中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）39(2)：113～120 (1990)

葡萄晚腐病菌之致病性[1]

段中漢[2]　謝文瑞[3]

摘要：葡萄晚腐病是由 *Glomerella cingulata* 所引起。本病爲本省葡萄栽培上最重要的果實病害之一。病原菌於高溫多雨的氣候下，經常造成葡萄產業的嚴重損失。由不同地區分離所得的晚腐病菌接種至田間各生長期的『巨峰』葡萄果實，均能造成感染，並表現病徵。在接種葡萄幼果後呈現壞疽斑點的部位，可發現其果肉組織內有菌絲的生長，並能產生少量的分生孢子。而病原菌在果實組織內蔓延的速度是隨果實成熟度的提高而加快。影響病原菌在不同生長期果實組織內蔓延速度差異的原因，應是來自果實汁液組成分的變化。由採收前六週至採收前一週，『巨峰』葡萄果實汁液的pH值由2.93增至3.53，糖度則由3.8增至16.7；而菌絲的生長量則驟增17倍。果實汁液內糖度的急劇增加及有機酸含量的降低，可能是造成晚腐病菌在葡萄成熟果實內快速生長的重要因子。

關鍵詞：葡萄、晚腐病菌、病原性、潛伏感染

本省葡萄栽培以鮮食爲主，而『巨峰』是最主要的栽培品種，但由於受到晚腐病之爲害，以致經常造成嚴重的損失。晚腐病之爲害部位以果實爲主，受害的葡萄果實最初於果皮上產生淡褐色水浸狀斑點；隨後，病斑逐漸擴大，至果實成熟期則產生大量橙紅色、黏性的分生孢子堆（acervulus），受害果實因而腐爛。由於晚腐病在果實成熟期發病非常迅速，如遇連續降雨，大量的分生孢子藉雨水飛濺而傳播，極易於短期間內，造成嚴重的損失，故爲本省葡萄產業極具威脅性的病害。

葡萄晚腐病是由*Glomerella cingulata* (Ston.) Spauld et Schr. 所引起，其無性世代爲*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.，即通稱的炭疽病菌。由炭疽病菌所引起的作物病害常有潛伏感染（latent infection）的現象[4,15,16,17]。如香蕉炭疽病（*Colletotrichum musae*）[2,8]，葡萄柚，芒果，酪梨及木瓜的炭疽病(*C. gloeosporioides*)[5,6,10,17]。但桃樹炭疽病(*Glomerella cingulata*)[13]，蘋果苦腐病（*G. cingulata*）[11]，草莓炭疽病（*C. fragariae*）[9]，玉米炭疽病（*C. graminicola*）[12]則不爲潛伏感染。葡萄晚腐病是否爲潛伏感染，是一值得深入探討的問題。是項問題對於本病防治措施之釐訂，具有關鍵性的影響，因此，亟待加以澄清。

葡萄果實成分複雜，當其由青綠轉至成熟時，果實成分中變化最顯著的，就是糖度（Brix）及酸鹼度（pH value）。這些成分的變化對於田間晚腐病之發生影響如何，更待試驗加以澄清。本文之目的在藉接種試驗及不同齡期果實成分中糖度及酸鹼度對應晚腐病菌生長之觀點，探討晚腐病菌對『巨峰』葡萄的致病性，並以潛伏感染作爲問題的核心，以期對晚腐病菌之致病性有更深入的瞭解。

材料與方法

一、田間觀察及病原菌之分離與培養

1.臺灣省農業試驗所　研究報告第1510號。本文內容爲第一作者碩士論文之一部分。
2.本所植病系助理。臺灣省　臺中縣　霧峰鄉。
3.國立中興大學植病系教授。臺灣省　臺中市。

自民國七十一年三月起，定期前往本省中部各葡萄產區，調查葡萄果實各生長期晚腐病的發生情形。並採取各地之罹病果實，以單孢分離法（single conidium isolation），分離病原菌。分離所得之菌株培養於馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基（Potato Dextrose Agar, PDA），置於室溫及間接光照的環境下，並定期以單孢作更新培養。

