

# 木瓜黑腐病之研究<sup>1</sup>

鄭安秀、吳雅芳、郭源耀、黃淑惠<sup>2</sup>

## 摘 要

鄭安秀、吳雅芳、郭源耀、黃淑惠·2007·木瓜黑腐病之研究。台南區農業改良場研究彙報：50：24-30。

本研究室於 2006 年元月起分別由台南縣玉井鄉、大內鄉、嘉義縣中埔鄉及雲林縣林內鄉木瓜栽培區採集罹病葉、莖及果實，共分離純化得 15 個木瓜黑腐病病原細菌菌株。田間觀察，罹病植株葉片黃化後落葉，黃化葉柄橫切面可見褐化維管束，有菌泥泌出；病原細菌可於莖部維管束上、下蔓延，造成更多黃化落葉、株心黑腐及果梗腐爛落果。病原細菌於 NA 培養基上呈現乳白色菌落，菸草葉肉接種 24 小時後呈現過敏性反應。將病原細菌調製成  $10^8$  cfu/ml 之細菌懸浮液，均勻噴霧於木瓜苗，接種後 3-4 天植株葉背即出現水浸狀斑點，斑點漸擴大、癒合，葉片捲曲、下垂、萎凋。病原細菌由莖部維管束往上蔓延至株心部，呈現水浸狀後變黑進而壞死，亦往下蔓延至地際部及根部。將一個月大之木瓜苗種植於混合病原細菌之介質中，病原細菌可由根部感染木瓜苗。病原細菌於 25 至 30°C 下可正常生長。利用濾紙圓盤法及液體培養法於實驗室中進行藥劑篩選，結果顯示抑菌效果以 85% 鹼性氯氧化銅可濕性粉劑、20% 歐索林酸可濕性粉劑、68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑及 10% 鏈四環黴素可溶性粉劑較佳。以噴霧接種於木瓜幼苗後施藥，初步結果顯示，第三次施藥後 18 天，20% 歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍稀釋液、10% 鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍稀釋液及 81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑 1000 倍稀釋液處理的罹病度較無藥劑處理為低，達顯著性差異。但穿刺接種後施藥，則供試藥劑均無防治效果。

**關鍵詞：**木瓜黑腐病、*Erwinia* sp.

接受日期：2007 年 12 月 26 日

## 前 言

由 *Erwinia cypripedii* 引起之木瓜黑腐病，在台灣於 1979 年春，台東地區首次發現(呂等，1980)。文獻記載黑腐病病徵初在木瓜葉片呈現水浸狀斑點，高濕時泌膠，最後病斑組織壞

1. 行政院農業委員會台南區農業改良場研究報告第 338 號。

2. 第一作者為台南區農業改良場研究員、第二作者為助理研究員、第三作者為技工、第四作者為約僱助理。台南縣新化鎮牧場 70 號。

疽枯死。植株心部呈水浸狀病斑，隨即葉柄下垂，葉片呈黃色，株心內部變褐色，葉片未脫落前植株心部轉黑枯死。病徵由株心向下擴展，但在成熟組織上進展緩慢。無論成熟株、幼株或幼苗皆可被感染。被害果果皮上有明顯水浸狀黑色病斑(呂等，1980)。2005年6月至9月南部地區連續遇到三個颱風及豪雨重創，網室栽培之木瓜園不止是次次掀網，有些果園甚至淹水數尺，使沉寂多年的木瓜黑腐病由屏東縣新埤地區爆發後，在南部地區木瓜栽培區快速蔓延。本研究擬探討木瓜黑腐病之生態及防治對策，期有效降低病害造成之損失。

## 材料與方法

### 木瓜黑腐病病原細菌菌株之分離及鑑定

於2006年元月起分別由台南縣玉井鄉、大內鄉、嘉義縣中埔鄉及雲林縣林內鄉木瓜栽培區採集罹病葉、莖及果實，分離純化病原細菌菌株，並確定其病原性。

供試菌株培養於NA(Beef extract 3g, Peptone 5g, agar 15g/l)培養基平板，挑取單一菌落移殖於BUGA(Biolog Universal Groth Agar)培養基平板上，於30°C下培養24小時後，以biolog inoculating fluid製成細菌懸浮液，接種到GN2 Microplate中培養，利用Biolog全自動菌種鑑定系統(Microstation TM ID System)進行病原細菌鑑定。

