

國立臺灣大學生物資源暨農學院

植物病理與微生物學研究所

碩士論文

Department of Plant Pathology and Microbiology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

柑桔潰瘍病之非農藥防治

Non-pesticide Control of Citrus Bacterial Canker



Yu-Chien Chen

指導教授：孫岩章 博士

Advisor: En-Jang Sun, Ph.D.

中華民國九十八年七月

July, 2009

誌謝

本論文得以完成，要感謝指導教授孫岩章老師及實驗室的大家（友倫、蓉萱、筱筑、善焉、勝志、魁偉、凱婷、子璐、哲維、均岳、照銘、佩玲）給我的諸多建議與幫忙；感謝蘇鴻基老師願意讓我使用台大農場溫室的私人空間，儘管最後因為夏天溫度太高的緣故而沒有在那裡做實驗；感謝曾顯雄老師過去給我灌輸病原菌分子鑑定的觀念，以及 Mike、子禾、林斌、博堯、淞民、勝雄、暉峻給我的美好回憶；感謝陳昭瑩老師在大學時教導我有關病原細菌的基礎知識，以及健瑞、家華、安慈給我的建議與幫忙；感謝洪挺軒老師提供病原菌分子鑑定的材料與設備給我使用，以及雅智、小瑩、亭君、幸茹、心玥帶我熟悉實驗室環境，並解決我遇到的困難；感謝沈偉強老師提供操作流程極簡易且快速的分光光度計，並給我實驗上的指導；感謝園藝系的陳右人老師幫我鑑定田間防治試驗所使用的柑桔植株品種；感謝柯文雄老師在口試期間給了我許多寶貴的意見；感謝在植科所攻讀碩士學位的高中同學鐸駿借給我可以抑制真菌生長的抗生素。

特別要感謝的是，如果沒有爸爸、媽媽、姐姐、哥哥從小到大給我這麼好的學習環境，我大概不可能考得上國立臺灣大學，更不可能進入植物病理暨微生物學研究所並完成這篇論文，不管從哪個方面來看，我都佔了太多的便宜，今後必定好好努力向上，給爸爸、媽媽更安穩、舒適的生活品質，讓他們一輩子都感到光榮。

最近在網路上聽聞一件保姆中心害死小嬰兒的事情，我深感幸運，因為小時候也給保姆照顧過，不同的是，保姆全家照顧我像親生兒子一樣，不僅不計較金錢，更不會將個人的脾氣施加在我身上，在此感謝保姆全家無私的關愛。

要感謝的人太多了，無法一一列舉，只好感謝老天對我這麼好，讓我總是順利地度過人生的每一個求學階段，代表我感激生命中所有人的一份心意。

中文摘要

柑桔潰瘍病 (Citrus Bacterial Canker) 是目前國際柑桔栽培上最重要且最具破壞性的一種細菌性病害，病原菌為 *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*。在臺灣，潰瘍病最早記載於 1932 年，1952 年已成為柑桔產業的主要病害。潰瘍病可發生於柑桔的葉片、果實、枝條上，病斑中央部份呈灰白色凹陷，周圍呈現褐色木栓化之結構，表皮破裂而粗糙堅硬，在葉片上的病斑邊緣常有黃色暈圈，嚴重罹病之葉片逐漸黃化後落葉。Vauterin 等人於 1995 年將柑桔潰瘍病菌重新分類如下：*X. axonopodis* pv. *citri* (原 *X. campestris* pv. *citri* A 病原型)；*X. axonopodis* pv. *aurantifolii* (原 *X. campestris* pv. *citri* B、C、D 病原型)；*X. axonopodis* pv. *citrumelo* (原 *X. campestris* pv. *citri* E 病原型)；而本研究之田間調查發現，臺灣柑桔潰瘍病菌中，有 90% 屬於 A 病原型。柑桔潰瘍病之藥劑防治主要為施用銅劑，如 4-4 式波爾多液、56% 氧化亞銅可濕性粉劑、81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑等；但銅劑在高溫條件下易發生藥害，大量使用亦增加果園蟎類的危害並造成環境污染，甚至已有抗銅性的潰瘍病菌株出現。本試驗的目的在於，施用數種非農藥防治資材，包括重碳酸鹽、水楊酸、咖啡因、枯草桿菌、鏈黴菌發酵物、窄域油、大蒜萃取物等，利用殺菌、誘導抗病性、生物防治、物理防護等作用機制，進行柑桔潰瘍病之防治試驗，以開發出替代傳統藥劑之方法。在盆苗防治試驗之結果，顯示咖啡因與大蒜萃取物對柳橙潰瘍病、鏈黴菌發酵物與水楊酸對椪柑潰瘍病、水楊酸與鏈黴菌發酵物對白柚潰瘍病具有防治效果。在田間防治試驗之結果，顯示水楊酸與鏈黴菌發酵物對柳橙潰瘍病、鏈黴菌發酵物與大蒜萃取物對文旦潰瘍病與檸檬潰瘍病具有防治效果。另外值得注意的是，窄域油不論在盆苗防治試驗或田間防治試驗中，皆使柑桔潰瘍病的病勢加重。

關鍵詞：柑桔潰瘍病、非農藥防治、水楊酸、鏈黴菌發酵物、大蒜萃取物

Summary

Citrus bacterial canker (CBC), caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (*Xac*), is the most important and destructive disease in the international citrus industry. In Taiwan, the earliest report of citrus bacterial canker is in 1932, and it became the most important disease in local citrus industry in 1952. CBC occurs on the leaves, stems, and fruit. The lesions on leaves become raised and corky, surrounded by a chlorotic halo, and the centers of the lesions become gray and crater-like. Defoliation and twig dieback become a problem as the disease progresses on a plant. In 1995, Vauterin *et al.* reclassifies pathovars of *Xanthomonas campestris* as *X. axonopodis* pv. *citri* (original *X. campestris* pv. *citri* pathotype A), *X. axonopodis* pv. *aurantifolii* (original *X. campestris* pv. *citri* pathotype B, C, and D), and *X. axonopodis* pv. *citrumelo* (original *X. campestris* pv. *citri* pathotype E). Our field survey in Taiwan showed that 90% of *Xanthomonas campestris* are *X. axonopodis* pv. *citri*. Spraying with copper pesticides is a traditional disease control method against CBC, such as 4-4 Bordeaux mixtures, 56% cuprous oxide WP, and 81.3% Kasuran WP. However, copper pesticides can induce phytotoxicity at higher temperature, increase mite population in citrus orchard and cause environmental pollution if over-used. It may produce the anti-copper strains of *Xac*. For these reasons, the purpose of this study is to develop non-pesticide control methods for CBC by using bicarbonates, salicylic acid, caffeine, *Bacillus subtilis*,

fermentation products of *Streptomyces candidus*, narrow-range oil, and garlic extract.

The action mechanisms for these non-pesticide material are killing, systemic acquired resistance, biological control, and physical protection. Results of pot experiments in the greenhouse showed that caffeine and garlic extract were effective in suppressing CBC on orange, fermentation products of *Streptomyces candidus* and salicylic acid on ponkan, and salicylic acid and fermentation products of *Streptomyces candidus* on Madou peiyu. Results of field experiments, conducted on NTU farm, showed that salicylic acid and fermentation products of *Streptomyces candidus* were effective in suppressing CBC on orange, fermentation products of *Streptomyces candidus* and garlic extract on Madou pomelo and lemon. It is worth to note that narrow-range oil increased CBC in both pot and field experiments.



Keywords: citrus bacterial canker, non-pesticide control, salicylic acid, fermentation products of *Streptomyces candidus*, garlic extract

目錄

誌謝.....	i
中文摘要.....	ii
英文摘要.....	iii
第一章 前言.....	1
第二章 前人研究.....	4
一、台灣柑桔產業現況.....	4
二、供試柑桔品種介紹.....	4
三、柑桔潰瘍病之發生與危害概況.....	6
四、分子檢測之設計原理.....	9
五、柑桔潰瘍病之防治策略.....	10
六、無毒資材防治柑桔潰瘍病之背景介紹.....	10
第三章 材料方法.....	14
一、柑桔潰瘍病菌之田間調查與分子鑑定.....	14
二、柑桔潰瘍病菌之接種與病害評估模式之建立.....	16
三、非農藥防治資材對柑桔之藥害試驗.....	18
四、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之盆苗防治試驗.....	21
五、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之田間防治試驗.....	23
第四章 結果.....	25

一、柑桔潰瘍病菌之田間調查與分子鑑定.....	25
二、柑桔潰瘍病菌之接種與病害評估模式之建立.....	35
三、非農藥防治資材對柑桔之藥害試驗.....	40
四、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之盆苗防治試驗.....	41
五、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之田間防治試驗.....	56
第五章 討論.....	68
一、柑桔潰瘍病菌之田間調查與分子鑑定.....	68
二、柑桔潰瘍病菌之接種與病害評估模式之建立.....	69
三、非農藥防治資材對柑桔之藥害試驗.....	70
四、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之盆苗防治試驗.....	71
五、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之田間防治試驗.....	72
參考文獻.....	73



圖目錄

圖一、中非大樓後棟三樓房間內擺設圖.....	16
圖二、中非大樓前棟頂樓棚架擺設圖.....	18
圖三、田間試驗使用之柳橙植株.....	23
圖四、田間試驗使用之文旦植株.....	23
圖五、田間試驗使用之檸檬植株.....	23
圖六、採集自新竹縣新埔鎮之柳橙潰瘍病樣本.....	27
圖七、採集自新竹縣新埔鎮之椪柑潰瘍病樣本.....	27
圖八、採集自新竹縣新埔鎮之海梨柑潰瘍病樣本.....	28
圖九、採集自新竹縣新埔鎮之葡萄柚潰瘍病樣本.....	28
圖十、採集自新竹縣新埔鎮之茂谷柑潰瘍病樣本.....	29
圖十一、採集自彰化縣永靖鄉之葡萄柚潰瘍病樣本.....	29
圖十二、採集自彰化縣永靖鄉之白柚潰瘍病樣本.....	30
圖十三、採集自彰化縣永靖鄉之西施柚潰瘍病樣本.....	30
圖十四、採集自彰化縣永靖鄉之帝王柚潰瘍病樣本.....	31
圖十五、採集自彰化縣永靖鄉之文旦潰瘍病樣本.....	31
圖十六、採集自花蓮縣溪口村之柑桔潰瘍病樣本.....	32
圖十七、生長於 NA 培養基平板上之柑桔潰瘍病疑似菌落.....	32
圖十八、針對田間採樣所分離到的柑桔潰瘍病疑似菌落進行專一性 PCR 檢測 之結果.....	33
圖十九、柑桔潰瘍病菌於柳橙葉片上表現之病徵.....	36
圖二十、柑桔潰瘍病菌於椪柑葉片上表現之病徵.....	37
圖二十一、柑桔潰瘍病菌於白柚葉片上表現之病徵.....	38
圖二十二、接種柑桔潰瘍病於柳橙、椪柑、白柚植株上之發病情形.....	39
圖二十三、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果.....	54

圖二十四、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果.....	55
圖二十五、非農藥防治資材對白柚潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果.....	56
圖二十六、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之田間防治試驗平均結果.....	66
圖二十七、非農藥防治資材對文旦潰瘍病之田間防治試驗平均結果.....	66
圖二十八、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病之田間防治試驗平均結果.....	67



表目錄

表一、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第一次盆苗防治試驗結果.....	42
表二、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第二次盆苗防治試驗結果.....	43
表三、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第三次盆苗防治試驗結果.....	44
表四、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果.....	45
表五、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病第一次盆苗防治試驗結果.....	46
表六、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病第二次盆苗防治試驗結果.....	47
表七、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病第三次盆苗防治試驗結果.....	48
表八、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果.....	49
表九、非農藥防治資材對白柚潰瘍病第一次盆苗防治試驗結果.....	50
表十、非農藥防治資材對白柚潰瘍病第二次盆苗防治試驗結果.....	51
表十一、非農藥防治資材對白柚潰瘍病第三次盆苗防治試驗結果.....	52
表十二、非農藥防治資材對白柚潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果.....	53
表十三、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第一次田間防治試驗結果.....	57
表十四、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第二次田間防治試驗結果.....	58
表十五、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之田間防治試驗平均結果.....	59
表十六、非農藥防治資材對文旦潰瘍病第一次田間防治試驗結果.....	60
表十七、非農藥防治資材對文旦潰瘍病第二次田間防治試驗結果.....	61
表十八、非農藥防治資材對文旦潰瘍病之田間防治試驗平均結果.....	62
表十九、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病第一次田間防治試驗結果.....	63
表二十、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病第二次田間防治試驗結果.....	64
表二十一、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病之田間防治試驗平均結果.....	65

第一章 前言

從古至今，農作物的病蟲草害，乃至於鼠患，總是直接或間接地造成人類經濟上的損失，甚至對生存產生了威脅。根據 1981 年的一項估計顯示，全世界的農作物因有害生物造成的損失在 20%~40%（平均為 35%），其中蟲害佔 14%，病害佔 12%，雜草佔 9%，此外還造成 10~20% 收穫後的損失（廖, 2005）。病蟲草害不僅造成作物減產，而且使產品品質不佳，商品價值下降。

人類為了解決病蟲草害造成的損害，很早就開始使用農藥來保護農作物，始於何時並無正式的記載。它的發展大略可以區分為三個階段，即天然藥物時代（1870 年以前）、無機合成農藥時代（1870~1945 年間）、有機合成農藥時代（1946 年至今）。在 1940 年代中期以前，由於化學工業不發達，世界上使用的農藥以植物和無機物為主，如硫酸銅、硫磺、除蟲菊、菸草等。隨著全球人口持續增加，對糧食的需求量大增，植物性農藥和無機合成農藥漸漸無法滿足農業生產的需求，而加速了有機合成農藥的研究和生產。有機合成農藥具有種類多、藥效佳、防治範圍廣的特性，迅速地成為人類生產活動中不可或缺的角色。然而，在此後的二十年內，有機合成農藥的破壞力逐漸浮現，包括有害生物的抗藥性不斷增強、對人體健康造成負面影響、無辜生物被錯殺並造成自然界生態體系的崩毀、環境污染等（廖, 2005）。

在此一背景下，有機農業順勢興起，它是一種比較不會污染環境、破壞生態，並能提供消費者健康與安全農產品的生產方式，強調其栽培的蔬果不使用任何化學肥料或農藥，並以自然方式栽種收成。在農藥濫用嚴重、有機農產品真假難辨的台灣，花蓮縣政府意識到本身具備好山好水的優勢，決定推動「無毒農業」，為農友及本地生產的農特產品做保證，進行銷售網路的規劃，以因應我國加入 WTO 後國外進口低價農特產品的衝擊，並以提供國人安全優質的農漁畜產品為最終目標。作業流程除了遵照現有的有機規範以外，更強化生產管理和抽檢、驗證，不能有水、土壤、空氣污染，不能使用任何化學肥料和農藥，並以自然方法防治病

蟲草害等 (盧, 2005)。

要完全不使用化學合成農藥做病蟲草害的防治，勢必引進病蟲草害綜合管理 (Integrated Pest Management, IPM) 的概念，在農業生產體系下，利用多元的防治方法控制疫病蟲害，使其低於可被接受的經濟危害水平，其對標的害物並不趕盡殺絕。此些 IPM 相關的防治方法包括法規防治、耕作防治、物理防治、化學防治、生物防治、抗病育種等。

柑桔潰瘍病 (Citrus Bacterial Canker, CBC) 係由 *Xanthomonas campestris* pv. *citri* 所引起，是目前國際柑桔栽培上最重要且最具破壞性的一種細菌性病害，而為各國防檢疫單位所重視。1913 年美國佛羅里達州出現柑桔潰瘍病時，曾花費六百萬美元，採取徹底地焚燬、撲滅已罹病植株的工作，歷時二十年，方完全撲滅 (蘇等, 2003)。此病原細菌的寄主範圍廣及所有柑桔類作物，可以危害柑桔的枝條、葉片、果實，嚴重發生時，葉片大量掉落，植株光合作用大受影響，造成樹勢衰弱，產量減少，罹病果實不但外觀難看，市場價格低落，農民因而損失慘重。台灣地處亞熱帶，夏季高溫多雨，極適合本病害的發生，1932 年由 Okabe 首度報導，吳氏等人於 1989 年報導指出，此病害自 1952 年已然成為台灣柑桔產業的重要病害 (吳等, 1989; 吳等, 1995)。

植物細菌性病害的防治，長久以來大多仰賴銅劑與抗生素的施用，抗藥性菌株的出現相當普遍，甚至已經出現抗銅性的柑桔潰瘍病菌 (邱, 2004)。此外，銅劑的大量使用造成環境污染、對自然界的生態產生負面影響、增加果園蟎類的危害，在酸性土壤條件下，更使得柑桔植株衰弱而影響到生長與產量。為解決上述種種問題，呼應花蓮縣無毒農業對無毒資材防治柑桔潰瘍病的迫切需要，以替代病蟲害綜合管理系統中不能使用的化學農藥，尋找可資應用之無毒防治資材便成為本研究的重要使命。

本研究首先進行柑桔潰瘍病菌之田間調查，自全台各地柑桔產區收集潰瘍病發病的樣本，帶回實驗室後進行潰瘍病菌的分離，11 個樣本中有 10 個樣本分離出菌落呈圓形、黃色、黏稠、邊緣完整、表面平滑之疑似菌株共 29 株；隨後進行

潰瘍病菌病原型屬性之專一性 PCR 檢測，結果顯示 10 個樣本中有 9 個樣本為 A 病原型菌株。此後即選用分離自花蓮縣壽豐鄉溪口村柑橘類樣本之柑桔潰瘍病菌 A 病原型菌株，進行後續接種與病害評估模式之建立、盆苗防治試驗，以及田間防治試驗。希望可以提供有機防治柑桔潰瘍病之可行方法或策略，以供農民及學界之參考。



