

敏豆苗腐病菌 *Pythium myriotylum* 之耐高溫性及對 5 種殺菌劑之感受性評估

梁瑩如^{1*}、廖芳瑾¹、羅涵繡²

摘要

梁瑩如、廖芳瑾、羅涵繡。2023。敏豆苗腐病菌 *Pythium myriotylum* 之耐高溫性及對 5 種殺菌劑之感受性評估。臺灣農藥科學 15 : 55-69。

敏豆為我國中低海拔山區夏季重要的蔬菜作物，在 2021 年於南投信義地區試驗田首次分離發現新興腐黴病菌 *Pythium myriotylum* 對敏豆造成苗腐病害。經實驗室分離純化病原菌後，以科霍氏法則 (Koch's postulates) 確認其病原性，並進一步測試其基本性狀與對國內各作物卵菌綱病害防治用藥之感受性。結果發現該病原菌株在 35°C 時生長速度最快，且於 35°C 也有助於對敏豆苗期之侵染速率，但 40°C 時，菌絲生長速率略降。此外以目前推薦防治卵菌綱 5 種藥劑包括：亞托敏、普拔克、依得利、達滅芬及賽座滅等，對常見因腐黴病原菌 (*Pythium* spp.) 引起之苗腐病與本次分離之病原菌進行實驗室藥劑感受性評估試驗，結果顯示上述 5 種藥劑中以依得利對病原菌的抑制效果最佳，在推薦稀釋倍數下可達 100% 抑制率，而其餘 4 種藥劑則對供試病原菌有不同的感受性，如達滅芬對此菌菌絲生長抑制率皆低於 20%，顯示所測驗之病原菌可能對部分藥劑具有抗性。未來如要進一步瞭解田間病原菌對現行藥劑之感受性情形，應進一步擴大收集不同地區病原菌菌株進行評估。

關鍵詞：敏豆、農藥、感受性、依得利、耐高溫性

接受日期：2023 年 9 月 22 日

* 通訊作者。E-mail: yrliang@acri.gov.tw

¹ 臺中市 農業部農業藥物試驗所

² 臺北市 國立臺灣大學 植物病理與微生物學研究所 研究生

前言

敏豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) 又稱菜豆、四季豆，是一種廣泛種植於全臺且終年有產的豆菜類作物，根據行政院農業委員會 (農委會) 農糧署 2021 年農情統計^(2, 3)，敏豆在臺種植面積達 1,364 公頃，生產面積僅次於毛豆，各地產期視季節而定，夏季產區多以原鄉部落的中低海拔山區為主，此時中低海拔山區的氣候較平地涼爽，有利於敏豆栽培。在敏豆健康管理上，由於其對土壤鹽分的耐受性較差，易產生連作障礙⁽⁷⁾，造成植株本身發育不良、產量下降，有利於土壤傳播性病害的流行，且敏豆為連續性採收作物，在進入採收期後用藥有嚴格規定，未依安全採收期用藥常有農藥殘留檢測不合格之案例^(4, 8, 9)，因此如何研發安全、有效的敏豆害物防治資材並進行綜合防治管理，一直是各農業試驗改良場所專家學者及農民們努力的目標。

在病害發生上，敏豆幼苗期主要受限於由土傳性病原引起的苗腐病 (root rot diseases)，造成苗株根系腐爛、莖腐、萎凋、發育不良、葉黃化等症狀，發病嚴重者甚至倒伏死亡，由於引起病害的病原種類繁多，如立枯絲核菌 *Rhizoctonia solani* Kuhn、*Fusarium solani* Sacc、*Pythium aphanidermatum* Fitzp 等⁽¹⁾，病徵在外觀診斷上難以區別其差異，由 *Phytophthora* spp. 引起的幼苗疫病 (Phytophthora blight) 也能產生相似的徵狀，因此田間

防治用藥的選擇上往往存在風險⁽⁶⁾，除此之外，由 *Sclerotium rolfsii* Sacc 引起的白絹病 (Southern blight) 也會造成苗株及成株死亡，另敏豆發育、開花及採收期，則可能發生由 *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* Kendr & Snyder 引起的萎凋病⁽⁵⁾，而在採收期葉部或果莢也會發生病害如：角斑病 (angular leaf spot)、銹病 (rust)、炭疽病 (anthracnose) 等⁽¹¹⁾。

在 2021 年 6 月中旬，於南投信義鄉敏豆試驗田發現約 600 株的敏豆中，有 15% 的植株發生爛根的現象，經由罹病組織分離後，依菌落型態初步研判其為腐黴菌屬 (*Pythium* sp.)，並透過分子及型態鑑定確認該菌為 *Pythium myriotylum* Drechsle⁽¹²⁾。根據文獻資料顯示，*P. myriotylum* 在國內可於生薑、落花生、迷迭香、薰衣草、水耕蔬菜等作物上造成危害⁽¹⁾，而敏豆上造成病害之腐黴菌屬僅 *P. aphanidermatum* 被證明具病原性，且不知目前國內所登記的防治藥劑對敏豆 *P. myriotylum* 生長抑制的效果，故本報告之目的在於 (一) 確認 *Pythium myriotylum* 因不同溫度所造成的生長差異及其在敏豆上發病的條件，(二) 評估國內所登記卵菌綱防治藥劑對敏豆上所發生之 *P. myriotylum* 生長抑制的效果，供農民在選擇防治用藥之參考。

