

柑橘黄龙病的传播介体—柑橘木虱在广东果园的发生调查

程保平¹, 赵弘巍², 彭埃天^{1*}, 宋晓兵¹, 凌金锋¹, 陈霞¹

(1. 广东省农业科学院植物保护研究所, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640;

2. 南京农业大学植物保护学院, 南京 210095)

摘要 柑橘木虱是重要害虫也是柑橘黄龙病的传播介体,因此调查木虱发生动态及其携带黄龙病菌的情况对指导黄龙病的防控有重要意义。本研究调查了广东多个果园的黄龙病发病情况,观察了柑橘木虱的生物学特性,统计了柑橘木虱在不同月份的发生数量,检测了木虱携带黄龙病菌情况。结果发现:失管果园中,黄龙病发病严重且木虱数量大,已成为散播病害的重要源头,而与失管果园保持一定距离且加强木虱防控可减轻黄龙病危害;还发现:广东地区6月份柑橘木虱种群已有一定数量,7、8月,其种群数量再次攀升,到了9、10月份,种群数量保持在高位。11、12月间,种群数量快速下降。最后根据本研究的调查结果,提出了一些加强黄龙病防控的措施。

关键词 柑橘黄龙病; 柑橘木虱; 田间调查; 黄龙病防控

中图分类号: S 436.661 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2016.01.035

Occurrence of Huanglongbing disease and its vector-citrus psylla in citrus orchard of Guangdong Province

Cheng Baoping¹, Zhao Hongwei², Peng Aitian¹, Song Xiaobing¹, Ling Jinfeng¹, Chen Xia¹

(1. *Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640, China;*

2. *College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China*)

Abstract Citrus psylla is an important pest and a vector of Huanglongbing. The investigation on the occurrence of the pest will be helpful for the control of Huanglongbing. The results of investigations in the citrus orchards of Guangdong Province showed that the occurrence of Huanglongbing was very serious and citrus psylla was large in quantity in the orchards without control. Keeping a certain distance to the orchards without control and strengthening the management against citrus psylla could reduce the harm of Huanglongbing. The populations of psyllids reached a certain number in June, increased in July and August, continued to grow in September and October, and decreased rapidly in November and December. Five suggestions on the control of Huanglongbing were also put forward in this paper.

Key words Huanglongbing; citrus psylla; field investigation; control of Huanglongbing

柑橘是世界上最重要的商品水果之一,2007年其贸易额在各类水果中位居第一。我国是柑橘主产国,柑橘产业在我国农村社会和经济中具有重要的地位和作用。目前我国多数柑橘主产区都受到了柑橘黄龙病的严重威胁。其中广东省有24万hm²橘园,年产值约250亿,现约1/3橘园感染该病,年损失上百

亿。柑橘黄龙病传染蔓延极快,多个柑橘产区接连因黄龙病而受到重创,橘农称黄龙病为“柑橘之癌”,谈虎色变^[1-3]。该病目前尚无任何有效药剂和抗病品种。捕杀其昆虫传播介体柑橘木虱[*Diaphorina citri* (Kuwayama)]是目前主要的防控手段之一^[4]。

1965年,南非 McClean 博士首次证明了柑橘木

收稿日期: 2014-12-09 修订日期: 2015-03-25

基金项目: 广东省农业科技重大技术研究项目(201201127);广东省重大科技计划专项;广东省自然科学基金(2014A030310198);广东省现代农业产业技术体系建设专项(粤农[2009]380号);广东省植物保护新技术重点实验室开放基金(植重2014-02);广东省农业领域引导项目(2013B020309004)

