

陳玉麟教授榮退紀念活動暨近年來台灣農藥管理，  
研究與應用研討會(十二)

## 植物病原真菌抗藥性問題探討

楊秀珠

### Abstract

YANG, HSIU CHU. 1991. The Problem of Fungicides Resistance Occurred on the Phytopathogenic Fungi. Weed Science Bulletin 12:135 – 154.

Fungicide resistance can be defined as stable, inheritable adjustment by a fungus to fungicides, resulting in a less than normal sensitivity to the fungicides. Several terms such as cross resistance, multiple resistance, negative cross resistance, laboratory resistance, field resistance, double resistance are common use in the fungicide resistance. The following kinds of fungicides are reported to induce the pathogen to present the fungicide resistance: mercurials, aromatic hydrocarbons, dodine, pyrimidines, benzimidazoles, carboxamides, organic tin, organophosphates, ergosterol biosynthesis inhibitor, dichloroanilines, acylalanines, dicarboximides, phenylamides, dimethylation inhibitor and etc. The pathogens reported are *Cercospora beticola* Sacerdo, *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht.) Pollacci, *Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *allii* Matuo, *Mycosphaerella melonis* (Passerini) Chiu et Walker, *Corynespora melongenae* Takimoto, *Botrytis cinerea* Persoon, *Puccinia horiana* P. Henning, *Alternaria kikuchiana*, *Alternaria mali*, *Venturia pirina*, *Venturia inaequalis*, *Penicillium digitatum*, *Monilinia fructicola*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pyricularia oryzae*, *Fusarium moniliforme* and etc. The green mold of orange, anthracnose of grape, white rust of chrysanthemum, gray mold and anthracnose are reported to show the fungicides resistance in Taiwan. Mechanism of fungicide resistance can be separated into six

kind of function as followings.(1) Reduced affinity of target sites;(2) Reduced uptake or increased efflux of fungicide;(3) Detoxification; (4) Lack of conversion to active compound;(5) Compensation, such as increased production of target enzyme;(6) Circumvention of block through an alternate pathway. The measurement of fungicide resistance can be proceeded in vivo and in vitro. The capacity to infect the plant and the capacity to colonize the host tissue are used to measure the fungicide resistance in vivo commonly. The methods to measure the fungicide resistance in vitro are the capacity of mycelial growth, the capacity of sporulation, the capacity of germination of conidia, and the competition tests between resistant and sensitive strains. The reason for monitor of fungicide resistance is to investigate suspected cases of practical resistance, to predict the appearance of resistance problems, to check resistance management strategies, to track the progress of resistance with time, to guide fungicide selection at the local level, and to advance basic understanding. It is very important to determine the baseline for fungicide resistance before monitoring. The way to cope the fungicide resistance includes the following: new disease control agents, the use of mixtures, rotation of disease control agents, limitation of use, limiting use to specific times and areas, integrated control strategies, including cultural practices, resistant cultivars and forecasting.

摘要：殺菌劑經過一段時間使用後，可誘導其防治對象產生穩定之變化，因而造成明顯藥效降低之現象，此現象稱之為抗藥性。依其作用方式可定義為交互抗藥性、多重抗藥性、負交互抗藥性、室內抗藥性、田間抗藥性、雙重抗藥性。目前已知會誘導植物病原真菌產生抗藥性之殺菌劑有水銀劑(mercurials), aromatic hydrocarbons, 多寧 (dodine), pyrimidines, benzimidazoles, carboxamides, organic tin, 有機磷劑(organophosphates), ergosterol biosynthesis inhibitor, dichloroanilines, acylalanines, dicarboximides, phenylamides, dimethylation inhibitor等，而已知產生抗藥性之植物病原真菌有芹菜褐斑病、瓜類白粉病、蕹菜乾腐病、瓜類蔓枯病、茄子黑枯病、灰黴病、菊花白銹病、梨黑斑病、蘋果落葉斑點病、梨黑星病、蘋果黑星病、柑桔青黴病、桃菌核病、炭疽病、水稻稻熱病、水稻徒長病等，而至目前為止，臺灣有關抗藥性報告計有柑桔青黴病、葡萄晚腐病、菊花白鏽病、灰黴病及炭疽病等。植物病

原真菌抗藥性之成因主要可分為遺傳變異性 (mutation) 及環境適應性 (adaptation)。而植物病原真菌之抗藥機制可簡略分為六種方式：1. 降低殺菌劑與其作用點間之親和力；2. 降低殺菌劑之運輸能力及增強殺菌劑之流釋能力；3. 解毒作用；4. 喪失將殺菌劑轉換成有毒物質之能力；5. 補償作用，如增加病原菌產生酵素之能力；6. 改變代謝產物之產生過程，其他如改變細胞壁之滲透能力等亦可為抗藥性之作用機制。抗藥性之測定方法常用者為植物體外測定及以植物組織測定，利用植物體測定時主要測定病原菌侵入植物之能力以及病原菌在寄主組織內建立菌落之能力；而植物體外測定時，主要測定病原菌之生理性質，包括菌絲生長能力、產胞能力、分生孢子發芽能力以及抗藥性菌株與敏感性菌株之競爭能力。田間抗藥性發生之監測工作對於抗藥性之管理及預防均有其重要性，因此進行監測之主要原因在於(1)探討抗藥性產生之可能性；(2)預測抗藥性問題之產生；(3)測定抗藥性管理策略；(4)探知抗藥性之進展；(5)協助地區性使用殺菌劑之選擇；(6)抗藥性之基礎研究，在進行監測之前最主要之工作乃在於訂定抗藥性基準點 (Baseline)。抗藥性之預防方法簡單可歸納為下列五種方法：1. 開發新藥劑；2. 藥劑混合使用；3. 藥劑輪流使用；4. 於特定時間及特定地點有限制使用藥劑；以及5. 利用藥劑以外之防治策略，包括改變耕作方式、栽種抗病品種以及進行病害預測。

## 前 言

植物病原真菌抗藥性問題主要發生於藥劑經過長時間使用之後，而隨著藥劑之專一性增加，導致抗藥性之產生更為嚴重。同時由於藥劑之長期刺激，敏感性菌株族群之逐漸消退，促使抗藥性菌株得到更大之生存空間，亦使問題有增無減。國外有關植物病原真菌之抗藥性研究成果雖無法與昆蟲抗藥性之研究成果相提並論，但亦頗有進展，尤以灰黴病病原菌抗藥性之研究為甚。臺灣有關植物病原真菌之抗藥性研究起步較晚，成果亦無法與國外者相抗衡，但近年來已有逐漸被重視之趨勢，因此本文乃就已有之研究報導，作一簡要之摘錄。

## 植物病原真菌抗藥性之定義

抗藥性 (Resistance): 殺菌劑經過一段時間使用後，可誘導其防治對象產生穩定之變化，因而造成明顯藥效降低之現象，此現象稱之為抗藥性。而抗藥性之表現，依其不同之作用點及反應方式可摘要分為下列幾種：

1. 多重抗藥性 (Multiple resistance)：乃指植物病原菌可對兩種或兩種以上之殺菌劑產生抗藥性，而此抗藥性分別由不同之遺傳因子決定時，稱為多重抗藥性。
2. 交互抗藥性 (Cross resistance)：乃指植物病原菌同時對兩種或兩種以上之殺菌劑產生抗藥性，而此抗藥性乃由同一遺傳因子所決定時，稱為交互抗藥性。

3. 負交互抗藥性 (Negatively cross resistance)：乃植物病原真菌對某一殺菌劑產生抗藥性時，同一遺傳因子可促使該菌對另一殺菌劑之敏感性增加時，稱為負交互抗藥性。
4. 室內抗藥性 (Laboratory resistance)：乃於實驗室內，經人工誘導產生之抗藥性，稱為室內抗藥性。
5. 田間抗藥性 (Field resistance)：田間抗藥性之認定須具備下列二條件：(1) 殺菌劑經適當而正確之使用一段時間後，藥效有明顯下降現象；(2) 殺菌劑藥效明顯下降之現象，主要導源於病原真菌對藥劑之敏感度降低。

抗藥性產生後為一穩定之現象，可能以不同比例存在於田間，但不可能消失，而殺菌劑忍受性 (Fungicide tolerance) 乃指植物病原真菌在殺菌劑存在情況下，可短暫增加其對殺菌劑之忍受性，因而增加其存活能力<sup>(8)</sup>。

