

涂丽琴, 吴淑华, 干射香, 等. 江苏省蚕豆上菜豆黄花叶病毒的分子鉴定[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(4): 804-810.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2019.04.008

江苏省蚕豆上菜豆黄花叶病毒的分子鉴定

涂丽琴^{1,2}, 吴淑华², 干射香², 崔晓艳³, 赵文浩², 程兆榜², 陈新³, 周益军², 季英华², 朱月林¹

(1. 南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院植物保护研究所/省部共建国家重点实验室培养基地——江苏省食品质量安全重点实验室, 江苏 南京 210014; 3. 江苏省农业科学院经济作物研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为掌握江苏省豆类作物上的病毒病种类, 本研究于 2018 年对江苏省蚕豆作物病毒进行了调查, 累计采集田间疑似病样 55 份, 为明确其中伴随的病毒种类, 我们对田间采集的疑似病样提取总 RNA 后进行了分子检测, 结果发现, 在用菜豆黄花叶病毒 (Bean yellow mosaic virus, BYMV) 检测引物进行 RT-PCR 扩增时有 16 份样品扩增到 1 条 525 bp 左右的条带, 与目的片段大小一致, 说明其中可能伴随有菜豆黄花叶病毒的感染。为进一步确定这一结果, 我们针对 BYMV CP 基因设计了引物, 以阳性样品 RNA 为模板进行 RT-PCR, 结果发现均扩增到预期大小的目的条带, 对该片段回收、克隆并测定碱基序列, 结果发现其 CP 基因碱基序列全长 819 bp, 编码 1 个由 273 个氨基酸组成大小约 20 800 的蛋白质。BLAST 分析结果显示其与 BYMV 同源性最高 (AB439731, 99%), 表明其属于 BYMV 的一个分离物。利用 MEGA 软件对其进行系统进化分析, 结果发现这些分离物与日本的蚕豆分离物 (AB439731) 同源性最高, 其次是澳大利亚的蚕豆分离物 (HG970867) 和中国青海的菜豆分离物 (9-16)。这些结果表明江苏蚕豆上检测到的病毒是菜豆黄花叶病毒的一个分离物, 这是该病毒在江苏侵染蚕豆的首次分子鉴定报道。

关键词: 菜豆黄花叶病毒; 蚕豆; 分子鉴定

中图分类号: S643.6

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2019)04-0804-07

Molecular identification of bean yellow mosaic virus infecting *Vicia faba* from Jiangsu province

TU Li-qin^{1,2}, WU Shu-hua², GAN She-xiang², CUI Xiao-yan³, ZHAO Wen-hao², CHENG Zhao-bang², CHEN Xin³, ZHOU Yi-jun², JI Ying-hua², ZHU Yue-lin¹

收稿日期: 2018-10-19

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0201208); 国家特色蔬菜产业技术体系项目 (CARS-24-C-01); 国家食用豆产业技术体系项目 (CARS-08-G15); 国家自然科学基金项目 (31572074, 31770168); 省部共建国家重点实验室培育基地自主研究课题 (zh201705); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(18)2005]; 江苏现代农业 (特粮特经) 产业技术体系集成创新中心项目 [SXGC(2017)260]; 江苏省农业科学院基金项目 (6111614)

作者简介: 涂丽琴 (1996-), 女, 江西吉安人, 硕士研究生, 研究方向为园艺蔬菜作物病毒。吴淑华为共同第一作者。

通讯作者: 朱月林, (E-mail) ylzhu@njau.edu.cn; 季英华, (E-mail) jiyinghua@jaas.ac.cn

(1. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Key Laboratory for Food Quality and Safety-State Key Laboratory Cultivation Base of Ministry of Science and Technology, Nanjing 210014, China; 3. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: In order to have a better understanding about the virus infecting bean in Jiangsu province, an investigation on faba bean virus was carried out and 55 diseased samples were collected in 2018. Total RNA was extracted and RT-PCR was performed to clarify the virus associated with the diseased samples and a fragment about 525 bp was amplified from 16 samples using primers BYM-

VF1/BYMVR2, indicating bean yellow mosaic virus (BYMV) was present in these samples. To further confirm the result, specific primers were designed based on coat protein of BYMV and the target fragment was amplified from all 16 samples. Three samples were selected randomly for cloning. The sequencing and sequence analysis results showed that the CP obtained in this study was 819 bp in length and encoded a protein consisting of 273 amino acids with a molecular weight of approximately 20 800. BLAST results showed that it had the highest identity with BYMV (AB439731, 99%) and sequence phylogenetic analyses results also showed that they shared the highest sequence identity with Japanese isolates of BYMV (AB439731, BYMV-90-2), and clustered with Australian isolates (HG970867, BYMV-FB) and Qinghai isolates (9-16) in the branch of BYMV. All these results show that the virus detected in faba bean from Jiangsu province is an isolate of BYMV, this is the first molecular identification report of BYMV infecting faba bean in Jiangsu province.