二、晚腐病菌對不同生長期葡萄果實的病原性

在臺中縣新社鄉試區，於『巨峰』葡萄著果後二週起，至採收前一週止，計十週。每週以分離自卓蘭之晚腐病菌（CL-01）接種葡萄果實，每次接種四果房，以探討晚腐病菌對不同齡期果實的病原性。接種方法是將培養於PDA上的葡萄晚腐病菌以無菌水洗下其分生孢子，並稀釋至每毫升含10^5個分生孢子。將孢子懸浮液以塑膠製手壓噴霧器直接噴至田間『巨峰』葡萄果實的表面。再套以塑膠袋保持濕度三天。取下套袋後，觀察病徵之發展。另以無菌水噴果房作爲對照。

三、晚腐病菌不同菌株對葡萄幼果之病原性

以分離自東勢、卓蘭、大村、溪湖、新社及信義等六個主要葡萄產區的晚腐病菌爲供試菌。於每地區所分離者，任意選取五個菌株，計30個菌株，分別接種新社試區之田間著果後約六週（豌豆期至硬核期）的葡萄果實，每菌株接種3果房，以探知不同來源之晚腐病菌對幼果期葡萄之病原性。

四、晚腐病菌在葡萄幼果組織內的存活

以分離自卓蘭之CL-01及大村之TC-03二菌株分別接種田間『巨峰』葡萄著果後四週之幼果，接種後，除每週記錄其病徵外，同時採回接種之果實進行切片觀察。以探知病原菌侵入幼果後，在其侵入部位的存活情形。

五、不同果齡葡萄汁液對晚腐病菌生長的影響

於葡萄採收前六週迄採收前一週，每週前往田間採取葡萄果實，洗淨後榨汁，並以四層紗布過濾，將所得濾液再分裝至容量爲125毫升之三角燒瓶中，每瓶50毫升，以高壓殺菌法（121°C, 15min）消毒培養基。各次處理所得之培養液於計錄其糖度（Brix）及酸鹼度（pH value）後，再將晚腐病菌（CL-01）單孢移入培養液中。於室溫下，靜置培養三週，秤其菌絲乾重量。每處理四重覆。

六、糖度與酸鹼度對晚腐病菌生長的影響

以不含葡萄糖（glucose）之 Czapek's 培養基（$NaNO_3$ 3.0g, K_2HPO_4 1.0g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01g，蒸餾水1,000ml）爲基礎培養基。以Citric acid-Na_2HPO_4緩衝溶液調整培養基之酸鹼度爲2.9及3.4。並以不同量之葡萄糖調整上述兩組培養基之糖度分別爲3.8，5.8，7.8，9.8，11.8，及13.8，使成12種不同酸鹼度及糖度之組合。各處理之培養基均以50毫升之量分裝於容量爲 125 毫升之三角燒瓶中。經高壓殺菌後，再以晚腐病菌（CL-01）單孢移入培養基中，靜置培養三週，秤其菌絲乾重量。每處理四重覆。

結　果

一、田間病徵

葡萄晚腐病以果實爲主要感染對象。幼果期之病徵，初爲黑褐色，水浸狀斑點；嗣後，病斑隨果實生長而漸成分枝狀擴大。如果實在近成熟期才受到感染，則初期果皮也會出現黑褐色斑點，但病勢進展非常迅速，病斑成圓形向外擴大，且其上很快就會出現許多橙紅色的分生孢子堆（acervulus），成同心輪紋狀，排列在果皮上（圖一）。幼果受感染者至其成熟期，亦會有大塊病斑及產生橙紅色孢子堆之症狀。罹病果實最後均會皺縮，乾枯。或落果或呈木乃伊狀掛於枝條上。經由接種試驗得知，晚腐病菌亦可感染葡萄的葉片，卷鬚，果梗，葉柄及花器等部位，唯病徵僅爲黑褐色小點，不會擴大，且始終未見有分生孢子堆在病斑上產生。



圖一、「巨峰」葡萄果實受到晚腐病菌感染之典型病徵。

Fig. 1. Typical symptoms of "Kyoho" grape berries infected by *Colletotrichum gloeosporioides*.