* 通信作者 E-mail: pengait@163.com

虱非洲种是柑橘黄龙病的传播介体^[5],1967 印度 Capoor 等证明柑橘木虱亚洲种是柑橘黄龙病的昆虫传播媒介^[6]。1980 年,吴定尧报道我国柑橘木虱口密度与黄龙病发病多少呈正相关^[7]。另外,柑橘木虱本身又是柑橘上的重要害虫,取食柑橘嫩芽、幼叶等部位,造成柑橘叶片畸形、干枯脱落^[8]。因此了解柑橘木虱发生动态及其携带黄龙病菌的情况,对于指导柑橘黄龙病的防控具有重要意义。目前柑橘木虱的携菌情况,尤其在广东省的发生情况还甚少有人开展调研,因此笔者在广东省对多个有代表性的果园进行了调查,检测了黄龙病发病情况,观察了果园中柑橘木虱的生物学特性,统计了柑橘木虱在不同月份的发生数量,检测了木虱携带黄龙病菌情况,本研究可为广东省柑橘黄龙病的防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 柑橘黄龙病发生调查

在 2013 年 6—12 月对广东省广州、阳春的多个柑橘果园进行调查。每个地方选择 3 类不同的柑橘园:果园 1(常年处于失管条件下,既不防治传病媒介柑橘木虱,也不挖除病树);果园 2(在失管果园附近 100 m 内,正常管理的果园);果园 3(距离失管果园 2 000 m 以外,正常管理的果园);果园内的柑橘均为当地主栽的 5~10 年树龄的‘砂糖橘’品种。3 种果园随机各取 50 株树采集叶片用于检测黄龙病菌,叶片首先置于塑封袋,然后保存于冰盒。制样时清洗并晾干柑橘叶片,然后按爱思进公司试剂盒说明书提取样品的总基因组,以进行 PCR 检测。阴性对照样品为本研究室种植于防虫网内的健康柑橘叶片。

1.2 柑橘木虱调查

2013 年 6—12 月,在每种类型的果园随机选择 25 株柑橘树,每株悬挂一个粘虫黄板以调查柑橘木虱的数量。粘虫板悬挂于树冠之内的 2/3 高处,间隔 15 d 更换新的粘虫板,统计粘到的木虱总数量(在 15 d 内,当粘虫面积占粘虫板表面积的 60%以上时应更换

粘虫板)。每次检测木虱数量的同时,在黄板上随机取 8 头木虱(不足 8 头时,全取),直接保存在 70%乙醇内,随后提取基因组,检测是否携带黄龙病菌。

1.3 巢式 PCR 引物

巢式 PCR 引物对:外侧引物为 OI1/OI2c。OI1: 5'-GCGCGTATGCAATACGAGCGGCA-3', OI2c: 5'-GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT-3'^[9];内侧引物的上游引物 CGO3F: 5'-RGGGAAAGATTTTAT-TGGAG-3',下游引物 CGO5R: 5'-GAAAATAY-CATCTCTGATATCGT-3'^[10]。引物对均由广州英俊公司合成。PCR 缓冲液、Premix Taq 酶等购自大连宝生物公司。质粒 DNA 提取试剂盒和基因组 DNA 提取试剂盒等购自爱思进公司。使用 Molecular Imager Gel Doc XR+型凝胶成像系统拍摄电泳条带。

1.4 巢式 PCR 检测体系及扩增程序

参考文献[11],采用常规 PCR 中的 OI1/OI2c 为巢式 PCR 外侧引物进行第 1 轮 PCR 扩增,50 μL 反应体系,包括 Premix Taq 25 μL、10 μmol/L 的引物各 2 μL,DNA 模板 1 μL,补水至 50 μL。扩增反应程序:94℃预变性 3 min;94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 1 min,共 35 个循环;72℃延伸 10 min^[9]。取 1 μL 第 1 轮 PCR 反应产物为模板,以 CGO3F/CGO5R 为内侧引物进行第 2 轮 PCR 扩增,反应体系与常规 PCR 相同。反应程序:94℃ 预变性 3 min;94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 45 s,共 35 个循环;72℃延伸 10 min。扩增完成后将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳^[10]。

