

ISSN 1017-9569

中華郵政臺中雜字第2046號

登記證登記為雜誌交寄

國內郵資已付
臺中郵局許可證
台中字第1261號

雜誌

無法投遞時請免退回

藥毒所專題報導



第 116 期

中華民國 104 年 1 月出版

植物病原細菌及病毒之分類與鑑定

發行單位：行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所
Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute

發行人：費 雯 綺
編輯：技術服務組

植物病原細菌及病毒之分類與鑑定

張哲銘、蘇秋竹

前 言

植物病害(plant disease)係指植物形態構造與生理機能發生異常的現象，而於外表顯現各種形態的改變，如壞疽、腫大、矮化、增生、萎凋、變色、腐敗與潰瘍等。植物病害發生的原因包括非生物及生物因子，非生物性的因子包括凍害、日燒、乾旱、藥害、肥害、冰雹、機械害及環境污染等；植物病原則有真菌、細菌、植物菌質體、病毒、類病毒、寄生性高等植物與線蟲六大類別。其中，真菌病害為最大宗約佔50~65%、病毒病害約佔10~20%，而細菌病害約佔5-10%。植病學家進一步提出「植物病害三角形 (Disease triangle)」理論，以三角形表示寄主植物 (host)、病原 (pathogen)、環境 (environment) 三要素彼此之作用，即有利的環境、感病植株、致病原三個條件同時滿足才會發病。

防治策略的擬定首重於植物病原的鑑定，要能立即抑制病害散播並預防病害再次發生。檢測人員除了需具備敏銳的觀察力，還需依照下列步驟抽絲剝繭來進行診斷，以臻準確地判斷病害種類及其致病原：(1)熟稔各種植物，並了解植物的根、莖、葉、花及果實的正常生理狀態。(2)觀察植株的病徵部位是否有昆蟲咬痕、蟲糞、蟲卵、孢子、菌絲、菌流...等，初步判斷病原類型並立即採取防治措施。(3)確認病害所造成的病徵部位，並觀察病徵的發展狀況。(4)瞭解病害在田間分布狀況及傳播速率。植物病原通常有宿主專一性，若園區裡多種植物皆有類似病徵，應為非生物因子所造成。需進一步了解植株栽種環境及管理模式，以衡量非生物因子的干擾。(5)針對病徵部位進行病原分離，並將分離到的病原於適宜環境下以人工方式接種至健康植株，觀察是否能造成同樣病徵，以符合柯霍氏假說 (Koch's postulates)。(6)部分病原無法由人工培養，如：植物菌質體、病毒及類病毒，便需利用分子鑑定技術來確認病原。常用的技術包括：酵素連結免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、生理生化鑑定法、聚合酵素連鎖

反應(polymerase chain reaction, PCR)，通常以此三種方式互相輔助使用，以確認病原菌之種或病原型(pathovar)。

對於眾多的植物病原鑑定方法應有所選擇，但是要用在”檢疫”上，不管選用何種檢測方法，就要合乎(1)快速、(2)正確、(3)簡便三個要件，本文將針對植物病原中的細菌及病毒之分類鑑定作一概述。

植物病原細菌

細菌通常為單細胞，有桿狀、球形、橢圓形、螺旋形、絲形或逗點形等，其中植物之病原細菌多半為桿狀居多。大約有180餘種的細菌可以造成植物病害，大多數的植物病原細菌具有3-7根鞭毛，因而可以自由游動；若無鞭毛者，則不能移動。除了部分自營細菌外，多數細菌皆為異營生活，在寄主植物體內以寄生型態存活並增殖，而部分病原以腐生方式存在植物體或土壤中，並可培養於人工合成培養基。植物病原細菌可存活於土壤、枝條、種子及昆蟲體表或體內，並經由雨水飛濺、種子、昆蟲、風、農具及根的接觸等進行傳播。

