

槟榔黄化病病原及检测方法研究进展^①

车海彦^② 曹学仁 罗大全^③

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 /

农业部热带农林有害生物入侵监测与控制重点开放实验室 /

海南省热带农业有害生物检测监控重点实验室 海南海口 571101)

摘 要 黄化病是一种严重威胁槟榔生产种植的毁灭性传染性病害, 目前主要在印度和我国槟榔主产区发生。本文从非生物与生物因素两方面对槟榔黄化病病原认识过程及检测方法进行详细的综述。

关键词 槟榔黄化病; 病原; 检测方法

中图分类号 S432.1 **文献标识码** A **Doi:** 10.12008/j.issn.1009-2196.2017.02.016

Research Advances in Pathogenic Detection Technique for Arecanut Yellow Leaf Disease

CHE Haiyan CAO Xueren LUO Daquan

(Environment and Plant Protection Institute CATAS / Ministry of Agriculture Key Laboratory
of Integrated Pest Management on Tropical Crops / Hainan Key Laboratory for Monitoring
and Control of Tropical Agricultural Pests, Haikou, Hainan 571101)

Abstract Arecanut yellow leaf disease is a lethal infectious malady which seriously hampers arecanut production. It occurs mainly in arecanut plantations in India and China. The recognition and detection of the pathogen of the arecanut yellow leaf disease were reviewed from the abiotic and biotic aspects.

Keywords arecanut yellow leaf disease; pathogen; detection methods

槟榔 (*Areca catechu* L.) 为棕榈科多年生常绿乔木, 其果实主要作为咀嚼嗜好品, 并具有药用价值。主要种植在亚洲, 如印度、印度尼西亚、中国、泰国、马来西亚、越南、缅甸、柬埔寨等国家, 我国槟榔主要种植在海南和台湾^[1], 据海南省农业厅统计, 截止 2013 年, 海南种植面积已达 90 886 hm², 占全国的 95% 以上, 是海南省第二大热带经济作物。

槟榔黄化病 (*Arecanut yellow leaf disease*, AYLD) 是一种严重危害槟榔生产种植的毁灭性传染性病害。1914 年, 人们首次在印度的 Kerala 发现 AYLD, 目前该病害仅在印度、中国和斯里兰卡等 3 个国家有报道发生^[2-4]。本文从非生物与生物因素两方面对槟

榔黄化病病原认识过程及检测方法等进行了综述。

1 非生物因素

槟榔黄化病在印度发生后, 人们怀疑该病害可能是一种生理性病害, 对槟榔叶片和土壤中的大量和微量元素、水分等进行研究, 发现上述指标部分发生变化, 但均不能证实上述因素是引起黄化病发生的病因^[5-9]。1985 年 3~4 月份, 俞浩等通过对我国海南万宁、屯昌等地发生黄化的槟榔园调查分析认为, 黄化病是由缺钾引起的生理性病害, 但位于屯昌的海南省药材场部分槟榔园追施钾肥及部分微量元素后未见症状减轻, 到 2001 年时, 该场槟榔黄化病发生面积已有由 1981 年的 6.67 hm² 扩展到

① 基金项目: 农业科技成果转化资金项目 (No. 2014GB2E200114); 海南省重大科技计划项目 (No. ZDZX2013019)。

收稿日期: 2016-09-18; 责任编辑/郑淑娟; 编辑部 E-mail: rdnk@163.com。

② 车海彦 (1976~), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为植物病毒与植原体病害, E-mail: chehaiyan2012@126.com

③ 通讯作者: 罗大全 (1968~), 男, 研究员, 研究方向为植物保护, E-mail: luodaquan@163.com。

23.3 hm² 以上^[10-11]。

2 生物因素

2.1 螨虫

Khandige 等^[12]首次在感染黄化病的病叶中发现螨虫,认为螨虫与黄化病发生相关。Menon 等^[13]研究表明由螨虫引起的黄叶可以通过喷施对硫磷消除症状,证明螨虫不是黄化病病原。

2.2 真菌

Menon^[14]和 Anonymous^[15-16]先后从感病槟榔的不同部位分离出色二孢(*Diplodia* sp.)、尾孢(*Cercospora*)、镰刀菌(*Fusarium* sp.)、木霉(*Trichoderma* sp.)、曲霉(*Aspergillus* sp.)、盘多毛孢菌(*Pestalotia* sp.)等多个属的真菌,但将它们回接到幼苗上均不能引起黄化病。Rawther^[17]发现感病的植株根部大多腐烂,推测该病害由真菌引起。此后研究发现,根腐与黄化病没有关系,健康与感病叶片上的真菌种类也未见显著差异,说明黄化病与真菌无关^[18-19]。

