

臺灣番椒上之番椒疫病菌 (*Phytophthora capsici*) 對滅達樂之抗感性分析

陳昭容^{1,2} 王添成¹ 鍾文鑫^{2,3}

¹ 亞蔬-世界蔬菜中心

² 臺中市國立中興大學植物病理系

³ 聯絡作者，電子郵件：wenchung@nchu.edu.tw；傳真：+886-4-2285-4292

接受日期：中華民國 100 年 10 月 17 日

摘要

陳昭容、王添成、鍾文鑫. 2010. 臺灣番椒上之番椒疫病菌 (*Phytophthora capsici*) 對滅達樂之抗感性分析. 植病會刊 19: 271-279.

番椒疫病菌 (*Phytophthora capsici* Leon) 為臺灣番椒生產的主要限制因子之一，施用化學藥劑是此病害的主要防治方法。於國外滅達樂 (metalaxyl) 與右滅達樂 (mefenoxan) 常推薦用於防治此病害，且已有抗藥性菌株出現的相關報告。雖滅達樂在臺灣未正式推薦用於防治此病害，然各農業改良場針對番椒疫病或其他由卵菌類所引起之病害時，滅達樂亦為推薦防治藥劑之一，因此田間常看見農民施用滅達樂防治番椒疫病或卵菌類病害，然臺灣尚無番椒疫病菌對滅達樂抗感性的相關報告。本研究目的為檢測引起臺灣番椒疫病之 *P. capsici* 對滅達樂的感受性。並且比較三種病原型 (Pathotype 1, 2 和 3) 和不同配對型 (A1 和 A2 mating type) 菌株對滅達樂之感受性。亞蔬-世界蔬菜中心自 1987-2008 年間蒐集引起臺灣番椒疫病之 *P. capsici* 菌株共 171 株。自 1987-2007 年間蒐集的 118 株皆為 A1 配對型，2008 年蒐集的 53 株菌株中有 15 株為 A2 配對型。測試這 171 株菌株對滅達樂藥劑的感受性，結果得知所測試的臺灣番椒疫病菌株對滅達樂藥劑仍屬敏感 64.9 % (111/171)，而中度敏感與抗藥性比率分別為 19.3 % (33/171) 與 15.8 % (27/171)。比較 1987-2006 年、2007 和 2008 年的菌株對滅達樂藥劑的抗感性，結果顯示菌株對滅達樂的抗性由 0% (0/104) 增加至 28.6 % (4/14) 和 43.4 % (23/53)。評估番椒疫病菌三種病原型對滅達樂之感受性，得知 57.1% (8/14) 病原型 1 菌株對滅達樂表現抗性，而病原型 2 與 3 菌株則分別為 6.1% (3/49) 和 14.8% (16/108)。分析 2008 年番椒疫病菌 A1 與 A2 配對型菌株對滅達樂的感受性，得知在各病原型內之 A1 配對型菌株抗滅達樂之比率介於 51.7~100.0%；而 A2 配對型菌株抗滅達樂之比率則介於 0.0~66.7%。此結果指出 2008 年所蒐集的新菌株中，A1 配對型菌株對滅達樂的抗藥性較 A2 配對型強。由上述結果顯示，引起臺灣番椒疫病之菌株對滅達樂的抗性有增加的傾向，此外田間已出現 A2 配對型菌株，未來將可能導致更多抗性或低感受性 *P. capsici* 菌株增加。

關鍵詞：Phytophthora capsici、病原型、A1 與 A2 配對型、滅達樂、抗感性

緒言

番椒疫病 (Phytophthora blight) 由 *Phytophthora capsici* L. 所引起，具有極廣泛的寄主範圍，一但遭到該病原菌感染常引起作物產量嚴重損失⁽²⁾。該病原菌可感染各生長期間番椒植株的每個部位，造成幼苗倒伏

(damping off)，根部褐化腐爛，莖基部呈現褐化、壞疽及隘縮，枝條呈褐色病斑，葉片及果實則呈現不規則之淡綠色水浸狀斑點等複合感染病徵^(17,21)。目前番椒疫病的防治方法有輪作、化學防治、生物防治及種植具有抗病基因的品種⁽¹¹⁾，而施用化學藥劑為一般農民防

