

臺灣水稻稻麴病之發生與防治藥劑之篩選

賴柏羽¹ 吳昭蓉¹ 倪蕙芳^{2,*}

摘要

賴柏羽、吳昭蓉、倪蕙芳。2025。臺灣水稻稻麴病之發生與防治藥劑之篩選。台灣農業研究 74(1):63–79。

水稻稻麴病 (*Ustilaginoidea virens*) 為臺灣水稻次要病害，偶於田間發生，近年來隨著友善耕種觀念普及，水稻有機栽培面積逐年增加，加上受到氣候變遷影響，稻麴病在世界各地均有越來越頻繁且嚴重發生之趨勢，除了影響水稻產量與品質外，其產生之毒素亦可能威脅稻米品質與安全。由於本病害在臺灣發生之相關報告極為有限，本研究於 2022–2023 年在嘉義縣民雄鄉有機水稻田進行 2 年 4 期作之水稻稻麴病害發生率調查，結果顯示稻麴病分別於 2022 年 1 期稻作與 2023 年 2 期稻作發生，其中又以 2022 年病害發生率較為嚴重，稻穢罹病率最高達 27.5–30.7%，罹病穗率為 9.6–10.6%，罹病穗之稻麴數以 1–2 粒占多數，且多分布於稻穗中下段。另外，自田間所分離之 9 株稻麴病菌菌株，以 potato sucrose agar (PSA) 培養基培養時，其產孢能力、菌落型態及生長速度彼此間具有差異性，其中 6 菌株在 2–4 wk 陸續產生厚膜孢子，但有 3 菌株則完全不產生孢子。進一步挑選 6 株菌落型態不同之菌株進行核酸定序，結果顯示，6 菌株之 internal transcribed spacer (ITS) 序列彼此相同，而與美國國家生物科技資訊中心 (National Center for Biotechnology Information; NCBI) 基因資料庫比對結果則與 *U. virens* 菌株 118-CLR-KA-40 的 ITS 序列 (Accession no. OL744511) 有高達 99.69% 之相似度，鑑定本菌為 *U. virens*。以交配型基因座 (mating type locus) 之專一性引子對增幅，發現本研究所收集的菌株為 MAT1-1 交配型，並未發現有 MAT1-2 交配型的存在。另挑選其中產孢較穩定之 RSB-5 與 RSB-9 分離株進行溫度試驗，結果顯示 25°C 為最適合菌絲生長與厚膜孢子發芽之溫度條件。以目前推薦在水稻真菌性病害防治之藥劑對 RSB-5 與 RSB-9 進行室內菌絲生長與孢子發芽抑制試驗，結果顯示百克敏、鋅錳乃浦、克熱淨及免賴得對供試菌株之菌絲生長抑制率最佳，嘉賜黴素抑制率最低；百克敏、甲基多保淨、鋅錳乃浦、克熱淨及免賴得對厚膜孢子具有 100% 發芽抑制率，而嘉賜三賽唑與嘉賜黴素則抑制效果低。綜合以上結果，在水稻孕穗期以百克敏、鋅錳乃浦、克熱淨及免賴得等殺菌劑輪流施藥防治，應可減低稻麴病的危害。

關鍵詞：水稻、稻麴病、病害防治。

前言

水稻稻麴病 (rice false smut)，又稱為『稻(穀)母』(Sawada 1912)，是由 *Ustilaginoidea virens* (Cooke) P. Henn 所引起的真菌病害，本病原菌屬子囊菌門 (Ascomycota)，肉座菌目 (Hypocreales)，麥角菌科 (Clavicipitaceae)，稻麴病菌屬 (*Ustilaginoidea*) 之真菌 (Kepler *et al.* 2012)。此病原菌最早發現於 1878 年 (Cooke

1878) 並命名為 *Ustilago virens*，Brefeld (1895) 基於分生孢子特徵建立新屬 *Ustilaginoidea*，並將本菌定名為 *U. oryzae*，Takahashi (1896) 將學名合併為 *U. virens*。Sakurai (1934) 首次報導由稻麴上菌核發現本菌之有性態，Nakata (1934) 將本菌之有性態定名為 *Claviceps virens*。然而，系統發育分析顯示 *Ustilaginoidea* 不屬於 *Claviceps* (Bischoff *et al.* 2004; Tanaka & Tanaka 2008; Tanaka 2015)，一直至

投稿日期：2024 年 8 月 20 日；接受日期：2024 年 11 月 1 日。

* 通訊作者：hfni@tari.gov.tw

¹ 農業部農業試驗所嘉義分所植物保護系助理研究員。臺灣 嘉義市。

² 農業部農業試驗所嘉義分所植物保護系副研究員兼系主任。臺灣 嘉義市。

Tanaka *et al.* (2008) 建立新屬 *Villosiclava* 並將有性態學名合併為 *V. virens*，就此確立稻麴病菌之分類地位。

本病害最明顯之特徵為成熟穀粒呈病理性膨大而形成『稻麴』(smut ball)，病粒大小約為健全穀粒 3–4 倍大，成熟之稻麴表面薄膜破裂後，露出黃綠色或黃黑色的厚膜孢子 (Kim & Park 2007)，有時夾雜有性世代之菌核 (Sun *et al.* 2020)。然而稻麴病菌可能在水稻孕穗期或更早之前便已由穎殼間隙完成入侵 (Tanaka 2015)，主要感染穎花 (Ashizawa *et al.* 2012)，在感染初期於穎殼內生長形成淡黃色的菌絲塊，使內外穎膨脹，並隨穀粒成熟由縫合處露出灰綠色的菌塊，逐漸包裹整個穎殼，呈黃、黃綠及綠色等，最後形成稻麴之病徵。

稻麴病最初在印度的稻穀發現 (Cooke 1878)，隨後於日本、菲律賓及馬來西亞等亞洲國家皆有報導 (Patouillard 1887; Graff 1918)。本病多為零星發生，但在部分地區仍有偶發性大發生的案例，直至 1980 年代之後，隨著高產量水稻品種的種植與推廣，以及化學肥料用量不斷增加，加上近年氣候變遷等因素，導致稻麴病之發生已涵蓋亞洲、美洲、非洲、南美洲及歐洲等 61 個國家之水稻產區 (CABI 2021)，並持續有新發生紀錄的報告 (Atia 2004)，且有越來越嚴重的趨勢，日本、印度及中國等地便時常有稻麴病大發生之報告 (Matsumoto & Ibaraki 1981; Dodan & Singh 1996; Sasahara *et al.* 2008a)，發病面積明顯提升，以日本為例，近 10 年間，日本稻麴病發生面積已超過 9 萬公頃 (NARO 2023)；印度則在 2009–2010 年平均發病率曾高達 76.7%，單穗上最多達 30 個稻麴之紀錄 (Ladhalakshmi *et al.* 2012)。

臺灣最早於 1908 年正式記錄稻麴病的發生 (Kawakami & Suzuki 1908)，1907–1916 年間於臺北至屏東地區皆有分布 (Sawada 1919)，係當時 12 種重要稻作病害之一，其中又以嘉義地區發生較多 (Sawada 1912)。在此之後，此病害零星發生，嚴重程度不及其他水稻重要病害，分別於 1967 與 1990 年僅有 2 篇系統性的調查，闡明當時田間發病率可高達 19.3% (Chou 1967; Tsai *et al.* 1990)。然而，其危害不僅局限於罹病稻的損失，也包括不稔率增加與千粒重減少

所造成之產量損失 (Iijima & Konuma 1983)。此外，死米率增加與稻麴上產生的大量孢子在碾米過程中污染了機械與正常稻米，也是使品質降低的重要原因之一 (Osada 1995)；更甚者，被感染的莖葉或稻穗等罹病組織中存在多種真菌毒素 (mycotoxin)，主要成分為 ustiloxin 與 ustilaginoidins (Yabuta & Sumiki 1933; Koiso *et al.* 1992, 1994; Meng *et al.* 2015)，導致動植物細胞分裂受到抑制，具廣泛之生物毒性，嚴重威脅稻米食用安全與人畜健康 (Miyazaki 2006; Miyazaki *et al.* 2009; Sun *et al.* 2017)，也因此更需要瞭解田間有關此病害之發生情形與病原菌之特性。

目前在臺灣針對此病害相關研究相當少，且無任何推薦藥劑，而近年氣候變遷與友善耕作面積增加，稻麴病已在臺灣時有嚴重發生之現象，對未來之發生風險更無法預測，因此本研究除進行稻麴病發生調查外，並針對稻麴病菌之病原特性與可能防治藥劑進行篩選，期能研發有效防治策略與方法供農友參採。

材料與方法

試驗田區

供試水稻田位於嘉義縣民雄鄉共 2 區 (A: 23°34'02.8"N 120°27'16.2"E; B: 23°34'02.9"N 120°27'15.4"E)，距離相鄰約 100 m，皆為有機認證田區，為確實與周邊慣行水稻田作阻隔，供試田區在田埂周圍種植高度達 1 m 以上之灌木綠籬。水稻每年皆種植 2 期作，第一期作種植品種為「台農秈 22 號」(‘TNS 22’)，第二期作種植品種為「高雄 147」(‘KH 147’)，種植密度為行株距 30 × 24 cm。於 2019–2023 年間，每隔 2–3 d 記錄水稻自插秧至收割之各生育時期，並參考交通部中央氣象署自動氣象站民雄測站 (測站代碼：C0M760) 記錄水稻不同生育期間之日均溫、相對濕度及每日降雨量等氣象資料 (CODiS 氣候觀測資料查詢服務，<https://codis.cwa.gov.tw>)。

病害調查

供試田區於 2022 年 1 期稻作期間發現嚴重之稻麴病害，因此於 2022–2023 年間，連

續調查 4 期稻作之病害發生情形。在水稻進入糊熟期至黃熟期階段，參考 Tsai *et al.* (1990) 之田間調查方式，將田區由中央劃分為 4 小區，每小區調查 2 對角線，記錄每橫水稻穗數，並依據下列公式計算罹病橫率及罹病穗率：罹病橫率 (%) = (罹病稻橫數/調查稻橫總數) × 100%；罹病穗率 (%) = (罹病穗數/罹病橫之稻穗總數) × 100%。另記錄罹病穗上形成稻麴之數量，並將病穗平均分為上、中、下段，記錄稻麴在病穗之分布位置。