Key words: bean yellow mosaic virus; *Vicia faba*; molecular identification

蚕豆(*Vicia faba* L.)是豆科野豌豆属的一个栽培种,属一年生豆类植物,既可作为蔬菜、粮食种植,亦可用作饲料和绿肥,兼具较高的营养价值和经济价值^[1],在中国的四川、云南、湖北、江苏、青海等地均广泛种植^[2]。近年来随着蚕豆种植面积的推广,耕作模式的调整及环境的变化,蚕豆上病毒病呈多发态势,目前已报道侵染蚕豆并造成危害的病毒种类繁多,如蚕豆斑驳病毒(Broad bean mottle virus, BBMV)、蚕豆萎蔫病毒(Broad bean wilt virus, BBWV)、芜菁花叶病毒(Turnip mosaic virus, TuMV)、大豆花叶病毒(Soybean mosaic virus, SMV)、菜豆卷叶病毒(Been leaf roll virus, BLRV)、菜豆黄花叶病毒(Been yellow mosaic virus, BYMV)等^[3-4]。

菜豆黄花叶病毒是一种重要的植物 RNA 病毒,可侵染 12 个科的 114 种植物,且对菜豆、蚕豆、豇豆、豌豆等豆科作物的危害尤其严重,如侵染蚕豆时叶片出现花叶、斑驳等症状,重病时易造成植株畸形,对其产量和品质影响较大^[5]。BYMV 最早的报道可追溯到 1930 年^[6],近年来,美国^[7]、西班牙^[8]、加拿大^[9]、阿根廷^[10]、印度^[11-12]、南非^[13]、俄罗斯^[14]等地陆续出现该病毒危害报道,目前 BYMV 已成为一种世界范围发生的植物病毒,对包括豆类在内的多种作物生产造成了威胁。在中国,1985 年,濮祖芹等从南京菜豆病样中检测到菜豆黄花叶病毒^[15],之后甘肃^[16]、新疆^[17]、浙江^[18]、云南^[19]等地也陆续有该病毒发生危害的报道。

BYMV 属马铃薯 Y 病毒科(Potyviridae)马铃薯 Y 病毒属(*Potyvirus*)成员,其病毒粒子为线状,长约 750 nm,直径 12~15 nm。病毒基因组为+ ssRNA,全长 9.5 Kb,编码 1 个由 3 056 个氨基酸(347 600)组成的多聚蛋白质,该多聚蛋白质裂解产生 11 个功能蛋白质:P1(Protein 1)、HC-Pro(Helper component-

protease)、P3(Protein 3)、6K1(6-kDa peptide 1)、CI(Cylindrical Inclusion protein)、6K2(6-kDa peptide 2)、NIa-VPg(Nuclear inclusion A-Viral protein genome-linked)、NIa-Pro(Nuclear inclusion A-protease)、NIb(Nuclear inclusion B)、CP(Coat protein)、PIPO(Pretty interesting *Potyviridae* ORF),其中外壳蛋白(CP)是病毒重要的结构蛋白,参与病毒的运动、介体传播等^[20-22],同时在病毒分类上也是一个重要的参考指标^[23]。

江苏是中国传统的蚕豆栽培省份,但相较于稻麦等粮食作物,目前在蚕豆研究上的投入相对较少,基础相对薄弱。2018 年我们在对江苏省南通、盐城、泰州等地蚕豆病害进行调查时发现田间有疑似受病毒感染的病样,我们对田间样品进行了采集,并通过 RT-PCR、基因克隆、测序等技术对采集样品进行了分子鉴定,结果从中检测到 1 种马铃薯 Y 病毒属的病毒,序列测定后分析结果显示它属于 BYMV 的 1 个分离物。

1 材料与方法

1.1 供试病毒病样

供试疑似受病毒感染的蚕豆样品于 2018 年 4 月采自江苏省南通市、盐城市、泰州市(累计 55 份),样品采集后液氮冷冻,而后置于-80℃冰箱中备用。

1.2 主要试剂

Trizol Reagent 购自北京康为世纪生物技术有限公司,反转录试剂盒 PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit、*rTaq* 酶和克隆载体 PMD 18-T 购自宝生物工程(大连)有限公司(TaKaRa),2×*Taq* Master Mix 购自 Vazyme 公司,大肠杆菌菌株 DH 5α 购自北京全式金生物公司,琼脂糖凝胶 DNA 回收试

