

安徽省水稻黑条矮缩病毒和南方水稻黑条矮缩病毒的 分子检测和序列分析

李祥宇¹, 闫德龙², 郑兆阳², 陈莉¹, 刘家成², 丁克坚¹, 江彤^{1*}

(1. 安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036; 2. 安徽省植保总站, 合肥 230001)

摘要: 近年来, 水稻黑条矮缩病毒 (RBSDV) 和南方水稻黑条矮缩病毒 (SRBSDV) 在安徽各稻区危害日益严重, 生产上仅凭症状难以区分 2 种病毒。本研究建立的 RT-PCR 方法可以实现一次性检测和鉴定 RBSDV 和 SRBSDV 2 种病毒, 根据 RBSDV 和 SRBSDV S9 保守序列设计 3 个引物, 不仅可以从单独感染 RBSDV 或 SRBSDV 的水稻样本中分别扩增出 1 条大小不同的特异性条带, 而且还可以从感染 RBSDV 和 SRBSDV 的混合水稻样本中一次性扩增出 2 条大小不同的特异性条带。从安徽省庐江县、郎溪县、怀宁县和宣州市 4 个地区水稻田采集表现明显矮缩病症状的水稻样本, RT-PCR 检测结果表明, 庐江和郎溪水稻样本受到 RBSDV 侵染, 怀宁和宣州水稻样本受到 SRBSDV 侵染。选取庐江县、郎溪县、怀宁县和宣州市各 1 个水稻样本, 利用 RT-PCR 扩增出特异性条带, 再分别克隆和测序。序列分析表明, 庐江、郎溪 2 个样本的核苷酸序列与 RBSDV-Shandong 和 RBSDV-Zhjr S9 部分片段序列相似性高达 99.3%~99.8%, 且与 RBSDV 的亲缘关系最近, 说明庐江和郎溪样本感染的病毒是 RBSDV 的 2 个分离物; 怀宁、宣州 2 个样本的核苷酸序列与 SRBSDV-Shangdong 和 RBSDV-2 S9 部分片段序列相似性高达 99.5%, 且与 SRBSDV 亲缘关系最近, 说明怀宁和宣州样本感染的病毒是 SRBSDV 的 2 个分离物。

关键词: 水稻黑条矮缩病毒; 南方水稻黑条矮缩病毒; RT-PCR 检测; 克隆; 序列分析

中图分类号: S435.111.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2013)01-0107-05

Molecular detection and sequence analysis of Rice Black-Streaked Dwarf Virus and Southern Rice Black-Streaked Dwarf Virus in Anhui Province

LI Xiang-yu¹, YAN De-long², ZHENG Zhao-yang², CHEN Li¹, LIU Jia-cheng², DING Ke-jian¹, JIANG Tong¹
(1. School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036; 2. Anhui General Station of Plant Protection, Hefei 230001)

Abstract: In recent years, *Rice black-streaked dwarf virus* (RBSDV) and *Southern rice black-streaked dwarf virus* (SRBSDV) increasingly caused serious damage in the rice areas of Anhui Province. However, it was very difficult to distinguish the two viruses in the field samples only by the symptoms. The RT-PCR method established by our research can realize one-time detection and identification of two virus species of RBSDV and SRBSDV. Three primers were designed based on the conserved sequence of S9 segment of RBSDV and SRBSDV. Not only one different size specific band can be amplified respectively from the rice samples infected with single RBSDV or SRBSDV, but also two different size specific bands can be amplified from the mixed rice samples infected with RBSDV and SRBSDV. The rice samples showed obvious dwarf symptoms were collected from the paddy fields of 4 areas, Lujiang, Langxi, Huaining and Xuanzhou of Anhui province. The detection results of RT-PCR showed that the rice samples from Lujiang and Langxi were infected with RBSDV, and the rice samples from Huaining and Xuanzhou were infected with SRBSDV. Each one rice sample from Lujiang, Langxi, Huaining and Xuanzhou were selected. Specific bands were amplified by RT-PCR, and then each one was cloned and sequenced respectively. Sequence analysis indicated that the nucleotide sequences of two samples from Lujiang and Langxi shared the highest sequence similarity (99.3%-

