中華民國第四十六屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組　生物(生命科學)科

040716

水稻偏食會怎樣

學校名稱： 國立臺南女子高級中學

作者：	指導老師：
高二 陳文欣 高二 謝雅惠	侯明全

關 鍵 詞：水稻、營養素、病原菌

水稻偏食會怎樣

英文摘要(Abstract)

When plants grow up, there’s a lot of necessary nutrition. Once plants lack of this nutrition, some problems will occur. It can cause plant growth retardation and decrease the immune ability to the surroundings. Rice is a main cereal in Taiwan, and we are all proud of it. However, rice is frequently attacked by many pathogens , such as *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and *Thanatephorus cucumeris.* The infection directly limits plant growth and survive of organisms, but also indirectly effect life of human.

In this research, we study the effect of nutrition deficiency such as nitrogen , phosphorus, potassium, iron , magnesium and calcium deficiency. First , we cultivate the crops on the media which lacks of some specific nutrition. After intensive observes on the plants, we can slightly discover the relationship between these nutrition and the plants. After the plants are infected by the pathogens (*X. oryzae* pv. *oryzae* and *T. cucumeris*) in two weeks, we record the spread of the lesion size resulted from the infection. The changes of Peroxidase activity after infection are also studied. We hope we can get a deeper understand about the immune system of rice.

中文摘要

植物體在生長發育的過程中，有許多必要的營養素，一旦缺乏這些營養素，植物的生長狀況會產生問題，不但會抑制植物生長，植物對外界的免疫力也會跟著下降。在台灣，水稻不僅是台灣人賴以維生的糧食，更是台灣人引以為傲的作物。但台灣高溫多濕的海島型氣候，適合多種稻作病害的發生，紋枯病及白葉枯病就是危害台灣稻作主要兩種病害。這些病原菌的感染直接限制了該土地中植物的生長和生物的存活，間接的影響人類的生活。

本研究中，以水稻為實驗對象，我們主要探討六種水稻生長所必須的營養素：鈣、鎂、鐵、鉀、氮、磷和水稻之間的關係。我們將水稻種植在缺乏某種特定元素的培養基中，觀察其生長的異狀，以便於得知某特定元素對於水稻生長發育的影響為何。之後，再將缺乏各種營養素的水稻及營養素供應正常的水稻，分別感染白葉枯病病原細菌及紋枯病病原菌，觀察受感染的水稻之損傷程度，並檢測受感染植株中過氧化氫酵素活性的變化，試著歸納出其防禦機制和營養素之間的關係，期望對其防禦機制能有進一步的了解。

壹、研究動機

我們總是擔心自己長不高，該吃什麼；自己身體出問題，該補充什麼營養，卻鮮少有人留心植物的生長出現狀況時，是什麼原因所造成。在高中生物課本中，列舉了幾種對植物生長不可或缺的營養素，我們針對其中六種營養素，進行實驗，以期了解這些營養素在植物生長過程中所扮演的角色。稻米，是我們賴以維生的糧食作物，臺灣的稻米更是世界知名，但植物也會生病，白葉枯病和紋枯病爲水稻兩種主要病害，對辛苦耕種的農民常造成嚴重的損失。因此，我們以初期稻米爲實驗對象，將水稻種植在缺乏不同營養素的情況下進行研究，希望能藉此找到對水稻的防禦力有所影響的元素，作爲研究水稻抗病機制的基礎。

貳、研究目的

本實驗研究目標將著重於了解水稻在營養素缺乏的環境下，其生長發育會表現出哪些異狀；再者，使其感染病原菌，觀察缺乏某種營養素的水稻和營養素供應正常的水稻在受到病原菌侵襲時，所表現出的病徵輕重，並檢測受感染葉片的過氧化氫活性的變化，用以比較其防禦外來病原菌的能力，期能藉此了解營養素對水稻抵禦病原菌所扮演的角色。

參、實驗器材

無菌水	縫衣針
離心管	恆溫生長箱
濾紙	真空皿
培養皿	離心機
剪刀	分光光度計
鋁箔紙	棉花
鑷子	電子天平

肆、材料與方法

一、 水稻的培育

(一)實驗的材料使用台農 67 號品系的水稻。栽培前先將水稻種子於 4%~5%的次氯酸鈉溶液中消毒 15 分鐘，再以二次水洗淨，放置在清潔並鋪有濾紙的培養皿上，放入生長箱中催芽 3 到 4 天，發芽期間只需添加二次水。

(二)取 50ml 的離心管(Falcon Tube)，用二次水沖洗後，貼上標籤如下所示：完整培養液、缺鉀、缺鈣、缺鎂、缺氮、缺磷、缺鐵。

(三)先於離心管(Falcon Tube)中加入約 30ml 的二次水，再添加不同成分的儲存溶液(見附表 1)，每加入一種儲存溶液即充分搖晃，直至完全溶解，以避免有沉澱現象，待所有溶液均加入之後，再加二次水到 50ml。

