

## 瓜葉菊葉斑病病徵及病原菌形態、生理之研究初報

楊秀珠<sup>1</sup> 呂理焱<sup>1</sup>

(接受日期：民國69年10月13日)

### 摘 要

瓜葉菊葉斑病由老葉開始出現褐色斑點，後向上蔓延，嚴重時整株枯死。高濕時病斑部產生病原菌 (*Alternaria senecionis* Neerg) 的分生孢子；分生孢子 4—7 橫隔膜，另有 1—2 縱隔膜，平均大小為  $13.7 \times 32.3 \mu\text{m}$ 。

本菌菌絲生長及孢子發芽之最適溫為 24°C，而產胞之最適溫則為 28°C。對碳素源之利用以澱粉 (starch) 為最佳，其次為半乳糖 (Galactose) 及甘露糖 (Mannose)；含果糖 (Fructose)、木糖 (Xylose)、麥芽糖 (Maltose)、葡萄糖 (Glucose)、乳糖 (Lactose)、阿拉伯糖 (Arabinose)、蔗糖 (Sucrose)、棉實糖 (Raffinose)、清涼茶醇 (Sorbitol)、及甘油 (Glycerin) 培養基中之菌絲生長與對照組無顯著差異。氮素源中則最能利用酪蛋白質 (Casein) 及氨基乙酸 (Glycine)，對硫酸銨 ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ )、硝酸鈉 ( $\text{NaNO}_3$ )、硝酸銨 ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )、氯化銨 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )、硝酸鉀 ( $\text{KNO}_3$ ) 及麩酸 (Glutamic acid) 之利用能力不佳。

六種培養基中以燕麥培養基及 V—8 培養基中之產胞量最多，於 28°C 時，培養 20 天之產胞量每平方公分分別為  $246 \times 10^3$  及  $295 \times 10^3$ 。於 2.5% 洋菜平板、玉米培養基及馬鈴薯葡萄糖培養基中加入香蕉葉片時，產胞量增加。

本菌分生孢子之蒸餾水懸浮液置於 24°C 2 小時後開始發芽，8 小時後發芽率達 84.7%，發芽管長度平均為  $124 \mu\text{m}$ ，24 小時後發芽管長達  $694 \mu\text{m}$ 。將本菌接種於瓜葉菊及刈葉萵苣，均可產生典型病斑，由萵苣葉斑病分離之病菌接種於萵苣上，可產生典型病斑，惟接種瓜葉菊時却未能產生病斑。

(關鍵字：瓜葉菊葉斑病, *Alternaria senecionis* Neerg., 萵苣葉斑病, *Alternaria alternata* comp.)

### 緒 言

瓜葉菊 (*Senecio cruentus* DC.) 葉片寬大，形如瓜葉，屬菊科一年生草本，故稱瓜葉菊，英文稱 Cineraria。在臺灣多於冬季栽培，栽培期間葉片易罹患葉斑病，葉片產生斑點，破碎而影響其觀賞價值。瓜葉菊為臺灣近年來新興花卉之一，葉斑病在國外報導為 *Alternaria senecionis* Neerg. 所引起，但臺灣地區仍未有報導，本文就其病徵、病原菌之形態及生理性質作初步探討。

