

国家种质库保存大豆和菜豆种质的种传病毒检测

韩俊丽^{1,2}, 郭庆元¹, 杨知还², 张 煜^{2,3}, 王晓鸣²

(¹新疆农业大学, 乌鲁木齐 830052; ²中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081; ³河南农业大学, 郑州 450002)

摘要:以国家种质中期库提供的300份大豆、100份菜豆种质为材料,分别采用血清学和分子生物学方法,对种传病毒的种类进行了检测。结果表明:在大豆种质中检测出大豆花叶病毒(SMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)、苜蓿花叶病毒(AMV)3种病毒,阳性检出率分别为25.33%(76份)、13.67%(41份)和4.67%(14份)。大豆种质中还存在大豆花叶病毒与黄瓜花叶病毒、大豆花叶病毒与苜蓿花叶病毒的复合侵染。在菜豆种质中检测出菜豆普通花叶病毒(BCMV)阳性材料92份,种质带毒率高达92%。这些信息将会对今后采取相关措施提高国家种质库保存的豆类种质的质量提供帮助。

关键词:大豆; 菜豆; 种质; 种传病毒; 检测

Detection of Seed-Borne Viruses in Soybean and Common Bean Seeds Conserved in the National Crop Genebank

HAN Jun-li^{1,2}, GUO Qing-yuan¹, YANG Zhi-huan², ZHANG Yu³, WANG Xiao-ming²

(¹ Xinjiang Agricultural University, Urumchi 830052; ² Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/The National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Beijing 100081; ³ Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)

Abstract: In this study, 300 soybean and 100 common bean germplasm conserved in National Crop Genebank were screened for seed-borne viruses by serological and molecular biological methods. For the soybean germplasms, 76(25.33%), 41(13.67%) and 14(4.67%) were positive to soybean mosaic virus(SMV), cucumber mosaic virus(CMV), and alfalfa mosaic virus(AMV) respectively. Some were infected by two viruses, such as SMV and CMV, or SMV and AMV. In common bean 92% were infected by bean common mosaic virus(BCMV). These information will be useful to understand the status of seed-borne viruses in leguminous crops in genebank and to take measures for control virus diseases during seed reproductions in field.

Key words: Soybean; Common bean; Germplasm; Seed-borne viruses; Detection

豆科作物是重要的农作物种类,普遍存在田间病害发生种类多、危害严重以及种子带毒率高的问题。豆科作物病毒病在我国各地均有发生,发病中等严重的田块一般减产30%左右,严重影响豆科作物的产量、品质和商品价值。据不完全统计,能够侵染豆科作物的病毒有130余种,其中侵染3种以上豆科作物的病毒53种,侵染2种豆科作物的病毒18种,仅记述侵染1种豆科作物的病毒为60种,而能够通

过种子传播的病毒有40多种^[1]。在大豆生产中,自然侵染大豆的病毒有40余种,人工接种条件下则有70多种病毒可侵染大豆^[1,5]。在大豆上最常见的种传病毒有大豆花叶病毒(soybean mosaic virus, SMV)、黄瓜花叶病毒(cucumber mosaic virus, CMV)、苜蓿花叶病毒(alfalfa mosaic virus, AMV)和花生矮化病毒(peanut stunt virus, PSV)。大豆花叶病毒在我国大豆品种上的种传率为0~38%^[6],一般引起减产10%~

收稿日期:2009-05-19

修回日期:2010-01-07

基金项目:国家科技支撑计划(2006BDAD13B10-02)

作者简介:韩俊丽,硕士研究生,研究方向为种子健康检测

通讯作者:王晓鸣,研究员,主要从事作物抗病性和种子健康研究。E-mail:wangxm57@sina.com

30%。黄瓜花叶病毒在大豆上的种传率为31%~100%,人工接种也可侵染菜豆^[7]。菜豆莢斑驳病毒(bean pod mottle virus,BPMV)是美国大豆生产中的另一个重要种传病毒,种传率一般低于0.1%^[8-9],但在田间却可造成3%~52%的产量损失并明显降低大豆的品质^[10-11];如果菜豆莢斑驳病毒与大豆花叶病毒混合侵染大豆,可造成高达85%的大豆产量损失^[5,9]。在迄今已知的34种自然侵染菜豆属植物的病毒中,菜豆普通花叶病毒(bean common mosaic virus,BCMV)的发生最为广泛,对生产影响极大^[12]。1988年,美国农业部的研究表明,在其所收集保存的菜豆属种质中,约有60%的菜豆种质被菜豆普通花叶病毒所感染,一些菜豆种质中的种子带毒率甚至高达93%^[13],而田间最高发病率达到80%,生产损失50%~64%。

