

星辰花細菌性萎凋病之研究¹

吳雅芳、陳紹崇、黃淑惠、鄭安秀²

摘 要

吳雅芳、陳紹崇、黃淑惠、鄭安秀。2006。星辰花細菌性萎凋病之研究。台南區農業改良場研究彙報 48：1-8。

由台南縣麻豆鎮及嘉義市星辰花栽培區採集之萎凋病株，分離得具病原性之病原細菌，將細菌懸浮液以棉花棒塗抹於經針刺傷口的葉片後 14 天，接種葉片葉脈轉為紅色，逐漸黃化萎凋，呈現與田間相同病徵。經 Biolog 全自動菌種鑑定系統鑑定為 *Burkholderia caryophylli*。無論莖基部針刺接種、葉片噴霧接種或根圈灌注接種，植株在接種後呈現罹病葉片葉脈變紅，25-40 天萎凋死亡的典型病徵，顯示病原細菌可藉由傷口或自然開口侵染植株，亦可經由根部感染。病原細菌在維持濕潤的介質中，一年後尚具有強致病力。介質含菌量在 1.75×10^3 cfu/g 以下，植株不易罹病。不同花色品系之星辰花對病原細菌的感受性稍有差異，但均不具抗病性。室內藥劑篩選結果顯示氫氧化銅、鹼性氯氧化銅、歐索林酸、多保鏈黴素、鏈四環黴素、嘉賜銅及三元硫酸銅均有抑菌效果。

關鍵詞：星辰花細菌性萎凋病、*Burkholderia caryophylli*

接受日期：2006 年 6 月 21 日

前 言

星辰花 (*Limonium sinuatum*) 屬補血草類 (*Limonium*)，又名磯礫、不凋花，簡稱星辰，開花時具有紙質的萼片，真正的小花凋謝後，萼片仍表現開放狀且顏色不退而得名，可做為天然的乾燥花。臺灣平地的主要栽培地在彰化北斗、溪州、嘉義港坪、台南麻豆一帶，面積約 20 公頃左右，在嘉南地區的栽培方式，主要是在每年 10 月左右購買進口或高冷地育成之春化苗種植，12 月至翌年 5 月收花，產期集中在 2-4 月。近年來，星辰花田區常見植株黃化萎凋症狀，經初步鏡檢發現病組織有細菌菌流現象，研判為細菌性病害。該細菌危害星辰花，造成植株下位葉失水軟化，逐漸黃化萎凋，並往上位葉蔓延，罹病葉脈呈現紅色，最後全株萎凋死亡。本研究擬探討危害星辰花之病原細菌及不同星辰花品系之感受性。

1. 行政院農業委員會台南區農業改良場研究報告第 324 號。

2. 第一及二作者為台南區農業改良場助理研究員、第三作者為約僱助理、第四作者為研究員。台南縣新化鎮牧場 70 號。

材料與方法

病原細菌之分離及病原性測定

由台南縣麻豆鎮，及嘉義市星辰花栽培區取回之罹病植株，以添加 2% 葡萄糖之牛肉煎汁培養基(NGA) (Beef extract 0.3%、Peptone 0.5%、Glucose 2%) 分離病原細菌，所得菌株經星辰花幼苗莖基部之注射接種，證明其具病原性，為供試菌株來源，供試菌株經單一菌落純化培養後，於室溫保存於無菌蒸餾水。

供試菌株培養於 NGA 培養基平板，挑取單一菌落移殖於 BUGA(Biolog Universal Groth Agar)培養基平板上，於 30℃ 下培養 24 小時後，以 biolog inoculating fluid 製成細菌懸浮液，接種到 GN2 Microplate 中培養，利用 Biolog 全自動菌種鑑定系統(Microstation TM ID System) 進行病原細菌鑑定。

