

宜花地區水稻徒長病發病情形、病原檢測

與其對藥劑之感受性¹

蔡依真²、陳任芳³、胡逸琳⁴

摘要

近年來，宜花地區水稻秧苗期及本田期徒長病 (*Fusarium fujikuroi* Nirenberg) 發病率高，該病害主要是透過種子傳播。本研究為了解徒長病菌在宜花地區田間的分布及發病原因，於2012及2013年調查及訪談多家育苗場，蒐集稻種後利用半選擇性培養基檢測種子帶菌率及不施藥育苗後之秧苗發病率，並於育苗場實地調查苗期罹病情形，並追蹤至本田期；另採集徒長病病株進行病原分離及鑑定，並測試供試病原菌對藥劑之感受性。本研究共蒐集93批稻種，不同品種種子平均帶菌率為0%至35.5%，苗期罹病株數為0至383株/箱。調查育苗場秧苗期與本田期之罹病情形，一期作明顯高於二期作，罹病高的水稻品種包括臺南11號與臺梗8號。大部分育苗中心於2013年改用25.9%得克利水基乳劑進行稻種消毒，結果帶菌率與秧苗罹病株數為零。經以形態鑑定，配合利用引子對tef-1/tef-2可增幅真核轉譯延長因子 (translation elongation factor 1- α , TEF 1- α) 序列約700 bp DNA片段，可確認為*G. fujikuroi*。以蒐集所得並經鑑定之101株菌株進行對藥劑感受性測試，得知大多數菌株對稀釋2,000倍得克利感受性高，然其中有兩株菌株HL21與HL29對該藥劑之抗藥性級數高達2級，另對稀釋1,000倍撲克拉的抗藥性級數2級者有8株，對撲克拉500倍的抗藥性級數2級者1株，可知田間已出現對撲克拉與得克利具抗藥性之徒長病菌株，建議農友應輪替使用推薦藥劑，勿過度依賴單一藥劑，以降低菌株產生抗藥性之風險。

關鍵詞：水稻徒長病、半選擇性培養基、稻種

-
1. 行政院農業委員會花蓮區農業改良場研究報告第 264 號。
 2. 行政院農業委員會花蓮區農業改良場助理研究員。
 3. 行政院農業委員會花蓮區農業改良場副研究員。
 4. 行政院農業委員會花蓮區農業改良場研究助理。

前 言

水稻徒長病（有性世代 *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenweber，無性世代 *Fusarium fujikuroi*, Nirenburg) 為我國及日本水稻古老病害之一，本病在苗期發生時病徵明顯，一般人常稱為「稻苗徒長病」，農民則稱為「稻公」，日本稱之為「馬鹿苗病」，在苗期及本田期均會發生 (Ou 1984)。水稻秧苗期之徒長病株通常比健康株明顯高出 1/3-1/2，故一般常稱之為稻苗徒長病，秧苗感染此病即發生徒長現象，全株顯得纖細弱長，呈淡黃綠色，葉幅變小，葉片狹長，葉片與葉鞘傾斜角度也大，不久即枯死 (孫 1978)。如將病苗移植本田，則發生與秧苗類似之病徵，在移植後大多會枯死，而移植後未枯死之病株病徵常會暫時消失，到分蘗期再陸續表現徒長病徵 (張 2003)。本田期徒長病之病徵與稻苗期之病徵相似，當陽光照射及微風吹動時極易識別病株 (張 1984)。徒長病株莖節處會長出不定根，稻稈維管束褐變，近地面內側及莖節上密生淡紅色粉狀物，此為其菌絲及小型分生孢子。徒長病株大多在水稻開花前死亡，無法抽穗；後期感染病株無論有無明顯病徵大多能抽穗，在抽穗後病株相繼枯死，稻穗上皆為空粒或少數不飽滿之穀粒 (黃和朱 2009)。於臺灣，六、七月間稻株成熟時在罹病株基部上的子囊孢子與分生孢子，可由空氣傳播飛散而污染正常株之穀粒，成為翌年徒長病之初次感染源。因此，水稻種子帶菌為主要的傳播途徑，其帶菌方式可分為病株上的秕粒及健穀被污染二種方式，病株上的秕粒內外含大量之病菌，在浸種催芽時，由病秕長出菌絲及孢子感染鄰接之稻種 (張 1973；張 1984)。