2.3 细菌

1962~1964年,印度科研人员从病树的根部分离到 *Bacillus*, *Xanthomonas* 和 *Serratia* 细菌,但接种槟榔苗上,未表现黄化病症状^[20-21]。Srivastava 等^[22]观察到感病槟榔根部存在细菌菌流,认为与黄化病相关,并从中分离出2个菌株,其中1个被鉴定为假单孢菌。人们对槟榔园中的细菌进行研究发现,感病的槟榔园中细菌数量远多于健康的槟榔园,来自印度 Palode 地区大约70%感病的槟榔样品根部发现细菌菌流,来自 Mohitnagar 地区的大约20%健康样品根部发现细菌菌流,但是来源于 Vittal 地区的健康样品根部没有发现细菌菌流^[23-24]。尽管人们对细菌与黄化病发生的关系做了大量研究,但未见关于用柯赫氏法则验证细菌与黄化病发生关系的文献报道。

2.4 线虫

Nair^[25]在印度 Kerala 地区感染黄化病的槟榔根区发现爪哇根结线虫(*Meloidogyne javanica*),螺旋属线虫(*Helicotylenchus*)和矮化属线虫(*Tylenchorhynchus*),首次提出线虫与黄化病的关系。随后科研人员从健康和感病槟榔园中分离到螺旋属线

虫(*Helicotylenchus*)、真滑刃线虫属(*Aphelenchus*)等多个属的线虫^[26-28]。1974年到1979年间,印度的 Central Plantation Crops Research Institute 对 Kerala, Karnataka 和 Tamil Nadu 地区的槟榔园中的线虫种类和数量等做了大量的调查研究工作,从435份土壤样品和822份根部样品中分离到28个属的植物寄生线虫,其中肾线虫(*Rotylenchulus reniformis*)、香蕉穿孔线虫(*Radopholus similis*)、双宫螺旋线虫(*Helicotylenchus dihystra*)、芒果拟鞘线虫(*Hemicriconemoides mangiferae*)、塞氏纽带线虫(*Hoplolaimus seinhorsti*)在土壤样品中数量最多。香蕉穿孔线虫(*Radopholus similis*)在根部样品中数量最多,病根每克根最多产生440个线虫,而健康根每克最多产生48个线虫^[29-31]。Sundararaju^[32]用杀线虫剂处理槟榔园后,黄化病的发生率降低,产量提高。Koshy 等^[33]将感病槟榔根部分离的香蕉穿孔线虫接种到健康槟榔苗上,经过2年观察发现,与对照相比,接种的幼苗叶片变为橙色,根部坏死,植株长势差、高度低、树冠变小,叶片数量少。再将从感病幼苗根部分离的香蕉穿孔线虫回接到健康槟榔树上,经过3年的观察发现,与对照相比,接种树的根变短、根重变低、叶片数量变少、树冠变小等。接种幼苗和大树虽然表现感病症状,但未出现槟榔黄化病的田间典型表现症状。

2.5 病毒

Menon^[34-36]通过纸层析的方法在感病叶片汁液中发现具有活性的核蛋白,将免疫获得的兔血清与感病槟榔叶片粗提纯液进行免疫反应,有沉淀产生,该病害能通过汁液或土壤传播到槟榔和指示植物豇豆(*Vigna unguiculata*)、洋刀豆(*Canavalia ensiformis* D. C.)等上,推测病毒或类病毒可能是引起该病害的病原。Nayar^[37]通过组织病理学研究发现,槟榔感病后组织学上发生的变化与病毒侵染后引起的变化相似。

2.6 植原体

2.6.1 植原体病原认识过程

植原体(Phytoplasma)原称类菌原体(Mycoplasma-like organisms, MLOs),无细胞壁,由生物膜包围,隶属于细菌界(Bacteria)。1971年,Nayar^[38]从感病槟榔植物叶组织培养到疑似植原体的生物,

