

## 台灣十字花科蔬菜黑斑病的病原菌特性

黃振文<sup>1</sup> 鍾文全<sup>2</sup>

1. 台中市 國立中興大學植病系
  2. 台中縣新社鄉 農林廳種苗改良繁殖場
- 接受日期：中華民國 82 年 8 月 20 日

### 摘 要

黃振文、鍾文全，1993。台灣十字花科蔬菜黑斑病的病原菌特性。植病會刊 2:141-148。

本省十字花科蔬菜黑斑病主要是由 *Alternaria brassicicola* 與 *A. brassicae* 等兩菌所引起，其中以 *A. brassicicola* 的出現頻率較高。*A. brassicicola* 的分生孢子具縱橫隔膜，暗褐色，有或無口喙，長串鏈生，大小為 7.7-46.3 × 7.7-19.3 μm；*A. brassicae* 的分生孢子亦具縱橫隔膜，淡褐色，有 15.4-115.5 μm 長的口喙，單生或短鏈生，大小為 77.0-231.2 × 15.4-30.8 μm。這兩種病原菌具有相同的寄主範圍，除為害白花芥藍、蘿蔔、芥菜、油菜、甘藍、包心白菜與青江白菜等十字花科蔬菜外，亦可為害細葉碎米薺。比較兩菌菌株間的致病毒力，發現 *A. brassicicola* 菌株間的致病毒力差異顯著，而 *A. brassicae* 菌株間則差異不明顯。利用掃描式電子顯微鏡觀察兩菌在白花芥藍葉表的侵入方式，發現大部分的 *A. brassicicola* 先形成附著器，再行侵入寄主，惟 *A. brassicae* 主要是經由氣孔侵入。此外，在白花芥藍葉表，*A. brassicicola* 與 *A. brassicae* 發芽的最適溫度分別是 16-32 C 與 12-24 C；形成附著器的最適溫度分別是 24-28 C 與 24 C；而兩者侵入葉片造成病斑的最適溫度則分別為 28 C 與 24 C。

關鍵詞：十字花科蔬菜黑斑病，分生孢子形態，寄主範圍，致病毒力，侵入寄主方式。

### 緒 言

本省十字花科蔬菜黑斑病，主要由 *Alternaria brassicicola* (Schw.) Wiltshire 與 *A. brassicae* (Berk.) Sacc. 引起。兩菌可危害十字花科蔬菜的葉片、葉柄、莖部、種莢和種子。葉片受害時，初為褐色小斑點，隨後逐漸擴展為褐色，具有同心輪紋的壞疽斑。在潮濕的環境，病斑擴展快速，常產生許多孢柄及分生孢子，並在末期引起葉片黃化枯死的現象。此外，本菌尚可引起葉柄與莖部凹陷的黑色圓形斑或條斑及種子皺縮，與幼苗猝倒的現象(14,19)。本省自 1931 年曾有澤田兼吉氏(16)報導本病的發生後，直到近年來才有黃氏等(1)，吳氏(23)，吳和吳氏(24)和鍾氏(2)等學者的後續研究工作，惟對本病的病原菌特性之認識尚嫌不足。因此，本文的主要目的在於探討 *A. brassicicola* 和 *A. brassicae* 兩菌的形態，寄主範圍與比較菌株間的致病毒力等特性，祈有助於明瞭本省十字花科蔬菜黑斑病的發生與防治。

### 材料與方法

#### 供試菌株來源

從本省各地十字花科蔬菜黑斑病的罹病田，採得種子和病葉，以 *Alternaria* 半選擇性培養基(1)及 2% 水瓊脂培養基(Water agar, WA)進行組織分離後，再經單孢分離與培養，共獲得 50 個菌株。然後按柯霍氏法則確定各菌株的病原性後，並選 *A. brassicicola* 的 ABA-06 與 ABA-13 菌株及 *A. brassicae* 的 ABE-01 與 ABE-02 菌株作為本研究的主要供試菌。

#### 供試植株

購自台中大里鄉之白花芥藍種子，經 1% 次氯酸鈉溶液消毒三分鐘後，直播於盛有大里土壤(混有 0.03% (w/w) 尿素)的花盆(內徑 18 cm)中，在網室內，經一星期後，使每盆保留植株一棵繼續培育一個月，以作為本研究噴霧接種之用。

## 接種源的製備

將在2%水瓊脂平板生長五天的ABA-06、ABA-13、ABE-01及ABE-02等四菌株，以打孔器(內徑0.6 cm)切取菌落邊緣的菌絲塊，然後將菌絲塊移植於20%蔬菜瓊脂(V-8 agar)平板上。在24°C，無光照培養七天後，每一平板加入十毫升的無菌水，並以移植針輕刮菌落後，以雙層紗布濾除菌絲和雜質，即獲得接種用的孢子懸浮液。

