

台灣瓜類疫病之調查、病原菌鑑定及病原性測定

安寶貞^{1,*}、蔡志濃¹、王姻婷¹、蔡惠玲¹、陳鴻祥²、林筑蘋¹、黃晉興¹

¹ 農業試驗所植物病理組，台灣 台中市。

² 國立中興大學植物病理系，台灣 台中市。

* 聯絡作者，E-mail：pjann@tari.gov.tw。

摘要

安寶貞、蔡志濃、王姻婷、蔡惠玲、陳鴻祥、林筑蘋、黃晉興。2016。台灣瓜類疫病之調查、病原菌鑑定及病原性測定。植物醫學58(2)：49-58

自1980至2015年調查台灣瓜類疫病之發生情形，其中62區罹病田的瓜類罹病組織上可以分離出疫病菌，分離得到的疫病菌經形態特性鑑定與核醣體內轉錄區間 (ITS) DNA基因序列比對，危害我國的瓜類疫病菌主要有兩種，包括 *Phytophthora melonis* (甜瓜疫病菌) 與 *Phytophthora capsici* (番椒疫病菌)。其中 *P. melonis* 分離自36處瓜園，共獲得100菌株，其中44株為A¹菌株，56株為A²菌株，寄主包括胡瓜、冬瓜、扁蒲、甜瓜(包括洋香瓜、甜瓜、美濃瓜)及西瓜，該菌主要危害胡瓜的莖基部、果實及幼苗，與其他瓜類的果實。而 *P. capsici* 則自26處瓜園分離得到，共77菌株，其中27株為A¹菌株、50株為A²菌株，寄主包括胡瓜、冬瓜、南瓜、玩具南瓜、扁蒲、甜瓜及西瓜，該菌主要侵染寄主的果實，亦可造成幼苗猝倒與莖基部腐敗。此外，分離到的疫病菌接種於原先分離的寄主時，均會產生與田間相同的病徵，再分離亦可得到相同病原菌。另比較 *P. melonis* 和 *P. capsici* 對於不同瓜類作物的侵染力，結果顯示兩種疫病菌對胡瓜、冬瓜、南瓜、扁蒲、香瓜、西瓜的幼苗均有相當的致病力，但絲瓜與苦瓜則否。此外，自瓜類分離的 *P. capsici* 菌株可以感染甜椒‘藍星’，但 *P. melonis* 則否。而疫病菌危害冬瓜、南瓜、扁蒲在台灣為首度報導。

關鍵詞：瓜類、疫病、*Phytophthora melonis*、*Phytophthora capsici*。

前言

瓜類 (cucurbit) 屬於葫蘆科 (Cucurbitaceae)，大部分為一年生草本爬藤性作物，目前在台灣種植的種類繁多，全台

分布廣泛，主要包括胡瓜 (cucumber, *Cucumis sativus*)、冬瓜 (wax gourd, *Benincasa hispida*)、苦瓜 (bitter melon, *Momordica charantia*)、絲瓜 (luffa, *Luffa cylindrica*)、南瓜 (squash, *Cucurbita moschata*)、扁蒲 (bottle gourd, *Lagenaria siceraria*)、甜瓜 (melon, *Cucumis melo*) 及西瓜 (watermelon, *Citrullus vulgaris*) 等。在台灣，瓜類作物的病害紀錄甚多⁽²⁴⁾，疫病亦為其中之一，但記載並不完善，僅包括 *P. drechsleri* Tucker (= *P. melonis* Katsura) 引起的胡瓜、絲瓜、甜瓜及西瓜疫病，與 *P. capsici* Leonian 引起的胡瓜、甜瓜、西瓜及玩具南瓜等疫病⁽¹²⁾。近年來，作者調查瓜類作物疫病，發現在降雨潮濕季節或颱風過後，疫情十分嚴重，因此進行全台病害調查、病原鑑定及病原性測定試驗，本文即報告台灣瓜類疫病之發生情形及瓜類疫病菌之特性。

材料與方法

病菌之分離與保存

將罹病的瓜類植株或莖部、葉片、果實等採回，先將罹病組織以清水洗淨、以紙巾將水分瀝乾。將莖部、葉片或果實上病斑與健康區間之組織切成7 mm × 7 mm小塊，經0.5% NaClO溶液表面消毒30 s，再以紙巾吸乾，移置於含有20 mL之5% Clarified V-8 juice agar (簡稱CVA) 選擇性培養基⁽²⁰⁾上。選擇性培養基的製作為先配製5% CVA [將5% V-8 vegetable juice (Campbell Co., USA) 與0.2% CaCO₃混合後，經1,500 rpm低速離心5 min，取上層液，再加入2% Bacto agar (Difco Co., USA)]，於高溫滅菌 (121°C, 1.2 kg/cm², 20 min) 後加入ampicillin 100 ppm、PCNB (Pentachloronitrobenzene) 10 ppm及mycostatin 50 ppm。經24-48 h後，即可見菌絲陸續自病組織長出。切取前端菌絲，移殖於新配製之5% V-8 vegetable juice agar (簡稱5% VA，將5% V-8 vegetable juice與0.02% CaCO₃混合後，加入2% Bacto agar 後滅菌) 上。分離出之疫病菌 (表1) 經單游孢子分離後，再移殖於5% VA上，在24°C下無光照培養3-5天，切取前端

表一、台灣瓜類疫病菌的分離情形

TABLE 1. Isolation of *Phytophthora* from diseased cucurbit fields in Taiwan from 1980 to 2015

Host	Infected portions	Isolates (ratio of mating types) & no. of fields		
		<i>P. melonis</i>	<i>P. capsici</i>	No. of total fields
Cucumber	Basal stem, root, fruit, leaf	18 (19A ¹ :30A ²) ^a	2 (3A ¹)	20
Wax gourd	Fruit, stem, leaf	7 (12A ¹ :12A ²)	2 (6A ²)	9
Chinese squash	Fruit, stem, leaf	0	8 (1A ¹ :24A ²)	8
Ornamental gourd	Leaf, stem, root	0	1 (3A ¹)	1
Bottle gourd	Fruit, stem, leaf	1(3A ¹)	2 (8A ²)	3
Melon	Fruit, stem, leaf	4 (1A ¹ :6A ²)	8 (16A ¹ :4A ²)	12
Watermelon	Fruit, stem, leaf	6 (9A ¹ :8A ²)	3 (4A ¹ :8A ²)	9
Total		36 (44A ¹ :56A ²)	26 (27A ¹ :50A ²)	62

a. Numbers in parenthesis indicated no. of infected fields.

表二、本試驗中使用之瓜類疫病菌資訊

TABLE 2. Information of cucurbit *Phytophthora* isolates used in the study

<i>Phytophthora</i> Species	Isolate no.	Mating type	Host	Infected portion	Location	Isolation year	No. of ITS sequence submitted to NCBI
<i>P. melonis</i>	p206084	A ¹	Cucumber	Fruit	Taichung	2006	KX965706
<i>P. melonis</i>	p205170	A ²	Wax gourd	Fruit	Taichung	2005	GU111618
<i>P. melonis</i>	p215075	A ²	Melon	Fruit	Hsinchu	2015	KX965714
<i>P. melonis</i>	p210276	A ¹	Water melon	Fruit	Hsinchu	2010	KX965707
<i>P. melonis</i>	p210270	A ²	Water melon	Fruit	Hsinchu	2010	KX965708
<i>P. capsici</i>	p210249	A ²	Wax gourd	Fruit	Taichung	2010	KX965709
<i>P. capsici</i>	p209097	A ²	Chinese squash	Fruit	Taichung	2009	KX965710
<i>P. capsici</i>	p209105	A ²	Bottle gourd	Fruit	Taichung	2009	KX965711
<i>P. capsici</i>	p210228	A ²	Melon	Fruit	Nantou	2010	KX965712
<i>P. capsici</i>	p210237	A ²	Watermelon	Fruit	Taichung	2010	KX965713