### 材料與方法

**病徵及病原菌之觀察** 於埔里地區及在臺灣植物保護中心觀察病株上病斑之進展情形。病葉置入高濕度之培養皿內，待產胞後用玻璃針作單胞分離，並觀察孢子之形態、着生情形及量孢子大小。

**溫度、碳素源及氮素源對病原菌生長之影響** 培養於馬鈴薯葡萄糖培養基 3—5 天之接種源以 0.5 公分直徑之打孔器取外緣菌絲，移植於含 10ml 馬鈴薯葡萄糖汁液之 50ml 三

角瓶，每瓶放菌絲塊後分別放入16、20、22、24、26、28、32、及36°C之定溫箱內，每處理3重複，一星期後取出於90°C烘乾24小時後秤菌絲乾重。

不同碳素源對本菌生長之影響則以Czapek's 培養基作為基礎培養基，以澱粉 (Starch)、半乳糖 (Galactose)、甘露糖 (Mannose)、果糖 (Fructose)、木糖 (Xylose)、麥芽糖 (Maltose)、葡萄糖 (Glucose)、乳糖 (Lactose)、阿拉伯糖 (Arabinose)、蔗糖 (sucrose)、棉實糖 (Raffinose)、清涼茶醇 (Sorbitol) 及甘油 (Glycerin) 各3%作為碳素源，並以不加碳素源者作為對照，每處理20ml裝於100ml之三角瓶，每處理3重複，前後試驗兩次，如上移植菌源後置於26°C定溫箱內，培養兩星期後秤菌絲乾重，以6瓶之平均值表示生長量。氮素源則以酪蛋白質 (Casein)、氨基乙酸 (Glycine)、硫酸銨 ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、硝酸鈉 (NaNO<sub>3</sub>)、硝酸銨 (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)、氯化銨 (NH<sub>4</sub>Cl)、硝酸鉀 (KNO<sub>3</sub>) 及麩酸 (Glutamic acid) 各0.2%作為氮素源，並以不加氮素源者為對照，其詳細情形如碳素源試驗。

**溫度及不同培養基對產胞之影響** 培養於馬鈴薯葡萄糖培養基之本菌0.2公分方塊分別移入含10ml馬鈴薯葡萄糖培養基試管 (直徑1.8公分) 斜面，置入12、16、20、24、28、32、及36°C定溫箱內，20天後取出計數孢子數。計數孢子數時將3—4ml蒸餾水加入試管內後，用震盪器震動½~1分鐘，重複3次共10ml。然後以微量注射筒取0.5 μl，重複10滴共5 μl，放於顯微鏡下直接計數孢子<sup>(4)</sup>。並用面積測定器 (Area meter LI-300 Lamda Instrument Co.) 量生長面積，求平均每平方公分產胞量。

不同培養基對產胞之影響，則將本菌移植入含10ml之2.5%洋菜平板 (Water agar)、玉米培養基 (Cornmeal agar)、燕麥培養基 (Oatmeal agar) 及V—8培養基試管斜面，置於28°C培養20天後如上述求產胞量。另外將前三種培養基各10ml倒入9公分直徑

之培養皿，待凝固後其上覆蓋已經高溫殺菌之6公分香蕉葉片，移入本菌菌塊後，亦置28°C經20天後如上述求產胞量。

**孢子發芽** 馬鈴薯葡萄糖培養基培養之本菌以殺菌水洗出分生孢子，配製成1.5~2.5 × 10<sup>6</sup> 孢子/毫升之孢子懸浮液，置入8、12、16、20、22、24、26、28、32及36°C之定溫箱內，8小時後取出以溶於Lacto phenol之Cotton blue固定染色後計數發芽率。24°C者又分別於2、3、4、5、6、7、8、24小時後取出計數發芽率，並量50個發芽管長度，求發芽管平均長度。

**接種試驗** 採瓜葉菊及萵苣葉斑病之病葉，分別放入塑膠袋內保持濕度，經3—5天產胞後，洗出孢子調成1.5~2.5 × 10<sup>6</sup> 孢子/毫升之孢子懸浮液，分別接種於瓜葉菊及刈葉萵苣 (*Lactuca sativa* var. *intybeacea* Hort.) 盆栽植株。接種後置於密閉溫室 (24—26°C)，維持全日噴霧3日，觀察發病情形共40日。

