

金門地區高粱細菌性軸腐病之發生

許秀惠¹ 郭克忠² 林秀芳³ 林俊義^{4,5}

¹ 臺中縣霧峰鄉行政院農委會 農業試驗所 植病組

² 行政院農委會動植物防疫檢疫局 植物防疫組

³ 金門動植物防疫所

⁴ 亞洲大學 健康學院院長

⁵ 聯絡作者，電子郵件：cylin@wufeng.tari.gov.tw

接受日期：中華民國 年 月 日

摘要

許秀惠、郭克忠、林秀芳、林俊義. 2008. 金門地區高粱細菌性軸腐病之發生. 植病會刊 17 : 257-262.

民國九十六年於金門地區栽植之高粱上發生嚴重植株萎凋死亡的問題。病株首先於莖部出現淡褐色不規則斑，隨著病斑擴大，顏色加深為深紅褐色，病勢迅速進展，有時可見數片葉片乾枯，嚴重時整個植株乾枯萎凋。罹病莖部組織呈軟腐狀，縱切莖部其內部組織呈水浸狀褐化的病徵，罹病組織分離所得之病原細菌經柯霍氏法則、生理生化及專一性引子 Ec3F/4R 增幅鑑定結果為軟腐病菌 *Pectobacterium* (原屬於 *Erwinia*) *chrysanthemi* (Ech)，屬 biovar 3。以培養基抑制圈測試供試 11 種藥劑在一般推薦濃度下對該病原菌之生長均有抑制效果，其中又以歐索林酸及四環黴素之抑制效果最顯著。

關鍵詞：高粱、細菌性軸腐病、軟腐病菌、藥劑篩選

緒言

高粱 (*Sorghum bicolor* L.)，英名 sorghum，別名蜀黍，蘆黍，蘆黍仔，屬禾本科，一年生草本作物，適合栽培在缺水的金門、澎湖等地。金門地區栽培高粱最重要的用途是供釀製高粱酒，栽培面積約 2000 公頃，主要栽培於金城鎮、金湖鎮、金沙鎮、金寧鄉及烈嶼鄉等地區。根據文獻記載可感染高粱的病害種類頗多⁽⁴⁾，包括真菌性、細菌性、線蟲及病毒病害等，細菌性病害至少有 11 種，較常見的細菌性病害有 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 引起的細菌性葉斑病 (bacterial leaf spot)，由 *P. andropogonis* 引起之 bacterial leaf stripe 及由 *Xanthomonas campestris* pv. *holcicola* 引起之 bacterial leaf streak 等，但在台灣尚未有任何危害高粱的細菌性病害的報告。

民國九十六年八月間於金門地區發現萎凋死亡的高粱植株 (圖一)，此現象在風雨過後發生尤為嚴重，病株莖部出現淡褐色不規則斑，隨著病斑擴大，顏色

加深為深紅褐色 (圖一，1)，病勢迅速進展，有時可見數片葉片乾枯，嚴重時整個植株乾枯萎凋 (圖一，2)，葉片的病徵受葉脈限制，呈現紅褐色長條斑 (圖一，3)，輕捏莖部組織呈軟腐狀，縱切莖部可見其內部組織呈水浸狀褐化，且組織瓦解 (圖一，4)，於軟化組織混雜著濕黏狀菌泥，病勢嚴重之植株莖部組織的顏色呈現深紅褐色至黑褐色 (圖一，5)，罹病組織後期會發出魚腥味。田間病徵萎凋觀察與青枯病危害的病徵相近，且罹病高粱莖軸心橫切段置於清水中可見菌霧狀湧出，但高粱罹病植株呈現淡褐色乾枯狀，與綠色的青枯病罹病植株之特性有所差異。

從金門高粱栽培田取回具上述病徵之病株，以營養培養基 (nutrient agar, NA) 進行組織分離並純化，將所得細菌經單菌落純化後，於 30°C 下培養一天後懸浮於無菌水中，以分光光譜儀調整其吸收值 (A_{600}) 為 0.3 (相當於 10^8 cfu/ml) 作為接種源，再以注射接種方法分別注射於萬國土煙草葉片內，置室溫下觀察，24 hr 內產生過敏性反應之菌株則視為病原菌，分別以 Echs b

編號。另外，以約 5-6 葉片大小之高粱(台中 5 號)、高粱(金門 9 號)及玉米(台南白)為供試植物，選取 Echs2、Echs9、Echs15 及 Echs21 等 4 支菌株為供試菌株，依上述方法製備菌液混合之接種源，分別以葉鞘穿刺法、葉脈中肋注射法及葉片針刺噴灑法三種方式接種供試植株，之後以塑膠袋套袋保濕，放置 30℃ 定溫箱中，兩天後除去塑膠袋，觀察並記錄病徵出現情形，所有接種方法均以無菌水當對照。不同接種方式所得結果分別說明如下：(1) 葉鞘穿刺法：高粱病徵約接種後第 2 天出現，為紅褐色長條狀病斑，與田間病徵相同，具水浸狀，但植株仍繼續生長抽高中，因此造成 2 到 3 處不等之傷口，第 3~14 天病斑顏色加深，1