收稿日期: 2012-06-20

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金重点项目 (KJ2012A113, KJ2011A120), 国家科技支撑项目 (2012BAD04B09, 2012BAD07B02) 和安徽省自然科学基金 (11040606M68) 共同资助。

作者简介: 李祥宇, 男, 硕士研究生。

* 通信作者: 江彤, 男, 副教授。 E-mail: jiangtong4650@sina.com

99.8%) with S9 partial segment of RBSDV-Shangdong and RBSDV-Zhijr, and the two nucleotide sequences were most closely related to RBSDV. It illustrated that viruses infected samples from Lujaing and Langxi were two isolates of RBSDV. The nucleotide sequence of two samples from Huaining and Xuanzhou shared the highest sequence similarity (99.5%) with S9 partial segment of SRBSDV-Shangdong and RBSDV-2, and the two nucleotide sequences were most closely related to SRBSDV. It illustrated that viruses infected samples from Huaining and Xuanzhou were two isolates of SRBSDV.

Key words: *Rice black-streaked dwarf virus*; *Southern rice black-streaked dwarf virus*; RT-PCR detection; clone; sequence analysis

水稻黑条矮缩病是危害水稻的一种非常重要的病毒病害, 20世纪60年代水稻黑条矮缩病在韩国、日本和中国大发生^[1]。20世纪90年代以后, 水稻黑条矮缩病在我国华东地区又发生大规模流行。近年来, 水稻黑条矮缩病已成为浙江、上海、江苏、安徽、江西、福建等省水稻的毁灭性病害, 造成严重的产量损失^[1-3]。

水稻黑条矮缩病的病原一般认为是水稻黑条矮缩病毒 (*Rice black-streaked dwarf virus*, RBSDV), 分类上属于呼肠病毒科 (Reoviridae) 斐济病毒属 (*Fijivirus*), 基因组由 10 条双链 RNA (dsRNA) 组成^[4]。RBSDV 主要侵染水稻、玉米和高粱等禾本科植物, 可引起水稻黑条矮缩病和玉米粗缩病等禾本科作物病害^[5]。2001 年, 广州报道了一种新的水稻黑条矮缩病毒, 其 S10 片段与已报道的各分离物存在较大的差异, 序列相似性仅为 80%左右^[6]。2008 年, 周国辉等^[7]认为这是一个斐济病毒属新种, 将其命名为南方水稻黑条矮缩病毒 (*Southern rice black-streaked dwarf virus*, SRBSDV)。RBSDV 和 SRBSDV 均可由昆虫介体飞虱传播, 但传播这 2 种病毒的飞虱种类有所不同, RBSDV 主要由灰飞虱 (*Laodelphax striatellus*) 传播, 白脊飞虱 (*Unkanodes sapporonus*) 和白条飞虱 (*Chilodephax albifacia*) 也能传毒, 但传染效率较低, 而 SRBSDV 主要由白背飞虱 (*Sogatella furcifera*) 传播^[7]。

RBSDV 和 SRBSDV 的病毒粒子形态均为球状, 电镜观察难以区分。水稻苗期感染 RBSDV 或 SRBSDV 后表现的症状相似, 植株矮缩, 叶色浓绿, 叶背、叶鞘和茎秆出现条状乳白色或深褐色小突起, 仅凭症状难以区分^[7-8]。迄今为止, 尚未见到利用血清学方法鉴定 RBSDV 和 SRBSDV 的报道。因此, 采用分子方法鉴定 RBSDV 和 SRBSDV 是目前最为有效和广泛的方法。本研究报道了一种快速检测和鉴定 RBSDV 和 SRBSDV 的 RT-PCR 方法, 初步鉴定了安徽省部分地区水稻矮缩病病原, 并对其基因组 S9 片段部分序列进行了克隆和序列测定。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 样本采集 2011 年 8 月从安徽庐江县、郎溪县、怀宁县和宣州市 4 个地区水稻田采集表现明显症状的水稻矮缩病样本, 病叶于一 80℃ 冰箱保存。

