熱療法培育本省無病毒優良柑橘種苗

Heat Therapy for the Production of Virus-Free Citrus Plants in Taiwan

黃秋雄[1]　徐信次[2]

Huang Chiou-hsiung and Hsu Hsin-tszu

摘　要：本文主要討論熱療對本省柑橘三種系統性病害，即柑橘立枯病（黃龍病）、南非立枯病（tristeza virus）及鱗砧病（exocortis）之抑制效果。另從優良母樹選拔經熱療處理、苗木繁殖及指示植物檢定來培育無病毒種苗之經過與其間發現的問題也加以說明。綜合各項試驗所得結果，立枯病病原易於經由熱療處理而使之不活化，tristeza病毒雖然對熱較具耐性，但可經由新生芽條取得無病苗，鱗砧病似乎很難用熱療法去除之。自全省各主要柑橘產區所選出之優良母樹，經園藝特性分析，採穗嫁接後熱療，再繁殖幼苗經指示植物檢定，共選出椪柑及桶柑優良無病毒原種苗各11棵，目前部份尚保存於農試所。然而以相同方法施於柳橙及晚崙夏橙未獲成功，其因乃所有複選合格甜橙母樹均潛伏感染鱗砧病，熱療法難以將本病去除之。未來本省對於含有鱗砧病或其他不易以熱療去除之病毒的柑橘品種，勢必以熱療配合 shoot-tip grafting 或經由珠心胚系選拔來取得無病毒種苗。

關鍵字：熱療、無病毒苗、立枯病、南非立枯病、鱗砧病。

Key words : heat therapy, virus-free plants, likubin, tristeza, exocortis.

一、前　言

柑橘爲一種多年生常綠果樹且爲本省一種極爲重要的鮮果。多年來本省由於柑橘立枯病（俗稱黃龍病）及各種病毒的發生與爲害，使本省柑橘栽培事業面臨鉅大的威脅。本省柑橘主要包括椪柑、桶柑及甜橙類之柳橙，此外尚有零星栽培之檸檬、晚生橙、葡萄柚等。栽培地區因品種特性而略有差異，以椪柑言，主要分佈苗栗卓蘭、臺中東勢及嘉義竹崎、梅山等地區；桶柑因生長適應性較强，分佈於新竹、北宜及花東等地；柳橙則集中於中南部地區，目前以臺中、嘉義及臺南較多。就栽培品種言，目前尚未找到耐或抗立枯病品種；就發生情形言，則立枯病或 tristeza 病毒已普遍發生於全省。

由研究結果中可以獲知，立枯病罹病樹除含有南非立枯病（tristeza virus）外，尚發現有擬菌質體(mycoplasma-like organism, MLO)[6,13]／革蘭氏陰性細菌(phloem-limited gram-negative bacterium)[8,9]之存在。目前已確定後者爲其主病原[13]。此外，本省尚發現有鱗砧病（exocortis viroid）、鱗皮病（psorosis），凹面淤膠病（concave gum)[1,2,3]，木孔病(cachexia)[1]及晚近發現之破葉病(tatter leaf)等[17]。

[1] 臺灣省農業試驗所植病系　Dept. plant Pathology, TARI
[2] 嘉義農業試驗分所園藝系　Dept. Hoticulture, CAES, TARI

從田間調查及病毒檢定的結果，中南部所栽培之柳橙及東部之晚崙夏橙（valencia orange）罹患鱗砧病比率極高[2]。過去本省部份橙類果園由於未知接穗含有鱗砧病，採用廣東檸檬爲砧木，致使果園柑橘生長頹化，甚至整園廢耕，極爲可惜。