稻麴病菌的分離與培養

本研究於 2022 年自供試田區採集具有稻麴病病徵之稻穗，將稻穗病徵上已產孢之黃色厚膜孢子堆以適量無菌水製成孢子懸浮液，吸取 20 μ L 孢子懸浮液，以劃線平板法將孢子懸浮液劃線於 2% Bacto agar (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) 培養基上，以 25°C 培養 48 h 後，於解剖顯微鏡下切取已發芽的單孢至 potato sucrose agar (PSA) (300 mL 馬鈴薯抽出液 (馬鈴薯 300 g 與 H₂O 1,000 mL) 加入 6 g sucrose (Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA) 及 6 g agar (惠昇食品股份有限公司，臺灣彰化縣)) 培養基，於 25°C 培養約 3 wk 後，切取菌絲塊，保存於無菌水小管並儲存於 10°C 定溫箱備用。

稻麴病菌之型態觀察

將 9 株稻麴病菌分離株 (RSB-1 至 RSB-9) 活化於 PSA 培養基後，以直徑 0.5 cm 滅菌之打孔器切取菌絲邊緣，分別移植於 PSA 培養基，於 25°C 下黑暗培養 4 wk，調查菌落平均直徑。因 RSB-5 與 RSB-9 產孢較穩定，取二者產生之厚膜孢子置於載玻片上，以干涉位相差顯微鏡 (differential interference contrast, DIC; Nikon 80i, Nikon Corporation, Tokyo, Japan) 觀察，再以顯微鏡照相機 (Gryphax Naos, Jenoptik, Jena, Germany) 拍照後，並以其所附之軟體測量 50 個厚膜孢子大小。

為更進一步觀察厚膜孢子之表面，本研究另以掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscope, SEM; TM-1000, Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan) 拍攝稻麴菌厚膜孢子。將稻麴菌培養

於 PSA 一個月，待其產孢後，切下邊長 1 cm 產孢區域之菌塊，直接置於電子顯微鏡之載臺上，以電子顯微鏡附屬之影像軟體拍攝圖片及顯示尺規。

稻麴病菌之分子鑑定及交配型基因座分析

將 RSB-1、RSB-2、RSB-3、RSB-5、RSB-6 及 RSB-9 分離株培養於 PSA 培養基，待長出足量菌絲後，刮取少量菌絲，置於 50 μ L Magic Quick Seed Extract Solution (Bio-Genesis Technologies, Inc., Taipei, Taiwan) 中，以 65°C/6 min 與 95°C/2 min 處理後，作為後續 polymerase chain reaction (PCR) 反應中之 DNA 模板，並進行真菌內轉錄區間 ITS 部分序列、交配型基因座 (mating-type locus) MAT1-1 與 MAT1-2 之增幅。本試驗所使用之 PCR 溶液包含 5× PCR 緩衝液 (Fast-Run Taq Master Mix, Protech Technology Enterprise Co., Ltd., Taipei, Taiwan) 以及 0.5 μ M primer，並加入無菌水使其總體積為 25 μ L。所使用之 PCR 引子對與 PCR 條件如下：用於增幅 ITS 序列之 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 與 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.* 1990)。反應條件為：94°C/4 min；接著以 94°C/30 s、54°C/30 s 及 72°C/45 s 進行 33 個循環；72°C/7 min。用於增幅 MAT1 locus 與 MAT2 locus 序列之引子對如下，MAT1-1 之引子對為 MAT1F2 (5'-GAAACTCCAACCAACGAAGTCG-3') 與 MAT1R2 (5'-GTA-AACTTTGGCTATCAACGCCC-3')；而 MAT1-2 之引子對為 MAT2F2 (5'-GGAGCGACATA-ATACCGTCAAAGA-3') 與 MAT2R2 (5'-GG-GGTGTTTTTCTAAGAGGGCCT-3') (Fu *et al.* 2014)。反應條件為：94°C/4 min；接著以 94°C/30 s、56°C/1 min 及 72°C/40 s 進行 35 個循環；72°C/7 min。PCR 產物以 1.5% Agarose gel 與 0.5× Tris/Borate/Ethylendiaminetetraacetic acid (TBE) 緩衝液進行核酸電泳分析，並於電泳前將 DNA 樣本與 EZ-vision DNA dye as loading buffer (Protech Technology Enterprise Co., Ltd., Taipei, Taiwan) 混合，以進行核酸染色及觀察。所得 PCR 產物則委託源資國際生物科技 (Tri-i Biotech, Inc., Taipei, Taiwan)

進行核酸定序，定序後之核酸序列利用美國國家生物科技資訊中心 (National Center for Biotechnology Information; NCBI) 基因資料庫進行序列查詢與比對。

溫度對稻麴病菌菌絲生長與孢子發芽之影響

稻麴病菌 RSB-5 與 RSB-9 分離株以 PSA 平板培養 4 wk 後，以直徑 0.5cm 滅菌之打孔器切取菌絲邊緣，置於 PSA 平板中央，分別於 15、20、25、30 及 35°C 之定溫箱中黑暗培養 4 wk 後測量菌絲生長直徑，每處理 6 重複，本試驗重複 2 次。另外將 RSB-5 與 RSB-9 分離株以 PSA 培養基培養 2–4 wk (25°C)，待其產生厚膜孢子後，以 0.05% Tween-80 配製孢子懸浮液 (5×10^5 conidia mL⁻¹)，吸取 50 μ L 孢子懸浮液置於 Difco PDA 平板中央，以滅菌過之 L 型玻棒均勻塗抹，分別置於 15、20、25、30、32、34 及 35°C 之定溫箱中，黑暗靜置 48 h 後，取出培養皿於顯微鏡下觀察厚膜孢子之發芽情形，發芽菌絲長度達厚膜孢子寬度 2 倍則視為發芽，於顯微鏡下計算 100 個孢子的發芽率，每處理 4 重複，本試驗重複進行 2 次。

化學藥劑對稻麴病菌菌絲生長及孢子發芽之影響

將 PSA 培養之 RSB-5 與 RSB-9 菌株厚膜孢子以 0.05% Tween-80 配製成孢子懸浮液 (1×10^6 conidia mL⁻¹)，吸取 100 μ L 上述孢子懸浮液以滅菌過之 L 型玻棒均勻塗抹於 PSA 平板上，置於 25°C 定溫箱培養 1 wk 後，以直徑 0.5 cm 滅菌之打孔器切取菌絲塊供試，並利用藥劑平板測試法於室內測定供試藥劑之抑菌效果。以目前推薦在水稻真菌性病害防治之藥劑包括：23.6% 百克敏水懸劑 (pyraclostrobin (suspension concentrate; SC)，大成化學工業股份有限公司，臺灣臺中市)、5% 嘉賜黴素溶液 (kasugamycin (solution; SL)，大勝化學工業股份有限公司，臺灣臺北市)、40% 甲基多保淨水懸劑 (thiophanate-methyl (SC)，立農化學股份有限公司，臺灣雲林縣)、45% 嘉賜三賽唑水懸劑 (kasugamycin + tricyclazole (SC)，

大勝化學工業股份有限公司，臺灣臺北市)、33% 鋅錳乃浦水懸劑 (mancozeb (SC)，臺灣道禮股份有限公司，臺灣臺北市)、40% 克熱淨可濕性粉劑 (iminoctadine tris (albesilate) (wetable powder; WP)，億豐農化廠股份有限公司，臺灣臺中市)、50% 免賴得可濕性粉劑 (benomyl (WP)，富農化學股份有限公司，臺灣桃園市) 7 種供試藥劑，依推薦倍數配製成含藥之 PSA 培養基，以不加藥劑之 PSA 處理做為對照組。將直徑 0.5 cm 菌絲塊菌絲面朝下置入直徑 8.5 cm 之含藥 PSA 平板中央，置於 25°C 定溫箱黑暗培養 4 wk 後，測量其菌絲生長直徑。每處理 6 重複，本試驗重複進行 2 次。試驗結果按下列公式換算藥劑對菌絲之生長抑制率：菌絲生長抑制率 (%) = {[對照組生長直徑 (cm) – 藥劑處理組生長直徑 (cm)]/對照組生長直徑 (cm)} $\times$ 100%。

另以 0.05% Tween-80 配製孢子懸浮液 5×10^5 conidia mL⁻¹，分別吸取 50 μ L 孢子懸浮液置於不同藥劑 Difco PDA 平板中央，以滅菌過之 L 型玻棒均勻塗抹。置放於 25°C 定溫箱中，黑暗靜置 48 h 後，取出於顯微鏡下隨機計算 100 個孢子之發芽率，每處理 4 皿重複，本試驗重複進行 2 次，另以不加藥劑之 PDA 處理做為對照組。試驗結果按下列公式換算藥劑對厚膜孢子發芽抑制率：孢子發芽抑制率 (%) = {[對照組孢子發芽率 (%) – 藥劑處理組孢子發芽率 (%)]/對照組孢子發芽率 (%)} $\times$ 100%。

統計分析

各項處理的試驗資料利用 SAS Enterprise Guide 7.1 版統計分析軟體先進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA)，再以最小顯著性差異 (least significant difference; LSD) 測驗，在 5% 顯著水準下比較處理間平均值之差異。統計繪圖則使用 IBM SPSS Statics 25.0 版本繪製。

結果

水稻稻麴病的發生

本試驗於 2022–2023 年調查 2 年共 4 期

作水稻稻麴病發生情形，其中稻麴病僅發生於 2022 年第一期作與 2023 年第二期作，其病徵為罹病穀粒呈現黃褐色菌塊（圖 1A），外層薄膜破裂時，裸露黃褐色厚膜孢子（圖 1B）。田間稻株稻麴病發生率之調查顯示，2022 年第一期作，A、B 兩調查點之稻礬平均穗數分別為 19.9 與 17.8 穗，稻礬罹病率為 30.7 與 27.5%，罹病穗率為 9.6 與 10.6%；2023 年第二期作，A、B 兩調查點之稻礬平均穗數分別為 13.9 與 14.5 穗，稻礬罹病率則分別為 2.8% 與 3.0%，

罹病穗率為 8.5 與 7.4%（表 1）。進一步調查稻麴病在病穗之上、中、下段分布位置比率，結果顯示稻麴位於稻穗下段比率最高（40.9–54.1%），其次為中段（36.2–41.2%），上段之分布比率最少（7.7–22.7%）（圖 1C 與圖 2）。罹病穗之稻麴數如圖 3 所示，兩次調查結果皆顯示稻麴數以 1 粒（64.0–75.0%）與 2 粒（9.1–21.5%）所占之比率較高，單穗最高紀錄可達 8 粒，平均每穗稻麴數介於 1.4–2.0 粒。