第二章 前人研究

台灣柑桔產業現況

柑桔為臺灣分佈最廣、產量最高、產值最大的果樹，栽培種類極多，包括椪柑、桶柑、柳橙、文旦、白柚、檸檬、海梨柑、葡萄柚、金柑、茂谷柑、萊姆、明尼桔柚、晚崙西亞橙、臍橙等(蔡, 1988)。民國九十六年全國栽培面積約 33,298 公頃，其中以柳橙面積最大為 10,077 公頃，其次為椪柑 6,862 公頃，柚類 6,413 公頃，桶柑 3,684 公頃，總產量為 473,074 公噸(農業統計年報 2007 版)。柑桔產區分佈全國，椪柑主要產區分佈於苗栗、臺中、雲林、嘉義及臺南等縣；柳橙分佈於南投、雲林、嘉義及台南等縣；桶柑分佈於宜蘭、新竹、苗栗、臺中、花蓮及臺東等縣；文旦分佈於花蓮、臺南、苗栗、宜蘭等縣；檸檬多數種植於屏東縣；海梨柑為新竹縣特產；金柑為宜蘭縣特產；白柚主要種植於臺南、臺東及嘉義等縣；晚崙西亞橙為臺東縣重要特產(農業統計年報 2007 版)。臺灣柑桔種類繁多，週年皆有生產，如檸檬、萊姆全年生產，早熟種如麻豆文旦自八月下旬開始採收，椪柑自十月開始上市，柳橙自十一月採收，晚熟種如桶柑、茂谷柑自二月開始上市，晚崙西亞橙產期更晚，於三、四月上市。

供試柑桔品種介紹

柳橙〔*Citrus sinensis* (L.) Osbeck〕屬於甜橙類的一種，約在 1930~1936 年間自中國大陸引進，1952 年開始繁殖推廣種植。植株為常綠小喬木，生長勢強，樹冠呈直立；葉片呈橢圓形，先端銳尖，葉基鈍形，葉緣具不明顯之鈍鋸齒；花單生或腋生於枝端或葉腋，複總狀花序，花白色具芳香味，花期約在 3 月上旬至 3 月下旬；果實圓球形，果皮黃色或橙黃色，果肉金黃色，糖度約 9.8~18.2Brix，酸度約 0.28~1.9%，酸度低，甜味高，風味優。就產期而言，北部在每年 12 月至隔年 2 月，南部在每年 12 月至隔年 1 月，有輕微的隔年結果習性，產量高。性喜高溫，最適生長溫度為 23~29°C，土壤以排水良好之砂質壤土為佳，pH 值 5.5~6.5

最適宜（徐, 1991）。

椪柑（*Citrus reticulata* Blanco）約在 1775 年前自中國大陸引進。植株為常綠小喬木，生長勢強，樹冠開張或圓錐形，樹幹平滑呈灰褐色；葉片先端鈍頭或微凹，葉基銳形，全緣或稍微波浪狀；花單生或腋生於枝端或葉腋，白色具芳香味，北部花期在 3 月下旬至 4 月下旬，南部約 3 月左右；果實扁圓形或球形，先端凹入，具放射狀線紋，基部圓形，果皮濃橙色且粗糙，果肉橘黃色，果軸大且中空，平均糖度約 12Brix，柔軟多汁，風味優，甜度高，具有芳香味。產期在 10 月至 12 月，有隔年結果習性，產量中等。耐寒力差，栽培於中南部地區較適宜；若遇冬季溫度較高，果皮較厚，皮色也較淡（徐, 1991）。

麻豆白柚〔*Citrus grandis* (L.) Osbeck〕約於 1826 年，由麻豆鎮麻口里的農民陳丁通種植 1 棵白柚苗偶發實生變異而來，1904 年同里的農民陳自西向其分苗 1 棵栽植，其後由陳自西分苗推廣而成為麻豆名產，1927 年始稱為麻豆白柚。植株為常綠中喬木，樹勢頗強，幼年時樹冠呈直立，長成大樹後則呈圓形；葉片呈橢圓形，先端鈍尖，基部呈圓形或圓楔形，葉緣有大型的淺鈍鋸齒；花為總狀花序，色白且大，開花期在 3~4 月；果實呈扁球形或短球形，果頂平，果基圓，皮淡黃色，貯藏後呈濃黃色，果皮稍平滑，果肉白色，柔軟多汁，果汁糖度在 9~13Brix，酸度在 0.5~0.7%，風味佳，至為名貴。產期在 10 月下旬至 11 月，一般來說，至少要 5~6 年生的植株方可結果，10 年以上才進入盛果期。性喜高溫及日照充足的氣候，耐寒力較弱，尤以冬季嚴忌寒冷強風吹襲，生長適宜溫度為 23~29°C，較適合於台灣中南部地區栽培；最適當的土壤環境為土層深厚、富含有機質、充足且均衡的養分及微酸性、排水良好的砂質壤土（陳, 2000a; 謙, 1968）。

麻豆文旦〔*Citrus grandis* (L.) Osbeck〕原產於華南，於 1788 年自廣東引進。植株為常綠小喬木，樹勢強健；葉片大型，卵形，有翼葉，邊緣有大鋸齒但甚淺；花為總狀花序，表面、背面皆為白色，開花期在 3~4 月；果實呈倒卵形，果皮成熟時呈淡綠色、粗糙，果肉白色至淡黃綠色，甜度可達 12Brix，酸度約 0.4%，柔軟多汁，甜度高，酸度低，略有苦味。產期在九月上、中旬。性喜高溫，耐寒力

較弱，生長適宜溫度為 23~29°C，中南部地區栽培甚多；怕風害，易損傷果皮組織；土壤以排水良好之砂質壤土為佳（陳, 2000b；謙, 1968）。

檸檬〔*Citrus limon* (L.) Osbeck〕原產於印度、華南一帶，於西元 1910~1930 年自美國引進台灣試種。植株為常綠小喬木，生長勢強，樹冠開張；葉片大型，菱形或尖卵形，翼葉不明顯，邊緣呈鈍鋸齒狀；花單生或簇生於葉腋，為聚繖花序，表面白色，背面淺紫色，常年開花；果實呈長橢圓形，果皮成熟時黃色、粗糙，果肉為淡黃色，平均糖度約 8.1Brix，酸度 4.92~5.39%，果汁多，味酸。主要產期在秋季，但因常年開花結果，栽培管理良好之植株可周年收穫。性喜高溫，耐寒力弱，適合中南部高溫地區栽培，因常年開花結果，導致生長期、果實發育期常與果實成熟期及花芽分化期重疊，應以最具經濟價值之時期調節其產期（徐, 1991）。



柑桔潰瘍病之發生與危害概況

柑桔潰瘍病 (Citrus Bacterial Canker, CBC) 是目前國際柑桔栽培上最重要且最具破壞性的一種細菌性病害 (Civerolo, 1984)，而為各國防檢疫單位所重視。1913 年美國佛羅里達州出現柑桔潰瘍病，當時花費六百萬美元，採取徹底地焚燬、撲滅已罹病植株的工作，歷時二十年，方完全撲滅。此病害嚴重發生時，葉片大量掉落，植株光合作用大受影響，造成樹勢衰弱，產量減少，罹病果實不但外觀難看，市場價格低落，農民因而損失慘重（蘇等, 2003）。

柑桔潰瘍病最早的記錄發生於 1827~1831 年印度西北部的枸櫞 (*Citrus medica*)，以及 1842~1844 年印尼爪哇的萊姆 (*Citrus aurantifolia*)；中國最早的紀錄在南方的豆金柑 (*Forutnella hindsii*)；日本福岡則於 1899 年在臍橙上有此病的發生；台灣最早的記載是 1932 年，由 Okabe 首度報導，吳氏等人於 1989 年報導指出，此病在 1952 年已成為柑桔主要病害（吳等, 1989；吳等, 1995）。

柑桔潰瘍病廣泛地分佈於臺灣、日本、韓國、中國大陸、菲律賓、馬來西亞、

新加坡、緬甸、孟加拉、印尼、越南、高棉、泰國、斯里蘭卡、巴基斯坦、印度、尼泊爾、阿富汗、巴布亞新幾內亞、關島、馬里亞納群島、加羅林群島、剛果、塞席爾群島、馬達加斯加、重聚群島、美國、墨西哥、巴西、烏拉圭、巴拉圭、阿根廷、葉門、沙烏地阿拉伯等地(吳等, 1995)。

此病害在台灣亦廣泛分佈，台北、新竹、苗栗、台中、南投、彰化、雲林、嘉義、台南、高雄、屏東、宜蘭、花蓮、台東等地區所栽植的葡萄柚、甜橙(包括柳橙、晚生橙、臍橙、血橙、雪柑等)、南庄橙、檸檬、粗皮檸檬、廣東檸檬、溫州蜜柑、酸橙、扁橘、佛手柑、美女柑、萊姆、柚子、文旦、桶柑、椪柑、幸福、虎頭柑、枳柚、枳橙、枳殼等品種上皆有發生(吳等, 1995)。甜橙類、酸橘、檸檬、葡萄柚等為感病性品種，桶柑、椪柑、柚子及文旦只在幼苗期葉片上發生，為強抗性品種(蘇等, 2003)。

柑桔潰瘍病係由黃單胞桿菌屬之柑桔潰瘍病菌 *Xanthomonas campestris* pv. *citri* (Hasse 1915) Dye 1978 所引起，屬於革蘭氏陰性桿狀菌，大小為 $0.5\sim 0.7 \times 1.1\sim 2.0\mu\text{m}$ ，具極生單鞭毛，好氣性，單胞或呈短鏈狀聚集。在牛肉煎汁瓊脂(Difco nutrient agar)培養基上， 30°C 培養三至四天後，可形成圓形、黃色、黏稠、邊緣完整、表面平滑的菌落。生長溫度為 $10\sim 38^{\circ}\text{C}$ ，最適溫度為 $25\sim 30^{\circ}\text{C}$ (邱, 2004; 蘇等, 2003)。

柑桔潰瘍病菌菌株間的病原性具有差異性，依其對不同柑桔品種的致病能力及病徵表現，可將此病原細菌區分為五個病原型：A 病原型，又稱為亞洲型(Asiatic form)，主要分佈於亞洲，對葡萄柚、甜橙、檸檬、墨西哥萊姆危害最甚；B 病原型分佈於阿根廷、巴拉圭、烏拉圭，對檸檬、墨西哥萊姆具有強病原性；C 病原型分佈於巴西的聖保羅省，對墨西哥萊姆具有強病原性；D 病原型分佈於墨西哥，其病原性與 C 病原型相似，然僅在葉片及枝條上形成病斑；上述四病原型菌株皆可使罹病葉片產生突起、木栓化、外圍具有黃暈的病斑，其中 A 病原型分佈遍及全世界桔橘栽培區，毒力最強，寄主範圍最廣，除危害柑桔屬植株外，也危害部分芸香科植株；而 E 病原型分佈於美國佛羅里達州，在葡萄柚、甜橙、枳殼及枳

柚與 Single citrumelo 雜交種等葉片、枝條、果實上只形成扁平水浸狀斑點 (蘇等, 2003)。Vauterin 等人於 1995 年將柑桔潰瘍病菌的五種病原型重新命名為：*X. axonopodis* pv. *citri* (原 *X. campestris* pv. *citri* A 病原型)；*X. axonopodis* pv. *aurantifolii* (原 *X. campestris* pv. *citri* B、C、D 病原型)；*X. axonopodis* pv. *citrumelo* (原 *X. campestris* pv. *citri* E 病原型) (Vauterin *et al.*, 1995)。此外，Vernière *et al.* 在伊朗、沙烏地阿拉伯及阿曼等地區，自墨西哥萊姆植株上分離到部份菌株，將其接種到葡萄柚葉片後，僅在葡萄柚葉片產生似水痘病斑或扁平壞疽病斑，但是在墨西哥萊姆上則仍產生典型的潰瘍病斑，這些菌株被命名為 A*，有別於 A 病原型菌株 (Vernière *et al.*, 1998)；Sun *et al.* 在佛羅里達州分離到在葡萄柚葉片上會產生扁平壞疽病斑，但是在墨西哥萊姆上仍產生典型的潰瘍病斑之菌株，其寄主範圍僅侷限在墨西哥萊姆和 alemow (*Citrus macrophylla* Wester)，並將此菌株命名為 A^w，並且認為由西南亞地區國家及佛羅里達州所分離到的 A* 與 A^w 菌株為 Xac-A 病原型的亞群，其寄主範圍係屬於窄寄主範圍菌群，有別於廣寄主範圍菌群之 A 病原型菌株 (林等, 2009；Sun *et al.*, 2004)。

柑桔的葉片、果實、枝條可感染潰瘍病。在葉片上，首先出現水浸狀暗綠色細點，隨著病勢的進展，病斑逐漸擴大，中央部呈灰白色凹陷，周圍褐色木栓化，表皮破裂而粗糙堅硬；病斑形成初期雖為圓形，老舊病斑則頗不規則，常有多數病斑癒合成不規則形的大疤，同一病斑於葉片上下表面均可見到，在病斑邊緣常有黃色暈環，罹病葉片漸黃化後落葉。病斑大小視寄主種類而定，葡萄柚上為最大，其直徑可達 8 毫米，甜橙類次之，檸檬又次之。葡萄柚、檸檬、甜橙類等枝條上常出現病斑，枝條上的病斑和葉片上者非常相似，唯其邊緣缺乏黃暈，呈暗綠色油脂狀，嚴重時造成枝梢枯死。果實上的病斑初期為紅褐色、略隆起小點，隨著病勢進展，病斑逐漸擴大而與葉片上的病斑相類似，唯病斑表面木栓化更甚，外觀也更粗糙，常缺乏鮮明的黃暈，嚴重時造成早期落果 (吳等, 1995；蘇等, 2003)。

柑桔潰瘍病菌可在柑桔植株枝梢、葉片、果實上的病斑邊緣存活過冬多年

(Goto, 1992), 但是只要從植體組織內湧出後, 如果沒有任何遮蔽物, 被陽光直接照射或處於乾燥的環境中數小時, 就會快速死亡 (Graham, 2000)。病原細菌會分泌多醣體, 將病斑表面的菌體層層包起, 使之能夠存活較長的時間 (Pruvost *et al.*, 2002)。隔年春天於原來的病斑上繁殖, 在高溫多雨的條件下, 病斑上的病原細菌可在五天內增殖至 10 的 3-4 次方, 經氣孔湧出後成為二次接種源 (Gottwald *et al.*, 1988)。當病斑上的濕度飽和時, 病原菌可自多醣體中釋出, 並藉由雨水飛濺傳播至他處 (Pruvost *et al.*, 2002)。病原菌可經傷口 (Koizumi, 1983)、氣孔 (Graham *et al.*, 1992) 侵入植物體內, 栽培區的蟎類、潛葉蛾、鳳蝶幼蟲等危害嚴重時, 造成大量傷口, 有利本病入侵。在暴風雨時, 由於水份充足, 柑桔的葉片含水量可高達 $7 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ (Goto, 1992; Gottwald and Graham, 1992), 在這種狀態下只要 1-2 個病原菌進入傷口或氣孔, 即可造成感染 (Graham *et al.*, 1992)。此病最適感染溫度為 $20\sim 30^\circ\text{C}$ (Koizumi, 1985), 在熱帶、亞熱帶地區發生嚴重。生長中的植體組織較成熟組織易感病 (Gottwald and Graham, 1992), 過量施用氮肥會使得葉片延展期加長, 加重病勢 (童, 2002)。不同柑橘品種的抗感病性差異, 與氣孔的分佈、密度、開放大小有密切關係, 氣孔較大且平的品種易感病 (Gottwald, 1993)。病原菌可以在雜草和土壤中存活數日、數月, 乃至數年, 視有無寄主植物組織存在、自然環境中微生物的拮抗與競爭作用而定 (Goto, 1992; Graham *et al.*, 1989)。在台灣, 每年最早發病的時期是三至四月間, 但最容易發病的時期是五至九月 (蘇等, 2003)。病原菌亦可附於人畜、昆蟲、農具上而傳播 (蘇等, 2003), 但直接暴露於無生命體表面的病原菌, 不管有無陽光的照射, 在接種後的 24-72 小時後即無活性 (Graham, 2000)。

分子檢測之設計原理

Hartung 等於 1993 年開發出一套分子檢測工具, 可檢測柑桔潰瘍病菌之病原型 A, 乃針對此病原菌基因體上屬於 *avrBs3/pthA* gene family 的致病基因 *pthA* 所

設計的專一性引子對；此基因為在柑橘上引起增生型病徵之必要條件 (Cubero *et al.*, 2001; Hartung *et al.*, 1993)。

柑桔潰瘍病之防治策略

目前推薦於防治柑桔潰瘍病的策略包括：(1) 種植抗病或耐病品種，乃至於無病健康種苗的培育；(2) 加強田間衛生，務必剪除罹病枝條、葉片、果實並焚毀；(3) 勿施用過多氮肥，以免延緩組織成熟，使感染期加長；(4) 迎風面可種植防風林；(5) 防治蟎類、潛葉蛾、柑橘鳳蝶幼蟲等，減少傷口的產生；(6) 於四月至九月期間，適度使用化學藥劑，包括 4-4 式波爾多液、81.3%嘉賜銅可濕性粉劑、56%氧化亞銅可濕性粉劑等 (邱, 2004; 蘇等, 2003)。

無毒資材防治柑桔潰瘍病之背景介紹

植物細菌性病害的防治，長久以來大多仰賴銅劑與抗生素的施用，抗藥性菌株的出現相當普遍，甚至已經出現抗銅性的柑桔潰瘍病菌。此外，銅劑在高溫條件下易發生藥害，大量使用增加果園蟎類的危害並造成環境污染，在酸性土壤條件下，更使得柑桔植株衰弱而影響到生長與產量 (邱, 2004)。為解決上述種種問題，呼應花蓮縣無毒農業對無毒資材防治柑桔潰瘍病的迫切需要，以替代病蟲害綜合管理系統中不能使用的化學農藥，尋找可資應用之無毒防治資材便成為本研究的重要使命。

