

氟派瑞對不同生態位線蟲的致死率

曾怡萍¹、謝秉祐¹、楊詩盈²、陳珮臻^{1*}

¹ 國立中興大學 植物病理學系

² 國立中興大學 植物醫學學程

* 聯絡作者，E-mail: janetchen@nchu.edu.tw

摘要

曾怡萍、謝秉祐、楊詩盈、陳珮臻。2023。氟派瑞對不同生態位線蟲的致死率。植物醫學65(2): 65-68。

氟派瑞 (fluopyram) 是抑制粒線體電子傳遞鏈上琥珀酸脫氫酶 (succinate dehydrogenase) 的殺真菌、殺線蟲藥劑，它可影響 ATP 生合成並導致線蟲癱瘓，國際上已用於防治多種線蟲，然而葉芽線蟲 (*Aphelenchoides* spp.) 未在其列。但葉芽線蟲為我國經濟重要性線蟲，危害水稻、山蘇及國蘭等重要作物。本研究以不同濃度氟派瑞處理根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.)、腎形線蟲 (*Rotylenchulus* sp.) 和葉芽線蟲紀錄其致死率。氟派瑞處理 24 小時後根瘤線蟲和水稻葉芽線蟲 (*A. besseyi*)，在三種稀釋濃度下皆全數死亡；而 *A. bicaudatus* 有極少數的線蟲存活；而在腎形線蟲方面，藥劑稀釋濃度 1500 倍、3000 倍、6000 倍的自然死亡率分別為 37.9%、30.3%、33.1%，不同藥劑稀釋濃度的自然死亡率之間未有顯著差異。氟派瑞對於根瘤線蟲和葉芽線蟲皆有明顯的致死效果，但腎形線蟲和極少數的 *A. bicaudatus* 卻仍可存活，表示不同線蟲屬與種間皆具有氟派瑞感受差異性。氟派瑞具有潛力用於防治不同的植物線蟲病害，但需考量線蟲感受度、施用方法、環境危害和作物藥害等方面，未來將進一步設計試驗來確認此藥劑用於防治水稻葉芽線蟲之可行性。

關鍵詞：葉芽線蟲、氟派瑞、根瘤線蟲、殺線蟲劑、腎形線蟲

前言

氟派瑞 (fluopyram) 是殺真菌、殺線蟲藥劑，其作用機制為粒線體電子傳遞鏈上琥珀酸脫氫酶 (succinate dehydrogenase) 的抑制劑，會影響真菌、線蟲粒線體 ATP 生合成並導致真菌生長停滯以及線蟲癱瘓⁽⁸⁾。前人研究顯示氟派瑞可防治灰黴病 (gray mold)、白粉病 (powdery mildew)、菌核病 (Sclerotinia rot)

和早疫病 (early blight) 等真菌病害以及根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.) 造成之根瘤病。在台灣，氟派瑞現今只許可施用於茄科、葫蘆科、香蕉和草莓等作物之根瘤線蟲，而氟派瑞與三氟敏 (trifloxystrobin) 混合藥劑三氟派瑞則被推薦施用於十字花科、茄科和葫蘆科等作物，用以防治炭疽病或白粉病 (農藥資訊服務網 <https://pesticide.baphiq.gov.tw/information/>)。