试剂盒及质粒提取试剂盒购自美国 Axygen 公司,其他试剂均为国产分析纯,引物委托 Invitrogen(上海)贸易有限公司合成。

1.3 病样总 RNA 提取

取保存于 -80°C 冰箱中的蚕豆样品,将其置于液氮中冷冻后研磨成粉末,采取 Trizol 法^[24]提取蚕豆样品总 RNA,保存于 -80°C 冰箱备用。

1.4 病毒 RT-PCR 检测

以田间采集蚕豆病样总 RNA 为模板,用 Prime ScriptTM 1st strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒进行反转录,反应体系:oligo dT Primer 1.0 μl , Random 6 mers 1.0 μl , dNTP Mix 1.0 μl , ddH₂O 5.0 μl , RNA 2.0 μl ,于 65°C 孵育 5 min 后,再加入 $5 \times$ Prime Script buffer 4.0 μl , RNase Inhibit 0.5 μl , Prime Script RNase 0.5 μl , ddH₂O 5.0 μl , 30°C 10 min, 42°C 1 h, 70°C 15 min, 4°C 结束,得到 cDNA,放于 -20°C 冰箱保存。

根据已报道的菜豆黄花叶病毒序列合成检测引物 BYMV_F 和 BYMV_R(表 1)^[25],以反转录获得的 cDNA 为模板,使用 BYMV_F 和 BYMV_R 进行 PCR 检测。PCR 反应体系: $2 \times$ Taq Master Mix 10 μl , ddH₂O 7 μl , BYMV_F 和 BYMV_R 各 1 μl , cDNA 1 μl , 总体系 20 μl 。反应程序: 94°C 变性 5 min; 94°C 45 s, 47°C 45 s, 72°C 45 s, 34 个循环; 72°C 延伸 5 min, 4°C 保存。在 $0.5 \times$ TAE 电泳缓冲液中,经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离 PCR 产物。

1.5 BYMV CP 基因克隆

根据菜豆黄花叶病毒外壳蛋白序列设计特异引物 BYCP_F 和 BYCP_R(表 1),以检测结果为阳性的病样总 RNA 的转录产物为模板进行 PCR 扩增。PCR 反应体系:ddH₂O 17.5 μl , $10 \times$ PCR Buffer (Mg^{2+} free) 2.5 μl , 10 mmol/L dNTP Mix 0.5 μl , 25 mmol/ μl MgCl_2 1.0 μl , BYCP_F 1.0 μl , BYCP_R 1.0 μl , $rTaq$ 0.5 μl , cDNA 模板 1.0 μl , 总体系 25.0 μl 。反应程序: 94°C 预变性 5 min; 94°C 45 s, 49°C 45 s, 72°C 65 s, 34 个循环; 72°C 延伸 5 min, 4°C 保存。PCR 反应产物于 $0.5 \times$ TAE 电泳缓冲液中经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,目的片段用胶回收试剂盒回收纯化后连接 PMD18-T 载体,连接产物经热激法转化大肠杆菌 DH5 α 后于含有氨苄青霉素的 LB 平板上 37°C 倒置过夜培养,挑取平板上的克隆进行菌落 PCR 和酶切鉴定,鉴定无误后进行序列测定。

表 1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this research

引物名称	引物序列 (3'→5')	退火温度 (°C)	片段大小 (bp)
BYMV_F	CAGTTTATTATGCAGCGG	47.10	644
BYMV_R	GTTATCATCAATCTTCCTGC	46.68	
BYCP_F	TTAAACACCTGTACTACTGAGG	49.39	1 055
BYCP_R	GTCAGAGTAGAGAGAATGATAC	49.03	

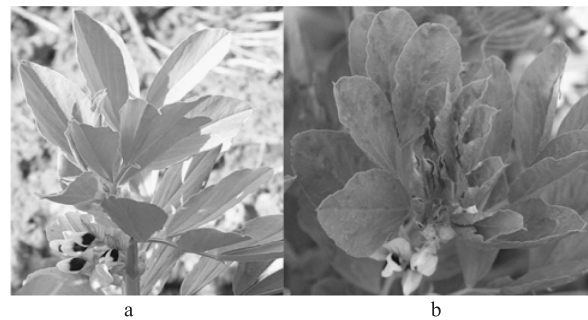
1.6 序列测定与分析

序列测定委托南京金斯瑞生物科技有限公司完成。序列分析使用 ClustalX、BioEdit、DNASTar 等软件及 NCBI 网站上的 BLAST 程序(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>)完成,系统进化分析使用 MEGA6 软件完成。