## 病害調查法

調查白花芥藍第三、第四位葉的壞疽病斑，並依其直徑大小歸納成四級：即無病斑者為0級，病斑直徑0.1-1 mm，有或無黃暈者為1級，壞疽斑直徑1.1-5 mm者為2級，壞疽斑直徑5.1-10 mm者為3級與壞疽斑直徑10.1 mm以上者為4級。然後以下列公式，求得葉片的罹病度。即：罹病度(%) =  $(\sum(\text{病斑級數} \times \text{該級病斑數})) / (4 \times \text{總病斑數}) \times 100\%$ 。

## 黑斑病菌分生孢子的大小與形態的觀察

將在20% V-8培養基生長七天的 *A. brassicicola* 之ABA-06和 *A. brassicae* 之ABE-02兩菌株，分別以消毒過的移植針把兩菌株的分生孢子移置於含無菌水的玻片上，隨即蓋以蓋玻片，並在顯微鏡下逢機量取100個分生孢子的長與寬，然後計算兩菌分生孢子的大小平均值。此外，按Riddell (13)的玻片培養法，將兩菌株分別培養於2%水瓊脂培養基上，在24°C定溫箱中培養五天後，鏡檢兩菌的產孢與分生孢子之著生方式。

## 黑斑病菌的寄生範圍測定

將蘿蔔(*Raphanus sativus* L.)，高峰甘藍(*Brassica oleracea* L.)，小白菜(*B. rapa* L. Chinensis Group)，白花芥藍(*B. oleracea* L. Alboglabra Group)，油菜(*B. rapa* L. Chinensis Group)，芥菜[*B. juncea* (L.) Czerniak]，包心白菜(*B. rapa* L. Pekinensis Group)，青江白菜(*B. rapa* L. Chinensis Group)，細葉碎米薺(*Cardamine flexuosa* With)，牛筋草[*Eleusine indica* (L.) Gaertn.]，水丁香[*Ludwigia octovalvis* (Jacq.) Raven]，山芥菜[*Rorippa indica* (L.) Hiern]，薺菜(*Capsella bursa-pastoris* L.)等八種十字花科蔬菜和六種雜草種子，經1%次氯酸鈉消毒三分鐘後，分別播種於盛有大里土壤的花盆(內徑18 cm)內，每盆播種種子十粒，各有六重複。在網室中，將ABA-06，ABA-13，ABE-01與ABE-02等四菌株的孢子懸浮液

( $10^5$  spores/ml)，分別噴霧接種在株齡二星期的14種上述植株上，再套以塑膠袋保濕24小時後，隨即除去塑膠袋，並置於網室中二天，仔細觀察各植株有無病菌為害的病斑出現。

## 黑斑病菌菌株間致病毒力的比較

將40個 *A. brassicicola* 菌株和10個 *A. brassicae* 菌株分別單孢培養在20% V-8培養基七天，然後按上述第三項的方法，把各菌株的孢子懸浮液濃度配成 $1 \times 10^5$  spores/ml，並分別噴霧接種在株齡一個月的白花芥藍植株上，經七天後，調查各盆植株第二及第四兩位葉的平均黑斑病罹病度，藉以比較兩菌各菌株在白花芥藍葉片的致病毒力(Virulence)強弱。其中各菌株接種的植株均有六重複，且連續進行兩次相同的重複試驗。

## 黑斑病菌在白花芥藍葉表的侵入方式比較

將ABA-06，ABA-13，ABE-01與ABE-02等四菌株的孢子懸浮液( $10^5$  spores/ml)，分別噴霧接種在白花芥藍植株上，保濕一天後，以消毒過的解剖刀切取接種病菌的葉片組織(ca. 5mm<sup>2</sup>)，每處理有四片。然後模仿Tsuneda和Skoropad (20)製備掃描式電子顯微鏡觀察用之組織材料法：將標本置於2%戊二醛(glutaraldehyde)溶液中，在4°C溫度固定一天後，以0.1 M磷酸緩衝液(phosphate buffer solution, pH 7.0)漂洗四次，每次五分鐘，再經乙醇(25%、50%、70%、80%、90%、95%和100%系列脫水三次，每次15分鐘)；隨後做CO<sub>2</sub>臨界點乾燥(LADD, Model 28000)五次，每次12分鐘，再以一層金膜(JBS, Sputter coater E5150)披覆之。把製作完成的標本移到載物檯上後，利用掃描式電子顯微鏡(BAUSCH & LOMB, SEM Nanolab 2100)觀察比較兩菌侵入寄土的方式及不同方式間的百分率，其中每處理逢機計算100個孢子，共計有四重複。

