

大豆对大豆花叶病毒病抗性的研究进展

李凯, 智海剑

(南京农业大学 大豆研究所/农业部大豆生物学与遗传育种重点实验室/国家大豆改良中心/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要: 大豆花叶病毒病是我国大豆生产上的最主要病害之一, 在我国东北、黄淮及南方大豆产区普遍发生, 严重降低大豆产量和品质。我国不同学者曾将江苏、东北、湖北及山东等地的 SMV 株系做过局部划分。为促进大豆抗病育种研究成果的交流和种质的交换, 南京农业大学国家大豆改良中心从不同类型种质资源和国内外鉴别系统中筛选出 10 个鉴别能力强、反应稳定的鉴别寄主, 将我国大豆产区 25 个省(市)的 SMV 划分为 22 个株系; 通过不同病毒分离物的全基因组序列分析, 发现大豆花叶病毒和菜豆普通花叶病毒基因组重组形成的 SMV 新类型; 从种质资源中发掘出广谱抗源科丰 1 号和齐黄 1 号等优异抗源; 发现其对 15 个株系的抗侵染作用分别由单显性基因控制; 将 15 个抗侵染基因定位在大豆 2、6、13 和 14 号染色体上, 完成 *Rsc3*、*Rsc4*、*Rsc6*、*Rsc7*、*Rsc8*、*Rsc13*、*Rsc14*、*Rsc15*、*Rsc17*、*Rsc18* 等抗性基因的精细定位, 发现抗性基因成簇存在; 证明抗病、系统坏死、系统花叶 3 类症状由一组复等位基因控制; 发现大豆对 SMV 存在数量抗性(抗扩展), 它由一对加性主基因+加性-显性多基因共同控制; 利用分子标记辅助选择, 聚合 3 个抗源品种 3 条染色体上的多个抗性基因, 创造了兼抗 20 个株系的新种质; 利用基因干扰原理, 完成了 SMV 基因 *HC-Pro* 和 *CP* 及隐性大豆抗病基因 *eIF4E* 的遗传转化, 在阳性后代中获得一批优异抗性材料。

关键词: 大豆; 大豆花叶病毒; 株系划分; 抗病基因; 转基因

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2016.04.0525

Advances in Resistance to Soybean Mosaic Virus Disease in Soybean

LI Kai, ZHI Hai-jian

(Soybean Research Institute of Nanjing Agricultural University/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Soybean, Ministry of Agriculture/National Center for Soybean Improvement/National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, China)

Abstract: Soybean mosaic virus (SMV) disease is one of the most common and destructive viral diseases in soybean production in China, such as in Northeastern China, Huanghuai valleys and Southern China. It declines the soybean yield and degrades the soybean seed quality. Earlier, several SMV strain differential systems have been established in Jiangsu, Hubei, Shandong provinces and Northeastern China. National center for soybean improvement (NCSI), Nanjing Agricultural University, China has been actively working on SMV research for the past decades. To facilitate exchange of information of resistance sources and nation wide utilization of the resistant soybean cultivars, researchers from NCSI established the nationwide uniform SMV strain classification system using 10 different resistant soybean cultivars. Based on this strain classification system, twenty-two SMV strains have been identified from 25 provinces of China. Several new SMV types, for instance recombination with SMV and bean common mosaic virus (BCMV) were also identified and confirmed by complete genome sequencing of various SMV isolates. We collected the soybean cultivars, landraces from China and other countries and screened against SMV strains as well as identified resistance sources such as Kefeng 1, Qihuang 1 and Dabaima, etc. Our further investigation showed that single dominant gene confers the resistance to 15 SMV strains and they were mapped on Chromosomes 2, 6, 13 and 14. Among them, we fine mapped the *Rsc3*, *Rsc4*, *Rsc6*, *Rsc7*, *Rsc8*, *Rsc13*, *Rsc14*, *Rsc15*, *Rsc17* and *Rsc18* genes and found resistant genes are always clusters. And we confirmed that 3 types of symptoms i. e. resistance, necrosis and mosaic to SMV in soybean, were conditioned by a set of multiple alleles. The studies have demonstrated that the mechanisms of resistance in infection and in development to SMV are different. The resistance in development was controlled by one additive major gene plus additive and dominant polygenes. New broad spectrum resistant soybean germplasms, which can resistant to 20 SMV strains, were developed by marker assisted selection (MAS) using 3 soybean cultivars containing multiple resistant genes. In addition we completed the genetic transformation of SMV genes such as *HC-Pro*, *CP* and a recessive soybean resistance genes *eIF4E* based on gene interference principle and a set of excellent resistant material were obtained in the progeny of positive transgenic soybean materials.