### 木瓜黑腐病病原細菌接種試驗

穿刺接種：以高溫高壓滅菌過之牙籤沾取病原細菌，穿刺接種於三個月大之木瓜幼苗(紅妃品種)完全展開葉往下第二葉葉柄基部、成株之葉柄基部及未成熟之果實，觀察植株罹病情形。

噴霧接種：木瓜黑腐病病原細菌培養於NA培養基，將病原細菌菌株PA10調製成 $10^8$ cfu/ml之細菌懸浮液，以噴霧法接種於三個月大木瓜幼苗(紅妃品種)，全株噴濕，置於25-28°C接種室，每處理三株，觀察植株罹病情形。

病土接種：介質過篩後混入病原細菌菌株PA10之懸浮液，調製成接種用病土( $1.5 \times 10^6$ cfu/g介質)，將三個月大木瓜幼苗(紅妃品種)移入病土中。每處理三株，觀察植株罹病情形。

### 溫度對木瓜黑腐病病原細菌生長之影響

供試之黑腐病病原細菌菌株為PA10及PA14，供試培養基為523(Sucrose 10g, Casein hydrolysate 8g, Yeast extract 4g,  $K_2HPO_4$  2g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.3g, Agar 15g/l)及LA(Tryptone 10g, Yeast extract 5g, Sodium chloride 10g, Agar 15g/l)，將病原細菌製成 $10^3$ cfu/ml之細菌懸浮液，各取0.1ml，塗抹於供試培養基平板，每處理5皿，處理溫度分別為5、10、15、20、25、30、35、40、45、50°C，2天後調查菌落生長情形。

### 木瓜黑腐病病原細菌寄主範圍測定

供試作物包括蝴蝶蘭、文心蘭、拖鞋蘭、國蘭、番茄(西施)、番茄(農友301)、菸草、甘藍(秋初)、小白菜、青花菜、蘿蔔、結球白菜、茄子(EG048)、葵藜、鼠尾草、火鶴花、嘉德里亞蘭、琴葉榕。供試之黑腐病病原細菌菌株為PA10，以穿刺接種法將病原細菌接種於供試作物葉片或莖部，每處理三株，觀察植株罹病情形。

### 不同木瓜品種(系)對黑腐病病原細菌感受性測定

供試品種(系)包括由台灣省農業試驗所鳳山分所提供 9 個木瓜品系及台農 2 號、紅妃、日陞(B1)之幼苗進行植株抗感性測定，每品種(系)接種 6 株，噴霧接種後每 7 天調查植株罹病級數，罹病級數分 5 級表之，0 級表示未發病，1 級表示葉面有水浸狀小斑點，2 級表示莖部有水浸狀，3 級表示 1-2 葉片黃化萎凋，4 級表示 3 片以上葉片黃化萎凋，5 級表示全株死亡。並依下列公式計算其罹病度。罹病度(%) =  $\Sigma(\text{級數} \times \text{該級數罹病株數}) / (5 \times \text{總調查株數}) \times 100$ 。

#### 化學藥劑試驗

利用濾紙圓盤法及液體培養法於實驗室中進行藥劑篩選，供試藥劑包括 37.5% 氫氧化銅水懸劑、85% 鹼性氫氧化銅可濕性粉劑、20% 歐索林酸可濕性粉劑、40% 銅快得寧可濕性粉劑、35% 護粒丹可濕性粉劑、68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑、10% 鏈四環黴素可溶性粉劑、10% 維利黴素溶液、81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑、72% 波爾多可濕性粉劑、27.12% 三元硫酸銅水懸劑等 11 種，調查其抑制圈大小及抑菌率。

