

褐根病診斷鑑定 與防治######

Brown root disease testing and prevention

目錄

前言	2
壹、樹木褐根病診斷鑑定	3
一、病徵法	
二、分離培養法	9
三、褐根病PCR分子診斷法	12
貳、樹木褐根病防治	14
一、阻隔病害擴散(掘溝阻斷法)	15
二、藥劑治療與保護	18
三、其他管理建議	19
	, i
参、褐根病診斷服務站一覽表	20

前言

樹木褐根病(Brown Root Rot Disease)是亞洲熱帶及亞熱帶地區 林木、多年生果樹及特用作物重要根部病害之一,係由褐根病菌(Phellinus noxius)所引起,病原菌直接為害樹皮的輸導組織,樹皮 環狀壞死,導致水份及養份之輸送遭受阻礙而死亡。在臺灣主要發生 在海拔1,000公尺以下、排水良好、砂質土壤之區域。最適生長溫度為 24-32℃。偶爾形成子實體產生擔孢子,是本菌長距離傳播之初次感染 源,病原菌存活在殘根上,主要透過病根、帶菌種苗及帶菌土壤接觸 傳染。

褐根病的寄主範圍廣泛,包括多種果樹、觀賞花木、公園行道樹和 海岸防風林、多年生雜草等,寄主記錄超過100種。從1-2年生之幼苗 至數十年生之大樹,均可能遭受褐根病為害,僅蘋果、蓮霧、圓滑番 荔枝、刺番荔枝、廣東檸檬、扁櫻桃及黃金榕較為耐病,檬果(愛文 /再來種)、柑桔(酸桔、柳橙、苦柚)及黑板樹則為極耐病。

鑒於褐根病威脅我國農、林產業及綠美化資源,造成經濟上損失, 且除了危害根部及地際部樹皮外,也將造成該部位木材白色腐朽,植 株發現罹病時通常根部已有80%以上受害,影響樹幹支持強度,致使樹 體容易倒伏,對公共安全產生潛在威脅。近年來發現植物罹病記錄漸 趨增加,所以全民皆應瞭解本病害,關注生活周遭的樹木健康。農業 委員會為積極推動全國防治、宣導及監測工作,研訂樹木褐根病鑑定 及防治之標準作業程序,供社會各界參考使用,共同發揮管理及防治 成效,預防褐根病可能造成之損害。

壹、樹木褐根病「診斷鑑定」

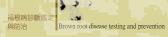
診斷鑑定方法包括病徵法、分離培養法及PCR分子診斷法等三種,可依現場實際需求,只要其中一種方法確認,則可確定為發病區或罹病植物。

一、病徵法

褐根病菌主要為害根部及莖基部,受害嚴重的林木在地上部會出現 全株性衰弱症狀,此症狀為全株黃化、萎凋、小葉化,樹冠葉片變的 稀疏,最後枯死(圖1-4)。



圖1. 罹患褐根病樹木之樹冠初期病徵,全株黃化與綠色葉片同時存在(鳳凰木)。

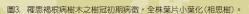














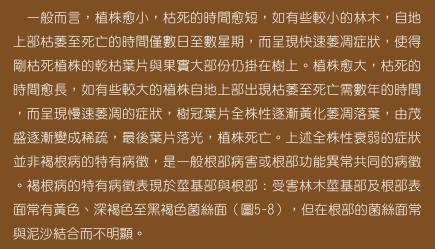






圖5. 罹患褐根病樹木之樹幹基部出現黃褐色菌絲面(榕樹)。

圖6. 罹患褐根病樹木之樹幹基部出現黃褐色菌絲面。







仍可看到附著在根部表面的菌絲面(羊蹄甲)。

受害林木如出現上述病徵就可確定為罹患褐根病。菌絲面在樹皮表面凹陷處較易形成,一般鮮少生長高於立木離地1公尺以上的樹幹。但常因林木死亡時間太長或環境氣候乾燥或樹種特性使然,黃褐色菌絲面不易觀察。如未觀察到典型菌絲面,可於莖基部及根部的樹皮剥開,受感染的樹皮內面及木材組織呈不規則黃褐色網紋(圖9-10),此黃褐色網紋亦可視為褐根病的特有病徵。



受感染樹木之莖基部及根部,將樹木剝開,在木材組織表面,呈現不規則黃褐色網紋



如果仍未觀察到典型菌絲面與黃褐色網紋,亦可將感染的木材組織 (病組織)放置在封口塑膠帶內,保持高相對濕度2-5日,病組織表面 可形成黃褐色菌絲面。有些罹病樹木的莖基部可觀察到黃褐色到黑褐 色的平伏至具菌蓋的子實體(圖11-12),子實體比菌絲面堅硬且有細 小菌孔。