Keywords: Soybean; Soybean mosaic virus (SMV); Classification of SMV strains; Resistance gene; Transgenic

收稿日期: 2016-06-15

基金项目: 国家自然科学基金(31371646, 31571690); 中央高校基本科研业务费(Y0201600115); 国家现代农业产业技术体系(CARS-04); 转基因生物新品种培育科技重大专项(2016ZX08004-004); 江苏省现代作物生产协同创新中心(JCIC-MCP)。

第一作者简介: 李凯(1979-), 男, 博士, 副教授, 主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail: kail@njau.edu.cn。

通讯作者: 智海剑(1957-), 男, 教授, 博导, 主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail: zhj@njau.edu.cn。

大豆是人类植物性蛋白和食用油的重要来源,在其生长发育过程中受到多种病虫害的危害,大豆花叶病毒(soybean mosaic virus, SMV)病是众多病害中分布最广、对产量和品质影响最大的病害之一。SMV属马铃薯Y病毒属(*Potyvirus*)种子带毒为年度间主要传播方式,蚜虫是同一年田间SMV扩散的主要传播介体。

SMV在我国东北、黄淮及南方大豆产区普遍发生,对大豆造成的产量损失一般10%左右,重发生年份达35%~50%^[1],个别年份甚至绝产。SMV还会造成大豆籽粒褐斑,从而影响大豆商品品质。因此,国内外十分重视SMV的研究,近些年南京农业大学国家大豆改良中心在大豆花叶病毒的鉴定及其基因组特点、株系划分、大豆对SMV抗性遗传和抗性基因标记定位和大豆抗病育种等方面取得较大进展。

1 大豆花叶病毒基因组特点及与寄主互作

大豆花叶病毒与马铃薯Y病毒组其它成员一样,基因组全长约10 000 bp,5'端编码共价键连接的金属蛋白Vpg,3'端有一个Poly(A)尾巴,整个基因组按一个开放阅读框架(open reading frame, ORF)翻译,产生一个多聚蛋白前体,约3 066个氨基酸。起始于AUG密码子,终止于9 333位点处UAA密码子,蛋白前体通过蛋白酶切割加工,形成11个不同功能的成熟蛋白。

近几年在大豆花叶病毒基因组研究方面,袁瑗等^[2]通过对57个来自不同地区的大豆花叶病毒分离物的基因组进行密码子使用偏好性分析,发现SMV基因组GC含量较低,偏好A/T结尾密码子,且存在19个最优密码子,密码子偏性与病毒的地理来源相关。Yang等^[3]通过对我国16个SMV株系的P3基因测序发现,P3基因C末端比较保守。中国株系与韩国株系间的相似性92.4%~98.9%,中国株系和美国株系间的相似性88.5%~97.9%,说明株系间相似性与地理来源有一定关系。发现SMV的P3基因与西瓜花叶病毒(WMV)的P3较接近,与菜豆普通花叶病毒(BCMV)较远,与花生斑驳病毒(PeMoV)更远。Zhang等^[4]通过对SMV全基因组序列分析,发现SMV基因组中5'-UTR、P1基因N端300 bp部分和P3C端200 bp部分变异度最高,而*Nla-Pro*、*Nlb*、*6K2*和*CP*基因序列较为保守。王大刚等^[5]比较了5个SMV分离物之间的核苷酸及氨基酸序列以及致病力,发现SMV 4个基因*CP*、*HC-Pro*、*P1*和*P3*的序列以及来源地与SMV的致病力有一定关系。

梁鹤翔等^[6]以SMV的致病决定因子P3蛋白为诱饵对大豆cDNA文库进行筛选,发现P3与转录延

伸因子GmEF1A存在较强互作,P3与GmEF1A结合导致内质网应激反应,从而促进SMV的复制。GmEF1A在对病原物侵染引起的内质网应激信号途径中处于*Bip*的上游。GmEF1A对SMV的致病性起重要作用,同时与P3相互促进各自的细胞核定位。宋普文等^[7]以SMV-P3N-PIPO为诱饵蛋白对大豆酵母双杂交文库进行筛选,获得54个与其互作的大豆蛋白,多数与蛋白转运和寄主防御相关,表明P3N-PIPO可能与病毒的胞间转运相关。选取4个较强互作的蛋白GmBSP、GmGOS1-2、GmVAMP722、GmHB6,用SMV对它们处理后进行qRT-PCR分析,发现4个基因对SMV存在不同程度的响应。

通过对SMV基因组的深入研究,加深了对SMV基因组结构和SMV致病机理的不断认识,为阐明大豆对SMV的抗性机制及最终解析大豆抗SMV的基因网络奠定了基础。

2 大豆花叶病毒的致病性分化及株系划分

大豆花叶病毒寄主范围相对较窄,SMV的寄主以豆科(*Leguminosae*)植物为主,经人工接种可侵染藜科(*Chenopodium*)、天南星科(*Araceae*)等部分植物。Gao等^[8]从中国SMV株系中发现SC7株系在人工接种条件下可系统侵染本氏烟,并有明显的花叶症状,这为抗SMV基因功能验证提供了一条可能的途径。

