

槟榔黄化病病原研究及防控中存在的问题及展望

唐庆华, 宋薇薇, 于少帅, 牛晓庆, 覃伟权*

(中国热带农业科学院椰子研究所, 海南省院士团队创新中心, 海南省槟榔产业工程研究中心, 文昌 571339)

摘要 槟榔黄化病是一种由植原体引起的毁灭性病害, 现已成为严重制约中国海南槟榔产业健康发展的瓶颈。本文详细介绍了黄化病病原研究方面的进展并分析了存在的问题和争议, 归纳了防控中存在的问题; 预测了中国槟榔产业发展前景及槟榔黄化病发展趋势, 进而对政府、科研院所、高等院校、企业和农户 5 方提出了建议。最后, 对槟榔黄化病治理作了展望。

关键词 槟榔; 黄化病; 植原体; 综合治理

中图分类号: S 432.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2020202

Questions and prospects in the research on the causal agent of arecanut yellow leaf disease and its management

TANG Qinghua, SONG Weiwei, YU Shaoshuai, NIU Xiaoqing, QIN Weiquan*

(Hainan Innovation Center of Academician Team, Hainan Engineering Research Center of Arecanut Industry, Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wenchang 571339, China)

Abstract Yellow leaf disease (YLD) of arecanut is a lethal disease caused by phytoplasma, which has become a serious bottleneck restricting the healthy development of the industry in Hainan province, China. In this review, the progress in the causal agent of YLD was summarized in detail; the questions and debates in the control of YLD were analyzed, and the difficulties were summed up. The prospects for the development of arecanut industry and the development trend of YLD were predicted, and suggestions were provided to the governments, betel nut-related scientific research institutions, colleges and universities, industries and farmers. At the end, integrated management of YLD was discussed.

Key words arecanut; yellow leaf disease; phytoplasma; integrated management

槟榔 *Areca catechu* L. 是一种典型的热带作物, 在中国^[1]和印度^[2-3]等主要种植国的经济地位是“小槟榔, 大产业”。2015 年, 印度槟榔种植业产值达到 300 亿印度卢比(约合人民币 28.8 亿元, 笔者注), 成为边远地区 3 000 万农民的主要经济来源^[4]。在中国, 海南省槟榔种植面积和总产量均占全国的 95% 以上。2015 年底槟榔产值已超越天然橡胶, 跃居为海南第一大支柱产业。截至 2018 年, 全省种植面积超过 11 万 hm^2 , 产值达 287.3 亿元, 成为海南省中东部地区 230 多万农民(约占海南省常住总人口的 1/4)的主要收入来源之一, 在海南“精准扶贫”战略实施中起着重要作用。

槟榔黄化病(yellow leaf disease of arecanut, YLD)是一种由植原体引起的毁灭性病害^[3,5]。印度和中国分别于 1914 年^[3]和 1981 年^[6]首次发现 YLD, 其发生和流行已给两国槟榔产业造成了严重威胁。此外, 该病在斯里兰卡也有少量发生^[7]。在中国, 有部分学者对该病病原尚存在争议或质疑。与此同时, 近年来椰心叶甲 *Brontispa longissima*^[8-9]等重要病虫害频繁发生, 加上除草剂的不当施用^[10]和气候等因素的影响, 给病害田间诊断和防控带来一系列问题。槟榔黄化病现已成为严重威胁中国槟榔产业可持续发展的瓶颈, 引起了海南省政府以及社会各界的普遍关注。为此, 有必要对上述问题做出回应、分

收稿日期: 2020-04-16 修订日期: 2020-07-01

基金项目: 海南省槟榔病虫害重大科技计划(zdkj201817); 槟榔产业技术创新团队项目(1630152017015)

致谢: 海南大学文衍堂教授和郑服丛教授、西北农林科技大学吴云锋教授、中国农业科学院植物保护研究所李世访研究员给本文提出了宝贵修改意见和建议, 在此一并表示衷心感谢。

