

## 不同植物材料製備之煙燻水對'台農二號'番木瓜 幼苗猝倒病之影響

陳 妍 庭<sup>1)</sup> 陳 昶 霖<sup>2)</sup> 林 慧 玲<sup>3)</sup>

關鍵字：煙燻水、番木瓜、猝倒病、*Rhizoctonia solani* AG1-IA

**摘要：**本研究之目的為評估不同植物材料製成之煙燻水對 *Rhizoctonia solani* AG1-IA 引起之'台農二號'番木瓜幼苗猝倒病之影響。結果顯示，對 *R. solani* AG1-IA 防治效果，10 % 稻稈、小麥稈、牧草、玉米稈及竹葉煙燻水均能顯著降低菌絲生長速率，以竹葉煙燻水效果最佳，5 % 以上竹葉煙燻水能完全抑制菌絲生長；5 % 小麥稈、5 % 牧草及 5 % 稻稈煙燻水浸種番木瓜種子，顯著提高接種感染 *R. solani* AG1-IA 之番木瓜種子萌芽率。

### 前 言

在 1990 年代有研究顯示，燃燒植物所衍生的煙和森林大火均能夠刺激種子的萌芽(De Lange and Boucher, 1990)。在園藝操作上，煙(smoke)被利用有三種形式—氣態煙、煙燻水、活性化合物(Karrikins, KARs)，在近幾年的研究，植物衍生的煙(plant-derived smoke)其應用已經擴展到許多農業和園藝的植物種類(Kulkarni *et al.*, 2011; Sparg *et al.*, 2005; Stevens *et al.*, 2007)，具有刺激作物種子萌芽、促進幼苗生長及防治作物病害之效果。

番木瓜(*Carica papaya* Linn)，為番木瓜科(*Caricaceae*)植物，原產於中美洲東部低海拔地區，屬半草本熱帶果樹，台灣主要的經濟栽培品種為'台農二號'，約佔木瓜總栽植面積之 90%(黃等，2009)。台灣番木瓜必須以網室栽培方式來防止蚜蟲傳播病毒病，需不斷翻耕種植，因此每年所需要的種苗數量至少需 300 萬株苗(黃等，2009)。猝倒病被認為是育苗期最嚴重的問題，可造成很大的經濟損失(Hartley and Pierce, 1917)，猝倒病為土壤傳播或種子傳播病害，會造成種子不萌芽、萌芽後無法成苗或幼苗腐爛和倒伏，包括 *Fusarium*

- 
- 1) 國立中興大學園藝系碩士班研究生。
  - 2) 國立中興大學園藝系助理教授。
  - 3) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

spp.、*Rhizoctonia* spp.、*Pythium* spp.和 *Phytophthora* spp.為最常見和猝倒病相關的病原菌 (Lamichhane *et al.*, 2017)。

在作物病害管理上，由於化學農藥會對環境與人類健康造成許多負面影響，因此有效的非化學農藥防治病害策略與資材的應用十分重要，本研究之目的為利用不同植物燃燒製成的煙燻水，測試其對'台農二號'番木瓜幼苗猝倒病防治之效果，期能降低化學農藥之使用，建立不同植物材料製成之煙燻水於番木瓜種苗生產之應用。

## 材料與方法

### 一、試驗材料

#### (一)煙燻水製備

本試驗共使用五種禾本科植物作為材料，分別為稻(*Oryza sativa* L.)稈、小麥(*Triticum aestivum* L.)稈、盤固拉草(*Digitaria decumbens* Stent)、玉米(*Zea mays* L.)稈及甜龍竹(*Dendrocalamus hamiltonii*)葉，將 1 kg 乾燥的植物材料置於 20 L 的金屬桶燃燒，利用空壓機的動能將燃燒產生的煙導入 500 mL 的水，持續 45 分鐘，燃燒最高溫度約可達 142.5°C，冷卻後經 Whatman No.1 濾紙過濾，保存於 1°C 恆溫箱供日後試驗使用。以縮寫表示不同不同材料燒製之煙燻水，稻稈煙燻水(rice straw smoke-water, R-SW)，小麥稈煙燻水(wheat straw smoke-water, W-SW)，牧草煙燻水(pangola grass smoke-water, P-SW)，玉米稈煙燻水(corn stalk smoke-water, C-SW)，竹葉煙燻水(bamboo leaf smoke-water, B-SW)。