2019–2023 年兩期作間，水稻生育階段自

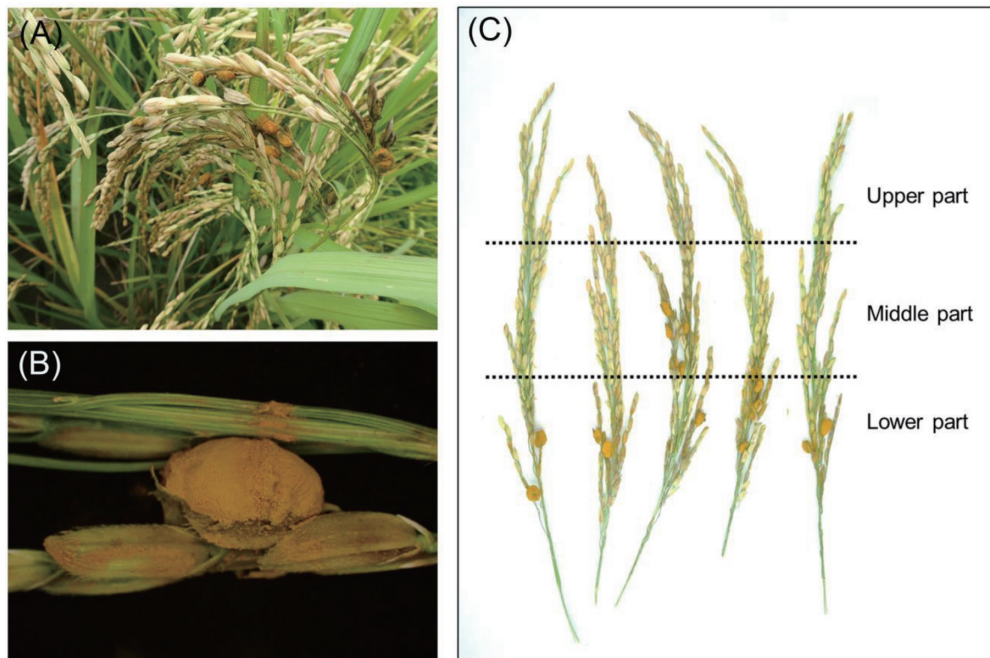


圖 1. 稻麴病之發病情形。(A) 田間罹病穗上形成稻麴；(B) 稻麴表面布滿黃色厚膜孢子；(C) 將稻穗平均分為上、中、下段，並記錄稻麴於病穗上之分布位置。

Fig. 1. The occurrence of rice false smut disease: (A) formation of smut balls on infected panicles in the field; (B) surface of smut ball covered with yellow chlamydozooids; and (C) division of the rice panicle into upper, middle, and lower parts to record the distribution of smut balls on the infected panicle.

表 1. 嘉義縣民雄鄉水稻稻麴病之發生情形調查。

Table 1. The occurrence of rice false smut investigated in Minxiong Township, Chiayi County from 2022 to 2023.

Cropping season	Cultivars	Site ^z	No. panicle/hill	Infected hill (%)	Infected panicle (%)
1 st crop, 2022	TNS 22	A	19.9 ± 2.8	30.7 ± 5.1	9.6 ± 1.3
		B	17.8 ± 0.2	27.5 ± 7.7	10.6 ± 1.3
2 nd crop, 2023	KH 147	A	13.9 ± 0.5	2.8 ± 1.4	8.5 ± 0.3
		B	14.5 ± 0.8	3.0 ± 0.8	7.4 ± 0.8

^z A: 23°34'02.8"N 120°27'16.2"E; B: 23°34'02.9"N 120°27'15.4"E.

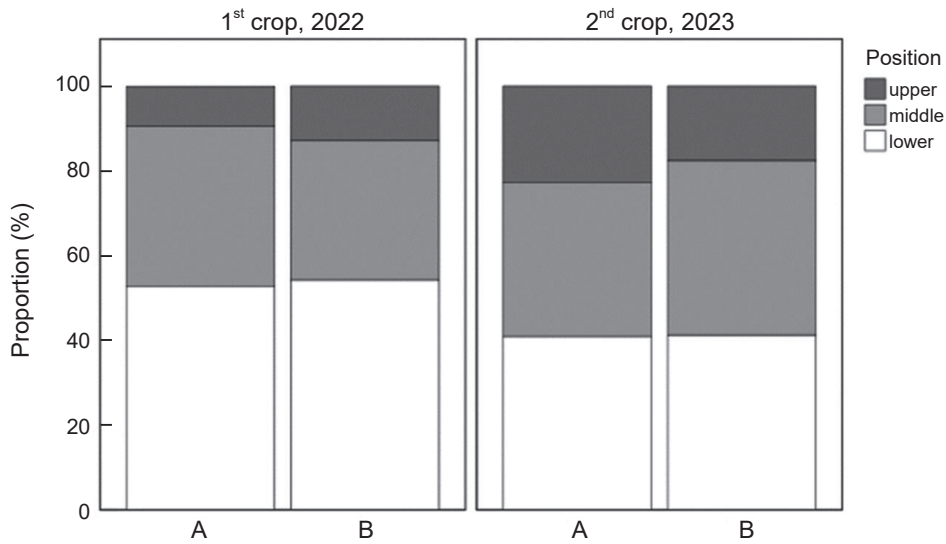


圖 2. 稻麴在罹病穗之上、中、下段之分布情形 (A: 23°34'02.8"N 120°27'16.2"E; B: 23°34'02.9"N 120°27'15.4"E)。

Fig. 2. The distribution of smut balls on the upper, middle, and lower parts of infected panicles.

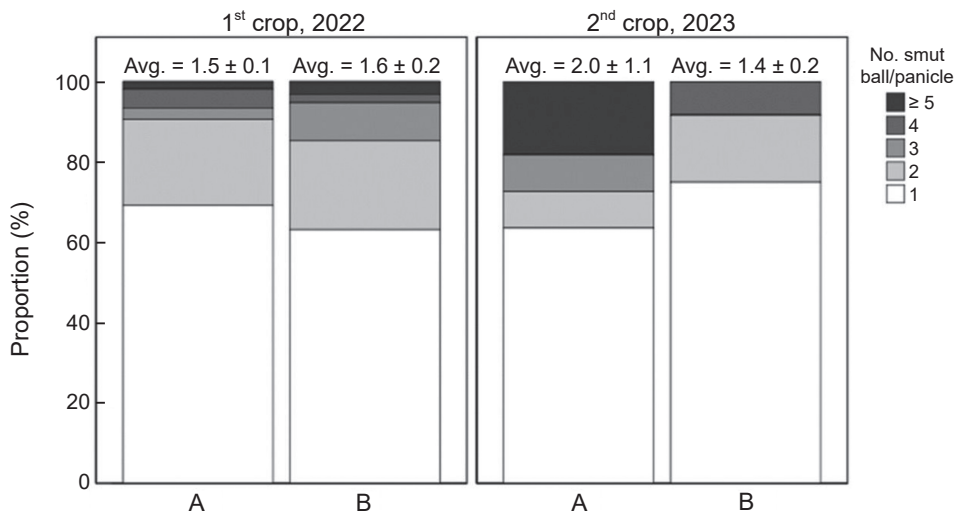


圖 3. 罹病穗上形成不同數量稻麴之比率 (A: 23°34'02.8"N 120°27'16.2"E; B: 23°34'02.9"N 120°27'15.4"E)。

Fig. 3. The proportion of different numbers of smut balls formed on infected panicles.

幼穗形成期至乳熟期之氣象資料如圖 4 所示，圖 4A 顯示不同年份之第 1 期稻作經歷之平均氣溫，其中 2022 年田間稻麴病嚴重發生，抽穗前後各經歷一次 5 年來低溫之極端離群值 (extreme outlier) 分別為 17.4°C 與 17.6°C，其他年份則顯示日均溫皆在 20°C 以上，該年份一期

作抽穗期前後之平均相對濕度 (84.7 與 81.9%) 與其他年份之間無明顯差異 (72.5–83.2% 與 73.0–85.3%) (圖 4B)，但在抽穗前累積降雨量為所有年份中最高 112.5 mm，抽穗後之累積降雨量為 198.5 mm，僅次於 2020 年之 290 mm (圖 4C)；2023 年第二期作田間亦發生稻

麴病，在日均溫方面與其他年份相比差異不大，抽穗前日均溫皆高於 25°C (26.7–29.1°C)，抽穗後溫度稍有下降，仍介於 24.2–25.6°C (圖 4D)，但在相對濕度與累積降雨量方面，2023 年與其他年份之間差異明顯，抽穗前平均相對濕度與累積雨量皆明顯高於其他年份，分別為 89.9% 與 37 mm，抽穗後雖未降雨，平均相對濕度仍有 83.6%，相較其他年份於抽穗前後平均相對濕度皆未達 80% (圖 4E、F)。

稻麴病菌的分離與培養

本試驗自供試田區共收集了 9 株稻麴病菌分離株，其菌落型態差異大，利用 PSA 培養基於 25°C 下培養 4 wk，其中 RSB-2、RSB-3 及 RSB-6 等 3 株菌株之生長狀態僅有菌絲型態，其他 6 株菌株則在菌落中央產生厚膜孢子，菌落正面呈白色、黃色或黃綠色，部分菌株中央呈深褐色 (圖 5A)，菌落背面呈淺黃色與黃綠色，部分菌株分泌褐色或黑褐色色素 (圖