以 20% 歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍稀釋液、10% 鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍稀釋液、81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑 1000 倍稀釋液及 68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑 1000 倍稀釋液進行溫室木瓜苗藥劑防治試驗。以牙籤穿刺接種法接種紅妃品種之木瓜苗之葉柄基部，分接種後立即施藥及接種後兩天施藥兩種處理，每隔 7 天施用一次，連續三次，每處理 8 株，每 7 天調查植株罹病級數，罹病級數分 5 級表之，0 級表未發病，1 級表葉面有水浸狀小斑點，2 級表莖部有水浸狀，3 級表 1-2 葉片黃化萎凋，4 級表 3 片以上葉片黃化萎凋，5 級表全株死亡，調查後計算罹病度。罹病度(%) =  $\Sigma(\text{級數} \times \text{該級數罹病株數}) / (5 \times \text{總調查株數}) \times 100$ 。

以噴霧接種法取代穿刺接種法，供試藥劑為 20% 歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍稀釋液、10% 鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍稀釋液、81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑 1000 倍稀釋液及 10% 維利黴素溶液 600 倍稀釋液進行溫室木瓜苗藥劑防治試驗，待噴霧接種之菌液乾後施藥，每隔 7 天施用一次，連續三次，每處理 5 株，三重複，調查其罹病度。調查方法同上。

## 結果與討論

2006 年元月起分別由台南縣玉井鄉、大內鄉、嘉義縣中埔鄉及雲林縣林內鄉木瓜栽培區採集罹病葉、莖及果實，共分離純化得 15 個病原細菌菌株。田間觀察，罹病植株葉片黃化後落葉，黃化葉柄橫切面可見褐化維管束，有菌泥泌出；病原細菌可於莖部維管束上、下蔓延(圖一)，造成更多黃化落葉、株心黑腐(圖二)及果梗腐爛落果。

木瓜黑腐病病原細菌於 NA 培養基上呈現乳白色菌落，菸草葉肉接種 24 小時後呈現過敏性反應。將細菌懸浮液均勻噴霧於木瓜苗，接種後 3-4 天植株葉背即出現水浸狀斑點(圖三)，斑點漸擴大、癒合，葉片捲曲、下垂、萎凋。以滅菌過之牙籤沾菌穿刺接種於木瓜苗完全展開葉往下第二葉葉柄基部，接種後 3 天於接種葉柄基部及莖表出現水浸狀，接種後 4 天，該接種葉葉背出現水浸狀斑點，葉片漸下垂，接種後 14 天，由接種部位莖部往上或往下 1cm 及 2cm 橫切面，褐化之維管束均可分離到病原細菌。病原細菌由莖部維管束往上蔓延至株心部，呈現水浸狀後變黑進而壞死，病原細菌亦往下蔓延至地際部及根部。穿刺接種

於成株之葉柄基部亦呈現相同病徵，接種於未成熟果實，6 天後出現水浸狀病斑，往果肉蔓延(圖四)。

病土接種木瓜苗，病勢進展最快者 6 天後，下位葉葉背出現水浸狀病斑，漸往上蔓延，14 天後全株死亡。將以病土接種法接種後之罹病植株自根部往上至莖頂，每 3 公分橫切為一段，由每截切面維管束分離病原細菌，結果顯示，病原細菌由根部感染後經維管束往上蔓延於葉片呈現水浸狀病徵，尚未出現罹病葉片之莖部維管束則分離不到病原細菌。呂等表示接種根部，不見根部受感染，可能與木瓜株齡有關(呂等，1980)。

依植物病害名彙(徐等，2002)記載引起木瓜黑腐病之病原細菌為 *Pectobacterium cyripedii* (*Erwinia cyripedii*) (呂等，1980)，楊氏指出 2006 年南部分離之木瓜黑腐病病原細菌經生理生化測定與原 *P. cyripedii* 相似，但在 36°C 無法生長、甲基紅測試為正反應、檸檬酸研測試及麥芽糖利用為負反應與原 *P. cyripedii* 有差異(楊，2007)。本研究以 Biolog 全自動菌種鑑定系統鑑定此菌株為 *Pantoea agglomerans* (*Erwinia hrebicola*) (SIM=0.59，約有 60% 的相似度)，但在生長溫度、Voges-Prokauer 測試、明膠水解測試與有 *P. agglomerans* 明顯差異，又 *P. agglomerans* 會產生黃色色素(楊，2007)。另以 16S rDNA 序列比對腸內菌科中植物病原細菌結果，與 *E. papayae* 有 97.9% 相似度，與 *P. cyripedii* 有 96.8% 相似度(楊，2007)。在其 ITS 與 NCBI 資料庫比對結果與 *E. pyrifoliae* 有 95% 之相似度，與 *P. cyripedii* 之相似度低於 20% (朱木貴博士提供，未發表)，故目前將此病原細菌暫訂為 *Erwinia* sp. (楊，2007)。

