

水稻白葉枯病

病原菌學名：*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Swings et al. 1990⁽⁶⁸⁾

Xanthomonas campestris pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye 1978

英名：Bacterial leaf blight of rice

一、前言

水稻白葉枯病由 *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye 引起，1951年橋岡在日本所做簡單報導，為此病在臺灣發生最早正式紀錄⁽¹⁰⁾，事實上早在1944年出版之臺灣農家便覽第六版第十一章農作物病害，就列有此病名，當時發生輕微，在田間不容易找到病株，一直到1960年推廣臺中在來一號，以及利用此品種作親本育成耐高氮肥，不易倒伏品種後，白葉枯病才逐漸變成為臺灣水稻重要病害。1974年更因推廣嘉農秈十一號和嘉農秈八號^(11, 16)，而使臺灣從未發生的急性萎凋型(Kresek)病徵首次和田間出現，這兩個品種停止栽培後，田間急性萎凋型病徵也隨著消失了。

1985年水稻白葉枯病突然在第二期稻大發生，受害面積不但高達42,845公頃，平均罹病莖數率為26%，而且發生地區遍及全臺各地，從此水稻白葉枯病年年都嚴重發生，1989年第一期稻受害面積更達13,355公頃，同年第二期稻受害面積高達45,017公頃創臺灣最高受害面積紀錄，1991年由於

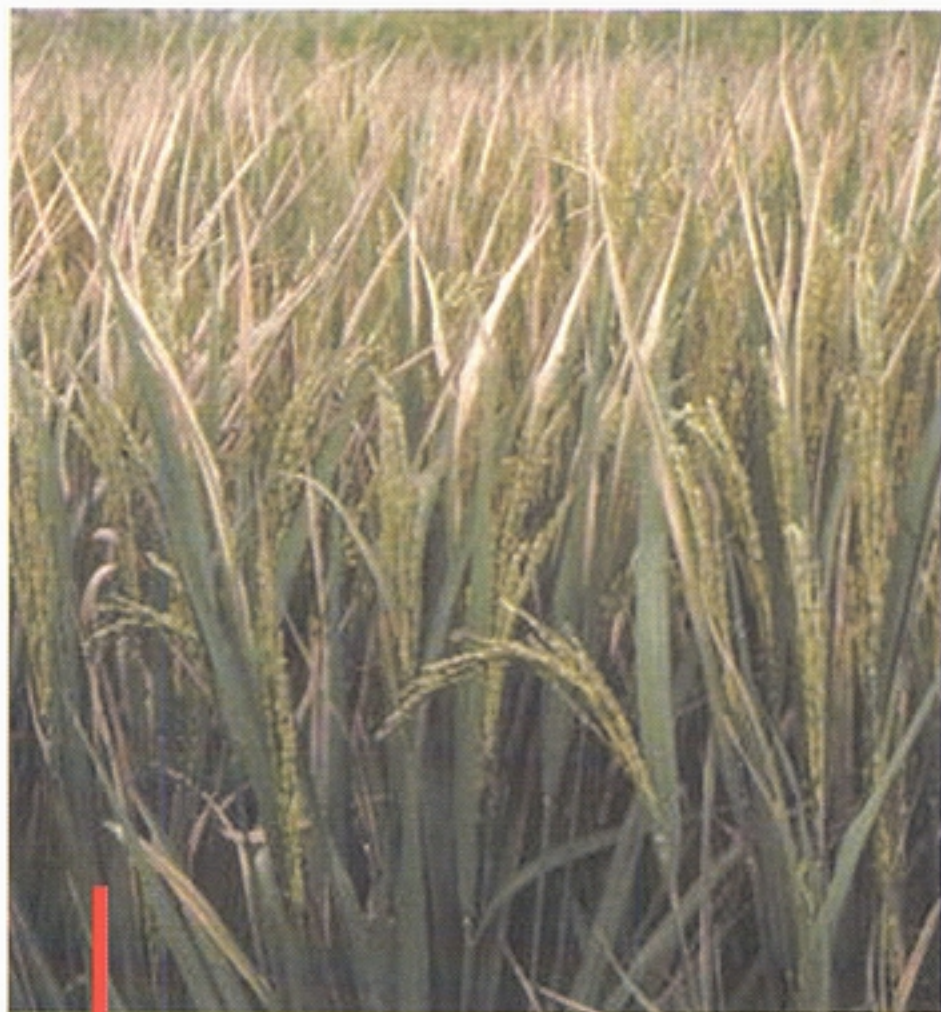
雨水較少，受害面積略為下降，但1992年第一期稻由於經常下雨，受害面積創第一期稻最高紀錄達15,465公頃（表一）。

白葉枯病對產量有很大影響，在日本有全產量減少10%之紀錄⁽²⁸⁾，在印度感病品種減產可達50%，而菲律賓嚴重受害區可達30%之損失率，本病不只影響稻穀產量，亦影響稻米品質，使被害株不飽滿穀粒增加⁽²⁵⁾。