(四)在離心管(Falcon Tube)的瓶蓋上切割出一條寬約 0.3cm，長約 2cm 的縫隙，挑選正常生長的水稻幼苗，且避免傷及根部，先用水清洗根部殘留的棉削，再以二次水清洗，之後使用脫脂棉包住莖部，將水稻根部穿過瓶蓋上的縫隙，置入離心管中，根部必須浸於營養液中，栽種完成後，再移到生長箱中。

(五)每週定期觀察，並注意植株生長情形，拍照並紀錄。且於溶液未及 50ml 時，予以補充和原瓶中相同成份的營養液至原有體積，如此觀察兩週。

二、白葉枯病病原細菌的培養及接種

(一)實驗所使用的白葉枯病病原細菌菌株由行政院農業委員會台南區農業改良場植物保護研究室提供，以 NA 培養基培養。(以無菌水室溫保存)細菌懸浮液的製備：將病原細菌移殖到新的 NA 培養基上，培養三天，待細菌長滿培養基表面時，將細菌洗入無菌水中，劇烈震盪，使細菌均勻散佈在無菌水中，配成 OD_{600} 值介於 0.28～0.32，濃度約為 10^8(cfu)的細菌懸浮液。

(二)待水稻植株生長兩週後，取植株完全展開的兩片新葉，以消毒過的剪刀沾取細菌懸浮液剪去其葉尖，使病菌強制入侵，並用塑膠袋套住植株。

(三)待 24 小時後將塑膠袋去除，避免植株太過潮濕而發霉。

(四)持續觀察植株受感染的情形，定時紀錄病勢進展情形，並拍照記錄。

(五)病勢進展程度以病斑長度佔葉片長度百分比(病斑長度/葉片長度)表示之

三、紋枯病病原菌的培養及接種

(一)實驗所使用的紋枯病菌菌株由行政院農業委員會台南區農業改良場植物保護研究室提供(將新鮮的稻草莖，浸泡在 0.3%～0.5%的糖水中，瀝乾消毒後再接種紋枯病，待一個多月後，稻草莖上就已佈滿紋枯病菌的菌絲。)

(二)接種時，將稻草莖切割成 0.5cm×0.5cm，距離植株的基部約 0.5cm～1.0cm 處用縫衣針打上小洞，再將切割好的稻草莖黏著於傷口處，並以透明膠帶固定。

(三)持續觀察植株受感染的情形，定時紀錄病斑的大小，並拍照記錄。

四、過氧化氫酵素活性的測定

(一)取下被感染的水稻葉片剪成約 2cm 的片段，浸在萃取溶液中(100Mm Mes，50mM Tris pH6.0，50mM $CaCl_2$，0.5% Trition X-100)，在真空皿中降低壓力以趕出維管束中的氣體，使萃取液能進入其中。

(二)將葉片取出，置入一個微量離心管內，將此裝置放入 1ml 的離心管中，於 15000rpm 離心(Kontron-Hermle centrikon H-401)十五分鐘，取在微量離心管內所收集到的液體用於過氧化氫酵素活性的測定

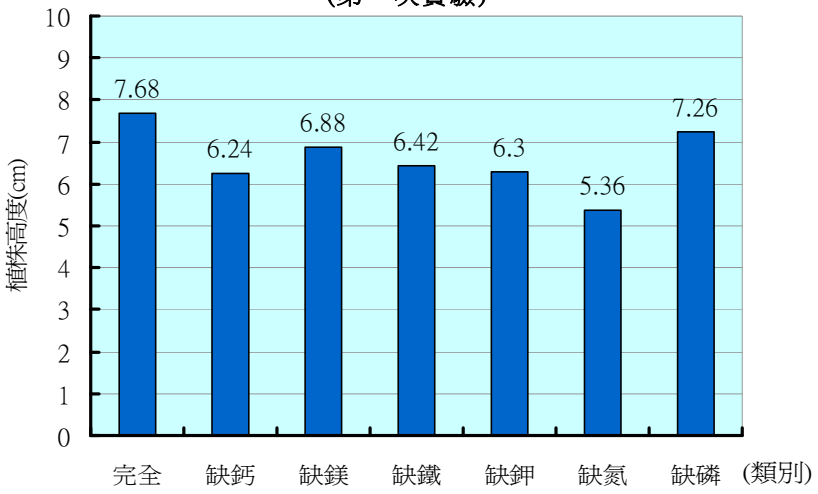
(三)收集離心管上層澄清的維管束萃取液，加入 1 毫升的反應液中(100 mM sodium phosphate pH6.0,18mM guaiacol, 0.03% hydrogen peroxide)，檢測 470nm 吸光值的變化(紀錄最後穩定不變的數據)，酵素活性以 ΔOD_{470}/ min 表示

