

高晓晓, 涂丽琴, 孙 枫, 等. 江苏蚕豆三叶草黄脉病毒的分子鉴定及全基因组结构特征分析[J]. 江苏农业学报, 2022, 38( 5 ): 1203-1210.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.05.006

# 江苏蚕豆三叶草黄脉病毒的分子鉴定及全基因组结构特征分析

高晓晓<sup>1,2</sup>, 涂丽琴<sup>2</sup>, 孙 枫<sup>2</sup>, 李 硕<sup>2</sup>, 崔晓艳<sup>3</sup>, 陈 新<sup>3</sup>, 章松柏<sup>1</sup>, 季英华<sup>2</sup>

(1. 农林病虫害预警与调控湖北省工程技术研究中心/长江大学, 湖北 荆州 434025; 2. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 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:** 三叶草黄脉病毒(Clover yellow vein virus, CIYVV)是马铃薯Y病毒属的重要成员, 侵染多种豆科作物并造成严重危害。为明确从江苏省盐城市采集的蚕豆样品中检测出的CIYVV全基因组序列以及基因组结构特征, 通过分段扩增的策略对CIYVV全基因组序列进行克隆, 序列测定后拼接获得江苏蚕豆三叶草黄脉病毒(CIYVV-JS)全基因组序列。基因组序列分析结果显示该分离物基因组序列全长9 585 bp, 编码11个蛋白质。NCBI序列比对结果表明该分离物与已报道的日本CIYVV No.30分离物(AB011819)核苷酸序列同源性最高, 达96.37%, 其中编码的氨基酸序列同源性高达99.06%, 而与中国合肥CIYVV分离物(KU922565)核苷酸序列同源性相对较低(94.74%)。聚类分析结果也显示CIYVV-JS归入三叶草黄脉病毒分支, 与马铃薯Y病毒属其他成员分别归入不同分支。

**关键词:** 三叶草黄脉病毒; 蚕豆; 全基因组; 序列分析

**中图分类号:** S435.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)05-1203-08

## Molecular identification and genomic characterization of clover yellow vein virus isolated from broad bean in Jiangsu province

GAO Xiao-xiao<sup>1,2</sup>, TU Li-qin<sup>2</sup>, SUN Feng<sup>2</sup>, LI Shuo<sup>2</sup>, CUI Xiao-yan<sup>3</sup>, CHEN Xin<sup>3</sup>, ZHANG Song-bai<sup>1</sup>, JI Ying-hua<sup>2</sup>

(1. Hubei Engineering Research Center for Pest Forewarning and Management/Yangtze University, Jingzhou 434025, China; 2. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

**Abstract:** Clover yellow vein virus (CIYVV), belonging to the genus *Potyvirus*, infects a variety of legume crops and causes serious damage. In order to clarify the whole genomic sequences and structure characteristics of CIYVV detected in the broad samples collected from Yancheng, Jiangsu province, the genomic fragments were cloned and sequenced. Se-

quenced fragments were assembled to obtain the full-length sequence of CIYVV-JS. Genomic sequence analysis showed that the genome sequence of isolate was 9 585 bp in length, encoding 11 proteins. Sequence alignment results showed that CIYVV-JS shared the highest nucleotide sequence identity (96.37%) with a Japanese CIYVV No.30 isolate (AB011819), and the amino acid sequence identity was 99.06%. While CIYVV-JS shared relative low nucleotide sequence identity (94.74%) with the Chinese

收稿日期: 2022-07-11

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(21)1011]; 国家自然科学基金项目(32072506); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-24-C-01)

作者简介: 高晓晓(1998-), 女, 河南濮阳人, 硕士研究生, 主要从事分子植物病毒学研究。(E-mail) 2424054181@qq.com

通讯作者: 章松柏, (E-mail) yangtze2008@126.com; 季英华, (E-mail) jiyinghua@jaas.ac.cn

Hefei CIYVV isolate (KU922565) reported earlier. The results of cluster analysis also indicated that CIYVV-JS was clustered in the same clade with other CIYVV isolates, while different clade with other members of the genus *Potyvirus*.

**Key words:** clover yellow vein virus; broad bean; whole genome; sequence analysis

蚕豆 (*Vicia faba* L.) 是豆科野豌豆属的一个栽培种,属于一年生或两年生豆科植物。蚕豆是重要的冬季食用豆作物,富含蛋白质、氨基酸、微量元素、碳水化合物和维生素等营养成分;其用途广泛,可用于食品加工和养殖业饲料生产,属于重要的经济增收作物。中国蚕豆种植面积以及产量均位居世界首位<sup>[1]</sup>。但近年来在蚕豆生产过程中,病毒病发生种类呈现多样化态势,同时其造成的危害也有加重趋势,导致蚕豆产量减少和品质下降<sup>[2]</sup>。目前报道的侵染蚕豆的病毒主要有三叶草黄脉病毒 (Clover yellow vein virus, CIYVV)、蚕豆染色病毒 (Broad bean stain virus, BBSV)、菜豆黄花叶病毒 (Bean yellow mosaic virus, BYMV) 及芜菁花叶病毒 (Turnip mosaic virus, TuMV) 等类型<sup>[3]</sup>。病毒种类的多样化给蚕豆病毒病的高效防控提出了极大的挑战。

