

◆植物生理与生态响应◆

柑橘黄龙病致病机理和防控技术研究进展^{*}

陈先锐, 吴艳玲, 林甲胜, 毛俊儒, 吴钊龙, 黄志民^{**}

(广西科学院, 非粮生物质能技术全国重点实验室, 广西微波先进制造技术重点实验室, 广西南宁 530007)

摘要: 柑橘黄龙病(Citrus Huanglongbing, HLB)是由韧皮部杆菌属革兰氏阴性细菌 *Candidatus Liberibacter* spp. 引起的极具毁灭性的病害, 传播速度快、致死率高, 至今仍缺乏根治的方法, 给世界各地柑橘产业造成了难以估计的损失, 严重威胁柑橘种植业的发展。本文对柑橘黄龙病的病原菌致病机理, 以及利用物理、化学、生物等技术防控柑橘黄龙病的研究进展进行了综述, 以期分析和探讨柑橘黄龙病防控面临的难题和未来研究方向。

关键词: 黄龙病; 病原菌; 致病机理; 防控; 微波

中图分类号:S436.66 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2025)02-0245-10

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20250523.001

柑橘在 140 多个国家和地区都有种植, 是世界产量第一的水果。近年来, 我国柑橘种植面积和年产量均居世界首位, 柑橘也成为国内举足轻重的经济作物。柑橘黄龙病(Citrus Huanglongbing, HLB)又名黄梢病、黄枯病, 由于传播速度快、危害严重和致死率高, 且至今缺乏有效的治疗方法, 因此被称为柑橘“癌症”。黄龙病目前已在亚洲、非洲和美洲等三大柑橘产区迅速蔓延, 给世界柑橘产业造成了不可估量的损失^[1-3]。巴西圣保罗州从 2005 年到 2019 年共销毁了 5 550 万株感染黄龙病的甜橙树, 柑橘园数量从 2007 年的约 14 600 个减少到 2018 年的约 9 500 个^[4]。美国佛罗里达州因黄龙病危害, 甜橙产量从 2005—

2006 年的约 1.5 亿箱下降到 2018—2019 年的约 7 000 万箱^[5]; 在中国境内, 黄龙病已经在南方多个省份传播, 在国内最大产区广西, 因发生黄龙病而被淘汰的柑橘树超过 100 万亩, 经济损失累计在 100 亿元以上^[6]; 仅 2020 年, 广西就因黄龙病疫情清除患病柑橘 740 万株^[7], 损失惨重。因此, 黄龙病严重威胁着全球柑橘产业的可持续发展, 防控形势异常严峻。

黄龙病病原菌寄存在柑橘树的韧皮部, 主要以柑橘木虱(*Diaphorina citri*)作为媒介传播。黄龙病不仅导致柑橘树势衰退、生长受阻, 还引发叶片黄化、斑驳, 果实变小、着色不均等症状, 显著降低了柑橘产量和质量, 患病幼树一般在 2—3 年内枯死, 成年树木在

收稿日期: 2025-02-12 修回日期: 2025-04-03

* 广西自然科学基金项目(2021GXNSFBA220015), 广西科技基地和人才专项(桂科 AD23026033), 广西科学院基本科研业务费资助项目(2019YJJ1007)和广西科技重大专项(桂科 AA22117001, 桂科 AA22117005)资助。

【第一作者简介】

陈先锐(1987—), 男, 高级工程师, 主要从事生物工程以及微波防控农业病害领域研究, E-mail: chenxr@gxas.cn。

【**通信作者简介】

黄志民(1965—), 男, 研究员, 主要从事生物物理以及微波等电磁波应用技术和装备开发研究, E-mail: hzming@163.com。

【引用本文】

陈先锐, 吴艳玲, 林甲胜, 等. 柑橘黄龙病致病机理和防控技术研究进展[J]. 广西科学, 2025, 32(2):245-254.

CHEN X R, WU Y L, LIN J S, et al. Research Progress in Pathogenic Mechanism and Control Technologies of Citrus Huanglongbing [J]. Guangxi Sciences, 2025, 32(2):245-254.

5—8年内枯死^[8-12]。然而,由于黄龙病病原菌尚无法人工培养,其生物学特性和致病机制缺乏深入的研究,其感染植株后潜伏期长,症状初期不易察觉,加之实验室检测方法复杂,使得病害的早期诊断和控制尤为困难^[13]。一旦柑橘树感染黄龙病,将成为周边健康果树的病害传播源且终身传病,往往因一棵病树毁掉一片果园,而中国特有的小户种植模式和开放式管理模式,导致联防联控方式的推广变得异常艰难。此外,全球气候变暖趋势导致传播媒介柑橘木虱的活动范围加速扩大,进一步加剧了黄龙病的传播风险^[2]。综上所述,柑橘黄龙病已成为我国乃至全球柑橘产业面临的一大难题,其病原菌性质复杂、流行程度持续加剧以及现有防控技术存在多重局限,均凸显了加强黄龙病病原研究和防控方法开发的重要性与紧迫性。本文旨在综述近年来柑橘黄龙病的研究进展,包括病原菌致病机理、检测技术、防控策略等方面,以期为柑橘产业的健康发展和黄龙病的有效防控提供科学依据与技术支持。

1 柑橘黄龙病的概述及致病机理分析

1.1 黄龙病及其病原菌

黄龙病作为一种长期危害柑橘的病害,其文字记载可追溯至18世纪的印度,当时该病害被记录为“枯梢病”,主要表现为柑橘树顶梢枯死、生长迟缓和产量下降^[14]。此后,随着病害在全球柑橘种植区的传播与扩展,不同国家和地区根据其具体症状表现给予了不同的命名,如菲律宾的“叶斑驳病”^[15]、南非的“青果病”、中国台湾的“立枯病”^[16]等,这些命名差异反