#### (二)病原菌來源、分離、純化、保存及病原性測試

*R. solani* AG1-IA 由國立中興大學植物病理學系，鍾文鑫老師(植物寄生菌暨菌類抗藥性分子診斷研究室)提供，使用 PDA 培養基(200 g 馬鈴薯、20 g agar、20 g glucose，加去離子水定量至 1 L)繼代，培養於 25°C 恆溫箱 3 天，切取菌絲塊保存於裝有無菌水的保菌管，於室溫保存。*R. solani* AG1-IA，原為菜豆上分離出來的病原菌，以下為病原性測試方法，病土培養，1 kg 泥炭土加 200 mL 去離子水，經滅菌釜 121°C 高溫高壓滅菌 1 小時，將在 25°C 恆溫箱培養 3 天不同編號的 *R. solani* AG1-IA 菌株之菌絲塊切碎混入放涼的無菌泥炭土，放置 25°C 恆溫箱培養 2 週。將具兩片本葉階段之'台農二號'番木瓜幼苗，移植至裝有 200 g 病土之 3 吋盆，放至國立中興大學溫室栽培，每菌株 4 重複，3 週後評估發病率，篩選出盆植試驗發病率最高之菌株，切取罹病組織分離病原菌，確定此菌株能造成'台農二號'番木瓜幼苗發病，將病原菌保存於裝有無菌水之保菌管，用於日後之試驗。

### 二、試驗方法

#### (一)不同種類、濃度之煙燻水抑制 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長試驗

先配 2 倍濃度的馬鈴薯液 50 mL，加入 40 mL 去離子水，並加入 2 g agar、2 g glucose，經滅菌釜 121°C 滅菌 20 分鐘，再加入不同種類 10 mL 經 millipore (0.22 μm)過濾之煙燻水

母液，即為含 10% 煙燻水 PDA 培養基，依此配置法，配置不同濃度不同種類之煙燻水培養基。製成含煙燻水之 PDA 培養基，將已在 PDA 培養基及 25°C 恆溫箱培養 3 天之 *R. solani* AG1-IA 菌絲，用直徑 6 mm 打孔器打培養基最邊緣之菌絲塊，將菌絲面朝向含煙燻水之 PDA 培養基中心點貼合，每處理 4 重複，對照組為菌絲塊放至未含煙燻水之 PDA 培養基，每 12 小時量測菌絲生長直徑，直至第 3 天對照組菌絲長滿培養基。

(二) 5% 煙燻水浸種對番木瓜種子接種 *R. solani* AG1-IA 介質之種子萌芽及幼苗生長之影響

每盆 3 吋盆裝 120 g 無菌的泥炭土(1 kg 泥炭土加 200 mL 去離子水，經 121°C 滅菌 1 小時)，混入 1 g 接種源(30 g 番茄種子和 30 mL 去離子水加入三角瓶，經 121°C 滅菌 1 小時後放涼，加入 30 個培養 3 日之 6 mm *R. solani* AG1-IA 菌絲塊，在 25°C 恆溫箱培養 14 天)。番木瓜種子浸泡在純水 24 小時後，以 0.5% NaClO 表面消毒 2 分鐘，以無菌水潤洗 3 次，浸泡在 5% 稻稈煙燻水(R-SW)、小麥稈煙燻水(W-SW)、牧草煙燻水(P-SW)、玉米稈煙燻水(C-SW)及竹葉煙燻水(B-SW)，對照組浸泡在去離子水，浸泡 24 小時後播種於含接種源之泥炭土，對照組分為有或無接種 *R. solani* AG1-IA，每盆播 10 顆種子，每處理 5 重複，栽培於 30°C 生長箱 12 光暗循環光照，每週澆兩次 10 mL 5% 不同煙燻水，其他天澆水，播種後 21 天調查萌芽率與幼苗生長。