## 植物病原真菌抗藥性之發生現況

### 現有之抗藥性發生報導

植物病原真菌之抗藥性發生與藥劑之開發使用有極密切之關係，亦即抗藥性之發生往往在新藥劑上市使用一段時間後陸續出現，因此若無新藥劑之開發銷售，則無新的抗藥性菌株出現，此現象可由圖 1 所列抗藥性之進展情形得到最明確之証實<sup>(9)</sup>，同時由圖 2 亦可明顯發現，1982 年以後殺菌劑之使用進展情形為 carbamides, organotin, organophosphorus, dicarboximides, phenylamides 以及 dimethylation inhibitor, 而植物病原真菌之抗藥菌株亦緊跟著增加，幾可認定二者之增加成一正相關係<sup>(10)</sup>。有關植物病原真菌抗藥性之報告，最早出現於 1962 年，被報導者為檸檬青黴病 (*Penicillium digitatum*) 抗 Biphenyl 之報告，以後陸續發現其他病原真菌抗其他藥劑，綜合觀之，至目前已發現可導致植物病原真菌產生抗藥性之藥劑有 Biphenyl, OPP, hexachlorobenzene, Organomercurials, dodine, benomyl, dimethirimol, kasugamycin, polyoxin, thiabendazole, oxy-carboxin, fetin, edifenphos, metalaxyl, dicarboximides, triforine, triadimenol, fenarimol, 及 imazalil, 而已知會產生抗藥性之植物病原真菌則有檸檬綠黴病 (*Penicillium digitatum*)，小麥黑穗病 (*Tilletia caries*)，燕麥白粉病 (*Prenophora avenae*)，蘋果黑星病 (*Venturia inaequalis*)，胡瓜白粉病 (*Erysiphe cichoracearum*)，水稻稻熱病 (*Pyricularia oryzae*)，梨黑斑病 (*Alternaria kikuchiana*)，檸檬青黴病 (*Penicillium italicum*)，菊花白銹病 (*Puccinia horiana*)，甜菜葉斑病 (*Cercospora beticola*)，胡瓜露菌病 (*Pseudoperonospora cubensis*)，草莓灰黴病 (*Botrytis cinerea*)，馬鈴薯疫病 (*Phytophthora megasperma*)，胡瓜灰黴病 (*Botrytis cinerea*)，仙克萊灰黴病 (*Botrytis cinerea*)，大麥白粉病 (*Erysiphe graminis*)，以及柑桔綠黴病 (*Penicillium digitatum*)，詳見表一所列<sup>(10)</sup>。

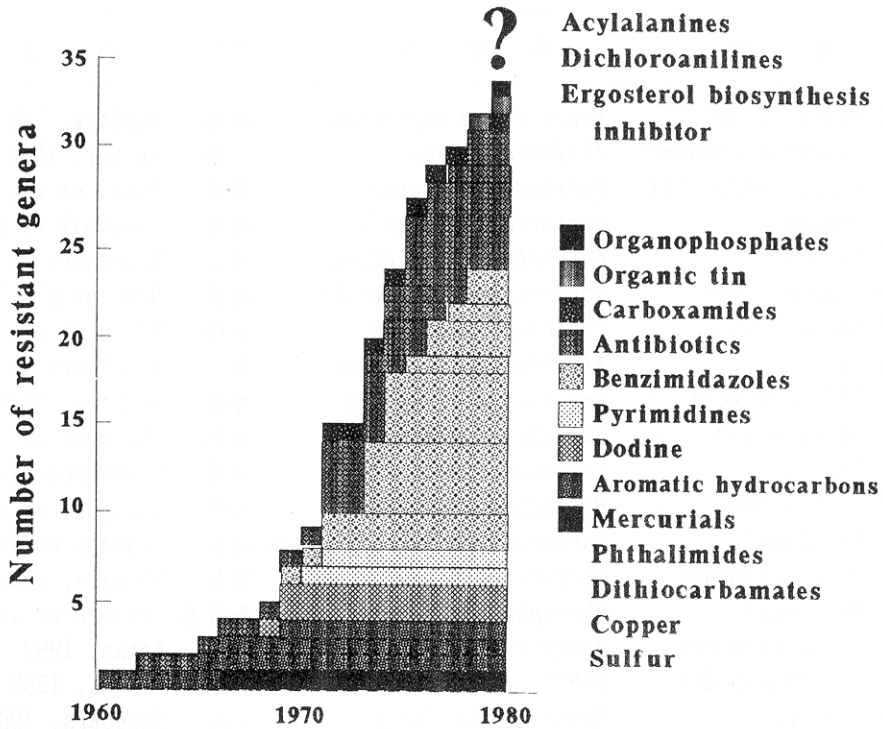


圖1. 植物病原真菌抗藥性之發展史。(Delp, C. J., 1980)

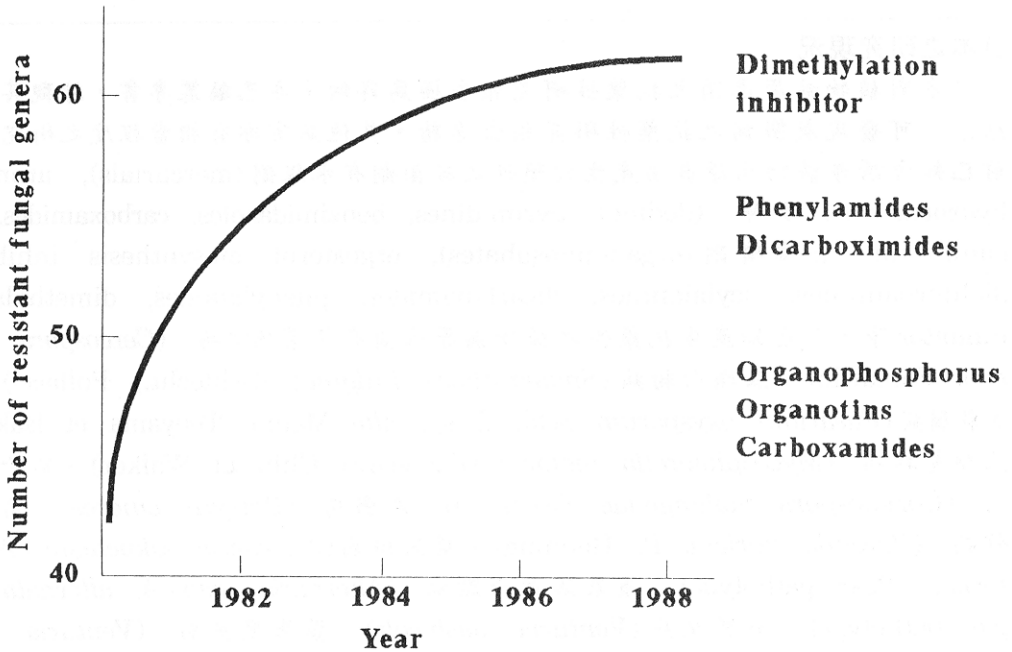


圖2. 1982年至1988年間植物病原真菌抗殺菌劑菌株之增加情形。(Delp, C. J., 1988)

表一、植物病原真菌抗藥性之報告

時間	藥劑	病原菌	作物	作者
1962	Biphenyl,OPP	<i>Penicillium digitatum</i>	檸檬	Harding, 1962
1965	Hexachlorobenzene	<i>Tilletia caries</i>	小麥	Kuiper, 1965
1966	Organo-mercurials	<i>Pyrenophora avenae</i>	燕麥	Nobel et al, 1966
1969	Dodine	<i>Venturia inaequalis</i>	蘋果	Szkolnik et al, 1969
1969	Benomyl	<i>Erysiphe cichoracearum</i>	胡瓜	Schroeder et al, 1969
1969	Dimethirimol	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	胡瓜	Bent et al, 1971
1971	Kasugamycin	<i>Pyricularia oryzae</i>	水稻	Miura et al, 1975
1971	Polyoxin	<i>Alternaria kikuchiana</i>	梨	Nishimura et al, 1973
1971	Thiabendazole	<i>Penicillium italicum</i>	檸檬	Harding, 1972
1973	Oxycarboxin	<i>Puccinia horiana</i>	菊花	Abiko et al, 1977
1976	Fentin	<i>Cercospora beticola</i>	甜菜	Giannopolitis, 1973
1977	Edifenphos	<i>Pyricularia oryzae</i>	水稻	Katagiri et al, 1980
1979	Metalaxyl	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	胡瓜	Reuveni et al, 1980
1979	Dicarboximides	<i>Botrytis cinerea</i>	草莓	Maraite, 1980
1980	Metalaxyl	<i>Phytophthora megasperma</i>	馬鈴薯	Davidse et al, 1981
1981	Dicarboximides	<i>Botrytis cinerea</i>	胡瓜	Katan, 1982
1981	Dicarboxinides	<i>Botrytis cinerea</i>	仙克菜	Pappas, 1982
1982	Triforine	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	胡瓜	Schepers, 1983
1984	Triadimenl	<i>Erysiphe graminis</i>	大麥	Butters et al, 1984
1985	Fenarimol	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	胡瓜	Schepers, 1985
1987	Imazalil	<i>Penicillium digitatum</i>	柑桔	Eckert, 1987