* 通信作者 E-mail: QWQ268@163.com

析和总结,以便更好地解决槟榔黄化病带来的问题。本文旨在进一步系统梳理病原及防控中存在的误区和问题,理清主次并提出新形势下的槟榔黄化病综合防控建议。

1 槟榔黄化病研究现状

1.1 槟榔黄化病的发生

最早的槟榔黄化病记录可追溯到 20 世纪初期。1914 年,印度 Kerala(喀拉拉邦)部分地区首次发现 YLD。1949 年 Kerala 中部几个地区种植的槟榔开始发病,至 60 年代,YLD 已在该邦普遍发生。1987 年,YLD 在 Karnataka(卡纳塔卡邦)的 Dakshina Kannada 以及 Sullia 地区危害,3 年后该病引起的产量损失达 50%^[11]。目前,YLD 已给印度槟榔产业造成了严重损失^[3,12]。

在中国,YLD 自 1981 年在海南屯昌县乌坡镇(原海南药材场)首次出现以来,该病现已扩散至三亚、陵水、琼海等 12 个市县(本课题组未发表数据)。2008 年,全省槟榔染病面积达 0.2 万 hm^2 ^[13],至 2017 年超过 1.33 万 hm^2 (本课题组未发表数据)。目前,万宁、屯昌等重病区发病率高达 90%,造成减产 70%~80%,严重者绝产。据不完全统计,该病给海南省造成的经济损失超过 20 亿元/年。

1.2 槟榔黄化病病原研究

印度学者对 YLD 病原或病因的深入研究始于 20 世纪中期,经过 20 多年的艰苦探索,至 1971 年才发现植原体与黄化病相关。印度学者的探索可分为两个阶段。第一阶段为探索期(1914 年—1970 年),从非生物因素角度分别排除了营养、水分、pH 等与黄化病的直接相关性;也从生物角度排除了螨虫、真菌、根部细菌以及线虫与黄化病的相关性^[3,14]。期间,尽管发现接种病毒可以引起槟榔以及指示植株豇豆、洋刀豆等发病并进行了组织病理学方面的研究^[3],但并未发现病毒与黄化病相关的证据。第二阶段为进展期(1971 年—迄今),Nayar 通过组织培养从感病槟榔叶片中获得一种微生物^[15],电镜观察后发现是一种类菌原体(mycoplasma like organism,即植原体)^[16],此为首次发现植原体与黄化病相关。该发现开启了槟榔黄化病病原研究的大门。目前,印度学者已通过各种试验证据确认该国的 YLD 病原为植原体。其常规证据包括电镜观察^[16-17]、迪纳氏染色^[3]、血清学^[17]、媒介昆虫甘蔗斑袖蜡蝉 *Proutista*

moesta 接种^[18]及菟丝子传病^[19];分子检测证据包括巢式 PCR^[2,20-21]、real-time PCR^[22]、环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)^[23]。目前,已发现印度槟榔黄化植原体存在 3 个组或亚组,分别为 16Sr XI-B 亚组^[2,22]、16Sr I-B 组^[24]和 16Sr XI V 组^[20]。由此可见,印度槟榔黄化植原体具有多样性。Ponnamma 证实槟榔黄化病可通过甘蔗斑袖蜡蝉传播^[18]。由于媒介昆虫与植原体存在高度专化性^[25],3 个组或亚组的植原体是否均可通过甘蔗斑袖蜡蝉传播尚待进一步研究。

对于槟榔黄化病,我国科研人员同样也经历了较长时间的探索过程。1981 年屯昌县槟榔出现该病后,俞浩等认为是一种生理性病害,系由于土壤缺钾引起^[26]。吴影梅提出寄生性线虫可能是槟榔黄化病直接病原或间接起到加速病害发生的作用,并对广东、海南 2 省槟榔园中的线虫种类进行了调查^[27],最近,依然有学者或公司认为线虫与槟榔黄化病的发生相关,但迄今为止国内尚未见二者具有相关性的报道。1995 年,金开璇等^[28]采用电镜技术,在黄化病病株中发现了类菌原体和类细菌,最早提出中国槟榔黄化病为类细菌(束顶型)和类菌原体(黄化型)复合侵染所致。然而,罗大全等^[29]在随后进行的电镜试验中并未观察到类细菌,仅观察到植原体,且发现注射 2 种四环素族药物后病株病情发展被不同程度抑制,由此提出“植原体是黄化型黄化病的病原之一”。随后罗大全等通过病原 PCR 检测,发现黄化型病样可扩增到植原体特异条带,而对照无扩增条带^[30],这与电镜观察、四环素注射和大田流行规律研究结果一致。2010 年,车海彦^[31]、周亚奎等^[32]对槟榔黄化植原体进行了巢式 PCR 扩增、测序及系统发育分析,根据 16S rRNA 序列分别将其划分为 16Sr I-G 亚组和 16Sr I-B 亚组。