臺灣各地水稻產區徒長病發生時有所聞，於 98 年一期作在花蓮玉里、富里及臺東部份地區發生嚴重，二期稻作較少發生，尤其在高雄 139 號及臺梗 2 號最為猖獗，秧苗罹患徒長病之比率特別高；近年來，宜花地區水稻栽培區稻苗徒長病發生日趨嚴重。雖政府在 1960-1980 年間，推行稻種消毒補助，然田間尚常見其發生 (黃和朱 2009)。推測宜花地區發生徒長病嚴重之可能原因為，宜花地區稻種消毒藥劑或消毒之操作過程中藥液未能均勻處理稻穀，同時在水稻成熟期時徒長病株即會較正常株提早枯死，易為農民所忽略之故。因此，除改進消毒方式外，為檢視採種田稻種是否清潔，亦是重要項目。本研究目的為，(1) 半選擇性培養基檢測宜花地區主要栽培品種之帶菌情形，同時進行育苗後罹病調查；(2) 至育苗中心調查秧苗與追蹤至本田期之罹病情形，了解田間水稻徒長病發生情況；(3) 蒐集田間徒長病菌，測試徒長病病原對現有推薦消毒藥劑撲克拉與得克利殺菌劑感受性，以了解是否有抗藥性菌株出現，作為後續制定相關防治策略之依據。

材料與方法

一、水稻稻種之來源、稻種帶菌率檢測及苗期罹病情形調查

(一) 供試水稻品種

於 2012 年與 2013 年在水稻 1 期作及 2 期作耕作前至宜蘭及花蓮地區，共 18 家育苗中心收集臺南 11 號 (TN 11)、臺梗 16 號 (TK 16)、臺梗 8 號 (TK 8)、花蓮 21 號 (HL 21)、高雄 139 號 (KSH 139)、臺中 192 號 (TC 192)、臺梗 2 號 (TK 2)、臺梗 4 號 (TK 4) 等 8 種稻種，稻種的來源包含採種田、原種田及原原種田種子，詳如表一。

表一、宜花地區 18 家育苗業者所提供之 93 批稻種

Table 1. The list of 93 batch of rice seeds from 18 nursery centers in Yilan and Hualien district.

Year	Cropping season	Collection area	Nursery center	Rice variety (no. of seed lot)
2012	I	Yilan	Dongshan	Tainan 11 (2), Taikeng 8 (2)
			Wujie	Tainan 11 (2), Taikeng 8 (2)
			Toucheng	Tainan 11 (2), Taikeng 8 (2)
			Juanwei	Tainan 11 (1), Taikeng 8 (1)
			Yilan City	Tainan 11 (1)
			Jiaushi	Tainan 11 (2), Taikeng 8 (1)
	II	Hualien	Fuli	Kaohsiung 139 (2), Hualien 21 (1)
			Hualien	Jian
		Hualien	Shoufeng	Taikeng 16 (1), Taichung 192 (1)
			Fenglin	Taikeng 16 (1), Taikeng 2 (1)
			Yuli	Taikeng 16 (2), Taikeng 2 (2), Taikeng 4 (1), Kaohsiung 139 (2)
			Fuli	Taikeng 4 (2), Kaohsiung 139 (2)
2013	I	Yilan	Dongshan	Tainan 11 (2), Taikeng 8 (3)
			Wujie	Tainan 11 (2)
			Toucheng	Tainan 11 (1), Taikeng 8 (2)
			Juanwei	Tainan 11 (1)
			Jiaushi	Taikeng 8 (1)
			Hualien	Yuli
	II	Hualien	Fuli	Hualien 21 (1), Taikeng 2 (2), Taikeng 4 (1), Kaohsiung 139 (2), Taichung 192 (1)
			Hualien	Yuli
		Hualien	Yuli	Taikeng 16 (4), Taikeng 2 (6), Taikeng 4 (6), Taichung 192 (2), Hualien 21 (2)
			Fuli	Taikeng 4 (3), Kaohsiung 139 (2)
			Fuli	Taikeng 4 (3), Kaohsiung 139 (2)
			Fuli	Taikeng 4 (3), Kaohsiung 139 (2)
Total			93	

(二) 稻種帶菌率檢測

稻種帶菌率檢測方式，每 1 批稻種為 1 個樣品，每 1 樣品 3 重複，每重複 100 粒種子，將稻種擺放於水稻徒長病菌之半選擇性培養基上，每皿培養基上放 10 粒種子，置於 25°C 生長箱中不照光 7 d 後，統計帶有徒長病原菌落的種子數，帶菌率 (%) 計算方式為帶菌種子數/100×100。