2 结果与分析

2.1 病害田间症状

2018 年,我们在对江苏省蚕豆上病害进行调查时发现蚕豆上存在疑似病毒感染的病样,相比于健康蚕豆植株(图 1a),田间发病植株叶片上出现明显的褪绿和斑驳(图 1b),发病重的病株会伴有矮化等症。这种症状的病株在田间多呈零星分布,调查过程中未见到大面积连片发生或者整个田块全发的情况。



a: 健康蚕豆植株; b: 发病蚕豆植株。

图 1 蚕豆病害田间症状

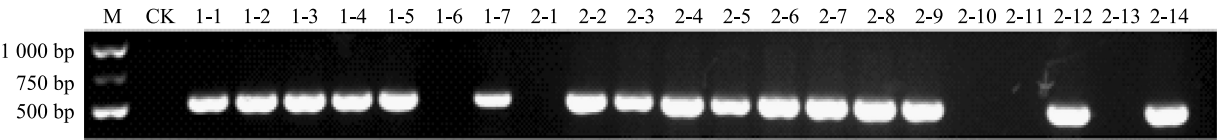
Fig.1 Symptom of the virus-infected *Vicia faba* in the field

2.2 菜豆黄花叶病毒的检测

基于病样在田间的花叶症状,结合当地田间介体发生情况,我们对可能侵染蚕豆的病毒进行了检测,结果在以蚕豆病样总 RNA 为模板,利用检测引

物 BYMV_F 和 BYMV_R(表 1) 进行 RT-PCR 时发现,在采集的 55 份(南通 17 份,泰州 5 份,盐城 33 份)样品中,有 16 份样品扩增到 525 bp 的预期目的

片段(图 2),其中阳性的 14 份样品来自南通,2 份样品来自泰州,这些结果暗示了采自南通和泰州的蚕豆病样中可能伴随有 BYMV 的感染。



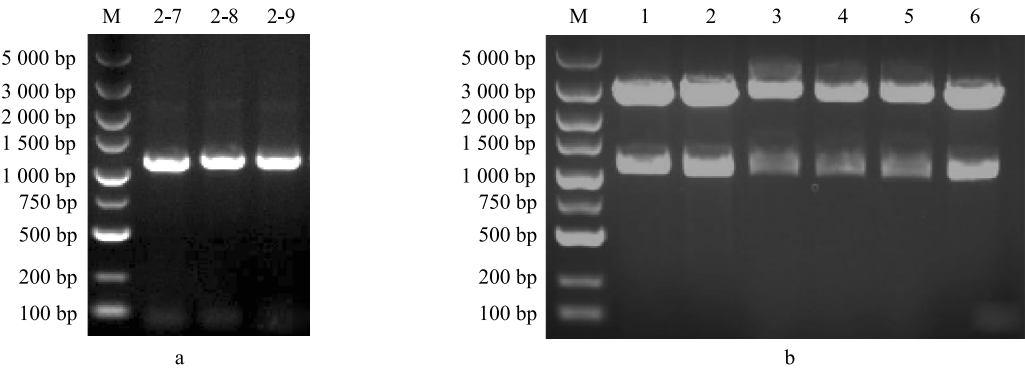
M:DS5000 marker; CK: 健康植株;1-1、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、2-1、2-2、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10 为南通蚕豆病样;2-11、2-12、2-13、2-14 为泰州蚕豆样品。

图 2 病样中 BYMV 的 RT-PCR 检测
Fig.2 RT-PCR detection of bean yellow mosaic virus (BYMV) in disease samples

2.3 菜豆黄花叶病毒 CP 基因克隆

为进一步明确该病毒为 BYMV, 我们针对 BYMV 的 CP 设计了特异性引物 BYCP_F 和 BYCP_R(表 1),RT-PCR 结果显示 16 份阳性均能扩增到大小约 1 000 bp 的特异性条带,和预期片段大小(1 055 bp)基本一致,说明该条带就是本研究要扩增的 CP 基因目的条带。

