

## 黑點根腐病菌在台灣的主寄主範圍

林益昇<sup>1,2</sup> 蘇俊峯<sup>1</sup> 林恭民<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 臺中市 國立中興大學植物病理學系

<sup>2</sup> 聯絡作者：電子郵件：yslin1@dragon.nchu.edu.tw，傳真：+886-4-22870891

接受日期：中華民國 97 年 2 月 12 日

### 摘 要

林益昇、蘇俊峯、林恭民. 2008. 黑點根腐病菌在台灣的主寄主範圍. 植病會刊 17: 25-34.

*Monosporascus cannonballus* 在田間侵害洋香瓜引起根腐，大部份罹病植株於採收前二星期產生急速萎凋 (sudden wilt) 的病徵。在溫室內以土壤試管法、栽培盆接種法與苗圃 (350 × 132 × 24 cm<sup>3</sup>) 接種法進行 *M. cannonballus* 的接種試驗，結果於土壤試管法中觀察到供試的 10 種瓜類作物，包括洋香瓜、香瓜、越瓜、胡瓜、冬瓜、南瓜、西瓜、蒲瓜、絲瓜與苦瓜等，其根圈附近，皆有子囊孢子發芽及菌絲侵入根表皮的情形。在栽培盆接種法中，洋香瓜接種株未出現與田間相同的萎凋病徵。採用苗圃接種法，則可完成柯霍氏法則，確立病菌與病害的關係。田間調查得知洋香瓜黑點根腐病菌在台灣的主寄主植物有：洋香瓜、香瓜、越瓜、胡瓜、蒲瓜 (作西瓜根砧) 和冬瓜等。除了洋香瓜發病嚴重外，其他作物黑點根腐病僅局限在彰化縣芳苑鄉小面積或溫室內發生。另外，本病原菌僅可由罹病根組織分離得到，自同一罹病株根腐指數為 0-4 各級的部位，所得病原菌分離率分別為 69、82、73、40 與 9%。

關鍵詞：洋香瓜黑點根腐病、主寄主範圍、*Monosporascus cannonballus*

### 緒 言

洋香瓜黑點根腐病 (root rot/vine decline of muskmelon) 是洋香瓜 (*Cucumis melo* L.) 的重要病害，由子囊菌 *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker 所引起<sup>(1)</sup>，主要發生在熱帶與亞熱帶地區<sup>(5)</sup>，台灣則於 1994 年由蔡與童兩氏<sup>(19)</sup> 首先記錄本病害之發生。依據行政院農業委員會 94 年農業統計年報<sup>(3)</sup>，台灣地區 1996 年的洋香瓜栽培面積總計達 8,349 公頃，然而至 2005 年僅剩下 4,394 公頃，其中台南縣東山鄉的洋香瓜栽培面積在 2000 年尚達 1,500 公頃以上，由於黑點根腐病的發生，至 2006 年只剩下 700 公頃左右 (東山鄉農會陳豐榮總幹事，私人聯絡)。

目前田間仍未有抵抗黑點根腐病的洋香瓜栽培種<sup>(1)</sup>，亦未見有效藥劑推薦使用於本病害之防治<sup>(2)</sup>。雖然，以色列農民於洋香瓜植前利用溴化甲烷進行土壤燻蒸，可有效降低本病害的發生<sup>(1)</sup>，而溴化甲烷即將於近期內，被世界各國禁止使用<sup>(13)</sup>。因此，洋香瓜黑點根腐病勢將繼續危害世界各地的洋香瓜產業，一般情形此病可造成洋香瓜 10~25% 的產量損失，而有些個

別瓜田的損失則達 100%<sup>(5)</sup>。

關於本病的防治，學者們從不同角度進行研究，例如利用 *Trichoderma virens* 進行生物防治<sup>(23)</sup>；採取疏果方式減少地上部萎凋病徵<sup>(11)</sup>；與利用植株滴灌方式節制給水<sup>(10)</sup> 等。另外，Cohen 等人<sup>(1)</sup> 認為葫蘆科作物品種間具有嫁接親和性，或可考慮將洋香瓜嫁接到耐/抗病的瓜類作物根砧上，以達到防治效果。然而，黑點根腐病菌在田間之主寄主範圍至今仍缺乏明確資料。

Mertely 等人<sup>(8)</sup> 曾在溫室以人工混菌土進行接種試驗測試其主寄主範圍，指出 *M. cannonballus* 會感染洋香瓜、西瓜 (*Citrullus lanatus* Matsum.)、蒲瓜 (*Lagenaria siceraria* Standl.)、胡瓜 (*Cucumis sativus* L.)、南瓜 (*Cucurbita pepo* L.) 與絲瓜 (*Luffa aegyptiaca* Mill.) 等根部，並引起根腐。因此，他們推測瓜類作物可能都是本病原菌的田間寄主。但是他們使用消毒過的栽培介質 (steam-pasteurized sand & perlite) 製作人工病土的接種方法，評估本病原菌在田間的真正主寄主範圍，似不甚適宜。根據文獻記載本病原菌之田間寄主，除了洋香瓜<sup>(12)</sup> 之外，西瓜<sup>(6)</sup> 及以蒲瓜為根砧用於防治西瓜萎

凋病的西瓜嫁接株<sup>(21)</sup>，亦受此菌危害。而疑似黑點根腐病菌的菌株 (*Monosporascus* spp.) 亦可由一些田間非瓜類植株根部分離得到，包括：土牛膝 (*Achyranthes aspera* L.)<sup>(4)</sup>、苜蓿 (*Medicago sativa* L.)<sup>(12)</sup>、紅三葉草 (*Trifolium pratense* L.)<sup>(14)</sup> 與小麥 (*Triticum aestivum* L.)<sup>(4)</sup> 等。

本研究乃利用土壤試管法 (soil tube method)<sup>(16)</sup> 直接觀察洋香瓜黑點根腐病原菌子囊孢子在供試植物根圈附近發芽與侵入根部的情形，使用不同接種方法評估 *M. cannonballus* 的寄主範圍，並做田間病害調查，嘗試從各種瓜類作物根部分離黑點根腐病菌。

