台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 74(4):497–513 (2025)
https://doi.org/10.6156/JTAR.202512_74(4).0008

研究報告

# 紅龍果濕腐病菌 *Gilbertella persicaria* 之生物特性與發病條件之探討

林筑蘋[1] 徐敏記[2] 蔡志濃[3] 范浚維[4] 黃晋興[5,*]

## 摘要

林筑蘋、徐敏記、蔡志濃、范浚維、黃晋興。2025。紅龍果濕腐病菌 *Gilbertella persicaria* 之生物特性與發病條件之探討。台灣農業研究 74(4):497–513。

由 *Gilbertella persicaria* 引起的紅龍果濕腐病是影響臺灣紅龍果產業的重要病害之一，然而其菌株之生物特性與致病性尚未完全釐清。自 2009–2024 年，本研究於全臺 11 個縣市、23 鄉鎮，共 90 處之田間與 1 處市場，採集罹病紅龍果樣本，分離得 212 株 *G. persicaria*，全部都為負交配型。此外，亦自田間與市場之罹病草莓與桃子，各分離得 1 株 *G. persicaria*，皆為正交配型，顯示 *G. persicaria* 在臺灣同時存在有 2 種交配型。為探討 *G. persicaria* 不同寄主來源菌株之差異，進一步進行形態學、病原性及分子親緣關係分析。結果顯示 (1) 形態方面，紅龍果分離株孢囊壁片數平均值顯著高出模式菌株 (type strain) 2.1–2.6 片；(2) 病原性測試顯示，僅紅龍果分離株才能在紅龍果果實上引起典型的濕腐病病徵，且病徵形態與病斑大小及 *G. persicaria* 寄主來源有關，而與交配型無關；(3) 利用內轉錄間隔區 (internal transcribed spacer; ITS)、actin 及 28S rDNA large subunit 等 3 個 DNA 片段的序列建構之親緣關係樹分析結果顯示，紅龍果分離株可獨自成為一支序群。由形態、病原性及親緣關係來看，紅龍果分離株具有獨特性。在發病條件試驗中，最適發病溫度為 28–36℃，最適發病相對濕度 (relative humidity; RH) 為 80% 以上，16℃以下或 40℃以上則不發病。進一步於田間將不同齡期果實接種 *G. persicaria*，並於成熟採收後貯放於 25–32℃環境中以觀察病害發展情形。結果發現以採收後接種之果實其發病率與罹病度最高，顯示該菌之主要感染時期為果實成熟階段，特別是在採收時期。

**關鍵詞**：孢囊壁分裂數、交配型、病原性、親緣關係、感染時機。

## 前言

由濕腐病菌 *Gibertella persicaria* (E.D. Eddy) Hesselt 引起的紅龍果濕腐病，不僅在臺灣 (Lin *et al*. 2014)，也在中國大陸、泰國、墨西哥、日本及越南等地，皆引起紅龍果的損失 (Taba *et al*. 2011; Guo *et al*. 2012; Carrillo-Fasio *et al*. 2022; Ruangwong *et al*. 2022; Vo *et al*. 2024)。紅龍果濕腐病之病徵包括田間紅龍果花器、幼果腐爛，甚至莖部腐爛 (Taba *et al*. 2011)；果實成熟採收後，於適合發病的環境中發病，罹病果實出現大面積水浸狀腐爛，並且擴散蔓延至鄰近果實。在夏季時，紅龍果濕腐病可於短期內造成大量花苞、幼果折損或果實腐爛；花或成熟果實一旦感染，約於接種 1 d 後即開始出現典型水浸狀腐爛病徵，2 d 後可看到黑色之 *G. persicaria* 孢囊柄與白色菌絲 (Lin *et al*. 2014, 2020)。

除感染紅龍果外，濕腐病菌 *G. persicaria*

投稿日期：2025 年 6 月 4 日；接受日期：2025 年 10 月 1 日。
* 通訊作者：jhhuang@tari.gov.tw
[1] 農業部農業試驗所植物病理組助理研究員。臺灣 臺中市。
[2] 農業部農業試驗所作物組副研究員。臺灣 臺中市。
[3] 農業部農業試驗所植物病理組研究員兼組長。臺灣 臺中市。
[4] 農業部農業試驗所植物病理組計畫助理。臺灣 臺中市。
[5] 農業部農業試驗所植物病理組研究員。臺灣 臺中市。

廣泛存在於田間與環境，如土、植株殘體甚至污水處理廠，亦可發現其蹤跡 (Hesseltine 1960; Ginting *et al*. 1996)。最早記錄的 *G. persicaria* 寄主為桃 (Hesseltine 1960)，後續發現其亦可感染梨、番茄、蘋果 (Mehrotra 1964a, 1964b; Chen *et al*. 2024)、木瓜 (Cruz-Lachica *et al*. 2016; de Almeida Souza *et al*. 2024)、草莓 (Zhang *et al*. 2020)、李子 (Pinho *et al*. 2014)、麵包樹、西印度櫻桃及腰果 (de Almeida Souza *et al*. 2024) 等，寄主範圍逐漸增加。其中，桃不但是最早被發現的寄主，也是最廣為所知的寄主 (Benny 1991; Ginting *et al*. 1996)。

*Gilbertella persicaria* 屬於真菌界 (Fungi)、接合菌門 (Zygomycota)、接合菌綱 (Zygomycetes)、毛黴目 (Mucorales)、Gibertellaceae (Benny 1991)。目前 *Gilbertella* 屬僅有 *G. persicaria* 一個種 (Benny 1991)。*G. persicaria* 生殖方式包括有性與無性 2 種方式，其中行有性生殖時為異宗交配 (heterothallic)，交配型分為正交配型 (+) 與負交配型 (−) 2 種，當兩者同時存在並且接觸時才能產生接合子 (O'Donnell *et al*. 1977)。相較於 *Rhizopus* 屬與 *Choanephora* 屬，*Gilbertella* 屬最大的差異為孢囊 (sporangia) 具有孢囊壁 (sporangial wall)，且孢囊壁上具有 1 條縱向裂縫 (longitudinal suture)，成熟時孢囊壁由縱向裂縫分裂成 2 片，並且釋放孢囊孢子 (sporangiospores) (Hesseltine 1960; Benny 1991)。根據組織學研究，一旦 *G. persicaria* 侵染寄主後即可快速崩解寄主細胞，僅需 48 h 即可發展出孢囊產生下一代感染源，屬死體營養型 (necrotrophic lifestyle；或稱殺生型 ) (Cruz-Lachica *et al*. 2018)。關於 *G. persicaria* 的病原性研究方面，已知高溫有助於感染桃，且有助菌絲生長與產生孢囊 (Ginting *et al*. 1996)，其他環境影響因子如營養供應有無或者濕度高低等，皆會影響孢囊孢子發芽率 (Ginting *et al*. 1996; Taba *et al*. 2022)。

然而特別的是，觀察 *G. persicaria* 紅龍果分離株，發現其孢囊壁可分裂為 4 片以上 (Taba *et al*. 2011; Lin *et al*. 2014)；在比較桃與紅龍果分離株對紅龍果果實的致病力差異研究中，也發現兩分離株致病力有不同的趨勢 (Lin *et al*. 2014)；另一方面，內轉錄間隔區 (internal transcribed spacer; ITS) 序列分析也顯示紅龍果分離株與模式菌株 (type strain) 有些微差距 (Taba *et al*. 2011; Guo *et al*. 2012; Lin *et al*. 2014)。關於 *G. persicaria* 感染紅龍果的病原研究方面，觀察到 *G. persicaria* 可於罹病組織表面產生大量的孢囊，推測在田間主要以孢囊孢子進行感染，並且隨風雨散播孢囊孢子 (Ruangwong *et al*. 2022)。與在其他寄主上的研究相似的是，高溫有助於 *G. persicaria* 紅龍果分離株的菌絲生長 (Lin *et al*. 2014)；或是有學者提出建議，紅龍果儲放在低溫與未覆蓋的容器內，可降低 *G. persicaria* 引起的病害 (Guo *et al*. 2012)。目前對於 *G. persicaria* 感染紅龍果時的影響因子瞭解仍有限，仍有許多需要釐清之處。

本篇研究目的即在於瞭解 *G. persicaria* 紅龍果分離株之特殊性與病原性。本研究蒐集田間或市場 2009–2024 年之 *G. persicaria* 分離株，透過配對檢測試驗瞭解其在田間交配型存在狀況，也蒐集不同寄主分離株，以確認是否存在病原性與親緣關係差異；進一步透過人工接種紅龍果的方式，確認病害發展時對環境因子如溫度與濕度的需求，並且以田間幼果進行接種與調查成熟採收後發病狀況，確認採後濕腐病主要的感染時機。期望藉此更瞭解 *G. persicaria* 紅龍果分離株的生態特性，有助發展合適的防治方法，降低紅龍果濕腐病引起的損失。