## 日本之研究現況

日本對植物病原真菌之抗藥性研究報告極為詳細，亦已編纂專書，綜觀其研究結果，可發現灰黴病之抗藥性研究相當專精，其他病害亦有相當程度之研究，目前已知會誘導植物病原真菌產生抗藥性之殺菌劑有水銀劑(mercurials)，aromatic hydrocarbons，多寧(dodine)，pyrimidines，benzimidazoles，carboxamides，organic tin，有機磷劑(organophosphates)，ergosterol biosynthesis inhibitor，dichloroanilines，acylalanines，dicarboximides，phenylamides，dimethylation inhibitor等，而巳知產生抗藥性之植物病原真菌有芹菜褐斑病(*Cercospora beticola* Saccardo)、瓜類白粉病(*Sphaerotheca fuligines* (Schlecht.) Pollacci)、薤菜乾腐病(*Fusarium oxysporum* Schl. f. sp. *allii* Matuo, Tooyama et Isaka)、瓜類蔓枯病(*Mycosphaerella melonis* (Passerini) Chiu et Walker)、茄子黑枯病(*Corynespora melongenae* Takimoto)、灰黴病(*Botrytis cinerea*)、菊花白銹病(*Puccinia horiana* P. Henning)、梨黑斑病(*Alternaria kikuchiana*=*A. alternata* Pear pathotype)、蘋果落葉斑點病(*Alternaria mali*=*A. alternata* Apple pathotype)、梨黑星病(*Venturia nashicola*)、蘋果黑星病(*Venturia inaequalis*)、柑桔青黴病(*Penicillium italicum*)、桃菌核病(*Monilinis fructicola*)、炭疽病(*Colletotrichum gloeosporioides*)、水稻稻熱病(*Pyricularia oryzae*)、水

稻徒長病等 (*Fusarium moniliformae*)。(12)

### 臺灣之發生現況

臺灣有關植物病原真菌抗藥性之研究起步較晚，因此研究報告亦較少，最早之報告出現於1981年之植物保護學會會刊，內容為柑桔綠黴病 (*Penicillium italicum*) 對免賴得 (Benomyl) 之抗藥性研究<sup>(1)</sup>，以後逐漸有菊花白銹病 (*Puccinia horiana*) 對 (Oxycarboxin)<sup>(3)</sup>，葡萄晚腐病 (*Colletotrichum gloeosporioides* Penzig) 對滅紋 (Mon)，大富丹 (Difolatan)，免賴得 (Benomyl)，撲克拉 (Prochloraz)<sup>(4,5,6)</sup>，炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*) 對 Benzimidazole<sup>(18)</sup>，萵苣灰黴病 (*Botrytis cinerea*) 對 Dicarboximide<sup>(7)</sup>，灰黴病 (*Botrytis cinerea*) 對 Dicarboximide，甲基多保淨 (Thiophanate-methyl) 以及水稻紋枯病 (*Rhizoctonia solani*) 對有機砷劑 (Arsenic acid) 及維利黴素 (Validacin) 等之抗藥性研究，詳如表二所列。

表二、臺灣殺菌劑抗藥性之研究狀況

病害種類	藥劑處理
柑桔青黴病 ( <i>Penicillium italicum</i> )	Benzimidazole
菊花白銹病 ( <i>Puccinia horiana</i> )	Oxycarboxin
葡萄晚腐病 ( <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> )	Mon, difolatan, benomyl, pyochloraz
炭疽病 ( <i>Glomerella cingulata</i> )	Benzimidazole, thiophanate-methyl
萵苣灰黴病 ( <i>Botrytis cinerea</i> )	Dicarboximide
灰黴病 ( <i>Botrytis cinerea</i> )	Dicarboximide, thiophanate-methyl
水稻紋枯病 ( <i>Rhizoctonia solani</i> )	Arsenic acid, validacin

## 植物病原真菌抗藥性之成因

植物病原真菌抗藥性之成因主要可分為遺傳變異性及環境適應性，遺傳變異性可因藥劑之刺激而造成，亦可因變異菌株原已存在於族群中，當藥劑大量使用時，敏感性菌株逐漸被淘汰後，抗藥性菌株之生存競爭逐漸減少，而得以大量繁殖，進而取代原來之族群而成優勢，此現象可於香蕉炭疽病菌對免賴得之抗藥性獲得証實。當由山區採得之對藥劑呈敏感性菌群培養於含不同濃度之免賴得培養基時，菌群中之200菌株呈常態分布，且菌落直徑隨藥劑濃度之增加而降低(圖3)。但若抗藥性菌株培養於上述培養基時，則不同藥劑濃度之菌株分布，幾乎互相

重疊(圖四)<sup>(18)</sup>。而遺傳變異性可發生於染色體基因(chromosomal genes)，亦可發生於染色體外之遺傳因子(extrachromosomal inheritance)包括由plasmid-mediate的遺傳因子轉移。

植物病原真菌抗藥性的表現可由單一遺傳因子(major gene)控制，亦可由多因子(polygenic gene)控制，二者之抗藥性表現不同，表三詳列不同病原菌對不同藥劑抗藥性之決定遺傳因子及數量<sup>(9)</sup>。由單一因子控制之抗藥性為一非連續性之抗藥性，其出現之頻率相當不穩定，藥劑在此類抗藥性之表現為一選汰作用，當族群中之抗藥性菌株逐漸增加而達優勢時，該類藥劑之防治效果不佳，Benzimidazole及Phenylamides則為此類藥劑。由多因子控制之抗藥性則為連續性，當抗藥性產生時，其出現頻率相當穩定、持續不斷增加，不定期持續測定其EC<sub>50</sub>值時，可發現其抗藥性不斷增加，族群中菌株之分布呈常態分布，使用藥劑後之族群與未使用藥劑族群之分布可互相重疊，其中使用藥劑後之族群敏感度顯著降低。此類抗藥性發生後，若增加藥劑之使用量，可增進藥劑之防治效果。

另一可能導致植物病原真菌抗藥性之原因為環境適應性(Adaptation)。將香蕉炭疽病病菌之敏感菌株每隔10-14天移植入含免賴得之培養基中，而培養基中免賴得之濃度呈系列性增加，可發現此一菌群對免賴得之忍受性有逐漸增加之勢圖5<sup>(18)</sup>。

表三、影響植物病原真菌對殺菌劑產生抗藥性之遺傳因子

殺菌劑	植物病原真菌	Gene changes(No.)
Aromatic hydrocarbons	<i>Aspergillus nidulans</i>	2
	<i>Nectria hoematococca</i>	5
Benzimidazoles	<i>Aspergillus nidulans</i>	1 or 2
	<i>Ceratocystis nidulans</i>	1
	<i>Neurospora crassa</i>	1
	<i>Ustilago hordei</i>	poly
	<i>Ustilago maydis</i>	1
	<i>Venturia inaequalis</i>	1
Dodine	<i>Nectria hoematococca</i>	4
	<i>Venturia inaequalis</i>	2
Carboxamides	<i>Aspergillus nidulans</i>	3
	<i>Ustilago hordei</i>	poly
	<i>Ustilago maydis</i>	3
Cycloheximide	<i>Neurospora crassa</i>	3
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8
Imazalil	<i>Aspergillus nidulans</i>	8
Kasugamycin	<i>Pyricularia oryzae</i>	1 to 3