2 结果与分析

2.1 柑橘黄龙病发生调查

2013 年 6 月至 12 月,在阳春和广州的多个柑橘果园中进行调查,统计黄龙病的发生情况。结果表明:失管果园的黄龙病发病率为 80%以上;紧邻失管果园的正常管理果园的发病率为 30%~50%;距离失管果园 2 000m 以上的正常管理果园的发病率为 20%以下(表 1)。

表 1 三类果园的柑橘黄龙病发生情况调查

Table 1 Investigation of Huanglongbing in three types of orchards

调查地点 Regions	每个果园调查	果园 1	Orchard 1	果园 2	Orchard 2	果园 3	Orchard 3
	总数/株	发病数/株	发病率/%	发病数/株	发病率/%	发病数/株	发病率/%
	Total number of investigated trees	Diseased trees	Disease incidence	Diseased trees	Disease incidence	Diseased trees	Disease incidence
阳春 Yangchun	50	41	82	24	48	4	8
广州 Guangzhou	50	50	100	17	34	10	20

2.2 柑橘木虱发生动态调查

根据田间观察,3 月份越冬的柑橘木虱开始产卵,4 月卵开始孵化,5 月开始出现成虫,6 月成虫形成一定的数量,较为容易观测。为进一步调查广东田间柑橘木虱发生动态,于 2013 年 6 月至 12 月,在上述调查过的 3 个类型果园(果园 1、果园 2、果园 3)各随机选择 25 株柑橘树并悬挂粘虫黄板,每隔 15 d 统计粘虫板上的木虱数量,并检测粘虫黄板上的木虱是否携带黄龙病。结果发现:广东阳春和广州柑橘园中均可观测到木虱,失管橘园(果园 1)中柑橘木虱发生量较大,平均每次可捕获 22 头,最高每次可捕获 63 头。管理较好的果园 3 中(距离失管果园 2 000 m 以上)木虱数量较小,平均每次可捕获 3 头,最高每次可捕获 12 头。管理较好的果园 2 位置靠近荒芜橘园,则木虱数量有所上升,平均每次可捕获 10 头,最高每次可捕获 23 头。

对广东阳春和广州不同柑橘园中采集的木虱进行黄龙病菌检测后发现:荒芜橘园 1 中柑橘木虱的带菌率最高,在 28 次检测中均可检出阳性结果;靠

近荒芜橘园的果园 2 中,柑橘木虱的带菌率次之,在 28 次检测中,有 21 次检测中检出了阳性结果;距荒芜橘园较远,且管理较好的果园 3 中,柑橘木虱的带菌率相对较低,在 28 次检测中,只有 9 次检出了阳性结果(图 1)。从时间上看,6 月份木虱种群已有一定数量,7、8 月其种群数量再次攀升,到了 9、10 月份,种群数量保持在高位。11、12 月间,种群数量快速下降(表 2,表 3)。

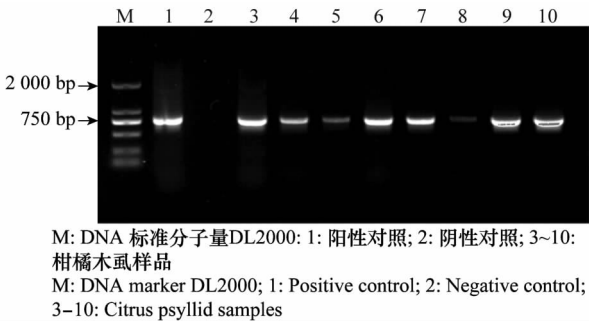


图 1 使用巢式 PCR 对部分柑橘木虱中的
柑橘黄龙病菌进行检测
Fig.1 Detection of Huanglongbing pathogen in some
citrus psyllids with nested PCR

表 2 广东阳春 3 类果园的柑橘木虱数量及携菌情况¹⁾

Table 2 Number of citrus psyllids and pathogen carrying in three types of orchards in Yangchun

