

黄瓜绿斑驳花叶病毒检测技术的研究进展*

罗梅¹ 王琳² 宾淑英^{1**} 林进添¹

1. 仲恺农业工程学院植物保护系, 广州 510225; 2. 广东省农业厅植物保护总站, 广州 510500

摘要 黄瓜绿斑驳花叶病毒(cucumber green mottle mosaic virus, CGMMV)是我国的检疫性有害生物,在广西、辽宁、河北、山东、广东和北京等地均发现疫情,已严重威胁着西瓜、甜瓜、黄瓜等作物的生产,因此加强该病毒的检测极为重要。目前黄瓜绿斑驳花叶病毒病的检测主要有生物学检测、血清学检测、分子生物学检测及电镜显微观察等方法。笔者对有关黄瓜绿斑驳花叶病毒病的检测技术进行了综述,并分析了现有检测技术的优缺点和应解决的主要问题,探讨了该病毒检测技术今后发展的方向。

关键词 黄瓜绿斑驳花叶病毒; 检测; 方法

中图分类号 S 482.3⁺9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)03-0392-05

黄瓜绿斑驳花叶病毒(cucumber green mottle mosaic virus, CGMMV)属于芜菁花叶病毒科(Tymoviridae)烟草花叶病毒属(*Tobamovirus*),是世界上许多国家和地区葫芦科植物的重要检疫性对象,已严重威胁着西瓜、甜瓜、黄瓜等作物的生产。1935年,英国 Ainsworth^[1]首次报道了黄瓜绿斑驳花叶病毒在黄瓜上的危害,此后该病毒传到德国、巴西、伊朗、印度、日本、韩国以及我国台湾等 20 多个国家和地区^[2-7]。目前在我国广西、辽宁、河北、山东、广东和北京等地均发现疫情^[8-11],农业部已将黄瓜绿斑驳花叶病毒确定为我国检疫性有害生物。检测该病害主要有生物学检测、血清学、分子生物学及电镜观察等方法。笔者对有关黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测技术进行了综述,并分析了现有检测技术的优缺点和应解决的主要问题,旨在为该病毒的检测和相关研究提供帮助。

1 研究现状

随着分子生物学的发展,病毒的检测技术逐渐从传统的生物学检测方法向基于核酸的各种检测方法发展。黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测方法也经历了这样的进程。目前该病毒的检测主要有以下几种方法。

1.1 生物学检测

利用病株汁液摩擦健株或指示植物,通过症状可以进行该病的初步鉴定。生物学实验可以确定病

原的侵染性,用实验方法证明病毒与病害的直接相关性。CGMMV 病毒有 6 个株系^[12],分别为典型株系(即黄瓜绿斑驳花叶病毒)、黄瓜桃叶珊瑚花叶株系、西瓜株系、日本黄瓜株系、洋东株系、印度株系。黄瓜、西瓜、甜瓜、瓠瓜等是 CGMMV 的重要寄主,不同的寄主植物表现的症状有所差异。

在黄瓜上,最初新叶上出现黄色小斑点,随后逐渐发展为花叶、斑驳和浓绿泡状突起等症状,叶脉间褪色呈绿带状。在西瓜上,初期茎端幼叶呈现淡黄色花叶,随后出现浓绿凹凸斑,随叶片老化症状减轻;果实表现有浓绿圆斑,中央有坏死点,种子周围的果肉呈赤紫色水渍状,成熟时变为暗褐色且出现空洞^[13-14]。在甜瓜上,受害的新叶上出现黄斑,随叶片老化症状减轻;成株侧枝的叶片呈现不定形或星状黄化叶,生长后期顶部叶片有时产生大型黄色轮斑;幼果受害后有绿色花纹,后期为绿色斑,或在绿色斑中央出现灰白色斑^[15]。在瓠瓜上,病叶为花叶,有绿色突起,脉间黄化呈叶脉绿带状;植株上部叶片变小、黄化,下部叶片边缘波浪状,叶脉皱缩,叶片畸形;未成熟果实出现轻微斑驳,绿色部分稍突起,成熟后症状消失,果梗坏死^[16]。