治番椒疫病的主要策略，然而長期與過度施用藥劑，常導致病原菌在藥劑的選汰壓力下產生抗藥性，或使原本族群較少的抗藥性菌株增加⁽²⁷⁾。

目前推薦用於防治卵菌類的化學藥劑包括錳乃浦、亞托敏、賽座滅、四氯異苯腈、福賽得、達滅芬、普拔克、依得利、銅劑、滅達樂及混合式藥劑，其中以滅達樂為主的相關藥劑最常被推薦施用於田間⁽⁷⁾。滅達樂 (matalaxy) 屬於醯基苯胺系 (phenylamides) 的殺菌劑，是先正達 (前汽巴嘉基 Ciba – Geigy) 公司最早研發成功用於防治卵菌類的系統性殺菌劑，與其構造類似的藥劑還有本達樂 (Benalaxy) 及歐殺斯 (Oxadixyl) 等⁽¹⁵⁾。這類藥劑的作用機制主要是抑制卵菌類核糖核酸的合成，因此可抑制菌絲的生長與發育，但卻不能抑制游走孢囊的釋放與游走孢子的發芽⁽¹²⁾。雖然這類藥劑具有極佳防治卵菌類的效果，但因其作用專一特性，已使許多卵菌類病原菌如晚疫病菌 (*P. infestans* (Mont.) de Bary)^(3, 6)、菸草露菌病菌 (*Peronospora tabacina* Adam)⁽³²⁾、萵苣露菌病菌 (*Bremia lactucae* Regel)⁽⁵⁾、葡萄露菌病菌 (*Plasmopara viticola* de Bary)⁽¹⁰⁾、瓜類露菌病菌 (*Pseudoperonospora cubensis* Burk and Curtis)⁽²⁰⁾、腐黴菌屬病菌 (*Pythium* spp.)⁽³¹⁾ 等病原陸續出現抗藥性，且還會對相同作用機制的藥劑產生正交互抗性 (positive-cross resistance)⁽⁸⁾。

國外於 1977 年即開始推薦滅達樂防治由 *Phytophthora* spp. 所引起的病害⁽²³⁾，然臺灣目前並未推薦使用滅達樂防治番椒疫病，但在某些農業改良場仍經常推薦滅達樂防治番椒疫病 (<http://tdares.coa.gov.tw/view.php?catid=2537>)，因此田間常發現農民使用滅達樂防治番椒疫病，目前臺灣並無番椒疫病菌 *P. capsici* 對滅達樂抗感性的相關研究報告。由於臺灣常推薦滅達

樂與相關藥劑用於防治由卵菌綱病原所造成的病害⁽⁷⁾，且經長時間施用，已有報告指出臺灣田間晚疫病菌 *P. infestans* 菌株已對滅達樂產生抗藥性^(3, 12, 30)。Sheu 氏等人曾初步測試番椒疫病菌對滅達樂的感受性，並指出大部份菌株對滅達樂尚未具有抗性⁽²⁵⁾，且臺灣於 2008 年鑑定出番椒田間已出現 A2 配對型番椒疫病菌菌株⁽²⁴⁾，因此檢測臺灣所蒐集番椒疫病菌菌株對滅達樂之感受性有其重要性。本研究主要目的是測試自 1987~2008 年間所蒐集臺灣番椒疫病菌對滅達樂殺菌劑的感受性，並進一步比較不同病原型、配對型菌株間對滅達樂殺菌劑感受性的差異。

材料與方法

供試菌株的來源與鑑定

本研究於 1987-2008 年間自臺灣番椒栽培地區之罹病植株或土壤，經 AV8 選擇性培養基【50 mg/liter rifampicin、100 mg/liter ampicillin、100 mg/liter nystatin、1,000 mg/liter pentachloronitrobenzene(PCNB)、10% (v/v)V8】分離後，共計 171 株菌株 (表一)。所有菌株皆於實驗室中以單一游走孢子培養於 PDA (Potato dextrose agar, Difco) 斜面試管中，待菌絲長滿斜面後，加入礦物油 (Trinity 400-5) 至覆蓋全部菌絲，並保存於 20°C 不照光的定溫箱，作為菌株之保存與本研究之用。菌株的鑑定主要以形態觀察為主，如罹病植株上的病徵、在 PDA 和 V8 培養基上的菌落形態、孢囊的形態及孢囊脫落時是否有一小段孢囊柄附著於基部，並利用番椒疫病菌 (*P. capsici*) 專一性的引子對 CAPFW

表一、供試菌株與來源

Table 1. The isolates of *Phytophthora capsici* collected from diseased chili, bell pepper and pepper plants or soil

Year collected	Host	Place collected (No. of isolate)
1987-2006	Chili	Nantou (4), Chiayi (1), Tainan (3), Kaohsiung (5), Taitung (1)
	Bell pepper	Taipei (1), Hsinchu (2), Nantou (14), Tainan (11), Pingtung (7), Hualien (8), Taitung (7),
	Pepper	Taoyuan (1), Taichung (1), Nantou (7), Tainan (19), Hualien (7), Taitung (4)
	Soil	Yunlin (1)
2007	Chili	Nantou (1), Changhua (2), Kaohsiung (1)
	Bell pepper	Nantou (5), Yunlin (1), Tainan (2)
	Pepper	Nantou (2)
2008	Chili	Nantou (3), Changhua (2), Tainan (5), Pingtung (2), Hualien (7), Taitung (6)
	Bell pepper	Changhua (2), Yunlin (9), Chiayi (4), Taiann (1), Hualien (1), Taitung (2)
	Pepper	Nantou (6), Chiayi (1), Tainan (2)

(5'-TTAGTTGGGGTCTTGTACC-3') 與 CAPRV2 (5'-TACGGTTCACCAGCCCATCA-3')⁽²⁶⁾ 進行聚合酶連鎖反應，以作為輔助鑑定的參考依據。