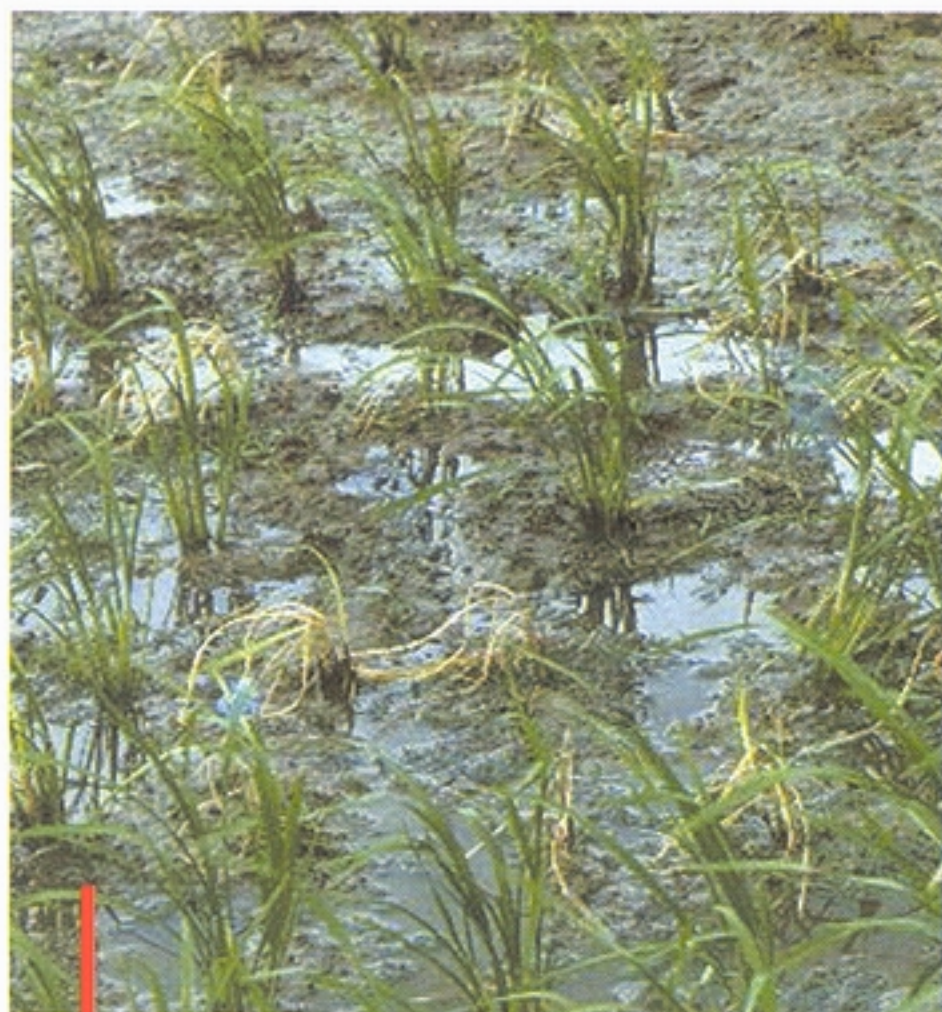
這些年來水稻白葉枯病的嚴重大發生，到底是什麼原因造成，目前臺灣栽培之水稻品種，大都數對白葉枯病沒有抗病基因。過去水稻育種之目標偏重在高產量及良好品質，抗稻熱病及飛蝨之育種，但對白葉枯病只做事後之檢定工作，而很少利用具有抗白葉枯病基因品種做親本，而以抗白葉枯病為主要育種目標⁽¹²⁾。

二、病徵

水稻白葉枯病為一種系統性病害，主要為害葉片、葉鞘，偶爾到達穗部。侵入途徑為傷口或自然開口，侵入後病原細菌



圖一：田間水稻白葉枯病嚴重產生之情形，此為感病秈稻品種，葉尖大部分受害都變成灰白色。（謝式垵鈺）



圖二：急性萎凋型病徵(kresek)，有些病株已枯死，此圖為民國六十三年在嘉義縣第二期稻水稻栽培嘉農秈8號所拍。（謝式垵鈺）

經細胞間隙進入維管束中繁殖及擴散，故又稱維管束病害（vascular disease）。其病徵有三種型態，典型葉枯病徵（leaf blight）（圖一）、急性萎凋型病徵（Kresek）（圖二）和淡黃化型病徵（pale yellow）（圖三、四）。病害在田間通常發生於分蘖盛期之後，有時則在苗期就可發現病徵，主要在葉片或葉鞘，偶爾可在穀粒上出現⁽³⁶⁾。

（一）幼苗期病徵：最初水浸狀小斑點在下位葉葉緣出現，高溫時斑點上出現菌泥，

斑點後來延長，而漸變成黃色，病葉最後枯萎而很難和自然老化枯葉分辨^(8, 28)，在熱帶地區幼苗可能經由葉片或根部之傷口或水孔侵入而成系統性感染。病菌在幼苗內繁殖迅速，而很快侵入維管束而造成幼苗之死亡。

（二）本田期之病徵：本田最初出現病徵在插秧後 3~4 星期，而以分蘖盛期後出現較多，常在葉緣離葉尖 5-6 公分處出現水浸狀小斑⁽²⁶⁾，然後逐漸延長而變成黃或

枯黃色，而在健全或病斑之間有一狹小水浸狀帶，這些病斑通常沿一邊或兩邊葉緣，並向中肋擴大(圖五)，最後可能到達葉鞘，黃色病斑最後變成白或灰白色，而在高溫狀態下易被腐生真菌所佔據，並出現很多大小不一黑斑，並有菌泥由病斑上溢出，菌泥乾燥呈黃色小球型，直徑約1.22公釐，很容易由病斑上脫落(圖六)。

在最適當發病條件下，看不到上述病徵，水浸狀和暗綠色病斑出現不久，罹病葉片即向內捲，病斑很快向下延伸，而上端葉片被害部份萎凋並成灰白色，有黏狀菌泥溢出，稱為急性型病徵，常在高氮肥地區及感病秈稻上出現⁽⁶⁾。葉鞘上病徵主要由葉片往下延伸，最初呈黃綠或灰綠色條斑，再轉變成黃白色，在嚴重感染株整個葉鞘都褪色，枯萎，病株之根系發育不良，植株矮小，稔實率很低。

(三)急性萎凋型(Kresek)病徵：最初記錄在印尼有此病徵型之發生⁽⁶²⁾，受感染之幼苗外葉捲起，萎凋並成灰綠到淡褐或灰褐色，植株很明顯矮小，並呈冠腐，用手壓擠可感覺到充滿黏性黃色細菌，病株有的整株由地際處斷開，而飄浮在水面，此型病徵偶而出現在成株上，大都在孕穗或開花期，數條大白色斑紋出現在劍葉，往下延伸至葉鞘，幼穗萎凋成

白色，最後整株水稻枯死⁽⁹⁾。急性萎凋型病徵在臺灣於1974年推廣嘉農秈8號和嘉農秈11號兩品種後在南部地區第二期大發生，停止栽培這兩品種後，田間再也沒有出現此型病徵⁽¹⁶⁾。

(四)淡黃化型病徵(pale yellow)：此種病徵出現在最幼小的葉片上，為淡黃色或白色，然後變成黃褐色，最後萎凋。在菲律賓可見此病徵，徵狀和缺鐵類似。臺灣在1997年由作者在中部地區第二期稻