三叶草黄脉病毒 (Clover yellow vein virus, CIYVV) 属于马铃薯 Y 病毒科 Y 病毒属成员,主要侵染菜豆<sup>[4]</sup>、豌豆、蚕豆和扁豆<sup>[5]</sup> 等多种豆科植物及一些观赏植物<sup>[6-7]</sup>。发病植株往往表现出顶部枯死、叶脉坏死和叶片脱落,同时豆荚变形坏死、发育迟缓<sup>[8]</sup>,严重时可引起植株全身扭曲变形并系统性坏死,极大地影响生产效益,给农户带来经济损失<sup>[9]</sup>。CIYVV 最早由英国学者 Hollings 和 Nariani 从白三叶草中发现并分离<sup>[10]</sup>,之后西班牙<sup>[11]</sup>、美国<sup>[12]</sup>、澳大利亚<sup>[13]</sup>、韩国<sup>[14]</sup> 等国的学者陆续地报道了该病毒对本国植物的危害。目前中国关于 CIYVV 的报道与研究相对较少。1989 年,李长松等<sup>[4]</sup> 从山东泰安菜豆病样中利用血清学方法检测到三叶草黄脉病毒。张趁华等<sup>[15]</sup> 开展了侵染蚕豆 CIYVV 的鉴定与研究。

2018 年,课题组在对江苏省蚕豆病毒病调查过程中,发现盐城蚕豆上出现疑似 CIYVV 危害的症状。为进一步确认该病害的病原体隶属的病毒种类并明确其全基因组结构特征,本研究拟利用分子手段对其进行鉴定,并通过分段扩增的方法获得 CIYVV 江苏蚕豆分离物全基因组序列,分析其基因组结构特征,明确其分类地位,为进一步研究 CIYVV 的致病机制与制定防控策略奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试样品

供试样品为 2018 年采集于江苏省盐城市蚕豆样品<sup>[16]</sup>,经液氮冷冻后,保存于-80℃ 冰箱。

### 1.2 试剂

RANiso Reagent、PrimeScript™ 1st strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒、PrimeSTAR™ MAX、pMD18-T 购自宝生物工程 (大连) 有限公司 (TaKaRa); Trelief™ 5α 大肠杆菌感受态细胞购自北京擎科生物公司; AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒购自爱思进生物技术 (杭州) 有限公司。

### 1.3 RNA 提取

参照吴淑华等<sup>[17]</sup> 的方法,利用 Trizol 法提取蚕豆样品总 RNA,提取后置于-80℃ 冰箱保存备用。

### 1.4 RT-PCR 及 CIYVV 全基因克隆

以蚕豆疑似病样总 RNA 为模板,参照涂丽琴等<sup>[16]</sup> 的方法进行反转录。针对已报道的 CIYVV 全序列设计 5 对分段引物 (表 1),以 cDNA 为模板,分别扩增 5 段序列。PCR 反应总体系 40 μl: PrimeSTAR MAX 20 μl, F、R 引物各 2 μl, ddH<sub>2</sub>O 14 μl, cDNA 2 μl。扩增条件为 94℃ 1 min; 98℃ 10 s, 55℃ 15 s, 72℃ 2 min, 重复 34 个循环; 72℃ 5 min, 12℃ 10 min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,利用 Axygen 试剂盒割胶回收后,连接至 pMD18-T 载体。利用热激法转化 Trelief™ 5α 大肠杆菌感受态细胞,经 PCR 检测与酶切验证后将阳性克隆送至安徽通用生物公司进行序列测定。

### 1.5 CIYVV 全基因序列分析

根据测序结果,将获得的 5 个片段序列进行拼接,利用 DNASTAR、Snap Gene、BioEdit、Clustal X 等软件与 NCBI 上已公布的 CIYVV 全基因序列进行基因组结构特征及多重序列比对分析,并利用 BLAST 网站 [BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (nih.gov)] 进行同源性分析。利用 MEGA7 软件的邻接法 (Neighbor-joining Algorithm) 进行聚类分析以及系统进化树的构建,进化树的可信度使用 1 000 次自举复制验证。

