

柑桔無指定疫病蟲害種苗驗證作業須知

93 年 12 月 16 日行政院農業委員會動植物防疫檢疫局
防檢三字第 0931484710 號令發布實施

- 一、行政院農業委員會動植物防疫檢疫局(以下簡稱防檢局)為防止指定疫病蟲害藉由柑桔種苗傳播蔓延，以提昇柑桔種苗及其產品品質，特依據「植物種苗疫病蟲害驗證輔導要點」第三點訂定本須知。
- 二、本須知所稱柑桔指芸香科(Rutaceae)中之柑桔屬(*Citrus*)、金柑屬(*Fortunella*)及枳殼屬(*Poncirus*)等植物；所稱指定疫病蟲害指會感染柑桔之黃龍病(*Candidatus Liberibacter asiaticus*)、萎縮病(*Citrus tristeza virus*)、破葉病(*Citrus tatter leaf virus*)及鱗砧病(*Citrus exocortis viroid*)(附錄一)。
- 三、為辦理柑桔無指定疫病蟲害種苗驗證業務，防檢局委託行政院農業委員會農業試驗所嘉義農業試驗分所(以下簡稱嘉義分所)為受理機關，負責申請案之受理及發證事宜；委託行政院農業委員會桃園區、苗栗區、臺中區、臺南區、高雄區、花蓮區及臺東區農業改良場為檢查機關，負責繁殖圃之設置、操作管理及種苗查驗等工作；委託國立台灣大學植物病理學系、行政院農業委員會農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所及嘉義分所為檢定機關，負責病原之檢定工作。
- 四、依本須知規定申請者，應填具申請書並繳交檢查費向受理機關提出申請，查驗結果由受理機關通知，符合規定之種苗於繳交檢定費後另核發證明書。
- 五、各級繁殖圃設置及操作管理應符合下列規定：
 - (一)原種園及採穗園
 - 1.設置條件：
 - (1)應設置於具有阻隔木蝨及蚜蟲入侵功能之設施(以 32 目以上尼龍網包覆)內，設施並設有人員進出之雙層門及通道(雙層門需設置於不同側；為避免害蟲隨人員進入設施內，該通道須為具有緩衝效果之黑暗空間)。設施若有破損，應立即修復。
 - (2)設置地點應與其他柑桔栽培區有適當之區隔。
 - (3)栽培介質應經消毒(附錄二)，苗床應實施疫病(*Phytophthora spp.*)之防治。
 - 2.管理作業：

- (1)各品系母株應獨立編號並加以標示，單株間枝葉應避免相互接觸。培育過程中植株若需修剪或整理，使用之工具應經消毒(附錄二)並以單株單剪方式為之，以避免植株間之相互感染。
- (2)設施內應嚴格控管人員出入，避免任何人為接觸造成感染之機會，並定期施行防治媒介昆蟲之措施。
- (3)採穗園之植株應來自經驗證合格原種園經檢定無指定疫病蟲害之原種植株。每株之供芽數及檢查次數應予記錄。
- (4)栽培過程中若發現黃龍病及萎縮病被害株，應立即移出設施，並加以銷燬。
- (5)原種園及採穗園應每個月至少施用殺蟲劑一次以防治木蝨及蚜蟲，並依一般病蟲害防治要領進行栽培管理。
- (6)原種園及採穗園應配置管理紀錄簿，以建立品種、品系、種植日期、供穗數、檢查次數、人員進出、設施維護及病蟲害防治措施等資料，供檢查人員現場查驗時參考。

(二)嫁接苗繁殖圃

1.設置條件：

- (1)應設置於具有阻隔木蝨及蚜蟲入侵功能之設施(以 30-40 目尼龍網包覆)內，設施並設有人員進出之緩衝室及通道。設施若有破損，應立即修復。
- (2) 設置地點應與其他柑桔栽培區有適當之區隔。

2.管理作業：

- (1)砧木苗應移植至穴植盆，並放置離地三十公分以上之台架上繼續培育，穴植盆之介質應經消毒(附錄二)。
- (2)砧木苗應以無指定疫病蟲害接穗嫁接育苗。
- (3)接穗應來自經檢查符合規定之無指定疫病蟲害採穗株。
- (4)嫁接苗單株應獨立編號並加以標示，單株間枝葉應避免相互接觸。培育過程中植株若需修剪或整理，使用之工具應經高溫消毒(附錄二)並以單株單剪方式為之，以避免植株間之相互感染。
- (5)繁殖圃應嚴格控管人員出入，避免任何人為接觸造成感染之機會。

