

杨 柳,任春梅,陆 芳,等. 江苏葫芦科作物上瓜类褪绿黄化病毒的发生及其分离物全基因组序列分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(6):36-42.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.06.005

江苏葫芦科作物上瓜类褪绿黄化病毒的发生及其分离物全基因组序列分析

杨 柳,任春梅,陆 芳,缪 倩,程兆榜,季英华

(江苏省农业科学院植物保护研究所,江苏南京 210014)

摘要:为了分析瓜类褪绿黄化病毒(cucurbit chlorotic yellow virus,CCYV)在江苏省葫芦科作物上的分布情况、发生趋势以及变异情况,本研究对疑似感染 CCYV 的葫芦科样本进行采集,覆盖了江苏省 8 个地区的 7 种常见葫芦科作物,通过 RT-PCR 方法对病样进行了分子鉴定,并对在泰州采集的黄瓜分离物 CCYV-JSXH 进行分段克隆与测序,拼接获得 CCYV 的全基因组序列后对其进行了序列比对和进化分析。检测结果显示,在建湖采集的西葫芦样本、泰州兴化和南京江宁地区采集的黄瓜样本均有 CCYV 感染。序列拼接与比对结果显示,分离物 CCYV-JSXH 的 RNA1 序列与目前已经公布的各个分离物基因组序列相似度在 99.58% 以上,在进化树上与山东西葫芦分离物聚为一支;其 RNA2 序列与各分离株的相似性为 99.47% 以上,在进化上与广东分离物聚为一支。本研究结果表明,CCYV 可能由多个途径传入江苏,并已经扩大蔓延到江苏省多个地区和多种寄主上,对该病毒的监测防控已逐渐扩大为葫芦科作物生产中亟待解决的突出问题之一。

关键词:瓜类褪绿黄化病毒;分布;分子鉴定;基因组;系统进化分析

中图分类号:S436.429 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)06-0036-07

瓜类褪绿黄化病毒(cucurbit chlorotic yellows virus,CCYV)属于长形病毒科(Closteroviridae)毛形病毒属(*Crinivirus*)。它最早于 2009 年在日本甜瓜上被发现^[1],随后在许多国家都有报道,包括苏丹、黎巴嫩、伊朗、希腊、土耳其、沙特阿拉伯、塞浦路斯、以色列、美国、阿尔及利亚、西班牙、韩国和印度等^[2-14]。2010 年,CCYV 于我国台湾地区首次被发现^[15],而后在山东、北京、上海、河南、湖南、广西、乃至海南、新疆和贵州等省份逐渐被报道,并且其危害地区还在不断扩大^[16-25]。

CCYV 是烟粉虱以半持久方式进行传播的,在自然情况下主要感染葫芦科作物,目前已经报道的以甜瓜、西瓜、黄瓜、南瓜、西葫芦等常见作物居多,但室内试验显示该病毒能够侵染 19 种葫芦科作物^[1]。此外 CCYV 还可以侵染本氏烟、甜菜、紫花

苜蓿、曼陀罗等植物,Orfanidou 等明确了 13 种杂草为 CCYV 的寄主^[6],庄新建等报道 CCYV 可以感染药用作物地黄^[26],韦建明等报道 CCYV 可以感染山药^[25]。这些结果表明,CCYV 的寄主范围也在不断扩大。

被 CCYV 感染的植株在早期会出现中部或基部叶片的褪绿黄化,而后逐步向上发展逐渐蔓延至植株顶部,叶片最初呈现褪绿症状,随着病情发展,叶片黄化,同时仍能看见保持绿色的叶脉等局部组织,最后导致整个植株黄化,在大田生产中严重影响了葫芦科作物的产量和产品品质,已逐渐扩大为葫芦科作物生产中亟待解决的突出问题之一^[27]。

CCYV 的基因组由 2 条正单链 RNA (RNA1 和 RNA2)组成,其中 RNA1 约 8 607 nt,可编码甲基磷酸转移酶、依赖 RNA 的病毒解旋酶、依赖 RNA 的 RNA 聚合酶,P6-1 蛋白和 P22 蛋白;RNA2 约 8 041 nt,可编码外壳蛋白、小外壳蛋白、70 ku 类热激蛋白、P59 蛋白、P26 蛋白、P9 蛋白、P6-2 蛋白和 P4.9 蛋白。在病毒的侵染、复制和传播过程中,这些蛋白都发挥了重要的功能^[23]。

江苏地区的设施蔬菜和露地蔬菜在我国蔬菜生产中均占有重要地位,但病毒病的发生也一直威

收稿日期:2023-04-28

基金项目:国家重点研发计划(编号:2022YFD1401200);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(19)3108]。

