

## 菊花黑斑病病徵、病原菌形態、生理及病原性之研究

楊秀珠 呂理榮

臺灣植物保護中心植物病理組

(接受日期：民國 71 年 4 月 17 日)

### 摘 要

菊花黑斑病為臺灣夏季高溫時嚴重病害之一。初期葉片上產生褐色小斑，擴大後成黑褐色近圓形斑點，嚴重者多數病斑融合，造成葉片乾枯、落葉。病徵多由老葉開始，逐漸向上蔓延，生長後期或植株較高，通風不良時更易發病。病原菌 *Septoria chrysanthemella* Sacc. 遇高溫時於病斑上形成柄子器 (pycnidium)，其內着生絲狀分生孢子。分生孢子一般 2~8 節，以 3~4 節者為多，平均大小  $2.4 \times 34.18 \mu\text{m}$ ，在 PDA 上成長極緩慢，形成黑褐色緊密狀之菌落。其生長溫度範圍為 12~30°C，而以 26°C 為最適溫，產胞之溫度範圍亦為 12~30°C，但以 20°C 為最適溫。孢子在蒸餾水中不發芽，但在 PDA 16 小時後可見發芽。16~32°C 間均可正常發芽，但以 28°C 為發芽最適溫。收集臺灣常見之 20 品種，經溫室內人工接種測定，發現小菊白較具抗病能力，罹病率為 7.7%，其次為頂字菊，罹病率為 18.5%。栽培較多之冬王、月友二品種均為感病性品種，罹病率分別為 40.6% 及 41.2%，而 B<sub>3</sub> 抗病能力最弱，罹病率為 46.5%。

(關鍵字：菊花，黑斑病，病菌形態，產胞及發芽。)

### ABSTRACT

Yang, H.C. and L.S. Leu. 1982. The symptoms of black leaf spot of *Chrysanthemums* and physiology and pathogenicity of its causal organism, *Septoria chrysanthemella* Sacc. Plant Prot. Bull. (Taiwan, R.O.C.) 24: 19~26. (Plant Pathology Division, Plant Protection Center, Taiwan. Wufeng, Taichung, Taiwan 431, Republic of China.)

The black leaf spot of *Chrysanthemums* is one of the most serious diseases in summer in Taiwan. The symptoms begin with a small brown pit, and then enlarge to a brown-black circle-like spot. Some spots could coalesce each other to become a large one under suitable climatic condition. The spot appears in old leaves first, and then upward to the younger ones. The disease is severer when the plant becomes higher and older.

The causal organism *Septoria chrysanthemella* Sacc. produces pycnidia within the leaves when high humidity prevailed. Conidia are linear, straight with a little curved, usually 2-8 mostly 3-4 septate,  $2.4 \times 34.18 \mu\text{m}$  in average. Conidia are borne in the pycnidia and discharging through the apical ostiole. The mycelia grew slowly on PDA and formed a compact black colony.

Conidia did not germinate when suspended in sterilized distilled water, but did by adding nutrition. When dropped on PDA plate conidia germinated 16 hours later. The temperature for germination was 16-32°C with the optimum at 28°C.

Artificial inoculation showed variety of "Shiaw Tsu Pai" was the most resistant while B<sub>9</sub> was the most susceptible within 20 varieties tested for black leaf spot of Chrysanthemums.

(Key words: Chrysanthemum, black leaf spot, morphology, sporulation and germination.)

## 緒 言

菊花黑斑病為菊花夏季病害之一，嚴重時全株三分之一至二分之一之葉片罹病而影響其品質。臺灣冬季外銷花卉均於此時種植，初期若未能加強防治，則往往無法達到外銷水準。Sawada<sup>(3)</sup> 曾於 1916 年報導本病在臺灣之發生，其報告中提及柄子器卵形，有一口孔，大小  $72 \sim 88 \times 52 \sim 72 \mu\text{m}$ 。分生孢子絲狀或針狀，兩端鈍頭，稍彎曲，無色，有 0~4 節，大小  $30 \sim 54 \times 2.5 \sim 3.7 \mu\text{m}$ 。Schneider<sup>(4)</sup> 於 1959 年報導 24~28°C 為本病病原菌生長之最適溫。Waddell<sup>(5)</sup> 則於 1960 年報導 20~28°C 為本病病原菌之生長適溫，8~28°C 範圍內孢子均可發芽。又 1963 年 Waddell & Wever<sup>(6)</sup> 報導病原菌之大小為  $22 \sim 70 \mu\text{m}$ ，平均  $38.4 \mu\text{m}$ 。1978 年 Perisic<sup>(2)</sup> 報導病原菌於 1~35°C 間發芽，而以 25°C 為發芽最適溫。