減少病毒爲害，除選拔優良抗病品種外，尋求健康無病毒苗來繁殖，亦爲一項重要的途徑。柑橘無病毒苗的培育就目前各國沿用的方法，乃由果園中選出外觀健全，品質優良的母樹，配合熱療或頂梢嫁接技術來取得無病毒苗。另外，以珠心胚系來繁殖，然需花費較長的時間。爲挽救本省柑橘產業，1973年農業試驗所與青果社在農復會（目前之農委會）經費補助下籌畫本省柑橘品種改良與無病毒苗培育計畫，該計畫所沿用的方法乃自全省柑橘園選出優良母樹，公開徵求提供優良芽變枝條，進而應用熱療技術與指示植物檢定以培育無病毒苗。詳細結果已發表於中華農業研究[4]。本文將概述有關過去熱療處理之經驗，無病毒培育之過程與結果，供今後本省進行相關工作之參考。

二、熱療技術與熱療效果

應用熱療（thermotherapy or heat therapy）法抑制植物體內的病毒增殖或使不活化，早已被人所知。一般常用的方法係將病植物組織浸於適當的熱水（hot water treatment）或將病植物培育於高溫（35°C～43°C）之熱療箱（heat chamber）處理（hot air treatment）[15]。熱療技術應用於柑橘無病毒苗之研究，早在 1956 年Price 與 Knorr 就嘗試過[16]，然他們將病穗浸於溫水，試圖去除鱗皮病與南非立枯病却未成功。1957年，Grant以相似方法，將病組織放在40～55°C之不同溫度與時間，發現成活接穗乃含有南非立枯病。從上述之結果，Grant推測南非立枯病（tristeza）病原致死所需溫度可能比組織致死之溫度高或時間更長，因而未獲成功[10]。相反地，若將病植物置於 35°C～43°C（95°～110°F）培育一段時間後，新生長的枝葉經檢定，却未發現有 tristeza 存在，但較老枝條仍含有病毒[11]。同年的報告，Desjardins [7] 以感染 tristeza 之墨西哥雷木（mexican lime）苗置於 40°C 之生長箱培育，經 3～4 週後，發現新生雷木葉片上 tristeza 病徵被抑制。很明顯地，熱療箱處理比熱水處理具較佳效果。然而溫度 35°C 以上，已逐漸不適於柑橘生長，因此應用熱療箱處理如能選擇較具抗／耐熱的柑橘品種，溫度再提高，則對於嫁接於耐熱之砧木上的接穗，必可增加成活與成功的機會。1972年，加州大學 Calavan 等[5]改進前人的缺點，將病穗先嫁接於耐熱的枳橙或廣東檸檬砧木上，再移於熱療箱每天給予照光16小時 40°C／無照光 8 小時 30°C 之循環交替溫度，經過 8～12 週的培育，可使數種病毒不活化，但鱗砧病、木孔病、脈黃病（yellow vein），破葉病及Dweet mottle病則不易以熱療處理去除之[5]。但最近 Miyakawa 謂感染破葉病之椪柑或桶柑培育於 40/30°C 交替之熱療箱三個月以上，可獲得無破葉病苗[14]。

爲應用熱療技術培育本省無病毒柑橘種苗，筆者曾就本省三種發生最爲普遍且嚴重的病害進行熱療處理，這三種病害即柑橘立枯病，南非立枯病（tristeza）及鱗砧病。所使用的熱療箱爲(1) Hotpack Model "352620" Programmed Refrigerated Incubator，溫度爲照光16小時40°C／無照光 8 小時30°C，(2) 爲木製熱療箱內鑲鋁片（3m×3m×2m），溫度調整 40°/30°C，但因無冷却系統裝置，因此實際溫度爲 39～45°C/29—33°C。由試驗結果（表一、表二）可以推知，立枯病之主病原（指 gram-negative bacterium）極易被高溫所抑制。帶有立枯病病原之接穗經嫁接於耐熱之廣東檸檬苗上，在 40/30°C 熱療箱處理 4 週以上，新生長的葉片即呈現健全，很顯然地，立枯病病原已被抑制，但 tristeza 病毒則對熱較具抵抗性。含有 tristeza 病毒之墨西哥雷木苗需較長時間之處理

