

# 番椒炭疽病的發生、病原鑑定與病害管理

王添成·許宗銘

## 一、前言

番椒包含辣椒和甜椒，屬於茄科(Solanaceae)番椒屬(*Capsicum*)，其中辣椒是台灣重要辛香料作物。台灣地區最近5年以來之番椒種植面積，每年平均達2,414公頃，為台灣地區重要的高經濟茄果作物。由於台灣地處亞熱帶，終年高溫多濕，每年自5月至11月期間均非常適合番椒炭疽病的發生為害。它主要為害番椒果實，未成熟或成熟的果實都會染病，常常導致農民完全沒有收成，造成其經濟嚴重的損失，因此，炭疽病是影響台灣番椒生產的主要限制因子之一。

番椒炭疽病是由多種的炭疽病菌(*Colletotrichum Corda*)所引起。它1890年首次被報告發生於美國新紐澤西州，之後它被報告發生於熱帶及亞熱帶的非洲、亞洲、美洲、澳洲及偶爾報告發生於南歐等地區。根據印度、泰國、印尼及越南等國學者報導，當環境因子適合本病害進展的時候，收穫前與收穫後的果實損失可達10~75%之多，所以，番椒炭疽病是亞熱帶及熱帶地區的溫暖潮濕季節或噴灌系統下，極為嚴重的果實及種子病害。

## 二、病徵

果實病斑通常出現於成熟的果實(圖一)，然而當田間病害壓力大的時候，換言

之，環境適合發病時，未成熟的綠果亦常常遭受感染為害(圖二、圖三)。果實逐漸成熟後，其罹病性隨之增高，筆者研究發現，此乃與其果實內碳水化合物含量的提高成顯著正相關( $r^2=0.83$ )。

初期病徵可出現於被感染後的幾天之間，呈現細小的水浸狀病斑，然後快速擴展而形成直徑3~4公分的下陷病斑，甚至更大病斑可出現於較大的果實(圖四)，最後同一果實上的多數病斑連接合併一起，而覆蓋了大部份的果實表面。完全擴展的病斑常呈現下陷，淡褐色到橘紅色，甚至黑色，顏色變化依據病斑的老化以及病原菌的種類而定。濕度高時，容易產生暗黃色到鮭魚色的分生孢子堆，或擴展成同心輪紋的典型病徵



圖一、成熟紅果上的炭疽病病徵



圖二、未成熟的辣椒綠果上的炭疽病病徵



圖三、未成熟的甜椒綠果上的炭疽病病徵

(圖五)，有時暗黑色病斑極可能是黑色剛毛產生的緣故。有時不同種的炭疽病菌侵染於同一果實，而呈現不同顏色的病斑(圖六)。

除果實表面之外，此病原菌可侵入感染到果實內腔，因而能夠感染到種子。嚴重被害的種子常呈褐色且皺縮，以致大大降低其發芽率。筆者曾檢測一些罹病果，其平均發芽率只有26%；果實20%表面積感染炭疽病，它的種子發芽率只剩38%(亞蔬1989年報)。文獻亦已有種傳的報導，因此，本病害是值得重視的種傳病害。葉片、葉柄、果柄及莖部的病斑常出現於感染後期，呈現不規則的灰褐斑，外圍呈暗褐色。通常這些斑點常被忽視，但是它們是第二次感染的接種源。

### 三、病害鑑定

許多人在田間鑑定番椒果實炭疽病時，常會遇到其他病害或生理障礙的混淆困擾，根據筆者多年田間實際鑑定之經驗，分別敘述如下：

#### (一)日燒病：

這是田間陽光強照季節容易見到的生理病，通常出現於葉子不茂密的品系。果實

受到陽光每日的直射，容易燒傷果實表皮組織，初期呈現灰白色。表皮組織死亡後，一則潛伏感染在果實內的炭疽病菌便容易出現於果實表面；二則炭疽病分生孢子掉落在日燒部位時，也容易生長繁殖成病徵(圖七)。

#### (二)尻腐病：

當田間土壤水分乾濕變化常常過大時，果實末端就會因鈣離子的吸收不足而產生果實尻腐病。果實尖端組織死亡後，也容易讓掉落在上面的炭疽病菌分生孢子發芽侵入形成病斑(圖八)。