表1 黄龙病病原菌分类、传播载体及地理分布概览

Table 1 Overview of the classification, transmission vectors and geographical distribution of HLB pathogens

病原菌 Pathogen	传播载体 Transmission vector	敏感温度/℃ Sensitive temperature/℃	地理分布 Geographical distribution	参考文献 References
CLas	Asian citrus psyllid	27—32	Asia, Africa, America	[25]
CLaf	African citrus psyllid	22—24	Africa	[26-27]
CLam	American citrus psyllid	22—24	America	[28]

1.2 黄龙病的主要致病机理研究

鉴于黄龙病病原菌的分离培养存在极大困难,目前对该病原菌致病机理的了解较为有限。最新文献对黄龙病病原菌从侵染到病理反应的全面机制进行了系列综述^[2,31],具体可归纳如下。①病原菌的侵染与寄存。黄龙病病原菌借助柑橘木虱等媒介进入柑橘树体,首先在其韧皮部组织内寄存,此过程严重破

坏了韧皮部的正常生理结构和功能,为病原菌的后续扩散奠定了基础^[32]。②胼胝质的过度累积与韧皮部堵塞。随着病原菌的增殖,植物体内发生一系列病理反应,显著特征之一是胼胝质的过度累积,这种异常导致韧皮部的堵塞,进而不仅阻碍光合产物的有效运输,还削弱叶片的光合作用能力,最终导致叶片黄化和植株整体生长受到抑制^[33]。③活性氧的生成与细

胞损伤。病原菌在柑橘组织内繁殖时,会引发免疫反应,产生大量活性氧,如超氧化物、羟基自由基等,这些活性氧对细胞膜、蛋白质和核酸等造成损害,进一步加重病害症状。④营养物质运输障碍。病原菌引起的胼胝质堆积堵塞了韧皮部筛管,导致营养物质无法有效运输,从而影响植株的正常生长发育。⑤激素失衡。病原菌可能干扰植物激素(如生长素、赤霉素)的合成或信号传导,引起激素失衡,进而影响植物的正常生理过程。

胞死亡。病原菌的侵染还触发了植物体内活性氧(如 H_2O_2)的生成,适量的活性氧是植物免疫系统的重要组成部分,但在黄龙病中,过量积累的活性氧对植物细胞造成严重的氧化应激,加速了细胞死亡,推动了病害的恶化^[34]。④免疫应答与基因表达。黄龙病病原菌的侵染激发了柑橘树体内复杂的慢性免疫响应,这一过程涉及多个免疫相关基因的转录上调;这些基因编码的蛋白质,如酶类、信号分子和转录因子等,共同参与植物对病原菌的防御反应;尽管如此,由于病原菌的寄生特性和独特的传播方式,这种免疫应答往往难以完全遏制病害的发展^[35]。

黄龙病的致病机制错综复杂,其核心在于病原菌 CLas 与宿主之间的精密互作,这一过程深刻体现了宿主防御反应的重要性。尤为关键的是,CLas 拥有高效的 Sec 依赖型分泌系统(Sec-dependent secretion system),该系统能够精准地释放一系列 Sec 依赖型效应子(Sec-Delivered Effectors, SDEs),这些 SDEs 在维持病原菌活力及致病性方面发挥着不可或缺的作用^[34]。尽管目前科学界已对部分 SDEs 的功能及其作用机制有了较为全面的理解(表 2),但鉴于其种类繁多、功能复杂,仍有大量 SDEs 的详细功能及作用机制尚待深入探索与揭示。SDEs 作为 CLas 的“武器库”,如 SDE1^[45]、SDE15^[38],以及近年来受到关注的 SDE3^[37] 和 SDE115^[39],在病原菌与宿主之间发挥着至关重要的作用。

表 2 柑橘黄龙病菌 Sec 依赖型效应子概述

Table 2 Overview of the Sec-delivered effectors of citrus HLB pathogens

Sec 依赖型效应子 Sec-delivered effector	蛋白大小 Protein size	功能或引起症状 Function or causing symptom	互作蛋白 Interacting protein	细胞定位 Cell localization	转运途径 Transport pathway	参考文献 Reference
SDE1	154 aa	Leading to accumulation of H_2O_2 , starch and callose in plants, leaf yellowing and senescence	PLCPs	Chloroplast	SEC	[36]
SDE3	160 aa	Increasing the autophagy degradation of CsATG8 family proteins	CsGAPCs	Cytoplasm, nucleus	SEC	[37]
SDE15	96 aa	Inhibiting the plant immune response and promoting plant CLas growth	CsACD2	Free green fluorescent protein	SEC	[38]
SDE115	185 aa	Reducing photosynthesis and accelerating leaf yellowing; promoting the early deposit of pathogenic bacteria on citrus and aggravating the occurrence of HLB symptoms	Unknown	Nucleus, cytoplasm	SEC	[39-40]
SDE70	131 aa	Regulating the signal transduction and cytoplasmic transport pathways in citrus affected host resistance to disease	CsTRAPP, CsARF, CsRub1	Cytoplasm, nucleus, cell membrane	SEC	[41]
SDE695	113 aa	Regulating the photosynthetic electron transport in plants	CsPCY, CsPetC	Cytoplasm, nucleus, cell membrane	SEC	[42]