## 材料與方法

### 洋香瓜黑點根腐病田間病徵觀察與病害調查

2000 年夏末於彰化縣芳苑鄉選定一處曾發生黑點根腐病的栽培田，當農民將洋香瓜 (秋香) 植株定植於本田開始，每星期前往觀察、記錄洋香瓜黑點根腐病地下部與地上部病徵。為量化黑點根腐病的發病程度，乃將發生黑點根腐病而呈現萎凋的植株記錄成萎凋率 (wilt rate, %，= 萎凋的株數調查總株數 $\times$ 100%)，並將根部病徵記錄成根腐指數 (root rot index)。根腐指數分為 0~4 級：0 級表示健康；1 級表示有紅色病斑；2 級表示有褐色壞疽斑；3 級則表示已經出現根腐；4 級表示已產生子囊殼等<sup>(18)</sup>。

### 黑點根腐病菌的分離

組織分離法：罹病根部在實驗室以清水清洗後，利用消毒過之解剖刀，切取欲分離的組織部位約 1 cm 長之片段。該組織片段經消毒液 (5.25% 次氯酸鈉：95% 酒精= 1/1 (v/v)) 表面消毒 10 sec、無菌水漂洗一次、以衛生紙吸乾表面水分後，移至 1.5% (w/v) 瓊脂培養基 (water agar, WA) 中，培養基內添加有 200 ppm streptomycin sulfate (Sigma)。此培養物在培養架上培養兩天 (24-30°C、12 h 光照、2500-3800 lux) 後，於光學顯微鏡 (Optiphot-2, Nikon) 下鏡檢由組織長出的菌落型態。切取不同菌落型態的菌絲尖端，移殖到馬鈴薯培養基 (potato dextrose agar (PDA), Difco) 上進行純培養。每天觀察、記錄菌落型態及生長的情形，待其產生子囊殼後，鏡檢、記錄子囊孢子型態。

由不同根腐指數的罹病部位分離病原菌：由田間採集已出現地上部萎凋病徵之洋香瓜黑點根腐病罹病株共 59 株，利用組織分離法，由每株不同根腐指數的根組織與下胚軸部位，分離黑點根腐病菌。並計算個

別情況下黑點根腐病菌的分離率 (%) = 分離病菌成功的組織片段數 / 組織片段總數 $\times$ 100%。

### 田間瓜類作物黑點根腐病調查

2000 至 2006 年間不定期前往台灣主要洋香瓜及其他葫蘆科作物栽培區，特別是彰化縣芳苑鄉、台南縣東山鄉、七股鄉與佳里鎮等地，觀察、調查並記錄黑點根腐病發生的情形。調查時，詢問農友所栽植之作物品種或品系、種苗來源、定植時間、預計採收時間、栽種面積、株數以及前期作物是否曾經發生黑點根腐病等。如遇植株地上部發生萎凋病徵，則逢機挖取數棵罹病株及其根圈土壤，攜回實驗室進行根部病徵的觀察與病原菌分離。

### 病原性測定

供試菌株來源與接種源製備：供試 *M. cannonballus* 菌株 MC-1 與 MC-2 是由芳苑鄉田間採集之洋香瓜黑點根腐病罹病株 (秋香栽培種) 根部，利用組織分離法所分離得到。將分離株在 PDA 培養基純化培養 (24-30°C、12 h 光照、2500-3800 lux) 7 天，切取其菌絲塊 (3 $\times$ 5 cm<sup>2</sup>) 移至稻殼米糠培養基中培養 30 天，即會有黑色的子囊殼產生<sup>(18)</sup>。稻殼米糠培養基乃是於 1 公升三角燒瓶內裝 500 ml 稻殼、25 g 米糠與 50 ml 的水，經高溫高壓消毒 (121°C、1.2 kg/cm<sup>2</sup>、20 min) (連續兩天、每天一次) 而得<sup>(8, 20)</sup>。將稻殼米糠培養基的接種源與溫室無黑點根腐病菌之自然土 (*M. cannonballus* free) 混拌均勻，即成人工混菌土 (artificial infested soil)。人工混菌土裡的子囊孢子數可利用網篩法 (sieve method) 計算，並於混合前加以調整。此處所謂網篩法係將 20 g 土壤樣本加入 200 ml 無菌水中，攪拌 5 min，依序以 63- $\mu$ m、53- $\mu$ m 網篩過濾，留下濾液。最後以 38- $\mu$ m 網篩過濾，留下網篩上的土壤，將此土壤沖洗至離心管；經離心 (2000 rpm, 10 min) 後，倒去上層液，加入 60% 糖液 20 ml，再離心 (2000 rpm, 5 min) 乙次，取上層液並以 38- $\mu$ m 網篩過濾。洗下網篩上的置留物，於解剖顯微鏡 (Olympus, SZH) 下鏡檢，並計算黑點根腐病菌子囊孢子之數目 (ascospores/g soil)<sup>(15)</sup>。

供試植株的準備：供試植物之種子經流水催芽 4 h 與 36°C 濕潤培育 12 h 後，就會有胚根長出，將其播植於盛有泥炭土 (peat moss) 和珍珠石 (perlite) 混合物 (3:1, v/v) 的穴盤 (50 或 60 格，每格直徑 4.5 cm，深 4.5 cm) 中育苗，待幼苗長出 2-3 真葉後供用。

土壤試管法接種試驗：土壤試管法乃 Stanghellini 等人<sup>(16)</sup> 所設計：取 MC-1 人工混菌土 (3 $\times$ 10<sup>3</sup>

ascospores/g soil) 7 g，盛裝於長 6 cm，管口直徑 1.5 cm 玻璃試管中，並播種一顆已催芽的洋香瓜秋香品種種子，置於室溫 26~28 °C 實驗室靠北方窗台上 (max. 3600 lux)。連續 20 天每天取 5 支試管浸泡於水槽中，使試管內的土壤自然浸濕，再利用鑷子小心將植株整個根系自試管內挖出，置於 9-cm 玻璃培養皿內。以無菌水輕輕漂洗植株根部後，於解剖顯微鏡下觀察與記錄最適子囊孢子發芽與侵入植株根部的數目及培養天數，並利用組織分離法，由感染部位重新分離病原菌。據此，進一步測定本病原菌之寄主範圍；所選用供試植株品種，包括洋香瓜 (秋香、蜜世界、狀元、新世紀)、香瓜 (銀輝)、越瓜 (銀華、農友白皮)、冬瓜 (*Benincasa hispida* Thunb.) (農友細長 1 號、小惠、小青)、南瓜 (壯士、鳳凰)、西瓜 (富寶 2 號、勇士)、絲瓜 (美菱、東光)、蒲瓜 (永樂、永秀)、胡瓜 (萬吉)、苦瓜 (*Momordica charantia* L.) (農友新三號)、蕃茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (聖女)、蘿菜 (*Ipomoea aquatica* Forssk.) (桃園 1 號)、茼蒿 (*Chrysanthemum coronarium* L.) (大葉種)、長豇豆 (*Vigna unguiculata* Walp.) (麗人) 及不結球白菜 (*Brassica campestris* L.) (青梗白菜) 等。

