

臺灣嘉德麗亞蘭疫病菌 (*Phytophthora palmivora*) 之形態與生理特性

葉濟蒼¹ 謝式垚鈺² 安寶貞³

1. 嘉義市 經濟部商品檢驗局臺南分局
 2. 臺中市 國立中興大學植物病理學研究所
 3. 臺中縣霧峰鄉 臺灣省農業試驗所植物病理系
- 接受日期：中華民國 87 年 6 月 20 日

摘 要

葉濟蒼、謝式垚鈺、安寶貞 1998. 臺灣嘉德麗亞蘭疫病菌 (*Phytophthora palmivora*) 之形態與生理特性。植病會刊 7:85-93.

嘉德麗亞蘭為台灣目前栽培洋蘭中，較易罹患疫病之蘭花屬。由本省中部、西部及東部之蘭園中採集病株，經分離得 20 疫病菌株，經鑑定都屬於 *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler，除 P-9258 菌株為 A² 配對型 (mating type) 外，其餘皆為 A¹ 配對型。菌落在 5% V-8 瓊脂培養基為白色無特殊花紋。菌絲寬約 3-5 μm，以近似直角分支，其基部有縊縮現象。胞囊以單合軸方式著生，形狀為卵圓形或橢圓形，有乳頭狀突起，平均長度為 44.3-51.0 μm，寬為 26.1-29.7 μm，長寬比值 (L/W) 平均為 1.61-1.75。菌絲生長適溫在 24-32 C 間，最低及最高溫度分別為 10 及 35 C。在嘉德麗亞蘭葉表和在 5% V-8 固體培養基上，產胞之最適溫約為 24 C；相對濕度 100% 時，產胞囊量最多，而相對濕度 80% 以下則不產生胞囊。胞囊分化成游走子以 16 C 時最佳，而於 35 C 時不分化成游走子。胞囊直接發芽之最適溫為 24 C，游走子發芽適溫在 20~28 C 間，發芽率達 60.5-77.1%，高溫較不利於游走子之發芽。

關鍵詞：嘉德麗亞蘭、疫病菌、胞囊、游走子、產胞、孢子發芽。

緒 言

嘉德麗亞蘭屬蘭科 (Orchidaceae) 植物中著生蘭的一種，原產於墨西哥和巴西一帶，尤其以巴西所發現的種類為最多，其花形大且色彩富變化，是作為胸花的良好花材。嘉德麗亞蘭在本省多栽植在中南部一帶，該地區除冬季較為乾燥低溫外，其餘季節平均溫在 20 C 以上。管理上如通風不良導致過份潮濕的蘭園最易受疫病之侵害，嘉德麗亞蘭為目前栽培洋蘭中較易罹患疫病的蘭花屬，幼苗和成株之新葉及有傷口之葉片與假球莖均易受到疫病菌之侵染，葉片初期病徵為水浸狀之小點，隨即轉成黑褐色，然後病斑持續向四周擴大，最後全葉成黑褐色，進而向下蔓延至假球莖，此時輕觸葉片即會掉落，病菌在假球莖內經由匍匐莖延至相鄰之假球莖，導致全株萎凋死亡。在本省，陳氏 (2) 最早由嘉德麗亞蘭上分離到疫病菌 *Phytophthora palmivora* (Butler) Bulter，但並未作詳盡之研究；而作者之一 (1)，亦在嘉德麗亞蘭上分得相同之菌，並做病原性測定。本文就分離自嘉德麗亞蘭之 *P. palmivora* 之菌落、胞囊形態及一些生理特性作一探討，以期進一步瞭解該病原菌的生理習性，作為病害防治之參考。

材料與方法

供試菌株來源與鑑定

自本省南投、台中、彰化、雲林、嘉義、台南及台東等地之蘭園，採集可疑病株，切取病斑邊緣健全組織約 5 × 5 mm，經 0.5% NaOCl 消毒三分鐘後，以衛生紙吸乾水分，置於 5% CV-8 選擇性培養基上。5% CV-8 培養基為 5% V-8 蔬菜汁與 0.2% CaCO₃ 混合，經 1500 rpm 低速離心 5 分鐘，取上層液加入 2% 瓊脂 (Bacto agar, Difco) 和蒸餾水配成 1 公升滅菌。選擇性培養基為 5% CV-8 培養基再加入 Ampicillin 100 ppm、PCNB (Pentachloronitrobenzene) 10 ppm、及 Mycostatin 50 ppm (17)。於 24 C 下經 2-3 天後，菌絲陸續自組織塊長出。切取菌絲尖端，移植於 5% V-8 培養基平板上。5% V-8 培養基含 5% V-8 蔬菜汁，0.02% CaCO₃ 及 2% Bacto agar。菌株之鑑定以各菌株之形態和生理特性與 *Phytophthora* 之分類簡索表及相關文獻比對 (14,20,23,24)。

游走子懸浮液之製備

以 Hwang 等 (16) 研發之方法讓供試菌株同步大量產

胞，以直徑 6 mm 打孔器切取生長於新鮮 20% V-8 培養基平板上 2 天之疫病菌絲塊，移植於 9 cm 培養皿內，每皿 10-15 塊菌塊。培養皿內含 20 ml 10% V-8 培養基，並覆蓋相同大小之消毒過玻璃紙 (cellophane)，於 24 C 下培養 24 小時後，將含菌絲塊之玻璃紙移至含 25 ml 5% V-8 液體培養基之培養皿 (直徑 9 cm) 中，經培養 24 小時後，倒掉培養液，以礦物鹽液 (mineral solution (8)) 浸洗 3 次，每次 30 min。之後，置於 24 C 恆溫箱照光 (1000-1200 Lux)，9 小時後倒掉浸液，經 12 小時在菌絲塊邊緣即形成大量胞囊，每皿加入 20 ml 無菌水後，置於 16 C 下，30 分鐘後再放回 24 C，再經 1 小時後，胞囊即可釋放大量游走子。