氟派瑞被發現可以防治根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.) 後，國外便有許多後續其他植物寄生性線蟲的研究。Faske 等人將根瘤線蟲及腎形線蟲 (*Rotylenchulus reniformis*) 處理氟派瑞水溶液 (1.0 µg/ml) 2 小時後發現線蟲麻痺，後續在溫室實驗中先將線蟲處理氟派瑞水溶液再接種番茄，發現可有效減少番茄根部的線蟲感染，且腎形線蟲須較根瘤線蟲用更高的氟派瑞劑量才能達到一樣的麻痺效果⁽⁹⁾。莖線蟲 (*Ditylenchus dipsaci*) 則僅在部分實驗結果顯示具有抑制效果，且溫室實驗結果顯示氟派瑞無法有效減少土壤及植物組織中的莖線蟲數量，但採收後植物根部的腐敗症狀有明顯減輕，顯示出氟派瑞對於防治莖線蟲仍具有一定潛力⁽¹⁰⁾。刺線蟲 (*Belonolaimus longicaudatus*) 為佛羅里達州危害草莓，造成嚴重經濟損失的害蟲之一，研究結果顯示，在草莓農場中施用氟派瑞可有效降低土壤中刺線蟲的族群密度⁽¹¹⁾。氟派瑞在不同國家已登記註冊用於防治多種線蟲，包含根瘤線蟲、根腐線蟲 (*Pratylenchus* spp.)、穿孔線蟲 (*Radopholus similis*)、柑桔線蟲 (*Tylenchulus semipenetrans*)、刺線蟲、馬鈴薯黃金包囊線蟲 (*Globodera rostochiensis*)、馬鈴薯包囊線蟲 (*Globodera pallida*)、包囊線蟲 (*Heterodera* spp.)、螺旋線蟲 (*Helicotylenchus* spp.)、針線蟲 (*Longidorus* spp.) 和劍線蟲 (*Xiphinema* spp.)⁽¹²⁾。

水稻葉芽線蟲 (*Aphelenchoides besseyi*) 為我國經濟重要性線蟲，此線蟲會引起水稻白尖病，典型病徵為劍葉尖端呈黃白色至灰白色並扭轉，且會造成植株矮化、稻穗變短、穀粒數減少等，導致稻作有 10~30% 的減損率⁽¹⁾。除了水稻外，水稻葉芽線蟲亦會感染山蘇及國蘭⁽²⁾，造成經濟損失。危害國蘭的葉芽線蟲不僅是水稻葉芽線蟲，*A. bicaudatus* 亦會感染國蘭⁽⁴⁾，

且草莓、水稻和蝴蝶蘭等也是寄主⁽⁷⁾。

本研究收集國內幾種生態位不相同，於田間常見的植物寄生性線蟲，測試不同濃度氟派瑞處理所造成的致死率，包含常見幾種地下部內寄生根瘤線蟲、地下部半內寄生腎形線蟲，以及未有氟派瑞藥劑試驗紀錄之地上部內寄生水稻葉芽線蟲及兼食真菌的 *A. bicaudatus*。不同種類線蟲可能暴露於藥劑的時間點以及接觸時間不同，結果有助於未來田間防治策略的擬定。

材料與方法

供試藥劑

本實驗使用藥劑為拜耳公司市售之魯力又 400 g/l 水懸劑，有效成分為氟派瑞 (fluopyram)。氟派瑞水懸劑 (400 G/L) 推薦防治番茄的根瘤線蟲之稀釋倍數為 3000 倍 (農藥資訊服務網 <https://pesticide.baphiq.gov.tw/information/>)，本實驗處理線蟲之濃度分別為稀釋 1500 倍、稀釋 3000 倍、稀釋 6000 倍的魯力又水懸劑和無菌水之空白對照組。因試驗進行時會將供試藥劑溶液和線蟲懸浮液以 1:1 的方式配製，因此在配製供試藥劑時會配製稀釋 750 倍、稀釋 1500 倍和稀釋 3000 倍的藥劑溶液。

供試線蟲

本實驗所使用之南方根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita* Yjb)、爪哇根瘤線蟲 (*M. javanica* Tkp) 和象耳豆根瘤線蟲 (*M. enterolobii* Gxg) 由國立中興大學植物病理學系線蟲實驗室提供。試驗前先從繼代之空心菜 (*Ipomoea aquatica*) 根部收集卵塊，並在去離子水中孵化，取出孵化之二齡幼蟲，再用無菌水調整成每 500 μ l 約 100 隻二齡線蟲的供試線蟲懸浮液。

供試腎形線蟲 (*Rotylenchulus* sp.) 來源為台中市北屯區 (24.208430, 120.7546300) 採集之土壤，以改良式柏門氏漏斗分離法分離線蟲後，用無菌水調整成每 500 μ l 約 100 隻腎形線蟲。

