

利用真菌防治尖瓣花 (*Sphenoclea zeylanica*) 之探討

陳富永^{1*} 蔣慕琰^{2**}

1 台南縣新化鄉 行政院農業委員會台南區農業改良場

2 台中縣霧峰鄉 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

(接受日期：中華民國93年6月10日)

摘 要

陳富永*、蔣慕琰** 2004 利用真菌防治尖瓣花 (*Sphenoclea zeylanica*) 之探討
植保會刊 46 : 131 - 142

尖瓣花 (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) 是台灣稻田中常見之闊葉雜草，近年來在部分地區，尖瓣花族群明顯增多，已成為稻田中優勢雜草，嚴重影響稻作生產。本研由台中縣霧峰地區，自然罹病尖瓣花分離得到真菌 *Alternaria* sp.，進行生物防治應用潛力研究。在實驗室及溫室完成病原菌培養及病原性測定，*Alternaria* sp. SPHZE 60 菌株，在 25-30°C 之溫度條件下生長最快速；以 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 spores/ml，噴施於溫室盆栽種植之尖瓣花植株， 1×10^5 spores/ml 的處理組呈現高度的發病病徵，尖瓣花株高受抑制達 80.1%、生物量減少 89.7%。另外將此菌接種於 CDA、CMA、FCA、FGA、MPA、OMA、PDA、HPA、SCA 及 V8A 等人工培養基，在 25°C、持續日光燈照射下培養 15 天，以 SCA 及 V8A 兩種培養基的產孢量最高，每個培養皿可產生 $2.9-4.5 \times 10^6$ 個分生孢子。SPHZE 60 菌株對寄主具高度之選擇性，只感染尖瓣花，對其他受測試之 17 科 25 種植物則無病原性。在溫室中將尖瓣花與水稻栽種於同一個植盆內，再接種 SPHZE 60 (2×10^5 spores/ml)；接種後，尖瓣花之生長受到抑制，嚴重者可在接種後第三週死亡；SPHZE 60 對尖瓣花株高之抑制效果，從第一週 36.7%到第四週 77.4%，最後達第八週 88.9%。接種後 12 週，收割水稻進行產量影響調查，接種病原菌之處理組，稻株平均重 179.0g、穀粒平均重 35.5g，而未接種病原菌之對照組稻株平均重 68.0g、穀粒平均重 8.8g；相較於僅種植水稻而沒有尖瓣花之正常水稻對照組，接種病原菌組之產量與其無顯著差異。測試之結果顯示，此對尖瓣花有強致病性之 *Alternaria* 真菌，具有進一步開發為發生物除草劑之潛力。

(關鍵詞：尖瓣花、生物防治、生物除草劑、*Alternaria* sp.)

* 民國 93 年 1 月 1 日調職行政院農業委員會台南區農業改良場

**通訊作者。E-mail: myc@tactri.gov.tw

緒 言

尖瓣花 (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) 爲密穗桔梗科 (Sphenocleaceae) 一年生草本植物，是水稻田常見的雜草，分佈於東南亞、南亞地區、美國、加勒比海地區、以及西非等地區，在許多國家，它都是水稻田中爲害嚴重的雜草之一；國際稻米研究中心 (IRRI) 即指出，當稻田中的尖瓣花密度超過 20 株/m² 時，就會對稻米的產量造成顯著的減少⁽⁸⁾，主要原因乃是尖瓣花對氮肥的競爭，使稻株生育受阻。台灣地區的水田以水稻爲最主要作物，常見的雜草包括稗草、球花蒿草、鴨舌草、尖瓣花、水荳等十餘種爲主^(2, 3)；然而近年來在部分地區，尖瓣花族群有明顯增多之趨勢，儼然成爲稻田中優勢

的雜草 (圖一)。在發芽初期，以田面總草量估算，尖瓣花在一期作佔總草量之 5%，在二期作則佔 25%，若未能及時除去，在生育後期，尖瓣花成長速度加快，往往佔田間總草量 80% 以上之生物量，與水稻競爭肥料與生育空間，嚴重影響稻作收成⁽¹⁾。國內學者近年之研究顯示丁基拉草 (Butachlor) 對 2-3 葉齡以下之尖瓣花幼株防治效果佳，硫醯尿素類除草劑對 2-3 葉齡以上者防除效果快速，並有持續抑制生長效果。近幾年來，許多學者投入水田雜草生物防治法的研究^(5, 12, 13, 15, 16)。

而有關於尖瓣花之生物防治方面^(7, 14)，最早在 1967 年左右即有印度學者自尖瓣花植株上分離得病原微生物 *Cercosporidium helleri* Earle；而 1992 年 Bayot 等人則自尖瓣



圖一、重要水田雜草尖瓣花 (*Sphenoclea zeylanica*) 苗期 (A)；花序 (B)；及稻田中的尖瓣花 (C, D)。

Fig. 1. Paddy field weed gooseweed (*Sphenoclea zeylanica*). Seedling (A); Inflorescence (B); Population in a rice field (C, D).