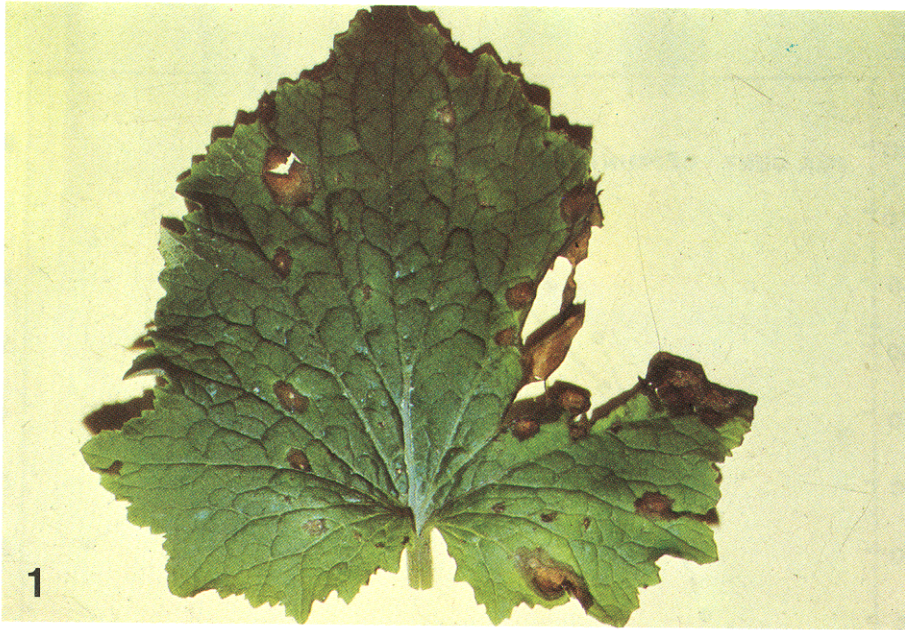
## 結 果

**病徵** 瓜葉菊葉斑病由老葉開始出現褐色小斑點，後逐漸擴大，呈不規則型病斑，中央有時褪色呈灰褐色，嚴重時病斑癒合，至後期病斑破裂，濕度高時病斑附近組織呈腐爛現象。同時病勢向上蔓延至全株，輕則失去其商品價值 (圖一)，重者整株枯死。病斑部份遇濕度則產生分生孢子。

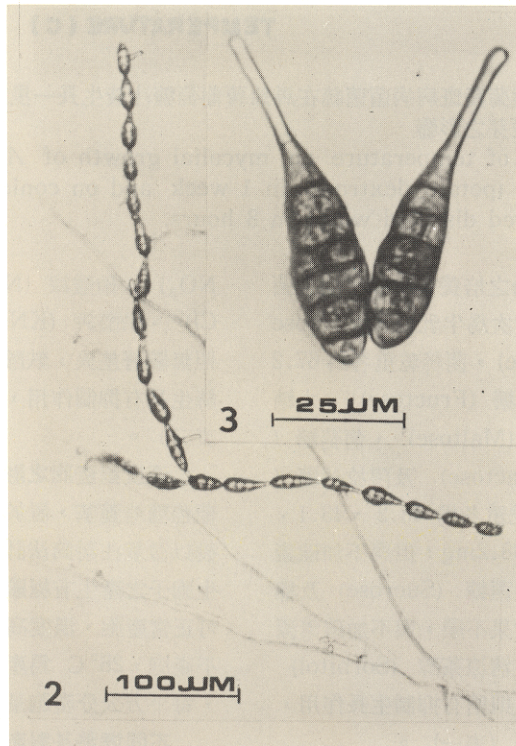
**病原菌** *Alternaria senecionis* Neerg. 之分生孢子串生，一般4—7橫隔膜，有1—2縱隔膜，大小為8—17 × 19—48 μm，平均13.7 × 32.3 μm，孢子末端細長 (圖二，圖三)。

**溫度對本菌菌絲生長之影響** 本菌培養於馬鈴薯葡萄糖汁液，於不同溫度之定溫箱內培養一星期後，秤菌絲乾重結果，16—36°C之間菌絲生長正常，溫度高於36°C或低於16°C時菌絲不生長，而以24°C為最適溫，其每瓶平均菌絲乾重為77.1mg (圖四)。

