

高丹娜, 吴淑华, 涂丽琴, 等. 河南大蒜韭葱黄条病毒的分子鉴定及其系统进化分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36( 4 ): 875-881.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2020.04.010

# 河南大蒜韭葱黄条病毒的分子鉴定及其系统进化分析

高丹娜<sup>1,2</sup>, 吴淑华<sup>2</sup>, 涂丽琴<sup>1,2</sup>, 干射香<sup>2</sup>, 程兆榜<sup>2</sup>, 姚秋菊<sup>3</sup>, 魏利辉<sup>2</sup>, 周益军<sup>2</sup>, 朱月林<sup>1</sup>, 季英华<sup>2</sup>

(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, 江苏 南京 210014; 3. 河南省农业科学院园艺研究所, 河南 郑州 450000)

**摘要:** 2019年本研究对河南大蒜病害进行调查时发现当地大蒜病毒病发生比较普遍, 为明确病原种类, 我们对田间样品进行采集(累计采集疑似病样38份)并利用葱蒜类病毒引物对其进行了RT-PCR检测。结果发现, 在用韭葱黄条病毒(Leek yellow stripe virus, LYSV)引物检测时, 有33份样品中检测到1条大小为304 bp的目的条带, 为了进一步确定检测到的病毒为LYSV, 本研究对其外壳蛋白基因(CP)序列进行了克隆, 结果发现其序列全长864 bp, 编码1个由289个氨基酸组成的相对分子质量约32 300的蛋白质。CP基因序列构建的系统进化树结果分析显示, 其与LYSV其他分离物共同聚类到1个大分支, 表明该病毒属于LYSV的1个分离物; 同时序列分析结果也显示LYSV分为2支, 本研究检测到的LYSV河南分离物与中国其他分离物共同聚类到1个分支, 其中与中国厦门等地分离物同源性最高, 而与之之前检测到的河南分离物同源性相对较低。这些结果表明本研究在河南大蒜中检测到的病毒是韭葱黄条病毒, 虽然之前在河南也有该病毒侵染大蒜的报道, 但本研究检测到的分离物与之前报道的分离物之间差异比较大, 暗示河南大蒜上可能出现了新的LYSV类型或株系, 生产上应当重视。

**关键词:** 大蒜; 韭葱黄条病毒; 分子鉴定; 系统进化

**中图分类号:** S633.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)04-0875-07

## Molecular identification and phylogenetic analysis of leek yellow stripe virus from garlic in Henan province

GAO Dan-na<sup>1,2</sup>, WU Shu-hua<sup>2</sup>, TU Li-qin<sup>1,2</sup>, GAN She-xiang<sup>2</sup>, CHENG Zhao-bang<sup>2</sup>, YAO Qiu-ju<sup>3</sup>, WEI Li-hui<sup>2</sup>, ZHOU Yi-jun<sup>2</sup>, ZHU Yue-lin<sup>1</sup>, JI Ying-hua<sup>2</sup>

(1. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. Institute of Horticulture, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450000, China)

**Abstract:** In 2019, an investigation on garlic disease were carried out in Henan province, and virus-infected garlic

收稿日期: 2020-01-06

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0201208); 国家自然科学基金项目(31572074、31770168); 国家特色蔬菜产业技术体系项目(CARS-24-C-01); 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(18)2005]

作者简介: 高丹娜(1994-), 女, 山西长治人, 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) jiy-inghua@jaas.ac.cn

plants was found in many fields. To clarify the type of pathogen, field samples (38 suspected samples) were collected and detected by RT-PCR. The results showed that a target band about 304 bp was detected in 33 samples by using the primer for leek yellow stripe virus (LYSV). To further confirm the presence of LYSV, the sequence of coat protein (CP) gene was cloned. It was found that CP gene was 864 bp in length and encoded a protein with a relative molecular weight of 32 300. The results of phylo-

genetic tree constructed by *CP* gene indicated that the isolates from Henan clustered with other isolates of LYSV, indicating that the virus from Henan was an isolate of LYSV. Meanwhile, LYSV was clustered into two branches. The isolates identified in this study and other isolates from China was clustered into one branch and shared the highest homology with the isolates from Xiamen, while the homology with the previously reported isolates in Henan was relatively low. All these results showed that the virus detected from Henan garlic plant was an isolate of LYSV, and there was a big difference between the isolates, indicating that the virus might be a new strain or type of LYSV.

