



柑橘黃龍病

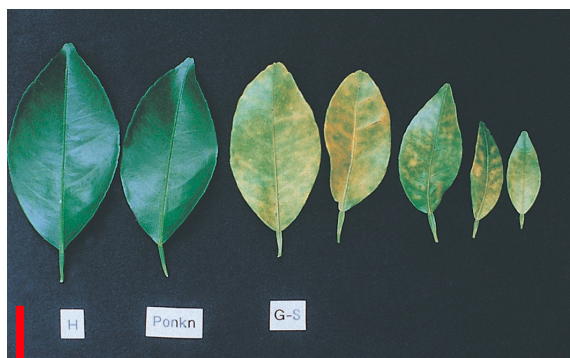
病原菌學名：*Libaerobacter asiaticum* (A fastidious phloem-limited
G(一) bacterium)

英名：Citrus greening

一、前言

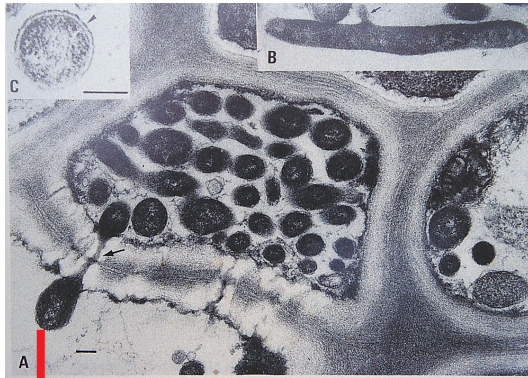
柑橘黃龍病 (Citrus Huanglongbing) 於 1943 年在中國大陸華南以此病名首次發表，但此病早於 1925 就在華南開始發生危害⁽¹⁵⁾。於 1947 年南非以 "Greening" (維綠) 病名報告成為英文的通用名稱。此病因地區有不同病名，在臺灣 1951 開始發病稱為立枯病 (Likubin)；1960 年代東南亞開始發生，菲律賓叫為黃萎病 (Leaf mottle yellows)；在印度稱為柑橘梢枯 (Citrus dieback)；在印尼稱為柑橘葉脈韌皮部退化 (Citrus vein

phloem degeneration)，絕大多數亞洲柑橘產區皆受此病嚴重危害，而在南非亦有蔓延。依照溫度對病徵表現之影響，南非黃龍病分類為熱敏感型，在 22～24℃ 涼溫下引起嚴重病徵，並由南非柑橘木蝨 (*Trioza erytreae*) 傳播；亞洲黃龍病則屬於耐熱型，在 27～32℃ 高溫或涼溫下均可引起病徵，且由柑橘木蝨 (*Diaphorina citri*) 傳播^(1,9,13)。臺灣從 1951 年起此病開始發生，當時即以立枯病稱之⁽⁸⁾，之後此病迅速蔓延在北部柑橘產區，椪柑、桶柑、甜橙普遍嚴重發病，使樹齡縮短



圖一：柑橘黃龍病之病徵。A、椪柑葉上病徵，由左 2 片為健葉，第 3、4 葉為成熟葉黃萎病徵，右三片為病株新生葉萎縮細小呈萎黃缺鋅症狀。B、桶柑病果：小粒黃熟果略帶綠，右大粒為健果。(蘇鴻基)





圖二：病葉脈薄切片之電顯圖，顯示黃龍病原擬細菌體（GFB）於篩管中，左上角為菌體橫切面，表示雙層之胞壁及胞膜。右上角係菌體連續切片之相疊立體圖，表示長桿狀菌體，側出芽生殖。（蘇鴻基）

為10年以下，影響產量與品質極大。從70年代新病原系統出現為害向來抗病之柚類，至此臺灣已無抗病柑橘品種存在⁽¹¹⁾。黃龍病普遍發生成為臺灣柑橘生產之限制因子之一，因而研討綜合防治策略，建立無病柑苗之生產制度與田間健康管理技術^(11,3)，實為學者與柑農之共同課題。

二、病徵

黃龍病其病徵雖因柑橘品種略有差異，一般為葉脈及相鄰組織黃化，隨著全葉變黃或萎黃，有時葉脈木栓化。嗣因落葉、梢枯、細根及側根腐朽，樹勢衰弱而終於全株

死亡。病葉變硬而向外彎曲，落葉後長出細長幼葉呈缺鋅症狀（圖一、A）。罹患黃龍病樹株矮化，產生季節外多花，多半花落而結不整形小果，色淡略帶綠，皮厚，果軸硬化質劣（圖一、B）。

