



# 山东济宁大豆病毒病的病原鉴定研究

赵小慧<sup>1,2</sup>, 吴 茜<sup>2</sup>, 陈正强<sup>2</sup>, 刘 冲<sup>1</sup>, 邢锦城<sup>1</sup>, 陶小荣<sup>2</sup>

(1. 江苏沿海地区农业科学研究所, 江苏 盐城 224002; 2. 南京农业大学 植物保护学院, 江苏 南京 210095)

**摘 要:**大豆病毒病是世界各地大豆产区普遍发生的病害之一,为明确山东济宁试验田大豆病毒病种类和发生趋势,本研究利用斑点-酶联免疫吸附试验(Dot-blot ELISA)针对 SMV 病毒,采用反转录 PCR(RT-PCR)针对 14 种病毒,针对 14 种病毒,对采自该地区的 37 份病样进行鉴定。结果发现:22 份样品检出大豆花叶病毒(Soybean Mosaic Virus, SMV),检出率为 51.3%;18 份样品检出菜豆普通花叶病毒(Bean Common Mosaic Virus, BCMV),检出率为 32.4%;在检测出病毒的 23 份样品中,6 份样品是 SMV 和 BCMV 复合侵染,复合侵染率为 24.3%。本研究首次报道了在山东济宁的大豆种植区发现 BCMV 侵染,研究结果能够为当地大豆病毒病防控和抗病育种方向提供一定的理论支持。

**关键词:**大豆病毒病;大豆花叶病毒;菜豆普通花叶病毒;复合侵染

## Identification of the Viral Pathogens Infecting Soybean in Jining, Shandong Province

ZHAO Xiao-hui<sup>1,2</sup>, WU Qian<sup>2</sup>, CHEN Zheng-qiang<sup>2</sup>, LIU Chong<sup>1</sup>, XING Jin-cheng<sup>1</sup>, TAO Xiao-rong<sup>2</sup>

(1. Jiangsu Coastal Area Institute of Agricultural Sciences, Yancheng 224002, China; 2. Department of Plant Pathology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Soybean virus disease is a devastating disease occurring in soybean production areas all over the world. In order to clarify the type and prevalence of soybean virus disease in the Jining test field in Shandong, we used the dot enzyme linked immunosorbent assay (Dot-blot ELISA) to identify SMV, and reverse transcription PCR (RT-PCR) to identify 14 kinds of viruses in 37 samples collected from this area. It was found that among all samples, 22 samples were detected as soybean mosaic virus (SMV), with a detection rate of 51.3%, 18 samples as bean common mosaic virus (BCMV), with a detection rate of 32.4%. Among the 23 samples with virus detected, six were compound infections of SMV and BCMV with compound infection rate of 24.3%. This is the first time that BCMV infection has been detected in soybean planting areas in Jining, Shandong Province, providing a direction for local soybean virus disease prevention, control and disease-resistant breeding.

**Keywords:** Soybean virus disease; Soybean mosaic virus (SMV); Bean common mosaic virus (BCMV); Co-infection

大豆(*Glycine max* L.)作为一种主要的豆类作物,是人类和牲畜食用植物蛋白和食用油的重要来源。大豆经常受到多种病原物包括真菌、细菌、病毒、线虫、高等寄生植物和植原体的威胁<sup>[1-2]</sup>,其中病毒对大豆的危害非常严重。据报道,目前能侵染大豆的病毒已超过 70 种<sup>[3]</sup>,而在这些大豆病毒中,大豆花叶病毒(Soybean Mosaic Virus, SMV)是田间发生最为普遍和最具破坏性的病毒,它侵染的大豆通常表现出叶片花叶、褪绿、卷曲或坏死、豆荚畸形、种子杂色且尺寸减小等症状,严重影响大豆的产量、外观品质和商业价值<sup>[4-6]</sup>。其他侵染大豆的常见病毒主要包括西瓜花叶病毒(Watermelon Mosaic Virus, WMV)、黄瓜花叶病毒(Cucumber Mosaic Virus, CMV)、烟草花叶病毒(Tobacco Mosaic Virus, TMV)、苜蓿花叶病毒(Alfalfa Mosaic Virus, AIMV)、菜豆荚斑驳病毒(Been Pod Mottle Virus,