**Key words:** garlic; leek yellow stripe virus; molecular identification; systematic evolution

大蒜(*Allium sativum* L.)是一种重要的特色蔬菜,在中国已有两千多年的栽培历史<sup>[1]</sup>。由于大蒜适应性广,经济价值高,种植广泛,目前中国大蒜种植总面积达 $8.1 \times 10^5$  hm<sup>2</sup>,已成为世界上最大的大蒜生产和消费国<sup>[2-3]</sup>。随着大蒜种植规模的扩大,大蒜上病毒病的危害也不断出现,成为影响产业健康发展的重要因素。大蒜上病毒病的发生常会造成植株叶片出现花叶、褪绿、植株扭曲等症状,严重时会导致蒜头瓣少或不分瓣,产量下降,品质变劣<sup>[4]</sup>。由于生产上大蒜主要通过鳞茎以无性繁殖方式进行扩繁,病毒会通过蒜头(蒜种)直接传播至下一茬,因此病毒病对于大蒜的危害往往是相对长期的,且具有累加效应,这种累加效应不仅影响在大蒜的产量和品质上,也会影响蒜种质量,造成蒜种的退化,加剧对大蒜的危害,困扰大蒜产业发展。目前有报道可以侵染危害大蒜的植物病毒有多种,主要分布在3个属:马铃薯Y病毒属(*Potyvirus*)、麝香石竹潜隐病毒属(*Carlavirus*)和葱属X病毒属(*Allexivirus*),其他如番茄斑萎病毒属、斐济病毒属等也有部分成员可以侵染危害大蒜<sup>[5]</sup>。

韭葱黄条病毒(Leek yellow stripe virus, LYSV)是一种蚜传植物病毒<sup>[6]</sup>,其侵染危害对象包括大蒜、韭葱等多种葱属(*Allium*)植物<sup>[7]</sup>,导致寄主植物叶片出现黄色条纹,鳞茎质量显著减小,影响作物产量,有报道显示其侵染危害大蒜造成减产可高达54%<sup>[8-9]</sup>。LYSV最早于1978年由Bos等发现并命名<sup>[10]</sup>,之后该病毒不断扩散蔓延,在墨西哥<sup>[11]</sup>、土耳其<sup>[12]</sup>、厄瓜多尔<sup>[13]</sup>、印度<sup>[14]</sup>、塞尔维亚<sup>[15]</sup>、克罗地亚<sup>[16]</sup>、美国<sup>[17-19]</sup>、日本<sup>[20]</sup>、捷克<sup>[21]</sup>、阿根廷<sup>[22]</sup>、法国<sup>[8]</sup>等多个国家和地区发生危害,成为一种在世界范围发生危害的主要病毒。中国早在2001年就有LYSV的发生危害报道,目前LYSV在浙江<sup>[23]</sup>、厦门<sup>[24]</sup>、黑龙江<sup>[25]</sup>、湖南<sup>[26]</sup>等地都有发生危害的报道,威胁当地作物安全生产。

LYSV是一种正义单链RNA病毒,分类上属于马铃薯Y病毒属,病毒粒子为线状,无包膜,长度为815~820 nm,基因组全长10 142 bp,5'端具有病毒基因组结合蛋白VPg,3'端具有Poly(A),含1个开放阅读框(ORF),翻译产生1个多聚蛋白质,多聚蛋白质再通过酶解形成包括外壳蛋白(CP)在内的10个有功能的成熟蛋白<sup>[23]</sup>,其中CP是病毒的重要结构蛋白,也是该属病毒种间分类的重要参考指标<sup>[27-28]</sup>。

河南是中国大蒜第二大产区,常年栽培面积达 $1.3 \times 10^5$  hm<sup>2</sup><sup>[2]</sup>,近年来当地大蒜上病毒病呈多态势,2019年本研究在对河南大蒜上病毒病进行调查时,对当地大蒜病毒病样品进行了田间采集,经过室内分子检测及序列分析,结果发现当地大蒜上存在LYSV的感染。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试病样

病样为2019年采自河南开封疑似感染病毒病的大蒜样本,样本采集后用液氮冷冻存放于-80℃冰箱中,用于后续试验。

### 1.2 主要试剂

RNAiso Plus、反转录试剂盒 Prime Script™ RT Master Mix、*Ex Taq* 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 TOP 10 感受态细胞购自北京庄盟国际生物基因科技有限公司,琼脂糖凝胶 DNA 回收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℃冰箱中的大蒜病样,将其置于液氮中用研钵磨成粉末,采取 Trizol 法<sup>[29]</sup>提取总 RNA,提取后放在-80℃冰箱备用。