重碳酸鹽為含有重碳酸根 (HCO_3^-) 之化合物，包括碳酸氫鈉、碳酸氫鉀、碳酸氫銨等，其中以碳酸氫鈉 (亦稱小蘇打) 最早被應用於作物病害的防治。應用小蘇打當作殺菌劑並非是一項新的發現，早在 1933 年由 Hottes 氏編著出版的書「A Little Book of Climbing Plants」中已提到用稀釋 133 倍的小蘇打可有效防治玫瑰白粉病，而此項發現乃得自於蘇俄植物病理學家 A. de Yaczenski 之手 (林俊義, 2004)。重碳酸鹽之殺菌效果可能是藉由改變作物表面的 pH 值而達成 (Scarito *et al.*,

2007)，主要應用於防治白粉病，如玫瑰 (Horst *et al.*, 1992)、瓜類 (McGrath and Shishkoff, 1999)、葡萄 (Yildirim *et al.*, 2002)、番茄 (Demir *et al.*, 1999)、日衛茅 (Ziv and Hagiladi, 1993) 等，其對灰黴病菌菌落之生長具有抑制效果 (Palmer *et al.*, 1997)，亦對蘋果黑星病 (Jamar *et al.*, 2008)、玫瑰黑斑病 (Horst *et al.*, 1992)、草皮白絹病 (Punja and Grogan, 1982) 等具有防治效果。此外，重碳酸鹽可以有效抑制貯藏病害的發生，故被廣泛應用於馬鈴薯 (Mills *et al.*, 2006)、甜椒 (Fallik *et al.*, 1997)、洋香瓜 (Aharoni *et al.*, 1997)、蘋果 (Conway *et al.*, 2005)、漿果類 (Gabler and Smilanick, 2001)、石榴 (Palou *et al.*, 2007)、柑桔 (Smilanick *et al.*, 1999)、西洋梨 (Yao *et al.*, 2004) 等的採後處理流程。

西元 1933 年左右，科學家就觀察到植物在受到某些病原性較弱的微生物侵襲之後，會使該植物對其他病原菌具有較高的忍受性，此一現象被稱為系統性誘導抗病 (Systemic acquired resistance, SAR)，這種被誘導產生的抗病性抵抗的病原菌範圍相當廣泛，包括真菌、細菌、病毒等。1979 年，White 氏以水楊酸處理煙草，發現植株也會產生系統性的抗病能力。隨後有越來越多的報告指出，水楊酸確實能夠引發多種植物的系統性抗病能力而對病害產生防治效果，如水稻稻熱病 (Daw *et al.*, 2008)、小麥全蝕病 (Sari and Etebarian, 2009)、珍珠粟銹病 (Crampton *et al.*, 2009)、夏南瓜疫病 (Kone *et al.*, 2009)、胡瓜接種 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Rasmussen *et al.*, 1991)、番茄根瘤線蟲 (Molinari, 2008)、菸草癌腫病 (Anand *et al.*, 2008)、蠶豆之 bean yellow mosaic virus (Radwan *et al.*, 2008)、西洋梨採後青黴病與灰黴病 (Yu *et al.*, 2007)，且與非親和性病原菌所引發之系統性誘導抗病非常相似 (黃, 1997)。除了水楊酸以外，許多的植物二次代謝物，如生物鹼、花青素、類黃酮、奎寧、類固醇、三萜類等，被認為在植物的誘導抗病機制中扮演重要的角色，咖啡因就是其中一個例子。咖啡因是一種生物鹼，主要存在於咖啡豆與茶葉之中。有報導指出，菸草經基因轉殖而產生咖啡因之個體對於菸草嵌紋病毒和 *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* 有較佳的抗病力 (Kim and Sano, 2008)。

生物防治是指利用生物性因子而使病原菌活性降低，進而減少病害發生與降

低其危害程度的方法，其作用的機制包括共生作用（Antibiosis）、競爭作用（Competition）、超寄生作用（Hyperparasitism）、誘導抗病（Induced Resistance）、促進生長（Growth Promotion）等。枯草桿菌群（*Bacillus subtilis* group）是廣泛存在於土壤及植物體表面之革蘭氏陽性菌，具有週生鞭毛，遇到逆境時會形成內生孢子，可以產生多種抑制病原真菌和細菌的代謝產物和抗生物質。目前已知可被枯草桿菌抑制的真菌病害種類有菜豆銹病（Baker *et al.*, 1985）、葡萄枝枯病（Ferreira *et al.*, 1991）、桃褐腐病（Pusey *et al.*, 1988）、楓樹萎凋病（Hall *et al.*, 1986）、天竺葵銹病（Rytter *et al.*, 1989）等；可被枯草桿菌抑制的細菌病害種類有芒果黑斑病（周等, 1997）、柑橘潰瘍病（邱, 2004）、水稻白葉枯病（王, 2002）等。鏈黴菌是已知放線菌中最大的一個族群，其無性孢子呈鏈狀排列，廣泛存在於自然界中，可以產生多種二次代謝物和高達一千多種的抗生物質，許多重要的抗生素如放線菌素、鏈黴素、四環黴素、保米黴素、維利黴素、嘉賜黴素及康黴素等，都是由鏈黴菌所產出。一般而言，這些抗生素具有較低毒性及殘留性質，可以抑制病原微生物的生長和繁殖，或者能改變病原菌的形態而達到保護作物的效果（石與黃, 2005）。鏈黴菌可以防治多種植物病害，如疫病菌、腐霉菌、立枯絲核菌、鏽孢病菌、炭疽病菌、柑橘裙腐病、苦瓜連作障礙等（曾, 2008），另有報告指出鏈黴菌可分泌 Xanthostatin，對 *Xanthomonas* 屬病原細菌有抑制作用（Cheng *et al.*, 1987）。

油劑的使用目前以礦物性油為主，其係從原油中分餾而得的一系列碳氫化合物。油劑應用在農業上的時間很早，1760 年已有使用鯨魚油防治葉蟬的記載，1800 年以礦物油防治介殼蟲及蟎類得到優異的效果，但因所使用者屬於分子量和黏度較高的種類，對植物易發生藥害。此後由於精製度的提高及乳化劑的改良，礦物性油的殺蟲效果大增，藥害副作用減輕許多，確立了今日使用撒布用油類（Spray Oil）的基礎。油劑的殺蟲、殺菌作用是藉由在防治物表面具有被覆、侵蝕、燻蒸的特性，以及破壞其水份平衡的物理性質而達成。目前已知可廣泛用於防治蟎類、銹蟬、蚜蟲、粉蝨、木蝨、介殼蟲、潛葉蛾等蟲害，還可防治甘蔗葉枯病和香蕉

葉斑病 (廖, 2005)。此外，有報導指出，灑佈油劑可以降低蟲媒病毒病害的傳播 (Asjes and Blom-Barnhoorn, 2001)，亦可改變柑桔潛葉蛾尋找寄主及產卵的習性 (Liu *et al.*, 2006)。

大蒜素 (Allicin) 是大蒜球莖組織受傷後，細胞內之 alliin 與 alliin-lyase 作用後的產物，具有揮發性，是大蒜刺激性氣味的來源，每公克的新鮮大蒜球莖組織內約含有 2mg 之大蒜素。大蒜素對細胞膜具有滲透性，進入細胞後會與蛋白質上的硫醇基作用，因而具有殺死微生物的效果。培養試驗證實，大蒜素對於許多病原細菌、真菌、卵菌類具有抑制生長的效果 (Arya *et al.*, 1995; Bianchi *et al.*, 1997; Curtis *et al.*, 2004)。另外也有報導指出，大蒜素對於胡蘿蔔黑斑病 (*Alternaria blight*)、番茄葉片與馬鈴薯塊莖上的疫病菌危害、水稻稻熱病、露菌病、白腎豆基腐病等具有防治效果 (Cao and van Bruggen, 2001; Russell and Mussa, 1977; Slusarenko *et al.*, 2008)。



第三章 材料方法

一、柑桔潰瘍病菌之田間調查與分子鑑定

(一) 柑桔潰瘍病菌之田間調查

作者於 2009 年上半年陸續自新竹縣新埔鎮、彰化縣永靖鄉、花蓮縣壽豐鄉溪口村等地採集田間潰瘍病發病的樣本。採集到的柑桔品種共計有柳橙、椪柑、茂谷柑、海梨柑、葡萄柚、白柚、西施柚、帝王柚、文旦等。採樣時，先以修枝剪剪下帶健康葉和罹病葉的枝條，置於具保濕功能之夾鏈袋內後帶回實驗室。

分離柑桔潰瘍病菌前，皆先行拍照以記錄病斑型態，接著用解剖刀、攝子等工具切下不同病斑邊緣的病健部數塊，浸入 70% 酒精中表面消毒 1~2 秒，再浸泡於 10~20mL 的 PBS 緩衝液（購自 Sigma Diagnostics®）中 20 分鐘，取 1mL 之細菌懸浮液，進行序列稀釋至 10^{-5} ，取 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 稀釋濃度各 100 μ L，滴加在含 200mg/L cycloheximide（可抑制真菌生長）之 YPGA 培養基平板上，以玻璃抹棒塗抹均勻後，置於 25°C 生長箱培養數日（Golmohammadi *et al.*, 2007）。

等到細菌菌落長出後，即各選擇三個疑似菌落，利用稀釋平板法塗抹於牛肉煎汁培養基（Difco™ nutrient agar, NA）上，再純化一次後，用牙籤沾取單一菌落，置於 1mL 的無菌水中，於室溫下保存。

(二) 柑桔潰瘍病菌病原型屬性之專一性 PCR 檢測

檢測前一天先將待測菌株自無菌水中取出，滴加於胰化酪蛋白大豆洋菜培養基（Difco™ tryptic soy agar, TSA）平板上，以玻璃抹棒塗抹均勻後，置於 25°C 生長箱培養。檢測當天，先以牙籤沾取單一菌落，置於含有 20 μ L 0.5N NaOH 的微量離心管中，經過劇烈震盪後短暫離心，加入 20 μ L 1M Tris-HCl (pH 8.0) 混合均勻後，取 2 μ L 上述混合液作為 PCR 反應用之模板，置於 0.2mL PCR 專用離心管中，加入 2.5 μ L 10 μ M primer pair [柑桔潰瘍病菌 A 病原型的專一性引子對為 Xac 2 (5'-CACGGGTGCAAAAAATCTTC-3') 及 Xac 3 (5'-TGGTGTCGCTTGT

ATGG-3') (Hartung *et al.*, 1993)]、2 μ L 2.5mM dNTP、2.5 μ L PCR buffer、2.5 μ L 25mM Mg²⁺、2.5 units Taq DNA polymerase (購自 Super-Therm, Inc.)，加水調整體積至 25 μ L，以上所有流程皆置於冰上操作，混合均均後短暫離心，置於聚合酶連鎖反應器 (ASTEPC320) 中進行 PCR 反應，第 1 個反應設定溫度為 94 $^{\circ}$ C、5 分鐘，隨後的 40 個溫度循環依下列設定進行：93 $^{\circ}$ C、30 秒；58 $^{\circ}$ C、30 秒；72 $^{\circ}$ C、45 秒，最後再以 72 $^{\circ}$ C 反應 2 分鐘 (Hartung *et al.*, 1993)。反應完成後的產物以 1.5% 的洋菜膠體進行電泳分析，電泳緩衝液使用 0.5X TAE buffer (20mM Tris-acetate, 0.5mM EDTA, pH 8.0)，以 100 bp DNA ladder (購自 Violet Bioscience, Inc.) 作為判別產物分子量大小的依據，電泳條件為 100V、30 分鐘，電泳結果以 0.5 μ g/mL ethidium bromide 染色 2~3 分鐘，以自來水退染 1~2 分鐘，並以數位化影像處理與分析系統 (AlphaImager[®] AlphaEase FC Software) 拍照存檔。



二、柑桔潰瘍病菌之接種與病害評估模式之建立

(一) 接種源之製備

接種源選自花蓮縣壽豐鄉溪口村柑桔類樣本上所分離到的潰瘍病菌。製備細菌懸浮液時，取保存於無菌水中的菌株，滴加於 TSA 培養基平板上，以玻璃抹棒塗抹均勻，置於 28°C 生長箱中 36 個小時後，沾取 2~3 個菌落，懸浮於 50 μ L PBS 緩衝液中，並滴加入牛肉煎汁液態培養基 (Nutrient Broth) 內，以 25°C 振盪培養 30 個小時後，將離心機 (Beckman Coulter Avanti J-E High-Performance Centrifuge) 條件設定為 5,000 rpm、10 分鐘、25°C，連續離心三次，將所得之細菌菌體以蒸餾水懸浮後，序列稀釋至 10⁻³，再以分光光度計 (Eppendorf® Biophotometer) 測量吸光值，並調整 OD₆₀₀ 值為 0.3 (濃度約為 1 \times 10⁸ cfu/mL)，最後稀釋為 1 \times 10⁵ cfu/mL，作為往後所有試驗使用之接種源。

(二) 供試柑橘植株之準備

取花蓮縣無毒農戶提供的柳橙、椪柑、白柚種子，置於空氣清淨生態箱 (購自森態科技) 中育苗，待幼苗兩個月大時將其移植於口徑 3 吋的小花盆內，栽培介質以 Bas Van Buuren 泥炭土：三號根基旺：順豐牌有機肥 = 5：5：1 混合，移植完成的植株置於中非大樓後棟照光生長架上備用，如圖一。



圖一、中非大樓後棟三樓房間內擺設圖。

(三) 接種方法

接種方式採用穿刺噴霧接種法，以五支零號蟲針插在保麗龍中，排列成一直線，作為接種器，選取柑桔植株較成熟的葉片，輕輕壓刺製造傷口後，隔天將配置好的細菌懸浮液以壓力噴瓶均勻噴灑於葉片上，直到整個葉面潮濕為止，套上塑膠袋保濕 24 小時後拆除塑膠袋，並持續觀察發病之情形。

(四) 試驗設計

本項試驗分別於柳橙、椪柑、白柚植株上進行，分為接種實驗組和健康對照組兩類，各組分述如下：

(1) 接種實驗組：

以穿刺噴霧接種法接種柑桔潰瘍病，每一處理皆取 5 盆、共 5 株做為重複，共製造 100 個傷口，每日澆水並觀察其病徵表現。

(2) 健康對照組

以接種器輕輕壓刺製造傷口後，不接種柑桔潰瘍病，每一處理皆取 2 盆、共 2 株做為重複，共製造 40 個傷口，每日澆水並觀察其變化。

(五) 實驗結果之紀錄與分析

接種後即逐日觀察計數有黃褐色、木栓化凸起之典型病斑佔接種傷口數的比例，以推算發病百分比，連續觀察 14 天，每日澆水並紀錄溫濕度變化；數據間之比較統計以最小顯著差異法（Least Significant Difference Test）進行分析。

三、非農藥防治資材對柑桔之藥害試驗

(一) 供試柑桔植株之準備

準備方式如前所述，但移植完成的植株置於中非大樓前棟頂樓棚架下備用，如圖二。



圖二、中非大樓前棟頂樓棚架擺設圖。

(二) 盆栽試驗之各項處理：

A. 非農藥防治資材實驗組

- (1) 0.16% KHCO_3 ：稱取 1.6g KHCO_3 粉末，加入 1L 蒸餾水中，攪拌使之均勻溶解，最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。
- (2) 0.16% NaHCO_3 ：稱取 1.6g NaHCO_3 粉末，加入 1L 蒸餾水中，攪拌使之均勻溶解，最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。
- (3) 4.0mM Salicylic acid：首先稱取 0.54g Salicylic acid 粉末於 10mL 95% 酒精中，攪拌使之均勻溶解，再與 990mL 蒸餾水均勻混合，最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。
- (4) 0.2% Caffeine：稱取 2g Caffeine 粉末，加入 1L 蒸餾水中，攪拌使之均勻溶解，

最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。

(5) 稀釋 400 倍之鏈黴菌發酵物可濕性粉劑：稱取 2.5g 之鏈黴菌發酵物可濕性粉劑（購自百泰生物科技），加入 1L 蒸餾水中，攪拌使之完全懸浮，最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。

(6) 稀釋 250 倍之 50% 枯草桿菌可濕性粉劑：稱取 4g 之 50% 枯草桿菌可濕性粉劑（購自百泰生物科技），加入 1L 蒸餾水中，攪拌使之完全懸浮，最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。

(7) 稀釋 250 倍之窄域油：吸取 4mL 窄域油（購自玉田地有限公司），加入 996mL 蒸餾水中，攪拌使之混合均勻，不須加入 Tween 20 做為展著劑。

(8) 2% 大蒜萃取液：稱取 120g 已去皮之新鮮大蒜（購自頂好超市），加入 240mL 95% 酒精，置於果汁機中打碎，倒入血清瓶中，存放於 4°C 冰箱一個禮拜後，將萃取液濾出後備用。配置時，先將 40mL 大蒜萃取液與 960mL 蒸餾水混合均勻，最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。



B. 傳統防治藥劑實驗組

(1) 稀釋 1,000 倍之 81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑：稱取 1g 之 81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑（購自大勝化學工業），加入 1L 蒸餾水中，攪拌使之完全懸浮，最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。

(2) 4-4 式波爾多液：將 4g CaO 溶解於 200mL 蒸餾水中，使用攪拌子攪拌均勻，生成難溶性之 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 水溶液；將 4g CuSO_4 溶解於 800mL 蒸餾水中，攪拌使之完全溶解；待兩溶液溫度相同時，一邊攪拌，一邊將 CuSO_4 水溶液緩慢倒入 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 水溶液中；最後加入 1mL Tween 20 做為展著劑。

C. 對照組

(1) 0.1% Tween 20：將 1mL Tween 20 加入 1L 蒸餾水中，攪拌使之混合均勻。

(2) 不噴灑任何防治資材

(三) 試驗設計

本項試驗係在中非大樓前棟頂樓棚架下，分別於柳橙、椪柑、白柚之盆栽上進行，以壓力噴瓶將各項防治資材均勻噴灑於植株葉片上，另有噴灑 0.1% Tween 20 及不噴灑任何防治資材之對照組，共 12 個處理，每處理各 2 盆植株，每隔 7 天噴灑各項防治資材一次。

