



南美立枯病

病原菌學名：*Citrus tristeza virus* CTV

英名：Citrus tristeza (Citrus quick decline、Grapefruit stem pitting or Hassaku dwarf)

一、前言

在1890年代南非發現以酸橙（sour orange, *Citrus aurantium* L.）為根砧所繁殖之苗木經種植2~3年後發生嚴重萎凋或枯死，當時推測可能是一種穗砧（scion/stock）組合不親合性所致。隨後相似症狀也陸續在美國加州與其他地方發生。1925年Webber考察南非所得結果，開始認為柑橘嚴重萎凋或枯死是一種病害而非穗砧組合不親合性所引起。

不久後（1930），南美阿根廷又發生此類病害，稱它為Podredumbre de las raicillas de los citricos。然而1937年Bitancourt與Fawcett首先推測該病害為一種病毒所引起。約同時期，巴西柑橘也發生此類病害，一直到1942年，Moreira首先稱此病為"tristeza"。Tristeza是葡萄牙語，其意是悲傷或憂鬱（sadness or melancholy）。在1939年，美國加州柑橘發生相似病害，雖然被稱為"quick decline"，但



圖一：柑橘南美立枯病毒(*Citrus tristeza virus*, CTV)在指示植物墨西哥雷木(Mexican lime)上所造成葉脈透化之病徵。(鄧汀欽)





1944-1945年證明它與tristeza相同，因此目前均以citrus tristeza稱之^(3,4)。

回顧臺灣柑橘病毒之研究歷程，在1966年Matsumoto與Su報告柑橘黃龍病(Huanglungpin)的立枯病(Likubin)病原可能是tristeza病毒，然1970年代許多學者又推測立枯病為擬菌質體病原(mycoplasma-like organism, MLO)所致^(9,13)。實際上，tristeza在臺灣柑橘園早已普遍存在，且大部份是無病徵帶毒樹⁽¹⁾。為避免與柑橘立枯病混淆，林樸氏首先將tristeza病害，轉譯為南非立枯病，其理由為該病最早在南非發現。然而tristeza這個名稱是在南美巴西首先發表，因此邱人璋氏又將南非立枯病改為南美立枯病。至目前，一般所描述柑橘stem pitting或seedling yellows均與tristeza有關。日本所稱

Hassaku dwarf與Natsudaikai dwarf亦為tristeza相同或相似之病害⁽²⁾。

二、病徵

狹義的tristeza是指由酸橙為根砧，甜橙(sweet orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck)為接穗所產生枯萎現象。廣義則指所有易感品種，經嫁接後產生急性或慢性枯萎現象。一般而言，被害樹首先根端崩潰，而後逐漸萎凋，葉片黃化或捲曲，如受病毒嚴重型系統(severe strain)所感染，感病品種可能在短期內驟然枯死。樹齡較大之柑橘樹，則葉片逐漸脫落，有時出現微量元素缺乏症，此種枯萎柑橘樹有時會略為恢復，而繼續生長一段時期，但會造成結果不良，葉片疏落。若詳細檢查感病品種砧木或枝條，有時可發現木質凹陷(stem pitting)病徵⁽¹⁾。此外，若接穗來源本身帶有此病，經嫁接後往往立即出現矮化現象，若由蚜蟲傳播而來，則植株於數年後方呈現萎凋現象。

Tristeza病毒在墨西哥萊姆(Mexican lime, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle)



圖二：CTV在墨西哥萊姆(Mexican lime)上所造成枝條木質凹陷之病徵。
(鄧汀欽)





苗上，可產生明顯葉脈透化（圖一）、水浸狀及木質凹陷（圖二）等病徵，在老葉上可發現葉脈木栓化（vein corking），故一般都用墨西哥萊姆作為病害指示植物（indicator plant）。