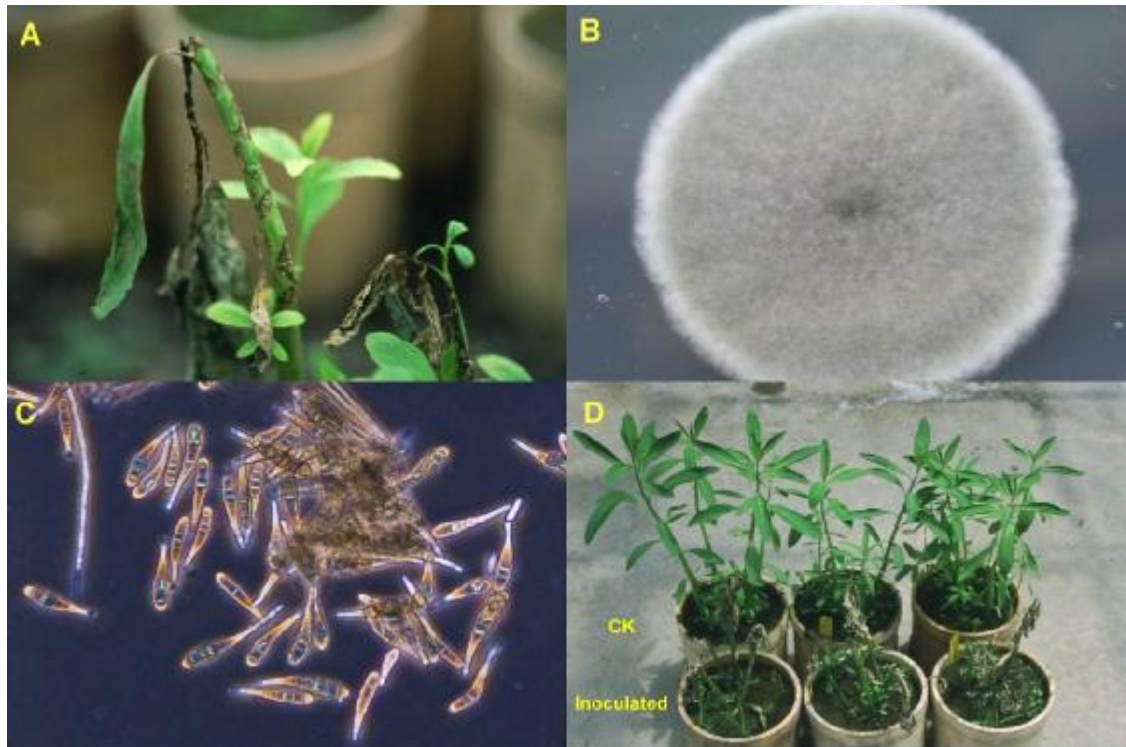
花上分離得 *Alternaria* sp. 菌株，並認為其具有生物防治潛力；1995 年國際稻米研究中心學者 Mabbayad 與 Watson 則以 *Alternaria* sp. 菌株實際進行尖瓣花之生物防治試驗⁽⁷⁾，研究顯示，在溫室的條件下，不論尖瓣花植株的株齡大小，以 6.3×10^3 - 1.4×10^8 spores/ml *Alternaria* sp. 之懸浮液接種，皆可造成尖瓣花植株死亡，試驗田的結果亦證實這個菌株的效果，在 1×10^5 - 1×10^6 spores/ml 的接種濃度下，可有效降低尖瓣花族群密度 80-90%、減少生物量 90%。有如此良好的效果之後，Masangkay 等學者更投入這個 *Alternaria alternata* f. sp. *sphenocleae* 菌株產孢及孢子量產之研究^(10, 11)。本研究亦自尖瓣花上分離得病原菌 *Alternaria* sp. 菌

株，進行培養及致病性的研究，並探討其對尖瓣花之防治效果。

材料與方法

罹病雜草蒐集與病原菌分離

自台中縣霧峰鄉稻田中採集得自然罹病之尖瓣花植株，罹病組織在莖部及葉部呈現壞疽病斑，嚴重者病斑癒合造成莖部折斷、植株萎凋（圖二）。切下病斑組織，以 0.6% 次氯酸鈉（Clorox 十倍稀釋液）添加 0.1% Triton X100 之溶液，進行表面消毒 30 分鐘，再以無菌水漂洗三次，將組織切成約 0.5cm 見方之小塊，移入 1% 水瓊脂（water agar）平板中，於 25°C 培養一天後，將組織



圖二、罹病尖瓣花植株在植株莖、葉部呈現嚴重壞疽病斑 (A)；在 PDA 平板培養基上為灰色菌落 (B)；病原菌為真菌 *Alternaria* sp. (C)；接種後造成尖瓣花植株萎凋死亡 (D 前排)。

Fig. 2. Necrotic symptoms on the stem and leaves of gooseweed (A); Colony of *Alternaria* sp. (isolate SPHZE60) on a PDA plate (B); Conidia of SPHZE60 (C); Symptoms of gooseweed after inoculation with SPHZE60 (D).

塊周圍長出之菌絲移至馬鈴薯瓊脂培養 (potato dextrose agar, PDA) 基中, 移入 25°C 定溫箱培養。菌絲長滿培養皿平板後, 挑出分生孢子 (conidia) 於顯微鏡下鏡檢, 進行菌種鑑定。將分離得到之菌株培養於 PDA 平板培養基, 待菌絲長滿培養皿後, 以 1000 倍稀釋之 Triton X100 洗下分生孢子, 噴濕於溫室中種植於盆鉢之尖瓣花植株, 7 天後觀察其病徵表現, 挑選產生與原分離組織相同病徵之菌株, 作為候選之菌株, 並將該組織再進行病原菌分離, 確認可再分離出與原接種相同之病原微生物, 完成柯霍氏法則 (Koch's postulate), 確定其病原性, 並將菌株之菌絲塊以甘油保存於零下 70°C, 作為後續研究探討之用。

致病力測試

以平板培養基培養產生之分生孢子, 製成孢子懸浮液, 調整孢子濃度為 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 spores/ml, 噴施於溫室種植之尖瓣花植株, 尖瓣花株齡約為 6 葉期、株高約 15 cm; 接種後置於噴霧室保濕 15 小時。接种植株自噴霧室取出後, 置於溫室植床觀察病徵表現, 於接種後兩週測量株高並拔出植株秤取鮮重。對照組則噴施 1000 倍稀釋之 Triton X100, 噴施後之處理與接種組相同。

寄主範疇測試

以平板培養基培養產生之分生孢子, 製成孢子懸浮液, 調整孢子濃度為 1×10^6 spores/ml, 噴施於溫室種植之測試植物上, 測試植物共 17 科 25 種植物, 包括莧科的空心蓮子草 (*Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.)、天南星科的芋 (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)、大萍 (*Pistia stratiotes* L.)、石竹科的鵝兒腸 (*Stellaria aquatica* (L.) Scop.)、鴨跖草科的水竹葉 (*Murdannia keisak* (Hassk.)

