黄瓜绿斑驳花叶病毒的遗传多样性与检测技术研究进展

罗金燕[1] 吴志峰[2] 谢 婷[2] 陈 磊[1] 杜 伟[3] 李 斌[2*]

（1. 上海市农业技术推广服务中心，上海 201103；2. 浙江大学生物技术研究所，杭州 310058；
3. 宁夏回族自治区农业技术推广总站，银川 750001）

摘要：黄瓜绿斑驳花叶病毒（cucumber green mottle mosaic virus，CGMMV）是我国重要的植物检疫性有害生物，预防其扩散和传播的关键在于准确、灵敏和快速的检测技术。该文总结分析NCBI数据库中已测定CGMMV分离物的基因组多样性；比较目前CGMMV主要检测技术的优缺点；归纳总结当前广泛用于检测CGMMV的逆转录−聚合酶链反应（reverse transcription PCR，RT-PCR）引物，并针对RT-PCR技术的最新研究进展和存在的一些不足进行讨论；最后对CGMMV检测技术的未来发展方向进行展望。

关键词：黄瓜绿斑驳花叶病毒；检疫；基因组；遗传多样性；检测技术；RT-PCR

Research progresses on genetic diversity and detection technology of cucumber green mottle mosaic virus

Luo Jinyan[1] Wu Zhifeng[2] Xie Ting[2] Chen Lei[1] Du Wei[3] Li Bin[2*]

（1. Shanghai Agriculture Technology Extension & Service Center, Shanghai 201103, China; 2. Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China; 3. Agricultural Technology Extension Station of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China）

Abstract: Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) is an important plant quarantine pest in China. The key to prevent its spread lies in accurate, sensitive and rapid detection technology. This paper firstly analyzed and summarized the diversity of the sequenced CGMMV genomes available in the NCBI database; compared the advantages and disadvantages of the current main CGMMV detection technologies; summed up the CGMMV detection primers that widely used in reverse transcription PCR (RT-PCR), and then discussed the latest research progresses and some shortcomings of RT-PCR technology. Finally, this paper looked forward to the future direction of CGMMV detection technology.

Key words: cucumber green mottle mosaic virus; quarantine; genome; genetic diversity; detection technology; RT-PCR

黄瓜绿斑驳花叶病毒（cucumber green mottle mosaic virus，CGMMV）自在英国被Ainsworth（1935）首次报道以来，先后传播到日本（Komuro et al.，1971）、德国（Hentschel，1975）、伊朗（Rahimian & Izadpanah，1977）、印度（Raychaudhuri & Varma，1978）、巴西（Choudhury & Lin，1982）、韩国（Lee，1990）和中国台湾省（Chen & Wang，1986）等20多个国家和地区。目前，我国大陆11个省（区、市）74个县（市、区）均发现了CGMMV，该病毒已被列为全国农业和进境植物检疫性有害生物（沈建国等，2012；肖彩利等，2016），

基金项目：上海市科技兴农项目（2019-02-08-00-08-F01150），宁夏回族自治区重点研发计划（2020BBF03004）

* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：libin0571@zju.edu.cn

收稿日期：2021-02-19

主要危害黄瓜、南瓜、西瓜、甜瓜、丝瓜、葫芦、西葫芦和苦瓜等葫芦科作物(Lee et al.,2012;李立梅等,2018),引起叶片斑驳、花叶、褪绿、畸形以及果实腐烂、植株矮化和生长缓慢等症状,产量损失严重,防治极其困难,对葫芦科作物的安全生产构成巨大威胁。种子带毒是CGMMV远距离传播的主要途径(宋顺华等,2015;2018),病毒颗粒常附着在种子外部表皮上,在花粉、种皮和病苗胚轴中也能发现,为从源头上防止CGMMV随进口种苗传入国内及控制该病毒在我国的进一步扩散蔓延,建立方便、快速、准确和灵敏的CGMMV检测技术是关键环节。本文系统分析NCBI数据库中CGMMV所有分离物基因组的变异情况,比较现有各种CGMMV检测技术的优缺点,重点总结目前应用广泛的反转录-聚合酶链反应(reverse transcription PCR,RT-PCR)扩增引物及该方法应用的最新进展,并对CGMMV检测领域的发展方向进行展望。

1 CGMMV基因组的多样性

通过搜索NCBI数据库,发现CGMMV的基因组序列信息仍在不断增加,显示该病害的扩散仍在继续,越来越多的分离物被获得并进行了基因组测定。通过总结分析NCBI数据库中截止到2021年2月3日的所有CGMMV基因组序列,发现该病毒的基因组大小在6 325~6 440 bp之间,其中CGMMV中国分离物有38株,占该数据库中CGMMV基因组总数的35.19%,其次是欧洲与美洲分离物。这固然可能和我国在该病毒研究上的投入比较大有关,但也从另一个侧面充分显示了该病毒在我国分布广泛,面临着极为严峻的扩散风险。而且分析结果显示该病毒寄主范围广泛,能够侵染我国很多重要的经济作物,包括瓠瓜、黄瓜、西瓜和甜瓜等,防控形势严峻。

本文基于NCBI数据库中所有CGMMV分离物的基因组序列构建了系统发育树,聚类分析发现我国的CGMMV分离物和其他国家的CGMMV分离物整体上可以分为2大类群,第1类群CGMMV分离物的地理来源非常多样,既包括来自亚洲的中国、泰国、日本、韩国、以色列和印度等国家的分离物,也包括来自美洲的美国和加拿大等国家的分离物,还包括来自欧洲的法国、保加利亚、希腊和荷兰等国家的分离物,以及大洋洲的澳大利亚等国家的分离物(图1)。所有来自中国的CGMMV分离物都在第1类群且绝大多数分离物聚合在一起,显示大部分中国分离物可能有相同的地理起源;少数中国CGMMV分离物与其他国家的分离物显示了高度的基因组同源性,推测可能是随着种子、种苗以及其他植物材料传入我国。第1类群CGMMV分离物的寄主范围也非常广泛,但绝大多数中国分离物都来自于西瓜,少数来自于甜瓜、黄瓜、南瓜和本氏烟等。

第2类群CGMMV分离物的寄主则非常有限,除5个感染黄瓜的分离物外,其他分离物都来自于本氏烟;而且第2类群CGMMV分离物的地理来源也相对有限,除分别有1个分离物来自于美国、科威特和日本外,其他所有分离物都来自于欧洲的荷兰、法国、俄罗斯、德国和西班牙等,其中主要是荷兰(图1)。美国、科威特和日本分离物的寄主都是本氏烟,推测很可能是随着种子、种苗以及其他植物材料由欧洲传入。CGMMV两大类群内部也存在丰富的基因组多样性,例如同样感染西瓜的CGMMV中国分离物聚在不同的亚群,同样感染本氏烟的荷兰分离物也聚在不同的亚群,这可能是由于CGMMV与寄主长期进化引起基因组变异的结果。此外,相对于其他国家,我国的CGMMV分离物寄主范围非常广泛,同一寄主分离物以及不同寄主分离物间都存在着丰富的遗传多样性(图1),这给该病毒的检测增加了极大的挑战,也在一定程度上解释了为何我国有大量RT-PCR检测引物被设计应用。