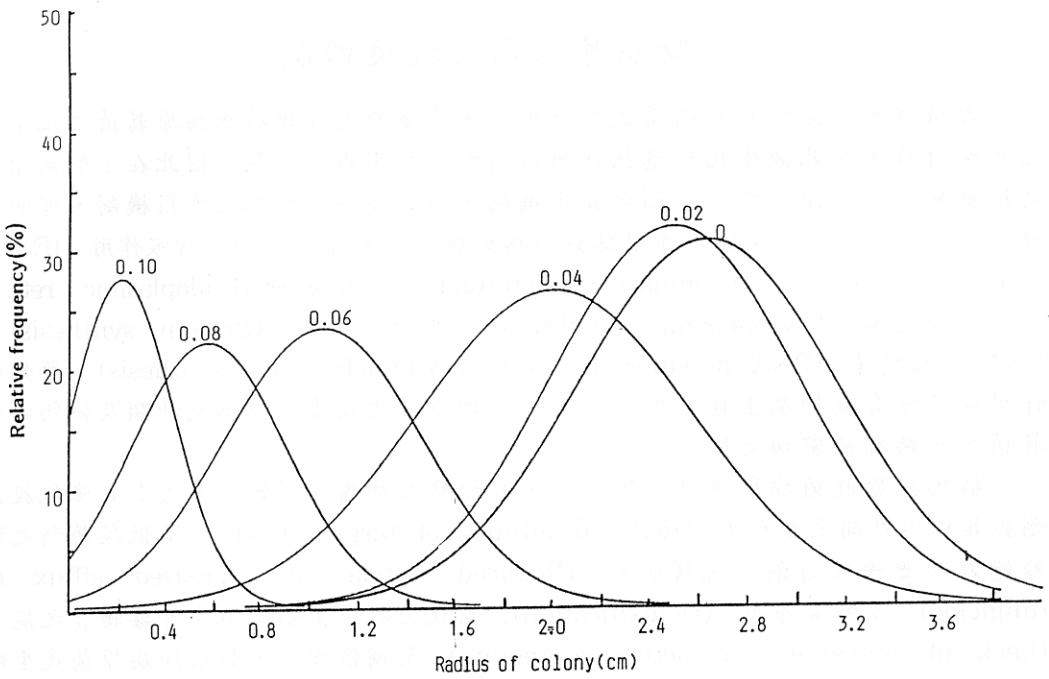


Fig. 3. Distribution of the growth patterns of *Colletotrichum musae* TACTRI 801147 group against benomyl.

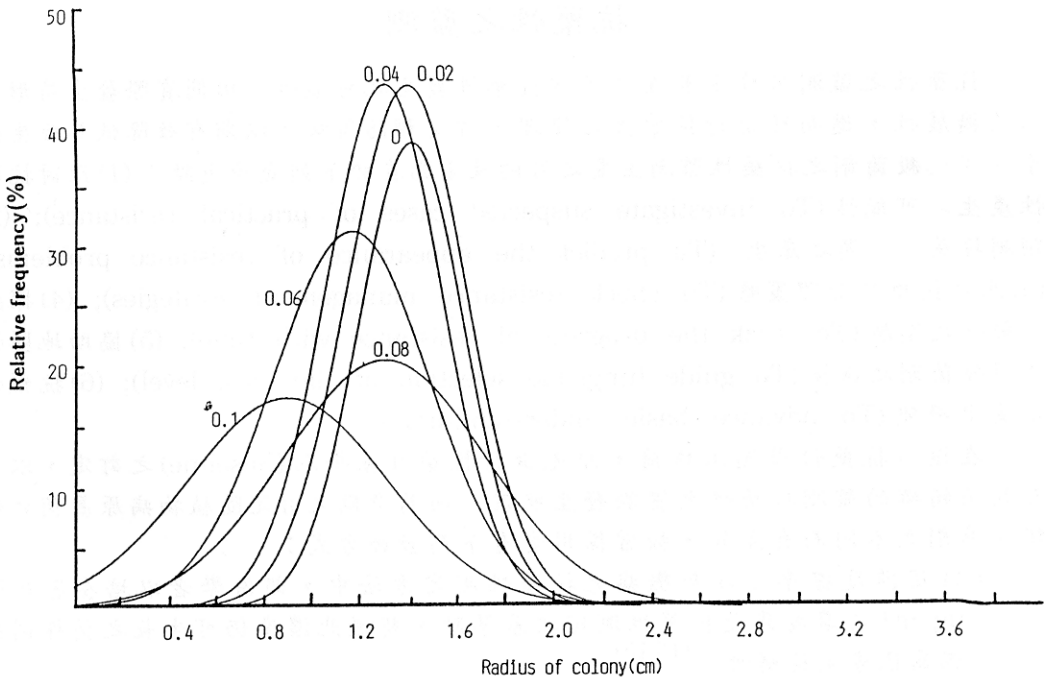


Fig. 4. Distribution of the growth patterns of *Colletotrichum musae* TACTRI 801202 group against benomyl.

## 植物病原真菌之抗藥機制

當遺傳因子產生變異而造成抗藥性時，大多數乃改變植物病原真菌之正常生化反應所致，而此類生化反應往往與殺菌劑之作用機制有關，因此在了解病原菌之抗藥機制前，須了解殺菌劑之作用機制，圖六簡列殺菌劑之作用機制，可明確發現一般殺菌劑對病原菌之作用點分別為細胞壁 (Cell wall)、呼吸作用 (Respiration)、Adenosine deaminase、Microtubules、內質網 (Endoplasmic reticulum)、細胞膜 (Cytoplasmic membrane)、蛋白質合成 (Protein synthesis)、RNA 合成酵素 (RNA polymerase)、核酸合成 (Nucleic acid synthesis)。藥劑的作用除了可有效抑制上述生化反應，亦可增進生化反應，與藥劑種類及植物病原真菌之種類有極密切之關係。

植物病原真菌抗藥性之作用機制，可簡略歸納為下列幾種方式：1. 降低殺菌劑與其作用點間之親和力 (Reduced affinity of target sites); 2. 降低殺菌劑之運輸能力及增強殺菌劑之流釋能力 (Reduced uptake or increased efflux of fungicide); 3. 解毒作用 (Detoxification); 4. 喪失將殺菌劑轉換成有毒物質之能力 (Lack of conversion to active compound); 5. 補償作用，如增加病原菌產生酵素之能力 (Compensation, such as increased production of target enzyme); 6. 改變代謝產物之產生過程 (Circumvention of block through an alternate pathway); 其他如改變細胞壁之滲透能力等<sup>(9,10)</sup>。

## 抗藥性之監測

抗藥性之監測工作主要在於了解抗藥性發生之可能性、田間實際發生情形、以及擴展性，進而可進行抗藥性之管理、訂定預防策略，以期有效降低其發生概率。因此殺菌劑之抗藥性監測主要之目的及重點在於下列幾項重點：(1) 探討抗藥性產生之可能性 (To investigate suspected cases of practical resistance); (2) 預測抗藥性問題之產生 (To predict the appearance of resistance problems); (3) 測定抗藥性管理策略 (To check resistance management strategies); (4) 探知抗藥性之進展 (To track the progress of resistance with time); (5) 協助地區性使用殺菌劑之選擇 (To guide fungicide selection at the local level); (6) 抗藥性之基礎研究 (To advance basic understanding)。

在進行抗藥性監測工作前，須先進行抗藥性基準點 (Baseline) 之訂定，以期有效而精確的監測抗藥性之實際發生狀況。而基準點之訂定隨植物病原真菌之種類及藥劑之不同而有差異，較常採用者有下列數種方式：

1. 訂定濃度標準：在灰黴病之抗藥性測定方法中，部份學者以培養基中 10 ug/ml 之濃度為是抗藥性測定之基準點，超過此濃度仍可生長之菌株則被認為已產生抗藥性。<sup>(13,15)</sup>