#### (三)Phomopsis果腐病：

這是另外一種真菌引起的果實壞疽腐敗症狀。它的病徵與炭疽病有兩大顯著不同，首先它的病徵不會呈現下陷症狀；其次，病徵出現時，絕大多數的果皮組織皆轉變為灰白色，病斑上也不會產生黃褐色到鮭魚色的孢子堆，而是產生細小黑點的柄子器在寄主表皮下(圖九)。筆者曾調查過田間的番椒罹病果，結果93%是由炭疽病所引起，另外，9%（其中2%也有感染炭疽病）的罹病果是由Phomopsis所引起，主要出現於成熟的果實為多(亞蔬1989年報)。



圖四、大病斑可出現於較大果實上



圖五、形成同心輪紋的典型病徵



圖六、不同種的炭疽病菌侵染同一果實而呈現不同顏色的病斑



圖七、初期呈現灰白色的日燒病



圖八、尻腐病病徵



圖九、果實感染果腐病而產生細小黑點的柄子器在寄主表皮下

#### 四、病原菌種類的鑑定與菌株之保存

炭疽病菌屬的鑑定，過去皆根據傳統形態特色為主。由於其分類系統雖歷經數次重大修改仍未臻完善，再加上許多不同炭疽病菌種類的形態特性相當類似，因此，炭疽病菌屬的鑑定相當不容易，以致造成中外文獻中記載可引起番椒炭疽病的種類相當多樣與複雜，常讓讀者們容易混淆不清。

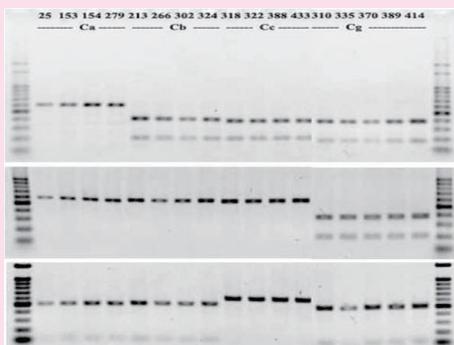
然而經Hadden 與Black(1989)的考證，認為引起番椒炭疽病的主要病原有四種：*Colletotrichum acutatum*、*C. gloeosporioides*、*C. capsici*與*C. coccodes*。近年來，由於分子生物技術的進展，不但其分類地位與親緣關係上可進一步釐清，種類鑑定上也更為精準。例如常引起多種果實炭疽病的*C. acutatum* 與*C. gloeosporioides*菌株的鑑定上，已開發出專一引子對，可準確的進行分子檢測。

筆者於2007年已研發ITS/RFLP技術(圖十)，利用分子檢測可輔助菌種形態的鑑定，使得鑑定更為精準快速。筆者自1994年到2008年期間，自台灣全島番椒產區採集罹病果，總共分離獲得613個炭疽病菌株，利用

上述技術鑑定病原種類：*C. acutatum*(Ca)391菌株、*C. gloeosporioides*(Cg)105菌株、*C. boninense*(Cb)45菌株及*C. capsici*(Cc)76菌株，以*C. acutatum*最為優勢，所以，亞蔬-世界蔬菜中心的抗病育種檢定以接種Ca為主。*C. boninense*經筆者於2006鑑定發表，是引起台灣番椒炭疽病的新種，過去大家都只根據形態去鑑定，可能都將它鑑定為*C. gloeosporioides*。

目前有關炭疽病種類調查的資料相當有限，筆者調查研究已知，台灣地區的番椒炭疽病種類以*C. acutatum*為優勢種，印度則以*C. capsici*為主，印尼、泰國、中國大陸湖南省以及國外常見的報導仍以*C. gloeosporioides*居多，可見不同國家地區為害番椒生產的炭疽病種類可能不同，因此，抗病育種目標是否需要針對不同國家的優勢種而訂定？值得深思。不同種類的炭疽病菌，不但對寄主的病原性或毒力有所差異，對殺菌劑的耐受性也不同，因此，對於病害防治，包括研發抗病品種，區域性的病原種類調查結果，是相當重要的資訊。

抗病檢定的進行，目前仰賴人工接種，



圖十、利用ITS-AFLP指紋圖譜鑑定不同種類的番椒炭疽病菌



圖十一、利用矽膠凝體保存炭疽病菌株

因此，菌株病原性之維持相當重要。筆者研發了菌株保存於矽膠凝體(Silica gel)供長期保存(圖十一)真菌分生孢子的方法，大大節省貯存空間與人力。

在潮濕環境中，由於矽膠凝體容易吸收濕氣，以致大大降低其分生孢子的保存壽命，因此，亞蔬中心目前改為冷凍炭疽病菌在-80°C恆溫箱取代矽膠凝體保存法：

- 1.先培養菌株在V8平板4~7天，讓其充分產孢。
- 2.按1：1 vol/vol比例，混合滅菌過的20%甘油與17%脫脂奶粉。
- 3.利用2號木栓鑽孔器(直徑0.6公分)，在V8平板上菌落邊緣鑽取7~8瓊脂塊，然後放入小塑膠瓶內。
- 4.每小瓶各加入3~5ml的保存劑，以蓋過瓊脂塊為止。
- 5.然後放置室溫0.5~1小時，接著冷凍在-80°C恆溫箱，作為長期保存。