三、病原菌概述

(一)寄主範圍

亞洲型之病原菌亦演化複雜而可分為感染寬皮柑及橙類之系統（Mandarin strain），為害柚類及柑、橙類之柚系統（Pummelo strain）及無病徵弱系統（Symptomless strain）。此病菌往往與柑橘萎縮病毒（Tristeza virus）複合感染加重病徵⁽¹³⁾。

(二)形態

引起黃龍病之病原係不能培養的特殊細菌（*fastidious bacteria* = GFB），存於篩管，在病株中成為系統性，近年來亦暫時被命名為 *Libaerobacter asiaticum*⁽⁷⁾。由連續超薄切片之電顯相片顯示此菌之立體構造，證實此菌成熟體通常為直桿狀350~550nm X 600~1,500 nm，由兩層外膜包圍，20~25nm厚（圖二）。此菌體係多形性，生出彎曲性長桿體，新生菌體大小約100~250nm X 500~2,500nm，當其衰老後成為球狀體，直徑700~800nm含有稀薄細胞質。此菌通常以出芽式繁殖，罕見以雙裂法或連珠狀增殖⁽¹²⁾。

(三)診斷技術

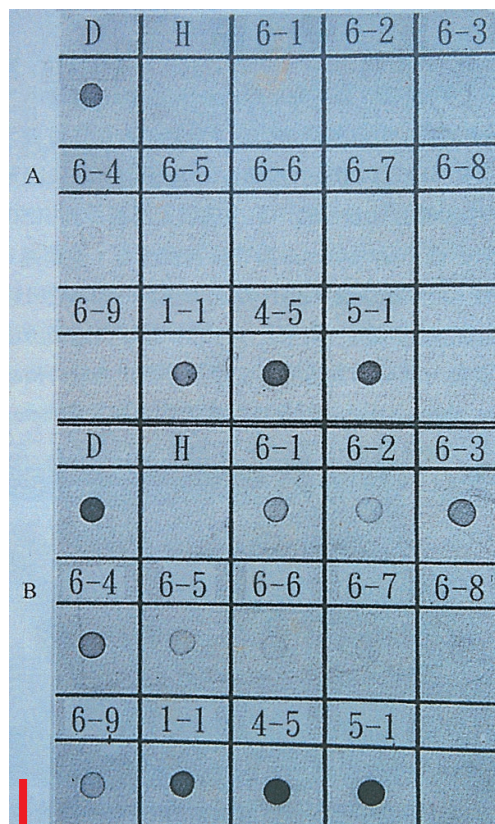
黃龍病之田間診斷主要根據葉部及果實



病徵來判別，而進一步之鑑定工作則有賴精確而敏感之診斷技術。黃龍病在寄主體內含量低且分布不均，電顯檢驗偵測不易。傳統的生物檢定法 (bioassay) 因病原潛伏期長，往往費力而耗時。目前由臺灣大學植病系病毒研究室所研發之核酸探針 (DNA probes) 法⁽⁵⁾與聚合酵素連鎖反應 (PCR) 鑑定法⁽⁶⁾，可供快速而正確之病原偵測，對此病之檢疫及無病種苗管理有利，而對流行病學研究有助益。

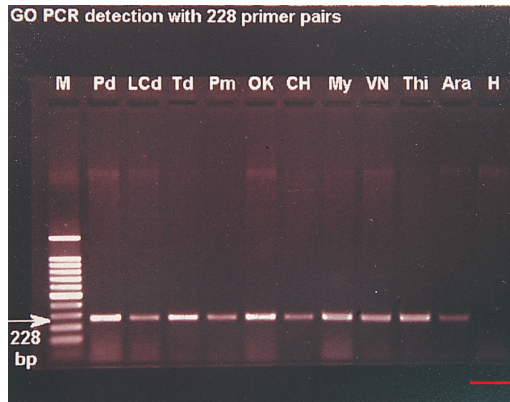
黃龍病原核酸探針乃得自病原DNA之純化與選殖 (cloning)。選殖所得之具有病原特异性DNA片段經生物素標誌 (biotin-labeling) 而成為一非放射性核酸探針，並搭配點漬雜配法 (dot hybridization)，可正確而靈敏的偵測病原⁽⁵⁾。此法已被廣泛應用於黃龍病原之鑑別與生態研究 (圖三)。唯因此法所包括步驟較多，自抽取病原核酸、雜配以至呈色約需時兩天。為求更快速敏感的診斷方法，近年已開發出PCR鑑定法。