材料與方法

一、菌株來源與培養

自 2021 年 4 月中旬於南投縣信義鄉敏豆試驗田中，發現有部分植株產生失水萎凋、莖腐與爛根病徵⁽¹²⁾，將罹病植株取樣以夾鏈袋攜回藥毒所後，以消毒過之刀片切取罹病組織浸泡在 0.6% 次氯酸鈉水溶液進行表面消毒 5 min，並以無菌蒸餾水潤洗 2 次，置於 2% 水瓊脂培養基 (water agar, WA, Difco, Difco, Detroit, MI) 平板上，再移入 28°C 定溫生長箱 (Scilab Instruments, Taipei, TW) 黑暗培養，並定時取出觀察菌落產生。待菌落產生後取單一菌絲尖端培養於 10V8 蔬菜汁瓊脂培養基 (100% V8-juice, Campbell, NJ, USA) (calcium carbonate, CaCO₃, Katayama Chemical, Osaka, JP) (10% V8-juice, 2% agar, 500ppm CaCO₃, 10V8) 進行純化，並將所得菌株保存於礦物油 (100% mineral oil, USB Corporation, Cleveland, USA) 中以供後續研究之使用，實驗室登錄菌株編號為 S13，另一藥劑試驗之供試菌株由農委會農業試驗所植物病理組提供，為造成胡瓜根腐病之 *Pythium aphanidermatum*，菌株編號為 Py169，上述 2 供試菌株皆置於 10V8 培養基、28°C 定溫生長箱黑暗培養 1-2 天後，以 0.6 cm 打孔器切取培養基上最外圍菌絲進行後續試驗。

二、菌株的形態觀察

將 *P. myriotylum* S13 分別在馬鈴薯瓊脂培養基 (potato dextrose agar, PDA, Difco, Detroit, MI)、10V8 培養基，於

28°C 定溫生長箱黑暗培養 2-7 天後，記錄其菌落形態，並切取 5×5×2 mm³ 的菌絲塊置於培養皿內，再加入約 8 mL 一次去離子水，在 25°C 定溫生長箱、24 hr 光照處理後，利用光學顯微鏡 (Olympus BX60, Olympus Taiwan, Taichung, TW) 觀察有無孢囊及卵孢子生成。

三、*Pythium myriotylum* S13 之病原性測定

以不製造傷口方式，將 *P. myriotylum* S13 之菌絲塊接種於僅長出子葉約 1 週齡敏豆苗莖基部 (白仁敏豆，豐田種子社)，以棉花包裹其外並以透明塑膠袋套袋保濕，於 25°C、12 hr 光照/12 hr 黑暗培養一天後開袋，於相同生長條件繼續培養，接種後一周內觀察及記錄其發病情況，健康處理組則以 10V8 培養基接種，每處理 6 重複。

四、*Pythium myriotylum* S13 菌株之分子鑑定與親緣關係

以核糖核酸內轉錄間隔區 (internal transcribed spacer, ITS) 及粒線體基因組所編碼的細胞色素 c 氧化酶亞基 I 序列 (cytochrome c oxidase subunit I, *CoxI*) 作為分子鑑定依據⁽¹⁵⁾，並分別委託源資國際生物科技股份有限公司 (Tri-I Biotech Inc., New Taipei) 及波仕特生物科技股份有限公司 (Protech Technology Enterprise Co.,

Ltd., Taipei) 進行序列增幅及定序。以核酸萃取套組 (Kaneka Easy DNA Extraction Kit version 2, Takasago, JP 及 EasyExtract DNA Extraction Solution, Protech, TW) 抽取 DNA, 並進行聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 增幅序列, 使用之引子為 ITS-4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 及 ITS-5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')、OomCoxI-Levup (5'-TCAWCWMGATGGCTTTTTTCAAC-3') 及 Fm85mod (5'-RRHWACKTGACTDATRATACCAAA-3')

(¹⁶)。PCR 引子黏合的溫度分別為 58°C (ITS) 及 55°C (*CoxI*)。

利用軟體 Vector NTI (版本 11.5) 將 ITS 及 *CoxI* 序列接合, 再使用軟體 MEGA-X (版本 10.1.8), 以鄰接法 (Neighbor-joining tree) 建構演化樹, 建構參數為 Bootstrap method 1000/Kimura 2-parameter model, 使用之序列取自登錄於美國生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 網站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 之 GenBank 資料庫 (表一)。

表一、本研究中所使用之 *Pythium* 屬菌株基因及其序列長度

Table 1. The genes and length of different *Pythium* spp used in this study.