- (6)繁殖圃每個月應至少施用殺蟲劑一次以防治木蝨及蚜蟲，並依一般病蟲害防治要領進行栽培管理。
- (7)栽培過程中若發現黃龍病、萎縮病及疫病(*Phytophthora* spp.)病株，應立即移出設施，並加以銷燬。黃龍病及萎縮病病株之相鄰植株，應噴施殺蟲劑，疫病(*Phytophthora* spp.)病株相鄰植株則噴施疫病殺菌劑。
- (8)繁殖圃應配置管理紀錄簿，以建立品種、品系、種植日期、檢查次數、人員進出、設施維護及病蟲害防治措施等資料，供檢查人員現場查驗時參考。

六、指定疫病蟲害檢定種類與方法、檢查程序及檢查方法規定如下：

(一)檢定種類

- 1.原種園：黃龍病、萎縮病、破葉病及鱗砧病。
- 2.採穗園：黃龍病、萎縮病及破葉病。
- 3.嫁接繁殖圃：黃龍病及萎縮病。

(二)檢定方法

- 1.黃龍病：核酸探針點漬雜配法或聚合酵素連鎖反應法(簡稱 PCR)。
- 2.萎縮病：酵素聯結抗體免疫測定法(簡稱 ELISA)或反轉錄聚合酵素連鎖反應法(簡稱 RT-PCR)。
- 3.破葉病：RT-PCR 或枳橙(Rusk)生物檢定法。
- 4.鱗砧病：RT-PCR 或佛手柑(Etrog citron 861-S)生物檢定法。

(三)檢查程序及方法

1.原種園

- (1)檢查人員應赴原種園檢查其設置，符合第五點第一款規定者，始得進行後續檢查及採樣檢定。
- (2)新植植株應每季檢查一次，經年保存之植株應每半年檢查一次，每一品系應抽檢四株。採樣時，由檢查人員就每一植株摘取適當部位及數量置於封口塑膠袋中，標明植株號碼後送交檢定機關進行指定疫病蟲害檢定。採樣時各單株應使用單一工具。
- (3)檢定機關應於檢定完成後一週內將結果通知申請人、檢查機關及

受理機關。申請人應將確認感染病毒之植株立即移出原種園。

2.採穗園

- (1)檢查人員應赴採穗園檢查其設置，符合第五點第一款規定者，始得進行後續檢查及採樣檢定。
- (2)採穗園之栽培管理應依第五點第一款規定進行，檢查人員得隨時進行現場抽驗，若查有不符合作業規定者，應即通知申請人及受理機關終止後續驗證程序。
- (3)採穗株應每半年檢查一次，每一品系抽檢四株。採樣時，由檢查人員就每一植株摘取適當部位及數量置於封口塑膠袋中，標明植株號碼後送交檢定機關進行指定疫病蟲害檢定。採樣時各單株應使用單一工具。
- (4)供穗前一週，應由檢查人員再赴現場檢查一次，由檢查人員依現場狀況研判，必要時，得抽樣送檢定機關進行檢定。
- (5)檢定機關應於檢定完成後一週內將結果通知申請人、檢查機關及受理機關。申請人應將確認感染指定疫病蟲害之植株立即移出採穗園。
- (6)經檢定未測出指定疫病蟲害之申請案，即為符合規定之採穗株，由檢查機關於驗證完成後一週內將結果通知申請人及受理機關。受理機關應於接獲結果後一週內，據以核發證明書。
- (7)採穗株經檢測出指定疫病蟲害之申請案，由受理機關於接獲檢定機關結果後一週內，據以核發結果通知。

3.嫁接苗繁殖圃

- (1)檢查人員應赴嫁接苗繁殖圃檢查其設置，符合第五點第二款規定者，始得進行後續檢查及採樣檢定。
- (2)嫁接苗繁殖圃之栽培管理應依第五點第二款規定進行，檢查人員得隨時進行現場抽驗，若查有不符合作業規定者，應即通知申請人及受理機關終止後續驗證程序。
- (3)嫁接苗應每半年檢查一次，每一品系抽檢四株。採樣時，由檢查人員就每一植株摘取適當部位及數量置於封口塑膠袋中，標明植

