柑桔黃龍病之感染與防治

洪士程[1]　陳秋男[2]　洪挺軒[3]　蘇鴻基[3]

[1]嘉義市　行政院農業委員會農業試驗所嘉義分所

[2]台北市　國立台灣大學昆蟲學系

[3]台北市　國立台灣大學植物病理與微生物學系

摘　要

柑桔木蝨(*Diaphorina citri*)傳播之黃龍病(huanglongbing)爲柑桔之重要病害，由一種多型性的擬細菌(Fastidious bacteria)所引起，植株受感染後經過一段時間，病原將分布整個植株，屬於系統性病害。柑桔黃龍病目前尚無有效之治療藥劑，注射抗生素如四環黴素雖會得到暫時性的舒緩效果，但卻無法完全根治。種植無病健康苗、防治柑桔木蝨及砍除田間病株爲防治的基本原則。但田間實際狀況非常複雜，唯有對病原菌、媒介昆蟲及其相關之環境因子作通盤了解，方能適時作出有效防治。黃龍病病原菌不經木蝨卵傳播，木蝨一旦獲毒即終生帶毒，若蟲之獲毒能力佳，成蟲獲毒能力差，荒廢柑園則是孕育帶毒木蝨的最佳場所。黃龍病的防治首應注重荒廢柑園的清除，避免帶毒木蝨遷飛侵入附近果園造成感染。其次針對柑桔木蝨之遷飛期與發生期進行藥劑防治，避免木蝨在芽期大量繁殖而造成柑園內黃龍病之蔓延與流行。若能做好柑桔木蝨的防治工作，再加上種植健康苗與清除田間病株，即可有效減少黃龍病之發生。

關鍵詞：黃龍病、柑桔木蝨、感染、防治。

前言

黃龍病普遍發生危害各柑桔品種，嚴重影響柑桔產量與品質，成爲柑桔生產之重要限制因子。此病主要經由種苗傳播，而在種植後又經柑桔木蝨媒介傳播。針對此問題，農政單位自 1981 年開始推行柑桔生產改進方案，逐年推行無毒柑桔種苗之技術及制度，惟健康苗定植田間後，仍會受柑桔木蝨媒介再感染，如何避免再感染便成爲健康苗推廣種植後的重要課題。黃龍病防治之基本原則爲種植健康苗、清除病株及防治柑桔木蝨。黃龍病防治方法之擬訂則需依據柑桔木蝨生態學之研究、柑桔木蝨媒介傳播特性及田間黃龍病傳播方式等資料，加以整合分析，理出一套防治方法，來確保健康苗 / 株不被感染。

前人研究

柑桔黃龍病 1943 年首見於中國大陸。 1947 年南非也發生危害，受害果因果實變小、轉色不完全而呈綠色外觀，以 greening 稱之。 1951 年起黃龍病在台灣開始嚴重發病，此病當時傳播快，對柑桔產業造成重大威脅。台大植病系松本教授作了病因之研究，確定本病爲接穗嫁接傳播之系統性病害 (virus-like disease) ，於 1961 年以立枯病 (Likubin) 之名稱發表，認爲可能是與 CTV 混合感染之普通病毒。

1976 年 Garnier[2] 等報告菲律賓的 Leaf mottle yellows 與台灣之 Likubin 之病原體被膜構造皆和南非 greening 之病原體被膜相似，與單層擬菌質體 (Mycoplasma-like organism) 不同。 1976 年 Su and Chang[11] 由此病原對青黴素及四環黴素等抗生素所作的治療試驗結果，推定此病原爲有細胞壁之原核菌。 1980 年 Bove[1] 等人亦得到相似的結果，而依據 Gibbons and Murray 對原核生物之分類法，將此病原歸屬於 "Gracilicute-like bacterium" 。 1987 Huang and Su[3] 利用電子顯微鏡確定了此菌的形態屬性：它是多型性的特殊細菌 (fastidious bacteria) ，呈長桿狀，大小約 350-550 × 600-1500nm ，外包薄壁，通常行出芽生殖，寄生於維管束之篩管細胞，菌體可變形通過篩管而作移動。