使用修正 Komada 培養基之半選擇性培養基檢測稻種帶菌率，培養基配製方法如下：將下列之藥劑 L-Asparagine (MP Biomedicals) 2 g、D-Galactose (ACROS ORGANICS) 20 g、KCl (聯工化學試藥) 0.5 g、MgSO₄·7H₂O (J.T. Baker) 0.5 g、K₂HPO₄ (Riedel-deHaen) 1 g、Fe(EDTA) (Sigma) 5 mg、Cycloheximide (Sigma-Aldrich) 10 mg (1%)、chloramphenicol (sigma) 200 mg·L⁻¹、Na₂B₄O₇·10H₂O (Sigma-Aldrich) 溶於 1 L 蒸餾水中，以 10% 磷酸 (Sigma-Aldrich) 調整溶液至 pH 4.5，再加入 20 g 洋菜粉 (光惠股份有限公司) 後滅菌，待培養基溫度降至 50-60°C，加入 Oxgall 牛膽汁 (Difco) 0.5 g 與 Pentachloronitrobenzene (PCNB, 中興大學提供) 1 g，混合均勻後製成培養基平板。然因上述配方之 PCNB 藥品購買不易且具致癌性，後續利用許氏 (許 2013) 所開發之 FFC medium 半選擇性培養基進行測試。

(三) 秧苗罹病情形調查

每 1 批稻種樣品分別育苗 3 箱，3 重複，每箱播種重量為 250 g。將未經藥劑處理的稻種經 5-7 d 浸種，發芽後播種至育苗盤，3 d 後移置育苗場綠化，當秧苗生長至 10 cm 時調查一次，同時將罹病株拔除，待生長至 15 cm 時再調查一次罹病株數，後將其株數加總後再進行平均，即為每箱育苗盤之罹病株數。

二、育苗場及本田期之徒長病罹病情形調查

(一) 育苗場秧苗罹病調查

於 2012 與 2013 年間，自宜蘭及花蓮共 18 個育苗場進行秧苗期徒長病調查，於水稻 1 期作及 2 期作育苗時期，至育苗場進行秧苗期之發病調查並調查稻種消毒使用之藥劑與用量。秧苗期調查方式為選擇出秧前 1-2 d 之秧苗，各育苗場每個品種逢機選擇 3 小區，每小區調查 30 箱秧苗，計算每箱之發病株數，取其平均數罹病株數。

(二) 本田期罹病調查

將育苗場調查時選定之秧苗追蹤至本田期，於孕穗期調查 1 次，各育苗場每個品種選定 1 個田區調查，每塊田區選取田區 4 個角落與中央共 5 點進行調查，每 1 點調查 100 橫，總計 500 橫稻株，記錄徒長株數，發病輕微田區則估算面積後記錄全區罹病株數。

三、供試菌株蒐集、分離及鑑定

(一) 供試菌株蒐集與分離

於育苗場及田間採集徒長病株，將病株外表清洗，切取莖基部的維管束片段，浸泡於 0.5% 漂白水 30 s，放入無菌水漂洗 30 s，以濾紙吸乾多餘水分，放置在 WA (water agar, agar 10g, water 1L, 日本試藥) 平板培養基上。置於 28°C 培養箱，12 hr 光照，隔天切取菌絲尖端置於馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (potato dextrose agar 簡稱 PDA, potato dextrose powder 39g, water 1L, Difco)，放置 3-5 d 待產孢，挑取單一孢子純化並且加以保存，保存方式為將單孢培養於 1/2 PDA 上，於 25°C、12 hr/12 hr 光照週期下培養 7 d 過後，切取菌絲尖端至砂管中保存。

(二) 菌株鑑定

供試菌株鑑定主要是以型態觀察，並且輔以分子生物學鑑定；將放置 3-5 d 產孢的培養基置於解剖顯微鏡下，並於 400 倍光學顯鏡下觀察產孢情形及孢子形態。另移植至 Potato Dextrose Agar (PDA) 以觀察其巨觀之菌落形態。

萃取徒長病菌之 DNA(許 2013)後，利用 David 等人針對 *Fusarium* spp. 之 translation elongation factor (TEF 1- α) 基因序列所發表之引子對 ef-1/ef-2 (Amatulli *et al.*, 2010) [ef-1 (5'-ATGGGTAAGGA (A/G) GACAAGAC-3') /ef-2 (5-GGA (G/A) GTACCACT (G/C) ATCATGTT-3')]，所添加之引子濃度約 10 μ M，分別加入 PCR 各反應物，總反應體積 20 μ l，進行 PCR 反應。增幅 TEF-1 α 區域序列之條件為：先以 95°C 反應 5 min，之後進行 94°C 45 s，52°C 45 s，72°C 2 min，共 30 個循環，最後進行 72°C 7 min 1 個循環。增幅後之產物則以 1.5% agarose 進行電泳分析。另將 PCR 產物委託源資生物科技公司進行解序後利用 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 之 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 資料庫進行菌株之序列分析比對。

