

Xanthomonas campestris pv. *incanae*

引起之紫羅蘭細菌性萎凋病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。2007。 *Xanthomonas campestris* pv. *incanae* 引起之紫羅蘭細菌性萎凋病。台南區農業改良場研究彙報 49：66-72。

2006 年春於彰化縣紫羅蘭栽培區採集到的萎凋型病株，花葉呈失水狀，莖基部老葉黃化脫落，脫落處傷口明顯，並往上下縱裂，由表皮往內褐化，無腐爛現象，橫切根部置於清水中有明顯菌流。牛肉煎汁培養基平板之菌落為黃色。接種菸草數日後黃化，未呈現典型過敏性反應。以 5 號蟲針沾菌針刺接種紫羅蘭莖部，2-3 天後接種部位初呈水浸狀，水浸狀斑往上、下擴大，漸轉為黑褐色，5 天後由接種側開始出現輕微萎凋症狀，往上及下葉片黃化掉落，葉片脫落處痕跡明顯凹陷、褐化，有縱裂現象，約 3 週後全株枯死。危害 4 種供試紫羅蘭品種，但不危害其他 9 種十字花科蔬菜及 6 種非十字花科植物。本研究結果確認引起紫羅蘭細菌性萎凋病之病原細菌為 *Xanthomonas campestris* pv. *incanae*。室內藥劑試驗結果顯示 20% 歐索林酸可濕性粉劑、40% 銅快得寧可濕性粉劑、68.6% 多保鏈黴素可濕性粉劑有抑菌效果。

關鍵詞：紫羅蘭細菌性萎凋病、*Xanthomonas campestris* pv. *incanae*

接受日期：2007 年 9 月 6 日

前 言

紫羅蘭(*Stock*, *Matthiola incana*)，屬十字花科一年生草本，原生於歐洲南部，為涼溫生長的長日植物，冬天溫度低時適合生長開花，花序密集呈柱形且具有香氣，為具潛力之新興花卉。由於品種改良，很多極早生及早生品種在冬天地種植，能在 20°C 的條件下開出品質很好的花⁽¹⁾。由於冬季栽培剛好也是種植甘藍或油菜的季節，發生於甘藍或油菜上的病蟲害問題，也會出現在紫羅蘭的栽培田。目前台灣並無紫羅蘭的病害記錄，國外記載之病害種

1. 行政院農業委員會台南區農業改良場研究報告第 334 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。

類包括細菌性萎凋病、立枯病、露菌病、黑斑病、菌核病、黃萎病及病毒病^(3,4,5,6,7)，本研究擬探討造成紫羅蘭萎凋之病原，並篩選有效之防治藥劑。

材料與方法

病原細菌之分離及病原性測定

2006 年春於彰化縣紫羅蘭栽培區採集到之萎凋型病株，以牛肉煎汁培養基(NA) (Beef extract 0.3%、Peptone 0.5%) 分離病原菌，所得菌株經紫羅蘭植株莖部之針刺接種，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，於室溫下保存於無菌蒸餾水。

接種方法試驗

供試品種為紫羅蘭初紅，供試菌株 XP2 培養於 NA 培養基平板，於 30°C 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) 剪刀沾細菌懸浮液由葉緣往內約 1 公分剪開，(4) 植株稍微拉動，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。罹病程度依植株萎凋程度分 4 級，0 級表示無發病，1 級表示植株 1/4 以下葉片萎凋，2 級表示植株 1/4-1/3 葉片萎凋，3 級表示植株 1/3-1/2 葉片萎凋，4 級表示植株 1/2 以上葉片萎凋。

不同紫羅蘭品種對病原細菌之感受性測定

供試菌株為 XP2 及 XP5，供試品種分別為初紅、早青、雪波及秋之光等。將菌株 XP2 及 XP5 分別調製成 10^8 cfu/ml 細菌懸浮液，接種方法為噴霧接種及根圈接種。罹病程度調查方法如上。

