

2000, 15(2)

① 97-105
第15卷第2期
2000年6月中国病毒学
VIROLOGICA SINICAVol. 15 No. 2
Jun. 2000小麦黄花叶病毒和小麦梭条斑花叶病毒的生物学
和分子生物学研究*陈炯¹, 程晔², 陈剑平²

S432.41

S435.121.4

¹(浙江大学生物科学与技术系, 杭州 310027)²(浙江省农业科学院真菌传植物病毒实验室, 杭州 310021)Biological and Molecular Biological Characterization of Wheat
Yellow Mosaic and Wheat Spindle Streak Mosaic Bymoviruses*CHEN Jiong¹, CHENG Ye², CHEN Jian-ping²¹(Department of Biological Science and Technology, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)²(Virology Laboratory, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

关键词: 小麦黄花叶病毒; 小麦梭条斑花叶病毒; 流行病学; 基因组结构

小麦, 植物病毒

WYMV, WSSMV, 生物学

Key words: Wheat yellow mosaic bymovirus; Wheat spindle streak mosaic bymovirus; Epidemiology; 分子生物学

Genome organization

中图分类号: S432.41 文献标识码: A 文章编号: 1003-5125(2000)02-0097-09

线状土传小麦花叶病毒病在欧洲、亚洲和北美洲等地均有发生。这类病毒由根肿菌纲的禾谷多粘菌(*Polymyxa graminis*)传播,并归类于马铃薯Y病毒科(*Potyviridae*)的大麦黄花叶病毒属(*Bymovirus*)。

日本的 Sawada(1927)^[1]首次发现并描述小麦花叶病害,随后的研究表明病原是土传的。Inouye(1969)^[2]证明该病害的病原是小麦黄花叶病毒(wheat yellow mosaic virus, WYMV)。Slykhuis(1960)^[3]首次在加拿大安大略省的冬小麦上发现并描述小麦梭条斑花叶病害。Slykhuis 和 Polak(1969)^[4]证明该病害是由小麦梭条斑花叶病毒(wheat spindle streak mosaic virus, WSSMV)引起的。这两个名字都曾被用于我国和欧洲分离物,是我国冬麦区包括陕西、四川、湖北、山东、河南、安徽、江苏和浙江等省的重要病害。在德国,曾报道在黑麦上分离到 WYMV。由于 WSSMV 和 WYMV 症状和细胞病理学、血清学、病毒粒子形态学、基因组和外

收稿日期:1999-01-25,修回日期:1999-05-05

* 基金项目:863 资助项目(101-04-01-05);浙江省重大科技项目(961106129);浙江省青年科技人才专项资金(RC9604)

作者简介:陈炯(1975年-),男,汉,浙江绍兴人,硕士,1999年入学读博士学位。主要从事植物病毒学研究。

通讯作者:陈剑平(1963年-),男,汉,浙江鄞县人,研究员,英国丹迪大学博士,主要从事真菌传植物病毒的研究。

壳蛋白大小以及小麦品种反应的相似性, Usugi 和 Saito(1979)^[5]建议 WSSMV 为 WYMV 的一个株系。此后, Sohn 等(1994)^[6]报道了 WSSMV 法国分离物 RNA1 3'-端 4 kb 序列, 于嘉林等(1995)^[7]报道了一个中国河南分离物 RNA1 3'-末端的 891 个核苷酸序列, 发现与法国分离物仅有 69.9% 的序列同源性。最近, Namba 等(1998)^[8]报道了日本 WYMV 基因组全长序列, 与法国分离物相比, 也仅有 69.8% 的同源性, 从而表明它们是不同的病毒。以下阐述这两种病毒的生物学和分子生物学特性。

1 生物学和生态学

1.1 宿主范围和症状

两种病毒在自然界都仅侵染普通小麦 (*Triticum aestivum*) 和硬粒小麦 (*T. durum*)。曾有报道说 WYMV 在德国的黑麦 (*Secale cereale*) 上也有发现^[9], 然而, 最近的研究表明该分离物是 WSSMV^[10]。在实验室条件下, 两种病毒均能摩擦接种小麦和黑麦。