BPMV)、菜豆黄花叶病毒(Been Yellow Mosaic Virus, BYMV)、菜豆普通花叶病毒(Been Common Mosaic Virus, BCMV)、花生矮化病毒(Peanut Stunt Virus, PSV)、大豆矮缩病毒(Soybean Dwarf Virus, SbDV)、蚕豆萎蔫病毒 2 号(Broad Bean Wilt Virus 2, BBWV2)、大豆褪绿斑驳病毒(Soybean Chlorotic Mottle Virus, SoyCMV)、南方菜豆花叶病毒(Southern Bean Mosaic Virus, SBMV)和烟草坏死病毒(Tobacco Necrosis Virus, TNV)等,这些病毒在田间的危害不同程度地制约大豆产业的发展。近年来,除大豆花叶病毒外,大豆其它病毒的相关研究和报道均较少。王雨<sup>[7]</sup>对安徽省和黑龙江省田间大豆病样进行 12 种病毒的血清学检测,结果发现安徽省内以 SMV、PSV 和 SBMV 的检出率最高,黑龙江省内则是以 SMV、AMV 和 TNV 为主,SMV 是危害两省大豆生产的主要病毒;王成坤<sup>[8]</sup>同样采用血清学检测方法对黄淮海地

收稿日期:2021-07-26

基金项目:国家自然科学基金(31901856);2018 年度沿海盐碱地农业科学观测实验站开放课题(YHS201801)。

第一作者:赵小慧(1989—),女,博士,助理研究员,主要从事植物病毒的检验和检疫研究。E-mail:zhaoxiaohui\_g@163.com。

通讯作者:邢锦城(1983—),男,硕士,副研究员,主要从事盐土农业研究。E-mail:sdauxxx@163.com;

陶小荣(1977—),男,博士,教授,主要从事植物病毒学研究。E-mail:taoxiaorong@njau.edu.cn。

区及黑龙江省大豆田 12 种病毒进行了检测,最终鉴定出 SMV、WMV 和 TMV 3 种病毒,其中 SMV 为两地的优势病毒;王秋实等<sup>[9]</sup>利用小 RNA 深度测序结合 RT-PCR 技术检测了山西太谷县大豆的病毒病样本,发现侵染山西大豆的病毒种类也只有 3 种,分别为 CMV、SMV 和 BBWV-2,而 CMV 和 SMV 是当地大豆的优势病原种类。根据以往的研究结果,在不同的地区,因生态地理环境、种植方式以及品种等因素的不同,引起病毒病的流行毒株也不同,这为各地的大豆安全生产带来不少威胁和挑战。

山东省作为我国黄淮海夏大豆种植的主要区域之一,栽培历史悠久,拥有丰富的栽培大豆和野生大豆种质资源。济宁市是山东省种植大豆的大市,近年来,由于当地大豆单一品种长期大面积种植导致品种抗性衰退,加之田间生产条件差、栽培管理水平低等原因,病毒病的发生日益严重。济宁市农业科学院是国家大豆综合试验站,试验场内大豆品种多样,抗病、感病以及育成的中间材料众多,是病毒病发生的集中地。因此,以济宁市农科院为调查地点,了解田间侵染大豆的主要病毒种类及发生程度,能够很大程度上弥补济宁大豆病毒种类尚未全面检测和鉴定的空缺,并为当地病毒病的防控和育种方向提供指导。本研究利用斑点-酶联免疫吸附试验(Dot-blot ELISA)和反转录 PCR(RT-PCR)方法对该地区采集的疑似病毒病样进行 SMV、WMV、CMV、TMV、AIMV、BPMV、BYMV、BCMV、PSV、SbDV、BBWV2、SoyCMV、SBMV 和 TNV 等 14 种病毒的鉴定,以期开展山东大豆病毒全面检测和综合防治奠定重要基础。

1 材料与方法

1.1 材料

于 2015 年 9 月 15 日在济宁市农业科学院大豆试验田采集表现花叶、褪绿、皱缩、黄化、畸形、斑驳等疑似病毒病症状的大豆样品 37 份,在田间依次编号、记录症状、采病叶装入标记的自封袋中,于当日返回实验室后集中拍照并置于 -80 ℃ 冰箱保存。

