

甘藍黑腐病致病因子及過程之探討

陳俊位

摘要

甘藍黑腐病(black rot)係由細菌*Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*(Xcc)所引起，為世界性蔬菜重要病害之一，降低蔬菜品質及產量甚鉅。黑腐病菌(Xcc)是一種桿狀、好氧性、能產生黃色素的革蘭氏陰性菌。它擁有一單極單鞭毛，會分泌多種胞外酵素以及胞外黏多醣黃原膠。這兩類物質是細菌對植物感染的重要致病因子。黃原膠與胞外酵素的生成受到rpf基因串的調控。rpf基因串中的rpfF基因可產生具擴散性訊息因子(DSF)到胞外，細菌族群內的個體可以偵測到DSF的累積，並且依此來調節特定基因的表現，此現象稱為聚量感應。rpfG和rpfC基因產物則和聚量感應中的訊息傳遞有密切關係。Xcc主要的致病因子胞外酵素以及黃原膠的生產即受DSF的正調控。rpfF的突變株失去產生DSF的能力，同時喪失感染力。由這些資料可以推測抑制這種細菌間的溝通系統可以有效抑制細菌致病，篩選有效之Xcc聚量感應抑制物質，未來更進一步了解DSF訊息子傳遞的路徑後，將可提供新的植物保護方法來減輕環境破壞的壓力。

前言

*Xanthomonas*屬之植物病原細菌，寄主範圍廣泛，可感染具有重要經濟價值的穀類、蔬菜、果樹及花卉等至少392種被子植物，包含124種單子葉(monocotyledon)，及268種雙子葉(dicotyledon)植物。*Xanthomonas*屬之植物病原細菌目前分為二十一個種(species)，而每一種內又依感染寄主植物的不同，包含有多個病原小種(pathovars)。依目前台灣植物病害名彙，在台灣有記錄的*Xanthomonas*屬之植物病原細菌，有可感染十字花科作物的*X. campestris* pv. *campestris*、感染茄科作物的*X. vesicatoria*、感染水稻的*X. oryzae* pv. *oryzae*、感染豆類作物的*X. axonopodis* pv. *glycines* 及*X. axonopodis* pv. *phaseoli*、感染火鶴花的*X. axonopodis* pv. *dieffenbachiae*、感染檬果的*X. campestris* pv. *mangiferaeindicae*、感染桃樹的*X. arboricola* pv. *pruni*及感染柑桔的*X. axonopodis* pv. *citri*。

內容

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；本病不僅危害甘藍也危害其他作物，包括所有十字花科蕓苔屬(brassicacae)、蘿蔔類作物，其他十字花科雜草如山芥菜、小團扇薺及獨行菜(頭瓣

菜)等及藜科之菠菜等。臺灣地區自70年代起推行蔬菜生產專業區，大量集中栽培之後，病害的發生逐漸加遽，已成為臺灣地區十字花科蔬菜之重要病害；在無藥劑防治狀況下，發病率甚至可高達95.6%。目前化學藥劑防治並無法有效控制病害的發生與蔓延，而選育抗病品種則是防治此病的基本途徑，但所需時間甚久。

一、甘藍黑腐病病徵及傳染途徑

甘藍黑腐病(black rot)係由細菌*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*所引起。本病在甘藍生長過程皆會感染，幼苗、全株、子葉、莖或葉部皆可受害；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主脈導管變黑，呈現黑色或褐色病徵，嚴重時擴展至整個葉片。最後造成葉片萎凋、乾燥而掉落。剝開嚴重被害株株莖部時，可見維管束變黑而有黃色之細菌菌泥滲出。田間亦有由傷口侵入的病斑，如蟲食痕等傷口處侵入，呈現非典型病斑，以黃色病斑為田間容易辨別之病徵。本病之發生生態在高溫多濕季節最易發生，為一種維管束病害，靠種子及土壤傳播，病原菌可附著於種莢內部，使種子表面受到污染，或經維管束到達種子部位，潛伏種子內部，種子發芽時，自子葉緣凹陷部之氣孔侵入。再者，附著於莖葉而殘存於土壤者，降雨時，由於水濺至葉部，由葉緣之水孔侵入，經由導管蔓延至組織中。病原菌除可藉種子之攜帶而傳播外，尚可藉水、農具、昆蟲、動物等作遠距離傳播。

甘藍黑腐病菌之分類地位

Xanthomonas campestris pv. *campestris*

Scientific classification

Kingdom: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gamma Proteobacteria

Order: Xanthomonadales

Family: Xanthomonadaceae

Genus: Xanthomonas

Species: Xanthomonas campestris

二、甘藍黑腐病致病因子及過程

十字花科黑腐病菌(Xcc)是一種桿狀、好氧性、能產生黃色素的革蘭氏陰性菌，它擁有一單極單鞭毛，是造成十字花科植物黑腐病的病原菌。Xcc會產生胞外黏多醣(exopolysaccharide，簡稱EPS)，以及分泌多種胞外酵素，如X-澱粉酵素(X-amylase)、果膠酵素(pectate lyase)、纖維素酵素(endoglucanase)及蛋白酵素(protease)。胞外酵素及胞外黏多醣是造成植物致病性所必需。Xcc分泌的多種胞外酵素以及胞外黏多醣黃原膠，這兩類物質是細菌對植物感染的重要致病因子。