#### 1.4 LYSV 的 RT-PCR 检测

以病样总 RNA 为模板,进行反转录,合成 cDNA。反应体系(10.0  $\mu$ l)为:模板 RNA 0.5  $\mu$ l, 5 $\times$ Prime Script RT Master Mix 2.0  $\mu$ l, RNase-Free H<sub>2</sub>O 7.5  $\mu$ l。反应程序:37  $^{\circ}$ C 保温 15 min, 85  $^{\circ}$ C 变性 5 s, 4  $^{\circ}$ C 保存。以反转录获得的 cDNA 为模板,利用韭葱黄条病毒特异性检测引物 LYSV1 和 LYSV2(表 1)进行 PCR 扩增。PCR 反应体系:2 $\times$ Taq Master Mix 10  $\mu$ l, ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ l, LYSV1 和 LYSV2 各 1  $\mu$ l, cDNA 1  $\mu$ l, 总体积 20  $\mu$ l;反应程序:94  $^{\circ}$ C 变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 45 s, 55  $^{\circ}$ C 45 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s, 34 个循环; 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4  $^{\circ}$ 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,并检测拍照。

表 1 本研究用到的引物

Table 1 Primers used in this research

引物名称	引物序列 (5'→3')	退火温度 ( $^{\circ}$ C)	片段大小 (bp)
LYSV1	CACATCAAGAACACCAGTTAGAGC	55.29	304
LYSV2	GTAGAAACTGCCTTGAACGAG TG	55.30	
LYSVCP_F	GCHRRYAGBARHTNGAYG	41.44~55.94	864
LYSVCP_R	CTGCATATGYGCACCAACRAGAT	54.89~59.23	

#### 1.5 LYSV CP 基因克隆

根据韭葱黄条病毒外壳蛋白氨基酸序列设计引物 LYSVCP\_F 和 LYSVCP\_R(表 1),以检测结果为阳性的病样总 RNA 反转录产物为模板进行 RT-PCR 扩增。CP 基因扩增体系:10 $\times$ Ex Taq Buffer 2.5  $\mu$ l, dNTP 0.5  $\mu$ l, 上下游引物各 1.0  $\mu$ l, cDNA 1.5  $\mu$ l, Ex Taq DNA 聚合酶 0.5  $\mu$ l, ddH<sub>2</sub>O 18.0  $\mu$ l, 总体积 25.0  $\mu$ l。扩增程序:94  $^{\circ}$ C 5 min; 94  $^{\circ}$ C 45 s, 47  $^{\circ}$ C 45 s, 72  $^{\circ}$ C 55 s, 循环 34 次; 72  $^{\circ}$ C 10 min, 4  $^{\circ}$ 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,检测后得到的目的片段参照胶回收试剂盒说明书进行回收纯化后将目的片段与 PMD-18T 载体在 16  $^{\circ}$ C 下过夜连接,连接产物经热激法转化大肠杆菌 TOP10 感受态细胞,并涂布到含有氨苄青霉素的 LB 平板上,在 37  $^{\circ}$ C 条件下倒置过夜培养,挑取平板上的克隆进行菌落 PCR 和酶切鉴定,鉴定无误后将菌液送通用生物系统(安徽)有限公司进行序列测定。

#### 1.6 序列分析

序列测定完成后根据扩增引物去除两端的冗余

序列,序列多重比对、同源性分析使用 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,聚类分析及进化树构建采用 MEGA6 软件(MEGA、美国)的邻近法(Neighbor-joining)完成,进化树的可信度使用 1 000 次自导复制(Bootstrap)验证。

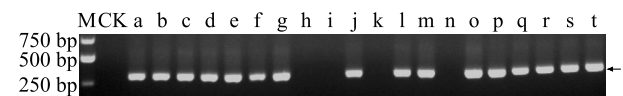
## 2 结果与分析

### 2.1 病害田间症状

本研究 2019 年对河南大蒜上病毒病进行调查时发现当地大蒜存在疑似病毒感染的病株,发病大蒜植株叶片上出现明显的黄色褪绿斑块,有些呈点状,有些呈条状,病株偶有矮化现象。在田间调查过程中,我们发现该病在河南多个蒜区均有发生,田块间发病程度差异比较大,重发田块的发病率达 30%,但零星发生田块居多,未见整个田块全发生或毁田的情况。

### 2.2 韭葱黄条病毒的检测

为明确病样感染的病毒种类,田间样品采集后,我们对采集的样品提取了总 RNA 并进行 RT-PCR 检测。结果发现在利用引物 LYSV1 和 LYSV2 进行检测时,采集的 38 份疑似病样中,有 33 份扩增到了约为 300 bp 大小的条带,与目的条带(304 bp)大小相近(图 1),而健康的对照样品中没有扩增到相应大小的条带。这些结果初步说明在河南采集的大蒜病样中可能存在韭葱黄条病毒的感染。