1.2 试验设计

为了调查 SMV 侵染情况,首先采用 SMV 兔抗对 37 份大豆样品进行 Dot-blot ELISA 检测,阳性对照和阴性对照分别用实验室已感染 SMV 的大豆叶片和健康大豆叶片的匀浆。由于本研究中其他 13 种病毒的抗体并未获得,所以未开展相关的血清学检测。为了进一步验证和继续检测侵染大豆样品

的病毒原,利用 RT-PCR 对 37 份大豆标样进行 14 种病毒的全面鉴定。

1.3 方法

1.3.1 Dot-blot ELISA 检测 在装有 0.1 g 病叶的 EP 管中加入 300 μL 包被液(0.01 mol · L<sup>-1</sup>, pH7.5 PB 磷酸盐缓冲溶液),迅速将叶片研磨成匀浆,7 000 r · min<sup>-1</sup>, 4 ℃ 离心 5 min 后,取 2.0 μL 上清液滴至硝酸纤维素膜上,室温晾干;将膜置于封闭液(0.01 mol · L<sup>-1</sup> pH7.4 PBS 溶液, 0.05% Tween-20, 5% 脱脂牛奶)水平摇床 40 r · min<sup>-1</sup> 室温封闭 30 min;不弃液,继续在封闭液中加入本实验室制备的 SMV 外壳蛋白的兔抗(1:1 000),水平摇床 40 r · min<sup>-1</sup> 室温孵育 1.5 h;弃液体, PBST(0.01 mol · L<sup>-1</sup> pH7.4 PBS 溶液, 0.05% Tween-20) 室温洗膜 3 次,每次 10 min,之后再加入用 5% 脱脂牛奶封闭液配制的碱性磷酸酶(AP)二抗(Sigma P5521, 1:30 000),水平摇床 40 r · min<sup>-1</sup> 室温孵育 1 h;弃液体, PBST 室温洗膜 3 次,每次 10 min,最后将膜浸入 BCIP/NBT 底物溶液(上海生工 BE116),室温避光显色 15 min,显色后用清水洗膜,晾干拍照。

1.3.2 叶片总 RNA 的提取和反转录 使用天根总 RNA 提取试剂盒(DP430)提取样品叶片总 RNA,对提取后的总 RNA 进行质量测定,合格后保存于 -80 ℃ 冰箱。以总 RNA 为模板, XT269 (5'-AAGCAGTG-GTATCAACGCAGAGNNNN-NN-3', N = A/G/C/T) 和 XT176 (5'-AAGCAG-TGGTATCAACGCAGAGTACT-TTTTTTTTTTTTTTTT-3')为引物反转录合成 cDNA<sup>[10]</sup>。

1.3.3 序列扩增与测定 以 cDNA 为模板,分别用 14 种病毒的检测引物进行 PCR 扩增。WMV、CMV、BPMV、SoyCMV、SBMV 和 TNV 的检测引物参照文献<sup>[8,11-15]</sup>,其余 8 种病毒的特异性引物依据 GenBank 收录的各病毒序列的保守区域经 DNASTAR 5.01 和 DNAMAN 7.0 软件设计,所有引物由南京金斯瑞公司合成,具体引物信息详见表 1。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,紫外灯下切取目的条带,回收纯化后与 pMD19-T 载体连接,然后将连接产物转入大肠杆菌 DH5α 菌株<sup>[16]</sup>,筛选的阳性克隆送至南京金斯瑞公司进行测序。测序结果通过 NCBI-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) 进行序列比对分析。