抽选 3 个样品(2-7、2-8、2-9),对扩增到的目的条带(图 3a)进行回收,回收产物连接 PMD18-T 载体,转化大肠杆菌后通过菌落 PCR 方法筛选阳性克隆,阳性克隆再经双酶切验证(图 3b)后送南京金斯瑞生物科技有限公司进行序列测定(每个样品随机抽选 3 个阳性克隆)。



a:BYMV CP 基因 RT-PCR 扩增;b:PMD18T-CP 酶切验证(*Sal* I *Bam* H I)。图 a,M:DS5000 Marker;2-7、2-8、2-9:用于 BYMV CP 基因克隆的样品编号。图 b,M:DS5000 marker;1、2、3、4、5、6:筛选到的 CP 阳性克隆(PMD18FCP)编号。

图 3 BYMV CP 基因 RT-PCR 扩增及克隆
Fig.3 RT-PCR amplification of BYMV CP gene and cloning

2.4 菜豆黄花叶病毒 CP 基因碱基序列分析

为保证所获得 CP 基因碱基序列的准确性,我们在设计 CP 基因扩增引物时将前端引物(BYCP_F)设计在 N1b 基因区,后端引物(BYCP_R)设计在 3'端的非编码区,从而排除因引物设计导致获得的 CP 基因碱基序列不准确的可能性。因此在对 CP 基因碱基序列进行分析时我们先对测序结果中包含的 N1b 区及 3'端的非编码区的部分碱基序列进行了去除,结果发现本研究获得的 CP 基因碱基序列全长 819 bp,编码 1 个由 273 个氨基酸组成分子量

大约 20 800 的蛋白质。BLAST 分析结果显示其与 BYMV 同源性最高(AB439731,99 %),表明其属于 BYMV 的 1 个分离物。

为进一步解析其分类地位,我们利用 MEGA6 将本试验测定的碱基序列与目前已公布的 BYMV 基因碱基序列(表 2)比对后进行聚类分析[以同属的三叶草黄脉病毒(CIYVV,NC_003536)作为外群],使用临近法(Neighbor-joining,NJ)、Maximum composite likelihood 模型重建系统进化树,各个分枝的 Bootstrap 置信度用 1 000 次自导复制来评价(图 4)。

表 2 聚类分析中所涉及的菜豆黄花叶病毒 (BYMV) 信息

Table 2 Information of bean yellow mosaic virus (BYMV) mentioned in the phylogenetic analyses

登录号	BYMV 分离物	寄主作物	国家(地区)
D83749	MB4	-	日本
KT934334	BYSun	向日葵	伊朗
KF155420	CK-GL5	唐菖蒲	印度
KF155419	CK-GL4	唐菖蒲	印度
KF155414	CK-GL3	唐菖蒲	印度
KF155409	CK-GL1	唐菖蒲	印度
JN692500	Vfaba2	蚕豆	印度
KM114059	NBRI Glad 2	唐菖蒲	印度
AB079888	GB2	-	日本
AY192568	GDD	唐菖蒲	美国
AB439732	92-1	红车轴草	日本
AB439731	90-2	蚕豆	日本
AB439730	G1	唐菖蒲	日本
AB439729	Gla	唐菖蒲	日本
FJ492961	Fr	鸢尾	韩国
AM884180	lisianthus	洋桔梗	中国台湾
AB079887	IbG	唐菖蒲	日本
AB079886	M11	唐菖蒲	日本
AB373203	CS	-	日本
HG970869	NG1	羽扇豆	澳大利亚
HG970868	LPexFB	蚕豆	澳大利亚
HG970867	FB	蚕豆	澳大利亚
HG970866	LP	羽扇豆	澳大利亚
HG970865	AR93C	白羽扇豆	澳大利亚
HG970864	AR98C	白羽扇豆	澳大利亚
HG970863	AR87C	白羽扇豆	澳大利亚
HG970861	PN80A	白羽扇豆	澳大利亚
HG970860	PN83A	白羽扇豆	澳大利亚
HG970859	ES11A	白羽扇豆	澳大利亚
HG970858	ES55C	白羽扇豆	澳大利亚
HG970857	ES67C	白羽扇豆	澳大利亚
HG970856	ES69C	白羽扇豆	澳大利亚
HG970855	LMBNN	白羽扇豆	澳大利亚
HG970854	GB32A	白羽扇豆	澳大利亚
HG970852	GB17A	白羽扇豆	澳大利亚
HG970851	SP1	白羽扇豆	澳大利亚
HG970850	MD7	羽扇豆	澳大利亚
HG970848	MD5	白羽扇豆	澳大利亚
KF632713	BYMV-SW9	兰花	澳大利亚
JX173278	KP2	兰花	澳大利亚
JX156423	SW3.2	兰花	澳大利亚
U47033	BYMV-S	蚕豆	澳大利亚
DQ641248	W	羽扇豆	美国
EF592169	Csz	美人蕉	中国广东
EF592168	Cgz	美人蕉	中国广东
AJ311371	Hangzhou	菜豆	中国浙江
DQ060521	Chz	美人蕉	中国浙江
	9-16	蚕豆	中国青海