2 目前主要CGMMV检测技术优劣分析

现有的CGMMV主要检测方法各有优缺点(表1)。其中,生物学检测方法利用疑似病株汁液摩擦接种健康植株或苋色藜、曼陀罗和矮牵牛等鉴别寄主植物,根据发病症状可将CGMMV分为6个株系(Thomas,1984),该方法简单易行,但存在稳定性较差、工作量大、费时长(宋顺华等,2014)、同属病毒难区分以及带毒种子长成植株不一定感病等缺点,需结合其他方法才能得到更精确的鉴定结果。电子显微镜通常起辅助鉴定作用,可直观显示病毒粒子的形态和大小、病毒在寄主细胞内的存在状态及受侵染寄主细胞的结构变化等(Debrick,1973),由于电镜只能观察100 nm以下薄度的样本切片,因此该方法需超薄切片机等精度仪器,对操作人员技术要求严格,难以同时检测大量样本。血清学检测方面应用最多的是酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA)法(孙玉燕等,2016),该方法具有操作简单、经济、可批量检测的优点,适合田间大规模鉴定,但需特异性抗体,且由于抗体质量和种子成分易导致假阳性,因此常作为大量样品的初筛手段,阳性样品需经过分子生物学手段鉴定确认。RT-PCR等分子生物学技术的检测灵敏度高于ELI-

SA法和血清学方法,但该方法需要提取RNA,对仪器和操作人员专业技术要求较高,难以用于批量检测。

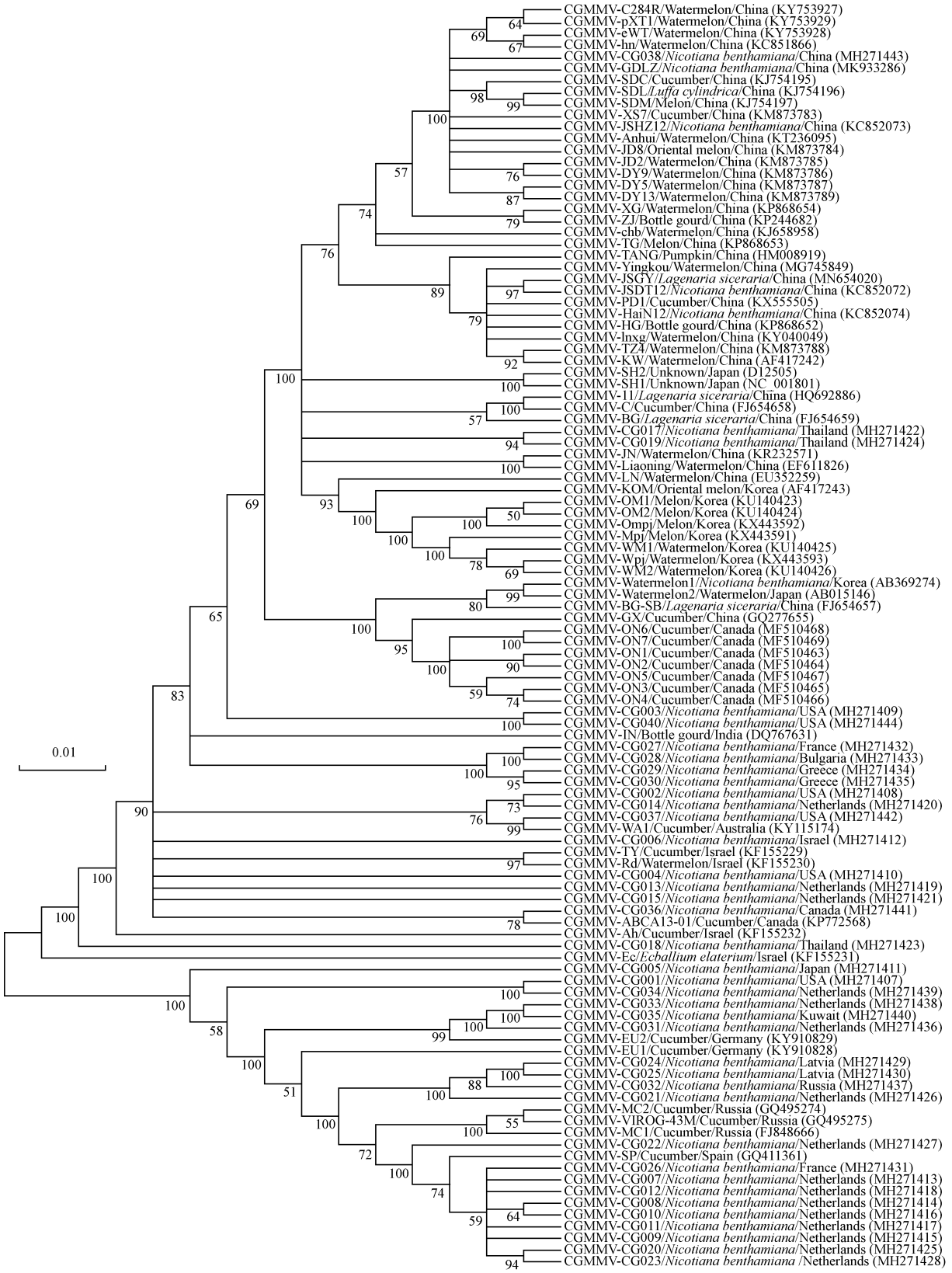

图1 基于CGMMV基因组序列以邻接法构建的系统发育树分析

Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree based on CGMMV genome sequences

所有数据均下载自GenBank,每条数据所示为黄瓜绿斑驳花叶病毒-分离物/寄主/来源(GenBank登录号). All data are downloaded from GenBank, each data was presented CGMMV-isolate/host/origin (GenBank accession number).

除上述生物学、电子显微镜、血清学和分子生物学等主要检测技术外，研究人员还建立了其他检测技术，包括荧光原位杂交（孙玉燕等，2016）和核酸斑点杂交（李海明等，2010）等各类杂交检测技术，基因芯片（张卫东等，2011）和可视化蛋白芯片（胡娟等，2014）等芯片检测技术，以及小RNA深度测序技术（车海彦等，2020）等其他检测方法，但这些技术目前还未普及。

表1 CGMMV检测技术的主要类型及其优缺点

Table 1 Main types of CGMMV detection technology and their advantages and disadvantages

类型 Type	材料/设备要求 Material/equipment requirement	技术要求 Technical requirement	适用场景 Applicable scene	限制因子 Limited factor	检测速度 Detection speed	工作量 Workload	检测成本 Testing cost
生物学 Biology	活体植株 *In vivo* plants	低 Low	田间或实验室 Field or laboratory	性状表现不稳定 Unstable character	慢 Slow	大 Big	低 Low
血清学 Serology	酶标仪 Microplate reader	中 Medium	田间或实验室 Field or laboratory	抗体质量 Antibody quality	快 Quick	中 Medium	中 Medium
细胞生物学 Cell biology	电子显微镜 Electron microscopy	高 High	实验室 Laboratory	切片质量 Section quality	慢 Slow	大 Big	高 High
反转录PCR RT-PCR	PCR仪 PCR instrument	高 High	实验室 Laboratory	RNA质量 RNA quality	快 Quick	中 Medium	中 Medium

3 RT-PCR检测技术的发展现状及其所用引物

RT-PCR是目前最为常用的一种方法，具有快速、准确、特异性强和灵敏度高的优点，国内外相关科研人员主要根据基因组序列上的衣壳蛋白或运动蛋白以及其他保守区序列为靶基因设计了大量的引物，用于CGMMV的检测（表2）。