二、晚腐病菌對不同生長期果實的病原性

晚腐病菌接種到不同生長期的「巨峰」葡萄果實後發現，各齡期的果實皆會發病。葡萄果實接種晚腐病菌後，經3～4天即在果皮上產生黑褐色斑點，唯病斑擴大速率因果齡而異。在幼果上，其病斑擴大較慢；而熟果上，其病斑擴大較快。亦即在接種後經一段時間之變化，在幼果上接種者，其病斑較小；在熟果上接種者，其病斑較大。這些接種的果實至其發病後期，於果皮上均會產生大量橙紅色的孢子堆。隨後，病果皺縮凹陷，呈現典型的晚腐病病徵。至於發病率，則各時期接種者，每果房的罹病率均達50%以上（表一）。

表一、晚腐病菌接種不同生長期「巨峰」葡萄果實的結果

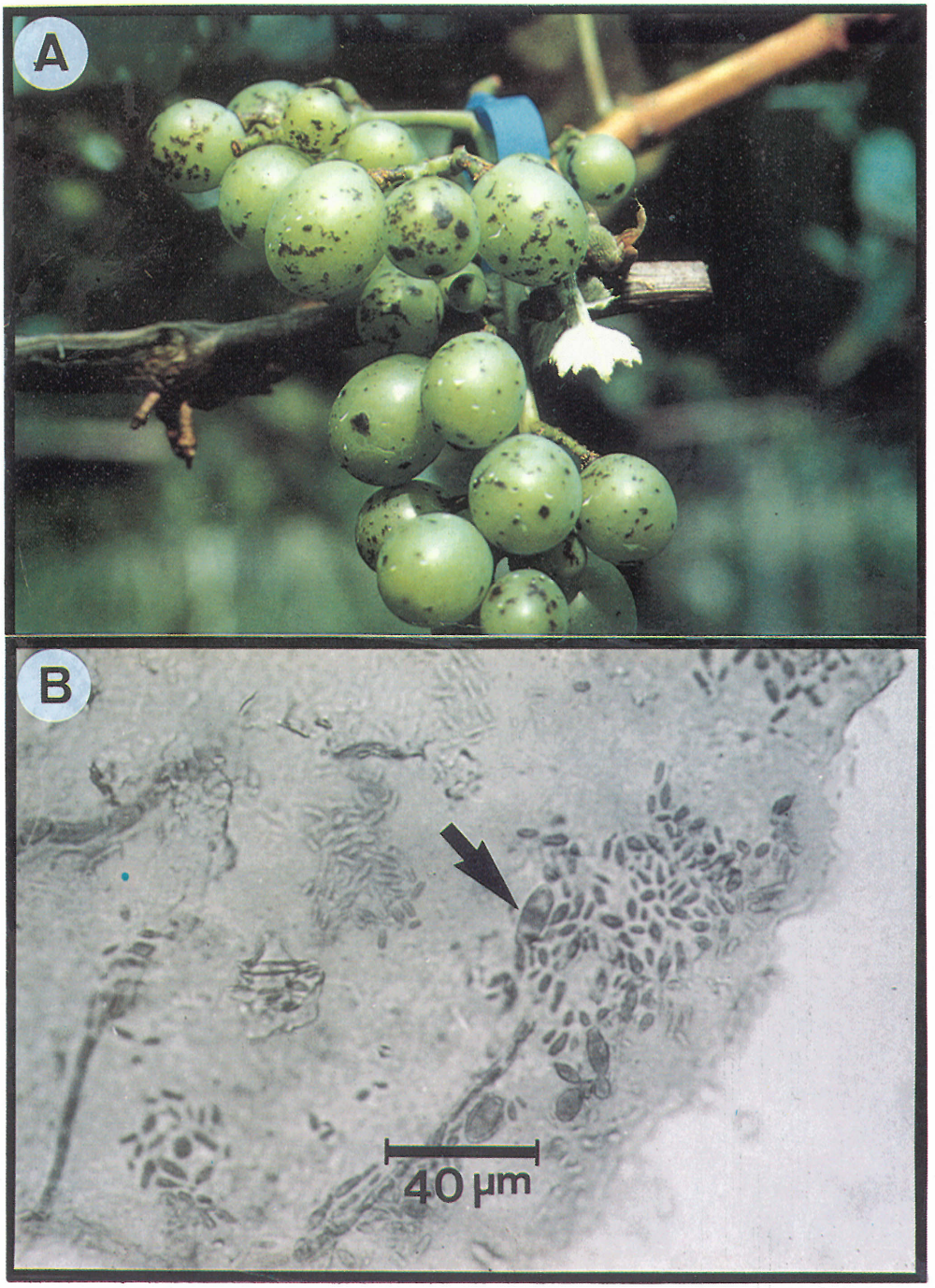
Table 1. The results of inoculation of *Colletotrichum gloeosporioides* on different growing stages of "Kyoho"

Time[a] (WK)	Disease incidence[b] (%)				
	I	II	III	V	Average[c]
2	85	90	55	63	73 b
3	83	86	70	83	81 ab
4	64	88	85	88	81 ab
5	91	76	88	95	88 ab
6	82	69	89	100	85 ab
7	66	85	90	68	77 ab
8	87	88	86	70	83 ab
9	90	60	86	85	80 ab
10	85	87	92	100	91 ab
11	95	100	86	88	92 a

[a]Weeks after fruit set.
[b]Disease incidence=No. diseased fruits/No. inoculated fruits per cluster of grape berries×100%.
[c]Values followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test, P=0.01.

