

# 萵苣黑斑病菌之生理與品種罹病性

蔡竹固

## 摘要

蔡竹固。1990。萵苣黑斑病菌的生理與品種罹病性。嘉義農專學報 22: 283-291。

萵苣黑斑病在葉片呈黑褐色圓形病斑，由下位葉開始發生，嚴重時葉片全面乾枯；以葉片病組織分離法並經由接種試驗，證實其病原菌為 *Alternaria tenuis* Nees，分生孢子著生於孢子梗頂端，孢子褐色，單胞至多胞，形狀變化極大，橢圓形、倒棍棒形或卵形，喙短或無；分生孢子大小為  $7.5 - 70.0 \times 2.5 - 15.0 \mu\text{m}$ ，平均  $22.78 \times 8.83 \mu\text{m}$ 。分生孢子細胞數 1 - 9 個，平均 3.72 個；橫隔數 0 - 8 個(平均 3.72 個)，縱隔數 0 - 5 個(平均 1.44 個)。不同培養基上的菌絲生長及產孢以 PDA 最佳，V-8 次之，Czapek's 培養基較差。孢子發芽最適溫度為 15- 35°C，菌絲生長適溫為 25 - 30°C 之間。產孢量則以 15 - 30°C 皆為適合。孢子接種後 2 小時開始發芽，於 8 小時達到最高峰。萵苣品種間，以葉萵苣、嫩莖萵苣、結球萵苣較為感病，皺葉萵苣較為抗病。本病原菌之寄主範圍，除了萵苣外，以人工接種測定可在甘藍葉片上表現病徵，而不為害白菜、青梗白菜、蕓薹、蕃茄、菸草等作物。

( 關鍵字: 萵苣、細交鏈孢霉、萵苣黑斑病 )

## 前言

萵苣 (*Lactuca sativa* L.) 屬於菊科 (Compositae) 之蔬菜作物，原產地為近東、地中海地區 (4)。我國各地均有栽培，變種很多。在台灣，古時已有栽培，日據時期再引進許多品種 (1)。台灣農業年報對於萵苣並無正式的統計面積 (7)，據估計全省栽培面積約有 1,500 公頃左右 (1)。主要產地在雲林、彰化、台北近郊 (4)。栽培品種有葉萵苣：在來萵苣、辛普生、Grand rapid；皺葉萵苣；結球萵苣：大湖 366、百富 (Perfect)；立生萵苣：Signal、Paris island。其中以葉萵苣、皺葉萵苣栽培較多 (1,4)。

葉萵苣病害發生少，但皺葉萵苣、結球萵苣等病害發生較多 (1)，根據台灣植物病害名彙 (6)，本省萵苣病害有細菌性斑點病 *Xanthomonas campestris* pv. *vitians* (Brown) Dowson、露菌病 *Bremia lactucae* Regel、菌核病 *Sclerotinia sclerotiorum* (Libert) deBary、白粉病 *Oidium lactucae-debilis* Sawada、炭疽病 *Gloeosporium chrysanthemi* Hori.、葉枯病 *Cercospora lactucae-sativae* Sawada、葉斑病 *Septoria lactucae* Pass.、灰黴病 *Botrytis cinerea* Pers.、銹病 *Puccinia lactucicola* Miura. 等；尚無黑斑病之報導。本文初次報導台灣萵苣黑斑病之發生，擬就病原菌之分離、接種及孢子發芽、菌絲生長等生理特性加以探討，並與前人報告相互比較。

## 材料及方法

1. 病原菌之分離：於 1989 年 10 月在雲林縣西螺鎮、嘉義縣民雄鄉萵苣園，採取罹黑斑病的葉片，將病葉經 1% 次氯酸鈉表面消毒作病組織的病原菌分離，培養於 PDA (potato dextrose agar) 培養基，獲得數菌株。選取 AT-2 菌株經 PDA 於 25°C 培養 15 天後，以無菌水洗下分生孢子，調成  $10^6$ /ml 濃度孢子懸浮液。以葉萵苣發芽後 1 個月齡的植株進行病原性測定。將前述孢子懸浮液噴於葉片上下表面，套以塑膠袋保溼，共接種 4 株；放置室外，48 小時後去袋。另以無菌水噴溼者為不接種對照組；逐日檢查病徵是否出現。並由病葉調查 200 個分生孢子之大小。