溫度對病原菌菌絲生長之影響

將測試菌株 PPBT-20, PPMT-12 及 P-9258 等於 24 C 下培養於 5% V-8 培養基上四天後，切取菌落邊緣直徑 6 mm 之菌絲塊，移植於 5% V-8 培養基平板之中央 (培養皿直徑 9 cm)，分置於 10、12、16、20、24、28、30、32、35 及 37 C 之恆溫培養箱，無光照培養 5 天，量取菌落直徑大小，每溫度處理 2 皿，重複一次。

溫度與濕度對病原菌產胞能力之影響

溫度對疫病菌在培養基上產胞能力之影響：將菌株 PPBT-20, PPMT-12 及 P-9258 移植於 5% V-8 培養基平板上 (直徑 9 cm)，分置於 10、16、20、24、28、32、35 C 之恆溫培養箱，分成照光 (1000-1200 Lux) 與無光照兩組處理，每溫度處理 2 皿，每處理 2 重複，每隔 3 天取出 2 皿，以顯微鏡物鏡 20× 倍視野下檢查 8 個定點，取其平均值換算成每平方毫米胞囊數，直至第 9 天為止。

溫度對疫病菌在嘉德麗亞蘭葉片上產胞力之測定：將 PPBT-20, PPMT-12 及 P-9258 三菌株之游走子懸浮液調整濃度為 10^4 / ml，傷口接種於 S-2 蘭苗 (Lc. Melody Fair " Sun No.2) 葉片，置於 24 C 恆溫箱中培養 3 天，產生病斑後分置於 10、16、20、24、28、32 和 35 C 恆溫培養箱之濕室中，每隔 3 天取出葉片以倒立顯微鏡檢視葉片，計算每平方毫米之胞囊數。

相對濕度對疫病菌產胞力之影響：以 H_2O 及 KNO_3 、 $(NH_4)_2SO_4$ 、NaCl、NaBr 等鹽類飽和溶液，配置成相對濕度範圍分別為 100、89.5-95.5、79.5-81、75-76 和 54.5-61%，每個 500 ml 燒杯中加入各種飽和溶液 150 ml，以 PE 膜及鋁鉛紙封口，即成具不同相對濕度之裝置 (22)。將接種產生病斑後之蘭苗 S-2，分置於上述不同之相對濕度狀態，置於 24 C 之恆溫培養箱，每 3 天取出計算胞囊數，每處理 2 重複，重複一次。

溫度對胞囊發芽及游走子發芽之影響

溫度對胞囊直接發芽之影響：將 PPBT-20、PPMT-12 及 P-9258 三菌株培養於 5% V-8 培養基平板上，24 C 下照光三天產生大量胞囊後，配置胞囊懸浮液，塗抹於 5% V-8 培養基平板上，分置於 8、12、16、20、24、28、32、36、40 C 之恆溫箱中，無光照培養六小時後，計算 50 個胞囊之直接發芽率。

溫度對胞囊間接發芽之影響：將 PPBT-20, PPMT-12 及 P-9258 三菌株培養於 20% V-8 培養基平板上於 24 C 照光經 3 天後，分置於 8、12、16、20、24、28、32 及 35 C 之恆溫箱，並加入與恆溫箱同溫之 15 ml 無菌水 30 分鐘後，再置於 25 C 下一小時，計算 100 個胞囊中已分化形成游走子之胞囊所佔百分率。

溫度對游走子發芽之影響：製備上述三菌株之游走子懸浮液濃度為 10^5 10^6 / ml，各取 3 ml 置於直徑 6 cm 之培養皿中，分置於 16、20、24、28、32 C 之恆溫箱中，經 3 小時後，計算 100 個游走子中發芽游走子所佔比率。

病原菌配對型之測定及有性世代卵孢子之產生

配對型 (mating type) 之測定：各菌株於 24 C 無光照培養於新鮮之 10% V-8 培養基上六天，於顯微鏡下觀察是否有卵孢子形成。單獨培養可形成卵孢子者為同絲型 (homothallism)，否則為異絲型 (heterothallism) 或中性。將單獨培養不形成卵孢子之菌株，培養於新鮮之 10% V-8 培養基上，切取大小為 $2 \times 2 \times 2$ mm 之菌絲塊，和大小相同之標準菌株 *P. parasitica* Dastur A¹ 型菌株 (P991) 及 A² 型菌株 (P731)，在 10% V-8 培養基塊上 (大小 $15 \times 10 \times 2$ mm) 作對峙培養，每 9 cm 直徑培養皿內可放 6-8 測定菌塊，經 24 C 黑暗培養 6 天後，以顯微鏡觀察是否有卵孢子形成。和 A¹ 標準菌株配對形成卵孢子者即為 A² 配對型，反之和 A² 標準菌株配對形成卵孢子者即是 A¹ 配對型。與 A¹ 和 A² 菌株配對均不形成卵孢子者為中性 (A⁰, neuter)。

有性世代卵孢子之產生：利用 Ko (17) 研發之多碳酸鹽莖膜方法，測定菌株產生有性世代之情形。將 10% V-8 培養基塊 ($20 \times 5 \times 3$ mm) 置於直徑 6 cm 培養皿中，將供試菌株培養在上面，置於濕室 (moist chamber) 中，經 24 C 黑暗培養六天後，將其移至直徑 9 公分之培養皿中央，上面覆蓋經過殺菌之多碳酸鹽薄膜 (polycarbonate membrane, 0.2 μ m, 90 mm dia, Nucleopore, pleusarton, CA.)，同時將培養於相同大小 10% V-8 培養基上一天之相對配對型 *P. parasitica* 標準菌株，菌絲面朝下反轉覆蓋於薄膜上和底下之測試菌絲塊相吻合，再經 6 天 24 C 黑暗培養，觀察測試菌絲塊上卵孢子之形成情形，再經 6 天測量其藏精器、藏卵器及卵孢子大小。

結 果

嘉德麗亞蘭疫病菌之特性與鑑定

由嘉德麗亞蘭罹病組織共分離到 20 個疫病菌菌株，其採集時間及地點如表一。依 Waterhouse 等之分類文獻 (14,20,23,24) 鑑定這 20 株菌株皆為 *Phytophthora palmivora* (Bulter.) Bulter.。這些菌株生長在 maize-meal agar 上，產生少量氣生菌絲及大量胞囊，胞囊卵圓型或檸檬型，胞囊柄 (pedicel) 長度在 6 μm 以下。

表一、自嘉德麗亞蘭分離出之疫病菌株 (*Phytophthora palmivora*) 之代號、配對型及採集地點

TABLE 1. List of isolates of *Phytophthora palmivora* isolated from *Cattleya* spp. in the central and southern Taiwan.

