

- nion of Concerned Scientists, 1998: 107 - 136.
- [32] HYDE J, MARSHALL A M, PAUL V P, et al. An economic analysis of non-Bt corn refuges [J]. *Crop Protection*, 2001, 20: 167 - 171.
- [33] ALYOKHIN A, FERRO D N, HOY C W, et al. Laboratory assessment of flight activity displayed by Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) fed on transgenic and cry3a toxin-treated potato foliage [J]. *J Econ Entomol*, 1999, 92: 115 - 120.
- [34] LIU Y B, TABASHNIK B E, DENNEHY T J, et al. Development time and resistance to Bt crops [J]. *Nature*, 1999, 400: 519.
- [35] RAMACHANDRAN S, BUNTIN G D, ALL J N, et al. Survival, development, and oviposition of resistant diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on transgenic canola producing a *Bacillus thuringiensis* toxin [J]. *J Econ Entomol*, 1998, 91: 1239 - 1244.
- [36] ZHAO J Z, COLLINS H L, TANG J D, et al. Development and characterization of diamondback moth resistance to transgenic broccoli expressing high levels of Cry1C [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66: 3784 - 3789.
- [37] METZ T M, TANG J D, SHELTON A M, et al. Transgenic broccoli expressing a *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein: implications for pest resistance management strategies [J]. *J Mol Breeding*, 1995, 1: 309 - 317.
- [38] PATIN A L, DENNEHY T J, SIMS M A, et al. Status of pink bollworm susceptibility to Bt in Arizona [C]// *Proceedings Beltwide Cotton Conferences 1999*. Memphis TN: National Cotton Council of America, 1999: 991 - 996.
- [39] LIU Y B, TABASHNIK B E, MEYER S K, et al. Genetics of pink bollworm resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac [J]. *J Econ Entomol*, 2001, 94: 248 - 252.
- [40] AKHURST R J, JAMES W, BIRD J, et al. Resistance to the Cry1Ac δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *J Econ Entomol*, 2003, 96: 1290 - 1299.
- [41] TABASHNIK B E, CARRIÈRE Y, DENNEHY T J, et al. Insect resistance to transgenic Bt crops: lessons from the laboratory and field [J]. *J Econ Entomol*, 2003, 96 (4): 1031 - 1038.

柑橘鳞皮病研究进展*

吕婵娟¹, 周常勇^{1,2}

(1. 西南大学植物保护学院, 重庆 400716; 2. 中国农业科学院柑橘研究所, 重庆 400712)

摘要 柑橘鳞皮病是 1 种分布在包括南美洲和地中海等广大地区的重要病毒性病害,随着大量国外优良柑橘品种的引进,增加了柑橘鳞皮病随同苗木、接穗传入我国的可能性。本文对柑橘鳞皮病的类型、研究历史、病原、传播方式、检测技术以及防治方法作 1 综述,为今后我国对柑橘鳞皮病的检疫和防治研究提供基础。

关键词 柑橘鳞皮病; 鳞皮病 A; 鳞皮病 B; 检测技术

中图分类号 S 435.131.49

Advances in citrus psorosis

L Chanjuan¹, Zhou Changyong^{1,2}

(1. College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China)

Abstract Psorosis is an important virus disease of citrus in many parts of the world, including South America and the Mediterranean basin. As many citrus varieties are introduced into China, the probability of citrus psorosis occurring in China increases. This paper reviews the pathogen, history, transmission process, identification technology and control of citrus psorosis, offering supports to quarantine and control of citrus psorosis in China.