1.1.2 菌种及载体 大肠杆菌 DH5 α 由本实验室保存, 克隆载体 pMD18-T-simple 购自大连宝生物公司。

1.1.3 试剂 *Taq* DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶等工具酶均购自大连宝生物公司, TRIzol 购自上海生物工程公司, HiFi-MMLV cDNA 反转录试剂盒购自北京康为世纪生物公司, 琼脂糖凝胶 DNA 纯化回收试剂盒购自北京天根生物公司, 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 总 RNA 提取 从感病水稻叶片中提取总 RNA, 取冻存水稻的病叶 0.1 g, 液氮条件下充分研磨, 然后用 TRIzol 试剂盒提取病叶总 RNA, 方法按试剂公司提供的产品说明书进行。

1.2.2 引物设计 根据 GenBank 已登录的 RBSDV 和 SRBSDV S9 片段相对保守的一段序列 (AJ297430, 1 872~1 891 bp) 为模板设计反向引物 B-R: 5'-TGTAAGCCGGCTTGAGAACG-3'。选择 2 种病毒 S9 片段序列差异较大的 2 个区域 (AJ297430, 1 325~1347 bp; EU784843, 501~523 bp) 分别设计正向引物 RB-F: 5'-GAACAGCTTGAAGTTGACGTC-3' 和 SB-F: 5'-CCACCTCCACTGATTCAACTAAG-3'。RB-F/B-R 用于检测 RBSDV, 扩增片段为 566 bp, SB-F/B-R 用于检测 SRBSDV, 扩增片段为 1 391 bp。

1.2.3 RT-PCR 扩增 以提取的总 RNA 为模板, 参照 HiFi-MMLV 逆转录酶使用说明进行反转录合成 cDNA 第一链。再以 cDNA 第一链为模板, 用 3 条引物 RB-F、SB-F 和 B-R 进行 PCR 扩增, PCR 反应条件为 94℃ 45 s, 53℃ 45 s, 72℃ 70 s, 30 个循环。

1.2.4 S9 部分片段的克隆 用 DNA 纯化试剂盒回收目的片断, 与载体 pMD18-T-simple 连接, 转化大肠杆菌 DH5 α , 菌落 PCR 筛选阳性克隆。

1.2.5 S9 部分片段的序列测定和序列分析 阳性克隆送至上海英潍捷基生物公司测序。利用软件 DNASTar (DNASTAR Inc., Madison, USA) 和 DNAMAN Version 5.22 (Lynnon Biosoft, Quebec, Canada) 进行序列处理、分析。多序列比较采用 DNASTar Clustal V 方法, 系统关系树构建采用 DNAMAN 的邻近相连法 (Neighbor-joining)。用于序列比较和系统关系树构建的各个 RBSDV 和 SRBSDV 分离物来源及其 S9 部分片段的 GenBank 登录号见表 1。

表 1 RBSDV 和 SRBSDV 分离物来源及其 S9 片段 GenBank 登录号

Table 1 Source of RBSDV and SRBSDV isolates and the GenBank accession number of S9 segment

