

# 柑橘黄龙病检测及防控方法研究进展

张天宇<sup>1,2,3</sup>, 杨钙仁<sup>1\*</sup>, 何寻阳<sup>2,3\*</sup>, 刘秋梅<sup>2,3</sup>, 李德军<sup>2,3</sup>

1. 广西大学林学院, 南宁 530004

2. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125

3. 河池环江农田生态系统广西野外科学观测研究站, 环江 547100

**摘要** 柑橘黄龙病是在柑橘产业中最具危害的细菌传染性病害, 是柑橘产业健康长久发展的重大威胁。综述了柑橘黄龙病病原菌及其致病机理的研究进展, 分析了以纳米孔测序和图像数据集为主的快速检测柑橘黄龙病的方法, 梳理了目前防控柑橘黄龙病的主要手段, 包括传统防控方法、抗病育种、药物制剂防控和生物防控等。结合目前柑橘黄龙病抗(耐)病性与防控、检测技术的基本现状, 提出可在建立黄龙病菌体外培养技术、发展田间快速检测技术、抗(耐)病新品种的规模化产出创新技术、柑橘黄龙病菌致病机理和绿色防控等方向深入研究。

**关键词** 柑橘黄龙病; 黄龙病病原菌; 致病机理; 检测方法; 防控方法

柑橘黄龙病(citrus Huanglongbing)是柑橘产业中一种毁灭性病害<sup>[1]</sup>。在中国、巴西、美国以及非洲等国家和地区均有发生, 给当地造成严重的经济亏损<sup>[2]</sup>。该病的病原菌为局限于韧皮部的候选韧皮部杆菌属细菌 *Candidatus Liberibacter* spp.<sup>[3]</sup>。受到病原菌侵染的柑橘树表现为叶稍黄化、叶片斑驳黄化、出现“红鼻子”果的症状<sup>[4]</sup>。但黄龙病菌潜伏期较长, 在感染初期病树不显症或显症不明显, 肉眼观察的不准确性和实验室检测的繁琐过程, 致使种植者难以提前发现病树, 导致错过对病树的最佳处

理时间<sup>[2]</sup>。黄龙病感染深入时, 柑橘树根系会逐渐发生腐烂, 严重影响对土壤养分的吸收, 致使柑橘树枯死<sup>[5]</sup>。在柑橘树感染黄龙病后2~3年内, 一个郁郁葱葱的柑橘园便可完全丧失生产的能力<sup>[6]</sup>, 这给柑橘产业的发展带来难以跨越的阻碍。近年来, 随着全球气候变暖, 柑橘种植面积的不断扩增, 导致柑橘木虱北移, 加大柑橘黄龙病的传播范围, 使得全国各地柑橘园的潜在威胁变大<sup>[7-8]</sup>。黄龙病不仅可以靠着柑橘木虱、嫁接等方式迅速传播, 而且柑橘树一经其感染便没有药物能彻底治疗<sup>[9-10]</sup>, 只

收稿日期: 2023-09-25; 修回日期: 2024-02-22

基金项目: 广西重点研发计划项目(桂科 AB22080097)

作者简介: 张天宇, 硕士研究生, 研究方向为黄龙病的微生物防控, 电子信箱: 1749012933@qq.com; 杨钙仁(通信作者), 教授, 研究方向为生态农业等, 电子信箱: yanggr@gxu.edu.cn; 何寻阳(共同通信作者), 研究员, 研究方向为土壤微生物生态等, 电子邮箱: hhh-pjhn@isa.ac.cn

引用格式: 张天宇, 杨钙仁, 何寻阳, 等. 柑橘黄龙病检测及防控方法研究进展[J]. 科技导报, 2024, 42(11): 75-83;

doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2023.09.01425

能通过加强柑橘园的防控手段,将病原尽早阻断,遏制其传播。综上所述,对柑橘黄龙病的检测和防控显得尤为重要。

## 1 柑橘黄龙病病原菌及其致病机理研究

### 1.1 病原菌

根据黄龙病病原菌 16S rDNA 的相似性将其分为亚洲种(*Candidatus Liberibacter asiaticus*)和非洲种(*Candidatus Liberibacter africanus*)<sup>[11]</sup>。Texeira 等<sup>[12]</sup>在巴西发现了 1 株新的黄龙病病菌,与前 2 个菌株达到 93% 以上的相似性,被命名为美洲种(*Candidatus Liberibacter americanus*)。这 3 种病原菌以亚洲和非洲柑橘木虱作为载体传播。黄龙病菌具体分类与其传播载体和对温度的适应范围如表 1 所示<sup>[13]</sup>。