接種方法試驗

供試星辰花品系為超群(移植一個月後之幼苗)，供試菌株 S4 培養於 NGA 培養基平板，於 30℃ 下培養 48 小時後，以無菌蒸餾水製成 10^8 cfu/ml 之細菌懸浮液，分別以下列四種方法進行接種處理：(1) 0.2ml 細菌懸浮液以注射針直接注射入植株莖基部，(2) 15ml 細菌懸浮液，噴霧接種於葉片，(3) 15ml 細菌懸浮液以噴霧接種於經穿刺傷口之葉片，(4) 以 75ml 細菌懸浮液直接倒入根圈。每處理三株，觀察植株罹病情形。

不同星辰花品系對病原細菌之感受性測定

供試菌株為 S4，供試星辰花包括星辰超群白、星辰超群淡紫、星辰超群紫、星辰超群青、星辰超群濃黃、星辰超群杏黃、星辰超群淡粉、星辰超群桃粉等八個品系。

(1) 穿刺接種：以高壓滅菌過之牙籤沾取病原細菌，穿刺接種於幼苗移殖後一個月大之星辰花莖基部，每處理三株，觀察植株罹病情形。

(2) 病土接種：每 1kg 篩過之介質混入 500ml 病原細菌懸浮液調製成接種用病土 (1.5×10^7 cfu/g)，將星辰花幼苗移入病土中。每處理三株，觀察植株罹病情形。

依植株黃化萎凋程度將罹病指數分為 5 級，0 表示未發病，1 表示 1/3 以下葉片黃化萎凋，2 表示 1/3-1/2 葉片黃化萎凋，3 表示 1/2 以上葉片黃化萎凋，4 表示全株死亡。

不同含菌量之病土對病害發生之影響

供試菌株為 S4，供試星辰花包括星辰超群白、星辰超群淡紫、星辰超群紫、星辰超群青、星辰超群濃黃、星辰超群杏黃、星辰超群淡粉、星辰超群桃粉等八個品系，及海當歸、烏芙蓉兩個野生品種。

每 1kg 篩過之介質混入 500ml 病原細菌懸浮液，調製成 1.75×10^7 cfu/g、 1.75×10^5 cfu/g、 1.75×10^3 cfu/g、 1.75×10^1 cfu/g 等 4 種不同含菌量之接種用病土，另以不含病原細菌之介質為對照處理，將星辰花幼苗移入各種處理之介質中。每處理三株，觀察植株罹病情形。罹病度之調查方法同上。

病原細菌殘存試驗

病原細菌於介質中殘存試驗分 (1) 將罹病星辰花殘體埋入盆栽介質，植入星辰花苗，

及(2)將罹病星辰花殘體埋入盆栽介質中，定期澆水保持濕潤，12個月後，將埋入殘體之盆栽介質倒出均勻混合後重新裝盆，再植入星辰花苗。供試星辰花品系為超群桃粉，每處理十株，觀察植株罹病情形。罹病度之調查方法同上。

室內藥劑試驗

供試菌株為 S4 及 S21，供試藥劑為 37.5% 氫氧化銅水懸劑 400 倍、85% 鹼性氯氧化銅可濕性粉劑 300 倍、20% 歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍、40% 銅快得寧可濕性粉劑 500 倍、35% 護粒丹可濕性粉劑 1000 倍、68.6% 多保鏈黴素可濕性粉劑 1000 倍、10% 鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍、10% 維利黴素溶液 600 倍、81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑 1000 倍、72% 波爾多可濕性粉劑 400 倍、27.12% 三元硫酸銅水懸劑 500 倍等。

直徑 0.8cm 之濾紙圓盤經高壓滅菌後，每一圓盤滴入 0.1ml 供試藥劑稀釋液，置於無菌箱中吹乾後，放置於混入病原細菌之 NGA 雙層培養基平板上，另以無菌蒸餾水取代藥劑為對照處理。每處理三重覆，調查抑制圈大小。