首次提出植原体与黄化病相关。1978年, Nayar 和 Seliskar^[39]通过电子显微镜首次在感病槟榔的筛管组织中发现植原体。随后其他研究者也在感病槟榔植株多个器官的筛管组织中观察到植原体, 含量由高到低依次为顶端分生组织、根尖、叶轴、叶柄、心叶, 成熟的老叶中含量较低^[40-42]。利用 Di- enes 和 DAPI 等染色剂, 通过光学显微镜观察, 也进一步证实了感病植株筛管组织中存在植原体^[43]。Nair & Daniel^[44]发现感病的槟榔园中存在与植原体病害传播相关的甘蔗斑袖蜡蝉(*Proutista moesta*)。Ponnamma 等^[45-47]将田间捕获的甘蔗斑袖蜡蝉在感病植株上获毒饲育后, 再将其投放到健康植株上, 在甘蔗斑袖蜡蝉的唾液腺中观察到植原体。从 1987 年 5 月到 1990 年 10 月, 通过持续的实验研究, 发现 6 株经树蝉传毒的槟榔均表现叶片黄化症状, 其中在 5 株中观察到植原体存在, 空白对照样品中均未发现植原体。随着分子生物学技术的发展, 采用巢式或半巢式 PCR 技术, Manimekalai^[48-49]从印度的 Karnataka 的 Sullia 地区采集发病样品, 提取了感病植株花序、根部和叶片样品的 DNA, 克隆了 16S rDNA 和 secA 基因, 通过序列分析确定印度槟榔黄化植原体病原归属于 '*Candidatus Phytoplasma oryzae*'-related strain' (16SrXI 组)。Muddumadiah 等^[50]也从上述地区采集样品, 扩增得到的 16S rDNA 序列, 经克隆测序分析发现该植原体属于 '*Candidatus Phytoplasma asteris*' (16SrI 组)。

我国自 1981 年在海南屯昌首次发现黄化病以来, 科研人员对病原开展了一系列的研究工作。金开璇等^[11]通过电镜观察, 在槟榔黄化病病株中发现类细菌和类菌原体。罗大全等^[51-53]通过电镜在感病槟榔筛管组织中观察到植原体, 未发现类细菌, 经四环素注射可以抑制病情发展, 这与植原体对四环素族抗菌素反应是一致的, 利用植原体通用引物对, 在表现黄化症状的样品中通过 PCR 技术扩增到植原体特异条带, 进一步证实植原体是引起黄化病的病原, 但是用椰子致死性黄化病病原特异性扩增引物对在槟榔黄化样品中扩增不到特异片段。车海彦等^[54]通过对采集自屯昌、琼海、定安、万宁、三亚等 5 个市县的 15 个感病植株的花苞进行 PCR 检测, 在 15 个样品的花苞 DNA 中均扩增到植原体

16S rDNA, 通过分析确定该植原体病原属于 16SrI-G 亚组。周亚奎等^[55]采集海南 3 个市县 28 个感病样品, 在 9 个叶片样品中检测到植原体, 经 PCR 检测克隆测序分析, 该植原体属于 16SrI-B 亚组。未有研究证实海南槟榔黄化病样品中存在上述两种植原体的复合侵染。杨文君等^[56]克隆了海南琼海的槟榔黄化植原体膜蛋白基因(AcPmp)编码区, 构建原核表达载体, 并制备了效价高、特异性强的抗血清。唐庆华等^[57]在对海南槟榔园中传毒昆虫调查中发现印度报道的甘蔗斑袖蜡蝉, 该虫在槟榔园中属常见昆虫, 但未确定其是否为海南槟榔黄化病的传毒昆虫。刘慧娟^[58]利用 RAPD 扩增体系, 将海南槟榔分为两种类型。两种类型均有非病区样品分布, 但是两种类型中的槟榔群体, 在发病时间和发病程度上存在一定的差异。第一类型槟榔群体发病较重、较早; 第二类型中非病区槟榔群体较多。科研人员还对槟榔树感染黄化病后, 体内发生的变化进行了研究, 槟榔感病后, Cu 含量升高, 叶片中 Ca、Mg、Zn、B、Mo、Fe、Mn 含量降低^[59-60], 植株中相关酶活性、蛋白含量、激素含量等也发生了变化^[61]。植株中核酮糖 1, 5-二磷酸羧化/加氧酶和蕈状支原体高同源蛋白, 可能参与了槟榔黄化病发生和发展过程^[62]。