株號碼後送交檢定機關進行指定疫病蟲害檢定。採樣時各單株應使用單一工具。

- (4) 嫁接苗出售前二至三週，應由檢查人員赴現場依品系抽樣檢查，每千株抽樣百分之一，每萬株抽樣千分之五。
- (5) 檢定機關應於檢定完成後一週內將結果通知申請人、檢查機關及受理機關。申請人應將確認感染指定疫病蟲害之植株立即移出嫁接苗繁殖圃。
- (6) 經檢定未測出指定疫病蟲害，且目視檢查不帶一般疫病蟲害之申請案，即為符合規定之嫁接苗，由檢查機關於驗證完成後一週內將結果通知申請人及受理機關。受理機關應於接獲結果後一週內，據以核發證明書。
- (7) 未符合規定之申請案，由受理機關於接獲檢定機關結果後一週內，據以核發結果通知。

七、驗證標準及有效期限規定如下：

(一) 接穗

1. 原種園及採穗園之設置及操作管理應符合本須知之規定，並由檢查人員現場查驗確認。
2. 栽培過程經檢定均未測出指定疫病蟲害反應之植株，其所採之接穗視為符合規定，驗證有效期限為六個月。

(二) 嫁接苗

1. 繁殖圃之設置及操作管理應符合本須知之規定，並由檢查人員現場查驗確認。
2. 栽培過程經檢定均未測出指定疫病蟲害反應之植株，視為符合規定之嫁接苗，驗證有效期限為九個月。

八、收費標準規定如下：

(一) 申請費：每一繁殖圃收費一千元。

(二) 檢定費：依驗證過程所抽驗之樣品數及所採用之檢定方法核計。每件樣品萎縮病檢定採 ELISA 者收取三十元、採 RT-PCR 收取三百

元；黃龍病採 PCR 及核酸探針點漬雜配法者均為三百元；破葉病及鱗砒病採 RT-PCR 及生物檢定法者均為三百元。

前項費用之收支依照預算程序辦理。

九、採穗園及嫁接苗繁殖圃之設置及操作管理符合第五點規定，所生產種苗並領有證明書達三次以上者，得依「植物種苗疫病蟲害驗證輔導要點」第九點規定，於每年十二月間向防檢局提出「柑桔無指定疫病蟲害種苗示範繁殖圃」年度評選申請。

附錄一、受檢指定疫病蟲害基本資料

一、黃龍病(Citrus huanglongbing, Citrus greening)

(一)病徵

- 1.葉部病徵：葉脈黃化及落葉為最常見的病徵。發病初期一棵柑桔樹僅 1~2 小枝條上的葉片變黃。第二年起，病情加重，初發病之小枝條周圍枝葉也變黃，由小枝條而後中枝條，2~3 年擴及全株，引發嚴重黃化、落葉及枝枯。葉片除黃化外，也會反捲、硬化，葉脈木栓化，新葉則出現類似缺鋅的病徵，脈間黃化且葉片變小。
- 2.花及果實的病徵：病株一般提早開花，花小且數目很多。果實小、畸形，轉色異常，果皮粗厚、果肉少汁少且糖度也不足。
- 3.植株病徵：罹病植株生育緩慢、停頓，呈現矮化、衰弱，嚴重時死亡。植株被根腐疫病菌感染，則更可促進此病嚴重發展。

(二)病原特性及傳播方式

- 1.病原：引起黃龍病之病原為一難養細菌(Fastidious bacteria, FB)，無法以人工培養，營養要求嚴格之細菌。具韌皮部侷限性，寄生於篩管細胞，夏天繁殖快，冬天則慢，但全年均可發現。在電顯下觀察，成熟菌體通常為直桿狀 350-550×600-1500nm，具兩層外膜，厚約 20~25nm。本病原菌為多型性，新生的菌體較細長 100-250×500-2500，衰老後的菌體呈球型，直徑約 700-800nm，細胞質較稀薄。本病原菌通常以出芽繁殖，罕見二裂法或連珠狀增殖。本病原菌依其生態特性可分兩種：

Candidatus Liberibacter asiaticus：為耐熱型（又稱亞洲型），在低溫、高溫（27~32°C）均適宜生長為害柑樹。亞洲病菌系統屬於此型。

Candidatus Liberibacter africanus：為熱敏感型（又稱非洲型），在 22~24°C 時引起嚴重病徵，30°C 以上病徵會減輕。南非病菌系統屬此型。