## 結 果

一、不同種類、濃度之煙燻水對 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長之影響

(一) 10% 不同煙燻水對 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長之影響

10% 不同種類煙燻水培養 *R. solani* AG1-IA 病原菌顯著抑制菌絲生長速率，*R. solani* AG1-IA 菌絲生長速率顯著低於對照組，其中 10% 竹葉煙燻水抑制效果最佳，可達 100% 菌絲生長抑制率，其次是 5% 玉米稈、5% 牧草煙燻水，可達 83.57%、78.28% 菌絲生長抑制率(表 1、圖 1)。

(二) 竹葉煙燻水對 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長之影響

含 3%、5%、7% 或 10% 竹葉煙燻水之 PDA 培養基，顯著抑制 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長速率，其中 5%、7% 及 10% 竹葉煙燻水，可達 100% 菌絲生長抑制率(表 2、圖 2)。

二、5% 不同煙燻水浸種對接種 *R. solani* AG1-IA 之 30°C 生長箱中番木瓜種子萌芽率及幼苗生長 3 週之影響。

處理 5% 小麥稈、5% 牧草及 5% 稻稈煙燻水之番木瓜種子萌芽率分別為 72%、58% 及 48%，顯著高於對照組接種 *R. solani* AG1-IA 之萌芽率 26%。不同煙燻水處理之幼苗莖徑和接種 *R. solani* AG1-IA 的對照組無顯著差異，但處理 5% 小麥稈、5% 牧草及 5% 稻稈煙燻水之幼苗莖徑顯著大於未接種的對照組。不同煙燻水處理之幼苗葉數和未接種或接

表 1. 10 % 不同單子葉來源煙燻水對 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長及抑制率之影響  
 Table 1. Effect of 10 % smoke-water from 5 different monocots on the mycelial growth and inhibition rates of *R. solani* AG1-IA.

Smoke-water <sup>x</sup>	Mycelial growth (mm)				Growth rate (mm/h)	Mycelial growth inhibition rate (%)
	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr		
CK-PDA	8.23 a*	26.38 a	50.15 a	74.26 a	1.83 a	
10% R-SW	3.26 b	13.60 b	25.34 b	36.25 b	0.92 b	51.19 e
10% W-SW	2.64 b	11.61 b	22.26 b	33.32 c	0.85 c	55.13 d
10% P-SW	0.66c	5.79 c	10.20 c	16.13 d	0.43 d	78.28 c
10% C-SW	0.58 c	3.04 d	6.71 d	12.20 e	0.32 e	83.57 b
10% B-SW	0.00 c	0.00 e	0.00 e	0.00 f	0.00 f	100.00 a

\*Values in columns followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$  by LSD test.

<sup>x</sup> R-SW= rice straw smoke-water. ; W-SW=wheat straw smoke-water. ; P-SW=pangola grass smoke-water. ; C-SW=corn stalk smoke-water. ; B-SW=bamboo leaf smoke-water.