四、水稻徒長病菌對藥劑之感受性分析

自 2012 年與 2013 年度共分離與鑑定菌株共 101 株，培養於 PDA 平板上。約 7 d 後，利用直徑 0.5 cm 之打孔器於菌落邊緣挖取菌絲塊，放置於已添加 3 種不同藥劑成分之 PDA 平板中央。含藥平板之製備為將滅菌過的 PDA 降溫至 65°C 以下，依供試濃度加入藥劑，混合均勻後倒平板，並以 PDA 不添加藥劑作為對照組。PDA 平板中藥劑包含稀釋 500 倍與 1,000 倍之 25%撲克拉水基乳劑(臺聯實業股份有限公司)，及稀釋 2,000 倍之 25.9%得克利水基乳劑(臺聯實業股份有限公司)，置於 25°C 培養箱不照光下培養 7 d；另以不添加藥劑之 PDA 做為對照組，每處理 4 重覆，待 7 d 後對照組之菌絲長滿至培養基周圍時，開始測量菌絲直徑與菌絲生長抑制率。抑制率(%) = 「(對照組菌落直徑 - 試驗組菌落直徑) / 對照組菌落直徑 - 0.5 cm」× 100%。抗藥性級數訂定如後，菌絲生長抑制率 80%以上為 0 級、50-80%之間為 1 級與 50%以下為 2 級(訂定方法係依據「水稻病害防疫技術開發與疫情整合管理」計畫)。

五、統計分析

上述所得數據使用 Microsoft office Excel 2013 及 SAS 9.0 進行統計分析，並以 LSD 進行最小顯著差異分析(least significant difference, LSD)，判定各處理間有無顯著差異。

結果與討論

一、水稻稻種帶菌率檢測與秧苗罹病情形調查

(一) 稻種帶菌率之檢測

2012 年使用修正之 Komada，2013 年使用 FFC 半選擇性培養基檢測稻種帶菌率，若為徒長病菌菌落，培養 7-10 d 後均會有明顯之橘色且菌絲稀疏之菌落出現(圖一)，可藉此分辨出 *F. fujikuroi*。針對種子傳播性病害的檢測，主要為利用選擇性培養基與專一性引子對，由於在水稻種子上常發現許多鐮孢菌屬真菌(Mew and Gonzales, 2002)，過去對 *Fusarium* 之研究，常使用 Komada 或 SSM medium(Komada 1975; Vaidya *et al.*, 2003)，但無法分別 *F. fujikuroi* 與其他形態相似之同屬真菌，而本試驗使用許氏所研發之 FFC medium，可區分出 *F. fujikuroi* 與其他 *Fusarium* 屬菌株。經分析兩年稻種徒長病帶菌結果，不同批次之稻種帶菌率皆有差異，2012 年一期作及二期作供試品種帶菌率中均以高雄 139 為最高，各為 35.5%及 14.1%；2013 年一期作稻種多採集到臺梗 2 號等 4 個品種，其中以臺梗 4 號帶菌率 11.6%最高，同年二期作則以臺中 192 帶菌率 15%最高。供試樣品中原原種與原種之種子均未檢測出徒長病菌。此外，兩年之一期作稻種平均帶菌率均較二期作高；另 2012 年一期作稻種平均帶菌率 27.8%與 2013 年同品種相較平均帶菌率降至 3.6%，推論可能因本研究試驗期間經研究人員實地輔導多處育苗場加強注重稻種來源及藥劑消毒流程，後續育苗場陸續改用得克利農藥消毒所致。根據郭和廖氏研究發現，不同來源之相同品種稻種，其帶菌率有顯著差異(郭和廖 2010)，本研究亦觀察到相同情形。



圖一、以 FFC 半選擇性培養基檢測水稻徒長病稻種帶菌率

Fig. 1. Using FFC semi-selective medium to detect rice seeds contamination of *Fusarium fujikuroi*. Note that the colony of pathogen was marked by an arrow.

