

# 臺灣地區由 *Stagonosporopsis cucurbitacearum* 所引起之 苦瓜黑腐病及其防治藥劑篩選

羅佩昕<sup>1</sup>、王照仁<sup>1</sup>、蔡叔芬<sup>2</sup>、王彥智<sup>2</sup>、林照能<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 農委會臺中區農業改良場

<sup>2</sup> 農委會農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所

\* 聯絡作者，E\_mail: catalase@fthes-tari.gov.tw

## 摘要

羅佩昕、王照仁、蔡叔芬、王彥智、林照能。2019。臺灣地區由 *Stagonosporopsis cucurbitacearum* 所引起之苦瓜黑腐病及其防治藥劑篩選。植物醫學61(2): 19-26。

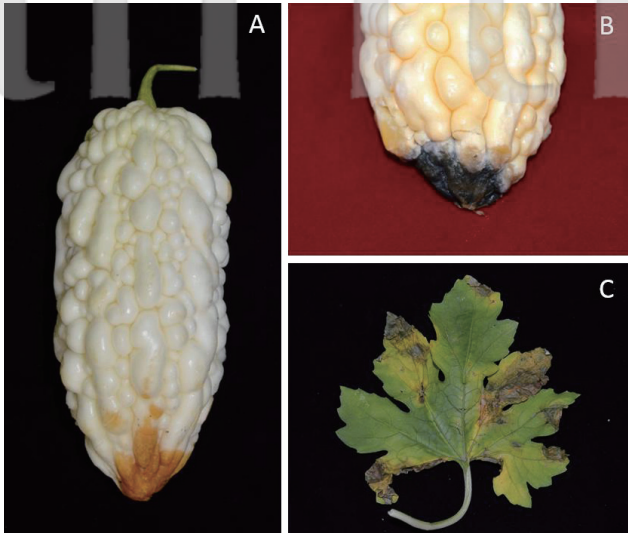
2016年夏秋(9月-11月)季節，於屏東的里港與萬巒及臺南東山地區，初期觀察到苦瓜果實上發生類似細菌性果斑病菌之褐色水浸狀病徵，後期病斑上可見黑色柄子殼產生。經由形態學觀察與分子生物學特徵，將其鑑定為 *Stagonosporopsis cucurbitacearum* (Fr.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (syn. *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm)，該菌被證實可引起多種瓜類的蔓枯病和果實的黑腐病或果腐病。本研究自罹病苦瓜果實分離之菌株SC04與SC10及葉片所分離之菌株SCI01，經病原性測試結果顯示，來自果實與葉部之 *S. cucurbitacearum* 菌株皆可在苦瓜果實引起黑腐的病徵，於葉片和莖部則可造成褐色水浸狀病斑。此外，SCI01、SC04及SC10菌株對6種不同瓜類之寄主範圍測試，結果顯示供試菌株皆可在所有測試植株上造成水浸狀病斑，然其中又以胡瓜(秀綠)、西瓜(甜美人)、甜瓜(銀輝)及洋香瓜(秋香)病徵表現較嚴重。進一步測試該病原菌對不同藥劑之感受性，結果指出目前推薦於防治瓜菜類病害之藥劑中，以賽福座的效果最佳，而四氯保淨次之，於培養基上對病原菌菌落之生長抑制率均可達70%以上，可提供農民防治苦瓜黑腐病之參考。

關鍵詞：苦瓜、黑腐病、蔓枯病、*Stagonosporopsis cucurbitacearum*

## 緒言

苦瓜 (*Momordica charantia* L.) 為葫蘆科作物，一年生蔓生草本植物，原產於東印度，分佈於熱帶與亞熱帶地區，具有食用與藥用功能，於歐美地區亦作為園藝觀賞植物<sup>(14)</sup>。根據106年臺灣農業統計年報，苦瓜栽培面積約1,430公頃，產量達27,879公噸，主要產地依產量分別為屏東縣、彰化縣、臺中市及高雄市等地區<sup>(6)</sup>。由於苦瓜不耐低溫，中部地區冬季溫度較低，僅於夏季種植，高屏地區全年皆可栽培<sup>(12)</sup>。夏季苦瓜栽培期病害繁多，以萎凋病為主要之栽培限制因子，此外亦包含白絹病 (*Athelia rolfsii* (Curzi) C.C. Tu & Kimbr.)、黃暈病 (*Cercospora citrullina* Cooke)、炭疽病 (*Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ellis & Halst.)、露菌病 (*Peronoplasmopara momordicae* Sawada)、簇葉病 (Phytoplasma)、根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita* Kofoid & White) 及病毒 (*Cucumber mosaic virus*) 等危害<sup>(8)</sup>。而在高濕高溫下之病害主要為 *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* 引起之細菌性果斑病與 *Colletotrichum lagenarium* 引起之炭疽病為主<sup>(13)</sup>。1994年臺灣地區瓜類細菌性果斑病 (bacterial fruit blotch of cucurbits) 於高屏地區及臺南善化等地栽培之果實出現，可感染西瓜、甜瓜及苦瓜等瓜類作物，感染苦瓜時，罹病葉片呈現褐色壞疽斑，罹病果實表面呈現水浸狀褐色病斑，濕度高時可逐漸擴大，造成農民之嚴重損失<sup>(3,17)</sup>。