主互作中扮演着至关重要的角色。通过 Sec 依赖型分泌系统的精确调控,病原菌将 SDEs 输送至宿主细胞内,这些 SDEs 随即在分子层面展开其破坏性的工作,严重干扰宿主的免疫防线和代谢平衡^[45]。具体而言,SDE1 与 SDE15 展现了卓越的致病潜力。SDE1 在柑橘寄主中高表达,通过与柑橘免疫蛋白酶结合来抑制植物防御,并在表达 SDE1 的柑橘植株中引起叶片泛黄症状^[36,45-46]。而 SDE15 则通过与加速细胞死亡蛋白 2(Accelerated Cell Death 2, ACD2)相互作用,抑制植物免疫并促进 CLas 在柑橘中的增殖^[38]。进一步的研究更是揭示了 SDE3 在黄龙病进展中的新颖调控机制,在感染过程中,SDE3 作为毒性效应因子,与柑橘细胞内的易感因子 CsGAPCs 紧密结合,这一互作进而触发了 CsGAPCs 与 CsATG8s(自噬相关蛋白)的直接作用,导致 CsATG8s 的特异性降解加速,并显著抑制了自噬体的形成,从而阻断了 CsATG8s 介导的关键免疫反应途径^[37]。这一系列连锁反应最终促进了黄龙病在柑橘树体中的发生与发展,深刻展示了 SDE3 在病原菌致病策略中的关键作用。综上所述,黄龙病的致病机理是一个涉及病原菌入侵、宿主防御反应及多层次分子互作的复杂过程,其中 SDEs 的作用尤为关键,为未来的病害防控策略提供了重要靶标。

续表

Continued table

Sec 依赖型效应子 Sec-delivered effector	蛋白大小 Protein size	功能或引发症状 Function or causing symptom	互作蛋白 Interacting protein	细胞定位 Cell localization	转运途径 Transport pathway	参考文献 Reference
CLIBASIA_03875	51 aa	Altering or interfering the function or expression levels of NbCNGC23 - 26, NbB1-2 and NbWRKY9 genes in the host to directly affect the host defense response mechanism	NbBI-2	Nonspecific localization	SEC	[43]
CLIBASIA_04405	121 aa	Leading to dwarfing and leaf deformation	NbCAT1	Cytoplasm, nucleus, cell membrane	SEC	[43]
CLIBASIA_04065	408 aa	Damaging the structure and function of mitochondria and leading to the decay and death of HLB citrus	orange1. 1g037576m	Mitochondria	SEC	[44]
CLIBASIA_00470	51 aa	Inducing growth inhibition and cell death of citrus	Polyubiquitin protein	Free green fluorescent protein	SEC	[44]
CLIBASIA_05150	225 aa	Inducing growth inhibition and cell death of citrus	XM_006474664, XM_025096339, XM_006492080	Golgi apparatus	SEC	[44]
CLIBASIA_04025	96 aa	Inducing growth inhibition and cell death of citrus	XM_006489869, XM_006489870	Free green fluorescent protein	SEC	[44]

Note:aa means amino acid. SEC means sec-dependent pathway.

2 柑橘黄龙病的检测

柑橘黄龙病的检测工作是确保非疫区柑橘产业安全的首要防线,同时也是构建该病害传播与扩散有效防控体系的核心环节。尽管传统的田间诊断方法较为直观,但是仅凭肉眼观察典型症状如叶片黄化、斑驳及果实异常等,易导致假阳性和假阴性的误判^[47]。此外,诸如碘-淀粉显色法、血清学检测及电镜观察等传统技术,因准确率有限、操作烦琐或成本高昂,已逐渐被更为先进的检测手段所取代。在此背景下,高光谱成像技术和近红外光谱成像技术凭借其非破坏性、高效性和精准性,在柑橘黄龙病的检测中展现出显著优势。通过精细解析健康与感染黄龙病的柑橘叶片在叶绿素含量、淀粉积累及可溶性糖含量等理化指标上的差异,研究者成功建立了一种基于高光谱成像技术的无损检测方法,有效提升了诊断的准确性^[48]。另有研究人员巧妙融合了激光诱导击穿光谱(LIBS)与近红外光谱分析技术,针对甜橙黄龙病进行了深入探索,这一跨学科的技术结合不仅显著增强了诊断精度,还在训练集和独立测试集中分别实现了89.5%和95.7%的高识别率^[49],进一步验证了光谱技术在柑橘病害检测中的巨大潜力。

随着分子生物学技术的快速发展,实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)已成为目前柑橘黄龙病病原菌检测最有效的方法。qPCR以其高灵敏度、强特异性

和良好的稳定性,在避免假阴性、降低误差方面表现出色。多项研究表明,qPCR在黄龙病检测中的应用效果优于常规PCR和巢式PCR。例如,采用SYBR Green I qPCR、巢式PCR和常规PCR对田间柑橘样品的黄龙病检出率分别为80.4%、74.6%和58.7%^[50];另有报道称HLBp探针法的qPCR可检出86.7%的黄龙病阳性率,而常规PCR只检出43.3%^[51]。鉴于此,研究者们还开发了TaqMan探针法等qPCR检测技术,用于深入分析黄龙病病原菌在寄主体内含量的动态变化^[52]。近年来,研究者们也开始采用第三代PCR技术——微滴数字PCR(droplet digital PCR,ddPCR)定量检测柑橘黄龙病病原菌,其检测灵敏度可达到qPCR的10倍^[53]。

综上所述,无论是光谱技术还是分子生物学技术,都在柑橘黄龙病的检测与防控中发挥着不可替代的作用。未来,随着技术的不断进步和融合,柑橘黄龙病的检测将更加精准、高效,从而为柑橘产业的健康发展提供更有力的保障。

3 柑橘黄龙病的防控研究进展

在探讨C. Liberibacter spp.的生物学特性及其引发病害的机制与症状演变路径时,科学界已积累了深厚的研究基础,这些前期工作为制定并实施多样化的柑橘黄龙病防控策略铺设了道路。鉴于柑橘类作物对C. Liberibacter spp.普遍缺乏自然抗性,当前的