生物学实验不仅可以鉴别病毒,还可以确定病毒的传播方式,明确病毒所致病害的症状类型和寄主范围。秦碧霞等^[8]曾运用该方法对广西一个农业展示厅内观赏南瓜的分离物进行寄主症状测试,结

收稿日期:2009-09-21; 修回日期:2010-02-26

** 国家自然科学基金项目(30671378)资助

** 通讯作者. E-mail: binsuying@163.com

罗梅,女,1984年生,博士研究生,助教,研究方向:植物病理学. E-mail: 08luomei@163.com

果显示该分离物在南瓜、西葫芦、西瓜、黄瓜、八角丝瓜和罗汉果等葫芦科植物上主要表现为系统花叶、褪绿斑和明脉等症状,在曼陀罗接种叶上表现为局部褪绿斑,在苋色藜、昆诺藜、普通烟、心叶烟、番茄、辣椒、菜豆、碗豆、豇豆等植物上无任何症状反应。2007年,赵世恒等^[17]用从日本引进的西瓜种子的病毒分离样品接种黄瓜后,健康植株均感病。Adkins等^[18]用生物学的方法确认了其分离物的寄主包含有16种茄科植物和2种藜科植物。生物学鉴定存在稳定性较差与工作量大等缺点。当引进的种子种植后,由于种传苗往往不显症,所以不能只凭肉眼观察,还必须进行其他室内检验。

1.2 血清学检测

利用黄瓜绿斑驳病毒的专化性抗血清来检测病毒,采用酶联免疫吸附方法进行测定,具有灵敏度高、特异性强、操作简单等优点,可检测出1~10 ng/mL的病毒。检测CGMMV的血清学方法多种多样,目前应用最多的是酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA),如单克隆及多克隆抗体双夹心ELISA(DAS-ELISA)、间接ELISA^[19]、斑点免疫杂交ELISA(DOT-ELISA)等。植物病毒血清反应的用途很广,不仅可用于病毒的快速鉴定,还可以用于病毒株系的鉴别及亲缘关系和分析。早在1985年,Kawai等^[20]运用改良ELISA(M-ELISA)的方法检测黄瓜,800粒种子中含有1粒带毒种子也可以被检测到。随后,DAS-ELISA的方法逐渐运用在CGMMV的检测上^[21-24]。赵世恒等^[17]和李桂芬等^[25]用间接ELISA方法检测该病毒,检测汁液的灵敏度为1:320 000,检测提纯病毒的灵敏度为 4.75×10^{-5} mg。2009年,李桂芬等^[25]成功获得3株分泌CGMMV特异性单克隆抗体的杂交瘤细胞(3C9,3F7,2G10),间接ELISA效价测定结果分别为 1.24×10^7 、 2.56×10^6 、 1.28×10^6 。血清学检测方法是一种用于常规检测的有效方法,但是该方法需要特异性的抗体,制作抗体过程繁琐、费时较长。目前,上海必优生物科技有限公司已开发出CGMMV诊断试剂盒,方便了该病毒的检测。

1.3 分子生物学检测

分子生物学技术主要是通过病毒的核酸来检测病毒,能检测到pg级甚至fg级的病毒,且剪异性强、操作简便、速度较快^[26-27]。常用的分子生物学技术主要是RT-PCR、免疫捕捉RT-PCR(IC-PT-

