

吴淑华, 赵文浩, 李廷芳, 等. 南京辣椒上一种斑驳类型病毒病的分子鉴定[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(6): 1284-1290.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.06.014

## 南京辣椒上一种斑驳类型病毒病的分子鉴定

吴淑华<sup>1</sup>, 赵文浩<sup>1,2</sup>, 李廷芳<sup>1,3</sup>, 程兆榜<sup>1</sup>, 潘宝贵<sup>4</sup>, 郭青云<sup>5</sup>, 王述彬<sup>4</sup>, 季英华<sup>1</sup>, 周益军<sup>1</sup>

(1.江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014; 2.南京农业大学植物保护学院, 江苏 南京 210014; 3.青海大学农牧学院, 青海 西宁 810016; 4.江苏省农业科学院蔬菜研究所, 江苏 南京 210014; 5.青海省农业科学院植物保护研究所, 青海 西宁 810016)

**摘要:** 为明确江苏省南京地区植株叶片表现斑驳症状的辣椒病毒病病原, 针对性地开展该病的防治工作提供理论依据。2014年, 我们对江苏省南京地区辣椒病毒病发生情况进行了调查, 采集了70份表现斑驳症状的叶片样品, 通过提取样品总RNA, 分别用烟草花叶病毒属的简并引物 Tob-Uni1/Tob-Uni2 和辣椒轻斑驳病毒的特异性引物 PMMoV-F/PMMoV-R 进行 RT-PCR 分子检测, 经序列测定、BLAST 分析和 MEGA6 系统进化分析对病原进行鉴定。RT-PCR 结果显示, 在70份样品中, 61份样本扩增到804 bp (烟草花叶病毒属病毒) 和576 bp (辣椒轻斑驳病毒) 的预期目的片段, 检出率高达87.14%; 序列 BLAST 分析结果显示, 样品病毒与辣椒轻斑驳病毒的同源性最高(>98.3%), 暗示其为 PMMoV; MEGA6 系统进化分析表明南京的辣椒病毒病病原属于 PMMoV。2014年江苏省南京地区植株叶片表现斑驳症状的辣椒病毒病病原为烟草花叶病毒属的辣椒轻斑驳病毒, 该病毒近年来在江苏首次发现。

**关键词:** 辣椒; 辣椒轻斑驳病毒; RT-PCR; 分子检测与鉴定

**中图分类号:** S641.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)06-1284-07

## Molecular identification of a virus causing mottle symptoms in pepper leaves in Nanjing

WU Shu-hua<sup>1</sup>, ZHAO Wen-hao<sup>1,2</sup>, LI Ting-fang<sup>1,3</sup>, CHENG Zhao-bang<sup>1</sup>, PAN Bao-gui<sup>4</sup>, GUO Qing-yun<sup>5</sup>, WANG Shu-bin<sup>4</sup>, JI Ying-hua<sup>1</sup>, ZHOU Yi-jun<sup>1</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014, China; 3. Agriculture and Animal Husbandry College of Qinghai University, Xining 810016, China; 4. Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 5. Institute of Plant Protection, Qinghai Academy of Agricultural Sciences, Xining 810016, China)

**收稿日期:** 2015-04-23

**基金项目:** 国家公益性行业(农业)专项(201303028); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(12)1004]; 江苏省“333”高层次人才培养工程科研项目(BRA2013262); 国家自然科学基金项目(31100366); 江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地项目(4911406)

**作者简介:** 吴淑华(1962-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 学士, 副研究员, 主要从事植物病毒学研究。(Tel) 025-84390394; (E-mail) wushuhua@jaas.ac.cn