Isolate	Mating type	Location collected
PPTN-01	A ¹	Tainan
PPTN-02	A ¹	Tainan
PPNT-01	A ¹	Nantou
PPMT-12	A ¹	Ma-tou, Tainan
PPDL-01	A ¹	Da-lin, Chiayi
PPBH-15	A ¹	Bai-ho, Tainan
PPBH-12	A ¹	Bai-ho, Tainan
PPTC-03	A ¹	Taichung
PPCY-03	A ¹	Chiayi
PPCY-04	A ¹	Chiayi
PPCY-12	A ¹	Chiayi
PPSK-02	A ¹	Sa-keng, Chiayi
PPJH-02	A ¹	Da-tsuen, Changhua
PPOL-11	A ¹	Tou-liou, Yinlin
PPYL-04	A ¹	Yuan-lin, Changhua
PPBT-20	A ¹	Bei-tou, Changhua
PPHW-04	A ¹	Hoo-wei, Yinlin
PPCT-03	A ¹	Tsao-twen Taichung
P-9258	A ²	Taitung

P. palmivora 菌株生長在 5% V-8 培養基上，菌落白色、無特殊花紋 (pattern)，但不同菌株之菌落略有不同 (圖一A)，有的菌株整個菌落佈滿氣生菌絲，有的僅菌落中央產生少數氣生菌絲。菌絲寬約 3-5 μm ，以近似直角分支，且分支處基部有縊縮現象，老化菌絲中空有隔膜 (septum)。所有菌株除 P-9258 外均可於 5% V-8 培養基上產生大量胞囊，胞囊著生方式為單合軸 (simple sympodium) (圖一B)，胞囊為卵圓形或橢圓形，有極顯著之乳頭狀突起 (圖一C)。胞囊遇到水份時會自行脫落，並帶有一小截胞囊柄 (pedicel)，長度在 5 μm 以下。胞囊平均長度為 44.3-51.0 μm ，寬為 26.1-29.7 μm ，長寬比值 (L/W) 平均為 1.61-1.75 μm 。同時在 V-8 固体培養基上易

生球形厚膜孢子，大小約為 22.5-31 μm 之間，係薄壁形，厚度在 1 μm 以下 (圖一D)，各菌株特性見表二，三。

表二、嘉德麗亞蘭疫病菌菌株之胞囊大小

Table 2. Sizes of sporangia of 20 isolates of *Phytophthora palmivora* from *Cattleya* spp

Isolate	Length (μm)	Width (μm)	L/W ¹
PPTN-01	40-62.5(49.8)	2.5-33.7(28.7)	1.56-1.95(1.73)
PPTN-02	38.7-62.5(51.0)	25-32.5(28.9)	1.54-1.95(1.75)
PPNT-01	37.5-57 (46.4)	22.4-31.2(28.1)	1.48-1.89(1.65)
PPMT-20	32.5-56.2(45.4)	20-30 (26.1)	1.5-1.9 (1.74)
PPDL-01	32.5-56.2(44.3)	21.2-30 (26.3)	1.41-2.0 (1.68)
PPBH-15	45.2-60 (49.5)	25-33.5(28.4)	1.53-1.9 (1.74)
PPBH-12	41-58.7(47.5)	23.7-33.5(27.1)	1.4-2.0 (1.75)
PPTC-03	37.5-55 (45.5)	22.5-31.2(27.4)	1.43-1.86(1.68)
PPCY-03	37.2-50 (46.6)	25-32.4(28.2)	1.44-1.99(1.64)
PPCY-04	37.4-55 (46.1)	22.3-32.6(27.2)	1.43-1.95(1.7)
PPSK-02	40-50.2(44.8)	23.7-29.5(26.1)	1.52-1.88(1.69)
PPMT-12	36.6-57.5(47)	22-32.3(27.8)	1.45-1.98(1.71)
PPJH-02	37.4-55 (48.3)	23.5-33.3(27.5)	1.51-2.0 (1.75)
PPDL-11	41.2-50.8(46.7)	26-33.3(26.5)	1.46-1.81(1.7)
PPYL-04	37-60 (48.6)	22-36.8(29.8)	1.4-1.81(1.61)
PPBT-20	43.7-60.3(50.9)	26.2-35 (29.7)	1.6-1.9 (1.72)
PPHW-04	35-53.7(46.6)	22.4-35.6(27.3)	1.5-1.9 (1.63)
PPLY-12	37.5-60.4(50.3)	21.5-32.5(28.7)	1.54-1.9 (1.68)
PPCT-03	35-60 (48.1)	23.7-35 (28.5)	1.53-1.90(1.69)
P-9258	30-56.5(45.1)	21-35 (27.8)	1.35-1.70(1.61)

¹ L/M is length and width ratio; values in parentheses are the means.