表2 用于检测CGMMV的RT-PCR引物

Table 2 Primers used for RT-PCR detection of CGMMV

产物大小 Product size/bp	引物序列（5′−3′） Primer sequence (5′−3′)	参考文献 Reference
1 053	F: GATGCATCTGTTGCAGAGG/R: TCAACCTCACACACGTAAGAGG	Ali et al., 2004
486	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: CTAAGCTTTCGAGGTGGTAGC	陈红运等，2006 Chen et al., 2006
–	F: TTTCTGGTGTATGGAACGTA/R: CTCGAAACTAAGCTTTCG	任小平，2007 Ren, 2007
715	F: GGCTTACAATCCGATCACACCT/R: CTAAGCTTTCGAGGTGGTAGCCT	赵世恒等，2007 Zhao et al., 2007
662	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: TGGCCCCCTACCCGGGGAAAAG	李红霞等，2007 Li et al., 2007
493	F: ATGGCVFACAATCCGATCAC/R: CTAAGCTVFCGAGGTGGTAGC	白静，2007 Bai, 2007
650	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAAACCTC/R: CCGCAAACCAATGAGCAAACCG	黄静等，2007 Huang et al., 2007
486	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: CTAAGCTTTCGAGGTGGTAGC	秦碧霞等，2008 Qin et al., 2008
280	F: GTTTAGTGCTTCTTATGTTCCCGTCAGG/ R: TCAGCAGTCGTAGGATTGCTAGGATCTA	邓丛良等，2008 Deng et al., 2008
660	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: TGGGCCCCTACCCGGGGAAAAG	
500	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: CTAAGCTTTCGAGGTGGTAGC	
486	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: CTAAGCTTTCGAGGTGGTAGC	周玲玲等，2008 Zhou et al., 2008
524	F: GAAGAGTCCAGTTCTGTTTC/R: ACCCTCGAAACTAAGCTTTC	张永江等，2008 Zhang et al., 2008
–	F: TTGCATGCTGGGCCCCTACCCGGGGAAAG/ R: CCGAATTCATGGCTTACAATCCGATCAC	Chen et al., 2008
–	F: GCATAGTGCTTTCCCGTTCAC/R: TGCAGAATTACTGCCCATAGAAAC	
284	F: GTTTAGTGCTTCTTATCTTCCCGTCAGG/ R: TCAGCAGTCGTAGGATTGCTAGGATCTA	邓丛良等，2009 Deng et al., 2009
653	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAAACCTC/R: CCGCA AACCAATGAGCAAACCG	黄静等，2009 Huang et al., 2009
700	F: CGATCCATGGCTTACAATCCGATCAC/ R: TTGTCGACTGGCCCCCTACCCGGGGA	黄峰等，2009 Huang et al., 2009
675	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAA/R: AACGTCACACGTGAGAGGTT	李小妮等，2009 Li et al., 2009
1 109	F: CGACGATGCAATCCACGAAT/R: AACACAGGACCGTTGAGGAA	

续表2 Continued

产物大小 Product size/bp	引物序列(5′−3′) Primer sequence (5′−3′)	参考文献 Reference
1 100	F: GTTTTAATTTTTATAATTAAACAAACAACAACAACAA/ R: GCTTCGCTTCAGGAAACCACACAG	陈红运等,2009 Chen et al., 2009
2 400	F: AAAGCCACGTTTTCTGTGTGGT/R: GTTCTGCATTAATTGCTATTTGG	
2 500	F: GCGGATGTGGAAAAGGTCGATCA/R: GCGGTACCTTGTGAAGCAACTAG	
700	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: TGGGCCCCTACCCGGGGA	
663	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: TGGGCCCCTACCGGGAAAAG	孙宁等,2010 Sun et al., 2010
487	F: ATGGCTTACAATCCGATCAC/R: CTAAGCTTOGAGGTGGTAGC	
480	F: CTTACAATCCGATCACACCTAG/R: CTAAGCTTTCGAGGTGGTAGC	尚海丽等,2010 Shang et al., 2010
446	F: GCAAACTTA TTGCCGTTTAGTGC/R: GCTTTCGAGGTGGTAGCCTCT	阚春月等,2010a Kan et al., 2010a
158	F: TGCGGGTTTTACGCTTTC/R: CAATGACCCTATTACGCGTATCC	
644	F: GCGGCATTCTAAACCTCCAAATCGG/R: CAAACCAATGAGCAAACCGTTCG	吴鑫等,2010 Wu et al., 2010
654	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTA/R: CCGCAAACCAATGAGCAAACCG	廖富荣等,2010 Liao et al., 2010
450	F: CGGGATCCATGGCTTACAATCCGATCACAC/ R: GTCGACCTAAGCTTTCGAGGTGGTAGCC	李海明等,2010 Li et al., 2010
591	F: CACCTTTATGTCACATTGTTG/R: GTGATCGGATTGTAAGCCATC	张卫东等,2011 Zhang et al., 2011
417	F: GTGCTTCTTATGTTCCCGTCAG/R: ACCAGACTACCGAAAACGCG	李海明等,2011 Li et al., 2011
486	F: TCCCCCGGGATGGCTTACAATCCGATC/ R: CGGGATCCCTAAGCTTTCGAGGTGGTAGC	吴会杰等,2011 Wu et al., 2011
795	F: AACTGCAGATGTCTCTAAGTAAGGTGTCCG/ R: CGAGCTCCTAGCTGTGATCCGATTGTAAG	郑海刚和陈启建,2011 Zheng & Chen, 2011
482	F: TGGCTTACAATCCGATCACAC/R: AGCTTTCGAGGTGGTAGCCT	沈建国等,2012 Shen et al., 2012
1 032	F: YGGYTGYATTGTTTACCCTG/R: YTGAGTYTGGAARGCGGT	刘颖等,2012 Liu et al., 2012
524	F: GAAGAGTCCAGTTCTGTTTC/R: ACCCTCGAAACTAAGCTTTC	商明清等,2012 Shang et al., 2012
650	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAAACCTC/R: CCGCAAACCAATGAGCAAACCG	邵坤彦等,2012 Shao et al., 2012
600	F: TAAGCGGCATTCTAAACC/R: TCGATTTAAGTGAAC	赵慧茹等,2013 Zhao et al., 2013
1 109	F: CGACGATGCAATCCACGAAT/R: AACACAGGACCGTTGAGGAA	蒋庆琳和周国辉,2014 Jiang & Zhou,2014
1 475	F: CGACGATGCAATCCACGAAT/R: AACGTCACACGTGAGAGGTT	
309	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAA/R: AACACAGGACCGTTGAGGAA	
675	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAA/R: AACGTCACACGTGAGAGGTT	
748	F: ATCAACAACCAACGTGACGC/R: TGCACATCATCACCATCGAC	
690	F: ATCAACAACCAACGTGACGC/R: CTATGAAGAGCAGGTCCGAT	
638	F: GGTGTATGACGAGGCTGTTC/R: TGCACATCATCACCATCGAC	
570	F: GGTGTATGACGAGGCTGTTC/R: CTATGAAGAGCAGGTCCGAT	
486	F: ATGGCTTACA ATCCGATCACACC/R: CTAAGCTTTCGAGGTGGTAGCCTC	王云等,2014 Wang et al., 2014
976	F: CTAATTATTCTGTCGTGGCTGCGGATGC/R: CTTGCAGAATTACTGCCCATA	Tian et al., 2014
523	F: GAAGAGTCCAGTTCTGTTTC/R: ACCCTCGAAAACTAAGCTTTC	Nematollahi et al., 2014
1 944	F: GTTTTAATTTTTATA ATTAAAC/R: CTCCATATCTTCAGTTACATCCA	钟敏等,2015 Zhong et al., 2015
1 563	F: CATGTGAAGATATCGATCTAACTGAAG/R: CCAAACATCGTCAAGATCGACTG	
1 617	F: GATCCACTTACAAGTATAATAGCGGATC/R: GAGTTCTCGACTGACACCTTAC	
1 463	F: GAGTGATA AGCGCCTTTTCCGTAG/R: TCGGCCCCTACCCGGGG	
654	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAAACCTC/R: CCGCAAACCAATGAGCAAACCG	
875	F: TCTGTCGGTGGTCG/R: AAAAGGGGGGATTC	杜江等,2015 Du et al., 2015
660	F: CCACGAGTTGTTTCCTAATGCTG/R: TTTGCTAGGCGTGATCGGATTGT	任春梅等,2015 Ren et al., 2015
850	F: CCACGAGTTGTTTCCTAATGCTG/R: TTTGCTAGGCGTGATCGGATTGT	严丹侃等,2016 Yan et al., 2016
654	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAAACCTC/R: CCGCAAACCAATGAGCAAACCG	潘亚南等,2016 Pan et al., 2016
141	F: TTATTGCGTTTAGTGCTTCTTATG/R: CTACGACAGACGAGGGTAA	Lee et al., 2016
523	F: CCACGAGTTGTTTCCTAATGCTG/R: TTTGCTAGGCGTGATCGGATTGT	张艳超等,2017 Zhang et al., 2017
486	F: CGGAATTCATGGCTTACAATCCGATCACAC/ R: CCCTCGAGCTAAGCTTTCGAGGTGGTAGCCT	刘锦等,2017 Liu et al., 2017
243	F: CTTCCCGTCAGGACTTTACTT/R: ATCTACAACCTCAATGACCCTA	Wang et al., 2017
635	F: ATCCCTCGTGCCTGTCAAGT/R: GATCGGATTGTAAGCCATCTTC	杨柳等,2018 Yang et al., 2018