WYMV 侵染的小麦在 2 月中旬显症, 嫩叶上呈现褪绿条纹或黄花叶症状, 在老叶上也常出现坏死斑。3~5 月间气温升高后, 花叶症状逐渐消失, 新叶无症, 但是植株分蘖减少。通常感病植株麦穗短小, 发育不全。WSSMV 症状通常为短褪绿或坏死斑点及梭条状条纹, 引起小麦分蘖减少及矮化。温度是该类病害发展及症状表现的主要决定因素。

症状表现由于不同小麦品种而有所差别。通常感病品种症状严重, 而抗病品种则无症或症状轻微。两种病害的田间症状都是田块呈现浅绿色到黄色, 很容易和肥力缺乏引起的作物田间症状相混淆。

1.2 地理分布

土传线状小麦花叶病害在亚洲、欧洲和北美洲普遍发生, 主要分布于北半球的冬小麦栽种区。已证实其存在的地区为: 中国的安徽、河南、江苏、湖北、陕西、四川、山东和浙江等省, 印度的北海道、本州、九州、琉球和四国, 加拿大的安大略省, 美国的阿拉巴马、阿肯萨斯、乔治亚、伊利诺斯、印地安那、肯萨斯、肯特基、马里兰、密歇根、内布拉斯加、纽约、俄克拉哈马、宾西法尼亚和弗吉尼亚等州, 意大利, 法国和德国等。

通过不同地区分离物的基因组研究证实, 欧洲和北美洲分离物是一个基因组同源的种, 彼此间非常相似(93.5%~99.5%); 中国和日本分离物是另一个基因组同源的种群(96.9%~99.0%); 与欧美分离物具有很大的差异(核苷酸序列同源性 67.7%~77.7%)。因此北美和欧洲分离物应当统一为 WSSMV, 而亚洲分离物应当为 WYMV^[10]。

1.3 病害传播

1.3.1 介体

禾谷多粘菌为根肿菌纲成员。Ledingham(1939)在加拿大安略省的小麦上首次发现该菌, 通过 9 年观察, 他对禾谷多粘菌的形态学和生活史作了详细的描述^[11]。陈剑平等(1992, 1993, 1998)^[12~14]和 Littlefield 等(1997)^[15]对禾谷多粘菌超微结构作了详尽的研究。Castlebury 和 Domier(1998)^[16]研究了根肿菌纲代表成员甘蓝根肿菌 (*Plasmodiophora brassicae*) 的进化史, 他们在分析了核糖体小亚单位 RNA 基因 (SSU rDNA) 的序列数据后发现, 它和对照的生物亲缘性都不高, 但和原生动物的亲缘性要比它和真菌或是粘菌的亲缘性更高。禾谷多

粘菌的宿主范围很广,包括禾谷类的大麦、小麦和燕麦,一些分离物还能侵染双子叶植物。

1.3.2 病毒-介体关系

Slykhuis 和 Barr(1978)^[17]提出 WSSMV 是由禾谷多粘菌传播。他们用禾谷多粘菌接种小麦植株的根系,和(或)在植物叶片上摩擦接种病毒,然后将一些无病幼苗和它们栽种在一起,结果表明只有在 WSSMV 和禾谷多粘菌都存在的情况下,幼苗上才会发生病害,且该病害不能由其他测试的土栖真菌孢子传播。土壤中 WSSMV 的侵染性经 52.5℃ 加热 30 min 丧失,湿土或干土的侵染性在温室内或户外都可保持 5 年。

对于 WYMV 病害传播的研究不多。Ikata 和 Kawai(1940)^[18]调查了 WYMV 病害的生态学,揭示该病害的病原是通过土壤传播的。带毒的土壤在户外放置 5 年或室内 4 年后丧失侵染性。因为 WYMV 和大麦黄花叶病毒(barley yellow mosaic virus, BaYMV)及 WSSMV 非常相似,故一般认为病毒存在于禾谷多粘菌体内以持续性方式传播。

1.3.3 病害流行病学

秋季适当降雨和较低温度(4~13℃,最适为 10℃)、冬季寒冷以及春季延续的低温有利于病害的发生和症状表现。连作感病小麦品种会导致该类病害的流行,并且病症加重,休耕能消除或降低土壤的侵染性。温度是病害发展及症状表现的主要决定因素^[18,19]。