個月後葉鞘部分乾枯萎縮，且莖部具些微軟化之現象(圖二，1 及 2)；玉米(台南白) 在接種第 2 天後出現病徵，為水浸狀病斑，為同樣造成 2~3 處不等之傷口，在第 3~4 天病斑為淺黃色，第 5~7 天病斑轉為白化乾枯，最後莖部出現水浸狀軟化之現象。(2) 葉脈中肋注射法：高粱病徵約接種後第 2 天出現，為紅褐色長條狀病斑，具水浸狀，第 3~14 天病徵無明顯增長，但葉脈注射處軟化凹折(圖二，3)；玉米(台南白) 同樣於第 2 天出現病徵，為水浸狀病斑，而第 3~14 天除水浸狀消失，其病徵與高粱接種相同。(3) 葉片針刺噴灑法：高粱於第 1 天之病徵為傷口周圍呈紅褐色病斑，周圍具水浸狀，而較為嚴重者病斑擴大呈條狀，於第 2~5



圖一、高粱軸腐病田間病徵。莖部病徵(1, 2)，葉片病徵(3)，莖部縱切病徵(4, 5)。

Fig. 1. Symptoms of bacterial stalk rot of sorghum in fields. Symptom on stem (1), wilted plant (2), leaf streaks (3), longitudinal section of stem showing water-soaked soft rot symptom (4) and brown-red colored soft rot (5).



圖二、高粱(金門9號)接種軟腐病原菌 *Erwinia chrysanthemi* 之病徵。葉鞘牙籤穿刺法接種後一星期(1)及五星期(2)。葉脈中肋注射法接種後一星期(3)。葉片針刺法接種後一星期(4)。

Fig. 2. Symptoms development of bacterial stalk rot of sorghum by artificial inoculation. Stem pricking method (1, 2), midrib injection method (3), leaf pricking method (4) and symptoms were scored at 1 week (1, 2, 3) or 5 weeks (4) after inoculation with *Erwinia chrysanthemi* biovar 3.

表一、不同寄主來之 *Erwinia chrysanthemi* 菌株 biovars 測定Table 1. Biovar tests of *Erwinia chrysanthemi* isolated from different hosts

treatment	Host Strain				
	Sorghum (Echsb 9)	Sorghum (Echsb 15)	Star of Bethlehem (Os 146)	Phalaenopsis (Pha 9510)	sunflower (Sf 11)
growth at 39°C	+	+	+	+	+
ADH	—	—	—	—	+
D-arabinose	+	+	+	+	—
Potassium-5 -ketogluconate	—	—	—	—	—
Inulin	—	—	—	—	+
D-mannitol	+	+	+	+	+
D-melibiose	+	+	+	+	+
D-raffinose	+	+	+	+	+
Biovar ^a	3	3	3	3	5

Except specifically stated, + indicated positive reaction, and — indicated negative reaction.

^aData from De Boer, *et al.*, 2001 and Ngwira, *et al.* 1990.

天之病徵為病斑周圍具黃暈，第 14 天病斑周圍黃化情形擴大(圖二, 4)；玉米(台南白) 同樣於第 1 天之病徵為病斑，但未擴大呈條狀，病斑周圍具水浸狀，而 2~14 天病斑中心乾枯。上述高粱接種結果與田間病徵相同。

為確認引起高粱軸腐病之病原菌種類，選取 Echsb 1~6, 7, 8, 15, 9~14, 16, 18~22 等 21 株為供試菌株，在 NA 上 30°C 下培養一天，依 De Boer & Kelman⁽²⁾ 所述進行各項生理生化試驗，結果顯示供試病原菌為革蘭氏陰性，桿狀，兼性厭氧，具周生鞭毛之細菌，在 King's B 培養基上不具螢光也不產生色素，在 YDC 培養基上形成白色菌落，在結晶紫果膠培養基 (crystal violet pectate, CVP) 上形成凹陷，在 37°C 下可生長，這些特性顯示供試病原菌應屬於 *Erwinia* 屬 (*Pectobacterium*)。本研究為進一步確認 *Erwinia* 病原菌之種名，乃利用對軟腐病菌具專一性又可區分 Ecc 及 Ech 之引子對 Ec3F/4R⁽⁷⁾ 以聚合酵素連鎖反應 (PCR) 進行鑑定，選取 Echsb 1~6、7、8、15、9~14、16、18~22 等 21 株菌株及蝴蝶蘭 Ech 軟腐病菌 (Pha 9510) 做為供試菌株，參考 Wang & Cutler⁽¹²⁾ 之簡易方法並稍加修改，挑選單一菌落進行 PCR，結果顯示供試之 21 株金門高粱病原菌株與已知之蝴蝶蘭 Ech (Pha 9510) 軟腐病菌均可在 548 bp 處產生專一性之 DNA 條帶，顯示該病原菌為 *E. chrysanthemi*，此與國外發表之高粱細菌性軸腐病 (bacterial stalk rot of sorghum) 之病原菌相同，且為相同之病害^(4, 9, 11, 13)，根據文獻資料顯示此病原菌不但感染高粱也可感染玉米^(3, 6, 8, 11, 13)、水稻⁽⁵⁾ 及甜高粱⁽¹⁴⁾ 等禾本科作物，但在台灣高粱軸腐病為首次記錄。