续表2 Continued

产物大小 Product size/bp	引物序列（5′−3′） Primer sequence (5′−3′)	参考文献 Reference
874	F: TTGACGGAGTGCCGGGTTGTGG/R: AGCGAATTCTGCATTAATTGCTAT	Li et al., 2018
654	F: CGTGGTAAGCGGCATTCTAAACCTC/R: CCGCAAACCAATGAGCAAACCG	周莹等，2019 Zhou et al., 2019
1 004	F: TCCTTTGACTTTAGAGGTCG/R: TGGGCCCCTACCCGGGGAA	刘美等，2019 Liu et al., 2019
–	F: ACCCTCGAAAACTAAGCTTTC/R: ACCCTCGAAAACTAAGCTTTC	Sui et al., 2019
540	F: ACAGTCATTGATGCTCCCG/R: GGTGACAACCATACCAGGCT	Bi et al., 2019
246	F: CCTCCACCAACCA ATACGCT/R: GTCATTACTGAATTTCAACA	
756	F: TGGTGCTACTGTTGCTCTGG/R: GAAGCGAAACGAAGATAGGC	
777	F: GAATCCCTCGTGCCTGTCAAG/R: GGTAAGGCAGACAGGGACTCGC	姜军等，2020 Jiang et al., 2020
890	F: CCACGAGTTGTTTCCTAAT/R: TTTGCTAGGCGTGATCGGATTGT	李正刚等，2020 Li et al., 2020
771	F: GCGAGGGTCAATTGGAAGA/R: CTGATCGACCTTTTCCGCAT	车海彦等，2020 Che et al., 2020

对于CGMMV的检测，普通RT-PCR法的检测灵敏度较高，操作比较简单，但RNA易降解，影响检测结果，现已在普通RT-PCR法基础上研发出不用提取RNA且灵敏度更高的试管捕捉RT-PCR法、免疫捕捉RT-PCR法和免疫磁珠RT-PCR法（表3）。试管捕捉RT-PCR法直接以CGMMV提取液包被PCR管，不需要使用昂贵的特异性抗体，操作更简便，且成本较低，但其检测灵敏度低于免疫捕捉RT-PCR法（沈建国等，2012）；免疫捕捉RT-PCR法结合了ELISA法捕捉抗原与RT-PCR法特异性反转录的特点（宋顺华等，2014），通过抗体特异性吸附CGMMV的病毒粒体，降低植物组织PCR抑制物质在CGMMV检测中的抑制作用，特异性强，结果更可靠，对CGMMV的检测灵敏度是普通RT-PCR法的2倍（阚春月等，2010a，b）；免疫磁珠法是将免疫学反应的高度特异性与磁珠特有的磁响应性相结合的一种新免疫学技术，单克隆抗体包被的免疫磁珠法在检测感染CGMMV黄瓜种子时比普通免疫捕捉RT-PCR法的灵敏度高4~8倍（阚春月等，2010a，b），但这2种免疫学方法都需要高灵敏度、高特异性的抗体（表3）。此外，通过同时设计多对不同引物，建立了检测瓜类单粒种子携带CGMMV的双重RT-PCR法和双重免疫捕捉RT-PCR法以及巢式双重免疫捕捉RT-PCR法，最后一种方法要比前面2种方法的灵敏度高10倍（蒋庆琳和周国辉，2014）。

表3 RT-PCR检测技术基础上建立的CGMMV检测技术优缺点

Table 3 The advantages and disadvantages of RT-PCR based technologies for CGMMV detection

类型 Type	灵敏度 Sensitivity	特异性 Specificity	RNA提取 RNA extraction	抗体 Antibody	技术要求 Technical requirement	参考文献 Reference
反转录PCR RT-PCR	高于血清和生物学 >serum and biology	较强 Good	需要 Need	不需要 Don’t need	较复杂 Relatively complex	张卫东等，2011 Zhang et al., 2011
免疫捕获RT-PCR IC-RT-PCR	比RT-PCR高2倍 2-fold higher than RT-PCR	强 Strong	不需要 Don’t need	需要 Need	简单 Simple	阚春月等，2010a，b Kan et al., 2010a，b
试管捕获RT-PCR TC-RT-PCR	高于RT-PCR，低于免疫捕捉RT-PCR <IC-RT-PCR, >RT-PCR	较强 Good	不需要 Don’t need	不需要 Don’t need	简单 Simple	沈建国等，2012 Shen et al., 2012
实时荧光定量PCR Real-time qPCR	比RT-PCR高100倍 100-fold higher than RT-PCR	强 Strong	需要 Need	不需要 Don’t need	复杂 Complex	邓丛良等，2008 Deng et al., 2008
免疫磁珠RT-PCR IP-RT-PCR	比RT-PCR高4~8倍 4−8-fold higher than RT-PCR	强 Strong	不需要 Don’t need	需要 Need	简单 Simple	阚春月等，2010a，b Kan et al., 2010a, b
纳米磁珠RT-PCR MNP-RT-PCR	比RT-PCR低10倍 10-fold lower than RT-PCR	较强 Good	不需要 Don’t need	不需要 Don’t need	复杂 Complex	邓丛良等，2008 Deng et al., 2008
细菌磁RT-PCR BMP-RT-PCR	比RT-PCR高10倍 10-fold higher than RT-PCR	较强 Good	需要 Need	不需要 Don’t need	复杂 Complex	孙宁等，2010 Sun et al., 2010

RT: Reverse transcription; IC: immunocaptured; TC: tube capture; qPCR: quantitative PCR; IP: immunomagnetic particle; MNP: magnetic nanoparticle; BMP: bacterial magnetic particles.

纳米磁珠RT-PCR法利用纳米磁珠的富集效应吸附CGMMV病毒粒体直接进行RT-PCR检测，高效快速，灵敏度比普通RT-PCR法低，但省去了RNA抽提过程和病毒抗体的使用，避免了植物寄主中多糖及一些酚类物质对病毒RT-PCR反应的影响，简化了操作步骤，缩短了检测时间，节约了检测成本（邓丛良等，2008），但对检测人员的专业技术要求很高，故未能有效推广使用。细菌磁RT-PCR法是利用细菌磁颗粒对植物病毒的非特异性吸附作用提取CGMMV的RNA进行RT-PCR检测（孙宁等，2010）。实时荧光定量PCR法检测CGMMV是将PCR技术和荧光测定相结合，与常规PCR相比，具有特异性强、灵敏度高、定量检测、结果准确、产物不需要电泳等优点，但需要昂贵仪器及试剂，检测成本较高，因此不常用作常规检测（表3）。