菌絲塊 (10 mm × 5 mm × 5 mm)，保存於20-24°C下含無菌水之試管中⁽⁵⁾，供下列各項試驗用。

供試疫病菌菌株

供試之瓜類菌株的資料列於表2，包括自瓜類分離之5支 *P. melonis* 菌株 (p206084, p205170, p215075, p210270 及 p210276) 與 5 支 *P. capsici* 菌株 (p210249, p209097, p209105, p210228 及 p210237)。其他供試菌株包括美國加州大學 Dr. G. A. Zentmyer 早年贈送的標準菌株 *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan

(= *Phytophthora parasitica* Dastur) A¹ 菌株 (p991) 與 A² 菌株 (p731)，用於菌株配對型之檢測。

菌落形態觀察

將供試菌株於室溫 (24-28°C) 下培養於含有5% CVA與馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (Potato dextrose agar) (簡稱PDA，每公升培養基中含有200 g煮沸、切碎、未去皮的馬鈴薯塊莖濾液、20 g glucose、2% Bacto agar) 的培養皿 (直徑9 cm) 中培養4-6天。

疫病菌之產孢

孢囊之產生：將供試之瓜類菌株先在5% VA上於24°C下無光照培養3天，再移至光照定溫箱內 (1000-2000 lux, 24°C) 1-4天，每日鏡檢有無孢囊 (sporangia) 長出，以明瞭供試菌株在固態培養基上是否會產生孢囊；或等菌株生長3-5天時，將先端的菌絲切成5 mm × 5 mm × 3 mm小塊，移植於含有20 mL無菌水的玻璃培養皿 (直徑6 cm, Pyrex Co., USA) 中，再經光照處理。量取孢囊大小 (size) 與進行接種試驗時，則依Hwang *et al.* ⁽¹⁴⁾ 研發的方法，讓供試菌株產生大量孢囊。孢囊長出後，在顯微鏡下觀察與測量其大小，每菌株量取100個孢囊。

游走子釋放 (孢囊間接發芽)：菌株形成大量孢囊後，每皿加入20 mL無菌水，於15°C下靜置30 min，再放回室溫30 min，大部分成熟之孢囊均會間接發芽釋放游走子 (zoospores)。將游走子懸浮液濃度調節成每mL含有約10⁴游走子，供接種試驗用。

配對型的測定與卵孢子的產生

配對型 (mating type) 測定：供試菌株先在新鮮5% VA上培養3-5天，將先端的菌絲部份切成2 mm × 2 mm × 2 mm小塊，移入含有10 mL新配製10% VA之培養皿 (直徑6 cm, Pyrex Co., USA) 的中央，每皿放置單一菌株之菌絲塊3-4塊，在24°C無光照培養6-10天。爾後，在顯微鏡下鏡檢有無卵孢子 (oospores) 產生，以判斷供試菌株是否屬同絲型 (homothallic)。如果單一菌株不會形成卵孢子，再依Ann & Ko⁽²⁾ 開發的方法將供試菌株分別與標準菌株 (*P. nicotianae*) p991 (A¹) 和 p731 (A²) 對峙培養，測定供試菌株的配對型。可與A¹配對產生卵孢子者為A²型；可與A²配對形成卵孢子者為A¹型。

卵孢子 (oospores) 形成：利用Ko氏發展之夾膜 (nuclepore membrane) 方法，測定供試菌株是否會產生卵孢子及測量卵孢子大小^(18,19)。

菌絲生長與溫度之關係

配製5% CVA平板，每培養皿 (直徑9 cm) 中含有20 mL培養基。供試菌株先在5% VA培養3-5天，將先端的菌絲部份切成2 mm × 2 mm × 2 mm小塊，移入含5% CVA培養皿的一端 (約距邊

緣1 cm)。溫度分成 8、12、16、20、24、28、32、36°C 等8處理，自第二天開始每日測量菌絲的直線生長速率，至菌絲長滿培養皿或生長至第10天為止。每處理2皿，試驗重複一次。

病原性測定

供試植物：供試接種植物包括自行播種發芽10-14日之瓜類幼苗(包括胡瓜‘鳳燕’與‘喜燕’、苦瓜‘月華’、冬瓜(品種不祥)、絲瓜(品種不祥)、南瓜‘東英’、扁蒲‘春鶯’、西瓜‘秀玲’、甜瓜‘金輝’等)與自台中霧峰菜市場購買之瓜類果實(包括胡瓜、冬瓜、南瓜、扁蒲、西瓜、甜瓜等，品種均不祥)。

接種方法與病害調查：分為幼苗莖基部接種與果實接種等二種接種方式。(1) 莖基部接種：將消毒棉纏繞在供試植株幼苗的莖基部，再將1 mL游走子懸浮液滴於莖基部位，接種植株置於溫室內(24-28°C)。每2天調查植株發病情形一次，至14天為止。每供試菌株接種五株幼苗，試驗重複一次。(2) 果實接種：將市場購買的果實洗淨後，並以酒精棉球擦拭表面，再置於塑膠盒內(約40 cm x 25 cm x 20 cm)。將消毒棉花球置於經傷處理(以滅菌昆蟲針20支為一束，輕刺果實表皮)或未經傷處理的果實表皮上，其上接種0.5 mL游走子懸浮液(10⁴ zoospores/mL)，每果實(或冬瓜果實切片)接種二處，每處理接種2果實。接種後將塑膠盒置於實驗室內(24-25°C)，並以舒潔紙巾保濕，每1-2日觀察病害發生情形，至14日為止。試驗重複一次。

所有的對照處理均接種蒸餾水。接種植株發病後，並將罹病組織切下，以0.5% NaClO溶液表面消毒後放置於分離疫病菌之選擇性培養基上分離病原菌⁽¹⁴⁾，以確定瓜類植株與果實發病是否為接種菌株所引起，完成柯霍氏法則(Koch's postulates)。

核醣體內轉錄區間ITS1-5.8S rDNA-ITS2與部分β-tubulin 基因的DNA定序

DNA 備製：供試菌株於5% VA生長3-5天，切取菌落邊緣之新鮮菌絲塊(ca. 2 mm x 2 mm x 2 mm)，接種於覆蓋一層玻璃紙的5% VA培養皿的中央，在24°C培養5-7天後，刮取玻璃紙上的菌絲，經冷凍乾燥後，保存於-20°C下備用。將約20 mg冷凍乾燥的疫病菌菌絲置於研鉢中，加入少許液態氮(liquid nitrogen)後磨成粉末。依照製造商的操作步驟(the manufacturer's protocol)，利用 Genomic DNA Purification Kit (GeneMark Technology Co., Taichung, Taiwan) 抽取疫病菌的DNA。

PCR 聚合酶連鎖反應與 DNA 定序(sequencing)：核醣體內轉錄區間[ribosomal internal transcribed spacer (ITS) regions]的DNA序列，包括ITS1與ITS2非轉錄(non-coding)區間、5.8S rRNA基因，及部份18S rRNA基因與28S rRNA基因序列，以供試菌株genomic DNA為模板(templates)，