病原細菌以 Luria-Bertani (LB) (Tryptone 1%、Yeast extract 0.5%、Sodium chloride 1%) 液體培養基，經 29 振盪培養後，調製成 10^6 cfu/ml 接種液，取 0.1ml 接種液分別加入 10ml 混有供試藥劑的 LB 培養液中，充分搖勻，經 0、5 及 24 小時後，分別取出 0.1ml 塗抹於 NGA 平板上，另以無菌蒸餾水取代藥劑為對照處理。每處理三重覆，調查菌落數。

結果與討論

由台南縣麻豆鎮及嘉義市星辰花栽培區採集之萎凋病株，分離得具病原性之病原細菌共計 21 個菌株，分別以 S1-S21 表示之。所有菌株之細菌懸浮液以棉花棒塗抹接種於經針刺傷口的葉片後 14 天，接種葉片葉脈轉為紅色，逐漸黃化萎凋，呈現與田間相同病徵(圖一)。21 個細菌菌株以葉肉注射菸草，均有過敏性反應。經 Biolog 全自動菌種鑑定系統鑑定為 *Burkholderia caryophylli* (*Pseudomonas caryophylli*) 1982 年首次被証實 *B. caryophylli* 造成佛州星辰花冠腐及葉腐 (Crown and leaf rot)，呈現葉脈變紅、莖冠(crown)髓部變黑、腐爛，植株萎凋死亡為其典型病徵，接種於菸草會產生過敏性反應⁽⁵⁾。國內報導指出該病原細菌亦可危害康乃馨^(1、2)、洋桔梗⁽¹⁾及滿天星^(1、3、4)等花卉，造成植株萎凋枯黃，莖部橫切面可見維管束褐化現象，劉氏報告指出分離自康乃馨、滿天星之病原細菌菌株可感染星辰花⁽⁴⁾，本研究為台灣星辰花細菌性病害的首次報導。

B. caryophylli 造成星辰花植株下位葉失水軟化，逐漸黃化萎凋，並往上位葉蔓延，罹病葉脈呈現紅色，最後全株萎凋死亡。將 0.2ml 細菌懸浮液以注射針直接注射入植株莖基部，7-10 天後下位葉開始出現萎凋病徵，接種 25 天後全株死亡。以 15ml 細菌懸浮液噴霧接種於葉片，21 天後植株開始出現萎凋病徵，28 天後全株死亡。若葉片先穿刺造成傷口後再噴霧接種，14 天後由傷口處開始黃化，葉脈變紅，28 天後全株死亡。將細菌懸浮液直接倒入根圈，25 天後植株出現萎凋病徵，40 天後全株死亡。無論莖基部針刺接種、葉片噴霧接種或

根圈灌注接種，植株在接種後呈現失水黃化、罹病葉片葉脈變紅，25-40 天萎凋死亡的典型病徵，顯示病原細菌可藉由傷口或自然開口侵染植株，亦可經由根部感染。

不同花色品系之星辰花對病原細菌的感受性稍有差異，以莖基部針刺接種法測定結果如表一所示，7 天後開始出現病徵，以桃粉色品系病勢進展最快，接種後 14 天罹病度為 100%，白色、濃黃及青色品系接種 14 天罹病度分別為 16.7%、25.0%及 41.7%，21 天後罹病度分別為 16.7%、41.7%及 50.0%(表一)。

將病原細菌混入介質中的病土接種方法，所有供試品系於 14 天後開始發病，18 天後除杏黃品系罹病度 50%外，其他品系罹病度均達 91.7%(表一)。初步判斷目前不同花色的星辰花栽培品系對 *B. caryophylli* 均不具抗病性，而屬於同科的野生品種海當歸及烏芙蓉的抗病性較星辰花稍強(表二)。