PCR)和实时荧光RT-PCR等。

1) RT-PCR检测。RT-PCR方法检测高度灵敏性及专化性。RT-PCR是通过提取总RNA后反转录成cDNA,然后进行扩增得到目的片段。这种快速灵敏的核酸检测方法也运用在各种植物病毒的检测^[28-32]。外壳蛋白基因(CP基因)广泛运用在病毒的鉴定^[33-37]。Shim等^[38]从西瓜分离的CGMMV西瓜株系中获得分析了该病毒的CP基因,与W、KOM和KW株系的同源性分别为98%、99%和100%。Yoon等^[39]通过CP基因的多态性分析了36个从韩国西瓜和黄瓜的CGMMV分离物,结果表明它们都在分子水平上没有显著差异。李红霞等^[40]通过外壳蛋白基因的RT-PCR扩增检测南瓜果实上的CGMMV。秦碧霞等^[41]通过扩CP基因,从广西葫芦上也检测到该病毒。李小妮等^[11]用RT-PCR的方法对2005—2008年广东省进行了疫情调查与检测。该方法灵敏度高,但由于其成功率最大的因素是能否提取出高纯度的、完整的RNA,故操作难度较大,对检测人员要求较高,且存在着不稳定性^[42]。

2) 免疫捕捉RT-PCR(IC-RT-PCR)。免疫捕捉RT-PCR是通过捕捉抗原,然后释放出RNA,反转录成cDNA,最后进行扩增得到目的片段。IC-RT-PCR结合了DAS-ELISA捕捉抗原与RT-PCR剪异性反转录的特点。该方法在检测病毒上的运用取得了良好的效果^[43-44]。Varveri等^[22]用IC-RT-PCR技术检测希腊的3个CGMMV分离物,其灵敏度比DAS-ELISA高出105倍。黄静等^[42]建立了该病毒的IC-RT-PCR检测方法,简化RNA的提取,降低了试验材料要求。与RT-PCR方法相比,该方法的操作更简便、对操作人员要求较低、且剪异性强,并可以弥补ELISA检测中出现假阳性的不足,使得结果更为可靠。用该方法进行检测的前提条件是具有特异性的抗体。

3) 实时荧光RT-PCR检测。自1996年美国ABI公司推出荧光PCR技术后,已应用于很多领域的研究。目前,实时荧光PCR也越来越广泛的运用到病毒的检测中。此技术是在PCR反应体系中加入荧光基团,利用荧光的积累实时监测整个PCR进程,然后通过标准曲线对与未知模板进行定量分析的方法。与常规PCR相比,它具有剪异性更强、有效解决PCR污染问题、自动化程度高等特点。实时荧光PCR的检测方法完全闭管检测,PCR产物不

需要电泳,减少了有毒物质的使用,缩短了检测时间,保护了生态环境。该方法现已广泛运用在各种植物病毒的检测^[45-47]。Chen 等^[48]用 *Taq* Man 探针实时荧光 RT-PCR 的方法检测 CGMMV,灵敏度达到 0.13 pg 的 RNA,能稳定检测到仅含有 50 个拷贝数 RNA 的样品。邓丛良等^[49]依据外壳蛋白基因的保守序列设计合成引物,用 *Taq* Man 探针,建立了 CGMMV 的检测方法,该方法比普通的 RT-PCR 的方法灵敏 10 倍以上。该方法具有快速、简便、准确的优点,适合 CGMMV 的快速、高效检测,但是这种方法需要昂贵的仪器及试剂。

4)其他检测方法。电镜观察病毒粒子也运用在该病毒的检测。病毒初提纯液及病叶浸渍液经负染后在电子显微镜下观察,可见大量直杆状病毒粒子,典型粒子长度约 300 nm,直径为 18 nm。粒体呈螺旋状结构,螺距 2.3 nm,螺旋有 49 个亚基/3 周。RNA 存在于核中心,半径为 4.0 nm 的位置^[50]。病毒粒子存于叶片、表皮、薄壁组织、木质部、韧皮部、伴胞及其他各部的细胞质和细胞液泡内。植物和昆虫等组织内病毒粒体的电子显微镜检视,要制成很薄的切片(30~50 nm),需要有超薄切片机和玻璃或金刚石才能达到这样的要求^[51]。利用电子显微镜技术可观察受侵染细胞的结构变化以及病毒粒体的形态和大小,通常只能起辅助鉴定的作用。