2016年夏秋季節(9月-11月)，高溫與連續降雨後，於屏東里港與萬巒及臺南東山等地區，發現於成熟期之苦瓜果實上產生褐色水浸狀斑點，病斑多位於果頂 (blossom end)(圖一 A)，剖開苦瓜果實病斑處，此褐色水浸病斑蔓延內部果肉，此病害發生初期常被農民誤認為由 *A. avenae* subsp. *citrulli* 引起之西瓜細菌性果斑病，影響商品價值與產量。然隨病勢發展，果實病斑處產生黑褐色至黑色柄子殼 (圖一 B)，而於田間亦觀察到



圖一、苦瓜果實黑腐病 (Black rot)。(A) 初期於果頂處產生褐色水浸狀斑點，(B) 後期可於病斑上產生黑色柄子殼或子囊殼，(C) 苦瓜葉片可見黑褐色水浸病斑，周圍具有黃暈。

**Fig. 1.** Black rot of balsam pear fruit. (A) A brown and water-soaked lesion on the blossom end in early stage. (B) The blackish pycnidia or perithecia were observed on the lesion at later stage. (C) Brown and water-soaked lesions with yellow halo on the leaf.

由本病原菌於葉片上造成黑褐色水浸狀病斑，病斑周圍具黃暈(圖一 C)。此病害與林與方 (2001) 報告所描述苦瓜果腐病 (fruit rot) 之病徵相似，造成苦瓜果實產生褐色斑點並逐漸擴大，病斑上具黑色小點，終致整個果實腐爛，但報導中並未鑑定引起此病害之病原菌<sup>(14)</sup>。Furukawa 氏等人 (2007) 曾指出，於2004至2005年夏季日本關東與北海道地區，常發生苦瓜果實於成熟階段，產生褐色、凹陷並逐漸擴大至整個果實之壞疽斑，並導致落果發生，且後期病斑上可見黑色點狀之柄子殼<sup>(7)</sup>。而Choi與Kim兩氏 (2015) 指出，韓國曾於2013至2014年間夏秋季節，發生苦瓜果頂處產生圓形之水浸狀病徵，受感染之組織上具黑色柄子殼，於高濕環境下可釋放大量的分生孢子，稱之為黑腐病 (black rot)<sup>(5)</sup>。

由於臺灣地區針對引起苦瓜果腐病之病原菌與其特性無相關詳細報告，本研究目的為：(一) 確定造成苦瓜果實腐敗之病原菌種類；(二) 確認其病原性與瓜類寄主範圍；(三) 篩選具抑制病原之藥劑。

## 材料與方法

### 一、病原菌的蒐集與分離

於2016年9-11月間自屏東與臺南地區，蒐集具褐色水浸狀罹病苦瓜果實，與具黑褐色壞疽病徵之苦瓜葉片，以滅菌後解剖刀切下病健部直徑約3 mm大小的葉片圓盤或果肉，於0.5%

次氯酸鈉浸泡30秒後，再以無菌水漂洗3次，以無菌濾紙片吸乾多餘水分後放置於2%水瓊脂培養基 (water agar, WA) 平板，於28°C光照12小時恆溫生長箱 (LIAN SHEN, Taiwan) 培養3天後，以移植針切取單一菌絲尖端，移至馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (potato dextrose agar, PDA) 平板，供後續試驗使用。由臺南市東山區苦瓜葉片所分離之菌株代號為SC101，臺南市東山區苦瓜果實分離之菌株代號為SC04，而自屏東縣里港鄉苦瓜果實所分離之菌株代號為SC10。

### 二、病原菌形態觀察

將病原菌菌株SC101、SC04及SC10培養於PDA培養基平板上，於28°C光照12小時恆溫生長箱培養7天後，觀察其菌落形態。另將菌株分別培養於1/4馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (one-quarter-strength potato dextrose agar, QPDA) 平板上，於24°C光照12小時恆溫生長箱培養14天後，待其菌落上形成黑色之柄子殼或子囊殼，挑取培養基上之柄子殼或子囊殼，於顯微鏡下觀察其形態並取30個孢子量測與計算孢子之平均大小。