1.4 数据分析

采用 Excel 2010 对数据进行处理,用 Photoshop 6.0 对图片进行处理。

表 1 用于检测病毒的引物  
Table 1 The primers used for detecting viruses

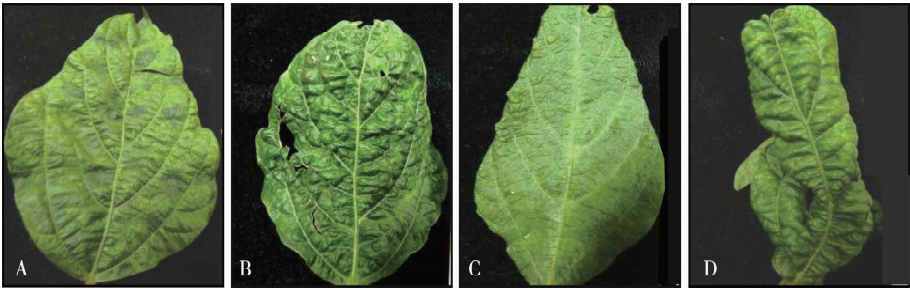
引物名称 Primer name	序列(5'-3') Sequence (5'-3')	序列长度 Sequence length/bp	参考文献 Reference
SMV-F	AGCAGCAAAGATGTAAATGT	605	
SMV-R	AACTTGTTGTTAACTCCCGA		
WMV-F	ACACGAATGGCTACAAT	1549	[ 8 ]
WMV-R	TATACTCCTCCCAACTAA		
CMV-F	TTTGTAGGGAGTGAACGC	491	[ 11 ]
CMV-R	CGGAATCAGACTGGGAGC		
TMV-F	GATTGCTTTTAAATATGTCTTA	600	
TMV-R	CTTCGATTTAAGTGGAGGGA		
AIMV-F	AAGCTGTTAAACCTACTAAACG	582	
AIMV-R	TGCGGAGGGGCCCTGCTCGCGG		
BPMV-F	TGGCCTGTGCTATGAATAGTTC		[ 12 ]
BPMV-R	TGCAGGACGCACCTGAG		
BYMV-F	GAGATGTGAATGCAGGAAGTGT		
BYMV-R	AATACGAACACCAAGCATGGTG		
BCMV-F	CACGGTTTTTCTGAGTGTC	530	
BCMV-R	TCTTCACCAACCCACCAATC		
PSV-F	TCATGCTAGAGAGCTCCGCGC		
PSV-R	AAGGGATTGCTGATGCTCTAC		
SbDV-F	GATCAGGCAAGGCTCACACATTC		
SbDV-R	TCTTCACTGGTATCATGCCATTC		
BBWV2-F	GAATTGTGGTTGCATGACGT	636	
BBWV2-R	AAAGAACTCTTCATACTCTT		
SoyCMV-F	AGAGATTTCGAACTAACTGAAACC	403	[ 13 ]
SoyCMV-R	GGTTTTGGGGTTGGTTTCTGGC		
SBMV-FP	TTCATATGGGTTTCCAATATGATAT	90	[ 14 ]
SBMV-RP	CCTGTCCAGATACATAGCCTCTAAGG		
TNV-P1	AAGA(T/C)(T/A)CAA(T/C)ACATT(A/T)C(A/T/G)ATCG		[ 15 ]
TNV-P2	A(C/T)TA(G/A)A(C/T)(G/A)TTCAT(T/G)G(T/A)(T/G)GG(G/A)TTGA		

2 结果与分析

2.1 田间大豆病毒病的发病症状

山东省济宁市农业科学院试验场内的大豆病

毒病发病症状复杂多样,主要表现为植株整体生长缓慢矮小,叶片呈现黄绿色相间的花叶,叶片皱缩、叶肉有泡状突起,叶片沿叶脉褪绿黄化或叶缘向后卷曲、严重皱缩畸形等多种症状类型(图 1)。