**通讯作者:** 季英华, (Tel) 025-84390394; (E-mail) jyinghua@jaas.ac.cn。周益军, (Tel) 025-84390391; (E-mail) yjzhou@jaas.ac.cn

**Abstract:** The viral pathogen and its occurrence in pepper with leaf mottle symptoms in Nanjing, Jiangsu province were studied to provide theoretical references for the control of pepper viral disease. In 2014, total RNA from 70 pepper samples with leaf mottle symptoms were extracted and RT-PCR was performed using degenerate primers (Tob-Uni1/Tob-Uni2) for *Tobamovirus* and specific primers (PMMoV-F/PMMoV-R) for pepper mild mottle

virus (PMMoV). A fragment of 804 bp expected to be *Tobamovirus* and a 576-bp fragment expected to be PMMoV were amplified from 61 samples out of 70, with the detection rate of 87.14%. BLAST analysis showed that the nucleotide sequences of these samples shared higher similarity (>98.3%) with PMMoV, indicating that the virus was an isolate of PMMoV. Phylogenetic analysis demonstrated that the virus in the pepper of Nanjing belongs to PMMoV isolate *Tobamovirus*.

**Key words:** pepper; pepper mild mottle virus; RT-PCR; molecular detection and identification

辣椒是中国重要的蔬菜作物,常年栽培面积为  $1.33 \times 10^6 \text{ hm}^2$ ,在蔬菜的周年供应中起着重要的作用。由于辣椒种植面积广,栽培品种多,辣椒上的病毒种类也很多,国外报道至少有 45 种病毒可以侵染辣椒引起危害<sup>[1]</sup>,中国早前有报道的病毒包括烟草花叶病毒(TMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)、马铃薯 Y 病毒(PVY)、马铃薯 X 病毒(PVX)、烟草蚀纹病毒(TEV)、苜蓿花叶病毒(AMV)、蚕豆萎蔫病毒(BBWV)和烟草脆裂病毒(TRV)等,其中以 TMV 和 CMV 最为普遍<sup>[2]</sup>。2013 年姚玉荣等<sup>[3]</sup>对广东、海南等地的辣椒病毒病进行调查时发现当地的病毒以黄瓜花叶病毒和辣椒轻斑驳病毒(PMMoV)为主,伴有少量的马铃薯 Y 病毒、马铃薯 X 病毒等。

江苏省辣椒常年栽培面积在  $8.00 \times 10^4 \text{ hm}^2$  以上,特别是近年来随着设施栽培技术的推广,辣椒的种植面积也在不断扩大,随之也出现了一些新的病毒病。2014 年 6-11 月,我们在对江苏省南京市辣椒作物上的病毒病进行调查时发现,一种叶片表现斑驳症状的辣椒病毒病在田间非常常见,危害也相对较为严重,对此我们对其进行分子诊断。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试病毒样品 辣椒病样为 2014 年 6-11 月采自江苏省南京市表现出斑驳症状的辣椒叶片,样品采集后保存于  $-70^\circ\text{C}$  冰箱,对照为防虫温室里培育的健康辣椒苗叶片。

1.1.2 试剂 Trizol Reagent 购自北京康为世纪生物技术有限公司,反转录试剂盒 PrimerScript<sup>TM</sup> RT Master Mix 和 DNA LA Taq 酶购自宝生物工程(大连)有限公司(TaKaRa),氯仿、异戊醇等其他试剂均为国产分析纯试剂。吸头、离心管等用 0.1% DEPC 水浸泡过夜后,高压灭菌。

### 1.2 方法

1.2.1 引物设计 根据已报道烟草花叶病毒属(*Tobamovirus*)成员的序列,分别设计 3 对引物:烟草

花叶病毒属简并引物 Tob-Uni1 (5'-ATTTAAGTG-GASGGAAA VCACT-3') 和 Tob-Uni2 (5'-GTYGTT-GATGAGTTCRTGGA-3'),扩增病毒外壳蛋白基因及部分运动蛋白基因,目的片段约 800 bp<sup>[4]</sup>;烟草花叶病毒特异引物 TMV-F (5'-TTCTTGT CATCAGCGT-GGGCCGA-3') 和 TMV-R (5'-AAGTTGCAGGAC-CAGAGGTCCA-3'),扩增病毒外壳蛋白基因,目的片段约 440 bp<sup>[5]</sup>;辣椒轻斑驳病毒特异引物 PMMoV-F (5'-AGAACTCGGAGTCATCGGC-3') 和 PMMoV-R (5'-GAGTTATCGTACTCGCCACG-3'),扩增病毒外壳蛋白基因,目的片段约 580 bp<sup>[6]</sup>,分别用于烟草花叶病毒属成员的检测及 TMV 和 PMMoV 的特异性检测。引物委托英潍捷(上海)贸易有限公司合成。