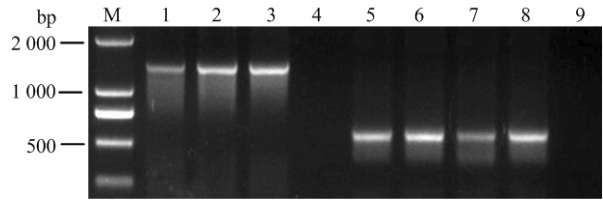
分离物 Isolates	来源地 Source	GenBank 登录号 GenBank accession number
RBSDV-Shandong	中国山东	AY039705
RBSDV-Zhengzhou	中国郑州	AF540976
RBSDV-Hubei	中国湖北	AJ297429
RBSDV-Wuhan	中国武汉	AJ291706
RBSDV-Zhejiang	中国浙江	AJ297430
RBSDV-Zhjr	中国浙江	AY050487
RBSDV-Zhjn	中国浙江	NC_003731
RBSDV-Yunan	中国云南	HQ394209
RBSDV-Japan	日本	AB011403
SRBSDV-Shangdong	山东济宁	HM998852
SRBSDV-Hubei	中国湖北	HM585271
RBSDV-2	中国浙江	EU784843
SRBSDV-Hainan	中国海南	EU523359
MRDV-M	意大利	L76561
MRCV-P	阿根廷	AY999348

2 结果与分析

2.1 RT-PCR 扩增结果

2.1.1 水稻样本的检测 利用基于 RB-F/B-R 和 SB-F/B-R 的 RT-PCR 方法检测安徽省庐江县、郎溪县、怀宁县和宣州市 4 个地区 22 个水稻样本。其中 10 个水稻样本能够扩增出略大于 500 bp 的条带, 8 个水稻样本中能够扩增出约 1.4 kb 的条带, 扩增条带的大小和理论值一致, 推测这些样本分别受到 RBSDV 和 SRBSDV 感染, 其中庐江县 8 个水稻样本中有 6 个样本感染 RBSDV, 郎溪县 4 个水稻样本全部感染 RBSDV, 怀宁县 8 个水稻样本有 6 个样本感染 SRBSDV, 宣州市 2 个水稻样本全部感染

SRBSDV。4 个县市部分水稻样本的 RT-PCR 检测结果见图 1。

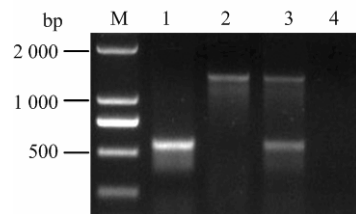


M. DNA Marker; 1-2. 怀宁水稻样本; 3. 宣州水稻样本; 5-6. 庐江水稻样本; 7-8. 郎溪水稻样本; 4, 9. 阴性对照

M. DNA Marker; 1-2. Rice samples from Huaining; 3. Rice samples from Xuanzhou; 5-6. Rice samples from Lujiang; 7-8. Rice samples from Langxi; 4, 9. Negative control

图 1 感染 RBSDV 或 SRBSDV 部分水稻样本 RT-PCR 检测
Figure 1 RT-PCR detection of partial rice samples infected with RBSDV or SRBSDV

2.1.2 RBSDV 和 SRBSDV 单独感染样本及混合样本的检测验证 根据 4 个县市水稻样本 RT-PCR 的检测结果, 选取庐江县 2 号样本和怀宁县 5 号样本分别作为检测 RBSDV 和 SRBSDV 的标准样本。提取 2 号样本、5 号样本以及 2 号和 5 号混合样本的总 RNA, 利用 RB-F/SB-F 和 B-F 3 条引物进行 RT-PCR 扩增 (图 2)。2 号样本扩增出略大于 500 bp 的单一一条带, 5 号样本扩增出约 1.4 kb 的单一一条带, 而 2 号和 5 号混合样本能扩增出略大于 500 bp 和约 1.4 kb 的 2 个条带。说明本研究建立的检测方法具有较高特异性, 不仅能够从水稻样品中检测出单独感染的 RBSDV 和 SRBSDV, 而且还可以从感染 RBSDV 和 SRBSDV 的混合水稻样本中一次性扩增出 2 条大小不同的特异性条带。



M. DNA Marker; 1. 感染 RBSDV 标准样本; 2. 感染 SRBSDV 标准样本; 3. 感染 RBSDV 和 SRBSDV 的混合样本; 4. 阴性对照

M. DNA Marker; 1. Standard sample infected with RBSDV; 2. Standard sample infected with SRBSDV; 3. Mixture of standard samples infected with RBSDV and SRBSDV; 4. Negative control