關於黃龍病的傳播研究，早在 1960 年代中期就知道有兩種木蝨 (Psylla) 和黃龍病傳播有關。在南非的媒介昆蟲是 *Trioza erytreae* (Del Guercio) ，而亞洲地區的媒介昆蟲爲 *Diaphorina citri* (Kuwayama) 。 1973 年 Moll and Martin[8] 以電子顯微鏡觀察到木蝨體內有病原菌後，對病原的傳播機制才有些了解。 1976 年

Massonie 等人[7] 證實 *Trioza erytreae* 亦能傳播亞洲地區之黃龍病。1986 年 Huang and Su[3] 發現在台灣地區木蝨體內很不容易用電子顯微鏡觀察到病原，因而推測台灣木蝨的生態型 (biotype) 是親和力不高的媒介昆蟲，傳播率不高。

此病至今無法培養，而在寄主體內因含量少且分布不均，因此以傳統的方法，如指示植物之生物檢定法及電顯觀察法皆不易偵測到病原菌且費時而又效率低。1984 年 Su 等人曾製備單元抗體來偵測病原，但所得之 ELISA 值低且不穩定。直至 Hung 等人[4,5] 利用分子生物學方法，製備 DNA 探針，終於才能正確而敏感的診斷此病害。DNA 探針配合應用點漬雜配法 (Dot hybridization) 提供了一套高敏感度且高專一性的黃龍病原偵測法，此方法已廣泛應用於黃龍病原之各項檢疫工作及田間發生生態調查。1999 年 Hung[6] 更利用 PCR 技術，自選殖到的黃龍病原特異性 DNA 片段之序列中，找出特異性引子對，進行 PCR 增幅反應，大大提高了偵測敏感度，此技術業已發展成熟，協助國內外的檢疫工作已行之有年，且對我國柑桔健康種苗建立助益甚多。

田間病株爲黃龍病的主要感染源，1994 年 Hung[4] 利用核酸探針追蹤，發現許多外表健康的植株其實是已帶有病原的病株。許多植株在測到病原以後，超過一年的時間仍未產生病徵。就一剛呈現病徵的病株而言，病原在植株內的分布是很不平均的，沒有病徵的部分甚至測不到病原。據推測，可能因病原寄生在篩管組織，移動時需經由篩孔，而菌體不似病毒般微小，故移動速度緩慢，但仍會漸漸的擴及其他部位，直到全株出現系統性病徵。當全株都呈現病徵時，以核酸探針去偵測，除莖、葉、花、果實外，地下的根部亦可測得病原，病原含量在植株之分布，熟葉≥老葉≥幼葉；花＞莖＞葉＞果實。雖含量略有差異，但差別不大。

黃龍病田間傳播方式

柑桔黃龍病在田間主要經由柑桔木蝨媒介傳播。木蝨自行分散能力弱，平時在老葉下吸食汁液，不太活動，受干擾時僅作短距離的跳躍飛行。當植株出現新芽時，木蝨成蟲會受吸引而聚集新芽上取食、交尾與產卵，鄰近植株新芽的誘引是促使木蝨短距離移動的誘因。較長距離的遷飛發生於每年的 3-5 月，柑桔木蝨在遷飛時僅作低空飛行，因此遷飛之木蝨侵入附近柑園時會先停留在柑園外圍的柑株上取食、產卵並造成感染。

荒廢柑園是病原菌和木蝨的滋生地，是孕育帶毒木蝨的最佳場所。荒廢柑園與正常管理柑園間木蝨族群之互動情形，可由群聯族群 (metapopulation) 之理論來探討。荒廢柑園之木蝨亞族群由於常年皆未施藥與管理，基本上不經歷局部滅絕並經

年不斷繁殖，遷飛期帶毒木蝨會不斷地向外遷飛，侵入附近正常管理柑園造成感染；而正常管理之柑園，木蝨亞族群因施藥防治而頻繁消失，來自荒廢柑園的木蝨個體會不斷再移入定居、繁殖，致使其族群得以持續，其間表現出“源－匯動態”(source-sink dynamic) 的族群系統關係。