圖三：八十九年第二期稻在彰化縣大村鄉所看到的淡黃化型病徵(pale yellow)大發生情形。(謝式垵鈺)

首次發現此型病徵，2000年第一期稻在宜蘭地區也發現此型病徵，第二期稻在中部地區則普遍發生。

三、病原菌概述

(一)分類地位

Bacteria

Proteobacteria

r-proteobacteria

Xanthomonadales

Xanthomonadaceae

Xanthomonas

(二)分布

水稻白葉枯病最早在1884年發生於日本之福岡⁽³⁶⁾，之後陸續發生於亞洲各國包括韓國、菲律賓⁽⁹⁾、尼泊爾、高棉、孟加拉、寮國、印尼、泰國、印度、馬來西亞⁽²⁸⁾、中國大陸⁽⁵⁾、錫蘭、越南、緬甸、巴基斯坦，澳洲和南美洲地區的尼加拉瓜、墨西哥、厄瓜多爾、宏都拉斯、巴拿馬、哥倫比亞、哥斯大黎加、玻利維亞、委內瑞拉和薩爾瓦多以及非洲地區之馬利、奈及爾、塞內加爾和多哥蘭等。在臺灣所有水稻栽培區皆可以發現。

(三)寄主

自然寄主除水稻外，尚有 *Leersia oryzoidea*，*Leersia oryzoidea* var. *japonica* Hack，*Leersia sayanuka*，茭白 (*Zizania latifolia* Turcz)^(5, 37)，香附子，球花蒿草，李氏



圖四：淡黃化型病徵葉片。
(謝式垵鈺)

禾，游草 (*Leersia hexandra* Swartz)，以及下列野生稻 *Oryza australiensis*，*O. coarctata*，*O. jeyporensis*，*O. malampuzhensis*，*O. officinalis*，*O. penennis* 和 *O. rufipogon*。

人工接種則下列雜草或野生稻會產生病斑，柳葉箬 (*Isachne globosa* Kuntze)，假稻 (*Leersia japonica* Mukino)，皺稔雀稗 (*Paspalum scrobiculatum*)，*Phalaris arundinacea* L，蘆茅 (*Phragmites communis*



圖五：典型白葉枯病初期發生情形，沿著葉緣產生不規則波浪狀長條病徵。（謝式垵鈺）

Trinius)，千金子，𦵏茅，*L. liliformia*，虬子草（*L. panicea*），*Zizania aquatica*。野生稻有 *Oryza fatua*，*O. barthii*，*O. brachyantha*，*O. eichingeri*，*O. grandiglumis*，*O. granulata*，*O. latifolia*，*O. longiglumis*，*O. minuta*，*O. perrieri*，*O. punctata*，*O. ridleyi*，*O. sativa* var. *fatua*，*O. schweinfurthiana*，*O. subulata*。

(四)形態

石山(1922)最早用顯微鏡觀察白葉枯病菌，為短桿菌，兩端鈍圓， $0.8\sim 1.0 \times 1.0\sim 2.0 \mu\text{m}$ ，一條極生鞭毛長 $6\sim 8 \mu\text{m}$ ，

Gram 陰性，不會產生孢子。Yoshimura and Tahara⁽⁴²⁾ 利用電子顯微鏡觀察培養基上之大小為 $0.55\sim 0.75 \times 1.35\sim 2.17 \mu\text{m}$ ，比在寄主內 $0.45\sim 0.60 \times 0.65\sim 1.40 \mu\text{m}$ 大，鞭毛直徑 $0.03 \mu\text{m}$ ，最長可達 $8.75 \mu\text{m}$ 。

(五)診斷技術

1.田間簡易診斷法:

- (1)把疑似病葉剪約10公分，葉基部浸入水中，如有長條菌泥由葉片切口流出即表示感染有白葉枯病菌（圖七）。
- (2)把疑似病葉由田間採集後馬上插入含0.1%番紅溶液，經數小時後如整葉被染成紅色即表示沒有罹患白葉枯病，患有白葉枯病者則葉緣有不被染色之條狀斑，且內緣呈波浪狀。

2.病原菌之生理生化特性、脂肪酸分析、噬菌體專一性測定、多元及單元抗體之免疫測試及發展半選擇性培養基等方法進行菌系分析鑑定與抗病性基因研究，但此等方法較為費時、費力或靈敏度不足。

3.近年來由於分子生物技術發展迅速，如核酸探針在植物病原之偵測應用⁽⁴⁾、限制與圖多形性分析（RFLP）、聚合酵素連鎖反應（PCR）^(1, 32)及隨機增幅核酸多形性分析（RAPD）⁽³⁾，為水稻白葉枯病之病理研究提供一條嶄新的方向及有利的工具。自1990年RAPD技術發展以後^(73, 40)，為核酸分析技術提供了一更方便而有



圖六：在田間相對濕度高時白葉枯病葉上常可以看到黃色球形菌泥由病葉裂縫溢出，此菌泥常為風雨或人工巡田時在稻株間走動時的傳播源。（謝式垵鈺）

效之利器。RAPD-PCR 分析除可區分菌株、菌系 (strain)、種內之不同生理小種 (race) 及不同物種 (species) 外，亦可應用於遺傳演化上之研究。而將 RAPD 分析所得之專一性核酸片段，進行選殖與核苷酸定序，由此序列衍生設計出專一性的引子對 (sequence-specific

primers)，再利用 PCR 技術，增幅出的特定核酸片段，可作為偵測或鑑定特定病原菌之標幟。另外，亦可將上述之分析技術，直接進行植物組織或其他田間樣本偵測，不但可由電泳膠體上觀察是否有專一性核酸片段增幅產生，並可用核酸探針雜合的方法予以進一步確認，而達到快速偵測診斷病原菌之目的。