(10～15週），才能獲得無病毒接穗。至於鱗砧病，供處理的廣東檸檬苗，雖然經過一年的熱療，但新生枝條乃然含有其病原。

表一　熱療箱處理法對立枯病複合病原之抑制效果[a] (Huang, 1978)

病穗品種	熱療時間（週）	溫度[b]（C）	結果	
			無立枯病症狀／處理病穗數	不含Tristeza穗數／處理病穗數
椪柑	4	40/30	6/6	0/6
椪柑	8	40/30	7/7	0/7
椪柑	13	40/30	3/3	1/3
桶柑	8	39—45/29—33	4/4	0/4
桶柑	18	39—45/29—33	3/3	3/3
椪柑（對照）	0		0/4	0/4

[a]：病穗係側接於廣東檸檬苗後，移入熱療箱處理。

[b]：熱療箱內溫度爲高溫16小時照光／低溫 8 小時無照光之交替循環，40/30°C 之熱療箱爲 Hotpack Model "352620", 39—45/29—33°C 爲 3m×3m×2m內鑲鋁片之木製熱療箱。

表二　熱療箱處理法對南非立枯病（tristeza）及鱗砧病（exocortis）之抑制效果[a] (Huang, 1978)

溫度 (C)[b]	熱療時間（週）	結果	
		不含tristeza嫩芽數／檢查之嫩芽數	不含exccortis嫩芽數／檢查之嫩芽數
38/28	15	1/3	—
38/28	20	4/11	—
40/30	10	0/8	0/7
40/30	15	9/10	0/9
40/30	20	6/7	0/8
40/30	30	—	0/6
40/30	52	—	0/8
39—45/29—33	10	9/10	—
39—45/29—33	16	9/9	0/7
39—45/29—33	20	8/8	0/9

[a] 熱療處理係將感染 tristeza之墨西哥雷木及感染exocortis之廣東檸檬苗移入熱療箱，經一段時間採新枝條檢定是否有病毒之存在。

[b] 熱療箱內溫度爲高溫16小時照光／低溫 8 小時無照光之交替循環，38／28及40／30 之熱療箱爲 Hotpack Model "352620"；39—45/92—33則爲3m×3m×2m內鑲鋁片之木製熱療箱。

一般言，熱療箱中的溫度以植物體生長周圍之溫度對病毒不活化影響較大。溫度38°C 以上不適於柑橘生長，因此箱內應保持充足的水份，防止因高溫所引起之水份過度蒸散，使植物萎凋。不可否認的，溫度愈高，療效愈好，但要考慮到植物對熱的忍受性。以38/28°C 交替循環溫度，獲得 tristeza-free 的枝條，可能要15～20週的處理時間；

溫度如提高到40/30°C，則15週後新生枝條（0.5～1公分長）已有90%不含 tristeza；如再將溫度提高爲 39～45°C/29～33°C，則病植物經10週之熱處理，新生枝條同樣有90%不含 tristeza。含有鱗砧病之病植物經過一年的熱療處理，却無法獲得無病穗。土壤溫度比植物周圍的溫度約低 5～6°C，以塑膠袋培育苗之土溫比用素燒盆的土溫約高1～2°C，然似乎對於病毒不活化無顯著影響，一般素燒盆較塑膠袋通氣好，但較易乾燥，因此要經常注意水份之供給。

三、熱療技術應用於本省柑桔無病毒苗之培育

前面已說明，熱療處理無法完全將病組織內所有的病毒不活化，因而1974～1976年間，本省進行之品種改良與無病毒培育工作，首先即進行優良母樹選拔，進而同時進行母樹園藝性狀調查、品質分析、熱療處理及初步病毒檢查（主要爲鱗砧病），最後再用指示植物複檢而獲得無毒苗，茲分述如下：