本研究中將病原細菌培養於 5-50°C 的不同溫度下，結果發現在 25 及 30°C 時，病原菌生長正常，20°C 時生長緩慢，菌落呈針點狀，其他溫度下細菌不生長。若將細菌生長不正常或不生長之培養皿移回室溫(約 28°C)，除了原置於 40、45 及 50°C 之細菌不生長外，原置於 5、10、15、20 及 35°C 者均恢復正常生長，惟原置於 5、10 及 35°C 者菌落數減少至培養於 30°C 者之 3-30%，顯示發病適期應在氣溫漸轉涼的秋季及溫暖的春天，夏季超過 30°C 的高溫會抑制病害的發生，但病原細菌不會死亡，伺機而動，與田間初步觀察之病害發生情況相似。呂等報告亦指出病原細菌不易危害較成熟之莖部組織，但可在這些組織中潛伏甚久，環境適宜再繼續危害，1979 年 7 月接種之木瓜，10 天後株心枯死，病徵不再向下擴展，不久病徵亦消失，至 1980 年 1 月下旬於木瓜頂端再度呈現水浸狀病斑，至 3 月上旬病徵越見明顯，且可分得相同之病原細菌。(呂等，1980)

呂等指出木瓜黑腐病病原細菌可感染秋石斛幼苗造成黑腐，感染蝴蝶蘭葉片形成壞疽、黃化及枯死病徵(呂等，1980)。本研究接種蝴蝶蘭等 18 種作物，僅於蝴蝶蘭、文心蘭及拖鞋蘭之接種部位出現水浸狀斑點(約 0.5-1.0cm)，且斑點未擴大。

以噴霧接種由台灣省農業試驗所鳳山分所提供 9 個木瓜品系及台農 2 號、紅妃、日陞(B1)之幼苗進行植株抗感性測定，接種後 40 天調查結果顯示台農 1 號、台農 2 號及代號 17 及 28 者平均罹病級數較低(0.3-0.8)，紅妃及日陞(B1)兩品種平均罹病指數為 2.5，代號 19 及 23 者平均罹病級數分別為 4.8 及 5。顯示品種(系)間對黑腐病病原細菌有不同的感受性，故培育抗病品種將是木瓜黑腐病積極的防治對策。

利用濾紙圓盤法及液體培養法於實驗室中進行藥劑篩選，供試藥劑包括 37.5% 氫氧化銅水懸劑、85% 鹼性氮氧化銅可濕性粉劑、20% 歐索林酸可濕性粉劑、40% 銅快得寧可濕性粉劑、35% 護粒丹可濕性粉劑、68.8% 多保鏈黴素可濕性粉劑、10% 鏈四環黴素可溶性粉劑、10% 維

利黴素溶液、81.3%嘉賜銅可濕性粉劑、72%波爾多可濕性粉劑、27.12%三元硫酸銅水懸劑等 11 種，結果顯示抑菌效果以 85%鹼性氯化銅可濕性粉劑、20%歐索林酸可濕性粉劑、68.8%多保鏈黴素可濕性粉劑及 10%鏈四環黴素可溶性粉劑較佳(表一)。

以 20%歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍稀釋液、10%鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍稀釋液、81.3%嘉賜銅可濕性粉劑 1000 倍稀釋液及 68.8%多保鏈黴素可濕性粉劑 1000 倍稀釋液進行溫室木瓜苗藥劑防治試驗。以牙籤穿刺接種法接種紅妃品種之木瓜苗之葉柄基部，分接種後立即施藥及接種後 2 天施藥兩種處理，每隔 7 天施用一次，連續三次，結果發現接種後 10 天，無論噴施何種藥劑其罹病度均與無藥劑處理相同，顯示只要病原細菌侵入幼苗組織後，藥劑防治不易。