供試之水稻葉芽線蟲 (*Aphelenchoides besseyi* Wrr and Fsl)，及 *A. bicaudatus* (Ycf) 由國立中興大學植物病理學系線蟲實驗室提供。用無菌水將兩種葉芽線蟲從柑橘黑腐病菌 (*Alternaria citri*) 培養管中洗出後，調整成每 250 μ l 約 100 隻葉芽線蟲。

藥劑處理

根瘤及腎形線蟲試驗做法為：於 1.5 ml 離心管內加入 500 μ l 線蟲懸浮液及 500 μ l 藥劑溶液使最終體積為 1000 μ l。葉芽線蟲則為：於 1.5 ml 離心管加入 250 μ l 蟲液及 250 μ l 藥劑溶液使最終體積為 500 μ l。每次試驗每種濃度有 3 重複，此試驗共重複 3 次。將蟲液與藥劑混合後之離心管置於 27°C、30 rpm

黑暗中振盪 24 小時後，於解剖顯微鏡 (Discovery.V8, ZEISS) 下觀察，以挑針輕壓線蟲後仍無反應，即判斷為死蟲，記錄活蟲數及死蟲數並計算自然死亡率，自然死亡率公式如下⁽⁸⁾：

$$\text{自然死亡率} = 100\% \times [Dt - (Nt \times Dn)] / [Nt - (Nt \times Dn)]$$

Dt：該處理的死蟲數

Nt：該處理的總蟲數

Dn：對照組的死亡率

所有的死亡率數值皆經過反正弦 arcsin 後再進行 Tukey's multiple range test。

結果

三種根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.) 和一種水稻葉芽線蟲 (*Aphelenchoides besseyi*) 兩個不同分離株 (Wrr, Fsl) 處理氟派瑞 (fluopyram) 24 小時後，在三種稀釋濃度下皆全數死亡，與空白對照組有明顯差異；但另一種葉芽線蟲 *A. bicaudatus* 處理稀釋 1500 倍、6000 倍的組別有極少數的線蟲存活並有明顯泳動性，存活率分別為 1.1% 及 4.3%；而在腎形線蟲 (*Rotylenchulus* sp.) 方面，藥劑稀釋濃度 1500 倍、3000 倍、6000 倍的自然死亡率分別為 37.9%、30.3%、33.1%，不同藥劑稀釋濃度的自然死亡率之間未有顯著差異 (表一)。

討論

本研究結果顯示，氟派瑞 (fluopyram) 對於根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.) 和葉芽線蟲 (*Aphelenchoides* spp.) 皆有明顯的致死效果，但腎形線蟲 (*Rotylenchulus* sp.) 和極少數的 *A. bicaudatus* 在處理氟派瑞 24 小時後還是存活，表示不同線蟲屬與種間皆具有氟派瑞感受差異性，腎形線蟲相較於根瘤線蟲和葉芽線蟲有較低的氟派瑞感受度。前人研究氟派瑞作用機制的文章中也提到氟派瑞具有選擇性，對於哺乳類、昆蟲、蚯蚓皆不具有抑制性，但在線蟲體內則會抑制其琥珀酸脫氫酶並導致線蟲癱瘓。在植物寄生性線蟲研究中琥珀酸脫氫酶複合物亞基 C (succinate dehydrogenase complex subunit C, SDHC) 基因的差異被認為是導致氟派瑞感受差異性的關鍵因素⁽⁹⁾。有研究指出，南方根瘤線蟲對氟派瑞的解毒基因可能表現在胞吞作用 (endocytosis) 相關的基因，藉此使氟派瑞無法進入細胞而發揮其作用。此外，氟派瑞作用時南方根瘤線蟲中的脂肪酸與視黃醇結合蛋白基因 (fatty acid and retinol-binding protein) 表現下降，此蛋白質會影響線蟲的繁殖⁽⁵⁾，故推斷也可能使存活根瘤線蟲的族群量下降。腎形線蟲和 *A. bicaudatus* 對氟派瑞感受度低，不排除還有其他因子影響藥劑在線蟲體內的作用，未來可收集感受性不同的族群，以藥劑處理後比較兩者基因表現的差異，進而找到可能影響氟派瑞感受度的基因。