表 1 柑橘黄龙病病原菌分类学信息

项目	名称信息
分类学 信息	界: Bacteria
	门: Proteobacteria
	纲: Alphaproteobacteria
	目: Rhizobiales
	科: Rhizobiaceae
	种: <i>Candidatus Liberibacter africanus</i> Garnier (Laf) (22~24℃)
	<i>Candidatus Liberibacter asiaticus</i> Garnier (Las) (27~32℃)
	<i>Candidatus Liberibacter americanus</i> sp. nov. (Lam) (22~24℃)
传播 载体	亚洲木虱(ACP) 非洲柑橘木虱(AFCP)

### 1.2 致病机理研究现状

有研究表明,柑橘树一旦被黄龙病病原菌感染,会引起胼胝质的过度累积,导致韧皮部堵塞,使光合产物的运输发生障碍,在叶肉中积累大量淀粉,最后造成叶片失绿<sup>[14]</sup>。但有研究认为胼胝质的积累也会阻止不断增长的病原菌的进一步入侵,推测这是一种由基因调控引发的自杀性保护措施,但目前对该功能基因的研究少有报道<sup>[15-16]</sup>。

2022 年初,美国佛罗里达大学 Ma 等<sup>[17]</sup>提供了柑橘黄龙病是一种由病原菌介导的免疫疾病的证据。研究发现,黄龙病病原菌感染柑橘后,能引起柑橘韧皮部的系统性和慢性免疫应答。主要表现为:胼胝质的沉积,过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)等活性氧的生成,以及与免疫有关的基因的诱导表达。由黄龙病病原菌导致产生的活性氧集中在柑橘树干的韧皮部,当活性氧累积到一定程度会引起该区域的伴胞和筛分子细胞发生系统性死亡。该研究还表明,对已患黄龙病的柑橘树叶面喷施赤霉素(GA)或抗氧化剂,能有效减轻黄龙病带来的症状和减少韧皮部中细胞的死亡。其研究结论是柑橘黄龙病致病机理的重要进展,为后续黄龙病发病机制的研究打下坚实基础,也为黄龙病防控技术指明新的方向。

## 2 柑橘黄龙病检测技术研究进展

### 2.1 传统检测技术

柑橘黄龙病曾经主要依靠碘-淀粉显色法、血清学检测法和电镜检测法等传统方法进行诊断。但由于检测准确率低下和操作过于复杂等多种因素的限制,上述传统检测方法已很少使用。目前,国内外常用的柑橘黄龙病检测技术为实时荧光聚合酶链式反应(qPCR)。该技术操作简便,能定量分析柑橘树体内黄龙病菌的含量,灵敏度高、特异性强。除了上述检测技术外,还有纳米孔测序(nanopore sequencing)法、图像数据集诊断方法和其他一些新兴方法(表 2)。

### 2.2 纳米孔测序法

纳米孔测序技术是近年来新兴的第三代测序技术<sup>[23]</sup>。该技术利用掌上纳米孔测序仪(MinION)对柑橘 DNA 样品进行测序。卢慧林等<sup>[24]</sup>基于纳米孔测序技术,建立柑橘黄龙病的快速检测方法,结果利用 Blast、GraphMap 等不同软件将患病叶片的测序结果与黄龙病基因组进行对比。结果表明,测序结果和黄龙病基因组比对均匀,证实该技术对黄龙病检测的可靠性。纳米孔测序技术操作简单,无需进行 PCR 扩增以及引物模板的设计制作<sup>[25]</sup>,且测序仪器便于携带,使得实地检测柑橘黄龙病成为可