WSSMV 及 WYMV 侵染冬小麦的最适温度为 15℃(变动范围可在 5~17℃,但不能超过 20℃)。在适宜的温度及充足的土壤湿度条件下,小麦播种后 4~10 d 病毒侵染就会发生,10~20 d 侵染达到高峰^[18~20]。在北温带小麦栽种区,大约是在播种后 10~40 d,田间的病毒就随着禾谷多粘菌的游动孢子开始侵染小麦。播种 30 d 后,用 ELISA 方法可以在冬小麦根部检测到病毒,60 d 后,就能在嫩叶上检测到病毒。

病毒侵染的植株数以及根组织中的病毒含量在秋冬季增加,嫩叶中的病毒含量在秋末、冬季和早春增加。通常这段时间的气温都低于 5℃,表明病毒的二次侵染、复制、细胞-细胞间的运动以及系统性的运动都只在很低的温度条件下发生^[20~22]。

这类病毒从根到叶的运动相当缓慢,约需 30~40 d,而从叶到根的运动仅需要 5 d。病毒从根到叶的运动之所以缓慢,可能取决于韧皮部对病毒的吸收情况^[23]。

虽然秋冬季时 ELISA 法已能检测到植株中病毒的存在,但此时小麦植株是无症的^[20~22]。冬末早春时分,温度常变动在 5~13℃,植株经春化后重新生长,新叶才逐渐表现出症状。病土接种的植株,在合适温度下,通常需 60 d 或更长的潜伏期才能表现出症状;即便是用病毒摩擦接种幼苗,症状表现也需要经过 30~40 d 时间^[24,25]。

用以下一些处理方法可以使潜伏期缩短几周,并使表现症状植株的百分数增加:1)交替的冰冻和融冻;2)培养温度在 5~17℃ 范围内变动;3)严重冰冻(-17℃)损害后再生长;4)剪除植株嫩叶后再生长。除方法 2 外,其余方法都是对根(直接)和(或)叶片(直接或间接)的损害,推测可能是由于暂时性地改变了植株韧皮部结构,病毒更容易进入,从而导致潜伏期的缩短^[23]。

1.3.4 经济影响

WSSMV 和 WYMV 的危害主要表现为小麦分蘖减少、生长受阻、产量减少和质量下降。

在加拿大安大略省,WSSMV 侵染引起的冬小麦产量损失一般在 3%~59%之间。在美国北部、中部和东北部地区,WSSMV 的侵染常导致 24%~64%的减产。欧洲 WSSMV 通常

是和土传小麦花叶病毒(soil-borne wheat mosaic virus, SBWMV)混合侵染小麦的,引起的作物产量损失也很严重。中国 WYMV 病害分布区域包括北部冬小麦区的胶东沿海区,黄淮冬小麦区的大部,长江中、下游冬小麦区的部分和西南冬小麦区的四川盆地区等小麦生态区。据我们 1998 年春天沿 312 国道从南京到河南潢川的调查,大约有 20%~30% 的小麦发病。如河南潢川县, WYMV 常年发病面积在 10 000 hm^2 ; 1991 年大发生,发病面积 23 333 hm^2 , 3 333 hm^2 绝收; 1970~1998 年累计发病面积达 206 666 hm^2 。一般病田小麦减产 10%~30%,重病田减产可高达 50%~70%。山东胶东半岛的小麦花叶病害是 WYMV 和中国小麦花叶病毒(Chinese wheat mosaic virus, CWMV)混合侵染引起的,危害更为严重,感病品种常常整片坏死^[26]。在日本, WYMV 可引起小麦产量的严重损失,高感病和轻微感病品种间存在 35% 的产量差异。