1.3 槟榔黄化病病原研究存在的问题及争议

关于槟榔黄化病病原,目前依然存在一些需要解答或解决的问题。首先,束顶型黄化病病原尚未明确。金开璇等将中国槟榔黄化病划分为黄化型和束顶型 2 种症状,并提出束顶型症状是类细菌引起^[28],但罗大全等^[29]通过电镜未观察到类细菌。因此,束顶型症状是否由植原体引起尚待进一步研究。其次,印度槟榔黄化植原体分属于 3 个组(16Sr I、16Sr XI 和 16Sr XI V),中国仅报道了 1 个组(16Sr I),中国黄化植原体在 16Sr 组水平上是否也存在多样性尚有

待进一步研究。最后,国内槟榔黄化病的传播途径尚无试验证据。尽管我们在海南也发现了甘蔗斑袖蜡蝉,然而在染病槟榔园很难发现该虫,这给该虫的植原体检测、验证工作带来了困难。此外,我们还发现了另外一种刺吸式口器昆虫,植原体检测呈阳性(本实验室未发表资料),该虫是否为 YLD 的媒介昆虫尚需研究。槟榔黄化病能否通过槟榔种子、带菌种苗等调运远距离传播也尚不明确。

目前,国内部分学者对槟榔黄化病病原尚存在质疑。首先,此前国内仅有 2 个课题组成功检测到槟榔黄化植原体,部分课题组因未能检测到植原体,从而质疑甚至彻底否定“植原体是槟榔黄化病的病原”这一试验结论,并认为该病是病毒病或根部病害所致。实际上,植原体检测对试验技术要求比较高,采样或试验技术等问题均可能导致槟榔黄化植原体检测失败。本课题组在引进一名有植原体检测技术背景的专业人员后,于 2018 年—2019 年用了近一年的时间通过采样部位选择、基因组 DNA 提取等优化才实现槟榔黄化植原体的稳定检测。其次,尽管印度学者已通过菟丝子、甘蔗斑袖蜡蝉接种试验证实槟榔黄化病病原为植原体,但依然有部分学者提出必须用植原体接种、验证其致病性。此前,学界一直认为植原体无法在人工培养基上培养^[33]。尽管 2012 年意大利学者 Contaldo 等^[34]获得突破,成功获得植原体菌落,其结果未被其他实验室重复出来^[35]。因此,用经典的柯赫氏法则验证槟榔黄化植原体致病性可能会面临植原体培养、接种等技术难题。此外,染病槟榔通常多从树冠倒数第 2~3 片叶表现黄化症状,而此部位的巢氏 PCR 检出率为 30.6%(49 个黄化样品中仅有 15 个检测到植原体^[10])、实时荧光 PCR 检出率仅为 26.7%~46.7%(车海彦博士论文,未公开发表)。有学者认为“槟榔园黄化植株检出率需达到 90% 以上才能确认植原体与黄化病具有相关性”。我们认为该观点显然是错误的。因为检测是病害诊断技术,检出率是衡量植株群体带菌率高低的依据(文衍堂,个人联系),不是衡量两个事物相关性的依据。同时,试验结果证实采用现有技术(real-time PCR 和巢式 PCR)很难达到 90% 检出率的目标,这首先受 real-time PCR 和巢式 PCR 检测灵敏度的制约。其次,研究发现植原体在棕榈科寄主植物槟榔(车海彦博士论文,未公开发表)和椰子^[36]体内分布不均,这可能是造成检出率较低的原