Hand.-Mazz.)、菊科的蔓澤蘭 (*Mikania cordata* (Burm. f.) B. L. Rob.)、小花蔓澤蘭 (*Mikania micrantha* Kunth)、十字花科的焊菜 (*Cardamine flexuosa* With.)、莎草科的碎米莎草 (*Cyperus iria* L.)、禾本科的稗草 (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.)、牛筋草 (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.)、千金子 (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees)、水稻 (*Oryza sativa* L.)、千屈菜科的多花水莧 (*Ammannia multiflora* Roxb.)、柳葉菜科的細葉水丁香 (*Ludwigia hyssopifolia* (G. Don) Exell)、臺灣水龍 (*Ludwigia* × *taiwanensis* Peng)、酢醬草科的酢漿草 (*Oxalis corniculata* L.)、蓼科的節花路蓼 (*Polygonum plebeium* R. Br.)、雨久花科的布袋蓮 (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)、鴨舌草 (*Monochoria vaginalis* (Burm. f.) Presl)、玄參科的定經草 (*Lindernia anagallis* (Burm. f.) Pennell)、泥花草 (*Lindernia antipoda* (L.) Alston)、茄科的光果龍葵 (*Solanum nigrum* L.)、菱科的菱角 (*Trapa taiwanensis* Nakai) 及尖瓣花。測試植株種植於盆鉢中, 高度約 10-20 cm; 以孢子懸浮液將植株完全噴濕後, 將植株移入噴霧室中, 保持濕度 15 小時, 再移出置於溫室中觀察, 一週後記錄病徵之表現。

合成培養基產孢力比較

將長滿菌絲之 PDA 平板以打孔器切下菌絲圓盤 (直徑 0.5 cm), 移入十種合成培養基中, 測試菌株在各種培養基中產生分生孢子的能力, 供試之十種培養基每公升之配方如下: CDA (Czapek-Dox agar 48g, Difco)、CMA (corn meal agar 17g, Difco)、FCA (fructose-casein agar: fructose⁽⁴⁾ 15g, casein 2g, K₂HPO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, KCl 0.5g, FeSO₄·7H₂O 0.01g, agar 15g)、FGA (fructose-glutamate agar⁽⁴⁾, 同 FCA 但 casein 換成 L-glutamate)、MPA (malt

extract-peptone agar⁽⁴⁾: malt extract 20g, peptone 1g, dextrose 20g, agar 20g)、OMA (oat meal agar 72.5g, Difco)、PDA (potato dextrose agar 39g, Difco)、HPA (half strength PDA)、SCA (sucrose-CaCO₃ agar⁽⁴⁾: sucrose 20g, CaCO₃ 30g, agar 20g)、V8A (V-8 juice agar: 20%V-8 juice, Campbell, CaCO₃ 3g, agar 15g)。培養條件為 25°C、持續光照，培養 15 天後，以無菌水洗下，製成孢子懸浮液，在顯微鏡下以血球計數器 (hemacytometer) 計算孢子數目。

水稻盆栽尖瓣花防治效果試驗

於溫室盆鉢中同時種植水稻與尖瓣花，每盆三葉期秧苗三株、尖瓣花四葉期幼苗三株，成活後以 V8A 平板洗下之孢子懸浮液接種。噴施時水稻約為六葉期，株高約 30 cm、尖瓣花約 8-10 葉期，株高約 25 cm；接種源濃度為每毫升 2×10^5 個孢子，接種後置於噴霧室保濕 15 小時，接種植株自噴霧室取出後，置於溫室地面觀察病徵表現；對照組則噴施 1000 倍稀釋之 Triton X100，噴施後之處理與接種組相同。接種後每週測量水稻及尖瓣花之植株高度，並於接種後 12 週（約三個月）測量高度後，收割水稻秤取稻株總重及稻穀重量；另以相同時間種植之水稻盆栽（盆栽中沒有尖瓣花植株）作為對照之正常水稻組，同樣收割稻株秤取重量。

結 果

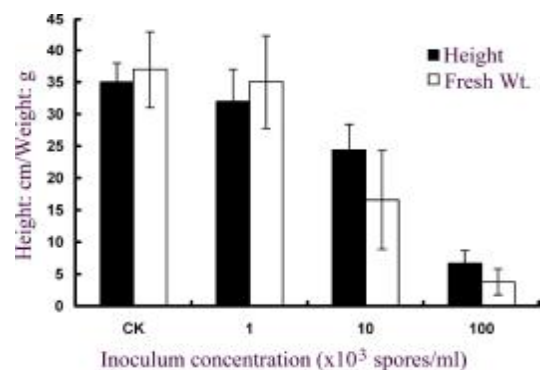
尖瓣花致病菌株

自田間採集得之尖瓣花罹病組織，其葉片及莖部呈現壞疽病斑，大型病斑會癒合造成莖部折斷萎凋（圖二）；將病斑組織進行病原菌分離，獲得之真菌菌株在 PDA 平板培養基上呈現灰黑色菌落，並產生黑褐色分生孢子，分生孢子具有縱橫隔膜，有或無口喙、單生或短鏈生於分生孢子柄

上，其分生孢子大小為 $25-47.5 \times 10-16.3 \mu\text{m}$ ，根據分生孢子的特徵，確定此菌株為 *Alternaria* sp.。以平板培養基洗下之孢子接種於尖瓣花植株，產生與原分離植株相同之病徵，完成柯霍氏法則，並經單孢分離，將此菌株編號為 SPHZE60，做為尖瓣花生物防治探討之候選菌株。