病原特异性DNA片段經定序 (sequencing) 後，從中尋找一對引子對 (primer pair)，作為PCR增幅之用。此引子對 (命名為 228-primer pair) 證實具有病原專一性，並對亞洲型黃龍病原，包括臺灣、日本琉球、中國大陸、馬來西亞、越南、泰國、沙烏地阿拉伯等皆可反應 (圖四)；但對南非型黃龍病則不反應⁽⁶⁾，表示此引子對對亞洲型病原 (*Liberobacter asiaticum*) 有特异性。重複



圖三：偵測GFB病菌之點漬雜配檢驗。

A、用標誌DNA試劑對病葉核酸抽出液之雜配反應，陽性3個係具有病徵之病葉 (1-1, 4-5, 5-1)。B、為抽出液經PCR增幅後再經雜配反應之結果，增加敏感度，陽性再增加七個標本，為無病徵之帶病菌葉樣本。D：病葉DNA；H：健葉DNA對照。
(蘇鴻基)



圖四：偵測GFB病菌之PCR複製加電泳分析圖，顯示由臺灣GFB菌系得來之引子對在PCR增幅上，不但對本地之病材料（Pd：椪柑，LCd：柳橙，Td：桶柑，Pm：柚類等不同病株系）均反應，也對日本沖繩（OK），中國大陸（CH），馬來西亞（My），越南（VN），泰國（Thi），及沙烏地阿拉伯（Ara）等國之亞洲型各菌系均反應。H項為健葉對照。M為bp marker。（蘇鴻基）

PCR能增加敏感度，偵測到無病徵病株中極低濃度GFB。PCR鑑定法將病原偵測時間縮短至七小時：核酸抽取需三小時；PCR增幅反應需三小時；電泳分析（agarose gel）需一小時。此為目前較迅速之黃龍病診斷法。

關於核酸探針點漬雜配法與PCR鑑定法之所有詳細操作步驟，日前已詳載於亞太糧肥中心出版之專刊 "Detection of greening fastidious bacteria (GFB) causing citrus greening by dot hybridization and polymerase chain reaction (PCR) with DNA probes and primer pairs" ^(5,6)。

四、發生生態

以染病的芽為接穗，嫁接繁殖之苗木為主要傳病途徑，亦即帶病柑苗係田間蔓延之傳染源。在果園中柑橘木蝨（*Diaphorina citri* Kuwayama）以永續性方式傳播此病菌，但不經卵傳播。傳播能力因木蝨生態型而有差

異，例如臺灣生態型傳播力較低，但田間此媒介木蝨在傳播病害上可能扮演重要角色，因柑苗生長萌芽期暴露於野外受木蝨累積高族群傳染，故感染率頗高。月橘（*Murraya paniculata*）係木蝨生殖最喜好的寄主，但經研究發現它並非柑橘黃龍病原菌之中間寄主。此病菌在柑橘樹中轉移緩慢，而感染初期局限於木蝨傳染的部分枝條中，經數月之久始在樹中轉移蔓延全株。最近人工接種及田間調查發現野生之木蝨寄主烏柑仔（*Severinia buxifolia* Oliver）為此病菌之中間寄主，能做為傳染源而經木蝨傳染到柑橘株。柑橘木蝨之其他兩種寄主木蘋果（*Limonia acidissima* Linn）及山黃皮（*Murraya euchrestifolia* Hay）經接種試驗證實並非此病原之寄主。

屬於耐熱性亞洲型之本地病菌，在高低溫下均可引發病徵。各病菌系統對國內所種





品種品系均為感染性，又此病菌往往與南美立枯病毒（CTV）複合感染，加強發病，尤其肥培管理不良之柑橘園發病迅速而嚴重。

五、防治方法

蟲媒的系統性黃龍病，至今尚無有效之農藥可防治。只靠以流行病學研究獲得之智識為基礎研擬出綜合防治對策，而達無病柑橘之田間健康管理⁽¹⁾。

(一)生產與種植無病柑橘苗：利用頂稍微體嫁接法，去除優良品種所感染之病原，再以PCR技術檢驗為無病者，始用於原種圃，採種圃及建康苗圃，建立無病之柑橘培育體系；另亦規劃辦理健康種苗驗證制度（health certificate），以供應農民無病柑橘苗。