三、病原

(一)分類地位

Closteroviridae

Closterovirus

(二)分布

CTV在全球各地柑橘產區普遍發生。全面發生地區：東南亞、日本、印度、澳洲、南非、南美洲和多數太平洋島國。部份發生地區：西班牙、美國佛羅里達及加州、中美洲及加勒比海的部份地區、中國大陸。

(三)寄主

CTV幾乎可以感染所有柑橘品種，但品種不同，病徵呈現差異很大。感病品種如葡萄柚或檸檬(如果受到嚴重病毒品系感染，則呈現矮化、葉片縮小、枝條木質凹陷之病徵)。此外，CTV的病原性有分化情形，有些柑橘的品種可抵抗部份CTV分離株(isolates)，而對其他分離株感病。此外，CTV可感染非柑橘類的Passiflora^(6,18)。耐病品種如椪柑、桶柑、柳橙普遍受感染，但都是無病徵帶毒。抗病品種：當根砧的枳殼(trifoliolate orange, *Poncirus trifoliolate* (L.) Raf.)幾乎可抵抗所有CTV分離株的感染。

(四)形態

CTV為一種長絲狀(thread-like)病毒，顆粒大小約為 $2000 \times 10-12$ nm。該病毒粒子含單股核酸，positive sense，分子量平均約為 6.5×10^6 daltons。電泳分析鞘蛋白分子量為 25000 ± 1000 daltons⁽²⁾。其中佛羅里達的T36分離株係由19296個核苷酸組成，所有基因組構築12個open reading frames (ORFs)，至少產生17種蛋白質。

(五)診斷技術

- 1.指示植物檢定：指示植物為墨西哥萊姆。在溫度 $22 \sim 25^\circ\text{C}$ 的條件下，帶有病毒之接穗嫁接於墨西哥萊姆幼苗，經1~2月後，新生長之葉片呈現明顯葉脈透化與葉背水浸狀之病徵，隨後老葉木栓化。如切取枝條，剝開樹皮則可發現木質呈現凹陷之病徵。指示植物鑑定所需時間較長，且田間大規模調查亦較難。此外，輕症系統在指示植物產生輕微病徵，診斷可能較難。目前已證明有不同CTV病毒系統存在，如何區別或診斷不同strain似乎較為複雜。1959年，Grant報告⁽⁷⁾ CTV可分為T1輕微型(T1 mild)，T1強烈型(T1 strong)及T3嚴重型(T3 severe)系統。T1輕微型在墨西哥雷木病徵輕微，僅少數木質凹陷或葉脈透化之病徵；T1強烈型引起矮化並產生較多木質凹陷及葉脈透化，且漸漸捲葉與黃化；T3嚴重型引起嚴重矮化、凹陷、節





- 間縮短、樹皮加厚、木質部變小及根腐等現象。
2. 電子顯微鏡檢查：利用電子顯微鏡檢查病毒粒子形態，或免疫電子顯微鏡技術鑑定CTV。
 3. 光學顯微鏡檢查：利用光學顯微鏡檢查罹病植株韌皮部（phloem）及其他組織中因CTV引起的特殊內含體（inclusion bodies）。
 4. 病毒蛋白質血清檢查技術：純化CTV並製作多元抗體⁽²⁾，或抽取病毒鞘蛋白（capsid protein）製備鞘蛋白抗血清均已獲成功。Guerra等⁽⁸⁾則以CTV鞘蛋白之peptide maps，配合Western blot來鑑定病毒不同系統。利用單元抗體亦可區別不同病毒系統⁽¹¹⁾。目前利用血清檢查技術，如微量盤（microplate）⁽⁹⁾或組織轉印（tissue blot）⁽⁵⁾進行酵素聯結免疫抗體分析（ELISA），已普遍用來作為CTV例行性診斷之工具^(2,11)。目前農試所製備有CTV多元抗體，可提供作CTV診斷鑑定，至於其他商業化的抗體診斷試劑有：