2012 年, 人们在斯里兰卡南部的槟榔树上发现黄化病, Kanatiwela-de Silva 等在斯里兰卡的马特勒(Matara)地区采集疑似感染黄化病的槟榔叶片样品, 通过扫描电子显微镜, 在感病槟榔叶片筛管组织的内表面观察到直径在 100~1 000 nm 的植原体, 进一步通过巢式 PCR 扩增植原体 secA 基因, 经克隆测序分析发现该植原体属于 16SrXIV 组^[4]。

2.6.2 植原体病原检测技术

槟榔黄化病田间主要根据其症状表现进行识别: 发病初期, 植株下部倒数第 2~4 张羽状叶片外缘 1/4 处开始出现黄化, 然后逐渐向叶中扩展, 黄化部分与绿色部分有明显的分界, 新抽生的叶片短小, 无法正常舒展长大, 节间变短, 抽生的花穗短小。

随着科技水平的提高, 人们开始使用血清学方法对槟榔黄化植原体病原进行检测, 2011 年, Rajeev 等^[63]将从感病槟榔中纯化的植原体, 免疫免

子, 获得多克隆抗体, 经琼脂双扩散和抗原直接包被法检测证明, 制备的抗体可以区分健康和感病植株。

常规 PCR 经常检测不到槟榔黄化植原体病原, 科研工作者大多使用巢式、半巢式和实时荧光 PCR 对病原进行检测, 车海彦等^[54]、周亚奎等^[55]利用植原体通用引物 R16mF2/R16mR1 和 R16F2/R16R2 对海南槟榔黄化植原体病原进行检测, 扩增到大小约 1 200 bp 的特异条带。Manimekalai 等^[49-50]利用植原体通用引物 P1/P7-R16F2n/R16R2、根据椰子根萎蔫植原体设计的引物 1F7/7R3-1F7/7R2 和 4Fwd/3Rev-4Fwd/5Rev 对印度槟榔黄化植原体病原进行检测, 分别扩增到大小约为 1 200 bp、500 bp 和 1 100 bp 的特异条带。Kanatiwela-de Silva 等^[4]利用引物 SecAfor1/SecArev3 (植原体通用引物) 和 RicesecAfor2/RicesecArev3 (植原体 16SrXI 与 16SrXIV 组特异引物), 对斯里兰卡槟榔黄化植原体病原进行巢式 PCR 检测, 扩增到大小为 420 bp 的特异条带。车海彦等^[64]基于海南槟榔黄化植原体 (16SrI 组) 16S rRNA 基因设计 1 对特异性引物和 TaqMan-MGB 探针组合, 建立了海南槟榔黄化植原体的实时荧光 PCR 快速检测方法。Nair 等^[65-66]基于印度槟榔黄化植原体 (16SrXI 组) 16S rRNA 基因建立起适合检测槟榔黄化植原体的 SYBR green 法建立实时荧光 PCR 检测体系和 LAMP 技术体系。上述方法简单、快速, 适合病害的田间快速诊断、种苗繁育过程中进行快速检测。

参考文献

- [1] 陈君, 马子龙, 覃伟权, 等. 世界槟榔产业发展概况[J]. 中国热带农业, 2009(06): 32-34.
- [2] Nambiar K K. A survey of arecanut crop in Indian Union: Indian Central Arecanut Committee [J]. Calicut; 1949. 76.
- [3] 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(3): 43-46.
- [4] Kanatiwela-de Silva C, Damayanthi M, Silva R D, 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): 1 641.
- [5] Yadava R B R, Vellaichamy K, Mathai C K. Role of nutrient elements and their deficiency symptoms with reference to arecanut [J]. Arecanut and Spices Bulletin, 1972, 3: 4-7.
- [6] Rawther T S S, Abraham K J. Effect of application of macro and micronutrients and irrigation on the incidence of yellow leaf disease of arecanut [J]. Journal of Plantation Crops 1 (S), 1974: 127-128.
- [7] Nayar R. Yellow leaf disease of arecanut: Virus pathological studies [J]. Arecanut and Spices Bulletin, 1976, 8: 25-26.
- [8] Mohapatra A R, Bhat N T, Harish kumar P. Yellow leaf disease of arecanut: Soil fertility studies [J]. Arecanut and Spices Bulletin, 1976, 8: 27-31.
- [9] Gurumurthy K T, Ramaswamy G R. Role of major and micro nutrients on the incidence of yellow leaf disease of arecanut. [J]. Plant Disease Research, 2000: 220-222.
- [10] 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.
- [11] 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, 560.
- [12] Khandige S B, Patel G I, Bavappa K V A. Preliminary observations on the yellow leaf disease of arecanut palm [J]. Arecanut J, 1957, 8: 61-62.
- [13] Menon R. Yellow leaf disease and mites [J]. Arecanut J, 1960: 58-59.
- [14] Menon R. Cercospora arecae Menon sp [J]. Arecanut J. 1959, 10: 108-109.
- [15] Anonymous. Annual Report of Regional Arecanut Research Station, Palode for the year 1962-63 [R]. Kasaragod: Indian Central Arecanut Committee, 1963: 6-7.
- [16] Anonymous. Annual Report for 1975 [R]. Kasaragod: Central Plantation Crops Research Institute, 1976: 215.
- [17] Rawther T S S. Yellow leaf disease of arecanut: Symptomatology, bacterial and pathological studies [J]. Arecanut and Spices Bulletin, 1976 (9): 20-24.
- [18] Anonymous. Annual Report for 1976 [R]. Kasaragod: Central Plantation Crops Research Institute, 1977: 116-119.
- [19] Anonymous. Annual Report for 1984 [R]. Kasaragod: Central Plantation Crops Research Institute,