1. 優良母樹選拔： 母樹之選拔分初選與複選。初選係由青果社或有關改良場來協助。合於初選之條件爲樹齡在10年生以上，外觀無異狀且生長良好，整園無發現嚴重病蟲且管理良好，園中無間作其他雜果爲具備條件。另外，園主須熱心合作者。複選工作係由農試所與其他單位之園藝及病理專家組成，將初選合格母樹再到現場作嚴格的觀察，除具備初選條件外，尚應具備(1)無劣變或其他不良園藝性狀之枝條者，(2)附近無嚴重立枯病害者，(3)無其他可疑病毒（tristeza 除外）者。母樹經複選合格後，將各不同品種逐一編號掛牌，椪柑以 P爲代號，桶柑以 T爲代號，晚崙西亞橙以 V爲代號，柳橙則以L爲代號。

經過初選合格的母樹園共有22個，其中椪柑 9 園 180 棵，桶柑 4 園80棵，柳橙 4 園80棵，晚崙夏橙 5 園100棵。四個品種共計440棵母樹，但複選後僅剩 362 棵。椪柑選擇的園地集中於苗栗、南投及臺中地區，桶柑在新竹及苗栗，柳橙在臺中、南投及嘉義地區，而晚崙夏橙以臺東地區爲主。實際上，在整個初選與複選過程中，當時負責該計畫的農復會陳嘉吉技正及有關專家均已走遍全省主要柑橘產區，例如臺北陽明山，宜蘭地區所栽培之桶柑，由於品質及管理上均遜於苗栗地區，高屏地區的柳橙因罹患立枯病，因而摒棄。在砧木品種上，臺東一處晚崙夏橙以美女桔，南投一處椪柑及臺中一處柳橙爲廣東檸檬外，其餘均以酸桔爲砧木。

2. 園藝性狀調查、果實品質分析、熱處理及病毒初步檢定

經過複選合格的母樹，園藝性狀調查僅在每年採果時觀察是否異樣而已，最主要的乃果實品質分析。果品分析係每棵以逢機採取10枚果實(採自東、西、南、北及中等方位)攜回實驗室作果實特性與品質分析，包括果重、果實橫徑、果高、果形指數、果皮厚、果瓢數、果心、種子數、果肉重、果肉率、果汁重、果汁率，可溶性固形物，檸檬酸含量及糖酸比等項目。另外，自母樹採穗作熱處理及病毒初步檢定。熱處理係將接穗自母樹採回後，以芽接方式嫁接於二年生廣東檸檬苗上，經過 3 ～ 7 天後隨即移入熱療箱，每棵母樹以繁殖於 5 棵廣東檸檬上，每棵三穗，爲防止經由刀片或工具傳播之病毒，工具均以 0.5～1%漂白水消毒。熱療箱爲木製內面鑲有鋁片，大小爲 3m×3m×2m，溫度約爲 39～45°C 照光 16小時／29～33°C 無照光 8 小時之交替循環處理。至於病毒初步檢定，鱗砧病以 Etrog citron "861"，鱗皮病及凹面淤膠病以 Pineapple orange 及

Parson brown爲指示植物。

在三年先後調查母樹中，第一年所觀察樹齡强健，品質優，產量高且外觀無病蟲害者，均列爲母樹，且均採穗作熱療處理及病毒初步檢定。從病毒檢定的結果中，發現其中甜橙類之柳橙及晚崙夏橙兩品種之母樹均罹有鱗砧病，經熱處理所繁殖之幼苗，經檢定亦含有病毒，因此隨即將上述二品種母樹淘汰。故於第二年僅就椪柑及桶柑品種繼續調查，除發現有嚴重隔年結果者，亦予淘汰外，如南投魚池一處椪柑園，因園內混合栽培不同橙類且有鱗砧病、鱗皮病及凹面淤膠病之存在，該園也因而淘汰。本試驗經過三年來初選與複選，園藝性狀及品質分析，病毒初步檢定而列爲合格母樹，其果品分析如下表（三年平均值）：