利用通用引子對(the universal primers) ITS5(正向)與ITS4(反向)⁽²⁸⁾進行PCR反應放大。而分析β-tubulin區間(658 bp)的部分基因序列，則利用Villa *et al.*⁽²⁵⁾開發的引子對BT5(5'-GTATCATGTGCACGTACTCGG-3')(正向)與BT6(5'-CAAGAAAGCCTTACGACGGA-3')(反向)進行PCR反應。將PCR反應後的DNA產物直接定序(direct sequencing)，此部分委託昕穎生物科技公司(the Seeing Bioscience Company, Taipei, Taiwan)進行。定序ITS1-5.8S rDNA-ITS2區域時，使用的引子對包括ITS5、5.8S2-1(5'-TCGCACATCGATGAAGAACG-3')(正向)及ITS4、5.8S2-2(5'-TACGGAACACTGATACAGGCAT-3')(反向)；而定序β-tubulin的部分基因序列時，使用的引子對則為BT5與BT6。

DNA 序列的接合(Assembly)與GenBank 資料庫搜尋：利用Vector NTI軟體(Vector NTI software v. 10.0, InforMax Inc., USA)工具將上述獲得的ITS1-5.8S rDNA-ITS2區間與部分β-tubulin基因序列分別經由接合(contingent)與修剪(trimming)後獲得完整序列，而多型部位(polymorphic portions)則依照IUPAC ambiguity codes予以標示。定序後的疫病菌DNA序列則直接上傳到NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)網站，利用BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)軟體從GenBank database資料庫中尋找最相近的疫病菌(species)與菌株序列代號。此外，並將具代表性疫病菌的ITS DNA序列登錄在GenBank database資料庫中(表2)。

疫病菌之鑑定

形態、生理特性比較：依據供試菌株之菌落形態、孢囊與卵孢子之形成條件、孢囊與卵孢子之形態與大小、厚膜孢子(chlamydozoospores)形成與否與大小、菌絲膨脹體(hyphal swellings)形成與否與形態、溫度對菌絲生長之影響等，再依疫病菌之分類文獻^(23,26,27)，予以鑑定之。同時進入NCBI網站，利用BLAST軟體比對核醣體內轉錄區間(ITS1-5.8S rDNA-ITS2)與部份β-tubulin 基因的DNA序列，尋找最相近的疫病菌與菌株序列代號，並予以分群⁽⁷⁾。

瓜類之抗感病性測定

選擇瓜類菌株*P. melonis* (p206084與p205170)與*P. capsici* (p210283與p209097)各兩支，接種發芽10-14日之瓜類[胡瓜、苦瓜、冬瓜、絲瓜、南瓜、扁蒲、西瓜、甜瓜(品種同前)]幼苗與甜椒‘藍星’幼苗，測定不同瓜類品種的抗感病性。接種方法，將欲接種之幼苗放置於塑膠袋(60 cm x 20 cm x 20 cm)內，再將游走子懸浮液倒入噴霧器中，每盆植株約噴霧接種5 mL游走子，之後將袋口密封，並將幼苗移至溫室陰涼處(24-28°C)，兩天後移除塑膠袋，調查接種後14天時全株的發病情形，每處理4株，兩重複。發病情形之調查：罹病級數(disease index)分為5級(4：植株萎凋死亡；3：全株病斑佔植株面積

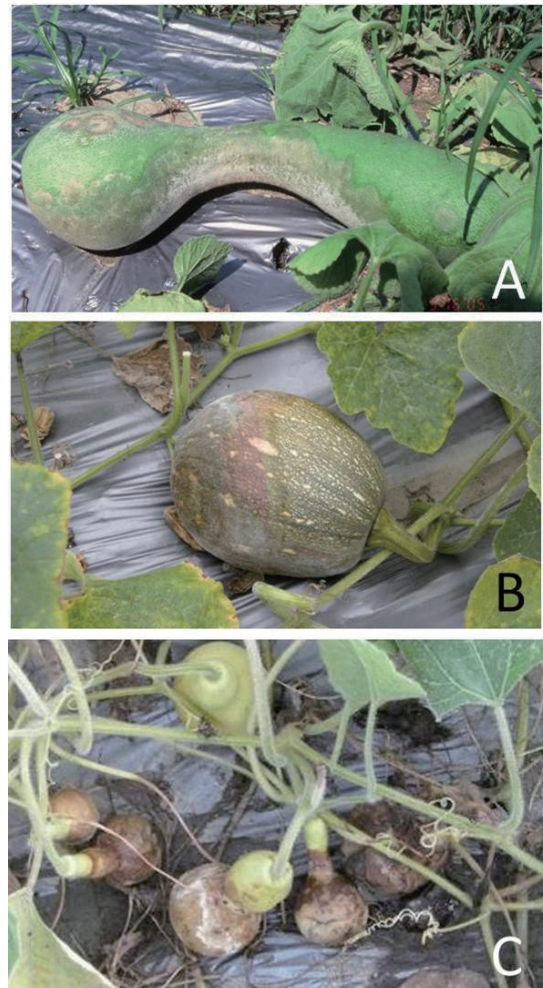
50%以上；2：全株病斑6個或以上，發病面積在50%以下；1：全株病斑1-5個；0：無病徵）。罹病度 (disease severity) (%) = $[(0n^0 + 1n^1 + 2n^2 + 3n^3 + 4n^4) / N] \times 100$ 。0n⁰, 1n¹, 2n², 3n³, 4n⁴分別為各罹病級數的株數，N為全部接種株數。

結果

瓜類疫病之病徵、疫病菌之分離及形態與生理特性之測定

疫病菌之分離與病徵：自1980年至2015年於雨季或颱風過後調查台灣瓜類疫病之發生情形，其中62區罹病田的瓜類罹病組織上可以分離出疫病菌，疫病菌的分離情形如表1所示。被害瓜類品種共有7種，包括胡瓜（全株可被害，包括莖基部、根系、葉片、果實）、冬瓜（果實、莖部及葉片）、南瓜（果實、莖部及葉片）、玩具南瓜 (*Cucurbita pepo*)（莖部及葉片）、扁蒲（果實、莖部及葉片）、甜瓜（果實、莖部及葉片）及西瓜（果實、莖部及葉片）。分離到疫病的地區包括新竹、苗栗、台中、南投、彰化、雲林、嘉義、台南、高雄、屏東等9縣市。分離到的疫病菌有A、B兩種，兩種疫病菌在田間造成的病徵無法明顯區分，幼苗株（以胡瓜為代表）在田間發病時，以葉片與莖部（莖基部）發病最為嚴重，發病葉片初現水浸狀斑點，而後迅速擴大，佈滿全葉；莖部或莖基部感染時，初期亦出現水浸狀，而後組織隘縮、壞疽、崩潰，罹病部位以上組織全部枯萎死亡。成株（或結果株，以甜瓜與西瓜為代表）染病時，以果實病徵最為常見。降雨後，果實上出現圓形水浸狀斑點（健病相鄰組織差異不明顯），而後病斑擴大癒合，病斑上並出現白色霉狀物，莖部與葉片僅出現零星病斑；若降雨時間延長1-2星期，莖部、莖基部及根系相繼出現腐敗與壞疽病徵，全株則萎凋死亡。如果未有降雨但土壤表面潮濕，有些果實與土壤接觸時，接觸部位容易出現病斑，在冬瓜、南瓜、扁蒲（圖1）、甜瓜、西瓜甚為常見，其他部位則較少發病。