1.2.2 病毒 RNA 的提取 取 0.05~0.10 g 病叶于已灭菌的 2 ml 进口离心管中,加液氮迅速充分研磨成粉状,加入 1 ml Trizol Reagent 混合,室温放置 5 min。加 200  $\mu\text{l}$  氯仿、异戊醇混合液(氯仿:异戊醇=24:1,体积比),手摇剧烈震荡 15 s,室温放置 2~3 min 后,  $4^\circ\text{C}$  12 000 r/min 离心 15 min。取上清液至 1.5 ml 离心管中,加等体积的冰异丙醇,混匀,  $-20^\circ\text{C}$  冰箱放置 20 min 以上。  $4^\circ\text{C}$  12 000 r/min 离心 10 min 后弃上清液,用 1 ml 75% 乙醇(0.1% DEPC 水配制)洗沉淀 2 次,每次洗涤后  $4^\circ\text{C}$  5 000 r/min 离心 5 min。弃上清液,超净台中风干,将 RNA 溶于 35  $\mu\text{l}$  0.1% DEPC 水中,检测 RNA 的含量和质量后,  $-20^\circ\text{C}$  保存备用,同时提取健康辣椒叶片总 RNA 作为阴性对照。

1.2.3 病毒 RT-PCR 检测 cDNA 合成:以提纯总 RNA 为模板,用 PrimeScript<sup>TM</sup> RT Master Mix 试剂盒反转录合成病毒的 cDNA 第 1 条链。RT 反应体系:在 10  $\mu\text{l}$  反转录反应体系中,PCR 管中加入 5 $\times$ PrimeScript<sup>TM</sup> RT Master Mix buffer 2  $\mu\text{l}$ ,加入含 500 ng 体积的 RNA,用 RNase Free 超纯水补足到 10  $\mu\text{l}$ 。轻轻混合,  $37^\circ\text{C}$  15 min,  $85^\circ\text{C}$  5 s,反应结束后,将反转录产物  $-20^\circ\text{C}$  冰箱中保存。

PCR 的扩增体系:在 25  $\mu$ l PCR 反应体系中,加入 10 $\times$  Buffer 2.5  $\mu$ l,  $MgCl_2$  1.5  $\mu$ l, dNTP 2.0  $\mu$ l, cDNA 产物 1  $\mu$ l, 特异性上下游引物各 1  $\mu$ l, 超纯水 15.8  $\mu$ l, LA *Taq* 酶 0.2  $\mu$ l。PCR 反应过程为 95  $^{\circ}C$  预变性 5 min; 95  $^{\circ}C$  变性 45 s, 49  $^{\circ}C$  (Tob-Uni1/ Tob-Uni2) 或 59  $^{\circ}C$  (TMV-F/TMV-R) 或 54  $^{\circ}C$  (PMMoV-F/PMMoV-R) 退火 45 s, 72  $^{\circ}C$  延伸 1 min, 35 个循环, 最后 72  $^{\circ}C$  延伸 10 min。扩增结束后, 取 5  $\mu$ l PCR 产物于 1.0% 琼脂糖凝胶电泳中检测扩增产物, 并用培清 JS-680D 全自动凝胶成像系统记录结果。

1.2.4 序列测定及分析 序列测定委托金斯瑞生物技术有限公司完成, 序列分析使用 DNASTar 软件及 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>) 上的 BLAST 程序进行, 系统进化分析使用 MEGA6 完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 病害田间调查