伍、研究結果

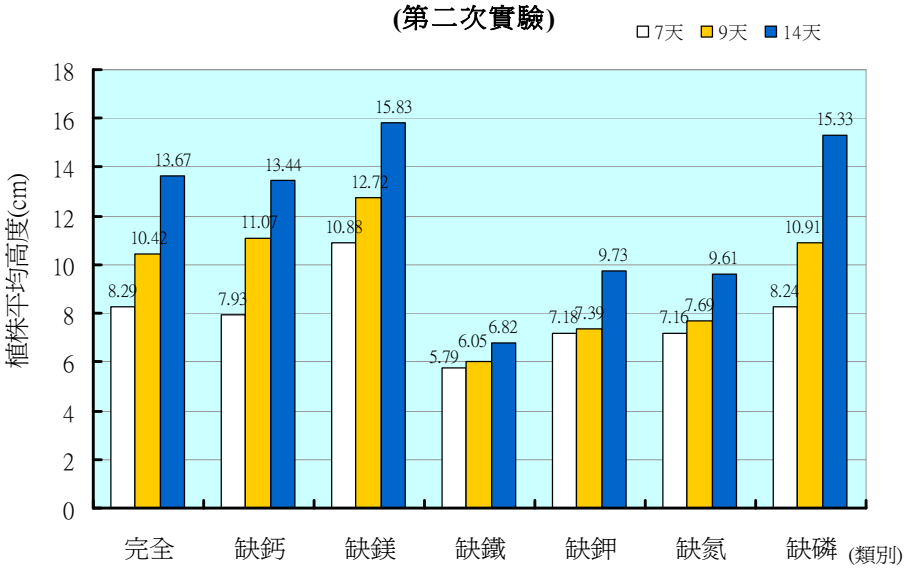
	營養素缺乏	接種白葉枯細菌	接種紋枯病真菌
缺鈣	在種植一週後生長明顯緩慢，植株較為矮小，莖部多有彎曲，且葉片柔軟，葉緣捲曲，兩週後，葉片前端開始出現大量微小白斑以及軟化的現象。	接種後 3 天及 6 天時，病斑面積的大小皆居第三位，但病斑擴張速率緩慢，直至第 12 天時，病斑面積大小為次小。	最快生成病斑，在基部出現枯褐色的大病斑，擴展的速率也最快，撥開最外層的葉片還可看見下位葉的內緣有細長的大小褐斑。

缺鎂	初期生長正常，三天後根部尖端開始泛紅，根尖有小顆粒附著，兩週後，葉片出現少量褐色斑點。	在接種後 6 天內病徵表現並不嚴重，但到了第 9 天時出現大面積病斑白化情形，多由葉脈向外擴張，擴展速率驚人，到了第 12 天時，缺鎂者已成爲病斑面積最大，並於葉緣出現 2 至 3 團水浸狀的斑點。	基部也出現了橢圓形的病斑，面積大小居第二位，僅次於缺磷者。
缺鐵	植株較爲矮小，幼苗長出時，葉尖便呈淡黃色，一週後，植株顏色明顯較生長正常的水稻顏色要淡，幾天後，葉脈開始變黃，整株幾乎呈現淡黃色，新生的幼苗顏色更是淡白。	發病情形最顯著，由病斑長度與葉長比率比較，可發現缺鐵的水稻病斑面積擴展速率最快，葉片變得極軟而薄弱，到了接種後的第 6 天，葉片出現發霉的情形。	水稻植株上的病斑顏色略淺，較不明顯。
缺鉀	最初植株生長稍微矮小，並無特別遲緩，但兩週後，葉片開始沿葉脈出現赤褐色斑點，且植株較不穩固，容易歪倒。	接種後 6 天白化速率明顯增加，葉片顏色略淺且有半透明區塊出現，並產生發霉現象，於接種後 12 天觀察到葉緣與基部密佈水浸狀斑點。	發霉嚴重
缺氮	在實驗之初，生長便極爲不良，最初，顏色爲極淡的綠色，後來逐漸變爲黃色，兩週後，基部已呈現黃紅和些微的褐色，其葉也無法順利開展，嚴重捲曲成直立桿狀，莖葉硬化，彎曲度不佳，輕微的碰撞便可使其斷裂，生長一週後，基部開始出現少許細毛狀物，葉間也開始出現水浸狀的斑點，幾天後基部便出現發霉的現象。	接種初期病斑面積擴張速率亦相當快速，且有發霉現象，到了接種後的 12 天，已枯萎嚴重而無法觀察。	發霉嚴重，幾乎已經全數枯萎，所以無法觀察是否有病斑的生成。
缺磷	葉片較爲狹長，植株在生長初期直立硬挺，全株顏色濃綠，根部顏色異常，呈現橘紅色，且長得較稀疏而直，根毛量較少且顯得脆弱。	缺磷的水稻植株到了接種後 6 天於葉尖出現白化病斑，病斑擴張速率極爲緩慢，除了葉片稍微變薄以及顏色較接種前爲淡綠之外，發病情形最不明顯，植株健康情形甚至優於不缺營養素的水稻。	在接種初期病徵表現並不嚴重，但開始出現零星的褐色病斑後，莖部便開始轉變成綠褐色，直至後期，整株都呈現綠褐色，且陸續出現深褐色的病斑。