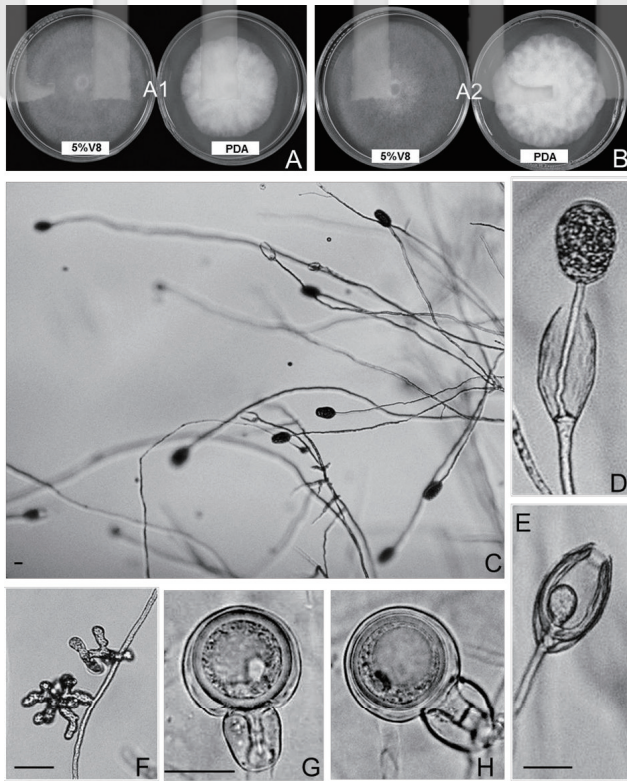
疫病菌之形態與生理特性：疫病菌A在36處瓜園的5種瓜類（包括胡瓜、冬瓜、扁蒲、甜瓜、西瓜）的罹病組織上分離得到，共分離得到100株疫病菌，包括44株A¹菌株與56株A²菌株。56株A²菌株中有34菌株為A²偏同絲性，即菌株在單獨培養時，約14天後，接種處出現卵孢子，但與A¹菌株對峙培養，全部培養基上產生大量卵孢子。該菌主要為害胡瓜的莖基部與其他瓜類的果實。該A類菌株培養在5% CVA時，菌絲較平滑，氣生菌絲甚少，未有明顯特徵；培養在PDA上時，出現近似花瓣狀的圖形（圖2A, 2B），但會因菌株不同而圖形稍有差異。孢囊在固態培養基上不易形成，但將新鮮菌絲塊切下置於無菌水中光照，或以礦物鹽液 (mineral solution) 漂洗處理後⁽¹⁴⁾，則可形成大量孢囊。孢囊為單孢囊梗頂生（圖2C）、卵圓形~長橢圓形、不具乳突、不脫落，供試5菌株的孢囊大小平均57.7-76.5 × 38.7-49.8 μm，孢囊長寬比值 (L/W) 1.21-1.84（表



圖一、瓜類疫病之田間病徵。*Phytophthora melonis* 為害冬瓜果實(A)；*Phytophthora capsici* 為害南瓜(B)與扁蒲(葫蘆瓜)(C)果實，造成果實嚴重腐敗。

Fig. 1. Symptoms of *Phytophthora* diseases of cucurbit in the fields. Serious fruit rot of wax gourd (*Benincasa hispida*) caused by *Phytophthora melonis* (A), and Chinese squash (*Cucurbita moschata*) and bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) by *Phytophthora capsici*.

3)。孢囊成熟後即會立即釋放游走子，不需要低溫處理。釋放游走子後的空孢囊會再生內生 (internal proliferated) 或巢生 (nested) 孢囊（圖2D, 2E）；該A類菌不產生厚膜孢子，但會形成指狀 (lobbed) 不規則菌絲膨脹體 (hyphal swellings) (圖2F)。該A類菌株在單獨培養時不形成卵孢子或僅在接種處產生卵孢子 (同絲性 homothallism)。不產生卵孢子者與 *P. nicotianae* A² 菌株 P731 或 A¹ 菌株 P991 對峙培養後會產生大量卵孢子，因此為 A¹ 或 A² 配對型 (mating type)，屬異絲型 (homothallism)；而會產生卵孢子者當與 A¹ 菌株 P991 對峙培養後全菌絲塊均可產生大量卵孢子，因此為 A² 偏同絲型。但當利用夾膜法⁽¹⁸⁾，將 A¹ 菌株與標準 A² 配對型之菌株隔薄膜對峙培養後，供測試之 A¹ 菌株均會自己



圖二、為害瓜類之甜瓜疫病菌 *Phytophthora melonis* 的形態特性。病原菌在培養基 (5%V8 與 PDA) 上於 24°C 下生長 5 天的特徵 (A & B)。孢囊 (C)、再生孢囊近照 (D & E)、菌絲膨脹體 (F) 及卵孢子、藏卵器及藏精器 (G & H)。

Fig. 2. Morphological characteristics of *Phytophthora melonis* obtained from cucurbits in Taiwan. Colony morphology of A¹ and A² mating types of *P. melonis* formed on 5%V8 and PDA (A & B). Cultures were incubated at 24°C for 5 days. Sporangia formed in distilled water (C), an internal proliferated sporangium (D) and a nested proliferated sporangium (E), hyphal swelling (F), Oogonia, oospores and antheridia (G,H). Bar = 20 μm. Oogonia, oospores and antheridia (E). Bar = 20 μm.

產生卵孢子 (selfing oospores)；反之亦然。瓜類A疫病菌菌株的藏卵器 (oogonia) 表面平滑，卵孢子為非充實性 (aplerotic)，藏精器 (antheridia) 單生單室底著，供試5菌株的藏卵器大小平均為29.1-33.8 μm；卵孢子大小平均為26.2-30.2 μm；藏精器大小平均為 16.3-18.9 × 16.8-20.4 μm (圖2G, 2H & 表4)。菌絲可在 8-36°C 生長，最適生長溫度為28°C (圖3)。

疫病菌B在26處瓜園的7種瓜類 (胡瓜、冬瓜、南瓜、玩具南瓜 (ornamental gourd, *Cucurbita pepo* var. *ovifera*)、扁蒲、甜瓜及西瓜) 的罹病組織上分離得到，共分離得到77株疫病菌，包括27株A¹菌株與50株A²偏同絲菌株。該菌主要侵染寄主的果實，亦可造成幼苗猝倒與莖基部腐敗病害。該B類菌培養在5%V8時，菌絲平滑，氣生菌絲少；培養在PDA上時，出現不明顯放射狀的或不規則圖紋 (圖4A, 4B)。孢囊在固態培養基上形成甚少，但將菌絲塊置於無菌水中光照，或經礦物

表三、台灣瓜類疫病菌的孢囊大小與孢囊梗長度

TABLE 3. Size of sporangia and pedicels of the *Phytophthora* isolates from cucurbit in Taiwan

Species	Isolate	Host	Sporangia (μm)		Sporangia length/width (ratio)	Pedicel (μm)
			Length	Width		
<i>P. melonis</i>	p206084	Cucumber	52.5-(57.8)-65	42.5-(46.3)-52.5	1.14-(1.25)-1.44	N ^a
<i>P. melonis</i>	p205170	Wax gourd	52.5-(57.7)-65	40-(47.7)-55	1.1-(1.21)-1.44	N
<i>P. melonis</i>	p215075	Melon	40-(76.5)-87.5	27.5-(49.8)-55	1.35-(1.53)-1.79	N
<i>P. melonis</i>	p210270	Water melon	50-(73.6)-85	35-(47.2)-60	1.2-(1.57)-1.83	N
<i>P. melonis</i>	p210276	Water melon	55-(70.9)-85	35-(38.7)-45	1.33-(1.84)-2.43	N
<i>P. capsici</i>	p210249	Wax gourd	47.5-(62.9)-75	30-(41.8)-50	1.12-(1.52)-2	10-(28.3)-65
<i>P. capsici</i>	p209097	Chinese squash	37.5-(56.8)-75	25-(34.3)-40	1.15-(1.67)-2.5	25-(57)-105
<i>P. capsici</i>	p209105	Bottle gourd	45-(62.4)-85	25-(34.5)-50	1.22-(1.83)-2.55	15-(56.3)-125
<i>P. capsici</i>	p210228	Melon	50-(62.3)-75	30-(40.4)-50	1.24-(1.56)-2.17	5-(26.1)-65
<i>P. capsici</i>	p210237	Watermelon	50-(61.4)-75	32.5-(39.2)-50	1.22-(1.58)-2	5-(20.7)-50