病害防控焦点主要集中在两个关键领域:一是主要传播媒介(柑橘木虱)的有效防控,二是直接针对病原菌的清除技术开发。全球范围内广泛采用的“三步法”防控策略(推广种植无病毒苗木、严格控制柑橘木虱的种群数量和及时铲除感染病树)已展现出显著成效,成为行业内的标准做法^[16]。此策略不仅有效遏制病害的蔓延,还为后续的创新防控手段提供实践基础。近年来,各国科研人员在“三步法”的基础上不断探索,在基因抗病育种与生物、化学、物理防控等多个方面取得了一些进步。

3.1 基因抗病育种

基因抗病育种作为现代农业科技的前沿领域,正逐步成为解决柑橘黄龙病等重大植物病害问题的新型策略。面对黄龙病难以离体培养及致病机理尚不明确的挑战,科研人员通过基因工程手段,积极探索并应用各类抗病基因以增强柑橘的抗病性^[13]。通过超量表达抗菌肽基因(如 *Thionin*^[54]、*cecropin B*^[55]、*attacin A*^[56])和信号转导途径相关基因(如 *CiN-PR3*^[57]、*CiNPR4*^[57]、*CsSAMT-1*^[58]),转基因柑橘植株表现出显著的黄龙病抗性,这为抗病育种提供了有力证据。此外,基因组学、转录组学和代谢组学等技术的引入,使得抗病基因的挖掘与利用更加精准高效。尽管目前尚未培育出能完全抵抗黄龙病的转基因植株,但研究已初步揭示了多个潜在抗病靶点,如 *RIN4* 基因的负调控作用^[59],为未来抗病育种指明了方向。同时,利用体细胞杂交、多倍体育种及田间自然耐病性筛选等方法,也发现了部分对黄龙病具有耐受性的新材料,为抗病品种的培育奠定了基础^[2,60]。然而,基因抗病育种仍充满挑战。黄龙病病原菌的复杂性和致病机制尚未完全解析,导致抗病基因的开发与应用存在诸多不确定性。此外,转入的外源基因对柑橘产量、品质和人类健康的潜在影响,也是必须谨慎评估的重要方面。因此,未来的研究需在继续深入探索抗病基因的同时,加强基因安全评估与监管,确保抗病育种成果的科学性与安全性。

3.2 生物防控

生物防控作为一种绿色、环保且可持续的害虫管理策略,正逐渐成为防控柑橘木虱等农业害虫的重要手段。该方法以其高特异性、无残留、对有益生物杀伤小、环境友好和不易引发抗药性等显著优势,展现了广阔的应用前景。研究表明,薇甘菊(*Mikania micrantha*)、马缨丹(*Lantana camara*)、蟛蜞菊(*Sphagneticola calendulacea*)、假臭草(*Praxelis clematidea*)等植物所含的挥发油成分会迫使柑橘木虱成虫表现出明显的逃避反应,这种生物驱避效应可以有效降低柑橘木虱对柑橘叶片的侵害和传病程度,为柑橘树提供天然的防护屏障^[61]。此外,虫生真菌作为生物防控的新兴力量,通过其复杂的侵染机制——包括寄主识别、物理破坏、毒素释放及代谢途径干扰等,实现对害虫高效且环保的杀灭^[62]。目前已知的玫瑰色棒束孢(*Isaria fumosorosea*)、金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)和桔形被毛孢(*Hirsutella citriformis*)等虫生真菌,均被证实对柑橘木虱具有强大的致病能力^[62]。同时,生物农药如苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)等的应用,不仅在控制柑橘木虱方面展现出成效,还能有效抑制黄龙病病原菌的生长与繁殖,进一步保障了柑橘树的健康与产量^[63]。另有研究表明,生物肥料在防控黄龙病等柑橘病害方面也发挥了积极作用。施用农民自制的生物菌肥,不仅能够改善土壤环境,促进植株健康生长,还能有效减少黄龙病的发生^[64],为柑橘产业的可持续发展提供有力保障。生物防控黄龙病的关键是通过调控生态系统,维持其动态平衡。随着科技的进步与研究的深入,相信生物防控技术将不断完善与创新,为柑橘生态种植和绿色生产转型贡献更多力量。

3.3 化学防控

在柑橘黄龙病的多种防控策略中,化学防控是比较行之有效的方法,尤其采用叶面喷雾形式,可以快速杀灭柑橘木虱。例如广谱性的烟碱类杀虫剂,凭借其出色的柑橘木虱防控效果,平均能维持长达 3 周的有效保护期,成为众多果园管理者的首选^[65]。20 世纪 70 年代,抗生素的引入为当时柑橘黄龙病的治疗开辟了新途径。随着病原体的明确,通过树干注射四环素及其类似物(如青霉素、磺胺二甲氧嘧啶钠、盐酸土霉素制剂)等抗生素类药物的方式,在中国、印度、南非等柑橘黄龙病重灾区得到了广泛应用,这一策略不仅直接针对病树进行治疗,还结合无病接穗技术,有效促进了健康苗木的培育,从而在源头上控制了黄龙病的扩散^[66]。然而,化学防控过度依赖特定种类的杀虫剂,特别是连续、过量使用,已引发一个严峻问题——柑橘木虱等害虫的抗药性急剧增强。研究表明,有的果园柑橘木虱对毒死蜱的抗药性增长了 8.8 倍^[67],而对吡虫啉的抗药性更是惊人,部分地区超过 200 倍^[68]。因此应将化学防控与生物防控、物理隔离、果园管理等措施相结合,以减轻化学药剂对环境