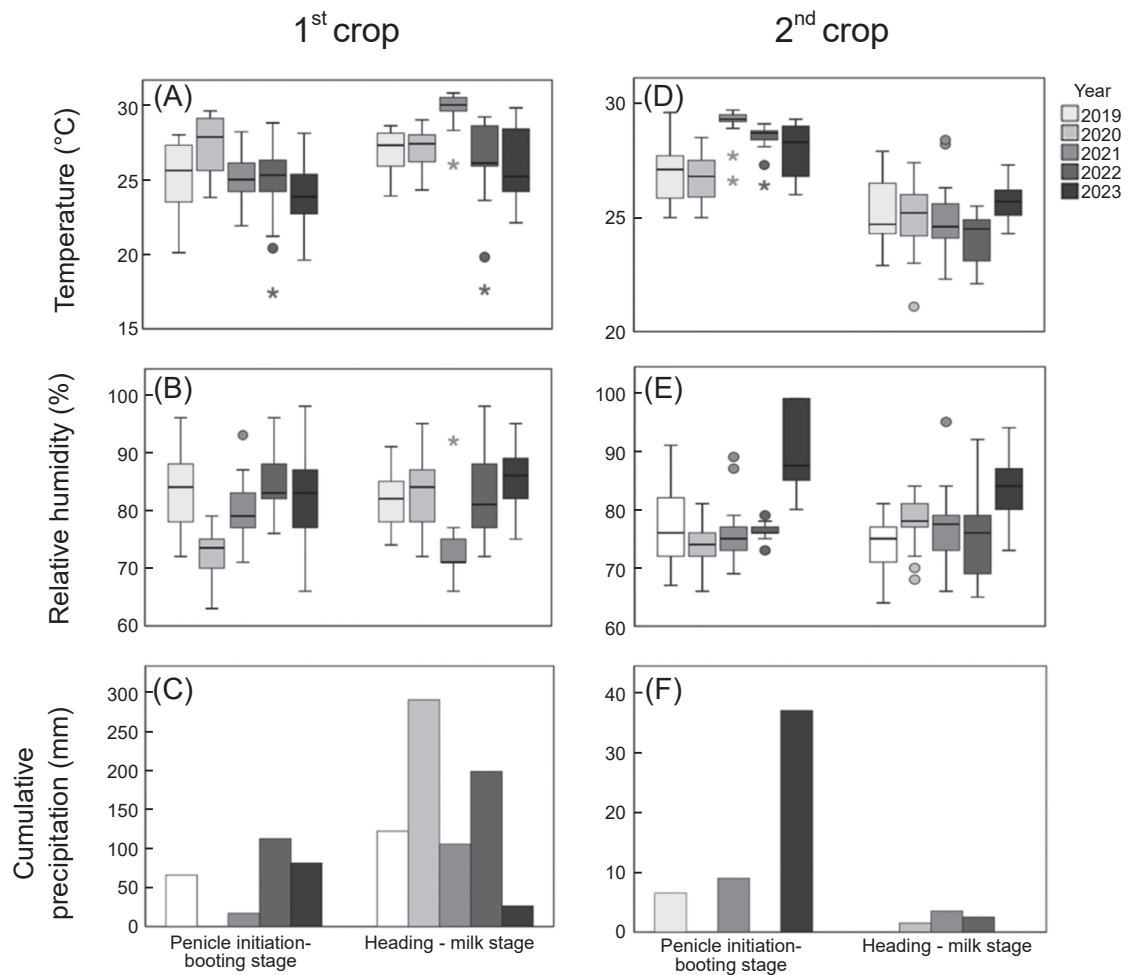


圖 4. 2019–2023 年水稻調查田區不同期作『幼穗形成期-孕穗期』與『抽穗期-乳熟期』生育階段之氣象資料。1 期稻作之 (A) 日均溫 (B) 相對濕度及 (C) 累積降雨量。2 期稻作之 (D) 日均溫 (E) 相對濕度及 (F) 累積降雨量。

Fig. 4. Meteorological data for different rice cropping seasons during the “panicle initiation to booting stage” and “heading to milk stage” in surveyed fields from 2019 to 2023: (A) daily average temperature; (B) relative humidity; and (C) cumulative rainfall for the first cropping season; (D) daily average temperature; (E) relative humidity; and (F) cumulative rainfall for the second cropping season.

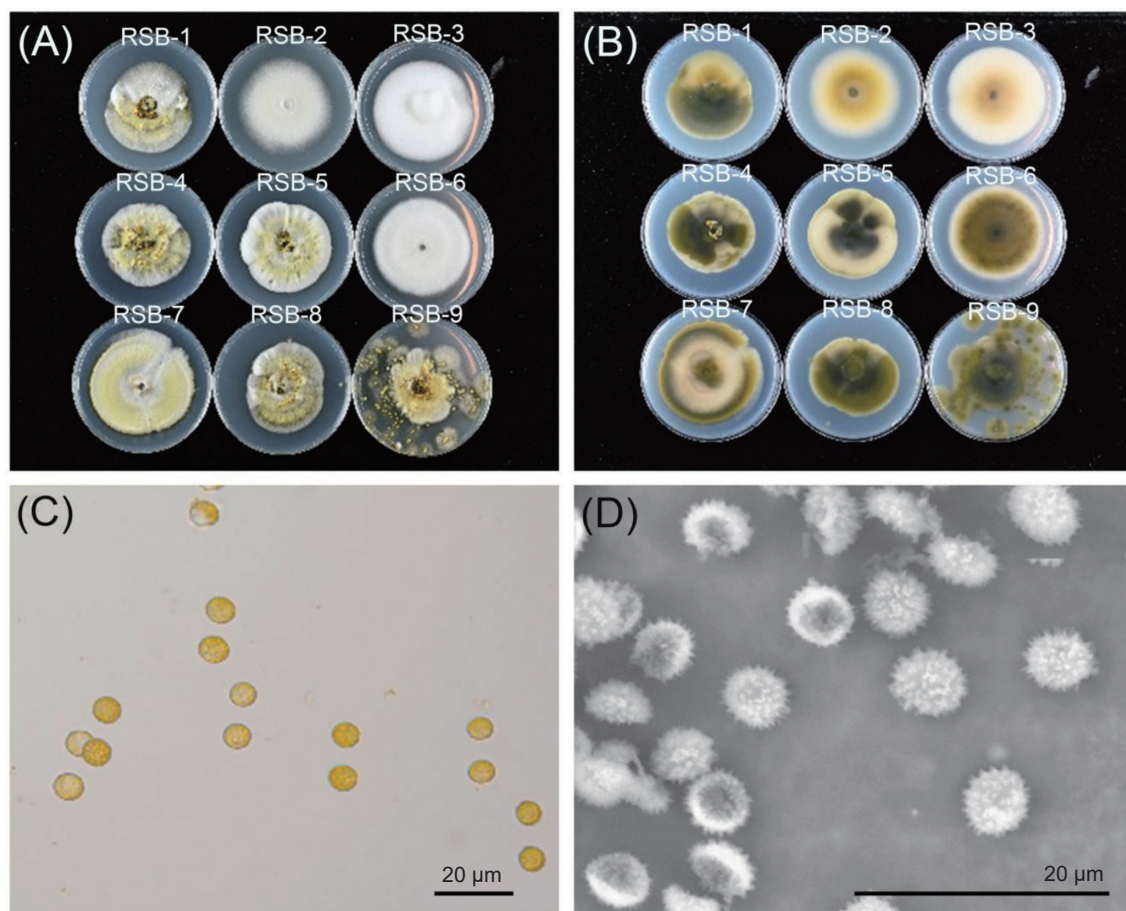


圖 5. 稻麴病菌菌落與厚膜孢子形態。9 株分離株以 PSA 培養 4 wk 之 (A) 正面與 (B) 反面菌落型態。以 (C) 干涉位像顯微鏡與 (D) 掃描式電子顯微鏡觀察之厚膜孢子形態。

Fig. 5. The morphology of colonies and chlamydospores of *Ustilaginoidea virens*. Nine isolates (RSB-1 to RSB-9) were cultured on potato sucrose agar for 4 wk, and the appearance of colony showed on the (A) front and (B) reverse sides. The morphology of chlamydospores under (C) the differential interference contrast microscopy and (D) the scanning electron microscope.

5B)，取菌株 RSB-5 與 RSB-9 進行觀察，其厚膜孢子黃綠色圓形並於表面有針狀突起物（圖 5C、D），另外所測量之 RSB-5 菌株厚膜孢子長寬為 $6.49 \pm 0.06 \mu\text{m} \times 6.12 \pm 0.06 \mu\text{m}$ ，RSB-9 之厚膜孢子長寬為 $6.99 \pm 0.05 \mu\text{m} \times 6.50 \pm 0.07 \mu\text{m}$ （表 2）。菌株於 25°C 下以 PSA 培養 4 wk，菌落直徑範圍為 4.9–6.9 cm，其中 RSB-9 菌落直徑僅 4.9 cm（表 2），但厚膜孢子產生速度快。

稻麴病菌分子鑑定與其交配型分析

挑選不同菌落型態之菌株 RSB-1、RSB-2、

RSB-3、RSB-5、RSB-6 及 RSB-9 進行 ITS 序列之增幅及定序，發現 6 菌株彼此之序列相似度為 100%，其中 RSB-5 與 RSB-9 之序列已登錄於 NCBI GenBank 資料庫 (Accession no. PP389938 與 PP389939)，續將本序列於 NCBI GenBank 網站進行比對，比對結果與 *U. virens* 菌株 118-CLR-KA-40 的 ITS 序列 (Accession no. OL744511) 有高達 99.69% 之相似度。為進一步瞭解所收集之菌株交配型之種類，由專一性引子對偵測 6 株稻麴病菌之交配型，發現 6 株菌皆可增幅出 MAT1-1 片段，無法增幅出 MAT1-2（圖 6），顯示 6 株稻麴病菌為 MAT1-1 交配型。

表 2. 稻麴病菌以 PSA 培養基在 25°C 下培養 4 wk 之菌絲生長直徑及厚膜孢子大小。

Table 2. The mycelial growth and chlamydospore size of *Ustilaginoidea virens* on potato sucrose agar (PSA) at 25°C for 4 wk.

Isolates	Mycelial diameter (cm)	Chlamydospore length/width (μm)
RSB-1	5.7 ± 0.0 cd ^z	-
RSB-2	6.1 ± 0.1 bc	-
RSB-3	6.5 ± 0.2 ab	-
RSB-4	5.3 ± 0.3 de	-
RSB-5	5.6 ± 0.1 d	6.49 ± 0.06/6.12 ± 0.06
RSB-6	6.4 ± 0.1 ab	-
RSB-7	6.9 ± 0.2 a	-
RSB-8	5.0 ± 0.3 e	-
RSB-9	4.9 ± 0.1 e	6.99 ± 0.05/6.50 ± 0.07
LSD	0.5	-

^z Means in each column with different letters represent significant differences ($P < 0.05$) by least significant difference (LSD) test.