## 五、病原型分化

筆者在數千個番椒種原裡，鑑定到一個野生種PBC932(*Capsicum chinense*)表現最為抗病，經與亞蔬番椒組合作進行若干種間雜

交、回交、抗病選育等育種程序，亞蔬中心已選育出的一些性狀優異的抗病自交系。然而在2005年，筆者在亞蔬試驗田裡發現，許多抗病品系卻表現感病反應，其抗病性已經被打破。雖然典型病斑是出現於這些抗病品系的果實上，但是病斑進展較緩慢。從罹病果分離到的病原菌，其表現型的特性(包含分生孢子形態及生理生化反應)，以及經分子生物技術鑑定後，此類菌株仍是屬於*C. acutatum*。

筆者根據四個抗病品系/種原及一個感病品系接種多個*C. acutatum*菌株後，綜合分析結果如表1。由表中可見抗病種原PBC932，對病原型CA1及CA2均表現抗病反應(病斑直徑小於0.4公分)；三個抗病品系0538-8515、0538-8525及0038-9155-1對CA1表現抗病，但對CA2卻表現感病反應，因此，後來0538-8525品系就被訂為檢測*C. acutatum*的病原型分化的對照依據(圖十二)。

泰國辣椒育種教授Dr. Montri, P等人，也曾在2009年發表她們在泰國辣椒上收集的*C. capsici* 11個菌株，對*Ca. chinense*的PBC932

表1. *Colletotrichum acutatum* 病原型分化的不同反應

番椒品系	接種5天後的病斑平均大小	
	CA1 <sup>a</sup>	CA2 <sup>b</sup>
9955-15	7.4(5.2-8.6)	8.1(7.2-8.7)
PBC932	0.2(0.0-0.3)	2.9(1.7-3.7)
0538-8515	0.9(0.5-1.7)	8.1(7.6-8.5)
0538-8525	1.5(0.7-2.5)	9.8(9.4-10.4)
0038-9155-1	0.3(0.0-0.4)	4.6(3.3-7.0)

註：a病原型CA1包括7個不同菌株的微量注射接種結果  
b病原型CA2包括5個不同菌株的微量注射接種結果



圖十二、檢測*C. acutatum*的病原型分化的對照品系0538-8525

及CO4714也有病原型分化現象，她們鑑定為3個病原型：PCc1、PCc2及PCc3。由此可見，世界各地的番椒炭疽病菌的病原型分化可能普遍存在，這可能是抗病育種工作極大的挑戰。

## 六、可能病害環(putative disease cycle)及其發展

本病原菌可殘存在種子表面與種子內的胚(圖十三)，以及罹病植株的殘體上。種子感染率高達46%及94%，分別被報告於美國及印度。分生孢子盤產生於種子，真菌菌絲時常發現於種殼內部。分生孢子盤及菌絲可一直存在於種子表面或種子內部，長達9個月之久。

當種子是初次接種源的時候，發育出來的子葉就會感病。當土壤中罹病的寄主殘體是初次感染源的時候，幾塊罹病殘體，或者殘體上產生的分生孢子飛濺到番椒植株後，病害環便開始發生。

當初次病斑形成後，病斑內的分生孢子盤包含許多緊密的短柄物，會產生眾多的單胞分生孢子，被一層膠狀物質所包圍。水可以溶解膠狀物質，因此，其分生孢子能夠被



圖十三、炭疽病菌殘存在種子表面及種子內的胚

雨水飛濺，長距離則靠被風吹送，或被農機具、工作服及工具等攜帶而傳播之。

空氣中相對濕度夠的時候，其分生孢子容易發芽。新寄主組織被感染後，5天之內就會表現出「病徵」或此病原菌的「病兆」。這第二次的接種源，便能傳播到其他植株或其他田間。當此病原侵入果實後，種子便容易被感染。如果從罹病果收穫其內的種子供為下一作時，此病原菌便能有效傳播到新的種植區域。