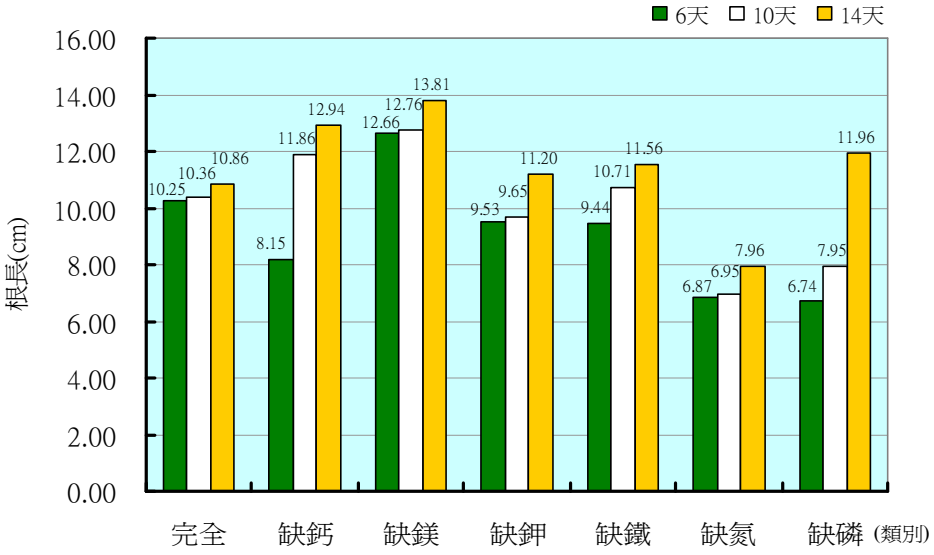
營養素缺乏對水稻生長高度關係圖
(第一次實驗)



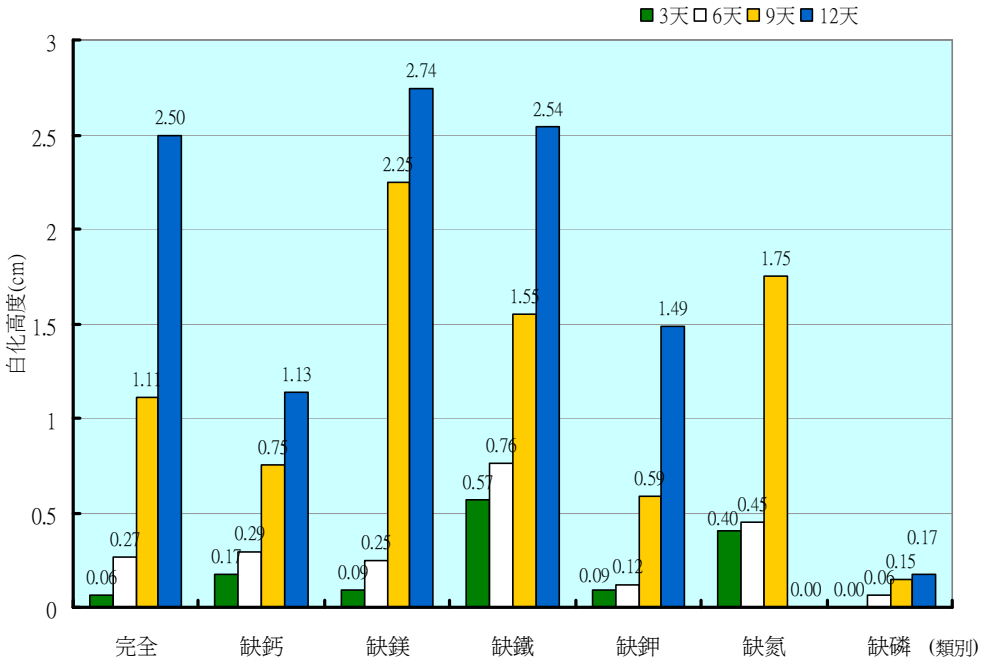
營養素缺乏對水稻生長高度圖
(第二次實驗)