Key words citrus psorosis; psorosis A; psorosis B; identification technology

柑橘鳞皮病是由柑橘鳞皮病毒(*Citrus psorosis virus*, CPV)引起的一种病毒性病害,主要分布在美

洲和地中海等地区的国家,造成了十分严重的危害^[1-2]。随着对该病害研究的深入特别是分子检测

收稿日期: 2005-08-08

* 本文在完成过程中得到赵学源研究员和周彦博士的指导和帮助,在此深表感谢。

技术的发展,国外对柑橘鳞皮病有了较为全面的认识,然而我国在柑橘鳞皮病方面尚缺乏系统研究。鉴于目前我国大量引进国外优良柑橘品种,增大了柑橘鳞皮病传入我国的可能,因此对鳞皮病应予以较全面研究。本文就目前国内外柑橘鳞皮病的研究进行综述。

1 鳞皮病的类型

一般认为鳞皮病有鳞皮病 A 和 B 两种类型。鳞皮病 B 也被称为环斑病(ring spot)。基于具有相同或相似的嫩叶症状,囊胶病(concave gum)、鸡冠皮病(cristacortis)和石果病(impietatura)被认为与鳞皮病属于同一类群,但它们的病原性质还没有确定;柑橘皱叶病(citrus crinkly leaf)、柑橘杂色花叶病(citrus variegation)亦曾和鳞皮病归于同一类群,但后来实验证明,它们是另外的病毒引起的^[3]。

2 病害的历史

Swingle 和 Webber 最早于 1896 年在佛罗里达观察到柑橘鳞皮病症状,但当时并不了解其病因^[4]。Fawcett 观察到柑橘嫩叶出现花叶并伴随树皮鳞片的症状是由一种病毒引起的,并将该病毒命名为 CPV^[5]。Wallace 等发现了另一种鳞皮病症状,并将引起这种症状的病毒命名为柑橘环斑病毒(*Citrus ringspot virus*, CRSV)^[6]。CPV 和 CRSV 在叶片和树皮上表现类似的症状,但各自的严重程度不同,过去常被视为不同的病害,但现在已被视为同一种病害。

Wallace 报道鳞皮病 A 和鳞皮病 B 间具有交叉保护作用,即在感染了鳞皮病 A 的植株上接种鳞皮病 B,症状会明显减轻^[7]。

3 病原

CPV 属于新成立的蛇形病毒属(*Ophiovirus*),病毒粒子具有裸露的线形核衣壳,直径约 3 nm,可形成卷曲的环(内部可能有盘绕)。Derrick 等报道该病毒粒子包含了 T、B 两个组分^[8],其中 T 组分的长度为 300~500 nm, B 组分为 1 500~2 500 nm,它们能在不同的蔗糖浓度梯度下被分离,能编码包含 48 kD 的衣壳蛋白(CP),只有这两部分同时存在时病毒才具有侵染性。随后的研究表明 CPV 至少包含 3 个组分,即 T1RNA、T2RNA 和 BRNA,基因组总长 11~12 kb,分别为 1.6~1.8 kb、1.5 kb、7.5~

9.0 kb。T1RNA 包含一个 ORF, 编码由 476 个氨基酸组成的分子量约 54kD 的衣壳蛋白; T2RNA 包含一个 ORF, 编码含 436 个氨基酸、分子量约 49 kD 的衣壳蛋白; BRNA 则包含两个 ORF, 分别编码 280 kD 和 24 kD 的衣壳蛋白^[9-11]。

4 寄主范围和症状

柑橘鳞皮病主要危害甜橙、宽皮柑橘和葡萄柚等。鳞皮病 A 引起寄主主干和大枝树皮呈鳞片状开裂,木质部充胶变色,春、秋梢嫩叶呈现橡形叶症状以及沿叶脉褪绿斑纹,少数春梢会表现较轻的休克症状,随叶片老化后症状消失;鳞皮病 B 引起老叶亦显环斑症状,果实呈现环形凹陷斑,树皮症状蔓延快,小枝上呈现木栓化,隆起的浸胶斑点^[12]。另外有报道在加利福尼亚和南美洲等一些地方,一些被柑橘鳞皮病侵染后的植株并不表现症状^[3]。