2014 年 6–11 月, 我们在对江苏省南京地区的辣椒病毒病进行调查时发现一种斑驳类型的病毒病在辣椒上非常常见, 特别是在管理粗放的田块, 该病的发病率较高。该病在辣椒上主要表现为叶片不规则褪绿, 伴有黄绿相间的斑驳、叶面凹凸不平、皱缩, 有时叶缘上卷 (图 1), 早期发病的植株常常伴有矮缩症状, 对果实产量影响较大, 有些辣椒品种的果实上也出现褪绿的斑驳, 对果实的品质产生影响。

### 2.2 烟草花叶病毒属病毒检测

在辣椒上烟草花叶病毒属 (*Tobamovirus*) 病毒感染常常造成叶片斑驳花叶等症状, 为明确 2014 年南京采集的样品中是否有 *Tobamovirus* 感染, 我们对采集到的病样用烟草花叶病毒属简并引物 Tob-Uni1



左为健康叶片; 右为感病叶片。

图 1 感病辣椒样品与健康辣椒样品的对比

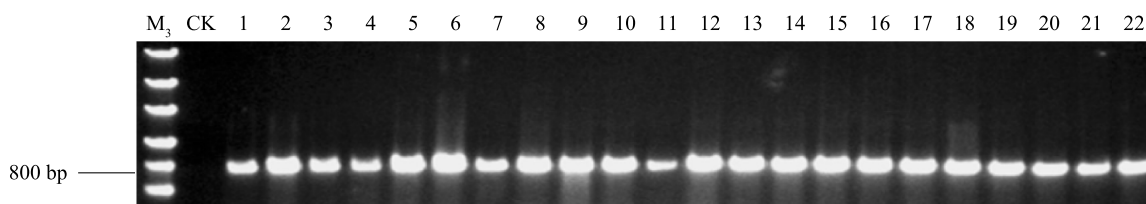
Fig.1 Comparison of healthy pepper sample and virus-infected pepper sample

和 Tob-Uni2 进行 RT-PCR 检测, 结果有 61 份样品扩增到 804 bp 的预期目的片段 (部分样品检测结果见图 2), 表明南京地区 2014 年采集到的辣椒病样中含有烟草花叶病毒属病毒。

### 2.3 扩增片段的序列测定及分析

为了明确南京辣椒样品上烟草花叶病毒属 (*Tobamovirus*) 的病毒类型, 我们随机抽选 5 份样品进行序列测定并进行同源性分析, 发现它们同源性非常高 (>99.1%), 说明它们可能是同一分离物。序列 BLAST 分析结果显示其与辣椒轻斑驳病毒 (PMMoV) 的同源性最高 (>98.3%), 暗示其可能是 PMMoV 的分离物。将本试验测定序列与 *Tobamovirus* 代表性成员 (表 1) 及目前已测定基因组序列的 PMMoV 各分离物 (表 2) 利用 MEGA6 比对后进行聚类分析, 使用临近法 (Neighbor-Joining, NJ)、Kimura 2-parameter 模型重建系统进化树 (图 3), 各个分枝的 Bootstrap 置信度用 1 000 次自导复制来评价。

由图 3 可以看出, PMMoV 分离物可以分为 3 簇: 西班牙 Ia 株系单独成为第 1 簇 (Cluster I), 韩国 Kr 株系、日本 Iw 和日本 L4BV 株系聚于第 2 簇