作者简介:杨 柳(1984—),女,江苏徐州人,博士,助理研究员,主要从事蔬菜作物病毒病研究。E-mail:suiyangy@126.com。

通信作者:季英华,研究员,主要从事蔬菜病毒病研究。E-mail:jijinghua@jaas.ac.cn。

胁着省内蔬菜产业的发展,根据目前已有报道,在我国许多葫芦科作物种植区都出现了 CCYV 的感染,但在江苏地区尚未有针对性的报道。笔者所在课题组于 2022 年在江苏省内针对葫芦科作物 CCYV 感染进行了普查,并对在主要感染区(泰州兴化)采集的 CCYV 分离物进行了全基因组序列分析。

1 材料与方法

1.1 病原材料

2022 年 6—11 月在江苏省多个葫芦科作物生产地采集到各种葫芦科作物疑似病毒病感染样品,主要为植株叶片,少部分为果实,症状表现为斑驳、褪绿、黄化、皱缩、畸形等。需要保存的样品经液氮速冻存于 -80 ℃ 冰箱。

1.2 RNA 提取和 cDNA 的合成

取 0.5 g 病叶样品,如果是病果则切取果皮部分,于液氮中充分研磨成粉末,使用多糖多酚植物 RNA 试剂盒(上海浦迪生物科技有限公司)按说明书步骤操作提取 RNA。而后取 2 μL RNA 使用 HiScript II Q RT SuperMix 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)按说明书步骤反转录成 cDNA,用于 PCR 和克隆。

1.3 PCR 检测分析

采用引物 CCYV - dtF (5' - AGAACATGATCAA GTCGTGAGTC - 3') 和 CCYV - dtR (5' - GGTAGGA ATGA ACTC AGTGTCVG - 3') 对反转录后的病样 cDNA 进行 PCR 扩增。扩增体系为 2 × Taq Master mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)12.5 μL,前后引物各 0.5 μL,模板 cDNA 1 μL,ddH₂O 补足至 25 μL。反应程序:94 ℃ 预变性 2 min;94 ℃ 变性 20 s,55 ℃ 退火 20 s,72 ℃ 延伸 1 min,30 个循环后再 72 ℃ 延伸 5 min。若电泳后在约 792 bp 处出现目的条带则将 PCR 产物送至南京擎科生物科技有限公司进行序列测定。

1.4 CCYV 基因组序列克隆与测序

根据干射香等设计的引物^[28]分段扩增并通过拼接获得 CCYV1 和 CCYV2 序列全长。扩增体系:2 × phanta PCR mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)25 μL,前后引物各 1 μL,模板 cDNA 2 μL,ddH₂O 补足至 50 μL。反应程序:94 ℃ 预变性 2 min;94 ℃ 变性 20 s,52 ℃ 退火 20 s,72 ℃ 延伸 2 min 30 s,30 个循环;72 ℃ 延伸 10 min。产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳后,在紫外灯下切取凝胶上的目的条

带,使用 Axygen 胶回收试剂盒(爱思进生物技术有限公司)根据说明书步骤进行回收。回收产物连接至 pEASY - Blunt 载体(北京全式金生物技术有限公司),转化大肠杆菌感受态细胞 DH5α(南京擎科生物科技有限公司),挑取单克隆经 PCR 筛选后送至南京擎科生物科技有限公司测序。

1.5 序列比对分析

将测序测得的所有序列利用 Invitrogen 软件里的 ContigExpress 功能进行拼接获得 CCYV1 和 CCYV2 全长序列。比对分析使用 NCBI 网站的 BLAST(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 和 ClustalX 软件,聚类分析和进化树的构建使用 MEGA6 软件。

2 结果与分析

2.1 江苏省 CCYV 的发生情况

本研究于 2022 年在江苏省内共采集样本 246 份,分别来自于 8 个地区的 7 种常见葫芦科作物(表 1),寄主植物样品大多数来源于种植面积较大的葫芦科作物,如西瓜、甜瓜、南瓜和黄瓜。对所采样品提取 RNA,经过 RT - PCR 检测后发现在建湖、兴化、南京采集的样品中均检测出了 CCYV,其他地区样品中均未检出(图 1)。在南京江宁采集的 21 份甜瓜中有 3 份检出 CCYV,13 份黄瓜样品中有 7 份检出,总检出率为 29.4%。在兴化采集的 30 份样品中黄瓜占 29 份,丝瓜 1 份,其中包括丝瓜在内的 26 份样品检出 CCYV,检出率为 86.7%。在建湖采集的 9 份西葫芦样品中全部检出 CCYV。在全部 246 份样品中,CCYV 总检出率为 18.3%。