图 2 感染 RBSDV 或 SRBSDV 的标准样本和 2 个标准样本的混合样本的 RT-PCR 检测

Figure 2 RT-PCR detection of standard sample infected with RBSDV or SRBSDV and the sample mixed with 2 standard samples

表 2 RBSDV 和 SRBSDV 安徽分离物 S9 部分片段与其他 15 个斐济病毒属成员 S9 部分片段核苷酸序列相似性
Table 2 Nucleotide sequence similarity between partial fragment of S9 of RBSDV and SRBSDV derived from Anhui and that of 15 other members of *Fijivirus*

分离物 Isolates	序列相似性 Sequence similarity			
	AH-LJ	AH-LX	AH-HN	AH-XZ
RBSDV-Wuhan	98.2	98.8	62.9	63.6
RBSDV-Zhengzhou	97.9	98.4	64.0	64.7
RBSDV-Shandong	99.3	99.8	63.6	64.3
RBSDV-Zhejiang	98.9	99.5	63.3	64.0
RBSDV-Zhjr	99.3	99.1	63.6	64.3
RBSDV-Zhjn	98.9	99.5	63.3	64.0
RBSDV-Hubei	98.8	99.3	63.6	64.3
RBSDV-Yunan	92.4	92.6	62.9	64.0
RBSDV-Japan	90.1	90.6	65.0	65.0
SRBSDV-Shangdong	64.7	64.3	99.5	99.5
RBSDV-2	64.7	64.3	99.5	99.5
SRBSDV-Hubei	64.7	64.3	98.6	98.6
SRBSDV-Hainan	64.7	64.3	99.1	99.1
MRDV-M	88.5	89.0	62.9	62.9
MRCV-P	58.5	58.3	54.1	54.1

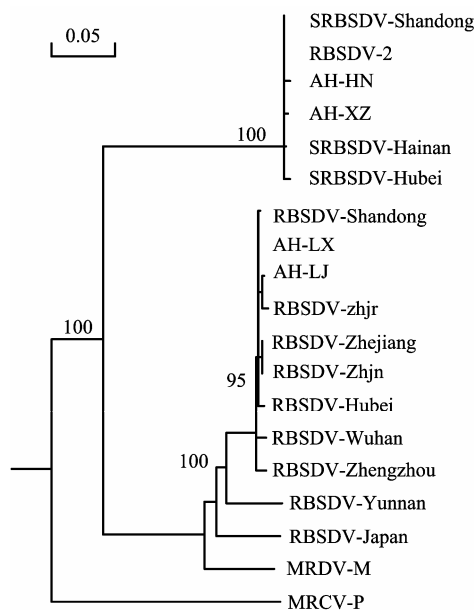


图 3 基于斐济病毒属各成员 S9 部分片段核苷酸序列构建的系统关系树

Figure 3 Relationship dendrogram based on the alignment of nucleotide sequences of partial fragments of S9 of all members of *Fijivirus*

2.2 RBSDV 和 SRBSDV 安徽分离物 S9 部分片段的克隆和测序

选取庐江县、郎溪县、怀宁县和宣州市各 1 个水稻样本，RT-PCR 扩增出特异性条带，再分别克隆和测序。从庐江、郎溪 2 个样本克隆的核苷酸序列均为 566 bp，分别命名为 AH-LJ 和 AH-LX，序列 GenBank 登录号分别为：HE861856 和 HE861857；

从怀宁、宣州 2 个样本克隆的核苷酸序列均为 1391 bp，分别命名为 AH-HN 和 AH-XZ，序列的 GenBank 登录号分别为：HE861858 和 HE861859。