M<sub>3</sub>: DNA marker; CK: 健康辣椒样品阴性对照; 1~22: 22 份感病辣椒样品。

图 2 用引物 Tob-Uni1/Tob-Uni2 得到的 PCR 检测结果

Fig.2 Detection of pepper samples by PCR with Tob-Uni1/Tob-Uni2

表 1 本试验中所涉及的烟草花叶病毒属病毒序列信息

Table 1 Information of *Tobamovirus*

登录号	病毒	株系/分离物	缩写
AM398436	Brugmansia mild mottle virus	2373	BrMMV-2373
AF321057	Cucumber fruit mottle mosaic virus	Israel	CFMMV-IS
D12505	Cucumber green mottle mosaic virus	SH	CGMMV-SH
AF395898	Hibiscus latent Singapore virus	Singapore	HLSV-SIN
AJ295948	Kyuri green mottle mosaic virus	C1	KGMMV-C1
D13438	Obuda pepper virus	TMV-Ob	ObPV-TMVOb
X82130	Odontoglossum ringspot virus	Korea	ORSV-KOR
AB089381	Paprika mild mottle virus	Japan	PaMMV-JP
EF375551	Rehmannia mosaic virus	Henan	RheMV-HN
AM040955	Sammons's Opuntia virus	USA; Arizona	SOV-AZ
M34077	Tobacco mild green mosaic virus	Canary Islands	TMGMV-CY
V01408	Tobacco mosaic virus	variant 1	TMV-1
AF332868	Tomato mosaic virus	Australia; Queensland	ToMV-QLD
U03387	Turnip vein-clearing virus	OSU	TVCV-OSU
AB017503	Wasabi mottle virus	Shizuoka	WMoV-Shizuoka
U30944	Youcai mosaic virus	OSRMV	YMoV-OSRMV
AJ295949	Zucchini green mottle mosaic virus	K	ZGMMV-K