5 病害传播

鳞皮病除嫁接传播外,还可通过机械方法从柑橘向柑橘或草本植物传播^[2]。Campiglia 等报道^[12],在乌拉圭的 250 株枳橙上有 1% 表现了鳞皮病症状,从而表明鳞皮病可以通过种子进行传播。另外,Levy 等报道 CPV 可通过微内藏菟丝子(*Campestris subinclusa*) 在柑橘与草本植物间进行传播^[4]。柑橘鳞皮病在阿根廷、乌拉圭、印度等国家的自然传播仍然未完全得到证实,但在阿根廷,蚜虫是可能的潜在自然介体。

6 防治方法

通过指示植物鉴定,茎尖嫁接脱毒或热处理获得无鳞皮病母树,培育无病苗木可以有效防治此病。由于囊胶病可以通过枳和枳橙的种子传播,砧木种子、母树也需要通过鉴定无病方可使用^[14]。

7 检测方法和技术

7.1 指示植物鉴定

Wallace 首次用柑橘苗作为指示植物鉴定鳞皮病 A^[6]。常用的木本指示植物有邓肯葡萄柚、墨西哥来檬、甜橙和香檬等。其中,甜橙是最佳的指示植物,症状主要表现为新生叶片褪绿斑驳,呈黄色的环斑和污斑,明脉和叶脉环阻等;常用的草本指示植物有昆诺藜、美丽菜豆、黑眼豇豆等,症状表现为接种叶上产生局部坏死枯斑^[15]。研究表明,木本指示植

物接种后的前 28 d 对症状的表现至关重要,低温更容易促进症状的表现,如鳞皮病 A 在白天最高温度 24~ 27 °C,夜间最低温度 18~ 21 °C 时症状表现最为明显^[4]。

7.2 血清学鉴定

Clark 等利用双抗体夹心 ELISA 法 (DAS-ELISA)^[16], 随后又运用三抗体夹心 ELISA (TAS-ELISA) 法对 CPV 进行检测。在意大利,人们利用 DAS-ELISA 和 TAS-ELISA 对田间苗圃进行 CPV 的实测。Garcia 等制备了多种 CPV 的多克隆和单克隆抗体^[1], 并使用来自佛罗里达的 CtRSV-4 的抗血清对美国、阿根廷、西班牙、意大利的 20 个不同的 CPV 株系进行检测,结果表明,该方法可以检测出大部分株系。但由于该病毒存在多个株系和血清型,所以血清学的方法均不能同时检测鳞皮病的所有株系。Donghia 等用直接组织点免疫法 (DTBIA) 对 CPV 进行了检测^[17-18]。

7.3 分子杂交

Barthe 等发展了基于 CPV 衣壳蛋白基因 (CPG) 的分子杂交检测技术^[8], 利用 ³²P-CDN 探针检测出来自加利福尼亚的 CPV-4 和 CPV-6 等株系。Martin 等^[9] 在其基础上利用探针检测出柑橘环斑病株系 P-121。

7.4 PCR 检测方法

Garcia 等对 CtRSV-4 的 cDNA 片段进行克隆和测序^[1], 并由此设计了一对引物用于检测柑橘鳞皮病的 CtRSV-4、CpSAV90-1 和其他 4 个来自美国和阿根廷的柑橘鳞皮病分离株。Legarreta 根据 T1RNA 和 BRNA 的部分序列设计出了两对引物^[20], 结果 T1 引物能检测出 23 个来自阿根廷、美国自西班牙和意大利的分离株。同年, Barthe 等克隆了 CPV 的 CPG^[8], 并发展了基于 CPG 序列的 PCR 检测方法, 分别扩增出了 600 bp 的部分 CPG 序列和 1 317 bp 完整的 CPG。随后 Legarreta 等^[21] 又在常规 PCR 的基础上发展了半巢式 RT-PCR, 根据 CPV 的 RNA1 设计了一对半引物对来自阿根廷的 6 个株系进行检测, 结果表明这 6 个株系具有很高的同源性, 这种方法与常规 PCR 相比具有更高的灵敏度。最近, Martin 等根据 CPV 的 RNA3 设计了一对引物^[19], 建立了一步法 RT-PCR, 大大缩短了 PCR 的时间。

