

# 柑橘立枯病病原在罹病柑橘樹之分佈<sup>1</sup>

黃 秋 雄<sup>2</sup>

**摘要：**立枯病複合病原經芽接於二年生健全極柑苗上，經六個月後切取根、莖及嫩莖等不同部位組織檢定，就二年觀察所得結果，發現立枯病菌質體病原已分佈於整棵柑橘苗中，但病原存在於嫩莖之機會較多，根組織則較少。立枯病中之另一病原即 Tristeza 病毒則分佈較為均勻。

若自發病初期僅 1~2 枝條呈現立枯病病徵之罹病樹採取無病微枝條，經檢定結果發病甚少。自發病中期或後期者，則無病微枝條潛伏立枯病病原之機會較多。此種現象顯示立枯病病原初期可能僅存在於呈現病徵之枝條，然後緩慢移動於整棵植株。病穗採自經抗生素四環素灌注後之罹病樹，發病率略為降低，可能係受藥劑影響，使病原分佈不均。

柑橘立枯病，俗稱黃龍病，為本省最嚴重之柑橘病害。根據 64 年調查九百多萬株中，立枯病罹病數達三十三萬餘株（農林廳，未發表資料）。筆者曾於 1974~76 年間，參與本省柑橘品種改良計畫之研究，在優良母樹複選過程中，見全省各地柑橘園，立枯病普遍發生，新竹、臺中及嘉義等地區，無數柑園因本病發生而廢耕，顯示該病對本省柑橘產業威脅至鉅。

在本省栽培之柑橘品種中，似乎都能感染立枯病。從病徵上觀察，以極柑最為明顯。發病初期之罹病柑樹，通常僅 1~2 枝條呈現葉脈黃化，餘則外觀仍然健全。葉脈黃化以夏梢及秋梢較為明顯，至翌年病徵才逐漸擴及其他枝條或整株，且病勢加重。據部份果農言，在發病初期切除罹病枝條，偶爾或有復健現象，是否病徵呈現初期，病原移動緩慢，未分佈至整株枝條，尚不得而知。

立枯病一般認為由類似菌質體 (Mycoplasma-like organism) 之微生物及 Tristeza virus 複合感染<sup>(4,10,17)</sup>。但利用過濾植物已進一步證實菌質體為本病主要病原<sup>(3)</sup>。本研究乃利用指示植物，自接種立枯病複合病原之極柑苗採取不同部位組織、罹病樹中外觀健全枝條及罹病樹經四環素灌注後之罹病枝條來檢定，以瞭解病原之存在情形，藉供進一步研究與防治方法之參考。

## 材料與方法

於溫室，將立枯病複合病原（含有菌質體及 Tristeza 病毒）芽接於二年生健全極柑幼苗上，經二星期後切去極柑上部枝條，促使另生新芽，再經六個月新生枝條已呈現葉片黃化之立枯病病徵後，切取不同部位組織，包括根、莖（成熟度約六個月）及嫩莖（成熟度 1~2 個月）以供檢定。根組織腹接於 1~2 年生極柑苗，莖及嫩莖則嫁接於適合之廣東檸檬苗上。同樣採取上述三種組織嫁接於墨西哥雷木苗以瞭解 Tristeza 之分佈情形。

從新竹寶山、臺中東興、嘉義灣橋及竹崎等四處極柑園，樹齡約 10~15 年生，自不同發病程度之柑樹中採取外觀無病徵之枝條，嫁接於廣東檸檬砧木上，觀察無病徵枝條是否有病原之存在。

另自新竹寶山、臺中東勢、嘉義竹崎及臺東班鳩等四處立枯病抗生素四環素灌注治療之示範園<sup>(11)</sup>，採回立枯病枝條檢定，罹病樹均已接受 1~2 次藥液灌注治療且有復健現象。接穗乃嫁接於廣

1. 臺灣省農業試驗所 研究報告 第 864 號。

2. 本所植物病理系技士。臺灣 臺中縣 霧峰鄉。

東檸檬砧木上，定期觀察發病情形。

## 結 果

### 一、自接種立枯病複合病原之椪柑苗採取不同部位組織之檢定

立枯病病穗芽接於二年生健全椪柑苗上，歷六個月後，切取長約 1.5 公分之不同部位組織檢定，經過二年觀察，發現成活之 23 棵嫩莖及所有之成熟莖均產生立枯病病徵，根組織之發病僅為 11/20，顯示菌質體在病植株分佈不均，其中存在於根組織之機會較少。但複合病原中之 Tristeza 病毒則分佈較為均勻，檢定之根、莖及嫩莖組織，在墨西哥雷木幼苗上，均產生 Tristeza 病徵。其結果如表 1。