## 溫度對黑斑病菌在白花芥藍葉表的發芽百分率，附著器形成及侵入的影響

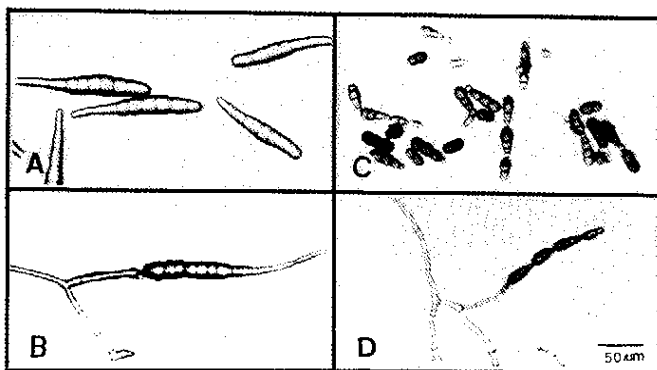
將ABA-06，ABA-13，ABE-01與ABE-02等四菌株的孢子懸浮液( $10^5$  spores/ml)，噴霧接種在培養皿內保濕的白花芥藍葉表上，然後將各菌株分別置於4、8、12、16、20、24、28、32與36°C的定溫箱中，每處理有四重複，經24小時後，以0.05%棉藍染色固定之，再以垂直光源顯微鏡觀察各菌株在不同溫度處理之葉表的孢子發芽率和形成附著器的數目；隨後在48小時時，記錄兩菌在葉表引起的病斑數。

表一、十字花科蔬菜黑斑病菌 *Alternaria brassicicola* (ABA-06 & ABA-13 菌株) 與 *A. brassicae* (ABE-01 & ABE-02 菌株) 之病原性TABLE 1. Pathogenicity of *Alternaria brassicicola* (isolates ABA-06 and ABA-13) and *A. brassicae* (isolates ABE-01 and ABE-02) in greenhouse

Crucifers & weeds <sup>1</sup>	<i>A. brassicicola</i>		<i>A. brassicae</i>	
	ABA-06	ABA-13	ABE-01	ABE-02
<i>Brassica rapa</i> L. Chinensis Group (小白菜)	+	+ <sup>2</sup>	+	+
<i>Brassica rapa</i> L. Chinensis Group (青江白菜)	+	+	+	+
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>pekinensis</i> (包心白菜)	+	+	+	+
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> (甘藍)	+	+	+	+
<i>Brassica rapa</i> L. Chinensis Group (油菜)	+	+	+	+
<i>Brassica juncea</i> L. (芥菜)	+	+	+	+
<i>Raphanus sativus</i> L. (蘿蔔)	+	+	+	+
<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>alboglabra</i> (芥藍)	+	+	+	+
<i>Cardamine flexuosa</i> (細葉碎米薺)	+	+	+	+
<i>Rorippa indica</i> (山芥菜)	-	-	-	-
<i>Capsella bursa-pastoris</i> L. (薺菜)	-	-	-	-
<i>Eleusine indica</i> (牛筋草)	-	-	-	-
<i>Ludwigia octovalvis</i> (水丁香)	-	-	-	-
<i>Amaranthus viridis</i> (野莧)	-	-	-	-

<sup>1</sup> Two-wk-old seedlings of crucifers or weeds were sprayed with conidial suspension ( $10^5$  spores/ml) of *Alternaria brassicicola* and *A. brassicae*.

<sup>2</sup> + : with symptoms; - : no symptoms.



圖一、*Alternaria brassicae* (A & B) 和 *A. brassicicola* (C & D) 之分生孢子形態與產孢方式。

Fig. 1. Conidial morphology and sporulation of *Alternaria brassicae* (A & B) and *A. brassicicola* (C & D).

## 結 果

### 黑斑病菌的分生孢子大小，形態與產孢方式

*A. brassicicola* 與 *A. brassicae* 兩菌在 20% V-8 培養基生長七天後，其分生孢子大小，形態和產孢方式有顯著的差異(圖一)。 *A. brassicicola* 的分生孢子長串鏈生，暗褐色，具 7.7-15.4  $\mu\text{m}$  的口喙(beak)或無口喙，並有 1-6 個橫隔膜及 0-3 個縱隔膜，大小為 7.7-46.3  $\times$  7.7-19.3  $\mu\text{m}$ ；至於 *A. brassicae* 的分生孢

子單生或鏈生，淡褐色，有 15.4-115.5  $\mu\text{m}$  長的口喙，並有 3-13 個橫隔膜及 1-6 個縱隔膜，大小為 77.0-231.2  $\times$  15.4-30.8  $\mu\text{m}$ 。

### 黑斑病菌的寄主範圍

將 *A. brassicicola* 的 ABA-06 與 ABA-13 及 *A. brassicae* 的 ABE-01 與 ABE-02 等四菌株之孢子懸浮液，分別接種在八種十字花科蔬菜和六種雜草的植株上，發現兩菌有相同的寄主範圍(表一)。它們除為害白花芥藍、蘿蔔、芥菜、油菜、甘藍、包心白菜、小白菜與青江白菜等十字花科蔬菜外，亦可為害細葉碎米薺。