因。总之,在槟榔黄化病研究中需要摒弃上述片面甚至错误认识的干扰。

2 槟榔黄化病防控中存在的问题

2.1 槟榔黄化病田间诊断存在干扰

迄今,科研人员在槟榔黄化病病原研究上取得了丰硕成果,然而该病的防控依然极具挑战性。调查发现除黄化病外,炭疽病、细菌性条斑病^[37]、叶斑病^[1]、褐根病和红根病^[38]、病毒病^[39-40]及椰心叶甲等病虫害^[8]、生理性缺素、干旱、肥害^[41]、除草剂^[42]等均可引起槟榔叶片变黄。在黄化病区,通常是 1 种或多种病虫害与黄化病同时发生;加上营养和气候等因素干扰,“真假”黄化病并存情况较多,易造成混淆,给黄化病识别带来了许多困扰,大大增加了槟榔黄化病防控的难度。因此,中国槟榔黄化病问题更具复杂性。上述因素中椰心叶甲和除草剂问题最为突出。我们调查发现在陵水、万宁等重病区,已有大面积槟榔园遭受黄化病以及椰心叶甲共同受害^[9],导致树势迅速下降,树冠缩小、枯黄甚至植株死亡,产量损失严重,重病园几近绝产,造成疫区许多农户“谈黄色变、谈黄恐慌”,由此丧失种植信心,致使黄化槟榔园失管情况非常突出。椰心叶甲已成为黄化病综合防控中需要优先考虑和解决的问题。吴童童等^[42]调查发现生产上除草剂的使用非常普遍,且除草剂使用历史越长、频率越高时,园中槟榔长势越差。其他因素与槟榔黄化病症状或危害上有一定程度的相似性,但较易区分。如炭疽病、细菌性条斑病、叶斑病、病毒病等为典型叶斑类病害,褐根病和红根病等根部病害从最外层叶片开始出现黄化症状、折断垂挂至植株死亡。芽腐病也多见于琼中县。营养元素缺乏或过量以及肥害、除草剂以及干旱、台风等引起的黄化同样与槟榔黄化病症状有明显区别,前者采取施肥、灌水、科学施用除草剂、养殖(牛、羊、鸡)、间种其他作物等措施后通常几个月至一两个生长季即可得到明显改观甚至恢复正常生长状态,而后者无论采取何种防控措施均无法恢复到健康状态。总之,槟榔黄化病田间诊断时需要认真分析,综合考虑,逐项排除,方能做出准确判断并采取相应的防控措施。需要指出的是田间诊断仅是根据病株的表观症状做出判断,不能排除其他因素引起的黄化植株是否感染植原体,因为处于潜育期的植株并不表现症状,对于这些病株只能通过检测手段确诊。

2.2 槟榔黄化病防控难度大

目前,海南省槟榔黄化病防控难度极大,主要有以下原因。首先,近几年陵水县、万宁市、琼海市等重病区输出种苗较多,给黄化病随种苗传播提供了方便。第二,槟榔植株高大,人工喷药费工费时,且成本较高。因此,生产上急需研发精准施药、智能机械化施药设备及配套技术。第三,健康种苗保障体系建设不足,这包括健康种苗培养基地建设和槟榔黄化植原体快速、高效检测技术研发和单位资质授权。第四,科研单位研发的高效栽培、防控技术及配套产品储备尚显不足,已开发的技术、产品在生产上应用度亟待提高;科研单位与企业合作也明显不足,未充分发挥后者的强大推广能力。第五,集成防控技术和措施时需要计算投入产出比。只有防控后挽回的损失明显高于防控投入,防控措施才能获得推广。否则仅靠省、市(县)或厅、局财政经费支持、补贴,各级政府会面临非常大的经费压力。最后也是最重要的问题就是,广大农户一直以来都是把槟榔作为“懒人植物”,管理(肥、水、草)粗放、病虫害防控意识淡薄,广种薄收情况很普遍;砍除病株是一项防止植原体及其类似病害进一步扩散的有效措施,在柑橘黄龙病防控上已被广泛接受,然而在槟榔黄化病防控上尚未得到广泛认同;相反,可治、治愈的观念却很普遍,这明显地阻碍了砍病树等清除毒源措施的贯彻。