由於前人研究結果，並非完全一致，本文除描述其病徵及病原菌外，對病原菌之生理性質及病原性再作一探討。

## 材 料 與 方 法

病徵及病原菌：田間及人工接種觀察病徵進展，並攜回病葉，保持濕潤，待長出分生胞

子後，利用單胞分離法分離培養，同時於顯微鏡下觀察分生孢子之形態，並量其大小。

溫度對菊花黑斑病病菌絲生長及產胞之影響：病菌之單一分生孢子移入 10ml 之馬鈴薯葡萄糖瓊脂培養基 (PDA) 之斜面上，置 8、12、16、20、24、26、28、30、32 或 36°C 定溫箱內，每處理 3 重複。60 天後量取菌落最寬兩處直徑，求其平均值。

計算孢子數時，將 3~4ml 蒸餾水加入量過直徑之菌落斜面，用震盪器震盪  $\frac{1}{2} \sim 1$  分鐘後倒出，再加水重複震盪 3 次，總水量為 10 ml。然後以微量注射器取  $0.5 \mu\text{l}$ ，置玻片上後用顯微鏡直接計數孢子數，每處理重複 10 滴共  $5 \mu\text{l}$ ，由此換算總孢子數<sup>(1)</sup>。

不同養分對病原菌分生孢子發芽之影響：將 PDA 培養所得之分生孢子以殺菌水洗出，調配成  $3.3 \sim 4 \times 10^5$  孢子/ml，亦即每 150 倍顯微鏡視野下 100 個孢子之懸浮液，再與等量之葡萄糖 (Glucose)、半乳糖 (Galactose)、鼠李糖 (Rhamnose)、麥芽糖 (Maltose)、果糖 (Fructose)、蔗糖 (Sucrose)、乳糖 (Lactose)、澱粉 (Starch) 及甘油 (Glycerin) 混合，醣類之濃度原為 4%，混合後稀釋成爲 2%。同時亦進行馬鈴薯葡萄糖汁液、菊葉抽出液及菊葉抽出液加 2% 葡萄糖對發芽之影響。每一處理取 5 滴，滴於玻片上。置 28°C 經 24 小

時後，以溶有 Cotton blue 之 lactophenol 固定並染色，計數發芽率，每滴逢機數 200（共計數 1,000 個）個孢子。

**溫度對病菌分生孢子發芽之影響：**將分生孢子如上述方法配成孢子懸浮液後，滴於 PDA 平板上，置 8、12、16、18、20、22、24、28、32 或 36°C 之定溫箱內，經 16、24 或 30 小時後取出，如上述計數發芽率。

**病菌分生孢子耐高溫性及耐低溫性測定：**將分生孢子懸浮液滴於 PDA 平板上，置 8、12 及 36°C，經 24、48 或 72 小時後取出，置 28°C，經 24 小時後如上計數發芽率。

**菊花品種對黑斑病之抗性測定：**收集目前臺灣栽培較多之菊花品種 20 種，以病原菌之分生孢子懸浮液（每 150 倍視野下約 100 個）噴於盆栽約 20 公分高植株上，每一品種 5 株。維持全日噴霧 3 日經 20 天調查發病情形，試驗期間把溫度維持 20~28°C，相對濕度 70~90%，調查時計數罹病葉數，並紀錄發病度，發病度之等級區分如下：0：無發病；1：病斑面積少於  $\frac{1}{4}$  葉面積；2：病斑面積為  $\frac{1}{4}$

~ $\frac{1}{2}$  葉面積；3：病斑面積為  $\frac{1}{2}$  葉面積以上；4：因病落葉者，並依下列公式算出罹病率。

$$\text{罹病率} = \frac{\sum(\text{級數} \times \text{該級數罹病葉數})}{4 \times \text{總調查葉數}}$$