4. RAPD (隨機增幅核酸多型性分析): 先選取多個隨機引子 (random primers)，利用隨機增幅核酸多型性分析以篩選水稻白葉枯病菌之專一性核酸片段。在選取的引子中以 OPB-11 (5' GTAGACCCGT 3') 自測試之白葉枯病菌株增幅得一約 500 bp 專一性核酸片段。將此片段進行選殖並經非放射性標幟後製備為核酸探針 Xo69-1，以進行南方漬染分析。結果 Xo69-1 皆可與 Xoo 供試菌株產生專一性核酸雜合訊號，而與其它對照菌株則無此訊號產生。再將此 500 bp 專一性核酸片段進行核苷酸定序，並由此序列設計出正向引子 Xf69-1 (5' TCAAACGCCT-GTCCACCATCAAGA3') 及返向引子 Xr69-2 (5' GGGTGACGCGCCGGACTTGAA 3')，這對引子可用於聚合酵素連鎖反應。

5. PCR (聚合酵素連鎖反應): 利用引子對 Xf69-1 / Xr69-2 以 PCR 技術偵測水稻白葉枯病菌，可由供試之 Xoo 菌株增幅得一

367 bp 專一性核酸片段，而與非 Xoo 對照之菌株，則無此訊號產生。將此專一性引子對 Xf69-1/Xr69-2，利用 PCR 技術偵測 Xoo 基因體核酸時，其靈敏度可達 500 pg。

6. Bio-PCR 及 Bio-RAPD: 由 RAPD 實驗步驟簡化改進後發展而來的 Bio-RAPD 分析技術，在不需抽取病原菌全量 DNA 之簡易條件下，先將病原菌液煮沸，再經離心後直接吸取上面澄清液，內含有病原菌之 DNA 即可作為模板 (template)，以進行增幅作用。將田間採集之稻葉，先以 70% 入不同比例之蔗渣粉末和木屑粉末 30 克，加 90 毫升 CHB，經滅菌 121°C 40min 後接種 1 毫升病原細菌懸浮液，濃度約為 10^8 cfu/ml，每日定時翻動，並把結塊搓揉開，經照光培養 7 天後取出部位樣品酒精表面消毒，剪成小塊狀再浸於 2 毫升無菌水中約 15~20 分鐘後，所製備成之菌液即可進行 Bio-RAPD 分析。另外以 Bio-PCR 偵測 Xoo 菌液時，則靈敏度可達 10 cfu；在加入一些干擾因子如田間土壤，再經低速離心後吸取菌液，通過 $0.45 \mu m$ 濾膜，再將濾膜上之菌體收集並以無菌水懸浮後進行 Bio-PCR 測試，其靈敏度可達 10-100 cfu。Bio-PCR 技術，目前已實際應用於田間偵測。在疑有 Xoo 感染之田間，採取罹病稻葉及田水，經無菌水浸泡和初步過濾、離心後

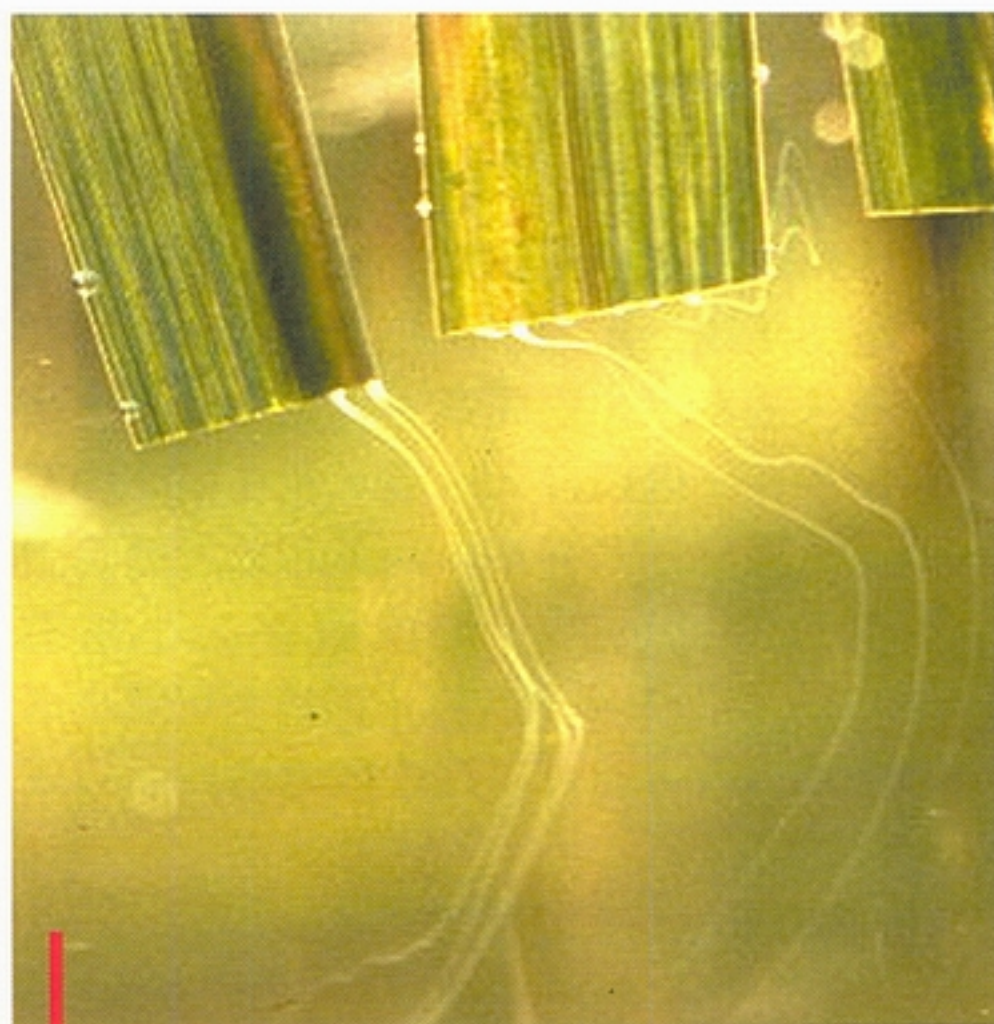
進行 Bio-PCR 分析，結果皆可偵測出水稻白葉枯病菌的存在。

(六) 生活史

病菌能在多種雜草、稻樁或堆積稻草上越冬，第二年雨水濺打越冬場所而把病菌導入灌溉水，形成第一次感染源。病菌可由水孔、傷口侵入水稻，並在稻體內繁殖，一直到分蘖盛期，病葉和鄰近健葉由風吹摸擦而傳播，形成病害之小焦點 (Foci)，如遇大風雨吹打，則病菌可隨小雨滴濺飛擴散，並可以到達很遠地方而造成流行性病害。