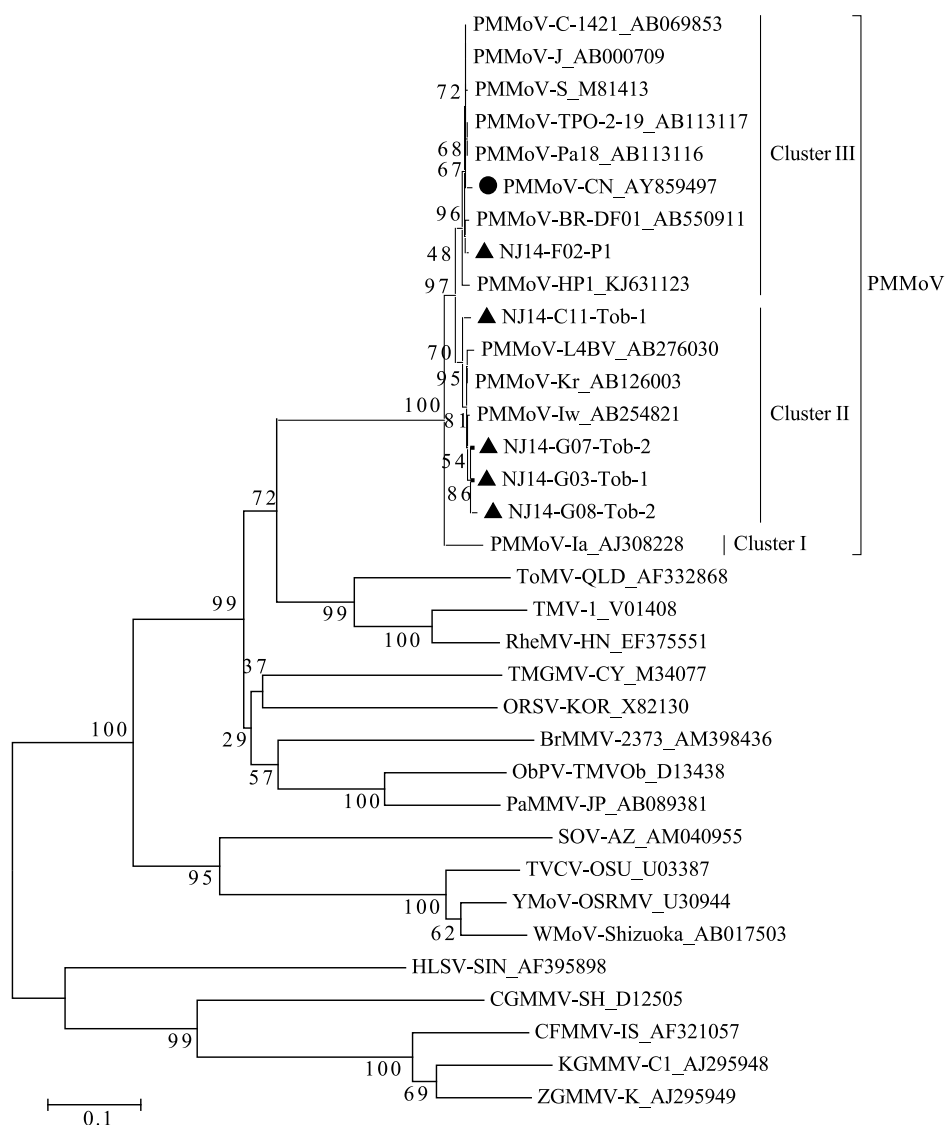
表 2 本试验中所涉及的辣椒轻斑驳病毒 (PMMoV) 信息

Table 2 Information of pepper mild mottle virus (PMMoV)

登录号	株系/分离物	寄主	国家	缩写
M81413	S	辣椒	西班牙	PMMoV-S
AJ308228	Ia	辣椒	西班牙	PMMoV-Ia
AB069853	C-1421 (attenuated strain)		日本	PMMoV-C-1421
AB000709	J	辣椒	日本	PMMoV-J
KJ631123	HP1	辣椒	印度	PMMoV-HP1
AY859497	CN	辣椒	中国	PMMoV-CN
AB550911	BR-DF01		巴西	PMMoV-BR-DF01
AB276030	L4BV	辣椒	日本	PMMoV-L4BV
AB254821	Iw	辣椒	日本	PMMoV-Iw
AB126003	Kr		韩国	PMMoV-Kr
AB113117	TPO-2-19 (attenuated strain)		日本	PMMoV-TPO-2-19
AB113116	Pa18 (attenuated strain)		日本	PMMoV-Pa18

(Cluster II); 日本 C-1421 株系、日本 J 株系、日本 TPO-2-19 株系、日本 Pa18 株系、西班牙 S 株系、中国 CN 株系、巴西 BR-DF01 株系及印度 HP1 株系聚于第 3 簇 (Cluster III)。江苏南京 2014 年辣椒上检

测到的 5 个分离物分别聚类于第 2 簇及第 3 簇, 其中 NJ14-C11-Tob-1、NJ14-G07-Tob-2、NJ14-G03-Tob-1 和 NJ14-G08-Tob-2 与日本的 Iw、L4BV 株系及韩国的 Kr 株系的同源关系较近, 共同聚类于第 2 簇;



▲: 本试验测定的序列; ●: PMMoV 中国分离物; 各枝上的数字是 1 000 次 Bootstrap 自导复制的置信度。

图 3 根据病毒核苷酸序列一致性构建的系统进化树

Fig.3 Phylogenetic tree based on nucleotide sequences identities of *Tobamovirus*

NJ14-F02-P1 与印度的 HP1 株系及巴西的 BR-DF01 株系同源关系较近, 共同聚类于第 3 簇。表明 2014 年江苏南京地区辣椒上分离到的烟草花叶病毒属成员为辣椒轻斑驳病毒。

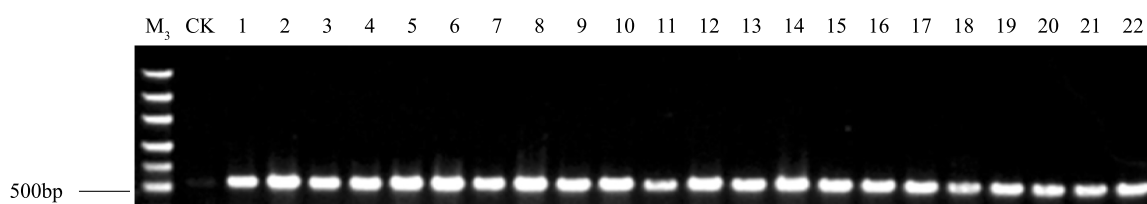
## 2.4 PMMoV/TMV 检测

利用辣椒轻型斑驳病毒的特异性引物 PMMoV-F 和 PMMoV-R 对田间采集的 70 份辣椒病样进行 RT-PCR 检测, 结果 61 份扩增出大小 576 bp 的预期目的片段, 检测结果同简并引物 Tob-Uni1 和 Tob-Uni2 的 RT-PCR 检测结果一致(部分样品检测结果

