

# 樹木褐根病診斷鑑定與管理手冊

## Diagnosis and Management of Brown Root Rot Disease

### 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，病原菌直接為害侵染樹木之根部、莖基部之韌皮部、形成層、周邊木質部等水分、養分輸導組織，造成褐變、壞死，並喪失水分、養分之傳輸或吸收功能。罹病樹木之生長勢衰弱，葉片萎黃、變小，枝葉稀疏，根部組織腐枯、崩解，最後枯死，失去支撐力，易造成風倒。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°C，偶爾形成子實產生擔孢子，是本菌長距離傳播之初次感染源，病原菌存活在殘根上，主要經由病根或帶菌組織接觸、帶菌苗木等傳播，或由子實體產生大量孢子飛散傳播進行機會性感染。

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 150 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、廣東檸檬、扁櫻桃及黃金榕較為耐病，椪柑 (愛文/再來種)、柑桔 (酸桔、柳橙、苦柚) 及黑板樹則為極耐病。

有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，植株發現明顯病徵時，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，研訂樹木褐根病診斷鑑定與管理手冊，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，即可確定為罹病植株。

### 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。

一般而言，植株愈小，枯死的時間愈短，容易呈現快速萎凋症狀，使得剛枯死植株的乾枯葉片與果實大部份仍掛在樹上。植株愈大，枯死的時間愈長，如有些較大的植株自地上部出現枯萎至死亡需數年甚至數十年以上的時間，而呈現慢速萎凋的症狀，樹冠葉片全株性逐漸黃化萎凋落葉，由茂盛逐漸變成稀疏，最後葉片落光，植株死亡。上述全株性衰弱的症狀並非褐根病的特有病徵，是一般根部病害或根部功能異常共同的病徵。褐根病的特有病徵表現於莖基部與根部：受害林木莖基部及根部表面常有黃色、深褐色至黑褐色菌絲面，但偶而在根部的菌絲面常與泥沙結合而不明顯。

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，一般較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影響，有些樹種黃褐色菌絲

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剝開，受感染的樹皮內面及木材組織呈不規則黃褐色菌絲構成之網紋，此黃褐色網紋亦可視為褐根病的特有病徵。

如果仍未觀察到典型菌絲面與黃褐色網紋，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，子實體比菌絲面堅硬且表面有細小菌孔。

## 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°C 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 9 cm 的培養皿（約 20 cc/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 cm<sup>3</sup>，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°C 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。

培養基表面會生長初期乳白色，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)，較成熟的菌落可形成毛狀菌絲 (trichocysts)。

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、農業試驗所檢驗。

註：如何判斷樹木是否罹患褐根病？

病樹的觀察與採樣：樹木罹患褐根病時，樹冠生長勢呈現衰弱或萎凋症狀，但樹冠並沒有病原菌存在，要確認樹木是否罹患褐根病，須觀察罹病樹木莖基部及根部的病徵及病灶 (sign)，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。在罹病組織的採樣，須採集黃褐色的菌絲面及周邊組織，以及具有黃褐色網紋的木材組織送檢驗單位，應有助於正確診斷鑑定是否罹患褐根病。

### 三、分子診斷法

#### (一) 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 組織於研鉢磨碎後，加入 2X CTAB 核酸抽取緩衝溶液 (100 mM Tris-HCl, 1.5 M NaCl, 20 mM EDTA, 2% CTAB (hexadecryltrimethyl ammonium-bromide), 0.2% mercaptoethanol, pH 8.0)，置於 65°C 水浴作用 1 hr，加熱期間取出震盪數次。之後加入 1/2 體積之氯仿/異戊醇 (chloroform/isoamyl alcohol, CIAA, 24:1 v/v)，劇烈混合至乳褐色後，以 12,000 rpm 離心 5 min，收集含有核酸之上方水層；再加入 1/2 體積之酚/氯仿/異戊醇 (phenol/CIAA, phenol: CIAA = 1:1 v/v)，劇烈混合至乳白色，以 12,000 rpm 離心 5 min，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 min 收集沉澱核酸，再以 70%酒精洗滌沉澱之核酸以去除殘留之鹽類，加入 50  $\mu$ 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、農業試驗所檢驗。

## (二) 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 -3' ; G1-R:5' - CTTGATGCTGGTGGGTCTCT -3' 。25  $\mu$ l PCR 反應溶液中含：2 mM MgCl<sub>2</sub>、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°C 預熱 2min；再以 94°C 30sec 變性(denaturation)、56°C 30sec 黏合(annealing)、72°C 40sec 延展(extention) 進行 30 個循環(cycles)；最後再以 72°C 反應 5 min 使 Tag 酵素完全作用，即完成 PCR 反應。之後以 1.5% 瓊脂凝膠溶於 0.5X Taq (Tris-acetate-EDTA) buffer，使用 100 伏特電壓之電泳槽進行分析，經 Ethidium Bromide (0.5  $\mu$ g/mL) 染色後，以電泳照相系統分析觀察並記錄聚合酵素連鎖反應產物的電泳結果。

## 貳、樹木褐根病防治

防治時機：鑑定確認為褐根病時，即可進行防治。

### 一、病害防治學理及原則

褐根病菌雖非全球性分佈，但到目前為止，已被報導發生於非洲、印度、東南亞、澳洲、巴紐、南大洋洲之熱帶、亞熱帶等地區，

分佈甚為廣泛。此病害在台灣全島發生，為一古老病害，發病歷史至少已達 80 年以上，病原可侵染 150 種以上，以闊葉樹為主之樹木（林木、果樹、觀賞植物），病害呈隨機分散分佈，此病原和寄主所建構之寄生關係，應為兩者在地長期共同演化之結果，當生態環境不利於寄主，而有利於病原之拓殖，則褐根病發生率、嚴重度，就會明顯增加，並導致寄主植物枯死。此病之防治原則，著重於初期防治、生態撫育、抗病育種與選種、環境友善之化學防治等。