**碳素源對本菌菌絲生長之影響** 十三種碳素源中澱粉 (Starch) 最能促進菌絲生長，

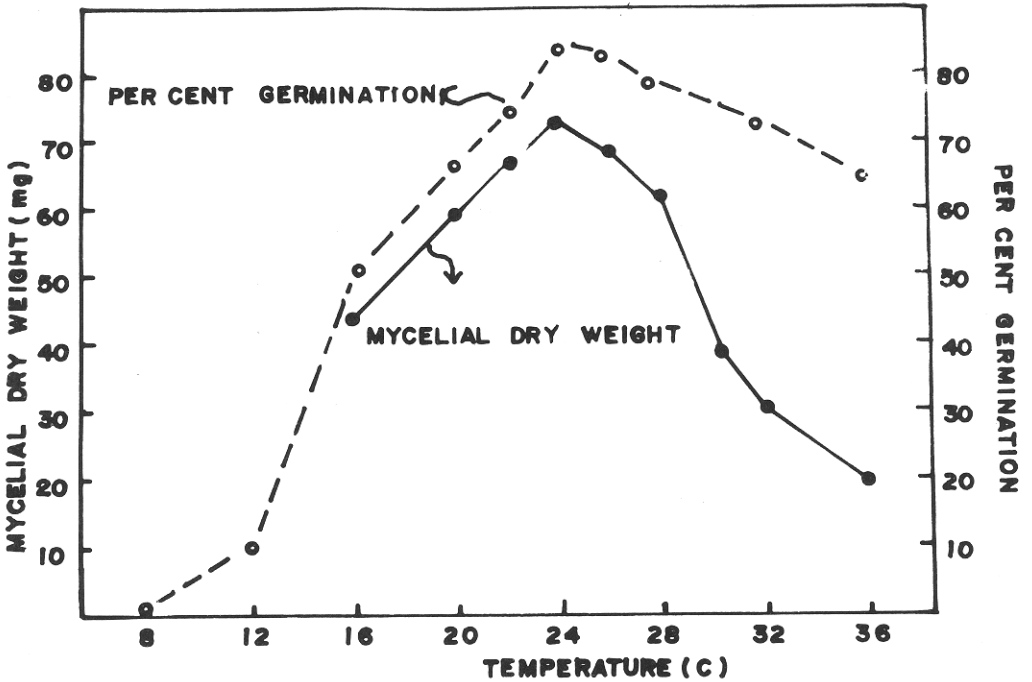


圖一、瓜葉菊葉斑病病徵。  
Fig. 1. Symptoms of Cineraria leaf spot.



圖二、洋菜平板 (2.5%) 上所產生瓜葉菊葉斑病病菌串生分生孢子。  
Fig. 2. Catenulate conidia of Cineraria leaf spot fungus (*Alternaria senecionis*) on 2.5% water agar.

圖三、瓜葉菊葉斑病病菌分生孢子 (放大)。  
Fig. 3. Conidia of *Alternaria senecionis*, enlarged.



圖四、溫度對瓜葉菊葉斑病菌菌絲在馬鈴薯葡萄糖汁液生長一星期及孢子在殺菌水中8小時內發芽之影響

Fig. 4. Effect of temperature on mycelial growth of *Alternaria senecionis* on PD (potato dextrose) in 1 week and on conidia germination in sterilized distilled water in 8 hours.