### 黑斑病菌菌株間的致病毒力比較

將 *A. brassicicola* 的 40 個菌株和 *A. brassicae* 的 10 個菌株，分別接種在白花芥藍的植株上，發現 *A. brassicicola* 各菌株可引起黑斑病的罹病度介於 26.2% 至 61.7% 間，顯示它們的致病毒力間存在有顯著的差異(表二)。其中由永靖地區的平葉芥藍，大里地區的朝鮮白菜和新社地區的紫蘿蘭等植株分離的 ABA-03，ABA-31 與 ABA-20 菌株具有最强的致病毒力。至於，由大里地區的白花芥藍種子所分離的 ABA-04 菌株之致病毒力最弱，僅引起白花芥藍黑斑病 26.2-26.9% 的罹病度。此外，*A. brassicae* 各菌株引起白花芥藍黑斑病的罹病度均介於 50-50.9% 之間，顯示各菌株彼此間的致病毒力並無顯著差異(表三)。

表二、不同 *Alternaria brassicicola* 菌株對白花芥藍的致病力比較TABLE 2. Comparison of virulence among forty isolates of *Alternaria brassicicola* on Chinese kale plant in greenhouse

Isolate	Host	Isolated from	Location	Disease severity (%)	
				Experiment I	Experiment II
ABA-03	Kale	leaf	Yungching	61.7 <sup>1</sup> a <sup>2</sup>	56.8 a
ABA-31	Pai-Tsai	leaf	Tali	57.6 ab	56.1 a
ABA-20	Violet	seed	Hsinshe	55.3 abc	50.3 abcde
ABA-39	Chinese cabbage	leaf	Tainan	54.0 bcd	53.7 ab
ABA-24	Chinese cabbage	leaf	Wufeng	53.1 bcde	51.4 abcd
ABA-16	Radish	leaf	Ching-ching	52.6 bcde	51.6 abc
ABA-02	Ching-Chiang Pai-Tsai	seed	Tali	52.5 bcde	50.2 abcde
ABA-27	Chinese mustard	leaf	Wufeng	50.0 cdef	48.2 bcdef
ABA-12	Chinese cabbage	seed	Tali	49.9 cdef	45.9 cdefg
ABA-05	Cabbage	leaf	Tsui-feng	47.6 defg	44.6 defg
ABA-07	Kale	seed	Tainan	46.9 defg	43.8 efgh
ABA-10	Pai-Tsai	seed	Tali	46.5 efg	40.9 ghij
ABA-37	Radish	leaf	Tali	44.5 fgh	42.0 fgh
ABA-14	Mustard	seed	Tali	44.4 fgh	44.6 defg
ABA-01	Ching-Chiang Pai-Tsai	leaf	Tali	44.4 fghi	43.1 fgh
ABA-22	Cauliflower	leaf	Wufeng	43.8 fghi	43.6 efgh
ABA-06	Chinese kale	leaf	Tali	43.4 fghi	41.6 fghi
ABA-17	Radish	seed	Tali	42.4 ghij	42.9 fgh
ABA-13	Mustard	leaf	Tali	42.1 ghij	40.1 ghijk
ABA-34	Radish	leaf	Pingtung	42.0 ghij	41.5 fghi
ABA-33	Cabbage	seed	Hsinshe	38.9 hijk	34.3 jklm
ABA-09	Pai-Tsai	leaf	Tali	38.8 hijk	29.2 mn
ABA-28	Mustard	leaf	Wufeng	38.7 hijk	32.3 lmn
ABA-26	Rapeseed	leaf	Wufeng	38.6 hijk	40.0 ghijk
ABA-29	Radish	leaf	Wufeng	38.2 hijkl	34.0 klmn
ABA-15	Mustard	leaf	Shanlin-chi	37.7 hijkl	33.5 klm
ABA-25	Cauliflower	leaf	Wufeng	37.4 hijkl	33.1 lm
ABA-32	Radish	seed	Hsinshe	36.7 ijkl	32.5 lmn
ABA-30	Chinese cabbage	leaf	Wufeng	35.8 jklm	37.3 hijkl
ABA-36	Cabbage	leaf	Pingtung	35.6 jklm	32.8 lmn
ABA-11	Pai-Tsai	seed	Hsinshe	34.2 klmn	31.9 lmn
ABA-19	Cabbage	leaf	Shanlin-chi	33.8 klmn	32.5 lmn
ABA-38	Cauliflower	leaf	Pingtung	33.6 klmn	33.5 klm
ABA-23	Pai-Tsai	leaf	Wufeng	33.2 klmn	32.0 lmn
ABA-40	Mustard	leaf	Pingtung	32.7 klmn	32.1 lmn
ABA-08	Kale	seed	Yunlin	31.6 klmn	34.9 ijklm
ABA-21	Chinese mustard	leaf	Wufeng	31.4 klmn	31.4 lmn
ABA-18	Rapeseed	seed	Hsinshe	31.0 lmn	29.5 mn
ABA-35	Radish	seed	Pingtung	29.1 mn	29.7 mn
ABA-04	Chinese kale	seed	Tali	26.9 n	26.2 n

<sup>1</sup> Disease severity was recorded seven days after inoculation.

