

## 黃麻青枯病初報

黃晉興<sup>1</sup> 許秀惠<sup>1,2</sup> 沈百奎<sup>3</sup>

1. 臺中縣霧峰鄉行政院農委會農業試驗所植病系
  2. 聯絡作者：電子郵件 shhseu@wufeng.tari.gov.tw
  3. 臺中縣霧峰鄉行政院農委會農業試驗所園藝系
- 接受日期：中華民國 89 年 3 月 3 日

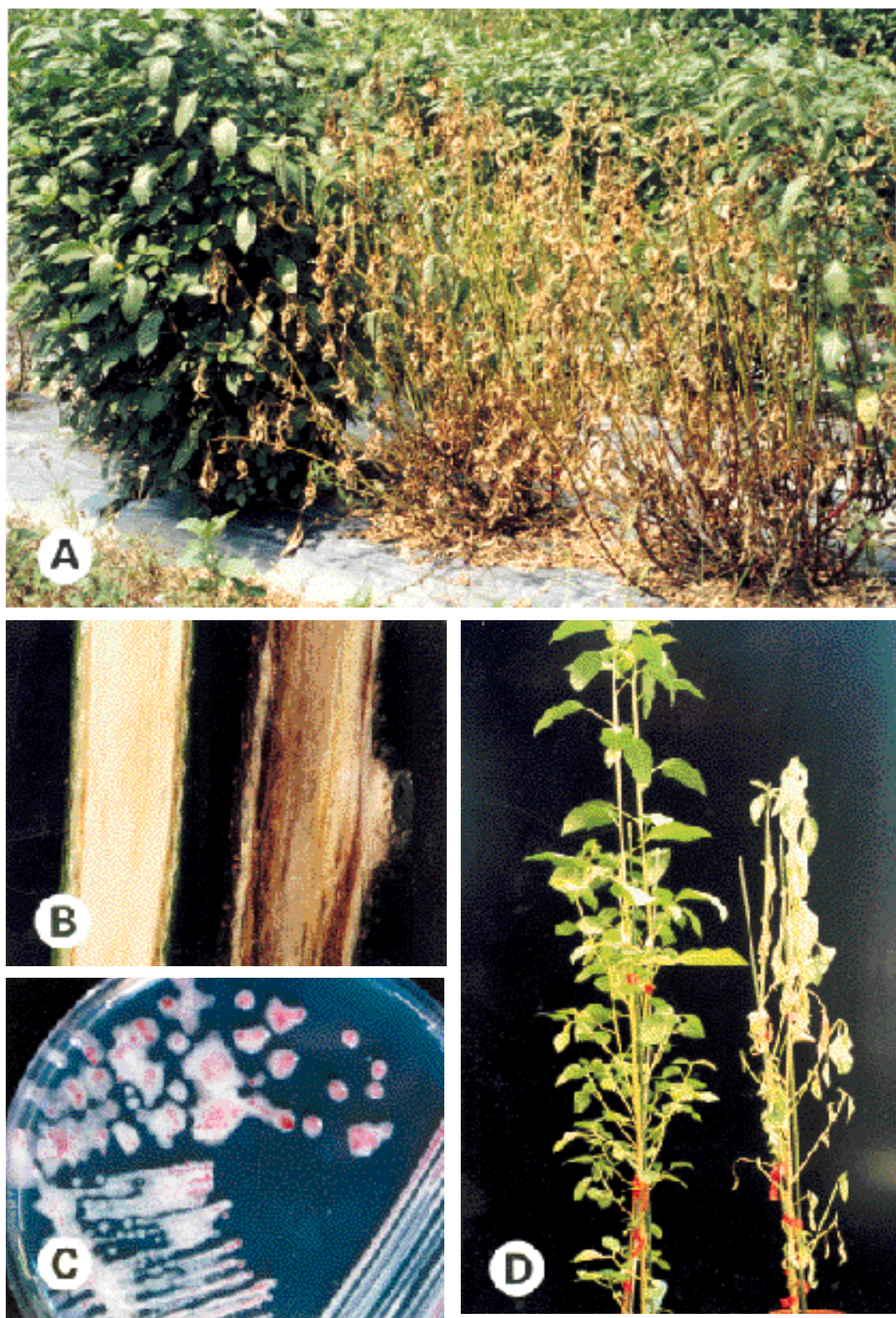
黃晉興、許秀惠、沈百奎. 2000. 黃麻青枯病初報. 植病會刊9:35-38.