三、晚腐病菌不同菌株對葡萄幼果的病原性

自東勢等六個地區的葡萄果實上分離所得的三十個晚腐病菌菌株分別接種田間著果後六週之葡萄幼果均能造成感染，且每果房罹病果粒數均達1／2以上。



圖二、「巨峰」葡萄著果後四週之幼果接種晚腐病菌三週後的病徵 A. 果實外部病徵。B. 病原菌在果皮下生長並產生孢子（箭號）。

Fig. 2. *Colletotrichum gloeosporioides* on "Kyoho" four weeks' green berry at three weeks after artificial inoculation. A, Symptom. B, Mycelia and conidia (arrow) of the pathogen under the peel of green berry.

四、晚腐病菌在葡萄幼果組織內的存活

晚腐病菌的分生孢子接種至「巨峰」葡萄的幼果後，經6～10小時即在果皮上發芽並形成附著器。3至5日後可在果皮上產生明顯的黑褐色斑點。此後，病斑隨果實生長而日漸擴大。鏡檢幼果病斑組織，可見菌絲在病斑部位逐漸蔓延，並於接種後第三週可見組織內有少量的分生孢子形成，但表皮外仍未見有分生孢子產生（圖二）。

五、不同果齡葡萄汁液對晚腐病菌生長的影響

葡萄果實於採收前六週，其汁液酸鹼度（pH value）由2.93，升高至採收前一週的3.56，增加0.63；而糖度（Brix）則由3.8增至16.7。增加最快的是在採收前第四週，由4.1增至11.1。病原菌的生長前後增加達17倍之多（表二）。

表二、不同果齡葡萄的汁液對晚腐病菌菌絲生長之影響

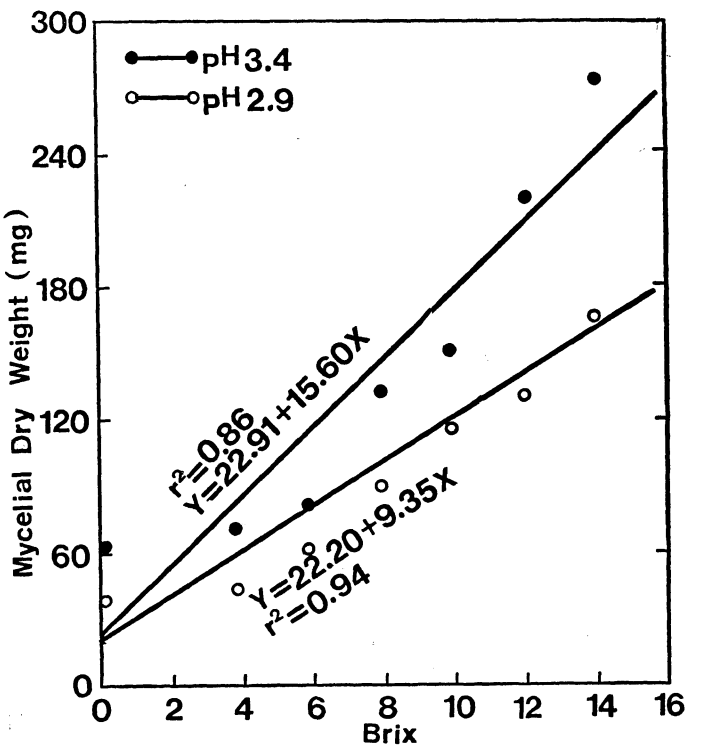
Table 2. Effect of grape juice extracted from different growing stages on the growth of *Colletotrichum gloeosporioides* causing ripe rot of grape

Time[a] (WK)	Grape juice		Mycelial dry weight[b] (mg)
	pH value	Brix	
6	2.93	3.8	93 c
5	2.96	4.1	99 c
4	3.12	11.1	1,130 b
3	3.32	13.2	1,604 a
2	3.44	13.9	1,582 a
1	3.56	16.7	1,617 a

[a]Weeks before harvest.
[b]Values followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test, P=0.01.