### 三、分子生物鑑定

將菌株SC101、SC04及SC10培養於PDA培養基，於28°C光照12小時恆溫生長箱培養7天後，以移植環刮取菌絲於1.5 ml之微量離心管內，再以去氧核糖核酸萃取試劑套組 (Quick-gDNA™ Miniprep Kit, Zymo research, USA) 進行DNA萃取。將所萃取之DNA進行聚合酵素連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)，增幅Internal transcribed spacer (ITS) rDNA片段。PCR反應溶液中加入各0.5μl之10μM引子對、18μl H<sub>2</sub>O、5μl PCR master mix和1μl樣本DNA模板，總體積為25μl。ITS引子對為ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')/ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')<sup>(19)</sup>。ITS之PCR增幅條件先以94°C反應120 sec，之後進行94°C 40 sec，56°C 60 sec，72°C 60 sec，共35個循環，最後再進行72°C 10min。β-tubulin引子對為BT2Fd (5'-GTBCACCTYCARACCGGYCARTG-3')/ BT4Rd (5'-CCRGAYTGRCCRAARACRAAGTTGTC-3')<sup>(18)</sup>。β-tubulin之PCR增幅條件先以94°C 5 min，之後進行94°C 30 sec，62°C 30 sec，72°C 30 sec，共40個循環，最後再以72°C 7 min。將增幅之DNA片段以1.5% (w/v) TAE瓊脂凝膠進行電泳分析，並將PCR產物送由源資國際生物科技股份有限公司定序。將所得序列切除含有引子對之核苷酸序列，並輸入美國生物科技技術中心 (National Center of Biotechnology Information, NCBI) 網站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 利用BLAST與基因庫中的序列進行比對。

## 四、苦瓜病原性測試

### (一) 菌絲塊接種測試

將菌株SCI01、SC04及SC10培養於PDA培養基，於28度光照12小時恆溫生長箱培養7天後，以內徑5 mm之打孔器切取菌落邊緣之菌絲圓盤。另將苦瓜果實以脫脂棉花沾取75%酒精輕輕擦拭果實表面，再以消毒過之針頭於果實表面戳刺一3 mm深之傷口，將菌絲圓盤接種至傷口上，並以接種PDA圓盤作為對照組。接種後放置於20 L之透明保鮮盒內，於室溫 (25-28°C) 2天後，觀察其病徵與發病情形，每處理3重複。

進一步測試所分離之病原菌是否可感染苦瓜植株葉部與莖部。本研究將已生長具兩片真葉之苦瓜 (玉英) 幼苗移植至2.5吋盆內，並置於網室栽培1周後，以消毒過針頭於植株莖部與葉片戳刺傷口，另以直徑5 mm打孔器切取菌株SCI01、SC04及SC10菌落邊緣之菌絲塊進行接種，另以接種PDA圓盤作為對照組，套袋保濕3天後，觀察其發病情形。

### (二) 孢子懸浮液接種測試

將菌株SCI01、SC04及SC10培養於QPDA培養基，於24°C光照12小時之生長箱培養7天後，再移至24°C以黑燈管 (SANKYO 10W) 照光12小時，至培養基上產生黑色柄子殼，以0.1% sucrose-0.05% casein溶液將分生孢子洗下<sup>(2)</sup>，並配製成 $2-4 \times 10^5$  spores/ml之孢子懸浮液。另將苦瓜果實以脫脂棉花沾取75%酒精輕輕擦拭果實表面，再以消毒過之針頭於果實表面戳刺一3 mm深之傷口，以直徑6 mm之圓盤濾紙 (Whatman, UK) 吸附30  $\mu$ l之孢子懸浮液貼於傷口，另以圓盤濾紙吸附30  $\mu$ l 0.1% sucrose-0.05% casein溶液作為對照組。接種後放置於20 L之透明保鮮盒內，於室溫 (25-28°C) 2天後，觀察其發病情形。

進一步測試孢子於苦瓜葉片與莖部是否造成感染，以苦瓜玉英與碧青品系，將生長於2.5吋盆具兩片真葉之苦瓜幼苗，以消毒過之針頭於植株莖部與葉片戳刺傷口，再將菌株SCI01、SC04及SC10  $2-4 \times 10^5$  spores/ml之孢子懸浮液進行接種，以直徑6 mm之圓盤濾紙吸附30  $\mu$ l之孢子懸浮液並貼於傷口上，另以圓盤濾紙吸附30  $\mu$ l 0.1% sucrose-0.05% casein溶液接種作為對照組。將植株接種後進行套袋保濕3天後，觀察其發病情形。

## 五、寄主範圍測試

### (一) 菌絲塊接種測試

為了解自罹病苦瓜分離到之三株菌株對不同瓜類是否有致病性，本試驗以自農友種苗公司購置之苦瓜 (玉英)、西瓜 (*Citrullus vulgaris* Schrad. ex Eckkl. & Zeyh.) (甜美人)、胡瓜 (*Cucumis sativus* L.) (秀綠)、甜瓜 (*Cucumis melo* L.) (銀輝)、洋香瓜 (*Cucumis melo* L.) (秋香) 及圓筒絲瓜 (*Luffa cylindrica* (L.) M. Roem.) (阿俊)。將於2.5吋盆具有1-2片真葉之幼苗，以消毒

過之針頭於葉部與莖部戳刺一3 mm深之傷口，將於PDA培養基平板上培養7天之菌株SCI01、SC04及SC10，以直徑5 mm打孔器切取菌絲邊緣之菌絲圓盤，接種於瓜類莖部與葉部傷口上，另以接種PDA圓盤作為對照組。接種後置於室溫 (25-28°C)，以塑膠袋保濕2天後，拆袋並觀察病害發生情形。