栽培盆接種試驗 (pot inoculation)：在溫室裡將洋香瓜品種，天香、玉露、雪裡華、翠香、秋香和銀河等與香瓜品種，新玉、農友 2 號、銀輝和金輝等的瓜苗，種植於裝有 MC-1 與 MC-2 人工混菌土 ( $1 \times 10^2$  ascospores/g soil) 及無黑點根腐病菌之自然土 (對照組) 的栽培盆 (直徑 22 cm) 中，每品種種植 6 盆、每盆 2 棵植株。逐日觀察並記錄黑點根腐病地上部病徵發生的情形。接種 2 個月後，每品種各挖取 6 棵供試植株，於實驗室觀察、記錄根部病徵並重新分離病原菌。剩餘的 6 棵供試植株，則以剪刀於胚軸處將地上部剪除，留下根系在土壤中任其乾燥，1 個月後，挖出根系觀察並記錄子囊殼產生的情形。

苗圃接種試驗 (micro-plot inoculation)：將洋香瓜秋香幼苗定植於含有 MC-1 人工混菌土 (65 ascospores/g soil) 與無黑點根腐病菌之自然土 (對照組) 的苗圃 (micro-plot，長、寬、高分別為  $350 \times 132 \times 24$  cm<sup>3</sup>)，每個苗圃各種植 20 株幼苗。定植後每天觀察並記錄黑點根腐病地上部病徵發生的情形，連續 9 星期每星期逢機挖取 2 植株，於實驗室觀察、記錄地下部病徵並重新分離病原菌。

資料分析：試驗所得之資料，採用 SPSS version 12 (SPSS Inc., Chicago, USA) 進行統計分析。在土壤試管法觀察子囊孢子發芽與侵入植株根部的最適天數試驗中，將接種後不同天數觀察之結果 (germinated

ascospores/root system)，取其自然對數並計算 95% 的信賴區間 (confidence interval)，再以  $\ln (1 + \text{germinated ascospores/root system})$  對接種後天數作圖，進行迴歸分析 (regression analyses)。而利用土壤試管法測試黑點根腐病菌的寄主範圍所得之結果，則進行鄧肯氏變方分析 ( $p = 0.05$ ) (Duncan's multiple range test)。

## 結 果

### 洋香瓜黑點根腐病的病徵與病兆

彰化縣芳苑鄉種植的洋香瓜秋香品種，適合早秋種植，生長期為 12-13 星期。移植後第 7 星期在開花、結果之前，地上部病徵並不明顯，不易觀察，且萎凋率皆為 0；待植株開花結果後，地上部才會出現生長停滯、葉片黃化與壞疽等病徵，但是瓜蔓與葉柄並不會表現病徵，且移植後 9 星期之內，萎凋率仍低於 20%；然而，到採收前 2 星期，整園出現急速性萎凋 (sudden wilt) 病徵，致使果實暴露在太陽底下，嚴重影響果實品質而無法成熟。萎凋率常高於 80%，所收穫之果實不具有商品價值。而洋香瓜黑點根腐病在地下部之初期病徵，則表現於植株移植至本田 5 星期之後，此時地上部尚無病徵的洋香瓜植株，根系有 1-2 條的一級與二級側根，出現典型的黑點根腐病「紅色病斑」(根腐指數 1 級)，利用組織分離法可由這些病徵部位，分離得到黑點根腐病菌。稍後，這些病斑會融合造成根腐，使一級與二級側根由主根上脫落。此時，洋香瓜植株或可新長出一級與二級側根，但通常表現根系「缺少側根與根毛」的徵象。在移植 9 星期之後，地上部已有萎凋病徵的洋香瓜植株主根上，可觀察到零星的「褐色凹陷的壞疽斑」(根腐指數 2 級)。到採收前 2 星期，主根上散生許多壞疽斑，並癒合成根腐 (根腐指數 3 級)。待洋香瓜採收後，植株之根腐益趨嚴重，甚至在直徑較小的根上，有一些黑色、圓形、半埋生於根部皮層的子囊殼形成 (根腐指數 4 級)。若是罹病根持續留在田間土壤環境中 (土壤含水量為 7-9%，土表下方 10 cm 溫度為 25-26 °C) 一個月，則根部會有大量的子囊殼產生，但下胚軸、莖部與葉片則否。

子囊殼內有許多子囊，每一子囊內僅含有一個圓形的子囊孢子，子囊孢子 6 層壁，成熟的子囊孢子黑色，直徑介於 40-50  $\mu\text{m}$  之間，平均為 46  $\mu\text{m}$ ，符合黑點根腐病菌的特徵<sup>(12)</sup>。

### 洋香瓜黑點根腐病菌的分離

洋香瓜罹病株組織片段在 1.5% WA 培養基上培養兩天，會長出稀疏狀的黑點根腐病菌菌絲。菌絲有隔膜、分支不成直角。切取菌絲尖端於 PDA 培養基上純培養，初期其菌落白色、棉花狀、具氣生菌絲、生長速率為 6.4 mm/day。約純培養 7 天後待菌絲長滿培養基，培養基背面開始有淺褐色至黑色的色素累積，培養基內氣生菌絲開始減少。純培養一個月後，培養基內已無氣生菌絲，大量的黑色子囊殼會在培養基表面形成或埋生於培養基內。

在洋香瓜採收後期，自田間採集發生黑點根腐病萎凋病徵的罹病株 59 棵，由其不同根腐指數的根組織與下胚軸分離病原菌，結果僅由根組織分離得到病原菌，其中由根腐指數 0~4 級的根組織分別得到 69、82、73、40 與 9% 的分離率(表一)。

### 黑點根腐病的田間調查

洋香瓜：2000 至 2006 年在彰化縣芳苑鄉、台南縣東山鄉、安南區、七股鄉、佳里鎮、西港鄉、雲林縣崙背鄉與宜蘭縣壯圍鄉等地進行洋香瓜黑點根腐病調查的結果顯示，目前市面上商業栽培用的洋香瓜品