致病力測試

接種後隔日，接種源濃度 1×10^5 spores/ml 的處理組即開始產生病徵，初期為點狀褐化斑，之後病斑間癒合擴大，造成落葉及生長遲滯，甚至植株死亡。 1×10^4 spores/ml 的處理組病徵出現較慢，約在接種後 3-5 天，葉部因病斑癒合而產生葉形扭曲現象、莖頂的新生芽點受病原菌感染而枯萎，但其後腋芽會長出取而代之。 1×10^3 spores/ml 的處理組病徵出現也大約在接種後 3-5 天，但病徵表現極輕微，僅在葉部及頂芽有小的病斑或輕微扭曲，植株外觀與未接種的對照組相似，株高及鮮重皆顯示與對照組差異不顯著（圖三）。在



圖三、以不同濃度分生孢子之接種源，探討 SPHZE60 之致病力強度，於接種後兩週測量尖瓣花植株之高度及鮮重。
Fig. 3. Pathogenic potential of *Alternaria* sp. (isolate SPHZE60). Gooseweed was inoculated with different dilutions of conidia. The height and fresh weight were recorded 2 wk after inoculation.

三個接種處理組中，接種源強度為 1×10^5 spores/ml 時，始有較佳的防治效果，尖瓣花株高受抑制達 80.1%、生物量減少 89.7%，而且由於病斑發展範圍較大，莖部均受到嚴重感染，抑制了尖瓣花後續再回復生長； 1×10^4 spores/ml 處理組雖初期有病徵，但由於病徵發展較慢，在接種後三至四週，其腋芽的發展會使植株再度恢復生機。

致病菌株寄主範圍

以較高之接種源強度，即 1×10^6 spores/ml，接種於包括尖瓣花在內的 17 科 25 種植物上，在溫室中觀察一週後，只有尖瓣花產生病徵，對其他植物均無影響(表一)。在受測試植物種類中，特別著重於水域型、半水域型或濕生型的植物種類，例如水稻、芋、菱角三種作物，大萍、布袋

表一、SPHZE60 菌株之寄主範圍測試。病原菌以 1×10^6 spores/ml 接種於 17 科 25 種植物上，保濕 15 小時，7 天後記錄病徵表現。

Table 1. Host range of fungal isolate *Alternaria* sp. (isolate SPHZE60). Twenty-five plant species belonging to 17 families were inoculated with conidia of SPHZE60 at an inoculum strength of 1×10^6 spores/ml.

Family	Species	Symptom ¹⁾
Amaranthaceae (莧科)	<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb. (空心蓮子草)	NS
Araceae (天南星科)	<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott (芋)	NS
Araceae (天南星科)	<i>Pistia stratiotes</i> L. (大萍)	NS
Caryophyllaceae (石竹科)	<i>Stellaria aquatica</i> (L.) Scop. (鵝兒腸)	NS
Commelinaceae (鴨跖草科)	<i>Murdannia keisak</i> (Hassk.) Hand.-Mazz. (水竹葉)	NS
Compositae (菊科)	<i>Mikania cordata</i> (Burm. f.) B. L. Rob. (蔓澤蘭)	NS
Compositae (菊科)	<i>Mikania micrantha</i> Kunth (小花蔓澤蘭)	NS
Cruciferae (十字花科)	<i>Cardamine flexuosa</i> With. (焯菜)	NS
Cyperaceae (莎草科)	<i>Cyperus iria</i> L. (碎米莎草)	NS
Gramineae (禾本科)	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv. (稗草)	NS
Gramineae (禾本科)	<i>Eleusine indica</i> (L.) Gaertn. (牛筋草)	NS
Gramineae (禾本科)	<i>Leptochloa chinensis</i> (L.) Nees (千金子)	NS
Gramineae (禾本科)	<i>Oryza sativa</i> L. (水稻)	NS
Lythraceae 千屈菜科)	<i>Ammannia multiflora</i> Roxb. (多花水莧)	NS
Onagraceae (柳葉菜科)	<i>Ludwigia hyssopifolia</i> (G. Don) Exell (細葉水丁香)	NS
Onagraceae (柳葉菜科)	<i>Ludwigia x taiwanensis</i> Peng (臺灣水龍)	NS
Oxalidaceae (酢醬草科)	<i>Oxalis corniculata</i> L. (酢漿草)	NS
Polygonaceae (蓼科)	<i>Polygonum plebeium</i> R. Br. (節花路蓼)	NS
Pontederiaceae (雨久花科)	<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms (布袋蓮)	NS
Pontederiaceae (雨久花科)	<i>Monochoria vaginalis</i> (Burm. f.) Presl (鴨舌草)	NS
Scrophulariaceae (玄參科)	<i>Lindernia anagallis</i> (Burm. f.) Pennell (定經草)	NS
Scrophulariaceae (玄參科)	<i>Lindernia antipoda</i> (L.) Alston (泥花草)	NS
Solanaceae (茄科)	<i>Solanum nigrum</i> L. (光果龍葵)	NS
Sphenocleaceae (密穗桔梗科)	<i>Shenoclea zeylanica</i> Gaertn. (尖瓣花)	S
Trapaceae (菱科)	<i>Trapa taiwanensis</i> Nakai (菱角)	NS

