

研究簡報

Pseudomonas solanacearum 引起之火鶴花細菌性萎凋病

蘇秋竹 呂理燊

台中縣霧峰鄉 台灣省農業藥物毒物試驗所

接受日期：中華民國 84 年 3 月 20 日

蘇秋竹、呂理燊。1995。 *Pseudomonas solanacearum* 引起之火鶴花細菌性萎凋病。植病會刊 4:34-38。

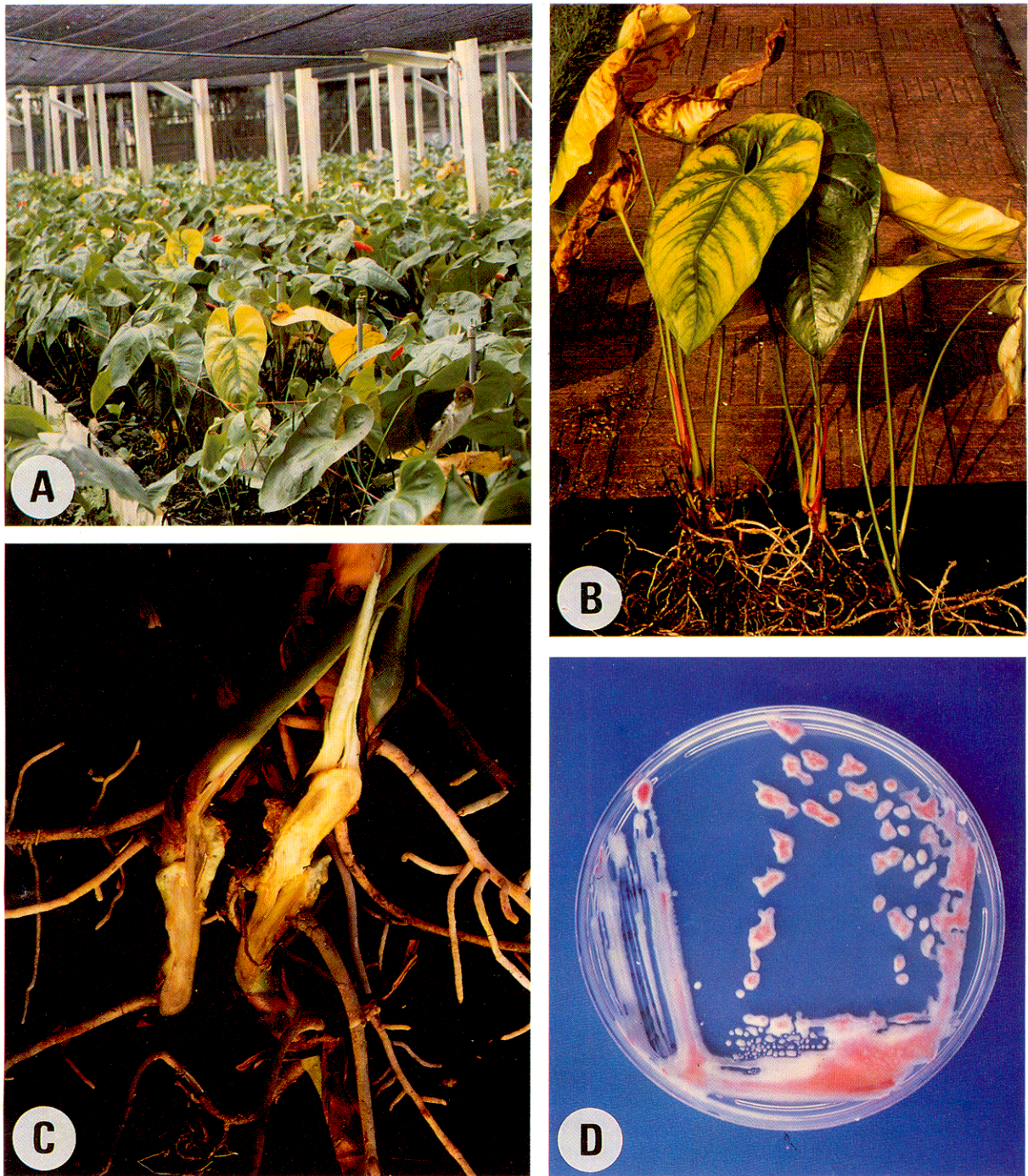
火鶴花 (*Anthurium andreaum* L.) 屬天南星科、花燭屬花卉，為本省新興重要切花之一，主要產地分佈於中部埔里、后里及南部佳里、屏東等地區。於 1991 年 9 月間，自后里火鶴花發病園，採回具黃化萎凋之病株，莖剖面呈現明顯之褐變現象，鏡檢時觀察到許多細菌由罹病組織之切口處湧出來，分離之細菌在 triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 培養基 (14)，具有流體狀之菌落，初步判定是由青枯病菌 *Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith 所引起；在臺灣，火鶴花之細菌性病害於 1991 年發表有 *Xanthomonas campestris* pv. *deffenbachiae* 引起之葉枯病 (6)，過去不曾有其他火鶴花細菌性病害發生的報告，因此火鶴花為青枯病菌之新寄主。本文初步報導本省火鶴花細菌性萎凋病之發生情形、病徵、病菌之病原性及寄主範圍測定。部份研究成果已以摘要形式發表 (1)。