调查日期/ 月-日 Date	果园 1 Orchard 1		果园 2 Orchard 2		果园 3 Orchard 3	
	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen
06-15	21	+	5	—	2	—
06-30	12	+	4	—	1	—
07-15	4	+	2	—	0	*
07-30	22	+	9	+	3	+
08-15	32	+	18	+	4	—
08-30	15	+	11	+	5	—
09-15	31	+	9	+	2	+
09-30	20	+	4	+	0	*
10-15	14	+	16	+	3	—
10-30	35	+	7	+	3	+
11-15	17	+	15	+	1	—
11-30	8	+	7	+	2	—
12-15	11	+	5	+	4	—
12-30	7	+	3	—	1	—

1) +:经检测柑橘木虱携带有黄龙病菌;—:经检测柑橘木虱没有携带黄龙病菌;* 未检测。下表同。
+: Huanglongbing pathogen positive; —:Huanglongbing pathogen negative; * Not detected. The same below.

表 3 广州 3 类果园的柑橘木虱数量及携菌情况

Table 3 Number of citrus psyllids and pathogen carrying in three types of orchards in Guangzhou

调查日期/ 月-日 Date	果园 1 Orchard 1		果园 2 Orchard 2		果园 3 Orchard 3	
	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen
06-15	18	+	7	+	2	—
06-30	13	+	6	—	0	*
07-15	22	+	14	+	6	—
07-30	44	+	9	—	1	—

续表 3 Table 3(Continued)

调查日期/ 月-日 Date	果园 1 Orchard 1		果园 2 Orchard 2		果园 3 Orchard 3	
	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen	木虱数量/头 Psyllids number	是否携菌 Carrying the pathogen
08-15	53	+	7	+	4	—
08-30	16	+	21	+	3	—
09-15	32	+	13	+	5	+
09-30	63	+	7	+	12	+
10-01	30	+	15	+	7	+
10-30	41	+	23	+	12	+
11-15	12	+	3	+	2	+
11-30	7	+	17	+	5	+
12-15	13	+	9	+	1	—
12-30	9	+	4	—	0	*

3 结论与讨论

柑橘黄龙病是柑橘上最为严重的病害,在我国及东南亚、非洲、阿拉伯半岛、印度、巴西和美国佛罗里达和加利福尼亚等 40 多个国家和地区均有发生,造成了巨大的经济损失,且无根治措施,严重制约着世界柑橘产业的发展^[12]。该病的传播介体是柑橘木虱,此昆虫取食黄龙病病株后可终生带毒,且传毒率高^[13]。本文在阳春和广州的调查结果表明:失管果园柑橘黄龙病感染率在 80%以上,紧邻失管果园的正常照管果园感染率在 30%~50%,而距失管果园较远的正常管理果园的感染率较低,为 20%以下。这说明失管果园黄龙病发病非常严重,可以成为散播病害的重要源头。而在果园选址上选择与失管果园保持一定距离且加强管理防控可以有效降低黄龙病危害。反之距离失管果园较近,则为病害防控带来很多困难。

本研究还调查了木虱在不同月份的田间虫口数量,发现两个地区的不同果园中均可发现柑橘木虱的活动。说明该昆虫在果园内广泛存在,与前人描述一致^[14-15]。本研究还发现:柑橘木虱种群数量季节性消长规律明显,6 月木虱种群已有一定数量,7、8 月其种群数量有所上升,到了 9、10 月,种群数量保持在较高的水平。6—10 月天气适宜木虱生长,且此段时间也是柑橘夏梢、秋梢萌发期,而柑橘木虱具有明显的趋嫩性,嫩梢有利于木虱吸食与繁殖。因此这段时间也正是柑橘木虱对柑橘造成最大损伤的时期。针对柑橘木虱发生的特点,可以通过加强栽培管理,科学合理施加叶面肥,促使嫩梢快速增厚老熟,缩短易受木虱侵害的嫩梢期;还要抹芽放梢,去零留整,促进柑橘整齐放梢,使其抽梢次数少且抽梢较整齐一致,并集中在发梢期加强药剂防治,对木