以 Echsb 9 及 Echsb 15 以及已知的 Ech 菌株分別

來自向日葵 (Sf 11)、伯利恆之星 (Os 146)、蝴蝶蘭 (Pha 9510) 為供試菌株，依 Ngwira & Samson 報告⁽¹⁰⁾ 之方法區分 *E. chrysanthemi* 之生化型 (biovar)，其中一些生化性質則利用 API 套組中之 API-20E 及 API-50CHE (BioMerieux, Inc., France) 的生化鑑定套組進行菌株 biovar 鑑定。先將供試菌株分別培養於 TSA (BBL tryptic soy broth 15 g, agar 20g) 培養基上培養 18~24 hr，再將製備完成之菌落或培養液分別加入試劑條中之各個反應孔內，依指示時間培養，最後目視判讀 API-20E 及 API-50CHE 之結果 (如表一)，供試菌株除向日葵軸腐病菌 (Sf 11) 屬於 *E. chrysanthemi* biovar 5 外，其餘的供試菌株 (高粱軸腐病菌，伯利恆之星軟腐病菌及蝴蝶蘭軟腐病菌) 均屬於 biovar 3。在 Ngwira & Samson⁽¹⁰⁾ 的報告中也指出，從蝴蝶蘭、菊花及一些天南星科植物分離所得的軟腐病菌 *E. chrysanthemi* 都屬於 biovar 3。

若田間存在軟腐病菌，在風雨過後容易發生軸腐病，一旦病害發生常造成經濟損失，為降低農民損失，因而進行藥劑感受性測定，以提供農民防治參考，利用濾紙圓盤擴散法 (paper disc diffusion method)⁽¹⁾ 於 NA 培養基上測定供試分離自高粱的軟腐菌株對不同藥劑不同濃度之感受性。選取 Echsb 2、Echsb 9、Echsb 15、Echsb 21 等 4 株為供試菌株，供試 11 種市售藥劑及稀釋濃度如表二所列，結果顯示供試 11 種藥劑在一般推薦使用濃度下對該病菌之生長均有抑制效果 (表二)，其中又以歐索林酸及四環黴素之效果最佳，依其抑制效果之順序為為歐索林酸、四環黴素、鏈黴素、多保鏈黴素、嘉賜黴素、嘉賜銅、氫氧化銅、三元硫酸銅、鏈四環黴素、鹼性氫氧化銅及鋅錳乃浦。

表二、各種農藥在不同濃度下對高粱軸腐病菌生長之抑制效果

Table 2. Growth inhibition of *Erwinia chrysanthemi* strains isolated from sorghum by various agrochemicals at different concentrations

Agrochemical	Concentration (ppm)	No. of strains inhibited / No. of strains tested	Inhibition zone (diameter in cm)
Oxylinic acid (20.0% WP)	1000	4/4	1.33-2.73
歐索林酸	1500	4/4	1.40-2.87
	2000	4/4	1.43-2.87
Tetracycline (30.3% SP)	200	4/4	2.03-2.23
四環黴素	400	4/4	2.23-2.37
	600	4/4	2.30-2.57
Streptomycin (12.5% L)	100	4/4	1.07-1.23
鏈黴素	200	4/4	1.20-1.33
	400	4/4	1.27-1.47
Thiophanate methyl + Streptomycin (68.8% WP)	500	4/4	0.87-1.20
多保鏈黴素	1000	4/4	1.03-1.30
	1500	4/4	1.13-1.47
Streptomycin+Tetracycline (10.0% SP)	100	1/4	0.27-0.27
鏈四環黴素	200	3/4	0.13-0.40
	400	4/4	0.30-0.60
Kasugamycin (2.0% S)	100	4/4	0.50-0.73
嘉賜黴素	200	4/4	0.87-1.00
	400	4/4	1.03-1.17
Kasugamycin + Copper oxychloride (81.3% WP)	500	3/4	0.07-0.40
嘉賜銅	1000	4/4	0.40-0.53
	1500	4/4	0.50-0.70
Copper hydroxide (77.0% WP)	1000	4/4	0.33-0.43
氫氧化銅	1500	4/4	0.40-0.50
	2000	4/4	0.53-0.60
Tribasic copper sulfate (27.12% F)	1000	4/4	0.23-0.27
三元硫酸銅	1500	4/4	0.33-0.40
	2000	4/4	0.40-0.60
Copper oxychloride (85.0% WP)	1000	4/4	0.07-0.23
鹼性氯氧化銅	1500	4/4	0.23-0.40
	2000	4/4	0.27-0.53
Mancozeb (80.0% WP)	1000	0/4	0.00-0.00
鋅錳乃浦	1500	2/4	0.10-0.17
	2000	3/4	0.13-0.33