病毒在豆类作物田间繁种时侵染种子,导致种子出现种皮皱缩、斑驳,种子畸形等可见症状,但也有许多并不在种子上形成明显的病害症状,因而很难在入国家库种子的筛选过程中淘汰所有带病毒种子。这些病毒随种子入库保存而进入到一个低温环境后可在种子上长期存活,对保存种质的活力、遗传完整性可能会产生不利影响;同时,数十年后带病毒种质在田间更新繁殖时会产生病害扩散问题,对未来农业生产造成潜在的威胁。已有证据表明,在室温条件下,大豆种子中携带的烟草环斑病毒(tobacco ring spot virus)能够在种子中长期存活,6年后其侵染力几乎保持不变^[14],种子中的菜豆普通花叶病毒在种子保存30年后仍具有侵染力。若在低温干燥的保存环境下,种子上所携带的病毒的存活时间将更长^[15]。鉴于种传病毒对种子贮藏安全的潜在影响,美国国家种质库已对库存豌豆种质进行了全面更新繁种,以彻底清除所携带的豌豆花叶病毒。国际热带农业研究中心(CIAT)为解决菜豆种子所携带的病毒问题,正采用隔离繁种措施全面更新库存的2万余份菜豆属种质。国际干旱农业研究中心(蚕豆、小扁豆、鹰嘴豆)、国际干旱农业研究所(豇豆)也开展了重新繁种保存工作。

关于种传病毒的检测,传统的是采用生长检测法(growing out testing),待从种子长出幼苗后,根据症状进行病毒病的鉴别,然后可以采用指示植物法、血清学法等检测技术进行种传病毒的检测^[16]。近20年来,对植物病毒病的快速检测方法发展迅速,特别是基于病毒分子序列的检测技术已得到广泛应用,可以用于对带症新鲜植物组织(包括新鲜种子)的快速鉴定。但针对成熟的干种子,仅有Sáiz等^[17]

研究了用分子检测方法鉴定菜豆种子中菜豆普通花叶病毒的技术。本课题先后针对大豆种传的大豆花叶病毒和菜豆种传的菜豆普通花叶病毒开展了干种子直接快速检测的研究^[18-19]。

种质健康是种质安全保存的重要基础之一,而同时,种传病原物的存在又是种质安全保存的重大隐患之一。因此,研究和分析不同种类、不同地域来源的人库保存种质的健康状况和特点,将会为针对不同病毒采取田间控制措施、提高入库种质质量、延长种质保存期限提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试种质:300份大豆和100份菜豆种质分别由中国农业科学院作物科学研究所大豆种质资源课题组和食用豆种质资源课题组从国家种质资源中期库提供。

供试毒源:作为鉴定中的阳性对照,大豆花叶病毒由本实验室保存,黄瓜花叶病毒由中国农业科学院蔬菜花卉研究所植保室提供,菜豆普通花叶病毒从田间采集并鉴定。水作为鉴定中的阴性对照。

1.2 试验方法

1.2.1 检测样本处理 与常规研究不同,由于种质资源属于种子数量有限的研究样本,因此每份材料仅从国家作物种质库保存种子中取50粒种子,从中随机取10粒种子作为研究样本,将该样本放入粉碎机中完全破碎至粉末,然后取1g粉碎样本进行血清学检测;剩余样本封存并保留在-70℃条件下,用于分子检测。

1.2.2 血清学检测 采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行种子携带大豆花叶病毒、黄瓜花叶病毒、苜蓿花叶病毒和菜豆普通花叶病毒的检测。取粉碎的种子样本,加入抽提缓冲液制备病毒粗提液,具体操作参照美国AC Diagnostics公司提供的ELISA试剂盒说明。大豆花叶病毒、菜豆普通花叶病毒的检测采用双抗体夹心法(DAS-ELISA),黄瓜花叶病毒、苜蓿花叶病毒的检测采用三抗夹心法(TAS-ELISA)。检测试剂购自美国AC Diagnostics公司,检测用酶标仪为RT-2100C型酶标仪(雷杜公司)。检测设2次重复。