種，包括秋香、天蜜、香華、蜜世界、七股香、紅寶石、紅寶石 2 號、藍寶石、藍寶石 2 號、新世紀與狀元等，對黑點根腐病菌皆表現感病性，在果實採收前 2 星期，洋香瓜會出現急速萎凋的病徵，有些個別田的黑點根腐病萎凋率甚至高達 98%；亦有些栽培田的洋

表一、由黑點根腐病罹病株之不同根腐指數罹病部位分離黑點根腐病菌<sup>1</sup>

Table 1. The isolation rate of *Monosporascus cannonballus* from tissues with different root rot index<sup>1</sup>

| Tissue    | Root rot index  | Isolation rate (%) |
|-----------|-----------------|--------------------|
| Root      | 0               | 69                 |
|           | 1               | 82                 |
|           | 2               | 73                 |
|           | 3               | 40                 |
|           | 4               | 9                  |
| Hypocotyl | SL <sup>2</sup> | 0                  |

<sup>1</sup> Fifty-nine diseased plants of muskmelon affected with root rot/vine decline were collected from fields and assayed for root rot index on a scale of 0-4: 0=Healthy; 1=Red lesion; 2=Necrotic spot; 3=Root rot; and 4=Perithecia formed on root surface.

<sup>2</sup> "SL" = Symptomless

表二、台灣瓜類作物黑點根腐病的田間病害調查

Table 2. The field surveys of *Monosporascus* root rot/vine decline on cucurbit plants in Taiwan

| Cucurbit                                                                     | Cultivar                        | Field location                                       | Year of survey | Main symptoms        | Wilt rate (%) |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------------|----------------|----------------------|---------------|
| Muskmelon ( <i>Cucumis melon</i> )                                           | Autumn Favor, Tianmi, Siianghua | Fangyuan                                             | 2000-02        | SW, PPR <sup>1</sup> | 56-85         |
|                                                                              | Honey world                     | Tungshan, Annan                                      | 2001-04        | YW, SW, PPR          | 19-98         |
|                                                                              | Chigu favor, Red jewel          | Chigu, Jiali                                         | 2005-06        | YW, SW, PPR          | 20-90         |
|                                                                              | No. 2, Blue jewel No. 2         |                                                      |                |                      |               |
|                                                                              | Red jewel                       | Annan, Lunbei                                        | 2001-02        | SW, PPR              | 89-91         |
|                                                                              | Blue jewel, Golden prize        | Zhuangwei                                            | 2004           | SW, PPR              | 83-93         |
|                                                                              | New century                     | Zhuangwei, Xigang                                    | 2004, 2006     | SW, PPR              | 88-95         |
| Japanese melon ( <i>C. melon</i> var. <i>makuwa</i> )                        | Silver light                    | Baihe, Shuishang, Dali, Fangyuan, Zhuangwei, Beigang | 2004-05        | W, SW, SGD, PPR      | 19-91         |
| Oriental pickling melon ( <i>C. melon</i> var. <i>conomon</i> )              | Cucumis spp.                    | Fangyuan                                             | 2002, 2004     | W, SW, PPR           | 30, 56        |
| Grafting watermelon ( <i>Citrullus lanatus</i> ) (bottle gourd as rootstock) | Citrullus spp.                  | Fangyuan                                             | 2001, 2004     | W, SW, PPR           | 13, 74        |
| Wax gourd ( <i>Benincasa hispida</i> )                                       | Benincasa spp.                  | Fangyuan                                             | 2003           | TW, PPR              | 79            |
| Cucumber ( <i>Cucumis sativus</i> )                                          | Taichung 501, Wei-yi-jiao       | Singang, Beigang,                                    | 2005           | TW, PPR              | 53, 56        |

<sup>1</sup> SW= Sudden wilt; PPR= Perithecia production on roots; YW= Yellowing and wilt; W= wilt; SGD=Sudden green death; TW= Temporary wilt.

香瓜植株僅出現葉片黃化與萎凋(yellowing and wilt)的病徵，萎凋率則低於 50%；採收期過後，調查田間洋香瓜植株根部，則皆會佈滿黑點根腐病菌的子囊殼(perithecium)(表二)。

其他瓜類作物：本研究亦以其他瓜類作物包括香瓜、越瓜、冬瓜、南瓜、西瓜、絲瓜、蒲瓜、胡瓜、苦瓜與七葉膽(*Gynostemma pentaphyllum* Makino)等為對象進行田間調查，結果僅在少數地區的香瓜、越瓜、西瓜(以蒲瓜當根砧)、冬瓜與胡瓜栽培種上，觀察到黑點根腐病零星發生。在台南縣白河鎮、嘉義縣水上鄉、台中縣大里市、彰化縣芳苑鄉、宜蘭縣壯圍鄉與雲林縣北港鎮等地所栽種的香瓜(銀輝)上亦有發現黑點根腐病，然而這些瓜田中萎凋率差異性很大，介於 19-91% 之間，其中有的栽培田僅零星出現植株萎凋，對於果實產量影響有限，但是亦有的栽培田出現急速萎凋，甚至有急速青枯的病徵，致使果實無收穫。不管地上部病徵為何，罹病株根部皆會有黑點根腐病菌的子囊殼產生(表二)。

過去彰化縣芳苑鄉因嚴重發生洋香瓜黑點根腐病，農民近年大多轉作水稻(*Oryza sativa* L.)、花生(*Arachis hypogaea* L.)、蘆筍(*Asparagus officinalis* L.)、十字花科蔬菜或其他葫蘆科作物包括冬瓜、嫁接西瓜(蒲瓜砧)與越瓜等，而轉作之越瓜、嫁接西瓜(蒲瓜砧)與冬瓜，亦有發生黑點根腐病者，在罹病株根部產生黑點根腐病菌的子囊殼。而地上部病徵則以越瓜與嫁接西瓜(蒲瓜砧)較為嚴重，罹病株地上部會出現萎凋，萎凋率介於 13-74% 之間(表二)，亦有整園急速萎凋者，嚴重影響果實產量。雖然，冬瓜黑點根腐病的地上部萎凋率於中午蒸散作用旺盛時高達 79%，但是皆屬於暫時性萎凋(temporary wilt)，傍晚時，暫時萎凋的冬瓜植株又會恢復生長，且田間未有植株死亡的情形，更不會影響冬瓜果實的生產。此種因黑點根腐病產生暫時性萎凋的病徵，亦出現在嘉義縣新港鄉與雲林縣北港鎮等地以溫室栽種胡瓜(中市 501 與日本品種味壹角)的園區中，雖然暫時萎凋率分別達 53 與 56%(表二)，農民仍可繼續採收胡瓜果實。