3 槟榔种植业前景、黄化病发展趋势分析及黄化病防控建议

3.1 槟榔种植业前景及黄化病发展趋势分析

根据近 5~6 年的槟榔种植发展动态、消费市场以及宏观政策,我们预计槟榔种植面积会继续增加。2014 年—2018 年槟榔价格一直处于较高水平,农户种植积极性高涨,在海南省,除中东部地区外,西部地区也在快速发展槟榔产业。目前,全国槟榔消费群体不断扩大,现已发展至北方多个省份。与此同时,海南省省政府正在加快推进“大力提升热带高效现代农业”的战略性产业规划,积极扶植槟榔产业。因此,未来槟榔种植范围、面积会持续增大。迄今,对于植原体病害尚无有效治疗药剂。在中国,槟榔黄化病抗性种质材料研究、媒介昆虫鉴定、生物学特性和传毒机理的研究尚处于初期阶段。在此背景条件下,我们预期未来 5~10 年内槟榔黄化病会随着种植面积的扩大继续扩散、加重。

3.2 槟榔黄化病防控建议

槟榔黄化病的有效治理事关海南省“精准扶贫”“乡村振兴”战略的实施,需要从多个层面采取综合防控措施。我们建议强化政府职能作用,推动“政府-科研院所-高等院校-企业-农户”联动,多层次多角度联合攻关。首先,建议政府充分发挥导向和宣传作用,加强新型农民职业培训,提高其种植管理水平和防控意识,夯实防控基础。政府部门的作用还体现在检疫工作的强力执行和砍除病株措施的落实和补偿。其次,建议科研院所和高等院校组织精干队伍对全省各市县黄化病进行普查,摸清其分布、发病面积及病情轻重等基本信息;研发早期快速诊断及高效监测技术;以黄化病为攻关核心,探明传播途径、发生规律,深入开展致害机理研究。防控关键技术方面,研发传播途径阻截、生物防治、化学防治等关键技术;研发生物防治与化学防治的田间协调病虫兼控技术;研发适合产地生态环境和栽培模式的农药替代产品、新剂型、化学防治替代技术,集成农药减施增效技术模式。栽培技术方面,研发高标准、高质量、集约化的种植管理技术,积极开展抗性种质资源收集、筛选及鉴定,研发健康种苗标准化繁育及种苗检测技术,保障种苗市场;研发专用肥、增效助剂和保水剂,建立合理的水肥综合管理技术体系;开展水肥需求规律、林下种养模式研究,集成槟榔园不同生态栽培模式及配套技术。再次,对于相关企业,充分发挥其信息收集、示范与推广方面的作用,熟化科研院所和高等院校研发的各项技术,集成农民易接收、可复制、可推广的黄化灾害防控及高效栽培关键技术。最后,建议广大农户加强田间管理,修建水肥一体化设施,主动砍除病株,采取林下种养、多种经营等措施,减少因槟榔黄化病造成的经济损失、扩展收入来源。

总之,除非采取切断传播途径等综合措施,否则黄化病必然会随着槟榔种植业持续扩展继续向非病区及新种植区蔓延,造成的经济损失也将持续增大。因此,只有通过上述 5 方紧密协作,才能达到减轻或杜绝病害蔓延、危害,保障产业健康发展。

4 展望

目前,第三代检测技术—微滴式数字 PCR (droplet digital PCR)已成功应用于植原体检测^[43],结果显示该技术比 real-time PCR 和巢式 PCR 检测灵敏度高 2~3 个数量级。采用微滴式数字 PCR 技术有望提高槟榔黄化植原体检出率,也有望实现健