2. 孢子發芽試驗：為明瞭病原菌孢子於不同溫度的發芽情形，在每載玻片上滴入 0.1ml AT-2 菌株之  $10^6$ /ml 濃度孢子懸浮液參試，置入保溼培養皿內，在 5、10、15、20、25、30、35°C 定溫箱中經 12hr 後，覆以蓋玻片鏡檢。每載玻片逢機調查 200 個孢子，計算孢子發芽情形，

每種溫度重複 4 次。另在 25°C 定溫箱中,每隔 1 小時取出 4 載玻片調查孢子發芽情形,以瞭解孢子發芽所需時間。

3.菌絲生長試驗:為瞭解病原菌生長的最適溫度,在 PDA 各接種培養 2 天的 8mm 圓徑 AT-2 菌株之同生長勢濾紙菌絲塊於培養基中央;接種源的製作係將病原菌接種於 PDA 中央,然後將無菌濾紙塊平鋪離接種源約 2 - 3cm 培養基上,置於 25°C 培養 2 天後,此時菌絲已長滿濾紙塊,再以無菌鑷子取下濾紙塊,反貼於供試培養基上,在 5、10、15、20、25、30、35°C 每日照光 12 小時培養箱中,經培養 5 天後,測量菌落的縱橫直徑大小,並減去原先接種源 8mm 圓徑大小,每溫度重複 4 次。依循上述方法,AT-2 菌株濾紙塊接種於 PDA、Czapek's medium、V-8 medium 上,並移入 25°C 之培養箱中,培養 5 天,然後測量其菌落大小。

4.產孢量試驗:依上述菌絲生長試驗,在各溫度之培養皿的菌落再經 10 日(即接種濾紙菌絲塊後 15 日),每培養皿加入無菌水 10ml 洗下孢子,取 1 滴於血球計數器(haemocytometer)以 400 倍視野計算大格中的孢子數,共逢機計算 10 個大格並換算為其濃度,即平均每大格中的孢子數乘以 250,000,再乘以稀釋的倍數,即為每 1 ml 中孢子的濃度。而每一大格中的孢子數應落在 2 - 6 個之間,若鏡檢所得數目大於 6 時,則再稀釋後鏡檢及換算(12),比較不同溫度下的產孢情形。

5.品種感病性及寄主範圍測定(5):採取葉萵苣、皺葉萵苣、嫩莖萵苣、結球萵苣完全發展之葉片,置直徑 20 公分,高 6 公分培養皿內,皿內放濾紙;滴上無菌水維持溼度,其上置小培養皿,再將上述葉片放在小培養皿上。其中一組每葉片經針刺 4 處,並滴以  $10^6$ /ml 萵苣黑斑病菌(細交鏈孢霉)孢子懸浮液接種,各處理 4 葉片;另一組則滴以無菌水以為對照組。另採取甘藍(*Brassica oleracea* L. Capitata group)、白菜及青梗白菜(*Brassica rapa* L. Chinensis group)、蘿菜(*Ipomoea aquatica* Forsk),蕃茄(*Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karst. Ex Farw.)、菸草(*Nicotiana tabacum* L.) 等作物完全發展之葉片,置上述大培養皿內,皿內放濾紙;滴無菌水保溼,上置小皿,再將葉片放在小皿上。不經針刺,其中一組接種  $10^6$ /ml 孢子懸浮液,用接種瓶均勻噴佈於葉上下表面,各處理 6 葉片;另一組則噴無菌水以為對照組。上述處理後置 25°C 定溫箱中,每日光照 12 小時,逐日觀察各作物或品種葉片對本菌的感受性。