(四) 實驗結果之紀錄與分析

結果連續觀察 14 天，每日澆水、紀錄結果與溫濕度變化。



四、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之盆苗防治試驗

(一) 供試柑桔植株之準備

準備方式如前所述，但移植完成的植株置於中非大樓後棟照光生長架上與前棟頂樓棚架下備用。

(二) 接種源之製備

來源及製備方式如前所述，濃度為 1×10^5 cfu/mL 之細菌懸浮液。

(三) 盆苗防治試驗之各項處理：

A. 非農藥防治資材實驗組

處理項目如前所述，總計有 0.16% KHCO_3 、0.16% NaHCO_3 、4.0mM Salicylic acid、0.2% Caffeine、稀釋 400 倍之鏈黴菌發酵物可濕性粉劑、稀釋 250 倍之 50% 枯草桿菌可濕性粉劑、稀釋 250 倍之窄域油、2% 大蒜萃取液等 8 項。

B. 傳統防治藥劑實驗組

處理項目如前所述，總計有稀釋 1,000 倍之 81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑、4-4 式波爾多液等 2 項。

C. 發病對照組：噴灑 0.1% Tween 20，並行接種者。

D. 健康對照組：僅製造傷口，但不進行接種，亦不噴灑任何防治資材。

(四) 防治處理方式

於接種前一天，以接種器在柑桔植株之較成熟葉片上輕輕刺壓製造傷口，隨

即噴灑各項防治資材，隔天再將配置好的細菌懸浮液，以壓力噴瓶均勻噴灑於葉片上，直到整個葉面潮濕為止，套上塑膠袋保濕 24 小時後拆除塑膠袋，並持續觀察發病之情形。

(五) 試驗設計

本項試驗係在中非大樓後棟照光生長架上與前棟頂樓棚架下，分別於柳橙、椪柑、白柚之盆栽上進行，以壓力噴瓶將各項防治資材均勻噴灑於植株葉片上，共 12 個處理，每處理各 5 盆植株、10 片葉子，共製造 100 個傷口，每隔 7 天噴灑各項防治資材一次。

本項防治試驗總共進行三批次之實驗，第一次實驗在中非後棟三樓照光生長架上進行，第二次和第三次實驗在中非前棟頂樓棚架下進行，第一次實驗與第二、三次實驗在日期上相差 7 天。

(六) 實驗結果之紀錄與分析

如前所述，紀錄發病傷口數及溫濕度變化，藉以推算發病百分比，並以最小顯著差異法進行數據平均值之比較。



五、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之田間防治試驗

(一) 供試柑桔植株之準備

使用台灣大學農業試驗場舟山路標本園內之柳橙、文旦、檸檬植株各兩棵，皆為五年生以上，已開始產果（圖三、圖四、圖五）。



圖三、田間試驗使用之柳橙植株。



圖四、田間試驗使用之文旦植株。



圖五、田間試驗使用之檸檬植株。

(二) 接種源之製備

來源及製備方式如前所述，濃度為 1×10^5 cfu/mL 之細菌懸浮液。

(三) 田間防治試驗之各項處理：

根據盆苗防治試驗之結果，選出 5 項防治資材進行試驗，分述如下：

A. 非農藥防治資材實驗組

處理項目有 4.0mM Salicylic acid、稀釋 400 倍之鏈黴菌發酵物可濕性粉劑、稀釋 250 倍之窄域油、2% 大蒜萃取液等 4 項。

B. 傳統防治藥劑實驗組：噴灑 4-4 式波爾多液。

C. 發病對照組：噴灑 0.1% Tween 20。

D. 健康對照組：僅製造傷口，但不噴灑任何防治資材。



(四) 防治處理方式

如前所述，於接種前一天製造傷口，並噴灑各項防治資材，隔天再以細菌懸浮液噴霧接種，同時進行保濕 24 小時，再觀察發病之情形。

(五) 試驗設計

本項試驗分別於柳橙、文旦、檸檬之田間植株上進行，每處理各選 5 片葉子，共製造 100 個傷口，即以壓力噴瓶將各項防治資材均勻噴灑於植株葉片上，共 7 個處理，一日之後再行接種。每次實驗使用柳橙、文旦、檸檬植株各 1 棵，共進行 2 次實驗，同時進行。

(六) 實驗結果之紀錄與分析

如前所述，紀錄發病傷口數及溫濕度變化，藉以推算發病百分比，並以最小顯著差異法進行數據平均值之比較。

第四章 結果

一、柑桔潰瘍病菌之田間調查與分子鑑定

(一) 柑桔潰瘍病菌之田間調查

本研究於 2009 年自田間採集到的柑桔潰瘍病樣本，分別來自新竹縣新埔鎮、彰化縣永靖鄉、花蓮縣壽豐鄉溪口村等地，其中新竹縣新埔鎮有柳橙（編號為 1）、椪柑（編號為 2）、茂谷柑（編號為 3）、海梨柑（編號為 4）、葡萄柚（編號為 5）等樣本，彰化縣永靖鄉有葡萄柚（編號為 6）、白柚（編號為 7）、西施柚（編號為 8）、帝王柚（編號為 9）、文旦（編號為 10）等樣本，花蓮縣壽豐鄉溪口村有一柑桔類作物之樣本（編號為 11）。

在新竹縣新埔鎮採集到的樣本中，柳橙潰瘍病的病徵為病斑周圍呈現深褐色木栓化突起，有輕微黃色暈圈（圖六）；椪柑、海梨柑、葡萄柚潰瘍病的病斑周圍呈現深褐色木栓化突起，但沒有黃色暈圈，其中海梨柑的病斑疑似有 *Alternaria* 屬或 *Colletotrichum* 屬真菌複合感染（圖七、圖八、圖九）；茂谷柑潰瘍病的病斑周圍則呈現淺褐色木栓化、水浸狀突起，有輕微黃色暈圈（圖十）。

在彰化縣永靖鄉採集到的樣本中，葡萄柚潰瘍病的病徵為病斑周圍呈現淺褐色木栓化、水浸狀突起，有明顯黃色暈圈（圖十一）；白柚潰瘍病的病斑周圍呈現淺褐色木栓化、水浸狀突起，具中等大小之黃色暈圈（圖十二）；西施柚潰瘍病的病斑周圍呈現淺褐色木栓化，有明顯黃色暈圈（圖十三）；帝王柚潰瘍病的病斑周圍呈現深淺交錯之木栓化，具中等大小之黃色暈圈（圖十四）；文旦潰瘍病的病斑周圍呈現淺褐色木栓化、水浸狀突起，有中等大小之黃色暈圈（圖十五）。

在花蓮縣壽豐鄉溪口村採集到的柑桔類樣本上，病斑中央呈現淺褐色明顯木栓化突起，病斑周圍呈現深褐色，具中等大小之黃色暈圈（圖十六）。

分離柑桔潰瘍病菌的實驗中，除了新竹縣新埔鎮的葡萄柚樣本以外，其餘樣本皆分離出圓形、黃色、黏稠、邊緣完整、表面平滑的疑似菌落（圖十七），是否為柑桔潰瘍病菌 A 病原型，則尚待分子方法鑑定。

以無菌水保存柑桔潰瘍病菌疑似菌落的方法，在保存時間超過三個月後，取出細菌懸浮液，塗抹於 TSA 培養基平板上，兩天後仍可長出大量菌落，可見此一方法可以應用於柑桔潰瘍病菌之短時間保存。

(二) 柑桔潰瘍病菌病原型屬性之專一性 PCR 檢測

以柑桔潰瘍病菌 A 病原型的專一性引子對 [Xac 2 (5'-CACGGGTGCAAAA AATCTTC-3') 及 Xac 3 (5'-TGGTGTCGCTTGTATGG-3')] 針對田間調查所分離到的疑似菌落進行專一性 PCR 檢測，並以無菌水做為負對照組。檢測結果顯示，除了新竹縣新埔鎮的海梨柑樣本以外，其餘樣本皆有柑桔潰瘍病菌 A 病原型的存在，即增幅出一 200 bp 大小之專一性片段，而負對照組 (NC) 則無 (圖十八)。





圖六、採集自新竹縣新埔鎮之柳橙潰瘍病樣本。

Fig. 6. Citrus bacterial canker on oranges from Sin-Po, Hsin-Chu.



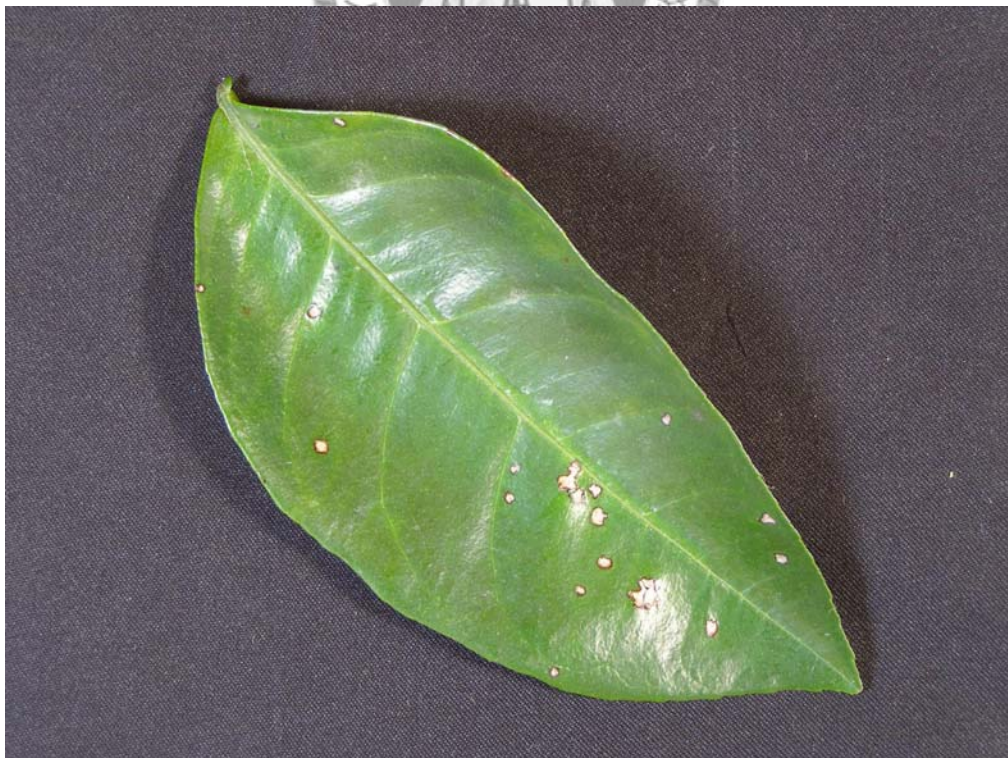
圖七、採集自新竹縣新埔鎮之椪柑潰瘍病樣本。

Fig. 7. Citrus bacterial canker on ponkan from Sin-Po, Hsin-Chu.



圖八、採集自新竹縣新埔鎮之海梨柑潰瘍病樣本。

Fig. 8. Citrus bacterial canker on Hailigan from Sin-Po, Hsin-Chu.



圖九、採集自新竹縣新埔鎮之葡萄柚潰瘍病樣本。

Fig. 9. Citrus bacterial canker on grapefruit from Sin-Po, Hsin-Chu.



圖十、採集自新竹縣新埔鎮之茂谷柑潰瘍病樣本。

Fig. 10. Citrus bacterial canker on murcott from Sin-Po, Hsin-Chu.



圖十一、採集自彰化縣永靖鄉之葡萄柚潰瘍病樣本。

Fig. 11. Citrus bacterial canker on grapefruit from Yeong-Jing, Chang-Hua.



圖十二、採集自彰化縣永靖鄉之白柚潰瘍病樣本。

Fig. 12. Citrus bacterial canker on Peiyu from Yeong-Jing, Chang-Hua.



圖十三、採集自彰化縣永靖鄉之西施柚潰瘍病樣本。

Fig. 13. Citrus bacterial canker on Hsishihyu from Yeong-Jing, Chang-Hua.



圖十四、採集自彰化縣永靖鄉之帝王柚潰瘍病樣本。

Fig. 14. Citrus bacterial canker on Tiwanghyu from Yeong-Jing, Chang-Hua.



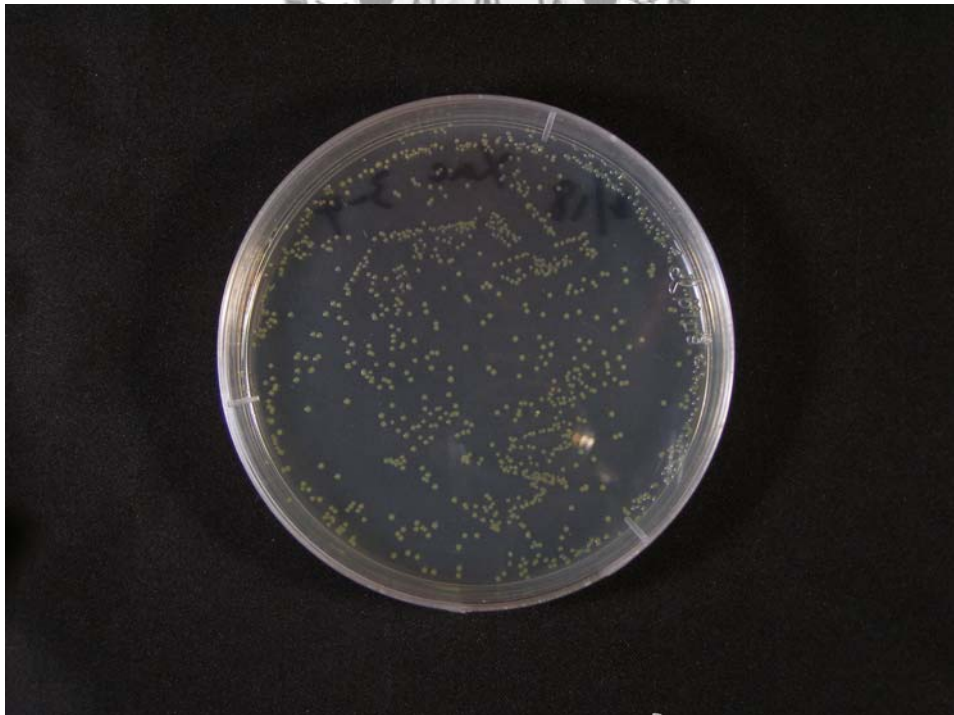
圖十五、採集自彰化縣永靖鄉之文旦潰瘍病樣本。

Fig. 15. Citrus bacterial canker on pomelos from Yeong-Jing, Chang-Hua.



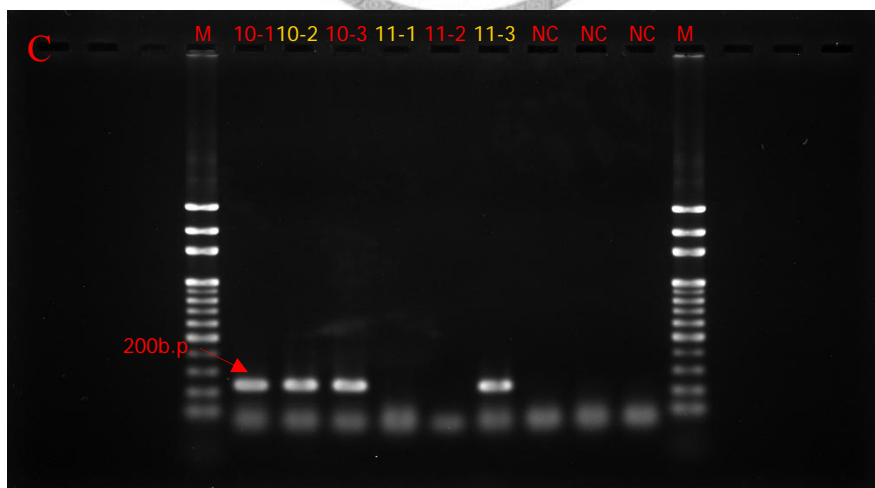
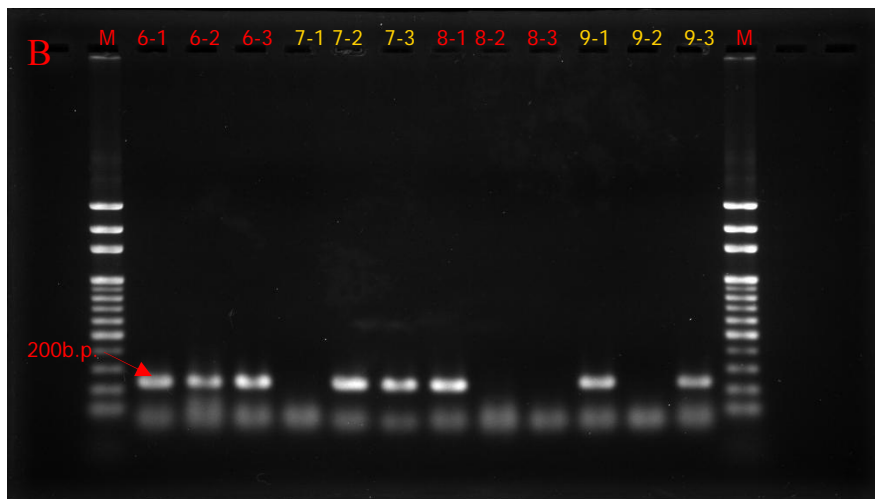
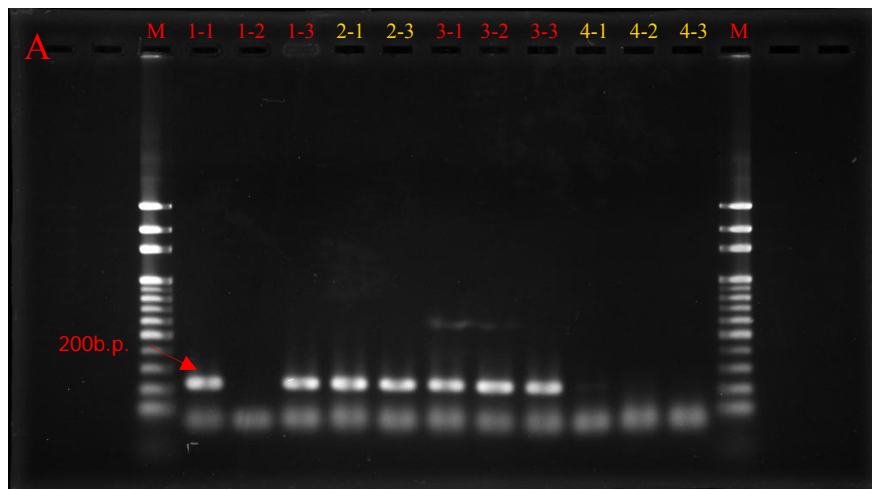
圖十六、採集自花蓮縣壽豐鄉溪口村之柑桔潰瘍病樣本。

Fig. 16. Citrus bacterial canker on unknown citrus crop from Shou-Feng, Hua-Lien.