SMV在与寄主、环境互作过程中产生致病性分化,形成不同的致病类型(株系)。日本Takahashi等^[9]利用4个大豆品种(Harosoy、白豆、奥羽13号和十胜长叶)作为鉴别寄主,将日本SMV划分为A~E 5个株系;Cho和Goodman^[10]利用2个感病大豆品种(Rampage, Clark)和6个抗病大豆品种(Kwanggyo、Buffalo、Davis、Marshall、Ogden和York)作为鉴别寄主,将美国98个SMV分离物划分为G1~G7共7个株系。以后又陆续发现了G3A、G5H、G7A、C14、G5HD和G7H等新的SMV株系^[11-15]。在上世纪后期,我国的江苏、东北、湖北及山东等地区先后报道了部分地区的SMV株系划分研究^[16-20]。由于这些株系划分体系均基于本地区的SMV病样,鉴别寄主也不相同,导致研究结果有一定的局限性,对不同地区抗SMV育种材料、信息及成果的交流都十分不利。为此,南京农业大学国家大豆改良中心自1997年起,在全国大豆产区25个省、市、自治区采集田间病毒感染病样6 438个,经枯斑分离、血清学和RT-PCR检测,获得1 164个SMV阳性分离物。另外从不同类型种质资源和国内外SMV鉴别系统中筛选出10个鉴别能力强、反应稳定的鉴别寄主,根据各分离物在鉴别寄主上的反应,将我国SMV分离物划分为SC1~SC22共22个株系(表1)^[21-27]。该株系鉴定体系已在国内普遍使用。

表 1 22 个 SMV 株系在 10 个大豆鉴别寄主上的症状反应
Table 1 Reactions of 10 soybean differentials to 22 SMV strains

株系	南农 1138-2 Nannong1138-2	诱变 30 Youbian 30	8101	铁丰 25 Tiefeng 25	Davis	Buffalo	早熟 18 Zaoshu 18	Kwanggyo	齐黄 1 号 Qihuang 1	科丰 1 号 Kefeng 1
SC1	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
SC2	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
SC3	-/M	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
SC4	-/M	-/M	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
SC5	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
SC6	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-
SC7	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-
SC8	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	N/M	-/-	-/-
SC9	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	-/M	N/M	-/M	-/-
SC10	-/M	-/M,N	-/M	-/M	-/M	-/M,N	-/M	-/-	-/M	-/-
SC11	-/M	-/-	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
SC12	-/M	-/-	-/M	-/M	-/-	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-
SC13	-/M	N/M	-/M	-/M,N	-/M	-/M	-/-	N/N	-/-	-/-
SC14	-/M	-/-	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/M
SC15	-/M	-/M	-/M	N/M	-/M	-/M	N/M	N/M	-/M	-/M
SC16	-/M	-/-	-/M	-/M	N/-	N/-	-/-	N/-	-/-	-/-
SC17	-/M	N/M	-/M	-/M	-/M	N/M	-/M	N/N	-/-	-/M
SC18	-/M	-/-	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
SC19	-/M	N/N	-/M	-/-	-/N	N/N	-/N	-/-	-/M	-/-
SC20	-/M	N/N	-/M	-/-	-/N	N/N	N/N	-/-	-/-	-/-
SC21	-/M	N/N	-/M	-/-	-/M	-/M	-/-	-/-	-/-	-/-
SC22	N/M,N	-/M	N/M	-/-	N/M,N	-/M,N	-/-	-/-	-/-	-/M

接种叶/上位叶; M: 花叶; N: 坏死; -: 无症状; M, N: 花叶坏死并存。

Inoculated leaf/Upside leaf; M: Mottle-leaf; N: Necrosis; -: Asymptomatic; M, N: Mosaic necrosis coexist.