表 1 CIYVV 基因片段扩增引物

Table 1 Primers used for CIYVV genome fragment amplification

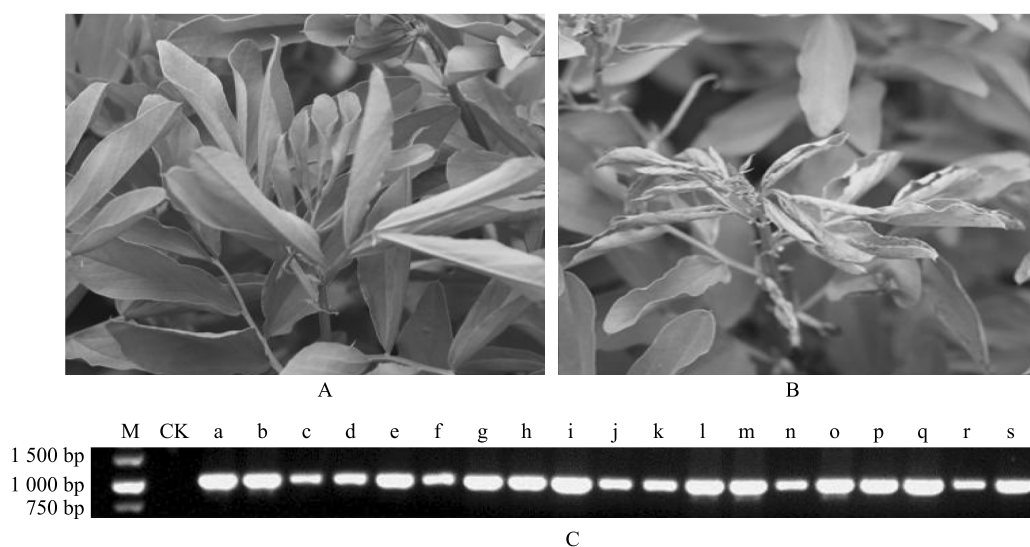
| 引物名称       | 序列 (5'→3')                    | 退火温度 (℃) | 片段长度 (bp) |
|------------|-------------------------------|----------|-----------|
| CI-1F      | AAAATATAAAATCAATACAAGACAAAYAM | 49.3     | 2 179     |
| CI-1R      | CTTTGATTATCTTCYGAYACAT        | 49.6     |           |
| CI-2F      | GGAAGCAGCRAAATACATAG          | 48.0     | 2 081     |
| CI-2R      | GYGCAAAACCACTTGTCTATGAT       | 51.5     |           |
| CI-3F      | CARCTCAARAGTGATCCCTT          | 46.3     | 2 197     |
| CI-3R      | GTTACCTTCTCTCTCAGGAT          | 51.5     |           |
| CI-4F      | GAGACCAATAGAATGTTAYTTTGT      | 50.1     | 2 137     |
| CI-4R      | ACAGTGTGACATRAACCAGAG         | 51.8     |           |
| CI-5F      | TAAGCGARTCCATYGTGTTC          | 50.3     | 1 527     |
| CI-5R      | CTCGCTCTATAAAGATCAGAT         | 50.1     |           |
| CIYVV-CP-F | CAAGAGCAGCAGCATGAG            | 54.0     | 1 042     |
| CIYVV-CP-R | CTCGCTCTATAAAGATCAGAT         | 50.0     |           |

## 2 结果与分析

### 2.1 病样田间采集及 CIYVV 检测

2018 年,田间调查发现,盐城部分田块蚕豆植株叶片上卷皱缩、比较僵硬,同时会伴有坏死斑点,部分植株伴有褪绿等疑似病毒感染的症状(图 1)。

田间疑似病样采集后进行分子检测。在利用 CIYVV 特异性检测引物(CIYVV-CP-F 和 CIYVV-CP-R,表 1)进行扩增时,发现从盐城市采集的 33 份样品中有 19 份能扩增到特异的目的片段(图 1)。进一步测序验证后确认检测到的病毒为 CIYVV,说明当地蚕豆上存在 CIYVV 的侵染危害。



A:健康蚕豆植株;B:发病蚕豆植株;C:盐城蚕豆阳性样品 CIYVV 特异性扩增图谱。M:DL 5000 marker;CK:阴性对照;a~s:盐城蚕豆阳性样品 JS-1~JS-19。

图 1 田间病株症状及 CIYVV 特异性扩增结果

Fig.1 Typical symptoms of diseased broad bean in the field and specific amplification results of clover yellow vein virus

## 2.2 CIYVV 全基因组分段克隆

CIYVV 基因组全长约 9~10 kb, 本研究采用分段扩增的策略(图 2), 设计 5 对针对 CIYVV 全基因序列的特异性引物(表 1), 利用蚕豆病样总 RNA 为模板反转录得到的 cDNA 分别进行 PCR 扩增。产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 结果 5 对引物均扩增到与

目的大小相同的条带(图 3a)。回收目的条带后, 16 °C 连接 pMD18-T 载体, 热激法转化 Trelief™ 5α 大肠杆菌感受态细胞。经菌落 PCR 筛选阳性克隆后, 再经酶切验证(图 3b)后送至安徽通用生物公司进行序列测定。