■11. 罹病樹木--之莖基部形成平伏黑褐色的褐根病菌子實■11. 罹病樹木--之莖基部形成平伏黑褐色的褐根病菌子實



體(榕樹)。 體(榕樹)。

二、分離培養法

對於枯死已久的林木,利用病徵法有時無從判斷是否為褐根病,則可用分離培養法來確定枯死樹木是否為褐根病。採集根部或莖基部腐朽的木材,每棵樹至少取樣兩塊腐木,其長度至少5公分,以確保獲得病原菌。

利用褐根病菌選擇性培養基進行分離培養感染腐朽的木材。選擇性培養基的配方及配製為:2%麥芽抽出物(malt-extract),2%洋菜。滅菌後,冷卻至50-70℃添加下列藥劑 10mg/l benomyl,10mg/l dicloran,100mg/l ampicillin 和500mg/l gallic acid。添加後倒入9cm的培養皿(約20cc/皿)。將感染腐朽木材的表面泥土刷乾淨,切成小塊,大小約0.5 × 0.5 × 0.5 cm³,每一感染腐朽木材切取10-20小塊,以每個培養皿放入4小塊,將接好小木塊的培養皿放入24℃生長箱或室溫下1-2星期,如檢體有褐根病菌,小木塊周邊培養基會出現黃褐色(圖13-14)。





圖13. 感染褐根病菌的林木組織在選擇性培養基呈現黃褐色變色。

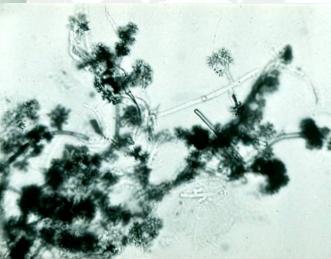
圖14. 在選擇性培養基生長之褐根病菌初期乳白色,後漸變成黃褐色菌落。

13 1

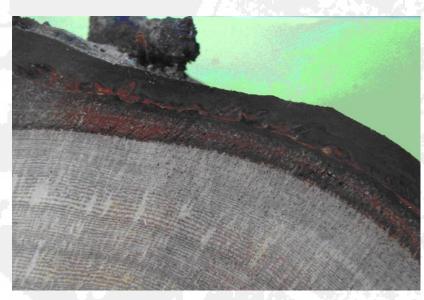
培養基表面會生長初期乳白色,之後漸變成黃褐色的菌落,將菌落的菌絲在顯微鏡下觀察可看到很多桿狀的節生孢子(arthroconidia)(圖15),較成熟的菌落可形成毛狀菌絲(trichocysts)(圖16)。 本方法僅適合具有微生物專業背景的機關團體。如為個人或一般機關團體,希望利用本方法確認,可將病害樣本送林業試驗所檢驗。



▲ 圖15. 褐根病菌的桿形節生孢子(arthroconidia)



▼ 圖16. 褐根病菌的毛狀菌絲(trichocysts)。



▲ 圖17. 黑褐色平伏狀的褐根病子實體

觀察,如何判斷樹木是否罹患褐根病?

感染組織的觀察與採樣:樹木罹患褐根病的樹冠會出現衰弱症狀(萎凋症狀),但樹冠並沒有病原菌的存在,要確認樹木是否罹患褐根 病,需觀察到罹病樹木莖基部及根部的病徵,以黃褐色的菌絲面及受 感染木材組織的黃褐色網紋為主要依據。在病組織的採樣,也需採集 黃褐色的菌絲面及周邊組織,和具有黃褐色網紋的木材組織,如能確 實採到這些病組織的樣品,檢送檢驗單位較能正確診斷鑑定是否罹患 褐根病。