植物病原細菌所引起之植物病害，其病徵與真菌所引起的病徵相類似，常見之病徵有葉斑、葉枯、葉燒、萎凋、軟腐、腫瘤等。但是由細菌所引起的植物病害，切下罹病組織並滴一小水滴於其上，在光學顯微鏡下可觀察到大量細菌於切口處湧出。分離出病原細菌後，就要開始鑑定和分類的工作。由於細菌的細胞壁主要成份不同，植物病原細菌之鑑定先利用革蘭氏碘液進行染色，將細菌分成革蘭氏陽性菌及革蘭氏陰性菌兩大類。接著依Laboratory Guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria所述進行菌落型態、培養特性、生理生化特性、病原性測定、脂肪酸圖譜、蛋白質圖譜及核酸特性等測試結果(圖1)，便可推測出該未知菌種名。若出現之某些結果不符合資料的情況發生，可進一步應用分子技術來進行親緣分析此病原菌之病原型。引起植物病害的細菌主要為下列幾屬(圖2)，其中屬於革蘭氏陰性菌為：

- (1) 農桿菌屬(*Agrobacterium*)：為桿狀細胞，具有1~4根周生鞭毛，不產生氣體及酸，不分解明膠，生長於含碳水化合物之培養基，可產生豐富的多醣黏膜，菌落無色，圓滑型。菌體存於根圈及土中，若侵入植物根和莖，於植物的根冠、樹幹或枝條修剪處產生肥大瘤腫，其寄主範圍相當廣泛，至少可危害138

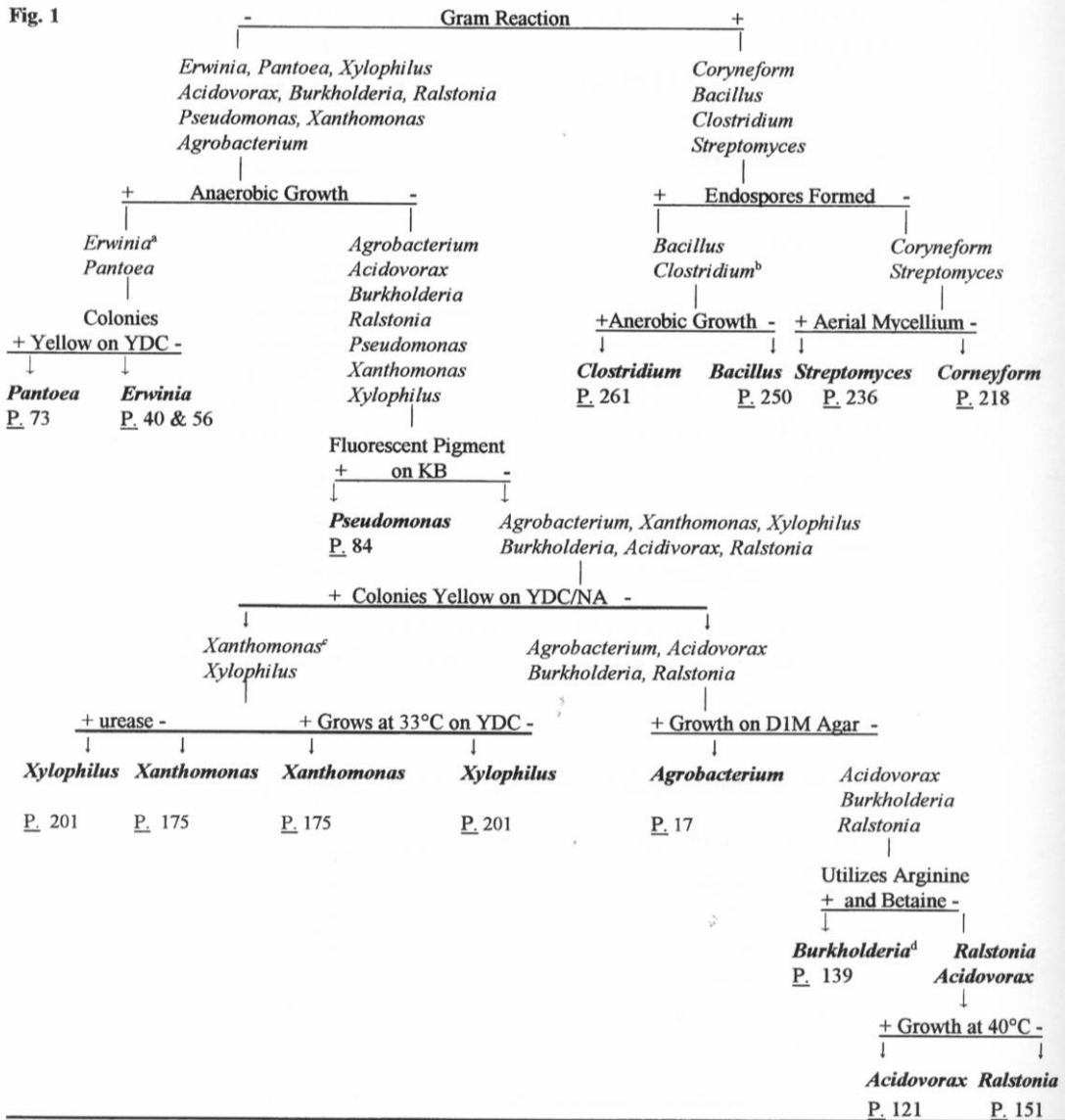
科、588 屬、1,193 種以上的植物，例如：番茄癌腫病、玫瑰癌腫病、甘蔗癌腫病等。