表一、根瘤線蟲、腎形線蟲和葉芽線蟲經三種稀釋濃度氟派瑞在 27°C 處理 24 小時後之自然死亡率

TABLE 1. The mortality rates of three *Meloidogyne* spp., *Rotylenchulus* sp. and two *Aphelenchoides* spp., after treating with 3 different concentrations of fluopyram for 24 hr at 27°C

Dilution	Mortality (%)						
	Yjb ¹	Tkp	Gxg	reniform	Wrr	Fsl	Ycf
1500X	100.0	100.0	100.0	37.9	100.0	100.0	98.9
	±0.0	±0.0	±0.0	±12.5	±0.0	±0.0	±1.1
	aA ²	aA	aA	aB	aA	aA	aA
3000X	100.0	100.0	100.0	30.3	100.0	100.0	100.0
	±0.0	±0.0	±0.0	±11.7	±0.0	±0.0	±0.0
	aA	aA	aA	aB	aA	aA	aA
6000X	100.0	100.0	100.0	33.1	100.0	100.0	95.7
	±0.0	±0.0	±0.0	±13.6	±0.0	±0.0	±2.0
	aA	aA	aA	aB	aA	aA	aA

¹ *Meloidogyne incognita* (Yjb), *M. javanica* (Tkp) and *M. enterolobii* (Gxg), reniform is *Rotylenchulus* sp., Wrr and Fsl are *Aphelenchoides besseyi*, and Ycf is *A. bicaudatus*.

² The data are mean ± SE from nine replications. Means followed by the same lowercase letter in the same column, and capital letter in the same row are not statistically different following Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

在台灣，氟派瑞目前只許可施用於茄科、葫蘆科、香蕉和草莓等作物上，用於防治根瘤線蟲，本研究使用的南方根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita*)、爪哇根瘤線蟲 (*M. javanica*) 和象耳豆根瘤線蟲 (*M. enterolobii*) 浸泡於推薦防治番茄的根瘤線蟲之稀釋 3000 倍氟派瑞水懸劑 (400 G/L) (農藥資訊服務網 <https://pesticide.baphiq.gov.tw/information/>) 24 小時後自然死亡率皆為 100%，證實氟派瑞對台灣常見之根瘤線蟲皆有防治效果。雖然在本研究中水稻葉芽線蟲浸泡氟派瑞 24 小時後亦有 100% 自然死亡率，但國內並未推薦，目前水稻白尖病所推薦使用藥劑為 0.3% 芬滅松乳劑 (fenamiphos)、10% 芬滅松粒劑、0.3% 芬普尼粒劑 (fipronil)、24% 毆殺滅溶液 (oxamyl) 和 10% 毆殺滅粒劑⁽³⁾。芬普尼及毆殺滅對於蜜蜂皆具有高毒性，且芬普尼在台灣已使用多年，在田間有抗藥性。在這樣的狀況下應該要尋找其他更安全、還未有抗藥性的替代藥劑，氟派瑞不失為另一個替代的藥劑，因其作用機制有選擇性，對於哺乳類、昆蟲、蚯蚓不會造成危害。但要如何在田間施用時讓線蟲有效接觸藥劑是需要再考量的問題，不僅如此，氟派瑞曾在歐洲造成葡萄異常生長之狀況，故也應考慮在水稻上造成藥害的風險。若未來要推廣氟派瑞到防治不同的植物線蟲病害，包含線蟲族群感受性差異、藥劑施用方式、濃度、是否在該作物中具有系統性移行性、是否與土壤結合而失去效用、對環境的影響等都需要進一步的試驗來確認可行性。

