

台灣首次報導引起十字花科蔬菜細菌性斑點病之 *Xanthomonas campestris* pv. *raphani*

吳雅芳^{1,2} 陳紹崇¹ 黃淑惠¹ 鄭安秀¹

¹行政院農業委員會台南區農業改良場

²通訊作者，電子郵件：yfwu@mail.tndais.gov.tw；傳真：+886-6-5912908

接受日期：中華民國 96 年 4 月 12 日

摘要

吳雅芳、陳紹崇、黃淑惠、鄭安秀. 2007. 台灣首次報導引起十字花科蔬菜細菌性斑點病之 *Xanthomonas campestris* pv. *raphani*. 植病會刊16：87-90.

2004 年及 2005 年由雲林縣甘藍栽培區採集罹黑腐病之葉片分離得之 36 個細菌菌株，分別以剪除葉緣接種法及葉片噴霧接種法接種於初秋品種甘藍，結果除 CA25 菌株外，其他菌株均引起典型黑腐病病徵。CA25 菌株以剪除葉緣接種時，切口處葉脈變黑稍內捲但並未繼續進展；以噴霧接種時，3 天後可見明顯斑點型病徵，病斑多時會導致葉片捲曲皺縮，最後葉片轉為乾枯，葉脈若感染呈橢圓形斑點，外圍黑色。又 CA25 菌株以噴霧接種可感染供試十字花科蔬菜、葫蘆科作物、番茄及大豆，均產生斑點型病徵，但不感染紫蘿蘭。依寄主範圍測試及 Biolog 全自動菌種鑑定系統之結果，CA25 菌株鑑定為 *Xanthomonas campestris* pv. *raphani*，此病原為台灣首次報導。

關鍵詞：十字花科蔬菜、*Xanthomonas campestris* pv. *raphani*

由 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson 所引起的黑腐病為十字花科蔬菜最主要病害之一，病原菌常由葉緣水孔或傷口侵入，引起萎黃之V字型病斑，病斑擴展後中肋及葉脈導管變黑，呈現黑色或褐色病徵，降低蔬菜品質及產量至鉅。臺灣地處亞熱帶地區，溫度及濕度均適宜黑腐病的發生，尤以每年 6 - 10 月為發病高峰期；為收集黑腐病菌菌株，本研究室於 2004 年及 2005 年由雲林縣甘藍栽培區採集罹病葉片，共分離得36個似黑腐病菌菌株（編號分別為 CA1-CA21、CA22-CA36），將各菌株調製成 10^8 cfu/ml 細菌懸浮液，分別以剪除葉緣接種法及葉片噴霧接種法接種於初秋品種甘藍，剪葉接種法為以剪刀沾細菌懸浮液後於葉緣往內約 1 公分處剪下，噴霧接種法以細菌懸浮液噴霧接種於葉片上下二面。接種結果顯示 CA1-CA21 等 21 個菌株以噴霧接種時均先於葉面出現斑點型病徵，約 2 星期後才形成倒V字型之萎黃病斑，偶有葉緣皺縮現象，與黑腐病菌同一時間接種於甘藍葉片僅呈現平整之萎黃V字型病斑略有差異，而以剪葉接種時，在剪葉切口附近有小斑點出現，隨之往內蔓

延亦呈V字型之萎黃病斑。而 CA22 - CA36 等 15 個菌株，除 CA25 菌株外，無論以噴霧或以剪葉接種，均呈現典型黑腐病病徵。

CA25 菌株以剪葉接種時，於接種後 3 天，葉緣切口處葉脈變黑稍內捲但並未繼續進展，變黑之葉脈周圍葉肉僅輕微黃化與黑腐病菌沿葉脈往內快速蔓延，致使葉脈變黑及葉肉黃化之病徵有明顯區別（圖一）。以噴霧接種時，於第 3 天即可見明顯病徵，初呈 0.1 - 0.2 公分大小之圓形斑點，周圍無黃暈，斑點中間灰色，漸變薄似紙質化，終至破裂，病斑多時會導致葉片捲曲皺縮，多數病斑癒合時呈現較大的壞疽斑，最後葉片轉為乾枯，葉脈若感染呈橢圓形斑點，外圍黑色，與田間採集之病徵相符，病斑不沿葉脈進展，僅以斑點型存在，但發病快速，可造成 5 - 6 葉之甘藍植株在接種後 7 天全株壞死。