## 結 果

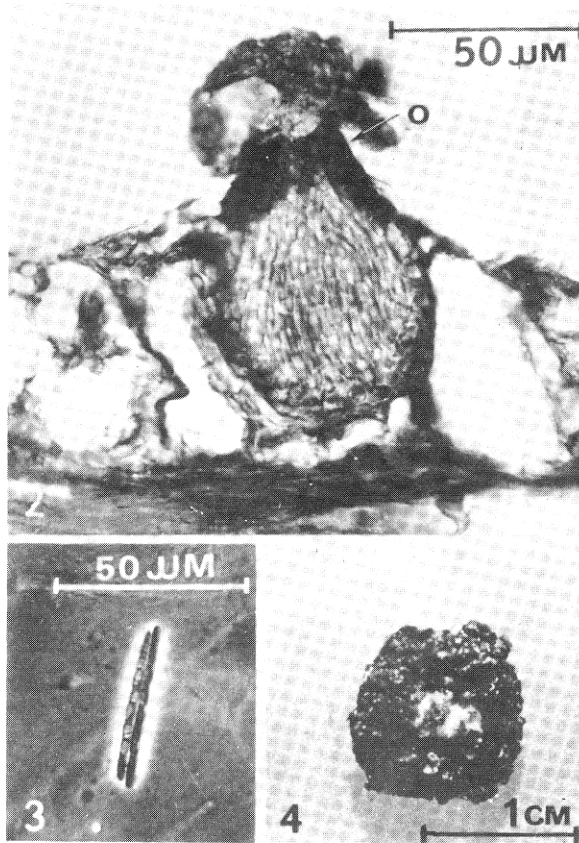
**菊花黑斑病之病徵及病原菌：**菊花黑斑病發生初期葉片產生褐色小斑點，以後逐漸擴大成黑褐色近圓形斑點，外圍有一黃色暈環（圖一）後期中央稍有褪色現象，嚴重時多數病斑互相融合，造成葉片乾枯、落葉。病徵多由老葉開始出現，逐漸向上蔓延，生長後期或植株較高，通風不良時更易發病，為臺灣夏季高溫多濕時嚴重病害之一。

病原菌 *Septoria chrysanthemella* Sacc. 遇高濕度於病斑上形成球形柄子器（Pycnidium），埋生於表皮下，有一口孔伸出表皮細胞，由此釋出分生孢子（圖二）。分生孢子絲狀，一般 2~8 節，以 3~4 節為最多，長度為 15~55.8 $\mu\text{m}$ ，寬度為 1.5~3.0 $\mu\text{m}$ ，平均大小為 2.4 $\times$ 34.2 $\mu\text{m}$ （圖三），在 PDA 上形



圖一、菊花黑斑病之病徵

Fig. 1. Symptoms of black leaf spot of Chrysanthemums.



圖二、菊花黑斑病病菌之柄子器，其內着生分生孢子，頂端有一口孔（O），孢子由此釋出。

Fig. 2. The pycnidium of *Septoria chrysanthemella*, within which the conidia were borne and an ostiole (O) for the conidia discharge.

圖三、菊花黑斑病病菌之分生孢子

Fig. 3. The conidia of *Septoria chrysanthemella* Sacc..

圖四、菊花黑斑病病菌於 PDA 平板上生長之菌落 (26°C, 60 天)

Fig. 4. The colony of *Septoria chrysanthemella* Sacc. formed on PDA plate (26°C, 60 days).