1.3.5 病害防治

由于这类病毒传播介体的休眠孢子抗逆性很强,化学试剂和杀菌剂的使用在经济和生态学上都是不可行的,休耕或轮作可以起到一定的防治作用,但是这类病害的控制主要靠栽种抗病品种。由于目前无法筛选到抗禾谷多粘菌的小麦品种,所以今后的育种仍有赖于病毒基因介导的抗性。浙江省农科院病毒室和德国马普所、中国农科院植保所及英国洛桑试验站合作,应用基因工程改良小麦,使小麦对这类病害产生抗性。目前全长病毒外壳蛋白和截短的 NIb 基因小麦表达载体已经构建完成,小麦转基因工作正在进行之中。

2 分子生物学

2.1 病毒粒子性质

WYMV 和 WSSMV 均为弯曲的线状病毒粒子。WSSMV 粒子典型长度为 275~300 nm 和 600~625 nm,直径为 12.8 nm。提纯的线状病毒长度常常超过 2 000 nm,可能是由于病毒粒子两端线性化聚集引起^[4]。WYMV 粒子长度典型分布峰为 275~300 nm 和 575~600 nm,直径 13~14 nm^[2]。

两种病毒都能在宿主植物中产生细胞质内含体。在 WYMV 侵染的小麦植株叶片细胞中已发现有复合膜状体、风轮体和圆柱状体的存在。这些内含体通常成簇出现并在原生质体中占据了很大的空间。病毒状粒子散布在原生质体中,或与小的结晶体及风轮状内含体结合^[2,27]。WSSMV 侵染的小麦细胞病理学和 WYMV 相似,膜状体通常是有序排列的。细胞质的某些部位存在很多风轮状内含体,与 WYMV 侵染细胞中的情况很相似。病毒状粒子散布或聚集在细胞质中,或结合有一些小的结晶体。粒子也沿着风轮状内含体的长轴方向并行排列^[27,28]。

WYMV、WSSMV 和 BaYMV 血清学相关。免疫电镜研究表明, BaYMV 和 WYMV 抗血清反应较强,与美国 WSSMV 抗血清反应较弱,而与大麦和性花叶病毒(barley mild mosaic virus, BaMMV)或 SBWMV 抗血清不反应^[10]。

2.2 基因组结构及编码的蛋白

两种病毒均具有两条单股、正链 RNA 基因组。WSSMV RNAs 的分子量分别为 2.6×10^6 Da 和 1.4×10^6 Da; WYMV RNAs 的分子量分别为 2.6×10^6 Da 和 1.5×10^6 Da。由 WSSMV

和 WYMV 外壳蛋白基因的核苷酸序列推测的外壳蛋白大小(CP)分别为 31.9 kDa 和 32 kDa, 和 SDS-PAGE 分析结果几乎相同^[6, 8, 29]。WSSMV 和 WYMV 的基因组结构相似, 但同源性较低(图 1 和表 1)。