圖十七、生長於 NA 培養基平板上之柑桔潰瘍病疑似菌落。

Fig. 17. Colony of *Xanthomonas campestris* on NA plate.



圖十八、針對田間採樣所分離到的柑桔潰瘍病疑似菌落進行專一性 PCR 檢測之結果。圖 A 中，1-1~1-3 之菌株來自新竹縣新埔鎮之柳橙潰瘍病樣本，2-1、2-3 之菌株來自新竹縣新埔鎮之椪柑潰瘍病樣本，3-1~3-3 之菌株來自新竹縣新埔鎮之茂谷柑潰瘍病樣本，4-1~4-3 之菌株來自新竹縣新埔鎮之海梨柑潰瘍病樣本。圖 B

中，6-1~6-3 之菌株來自彰化縣永靖鄉之葡萄柚潰瘍病樣本，7-1~7-3 之菌株來自彰化縣永靖鄉之白柚潰瘍病樣本，8-1~8-3 之菌株來自彰化縣永靖鄉之西施柚潰瘍病樣本，9-1~9-3 之菌株來自彰化縣永靖鄉之帝王柚潰瘍病樣本。圖 C 中，10-1~10-3 之菌株來自彰化縣永靖鄉之文旦潰瘍病樣本，11-1~11-3 之菌株來自花蓮縣溪口村之柑桔類樣本，NC 組為僅加入無菌水之負對照組，M 為分子標記。

Fig. 18. Detection of pathotype A characteristics among *Xanthomonas campestris* strains isolated from field samples by PCR amplification with the application of pathotype A specific primer pairs Xac 2 (5'-CACGGGTGCAAAAATCTTC-3') / Xac 3 (5'-TGGTGTCGCTTGTATGG-3'). In Fig. A, strain 1-1~1-3 are from samples of CBC on oranges at Sin-Po, Hsin-Chu, strain 2-1 and 2-3 on ponkans, strain 3-1~3-3 on murcotts, and strain 4-1~4-3 on Hailigan. In Fig. B, stain 6-1~6-3 are from samples of CBC on grapefruit at Yeong-Jing, Chang-Hua, strain 7-1~7-3 on Peiyu, strain 8-1~8-3 on Hsishihyu, and strain 9-1~9-3 on Tiwanghyu. In Fig. C, strain 10-1~10-3 are from samples of CBC on pomelos at Yeong-Jing, Chang-Hua, and strain 11-1~11-3 on unknown citrus crop at Shou-Feng, Hua-Lien. Only sterile water is added as template in negative control (NC). M, molecular weight marker, arrow indicates the pathotype A specific fragment (about 200 bp) amplified.

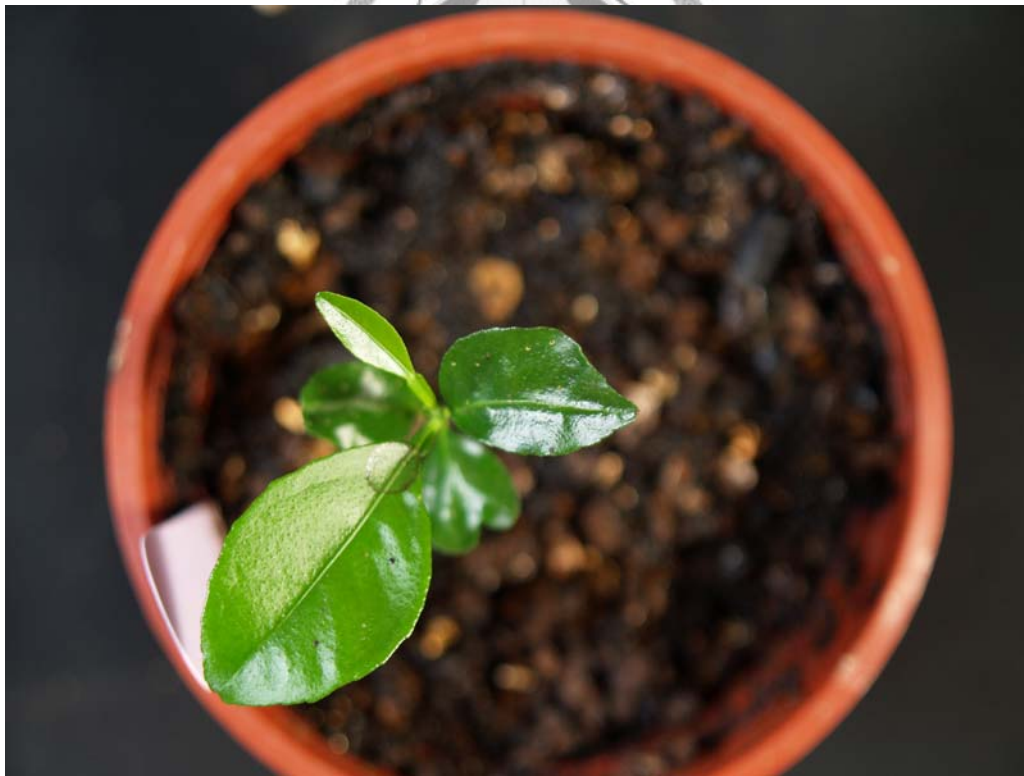
二、柑桔潰瘍病菌之接種與病害評估模式之建立

本項試驗使用自花蓮縣壽豐鄉溪口村柑桔類樣本上分離所得之柑桔潰瘍病菌 A 病原型菌株 (編號為 11-3)，作為接種源，接種濃度為 1×10^5 cfu/mL，以穿刺噴霧接種法對柳橙、椪柑、白柚進行接種。

接種後第十六天，柳橙葉片上表現之病徵為淺褐色木栓化，周圍水浸狀並有輕微黃色暈圈 (圖十九)；椪柑發病程度不明顯，病徵為輕微淺褐色木栓化，沒有黃色暈圈 (圖二十)；白柚發病嚴重，葉片上除淺褐色木栓化以外，水浸狀凸起十分明顯，周圍有輕微黃色暈圈 (圖二十一)。

就發病率而言，白柚發病率最嚴重，柳橙次之，椪柑發病率最輕微。白柚於第八天開始迅速發病，第十四天的發病率達到 17% 之多；柳橙自第七天開始發病，第十四天的發病率達到 11%；椪柑自第十一天開始發病，為最晚開始發病者，第十四天的發病率僅達到 5% (圖二十二)。





圖十九、上圖為以柑桔潰瘍病菌（分離株 11-3）人工接種 16 天後於柳橙葉片上表現之病徵；下圖為健康對照組。

Fig. 19. The above are symptoms of inoculating CBC isolate 11-3 on leaves of oranges at Day 16; the below is result of healthy control.



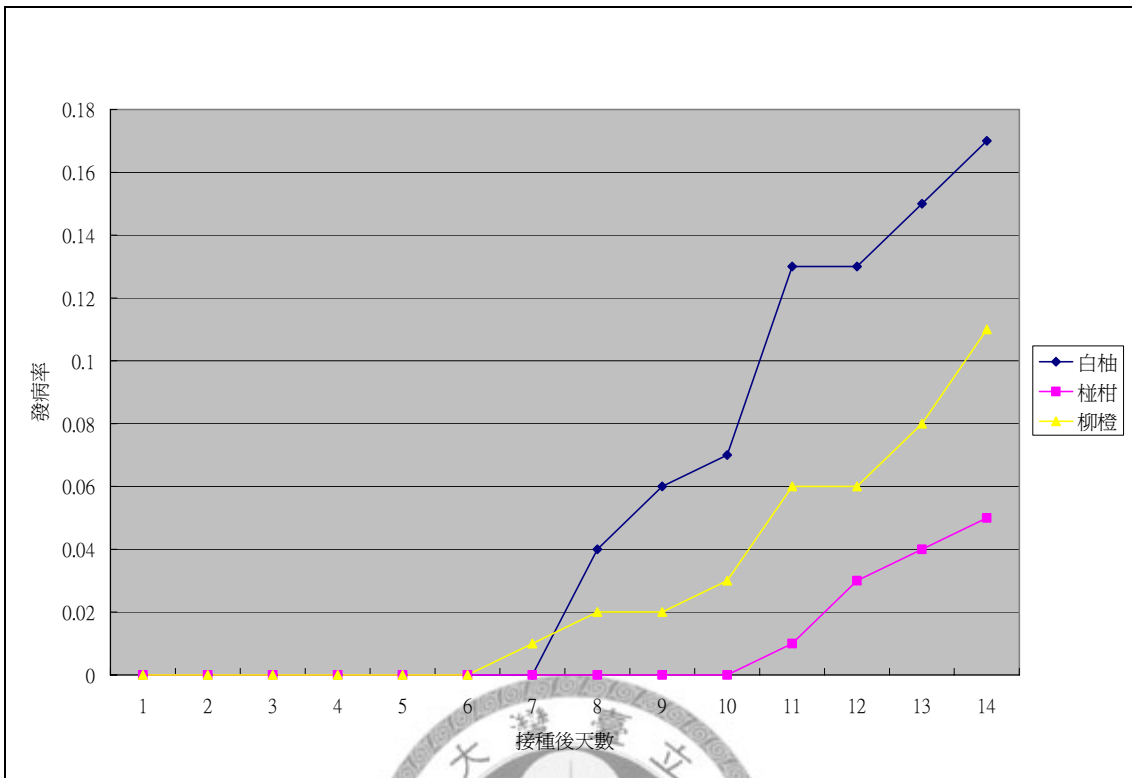
圖二十、上圖為以柑桔潰瘍病菌（分離株 11-3）人工接種 16 天後於極柑葉片上表現之病徵；下圖為健康對照組。

Fig. 20. The above are symptoms of inoculating CBC isolate 11-3 on leaves of ponkan at Day 16; the below is result of healthy control.



圖二十一、上圖為以柑桔潰瘍病菌（分離株 11-3）人工接種 16 天後於白柚葉片上表現之病徵；下圖為健康對照組。

Fig. 21. The above are symptoms of inoculating CBC isolate 11-3 on leaves of Peiyu at Day 16; the below is result of healthy control.



圖二十二、接種柑桔潰瘍病於柳橙、椪柑、白柚植株上之發病情形。

Fig. 22. Disease progress of CBC on oranges, ponkan, and Peiyu.

三、非農藥防治資材對柑桔之藥害試驗

本項試驗係在中非大樓前棟頂樓棚架下，分別於柳橙、椪柑、白柚植株上進行。處理項目總計有 0.16% KHCO_3 、0.16% NaHCO_3 、4.0mM Salicylic acid、0.2% Caffeine、稀釋 400 倍之鏈黴菌發酵物可濕性粉劑、稀釋 250 倍之 50% 枯草桿菌可濕性粉劑、稀釋 250 倍之窄域油、2% 大蒜萃取液、稀釋 1,000 倍之 81.3% 嘉賜銅可濕性粉劑、4-4 式波爾多液、0.1% Tween 20、不噴灑任何防治資材等 12 項，所有處理皆不產生藥害。



四、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之盆苗防治試驗

本項試驗分別於柳橙、椪柑、白柚之盆苗上進行，除了健康與發病兩種對照組外，另有非農藥防治資材與傳統防治藥劑實驗組。發現健康對照組全程皆未發病，而柳橙之發病對照組於接種後第五天開始發病，椪柑、白柚之發病對照組於接種後第六天開始發病。波爾多液的防治效果相當好，幾乎能完全壓抑病勢的進展，相較之下，嘉賜銅的防治效果欠佳，甚至比某些非農藥防治資材更差，茲將各項處理之盆苗防治試驗結果分述如下：

非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之盆苗防治試驗結果如表一到四及圖二十三。發現噴灑咖啡因可以延遲發病達四天之久，第十四天之防治效果達 74.2%；噴灑大蒜萃取物可以延遲發病兩天左右，第十四天之防治效果達 57%；前述兩種非農藥防治資材之防治效果皆較嘉賜銅良好，嘉賜銅於第十四天之防治效果僅 38.7%；窄域油會加重病勢發展，第十四天之防治效果為-50.5%；其餘非農藥防治資材不具明顯防治效果。

非農藥防治資材對椪柑潰瘍病之盆苗防治試驗結果如表五到八及圖二十四。發現噴灑鏈黴菌發酵物可以延遲發病一天左右，第十四天之防治效果達 68.5%；噴灑水楊酸亦可延遲發病一天左右，第十四天之防治效果達 31.7%；噴灑嘉賜銅之發病情形與鏈黴菌發酵物相當，第十四天之防治效果達 72.2%；窄域油會使植株提早四天發病，並加重病勢發展，第十四天之防治效果為-251.9%；其餘非農藥防治資材不具明顯防治效果。

非農藥防治資材對白柚潰瘍病之盆苗防治試驗結果如表九到十二及圖二十五。發現噴灑水楊酸無法延遲植株發病，但第十四天之防治效果達 53.4%；噴灑鏈黴菌發酵物可以延遲發病一天左右，第十四天之防治效果達 38.1%；噴灑嘉賜銅之發病情形與鏈黴菌發酵物相當，第十四天之防治效果達 38.1%；窄域油會使植株提早一天發病，並加重病勢發展，第十四天之防治效果為-71.2%；咖啡因、枯草桿菌具些許效用，第十四天之防治效果分別為 24.6%、20.3%；其餘非農藥防

治資材不具明顯防治效果。

表一、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第一次盆苗防治試驗結果。

Table 1. Result of first experiment of non-pesticide control material against CBC on oranges in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%) **	處理 14 天後 之防治效果 (%) **
健康對照組	0 c	0 c	-	-
發病對照組	0.45	0.61	-	-
碳酸氫鉀	0.28	0.66	37.8	-8.2
碳酸氫鈉	0.31	0.48	31.1	21.3
水楊酸	0.27	0.6	40	1.6
咖啡因	0.18	0.47	60	23
鏈黴菌發酵物	0.34	0.62	23.5	-2
枯草桿菌	0.36	0.69	20	-13.1
窄域油	0.08	0.25	82.2	59
大蒜萃取物	0.02	0.09	95.6	85.2
嘉賜銅	0.15	0.51	66.7	16.4
波爾多液	0	0	100	100

* 本次實驗於中非大樓後棟照光生長架上進行。

* This experiment is proceeded on shelves with light in the rear building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表二、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第二次盆苗防治試驗結果。

Table 2. Result of second experiment of non-pesticide control material against CBC on oranges in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**	處理 14 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.17	0.21	-	-
碳酸氫鉀	0.02	0.13	88.2	38.1
碳酸氫鈉	0.05	0.1	70.6	52.4
水楊酸	0.07	0.08	58.8	61.9
咖啡因	0.04	0.08	76.5	61.9
鏈黴菌發酵物	0.01	0.03	93.5	84.1
枯草桿菌	0.04	0.05	77.9	76.2
窄域油	0.53	0.54	-211.8	-157.1
大蒜萃取物	0.07	0.09	58.8	57.1
嘉賜銅	0	0.01	100	95.2
波爾多液	0.01	0.01	94.1	95.2

* 本次實驗於中非大樓前棟頂樓左方棚架下進行

* This experiment is proceeded on the left shelves with cover on the roof of the front building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表三、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第三次盆苗防治試驗結果。

Table 3. Result of third experiment of non-pesticide control material against CBC on oranges in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**	處理 14 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.08	0.11	-	-
碳酸氫鉀	0.1	0.17	-25	-54.5
碳酸氫鈉	0.14	0.16	-75	-45.5
水楊酸	0.06	0.1	25	9.1
咖啡因	0.04	0.07	50	36.4
鏈黴菌發酵物	0.02	0.03	75	72.7
枯草桿菌	0.19	0.23	-137.5	-109.1
窄域油	0.57	0.61	-612.5	-454.5
大蒜萃取物	0.15	0.22	-87.5	-100
嘉賜銅	0.03	0.05	62.5	54.5
波爾多液	0	0.01	100	90.9

* 本次實驗於中非大樓前棟頂樓右方棚架下進行

* This experiment is proceeded on the right shelves with cover on the roof of the front building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表四、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果。

Table 4. Result calculated from three experiments of non-pesticide control material against CBC on oranges in pot test.

組別	處理 10 天後 之發病率*	處理 14 天後 之發病率*	處理 10 天後 之防治效果 (%)**	處理 14 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0 c	0 c	-	-
發病對照組	0.233 b	0.31 b	-	-
碳酸氫鉀	0.133 bc	0.32 bc	42.9	-3.2
碳酸氫鈉	0.167 bc	0.247 bc	28.6	20.4
水楊酸	0.133 bc	0.26 bc	42.9	16.1
咖啡因	0.04 bc	0.08 bc	82.9	74.2
鏈黴菌發酵物	0.125 bc	0.229 bc	46.3	26.3
枯草桿菌	0.196 bc	0.323 bc	16.1	-4.3
窄域油	0.393 a	0.467 a	-68.6	-50.5
大蒜萃取物	0.08 b	0.133 b	65.7	57
嘉賜銅	0.06 bc	0.19 bc	74.3	38.7
波爾多液	0.003 c	0.007 c	98.6	97.8

* 每數值皆為 5 重複之平均值，並以最小顯著差異法 (Least significant difference test) 進行統計分析，英文字母相同者表示兩者間無顯著差異 (P=0.05)。

* Numbers are the means of control rates each from of five replicates. According to Fisher's LSD test (P=0.05), numbers in a column with a letter in common are not significantly different.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表五、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病第一次盆苗防治試驗結果。

Table 5. Result of first experiment of non-pesticide control material against CBC on ponkan in pot test.