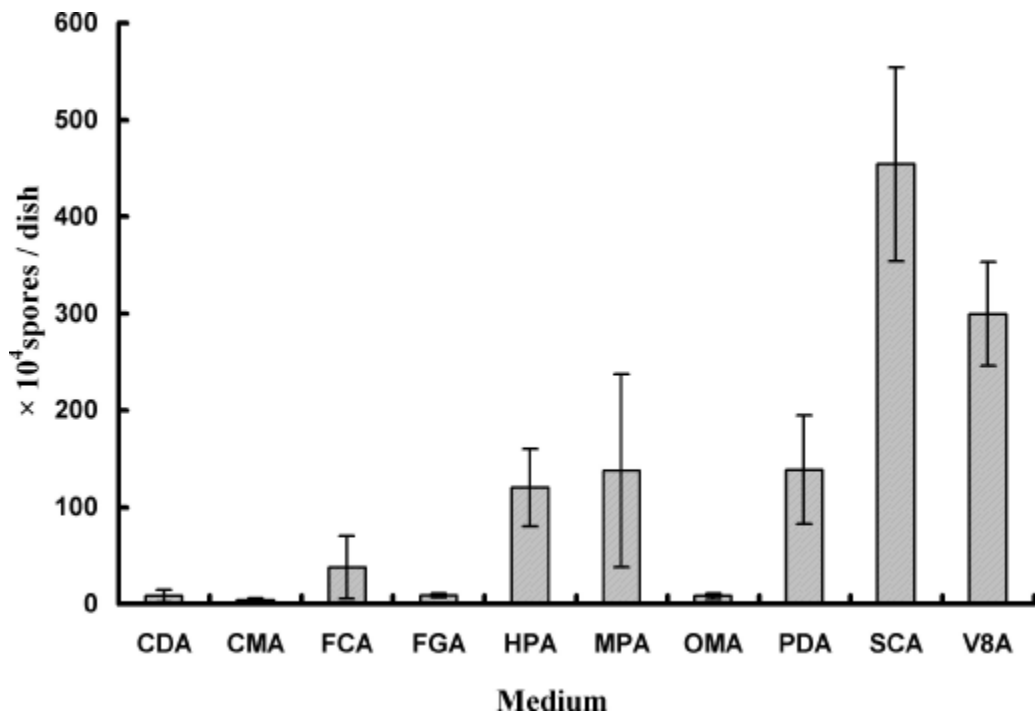
¹⁾ NS: no symptom, S: show symptom.

蓮兩種水域型植物，以及碎米莎草、稗草、鴨舌草、多花水蕒、細葉水丁香、定經草、泥花草、台灣水龍...等水田或沼澤常見的植物，所有這些非目標植物均未產生病徵。

合成培養基產孢效果比較

將 SPHZE60 菌株培養於 CDA、CMA、FCA、FGA、MPA、OMA、PDA、HPA、SCA 及 V8A 等十種合成培養基，在

25°C、持續日光燈照射下培養 15 天，以 SCA 培養基的產孢量最高(圖四)，每個培養皿可產生 4.5×10^6 個分生孢子；其次為 V8A 培養基，每個培養皿可產生 3.0×10^6 個分生孢子；PDA、HPA、MPA 三者為再次多者，分別為 1.4×10^6 、 1.2×10^6 、 1.4×10^6 個分生孢子，均仍在 1×10^6 個孢子的水準以上，但三者間無顯著差異；其餘的幾種培養基產量則顯著較少。



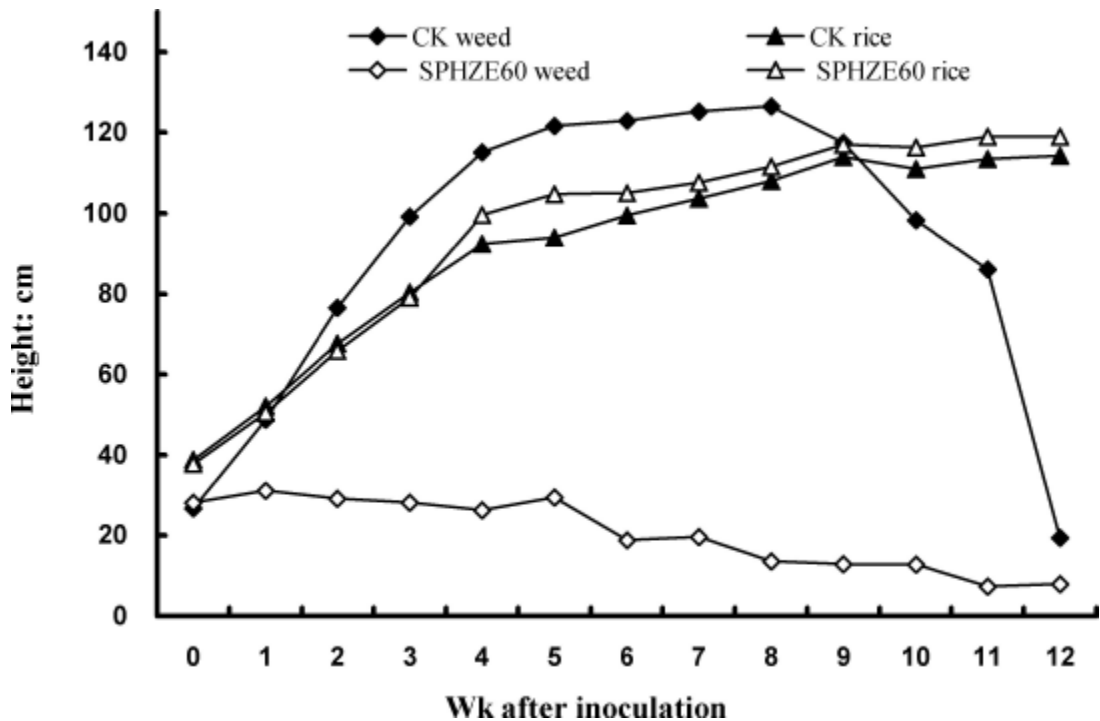
圖四、合成培養基分生孢子產量測試。SPHZE60 菌株以菌絲圓盤接種在各種合成培養基，培養 15 天後每個 9 cm 培養皿之分生孢子產量比較。

Fig. 4. Sporulation of *Alternaria* sp. (isolate SPHZE60) on different artificial media. Agar discs were inoculated on media, and conidia were harvested 15 d after inoculation. Quantities presented are conidia produced on each 9-cm Petri dish. Media abbreviations: CDA (Czapek-Dox agar); CMA (corn meal agar); FCA (fructose-casein agar); FGA (fructose-glutamate agar); MPA (malt extract-peptone agar); OMA (oat meal agar); PDA (potato dextrose agar); HPA (half-strength PDA); SCA (sucrose- CaCO_3 agar); and V8A (V-8 juice agar).