4 展望

基因组分析揭示了CGMMV基因组具有丰富的多样性，而目前使用的检测技术各有优缺点，未来有必要在以下几个方面予以进一步加强。

首先，开发免疫试纸条等适用于现场的检测技术。由于试纸条不需PCR仪等精密仪器，只要将样品滴在试纸条上，反应5~10 min即可显示结果，操作简单，技术要求低，适用于农户等非专业人员和设备简单的基层检疫部门大规模普筛。目前，国内针对CGMMV先后开发了磁免疫层析试纸条（魏梅生等，2014）和荧光纳米颗粒试纸条，但都受制于各种因素没有得到大面积推广。而浙江大学通过单抗制备的胶体金试纸条由于便捷快速、特异性强、检测灵敏度高等优点受到农业农村部的关注，正在上海市和宁夏回族自治区等地区推广应用。其他适用于现场的技术还有逆转录环介导等温扩增（reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification，RT-LAMP）技术（Li et al.，2013；Hasiów-Jaroszewska et al.，2019；Sui et al.，2019）和逆转录重组酶聚合酶扩增（reverse transcription-recombinase polymerase amplification，RT-RPA）技术（Jiao et al.，2019；Zeng et al.，2019）等。

其次，努力实现一纸多元检测。同一种植物可能感染多种有害微生物，例如西瓜和甜瓜种子上经常同时存在瓜类果斑病菌*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*和CGMMV，这就产生了多元检测的需求，而目前已开发的试纸条都具有一对一检测功能，为保证检测的全面性，使用者往往需要购买多种类的试纸条，造成了较大的成本负担，开发出多元检测试纸条将极大地简化流程，节省操作人员时间。

最后，要着手构建种传病毒的分级综合检测体系。应将胶条金试纸条用于基层样品大规模初筛或常规检测，如有阳性样品需再经过实验室RT-PCR技术或其衍生的免疫捕捉RT-PCR/磁珠RT-PCR技术验证确诊，构建既快速、简便，又准确、灵敏的多级综合检测体系，降低种传病毒的漏检率，为阻止CGMMV的传播和蔓延提供技术支撑。

参 考 文 献（References）

Ainsworth GC. 1935. Mosaic diseases of the cucumber. Annals of Applied Biology, 22(1): 55−67

Ali A, Natsuaki T, Okuda S. 2004. Identification and molecular characterization of viruses infecting cucurbits in Pakistan. Journal of Phytopathology, 152(11/12): 677−682

Bai J. 2007. Molecular detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* and *Tomato ring spot virus* and *Southern kidney bean mosaic virus*. Master thesis. Shenyang: Shenyang Agricultural University (in Chinese) [白静. 2007. 黄瓜绿斑驳花叶病毒、番茄环斑病毒及南方菜豆花叶病毒的分子检测技术研究. 硕士学位论文. 沈阳: 沈阳农业大学]

Bi XY, Li XD, Yu HB, An MN, Li R, Xia ZH, Wu YH. 2019. Development of a multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* and *Acidovorax citrulli* in watermelon. PeerJ, 7: e7539

Che HY, Cao XR, He YH, Luo DQ. 2020. Distribution and identification of viruses from cucumber in Hainan Island. Chinese Journal of Tropical Crops, 41(11): 2280−2284 (in Chinese) [车海彦, 曹学仁, 贺延恒, 罗大全. 2020. 海南岛黄瓜病毒病种类鉴定及其发生分布研究. 热带作物学报, 41(11): 2280−2284]

Chen HY, Lin SM, Chen Q, Zhao WJ, Liao FR, Chen HJ, Zhu SF. 2009. Complete genomic sequence of a watermelon isolate of *Cucumber green mottle mosaic virus* in northern China. Chinese Journal of Virology, 25(1): 68−72 (in Chinese) [陈红运, 林石明, 陈青, 赵文军, 廖富荣, 陈洪俊, 朱水芳. 2009. 黄瓜绿斑驳花叶病毒辽宁分离物全基因组序列测定. 病毒学报, 25(1): 68−72]

Chen HY, Zhao WJ, Cheng Y, Li MF, Zhu SF. 2006. Molecular identification of the virus causing watermelon mosaic disease in Mid-Liaoning. Acta Phytopathologica Sinica, 36(4): 306−309 (in Chinese) [陈红运, 赵文军, 程毅, 李明福, 朱水芳. 2006. 辽中地区西瓜花叶病病原的分子鉴定. 植物病理学报, 36(4): 306−309]

Chen HY, Zhao WJ, Gu QS, Chen Q, Lin SM, Zhu SF. 2008. Real time TaqMan RT-PCR assay for the detection of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Journal of Virological Methods, 149(2): 326−329

Chen M, Wang S. 1986. A strain of cucumber green mottle mosaic virus on bottlegourd in Taiwan.//Plant virus diseases of horticultural crops in the tropics and subtropics. Taiwan, China: Earth

Sciences General, pp. 37−42

Choudhury MM, Lin MT. 1982. Occurrence of virus diseases of melon and squash in the Sao Francisco region. EMBRAPA Pesquisa em Andamento, 14(4): 2

Deng CL, Huang F, Lü YF, Zhang K, Guo YL, Zhao HS. 2009. Detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* by real time reverse transcriptase polymerase chain reaction. Plant Quarantine, 23(4): 29−31 (in Chinese) [邓丛良, 黄峰, 吕玉峰, 张凯, 郭育林, 赵焕生. 2009. 实时荧光RT-PCR方法检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 植物检疫, 23(4): 29−31]

Deng CL, Jiang M, Wang WC, Nie L, Liang XM, Yang XX, Gao WN, Lu YF. 2008. Detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* using MNP-RT-PCR method. Acta Phytopathologica Sinica, 38 (4): 436−440 (in Chinese) [邓丛良, 江明, 汪万春, 聂棱, 梁新苗, 杨小霞, 高文娜, 吕玉峰. 2008. 应用MNP-RT-PCR方法检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 植物病理学报, 38(4): 436−440]

Debrick KS. 1973. Quantitative assay for plant viruses using serologically specific electron microscopy. Virology, 56(2): 652−653

Du J, Cheng YY, Niu EB, Niu YB. 2015. Sequence analysis of *CP* gene of *Cucumber green mottle mosaic virus* isolate infecting watermelon from Shanxi Province. Plant Protection, 41(2): 142−145, 148 (in Chinese) [杜江, 成媛媛, 牛二波, 牛颜冰. 2015. 黄瓜绿斑驳花叶病毒山西西瓜分离物外壳蛋白基因序列分析. 植物保护, 41(2): 142−145, 148]

Hasiów-Jaroszewska B, Budzyńska D, Borodynko-Filas N. 2019. Genetic diversity of the *Cucumber green mottle mosaic virus* and the development of RT-LAMP assay for its detection. Plant Protection Science, 55(1): 1−7

Hentschel G. 1975. Virus diseases on greenhouse cucumber results from 1974 and the outlook for 1975. Gemuse, 11(4): 108−111

Hu J, Zhou XP, Han SY, Wen ZH, Wang JP. 2014. Rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* by antibody macroarray. Journal of Gansu Agricultural University, 49(5): 116−122 (in Chinese) [胡娟, 周小平, 韩舜愈, 文朝慧, 王军平. 2014. 利用可视化蛋白芯片快速检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 甘肃农业大学学报, 49(5): 116−122]

Huang F, Chen Q, Chen HY, Bai J, Li GF, Yu FP, Chen HJ. 2009. Preparation of the reference material with low biosafety risk used for molecular detection of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Plant Quarantine, 23(4): 24−26 (in Chinese) [黄峰, 陈青, 陈红运, 白静, 李桂芬, 余芳平, 陈洪俊. 2009. 黄瓜绿斑驳花叶病毒低风险参照物质的研制. 植物检疫, 23(4): 24−26]

Huang J, Liao FR, Lin SM, Chen Q. 2009. Development of IC-RT-PCR method for detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* in pumpkin seeds. Journal of Zhangzhou Technical Institute, 11(1): 12−15 (in Chinese) [黄静, 廖富荣, 林石明, 陈青. 2009. 南瓜种子中黄瓜绿斑驳花叶病毒IC-RT-PCR检测方法的建立. 漳州职业技术学院学报, 11(1): 12−15]