有防治之柑園，黃龍病之感染主要由侵入之木蝨所造成，由於經常施藥防治，果園內木蝨數量很少，病株通常分散，感染速率也很慢。

疏於管理的柑園，黃龍病之發生爲擴散式的感染方式，由於同時存在木蝨與病株，木蝨在病株上大量繁殖後會分散至鄰近植株造成感染，且愈接近病株的植株愈容易受到感染。若未防治，感染速率將非常快，短期間可蔓延開來而造成流行。

柑桔木蝨媒介特性

柑桔木蝨爲不經卵傳播之終生帶毒的媒介昆蟲，若蟲自第二齡起可用 PCR 法偵測到體內帶有病原菌。依獲毒試驗結果發現，若蟲獲毒能力佳，成蟲獲毒能力差。若蟲在病芽上取食後，帶毒蟲率會隨著齡期增加而遞增，高者可達 90% 以上；成蟲在病株上吸食獲毒，無論吸食多久，帶毒蟲率皆不超過 5% 。因而得到一重要訊息，即柑桔木蝨若要成爲帶毒蟲，若蟲期在病株上吸食與成長爲必要的條件，荒廢柑園則是孕育帶毒木蝨的最佳場所。

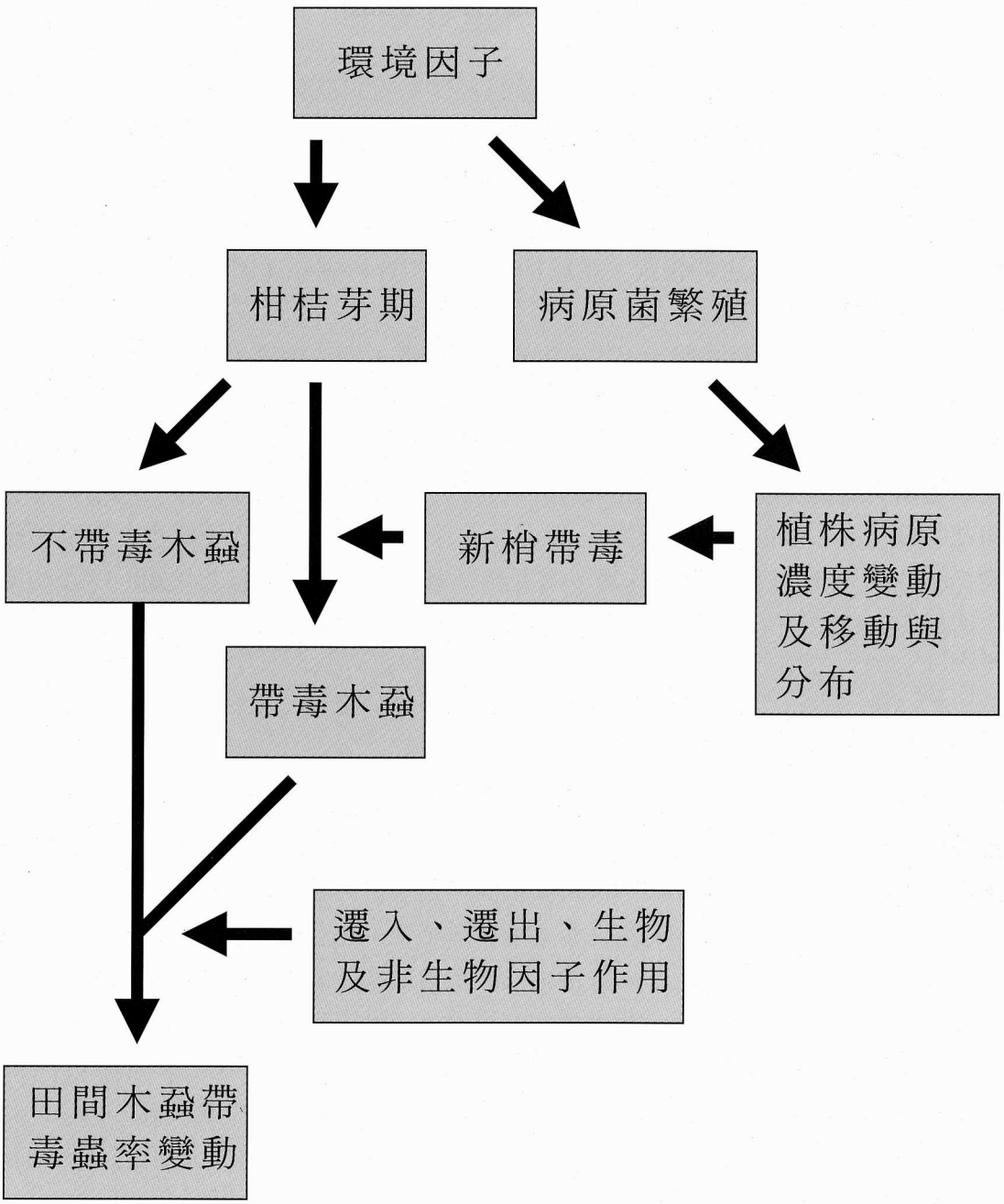
木蝨若蟲雖獲毒能力佳，但影響若蟲能否成爲帶毒蟲，則取決於被取食之新芽是否已有病原菌分布。黃龍病病原菌因移動速度慢且分布不均，因此，即使在發病嚴重之柑株所長出的新芽，經 PCR 檢測結果，並非全部新芽皆能檢測到帶有病原菌。在不帶病原菌的新芽上發育成長的木蝨若蟲，自然也不會成爲帶毒蟲。