尖瓣花致病菌株對尖瓣花防治效果

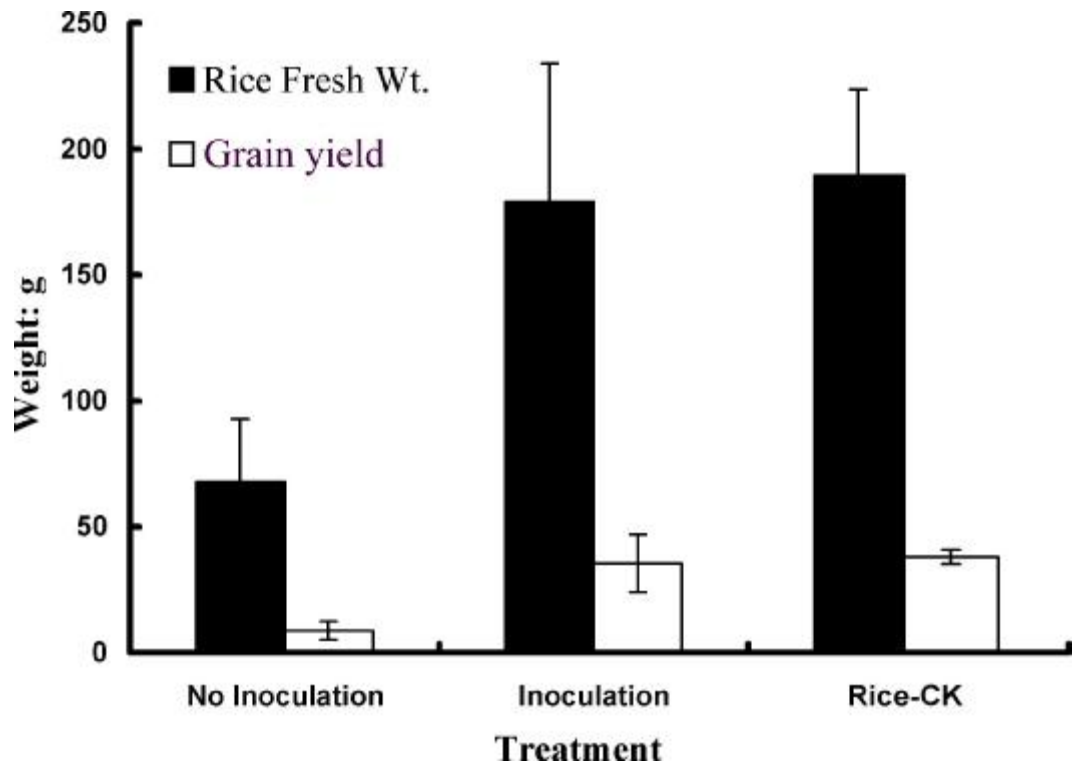
接種後隔天，噴施 SPHZE60 懸浮孢子的尖瓣花即開始產生病徵，同時其生長也受到抑制，植株高度的增加幾近停滯（圖五），相較之下，未噴施 SPHZE60 的對照組，尖瓣花繼續生長，一週之內高度增加近 20 cm；各接種組水稻生長正常，穩定增高，同時均未出現病徵。接種後第二週，接種組尖瓣花平均株高為 29 cm、對照組為 77 cm；第四週，接種組平均株高為 26 cm、對照組為 115 cm；至第八週，接種組平均株高為 14 cm、對照組為 126 cm；對照組

之尖瓣花在試驗期間生長迅速，最高可達 148 cm，相較於接種組之尖瓣花，部分植株在接種後第三週即死亡，部分則仍存活但持續表現萎凋病徵且生育受阻；計算供試菌株對尖瓣花之抑制效果，從第一週 36.7%到第四週 77.4%，最後達第八週 88.9%。第八週之後，尖瓣花已達成熟期，即使未產生病徵之植株，均開花結實而後因自然衰老而逐漸枯萎，因此對照組之尖瓣花在此時植株高度開始降低，於第十二週時已與接種組之尖瓣花無顯著差異。各組之水稻植株在試驗期間均穩定增高，接



圖五、接種 SPHZE60 對尖瓣花及水稻株高之影響。以 2×10^5 spore/ml 之接種源接種溫室種植之水稻及尖瓣花盆栽，接種後每週測量植株高度，持續至接種後十二週。「CKgooseweed」為未接種組之尖瓣花高度、「CKrice」為未接種組之水稻高度、「SPHZE60gooseweed」為接種組之尖瓣花高度、「SPHZE60rice」為接種組之水稻高度。

Fig. 5. Effect of *Alternaria* sp. (isolate SPHZE60) inoculation on the growth of rice and gooseweed. Pots planted with rice and gooseweed were inoculated with spore suspensions at 2×10^5 spores/ml, and plant heights were recorded weekly after inoculation. "CK" and "SPHZE60" represent the uninoculated and inoculated pots, respectively.



圖六、噴施 SPHZE60 對水稻生物量及產量之影響。在接種後第十二週，收割水稻，秤取每盆植株鮮重及稻穀產量。「No inoculation」為未接種 SPHZE60 之對照組、「Inoculation」表示接種 SPHZE60，此二組盆栽均同時含有水稻及尖瓣花；「Rice-CK」為同時種植，僅種植水稻，不種尖瓣花、亦不接種病原菌之正常水稻盆栽。

Fig. 6. Effect of *Alternaria* sp. (isolate SPHZE60) inoculation on the biomass and yield of rice. Rice was harvested at 12 wk after inoculation, and the fresh weight and yield weight of each pot were recorded. No inoculation, no SPHZE60 applied; Inoculation, inoculated with SPHZE60; Rice-CK, pots with rice plants only and no SPHZE60 inoculation, for normal rice control.