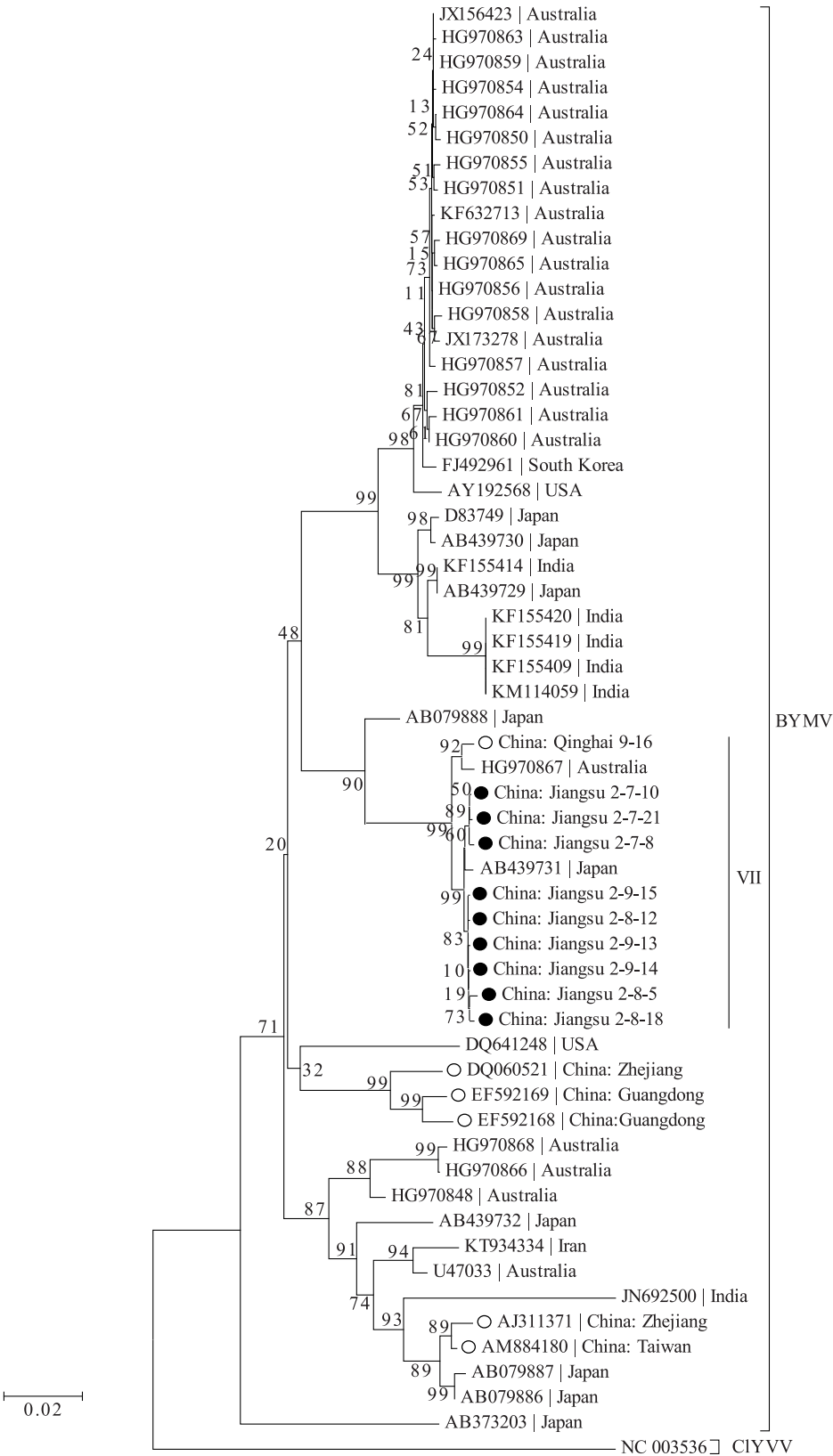
数据来自文献[24]和 GenBank。

从图 4 可知,本研究选测的 3 个样品共 9 个序列全部聚类到 BYMV 的大分支中,其中同源性最高的是日本的蚕豆分离物 (AB439731),其次是澳大利亚的蚕豆分离物 (HG970867) 和中国青海的菜豆分离物 (9-16)。Kaur 等^[26]在对 BYMV 进行研究时根据其基因组将 BYMV 分为 9 组,其中日本的蚕豆分离物 (AB439731) 和澳大利亚的蚕豆分离物 (HG970867) 均属于 VII 组成员,而基于 CP 的进化树分析结果也显示本研究测定的分离物与这 2 个分离物共同聚类到一个分支上,暗示了 BYMV 江苏分离物也属于 VII 组。这些结果表明我们从江苏蚕豆病样上分离到的病毒为 BYMV。