A. 花叶斑驳;B. 皱缩;C. 褪绿;D. 卷曲。  
A. Mottled flowers and leaves;B. Shrinking;C. Chlorosis along leaf vein;D. Curling.

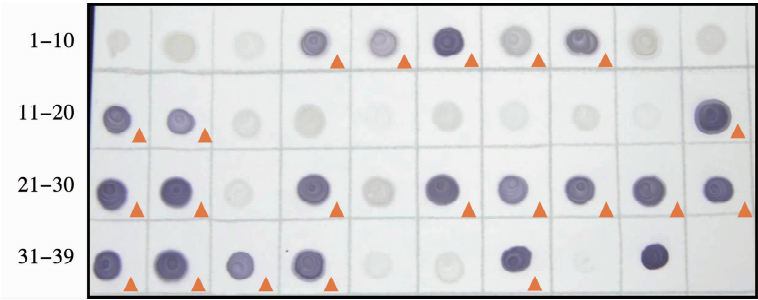
图 1 山东省济宁市大豆叶片感染症状

Fig.1 The symptoms of infected soybean leaves in Jining, Shandong Province

2.2 SMV 的 Dot-blot ELISA 检测

如图2所示,21份样品与SMV抗体反应呈阳性,其中18份样品呈现非常明显的蓝紫色阳性反应,3份样品(4号、5号和7号)则显色较弱,其余样

品反应呈阴性,经统计SMV阳性率为56.8%。结果初步表明此地区的大豆疑似被SMV侵染且侵染率较高。



1~37. 大豆样品叶片;38. 健康大豆叶片;39. SMV 感染的大豆叶。阳性样品被红色箭头指示。

1~37. Sampled soybean leaves; 38. Healthy soybean leaves; 39. Soybean leaves infected by SMV. Positive samples are indicated by red arrows.

图2 使用 Dot-blot ELISA 检测结果

Fig.2 The detection result using Dot-blot ELISA

2.3 RT-PCR 检测

如表2所示,SMV的检测引物SMV-F/SMV-R从19份样品中扩增到预期大小约600bp的目标条带,将目标条带回收后克隆测序,测得的序列与NCBI中已报道的SMV株系(6067-1、SX、BYX006)的核苷酸序列一致性达到98%以上,说明采自济宁市农业科学院的大豆样品确实被SMV侵染,且侵染率高达51.3%。经分析,基于Dot-blot ELISA方法的SMV检测结果与RT-PCR的基本一致,除两份ELISA检测呈阳性的大豆样品,7号样品的病原物经测定为BCMV,20号样品则检测呈阴性,此结果表明,相较于RT-PCR方法,ELISA检测的特异性较

低。应用BCMV的检测引物BCMV-F/BCMV-R从12份样品中也扩增到大小约530bp的目标产物,同样回收测序后发现其序列与NCBI中已报道的BCMV株系Habin1的核苷酸序列一致性为98%,说明BCMV也是侵染此地区大豆较为严重的病毒原,侵染率为32.4%。

本研究最终发现,此地区的大豆样品存在SMV和BCMV两种病毒的侵染,BCMV侵染大豆为山东省济宁市首次报道,样品中未检测到其他12种病毒。另外,在检出病毒的23份样品中,9份是由SMV与BCMV复合侵染,复合侵染率为24.3%,说明此地区感病大豆样品中复合侵染的现象相对普遍。

表2 使用 RT-PCR 检测到的病毒类型

Table 2 The virus types detected based on RT-PCR

样品编号 Sample number	病毒种类 Virus types	样品编号 Sample number	病毒种类 Virus types	样品编号 Sample number	病毒种类 Virus types	样品编号 Sample number	病毒种类 Virus types
1	—	11	SMV	21	SMV	31	SMV
2	—	12	SMV	22	SMV	32	SMV
3	—	13	—	23	—	33	SMV
4	SMV + BCMV	14	—	24	SMV	34	SMV + BCMV
5	SMV + BCMV	15	—	25	—	35	—
6	SMV + BCMV	16	—	26	SMV	36	—
7	BCMV	17	—	27	SMV + BCMV	37	SMV + BCMV
8	SMV + BCMV	18	—	28	SMV + BCMV	38	—
9	BCMV	19	—	29	SMV	39	SMV
10	BCMV	20	—	30	SMV + BCMV		

3 讨论

大豆花叶病毒病在中国乃至全世界的大豆种

植区广泛分布,SMV是其中一种主要的破坏性病原体<sup>[17]</sup>。然而最近的一项研究表明,一些BCMV菌株也会侵染部分华南和华东地区的大豆,引起类似于