M: DL 5 000 marker; CK: 健康植株; a: 19HNGD1-1; b: 19HNGD1-2; c: 19HNGD1-3; d: 19HNGD1-4; e: 19HNGD1-5; f: 19HNGD1-6; g: 19HNGD1-7\*; h: 19HNGD1-8; i: 19HNGD1-9; j: 19HNGD1-10; k: 19HNGD1-11; l: 19HNGD1-12; m: 19HNGD2-1; n: 19HNGD2-2; o: 19HNGD2-3\*; p: 19HNGD2-4; q: 19HNGD2-5; r: 19HNGD2-6; s: 19HNGD2-7; t: 19HNGD2-8。标星号样品为抽选 CP 基因克隆样品。

图 1 病样中韭葱黄条病毒(LYSV)的 RT-PCR 检测

Fig.1 RT-PCR detection of leek yellow stripe virus(LYSV) in diseased garlic plants

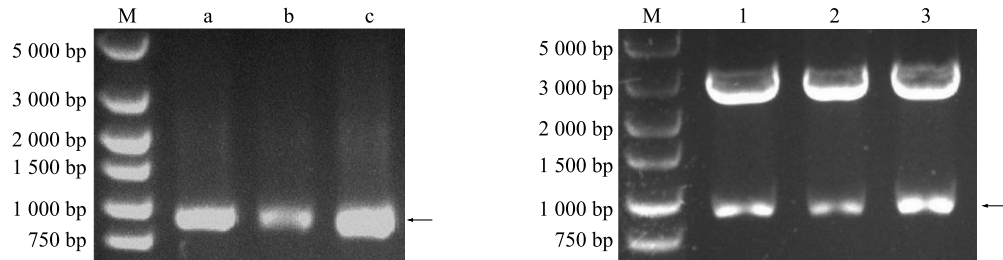
### 2.3 韭葱黄条病毒 CP 基因克隆

为进一步确定检测到的病毒是 LYSV,我们针对 LYSV 的 CP 基因设计了 1 对引物:LYSVCP-F 和 LYSVCP-R(表 1),RT-PCR 结果(图 2)显示 33 份阳

性样品均能扩增到大小约为 860 bp 左右的条带,与预期目的条带大小(864 bp)吻合,说明该条带就是本研究要扩增的 CP 基因目的条带。

随机抽选 3 个样品(19HNGD1-7,19HNGD2-3,19HNGD2-10),对扩增到的目的条带(图 2)进行回

收,回收产物连接 PMD18-T 载体,转化大肠杆菌(TOP10)感受态细胞后通过菌落 PCR 方法筛选阳性克隆,阳性克隆经酶切验证(图 2)后送通用生物系统(安徽)有限公司进行序列测定(每个样品随机抽选 2 个阳性克隆)。



左:LYSV CP 基因 RT-PCR 扩增;右:PMD18T-CP 酶切验证(*Bam*H I)。左图,M:DL 5 000 marker;a:19HNGD1-7;b:19HNGD2-3;c:19HNGD2-10;19HNGD1-7、19HNGD2-3、19HNGD2-10 为用于 LYSV CP 基因克隆的样品编号。右图,M:DL 5 000 marker;1、2、3:筛选到的 CP 阳性克隆编号。

图 2 CP 基因的 RT-PCR 扩增(左)及阳性克隆酶切验证(右)

Fig.2 RT-PCR amplification of CP gene (left) and identification of positive clone by enzyme digestion (right)

## 2.4 韭葱黄条病毒 CP 基因序列分析

对送测后获得的序列信息进行分析,结果发现本研究获得的 6 个 CP 基因序列全长均为 864 bp,编码 1 个由 289 个氨基酸组成的相对分子质量约 32 300 的蛋白质,序列之间的同源性超过 98.6%,BLAST 分析结果显示,其与 LYSV(HQ258895)同源

性最高,暗示了其属于 LYSV 的 1 个分离物。

为进一步分析其分类地位,我们使用 ClustalX 软件将本研究测定的 LYSV CP 基因序列及已公开的其他 LYSV 分离物 CP 基因序列进行了比对(表 2),并利用 MEGA6 软件,使用临近法(Neighbor-Joining, NJ)、Kimura 2-parameter 模型重建了系统进化树(图 3)。