黃麻 (*Corchorus* spp.) 又稱葉用黃麻或甜麻，屬田麻科 (Tiliaceae) 一年生之草本植物，具有經濟栽培價值之品種為圓果種 (*Corchorus capsularis* L.) 及長莢種 (*Corchorus olitorius* L.)，過去台灣栽培面積曾達 23,121 公頃<sup>(4)</sup>，最初用途是取其纖維用於紡織麻布或繩索，因為對該類纖維之需求量降低而使栽培面積劇減。近年來由於國人對蔬菜營養要求漸增，黃麻之嫩莖葉不僅甘甜可口，含有高含量之鉀、鈣、鎂、鐵及維生素<sup>(1,2)</sup>，於高溫夏季生長快速，可連續採收嫩莖葉，且栽培過程少用甚至不用農藥，為栽培者及消費者喜愛。本所園藝系正篩選適合食用之品種以供推廣<sup>(2,3)</sup>，一九九八年夏季於農業試驗所栽培園發現植株呈現失水萎凋的病徵，初期僅於植株之部份枝條呈現萎凋，爾後全株枯死 (圖一, A)，發病率高達 50 % 以上，切開其莖部於維管束發現褐化現象 (圖一, B)，將病株之莖部維管束置於清水中可見菌霧狀湧出。隔年夏天，同一塊黃麻田又再次發現相同病徵之植株，且於南投縣仁愛鄉及農試所另一塊黃麻栽培田也發現植株萎凋現象。從萎凋植株之莖部分離所得之細菌以注射法打入煙草葉片後，於 24 小時內即出現典型過敏性反應，將此細菌畫線培養於 triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 培養基<sup>(10)</sup> 上，產生中央為粉紅色外圍為白色流質狀，似青枯病菌之菌落，將此細菌接種於黃麻植株造成與田間相似之萎凋病徵，故推測此黃麻萎凋之病害為青枯病，據台灣植物病害名彙記載，黃麻尚未有青枯病危害之紀錄<sup>(5)</sup>，因此本文主要描述此病之病徵，病原菌及病害發生之特性，以供後續相關研究之參考。

由罹病黃麻栽培田採取萎凋病徵之樣品，切取已褐變之新鮮莖部組織，經表面消毒後直接置於水瓊脂 (water agar, WA) 平板上以分離真菌，同時也置於無菌蒸餾水中，經振盪後以移植環沾取懸浮液，劃線於營養培養基 (nutrient agar, NA, Difco) 平板上以分離細菌，分離所得之三個真菌菌株及八個細菌菌株分別培養在馬鈴薯葡萄糖瓊脂 (potato dextrose agar, PDA, Difco) 平板及 NA 平板上，之後以無菌水洗下真菌孢子及細菌菌泥，並將濃度分

別調為  $5 \times 10^5$  spores/ml 及  $10^8$  cfu/ml 作為接種源。以蟲針刺傷苗齡 30 天之供試長莢種黃麻植株之莖部，約十餘個傷口，再分別將沾有供試菌液之棉花附於莖部傷口處，同時以沾有無菌水之處理作為對照，每種處理 10 棵，接種後套上透明塑膠袋保濕 24 hr，之後置於 21 ~ 36 (平均 27.8) 之溫室中觀察。三星期後接種真菌及無菌水之植株均未出現任何病徵，但接種部分細菌菌株之植株於接種後 10 天即在莖部接種處呈現褐化，附近葉片也呈現黃化萎凋現象，且葉片易掉落，病斑逐漸擴展，14 天後全株除莖梢外，其餘葉片均萎凋並掉落，於莖部外表可見褐色條斑，18 天後全株萎凋死亡，與田間所呈現病徵相似 (圖一, D)。從接種後之發病組織所分離之細菌與與原接種之病原菌於 TTC 培養基菌落特性相同，因此確定該細菌為青枯病菌。以相同方法接種長莢青骨種黃麻，長莢紅骨種及圓果青骨種等三種黃麻均可造成相同萎凋病徵，其發病率分別為 100、86.7 及 46.7 %，顯示供試長莢種較圓果青骨種感病。由於長莢紅骨種之食用品質較受歡迎，為葉用黃麻之主要推廣品種<sup>(2,3)</sup>，因此本研究之後續試驗均以長莢紅骨種黃麻作為供試品種。

將黃麻青枯病菌 Co2, Co10, Co11, Co12, Co13, Co15, Co16, Co17, Co18, Co19, Co20 及 Co21 等菌株，於 TTC 培養基平板上 30 下培養二天後，挑取典型菌落再以 523 培養基 (sucrose 10 g, casein 8 g, yeast extract 4 g,  $K_2HPO_4$  2 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.3 g 及 agar 15 g)<sup>(13)</sup> 培養一天，爾後依 Schaad<sup>(13)</sup> 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，結果顯示該病原細菌為革蘭氏陰性 (Gram negative)、桿狀具 1 至多根單極鞭毛、好氧性、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，在 Kovacs' 氧化酵素 (Kovacs' oxidase)、過氧化氫放氧酵素 (Catalase)、尿素酵素 (Urease) 以及硝酸鹽還原 (Nitrate reduction) 等測定均呈正反應，而在精氨酸二水解酵素 (Arginine dihydrolase)、白明膠水解作用 (Hydrolysis of gelatin)、澱粉水解作用



