

蕹菜青枯病之發生

黃晉興¹ 許秀惠^{1,2} 林俊義¹

1. 臺中縣霧峰鄉 行政院農委會農業試驗所

2. 聯絡作者：電子郵件：shhseu@wufeng.tari.gov.tw；傳真：04-23338162

接受日期：中華民國 90 年 11 月 20 日

摘要

許秀惠、黃晉興、林俊義。2001. 蕹菜青枯病之發生. 植病會刊 10:187-194.

台中縣大里地區栽培之水蕹菜於 1999 年零星出現植株失水萎凋死亡之病害，隔年該地區大面積發生相同病害，隨後該病害相繼在南投竹山名間及宜蘭礁溪等主要水蕹菜栽培區出現，且發生嚴重，在台灣連續採收之陸蕹菜栽培區也發現相同病害，主要病徵為葉片失水下垂，植株萎凋死亡，部份樣品出現維管束褐化的現象。由罹病組織分離之病原菌經培養特性，生理生化特性，寄主範圍，專一性引子測定及接種等試驗鑑定為 *Ralstonia solanacearum* race 1 biovar 4。蕹菜青枯病菌會感染數種旋花科及茄科作物。溫度試驗顯示在 16 時青枯病菌即可感染蕹菜，但在 20 以上才產生明顯病徵，28 以上病勢嚴重。測定栽培用田區蕹菜植株帶青枯病菌比率在 12.10-93.35% 之間。傷口處理有利於青枯病菌侵染蕹菜植株。

關鍵詞：蕹菜、青枯病、青枯病菌

緒言

蕹菜 (*Ipomoea aquatica* Forsk., 英名為 water convolvulus) 屬旋花科 (Convolvulaceae) 一年生之蔓性草本植物，俗稱應菜，因莖中空又稱空心菜，原產於中國中南部，在台灣一年四季都有生產，盛產於春、秋及夏季，不僅甘甜可口，且含豐富蛋白質、維生素與礦物質，是夏秋多雨季節重要蔬菜之一^(2,6)。在台灣栽培方式大致區分為旱地及水田栽培，旱地栽培包括種子直播單次採收及宿根連續採收二種栽培方式(簡稱陸蕹菜)，水田栽培則以宿根栽培連續採收為主^(2,6)(簡稱水蕹菜)。陸蕹菜主要栽培地區為台北縣市、桃園縣、臺中縣、彰化縣、南投縣、雲林縣、嘉義縣、臺南縣市及屏東縣等遍佈全省各地⁽¹⁾。水蕹菜主要栽培地區為宜蘭縣礁溪鄉，臺中縣大里市、霧峰鄉，南投縣名間鄉、竹山鎮等地區，陸蕹菜及水蕹菜全台栽培面積約為 2000 多公頃⁽¹⁾。

民國八十八年夏季，在台中縣大里市種植之水蕹菜首次發生植株萎凋與下位葉黃化現象。隨後在台中縣霧峰鄉、南投縣名間鄉、竹山鎮、宜蘭縣礁溪鄉等水蕹菜栽培區陸續發現相同的問題，嚴重時，使原本一年可採收十次之水蕹菜田，僅採收數次即廢耕，影響產量甚巨。起初該病害被認為是工廠排放廢水污染灌溉水所致，但經植物體元素含量、土壤及水質重金屬分析皆未見異常。翌年，農會邀本所植病系人員會勘及研究後確認為病害問題⁽⁴⁾，進而調查台灣陸蕹菜病害發生情形，調查發現以宿根栽植連

續採收方式栽培之蕹菜其青枯病發生相當普遍，而連根採收之陸蕹則尚未發現青枯病危害，因此本研究除探討蕹菜萎凋之病因，病原菌特性外，並探討傷口對病害發生之影響，以供病害防治參考。

材料與方法

菌株分離

從各水蕹菜栽培區(台中縣大里市、霧峰鄉、烏日鄉、南投縣竹山鎮、名間鄉、宜蘭縣礁溪鄉等)及宿根栽培之陸蕹菜栽培區(台中軍功、溪湖員林等)攜回失水萎凋病徵之病株進行組織分離，切取病株莖部組織置無菌水中振盪，以移植環沾取懸浮液，劃線於 NA (Nutrient agar, Difco) 培養基上，置室溫下培養 2-3 天後，挑取單菌落之細菌，再劃線於 NA 培養基上，重覆 3 次，再將這些菌株分別畫線培養於 TTC (triphenyl tetrazolium chloride) 培養基⁽¹²⁾，並挑取中央為粉紅至紅色，外圍白色，流質狀之典型青枯病菌菌落，再移至 NA 培養基上備用，共收集 21 株菌株。