菌株的病原型鑑定

番椒疫病菌病原型之鑑定，主要是根據 Chung 和 Black 兩氏⁽⁴⁾ 將病原菌接種在四種鑑別寄主後，依寄主存活率來區分，即 0 - 69 % 存活率屬感病 (S) 和 70-100 % 存活率屬抗病 (R) 兩類，可將臺灣番椒疫病菌區分為三個不同的病原型。本試驗所使用的接種用供試植株中，以 Early Calwonder 植株對三個病原型皆為感病；PBC 137 植株可抗病原型 1 但不抗病原型 2 和 3；PBC 602 sel 植株可抗病原型 1 和 2 但不抗病原型 3；PI 201234 植株可同時抗病原型 1、2 和 3。

菌株的配對型鑑定

將 171 株供試菌株培養於 10 % (v/v) V8 培養基平板上，經培養在 28°C 且照光下 5 天後，以打孔器切取菌絲菌落邊緣，再以移植針將菌絲塊 (直徑 7 mm) 移植至油萊子培養基平板上 (30 公克油萊子加水煮沸一小時，過濾後的濾液加水至 300 毫升，加入 5 公克洋菜粉)⁽²²⁾ 與已知的 A1 配對型菌株 Pc 134 及 A2 配對型菌株 Pc 176 (行政院農業委員會農業試驗所植物病理系安寶貞組長提供；Pca68-4；27220) 進行對峙培養。於 24°C 不照光的定溫箱中培養 5-7 天後，以顯微鏡檢查兩個菌株的菌絲交界處是否有紅褐色卵孢子形成。供試菌株與 A1 配對型菌株 Pc 134 或 A2 配對型菌株 Pc 176 進行對峙培養，若於菌絲交界處產生紅褐色卵孢子，則為 A2 配對型或 A1 配對型，沒有卵孢子形成則為 A1 配對型或 A2 配對型菌株。

番椒疫病菌對滅達樂之抗感性分析

將番椒疫病菌 171 株供試菌株培養於 10 % V8 培養基平板上，經培養在 28°C 且照光下 5 天後，以打孔器切取菌落邊緣，以移植針將菌絲塊 (直徑 7 mm) 移植至分別含有 0、10 與 100 mg/liter 滅達樂原體 (Chem service Ps-1099, USA) 的 PDA 培養基平板上，每處理三重覆於 28°C 不照光的定溫箱中培養 4 天後，分別記錄各處理菌落直徑，並以菌絲生長百分率作為感受性評估之依據。生長百分率計算方式：

(供試菌株於添加滅達樂的 PDA 培養基平板上的菌落大小 7 mm) / (對照組菌落大小 7 mm) × 100%

菌株之抗感性判斷則依據 Parra 與 Ristaino 兩氏⁽¹⁹⁾ 所發表，原著使用 0、5 及 100 mg/liter，因菌株在添加滅達樂 5 mg/liter 與 10 mg/liter 的菌落大小差異不大，

因此試驗使用 0、10 及 100 mg/liter。於 10 mg/liter 與 100 mg/liter 的生長百分率皆小於或等於 40 % 為敏感性 (Sensitive, S)；菌株於 10 mg/liter 的生長百分率大於 40 %，而於 100 mg/liter 的生長百分率小於 40 % 為中度敏感性 (Intermediate sensitive, IS)；菌株於 100 mg/liter 的生長百分率大於 40 % 為抗性 (Resistant, R)。

結 果

供試菌株的來源與鑑定

本實驗所使用的菌株是亞蔬-世界蔬菜中心自 1987 年至 2008 年自臺灣番椒栽培地區番椒罹病根、莖、枝條、果實上所分離。依據形態學的觀察，171 株供試菌株於 PDA 培養基平板上可產生緻密且少有氣生菌絲的菌落，菌落形態會呈現星狀或花瓣狀。而於 10 % V8 培養基平板上則會產生稀疏且有氣生菌絲的菌落，形態為放射狀，少數菌株為星狀。此外其孢囊柄具有不分歧或繖狀分歧等類型；孢囊頂端具有增厚乳突狀構造，具有脫落性，脫落時有一小段孢囊柄附著於基部。與番椒疫病菌專一性的引子對 CAPFW 和 CAPRV2 進行聚合酶連鎖反應，均能增幅出 595 bp 的條帶，確定所分離的菌株均屬 *P. capsici*。

菌株病原型與配對型的鑑定

利用四種不同基因型的番椒品種/品系做為鑑別寄主，測試所供試 171 株菌株中，得知有 14 株屬病原型 1、49 株屬病原型 2、108 株屬病原型 3，其中以病原型 3 的菌株佔的比率最高達 63.2 % (表二)。分析所有菌株之配對型，結果顯示 1987-2007 年間所蒐集之菌株皆屬配對型 A1，而 2008 年所蒐集之 53 株菌株中，有 38 株為配對型 A1，15 株為配對型 A2 (表二)。