## 七、抗炭疽病之遺傳研究

亞蔬-世界蔬菜中心的林世雯小姐曾花兩年時間，在筆者協助下針對番椒炭疽病之遺傳進行研究，而在2006年6月完成其碩士論文發表。她的這個遺傳研究採用的感病親本是9955-15(P<sub>2</sub>);抗病親本是0038-9155(P<sub>1</sub>)，它的抗病基因主要是來自野生種 *Capsicum chinense* 高抗種原PBC932，先導入栽培品系IR(PBC535)，再經回交三代的BC<sub>3</sub>F<sub>4</sub>世代後，選育出的抗病品系。

此項遺傳研究試驗經筆者協助，分別接種炭疽病菌株Coll-153(*C. acutatum*)於抗病親本P<sub>1</sub>與感病親本P<sub>2</sub>及其雜交後代F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、BC<sub>1</sub>P<sub>1</sub>F<sub>1</sub>、BC<sub>1</sub>P<sub>2</sub>F<sub>1</sub>等世代之紅熟果與綠熟果上，最後她根據遺傳研究結果報告：綠熟果可能由2對互補顯性基因加上部分微效基因所控制，紅熟果可能由二對隱性基因加上部份微效基因所控制；而綠熟果與紅熟果抗病的主效基因為不同的基因對。

## 八、抗病檢定技術之研發

由於在1996年之前並無合理有效的抗病檢定技術研究發表，筆者在當時曾嘗試過針刺法(Pin prick)以及用微吸管(micropipette)

點滴或注射，但發現每次接種結果，其反應很不穩定，以致無法應用。最後嘗試利用Hamilton公司製造的長度為22 gauge針頭搭配50  $\mu$  l的注射器，經過無數次的微量注射microinjection(針頭輕壓表皮並非真正注射到果肉)，檢測不同種類的番椒果實，證明它是一種可定量、有效率的接種方法(圖十四)，產生非常穩定的反應結果。

最後我們採用的接種方式為每次微量注射1  $\mu$  l孢子懸浮液( $5 \times 10^5$ 分生孢子/毫升)。自田間收取果實後，不必洗滌與擦拭，隨即排列於刻有條溝之木板上，以防止接種後果實滑動(圖十五)。接種後24小時內維持室內100%相對濕度，然後降低濕度至95~99%絕對溼度，無光照，以利分生孢子發芽與產生附著器而侵入寄主。靜置5天後，便可根據產生病斑的大小來鑑定抗病性(病斑直徑 $<4$ mm為抗病反應，直徑 $>4$ mm為感病反應)。我們隨即公開傳輸此技術給各地合作者，目前絕大多數進行抗番椒炭疽病檢定的各國學者均採用了此技術(圖十六)。

因為微量注射法已先破壞番椒果實表面，與自然染病的程序不同，是較為嚴苛的篩選方法，而且較為精細費工，需同一人操

作較為準確，所以，筆者後來曾與南韓派在亞蔬的番椒育種專家Dr.Pae合作，研發高壓噴霧法，利用高壓噴霧( $2\text{Kg}/\text{cm}^2$ )篩選，並鑑定更多抗病種原。

經我們實地測試上述兩種方法，分別接種14種供試材料的果實後，發現經高壓噴霧後只有3種材料的抗感病反應與微量注射法有差異。因之，我們試驗後的結論是當供試材料較多的時候，可先用高壓噴霧法進行接種篩選，然後選取的抗病材料再用微量注射法去證實其抗病性。

### 九、抗病種原的鑑定與抗病品系的研發

在1986年以前，雖然有些抗病種原或抗病品種已發表，但經筆者檢測後並未真正表現抗病，因此，筆者當年即開始自亞蔬種原庫之番椒種原，進行抗原材料的篩選與鑑定，以提供抗炭疽病育種之需求。終於在1997年利用微量注射法鑑定了*Ca.chinense* (PBC879、932、CO4418及4548)以及*Ca.baccatum* (PBC80、81、133及635)等表現高度抗炭疽病的種原。尤其更幸運地發現PBC932與PBC81在綠熟果與紅熟果均表現高度抗病，而其他的抗原只是在綠果時期表現抗病性。