種組與對照組之高度無顯著差異，但在分蘗數上，對照組水稻則明顯分蘗較少。接種後 12 週，採收水稻進行產量影響調查(圖六)，接種 SPHZE60 之處理組，稻株平均重 179.0g、穀粒平均重 35.5g，而未接種病原菌之對照組稻株平均重 68.0g、穀粒平均重 8.8g；相較於僅種植水稻而沒有尖瓣花之正常水稻對照組，稻株平均重 189.5g、穀粒平均重 38.1g，接種 SPHZE60 組之水稻生物量、產量與之無顯著差異，顯見接種 SPHZE60 有效控制尖瓣花，除去尖瓣花對水稻的競爭作用，恢復應有的產量水準。

討 論

溫室的試驗中，以 *Alternaria* sp. 1×10^3 - 1×10^7 spores/ml 的濃度接種各種株齡的尖瓣花，均會造成尖瓣花植株的死亡，低接種濃度時，需兩週的時間才可造成全部尖瓣花植株死亡，但若接種源高於 1×10^4 spores/ml，則僅需一週時間即可使全部尖瓣花植株死亡，若高達 1×10^7 個孢子，在接種後 24 小時內植株就會死亡。而戶外試驗田區的結果顯示，病徵的表現較溫室和緩，但同樣具有致死效果，在以 1×10^5 -

1×10^6 spores/ml 接種試驗小區的尖瓣花時，可以有效降低 80 - 99% 的尖瓣花族群密度，而最終的生物量可以減少 90% 以上；歸納所有接種實驗結果顯示，接種源濃度、露點時間 (dew period)、及尖瓣花株齡是影響生物防治成效的三大因子，接種源濃度愈高，尖瓣花愈快速死亡、露點時間愈長，所需之接種源濃度愈低。以上這些資料，都是生物防治技術的有力佐證，足以提供我們試驗上的參考，也顯示尖瓣花 *Alternaria* 菌株對尖瓣花有效的防治效果，是可以發展的一個生物防治菌株。

本研究所獲得的 SPHZE60 菌株亦為真菌 *Alternaria* sp. 菌株，但是否與 IRRI 研究群所使用的相同為 *A. alternata* f. sp. *spenocleae* 仍有待進一步鑑定；但可以確定的是，SPHZE60 菌株確實對尖瓣花具有強致病性，在 1×10^5 spores/ml 以上的濃度，即可有效地抑制尖瓣花的生長，甚至使尖瓣花死亡。在溫室的數次接種試驗中發現，SPHZE60 對於尖瓣花的防治效果優劣，其防治時機很重要，若在幼苗期即噴施，致病效果較強，對於所需露點時間的要求也會降低，同時孢子濃度降低而也可以得到相同的效果；若錯過幼齡期，尖瓣花植株生長很快，而且植株漸長，其莖部木質化的現象也較明顯，此時再噴施病原菌，雖仍可產生病徵，但要達到完全抑制其生長或致死，則需要更強的接種源及更長的露點時間；IRRI 研究群的報告中也同樣有這樣的結論。

未來 SPHZE60 仍需進行試驗田的防治試驗，其分生孢子的需求量會較高，量產孢子培養基的開發是未來必經之路，因此本研究也進行 SPHZE60 產孢的探討，先以合成培養基嘗試，穀類替代培養基則尚未進行探討。在十種合成培養基中，SCA 與 V8A 的產量最高，SCA 最高的產量甚至超過 6×10^6 spores/dish，平均則為 4.5×10^6 spores/dish；IRRI 研究群的報告中並未使

用 SCA，而是以半量 PDA 及 V8 培養基產孢量較高，在我們的研究中，半量 PDA 及 V8 培養基產孢量也相當不錯，均高於 1×10^6 spores/dish。

本研究在溫室中以盆栽進行接種試驗，盆鉢中同時種植水稻及尖瓣花，模擬水稻田受尖瓣花危害，尖瓣花與水稻競爭養分及空間的情況。藉由株高的調查，反映接種 SPHZE60 後，水稻及尖瓣花兩種植物在株型、外觀上的消長；在圖五的試驗結果也清楚地顯示，在接種組與未接種組之間，尖瓣花的株高差異相當明顯，雖然在接種時尖瓣花的株齡已稍嫌過大，但接種 SPHZE60 組的尖瓣花由於表現出壞疽病徵，生長明顯停滯，高度一直未能增加，反而緩步降低；反觀對照組，尖瓣花株高快速增加，同時由於試驗進行期間正值二期作盛暑期間，尖瓣花的生長極旺盛，在第二週株高就已超越水稻，在第八週達到最高，調查紀錄中最高的植株達 148 cm。對照組的尖瓣花旺盛地生長，勢必影響同一盆中水稻的生長，圖五的調查資料顯示，接種組與對照組間，水稻的株高差異並不明顯，但事實上，對照組的尖瓣花累積龐大的生物量，使得盆中水稻分蘖數明顯減少，稻穀產量自然也減少，在圖六中可以看出明顯的差異；而接種 SPHZE60 組，由於在初期即有效地壓制尖瓣花的生長，使得尖瓣花對養分、空間的競爭極為有限，相對使水稻的生物量及產量都接近正常值；歸納本模擬田間的噴施試驗結果可以推論，只要能夠在初期，大約在插秧後的四或六週內，有效地抑制尖瓣花的生長，不一定要使尖瓣花完全死亡，給水稻在分蘖期有足夠的喘息空間，就可以使尖瓣花造成的損失明顯降低。雖然實際田間的環境狀況與溫室有相當的差距，但是溫室的試驗結果仍是很重要的參考依據，只要在接種源濃度、噴施時期及方式上修正、掌握病害發生生態、適當的劑型開發，SPHZE60 菌株是極具生物除草劑開發潛力的個案，未來將有潛力替代