康种苗的保障和病害早期诊断,从而达到病害“早发现、早诊断、早防控”的目的。在槟榔黄化病田间防控上,由于植原体病害为典型的虫传病害^[25],媒介昆虫在植原体病害传播中具有“双寄主”角色^[44],应对其生物生态学、传毒特性进行深入研究。尽管迄今尚无有效治疗药剂,但枣疯病^[45]和椰子致死性黄化病(墨西哥尤卡坦科学研究中心 Daniel Zizumbo-Villarreal 博士,个人联系)的抗性品种选育、小麦蓝矮病的媒介昆虫控制(西北农林科技大学吴云锋教授,私人联系)、柑橘黄龙病“三板斧”措施(控制柑橘木虱、挖除感病植株和培育无病毒苗木,华南农业大学邓晓玲教授,私人联系)防效已被证实,槟榔黄化病防控可大胆借鉴上述植原体或类似病害的相关措施。迄今,我们在槟榔黄化病流行规律、监测预警技术、健康种苗培育、健康栽培措施等方面已有一定进展(另文发表)。例如,我们在黄化病防控调查中发现林下间种胡椒、牧草以及林下养牛、鸡等对于减轻槟榔黄化病危害有较好的促进作用和增收作用,但对减轻黄化病为害的机理有待深入研究。在理论研究上,为了深入研究植原体生物学特点、致病机理、植原体-寄主互作等基础问题,国内外学者从基因组学^[46~47]、蛋白组学^[48]、效应因子^[44]、致病因子^[49]、免疫膜蛋白^[50]等不同层次开展了研究,并取得了可喜的进展。例如,Oshima 等^[46]发现翠菊黄化植原体 OY 菌株全基因组没有戊糖磷酸循环和 ATP 合成酶亚基,具有退化性进化的特点。Sugio 等^[51]发现植原体效应蛋白 SAP11 能够通过控制寄主植物发育和防御性激素生物合成从而增强传播介体叶蝉 *Macrostes quadrilineatus* 的产卵能力。上述研究有望为防控槟榔黄化病提供新的策略和方法。

最后,借用《科学》杂志编辑 Evelyn Strauss 的文章“植原体研究现已开始百花齐放”(Phytoplasma research begins to bloom)^[52],槟榔黄化病科研攻关和有效防控需要政府、科研机构、企业和农户齐心协力,通过持续不懈的努力,中国槟榔产业的持续健康发展一定能够得到有效保障。

参考文献

- [1] TANG Qinghua, YU Fengyu, ZHANG Shiqing, et al. First report of *Burkholderia andropogonis* causing bacterial leaf spot of betel palm in Hainan province, China [J]. Plant Disease, 2013, 97(12): 1654.
- [2] MANIMEKALAI R, SATHISH KUMAR R, SOUMYA V P, et al. Molecular detection of phytoplasma associated with yellow leaf disease in areca palms (*Areca catechu*) in India [J]. Plant Disease, 2010, 94(11): 1376.
- [3] BALASIMHA D, RAJAGOPAL V. Arecanut [M]. Mangalore: Indian Council of Agricultural Research-Central Plantation Crops Research Institute, Karavali Colour Cartons Ltd., 2004.
- [4] SUJATHA S, BHAT R, CHOWDAPPA P. Status of arecanut production systems in India [J]. International Journal of Innovative Horticulture, 2017, 6(1): 7-24.
- [5] 罗大全. 重视海南槟榔黄化病的发生及防控[J]. 中国热带农业, 2009(3): 11-13.
- [6] 赵健生. 槟榔黄化病的调查报告[J]. 热带作物科技, 1985(1): 64-69.
- [7] SILVAC K D, DAMAYANTHI M D, DE SILVA R, et al. Molecular and scanning electron microscopic proof of phytoplasma associated with areca palm yellow leaf disease in Sri Lanka [J]. Plant Disease, 2015, 99(11): 1641.
- [8] 丁晓军, 唐庆华, 严静, 等. 中国槟榔产业中的病虫害现状及面临的主要问题[J]. 中国农学通报, 2014, 30(7): 246-253.
- [9] 覃伟权, 唐庆华. 槟榔黄化病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [10] 曹学仁, 车海彦, 罗大全. 海南槟榔黄化病发生情况初步调查及蔓延原因分析[J]. 中国热带农业, 2016(5): 40-41.
- [11] SARASWATHY N, RAVI B. Yellow leaf disease of areca palms [J]. Indian Journal of Arecanut Spices & Medicinal Plants, 2001(3): 51-55.
- [12] RAO G P, MADHUPRIYA, THORAT V, et al. A century progress of research on phytoplasma diseases in India [J]. Phytopathogenic Mollicutes, 2017, 7(1): 1-38.
- [13] 朱辉, 覃伟权, 余凤玉, 等. 槟榔黄化病研究进展[J]. 中国热带农业, 2008(5): 36-38.
- [14] 车海彦, 曹学仁, 罗大全. 槟榔黄化病病原及检测方法研究进展[J]. 热带农业科学, 2017, 37(2): 67-72.
- [15] NAYAR R. Etiological agent of yellow leaf disease of *Areca catechu* [J]. Plant Disease Reporter, 1971, 55(2): 170-171.
- [16] NAYAR R, SELISKAR C E. Mycoplasma like organisms associated with yellow leaf disease of *Areca catechu* L. [J]. European Journal of Forest Pathology, 1978, 8(2): 125-128.
- [17] RAJEEV G, PRAKASH V R, VAGANAN M M, et al. Microscopic and polyclonal antibody-based detection of yellow leaf disease of arecanut (*Areca catechu* L.) [J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2011, 44(11): 1093-1104.
- [18] PONNAMMA K N, RAJEEV G, SOLOMON J J. Evidences for transmission of yellow leaf disease of areca palm *Areca catechu* L. by *Proutista moesta* (Westwood) (Homoptera: Derbidae) [J]. Journal of Plantation Crops, 1997, 25(2): 197-200.
- [19] PONNAMMA K N, KARNAVAR G K. Biology, bionomics and control of *Proutista moesta* Westwood (Hemiptera: Derbidae): a vector of yellow leaf disease of areca palms [J]. Developments in Plantation Crops Research, 1998, 944: 264-272.
- [20] SUMI K, PRIYA M, KUMAR S, et al. Molecular confirmation and interrelationship of phytoplasmas associated with dis-