紫羅蘭細菌性萎凋病病原細菌對不同寄主植物病原性測試

供試植物包括紫羅蘭、甘藍、球莖甘藍、花椰菜、青花菜、芥菜、油菜、結球白菜、小白菜、黑葉芥蘭、蘿蔔等 11 種十字花科作物及番茄、南瓜、越瓜、西瓜、紅豆及大豆等。將菌株 XP2、XP5 及甘藍黑腐病病原細菌(*X. campestris* pv. *campestris*) 菌株 XC435 分別調製成 10^8 cfu/ml 細菌懸浮液，以噴霧接種及剪葉接種兩種方式進行寄主植物病原性測試。罹病程度調查方法如上。

室內藥劑試驗

供試菌株為 XP2，供試藥劑為 37.5% 氫氧化銅水懸劑 400 倍、85% 鹼性氫氧化銅可濕性粉劑 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。

濾紙圓盤頂層培養基擴散法試驗：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 NA 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。

液體培養法試驗：病原細菌以 Luria-Bertani (LB) (Tryptone 1%、Yeast extract 0.5%、Sodium

chloride 1%) 液體培養基，經 29°C 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 NA 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 *Xanthomonas campestris* pv. *incanae* 引起之紫羅蘭細菌性萎凋病是紫羅蘭產業之主要限制因子，尤其在高溫多濕的氣候條件下，可造成 90% 以上的損失⁽³⁾。2006 年春於彰化縣紫羅蘭栽培區採集到的萎凋型病株，花葉呈失水狀，莖基部老葉黃化脫落，脫落處傷口明顯，並往上下縱裂，由表皮往內褐化，但無腐爛現象(圖一)，將根部橫切置於清水中有明顯菌流。以牛肉煎汁培養基平板分離病組織，經單菌落純化得 8 個細菌菌株(編號分別為 XP1~XP8)，菌落為黃色。接種菸草數日後黃化，未呈現典型過敏性反應。

以 5 號蟲針沾菌針刺接種紫羅蘭莖部，2-3 天後接種部位初呈水浸狀，水浸狀斑往上、下擴大，漸轉為黑褐色，5 天後由接種側開始出現輕微萎凋症狀，往上及下葉片黃化掉落，葉片脫落處痕跡明顯凹陷、褐化，有縱裂現象，約 3 週後全株枯死，與田間採集之紫羅蘭萎凋病株呈現相同病徵。本病害 1933 年首先在加州發生，苗期莖部出現水浸狀軟腐，成株呈現大型不規則水浸狀斑，漸轉為黑褐色，萎凋葉片黃化落葉，葉片脫落處痕跡明顯凹陷、褐化，有縱裂現象。

將菌株 XP2 調製成 10^8 cfu/ml 細菌懸浮液，供試品種為紫羅蘭初紅，接種方法分注射接種、剪葉接種、噴霧接種及根部接種等四種。接種後 7 天，前三種接種方法之植株均出現萎凋現象，30 天後達 1/2 以上葉片萎凋，根部接種則於 14 天後才出現病徵，30 天後達 1/3-1/2 葉片萎凋。結果顯示四種接種方式均可感染紫羅蘭呈現萎凋病徵，病原細菌可由植株任何部位之傷口及自然開口侵入而致病，田間可藉噴灌或雨水飛濺傳播⁽³⁾。報告指出經顯微切片証實病原細菌存在於種皮及臍，為種子傳播病害⁽⁴⁾。以藥劑或 53-55°C 溫湯處理種子 10 分鐘，可以殺死病原細菌，但會明顯降低種子發芽率^(3,4)，本研究亦發現以 50-55°C 溫湯浸種 10 分鐘，種子發芽率由 100% 降到 23.5%(未發表)。

所有紫羅蘭(*M. incana*)品種均為感病品種⁽³⁾，本研究將菌株 XP2 及 XP5 分別調製成 10^8 cfu/ml 細菌懸浮液，以台灣四個紫羅蘭品種為供試品種，分別為初紅、早青、雪波及秋之光。噴霧法接種後 4 天，四個品种植株均出現輕微萎凋狀，14 天後萎凋死亡。根部接種後 12 天，才陸續出現病徵，30 天後植株均達 1/2 以上萎凋或死亡，不同品種對病原細菌之感受性無差異。利用抗病品種 *M. tricuspidata* 與 *M. incana* 進行種間雜交可得到具高抗病性的雜交一代，卻具高度不稔性⁽³⁾。