2.發病生態：

- (1)嫁接傳播：本病最主要以罹病株的芽穗繁殖為主要傳病途徑。
- (2)昆蟲媒介：主要是藉由兩種木蝨，以永續性方式傳播病菌。亞洲型病菌之媒介昆蟲是 *Diaphorina citri* Kuwayama(又稱亞洲柑桔木蝨)；非洲（南非）型病菌之媒介昆蟲是 *Trioza erytreae* Del Guercio (又稱非洲柑桔木蝨)。七里香（月桔）是木蝨繁殖最適宜的寄主，但非本病原菌之中間寄主。本病原菌在柑桔植株組織中轉移極為緩慢，感染初期該病原菌侷限在木蝨取食部之枝條組織中，需經長時間才能轉移至全株，其潛伏期較長。

二、萎縮病(又稱南非立枯病, Citrus tristeza)

(一)病徵

- 1.葉部病徵：葉片黃化、萎縮略呈向上捲曲，似湯匙狀，呈現萎黃(chlorosis)、葉脈透化(vein cleaning)現象，嚴重時尤其是主脈，會特別顯露並呈壞疽木栓化。罹病株提前落葉，因而逐漸萎枯。

2. 莖部病徵：部份罹病株枝條上，出現木質部凹陷(stem pitting)的病徵。
3. 花及果實的病徵：罹病株開花異常，其結果年齡提早亦有反常多結果現象。果實著色較早，果實變小、不整形，甜度亦不足。
4. 植株病徵：罹病株生長緩慢、矮小。新生枝條多、密但弱小。而椪柑、甜橙罹病時，外觀病徵不明顯，須以血清方法檢定之。

(二)病原特性及傳播方式

1. 病原：*Citrus tristeza virus* (CTV)。ICTV decimal code：17.0.1.T.1.01。在病毒的分類上是屬於 Closteroviridae 科，*Closterovirus* 屬，是顆粒最長的病毒之一。絲狀病毒，彎曲度大，顆粒大小約 2000(nm)×12(nm)。為(+)ssRNA，total genome size 約為 17~20Kb。存在於寄主韌皮部細胞內，干擾植株的運輸系統。其適當的感染和增殖溫度為 20~25°C。在自然界，CTV 有許多不同系統，在台灣柑桔種植都以對 CTV 耐病的品種作為砧木，所以幾乎沒有顯著病徵。大部分在台灣的 CTV 分離株在尤利佳檸檬(Eureka lemon)上都有典型的萎黃病徵(seeding yellow)。在台灣 CTV 主要有三種系統：

- (1)CTV-SY：CTV -seeding yellow strain，對台灣一般栽培品種不會有顯著病徵，但墨西哥萊姆(Mexican lime)、尤利佳檸檬、酸橙及廣東檸檬受此系統感染後，罹病株幼苗轉黃，從頂端開始向下枯死(die back)。
- (2)CTV-Pum/SP：CTV-pummelo stem- pitting strain，在 Wentan 文旦上引起嚴重的病徵，造成植株、果實萎縮及嚴重的木質部凹陷。1981 年首次於台灣發現，與世界現有的 strain 相比對，差異性很大。
- (3)CTV-SwO/SP：CTV-sweet orange stem- pitting strain，在晚倫西亞甜橙 (Valencia orange)上造成木質部凹陷。

2. 發病生態：

- (1)嫁接傳播：本病可藉帶毒的接穗傳播。
- (2)昆蟲傳播：主要由大桔蚜(*Toxoptera citricida* Kirkaldy)以半永續性方式傳播病毒；亦有報告指出棉蚜及桃蚜也可傳病，但效率較低。

三、破葉病(Citrus tatter leaf)

(一)病徵

本病毒對多數之柑橘類及不同品種成潛伏感染，通常無病徵。但當感染 *Citrus excelsa* 及枳橙時，則會產生萎縮、畸形、斑紋及破裂的葉片。在枳橙枝條有時出現鋸齒型扭曲。經濟品系柑橘嫁接於枳殼或枳橙時，則明顯出現接合部鼓起摺裂縫，於強風時易在此部位斷裂。

(二)病原特性及傳播方式

1. 病原：*Citrus tatter leaf virus*。ICTV decimal code：13.0.1.0.002。在病毒的分類上是屬於 *Capillovirus* 屬，為一絲狀病毒，彎曲度中等，病毒顆粒大小約 650(nm)×19(nm)。為(+)ssRNA 病毒。在血清學上與 *Apple stem grooving virus* 及 *Lily symptomless virus* 相近。

2. 發病生態：

- (1)嫁接傳播：本病可藉帶毒的接穗傳播。

(2)機械傳播：本病可經由修剪柑橘的工具接觸病株將病原傳播給健康的植株。

四、鱗砧病 (Citrus exocortis)