- eases of palms in South India [J]. *Phytopathogenic Mollicutes*, 2014, 4(2): 41–52.
- [21] MANIMEKALAI R, SMITA N, SOUMYA V P, et al. Phylogenetic analysis identifies a ‘Candidatus *Phytoplasma oryzae*’-related strain associated with yellow leaf disease of areca palm (*Areca catechu* L.) in India [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(4): 1376–1382.
- [22] NAIR S, ROSHNA O M, SOUMYA V P, et al. Real-time PCR technique for detection of arecanut yellow leaf disease phytoplasma [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2014, 43(5): 527–529.
- [23] NAIR S, MANIMEKALAI R, RAJ P G et al. Loop mediated isothermal amplification(LAMP) assay for detection of coconut root wilt disease and arecanut yellow leaf disease phytoplasma [J]. *Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2016, 32(7): 1–7.
- [24] CHAITHRA M, PRIYA M, KUMAR S, et al. Detection and characterization of 16SrI-B phytoplasmas associated with yellow leaf disease of arecanut palm in India [J]. *Phytopathogenic Mollicutes*, 2014, 4(2): 77–82.
- [25] WEINTRAUB P G, BEANLAND L. Insect vectors of phytoplasma [J]. *Annual Review of Entomology*, 2006, 51: 91–111.
- [26] 俞浩, 冯淑芬, 郑建华. 海南岛槟榔“黄化病”问题调查报告 [J]. *热带农业科学*, 1986(3): 45–49.
- [27] 吴影梅. 槟榔黄叶病与根际线虫的探讨 [J]. *中药材*, 1994, 17(9): 5–8.
- [28] 金开璇, 孙福生, 陈慕容, 等. 槟榔黄化病的病原的研究初报 [J]. *林业科学*, 1995(6): 556–558.
- [29] 罗大全, 陈慕容, 叶沙冰, 等. 海南槟榔黄化病的病原鉴定研究 [J]. *热带作物学报*, 2001, 22(2): 43–46.
- [30] 罗大全, 陈慕容, 叶沙冰, 等. 多聚酶链式反应检测海南槟榔黄化病 [J]. *热带农业科学*, 2002, 22(6): 13–16.
- [31] 车海彦, 吴翠婷, 符瑞益, 等. 海南槟榔黄化病病原物的分子鉴定 [J]. *热带作物学报*, 2010, 31(1): 83–87.
- [32] 周亚奎, 甘炳春, 张争, 等. 利用巢式 PCR 对海南槟榔 (*Areca catechu* L.) 黄化病的初步检测 [J]. *中国农学通报*, 2010, 26(22): 381–384.
- [33] DICKINSON M, HODGETTS J. *Phytoplasma: methods and protocols* [M]//WALKER J M. *Methods in molecular biology*, New York: Humana/Springer, 2013.
- [34] CONTALDO N, BERTACCINI A, PALTRINIERI S, et al. Axenic culture of plant pathogenic phytoplasmas [J]. *Phytopathologia Mediterranea*, 2012, 51(3): 607–617.
- [35] MUSETTI R, PAGLIARI L. *Phytoplasmas* [M]. WALKER J M. *Methods in molecular biology*, New York: Humana/Springer, 2019.
- [36] OROPEZA C, CORDOVA I, CHUMBA A, et al. Phytoplasma distribution in coconut palms affected by lethal yellowing disease [J]. *Annals of Applied Biology*, 2011, 159(1): 109–117.
- [37] 李增平, 郑服丛. *热带植物病理学* [M]. 北京: 中国农业出版社, 2015.
- [38] 李增平, 罗大全, 王友祥, 等. 海南岛槟榔根部及茎部病害调查及病原鉴定 [J]. *热带作物学报*, 2006, 27(3): 70–76.