表三　椪柑（P）及桶柑（T）之原種樹果實品質分析（1974—1976）（嚴等，1979）

品種	果重(g)	橫徑(cm)	果高(cm)	果形指數	果皮厚(mm)	果瓢數	果心(cm)	種子數(個)	果肉重(g)	果肉率(%)	果汁重(g)	果汁率(%)	可淳性固形物(g/100g)	檸檬酸含量(g/100g)	糖酸比
P-025	204.39	7.55	7.01	1.08	3.11	9.77	2.42	7.56	145.14	71.04	112.61	55.20	8.81	0.5107	17.64
P-044	201.86	7.55	6.85	1.10	3.20	9.86	2.34	9.10	148.50	73.58	111.45	55.23	8.71	0.4802	18.15
P-046	201.23	7.50	6.86	1.09	3.11	9.89	2.36	8.90	147.32	73.06	111.06	55.07	9.15	0.5292	17.42
P-049	213.98	7.68	7.05	1.09	2.98	9.72	2.08	8.65	157.51	73.57	121.74	56.84	8.57	0.5113	16.83
P-093	208.28	7.62	6.95	1.10	3.28	10.14	2.28	7.19	149.69	72.00	109.86	52.92	8.79	0.5364	16.55
P-101	224.38	7.75	7.14	1.08	3.34	10.41	1.91	9.29	160.88	71.77	121.14	54.02	9.27	0.5451	17.08
P-102	182.74	7.29	6.41	1.14	2.99	9.74	1.86	7.29	134.61	73.81	105.04	56.70	10.01	0.5620	18.24
P-103	189.73	7.34	6.63	1.11	3.00	9.98	1.86	9.15	137.46	72.64	104.22	55.11	9.62	0.5859	16.69
P-107	213.19	7.76	7.01	1.11	3.16	9.85	1.92	8.76	151.32	71.25	116.62	54.93	8.96	0.5120	17.78
P-115	188.89	7.57	6.85	1.11	3.15	10.42	1.98	8.33	141.92	75.61	109.80	58.62	9.27	0.4851	19.10
P-201	291.50	8.54	8.14	1.05	4.04	9.30		0.50	188.05	68.27				0.7833	13.48
T-017	228.92	7.83	6.71	1.17	3.47	9.95	1.37	0.53	179.45	78.40	136.37	58.26	9.10	0.6345	14.55
T-019	197.29	7.43	6.43	1.16	3.63	10.29	1.26	2.29	146.14	74.08	118.37	60.00	7.96	0.4326	18.40
T-023	179.63	7.17	6.34	1.13	3.16	10.45	1.21	2.21	137.37	76.54	105.27	58.37	10.19	0.5862	17.44
T-025	172.95	7.11	6.32	1.13	3.48	10.30	1.10	2.79	126.91	73.52	98.33	56.75	9.38	0.6341	14.72
T-027	209.26	7.59	6.80	1.12	3.88	10.28	1.15	1.20	155.39	74.25	117.32	56.01	9.39	0.5666	16.89
T-001	171.84	6.93	6.40	1.09	3.45	9.88	0.96	1.57	126.46	73.37	87.24	50.87	9.56	0.5786	16.40
T-008	183.77	7.02	6.58	1.07	3.10	9.85	0.99	2.16	144.83	77.57	104.62	52.82	9.03	0.5688	15.90
T-051	208.05	7.37	6.72	1.10	2.90	9.26	1.03	0.72	163.40	78.64	129.12	61.88	8.92	0.6569	14.05
T-058	228.07	7.52	6.85	1.10	3.12	9.23	1.12	0.66	176.25	77.48	128.85	56.68	10.42	0.6105	17.42
T-059	231.84	7.69	6.89	1.12	3.05	9.87	1.16	0.49	181.70	78.65	131.21	56.44	9.93	0.6083	16.36
T-060	195.95	7.30	6.65	1.10	2.88	9.64	1.03	1.32	153.80	78.54	118.00	59.54	9.02	0.5126	17.63

