					
Plant parts ¹	Pal	104	Pa105			
	SFMC	BVB	SFMC	BVB		
Root	50.0	75.0	65.0	90.0		
Stem	80.0	100.0	40.0	60.0		
Cotylendon	1.8	7.6	0.5	17.2		

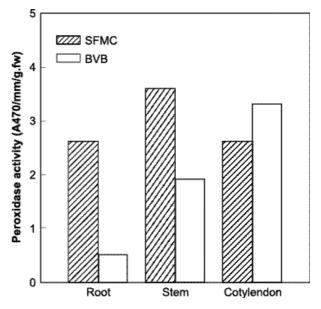
^{1.} Infection of root and stem by the pathogen was detected 36 hrs after inoculation at 28 . However, cotylendon infection was counted 96 hrs after inoculation.

表七、香菇太空包堆肥與荷蘭泥炭苔影響 Pythium aphanidermatum (Pa104 菌株) 纏據胡瓜根系的效應

Table 7. Effect of spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) on roots of cucumber seedlings colonized by *Pythium aphanidermatum* (isolate Pa104) for 36 hrs at 28

Treatment	Colonization (%)					
Treatment	SFMC	BVB	LSD ¹	SFMC	BVB	LSD
None	50.0	75.0	30.7	1.05	2.13	0.79
Washing	80.0	90.0	23.2	1.85	2.48	0.69
LSD 1	29.7	24.5		0.75	0.72	

^{1.} Least significant difference (LSD) at 5% level.



圖三、胡瓜幼苗在香菇太空包堆肥及荷蘭泥炭苔介質培育 七天後,其根、莖、子葉之過氧化酵素活性分析。

Fig. 3. Analyses of peroxidase activity of cucumber seedlings grown in spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) for 7 days.

胡瓜植體化學成分分析測定

由 SFMC 所培育之胡瓜幼苗子葉和莖中含 K、Ca、Mg 的量均明顯較 BVB 所栽植者高 (表八),惟兩介質所培植之胡瓜的根系中,含有 K、Ca、及 Mg 的量間無明顯差異。SFMC 所培育之胡瓜莖與根之 NH_4^+ -N 較 BVB 所培育者含有較高的量;至於 SFMC 培育之胡瓜的根、莖及葉含 NO_3^- -N 的量遠大於 BVB 所培育者。

討 論

西元 1979 年, Daft 等氏 (10) 應用樹皮堆肥作為培育園 藝作物的介質時,除發現樹皮堆肥培育的植株生長勢優於

表八、由香菇太空包堆肥及荷蘭泥炭苔培育之胡瓜植體的 成分分析

Table 8. Component analyses of cucumer seedlings grown in spent forest mushroom compost (SFMC) and Bas Van Burren NO. 4 peat moss (BVB) for 7 days

Component item	Root		Stem		Leaf	
	SFMC	BVB	SFMC	BVB	SFMC	BVB
K	5.0 ¹	4.0	8.2	3.4	4.4	2.4
Ca	1.5	1.2	2.3	0.9	2.4	1.3
Mg	0.8	0.7	1.3	0.5	1.2	0.8
NH ₄ ⁺ -N	55.5	15.6	92.8	35.6	91.0	91.5
NO_3 -N	2693.0	107.3	3220.0	1570.6	14403.0	4529.5

^{1.} Concentration of component: mg/kg dry weight of cucumber seedlings

其他介質所培育者外,尚且具有抑制植物病原為害植株的功效。台灣有關農業廢棄物的研究大多側重於有機堆肥與本土化栽培介質之理化性質的探討,至於利用農業廢棄物防治植物病害的研究並不多。邱氏⁽³⁾ 報導香菇太空包堆肥具有抑制番茄根腐病的功效。Huang & Huang 兩氏⁽¹⁵⁾ 將腐熟的香菇太空包堆肥與炭化稻殼配合微量魚粉與血粉製成 SSC - 06 介質,可以用於培育甘藍菜苗外,也可以防治菜苗立枯病。顯示香菇太空包堆肥具有研製成抑菌 (病)堆肥或介質的潛力。