### (二) 孢子懸浮液接種測試

測試由苦瓜所分離之3菌株對上述試驗中6種瓜類是否具致病性，將於2.5吋盆具有1-2片真葉之幼苗，以消毒過之針頭於葉部與莖部戳刺傷口，並以直徑6 mm之圓盤濾紙吸附30  $\mu$ l  $2-4 \times 10^5$  spores/ml之孢子懸浮液貼於傷口上，另以吸附30  $\mu$ l 0.1% sucrose-0.05% casein溶液作為對照組。接種後置於25°C植物生長箱內，以塑膠袋保濕3天後，拆袋並觀察病害發生情形。

## 六、防治藥劑篩選

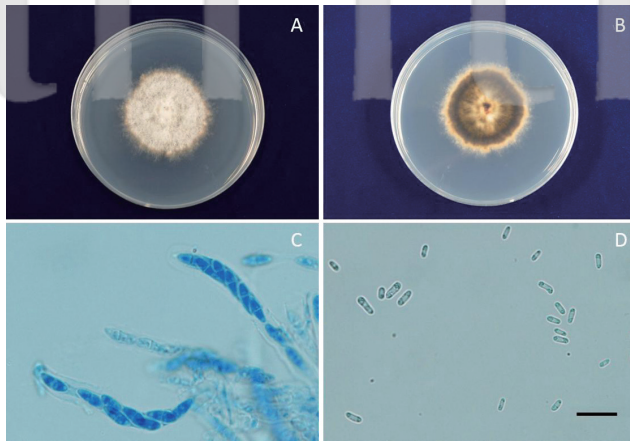
測試植物保護資訊系統推薦於苦瓜病害之藥劑，對此病原菌菌絲生長之抑制效果。將保存試管內之病原菌移至PDA平板上，培養7天後，以內徑5 mm之打孔器切取菌絲圓盤，分別放置於含推薦稀釋倍數之農藥培養基培養。測試之六種藥劑分別為22.7% 脲硫醃水懸劑 (dithianon, BASF) 稀釋倍數700倍、70% 四氯保淨可濕性粉劑 (chlorothalonil+thiophanatemethyl, 惠光) 稀釋倍數500倍、23% 亞托敏水懸劑 (azoxystrobin, Syngenta) 稀釋倍數200倍、30% 賽福座可濕性粉劑 (triflumizole, 台灣庵原) 稀釋倍數3000倍、66.5% 普拔克溶液 (propamocarb hydrochloride, BASF) 稀釋倍數800倍及9.4% 賽座滅水懸劑 (cyazofamid, 台灣庵原) 稀釋倍數3000倍。並以菌絲圓盤放置於PDA培養基作為對照組，實驗每處理4重複，培養7天後，記錄菌落直徑，以下列公式計算菌絲生長抑制率 (inhibition rate)：

$$\text{抑制率 (\%)} = \frac{\text{對照組菌落直徑} - \text{處理組菌落直徑}}{\text{對照組菌落直徑}} \times 100$$

## 結 果

### 一、菌株形態觀察

將菌株SCI01、SC04與SC10培養於PDA平板培養基上，室溫培養7天後，觀察其菌落形態，菌落邊緣呈不規狀，菌落正面具茂密之白色氣生菌絲，背面為橄欖綠至鉛灰色。將菌株培養於QPDA平板上，產生黑褐色至黑色之柄子殼或子囊殼，其分生孢子呈橢圓形 (oval) 或棍棒狀 (clavate)，透明，大小為4.8-9.1 x 2.1-4.1  $\mu$ m，不具隔膜或少數具有1隔膜，分生孢子兩端具有小油滴。子囊具雙層膜，內具有8個子囊孢子，子囊孢子具1隔膜 (圖二)。



圖二、*Stagonosporopsis cucurbitacearum*之形態。(A)(B) 於PDA培養基平板培養7天之菌落正面與背面型態；(C)子囊與子囊孢子；(D)分生孢子。(標準尺: 20  $\mu$ m)

**Fig. 2.** Morphology of *Stagonosporopsis cucurbitacearum*. (A)(B) The upperside and bottom of a 7-day culture on PDA. (C) Asci and ascospores. (D) Conidia. (scale bar: 20  $\mu$ m)

## 二、分子生物學鑑定

利用ITS1/ ITS4引子對將菌株SCI01、SC04及SC10核糖酸進行增幅，得500 bp大小之區域序列，定序結果經NCBI比對，此3株菌株 (LC485286、LC485287、LC485288) 皆與 *S. cucurbitacearum* (KF990381) 具> 99%之相似度。另利用BT2Fd/ BT4Rd引子增幅出約340bp，經NCBI比對，此3菌株 (LC485289、LC485290、LC485291) 皆與 *S. cucurbitacearum* (GU237685) 具>97%之相似度。