用所收集的 683 张柑橘叶片图像,结合剪切混合拼接,镜像翻转和改进模型等方法,提高背景目标的多样性和在小尺度上对黄龙病检测的精准度。实验结果表明,在自然背景下对柑橘黄龙病的检测,平均精度可达 84.8%,减少自然背景对鉴定所带来的影响,实现在自然背景下对柑橘黄龙病的准确检测。在此基础上,为了使得对黄龙病植株的检验更加可靠,He 等<sup>[30]</sup>研发了一种新型检测柑橘黄龙病的技术,该技术利用可携带的检测装置实现,它可以同时获取多光谱荧光和多光谱反射图像。基于装置获取的波谱图像,再结合深度学习和迁移学习 2 种机器学习方法完成对柑橘黄龙病的检测。此方法能在 10 s 内完成柑橘黄龙病单个样品检测,且准确率在 90% 以上。利用柑橘代谢活动过程的波谱图像数据和生理信息完成对黄龙病的检测有着重要的参考作用。在针对利用柑橘图像集数据检测黄龙病方向中,也有使用柑橘显微图像为研究对象,构建检测柑橘黄龙病的模型。其中,林少丹等<sup>[31]</sup>根据 4 种不同症状表现的柑橘叶片主叶脉的显微图像,通过改进 HLBUP-DETR 模型,提出了一种新的柑橘黄龙病检测模型 E-HLBUP-DETR,相较于原来模型有较高的精准率提升,达到 94.7% 以上。黄龙病病原菌仅能寄生在柑橘植株韧皮部中,因此对于柑橘叶片主叶脉显微图像的分析显得相当重要。Gomez-Flore 和 Liu 等,均利用图像纹理的特征来实现对柑橘黄龙病的鉴定,准确率达到 90% 以上,为柑橘黄龙病的视觉判别研究提供重要的参考价值<sup>[32-33]</sup>。

#### 2.4 其他新兴方法

除了以上方法能用于快速检测柑橘黄龙病,近年来,也兴起了其他快速检测柑橘黄龙病的手段,以方便人们能及时检测出带病植株。传感器荧光微球试纸条<sup>[34]</sup>便是其中一种。该项技术以 Mab DF1 单抗修饰的荧光微球作为信号标签,样品加入后会与其发生特异性反应,再通过 NC 膜上的抗体捕获聚集在测试线上,利用紫外线激发,根据显示的荧光条带能立即判断是否含有黄龙病菌。Puspitasari 等<sup>[35]</sup>利用一种快速检测柑橘黄龙病的试剂盒,在印度尼西亚 Koto Tinggi 的柑橘种植园进行观察测定。

检测结果表明,在试验柑橘园中黄龙病的发病率为 19%~40%。该方法十分轻松快捷,不需要繁琐的操作过程,果园农户也能够自己完成测试。Weng 等<sup>[36]</sup>设计了一种气体传感器,通过植物的挥发性有机化合物(VOCs)作为其健康状况的指标,成功将健康植株和患病植株分开,实现对柑橘黄龙病的检测。在该研究中,使用气体传感器与 qPCR 检测技术同时检测了 6 株患黄龙病的树和 4 株健康的树,两者检测结果一致。在此基础上,再选 1 株已患病的柑橘树,取 8 片叶子,使用 qPCR 技术检测出 3 个阴性样品,而使用气体传感器技术仅检测出 1 个阴性样品。可见,气体传感器技术的灵敏性相较于 qPCR 更高。气体传感器为黄龙病的诊断提供了新的方法,测试装置便于携带,也可用于柑橘叶片的现场实时检测。

### 3 柑橘黄龙病的防控现状

#### 3.1 传统防控方法

目前国内外最常用的柑橘黄龙病防控方法仍是以“三板斧”为主,即种植无毒苗木、严控木虱和除尽病树。“三板斧”的方法能有效防控黄龙病的入侵和传播,但大规模的铲除病树给农户带来了巨大的经济损失,对柑橘木虱的杀灭也难以做到滴水不漏<sup>[37]</sup>。近十几年来,学者研究提出一些能抑制黄龙病菌、缓解柑橘园病情的防控方法,主要有抗黄龙病柑橘育种、药物制剂防控和生物防控等<sup>[38-39]</sup>。

#### 3.2 抗黄龙病柑橘育种

培养抗性柑橘品种是控制黄龙病有效、经济和绿色的方法。引种、选种和杂交选育,是现代农业技术的重要组成部分,通过这些手段有机会选育出高产抗病的新品种。有研究通过自主构建的维管束特异表达抗菌肽基因 *Cecropin B* 的表达载体转化柑橘,获取了对黄龙病耐性明显提高的材料,为进一步抗病育种材料的培育提供了技术和用材基础<sup>[40]</sup>。Kosmiatin 等<sup>[41]</sup>的研究评估多倍体柑橘植物对柑橘黄龙病菌攻击的耐受性,使用柑橘黄龙病致病菌悬液作为筛选药剂,以当地黄龙病敏感植株作为阴性对照,研究结果显示,体细胞杂交来源的