Code	Scientific name	<i>COXI</i> gene bank no. ¹⁾	Length (bp)	<i>ITS</i> gene bank no. ¹⁾	Length (bp)	
1	<i>Pythium myriotylum</i> S13	OK513021	727	MZ994503	837	this study
2	<i>Pythium myriotylum</i> SK5	LC620529	680	LC619776	833	
3	<i>Pythium insidiosum</i> Pi53	LC553018	661	LC199889	851	
4	<i>Pythium aphanidermatum</i> PNP2	LC500696	684	LC500065	723	
5	<i>Pythium coloratum</i> BR176	HQ708552	680	HQ643506	817	
6	<i>Pythium afertile</i> Lev2066	HQ708463	680	HQ643416	805	
7	<i>Pythium sulcatum</i> BR653	HQ708885	680	HQ643844	816	
8	<i>Pythium dissotocum</i> DAOM229134	HQ708575	680	HQ643529	794	
9	<i>Pythium helicoides</i> Chen 250	MF984147	673	MF984110	753	
10	<i>Pythium ultimum</i> var. <i>ultimum</i> BR229	HQ708983	680	HQ643942	857	
11	<i>Pythium irregulare</i> SDT-HXY	OM326805	737	OM327623	891	
12	<i>Pythium spinosum</i> Chen 237	MF984173	678	MF984136	945	
13	<i>Pythium oligandrum</i> BR252	HQ708760	680	HQ643716	805	
14	<i>Pythium periplocum</i> CBS28931	HQ708784	680	HQ643743	817	
15	<i>Pythium acanthicum</i> BR0500	HQ708459	680	HQ643412	807	
16	<i>Pythium tardicrescens</i> Lev1534	HQ708896	680	HQ708896	803	
17	<i>Pythium diclinum</i> CBS66479	HQ708570	680	HQ643524	817	
18	<i>Pythium monospermum</i> BR1031	HQ708743	680	HQ643699	731	

¹⁾ 由 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> 中下載序列 (gene bank no) 及片段 (bp) 進行分析。

五、*Pythium myriotylum* S13 最適生長溫度試驗

將 *P. myriotylum* S13 之菌絲塊置於 20 ml 定量 10V8 培養基上，在 10、15、20、25、30、35、40°C 下定溫生長箱黑暗培養，分別於生長 8、16、24 hr 後記錄菌絲生長半徑，每處理 4 重複，並計算各溫度下每小時之平均生長速率。

六、*Pythium myriotylum* S13 最適發病溫度試驗

在約 2 週齡的敏豆苗莖基部以針頭戳刺一傷口，並將 *P. myriotylum* S13 菌絲塊接種於其上，以棉花包裹其外並以透明塑膠袋套袋保濕，在 15、25、35°C 下之定溫生長箱中以 12hr 光照/12hr 黑暗培養 3 天後開袋，並記錄其發病狀況及罹病度，每處理 6 重複，健康處理組則以 10V8 培養基接種，每處理 6 重複。

罹病級數分為 5 級，分別為 0 級：植株健康無發病；1 級：莖部出現褐化斑點，病斑延莖部蔓延範圍 <2 cm；2 級：莖部出現褐化斑點，病斑延莖部蔓延範圍 >2 cm；3 級：莖部褐化並出現明顯縊縮；4 級：植株莖腐、倒伏死亡。所得之數據以下列公式計算其罹病度⁽¹⁷⁾：

罹病度 (disease severity, %) =

$$\frac{\Sigma(\text{罹病級數} \times \text{該級數之株數})}{\text{該處理總株數} \times 4} \times 100$$

七、藥劑試驗

依據藥毒所「植物保護資訊系統」所登錄⁽⁴⁾，以目前國內各作物卵菌綱病害防治用藥，選擇以單點作用機制及可用於豆科作物之藥劑為主要試驗藥劑，供試藥劑為 23% 亞托敏水懸劑 (azoxystrobin, SC, 興農) 推薦稀釋倍率 1,000 倍、9.4% 賽座滅水懸劑 (cyazofamid, SC, 台灣石原) 推薦稀釋倍率 3,000 倍、50% 達滅芬水懸劑 (dimethomorph, SC, 嘉泰) 推薦稀釋倍率 4,000 倍、25% 依得利乳劑 (etridiazole, EC, 聯合農化) 推薦稀釋倍率 1,500 倍、66.5% 普拔克溶液 (propamocarb, SL, 青山) 推薦稀釋倍率 400 倍，共 5 種藥劑，使用濃度以推薦稀釋倍率 0.5 倍、1 倍、2 倍添加於 10V8 培養基中進行試驗 (表二)。

製備定量 20 mL、添加不同稀釋倍率藥劑之 10V8 培養基，並將 *P. myriotylum* S13 及 *P. aphanidermatum* Py169 的菌絲塊置於其上，每處理 4 重複，以菌絲塊置於未添加藥劑之 10V8 培養基培養上，以其菌絲生長狀態作為對照處理，於 28°C 定溫生長箱黑暗培養一天後，記錄菌絲生長直徑，所得之數據以下列公式計算其菌絲生長抑制率：

抑制率 (inhibition rate, %) =

$$[1 - (\text{處理組菌落直徑} / \text{對照處理組菌落直徑})] \times 100$$

表二、本研究中所使用之殺菌劑種類

Table 2. Fungicides used in this study

Fungicide	Formulation	FRAC code ¹⁾	Concentration (mg a.i./L)			Labeled for kidney beans ²⁾	PHI ³⁾
			0.5X rate	1X rate	2X rate		
Azoxystrobin	23% SC	11; C3	115.0	230.0	460.0	Yes	14
Cyazofamid	9.4% SC	21; C4	15.7	31.3	62.7	No	No
Dimethomorph	50% SC	40; H5	62.5	125.0	250.0	Yes	6
Etridiazole	25% EC	14; F3	83.3	167.7	333.3	Yes	- ⁴⁾
Propamocarb	66.5% SL	28; F4	831.3	1,662.5	3,325.0	Yes	-

¹⁾Fungicide resistance action Committee (FRAC, 2022).

