

檬果果斑病之研究

I. 病徵及病原菌¹

廖 嘉 信²

一、前 言

臺灣檬果果斑病 (Mango fruit spot) 民國五十八年 (1969) 在臺南縣玉井鄉局部發生，初期僅見於 Irwin 及 Keitt 二主要栽培種。至翌年，南部地區普遍發生此病，且逐漸向中部地區蔓延。民國60年9月中旬，經二次颱風侵襲之後，各檬果產區罹病嚴重。筆者於是年開始依 Koch 氏法則，進行病組織分離病原及接種結果，證實其為一種細菌性病害，與 Patel 氏等1948年在印度發見之 *Pseudomonas mangiferae-indicae* (4) 近似，而非 *Elsinoe mangiferae* 所引起之瘡痂病 (Mango Scab) (6)。病原為單極單鞭毛之桿狀菌，不僅侵害果實，小枝及葉片、葉柄亦同受害，為目前檬果之一嚴重病害。

二、病 徵

檬果果斑病原細菌之侵入果實，受環境影響甚大。據筆者觀察，氣溫在 30°C 及相對濕度70% 之情況下，持續數天即易發生本病。病原可由皮目 (lenticel) 侵入果皮，一週後在皮目呈三角形裂縫，並分泌透明膠液，逐漸擴展為星形、黑褐色、中央突起、大小約 0.5cm 之病斑 (圖一)，以光照面發生較嚴重。枝葉之病斑，主要在傷口邊緣產生墨綠色擴散狀斑塊，寬約 2—3mm，上下表面均有發生，末期呈黑色稍隆起之病斑，邊緣明顯，中央偶有不規則裂痕 (圖二)，枝條上病斑伴有流膠，並無系統性病徵發見。

三、材料與方法

病原分離係就檬果產區採取之病果、病葉，以 Dowson 氏 (1949) 之劃線平板法分離病原。

病原接種試驗所用之接種原濃度為 10^8 cell/1ml.，菌齡48小時，以果實針刺接種、塗抹接種和葉部擦傷接種，計有七菌株產生與原來相同之病斑，其菌株來源如表一。

本試驗計劃承中國農村復興委員會補助，並承蒙國立中興大學植病系主任孫守恭教授徐世典博士之鼓勵與指導，謹誌謝忱。

1. 試驗報告農試字第五六一號

2. 臺灣省農業試驗所嘉義農業試驗分所技士。

表一、七供試菌株來源

菌 株 代 號	寄 主	採 集 地	分 離 日 期
FS25	Keitt 果 實	臺 南 縣 玉 井	60. 6. 3
FS30	Keitt 果 實	臺 南 縣 玉 井	60. 6. 3
FS32	Irwin 果 實	臺 南 縣 玉 井	60. 6. 9
FS33	Irwin 果 實	臺 南 縣 玉 井	60. 6. 9
LS 7	Irwin 葉 片	臺 中 縣 沙 鹿	60.10.21
LS 8	Irwin 葉 片	臺 南 市 惠 光	60.10.21
LS12	菜 棧 子 葉 片	嘉 義 縣 大 林	60.10.27

病原形態及生理性質之初步試驗及檢定，其步驟及方法係參照 Thomas H. Lord 所著 *Determinative Bacteriology*; W. F. Harrigan 等所著 *Laboratory Methods in Microbiology*; Breed, R. S. 等所著 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 及陳大武所編植物病理研究法，分別於下列各試驗結果中詳述之。

四、結果與討論

(一) 病原菌之形態及染色性質：

Gram 染色反應，抗酸性染色，內生孢子染色，鞭毛排列觀察，莢膜觀察等之供試菌株為在 Potato dextrose agar 斜面，30°C 下，培養24—48小時之新鮮菌落，以 Hucker 氏變法，Ziehl-Neelsen 氏法，Wirtz 氏法，Bailey 氏法及 Anthony 氏法進行染色觀察。菌體大小度量則以 Nutrient agar 斜面培養24小時之菌落，以 Benian 氏剛果紅陰染、再測量其大小。觀察結果，供試菌株為 Gram 陰性，非抗酸性，無內生孢子，單極單鞭毛，無莢膜之桿狀菌，單胞或短鏈狀，具活動性，大小為0.4—0.6×0.8—1.7 μ 。

(二) 病原之培養性質：

Potato dextrose agar 平板，培養於 30°C，48小時之菌落為圓形，白色或乳白色，全緣，表面平滑，中高，半透明，均質，具光澤，直徑約 2—3mm，生長良好。在 Nutrient broth 中，生長中等，混濁均勻，有微量粘稠性沉澱，表面具輪環，Potato slant 為乳白色或淡褐色，有消化現象。