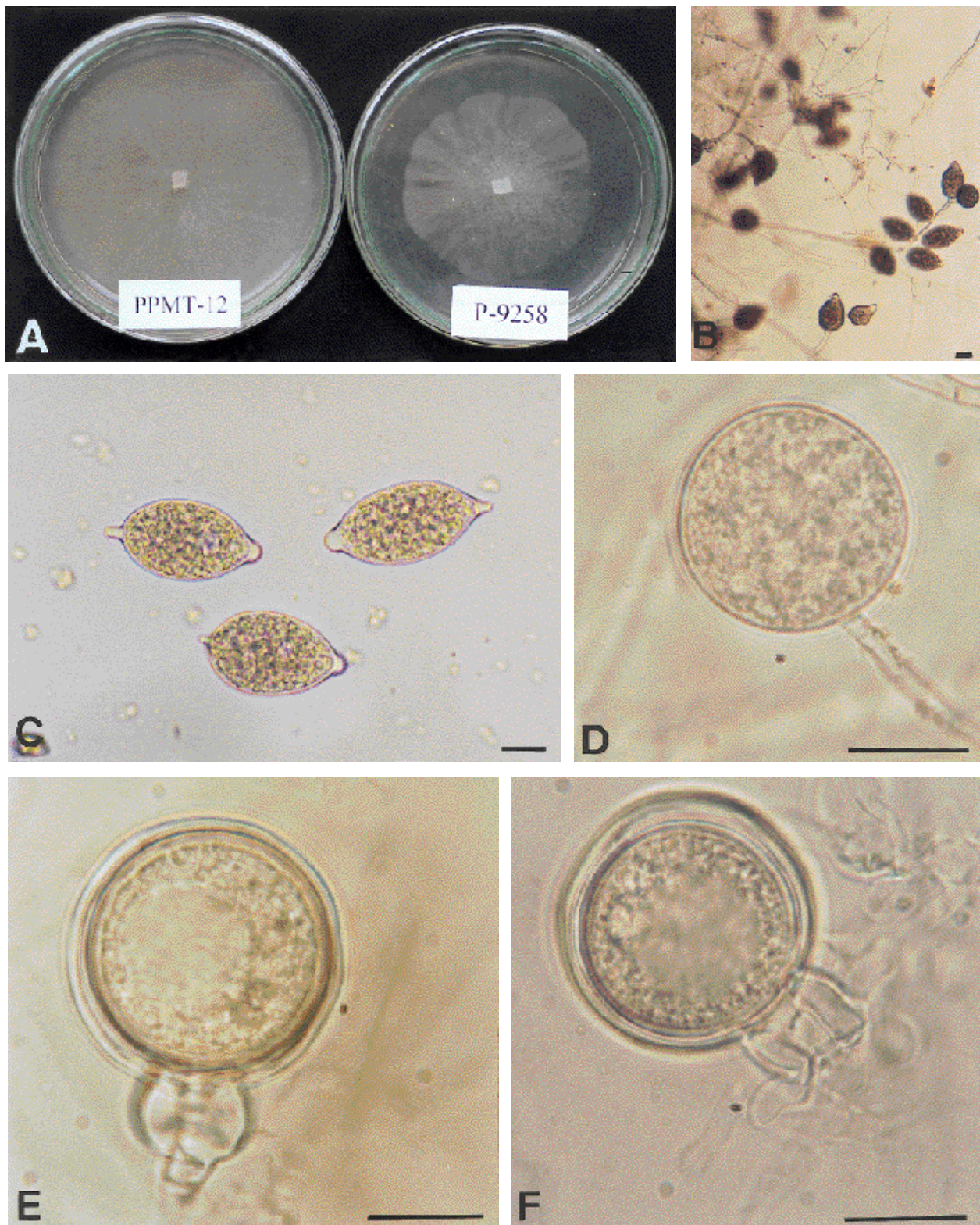
溫度對菌絲生長之影響

PPMT-12、PPBT-20 和 P-9258 三菌株在 5% V-8 瓊脂於不同溫度下無光照培養五天後，測量菌落直徑，由結果顯示菌絲可於 10-35 C 間生長，生長適溫在 24-30 C 之間 (圖二)，以 P-9258 生長較快，而 PPMT-12 生長較慢，各菌株在 20 C 以下生長都很緩慢，在 28 C 以上時，易生氣生菌絲。

溫、濕度對蘭花疫病菌產胞之影響

溫度對疫病菌在 V-8 培養基產胞之影響：三供試菌株之產胞量皆以 24 C 時最多，其次為 28 C，於 10 及 35 C 時都不產胞，但 P-9258 在 20 C 之產胞量比在 28 C 時多。三菌株中以 PPMT-12 產胞量最多，於 24 C 時每平方毫米平均達 243 個胞囊，而 P-9258 於各溫度下產胞量皆很少。光照刺激產胞，無光照處理之產胞量顯然比光照處理為少 (表四)。

溫度對疫病菌在嘉德麗亞蘭葉表產胞之影響：將 PPBT-20、PPMT-12 及 P-9258 三個嘉德麗亞蘭分離菌株



圖一、嘉德麗亞蘭疫病菌 *Phytophthora palmivora* 之特性。A. 菌落形態 (5% V-8 瓊脂) ; B&C. 孢囊 ; D. 厚膜孢子 ; E&F. 卵孢子。(線長 = 10 μ m)

Fig. 1. Characteristics of *Phytophthora palmivora* from Cattleya. A. Colonies on 5% V-8 agar plate; B&C. Sporangia; D. a chlamydospore; E&F. Oospores. (bar = 10 μ m)

表三、嘉德麗亞蘭疫病菌株之有性器官大小及其配對型
Table 3. Sizes of sex organs and mating types of 20 isolates of *Phytophthora palmivora* from *Cattleya* spp