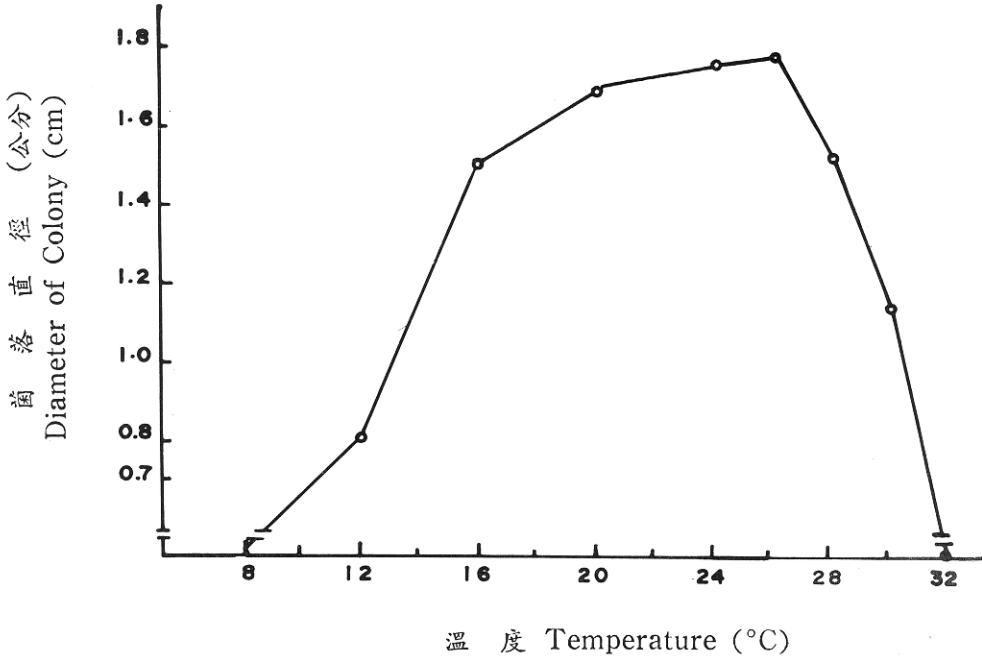
成黑褐色緊密狀之菌落（圖四），菌絲擴展非常緩慢。

**溫度對病原菌菌絲生長及產胞之影響：**病原菌於 12~30°C 之間均可正常生長，低於 12°C，或高於 30°C 時均不生長，其中以 26°C 為其生長最適溫，但培養 60 天後之菌落直徑為 1.8 公分（圖五），生長極為緩慢。

溫度對病原菌產胞亦有顯著影響。12~30°C 之間均可正常產胞，高於 30°C 或低於 12

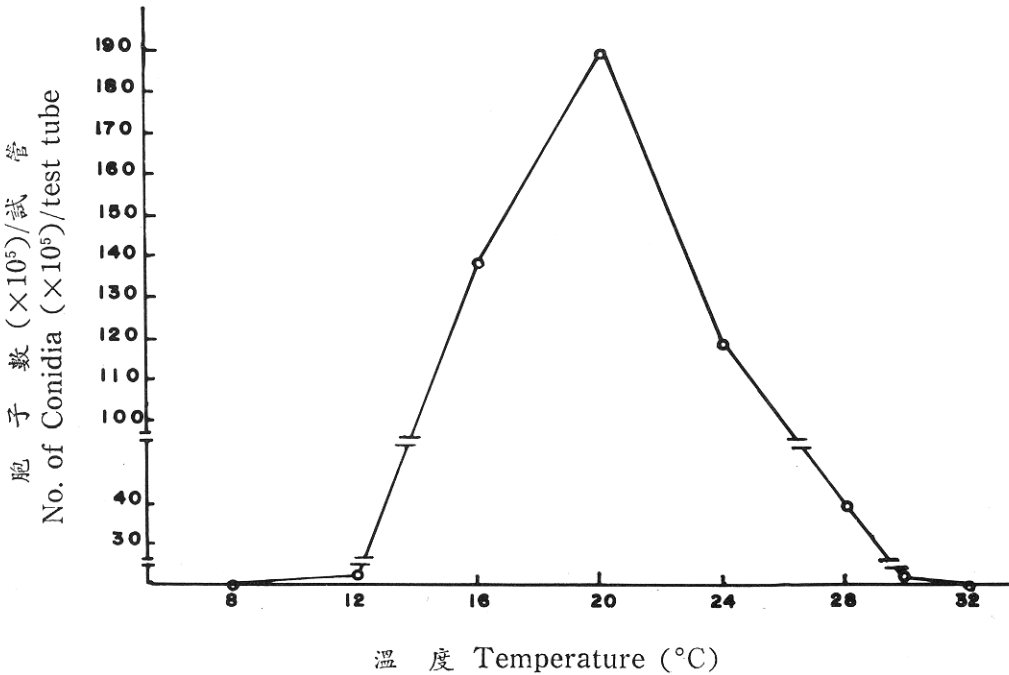
°C 時均不產胞，而以 20°C 為其產胞之最適溫，單一分生孢子於 PDA 斜面上培養 60 天之平均產胞數為  $1.9 \times 10^4$ （圖六）。

**不同養分對病原菌分生孢子發芽之影響：**分生孢子於殺菌水中不發芽，須由外界供給養分始能發芽。供試 12 種養分中以馬鈴薯葡萄糖汁液之效果最佳，置於 28°C 經 24 小時後之發芽率為 89.4%，其次為澱粉（Starch）、葡萄糖（Glucose）、鼠李糖（Rhamnose）、



圖五、溫度對菊花黑斑病病菌生長之影響 (培養 60 天)