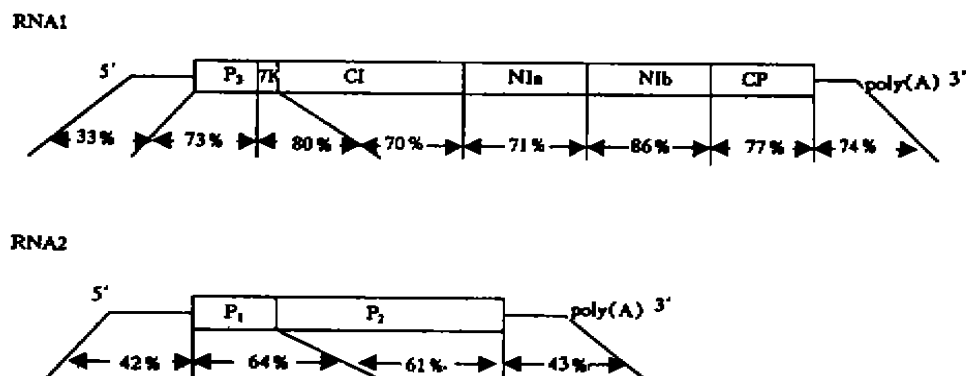


图 1 WSSMV-Fr 和 WYMV-T 基因组结构图示及不同区域的同源性

Fig. 1 Genomic organization and homology of WSSMV-Fr and WYMV-T

表 1 WYMV-T 和 WSSMV-Fr 的基因组结构及其编码蛋白

Table 1 Genomic organization and induced proteins of WYMV-T and WSSMV-Fr

	WYMV-T						WSSMV-Fr					
	核苷酸		蛋白质				核苷酸		蛋白质			
	位置	大小	位置	大小	Mr(kD)	位置	大小	位置	大小	Mr(kD)		
RNA1												
5'-UTR	1~162	162				1~169	169					
起始密码子	163~165					170~172						
P3	163~1143	981	1~327	327	36	170~1099	930	1~310	310	35		
7 kDa	1144~1341	198	328~393	66	7	1100~1297	198	311~376	66	7		
CI	1342~3318	1977	394~1052	659	73	1298~3274	1977	377~1035	659	73		
NIa	3319~4911	1593	1053~1583	531	60	3275~4970	1596	1036~1567	532	60		
NIb	4912~6495	1584	1584~2111	528	59	4971~6454	1584	1568~2095	528	59		
CP	6496~7374	879	2112~2404	293	32	6455~7336	882	2096~2389	294	32		
ORF	163~7374	7212	1~2404	2404	269	170~7336	7167	1~2389	2389	267		
终止子	7375~7377					7337~7339						
3'-UTR	7378~7636	259				7340~7570	231					
RNA2												
5'-UTR	1~168	168				1~170	170					
起始密码子	169~171					171~173						
P1	169~933	765	1~255	255	28	171~935	765	1~255	255	28		
P2	934~2880	1947	256~904	649	73	936~2870	1935	256~900	635	71		
ORF	169~2880	2712	1~904	904	101	171~2870	2700	1~900	900	100		
终止子	2881~2883					2871~2873						
3'-UTR	2884~3659	776				2874~4073	1200					

WYMV-T(WYMV 日本典型分离物)RNA1 和 RNA2 分别由 7 636 和 3 659 nt 组成[不包括 3'-poly(A)尾]。计算机分析揭示, RNA1 和 RNA2 分别具有一个长的开放阅读框架(ORF1 和 ORF2)。ORF1 长 7 212 nt, 起始于 nt 163~165 处的第一个 AUG, 终止于 nt 7 375~7 377 处的 UAA 密码子。其后是长为 259 nt 的 3'-UTR。ORF1 编码一个 2 404 个氨基酸(aa)的蛋白质, 分子量 269 kDa。推测 269 kDa 蛋白经切割后产生 6 个蛋白, 包括 C 端的 CP 和 5 个非结构蛋白。CP 由 293 aa 组成, 分子量 32 kDa。NIb 蛋白具有 RNA 依赖性的 RNA 聚合酶活性位点的保守模式 SGX₃TX₃NT X₁₈₋₃₇GDD(1 915~1 965 aa)。NIa-Pro 负责 269 kDa 蛋白的切割。NIa-VPg 含有一个 Tyr, 可能是起结合病毒 RNA5'-末端的作用。CI 蛋白具有 NTP 结合模式 GXXGXGKS(486~583 aa), 不同处是第四个氨基酸 G 被 V 替换, 被认为具有解螺旋酶的活性。P3 蛋白具有锌指结构。7 kDa 蛋白功能仍不清楚。ORF2 长为 2 712 nt, 起始于 nt 169~171 处的第一个 AUG 密码子, 终止于 nt 2 881~2 883 处的 UAG 密码子, 推测编码一个 904 aa、分子量 101 kDa 的蛋白。101 kDa 蛋白在 254~256 aa 处含有一个 VGS 三氨基酸切割位点, 通过切割可产生两个大小分别为 28 kDa(P1)和 73 kDa(P2)的蛋白。P1 蛋白含有蛋白酶结构域 GYCY(141~144 aa), 并在 215 aa 处有一个切割活性所必需的组氨酸残基, 该蛋白和马铃薯 Y 病毒科其他成员的 HC-Pro 蛋白结构类似。P2 蛋白含有一个假的 CP 结构域(319~398 aa)和一个富含亮氨酸的结构域(595~777 aa)。与马铃薯 Y 病毒科其他病毒的 P2 蛋白以及 *Furovirus* 的 CP-readthrough(RT)蛋白具有一定的同源性。WYMV RNA1 和 RNA2 的 5'-UTR 长度相似(分别为 162 和 168 nt), 且具有相当的序列同源性(65%)。5'-UTR 可能在病毒包装、复制及翻译中起着重要的作用。WYMV RNA1 和 2 的 3'-UTR 在长度(分别为 259 和 767 nt)和序列上都具有很大差异^[8,10]。