圖一、黃麻青枯病。(A)田間植株萎凋之病徵；(B)維管束褐化；(C)青枯病菌於TTC培養基之菌落形態；(D)黃麻接種青枯病菌產生萎凋之病徵(左為對照組)。

**Fig. 1.** Bacterial wilt disease of jute. (A) Wilting symptom of diseased plants in field. (B) Brownish discoloration of vascular tissue. (C) Bacterial colonies on TTC medium. (D) Wilting symptom of jute inoculated by the isolated *Ralstonia solanacearum*. (Left is control.)

(Hydrolysis of starch)、果膠分解能力 (Pectate degradation)、苯丙氨酸脫氨酵素 (Phenylalanine deaminase)、硫化氫之產生 (Production of H<sub>2</sub>S)、Indole的產生 (Production of indole) 等測定均呈負反應。依 Hayward<sup>(7)</sup> 之分類系統本病原菌屬於第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。該細菌在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 (圖一, C)。以Biolog系統<sup>(9)</sup> (Biolog Inc. Hayward, CA) 鑑定上述菌株均屬 *Burkholderia solanacearum*, 其相似度在0.850 ~ 0.995間。因此確認造成黃麻萎凋病徵之病原菌為 *Ralstonia solanacearum* (原名 *Pseudomonas solanacearum*, 1992年屬名更改為 *Burkholderia*, 1995年再改為 *Ralstonia*)<sup>(14,15)</sup>。

將Co2菌株培養於523培養基一天後, 以無菌水調整菌源濃度為10<sup>8</sup> cfu/ml作為接種源, 將馬鈴薯 (克尼伯), 番茄 (農友301), 茄子 (屏東長茄), 甜椒 (藍星), 辣椒 (萬里香), 煙草 (萬國士) 及花生 (台農6號) 等供試植株以剪除部份根系的方法於根部製造傷口, 之後將植株根部浸於細菌懸浮液中10分鐘再種回栽培盆中, 同時以無菌水之處理作為對照, 每種處理20棵, 置網室 (約30 ) 中觀察發病情形。結果發現此病原菌除感染黃麻外, 亦可感染供試之馬鈴薯, 番茄, 茄子, 甜椒, 辣椒, 及煙草等茄科作物並造成萎凋病徵, 但不感染花生, 顯示本病原菌屬 Buddenhagen分類系統之第一生理小種 (race 1)<sup>(6)</sup>。

從上述各項試驗結果顯示, 造成黃麻萎凋病之病原菌為 *Ralstonia solanacearum*, 屬race 1, biovar 4。據國外文獻顯示, 印度所種植之黃麻曾發現萎凋病 (稱為Hoohgly wilt), 是由 *Macrophomina phaseolina*、*Pseudomonas solanacearum*及 *Fusarium solani*複合感染所造成<sup>(11)</sup>, 爾後證明造成黃麻萎凋病之病原菌為 *Pseudomonas solanacearum*<sup>(12)</sup>。但台灣則未曾記載, 因此黃麻為台灣青枯病菌為害作物之另一新記錄。

為了解黃麻青枯病菌主要由地上部感染或地下部感染, 因而以長莢紅骨種黃麻為供試作物, 每種處理15棵, 將Co2菌株濃度調為10<sup>8</sup> cfu/ml作為接種源, 並以無菌水當對照進行接種試驗, 共八種處理分別為 (1) 植株地上部以無動力噴灑細菌懸浮液或無菌水, (2) 植株地上部經剪莖處理後以棉花沾細菌懸浮液或無菌水接種傷口處, (3) 植株地下部裸根直接浸細菌懸浮液或無菌水10分鐘再種回盆鉢中, (4) 剪除植株部份根系後將根系浸於細菌懸浮液或無菌水10分鐘再種回盆鉢中。各處理之植株於接種後分別套上透明塑膠袋保濕24小時, 置於19 ~ 36 (平均27.6 ) 之溫室中觀察病徵發生情形。約四星期後發現上述處理中無論地上部或地下部有無傷口處理都能造成萎凋病徵 (表一), 但以地上部傷口處理之發病率 (86.7 %) 最高, 根部傷口處理之發病率次之 (26.7 %)。地上部無傷口

表一、傷口處理及接種部位對黃麻青枯病之影響

Table 1. Effect of wounds and inoculated parts on the incidence of bacterial wilt of jute.