Isolate	Oogonia (μm) ¹	Oospore (μm) ¹	Antheridia (μm)	Mating type
PPTN-01	28-35 (32.2)	30-25 (27.4)	12.4-15 × 11.2-12.5(13.7 × 12.2)	A ¹
PPTN-02	28.5-34 (31.8)	25.6-31 (27.6)	11.2-14.3 × 11-12(14.3 × 11.9)	A ¹
PPNT-01	27.5-32.5(29.7)	23.5-27.5(25.3)	12.5-16.2 × 11.2-13.7(15 × 13.2)	A ¹
PPMT-20	25-28 (26.4)	21-25 (23.4)	12.5-15 × 10-15(13.5 × 12.7)	A ¹
PPDL-01	25-32 (30.2)	22.5-28.9(25.4)	10-15 × 16.5-17.4(12.5 × 13)	A ¹
PPBH-15	22.5-27.5(25.1)	18.7-25 (21.1)	10-16.2 × 10-15(13.3 × 12.1)	A1
PPBH-12	27.5-36.2(30.8)	23.7-30 (25)	10-15 × 10-16(12.2 × 13)	A ¹
PPTC-03	21.2-30 (23.9)	17.4-25 (20.8)	13.7-19 × 12.5-15.3(15.1 × 12.8)	A ¹
PPCY-03	25-30 (27.3)	21.2-24 (23.5)	10-13.7 × 8.7-12(12.2 × 11.3)	A ¹
PPCY-04	28.7-35 (31.8)	23.7-27.5(26)	10-12.5 × 12-15(11.7 × 13.2)	A ¹
PPSK-02	21.2-28.5(24)	1.62-23.7(20.3)	10-16.2 × 11.2-15(13.3 × 11)	A ¹
PPMT-12	22.5-30 (25.6)	21-27 (22.8)	10-17.5 × 8.9-13.7(12.9 × 10.5)	A ¹
PPJH-02	23-27.5(24.3)	20-26.2(22.1)	9.7-13 × 8-15(11.4 × 12)	A ¹
PPDL-11	27.5-33.7(30.6)	22-28.7(25.3)	11.3-15 × 10-12.5(13.4 × 12)	A ¹
PPYL-04	23.7-30 (25.8)	17.5-25 (21)	8.7-15 × 8.5-12.5(11.4 × 10)	A ¹
PPBT-20	24.8-32.5(27)	20-26.2(22.6)	10-16 × 8.7-16(12.5 × 11.7)	A ¹
PPHW-04	17.5-27.5(25.1)	13.7-25 (20)	10-15 × 8-14(12.9 × 10)	A ¹
PPLY-12	25-35 (30)	22.1-30 (24.5)	9.1-13.7 × 8-14(12.5 × 11)	A ¹
PPCT-03	27-32.5(30.1)	22-30 (26.5)	12.5-17.6 × 12-16.2(14.1 × 13.3)	A ¹
P-9258	24.3-35.6(29.8)	22.5-32 (26)	9.7-13 × 10-12(12 × 10.3)	A ²

¹ Diameter; values in parentheses are the means.

表四、溫度和光照對自嘉德麗亞蘭分離之 *Phytophthora palmivora* 菌株在 5% V-8 瓊脂上產胞之影響

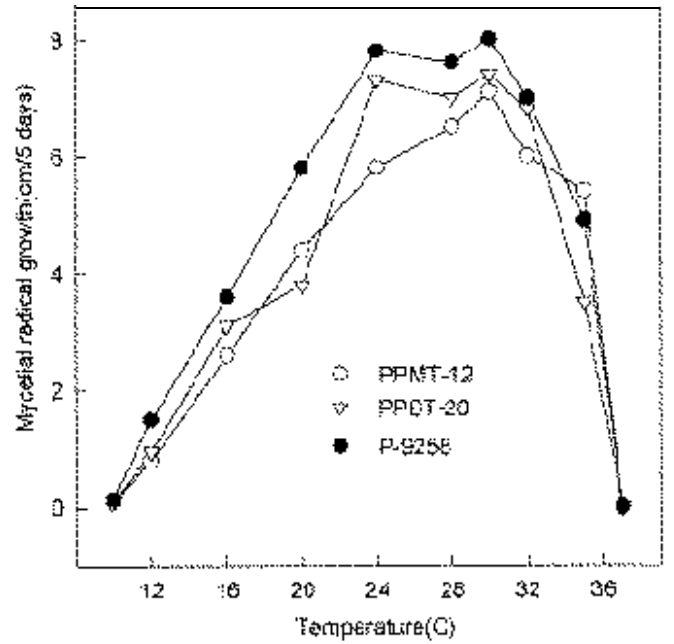
TABLE 4. Effect of temperatures and light on sporangial formation of three isolates of *Phytophthora palmivora* isolated from *Cattleya* on 5% V-8 agar

Temp. (C)	Number of sporangia / mm ²								
	PPBT-20			PPMT-12			P9258		
	3	6	9	3	6	9	3	6	9 ¹
10	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0) ²
16	42 (0)	82 (1)	103 (2)	24 (0)	80 (0)	98 (0)	10 (0)	27 (0)	30 (0)
20	61 (2)	93 (3)	115 (3)	40 (1)	151 (1)	162 (2)	10 (0)	42 (0)	55 (0)
24	127 (1)	138 (5)	225 (5)	126 (0)	193 (1)	243 (2)	12 (1)	34 (1)	60 (1)
28	20 (1)	37 (6)	196 (7)	108 (0)	156 (1)	214 (3)	15 (0)	24 (0)	30 (2)
32	6 (1)	16 (2)	34 (3)	18 (0)	25 (0)	36 (0)	8 (0)	12 (0)	12 (0)
35	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

¹ Number of days after incubation.

² Number of sporangia formed under light (8hr/day), and values in parentheses represent number of sporangia formed in the dark.