(二) 秧苗罹病調查

將上述稻種未經藥劑消毒進行育苗後，於秧苗高 10 cm 與 15 cm 時調查 1 次罹病株數，進行加總後再平均。結果顯示 2012 年一期作平均發病株數為 157.5 株/盤，其中以臺稈 8 號及臺南 11 號發病株數較多，各為 383 及 204 株/盤，至 2013 年兩品種則各別降至 0.3 株/盤及未發病。以二期作育苗發病調查結果，2012 年平均發病株數為 21.4 株/盤，至 2013 年則降至 0.6 株/盤。另原原種與原種之種子同樣均未發生秧苗徒長病。綜合上述半選擇性培養基檢測結果及實際育苗發病情形比較，帶菌率高之樣品不一定發病株數均多，此現象與郭氏等人（郭等 2014）觀察到的現象相近，其種子帶菌率結果亦無法完全對照徒長病在秧苗期罹病情形，推論可能因為檢測結果僅呈現水稻種子之帶菌比率，而無法評估在水稻種子上之帶菌量高低，另一原因亦可能與各品種對徒長病之抗感性有所差異所致。另本研究執行「水稻病害防疫技術開發與疫情整合管理」計畫，經全臺各區農業改良場蒐集各地稻種帶菌率樣本後整體評估報告（無發表）指出，雖稻種帶菌檢測率高低未能完全反映後續發病情形，然檢出率高的樣品一般其罹病情形仍較未檢出或檢出率低之樣品高，故建議農友應重視稻種染菌問題，做好稻種去偽去雜與風選作業，避免病秕在浸種催芽過程中感染鄰近健康稻種（廖和郭 2009），並徹底執行稻種消毒。

表二、不同期作之不同品種稻種帶菌率檢測及秧苗徒長病發病結果

Table 2. Seed contamination of *Fusarium fujikuroi* and incidence of the bakanae disease in various varieties of rice seeds with different cropping seasons.

Year	Cropping season	Rice variety	Contamination of <i>F. fujikuroi</i> (%)	Incidence of bakanae disease (no. disease seedling/plate)
2012	I	TK8	30.8	383.0
		TN11	28.7	204.0
		KSH139	35.5	17.0
		HL21	16.0	26.0
	II	TK2	9.5	25.0
		TK4	8.0	27.0
		TK16	2.5	8.6
		KSH139	14.1	40.0
		TC192	1.7	6.5
2013	I	TK8	0.1	0.3
		TN11	2.9	0.0
		HL21	9.7	0.0
		KSH139	1.8	0.3
		TK2	7.0	0.0
		TK4	11.6	0.0
		TK16	4.1	0.2
		TC192	0.0	0.0
	II	TK2	3.3	0.3
		TK4	2.8	0.3
		TK16	1.1	0.1
		KSH139	0.0	0.0
		TC192	15.0	1.5

二、育苗場及本田期之徒長病罹病情形調查

2012 年一期作秧苗普遍發生徒長病，其中以臺梗 8 號及臺南 11 號之罹病情形顯著高於其他品種，每箱罹病株數各為 4.2 及 3.3 株；同年二期作調查品種則均未發病。2013 年一期作僅調查到臺梗 8 號每箱罹病秧苗 1.4 株，二期作亦均無發病。本研究調查與訪談育苗場期間所得結果，亦符合以往田間觀察狀況，以一期作育苗罹病株數較二期作顯著較多。將育苗場調查時選定之秧苗追蹤至本田期，以 2012 年一期作本田期平均發病情形最多，其他期作追蹤田均未發病，推論可能因本研究調查期間逐家輔導育苗場加強注重稻種來源及藥劑消毒流程，再加以比較 2012 年與 2013 年各期作育苗中心使用稻種消毒藥劑後，秧苗期與本田期之徒長病罹病表現，以 2012 年秧苗期及本田期、2013 年秧苗期使用撲克拉之罹病情形顯著高於得克利，2013 年起多數育苗中心改用得克利藥劑進行稻種消毒後，供試區域之秧苗期與本田期均無發病（表四），顯示得克利藥劑可有效抑制徒長病發生。

表三、不同期作之不同品種稻種秧苗期及本田期徒長病發病情形

Table 3. Incidence of Bakanae disease in various varieties of rice seeds with different cropping seasons.

Year	Cropping season	Rice variety	Incidence of Bakanae disease	
			Seedling period (no. diseased seedling/plate)	Tillering period in the field (no. diseased plant/500 plants)
2012	I	TK8	4.2	93.7
		TK11	3.3	13.7
		HL21	0.0	0.0
		KSH139	0.1	0.0
	II	TK2	0.0	0.0
		TK4	0.0	0.0
		TK16	0.0	0.0
		KSH139	0.0	0.0
		TC192	0.0	0.0
2013	I	TK8	1.4	0.0
		TK11	0.0	0.0
		HL21	0.0	0.0
		KSH139	0.0	0.0
		TK2	0.0	0.0
		TK4	0.0	0.0
		TK16	0.0	0.0
		TC192	0.0	0.0
	II	TK2	0.0	0.0
		TK4	0.0	0.0
		TK16	0.0	0.0
		KSH139	0.0	0.0
		TC192	0.0	0.0

表四、利用撲克拉與得克利進行稻種消毒後，育苗期至本田期之徒長病罹病情形之比較

Table 4. Incidence of Bakanae disease in rice seedling stage and field after sterilizing rice seeds by Prochloraz EW and Tebuconazole EW fungicides.