WSSMV-Fr(WSSMV 法国分离物)RNA1 和 RNA2 分别长为 7 570 和 4 073 核苷酸[不包括 3'-poly(A)尾]。基因组结构和 WYMV-T 相似。RNA1 ORF1 长 7 167 核苷酸, 起始于 nt 170~172 处的第一个 AUG, 终止于 nt 7 337~7 339 处的 UAA 密码子, 编码一个 2 389 aa 的蛋白质, 分子量 266.5 kDa; 3'-UTR 长 231 nt。ORF2 长 2 700 nt, 起始于 nt 171~173 处的第一个 AUG 密码子, 终止于 nt 2 871~2 873 处的 UAG 密码子, 推测编码一个 900 aa、分子量 99.8 kDa 的蛋白。两个聚合蛋白的结构和 WYMV 类似。RNA1 和 RNA2 的 5'-UTR 长度相似(分别为 169 和 170 nt), 3'-UTR 在长度(分别为 231 和 1 200 nt)和序列上都具有很大差异(表 1)^[6,30]。

2.3 分子进化和株系分化

WSSMV 和 WYMV 外壳蛋白区域的序列同源性与确立的马铃薯 Y 病毒科不同种的划分标准是相符的, 但较高的同源性也揭示 WSSMV、WYMV 和 BaYMV 是很相似的病毒。对于外壳蛋白区域核苷酸序列的相关性研究表明了这些病毒分离物间的近缘关系(图 2)^[10]。

1991 年, 在日本北海道地区 Eniwa 城发现一个有别于 WYMV-T 的株系, 被命名为 WYMV-H。在 1991~1994 年, Kusume 等研究表明 WYMV-T、WYMV-H 和 WSSMV 在不同小麦品种上的致病性存在明显差异。WYMV-T 能感染关东地区的主要秋播小麦品种 Norin 61, 而 WYMV-H 不能; 北海道地区的两种主要秋播小麦品种 Chihokukomugi 和 Horoshirikomugi 仅被 WYMV-H 感染; 且 WYMV-H 不感染对 WYMV-T 高感病的品种 Hatakedakomugi。ELISA 结果也进一步表明了 WYMV-T、WYMV-H 和 WSSMV 之间的血清学差异, WYMV-H 株系与 WYMV-T 在血清学上关系更近^[3]。