(一)病徵

鱗砧病對柑橘植株的影響與柑橘之種類品種有很大的關係。在以感病品種如枳殼、枳橙或廣東檸檬為砧木時，才會出現病徵。其他柑橘如甜橙、極柑、桶柑及酸橘是抗病品種，沒有明顯病徵的出現。罹病植株砧木之樹皮膨大、縱裂(bark shelling)、成鱗片狀脫皮(bark sloughing)，嚴重時阻礙植株發育，引起樹勢矮化(stunting)。

(二)病原特性及傳播方式

1.病原：*Citrus exocortis viroid* (CEVd)。ICTV decimal code：80.0.1.0.003，在 viroid 的分類上是屬於 *Pospiviroidae* 科，*pospiviroid* 屬。大小為 371 nucleotide，不具 coat protein，為 circular 的 ssRNA 分子，通常高度配對形成似短桿狀的構造。對 RNase 敏感，但對熱、紫外線及 DNase 穩定。

2.發病生態：

(1)嫁接傳播：帶毒的接穗為傳播本病最主要的途徑。

(2)機械傳播：本病可藉由修剪柑橘的工具接觸病株將病原傳播給健康的植株。

(3)可藉由菟絲子傳播。

附錄二、柑桔繁殖圃設備及操作工具高溫消毒方法

柑桔各級繁殖圃之設備及操作工具之高溫消毒方法如下：

一、乾熱消毒法：利用烘箱在 180℃ 至少維持 1 小時。

二、濕熱消毒法：以沸水浸泡至少 15 分鐘。

三、火焰消毒法：將工具上接觸過植物汁液之部位以火焰燒烤至少 10-20 秒。

四、消毒液消毒法：工具浸沾 2% 甲醛與 2% 氫氧化鈉混合液，或含 5% 之家用漂白水 (0.25% 以上之次氯酸鈉) 2~3 秒即可，後者對刀片造成之侵蝕可浸沾 25% 之醋液加乳化油以消滅之。

柑桔各級繁殖圃之栽培介質消毒方法如下：

一、新栽培介質中，恐帶有潛在植物有害生物，因此可利用蒸汽消毒機施行蒸氣消毒 (80℃，30 分鐘)，達到消毒介質的目的，其處理流程如下：

1. 新栽培介質若封裝完整且未拆裝者，可將蒸氣消毒管路上每隔 20 公分有一蒸氣出口之鋼管 (長 20 公分，在 15 公分處有蒸氣出口) 直接插入介質。

2. 將蒸氣消毒機的溫度感應器插入介質中，與蒸氣出口鋼管至少距離 30 公分，最好是放在蒸氣管路的末端位置，確保介質內的溫度都達到 80℃。

3. 一旦溫度達到 80℃，即可將蒸氣管路移到尚未消毒的新介質包裝上，繼續消毒以節省時間，並增加消毒效率。經消毒的包裝介質則繼續保溫至少 30 分鐘。

二、舊介質因已使用過，常因有害生物侵染而易誘發各種疫病蟲害，亦可經蒸氣消毒後再使用：

- 1.大量及長期使用舊介質之業者，可設計 1 x 1 x 1 m³ 介質消毒鋼箱數個。此一介質消毒鋼箱底部設有可供堆高機操作使用所需之支撐鋼架，上留介質裝卸口。鋼箱內設有蒸氣管路，蒸氣出口間距 20 公分。
- 2.將舊栽培介質倒入介質消毒鋼箱後，插入溫度感應器，以耐熱塑膠布覆蓋後綁緊，開始蒸氣消毒。
- 3.一旦溫度達到 80°C，即可拆除蒸氣接管，將蒸氣管路接到另一個介質消毒鋼箱繼續消毒以僅節省時間，並增加消毒效率。
- 4.消毒好之介質，將上方塑膠布拆除後，利用堆高機將整個介質消毒鋼箱移動到清潔的介質箱中，直接將介質消毒鋼箱內的介質倒入備用。

三、若舊介質量不大，也可利用簡便式介質消毒法：

1. 先以空心磚堆成口型，鋪上耐熱塑膠布，塑膠布寬度為口型寬度的 2.5 倍。
2. 將舊栽培介質倒入後，插入蒸氣消毒管路與溫度感應器，將多餘之耐熱塑膠布覆蓋介質後，開始蒸氣消毒。
- 3.一旦介質內溫度達到 80°C，即可停止輸送蒸氣，繼續保溫 30 分鐘。