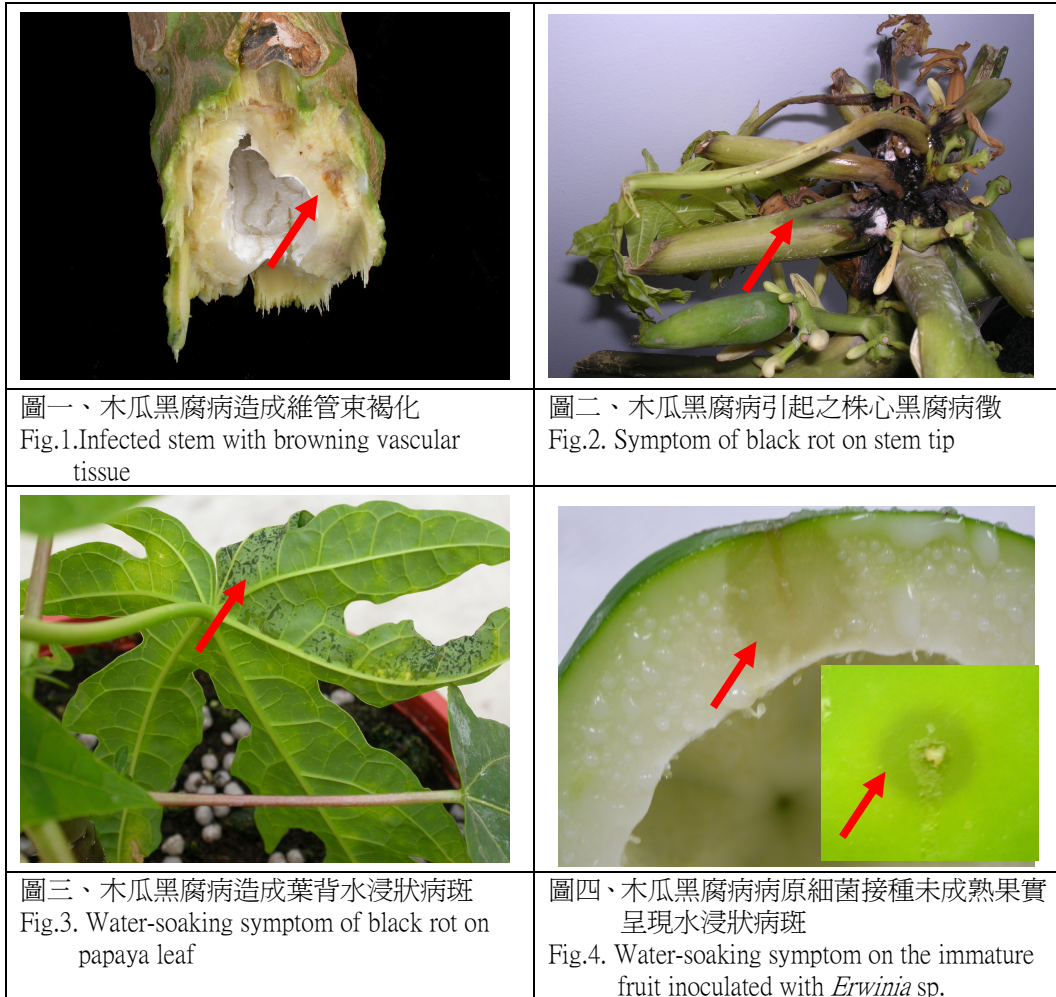
表一、藥劑對木瓜黑腐病原細菌之抑制作用  
Table 1、Inhibition on *Erwinia* sp. by pesticides