田间 SMV 侵染的严重花叶症状,且其感染大豆的数量明显多于 SMV<sup>[18]</sup>。虽然迄今为止没有 BCMV 造成严重产量损失的报道,但显然这种病毒对许多种植区的大豆生产已构成威胁<sup>[18-19]</sup>,尤其是当 SMV 与其发生协同作用或遗传重组时。事实上,已有研究报道称在我国南方地区的栽培大豆和野生大豆中常检测到一种含有 BCMV 基因组片段的重组型 SMV(SMV-R),其在大豆上的致病力已发生改变,且在中国部分地区十分盛行<sup>[20-22]</sup>。本研究发现 SMV 和 BCMV 是危害山东济宁农科院试验田大豆的主要病毒原,部分大豆还存在这两种病毒复合侵染的现象,这是首次在山东济宁的大豆种植区发现 SMV 和 BCMV 复合侵染。以往 SMV 被认为是世界上各大豆种植区分布最广、为害最重的病毒,所以国内外对大豆病毒病的研究也主要集中在 SMV 株系划分、组成与分布,抗 SMV 资源筛选,抗性基因定位等方面。本研究发现虽然 SMV 是山东济宁地区的优势流行病毒,但 BCMV 的检出率也不容小觑。因此,当地育种学家在培育大豆抗性品种时除了应该考虑抗 SMV 的优势株系群外,还要兼顾抗 BCMV 病毒。另外,由于 SMV 和 BCMV 都可以通过种子和蚜虫进行传播,为保障大豆产业的健康发展,当地应加强种子的病毒检测,大力推广健康种子和切断蚜虫田间传播途径,预防大豆病毒病的发生。

目前,很多研究证实包括山东在内的黄淮海地区流行的 SMV 株系主要以 SC3 和 SC7 为主<sup>[23-25]</sup>。而本研究鉴定的 SMV 毒株与 NCBI 中收录的 SMV 株系 6067-1、SX、BYX006 的核苷酸序列高度同源,并未与 SMV 株系 SC3 和 SC7 相关。原因是 SMV 株系划分体系问题,SMV SC 株系的划分是根据它们在鉴别寄主上的致病性反应进行的,用于指导各地抗病育种和品种审定方向。而株系 6067-1、SX、BYX006 的划分则是基于病毒的分子水平。目前,根据 SMV 核苷酸和氨基酸序列的同源性进行的株系划分还没有统一的定论,生产上仍需和传统的致病性反应结合起来作为参考。因此,当地在培育大豆抗性品种时,应依据全国统一的鉴别寄主<sup>[23-25]</sup>对 SMV 毒株进行划分,以更好地筛选相应的抗源材料,制订更适合的抗病育种方案。

目前用于检测和鉴定大豆病毒病的方法有很多<sup>[9]</sup>,本研究是采用血清学检测和分子生物学检测两种方法对大豆病样进行了分析。Dot-blot ELISA 是血清学检测的一种,具有样品用量少、操作简单、经济快速等优点<sup>[26]</sup>,在研究采用本实验室制备的兔多克隆抗体对 37 份大豆病样进行了 SMV 的 Dot-blot ELISA 检测,结果有 21 份样品与抗体反应呈阳

性,初步判断这部分大豆感染了 SMV。为了使鉴定结果更加准确全面,随后利用 RT-PCR 方法对所有大豆病样进行了 14 种病毒的鉴定,最终检出 SMV 和 BCMV 两种病毒,其中 SMV 有 19 份,BCMV 有 12 份。从检测过程中可以发现,不同的检测方法有不同的特点,Dot-blot ELISA 方法快速、简单、直观、高通量,但 RT-PCR 特异性却较高,这之前研究报道得出的结论类似<sup>[11、27]</sup>,所以在对病毒进行检测时应将不同的方法结合起来,才能得到更准确的结果。另外,虽然在调查过程中发现有两份大豆样品的叶片虽然也呈现典型的病毒病症状,但并未鉴定出任何病毒,推测本研究并未涉及这两份病样感染的病毒,为了更准确快速的鉴定其病毒原,在后期的检测过程中可采用小 RNA 深度测序技术针对更多的病毒种类进行分析,或可发现一些未知的病毒信息。