臺灣番椒疫病菌對滅達樂之抗感性分析

針對 1987-2008 年間於臺灣主要番椒栽培地區所蒐集的 171 株菌株進行對滅達樂感受性的測試，結果顯示有 111 株 (佔 64.9 %) 為敏感，33 株 (佔 19.3 %) 為中度敏感，27 株 (佔 15.8 %) 為抗性 (表三)。此外，1987-2006 年蒐集的 104 株菌株中有 90 株 (佔 86.5 %) 為敏感，14 株 (佔 13.5 %) 為中度敏感，沒有抗性菌株。而 2007 年蒐集的 14 株菌株中有 7 株 (佔 50.0 %) 為敏感，3 株 (佔 21.4 %) 為中度敏感，4 株 (佔 28.6 %) 為抗性；2008 年蒐集的 53 株菌株中有 14 株 (佔 26.4 %) 為敏感，16 株 (佔 30.2 %) 為中度敏感，23 株 (佔 43.4 %) 為抗性 (表三)。此結果顯示，2006 年以前蒐集的菌株對

滅達樂不具抗藥性，2007 和 2008 年所蒐集新菌株，對滅達樂的抗藥性有增加的趨勢。

番椒疫病菌三種病原型對滅達樂之抗感性分析

於三種病原型對滅達樂之感受性分析實驗中，針對 1987-2008 年間於臺灣番椒栽培地區所蒐集已確定病原型之 171 株進行分析。結果得知各病原型菌株對滅達樂之抗感性，病原型 1 的菌株對滅達樂表現抗性比

例較病原型 2 或 3 高，抗性比例分別為 57.1%、6.1% 和 14.8%，顯示病原型 1 之菌株對滅達樂的抗藥性較強，而病原型 2 與 3 的菌株對滅達樂較敏感 (表四)。

番椒疫病菌 A1 和 A2 配對型對滅達樂之抗感性分析

測試 2008 年所蒐集的 53 株菌株，不同配對型對滅達樂之感受性，結果顯示在各病原型內之 A1 配對型

表二、1987-2008 年臺灣番椒上之番椒疫病菌 *Phytophthora capsici* 菌株的病原型與配對型

Table 2. Pathotypes and mating types of *Phytophthora capsici* collected from pepper in Taiwan in 1987-2008

Year collected	Total isolate	Mating type							
		A1 ¹				A2 ²			
		1 ³	2 ³	3 ³	Total	1	2	3	Total
1987	1	1	0	0	1	0	0	0	0
1992	1	0	1	0	1	0	0	0	0
1996	6	0	5	1	6	0	0	0	0
1997	7	0	5	2	7	0	0	0	0
1998	2	0	1	1	2	0	0	0	0
1999	15	1	6	8	15	0	0	0	0
2000	14	0	4	10	14	0	0	0	0
2001	11	0	1	10	11	0	0	0	0
2002	9	0	4	5	9	0	0	0	0
2003	12	0	7	5	12	0	0	0	0
2004	17	0	3	14	17	0	0	0	0
2005	7	0	4	3	7	0	0	0	0
2006	2	1	0	1	2	0	0	0	0
2007	14	3	4	7	14	0	0	0	0
2008	53	8	1	29	38	0	3	12	15
Total	171	14	46	96	156	0	3	12	15

¹ Test isolates producing oospores with Pc 176 (A2 mating type) were scored as mating type A1.

² Test isolates producing oospores with Pc 134 (A1 mating type) were scored as mating type A2.

³ Four pepper varieties/lines, Early Calwonder, PBC 137, PBC 602 sel and PI 201234, were used as the indicators to classify all *P. capsici* isolates into three pathotypes.

Pathotype 1 infected only Early Calwonder without PBC 137, PBC 602 sel and PI 201234.

Pathotype 2 infected Early Calwonder and PBC 137 without PBC 602 sel and PI 201234.

Pathotype 3 infected Early Calwonder, PBC 137 and PBC 602 sel without PI 201234.

表三、1987-2008 年臺灣番椒上之番椒疫病菌 *Phytophthora capsici* 菌株對滅達樂的感受性分析

Table 3. Sensitivity of *Phytophthora capsici* isolates collected from 1987-2008 to metalaxyl

Year collected	Total isolate	Response to metalaxyl		
		S ¹	IS ²	R ³
1987-2006	104	90 (86.5%)	14 (13.5%)	0 (0.0%)
2007	14	7 (50.0%)	3 (21.4%)	4 (28.6%)
2008	53	14 (26.4%)	16 (30.2%)	23 (43.4%)
1987-2008	171	111 (64.9%)	33 (19.3%)	27 (15.8%)

¹ Isolates were characterized as sensitive (S) if colony growth on media amended with 10 mg/liter and 100 mg/liter of metalaxyl was less than 40% of the isolates' growth on nonamended media.

² Intermediate sensitive (IS) isolates exhibited growth on media amended with 10 mg/liter greater than 40% of that on nonamended media, but growth on media amended with 100 mg/liter less than 40% of that on nonamended media.

³ Resistant (R) isolates exhibited growth on media amended with 100 mg/liter greater than 40% of that on nonamended media.