Inoculated parts		Disease incidence (%) <sup>1</sup>	
		wounding	ck <sup>2</sup>
Stem	Pathogen	86.7	13.3
	Mock inoculation	0	0
Root	Pathogen	26.7	6.7
	Mock inoculation	0	0

1. numbers of plants showing wilt symptom / 15 tested plants.

2. inoculation without artificial wounding.

處理者發病率為13.3%, 而地下部無傷口處理之發病率最低 (6.7%), 顯示黃麻青枯病菌可經由地上部及地下部侵入感染, 且不論有無傷口其莖部感染比根部感染的發病率高, 此現象與紫蘇青枯病相似<sup>(8)</sup>。另外, 紫蘇青枯病菌初感染源雖來自根部, 但田間大面積傳播主要是靠機械採收<sup>(8)</sup>, 筆者等於田間觀察發現夏季栽培之黃麻常於採收嫩莖葉後較易發生青枯病, 而同一植穴補植之黃麻卻不易再發生青枯病, 是否黃麻機械採收也是黃麻青枯病大面積傳播之主因則有待進一步研究證實。

關鍵詞: 黃麻, 青枯病, 青枯病菌。

## 引用文獻

1. 芒澤正和、尾浦一郎、平宏和、竹內昌昭、中井博康. 1997. 五訂食品成分表. 女子營養大學. 東京. 日本. 163pp.
2. 林俊義、蕭吉雄、沈百奎. 1998. 新興蔬菜之開發及利用. 台灣省農業試驗所專刊第72號. 台中. 台灣. 49pp.
3. 林俊義、蕭吉雄、沈百奎. 1999. 新興蔬菜之開發及利用. 台灣省農業試驗所專刊第79號. 台中. 台灣. 43pp.
4. 臺灣省政府農林廳編. 1963. 農業要覽第七輯特用作物第一篇 黃麻. P1~77.
5. 蔡雲鵬 編. 1991. 台灣植物病害名彙. 中華植物保護學會及中華民國植物病理學會編印. 604頁.
6. Buddenhagen, I. W., Sequira, L., and Kelman, A. 1962. Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52:76 (abstract)
7. Hayward, A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bact.* 27:265-277.
8. Hong, W. F., Hsu, S. T., and Tzeng, K. C. 1992. Bacterial wilt of *Perilla crispa*: new host and new transmission method. P. 373-375. In: G. L. Hartman and A. C. Hayward 1992. Bacterial Wilt. Proceedings of an international conference held at Kaohsiung, Taiwan. 379 pp.
9. Jones, J. B., Chase, A. R., and Harris, G. K. 1993.

- Evaluation of the Biolog GN MicroPlate system for identification of some plant-pathogenic bacteria. *Plant Dis.* 77:553-558.
10. Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:493-495.
  11. Mishra, C. B. P., and Ghosh, T. 1978. Evaluation of a systemic fungicide (Bavistin) in controlling Hooghly wilt of jute. *Pesticide* 12:41-42.
  12. Rathaiah, Y., Robin, G., Phookan, A. K., and Rahman, F. 1993. Bacterial wilt in jute in Assam. *Journal of the Agricultural Science Society of North East India.* 6:85. (Abstract)
  13. Schaad, N. W. 1988. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.* 2nd edition, APS Press, American Phytopathologic Society, St. Paul, Minnesota, USA, 164pp.
  14. 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.
  15. 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. C. <sup>1</sup>, Hseu, S. H. <sup>1,2</sup>, and Sen, B. K. <sup>3</sup> 2000. Bacterial wilt of jute caused by *Ralstonia solanacearum*. *Plant Pathol. Bull.* 9:35-38. (<sup>1,3</sup> Department of Plant Pathology, and Department of Horticulture, Taiwan Agriculture Research Institute, Wufeng, Taiwan, R.O.C., <sup>2</sup> Corresponding author. E-mail: shhseu@wufeng.tari.gov.tw, Fax: 04-3338162)

Bacterial wilt of jute, a newly found disease, was found occurring in some fields in central Taiwan. Symptoms of the disease were wilting of plants and brownish discoloration of the vascular tissue. Based on cultural characteristics, physiological and biochemical properties, Biolog System and pathogenicity test, the causal organism was identified as *Ralstonia solanacearum*. All isolates obtained in this study were race 1 and biovar 4. The pathogen could induce wilting not only on jute but also on other solanaceous plants. Through wounds, stem inoculation of jute with *R. solanacearum* produced 86.7% of disease incidence, but root dipping inoculation induced only disease incidence of 26.7%.

Key words : *Corchorus* spp., bacterial wilt, *Ralstonia solanacearum*