(三) 病原菌之生理性質：

1. 病原生長之溫度效應，Nutrient broth 中，各試管加入一耳量供試菌株，分別在 5, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 30, 32, 36, 40, 44°C 下培養48小時後，以 Spectrophotometer 測知其生長溫度範圍為 8—36°C 最適溫度為 28—30°C。

2. 氫離子效應，將 Nutrient broth 分別調整為 pH 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0 接種後，培養在 30°C，經48小時，以 Spectrophotometer 測定，其生長範圍為 pH 4.0~10.0，最適之 pH 為 7.0。

3. 碳水化合物之發酵，以 Ayers, Rupp 及 Johnson 氏合成培養基為基礎，分別添加 L-Arabinose, Glucose, Saccharose, Lactose, Maltose, Starch, Inulin, L-Rhamnose, Trehalose, Dextrin, D-mannose, D-Galactose, D-Xylose, Raffinose, Glycerin, Salicin, D-Mannitol, Sorbitol, 及 0.1% 之 1.6% Bromocresol purple 酒精液為指示劑，以 Arnold sterilizer 在 100°C 消毒 20 分鐘，連續三天。再以穿刺培養法接種供試菌，置於 30°C，觀察三週，結果如下：七個供試菌株在

Glucose, D-Xylose, Saccharose, Starch, Trehalose, Dextrin, D-Galactose, Raffinose Glycerin D-Mannitol 及 Sorbitol 均能產生酸，但不生氣體；在 L-Arabinose, Lactose, Maltose, Inulin, L-Rhamnose, D-Mannose, Salicin均不產生酸及氣體。

4. 澱粉水解，以 Starch nutrient agar 平板，分別接種供試菌，並置於 30°C，經48小時，以 Lugol's iodine Solution 注入平板上，菌落周圍呈現透明環，顯示有澱粉水解酵素之形成。

5. 硝酸鹽之還原，以 Nitrate Broth 培養在 30°C 經 3 天後，以 α -naphthylamine-Sulfanilic acid 檢定，顯示 FS33 培養液呈紅色反應，即有還原作用，其餘各供試菌則否，但加入微量鋅粉後，硝酸鹽亦被還原而呈紅色，此則示無硝酸鹽被還原。

6. 吡嗪之生成，以 Peptone Water 培養供試菌，並在試管壁與棉栓間懸夾一長 5cm \times 0.5cm 寬之 Gnezda 草酸試紙，在 30°C 下，經48小時以上，觀察得草酸試紙無變色反應，即無吡嗪之生成。

7. 硫化氫之生成，將供試菌移植於 Nutrient broth 中，試管內懸垂長方形 (5 \times 0.5cm) 醋酸鉛濾紙，在 30°C 下培養 3 天，觀察得濾紙呈黑褐色，顯示有硫化氫之產生。

8. 酪素水解，將 Milk agar 平板接種供試菌，置於 30°C，經48小時，菌落周圍呈現顯明的透明環，示知有酪素水解酵素產生。

9. 石蕊還原，將 Litmus milk 接種後，置於 30°C，經 2~14 天，觀察培養基之變化，培養液由紫色變為紅色，即為還原作用。

10. 氧氣之關係，以 Potato dextrose agar 作振盪培養後，置於 30°C，經48小時，僅表面有菌落生長，可知本病原為好氣性細菌。

11. 觸酶之生成，將 PDA 培養之菌落置於含 10% H_2O_2 之試管中，觀察得有連續氣泡發生，並持續 5 分鐘以上，即有觸酶之生成。

12. 明膠液化，以 Plain gelatin 做穿刺培養，在 20°C，經14天後，培養基上層液化而呈噴火口狀。

13. 致死溫度，將盛 Nutrient broth 之試管插於恆溫水槽內，調節水溫使管內外相等，再取一耳菌培養試管中，經10分鐘立即取出冷卻，於 30°C 培養48小時，觀察得其致死溫度為攝氏55度。

就上述各試驗結果所示，檬果果斑病原之形態及生理性質，與 Patel 氏等1948年在印度所發現之 *Pseudomonas Mangiferae-indicae* 近似，其主要的差異為後者能在 Lactose 產生酸，在 Uschisky 氏液微能生長，而果斑病原則否。據 Dowson 氏 (1949) 之分類法，*Pseudomonas* 屬為不能利用 Lactose 之菌類。其次是後者能感染 Cashew nut，但筆者經數次接種病原於 Cashew nut 葉片上，均不能獲得病斑。惟據本病原所顯示之生理現象，則當屬 *Pseudomonas* sp.，必須更進一步研究，以確認其分類地位。

五、摘 要

檬果果斑病為臺灣檬果之新病害，民國五十八年發見以來，為害日趨嚴重，一般認為抗病力甚強之茶棧子（本地種），枝葉亦嚴重受害。果實之病斑發生在皮目上，初期有流膠及三角形裂縫，漸擴展呈黑褐色之星形，同時病斑突起，細菌分泌物沿果皮流下。葉部病斑與1948年 Patel 氏等在印度發現者近似。本病亦在葉柄及幼枝發生。