柑桔木蝨帶毒蟲率之週年變動

田間木蝨成蟲之帶毒蟲率會隨著季節而變動，在荒廢柑園內每年 3 月及 8 月爲木蝨帶毒蟲比率較高的時期，此時帶毒蟲率可高達 75% 以上（其他時段之帶毒蟲率爲 30-50% 之間）。

由於植株內病原菌的繁殖會受環境溫度影響，使得植株內病原濃度有季節性的變動 (4)，連帶的也影響到植株內病原菌的移動與分布，當它表現在新芽上，即顯示新芽帶毒率的高或低。病株之新芽帶毒率有季節之差異存在，因而不同季節羽化的木蝨帶毒蟲率也有差異。

造成田間木蝨成蟲帶毒蟲率隨著季節變動的主要原因（圖一），爲各芽期新羽



圖一、木蝨帶毒蟲率變動原因

化蟲的加入，田間木蝨之遷入、遷出，加上生物及非生物因子之作用，使田間木蝨帶毒蟲率隨著季節而作規律的變動。

柑桔木蝨族群動態

柑桔木蝨發生的適宜溫度爲 20 °C以上，以 22-29 °C最適宜。在 20 °C以下，食料又缺乏時，不能大發生。適量的降雨有利於木蝨的發生，大雨及乾旱對其發生不利。

樹勢弱、樹冠小的柑桔樹，新梢抽生不整齊，食料供應期長，木蝨發生較多；管理較好，特別是茂密的柑園，由於抽梢整齊，食料供應期短，限制了木蝨的繁殖，發生量就少。

柑桔木蝨之周年發生數量[12]，以春芽期最多，夏芽期次之，秋芽期最少。一般春芽品質最好，提供木蝨良好食料，隨著氣溫上升，木蝨蟲口急劇增加，此時尚無有效天敵控制，是一年內木蝨密度最高的時期。夏芽較不整齊，加上溫度過高及天敵種類與數量逐漸增加，密度受到有效控制。秋芽期新芽數量不多，加上天敵種類及數量已高，木蝨發生量較少。 10 月中、下旬以後，降雨逐漸減少，溫度下降至 20 °C以下，柑株即將進入休眠，木蝨蟲口密度急劇下降。依此可知，木蝨的發生消長與新梢抽發、溫度、降雨、天敵及栽培管理等均有密切相關。