所有星辰花供試品系栽植於含 1.75×10^7 cfu/g 菌量之介質中 14 天後開始發病，一個月後罹病度為 75-100%。海當歸及烏芙蓉兩個品種，接種一個月後才出現病徵，二個月後海當歸罹病度 100%，烏芙蓉罹病度 66.7%(表二)。供試品系栽植於含 1.75×10^5 cfu/g 菌量之介質中 20 天後零星病徵出現，一個月後罹病度為 8.3-75.0%(青色品系)，二個月後罹病度均為 100%。海當歸接種一個月後才出現病徵 (16.7%)，二個月後海當歸罹病度 41.7%，烏芙蓉罹病度 25.0%(表二)。栽植於 1.75×10^3 cfu/g、 1.75×10^1 cfu/g 含菌量的介質中，所有供試植株均不會罹病。

余氏指出該病原細菌無法於土壤中越冬⁽¹⁾，本研究將星辰花苗種植於混入罹病植株殘體之介質中，18-35 天後陸續罹病。將混入罹病植株殘體之介質，在保持濕潤情況下，經過 12 個月後再植入星辰花苗，21 天開始發病，40 天後罹病度為 100%，顯示病原細菌在維持濕潤的介質環境下一年後尚具有強致病力，可能是介質中含有罹病植株殘體，延長病原細菌殘存的時間。

以濾紙圓盤頂層培養基擴散法測試市面上之多種農藥，結果如表三所示，20% 歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍 68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑 1000 倍及 10% 鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍處理之抑制圈為 2.0-2.7cm(濾紙直徑 0.8cm)，其他處理抑制圈小於 1.5 cm。將藥劑與病原細菌懸浮液混合後立刻取出，結果如圖二所示，20% 歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍的抑菌率達 100%，混合培養 5 小時後，85% 鹼性氯化銅可濕性粉劑 300 倍、68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑 1000 倍 10% 鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍及 81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑 1000 倍的抑菌率亦可達 100%，培養 24 小時後，除 40% 銅快得寧可濕性粉劑 500 倍、35% 護粒丹可濕性粉劑 1000 倍、10% 維利黴素溶液 600 倍及 72% 波爾多可濕性粉劑 400 倍之外，其他供試藥劑均可達 100% 的抑菌效果，至於田間防治效果則尚待進一步評估。



圖一、星辰花細菌性萎凋病葉脈變紅、植株萎凋病徵

Fig. 1. Symptomatic leaf tissue showing red veins and wilting for bacterial wilt of static

表 1. 不同星辰花品系對星辰花細菌性萎凋病病原細菌之感受性測定

Table 1. Effect of varieties on bacterial wilt of static.

供試品系 Variety	罹病度 (%) Disease index				
	穿刺接種 Wounded			病土接種 Infected soil	
	接種後日數 (天)			接種後日數 (天)	
	Days after inoculation			Days after inoculation	
	7	14	21	14	18
星辰超群白 White	0.0	16.7	16.7	75.0	91.7
星辰超群淡紫 Light purple	25.0	66.7	83.3	75.0	91.7
星辰超群紫 Purple	0.0	66.7	75.0	50.0	91.7
星辰超群青 Blue	8.3	41.7	50.0	75.0	91.7
星辰超群濃黃 Dark yellow	0.0	25.0	41.7	75.0	75.0
星辰超群杏黃 Light yellow	33.3	41.7	66.7	50.0	50.0
星辰超群淡粉 Pink	16.7	50.0	66.7	66.7	83.3
星辰超群桃粉 Peach pink	50.0	100.0	100.0	75.0	91.7

表 2. 不同含菌量之病土對星辰花細菌性萎凋病發生之影響

Table 2. Effect of infected soils on bacterial wilt of statice.