SMV 在与寄主长期互作过程中不断发生变异, 变异的主要原因是病毒本身的突变以及不同病毒间的重组。Yang 等^[28-29]发现一个在 P1 端和菜豆普通花叶病毒(BCMV)高度同源,其余部分与 SMV 对应区段高度相似的病毒类型,推测它产生于 SMV 和 BCMV 基因组之间的重组,其核苷酸序列比普通 SMV 多 405 bp,基因组与西瓜花叶病毒(WMV)高度相似,它在我国东北、黄淮以及南方大豆产区广泛分布。

刘宁等^[30]利用 11 个来源不同的大豆花叶病毒株系在不同大豆品种上研究了株系的交叉保护作用,发现保护接种后 7 d 再接种其它株系保护效果较好;以表现花叶株系作为保护株系,表现较高的保护作用;交叉保护作用能够显著减轻 SMV 对叶面积和根干重的影响,在减轻 SMV 对株高、叶绿素含量和根瘤鲜重的影响上,保护作用在不同株系、不同品种间存在一定差异。

3 大豆抗性资源筛选与大豆品种抗性评价

目前尚无有效的化学药剂可以防治 SMV,培育推广抗病品种是最经济、有效的防治手段,获得优异抗源是抗病育种的基础。通过对 5 268 个大豆种质材料和新育成大豆品种的广泛抗性鉴定,筛选到科丰 1 号、齐黄 1 号、齐黄 22、徐豆 1 号、大白麻、Kwanggyo、中作 J5045、汾豆 56、徐豆 14、RN-9、五星

4 号等兼抗多个流行株系的优异抗源^[31-35]。还筛选出溧水中子黄豆、诱变 30、凤交 66-12、AGS19、汾豆 72、徐豆 1 号、淮阴秋黑豆、邳县茶豆、南农 CT-2、南农 242 等抗扩展种质。

对我国 2003 - 2012 年选育的 1 113 个大豆品种对 SMV 的抗性进行了评价,发现感 SMV 品种数目在减少,中抗、中感等抗性一般的品种数量显著增加,但高抗品种数量基本保持稳定,说明我国抗 SMV 育种水平虽有一定程度提高,但仍需提高抗性水平^[35]。

4 大豆对 SMV 的抗性遗传和抗病基因定位

美国已鉴定出 3 个显性抗病基因位点,分别命名为 *Rsv1*、*Rsv3* 和 *Rsv4*,它们分别定位在 D1b(2 号染色体)、F(13 号染色体)和 B2(14 号染色体)连锁群上。*Rsv1* 有 9 个复等位基因,它们是 *Rsv1-y* (York)、*Rsv1-m* (Mashall)、*Rsv1-k* (Kwanggyo)、*Rsv1-t* (Ogden)、*Rsv1* (PI96983)、*Rsv1-r* (Raiden)、*Rsv1-h* (Suweon97)、*Rsv1-s* (LR1) 和 *Rsv1-n* (PI507389); *Rsv3* 有 2 个等位基因,它们分别在 OX686 和 L29 上;*Rsv4* 基因在 V94-5152 上,它来自于 PI486355。

利用科丰 1 号、齐黄 1 号等抗源为亲本构建了各类分离群体和重组近交家系(RIL)群体,研究了大豆对 SMV 抗性(抗侵染)的遗传规律,发现对 15 个中国 SMV 株系的抗性分别由一对显性基因控制,

将抗病基因分别命名为 *Rsc3*、*Rsc4*、*Rsc6*、*Rsc7*、*Rsc8*、*Rsc10*、*Rsc11*、*Rsc12*、*Rsc13*、*Rsc14*、*Rsc15*、*Rsc17*、*Rsc18*、*Rsc20*、*Rsc21*，利用分子标记对抗病基因进行了定位，发现抗病基因主要分布在大豆 2、6、13 和 14 号 4 条染色体上，并成簇存在(表 2)^[37-43]。利用剩余杂合系(RHL)构建次级群体和开发新的分子标记，完成 *Rsc3*、*Rsc4*、*Rsc6*、*Rsc7*、*Rsc8*、*Rsc13*、*Rsc14*、*Rsc15*、*Rsc17*、*Rsc18* 抗性基因的精细定位，克隆了 *Rsc3*、*Rsc4*、*Rsc7*、*Rsc14* 抗性位点的候选基因，目前正利用 VIGS、RT-PCR、BIFC 以及遗传转化等技术进行功能验证。此外，智海剑等^[44]利用无症状、系

统花叶、系统坏死 3 种不同症状表型的材料研究了症状反应的遗传机制，发现 3 类症状由一组复等位基因控制。

智海剑等^[45]证实了大豆对 SMV 既有抗侵染(质量抗性)，也有抗扩展(数量抗性)。利用主基因加多基因混合遗传模型，发现大豆对 SMV 抗扩展的遗传由加性主基因 + 加性 - 显性多基因共同控制，获得了主基因、多基因以及不同世代的遗传率等遗传参数。在 Gm06 和 Gm13 染色体上检测到 8 个与抗扩展相关的 QTL 和 10 对互作 QTL，其中 6 个 QTL 的贡献率大于 11%。