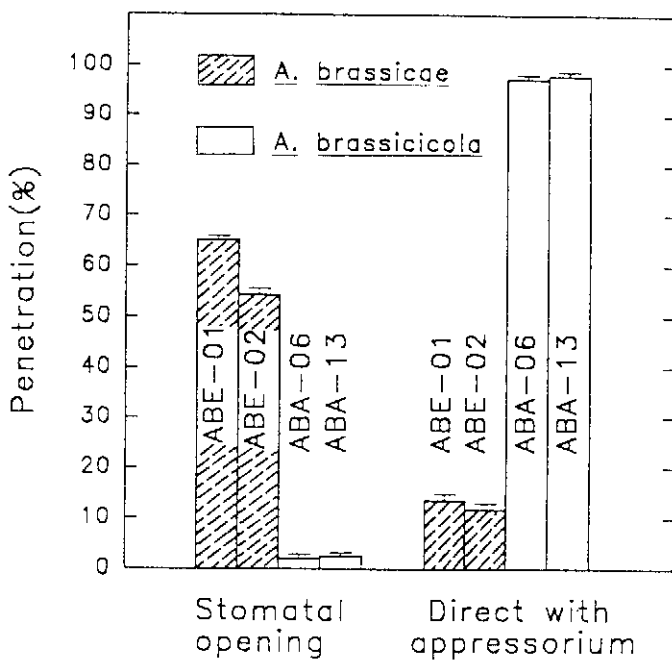
<sup>2</sup> Means (n=6) in the column of each experiment followed by the same letter are not significantly different ( $P=0.05$ ) according to Tukey's studentized range test.

表三、不同 *Alternaria brassicac* 菌株對白花芥藍的致病力比較TABLE 3. Comparison of virulence among ten isolates of *Alternaria brassicac* on Chinese kale plant in greenhouse

Isolate	Host	Isolated from	Location	Disease severity (%)	
				Experiment I	Experiment II
ABE-01	Chinese cabbage	leaf	Tainan	50.0 <sup>1</sup> a <sup>2</sup>	50.3 a
ABE-02	Shan-Tung Pai-Tsai	leaf	Ching-ching	50.1 a	50.8 a
ABE-03	Ching-Chiang Pai-Tsai	leaf	Ching-ching	50.8 a	50.6 a
ABE-04	Mustard	leaf	Ching-ching	50.4 a	50.0 a
ABE-05	Cabbage	leaf	Ching-ching	50.0 a	50.0 a
ABE-06	Mustard	leaf	Hsinyi	50.0 a	50.0 a
ABE-07	Cabbage	leaf	Hsinyi	50.8 a	50.2 a
ABE-08	Radish	leaf	Tali	50.0 a	50.0 a
ABE-09	Mustard	leaf	Tali	50.9 a	50.8 a
ABE-10	Cauliflower	seed	Nantze	50.2 a	50.6 a

<sup>1</sup> Disease severity was recorded seven days after inoculation.

<sup>2</sup> Means (n-6) in the column of each experiment followed by the same letter are not significantly different ( $P=0.05$ ) according to Tukey's studentized range test.



圖二、*Alternaria brassicicola* (ABA-06 & ABA-13 菌株) 和 *A. brassicac* (ABE-01 & ABE-02 菌株) 侵入白花芥藍葉表組織的途徑比較。

Fig. 2. Pathway of penetration by *Alternaria brassicicola* (isolates ABA-06 & ABA-13) and *A. brassicac* (isolates ABE-01 & ABE-02) on detached leaves of Chinese kale 24 hr after inoculation.

### *A. brassicicola* 與 *A. brassicac* 兩菌侵入白花芥藍葉表的方式比較

將 *A. brassicicola* 的 ABA-06 與 ABA-13 及 *A. brassicac* 的 ABE-01 與 ABE-02 等四菌株之孢子懸浮液，

噴霧接種在白花芥藍植株上，經一天後，以掃描式電子顯微鏡觀察，發現兩菌均可經由氣孔或形成附著器直接侵入白花芥藍葉片（圖二），其中 *A. brassicicola* 與 *A. brassicac* 由氣孔侵入寄主的百分率，分別是 1-3% 和 54-68%；至於兩者形成附著器再侵入寄主的百分率，則分別是 97-99% 與 14-18%。顯然，大部分的 *A. brassicicola* 要侵入寄主前需先形成附著器；相反地，過半數的 *A. brassicac* 係經由氣孔侵入。

### 溫度對黑斑病菌在白花芥藍葉表之發芽率、附著器形成及侵入的影響

溫度可影響 *A. brassicicola* 與 *A. brassicac* 兩菌在白花芥藍葉表的孢子發芽率，附著器之形成和侵入葉片引起病斑的數目。表四顯示 *A. brassicicola* 與 *A. brassicac* 兩菌在白花芥藍葉表之發芽溫度範圍分別在 8-32°C 與 4-28°C 之間，並以 16-32°C 和 12-24°C 為各別的發芽最適溫度；至於 *A. brassicicola* 與 *A. brassicac* 形成附著器的溫度範圍分別在 12-32°C 和 16-28°C 之間，其中最適溫度分別是 24-28°C 與 24°C。此外，*A. brassicac* 與 *A. brassicicola* 兩菌侵入葉片造成病斑數目的最適溫度分別為 24°C 和 28°C（圖三），若溫度由 28°C 升高至 36°C 時，兩菌侵入葉片引起病斑的數目，呈現遞減的趨勢。