## 二、病害防治時機、方法

### （一）發病初、中期之防治

無病徵或病徵不明顯之健康或珍貴樹木、苗木，經由分子診斷鑑定，若確認為褐根病菌感染，此時宜以拮抗性生物製劑、改善生育地棲地之生態條件、高壓點滴灌注法等方式處理。高壓點滴灌注法為治療性措施，施用方式為：於植物莖基部或根部，以加壓方式點滴灌注系統性藥劑，如 25%撲克拉 1,000 倍稀釋液，每株灌注 2-5 公升，每 2 個月灌注一次，連續三次，視其成效，必要時再追加防治。此外，亦可於根系表面或根域澆灌系統性藥劑，使用劑量同前述。（請參考植物保護手冊）

註：

- 褐根病感染初期不易察覺，管理單位應隨時注意樹木生長勢及樹冠葉片是否變小或稀疏等。
- 進行褐根病初、中期防治時，為防止風倒或暴雨浸潤倒塌，宜修剪樹木側枝條，並設置安全支架及警示標誌。

## (二) 發病後期之處理原則

罹病樹木已呈現明顯病徵如生長勢衰微，葉片萎黃、變小、枝葉稀疏，呈旗桿狀，莖基部或裸露之根部表面披覆暗褐色或深褐色近黑色菌絲墊或成熟之子實體，此時地下之主根或側根已有部分腐朽分解，且於樹皮下之邊材亦可見棕色或深棕褐色菌絲索所構成之菌絲網，在病害或逆境加劇時，無主根系之林木，如榕樹，全株立枯或失去支撐力，易受風倒，或受暴雨浸潤倒塌，此時應移除病株或枯木，並徹底清除根砧以及根部組織，一併運送焚化爐焚燬。對於鄰近的植株，應特別注意進行褐根病早期診斷鑑定，必要時以上述（一）病害初、中期防治法進行防治，以預防病害蔓延。

## (三) 罹病地之處理原則

罹病地於移除病株或枯木並徹底清除根砧以及根部組織後，可依下列方式進行病害管理：

### 1. 自然撫育法（中華民國植物病理學會推薦）

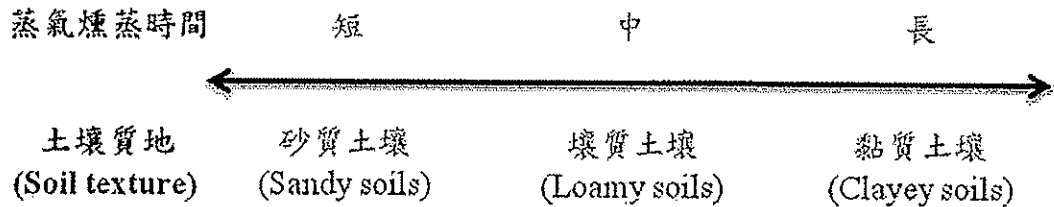
徹底清除根砧、撿除所有殘根後，將根砧及殘根裝袋，送焚化爐燒燬以避免病原散佈。此外，應撫平挖除根砧後之樹穴，以免造成公共安全疑慮。土壤經自然曝曬 3-6 個月後，即可改種花草或抗病耐病樹（如：茄苳、黑板樹、臺灣棕櫚、臺灣欒樹等）

### 2. 土壤熱蒸氣處理（國立臺灣大學實驗林管理處推薦）

土壤經 60-80°C 蒸氣消毒處理 30 分鐘以上，即可殺滅病原菌，但部份耐熱之拮抗微生物仍可存活，可發揮拮抗作用，

惟蒸氣消毒溫度不宜過高，以免影響土壤物化特性。

註：土壤質地對蒸汽燻蒸時間之影響



### 3. 土壤淹水處理

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。本方法如先檢除土壤中的病殘根，處理效果更好，可將根圍病土挖開並盡可能徹底檢除主根、側根及位於土壤上表層 20-30 公分內之罹病殘根。浸水時，需將病區的土壤完全達淹水狀態 1-3 個月以上，以殺死殘存於病根之病原菌。

### 4. 土壤藥劑燻蒸處理

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。土壤挖開後，應徹底檢除所有的病殘根、裝袋並燒燬以避免病原散佈。清除病根後的土壤拌入燻蒸藥劑進行燻蒸。燻蒸藥劑有邁隆或尿素石灰混合兩種。邁隆的用量為每立方米土方拌入 60 g，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。加藥拌土時須注意土壤含水量，土壤含水量達 50-60% 時，燻蒸效果較佳。在土壤拌藥加水後，須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



應完全覆蓋，防止氣體逸散才能充分發揮燻蒸效果。（請參考植物保護手冊）

註：

- 使用邁隆（Dazomet）進行土壤燻蒸，燻蒸過程會產生有毒氣體（methylisothiocyanate, MITC），施作時應特別注意安全，避免汙染水源，並設立警示標誌。
- 邁隆可殺滅根域動物、植物、微生物，施用前宜審慎評估，以免嚴重破壞生物多樣性及土壤生態系之平衡。