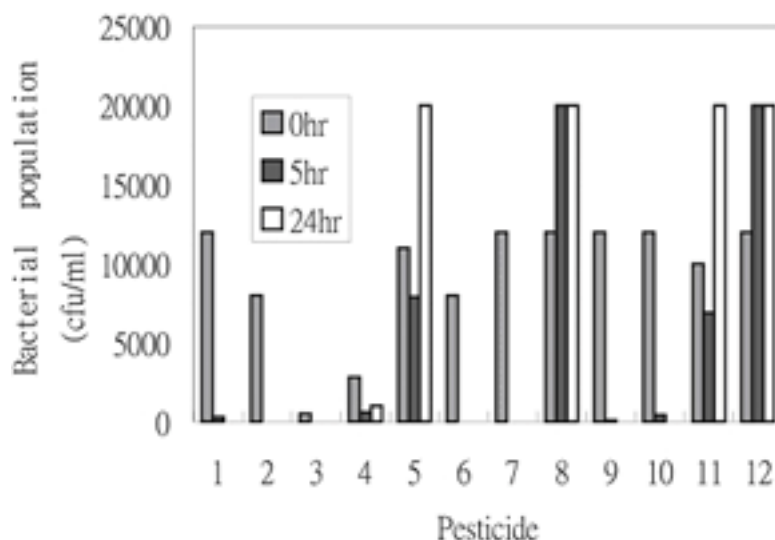
供試品系 Variety	罹病度 (%) Disease index					
	1.75×10 ⁷ cfu/g			1.75×10 ⁵ cfu/g		
	接種後日數 (天)			接種後日數 (天)		
	Days after inoculation			Days after inoculation		
	20	30	60	20	30	60
星辰超群白 White	41.7	91.7	100.0	8.3	8.3	100.0
星辰超群淡紫 Light purple	41.7	83.3	100.0	0.0	33.3	100.0
星辰超群紫 Purple	25.0	100.0	100.0	0.0	25.0	100.0
星辰超群青 Blue	41.7	91.7	100.0	8.3	75.0	100.0
星辰超群濃黃 Dark yellow	41.7	100.0	100.0	8.3	25.0	100.0
星辰超群杏黃 Light yellow	0.0	75.0	100.0	0.0	41.7	100.0
星辰超群淡粉 Pink	25.0	91.7	100.0	0.0	8.3	100.0
星辰超群桃粉 Peach pink	58.3	100.0	100.0	0.0	8.3	100.0
海當歸 <i>Limonium sinense</i> (Girard) O. Kuntz.	0.0	33.3	100.0	0.0	16.7	41.7
烏芙蓉 <i>Limonium wrightii</i> Hance	0.0	16.7	66.7	0.0	0.0	25.0

表 3. 藥劑對星辰花細菌性萎凋病原細菌之抑制作用

Table 3. Inhibition on *Burkholderia caryophylli* by pesticides.

藥劑種類 Pesticide	稀釋倍數 Dilution	抑制圈 (直徑 cm) *	
		Dia. of inhibition zone (cm)	
		菌株 S4 Strain S4	菌株 S21 Strain S21
37.5% 氫氧化銅水懸劑 37.5% Copper hydroxide SC	400	1.0	1.0
85% 鹼性氯氧化銅可濕性粉劑 85% Copper oxychloride WP	300	1.5	1.4
20% 歐索林酸可濕性粉劑 20% Oxolinic acid WP	1000	2.7	2.6
40% 銅快得寧可濕性粉劑 30% Oxine-copper+10% Cupric hydroxide WP	500	0.8	0.8
35% 護粒丹可濕性粉劑 20% Phthalide+15% Edifenphos WP	1000	0.8	0.8
68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑 68.8% Atakin WP	1000	2.2	2.0
10% 鏈四環黴素可溶性粉劑 9% Streptomycin hydrochloride+1% Tetracycline SP	1000	2.6	2.4
10% 維利黴素溶液 10% Validamycin S	600	0.8	0.8
81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑 81.3% 2% Kasugamycin hydrochloride +75.5% Copper oxychloride WP	1000	1.3	1.2
72% 波爾多可濕性粉劑 72% Bordeaux Mixture WP	400	0.9	0.9
27.12% 三元硫酸銅水懸劑 27.1% Tribasic copper sulfate SC	500	0.9	0.9
對照無藥劑處理 Control		0.8	0.8

* 抑制圈直徑含濾紙圓盤 (直徑 0.8 cm) The diameter of inhibition zone contained the diameter of filter disk. (dia.=0.8 cm)



