# 莉花扦插苗細菌性軟腐病之病原特性 及影響病害發生之因子

# 劉興隆1 徐世典2 曾國欽2,3

1 彰化縣大村鄉 行政院農業委員會台中區農業改良場

2 台中市 國立中興大學植物病理學系

3 聯絡作者,電子郵件:kctzeng@nchu.edu.tw;傳真:04-22854633 接受日期:中華民國91年9月7日

## 摘要

劉興隆、徐世典、曾國欽. 2002. 菊花扦插苗細菌性軟腐病之病原特性及影響病害發生之因子. 植病會 刊11:157-164.

自彰化縣田尾鄉菊花扦插苗細菌性軟腐病罹病組織分離到32個*Erwinia* 軟腐細菌菌株,經生理生化特性測定結果,其中有23個菌株為*E. carotovora* subsp. *carotovora*,其餘9個菌株為*E. chrysanthemi*,進一步鑑定*E. chrysanthemi* 菌株,顯示其中有8個菌株屬於subdivision II 及biovar 6;另一個菌株則屬於subdivision IV 及 biovar 3。溫度可影響菊花扦插苗細菌性軟腐病之發生,在25-30 °C下*Erwinia* 軟腐細菌引起之扦插苗軟腐長度明顯較15-20°C時為長,其腐爛倒伏之情形亦較嚴重;此外栽培介質含水量愈高造成菊花扦插苗之軟腐愈嚴重;而菊花插穗癒合時間愈長其軟腐病之發生則較輕微。以modified crystal violet pectate (CVP)選擇性培養基偵測菊花母株田之灌溉水、土壤及菊花 頂芽*Erwinia* 軟腐細菌之存在情形,結果顯示*Erwinia* 軟腐細菌於此些樣品中出現之頻率分別為100%、15%及7%。

關鍵詞:菊花扦插苗、軟腐細菌、細菌性軟腐病

# 緒 言

菊花(Crysanthemum morifolium Ramat.) 為台灣重要之 外銷切花作物。菊花除育種以種子繁殖外,一般之栽培常 以頂芽扦插繁殖,頂芽扦插繁殖操作簡便,可以在短時間 內獲得大量種苗。在台灣地區菊花扦插繁殖有二種方式: 一種為沙床育苗,其栽培介質為河沙,另一種為穴盤育 苗,使用之介質常為含泥炭土之介質。

近年來台灣中部地區菊花扦插繁殖場,常發生扦插苗 莖部中空與軟腐倒伏死亡等現象,除影響菊苗的品質外, 也造成菊苗的供應不足,對菊花產業的影響甚鉅。初步診 斷係由軟腐細菌所引起之病害,此病害在菊花苗床常呈分 散式發生,與菊花莖腐病(*Rhizoctonia solani*或*Pythium* spp.引起)<sup>(1.5)</sup>所造成的圓型缺株區,二者易於區別。1953 年 Burkholder 等人<sup>(10)</sup>於美國首先報告 *Erwinia* 軟腐細菌可 引起菊花之病害,而後在其它不同地區也發生 *Erwinia* 軟 腐細菌為害菊花。引起菊花軟腐之細菌種類因地區不同常 有差異,有些地區只發現 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Jones) Bergey *et al.* (簡稱 Ecc)或 *Erwinia chrysanthemi* Burkholder *et al.* (簡稱 Ecc)所為害,而有些 地區則由 Ecc 和 Ech 二種病原所引起<sup>(12,14,19,25)</sup>,在台灣有 關菊花細菌性軟腐病之研究甚爲缺乏,本研究之主要目的 係探討台灣菊花扦插苗細菌性軟腐病之病原特性及影響病 害發生之因子,期能提供病害防治之參考。

# 材料與方法

#### 病原菌之分離及病原性之測定

自台灣中部彰化縣田尾鄉之菊花扦插苗繁殖場,採集 具軟腐病徵之菊花扦插苗,將罹病組織帶回實驗室,以水 將罹病植株外表沖洗乾淨,取少許的軟腐組織懸浮於無菌 水中,以移殖環(loop)沾取此懸浮液,劃線於營養瓊脂培 養基(nutrient agar, NA)平板上,於30℃下培養24-48 小 時,挑取在NA平板上呈半透明之單一菌落,於NA平板 做進一步劃線純化,將純化所得之菌落點於 modified crystal violet pectate (CVP)選擇性培養基上<sup>(23)</sup>,經30℃培 養24-48 小時後,觀察菌落周圍是否有凹陷情形。若有凹 陷,則將該菌落挑起純化後,並接種至馬鈴薯切片及菊花 插穗基部上(本文所使用之菊花品種為"黃秀芳");若能引 起兩者腐爛之菌株,則在室溫下保存於無菌蒸餾水中,作 為進一步試驗之用。