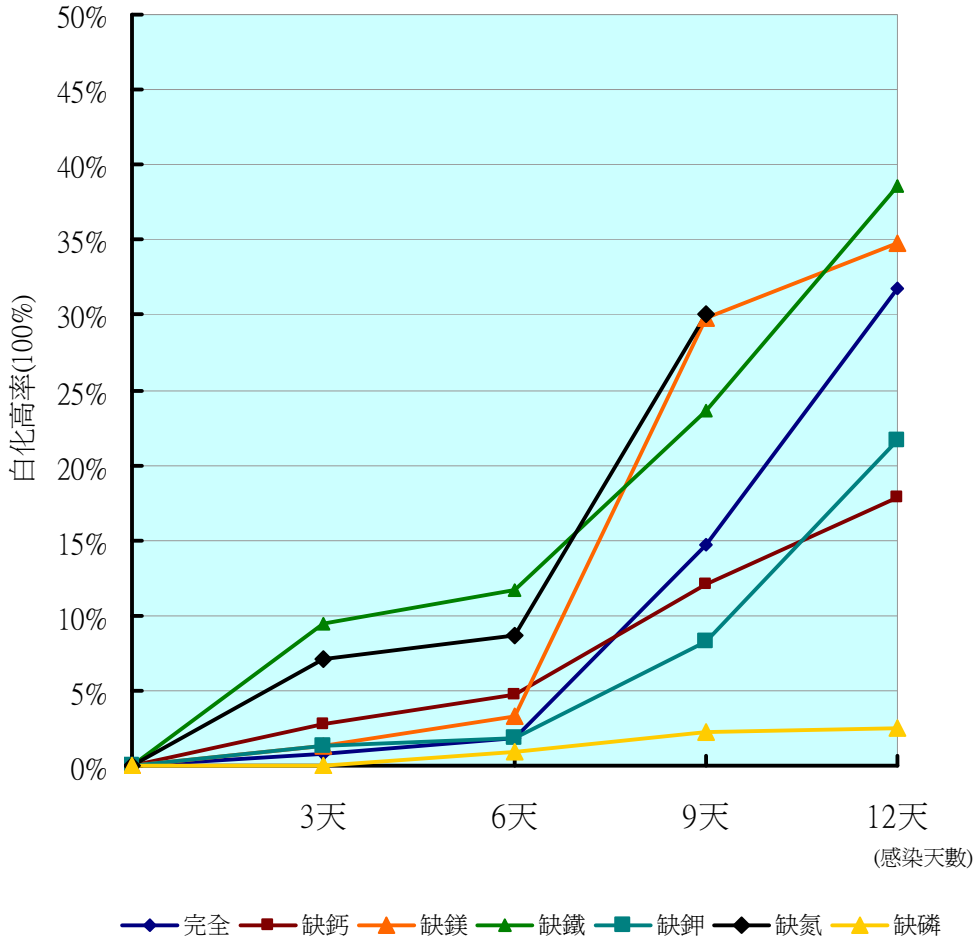
營養素缺乏對水稻平均根長關係圖



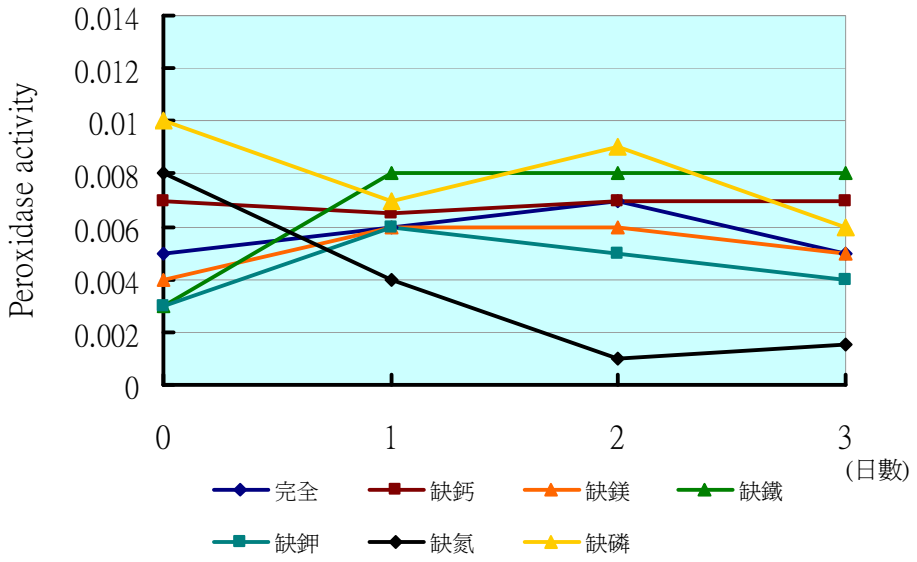
植株白化區域高度圖



植株白化高率變化圖



接種白葉枯病菌不同日數過氧化氫酵素活性的變化



紋枯病接種病徵紀錄

類別	病斑面積(cm^2)	感染區塊發病情況
完全	0.1×0.1	基部有出現淡褐色的病斑，中心顏色較淺，周圍顏色較深
-Ca	0.3×0.05	在基部和連接基部的葉片內側都發現顏色較深的長條狀褐斑
-Mg	0.2×0.05	基部處出現褐斑，並斑中心有一小塊並非褐色處，看起來像土星環的形狀
-Fe	0.15×0.1	核般的位置較高，顏色較淺
-K	病徵不明	因爲發霉嚴重，無法辨識
-N	病徵不明	因爲發霉嚴重，無法辨識
-P	0.15×0.05	有一塊較大的褐斑，莖部上分布著零星細小的褐斑，且莖部轉變成偏綠的褐色

水稻對營養素缺乏的病徵