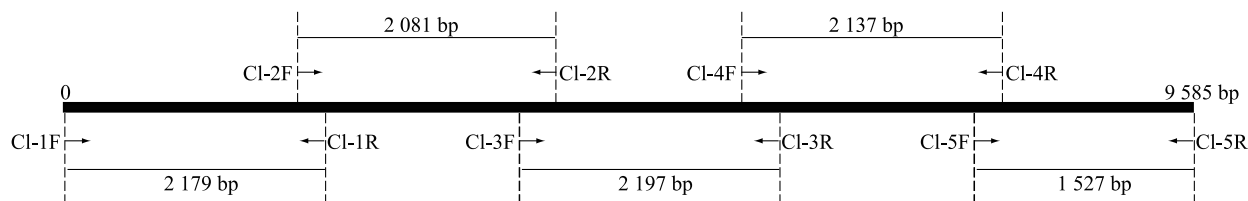
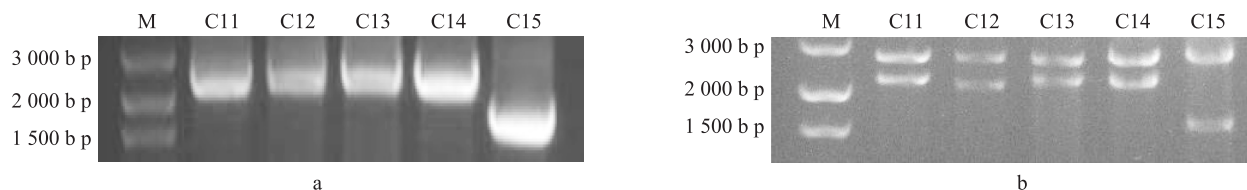


图 2 CIYVV 分段克隆策略

Fig.2 The cloning strategy of CIYVV fragments



M: Marker DL 5000 marker; C11~C15: CIYVV5 个基因片段。

图 3 CIYVV 基因组片段 RT-PCR 扩增(a)和阳性克隆酶切验证(b)

Fig.3 RT-PCR amplification of five fragments of CIYVV(a) and enzyme digestion verification of the positive clones(b)

## 2.3 CIYVV 江苏蚕豆分离物基因组特征分析

克隆片段序列测定后, 基于重叠序列进行拼接获得完整 CIYVV 江苏蚕豆分离物(CIYVV-JS)全基因序列, 并发布于 NCBI GenBank 数据库, 序列登录号为 OP296252。CIYVV-JS 基因组全长 9 585 bp, 编码区可分为 *P1*、*HC-Pro*、*P3*、*P3N-PIPO*、*6K1*、*6K2*、*CI*、*VPg*、*NIa-Pro*、*NIb* 和 *CP*(图 4), 编码 11 个功能蛋白。基因组的 1~191 bp 为 5' 非编码区, 192~1 097 bp 编码 302 aa 组成的相对分子质量约 34 100 的 *P1* 蛋白; 1 098~2 468 bp 编码 457 aa 组成的相对分子质量约 52 200 的 *HC-Pro* 蛋白; 2 469~3 512 bp 编码 348 aa 组成的相对分子质量约 40 200 的 *P3* 蛋白; 2 469~3 160 bp+1bp 编码 230 aa 组成的相对

分子质量约 26 000 的 *P3N-PIPO* 蛋白, 由 *P3* 的 N 段氨基酸和 *PIPO* 组成。3 513~3 671 bp 编码 53 aa 组成的相对分子质量约 5 900 的 *6K1* 蛋白; 3 672~5 576 bp 编码 635 aa 组成的相对分子质量约 71 400 的 *CI* 蛋白; 5 577~5 735 bp 编码 53 aa 组成的相对分子质量约 6 100 的 *6K2* 蛋白; 5 736~6 308 bp 编码 191 aa 组成的相对分子质量约 21 800 的 *VPg* 蛋白; 6 309~7 037 bp 编码 243 aa 组成的相对分子质量约 27 300 的 *NIa-Pro* 蛋白; 7 038~8 594 bp 编码 519 aa 组成的相对分子质量约 59 100 的 *NIb* 蛋白; 8 595~9 407 bp 编码 271 aa 组成的相对分子质量约 30 800 的 *CP* 蛋白; 9 408~9 585 bp 为 3' 非编码区。