- (2) 假單胞桿菌屬(*Pseudomonas*)：長桿狀，多為單極多鞭毛或雙極多鞭毛，嚴格好氧，呼吸代謝而不發酵醣類。在固體培養基上之菌落為白色，有些菌產生螢光色素或紅、藍、黃、綠等水溶性色素。屬於土棲性或水棲性，大部分的菌種可侵害植物，造成葉斑、青枯、萎凋等病徵，例如：胡瓜細菌性斑點病、番茄細菌性葉斑病、楊桃細菌性斑點病、蘭花褐斑病等。
- (3) 黃單胞桿菌屬(*Xanthomonas*)：長桿狀，單極鞭毛，嚴格好氧，在固體培養基上產生不溶性濃厚黃色素，有粘膜，在碳水化合物培養基上粘膜尤多。本屬均為植物病原菌，感染植物的葉、莖及果實，形成葉斑、潰瘍、黑腐等病徵。寄主範圍廣泛，可感染具有重要經濟價值的穀類、蔬菜、果樹及花卉等至少 392 種被子植物，包含 124 種單子葉及 268 種雙子葉植物。例如：水稻白葉枯病、十字花科黑腐病、番茄及甜椒細菌性斑點病、柑桔潰瘍病、大豆葉燒病等。
- (4) 歐氏桿菌屬(*Erwinia*)：桿狀，具有2~8根周生鞭毛，菌落成白色圓形或不規則，為兼性厭氧菌，能發酵多種碳水化合物。會分解果膠酸鹽(pectate)，可在固體培養基上鋪一層酸鹽，做成選擇性培養基。可引起植物壞疽、萎凋及軟腐，產生惡臭，例如：蔬菜細菌性軟腐病、胡瓜細菌性萎凋病、蘭花細菌性軟腐病等。
- (5) 木質桿菌屬(*Xylella*)：桿狀，好氧，具有波浪狀細胞壁，為營養苛求細菌，無法培養於一般性培養基，於PD2固體培養基之菌落為乳白色圓形突起。菌體存在於植物木質部的導管裡增殖而堵塞了水份的輸送，受害植株出現葉緣焦枯、提早落葉，嚴重時造成植株死亡。可危害梨、葡萄、柑桔、苜蓿、咖啡、杏仁及李等多種經濟作物，引起葡萄皮爾斯病、桑葉枯黃、夾竹桃葉焦枯病、苜蓿矮化、咖啡細菌性葉焦枯及台灣特有的葉緣焦枯病。