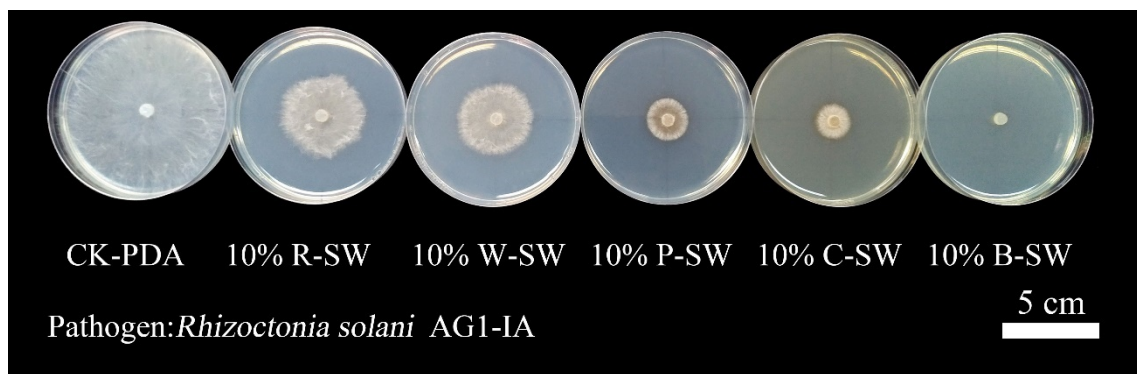
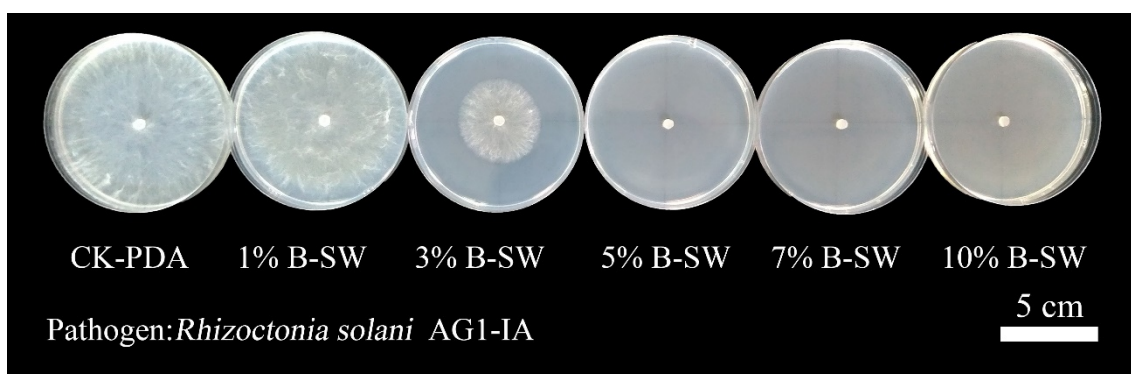


圖 1. 10 % 不同單子葉來源煙燻水對 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長抑制效果。  
 Fig. 1. Effect of 10 % smoke-water from 5 different monocots on the inhibition of mycelial growth of *R. solani* AG1-IA after 60-hour treatment.

表 2. 竹葉煙燻水(1~10%)對 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長及抑制率之影響Table 2. Effect of bamboo leaf smoke-water (1-10%) on the mycelial growth and inhibition rates of *R. solani* AG1-IA.

Smoke-water	Mycelial growth (mm)					Growth rate (mm/h)	Mycelial growth inhibition rate (%)
	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr		
CK-PDA	2.20 a*	14.90 a	39.30 a	66.10 a	79.00 a	1.60 a	
1% B-SW	1.70 b	9.90 b	28.60 b	52.10 b	79.00 a	1.61 a	0.00 c
3% B-SW	0.00 c	1.60 c	9.90 c	20.20 c	34.10 b	0.71 b	56.80 b
5% B-SW	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	100.00 a
7% B-SW	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	100.00 a
10% B-SW	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c	100.00 a

\*Values in columns followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$  by LSD test.

圖 2. 1 %、3 %、5 %、7 % 及 10 % 竹葉煙燻水對 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長抑制效果。Fig. 2. Effect 1 %, 3 %, 5 %, 7 % and 10 % bamboo leaf smoke-water on the inhibition of mycelial growth of *R. solani* AG1-IA after 60-hour treatment.

種 *R. solani* AG1-IA 的對照組無顯著差異。不同煙燻水處理之幼苗株高和接種 *R. solani* AG1-IA 的對照組無顯著差異；處理 5 % 稻稈、5 % 小麥稈、5 % 牧草煙燻水及 5 % 竹葉煙燻水之幼苗株高分別為 5.15 cm、5.96 cm、5.75 cm 及 5.08 cm，顯著高於未接種 *R. solani* AG1-IA 的對照組之 3.47 cm (表 3、圖 3)。

表 3. 5 % 不同煙燻水浸種對接種 *R. solani* AG1-IA 之 30°C 生長箱中番木瓜種子萌芽率及幼苗生長 3 週之影響

Table 3. Effect of 5 % smoke-water from different sources on percentage germination and growth parameters of papaya seedlings grown in peat moss inoculated with *R. solani* AG1-IA for three-weeks in 30°C growth chamber.