1.2.3 ELISA结果判定标准 ELISA检测终止反应1h后,在酶标仪405nm处读取OD值,在满足阴性对照孔OD₄₀₅值<0.15、阳性对照孔OD₄₀₅值/阴性对照孔OD₄₀₅值>5~10、孔的重复性基本一致的质量要求后,样品OD₄₀₅值/阴性对照OD₄₀₅值明显>2,则判为阳性。

1.2.4 分子检测 采用 RT-PCR 方法对全部 ELISA 检测阳性的种质样本以及随机抽取的部分 ELISA 检测阴性的种子样本进行分子检测。大豆花叶病毒和菜豆普通花叶病毒的 RNA 提取、引物序列、RT-PCR 方法、反应条件等参见王杰等^[18-19]方法,扩增产物分别为

218bp 和 714bp。黄瓜花叶病毒的特异性引物根据 NC-BI GenBank 收录的黄瓜花叶病毒 CP 基因序列(登录号:D00462)并应用 Primer Premier 5.0 软件进行设计,理论扩增产物大小为 491bp。3 种病毒特异扩增引物由上海生工生物工程有限公司合成(表 1)。

表 1 大豆花叶病毒、黄瓜花叶病毒、菜豆普通花叶病毒的特异性引物

Table 1 Specific primers of soybean mosaic virus, cucumber mosaic virus and bean common mosaic virus

病毒 Virus	引物序列 Primer sequence		扩增片段大小(bp) Size
	上游引物(Forward)	下游引物(Reverse)	
SMV	ATCCGCTGAAACCCATT	TTCCCTTGCCCTGTIT	218
CMV	TTTGTAGGGAGTGAACGC	CGGAATCAGACTGGGAGC	491
BCMV	TGCAATCTGGAAAGCACA	CAAACAACTTGCTGCTAACG	714

2 结果与分析

2.1 大豆种子的种传病毒

2.1.1 大豆花叶病毒 利用 DAS-ELISA 检测 300 份供试大豆种质样品,72 份大豆种质呈阳性,占总检测量的 24.67%,检测阳性材料见表 2。对 72 份血清学检测表现阳性的大豆种质进一步进行 RT-PCR 检测时(图 1),发现其中 65 份的 RT-PCR 检

测为阳性,而有 7 份种质呈阴性,ELISA 和 RT-PCR 的检测符合率为 90.28%。

从 ELISA 检测呈阴性的大豆种质中随机抽取 20 份吸光度数值较高、接近阳性数值的样本进行 RT-PCR 检测,其中 4 份检测为阳性。

通过 2 种方法的检测,在 300 份样本中共检测到被大豆花叶病毒感染的大豆种质 76 份,占 25.33%。

表 2 ELISA 和 RT-PCR 方法检测大豆种传的大豆花叶病毒

Table 2 Detecting soybean mosaic virus in soybean seeds by ELISA and RT-PCR

样本号 No. of sample	DAS-ELISA	RT-PCR	样本号 No. of sample	DAS-ELISA	RT-PCR	样本号 No. of sample	DAS-ELISA	RT-PCR
07N60003	+	+	07N60077	+	+	07N60185	+	+
07N60008	+	+	07N60080	+	+	07N60189	+	+
07N60018	+	+	07N60081	+	+	07N60196	+	+
07N60022	+	+	07N60089	+	+	07N60201	+	+
07N60027	+	-	07N60092	+	+	07N60211	+	+
07N60028	+	+	07N60093	+	+	07N60212	+	+
07N60048	+	+	07N60094	+	+	07N60213	+	+
07N60049	+	+	07N60100	+	+	07N60218	+	+
07N60050	+	+	07N60102	+	+	07N60221	+	+
07N60052	+	+	07N60106	+	+	07N60222	+	+
07N60055	+	+	07N60108	+	+	07N60230	+	+
07N60056	+	+	07N60113	+	+	07N60234	+	+
07N60057	+	+	07N60114	+	+	07N60246	+	+
07N60059	+	-	07N60126	+	+	07N60256	+	+
07N60060	+	+	07N60133	+	+	07N60279	+	+
07N60061	+	+	07N60147	+	+	07N60282	+	+
07N60062	+	+	07N60148	+	+	07N60283	+	+
07N60063	+	+	07N60153	+	+	07N60289	+	+
07N60065	+	+	07N60167	+	+	07N60292	+	+
07N60066	+	+	07N60169	+	+	07N60295	+	+
07N60067	+	+	07N60170	+	-	07N60006	-	+
07N60068	+	-	07N60171	+	+	07N60072	-	+
07N60069	+	-	07N60172	+	-	07N60084	-	+
07N60070	+	+	07N60173	+	-	07N60101	-	+
07N60071	+	+	07N60178	+	+			
07N60073	+	+	07N60184	+	+			