### 病原菌之鑑定

由菊花扦插苗軟腐組織所分離保存之菌株,若屬革蘭 氏陰性菌,可在 modified CVP 選擇性培養基上形成典型 杯狀凹陷,對葡萄糖可行醱酵利用,並能引起馬鈴薯切片 腐爛者,則視為 Erwinia 軟腐細菌<sup>(16)</sup>, Erwinia 軟腐細菌 之鑑定,則依下述方法進行。

# (一) Erwinia 軟腐細菌種與亞種之鑑定

根據Dickey 與Kelman<sup>(16)</sup>及 Goto 與Matsumoto<sup>(18)</sup>之 方法,進行 *Erwinia* 軟腐細菌種或亞種之鑑定,測試項目 包括 果 膠 分 解 作 用 、白 明 膠 液 化 作 用 (gelatin liquefaction)、在 5% NaCl 中之生長、磷酸分解酵素 (phosphatase) 之測定、卵磷脂分解酵素 (lecithinase) 之測 定、對紅黴素 (erythromycin, 15  $\mu$ g) 之感受性、吲哚 (indole) 之形成反應、藍色素之產生、39°C 下之生長測 試、利用碳水化合物產酸之能力及對有機化合物之利用。 所測試之碳水化合物有 lactose、trehalose、maltose、 melibiose、  $\alpha$  -methyl-D-glucoside、 cellobiose 及 palatinose; 而所測試之有機化合物則有 malonic acid 及 galacturonic acid。

### (二) *Erwinia chrysanthemi* subdivision 之測定

Erwinia chrysanthemi subdivision 的各項測定,係依據 Dickey<sup>(15)</sup>及Dickey與Victoria<sup>(17)</sup>的方法進行,測定的項 目包括白明膠液化作用、對盤尼西林G(penicillinG,2 units)之感受性、39℃下之生長、吲哚之產生、卵磷脂分 解酵素之測定及利用碳水化合物產酸之能力。所測試之碳 水化合物有D-arabinose、melibiose、raffinose及inulin。

### (三) *Erwinia chrysanthemi* biovar 之測定

*Erwinia chrysanthemi* biovar 的各項測定,係依據 Boccara 等人<sup>(9)</sup> 的方法進行,測定的項目包括39℃下之生 長、精氨酸二水解酵素 (arginine dihydrolase) 測定及利用 D(-)arabinose、5-ketogluconate、inulin、melibiose、 mannitol、raffinose 和D(-)tartaric acid 等有機化合物產酸 之能力。

#### 影響菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之因子

#### (一) 溫度對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

將菊花軟腐細菌 Ecc LC3 菌株及 Ech LH29 菌株分別 配成懸浮液 (1×10<sup>8</sup> cfu/ml),然後將剛採下之菊花插穗基 部浸於懸浮液中30分鐘,取出後扦插於裝有含飽和含水量 泥炭土之穴盤中(泥炭土其商品名為 HECO No.1, Canada,此介質經增量培養<sup>(21)</sup>,測不到 Erwinia 軟腐細菌 之存在),並將植株連同穴盤放入塑膠袋中保濕,分別置 於15、20、25或30℃之生長箱,經5天後,調查扦插苗 軟腐倒伏情形,並將菊花扦插苗自穴盤中拔起,以刀片自 扦插苗基部向上切開,測定髓部之軟腐長度,以了解溫度 對菊花扦插苗軟腐病發生之影響;每處理為16棵菊花扦 插苗。

(二) 栽培介質對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

將菊花軟腐細菌 Ecc LC3 菌株及 Ech LH29 菌株分別 配成懸浮液(1×10<sup>8</sup> cfu/ml),然後將剛採下之菊花插穗基 部浸於懸浮液中30 分鐘,取出後分別扦插於裝有含飽和 含水量泥炭土及河沙之穴盤中,並將植株連同穴盤放入塑 膠袋中保濕,並置於25℃生長箱中,經5天後,調查扦 插苗軟腐倒伏情形及測定髓部之軟腐長度,以比較以泥炭 土及河沙為栽培介質對菊花扦插苗軟腐病發生之影響;每 處理為16棵菊花扦插苗。