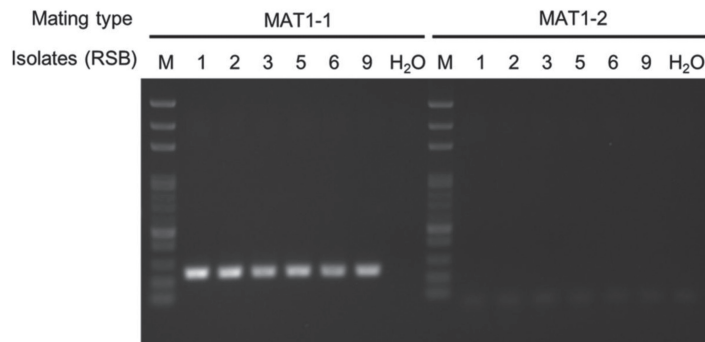


圖 6. 6 個稻麴病菌菌株 (RSB-1、2、3、5、6 及 9) DNA 以不同交配型 (mating type) 專一性引子對 (MAT1-1 與 MAT1-2) PCR 增幅之結果。M: DNA marker。

Fig. 6. The PCR amplification of 6 *Ustilaginoidea virens* isolates (RSB-1, 2, 3, 5, 6, 9) genomic DNA with mating type specific primers (MAT1-1, MAT1-2). M: DNA marker.

溫度對稻麴病菌菌絲生長與孢子發芽之影響

由溫度對 RSB-5 與 RSB-9 菌株菌絲生長影響試驗，顯示兩菌株皆於 25°C 菌絲生長最佳，分別為 7.1 與 6.3 cm，20°C 次之，分別為 5.0 與 4.8 cm，在 30°C 培養下，菌絲直徑為 3.5 與 4.5 cm，而 35°C 下菌絲完全不生長 (表 3)。另外，進行供試溫度對 RSB-5 與 RSB-9 菌株孢子發芽影響試驗 (表 4)，結果顯示 2 菌株在 25°C 時有較高的發芽率，分別為 79.3% 與 77.8%，於 20°C 與 30°C 培養時，發芽率在 58.5–74.5%，隨溫度增加而遞減，35°C 時完全不發芽。

化學藥劑對稻麴病菌菌絲與孢子生長之影響

於室內測試百克敏、嘉賜黴素、甲基多保淨、嘉賜三賽唑、鋅錳乃浦、克熱淨及免賴得等 7 種殺菌劑對 RSB-5 與 RSB-9 菌株菌絲生長之影響 (表 5)，結果顯示百克敏、鋅錳乃浦及克熱淨對 RSB-5 菌株之菌絲生長抑制率可達 100%，免賴得對菌絲生長抑制效果亦可達 95.8%，嘉賜三賽唑、甲基多保淨及嘉賜黴素對菌絲生長抑制率分別為 59.9、19.2 及 3.1%。供試藥劑對 RSB-9 菌株菌絲生長抑制效果，大致與上述 RSB-5 菌株相似，百克敏、鋅錳乃浦、克

表 3. 稻麴病菌 RSB-5/RSB-9 菌株在不同溫度下培養 4 wk 之菌絲生長情形。

Table 3. The mycelial growth of *Ustilaginoidea virens* isolates RSB-5 and RSB-9 cultured at different temperatures for 4 wk.

Temperature (°C)	Colony diameter (cm)	
	RSB-5	RSB-9
15	1.9 ± 0.11 d ^z	2.3 ± 0.04 d
20	5.0 ± 0.08 b	4.8 ± 0.05 b
25	7.1 ± 0.04 a	6.3 ± 0.04 a
30	3.5 ± 0.27 c	4.5 ± 0.21 c
35	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 e
LSD	0.4	0.3

^z Means in each column with different letters represent significant differences ($P < 0.05$) by least significant difference (LSD) test.

表 4. 不同溫度對稻麴病菌 RSB-5 與 RSB-9 菌株厚膜孢子發芽之影響。

Table 4. Effect of temperatures on the germination rate of chlamydospores of *Ustilaginoidea virens* isolates RSB-5 and RSB-9.

Temperature (°C)	Germination (%)	
	RSB-5 ^z	RSB-9
15	53.0 ± 0.4 d	30.5 ± 1.9 e
20	70.0 ± 0.7 c	64.3 ± 1.7 b
25	79.3 ± 1.6 a	77.8 ± 1.7 a
30	74.5 ± 1.8 b	58.5 ± 1.7 c
32	24.0 ± 1.5 e	47.3 ± 1.4 d
34	1.5 ± 0.7 f	1.5 ± 0.3 f
35	0.0 ± 0.0 f	0.0 ± 0.0 f
LSD	3.3	4.1

^z Means in each column with different letters represent significant differences ($P < 0.05$) by least significant difference (LSD) test.

熱淨及免賴得皆可達 100% 之菌絲抑制率，其次為嘉賜三賽唑對菌絲生長有 63.5% 的生長抑制率，而甲基多保淨與嘉賜黴素則分別僅有 12.0 與 0.2% 之菌絲生長抑制率。

進行上述供試藥劑對 RSB-5 與 RSB-9 菌株厚膜孢子發芽影響之試驗 (表 6)，結果顯示厚膜孢子以百克敏、甲基多保淨、鋅錳乃浦、克熱淨及免賴得處理後，對其孢子發芽抑制率皆可達 100.0%，嘉賜三賽唑對 RSB-5 與 RSB-9 厚膜孢子發芽抑制率分別為 83.8 與 78.6%，

而嘉賜黴素僅對 RSB-5 與 RSB-9 則有 57.0 與 63.0% 之厚膜孢子發芽抑制率。

討論

稻麴病之發生在過去文獻顯示與水稻栽培期間之物候條件密切相關 (Iijima & Konuma 1983; Alase *et al.* 2021)，以往臺灣紀錄稻麴病好發於第 2 期稻作 (Tsai 2007)。Tsai *et al.* (1990) 曾於 1983 年與 1988 年調查臺灣嘉南地區水稻二期作之稻麴罹病率，結果顯示 1983 年的罹病罹率可達 19.3%、罹病穗率最高為 14.9%，而 1988 年的罹病穗率最高為 12.5%。本研究於 2023 年第 2 期稻作調查稻麴病罹病罹率最高僅為 3.0%，反而在 2022 年第一期作觀察到高達 30.7% 的罹病罹率與 10.6% 的罹病穗率，推測可能與降雨量及抽穗前氣溫異常有關。過去許多調查報告水稻抽穗期前後如遭遇連續降雨及高相對濕度 (> 80%) 易造成稻麴病之發生 (Suzuki 1981; Iijima & Konuma 1983; Fan *et al.* 2014; Tanaka *et al.* 2017; Alase *et al.* 2021)。溫度是加劇稻麴病菌危害之另一重要因子，本研究於 2022 年之調查發現，嘉義地區第 1 期稻作罹病罹率高達 27.5–30.7%，且該年度桃園、新竹、苗栗及花蓮地區 1 期稻作皆普遍發生稻麴病 (Lai & Wang 2022)，由氣象資料分析顯示，2022 年 5 月上旬嘉義地區之水稻生育正值幼穗形成期至孕穗期，整體氣溫較常年低 1.5°C，最低日均溫達 17.4°C，加上雨量及降雨日數偏多 (CWA 2023)，推測為稻麴病嚴重發生之原因。Alase *et al.* (2021) 認為稻麴病之嚴重程度與最低溫度呈高度相關性，稻麴病發生較嚴重的年份也常發現與水稻在孕穗期間曾經歷低溫有關 (Suzuki 1981; Iijima & Konuma 1983; Sasahara *et al.* 2008a; Tanaka *et al.* 2012)，許多研究透過人工接種稻麴病菌也證實，接種後之感染階段經歷 2 d 低溫 (15–16°C)，並在感染後置於高濕與 26°C 以上之環境下，顯著提升接種成功率 (Fujita *et al.* 1989; Sonoda *et al.* 1997; Ashizawa *et al.* 2011)，對於稻麴病菌而言，低溫雖然是不利生長之條件，但可能藉由促進真菌毒素 *ustilaginoidein* 生合成基因 *uvpksI* 表現，而增加產孢量、

表 5. 不同殺菌劑抑制稻麴病菌 RSB-5 與 RSB-9 菌株菌絲生長影響。

Table 5. Effect of fungicides on the inhibition rate of mycelial growth of *Ustilaginoidea virens* isolates RSB-5 and RSB-9.

Fungicides	Inhibition (%) ^z	
	RSB-5	RSB-9
23.6% Pyraclostrobin SC ^y	100.0 ± 0.0 a ^x	100.0 ± 0.0 a
5% Kasugamycin S	3.1 ± 1.1 e	0.2 ± 0.2 d
40% Thiophanate-methyl SC	19.2 ± 1.7 d	12.0 ± 2.1 c
45% Kasugamycin + tricyclazole SC	59.9 ± 0.8 c	63.5 ± 1.8 b
33% Mancozeb SC	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
40% Iminoctadine tris (albesilate) WP	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
50% Benomyl WP	95.8 ± 1.9 b	100.0 ± 0.0 a
LSD	3.1	3.0

^z Inhibition rate (%) = [(Diameter of mycelial growth on PSA without fungicide – diameter of mycelial growth on potato sucrose agar (PSA) with fungicides)/diameter of mycelial growth on PSA without fungicide] × 100%.

^y S: solution; SC: suspension concentrate; WP: wettable powder.

^x Means in each column with different letters represent significant differences ($P < 0.05$) by least significant difference (LSD) test.

表 6. 不同殺菌劑抑制稻麴病菌 RSB-5 與 RSB-9 菌株厚膜孢子發芽之影響。

Table 6. Effect of fungicides on the inhibition rate of chlamydospore germination of *Ustilaginoidea virens* isolates RSB-5 and RSB-9.

Fungicides	Inhibition (%) ^z	
	RSB-5	RSB-9
23.6% Pyraclostrobin SC ^y	100.0 ± 0.0 a ^x	100.0 ± 0.0 a
5% Kasugamycin S	57.0 ± 2.8 c	63.0 ± 2.1 c
40% Thiophanate-methyl SC	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
45% Kasugamycin + tricyclazole SC	83.8 ± 2.1 b	78.6 ± 2.4 b
33% Mancozeb SC	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
40% Iminoctadine tris (albesilate) WP	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
50% Benomyl WP	100.0 ± 0.0 a	100.0 ± 0.0 a
LSD	3.9	3.6

^z Inhibition rate (%) = [(Number of spores germinated on potato sucrose agar (PSA) without fungicide – number of spores germinated on PSA with fungicides)/number of spores germinated on PSA without fungicide] × 100%.

^y S: solution; SC: suspension concentrate; WP: wettable powder.

^x Means in each column with different letters represent significant differences ($P < 0.05$) by least significant difference (LSD) test.