体外芽对黄龙病的抗性有所增加。Deng等<sup>[42]</sup>发现“Bearss Lemon”和“LB8-9 Sugar Belle”2个品种的柑橘在田间自然生长下就对柑橘黄龙病有较大的耐受性,且相对于其姊妹树(易感病株),有较低水平的韧皮部破坏,以及更好的韧皮部再生,这将为未来筛选抗病株提供一些新的思路与材料。除上述外,Cheng等<sup>[43]</sup>研究发现,柑橘基因 *RIN4* 在抵抗黄龙病的过程中起着负调控作用,抑制或者删除植株中的该基因能提高对黄龙病的抗性,有望获得耐病材料。武晓晓等<sup>[44]</sup>对田间和野外采集的177份疑似耐(抗)柑橘黄龙病材料,利用高感染毒鉴定法开展病害耐受性测定和评价,结果筛选出16份对柑橘黄龙病表现出耐性的材料。迄今为止,柑橘黄龙病抗病株的培养选育仍是一个挑战,由于现有柑橘品种及接穗、砧木上均未发现抗黄龙病基因,常规育种难以培育出抗黄龙病的柑橘品种<sup>[41]</sup>。目前也尚未报道存在一类能完全抵抗黄龙病原菌攻击的新种柑橘材料。

### 3.3 药物制剂防控

药物制剂的使用在柑橘黄龙病的防控中起着重要作用。陈仕钦等<sup>[45]</sup>利用6种药剂对柑橘植株的韧皮部进行为期8个月的输液试验,发现二溴氰基乙酰胺(DBNPA)、异噻唑啉酮(MIT)和氨基青霉素(AMP)对柑橘黄龙病分别有89.75%、83.72%和87.27%的防效,证明了抗生素的使用确实能有效防控病害的扩散。类似的研究成果表明,通过向柑橘树干注射四环素(TET)、土霉素(OTC)等抗生素或者将染病接穗浸泡于抗生素中1~2 h,能有效抑制黄龙病菌,减轻病害症状<sup>[46-47]</sup>。黄洋等<sup>[48]</sup>探究2类抗生素药剂对“纽荷尔”脐橙黄龙病病原菌的抑制作用及其根际细菌群落结构的影响,通过磺胺二甲氧嘧啶钠盐(SDM)和AMP 2种抗生素进行灌根,再使用TaqMan探针法荧光定量PCR(TaqMan qPCR)技术检测病树叶内黄龙病菌菌量的动态变化,并利用宏基因组技术分析根际细菌群落结构的变化。结果发现,AMP对黄龙病菌有一定的抑制效果,而SDM对黄龙病菌抑制较差,2类抗生素药剂均影响了“纽荷尔”脐橙病树根际细菌群落结构。

柑橘黄龙病可以通过柑橘木虱繁殖传播,因此

果园一旦染病便难以延缓病情暴发。有效防控柑橘木虱是田间控制柑橘黄龙病的关键手段。孟华岳等<sup>[49]</sup>通过室内模拟滴灌施用噻虫胺和田间试验表明,滴灌施用噻虫胺能有效防控柑橘木虱并且防控效果高达80%,在用药2个月内,叶片内噻虫胺的质量分数大于0.64 mg/kg,是防控柑橘黄龙病的有效手段。Roldan等<sup>[50]</sup>的研究结果表明,在柑橘上叶面施用土霉素和链霉素(STR)可以减少柑橘木虱对柑橘黄龙病菌的获取,但在田间条件下对叶面高频喷施这些抗生素不能预防或减少柑橘植株的感染。除上述方法外,也有研究提出了使用氨基丁酸(BABA)、油菜素内酯等小分子免疫诱导物来防控黄龙病,并明确取得成效,表现为黄龙病菌的数量显著较少<sup>[38]</sup>。由于黄龙病菌在柑橘树内分布不均,致使抗生素不能完全消灭病菌,容易导致在抗生素治疗后病情复发;免疫诱导物受柑橘树表型和外界环境影响很大,此外,诱导免疫反应对营养的竞争还会导致植株生长受限。综上所述,用药物制剂来防控黄龙病还有待进一步改进。