## 三、苦瓜病原性測試

果實病原性測試中，將菌株SCI01、SC04及SC10菌株接種至苦瓜成熟果實上，於透明保鮮盒保濕1天後，可見接種菌絲圓盤之苦瓜果實周圍產生水浸狀，第2天即可觀察到菌絲圓盤周遭果實產生褐色之水浸狀病徵；而以孢子懸浮液接種苦瓜果實之試驗中，則於接種2天後，於接種處周圍觀察到水浸狀褐色病斑 (圖三A)，與田間觀察之病徵相同，顯示SCI01、SC04及SC10菌株皆對苦瓜果實具有病原性，且經再次分離結果亦可得到與供試菌株相同之菌落。

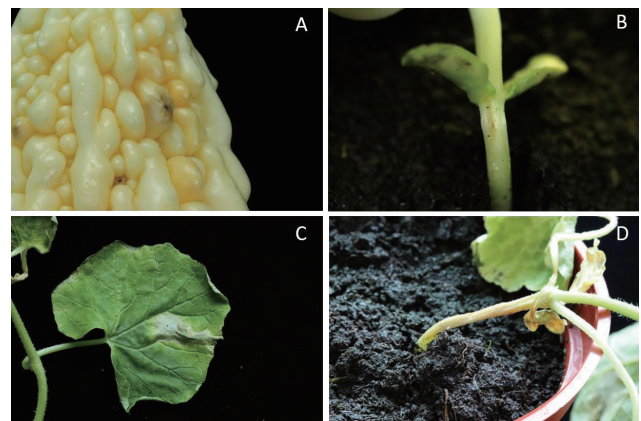
而於病原菌對苦瓜葉部與莖部病原性測試中，將菌株SCI01、SC04與SC10，以菌絲圓盤接種至玉英與碧青品系之葉部與莖部，於接種後第3天，供試菌株皆可於葉片產生水浸狀褐色病斑且病斑周圍有黃暈，於莖部則可產生褐色水浸狀壞疽斑，於接種後第5天，水浸狀病斑未明顯擴大；而以病原菌孢子懸浮液接種試驗中，結果顯示於接種後5天，苦瓜 (玉英) 之葉片上皆可產生褐色水浸狀壞疽斑，而接種於兩苦瓜品系之莖部組織，僅可於接種處周圍產生輕微水浸狀病徵 (圖三B)。

## 四、瓜類之寄主範圍測試

將菌株SCI01、SC04及SC10之菌絲塊接種於苦瓜 (玉英)、西瓜 (甜美人)、胡瓜 (秀綠)、甜瓜 (銀輝)、洋香瓜 (秋香) 及圓筒絲瓜 (阿俊) 等6種不同瓜類作物之莖部與葉部，於莖部接種後第3天，菌株皆可於各種測試之瓜類作物莖部造成水浸狀壞疽斑，以胡瓜 (秀綠)、西瓜 (甜美人)、甜瓜 (銀輝) 及洋香瓜 (秋香) 病徵較為嚴重，水浸狀病斑逐漸擴大並且快速蔓延，後期莖部縮，導致植株死亡，並於病斑上產生黑色之子囊殼。而於葉片接種結果顯示，菌株於接種後3天，皆可於各瓜類作物葉片產生褐色水浸狀壞疽斑。於病原菌孢子懸浮液接種試驗，接種5天後皆可感染6種瓜類莖部，然以接種於苦瓜莖部之病徵較不明顯，僅於針刺傷口周圍產生輕微感染之水浸狀病徵，以接種於胡瓜 (秀綠)、西瓜 (甜美人)、甜瓜 (銀輝) 及洋香瓜 (秋香) 病徵較為嚴重，造成莖部大面積褐色水浸狀病徵 (圖三D)，後期造成莖部縮；於6種不同瓜類葉部皆可造成褐色水浸狀病斑，其中以接種於洋香瓜 (秋香)、甜瓜 (銀輝) 及西瓜 (甜美人) 葉片之病徵較為嚴重，造成大面積褐色水浸狀病斑 (圖三C)。

## 五、防治藥劑篩選

將菌株SCI01、SC04及SC10菌絲圓盤移至農藥培養基，計算其對於菌落生長之抑制率，結果顯示六種測試藥劑中，以



圖三、菌株SCI01、SC04及SC10之病原性測試。(A) 苦瓜果實表面以孢子懸浮液接種2天後，產生水浸狀褐色病斑；(B) 菌株接種苦瓜 (玉英) 莖部僅於傷口接種處周圍產生輕微水浸狀；(C) 孢子懸浮液接種甜瓜 (銀輝) 葉部5天後，造成之褐色壞疽斑；(D) 菌株接種甜瓜 (銀輝) 莖部5天後，造成褐色水浸狀病徵。

**Fig. 3.** The pathogenicity tests of isolates SCI01, SC04, and SC10. (A) A fruit of balsam pear was with brown and water soaked lesion after inoculated with spore suspension at 2 days post-inoculation. (B) A stem with light water soaked lesion around artificial wound of balsam pear 'Lade Elite'. (C) Leaf spot with brown lesion of muskmelon 'Silver Light' after inoculated with 5 days post-inoculation. (D) Stem with brown and water-soaked lesion of muskmelon "Silver light" after inoculated with 5 days post-inoculation.