## 結果

1.病原菌之分離:本病在葉呈黑褐色圓形病斑(圖 1),以葉片病組織分離法,PDA 培養基上菌絲初為白色,後轉黑黴平貼輪狀菌落(圖 2)。經由接種試驗,AT-2 菌株經 5 日後,可造成葉萵苣的黑褐色病斑,再作葉片病組織分離,可再得到同樣的病原菌;未接種者不出現病徵。證實其病原菌為 *Alternaria tenuis* Nees, 分生孢子著生於孢子梗頂端,孢子褐色,單胞至多胞,形狀變化極大,橢圓形、倒棍棒形或卵形,喙短或無(圖 3);由病葉調查 200 個分生孢子之大小,結果為  $7.5 - 70.0 \times 2.5 - 15.0 \mu m$ , 平均  $22.78 \times 8.83 \mu m$ 。分生孢子細胞數 1 - 9 個,平均 3.72 個;橫隔數 0 - 8 個(平均 3.72 個),縱隔數 0 - 5 個(平均 1.44 個)。

2.孢子發芽試驗:分生孢子發芽管單生,由孢子中的任一細胞向外生出。孢子於不同溫度的發芽情形,10°C 以下,孢子發芽率 7.50 - 30.12%; 15 - 35°C 之間適合孢子發芽,發芽率 58.12 - 80.62%; 但以 30°C 發芽率 80.62% 最佳(圖 4)。不發芽的孢子與孢子細胞數目多寡無關。孢子接種後 2 小時開始發芽,發芽率 1.83%; 於 8 小時達到最高峰,發芽率 82.83%。

3.菌絲生長試驗:菌絲生長以 PDA 最佳(72.0mm),V-8 次之(62.5mm),Czapek 較差(38.8mm)。溫度 5 - 35°C 皆見菌絲生長,但以 25 - 30°C 最佳(圖 5);菌絲生長自接種源處呈等速向外圍擴展。

4.產孢量試驗:在不同溫度下的產孢量,5 - 35°C 的範圍內皆見產孢,但以 15 - 30°C 有較多的產孢量(圖 6)。不同培養基的產孢量,以 PDA 最佳( $4.39 \times 10^7$ ),V-8 次之( $9.84 \times 10^6$ ),Czapek( $7.06 \times 10^6$ )較差。

5.品種感病性及寄主範圍測定:萵苣品種間,接種後 4 日在嫩莖萵苣、結球萵苣上出現病斑,第 5 日在葉萵苣表現病徵。至於皺葉萵苣經 9 日仍未表現病徵。以葉萵苣、嫩莖萵苣、結球

高苜較爲感病，皺葉高苜較爲抗病。本病原菌之寄主範圍，除了高苜外，以人工無針刺噴霧接種測定結果，經 6 日可在結球高苜及甘藍葉片上表現病徵，而不爲害白菜、青梗白菜、蕓菜、蕃茄、菸草等作物。就結球高苜而言，經針刺傷口接種較無針刺噴霧接種者，病徵出現爲早。

### 討 論

在本省，*Alternaria* 作物病害種類極多，可爲害莖、葉、花及果實。在葉片上，首先感染下位老葉，然後向上進展，而使被感染的葉片黃化，老化，變乾及脫落。孢子易脫離且隨氣流飛散傳播。實際上 *Alternaria* 的許多種係腐生性的，其無法侵入活的植物組織，但可在死的組織上繁殖，像是老的花瓣，老葉及成熟的果實上。故我們很難從病組織上發現的 *Alternaria*，決定其是病原或二次污染者(secondary contaminant)(10)。

本文首次報導臺灣高苜黑斑病發生，黑斑病菌主要爲害高苜葉片，產生黑褐色病斑。對於高苜的產量及品質皆有影響。其在本省的周年發生消長，有待進一步調查。其病原菌爲 *Alternaria tenuis*，除了爲害作物外，亦可造成人類兒童的過敏性氣喘( allergic asthma )(13)。本試驗顯示，*A. tenuis* 除感染高苜外，亦在甘藍葉片上表現病徵，而不爲害白菜、青梗白菜、蕓菜、蕃茄、菸草等作物。此與魏(1979)報告寄主範圍有高苜、棉花、亞麻、蘋果、蒜、芹菜、翠菊、向日葵、甘藍、蕃茄、菸草等作物(8)不同。無法感染蕃茄、菸草，可能寄主品種或病原菌品系不同所致。Xu(1984)報導 *A. tenuis* 亦可造成白楊葉枯病( poplar leaf blight )(14)。就高苜品種接種試驗，以葉高苜、嫩莖高苜、結球高苜較爲感病，皺葉高苜較爲抗病。