病原性測定

供試接種源：分離所得之細菌於 30 下培養於 TTC 培養基並選取典型菌落，再移至 523 培養基⁽¹⁴⁾上增量培

養，之後以無菌水洗下細菌，以光譜儀(spectrophotometer)在 A_{600} 調整其吸收值，使細菌濃度相當於 10^8 cfu/ml 作為接種源。

菸草接種試驗：以葉脈注射法將細菌懸浮液打入煙草葉片，置室溫下，24 小時後觀察接種煙草葉片的反應。

水蘗菜接種試驗：將青骨大葉種之蘗菜蔓莖（約 30 cm）扦插於透明塑膠筒內（直徑 10 cm，高 30 cm），筒內含 8 cm 高之壤土及土面上 8 cm 高之水，每筒四支蔓莖，於室溫下栽培 7 天，待長出大量的根系後供接種用。病原菌之接種方法是以剪刀沾取供試接種源，再剪去供試蘗菜莖的頂端，並以剪刀沾取無菌水接種作為對照，每個處理 4 筒，每筒 4 棵蘗菜植株，接種後套上透明塑膠袋保濕 24 小時，置溫室（24-36 °C）內，觀察發病情形。

陸蘗菜接種試驗：將供試接種源均勻混於土壤中，使每公克土壤中含有 10^7 cfu/g 的青枯病菌。將苗齡 8 天之蘗菜幼苗（每鉢 5 株）及種子（每鉢 5 粒）種於含有混合病原菌（ 10^7 cfu/g）土壤的塑膠鉢中（直徑 10cm，高 8 cm），以不含供試細菌之土壤為對照，每處理 5 重複，於溫室（24-36 °C）中栽培，觀察病害發生情形。

形態及生理生化特性測定

選取蘗菜青枯病菌 Ia 3, Ia 6, Ia 84 等三個菌株，於 30 °C 下在 TTC 培養基上培養二天，之後以 523 培養基⁽¹⁴⁾培養一天，再依 Schaad⁽¹²⁾ 所述進行各項生理生化測定，及穿透式電子顯微鏡 (Hitach-7000) 觀察細菌形態及鞭毛著生情形。測試項目包括革蘭氏染色 (Gram stain), O/F, King's B 螢光色素，不同濃度 NaCl 之 nutrient broth (NB) 生長, Kovacs 氧化酵素 (Kovacs oxidase), 過氧化氫放氧酵素 (Catalase), 尿素酵素 (Urease), 硝酸鹽還原 (Nitrate reduction), 精氨酸二水解酵素 (Arginine dihydrolase), 白明膠水解作用 (Hydrolysis of gelatin), 澱粉水解作用 (Hydrolysis of starch), 果膠分解能力 (Pectate degradation), 苯丙氨酸脫氨酵素 (Phenylalanine deaminase), 硫化氫 (Production of H_2S) 及 Indole (Production of indole) 等測定。生物型 (biovar) 測定是依 Hayward⁽⁹⁾ 對 biovar 之分類法，測試各菌株利用三種雙糖 (lactose, maltose 及 cellobiose) 和三種六糖醇 (mannitol, sorbitol 及 ducitol) 產酸的能力。

專一性引子對聚合酵素連鎖反應

供試菌株為分離自不同蘗菜田之萎凋病原細菌共 21 支，同時以番茄青枯病菌（已知為 *Ralstonia solanacearum*）及火鶴花細菌性葉枯病菌 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*) 等菌株為對照。供試菌株於 PDA (potato dextrose agar, Difco) 培養基分別培養 24 小時後，依 Wang 等⁽¹⁵⁾ 之方法略加修改以製備細菌 DNA 模板，其步驟如

下：以滅菌過之牙籤沾取培養基上單一菌落，放入含有 20 μ l 0.5 N NaOH 之 200 μ l 微量離心管中，劇烈振盪後短暫離心，並直接加入 20 μ l 的 1M Tris-HCl (pH 8.0) 混合均勻，取此製備液 2 μ l 當 DNA 模版。