²⁾Registered for controlling kidney beans diseases in Taiwan.

³⁾Pre-harvest Interval.

⁴⁾Use only during the seedling period.

八、統計分析

所得數據使用 SPSS Statistics 12.0 (IBM, USA) 進行顯著性分析 (one-way analysis of variance, ANOVA)，若不同處理間差異達 5% 顯著水準 ($p < 0.05$)，再以 Tukey's Studentized Range Test (HSD) 進行事後檢定 (Post-hoc Analysis)，最後將分析結果及各實驗數據經由 Microsoft Office Excel 2016 軟體繪製圖表。

結果

一、*Pythium myriotylum* S13 菌株之形態

P. myriotylum S13 在 PDA 培養基上呈白色、菌絲綿密、略帶斑駁狀菌落，在 10V8 培養基上則斑駁不明顯，有許多氣

生菌絲產生，在 10V8 培養基培養 5 天，再經由水及光照處理後，以光學顯微鏡觀察，可見 10V8 培養基上產生許多褐色球形卵孢子 (oospore)，及產生少量褐色棒狀孢囊 (lobulate sporangium)，並根據 Ho 等⁽¹⁰⁾ 人的描述，*P. myriotylum* S13 的型態結構與 *P. myriotylum* 相似。

二、*Pythium myriotylum* S13 之病原性測定

以無傷口方法將 S13 菌絲塊接種於 1 週齡敏豆苗上，在接種 1 天後可見部分植株產生失水萎凋現象，莖基部接種處有褐化、水浸狀病斑產生，發病嚴重者在接種 3 天內即倒伏死亡，在洗淨根部土壤後，可見罹病株根系產生褐化、腐爛病徵，死亡株根系明顯受到破壞。將病株依前述相同方式重新分離純化及再次進行分子鑑定後，可確認該致病菌株為 *Pythium*

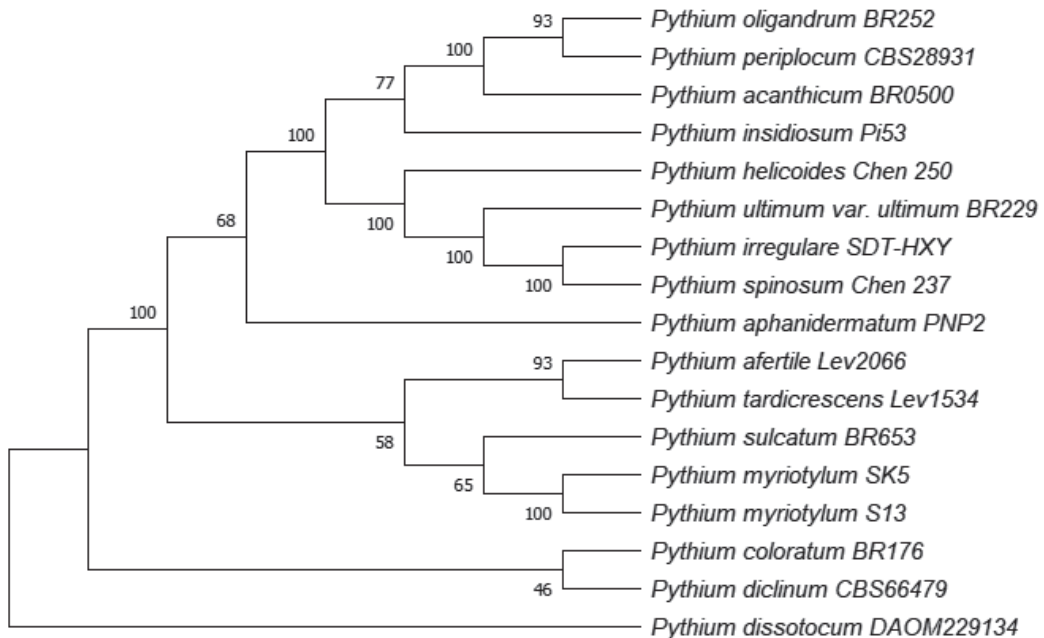
myriotylum，並完成柯霍式法則及確認 *P. myriotylum* S13 之病原性。

三、*Pythium myriotylum* S13 分子鑑定與親緣關係

自 GenBank 取得 16 株 *Pythium* spp. 的 ITS 及 *Cox1* 序列接合後，以鄰接法 (neighbor-joining tree) 與本試驗之 *P. myriotylum* S13 建構演化樹，由 17 株菌株之親緣關係圖顯示，*P. myriotylum* S13 與 *P. myriotylum* SK5 屬同一分類群 (圖一)。