的压力,避免柑橘木虱等害虫抗药性的进一步加剧,确保柑橘产业的可持续发展。

3.4 物理防控

鉴于柑橘黄龙病病原菌寄生于韧皮部,其在 $>35^{\circ}\text{C}$ 的温度条件下较为敏感,且在 $>40^{\circ}\text{C}$ 时与柑橘植株存在明显的温度耐受性差异的特性,物理防控策略巧妙地利用各种升温方法杀灭黄龙病韧皮部杆菌,以有效遏制黄龙病的扩散,其核心在于直接或间接利用电能、光学效应、辐射能量、机械力以及调控温湿度等自然物理现象作为防控手段^[17]。其中,热处理技术在黄龙病的物理防控中尤为显著,已被证实为一种高效且广泛应用的策略。研究者提出一种柑橘黄龙病的热空气快速处理方法,利用热风将柑橘加热升温至 48°C ,结果显示处理后病菌浓度平均降低80.28%^[69]。还有研究人员构建湿热蒸汽发生装置,通过蒸汽加热使染病柑橘树树体表面温度升至 60°C ,在针对4棵病树的治疗试验中,有2棵成功恢复健康状态,另外2棵的韧皮部病菌浓度显著降低^[70]。另有研究表明,柑橘接穗在嫁接前通过特定温度($45\text{--}50^{\circ}\text{C}$)的热水浸泡处理,能够显著脱毒,同时保持高发芽率^[71]。佛罗里达大学柑橘研究与教育中心通过对患有黄龙病的成年柑橘树实施红外热处理技术,发现采用红外加热手段能够显著减轻多数染病柑橘树的病情程度^[72]。近年来,利用田间移动式加热设备对感染黄龙病的柑橘植株进行脱毒处理的技术已取得一定进展并得到应用^[73]。这些热处理技术不仅避免了化学药剂的使用,还具备环境友好、产品无农药残留的优点,但仍然面临不能完全杀灭病原菌及田间操作复杂等挑战,因此开发高效且简便易操作的物理防控装置或者设备,利用物理热效应等杀灭植株内部的病原菌,将是未来黄龙病防控的一大突破方向。

3.5 微波在柑橘黄龙病防控中的应用前景

微波(Microwave,MW)灭菌是近些年来新兴的辐射灭菌技术。微波以电磁波(频率300 MHz至300 GHz,波长1 m至1 mm)的形式传播。与常规加热杀菌技术相比,该技术具有穿透效果强、可实现内外同时加热、升温速度快和温度均匀性好等优点,已经被广泛应用于食品和农林产品的防腐和杀菌^[74]。微波灭菌的原理来源于其热效应和非热效应^[75],并以后者为主。微波的非热效应是指在没有明显温度变化或温度处于亚致死范围时,通过电磁作用改变细胞膜电荷及离子分布,导致细胞膜两侧的电压失衡,

进而引起细胞膜穿孔或破裂;同时,微波能使蛋白质及核酸的次级键发生断裂或重组,导致微生物死亡,有效增强杀菌效果,从而降低杀菌温度阈值。近年来,研究者开始用微波对农作物内生病菌进行防控,如通过微波对玉米进行灭菌除霉处理,优化微波功率和辐射时间,有效防控了玉米霉菌,且未影响玉米品质^[76];选用醉马草(*Achnatherum inebrians*)为材料,研究不同微波处理强度下内生真菌的致死情况,微波150 W和300 W处理40 s以上,醉马草带菌率分别降到19.38%、5.22%以下,而微波300 W处理60 s后醉马草内生真菌可完全致死^[77],此外,在披碱草(*Elymus dahuricus*)的相关研究中也得到了相似的结论^[78]。在微波防控黄龙病病原菌方面,已有研究者采用微波热处理黄龙病另一易感植物——长春花(*Catharanthus roseus*),发现该方法能有效降低黄龙病病原菌CLas在长春花体内的含量^[79]。

作者团队前期开展了利用微波辐射直接杀灭柑橘黄龙病病原韧皮部杆菌的研究,通过优化微波处理条件,控制微波频率为500—800 MHz,功率为600—800 W,微波照射时间为6—12 s,将柑橘苗木加热至 $45\text{--}55^{\circ}\text{C}$,重复照射8—15次,可以实现对柑橘苗木进行微波脱毒处理的效果^[80]。这表明通过微波处理可以高效杀灭柑橘植株内的黄龙病病原菌或显著降低病菌浓度,证明利用微波防控柑橘黄龙病韧皮部杆菌的有效性和可行性。然而,柑橘在微波“温度场”和“电磁场”双重作用下的生理活动变化及其机制有待进一步验证,相关研究有望为开发高效、安全、无损的柑橘黄龙病微波脱毒技术与工艺提供理论指导和技术支持,实现柑橘黄龙病的有效防控与柑橘高质高效生产的新模式。

4 总结与展望

柑橘黄龙病作为一种极具破坏力的病害,对柑橘产业构成了严重威胁。当前,尽管已有多种防控手段,但均存在不同程度的局限性。在此背景下,物理防控策略如微波灭菌技术,以其明显的灭菌效果与环保特性,为柑橘黄龙病的防控开辟了新途径。尽管该技术存在不足与应用局限,但其潜力与前景仍值得深入探讨与开发。本文系统性地综述了柑橘黄龙病的致病机制、检测技术及防控策略的最新进展,旨在为柑橘黄龙病防控提供理论支撑与实践指导。