表四、1987-2008 年臺灣番椒上之番椒疫病菌 *Phytophthora capsici* 菌株三種病原型 (1, 2 和 3) 對滅達樂的感受性分析
 Table 4. Sensitivity of pathotype (1, 2 and 3) of *Phytophthora capsici* isolates collected from 1987-2008 to metalaxyl

Year Collected	Total isolate	Response to metalaxyl											
		Pathotype											
		1			Total	2			Total	3			Total
S ¹	IS ²	R ³	S	IS		R	S	IS		R			
1987	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1992	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
1996	6	0	0	0	0	5	0	0	5	1	0	0	1
1997	7	0	0	0	0	2	3	0	5	2	0	0	2
1998	2	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
1999	15	1	0	0	1	5	1	0	6	8	0	0	8
2000	14	0	0	0	0	2	2	0	4	7	3	0	10
2001	11	0	0	0	0	1	0	0	1	10	0	0	10
2002	9	0	0	0	0	4	0	0	4	5	0	0	5
2003	12	0	0	0	0	6	1	0	7	5	0	0	5
2004	17	0	0	0	0	3	0	0	3	11	3	0	14
2005	7	0	0	0	0	3	1	0	4	3	0	0	3
2006	2	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
2007	14	0	0	3	3	4	0	0	4	3	3	1	7
2008	53	0	3	5	8	1	0	3	4	13	13	15	41
1987-2008	171	3	3	8	14	38	8	3	49	70	22	15	108
(%) ⁴		21.4	21.4	57.1		77.6	16.3	6.1		64.8	20.4	14.8	

¹ Isolates were characterized as sensitive (S) if colony growth on media amended with 10 mg/liter and 100 mg/liter of metalaxyl was less than 40% of the isolates' growth on nonamended media.

² Intermediate sensitive (IS) isolates exhibited growth on media amended with 10 mg/liter greater than 40% of that on nonamended media, but growth on media amended with 100 mg/liter less than 40% of that on nonamended media.

³ Resistant (R) isolates exhibited growth on media amended with 100 mg/liter greater than 40% of that on nonamended media.

⁴ The number is percentage of the different response of isolates to metalaxyl in same pathotype.

表五、2008 年臺灣番椒上之番椒疫病菌 *Phytophthora capsici* 病原型 (1, 2 和 3) 與配對型 (A1 和 A2) 菌株對滅達樂的感受性分析

Table 5. Sensitivity of pathotype (1, 2 and 3) and mating type (A1 and A2) of *Phytophthora capsici* isolates collected in 2008 to metalaxyl

Mating type	Total isolate	Response to metalaxyl								
		Pathotype								
		1			Total	2			Total	3
S ¹	IS ²	R ³	S	IS		R	S	IS		R
A1	38	0 (0.0%) ⁴	3 (37.5%)	5 (62.5%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (100.0%)	4 (13.8%)	10 (34.5%)	15 (51.7%)
A2	15	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (33.3%)	0 (0.0%)	2 (66.7%)	9 (75.0%)	3 (25.0%)	0 (0.0%)

¹ Isolates were characterized as sensitive (S) if colony growth on media amended with 10 mg/liter and 100 mg/liter of metalaxyl was less than 40% of the isolates' growth on nonamended media.

² Intermediate sensitive (IS) isolates exhibited growth on media amended with 10 mg/liter greater than 40% of that on nonamended media, but growth on media amended with 100 mg/liter less than 40% of that on nonamended media.

³ Resistant (R) isolates exhibited growth on media amended with 100 mg/liter greater than 40% of that on nonamended media.

⁴ The number in parentheses was percentage of same pathotype.

菌株抗滅達樂之比率介於 51.7~100.0%；而 A2 配對型菌株抗滅達樂之比率則介於 0.0~66.7% (表五)。此結果指出 2008 年所蒐集的新菌株中，A1 配對型菌株對滅達樂的抗藥性較 A2 配對型強。此外，相同配對型菌株內不同病原型對滅達樂之感受性分析，皆以病原型 2 的抗性比例較高，分別為 100% 和 66.7% (表五)。

討 論

本研究測試引起臺灣番椒疫病 *P. capsici* 菌株對滅達樂的感受性，得知田間已有抗滅達樂菌株出現，然大部分菌株對滅達樂仍屬敏感性，與前人研究相同⁽²⁸⁾。目前美國與韓國已證實田間的番椒疫病菌株已對滅達樂產生了抗藥性^(9, 18, 19)，且 Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) 認為該藥劑屬抗藥性產生之高度風險製劑 (<http://www.frac.info/frac/>)。推測臺灣抗滅達樂番椒疫病菌株 *P. capsici* 菌株比例不高之原因，可能是農民於田間防治番椒疫病時並非使用單一滅達樂藥劑，而是採施用混合性藥劑，如鋅錳滅達樂、鋅錳右滅達樂及銅本達樂等混合藥劑，進而降低目前臺灣菌株對滅達樂藥劑之低感受性比例。然本研究進一步將 1987-2006 年蒐集的菌株與 2007 和 2008 年蒐集的菌株進行比較，得知抗滅達樂菌株的比例已由 0% 增加至 28.6% 和 43.4%，證實臺灣番椒疫病菌株 *P. capsici* 菌株對滅達樂的抗性有快速提升的趨勢，此外臺灣各個番椒栽培地區蒐集的 *P. capsici* 菌株中皆存在有抗藥性菌株。探討近年來抗藥性菌株比例提升之因素，除持續施用滅達樂相關藥劑之選汰壓力下，導致 2008 年抗滅達樂菌株比例升高外，抗藥性菌株與非抗藥性菌株間遺傳物質交換亦可能會提高抗藥性菌株產生比例⁽¹³⁾，Chen 氏等人曾於 2007 年研究臺灣番椒晚疫病菌株 *P. infestans* 菌株對滅達樂之感受性，認為臺灣抗滅達樂番椒晚疫病菌株發生的主要因子為，具抗藥性菌株 US11 菌株入侵臺灣後將抗藥性基因轉移到本土菌株之故⁽³⁾，而臺灣番椒疫病菌株 *P. capsici* 菌株之抗藥性比例增高是否也由於國外抗藥性菌株入侵臺灣所造成，值得進一步探討。