將供試菌株依 Opina 等⁽¹³⁾ 發表對青枯病菌具專一性之引子對 Au759 及 Au760 進行 PCR 反應，反應含 1.5 mM $MgCl_2$ 、2.5 mM dNTPs、1 p mole/ μ l (Au759)、1 p mole/ μ l (Au760)、2U DNA polymerase 及上述之青枯病菌 DNA 當模版，並加入無菌去離子水至總體積為 25 μ l，於溫度循環器 (thermalcycler, Perkin-Elmer Cetus.) 中進行 PCR 反應，整個 PCR 反應步驟為 95 °C, 3 min 一個循環，之後進行 93 °C, 30 sec, 55 °C, 30 sec, 72 °C, 45 sec, 共 30 個循環，最後再進行 72 °C, 5 min 一個循環。PCR 反應完成後以 1.4% agarose (TBE buffer) 進行電泳分析，以 ethidium bromide 染色觀察並於 UV 下照相記錄。

寄主範圍測定

供試植物包括蘗菜（青骨大葉種）、牽牛花（地方種，農友種苗公司）、矮牽牛（地方種，農友種苗公司）、番薯（地方種）、馬鈴薯（克尼伯）、茄子（屏東長茄）、辣椒（萬里香）、番茄（農友 301）、蘿蔔（地方種）及花生（台農 6 號）。將各種植物之種子或種薯種於含有壤土的塑膠鉢中（直徑 15cm，高 12cm），約 4 星期後供接種試驗。

將供試蘗菜青枯病菌 Ia 3 菌株培養於 523 培養基一天後，以無菌水調整菌源濃度為 10^8 cfu/ml 作為接種源。將供試植株輕輕自栽培盆中取出，以自來水沖除土壤後，再以蒸餾水沖洗一次。接種時，以剪刀剪除部份根系製造根系傷口，並將植株根部浸於細菌懸浮液中 10 分鐘，再種回栽培盆中。同時以接種無菌水之處理當對照。每種處理 10 株，置網室 25-35 °C 中觀察發病情形，連續觀察 4 週後取回病株，以 TTC 培養基分離病菌，以確定植株發病為接種之病原菌引起。

溫度對病害發生之影響

依上述方法扦插栽培之供試蘗菜植株，以沾有細菌懸浮液之剪刀剪除莖頂部 3 公分之方法接種，接種後將植株放置於 12-36 °C，間隔 4 °C 之定溫箱中栽培（光照 12 小時 / 黑暗 12 小時），觀察發病情形，於接種後每週記錄發病率及發病度。發病等級區分為 0-5 級，0 級：無病徵。1 級：一葉片萎凋。2 級：二葉片萎凋。3 級：三葉片萎凋。4 級：四葉片萎凋。5 級：葉片全部萎凋至植株死亡。

$$\text{發病度 (Disease severity) (\%)} = \frac{\sum ni \times i}{N}$$

ni : i 級之調查棵數 ; N : 調查總棵數

栽培用植株帶青枯病菌比率測定

從霧峰及大里等水薤菜栽培區，逢機選取十處水薤菜田，每處薤菜田逢機（包含無病徵之樣品）採取 300 個樣品（摘取其植株頂端，約含三片葉片），以一株當作一樣品，共採集 3000 多個樣品，每個樣品經表面消毒後以 SM1 培養基⁽¹⁴⁾ 測定是否有青枯病菌存在，以確定田間薤菜植株帶青枯病菌之比率。

傷口對病害發生之影響

田間觀查發現薤菜青枯病之發生常隨著採收次數之增加而增加，為了解採收傷口對病害之重要性，進行莖部及根部傷口接種試驗。依前述供試植物之培育方法準備筒栽薤菜，而接種處理分為四種，包括地上莖部或地下根系以剪刀製造傷口及無傷口接種等處理。地上莖傷口處理：以剪刀剪去莖頂 3 cm，再噴供試細菌懸浮液 (10^8 cfu/ml)；地上莖無傷口處理：直接噴供試細菌懸浮液；地下根系傷口處理：剪去三分之一根長，再於含供試細菌懸浮液 (10^8 cfu/ml) 及土壤之筒中栽培；地下根系無傷口處理：將根系直接浸於含供試細菌懸浮液 (10^8 cfu/ml) 及土壤之筒中栽培。各處理均以無菌水取代細菌懸浮液作為對照組。接種後將植株套上透明塑膠袋保濕 24 小時，每個處理 4 筒，每筒 4 株，放置於室溫 (24-36 °C) 之溫室中栽培，觀察發病情形，於接種後記錄發病率及發病度，持續調查三至四星期。