## 材料與方法

### 配對型測試

自 2009–2024 年，於臺灣紅龍果產地，包括臺中市 (外埔、霧峰及后里，共 3 鄉鎮、17 處)、南投縣 (集集、中寮、名間、草屯及魚池，共 5 鄉鎮、23 處)、彰化縣 (二林與埔心，共 2 鄉鎮、27 處 )、雲林縣 (水林，共 1 鄉鎮、1 處)、嘉義縣 (太保，共 1 鄉鎮、1 處)、臺南縣 (東山，共 1 鄉鎮、2 處)、高雄市 (岡山、鳳山、大寮及美濃，共 4 鄉鎮、5 處)、屏東縣 (長治、萬丹及內埔，共 3 鄉鎮、7 處)、宜蘭縣 (三星，共 1 鄉鎮、3 處)、臺東縣 (臺東市，共 1 鄉鎮、2 處) 及澎湖縣 (七美，共 1 鄉鎮、2 處) 等，共 11 個縣市、23 鄉鎮、90 處之田間，以及臺中市果菜市場 (1 處)，蒐集出現紅龍果濕腐病

病徵之花、幼果、莖或果實，並以組織分離方式分離病原菌，共計 212 株。詳細分離與保存方式如 Lin *et al*. (2014) 所示。本研究使用的菌株資料如表 1 所示，部分菌株寄存於食品工業發展研究所生物資訊保存中心。CBS190.32、CBS246.59 及 CBS247.59 等 3 菌株係經農業部動物植物防疫檢疫署同意輸入臺灣之菌株，特定物品、植物及其產品輸入許可證號碼為 “103-F-003-R”。交配型測定用菌株 CBS246.59、CBS247.59 及供試菌株先於馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar (PDA); BD Difco™, Franklin Lakes, NJ, USA) 培養 2 d，以直徑約 0.5 cm 打孔器取菌落邊緣處。交配型測定用菌株正 (+) 或負 (−) 與供試菌株以相距約 2 cm 對峙的培養方式，菌絲塊朝下置於同一個 3.3% 麥芽瓊脂培養基 (malt-extract agar, MEA; BD Difco™, Franklin Lakes, NJ, USA) 下；單獨培養則直接放分離株於 MEA 上。培養於 24–28℃全光照環境下 2–3 d，以顯微鏡 (Olympus BX40, Olympus, Tokyo, Japan) 觀察接合子產生狀況。MEA 內容物為 1 L $dH_2O$ 含有 12.75 g 麥芽萃取物 (malt extract; Difco, Kansas, USA)、2.75 g 糊精 (dextrin；聯合化學試藥，臺灣新竹市)、2.35 mL 丙三醇 (glycerol；島久藥品株式會社，日本大阪市)、0.78 g 蛋白胴 (peptone; Difco, Lawrence, KS, USA) 及 15 g 洋菜凍 (agar; Difco, Lawrence, KS, USA) 等。

## 孢囊壁形態觀察

沾取供試菌株的孢囊孢子，以輕碰觸邊緣的方式將供試菌株移植於約 0.5 × 0.5 × 0.3 $cm^3$ 大小之 PDA 塊 4 個邊。PDA 塊放置於載玻片上，於移植後蓋上蓋玻片，移入盛有紙巾與無菌水的玻璃培養皿濕室 (moist chamber) 中，於室溫 26–28℃全黑暗培養 1–2 d 後，以鑷子逐一夾取供試菌株各個孢囊，於解剖顯微鏡 (Olympus SZX12, Olympus, Tokyo, Japan) 下觀察孢囊壁數量。每個菌株取 50 個孢囊。

## 病原性測試

於南投或臺中市場購置白肉紅龍果 (*Hylocereus undatus*)、草莓 (*Fragaria* × *ananassa* cv. ‘Toyonoka’)、桃 (*Prunus persica*, white peach) 及新興梨 (*Pyrus pyrifolia* cv. ‘Shinko’) 等果實。接種源製備與傷痍處理方式如 Lin *et al*. (2014) 所述，不同果實病原性測試中使用不同懸浮液濃度：紅龍果與梨試驗使用 1 × $10^6$ spores $mL^{-1}$、草莓試驗使用 1 × $10^4$ spores $mL^{-1}$ 以及桃試驗使用 1 × $10^5$ spores $mL^{-1}$，對照組以水取代孢子懸浮液。果實接種點表面以蟲針進行傷痍處理，以 5 mm 棉花球浸泡入各供試菌株孢囊孢子懸浮液後，放置於接種點表面，以膠帶固定，然後將果實移入盛有紙巾與無菌水消毒過的保鮮盒中 (35 × 21 × 10 $cm^3$)，使相對濕度 (relative humidity; RH) > 99%。上述含有接種果實的保鮮盒靜置於室溫 (25–32℃)、黑暗培養，3 d 後量測接種點病斑直徑，取長與寬之平均直徑作為每一個病斑之尺寸。每供試菌株於每果實之病原性測試至少有 6 個接種點，並且每個病原性測試重複至少 2 次。

## 統計分析

試驗結果資料，以統計分析軟體 SAS 7.1 進行變方分析 (analysis of variance; ANOVA)，並以最小顯著性差異 (least significant difference; LSD) 測驗在 $P < 0.05$ 顯著水準下，比較處理間平均值之差異。

## 建構親緣關係樹

### 基因序列增幅與定序

將萃取自供試菌株之 gDNA 以特定引子對進行聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction; PCR)，增幅的序列包括 ITS (引子對 ITS5: GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG/ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC; White *et al*. 1990)、actin (*ACT*) (引子對 Act 1: TGGGACGATATGGAIAAIATCTGGCA/Act 4R: TCITCGTATTCTTGCTTIGAIATCCACAT; Voigt & Wöstemeyer 2000) 及部分 28S rDNA large subunit (*LSU*) 基因之片段 (引子對 LROR: ACCCGCTGAACTTAAGC/LR6: CGCCAGTTCTGCTTACC; Vilgalys & Hester 1990; Moncalvo *et al*. 1995)。PCR 反應混合液 (20 μL) 包含 10 μL 耐熱聚合酶預混液 (*Taq* DNA polymerase 2× Master Mix RED, Ampliqon, Denmark)、1 μL

gDNA、0 μM 引子對各 1 μL 及 7 μL $ddH_2O$；所使用之引子對與反應條件如各文獻所列。以瓊脂膠體電泳確認 PCR 增幅產物為單一明顯條帶後，送交源資國際生物股份有限公司 (Tri-I Biotech Inc., New Taipei, Taiwan) 進行定序。

### 序列比較與親緣關係樹分析

序列相似度比較用的序列資料與親緣關係樹用的參考菌株 (reference strain) 序列資料，皆由美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information; NCBI) 資料庫取得。建構親緣關係樹時，將各基因之序列分別透過 MEGA X 軟體 (Kumar *et al*. 2018) 以 Clustal W (Thompson *et al*. 1994) 進行初步排列分析 (alignment)，再透過人工方式進行序列的微調與確認最終各基因片段用以構築單一 (ITS) 或 3 基因 (ITS + *ACT* + *LSU*) 之多基因親緣關係樹。親緣關係樹利用最大似然法 (maximum likelihood; ML) 與貝葉斯法 (Bayesian inference analysis; BI) 2 種演算方法進行構築，最適取代模型透過線上分析軟體 Smart Model Selection (Lefort *et al*. 2017) 與 MEGA X 軟體進行預測，其中最大似然法不分基因區段預測，貝葉斯法則依各基因區段單獨預測。最大似然法親緣關係樹之構築透過 MEGA X 軟體執行，並以啟發式 (heuristic method) 方法中 nearest neighbour interchange (NNI) 之方式搜索樹型，最終演化樹分支的支持度以拔靴法 (bootstrap) 進行 1,000 次取樣來檢驗。貝葉斯法之親緣關係樹利用 MrBayers v. 3.2.7 (Ronquist *et al*. 2012) 構築，建構過程採用馬可夫鏈蒙地卡羅 (Markov chain Monte Carlo; MCMC) 演算法，運行 1,000,000 代，每 1,000 棵樹取樣 1 次，前 25% 之樹屏除，剩餘之樹用以取得共同樹 (或稱一致樹；consensus tree)，並顯示後驗機率 (posterior probabilities; PP)，表示對此親緣樹分支的支持度，最終親緣關係樹以 FigTree v1.4.4 進行繪製。

### 溫度與濕度對感染的影響性試驗

以臺中外埔或彰化二林果園購入之白肉紅龍果果實為供試材料，紅龍果分離株 F210187 為供試菌株，製備 $1 \times 10^6$ spores $mL^{-1}$ 孢子懸浮液，以噴灑孢子懸浮液方式接種果實，直到每粒供試果實有水滴滑落，等待下一步測試。在溫度測試中，果實放置於如病原性測試所述的 RH > 99% 保濕保鮮盒內，放置於生長箱中，培養溫度分成 4、8、12、16、20、24、28、32、36 及 40℃ 等 10 處理。黑暗培養，4 d 後記錄罹病狀況。每個溫度處理 3 個果實，共重複 3 次。在濕度測試中，先在室內用風扇將果實表面風乾後，將果實放置於墊有止滑架塑膠籃中，放置於本所設計之可程式化濕度調節箱，RH 分成 50、60、70、80、90 及 100% 等 6 種處理，並以溫濕度偵測器 (HOBO, Onset Computer Corporation, Bourne, MA, USA) 置於箱內進行即時偵測。黑暗培養，溫度維持在 28℃，4 d 後記錄罹病狀況。每種濕度處理 5 個果實，共重複 3 次。