病原經試驗結果證實為一細菌性病害。病原體為桿狀，大小約 0.4~0.6 \times 0.8~1.7 μ ，單胞或呈短鏈狀，Gram 陰性，非抗酸性，無內生孢子及莢膜，具活動性之單極單鞭毛，在馬鈴薯葡萄糖培養基平板上為圓形，白色或乳白色，中高、全緣之菌落，生長良好。肉汁培養液中，生長中等，混濁均勻，有微量粘性沈澱，表面有輪環。在 Uschisky 氏及 Cohn 氏液均不生長。本病原菌之生長適溫為攝氏28~30度，氫離子在 pH7.0 時生長最好。在 Glucose, Saccharose, Starch, Trehalose,

Dextrin, D-Galactose, D-Xylose, Raffinose, Glycerin, D-Mannitol 及 Sorbitol 培養基中產生酸，但不產生氣體，能水解澱粉和酪素。除 *Fs 33* 外，不能使硝酸鹽還原。能使白明膠液化，石蕊還原，不產生吡嗪，產生硫化氫和觸酶之好氣性桿狀菌。據試驗結果證實，本病原之生理及形態與 Patel 氏等 (1948) 發現之 *Pseudomonas mangiterae-indicae* 近似，惟不能為害 Cashew nut。

六、參考文獻

1. 陳大武 (1959) 植物病理研究法 pp.191~253
2. Breed, R.S., G.D. Murray and N.R. Smith (1957) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins Co. Baltimore.
3. Dowson W.J. (1949) *Manual of Bacterial plant Diseases* A.&C. Black Co.
4. Elliott, C. (1951) *Manual of Bacterial Plant pathogens*, Waltham, Mass.
5. Harrigan, W.F. and Margaret, E. Mc Cance (1966) *Laboratory Methods in Microbiology*, pp. 3—68
6. Ruehle, Geo. D. and R. Bruce Ledin (1956) *Mango Growing in Florida*, Univ. of Flori. Agri. Exp. Sta. Bull. 574, July 1956.
7. Thomas, H. Lord. (1962) *Determinative Bacteriology Laboratory Manual*, 3rd Printing, pp. 1—21 Burgess Publishing Co.

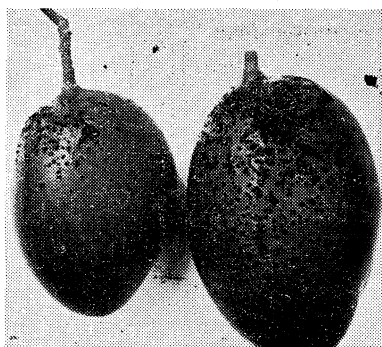


圖 1. 檬果果斑病果實上病徵 (Keitt品種)



圖 2. 檬果果斑病葉片上病徵 (Irwin品種)

STUDIES ON MANGO FRUIT SPOT

I. Symptoms and Causal Organism

by

Chia-Hsin Liao

Summary

The fruit spot of Mango, a new disease in Taiwan was found at Yu-Ching in 1969, the same disease had reported by Patel in India in 1948. The disease is characterized by appearing crack with clearing exudate at lenticels on fruits about at the 10th day after infection, then turning to deep brown stellate spots with raised and heavy bacterial exudate flows downward. The lesions are 1-5mm in diameter, 2-3 mm in depth. The leaf lesions are angular, dark brown, water-soaked areas from 1-4 mm in diameter with clearing margin, rough and raised later. In severely affected ones, the most of fruits and leaves are falled down, sometimes the tender branch may infected.

The causal bacterium was isolated, it is a aerobic bacterium, rod-shaped $0.4-0.6 \times 0.8-1.7\mu$ in size, Single or short chain, not acid-fast, without endospore, motile by monotrichous flagellum. Potato-Dextrose Agar colony is circular, white to creamy white with entire margin, smooth, glistening, translucent. No growth in both Uschisky's solution and Cohn's.

The temperature range for growth of the bacterium is 8-36°C, the optimum temperature being 28-30°C. The pH range for growth is 4.0-10.0, the optimum being 7.0. Starch and casein are hydrolyzed, nitrates are not reduced except Fs 33, gelatin is liquefied, Litmus is reduced, no indole is produced; hydrogen sulfide is produced. Acid but no gas is produced from glucose, saccharose, starch, Trehalose, Dextrin, D-Galactose, D-Xylose, Raffinose, Glycerin, D-Mannitol and Sorbitol, no acid and gas are produced from L-Arabinose, Lactose, Maltose, Inulin, L-Rhamnose, D-Mannose and Salicin.

The causal bacterium affects *Mangifera indica* L. but does not infects *Anacardium occidentale* L. (Cashew nut) .