Smoke-water <sup>x</sup>	Germination (%)	Stem diameter (mm)	Leaf number	Plant height (cm)
CK-N	18 c*	0.73 b	3.00 a	3.47 c
CK-I	26 c	0.88 ab	3.39 a	4.62 abc
5% R-SW	48 b	0.97 a	3.62 a	5.15 ab
5% W-SW	72 a	1.01 a	3.95 a	5.96 a
5% P-SW	58 ab	0.97 a	3.93 a	5.75 a
5% C-SW	26 c	0.83 ab	3.50 a	4.3 bc
5% B-SW	38 bc	0.89 ab	3.67 a	5.08 ab

\*Values in columns followed by the same letter are not significantly different at  $P \leq 0.05$  by LSD test.

<sup>x</sup> CK-N= non-inoculated control ; CK-I= inoculated control ; R-SW= rice straw smoke-water. ; W-SW=wheat straw smoke-water. ; P-SW=pangola grass smoke-water. ; C-SW=corn stalk smoke-water. ; B-SW=bamboo leaf smoke-water.

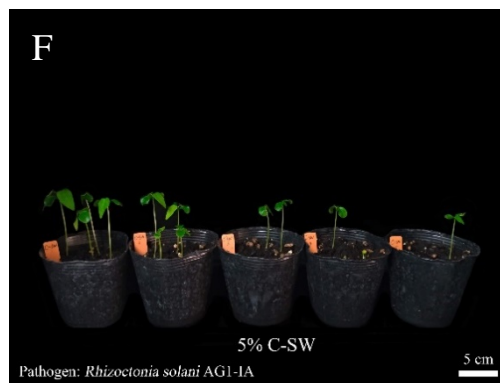
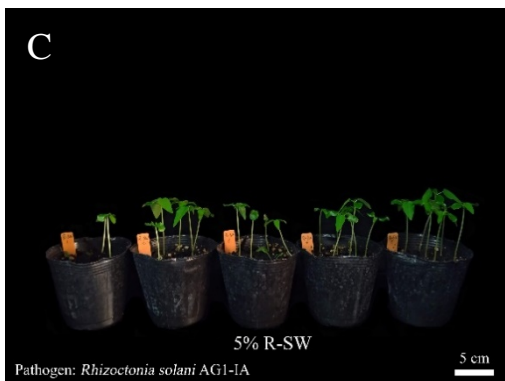


圖 3. 番木瓜種子播於接種 *R. solani* AG1-IA 介質，處理 5 % 不同種類之煙燻水，在 30°C 生長箱栽培 3 週之生長狀況。

Fig. 3. The performance of papaya seedlings that grown at 30°C in growth chamber for three weeks., (A) non- inoculated as control, (B) inoculated with *R. solani* AG1-IA as inoculated control, (C) seedlings were treated with 5 % R-SW and inoculated with *R. solani* AG1-IA., (D) seedlings were treated with 5 % W-SW and inoculated with *R. solani* AG1-IA., (E) seedlings were treated with 5 % P-SW and inoculated with *R. solani* AG1-IA., (F) seedlings were treated with 5 % C-SW and inoculated with *R. solani* AG1-IA., (G) seedlings were treated with 5 % B-SW and inoculated with *R. solani* AG1-IA.