Huang J, Liao FR, Lin SM, Chen Q, Wang ZH. 2007. Identification and detection of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 23(4): 318−322 (in Chinese) [黄静, 廖富荣, 林石明, 陈青, 王宗华. 2007. 黄瓜绿斑驳花叶病毒的鉴定及分子检测. 中国农学通报, 23(4): 318−322]

Jiang J, Wu N, Xin M, Cao MJ, Wang XF. 2020. Identification of multiple viruses infecting watermelon in Kaifeng and Zhongmu of Henan Province by next generation sequencing (NGS). Acta Phytopathologica Sinica, 50(3): 286−291 (in Chinese) [姜军, 吴楠, 辛敏, 曹孟籍, 王锡锋. 2020. 高通量测序发现河南开封、中牟西瓜病毒病由多种病毒复合侵染导致. 植物病理学报, 50(3): 286−291]

Jiang QL, Zhou GH. 2014. Rapid detection of CGMMV from individual cucurbitaceous seed based on one-step RT-PCR methods. Chinese Journal of Tropical Crops, 35(9): 1860−1865 (in Chinese) [蒋庆琳, 周国辉. 2014. 基于一步法RT-PCR的瓜类单粒种子携带CGMMV的快速检测技术. 热带作物学报, 35(9): 1860−1865]

Jiao YB, Jiang JY, Wu YH, Xia ZH. 2019. Rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* in watermelon through a recombinase polymerase amplification assay. Journal of Virological Methods, 270: 146−149

Kan CY, Yi JR, Wang SF, Yu C, Yang CY. 2010a. Detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* by immunomagnetic separation and RT-PCR. Acta Agriculturae Shanghai, 26(4): 43−47 (in Chinese) [阚春月, 衣杰荣, 王守法, 于翠, 杨翠云. 2010a. 免疫磁珠结合RT-PCR检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 上海农业学报, 26 (4): 43−47]

Kan CY, Yu C, Yang CY, Wang SF. 2010b. Establish and evaluate molecular detection methods of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science), 28(5): 457−461, 466 (in Chinese) [阚春月, 于翠, 杨翠云, 王守法. 2010b. 黄瓜绿斑驳花叶病毒分子检测方法的建立与评价. 上海交通大学学报(农业科学版), 28(5): 457−461, 466]

Komuro Y, Tochihara H, Fukatsu R, Nagai YJ, Yoneyama S. 1971. Cucumber green mottle mosaic virus (watermelon strain) in watermelon and its bearing on deterioration of watermelon fruit known as “konnyaku” disease. Japanese Journal of Phytopathology, 37(1): 34−42

Lee H, Kim MS, Lim HS, Park E, Lee WH, Cho BK. 2016. Detection of cucumber green mottle mosaic virus-infected watermelon seeds using a near-infrared (NIR) hyperspectral imaging system: application to seeds of the “Sambok Honey” cultivar. Biosystems Engineering, 148: 138−147

Lee KW. 1990. Occurrence of *Cucumber green mottle mosaic virus* disease of watermelon in Korea. Korean Journal of Plant Pathology, 6(2): 250−255

Lee SY, Win NKK, Cho DM, Lee SH, Jung HY. 2012. *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) can induce hair-like tissues on genus *Cucumis* seeds. Scientia Horticulturae, 146: 76−80

Li HM, Shen JG, Wu ZJ, Chen QJ. 2010. Comparison of three techniques for detection the sensitivity of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 26(17): 269−272 (in Chinese) [李海明, 沈建国, 吴祖建, 陈启建. 2010. 3种方法检测黄瓜绿斑驳花叶病毒的灵敏度对比分析. 中国农学通报, 26(17): 269−272]

Li HM, Wu ZJ, Chen QJ, Shen JG. 2011. Biological and molecular testing techniques for *Cucumber green mottle mosaic virus*. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 26(4): 596−600 (in Chinese) [李海明, 吴祖建, 陈启建, 沈建国. 2011. 黄瓜绿斑驳花叶病毒的生物学与分子检测鉴定. 福建农业学报, 26(4): 596−600]

Li HX, Bai J, Chen HY, Zhu SF, Tan TW. 2007. Detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* from pumpkin fruit by RT-PCR and sequence analysis of coat protein gene. Plant Quarantine, 21(5): 268−270 (in Chinese) [李红霞, 白静, 陈红运, 朱水芳, 谭天伟. 2007. 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. 植物检疫, 21(5): 268−270]

Li JY, Wei QW, Liu Y, Tan XQ, Zhang WN, Wu JY, Charimbu MK, Hu BS, Cheng ZB, Yu C, et al. 2013. One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Journal of Virological Methods, 193(2): 583−588

Li LM, Li X, Zhao XX, Mao H, Sun JH, Wu YH. 2018. The relationships between sugar metabolism and blood-flesh of watermelon infected with *Cucumber green mottle mosaic virus*. Journal of Plant Protection, 45(3): 447−454 (in Chinese) [李立梅, 李鑫, 赵秀香, 毛赫, 孙景花, 吴元华. 2018. 西瓜感染黄瓜绿斑驳花叶病毒后糖分代谢与倒瓤的关系. 植物保护学报, 45(3): 447−454]

Li XN, Ren XP, Wang L, Wang MQ, Zhou GH. 2009. Molecular detection and epidemic prevention of *Cucumber green mottle mosaic virus* in Guangdong, China. Journal of Plant Protection, 36(3): 283−284 (in Chinese) [李小妮, 任小平, 王琳, 王明强, 周国辉. 2009. 广东省黄瓜绿斑驳花叶病毒分子检测及防疫. 植物保护学报, 36(3): 283−284]

Li YY, Tan GL, Lan PX, Zhang AS, Liu Y, Li RH, Li F. 2018. Detection of tobamoviruses by RT-PCR using a novel pair of degenerate primers. Journal of Virological Methods, 259: 122−128

Li ZG, Nong Y, Tang YF, She XM, Yu L, Lan GB, Deng MG, He ZF. 2020. Molecular characteristic and pathogenicity analyses of cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) infecting bottle gourd in Lianzhou, Guangdong. Scientia Agricultura Sinica, 53(5): 955−964 (in Chinese) [李正刚, 农媛, 汤亚飞, 佘小漫, 于琳, 蓝国兵, 邓铭光, 何自福. 2020. 侵染广东连州葫芦的黄瓜绿斑驳花叶病毒的分子特征及致病性分析. 中国农业科学, 53(5): 955−964]

Liao FR, Lin SM, Qin BX, Chen Q, Shen JG, Chen H, Huang PY, Cai JH. 2010. RT-PCR detection and CP gene sequence analysis of *Cucumber green mottle mosaic virus* infecting cucumber in Guangxi, China. Acta Laser Biology Sinica, 19(5): 663−668 (in Chinese) [廖富荣, 林石明, 秦碧霞, 陈青, 沈建国, 陈涵, 黄蓬英, 蔡健和. 2010. 广西黄瓜绿斑驳花叶病毒(CGMMV)黄瓜分离物的RT-PCR检测及CP基因序列分析. 激光生物学报, 19(5): 663−668]

Liu J, Li YQ, Huang XD, Fang L, Li XD, Tian YP. 2017. Prokaryotic expression and antiserum preparation of *Cucumber green mottle mosaic virus* coat protein gene. Shandong Agricultural Sciences, 49(5): 10−13 (in Chinese) [刘锦, 李亦晴, 黄显德, 房乐, 李向东, 田延平. 2017. 黄瓜绿斑驳花叶病毒外壳蛋白基因原核表达及抗血清制备. 山东农业科学, 49(5): 10−13]