分析不同病原型 *P. capsici* 菌株對滅達樂之感受性，得知自 1987~2008 年間於臺灣番椒栽培地區所搜集的不同病原型菌株對滅達樂表現差異大，病原型 1 的菌株抗藥性較強，而病原型 2 與 3 的菌株對滅達樂較敏感 (表四)。病原型 2 與 3 的 *P. capsici* 菌株於臺灣田間屬優勢菌系，且毒力較病原型 1 的菌株強，於自然生態環境下，病原型 2 或 3 的菌株應較病原型 1 的菌株易產生抗藥性，然測試結果卻是病原型 1 的菌株對滅達樂的抗性較病原型 2 或 3 強，此結果顯示菌株

的抗藥性與病原型亦無明顯相關。前人研究曾指出，遺傳物質的改變雖能夠使病原菌提高對藥劑的抵抗能力，但同時也可能降低該變異個體抵抗其他選汰的壓力 (如：溫度敏感性等)，造成其在族群中所佔的比例下降⁽¹³⁾。

臺灣於 2008 年蒐集到 A2 配對型的菌株⁽²⁴⁾，比較 A1 與 A2 配對型菌株對滅達樂的感受性，顯示 A2 配對型菌株對滅達樂較敏感，而 A1 配對型菌株較不敏感 (表五)。此外，相同配對型菌株間對滅達樂的抗感性亦不相同，從採集的資料中，於同一塊田中分離的相同配對型菌株對滅達樂的抗感性差異大 (資料未列出)，證實臺灣番椒疫病菌株 *P. capsici* 菌株對滅達樂的抗感性產生可能與配對型種類無相關。此結果與 Gisi 氏於 1996 年所提出，對滅達樂藥劑具抗性 *P. infestans* 菌株之抗藥性基因與配對型的基因不具相關性類似⁽⁸⁾。另 Lamour 與 Hausbeck 兩氏 (2000) 亦證實由葫蘆 (*cucurbit*) 分離之 *P. capsici* 菌株對 mefenoxan 的抗性是由單一顯性基因遺傳控制與配對型基因沒有連結⁽¹⁴⁾。分析相同配對型內不同病原型對滅達樂的感受性，以病原型 2 的抗藥性比例較高 (表六)，然由於病原型 2 菌株的數目仍太少，無法明確顯示配對型與病原型對滅達樂之抗感性表現是否相關，未來應蒐集更多菌株進行分析。本研究中抗滅達樂之病原型 1 的菌株皆屬於 2007~2008 年間所蒐集的菌株，此時間點正逢田間開始檢出 A2 配對型菌株，故近年來所出現具抗藥性病原型 1 菌株，是否因田間 A2 配對型菌株的出現，而與 A1 配對型菌株行有性繁殖，增加後代菌株之遺傳物質的多樣化，如標的基因發生改變或突變，進而逐漸導致田間菌株對滅達樂的感受性降低，未來可進一步探討。此外，根據前人研究顯示，A1 和 A2 配對型菌株對滅達樂的感受性差異不大^(1, 14)，與本研究結果相左。探討可能產生之原因為，1) A2 配對型菌株是近幾年由境外移入的菌株，不同地理區域的菌株對滅達樂的感受性有差異，因此對臺灣所使用的殺菌劑滅達樂較敏感；2) 本次實驗所供試的 A2 配對型菌株數目太少，可能無法完全反應田間的情形，上述二點未來都須進一步釐清。未來相關研究可以持續蒐集不同地理區域 A2 配對型菌株以作更進一步的探討。另本研究於實驗室平板上測試滅達樂對臺灣 *P. capsici* 菌株菌絲生長抑制，評估番椒疫病菌的抗感性，而於田間環境下番椒疫病菌株對滅達樂抗感性是否表現相同，有待進一步測試實際田間環境下施用滅達樂防治番椒疫病的效果。

引用文獻 (LITERATURE CITED)