+ 代表检测结果为阳性; - 代表检测结果为阴性。下同 + :Positive ; - :Negative . The same as below

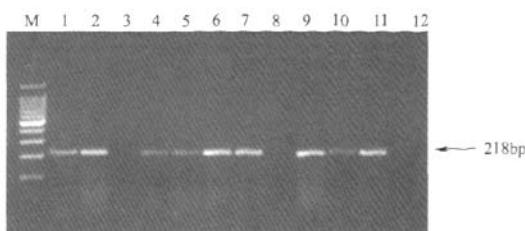


图1 大豆种子中大豆花叶病毒的RT-PCR检测

Fig.1 Detection of soybean mosaic virus in soybean seeds by RT-PCR

M:100bp DNA marker;1:阳性对照(SMV);2~11:分别为07N60022,07N60027,07N60028,07N60048,07N60049,07N60050,07N60172,07N60178,07N60184,07N60185的检测样本;12:阴性对照(水)

2.1.2 黄瓜花叶病毒 利用 TAS-ELISA 检测出 38 份大豆种质呈现黄瓜花叶病毒反应阳性,检出率为 12.67%。对这 38 份种质进行 RT-PCR 检测(图 2),其中 30 份表现为阳性,8 份未检测出黄瓜花叶

表3 ELISA 和 RT-PCR 方法检测大豆种传黄瓜花叶病毒

Table 3 Detecting cucumber mosaic virus in soybean seeds by ELISA and RT-PCR

样本号 Sample No.	TAS-ELISA	RT-PCR	样本号 Sample No.	TAS-ELISA	RT-PCR	样本号 Sample No.	TAS-ELISA	RT-PCR
07N60004	+	+	07N60031	+	+	07N60226	+	+
07N60005	+	+	07N60138	+	+	07N60238	+	+
07N60006	+	-	07N60150	+	+	07N60246	+	+
07N60007	+	+	07N60168	+	+	07N60252	+	+
07N60008	+	+	07N60169	+	-	07N60267	+	+
07N60009	+	-	07N60171	+	+	07N60277	+	+
07N60010	+	-	07N60172	+	+	07N60281	+	+
07N60011	+	+	07N60174	+	+	07N60282	+	-
07N60016	+	+	07N60178	+	+	07N60285	+	+
07N60018	+	+	07N60186	+	+	07N60296	+	+
07N60019	+	-	07N60187	+	-	07N60044	-	+
07N60020	+	+	07N60189	+	-	07N60058	-	+
07N60028	+	+	07N60201	+	+	07N60075	-	+
07N60030	+	+	07N60219	+	+			

2.1.3 苜蓿花叶病毒

利用 TAS-ELISA 检测出 14 份大豆种质为苜蓿花叶病毒阳性,检出率为 4.67% (表 4)。

2.1.4 病毒的复合侵染 通过对 ELISA 和 RT-PCR 结果的分析,在所检测的 300 份大豆种质中存在不同种传病毒的复合侵染。7 份大豆种质中存在大豆花叶病毒和黄瓜花叶病毒的复合侵染,2 份种质为大豆花叶病毒和苜蓿花叶病毒的复合侵染(表 5)。

病毒(表 3)。随机抽取 ELISA 检测呈阴性,但吸光度数值较高、接近阳性数值的大豆种质样本 20 份,进行 RT-PCR 检测,其中有 3 份呈现阳性反应。通过 2 种方法的检测,在 300 份样本中共有 41 份种质被黄瓜花叶病毒侵染,侵染率为 13.67%。