2003 年, Lee 等^[52]首次应用芯片技术对包括 CGMMV 在内的 4 种病毒进行检测。这种方法可以有效地进行病毒的鉴定与分化。此外, Liu 等^[53]用点杂交(dot-blot hybridization)的方法可以从 0.8 μ g 的植物组织中检测到感染的 CGMMV。这种方法不需要经过抗血清的制备,可以高效、快速地检测病毒的存在。邓丛良等^[54]用 MNP(纳米磁珠)-RT-PCR 的方法检测该病毒,灵敏度比普通的 RT-PCR 方法高 10 倍。

2 前景展望

在现有的几种检测黄瓜绿斑驳花叶病毒的方法中,生物学检测存在稳定性较差与工作量大等缺点,其鉴定周期较长,培育健康植株、接种和发病这一个过程需要的时间较长,而且特异性较差。但由于该方法可以鉴定病毒和确定其传播方式,能通过生物学检测同时确定病毒所致病害的症状类型和寄主范围,所以该检测方法依然受到植保工作人员的重视。血清学检测具有灵敏度高、特异性强和操作简单等

优点,但需要抗血清的制备,制作过程耗时长且繁琐,同时检测材料易被污染,容易出现假阳性。RT-PCR 检测由于需要提取 RNA 等步骤,对操作人员的专业技术要求较高,且 RNA 在提取的过程中容易降解,易造成稳定性差等问题。免疫捕捉 RT-PCR 检测灵敏度也很高,且其免去了提取 RNA 的步骤,可高效检测黄瓜绿斑驳花叶病毒的存在。实时荧光 RT-PCR 检测灵敏度非常高,而且全封闭的环境也提高了检测的准确性,但检测时需要昂贵的仪器与试剂,并非所有的实验室都具备该检测所需的设备。其他检测方法如电镜观察检测病毒通常只能起到辅助鉴定检测的作用,而点杂交及 MNP-RT-PCR 等方法虽可以高效快速地检测到病毒,但对检测人员的专业技术要求很高,故目前也未能有效推广使用。

黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测经历了传统生物学、免疫化学和核酸分子鉴定 3 个阶段。今后的发展方向将会是多种检测技术并存,达到更灵敏、更快速和更实用的效果。随着各种检测技术的成熟运用,各种分子生物学检测技术会广泛运用于黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测。尽管目前还存在检测费用高、操作要求高和受检测设备缺乏的限制,但随着相关技术的不断发展,这些问题都会逐步得到解决。血清学方法适合于大规模田间样品的常规检测,应研发出检测试纸或田间快速检测试剂盒以方便农民使用。分子生物学技术可为检疫部门提供快速、准确而灵敏的检测方法,其中实时荧光 RT-PCR 检测体系的建立,将大大提高黄瓜绿斑驳花叶病毒检测的灵敏度,为严格控制该病毒的传播和蔓延提供重要依据,加强检疫部门对发病区域的监控。

然而,技术的多元发展并没能给产品的研发带来良好的保证,如何保证检测产品的质量以及如何开发更快速、简便的黄瓜绿斑驳花叶病毒检测方法是今后工作的重点和难点,也是必须解决的问题。笔者认为,分子生物学方法特异性强、灵敏度高,只需要少量样品就能准确检测,其灵敏、特异、快速的特点,将会使其成为最有前途的病毒检测技术。但分子生物学方法因需要仪器设备,故目前该检测技术只局限于某些科研机构或检疫部门,普通的农民或基层的植保人员则无法应用。如何将研发出来的有效检测技术真正应用到生产第一线,仍需要多方面的继续努力。相信黄瓜绿斑驳花叶病毒多种检测技术的发展会有利于防御与控制该病害的发生。