1. Ann, P. J., Chiu, Y. S., Wong, I. T., and Tsai, J. N. 2010.

- Replacement of A1 by A2 mating type (or homothallic strain with A2 tendency) of *Phytophthora capsici* in Taiwan and comparison of the difference between both mating types. *Plant Pathol. Bull.* 19: 78-79. (Abstract in Chinese)
2. Ann, P. J., Huang, T. C., and Wong, I. T. 2002. Identification of *Phytophthora species* on *Piper betle* and *P. longum* in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 11: 179-188. (in Chinese with English abstract)
 3. Chen, C. H., Wang, T. C., Black, L., Sheu, Z. M., Perez, F., and Deahl, K. 2009. Phenotypic and genotypic changes in the *Phytophthora infestans* population in Taiwan-1991 to 2006. *J. Phytopathol.* 157: 248-255.
 4. Chung, W. S. and Black, L. L. 1997. Evidence for pepper pathotypes in *Phytophthora capsici* in Taiwan. *Phytopathology* 87, s19. (Abstract)
 5. Cobelli, L., Collina, M., and Brunelli, A. 1998. Occurrence in Italy and characteristics of lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*) resistant to phenylamide fungicides. *Eur. J. Plant Pathol.* 104: 449-455.
 6. Davidse, L. C., Looijei, D., Turkensteen, L. J., and Van Der Wal. 1981. Occurrence of metalaxyl-resistant strains of potato blight in Dutch potato field. *Neth. J. Plant Pathol.* 87: 65-68.
 7. Fei, W. C., Wang, Y. M., Chen, F. C., Lin, C. M. and Lee, Y. H. 2010. *Plant Protection Manual*. Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung, Press. 963 pp.
 8. Gisi, U. 1996. Resistance to phenylamide fungicides: A case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. *Annu. Rev. Phytopathol.* 34: 549-572.
 9. Ham, J. H., Hwang, B. K., Kim, Y. J., and Kim, C. H. 1991. Differential sensitivity to metalaxyl of isolates of *Phytophthora capsici* from different geographic areas. *Korean J. Plant Pathol.* 7: 212-220.
 10. Herzog, J., and Schüepp, H. 1985. Haustorial development test to characterize metalaxyl resistance and genetic variability in *Plasmopara viticola*. *EPPO Bull.* 15: 431-435.
 11. Hwang, B. K., Kim, Y. J., and Kim, C. H. 1996. Differential interactions of *Phytophthora capsici* isolates with pepper genotypes at various plant growth stages. *Eur. J. Plant Pathol.* 102: 311-316.
 12. Jyan, M. H., Ann, P. J., Tsai, J. N., Hsih, S. D., Chang, T. T., and Liou, R. F. 2004. Recent occurrence of *Phytophthora infestans* US-11 as the cause of severe late blight on potato and tomato in Taiwan. *Can. J. Plant Pathol.* 26: 188-192.
 13. Koenraadt, H., Somerville, S. C., and Jones, A. L. 1992. Characterization of mutations in the beta-tubulin gene of benomyl-resistant field strains of *Venturia inaequalis* and other plant pathogenic fungi. *Phytopathology* 82: 1348-1354.
 14. Lamour, K. H. and Hausbeck, M. K. 2000. Mefenoxam insensitivity and the sexual stage of *Phytophthora capsici* in Michigan cucurbit fields. *Phytopathology* 90: 396-400.
 15. Liao, L. S. 2005. *Practical Pesticide*. Taichung, Taiwan, Te Li Composite Ind. Ent. and Che Fac Press, 1311 pp. (in Chinese)
 16. Liu, D., Coloe, S., Baird, R., and Pedersen, J. 2000. Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. *J. Clin. Microbiol.* 38: 471.
 17. Lu, L. S. and Kao, C. W., 1981. Pepper blight induced by *Phytophthora capsici*. *Plant Prot. Bull.* 23: 59-66. (in Chinese with English abstract)
 18. Oh, J. S. and Kim, C. H. 1992. Varying sensitivity to metalaxyl of Korean isolates of *Phytophthora capsici* from red pepper fields. *Korean J. Plant Pathol.* 8: 29-33.
 19. Parra, G. and Ristaino, J. B. 2001. Resistance to mefenoxam and metalaxyl among field isolates of *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight of bell pepper. *Plant Dis.* 85: 1069-1075.
 20. Reuveni, M., Eyal, H., and Cohen, Y. 1980. Development of resistance to metalaxyl in *Pseudoperonospora cubensis*. *Plant Dis.* 64: 1108-1109.
 21. Ristaino, J. B. and Johnston, S. A. 1999. Ecologically based approaches to management of Phytophthora blight on bell pepper. *Plant Dis.* 83: 1080-1089.
 22. Sator, M. M. 1967. Rape seed extract agar: A new medium for production and detection of oospores of heterothallic species of *Phytophthora*. *Mycologia* 59: 161-166.
 23. Schwinn, F. and Staub, T. 1995. Oomycete fungicides. Pages 323-346 in: *Modern Selective Fungicides, Properties, Applications, Mechanisms of Action*. H. Lyr eds. Gustav Fischer Verlag, New York.
 24. Sheu, Z. M., Chen, J. R., and Wang, T. C. 2009. First Report of the A2 mating type of *Phytophthora capsici* infecting peppers (*Capsicum annuum*) in Taiwan. *Plant Dis.* 93: 548. (Abstract)
 25. Sheu, Z. M., Ho, F. I., Chen, Y. S., Wang, C. W., Wang, T. C., and Black, L. L. 2004. Characterization of *Phytophthora capsici* isolates associated with pepper Phytophthora blight in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 13: 341. (Abstract in English).
 26. Silvar, C., Duncan, J. M., Cooke, D. E. L., Williams, N. A., Diaz, J., and Merino, F. 2005. Development of specific PCR primers for identification and detection of *Phytophthora capsici* Leon. *Eur. J. Plant Pathol.* 112: 43-52.
 27. Silvar, C., Merino, F., and Díaz, J. 2006. Diversity of *Phytophthora capsici* in northwest Spain: Analysis