### 接種田間不同齡期的幼果

以農業部農業試驗所試驗田種植之白肉紅龍果為試驗植株，在花謝後第 3 天果實初現時即以牛皮紙袋套袋緊密包裹開口處進行套袋隔離，並將此時果實視為第 0 週大果實 (W0)。處理組分別於第 0 週 (W0)、第 1 週 (W1)、第 2 週 (W2)、第 3 週 (W3) 及第 4 週 (W4) 進行接種。果實接種後持續於植株上發育直至第 5 週成熟後採收，並於室溫 (25–32℃)、RH > 99% 條件下觀察病害發展。田間接種方式為移除紙袋後，噴灑 *G. persicaria* 菌株 F210187 孢子懸浮液 ($1 \times 10^6$ spores $mL^{-1}$) 至果實表面水滴滴落為止，再以塑膠袋與牛皮紙袋覆蓋保濕遮光，4 d 後移除塑膠袋但保留牛皮紙袋持續隔離；採後組 (postharvest) 的接種方式相似，但果實為成熟後採收當日接種。罹病度統計方式如下述。每處理 15 粒果，試驗重複 4 次。正對照組為每次接種幼果時，都會同時接種 3 粒成熟果實，放置於同樣的田間環境，確定該次接種條件能成功引起病害，確認每次接種源的病原性無異常。負對照組為每次皆以無菌水取代孢子懸浮液，同時施布於 4 粒同株齡果實，同樣於果實成熟採收後觀察發病狀況。

### 罹病度統計

罹病級數 (disease index) 分為 5 級 (0：無病徵；1：罹病面積 < 25%；2：罹病面積 > 25%、< 50%；3：罹病面積 > 50%、< 75%；4：罹病面積 > 75%、< 100%)。罹病度 (disease severity) = $[(0n_0+1n_1+2n_2+3n_3+4n_4)/4N] \times 100\%$。$n_0$、$n_1$、$n_2$、$n_3$、$n_4$ 分別為 0–4 等各罹病級數的株數，N 為全部接種株數。發病率 (disease incidence) = (發病果總數/總接種果數) × 100%。利用統計分析軟體 SAS (EG7.1, Statistical Analysis System, USA) 進行 ANOVA，再以 LSD 測驗在 $P < 0.05$ 顯著水準下，比較處理間平均值之差異。

## 結果

### *Gilbertella persicaria* 菌株配對型檢測

為瞭解 *G. persicaria* 菌株在臺灣紅龍果園區的交配型存在情況，蒐集 2009–2024 年臺灣各地田間罹染濕腐病之紅龍果果實或者花的樣本，以及極少部分市場果實，以組織分離方式純化菌株，共得 212 菌株。另外自苗栗田間草莓與臺中市場之進口水蜜桃亦分得 *G. persicaria* 菌株各 1 菌株，共 2 菌株。以上菌株，藉由與交配型測定用菌株 CBS246.59 (+) 與 CBS247.59 (−) 配對，測定各菌株之交配型。所有的紅龍果分離株在 MEA 獨自培養，或者與負交配型菌株 CBS247.59 (−) 對峙培養時，在培養基內無法觀察到產生接合子，而與正交配型菌株 CBS246.59 (+) 對峙培養時，則可以觀察得接合子，顯示此 212 株紅龍果分離株之配對型皆為負 (−)；另一方面，蒐集之 1 株草莓分離株與 1 株水蜜桃分離株則僅在與負交配型菌株 CBS247.59 (−) 對峙培養時才會觀察到產生接合子，顯示供試菌株皆為正交配型 (+)。

### 不同 *G. persicaria* 寄主分離株與交配型的病原性差異

為釐清不同分離來源與交配型對於造成紅龍果濕腐病的病原性是否具影響性，以 2 株分離自紅龍果 (負交配型)、1 株分離自草莓 (正交配型)、2 株分離自水蜜桃 ( 負與正交配型) 及 1 株分離自環境 (負交配型) 等，共 6 株不同分離來源與交配型的分離株作為供試菌株，接種紅龍果果實進行病原性測試。結果顯示，紅龍果菌株較其他分離株可造成顯著的病斑尺寸 (圖 1A)，且病徵呈深紅色、水浸狀斑 (圖 2A)，與典型的果實濕腐病病徵相同 (圖 2B)；其他分離株引起的病斑不僅局限，且水浸狀較輕微、病徵顏色較褐色，與典型的濕腐病病徵不同。交配型方面，與紅龍果分離株一樣為負交配型的桃分離株 CBS 190.32 其病徵狀況與紅龍果分離株不同，而與其餘來源分離株相同，顯示交配型對紅龍果果實的病原性 (pathogenicity) 與致病力 (virulence) 無關。

進一步，為瞭解在其他果實上是否也會出現分離株來源差異的趨勢，並且排除桃、草莓及環境等分離株病原性或致病力弱化的可能性，以草莓、桃等各分離株的原始寄主，及另一寄主之一的水梨等，共 3 種果實作為供試材料，再次接種以同樣的供試菌株進行病原性測試。在草莓上 (圖 1B)，病斑尺寸隨菌株而異，沒有出現因菌株寄主來源或交配型不同而異的趨勢。在桃上 (圖 1C)，2 株紅龍果分離株造成的病斑在統計上較其他分離株小，對桃的致病力較弱；草莓、桃及環境等 4 株分離株造成的病斑較大，對桃的致病力強，同時也排除分離株病原性弱化的可能性；病斑尺寸亦沒有出現受到菌株交配型影響的趨勢，而是與菌株來源相關。在梨上 (圖 1D)，各不同來源分離株間的病原性與致病力相似，病斑大小沒有出現受到菌株寄主來源或交配型而異的趨勢。

### *G. persicaria* 各分離株的孢囊壁形態差異

為瞭解各分離株形態上的差異，觀察不同寄主來源分離株的孢囊壁形態 (表 1)。2 株紅龍果分離株的孢囊壁分裂數為平均數量為 4.7–5.0 片，最少 3 片，最多可達 8 片；1 株草莓分離株的孢囊壁為平均 3.2 片，最少 2 片，最多 5 片；1 株桃分離株的孢囊壁平均為 3.9 片，最少 2 片，最多 6 片；模式菌株的 1 株桃分離株，與分離自環境的 2 菌株，此 3 菌株的孢囊壁平均為 2.4–2.6 片，最少 2 片，最多 5

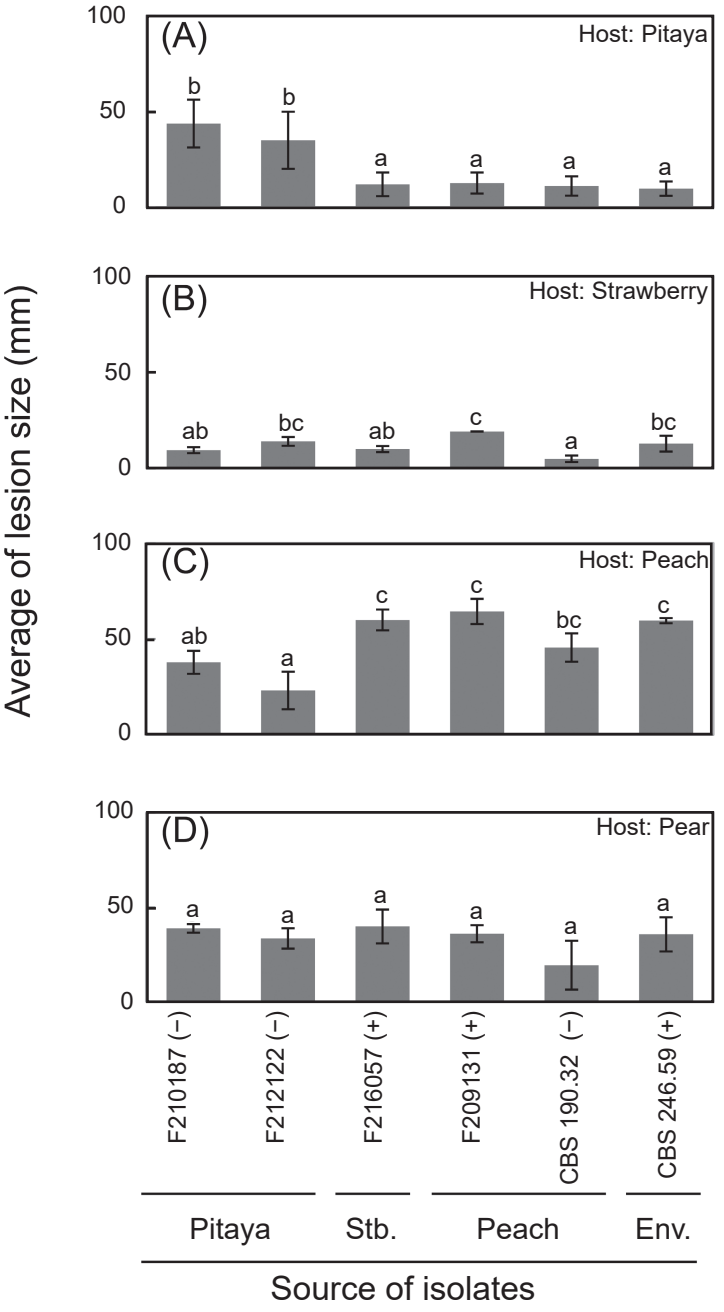



**圖 1.** *Gilbertella persicaria* 不同寄主來源菌株在不同果實上的病原性比較。(A) 白肉紅龍果、(B) 草莓、(C) 桃及 (D) 梨。菌株交配型以及來源標註在圖下方。“Stb.” 與 “Env.” 各自代表『草莓』與『環境』。不同字母代表顯著水準 $P < 0.05$ ( 雙因子變方分析，Fisher 的最小顯著差異性測驗 )。誤差線代表 *SE*。

**Fig. 1.** Comparison of pathogenicity among *Gilbertella persicaria* isolates from different hosts on various fruits. (A) white-flesh pitaya, (B) strawberry, (C) peach, and (D) pear. Sources and mating types of isolates were indicated below the corresponding column. “Stb.” and “Env.” referred to “strawberry” and “environment”, respectively. Different letters indicated significant differences within each group at $P < 0.05$ (two-way analysis of variance; two-way ANOVA, Fisher’s least significant difference; LSD test). Error bars represent *SE*.