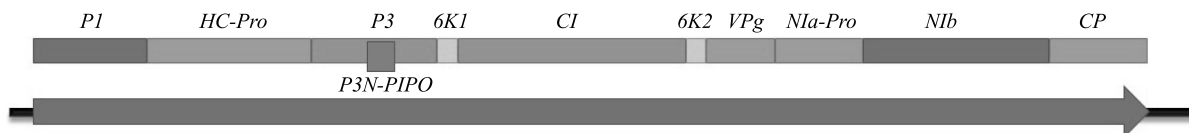


图 4 CIYVV 江苏蚕豆分离物基因组结构

Fig.4 Genome constitution of CIYVV infecting broad bean from Jiangsu province



2.4 CIYVV 江苏蚕豆分离物全基因组序列聚类分析

根据 CIYVV 分段序列测序结果,拼接得到完整的 CIYVV 江苏蚕豆分离物全基因序列。利用 BLAST 网站与 NCBI 上已报道的 CIYVV 全基因序列进行比对。结果表明 CIYVV 江苏蚕豆分离物 (CIYVV-JS) 核苷酸序列与日本 CIYVV No.30 分离物 (AB011819) 同源性最高,达 96.37%,与 CIYVV 安徽合肥分离物 (KU922565) 同源性为 94.74%,而与马铃薯 Y 病毒属同属成员菜豆黄花叶病毒 (Bean yellow mosaic virus, BYMV)、芜菁花叶病毒 (Turnip mosaic virus, TuMV)、莴苣花叶病毒 (Lettuce mosaic virus, LMV)、李痘病毒 (Plum pox virus, PPV)、大豆花叶病毒 (Soybean mosaic virus, SMV)、西瓜花叶病毒 (Watermelon mosaic virus, WMV)、韭葱黄条病毒 (Leek yellow stripe virus, LYSV)、豌豆种传黄化病毒 (Pea seed-borne mosaic virus, PSbMV) 的同源

性仅达 50%~70% (表 2)。氨基酸序列比对结果显示 CIYVV-JS 与 CIYVV 日本 No. 30 分离物 (AB011819) 氨基酸序列同源性最高,达 99.06%,与其他 CIYVV 分离物氨基酸序列同源性为 93.07%~98.99% (表 2)。经 Clustal W 多重序列比对后,利用 MEGA7 软件邻接法进行 1 000 次自导复制验证构建系统发育树,结果显示 CIYVV-JS 与日本 No.30 分离物 (AB011819)、韩国 Dendrobium 分离物 (LC506604)、中国合肥分离物 (KU922565)、韩国 BH 分离物 (LC643587)、美国 Ca 分离物 (MW287328)、日本 90-1 Br2 分离物 (AB732962)、美国 IA-2016 分离物 (MK292120)、日本 I89-1 分离物 (LC096082)、韩国 Gm 分离物 (KF975894) 归入一个分支,相对近缘,而与德国 NGSTPS18 分离物 (MW848532) 归入不同分支,相对远缘,但它们都聚类到 CIYVV 大分支中 (图 5)。这些结果表明从江苏蚕豆上分离到的病毒属于三叶草黄脉病毒。

表 2 系统进化分析用到的病毒种类及同源性分析

Table 2 Virus species used in phylogenetic analysis and homology analysis

| 病毒名称     | 缩写    | 登录号      | 分离物         | 寄主  | 地区   | 同源性 (%) |       |
|----------|-------|----------|-------------|-----|------|---------|-------|
|          |       |          |             |     |      | 核苷酸序列   | 氨基酸序列 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | AB011819 | No.30       | 蚕豆  | 日本   | 96.37   | 99.06 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | LC643587 | BH          | 楼斗菜 | 韩国   | 95.17   | 98.80 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | MW287328 | Ca          | 积雪草 | 美国   | 95.17   | 98.05 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | MK292120 | IA-2016     | 大豆  | 美国   | 95.10   | 98.89 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | LC506604 | Dendrobium  | 石斛兰 | 韩国   | 94.82   | 98.98 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | KU922565 | Hefei       | 蚕豆  | 中国安徽 | 94.74   | 98.44 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | KF975894 | Gm          | 大豆  | 韩国   | 94.58   | 98.63 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | AB732962 | 90-1 Br2    | 豌豆  | 日本   | 95.12   | 98.80 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | LC096082 | I89-1       | 豌豆  | 日本   | 94.92   | 98.99 |
| 三叶草黄脉病毒  | CIYVV | MW848532 | NGSTPS18    | 蚕豆  | 德国   | 83.16   | 93.07 |
| 菜豆黄花叶病毒  | BYMV  | MT153866 | BYMV-2018/1 | 蚕豆  | 波兰   | 71.75   | 69.25 |
| 韭葱黄条病毒   | LYSV  | KP168261 | INDIA       | 大蒜  | 印度   | 52.82   | 46.54 |
| 莴苣花叶病毒   | LMV   | X97705   | E           | 莴苣  | 法国   | 51.24   | 48.20 |
| 豌豆种传黄化病毒 | PSbMV | MK116873 | PSB262CZ    | 豌豆  | 捷克   | 50.66   | 43.76 |
| 李痘病毒     | PPV   | HC964685 | Rec-Cdn08   | 李子  | 加拿大  | 53.88   | 52.19 |
| 大豆花叶病毒   | SMV   | GU015011 | 413         | 大豆  | 美国   | 53.18   | 44.33 |
| 芜菁花叶病毒   | TuMV  | MH735112 | CN7         | 萝卜  | 中国辽宁 | 52.92   | 48.02 |
| 西瓜花叶病毒   | WMV   | OK050524 | Henan       | 棉花  | 中国   | 52.59   | 43.96 |