公司提供。

引用文獻

1. 洪元平。1959。臺灣稻葉白尖病。植保會刊1(4): 104-109。
2. 曾顯雄、曾國欽、張清安、蔡東纂、嚴新富。2019。台灣植物病害名彙。中華民國植物病理學會。
3. 費雯綺、王喻其。2007。植物保護手冊—糧食作物及其他篇。農業藥物毒物試驗所。臺中。
4. 蔡東纂、程永雄、陳弘毅、林奕耀、吳文希。1995。球根花卉線蟲病害之發生及防治。植病會刊4:180-192。
5. Catherine, L.W., Cedar, N. H., and Inga, A. Z. 2022. Transcriptional response of *Meloidogyne incognita* to non-fumigant nematicides. Sci Rep 12:9814.
6. Faske, T., and Hurd, K. 2015. Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to fluopyram. J Nematol 47:316-321.
7. Jen, F. Y., Tsay, T. T., and Chen, P. J. 2012. *Aphelenchoides bicaudatus* from ornamental nurseries in Taiwan and its relationship with some agricultural crops. Plant Dis. 96:1763-1766.
8. Schleker, A., Rist, M., Matera, C., Damijonaitis, A., Collienne, U., Matsuoaka, K., Habash, S., Twelker, K., Gutbrod, O., Saalwächter, C., Windau, M., Matthiesen, S., Stefanovska, T., Scharwey, M., Marx, M., Geibel, S., and Grundler, F. 2022. Mode of action of fluopyram in plant-parasitic nematodes. Sci Rep 12(1):11954.

謝辭

本試驗供試藥劑氟派瑞 (魯力又 水懸劑) 是由台灣拜耳

9. Storelli, A., Keiser, A., Eder, R., Jenni, S., and Kiewnick, S. 2022. Evaluation of fluopyram for the control of *Ditylenchus dipsaci* in sugar beet. *J Nematol* 52:1-10.
10. Tristan, T. W., Joseph, W. N., and Johan, A. D. 2020. Fluopyram as a rescue nematicide for managing sting nematode (*Belonolaimus longicaudatus*) on commercial strawberry in Florida. *Crop Protect*:132.
11. Yuji, O. 2020. From Old-Generation to Next-Generation Nematicides. *Agronomy* 10(9):1387.

ABSTRACT

Yi-Ping Tzeng¹, Ping-Yu Hsieh¹, Shih-Ying Yang², and Peichen Janet Chen^{1*}. 2023. The mortality of plant parasitic nematodes from different niches to fluopyram. *J. Plant Med.* 65(2): 65-68.

*Corresponding author, E-mail: janetchen@nchu.edu.tw

Fluopyram is a succinate dehydrogenase inhibitor (SDHI) fungicide that affects the synthesis of ATP and causes paralysis of nematodes. Fluopyram-based products are currently registered for many crops to mitigate root-knot nematodes. Although *Aphelenchoides* spp., which causes losses to rice, nest ferns, and orchids, are not listed as fluopyram-targeted nematodes, this genus has many economically important species in Taiwan. In this study, the mortality rates of three *Meloidogyne* spp., *Rotylenchulus* sp., and two *Aphelenchoides* spp. were recorded after treatments with 3 different concentrations of fluopyram. *Meloidogyne* spp. and *A. besseyi* all had a 100% mortality after being treated with different concentrations of fluopyram for 24 hr. However, *A. bicaudatus* had few nematodes survive. The *Rotylenchulus* sp. had mortality rates 37.9%, 30.3%, and 33.1% after treatments with the 1500X, 3000X, and 6000X fluopyram concentrations, respectively. Fluopyram was effective at killing *Meloidogyne* spp. and *Aphelenchoides* spp., but not *Rotylenchulus* sp., and a few *A. bicaudatus* individuals still survive. The results indicate that fluopyram sensitivity differs among different genera and species. For the field application, the nematodes' sensitivity to fluopyram, application methods, and phytotoxicity are factors that need to be considered. Further experiments are needed to confirm the feasibility of recommending fluopyram to control *Aphelenchoides* spp. on rice and other crops.

Keywords: *Aphelenchoides*, fluopyram, *Meloidogyne*, nematicides, *Rotylenchulus*