26°C 時培養於含澱粉之培養基中二星期之菌絲乾重為99.7 mg，其次為半乳糖(Galactose)及甘露糖(Mannose)，菌絲乾重各為67.2及66.2mg，再次為果糖(Fructose)、木糖(Xylose)、麥芽糖(Maltose)、葡萄糖(Glucose)、乳糖(Lactose)及阿拉伯糖(Arabinose)，菌絲乾重各為46.2、43.1、42.7、41.8、38.9及38.2mg，但與不加碳素源之對照無顯著差異，蔗糖(Sucrose)及棉實糖(Raffinose)效果不顯，與不加碳素源之對照亦無顯著差異，清涼茶醇(Sorbitol)及甘油(Glycerin)則稍有抑制生長作用，但與對照仍無顯著差異(表一)。

**氮素源對本菌菌絲生長之影響** 八種氮素源中以含酪蛋白質(Casein)及氨基乙酸(Glycine)之培養基中菌絲生長較為良好，菌絲於含硫酸銨((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、硝酸鈉(Na

NO<sub>3</sub>)、硝酸銨(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>)、氯化銨(NH<sub>4</sub>Cl)、硝酸鉀(KNO<sub>3</sub>)培養基中生長則與對照無顯著差異，麩酸(Glutamic acid)對菌絲生長有抑制作用，但與對照仍無顯著差異(表二)。

**溫度對產胞之影響** 本菌培養於馬鈴薯葡萄糖培養基，置於不同溫度培養20天，水洗後以微量注射筒法計數孢子量結果，溫度對分生孢子之產生有極顯著之影響，20~28°C間可正常產胞，溫度高於28°C或低於20°C時均不產胞，28°C為產胞之最高溫，亦為最適溫，每平方公分產胞量 43.7 × 10<sup>3</sup>(表三)。

**不同培養基對產胞之影響** 本菌在28°C下培養於五種不同培養基20天後，每平方公分孢子量以V-8培養基上最多，達295,220，其次為燕麥培養基(Oatmeal agar)，再次為馬鈴薯葡萄糖培養基(PDA)及胡蘿蔔培

表一、碳素源對瓜葉菊葉斑病病菌絲生長之影響 (26°C, 2 星期)

Table 1. Effect of carbon sources added to Czapek's medium on the growth of *Alternaria senecionis* incubated at 26°C for 2 weeks.

Carbon source	Dry weight of mycelia (mg) <sup>a/</sup>	
Starch	99.73 a	a'
Galactose	67.21 a	b'
Mannose	66.20 ab	b'
Fructose	46.20 bc	b' c'
Xylose	43.01 bc	b' c'
Maltose	42.71 bc	b' c'
Glucose	41.81 bc	b' c'
Lactose	38.85 bc	b' c'
Arabinose	38.21 bc	b' c'
Sucrose	31.36 c	b' c'
Raffinose	30.50 c	c'
Sorbitol	25.61 c	c'
Glycerin	22.43 c	c'
Control	28.31 c	c'

a). Comparison of differences at level of multiple range test with significance of 5% (with') and 1% (without').

表二、氮素源對瓜葉菊葉斑病病菌絲生長之影響 (26°C, 2 星期)

Table 2. Effect of nitrogen sources added to Czapek's medium on the growth of *Alternaria senecionis* incubated at 26°C for 2 weeks.

Nitrogen source	Dry weight of mycelia (mg) <sup>a/</sup>	
Casein	43.60 a	a'
Glycine	39.68 ab	a' b'
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	25.54 abc	b' c'
NaNO <sub>3</sub>	25.46 abc	b' c'
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	23.03 abc	b' c'
NH <sub>4</sub> Cl	22.84 abc	b' c'
KNO <sub>3</sub>	22.35 abc	b' c'
Glumatic acid	15.65 c	c'
Control	22.18 bc	b' c'

a). Comparison of differences at level of multiple range test with significance of 5% (with') and 1% (without').

表三、溫度對瓜葉菊葉斑病菌孢子產生之影響

Table 3. Effect of temperature on the sporulation of *Alternaria senecionis* cultured on PDA (potato dextrose agar) for 20 days.