### 3.4 生物防控

生物防控柑橘黄龙病的方法绿色、环保、高效,不会对环境造成二次污染,有利于柑橘果园的可持续发展。Huang等<sup>[51]</sup>通过对黄龙病敏感的柑橘品种和耐黄龙病的柑橘杂交种及其亲缘关系的比较分析,发现了一类新的稳定抗菌肽(SAMPs)。该抗菌肽从澳洲柑橘中提取,通过雾喷该抗菌肽可以有效抑制柑橘植株中黄龙病菌的侵染。除了使用抗菌肽,也有研究人员利用生物肥料开展对黄龙病的防控。Widyaningsih等<sup>[52]</sup>在3年8个月内,对染黄龙病植株和健康植株分别设置了2个施肥处理。结果表明,施用农民自制的生物菌肥对减轻黄龙病发生的最好。2022年,Munir等<sup>[53]</sup>分离出了一株枯草芽孢杆菌,并命名为枯草芽孢杆菌L1-21(*B. subtilis* L1-21),该细菌是从健康柑橘植株中分离出来的一种本土内生菌。研究结果表明,该细菌能有效抑制柑橘黄龙病菌,是全球首次利用柑橘本身内生菌防控黄龙病的技术,也是世界上第一个成功的规模化防控黄龙病的生物技术。生物防治手段除了能作用于柑橘植株自身外,也能在其传播载

体的柑橘木虱上应用,其对于黄龙病的防控也有着很好的效益。例如 Maluta 等<sup>[54]</sup>研究表明,玫烟色虫草真菌(*Cordyceps fumosorosea*)可以显著改变柑橘木虱用口器吸食韧皮部的行为。研究通过刺探电位图谱(EPG)技术直接显示了玫烟色虫草真菌对柑橘木虱刺吸行为的影响。在喷施玫烟色虫草真菌 30~96 h 内的影响最为明显,主要表现为:对柑橘木虱在韧皮部导管中的刺吸活动产生了显著的干扰,这与黄龙病菌的传递直接相关,可用于减少黄龙病的传播。或者引入柑橘木虱的寄生天敌亮腹釉小蜂(*Tamarixia radiate*)<sup>[55]</sup>。在 26℃ 下,亮腹釉小蜂对柑橘木虱若虫的寄生率可达 78%,也能有效阻止黄龙病的蔓延。

## 4 结论

根据 2021 年中央一号文件《关于全面推进乡村振兴加快农业农村现代化》的精神,持续推进化肥农药减量,加强农作物病虫害绿色防控是农业绿色可持续发展的必然要求,绿色全面防控的基本是利用植株抗病性培育抗病品种。目前,在柑橘黄龙病光谱成像检测技术、转基因和诱导获得系统抗性以及利用本土内生菌防治黄龙病等方面取得一定的成效。在后续的研究中应进一步推进柑橘黄龙病由防向治的转型,围绕柑橘黄龙病菌致病机理及其与柑橘、木虱的多元互作机理深入研究。

结合目前柑橘黄龙病抗(耐)病性材料与防控、检测技术的基本现状以及应对全球气候变化和乡村振兴产业需求,提倡农业绿色高质量发展。建议从以下几个方向进行深入的研究:(1)探索建立黄龙病菌体外培养技术。缺乏黄龙病菌体外培养技术严重制约病原菌致病分子机制和病原菌寄主互作的研究。目前缺乏纯的黄龙病菌,导致无法对其进行一系列生理生化试验、室内生物测定及防治试验<sup>[56]</sup>,使得对黄龙病的防治研究进展缓慢。虽然有部分研究声明已经完成对黄龙病菌的纯培养,但其结果不能重现且并没有将病原菌进行寄主回接,完成柯赫氏法则的验证,存在着大量质疑的声音。(2)发展田间快速检测技术和智能检测系统。对

于黄龙病实时检测技术还有待进一步研发探究,现阶段多数检测方法只能在室内完成,不能第一时间得知田间植物的健康状况。(3)抗(耐)病新品种的规模化产出创新技术。现阶段对于柑橘黄龙病的抗(耐)病品种已经取得了一些重要的成果。但现在柑橘种植地面积大,患病地区广,规模化的培养新品种能使成本最小化,提高抗(耐)病材料的生产效率,也能提高整体的管理效率,更好地满足市场需求。(4)柑橘黄龙病菌致病机理及其与柑橘、木虱的多元互作机理还需进一步研究。对于黄龙病菌的研究还不能明确阐述其致病机理,在后续的研究中也要紧密围绕该方面进行。(5)绿色防控,施用有机肥和挖掘有益微生物。Zhang 等<sup>[57]</sup>在 3 年内对患黄龙病的柑橘树进行土壤改良剂与生防微生物联合灌根。结果发现,患病柑橘长出新根,叶片由黄转绿。3 年来,3 类患病柑橘品种阳性率分别从 90% 下降到 0%、87.5% 下降到 21.88%、81.25% 下降到 0%,证明土壤修复与有益微生物相结合可改善土壤质量,促进柑橘根系生长,从而有效防控黄龙病。有机肥生产和土壤有益微生物挖掘是实现农业固体废弃物资源高值利用、减少化肥农药投入、维持土壤健康和防控作物病害的重要途径。可见,在施用有机肥和挖掘有益微生物方面深入研究,对未来黄龙病的防治具有莫大的影响。