### 討 論

十字花科蔬菜黑斑病菌可為害青花菜、甘藍、油菜、花椰菜、山葵、大頭菜、芥菜、白蕪菜、蕪菁及白菜 (3,4,8,10,11,22) 等十字花科蔬菜，此外，亦可為

表四、溫度對 *Alternaria brassicicola* (ABA-06 & ABA-13 菌株) 和 *A. brassicae* (ABE-01 & ABE-02 菌株) 在白花芥藍葉表之發芽率與形成附著器的影響

TABLE 4. Effect of temperature on conidial germination and appressorium formation of *Alternaria brassicicola* (isolates ABA-06 and ABA-13) and *A. brassicae* (isolates ABE-01 and ABE-02) on excised leaves of Chinese kale for 24 hr at 24 C

Temperature (C)	<i>A. Brassicicola</i> <sup>1</sup>				<i>A. brassicae</i> <sup>1</sup>			
	ABA-06		ABA-13		ABE-01		ABE-02	
	Ger. <sup>2</sup> (%)	App. <sup>2</sup> (%)	Ger. (%)	App. (%)	Ger. (%)	App. (%)	Ger. (%)	App. (%)
4	0	0	0	0	20	0	14	0
8	20	0	17	0	82	0	85	0
12	80	2	89	2	100	0	100	0
16	100	2	100	3	100	1	100	0
20	100	11	100	17	100	4	100	4
24	100	49	100	54	100	13	100	10
28	100	41	100	38	84	1	87	1
32	100	20	100	26	0	0	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>1</sup> Relationship between temperature (X) and conidial germination (Y) of *A. brassicicola* and *A. brassicae* was  $\hat{Y}_{ABA-06} = -75 + 17X - 0.41X^2$  ( $r=0.92$ ,  $P<0.0001$ ) and  $\hat{Y}_{ABA-13} = -76 + 18X - 0.41X^2$  ( $r=0.92$ ,  $P<0.0001$ ) for isolates ABA-06 and ABA-13, respectively;  $\hat{Y}_{ABE-01} = -16 + 14X - 0.38X^2$  ( $r=0.93$ ,  $P<0.0001$ ) and  $\hat{Y}_{ABE-02} = -22 + 14X - 0.4X^2$  ( $r=0.93$ ,  $P<0.0001$ ) for isolates ABE-01 and ABE-02, respectively; relationship between temperature (X) and appressorium formation (Y) of two fungi was  $\hat{Y}_{ABA-06} = -27 + 4.2X - 0.09X^2$  ( $r=0.64$ ,  $P<0.0019$ ) and  $\hat{Y}_{ABA-13} = -31 + 4.9X - 0.1X^2$  ( $r=0.66$ ,  $P<0.0011$ ) for isolates ABA-06 and ABA-13, respectively;  $\hat{Y}_{ABE-01} = -5.7 + 0.97X - 0.02X^2$  ( $r=0.52$ ,  $P<0.024$ ) and  $\hat{Y}_{ABE-02} = -4.8 + 0.81X - 0.02X^2$  ( $r=0.54$ ,  $P<0.015$ ) for isolates ABE-01 and ABE-02, respectively.

<sup>2</sup> Ger.=conidial Germination; App.=Appressorium formation.