1

2

3

4

5

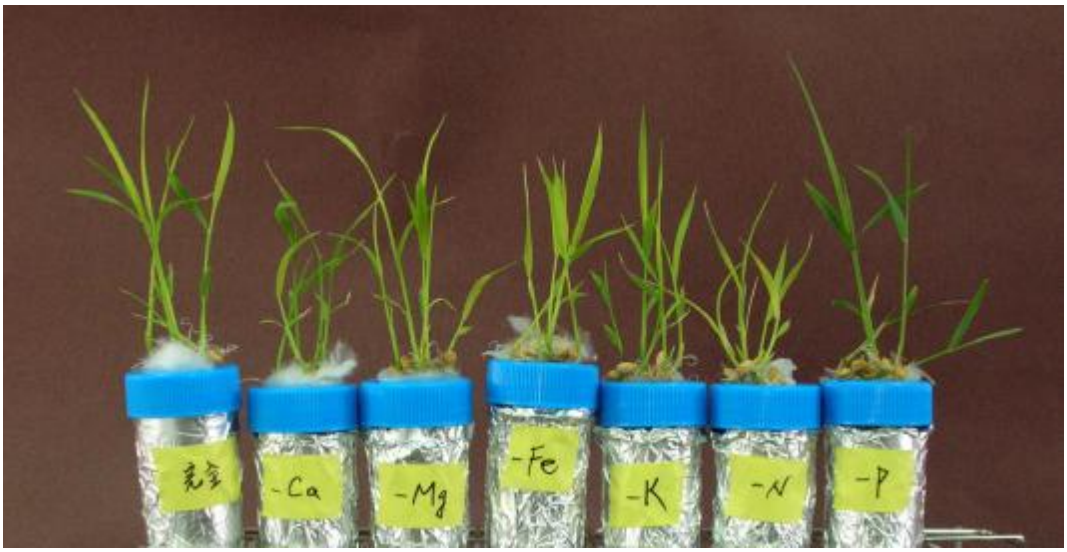


圖 1 缺乏氮的病徵：葉片無法順利開展，捲曲成直桿狀且硬化
圖 2 缺乏鉀的病徵：葉脈左右出現褐斑
圖 3 缺乏鎂的病徵：葉片出現少量褐斑
圖 4 缺乏磷的病徵：根部呈現橘紅色
圖 5 生長一週後，缺乏各種營養素的植株的比較圖

接種白葉枯病的病徵

1

2

3

4

圖 1 缺乏鐵的病徵：葉片極軟且透光
圖 2 缺乏鎂的病徵：葉片邊緣有大面積白化
圖 3 缺乏鈣的病徵：葉片白化且稍微內捲
圖 4 缺乏鉀的病徵：葉片顏色較淺，且葉緣處出現水浸狀斑點

接種紋枯病的病徵

1

2

3

4

5

圖 1 缺乏氮的植株，完全營養素的植株，在基部出現小圈的褐斑
圖 2 缺乏鈣的植株，病斑最大者，爲細長形的褐斑
圖 3 缺乏鐵的植株，褐斑顏色較淺
圖 4 缺乏鎂的植株，褐斑爲紡綞形
圖 5 缺乏磷的植株，莖部全爲綠褐色，且有些許深色褐斑