Xcc藉由第三型分泌系統將第三型致病性蛋白注入到植物細胞中，調控宿主細胞的生理反應或干擾免疫系統來促進病原菌的繁殖。目前藉由分子遺傳實驗和生物資訊分析發現，Xcc含有超過25種第三型致病性蛋白分子，但是絕大多數第三型致病性蛋白的致病機制，目前尚未知。Xanthomonas屬病原細菌感染植物過程中常以黏附素(adhesin)附著於植物表面、伺機從自然開口入侵至細胞間隙，再藉由第三型分泌系統(type III secretion system, T3SS)將effector蛋白(T3Es)送入植物細胞中干擾植物的防禦反應以利其侵染寄主。

而在黑腐病菌Xcc 基因體上有一群能調控致病因子的基因稱rpf (regulation of pathogenicity factors)，Xcc分泌的黃原膠與胞外酵素其生成即受到rpf基因串的調控。目前已知rpf基因串與多種致病因子(virulence factor)合成有關。rpf基因串中的rpfF基因可產生具擴散性訊息因子(DSF, diffusible signal factor)到胞外，細菌族群內的個體可以偵測到DSF的累積，並且依此來調節特定基因的表現，此現象稱為聚量感應。其中，RpfF經比對與其他生物的enoyl-CoA hydratase有相當的相似度，RpfF會直接影響訊號小分子DSF(small diffusible regulatory molecule)的合成。已知DSF所引發的訊號傳導(signal transduction)會影響致病因子合成。rpfG和rpfC基因產物則和聚量感應中的訊息傳遞有密切關係。Xcc主要的致病因子胞外酵素以及黃原膠的生產即受DSF的正調控。rpfF的突變株失去產生DSF的能力，同時喪失感染力。由這些資料可以推測抑制這種細菌間的溝通系統可以有效抑制細菌致病，篩選有效之Xcc聚量感應抑制物質，未來更進一步了解DSF訊息子傳遞的路徑，將可提供新的植物保護方法來減輕環境破壞的壓力。

參考文獻

1. Barber, C.E., Tang, J.L., Feng, J.X., Pan, M.Q., Wilson, T.G., Slater, H., Dow, J.M., Williams, P., and Daniels, M.J. 1997. A novel regulatory system required for pathogenicity of *Xanthomonas campestris* is mediated by a small diffusible signal molecule. *Molecular Microbiology* 24:555-566.
2. Buchanan, S.K., Atzen, F., Ferreiro, D.U., Oddo, C.G., Ielmini, M.V., Becker, A., Hler, A.P., and Ielpi, L. 1998. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* gum Mutants: Effects on Xanthan Biosynthesis and Plant Virulence. *J. of Bacteriology* p. 1607-1617.
3. Buell C.R. and Somerville, S.C. 1997. Use of *Arabidopsis* recombinant inbred lines reveals a monogenic and a novel digenic resistance mechanism to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *The Plant Journal* 2:21-29.
4. Dow, J.M., Feng, J.X., Barber, C.E., Tang, J.L., and Daniels, M.J. 2000. Novel genes involved in the regulation of pathogenicity factor production within the *rpf* gene cluster of *Xanthomonas campestris*. *Microbiology* 146, 885-891.
5. Dow, J.M., Crossman, L., Findlay, K., He, Y.Q., Feng, J.X. and Tang, J.L. 2003. Biofilm

- dispersal in *Xanthomonas campestris* is controlled by cell- cell signaling and is required for full virulence to plants. PNAS 100:10995-11000.
6. Godard, F.G., Lummerzheim, M., Saindrenan, P., Balague, A. C., and Roby, D. 2000. *hxc2*, an Arabidopsis mutant with an altered hypersensitive response to *Xanthomonas campestris* pv. *The Plant Journal* 24(6), 749-761
 7. He, S.Y., Lindberg, M., and Collwer, A. 1992. Protein secretion by plant pathogenic bacteria. Page 39-64 in: *Biotechnology in plant disease control*. Chet ed. John Wiley & Sons, New York, 373pp.
 8. Poplawsky, A.R., Chun, W., Slater, H., Daniels, M.J., and Dow, J.M. 1998. Synthesis of Extracellular Polysaccharide, Extracellular Enzymes, and Xanthomonadin in *Xanthomonas campestris*: Evidence for the Involvement of Two Intercellular Regulatory Signals. *MPMI* 11: 68-70.
 9. Wiggerich, H.G., and Puhler, A. 2000. The *exbD2* gene as well as the iron-uptake genes *tonB*, *exbB* and *exbD1* of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* are essential for the induction of a hypersensitive response on pepper (*Capsicum annuum*). *Microbiology* 146:1053-1060.
 10. Rossier, O., Wengelnik, K., Ahn, K., and Bonas, U. 1999. The *Xanthomonas* Hrp type III system secretes proteins from plant and mammalian bacterial pathogens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, : 9368-9373.