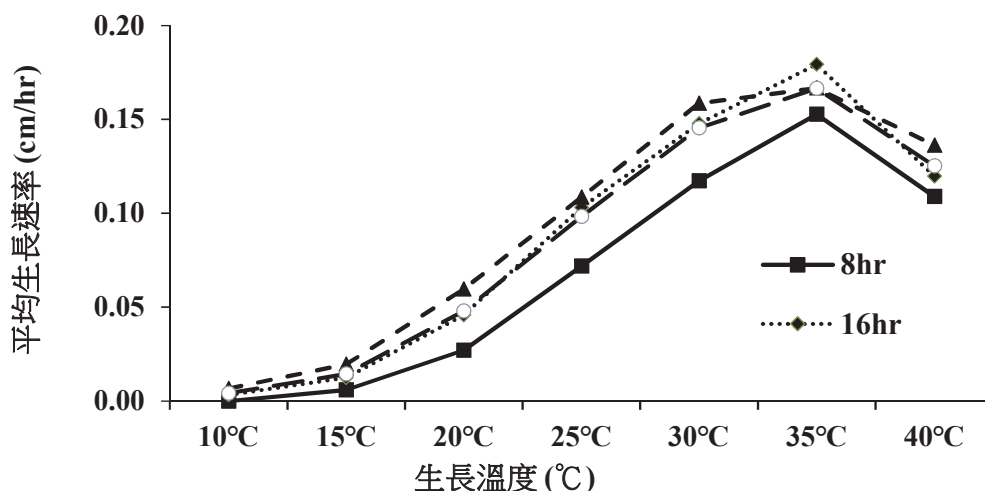
四、不同溫度對 *Pythium myriotylum* S13 菌絲生長之影響

Pythium myriotylum S13 在低溫環境下生長速率緩慢，在 20°C 以上皆可正常生長，各時間點 (8、16、24 hr) 的菌絲生長長度量測，均以 35°C 為最適生長溫度，在 40°C 時各時間點所量測之生長速率均呈現下降狀態，但仍較 25°C 時生長速率快，顯示 *P. myriotylum* S13 在高溫時有較佳的生長能力 (圖二)。



圖一、結合 ITS 及 *Cox 1* 的基因序列建構之 *P. myriotylum* S13 和 16 株 *Pythium* 屬分離株之親緣樹。

Fig. 1. Phylogenetic tree of *P. myriotylum* S13 in this study and 16 isolates *Pythium* spp. from GenBank.



圖二、不同溫度對 *Pythium myriotylum* S13 菌絲生長之影響。

Fig. 2. Effects of different temperatures on mycelia growth of *Pythium myriotylum* S13.

五、不同溫度對 *Pythium myriotylum* S13 侵染植株之影響

於 15、25、35°C 培養環境下，接種 *P. myriotylum* S13 的 2 週齡敏豆之罹病度分別為 $33.3 \pm 0.1\%$ 、 $37.5 \pm 0.0\%$ 、 $75.0 \pm 0.1\%$ (表三)，15°C 及 25°C 培養條件下罹病度無顯著差異，而培養於 35°C 接種病原之植株，在三天內產生植株根基部褐化縊縮 (2 株) 及倒伏死亡 (3 株) 之現象，相較於其他溫度處理有顯著差異，而健康對照 (Ctrl) 皆無病徵產生，顯示高溫有助於病原菌侵染植株，且在 35°C 生長環境條件下，敏豆除了受到病原菌侵染速率提升外，亦產生高溫障礙而有葉燒之現象。

六、不同藥劑對 2 種菌株菌絲生長之影響

5 種藥劑對 *P. myriotylum* S13 及 *P. aphanidermatum* Py169 的生長抑制結果顯示 (圖三與四)，亞托敏在推薦稀釋倍率 (1X) 時皆無法達到 50% 的抑制率，需添加較高劑量 (在本試驗為 0.5X 稀釋) 才能有效抑制菌絲生長，且隨稀釋倍率的增加，亞托敏對 *P. aphanidermatum* Py169 生長抑制的效果相較於 *P. myriotylum* S13 更差。普拔克對 *P. myriotylum* S13 的抑制效果優於 *P. aphanidermatum* Py169，不同稀釋倍率對 2 者生長抑制的效果差異不明顯。而無論 10V8 培養基中添加依得利的稀釋倍率為 0.5 倍、1 倍、2 倍，均可對

2 菌株皆有 100% 的抑制效果。不同稀釋倍數的達滅芬對 *Pythium aphanidermatum* Py169 的抑制率均低於 20% (0.5X 稀釋之抑制率為 20%，1X 稀釋之抑制率為 18%，2X 稀釋之抑制率為 10%)，隨稀釋倍率提高，抑制效果更差，有劑量相關性。在賽座滅對 *P. myriotylum* S13 生長抑