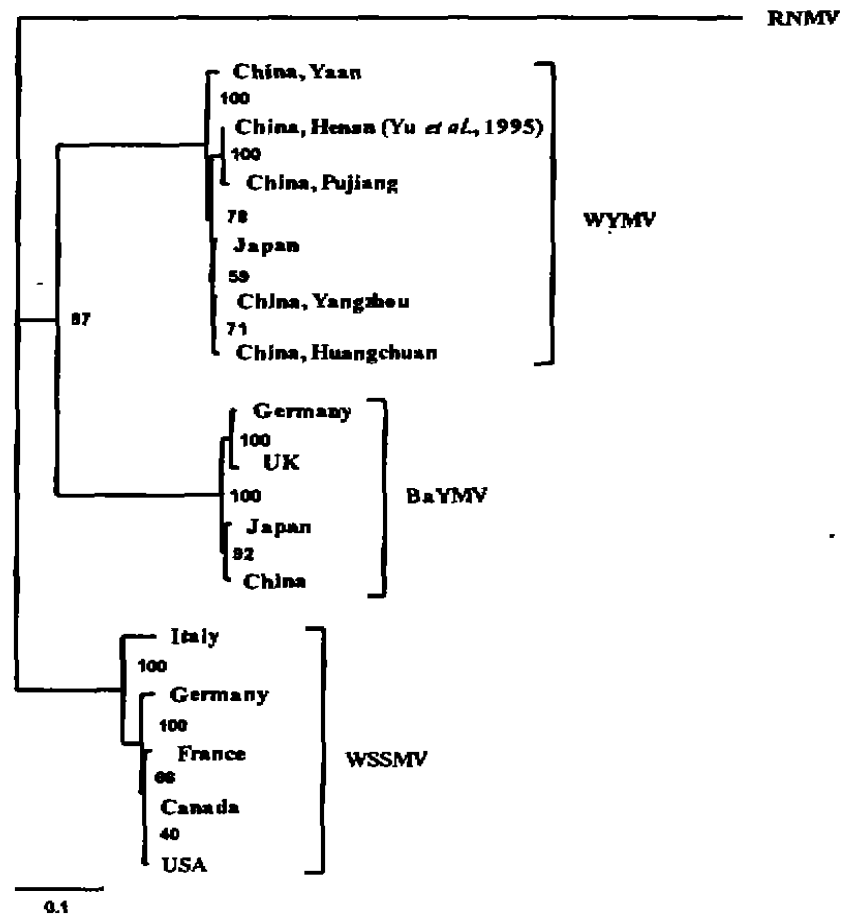


图 2 使用 GCG 程序 PILEUP、DISTANCES 和 GROWTREE 对 WYMV、WSSMV 和 BaYMV 各分离物的外壳蛋白核苷酸序列的分析,水稻坏死花叶病毒(rice necrosis mosaic virus, RNMV)作为一个根植的外围集团用 TREEVIEW 程序表示各分离物间的相关性。比例尺代表每 100 个碱基中不同碱基的数目^[10]。

Fig. 2 Phylogram of the coat protein nucleic acid sequences of isolates of WYMV, WSSMV and BaYMV prepared from the GCG programs PILEUP, DISTANCES and GROWTREE and displayed in TREEVIEW with RNMV as the rooted outgroup. The scale bar shows the number of substitutions per 100 bases.

我国 WYMV 分离物的部分序列测定表明它们的同源性较高,但初步田间试验表明不同试点的品种反应存在差异,因而可能存在不同于日本分离物的株系,有待进一步证实。

对于 WSSMV 的株系分化情况,至今尚无报道。

参 考 文 献

- [1] Sawada E. Wheat yellow mosaic prevention [J]. Journal of Plant Protection (Byochugai-Zasshi), 1927, 14:444~449
- [2] Inouye T. Viral pathogen of the wheat yellow mosaic disease [J]. Nogaku Kenkyu, 1969, 53:61~68
- [3] Slykhuis JT. Evidence of soil-borne mosaic of wheat in Ontario [J]. Canadian Plant Disease Survey, 1960, 40:43