表一、測試農藥培養基對於菌株SCI01、SC04及SC10之菌落生長抑制率  
**TABLE 1.** Inhibition rate of the fungicides to the colony growth of SCI01, SC04 and SC10 isolates

Isolate	Inhibition rate (%)					
	Dithianon	Chlorothalonil+ Thiophanatemethyl	riflumizole	Propamocarb	Azoxystrobin	Cyazofamid
SCI01	57.24 c <sup>1</sup>	76.41 b	80.46 a	0.98 e	15.66 d	0.00 e
SC04	60.09 c	74.45 b	83.44 a	10.95 e	21.31 d	0.00 f
SC10	61.67 c	70.64 b	81.73 a	7.95 e	11.19 d	0.00 f

<sup>1</sup> Means followed by the same letter in the column are not significantly different at  $p < 0.05$  according to LSD test.

賽福座對SCI01、SC04及SC10菌株之菌落生長抑制效果最佳，抑制率分別為80.46%、83.44%及81.73%；以四氫保淨次之，對SCI01、SC04及SC10菌株之菌落生長抑制率分別為，76.41%、74.45%及70.64%；反之，賽座滅之抑制效果最差，抑制率皆為0% (表一)。

## 討 論

本研究於臺灣地區夏秋多雨季節 (9月至11月)，自臺南與屏東等地區苦瓜果實頂產生之褐色斑點組織中，分離到SC04與SC10菌株，經果實表面製造傷口，以菌絲塊與孢子懸浮液接種苦瓜果實後，可產生相同之水浸狀病斑，確認具有引起苦瓜果實之病原性。經由形態與分子生物學特性，該病原菌鑑定為 *Stagonosporopsis cucurbitacearum* (Fr.) Aveskamp, Gruyter & Verkley。 *S. cucurbitacearum* 原屬 *Phoma cucurbitacearum* (Fr.: Fr. Sacc.)，為引起瓜類蔓枯病之病原菌 *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm 之無性態，最早發生於日本關東與北海道地區，於夏季苦瓜果實上引起褐色壞疽腐爛並造成落果<sup>(7)</sup>。韓國地區Choi與Kim氏 (2015) 之報導指出此病原菌可造成苦瓜果實之黑腐病 (black rot)，另於印度、馬來西亞、汶萊、中國及坦尚尼亞，皆有相關報導其造成苦瓜果實病害<sup>(5)</sup>。而巴西地區Silva *et. al.* (2015) 則報導此病原菌可引起絲瓜果實之果腐病 (fruit rot)，造成果實表面灰黑色壞疽與凹陷，內部則造成瓜黑色纖維化壞死<sup>(15)</sup>。然臺灣地區尚無相關研究指出此病原菌可於瓜類果實上造成黑腐病徵，僅林與方氏 (2001) 報導苦瓜果腐病徵之病害，但並未鑑定其病原菌<sup>(14)</sup>，經本研究以形態與分子生物學鑑定後，確認 *S. cucurbitacearum* 可引起苦瓜果實黑腐病。

臺灣地區苦瓜由 *S. cucurbitacearum* 造成之果實黑腐病與 *A. avenae* subsp. *citrulli* 所引起之苦瓜果實細菌性果斑病於之病徵極為相似，初期皆可於苦瓜果實上產生褐色之水浸狀病斑，而於葉片上皆引起黑褐色壞疽病斑。因此，於田間發生時常為農

民所誤判，而未能達到正確且即時的防治。兩者區別在於苦瓜黑腐病於高濕度環境中，至病勢發展後期，病斑上可產生黑褐色至黑色之柄子殼或子囊殼，而細菌性果斑病則無此構造。

本研究將葉片所分離之菌株SCI01接種於苦瓜果實，可於苦瓜果實上產生水浸狀褐色病斑，證實其亦可感染苦瓜果實。另將果實所分離之菌株SC04與SC10分別以菌絲塊與分生孢子接種於不同品種之苦瓜果實之莖部與葉部，證實於苦瓜果實上分離之病原菌確實可以感染苦瓜之莖部和葉部，造成莖部水浸狀壞疽病徵，及葉片上黑褐色病斑。於日本地區Furukawag氏等人於2007年在關東與北海道地區發現由 *D. bryoniae* 造成之苦瓜蔓枯病，不僅於苦瓜莖部與葉部造成壞疽，亦會於苦瓜果實造成果腐病徵<sup>(7)</sup>。而於臺灣地區前人研究指出， *D. bryoniae* 造成瓜類蔓枯病，可感染苦瓜、西瓜、甜瓜等葫蘆科作物之莖蔓、葉柄與葉片，造成莖基部潰瘍腐爛病徵，於葉片與葉柄則造成水浸狀黃色壞疽<sup>(14)</sup>，然在果實上引起黑腐病徵之研究尚缺乏。於病原性測試中，將菌株SCI01、SC04及SC10分別以菌絲塊與孢子懸浮液接種於苦瓜果實、葉片及莖部，由於菌絲塊接種方式皆可產生褐色水浸狀病斑，然在孢子接種試驗中，於苦瓜莖部之發病情形較果實與葉部輕微，亦較菌絲塊接種法輕微，僅於傷口附近產生些微水浸狀。分生孢子接種法為接近自然界病害發生之感染情況，由此可見從苦瓜果實與葉片所分離之菌株對於苦瓜莖部之感染力較低，與本次田間所觀察到果實與葉部發生情形較為嚴重之情況符合。