六、不同酸鹼度與糖度對晚腐病菌生長的影響

晚腐病菌無論在酸鹼度爲2.9或3.4時，其生長量均隨糖度（Brix）的提高而增加。糖度與病菌生長量呈直線相關（P=0.01）（圖三）。



圖三、糖度及酸鹼度對葡萄晚腐病菌菌絲生長的影響

Fig. 3. Effect of total soluble solids(Brix) and pH value on the mycelial growth of *Colletotrichum gloeosporioides* causing ripe rot of grape.

討 論

由炭疽病菌（*Colletotrichum* spp.）所引起的作物病害，以分生孢子（conidia）爲主要的感染源[18]。病原菌藉分生孢子傳播到寄主植物的表面。在水膜上，分生孢子可迅速發芽並形成附著器（appressorium），再自附著器上產生侵入釘（penetration peg），侵入植物組織中[14]。但有許多作物的炭疽病菌於形成附著器或侵入釘後即停止生長[10]。此種雖已感染，但暫未表現病徵；最後，又再出現病徵的現象是爲潛伏感染（latent infection）[3]。葡萄晚腐病菌之不同菌株可在各個生長期的葡萄果皮上發芽並形成附著器。並於接種後3至5天，即產生黑褐色的病斑，這些病斑在果皮上逐漸擴大，並無停止之現象。將這些帶有病斑的表皮切成1mm² 的小塊進行分離，可在75%的片段數上獲得晚腐病菌（筆者未發表資料），可證葡萄晚腐病之發病情形與潛伏感染的定義並不符合。至於人工接種之未發病幼果，至後期因可能受同果房已發病果之感染及滯留果皮上之原接種孢子發芽侵入，以是難以判斷是否有潛伏感染之現象。但如能作完整之切片觀察，則應有助於其感染現象之了解。由於潛伏感染是一錯綜複雜的現象，以筆者在本試驗中所用之有限菌株是否足以代表所有葡萄晚腐病菌之感染過程，及人工接種與自然感染之差異，均可能導致試驗結果之不同，此則有待設計更精確的試驗以證明之。

呂氏等[1]曾以組織學的方法探討晚腐病菌感染成熟葡萄果實的過程，但在幼果上的情形，則未說明。我們曾以組織切片的方法獲知晚腐病菌接種葡萄幼果後，經過三週，可見其果皮下除有菌絲之生長外並產生了少量的分生孢子；俟果實成熟時，則能產生大量的分生孢子。由此現象可以推斷，晚腐病菌感染葡萄不同生長期果實的過程，並無二致，僅有病勢進展速度之差異。Daykin 等[7]以人工接種的方法認爲葡萄晚腐病爲潛伏感染，我們與此項結果互異，是由於接種病菌病原性之差異，抑爲葡萄品種之不同所造成，則無法證實。但筆者確於田間發現葡萄幼果受到晚腐病菌自然感染而呈現病徵，然爲數不多。我們推斷，在本省的葡萄栽培條件下，晚腐病應可於果實各生長期發生，但不同生長期果實罹病後的發病速度則有不同。幼果期發病率偏低的原因，可能是幼果對晚腐病菌的抗性較高及田間接種源密度（inoculum density）較低的緣故。

葡萄果實在逐漸成熟的時候，以葡萄糖（glucose）爲主的碳水化合物（佔全果重15～25%）快速增加，同時有機酸含量（佔全果重0.3～1.5%）則逐漸降低[19]。由於上述兩類主要成分的消長，顯著影響病原菌的生長，已經本研究證實。此應可說明晚腐病在果實成熟期猖獗發生的原因。由於本病在果實成熟期由感染至形成次生感染源（secondary inoculum）僅需7至10天[1]，大量分生孢子再行感染，以致短期內病害發生非常嚴重。反之，在幼果期，雖可表現病徵，但由於病菌生長緩慢，且產孢稀少，以致無法在田間建立足量的接種源，病害亦因之非常少見。雖然糖度及酸鹼度之變化與病菌的生長有密切的關係；但因病原菌在自然培養基生長量的變化與人工培養基中生長量的增加率並未完全契合，亦即單以糖類及有機酸含量之變化尚難據以說明在果實成熟時，病原菌快速生長之全部原因。因此，病原菌在成熟的葡萄組織內快速生長的原因，可能尚包含其他成分之改變。