表 1. 立枯病病原與 Tristeza 病毒在二年生椪柑苗之分佈

Table 1. Distribution of likubin pathogen and tristeza virus in 2-year-old Ponkan seedlings

檢 定 部 位 Plant parts <sup>a</sup>		含立枯病棵數/嫁接棵數 No. seedlings with likubin / Seedling grafted	含 tristeza 棵數/嫁接棵數 No. seedlings with Tristeza / Seedlings grafted
根	Root	11/20	7/7
幼莖	Young shoot <sup>b</sup>	23/23 (40) <sup>c</sup>	7/7
成熟莖	Mature stem	10/10	7/7

a. 接種立枯病複合病原六個月後所檢定結果。Sampling for this test was made 6 months after graft-inoculation.

b. 幼莖成熟度約 1~2 個月。Young shoots used were about 1~2 months old.

c. 40 個嫩莖中僅成活 23 個。23 Out of 40 shoots were survived.

### 二、罹病樹中外觀無病徵枝條檢定

從新竹寶山、臺中東興、嘉義灣橋及竹崎等柑橘園中，自立枯病罹病樹中採回無病徵枝條檢定結果，發現接穗採自發病初期之罹病樹中無病徵枝條，均無立枯病病徵產生，如東興果園採回 20 枝條中均無發病。若接穗採自發病中期或後期之罹病樹，雖然枝條無病徵，但經檢定後部份則呈現病徵。此種現象顯示病原在植株移動緩慢，分佈不均勻。發病初期病原可能僅限於局部枝條。四處果園檢定結果如表 2。

表 2. 罹病樹中外觀無病徵枝條之檢定結果

Table 2. Indexing for likubin from apparently healthy Ponkan citrus twigs of diseased trees

來 源 Source	觀 察 期 間 (月) Observation period (Month)	發 病 枝 數/檢 定 枝 數 No. twigs with likubin / No. twigs indexed
臺 中 Taichung	24	0/20
新 竹 Hsinchu	24	3/10
嘉 義 Chiayi-I	8	3/8
嘉 義 Chiayi-II	8	2/8

### 三、罹病樹經四環素灌注後其罹病枝條之檢定

四處不同地區之果園，為本省首次利用四環素 (tetracycline) 灌注治療柑橘立枯病之示範園，罹病樹均已接受 1~2 次藥液灌注，病勢較未處理前輕微，但仍有葉片黃化之病徵。從這些樹採回接

穗經檢定，發病率 55~88% 不等，是否因使用藥液，罹病植株內病原密度降低，則有待檢討，但病原分佈不均則為無可置疑。其結果詳如表 3。

表3. 罹病樹經四環素灌注後其罹病枝條之檢定結果\*

Table 3. Indexing of budwood from likubin-affected trees with tetracycline treatment by grafting on Rangpur lime rootstock

來源 Source	品種 Variety	發病棵數/嫁接棵數 No. seedlings with likubin / No. seedlings grafted
嘉義 Chiayi	椪柑 Ponkan	20/36
臺中 Taichung	椪柑 Ponkan	16/18
新竹 Hsinchu	椪柑 Ponkan	24/34
臺東 Taitung	晚崙夏 Valencia	24/30

a. 接穗係自四環素灌注後 4~6 個月之罹病樹所採集 Likubin-affected trees received tetracycline treatment 4~6 months before sampling.

## 討 論

欲瞭解柑橘立枯病病原在罹病柑橘植株之分佈，對於該病之病原必先有澈底瞭解。早年(1936)從事該病之研究為三宅勉及櫻井芳次郎兩氏<sup>(6)</sup>所作宜蘭地區溫州蜜柑調查，當時認為由土壤過份潮濕所致。後來由於本病經大桔蚜及嫁接傳播於墨西哥雷木幼苗均能產生葉脈透化及木質部凹陷等病徵，因而又推測由 *Tristeza* 或 *Tristeza* 相似之病毒所致<sup>(13)</sup>。由於本省普遍推廣抗 *Tristeza* 病之砧木，且不論外觀健全或罹立枯病樹經墨西哥雷木檢定，均可證實 *Tristeza* 病毒之存在<sup>(1,16)</sup>。此種現象顯示立枯病除 *Tristeza* 外，可能有另一病原存在。蘇氏<sup>(4)</sup>稱此未知病原為“Unknown component”。更進一步研究，Chen 等<sup>(9,10)</sup>及 Su 等<sup>(17)</sup>利用電子顯微鏡檢查罹病組織，發現有類似菌質體之微生物存在，並推論該病原為本病之主因。利用過濾植物，黃等<sup>(3)</sup>已自複合病原中分離出單一菌質體病原，證實在椪柑上同樣可產生立枯病病徵。