综上所述, 国外对柑橘鳞皮病的研究起步早, 现对柑橘鳞皮病的发生和检测技术的研究已比较成

熟, 而国内除中国农业科学院柑橘研究所病毒组应用指示植物鉴定该病害外, 尚未涉及该病害的分子检测研究。鉴于该病害的危险性以及植物检疫工作快速检测的需要, 加强对柑橘鳞皮病的研究, 建立一套快速、准确的分子生物学检测技术, 对我国柑橘优良品种的引进和推广安全, 防止柑橘鳞皮病在我国的进一步扩散, 确保我国农业生产安全和对外贸易的顺利进行等方面具有重要意义。

参考文献

- [1] GARCIA M E, SANCHEZ M E, DAL E. et al. Detection of *Citrus psorosis-ringspot virus* using RT-PCR and DAS-ELISA [J]. *Plant Pathology*, 1997 (46): 830-836.
- [2] TIMMER L W, BENATENA H N. Comparison of psorosis and other virus causing leaf flecking in citrus [J]. *Proc Int Soc Citric*, 1977 (3): 930-935.
- [3] ROISTACHER C N. Psorosis: A review [C]// *Proc 11th Conference of the International of Citrus*. IOCV Riverside, 1993: 138-154.
- [4] LEVY L, GUMPF D J. Studies on the psorosis disease of citrus and preliminary characterization of a flexuous virus associated with the disease [C]// *Proc 11th Conference of the International of Citrus*. IOCV Riverside, 1991: 319-336.
- [5] FAWCETT H S. New symptoms of psorosis indicating a virus disease of citrus [J]. *Phytopathology*, 1933: 23-30.
- [6] WALLACE J M, DRAKE R J. Cituange stunt and ringspot, two previously undescribed virus disease of citrus [C]// *Proc 4th Conference of the International of Citrus*, 1968: 177-183.
- [7] DERRICK K S, BRLANSKY R H, GRACA J V et al. Partial characterization of a virus associated with citrus ringspot [J]. *Phytopathology*, 1988 (78): 1293-1301.
- [8] BARTHE, CECCARDI, MANJUNATH, et al. *Citrus psorosis virus*: nucleotide sequencing of the coat protein gene and detection by hybridization and RT-PCR [J]. *Journal of General Virology*, 1998 (79): 1531-1537.
- [9] CARCIA M L, GRAU O, SARACHU A N. Citrus psorosis is probably caused by a bipartite ssRNA virus [J]. *Res Virol*, 1991, 142(4): 303-311.
- [10] CARCIA L M, BOED, GRAU O, et al. The closely related citrus ringspot and citrus and citrus psorosis virus have partides of novel filamentous morphology [J]. *JG Virol*, 1994 (75): 3585-3590.
- [11] GRACIA, LEE R F, MORENO, et al. Comparison of isolates of citrus ringspots, psorosis, and other viruslike agents of citrus [J]. *Plant Disease*, 1991 (75): 613-616.
- [12] CAMPIGLIA H G, SILVEIRA C M, SALIBE A A. Psorosis transmission through seeds of trifoliate orange [C]// *Proc 7th Conference of the International of Citrus*. IOCV Riverside, 1976: 336-340.