3. 病毒之再檢定與無病毒苗之培育成功

從優良母樹所採回之接穗乃然含有病毒，接穗經芽接於廣東檸檬苗，移入熱療箱

處理三個月以上（彩 8），椪柑與桶柑接穗比較耐熱，熱處理成活率可達50～60%，但柳橙及晚崙夏橙對熱適應性較低，故成活率達30%，且有不易產生新枝條之現象。無病毒苗之獲得即從新生芽條切取 0.5～1 公分長之枝條先繁殖於適當的砧木上，經過六個月後，進行病毒檢定，其所使用之指示植物及檢定之病毒如表四。如果檢定的結果不含病毒，配合三年來園藝性狀分析優良者，即選爲無病毒原種樹，而該編號之母樹即爲優良母樹。從三年所進行而獲得無 likubin, tristeza, psorosis, concave gum 及 exocortis 之椪柑原種樹32株，桶柑26株，配合優良園藝性狀最後選出10株椪柑及11株桶柑爲無病毒原種樹。另外，自臺中天冷獲一芽變枝條，雖然未有完整園藝特性資料，因果實不具種子或種子甚少，故已培育編號 P—201 之無病毒原種樹，其詳細結果列於下表：

表四、再檢定所使用之指示植物與病毒種類

病毒種類	指示植物
Likubin	Ponkan
Exocortis	Etrog citron 861
Tristeza, Yellow vein	Mexican lime
Psorosis, Concave gum	Pineapple orange, Parson brown
Cachexia (Xyloporosis)	Orlando tangelo, Parson's special mandarin

表五　經病毒檢定及園藝特性分析合格之椪柑及桶柑原種樹*（嚴等，1979）

園主姓名	果園地點	樹齡（年）	母樹號碼
徐林林林羅詹詹詹詹林羅羅葉葉葉葉姜姜姜姜	坤益益益嘉益益益益阿慶慶廷廷廷廷煥煥煥煥	清耀耀耀一乾乾乾乾乾富美美祺祺祺祺辰辰辰辰	臺臺臺臺苗苗苗苗苗苗臺苗苗苗苗苗新新新新	中中中中栗栗栗栗栗栗中栗栗栗栗栗竹竹竹竹	東東東東西風風風風天大大南南南南南北北北北	勢勢勢勢坪空空空空空冷河河坑坑坑坑坑埔埔埔埔	15 15 15 15 10 10 10 10 10 10 15 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	P-025 P-044 P-046 P-049 P-093 P-101 P-102 P-103 P-107 P-115 P-201 T-001 T-008 T-017 T-019 T-023 T-025 T-027 T-051 T-058 T-059 T-060

*原種樹係自園藝特性分析較佳之母樹採穗，經熱處理及病毒檢定而繁殖者。

四、無病毒原種樹之保存與現況

1976年首批無病毒苗培育成功後，隨即增殖，並將椪柑及桶柑各11棵無病毒原種樹移交農試所園藝系並擬長期保存於當時新建完成之不銹鋼網室，惜無後續計畫，終告吹毀。目前保存於農試所植病系網室之無病毒苗乃當時之部份增殖樹。由於歷經12年之盆栽培育，部份苗木因土壤與管理失衡而廢棄，然從多年的觀察，尚未發現有立枯病感染。根據本年2月（1988）調查的結果，尚保存之椪柑原種樹有22棵及桶柑14棵。園藝性狀分析合格者椪柑有 P—049, P—093, P—101, P—103, P—107，而桶柑有 T—001, T—008, T—023, T—025, T—017, T—051及 T—059。部份培育之原種樹已結果且園藝性狀亦甚佳（彩8）。此外，尚保存溫州蜜柑及1974年筆者自加州大學（Riverside校區）購回數個無病毒柑橘品系。茲列表於下：