Temperature (°C)	No. of conidia ( $\times 10^3/\text{cm}^2$ )
20	3.87
22	1.65
24	17.82
26	31.61
28	43.70

養基 (Carrot agar), 孢子數各為246、130、162、610、133、850、玉米培養基 (Cornmeal agar) 及2.5%洋菜平板 (Water agar) 上產胞效果較差, 各為28、780及2,050 (表四)。

表四、不同培養基對瓜葉菊葉斑病菌孢子產生之影響

Table 4. The sporulation of *Alternaria senecionis* on six different media incubated at 28°C for 20 days.

Medium	No. of conidia ( $\times 10^3/\text{cm}^2$ )
Water agar	2.1
Cornmeal agar	28.8
Carrot agar	133.9
PDA	162.6
Oatmeal agar	246.1
V-8 agar	295.2

香蕉葉片加入 2.5% 洋菜平板 (Water agar), 產胞量由未加香蕉葉片每平方公分  $1.11 \times 10^3$  增至  $7.18 \times 10^4$ , 增加率高達70倍。玉米培養基者則由  $1.58 \times 10^4$  增至  $5.8 \times 10^4$ , 增加4倍, 馬鈴薯葡萄糖培養基者差異不大, 由  $8.86 \times 10^4$  增至  $9.72 \times 10^4$ 。

**孢子發芽** 本菌用殺菌水配製之孢子懸浮液, 於 24°C 定溫箱內 2 小時即可抽出發芽管, 發芽率 4.1%, 3 小時後增至 24%, 至 8 小時已高達 84.2%。發芽管長度 2 小時為 8.7  $\mu\text{m}$ , 3 小時 17  $\mu\text{m}$ , 至 8 小時已增至 124.4  $\mu\text{m}$ , 24 小時後發芽管長度已達 694.2  $\mu\text{m}$ , 此時大量菌絲互交叉重疊, 已無法計數發芽率 (

表五)。

分生孢子於 8~36°C 間均可抽出發芽管發芽, 以 24°C 為其發芽最適溫, 8 小時後發芽率高達 84.7% (圖四)。

**接種試驗** 將瓜葉菊葉斑病菌分別接種於瓜葉菊及刈葉萵苣, 維持噴霧 3 日後, 不論瓜葉菊或刈葉萵苣均產生多數初期褐色小斑點, 瓜葉菊上之斑點逐漸擴大, 7—10 天後形成典型葉斑病之病徵, 以後整株枯死, 萵苣上之病斑進展較慢, 20~30 天後始形成典型之病斑, 鏡檢二者之分生孢子, 均屬於瓜葉菊葉斑病之分生孢子, 不受寄主影響。用萵苣葉斑病菌接種時, 僅萵苣產生典型病斑, 需時亦為

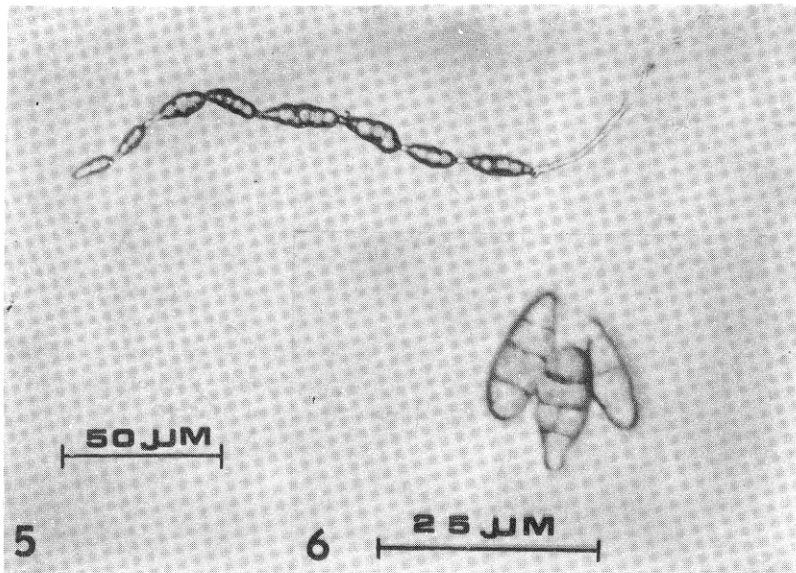
表五、瓜葉菊葉斑病病菌孢子之發芽率及發芽管

Table 5. The per cent germination and length of germ tube of *Alternaria senecionis* in sterilized distilled water incubated at 24°C for hours.