- 1985; 213.
- [20] Anonymous. Annual report of regional arecanut research station, Palode for the year 1962-63 [R], Indian Central Arecanut Committee. 1963; 6-7.
- [21] Anonymous. Annual report of regional arecanut research station, Palode for the year 1963-64 [R], Indian Central Arecanut Committee, 1964: 7-8.
- [22] Srivastava D N, Rao Y P, Mohan S K. Note on bacterial association with roots of Arecanut Palm infected with the yellow leaf disease [J]. Indian Journal of Agricultural Science, 1970, 40(11): 1021-1023.
- [23] Bopaiah B M. Root region microflora of arecanut [A]. In: Proc. Placrosym II 1979 [C]. Kasaragod: Indian Society for Plantation Crops, 1979: 89-92.
- [24] Anonymous. Annual report for 1973 [R]. Kasaragod: Central Plantation Crops Research Institute, Kasaragod, 1974: 183.
- [25] Nair R B. Nematodes of arecanut soils [J]. Arecanut J. 1964(15): 87-88.
- [26] Weischer B. Plant parasitic nematodes [J]. Report to the Government of India. UNDP, FAO. No. TA. 2322 of the United Nations, 1967.
- [27] Swamy S C N, Parvatha reddy P. Plant parasitic nematodes from areca rhizosphere in Mysore State [J]. Mysore Journal of Agricultural Sciences. 1969(3): 350-352.
- [28] Kumar A C, Kasiviswanathan P R, Souza G I D. A study on plant parasitic nematodes of certain commercial crops in coffee tracts of South India [J]. Indian Coffee, 1971(36): 1-3.
- [29] Sundararaju P, Koshy P K. Distribution of phytonematodes on arecanut in south india [A]. Abstracts of paper presented in Silver Jubilee Arecanut Research [C]. Vittal; CPCRI, 1982: 25.
- [30] Koshy P K, Sosamma V K, Sundararaju P. Yellow leaf disease: nematological studies [J]. Arecanut and Spices Bulletin, 1976(8): 37-41.
- [31] Koshy P K, Sosamma V K. Indentification of the *physiological race* of *Radopholus similis* populations infesting coconut, arecanut and banana in Kerala, South India [J]. Indian Phytopathology. 1977 (30): 415-416.
- [32] Sundararaju P. Studies on the burrowing nematode of arecanut [D]. Trivandrum: University of Kerala, 1984: 133.
- [33] Koshy P K, Sundararaju P. Pathogenicity of *Radopholus similis* on areca catechu [A]. Abstracts of paper presented in Third International Symposium on Plant pathology [C]. New Delhi: IARI, 1981: 271.
- [34] Menon R. Serological tests on yellow leaf disease of arecanut [J]. Arecanut J, 1960(11): 12-13.
- [35] Menon R. Biochemical studies on the yellow leaf disease on arecanut palms [J]. Arecanut J, 1961 (12): 16-21.
- [36] Menon R. Transmission of Yellow Leaf Disease [J]. Journal of Phytopathology, 1963, 48: 82-88.
- [37] Nayar R. Histopathogenic studies in *Areca catechu* Linfected with yellow leaf disease [J]. Journal of Phytopathology, 1968, 61(1): 34-34.
- [38] Nayar R. Etiological agent of yellow leaf disease of *Areca catechu* [J]. Plant Disease Reporter, 1971 (55): 170-171.
- [39] 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.
- [40] Selsikar C E, Wilson C I. Yellows diseases of trees In: Mycoplasma diseases of Trees and shrubs [M]. Academic Press, 1981: 43-44
- [41] Anonymous, Annual Report for 1983 [R]. Kasaragod : Central Plantation Crops Research Institute, 1983: 25.
- [42] Rajeev G. Studies on the phytoplasmal etiology of yellow leaf disease of arecanut (*Areca catechu* L.) [D]. Trivandrum: University of Kerala, 2003: 160.
- [43] Anonymous, Annual Report for 1985 [R]. Central Plantation Crops Research Institute, Kasaragod, India. 1985: 13.
- [44] Nair C P R, Daniel M. Pests; In the arecanut palm [M]. Kasaragod: Central Plantation Crops Research Institute, 1982: 179.
- [45] Ponnammam K N, Rajeev G, Solomon J J. Detection of Mycoplasma-like organisms in proutista moesta (Westwood) a putative vector of yellow Leaf disease of arecanut [J]. Plantation Crops, 1991, 19 (1): 63-65.
- [46] Ponnammam K N, Rajeev G, Solomon J J. Evidences for