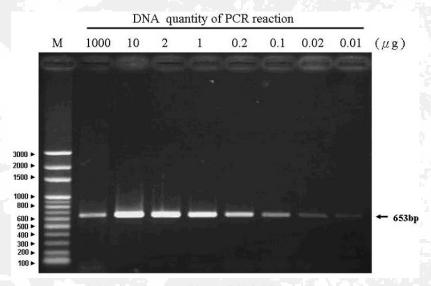
三、褐根病PCR分子診斷法

1、罹褐根病樹木根部採樣及核酸之抽取

採集感染褐根病之樹木根部,取0.2g組織於研缽磨碎後,加入 2X CTAB核酸抽取緩衝溶液(100 mM Tris-HCI, 1.5 M NaCI, 20 mM EDTA, 2%CTAB (hexadecryltrimethyl ammonium-bromide), 0.2% mercaptoethanol, pH 8.0),置於65%C水浴作用1小時,加熱期間取出震盪數次。之後加入1/2體積之氯仿/異戉醇(chloroform/isoamylalcohol, CIAA, 24:1 v/v),劇烈混合至乳褐色後,以12,000 rpm離心5分鐘,收集含有核酸之上方水層;再加入1/2體積之酚/氯仿/異戉醇(phenol/CIAA, phenol: CIAA = 1:1 v/v),劇烈混合至乳白色,以12,000 rpm離心5分鐘,收集含有核酸之上方水層。最後加入等體積的異丙醇(isopropanol)及1/10體積之3M NaOAc在-20%C沉澱DNA 10 min,高速12,000 rpm離心5分鐘收集沉澱核酸,再以70%酒精洗滌沉澱之核酸以去除殘留之分類,加入50 μ l TE buffer溶解核酸,供PCR反應之用。希望利用本方法確認的病害組織,可將病害樣本送林業試驗所檢驗。

2、褐根病菌專一性引子對PCR增幅反應

首先對褐根病菌全核酸,以專一性引子對G1F/G1R進行PCR增幅反應,引子對序列如下:G1-F:5'- GCCCT TTCCTCCGCTTATTG ';G1-R:- CTTGATGCTGGTGGGTCTCT -3'。25 μ I PCR反應溶液中含:2 mM MgC12、0.2 mM dNTPs mixture、50 ng引子對、1.5 U Tag DNA polymerase、100 ng模板核酸。PCR反應器所設定之反應程式為:94℃預熱2分鐘;再以94℃ 30秒變性(denaturation),56℃ 30秒黏合(annealing),72℃ 40秒延展(extention)進行30個循環(cycles);最後再以72℃反應5分鐘使Tag酵素完全作用,即完成PCR反應。再以1.5%瓊脂凝膠溶於0.5X TAE(Tris-acetate-EDTA)buffer,使用100 伏特之迷你電泳糟進行分析,經EtBr(0.5 μ g/mI)染色後,電泳照相系統分析觀察聚合酵素連鎖反應產物的電泳結果(圖18)。



▲ 圖18. 褐根病專一性引子對(G1F/G1R)對於田間採集之褐根病樣本進行PCR增幅反應靈敏度測試之電泳圖分析。DNA經序列稀釋濃度依序為1000μg、10μg、2μg、1μg、0.2μg、0.1μg、653bp之DNA 產物,在DNA濃度1-10μg時作用訊號最強,PCR靈敏度可達到0.01μg以上。

貳、樹木褐根病防治標準作業程序

防治時機

鑑定確認為褐根病時,即可進行防治。

■ 一般防治原則與方法

褐根病在化學藥劑方面,目前仍沒有殺菌劑正式推荐於病害防治上,本作業程序所建議之化學藥劑防治方法都是實驗室及田間試驗的結果,有些藥劑目前正進行合法行政登記程序中,有些仍未正式申請,但因現場迫切需要且建議之用藥已在其它作物合法登記,這些藥劑施用的對象為林木,都未用於食品,應無衛生安全上疑慮,因此在本作業程序上建議使用。

■ 已發病地區處理

在已發病地區的處理方法,可區分為阻隔病害持續擴散傳播及徹底清除病原兩種方式。前者可以達到抑制病害的持續蔓延,所需經費可能較少,後者完全清除發病區的病原,並於處理後現地可以再植樹木,所需經費較多。

一、阻隔病害擴散(掘溝阻斷法):

將感染病菌樹木的莖基部及主根完全挖除並燒燬,在健康樹與病樹間掘深溝約1公尺(如根系更深時需挖更深),並確定健康樹的根部未感染病原菌,在挖溝時需檢視根部是否感染,以強力塑膠布放於深溝間以阻隔根部接觸,並回填土壤,以阻止病根與健康根接觸傳染。





■20. 阻絕溝之設置(鋪設強力塑膠布)

■ 清除土壤中的病原:

(a) 燻蒸法:

將受害植株的根部土壤挖開,深度視樹木的根系深淺而定,一般在50-100公分之間。自挖開的土壤撿除所有的病殘根、裝袋並燒燬以避受病原的散佈。清除病根後的土壤需進行拌入燻蒸藥劑。燻蒸藥劑有邁隆(衛本)或尿素石灰混合兩種。邁隆的用量,為每立方米土方拌入50-100g;尿素石灰的用量為每立方米土方拌入2-3 kg尿素混合 0.2-0.3 kg石灰。加藥拌土時需注意土壤含水量,土壤含水量達50-60% 時,燻蒸效果較佳。在土壤拌藥加水後,需覆蓋黑色不透光之厚塑膠布 2-3星期,使燻蒸氣體不至於逸散到空氣中。處理地區表面塑膠布完全覆蓋才能充分發揮燻發效果。