见图 4)。对其中代表性样品 PCR 产物进行序列测定, BLAST 序列分析结果显示, 其序列与 PMMoV 有最高的同源性(98%~99%), 表明检测到的病毒为辣椒轻斑驳病毒。

鉴于该病的症状表现主要为斑驳花叶, 在中国早期的研究中发现烟草花叶病毒属典型成员——烟草花叶病毒是感染辣椒导致辣椒病毒病的重要病原, 我们也对田间采集的 70 份病样用烟草花叶病毒的特异引物 TMV-F 和 TMV-R 进行 RT-PCR 检测, 结果都没有扩增到目的条带, 确定样品没有感染 TMV。





M<sub>3</sub>: Marker; CK: 健康辣椒样品阴性对照; 1~22: 22 份感病辣椒样品。

图 4 引物 PMMoV-F/PMMoV-R 的 PCR 检测结果

Fig.4 Detection of pepper samples by PCR with PMMoV-F/PMMoV-R

### 3 讨论

辣椒轻斑驳病毒 (PMMoV) 为烟草花叶病毒属 (*Tobamovirus*) 的 (+) ssRNA 病毒, 最早在美国发现<sup>[7]</sup>, 其后在德国、荷兰、英国、西班牙、保加利亚、匈牙利、加拿大、澳大利亚、阿根廷等国均有报道, 给辣椒生产造成严重的危害<sup>[8]</sup>。1994 年, 中国在新疆辣椒上首次发现该病毒, 目前此病毒已蔓延至海南省等地区<sup>[3, 9-15]</sup>。该病毒可以通过种子、植株摩擦汁液传毒, 在干燥的植物病残体上可存活 25 年, 带毒的种子、感病植株和病土是重要的侵染来源<sup>[15-16]</sup>, 通过国外种子的引入和种质资源的频繁交流, PMMoV 不断蔓延, 并且已经在一些地区上升为优势病毒种类<sup>[3, 15]</sup>, 成为温室和大棚辣椒的重要致病病原之一<sup>[1]</sup>, 因此在生产上要密切监测该病毒引起的危害情况, 加强种子检疫和脱毒处理, 及时控制该病毒的蔓延与扩散。

1986 年报道南京郊区辣椒病毒病原主要为 TMV、CMV, 次要为 PYV、PVX<sup>[17]</sup>, 1995 报道中国六省市辣(甜)椒病毒种群及其分布的研究中, 江苏的病原主要为 TMV、CMV, 次要为 PYV、PVX、TRV 和 BBWV<sup>[2]</sup>, 随后辣椒病毒病原的演变情况没有查到相关的报道。随着栽培技术的进步, 环境的变化, 种子资源的交流, 病毒的种类也会随之变化。2014 年, 我们对南京地区采集的 70 份辣椒病样的检测结果显示, 61 份样品中检出 PMMoV (87.14%), 暗示了 PMMoV 已逐渐成为南京地区辣椒病毒病(斑驳症状)的主要伴随病毒, 之前辣椒上的优势病毒 TMV 反而未检测到, 鉴于该病毒近年来在中国的发生危害逐渐蔓延, 生产上应当特别关注。对于本研究未检测到 PMMoV 的 9 份病样, 因其田间也表现斑驳等症状, 推测可能由其他病原侵染引起。