柑桔木蝨遷飛時期

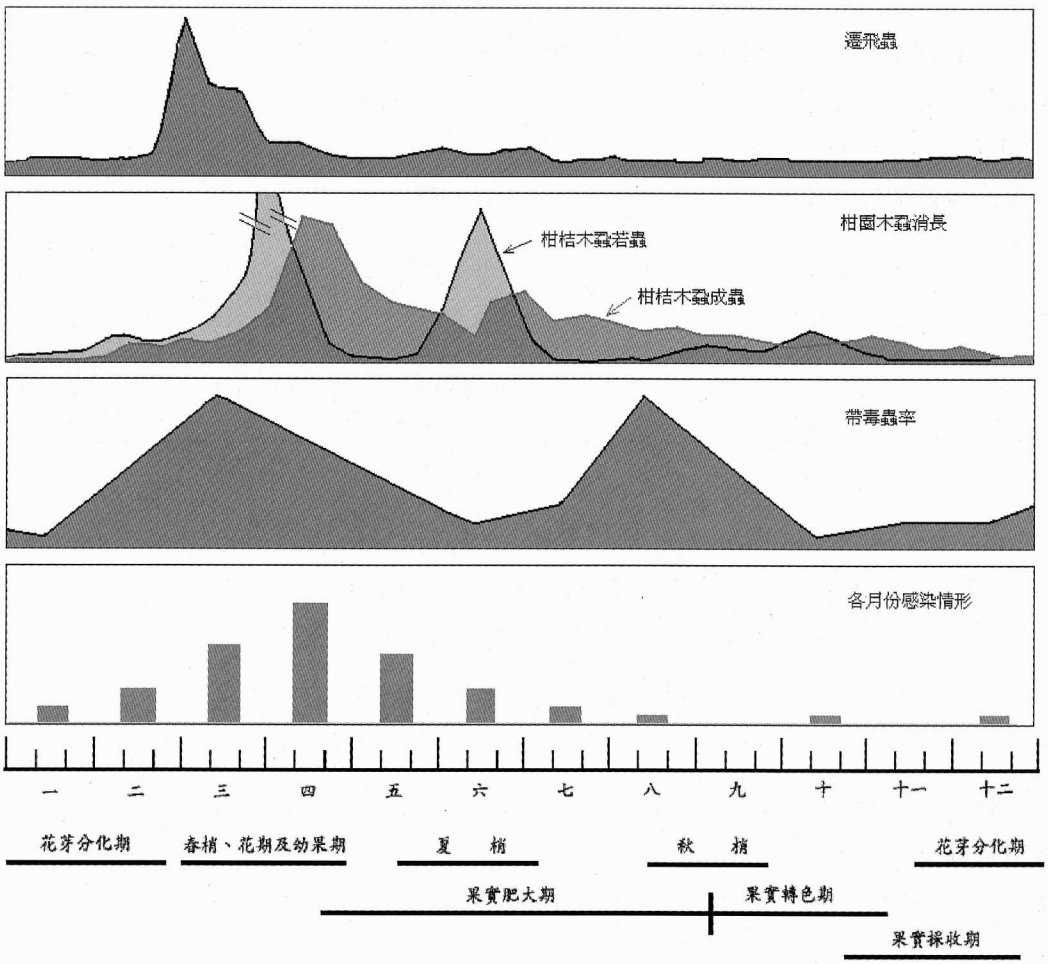
柑桔木蝨自行分散能力弱，無新芽時會停留在老葉下吸食汁液，受驚時僅跳飛幾秒後即降落原起飛處附近，然密度高時或環境不適時亦可進行遷飛活動。荒廢柑園內的木蝨在春芽期經大量繁殖後密度很高，是主要的遷飛蟲來源。

柑桔木蝨的遷飛蟲侵入柑園後會造成植株感染，在芽期經大量繁殖後又會造成柑園內黃龍病的蔓延。因此，木蝨遷飛蟲的防治是黃龍病防治工作的重點，獲得木蝨何時遷飛侵入柑園的資訊，對木蝨適時施藥防治是絕對需要的。