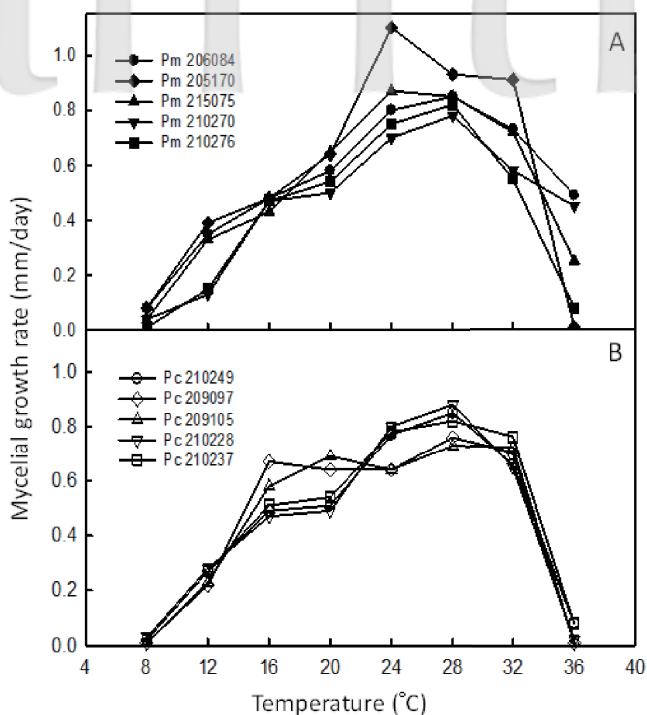
^a N: pedicels were not formed.

表四、台灣瓜類疫病菌的有性生殖器官之大小

TABLE 4. Size of sexual organs of the *Phytophthora* isolates from cucurbit in Taiwan

Species	Isolate	Host	Oogonia (μm)	Oospores (μm)	Antheridia (μm)	
					Length	Width
<i>P. melonis</i>	p205170	Cucumber	22.5-(29.8)-35	20-(26.9)-31.25	12.5-(18.9)-22.5	13.75-(16.8)-20
<i>P. melonis</i>	p206084	Wax gourd	25-(29.1)-35	22.5-(26.2)-32.5	15-(18.8)-22.5	16.25-(17.9)-22.5
<i>P. melonis</i>	p210270	Melon	27.5-(30.8)-35	20-(26.7)-32.5	12.5-(16.3)-22.5	12.5-(16.8)-21.3
<i>P. melonis</i>	p210276	Water melon	25-(30.4)-35	22.5-(27.2)-31.3	15-(18.4)-22.5	13.75-(19.8)-25
<i>P. melonis</i>	p215075	Water melon	27.5-(33.8)-38.8	25-(30.2)-35	15-(18.9)-25	15-(20.4)-26.25
<i>P. capsici</i>	p210249	Wax gourd	32.5-(39.2)-42.5	31.25-(36.3)-40	10-(13.5)-17.5	8.75-(12.3)-13.8
<i>P. capsici</i>	p209097	Chinese squash	35-(37.5)-40	32.5-(34.6)-37.5	11.25-(12.9)-15	11.25-(13.4)-17.5
<i>P. capsici</i>	p209105	Bottle gourd	25-(29.4)-32.5	22.5-(26.9)-30	8.75-(11.9)-15	11.25-(13.8)-17.5
<i>P. capsici</i>	p210228	Melon	32.5-(37.1)-42.5	25-(33.1)-38.75	10-(12.1)-15	11.25-(13.6)-17.5
<i>P. capsici</i>	p210237	Watermelon	32.5-(37.9)-42.5	30-(35.3)-40	12.5-(13.4)-16.3	10-(11.5)-15

鹽液漂洗⁽¹⁴⁾，即可形成大量孢囊。孢囊為傘狀著生於孢囊梗 (sporangiophores) 上，每梗生長3-10個孢囊不等 (圖4C)；孢囊橢圓形、橄欖形或倒卵圓形，具顯著乳突，乳突1或偶而2個 (約10%)，孢囊脫落性或不脫落，脫落率約30%，脫落孢囊具有孢囊梗 (圖4D)。供試5菌株孢囊大小平均56.8-62.9 × 34.3-41.8 μm，孢囊長寬比值 (L/B) 1.52-1.83，孢囊梗長短平均20.7-57.0



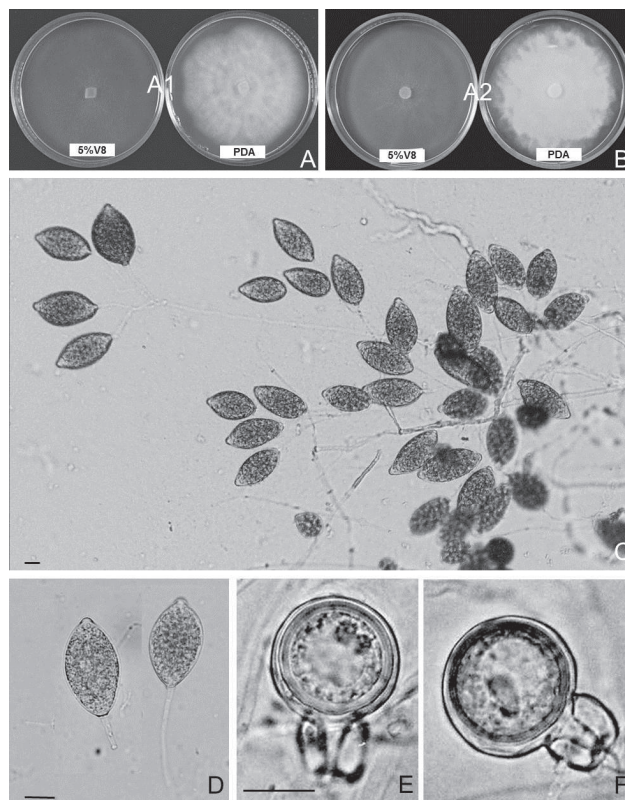
圖三、為害瓜類之疫病菌 *Phytophthora melonis* 與 *P. capsici* 菌絲在不同溫度下之直線生長情形。供試疫病菌菌株：*P. melonis* (p206084, p205170, p215075, 210270 及 p210276) 與 *P. capsici* (p210249, p209097, p209105, p210228 及 p210237)。

Fig. 3. Effect of temperatures on mycelial growth of isolates of *Phytophthora melonis* and *P. capsici* from cucurbit in Taiwan. Test isolates including *P. melonis* (p206084, p205170, p215075, 210270 及 p210276) and *P. capsici* (p210249, p209097, p209105, p210228 及 p210237). Cultures were grown on 5% CV8 in Petri dishes for 5-10 days.