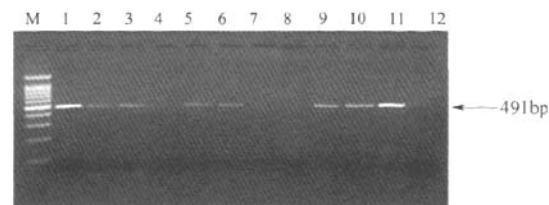


图2 大豆种子中黄瓜花叶病毒的RT-PCR检测

Fig.2 Detection of cucumber mosaic virus in soybean seeds by RT-PCR

M:100bp DNA marker;1:阳性对照(CMV);2~11:分别为07N60004,07N60005,07N60006,07N60007,07N60008,07N60009,07N60010,07N60011,07N60016,07N60018 的检测样本;12:阴性对照(水)

表4 ELISA 方法检测大豆种传苜蓿花叶病毒

Table 4 Detecting alfalfa mosaic virus in soybean seeds by ELISA

样本号 No. of sample	TAS-ELISA	样本号 No. of sample	TAS-ELISA
07N600046	+	07N6000172	+
07N600068	+	07N6000206	+
07N600069	+	07N6000207	+
07N600070	+	07N6000216	+
07N600078	+	07N6000217	+
07N600081	+	07N6000219	+
07N600083	+	07N6000279	+

表 5 大豆种子中不同种传病毒的复合侵染检测

Table 5 Complex-infection of three seed-borne viruses in soybean seeds

样本号 No. of sample	SMV	CMV	AMV
07N60008	+	+	-
07N600018	+	+	-
07N600028	+	+	-
07N600070	+	-	+
07N600081	+	-	+
07N6000171	+	+	-
07N6000178	+	+	-
07N6000201	+	+	-
07N6000246	+	+	-

2.2 菜豆种质种子中种传病毒检测

利用 DAS-ELISA 和 RT-PCR 方法(图 3)对 100 份菜豆种质进行检测,发现菜豆种质携带菜豆普通花叶病毒(BCMV)的带毒率高达 92%,仅有 8 份种质未受感染。ELISA 检测与 RT-PCR 检测的结果完全符合。检测的 100 份菜豆种质原始产地分别为我国的东北、华北、西南地区的 10 个省(区)、65 个县(市),并在黑龙江、云南、河北等地进行繁殖。结果表明,目前国家种质库保存和交换的菜豆种质已普遍被菜豆普通花叶病毒侵染。菜豆种质中极高的菜豆普通花叶病毒带毒率不仅表明该种病毒的广泛分布,并且也证明我国菜豆资源中缺少抗菜豆普通花叶病毒的品种。

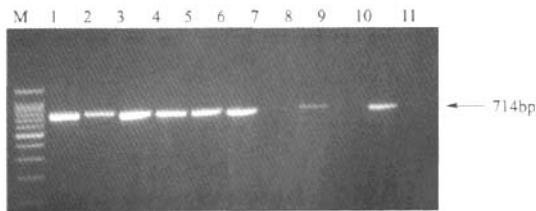


图 3 菜豆种子中菜豆普通花叶病毒的 RT-PCR 检测

Fig.3 Detection of bean common mosaic virus in common bean seeds by RT-PCR

M:100bp DNA marker;1:阳性对照(BCMV);2:白菜豆(全国统一编号 F0000008);3:白红豆(F0000014);4:大红豆(F0000023);5:白雀豆(F0000135);6:花脸豆(F0000368);7:红芸豆(F0000211);8:菜豆(F0000310);9:饭豆(F0000507);10:R5350(F0002153);11:阴性对照(水)

3 讨论

健康的种子是作物种质安全保存的基础。在种质低温保存的条件下,种子所携带的病原物也获得了长期存活的条件。尽管目前对低温干燥保存条件

下种子所带病原物对种质贮藏安全和遗传完整性的影响尚缺乏系统研究,针对种子中病毒的分子检测技术也有待发展,但豆科作物种子在大田繁殖条件下易造成大量带毒的事实,已使得各国际研究中心^[20-22]加强了检测研究,并尽可能通过新的隔离繁殖,将种子带毒降至最低,以提高保存种子的质量。