調製農業廢棄物成為抑菌 (病) 介質之前,首先須評估農業廢棄資材對作物生育的影響。本研究發現香菇生長過的基質與腐熟的香菇太空包堆肥最適於胡瓜幼苗的生長,至於污染雜菌的香菇太空包生長基質與未長過香菇的生長基質不利於 (甚至抑菌) 胡瓜幼苗的生育,顯示農業廢棄資材常蘊含有不利作物生育的菌類或化學成分。因此,要將香菇生長過的基質轉變成有用的資材,須有堆積與發酵的處理步驟才行 (14)。Nelson (18)、Stills et. al. (21) 及Hadar 等氏 (12) 指出樹皮或木屑中含有很多不利植物生長的酚類化合物如單寧酸等,會抑制植物的生長。樹皮於堆積後,不但有毒酚類化合物含量下降,甚至會新合成有益的酚類化合物,進而促進植物生長。因此,將含有大量單寧酸或樹脂之木屑廢棄物,進行堆積發酵確有其必要性。

介質的充氣孔隙度、保水性、酸鹼值、陽離子交換能力及植物營養的基本元素含量是評估栽培介質優劣的基準 $^{(11)}$ 。堆積發酵過的香菇太空包堆肥有下列優點:即 (-) 蘊含有豐富的鉀、鎂、鈣等元素及 $^{(11)}$ NH $_4$ +-N、NO $_3$ N;(-) 堆積發酵過的堆肥顆粒較軟化,充氣孔隙度微降,具有優異的保水力 $^{(6)}$;(-) 有毒的總酚類化合物含量明顯下降(即由 $^{(6)}$;(-) 有毒的總酚類化合物含量明顯下降(即由 $^{(5)}$ 以肾上 在 $^{(5)}$;(-) 具有抑制胡瓜猝倒病與番茄根腐病發生的效果 $^{(3,4)}$ 。本研究以游走子接種方法評估介質抑制 $^{(5)}$ Aphanidermatum 為害胡瓜抑制幼苗的效果,結果發現 SFMC 較 BVB 具優異抑制胡瓜猝倒病發生的功效。

Hoitink 與 Fahy 兩氏 (14) 指出樹皮堆肥可以抑制病原菌的主要原因在於:(1) 堆肥內含有抑制植物病原菌的酚化物或有毒物質;(2) 堆肥內蘊藏有大量拮抗微生物;(3) 堆肥內的酸鹼值及鹽類會影響病原的存活等。本研究將 P. aphanidermatum 的菌絲塊放入 SFMC 水溶性浸出液中,結果發現游走子的釋放量明顯受抑制。將 SFMC 介質以熱蒸氣(100 , 20 min) 與高溫高壓(121 , 151b , 20min)處理,其抑制胡瓜猝倒病發生的功效仍然存在,雖然高溫高壓處理過的 SFMC 介質中,Pa104 菌株引起胡瓜猝倒病的百分率略為提昇,但胡瓜發病率仍較對照組(BVB)的處理少 60% 以上。邱氏 (3) 曾將 SFMC 浸出液放置於 40 - 100 的水槽中各處理十分鐘後,發現浸出液的抑菌效果並未喪失。邱氏 (3) 利用 HPLC 分析 SFMC 浸出液時,發現 SFMC 中存在一種抑制 P. myriotylum 靜止子