陸、討論

(一)實驗結果比較表

	營養素缺乏	接種白葉枯細菌	接種紋枯病真菌
缺鈣	鈣是組成細胞壁的重要成分，可以加強細胞壁的強度，故缺乏鈣時，水稻的莖顯得較軟弱無力，葉片也呈現邊緣捲曲的情形。	缺鈣的水稻，是最快發病的，由於鈣對細胞壁的形成和穩定十分重要，因此缺乏鈣的植株較無法在第一時間抵擋病菌的侵入，但經過三、四天後，一旦防禦機制啓動，將可減緩病菌的持續入侵。	接種紋枯病之後，可以看出鈣的發病情形最爲嚴重，因爲紋枯病是一種真菌，當它侵入植物體時會破壞細胞壁而進入，而鈣是組成細胞壁和細胞膜運作的重要元素，所以當紋枯病菌侵入時，缺乏鈣的植株受感染的情形會最爲嚴重。
缺鎂	鎂都是組成葉綠素的重要成分，缺乏會導致葉片顏色退淡或者黃化，而葉綠素的缺乏也間接造成無法充分進行光合作用，使得水稻生長較慢，而這樣的情形尤以缺氮者更明顯。	由於鎂是形成葉綠素的次要元素，因此發病後，病斑擴張的非常快速，但到了第 9 天，擴散速率開始趨向緩慢，因此我們可以推知鎂對於對抗細菌的早期防禦機制有較大的影響。	
缺鐵	鐵雖不是組成葉綠素的成分元素，但可促進葉綠素以及葉綠體蛋白的合成，故缺乏鐵的水稻植株亦有葉色褪淡黃化的現象發生，且產生枯黃色的斑點；而鐵屬於移動性較差的營養元素，老葉中的鐵不能向新生組織中轉移，因而無法被再度利用，所以缺鐵所導致的症狀幾乎都在新生組織中出現，因此新生的幼葉反而容易枯黃。	因鐵會導致葉綠素不足，所以受白葉枯病菌感染時，發病較爲快速，亦較爲嚴重。而植株本身缺鐵的病徵亦爲淡化，且兩者極爲相似，所以當兩症狀並存時，觀測上會產生困難，但也使得植株更快趨向死亡。	
缺鉀	鉀對植珠的影響主要爲促進碳水化合物的形成及平衡氮素，使其均勻分布，植株缺乏鉀時，葉片因此出現不正常的養分堆積，因而有赤褐色的斑點產生。	鉀在植物生理上扮演著輔助氮的角色，因此當鉀缺乏時，氮無法發揮其功效，(由病斑長度與葉長比率折線圖可知)，缺乏鉀的植株在發病初期病勢沒有缺乏氮	

		者來的嚴重，但是進入後期，因爲氮無法發揮應有的作用，反而使病斑擴大有逐漸加重的現象。因此我們推論，對細菌的防禦機制上，鉀是非常關鍵的元素。	
缺氮	水稻吸收氮素主要用於將光合作用合成的碳水化合物合成胺基酸，近一步合成蛋白質，因此水稻缺少氮後合成蛋白質的量便減少，剩餘的碳水化合物便會轉變成爲纖維素沉積於細胞膜，使得組織硬化，而蛋白質的缺乏，將使的水稻的多項生理機能失調，而從實驗紀錄中，可明顯看出缺乏氮的生長不良極爲嚴重，由此可知氮對於初期水稻的生長是不可或缺的。	缺乏氮的植株，在接種病菌的最初即發病顯著，後期病斑白化面積不斷擴大，雖因後來植株發霉嚴重，無法觀察，但整體看來(由病斑長度與葉長比率的圖表)，發病的速率是越趨快速，因此植株一旦缺乏氮，其免疫力將嚴重喪失，連發病後的防禦機制啓動的速度也不及病斑擴散的速率，由此可知在植物對細菌的免疫機制中，氮扮演了相當重要的角色。	
缺磷	磷在水稻的生育上，具有促進根發育的作用，因此，當植株缺乏磷時，根部會呈現不正常的橘紅色。而磷在植物體內活動非常頻繁，在植物各組織中運行也相當快速，所以我們推測有些缺乏磷的植株之所以長得比完整培養液者還要好，是因爲磷在植物體運輸時，會干擾其他元素的運輸而導致。	缺乏磷的植株是接種後發病最輕微的一組，因此我們推測，磷在對細菌的抗病機制上並沒有發揮太大的作用，而是表現在植物體的其他機制上。	缺乏磷的植株在接種紋枯病時感染情形較爲嚴重，因此我們推論植物體對抗細菌和真菌的防禦系統應該有所不同，而磷在對真菌的抗病機制中有著較爲重要的影響。
備註	由於種植的時間適逢冬季，較不利於真菌的生長，因此接種紋枯病菌後，發病的情形並不是非常顯著，使我們在紀錄上發生了困難，但還是可以看出些微的變化。		