自 1991 年至今，本省火鶴花栽培區在后里及埔里各發現一發病園有細菌性萎凋病存在，其病徵最初由外圍葉片開始出現黃化現象，逐漸整葉黃枯，並漸蔓延至其他葉片，心芽及地基部偶亦呈現壞疽褐化現象 (圖一 A 及 B)，最後整株葉片全部黃化萎凋枯死，莖剖面有明顯褐變，擠壓時可見菌泥 (圖一 C)。

採回之罹病株，經分離共得 18 個細菌菌株，保存於無菌蒸餾水中，製備接種源時，將保存於蒸餾水中之細菌，劃線於 TTC 培養基平板於 30 °C 經 48 小時培養後，選取有病原性流體狀菌落 (圖一 D)，移植 523 培養基 (12) 平板，經過 24 小時培養後直接作為接種源或將細菌懸浮於無菌蒸餾水，調整濃度為 1.2×10^8 cfu/ml 作為接種源。生理、生化特性項目主要依照 Hsu 及 Chen (11) 和 Fahy 及 Hayward (9) 所列之方法測定。接種試驗以殺菌過之醫用注射針頭沾取細菌懸浮液，分別於火鶴花 (品種為 Hajrija-206) 莖基部、花軸、葉柄、葉及根等部位，作針刺接種，接種後置於 28

C-35 °C 溫室，連續觀察二個月。火鶴花不同品種之病原性及寄主範圍測定，直接以莖部針刺接種，火鶴花品種包括 Lydia-420、Hajrija-206、Jose-144、Nette-123、Test-301、Test-304、Fuego 及農試所 4 號 (TARI No. 4)，接種後植株的反應以下列發病等級記錄：0：無病徵，1：一葉片部份黃化，2：一或二葉片黃化，3：三葉片黃化，4：全部葉黃化萎凋，5：植株枯死；寄主範圍測定除火鶴花本身外，其他測試之植物包括蕃茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill 品種為農友 301)、煙草 (*Nicotiana tabacum* L. 品種為台菸 5 號)、甜椒 (*Capsicum annuum* L. 品種為天王星)、馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L. 品種為大葉克難)、落花生 (*Arachis hypogaea* L. 品種為台南 5 號)、茄子 (*Solanum melongena* L. 品種為農友 704)、三倍體香蕉 (*Musa cavendishii* Lamb. 品種為北蕉) 及天堂鳥花 (*Strelitzia reginae* Banks)。不同寄主之青枯病菌株，包括 Ps38 (菸草)、Ps95 (蕃茄)、Pr52 (紫蘇)、Bp4 (天堂鳥) [中興大學植病系細菌研究室提供] 及 Ctw2 (銀柳) 同前述莖部接種方法接種於 Hajrija-206 火鶴花。