表 2 抗性基因标记定位汇总

Table 2 Assembly of gene mapping for SMV resistance

抗病基因 Resistance gene	抗性基因所在物理区间或与标记的遗传距离 Physical interval genetic distance of resistance genes	染色体 Chromosome
<i>Rsc3</i>	BARCSOYSSR-13-1128-(345 kb)-BARCSOYSSR-13-1136	Gm13
<i>Rsc4</i>	BARCSOYSSR-14-1413-(< 100 kb)-BARCSOYSSR-14-1416	Gm14
<i>Rsc6</i>	BARCSOYSSR-13-1128-(345 kb)-BARCSOYSSR-13-1136	Gm13
<i>Rsc7</i>	BARCSOYSSR-13-1140-(381 kb)-BARCSOYSSR-13-1155	Gm13
<i>Rsc8</i>	BARCSOYSSR-02-0610-(200 kb)-BARCSOYSSR-02-0616	Gm02
<i>Rsc10</i>	Satt634(0.9 cM)- <i>Rsc10</i> -Gm020580(0.8 cM)	Gm02
<i>Rsc11</i>	Sat_234(4.6 cM)- <i>Rsc11</i> -Sct_033(4.7 cM)	Gm13
<i>Rsc12</i>	Satt334(2.4 cM)- <i>Rsc12</i> -Sct_033(6.3 cM)	Gm13
<i>Rsc13</i>	BARCSOYSSR-13-1114-(650 kb)-BARCSOYSSR-13-1136	Gm13
<i>Rsc14</i>	MY525-(616 kb)-MY750	Gm13
<i>Rsc15</i>	Sat_213(8.0 cM)- <i>Rsc15</i> -Sat_286(6.6 cM)	Gm06
<i>Rsc17</i>	BARCSOYSSR-13-1128-(345 kb)-BARCSOYSSR-13-1136	Gm13
<i>Rsc18</i>	BARCSOYSSR-02-0667-(80 kb)-BARCSOYSSR-02-0670	Gm02
<i>Rsc20</i>	GNB026(1.5 cM)- <i>Rsc20</i> -GNB053(1.1 cM)	Gm02
<i>Rsc21</i>	GNE251(2.9 cM)- <i>Rsc21</i> -GNE030(2.0 cM)	Gm02

5 现代生物技术创新抗 SMV 大豆种质

分子标记辅助选择可以替代繁杂的人工接种鉴定选择，大大提高抗病育种效率。Ma 等^[46]利用 *Rsc12* 抗病基因两侧分子标记辅助抗性基因选择，单个 SSR 标记对抗性基因的选择效率可达 88% ~ 100%，同时利用 2 个标记选择，效率达 100%。王大刚等^[38-39]利用齐黄 1 号、科丰 1 号和大白麻分别在 13、2 和 14 染色体上携带的抗性基因，以广适应骨干亲本南农 1138-2 为农艺亲本，配置(齐黄 1 号 × 科丰 1 号) × (大白麻 × 南农 1138-2) 复交组合，利用 3 条染色体上与抗性基因连锁的分子标记辅助抗性基因的选择，实现抗性基因聚合和互补，创造了 5 个兼抗 21 个 SMV 株系的优异种质。

传统的育种技术仍在目前的大豆抗病育种中处于主导地位，多数大豆产区同时流行多个 SMV 株系，这种传统方法很难在短时间内培育出对 SMV 具有广谱抗性的品种。转基因技术可以打破物种间的屏障，在较短时期内将广谱抗病基因转移到大豆品种中，缩短抗病品种的选育进程。利用基因干扰原理，Gao 等^[47-48]利用 SMV-*HC-Pro* 基因的保守片

段构建 SMV 基因的干扰载体 p*B7GWIWG2*(II)-*HC-Proi*，选用天隆 1 号等 5 个大豆品种为受体材料，利用农杆菌介导大豆子叶节的遗传转化体系，获得阳性转基因大豆植株 105 株，目前已在高代转基因材料中获得高抗 SMV 转基因大豆家系 57 个。高乐等^[49]利用 SMV-*CP* 基因的保守片段，构建 RNAi 载体 p*B7GWIWG2*(II)-*CPi*，转化大豆品种华春 6 号，获得 68 棵阳性植株。高乐等^[50]利用 SMV 与大豆互作的大豆基因 *eIF4E* 构建干扰载体 p*B7GWIWG2*(II)-*eIF4Ei*，采用农杆菌介导的大豆子叶节遗传转化系统，转化大豆品种天隆 1 号，获得 45 株阳性植株，从后代中得到高抗家系的平均发病等级为 1.02，而对照的发病等级为 3.00。目前正在对上述转基因高世代材料进行抗病性的进一步鉴定和选择。

以往大豆对大豆花叶病毒的抗性研究多集中在大豆花叶病毒株系的鉴定、抗源筛选、抗性遗传以及抗性基因定位等方面，随着研究的深入，我们在精细定位以及 SMV 与大豆互作基因鉴定基础上已克隆了多个与抗性相关的候选基因，目前正通过病毒诱导下的基因表达分析、BPMV 介导的基因沉