参 考 文 献

- [1] AINSWORTH G C. Mosaic disease of cucumber[J]. Ann Appl Biol, 1935, 22: 55-67.
- [2] HENTSCHEL G. Virus diseases on greenhouse cucumber results from 1974 and the outlook for 1975[J]. Gemuse, 1975, 11(4): 108-111.
- [3] CHOUDHURY M M, LIN M T. Occurrence of virus diseases of melon and squash in the Sao Francisco region[J]. EMBRAPA Pesquisa em Andamento, 1982, 14(4): 2.
- [4] RAHIMIAN H, IZADPANAH K. A new strain of cucumber green mottle mosaic virus from Iran[J]. Iranian Journal of Agricultural Research, 1977, 5(1): 25-34.
- [5] RAYCHAUDHURI M, VARMA A. Mosaic disease of muskmelon caused by a minor variant of cucumber green mottle mosaic virus[J]. Phytopathologische Zeitschrift, 1978, 93(2): 120-125.
- [6] LEE K W. Occurrence of cucumber green mottle mosaic virus disease of watermelon in Korea[J]. Korean Journal of Plant Pathology, 1990, 6(2): 250-255.
- [7] HSEU S H, HUANG C H, CHANG C A. The occurrence of five viruses in six cucurbits in Taiwan[J]. Plant Protection Bulletin, 1987, 29(3): 233-244.
- [8] 秦碧霞, 蔡健和, 刘志明, 等. 侵染观赏南瓜的黄瓜绿斑驳花叶病毒的初步鉴定[J]. 植物检疫, 2005(4): 198-200.
- [9] 陈红运, 赵文军, 程毅, 等. 辽中地区西瓜花叶病病原的分子鉴定[J]. 植物病理学报, 2006, 36(4): 306-309.
- [10] 田永蕾, 刘冬梅, 张永江, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒北京和山东分离物的生物学测定及其基因组比较[J]. 植物检疫, 2009, 6(23): 1-6.
- [11] 李小妮, 任小平, 王琳, 等. 广东省黄瓜绿斑驳花叶病毒分子检测及防疫[J]. 植物保护学报, 2009, 36(3): 283-284.
- [12] THOMAS B J. Occurrence and epidemiology of the cucumber necrosis strain of tobacco necrosis virus in cucumber crops [M]. [s. l.]: Annual Report Glasshouse Crops Research Institute, 1982: 117-123.
- [13] INOUE T, INOUE N, ASATANI M, et al. Studies on cucumber green mottle mosaic virus in Japan[J]. Nogaku Kenkyu, 1967, 51: 175-186.
- [14] KOMURO Y, TOCHIHARA H, FUKATSU R, et al. Cucumber green mottle mosaic virus (watermelon strain) in watermelon and its bearing on deterioration of watermelon fruit known as konnyaku disease[J]. Annals Phytopathological Society of Japan, 1971, 37: 34-42.
- [15] YOSHIDA K. Mosaic virus isolated from melon (*Cucumis melon* L.) [J]. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1980, 46(3): 349-356.
- [16] TAN S H, NISHIGUCHI M, MURATA M, et al. The genome structure of kyuri green mottle mosaic tobamovirus and its comparison with that of cucumber green mottle mosaic tobamovirus[J]. Archives of Virology, 2000, 145(6): 1067-1079.
- [17] 赵世恒, 李明福, 张永江, 等. 引进种质西瓜中黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测[J]. 北京农学院学报, 2007, 22(2): 32-34.