(七) 稻白葉枯病菌噬菌體 (Phage)：

稻白葉枯病菌噬菌體為少數植物病原細菌噬菌體研究較多者，此噬菌體最早 (1953) 在日本報告⁽²¹⁾，並用來分類病菌系統、病原細菌之定量與病害之預測。在臺灣郭等在中央研究院自 1967 年起調查噬菌體種類，並用做區別病菌系統之依據，其用噬菌體來區分類病菌系統與致病性無關⁽²³⁾，並詳細敘述其中四種噬菌體 Xp10, Xp12, Xp20⁽³⁰⁾ 和 Xf⁽¹⁹⁾ 之特性，前三者為蝌蚪形，含雙條之 DNA，其中 Xp12 之 DNA 鹽基中 Cytosine 全部由 5-methylcytosine 替代⁽²¹⁾。Xf 為長桿形，單條 DNA，利用這些噬菌體，他們陸續發表很多有關分子生物學方面的報告，包括 Xp12 如何利用酵素 Deoxycytidylate methyltransferase 把 deoxycytidylic acid 轉變成 5 methyl-deoxycytidylic



圖七：最簡易田間鑑定方法是把病葉基部浸入清水中，2~3分鐘可看到菌泥由病斑切口流出成條狀，此為菌流(streaming)。(謝式垵鈺)

acid⁽²²⁾，Xp12對成長在缺鈣離子之白葉枯病菌不能完成有效侵入。低濃度檸檬酸鈉0.003M處理Xp12造成其頭與尾斷裂，檸檬酸鈉可能和帶正電的金屬反應，而減弱或破壞蛋白質和正離子間的連結，而導致頭與尾分開⁽¹⁸⁾。對Xf之研究他們分析其鞘蛋白之氨基酸成份來決定其分子量，而發現其所含拒水性氨基酸比他型噬菌體高，他們推測這是對氯仿和乙醚較敏感之原因。

最近他們進一步研究白葉枯病菌之

RNA複製酵素(polymerase)發現共具有B'B, σ α 和k次單位(subunit)在Xp10侵入繁殖過程所扮演之角色。利用Xp10他們發現，Xp10進入寄主時，其早期之基因組(Genome)是由和Xp10-coded RNA複製酵素來做轉錄。

四、病原細菌生態

稻白葉枯病發生於溫帶、亞熱帶及熱帶。在溫帶地區如日本，病害只發生在高溫季節⁽³⁶⁾，溫度25~30°C，病害發生嚴重，17°C則很少發生。熱帶地區則整年皆可發生，高溫多雨⁽³³⁾可增加病害嚴重性，特別如雨水淹沒稻田後發生更為嚴重⁽⁷⁾；分蘗盛期如遇颱風挾帶高雨量則常常造成流行病害⁽⁸⁾，高溫和濕潤有利病菌由病組織內溢出，而高雨量及強風有助病菌之傳播並造成傷口供病菌侵入。株距太狹有利水稻生長早期病害之發生，而對後期之影響不大；使用高氮肥降低水稻對病害之抵抗力^(10, 36)。

水稻白葉枯病菌如同其他 *Xanthomonas* 屬病原細菌在土壤中存活不長，石山早期報告，最長可存活四個月⁽³⁴⁾；後來的報告皆認為只能存活一~二個月^(17, 26)，事實上在土壤內之存活受土壤含水量及溫度之影響，淹水土中在溫度30，20，10及1~4°C分別可存活4，32，80和92天，而在含水20%土壤中溫度30°C、20°C、10°C及1~4°C

則可分別存活8、32、120和160天⁽⁴⁴⁾。

病原菌可在稻樁內越冬而成為下一季稻之最初感染源⁽⁴¹⁾，也可能長年存在於一些草類上，而把病原菌釋放到灌溉水做為第一次感染源⁽³⁸⁾。

種子傳播一直是一個爭論問題，日本在1955年利用噬菌體間接偵測到種子內含有病菌，而發現只存在外殼內^(26, 35, 37, 42)，利用同樣技術在印度也發現病菌在稻穀及胚乳上，嚴重被害株之種子帶菌率可達100%。利用抗鏈黴素突變株，謝等首先由種子分離到病菌⁽¹⁵⁾，病菌主要存在於稻穀及胚芽上，胚乳則沒有病菌，利用帶菌種子播種至今尚沒有人能觀察到產生病株。

五、病害預測

病害預測為病害防治之主要一環，若能在病害發生前即施行保護或防治措施，不但可降低感染源，更能有效降低病勢之發展，在流行病學之觀點，首要注意的是氣候條件及環境因子。Aoyagi et al.⁽²⁾認為秧苗是否發病非常重要，而病害調查之週期及抗感性品種在田間發病與否，皆可作為指標，因此可選適當地點設置預測田，種植不同抗性品種，多施氮肥誘導發病，預測病害發生之早晚、嚴重程度以作為該地區之病害發生情形參考。日本在早期曾用雨量、光線、溫度、颱風次數和嚴重性等氣象因子來預測白葉枯病發生，在水稻

生育中後期，由颱風發生之次數可正確預估病害之發生，而七至八月之降雨量及光線亦與病害發生具相關性，夏天若溫度低或九月時高雨量所帶來低溫，會降低病害之發生，但這些結果因地區而異，有時並非十分準確。在印度，Mohiuddin et al.⁽²⁷⁾指出於八至十月間雨天超過27天，總雨量20公釐以上，會發生急性萎凋型病徵，若下雨天數及雨量稍低些，則會發生白葉枯病。急性萎凋型病徵之發生最適溫為28~34℃，低於16℃則不發生，一般溫度愈高愈有利白葉枯病之發生，因此熱帶地區之發病率比溫帶地區嚴重。另外在日本也曾利用偵測秧田、本田及灌溉水中之噬菌體含量來預測白葉枯病之發生，秧田若測不到噬菌體則本田發生白葉枯病之機率很低；本田噬菌體若含量高，則病害發生會較早且嚴重，灌溉水中噬菌體含量在出水口量高於入水口，因此應由出水口處取樣；而利用秧田水中噬菌體量來預測本田病害發生有其可行性，但受本田灌水及颱風影響很大。除日本外，韓國、泰國及斯里蘭卡亦有應用噬菌體來預測白葉枯病發生之報告，在苗期當秧田灌溉水中噬菌體族群達100 pfu/ml，則秧苗會被白葉枯病菌感染，正常情況下灌溉水中噬菌體含量低於30pfu/ml，則秧苗不會感染白葉枯病。