默(VIGS)以及遗传转化等方法验证基因的功能,并明确抗病基因参与的抗病通路,阐明抗病机制,从而培育持久抗病的大豆品种。

参考文献

- [1] Wrather J A, Anderson T R, Arsyad D M, et al. Soybean disease loss estimates for the top ten soybean-producing countries in 1998 [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2001, 23: 115-121.
- [2] 袁瑗,王成坤,黄赛花,等. 大豆花叶病毒密码子的使用及其进化分析[J]. *大豆科学*, 2014, 33(6): 801-807. (Yuan Y, Huang S H, Wang C K, et al. Analysis on codon usage and evolution of soybean mosaic virus [J]. *Soybean Science*, 2014, 33(6): 801-807.)
- [3] Yang Q H, Li K, Zhi H J, et al. Genetic diversity of Chinese soybean mosaic virus strains and their relationships with other plant potyviruses based on *p3* gene sequences [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2014, 13(10): 2184-2195.
- [4] Zhang H Y, Cui X Y, Chen X, et al. Determination of the complete genomic sequence and molecular biological analysis of soybean mosaic virus [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2012, iFirst: 1-10.
- [5] 王大刚,智海剑,田震,等. 大豆花叶病毒致病基因的克隆与序列分析[J]. *大豆科学*, 2015, 34(5): 760-767. (Wang D G, Zhi H J, Tian Z, et al. Clone and sequence analysis of virulence genes of soybean mosaic virus isolates in China [J]. *Soybean Science*, 2015, 34(5): 760-767.)
- [6] 栾鹤翔. 大豆花叶病毒 P3 蛋白的寄主互作因子筛选、鉴定及功能验证 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015. (Luan H X. Characterization and function analysis of soybean mosaic virus P3 interactions from soybean [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.)
- [7] Song P W, Chen X, Wu B Y, et al. Identification for soybean host factors interacting with P3N-PIPO protein of soybean mosaic virus [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2016, DOI: 10.1007/s11738-016-2126-6.
- [8] Gao L, Zhai R, Zhong Y K, et al. Screening isolates of soybean mosaic virus for infectivity in a model plant, *Nicotiana glauca* [J]. *Plant Disease*, 2015, 99(4): 442-446.
- [9] Takahashi K, Tanaka T, Iida W, et al. Studies on virus diseases and causal viruses of soybean in Japan [J]. *Bulletin of the Tohoku National Agricultural Experiment Station*, 1980, 62: 1-130.
- [10] Cho E K, Goodman R M. Strains of soybean mosaic virus: Classification based on virulence in resistant soybean cultivars [J]. *Phytopathology*, 1979, 69: 467-470.
- [11] Cho E K, Choi S H, Cho W T. Newly recognized soybean mosaic virus mutants sources of resistance in soybeans [J]. *Research Report of the Office of Rural Development*, 1983, 25: 18-22.
- [12] Buzzell R I, Tu J C. Inheritance of soybean resistance to soybean mosaic virus [J]. *Journal of Heredity*, 1984, 75(1): 82.
- [13] Lim S M. Resistance to soybean mosaic virus in soybeans [J]. *Phytopathology*, 1985, 75(2): 199-201.
- [14] Kim J S, Lee E J. A new virulent strain of soybean mosaic virus infecting SMV resistant soybean cultivar, Deogyou [J]. *Korean Journal of Plant Pathology*, 1991, 7: 37-41.
- [15] Kim Y H, Kim O S, Lee B C, et al. G7H, a new Soybean mosaic virus strain: Its virulence and nucleotide sequence of *CI* gene [J]. *Plant Disease*, 2003, 87: 1372-1375.
- [16] 濮祖芹,曹琦,房德纯,等. 大豆花叶病毒的株系鉴定 [J]. *植物保护学报*, 1982, 9(1): 15-19. (Pu Z Q, Cao Q, Fang D C, et al. Identification of strains of soybean mosaic virus [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1982, 9(1): 15-19.)
- [17] 陈永萱,薛宝娣,胡蕴珠,等. 大豆花叶病毒(SMV)两个新株系的鉴定 [J]. *植物保护学报*, 1986, 13(4): 221-226. (Chen Y X, Xue B D, Hu Y Z, et al. Identification of two new strains of soybean mosaic virus [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1986, 13(4): 221-226.)
- [18] 吕文清,张明厚,魏培文,等. 东北三省大豆花叶病毒(SMV)株系的种类与分布 [J]. *植物病理学报*, 1985, 15(4): 225-229. (Lu W Q, Zhang M H, Wei P W, et al. Classification and distribution of strains of soybean mosaic virus in northeast China [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1985, 15(4): 225-229.)
- [19] 余子林. 湖北地区大豆花叶病毒的研究 [R]. 全国大豆病害学术讨论会论文摘要汇编, 1986. (Yu Z L. Research of soybean mosaic virus in Hubei province [R]. Abstract Assembly of China Soybean Disease Colloquium, 1986.)
- [20] 罗瑞悟,杨崇良,尚佑芬,等. 山东省大豆花叶病毒株系鉴定 [J]. *山东农业科学*, 1990, 5: 16-19. (Luo R W, Yang C L, Shang Y F, et al. Identification of strains of soybean mosaic virus in Shandong Province [J]. *Shandong Agricultural Science*, 1990, 5: 16-19.)
- [21] 王修强,盖钧镒,濮祖芹. 黄淮和长江中下游地区大豆花叶病毒株系鉴定与分布 [J]. *大豆科学*, 2003, 22(2): 102-107. (Wang X Q, Gai J Y, Pu Z Q. Classification and distribution of strain groups of soybean mosaic virus middle and lower Huang-Huai and Changjiang valleys [J]. *Soybean Science*, 2003, 22(2): 102-107.)
- [22] 杨雅麟. 长江中下游地区大豆花叶病毒(SMV)株系组成、分布及抗性研究 [D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2002. (Yang Y L. Research on SMV strain, distribution and resistance of middle and lower changjiang valleys [D]. Nanjing Agricultural University Master Dissertation, 2002.)
- [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, Ye 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): 64-689. (Guo D Q, Zhi H J, Wang Y W, et al. Identification and distribution of soybean mosaic virus strains in middle and northern Huanghuai region of China [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2005, 27(4): 64-689.)
- [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] Li K, Yang Q H, Zhi H J, et al. Identification and distribution of soybean mosaic virus strains in southern China [J]. *Plant Disease*, 2010, 94: 351-357.
- [27] 王大刚,田震,李凯,等. 鲁豫皖大豆产区大豆花叶病毒株系的鉴定及动态变化分析 [J]. *大豆科学*, 2013, 32(6): 806-