本病菌分生孢子大小爲  $7.5 - 70.0 \times 2.5 - 15.0 \mu\text{m}$ ，平均  $22.78 \times 8.83 \mu\text{m}$ 。較諸魏(1979)之  $7 - 70.5 \times 6 - 22.5 \mu\text{m}$  長度相仿但稍爲細瘦。菌絲生長的適溫  $25 - 30^\circ\text{C}$ ； $5 - 35^\circ\text{C}$  的範圍內皆見產孢，但以  $15 - 30^\circ\text{C}$  較多。孢子發芽適溫  $15 - 35^\circ\text{C}$  之間， $30^\circ\text{C}$  最適合，較 Xu(1984)報導白楊葉枯病菌之  $26 - 28^\circ\text{C}$  稍高。孢子接種後 2 小時開始發芽，於 8 小時達到最高峰。三種培養基以 PDA 較 V-8 及 Czapek 爲適合菌絲生長及產孢。

目前本省推薦於 *Alternaria* 作物病害之化學防治藥劑有白菜黑斑病 *Alternaria brassicae* (Berr.) Bolle 之 75% 四氯異苯晴(Daconil)可溼性粉劑 700 倍，蔥紫斑病 *Alternaria porri* Ellis 之 50% 依普同(Rovral)可溼性粉劑 1,000 倍，洋蔥紫斑病 *Alternaria porri* (Ellis.) Ciferri 之 65% 鋅乃浦(Zineb)可溼性粉劑 400 - 500 倍，6-6 式波爾多液(Bordeaux mixture)。蕃茄早疫病 *Alternaria solani* (Eiis et Martin) Sorauer 之 37.5% 氫氧化銅(Kocide 606)水懸粉 400 - 800 倍(3)。Kalra(1984)室內藥劑試驗顯示，0.05 - 0.2% 益穗(Thiram)、0.1 - 0.2% 鋅錳乃浦(Mancozeb)、三得芬(Calixin)可以抑制本菌之生長(11)，可供本病在殺菌劑篩選時之參考。

### 謝 辭

本試驗承蒙童主任伯開、朱麗華小姐協助，謹此誌謝。

### 參 考 文 獻

- 1.王進生。1966。農業要覽第八輯 園藝作物第二篇 蔬菜第四章 高苜。pp.271 - 282。臺灣省政府農林廳編印。617 頁。
- 2.岸國平編。1976。蔬菜 病害蟲-診斷 防除。全國農村教育協會。東京。654p.
- 3.植物保護手冊。1987。臺灣省政府農林廳編印。388 頁。4.黃涵、洪立主編。1988。臺灣蔬菜彩色圖說。國立臺灣大學園藝系。210 頁。
- 5.楊涌祚、王玉沙、鄭墨珠。1988。葡萄葉斑病之發生與防治。臺中區農改場研究彙報 19: 45 - 53。
- 6.臺灣植物病害名彙。1979。中華植物保護學會。404 頁。
- 7.臺灣省農業年報。1989。臺灣省政府農林廳編印。372 頁。
- 8.魏景超。1979。真菌鑑定手冊。上海科學技術出版社。780 頁。
- 9.羅宗爵。1970。作物病理學。臺灣商務印書館。臺北。353 頁。
- 10.Agrios, G. N. 1988. Plant pathology, 3rd ed. Academic Press, 803p.