- [18] ADKINS S, KAMENOVA I, ROSSKOPF E N. Identification and characterization of a novel *Tobamovirus* from tropical soda apple in Florida[J]. Plant Disease, 2007, 91: 287-293.
- [19] 李桂芬, 马洁, 陈红运, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒多克隆抗体制备及检测应用[J]. 河南农业科学, 2007(11): 76-78.
- [20] KAWAI A, KIMURA S, NISHIO T, et al. Detection for cucumber green mottle mosaic virus in cucumber seeds using enzyme linked immunosorbent assay[J]. Research Bulletin of the Plant Protection Service, 1985, 21: 47-53.
- [21] CHOI G S, KIM J H, CHUNG B N, et al. Simultaneous detection of three *Tobamoviruses* in cucurbits by rapid immunofilter paper assay[J]. Plant Pathology Journal, 2001, 17(2): 106-109.
- [22] VARVERI C, VASSILAKOS N, BEM F. Characterization and detection of cucumber green mottle mosaic virus in Greece[J]. Phytoparasitica, 2002, 30(5): 493-501.
- [23] ADKINS S, KAMENOVA I, ACHOR D, et al. Biological and molecular characterization of a novel tobamovirus with a unique host range[J]. Plant Disease, 2003, 87: 1190-1196.
- [24] CHANG K S, JUNG H L, SUN M H, et al. Construction of antibodies for detection and diagnosis of cucumber green mottle mosaic virus from watermelon plants[J]. The Korean Society of Plant Pathology, 2006, 22(1): 21-27.
- [25] 李桂芬, 曹振, 马杰, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒单克隆抗体的研制[J]. 植物保护, 2009, 35(6): 40-42.
- [26] HENSON J M, FRENEH R. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis [J]. Ann Rev Plant Pathology, 1993, 31: 81-109.
- [27] GONZAGUE M, PLIN C. Development of an internal control for the detection of the African swine fever virus by PCR[J]. Molecular and Cellular Probes, 2002(3): 237-242.
- [28] 廖芳, 郭京泽, 刘鹏, 等. RT-PCR 和实时荧光 RT-PCR 一步法检测大豆中菜豆荚斑病毒[J]. 植物保护学报, 2009, 36(2): 141-145.
- [29] 刘梅, 黄新, 马占鸿, 等. 应用 DPO 引物检测马铃薯病毒的多重 RT-PCR 技术研究[J]. 植物病理学报, 2009, 39(4): 431-434.
- [30] 孙琦, 张春庆, 孟昭东, 等. 马铃薯 X、Y 病毒的复合 RT-PCR 检测体系的建立[J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(4): 737-738.
- [31] 张丽莉, 杨翠云, 于翠, 等. 同步检测为害非洲菊 3 种病毒的多重 RT-PCR 方法研究[J]. 上海农业学报, 2009, 25(2): 20-24.
- [32] 张巧萍, 丁元明, 王云月, 等. 凤仙花坏死斑病毒的 RT-PCR 和巢式 PCR 检测[J]. 华中农业大学学报, 2009, 28(1): 23-26.
- [33] 吴兴泉, 陈士华, 吴祖建, 等. 马铃薯 A 病毒 CP 基因的克隆与序列分析[J]. 植物保护, 2003, 29(5): 25-28.
- [34] 周国辉, 陈晓琴, 周洁浪, 等. 广东省兰花建兰花叶病毒分子鉴定及其外壳蛋白基因序列分析[J]. 华中农业大学学报, 2004, 23(4): 381-384.
- [35] 李志勇, 夏惠娟, 李兴红, 等. 北京、宁夏甜椒上分离黄瓜花叶病毒 CP 基因序列分析及亚组鉴定[J]. 河北农业大学学报, 2005, 28(4): 89-92.