表 2 6 个样品 CP 基因序列与已公布 LYSV CP 基因序列的同源性

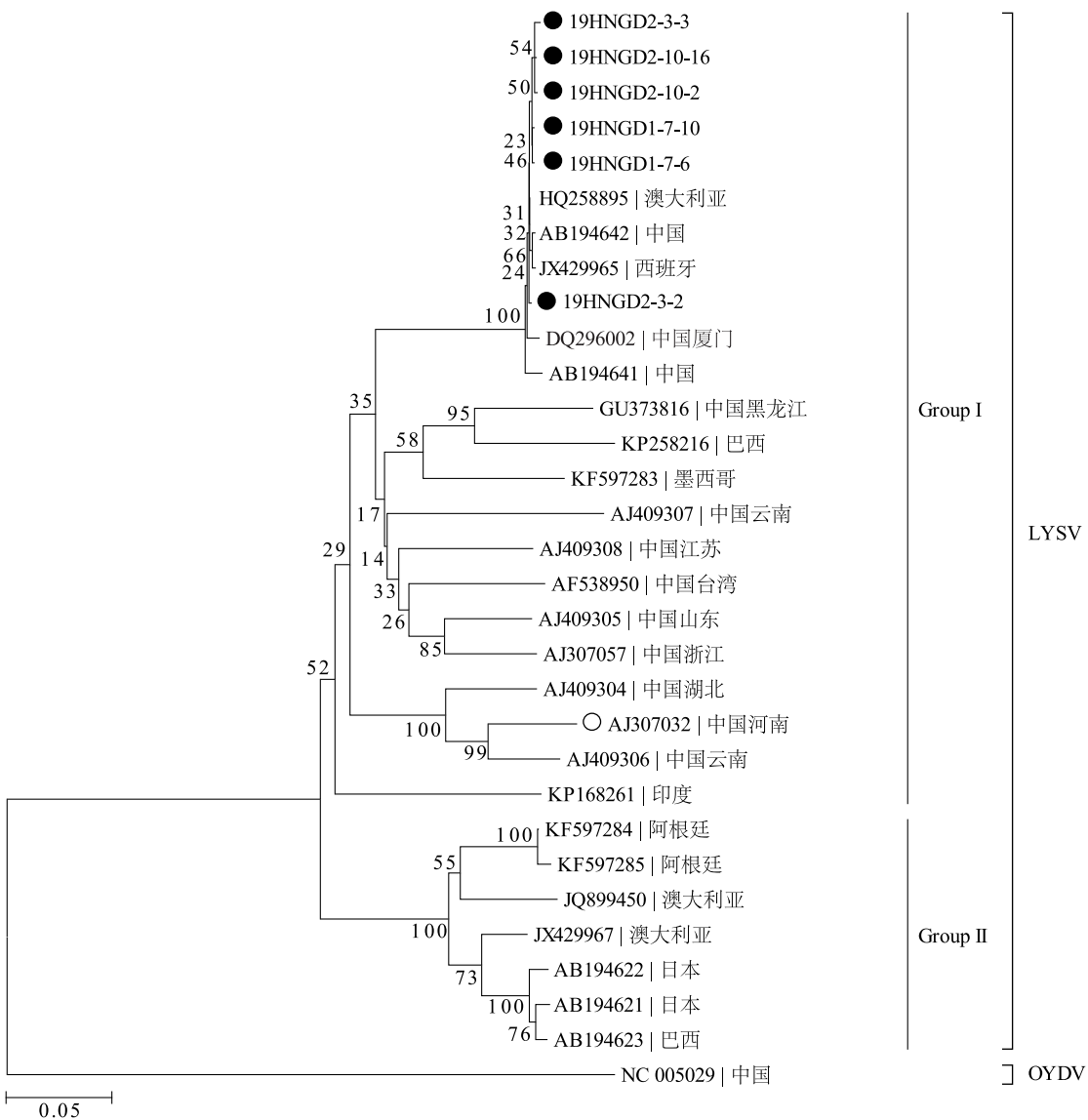
Table 2 Homology between CP gene sequence of six samples and published CP gene sequence of LYSV