- [13] VOGEL R, BOVE J M. Pollen transmission to citrus of the agent inducing cristicortis and psorosis young leaf symptoms [C]// Proc 8th Conference of the International of Citrus. IOCV Riverside, 1979: 484 - 493.
- [14] WALLACE J M. Technique for hastening foliage symptoms of psorosis of citrus[J]. Phytopathology, 1945(35): 535 - 541.
- [15] 李红叶, 陈力耕, 商晗武. 柑橘病毒与类似病毒病的发生与检测技术研究进展[J]. 植物检疫, 1999(6): 364 - 368.
- [16] CLARK M F, ADAMS A N. Characteristics of the microplate method of enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant virus [J]. Journal of General Virology, 1977 (34): 83 - 475.
- [17] DONGHIA A M, DJELOUAH K, ALIOTO D, et al. ELISA correlates with biological indexing for the detection of citrus psorosis-associated virus[J]. Journal of Plant Pathology, 1998 (80): 157 - 163.
- [18] DONGHIA A M, DJELOUAH K, FRASHERI D, et al. Detection of *Citrus psorosis virus* by direct tissue blot immunoassay[J]. Journal of Plant Pathology, 2001 (83): 139 - 142.
- [19] MARTIN, ALIOTO, MILNE G, et al. Detection of *Citrus psorosis virus* by ELISA, molecular hybridization, RT-PCR and immunosorbent electron microscopy and its association with citrus psorosis disease[J]. European Journal of Plant Pathology, 2004 (110): 747 - 757.
- [20] LEGARRETA G G, GARCIA M L, COSTA N, et al. Twenty-three *Citrus psorosis virus* Isolates of different origin detected by RT-PCR(abstract) [C]// Proc 14th Conference of the International of Citrus. IOCV Riverside, 2000: 350 - 352.
- [21] LEGARRETA G G, GARCIA M L, COSTA N et al. A highly sensitive heminested RT-PCR assay for the detection of *Citrus psorosis virus* targeted to a conserved region of the genome[J]. Journal of Virological Methods, 2000 (84): 15 - 22.

灰飞虱体内沃尔巴克氏体生物学特性及其利用展望

仲崇翔, 陈建, 乔静, 杨益众*

(扬州大学农学院植物保护系, 扬州 225009)

摘要 灰飞虱既是传播水稻条纹叶枯病毒的媒介昆虫, 也是我国水稻上的主要害虫。*Wolbachia* 是存在于飞虱等多种昆虫体内的 1 类共生菌, 它们能通过多种机制调节寄主的生殖, 包括诱导细胞质不亲和、孤雌生殖和遗传上的雄性雌性化等。目前对这类微生物的研究已取得了重要进展。本文综述了 *Wolbachia* 在灰飞虱体内的分布、传播方式及其对灰飞虱种群的影响, 并初步探讨了利用其生物防治的可能性。

关键词 灰飞虱; *Wolbachia*; 生物学; 生物防治

中图分类号 S 435.131.49

Biological characteristics of *Wolbachia* in small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* and the prospects for application

Zhong Chongxiang, Chen Jian, Qiao Jing, Yang Yizhong

(Department of Plant Protection, Agricultural College, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract Small brown planthopper is the major vector of rice stripe disease. *Wolbachia* are the endosymbiont of many insect pests, which have evolved various mechanisms for manipulating reproduction of their hosts to enhance their transmission, including induction of reproductive incompatibility, parthenogenesis and genetic male feminization. Great advances have been made in these microbes. This paper reviews the distribution, transmission model and infection of *Wolbachia* in *Laodelphax striatellus*. Their potential for biological control is also discussed.

Key words *Laodelphax striatellus*; *Wolbachia*; biology; biological control

沃尔巴克氏体 (*Wolbachia*) 是存在于节肢动物体内的一种立克次氏体细菌, 其分类地位属原核生物界、细菌门、变形菌纲的 α 亚纲、立克次氏体目、立

克次氏体科、*Wolbachia* 族、*Wolbachia* 属, 在宿主中通过细胞质遗传传给下一代^[1]。据统计, 目前有 15%~20% 的昆虫感染了这类细菌, 遍及昆虫纲的

收稿日期: 2005-08-26

基金项目: 江苏省三项工程资助[SX(2005)032]

* 通讯作者