ADGEN1102

(URL:<http://www.adgen.co.uk/catalog/>)、

Agdia78900

(URL:<http://www.agdia.com/catalog/>)、

BIOREBA 151512

(URL: <http://www.bioreba.com/>)、

DSMZAS0053

(URL:<http://www.dsmz.de/>)、

LOEWE07099

(URL:<http://www.loeweinfo.com/>)、

Sanofi 51625

(3Bd. Raymond Poincare -BP 3, Marnes-La-Coquette, France.)。

5. 病毒核酸檢查技術：分析罹病組織中的雙股RNA（dsRNA）可作為CTV診斷的依據，也可用來鑑別分離株。目前由於整條CTV核酸已全部解序（GenBank/U16304）⁽¹⁰⁾，因此可據以設計核酸探針或利用RT-PCR來測定不同病毒系統⁽⁶⁾。

(六)生活史

Tristeza是系統性病害，CTV存在組織內，隨著罹病組織（枝條）傳播，藉由扦插或嫁接後立足新園，成為初次感染源。植株間的自然傳播則靠蚜蟲。有六種蚜蟲可傳播CTV，包括：大桔蚜（*Toxoptera citricida*），小桔蚜（*T. aurantii*），棉蚜（*Aphis gossypii*），捲葉蚜（*A. citricola*），*A. craccivora*及*Dactynotus jaceae*。其中以大桔蚜的傳播效率最高⁽¹⁵⁾。蚜蟲傳播以半永續性方式（semipersistent manner）⁽²⁾，蚜蟲從罹病株獲毒，需取食（acquisition feeding）5分鐘以上至24小時內，在病株上取食愈久，媒介病毒之能力愈強，蚜蟲獲毒後無潛伏期即可傳播病毒，傳毒時間24~48小時，CTV不在蟲體內繁殖。CTV雖然可利用機械接種傳播，但在田間經由機械傳播之機會可能很少^(2,4)。CTV也不經種子傳播。





四、發生生態

本病主要靠嫁接與媒介昆蟲來傳播。初感染源引入後，上述六種蚜蟲均可傳播此病，至於傳播效率與田間發生可能因蚜蟲種類、蚜蟲密度、病毒不同系統、地區環境及柑橘品種不同而有差異。一般而言，大桔蚜傳病能力高，與存在於果園之棲群密度較高有關，其次為棉蚜與捲葉蚜。在臺灣根據 Tao 與 Tan 報告⁽⁴⁾，大桔蚜與小桔蚜為最主要柑橘蚜蟲，一年中以四月和十月為二個高峰期。此外，捲葉蚜在柑橘嫩芽期亦常發現。目前臺灣所種植之柑橘幾乎普遍感染CTV，且大部份均無呈顯著病徵⁽¹⁾。而果農自行自果園選穗嫁接繁殖之柑橘苗木，可能都帶有本病。

五、防治方法

南美立枯病目前尚無有效防治藥劑。因此在預防上，應從三方面著手進行：

(一)選育健康苗木與適時施藥：本病主要由嫁接與媒介蚜蟲傳播。因此選用無毒健康苗可減少病毒感染源，但目前尚難達到完全免除受害之效果。由於臺灣地區各項氣候條件適合媒介昆蟲週年發生，且各主要柑橘栽培區幾乎均有本病潛伏感染，因此健康苗種植後，仍需適時施藥，以減少媒介蟲之發生與為害，進而降低田間傳播之速率。

(二)抗病品種：以目前臺灣地區栽培柑橘品

種，椪柑與桶柑屬於較抗病品種，葡萄柚與檸檬為較感病品種，甜橙類介於中間。在砧木品種上，廣東檸檬 (Rangpur lime, *Citrus limonia* Osbeck)、酸橘 (Sunki, *Citrus sunki* Hort. Ex Tan.)、及枳殼均屬抗病品種。因此如選用抗病接穗與砧木組合，可能不會構成嚴重為害。