### (三) 介質含水量對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

將泥炭土裝於 500 ml 燒杯中調整其含水量使約為 20、40、60、80 或 100% 之飽和含水量,再將分別浸於1 ×10<sup>8</sup> cfu/ml 之 Ecc LC3 及 Ech LH29 細菌懸浮液 30 分鐘之 菊花插穗,扦插於其中,並放入塑膠袋中保濕,置於 25 ℃ 生長箱,經5 天後,調查扦插苗軟腐倒伏情形及測定髓 部之軟腐長度,以了解泥炭土含水量對菊花扦插苗軟腐病 發生之影響;每處理為10 棵菊花扦插苗。

(四) 插穗癒合時間對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

剪取菊花插穗,然後置於墊有濕衛生紙的保濕盒內, 於室溫下,經0、1、2、3或4天後,將菊花插穗基部分 別浸於1×10<sup>8</sup> cfu/ml之Ecc LC3及Ech LH29細菌懸浮液 30分鐘,將其扦插於裝有含飽和含水量泥炭土之穴盤 中,經5天後,調查扦插苗軟腐倒伏情形及測定髓部之軟 腐長度,以了解插穗癒合時間對菊花扦插苗軟腐病發生之 影響;每處理為16棵菊花扦插苗。

#### Erwinia 軟腐細菌在菊花母株田存在情形之偵測

*Erwinia* 軟腐細菌在菊花母株田存在情形之偵測,係 於彰化縣田尾鄉菊花繁殖農戶之母株田進行,於不定期前 往測試之母株田以逢機方式採樣,以偵測軟腐細菌出現頻 率,採集的樣品包括母株田的土壤、菊花頂芽及灌溉水。 採回的樣品在24小時內處理,將10g樣品(灌溉水樣品除 外)加入90 ml之增量培養液<sup>(21)</sup>,振盪均匀後,取1 ml 作 10 倍系列稀釋,取出0.1 ml 稀釋液塗抹於 modified CVP 培 養基平板上<sup>(23)</sup>,於室溫下培養2天,觀察是否有 Erwinia 軟腐細菌形成之典型凹陷產生;此外,又將上述加有樣品 之增量培養液放在嫌氣培養槽內 (anaerobic jar, Difco Laboratories, USA) 培養48 小時後,取出增量後的培養 液,再作10 倍系列稀釋塗抹於 modified CVP 培養基上, 於室溫下培養 2-3 天,觀察是否有典型類似Erwinia 軟腐 細菌所造成之凹陷。灌溉水之樣品則以250 ml 滅菌過之血 清瓶收集,帶回實驗室中,以其中之100 ml 之水樣,加入 增量培養基之成份後,再依上述,以直接稀釋平板方法或 增量培養方法,偵測Erwinia 軟腐細菌之存在情形。

# 結 果

## 菊花扦插苗細菌性軟腐病之病徵與發生情形

菊花扦插苗細菌性軟腐病在台灣地區一年四季皆可發 生,然以下雨過後扦插之菊苗最嚴重。菊花扦插苗細菌性 軟腐病菌常自莖基部傷口處開始入侵,沿莖之髓部組織向 上蔓延,引起髓部組織腐爛;造成菊苗自莖基部組織軟腐 變黑、萎凋倒伏情形(圖一A);然有時軟腐細菌危害髓部 後,病勢不再進展,罹病之軟腐組織最後變乾,造成菊苗 莖部中空褐化現象(圖一B),此類菊苗外表常無明顯病 徵,且莖基部亦會長根,農民俗稱此類菊苗為「空心 苗」。此類菊苗若種植於田間,由於莖部中空植株於生長 過程中,極易因風雨而折斷倒伏,而無經濟價值。

#### Erwinia 軟腐細菌之鑑定

於彰化縣田尾鄉菊花扦插繁殖場,採集細菌性軟腐病 罹病植株,經分離純化,共得32個Erwinia 軟腐細菌菌 株。依 Dickey 與 Kelman<sup>(16)</sup>及 Goto 與 Matsumoto<sup>(18)</sup>所敘 述方法測定其生理生化特性,結果顯示此32個菌株中有 23 個菌株為 Ecc,其餘9 個菌株為 Ech。此分離之23 個 Ecc 菌株,可分泌果膠分解酵素、使馬鈴薯切片軟腐與白 明膠液化、可在5% NaCl 生長、不產生磷酸分解酵素及卵 磷脂分解酵素、對紅黴素(15 μg)有抗性、不產生藍色 素、無法在 39℃ 下生長、可利用 lactose、melibiose 及 cellobiose 產酸、但無法利用 maltose、 *α*-methyl-Dglucoside 及 palatinose 產生酸,可利用 galacturonic acid 而 無法利用 malonic acid;而分離之9個 Ech 菌株,則可分泌 果膠分解酵素、使馬鈴薯切片軟腐與白明膠液化、無法在 5% NaCl 中生長、可產生磷酸分解酵素及卵磷脂分解酵 素、對紅黴素(15 µg)敏感、可產生藍色素、可在 39°C 下 生長、可利用 lactose、melibiose、及 cellobiose 產生酸, 但無法利用 trehalose、maltose、 α-methyl-D-glucoside 及 palatinose 產生酸, 而對 malonic acid 及 galacturonic acid 兩 種有機化合物皆能利用。