孢子萌發率及抑制寄主植物之防禦表現 (Xue *et al.* 2024)，因此在短暫低溫後恢復適合感染之環境條件下，有助於稻麴病感染率增加。

除了氣候因子外，水稻品種 (系) 對稻麴病之發生可能也具有明顯影響 (Kurauchi *et al.* 2006)，然相關報告極少。Chou (1967) 曾在同一試區比較水稻「台南 3 號」與「台中 65 號」對稻麴病菌的抗感性，結果顯示，「台南 3 號」罹病穗數為「台中 65 號」之 9.6 倍，顯示「台

南 3 號」較「台中 65 號」感病，但此 2 種水稻品種已非現行栽培之主流品種，未來可進一步比較目前較普遍之栽培品種對稻麴病之抗感性，以作為有機栽培水稻品種之參考。此外，國外報告顯示，Ashizawa *et al.* (2011) 經由接種稻麴病菌顯示，一般商業用與抗稻熱病水稻品種皆具有抗性，莖葉高產之飼料用水稻較為感病，但在抗病機制方面尚無定論；Ashizawa *et al.* (2012) 更進一步觀察菌絲入侵過程，建

議抗稻麴病之育種，應朝向篩選穎殼頂端間隙較小或封閉之品種(系)，但仍需注意的是，即使栽培抗病品種(系)，氣候因子或肥料過量施用仍會使田間發病率增加。

本研究將田間分離之稻麴病菌以 PSA 培養基進行培養，顯示即使採自同一田區之不同菌株，在培養後呈現之菌落型態、生長速度及產孢量差異明顯。目前許多研究亦指出採集自不同地區之稻麴病菌株，經培養後其菌落顏色、菌絲生長速度、產孢量、厚膜孢子顏色、型態及發芽率有相當大的差異 (Tsai *et al.* 1990; Rani & Sharma 2018; Sharanabasav *et al.* 2021; Fu *et al.* 2022)。Fu *et al.* (2022) 使用 PSA 培養之菌落顏色多數呈黃至淡黃色，其次為白色或黃綠色，少數為黑色，然而菌落特徵與菌株來源之地區並無相關性 (Rani & Sharma 2018)，縱使採集自同一地區之稻麴病菌，遺傳多樣性也相當高，並在菌絲生長速度與致病性上有明顯不同 (Tan *et al.* 2022)，由本研究顯示，同一個地區所採集的菌株確實型態與產孢量均有顯著差異，然其與遺傳多樣性或致病性是否相關仍須進一步研究。不同溫度對稻麴病菌菌絲生長與孢子發芽之影響，顯示 25°C 最適合菌絲生長與厚膜孢子發芽，35°C 以上則完全被抑制，此與過去水稻稻麴病菌之相關生理研究特性相似 (Hashioka *et al.* 1951; Fujita *et al.* 1990; Tsai *et al.* 1990; Baite & Sharma 2015; Kumar *et al.* 2015; Bhargava *et al.* 2018)。

已知稻麴病菌之生活史包含無性與有性世代，有性世代之基因座會影響稻麴病菌產孢、對逆境的反應及其病原性 (Yong *et al.* 2020)。稻麴病菌有性世代之交配型基因座包含 MAT1-1 與 MAT1-2 兩型，在 2 種交配型之菌株皆存在的狀況下，稻麴病菌於交配後產生有性世代之菌核 (sclerotia) (Sun *et al.* 2020)。從本研究所分離的菌株均為 MAT1-1 交配型，且田間調查時觀察到之病原菌病兆皆為無性世代之厚膜孢子堆，而未觀察到菌核，顯示調查區域可能僅存在 MAT1-1 交配型之稻麴病菌。菌核在稻麴病菌生活史中扮演重要角色，可幫助病原菌抵抗逆境，越冬後發芽產生大量子囊孢子而成為初次感染源，且有性世代基因變異較大，可

能經由選汰的過程增加病原菌的適應性。本病在中國、印度等地皆為普遍發生的水稻病害，嚴重時罹病穗率可達 70% 以上 (Ladhalakshmi *et al.* 2012; Kumari & Kumar 2015; Qiu *et al.* 2019)，在前述兩個國家裡，田間存在 2 種交配型之稻麴病菌 (Sharanabasav *et al.* 2021; Fu *et al.* 2022)；在亞熱帶區域，秋天低溫時，病害的嚴重度與菌核田間數量皆顯著增加 (Yong *et al.* 2018)。但在臺灣，對於稻麴病菌交配型的研究極少，本研究僅發現 MAT1-1 交配型之菌株，亦未在調查時發現菌核的存在，此與 Tsai *et al.* (1990) 之研究一致，其亦無觀察到田間有水稻稻麴病菌菌核存在，因此後續應持續監測田間稻麴病的發生、收集更多區域的病原菌菌株，以瞭解田間是否有稻麴病菌 MAT1-2 交配型存在？供未來田間病原菌族群變異性研究之參考，據以擬定相關防治策略。

臺灣目前未有登記水稻稻麴病之藥劑，因此參考水稻其他真菌性病害之藥劑進行室內藥效測試，測試結果顯示，除了嘉賜黴素、嘉賜三賽唑及甲基多保淨無法同時對稻麴病菌菌絲生長與厚膜孢子發芽具明顯抑制效果外，其他測試藥劑如百克敏、鋅錳乃浦、克熱淨及免賴得等均可明顯抑制菌絲生長與厚膜孢子發芽，顯示稻麴病菌對藥劑的感受性仍相當高，此結果與過去研究報告顯示銅劑、鋅錳乃浦、亞托敏、貝芬替、三賽唑、四氯異苯晴，以及混合劑亞托待克利、三氟得克利、免得克敏、貝芬錳等藥劑具有抑制稻麴病菌之效果 (Tsai *et al.* 1990; Dodan & Singh 1996; Tsuda *et al.* 2003; Muniraju *et al.* 2017; Banasode & Hosagoudar 2020) 具有一致性，本次田間調查亦觀察到周邊慣行田區未發生稻麴病之情形，可能與現今用藥種類有關，因而限制病害之發生，然此部分仍需進行長時間且多地區的調查方能結論。惟目前已發現稻麴病菌抗藥性菌株之存在，Zhou *et al.* (2017) 自農藥慣行田分離出對普克利具抗藥性之菌株，半最大效應濃度 (half maximal effective concentration; EC₅₀) 及完全抑制濃度分別為敏感菌株之 224.2 與 40 倍以上，且同時對待克利與得克利具交互抗性，但與作用機制為苯醌外部抑制劑 (quinone outside inhibitor; QoI) 類殺菌劑尚無交互抗性，這種

抗藥性似乎與滲透壓升高及 *CYP51* 基因的表達增強有關，該基因在真菌中的麥角甾醇合成中發揮重要作用，可誘導對麥角甾醇合成抑制劑 (ergosterol biosynthesis inhibitor, EBI) 類殺菌劑的抗藥性 (Zhou *et al.* 2017, 2019)，因此用藥管理上需考量藥劑之輪替使用，以避免加速抗藥性菌株之產生。施藥時機也是另一防治重點，Song *et al.* (2021) 使用殺菌劑對稻種消毒，仍無法減少田間稻麴病發生，日本已建議在抽穗前 1–2 wk 施用防治藥劑，若以粒劑施用，則在抽穗前 2–3 wk 施藥防治稻麴病之效果最佳 (Tsuda *et al.* 2003, 2006)；在有機栽培之防治上，建議於抽穗前 10–14 d 施用波爾多液或銅劑類之藥劑進行防治 (Honkura 1989; NARO 2023)。

除了藥劑防治外，稻麴病亦可透過風險評估 (Ashizawa *et al.* 2010)、氣象預測 (NARO 2018) 及清除中間寄主 (Shetty & Shetty 1985, 1987) 等預防方式，以及應用栽培抗病品種 (Ashizawa *et al.* 2011)、耕作防治 (Ahonsi *et al.* 2000; Sasahara *et al.* 2008b)、土壤處理 (Ashizawa *et al.* 2018) 及肥培管理 (Brooks *et al.* 2009) 等田間管理措施進行防治。日本農業食品產業技術綜合研究機構 (National Agriculture and Food Research Organization; NARO) 亦已建立稻麴病防治之標準作業程序 (NARO 2023)，實際應用於水稻稻麴病之防治，在氣候多變之際，應強化農友對稻麴病的認識，監控田間發生狀況，適時進行病害管理，以避免病害大面積發生，造成農民損失。

誌謝

本研究期間承蒙本分所植物保護系同仁蕭繡琴、楊雪鳳、謝雅萍小姐及陳定加先生協助田間病害調查；許淑麗與賴素玉小姐協助室內試驗與資料分析，使試驗得以完善，併此衷心感謝。

引用文獻

Ahonsi, M. O., A. A. Adeoti, I. D. Erinle, M. D. Alegbejo, B. N. Singh, and A. A. Sy. 2000. Effect of variety and sowing date on false smut incidence in upland rice in

- Edo State, Nigeria. Intl. Rice Res. Notes 25:14.
- Alase, S., A. Nagaraja, D. Pramesh, and M. K. Prasanna Kumar. 2021. Influence of weather parameters on false smut disease development in rice. Mysore J. Agric. Sci. 55(4):320–325.
- Ashizawa, T., M. Takahashi, M. Arai, and T. Arie. 2012. Rice false smut pathogen, *Ustilaginoidea virens*, invades through small gap at the apex of a rice spikelet before heading. J. Gen. Plant Pathol. 78:255–259. doi:10.1007/s10327-012-0389-3
- Ashizawa, T., M. Takahashi, J. Moriwaki, and K. Hirayae. 2010. Quantification of the rice false smut pathogen *Ustilaginoidea virens* from soil in Japan using real-time PCR. Eur. J. Plant Pathol. 128:221–232. doi:10.1007/s10658-010-9647-4
- Ashizawa, T., M. Takahashi, J. Moriwaki, and K. Hirayae. 2011. A refined inoculation method to evaluate false smut resistance in rice. J. Gen. Plant Pathol. 77:10–16. doi:10.1007/s10327-010-0279-5
- Ashizawa, T., M. Tsuda, and H. Eguchi. 2018. Suppression of rice false smut by mixing converter slag into paddy soil and additional application of simeconazole before rice heading. Ann. Rep. Kanto-Tosan Plant Prot. Soc. 65:19–21. (in Japanese with English abstract) doi:10.11337/ktpps.2018.19
- Atia, M. M. M. 2004. Rice false smut (*Ustilaginoidea virens*) in Egypt. J. Plant Dis. Prot. 111:71–82. doi:10.1007/BF03356134
- Baite, M. S. and R. K. Sharma. 2015. Isolation technique and culture conditions of false smut pathogen (*Ustilaginoidea virens*) on rice. Indian Phytopath. 68:50–55.
- Banasode, M. and G. N. Hosagoudar. 2020. *In vitro* and *in vivo* evaluation of fungicides against false smut disease of rice in hilly zone of Karnataka, India. Intl. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 9:3598–3609. doi:10.20546/ijcmas.2020.909.445
- Bhargava, P., A. Kumar, S. Kumar, and S. Kumar. 2018. Physiological dynamics of *Ustilaginoidea virens* causing false smut disease of rice. Intl. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 7:4562–4566.
- Bischoff, J. F., R. F. Sullivan, K. M. Kjer, and J. F. White Jr. 2004. Phylogenetic placement of the anamorphic tribe *Ustilaginoideae* (Hypocreales, Ascomycota). Mycologia 96:1088–1094. doi:10.2307/3762091
- Brefeld, O. 1895. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie 12:149–205. (in German)
- Brooks, S. A., M. M. Anders, and K. M. Yeater. 2009. Effect of cultural management practices on the severity of false smut of rice. Plant Dis. 93:1202–1208. doi:10.1094/PDIS-93-11-1202
- Central Weather Administration (CWA). 2023. Climate