- [4] Slykhuis JT. Verification of wheat spindle streak mosaic virus in Ontario [J]. Canadian Plant Disease Survey, 1969, 49:108~111
- [5] Usugi T, Saito Y. Relationship between wheat yellow mosaic virus and wheat spindle streak mosaic virus [J]. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1979, 45:397~400
- [6] Sohn A, Schenk P, Signoret PA, *et al.* Sequence analysis of the 3' terminal half of RNA1 of wheat spindle streak mosaic virus [J]. Archives of Virology, 1994, 135:279~292
- [7] 于嘉林, 晏立英, 冯继东, 等. 一种中国发生的真菌传小麦花叶病毒 RNA-1 3' 末端核苷酸序列分析 [J]. 病毒学报, 1995, 11(5):248~254
- [8] Namba S, Kashiwazaki S, Lu X, *et al.* Complete nucleotide sequence of wheat yellow mosaic bymovirus genomic RNAs [J]. Archives of Virology, 1998, 143, 631~643
- [9] Huth W, Lesemann D-E. Fungus-transmitted soil-borne viruses on rye in Germany [J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 1993, 103:120~124
- [10] Jiong Chen, Anke Sohn, Jianping Chen, *et al.* Molecular comparisons amongst wheat bymovirus isolates from Asia, North America and Europe [J]. (in submission)
- [11] Leddingham GA. Studies on *Polymyxa graminis*, n. gen. n. sp., a plasmodiophoraceous root parasite of wheat [J]. Canadian Journal of Research C, 1939, 17:38~51
- [12] 陈剑平, Adams M J. 禾谷多粘菌原质体和游动孢子囊的超微结构 [J]. 浙江农业学报, 1993, 5:71~74
- [13] 陈剑平, Adams M J. 禾谷多粘菌游动孢子超微结构 [J]. 真菌学报, 1992, 11(3):216~220
- [14] Chen JP, Wang Z, Hong J, *et al.* Ultrastructural studies of resting spore development in *Polymyxa graminis* [J]. Mycol Res, 1998, 102(6):687-691
- [15] Littlefield LJ, Delfosse P, Whallon JH, *et al.* Anatomy of sporocysts of *Polymyxa graminis*, the vector of Indian peanut clump virus, in roots of *Sorghum bicolor* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1997, 19:281~288
- [16] Castlebury LA, Domier LL. Small subunit ribosomal RNA gene phylogeny of *Plasmodiophora brassicae* [J]. Mycologia, 1998, 90:102~107
- [17] Slykhuis JT, Barr DJS. Confirmation of *Polymyxa graminis* as a vector of wheat spindle streak mosaic virus [J]. Phytopathology, 1978, 68:639~643
- [18] Ikata S, Kawai I. Studies on wheat yellow mosaic disease [J]. Noji-kairyo-shiryō, Ministry of Agriculture and Forestry, 1940, 154:1~123
- [19] Slykhuis JT. Factors determining the development of wheat spindle streak mosaic caused by a soil-borne virus in Ontario [J]. Phytopathology, 1970, 60:319~331
- [20] Ohto Y, Naito S. Propagation of wheat yellow mosaic virus in winter wheat under low temperature conditions [J]. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1997, 63:361~365
- [21] Cunfer BM, Demski JW, Bays DC. Reduction in plant development, yield, and grain quality associated with wheat spindle streak mosaic virus [J]. Phytopathology, 1988, 78:19~204
- [22] Carroll JE [J], Bergstrom GC, Gray SM. Dynamics of wheat spindle streak mosaic bymovirus in winter wheat [J]. European Journal of Plant Pathology, 1997, 103:313~321
- [23] Schenck PM, Antoniw JF, Batista MdeF, *et al.* Movement of barley mild mosaic and barley yellow mosaic virus in leaves and roots of barley [J]. Annals of Applied Biology, 1995a, 126:291~305
- [24] Slykhuis JT. Factors critical to mechanical transmissibility of wheat spindle streak mosaic virus [J]. Phytopathology, 1975a, 65:582~584
- [25] Usugi T. Epidemiology and management in Japan of soil-borne cereal mosaic viruses with filamentous particles. In: Cooper JL, Asher MJC eds. Developments in Applied Biology 2, 1988, Viruses with Fungal Vectors [M]. Wellesbourne, UK: Association of Applied Biologists, 1988. 213~225
- [26] Rong Ye, Tao Zheng, Jianping Chen, *et al.* Characterization and partial sequence of a new *Furovirus* of wheat in China [J]. Plant Pathology, (Accepted)

- [27] Hibino H, Usugi T, Saito Y. Comparative electron microscopy of inclusions associated with five soil-borne filamentous viruses of cereals [J]. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1981, 47:510~519
- [28] Hooper GR, Wiese MV. Cytoplasmic inclusions in wheat affected by wheat spindle streak mosaic [J]. *Virology*, 1972, 47: 664~672
- [29] Usugi T, Kashiwazaki S, Omura T, *et al.* Some properties of nucleic acids and coat proteins of soil-borne filamentous viruses [J]. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1989, 55:26~31
- [30] Sohn A, Leclair S, Steinbiss H-H. Analysis of RNA1 of wheat spindle streak mosaic bymovirus (W3SMV) [C]. In: Sherwood JL, Rush CM eds. *Proceedings of the Third Symposium of the International Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors*, Dundee. American Society of Sugar Beet Technologists, USA: Denver, Co. 1996. 45~48
- [31] Kusume T, Tamada T, Hattori H, *et al.* Identification of a new wheat yellow mosaic virus strain with specific pathogenicity towards major wheat cultivars grown in Hokkaido [J]. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1997, 63:107~109