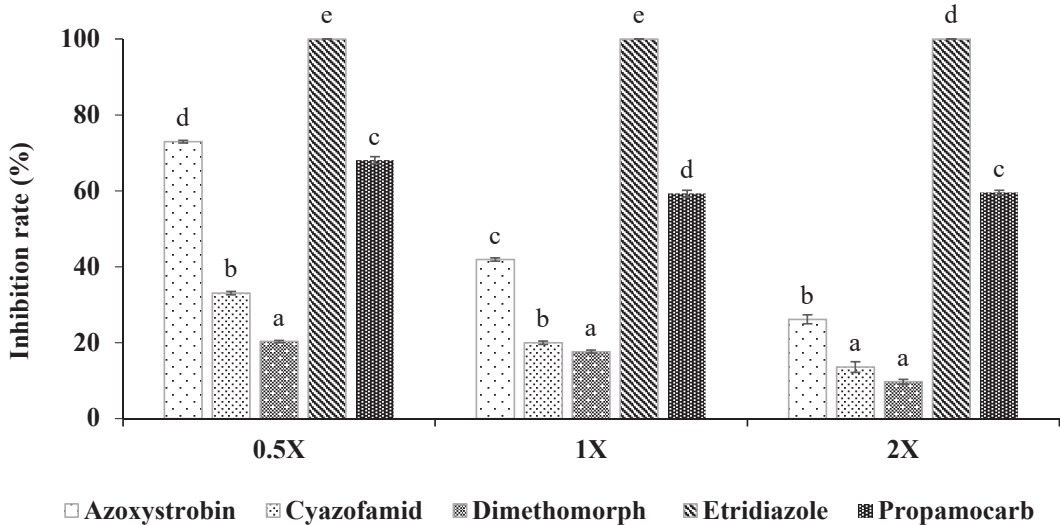
制，各稀釋倍率之抑制率均低於 20%，無劑量相關性；賽座滅對 *P. aphanidermatum* Py169 生長抑制在 0.5X、1X 及 2X 稀釋倍率之生長抑制率 33.1、20.0 及 13.6%，其對 Py169 菌株有劑量相關性 (圖三及圖四)。

表三、敏豆在不同溫度接種 *P. myriotylum* S13 之罹病度結果

Table 3. The disease severity of inoculated with *P. myriotylum* S13 on kidney beans at different temperatures

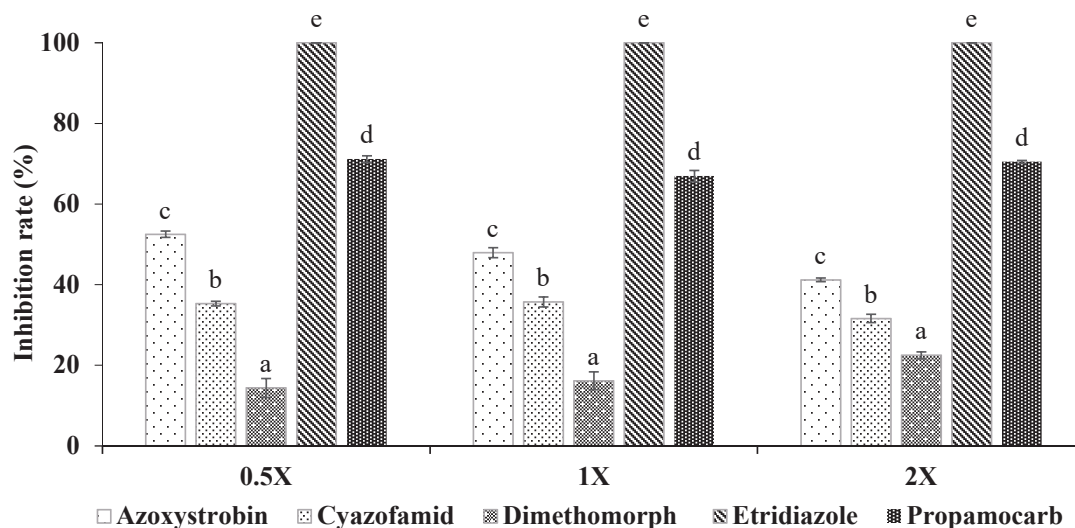
Temperature	15°C	25°C	35°C
Disease severity	33.3 ± 0.1 b	37.5 ± 0.0 b	75.0 ± 0.13 a

Mean ± SD values of different temperature treatments with same letter are not significantly different ($p < 0.05$)



圖三、不同稀釋倍率藥劑對 *Pythium myriotylum* S13 菌絲生長的抑制效果。

Fig. 3. Inhibitory effects of fungicides with different dilution on the mycelial growth of *Pythium myriotylum* S13.



圖四、不同稀釋倍率藥劑對 *Pythium aphanidermatum* Py169 菌絲生長的抑制效果。

Fig. 4. Inhibitory effects of fungicides with different dilution on mycelia growth of *Pythium aphanidermatum* Py169.

討論

腐黴菌屬 (*Pythium* spp.) 為土壤傳播性病原，可藉由卵孢子在田間殘存，待環境適合適時，由卵孢子直接侵染或間接產生游走孢子隨土壤水分擴散而感染植株，因此一般建議防治 *Pythium* spp. 主要著重於田間栽培管理及用藥防治為主，如避免田區淹水可減緩 *Pythium* spp. 大規模流行。本次在南投信義地區所分離鑑定 *P. myriotylum* S13 引起的敏豆苗腐病好發於敏豆苗期，但歷年夏季平均溫度升高，而使 *Pythium* spp. 造成病害發生，甚至侵染成株導致成株死亡的威脅也應注意^(11, 15)。