將菌株 XP2、XP5 及甘藍黑腐病病原細菌菌株 XC435 分別調製成 10^8 cfu/ml 細菌懸浮液，以噴霧接種及剪葉接種兩種方式進行寄主植物病原性測試。接種後 7 天調查結果顯示，菌株 XP2 及 XP5 於紫羅蘭上表現典型萎凋型病徵(圖二)，於甘藍、花椰菜、蘿蔔之接種部位稍微可見細菌侵入的現象，但病勢並未進展，其餘供試植物則不受感染。黑腐病菌株 XC435 於供試十字花科蔬菜上均呈現典型的黑腐病病徵，但於紫羅蘭及其他 6 種非十字花科植物，

不表現任何病徵。紫羅蘭屬十字花科植物，台灣無病害記錄⁽²⁾，國外報告指出危害十字花科蔬菜(*Brassica* spp.) 之 *X. campestris* 對紫羅蘭 (*M. incana*; stock) 及香羅蘭 (*Cheiranthus cheiri*; wallflower) 無病原性，分離自紫羅蘭的病原細菌 *X. campestris* 不感染香羅蘭及十字花科蔬菜，分離自香羅蘭之 *X. campestris* 對紫羅蘭亦無病原性⁽⁵⁾。本研究結果証實分離自紫羅蘭細菌性萎凋病之病原細菌 *X. campestris* pv. *incanae* 只危害紫羅蘭，不危害其他十字花科蔬菜。本研究為台灣 *X. campestris* pv. *incanae* 危害紫羅蘭的首次報告。

以濾紙圓盤頂層培養基擴散法測試市面上之多種農藥，結果如表一所示，20%歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍、40%銅快得寧可濕性粉劑 500 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 2.0-3.1cm(濾紙直徑 0.8cm)，其他處理抑制圈小於 1.3 cm。將藥劑與病原細菌懸浮液混合後立刻取出，結果如圖三 20%歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍及 35%護粒丹可濕性粉劑 1000 倍的抑菌率達 100%，混合培養 24 小時後，除 10%維利黴素溶液 600 倍之外，其他供試藥劑均可達 100%的抑菌效果。綜合二種室內藥劑試驗結果，初步篩選得 20%歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍、40%銅快得寧可濕性粉劑 500 倍、68.6%多保鏈黴素可濕性粉劑 1000 倍藥效較佳，至於田間防治效果則尚待進一步評估。

表一、藥劑對紫羅蘭細菌性萎凋病病原細菌菌株 XP2 之抑制作用

Table 1、Inhibition on *Xanthomonas campestris* pv. *incanae* strain XP2 by pesticides

藥劑種類 Pesticide	稀釋倍數 Dilution	抑制圈(直徑cm)* Dia. of inhibition zone (cm)
37.5%氫氧化銅水懸劑 37.5% Copper hydroxide SC	400	1.3
85%鹼性氯氧化銅可濕性粉劑 85% Copper oxychloride WP	300	1.3
20%歐索林酸可濕性粉劑 20% Oxolinic acid WP	1000	2.8
40%銅快得寧可濕性粉劑 30% Oxine-copper+10% Cupric hydroxide WP	500	3.1
35%護粒丹可濕性粉劑 20% Phthalide+15% Edifenphos WP	1000	0.8
68.8%多保鏈黴素可濕性粉劑 68.8% Atakin WP	1000	2.0
10%鏈四環黴素可溶性粉劑 9% Streptomycin hydrochloride+1% Tetracycline SP	1000	2.1
10%維利黴素溶液 10% Validamycin S	600	1.0
81.3%嘉賜銅可濕性粉劑 81.3% 2% Kasugamycin hydrochloride +75.5% Copper oxychloride WP	1000	0.8
72%波爾多可濕性粉劑 72% Bordeaux Mixture WP	400	1.1
27.12%三元硫酸銅水懸劑 27.1% Tribasic copper sulfate SC	500	1.1
對照無藥劑處理 Control		0.8