發芽管生長的物質。由上述的研究推論, SFMC 抑制胡瓜 猝倒病的效應主要是以其成分中的非生物因子為主。

林氏 (2) 指出太空包菇類廢渣製成之腐熟堆肥大多歸屬 於鹼性 (pH 7.5 - 8.5 之間), 其中由香菇太空包廢渣製成堆 肥者,其鈣含量較高,可能因菇類生長基質的配方中添加 有碳酸鈣所致。Bateman 氏⁽⁸⁾ 及 Assche & Uyttebroeck 等 氏 (7) 指出植體中交換性 Ca²⁺ 易與果膠質 (pectin) 結合成果 膠鈣 (Ca²⁺-pectate), 進而阻斷植物組織遭受病原菌之 polygalacturonase 的分解。由 SFMC 培育的胡瓜幼苗較 BVB 培育者含有較高量的鈣與鉀,同時筆者發現由 SFMC 培育的胡瓜幼莖接種 P. aphanidermatum 後不易腐 爛,顯示鈣或鉀在胡瓜植體中,可能參與抗拒本病原菌感 染的角色之一,值得進一步研究。近年來, Pacumbaba 等 人 (19) 發現香菇 [Lentinula edode (Berk) Pegler] 菌絲滲出物 可以抑制番茄與菜豆細菌性萎凋病菌。 Zhang 等人 (22) 報 導介質中添加樹皮堆肥,可誘使胡瓜根系與葉片分別抗拒 P. aphanidermatum 與 Colletotrichum orbiculare 的感染; 並且可顯著促進胡瓜葉片的過氧化酵素活性。本研究發現 種於 SFMC 中的胡瓜根與莖含有比 BVB 培育者存在有高 量的過氧化酵素活性,其中較高量的過氧化酵素活性是否 參與胡瓜抗拒 P. aphanidermatum 感染的角色,則有待進 一步的探討。

誌 謝

本研究承蒙 國科會研究計畫 (NSC87-2313-B-005-028)經費補助, 謹此致謝。

引用文獻

- 1. 王才義. 1993. 農產廢棄物作為容器栽培介質有機成份 之探討. 園藝作物生產與發展研討會專刊. 69-82 頁. 國 立中興大學園藝系編印. 台中.
- 2. 林景和. 1993. 太空包菇類廢渣之農業利用. 永續農業研討會專集. 93-102 頁. 台中區農業改良場編印. 彰化.
- 3. 邱安隆. 1996. 利用農工廢棄物研製可供培育蔬菜種苗之抑病介質. 國立中興大學植物病理研究所碩士論文. 74 頁
- 4. 邱安隆、黃振文. 1997. 農工廢棄物堆肥培育蔬菜幼苗 與抑制菜苗根部病害的效果. 植病會刊 6:67-72.
- 5. 張愛華. 1981. 本省現行土壤測定方法. 作物需肥診斷技術. 台灣省農業試驗所印. 台中. 198頁.
- 6. 黃錦河. 1995. 本土化蔬菜穴盤育苗介質之開發利用. 國立中興大學園藝研究所碩士論文. 68 頁.
- 7. Assche, C. Van., and Uyttebroeck, P. 1981. The influence of domestic waste compost on plant diseases. Acta Hort. 126:169-178.

- 8. Bateman, D. F. 1964. An induced mechanism of tissue resistance to polygalacturonase in Rhizoctonia-infected hypocotyls of bean. Phytopathology 54:439-445.
- 9. Cataldo, D. A., Haroon, M., Schader, L. E., and Youndgs, V. L. 1975. Determination of nitrate in plant tissues. Soil Sci. Plant Nutr. 6(1):71-80.
- Daft, G. C., Poole, H. A., and Hoitink, H. A. J. 1979.
 Composted hardwood bark: A substitute for steam sterilization and fungicide drenches for control of poinsettia crown and root rot. Hortscience 14:185-187.
- 11. De Boodt, M., and Verdonk, O. 1972. The physical properties of the substances in horticulture. Acta Hort. 26:37-42.
- 12. Hadar, Y., Inbar, Y., and Chen, Y. 1985. Effect of compost maturity on tomato seedling growth. Sci. Hort. 27:199-208
- 13. Hammerschmidt, R., Nuckles, E. M., and Ku'c, J. 1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. Physiol. Plant Pathol. 20:73-82.
- 14. Hoitink, H. A. J., and Fahy, C. P. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. Annu. Rev. Phytopathol. 24:93-114.
- 15. Huang, J. W., and Huang, H. C. 2000. A formulated