2. MIC 值訂定：梨黑星病之抗藥性測定中，利用不同地點採得之菌株進行 MIC 值之測定，而依此值之變化點訂定其抗藥性之基準點，詳見圖 7。<sup>(11)</sup>

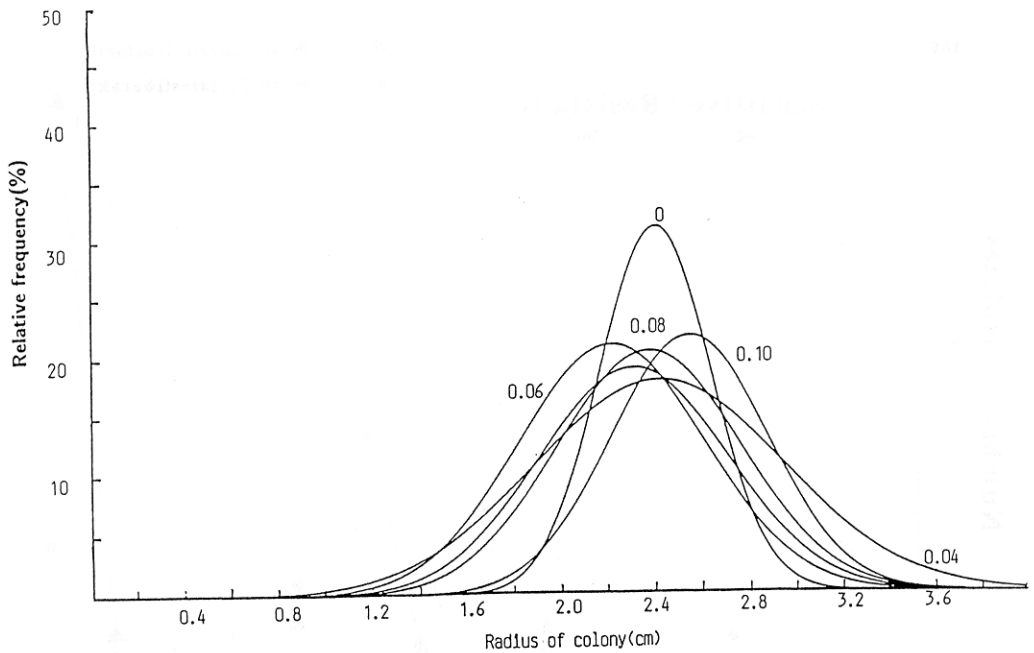


Fig. 5. Distribution of the growth patterns in *Colletotrichum musae* TACTRI 801147 group against benomyl after sequential transfer to media containing benomyl.

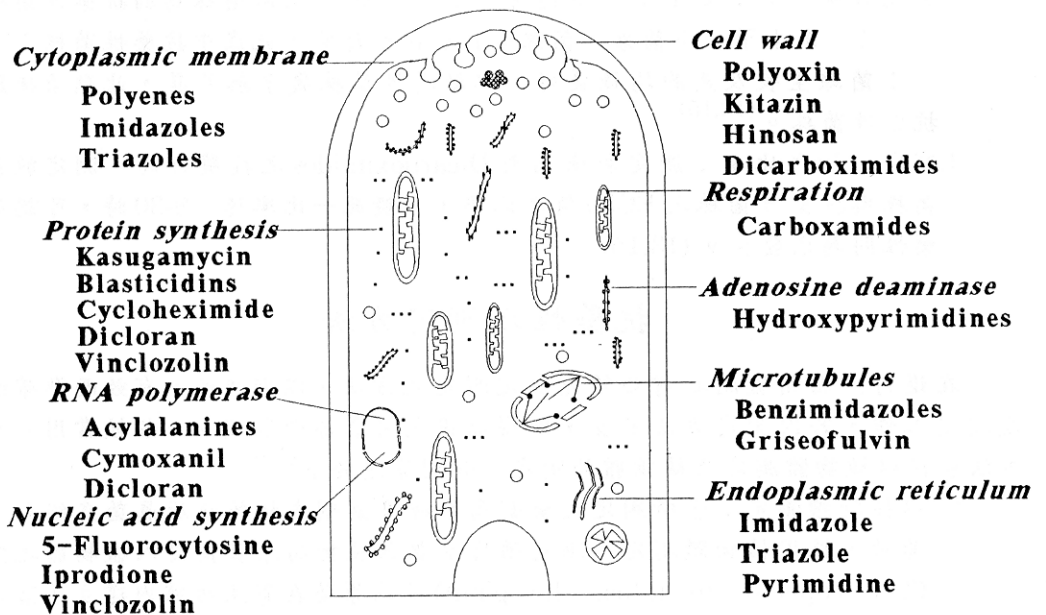


圖6. 殺菌劑之作用機制。

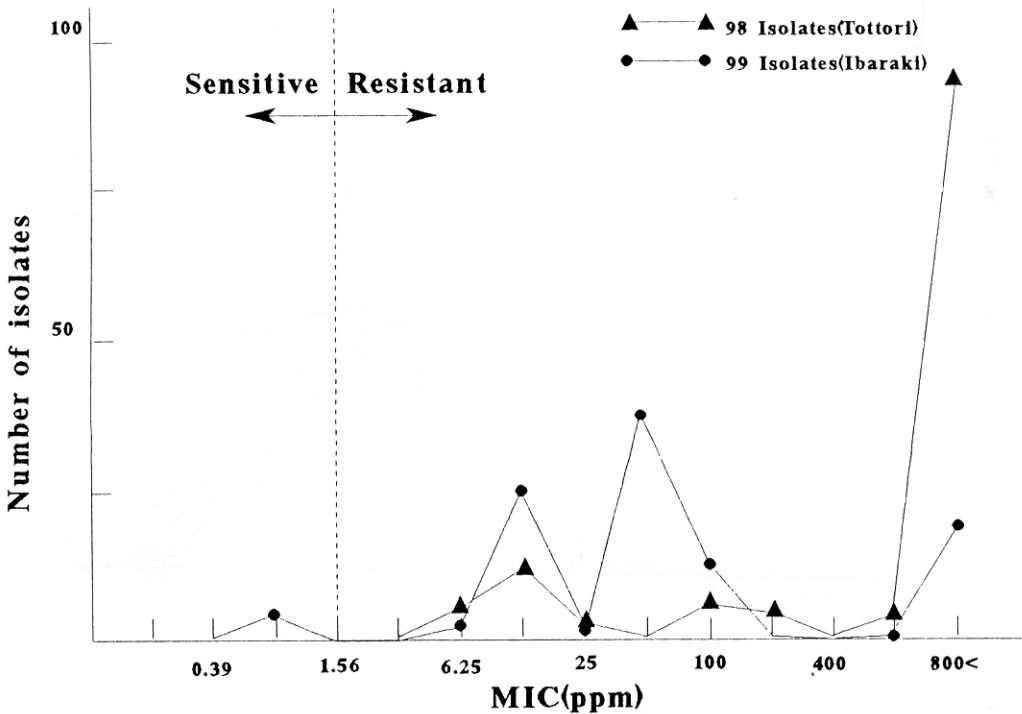


圖7. 梨黑星病對MBC之抗藥性基準點訂定。

3. 菌落形態變化：以菌落形態評定抗藥性基準點時，一般將抗藥性菌落形態分為3種：+：產生單一小菌落，且不產胞，此類菌株為弱抗藥性菌株；++：產生單一小菌落，菌絲生長少但可產胞，此為中抗藥性菌株；+++：菌絲生長及產胞均極良好，與敏感性菌株幾乎無差異，此類菌株為強抗藥性菌株。(13,15)
4. 測定EC<sub>50</sub>之比率：測定灰黴病對Dicarboximides之抗藥性時，測定敏感性菌株與抗藥性菌株之EC<sub>50</sub>值之比率，一般此一比率達8-30時，可認定抗藥性問題已發生。(13,15)

### 抗藥性之測定方法

在進行大面積監測之前必須先決定測定之方法，以期快速、有效而準確的完成測定工作，若因測定方法不妥，所得結果之可靠亦受質疑。一般較常用之測定方法包括以植物體測定及植物體外測定。分別簡述於下<sup>(10)</sup>：

- I. 以植物體測定：當所測定之藥劑為系統性藥劑或植物病原真菌為絕對寄生菌時，採用植物體測定，測定項目主要為植物病原真菌侵入植物體之能力(The capacity to infect the plant)及病原菌在寄主組織內建立菌落之能力(The capacity to colonize the host tissue)。但為操作方便及取得容