μm (表3)；該B類菌不產生厚膜孢子，亦無菌絲膨脹體形成。該B類菌株在單獨培養時不形成卵孢子 (A^1 mating type) 或僅產生少量的卵孢子 (A^2 mating type 偏同絲型)，但供試 A^1 菌株與 A^2 菌株 P731 或供試 A^2 菌株與 A^1 菌株 P991 對峙培養後會產生大量卵孢子。當利用夾膜法⁽¹⁸⁾，將 A^1 菌株與標準 A^2 配對型之菌株隔薄膜對峙培養後，供測試之 A^1 菌株均會自己產生卵孢子 (圖4E, 4F)；反之亦然。瓜B類疫病菌菌株的藏卵器表面平滑，卵孢子為非充實性，藏精器單生單室底著，供試5菌株的藏卵器大小平均為29.4-39.2 μm；卵孢子大小平均為26.9-36.3 μm；藏精器大小平均為11.9-13.5 × 11.5-13.8 μm (表4)。菌絲可在 8-36°C 生長，最適生長溫度為28°C (圖3)。A, B兩類菌的生長趨勢頗為相似。

疫病菌之病原性測定

將供試疫病菌10菌株 (表2) 的游走子懸浮液 (每mL約含 10^4 zoospores) 分別接種於瓜類幼苗莖基部 (胡瓜寄主接種胡瓜菌



圖四、為害瓜類之番椒疫病菌 *Phytophthora capsici* 的形態特性。病原菌在培養基 (5%V8 與 PDA) 上於 24°C 下生長 5 天的特徵 (A & B)。孢囊 (C)、孢囊近照 (D) 及卵孢子、藏卵器及藏精器 (E & F)。

Fig. 4. Morphological characteristics of *Phytophthora capsici* isolated from cucurbits in Taiwan. Colony morphology of A^1 and A^2 mating types of *P. melonis* on 5%V8 and PDA (A & B). Cultures were incubated at 24°C for 5 days. Sporangia formed in distilled water (C & D). Oogonia, oospores and antheridia (E & F). Bar = 20 μm.

株) 或瓜類果實 (寄主瓜類果實各自接種胡瓜、冬瓜、南瓜、扁蒲、甜瓜、西瓜等分離之菌株) 時，均會出現與田間相似的病徵。胡瓜菌株接種胡瓜幼苗後，約2-4天植株幼苗開始出現萎凋病徵，接種莖基部處的組織隘縮，約7-10天後全株死亡。其餘菌株均接種購自市場的瓜類果實，在傷痕針刺處理的果實上，病徵出現較無傷痕處理者為早，胡瓜接種後約2-3天出現水浸狀病徵，冬瓜、南瓜、扁蒲、甜瓜、西瓜約3-5天後出現水浸狀圓形病斑，病斑直徑約0.5-1 cm，並長出白色霉狀物，而後病斑迅速擴大，可佈滿整個果實，果實在7-14天內即會嚴重腐敗崩潰，與田間病徵相似，並可分離到與接種時相同的菌株。接種同類果實時 (如甜瓜與西瓜均會被A, B兩菌為害)，接種 A^1 類菌株的果實較接種 B^1 類菌株的果實發病較嚴重，霉狀物生長較濃密。接種未傷痕處理的果實時，除胡瓜發病較早 (約3-5天出現病徵) 外，其餘果實發病需時較久，病徵出現約需5-7天，發病率 A^1 類菌株為100%， B^1 類菌株約50-100%。但病徵

一旦出現後，發病果實的病勢進展速率則與傷痕處理者一樣快速與嚴重。

引起瓜類 *Phytophthora* 之傳統鑑定

經比對 Waterhouse et al. 的分類文獻^(23,26,27)，由菌落形態，孢囊著生方式與形態，及孢囊脫落性等特徵，顯示自胡瓜、冬瓜、扁蒲、甜瓜及西瓜分離到的A類疫病菌（包括 p206084, p205170, p215075, p210027及 p210276為代表）屬於group 6，鑑定為 *Phytophthora melonis* Katsura。特性為孢囊單孢囊梗頂生、無乳突及不脫落性、可形成再生內生與巢生孢囊；卵孢子異絲型或同絲型，藏精器單生底著，寬度平均約15-20 μm。此外，該菌可耐35-36°C 高溫。自胡瓜、冬瓜、南瓜、扁蒲、甜瓜及西瓜分離到的B類疫病菌（包括 p210249, p209097, p209105, p210228及 p210237為代表）屬於group 2，鑑定為 *Phytophthora capsici* Leonian。特性為孢囊傘狀著生、有明顯乳突及脫落性，脫落孢囊梗長度平均在20-50 μm以上，卵孢子異絲型，藏精器單生底著。此外，該菌亦可耐35-36°C 高溫。

核醣體內轉錄區間 ITS1-5.8S rDNA-ITS2 與部份 β-tubulin 基因的DNA定序

將瓜類分離得到的A (23株)、B (21株) 兩類疫病菌菌株 (表2) 進行ITS1-5.8S rDNA-ITS2 (簡稱ITS) 的DNA序列定序與分析。結果所有23株A類疫病菌 (傳統鑑定為 *P. melonis*) 的ITS全長DNA序列均為 826 bp，而且序列完全相同。此外，將A類菌株的基因序列均上傳到 NCBI 網站，利用BLAST搜尋軟體與GenBank 資料庫收錄的DNA序列進行比對，最相近的菌種為 *P. melonis*，相似度達100%，且與收錄的19株菌株的序列 (JN120168等) 完全相同。而利用BT5 與 BT6引子對分析23株A類疫病菌菌株的部分 β-tubulin 基因序列長度均為658 bp，而且序列完全一致。BLAST搜尋結果顯示，序列與 GenBank 資料庫中收錄最接近的疫病菌為 *P. melonis*，序列相近度高達100%，最接近者為 Eu080472.1等5條序列。因此，A類菌株的DNA序列鑑定為 *P. melonis*，屬於Cooke分生分類群中第7群 (clade)⁽⁷⁾。

所有21株B類疫病菌 (傳統鑑定為 *P. capsici*) 的ITS全長DNA序列均為 752 bp，但21株B類菌株的ITS序列有4處相異，相似度為 99.47-100%。將代表的5株B類菌株 (表2) 的基因序列利用BLAST搜尋軟體進行DNA序列進行比對，最相近的菌種為 *P. capsici*，與其中DNA序列KF700090.1等共11株的相似度達100-99.5%。而 β-tubulin 分析結果，19株B類疫病菌的部分基因序列有7處相異，BLAST搜尋結果顯示，與 GenBank 資料庫中收錄最接近的疫病菌亦為 *P. capsici*，序列相近度高達100-99.24%，最接近者為 LN908270.1等9條序列。故而，B類菌之鑑定為 *P. capsici*，屬於Cooke分類群中第2群⁽⁷⁾。

此外，將10代表菌株 (*P. melonis* 與 *P. capsici*) 菌株各5株，

表2) ITS序列的資訊登錄於GenBank 資料庫中，並將登錄號列於表2中。本試驗結果顯示 *P. melonis* 與 *P. capsici* 基因序列的比對結果支持形態傳統鑑定的可性度。

不同瓜類幼苗對瓜類疫病菌的抗感病性測定

以瓜類菌株 *P. melonis* (p206084與 p205170) 與 *P. capsici* (p210283 與 p209097) 各兩支為代表，比較不同瓜類作物對 *P. melonis* 和 *P. capsici* 侵染力的抗感病性。結果 (表5) 顯示兩種疫病菌對胡瓜、冬瓜、南瓜、扁蒲、香瓜、西瓜的幼苗均有相當的致病力，罹病率均在50% (含50%) 以上，但苦瓜與絲瓜則否，罹病率在26% 以下。其中，甜瓜 '新玉' 最為感病，接種 4 菌株的幼苗發病率均為100%；胡瓜 '鳳燕' 與 '喜燕' 對 *P. melonis* 比較感病，發病率為100%；而南瓜則對 *P. capsici* 比較感病，發病率為100%。此外，自瓜類分離的 *P. capsici* 菌株可以感染甜椒 '藍星'，發病率為87.5%，但 *P. melonis* 則否，不會侵染甜椒。

表五、瓜類不同疫病菌 *Phytophthora melonis* 和 *P. capsici* 菌株對不同瓜類品種與甜椒之致病性檢定

TABLE 5. Virulence of isolates of *Phytophthora melonis* and *P. capsici* to different species of cucurbit and sweet pepper.