- Monitoring 2022 Annual Report. https://www.cwa.gov.tw/Data/service/notice/download/Publish_20230914153347.pdf (visit on 2/4/2024) (in Chinese)
- Centre for Agriculture and Bioscience International (CABI). 2021. *Ustilaginoidea virens* (false smut). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabi-compendium.55958> (visit on 12/26/2023)
- Chou, T. G. 1967. An investigation on the occurrence of the false smut (*Ustilaginoidea virens* (Cooke) Taka-hashi) in the paddy field. *Plant Prot. Bull.* 9:51–54. (in Chinese with English abstract)
- Cooke, M. C. 1878. Some extra- European fungi. *Grevillea* 7:13–15.
- Dodan, D. S. and R. Singh. 1996. False smut of rice: present status. *Agric. Rev.* 17:227–240.
- Fan, J., X. Y. Guo, F. Huang, Y. Li, Y. F. Liu, L. Li, ... W. Wang. 2014. Epiphytic colonization of *Ustilaginoidea virens* on biotic and abiotic surfaces implies the widespread presence of primary inoculum for rice false smut disease. *Plant Pathol.* 63:937–945. doi:10.1111/ppa.12167
- Fu, R., C. Chen, J. Wang, Y. Liu, L. Zhao, and D. Lu. 2022. Diversity analysis of the rice false smut pathogen *Ustilaginoidea virens* in southwest China. *J. Fungi* 8:1204. doi:10.3390/jof8111204
- Fu, R., C. Yin, Q. Deng, P. Li, and A. Zhe. 2014. Mating type loci analysis indicates that *Villosiclava virens*, the casual agent of false smut disease of rice, is a homothallic fungus. *Trop. Plant Pathol.* 39:203–209. doi:10.1590/S1982-56762014000300003
- Fujita, Y., R. Sonoda, and H. Yaegashi. 1989. Inoculation with conidiospores of false smut fungus to rice panicles at the booting stage. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 55:629–634. (in Japanese with English abstract) doi:10.3186/jjphytopath.55.629
- Fujita, Y., R. Sonoda, and H. Yaegashi. 1990. An improved method for conidial formation of false smut fungus. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 41:35–36. (in Japanese)
- Graff, P. W. 1918. Philippine basidiomycetes-III. *Bull. Torrey Bot. Club* 45:451–469. doi:10.2307/2479732
- Hashioka, Y., M. Yoshino, and T. Yamamoto. 1951. Physiology of the rice false smut, *Ustilaginoidea virens* (Cke.) Tak. *Res. Bull. Saitama Agric. Exp. Stn.* 2:1–20. (in Japanese with English abstract)
- Honkura, R. 1989. Experiments on the chemical control of rice false smut. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 40:26–27. (in Japanese) doi:10.11455/kitanihon1966.1989.26
- Iijima, A. and S. Konuma. 1983. Severe occurrence of false smut of rice in Nagano Prefecture in 1982. *Proc. Kanto-Tosan Plant Prot. Soc.* 30:24–25. (in Japanese) doi:10.11337/ktpps1954.1983.24
- Kawakami, T. and R. Suzuki. 1908. List of fungi on cultivated plants of Formosa, Part I. *Bull. Agric. Exp. Sta. Gov. Formosa.* 1:1–64. (in Japanese)
- Kepler, R.M., G. H. Sung, Y. Harada, K. Tanaka, E. Tanaka, T. Hosoya, ... J. W. Spatafora. 2012. Host jumping onto close relatives and across kingdoms by *Tyrannicordyceps* (Clavicipitaceae) gen. nov. and *Ustilaginoidea* (Clavicipitaceae). *Amer. J. Bot.* 99:552–561. doi:10.3732/ajb.1100124
- Kim, K. W. and E. W. Park. 2007. Ultrastructure of spined conidia and hyphae of rice false smut fungus *Ustilaginoidea virens*. *Micron* 38:626–631. doi:10.1016/j.micron.2006.09.006
- Koiso, Y., Y. Li, S. Iwasaki, K. Hanaka, T. Kobayashi, R. Sonoda, ... Z. Sato. 1994. Ustiloxins, antimetabolic cyclic peptides from false smut balls on rice panicles caused by *Ustilaginoidea virens*. *J. Antibiot.* 47:765–773. doi:10.7164/antibiotics.47.765
- Koiso, Y., M. Natori, S. Iwasaki, S. Sato, R. Sonoda, Y. Fujita, ... Z. Sato. 1992. Ustiloxin: A phytotoxin and a mycotoxin from false smut balls on rice panicles. *Tetrahedron Lett.* 33:4157–4160. doi:10.1016/S0040-4039(00)74677-6
- Kumar, S. N., G. U. Devi, R. Jagadeeshwar, and D. Landhalakshmi. 2015. Physiological and viability studies of pseudomorphs of false smut of rice caused by *Ustilaginoidea virens*. *Res. J. Agric. Sci.* 6:697–699.
- Kumari, S. and J. Kumar. 2015. Evaluation of yield losses and management practices of false smut in rice (*Oryza sativa*). *Indian Phytopathol.* 68:45–49.
- Kurauchi, K., Y. Kudo, T. Kimura, and T. Uemura. 2006. Difference in resistance to false smut disease between rice cultivars in Aomori Prefecture. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 57:17–21. (in Japanese)
- Ladhalakshmi, D., G. S. Laha, R. Singh, A. Karthikeyan, S. K. Mangrauthia, R. M. Sundaram, ... B. C. Viraktamath. 2012. Isolation and characterization of *Ustilaginoidea virens* and survey of false smut disease of rice in India. *Phytoparasitica* 40:171–176. doi:10.1007/s12600-011-0214-0
- Lai, Q. J. and P. H. Wang. 2022. Rice false smut emerges: Key strategies for control emphasize healthy rice seeds. *Miaoli Dist. Agric. Monthly* 275:3. https://www.mdares.gov.tw/files/mdares/web_structure/6396/A01_1.pdf (visit on 10/12/2023) (in Chinese)
- Matsumoto, K. and T. Ibaraki. 1981. Characteristics of diseases and insect pests on the crops caused by cool summer in 1980, 10. Rice blast and other rice diseases in Fukushima Prefecture. *Ann. Rept.*

- Plant Prot. North Japan 32:202–207. (in Japanese) doi:10.11455/kitanihon1966.1981.164
- Meng, J., W. Sun, Z. Mao, D. Xu, X. Wang, S. Lu, ... G. Zhang. 2015. Main ustilaginoidins and their distribution in rice false smut balls. *Toxins* 7:4023–4034. doi:10.3390/toxins7104023
- Miyazaki, S. 2006. Phytoalexins and endophyte related mycotoxins as hazards to the animal industry. *Mycotoxins* 56:91–98. doi:10.2520/myco.56.91
- Miyazaki, S., Y. Matsumoto, T. Uchihara, and K. Morimoto. 2009. High-performance liquid chromatographic determination of ustiloxin A in forage rice silage. *J. Vet. Med. Sci.* 71:239–241. doi:10.1292/jvms.71.239
- Muniraju, K. M., D. Pramesh, S. B. Mallesh, K. Mallikarjun, and G. S. Guruprasad. 2017. Novel fungicides for the management of false smut disease of rice caused by *Ustilaginoidea virens*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6:2664–2669. doi:10.20546/ijcmas.2017.611.313
- Nakata, K. 1934. Illustration of Crop Disease (Sakumotsu-Byogai-Zuhen). Yokendo. Tokyo, Japan. 603 pp. (in Japanese)
- National Agriculture and Food Research Organization (NARO). 2018. Manual for pesticide control of rice false smut. https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/files/201801inekoujimanual.pdf (visit on 8/11/2023) (in Japanese)
- National Agriculture and Food Research Organization (NARO). 2023. The integrated management technology standard operating procedure manual for rice false smut based on the timely communication for soil improvement materials and pesticide application. https://www.naro.go.jp/publicity_report/publication/files/SOP20-407K20230322.pdf (visit on 8/11/2023)
- Osada, S. 1995. Effect of false smut occurrence on yield and quality of rice. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan*. 46:30–32. (in Japanese) doi:10.11455/kitanihon1966.1995.30
- Patouillard, N. T. 1887. Contributions à l'étude des Champignons extra-européens. *Bull. Soc. Mycol. France* 3:119–131. (in French)
- Qiu, J., S. Meng, Y. Deng, S. Huang, and Y. Kou. 2019. *Ustilaginoidea virens*: A fungus infects rice flower and threatens world rice production. *Rice Sci.* 26:199–206. doi:10.1016/j.rsci.2018.10.007
- Rani, R. and V. K. Sharma. 2018. Diversity analysis of northern Indian isolates of *Ustilaginoidea virens*. *Indian Phytopathol.* 71:33–42. doi:10.1007/s42360-018-0004-4
- Sakurai, M. 1934. On the causal fungus of rice false smut. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 3:70–71. (abstract in Japanese)
- Sasahara, M., A. Mikami, and M. Hataya. 2008a. Analysis of factors affecting outbreak of false smut disease in Miyagi Prefecture. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 59:18–21. (in Japanese) doi:10.11455/kitanihon1966.2008.18
- Sasahara, M., Y. Monma, and M. Kondo. 2008b. Case-control study about infection sources of false smut disease in Miyagi Prefecture. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 59:14–17. (in Japanese) doi:10.11455/kitanihon1966.2008.14
- Sawada, K. 1912. The diseases of crops in Taiwan. *Formosan. Agric. Rev.* 63:9–17 (in Japanese)
- Sawada, K. 1919. Descriptive catalogue of the Formosan fungi I. *Agri. Exp. Stat. Gov. Formosa, Spec. Bull.* 19:286–290. (in Japanese)
- Sharanabasav, H., D. Pramesh, M. K. Prasannakumar, E. Chidanandappa, M. K. Yadav, U. Ngangkham, ... N. Karthik. 2021. Morpho-molecular and mating-type locus diversity of *Ustilaginoidea virens*: An incitant of false smut of rice from Southern parts of India. *J. Appl. Microbiol.* 131:2372–2386. doi:10.1111/jam.15087
- Shetty, S. A. and H. S. Shetty. 1985. An alternative host for *Ustilaginoidea virens* (Cke.) Tak. *Intl. Rice Res. Newsl.* 10(4):11.
- Shetty, S. A. and H. S. Shetty. 1987. Role of *Panicum trypheron* in annual recurrence of false smut of rice. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 88:409–411. doi:10.1016/S0007-1536(87)80017-7
- Song, J. H., Y. F. Wang, W. X. Yin, J. B. Huang, and C. X. Luo. 2021. Effect of chemical seed treatment on rice false smut control in field. *Plant Dis.* 105:3218–3223. doi:10.1094/PDIS-11-19-2411-RE
- Sonoda, R., T. Ashizawa, H. Koga, and H. Saito. 1997. Estimation of infection period of rice false smut in the field. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 48:39–42. (in Japanese) doi:10.11455/kitanihon1966.1997.39
- Sun, W., J. Fan, A. Fang, Y. Li, M. Tariqjaveed, D. Li, ... W. M. Wang. 2020. *Ustilaginoidea virens*: Insights into an emerging rice pathogen. *Ann. Rev. Phytopathol.* 58:363–385. doi:10.1146/annurev-phyto-010820-012908
- Sun, W., A. Wang, D. Xu, W. Wang, J. Meng, J. Dai, ... L. Zhou. 2017. New ustilaginoidins from rice false smut balls caused by *Villosiclava virens* and their phytotoxic and cytotoxic activities. *J. Agric. Food Chem.* 65:5151–5160. doi:10.1021/acs.jafc.7b01791
- Suzuki, H. 1981. Characteristics of diseases and insect