此分離自菊花扦插苗之9 個Ech 菌株可使白明膠液 化,對盤尼西林G(2 單位) 敏感,可在39℃下生長,可產 生吲哚及卵磷脂分解酵素,並可利用 melibiose 及 raffinose 產酸,然無法利用 inulin 產酸;而其中只有1個菌株可利 用 D(-)arabinose。依Dickey<sup>(15)</sup>及Dickey 與Victoria<sup>(17)</sup>之 subdivision 分類體系,得知此9 個Ech 菌株中有8 個菌株 係屬於 subdivision II , 而另1 個菌株 (Ech LH38) 則屬於 subdivision IV。

依 Boccara 等人<sup>(9)</sup>所述之方法,測試由菊花罹病組織 分離之9 個 Ech 菌株,發現此9 個菌株皆可在  $39^{\circ}$ 下生 長,不產生精氨酸二水解酵素(arginine dihydrolase),並可 利用 mannitol、melibiose 及 raffinose,但無法利用 5ketogluconate 及 inulin; 而9 個菌株中只有1 個菌株可利用 D(-)arabinose。依 Boccara 等人<sup>(9)</sup>之 biovar 分類體系,得 知此9 個 Ech 菌株中有8 個菌株係屬於 biovar 6,而另1 個 菌株(Ech LH38) 則屬於 biovar 3。

### 影響菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之因子

#### (一) 溫度對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

菊花插穗分別浸於 Ecc LC3 及 Ech LH29 細菌懸浮 液,扦插後分別置於不同溫度的生長箱中,經5 天後,調 查菊花扦插苗軟腐病發生之情形。結果顯示,不論接種 Ecc LC3 或 Ech LH29 細菌,於 25-30°C 時扦插苗軟腐長度 明顯較低溫 15-20°C 時為長,而其腐爛倒伏情形亦較嚴 重;接種 Ecc LC3 者,於 25-30°C 其引起之髓部軟腐長度 皆高於 36.0 mm,扦插苗軟腐倒伏率為 6.3-18.8%,而於 15°C 與 20°C 者其引起之軟腐長度分別為 8.3 mm 與 21.1mm,而扦插苗則未見倒伏;接種 Ech LH29 者,於 25-30°C 時所引起之髓部軟腐長度高於 46.0 mm,扦插苗軟腐倒伏率則高於為 80%,而於 <math>15°C與 20°C時,其引起之髓部 軟腐長度分別為 4.2 mm 與 14.9 mm,除 20°C 時有 6.3% 扦 插苗軟腐倒伏外,於 15°C時則未見扦插苗倒伏(表一)。

# (二) 栽培介質對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

菊花插穗浸軟腐細菌懸浮液後,分別扦插於河沙及泥 炭土中,測試栽培介質對菊花扦插苗軟腐病發生之影響。 結果顯示,栽培介質對Ech LH29及Ecc LC3所引起之菊 花扦插苗髓部軟腐長度並無明顯差異,而對扦插苗之倒伏 發生情形則因軟腐細菌種類而異,接種Ech LH29者,於 二種栽培介質皆全部腐爛倒伏;而接種Ecc LC3者倒伏發 生率較低,其中扦插於泥炭土者有38%,而扦插於河沙者 不發生倒伏(圖二)。

(E) 介質含水量對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

菊花插穗浸軟腐細菌懸浮液後,將其扦插於含不同水 份之泥炭土中,觀察其發病情形,結果顯示泥炭土含水量 愈高,髓部軟腐及植株倒伏皆較嚴重。當泥炭土含水量達 其飽和含水量60%時,病害顯著增加,接種Ecc LC3及 Ech LH29 之髓部軟腐長度分別為29.9及25.0mm,而倒伏 率為10及20%;當泥炭土含水量達其飽和含水量100% 時,接種Ecc LC3及Ech LH29之髓部軟腐長度則高達 47.5及55.9cm,而二者植株倒伏率分別為70及90%(表 二)。



圖一、菊花扦插苗細菌性軟腐病之病徵:(A) 萎凋及基部腐爛;(B) 莖內部中空褐化。 Fig. 1. Symptoms caused by soft rot *Erwinia* on chrysanthemum cuttings. (A) Cuttings showing wilting and basal rot symptoms. (B) Cuttings showing pith necrosis and hollow symptoms.