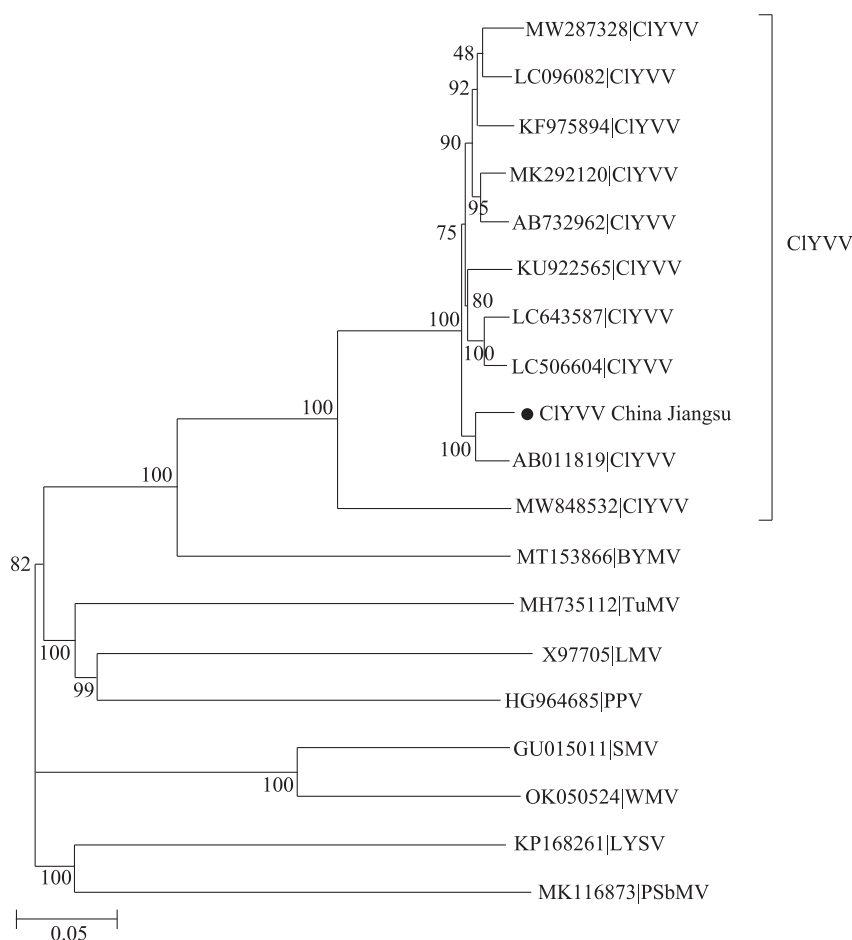


图 5 基于 CIYVV 全基因组序列构建的系统发育树

Fig.5 The phylogenetic tree based on the complete genomic sequence of CIYVV

## 2.5 CIYVV 江苏蚕豆分离物基因序列分析

CIYVV 全基因组序列聚类分析的结果表明, CIYVV-JS 与除德国 NGSTPS18 (MW848532) 分离物外的 9 个分离物聚于一支, 进一步将 CIYVV-JS 基因组的 11 个基因序列与这 9 个分离物进行比对分析。结果(表 3)显示: *P1* 的核苷酸序列与已报道的 CIYVV 分离物同源性为 89.64%~96.91%, 与日本 No.30 分离物 (AB011819) 同源性最高; *HC-Pro* 的核苷酸序列同源性为 93.95%~97.16%, 与美国 Ca 分离物 (MW287328) 同源性最高; *P3* 的核苷酸序列同源性为 93.20%~96.84%, 与美国 IA-2016 分离物 (MK292120) 同源性最高; *P3N-PIPO* 的核苷酸序列同源性为 92.63%~97.69%, 与日本 90-1 Br2 分离物 (AB732962) 同源性最高; *6K1* 的核苷酸序列同源性为 89.31%~95.57%, 与中国合肥 CIYVV 分离物 (KU922565) 同源性最高; *CI* 的核苷酸序列同源性