虱会有良好控制效果。值得注意的是:柑橘木虱在不同龄期感染黄龙病的几率存在一定差异,相关研究国外已有一些报道,但国内还需要进一步证明。

本调查还发现:在失管果园内,柑橘树势弱,抽梢次数参差不齐,抽梢时间长,且存在大量携带黄龙病菌的柑橘木虱,紧邻失管果园的正常照管果园的木虱数量比距离失管果园较远果园的木虱数量明显增多,且其中携菌木虱的数量更多。说明距离失管果园较近的果园,虽然有较好的管理,但由于距离失管果园过近,大量携菌木虱极易迁飞过来,造成较大损失。而距离失管果园较远且管理较好的果园中,木虱携菌率较低,说明与失管果园保持距离并加强木虱防控管理,可有效延缓黄龙病发生。但如今农资价格高使普通农户不愿去防治一个失管果园。近期人们正在试验一些可捕食和寄生木虱的天敌,如瓢虫、草蛉、食蚜蝇、跳小蜂、螳螂等,还有人在筛选一些可以侵染柑橘木虱的虫生真菌^[16],这些生防措施成本低,对环境友好,将来有望在荒废果园的木虱防控方面起到一定作用。

11 月以后,柑橘木虱的种群数量快速下降,可能与天气转冷和柑橘很少再生发新梢有关。这一时期往往已经过了柑橘收获期,很多农户明显放松了管理,但本研究发现:这一时期田间仍有一定数量的木虱虫口,且有一定比例携带黄龙病菌,因此此段时期仍然不可松懈,要做好冬季清园,结合其他病虫害防治,全面喷布农药,消灭越冬木虱,以减少来年木虱的虫口基数。

参考文献

[1] Gottwald T R. Current epidemiological understanding of citrus [J]. Annual Review of Phytopathology, 2010, 48: 119-139.

防治积极性越来越高有关。

栗等鳃金龟在广西蔗区的发生区域有逐步蔓延扩散的趋势。根据 1991—1994 年广西病虫草鼠害普查结果显示,当时主要分布在百色、大新、龙州和桂平等地。然而时隔 20 年之后,目前在来宾、鹿寨和宜州蔗区都有发生。关于其在广西的发生分布情况还需进一步调查。此外,关于栗等鳃金龟的生物学和生态学习性尚无系统报道,还有待进一步研究。

金龟子是甘蔗地下害虫中种类最多、为害最重的类群,由于其为害比较隐蔽,一旦暴发,为害程度比较严重,甚至造成毁灭性危害。在防治方面,目前主要以化学农药为主,防治时机不准确和化学农药长期使用也是造成金龟子猖獗为害的主要因素之一^[13-15]。因此,对金龟子发生严重的蔗地,建议采用综合防治方法进行防控。

参考文献

- [1] 周至宏,王助引,陈可才.甘蔗病虫草防治彩色图志[M].南宁:广西科学技术出版社,1999:172-173.
- [2] 雷仲仁,郭予元,李世访.中国主要农作物有害生物名录[M].北京:中国农业科学技术出版社,2014:186.
- [3] 王助引,周至宏,陈可才,等.广西蔗龟已知种及其分布[J].广

西农业科学,1994(1):31-36.