引用文獻

1. 呂理燊、張淳文・1985・葡萄晚腐病菌侵害葡萄果實的組織學研究・植保會刊27：11—18・
2. 張淳文・1986・香蕉炭疽病菌在香蕉果實上潛伏感染的組織學研究・東海大學生物研究所碩士論文・59 pp.
3. Agriso, G. N. 1969. "Plant Pathology", 629pp. Academic Press, New York.
4. Baker, R. E. D., Crowdy, S. H., and Mckee, R. K. 1940. A review of latent infections caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and allied fungi. Trop. Agriculture, Trin. 17 : 128-132.
5. Binyamini, N., and Chiffmann-Nadel. 1972. Latent infection in avocados fruit due to *Colletotrichum gloeosporioides*. Phytopathology 62 : 592-594.

6. Brown, G. E. 1976. Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* in citrus fruit. Phytopathology 65 : 404-409.
7. Daykin, M. E., and Milholland R. D. 1984. Histopathology of ripe rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on Muscadine grape. Phytopathology 74 : 1339-1341.
8. Meredith, D. S. 1964. Appressoria of *Gloeosporium musarum* Cke and Massee on banana fruits. Nature 201 : 214-215.
9. Milholland, R. D. 1982. Histopathology of strawberry infected with *Colletotrichum fragariae*. Phytopathology 72 : 1434-1439.
10. Muirhead, I. F. 1981. The role of appressorial dormancy in latent infection. *In*: Microbial Ecology of Phylloplane. (Blakeman, J. P. ed.) pp. 155-167. Academic Press, London.
11. Noe, J. P., and Starkey. T. E. 1982. Relationship of apple fruit maturity and inoculum concentration to infection by *Glomerella cingulata*. Pl. Dis. 66 : 379-381.
12. Politis, D. J., and Wheeler, H. 1973. Ultrastructure of penetration maize leaves by *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology 63 : 447. (Abstr.).
13. Ramsey, G. B., Smith, M. A., and Heiberg, B. C. 1951. Anthracnose of peach. Phytopathology 41 : 447-455.
14. Simmonds, J. H. 1941. Latent infection in tropical fruits discussed in relation to the part played species of *Gloeosporium* and *Colletotrichum*. Proc. Roy. Soc. Qd. 52 : 92-120.
15. Simmonds, J. H. 1963. Studies in the latent phase of *Colletotrichum* species causing ripe rots of tropical fruit. Qd. J. Agric. Sci. 20 : 373-342.
16. Simmonds, J. H. 1965. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rot in Queensland. Qd. J. Agric. Sci. 22 : 437-459.
17. Verhoeff, K. 1974. Latent infection by fungi. Ann. Rev. Phytopathology 12 : 99-110.
18. Warllaw, C. W., Baker, R. E. D., and Crowdy, A. H. 1939. Latent infections in tropical fruits. Trop. Agric. 16 : 275-276.
19. Winkler, A. J., Cook, J. A. Kliewer, W. M., and Linder, L. A. 1974. "General Viticulture", 712pp. Univ. of Calif. Press, Berkeley.

Pathogenicity of *Glomerella cingulata* on Kyoho Grape

Chung-hang Duan[2] and Wen-hsui Hsieh[3]

Summary

Ripe rot of grape caused by *Glomerella cingulata* is a prevalent grape disease in Taiwan. Pathogenicity of the fungus in relation to the maturity of grape berry is tested in this study. By artificial inoculation in the field with conidia of the pathogen, necrotic symptom developed on all tested grape berries despite of the different maturity stages. However, different successive symptom progress was noticed on the grape berry with various maturity stagess. Generally, the more mature the grape berries, the faster the necrotic symptom would develop. It is also oberserved that the growth of the pathogen in young berries was only slower, but never cease, than that in the mature berries. Coordinating with the decrease of organic acids (pH value from 2.93 up to 3.56), the sharp increase of the total soluble solids (Degrees Brix from 3.8 up to 16.7) may be the major factors which influence the pathogen growth and the symptom development.
Key words: grape, pathogenicity, latent infection, *Glomerella cingulata*

---

1. Contribution No. 1510 from Taiwan Agricultural Research Institute. This paper was part of a thesis submitted by the senior auther in partial fulfillment of the requirement for the M. S. degree at National Chung Hsing University.
2. Assistant, Department of Plant pathology, Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng 41301, Taichung Hsien, Taiwan, ROC.
3. Professor, Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung city, Taiwan, ROC.