易，一般均採用小苗、剪葉以及葉片塊進行，而進行測定時，先以藥劑處理植物後再接種病原菌，以後定期觀察病勢進展情形。

II. 植物體外測定：非絕對寄生菌可以純管培養者均採用植物體外測定方法，一般常用者為分別簡述於下：

1. 菌絲生長能力 (The capacity of mycelial growth): 將藥劑添加於培養基中，再移植病原菌，定期測量菌落大小，進而換算藥劑對菌絲生長之抑制力，作為抗藥性評估之標準。
2. 產胞能力 (The capacity of sporulate): 將病原菌移植於含藥劑之培養基中，觀察藥劑對分生孢子發芽之抑制力，可大量產胞之病原菌適用此法。
3. 發芽能力 (The capacity of germination of conidia): 大量產胞之病原菌或作用機制為抑制分生孢子發芽之殺菌劑適用此法。可將藥劑添加於培養基中，再將孢子懸浮液加於培養基表面，測定其分生孢子發芽之能力。另一採行之方法為 Agar diffusion test，乃將孢子懸浮液加於培養基表面，以浸藥劑之濾紙圓盤放於培養基表面，定溫培養 2-3 天後觀察抑制圈大小，作為抗藥性之評定標準，利用此方法可同時測定大量不同濃度。圖八為典型之測定方法。
4. 抗藥性菌株與敏感性菌株之競爭能力 (The competition tests between resistant and sensitive strains): 此方法一般較少採行。

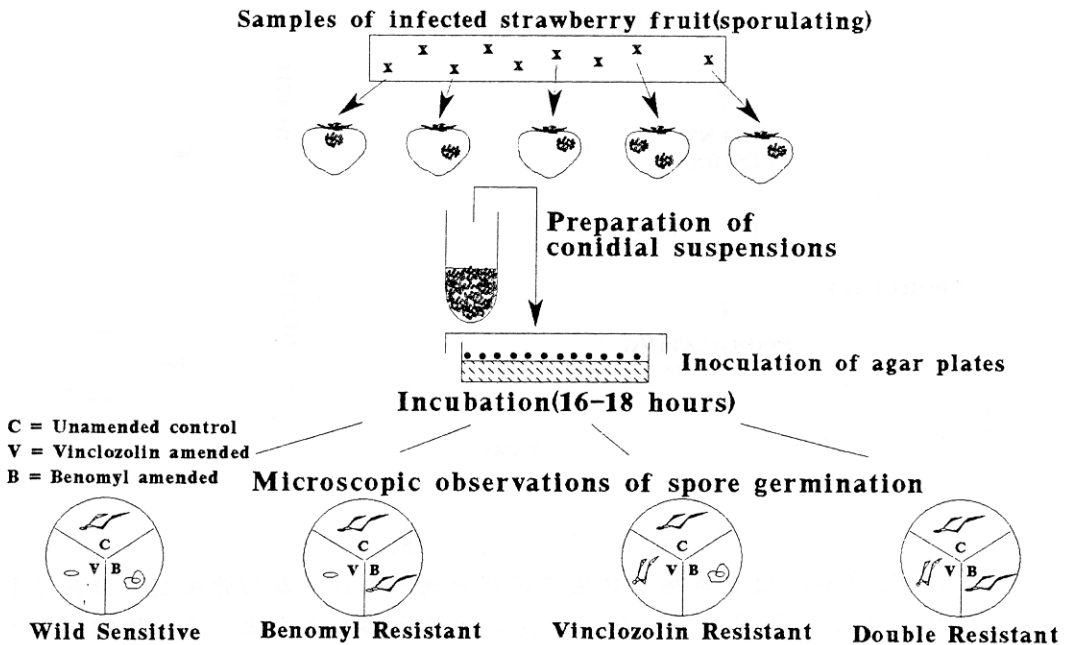


圖8. 灰黴病對殺菌劑抗藥性之監測方法及可能產生抗藥性之形式。

## 抗藥性之管理

爲了有效進行抗藥性管理，Milgroom 於 1987 年建立一名爲 RESISTAN 之電腦模式 (圖 9)，透過此電腦模式可擬定三個預防策略，以降低抗藥性之選汰速度，而此三策略分別爲：1. 降低族群中抗藥性菌株起始發生頻率 (Reduce the initial frequency of the resistant biotype in the population); 2. 施用取代藥劑，以降低病害之感染率 (Reduce the apparent infection rate (sensu van der Plant) of the epidemic by means other than the use of the at-risk fungicide); 3. 降低已誘導抗藥性產生之藥劑對其防治對象族群之藥效。(Reduce the efficacy of the at-risk fungicide against the target population)。一般而言，在特定地區利用特定藥劑防治某一特定作物上發生之特殊病害所須耗費之代價較低，所須作成決議之時間亦較短；當一多作用點之藥劑經一段時間使用後已誘導其防治對象產生抗藥性時，田間立即與其他藥劑混合使用可降低該藥劑對其防治對象之選汰壓力，而延緩抗藥性之產生，此類考量均爲抗藥性之預測管理上極爲重要之一環。

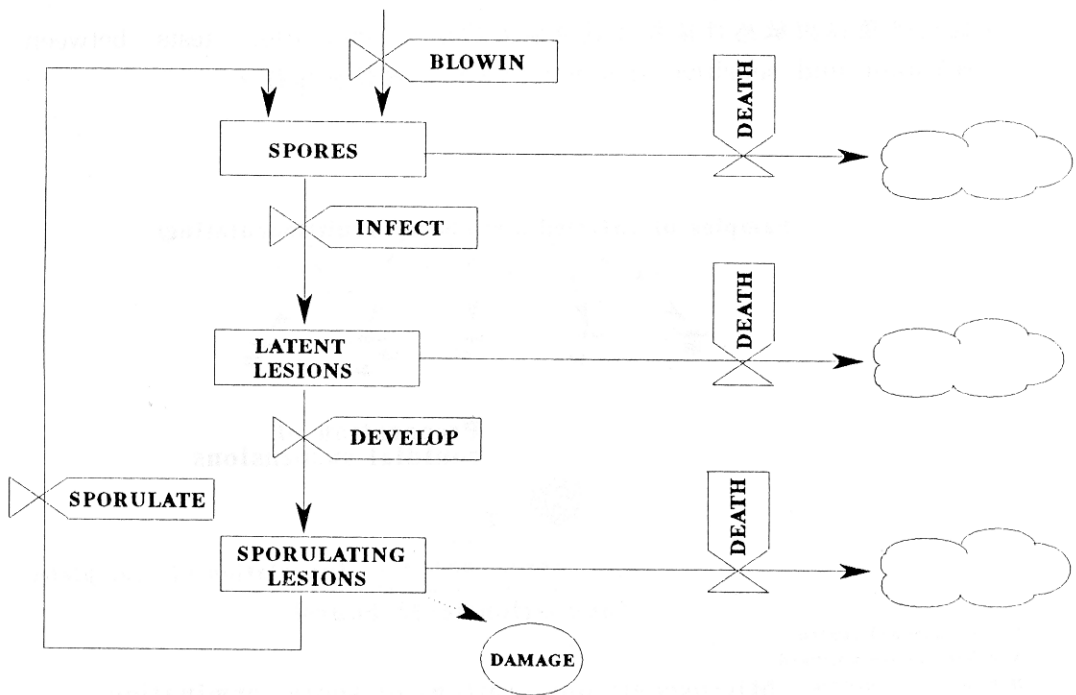


圖9. RESISTAN 管理模式結構圖。

RESISTAN 模式將病害發生之過程分爲三階段，最初分生孢子由其他來源進入模式所設定之範圍，而後發芽、感染，產生典型之病斑，病斑繼續擴大，同時病原菌逐漸繁殖，在病斑上產生新的分生孢子，可再造成新的感染。而在三個過程中病原菌可因自然死亡或藥效之施用而有部份的死亡，致使病原菌族群之增加