不論 *Tristeza* 或菌質體，兩者皆引起系統性病害，病原分佈於整棵柑橘植株。然從病徵呈現情形及檢定結果，顯示兩種病原在植株之分佈與移動有顯著差異。從感染立枯病複合病原之二年生椪柑苗中，採取根、莖及嫩莖等不同部位檢定結果，可知 *Tristeza* 分佈比菌質體均勻。Tolba 等<sup>(18)</sup>由感染 *Tristeza* 之植株採取不同組織亦發現本病均勻之分佈。利用墨西哥雷木檢定 *Tristeza* 病毒，通常僅需 4~6 週即可在雷木葉片上呈現病徵，但立枯病病原經接種後，需 3~4 個月才產生病徵，顯示菌質體為害之潛伏期較長，移動較慢。

*Tristeza* 對本省柑橘栽培之影響，雖然目前尚未完全清楚，但立枯病由類似菌質體之微生物所引起，似已無可置疑<sup>(3,10,17)</sup>。從病徵上比較，立枯病與南非之 Greening<sup>(14)</sup>，加州之 Stubborn<sup>(7)</sup>極為相似。Greening 病由類似菌質體引起<sup>(15)</sup>，Stubborn 病則由 *Spiroplasma citri* 所致<sup>(12)</sup>。根據 McClean 報告<sup>(14)</sup>，Greening 之病原在罹病樹移動極為緩慢，可在局部或整棵植株中呈現病徵，病原似乎僅限於呈現病徵之枝條。同樣，Stubborn 病原在罹病樹中亦呈現不規則分佈，甚至可在罹病樹中某些部位失去<sup>(8)</sup>。立枯病初期呈現病徵僅 1~2 枝條，餘則健全，此種現象與 Greening 及 Stubborn 相似。從感染立枯病之二年生椪柑苗，切取不同部位組織檢定所得結果，獲知根部組織含菌質體較少。從罹病樹中採回之無病徵枝條檢定，均可發現菌質體之不均勻分佈，發病初期之罹病樹，病原亦可能僅限於呈現病徵之枝條，而後緩慢移動至整棵樹。Su 等<sup>(17)</sup>以電子顯微鏡檢查，同樣發現菌質體之不均勻分佈，尤其木栓化葉片組織含較多病原個體。

抗生素四環素 (Tetracycline) 目前已應用於治療本省柑橘立枯病<sup>(11)</sup>。根據邱等<sup>(11)</sup>分析本藥液在柑橘樹之分佈情形，藥液成份似乎僅向上移動，對於地下部之根組織尚無法測知藥劑之存在。綜觀本試驗所得結果，立枯病病原在罹病植株呈不均勻分佈，尤其發病初期其病原亦可能僅限於局部枝條。因之，利用抗生素治療本病，能及早灌注，更能收到良好效果。柑橘樹一旦發病嚴重，病原分佈至根組織，則藥劑灌注效果勢必受到很大影響。如能尋求一種更佳系統性藥劑，則必能增加其治療效果。