結 果

病徵

罹病之薤菜植株最初呈現失水萎凋的病徵（圖一，A），部份植株的下位葉黃化，若幼苗期受感染，植株很快便萎凋死亡，且常形成缺株的現象（圖一，B），而採收前之病株除出現失水萎凋病徵外，易造成植株倒伏現象（圖一，C）；切開病株莖部，部份植株的維管束呈現褐色病徵（圖一，D）。在春末溫度逐漸回升的氣候中，常見原本翠綠茂密的薤菜在幾天之間葉片失水下垂，急速萎凋死亡，導致農民嚴重減產，且採收時農民需花費時間檢除病株，造成農民極大的損失，一般全年原本可採收 8-10 次，但若青枯病發生嚴重，則只能採收數次，甚至無法採收只好廢耕。經田間調查，發現水薤菜栽培區每年於二 - 三月開始出現病徵，至梅雨或夏季風雨過後日益嚴重，直到十月以後溫度降低，病害才逐漸減緩。陸薤菜青枯病病徵與水薤菜青枯病之病徵均相同。

病原性測定

從罹病株分離所得之細菌，以注射法打入煙草葉片

後，在 24 小時內即出現典型過敏性反應。水薤菜接種試驗結果顯示，以沾取細菌懸浮液之剪刀剪去薤菜莖莖頂之方法接種時，於接種 2-4 天後，剪莖處理之植株莖部接種處呈現壞疽現象，且在近接種處之葉片出現失水狀之枯萎病徵，之後下位葉亦出現相同病徵，7 天後大部分植株葉片黃化、萎凋，與田間所呈現病徵相似，浸水中之植株其莖節部有黑褐色腐爛現象，10 天後大部分植株死亡，從接種後之發病組織再分離之細菌與原接種之病原菌在 TTC 培養基上均形成典型青枯病菌之菌落型態。陸薤菜接種試驗結果顯示，將苗齡 8 天之薤菜幼苗及種子種於含有薤菜青枯病菌 (10^7 cfu/g) 土壤中後，分別於種植後 7-14 天出現萎凋死亡之病徵，至採收期 (21 天) 後發病率分別為 26.7% 及 13.3%。

形態與生理生化特性

供試菌株經穿透式電子顯微鏡 (Hitach-7000) 觀察，薤菜病原細菌的形態為桿狀無鞭毛或具 1 至多根單極生鞭毛。將菌株畫線培養於 TTC 培養基，產生中央為粉紅色外圍為白色流質狀，似青枯病菌之菌落。供試病原細菌為革蘭氏陰性 (Gram negative)，好氣性。在 King's B 平板上不會產生螢光色素，在含 1% NaCl 之 nutrient broth (NB) 中可生長，但在含 2% NaCl 中無法生長，產生 Kovacs 氧化酵素 (Kovacs oxidase)，過氧化氫放氧酵素 (Catalase)，尿素酵素 (Urease)，但不產生精氨酸二水解酵素 (Arginine dihydrolase)，白明膠水解作用 (Hydrolysis of gelatin)，澱粉水解作用 (Hydrolysis of starch)，果膠分解酵素 (Pectate degradation) 及苯丙氨酸脫氨酵素 (Phenylalanine deaminase)。但硫化氫之產生 (Production of H_2S) 與 Indole 的產生 (Production of indole) 等測定均呈負反應。生物型測定顯示薤菜青枯病菌可氧化 mannitol, sorbitol 及 ducitol 等三種六醣醇，不能氧化 lactose, maltose 及 cellobiose 等三種雙醣，依 Hayward⁽⁹⁾ 之分類系統原則，本病原菌屬於第 IV 生物型 (biovar 4)。

專一性引子對聚合酵素連鎖反應

以 Opina 等⁽¹³⁾ 發表對青枯病菌具專一性之引子對 Au 759 及 Au 760 進行 PCR 反應，發現供試菌株在 281 bp 處均產生條帶。同時，供試已知之番茄青枯病菌在 281 bp 處也產生條帶，但火鶴花細菌性葉枯病菌在 281 處未產生條帶，顯示供試薤菜萎凋病病原菌為 *Ralstonia solanacearum*。