809. (Wang D G , Tian Z , Li K , et al. Identification and variation analysis of soybean mosaic virus strains in Shandong , Henan and Anhui provinces of China [J]. *Soybean Science* , 2013 , 32 (6) : 806-809.)
- [28] 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.
- [29] 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 , DOI: 10.1007/s00705-014-1980-z.
- [30] 刘宁,马莹,王大刚,等. 大豆花叶病毒株系间的交叉保护作用研究 [J]. *中国油料作物学报*, 2009 , 31(2) : 213-218. (Liu N , Ma Y , Wang D G , et al. Cross protection effects between strains of soybean mosaic virus [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences* , 2009 , 31(2) : 213-218.)
- [31] 智海剑,盖钧镒,陈应志,等. 2002-2004 年国家大豆区试品种对大豆花叶病毒抗性的评价 [J]. *大豆科学*, 2005 , 24(3) : 189-193. (Zhi H J , Gai J Y , Chen Y Z , et al. Evaluation of resistance to SMV of the entries in the national uniform soybean tests 2002-2004 [J]. *Soybean Science* , 2005 , 24(3) : 189-193.)
- [32] 王大刚,卢为国,马莹,等. 新育成大豆品种对 SMV 和 SCN 的抗性评价 [J]. *大豆科学*, 2009 , 28(6) : 949-953. (Wang D G , Lu W G , Ma Y , et al. Evaluation of resistance of soybean cultivars to soybean mosaic virus and soybean cyst nematode [J]. *Soybean Science* , 2009 , 28(6) : 949-953.)
- [33] 白丽,李凯,陈应志,等. 部分国家和省(市)区试品种对大豆花叶病毒的抗性分析 [J]. *中国油料作物学报*, 2007 , 29(1) : 86-89. (Bai L , Li K , Chen Y Z , et al. Evaluation of resistance to SMV of cultivars from soybean national and local regional test [J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences* , 2007 , 29(1) : 86-89.)
- [34] 杨华,李凯,杨清华,等. 国内部分新品种对大豆花叶病毒抗性的鉴定 [J]. *华北农学报*, 2008 , 23(增刊) : 252-255. (Yang H , Li K , Yang Q H , et al. Evaluation of resistance to SMV of cultivars from soybean national and local regional test in 2004-2006 [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica* , 2008 , 23(Supplement) : 252-255.)
- [35] 李凯,刘志涛,李海朝,等. 国家大豆区域试验品种对 SMV 和 SCN 的抗性分析 [J]. *大豆科学*, 2013 , 32(5) : 670-675. (Li K , Liu Z T , Li H C , et al. Resistance to soybean mosaic virus and soybean cyst nematode of soybean cultivars from China National Soybean Uniform Trials [J]. *Soybean Science* , 2013 , 32(5) : 670-675.)
- [36] 智海剑,盖钧镒. 大豆对 SMV 数量抗性的表现形式与种质鉴定 [J]. *中国农业科学*, 2004 , 37(10) : 1422-1427. (Zhi H J , Gai J Y. Performances and germplasm evaluation of quantitative resistance to soybean mosaic virus in soybeans [J]. *Scientia Agricultural Sinica* , 2004 , 37(10) : 1422-1427.)
- [37] 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 PI96983 [J]. *Theoretical and Applied Genetics* , 2013 , DOI: 10.1007/s00122-013-2092-y.
- [38] Wang D G , Ma Y , Liu N , et al. Fine mapping and identification of the soybean RSC4 resistance candidate gene to soybean mosaic virus [J]. *Plant Breeding* , 2011 , 130(6) : 653-659.