(一)由自然感染預測

在日本秧苗田的感染情形可以預測以

表一、1982-1991年臺灣水稻白葉枯病發生面積（公頃，前臺灣省政府農林廳資料）

Table 1. Prevalence of rice bacterial blight in Taiwan from 1982-1991 (ha)

年份 Year	第一期稻 1st crop	第二期稻 2nd crop	年份 Year	第一期稻 1st crop	第二期稻 2nd crop
1982	4535	17321	1987	6390	21157
1983	7093	15229	1988	5327	24421
1984	1691	15891	1989	13355	45019
1985	4560	43486	1990	10232	33486
1986	4925	24489	1991	3044	11329

後本田的病害狀況，插秧前在秧田灌溉水口、排水口附近以及秧田中央調查15cm²範圍內秧苗感染白葉枯病菌情形。秧苗期白葉枯病發生越早及嚴重，本田期也越早發生。在本田則在病害常發地區設置預測田，內栽種數種不同抵抗性品種，品種的選擇是依不同地區種植情形而定，並應考慮成熟期之早晚。預測田施用高量氮肥，並定期在葉片製造傷口，誘導病害發生，定期調查預測田病害發生情形；若預測田病害發生較早，再依預測田病害發生的程度來預測附近稻田可能發生的程度。另外在常發生地區對中間寄主*Leersia sayanuka*做定期的調查，此種雜草通常發生白葉枯病比水稻早，如*Leersia sayanuka*發生嚴重白葉枯病時，水稻就很可能嚴重發生⁽²⁶⁾。

(二)由氣象因子預測病害

淹洪水、雨量、下雨天數、光照、氣溫和颱風影響病害之發生程度，在日本佐賀縣農業試驗所發現，病害發生程度和發生面積與本田初期之雨量和下雨天數有很高之正相關，由此而提出預測方程式⁽³⁵⁾。

(三)由病害數量預測病害

由於白葉枯病菌可以在常發病地區於發病前的健全水稻植株偵測到，在日本就利用此現象在未發病時偵測病菌的數量作為預測基礎。偵測方法為：從分蘗期至幼穗形成期，由田間採集抗病和感病品種之上、中和下位葉，十至二十片二次，葉片經水洗所得水用離心方式濃縮病菌，再利用多針接種法接種到感病品種上，由感染率推估病菌在田間可能之數量⁽²⁵⁾，但利用水洗葉片方法所得病菌含有很多腐生菌，

表二、水稻白葉枯病防治藥劑

Table 2. Chemicals used to control rice bacterial blight

藥劑名稱	每公頃 每次施 藥量	稀釋倍 數(倍)	施藥方法	注意事項
10%Techlof thalam	1.2公斤	1,000	發病初期開始施 藥，以後每隔十天 施藥一次，連續三 次。	1.本藥劑試驗時加 展著劑出來通CS -73,000倍。 2.收割前15天停止 用藥。
6%撲殺熱粒劑 (Portbenazole)	30公斤		幼穗形成期前施 藥一次	施藥時稻田內應 保持水深3-5公 分，維持4-5天

特別是 *Erwinia herbicola*，接種源有過多的腐生菌會影響病菌的感染與病勢的進展，因而低估病菌的數量⁽¹⁵⁾。如能利用噬菌體間接的推估或利用更精準的DNA探針，則可得到更精確的預測，臺灣在此方面的研究有不錯的結果。

(四)由噬菌體數量預測病害

噬菌體可用來鑑定和偵測病原菌，做病原菌系統分類，亦可利用秧田和本田中灌溉水之噬菌體含量來預測白葉枯病之發生。噬菌體數量的增加比病害的發生早，利用此原理來預測病害的發生，最早為日本，後來在其他國家也陸續採用，如韓

國、泰國及斯里蘭卡⁽⁴⁰⁾。

噬菌體的測定方法為由秧田或本田採集灌溉水，由於噬菌體在田間分布很不均勻，灌溉水應從多點採集再混合測定。首先將田水經二層紗布過濾，視澄清與否，再決定是否離心去除雜物及雜菌等，再用0.22 μ m之過濾膜過濾。將過濾液經系列稀釋後，每毫升稀釋液加入2毫升病菌約含 10^8 cfu/ml，所用病菌菌株對噬菌體必須有很廣的敏感性，充分混合後加入5~6毫升Wakimoto半合成培養基或其他適合病菌生長之培養基，再倒入平板，在20~25°C經15小時後計算溶菌斑數⁽³⁵⁾。

秧田水中噬菌體數量一般都很低，通常低於30/毫升，若測不到噬菌體則本田發生白葉枯病之機率很低，當噬菌體數量超過100/毫升時，秧苗開始發病，若秧田後期偵測到更多的噬菌體，則可預測在分蘗初期病害會大發生⁽³⁷⁾。

剛插秧時，田間噬菌體含量一般很低，本田噬菌體含量愈高，則病害發生會較早且嚴重，如噬菌體偵測數量到達200/毫升，病害應已發生，假如噬菌體超過100/毫升，則可預測病害在10~14天內發生。在分蘗中期如噬菌體量<100/毫升則發病程度輕微；>500/毫升為中度；>5000/毫升則為嚴重。在分蘗盛期如噬菌體量<50/毫升則發病程度為輕微；>100/毫升為中度；>1000/毫升則為嚴重。如噬菌體經常維持在>1000/毫升，則病害已在當地廣泛建立，如噬菌體在很大範圍達1000-2000/毫升，則可預測病害將大發生⁽²⁶⁾。秧田水中噬菌體量>500/毫升，可預測本田將發生急性萎凋病徵⁽⁴⁰⁾。