对国家种质中期库保存的大豆种子研究表明,在田间繁殖过程中大豆受到多种病害的侵袭,由此产生许多种子质量问题,如真菌和病毒引起的种子种皮斑驳、病毒引起的种子畸形等,异常种子的发生率常常高达 90% 以上。对大豆常见病毒的检测表明,大豆花叶病毒是大豆种子中携带率最高的病毒之一,而在各地田间广泛分布的黄瓜花叶病毒也对大豆有较高的侵染率。在检测的 300 份材料中,种子被单一病毒或多种病毒侵染的数量达到 117 份,占 39%,其中 9 份为 2 种病毒的复合侵染。研究证明,至少有 47 种病毒能够侵染大豆,其中 10 种能够通过大豆种子传播^[3,5]。在田间,常常存在多种病毒复合侵染引起的大豆病毒病,如在美国威斯康辛州大豆田中鉴定出大豆花叶病毒(SMV)和苜蓿花叶病毒(AMV)的复合侵染^[23]。因此,从大豆种子中同时检测出 2 种病毒的复合侵染反映了生产中病害的发生实际。

本文对供试菜豆种质仅进行了 1 种种传病毒的检测,结果表明种子带毒率非常高。分析认为,菜豆普通花叶病毒病在各菜豆种植区可能已广泛存在,对菜豆的生产具有较大威胁,而菜豆种质在田间繁殖时极易受到侵染,从而导致很高的种子带毒率。

300 份大豆和 100 份菜豆的种子带病毒的检测表明,这 2 种作物供试的种质材料携带较多的病毒,这种带毒种子的形成有 2 种可能:(1)种子繁殖中来自田间的侵染;(2)种子自身已带有病毒并在繁殖中传播。为了提高国家种质库保存豆类种质的质量,应该采取措施控制田间的病毒病害,如在开花前的生长阶段及时喷施杀虫剂控制传毒蚜虫,拔除有明显病毒病症状的植株。当条件充分时,可以在隔离条件下通过 ELISA 检测,进行无病毒种质的繁殖,确保入库保存种质的质量和保存安全。

在对大豆花叶病毒和黄瓜花叶病毒进行 ELISA 和 RT-PCR 检测时发现:部分 ELISA 检测呈阳性的种质,经 RT-PCR 检测呈阴性。一般推断,PCR 检测的灵敏度要高于 ELISA,理论上不应该出现试验中所出现的情况,这可能与 2 方面的因素有关:(1)操作过程中的误差,导致 ELISA 检测假阳性;(2)出现

2种结果的样本中所提取 RNA 质量不高或含有较多抑制 PCR 扩增的成分。据报道:大豆、菜豆种子中碳水化合物所占比重较大,分别为14%~25%和69.4%,主要由蔗糖、棉籽糖、阿拉伯半乳糖等组成。在RNA提取过程中这些糖类物质很容易形成难溶的胶状物质与RNA共沉淀^[24],并会在后续试验中抑制PCR的有效扩增。特别是大豆种子中蛋白质、脂类的含量较高,进一步增加了RNA的提取难度,这也是在试验中发现大豆种子ELISA与RT-PCR检测符合率低于菜豆种子的原因之一。一些在血清学检测中为阴性反应的样本,在用分子方法检测时,却表现为阳性,证明RT-PCR方法能够更准确地检测出种子中的微量病毒,具有更高的准确性。