CA25 菌株於 2005 年分離自雲林縣莿桐鄉，為鑑定其種名或病原型名，將其培養於 nutrient agar (NA) 培養基平板，挑取單一菌落移殖於 BUGA (Biolog



圖一、*Xanthomonas campestris* pv. *raphani* CA25 菌株 (左) 及 *X. campestris* pv. *campestris* XC435 (右) 以剪除葉緣接種於甘藍後之病徵 (接種後 7 天)。

Fig. 1. Symptoms on cabbage leaves inoculated with *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* strain CA25 (left) and *X. campestris* pv. *campestris* strain XC435 (right) by the leaf margin clipping method (7 days after inoculation).

universal growth 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) 鑑定此菌株為 *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* (SIM=0.84)，為台灣首次報導此種病原型 (pathovar) 之出現。

由 *X. campestris* 引起之十字花科蔬菜細菌性斑點型病害 (bacterial leaf spot disease) 在美國⁽⁵⁾、日本⁽²⁾、印度及土耳其⁽³⁾ 均有報告，主要病原細菌為 *X. campestris* pv. *raphani* 及 *X. campestris* pv. *armoraciae*。1983-1986 年日本發生之十字花科蔬菜細菌性斑點病被証實由 *X. campestris* pv. *raphani* 所引起⁽²⁾，該病原細菌最早被發現感染蘿蔔 (*Raphanus sativus*) 及蕪菁 (*Brassica rapa*)⁽⁴⁾，葉片出現斑點型病徵，病勢不藉由維管束蔓延⁽³⁾，葉柄及莖部出現凹水浸狀、橢圓形黑斑，幼株感染造成死亡⁽⁵⁾。本研究室之 CA25 菌株接種於甘藍葉片亦呈現相似病徵。

報告指出 *X. campestris* pv. *raphani* 可感染甘藍 (*B. oleracea* var. *capitata*、*B. oleracea* var. *acephala*)、花椰菜 (*B. oleracea* var. *botrytis*)、*B. oleracea* var. *gemmifera*、芥末 (*B. juncea*)、番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、辣椒 (*Capsicum annuum*)、菸草 (*Nicotiana tabacum*)、胡瓜 (*Cucumis sativus*) 及南瓜 (*Cucurbita moschata*)，不感染 *Armoracia rusticana*、*Lepidium sativum*、*Nasturtium*、*Capsella bursa-pastoris*、紫羅蘭 (*Matthiola incana*)、菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)、大豆 (*Glycine max*) 及 garden huckleberry (*Physalis* sp.)^(2,3,4)。本研究將 CA25 菌株分別以剪葉及



圖二、*Xanthomonas campestris* pv. *raphani* CA25 菌株 (左) 及 *X. campestris* pv. *campestris* XC435 (右) 以噴霧接種於小白菜後之病徵 (接種後 7 天)

Fig. 2. Symptoms on Chinese cabbage leaves spray-inoculated with *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* strain CA25 (left) and *X. campestris* pv. *campestris* strain XC435 (right) (7 days after inoculation).

噴霧接種法接種於甘藍 (初秋)、花椰菜 (雪寶)、青花菜 (馬拉松、80 天西藍花)、黑芥藍菜、結球白菜 (新 701)、小白菜、耐龍菜 (慶農 909)、蘿蔔 (倒頭坵仔)、油菜、番茄 (西施)、洋香瓜 (秋華2號)、西瓜 (紅鈴)、冬瓜 (綠虎)、越瓜 (銀華)、蒲瓜 (永樂)、絲瓜 (東光)、苦瓜 (月華)、南瓜 (東昇)、胡瓜 (鳳燕)、紫羅蘭、紅豆、大豆等供試作物，結果顯示，噴霧接種可感染上述十字花科蔬菜、葫蘆科作物、番茄及大豆，呈現斑點型病徵，但不感染紫羅蘭。於甘藍葉片上接種後 3 天即

表一、CA25 菌株與 *Xanthomonas campestris* 不同病原型之寄主範圍比較Table 1. A comparison of host range of strain CA25 with that of several pathovars of *Xanthomonas campestris*