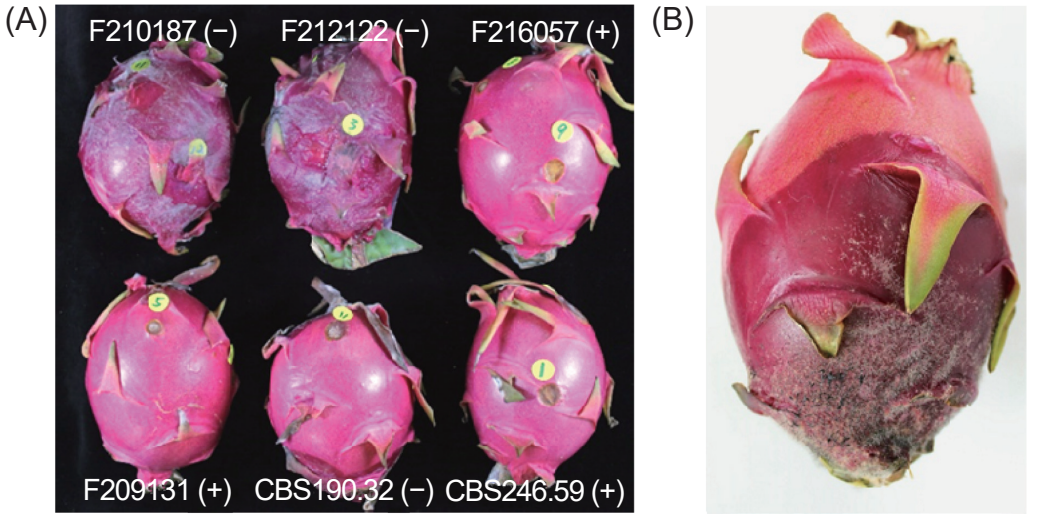



**圖 2.** (A) 人工接種與 (B) 自然感染發病之白肉紅龍果上 *Gilbertella persicaria* 引起的病徵。菌株 F210187 與 F212122 分離自紅龍果，F216047 來自草莓，F209131 與 CBS190.32 分離自桃子；CBS246.59 分離自環境。

**Fig. 2.** Symptoms of white-flesh pitaya caused by *Gilbertella persicaria* under (A) artificial inoculation and (B) natural infection. Isolate F210187 (−) and F212122 (−) originated from pitaya, F216057 (+) from strawberry, F209131 (+) and CBS190.32 (−) from peach, while CBS246.59 (+) was derived from an environmental sample.

**表 1.** 本研究 *Gilbertella persicaria* 菌株來源清單與孢囊壁數量。

**Table 1.** List of *Gilbertella persicaria* isolates source of this study and their numbers of sporangial walls.

| Isolate | Substrate | Source | Mating type | Sporangial wall number | | | Note |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | *Avg.* ± *SE*[z] | Min. | Max. | |
| F210187 | Pitaya | Jiji, Nantou County | − | 4.7 ± 0.1 d | 3 | 6 | |
| F212122 | Pitaya | Zhongliao, Nantou County | − | 5.0 ± 0.1 d | 3 | 8 | |
| F216057 | Strawberry | Shitan, Miaoli County | + | 3.2 ± 0.1 b | 2 | 5 | |
| F209131 | Imported peach | Market in Taichung | + | 3.9 ± 0.1 c | 2 | 6 | |
| CBS190.32 | Peach | New York, USA (Benny 1991) | − | 2.6 ± 0.1 a | 2 | 4 | Holotype |
| CBS246.59 | Trickling filter plant | Ohio, USA (Hesseltine 1960) | + | 2.4 ± 0.1 a | 2 | 5 | = NRRL 2352, mating standard isolate |
| CBS247.59 | Soil | Taxas, USA (Hesseltine 1960) | − | 2.5 ± 0.1 a | 2 | 4 | = NRRL 1546, mating standard isolate |

[z] $N \geq 50$; different letters indicate significant differences within each group at $P < 0.05$ (analysis of variance (ANOVA), least significant difference (LSD) test).

片。紅龍果分離株的孢囊壁數量顯著高於模式菌株與其他分離株。

## *G. persicaria* 各分離株的親緣關係

為瞭解各寄主分離株在親緣關係上的關係，以本研究中的 3 株紅龍果分離株為代表，1 株桃分離株，及 1 株草莓分離株等，共 5 株 (表 2)，與已知之 *G. persicaria* 菌株，包括分自於桃的模式菌株、前述配對型測定用菌株，及其他草莓分離株等，還有其他 6 菌種等，共 12 株作為參考菌株 (表 3)，並以 ITS、*ACT* 及 *LSU* 等 3 個片段的聯合序列建構最大概率親緣關係樹 (圖 3)。模式菌株與本研究桃分離株、環境分離株 (交配型測定用菌株)，及本

**表 2.** 本研究使用之 *Gilbertella persicaria* 分離株基本資料與序列號碼。

**Table 2.** Information and accession numbers of the *Gilbertella persicaria* isolates of this study.

| | | | | GenBank accession No.[y] | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Isolate | Location | Host | BCRC ID[z] | ITS | *ACT* | *LSU* |
| F210187 | Market in Taichung | Pitaya | BCRC FU31440 | MK301173 | OP311904 | OP243277 |
| F212122 | Zhongliao, Nantou County | Pitaya | BCRC FU31441 | MK301174 | OP311903 | OP243278 |
| F218061 | Gangshan, Kaohsiung City | Pitaya | - | ON875323 | OP311905 | OP243279 |
| F209131 (= F209130) | Market in Taichung | Peach | BCRC FU31439 | MK301172 | OP311901 | OP243276 |
| F216057 | Shitan, Miaoli County | Strawberry | BCRC FU31442 | MK301176 | OP311902 | OP243275 |

[z] IDs of the isolates deposited at Bioresource Collection and Research Center (BCRC) of Food Industry Research and Development Institute.
[y] Sequences of internal transcribed spacer (ITS), actin (*ACT*), and 28S rDNA large subunit (*LSU*) were included.

研究與其他研究之草莓分離株可成為一個 *G. persicaria* 支序群 (clade)，拔靴法支撐數值 (bootstrap support values) 為 90%，貝葉斯事後概率數值 (Bayesian posterior probabilities) 為 1；紅龍果分離株獨自形成另一個支序群，拔靴法支撐數值為 100%，貝葉斯事後概率數值為 1。親緣關係分析結果顯示，紅龍果分離株與 *G. persicaria* 親緣關係相近，但與包含模式菌株的其他 *G. persicaria* 菌株在親緣關係上仍具差異，形成穩定的 *G. persicaria* 支序群。

本研究紅龍果代表菌株 F210187、F212122 及 F218061 等共 3 菌株，其 ITS 與 *LSU* 基因之序列相似度皆為 100.0%；*ACT* 序列方面，F210187 與 F212122 之序列相似度為 100.0%，而 F210187 與 F218061 序列相似度亦達 99.9%。為排除此序列差異是地區的緣故，進一步比較來自不同地區的紅龍果分離株之序列差異。以 ITS 序列而言，本研究紅龍果分離株與中國大陸紅龍果分離株 (accession no. JQ951601) 相似度為 100%，與泰國紅龍果分離株 (LC654417) 相似度為 99.5%，與印度紅龍果分離株 (accession no. OR984746) 相似度則為 99.0%，而本研究紅龍果分離株與模式菌株 (桃分離株；accession no. ON875317) 之相似度為 98.3%；以本研究 3 株紅龍果分離株、4 株其他區域之紅龍果分離株，及其他 15 株不同來源菌株建築之親緣關係圖亦可發現，不同區域間的紅龍果分離株可獨自成為一支序群，拔靴法支撐數值為 95%，貝葉斯事後概率數值為 0.98 (圖 4)。以 *LSU* 序列而言，本研究紅龍果分離株與泰國紅龍果分離株 (accession no. LC655936) 之相似度為 100%，而兩者與模式菌株 (accession no. MH866729) 之相似度則為 99.0%。關於 *ACT* 序列之差異性比較，目前 NCBI 資料庫上尚未有其他紅龍果分離株之 *ACT* 供比較，本研究之紅龍果分離株與模式菌株之相似度則為 97.3%。由 ITS 與 *LSU* 的序列相似度可知，紅龍果分離株間的相似度高，且與模式菌株具差異性。