### 黑點根腐病菌病原性測定

土壤試管法接種試驗：將洋香瓜秋香種子播種在試管內之人工混菌土中，第 3 天即可在根圈附近觀察到黑點根腐病菌子囊孢子發芽並侵入植株根表部(圖一)，平均每個根系有 6 個已發芽的子囊孢子。播種後第 12 天，根圈附近已發芽的子囊孢子數達到高峰，每個根系有 71 個，爾後，根圈附近已發芽的子囊孢子數逐漸下降至每個根系約有 20-50 個。取每個根系發芽孢

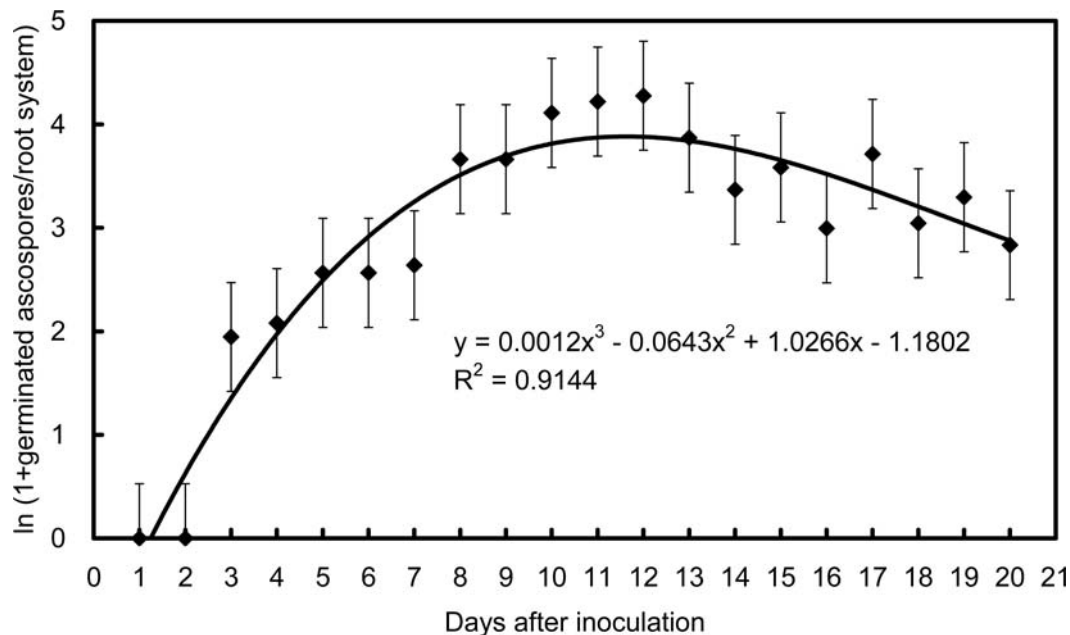
子數之對數對接種後之天數作圖並經迴歸分析，得到  $y=0.0012x^3-0.0643x^2+1.0266x-1.1802$  的曲線( $R^2=0.9144$ )，該曲線在接種後第 12 天有最大值(圖二)。因此，往後試驗的觀察天數訂為 12 天。在寄主範圍測試中所選用的葫蘆科植株包括洋香瓜、香瓜、冬瓜、南瓜、西瓜、絲瓜、蒲瓜、胡瓜、苦瓜與越瓜等 10 種瓜類作物，共 20 個栽培種。黑點根腐病菌子囊孢子皆會在這些植株根部發芽並侵入根部組織，每個根系觀察到 5-91 個已發芽的子囊孢子，其中又以洋香瓜(秋香、蜜世界、狀元、新世紀)、越瓜(銀華)、蒲瓜(永樂)與胡瓜(萬吉)為最多，每個根系分別有 77、68、66、64、91、66 與 55 個已發芽侵入根系的子囊孢子(表三)。將已被侵入的根部組織片段，利用組織分離法分離，則皆可分離得到病原菌。然而，在非葫蘆科包括蕃茄、蕹菜、茼蒿、長豇豆及不結球白菜等植株根部，則無法觀察到已發芽的子囊孢子(表三)，也無法分離得到病原菌。

栽培盆接種試驗：黑點根腐病菌分離株 MC-1 與 MC-2，在溫室接種 10 種洋香瓜與香瓜栽培種，接種 8 星期後，供試植株沒有出現地上部萎凋的病徵，地下



圖一、黑點根腐病菌子囊孢子發芽後侵入洋香瓜根部。

Fig. 1. The germination of *Monosporascus cannonballus* ascospore and the germ tubes or hyphae attached to muskmelon plant root. The observation was made 12 days after inoculation by the soil tube method, employing an initial ascospore density of  $3 \times 10^3$  ascospores/g soil. Bar= 50  $\mu$ m.



圖二、接種後天數對 *Monosporascus cannonballus* 子囊孢子在洋香瓜根部發芽的影響。

Fig. 2. Effect of incubation period on the germination of *Monosporascus cannonballus* ascospores around the muskmelon roots. The ascospore germination was evaluated by soil tube method employing an ascospore density of  $3 \times 10^3$  ascospores/g soil. One seed was seeded per tube. Five tubes were assayed every day for each plant after inoculation. Error bars showed the 95% confidence interval.