Samway et al [9,10] 曾發展以 Saturn yellow 黏板來偵測非洲木蝨 (*Trioza erytreae*) 成蟲。以黃色黏板誘集法偵測柑桔木蝨，僅能誘到少量成蟲。但以大量的黃色黏板置於柑園四周，還是可以偵測到柑桔木蝨的遷飛現象，經過三年的調查，發現柑桔木蝨之遷飛時期發生於每年的 3-5 月。

黃龍病之感染時期

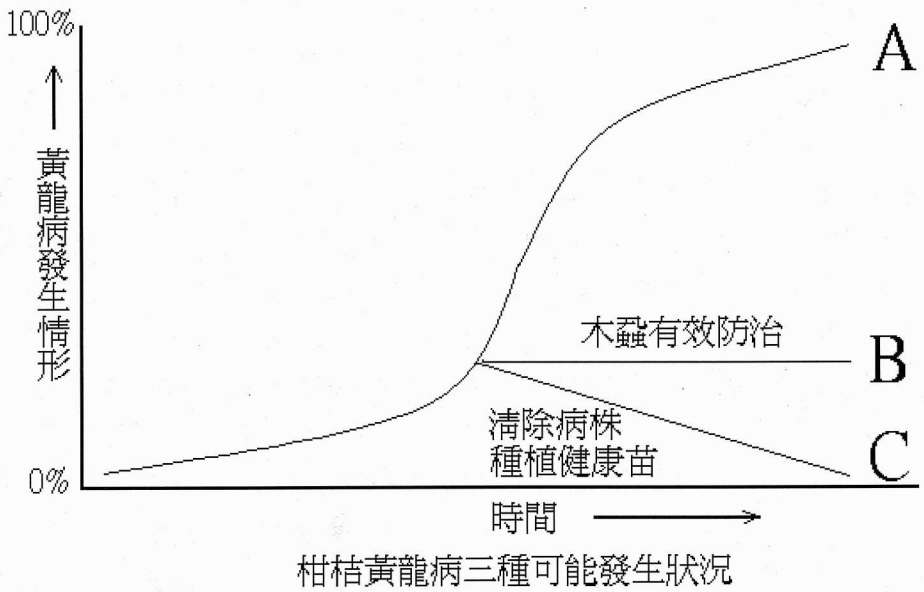
田間黃龍病的季節感染動態如圖二所示，主要發生於每年的 2-6 月，而 4 月爲感染之高峰期。田間感染高峰的形成是由幾個因子相配合所造成的，即必須有木蝨的遷飛行爲、高的木蝨族群密度，以及高的帶毒蟲率。就各芽期來說，春芽期各個因子均配合得很好， 3-5 月木蝨的遷飛，加上高族群密度與高的帶毒蟲率，是一年中黃龍病最重要的感染時期。夏芽期木蝨數量雖有增加，但遷飛情形減少，帶毒蟲率也低，感染情形就少了。到了秋芽期，由於新芽數量不多，加上天敵種類及數量漸多，木蝨發生量較少，也無遷飛現象，帶毒蟲率雖有上升，但感染之情形已不多。



圖二、黃龍病的感染與其他因子之關係

黃龍病防治之理論基礎

柑桔園黃龍病的整個發生過程如圖三所示，發生初期病株和木蝨數量皆很少，植株受感染情形僅零星發生，此時黃龍病之傳播速率極爲緩慢。以後隨著時間的流轉，受感染植株逐年增多，當田間病株及木蝨數量達到一定程度，也就是超過大發生的臨界點時，黃龍病之傳播速率急劇增加而最終到達 A 點，使柑桔之生產受嚴重影響。在黃龍病發生初期如能有效防治木蝨，可使病株不再增加而停留於 B 點，若能清除病株並種植健康苗，可逐漸減少黃龍病之發生數量而到達 C 點。



圖三、黃龍病之發生模式與防治對策

黃龍病之防治對策

若柑園內種植健康苗而無病株存在，在沒有病原菌的情況下，雖有木蝨存在，黃龍病亦不會發生。反之，若柑園內有病株存在，但無木蝨發生，黃龍病亦不會蔓延流行。一般柑桔園造成黃龍病的發生與流行，多是由於果農在不自覺的情況下種植了帶病的苗木而成了感染源，或因侵入的木蝨帶有病原而造成感染，加上疏於防治，使柑園之黃龍病逐漸蔓延開來。