噬菌體在灌溉水中之數量受很多因子之影響，如灌溉水之深度、雨水、溫度、濕度、採集的時間。灌溉水中噬菌體含量在出水口量高於入水口，因此應由出水口處取樣⁽³⁵⁾。

六、防治方法

(一)避免種植感病品種，秈稻較易感染本

病，常發病地區及風大之地區，應避免種植秈稻。事實上臺灣目前推廣之品種很少有抵抗白葉枯病者，今後水稻育種應有計劃性地把已鑑定出之抗病基因導入，以使用於常發病地區之種植。自1967年開始水稻抗白葉枯病之基因有二十多個已被証實，即Xa-1、Xa-2、Xa-3、Xa-4、xa-5、Xa-6、Xa-7、Xa-8、Xa-9、Xa-10、Xa-11、Xa-12、Xa-13、Xa-14、Xa-16、Xa-17、Xa-18、Xa-19、Xa-20、Xa-21和xa-nm^(29,30)，其中Xa-3、Xa-6和xa-9三個基因於成株才表現，而Ogawa等⁽²⁹⁾認為此三個基因應屬於同一個。xa-5、xa-8、xa-9、xa-13、xa-19、xa-20和xa-nm屬於隱性基因，這些隱性基因後三個為誘變所獲得。而適合臺灣之抗病基因有Xa-4、xa-5和X-7三種，目前臺灣存在之病菌都無法侵害具有這三種基因之水稻，有些菌株對具有Xa-1、Xa-2、Xa-3、Xa-Kg、Xa-10或Xa-11水稻可造成中度以上之感病性，比較不適合作為育種之親本⁽¹²⁾。

(二)病菌大都由傷口侵入，儘量採用直播，或用機械插秧以減少移植時感染病菌。稻苗移植如用鏟秧方式，勿用手拔秧亦勿剪除秧葉尖，以免病原菌由傷口侵入。

(三)避免偏用或使用過多氮素肥料。

(四)雨後或晨露未乾前，避免進入稻田，以減少人為傳播病原菌。

(五)發病稻田於收穫後，將稻樁燒燬，然後將稻田翻犁，連續浸水二週以消除病原菌，減少下一期水稻感染源。

(六)藥劑防治：藥劑之使用必須在病害將發生或剛發生時使用才有效，在日本有幾種方法可預測病害發生，包括：

1.設置預測田：預測田種植不同感病性品種，並經常以針刺製造傷口，並觀測其他寄主如 *Leersia spp.* 之發病情形⁽²⁶⁾。

2.依氣象條件：氣象條件如大雨水、颱風、溫度、強風等和病害發生有密切相關性⁽⁷⁾。

3.由病菌之數量：病菌之出現常在病害發生之前，因此定期採集稻葉，經磨碎，離心濃縮，再接種到感病品種⁽¹⁷⁾。

4.噬菌體數量：噬菌體可在灌溉水中於病害發生前偵測到，定點定期採集灌溉水，經離心及通過 Millipore 後加入病原細菌，在半固體培養基上，在 20-25℃ 經 10-15 小時即可看到 plagues⁽²⁶⁾。

迄今可以用來防治白葉枯病之藥劑有下列兩種，如表二。

七、引用文獻

1. Arnheim, N., and Erlich, H. 1992. Polymerase chain reaction strategy. *Annu. Rev. Biochem.* 61: 131-56.
2. Aoyagi, K., Osaki, M., and Kiben, S. 1960. Resistance of rice main cultivated varieties to bacterial leaf blight in Niigata area. *Proc. Assoc. Plant Protect., Hokuriku.* 8:28-31.
3. Birch, P. R. J., Hyman, L. J., Taylor, R., Opio, A. F., Bragard, C., and Toth, I. K. 1997. RAPD PCR-based differentiation of *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans*. *Europ. J. Plant Pathol.* 103: 809-814.
4. Chen, L. C., Wang, C. H., Chang, S. C., and Hsieh, S. P. Y. 1997. Comparisons of strains of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolated in Taiwan by specific and repetitive DNA probes. *Plant Pathol. Bull.* 6: 171-180.
5. Fang, C. T., Liu, C. F., and Chu, C. L. 1956. A preliminary study on the disease cycle of the bacterial leaf blight of rice. *Acta Phytopath. Sin.* 2:173-185.
6. Goto, K., Fukatsu, R., and Ohata, K. 1953. Relationship between the occurrence of bacterial leaf blight disease on rice and that on wild grasses in endemic area. *Plant Protect. Jap.* 7:365-368.
7. Goto, K., Fukatsu, R., and Ohata, K. 1956.