#### 表一、溫度對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生的影響

Table	1.	Effect	of	temp	erature	on	bacterial	soft	rot	of
chrysa	nth	emum c	utti	ngs <sup>1</sup>						

Temperature	Pith mace	ration (mm)	Cuttings collapsed (%)		
(°C)	Ecc LC3	Ech LH29	Ecc LC3	Ech LH29	
15	8.3 d <sup>2</sup>	4.2 d	0.0	0.0	
20	21.1 c	14.9 c	0.0	6.3	
25	43.8 a	46.0 b	6.3	81.3	
30	36.1 b	54.3 a	18.8	100.0	

<sup>1.</sup> Chrysanthemum cuttings were dipped in bacterial suspension containing  $1 \times 10^8$  cfu/ml of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* LC3 (Ecc LC3) or *E. chrysanthemi* LH29 (Ech LH29) for 30 min. They were planted in peat moss and covered with plastic bags, then kept in growth chamber at different temperature. Length of pith maceration and percentage of cuttings collapsed were measured and recorded 5 days after inoculation.

<sup>2.</sup> Mean of pith maceration length of 16 chrysanthemum cuttings inoculated. Values in the same column followed by the same letter are not significantly different (p=0.05) according to Duncan's multiple range test.

#### (四) 插穗癒合時間對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響

菊花插穗採下後置於保濕環境中,經不同天數癒合後 取出接種軟腐細菌,以測試插穗癒合時間對菊花扦插苗細 菌性軟腐病發生之影響,結果顯示插穗放置於保濕的環 境,其癒合時間愈久,軟腐病之發生則愈輕微。接種Ecc LC3者,於插穗採下當天即扦插者,其軟腐長度為41.1 mm,倒伏率為56.3%;經保濕癒合1天及以上之插穗則無 倒伏發生,而經1、2、3及4天保濕癒合之插穗其軟腐長 度分別降低為24.7、16.9、10.1及4.1 mm。接種Ech LH29 者,於插穗採下當天即扦插者,其軟腐長度為49.4 mm, 倒伏率為93.8%;經保濕癒合1天及以上之插穗亦不再有 倒伏發生,而經1、2、3及4天保濕癒合之插穗,其軟腐 長度則分別降低為28.8、31.8、27.2及14.1 mm(表三)。

# Erwinia 軟腐細菌在菊花母株田存在之情形

從菊花母株田採回的樣品,以 modified CVP 培養基 偵測軟腐細菌之存在情形。結果得悉,在菊花母株田中,



圖二、栽培介質對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響。

**Fig. 2.** Effect of culture medium on soft rot of chrysanthemum cuttings. Chrysanthemum cuttings were dipped in bacterial suspension containing  $1 \times 10^8$  cfu/ ml of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* LC3 (Ecc LC3) or *E. chrysanthemi* LH29 (Ech LH29) for 30 min. They were planted in river sand and peat moss culture medium, respectively, then covered with plastic bags and kept in growth chamber at 25 °C. (A) Length of pith maceration. (B) Percentage of cuttings collapsed were measured and recorded 5 days after inoculation.

田間之灌溉水出現 Erwinia 軟腐細菌頻率最高,在23 個灌溉水樣品中,未經增量培養即可全數偵測到軟腐細菌之存在;而所採取的41 個土壤樣品中,未經增量時有6個(15%)樣品可偵測到 Erwinia 軟腐細菌,而經增量後則有11 個(27%)樣品可偵測到 Erwinia 軟腐細菌;此外在菊花頂芽之41 個樣品中,於未經增量時有3個(7%),經增量後則有7個(17%)樣品可偵測到 Erwinia 軟腐細菌(表四)。