Liu M, Xie KL, Liu X, Gu QS. 2019. Occurrence of *Cucumber green mottle mosaic virus* in grafted watermelon in Ningxia Hui Autonomous Region of China. China Cucurbits and Vegetables, 32(2): 7−10 (in Chinese) [刘美, 解昆仑, 刘茜, 古勤生. 2019. 宁夏回族自治区嫁接西瓜发生黄瓜绿斑驳花叶病毒病. 中国瓜菜, 32(2): 7−10]

Liu Y, Peng B, Yang XH, Li XD, Gu QS. 2012. Detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* of watermelon blood flesh in Jinan area. China Vegetables, (10): 75−79 (in Chinese) [刘颖, 彭斌, 杨晓红, 李向东, 古勤生. 2012. 济南地区倒瓤西瓜CGMMV的检测. 中国蔬菜, (10): 75−79]

Nematollahi S, Haghtaghi E, Koolivand D, Hajizadeh M. 2014. Molecular detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* variants from cucurbits fields in Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47(11): 1303−1310

Pan YN, Han J, Wu HB, Ji YL, Wang CL, Liu F, Luo M, Zhang XL. 2016. Detection of viruses infecting Hami melon and their molecular identification in Xinjiang. Acta Horticulturae Sinica, 43(6): 1107−1116 (in Chinese) [潘亚南, 韩剑, 吴海波, 吉艳玲, 王纯利, 刘芳, 罗明, 张祥林. 2016. 新疆哈密瓜病毒的DAS-ELISA检测和分子鉴定. 园艺学报, 43(6): 1107−1116]

Qin BX, Cai JH, Liu ZM, Wei YW, Xie L, Zhu GN. 2008. Molecular identification of an isolate of *Cucumber green mottle mosaic virus* infecting bottle gourd in Guangxi. Plant Protection, 34(1): 116−118 (in Chinese) [秦碧霞, 蔡健和, 刘志明, 魏源文, 谢玲, 朱桂宁. 2008. 侵染葫芦的黄瓜绿斑驳花叶病毒广西分离物分子鉴定. 植物保护, 34(1): 116−118]

Rahimian H, Izadpanah K. 1977. A new strain of cucumber green mottle mosaic virus from Iran. Iranian Journal of Agricultural Research, 5(1): 25−34

Raychaudhuri M, Varma A. 1978. Mosaic disease of muskmelon, caused by a minor variant of cucumber green mottle mosaic virus. Journal of Phytopathology, 93(2): 120−125

Ren CM, Cheng ZB, Yang L, Miao Q, Zhou YJ. 2015. Establishment and application of multiplex RT-PCR assays for simultaneous detection of six viruses on cucurbit crops in Jiangsu Province. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 31(4): 756−763 (in Chinese) [任春梅, 程兆榜, 杨柳, 缪倩, 周益军. 2015. 江苏省葫芦科作物6种病毒的多重RT-PCR方法及应用. 江苏农业学报, 31(4): 756−763]

Ren XP. 2007. Identification and control of cucumber green mottle mosaic virus disease. China Plant Protection, 27(5): 41−43 (in Chinese) [任小平. 2007. 黄瓜绿斑驳花叶病毒病的鉴定与防治. 中国植保导刊, 27(5): 41−43]

Shang HL, Zhou XP, Wu JX. 2010. Polyclonal antibody-based dot-ELISA and immunocapture-RT-PCR for *Cucumber green mottle mosaic virus* detection. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 36(5): 485−490 (in Chinese) [尚海丽, 周雪平, 吴建祥. 2010. 免疫斑点法和免疫捕获RT-PCR检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 36(5):

485−490]

Shang MQ, Zhang YJ, Zhao WJ, Zhang DM, Jin YX, Chang ZZ. 2012. Field investigation and identification of cucumber green mottle mosaic virus disease in Shandong Province. China Plant Protection, 32(3): 50−52 (in Chinese) [商明清, 张永江, 赵文军, 张德满, 金扬秀, 常兆芝. 2012. 山东省黄瓜绿斑驳花叶病毒病田间调查与检测鉴定. 中国植保导刊, 32(3): 50−52]

Shao KY, Peng BY, Yu JL, Zhang Y, He DL. 2012. Rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* by RT-PCR. Hubei Plant Protection, (4): 20−23 (in Chinese) [邵坤彦, 彭宝玉, 余金龙, 张莹, 何冬兰. 2012. 利用RT-PCR快速检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 湖北植保, (4): 20−23]

Shen JG, Lin SQ, Cai W, Li HM, Wang NW, Weng RQ, Huang KH. 2012. Detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* by TC/IC-RT-PCR. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 41(1): 13−17 (in Chinese) [沈建国, 林双庆, 蔡伟, 李海明, 王念武, 翁瑞泉, 黄可辉. 2012. TC/IC-RT-PCR检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 福建农林大学学报(自然科学版), 41(1): 13−17]

Song SH, Gong GY, Geng LH, Wu P, Meng SC, Xu M, Jiao YY. 2018. Influence of dry heat treatment on seed quality of cucurbit crops and control effect on *Cucumber green mottle mosaic virus*. China Vegetables, (2): 58−63 (in Chinese) [宋顺华, 宫国义, 耿丽华, 吴萍, 孟淑春, 徐茂, 焦玉英. 2018. 干热处理对葫芦科种子质量的影响及对黄瓜绿斑驳花叶病毒的防治效果. 中国蔬菜, (2): 58−63]

Song SH, Wu P, Gong GY, Meng SC, Geng LH. 2015. Seed transmission of *Cucumber green mottle mosaic virus* on gourd and the evaluation of the effect of heat treatment. Journal of Plant Protection, 42(5): 841−847 (in Chinese) [宋顺华, 吴萍, 宫国义, 孟淑春, 耿丽华. 2015. 黄瓜绿斑驳花叶病毒在葫芦上的种传规律及热处理效果评价. 植物保护学报, 42(5): 841−847]

Song SH, Wu P, Gong GY, Meng SC, Xing BT. 2014. Occurrence and control measures of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Northern Horticulture, (8): 105−108 (in Chinese) [宋顺华, 吴萍, 宫国义, 孟淑春, 邢宝田. 2014. 黄瓜绿斑驳花叶病的发生及防控策略. 北方园艺, (8): 105−108]

Sui XL, Li RG, Shamimuzzaman M, Wu ZJ, Ling KS. 2019. Understanding the transmissibility of cucumber green mottle mosaic virus in watermelon seeds and seed health assays. Plant Disease, 103(6): 1126−1131

Sun N, Zhang YZ, Chen JF, Deng CL. 2010. The application of bacterial magnetic particles RT-PCR for detecting three kinds plant viruses. Plant Quarantine, 24(6): 16−19 (in Chinese) [孙宁, 张一折, 陈继峰, 邓丛良. 2010. 应用细菌磁颗粒RT-PCR检测3种植物病毒. 植物检疫, 24(6): 16−19]

Sun YY, Niu XW, Fan M. 2016. Advances in genetic improvement of *Cucumber green mottle mosaic virus* CGMMV and Cucurbitaceae crop resistance. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 57(2): 240−247 (in Chinese) [孙玉燕, 牛晓伟, 范敏. 2016. 黄瓜绿斑驳花叶病毒CGMMV及葫芦科作物抗性遗传改良研究进展. 浙江农业科学, 57(2): 240−247]

Thomas BJ. 1984. Occurrence and epidemiology of the cucumber necrosis strain of tobacco necrosis virus in cucumber crops.//Annual Report Glasshouse Crops Research Institute 1984. Coventry: University of Warwick, pp. 117−123

Tian T, Posis K, Maroon-Lango CJ, Mavrodieva V, Haymes S, Pitman TL, Falk BW. 2014. First report of *Cucumber green mottle mosaic virus* on melon in the United States. Plant Disease, 98(8): 1163