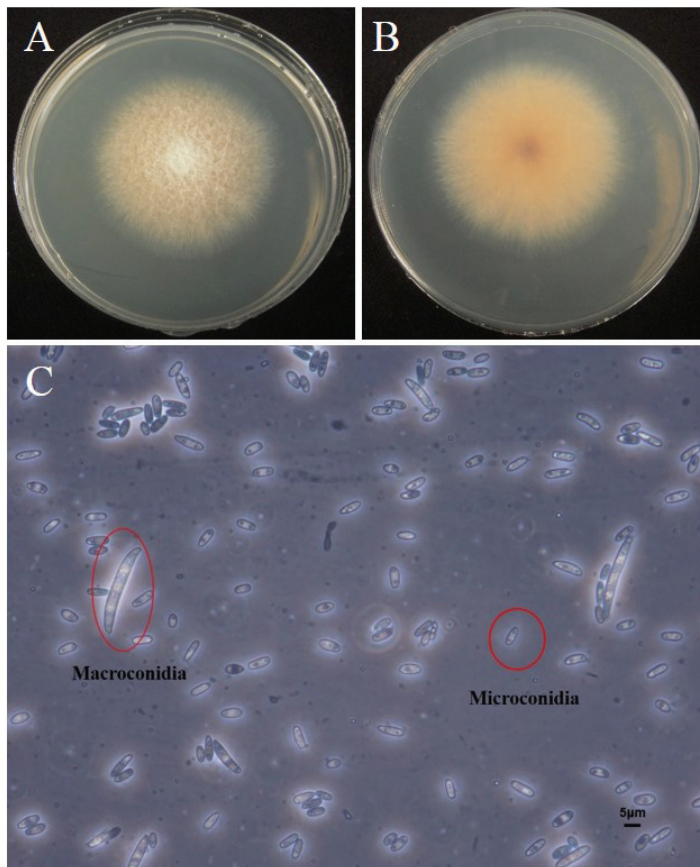
Year	Cropping season	Fungicide	Seedling period	Tillering period in the field
			(no. diseased seedling/plate)	(no. diseased plant/500 plants)
2012	I	Prochloraz	2.1b ^c	46.8a
		Tebuconazole	0.04c	0.0c
	II	Prochloraz	0.0c	0.0c
		Tebuconazole	0.0c	0.0c
2013	I	Prochloraz	1.4b	0.0c
		Tebuconazole	0.0c	0.0c
	II	Prochloraz	0.0c	0.0c
		Tebuconazole	0.0c	0.0c

^aMeans with the same letter in each column are not significantly different at 5% probability level by LSD test.

三、供試菌株分離及鑑定

本研究自水稻苗期及成株分離得到的菌株共 117 株，經形態學及分子生物學鑑定後得到 101 株。本菌在 PDA 上室溫培養時，菌落為淡粉紅色氣生菌絲（圖二 A），背面色素為淡橘色（圖二 B），偶爾有紫色出現。多數菌株產生大分生孢子，大分生孢子為兩端狹窄呈鐮刀形、無色細長，有隔膜，隔膜數 3-5，大小約為 $28-52 \times 5.0-13 \mu\text{m}$ ，未觀察到有厚膜孢子形成；小分生孢子呈桿棒狀，通常無隔膜（少數有一隔膜），大小約為 $4.8-10 \times 3-5 \mu\text{m}$ （圖二 C），小分生孢子呈中短鏈狀方式著生於瓶狀產孢梗上，或呈假頭狀（false head）排列，其產孢細胞有兩種形式：單瓶枝或多瓶狀枝。本菌不會產生厚膜孢子，但老化的菌株常有細胞壁加厚大孢子或菌絲細胞及藍黑色菌核，以抵抗不良環境（Nyvall and Kommedahl, 1966）。

利用 ef-1/ef-2 引子對，可增幅出約 700 bp 的片段，後委請源資生物科技公司進行解序分析，解序後之序列上傳於 NCBI 基因庫中比對，與 *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenweber 的序列相似度均達 99% 以上，並另提供菌株予國立臺灣大學鍾嘉綾老師研究室進行鑑定及保存，確定所分離之病原真菌菌株皆為 *F. fujikuroi*，鍾與陳等人後續依據 Amatulli 等文獻重新設計 Fftf-F/Fftf-R 引子對進行徒長病分子鑑定及檢測（陳 2014）。



圖二、*Fusarium fujikuroi* HL39 菌株型態。(A) PDA 上正面呈棉絮狀淺粉紅色；(B) 背面色素為淡橘色；(C) 大孢子及小孢子

Fig. 2. Morphology of *Fusarium fujikuroi* isolate HL 39. (A) Colony on PDA medium; (B) Reverse side of colony on PDA medium; (C) Macroconidia and microconidia marked by red circle.