Host plant	Strain CA25	<i>X. campestris</i> pv. <i>raphani</i> ²	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	<i>X. campestris</i> pv. <i>armoraciae</i> ²
Radish	+	+	V	—
Cabbage	+	+	V	+
Chinese cabbage	+	+	V	+
Cauliflower	+	+	V	+
Broccoli	+	+	V	+
Tomato	+	+	—	—
Cucumber	+	+	—	—
Pumpkin	+	+	—	—
Stock	—	—	—	—
Soybean	+	—	—	—

1 +: Leaf spot symptom; V: Vascular symptom; —: No symptom

2 Data from Tamura *et al.* (2) and Vicente *et al.* (3)

出現斑點，進而癒合成嚴重壞疽斑。於花椰菜、青花菜、黑芥藍菜、油菜及蘿蔔葉片上，出現直徑約 0.1 公分的圓斑，中央灰白色變薄漸破，周圍明顯，葉柄出現橢圓黑斑，無黃暈，斑點多時，葉片捲曲呈現黃化病徵。在結球白菜及小白菜葉片葉肉部分呈斑點型病徵，病斑會癒合，但受葉脈限制無法擴展 (圖二)。洋香瓜、西瓜、冬瓜、越瓜、蒲瓜、絲瓜、苦瓜、南瓜、胡瓜等葫蘆科作物、番茄及大豆之接種葉片均出現小型白斑或褐斑。剪葉接種十字花科蔬菜，切口部位呈黑色偶有輕微黃化或無黃化，但未擴展或受葉脈限制，而葫蘆科作物、番茄、紫蘿蘭、大豆及紅豆均不呈現任何症狀。

Vicente 等人依不同寄主病徵表現認為引起十字花科蔬菜非維管束型 (nonvascular) 之葉部斑點病徵之病原型為 *X. campestris* pv. *raphani* 而非 *X. campestris* pv. *armoraciae* ⁽³⁾。比較本研究及文獻記載之寄主作物測試結果 (表一)，除在大豆上的表現外，判定 CA25 菌株之病原型應為 *X. campestris* pv. *raphani*。

引用文獻

1. Sahin, F., and Miller, S. A. 1997. A new pathotype of *Xanthomonas campestris* pv. *armoraciae* that causes bacterial leaf spot of radish. Plant Dis. 81:1334.
2. Tamura, K., Takikawa, Y., Tsuyumu, S., and Goto, M. 1994. Bacterial spot of crucifers caused by *Xanthomonas campestris* pv. *raphani*. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 60:281-287.
3. Vicente, J. G., Everett, B., and Roberts, S. J. 2006. Identification of isolates that cause a leaf spot disease of brassicas as *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* and pathogenic and genetic comparison with related pathovars. Phytopathology 96:735-745.
4. White, H. E. 1930. Bacterial spot of radish and turnip. Phytopathology 20:653-662.
5. Zhao, Y., Damicone, J. P., Demerzas, D. H., Bender, C. L., and Zhao, Y. F. 2000. Bacterial leaf spot diseases of leafy crucifers in Oklahoma caused by pathovars of *Xanthomonas campestris*. Plant Dis. 84:1008-1014.

ABSTRACT

Wu, Y. F.¹, S. C. Chen, S. H. Huang and A. S. Cheng². 2007. First report of bacterial leaf spot disease of crucifers caused by *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 16: 87-90. (Tainan District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, 70, Muchang, Sinhua, Tainan, 71246, Taiwan; ¹Corresponding author: E-mail: yfwu@mail.tndais.gov.tw ; FAX: +886-6-5912908)

Thirty six bacterial strains forming colonies characteristics of *Xanthomonas campestris* were isolated from black rot-infected cabbage leaves in the cabbage growing areas in Yunlin county during 2004 and 2005. When these strains were inoculated by leaf edge clipping or leaf spraying method to cabbage (cv. K-Y cross) leaves, all strains except CA25 induced typical black rot symptoms. Strain CA25 caused spot lesions on cabbage leaves when spray-inoculated, and severe infection may result in leaf curl, shrink and finally dry up, and if spots appeared on veins, they were oval with black margin; whereas slight curling and vein blackening at the cutting edge were observed when leaf edge clip-inoculated, but these symptoms did not develop further. Strain CA25 also caused spot lesions on leaves of many crucifers, cucurbits, tomato and soybean, but not on common stock (*Matthiola incana*). Based on the host range test and the Biolog Microstation TM ID System, strain CA25 was identified as *Xanthomonas campestris* pv. *raphani*. This is the first report of this pathogen in Taiwan.