自埔里及后里分得之 18 個細菌菌株在 TTC 培養基平板皆能形成青枯病菌典型致病性菌落 (圖一 D)，測定之生理、生化特性中，硝酸還原作用項目 (nitrate reduction)，11 個菌株為正反應，7 個菌株為負反應，其他特性菌株間均無差異，細菌屬革蘭氏陰性菌，能產生褐色色素 (brown pigment)，在 King's B 平板不能產生螢光色素 (fluorescent pigment)，在含 1% NaCl 的 nutrient broth (NB) 中可生長，但在含 2% NaCl 的 NB 中無法生長。此外對 Kovacs' 氧化酵素 (Kovacs' oxidase)、磷酸酵素 (phosphatase)、過氧化氫放氧酵素 (catalase test) 及尿酸酵素 (urease test) 等測定，菌果聚糖類之產生 (production of levan)，脫硝作用 (denitrification)，解脂作用 (Tween 80 hydrolysis)，利



圖一、A. 火鶴花細菌性萎凋病田間病徵，B. 病株黃化萎凋病徵，C. 罹病莖基部組織之縱切面示維管束褐變，D. TTC 平板上典型之流體狀菌落。

Fig. 1. A. Bacterial wilt of anthurium in field, B. the close up symptom of leaf yellowing before wilt, C. the longitudinal section showing discoloration of diseased stem induced by *Pseudomonas solanacearum*, D. the typical fluid bacterial colony on the TTC agar plate.

用天門冬醯胺為生長唯一碳素及氮素源 (utilization of asparagine) 及檸檬酸鹽氧化作用 (oxidation of citrate) 均為正反應；而在精氨酸二水解酵素 (arginine dihydrolase) 及硫酸酵素 (sulphatase) 測定，七葉酸水解作用 (esculin hydrolysis)，白明膠水解作用 (hydrolysis of gelatin)，澱粉水解作用 (hydrolysis of starch)，吲哚之產生 (production of indole)，果膠分解能力 (pectate degradation) 及蛋黃反應 (egg-yolk reaction)，烷紅測定 (methyl red test) 均呈負反應。能氧化葡萄糖 (glucose)、甘露醣醇 (mannitol)、山梨聚醣醇 (sorbitol) 及甜己醣醇 (dulcitol) 產生酸；但是不能氧化乳糖 (lactose)、麥芽糖 (maltose) 及纖維雙糖 (cellobiose) 產生酸。能利用 β -丙胺酸 (β -alanine)、海藻糖 (trehalose) 及蔗糖 (sucrose)；不能夠利用 D-酒石酒 (D-tartrate)、N-propanol、D-arabinose、levulinate 及 L-rhamnose。

Au4 菌株針刺接種火鶴花不同部位之病原性測定，每次經針刺傷口各接種三株火鶴花，綜合 6 次接種試驗，莖部 5 次感染發病，由花軸、葉柄及根皆僅一次感染發病，但葉片接種無法使其發病。莖部針刺接種後置於溫室 (溫度範圍 28-35 C)，接種後第 6 天外圍葉片即開始表現出初期黃化病徵，逐漸蔓延至其他葉

片，至第 20 天左右植株即會萎凋枯死，同田間罹病株之病徵相似。火鶴花不同品種之病原性測定結果如表一，測試 8 種品種顯示 Lydia-420 及台中農試所 4 號，兩品種較抗病，接種後一個月發病指數僅達 1.0 及 2.2，餘 6 個品種皆很感病，接種後一個月植株即全部黃化萎凋枯死。

將三個火鶴花萎凋病菌株以針刺接種到八種其他供試植物，結果如表二。一般而言，火鶴花萎凋病菌，對茄科作物，如番茄、馬鈴薯、煙草、甜椒具有強病原性，病徵在一週內出現，然後急速死亡，接種的植株發病率達 60 至 100%。但對落花生及茄子之病原性較弱，連續觀察二個月接種之植株僅 10 至 30% 之植株發病萎凋死亡；三個菌株接種至北蕉及天堂鳥花，均無發病現象。不同寄主之青枯病菌株接種於火鶴花，結果如表三，顯示天堂鳥花及銀柳之菌株可成功感染火鶴花，造成之病徵與田間者相似，但紫蘇、蕃茄及菸草之菌株不能感染火鶴花。

火鶴花萎凋病是本省新病害，該病害於 1991 年首度在后里鄰接部份發生青枯病的天堂鳥花園之火鶴花栽培區，發現一塊約四分地之發病田，另在埔里火鶴花栽培園亦發現一植床約 5 坪大之發病區，至今在火鶴花其他栽培區，並無發現此病害。由田間病株分離