組別*	處理 10 天後	處理 14 天後	處理 10 天後	處理 14 天後
	之發病率	之發病率	之防治效果 (%)**	之防治效果 (%)**
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.08	0.43	-	-
碳酸氫鉀	0.13	0.31	-62.5	27.9
碳酸氫鈉	0.07	0.27	12.5	37.2
水楊酸	0.04	0.27	44.4	38
咖啡因	0.07	0.28	16.7	34.1
鏈黴菌發酵物	0.04	0.13	50	69.8
枯草桿菌	0.23	0.47	-187.5	-9.3
窄域油	0.41	0.78	-412.5	-81.4
大蒜萃取物	0.33	0.55	-312.5	-27.9
嘉賜銅	0.02	0.11	75	74.4
波爾多液	0	0.01	100	97.7

* 本次實驗於中非大樓後棟照光生長架上進行

* This experiment is proceeded on shelves with light in the rear building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表六、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病第二次盆苗防治試驗結果。

Table 6. Result of second experiment of non-pesticide control material against CBC on ponkan in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**	處理 14 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.01	0.05	-	-
碳酸氫鉀	0.01	0.04	0	20
碳酸氫鈉	0.01	0.03	0	40
水楊酸	0	0.02	100	55.6
咖啡因	0	0	100	100
鏈黴菌發酵物	0	0.01	100	80
枯草桿菌	0	0.02	100	60
窄域油	0.44	0.47	-4300	-840
大蒜萃取物	0	0.03	100	40
嘉賜銅	0	0	100	100
波爾多液	0	0	100	100

* 本次實驗於中非大樓前棟頂樓左方棚架下進行

* This experiment is proceeded on the left shelves with cover on the roof of the front building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表七、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病第三次盆苗防治試驗結果。

Table 7. Result of third experiment of non-pesticide control material against CBC on ponkan in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%) **	處理 14 天後 之防治效果 (%) **
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.01	0.06	-	-
碳酸氫鉀	0.05	0.06	-400	0
碳酸氫鈉	0.02	0.07	-100	-16.7
水楊酸	0.03	0.08	-200	-33.3
咖啡因	0.09	0.14	-800	-133.3
鏈黴菌發酵物	0.04	0.03	-300	50
枯草桿菌	0	0.02	100	66.7
窄域油	0.47	0.65	-4600	-983.3
大蒜萃取物	0.04	0.08	-300	-33.3
嘉賜銅	0.03	0.04	-200	33.3
波爾多液	0	0	100	100

* 本次實驗於中非大樓前棟頂樓右方棚架下進行

* This experiment is proceeded on the right shelves with cover on the roof of the front building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表八、非農藥防治資材對椪柑潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果。

Table 8. Result calculated from three experiments of non-pesticide control material against CBC on ponkan in pot test.

組別	處理 10 天後 之發病率*	處理 14 天後 之發病率*	處理 10 天後 之防治效果 (%)**	處理 14 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0 c	0 c	-	-
發病對照組	0.033 b	0.18 b	-	-
碳酸氫鉀	0.063 bc	0.137 bc	-90	24.1
碳酸氫鈉	0.033 bc	0.123 bc	0	31.5
水楊酸	0.025 bc	0.123 bc	25.6	31.7
咖啡因	0.052 bc	0.141 bc	-56.7	21.6
鏈黴菌發酵物	0.027 bc	0.057 bc	20	68.5
枯草桿菌	0.077 bc	0.17 bc	-130	5.6
窄域油	0.44 a	0.633 a	-1220	-251.9
大蒜萃取物	0.123 b	0.22 b	-270	-22.2
嘉賜銅	0.017 bc	0.05 bc	50	72.2
波爾多液	0 c	0.003 c	100	98.1

* 每數值皆為 5 重複之平均值，並以最小顯著差異法 (Least significant difference test) 進行統計分析，英文字母相同者表示兩者間無顯著差異 (P=0.05)。

* Numbers are the means of control rates each from of five replicates. According to Fisher's LSD test (P = 0.05), numbers in a column with a letter in common are not significantly different.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表九、非農藥防治資材對白柚潰瘍病第一次盆苗防治試驗結果。

Table 9. Result of first experiment of non-pesticide control material against CBC on Peiyu in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%) **	處理 14 天後 之防治效果 (%) **
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.55	0.7	-	-
碳酸氫鉀	0.44	0.79	20	-12.9
碳酸氫鈉	0.32	0.6	41.8	14.3
水楊酸	0.1	0.3	81.8	57.1
咖啡因	0.34	0.63	38.2	10
鏈黴菌發酵物	0.2	0.43	63.6	38.6
枯草桿菌	0.31	0.58	43.6	17.1
窄域油	0.73	0.89	-32.7	-27.1
大蒜萃取物	0.59	0.8	-7.3	-14.3
嘉賜銅	0.26	0.47	52.7	32.9
波爾多液	0	0	100	100

* 本次實驗於中非大樓後棟照光生長架上進行

* This experiment is proceeded on shelves with light in the rear building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十、非農藥防治資材對白柚潰瘍病第二次盆苗防治試驗結果。

Table 10. Result of second experiment of non-pesticide control material against CBC on Peiyu in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%) **	處理 14 天後 之防治效果 (%) **
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.16	0.21	-	-
碳酸氫鉀	0.03	0.04	81.3	81
碳酸氫鈉	0.09	0.11	43.8	47.6
水楊酸	0.06	0.1	62.5	52.4
咖啡因	0.06	0.07	62.5	66.7
鏈黴菌發酵物	0.11	0.16	31.3	23.8
枯草桿菌	0.08	0.1	50	52.4
窄域油	0.51	0.53	-218.8	-152.4
大蒜萃取物	0.17	0.23	-6.3	-9.5
嘉賜銅	0.09	0.1	43.8	52.4
波爾多液	0	0	100	100

* 本次實驗於中非大樓前棟頂樓左方棚架下進行

* This experiment is proceeded on the left shelves with cover on the roof of the front building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十一、非農藥防治資材對白柚潰瘍病第三次盆苗防治試驗結果。

Table 11. Result of third experiment of non-pesticide control material against CBC on Peiyu in pot test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 14 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%) **	處理 14 天後 之防治效果 (%) **
健康對照組	0	0	-	-
發病對照組	0.21	0.27	-	-
碳酸氫鉀	0.23	0.32	-2200	-18.5
碳酸氫鈉	0.28	0.47	-2700	-74.1
水楊酸	0.15	0.15	-1400	44.4
咖啡因	0.14	0.19	-1300	29.6
鏈黴菌發酵物	0.07	0.14	-600	48.1
枯草桿菌	0.18	0.26	-1700	3.7
窄域油	0.54	0.6	-5300	-122.2
大蒜萃取物	0.1	0.15	-900	44.4
嘉賜銅	0.1	0.16	-900	40.7
波爾多液	0	0.01	100	96.3

* 本次實驗於中非大樓前棟頂樓右方棚架下進行

* This experiment is proceeded on the right shelves with cover on the roof of the front building of Sino-African Technical Cooperation Building.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十二、非農藥防治資材對白柚潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果。

Table 12. Result calculated from three experiments of non-pesticide control material against CBC on Peiyu in pot test.

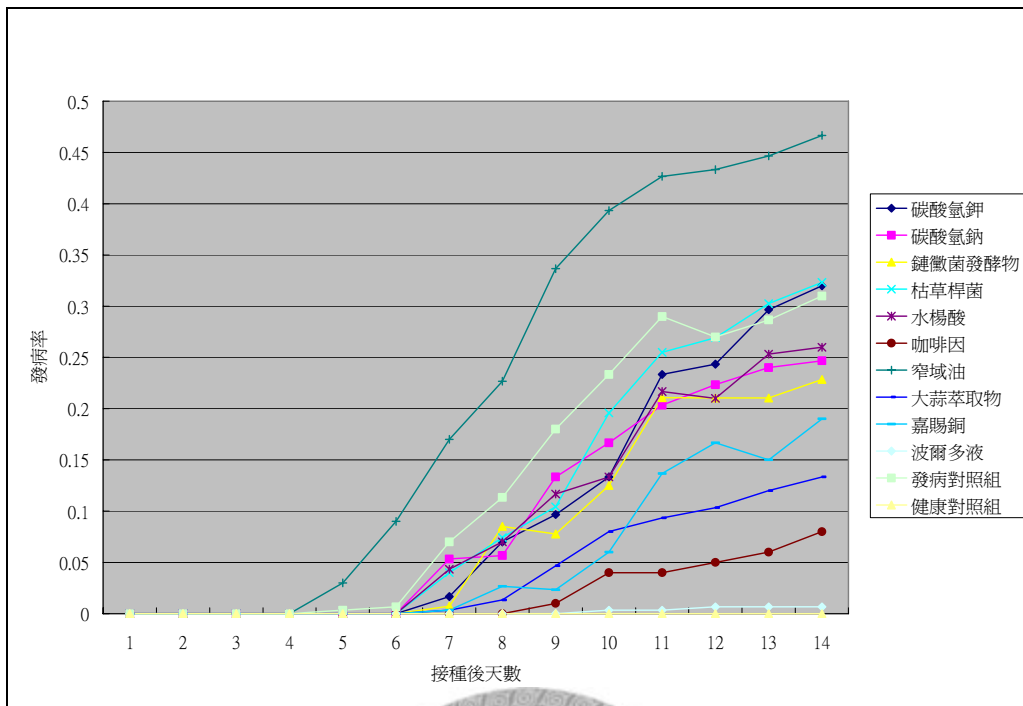
組別	處理 10 天後 之發病率*	處理 14 天後 之發病率*	處理 10 天後 之防治效果 (%)**	處理 14 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0 c	0 c	-	-
發病對照組	0.307 b	0.393 b	-	-
碳酸氫鉀	0.233 bc	0.383 bc	23.9	2.5
碳酸氫鈉	0.23 bc	0.393 bc	25	0
水楊酸	0.103 bc	0.183 bc	66.3	53.4
咖啡因	0.18 bc	0.297 bc	41.3	24.6
鏈黴菌發酵物	0.127 bc	0.243 bc	58.7	38.1
枯草桿菌	0.19 bc	0.313 bc	38	20.3
窄域油	0.593 a	0.673 a	-93.5	-71.2
大蒜萃取物	0.287 b	0.393 b	6.5	0
嘉賜銅	0.15 bc	0.243 bc	51.1	38.1
波爾多液	0 c	0.003 c	100	99.2

* 每數值皆為 5 重複之平均值，並以最小顯著差異法 (Least significant difference test) 進行統計分析，英文字母相同者表示兩者間無顯著差異 (P=0.05)。

* Numbers are the means of control rates each from of five replicates. According to Fisher's LSD test (P = 0.05), numbers in a column with a letter in common are not significantly different.

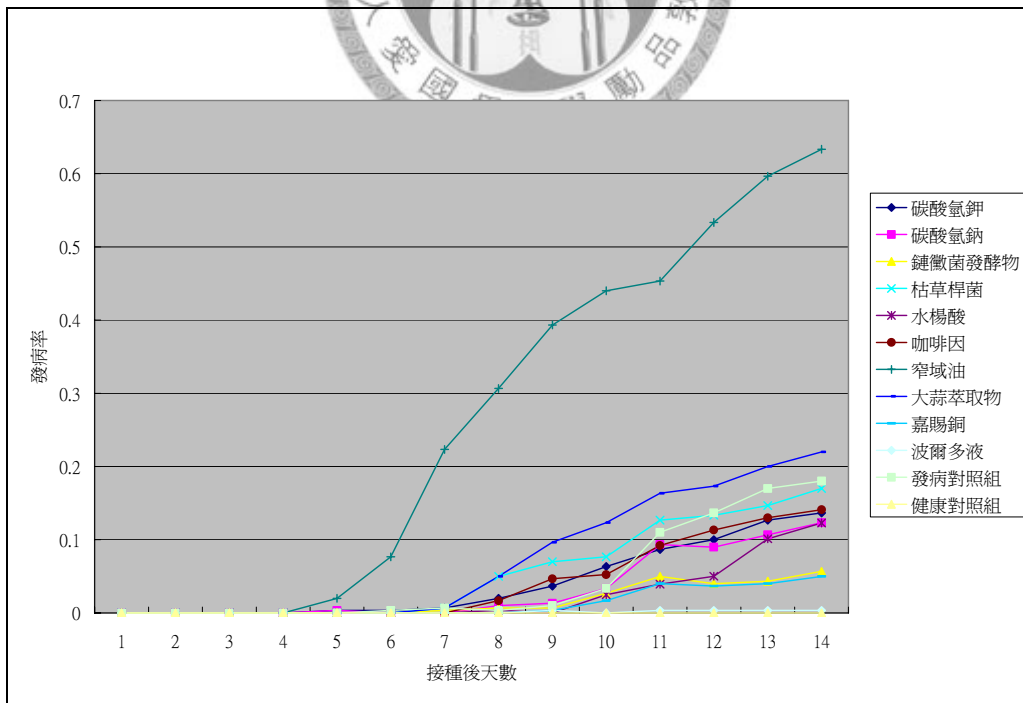
** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%



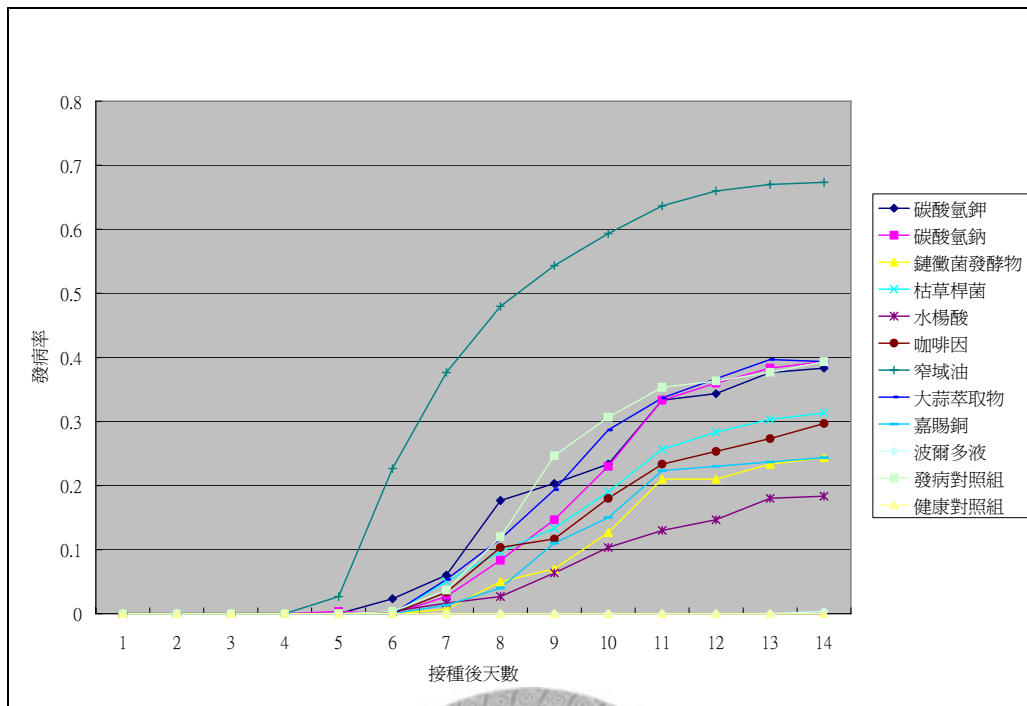
圖二十三、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果。

Fig. 23. Result calculated from three experiments of non-pesticide control material against CBC on oranges in pot test.



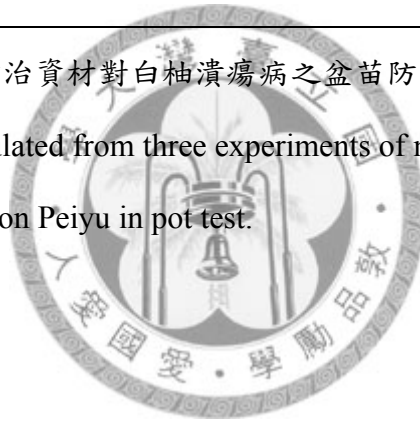
圖二十四、非農藥防治資材對極柑潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果。

Fig. 24. Result calculated from three experiments of non-pesticide control material against CBC on ponkan in pot test.



圖二十五、非農藥防治資材對白柚潰瘍病之盆苗防治試驗平均結果。

Fig. 25. Result calculated from three experiments of non-pesticide control material against CBC on Peiyu in pot test.