Wang L, Liu ZM, Xia XY, Yang CY, Huang JY, Wan SB. 2017. Colorimetric detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* using unmodified gold nanoparticles as colorimetric probes. Journal of Virological Methods, 243: 113−119

Wang Y, Xin ZM, Zhao LM, Zhu XP, Wang YX. 2014. Molecular identification of an isolate of *Cucumber green mottle mosaic virus* infecting loofah in Shandong. Shandong Agricultural Sciences, 46(8): 10−14 (in Chinese) [王云, 辛志梅, 赵黎明, 竺晓平, 王云祥. 2014. 侵染丝瓜的黄瓜绿斑驳花叶病毒山东分离物分子鉴定. 山东农业科学, 46(8): 10−14]

Wei MS, Li GF, Ma J, Zhu SF, Wang JP, Wen ZH. 2014. Magnetic immunochromatography assay for rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus*. Plant Protection, 40(3): 113−116 (in Chinese) [魏梅生, 李桂芬, 马洁, 朱水芳, 王军平, 文朝慧. 2014. 黄瓜绿斑驳花叶病毒磁免疫层析试纸条的研制. 植物保护, 40(3): 113−116]

Wu HJ, Qin BX, Chen HY, Peng B, Cai JH, Gu QS. 2011. The rate of seed contamination and transmission of *Cucumber green mottle mosaic virus* in watermelon and melon. Scientia Agricultura Sinica, 44(7): 1527−1532 (in Chinese) [吴会杰, 秦碧霞, 陈红运, 彭斌, 蔡建和, 古勤生. 2011. 黄瓜绿斑驳花叶病毒西瓜、甜瓜种子的带毒率和传毒率. 中国农业科学, 44(7): 1527−1532]

Wu X, Ding YM, He YQ, Li M, Li KH, Wang SJ, Zhou J. 2010. Molecular detection of cucumber green mottle mosaic virus and sequence analyses of Yunnan isolates. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 31(3): 75−80 (in Chinese) [吴鑫, 丁元明, 何月秋, 李旻, 李克海, 王绍君, 周剑. 2010. 黄瓜绿斑驳花叶病毒的分子检测及云南分离物的序列分析. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 31(3): 75−80]

Xiao CL, Zheng HY, Wu XH, Li GJ, Yan F, Chen JP. 2016. The complete genomic sequence analysis of three isolates of *Cucumber green mottle mosaic virus* in Zhejiang and the application of prepared antiserum. Journal of Plant Protection, 43(4): 529−536 (in Chinese) [肖彩利, 郑红英, 吴晓花, 李国景, 燕飞, 陈剑平. 2016. 黄瓜绿斑驳花叶病毒基因组全序列分析及病害的田间调查. 植物保护学报, 43(4): 529−536]

Yan DK, Zhang HS, Zheng HY, Yan F, Zhang DF. 2016. Cloning and sequence analysis of the genome of *Cucumber green mottle mosaic virus* Anhui isolate. Plant Protection, 42(4): 151−156 (in Chinese) [严丹侃, 张海珊, 郑红英, 燕飞, 章东方. 2016. 黄瓜绿斑驳花叶病毒安徽分离物全基因组序列测定及分析. 植物保护, 42(4): 151−156]

Yang L, Ren CM, Miao Q, Lu F, Cheng ZB. 2018. DAS-ELISA detection against *Cucumber green mottle mosaic virus*. Jiangsu Jour-

nal of Agricultural Sciences, 34(4): 769−774 (in Chinese) [杨柳, 任春梅, 缪倩, 陆芳, 程兆榜. 2018. 黄瓜绿斑驳花叶病毒的双抗夹心ELISA检测. 江苏农业学报, 34(4): 769−774]

Zeng R, Luo JY, Gao SG, Xu LH, Song ZW, Dai FM. 2019. Rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* by reverse transcription recombinase polymerase amplification. Molecular and Cellular Probes, 43: 84−85

Zhang WD, Quan YB, Liao L, Wang JG, Xu MF, Chi YL. 2011. Rapid detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* by RT-PCR. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 33(1): 43−46, 83 (in Chinese) [张卫东, 权永兵, 廖力, 王建国, 徐淼锋, 迟远丽. 2011. RT-PCR法特异性快速检测黄瓜绿斑驳花叶病毒. 江西农业大学学报, 33(1): 43−46, 83]

Zhang YC, Hou MS, Cai L. 2017. Detection of main viral species of vegetable virus diseases in Hubei Province. Journal of Huazhong Agricultural University, 36(6): 31−38 (in Chinese) [张艳超, 侯明生, 蔡丽. 2017. 湖北省蔬菜病毒病主要毒原种类检测. 华中农业大学学报, 36(6): 31−38]

Zhang YJ, Ma J, Li GF, Li MF. 2008. Detection *Cucumber green mottle mosaic virus* in three Cucurbitaceae crops germplasm sources. Seed, 27(10): 41−43 (in Chinese) [张永江, 马洁, 李桂芬, 李明福. 2008. 3种葫芦科作物种质资源中黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测. 种子, 27(10): 41−43]

Zhao HR, Lin ZY, Zhu JZ, Zhang YD, Gao BD. 2013. First report of *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) in Hunan Province. Acta Phytopathologica Sinica, 43(2): 219−221 (in Chinese) [赵慧茹, 林振亚, 朱俊子, 张亚东, 高必达. 2013. 湖南首次检测到黄瓜绿斑驳花叶病毒. 植物病理学报, 43(2): 219−221]

Zhao SH, Li MF, Zhang YJ, Wang JZ, Li GF, Sun SL, Zhang T. 2007. Detection of *Cucumber green mottle mosaic virus* in watermelon of introduced seed. Journal of Beijing University of Agriculture, 22(2): 32−34 (in Chinese) [赵世恒, 李明福, 张永江, 王进忠, 李桂芬, 孙淑玲, 张涛. 2007. 引进种质西瓜中黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测. 北京农学院学报, 22(2): 32−34]

Zheng HG, Chen QJ. 2011. Inhibition of crude extracts of extracted dsRNA by induction on the *Cucumber green mottle mosaic virus*. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 40(4): 346−350 (in Chinese) [郑海刚, 陈启建. 2011. 诱导提取的dsRNA粗提液对黄瓜绿斑驳花叶病毒的抑制作用. 福建农林大学学报(自然科学版), 40(4): 346−350]

Zhong M, Zhao XS, Hutong L, Wang ST, Wang YN, Cao KQ. 2015. Cloning and sequence analysis of the genome of *Cucumber green mottle mosaic virus* Hebei isolate. Journal of Plant Protection, 42(2): 182−187 (in Chinese) [钟敏, 赵绪生, 胡同乐, 王树桐, 王亚南, 曹克强. 2015. 黄瓜绿斑驳病毒河北分离物基因组克隆及序列分析. 植物保护学报, 42(2): 182−187]

Zhou LL, Wu YH, Zhao XX, Li LM, Cai M, Wang L, Wang WH. 2008. The biological characteristics of *Cucumber green mottle mosaic virus* and its effects on yield and quality of watermelon. Journal of Shenyang Agricultural University, 39(4): 417−422 (in Chinese) [周玲玲, 吴元华, 赵秀香, 李立梅, 蔡明, 王林, 王文航. 2008. 黄瓜绿斑驳花叶病毒生物学特性及对西瓜生长的影响. 沈阳农业大学学报, 39(4): 417−422]

Zhou Y, Chang XY, Du S, Liu H, Ge L. 2019. Studies on several cucumber fungi, bacteria and viral diseases in Tianjin. Tianjin Agricultural Sciences, 25(6): 42−46 (in Chinese) [周莹, 常雪艳, 杜爽, 刘何, 葛琳. 2019. 天津地区几种黄瓜真菌、细菌及病毒性病害研究. 天津农业科学, 25(6): 42−46]

(责任编辑:李美娟)