4 结 论

本研究采用 Dot-blot ELISA 和 RT-PCR 技术,对采自山东省济宁市农业科学院试验田的 37 份疑似病毒病样品进行了检测鉴定,结果共检出 2 种病毒,分别为 SMV 和 BCMV。其中,SMV 是本地区的优势病毒,检出率为 51.3%,同样 BCMV 也是严重危害当地大豆生产的病毒,检出率为 32.4%。并且本地区的大豆普遍存在 SMV 和 BCMV 复合侵染的现象,复合侵染率为 24.3%。本研究结果有助于了解山东济宁大豆主要病毒病的种类、分布和发生趋势,能为当地的病毒病害防控提供科学依据。

参考文献

[1] Whitham S A, Qi M, Innes R W, et al. Molecular soybean-pathogen interactions [J]. Annual Review of Phytopathology, 2016, 54: 443-468.

[2] Chang H X, Hartman G L. Characterization of insect resistance loci in the USDA soybean germplasm collection using genome wide association studies [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 670.

[3] 魏 霜, 袁俊杰, 杨卓瑜, 等. 双重 DPO-RT-PCR 检测南方菜豆花叶病毒及烟草环斑病[J]. 大豆科学, 2021, 40(2): 265-269. ( Wei S, Yuan J J, Yang Z Y, et al. Dual priming oligonucleotide system for duplex detection of southern bean mosaic virus and tobacco ring spot virus [J]. Soybean Science, 2021, 40 (2): 265-269. )

[4] Ross J P. Effect of soybean mosaic on component yields from blends of mosaic resistant and susceptible soybeans [J]. Crop Science, 1983, 23: 343-346.

[5] Yang Y Q, Zheng G J, Han L, et al. Genetic analysis and mapping of genes for resistance to multiple strains of soybean mosaic virus in a single resistant soybean accession PI 96983 [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126: 1783-1791.

[6] Gao L, Ding X N, Li K, et al. Characterization of soybean mosaic virus resistance derived from inverted repeat-SMV-HC-Pro genes in multiple soybean cultivars [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2015, 128: 1489-1505.

[7] 王雨. 侵染大豆的病毒鉴定和部分 SMV 分离物 CP 基因的序列分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2011. (Wang Y. Identification of virus infecting soybean and sequences analysis of CP genes of several SMV isolates [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.)

[8] 王成坤. 侵染大豆的主要病毒种类及高温对大豆对 SMV 抗性的影响研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2013. (Wang C K. Main types of virus infected soybean and SMV resistance on soybean under high temperature [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013.)

[9] 王秋实, 闫哲, 李玮瑜, 等. 基于小 RNA 深度测序和 RT-PCR 检测侵染大豆的病毒种类 [J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2021, 41(4): 25-32. (Wang Q S, Yan Z, Li W Y, et al. Small RNA sequencing and RT-PCR detection of virus species infecting soybeans [J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2021, 41(4): 25-32.)

[10] 吴贺, 荆诗韵, 刘丹, 等. 苏南五地(市)主要蔬菜作物的病毒种类、区域分布和发生趋势 [J]. 植物病理学报, 2021, 51(3): 325-333. (Wu H, Jing S Y, Liu D, et al. Geographical distribution and frequency of virus species infecting main vegetable crops in southern Jiangsu [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, 51(3): 325-333.)

[11] 韩俊丽. 国家种质库库存大豆、菜豆种质种传病毒的检测 [D]. 新疆: 新疆农业大学, 2009. (Han J L. Detection of seed-borne viruses in soybean and common bean seeds conserved in the National Crop Gene Bank [D]. Xinjiang: Xinjiang Agricultural University, 2009.)

[12] 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驳病毒 [J]. 植物保护学报, 2009, 36(2): 141-145. (Liao F, Guo J Z, Liu P, et al. Detection of bean pod mottle virus in soybean by one step assay of RT-PCR and real-time fluorescent RT-PCR [J]. Journal of Plant Protection, 2009, 36(2): 141-145.)

[13] 刘雪建. 浙江省和江西省蔬菜病毒鉴定与变异研究 [D]. 浙江: 浙江大学, 2015. (Liu X J. Identification and molecular variation of viruses infecting vegetables in Zhejiang and Jiangxi Provinces [D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2015.)