四、水稻徒長病菌對藥劑之感受性分析

分離所得之 101 株徒長病菌株中，大多數對得克利 2,000 倍感受性高，然其中的 HL21 及 HL29 菌株對該藥劑抗藥性級數高達 2 級，有 3 株抗藥性級數為 1 級。在撲克拉藥劑方面，對撲克拉 1000 倍的抗藥性級數 2 級者有 8 株，1 級者有 11 株；對撲克拉 500 倍的抗藥性級數 2 級者僅 1 株，1 級者有 10 株（表五）。由表五可知，田間已出現對撲克拉及得克利具抗藥性之徒長病菌株，其中以自宜蘭分離之菌株對撲克拉抗藥性比例較高，可能與當地多數育苗場在 2013 年以前消毒用藥劑仍以撲克拉為大宗有關，育苗場亦常反映以撲克拉消毒效果不佳，於 2013 年開始陸續改用得克利浸種。而花蓮部份育苗場已使用得克利進行消毒，然本試驗亦已分離到對得克利抗藥性級數高達 2 級之菌株，未來將建議農友應輪替使用推薦藥劑，勿過度依賴單一藥劑，以降低菌株產生抗藥性之風險。

表五、以撲克拉與得克利測試 101 株不同來源水稻徒長病菌株之抗藥性

Table 5. The fungicide resistance test by mycelial growth inhibition of 101 isolates of *Fusarium fujikuroi* isolated from different samples to Prochloraz EW and Tebuconazole EW.

Year	Location	Fungicide resistance index								
		Prochloraz 1000X			Prochloraz 500X			Tebuconazole 2000X		
		0 ²	1	2	0	1	2	0	1	2
2012	Ilan	15	3	7	17	7	1	24	1	0
	Hualien	36	7	1	41	3	0	40	2	2
2013	Ilan	4	0	0	4	0	0	4	0	0
	Hualien	27	1	0	28	0	0	28	0	0
Total		82	11	8	90	10	1	96	3	2

²Fungicide resistance index was expressed by inhibition of mycelial growth of *Fusarium fujikuroi*. 0 = the percentage of mycelial growth inhibition is higher than 80%; 1 = the percentage of mycelial growth inhibition is between 50-80%; and 3 = the percentage of mycelial growth inhibition is lower than 50%.

結 論

總結兩年試驗結果顯示，半選擇性培養基有助於偵測稻種之帶菌，種子帶菌率為影響徒長病發生的關鍵因子之一，然稻種帶菌與田間發病未呈現正相關。一期作稻種帶菌率高於二期作。藉由形態觀察與分子生物學的鑑定，確定造成水稻徒長病的病原菌為 *Fusarium fujikuroi* Nirenberg [有性世代為 *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenweber]，而於 2012 年在宜花兩縣調查各育苗場，一期作因較適於徒長病病原菌的生長，故發病狀況遠較二期嚴重，而宜蘭地區發病狀況則較花蓮地區嚴重，可能與各育苗場用藥種類、種植品種及稻種來源地區有關。宜蘭地區 2012 年大多使用撲克拉，而花蓮地區已陸續改用得克利，由藥劑感受性分析試驗得知，已有部分菌株對撲克拉之感受性低，故推論宜蘭地區徒長病發生狀況較花蓮地區嚴重，與長期使用同種藥劑而導致消毒效果降低有關。此現象自 2013 年宜蘭及花蓮育苗場多改用得克利後，徒長病發病情形亦減輕，可見育苗場使用之稻種消毒藥劑種類與苗期及本田地發病有相關性，使用得克利者其發病率低於使用撲克拉。得克利藥劑可有效抑制徒長病之情形，亦符合朱等人曾針對徒長病菌進行藥劑篩選之試驗結果，其發現稻種以 25.9%得克利水基乳劑 2,000 倍浸泡 24 hr 後以清水催芽，育苗箱每盤罹病株數為 0.9 株，較 25%撲克拉乳劑 1,000 倍處理防效更佳(朱等人 2010; 黃和朱 2009)。另，在原原種與原種的調查部分，育苗場秧苗期與田間本田地均未發生徒長病。據訪談及調查結果推論，水稻徒長病發病與否與品種無絕對相關，與稻種來源及浸種時消毒是否確實之關聯性較高，此結果與廖氏觀察到的現象一致(廖和郭 2009)。雖然各地分離之徒長病菌株經檢測後多數仍對供試藥劑感受性高，然已有少數菌株對撲克拉及待克利產生抗藥性。建議農友在徒長病的防治策略仍應注意慎選採種田，以取得乾淨的健康稻種，並避免設於曾經罹患徒長病之田區；若在田間發現少量徒長病菌罹病株，應拔除以減少感染源。採種農戶應加強稻種去雜與風選作業，避免病秕在浸種催芽過程中感染鄰近健康稻種。再者，推薦藥劑適當輪替使用，可降低病原菌產生抗藥性之風險；確實執行及注意浸種消毒時的濃度與步驟，可有效降低田間徒長病之發生與危害。