为 91.08%~96.38%, 与日本 No. 30 分离物 (AB011819) 同源性最高; *6K2* 的核苷酸序列同源性为 90.57%~97.48%, 与韩国 BH 分离物、美国 IA-2016 分离物 (LC643587、MK292120) 同源性最高; *VPg* 的核苷酸序列同源性为 96.51%~97.91%, 与日本 No.30 分离物、日本 90-1 Br2 分离物 (AB011819、AB732962) 同源性最高; *Nla-Pro* 的核苷酸序列同源性为 96.71%~98.49%, 与日本 189-1 分离物 (LC096082) 同源性最高; *Nlb* 的核苷酸序列同源性为 97.24%~98.46%, 与日本 No. 30 分离物 (AB011819) 同源性最高; *CP* 核苷酸序列同源性为 94.96%~97.41%, 与日本 No. 30 分离物 (AB011819) 同源性最高(表 3)。这些结果说明, 在 CIYVV 的 11 个基因中, *VPg*、*Nla-Pro* 和 *Nlb* 这 3 个基因相较于其他基因变异相对较少, 可能相对比较保守。

表3 CIYVV-JS 与其他 CIYVV 分离物基因的同源性分析

Table 3 Gene homology analysis of CIYVV-JS and other CIYVV isolates

| 病毒名称    | 登录号      | 同源性(%)    |               |           |            |           |            |            |                |            |           |                 |
|---------|----------|-----------|---------------|-----------|------------|-----------|------------|------------|----------------|------------|-----------|-----------------|
|         |          | <i>PI</i> | <i>HC-Pro</i> | <i>P3</i> | <i>6KI</i> | <i>CI</i> | <i>6K2</i> | <i>VPg</i> | <i>NIa-Pro</i> | <i>NIb</i> | <i>CP</i> | <i>P3N-PIPO</i> |
| 三叶草黄脉病毒 | AB011819 | 96.91     | 94.16         | 93.20     | 94.34      | 96.38     | 92.45      | 97.91      | 97.81          | 98.46      | 97.41     | 92.63           |
| 三叶草黄脉病毒 | LC643587 | 93.83     | 93.95         | 94.82     | 94.34      | 92.44     | 97.48      | 97.03      | 96.98          | 97.43      | 96.80     | 94.80           |
| 三叶草黄脉病毒 | MW287328 | 89.64     | 97.16         | 95.97     | 90.57      | 93.33     | 90.57      | 97.03      | 97.12          | 97.30      | 95.94     | 96.97           |
| 三叶草黄脉病毒 | MK292120 | 92.17     | 95.41         | 96.84     | 91.82      | 91.08     | 97.48      | 96.68      | 97.39          | 98.07      | 96.19     | 97.54           |
| 三叶草黄脉病毒 | LC506604 | 90.42     | 95.04         | 94.82     | 93.71      | 92.44     | 95.60      | 97.56      | 96.84          | 97.24      | 96.43     | 94.80           |
| 三叶草黄脉病毒 | KU922565 | 90.19     | 94.01         | 93.68     | 95.57      | 93.49     | 95.60      | 97.03      | 96.98          | 97.24      | 96.56     | 93.35           |
| 三叶草黄脉病毒 | KF975894 | 91.29     | 94.31         | 95.01     | 89.31      | 92.55     | 92.45      | 97.03      | 96.71          | 97.37      | 94.96     | 94.94           |
| 三叶草黄脉病毒 | AB732962 | 90.51     | 96.86         | 95.01     | 91.82      | 91.39     | 96.86      | 97.91      | 97.39          | 97.56      | 96.06     | 97.69           |
| 三叶草黄脉病毒 | LC096082 | 91.73     | 94.31         | 94.73     | 91.19      | 93.39     | 91.82      | 96.51      | 98.49          | 97.62      | 95.33     | 94.51           |

### 3 讨论

本研究对 2018 年江苏省蚕豆病毒病调查过程中采集的蚕豆疑似病样进行病毒检测时发现,盐城局部蚕豆田块存在 CIYVV 的侵染危害;进而通过分段克隆获得 CIYVV-JS 全基因组序列,明确了其基因组结构特征。系统聚类分析结果显示,该分离物属于 CIYVV 的一个病毒株系,其与日本分离物 (AB011819)<sup>[18]</sup> 核苷酸序列同源性最高,达 96.37%,氨基酸序列同源性达 99.06%,而与中国安徽分离物 (KU922565)<sup>[15]</sup> 核苷酸序列和氨基酸序列同源性分别为 94.74% 和 98.44%。虽然江苏与安徽在地域上相对较近,但两个分离物并未表现出最高的同源性,这个结果说明中国 CIYVV 的群体结构比较复杂,江苏的 CIYVV 侵染源可能不是临近的安徽。

马铃薯 Y 病毒属是植物病毒最大的一个属,能侵染多种单子叶和双子叶植物,在全世界范围造成巨大危害<sup>[19-20]</sup>。三叶草黄脉病毒作为其中重要成员,可侵染白三叶草<sup>[21]</sup>、蚕豆、豌豆、豇豆及多种豆科作物。生产中,CIYVV 可以通过蚜虫广泛传播,严重影响侵染对象的产量和品质,该病毒病在世界多个国家均有发生。