## 討 論

### 一、煙燻水抑制 *R. solani* AG1-IA 體外試驗

此試驗結果顯示，10 % 不同煙燻水均有抑制 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長之效果(表 1)，5 %、7% 及 10% 竹葉煙燻水能完全抑制 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長(表 2)；總體而言，抑制 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長，以竹葉煙燻水效果最好，5 % 以上能完全抑制菌絲生長。根據 GC-MS 分析結果，煙燻水含有多種酚類化合物(陳, 2012)。Castillo 等人(2010)之研究顯示，*Larrea tridentata* 和 *Fluorensia cernua* 兩种植物的萃取液，具有完全抑制 *R. solani* Kühn 菌絲生長之效果，這兩种植物萃取液含有單寧(tannins)。這些植物萃取的抗真菌特性，源自於萃取液成分主要為二次代謝產物的化合物，例如多酚類(polyphenols)，為植物防禦機制的一部分，能對抗節肢動物和微生物(Gamboia *et al.*, 2003)。因此，推測酚類化合物可能為煙燻水抑制 *R. solani* AG1-IA 菌絲生長之主要成分。

### 二、5 % 不同煙燻水防治 *R. solani* AG1-IA 造成之番木瓜幼苗猝倒病體內試驗

在生長箱試驗，除了玉米稈煙燻水外，處理 5 % 不同煙燻水浸種均能提高接種 *R. solani* AG1-IA 的番木瓜種子萌芽率，以 5 % 小麥稈、5 % 牧草及 5 % 稻稈煙燻水與接種的對照組有顯著差異(表 3)。許多研究證明，種子浸泡在稀釋的煙燻水或低濃度的 KAR<sub>1</sub> 能刺激種子在非合適的溫度萌芽(Jain *et al.*, 2006)。根據陳(2012)之研究，處理 1 %-6 % 稻稈煙燻水，能提高接種 *R. solani* 的番木瓜種子之萌芽率，煙燻水能刺激接種 *R. solani* 的種子萌芽。根據 Yangui 等人(2008)之研究，在盆植試驗處理 0.5 %、1 % 及 2 % 橄欖磨廢水(Olive mill waste water)，能顯著減少由 *R. solani* 造成之番茄植株猝倒病，經 GC-MS 分析，橄欖磨廢水含有數種多酚類(polyphenols)，包括香蘭素(vanilline)、間羥基苯乙醇(M-hydroxyphenylethanol)、4-羥基苯乙醇(4-hydroxyphenylethanol)、1,2-二羥基-4-(1-丙基)苯[1,2-dihydroxyl-4-(1-propyl) benzene]、4-羥苯基丙酸(4-hydroxyphenyl-propionic acid)、香草乙二醇(vanilleanediol)、2-羥苯基乙酸(2-hydroxyphenyl acetic acid)和 3,4-二羥基苯基乙二



醇(3,4-dihydroxyphenylglycol)。酚類化合物能夠螯合過渡金屬，和藉由形成惰性金屬配位複合體(inert metal–ligand complex)來降低金屬鐵的反應性，過渡金屬的螯合，例如鐵和銅，可減少真菌生長的生物利用度。菌絲生長的抑制效果可能歸因於酚類化合物，會損害真菌細胞功能和膜的完整性(Ciafardini and Zullo, 2003)；酚類化合物能緊密結合在細胞壁上，從而損壞它們，並具有蛋白質變性的活性(Bais *et al.*, 2002)。揮發性多酚類能和核苷酸及蛋白質物質發生反應，例如多酚類的類黃酮，能藉由與 DNA 反應和破壞 DNA 複製來抑制病原菌的生長(Wong and Kitts, 2006)。因此，依據前述試驗結果，煙燻水含有多種抑菌成分，推測酚類化合物為主要降低番木瓜種子感染 *R. solani* AG1-IA 猝倒病之原因。此外，煙燻水可能含有刺激種子萌芽的活性成分如 Karrikins (KARs)，能調節植物內生賀爾蒙，因此提高番木瓜種子萌芽率。