革蘭氏陽性菌包括：

- (1) 棒桿菌屬(*Clavibacter*)：細小桿狀，有時略為變曲或呈棍棒狀，一般不運動，不抗酸，屬於好氧或兼性厭氧，碳水化合物的代謝兼有呼吸和發酵兩種方式。可存在於土壤中或植物殘餘物上，造成馬鈴薯輪腐病、番茄潰瘍病及甘蔗矮化病。
- (2) 鏈黴菌屬(*Streptomyces*)：鏈絲菌好氧，絕大部分腐生，其基質菌絲不斷裂，氣

生菌絲部分分化成直形、柔曲、鉤環狀孢子絲，成熟的孢子絲生成鏈狀的分生孢子，故名鏈絲菌。菌落較小而緻密，表面呈粉狀、絨狀，並有多種顏色。其代謝過程中，產生的次級代謝產物可作為抗生素。常見於土壤及腐爛植物中，可引起馬鈴薯瘡痂病。



^a Colonies of *Pantoea citrea* and some strains of *P. agglomerans* are generally white.

^b *Clostridia* cells with spores are swollen, whereas *Bacilli* are not.

^c Colonies of *Xanthomonas cassavae* and two pathovars of *X. campestris* are white.

^d *Burkholderia andropogonis* is negative for arginine and betaine. However, it is oxidase negative, whereas *Ralstonia* and *Acidovorax* are positive.

圖 1.不同屬植物病原細菌鑑定流程圖

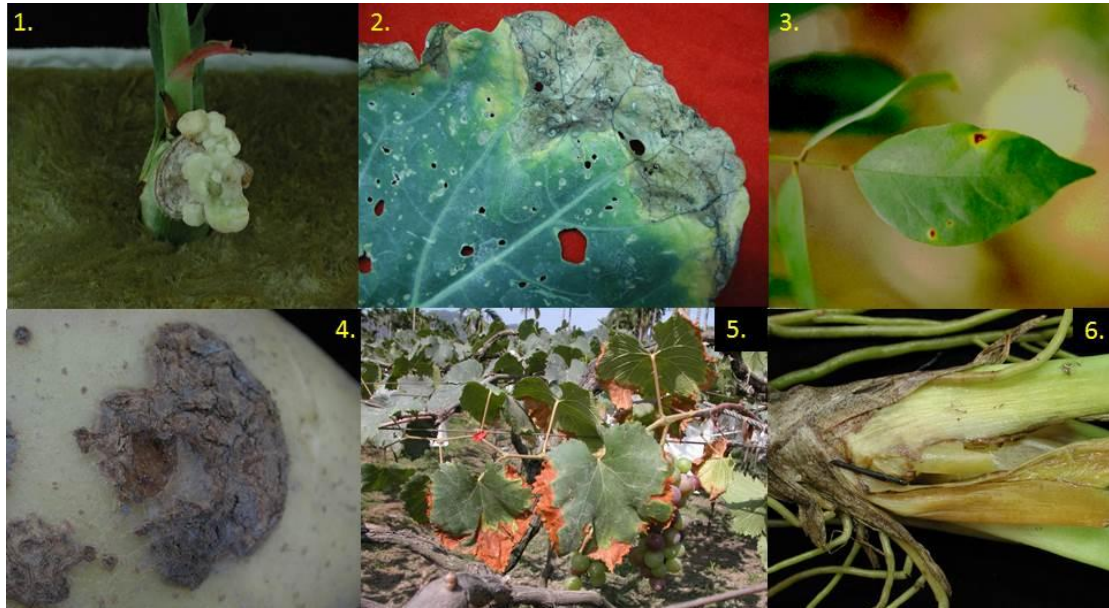


圖 2.常見的植物細菌病害：(1)玫瑰癌腫病(*Agrobacterium tumefaciens*)、(2)甘藍黑腐病(*Xanthomonas campestris*)、(3)楊桃細菌性斑點病(*Pseudomonas syringae*)、(4)馬鈴薯瘡痂病(*Streptomyces scabies*)、(5)葡萄皮爾斯病(*Xylella fastidiosa*)、(6)文心蘭細菌性軟腐(*Erwinia carotovora*)。