受影響。因此利用此模式進行管理時，就病原菌之觀點而言，必須調查之項目包括(1)每日殘存之分生孢子、初期病斑、產胞病斑之比率；(2)感染率，亦即每日侵入寄主之分生孢子數；(3)分生孢子感染寄主至寄主組織產胞之期間；(4)每日每一病斑之產胞量；(5)每日確實降落於寄主組織之分生孢子量；(6)完成一發病過程所須之時間；(7)為避免未藥劑防治區病害無止境發生，必須訂定單位面積之病斑數上限；以及(8)越冬條件。而在藥劑方面之評估，必須調查之項目包括(1)每日由植物體表面流釋之農藥殘留量之比率；(2)每平方公分葉片上，藥劑對微生物之 $EC_{50}$ ；(3)藥劑濃度與其對其防治對象藥效之相關性(The slope of the probit kill/log dose function for the target fungus)；(4)以上述相關性資料訂定藥劑對抑制分生孢子發芽、病斑擴展及後期已產胞病斑之能力；(5)依據敏感性菌株之 $EC_{50}$ 值，訂定抗藥性基準(Resistant level)；(6)測定抗藥性菌株及敏感性菌株之比率；以及(7)估計購買防治藥劑所須之經費。除此之外作物之收穫量、因病害造成之損失以及投資成本、藥劑費用等亦須加以調查，以為綜合評估之依據。

由上述之電腦管理模式可知，抗藥性之管理必須符合下列三要件：

- 1.當無藥劑存在之環境下，敏感性菌株之適應性必須高於抗藥性菌株，若非如此，則必須採取行動，使藥劑之選汰壓力降低，而此時抗藥性產生之頻率須達一穩定之水平。
- 2.必須建立族群中抗藥性發生頻率之估算方法，實際而準確之採樣方法，以及抗藥性發生之測定方法。
- 3.抗藥性之發生頻率由下列二因素決定：(1)實際監測工作，以及(2)預測由不同管理方式造成之不同反應。

殺菌劑抗藥性之管理除了上述之管理工作須加強進行外，由藥劑之開發、推廣應用以至研究、監測均須隨時加以注意，因此抗藥性之管理流程可由圖10表示。當一農藥廠商研究開發一新藥後，首先必須進行市場調查，確定具有商品價值後，將此產品交給一公司群評估、建立銷售網，同時進行技術服務及商務服務，正式登記後再透過經銷商銷售給農民，亦可透過代理商銷售，而在銷售過程中可能遭遇其他廠商之相同藥劑之競爭，亦可能面臨其他不同藥劑之競爭，而在使用過程中若發生抗藥性問題時，則尋求有關單位之協助解決，以及由相關單位提供諮議推廣服務，此時學術機構亦著手進行學術研究，而農藥廠商可依此研究成果進行改善後再次銷售。

總而言之，農藥上市後針對抗藥性之問題，必須進行之監測及管理詳見表四(10)。由表四可知在販賣前、藥劑使用中以及抗藥性發生時或疑似發生時均須採取適當之措施，方可有效地降低抗藥性之發生，而使農民之損失降至最低。

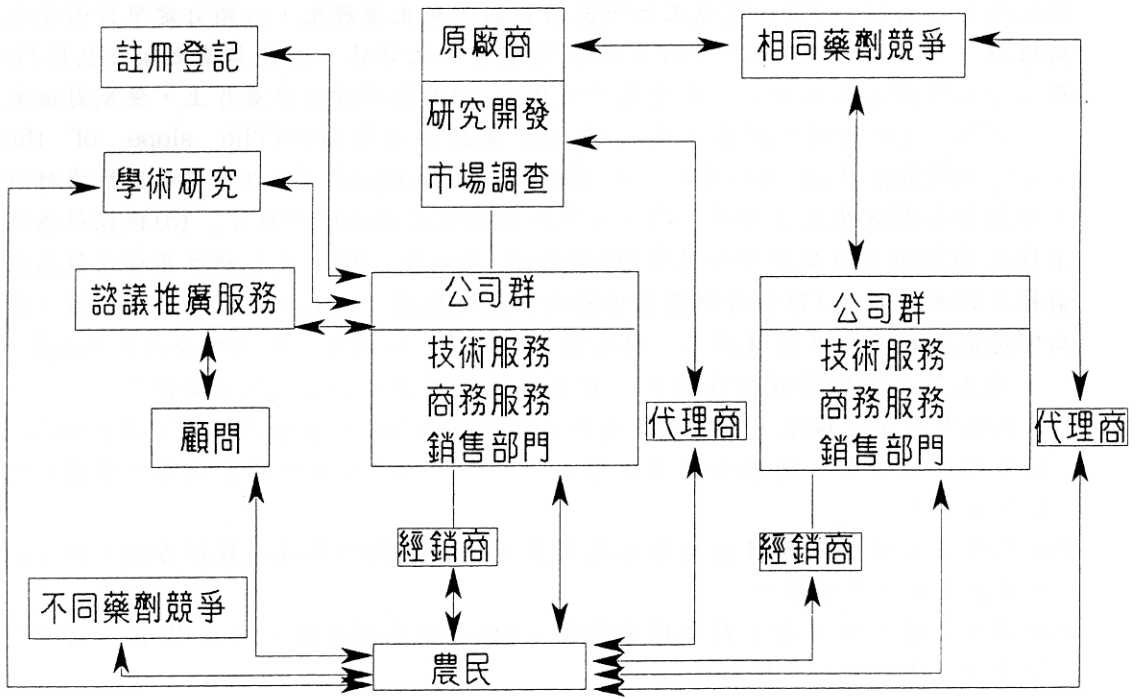


圖10. 抗藥性管理流程圖。

表四、抗藥性之監測與管理

時 間	抗藥性監測	抗藥性管理
殺菌劑販賣前	建立採樣及測定方法 決定敏感性基準點	估算抗藥性嚴重度 決定藥劑使用策略
殺菌劑使用中	根據抗藥性發生估算，於使用 地區逢機進行監測	進行藥劑使用策略 觀察藥劑實際使用效益
抗藥性已發生或 疑似發生時	進行監測以決定其擴展性 及實際重要性	若抗藥性已確實發生，則 研究、變更使用策略 探討交互抗藥性及抗藥菌株 之特徵
後續工作	監測抗藥性之擴展及 消長現象	評估可行性及使用策略

## 抗藥性之預防

抗藥性研究之最終目的乃在於如何預防抗藥性之產生，以減少因抗藥性產生之成本增加，常用之方法包括下列6項：

- 1.開發新藥劑 (New disease control agents): 開發新藥劑以取代原已產生抗藥性之藥劑，可降低選汰壓力，減少因抗藥性產生造成之藥效降低。
- 2.藥劑混合使用 (The use of mixtures): 利用兩種或兩種以上不會導致交互抗藥性之藥劑混合使用，可延後抗藥性產生，圖 11 及圖 12 可明確證實藥劑混合使用之效用<sup>(9,11)</sup>。
- 3.藥劑輪流使用 (Rotation of disease control agents): 兩種或兩種以上無交互抗藥性之藥劑輪流使用時，抗藥性之形成機會相對減少許多。合理而妥善之藥劑混合使用或輪流使用方法詳見圖 13<sup>(10)</sup>。
- 4.於特定時間及特定地點有限制使用藥劑 (Limitation of use): 有限制的使用農藥除可減少藥劑之浪費，並可因無選汰壓力而避免抗藥性之發生。
- 5.利用藥劑以外之防治策略 (Integrated control strategies): 主要著重於栽培管理方式，可採用之方法極多，例如改變耕作方式 (cultural practices)、栽種抗病品種 (Resistant cultivars)、降低濕度、增加株距及病害預測 (forecasting) 等。
- 6.定期進行抗藥性監測，隨時掌握最新資訊，可充分了解抗藥性於田間實際發生狀況，隨時掌握先機，進行上述之預防措施，以降低抗藥性之發生。