柑桔黃龍病爲系統性病害，植株受感染經過一段時間後，病原菌會分布到整個植株。柑桔黃龍病之防治，目前尙無抗病砧木、抗病接穗或有效之化學藥劑。注射抗生素例如四環黴素雖會得到暫時性的舒緩效果，但卻無法完全根治。

過去曾使用四環黴素治療黃龍病，以葉面噴灑、根部澆灌或樹幹點滴注射的方法行之，使用後雖可使植株恢復生機，但每隔一段時間即需施用一次，否則病徵會再出現。使用四環黴素的缺點是不能將病原菌完全根除，長期使用容易產生抗藥性問題，用藥量需不斷提高，藥劑對植株亦會產生藥害，且田間病株仍是感染源，因此四環黴素並不適於作爲黃龍病治療之用。

實際可以採行之防治策略著實難求，幸好黃龍病病原僅存在帶病寄主及媒介昆蟲體內，而不能生存於土壤、空中或其他非寄主植物。因此，可採行之防治策略爲避免受病原菌感染，即充分供應不帶病原之苗木，栽植無病健康苗，砍除病株，適時施用殺蟲劑消滅媒介昆蟲，當可預期減少黃龍病之發生。

柑桔木蝨之防治

柑園內黃龍病之嚴重程度與病原菌濃度、病株多寡及媒介昆蟲密度有關。由於黃龍病在田間主要藉由木蝨傳播，因此，就防治的觀點而言，防治柑桔木蝨即可有效抑制黃龍病發生。柑桔木蝨防治工作的重點包括兩個部份，即荒廢柑園的清除與正常管理柑園的防治工作。

1.清除荒廢柑園

荒廢柑桔園爲黃龍病防治工作的死角，以往農民對黃龍病的傳播機制未能深入瞭解，每個人只想將自己果園的防治工作做好，並未考慮木蝨的侵入與滋生源問題。我們在偵測柑桔木蝨成蟲之遷飛調查中發現，每年 3 月至 5 月之柑桔木蝨遷飛期，荒廢柑桔園內之木蝨經大量繁殖後會往外遷飛，侵入附近柑桔園。正常管理之柑桔園與荒廢柑園距離越近，帶毒木蝨侵入的風險也越高。因此，黃龍病之防治工作應由根本著手，將荒廢柑桔園清除乾淨，將病源與蟲源徹底清除，可避免帶毒木蝨不斷的再侵入造成感染，此爲黃龍病防治上最根本且最迫切之重點。

2.正常管理柑園的防治工作

在柑園內，爲顧慮單隻帶毒的木蝨成蟲即可能傳病，防治上應側重於藥劑防治。化學防治爲最有效之防治方法，防治之重點包括防除每年 3-5 月遷飛侵入柑園的木蝨及在各個芽期進行藥劑防治，避免侵入的木蝨造成感染及在芽期大量繁殖，

而造成柑園內黃龍病的蔓延危害。其他防治措施包括加強柑園肥培管理，使樹勢壯健，抽梢發芽整齊，亦可減少柑桔木蝨繁殖與危害。

結　語

黃龍病的防治首應注重荒廢柑園的清除，將感染源去除，避免帶毒木蝨侵入造成感染。其次針對柑桔木蝨之遷飛期與發生期進行藥劑防治，避免木蝨在芽期大量繁殖，而造成柑園內黃龍病之蔓延與流行。若能做好柑桔木蝨的防治工作，再加上種植健康苗與清除田間病株，即可有效減少黃龍病之發生。