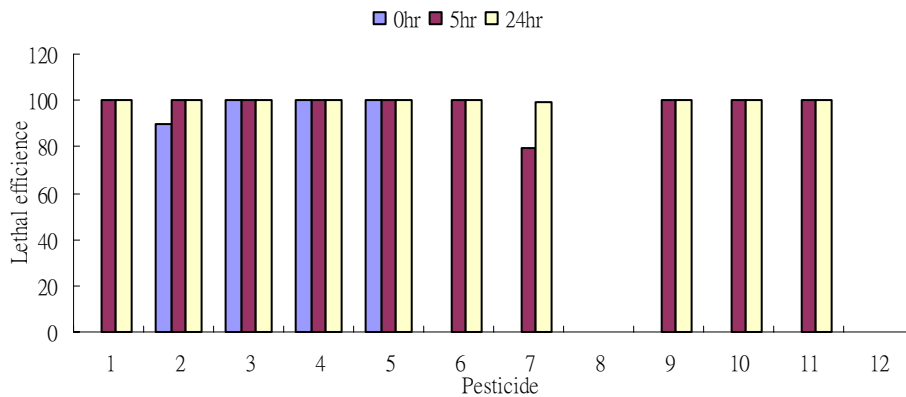
* 抑制圈直徑含濾紙圓盤(直徑 0.8 cm) The diameter of inhibition zone contained the diameter of filter disk. (dia.=0.8 cm)



圖一、紫羅蘭細菌性萎凋病病徵
Fig. 1. Bacterial blight symptom of stock
(*Matthiola incana*)



圖二、噴霧接種紫羅蘭細菌性萎凋病病原細菌後，植株呈現葉片萎凋病徵
Fig. 2. Bacterial blight symptom of stock by spraying-inoculated of *Xanthomonas campestris* pv. *incanae*



圖三、藥劑對紫羅蘭細菌性萎凋病病原細菌菌株 XP2 之殺菌效果

1：37.5% 氫氧化銅水懸劑、2：85% 鹼性氫氧化銅可濕性粉劑、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. 3、Inhibition on *Xanthomonas campestris* pv. *incanae* strain XP2 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紫羅蘭種子，特此誌謝。

引用文獻

1. 王仕賢、張元聰、王裕權、陳耀煌。2006。紫羅蘭生產技術及利用。台南區農業專訊第47期：9-13。
2. 徐世典、張東柱、張清安、蔡進來、蔡東纂。2002。台灣植物病害名彙(第四版)。中華民國植物病理學會出版。386頁。
3. Ecker, R., Zutra, D., Barzilay, A., Osherenko, E. and Rav-David, D. 1995. Sources of resistance to bacterial blight of stock (*Matthiola incana* R. Br.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 42:371-372.
4. Kendrick, J. B. 1938. A seed-borne bacterial disease of garden stocks, *Matthiola incana*. *Phytopathology* 28:12.
5. M. J. Griffin and Lily A. E. Baker 1976. Bacterial wilt of wallflowers caused by *Xanthomonas campestris*. *Plant Pathology* 25:108-114.
6. O' Neill, T. M., Shepherd, A., Inman, A. J. and Lane, C. R. 2004. Wilt of stock (*Matthiola incana*) caused by *Fusarium oxysporum* in the United Kingdom. *Plant Pathology* 53: 262.
7. UC IPM Online. Floriculture and ornamental nurseries stock (*Matthiola* spp.). <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r280113011.html>

Bacterial Blight of Stocks Caused by *Xanthomonas campestris* pv. *incanae*¹

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

Summary

Plants of stock with wilting symptoms were collected at fields in Zhang Hua in 2006. Isolated pathogen grown on nutrient agar showed yellow colony. There was non-typical hypersensitive reaction on tobacco leaves. Typical symptoms was observed in the plant stems wounded with sharp needle and then sprayed with bacterial suspension. Plants showed large, irregular, oblong to linear, watersoaked areas on the inoculated stem. The lesions later became sunken, dark brown lesions, and the plants died 3 weeks after inoculation. The pathogen can infect 4 stock varieties, but can't infect 9 tested varieties of *Brassica*. Following Koch's postulates, the pathogen was identified as *Xanthomonas campestris* pv. *incanae*. The results showed that pesticides Oxolinic acid, Oxine-copper+Cupric hydroxide and Atakin were able to inhibit the growth of the pathogen in vitro.

Key words : Bacterial blight of stocks, *Xanthomonas campestris* pv. *incanae*

Accepted for publication : 6 September, 2007

-
1. Contribution No. 334 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.