致 謝

本研究承行政院農委會動物植物防疫檢疫局「水稻病害防疫技術開發與疫情整合管理 (101 農科-14.2.1-檢-B3)」計畫支持，感謝各區農業改良場提供稻種進行研究；本場陳志剛先生與邱秋美小姐協助試驗，謝謝中興大學植物病理系陳啟予老師與許晴情小姐在半選擇性培養基的研究指導，以及臺灣大學植物病理與微生物學系鍾嘉綾副教授與陳又嘉先生在菌株分子生物學鑑定之協助，文成後承蒙鍾文鑫教授及謝廷芳研究員悉心斧正，謹此誌謝。

參考文獻

1. 朱盛祺、蔣夢心、陳致延 2010 臺東地區水稻徒長病發病率調查與防治技術之改進 臺東區改良場研究彙報 20:57-70。
2. 孫守恭 1978 稻苗徒長病菌 (*Gibberella fujikuroi*) 之生態及生殖 p.303-317。
3. 張義璋 1973 稻苗徒長病菌有性世代及生態之研究 國立中興大學植病研究所第三屆畢業碩士論文。
4. 張義璋 1984 稻苗徒長病之傳播途徑 p.26-37 臺灣省政府農林廳編印 稻種消毒研討會。
5. 張義璋 2003 水稻徒長病 植物保護圖鑑系列8—水稻保護 p.256-257 防檢局 臺北 448頁。
6. 許晴情 2013 水稻徒長病：開發鑑別性培養基、建立病害評估平臺及探討土壤接種源之角色 中興大學植物病理學系碩士學位論文。
7. 郭建志、廖君達 2010 中部地區水稻徒長病與線蟲白尖病之發生與調查 臺中區農業改良場研究彙報 108:13-24。
8. 郭建志、廖君達、黃冬青、陳又嘉、鍾嘉綾 2014 中部地區水稻徒長病發病情形、病原檢測與抗藥性分析 臺中區農業改良場研究彙報 125:11-28。
9. 陳又嘉 2014 臺灣水稻徒長病菌族群之遺傳組成、病原性及藥劑耐受性分析 國立臺灣大學植物醫學碩士學位學程碩士學位論文。
10. 黃德昌、朱盛祺 2009 臺灣水稻徒長病枝發生與防治 臺灣水稻保護成果及新展望研討會專刊 p.29-43。
11. 廖君達、郭建志 2009 水稻稻種及秧苗病蟲害管理 植物種苗 11(2):1-10。
12. Amatulli, M.T., D. Spadaro, M.L. Gullino and A. Garibaldi. 2010. Molecular identification of *Fusarium* spp. associated with bakanae disease of rice in Italy and assessment of their pathogenicity. *Plant Pathol.* 59:839-844.
13. Nyvall, R. and T. Kommedahl. 1966. Thickened hyphae as a survival mechanism in *Fusarium moniliforme*. (abs.) *Plant Pathol.* 56:893.
14. Komada, H. 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant Protect. Res.* 8:114-125.
15. Mew, T.W. and P. Gonzales. 2002. A handbook of rice seedborne fungi. *Int. Rice Res. Inst. Manila, Philippines.*
16. Ou, S.H. 1984. *Rice Diseases*. 2nd ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey England. p.262-272.
17. Vaidya, R.J., S.L. Macmil, P.R. Vyas, L.V. Ghetiya, K.J. Thakor and H.S. Chhatpar. 2003. Biological control of *Fusarium* wilt of pigeonpea *Cajanus cajan* (L.) Millsp with chitinolytic *Alcaligenes xylosoxydans*. *Indian J. Exp. Biol.* 41:1469-1472.