寄主範圍

結果顯示供試薤菜菌株除危害薤菜外，尚可感染蕃薯、牽年花及矮牽牛等同科 (旋花科) 的作物。此外，亦可感染供試之馬鈴薯、番茄、茄子及辣椒等茄科作物及蘿



圖一、蘿菜青枯病之病徵。(A) 植株失水萎凋病徵；(B) 幼苗受感染造成之小病區；(C) 採收前植株大量萎凋倒伏；(D) 維管束褐化(左為健株)。
Fig. 1. Symptoms of bacterial wilt of water convolvulus. (A) Wilting symptom of a diseased plant. (B) Disease patch formed due to infection in the young seedling stage. (C) Severe wilting plants of water convolvulus field before harvest. (D) Brownish discoloration of vascular tissue (Left one is healthy).

葡，並造成萎凋病徵。但供試菌株不感染花生。由接種結果顯示造成薤菜萎凋之病原菌為 *Ralstonia solanacearum*，屬 race 1。

溫度對病害發生之影響

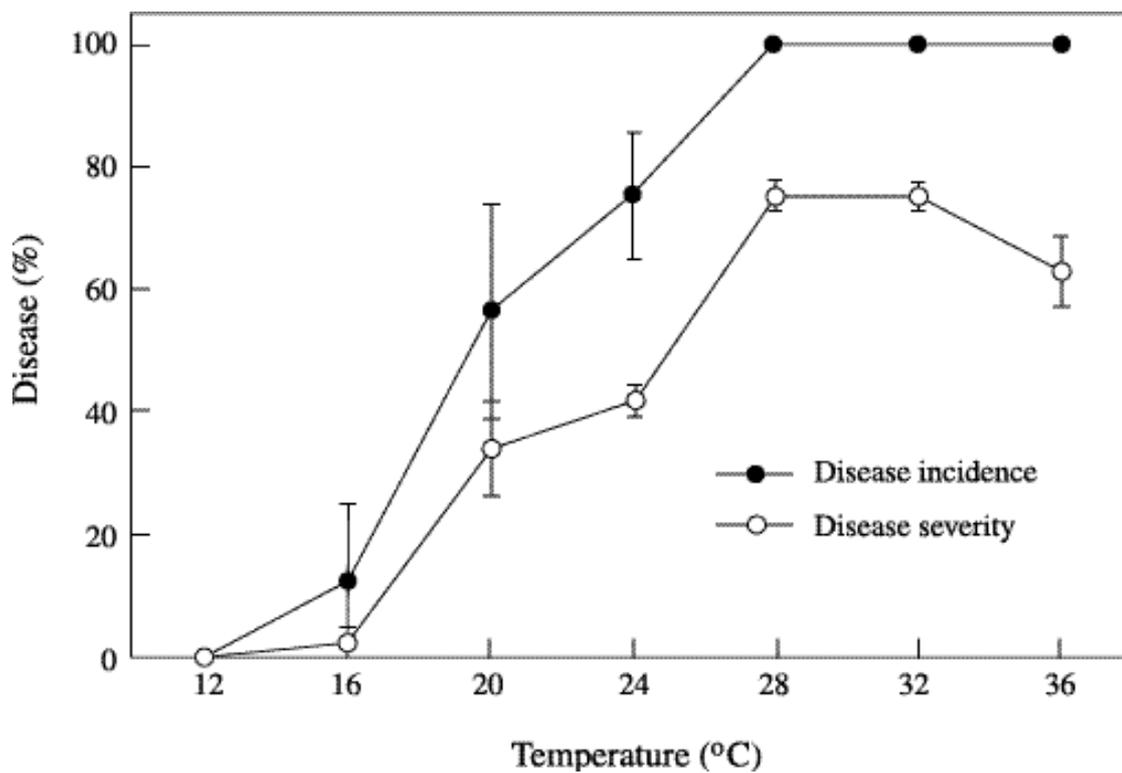
溫度試驗結果如圖二，顯示 16-36 下薤菜於接種 7 天後均發病，而 20 以上之發病率 (disease incidence) 高於 56.3%，28 以上則為 100%，以 28 與 32 環境下病害發生最嚴重，大部分之處理植株均萎凋死亡，發病度 (disease severity) 皆為 75%；36 之發病度次之，為 62.5%；於 20、24 下，僅部分植株出現萎凋死亡，發病度分別為 33.8% 及 41.5%。溫度在 16 時則僅有少許植株之葉片出現失水之病徵，從發病植株上均可分離到青枯病菌；而在 12 下，植株於接種 21 天後仍未出現病徵。