(二)由測定過氧化氫酵素活性的變化，來檢驗水稻對白葉枯病菌的抗病力實驗中，可發現缺氮的植株反應最顯著，感染白葉枯病前其過氧化氫酵素活性高於其他植株，但感染後酵素的活性反而急遽下降。推測原因有二：一是由於缺乏氮引起的生理機能低落，使得植株無法有效的發揮防禦能力；二是缺乏氮素的植株相當虛弱，病菌容易入侵，加以受到黴菌侵襲，生長情形極差，病原菌的感染更使其抵抗力銳減，使植株無法抵抗病菌的侵

入。由此可見，氮在植株的生長及對細菌的抗病力中，直接或間接構成極大的影響力。

(三)缺鈣者的過氧化氫酵素在接種白葉枯病的前後，活性值維持在穩定的高度。過氧化氫酵素所引發的反應是屬於早期的抗病機制，能減緩病菌入侵的速度，相較於缺乏其他營養素的植株，缺鈣的植株其過氧化氫酵素活性較沒有變化，而顯示出植株對於白葉枯病菌的入侵無法啓動早期防禦，根據觀察結果，受感染後的植株確實較早產生劇烈的白化現象，因此可推測，鈣和過氧化氫酵素的活化有著關鍵性的影響。

柒、結論

由營養素缺乏和接種病原菌的實驗中，我們發現缺乏不同營養素雖然有其各自不相同的病徵，而且針對不同的病原菌，植物的防禦機制也會有所差異，大體上，我們將植物的防疫機制分作三部分，第一階段是入侵，鈣因爲與植物的細胞壁的形成和細胞膜的運作有關，所以缺乏鈣的植株在受到病原菌入侵時往往是最先發病的，且受感染的組織較易死亡，且由實驗中可看出鈣與過氧化氫酵素的活化有密切的關係，因此我們推測在植物的早期抗病機制中鈣扮演了重要的角色。第二階段是病勢的進展，鐵、鎂和氮對於葉綠素的形成相關，因此一旦缺乏，病原菌所引起的白化現象極易蔓延，而第三階段是防禦機制的啓動，在這個階段中，氮是生理機能重要的調控者，而鉀是氮的調控者，因此，要兩者同步運作，才能使防禦機制完備。

捌、未來展望

因爲時間的不足及季節的問題，有些結果並不是非常顯著，但透過這次實驗使我們對於營養素的作用和植物的抗病機制有了初步的了解，希望未來，我們能更深入的研究各種病徵的發生和各種營養素在抗病機制中所扮演的角色，以便能更完整的統整甚至增強植物的防禦機制；再者，也希望能拉長種植的時間，以期能觀察到每的階段最好的元素比例。

玖、參考文獻

陳韡崧(1996)。**水楊酸、過氧化氫酵素與水稻白葉枯病抗性間關係的探討**

行政院農委會動植物防疫檢疫局(民 92,3)。**植物保護圖鑑系列 8-水稻保護下冊**

台中區農業改良場。水稻土壤管理及施肥技術。**農情月刊新知專欄**，32

植物營養學　http://nhjy.hzau.edu.cn/kech/zwyyx/index.htm

中國作物種質資源信息網 http://icgr.caas.net.cn

附表一:各項培養液的配置方法

	KNO_3	KH_2PO_4	$Ca(NO_3)_2$	$MgSO_4$	KCl	$CaCl_2$	NaH_2PO_4	$NaNO_3$	$Mg(NO_3)_2$	$NaSO_4$	Fe	微量元素
完全	**166**	**166**	**250**	**166**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**83**	**83**
缺鉀	**---**	**---**	**250**	**166**	**---**	**---**	**166**	**166**	**---**	**---**	**83**	**83**
缺鈣	**166**	**166**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**166**	**166**	**83**	**83**
缺鎂	**166**	**166**	**250**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**83**	**83**
缺氮	**---**	**166**	**---**	**166**	**250**	**250**	**---**	**---**	**---**	**---**	**83**	**83**
缺磷	**166**	**---**	**250**	**166**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**83**	**83**
缺鐵	**166**	**166**	**250**	**166**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**---**	**83**	**83**

※ 每種溶液的濃度皆爲 1.25M，加入培養液之溶液其單位皆爲 μ1，---表示培養液不添加該種溶液。

※ 此表根據大學課本中的實驗教材經濃度換算而成。

評　　語

040716　水稻偏食會怎樣

植物營養缺乏症狀探討為植物生理領域長期研究對象，本研究工作認真仔細，但深度不足(多以肉眼觀察為主)。

營養素缺乏與致病菌入侵之探討有一定的重要性，可惜設計又不夠嚴謹。