- Effect of climate conditions on the infection of bacterial leaf blight of rice. *Ann. Phytopathol. Soc. Jap.* 20: 175-176.
8. Goto, K., Inoue, Y., Fukatsu, R., and Ohata, K. 1955. Field observations on the outbreak and fluctuation of severity of bacterial leaf blight of rice plant. *Bull. Div. Plant Breed, Tokai-kinki Agr. Exp. Sta.* 2:53-68.
9. Goto, M. 1964. "Kresek" and pale yellow leaf, systemic symptoms of bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson. *Plant Dis. Repr.* 48:858-861.
10. Hashioka, Y. 1951. Bacterial leaf blight of rice and its control. *Agr. and Hort., Tokyo* 26:644-648.
11. Hsieh, S. P. Y. 1979. Multiplication and translocation of *Xanthomonas oryzae* in diseased rice seedlings in relation to the occurrence of kresek. *Proceedings Nat. Sci. Council* 3:285-290.
12. Hsieh, S. P. Y. 1991. Recent status and future prospects on bacterial blight in Taiwan (Tu, C. C, et al., ed.). p.117-130. "The Rice Diseases" *Proc. Symp. at TARI, November, 1990. TARI Special Bulletin No. 32.*
13. Hsieh, S. P. Y., and Buddenhagen, I. W. 1974. Suppressing effects of *Erwinia herbicola* on infection by *Xanthomonas oryzae* and on symptom development in rice. *Phytopathology* 64: 1182-1185.
14. Hsieh, S. P. Y., and Buddenhagen, I. W. 1975. Survival of tropical *Xanthomonas oryzae* in relation to substrate, temperature, and humidity. *Phytopathology* 65:513-519.
15. Hsieh, S. P. Y., Buddenhagen, I. W., and Kauffman, H. E. 1974. An improved method for detecting the presence of *Xanthomonas oryzae* in rice seed. *Phytopathology* 64:273-274.
16. Hsieh, S. P. Y., and Chang, S. C. 1977. Some factors affecting the expression of kresek symptom on rice infected with *Xanthomonas oryzae*. *Plant Prot. Bull.* 19:275-286.
17. Inoue, Y., Goto, K., and Ohata, K. 1957. Overwintering and mode of infection of leaf blight bacteria of rice plant. *Bull. Div. Pl. Breed., Tokai-kinki Agr. Exp. Sta.* 4:74-82.
18. Kuo, T. T., Chow, T. Y., Lin, Y. T., Yang, C. M., and Li, H. W. 1971. Specific dissociation of phage Xp12 by sodium citrate. *J. Gen. Virol.* 10:199-202.
19. Kuo, T. T., Huang, T. C., and Chow, T. Y. 1969. A filamentous bacteriophage from *Xanthomonas oryzae*. *Virology* 9:548-555.
20. Kuo, T. T., Huang, T. C., Wu, R. Y., and Yang, C. M. 1967. Characterization of three bacteriophages of *Xanthomonas oryzae*

- (Uyeda et Ishiyama) Dowson. Bot. Bull. Acad. Sinica 8:246-254.
21. Kuo, T. T., Huang, T. C., and Teng, M. H. 1968. 5-Methylcytosine replacing cytosine in the deoxyribonucleic acid of a bacteriophage for *Xanthomonas oryzae*. J. Mol. Biol. 34:373-375.
22. Kuo, T. T., and Tu, J. 1976. Enzymatic synthesis of deoxy-5-methylcytidylic acid replacing deoxycytidylic acid in *Xanthomonas oryzae* phage Xp12 DNA. Nature 263:615.
23. Kuo, T. T., Yang, C. M., Yang, Y. Y., and Hsieh, S. P. Y. 1968. The distribution of strains of *Xanthomonas oryzae* and its phages in Taiwan. Pl. Prot. Bull. 10:1-8.
24. Lin, J. W., Wu, C. C., and Kuo, T. T. 1971. Amino acid analysis of the coat protein of the filamentous bacterial virus xf from *Xanthomonas oryzae*. Virology 45:38-41.
25. Mizukami, T. 1961. Studies on the ecological properties of *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson, the causal organism of bacterial leaf blight of rice plant. Agr. Bull. Saga Univ. 13:1-85.
26. Mizukami, T., and Wakimoto, S. 1969. Epidemiology and control of bacterial leaf blight of rice. Annu. Rev. Phytopathol. 7: 51-72.
27. Mohiuddin, M. S., Verma, J. P., and Rao, Y. P. 1977. Development of different phages of bacterial blight of rice in relation to rainy days and rainfall. Indian Phytopathol. 30:418-419.
28. Muko, H., Kusaba, T., Watanabe, M., and Tabei, H. 1957. Factors affecting the occurrence of bacterial leaf blight of rice. Ann. Phytopathol. Soc. Jap. 22: 10.
29. Ogawa, T., Yamamoto, T., Khush, G. S., and Mew, T. W. 1990. Genetics of resistance in rice cultivars, Xenith and Cempo Selak to Philippine and Japanese races of bacterial blight pathogen. Jpn. J. Breed. 40:183-192.
30. Sakaguchi, S. 1967. Linkage studies on the resistance to bacterial leaf blight, *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson, in rice. Bull. Natl. Inst. Agric. Sci. Ser. D 16:1-8.
31. Singh, R. N. 1970. Studies on bacterial blight disease of paddy: Part II - Assessment of losses and yield loss equation. Labdev. J. Sci. Technol., Part b, Life Sci. 8-B:47-48.
32. Steffan, R. J., and Atlas, R. M. 1991. Polymerase chain reaction: Applications in environmental microbiology. Annu. Rev. Microbiol. 45: 137-61.
33. Swings, J., Van den Mooter, M., Vauterin, L., Hoste, B., Gillis, M., Mew, T. W., and Kersters, K. 1990. Reclassification of the

- causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol. 40:309-311.
34. Tagami, Y., Fujii, H., Kuhara, S., and Kurita, T. 1960. Overwintering of *Xanthomonas oryzae* in rice stubbles. Ann. Phytopathol. Soc. Jap. 25: 68.
35. Tagami, Y., and Mizukami, T. 1962. Historical review of the researches on bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson. Spec. Rep. of the Plant Dis. and Insect Pests Forecasting Ser. No. 10 (Pl. Prot. Div., Min. of Agr. and Forest., Jap.), 112 pp.
36. Wakimoto, S. 1954. Biological and physiological properties of *Xanthomonas oryzae* phage. Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu 14: 485-493.
37. Wakimoto, S. 1969. Rice bacterial leaf blight and its control. Agr. and Hort. 44:1425-1431.
38. Watanabe, Y. 1975. Ecological studies on kresek phage of bacterial leaf blight of rice. Bull. Tokai-Kinki Natl. Agric. Exp. Stn. 28:50-123.
39. Welsh, J. and McClelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acid Res. 18 : 7213-7218.
40. Williams, J. G. K., Kubelik, A. R. K., Livak, J. L., Rafalski, J. A., and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by random primers are useful as genetic makers. Nucleic Acid Res. 18: 6531-6535.
41. Yoshimura, S. 1963. Diagnostic and ecological studies of rice bacterial leaf blight, caused by *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dowson. Bull. Hokuriku Agr. Exp. Sta. 5:27-182.
42. Yoshimura, S., and Tahara, K. 1961. Morphological studies on the *Xanthomonas oryzae* under electron microscopy. Ann. Phytopathol. Soc. Jap. 26: 61.

(作者：謝式坪鈺)