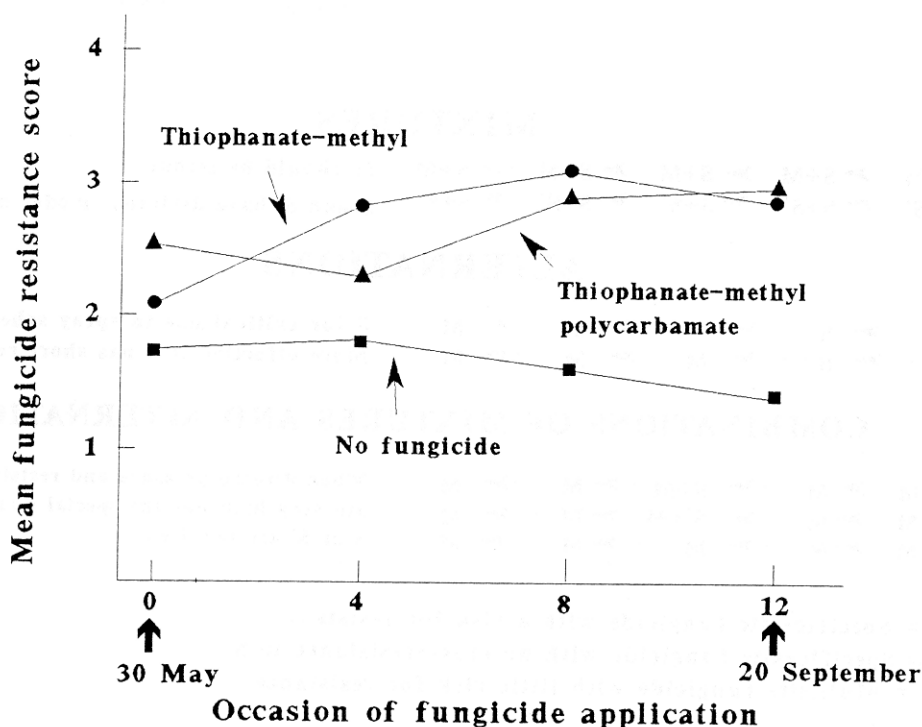


圖 11. 混合藥劑對梨黑星病抗藥性菌株建立之影響。(Ishii, H., 1985)

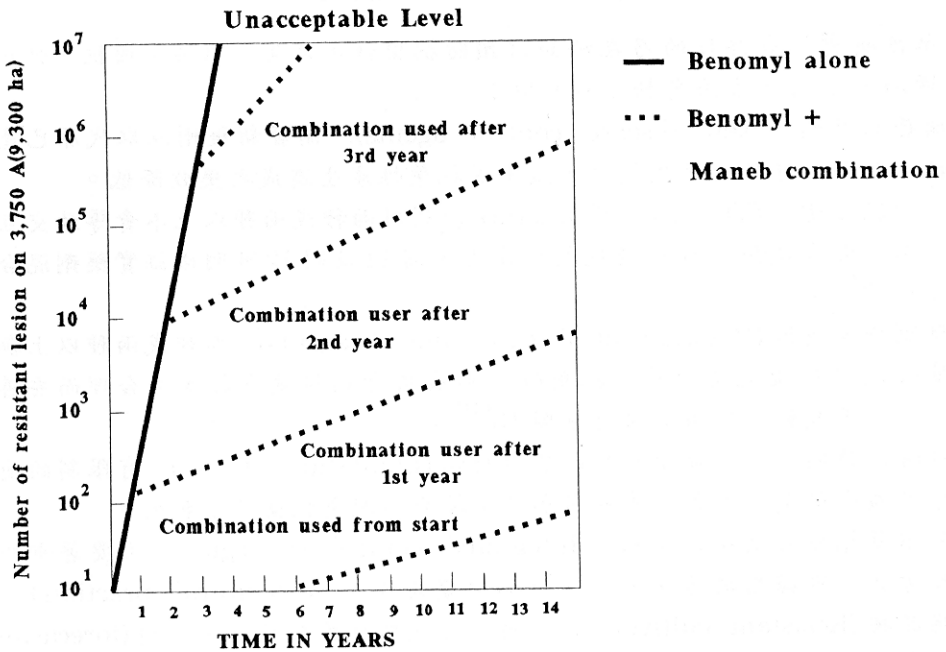


圖12. 鋅錳乃浦與免賴得混合使用時對芹菜葉斑病抗免賴得之影響。(Delp, C. J., 1980)

### MIXTURES

$S+M \rightarrow S+M \rightarrow S+M \rightarrow S+M \rightarrow S+M$     M should be strong  
 $S+S' \rightarrow S+S' \rightarrow S+S' \rightarrow S+S' \rightarrow S+S'$     S and S' have different modes of action

### ALTERNATIONS

$M \rightarrow S \rightarrow M \rightarrow S \rightarrow M$     S for critical use in spray schedule  
 $M \rightarrow S \rightarrow M \rightarrow M \rightarrow M$     More effective if S has short residual

### COMBINATIONS OF MIXTURES AND ALTERNATIONS

$S+M \rightarrow M \rightarrow S+M \rightarrow M \rightarrow M$   
 $S+M \rightarrow M \rightarrow S'+M \rightarrow M \rightarrow M$   
 $S+M \rightarrow M \rightarrow M \rightarrow M \rightarrow M$     When disease pressure and resistance risk are very high but the special qualities of S or S' are required

S = Specific-site fungicide with a risk for resistance.  
 S' = Specific-site fungicide with no cross-resistance to S.  
 M = Multisite fungicide with little risk for resistance.

圖13. 藥劑混合使用或輪流使用之選定方式。(Wade, M., 1988)

## 結 論

植物病原真菌抗藥性之問題涵蓋範圍相當廣泛，包括發生現況、抗藥機制、監測、測定方法以及管理等，而其最終目的則在於預防抗藥性之發生。而每一研究方向均習習相關而有互動關係，如何相互配合使用而達到預防抗藥性產生之目的，實為極高之境界，非投以大量人力、物力配合長期研究無法達成。

## 參考文獻

1. 宇國勝。1981. 柑桔青黴病菌之抗藥性研究。植保會刊 23:193-199.
2. 孫守恭、裴家隆。1981. 植物病原真菌抗藥性菌系之調查研究(一)炭疽病菌 (*Glomerella cingulata*)對 Benomyl 之抗藥性研究。植保會刊 23: 207-220.
3. 裴家隆、孫守恭。1981. 臺灣植物病原真菌抗藥性菌系之調查與研究(二)菊花白銹病菌 (*Puccinia horiana*)對 oxycarboxin 之抗藥性研究。植保會刊 23:221-227.
4. 謝文瑞、段中漢。1984. 葡萄晚腐病菌對滅紋、四氣丹、免賴得及撲克拉之抗藥性調查。植保會刊 26:33-39.
5. 黃秀華。1985. 葡萄晚腐病菌對 Mon 乳劑抗藥性菌系之調查研究。臺中區農業改良場研究彙報 11:101-108.
6. 黃秀華。1985. 葡萄晚腐病菌不同抗藥菌系之生物學及生理上之比較。臺中區農業改良場研究彙報 11:123-129.
7. 王次男、J. R. Coley-Smith。溫室萵苣灰黴病菌對 Dicarboximide 類藥劑之抗性。植保會刊 29:327-336.
8. Anonymous. 1988. Fungicide resistance: definitions and use of terms. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 18:569-574.
9. Delp. C. J. 1980. Coping with resistance to plant disease control agents. Plant Disease 64:652-657.
10. Delp, C. J. 1988. Fungicide resistance in North America. APS Press. 133p.
11. Ishii, H., H. Udagawa, H. Yanase, and A. Yamaguchi. 1985. Resistance of *Venturia nashicola* to thiophanate-methyl and benomyl: buildup and decline of resistance in the field. Plant Pathology 34: 363-368.
12. Junichi, F., U. Yasuhiko, I. Kozo. 1983. Pest resistance to pesticides. Soft Science, Inc. Tokyo, Japan. 412p.
13. Lorenz, D. H., and K. W. Elchhorn. 1982. *Botrytis cinerea* and its resistance to dicarboximide fungicides. EPPO Bull. 12: 125-129.
14. Malathrakis, N. E. 1986. Fungicide resistance in diseases of vegetables growing under plastic in Crete. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 16:429-435.

15. Panayotakou, M., and N. E. Malathrakis. 1983. Resistance of *Botrytis cinerea* to dicarboximide fungicides in protected crops. *Ann. appl. Biol.* 102:293-299.
16. Takeuchi, T. 1987. Studies on the epidemiology and control of fungicide resistant gray mold strains. *Spec. Bull Chiba Agric. Exp. Stn. No 14.* 75p. (In Japanese).
17. Trinci, A. P. J., and J. F. Ryley. 1984. Mode of action of antifungal agents. Symposium of The British Mycological Society held at The University of Manchester Manchester, September 1983. Cambridge University Press. 450p.
18. Yang, H. C., and L. S. Leu. 1991. Benomyl resistance of *Colletotrichum musae* isolated from banana fruit. *Plant Prot. Bull.* (In Press)