[14] 白静, 陈红运, 傅俊范, 等. 实时荧光 RT-PCR 一步法检测南方菜豆花叶病毒 [J]. 植物保护学报, 2007, 34(1): 78-82. (Bai J, Chen H Y, Fu J F, et al. Detection of southern bean mosaic virus by one step assay of real-time fluorescent RT-PCR [J]. Journal of Plant Protection, 2007, 34(1): 78-82.)

[15] 席德慧, 李江, 曹淳, 等. 烟草坏死病毒 A 大豆分离物的分子鉴定 [J]. 植物病理学报, 2007(6): 595-603. (Xi D H, Li J, Cao C, et al. Characterization of tobacco necrosis virus A, an isolate infecting soybean (*Glycine max*) [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2007(6): 595-603.)

[16] 黄莹. 番茄斑萎病毒属病毒种类鉴定与拟南芥侵染研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2018. (Huang Y. Charaterization of tospoviruses in China and their infectivity analysis on *Arabidopsis thaliana* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018.)

[17] Hill J H, Whitham S A. Control of virus diseases in soybeans [J]. Advances in Virus Research, 2014, 90: 355-390.

[18] Zhou G C, Wu X Y, Zhang Y M, et al. A genomic survey of thirty soybean-infecting bean common mosaic virus (BCMV) isolates from China pointed BCMV as a potential threat to soybean production [J]. Virus Research, 2014, 191: 125-133.

[19] Zhang X C, Sato S, Ye X H, et al. Robust RNAi-based resistance to mixed infection of three viruses in soybean plants expressing separate short hairpins from a single transgene [J]. Phytopathology, 2011, 101: 1264-1269.

[20] Yang Y Q, Gong J W, Li H W, et al. Identification of a novel soybean mosaic virus isolate in China that contains a unique 5' terminus sharing high sequence homology with bean common mosaic virus [J]. Virus Research, 2011, 157: 13-18.

[21] Yang Y Q, Lin J, Zheng G J, et al. Recombinant soybean mosaic virus is prevalent in Chinese soybean fields [J]. Archives of Virology, 2014, 159: 1793-1796.

[22] Chen Y X, Wu M, Ma F F, et al. Complete nucleotide sequences of seven soybean mosaic viruses (SMV), isolated from wild soybeans (*Glycine soja*) in China [J]. Archives of Virology, 2017, 162: 901-904.

[23] 战勇, 智海剑, 喻德跃, 等. 黄淮地区大豆花叶病毒株系的鉴定与分布 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(10): 2009-2015. (Zhan Y, Zhi H J, Yu D Y, et al. Identification and distribution of SMV strains in Huang-Huai Valleys [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(10): 2009-2015.)

[24] 郭东全, 智海剑, 王延伟, 等. 黄淮中北部大豆花叶病毒株系的鉴定与分布 [J]. 中国油料作物学报, 2005, 27(4): 64-68. (Guo D Q, Zhi H J, Wang Y W, et al. Identification and distribution of strains of soybean mosaic virus in middle and northern of Huang Huai Region of China [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2005, 27(4): 64-68.)

[25] 王延伟, 智海剑, 郭东全, 等. 中国北方春大豆区大豆花叶病毒株系的鉴定与分布 [J]. 大豆科学, 2005, 24(4): 263-268. (Wang Y W, Zhi H J, Guo D Q, et al. Classification and distribution of strain groups of soybean mosaic virus in northern China spring planting soybean region [J]. Soybean Science, 2005, 24(4): 263-268.)

[26] 于翠, 邓凤林, 杨翠云, 等. 番茄斑萎病毒外壳蛋白原核表达及 Dot-blot ELISA 检测方法的建立 [J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2008, 34(6): 597-601. (Yu C, Deng F L, Yang C Y, et al. Prokaryotic expression of full coat protein gene of tomato spotted wilt virus and development of Dot-blot ELISA method for this virus detection [J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2008, 34(6): 597-601.)

[27] 刘勇, 李凡, 李月月, 等. 侵染我国主要蔬菜作物的病毒种类、分布与发生趋势 [J]. 中国农业科学, 2019, 52(2): 239-261. (Liu Y, Li F, Li Y Y, et al. Identification, distribution and occurrence of viruses in the main vegetables of China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(2): 239-261.)