参考文献

- [1] Edwarson J R, Christie R G. Handbook of viruses infecting legumes [M]. London: CRC Press Inc, 1991.
- [2] Ford R E, Jilka J M, Tolin S A. Viral diseases in soybean [C] // Proceedings of the World Soybean Research Conference IV, Buenos Aires: Asociacion Argentina de la Soja Press, 1989: 1312-1354.
- [3] Allen D J, Lenne J M. The pathology of food and pasture legumes [M]. Wallingford: Cambridge University Press, 1997.
- [4] Brunt A, Crabtree K, Gibbs A. Viruses of tropical plants [M]. Wallingford: Cambridge University Press, 1990.
- [5] Hartman G L, Sinclair J B, Rupe J C. Compendium of soybean diseases, 4th edition [M]. Saint Paul, Minnesota, APS Press, 1999.
- [6] 陈永萱,薛宝娣,浦冠勤.大豆花叶病毒(SMV)种子带毒的研究[J].中国病毒学,1987(3):66-71.
- [7] 许泽永,陈坤荣.油料作物病毒和病毒病[M].北京:化学工业出版社,2008.
- [8] Lin M T, Hill J H. Bean pod mottle virus: Occurrence in Nebraska and seed transmission in soybean [J]. Plant Disease, 1983, 67: 230-233.
- [9] Ross J P. Response of early and late-planted soybeans to natural infection by bean pod mottle virus [J]. Plant Disease, 1986, 70: 222-224.
- [10] Giesler L J, Ghabrial S A, Hunt T E. Bean pod mottle virus, a threat to U. S. soybean production [J]. Plant Disease, 2002, 86: 1280-1289.
- [11] Hopkins J D, MueHer A J. Effect of bean pod mottle virus on soybean yield [J]. Journal of Economic Entomology, 1984, 77: 943-947.
- [12] Lana A F, Lohms H, Bos L, et al. Relationship among strains of bean common mosaic virus and blackeye cowpea mosaic virus: members of the potyvirus group [J]. Annals of Applied Biology, 1988, 113: 493-505.
- [13] Schwartz H F, Pastor-Corrales M A. Bean production problems in the tropics [M]. Cali, Centro International de Agricultura Tropical, 1989.
- [14] Laviolette F A, Athow K L. Longevity of tobacco ring spot virus in soybean seed [J]. Phytopathology, 1971, 61: 755.
- [15] Pierce W H, Hungerford C W. A note on the longevity of the bean mosaic virus [J]. Phytopathology, 1929, 19: 605-606.
- [16] 尼尔高 P. 种子病理学 [M]. 狄原渤, 李学书, 朱之培, 等译. 北京: 农业出版社, 1987.
- [17] Sáiz M, Castro S, Blas C D, et al. Serotype-specific detection of bean common mosaicpoty virus in bean leaf and seed tissue by enzymatic amplification [J]. Journal of Virological Methods, 1994, 50: 145-154.
- [18] 王杰,王晓鸣,黄丽丽.大豆干种子中大豆花叶病毒的RT-PCR检测[J].植物病理学报,2005,35(3):214-220.
- [19] 王杰,王晓鸣.菜豆种子中菜豆普通花叶病毒的RT-PCR检测[J].植物保护学报,2006,33(4):345-350.
- [20] 邱丽娟,常汝镇,陈可明,等.中国大豆(*Glycine max*)品种资源保存与更新状况分析[J].植物遗传资源科学,2002,3(2):34-39.
- [21] 齐宁,魏淑红,林红,等.高蛋白抗病大豆新种质龙品03-311-1的选育与利用[J].植物遗传资源学报,2006,7(2):249-251.
- [22] 张后金.大豆种子的储存管理[J].中国种业,2009(3):29.
- [23] Departments of Agronomy, Entomology, and Plant Pathology, University of Wisconsin-Madison. Soybean mosaic virus and alfalfa mosaic virus [EB/OL]. [2009-04-12]. <http://www.plantpath.wisc.edu/soyhealth/viruscomplex/smvt.htm>
- [24] Johansen E, Edwards M C, Hampton R O. Seed transmission of viruses: Current perspectives [J]. Annuals Review of Phytopathology, 1994, 32: 363-386.

(上接第283页)

- [8] 唐一国.鸭茅的栽培技术及利用[J].四川草原,2003(5):59-59.
- [9] 梅腾,别治法.种用鸭茅锈病的防治[J].中国草地,1991(2):76-76.
- [10] 李先芳,丁红.鸭茅生物学特性及栽培技术[J].河南林业科技,2000,20(3):24-25.
- [11] Ittu M, Kellner E. Studies on the response to black rust of varieties of cocksfoot[J]. Analele Institutului de Cercetari pentru Cereale si Plante Tehnice, 1977, 42: 23-29.
- [12] Ittu M, Kellner E. Sources of resistance to black rust (*Puccinia graminis* Pers.) in cocksfoot [J]. Probleme de Genetica Teoretica si Aplicata, 1980, 12: 511-517.