Time (hr)	Per cent germination	Length of germ tube (μm)
2	4.1	8.7
3	24.0	17.0
4	48.6	41.2
5	62.6	54.4
6	75.6	77.8
7	80.9	99.3
8	84.2	124.4
24	—	694.2

7—10天，瓜葉菊上未產生病斑。用人工培養所得及病葉上之孢子接種結果皆相同。鏡檢萵苣葉斑病病原菌，分生孢子串生，有1—5橫

隔膜，及1—2縱隔膜，大小為5~15×10~30μm，平均11.05×18.97μm（圖五、六），可能為 *Alternaria alternata* comp.）。



圖五、洋菜平板（2.5%）上所產生萵苣葉斑病病菌串生分生孢子

Fig. 5. Catenulate conidia of lettuce leaf spot fungus (*Alternaria alternata* comp.) on 2.5% water agar.

圖六、萵苣葉斑病病菌分生孢子（放大）

Fig. 6. Conidia of *Alternaria alternata* comp., enlarged.

## 討 論

瓜葉菊於6—7年前引入臺灣，經濟栽培為近2—3年才興起，因此瓜葉菊葉斑病之發生在臺灣仍未有報導。丹麥<sup>(5)</sup>、美國<sup>(7)</sup>、阿根廷<sup>(2)</sup>及義大利<sup>(6)</sup>已有本病發生之報告。本菌以24°C為其菌絲生長及孢子發芽之最適溫，碳素源中以利用澱粉之能力最好，其次為半乳糖及甘露糖，利用清涼茶醇及甘油之能力不佳。氮素源中最能利用酪蛋白質及氨基乙酸，硫酸銨、硝酸銨、氯化銨、硝酸鈉及硝酸鉀之利用能力不佳，亦即本菌對銨態氮及硝酸態氮利用能力不強，而較能利用有機氮，而黝酸却反而有抑制生長作用。

國外報告本病病原菌經接種可感染高苣<sup>(5,7)</sup>或未能感染高苣<sup>(2)</sup>，本試驗結果瓜葉菊葉斑病病原菌經接種可感染瓜葉菊及高苣，但對後者之病原性似較弱，自高苣分離之病原菌僅感染高苣而不感染瓜葉菊，與 Sobers 之報告相似<sup>(7)</sup>，此現象之造成可能與所使用之高苣品種有關，因品種間反應差異，而形成此等不同結果。又高苣上之 *Alternaria* 種類據報告可多達8種<sup>(1,3,5,8)</sup>，因此不同研究者報告對瓜葉菊之病原性有所不同，實亦不足為奇。