## 参考文献(References)

- [1] 张旭颖, 岑伊静. 亚洲柑橘木虱与柑橘黄龙病菌互作的研究进展[J]. 环境昆虫学报, 2020, 42(3): 630-637.
- [2] 唐利华, 郭堂勋, 李其利, 等. 柑橘黄龙病田间诊断与检测技术研究进展[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(8): 81-87.
- [3] 黄峰, 崔一平, 宋晓兵, 等. 黄龙病对柑橘叶际微生物组的影响[J]. 植物保护学报, 2023, 50(5): 1150-1160.
- [4] 黄家权, 李莉, 吴丰年, 等. 携带不同原噬菌体的黄龙病菌在柑橘木虱体内的增殖及致病力[J]. 中国农业科学, 2022, 55(4): 719-728.
- [5] 白华菊, 龙梦玲. 柑橘黄龙病研究进展[J]. 中国植保导刊, 2009, 29(3): 13-16.
- [6] 陈文利, 徐婉, 程保平, 等. 柑橘黄龙病检测及治疗方法的研究进展[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2017, 49(5): 9-15.

- [7] 秦紫芳, 石旺鹏. 木虱寄生蜂研发现状及趋势[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(5): 1082-1089.
- [8] 黎海霖, 郑霞林, 王小云, 等. 柑橘木虱成虫繁殖行为前期及活动规律研究[J]. 南方农业学报, 2019, 50(9): 2009-2014.
- [9] 程春振, 曾继吾, 钟云, 等. 柑橘黄龙病研究进展[J]. 园艺学报, 2013, 40(9): 1656-1668.
- [10] 乌天宇, 张旭颖, George A C B, 等. 亚洲柑橘木虱成虫和5龄若虫在感染黄龙病的柑橘上的取食行为及获菌效率比较[J]. 昆虫学报, 2020, 63(2): 166-173.
- [11] Fan J, Chen C, Brlansky R H, et al. Changes in carbohydrate metabolism in citrus sinensis infected with "*Candidatus Liberibacter asiaticus*"[J]. Plant Pathology, 2010 (59): 1037-1043.
- [12] Teixeira D C, Ayres J, Kitajima E W, et al. First report of a huanglongbing-like disease of *Citrus* in Sao Paulo state, Brazil and association of a new *Liberibacter* species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease[J]. Plant Disease, 2005, 89(1): 107.
- [13] 谢攀. 柑橘黄龙病病原菌共培养体系的构建[D]. 重庆: 重庆大学, 2015.
- [14] 樊晶. 柑橘宿主对黄龙病病原菌侵染的应答机制[D]. 重庆: 重庆大学, 2010.
- [15] 吴英林. 柑橘黄龙病疫情监测与防控措施[J]. 现代农业科技, 2022(4): 117-118, 125.
- [16] 文庆利, 谢竹, 吴柳, 等. 柑橘响应黄龙病侵染的韧皮部蛋白2基因CsPP2B15的克隆与表达分析[J]. 园艺学报, 2018, 45(12): 2347-2357.
- [17] Ma W X, Pang Z Q, Huang X E, et al. *Citrus* huanglongbing is a pathogen-triggered immune disease that can be mitigated with antioxidants and gibberellin[J]. Nature Communications, 2022, 13: 529.
- [18] 王许会, 郭洋洋, 全金成, 等. 柑橘黄龙病碘-淀粉法快速检测技术优化[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2017, 46(4): 392-396.
- [19] 晏建红, 关巍, 宾羽, 等. 柑橘黄龙病菌分泌蛋白05150的筛选、原核表达及抗血清制备[J]. 果树学报, 2020, 37(9): 1384-1393.
- [20] 黄伟锋, 洪添胜, 吴伟斌, 等. 柑橘黄龙病检测方法研究进展[J]. 广东农业科学, 2012, 39(16): 60-64, 239.
- [21] 李彬, 罗聪, 苏玲, 等. 柑橘黄龙病病原快速检测技术研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(2): 652-657.
- [22] Keremane M L, McCollum T G, Roose M L, et al. An improved reference gene for detection of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" associated with *Citrus* huanglongbing by qPCR and digital droplet PCR assays[J]. Plants, 2021, 10(10): 2111.
- [23] Hu T S, Chitnis N, Monos D, et al. Next-generation sequencing technologies: An overview[J]. Human Immunology, 2021, 82(11): 801-811.
- [24] 卢慧林, 陈大嵩, 陈逢浩, 等. 基于纳米孔测序技术的柑橘黄龙病检测方法建立[J]. 环境昆虫学报, 2021, 43(6): 1596-1600.
- [25] Wang Y H, Zhao Y, Bollas A, et al. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications[J]. Nature Biotechnology, 2021, 39(11): 1348-1365.
- [26] 路惠馨, 孙凯, 尹传林, 等. 纳米孔测序技术在植物病原检测中的应用与展望[J]. 农业生物技术学报, 2021, 29(9): 1817-1824.
- [27] 李中滋, 杜彩丽, 林彦锋, 等. 纳米孔测序技术在环境微生物研究中的应用[J]. 生物工程学报, 2022, 38(1): 5-13.
- [28] 范世达, 马伟荣, 姜文博, 等. 基于深度学习的柑橘黄龙病远程诊断技术初探[J]. 中国果树, 2022(4): 76-79.
- [29] 曾伟辉, 陈亚飞, 胡根生, 等. SMS和双向特征融合的自然背景柑橘黄龙病检测技术[J]. 农业机械学报, 2022, 53(11): 280-287.
- [30] He C C, Li X B, Liu Y S, et al. Combining multicolor fluorescence imaging with multispectral reflectance imaging for rapid *Citrus* huanglongbing detection based on lightweight convolutional neural network using a handheld device[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2022, 194: 106808.
- [31] 林少丹, 李效彬, 杨碧云, 等. 适用于小样本显微图像数据集的柑橘黄龙病快速诊断模型[J]. 农业工程学报, 2022, 38(12): 216-223.
- [32] Gómez-Flores W, Garza-Saldaña J J, Varela-Fuentes S E. Detection of huanglongbing disease based on intensity-invariant texture analysis of images in the visible spectrum[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2019, 162: 825-835.
- [33] Liu Y D, Xiao H C, Xu H, et al. Visual discrimination of citrus HLB based on image features[J]. Vibrational Spectroscopy, 2019, 102: 103-111.
- [34] Su C, Ding F, Wang W J, et al. Time-resolved fluorescent microsphere lateral flow biosensors for rapid detection of *Candidatus Liberibacter asiaticus*[J]. Plant Biotechnology Journal, 2022, 20(7): 1235-1237.
- [35] Puspitasari, Yunimar, Sastro Y. Utilization of rapid detection kit in measuring huanglongbing outbreak level: Case study in Koto Tinggi, West Sumatera, Indonesia[J].