本達隆、2,4-D 等萌後除草劑，做為水田防治尖瓣花的利器。

引用文獻

1. 蔣永正、蔣慕琰。2002。尖瓣花 (*Sphenoclea zeylanica*) 對水田常用除草劑之反應。中華民國雜草學會會刊 23: 83-92。
2. 蔣慕琰。1995。水田雜草概觀：種類、生態及防治。植保會刊 37: 339-355。
3. 蔣慕琰、蔣永正。2002。雜草。植物保護圖鑑系列—水稻保護，第五篇。鄭清煥編。行政院農委會動植物防疫檢疫局印。448 頁。
4. 鍾文全、黃振文。1993。促進 *Alternaria brassicae* 產孢的合成培養基。植保會刊 35: 30-38。
5. Barreto, R., Charudattan, R., Pomella, A., and Hanada, R. 2000. Biological control of neotropical aquatic weeds with fungi. *Crop Protection* 19: 697-703.
6. Bayot, R. G., Watson, A. K., and Moody, K. 1994. Control of paddy weeds by plant pathogens in the Philippines, pp. 139-143. *In*: H. Shibayama, K. Kiritani, and J. Bay-Petersen [eds], Integrated management of paddy and aquatic weed in Asia. FFTC Book Series No. 45.
7. Mabbayad, M. O., and Watson, A. K. 1995. Biological control of gooseweed (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) with *Alternaria* sp. *Crop Protection* 14: 429-433.
8. Masangkay, R. F., Mabbayad, M. O., Paulitz, T. C., and Watson, A. K. 1999. Host range of *Alternaria alternata* f. sp. *sphenocleae* causing leaf blight of *Sphenoclea zeylanica*. *Can. J. Bot.* 77: 103-112.
9. Masangkay, R. F., Paulitz, T. C., Hallett, S. G., and Watson, A. K. 1999. Factors influencing biological control of *Sphenoclea zeylanica* with *Alternaria alternata* f. sp. *sphenoclea*. *Plant Dis.* 83: 1019-1024.
10. Masangkay, R. F., Paulitz, T. C., Hallett, S. G., and Watson, A. K. 2000. Characterization of sporulation of *Alternaria alternata* f. sp. *sphenocleae*. *Biocontrol Sci. Tech.* 10: 385-397.
11. Masangkay, R. F., Paulitz, T. C., Hallett, S. G., and Watson, A. K. 2000. Solid substrate production of *Alternaria alternata* f. sp. *sphenocleae* conidia. *Biocontrol Sci. Tech.* 10: 399-409.
12. Mohan Babu, R., Sajeena, A., Seetharaman, K., Vidhyasekaran, P., Rangasamy, P., Som prakash, M., Senthil Raja, A., and Biji, K. R. 2002. Host range of *Alternaria alternata* – a potential fungal biocontrol agents for waterhyacinth in India. *Crop Protection* 21: 1083-1085.
13. Waage, J. 1992. Classical biological control of weeds. pp. 240-247. *In*: J. H. Combellack, K. J. Levick, J. Parsons, and R. G. Richardson [eds], Proceedings of the First International Weed Control Congress, Weed Sci. Soc. Victoria Inc., Melbourne, Australia.
14. Waterhouse, D. F. 1994. Target weeds – *Sphenoclea zeylanica*, pp.228-231. *In*: Biological Control of Weeds: Southeast Asian Prospects. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia, 302 pp.
15. Watson, A. K. 1991. The classical approach with plant pathogens. pp. 3-23. *In*: D. O. TeBeest [ed], Microbial

- Control of Weeds, Chapman and Hall, New York,
16. Watson, A. K. 1992. Biological and other alternative control measures. pp. 64-73. *In*: J. H. Combellack, K. J. Levick, J. Parsons, and R. G. Richardson [eds], Proceedings of the First International Weed Control Congress, Weed Sci. Soc. Victoria Inc., Melbourne, Australia.

ABSTRACT

Chen, F. Y.*, and Chiang, M. Y. 2004. Host specific *Alternaria*- a potential biocontrol agent for gooseweed (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.).** Plant Prot. Bull. 46: 131-142. (Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, Taichung, Taiwan 413, ROC)

Gooseweed (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) is a common, annual herbaceous weed of paddy rice (*Oryza sativa* L.) fields in Taiwan, and it has gradually become a dominant weed in recent years. To develop a non-chemical strategy for the control of gooseweed, research was conducted to look for suitable fungi to control the weed. Diseased tissues of gooseweed were collected from local paddy fields, and pathogenic microbes were isolated from them. Pathogenicity of the fungal isolate SPHZE60 to gooseweed was confirmed. Inoculum at a strength of 1×10^5 spores/ml provided effective control of gooseweed with an 80.1% decrease in its height and an 89.7% decrease in its biomass. Ten different artificial media were tested for the sporulation of SPHZE60. Results of the study showed that SCA and V8A media produced the most conidia at $(2.9 - 4.5) \times 10^6$ spores/dish. The host range of SPHZE60 was determined by inoculating 1×10^6 spores/ml onto 25 plant species in 17 families. No plant species showed symptoms except for gooseweed. Greenhouse studies were conducted to compare the pathogenicity of SPHZE60 to potted rice and gooseweed plants. Pots inoculated with a spore suspension at 2×10^5 spores/ml were compared weekly with those without inoculum. The height of the gooseweed dramatically differed between treated and untreated pots. Those inoculated with SPHZE60 showed 88.9% inhibition in height in the eighth week after inoculation. The height of rice in the 2 treatments exhibited no significant difference, but the tiller number was apparently lower in the control. Rice was harvested at 12 wk after inoculation to determine its biomass and yield. Rice treated with SPHZE60 grew normally and produced regular yields. The SPHZE60 fungal isolate was proven to be a potentially promising biological control agent for gooseweed.

(Key words: *Sphenoclea zeylanica*, gooseweed, biological control, *Alternaria* sp.)

* Current affiliation: Tainan District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Tainan.

**Corresponding author. E-mail: myc@tactri.gov.tw