11. Kalra, J. S. and Sohi, H. S. 1984. Efficacy of different fungicides against *Alternaria tenuis* Auct. and *Fusarium oxysporum* Schl. ex Fries under in vitro condition. Res. Bull. Panjab Univ. (India ): 99 - 102. ( CAB Abstract )
12. Kiraly, Z., Klement, Z., Solymosy, F., and Voros, J. 1974. Methods in plant pathology, with special reference to breeding for disease resistance. Akademiai Kiado, 509 p.
13. Nusslein, H. G., Zimmermann, T., Baum, M., Fuchs, C., Kolble, K. and Kalden, J. R. 1987. Improved in vitro diagnosis of allergy to *Alternaria tenuis* and *Cladosporium herbarum*. Allergy 42(6): 414 - 422. ( CAB Abstract )
14. Xu, S. Q., Yuan, S. Z. and Chen, X. C. 1984. Study on the pathogenic fungus ( *Alternaria tenuis* Nees ) of polar leaf-blight. Jour. North-Eastern Forestry Ins. ( China ) 12(1): 56 -64. ( CAB Abstract )

## PHYSIOLOGY AND VARIETAL REACTION OF ALTERNARIA BLIGHT OF LETTUCE CAUSED BY *ALTERNARIA TENUIS* NEES

Jwu-guh Tsay

### ABSTRACT

This paper reports a newly recorded lettuce disease, alternaria blight, caused by *Alternaria tenuis* Nees in Taiwan. These leaf spots developed a brownish circular or oval-shaped necrotic area. Conidia were brownish, with both cross and longitudinal septa; variously shaped, obclavate to elliptical or ovoid, and were  $7.5 - 70.0 \times 2.5 - 15.0 \mu\text{m}$  in size. PDA is more favorable for the fungus growth and spore production than V-8 and Czapek medium. The optimum temperature for conidium germination, fungus growth and spore production were from 25°C to 30°C. Detached leaves of lettuce and cabbage artificially inoculated with *Alternaria tenuis* showed necrotic spot, while the other 5 plants tested did not appear to have any symptom. The susceptibility of leafy types lettuce, head types lettuce and celtnice lettuce to the disease have been evaluated.

( key words: *Lactuca sativa* , *Alternaria tenuis* , alternaria blight of lettuce )



圖 1. 萵苣黑斑病之病徵

Fig. 1. Symptom of alternaria blight on the leaf of lettuce.

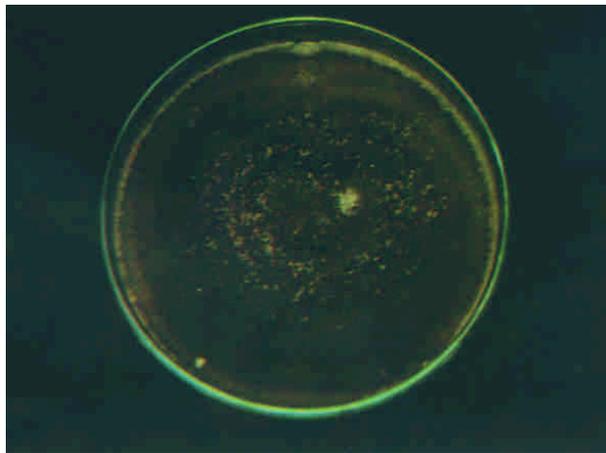


圖 2. 萵苣黑斑病菌在馬鈴薯葡萄糖培養基上的菌落

Fig. 2. The colony of *Alternaria tenuis* on PDA medium.



圖 3. 萵苣黑斑病菌之分生孢子

Fig. 3. Variously shaped conidia of *Alternaria tenuis*.

圖 4. 溫度對於萵苣黑斑病菌孢子發芽之影響

Fig. 4. Effect of temperature on spore germination of *Alternaria tenuis*.

圖 5. 溫度對於萵苣黑斑病菌菌絲生長之影響

Fig. 5. The mycelial growth of *Alternaria tenuis* at different temperature on PDA medium for 5 days.

圖 6. 溫度對於萵苣黑斑病菌產孢量之影響

Fig. 6. Effect of temperature on spore production of *Alternaria tenuis* on PDA medium for 15 days.