(二)田間衛生：於定植無病苗前，掘除田間病株及中間寄主烏柑子，以減少田間木蝨之傳染源。在未曾種過柑橘之無病原地區，新種無病苗亦是一良策。

(三)媒介昆蟲柑橘木蝨之驅除：在萌芽期施用適當殺蟲劑，以防止健株再受感染，使柑樹能永續生產，延長樹齡，達高品質之高生產量。在三月春芽期及八月夏芽期木蝨帶菌率最高，是感染危險期，需加強噴藥防治⁽⁴⁾，引進利用外寄生之天敵亮腹細小蜂（*Tamarixia radiata*），用於媒介木蝨之生物防治，可有效降低木蝨密度，而此天敵已定著國內田間，無

須再施放。

六、引用文獻

- 1.黃秋雄。1979。臺灣柑桔立枯病之發生、病源與防治。科學農業27: 157-159。
- 2.蘇鴻基。1970。柑桔立枯病複合病因之進一步研究。植保會刊 12:190（摘要）
- 3.蘇鴻基。2000。柑橘黃龍病與防疫策略。p. 67-74。植物疫情與策略。高清文。郭克忠。曾經州編。行政院農委會動植物防檢局。
- 4.Chien, C. C., Chiu, S. C., and Ku, S. C. 1989. Biological control of *Diaphorina citri* in Taiwan. Fruit 44: 401-407.
- 5.Hung, T. H., Wu, M. L., and Su, H. J. 1999a. Detection of fastidious bacteria causing citrus greening disease by nonradioactive DNA probes. Ann. Phytopath. Soc. Japan 65: 140-146.
- 6.Hung, T.H., Wu, M. L., and Su, H. J. 1999b. Development of a rapid method for the diagnosis of citrus greening disease using the polymerase chain reaction. J. Phytopathol. 147: 599-604.
- 7.Jagoueix, S., Bove, J. M., and Garnier, M. 1997. Comparison of the 16S/23S ribosomal intergenic regions of "*Candidatus Liberobacter asiaticum* and *Candidatus Liberobacter africanum*", the two species associated with citrus huanglongbing (greening) disease. Am. Soc. Microbiol. 47:224-227.





8. Matsumoto, T., Wang, M. C. and Su, H. J. 1961. Studies on Likubin. In: Proc. 2nd Conf. IOCV. (W. C. Price ed.) University of Florida, Gainesville. p.121-125.
9. McClean, A. P. D. and Schwarz, R. E. 1970. Greening or blotch mottle disease of citrus. *Phytophylactica* 2:177-194.
10. Su, H. J. 1988. Improved technique of shoot-tip grafting for obtaining citrus foundation stocks free of viruses and Likubin organism. pp. 112-118. In: Proceedings of a Symposium on the Researches and Development of Citrus in Taiwan. (C.C. Tu and C. H. Hsiao eds.). TARI Special Publication No.27.
11. Su, H. J., and Chen, C. N. 1991. Implementation of IPM of citrus virus and greening (Likubin) disease. p.3-11 In : Proc. Int. Workshop on " The Implementation of Integrated Control of Virus Disease of Important Crops". 1991 FFTC Supplement No. 1.
12. Su, H. J., and Huang, A. L. 1990. The nature of Likubin organism, life cycle , morphology and possible strains. Proc. of the 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation Thailand. pp. 106-110.
13. Su, H. J., and Leu, S. C. 1972. Study on the pathogen complex causing likubin of citrus in Taiwan. 1. Nature of mycoplasma-like organism associated with the disease. Proc. of National Science Council 5:109-126.
14. Wang, L.Y., Hung, S. C., Lin, C. J., Hung, T. H. and Su, H. J. 1995. Population fluctuation of *Diaphorina citri* Kuwayama and its transmission in Likubin-infected citrus orchards in Chia-Yi area. pp. 187-188. In: Proc. of Research and Development of Citrus in Taiwan. TARI Special Publication No. 51.
15. Zhao, X. Y. 1981. Citrus yellow shoot disease (Huanglongbing) in China. Proc. Int. Soc. Citriculture. p. 466-469.

(作者：蘇鴻基)