- [39] YANG Ke, RAN Minyuan, LI Zengping, et al. Analysis of the complete genomic sequence of a novel virus, areca palm necrotic spindle-spot virus, reveals the existence of a new genus in the family Potyviridae [J]. *Archives of Virology*, 2018, 163(12): 3471–3475.
- [40] YANG Ke, SHEN Wentao, LI Ye, et al. Areca palm necrotic ringspot virus, classified within a recently proposed genus ‘Arepavirus’ of the family Potyviridae, is associated with necrotic ringspot disease in areca palm [J]. *Phytopathology*, 2019, 109(5): 887–894.
- [41] 曹学仁, 车海彦, 罗大全. 槟榔生理性黄化发生原因与防控建议 [J]. *中国热带农业*, 2016(2): 51–52.
- [42] 吴童童, 车海彦, 曹学仁, 等. 海南槟榔黄化现象与除草剂残留关系初探 [J]. *热带农业工程*, 2018, 42(1): 14–18.
- [43] BAHDER B W, HELMICK E E, MOU Defen, et al. Digital PCR technology for detection of palm-infecting phytoplasmas belonging to group 16SrIV that occur in Florida [J]. *Plant Disease*, 2018, 102(5): 1008–1014.
- [44] SUGIO A, LEAN A M M, KINGDOM H N, et al. Diverse targets of phytoplasma effectors: from plant development to defense against insects [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2011, 49: 175–195.
- [45] 田国忠, 李志清, 胡佳续, 等. 我国部分枣树品种(系)的枣疯病抗性鉴定 [J]. *林业科技开发*, 2013, 27(3): 19–25.
- [46] OSHIMA K, KAKIZAWA S, NISHIGAWA H, et al. Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma [J]. *Nature Genetics*, 2004, 36(1): 27–29.
- [47] CHEN Wang, LI Yan, WANG Qiang, et al. Comparative genome analysis of wheat blue dwarf phytoplasma, an obligate pathogen that causes wheat blue dwarf disease in China [J/OL]. *PLoS ONE*, 2014, 9(5): e96436. DOI:10.1371/journal.pone.0096436.
- [48] JI Xianling, GAI Yingping, LU Baoyun, et al. Shotgun proteomic analysis of mulberry dwarf phytoplasma [J/OL]. *Proteome Science*, 2010, 8: 20. DOI: 10.1186/1477–5956–8–20.
- [49] BERTACCINI A, OSHIMA K, KUBE M, et al. *Phytoplasmas: Plant pathogenic bacteria—III genomics, host pathogen interactions and diagnosis* [M]. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2019.
- [50] SUZUKI S, OSHIMA K, KAKIZAWA S, et al. Interaction between the membrane protein of a pathogen and insect microfilament complex determines insect-vector specificity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(11): 4252–4257.
- [51] SUGIO A, KINGDOM H N, MACLEAN A M, et al. Phytoplasma protein effector SAP11 enhances insect vector reproduction by manipulating plant development and defense hormone biosynthesis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(48): 1254–1263.
- [52] STRAUSS E. Phytoplasma research begins to bloom [J]. *Science Microbiology*, 2009, 325(5939): 388–390.

(责任编辑: 杨明丽)