登录号	分离物	国家(地区)	同源性(%)					
			19HNGD2-3-2	19HNGD2-3-3	19HNGD2-10-2	19HNGD2-10-16	19HNGD1-7-6	19HNGD1-7-10
AB194641	China: Import.991	中国	98.2	97.8	98.0	98.2	98.2	98.2
AB194642	China: Import.003	中国	98.8	98.3	98.5	98.6	98.8	98.8
GU373816	HLJ	中国黑龙江	82.9	82.4	82.9	82.7	82.9	82.9
AJ307032	Xixia	中国河南	81.6	81.2	81.8	81.5	81.4	81.4
AJ409304	hub: Wuhan	中国河北	82.8	82.4	82.8	82.6	82.5	82.5
AJ409308	js: Nanjing	中国江苏	84.7	84.2	84.4	84.3	84.4	84.4
AJ409305	sd: Jinxiang	中国山东	84.4	84.3	84.5	84.1	84.0	84.0
AF538950		中国台湾	84.7	84.3	84.3	84.4	84.2	84.2
DQ296002	9n7y	中国厦门	98.6	98.0	98.3	98.4	98.6	98.6
AJ409306	yn2	中国云南	81.9	81.6	82.2	81.8	81.7	81.7
AJ409307	yn1	中国云南	82.5	82.0	81.9	82.1	82.2	82.2
AJ307057	Yuhang GYH	中国浙江	84.1	83.8	83.4	83.6	83.7	83.7
KF597284	SW9	阿根廷	79.9	79.4	80.2	79.8	79.9	79.9
KF597283	SW8	墨西哥	83.7	83.8	84.0	83.7	83.3	83.3
KF597285	SW10	阿根廷	79.5	79.2	80.0	79.6	79.5	79.5
KP168261	INDIA	印度	81.7	81.4	81.2	81.5	81.2	81.2



续表2 Continued2

登录号	分离物	国家(地区)	同源性 (%)					
			19HNGD2-3-2	19HNGD2-3-3	19HNGD2-10-2	19HNGD2-10-16	19HNGD1-7-6	19HNGD1-7-10
JX429965	SG2	西班牙	98.8	98.3	98.5	98.6	98.8	98.8
HQ258895	MS/SW/Aus1	澳大利亚	99.0	98.4	98.8	98.7	99.0	99.0
JX429967	AG1	澳大利亚	80.3	79.7	80.5	80.2	80.3	80.3
JQ899450	SW3.5	澳大利亚	79.0	78.4	79.5	79.1	79.2	79.2
AB194622	W-Ku	日本青森县	79.6	79.0	79.8	79.5	79.6	79.6
AB194621	3mEl7	日本青森县	79.8	79.5	80.3	79.9	80.0	80.0
AB194623	1A3l	日本青森县	79.9	79.4	80.2	79.8	79.9	79.9
KP258216	LYSV-MG	巴西	81.4	81.2	81.4	81.2	81.4	81.4
NC_005029	Yuhang	中国浙江	62.0	62.0	62.0	62.0	61.9	61.9



各支上的数字是 1 000 次 Bootstrap 自导复制的置信度。●:本研究测定的 LYSV 河南分离物;○:之前报道的 LYSV 河南分离物。

图 3 根据 LYSV CP 基因核苷酸序列一致性构建的系统进化树  
Fig.3 Phylogenetic tree based on nucleotide sequence consistency of CP gene of LYSV

由 CP 基因核苷酸序列构建的系统进化树(图 3)可以看出,本研究获得的 6 个 LYSV 河南分离物全部聚类到 LYSV 分支中,说明本研究从河南分离到的病毒为 LYSV。对进化树分析可以得出 LYSV 分为 2 个大组,LYSV 病毒中国分离物、西班牙分离物、墨西哥分离物、印度分离物及巴西的 1 个分离物和澳大利亚的 1 个分离物共同聚类到第 1 组(Group I),而 LYSV 病毒阿根廷分离物、澳大利亚 2 个分离物、日本分离物及巴西的 1 个分离物聚类到第 2 组(Group II)。针对聚类到第 1 组的 LYSV 病毒中国分离物,他们也分布于不同的小分支中,其中本研究报道的河南分离物与中国厦门等地的 2 个分离物共同聚类到 1 个小分支中,他们相对近缘。而与其他 LYSV 分离物(如浙江分离物、云南分离物、台湾分离物、黑龙江分离物、湖北分离物、山东分离物等)聚类到不同的小分支,相对远缘(同源性低于 85%),其中与之前报道的 LYSV 河南分离物之间的同源性仅为 81%(图 3、表 2),暗示了本研究报道的 LYSV 与之前报道的存在较大的差异,可能属于不同类型或不同株系。

### 3 讨论

大蒜是一种重要的蔬菜作物,除作为调味品外,在医学研究和应用上也占有重要地位<sup>[30]</sup>,因此其经济价值相对较高,种植面积比较广泛。随着种植区域的扩大,大蒜上病毒病的种类也异常复杂,目前有报道可以侵染危害大蒜的病毒种类至少有 20 种<sup>[5]</sup>,这些病毒以单独侵染或复合侵染的方式危害大蒜,影响大蒜产量<sup>[31]</sup>。加之大蒜多采用无性繁殖的方式生产,病毒会通过鳞茎直接传播,不断加剧对大蒜的危害,造成产量损失、品质下降、品种退化等<sup>[8,32]</sup>。