# 討 論

軟腐細菌由菊花插穗之莖基部傷口侵入,可造成莖部 中空褐化或插穗基部軟腐變黑,以至倒伏之病徵;本省常 以露天搭設遮陰網做為菊花扦插繁殖場,雨季來臨時無法 遮雨,因而使本病常嚴重發生。本研究自不同菊花扦插繁 殖場採集之細菌性軟腐病罹病植株,經分離純化,共得 32 個*Erwinia* 軟腐細菌菌株,經生理生化測試結果顯示其 中有 23 個菌株屬於 Ecc,其餘 9 個菌株則屬於 Ech,故本 省菊花扦插苗軟腐病係由此二種 *Erwinia* 軟腐細菌所引 起,由於 Ecc 與 Ech之生長溫度有差異,其中 Ecc之最適 生長溫度為 28-30°C,最高生長溫度為 37-42°C;Ech之最 適生長溫度為 34-37°C,而最高生長溫度則高於 45°C, Ecc 普遍存在於世界各地,而Ech則主要存在熱帶與亞熱 帶地區<sup>(24)</sup>,引起菊花細菌性軟腐病病原種類之差異性可 能與病原細菌之分布或採樣的季節有關。*Erwinia chrysanthemi* 軟腐細菌可依其生理生化特性將其分成 6 個 subdivision<sup>(15,17)</sup>或 9 個 biovar<sup>(9)</sup>。本研究自本省菊花分離 之 9 個Ech菌株,8 個菌株屬於 subdivision II 及 biovar 6; 1 個菌株屬於 subdivision IV 及 biovar 3。而 Dickey<sup>(15)</sup>在其 報告中所使用之 12 個分離自菊花的 Ech菌株,有 11 個菌 株係屬於 subdivision III,而1 個菌株屬於 subdivision IV,

表二、泥炭土含水量對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響 Table 2. Effect of water content of peat moss on bacterial soft rot of chrysanthemum cuttings<sup>1</sup>

Relative water	Pith mace	ration (mm)	Cuttings collapsed (%)		
content (%)	Ecc LC3	Ech LH29	Ecc LC3	Ech LH29	
20	$3.8 c^2$	2.5 c	0	0	
40	8.5 c	3.0 c	0	0	
60	29.9 b	25.0 b	10	20	
80	43.5 a	58.7 a	30	90	
100	47.5 a	55.9 a	70	90	

<sup>1.</sup> Chrysanthemum cuttings were dipped in bacterial suspension containing  $1 \times 10^8$  cfu/ ml of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* LC3 (Ecc LC3) or *E. chrysanthemi* LH29 (Ech LH29) for 30 min. They were planted in peat moss with various water content and covered with plastic bags, then kept in growth chamber at 25°C. Length of pith maceration and percentage of cuttings collapsed were measured and recorded 5 days after inoculation. Peat moss fully saturated with water was referred as containing 100% of relative water content.

<sup>2</sup> Mean of pith maceration length of 10 chrysanthemum cuttings inoculated. Values in the same column followed by the same letter are not significantly different (p=0.05) according to Duncan's multiple range test.

表三、插穗傷口癒合時間對菊花扦插苗細菌性軟腐病發生之影響 Table 3. Effect of curing period on bacterial soft rot of chrysanthemum cuttings

Curing time	Pith mace	ration (mm)	Cuttings collapsed (%)		
(days) <sup>1</sup>	Ecc LC3	Ech LH29	Ecc LC3	Ech LH29	
0	41.1 a <sup>2</sup>	49.4 a	56.3	93.8	
1	24.7 b	28.8 bc	0.0	0.0	
2	16.9 bc	31.8 b	0.0	0.0	
3	10.1 cd	27.2 bc	0.0	0.0	
4	4.1 d	14.1 c	0.0	0.0	

<sup>1.</sup> Fresh chrysanthemum cuttings were kept in a moist chamber at  $26-32^{\circ}$ C for curing of the wounds of cuttings. The cuttings were then dipped in bacterial suspension containing  $1 \times 10^{8}$  cfu/ml of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* LC3 (Ecc LC3) or *E. chrysanthemi* LH29 (Ech LH29) for 30 min. The inoculated cuttings were planted in a tray with water-saturated peat moss, and kept in growth chamber at 25 °C. Length of pith maceration and percentage of cuttings collapsed were measured and recorded 5 days after inoculation.

<sup>2</sup> Mean of pith maceration length of 16 chrysanthemum cuttings inoculated. Values in the same column followed by the same letter are not significantly different (p=0.05) according to Duncan's multiple range test.

此與本省分離自菊花之 Ech 菌株主要屬於 subdivision II 完全不同。在本省 subdivision II 之 Ech 菌株目前可由芹 菜、蘿蔔、彩色海芋、牛蒡及馬鈴薯等寄主之軟腐罹病組 織分離而得<sup>(34,11,20)</sup>,而 subdivision IV 則可分離自玉米、 青蔥、蝴蝶蘭、狐狸尾蘭、唐菖蒲、胡蘿蔔及馬鈴薯等寄 主<sup>(3,4,6,7,20)</sup>,此些不同寄主來源之Ech 菌株其病原性是否

## 表四、Erwinia 屬軟腐細菌在彰化菊花母株田之存在情形

Table 4. Detection of soft rot *Erwinia* in samples collected from mother stock fields of chrysanthemum at Changhua

	No. of	No. of sample containing			
Sample	sample	soft-rot Erwinia			
	examined	Direct plating <sup>1</sup>	After enrichment <sup>2</sup>		
Irrigation water	23	23	23		
Soil	41	6	11		
Chrysanthemum apical shoot	41	3	7		

<sup>1.</sup> Samples were detected by direct plating on modified CVP medium<sup>(23)</sup>.