表一、火鶴花青枯病菌 (Au4) 對不同品種之病原性

TABLE 1. Pathogenicity of strain Au4 of *Pseudomonas solanacearum* from anthurium to different anthurium variety¹

Days after inoculation	Disease index on varieties ²							
	Lydia-420	Hajrija-206	Jose-144	Nette-123	Test304	Test301	Fuego	TARI No.4
6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0	0.0
12	0.5	1.5	1.0	0.5	3.8	4.0	1.2	0.4
18	0.5	4.5	4.0	3.0	4.6	5.0	3.8	1.0
24	0.5	5.0	5.0	4.5	4.8	5.0	5.0	1.6
30	1.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	2.2

¹ Lydia-420, Hajrija-206, Jose-144 and Nette-123 were 2-3 year-old plantlets obtained from farmers, Test304, Test301, Fuego and TARI No.4 were 1-2 year-old plantlets raised from tissue cultures supplied by the Taiwan Seed Improvement and Propagation Station.

² Average disease index of four plants after inoculation. Index ranged from 0=no symptom to 5=plant dead.

表二、火鶴青枯病菌之菌株對其他寄主植物之病原性

TABLE 2. Pathogenicity of three strains of *Pseudomonas solanacearum* from anthurium to other host plants

Strain No.	Percentage of infected plants after inoculation ¹							
	Potato	Tomato	Pepper	Tobacco	Eggplant	Peanut	Bird-of-Paradise	Bananas
Au 1	100	90	80	80	20	30	0	0
Au 4	100	90	60	100	10	10	0	0
Au 14	100	100	60	80	10	10	0	0

¹ Data were average of two tests, 10 plants for each test.

表三、不同寄主之青枯病菌對火鶴花之病原性
TABLE 3. Pathogenicity of strains of *Pseudomonas solanacearum* from other hosts to anthurium

Strain	Host origin	Pathogenicity on anthurium ¹
Ps 95	Tomato	—
Ps 38	Tobacco	—
Pr 52	Perilla	—
Bp 4	Bird-of-Paradise	+
Ctw 2	Cat-tail willow	+

¹ +: Pathogenic; -: Nonpathogenic.

所得的細菌經接種試驗及生理、生化特性測定的結果，可以確定該病害由 *Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith 引起。分離的 18 個火鶴花萎凋病菌株，除為害火鶴花外，也可以感染蕃茄、馬鈴薯、茄子、甜椒、煙草等茄科作物，因此均屬 Buddenhagen 氏等 (8) 分類系統之第一生理小種 (race 1)，又由能氧化三種六醣醇 (mannitol, sorbitol 及 ducitol) 及不能氧化三種雙醣 (lactose, maltose 及 cellobiose) 之結果顯示這些菌株均屬 Hayward (10) 分類系統的第四生物型 (Biovar IV)。於交互接種試驗中，火鶴花菌株能感染多種茄科作物和落花生，但蕃茄及菸草之菌株不能感染火鶴花，顯示火鶴花的菌株與台灣其他寄主來源之菌株雖同屬第一生理小種，但其病原型可能不同 (2,5)，有待深入探討。

自 1991 至 1993 連續觀察調查后里四分地之發病田之發生率及管理狀況，第一年 (1991 年) 6 月開始發病至該年 10 月期間，大量發生，約 3000 株發病死亡，拔除病株再補植，第二年同期間調查 200 株發病，第三年再調查幾無病株存在，發病田栽植之三品種，以 Hajrija-206 及 Jose-144 二個品系較感病，而 Lydia-420 品系較抗病，人工接種亦顯示火鶴花之 Lydia-420 及農試所 4 號品系較抗病。管理狀況調查顯示第一年 4 月農友以未醱酵之樹皮覆蓋植床，第二年後改木材之刨屑覆蓋，推測可能夏季樹皮醱酵時植床溫度升高，植株生育雖無法用肉眼判斷，但可能造成之植株生育受損導致本病大量發生，一般研究結果表示溫度和土壤溫度與濕度高最有利於青枯病發生 (3,4,7,13)，因此火鶴花萎凋病在田間之自然發生，土壤溫度加上樹皮醱酵過程之為害可能扮演主要角色。因當地管理方法之改進及一般田間皆未有本病害之發生，火鶴花在田間可能需受到某些特定環境之影響時才會發病。品種間抗感性差異極顯著頗具意義，將來本病萬一大量發生時可供防治參考之用。至於本病病菌之來源猜測可能為鄰近之天堂鳥花發病田，人工接種亦可證實此等觀察結