部病徵亦不明顯，僅以 MC-1 接種銀輝與以 MC-2 接種雪裡華等處理，根腐指數有大於 2 級。利用組織分離法雖可由植株根部重新分離病原菌，但是分離率不高，皆低於 35% (表四)。然而，此時若剪去供試植株的地上部位，保留根部在土壤中並保持乾燥 4 星期，則自 10 種供試的植株根部，都可以觀察到有黑點根腐病菌子囊殼的產生。

苗圃接種試驗：在溫室苗圃中接種洋香瓜秋香幼苗，接種後第三星期，雖然供試植株仍未有黑點根腐病地上部與地下部病徵產生，但是利用組織分離法可以由植株根部分離得到病原菌。接種後第四星期，根部已經出現根腐病徵，根腐指數為 1 級。接種後第五星期，供試植株才開始出現地上部暫時性萎凋的病徵，萎凋率為 8%。接種後第八星期，供試植株黑點根腐病的萎凋率達 50%，根腐指數為 2 級 (表五)。而對照組，在試驗期間植株生長良好，沒有發生黑點根腐病，且無法由根部分離得到黑點根腐病菌。

## 討 論

本研究探討 *Monosporascus cannonballus* 在田間除了以洋香瓜<sup>(12)</sup>、西瓜<sup>(6)</sup>與用作根砧之蒲瓜<sup>(21)</sup>為寄主之外，是否尚有其他植物在田間受到寄生，以便篩選出

適當的抗/耐病瓜類作物供作根砧以防治病害。首先在實驗室裡，利用土壤試管法測試黑點根腐病菌的寄主範圍，見到病原菌的子囊孢子會在供試的 10 種瓜類作物根圈附近發芽並侵入根部 (表三)。此結果證實過去學者們<sup>(5, 8)</sup>的推論：本病原菌在田間具有感染眾多葫蘆科作物的潛力。筆者等乃進一步擴大田間調查的範圍，發現 *M. cannonballus* 在台灣共有 6 種田間寄主，包括洋香瓜、香瓜、越瓜、胡瓜、冬瓜和嫁接西瓜的蒲瓜根砧等。但是除了洋香瓜的商業栽培種在台灣普遍發生黑點根腐病而且無一品種倖免外，其他 5 種瓜類作物偶有黑點根腐病發生，也僅局限在彰化縣芳苑鄉的洋香瓜連作田，或在溫室內小面積發生。在冬瓜與胡瓜罹病株上只會出現暫時性萎凋，不會影響果實生產。南瓜、絲瓜、蒲瓜、苦瓜與七葉膽等皆未發現黑點根腐病。換句話說，雖然在人工環境下本病原菌可侵入眾多供試之瓜類作物根部<sup>(8)</sup>，但這些瓜類作物在自然環境下並不一定發病，其原因有待進一步探討。但此結果顯示多種瓜類作物或許適合當作抗/耐病根砧之用。

本研究的第二個目的是在溫室中完成洋香瓜黑點根腐病的柯霍氏法則鑑定，以期了解本病原菌的生態特性與將來在防治上的應用。*Monosporascus cannonballus* 的子囊孢子被認為是本病原菌在土壤中的

表三、供試作物對黑點根腐病菌子囊孢子發芽與侵入根部的影響<sup>1</sup>Table 3. Effect of host plants on the germination of *Monosporascus cannonballus* ascospores in the root systems<sup>1</sup>

| Plant                                                          | Cultivar              | Geminated ascospores/root system |
|----------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| <b>Cucurbit</b>                                                |                       |                                  |
| Muskmelon ( <i>Cucumis melo</i> )                              | Autumn Favor (秋香)     | 77 a <sup>2</sup>                |
|                                                                | Honey World (蜜世界)     | 68 ab                            |
|                                                                | Golden Prize (狀元)     | 66 ab                            |
|                                                                | New Century (新世紀)     | 64 ab                            |
| Japanese melon ( <i>C. melo</i> var. <i>makuwa</i> )           | Silver Light (銀輝)     | 48 bc                            |
| Oriental pickling melon ( <i>C. melo</i> var. <i>conomon</i> ) | Silver Charm (銀華)     | 91 a                             |
|                                                                | White Skin (農友白皮)     | 22 bc                            |
| Bottle gourd ( <i>Lagenaria siceraria</i> )                    | Ever Happiness (永樂)   | 66 ab                            |
|                                                                | Ever Rich (永秀)        | 39 bc                            |
| Cucumber ( <i>Cucumis sativus</i> )                            | Vantage (萬吉)          | 55 ab                            |
| Watermelon ( <i>Citrullus lanatus</i> )                        | Empire No. 2 (富寶 2 號) | 19 bc                            |
|                                                                | Knight (勇士)           | 23 bc                            |
| Squash ( <i>Cucurbita moschata</i> )                           | Strong Man (壯士)       | 18 bc                            |
|                                                                | Phoenix (鳳凰)          | 33 bc                            |
| Bitter gourd ( <i>Momordica charantia</i> )                    | K. Y. No. 3 (農友新三號)   | 21 bc                            |
| Wax gourd ( <i>Benincasa hispida</i> )                         | K. Y. Trim (農友細長 1 號) | 9 c                              |
|                                                                | Benefit (小惠)          | 5 c                              |
|                                                                | Christine (小青)        | 3 c                              |
| Loofah ( <i>Luffa cylindrica</i> )                             | Miriam (美菱)           | 7 c                              |
|                                                                | Cylinder (東光)         | 6 c                              |
| <b>Non-cucurbit</b>                                            |                       |                                  |
| Water spinach ( <i>Ipomoea aquatica</i> )                      | TY No. 1 (桃園 1 號)     | 0 d                              |
| Non-heading mustard ( <i>Brassica campestris</i> )             | Ching-Chiang (青梗白菜)   | 0 d                              |
| Tomato ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )                      | Santa (聖女)            | 0 d                              |
| Garland chrysanthemum<br>( <i>Chrysanthemum coronarium</i> )   | Big Leaf (大葉種)        | 0 d                              |
|                                                                | Li-Ren (麗人)           | 0 d                              |
| Asparagus bean ( <i>Vigna unguiculata</i> )                    |                       |                                  |

<sup>1</sup> The ascospore germination was evaluated by soil tube method in which the inoculum source soil had an initial ascospore density of  $3 \times 10^3$  ascospores/g soil. One single seed was dropped into each tube. Five tubes were assayed for each plant 12 days after inoculation.

<sup>2</sup> Values followed by the same letter in the column are not significantly different at  $p=0.05$  according to Duncan's Multiple Range Test.