2.3 RBSDV 和 SRBSDV 安徽分离物 S9 部分片段序列比较及分子进化分析

将来源于安徽的 2 个 RBSDV 和 2 个 SRBSDV S9 部分片段 (AH-LJ、AH-LX、AH-HN、AH-XZ) 与 GenBank 已登录的其他来源的斐济病毒属成员 S9 部分片段进行核苷酸序列相似性比较，发现 AH-LJ 与 RBSDV-Shandong 和 RBSDV-Zhjr S9 部分片段序列相似性最高，达 99.3%；AH-LX 与 RBSDV-Shandong S9 部分片段序列相似性最高，达 99.8%；AH-HN 和 AH-XZ 均与 SRBSDV-Shangdong 和 RBSDV-2 S9 部分片段序列相似性最高，达 99.5% (表 2)。

利用 DNAMAN 软件构建来源于安徽的 2 个 RBSDV 和 2 个 SRBSDV S9 部分片段 (AH-LJ、AH-LX、AH-HN、AH-XZ) 与 GenBank 已登录的其他来源的斐济病毒属成员 S9 部分片段核苷酸序列系统关系树 (图 3)，结果显示，马德里约柯托病毒(MRCV-P)单独聚成一个分支，RBSDV、SRBSDV 和玉米粗缩病毒 (MRDV-M) 聚成另一个分支，其中 AH-LJ 和 AH-LX 与其他 7 个 RBSDV 聚成一个亚分支；而 AH-HN 和 AH-XZ 与其他 4 个 SRBSDV (RBSDV-2 实际上是 SRBSDV) 聚成另一个亚分支。说明 AH-LX 和 AH-LJ 和 RBSDV 亲缘关系最近，而 AH-HN 和 AH-XZ 与 SRBSDV 亲缘关系最近。

3 小结与讨论

江淮稻区灰飞虱的本地繁殖型长翅成虫于 5 月中、下旬麦收前从麦田向秧田迁移扩散^[9], 而江淮稻区的白背飞虱是在 6 月下旬到 7 月中旬之间由南方热带稻区随气流逐代陆续迁入^[10]。RBSDV 和 SRBSDV 的传毒飞虱种类不同、发生时间不同, 采取的防治措施也有所不同。近两年, RBSDV 和 SRBSDV 在安徽省各个稻区的危害越来越重^[11], 明确这 2 种病毒在安徽省各稻区的发生与分布, 以及制定相应的防治策略已成为当务之急。由于 RBSDV 和 SRBSDV 侵染水稻引起的症状极为相似, 无法根据症状进行鉴定。研究显示, 浙江大学吴建祥等人利用 2 种病毒 S10 编码的 CP 蛋白共同肽段制备了单克隆抗体, 能从带毒飞虱及水稻病株中检测到 2 种病毒, 但不能特异性区分(结果未发表)。因此, RT-PCR 仍将是未来几年鉴定 RBSDV 和 SRBSDV 的主要方法。

RBSDV 和 SRBSDV 的分子检测与鉴定研究已见报道, 吕永平等^[12]根据 RBSDV S7 序列设计 1 对引物, 可以从感染 RBSDV 的水稻样本中扩增出 1 条特异性条带。杨杰等^[13]根据 RBSDV S1、S2、S6、S10 序列分别设计 1 对引物, 可以从感染 RBSDV 的水稻样本中分别扩增出 1 条特异性条带。王强等^[14]根据 SRBSDV S5 和 S10 序列分别设计 1 对引物, 可以一次性地从感染 SRBSDV 的水稻、玉米和白背飞虱样本中扩增出 2 条特异性条带。本研究根据 RBSDV 和 SRBSDV S9 序列设计 2 个正向引物和 1 个反向引物, 不仅可以从单独感染 RBSDV 或 SRBSDV 的水稻样本中分别扩增出 1 条大小不等的特异性条带, 而且还可以从感染 RBSDV 和 SRBSDV 的混合水稻样本中一次性扩增出 2 条大小不同的特异性条带。将 2 个分别感染 RBSDV 和 SRBSDV 的水稻样本混合成 1 个样本, 模拟了一个水稻样本受到 RBSDV 和 SRBSDV 的复合侵染, 研究结果表明, 本研究建立的方法可以通过一次 RT-PCR 检测来鉴定 RBSDV 和 SRBSDV 2 种病毒, 具有准确、快速、简便、高效等优点。