圖二、藥劑對星辰花細菌性萎凋病病原細菌之抑制作用

1 : 37.5% 氫氧化銅水懸劑、 2 : 85% 鹼性氯氧化銅可濕性粉劑、 3 : 20% 歐索林酸可濕性粉劑、
 4 : 40% 銅快得寧可濕性粉劑、 5 : 35% 護粒丹可濕性粉劑、 6 : 68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑、
 7 : 10% 鏈四環黴素可溶性粉劑、 8 : 10% 維利黴素溶液、 9 : 81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑、 10 :
 72% 波爾多可濕性粉劑、 11 : 27.12% 三元硫酸銅水懸劑、 12 : 對照無藥劑處理

Fig. 2、Inhibition on *Burkholderia caryophylli* by pesticides

1 : 37.5% Copper hydroxide SC , 2 : 85% Copper oxychloride WP , 3 : 20% Oxolinic acid WP , 4 :
 30% Oxine-copper+10% Cupric hydroxide WP , 5 : 20% Phthalide +15% Edifenphos WP , 6 :
 68.8% Atakin WP , 7 : 9% Streptomycin hydrochloride +1% Tetracycline SP , 8 : 10% Validamycin
 S , 9 : 81.3% 2% Kasugamycin hydrochloride +75.5% Copper oxychloride WP , 10 : 72% Bordeaux
 Mixture WP , 11 : 27.1% Tribasic copper sulfate SC , 12 : Control

誌謝：本試驗承本場張元聰先生提供星辰花各品系種苗，特此誌謝。

引用文獻

1. 朱軒宇。1998。 *Burkholderia caryophylli* 偵測技術之發展與應用。國立中興大學植物病理學研究所第 28 屆碩士論文。

- 2.曾國欽、徐世典、鄭雅文。1987。台灣康乃馨細菌性萎凋病原之特性。植保會刊 29 : 422。
- 3.劉興隆。1990。滿天星細菌性萎凋病之研究。植保會刊 32 : 327。
- 4.劉興隆。1990。 *Pseudomonas caryophylli* 引起之滿天星細菌性萎凋病。台中區農業改良場研究彙報 28 : 33-42。
- 5.Jones, J.B., and Engelhard, A.W. 1984. Crown and leaf rot of statice incited by a bacterium resembling *Pseudomonas caryophylli*. Plant Disease 68 : 338-340.

Studies on Bacterial Wilt of Statice¹

Wu, Y. F., S. C. Chen, S. H. Huang and A. S. Cheng²

Summary

Plants of statice with wilting symptoms were collected at fields in Matou Township and Chiayi City. Following Koch's postulates and the identification system of Biolog Microstation TM ID, the pathogen was identified as *Burkholderia caryophylli*. Three types of inoculation method, i.e., spraying of the pathogen on leaves, the stems were wounded with sharp needle and then sprayed, and rhizospheres were drenched with bacterial suspension, were tested to verify its pathogenicity. Typical symptoms were all observed in the plants with one of the three methods 25-40 days after inoculation. The pathogen can survive as long as one year in the moist growth medium. If inoculum density is reduced to less than 1.75×10^3 cfu/g in the medium, the infectivity disappeared. No resistant variety was observed in this study. The results showed that pesticides Copper hydroxide, Copper ox chloride, Oxolinic acid, Atakin, Streptomycin hydrochloride +Tetracycline, Kasugamycin hydrochloride +Copper oxychloride and Tribasic copper sulfate *in vitro* were able to inhibit the growth of the pathogen.

Key words : Bacterial wilt of statice, *Burkholderia caryophylli*

Accepted for publication : 21 June, 2006

1.Contribution No. 324 from Tainan District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan

2.Assistant Plant Pathologist, Assistant Plant Pathologist, Assistant, and Plant

Pathologist, respectively, Tainan DARES. 70, Muchang, Sinhua, Tainan, 712, Taiwan, R.O.C.