当前,黄龙病致病机理研究多聚焦于特定病原蛋白与柑橘宿主间的相互作用,而关于病原菌全面致病

机制尚不清楚。鉴于黄龙病病原菌的独特性和其不能离体培养的特点,对该病原菌的研究和剖析遇到了重大障碍。为应对这一挑战,未来的研究方向应着重于从“防”到“治”的转变,深入探索黄龙病病原菌的致病机理及其与柑橘树体、柑橘木虱等生物因子的复杂互作网络。在推进绿色防控策略方面,提出以下3点建议。①鉴于病原菌在实验室条件下难以培养的现状,可引入宏基因组学技术,直接从自然环境样本中挖掘病原菌的遗传信息。这种方法能够绕过培养障碍,全面揭示病原菌的致病基因谱系,为深入理解其致病机理提供宝贵数据^[81]。②利用人工智能(AI)技术,结合机器学习与大数据分析,解析黄龙病病原分泌蛋白与宿主细胞间的相互作用机制^[82]。AI辅助的蛋白质结构预测,能够精准模拟难以直接由实验获取的蛋白三维结构,为揭示其生物功能及互作模式提供新视角。③通过高通量测序、生物信息学和其他多生物组学分析技术,识别与黄龙病发病进程密切相关的关键基因和蛋白信息^[83]。随后,利用基因克隆与遗传操作技术,培育携带抗病/耐病基因的新品种,为柑橘黄龙病的长期防控提供坚实的遗传资源基础。

综上所述,通过综合运用现代生物技术、信息技术及物理防控等手段,预计可实现对柑橘黄龙病更加精准、高效且环保的防控,为柑橘产业的可持续发展保驾护航。

参考文献

- [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] 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.
- [3] 何姣. 灵山县柑橘黄龙病发生现状及防控对策[J]. 广西植保,2020,33(3):32-36.
- [4] BASSANEZI R B,LOPES S A,DE MIRANDA M P,et al. Overview of citrus Huanglongbing spread and management strategies in Brazil [J]. Tropical Plant Pathology,2020,45(3):251-264.
- [5] GRAHAM J,GOTTWALD T,SETAMOU M. Status of Huanglongbing (HLB) outbreaks in Florida, California and Texas [J]. Tropical Plant Pathology,2020,45:265-278.
- [6] 唐艳,武晓晓,娄兵海,等. 田间耐柑橘黄龙病橘类品种材料的评价研究[J]. 南方园艺,2020,31(3):1-5.
- [7] 钱开胜. 广西:2020年清除柑桔黄龙病树740万株[J]. 中国果业信息,2020,37(12):61.
- [8] THAKURIA D,CHALIHA C,DUTTA P,et al. Citrus Huanglongbing (HLB):diagnostic and management options [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology,2023,125:102016.
- [9] 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.
- [10] HILF M E. Colonization of citrus seed coats by ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’: implications for seed transmission of the bacterium [J]. Phytopathology,2011,101(10):1242-1250.
- [11] HILF M E,SIMS K R,FOLIMONOVA S Y,et al. Visualization of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ cells in the vascular bundle of citrus seed coats with fluorescence in situ hybridization and transmission electron microscopy [J]. Phytopathology,2013,103 (6): 545-554.
- [12] JOHNSON E G,WU J,BRIGHT D B,et al. Early root infection and damage in Huanglongbing disease development [J]. Journal of Citrus Pathology,2014,1(1):229-232.
- [13] 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.
- [14] ASANA R D. The citrus dieback problem in relation to cultivation of citrus fruits in India [J]. Indian Journal of Horticulture,1958,15:283-286.
- [15] LEE H A. The relation of stocks to mottled leaf of citrus trees [J]. Philippine Journal of Science,1921,18:85-95.
- [16] 赵学源,蒋元晖. 柑橘黄龙病防治研究项目回顾与展望[J]. 中国农业科学,2007,40(增刊):3129-3136.
- [17] 王爱民,邓晓玲. 柑桔黄龙病诊断技术研究进展[J]. 广东农业科学,2008(6):101-103.
- [18] 林孔湘. 柑桔黄梢(黄龙)病研究Ⅱ. 关于病原的探讨[J]. 植物病理学报,1956,2(1):13-42,102-104.
- [19] 广西柑桔黄龙病研究小组. 柑桔黄龙病病原及防治的初步研究[J]. 中国农业科学,1978,11(3):84-86.
- [20] CAMIER M,DANEL N,BOVT J M. The greening organism is a gram negative bacterium [J]. International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957—2010),1984,9(9):115-124.
- [21] JAGOUIX S,BOVE J M,GARNIER M. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the α subdivision of the Proteobacteria [J]. International Journal of Systematic Bacteriology,1994,44(3):379-386.
- [22] JAGOUIX S,BOVÉ J M,GARNIER M. PCR detec-