▲ 圖21. 以機具協助大型根部挖除及清理,再以人工方式撿除罹病殘根



22. 燻蒸區域拌入土壤燻蒸藥劑(土壤要保持濕潤)





將燻蒸區域以塑膠布仔細覆蓋,並設立警告標示

(b) 水淹沒法:

如發病地區的土壤環境允許進行淹水處理,則不必使用藥劑燻蒸法處理,本方法如先撿除土壤中的病殘根,處理效果更好,如無法如燻蒸法將病土開挖並盡可能撿除病殘根,至少需撿除直徑3公分以上的病根,尤其在土壤上表層20公分內的病根。浸水時,需讓病區的土壤完全達淹水狀態1個月以上,以殺死土壤中的存留病原菌。



二、藥劑治療與保護

發病周圍的健康樹或發病初期的林木可施用下述藥劑進行治療與保 護,施用時,下述兩方法任選一種處理。

■ 藥劑混土覆蓋法:

將下列藥劑: 0.4公斤(升)的三得芬或三泰芬或護矽得或撲克拉,0.4公斤(升)的銅快得寧或快得寧,2公斤的尿素和0.2公斤石灰(如為中、鹼性土壤不用加)與1立方公尺(公噸)土壤混合,將混合藥劑的土壤覆蓋在樹幹基及周圍之土表,厚度約 3-5公分,範圍則依樹冠大小而定,盡可能涵蓋樹冠,覆土完畢後將土表淋濕,處理後最好再覆蓋塑膠布一個月,或可先將表土刮出 3-5公分,但不要刮傷樹根,並混合上述濃度之藥劑後,再將土壤覆蓋原來的土表,半年後再處理一次。

■ 藥劑稀釋灌注法:

將以下藥劑加水稀釋,500倍的三得芬或三泰芬或護矽得或撲克拉,500倍的銅快得寧或快得寧,100倍的尿素和500倍的石灰(如為中、鹼性土壤不用加),將上述稀釋藥劑最好加壓灌注土壤,或淋灌於表土,施用藥量以每平方公尺用10-15公升的稀釋混合藥劑,施用範圍則依樹冠大小而定,盡可能涵蓋樹冠以下之土壤,處理後最好覆蓋塑膠布一個月,間隔三個月再處理,共處理三次。如處理之林木生長於貧瘠地可適量添加有機肥,以增加樹木抵抗力。

三、其他管理建議

- a. 以割草機除草時,勿傷及樹幹,避免病原菌經由傷口造成感染。
- b. 培育健康種苗:育苗時慎選土壤,避免使用發病地區土壤或直接在 發病區育苗。
- c. 發病地區如無經費進行土壤處理,且該地區無須再重植木本植物,可考慮種植草本類植物。
- d. 用來切(伐)除罹病植株之器械工具,在確實進行消毒前切勿使用 於健康植株。

參、褐根病診斷服務站一覽表

		褐根病診	斷服務站	一覽表		
縣市	諮詢屬性	服務站名稱	聯絡人	地址	電話	傳真
基隆市臺北市臺北縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail: health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場文山分場	邱明賜	223臺北縣石碇鄉北宜 路5段12號	02-26651993	02-26651893
	農作物	國立臺灣大學植物病理 與微生物學系	孫岩章	106臺北市舟山路86號 401室	02-33664608	02-23925622
III III III	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw	4	台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
桃園縣 新竹市 新竹縣	茶樹	茶業改良場	曾方明 曾信光	326桃園縣楊梅鎮埔心 中興路324號	03-4823633	03-4824716
利门分称	農作物	桃園區農業改良場作物 環境課	施錫彬姚瑞禎	32709桃園縣新屋鄉後 庄村16號	03-4760852	03-4760135
苗栗縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場	曾方明 曾信光	326桃園縣楊梅鎭埔心 中興路324	03-4823633	03-482471
	農作物	苗栗區農業改良場作物 環境課	吳登楨 林惠虹	363苗栗縣公館鄉館南 村261號	037-236619	037-221277
臺中市臺中縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail: health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場魚池分場	許飛霜	555南投縣魚池鄉水社 村中山路270巷13號	049-2855128	049-2856605
	農作物	國立中興大學 植物病理學系	林益昇	402臺中市國光路250 號農環大樓6樓	04-22870891	04-22870891
彰化縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場魚池分場	許飛霜	555南投縣魚池鄉水社 村中山路270巷13號	049-2855128	049-2856605
	農作物	臺中區農業改良場作物 環境課	王文哲	515彰化縣大村鄉田洋 村松槐路370號	04-8521493	04-8520914
南投縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場魚池分場	許飛霜	555南投縣魚池鄉水社 村中山路270巷13號	049-2855128	049-2856605
	the the days	農業藥物毒物試驗所	蘇文瀛李昱輝	413臺中縣霧峰鄉舊正 村光明路11號	04-23304511	04-23321478
	農作物	種苗改良繁殖場	鍾文全 袁雅芬	426臺中縣新社鄉大南 村興中街46號	04-25825471	04-25819049