Cucurbit variety	Diseased severity ^a			
	<i>P. melonis</i> p26084	<i>P. melonis</i> p205170	<i>P. capsici</i> p210283	<i>P. capsici</i> p209097
Cucumber 'Feng yan'	100	100	62.5	62.5
Cucumber 'Xi yan'	100	100	50	50
Wax gourd	100	100	75	75
Chinese squash 'Tung ying'	87.5	87.5	100	100
Bottle gourd 'Chun ying'	75	87.5	87.5	87.5
Bitter gourd 'Yue hua'	0	0	25	25
Loofah	0	0	0	0
Melon 'Xin yu'	100	100	100	100
Water melon 'Xiu ling'	50	50	75	50
Sweet pepper 'Blue star'	0	0	87.5	87.5

^a Zoospore suspension of different *Phytophthora* species was sprayed on 10-14 day olds seedlings of different species of cucurbit and sweet paper, and disease index was taken 14 days after inoculation.

討 論

瓜類疫病為近40年才在台灣崛起的重要病害。我國瓜類疫病的最早記錄為 Kao & Leu⁽¹⁵⁾ 報導胡瓜被 *Phytophthora drechsleri* Tucker 危害，造成基腐、葉枯與果腐；數年後他們將病原菌更名為甜瓜疫病菌 (*P. meloni* Katsura)⁽¹⁶⁾。而在1981年 Leu & Kao⁽²²⁾ 在腐敗的西瓜果實上分離到另一種疫病菌

Phytophthora capsici Leonian (番椒疫病菌)，開啟了我國植病界對瓜類疫病之研究。然而，有關瓜類疫病菌*P. melonis* 與 *P. capsici* 之分類鑑定，在國際上曾有一番爭議^(8,9)。

Phytophthora melonis 最早為日本學者 Katsura⁽¹⁷⁾ 從罹病胡瓜上分離到的一個新種疫病菌；由於當時他對於標準菌株 (type culture) 描述的錯誤 (孢囊具半乳突，及存在厚膜孢子；而事實上，該菌的孢囊無乳突，且並未發現厚膜孢子)，使得 Yu & Zhuang⁽²⁹⁾ 亦發表一個瓜類的新種疫病菌 *Phytophthora sinensis* Yu & Zhuang。在1990年代，我國曾邀請國際知名之疫病菌傳統分類專家何漢興博士來台，從事台灣疫病菌之分類鑑定研究，何博士當時認為 *P. melonis* 與 *P. sinensis* 都是 *P. drechsleri* 的同種異名^(10,11,12)。爾後，由於分生技術突飛猛進，DNA等基因序列參與生物的分類鑑定日趨重要，在先進技術的協助下，顯示 *P. melonis* 與 *P. drechsleri* 的ITS序列有相當差異，而且兩菌分屬不同的clades，*P. melonis* 屬於clade 7，而 *P. drechsleri* 屬於clade 8⁽⁷⁾，因此學者們認同兩菌不同，但均為有效種 (species)。而在2007年，Ho等亦重新描述 *P. melonis*⁽¹³⁾，該菌的分類爭論才告停息。其實，*P. melonis* 與 *P. drechsleri* 兩菌的形態特徵有顯著不相同，兩菌雖然均屬於Waterhouse⁽²⁶⁾ 分類群中的第6群，其共同特徵為孢囊沒有乳突 (papilla)，有性世代藏精器底著^(23,26,27)。然而，*P. melonis* 的孢囊一般為單軸頂生，孢囊不脫落，釋放游走子後會再生內生或巢生孢囊；而該菌藏精器的寬度相對較大，直徑平均在15-20 μm；而 *P. drechsleri* 的孢囊一般為單假軸 (simple sympodium) 著生，每個孢囊梗上大約著生1-3個孢囊，釋放游走子後，甚少會再生內生或巢生孢囊。而在台灣分離到的 *P. drechsleri* 未見到有性世代⁽³⁾，無從比較。本研究自瓜類分離到的A類疫病菌均為典型的 *P. melonis*。因此，疫病菌 *P. melonis*，而非 *P. drechsleri*，確定為引起台灣瓜類的重要疫病菌之一。

除學名的混淆須慎重鑑定外，*P. melonis* 的寄主範圍相對狹隘，主要為害瓜類作物，本實驗僅在罹病的胡瓜、冬瓜、扁蒲、甜瓜及西瓜上分離得到。先前的報告曾指出該菌可引起胡瓜疫病⁽¹⁵⁾、西瓜疫病⁽¹⁶⁾、甜瓜疫病⁽⁶⁾ 及絲瓜疫病⁽¹¹⁾，但本試驗中並未見到絲瓜罹患疫病的情形，而且在接種試驗中發現絲瓜對兩種疫病菌均具相當抗性。

在本試驗中發現為害台灣瓜類的另一種重要疫病菌為 *P. capsici*。有關該菌的分類鑑定在國際上於早年 (2001年以前) 亦曾發生過混淆情形，該菌與 *P. tropicalis* Aragaki & Uchida 曾被歸類為 *P. palmivora* MF4，直到 2001年才釐清 *P. capsici* 與 *P. tropicalis* 的分類地位⁽⁴⁾。在形態上，*P. palmivora* (Butler) Butler、*P. tropicalis* 及 *P. capsici* 三菌均屬於Waterhouse⁽²⁶⁾ 分類群中的第2群，其孢囊具有顯著的乳突，而藏精器均為底著。該三菌的孢囊成熟後均可脫落，但三者的孢囊柄 (pedicels) 長度則有相當差異。*P. palmivora* 孢囊柄的長度平均僅有2-5 μm，*P. capsici* 與 *P. tropicalis* 的孢囊柄長度在20 μm以上，甚而100 μm以上⁽¹³⁾。*P. tropicalis* 與 *P. capsici* 的差別在於前者的孢囊較

狹長，孢囊長寬比值在1.8以上，可以產生厚膜孢子，不為害茄科作物；後者孢囊長寬比值在1.8以下，未發現厚膜孢子，為害茄科作物⁽⁴⁾。在分生特性方面，該三菌之ITS序列有顯著差異，*P. palmivora* 屬於clade 4，而 *P. capsici* 與 *P. tropicalis* 屬於clade 2⁽⁷⁾。目前在台灣瓜類作物上分離到的 *P. capsici* 疫病菌均為典型的 *P. capsici*⁽²¹⁾。該菌的孢囊傘狀著生於孢囊梗上，孢囊橢圓形、檸檬形或橄欖形，具顯著乳突、1或2個，孢囊脫落性，孢囊梗長平均20-60 μm；該菌無厚膜孢子；異絲型，藏精器底著。有關分生特性方面，該菌之ITS序列全長度為752 bp，與NCBI基因庫收錄之 *P. capsici* 的相似度最高達100%。*P. capsici* 的寄主範圍較 *P. melonis* 為廣泛，它除了為害茄科作物 (番椒、番茄、茄子)⁽²⁴⁾ 與瓜類作物外，在台灣發現的寄主作物尚包括石竹科作物 (康乃馨、滿天星、石竹)、菊科作物 (波斯菊、大理花)、青蔥、蘆薈、吊鐘花及萵花、萵葉等^(1,24)。在早年記錄的瓜類寄主作物包括胡瓜、玩具南瓜、甜瓜及西瓜等⁽²⁴⁾，本實驗中新增的寄主瓜類包括冬瓜、南瓜及扁蒲。

誌 謝

本文承蒙行政院農業委員會科技計畫 [102農科-10.2.1-農-C1(1)、103農科-10.2.1-農-C4(1) 及 104農科-10.6.1-農-C1(2)] 補助試驗經費及柯文雄教授修正英文，謹此誌謝。

引用文獻

1. Ann, P. J., Huang, T. C., and Wang, 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)
2. Ann, P. J. and Ko, W. H. 1988. Hormonal heterothallism in *Phytophthora parasitica*: a novel mode of sexual reproduction? J. Gen. Microbiol. 134:2985-299.
3. Ann, P. J., Wong, I. T., Tsai, J. N., and Huang, H. C. 2012. New records of *Phytophthora* diseases of Chinese medicinal herbs in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 21: 65-77.
4. Aragaki, M. and Uchida, J. Y. 2001. Morphological distinctions between *Phytophthora capsici* and *P. tropicalis* sp. nov. Mycologia 93: 137-145.
5. Boesewinkel, H. J. 1976. Storage of fungal cultures in water. Trans. Br. Mycol. Soc. 66:183-185.
6. Chang, H. S. 1983. Crop diseases incited by *Phytophthora* fungi in Taiwan. Plant Prot. Bull. 25:231-237. (in Chinese with English abstract)
7. Cooke, D. E. L., Drenth, A., Duncan, J. M., Wagels, G., and Brasier, C. M. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. Fungal Gen. Biol. 30:17-32.