P. myriotylum 被發現可在多種蔬菜作

物上造成根腐病，已知國內所記載之寄主有落花生、菸草、迷迭香及生薑等⁽¹⁾，這是國內第一次報導 *P. myriotylum* 在敏豆上危害⁽¹²⁾，由本篇試驗結果可知 *P. myriotylum* S13 在高溫 (35°C) 環境條件的生長及致病發生的能力最強，顯示本病原菌之耐高溫特性，且高溫對敏豆造成的生理障礙可能加速病株發病的速度，在 25°C 時不同週齡的敏豆受到 *P. myriotylum* 侵染所導致的病徵及發病速度不同，如何針對敏豆該類連續採收作物田間進行 *P. myriotylum* 的防治管理策略有必要更進一步評估。每一種作物與病原菌間的交互作用都有一個最適的發病溫度，而目前全球氣溫上升的趨勢，可能會影響作物受特定病原菌感染的分布狀態，使得耐高溫的病原菌有可能更嚴重或更頻繁的發生⁽¹³⁾。

例如自 2000 年來因氣溫升高以來，更容易發生新植物病害，且在短短幾年內就普遍發生⁽¹⁴⁾。

而本文分離出 *P. myriotylum* S13 之地點位處中低海拔山區，根據南投信義鄉氣象偵測站紀錄，在 2021 年 4 月信義鄉平均氣象溫度為 22°C，但日最高溫可達 32.7°C，在 5 月時最高溫達到 38°C，田區中約 15% 的植株受到病原菌的侵染，顯示氣候變遷可能導致高海拔地區的病原菌相改變。未來需加強對於該類耐高溫病原菌株的致病力分析及變異性研究，如不同寄主範圍或在高溫環境下因作物高溫生長障礙伴隨的複合病徵等，以評估病害爆發的風險，並推估該類病原菌族群結構的演變，以利病害防治之管理與用藥策略之擬定。

本次所選用的藥劑為根據植物保護資訊系統⁽⁴⁾之資料，分屬不同作用機制，希藉不同作用機制輪用，以延緩田間抗藥性菌株產生的機率。依得利 (FRAC: F3) 的作用機制主要是影響細胞膜通透性，該藥劑具系統移行性，容易被根吸收，因此對苗期作物或種子傳播之疫病或腐黴病具有良好的防治效果，在豆菜類也推薦於幼苗疫病之防治；亞托敏 (FRAC: C3) 為系統性藥劑，屬低毒廣效性殺菌，具接觸保護與治療效果，其作用機制為阻斷粒線體內細胞色素之電子傳遞鏈，故可抑制卵菌綱游走子發芽及菌絲生長；賽座滅 (FRAC: C4) 為局部系統性藥劑，主要作用在粒線體電子傳遞複合物 III 上的細胞

色素 bc1；達滅芬 (FRAC: H5) 為局部系統性藥劑，主要作用機制作用於纖維素合成酶而能抑制細胞壁合成；普拔克 (FRAC: F4) 為系統性藥劑，主要作用機制為影響脂肪酸之細胞膜通透性，進而能延緩菌絲生長、孢囊及游走孢子發育，影響細胞膜生合成。本次試驗結果顯示目前供試藥劑中以依得利 (FRAC: F3) 在實驗室中對 2 種 *Pythium* 病原菌防治效果最好。

由於敏豆連續採收的作物特性，使其在 *Pythium* spp. 防治藥劑的選擇上仍會因安全採收期而存有疑慮，儘管依得利在試驗中對 2 種病原菌生長抑制的效果優異，但其僅能施用於豆菜類苗期。亞托敏、賽座滅和達滅芬在實驗室培養試驗中對 2 種腐黴病菌的抑制效果較差，亞托敏在推薦稀釋倍數對 *P. myriotylum* S13 和 *P. aphanidermatum* Py169 菌絲生長抑制效果分別為 47.95% 與 41.92%；賽座滅在推薦稀釋倍數對 *P. myriotylum* S13 和 *P. aphanidermatum* Py169 菌絲生長抑制效果分別為 35.72% 與 20.0%；達滅芬對 *P. myriotylum* S13 和 *P. aphanidermatum* Py169 菌絲生長抑制率分別為 16.18% 和 17.63%，抑制生長率均低於 50%，推測國內卵菌綱病菌族群對賽座滅及達滅芬普遍在田間已具有抗性。由於未全面收集與分離田間腐黴菌病株進行試驗，本報告無法顯示田間實際狀態，然由本結果凸顯目前推薦藥劑在田間應用上，仍可能面臨無法有效防治由腐黴病原菌引起病害的風