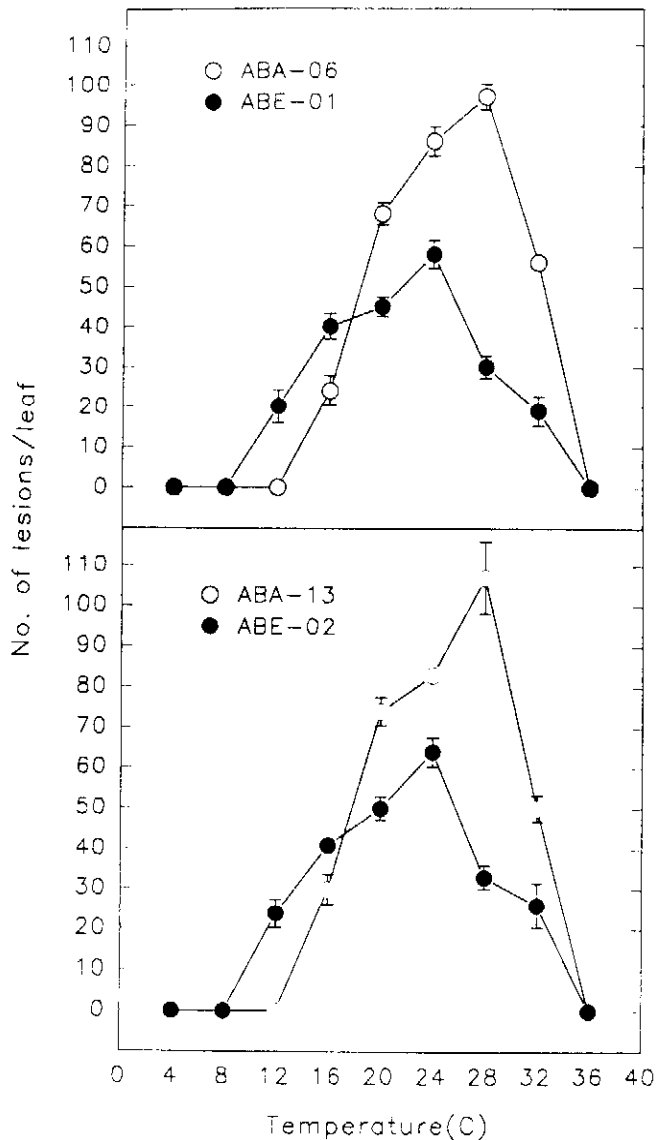
害菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.) (5) 及 *Anagallis arvensis* L. 和 *Convolvulus arvensis* L. 之雜草 (14) 等植物。近兩年來，筆者比較各地分離的 *A. brassicicola* 與 *A. brassicae* 之病原性，發現兩菌間之寄主範圍均相同，即除可為害白花芥藍、蘿蔔、芥菜、油菜、甘藍、包心白菜、小白菜與青江白菜等八種十字花科蔬菜外，亦可為害細葉碎米薺的植株。細葉碎米薺是十字花科蔬菜田常見的一種雜草，因此推測這種雜草可能是本菌存活於田間的重要場處所之一。

目前世界各地雖無有關本菌生理小種的報導，但 Mridha (12) 指出 *A. brassicae* 的不同菌株可引起油菜作物不同程度的罹病度。筆者由十字花科蔬菜黑斑病的病葉和種子分離到 40 個 *A. brassicicola* 菌株。這些菌株對白花芥藍的致病毒力早現顯著的差異 (表二)。筆者重複兩次試驗發現這些菌株的致病毒力頗為穩定，其中各菌株的致病毒力與菌株的來源不具相關性。至於本研究採得的 10 個 *A. brassicae* 菌株間對白花芥藍的致病毒力並無強弱的差異 (表三)。

Tewari (18) 指出 *A. brassicae* 需產生附著器才可侵入油菜葉片。然而，McDonald (11) 和 Changsri 及 Weber (6) 卻發現 *A. brassicae* 是經由氣孔侵入

*Brassica napus* 的葉組織。1977 年，Tsuneda 和 Skoropad (19) 報導 *A. brassicae* 經由氣孔侵入油菜的 Midas (*B. napus*) 品種，但若要侵入 Torch (*B. campestris*) 品種則必需在葉表先形成附著器才行。Walker (21) 認為 *A. brassicicola* 可由葉表氣孔或形成附著器再侵入葉組織，而 *A. brassicae* 大部分則由氣孔直接侵入植物組織。筆者利用掃描式電子顯微鏡觀察比較，兩菌侵入白花芥藍葉片的方式，發現大部分的 *A. brassicicola* 先產生附著器再侵入葉組織，而 *A. brassicae* 則主要經由氣孔侵入寄主。綜合諸位學者的研究成果，發現兩菌侵入寄主方式的不同，似乎受到寄主的品種與病原菌種類等因子的影響。

Degenhardt et al. (8) 發現 *A. brassicicola* 孢子發芽的最適溫度高於 *A. brassicae* 與 *A. raphani*，筆者研究 *A. brassicicola* 與 *A. brassicae* 週年為害白花芥藍的罹病度時，發現 *A. brassicicola* 整年均為害白花芥藍，而 *A. brassicae* 為害白花芥藍的適當時機卻侷限在低溫的季節 (未發表資料)。往昔多位學者 (7,9,15, 17) 發現在相對濕度 90-100% 時，*A. brassicicola* 孢子發芽的適溫是 22-32 C；在相對濕度 95% 以上，*A. brassicae* 則是 17-22 C。本研究發現 *A. brassicae* 孢



圖三、不同溫度對 *Alternaria brassicicola* (ABA-06 & ABA-13 菌株) 和 *A. brassicae* (ABE-01 & ABE-02 菌株) 侵入白花芥藍葉片造成病斑的影響。

Fig. 3. Effect of temperature on lesion numbers of excised leaves of Chinese kale caused by *Alternaria brassicicola* (isolates ABA-06 & ABA-13) and *A. brassicae* (isolates ABE-01 & ABE-02) 24 hr after inoculation. Bars represent standard deviation.