- [39] Wang D G , Ma Y , Yang Y Q , et al. Fine mapping and analyses of RSC8 resistance candidate genes to soybean mosaic virus in soybean [J]. *Theoretical and Applied Genetics* , 2010 , 122(3) : 555-565.
- [40] 李春燕,杨永庆,王大刚,等. 大豆对 SMV 株系 SC10 的抗性遗传及抗病基因的定位研究 [J]. *中国农业科学*, 2012 , 45(21) : 4335-4342. (Li C Y , Yang Y Q , Wang D G , et al. Studies on mapping and inheritance of resistance genes to SMV strain SC10 in soybean [J]. *Scientia Agricultural Sinica* , 2012 , 45(21) : 4335-4342.)
- [41] Ma Y , Wang D G , Li H C , et al. Fine mapping of resistance gene RSC14Q to soybean mosaic virus based on residual heterozygous lines derived from a recombinant inbredline [J]. *Euphytica* , 2011 , 181(1) : 127-135.
- [42] Yang Q H , Gai J Y. Identification , inheritance and gene mapping of resistance to a virulent soybean mosaic virus strain SC15 in soybean [J]. *Plant Breeding* , 2011 , 130(2) : 128-132.
- [43] Li K , Ren R , Karthikeyan A , et al. Genetic analysis and identification of two soybean mosaic virus resistance genes in soybean [*Glycine max*(L.) Merr.] [J]. *Plant Breeding* , 2015 , 134(6) : 684-695.
- [44] 智海剑,盖钧镒. 大豆花叶病毒症状反应的遗传分析 [J]. *中国农业科学*, 2005(5) : 944-949. (Zhi H J , Gai J Y. Studies on inheritance of symptom reaction to soybean mosaic virus in soybean [J]. *Scientia Agricultura Sinica* , 2005(5) : 944-949.)
- [45] 智海剑,盖钧镒,何小红. 大豆对 SMV 抗侵染与抗扩展的遗传分析 [J]. *作物学报*, 2005 , 31(10) : 1260-1264. (Zhi H J , Gai J Y , He X H. Inheritance of resistance in infection and resistance in development to soybean mosaic virus in soybeans [J]. *Acta Agronomica Sinica* , 2005 , 31(10) : 1260-1264.)
- [46] Ma Y , Li H C , Wang D G , et al. Molecular mapping and marker assisted selection of resistance gene RSC12 to soybean mosaic virus in soybean [J]. *Legume Genomics & Genetics* , 2010 , 1(8) : 1-6.
- [47] 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(8) : 1489-1505.
- [48] 高乐,宋英培,李凯,等. 大豆花叶病毒 HC-Pro 基因保守序列克隆及其 RNAi 载体的构建 [J]. *大豆科学*, 2013 , 32(6) : 744-749. (Gao L , Song Y P , Li K , et al. Cloning of conserved sequence of HC-Pro gene of soybean mosaic virus construction of its RNAi vector [J]. *Soybean Science* , 2013 , 32(6) : 744-749.)
- [49] 高乐,翟锐,丁雪妮,等. 大豆花叶病毒 CP 基因 RNAi 载体的构建及大豆遗传转化 [J]. *植物保护学报*, 2014 , 41(4) : 454-460. (Gao L , Zhai R , Ding X N , et al. RNAi vector construction of soybean mosaic virus CP gene and soybean transformation [J]. *Acta Phytolacica Sinica* , 2014 , 41(4) : 454-460.)
- [50] 高乐,翟锐,丁雪妮,等. 大豆翻译起始因子 4E 干扰片段克隆及其载体构建 [J]. *华北农学报*, 2014 , 29(4) : 1-6. (Gao L , Zhai R , Ding X N , et al. Cloning of interference fragment of eukaryotic translation initiation factor 4E of soybean and construction of its RNAi vector [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica* , 2014 , 29(4) : 1-6.)