存活構造與初次感染源<sup>(16, 17)</sup>，但是許多研究<sup>(8, 22)</sup>指出溫室接種試驗中，在土壤中混入子囊孢子當作接種源，卻不易完成柯霍氏法則的鑑定。換句話說，在栽培盆 (1.2 或 3 L) 接種試驗中，供試洋香瓜僅會產生根腐病徵 (root rot)，而必須改用大栽盆 (15 L) 或苗圃 ( $60 \times 100 \times 60$  cm<sup>3</sup>)，才會產生嚴重的急速萎凋病狀 (vine decline)。而且他們的研究皆是以消毒過的介質做成人工混菌土進行接種，與本研究改以自然土壤做成人工混菌土所做的試驗不同，但得到相類似的結果 (表四、五)。我們的數據更指出栽培盆接種所使用的人工混菌土的病原菌含量為  $1 \times 10^2$  ascospores/g soil，比在苗圃接種試驗的人工混菌土中病原菌含量 65 ascospores/g soil 為高，但是前者不易發病，後者才會有急速萎凋的病徵。此結果顯示如果子囊孢子是本病的初次感染

源，則發病率與土壤中子囊孢子的含量可能無關。Mertely 等人<sup>(9)</sup>亦曾在美國德州長期的調查中發現洋香瓜田土壤中之含菌量與本病的發病程度無關，又認為病原菌菌絲可能是本病害的感染源。雖然 Mertely 等人<sup>(7)</sup>曾在溫室利用病原菌的菌絲接種成功，但至今在田間尚無菌絲是接種源的資料。而我們的溫室栽培盆接種試驗進行至第 8 週時，洋香瓜的根部僅有輕微的根腐病徵，此時若將地上部剪除，則 4 星期後根部會產生大量的子囊殼。由此推論，本病原菌在寄主地上部被剪除之後，很快的佔據根部基質。然而我們又由同一罹病株之根部組織分離黑點根腐病菌，得知其分離率隨著根腐指數增加而下降 (表一)。可見菌絲存活不久，是否可能在本病害的病勢發展上扮演一個重要的角色，值得進一步研究。

表四、黑點根腐病菌對甜瓜栽培種的溫室病原性試驗<sup>1,3</sup>Table 4. The pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* to melon cultivars in pot inoculation test<sup>1,3</sup>

| Isolate | Plant                             | Cultivar           | Root rot index (0-4) <sup>2</sup> | Frequency of reisolation (%) <sup>2</sup> |
|---------|-----------------------------------|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------|
| MC-1    | Muskmelon ( <i>Cucumis melo</i> ) | Sky Favor (天香)     | 1                                 | 0                                         |
|         |                                   | Essence (玉露)       | 2                                 | 33                                        |
|         |                                   | Snow Favor (雪裡華)   | 1                                 | 17                                        |
|         |                                   | Green Favor (翠香)   | 0                                 | 17                                        |
|         |                                   | Autumn Favor (秋香)  | 1.5                               | 33                                        |
|         |                                   | Galaxy (銀河)        | 2                                 | 0                                         |
|         |                                   | New Jade (新玉)      | 1                                 | 17                                        |
|         |                                   | N. Y. No. 2 (農友二號) | 2                                 | 33                                        |
|         |                                   | Silver Light (銀輝)  | 2.5                               | 33                                        |
|         |                                   | Golden Light (金輝)  | 1                                 | 0                                         |
| MC-2    | Muskmelon ( <i>Cucumis melo</i> ) | Sky Favor (天香)     | 0                                 | 0                                         |
|         |                                   | Essence (玉露)       | 1                                 | 17                                        |
|         |                                   | Snow Favor (雪裡華)   | 2.5                               | 0                                         |
|         |                                   | Green Favor (翠香)   | 2                                 | 33                                        |
|         |                                   | Autumn Favor (秋香)  | 2                                 | 0                                         |
|         |                                   | Galaxy (銀河)        | 0                                 | 0                                         |
|         |                                   | New Jade (新玉)      | 2                                 | 0                                         |
|         |                                   | N. Y. No. 2 (農友二號) | 0                                 | 0                                         |
|         |                                   | Silver Light (銀輝)  | 1                                 | 17                                        |
|         |                                   | Golden Light (金輝)  | 0.5                               | 0                                         |

<sup>1</sup> The artificial infested soil with a spore density of  $1 \times 10^2$  ascospores/g soil was used in this test, carried out in the greenhouse from 8 September to 8 December, 2001. Twelve plants were employed for each treatment. All of the tested plants showed no wilting symptoms (0% wilt rate) as surveyed at 8 December.

<sup>2</sup> The root systems were collected for assaying the root rot index and subject to reisolation at 8 December. The root rot index was based on a scale of 0-4: 0= Healthy; 1=Red lesion; 2=Necrotic spot; 3=Root rot; and 4=Perithecia formed on root surface.

<sup>3</sup> The test plants were cut by scissors from the hypocotyls. One month after cutting, the infected roots were collected to assay perithecia production. Results showed that all of the root remnants assayed had evidence of perithecia production.

表五、洋香瓜黑點根腐病菌的溫室苗圃接種試驗<sup>1</sup>Table 5. Pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* under greenhouse micro-plot test<sup>1</sup>

| Weeks after inoculation | Wilt rate (%) | Root rot index (0-4) <sup>2</sup> | Frequency of reisolation (%) <sup>2</sup> |
|-------------------------|---------------|-----------------------------------|-------------------------------------------|
| 2                       | 0             | 0                                 | 0                                         |
| 3                       | 0             | 0                                 | 50                                        |
| 4                       | 0             | 1                                 | 100                                       |
| 5                       | 8             | 1                                 | 100                                       |
| 6                       | 20            | 1                                 | 100                                       |
| 7                       | 37            | 1                                 | 100                                       |
| 8                       | 50            | 2                                 | 100                                       |
| 9                       | 50            | 2                                 | 100                                       |

<sup>1</sup> The greenhouse micro-plot test had an artificial infested inoculum density of 65 ascospores/g soil. And 20 plants were evaluated from 17 July to 17 September.

<sup>2</sup> Two plants of each micro-plot were collected every week for assay the root rot index and pathogen reisolation. The root rot index assayed on a scale of 0-4: 0= Healthy; 1=Red lesion; 2=Necrotic spot; 3=Root rot; and 4=Perithecia formed on root surface.

## 引用文獻 (LITERATURE CITED)

- Cohen, R., Pivonia, S., Burger, Y., Edelstein, M., Gamliel, A., and Katan, J. 2000. Toward integrated management of *Monosporascus* wilt of melons in Israel. Plant Dis. 84: 496-505.
- Cohen, R., Pivonia, S., Shtienberg, D., Edelstein, M., Raz, D., Gerstl, Z., and Katan, J. 1999. The efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of vine decline of melons. Plant Dis. 83: 1137-1141.