- of virulence, metalaxyl response, and molecular characterization. *Plant Dis.* 90: 1135-1142.
28. Walker, S. J. and Bosland, P. W. 1999. Inheritance of *Phytophthora* root rot and foliar blight resistance in pepper. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124: 14-18.
29. Wang, T. C. 1998. Vegetable disease screening. Pages 91-106 *in*: the proceeding of symposium on vegetable Breeding Special Issue. Taiwan Agricultural Research Institute Pub. Taichung, ROC.
30. Wang, T. C., Chen, C. H., Perez, F., and Deahl, K. L. 2005. Monitoring *Phytophthora infestans* in Taiwan for population shifts that may affect late blight management strategies. Pages 194-201 *in*: the proceeding of Symposium on Taiwan-America agricultural cooperative projects. Agricultural Research Institute pub., Council of Agriculture, Taiwan, R.O.C.
31. White, J. G., Stanghellini, M. E., and Ayoubi, L. M. 1988. Variation in the sensitivity to metalaxyl of *Pythium* spp. isolated from carrot and other sources. *Ann. Appl. Biol.* 113: 269-277.
32. Wigglesworth, M. D., Reuveni, M., Nesmith, W. C., Siegel, M. R., Ku`c, J., and Juarez, J. 1988. Resistance of *Peronospora tabacina* to metalaxyl in Texas and Mexico. *Plant Dis.* 72: 964-967.

ABSTRACT

Chen, J. R.^{1,2}, Wang, T. C.², and Chung, W. H.^{1,3} 2010. Evaluation on metalaxyl sensitivity of *Phytophthora capsici* isolates collected from pepper in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 19: 271-279 (¹ Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan.; ² AVRDC-the world vegetable center P.O. Box 42, Shanhua, Tainan 74199, Taiwan; ³ Corresponding Author, E-mail: wenchung@nchu.edu.tw; Fax: +886-4-2285-4292)

Phytophthora blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* Leon is one of the major limiting factors of pepper production in Taiwan. Application of fungicides was the mainly control strategy. Metalaxyl and related products have been reported as one of fungicides for controlling pepper blight caused by *P. capsici*. However, the metalaxyl-resistant isolates of *P. capsici* have been detected out of Taiwan. Although the metalaxyl is not recommended to use for controlling pepper blight in Taiwan, the District Agricultural Research and Extension Station of Taiwan often recommend the metalaxyl for controlling Phytophthora blight on pepper. Thus, the informations of sensitivity of *P. capsici* to metalaxyl are important for managing pepper blight. The objective is to examine the sensitivity of *P. capsici* to metalaxyl in Taiwan. Moreover, the sensitivities of different pathotype or mating type isolates to metalaxyl were also compared. AVRDC – The world vegetable center collected 171 isolates of *P. capsici* from important pepper production areas in Taiwan since 1987 to 2008. There were A1 mating type of 118 isolates collected in 1987-2007, 15 of 53 isolates were A2 mating type collected in 2008. Based on *in vitro* assessment of metalaxyl sensitivity of *P. capsici* isolates, 64.9 % (111/171) of the isolates were classified as sensitive, 19.3 % (33/171) as intermediate, and 15.8 % (27/171) were resistant to metalaxyl. The isolates collected in 1987-2006, 2007 and 2008 were compared and the results showed that the resistance to metalaxyl was increased from 0% (0/104), 28.6% (4/14) to 43.4% (23/53), respectively. In addition, 57.1% (8/14) isolates of pathotype 1 were resistant to metalaxyl, and the resistant isolates of pathotype 2 and 3 were 6.1% (3/49) and 14.8% (16/108), respectively. Result was pathotype 1 more resistance on metalaxyl. Furthermore, the sensitivity of different mating type collected in 2008 to metalaxyl showed that the resistant ratios of A1 mating type isolates to metalaxyl were 51.7-100.0% and A2 isolates to metalaxyl were 0.0-66.7%. Verification A2 mating type isolates were more sensitive to metalaxyl than A1 isolates. The number of *P. capsici* resistance to metalaxyl was substantially increased and appearance of A2 mating type may lead to difficulties of disease control in the future.

Keywords: *Phytophthora capsici*, pathotype, A1 and A2 mating type, metalaxyl, sensitivity