不同瓜葉菊品種對本病之抗感性有極大差異，抗病品種應可用為防治本病方法之一。本病菌在溫度較高時生育良好，此事實與本病在冬季溫度較高時發生較嚴重相符合。

## 謝 辭

臺灣植物保護中心植物病理組研究報告第23號。本研究承農林廳植物保護科計劃資助，謹此誌謝。

## 引 用 文 獻

1. Anonymous. 1959. Plant Pathology.

- Rep. Dep. Agr. Mauritius, pp. 41—49 (Rev. Appl. Mycol. 40:651).
2. Carranza, J.M. 1965. Mancha de la joja de la Cineraria ('Senecio cruentus') producida por 'Alternaria senecionis' Neerg. (Leaf spot of Cineraria (*S. cruentus*) caused by *A. senecionis*.)—Revta. Fac. Agron. Univ. nac. La Plata, 41:121—133. (Rev. Appl. Mycol. 46:438).
3. Jacks, H. 1951. Seed disinfection. 1. Preliminary selection of vegetable-seed protectant. N. Z. J. Sci. Tech., Sect. A, 33:27—28 (Rev. Appl. Mycol. 32:2—3).
4. Ko, W.H., L. L. Chase and P. K. Kunimoto. 1973. A microsyringe method for determining concentration of fungal propagules. Phytopathology 63:1206—1207.
5. Neergaard, P. 1945. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. 560pp. Oxford University Press, London, England (Rev. Appl. Mycol. 25:579—582).
6. Ragozzino, A., and V. Travaglini. 1966. L'alternariosi della Cineraria in Campaina. (*Alternaria* disease of Cineraria in Campaina)—annali Fac. Sci. Agr. Univ. Napoli Ser. IV, 1:3—11 (Rev. Plant Pathol. 49:432).
7. Sobers, E. K. 1865. A leafspot of *Senecio confusus* caused by *Alternaria senecionis*. Pro. Florida State Hort. Soc. 77th annual meeting. 1964 (Rev. Appl. Mycol. 45:244).
8. Viegas, A. P. 1946. Alguns fungos do Brasil. XIII. Hifomicetos (Some fungi of Brazil. XIII. Hyphomycetes.)—Bragantia, S. Paulo, vi, 8:353—442 (Rev. Appl. Mycol. 27:100).

**SYMPTOMS, MORPHOLOGY AND SOME PHYSIOLOGICAL  
CHARACTERS OF *ALTERNARIA SENECIONIS* NEERG.,  
A CAUSAL ORGANISM OF CINERARIA LEAF SPOT**

H. C. Yang<sup>1</sup> and L. S. Leu<sup>1</sup>

The symptoms of the Cineraria leaf spot caused by *Alternaria senecionis* Neerg. are as follows, necrotic spots beginning with the older leaves and then progressing to the younger leaves. The damaged plants usually lose their market-value and die eventually in severe cases.

Conidia of *A. senecionis* measure  $13.7 \times 32.3 \mu\text{m}$  in average, with 4-7 transverse septa and 1-2 longitudinal septa, and are borne in chain.

The optimum temperature for mycelial growth and conidial germination was 24 C and 28 C for sporulation. Among the thirteen carbon sources tested, starch was found to be the best for mycelial growth. Both galactose and mannose promoted mycelial growth, however, fructose, xylose, maltose, glucose, lactose, arabinose, sucrose, raffinose, sorbitol, and glycerin made no significant difference in comparison with the control. Casein and glycine were the most suitable for mycelial growth among eight nitrogen sources tested. Ammonium sulfate, sodium

(Key words: Cineraria leaf spot, *Alternaria senecionis* Neerg., lettuce leaf spot, *Alternaria alternata* comp.)

nitrate, ammonium nitrate, ammonium chloride, and potassium nitrate stimulated similar mycelial growth, but glutamic acid suppressed it slightly with no significant difference from the control.

Sporulation was abundant when the fungus was cultured on oatmeal agar or V-8 agar. The count was  $246 \times 10^3$  or  $295 \times 10^3$  per  $\text{cm}^2$ , respectively. Sporulation was more abundant by amending banana leaf on 2.5% water agar, cornmeal agar or PDA than that on each medium alone. Conidia began to develop a germ tube in sterile water by the 2nd hr at 24°C incubation temperature. The per cent germination reached 84.7% after 8 hr of incubation. Germ tubes grew an average of 124  $\mu\text{m}$  and 694  $\mu\text{m}$  after 8 or 24 hr incubation, respectively.

In inoculation tests, *Alternaria senecionis* Neerg. isolated from Cineraria produced typical symptoms on both Cineraria and lettuce. However, *Alternaria alternata* comp. isolated from lettuce, only produced typical symptoms on lettuce, and none on Cineraria.

1. Plant Pathology Division, Plant Protection Center, Taiwan. Wufeng Taichung, Taiwan 431, Republic of China.