- IOP Conference Series Earth and Environmental Science, 2020, 468(1): 012046.
- [36] Weng J F, Zhang J Z, Zhang C Y, et al. Effective detection of early *Citrus* huanglongbing by polyethyleneimine modified multi-walled carbon nanotubes gas sensor[J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2022, 371: 132508.
- [37] 周常勇. 对柑橘黄龙病防控对策的再思考[J]. 植物保护, 2018, 44(5): 30-33.
- [38] 胡雪芳, 田志清. 柑橘黄龙病防治技术研究进展[J]. 中国植保导刊, 2021, 41(7): 32-38, 20.
- [39] 王飞燕, 张瑞敏, 吴文, 等. 柑橘黄龙病对沙田柚树体特性和果实品质的影响[J]. 热带作物学报, 2020, 41(9): 1847-1855.
- [40] Zou X P, Jiang X Y, Xu L Z, et al. Transgenic *Citrus* expressing synthesized cecropin B genes in the phloem exhibits decreased susceptibility to huanglongbing[J]. Plant Molecular Biology, 2017, 93(4): 341-353.
- [41] Kosmiatin M, Martasari C, Yunimar, et al. *In vitro* selection to increase huanglongbing tolerance of *Citrus* derived from *in vitro* breeding[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020, 457(1): 012080.
- [42] Deng H, Achor D, Exteberria E, et al. Phloem regeneration is a mechanism for huanglongbing-tolerance of "Bearss" lemon and "LB8-9" Sugar Belle<sup>®</sup> mandarin[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 277.
- [43] Cheng C Z, Zhong Y, Wang B, et al. The upregulated expression of the *Citrus* *RIN4* gene in HLB diseased *Citrus* aids *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 6971.
- [44] 武晓晓, 姜兵海, 唐艳, 等. 耐(抗)柑橘黄龙病种质材料的评价研究[J]. 中国果树, 2021(11): 44-49.
- [45] 陈仕钦, 卢小林, 陈玉龙, 等. 柑橘黄龙病防控药剂筛选试验初报[J]. 植物保护, 2014, 40(2): 166-170.
- [46] Archer L, Qureshi J, Albrecht U. Efficacy of trunk injected imidacloprid and oxytetracycline in managing huanglongbing and Asian *Citrus* psyllid in infected sweet orange (*Citrus sinensis*) trees[J]. Agriculture, 2022, 12(10): 1592.
- [47] 韩鹤友, 程帅华, 宋智勇, 等. 柑橘黄龙病药物防治策略[J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(1): 49-57.
- [48] 黄洋, 关巍, 王铁霖, 等. 两类抗生素药剂对‘纽荷尔’脐橙黄龙病菌的抑制作用及根际细菌群落结构的影响[J]. 植物保护, 2021, 47(6): 83-92.
- [49] 孟华岳, 郑淑琼, 文英杰, 等. 滴灌施用噻虫胺防治柑橘木虱研究[J]. 华南农业大学学报, 2019, 40(2): 47-52.
- [50] Roldan E L, Stelinski L L, Pelz-Stelinski K S. Foliar antibiotic treatment reduces *Candidatus Liberibacter asiaticus* acquisition by the Asian *Citrus* psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), but does not reduce tree infection rate[J]. Journal of Economic Entomology, 2023, 116(1): 78-89.
- [51] Huang C Y, Araujo K, Sánchez J N, et al. A stable antimicrobial peptide with dual functions of treating and preventing *Citrus* huanglongbing[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2021, 118(6): e2019628118.
- [52] Widyaningsih S, Joko T, Utami S N H, et al. The effectiveness and bacterial communities of biofertilizer application for huanglongbing disease control in indonesia[C]// International Symposia on Horticulture. Bali, Indonesia: Filodiritto Editore, 2018: 80-88.
- [53] Munir S, Li Y M, He P B, et al. Defeating huanglongbing pathogen *Candidatus Liberibacter asiaticus* with indigenous *Citrus* endophyte *Bacillus subtilis* L1-21[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 12: 789065.
- [54] Maluta N, Castro T, Lopes J R S. Entomopathogenic fungus disrupts the phloem-probing behavior of *Diaphorina citri* and may be an important biological control tool in *Citrus*[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 7959.
- [55] 周雅婷. 柑橘木虱寄生天敌亮腹袖小蜂的生物学基础研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [56] Gabriel D, Gottwald T R, Lopes S A, et al. Bacterial pathogens of *Citrus*: *Citrus* canker, *Citrus* variegated chlorosis and huanglongbing[M]//The Genus *Citrus*. Amsterdam: Elsevier, 2020: 371-389.
- [57] Zhang Y, Chen Y, Ma J, et al. Controlling *Citrus* huanglongbing based on soil remediation and biocontrol[J]. European Journal of Plant Pathology, 2024, doi: 10.1007/s10658-024-02835-y.