- transmission of yellow leaf disease of arec palm, *Areca catechu* L. by proutista moesta (westwood) (homoptera: derbidae) [J]. Journal of Plantation Crops, 1997, 25(2): 197-200.
- [47] Ponnamm K N. Studies on Proutista moesta (Westwood): Population dynamics, control and role as a vector of yellow leaf disease of arecanu [D]. Trivandrum: University of Kerala, 1994: 153.
- [48] Manimekalai R, Kumar R S, 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.
- [49] 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): 1 376-1 382.
- [50] Muddumadiiah C, Kumar S, Manimekalai R, 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.
- [51] 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.
- [52] 罗大全, 陈慕容, 叶沙冰, 等. 海南槟榔黄化病与椰子致死性黄化病的病原关系初探 [J]. 热带农业科学, 1998, 8(6): 21-24.
- [53] 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.
- [54] 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.
- [55] 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.
- [56] 杨文君, 余乃通, 张雨良, 等. 槟榔植原体膜蛋白基因的克隆及其抗血清制备 [J]. 热带作物学报, 2014, 35(11): 2 243-2 248.
- [57] 唐庆华, 朱 辉, 宋薇薇, 等. 槟榔黄化病媒介昆虫的研究进展 [C]. 病虫害绿色防控与农产品质量安全 - 中国植物保护学会 2015 年学术年会论文集, 2015: 523.
- [58] 刘慧娟. 海南槟榔种质遗传多样性与槟榔黄化病发生关系研究 [D]. 海口: 海南大学, 2010: 1-63.
- [59] 卢丽兰, 甘炳春, 许明会, 等. 槟榔叶片 Ca、Mg 含量变化对产量、生长年限、黄化病的影响 [J]. 西南农业学报, 2011, 24(1): 244-247.
- [60] 卢丽兰, 甘炳春, 魏建和, 等. 槟榔叶片产量水平、生长年限、黄化病对叶片微量元素含量的影响 [J]. 华北农学报, 2010, 25(s): 160-164.
- [61] 陶明福. 槟榔黄化病植株生理生化指标比较分析 [D]. 海口: 海南大学, 2010: 1-67.
- [62] 曾莉娟, 李 涛, 王健华, 等. 槟榔黄化病叶片差异表达蛋白筛选与鉴定 [J]. 热带作物学报, 2010, 31 (8): 1298-1302.
- [63] Rajeev G, Prakash V R, Mayil Vaganan M, et al. Microscopic and polyclonal antibody-based detection of yellow leaf disease of arecanut (*Areca catechu* L.) [J]. Archives of Phytopathology & Plant Protection, 2011, 44(11): 1093-1104.
- [64] 车海彦, 罗大全. 一种检测槟榔黄化病植原体病原的方法及其专用试剂盒: 中国, ZL200910077044.3 [P]. 2011-10-05.
- [65] 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.
- [66] 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]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32(7): 1-7.