- [36] 郑银英,洪霓,王国平,等. 苹果茎沟病毒梨分离物外壳蛋白基因的克隆和序列分析[J]. 植物病理学报,2006,36(1):62-66.
- [37] 陈晓琴,伦璇,周凌云,等. 广州地区 SCMV 玉米分离物外壳蛋白基因的序列分析及其引致的生理病变[J]. 华中农业大学学报,2007,26(2):151-156.
- [38] SHIM C K, HAN K S, LEE J H, et al. Isolation and characterization of watermelon isolate of cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV-HY1) from watermelon plants with severe mottle mosaic symptoms[J]. Korean Society of Plant Pathology, 2005, 21(2):167-171.
- [39] YOON J Y, CHOI G S, CHOI S K, et al. Molecular and biological diversities of cucumber green mottle mosaic virus from cucurbitaceous crops in Korea[J]. Phytopathology, 2008, 156: 408-412.
- [40] 李红霞,白静,陈红运. 南瓜果实中黄瓜绿斑驳花叶病毒的 RT-PCR 检测及 CP 基因序列分析[J]. 植物检疫, 2007, 21(5): 268-270.
- [41] 秦碧霞,蔡健和,刘志明,等. 侵染葫芦的黄瓜绿斑驳花叶病毒广西分离物分子鉴定[J]. 植物保护, 2008, 34(1):116-118.
- [42] 黄静,廖富荣,林石明,等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测及分子检测[J]. 植物保护科学, 2007, 23(4):318-322.
- [43] 邓晓云,洪霓,胡红菊,等. 检测砂梨潜隐病毒的 IC-RT-PCR 和 TC-RT-PCR 的研究[J]. 果树学报, 2004, 21(6):569-572.
- [44] 陈建军,曹香林,古勤生,等. IC-RT-PCR 检测葡萄卷叶病毒Ⅲ的研究[J]. 河南农业科学, 2006(8):109-113.
- [45] ROBERTS C A, DIETZGEN R G, HEELAN L A. Real-time RT-PCR fluorescent detection of tomato spotted wilt virus[J]. Journal of Virological Methods, 2000, 88:1-8.
- [46] RATTI C, BUDGE G, WARD L, et al. Detection and relative quantitation of soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) and *Polymyxa graminis* in winter wheat using real-time PCR (TagMan)[J]. Journal of Virological Methods, 2004, 122:95-103.
- [47] 杨伟东,郑耕,陈枝楠,等. 烟草环斑病毒 RT-Real-time PCR 检测方法[J]. 植物保护学报, 2007, 34(2):157-160.
- [48] CHEN H Y, ZHAO W J, GU Q S, et al. Realtime TagMan RT-PCR assay for the detection of cucumber green mottle mosaic virus[J]. Journal of Virological Methods, 2008, 149:326-329.
- [49] 邓丛良,黄峰,吕玉峰,等. 实时荧光 RT-PCR 方法检测黄瓜绿斑驳花叶病毒[J]. 植物检疫, 2009, 23(4):29-31.
- [50] 张永江. 黄瓜绿斑驳花叶病毒研究进展[J]. 河南农业科学, 2006(8):9-11.
- [51] 方中达. 植病研究方法[M]. 3版. 北京:中国农业出版社, 1998:297.
- [52] LEE G, MIN B E, KIM-CHUNG S, et al. Plant virus cDNA chip hybridization for detection and differentiation of four cucurbit infecting tobamoviruses[J]. Journal of Virological Methods, 2003, 110(1):19-24.
- [53] LIU Y, WANG Y N, WANG X F, et al. Molecular characterization and distribution of cucumber green mottle mosaic virus in China[J]. Phytopathology, 2009, 157:393-399.
- [54] 邓丛良,江明,汪万春. 应用 MNP-RT-PCR 方法检测黄瓜绿斑驳花叶病毒[J]. 植物病理学报, 2008, 38(4):436-440.

Review on the Detection Methods of Cucumber Green Mottle Mosaic Virus (CGMMV)

LUO Mei¹ WANG Lin² BIN Shu-ying¹ LIN Jin-tian¹

1. Department of Plant Protection, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China;

2. General Station of Plant Protection of Guangdong Province, Guangzhou 510500, China

Abstract The cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) is one of the quarantine viruses in China which can seriously affect the product of watermelon, melon and cucumber. It has been found in Guangxi, Liaoning, Hebei, Shandong, Guangdong Province and Beijing in China presently. Thus it is important to establish effective methods for the detection of CGMMV. Biology method, serology method, molecular biology method and electron microscopy method are widely used in the detection of CGMMV. This paper made a comprehensive study on the above mentioned methods and pointed out the advantages and disadvantages of these methods as well as the new development of the detection of this virus.

Key words cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV); detection; method

(责任编辑:陈红叶)