子發芽與形成附著器的最適溫度均較 *A. brassicicola* 低 4°C 左右。顯然，溫度確為左右兩菌季節性為害十字花科蔬菜的重要因子之一。

### 引用文獻

1. 黃振文、孫守恭、吳瑞香. 1981. 十字花科蔬菜黑斑病菌的選擇性培養基與存活. 植保會刊 24:364(摘要)。

- 鍾文全. 1991. 影響十字花科蔬菜黑斑病發生的因子. 中興大學植物病理學系第 41 屆學士論文, 37 頁。
- Anonymous. 1971. *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. CMI Distribution Maps of Plant Diseases. Map No. 353, edition 3. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, England.
- Ansari, N. A., Khan, M. W., and Muheet, A. 1990. Host range of *Alternaria brassicae*. Acta Botanica Indica 18:104-105.
- Bear, S. C. 1986. A new leaf spot disease of beans caused by *Alternaria brassicicola*. Indian Phytopathol. 36:729-730.
- Changstri, W., and Weber, G. F. 1963. Three *Alternaria* species pathogenic on certain cultivated crucifers. Phytopathology 53:643-648.
- Davis, W. H. 1934. *Alternaria brassicae* as a parasite of Chinese cabbage. Phytopathology 24:1379-1380.
- Degenhardt, K. J., Petrie, G. A., and Morrall, R. A. A. 1982. Effect of temperature on spore germination and infection of rapeseed by *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* and *A. raphani*. Can. J. Plant Pathol. 4:115-118.
- Garud, T. B., Bhide, V. P., and Ganacharya, N. Y. 1979. *Alternaria* spore germination. Res. Bull. Agric. Uni. 3:370-380.
- Gurha, S. N., and Vishwa, D. 1988. A new leaf spot disease of candytuft. Ind. J. Mycol. Plant Pathol. 17:238-239.
- McDonald, W. C. 1959. Gray leaf spot of rape in Manitoba. Can. J. Plant Sci. 39:409-416.
- Mridha, M. A. U. 1983. Virulence of different isolates of *Alternaria brassicae* on winter oilseed rape cultivars. page 194 in: 6 th International Rapeseed Conference, Paris, France.
- Riddell, R. 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. Mycologia 42: 265-270.
- Saharan, G. S., Kaushik, J. C., and Kanshik, C. D. 1982. Two new host records of *Alternaria brassicae*. Indian Phytopathol. 35:172.
- Sarkar, B., and Gupta, P. K. 1978. Studies on some aspects of the epidemiology of *Alternaria* leaf blight of mustard (*Brassica* sp.). Beitrage zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinarmedizin 16:91-96.
- Sawada, K. 1931. *Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. black spot. Descriptive Catalogue of Formosan Fungi 5:120.
- Singh, D. B. 1980. Effect of culture media, pH and temperature on growth behaviour of *Alternaria brassicae* and *Drechslera graminea*. Pro. Ind. Natl. Sci. Acad. B 46:393-396.
- Tewari, J. P. 1986. Subcuticular growth of *Alternaria brassicae* in rapeseed. Can. J. Bot. 64:1227-1231.
- Tsuneda, A., and Skoropad, W. P. 1977. The

- Alternaria brassicae* - *Nectria inventa* host - parasite interface. Can. J. Bot. 55:448-454.
20. Tsuneda, A., and Skoropad, W. P. 1987. Behavior of *Alternaria brassicae* and its mycoparasite *Nectria inventa* on intact and on excised leaves of rapeseed. Can. J. Bot. 56:1333-1340.
21. Walker, J. C. 1952. Diseases of Vegetable Crops. McGraw-Hill, New York, 529 pp.
22. Wiltshire, S. P. 1947. Species of *Alternaria* on *Brassicae*. Mycological papers. No. 20.
23. Wu, W. S. 1979. Survey on seed-borne fungi on vegetables. Plant Prot. Bull. 21:206-219.
24. Wu, W. S., and Wu, K. C. 1979. *Alternaria brassicicola*, a destructive pathogen in seed production of cauliflower. Plant Prot. Bull. 21:294-304.

### ABSTRACT

Huang, J. W.<sup>1</sup>, and Chung, W. C.<sup>2</sup> 1993. Characteristics of cruciferous black spot pathogens, *Alternaria brassicicola* and *A. brassicae*. Plant Pathol. Bull. 2:141-148. (1. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, R.O.C., 2. Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, Hsinshue, Taichung, Taiwan, R.O.C.)

Black leaf spot of crucifers in Taiwan was found to be caused by *Alternaria brassicicola* and *A. brassicae*. These two pathogens showed the same host range among eight cultivated species and cultivars of crucifers, and six species of cruciferous weeds tested. However, on Chinese kale *A. brassicicola* displayed greater variation in pathogenicity among isolates tested than *A. brassicae*. Observation with the scanning electron microscope revealed that *A. brassicicola* penetrated leaves of Chinese kale directly via formation of appressoria, while *A. brassicae* invaded the leaf tissue through the openings of stomata. The optimum temperatures for germination of conidia and formation of appressoria on detached leaves of Chinese kale were 16-32 C and 24-28 C, respectively, for *A. brassicicola*; and 12-24 C and 24, respectively, for *A. brassicae*. In general, *A. brassicicola* required about 4 C higher than *A. brassicae* for the optimum growth.

Key words: *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae*, morphology, host range, virulence, cruciferae.