綜合病原性 (圖 1 與圖 2)、形態 (表 1) 及親緣關係 (圖 3 與圖 4)，*G. persicaria* 紅龍果分離株與 *G. persicaria* 模式菌株具有顯著的差異。

## *G. persicaria* 紅龍果分離株感染紅龍果的重要因子

為瞭解溫度對 *G. persicaria* 重要感染體—孢囊孢子—的影響，以紅龍果分離株 F212122 與 F210187 共 2 菌株為代表供試，滴取孢囊孢子於 PDA 後，在不同溫度下培養，於不同時間點觀察孢囊孢子的發芽率。如表 4 所示，兩菌株孢囊孢子的發芽率相似。在 12℃以上，發芽率逐漸上升；28–36℃發芽率高，並在 7 h 內即高於 94.5 ± 0.9% 以上。其中，32℃的發芽率最高，而後逐漸下降，尤其 40℃以上發芽率驟降。

為瞭解溫度與濕度對 *G. persicaria* 感染紅龍果的影響，以紅龍果分離株 F210187 為代表供試，接種於成熟紅龍果果實，放置於不同溫度與濕度下，4 d 後觀察罹病度 (disease severity) 與發病率 (disease rate) 狀況 (圖 5)。在溫度方面 (圖 5A)，20℃以上罹病度與發病率逐漸上

**表 3.** 本研究參考菌株清單與序列代號。

**Table 3.** List and accession numbers of the reference species of this study.

| Species | Isolate | GenBank accession No.[z] | | | Note |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ITS | *ACT* | *LSU* | |
| *Gilbertella persicaria* | CBS190.32 (T) | ON875317 | OP311898 | MH866729 | Zhang *et al*. (2020) and this study |
| | CBS246.59 | JN206222 | OP311899 | OP243274 | Walther *et al*. (2013) and this study |
| | dg-seq | JQ951601 | - | - | Guo *et al*. (2012) |
| | GP1 | OR984746 | - | - | - |
| | HLGXF | ON248470 | - | - | - |
| | HP183 | KT213049 | - | - | Cruz-Lachica *et al*. (2016) |
| | PSU-FR04 | LC654417 | - | - | Ruangwong *et al*. (2022) |
| | CBS247.59 | ON875318 | OP311900 | MH869391 | Zhang *et al*. (2020) and this study |
| | SB2018-203 | MT019675 | MN970197 | MT010345 | Zhang *et al*. (2020) |
| | SB2019-09 | MT019676 | MN970198 | MT010346 | Zhang *et al*. (2020) |
| | SB2019-10 | MT019677 | MN970199 | MT010347 | Zhang *et al*. (2020) |
| *Blakeslea trispora* | CBS130.59 | JN206227 | AJ287143 | MH869368 | Zhang *et al*. (2020) |
| *Poitrasia circinans* | CBS153.58 (type strain) | NR_145288 | AJ287188 | NG_057934 | Zhang *et al*. (2020) |
| *Choanephora infundibulifera* | F214060 | ON875324 | OP311906 | OP243280 | This study |
| *Cokeromyces recurvatus* | CBS158.50 (type strain) | NR_077172 | AJ287150 | AF113454 | Lee *et al*. (2018) |
| *Mucor flavus* | CBS234.35 (type strain) | JN206051 | EF203689 | NG_057921 | Hyde *et al*. (2014) |
| *Rhizopus schipperae* | ATCC 96514 (type strain) | DQ641323 | AB512229 | NG_059417 | - |

[z] ITS: internal transcribed spacer; *ACT*: actin; *LSU*: 28S rDNA large subunit.

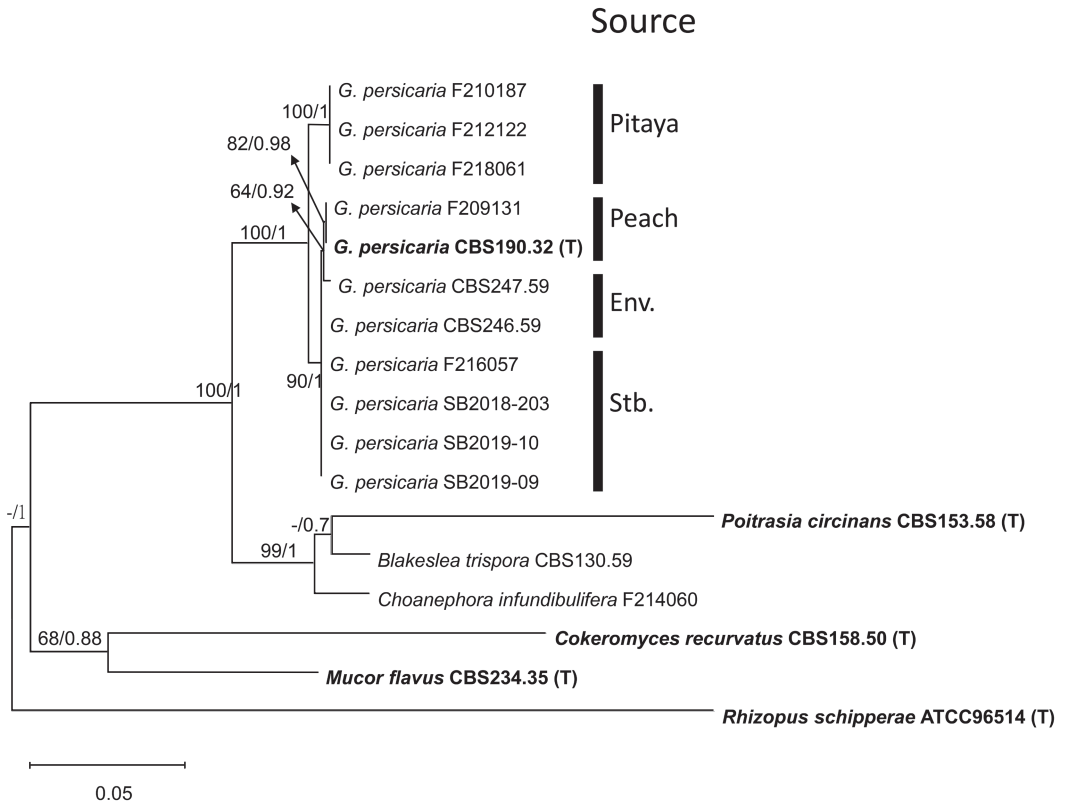



**圖 3.** *Gilbertella persicaria* 與其相近種以 internal transcribed spacer (ITS)、actin (*ACT*) 及 28S rDNA large subunit (*LSU*) 共 3 序列構築之最大概率親緣關係圖。比例尺代表每個核苷酸位置的 0.05 預期置換數。模式菌株以粗體字標示。菌株來源標註在圖右方。“Env.” 與 “Stb.” 各自代表『環境』與『草莓』。

**Fig. 3.** Maximum likelihood phylogenetic tree of *Gilbertella persicaria* and related texa based on the combined sequences of internal transcribed spacer (ITS), actin (*ACT*), and 28S rDNA large subunit (*LSU*). The bar indicates 0.05 expected changes per site. Type strains (T) are displayed in bold. Isolation source are labeled on the right: Env.: environment.; Stb.: strawberry.

升，28–36℃發病嚴重，其中以 28℃發病率最高，可達 100 ± 0.0%，罹病度為 36.1 ± 5.6%，而 32℃發病率次之，為 77.8 ± 22.2%，但罹病度最高，達 69.5 ± 14.7%；40℃驟降，發病率與罹病度皆降為 0%。在濕度方面 (圖 5B)，RH 50–70% 發病狀況相似，發病率在 75.0 ± 9.6% 至 80.0 ± 8.2% 間，罹病度在 25.0 ± 8.1% 至 31.0 ± 6.6% 間；RH 80% 以上發病率提升至 90.0 ± 5.8%，罹病度則為 35.0 ± 7.7%；RH 90% 以上發病率緩慢的提升為 95.0 ± 5.0%，而罹病度顯著的提升為 62.0 ± 13.1%；RH 100% 發病率與罹病度最高，個別為 100 ± 0.0% 與 78.0 ± 9.9%。

## 田間 *G. persicaria* 感染時機對採後罹病度影響

為瞭解紅龍果採後濕腐病的感染時機為何，以紅龍果分離株 F210187 為代表供試，於田間接種在 0–4 wk 與已成熟採收等不同果齡的白肉紅龍果，直到各組果實都成熟採收後，將果實放置於 28–32℃，RH > 95% 的環境，4 d 後觀察罹病度與發病率狀況 (圖 6)。田間幼果接種後，皆沒有出現濕腐病徵，待成熟採收並貯藏在適合的環境下才發病。果實在 0–3 wk 果齡受感染時，發病率在 1.7–8.6% 間，罹病度則在 0.8–4.2% 間；4 wk 果齡受感染者，