3. Council of Agriculture, Executive Yuan, R. O. C. 2005. Ag. statistics yearbook 2005. Council of Agriculture, Executive Yuan, R. O. C. Taipei, Taiwan. 355 pp. (In Chinese).
4. Hawksworth, D. L., and Ciccarone, A. 1978. Studies on a species of *Monosporascus* isolated from Triticum. Mycopathologia 66: 147-151.
5. Martyn, R. D., and Miller, M. E. 1996. *Monosporascus* root rot and vine decline: An emerging disease of melons worldwide. Plant Dis. 80: 716-725.
6. Martyn, R. D., Lovic, B. R., Maddox, D. A., Germash, A., and Miller, M. E. 1994. First report of *Monosporascus* root rot/vine decline of watermelon in Tunisia. Plant Dis. 78: 1220.
7. Mertely, J. C., Martyn, R. D., Miller, M. E., and Bruton, B. D. 1991. Role of *Monosporascus cannonballus* and other fungi in a root rot/vine decline of muskmelon. Plant Dis. 75: 1133-1137.
8. Mertely, J.C., Martyn, R.D., Miller, M. E., and Bruton, B. D. 1993. An expanded host range for the muskmelon pathogen *Monosporascus cannonballus*. Plant Dis. 77: 667-673.
9. Mertely, J.C., Martyn, R.D., Miller, M. E., and Bruton, B. D. 1993. Quantification of *Monosporascus cannonballus* ascospores in three commercial muskmelon fields in south Texas. Plant Dis. 77: 766-771.
10. Pivonia, S., Cohen, R., Cohen, S., Kigel, J., Levita, R., and Katan, J. 2004. Effect of irrigation regimes on disease expression in melon plants infected with *Monosporascus cannonballus*. Eur. J. Plant Pathol. 110: 155-161.
11. Pivonia, S., Cohen, R., Katan, J. and Kigel J. 2002. Effect of fruit load on the water balance of melon plants infected with *Monosporascus cannonballus*. Physiol. Mol. Plant P. 60: 39-49.
12. Pollack, F. G., and Uecker, F. A. 1974. *Monosporascus cannonballus* an unusual ascomycete in cantaloupe roots. Mycology 66: 346-349.
13. Ristaino, J. B., and Thomas, W. 1997. Agriculture, methyl bromide and the ozone hole, can we fill the gap? Plant Dis. 81: 964-977.
14. Sivanesan, A. 1991. IMI descriptions of fungi and bacteria No. 1035. *Monosporascus cannonballus*. Mycopathologia 114: 53-54.
15. Stanghellini, M. E., and Rasmussen, S. L. 1992. A quantitative method for the recovery of ascospores of *Monosporascus cannonballus* from field soil. Phytopathology 82: 1115.
16. Stanghellini, M. E., Kim, D. H., and Rasmussen, S. L. 1996. Ascospores of *Monosporascus cannonballus*: Germination and distribution in cultivated and desert soils in Arizona. Phytopathology 86: 509-514.
17. Stanghellini, M. E., Kim, D. H., and Waugh, M. 2000. Microbe-mediated germination of ascospores of *Monosporascus cannonballus*. Phytopathology 90: 243-247.
18. Su, J. F., and Lin, Y. S. 2001. The disease development and xylem-tylose formation of root rot and vine decline of muskmelon. Plant Pathol. Bull. 10: 205. (In Chinese).
19. Tsay, J. G., and Tung, B. K. 1994. The occurrence of muskmelon root rot caused by *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 3: 260. (In Chinese).
20. Tsay, J. G., Chen, R. S., Tung, B. K. 1999. Survival of *Monosporascus cannonballus* in the field soil. Plant Pathol. Bull. 8: 121-124. (In Chinese with English abstract).
21. Uematsu, S., Hirota, K., Shiruishi, T., Ooizumi, T., Sakiyama, K., Ishikura, I., and Edagowa, Y. 1992. *Monosporascus* root rot on bottle gourd stock of watermelon caused by *Monosporascus cannonballus*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 58: 354-359.
22. Uematsu, S., Onogi, S., and Watanabe, T. 1985. Pathogenicity of *Monosporascus cannonballus* Pollack and Uecker in Relation to Melon root rot in Japan. Ann. Phytopath. Soc. Japan 51: 272-276.
23. Zhang, J. X., Howell, C. R., Miller, M. E. 1998. Evaluation of *Trichoderma virens* as a potential biocontrol agent of *Monosporascus cannonballus* in muskmelon. Phytopathology 88: S12.

## ABSTRACT

Lin, Y. S.<sup>1,2</sup>, Su, J. F.<sup>1</sup>, and Lin, K. M.<sup>1</sup> 2008. The host range of *Monosporascus cannonballus* in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 17: 25-34. (<sup>1</sup> Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan; <sup>2</sup> corresponding author, E-mail: yslin1@dragon.nchu.edu.tw; Fax No.: +886-4-22870891)

*Monosporascus cannonballus* caused root rot/vine decline of muskmelon. Sudden wilt of most infected plants occurred in the field at 2 weeks before harvesting. In greenhouse inoculation tests, the methods of soil tube inoculation, pot inoculation, and micro-plot (350×132×24 cm<sup>3</sup>) inoculation were employed. Using soil tube method, the ascospores could germinate in the rhizosphere and the hyphae penetrated into root tissues in such plants as muskmelon, Japanese cantaloupe, oriental pickling melon, cucumber, wax gourd, squash, watermelon, bottle gourd, loofah and bitter melon. In pot inoculation, muskmelon plants did not produce the wilting symptom but they did in micro-plot inoculation tests, thus fulfilling the Koch's postulates. Field survey results showed that the host range of *M. cannonballus* included muskmelon, Japanese cantaloupe, oriental pickling melon, cucumber, wax gourd and bottle gourd as rootstock for watermelon in Taiwan. Besides the muskmelon, which was usually seriously damaged, the root rot/vine decline in other 5 cucurbit plants were limited to some locations in Fangyuan of Changhua County or in the greenhouse. In addition, this pathogen could only be isolated from infected roots. The isolation rates were low when the inoculum was taken from badly rot tissues of infected plants. Using root tissues with a root rot index in the range of 0 to 4, the isolation rates obtained were 69, 82, 73, 40 and 9%, respectively.

Key words: root rot/vine decline of muskmelon, host range, *Monosporascus cannonballus*