### 參 考 文 獻

1. 黃秋雄·1972·柑橘毒素病之研究·農業研究 21(1):62-70·
2. 黃秋雄·1977·柑橘立枯病複合病原在罹病柑橘植株之分佈。植物保護學會會刊 19(4): 297-298· (論文摘要)
3. 黃秋雄、陳脉紀、邱人璋·1977·柑橘立枯病複合病原之分離研究·植物保護學會會刊 19(4):298· (論文摘要)
4. 蘇鴻基·1970·柑橘立枯病(黃龍病)複合病因之進一步研究。植物保護學會會刊 12(4):190· (論文摘要)
5. 羅清澤、張書忱、貢毅紳、邱人璋·1952·臺灣柑橘病蟲害調查報告·農林學報 1: 78-126·
6. 三宅勉、櫻井芳次郎·1936·宜蘭地方に於ける温州蜜柑立枯に關する調査，臺北州農會出版。(引自文獻 5)
7. Calavan, E. C. and J. B. Carpenter. 1965. Stubborn disease of citrus trees retards growth, impairs quality and decreases yields. Calif. Citrograph 50: 86-87.
8. Calavan, E. C., C. N. Roistacher and D. W. Christiansen. 1968. Distribution of stubborn disease virus in trees of *Citrus sinensis* and *C. paradisi* at different seasons. In J. F. L. Childs (ed.) Proc. 4th Conf. Intern. Organ. Citrus Virol. : 145-152. Univ. Fla. Press, Gainesville.
9. Chen M. H., T. Miyakawa and C. Matsui. 1971. Mycoplasma-like bodies associated with likubin-diseased Ponkan citrus. Phytopathology 61: 598.
10. Chen, M. H., T. Miyakawa and C. Matsui. 1972. Simultaneous infections of citrus leaves with tristeza virus and mycoplasma-like organism. Phytopathology 62: 663-666.
11. Chiu, Ren-jong, Mou-yo Tsai and Chiou-hsiung Huang. 1977. Tree transfusion with tetracyclines as a measure for citrus likubin control. Proc. Symp. Nov. 30-Dec. 3, 1977, Tokyo, Japan. Food and Fertilizer Technology Center Book Series 13: 91-103, 1978, Taipei.
12. Cole, R. M., J. G. Tully, T. J. Popkin and J. M. Bove. 1973. Morphology, ultrastructure and bacteriophage infection of the helical mycoplasma-like organism (*Spiroplasma citri* gen. nov., sp. nov.) cultured from "stubborn" disease of citrus. J. Bact. 115: 367-386.
13. Matsumoto, T. and H. J. Su. 1966. Likubin or Huanglungpin, citrus virus disease closely related to tristeza (1). J. Agri. Assoc. China. New series 56: 1-12.
14. McClean, A. P. D. 1969. Greening disease of Citrus in South Africa. Proc. 1st Intern. Citrus Symp. 3: 1421-1425. Univ. Calif. Riverside.
15. Saglio, P., D. Lafleche, M. L'Hospital, G. Dupont and J. M. Bove. 1972. Isolation and growth of citrus mycoplasmas. A Ciba Foundation Symposium "Pathogenic Mycoplasmas": 187-203. Association Scientific Publishers, P. O. Box 3489, Amsterdam and 52 Vanderbilt Avenue, New York.
16. Su, H. J. and Matsumoto, T. 1972 Further studies on the pathogen complex causing likubin of citrus in Taiwan. In Price, W. C. (ed.) Proc. 5th Conf. Intern. Organ. Citrus Virol. : 28-33. Univ. Fla. Press, Gainesville.
17. Su, H. J. and S. C. Leu. 1972. Study on the pathogen complex causing likubin of citrus in Taiwan. I. Nature of mycoplasma-like organism associated with the disease. Proc. Nat. Sci. Council

5: 109-126.

18. Tolba, M. A., M. M. Ragab and F. Nour-Eldin. 1976. Studies on the citrus tristeza virus disease  
11. Distribution and movement of the causal virus in citrus plants. *In* Calavan, E. C. (ed)  
Proc. 7th Conf. Intern. Organ. Citrus Virol. :63-67. Univ. Calif. Riverside.

## Distribution of likubin pathogen in likubin-affected citrus plants<sup>1</sup>

Chiou-hsiung Huang<sup>2</sup>

### Summary

The cause of citrus likubin is considered to be a pathogen complex, both tristeza virus and mycoplasma-like organism (MLO) are associated with the disease, but MLO is believed a main component in producing likubin symptoms in the fields. In this study it mainly discussed the distribution of MLO in likubin-affected citrus trees.

An two-year-old Ponkan seedlings were inoculated with likubin pathogen complex. After a period of 6 months, different plant parts including root, stem and young shoot were taken from inoculated seedlings and indexed an indicator plants. The results indicated that MLO pathogen existed in different plant parts, it distributed more even in young shoot than in root. Contrary, tristeza virus was distributed very even either in stem or in root tissues.

Budwood collected from apparently healthy branches of diseased trees failed to produced likubin symptoms or could only develop lower percentage of transmission. Diseased scions taken from affected trees treated with tetracycline solution also decrease the percentage of transmission. The tetracycline solution injected into diseased trees probably suppressed the symptom development and influenced the distribution of MLO pathogen.

The overall results clearly indicate that MLO is uneven distributed in diseased trees, especially in partially affected trees. It may be confined to the diseased branches showing symptoms or absence from many portion of the affected trees.

---

1. Contribution No. 864 from the Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Plant Pathologist, Department of Plant Pathology, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan 431, ROC.