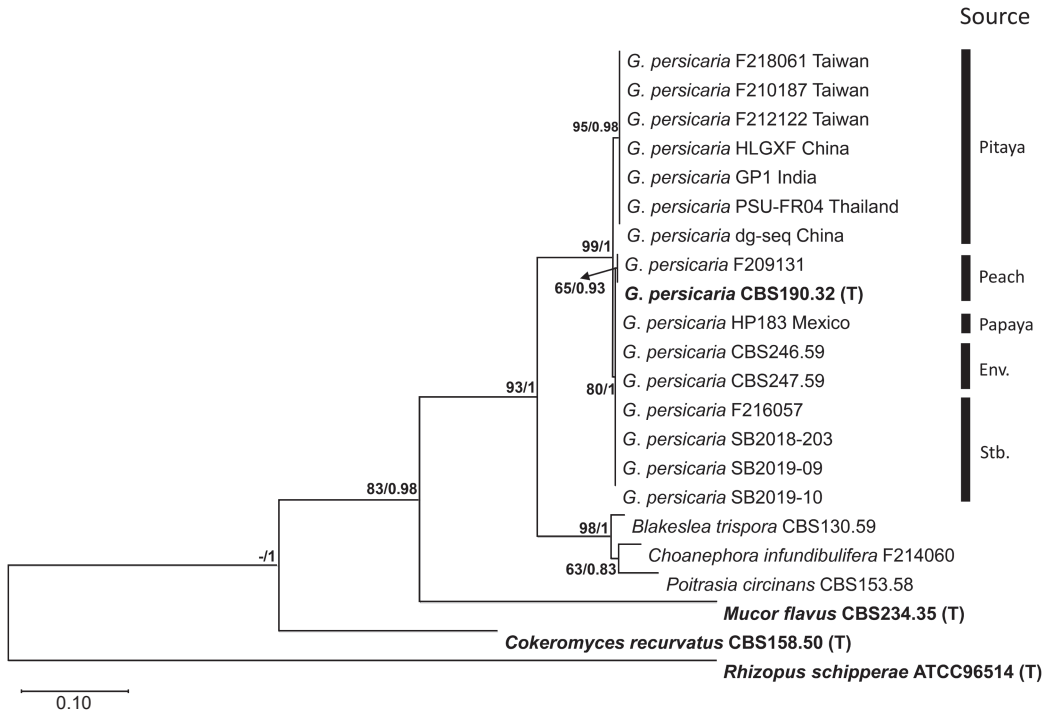



**圖 4.** *Gilbertella persicaria* 與其相近種以 ITS 序列構築之最大概率親緣關係圖。比例尺代表每個核苷酸位置的 0.05 預期置換數。模式菌株以粗體字標示。紅龍果菌株之原地理位置標註在分離株代碼後。菌株來源標註在圖右方。“Env.” 與 “Stb.” 各自代表『環境』與『草莓』。

**Fig. 4.** Maximum likelihood phylogenetic tree of *Gilbertella persicaria* related taxa constructed based on the ITS region. The scale bar indicates 0.05 expected changes per site. Type strains (T) are displayed in bold. The geographic origins of the pitaya isolates were annotated following its isolate ID. Isolation source are labeled on the right: Env.: environment; Stb.: strawberry.

採後病害狀況微幅提高，發病率為 13.8 ± 4.7%，罹病度為 6.0 ± 2.4%；成熟採收果受感染者，病害狀況大幅提高，發病率為 91.2 ± 5.2%，罹病度為 56.3 ± 7.1%，顯示紅龍果採後濕腐病的感染時間點在成熟後期。每次用以做正對照的果實皆出現濕腐病病徵，確認每次接種皆為有效接種；以水取代孢子懸浮液的負對照組果實，於採收後皆未出現濕腐病病徵，排除自然界之 *G. persicaria* 病原感染干擾。

## 討論

本研究蒐集 2009–2024 年樣本，經過測試確定 *G. persicaria* 在臺灣存在正 (+) 與負 (−) 交配型菌株，惟感染紅龍果的 *G. persicaria* 菌株目前發現 100% 皆為負交配型，尚未發現正交配型存在 (表 2)。從病原性測試結果可知，與紅龍果分離株同樣為負交配型的菌株 CBS 190.32 亦不會引起較明顯的果實病徵 (圖 1)，顯示病原性與交配型無關，排除紅龍果田間 *G. persicaria* 負交配型優勢的是因為病原性的關係。另外，造成日本紅龍果莖腐與果腐病病徵的 *G. persicaria* 為正交配型 (Taba *et al*. 2011)；在桃上，正負交配型不影響病原性 (Ginting *et al*. 1996)，以上皆支持正交配型不影響感染紅龍果病原性的推理。為什麼臺灣田間紅龍果濕腐病病原僅有 *G. persicaria* 負交配型的原因仍未知。行有性生殖進行遺傳物質交換產生接合子，有利族群遺傳物質多變異性。實驗室內對峙培養測試，紅龍果分離株 (−) 與草莓分離

**表 4.** 溫度對 *Gilbertella persicaria* 菌株 F210187 與 F212122 孢囊孢子發芽率的影響。

**Table 4.** Effect of temperature on sporangiospore germination of *Gilbertella persicaria* isolates F210187 and F212122.

| | Sporangiospore germination rate (%)[z] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | F210187 | | | F212122 | | |
| Isolate (℃) | 7 h | 24 h | 48 h | 7 h | 24 h | 48 h |
| 4 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 8 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 12 | 0 ± 0 | 0 ± 0 | 43.7 ± 6.7 | 0 ± 0 | 100 ± 0 | UC |
| 16 | 0 ± 0 | 94.0 ± 1.2 | UC | 0 ± 0 | UC[y] | UC |
| 20 | 0 ± 0 | 100 ± 0 | UC | 0 ± 0 | UC | UC |
| 24 | 24.3 ± 6.6 | UC | UC | 46.5 ± 7.9 | UC | UC |
| 28 | 94.5 ± 0.9 | UC | UC | 100 ± 0 | UC | UC |
| 32 | 100 ± 0 | UC | UC | 100 ± 0 | UC | UC |
| 36 | 88 ± 3.1 | UC | UC | 100 ± 0 | UC | UC |
| 40 | 0 ± 0 | 0.8 ± 0.8 | 1.8 ± 1.8 | 29.5 ± 4.2 | UC | UC |

[z] Spore suspensions of each *G. persicaria* isolate were dropped onto potato dextrose agar (PDA) plates and incubated in the dark at various temperatures. After 7 h, germination rates were calculated by counting 200 spores per replicate. A spore was considered germinated if its germ tube exceeded the spore radius. Each isolate was tested in triplicate.

[y] UC indicates "uncountable" due to excessive hyphal growth.

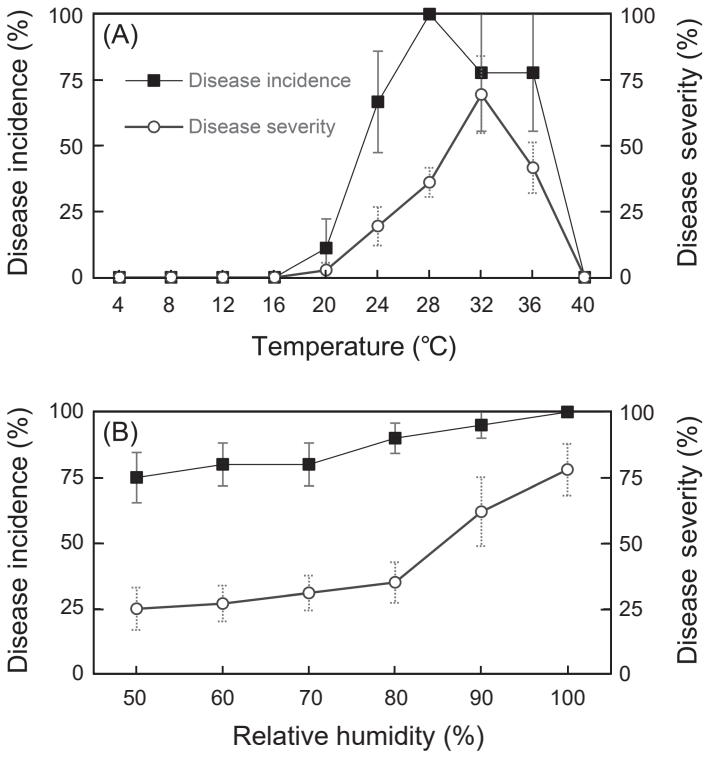



**圖 5.** (A) 溫度與 (B) 相對濕度對 *Gilbertella persicaria* 引起之紅龍果果實濕腐病病害發展影響。誤差線代表 *SE*。

**Fig. 5.** Effect of (A) temperature and (B) related humidity (RH) on disease development of pitaya fruit wet rot caused by *Gilbertella persicaria*. Error bars represent *SE*.

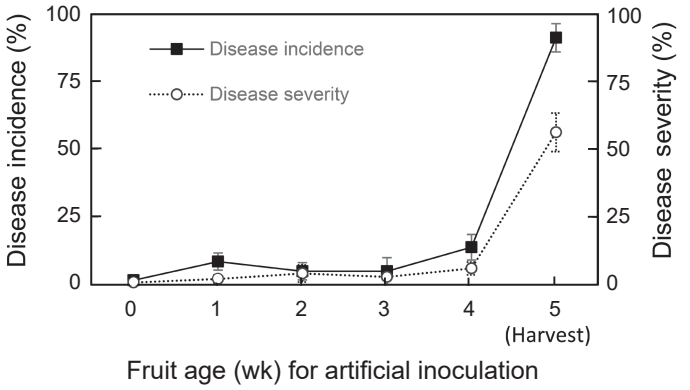



**圖 6.** 紅龍果果齡在田間感染 *Gilbertella persicaria* 對於果實採收後濕腐病發展的影響。誤差線代表 *SE*。

**Fig. 6.** Effect of field artificial infection timing by *Gilbertella persicaria* on the development of postharvest wet rot in pitaya fruits. Error bars represent *SE*.