河南省大蒜栽培面积达  $1.3 \times 10^5 \text{ hm}^2$ ,面积、产量均居全国第 2 位<sup>[3]</sup>,在中国大蒜生产、供给中起着重要作用。本研究对 2019 年采自河南表现花叶症状的大蒜样品进行检测时发现 LYSV 的感染,进一步的基因克隆及序列分析结果显示,其属于 LYSV 的 1 个分离物。早在 2002 年 Chen 等<sup>[23]</sup>就曾报道河南大蒜上存在 LYSV,因此本研究并不是 LYSV 在河南发生危害的首次报道,但是 CP 基因序列分析结果显示,本研究获得的 LYSV 分离物与 2002 年报道的河南 LYSV 分离物之间的同源性仅为 81%(而与中国厦门等地的 LYSV 分离物同源性超过 98%),

二者在系统进化树上也未聚类到同一小分支,相对远缘。在马铃薯 Y 病毒属中,CP 基因核苷酸序列同源性 76%~77% 是病毒种的分类阈值<sup>[27-28]</sup>,因此本研究报道的河南分离物属于 LYSV,但是该分离物与之前报道的 LYSV 河南分离物存在较大的差异,这种差异可能不仅仅体现在基因序列的同源性上,二者在致病性及危害损失上也可能存在差异,暗示河南大蒜上可能出现了新的 LYSV 类型或株系。由于大蒜多通过无性繁殖进行生产,同时各地大蒜品种也存在频繁的调运,因此很难判断河南新的 LYSV 类型出现的原因是当地病毒通过变异演化产生还是通过种苗等方式从外地传入,但生产上应对这类病毒的危害密切关注,防止该病毒扩散蔓延造成更大的危害。

鉴于目前有报道可以侵染危害大蒜的病毒种类有多种,因此在调查过程中,除 LYSV 外,本研究也对采集样品中的其他病毒如洋葱黄矮病毒(Onion yellow dwarf virus, OYDV)、大蒜 A 病毒(Garlic virus A, GarV-A)、大蒜 B 病毒(Garlic virus B, GarV-B)、大蒜 X 病毒(Garlic virus X, GarV-X)、青葱潜隐病毒(Shallot latent virus, SLV)等进行了检测,结果在样品中也检测到了 OYDV、SLV 等病毒,且普遍存在复合侵染的现象,这些结果说明河南大蒜上病毒病种类比较复杂,因此要明确当地病毒种类及群体变化特征还需要更广泛的样品采集及更系统的种类调查。

### 参考文献:

- [1] 陈青青,陈典,张海霞. 大蒜育种研究现状[J]. 北方园艺, 2006(2): 40-41.
- [2] 姚秋菊,常晓珂,王志勇,等. 河南省大蒜产业发展现状与对策建议[J]. 中国瓜菜, 2018, 31(11): 53-55.
- [3] 赵帮宏,宗义湘,杨宾宾,等. 中国大蒜产业发展研究报告(2017)[M]. 北京: 经济管理出版社, 2018.
- [4] 陈栋. 北疆大蒜病毒病的调查和洋葱黄矮病毒的鉴定及序列分析[D]. 新疆: 石河子大学, 2008.
- [5] KATIS N I, MALIOGKA V I, DOVAS C I. Viruses of the genus *Allium* in the Mediterranean region[J]. *Advances in Virus Research*, 2012, 84: 163-208.
- [6] VAN D P. Survey and characterization of Potyviruses and their strains of *Allium* species[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1996, 99(2): 1-48.
- [7] DOVAS C I, HATZIOUKAS E, SALOMON R, et al. Incidence of viruses infecting *Allium* spp in Greece[J]. *European Journal of*