國外研究已指出 *D. bryoniae* 可造成多種瓜類蔓枯病、葉片葉斑與果實黑腐病<sup>(12)</sup>，其可於多種寄主作物之莖蔓引起蔓枯病，果實上引起黑腐病徵，包括在胡桃南瓜 (butternut squash)、甜瓜 (muskmelon)、西瓜 (watermelon)、南瓜 (pumpkin) 及佛手瓜 (chayote)<sup>(1, 9, 13, 16)</sup>。本研究測試SCI01、SC04及SC10菌株於不同瓜類之寄主範圍，由測試結果可知菌株不具有寄主專一性，可感染多種瓜類。於莖部接種試驗，可明顯觀察到菌株對於不同瓜類之病徵表現程度有所不同，以接種於胡瓜 (秀綠)、西瓜 (甜美人)、甜瓜 (銀輝) 及洋香瓜 (秋香) 病徵表現較其他品種嚴重，水浸狀病斑快速發展，部分植株於病害發生後期甚至可產生莖部縮縮之情形，並於病斑上產生黑色之子囊殼或柄子殼。Chiu和Walker (1949) 指出，蔓枯病於莖部所造成之病害程度，以甜瓜較西瓜、胡瓜、及筍瓜嚴重<sup>(4)</sup>，於Keinath (2014) 研究中指出，病原菌於感染不同瓜類之莖基部與葉部具有不同之感受性，於多種瓜類品種測試中，中國南瓜 (*Cucumis moschata*) 之莖基部顯現出較高之抗性，而西瓜 (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*) 於葉部則顯現出較高的感病性<sup>(14)</sup>。因此，前人研究證明本病原菌可感染多種瓜類作物，不具有寄主專一性，且對於不同瓜類上具病徵表現程度差異或不同之感受性，其中對於西瓜與胡瓜之病徵表現較為嚴重，而本研究於不同瓜類接種之病徵表現上，亦得到相似之結果。

臺灣地區苦瓜為網室內以水平棚架或拱形棚架栽培為主，

網室栽培雖可有效防治大型蟲害，如瓜螟、果實蠅，但網室內相較於露天栽培較為悶熱，加上夏秋季節颱風與降雨，導致病害易發生於網室高溫多濕環境下。*D. bryoniae*之病害環中，以子囊孢子與分生孢子為接種源 (inoculum)，於田區可藉由雨水傳播，殘存於植株殘體，另可藉由種子傳播<sup>(10, 11)</sup>。針對瓜類蔓枯病之防治，包括：一、種子消毒；二、選育抗病品種；三、田間衛生；四、化學防治<sup>(14)</sup>。而於果實上黑腐病之防治上，以提早套袋為防治方法之一，另因臺灣網室栽培搭配棚架，植株密植造成通風不良，營造出利病害發生之高溫多濕環境，應改善密植所造成之通風不良，並配合推薦於瓜菜類之推薦藥劑進行綜合防治。由試驗結果顯示，植物保護資訊系統推薦於瓜菜類病害防治之藥劑中，30%賽福座與70%四氫保淨對於SCI01、SC04及SC10菌株皆有較佳之抑制率，具有70%以上之菌絲生長抑制率。其中賽福座具系統性保護兼具除滅效果，可於雨季來臨前兩藥劑輪用噴施，以防治苦瓜果實黑腐病之發生。鑑於苦瓜為連續採收作物，於藥劑防治上仍具有其風險性，後續研究可朝生物防治之開發，作為重要之管理策略。