8. Erwin, D. and Ribeiro, O. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS press. Minnesota, USA. 562 pp.
9. Gallegly, M. E., and Hong, C. X. 2008. *Phytophthora*: Identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints. Am. Phytopathol. Soc. (APS Press) Minnesota, USA. 158 pp.
10. Ho, H. H. 1986. *Phytophthora melonis* and *P. sinensis* synonymous with *P. drechsleri*. Mycologia 78:907-912.
11. Ho, H. H. 1990. Taiwan *Phytophthora*. Bot. Bull. Acad. Sin. 31:89-106.
12. Ho, H. H., Ann, P. J., and Chang, H. S. 1995. The Genus *Phytophthora* in Taiwan. Acad. Sin. Mon. Ser. 15. Taipei, Taiwan, ROC. 86 pp.
13. Ho, H. H., Gallegly, M. E., and Hong, C. X. 2007. Redescription of *Phytophthora melonis*. Mycotaxon 102:339-346.
14. Hwang, S. C., Ko, W. H., and Aragaki, M. 1976. A simplified method for sporangial production by *Phytophthora cinnamomi*. Mycologia 68:1233-1234.
15. Kao, C. W., and Leu, L. S. 1977. Three unreported species of *Phytophthora* in Taiwan. Plant Prot. Bull. 19:302-303 (abstract in Chinese)
16. Kao, C. W., Masago, H., and Leu, L. S. 1982. Identification of *Phytophthora* species by disc electrophoresis. Plant Prot. Bull. 24:193-200.
17. Katsura, K. 1968. *Phytophthora melonis* n. sp. of cucumber. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn, 34: 167. (abstract in Japanese)
18. Ko, W. H. 1978. Heterothallic *Phytophthora*: evidence for hormonal regulation of sexual reproduction. J. Gen. Microbiol. 107:15-18.
19. Ko, W. H. 1980. Hormonal regulation of sexual reproduction in *Phytophthora*. J. Gen. Microbiol. 116:459-461.
20. Ko, W. H., Chang, H. S., and Su, H. J. 1976. Isolates of *Phytophthora cinnamomi* from Taiwan as evidence for an Asian origin of the species. Trans. Br. Mycol. Soc. 72:353-358.
21. Leonian, L. H. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici* sp. nov. Phytopathology 12: 401-408.
22. Leu, L. S., and Kao, C. W. 1981. Pepper blight induced by *Phytophthora capsici*. Plant Prot. Bull. 23:59-66. (in Chinese with English abstract)
23. Stamp, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J., and Hall, G. S. 1990. Revised Tabular Key to the Species of *Phytophthora*. Mycol. Pap. 162, Comm. Mycol. Ins. Kew Surrey, England.
24. Tsu, S. T., Chang, T. C., Chang, C. A., Tsai, J. L., and Tsay, T. T. 2002. List of Plant Diseases in Taiwan. 4th ed. Taiwan Phytopathol. Soc. Pub. Taichung. 386 pp. (in Chinese)
25. Villa, N. O., Kageyama, K., Asano, T., and Suga, H. 2006. Phylogenetic relationships of *Pythium* and *Phytophthora* species based on ITS rDNA, cytochrome oxidase II and β -tubulin gene sequences. Mycologia 98:410 – 422.
26. Waterhouse, G. M. 1963. Key to the Species of *Phytophthora* de Bary. Mycol. Pap. 92, CMI, Kew Surrey, England.
27. Waterhouse, G. M. 1970. The Genus *Phytophthora* de Bary- Diagnoses (or Descriptions) and Figures from the Original Papers. Mycol. Pap. 122. CMI, Kew Surrey, England.
28. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pages 315-322 in: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Innis, M.A., Gelfand, D. H., Snirsky, J. J., and White, T. J., eds. Academic Press. San Diego, USA., 482 pp.
29. Yu, Y. N., and Zhuang, W.Y. 1982. *Phytophthora sinensis*, a new species causing blight on *Cucumis sativa*. Mycotaxon 14: 181-188.

ABSTRACT

Ann, P. -J., Tsai, J. -N., Wang, I. -T., Tsai, H. -L., Chen, H. -S., Lin, J. -P., and Huang, J. -H.. 2016. Survey of *Phytophthora* Diseases of Cucurbit, Pathogen Identification and Pathogenicity Study in Taiwan. J. Plant Med. 58(2): 49-58.

A survey of *Phytophthora* diseases of cucurbit crops in Taiwan was conducted from 1980 to 2015 and *Phytophthora* species were detected in 62 cucurbit fields. Analysis of morphological characteristics and RNA Internal Transcription DNA Sequence (ITS1-5.8S rDNA-ITS2) of these isolates revealed that *Phytophthora melonis* and *Phytophthora capsici* were two predominant species found in Taiwan cucurbit fields. Analysis of 100 *P. melonis* isolates obtained from 36 sites revealed that 44 isolates were A¹ and the remaining isolates were A². *P. melonis* was primarily isolated from diseased cucumber (*Cucumis sativus*), wax gourd (*Benincasa hispida*), bottle gourd (*Lagenaria siceraria*), melon (*Cucumis melo*), and watermelon (*Citrullus vulgaris*). Analysis of *P. capsici* 77 isolates collected from 26 fields revealed that 27 isolates were A¹ and 50 isolates were A². *P. capsici* was isolated from cucumber, wax gourd, Chinese squash (*Cucurbita moschata*), ornamental gourd (*Cucurbita pepo* var. *ovifera*), bottle gourd, melon and watermelon. *Phytophthora melonis* mainly attacked the basal stems, fruits and young seedlings of cucumber and the fruits of other cucurbit plants in the fields. In contrast, *P. capsici* mainly induced fruit rot of the infected plants, but sometimes it also caused seedling damping-off and basal stem rot. All *Phytophthora* isolates collected from cucurbit belonged to the typical types of *P. melonis* or *P. capsici*. Pathogenicity assays revealed that the pathogens

caused symptoms resemble those found in the fields and the same pathogen could be reisolated from all artificially infected tissues. Pathogenicity tests showed that both *Phytophthora* species were highly virulent to the seedlings of cucumber, wax gourd, Chinese squash, bottle gourd, melon and watermelon, but not to bitter melon (*Momordica charantia*) and luffa (*Luffa cylindrica*). In addition, *P. capsici* but not *P. melonis* isolated from cucurbit plants was highly virulent to sweet pepper. To our knowledge, this is the first report of *Phytophthora* spp. causing diseases on wax gourd, Chinese squash and bottle gourd in Taiwan.

Keywords: cucurbit, Phytophthora diseases, *Phytophthora melonis*, *Phytophthora capsici*, pathogenicity.