接種於蘭苗 (S-2) 葉表，等發病後，分置於 10、16、20、24、28、32 和 35 C 之恆溫培養箱中，每 3 天取出計算胞囊數目，至第 6 天時計算單位面積葉表胞囊之數目。三菌株均於 24 C 時之產胞量最多，分別為 P-9258 (112 個/mm²)、PPBT-20 (136 個/mm²)、PPMT-12 (82 個/mm²)；28 C 時產胞囊量次高，PPBT-20 菌株達 90 個/mm²；但於 35 C 時三



圖二、溫度對嘉德麗亞蘭疫病菌 *Phytophthora palmivora* 三菌株之菌絲在 5% V-8 瓊脂上生長之影響。

Fig. 2. The effect of temperatures on the radical mycelial growth of 3 isolates of *Phytophthora palmivora* from *Cattleya* on 5% V-8 agar.

菌株均不產胞；於 10 C 下產胞量亦十分稀少 (表五)。

相對濕度對疫病菌產胞之影響：在 24 C 時，測試五種相對濕度 (100、89.5-95.5、79.5-81、75-76 和 61-54.5%) 對供試菌株之產胞影響，相對濕度低於 80% 以下三菌株均不產胞，79.5-81% 時只有 P-9258 能產胞 (10 個/mm²)，而在 100% 三菌株產胞量最高，分別為 P-9258 產生 110 個/mm²。

表五、溫度對嘉德麗亞蘭疫病菌 *Phytophthora palmivora* 菌株 (PPMT-12, PPBT-20, P-9258) 在嘉德麗亞蘭病葉上產胞囊之影響

TABLE 5. Effect of temperature on the sporangial formation of three isolates (PPMT-12, PPBT-20, P-9258) of *Phytophthora palmivora* on Cattleya leaves

Temperature (C)	Number of sporangia / mm ²		
	PPM T-12	PPB T-20	P-9258
10	0 f ¹	0 g	0 g
16	41 b	38 d	22 d
20	28 c	60 c	38 c
24	82 a	136 a	112 a
28	43 b	90 b	48 b
32	6 d	20 e	14 e
35	2 e	8 f	10 f

¹. Data followed by the same letter in each column are not significantly different at P=0.05 according to Duncan's multiple range test.

mm²、PPBT-20 產生 167 個 / mm²、PPMT-12 產生 59 個 / mm² (表六)。

溫度對胞囊發芽及游走子發芽之影響

溫度對胞囊直接發芽之影響：胞囊直接發芽之溫度範圍在 16-36 C 間，最適發芽溫度為 24 C。在 24 C 下，三菌株胞囊發芽率分別為 P-9258 (95%)、PPMT-12 (88%)、PPBT-20 (72%)；28 C 時次之，P-9258 降為 91% (表七)，其餘兩菌株皆為 72%；而溫度在 40 C 以上及 12 C 以下，三菌株胞囊皆未發芽。

溫度對胞囊間接發芽之影響：在 8-32 C 之間，胞囊均可分化成游走子，而以 16 C 時最佳。於 16 C 時，三供試菌株胞囊分化成游走子能力 (表八)，以 PPBT-20 菌株最高 (86%)，PPMT-12 次之 (83%)，P9258 菌株最低為 79%；在 20 C 下，PPBT-20 菌株降為 72%；而於 28 C 時，其胞囊分化成游走子僅有 51%；在 35 C 時三菌株之胞囊皆不會形成遊走子。

溫度對游走子發芽之影響：在五種不同溫度下，三菌株之游走子發芽率以 24 C 時為最高 (表九)，經三小時後 PPMT-12 菌株達 77.1%，PPBT-20 為 74.5%，P-9258 則為 69.5%。游走子發芽適溫在 16-28C 間，高溫較不利游走子發芽，32 C 下發芽率只有 31.0-40.5% 間，24 C 以下以 PPBT-20 菌株發芽率較高 (51.7-71.0%)。在高溫狀態下 (32C)，則以 PPMT-12 菌株游走子發芽率較高 (40.5%)。

配對型之測定及卵孢子之形成

供試菌株經與 *P. parasitica* 標準菌株 A¹ (P991) 及 A² (P731) 作對峙培養之結果，除 P-9258 為 A² 配對型外，其餘菌株皆為 A¹ 配對型。*P. palmivora* 為異絲型

表六、相對濕度對嘉德麗亞蘭疫病菌 (*Phytophthora palmivora*) 菌株在嘉德麗亞蘭病葉上產胞囊之影響

TABLE 6. Effect of relative humidity on sporangial formation of *Phytophthora palmivora* (isolates PPMT-12, PPBT-20, P-9258) on Cattleya leaves

Relative humidity (%)	Number of sporangia / mm ²		
	PPM T-12	PPB T-20	P-9258
100	59 a ¹	167 a	110 a
89.5-95.5	10 b	24 b	30 b
79.5-81.0	0 c	0 c	10 c
75-76	0 c	0 c	0 d
54.5-61.0	0 c	0 c	0 d

¹. Data followed by the same letter in each column are not significantly different at P=0.05 according to Duncan's multiple range test.

表七、溫度對嘉德麗亞蘭疫病菌 (*Phytophthora palmivora*) 菌株 (PPMT-12, PPBT-20, P-9258) 胞囊直接發芽之影響。

TABLE 7. Effect of temperature on direct germination of sporangia of three isolates (PPMT-12, PPBT-20, P-9258) of *Phytophthora palmivora* from Cattleya

Temperature (C)	% of direct germination of sporangia ²		
	PPM T-12	PPB T-20	P-9258
8	0 e ¹	0 c	0 d
12	0 e	0 c	0 d
16	18 d	6 c	22 c
20	73 b	60 b	76 b
24	88 a	82 a	95 a
28	72 b	72 a	91 a
32	36 c	50 b	95 a
36	5 e	7 c	19 c
40	0 e	0 c	0 d

¹. Data followed by the same letter in each column are not significantly different at P=0.05 according to Duncan's multiple range test.