引用文獻

1. Bové, J. M., Bonnet, P., Garnier, M. and Aubert, B. 1980. Penicillin and tetracycline treatments of greening disease affected citrus plants in the glasshouse and the bacterial nature of the prokaryote associated with greening. In: Proceedings of the 8th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. pp. 91-97. University of California, Riverside, USA.
2. Garnier, M., Latrille, J. and Bové, J. M. 1976. *Spiroplasma citri* and the organism associated with likubin: comparison of their envelope systems. In: Proceedings of the 7th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. pp. 13-17. University of California, Riverside, USA.
3. Huang, A. L. and Su, H. J. 1987. Electronmicroscopical studies on the morphology and population dynamic of fastidious bacteria causing citrus likubin. Ph.D. thesis published by National Taiwan University, Taiwan.
4. Hung, T. H. 1994. Preparation and application of diagnostic DNA probes to ecological studies on the fastidious bacteria causing citrus greening. Ph.D. thesis. Published by National Taiwan University, Taiwan. 253pp.
5. Hung, T. H., Wu, M. L. and Su, H. J. 1999. Detection of fastidious bacteria causing greening disease by nonradioactive DNA probes. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 65: 140-146.
6. Hung, T. H., Wu, M. L. and Su, H. J. 1999. Development of a rapid method for the diagnosis of citrus greening disease using the polymerase chain reaction. J. Phytopathology. 147: 599-604.

7. Massonie, G., Garnier, M. and Bové, J. M. 1976. Transmission of Indian citrus decline by *Trioza erytreae* (Del Guercio), the vector of South African greening. In: Proceedings of the 7th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. pp. 18-20. University of California, Riverside, USA.
8. Moll, J. N. and Martin, M. M. 1973. Electron microscope evidence that citrus psylla (*Trioza erytreae*) is a vector of greening disease in South Africa. Phtophylactica 5: 41-44.
9. Samways, M. J. 1984. Use of saturn yellow traps for monitoring *Trioza erytreae* (Homoptera: Triozidae) and an attempt at commercial suppression using yellow barriers and trap trees. Proc. Greening Symp., Citrus and Subtropical Fruit Research Institute. Nelspruit, South Africa, 26-28 November 1984, CSFRI Pub., pp. 71-83.
10. Samways, M. J. 1987. Phototactic response of *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Homoptera: Triozidae) to yellow-coloured surfaces, and an attempt at commercial suppression using yellow barriers and trap trees. Bull. Entomol. Res. 77: 91-98.
11. Su, H. J. and Chang, S. C. 1976. The responses of the likubin pathogen to antibiotics and heat therapy. In: Proceedings of the 7th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. pp. 27-34. University of California, Riverside, USA.
12. Wang, L. Y., Hung, S. C., Hung, T. H. and Su, H. J. 1996. Population fluctuation of *Diaphorina citri* Kuwayama and incidence of citrus likubin in citrus orchards in Chiayi area. Plant Prot. Bull. 38: 355-365.

Abstract

Hung, S. C., Chen, C. N., Hung, T. H., and Su, H. J. 2003. Infection and control of citure huanglongbing. p.139-150 *in* : Proceedings of the Integrated Management of Crops Pests in Taiwan.

Huanglongbing (HLB) is an important systemic disease of citrus. It is caused by the fastidious bacterium that is transmitted by the insect vector, *Diaphorina citri* (Kuwayama), with a persistent but not transovarial manner. The acquisition efficiency of HLB bacteria in nymphs seems to be better than that in adults. It is necessary for efficient control of HLB to study the epidemiology associated with interactions among pathogens, vectors and climatic factors. Diseased citrus trees usually become the most important source of inoculum. It is essential to limit inoculum for the control of the disease. The efficiency of HLB control depends on the successful elimination of inoculum. Control of HLB can be achieved by several methods such as eradication of infected plants, elimination of the insect vector and cultivation of pathogen-free seedlings. Application of antibiotics in HLB-infected trees may alleviate symptoms but not eradicate the HLB bacteria. Long-term treatments with tetracycline also resulted in chemical injury in citrus plants. Tetracycline is considered to be bacteriostatic for HLB bacteria, and it needed to be applied regularly to continue its effect. It is therefore harmful to environment and easily causes the emergence of antibiotic-resistant bacteria.

Key words: Huanglongbing, citrus psyllid, infection, control.