- container medium suppressive to Rhizoctonia dampingoff of cabbage. Bot. Bull. Acad. Sin. 41:49-56.
- Ko, W. H., Chase, L., and Kunimoto, R. 1973. A microsyringe method for determining concentration of fungal propagules. Phytopathology 63:1206-1207.
- 17. Loehr, R. C. 1974. Agriculture Waste Management. Academic Press., London.
- Nelson, P.V. 1991. Greenhouse Operation and Management. 3rd ed. Reston Pub. Co. Inc. Virginia, U.S.A.
- 19. Pacumbaba, R. P., Beyl, C. A., and Pacumbaba, R. O., Jr. 1999. Shiitake mycelial leachate suppresses growth of some bacterial species and symptoms of bacterial wilt of tomato and lima bean *in vitro*. Plant Dis. 83:20-23.
- 20. Stanghellini, M. E., and Russell, J. D. 1973. Germination *in vitro* of *Pythium aphanidermatum* oospores. Phytopathology 63:133-137.
- 21. Stills, S. M., Dirr, M. A., and Gartner, J. B. 1976. Phytotoxic effects of several bark extracts on mung bean and cucumber growth. J. Am. Soc. Hort. Sci. 101:34-37.
- 22. Zhang, W., Dick, W. A., and Hoitink, H. A. J. 1996. Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to Pythium root rot and anthracnose. Phytopathology 86:1066-1070.

ABSTRACT

Wang, P. C.¹, and Huang, J. W.^{2,3} 2000. Characteristics for inhibition of cucumber damping-off by spent forest mushroom compost. Plant Pathol. Bull. 9:137-144. (¹ Taichung branch office, Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agricultrue, Executive Yuan., ² Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan, R.O.C., ³ Corresponding author, E-mail:jwhuang@dragon.nchu.edu.tw; FAX:886-4-2851676)

Of the four agriculture wastes tested, including spent forest mushroom compost (SFMC), raw growth medium for cultivation of forest mushroom (RGM), raw spent forest mushroom growth medium (RFM), and raw spent forest mushroom growth medium contaminated with other microorganisms (RFM (C)), SFMC was the best substrate for the growth of cucumber seedlings. Inoculation method of zoospore suspension was used to assess the effect of SFMC and Bas Van Burren No.4 peat moss (BVB) on dampingoff incidence of cucumber seedlings. Results showed that the former was more effective in suppressing damping-off of cucumber seedlings caused by Pythium aphanidermatum isolates Pa104 and Pa105 than the later. The suppressive effect of SFMC medium on infection of cucumber seedlings by the same pathogen was not markedly reduced after it was steamed with hot-air at 100 for 20 min. or autoclaved at 121 , 15 lb, for 20 min. The filtrate of water-extracted from SFMC could reduce production of zoospores by the pathogen as compared with BVB's filtrate. When pH values of SFMC's filtrate were adjusted at seven to nine, it showed stronger suppression to germ tube growth of encysted zoospores. The inhibitory effect of filtrate from SFMC medium was partially nullified after it was steamed or autoclaved. Root, stems, and cotylendons of cucumber seedlings, which were grown in SFMC medium, were more resistant to be colonized by the pathogen than those grown in BVB medium. Meanwhile, the peroxidase activity and components including K, Ca, Mg, NO₃-N and NH₄+N in root and stem of cucumber seedlings grown in SFMC medium were significantly higher than those in BVB medium.

Keywords: Agriculture wastes, cucumber damping-off, culture medium, disease- suppressive medium, spent forest mushroom compost.