圖十四、微量注射接種法



圖十五、木板刻有條溝以防辣椒果實接種後的滑動



圖十六、顯示抗病與感病的顯著差異反應

選育到穩定的抗病種原後，亞蔬番椒組與真菌組積極合作進行抗炭疽病的選育。首先利用兩個高度抗原進行兩組種間雜交(即*Ca. annuum* × PBC932以及*Ca. annuum* × PBC81)，由於PBC932與PBC81均非栽培種，具明顯種間雜交的不親和性，因此，種間雜交結果並不是很順利，而未能獲得F<sub>1</sub>世代種子。所幸當時獲得生理生技組的協助，經過胚培養而順利獲得F<sub>1</sub>世代植株。這些植株都已經過分子標記的鑑定，而證實它們確實是雜交一代。

亞蔬團隊的*Ca. annuum* × PBC932種間雜交，在試管中發芽的苗株非常成功，後代苗株生長也很正常，所以，PBC932成為日後亞蔬抗炭疽病育種的主要來源。然而，南韓的番椒育種專家Dr. Park, H.K.等人，則在*Ca. annuum* × PBC81種間雜交試驗有所斬獲，而且他們偏愛PBC81果實較大之特性，所以，日後南韓選育的抗病品種之抗病基因都來自PBC81為主。

1997年亞蔬進行種間雜交IR × PBC932成功獲得F<sub>1</sub>植株後，經回交一次，再自交6次，筆者負責每個世代的抗病篩選的工作，最後在BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub>選育有2個高度抗病品系。另外，同時在種間雜交後，F<sub>1</sub>植株也進行回交3次，再自交4次，而在BC<sub>3</sub>F<sub>4</sub>世代選育11個抗病品系，包括*Ca. annuum* × PBC932雜交組合，獲得9個綠果抗病品系與2個紅果抗病品系。然而*Ca. annuum* × PBC81種間雜交試驗中，並未獲得可稔性的抗病F<sub>2</sub>後代。

亞蔬經過數年的努力積極進行雜交選育，已經育成許多抗(耐)炭疽病品系(自交系)，如AVPP0205、AVPP0412、

AVPP0022、AVPP0024、AVPP0514以及AVPP0513等等，這些品系已在世界各地試種，但涉及上述討論到病原菌種類及病原型的區域差異，其抗病表現可能不一。對這些材料有興趣的學者或私人機構，可從亞蔬中心網站(<http://avrdc.org>)申請購買。

## 十、病害管理

### (一)做好栽培管理：

種子自健康果採收或使用健康的種子與苗株。種子可浸於52℃溫水中消毒30分鐘，避免連作，並與非茄科作物至少2~3年輪作，可以減少田間病原數量。嚴格注意田間衛生，適時清除並燒燬落葉、落果及田間雜草，以減少感染源，以及深耕前作殘留植株進入土中，促使病原菌死亡，以減少初步感染源，控制病害的流行。

做好排水渠道，降低田間濕度，形成良好的通風通氣狀況，並改善植株之間的微氣候。應施足腐熟堆肥，避免偏施氮肥，而增施磷鉀肥，以培育強壯植株，而增強植株的抗病能力。儘量防止昆蟲咬傷果實或其他傷害，以抑制炭疽病菌或細菌之侵入感染。及時提早收穫果實以及貯存果實於低溫，以抑制病斑的出現率。

### (二)化學藥劑防治：

當環境條件並非很適合病害發展或接種源較低量時，化學藥劑可提供有效防治。可噴施22.7%腈硫醃水懸劑(700倍)，發病初期開始施藥，以後每10天施藥一次共3次，採收前4天停止施藥；或噴施23.6%百克敏乳劑(3000倍)防治，自中果期開始施藥，每隔7天施藥一次，連續3次，採收前6天停止施藥。因番椒果實表皮有層蠟，所以，每次噴施

時，若能加展著劑一起噴施，則效果會更為顯著。其他如銅劑、大生-22、大生-78及硫磺都曾被推薦過。

### (三)生物防治：

陸續有研究結果發表，但尚未達商品化。像一些土壤放射線菌如*Bacillus subtilis* “B7”，表現對*C. capsici*有拮抗作用。

### (四)寄主抗病性的利用：

亞蔬-世界蔬菜中心在抗病種原的篩選

與抗病自交系的選育最為積極，迄今已推出超過10個抗病自交系在世界各地試作，以期證實其抗病的穩定性。另外，世界各地的許多種子公司以及公家機構，也都採用亞蔬鑑定的抗原或抗病品種進行抗病育種，園藝性狀優良而且抗病的商業化品種已陸續發表出來，例如種苗「亞蔬四號」。未來栽培抗病品種應是最根本、最有效且最便宜的防治策略。🌱