(三)交叉保護 (cross protection)：近年來國外已利用病毒輕病症系統預先接種，以免受到嚴重型系統之感染而受害⁽²⁾。

六、引用文獻

- 1.黃秋雄。1994。柑橘毒素病之研究。農業研究 21 (1)：62-70。
- 2.Bar-Joseph, M., Marcus, R., and Lee, R. F. 1989. The continuous challenge of citrus tristeza virus control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27:291-316.
- 3.Garnsey, S. M., and Cambra, M. 1991. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for citrus pathogens. In: Roistacher, C. N. ed. Graft-transmissible diseases of citrus. Handbook for detection and diagnosis. Rome, Italy: FAO, 193-216.
- 4.Garnsey, S. M. and Muller, G. W. 1988. Efficiency of mechanical transmission citrus tristrza virus. In: L. W. Timmer et al. (ed.) Proc. 10th Conf. Intern. Organization Citrus Virol. pp.46-54. Univ Calif.Riverside, California.
- 5.Garnsey, S. M., Permar, T. A., Cambra, M., and Henderson, C. T. 1993. Direct tissue blot





- immunoassay (DTBIA) for detection of citrus tristeza virus (CTV). In: Moreno, P., da Gra, J. V., and Timmer, L. W. (eds.) Proc. 12th Conf. Intern. Organization Citrus Virol. pp. 39-50. Univ. California Riverside, California, USA.
6. Gillings, M., Broadbent, P., Indsto, J., and Lee, R. F. 1993. Characterisation of isolates and strains of citrus tristeza closterovirus using restriction analysis of the coat protein gene amplified by the polymerase chain reaction. *J. Virol. Meth.* 44:305-317.
7. Grat, T. J. 1959. Tristeza virus strains in relation to different citrus species used as test plants. *Phytopathology* 49:823-827.
8. Guerri, J., Moreno, P. and Lee, R. F. 1990. Identification of citrus tristeza virus strains by peptide maps of virion coat protein. *Phytopathology* 80 : 692-698.
9. Huang, C. H., Chen, M. J. and Chiu, R. J. 1980. Separation of a mycoplasma-like organism from the likubin complex in citrus. *Plant Dis.* 64 : 564-566.
10. Karasev, A. V., Boyko, V. P., Gowda, S., Nikolaeva, O. V., Hilf, M. E., Koonin, E. V., Niblett, C. L., Cline, K., Gumpf, D. J., Lee, R. F., Garnsey, S. M., Lewandowski, D. J., and Dawson, W. O. 1995. Complete sequence of the citrus tristeza virus RNA genome. *Virology*, 208:511-520.
11. Permar, T. A., Garnsey, S. M., Gumpf, D. J. and Lee, R. F. 1990. A monoclonal antibody that discriminates strains of citrus tristeza virus. *Phytopathology* 80 : 224-228.
12. Roistacher, C. N. 1991. Graft-transmissible diseases of citrus. Handbook for detection and diagnosis. Rome, Italy: FAO.
13. Su, H. J. and Leu, S. C. 1972. Studies on the pathogen complex causing likubin of citrus in Taiwan. I. Nature of mycoplasma-like organism associated with the disease. *Proc. National Science Council* 5 : 109-126.
14. Tao, C. C. and Tan, M. F. 1961. Identification, seasonal population and chemical control of citrus aphids of Taiwan. *Agricultural Research* 10 : 41-53.
15. Yokomi, R. K., Lastra, R., Stoetzel, M. B., Damsteegt, V. D., Lee, R. F., Garnsey, S. M., Gottwald, T. R., Rocha-Pena, M. A., and Niblett, C. L. 1994. Establishment of the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) in Central America and the Caribbean Basin and transmission of citrus tristeza virus. *J. Econ. Entomol.*, 87:1078-1085.

本文係根據已故研究員黃秋雄先生遺稿彙整而成，特為之誌。

(作者：鄧汀欽)