- [4] 王助引,周至宏,贤小勇,等.广西甘蔗害虫新记录种及其发生[J].广西农业科学,1995(6):276-277.
- [5] 黄大明,蒋相国,李红梅,等.30%辛硫磷微囊悬浮剂防治花生地蛴螬的效果[J].湖北农业科学,2010,49(7):1624-1626.
- [6] 孙培章.30%辛硫磷微囊悬浮剂防治花生蛴螬田间药效试验[J].安徽农业科学,2008,36(26):11434.
- [7] 孙培章.30%毒死蜱微囊悬浮剂防治花生蛴螬田间药效试验[J].安徽农业科学,2008,36(27):11839.
- [8] 李晓,鞠倩,赵志强,等.8种杀虫剂对花生蛴螬的田间防效及安全性评价[J].植物保护,2013,39(4):159-163.
- [9] 龚恒亮,管楚雄,安玉兴,等.甘蔗地下害虫生物防治技术(上)[J].甘蔗糖业,2009(5):13-20.
- [10] 龚恒亮,管楚雄,安玉兴,等.甘蔗地下害虫生物防治技术(下)[J].甘蔗糖业,2009(6):11-18.
- [11] 薛晶,张会华,杨晓丽,等.白僵菌防治甘蔗金龟子试验[J].热带农业科技,2012,35(3):22-23.
- [12] 于永浩,龙秀珍,曾宪儒,等.绿僵菌防治蛴螬的应用研究进展[J].南方农业学报,2013,44(1):71-76.
- [13] 商显坤,黄诚华,潘雪红,等.广西蔗区突背蔗犀金龟分布及为害情况调查初报[J].植物保护,2014,40(4):130-134.
- [14] 龚恒亮,安玉兴.中国糖料作物地下害虫[M].广州:暨南大学出版社,2010:71-74.
- [15] 商显坤,黄诚华,王伯辉.我国化学防治甘蔗金龟子研究进展[J].南方农业学报,2011,42(10):1229-1232.

(责任编辑:王 音)

(上接 192 页)

- [2] Bove J M,付惠敏,程传武,等.有百年历史的日益严重的毁灭性柑桔病害-黄龙病[J].广西农学报,2011,26(4):70-76.
- [3] 林雄杰,范国成,胡茵青,等.福建温州蜜柑表现典型“红鼻果”症状[J].福建果树,2012(4):26-27.
- [4] 赵学源.重温广东杨村华侨柑桔场遏制黄龙病大发生经验的现实意义[J].中国南方果树,2008(1):25-28.
- [5] McClean A P D, Oberholzer P C J. Citrus psylla, a vector of the greening disease of sweet orange [J]. South African Journal of Agricultural Science, 1965, 8(1):297-298.
- [6] Capoor S P, Rao D G, Viswanath S M. *Diaphorina citri* Kuway., a vector of the greening disease of citrus in India [J]. Indian Journal of Agricultural Sciences, 1967, 37(6): 572-576.
- [7] 吴定尧.柑桔木虱的习性与黄龙病发生的关系[J].中国柑桔,1980(2):33-34.
- [8] 鹿连明,杜丹超,张利平,等.黄岩橘区柑橘木虱发生情况及其带菌率[J].浙江柑橘,2013(1):29-32.
- [9] Jagoueix S, Bové J M, Garnier M. PCR detection of the two ‘Candidatus Liberobacter’ species associated with greening disease of citrus [J]. Molecular and Cellular Probes, 1996, 10(1): 43-50.

- [10] Zhou L J, Gabriel D W, Duan, Y P, et al. First report of dodder transmission of Huanglongbing from naturally infected *Murraya paniculata* to citrus [J]. Plant Disease, 2007, 91(2):227.
- [11] 李菁,冯旭祥,徐建华,等.快速检测单头柑橘木虱体内黄龙病病原[J].植物检疫,2008,22(1):12-15.
- [12] Halbert S E, Manjunath K L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida [J]. Florida Entomologist, 2004, 87(3): 330-353.
- [13] Pelz-Stelinski K S, Brlansky R H, Ebert T A, et al. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2010, 103(5): 1531-1541.
- [14] 陈建利,阮传清,刘波,等.柑橘木虱对柑橘不同品种的趋性[J].福建农业学报,2011,26(2):280-283.
- [15] 邓明学,陈贵峰,唐明丽,等.黄色粘胶板诱杀柑桔木虱成虫田间试验初报[J].中国农学通报,2010,26(12):247-251.
- [16] 杜丹超,鹿连明,张利平,等.柑橘木虱的防治技术研究进展[J].中国农学通报,2011,27(25):178-181.

(责任编辑:王 音)