植物病原病毒

病毒是由核酸分子（DNA或RNA）與蛋白質構成的外殼所組成的生命體，無法由光學顯微鏡觀察到。病毒顆粒的型態可分成不對稱形及對稱形兩大類，不對稱形的病毒顆粒有短桿狀、長桿狀及鎗彈型，亦有絲狀者；至於對稱形的病毒顆粒，通常是由等邊三角形所組成的20面體，其形狀為球形。植物病毒必須藉由傷口才能進入植物體內，且必須在寄主的細胞內才能生存繁殖。因此，植物病毒需經由昆蟲或其他節肢動物、土壤中的線蟲與低等真菌、攜帶病毒的種子與營養繁殖器官及機械工具等方法傳播。病毒感染寄主植物後，干擾寄主細胞代謝作用，致使寄主細胞無法正常的生長而出現病徵。一種病毒可能感染一種或數種植物；同樣的，一種植物也可能被一種或數種不同病毒所感染，稱之為複合感染。病毒複合感染可能產生拮抗作用(antagonistic effect)，如菸草植株內的嵌紋病毒會抑制馬鈴薯病毒Y的增殖；另一種則為增效作用(synergistic effect)，兩種病毒同時存在時，會造成較嚴重的危害，如馬鈴薯病毒X和病毒Y，兩者單獨感染時僅造成馬鈴薯輕微嵌紋褐斑，但兩者同時感染時則花葉均嚴重皺縮。

作物病害診斷通常以肉眼觀察病徵來加以判斷，病毒為害作物除了隨著病毒

種類及為害部位的不同，所表現的病徵差異也大。感染初期、中期與後期的病徵皆有所不同外，亦受季節、環境條件如日照、溫度、濕度營養等影響。病毒所造成的病徵甚複雜，一般於葉片上出現的病徵最為明顯，但亦有莖、果實或根的病徵明顯者。植物病毒病害幾乎均屬於系統性感染病害，造成全株出現系統性病徵。出現病徵主要為嵌紋，於葉片或果實上夾雜著淺綠色、黃色及正常綠色相嵌，或花瓣上夾雜白色與正常花色。依變色程度及形式之不同，可分為斑駁嵌紋、脈綠嵌紋、連葉嵌紋、皺縮葉嵌紋、綠泡凸起嵌紋等不同嵌紋型態。此外，葉片上無斑點存在並均勻的黃化、葉脈透化、矮化、叢生、簇葉、壞疽輪紋等也屬於系統性感染之病徵。有些病毒感染作物後，寄主外觀並不顯現病徵，且與健康者難以區別，稱之為潛伏性感染(Latent infection)。而造成潛伏感染的此類病毒，稱之為潛居性病毒，如馬鈴薯病毒S在克尼伯品種上之感染屬之。另外，某些病毒感染後，由於外界環境因素的影響，如高溫、低溫、日照或養份等因子，一度出現病徵後又消失，恢復如同健康狀者，此種情況叫病徵隱避，但病毒尚存在於作物體中，一旦環境條件適合再出現病徵。

植物病毒與其他病原菌間差異極大，除形態及大小外，其他如化學組成、物理構造、感染方式、在寄主體內的複製過程及運行、傳播方法及病徵，皆極不相同。因此，在1970年代David Baltimore基於病毒mRNA的生成機制提出一套新的病毒分類法，稱之為巴爾的摩分類法(Baltimore classification)。病毒基因組可以是單鏈或雙鏈的RNA或DNA，可以有也可以沒有反轉錄酶。而且，單鏈RNA病毒可以是正義(+)或反義(-)。這一分類法將病毒分為7類：