果，但為何火鶴花分離所得之病原菌對天堂鳥花不具致病性，是否因供試菌株太少所致，則值得再探討。

關鍵詞：火鶴花、細菌性萎凋病、*Pseudomonas solanacearum*。

謝 辭

台灣省農業藥物毒物試驗所研究報告第 106 號。本試驗所使用之不同寄主之青枯病菌株，誌謝中興大學植病系細菌研究室提供，接種用之不同品系火鶴花小苗則由種苗改良繁殖場供應。

引用文獻

1. 呂理燊、蘇秋竹. 1992. *Pseudomonas solanacearum* 引起之火鶴花細菌性萎凋病. 植病會刊 1:211 (摘要)。
2. 徐世典. 1974. 台灣茄科植物青枯病病原細菌之菌系及其分佈之研究. 國科會研究彙報 7(2):351-362。
3. 徐世典. 1975. 土壤環境與植物病原細菌之消長. 植保會刊 17:233-242。
4. 徐世典. 1991. 台灣植物青枯病菌之生態與防治. 植保會刊 33:72-79。
5. 徐世典、蔡東纂、曾國欽. 1979. 台灣茄科植物青枯病菌之病原菌系及其間在煙草內之交互作用. 科學發展月刊 7:609-620。
6. 許秀惠. 1991. 火鶴花之細菌性葉枯病. 植保會刊 33:421(摘要)。
7. 康慧鳳. 1990. 紫蘇青枯病之研究. 國立中興大學植病研究所碩士論文. 70 頁。
8. Buddenhagen, I. W., Sequira, L., and Kelman, A. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52:76. (Abstr.)
9. Fahy, P. C., and Hayward, A. C. 1983. Media and methods for isolation and diagnostic tests. pp. 337-378 in: P. C. Fahy, and G. J. Persley, eds. *Plant Bacterial Diseases, A Diagnostic Guide*. Academic Press Australia, N. S. W., Australia.
10. Hayward, A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bact.* 27:265-277.
11. Hsu, S. T., and Chen, J. Y. 1977. Physiological variation among isolates of *Pseudomonas solanacearum* from Taiwan. *Plant Prot. Bull.* 19:124-132.
12. Kado, C. H., and Heskett, M. G. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas*. *Phytopathology* 60:969-976.

13. Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. N. Carolina Agr. Expt. Sta. Tech. Bull. 99:1-94.
14. Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a Tetrazolium medium. Phytopathology 44:493-495.

ABSTRACT

Su, C. C., and Leu, L. S. 1995. Bacterial wilt of anthurium caused by *Pseudomonas solanacearum*. Plant Pathol. Bull. 4:34-38. (Department of Pesticide Application, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufen, Taichung, Taiwan, R.O.C.)

Eighteen bacterial strains were isolated from wilted anthurium plants collected in Holi and Puli areas of central Taiwan. Based on their morphology, physiological and biochemical properties and pathogenicity to anthurium, they were identified as *Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith. All strains were race 1 and biovar 4. The symptoms were manifest first in the yellowing of portion of the outer leaf which gradually expanded to the entire area of the leaf, and then progressed to inner leaves. Finally systemic yellowing and wilting resulted in the plant death. Under warm and moist conditions, the bud and tissues adjacent to basal stem sometimes showed brown rot symptoms. Among eight cultivars of anthurium tested, Lydia-420 and TARI No. 4 were moderately resistant, while others susceptible. Strains of *P. solanacearum* from anthurium were pathogenic to solanaceous hosts and peanut. Strains from bird-of-paradise and cat-tail willow were pathogenic to anthurium but strains from perilla, tomato and tobacco were not pathogenic to anthurium. The diseased anthurium field in Holi was very close to bird-of-paradise fields where wilting of the plants induced by *P. solanacearum* was observed. However, three strains of *P. solanacearum* from anthurium tested could not infect bird-of-paradise. Field observation revealed that bacterial wilt of anthurium has limited occurrence and was restricted to the fields where unfermented barks had been used as the covering material for plant bed.

Key words: Anthurium, Bacterial wilt, *Pseudomonas solanacearum*.