- [13] 商鸿生,姜瑞中. GB/T15795-1995 小麦条锈病测报调查规范 [S]. 北京:中国标准出版社,1995.
- [14] 王春梅.草坪病虫害防治 [M]. 延边大学出版社, 2002: 65-67.
- [15] 周新力,胡茂林,邵军民,等.小麦-簇毛麦易位系的抗条锈性遗传分析[J].植物遗传资源学报,2008,9(1):51-54.
- [16] 李星,于秀梅,李亚宁,等.小麦抗叶锈病近等基因系 TcLr41 SSH 文库构建与分析[J].植物遗传资源学报,2008,9(4): 428-432.

国家种质库保存大豆和菜豆种质的种传病毒检测

作者:

韩俊丽, 郭庆元, 杨知还, 张煜, 王晓鸣, HAN Jun-li, GUO Qing-yuan, YANG Zhi-huan, ZHANG Yu, WANG Xiao-ming

作者单位:

韩俊丽, HAN Jun-li(新疆农业大学, 乌鲁木齐, 830052; 中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京, 100081), 郭庆元, GUO Qing-yuan(新疆农业大学, 乌鲁木齐, 830052), 杨知还, 王晓鸣, YANG Zhi-huan, WANG Xiao-ming(中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京, 100081), 张煜, ZHANG Yu(中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京, 100081; 河南农业大学, 郑州, 450002)

刊名:

植物遗传资源学报 [ISTC PKU]

英文刊名:

JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES

年, 卷(期):

2010, 11 (3)

参考文献(24条)

1. Ross J P Response of early and late-planted soybeans to natural infection by bean pod mottle virus [外文期刊] 1986
2. Lin M T;Hill J H Bean pod mottle virus:Occurrence in Nebraska and seed transmission in soybean 1983
3. 许泽永;陈坤荣 油料作物病毒和病毒病 2008
4. 陈永萱;薛宝娣;浦冠勤 大豆花叶病毒(SMV)种子带毒的研究 1987(03)
5. Hartman G L;Sinclair J B;Rupe J C Compendium of soybean diseases, 4th edition 1999
6. Brunt A;Crabtree K;Gibbs A Viruses of tropical plants 1990
7. Allen D J;Lenne J M The pathology of food and pasture legumes 1997
8. Ford R E;Jilka J M;Tolin S A Viral diseases in soybean 1989
9. Johansen E;Edwards M c;Hampston R O Seed transmission of viruses:Current perspectives[外文期刊] 1994
10. Departments of Agronomy, Entomology, and Plant Pathology, University of Wisconsin-Madison Soybean mosaic virus and alfalfa mosaic virus 2009
11. 张后金 大豆种子的储存管理[期刊论文]-中国种业 2009(03)
12. 齐宁;魏淑红;林红 高蛋白抗病大豆新种质龙品03-311的选育与利用[期刊论文]-植物遗传资源学报 2006 (02)
13. 邱丽娟;常汝镇;陈可明 中国大豆(Glycine max)品种资源保存与更新状况分析[期刊论文]-植物遗传资源科学 2002(02)
14. 王杰;王晓鸣 菜豆种子中菜豆普通花叶病毒的BT-PCR检测[期刊论文]-植物保护学报 2006 (04)
15. 王杰;王晓鸣;黄丽丽 大豆干种子中大豆花叶病毒的RT-PCR检测[期刊论文]-植物病理学报 2005 (03)
16. S(a)iz M;Castro S;Blas c D Serotype-specific detection of bean common mosaicvirus in bean leaf and seed tissue by enzymatic amplification[外文期刊] 1994
17. 尼尔高P;狄原渤;李学书;朱之培 种子病理学 1987
18. Pierce W H;Hungerford C W A note on the longevity of the bean mosaic virus 1929
19. Laviolette F A;Aithow K L Longevity of tobacco ring spot virus in soybean seed[外文期刊] 1971
20. Schwartz H F;Pastor-Corrales M A Bean production problems in the tropics 1989
21. Lana A F;Lohms H;Bus L Relationship among strains of bean common mosaic virus and blackeye cowpea mosaic virus:members of the potyvirns group[外文期刊] 1988

22. Hopkins J D;MueHer A J Effect nfbean pod mottle virus on soybean yield 1984
23. Giesler L J;Ghabrial S A;Hunt T E Bean pod mottle virus,a threat to U.S. soybean production 2002
24. Edwardson J R;Christie R G Handbook of viruses infecting legumes 1991

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczxb201003007.aspx