(Heterothallic)，單獨培養不形成卵孢子，利用 Ko (1978) 之夾膜法，各菌株皆會自行產生卵孢子 (圖一E、F)，藏卵器為球形或亞球形，表面平滑，大小平均為 23.9-32.2 μm；藏精器單生單室底著，大小平均為 11.4-15.1 × 10-13.3 μm，成熟卵孢子黃褐色充滿於藏卵器，故屬於全實性 (Plerotic)，大小平均為 20.0-27.6 μm。各菌株藏精器、藏卵器和卵孢子之大小列於表二。

討 論

Phytophthora palmivora 為一多犯性之植物病原菌，其寄主有數百種之多 (7)，在本省可危害眾多之熱帶果樹，重要者如柑橘、木瓜與蓮霧等，及蘭花和一些其他花卉植物 (1,2,15)。本菌主要危害植物根系與地上部之果實和葉片。在國外，最早於 1930 年代即在嘉德麗亞蘭上分

表八、溫度對嘉德麗亞蘭疫病 (*Phytophthora palmivora*) 菌株 (PPMT-12, PPBT-20, P-9258) 胞囊間接發芽之影響。

TABLE 8. Effect of temperature on indirect germination of sporangia of three isolates (PPMT-12, PPBT-20, P-9258) of *Phytophthora palmivora* from Cattleya

Temperature (C)	% of indirect germination of sporangia ²		
	PPM T-12	PPB T-20	P-9258
8	19 g ¹	20 f	23 f
12	56 d	68 c	69 b
16	83 a	86 a	79 a
20	75 b	79 b	56 c
24	64 c	68 c	45 d
28	43 e	51 d	38 e
32	23 f	24 e	19 g
35	0 h	0 g	0 h

¹. Data followed by the same letter in each column are not significantly different at P=0.05 according to Duncan's multiple range test.

表九、溫度對嘉德麗亞蘭疫病菌 (*Phytophthora paomivora*) 菌株游走子發芽之影響

TABLE 9. Effect of temperature on zoospore germination of three isolates (PPMT-12, PPBT-20, P-9258) of *Phytophthora palmivora* from Cattleya

Temperature (C)	% of zoospore germination		
	PPM T-12	PPB T-20	P-9258
16	53.5 c ¹	51.7 c	43.5 c
20	68.5 b	71.0 ab	60.5 b
24	77.1 a	74.5 a	69.5 a
28	72.2 ab	66.4 b	63.2 ab
32	40.5 d	39.3 d	31.0 d

¹. Data followed by same letter in each column are not significantly different at P=0.05 according to Duncan's multiple range test.

離到本菌 (12,21)，而在本省則於 1977 年首次記錄由陳氏 (2) 從嘉德麗亞蘭葉片上分離到。本研究分離之 20 個 *P. palmivora* 菌株皆為標準型 (20,23,24)，除台東所分離之 P-9258 菌株為 A² 配對型外，其餘皆為 A¹ 配對型。

濕度可說是影響 *Phytophthora* 產胞之重要因子之一，在相對濕度 100% 或水分潛勢近於 0 之狀況下，最易誘導其胞囊之產生 (10)，Sneh & McIntosh (19) 發現在濕度 0.1 bar 和 0.3 bar 時，*P. cactorum* (Lebert & Cohn) Schroeter 產生胞囊最多，而於 -0.3 bar 時則無胞囊產生。雖然 *Phytophthora* 可產胞之溫度範圍頗廣，但適溫範圍則十分狹窄，如 *P. palmivora* 可產胞之溫度範圍為 15-30C 間，但其產胞適溫則只在 25C (4) 及 27-30C (6)。疫病菌胞囊之發芽方式分成兩種，一為胞囊長出發芽管者稱直接發芽 (direct germination)，另一種為胞囊內細胞質分化成游走子之釋出稱間接發芽 (indirect germination)，適合兩種發芽行

為之 溫度需求並不盡相同，如 *P. infestans* (Montagne) deBary 直接發芽之適溫為 20 C，而間接發芽之適溫則在 12C (9)。本試驗中，本省嘉德麗亞蘭疫病菌於 24 C 相對濕度 100% 下可在蘭花葉表產生大量胞囊，每平方毫米達 59-167 個，於相對濕度 90% 下同樣單位面積之產胞量降為 10-30 個，而在相對濕度 80% 以下則不產胞。高濕狀況下其產胞最適溫為 24 C，其次為 28 C。胞囊之直接發芽適溫亦在 24 C 左右，16 C 以下則不發生；而間接發芽以 16 C 為最適溫，隨溫度升高胞囊分化成游走子之能力遞減。就本菌而言，直接發芽和間接發芽之適溫範圍略有重疊。由於本菌的胞囊十分容易脫落，以病害流行學之觀點而言，本疫病菌之胞囊和游走子同為重要之感染單位。

光照可提昇疫病菌之產胞量 (4,6)，就 *P. palmivora* 而言於光照與黑暗處理下均能產胞，但 Hendrix (11) 報告 *P. palmivora* 於無光照處理產生之胞囊 L/W (長寬比) 值及形狀均有所差異，無光照處理產生之胞囊 L/W 值較小，與作為分類基準之 L/W 值頗有差距。因而，若以形態來作為本菌之鑑定基準時必須留意此點，黑暗處理與光照處理產胞量之差距達數十至數百倍之多，光照確為促進疫病菌產胞量的要因之一。本省於夏秋季節時，蘭園之溫度約在 20-30 C 之間，相對濕度在 60-90% 間 (3)，此栽培環境與疫病菌產胞及發芽之溫、濕度需求相符合，此即可能為蘭花疫病經常在夏秋季發生嚴重之原因。