栽培用植株帶青枯病菌比率測定

薤菜植株帶青枯病菌測定結果顯示，從台中縣大里及霧峰逢機選取十處水薤菜田，每田約取 300 個樣品，這些樣品大多為無病徵之植株，共取 3190 個樣品，不同水薤菜田其帶青枯病菌比率在 12.10%-93.35% 之間，平均為 42.68%。帶青枯病菌比率分別為 93.95% (309 / 331)，63.01% (201 / 319)，56.03% (172 / 307)，52.10% (174 / 334)，49.23% (160 / 325)，30.89% (101 / 327)，25.08% (79 / 315)，23.68% (76 / 321)，21.3% (65 / 305) 或 12.10% (37 / 306)。

傷口對病害發生之影響

地上莖部及地下根系傷口處理之大葉青骨薤菜植株接種 7 天後，其發病率 (disease incidence) 均在 87.5% 以上，發病度 (disease severity) 高於 75%，而根部無剪除處理之



圖二、溫度對薤菜青枯病發生之影響。

Fig. 2. The effect of temperatures on the occurrence of bacterial wilt of water convolvulus inoculated with *Ralstonia solanacearum*. (Disease was recorded 7 days after inoculation. Disease incidence = % the inoculated plants with wilt symptoms; Disease severity was calculated based on the following formula:

$$\text{Disease severity (\%)} = \frac{\sum n_i \times i}{N \times 5} \times 100\%$$

Scales of disease grades: 0-5, where 0=without wilt symptom; 1=one wilted leaf; 2=two wilted leaves; 3=three wilted leaves; 4=four wilted leaves; 5=the dead plant. Where n_i is the number of plants in each symptom category of i , and N is the total number of plants rated.)

表一、傷口對薤菜青枯病發生之影響

Table 1. Effect of wounding on the bacterial wilt of water convolvulus inoculated with *Ralstonia solanacearum*.

Inoculated part	Inoculum	Disease incidence ¹ ,% (Disease severity ² ,%)			
		No wounding		With wounding	
Stems	Distilled water	0	(0)	0	(0)
	<i>R. solanacearum</i>	0	(0)	93.8 a	(85.0 a)
Roots	Distilled water	0	(0)	0	(0)
	<i>R. solanacearum</i>	12.5 b	(10.0 b)	87.5 a	(75.0 a)

¹. The percentage of the inoculated plants with wilt symptoms 7 days after inoculation.

². Disease grade was recorded 7 days after inoculation on a scale of 0-5, where 0=without wilt symptom; 1=one wilted leaf; 2=two wilted leaves; 3=three wilted leaves; 4=four wilted leaves; 5=the dead plant. Disease severity was calculated by the following formula:

$$\text{disease severity (\%)} = \frac{n_i \times i}{N \times 5} \times 100\%$$

Where n_i is the number of plants in each symptom category of i , and N is the total number of plants rated.

發病率及發病度僅 12.5 及 10% (表一)。從根部接種時，葉片失水病徵由下位葉開始；莖頂端傷口接種時，病徵由上位葉開始出現，往下位葉蔓延。但莖部無傷口之處理時，接種 21 天後仍無青枯病發生。

討 論

薤菜青枯病為臺灣新記錄⁽⁷⁾，據農民表示該問題早在 1997 年即存在，但因為發生比率極低未被注意，直到 1999 年發生比率增加才被重視，但卻找不到造成薤菜失水萎凋的原因，甚至一度被認為是廢水污染所致，同樣問題在 2000 年時再度發生，且發生比率快速增加，造成農民經濟損失。經分析植物體礦物元素含量、土壤及水質重金屬含量，皆未見異常。由田間病徵觀察及分離所得病原菌之接種等試驗，確認造成水薤菜失水萎凋的問題是微生物引起之病害，且病原為細菌⁽⁴⁾。由調查及接種試驗結果顯示該病原菌除危害水薤菜外，亦可危害陸薤菜。病害發生調查結果發現彰化員林、溪湖及台中縣軍功等地所栽培連續採收之陸薤菜也發生青枯病，而台灣主要之水薤菜栽培區如台中縣大里、霧峰，南投縣竹山、名間及宜蘭縣礁溪等均相繼發現青枯病危害，且發生相當嚴重。