險，應多輔導與協助農民正確用藥及如何進行綜合防治，以避免加速病原菌抗藥性之選汰壓力。

謝辭

本研究承蒙農業試驗所植物病理組黃晉興博士提供對照病原菌株，及科發基金計畫 MOST 111-3111-Y-225-001-1 補助，謹此致謝。

引用文獻

1. 曾顯雄、曾國欽、張清安、蔡東纂、嚴新富主編。2019。臺灣植物病害名彙。第 5 版。中華民國植物病理學會。臺中。329 頁。
2. 農業部農糧署。2021。農情調查資訊查詢。檢自 https://agr.afa.gov.tw/afa/afa_frame.jsp (Jun. 11, 2022)
3. 農業部。農業統計資料查詢。2021。檢自 <https://agrstat.moa.gov.tw/sdweb/public/maintenance/Announce.aspx> (Apr. 20, 2023)
4. 農業部農業藥物試驗所。植物保護資訊系統。檢自 <https://otserv2.tactri.gov.tw/ppm/> (Jun. 11, 2022)
5. 李宜欣、林宗俊、黃振文。2011。菜豆萎凋病菌之生物特性及其病原性。中華真菌學會會刊。26：7-21。
6. 林映秀、李敏郎、張瑞璋、黃慶文。2020。臺灣豆菜類蔬菜殘留違規用藥樣態分析與改善建議。臺灣農藥科學。8：85-100。
7. 郭俊毅。1995。豆類蔬菜產業之現況與展望。台灣蔬菜產業改進研討會專集，第 111-131 頁。臺中區農業改良場編印。彰化。
8. 呂惠鈴、徐慈鴻、黃慶文。2020。108 年度蔬菜農產品農藥殘留監測研究成果報告。行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所編印。臺中。120 頁。
9. 呂惠鈴、徐慈鴻、黃慶文。2021。109 年度蔬菜農產品農藥殘留監測研究成果報告。行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所編印。臺中。123 頁。
10. Ho, H. H. 2011. The genus *Pythium* in Taiwan (2)- an illustrated diagnostic key. Mycotaxon 116: 33-47.
11. Jin, Y. Z., Xiong, Y. N., Xu, C. J., Ren, J. L., Guo, Y. X., Zuo, Y. H., Zhang, Y. L., and Geng, X. Q. 2022. First Report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on kidney bean in China. Plant Dis. 106: 1531.
12. Liang, Y. R., and Liao, F. C. 2023. First report of *Pythium myriotylum* causing stem and root rot of kidney bean in Taiwan. Plant Dis. 107: 970.
13. Ma, L., Qiao, J., Kong, X., Zou, Y., Xu, X., Chen, X., and Hu, X. 2015. Effect of low temperature and wheat winter-hardiness on survival of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* under controlled conditions. PLOS One. 10: e0130691.

14. Milus, E. A., Kristensen, K., and Hovmøller, M. S. 2009. Evidence for increased aggressiveness in a recent widespread strain of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* causing stripe rust of wheat. *Phytopathology* 99: 89–94.
15. Robideau, G. P., De Cock, A. W. A. M., Coffey, M. D., Voglmayr, H., Brouwer, H., Bala, K., Chitty, D. W., Désaulniers, N., Eggertson, Q. A., Gachon, C. M. M., Hu, C. H., Küpper, F. C., Rintoul, T. L., Sarhan, E., Verstappen, E. C. P., Zhang, Y., Bonants, P. J. M., Ristaino, J. B., and Lévesque, C. A. 2011. DNA barcoding of oomycetes with cytochrome c oxidase subunit I and internal transcribed spacer. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 1002-1011.
16. Serrano, Y, Melero-Vara, J. M., Guirado, M. L., Segundo, E., and Gómez, J. 2008. *Pythium myriotylum*, a new pathogen of green beans in Spain. *Plant Pathol.* 57: 776.
17. You, M. P., Rensing, K., Renton, M., and Barbetti, M. J. 2017. Modeling effects of temperature, soil, moisture, nutrition and variety as determinants of severity of *Pythium* damping-off and root disease in Subterranean Clover. *Front. Microbiol.* 8: 2223.

Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* Linn.) Root Rot and the Susceptibility of thermo- tolerant *Pythium myriotylum* to Five Fungicides in Taiwan

Ying-Ru, Liang^{1*}, Fang-Chin Liao¹, Han-Xiu Luo²

Abstract

Liang, Y. R., Liao, F. C., and Luo, H. X. 2023. Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* Linn.) root rot and the susceptibility of thermo-tolerant *Pythium myriotylum* to five fungicides in Taiwan. Taiwan Pestic. Sci. 15: 55-69.

Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* Linn.) is an important summer vegetable crop in Taiwan. In 2021, *Pythium myriotylum* was first reported in Nantou County which caused root rot disease of kidney beans. The pathogen was isolated and determined to meet Koch's postulates, thereby confirming its pathogenicity. In this study, we evaluated the susceptibility of the *Pythium myriotylum* S13 isolate to fungicides commonly used to control Oomycetes. We determined that *Pythium myriotylum* (1) grew most rapidly and (2) exhibited higher kidney bean infection rates at 35°C. We also evaluated the susceptibility of *Pythium aphanidermatum* (also the causal agent of seedling rot) and *Pythium myriotylum* to fungicides currently used to control these pathogens (according to a literature review), including azoxystrobin, propamocarb, etridiazole, dimethomorph, and cyazofamid. Results showed that etridiazole had the best inhibitory effect, for example, the inhibition rate of mycelial growth of tested pathogens by dimethomorph is less than 20%, while the pathogens showed different susceptibilities to the other four fungicides. This finding indicates that *Pythium myriotylum* might have resistance against some fungicides. In conclusion, to better

Accepted: September 22, 2023.

* Corresponding author, E-mail: yrliang@acri.gov.tw

¹ Agricultural Chemicals Research Institute, Ministry of Agriculture, Taichung

² Department of Plant Pathology and Microbiology, National Taiwan University, Taipei

understand the susceptibility of *Pythium* spp. to currently-used fungicides, further study should be conducted on more isolates collected from different fields.

Key words: kidney bean, fungicides, susceptibility, etridiazole, thermo-tolerant