參考文獻

1. 安寶貞. 1995. 台灣的蘭花疫病. 植病刊 4:152-162.
2. 陳際松. 1977. 台灣蝴蝶蘭疫病之研究. 國立中興大學植物病理學研究所第八屆碩士論文. 94頁.
3. 葉濟蒼. 1996. 台灣嘉德麗亞蘭之疫病. 國立中興大學植物病理學研究所第二十四屆碩士論文. 62頁.
4. Aragaki, M., and Hine, R. B. 1963. Effect of radiation on sporangial production of *Phytophthora parasitica* on artificial media and detached papaya fruit. *Phytopathology* 53:854-856.
5. Aragaki, M., Mobley, R D., and Hine, R. B. 1967. Sporangia of *Phytophthora palmivora* from papaya. *Mycologia* 59:93-103.
6. Brasier, C. M. 1969. The effect of light and temperature on reproduction in vitro in two tropical species of *Phytophthora*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 52:105-113.
7. Chee, K. H. 1969. Host of *Phytophthora palmivora*. *Rev. Appl. Mycol.* 48: 337-344.
8. Chen, D. W., and Zentmyer, G. A. 1970. Production of sporangia by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture. *Mycologia*. 62:397-401.
9. Crosier, W. 1934. Studies in the biology of *Phytophthora*

- infestans* (Mont) De Bary. Cornell Univ. Agri. Exp. Stn. Mem 155. 40 pp.
10. Erwin, D. C., Bartnicki-Garica, S., and Tsao, P. H. 1983. *Phytophthora*: its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology. Am. Phytopathol. Soc., St. Paul. MN. 392 pp.
 11. Hendrix, J. W., 1967. Light-cholesterol relationship in Morphogenesis of *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora capsici* sporangia. Mycologia 59:1107-1111.
 12. Hine, R. B. 1962. Pathogenicity of *Phytophthora palmivora* in the Orchidaceae Plant. Dis. Rep. 15:643-645.
 13. Hirst, J. M., and Stedman, O. J. 1960. The epidemiology of *Phytophthora infestans*. The source of inoculum. Ann. Appl. Biol. 48:489-517.
 14. Ho, H. H. 1992. Keys to the species of *Phytophthora* in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 1:104-109.
 15. Ho, H. H., Ann, P. J., Hang, H. S. 1995. The Genus *Phytophthora* in Taiwan. Acad. Sin. Mon. Ser. 15. Taipei Taiwan. 86 pp.
 16. Hwang, S. C., Ko, W. K., and Aragaki, M. 1975. A simplified method for sporangia production by *Phytophthora cinnamomi* in axenic culture. Mycologia 62:397-401.
 17. Ko, W. H., Chang, H. S., and Su, H. J. 1978. Isolate of *Phytophthora cinnamoni* from Taiwan as evidence for an Asian origin of the species. Trans. Br. Mycol. Soc. 72:496-499.
 18. Ko, W. H. 1978. Heterothallic *Phytophthora* evidence for hormone regulation of sexual reproduction. J. Gen. Microbiol. 107:15-18.
 19. Sneh, B., and McIntosh, D. L. 1974. Studies on the behavior and survival of *Phytophthora cactorum* in soil. Can. J. Bot. 52:795-802.
 20. Stamp, P. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J., and Hall, G. S. 1990. Revised Tubular key to the Species of *Phytophthora*. Mycol. Paper 162. Comm. Mycol. Ins. Kew, Surrey, England.
 21. Tucker, C. M. 1931. Taxonomy of the Genus *Phytophthora* De Bary. Res. Bull. Mo. Agric Sta. 153. 208 pp.
 22. Tuite, J. 1969. Plant Pathological Method-Fungi and Bacteria. Dept. of Botany and Plant Pathology. Purdue Univ. Lafayette, Indiana. 239 pp.
 23. Waterhouse, G. M. 1963. Taxonomy of the Species of *Phytophthora* De Bary. Mycol. Paper 92. Comm. Mycol. Ins. Kew, Surrey, England.
 24. Waterhouse, G. M. 1970. The Genus *Phytophthora* De Bary-Diagnosis (Descriptions and Figures from the Original Paper). Mycol. Paper 122. Comm. Mycol. Ins. Kew, Surrey, England.

ABSTRACT

Yeh, J. T., Hsieh, S. P. Y., and Ann, P. J. 1998. Physiological and morphological characteristics of *Phytophthora palmivora* causing black rot of *Cattleya* in Taiwan. *Plant Pathol. Bull.* 7:85-93. (1. Tainan Branch Office, Bureau of Commodity Inspection and Quarantine, Tainan, Taiwan, R.O.C. 2. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C. 3. Department of Plant Pathology, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, R.O.C.)

A total of twenty isolates of *Phytophthora* were isolated from diseased tissues of *Cattleya* orchid plants which were collected from 17 commercial orchid gardens located at central, western and eastern areas of Taiwan, respectively. All *Phytophthora* isolates from *Cattleya* were identified as *P. palmivora* belonging to A¹ mating type except the P9258 isolate from Taitung, which appeared to belong to A² mating type. All test isolates formed white colonies without special patterns on 5% V-8 agar. The mycelia branched by straight angle, constricted at the base, and had the diameter measured about 3-5 μ m. Sporangia were elongated ellipsoid or elongated ovoid, papillate, and deciduous with pedicel length less than 5 μ m. Average range of length and width of sporangia were 44.3-51.0 \times 26.1-29.7 μ m with the L/W ratios of 1.61-1.75. The maximum, optimum and minimum temperatures for mycelial growth of the tested isolates were approximately 35, 24-32 and 10 C, respectively. The optimum temperature for sporangial production both on 5% V-8 agar and on surface of *Cattleya* leaves was 24 C. The number of sporangia produced on V-8 agar was the highest under 100% relative humidity (RH), whereas no sporangia were formed under conditions of RH below 80%. Sporangia of tested isolates were able to indirectly germinate from 8C through 32C with an optimum temperature at 16 C. The optimum temperature for direct germination of sporangia of tested isolates was at 24 C. No zoospores were formed at 35 C. High temperature was not suitable for zoospore germination either. The optimum temperature ranges for zoospore germination on 5% V-8 agar were 20-28C, the germination rates were around 60.5-77.1%.

Key words: *Cattleya* orchids, *Phytophthora palmivora*, sporangium zoospore, sporulation, spore germination.