本研究从安徽庐江县、郎溪县、怀宁县和宣州市水稻上克隆了 RBSDV 和 SRBSDV S9 部分片段序列。序列分析发现, 这 4 个序列虽然存在着一定程度的分子变异, 但与 RBSDV 和 SRBSDV 相应片段具有高度相似性。AH-LX 和 AH-LJ 与 RBSDV 亲缘

关系最近, 且与 RBSDV-Shandong 和 RBSDV-Zhjr S9 部分片段序列相似性高达 99.3%~99.8%, 说明 AH-LX 和 AH-LJ 是 RBSDV 的 2 个分离物, 推测这 2 个 RBSDV 安徽分离物可能来自山东和浙江。AH-HN 和 AH-XZ 与 SRBSDV 亲缘关系最近, 且与 SRBSDV-Shangdong 和 RBSDV-2 S9 部分片段序列相似性高达 99.5%, 说明 AH-HN 和 AH-XZ 是 SRBSDV 的 2 个分离物, 推测这 2 个 SRBSDV 安徽分离物也可能来自山东和浙江。

参考文献:

- [1] 陈声祥, 张巧艳. 我国水稻黑条矮缩病和玉米粗缩病研究进展[J]. 植物保护学报, 2005, 32(1): 97-103.
- [2] Wang H D, Chen J P, Wang A G, et al. Studies on the epidemiology and yield losses from rice black-streaked dwarf disease in a recent epidemic in Zhejiang Province, China [J]. Plant Pathology, 2009, 58(5): 815-825.
- [3] Wang Z, Fang S, Xu J, et al. Sequence analysis of the complete genome of rice black-streaked dwarf virus isolated from maize with rough dwarf disease [J]. Virus Genes, 2003, 27: 163-168.
- [4] 洪健, 李德葆, 周雪平. 植物病毒分类图谱[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [5] Zhang H M, Chen J P, Lei J L, et al. Sequence analysis shows that a dwarfing disease on rice, wheat and maize in China is caused by *Rice black-streaked dwarf virus* [J]. European Journal of Plant Pathology, 2001, 107: 563-567.
- [6] 周国辉, 许东林, 李华平. 广东发生水稻黑条矮缩病病原分子鉴定[C]//中国植物病毒学会 2004 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 210-212.
- [7] Zhou G H, Wen J J, Cai D J, et al. *Southern rice black-streaked dwarf virus*: a new proposed *Fiji virus* [J]. Chinese Science Bulletin, 2008, 153: 1893-1898.
- [8] 周国辉, 张曙光, 周志强, 等. 水稻新病害南方水稻黑条矮缩病发生特点及危害趋势分析[J]. 植物保护, 2010, 36(2): 144-146.
- [9] 王丽, 韩超, 徐艳博, 等. 安徽江淮地区灰飞虱的春季迁飞与扩散[J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(5): 1288-1297.
- [10] 罗举, 汪远昆, 张孝羲, 等. 白背飞虱的迁飞生物学: 起飞与迁出[J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(5): 1202-1212.
- [11] 郑兆阳, 张启勇, 沈光斌. 安徽省南方水稻黑条矮缩病发生现状和综防对策[J]. 安徽农学通报, 2011, 17(7): 132.
- [12] 吕永平, 雷娟利, 金登迪, 等. 水稻黑条矮缩病毒的 RT-PCR 检测[J]. 浙江农业学报, 2002, 14(2): 117-119.
- [13] 杨杰, 王军, 周彤, 等. 江苏水稻黑条矮缩病病毒的 RT-PCR 分析和快速检测[J]. 华北农学报, 2008, 23(6): 87-92.
- [14] 王强, 周国辉, 张曙光. 南方水稻黑条矮缩病毒一步双重 RT-PCR 检测技术及其应用[J]. 植物病理学报, 2012, 42(1): 84-87.