## 參 考 文 獻

- 黃士晃、張錦興、林棟樑。2009。番木瓜種苗及繁殖方式簡介。台南區農業專訊。70:3-6。
- 陳湄禎。2012。煙燻水對'台農二號'番木瓜種子發芽、幼苗生長、抗真菌性病害及採收後果實品質的影響。國立中興大學園藝學系碩士論文。臺灣：臺中。
- Bais, H. P., T. S. Walker, H. P. Schweizer, and J. M. Vivanco. 2002. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. *Plant Physiol. Biochem.* 40:983-995.
- Castillo, F., D. Hernández, G. Gallegos, M. Mendez, R. Rodríguez, A. Reyes, and C. N. Aguilar. 2010. *In vitro* antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Ind. Crops Prod.* 32:324-328.
- Ciafardini, G. and B. Zullo. 2003. Antimicrobial activity of oil-mill waste water polyphenols on the phytopathogen *Xanthomonas campestris* spp. *Ann. Microbiol.* 53:283-290.
- De Lange, J. and C. Boucher. 1990. Autecological studies on *Audouinia capitata* (Bruniaceae). I. Plant-derived smoke as a seed germination cue. *South African J. Bot.* 56:700-703.
- Gamboa, A., C. Hernández, R. Guerrero, and A. Sanchez. 2003. Mycelia inhibition of *Rhizoctonia solani* Kuhn and *Phytophthora infestans* Mont (De Bary) with methanolic vegetal extracts from tarbush (*Florenxia cernua* DC), Meajorana (*Origanum majorana* L.) and trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca.) Schlecht]. *Rev. Mex. Fitopatol* 21:13-18.
- Hartley, C. P. and R. G. Pierce. 1917. The control of damping-off of coniferous seedlings. Department of Agriculture. USA.
- Jain, N., M. G. Kulkarni, and J. Van Staden. 2006. A butenolide, isolated from smoke, can overcome the detrimental effects of extreme temperatures during tomato seed germination.

- Plant Growth Regul. 49:263-267.
- Kulkarni, M., M. Light, and J. Van Staden. 2011. Plant-derived smoke: old technology with possibilities for economic applications in agriculture and horticulture. S. Afr. J. Bot. 77:972-979.
- Lamichhane, J. R., C. Dürr, A.A. Schwanck, M.-H. Robin, J.-P. Sarthou, V. Cellier, A. Messéan, and J.-N. Aubertot. 2017. Integrated management of damping-off diseases. A review. Agron. Sustainable Dev. 37:10.
- Sparg, S., M. Kulkarni, M. Light, and J. Van Staden. 2005. Improving seedling vigour of indigenous medicinal plants with smoke. Bioresource Tech. 96:1323-1330.
- Stevens, J., D. Merritt, G. Flematti, E. Ghisalberti, and K. Dixon. 2007. Seed germination of agricultural weeds is promoted by the butenolide 3-methyl-2H-furo [2, 3-c] pyran-2-one under laboratory and field conditions. Plant Soil 298:113-124.
- Wong, P. Y. and D. D. Kitts. 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. Food Chem. 97:505-515.
- Yangui, T., A. Rhouma, M. A. Triki, K. Gargouri, and J. Bouzid. 2008. Control of damping-off caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* using olive mill waste water and some of its indigenous bacterial strains. Crop Prot. 27:189-197.

## Effects of Smoke-water Derived from 5 Different Monocots on Germination, Growth and Damping-off Disease Control of Papaya (*Carica papaya* cv. Tainung No.2) Seedlings

Yan-Ting Chen<sup>1)</sup> Chang-Lin Chen<sup>2)</sup> Huey-Ling Lin<sup>3)</sup>

Key words : Smoke-water, Papaya, Damping-off disease, *Rhizoctonia solani* AG1-IA

### Summary

This study evaluated the effect of smoke-water derived from 5 different monocots on damping-off disease control. The results showed that smoke-water derived from 10 % of different plant materials can significantly reduce mycelial growth rate of *R. solani* AG1-IA, from the bamboo leaf smoke-water could inhibit the mycelial growth rate completely, even if the concentration decreased from 10 % to 5 %. Smoke-water derived from 5 % wheat straw, 5 % pangola grass and 5 % rice straw significantly increased the germination rate of papaya seeds infected with *R. solani* AG1-IA under control condition.

---

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Assistant Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