五、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之田間防治試驗

本項試驗分別於柳橙、文旦、檸檬之田間植株上進行，柳橙葉片病斑中央呈淺褐色木栓化凸起、邊緣呈深褐色木栓化凸起並帶有輕微黃暈，文旦葉片病斑中央呈淺褐色明顯木栓化凸起、邊緣呈深褐色木栓化凸起並帶有輕微黃暈，檸檬葉片病斑中央呈淺褐色木栓化凸起、邊緣呈深褐色木栓化凸起但沒有黃暈產生。除了健康與發病兩種對照組外，另有非農藥防治資材與傳統防治藥劑實驗組。發現健康對照組全程皆未發病，而柳橙之發病對照組於接種後第四天開始發病，文旦之發病對照組於接種後第五天開始發病，檸檬之發病對照組於接種後第六天開始發病。波爾多液的防治效果相當好，能夠完全壓抑病勢的進展，茲將各項處理之田間試驗結果分述如下：

非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之田間防治試驗結果如表十三至十五及圖二十六。發現噴灑水楊酸可以延遲發病達五天之久，第十天之防治效果達 70.9%；噴灑鏈黴菌發酵物可以延遲發病四天左右，第十天之防治效果達 55.2%；窄域油會加重病勢發展，第十天之防治效果為-100%；大蒜萃取物不具明顯防治效果。

非農藥防治資材對文旦潰瘍病之田間防治試驗結果如表十六至十八及圖二十七。發現噴灑鏈黴菌發酵物可以完全壓抑病害發生，第十天之防治效果達 100%；噴灑大蒜萃取物可以延遲發病五天左右，第十天之防治效果達 74.1%；水楊酸可以延遲發病一天左右，第十天之防治效果為 48.1%；窄域油會使植株提早一天發病，並加重病勢發展，第十天之防治效果為-248.1%。

非農藥防治資材對檸檬潰瘍病之田間防治試驗結果如表十九至二十一及圖二十八。發現噴灑鏈黴菌發酵物可以延遲發病達四天之久，第十天之防治效果達 98.8%；噴灑大蒜萃取物可以延遲發病一天左右，第十天之防治效果達 61.9%；水楊酸無法延遲發病，第十天之防治效果為 45.2%；窄域油會使植株提早兩天發病，並加重病勢發展，第十天之防治效果為-48.8%。

表十三、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第一次田間防治試驗結果。

Table 13. Result of first experiment of non-pesticide control material against CBC on oranges in field test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	-
發病對照組	0.46	-
水楊酸	0.09	80.4
鏈黴菌發酵物	0.19	58.7
窄域油	0.75	-63
大蒜萃取物	0.38	17.4
波爾多液	0	100

* 本次實驗於台灣大學農業試驗場舟山路標本園內進行。

* This experiment is proceeded in the specimen collection on the NTU Farm.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十四、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病第二次田間防治試驗結果。

Table 14. Result of second experiment of non-pesticide control material against CBC on oranges in field test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	-
發病對照組	0.21	-
水楊酸	0.11	49.9
鏈黴菌發酵物	0.11	47.6
窄域油	0.59	-181
大蒜萃取物	0.42	-100
波爾多液	0	100

* 本次實驗於台灣大學農業試驗場舟山路標本園內進行。

* This experiment is proceeded in the specimen collection on the NTU Farm.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十五、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之田間防治試驗平均結果。

Table 15. Result calculated from two experiments of non-pesticide control material against CBC on oranges in field test.

組別	處理 10 天後 之發病率*	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0 d	-
發病對照組	0.335 b	-
水楊酸	0.098 c	70.9
鏈黴菌發酵物	0.15 d	55.2
窄域油	0.67 a	-100
大蒜萃取物	0.4 cd	-19.4
波爾多液	0 d	100

* 每數值皆為 5 重複之平均值，並以最小顯著差異法 (Least significant difference test) 進行統計分析，英文字母相同者表示兩者間無顯著差異 (P=0.05)。

* Numbers are the means of control rates each from of five replicates. According to Fisher's LSD test (P=0.05), numbers in a column with a letter in common are not significantly different.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十六、非農藥防治資材對文旦潰瘍病第一次田間防治試驗結果。

Table 16. Result of first experiment of non-pesticide control material against CBC on pomelos in field test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	-
發病對照組	0.27	-
水楊酸	0.09	66.7
鏈黴菌發酵物	0	100
窄域油	0.25	7.4
大蒜萃取物	0.05	81.5
波爾多液	0	100

* 本次實驗於台灣大學農業試驗場舟山路標本園內進行。

* This experiment is proceeded in the specimen collection on the NTU Farm.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十七、非農藥防治資材對文旦潰瘍病第二次田間防治試驗結果。

Table 17. Result of second experiment of non-pesticide control material against CBC on pomelos in field test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	-
發病對照組	0	-
水楊酸	0.05	-∞***
鏈黴菌發酵物	0	無意義****
窄域油	0.69	-∞***
大蒜萃取物	0.02	-∞***
波爾多液	0	無意義****

* 本次實驗於台灣大學農業試驗場舟山路標本園內進行。

* This experiment is proceeded in the specimen collection on the NTU Farm.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

*** 防治效果公式中之發病對照組發病率為 0

*** Disease incidence before treatment is zero.

**** 防治效果公式中之發病對照組發病率與實驗組發病率皆為 0

**** Disease incidence before treatment and after treatment are zero.

表十八、非農藥防治資材對文旦潰瘍病之田間防治試驗平均結果。

Table 18. Result calculated from two experiments of non-pesticide control material against CBC on pomelos in field test.

組別	處理 10 天後 之發病率*	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0 d	-
發病對照組	0.135 b	-
水楊酸	0.07 c	48.1
鏈黴菌發酵物	0 d	100
窄域油	0.47 a	-248.1
大蒜萃取物	0.035 cd	74.1
波爾多液	0 d	100

* 每數值皆為 5 重複之平均值，並以最小顯著差異法 (Least significant difference test) 進行統計分析，英文字母相同者表示兩者間無顯著差異 (P=0.05)。

* Numbers are the means of control rates each from of five replicates. According to Fisher's LSD test (P=0.05), numbers in a column with a letter in common are not significantly different.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表十九、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病第一次田間防治試驗結果。

Table 19. Result of first experiment of non-pesticide control material against CBC on lemons in field test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	-
發病對照組	0.42	-
水楊酸	0.22	47.6
鏈黴菌發酵物	0.01	97.6
窄域油	0.75	-78.6
大蒜萃取物	0.19	54.8
波爾多液	0	100

* 本次實驗於台灣大學農業試驗場舟山路標本園內進行。

* This experiment is proceeded in the specimen collection on the NTU Farm.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表二十、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病第二次田間防治試驗結果。

Table 20. Result of second experiment of non-pesticide control material against CBC on lemons in field test.

組別*	處理 10 天後 之發病率	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0	-
發病對照組	0.42	-
水楊酸	0.24	42.9
鏈黴菌發酵物	0	100
窄域油	0.5	-19
大蒜萃取物	0.13	69
波爾多液	0	100

* 本次實驗於台灣大學農業試驗場舟山路標本園內進行。

* This experiment is proceeded in the specimen collection on the NTU Farm.

** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%

表二十一、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病之田間防治試驗平均結果。

Table 21. Result calculated from two experiments of non-pesticide control material against CBC on lemons in field test.

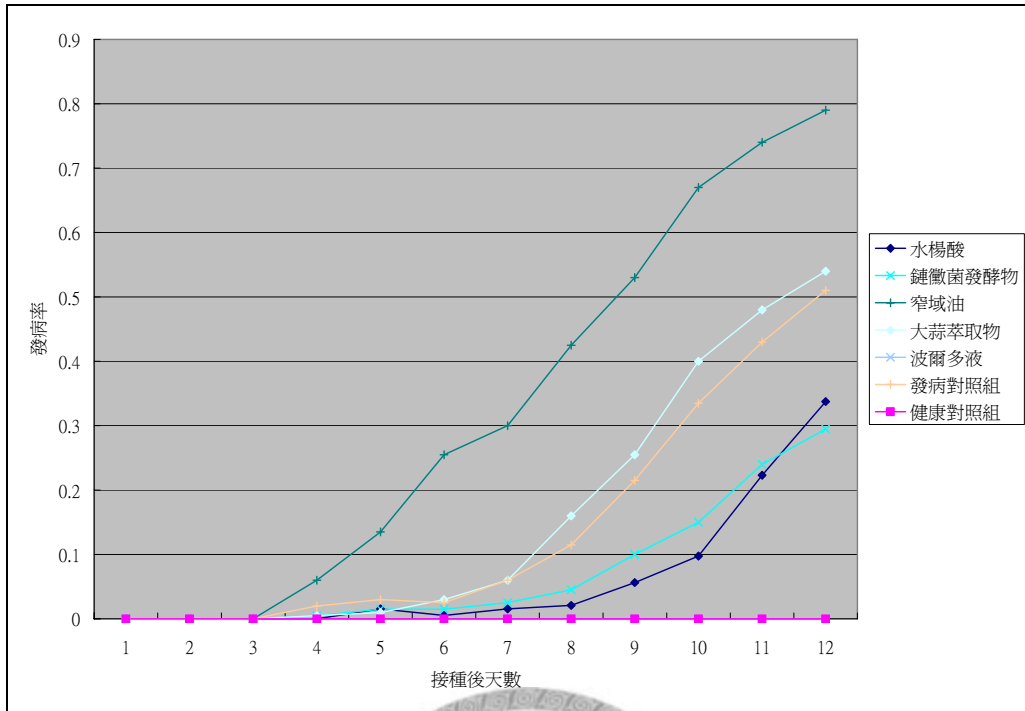
組別	處理 10 天後 之發病率*	處理 10 天後 之防治效果 (%)**
健康對照組	0 d	-
發病對照組	0.42 b	-
水楊酸	0.23 c	45.2
鏈黴菌發酵物	0.005 d	98.8
窄域油	0.625 a	-48.8
大蒜萃取物	0.16 cd	61.9
波爾多液	0 d	100

* 每數值皆為 5 重複之平均值，並以最小顯著差異法 (Least significant difference test) 進行統計分析，英文字母相同者表示兩者間無顯著差異 (P=0.05)。

* Numbers are the means of control rates each from of five replicates. According to Fisher's LSD test (P=0.05), numbers in a column with a letter in common are not significantly different.

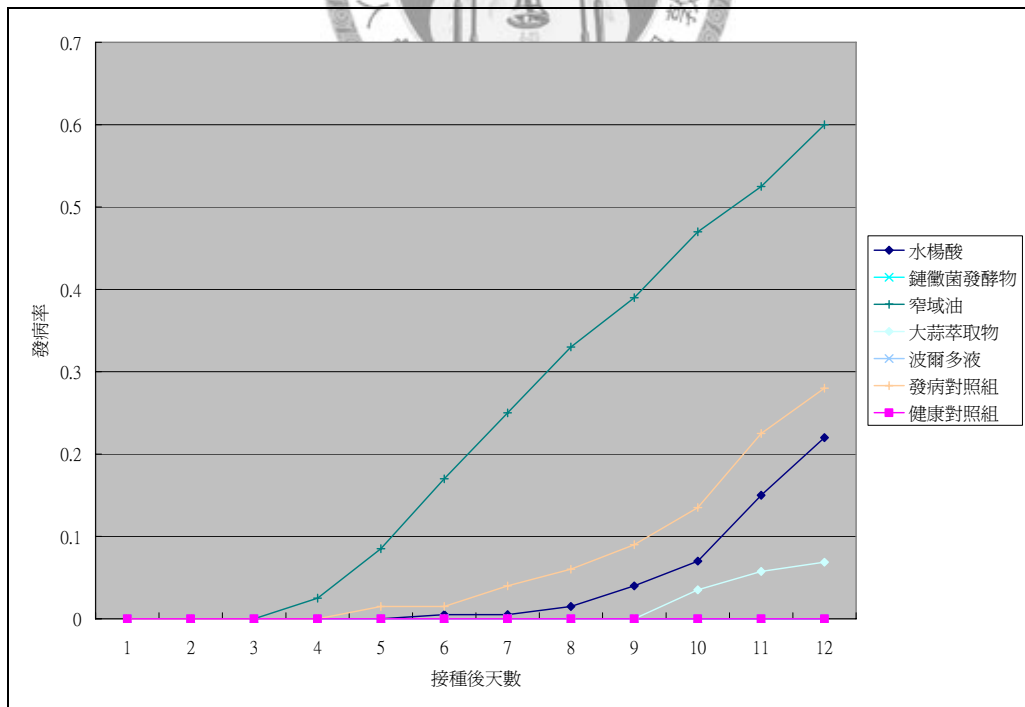
** 防治效果 (%) = (1-實驗組發病率÷發病對照組發病率) × 100%

** Control rate is calculated as (1-disease incidence after treatment/ disease incidence before treatment) × 100%



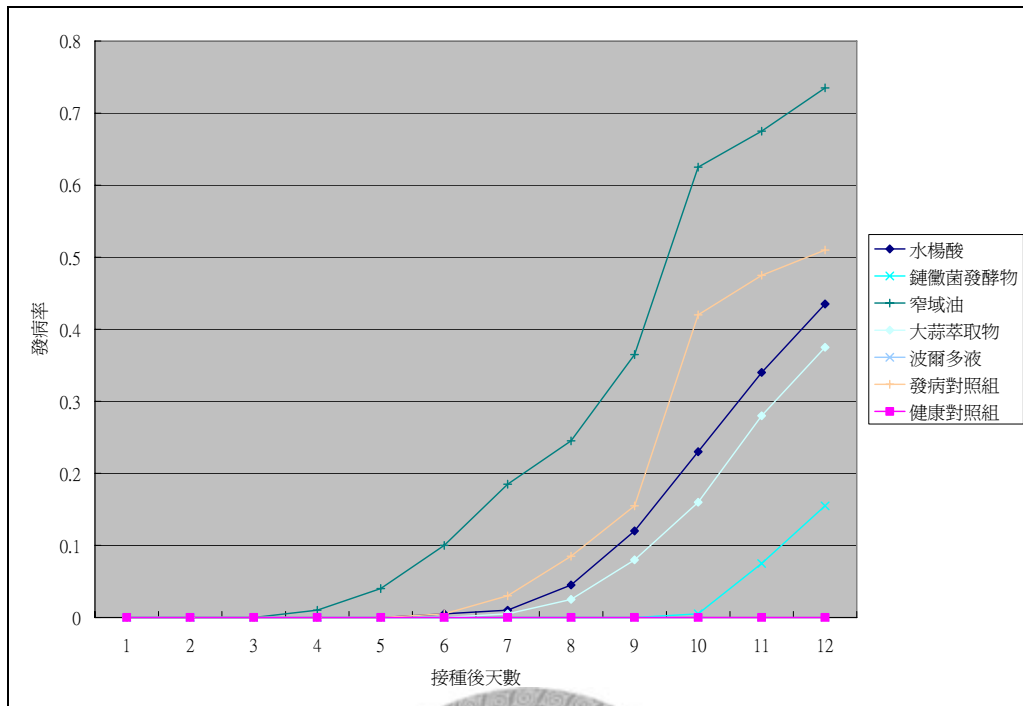
圖二十六、非農藥防治資材對柳橙潰瘍病之田間防治試驗平均結果。

Fig. 26. Result calculated from two experiments of non-pesticide control material against CBC on oranges in field test.



圖二十七、非農藥防治資材對文旦潰瘍病之田間防治試驗平均結果。

Fig. 27. Result calculated from two experiments of non-pesticide control material against CBC on pomelos in field test.



圖二十八、非農藥防治資材對檸檬潰瘍病之田間防治試驗平均結果。

Fig. 28. Result calculated from two experiments of non-pesticide control material against CBC on lemons in field test.



第五章 討論

一、柑桔潰瘍病菌之田間調查與分子鑑定

觀察採集自不同地區、不同柑桔品種之田間樣本上的柑桔潰瘍病病徵，發現不同品種的病徵互有異同，究其原因，在於病徵表現實際上受到很多因子的影響，如品種間之差異、植株個體之差異、病原菌病原型之種類、環境因子（溫度、濕度、日照）之影響、發病時間之早晚等，造成不同樣本間的病徵表現具有差異性。

本研究對柑桔潰瘍病菌分離實驗之結果，顯示 11 個樣本中有 10 個樣本分離出菌落呈圓形、黃色、黏稠、邊緣完整、表面平滑之疑似菌株，分離成功率相當高，可能與樣本新鮮度和分離方式有關，但也顯示分離結果之一致性及可重複性。

以無菌水保存柑桔潰瘍病菌之方式，在本研究中證實為可行，且保存數個月後，菌株活性依然良好，在沒有極低溫冷凍設備及非分生等級實驗的條件下，是一種操作簡便且效果良好的菌種保存方式。

本研究有關柑桔潰瘍病菌病原型屬性之分子鑑定結果，顯示 10 個樣本共 29 株菌株中有 9 個樣本、19 株菌株為 A 病原型之柑桔潰瘍病菌，以樣本數來看，其比例高達 9 成，與前人研究指出，台灣柑桔潰瘍病菌有 80% 為 A 病原型之結果相當吻合（吳等, 1995）。此外，在同一個樣本分離到的菌株中，曾出現病原型不一致的現象，如果深入探討其原因，或許可以發現新的病原型。

二、柑桔潰瘍病菌之接種與病害評估模式之建立

接種柑桔潰瘍病所使用的接種源可以來自病葉汁液或人工培養，考量的要點在於，接種源是否符合田間情況、可重覆性、可定量性、可否大量噴施，雖然以病葉汁液接種最符合田間的實際狀況，但由於此方式有可能無法準確定量病葉所含潰瘍病菌之濃度、可能無法產生重覆的結果、需要大量病葉材料以供使用等的缺點，故最後決定使用人工培養之接種源進行後續試驗。

人工接種源之選擇，使用分離自花蓮縣壽豐鄉溪口村柑桔類樣本之 A 病原型菌株，理由有二：一為花蓮無毒農業急需無毒防治資材以解決當地柑桔潰瘍病之問題，二為 A 病原型菌株佔台灣柑桔潰瘍病菌的絕大多數，針對 A 病原型菌株進行無毒防治資材的篩選最具實用性。

田間柑桔植株上枝條、葉片、果實之傷口常是枝葉互相摩擦造成的，故以摩擦的方式製造傷口進行接種應該較符合田間之實際情形，然而以人工摩擦方式製造傷口有其問題，最大的困難在於施力大小無法標準化，會影響到發病程度的判讀，故本試驗使用力道較容易控制的穿刺接種法。

柑桔潰瘍病菌感染田間植株的情形有三種，一為先有傷口的存在，而後經雨水的滴濺再行感染；二為暴風雨造成植株傷口的同時，病菌即經由雨水傳播而感染，三為經由植株氣孔感染。本研究嘗試過先噴灑防治資材，隔天再同時製造傷口並接種，但防治效果極差，因為此作法有強迫接種的可能性，故後來改採先製造傷口並噴施防治資材，隔天再進行接種的作法，希望供試無毒防治資材能在此條件下發揮防治效果。