引用文獻 (LITERATURE CITED)

- Adaskaveg, J. E., and Hine, R. B. 1985. Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Dis.* 69: 993-996.
- De Boer, S. H., and Kelman, A. 2001. Gram-negative bacteria. Pages 56-72. *in*: Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd edition American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 373 pp.
- Ferreira-Pinto, M. M., Cruz, M. L., and Oliverira, H. 1994. The occurrence in Portugal of the bacterial disease of maize crops caused by *Erwinia chrysanthemi*. *Plant Pathol.* 43:1050-1054.
- Frederiksen, R. A. 1986. Compendium of sorghum disease. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 82 pp.
- Goto, M. 1979. Bacterial foot rot of rice caused by a strain of *Erwinia chrysanthemi*. *Phytopathology* 69:

- 213-216.
6. Hoppe, P. E., and Kelman, A. 1969. Bacterial top and stalk rot disease of corn in Wisconsin. *Plant Dis. Rep.* 53: 66-70.
 7. Hseu, S. H., Shentue, H., Tzeng, K. C., and Lin, C. Y. 2007. Development of specific primers for differential identification pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. *Plant Pathol. Bull.* 16 : 19-29. (in Chinese with English abstract)
 8. Janse, J. D., and Ruissen, M. A. 1988. Characterization and classification of *Erwinia chrysanthemi* strains from several hosts in the Netherlands. *Phytopathology* 78: 800-808.
 9. Jensen, S. C., Mayberry, W. R., and Obrigawitch, J. A. 1986. Identification of *Erwinia chrysanthemi* as a soft-rot-inducing pathogen of grain sorghum. *Plant Dis.* 70: 593-596.
 10. Ngwira, N., and Samaon, R. 1990. *Erwinia chrysanthemi*: description of two new biovars (bv8 and bv9) isolated from kalanchoe and maize host plants. *Agronomie* 10: 341-345.
 11. Reifschneider, F. J. B., and Lopes, C. A. 1982. Bacterial top and stalk rot of maize in Brazil. *Plant Dis.* 66:519-520.
 12. Wang, H., Qi, M., and Cutler, A. J. 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. *Nucleic Acids Res.* 21: 4153-4154.
 13. White, D. G., Pataky, J. K., and Stall, R. E. 1994. Unusual occurrences of bacterial leaf blight on maize and sorghum in central Illinois. *Plant Dis.* 78: 640. (Note)
 14. Zummo, N. 1969. Bacterial soft rot, a new disease of sweet sorghum. *Phytopathology* 59:119. (Abstr.)

ABSTRACT

Hseu, S. H.¹, Kuo, K. C.², Lin, H. F.³, and Lin, C. Y.^{4,5} 2008. Bacterial stalk rot of sorghum occurred in Kimmen area caused by *Erwinia chrysanthemi*. *Plant Pathol. Bull.* 17: 257-262. (¹ Plant Pathology Division, Agriculture Research Institute, Wufeng, Taiwan; ² Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Taipei, Taiwan; ³ Animal and Plant Disease Control Center, Kinmen; ⁴ College of Health Science, Asia University, Wufeng, Taiwan; ⁵ Corresponding author. E-mail: cylin@wufeng.tari.gov.tw)

Bacterial stalk rot was found to cause severe loss of sorghum crop in Kimmen county, in the summer of 2007. The disease mainly affected sorghum stem showing water-soaked symptoms that later turned reddish dark brown color. The infected stem pith disintegrated and showed slimy soft-rot symptoms and eventually the whole plant wilted. Strains of bacterium have been consistently isolated from disease tissues. Based on physiological, biochemical and pathogenicity tests and polymerase chain reaction, the causal agent of this disease was identified as *Erwinia chrysanthemi* biovar 3. In *vitro* screening for the efficacy of different agrochemicals to inhibit the growth of the bacterium showed that copper bactericides, antibiotics and oxolinic acid were effective. Among them, oxylinic acid was the most effective.

Key words: sorghum, bacterial stalk rot, *Erwinia chrysanthemi*, agrochemical screening