3 讨论

蚕豆是一种世界范围内种植的食用豆类作物,其栽培面积较大,分布范围广,目前报道可以侵染蚕豆的病毒种类多达 40 种^[27]。本研究对 2018 年采自江苏的蚕豆样品上的病毒病进行检测时发现,一些花叶症状的样品中伴随有病毒感染,我们通过基因克隆等方法对其进行了分子鉴定,结果显示该病毒属于 BYMV,而目前在江苏尚未见到该病毒侵染蚕豆的报道,因此本研究也是 BYMV 在江苏侵染蚕豆的第一个报道。除 BYMV 外,我们也对采集样品中的其他病毒如苜蓿花叶病毒 (Alfalfa mosaic virus, AMV)、菜豆普通花叶病毒 (Bean common mosaic virus, BCMV)、甜菜西部黄化病毒 (Beet western yellow virus, BWYV)、黄瓜花叶病毒 (Cucumber mosaic virus, CMV)、大豆矮缩病毒 (Soybean dwarf virus, Sb-DV)、豌豆种传花叶病毒 (Pea seed-borne mosaic virus, PSbMV)、BLRV 进行了检测,结果显示均未检测到。

BYMV 是马铃薯 Y 病毒属报道比较早的一个病毒,在江苏,1985 年濮祖芹等曾通过血清学方法在南京菜豆上检测到该病毒^[15],因此本研究并不是 BYMV 在江苏的第一个报道。但是众所周知血清学方法在许多早期的植物病毒研究中是重要的鉴定方法,但该方法在检测一些近缘 (同属) 的病毒时会存在交叉反应,所以相对而言分子鉴定具有鉴定结果更加准确的优点,但自 1985 年以来江苏省还未见到该病毒分子鉴定的报道,因此本研究结果也是证明 BYMV 在江苏省有发生的重要分子鉴定证据。



各枝上的数字是 1 000 次 Bootstrap 自导复制的置信度。●:本试验测定的序列;○:其他中国已报道 BYMV 分离物。

图 4 根据 BYMV 编码的 CP 核苷酸序列一致性重建的系统进化树

Fig.4 Phylogenetic tree based on nucleotide sequences identities of CP encoded by BYMV

除在江苏外, BYMV 在云南、浙江、青海、广东等地也有发生危害的报道,但在进行系统进化分析时我们发现中国发生的 BYMV 也存在较大的变异,如江苏分离物与青海蚕豆分离物(9-16)的同源性比较高,聚在同一个大分支上,但是其与广东美人蕉分离物(EF592168、EF592169)、浙江美人蕉分离物(DQ060521)、浙江菜豆分离物(AJ311371)^[18]及中国台湾洋桔梗分离物(AM884180)的近缘关系都比较远,分别聚类到不同的分支上。亓鹏等^[19]在研究菜豆黄花叶病毒中国云南蚕豆分离物时,将其与其他地区的蚕豆分离物进行同源性比对分析发现,菜豆黄花叶病毒中国蚕豆分离物与日本蚕豆分离物的同源性最高,但其 CP 蛋白的蚜传相关基序已经出现了变异。这些结果暗示了中国发生的 BYMV 也可能存在较大的变异,这种变异可能与寄主作物类型及地域环境条件等因素相关,因此要详细了解中国 BYMV 的发生危害动态还需从全国层面展开调查。

参考文献:

- [1] 吕春雨,廖芳丽,陈宏伟,等. 41 份非洲地区及我国湖北蚕豆种质资源产量性状的鉴定与评价[J]. 南方农业学报, 2018, 49(12): 2356-2363.
- [2] 吴雨佳,申士富,钱静,等. 青海蚕豆的品质评价及其不同来源的差异比较[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(22): 234-236.
- [3] 刘镇绪. 国外蚕豆研究概况[J]. 云南农业科技, 1981(5): 23-30.
- [4] 沈良. 江苏省蚕豆主要病害鉴定及赤斑病药剂防治研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [5] 夏明忠. 蚕豆病害研究简介[J]. 园艺与种苗, 1990(3): 45-46.
- [6] FAJARDO T G. Studies on the properties of the bean mosaic virus[J]. Phytopathology, 1930, 20: 883-888.
- [7] PROVIDENTI R, HUNTER J E. Bean yellow mosaic virus infection in *Cladrastis lutea*, an ornamental leguminous tree[J]. Plant Disease Reporter, 1975, 59(1): 86-87.
- [8] SÁIZ M, CASTRO S, CARAZO G. First report of bean yellow mosaic virus in Spain[J]. Plant Disease, 1993, 77(4): 429.
- [9] PICHE C, PETERSON J, FORTIN M G. A note on the detection of bean yellow mosaicvirus infecting white lupine in Canada[J]. Phytoprotection, 1993, 74: 153-155.
- [10] CAMPOS R E, BEJERMAN N, NOME C, et al. Bean yellow mosaic virus in soybean from Argentina [J]. Journal of Phytopathology, 2014, 162: 322-325.
- [11] SELVARAJAN R, BALASUBRAMANIAN V, MANDAL B. First report of bean yellow mosaic virus in *Alpinia Galanga* in India[J]. Journal of Plant Pathology, 2015, 97(3): 545.
- [12] KUMARI A, KAUR C, KUMAR S, et al. First report of bean yellow mosaic virus causing a mosaic disease of *Canna sp.* in India [J]. Plant Disease, 2015, 99(6): 897.
- [13] SCHULZE A, ROBERTS R, PIETERSEN G. First report of the detection of bean yellow mosaic virus (BYMV) on *Tropaeolum majus*; *Hippeastrum* spp., and *Liatris* spp. in South Africa[J]. Plant Disease, 2017, 101(5): 846-847.
- [14] ZAKUBANSKIY A V, MITROFANOVA I V, CHIRKOV S N. Molecular characterization of viruses infecting canna in Russia[J]. European Journal of Plant Pathology, 2017, 149(4): 923-931.
- [15] 濮祖芹,周益军. 从菜豆上分离的菜豆黄花叶病毒鉴定[J]. 南京农业大学学报, 1985, 8(2): 130.
- [16] 张海保,许志刚. 甘肃省春蚕豆上发生的菜豆黄花叶病毒的鉴定[J]. 南京农业大学学报, 1993, 16(1): 55-59.
- [17] 张祥林,尹玉琦,李国英,等. 菜豆黄色花叶病毒 (BYMV)——新疆首蓓分离株的鉴定[J]. 病毒学杂志, 1990(1): 88-96.
- [18] 郑滔,陈炯,陈剑平. 杭州郊区菜豆花叶病原的分子鉴定[J]. 浙江农业学报, 2002, 14(3): 178-181.
- [19] 亓鹏,王晓鸣,何月秋. 菜豆黄花叶病毒中国和叙利亚蚕豆分离物外壳蛋白的序列分析[J]. 植物病理学报, 2007, 37(4): 368-376.
- [20] WYLIE S J, ADAMS M, CHALAM C, et al. ICTV virus taxonomy profile: potyviridae [J]. Journal of General Virology, 2017, 98(3): 352-354.
- [21] GUYATT K J, PROLL D F, MENSSEN A, et al. The complete nucleotide sequence of bean yellow mosaic potyvirus RNA[J]. Archives of Virology, 1996, 141(7): 1231-1246.
- [22] BOYE K, STUMMANN B M, HENNINGSEN K W. cDNA cloning and sequencing of the bean yellow mosaic virus nuclear inclusion protein genes [J]. Plant Molecular Biology, 1992, 18(6): 1203-1205.
- [23] ADAMS M J, ANTONIW J F, FAUQUET C M. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family Potyviridae [J]. Archives of Virology, 2005, 150(3): 459-479.
- [24] 吴淑华,赵文浩,李廷芳,等. 南京辣椒上一种斑驳类型病毒病的分子鉴定[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(6): 1284-1290.
- [25] UGA H. Use of crude sap for one-step RT-PCR-based assays of bean yellow mosaic virus and the utility of this protocol for various plant-virus combinations[J]. Journal of General Plant Pathology, 2005, 71(1): 86-89.
- [26] KAUR C, RAJ R, SRIVASTAVA A, et al. Sequence analysis of six full-length bean yellow mosaic virus genomes reveals phylogenetic diversity in India strains, suggesting subdivision of phylogenetic group-IV [J]. Archives of Virology, 2018, 163(1): 235-242.
- [27] 王信. 青海蚕豆、豌豆病毒病调查和菜豆黄花叶病毒 (BYMV) 全系列分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.

(责任编辑:陈海霞)