- Plant Pathology, 2001, 107(7): 677-684.
- [8] LOT H, CHEVELON V, SOUCHE S, et al. Effects of onion yellow dwarf virus and leek yellow dwarf virus on symptomatology and yield loss of three French garlic cultivars [J]. Plant Disease, 1998, 82(12): 1381-1385.
- [9] LUNELLO P, Di R J, CONCI V. Yield loss in garlic caused by leek yellow stripe virus Argentinean isolate [J]. Plant Disease, 2007, 91(2): 153-158.
- [10] BOS L, HUIJBERTS N, HUTTINGA H, et al. Leek yellow stripe virus and its relationships to onion yellow dwarf virus; characterization, ecology and possible control [J]. Netherlands Journal of Plant Pathology, 1978, 84(5): 185-204.
- [11] PÉREZ-MORENO L, CÓRDOVA-ROSALES Z, BARBOZA-CORONA E, et al. First report of leek yellow stripe virus in garlic in the State of Guanajuato, Mexico [J]. Plant Disease, 2006, 90(11): 1458.
- [12] FIDAN H, BALOGLU S. First report of onion yellow dwarf virus and leek yellow stripe virus in garlic in Turkey [J]. Plant Disease, 2009, 93(6): 672.
- [13] OLEAS A, ARAHANA V. First report of leek yellow stripe virus, shallot latent virus and onion yellow dwarf virus in garlic from Ecuador [J]. Plant Disease, 2016, 100(1): 232.
- [14] GAWANDE S J, GURAV V S, INGLE A A, et al. First report of leek yellow stripe virus in *Allium sativum* in Western India [J]. Plant Disease, 2014, 98(7): 1015.
- [15] VUCUROVIC I, VUCUROVIC A, NIKOLIC D, et al. First report of leek yellow stripe virus in leek in Serbia [J]. Plant Disease, 2016, 100(1): 230-231.
- [16] VONCINA D, CURIC K, FABEK S, et al. First report of onion yellow dwarf virus, leek yellow stripe virus, and garlic common latent virus on garlic in Croatia [J]. Plant Disease, 2016, 100(3): 656.
- [17] PAPPU H R, HELLIER B C, DUGAN F M. First report of onion yellow dwarf virus, leek yellow stripe virus and garlic common latent virus in garlic in Washington State [J]. Plant Disease, 2005, 89(2): 205.
- [18] GIECK S L, PAPPU H R, HAMM P B, et al. First report of onion yellow dwarf virus, leek yellow stripe virus, and garlic common latent virus in garlic in Oregon [J]. Plant Disease, 2007, 91(4): 461.
- [19] TESTEN A L, MAMIRO D P, MEULIA T, et al. First report of leek yellow stripe virus in garlic in Ohio [J]. Plant Disease, 2014, 98(4): 574.
- [20] TAKAKI F, SANO T, YAMASHITA K, et al. Complete nucleotide sequences of attenuated and severe isolates of leek yellow stripe virus from garlic in northern Japan: identification of three distinct virus types in garlic and leek world-wide [J]. Archives of Virology, 2005, 150(6): 1135-1149.
- [21] NAVRATIL M, SAFAROVA D, TKADLECOVA E, et al. Molecular characterization of Czech and Chinese leek yellow stripe virus isolates from garlic [J]. Archives of Virology, 2006, 50(3): 207-210.
- [22] CONCI V C, LUNELLO P, BURASCHI D, et al. Variations of leek yellow stripe virus concentration in garlic and its incidence in Argentina [J]. Plant Disease, 2002, 86(10): 1085-1088.
- [23] CHEN J, CHEN J P, ADAMS M J. Characterization of some carla and potyviruses from bulb crops in China [J]. Archives of Virology, 2002, 147(2): 419-428.
- [24] 郑国华, 彭德伟, 明艳林. 韭葱黄条病毒厦门分离物外壳蛋白基因序列分析及其分组 [J]. 植物病理学报, 2012, 42(6): 637-640.
- [25] 张威, 白艳菊, 张匀华, 等. 韭葱黄条病毒黑龙江分离物外壳蛋白基因克隆与序列分析 [J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(8): 60-65.
- [26] HU X X, LEI Y, WANG P, et al. Development of a multiplex reverse transcription-PCR assay for simultaneous detection of garlic viruses [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14(5): 900-908.
- [27] WYLIE S J, ADAMS M, CHALAM C, et al. ICTV virus taxonomy profile: potyviridae [J]. The Journal of General Virology, 2017, 98(3): 352-354.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] 杨进, 汪鋆植, 段和平, 等. 三峡紫皮大蒜与市售百合蒜品质的比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2009(3): 559-560.
- [31] 韦传宝, 华俊雅, 杨宇, 等. 韭葱黄条病毒、洋葱黄矮病毒和胡葱黄条病毒六安分离物 CP 基因克隆及同源性分析 [J]. 广西植物, 2012, 32(2): 231-237.
- [32] CONCI V C, CANAVELLI A, LUNELLO P. Yield losses associated with virus-infected garlic plants during five successive years [J]. Plant Disease, 2003, 87(12): 1411-1415.

(责任编辑:陈海霞)