## 引用文獻

- Bala, G., and Hosein, F. 1986. Studies on gummy stem blight disease of cucurbits in Trinidad. *Trop. Agric.* 63: 195-197.
- Bergstrom, G. C. and Knavel, D. E. 1982. Role of insect injury and powdery mildew in the epidemiology of the gummy stem blight disease of cucurbits. *Plant Dis.* 66: 683-686.
- Cheng, A. H. and Huang, T. C. 1998. Bacterial fruit blotch of melon and bitter gourd Caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Plant Pathol. Bull.* 7: 216. (in Chinese).
- Chiu, W. F., and Walker, J. C. 1949. Physiology and pathogenicity of the cucurbit black rot fungus. *J. Agric. Research* 78: 589-615.
- Choi, I., Kim, J., Lee, W., Park, J., and Shin, H. D. 2015. First report of black rot caused by *Phoma cucurbitacearum* on *Momordica charantia* in Korea. *Plant Dis.* 99: 727.
- Council of Agriculture, Executive Yuan. 2017. Pages 62. Agricultural Production. in: Agricultural Statistics Yearbook. Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan. 373 pp. (in Chinese).
- Furukawa, T., Ono, Y., and Kishi, K. 2007. Gummy stem blight of balsam pear caused by *Didymella bryoniae* and its anamorph *Phoma cucurbitacearum*. *J. Gen. Plant Pathol.* 73: 125-128.
- Hsu, S. T., Chang, T. T., Chang, C. A., Tsay, J. L., and Tsay, T. T. 2002. Balsam pear. Pages 172. in: List of Plant Diseases in Taiwan. Taiwan, Taiwan phytopathological society. 386 pp. (in Chinese).
- Jensen, B. D., Massawe, A., and Swai, I. 2016. First report of gummy stem blight caused by *Didymella bryoniae* on watermelon and confirmation of the disease on pumpkin in Tanzania. *Biocontrol Sci. Technol.* 26: 1048-1061.
- Keinath, A. P. 2002. Survival of *Didymella bryoniae* in buried watermelon vines in South Carolina. *Plant Dis.* 86: 32-38.
- Keinath, A. P. 2011. From native plants in central Europe to cultivated crops worldwide: the emergence of *Didymella bryoniae* as a cucurbit pathogen. *Hortscience* 46: 532-535.
- Keinath, A. P. 2013. Diagnostic guide for gummy stem blight and black rot on cucurbits. *Plant Health Progress* doi 10.1094/PHP-2013-1024-01-DG.
- Keinath, A. P. 2014. Differential susceptibility of nine cucurbit species to the foliar blight and crown canker phases of gummy stem blight. *Plant Dis.* 98: 247-254.
- Lin, Y. S., and Fang M. N. 2001. Balsam pear. Pages 4-12. in: Integrated Pest Control of Vegetables. Executive Yuan Agricultural Committee, Taiwan. 460 pp. (in Chinese).
- Silva, M., Freitas, N., Mendonça, H., and Barreto, R. 2015. First report of *Stagonosporiopsis cucurbitacearum* causing fruit rot of *Luffa cylindrica* in Brazil. *Plant Dis.* 99: 1645.
- Tsai, Y., and Chen, J., 2017. First report of *Didymella bryoniae* causing gummy stem blight of chayote in Taiwan. *Eur. J. Plant Pathol.* 147: 255-263.
- Tseng, K. C., Lu, Y. S., Cheng, A. H., Huang, T. C., and Hsu, S. T. 2010. Bacterial fruit blotch of cucurbits: pathogen detection methods and disease management. Pages 193-204. in: Proceedings of Symposium on the Occurrence of Important Diseases in Taiwan in Recent Year and Development of Disease Diagnosis, Monitoring and Control. Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan. 239 pp. (in Chinese).
- Vaghefi, N., Pethybridge, S., Ford, R., Nicolas, M., Crous, P., and Taylor, P. 2012. *Stagonosporopsis* spp. associated with ray blight disease of Asteraceae. *Aust. Plant Pathol.* 41: 675-686.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications* 18: 315-322.

**ABSTRACT**

Lo, P. H.<sup>1</sup>, Wang, C. J.<sup>1</sup>, Tsai, S. F.<sup>2</sup>, Wang, Y. J.<sup>2</sup>, and Lin, C. N.<sup>2\*</sup>.  
Identification and fungicide screening of black rot of balsam pear  
caused by *Stagonosporopsis cucurbitacearum* in Taiwan. J. Plant  
Med. 61(2\_3): 19-26.

\*Corresponding author, C. N. Lin, E-mail:catalase@fthes-tari.gov.tw

During summer to autumn of 2016, the fruit of balsam pear (*Momordica charantia* L.) with brown and water-soaked lesions was observed in Pingtung and Tainan in Taiwan. At later stage, blackish pycnidia were observed on old lesions of the diseased fruits. The pathogen was identified as *Stagonosporopsis cucurbitacearum* (Fr.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (syn. *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm) based on morphological and molecular characteristics. The fungus caused gummy stem blight on stems and black rot on the fruits. In this study, the SC04 and SC10 isolated from black rot fruits and SC101 isolated from leaf spot infected fruit, leaf and stem of balsam pear in pathogenicity tests. Moreover, six cucurbit cultivars were susceptible to SC101, SC04 and SC10 isolates, in which watermelon, cucumber, muskmelon and orient melon showed severe symptom on stems. Moreover, in screening of the fungicides for controlling the black rot, triflumizole was found to be able to inhibit the colony growth effectively.

**Keywords:** Balsam Pear, *Momordica charantia*, black rot, *Stagonosporopsis cucurbitacearum*