表六、現存於農業試驗所之無病毒柑桔原種樹

品　種	來　源	編　號
椪　柑	本省複選合格樹母園	P—049, P—093, P—101, P—103, P—107
桶　柑	本省複選合格母樹園	T—001, T—008, T—017, T—023, T—025, T—051, T—059
溫州蜜柑	苗栗三義	S—037, S—098
晚生橙	加州大學	V—181, V—214P, Cutter valencia
臍橙	加州大學	Forst Navel 26P

五、結　論

回顧第一次本省柑橘品種改良與無病毒苗培育，至今已歷14年。筆者深感當初參與初選、複選及無病毒苗培育的工作人員之辛勞精神，使本省首批無病毒苗得以成功，至爲敬佩。然而培育成功的無病毒苗未作進一步應用與栽培實在可惜。所幸去年（1987）八月在農委會召開柑橘產業發展輔導諮議委員會會中決議將該批無病毒柑橘苗移到嘉義分所再經檢定，確定不帶病毒後移入嘉義農試分所原種園。本省在1981～1982年間進行之第二次無病毒苗培育計畫，至今已5～6年，其所得結果如何，應與第一次所得結果作進一步的研商。另外，無病毒苗培育的成功，僅是發展本省柑橘產業所跨出的第一步，因爲經由媒介昆蟲傳播的病害問題尚未解決，未來乃需集合全省園藝學者，土壤管理及病蟲害專家，共謀解決，以挽救本省的柑桔產業。

參考文獻

1. 林樸・1969・臺灣柑橘毒素病問題及生產改進・中國園藝15（3,4）：80—82。
2. 黃秋雄、徐信次、陳蕙明・1977・柑桔鱗砧病在臺灣兩種主要甜橙品種之發生與危害。中華農業研究26(3)：251—254。
3. 黃秋雄・1978・臺灣柑橘鱗皮病與凹面淤膠病之發生調查。果農合作 363：10—12。

4. 嚴夢如、黃秋雄、徐信次・1979・臺灣柑桔品種改良與無病毒種苗之培育・中華農業研究28：35—44。
5. Calavan, E. C., C. N. Roistacher and E. N. Nauer. 1972. Thermotherapy of citrus for inactivation of certain viruses. Plant Dis. Reptr. 56：976—980.
6. 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.
7. Desjardins, P. R., J. M. Wallace, C. T. Langer and R. J. Drake. 1957. The suppression of tristeza virus symptoms in mexican lime seedlings by heat treatment. Plant Dis. Reptr 41：230—231.
8. Garnier, M., J. Lartille and J. M. Wallace. 1976. *Spiroplasma citri* and the organism associated with likubin: Comparison of their envelope systems. *In* E. C. Calavan (ed.) Proc. 7th Conf. Intern. Organization Citrus Virol. P. 13—17. Univ. Calif. Riverside.
9. Garnier, M., N. Daniel and J. M. Bove. 1984. The greening organism is a gram negative bacterium. *In* S. M. Garnsey *et al.* (ed.) Proc. 9th Conf. Intern. Organization Citrus Virol. P. 115—124. Univ. Calif. Riverside.
10. Grant, T. J. 1957. Effect of heat treatments on tristeza and psorosis virus in citrus. Plant Dis. Reptr. 41：232—234.
11. Grant, T. J. 1957. Effect of heat treatments for obtaining sources of virus-free citrus budwood. Proc. Fla. State Hortic. Soc. 70：51—53.
12. Huang, C. H. 1978. Effect of hot-air treatment on likubin, tristeza virus and exocortis viroid diseases of citrus. J. Agric. Res. China 27(2)：193—198.
13. Huang, C. H., M. J. Chen. and R. J. Chiu. 1980. Separation of a mycoplasma-like organism from the likubin complex in citrus. Plant Disease 64(6)：564—566.
14. Miyakawa, T. 1980. Thermo-therapy for some citrus cultivars infected by tatter leaf virus. Bull. Tokushima Hort. Exp. Sta. 9：7—11.
15. Nyland, G., and A. C. Goheen. 1969. Heat therapy of virus diseases of perennial plants. Ann. Rev. Phytopath 7：331—354.
16. Price, W. C. and Knorr. 1956. Kinetics of thermal destruction of citrus tissues in relation to the virus disease problem. Phytopathology 46：657—661.
17. Tsai, M. J. and H. J. Su. 1986. The nature of citrus tatter leaf virus. Plant Prot. Bull. 28(4)：446—447 (Abstract).