20

		褐根病診	斷服務站	一覽表		
縣市	諮詢屬性	服務站名稱	聯絡人	地址	電話	傳真
雲林縣嘉義市嘉義縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場魚池分場	許飛霜	555南投縣魚池鄉水社 村中山路270巷13號	049-2855128	049-2856605
	農作物	農業試驗所嘉義分所植 物保護系	楊宏仁	600嘉義市民權路2號	05-2766019	05-2764525
		國立嘉義大學 生物資源系	蕭文鳳 楊瓊儒	600嘉義市學府路300 號	05-2751264	05-2717816
臺南市臺南縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場臺東分場	余錦安	955臺東縣鹿野鄉龍田 村北二路66號	089-55120 #220	089-334267
	農作物	臺南區農業改良場作物 環境課	鄭安秀 陳昇寬	712臺南縣新化鎭牧場 70號	06-5912959	06-5912959
高雄市高雄縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場臺東分場	余錦安	955臺東縣鹿野鄉龍田 村北二路66號	089-55120 #220	089-334267
	農作物	農業試驗所鳳山分所植 物保護系	温宏治洪争坊	830高雄縣鳳山市文山 路園藝巷4號	07-7313304	07-7315590
屏東縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail: health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-2307875
	茶樹	茶業改良場臺東分場	余錦安	955臺東縣鹿野鄉龍田 村北二路66號	089-55120 #220	089-334267
	農作物	高雄區農業改良場作物 環境課	陳昱初 莊益源	846屏東縣長治鄉德和 村德和路2-6號	08-7389060	08-7389063
	香蕉	財團法人臺灣香蕉 研究所	趙治平	904屏東縣九如鄉玉泉 村榮泉街1號	08-7390281	08-7390595
宜蘭縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-2307875
	茶樹	茶業改良場文山分場	邱明賜	223臺北縣石碇鄉格頭 村北宜路5段12號	02-26651993	02-26651893
	農作物	花蓮區農業改良場	賴信順	973花蓮縣吉安鄉吉安 村吉安路2段150號	03-8535915	03-8533740

		褐根病診	斷服務站	一覽表		
縣市	諮詢屬性	服務站名稱	聯絡人	地址	電話	傳真
花蓮縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場臺東分場	余錦安	955臺東縣鹿野鄉龍田 村北二路66號	089-55120 #220	089-334267
	農作物	花蓮區農業改良場作物 環境課	賴信順	973花蓮縣吉安鄉吉安 村吉安路2段150號	03-8535915	03-8533740
臺東縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	茶樹	茶業改良場臺東分場	余錦安	955臺東縣鹿野鄉龍田 村北二路66號	089-55120 #220	089-334267
	農作物	臺東區農業改良場作物 環境課	李惠鈴	950臺東市中華路1段 675號	089-325015	089-334267
澎湖縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	農作物	高雄區農業改良場作物 環境課	陳昱初 莊益源	846屏東縣長治鄉德和 村德和路2-6號	08-7389060	08-7389063
金門縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail: health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	農作物	金門縣動植物防疫所	林秀芳	891金門縣金湖鎮裕民 農莊20號	082-336625	082-336627
連江縣	林木	林木健康服務網 http://health.tfri.gov.tw Mail:health@tfri.gov.tw		台北市中正區南海路 53號	02-23039978 轉2518	02-23078755
	農作物	連江縣政府	林紹宏	209連江縣南竿鄉清水 村101號	0836-26944	0836-22326



褐根病診斷鑑定與防治標準作業程序

發 行 人 / 顏仁德、黃裕星 策 劃 / 徐政競、謝省三 撰 文 / 張東柱、傅春旭、吳孟玲 編 / 黃啟瑞 美 攝 影 / 張東柱、傅春旭、吳孟玲 版 / 行政院農業委員會林務局 出 網 址 / http://www.forest.gov.tw/web/index.asp 址 / 住 100 台北市中正區杭州南路1段2號 話 / (02)23515441 電 刷 / 囙 出版年月/ 版(刷)次/ 初版一刷