Fig. 5. Effect of temperature on the growth of *Septoria chrysanthemella* Sacc. (60-day-old culture)



圖六、溫度對菊花黑斑病病菌產胞之影響 (培養 60 天)

Fig. 6. Effect of temperature on the sporulation of *Septoria chrysanthemella* Sacc. (60-day-old culture)

及菊葉抽出液，其發芽率分別為 55.7、51.2、48.6 及 48.1%，而效果最差者為麥芽糖 (Maltose) 及半乳糖 (Galactose)，發芽率分別為 14.2 及 19.0% (表一)。

溫度對病原菌分生孢子發芽之影響：溫度對病原菌分生孢子之發芽有顯著影響，於 PD

A 平板上，16~32°C 間經 16 小時後均可見發芽，而其中以 28°C 為發芽最適溫，處理 16 小時後之發芽率為 47.1%，24 小時後為 89.1%，36 小時後之發芽率為 95.4% (表二)。

病原菌分生孢子耐高溫性及耐低溫性測定：本病原菌分生孢子之耐低溫性似較耐高溫

表一、不同養分對菊花黑斑病病菌分生孢子發芽之影響<sup>a)</sup>

Table 1. Effect of different nutrient on the conidial germination of *Septoria chrysanthemella* Sacc.<sup>a)</sup>

養分 Nutritions	發芽率 Percent germination	養分 Nutritions	發芽率 Percent germination
麥芽糖 <sup>b)</sup> Maltose <sup>b)</sup>	14.2 i <sup>d)</sup>	蔗糖 Sucrose	44.3 e
半乳糖 Galactose	19.0 h	菊葉抽出液 Chrysanthemum leaf extract	48.1 de
果糖 Fructose	34.4 g	鼠李糖 Rhamnose	48.6 cd
菊葉抽出液 <sup>c)</sup> +葡萄糖 Chrysanthemum leaf extract <sup>c)</sup> +glucose	37.9 f	葡萄糖 Glucose	51.2 c
甘油 Glycerin	38.9 f	澱粉 Starch	55.7 b
乳糖 Lactose	40.1 f	馬鈴薯葡萄糖汁液 PD	89.4 a
		對照 Control	0

a) 28°C 24 小時後之發芽率。

a) The experiment was conducted at 28°C for 24 hr.

b) 醣類濃度為 2%。

b) The concentration of carbohydrates is 2%.

c) 菊葉抽出液濃度為 20%。

c) The concentration of Chrysanthemum leaf extract is 20%.

d) 按鄧肯氏多重變域分析測定，不同字母表示機率  $P=0.01$  時有顯著差異。

d) Comparison of differences at level of multiple range test with significance of 1%.

表二、不同溫度對菊花黑斑病病菌分生孢子發芽之影響

Table 2. Effect of different temperature on the conidial germination of *Septoria chrysanthemella* Sacc. at different duration.

溫度 Temperature (°C)	時間 (小時) Time (hr.)		
	16	24	30
16	0.4	16.3	49.7
18	5.9	56.7	85.3
20	9.9	72.1	84.9
22	17.0	78.9	88.2
24	41.1	83.5	92.2
28	47.1	89.4	95.4
32	2.0	18.2	32.2

表三、菊花黑斑病分生孢子在 PDA 平板上放置於高溫及低溫不同時間移置 28°C 24 小時後之發芽率

Table 3. The percent germination of conidia on PDA plate, which were transferred from high or low temperature to 28°C for 24 hr.

溫度 Temperature (°C)	時間 (小時) Time (hr.)		
	24	48	72
8	94.2	87.8	95.4
12	87.6	89.1	90.8
36	13.8	2.8	0.8

表四、溫室內人工接種測定 20 種菊花之黑斑病罹病率

Table 4. The screening of resistant varieties to black leaf spot in green house by artificial inoculation on 20 varieties of *Chrysanthemum* spp.