中国蚕豆种植面积位居世界首位,江苏是中国传统的蚕豆种植省份,常年种植面积达  $1.333 \times 10^5$   $\text{hm}^2$  左右<sup>[22]</sup>。但目前针对蚕豆上的病毒病研究相对较少。2018 年,在盐城、南通、泰州等地蚕豆调查中

发现,CIYVV 广泛存在于蚕豆生产中,重发田块发病率达 50%~60%。由于该病毒寄主范围较广,易通过蚜虫或汁液机械传毒至其他寄主植物,存在潜在流行危害风险。因此,生产中应当密切关注该病毒病的发生,做好病毒的早期监测和预警,适时控制传毒介体蚜虫,切断传毒途径,控制该病毒病发生与扩散,减少损失。

### 参考文献:

- [1] 方唯微,马永焕,丘相国,等. 蚕豆蛋白质的营养价值及其综合利用的研究[J]. 南昌大学学报(工程技术版), 1994, 31(2): 11-13.
- [2] 沈良. 江苏省蚕豆主要病害鉴定及赤斑病药剂防治研究[D]. 南京农业大学, 2014.
- [3] 徐红梅,庄新建,陈佳欢,等. 蚕豆常见病毒病的鉴定及分类综述[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(24): 8-16.
- [4] 李长松,朱汉城. 侵染菜豆的三叶草黄脉病毒的鉴定[J]. 山东农业大学学报, 1989, 20(4): 71-74.
- [5] 李长松. 侵染扁豆的三叶草黄脉病毒的鉴定[J]. 中国病毒学, 1991, 6(3): 223-226.
- [6] IREY M, ADKINS S, BAKER C A. Clover yellow vein virus identified in *Ammi majus* in Florida[J]. Plant Disease, 2006, 90(3): 380.
- [7] YOON J Y, CHO I S, CHUNG B N, et al. First report of clover yellow vein virus on orchid (*Dendrobium* sp.) in South Korea[J]. Plant Disease, 2022, 106(3): 1076.
- [8] LARSEN R C, PHILLIP N M, KENNETH C E, et al. A strain of clover yellow vein virus that causes severe pod necrosis disease in snap bean[J]. Plant Disease, 2008, 92(7): 1026-1032.
- [9] LARSEN R C, MYERS J R. A pod necrosis disease (chocolate pod) of snap bean (*Phaseolus vulgaris*) in Oregon caused by a

- strain of clover yellow vein virus [J]. *Phytopathology*, 2006, 96(6): 169.
- [10] HOLLINGS M, NARIANI T. Some properties of clover yellow vein, a virus from *Trifolium repens* L. [J]. *Annals of Applied Biology*, 1965, 56(1): 99-109.
- [11] ORTIZ V, CASTRO S, ROMERO J. First report of clover yellow vein virus in grain legumes in Spain [J]. *Plant Disease*, 2009, 93(1): 106.
- [12] SHERWOOD R T. Viruses of white clover in pastures of Pennsylvania, New York and Vermont [J]. *Plant Disease*, 1997, 81(7): 817-820.
- [13] JONES R. Virus diseases of perennial pasture legumes in Australia: incidences, losses, epidemiology, and management [J]. *Crop and Pasture Science*, 2013, 64(3): 199-215.
- [14] SHIN J C, KIM M K, KWAK H R, et al. First report of clover yellow vein virus on *Glycine max* in Korea [J]. *Plant Disease*, 2014, 98(9): 1283.
- [15] 张趁华, 郑红英, 严丹, 等. 侵染蚕豆 CIYVV 的鉴定及其衍生的小干扰 RNA 的深度测序鉴定研究 [J]. *浙江农业学报*, 2018, 30(3): 406-412.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] TAKAHASHI Y, TAKAHASHI T, UYEDA I. A cDNA clone to clover yellow vein potyvirus genome is highly infectious [J]. *Virus Genes*, 1997, 14(3): 235-243.
- [19] 魏瑶, 刘燕, 图门白拉, 等. 内蒙古自治区马铃薯病毒病的检测 [J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(8): 111-115.
- [20] GIBBS, ADRIAN, KAZUSATO O. Potyviruses and the digital revolution [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2010, 48(1): 205-223.
- [21] PANTER S, CHU P G, LUDLOW E, et al. Molecular breeding of transgenic white clover (*Trifolium repens* L.) with field resistance to Alfalfa mosaic virus through the expression of its coat protein gene [J]. *Transgenic Research*, 2012, 21(3): 619-632.
- [22] 江剑波, 夏先飞, 周燕, 等. 江苏蚕豆机械化生产现状及实施对策 [J]. *农业开发与装备*, 2021(9): 15-17.

(责任编辑:石春林)