從薤菜罹病組織分離所得之細菌經電顯形態及生理生化特性分析，證實該細菌為革蘭氏陰性，桿狀，無鞭毛或單極生 1 至多根鞭毛，好氣性之細菌，不會產生內生孢子，在 NA 培養基上不會形成黃或橘色菌落，在 King's B 上不會產生螢光色素，在 TTC 培養基上形成中央粉至紅色，外圍白色流質狀之青枯病菌典型菌落。依這些特性顯示該細菌在分類上應屬於 *Pseudomonas* 屬細菌。將供試薤菜病原菌以 Opina 等⁽¹³⁾ 發表對青枯病菌具專一性之引子對 Au 759 及 Au 760 進行 PCR 反應，供試番茄青枯病菌株及薤菜菌株在 281 bp 處均產生條帶，而對照菌株未產生 281 bp 之條帶，因此確認造成薤菜萎凋病徵之病原菌為

Ralstonia solanacearum，該病原菌原名 *Pseudomonas solanacearum*，1992 年屬名更改為 *Burkholderia*，1995 年再改為 *Ralstonia*^(16,17)。此外，依 Haydward⁽⁹⁾ 之分類系統原則，本病原菌屬於第 IV 生物型 (biovar 4)，可氧化 mannitol, sorbitol 及 ducitol 等三種六醣醇，不能氧化 lactose, maltose 及 cellobiose 等三種雙醣。在寄主範圍測定結果顯示，供試薤菜菌株除危害薤菜外，尚可感染蕃薯、牽牛花及矮牽牛等同科 (旋花科) 的作物，馬鈴薯、番茄、茄子及辣椒等茄科作物及蘿蔔，並造成萎凋病徵，但供試菌株不感染花生，顯示此病原菌屬 Buddenhagen 分類系統之第一生理小種 (race 1)⁽⁸⁾，從上述各項試驗結果顯示，造成薤菜萎凋病徵之病原菌為 *Ralstonia solanacearum*，屬 race 1, biovar 4，據國內外文獻顯示薤菜未有青枯病之記錄⁽⁷⁾。

青枯病之發生受許多環境因子影響，其中以溫度及濕度為主要限制因子^(3,11)，臺灣田間觀察在夏季或高溫多濕的季節，青枯病發生嚴重，而冬季較少發生，本研究溫度試驗也顯示，高溫有利於薤菜青枯病發生，且薤菜青枯病之發生其溫度範圍較大，在 16-36℃ 下均會發生，但在 16℃ 下薤菜植株病徵不明顯，在 20℃ 以上時接種植株發病率已達 56.3%，而 28℃ 以上發病率為 100%，且以 28-36℃ 青枯病發生最嚴重，此與水薤菜栽培區每年於二 - 三月栽植後即開始出現青枯病，至梅雨或夏季風雨過後青枯病日益嚴重，直到十月以後溫度降低，病害才逐漸減緩之情形相符合。

水薤菜每年約於二月栽種，並連續採收至十 - 十一月，之後農民常自留一塊田，以此田中之植株作為下一季栽培用之種蔓，隔年再取種蔓至其他翻耕後之薤菜田種植，本研究分析台中縣大里及霧峰地區栽培用之植株，發現帶青枯病菌之比率在 12.10-93.35% 之間，平均帶菌率仍高達 42.68%，顯示供試地區農民拿來當種蔓用之薤菜植株帶青枯病菌之比率相當高，且這些帶有青枯病菌之種蔓

大多未見明顯病徵，是重要的初次感染源來源，若農民取此苗作為繁殖用植株，則易造成病害發生，並將病害蔓延至其他栽培區。

薤菜病害發生調查發現以宿根栽植連續採收方式栽培之水薤菜及陸薤菜其青枯病發生相當普遍，而連根一次採收之陸薤菜則尚未發現青枯病危害，推測連續採收之傷口有利於病害之侵染，因而探討傷口對病害發生之影響，結果發現不論地上部莖頂或地下根系傷口處理薤菜植株其青枯病發生比率高達 93.8% 及 87.5%，而無傷口處理之薤菜植株其青枯病發生比率为 0% 及 12.5%，顯示薤菜青枯病病原菌可直接經由地下部根系侵入感染，但比率較低，若有外力造成之傷口，不論是地上部或地下根系受傷，病害均容易發生，但病菌由地上部侵染時，則須有傷口，證實傷口對青枯病菌感染薤菜植株之重要性。此情形與紫蘇及葉用黃麻相同^(5,10)，採收造成之傷口是病害感染的重要途徑。