<sup>2</sup> Samples were detected on modified CVP medium after enrichment<sup>(21)</sup>.

#### 有差異,值得進一步探討。

高溫及高濕有利於軟腐細菌 Ecc 及 Ech 之生長及繁 殖,並有助於其侵入寄主植物之組織和在其內蔓延 <sup>(28,11,13)</sup>。本研究亦顯示在 25-30℃ 時菊花扦插苗髓部軟腐 長度及腐爛倒伏情形較嚴重,而在 15℃ 時,其危害則較 輕微;此外扦插介質含水量愈高,軟腐病也較嚴重;本省 菊花扦插苗細菌性軟腐病主要發生於雨季,則可能與其介 質之含水量增加而利於病害發生有關。Note 等人<sup>(22)</sup>將馬 鈴薯薯塊切面傷口於 20℃ 在高濕下,經 2 天癒合後可降 低*E. carotovora* 之危害,本研究亦顯示將菊花插穗放於保 濕環境中,增加其癒合時間亦可降低扦插苗對軟腐細菌之 感受性。因此菊花插穗採下後,可先將其置於保濕環境 中,經適當時間之癒合後,再行扦插種植以減少病害之發 生。不過由於菊花插穗爲幼嫩之生長組織,莖頂會有背地 性產生,故置於保濕盒中太久,插穗會彎曲而造成扦插之 不便或影響品質,亦需注意。

台灣菊花栽培田尚未發現細菌性軟腐病,然本研究顯示 Erwinia 軟腐細菌普遍存在於菊花母株田的土壤、菊花 頂芽、田間灌溉水等樣品中,此些 Erwinia 軟腐細菌可能 為菊花扦插苗細菌性軟腐病菌之主要感染源,其中田間灌 溉水於未增量時即可百分之百偵測到軟腐細菌,這可能與 母株田菊花修剪後枝條丢棄於溝畦中,有利於軟腐細菌增 殖有關。因此為防範扦插苗軟腐病之發生,母株田之田間 衛生與病害管理為不容忽視之問題。

# 引用文獻

- 呂理桑、楊秀珠. 1984. 菊花病害與防治. p. 131-138. 臺 灣省農業試驗所特刊第14號.
- 吴肇群、徐世典、陳隆鐘. 1983. Erwinia 軟腐細菌在土 壤中之存活及環境因子對其在結球白菜上致腐能力之 影響. 農林學報 32:1-18.
- 3. 曾國欽. 1993. 蔬菜細菌性軟腐病. p. 231-240. 蔬菜保護

研討會專刊. 劉玉章編. 中華植物保護學會出版. 台中市. 325 pp.

- 蔡雲鵬. 1991. 臺灣植物病害名彙. 中華植物保護學會及 中華民國植物病理學會出版. 604 pp.
- 謝式, 羅靜儀. 1976. 菊花莖腐病之研究(1)病徵及 病菌之生理性質. 植保會刊18:338-345.
- 6. 鍾文鑫. 1993. 台灣青蔥細菌性軟腐病之研究. 國立中興 大學植物病理學研究所碩士論文.
- 7. 蘇秋竹、呂理桑、曾國欽. 1996. Erwinia chrysanthemi 引起之唐菖蒲細菌性軟腐病. 植物病理學會刊5:209 (摘要).
- Aleck, J. R., and Harrison, M. D. 1978. The influence of inoculum density and environment on the development of potato blackleg. Am. Potato J. 55:479-494.
- Boccara, M., Vedel, R., Lalo, D., Lebrun, M-H., and Lafay, J. F. 1991. Genetic diversity and host range in strains of *Erwinia chrysanthemi*. Mol. Plant-Microbe Interact. 4:293-299.
- Burkholder, W. H., McFadden, L. A., and Dimock, A. W. 1953. A bacterial blight of chrysanthemums. Phytopathology 43:522-526.
- 11. Chuang, M. F., Tzeng, K. C., and Hsu, S. T. 1989. Soft rot of radish caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. Plant Prot. Bull. 31:358-365.
- Davino, M., Rosa, R. La., and Torrisi, A. 1980. *Erwinia* chrysanthemi infections on chrysanthemum cuttings. Tecnica Agricola 32:301-308.
- 13. Dhanvantari, B. N., and Dirks, V. A. 1987. Bacterial stem rot of greenhouse tomato: Etiology, spatial distribution, and the effect of high humidity. Phytopathology 77:1457-1463.
- Dickey, R. S. 1976. Identification and prevalence of Erwinia species isolated from Chrysanthemum morifolium. Proc. Am. Phytopathol. Soc. 3:304. (Abstr.)
- 15. Dickey, R. S. 1979. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several

hosts and other Erwinia species. Phytopathology 69:324-329.