- tion of the two ‘*Candidatus*’ Liberibacter species associated with greening disease of citrus [J]. Molecular and Cellular Probes,1996,10:43-50.
- [23] DO CARMO TEIXEIRA D,DANET J L,EVEIL-LARD S, et al. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the ‘*Candidatus*’ Liberibacter species associated with the disease [J]. Molecular and Cellular Probes,2005,19(3):173-179.
- [24] WANG N,PIERSON E A,SETUBAL J C,et al. The *Candidatus* Liberibacter-host interface: insights into pathogenesis mechanisms and disease control [J]. Annual Review of Phytopathology,2017,55:451-482.
- [25] BOVÉ J M. Huanglongbing:a destructive,newly-emerging,century-old disease of citrus [J]. Journal of Plant Pathology,2006,88(1):7-37.
- [26] GARNIER M,BOVÉ J M,JAGOUEIX-EVEILLARD S,et al. Presence of “*Candidatus* Liberibacter africanus” in the Western Cape Province of South Africa [J]. International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957—2010),2000,14(14):369-372.
- [27] REYNAUD B,TURPIN P,MOLINARI F M,et al. The African citrus psyllid *Trioza erytreae*:an efficient vector of *Candidatus* Liberibacter asiaticus [J]. Frontiers in Plant Science,2022,13:1089762.
- [28] TEIXEIRA D D C,SAILLARD C,EVEILLARD S,et al. ‘*Candidatus* Liberibacter americanus’, associated with citrus huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil [J]. International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology,2005,55(5):1857-1862.
- [29] CARTER E W,PERAZA O G,WANG N. The protein interactome of the citrus Huanglongbing pathogen *Candidatus* Liberibacter asiaticus [J]. Nature Communications,2023,14:7838.
- [30] MERFA M V,PÉREZ-LÓPEZ E,NARANJO E,et al. Progress and obstacles in culturing ‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’, the bacterium associated with Huanglongbing [J]. Phytopathology, 2019, 109 (7): 1092-1101.
- [31] 李翔,胡德波,周应彪,等.柑橘黄龙病研究进展[J].农业开发与装备,2024(4):149-151.
- [32] RAIOL-JUNIOR L L,CIFUENTES-ARENAS J C,DE CARVALHO E V, et al. Evidence that ‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’ moves predominantly toward new tissue growth in citrus plants [J]. Plant Disease, 2021, 105(1):34-42.
- [33] 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.
- [34] DA GRAÇA J V,DOUHAN G W,HALBERT S E,et al. Huanglongbing:an overview of a complex pathosystem ravaging the world’s citrus [J]. Journal of Integrative Plant Biology,2016,58(4):373-387.
- [35] 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(1):529.
- [36] CLARK K J,PANG Z Q,TRINH J,et al. Sec-delivered effector 1 (SDE1) of ‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’ promotes citrus huanglongbing [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions,2020,33(12):1394-1404.
- [37] SHI J X,GONG Y N,SHI H W,et al. ‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’ secretory protein SDE3 inhibits host autophagy to promote Huanglongbing disease in citrus [J]. Autophagy,2023,19(9):2558-2574.
- [38] PANG Z Q,ZHANG L,COAKER G,et al. Citrus CsACD2 is a target of *Candidatus* Liberibacter asiaticus in Huanglongbing disease [J]. Plant Physiology, 2020, 184(2):792-805.
- [39] 杜美霞.柑橘黄龙病菌亚洲种‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’效应子CaLasSDE115致病机理的研究[D].重庆:西南大学,2022.
- [40] DU M X,WANG S,DONG L T,et al. Overexpression of a “*Candidatus* Liberibacter Asiaticus” effector gene CaLasSDE115 contributes to early colonization in *Citrus sinensis* [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 12: 797841.
- [41] 龙俊宏,赵珂,杜美霞,等.柑橘中黄龙病菌效应子SDE70的表达特征及寄主互作蛋白解析[J].园艺学报,2020,47(8):1451-1462.
- [42] 龙俊宏.黄龙病菌SDE70和SDE695效应子在病原菌与柑橘互作中的功能研究[D].重庆:西南大学,2021.
- [43] 张超.柑橘黄龙病病菌亚洲种Sec依赖分泌蛋白的预测、鉴定及功能研究[D].北京:中国农业科学院,2020.
- [44] YING X B,WAN M Y,HU L S,et al. Identification of the virulence factors of *Candidatus* Liberibacter asiaticus via heterologous expression in *Nicotiana benthamiana* using *Tobacco Mosaic Virus* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20 (22): 5575.
- [45] PAGLIACCIA D,SHI J X,PANG Z Q,et al. A pathogen secreted protein as a detection marker for citrus huanglongbing [J]. Frontiers in Microbiology,2017,8:

- 2041.
- [46] CLARK K, FRANCO J Y, SCHWIZER S, et al. An effector from the Huanglongbing - associated pathogen targets citrus proteases [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1718.
- [47] 肖翠, 廖晶晶, 何利刚, 等. 柑橘黄龙病快速诊断与检测技术研究进展[J]. *农业科技通讯*, 2017(12): 341-344.
- [48] 刘燕德, 肖怀春, 孙旭东, 等. 基于高光谱成像的柑橘黄龙病无损检测[J]. *农业机械学报*, 2016, 47(11): 231-238.
- [49] XU F H, HAO Z Q, HUANG L, et al. Comparative identification of citrus huanglongbing by analyzing leaves using laser - induced breakdown spectroscopy and near- infrared spectroscopy [J]. *Applied Physics B*, 2020, 126: 43.
- [50] 程保平, 彭埃天, 宋晓兵, 等. 三种 PCR 方法检测柑橘黄龙病菌的效果比较[J]. *植物保护*, 2014, 40(5): 106-110.
- [51] 赵培娅, 卢占军, 黄爱军, 等. 3 种 qPCR 检测柑橘黄龙病的灵敏度研究[J]. *中国南方果树*, 2016, 45(2): 33-37.
- [52] 李智鹏, 关巍, 黄洋, 等. 柑橘黄龙病菌在寄主体内含量动态变化研究[J]. *果树学报*, 2019, 36(11): 1540-1548.
- [53] 宋晓兵, 黄峰, 崔一平, 等. 柑橘黄龙病菌亚洲种微滴数字 PCR 检测方法的建立[J]. *农学学报*, 2024, 14(1): 39-43.
- [54] HAO G X, STOVER E, GUPTA G. Overexpression of a modified plant thionin enhances disease resistance to citrus canker and huanglongbing (HLB) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1078.
- [55] 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(4/5): 341-353.
- [56] DA ROCHA TAVANO E C, ERPEN L, ALUISI B, et al. Sweet orange genetic transformation with the *attacin A* gene under the control of phloem-specific promoters and inoculation with *Candidatus Liberibacter asiaticus* [J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2019, 94(2): 210-219.
- [57] 彭爱红. NPR 和抗菌基因对柑橘黄龙病的抗性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
- [58] 白晓晶. *CsSAMT-1* 基因在水杨酸信号响应柑橘黄龙病侵染中的功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [59] 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.
- [60] 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: 012080.
- [61] 岑伊静, 叶峻铭, 徐长宝, 等. 柑橘木虱对几种非嗜食植物挥发油的趋性反应测定[J]. *华南农业大学学报*, 2005, 26(3): 41-44.
- [62] 罗忍, 于士将, 丁莉莉, 等. 柑桔木虱防治研究进展[J]. *中国南方果树*, 2016, 45(6): 165-171, 177.
- [63] 张娜, 赵曼, 王关红. 昆虫共生微生物在病虫害防治的研究进展[J]. *植物保护学报*, 2022, 49(1): 220-230.
- [64] 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]// Proceedings of the emerging challenges and opportunities in horticulture supporting sustainable development goals ISH 2018. Bali, Indonesia: Filodiritto Editore, 2018: 80-88.
- [65] 程晓琴, 赵政, 夏长秀, 等. 叶喷和土施化学药剂对柑橘木虱的防效研究[J]. *应用昆虫学报*, 2018, 55(4): 646-653.
- [66] 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.
- [67] 邓明学, 潘振兴, 谭有龙, 等. 广西果园柑橘木虱对毒死蜱等 6 种农药的抗药性监测[J]. *中国植保导刊*, 2012, 32(4): 48-49.
- [68] NAEEM A, FREED S, JIN F L, et al. Monitoring of insecticide resistance in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) from citrus groves of Punjab, Pakistan [J]. *Crop Protection*, 2016, 86: 62-68.
- [69] 张建桃, 陈鸿, 文晟, 等. 柑橘黄龙病热空气快速处理温度场分布特性试验研究[J]. *农业工程学报*, 2017, 33(8): 267-277.
- [70] 贾志成, EHSANI REZA, 郑加强, 等. 柑橘黄龙病蒸汽快速热处理升温特性及田间防治效果[J]. *农业工程学报*, 2017, 33(11): 219-225.
- [71] CHOI C W, HWANG R Y, POWELL C A, et al. Elimination of *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas), the bacterium associated with citrus Huanglongbing in citrus trees by heat treatment [J]. *European Journal of Horticultural Science*, 2020, 85(6): 477-481.
- [72] LEAVITT S. Treatment of HLB-affected citrus using a supplemental heating system [D]. Gainesville, FL: University of Florida, 2015.

- [73] GHATREHSAMANI S, ABDULRIDHA J, BALAF-OUTIS A, et al. Development and evaluation of a mobile thermotherapy technology for in-field treatment of Huanglongbing (HLB) affected trees [J]. Biosystems Engineering, 2019, 182: 1-15.
- [74] 豪银强,汤尚文,于博,等.微波的杀虫灭菌作用及其在食品加工保鲜中的应用[J].湖北文理学院学报,2017,38(8):15-20.
- [75] VARDAXIS N J, HOOGEVEEN M M, BOON M E, et al. Sporicidal activity of chemical and physical tissue fixation methods [J]. Journal of Clinical Pathology, 1997, 50(5): 429-433.
- [76] 彭凯,吴薇,李丽,等.微波杀灭玉米霉菌的工艺优化及品质分析[J].饲料工业,2016,37(11):59-64.
- [77] 张蕊思,安沙舟,施宠,等.微波处理对醉马草内生真菌的杀灭效果及发芽活力的影响[J].核农学报,2016,30(9):1792-1797.
- [78] 张蕊思,安沙舟,施宠,等.微波对披碱草内生真菌的杀灭效果及发芽活力的影响[J].中国草地学报,2016,38(1):100-104.
- [79] 张建桃,刘杰帆,梁家茵,等.长春花感染柑橘黄龙病菌微波热处理防控效果[J].农业工程学报,2024,40(3):211-218.
- [80] 陈先锐,黄志民,林甲胜,等.一种利用微波对柑橘批量脱毒的装置及方法:ZL202310906994.2[P].2023-11-07.
- [81] 李艳,陈复生,杨趁仙.组学技术在木质素降解酶系挖掘中的应用进展[J].食品与发酵工业,2021,47(16):294-299.
- [82] JUMPER J, EVANS R, PRITZEL A, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold [J]. Nature, 2021, 596(7873): 583-589.
- [83] 班允赫,李旭,李新宇,等.利用高通量测序技术对水稻秸秆中、低温降解菌系的比较分析[J].微生物学杂志,2020,40(5):7-17.

Research Progress in Pathogenic Mechanism and Control Technologies of Citrus Huanglongbing

CHEN Xianrui, WU Yanling, LIN Jiasheng, MAO Junru, WU Zhaolong, HUANG Zhimin^{* *}

(National Key Laboratory of Non-Food Biomass Energy Technology, Guangxi Key Laboratory of Advanced Microwave Manufacturing Technology, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China)

Abstract: Citrus Huanglongbing (HLB), caused by *Candidatus Liberibacter* spp., is a highly destructive disease with rapid transmission and high mortality. To date, there is no definitive cure for HLB, which has caused incalculable losses to citrus production areas around the world and seriously threatens the development of the citrus industry. This article reviews the pathogenic mechanisms of the pathogens causing citrus HLB and the research progress in the physical, chemical and biological technologies for the prevention and control of citrus HLB, with the aim of analyzing and discussing the difficulties in the prevention and control of citrus HLB and the future research directions.

Key words: Huanglongbing; pathogen; pathogenic mechanism; prevention and control; microwave

责任编辑:梁 晓