- pests on the crops caused by cool summer in 1980. 3. Special features in north Japan compared with the other parts of Japan. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 32:173–177. (in Japanese) doi:10.11455/kitanihon1966.1981.164
- Takahashi, Y. 1896. On *Ustilago virens* Cooke and a new species of *Tilletia* parasitic on rice plant. *Bot. Mag. Tokyo* 10:16–20. doi:10.15281/jplantres1887.10.109_16
- Tan, Z., Z. Bai, Y. Qin, J. Du, R. Zhang, B. Tian, ... A. Fang. 2022. Characterization of genetic diversity and variation in pathogenicity of the rice false smut pathogen *Ustilaginoides virens* from a single source. *Plant Dis.* 106:2648–2655. doi:10.1094/PDIS-11-21-2546-RE
- Tanaka, E. 2015. Life cycle and infection route of rice false smut fungus in paddy field. *JSM Mycotoxins* 65:39–43. (in Japanese with English abstract) doi:10.2520/myco.65.39
- Tanaka, E., T. Kumagawa, N. Ito, A. Nakanishi, Y. Ohta, E. Suzuki, ... M. Tsuda. 2017. Colonization of the vegetative stage of rice plants by the false smut fungus *Villosiclava virens*, as revealed by a combination of species-specific detection methods. *Plant Pathol.* 66:56–66. doi:10.1111/ppa.12540
- Tanaka, E., T. Kumagawa, E. Suzuki, Y. Minami, and T. Ueda. 2012. Field factors and meteorological conditions influencing rice false smut disease outbreak. *Pro. Assoc. Plant Prot. Hokuriku* 61:5–10. (in Japanese with English abstract)
- Tanaka, E. and C. Tanaka. 2008. Phylogenetic study of clavicipitaceous fungi using acetaldehyde dehydrogenase gene sequences. *Mycoscience* 49:115–125. doi:10.1007/S10267-007-0401-5
- Tanaka, E., C. Tanaka, R. Sonoda, and C. Tanaka. 2008. *Villosiclava virens* gen. nov., comb. nov., teleomorph of *Ustilaginoides virens*, the causal agent of rice false smut. *Mycotaxon* 106:491–501.
- Tsai, W. H. 2007. Rice false smut disease. p.313–315. in: *Monograph of Plant Protection Ser. 8: Plant Protection of Rice (II)*. (Cheng, C. H. eds.) Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan. Taipei, Taiwan. 457 pp.
- Tsai, W. H., C. C. Chien, and S. C. Hwang. 1990. Ecology of rice false smut disease and its control. *J. Agric. Res. China* 39:102–112. (in Chinese with English abstract) doi:10.29951/JARC.199006.0004
- Tsuda, M., H. Ohta, and S. Kato. 2003. Optimal application timing of simeconazole for rice false smut control. *Ann. Rept. Plant Prot. North Japan* 54:29–31. (in Japanese with English abstract)
- Tsuda, M., M. Sasahara, T. Ohara, and S. Kato. 2006. Optimal application timing of simeconazole granules for control of rice kernel smut and false smut. *J. Gen. Plant Pathol.* 72:301–304. doi:10.1007/s10327-006-0288-6
- White, T. J., T. D. Bruns, S. B. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. p.315–322. in: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. (Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, eds.) Academic Press, New York, NY. 482 pp.
- Xue, M., X. Hou, G. Gu, J. Dong, Y. Yang, X. Pan, ... L. Zhou. 2024. Activation of Ustilaginoidin biosynthesis gene *uvpks1* in *Villosiclava virens* albino strain LN02 influences development, stress responses, and inhibition of rice seed germination. *J. Fungi* 10:31. doi:10.3390/jof10010031
- Yabuta, T. and Y. Sumiki. 1933. Studies on the components of false smuts part 2. On a red dye ustilaginoidin. *J. Agric. Chem. Soc. Japan* 9:478–491. (in Japanese)
- Yong, M., Q. Deng, L. Fan, J. Miao, C. Lai, H. Chen, ... D. Hu. 2018. The role of *Ustilaginoides virens* sclerotia in increasing incidence of rice false smut disease in the subtropical zone in China. *Eur. J. Plant Pathol.* 150:669–677. doi:10.1007/s10658-017-1312-8
- Yong, M., J. Yu, X. Pan, M. Yu, H. Cao, T. Song, ... Y. Liu. 2020. Two mating-type genes *MAT1-1-1* and *MAT1-1-2* with significant functions in conidiation, stress response, sexual development, and pathogenicity of rice false smut fungus *Villosiclava virens*. *Curr. Genet.* 66:989–1002. doi:10.1007/s00294-020-01085-9
- Zhou, Y. X., H. H. Li, J. J. Yu, M. N. Yu, T. Q. Song, Y. Du, ... Y. F. Liu. 2017. First report of propiconazole resistance in field isolates of *Ustilaginoides virens* on rice in Jiangsu Province of east China. *Plant Dis.* 101:840. doi:10.1094/PDIS-11-16-1624-PDN
- Zhou, Y., J. Yu, X. Pan, M. Yu, Y. Du, Z. Qi, ... Y. Liu. 2019. Characterization of propiconazole field-resistant isolates of *Ustilaginoides virens*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 153:144–151. doi:10.1016/j.pestbp.2018.11.013

The Occurrence and Fungicide Efficacy Screening for the Control of Rice False Smut in Taiwan

Po-Yu Lai¹, Chao-Jung Wu¹, and Hui-Fang Ni^{2,*}

Abstract

Lai, P. Y., C. J. Wu, and H. F. Ni. 2025. The occurrence and fungicide efficacy screening for the control of rice false smut in Taiwan. *J. Taiwan Agric. Res.* 74(1):63–79.

Rice false smut (*Ustilaginoidea virens*), traditionally a minor disease in Taiwan, has recently become more prevalent due to the increase in organic farming practices and the impact of climate change. This disease not only affects rice yield and quality but also poses a significant threat to food safety due to the mycotoxins. Given the limited reports on the occurrence of this disease in Taiwan, this study was conducted by a comprehensive two-year, four-crop survey of rice false smut incidence in organic rice fields in Minxiong Township, Chiayi County, from 2022 to 2023. The results indicated that rice false smut was present in the first crop of 2022 and the second crop of 2023, with the highest incidence recorded in 2022. The highest hill infection rates ranged from 27.5% to 30.7%, with panicle infection rates between 9.6% and 10.6%. Most infected panicles had 1–2 smut balls, primarily located in the middle to lower parts of the panicle. Nine isolates of *U. virens* were obtained from the field and cultured on potato sucrose agar (PSA), showing variability in sporulation capacity, colony appearance, and mycelial growth rate. Six isolates produced chlamydospores within 2–4 wk, while the other three did not. Genetic sequencing of six isolates revealed identical ITS sequences, 99.69% similar to *U. virens* isolate 118-CLR-KA-40 (Accession no. OL744511), confirming the identification. Mating type analysis indicated all isolates were belonged to the MAT1-1 type. The study also evaluated the effects of temperature on mycelial growth and chlamydospore germination of the two stable isolates, RSB-5 and RSB-9, with optimal growth and germination at 25°C. Based on the fungicide efficacy tests of mycelial growth and chlamydospore germination of the RSB-5 and RSB-9 isolates, pyraclostrobin, mancozeb, iminoctadine tris, and benomyl showed effective mycelial growth inhibition rates for both isolates, while kasugamycin exhibited the lowest inhibition rate. Additionally, pyraclostrobin, thiophanate-methyl, mancozeb, iminoctadine tris, and benomyl achieved 100% inhibition of chlamydospore germination, whereas kasugamycin + tricyclazole and kasugamycin had lower inhibitory effects. These findings suggest that a rotation of pyraclostrobin, thiophanate-methyl, mancozeb, iminoctadine tris, and benomyl during the booting stage of rice could effectively reduce the impact of rice false smut.

Key words: Rice, *Ustilaginoidea virens*, Disease control.

Received: August 20, 2024; Accepted: November 1, 2024.

* Corresponding author, e-mail: hfni@tari.gov.tw

¹ Assistant Research Fellows, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.

² Associate Research Fellow and Division Director, Department of Plant Protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, Taiwan Agricultural Research Institute, Chiayi, Taiwan, ROC.