藥劑種類 Pesticide	稀釋倍數 Dilution	抑制圈(直徑cm)* Dia. of inhibition zone (cm)
37.5%氫氧化銅水懸劑 37.5% Copper hydroxide SC	400	1.1
85%鹼性氯化銅可濕性粉劑 85% Copper oxychloride WP	300	1.2
20%歐索林酸可濕性粉劑 20% Oxolinic acid WP	1000	2.4
40%銅快得寧可濕性粉劑 30% Oxine-copper+10% Cupric hydroxide WP	500	1.2
35%護粒丹可濕性粉劑 20% Phthalide+15% Edifenphos WP	1000	0.8
68.8%多保鏈黴素可濕性粉劑 68.8% Atakin WP	1000	1.6
10%鏈四環黴素可溶性粉劑 9% Streptomycin hydrochloride+1% Tetracycline SP	1000	1.6
10%維利黴素溶液 10% Validamycin S	600	0.9
81.3%嘉賜銅可濕性粉劑 81.3% 2% Kasugamycin hydrochloride +75.5% Copper oxychloride WP	1000	1.2
72%波爾多可濕性粉劑 72% Bordeaux Mixture WP	400	1.2
27.12%三元硫酸銅水懸劑 27.1% Tribasic copper sulfate SC	500	0.9
對照無藥劑處理 Control		0.8

\* 抑制圈直徑含濾紙圓盤(直徑 0.8 cm) The diameter of inhibition zone contained the diameter of filter disk. (dia.=0.8 cm)

另以噴霧接種法取代穿刺接種法，供試藥劑為 20%歐索林酸可濕性粉劑 1000 倍稀釋液、10%鏈四環黴素可溶性粉劑 1000 倍稀釋液、81.3%嘉賜銅可濕性粉劑 1000 倍稀釋液及 10%維利黴素溶液 600 倍稀釋液進行溫室木瓜苗藥劑防治試驗，待噴霧接種之菌液乾後施藥，每隔 7 天施用一次，連續三次依上述罹病級數調查後計算罹病度，初步結果顯示，第三次施藥後

18 天，四種藥劑處理及對照無藥劑處理的罹病度分別為 12.3%、6.4%、9.5%、28.2%及 41.0%。田間成株之藥劑防治效果，尚待進一步評估。



## 參考文獻

1. 呂理燊、李啓彰、黃德昌，1980，*Erwinia cyripedii* 引起之木瓜黑腐病，植保會刊 22:377-384。
2. 徐世典、張東柱、張清安、蔡進來、蔡東纂編，2002，台灣植物病害名彙，修訂第四版，p50-52，中華民國植物病理學會，台中，386pp。
3. 楊雯馨，2007，台灣中南部木瓜細菌性病原之鑑定及檢測，國立中興大學植物病理學系碩士論文，55pp。

## Studies on Black Rot of Papaya <sup>1</sup>

Cheng, A. S., Y. F. Wu, Y.Y. Kuo and S. H. Huang <sup>2</sup>

### Summary

Fifteen strains of *Erwinia* sp. were isolated from papaya leaves with black rot in Tainan, Chiayi and Yulin counties in 2006. Typical symptoms of black rot in the field include yellowing and wilting of infected leaves, browning of vascular bundle, black rot on top of stem tips and fruits. The bacterial colony is white on NA medium and it grows best between 25 and 30°C. Hypersensitive reaction was found 24hrs after inoculation on tobacco leaf. Water-soaking spots appeared in the back of papaya leaf 3-4 days after spraying inoculation with 10<sup>8</sup>cfu/ml bacterial suspension, followed by leaf wilting. The bacterial spread in the vascular tissue up to stem tip and down to the root. The pathogen is able to infect papaya seedlings in muck soil with pathogen. Fungicide trials showed that Copper oxychloride, Oxolinic acid, Atakin and Streptomycin hydrochloride +Tetracycline were able to inhibit the growth of the pathogen in vitro tests in the laboratory. Green house test showed that Oxolinic acid, Streptomycin hydrochloride+Tetracycline or Kasugamycin hydrochloride+Copper oxychloride were able to reduce disease index in the plants by spraying inoculation, but not in the plants with needle-stick inoculation.

Key words : Black Rot of Papaya 、*Erwinia* sp.

Accepted for publication : 26 December, 2007

- 
1. Contribution No.338 from Tainan District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan.
  2. Plant Pathologist, Assistant Plant Pathologist, Operator, Assistant, respectively, Tainan DARES. 70, Muchang, Sinhua, Tainan, 712, Taiwan, R.O.C.