致 謝

感謝農委會農業試驗所農化系張庚鵬先生協助水薤菜植株體元素含量、土壤及水質重金屬含量分析。

引用文獻

1. 行政院農委會統計室. 2000. 農業統計年報. 第 65 頁.
2. 李毓華. 1980. 薤菜. p. 939. 農家要覽(上冊). 豐年社出版, 台北.
3. 徐世典. 1976. 影響番茄青枯病發生之因素. 農林學報 25:95-102.
4. 許秀惠、黃晉興、林俊義. 2000. 水薤菜青枯病之發生. 植病會刊 42:181. (摘要)
5. 黃晉興、許秀惠、沈百奎. 2000. 黃麻青枯病初報. 植病會刊 9: 35-38.
6. 劉政道、李碩朋. 1995. 薤菜. p. 337-344. 台灣農家要覽農作篇(二). 豐年社出版, 台北市.
7. 蔡雲鵬 編. 1991. 台灣植物病害名彙(三版). 中華植物保護學會暨中華民國植物病理學會編印. 台中. 604 頁.
8. Buddenhagen, I. W., Sequira, L., and Kelman, A. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52:76 (abstract)
9. Hayward, A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bact.* 27:265-277.
10. Hong, W. F., Hsu, S. T., and Tzeng, K. C. 1992. Bacterial wilt of *Perilla crispera*: new host and new transmission method. Pages 373-375 in: *Bacterial Wilt*. G. L. Hartman and A. C. Hayward, eds. *Proceedings of an International Conference held at Kaohsiung, Taiwan*. 379 pp.
11. Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *NC Agric. Exp. Sta. Tech. Bull.* 99:194 pp.
12. Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:493-495.
13. Opina, N., Tavner, F., Hollway, G., Wang, J. F., Li, T. H., Maghirang, R., Fegan, M., Hayward, A. C., Krishnapillai, V., Hong, W. F., Hollway, B. W., and Timmis, J. N. 1997. A novel method for development of species and strain-specific DNA probes and PCR primers for identifying *Burkholderia solanacearum* (Formerly *Pseudomonas solanacearum*). *Asia Pac. J. Mol. Biol. Biotech.* 5: 19-30.
14. Schaad, N. W. 1988. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. 2nd edition, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 164pp.
15. Wang, H., Qi, M., and Cutler, A. J. 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. *Nucleic Acids Res.* 21: 4153-4154.
16. Yabucchi, E., Kosako, Y., Oyaizu, H., Yano, I., Hotta, H., Hashimoto, Y., Ezaki, T., and Arakawa, M. 1992. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Homes 1981) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 36: 1251-1275.
17. Yabucchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuki, Y. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiol. Immunol.* 39:897-904.

ABSTRACT

Huang, J. H.¹, Hseu, S. H.^{1,2} and Lin, C. Y.¹. 2001. The occurrence of bacterial wilt of water convolvulus caused by *Ralstonia solanacearum*. Plant Pathol. Bull.10:187-194. (¹ Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taiwan, R.O.C. ² Corresponding author, Email: shhseu@wufeng.tari.gov.tw; Fax: +886-4-23338162)

Bacterial wilt of water convolvulus, a newly found disease, was widespread in Mingjian and Jushan of Nantou country, and Wufeng and Dali of Taichung country in recent years. Symptoms of the disease were wilting of plants and brownish discoloration of the vascular tissue. Based on cultural characteristics, physiological and biochemical properties, species-specific primer and pathogenicity tests, the causal organism was identified as *Ralstonia solanacearum*. All isolates obtained in this study were race 1 and biovar 4. The pathogen induced wilting not only on water convolvulus but also on other plants of Convolvulus family and some solanaceous plants. Stems and roots of water convolvulus inoculated with *R. solanacearum* produced severe disease, when they were wounded prior to inoculation. The disease appeared mild when roots were inoculated without artificial wounds. *Ralstonia solanacearum* was detected in water convolvulus plants collected from different farms in Wufeng and Dali of Taichung country. The detection rates ranged from 12.10 to 93.35%. Wilting symptoms appeared when water convolvulus were inoculated with the pathogen and incubated at 16 °C. Severe disease appeared when inoculated plants were incubated at above 28 °C.

Key words : *Ipomoea aquatica*, bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*