判斷葉面針刺傷口是否被柑桔潰瘍病菌感染，宜以傷口是否出現木栓化凸起為依據，因為受感染傷口周圍雖然會出現黃色暈圈，且此黃色暈圈較木栓化出現得早，但發現有些未經接種的針刺傷口周圍也會出現黃色暈圈，尤以幼葉為甚，故黃色暈圈並不宜使用為判斷發病的專一性依據。

對不同柑桔品種接種之結果顯示，白柚發病最為嚴重，柳橙次之，極柑最輕

微。然而文獻記載柚類和極柑對柑桔潰瘍病為強抗性品種，柳橙則為極感性品種，顯示本研究中柳橙與白柚之實驗結果與文獻記載並不相同，可能原因也許與潰瘍病菌病原型有關，但亦有可能本研究之白柚品種與先前測試者有所不同（蘇等，2003）。



三、非農藥防治資材對柑桔之藥害試驗

本試驗中，所有防治資材之處理對於柳橙、極柑、白柚植株皆無明顯藥害。然而，在隨後之防治試驗中，少數針刺傷口周圍在處理防治資材後，會呈現壞疽死亡狀態，尤以水楊酸與咖啡因較為嚴重，故傷口的存在與否似乎對藥害的產生有所影響，故目前所有防治資材的適宜濃度仍有待進一步之評估。

四、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之盆苗防治試驗

本研究選用各項無毒防治資材防治柑桔潰瘍病之理由如下：(1) 重碳酸鹽過去沒有防治細菌病害的前例，使用重碳酸鹽是一項創新性之嘗試；(2) 選用水楊酸與咖啡因，是希望誘導柑桔植株產生系統性抗病能力；(3) 利用枯草桿菌與鏈黴菌發酵物，是希望達到生物防治之效果；(4) 噴灑窄域油，是希望在柑桔植株上建立一層物理性保護，以改變潛葉蛾之產卵習性，降低蟲害造成的傷口數目；(5) 大蒜萃取物據報導其對許多病原細菌具有殺菌效果。

本研究在盆苗防治試驗之結果顯示，咖啡因與大蒜萃取物對柳橙潰瘍病之防治效果較好，而鏈黴菌發酵物與水楊酸對極柑與白柚潰瘍病皆有不錯的防治效果，其作用機制是否和原本的假設相同，仍有待進一步之研究。儘管另有研究指出，枯草桿菌對柑橘潰瘍病有防治效果，但在本研究中，枯草桿菌在柳丁、極柑、白柚上皆無明顯之防治效果，此可能是由於試驗方法之不同所導致。又噴施窄域油發現反而會造成病害發生更加嚴重，此現象值得注意，因為在柑桔類作物病蟲害管理的過程中，常使用窄域油防治柑橘葉蟎、介殼蟲及蚜蟲，此舉是否會使田間潰瘍病發生更為嚴重，仍需後續的研究以求釐清；此外，在噴灑 0.1% Tween 20 的對照組發病情形中發現，其發病程度比不噴灑 0.1% Tween 20 的柑桔植株還要嚴重許多，筆者推測與窄域油共同具有界面活性劑之特性有關。最後，傳統上用來防治柑桔潰瘍之嘉賜銅的防治效果並不佳，原因可能是說潰瘍病菌已產生抗藥性的緣故，但波爾多液相對地仍有最佳之防治成果。

五、非農藥防治資材對柑桔潰瘍病之田間防治試驗

田間防治試驗選用之非農藥防治資材，係在盆苗防治試驗中防治效果較佳者。田間防治試驗之結果顯示，水楊酸與鏈黴菌發酵物對柳橙潰瘍病、鏈黴菌發酵物與大蒜萃取物對文旦潰瘍病與檸檬潰瘍病皆有不錯的防治效果，且經最小顯著差異法進行統計之分析比較後，與發病對照組都有顯著的差異，其中以鏈黴菌發酵物最具應用之潛力。窄域油在田間防治試驗中，亦發生加重柑桔潰瘍病病勢之現象。波爾多液對柑桔潰瘍病則繼續保持最佳之防治效果。

進行柑桔潰瘍病的田間防治試驗時，可能由於他種病原菌複合感染的關係，使得防治資材的試驗結果與實際情況有所差異，解讀防治效果時，要將此一因素考慮進來。

在本研究中，同一種防治資材在不同柑桔品種上，對柑桔潰瘍病之防治效果經常有所差異，原因可能在於寄主有沒有產生系統性誘導抗病力的差異。



參考文獻

- 王詩雯。2002。拮抗性桿菌屬 (*Bacillus* spp.) 於水稻白葉枯病防治之應用及其作用機制。國立中興大學植物病理學系碩士論文。84 頁。
- 石信德、黃振文。2005。保護植物的重要菌源—鏈黴菌。科學發展 391:22-27。
- 吳文川、曾國欽、李銘洲、郭曉璠。1989。台灣柑橘潰瘍病的發生與分布。植保會刊 31:139-149。
- 吳文川、鄭安秀、王玉如、胡建國。1995。柑橘潰瘍病及其病原菌。台灣柑橘之研究與發展研討會專刊。221-242 頁。台灣省農業試驗所。台中，台灣。
- 林信成、張翔、曾國欽。2009。台灣引起非典型病徵之柑橘潰瘍病菌特性分析。農業試驗所技術服務期刊 77:22-25。
- 周俊吉、陳泰安、施怡綾、曾耀徵、曾德賜。1997。拮抗性枯草桿菌(*Bacillus subtilis*) 的篩選、適量產培養與病害防治應用。植病會刊 6:209-210 (摘要)。
- 邱燕欣。2004。拮抗性枯草桿菌 *Bacillus subtilis* WG6-14 菌株於柑橘潰瘍病防治應用。國立中興大學植物病理學系碩士論文。92 頁。
- 徐信次。1991。臺灣果樹彩色圖說。台灣省農業試驗所。台中，台灣。
- 陳溪潭。2000a。台南區農業改良場技術專刊：麻豆白柚栽培管理。行政院農業委員會台南區農業改良場。台南，台灣。
- 陳溪潭。2000b。台灣柚類品種果實特性介紹。台南區農業專訊 33:8-12。
- 曾德賜。2008。台灣生物農藥之研發與產業化應用—問題與展望。節能減碳與作物病害管理研討會專刊。155-173 頁。行政院農業委員會農業試驗所。台中，台灣。
- 童伯開。2002。病害發生與防治。柑橘整合管理。69-80 頁。行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所。台中，台灣。
- 黃祥恩。1997。水楊酸誘導百合系統性抗灰黴病之研究。國立臺灣大學植物病蟲害學研究所碩士論文。51 頁。

農業統計年報。2001。行政院農業委員會。

<http://www.Coa.Gov.Tw/view.Php?Catid=17729>

廖龍盛。2005。實用農藥。得力興業股份有限公司。台中，台灣。

譚克終。1968。柑橘栽培學。國立編譯館。台北，台灣。

蘇鴻基、蔡東纂、童伯開、呂明雄、蔡雲鵬、安寶貞、馮海東、鄭安秀、鄧汀欽、張淑賢、袁秋英、程永雄、陳連勝、林正忠、黃阿賢、許如君、林高永、石如茵。2003。植物保護圖鑑系列9—柑橘保護（下冊）。行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。台北，台灣。

Aharoni, Y., Fallik, E., Copel, A., Gil, M., Grinberg, S., and Klein, J. D. 1997. Sodium bicarbonate reduces postharvest decay development on melons. *Postharvest Biol. Technol.* 10(3):201-206.

Anand, A., Uppalapati, S. R., Ryu, C. M., Allen, S. N., Li, K., Tang, Y., and Mysore, K. S. 2008. Salicylic acid and systemic acquired resistance play a role in attenuating crown gall disease caused by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiol.* 146(2):703-715.

Arya, A., Chauhan, R., and Arya, C. 1995. Effect of allicin and extracts of garlic and bignonia on two fungi. *Indian J. Mycol. Plant Pathol.* 25:316-318.

Asjes, C. J., and Blom-Barnhoorn, G. J. 2001. Control of aphid-vectored and thrips-borne virus spread in lily, tulip, iris and dahlia by sprays of mineral oil, polydimethylsiloxane and pyrethroid insecticide in the field. *Ann. Appl. Biol.* 139(1):11-19.

Baker, C. J., Stavely, J. R., and Mock, N. 1985. Biocontrol of bean rust by *Bacillus subtilis* under field conditions. *Plant Dis.* 69(9):770-772.

Bianchi, A., Zambonelli, A., D'Anlerio, A. Z., and Bellesia, F. 1997. Ultrastructural studies on the effects of *Allium sativum* on phytopathogenic fungi in vitro. *Plant Dis.*

81(11):1241-1246.

- Cao, K., and van Bruggen, A. H. C. 2001. Inhibitory efficacy of several plant extracts and plant products on *Phytophthora infestans*. *J. of Agric. Univ. Hebei* 24(2):90-96.
- Cheng, X. C., Kihara, T., Kusakabe, H., Fang, R. P., Ni, Z. F., Shen, Y. C., Keido, K., Yamaguchi, I., and Isono, K. 1987. Xanthostatin, a new antibiotic. *Agric. Biol. Chem.* 51(1):279-281.
- Civerolo, E. L. 1984. Bacterial canker disease of citrus. *J. Rio Grande Vall. Hortic. Soc.* 37:127-146.
- Conway, W. S., Leverentz, B., Janisiewicz, W. J., Saftner, R. A., and Camp, M. J. 2005. Improving biocontrol using antagonist mixtures with heat and/or sodium bicarbonate to control postharvest decay of apple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 36(3):235-244.
- Crampton, B. G., Hein, I., and Berger, D. K. 2009. Salicylic acid confers resistance to a biotrophic rust pathogen, *Puccinia substriata*, in pearl millet (*Pennisetum glaucum*). *Mol. Plant Pathol.* 10(2):291-304.
- Curtis, H., Noll, U., Stormann, J., and Slusarenko, A. J. 2004. Broad-spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum* L.) against plant pathogenic bacteria, fungi and oomycetes. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 65(2):79-89.
- Daw, B. D., Zhang, L. H., and Wang, Z. Z. 2008. Salicylic acid enhances antifungal resistance to *Magnaporthe grisea* in rice plants. *Australas. Plant Pathol.* 37(6):637-644.
- Demir, S., Gül, A., and Onogur, E. 1999. The effect of sodium bicarbonate on powdery mildew in tomato. *Acta Hort.* 491:449-452.
- Fallik, E., Grinberg, S., and Ziv, O. 1997. Potassium bicarbonate reduces postharvest decay development on bell pepper fruits. *J. Hortic. Sci.* 72(1):35-41.
- Ferreira, J. H. S., Mathee, F. N., and Thomas, A. C. 1991. Biological control of *Eutypa*

- lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 81(3):283-287.
- Gabler, F. M., and Smilanick, J. L. 2001. Postharvest control of table grape gray mold on detached berries with carbonate and bicarbonate salts and disinfectants. *Am. J. Enol. Vitic.* 52(1):12-20.
- Golmohammadi, M., Cubero, J., Penalver, J., Quesada, J. M., Lopez, M. M., and Llop, P. 2007. Diagnosis of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, causal agent of citrus canker, in commercial fruits by isolation and PCR-based methods. *J. Appl. Microbiol.* 103(6):2309-2315.
- Goto, M. 1992. Citrus canker. Pages 250-269 in: *Plant Diseases of International Importance*. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Graham, J. H., Gottwald, T. R., Riley, T. D., Cubero, J., and Drouillard, D. L. 2000. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* on various surfaces and chemical control of Asiatic citrus canker. *Proceedings of the International Citrus Canker Research Workshop, Ft. Pierce, Florida*. Online Resources. <<http://doacs.state.fl.us/canker>>
- Hall, T. J., Schreiber, L. R., and Leben, C. 1986. Effects of xylem-colonizing *Bacillus* spp. on *Verticillium* wilt in maples. *Plant Dis.* 70(6):521-524.
- Horst, R. K., Kawamoto, S. O., and Porter, L. L. 1992. Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot of roses. *Plant Dis.* 76(3):247-251.
- Jamar, L., Lefrancq, B., Fassotte, C., and Lateur, M. 2008. A during-infection spray strategy using sulphur compounds, copper, silicon and a new formulation of potassium bicarbonate for primary scab control in organic apple production. *Eur. J. Plant Pathol.* 122(4):481-493.
- Kim, Y. S., and Sano, H. 2008. Pathogen resistance of transgenic tobacco plants

- producing caffeine. *Phytochemistry* 69(4):882-888.
- Koizumi, M. 1985. Citrus canker: The world situation. Pages 2-7 in: *Citrus Canker: An International Perspective*. University of Florida, Lake Alfred.
- Kone, D., Csinos, A. S., Jackson, K. L., and Ji, P. 2009. Evaluation of systemic acquired resistance inducers for control of *Phytophthora capsici* on squash. *Crop Prot.* 28(6):533-538.
- Liu, Z. M., Meats, A., and Beattie, G. A. C. 2006. Modification of host finding and oviposition behaviour of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, by horticultural mineral oil. *Entomol. Exp. Appl.* 121(3):243-251.
- McGrath, M. T., and Shishkoff, N. 1999. Evaluation of biocompatible products for managing cucurbit powdery mildew. *Crop Prot.* 18(7):471-478.
- Mills, A. A. S., Platt, H. W., and Hurta, R. A. R. 2006. Sensitivity of *Erwinia* spp. to salt compounds in vitro and their effect on the development of soft rot in potato tubers in storage. *Postharvest Biol. Technol.* 41(2):208-214.
- Molinari, S. 2008. Salicylic acid as an elicitor of resistance to root-knot nematodes in tomato. *Acta Hortic.* 789:119-125.
- Palmer, C. L., Horst, R. K., and Langhans, R. W. 1997. Use of bicarbonates to inhibit in vitro colony growth of *Botrytis cinerea*. *Plant Dis.* 81(12):1432-1438.
- Palou, L., Crisosto, C. H., and Garner, D. 2007. Combination of postharvest antifungal chemical treatments and controlled atmosphere storage to control gray mold and improve storability of 'wonderful' pomegranates. *Postharvest Biol. Technol.* 43(1):133-142.
- Punja, Z. K., and Grogan, R. G. 1982. Effects of inorganic salts, carbonate-bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of PH on sclerotial germination of *Sclerotium rolfsii* bentgrass, *agrostis palustris*, annual bluegrass, *poa annua*. *Phytopathology* 72(6):635-639.

- Pusey, P. L., Hotchkiss, M. W., Dulmage, H. T., Baumgardner, R. A., Zehr, E. I., Reilly, C. C., and Wilson, C. L. 1988. Pilot tests for commercial production and application of *Bacillus subtilis* (B-3) for postharvest control of peach brown rot. *Plant Dis.* 72(7):622-626.
- Radwan, D. E. M., Lu, G., Fayez, K. A., and Mahmoud, S. Y. 2008. Protective action of salicylic acid against bean yellow mosaic virus infection in *Vicia faba* leaves. *J. Plant Physiol.* 165(8):845-857.
- Rasmussen, J. B., Hammerschmidt, R., and Zook, M. N. 1991. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Plant Physiol.* 97(4):1342-1347.
- Russell, P. E., and Mussa, A. E. A. 1977. The use of garlic (*Allium sativum*) extracts to control foot rot of *Phaseolus vulgaris* caused by *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*. *Ann. Appl. Biol.* 86:369-372.
- Rytter, J. L., Lukezic, F. L., Craig, R., and Moorman, G. W. 1989. Biological control of geranium rust by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 79(3):367-370.
- Sari, E., and Etebarian, H. R. 2009. Concentration-dependent effect of salicylic acid application on wheat seedling resistance to take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* *Phytoparasitica* 37(1):67-76.
- Scarito, G., Salamone, A., Zizzo, G. V., and Agnello, S. 2007. Use of natural products for the control of powdery mildew of rose plants. *Acta Hortic.* 751:251-257.
- Slusarenko, A. J., Patel, A., and Portz, D. 2008. Control of plant diseases by natural products: Allicin from garlic as a case study. *Eur. J. Plant Pathol.* 121(3):313-322.
- Smilanick, J. L., Margosan, D. A., Mlikota, F., Usall, J., and Michael, I. F. 1999. Control of citrus green mold by carbonate and bicarbonate salts and the influence of commercial postharvest practices on their efficacy. *Plant Dis.* 83 (2):139-145.
- Sun, X., Stall, R. E., Jones, J. B., Cubero, J., Gottwald, T. R., Graham, J. H., Dixon, W.

- N., Schubert, T. S., Chaloux, P. H., and Stromberg, V. K. 2004. Detection and characterization of a new strain of citrus canker bacteria from key/mexican lime and alemow in south Florida. *Plant Dis.* 88(11):1179-1188.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K., and Swings, J. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45(3):472-489.
- Vernière, C., Hartung, J. S., Pruvost, O. P., Civerolo, E. L., Alvarez, A. M., Maestri, P., and Luisetti, J. 1998. Characterization of phenotypically distinct strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* from southwest Asia. *Eur. J. Plant Pathol.* 104:477-487.
- Yao, H., Tian, S., and Wang, Y. 2004. Sodium bicarbonate enhances biocontrol efficacy of yeasts on fungal spoilage of pears. *Int. J. Food Microbiol.* 93(3):297-304.
- Yildirim, I., Onogur, E., and Irshad, M. 2002. Investigations on the efficacy of some natural chemicals against powdery mildew [*Uncinula necator* (Schw.) Burr.] of grape. *J. Phytopathol.* 150(11-12):697-702.
- Yu, T., Chen, J., Chen, R., Huang, B., Liu, D., and Zheng, X. 2007. Biocontrol of blue and gray mold diseases of pear fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 116(3):339-345.
- Ziv, O., and Hagiladi, A. 1993. Controlling powdery mildew in euonymus with polymer coatings and bicarbonate solutions. *HortScience* 28(2):124-126.