品種 Varieties	罹病率 Diseased ratio	品種 Varieties	罹病率 Diseased ratio
小菊白 "Shiaw Tsu Pai" <sup>a)</sup>	7.7	黃小菊 "Huang Shiaw Tsu"	34.3
頂字菊 "Tin Ju Tsu"	18.5	東亞 "Ton Ya"	34.6
紅花娘 "Hong Hua Liang"	21.6	阿爾卑斯 Alpis	34.6
天龍 "Tien Lon"	28.5	白金星 "Pai Kin Sin"	34.9
夏秀芳 "Shia Shiu Fan"	30.0	世界一 "Su Che Yi"	35.4
大優姿 "Ta Yu Chu"	30.5	香港紅 "Hsin Kang Hong"	36.0
新種黃 "Sin Chon Huang"	31.1	小菊紅 "Shiaw Tsu Hong"	37.2
日本晴 Nipon Bare	31.9	冬王 Winter King	40.6
精英之華 "Chin Yin Chylfua"	33.2	月友 "Yue You"	41.2
新力紅 "Shin Li Houg"	33.8	B <sub>9</sub>	46.5

a) " " 者為音譯

a) " " is a phonetic translation.

性為強。於 PDA 平板上，先置 8°C 或 12°C 經 24、48 及 72 小時後取出移入 28°C 處理 24 小時，其發芽率較之直接放於 28°C 經 24 小時者無顯著差異，依序為 94.2、87.8 及 95.8 %。置 36°C 者經 48 或 72 小時後移入 28°C 經 24 小時之發芽率分別降至 13.8、2.8 或 0.8%，顯示病菌之分生孢子於植物體外不易耐高溫（表三）。

菊花 20 品種對黑斑病抗感性測定：供試 20 品種中無抗病品種，其中以小菊白之罹病率最低，僅 7.7%，其次為頂字菊，罹病率為

18.5%，其他 18 品種之罹病率均超過 20%，而以冬王之 40.6%、月友之 41.2%、及 B<sub>9</sub> 之 46.5% 為最罹病（表四）。

## 討 論

本研究使用之 *Septoria chrysanthemella* 菌株之菌絲生長之溫度範圍為 12~30°C，而以 26°C 為最適溫，與 Schneider<sup>(4)</sup> 及 Waddell<sup>(5)</sup> 之報告大致相符合。但發芽溫度則在 16~32°C 之範圍間均可正常發芽，以 28°C 為最適溫，較之 Perisic<sup>(2)</sup> 之 1~35°C 間可發

芽及 Waddell 之 8~28°C 發芽溫度範圍較窄，此可能與其他二者之菌系不同，可能本地菌系因適應臺灣夏季高溫或菌系不同所致。

Waddell & Wever<sup>(6)</sup> 於 1963 年報告，在 Florida *S. Chrysanthemella* 於冬季 (11 月至翌年 4 月) 無寄主植物時，以柄子器或分生孢子存活於土壤中。4 月至 11 月則寄主植物上生存。本文明示，於寄主體外分生孢子之耐低溫性較高，而耐高溫性較低，但本省一年四季皆有寄主植物菊花之栽培，因此其在土壤中之存活未具重要性。

溫室接種試驗顯示，臺灣目前栽培較多之 20 品種均為罹病性反應，又四年多之田間觀察，發現品種間罹病率略有差異，但未發現任何抗病品種，因此收集抗病品種，進行抗病育種，及瞭解田間發病消長情況，同時篩選有效防治藥劑，實刻不容緩。

### 謝 辭

臺灣植物保護中心植物病理組研究報告第 30 號。本文之研究承農林廳植物保護科計畫資助，謹此誌謝。

### 引 用 文 獻

1. Ko, W. H., L. L. Chase and P. K. Kunimoto, 1973. A microsyringe method for determining concentration of fungal propagules. *Phytopathology* 63: 1206-1207.
2. Perisic, M. and S. Stoganovic. 1978. Contribution of the study of *Septoria chrysanthemella*, pathogen of chrysanthemum black spot. *Mauke* 31: 133-139.
3. Sawada, K. 1916. Descriptive Catalogue of the Formosan Fungi. Govt. Agr. Exp. Sta. Formosa Spec. Bull. No. 19, 1: 548.
4. Schneider, R. 1959. *Septoria obesa* as the causal agent of a leaf spot disease of *C. indicum* in Germany. *Phytopath. Z.* 34: 269-284 (*Rev. Appl. Mycol.* 38: 410).
5. Waddell, H. T. 1960. Parasitism of *Septoria obesa* Syd. and *S. chrysanthemella* Sacc. on the cultivated *Chrysanthemum*. *Diss. Abstr.* 20:242. (*Rev. Appl. Mycol.* 39: 712).
6. Waddell, H.T. and G.F. Wever. 1963. Physiology and pathology of *Septoria* species on *Chrysanthemum*. *Mycologia* 55: 442-452.