- Dickey, R. S., and Kelman, A. 1988. B. Erwinia 2. "Carotovora" or soft rot group. Pages 44-59 in: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 2nd ed. N. W. Schaad ed. APS Press. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Dickey, R. S., and Victoria, J. I. 1980. Taxonomy and emended description of strains of *Erwinia* isolated from *Musa paradisiaca* Linnaeus. Int. J. Syst. Bacteriol. 30:129-134.
- Goto, M., and Matsumoto, K. 1987. Erwinia carotovora subsp. wasabiae subsp. nov. isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horseradish (Eutrema wasabi Maxim.). Int. J. Syst. Bacteriol. 37:130-135.
- Horita, H. 1994. Bacterial stem rot of chrysanthemum caused by *Erwinia chrysanthemi* in Hokkaido Prefecture. Annu. Rept. Soc. Plant Prot. N. Jpn. 45:104-107.
- Hsu, S. T., and Tzeng, K. C. 1981. Species of *Erwinia* associated with soft rot diseases of plants in Taiwan. Pages 9-18 in: Proc. Fifth Int. Conf. Plants Path. Bact. J. C. Lozano, ed. CIAT. Cali, Colombia.
- Meneley, J. C., and Stanghellini, M. E. 1976. Isolation of soft-rot *Erwinia* spp. from agricultural soils using an enrichment technique. Phytopathology 66:367-370.
- Nolte, P., Secor, G. A., and Gudmestad, N. C. 1987. Wound-healing, decay and chemical treatment of cut potato tuber tissue. Am. Potato J. 64:1-9.
- Perombelon, M. C. M., and Burnett, E. M. 1991. Two modified crystal violet pectate (CVP) media for the detection, isolation and enumeration of soft rot erwinias. Potato Res. 34:79-85.
- 24. Perombelon, M.C.M., and Kelman, A. 1980. Ecology of the soft rot erwinias. Annu. Rev. Phytopathol. 18:361-387
- Van Steekelenburg, N. A. M., Van der Hoeven, A. P., and Janse, J. D. 1987. Pith necrosis in chrysanthemum cuttings and factors influencing its occurrence. Acta Hortic. 197:103-109.

# ABSTRACT

Liu, H. L.<sup>1</sup>, Hsu, S. T.<sup>2</sup>, and Tzeng, K. C.<sup>2,3</sup> 2002. Bacterial soft rot of chrysanthemum cuttings: Characteristics of the pathogens and factors affecting its occurrence. Plant Pathol. Bull. 11:157-164. (<sup>1.</sup> Taichung District Agricultural Improvement Station, Changhua, Taiwan 515, R.O.C., <sup>2.</sup> Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University, Taichung 402, R.O.C., <sup>3.</sup> Corresponding author, E-mail : kctzeng@nchu.edu.tw. Fax No: 886-4-22854633)

A total of 32 strains of soft rot *Erwinia* were isolated from rotted tissues of chrysanthemum cuttings in Tienwei, Changhua. Based on the results of physiological and biochemical tests, 23 strains were identified as *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, and 9 strains as *Erwinia chrysanthemi*. The strains of *E. chrysanthemi* were further characterized according to Dickey's and Boccara's systems, eight strains were classified to the subdibision II and biovar 6, while one strain belonged to the subdibision IVand biovar 3. Temperature could affect the soft rot severity of chrysanthemum cuttings caused by soft rot *Erwinia*. Length of pith maceration of cuttings was significantly longer at 25-30 °C than that at 15-20 °C. Water content of culture medium was also found to affect soft rot development. Soft rot of chrysanthemum cuttings was more severe when the cuttings was found to be reduced if the cuttings were kept at high moist conditions for curing before planting. A modified CVP selective medium was used to study the presence of soft rot *Erwinia* in mother stock fields of chrysanthemum. Soft rot *Erwinia* could be detected from irrigation water, soil and chrysanthemum apical shoot with frequency at 100%, 15% and 7%, respectively.

Key words: chrysanthemum cutting, Erwinia chrysanthemi, Erwinia carotovora subsp. carotovora, bacterial soft rot