Summary

This paper deals with the effect of heat treatment on likubin pathogen, tristeza virus and exocortis viroid, and the use of heat therapy for the production of virus-free citrus plants in Taiwan. Based on the reports, likubin diseased buds grafted on Rangpur lime seedlings exposed to the alternative temperatures of daytime 40°C for 16hr and night time 30°C for 8hr for 4 weeks or longer, new growth from the diseased buds showed no likubin symptoms, indicating that likubin pathogen was inactivated. However, tristeza virus was not inactivated by the same treatment. When young shoots from tristeza infected mexican lime seedlings which were placed at alternative temperatures of 40/30°C for 15 weeks or 39—45/29—33°C for 10 weeks could be free from tristeza virus. Alternative temperatures of 38/28°C seemed not sufficient for the inactivation of tristeza. Because none of the heat-treated cuttings were free from exocortis even the treatment was prolonged up to 52 weeks, heat treatment at the above conditions seemed difficult to inactivate the exocortis. Application of heat therapy for the production of virus-free plants has been succeeded in some citrus cultivars. According to the field selection of parent source trees, analysis of horticultural characters, and indexing results, virus-free citrus plants for Ponkan and Tankan cultivars were obtained. However, due to the latent infection of exocortis in Liuchen and Valencia orange, no virus-free plants were obtained in these two cultivars.

問　題　討　論

問：鱗砧病是僅有核酸，沒有外鞘蛋白，對不對？那麼爲什麼用熱療法反而沒有效果？

黃秋雄：

鱗砧病是由一種不含外鞘蛋白的核酸所引起的。一般病毒含有外鞘蛋白，加熱後蛋白質變性就無法恢復，病毒也就不活化，而鱗砧病不含蛋白，當加熱後，雖然核酸會分開，然冷却後，核酸又恢復。所以熱療法無法把鱗砧病病原致死或不活化。這種試驗在國外有報告，我們在臺灣所進行的亦獲相同結果。

問：Trsteza 有 protein coat（外鞘蛋白），熱療是否有效？

黃秋雄：

Tristeza 病毒有外鞘蛋白，熱療可使該病毒不活化。

趙世通：

剛才所說的都是用苗木熱療，假使全部園子，怎麼熱療法？

黃秋雄：

這個問題，實際上我很早就想過了。在南非，他們曾經用一個大網罩去熱療一整棵的樹。我不曉得有沒有辦法設計一個大網罩，在夏天把有病的樹罩起來，如果溫度能達到四十度以上，經過一週或二週，或許可將立枯病病原不活化。另外，在田間進行，可能比較困難與控制。

蘇鴻基：

今天所提那些母樹來源可否可以追踪到？

黃秋雄：

我們的母樹都有編號，記載在那裡，那一位園主，那一個果園。只要母樹不死或果園未被廢棄，號碼牌未掉落，都可以追踪的。

蘇鴻基：

我的問題是，說不定現在還可以 trace，假若這些母樹特性好，過去熱療成功的苗還存在，那再檢定很好，則可提供給嘉義分所去做原料。

黃秋雄：

剛才已說過，母樹都有編號記載，只要母樹未死或果園未廢棄，應該可以 trace。至於母樹的特性均有園藝性狀分析且已發表。另外，在去年的柑橘諮議委員會討論中已決議將這些苗移給嘉義分所，已在去年12月嘉義分所派員來採穗回去繁殖。