## Research progress on detection and control method of citrus Huanglongbing

ZHANG Tianyu<sup>1,2,3</sup>, YANG Gairen<sup>1\*</sup>, HE Xunyang<sup>2,3\*</sup>, LIU Qiumei<sup>2,3</sup>, LI Dejun<sup>2,3</sup>

1. College of Forestry, Guangxi University, Nanning 530004, China
2. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China
3. Hechi Huanjiang Agriculture Ecosystem Field Scientific Observation and Research Station of Guangxi, Huangjiang 547100, China

**Abstract** Citrus Huanglongbing is the most destructive bacterial infectious disease in the citrus industry, posing a significant threat to the healthy and long-term development of the citrus industry. This article elaborates on the research progress of the pathogens and pathogenic mechanisms of citrus Huanglongbing, analyzes rapid detection methods of citrus Huanglongbing which are mainly based on nanopore sequencing and image datasets, and summarizes the current main methods for preventing and controlling citrus Huanglongbing, including traditional prevention and control methods, disease resistant breeding, drug formulation prevention and control, and biological prevention and control. Based on the current basic status of resistance, prevention, and detection technologies for citrus Huanglongbing, it is proposed to conduct in-depth research in establishment of in vitro cultivation technology for *Candidatus Liberibacter asiaticus*(CLas), development of rapid field detection technology, innovative technologies for large-scale production of new resistant (tolerant) varieties, pathogenic mechanisms of citrus Huanglongbing, and green prevention and control.

**Keywords** citrus Huanglongbing; *Candidatus Liberibacter* spp; pathogenic mechanism; detection method; control method ●



(责任编辑 徐丽娇)