在对江苏南京地区 2014 年分离到的 PMMoV

分离物进行序列分析时发现虽然他们具有较高的序列同源性, 但是他们分别聚于不同的簇, 因此他们有可能属于不同的类型, 而且 5 个分离物中除 NJ14-F02-P 外, 其他 4 个在系统进化树上与中国之前报道的北京分离物亲缘关系也相对较远, 反而与韩国、日本等地分离物的亲缘关系较近, 暗示了南京地区 PMMoV 的来源可能比较复杂。同时由于辣椒上的病毒病种类比较复杂, 因此生产上不排除有复合侵染的可能, 我们对一些常见病毒的检测中也发现复合侵染的现象, 因此要明确辣椒上的病毒病种类需要更大范围的样品普查及多种类型病毒的系统调查。

### 参考文献:

- [1] 张竹青. 辣椒病毒病研究[D]. 湖南: 湖南农业大学, 2009: 1-9.
- [2] 杨永林, 闫淑珍, 田茹燕, 等. 中国六省、市辣(甜)椒病毒种群及其分布的研究[J]. 中国病毒学, 1995, 10(4): 332-339.
- [3] 姚玉荣, 陈国华, 冯兰香, 等. 北运蔬菜基地辣椒病毒病原种类的分子检测[J]. 中国蔬菜, 2013(10): 84-89.
- [4] LETSCHERT B, ADAM G, LESEMAN D, et al. Detection and differentiation of serologically cross-reacting tobamoviruses of economical importance by RT-PCR and RT-PCR-RFLP[J]. Journal of Virological Methods, 2002, 106: 1-10.
- [5] 杜国英, 王锡峰, 周广和. 地高辛标记的 cDNA 探针检测烟草花叶病毒、黄瓜花叶病毒及马铃薯 Y 病毒[J]. 植物病理学报, 2004, 34(1): 75-79.
- [6] 夏慧娟, 李志刚, 郭京泽, 等. 保定地区一种新辣椒病毒病的鉴定[J]. 河北农业大学学报, 2006, 29(6): 65-67.
- [7] GREENLEAF W H, COOK A A, HEYN A N J. Resistance to tobacco mosaic virus in capsicum with reference to the Sansun latent strain[J]. Phytopathology, 1964 (54): 1367-1371.
- [8] 王亚楠, 赵绪生, 袁文龙, 等. 辣椒轻斑驳病毒研究现状[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(14): 7401-7402, 7404.
- [9] 向本春, 谢浩, 崔星明, 等. 新疆辣椒轻斑驳病毒的分离鉴定[J]. 病毒学报, 1994, 10(3): 240-244.
- [10] 黄粤, 马荣群, 岳文辉. 应用 RT-PCR 方法检测辣椒轻微斑驳

- 病毒[J].山东农业科学,2004(5):56-57.
- [11] 赵尊练,史联联,谭根堂,等.陕西省辣椒主产区辣椒病毒病病原种类鉴定及其分布研究[J].中国农业科学,2004,37(11):1738-1742.
- [12] 李明福,张振择,陈燕芳,等.引起辣椒上一种新病害的病原鉴定[J].云南农业大学学报,2003,18(4):96.
- [13] 李兴红,严红,郭京泽,等.种传辣椒轻斑驳病毒病 DAS-ELISA 的检测[J].植物保护,2005,31(3):66-68.
- [14] 文朝慧,刘志杰,张丽萍,等.甘肃省河西地区辣(甜)椒病毒病病原鉴定[J].中国蔬菜,2010(16):74-78.
- [15] 郑兴华,洪鲲,杨立昌,等.贵州辣椒轻斑驳病毒分离物的分子鉴定[J].贵州农业科学,2013,41(5):30-32.
- [16] IKEGASHIRA Y, OHKI T, ICHIKU T, et al. An immunological system for the detection of pepper mild mottle virus in soil from green pepper fields[J]. Plant Disease, 2004, 88(6):650-656.
- [17] 丁犁平,赵华嵩,袁彩尧,等.南京郊区青椒病毒病原类群的调查与鉴定[J].江苏农业科学,1986(12):22-23.

(责任编辑:陈海霞)