株 (+) 可行有性生殖產生接合子 (未顯示之資料)，但 *G. persicaria* 在臺灣田間是否可自然配對產生有性世代仍有待證實。

*Gilbertella persicaria* 的寄主範圍廣泛，本研究特別檢測各個來源寄主病原株是否有病原性差異。在感染紅龍果的測試中 (圖 1)，唯紅龍果分離株可引起顯著典型的紅龍果濕腐病病徵相同 (圖 2) (Taba *et al*. 2011; Guo *et al*. 2012; Lin *et al*. 2014)，而桃、草莓及其他分離株引起的病斑則否，顯示唯紅龍果分離株對紅龍果具有獨特的病原性。進一步以 *G. persicaria* 模式菌株原始寄主—桃 (Hesseltine 1960) 做病原性測試 (圖 1C)，顯示相較於而桃、草莓及其他分離株，紅龍果分離株對桃的病原性有較低的趨勢。

在臺灣與日本的 *G. persicaria* 紅龍果分離株孢囊壁紀錄為 4 片以上 (Taba *et al*. 2011; Lin *et al*. 2014)。然而，根據文獻，*G. persicaria* 模式菌株的孢囊壁為 2 片 (Benny 1991)。統計各分離株間孢囊壁數量差異 (表 1)，可知以紅龍果分離株的平均數量最高，供試的 2 菌株平均為 4.7–5.0 片，而模式菌株與其他環境分離株等則為 2.4–2.6 片，兩者在孢囊分裂數上相距高達 2.1–2.6 片，在統計上具顯著差異。然而，本研究中分離自進口桃與草莓分離菌株的孢囊壁數量與模式菌株等亦差距達 0.8–1.4 片，並且在統計上具有顯著性 (表 1)，但病原性 (圖 1 與圖 2) 與分子親緣關係樹 (圖 3) 中仍與模式菌株屬相同類群。雖然紅龍果分離株與模式菌株的孢囊壁分裂數差距大，但孢囊壁的數量多寡要成為區分不同種的特徵仍有疑慮。

紅龍果分離株在親緣關係上與其他分離株不同，且具有高拔靴法支撐數值支持此論述 (圖 3)，且此紅龍果分離株序列上與模式菌株具差異之現象非僅限於臺灣的菌株 (圖 4)。這種不同寄主來源分離株序列具差異的現象在巴西的 *G. persicaria* 分離株中也出現類似的趨勢 (de Almeida Souza *et al*. 2024)。綜上結果顯示，跨區域紅龍果分離株彼此間具高度相似性，並相對區別於自桃分離之模式菌株，推測可能具有共同的分子特徵或獨特性。

關於紅龍果分離株的病原性，本研究進一步確認，*G. persicaria* 紅龍果分離株感染採後紅龍果時受到至少溫度與濕度及影響 (圖 5)，最適合發病的溫度為 28–36℃，濕度為 RH 80% 以上，在 16℃以下的低溫與 40℃以上的高溫不發病，RH 70% 以下發病率與罹病度會顯著降低。其中若接種後放置於低溫下 (16℃)，即便給予高濕度 (RH > 99%) 者也不會發病；若放置於合適溫度下 (28–30℃)，給予低濕度 (RH < 70%) 則病害度僅降低而非不發病。顯示溫度對於病害發展的影響性大於濕度。由以上可知，為避免紅龍果濕腐病，低溫 (16℃) 貯藏為較合適的貯藏條件；若無法維持低溫，則低濕度 (RH < 70%) 為次之的貯藏選擇。果實持續放在 40℃以上的高溫不合一般

貯藏習慣，除了考慮果實品質可能因為高溫劣質化外，一旦從高溫回到室溫時濕腐病害可能會再恢復 (Ginting *et al*. 1996)，而且高溫處理過的樣本會提高罹染 *G*. *persicaria* 的發病率 (Taba *et al*. 2022)。

從田間幼果期感染時機試驗可知 (圖 6)，幼果期接種 *G*. *persicaria* 的果實於採收後濕腐病發病率低，而越接近成熟時接種，則後續的濕腐病發病率高。成熟果較幼果感病的原因仍有待釐清。另外，由本試驗可知，田間幼果接觸到 *G*. *persicaria* 時仍可能會造成後續貯藏期果實發病，但發病比例低，最主要的感染期為果實成熟後期，尤其是採收後。此狀況符合實際觀察，田間果實接近成熟期時，若遇到連續下雨則後續容易發生嚴重的濕腐病。可能原因是此時的果實感病性高，若雨中含有隨雨傳播的孢囊孢子，則發病機率高；或是果實成熟後，於採收過程中碰到 *G*. *persicaria* 污染的雨水、器具及包裝紙袋等，導致貯藏後發病嚴重。另外，*G*. *persicaria* 的感染源包括田間與包裝場的土壤及地面的殘體，或是包裝場用以冷卻果實的用水中 (Ginting *et al*. 1996)。在臺灣，紅龍果採收後常以水再處理過以擦拭掉煤煙，該擦拭用的水若被 *G*. *persicaria* 污染，可能成為採收後的重要感染源頭。

幼果期接種 *G*. *persicaria* 不會有明顯病徵，直到果實成熟採收後放置於高溫高濕環境下才會出現典型紅龍果濕腐病病徵。病原菌潛伏感染時，菌株常以附著器 (appressoria) 附著於植物表面，等待時機成熟後再進一步侵入發展菌絲等 (Bailey & Jeger 1992; Ullah *et al*. 2024)。然而，在以 *G*. *persicaria* 感染木瓜為模式的報告顯示，感染過程中沒有觀察到 *G*. *persicaria* 出現顯著的附著器 (Cruz-Lachica *et al*. 2018)。另外，根據本實驗室未顯示的資料，*G*. *persicaria* 於 28–32℃在殘體上至少可殘存 1 mo，因此推論本試驗中 *G*. *persicaria* 主要是以殘存形式存在於幼果表面，果實成熟後於高溫高濕等適合環境下伺機感染。

本研究對 *G*. *persicaria* 紅龍果分離株的真菌特性、病理性及發病生態做一初步的描述，尤其對發病生態的探討，有助瞭解最佳的防治時機與精準防治，希冀降低防治的成本與降低紅龍果濕腐病害引起的損失。

## 誌謝

感謝黃麟婷、林依佳、戴裕倫及詹月梅等助理的接力協助完成相關試驗。本研究承蒙 108 農科 -8.4.1- 農 -C1(7) 與 114 農科 -5.3.1- 農 -01(4) 等研究經費支持。

## 引用文獻

Bailey, J. A. and M. J. Jeger. (eds.) 1992. *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. Commonwealth Mycological Institute. Wallingford, UK. 388 pp.

Benny, G. L. 1991. *Gilbertella*ceae, a new family of the Mucorales (Zygomycetes). Mycologia 83:150–157. doi:10.2307/3759930

Carrillo-Fasio, J. A., P. R. Nuñez-García, R. J. Salazar-Mesta, G. A. Mora-Romero, K. Y. Leyva-Madrigal, I. Cruz-Lachica, and J. M. Tovar-Pedraza. 2022. First report of soft rot of pitahaya fruit caused by *Gilbertella persicaria* in Mexico. Plant Dis. 106:3218. doi:10.1094/PDIS-01-22-0142-PDN

Chen, C., M. Wen, X. Chen, J. Zhang, and C. Wang. 2024. First report of *Gilbertella persicaria* causing postharvest soft rot of *Pyrus pyrifolia* 'Housui' in China. Plant Dis. 108:815. doi:10.1094/PDIS-11-23-2416-PDN

Cruz-Lachica, I., I. Marquez-Zequera, R. Allende-Molar, J. Leon-Felix, J. A. Sañudo-Barajas, N. Ley-Lopez, and R. S. Garcia-Estrada. 2018. Infection process of *Gilbertella persicaria* in papaya (*Carica papaya* L.) fruits. J. Gen. Plant Pathol. 84:339–342. doi:10.1007/s10327-018-0798-z

Cruz-Lachica, I., I. Marquez-Zequera, R. S. Garcia-Estrada, J. A. Carrillo-Fasio, J. Leon-Felix, and R. Allende-Molar. 2016. First report of *Gilbertella persicaria* causing papaya fruit rot. Plant Dis. 100:227. doi:10.1094/PDIS-05-15-0607-PDN

de Almeida Souza, A. E., A. L. C. M. de Azevedo Santiago, A. C. de Queiroz Brito, J. F. de Mello, J. V. da Silva Neto, C. M. de Souza-Motta, and A. R. Machado. 2024. New reports of *Gilbertella persicaria* causing post-harvest rot in different fruits in Brazil. J. Plant Dis. Prot. 131:237–242. doi:10.1007/s41348-023-00816-7