第一類是雙鏈DNA病毒（如腺病毒、疱疹病毒、痘病毒）

第二類是單鏈DNA病毒(+) DNA（如小DNA病毒）

第三類是雙鏈RNA病毒（如呼腸孤病毒）

第四類是(+)單鏈RNA病毒（如微小核糖核酸病毒、披蓋病毒）

第五類是(-)單鏈RNA病毒（如正黏液病毒、炮彈病毒）

第六類是單鏈RNA反轉錄病毒（如反轉錄病毒）

第七類是雙鏈DNA反轉錄病毒（如肝病毒）

針對各種病毒所引起的病害，其診斷過程通常以肉眼觀察病徵的表現加以判斷，倘若尚難加以確定則從簡單的解剖由內部症狀加以診斷，再無法確定就要以植物接種、嫁接、組織化學染色、血清反應、分離純化病毒、電子顯微鏡觀察或

進行聚合酶連鎖反應等分子檢測加以論證。

結 語

植物病害的檢測鑑定為防治病害之重要關鍵，包括從傳統的型態鑑定、生理生化鑑定至分子鑑定，均占有一席之地，然而如何活用各項檢測鑑定技術而能快速且準確得到結果，則是每個研究人員需仔細思考的課題。本文提供植物病原細菌及植物病原病毒的鑑定方針，希望提供植物防檢疫人員診斷病害的依據，進而提出有效防治策略。

參考文獻

1. 詹富智、盧耀村、陳慶忠。2011。植物檢疫病毒偵測技術。植物重要防檢疫病害診斷鑑定技術研習會專刊(二)。
2. 孫守恭。1988。植物病理學通論。藝軒圖書出版社。台北。
3. 蘇秋竹、徐世典。1998。在台灣由*Pseudomonas syringae*引起之楊桃細菌性葉斑病。植病會刊7:215 (摘要)。
4. Agrios, G. N. 1997. Introductory Plant Pathology. 4th ed. Academic Press, New York, NY.
5. Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology, 5th ed. Chapter 12. Academic Press, New York, NY.
6. Riley, M.B., M.R. Williamson, and O. Maloy. 2002. Plant disease diagnosis. The Plant Health Instructor.
7. Schaad N. W., Jones, J. B., and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd ed. APS press, Minnesota.
8. Su, C. C., Chang, C. J. Yang, W. J. Hsu, S. T., Tzeng, K. C. Jan, F. J. and Deng, W. L. 2012. Specific characters of 16S rRNA gene and 16S-23S rRNA internal transcribed spacer sequences of *Xylella fastidiosa* pear leaf scorch strains. European Journal of Plant Pathology, 132 (2) pp. 203-216.
9. Su, C.C., Chang, C. J. Chang, C. M. Shih, H. T. Jan, F. J. Kao, C. W. and Deng, W. L. 2013. Pierce's disease of grapes in Taiwan: Isolation, cultivation, and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. Journal of Phytopathology 161(6):389–396.
10. Temin, H.M., Baltimore, D. 1972. RNA-directed DNA synthesis and RNA tumor viruses. Adv. Virus Res. 17: 129 – 86.

藥毒所專題報導

發行人：費雯綺
發行所：行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所
地址：臺中市霧峰區舊正里光明路 11 號
網址：<http://www.tactri.gov.tw>
電話：(04)23302101
總編輯：陳妙帆
編輯委員：蔣永正 蘇文瀛 何明勳 曾經洲 蔡韙任
徐慈鴻

展售書局：

1. 國家書店松江門市/臺北市松江路 209 號 1 樓 (02)25180207
網路書店/<http://www.govbooks.com.tw>
2. 五南文化廣場/臺中市中山路 6 號 (04)22260330
網路書店/<http://www.wuanbooks.com.tw>

印刷：中英打字印刷行
地址：南投縣草屯鎮中正路 587 之 4 號
電話：049-2338051

中華民國 104 年 1 月出版

定價：新台幣 30 元

GPN：2007600007

ISSN：1017-9569(平裝)

著作財產權人 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所
欲利用本書全部或部份內容者，須徵求著作財產權人同意。



歡迎轉載，但請註明出處。

ISSN:1017-9569
GPN:2007600007
定價：30 元