Ginting, C., E. I. Zehr, and S. W. Westcott, III. 1996. Inoculum sources and characterization of isolates of *Gilbertella persicaria* from peach fruit in South Carolina. Plant Dis. 80:1129–1134. doi:10.1094/

PD-80-1129

Guo, L. W., Y. X. Wu, Z. C. Mao, H. H. Ho, and Y. Q. He. 2012. Storage rot of dragon fruit caused by *Gilbertella persicaria*. Plant Dis. 96:1826. doi:10.1094/PDIS-07-12-0635-PDN

Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, and K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Mol. Biol. Evol. 35:1547–1549. doi:10.1093/molbev/msy096

Hesseltine, C. W. 1960. *Gilbertella* gen. nov. (Mucorales). Bull. Torrey Bot. Club 87:21–30. doi:10.2307/2483058

Hyde, K. D., R. H. Nilsson, S. A. Alias, H. A. Ariyawansa, J. E. Blair, L. Cai, ... N. Zhou. 2014. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014). Fungal Divers. 67:21–125. doi:10.1007/s13225-014-0298-1

Lee, S. H., T. T. T. Nguyen, and H. B. Lee. 2018. Isolation and characterization of two rare Mucoralean species with specific habitats. Mycobiology 46:205–214. doi:10.1080/12298093.2018.1509513

Lefort, V., J. E. Longueville, and O. Gascuel. 2017. SMS: Smart model selection in PhyML. Mol. Biol. Evol. 34:2422–2424. doi:10.1093/molbev/msx149

Lin, C. P., J. N. Tsai, T. F. Hsieh, and P. J. Ann. 2020. Chemical screening and field trials for control of pitaya flower wet rot caused by *Gilbertella persicaria*. J. Taiwan Agric. Res. 69:207–217. (in Chinese with English abstract) doi:10.6156/JTAR.202009_69(3).0003

Lin, J. P., P. J. Ann, J. N. Tsai, Z. H. Hsu, and J. T. Chang. 2014. Flower and fruit wet rot of pitaya (*Hylocereus* spp.) caused by *Gilbertella persicaria*, a new disease record in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 23:109–124. (in Chinese with English abstract) doi:10.6649/PPB.201406_23(2).0003

Mehrotra, M. D. 1964a. Fruit rot of pear caused by *Gilbertella persicaria* var. indica. Sydowia 17:124–125.

Mehrotra, M. D. 1964b. Fruit rot of tomato caused by *Gilbertella persicaria*. Sydowia 17:17–19.

Moncalvo, J. M., H. H. Wang, and R. S. Hseu. 1995. Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. Mycologia 87:223–238. doi:10.1080/00275514.1995.12026524

O'Donnell, K. L., J. J. Ellis, C. W. Hesseltine, and G. R. Hooper. 1977. Zygosporogenesis in *Gilbertella persicaria*. Can. J. Bot. 55:662–675. doi:10.1139/b77–081

Pinho, D. B., O. L. Pereira, and D. J. Soares. 2014. First report of *Gilbertella persicaria* as the cause of soft rot of fruit of *Syzygium cumini*. Australas. Plant Dis. Notes 9:143. doi:10.1007/s13314-014-0143-0

Ronquist, F., M. Teslenko, P. van der Mark, D. L. Ayres, A. Darling, S. Höhna, ... J. P. Huelsenbeck. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. Syst. Biol. 61:539–542. doi:10.1093/sysbio/sys029

Ruangwong, O. U., K. Kunasakdakul, P. Wonglom, K. S. Dy, and A. Sunpapao. 2022. Morphological and molecular studies of a rare mucoralean species causing flower rot in *Hylocereus polyrhizus*. J. Phytopathol. 170:214–220. doi:10.1111/jph.13072

Taba, S., N. Miyahira, M. Nakazato, M. Suzuki, R. Suwa, and K. T. Sekine. 2022. Ecology of pitaya stem rot caused by *Gilbertella persicaria* and its biological control by phyllosphere bacteria. Plant Pathol. 71:426–436. doi:10.1111/ppa.13475

Taba, S., M. Nakazato, K. Nasu, T. Takushi, and Z. Moromizato. 2011. *Gilbertella* stem rot of pitaya (*Hylocereus undatus*), a new disease caused by *Gilbertella persicaria*. Jpn. J. Phytopathol. 77:291–294. (in Japanese with English abstract) doi:10.3186/jjphytopath.77.291

Thompson, J. D., D. G. Higgins, and T. J. Gibson. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22:4673–4680. doi:10.1093/nar/22.22.4673

Ullah, I., W. Yuan, H. B. Khalil, M. R. Khan, F. Lak, M. Uzair, ... H. Wu. 2024. Understanding *Botrytis cinerea* infection and gray mold management: A review paper on deciphering the rose's thorn. Phytopathol. Res. 6:42. doi:10.1186/s42483-024-00262-9

Vilgalys, R. and M. Hester. 1990. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. J. Bacteriol. 172:4238–4246. doi:10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990

Vo, X. T., T. T. Pham, N. H. Huynh, and N. N. Nguyen. 2024. Isolation and screening rhizobacteria to control *Gilbertella persicaria* causing dragon fruit rot. Acta Agrobot. 77:187896. doi:10.5586/aa/187896

Voigt, K. and J. Wöstemeyer. 2000. Reliable amplification of actin genes facilitates deep-level phylogeny. Microbiol Res. 155:179–195. doi:10.1016/S0944-5013(00)80031-2

Walther, G., J. Pawłowska, A. Alastruey-Izquierdo, M. Wrzosek, J. L. Rodriguez-Tudela, S. Dolatabadi, ... G. S. de Hoog. 2013. DNA barcoding in *Mucorales*: An inventory of biodiversity. Pers. Mol. Phylogeny Evol. Fungi 30:11–47. doi:10.3767/003158513X665070

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. p.315–322. *in*: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. (Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, eds.) Academic Press. London, UK. 482 pp. doi:10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1

Zhang, J., J. Kou, E. Ozbudak, T. Zhong, T. Pan, J. Bai, ... M. A. Ritenour. 2020. First report of *Gilbertella persicaria* causing postharvest soft rot of strawberry fruit in Florida. Plant Dis. 104:2736. doi:10.1094/PDIS-10-19-2081-PDN

# Biological Characteristics and Pathogenicity of Pitaya Isolates of *Gilbertella persicaria*

Chu-Ping Lin[1], Min-Chi Hsu[2], Jyh-Nong Tsai[3], Jun-Wei Fan[4], and Jin-Hsing Huang[5,*]

## Abstract

Lin, C. P., M. C. Hsu, J. N. Tsai, J. W. Fan, and J. H. Huang. 2025. Biological characteristics and pathogenicity of pitaya isolates of *Gilbertella persicaria*. J. Taiwan Agric. Res. 74(4):497–513.

Wet rot of pitaya, caused by *Gilbertella persicaria*, is a significant disease affecting pitaya production in Taiwan. However, the biological characteristics and pathogenicity of the pathogen remain unknown. From 2009 to 2024, diseased pitaya tissues showing symptoms of wet rot were collected from 90 field sites across 23 townships in 11 counties, as well as from one local market in Taiwan. A total of 212 isolates of *G. persicaria* were obtained from pitaya, all of which belonged to the minus (-) mating type. Additionally, one isolate of *G. persicaria* from a diseased strawberry and another from a peach were both identified as the plus (+) mating type. These results indicate that both mating types of *G. persicaria* are present in Taiwan. To further investigate host-related differences among *G. persicaria* isolates, morphological, pathogenicity, and molecular phylogenetic analyses were conducted. The results showed that: (1) Morphologically, the number of sporangial wall segments in pitaya isolates was significantly higher than that of the type strain, by an average of 2.1–2.6 segments; (2) In pathogenicity assays, only pitaya isolates were able to induce typical wet rot symptoms on pitaya fruits. The results indicated that symptom type and lesion size were associated with the host origin of *G. persicaria* isolates, but not with their mating type; (3) In phylogenetic analysis, the phylogenetic tree based on concatenated sequences of internal transcribed spacer (ITS), actin, and 28S rDNA large subunit revealed that pitaya isolates formed a distinct monophyletic clade. Based on morphology, pathogenicity, and phylogenetic analyses, the pitaya isolates of *G. persicaria* were different from the type strain. Environmental condition assays indicated that optimal temperature and relative humidity range for disease development are 28–36℃ and above 80%. No disease symptoms developed at temperatures below 16℃ or above 40℃. Further inoculation trials were conducted on pitaya fruits at various developmental stages, followed by postharvest incubation at 25–32℃ to observe disease progression. These results demonstrated that fruits exhibited the most severe disease by postharvest inoculation, indicating that *G. persicaria* primarily infects pitaya during the fruit maturation stage, particularly at harvest.

**Key words:** Sporangial wall segment, Mating type, Pathogenicity, Phylogeny, Infection timing.

Received: June 4, 2025; Accepted: October 1, 2025.

* Corresponding author, e-mail: jhhuang@tari.gov.tw

[1] Assistant Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

[2] Associate Research Fellow, Crop Science Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

[3] Research Fellow and Division Director, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

[4] Project Assistants, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

[5] Research Fellow, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.