表 1 样品采集地点和种类统计

采样地	样品(份)							本地合计
	黄瓜	西瓜	甜瓜	丝瓜	西葫芦	南瓜	葫芦	
建湖	0	0	0	0	9	0	0	9
兴化	29	0	0	1	0	0	0	30
海门	0	24	22	2	0	4	0	52
南京	13	0	21	0	0	0	0	34
泗洪	0	33	2	0	0	0	0	35
盱眙	0	17	7	3	0	4	0	31
姜堰	0	2	1	0	0	6	1	10
大丰	0	0	15	0	0	30	0	45
各地合计	42	76	68	6	9	44	1	246

2.2 CCYV 泰州兴化分离物基因组特征分析

采用分段克隆拼接的策略,对 CCYV 泰州兴化



有星号标记的地点为有 CCYV 检出的采样点

图1 江苏省 CCYV 采样点和检出点分布

黄瓜分离物 CCYV-JSXH 的每条链分别分 4 段进行克隆,通过软件拼接获得 CCYV-JSXH 全基因组序列。对 CCYV-JSXH 序列信息进行分析比对发现,该分离物的 RNA1 序列全长共计 8 607 个碱基,包含 4 个开放阅读框(ORF),其中 74~6 034 位碱基为 ORF1a,编码 1 个由 1 987 个氨基酸组成、分子量约 226.5 ku 的蛋白,6 036~7 553 位碱基为 ORF1b,编码 1 个由 505 个氨基酸组成、分子量约 58.7 ku 的蛋白,7 629~7 787 位碱基编码 1 个由 52 个氨基酸组成、分子量约 6.1 ku 的蛋白 P6,7 791~8 357 位碱基编码 1 个由 188 个氨基酸组成、分子量约 22.1 ku 的蛋白 P22,5'UTR 和 3'UTR 的长度分别为 73 nt 和 250 nt。

RNA2 序列全长共计 8 041 个碱基,编码 8 个蛋白,其中 1 035~1 166 位碱基编码由 43 个氨基酸组成、分子量约 4.9 ku 的蛋白 P4.9,1 207~2 877 位碱基编码由 556 个氨基酸组成、分子量约 62.4 ku 的蛋白 HSP70h,2 878~3 042 位碱基编码 1 个由 54 个氨基酸组成、分子量约 6.6 的蛋白 P6,3 036~4 589 位碱基编码由 517 个氨基酸组成、分子量约 59.7 ku 的蛋白 P59,4 571~4 810 位碱基编码由 79 个氨基酸组成、分子量约 9.3 ku 的蛋白 P9,4 941~5 693 位碱基编码由 250 个氨基酸组成、分子量约

28.7 ku 的蛋白 CP,5 693~7 117 位碱基编码由 474 个氨基酸组成、分子量约 54.5 ku 的蛋白 CPm,7 179~7 820 位碱基编码由 213 个氨基酸组成、分子量约 24.9 ku 的蛋白 P26,5'UTR 和 3'UTR 的长度分别为 1 034 nt 和 221 nt。

BLAST 分析结果表明,CCYV-JSXH 的 RNA1 序列与目前已经公布的各个分离物基因组序列的相似度在 99.58% 以上,其中与北京分离物 JQ904628 和河南分离物 MW768903 的相似度最高,序列一致性达 99.88%。但 CCYV-JSXH RNA1 的各编码基因和非编码序列与已知 CCYV 分离物的各序列相似度不完全一致,其中 5'UTR、3'UTR 和 P6 基因序列保守性较高,大多数分离物的相似性为 100%,碱基变化较多存在于 ORF1a、ORF1b 和 P22 基因上,它们的一致性在 99.27%~99.90% 之间(表 2)。

CCYV-JSXH 的 RNA2 序列与目前已公布的分离物基因组序列相似度在 99.47% 以上,其中与广东分离物 GDLJ(MZ392421)相似度最高,序列一致性达 99.80%。CCYV-JSXH RNA2 的各编码基因和非编码序列与已知 CCYV 分离物的各序列相似度也不完全一致,其中 P4.9、P6、P9 和 3'UTR 序列保守性较高,许多分离物的相似性高达 100%,而 5'UTR、HSP70h、P59、CP、CPm 和 P26 上的变异较多,其一致性在 99.09%~99.94% 之间(表 3)。

将本研究获得的分离物 CCYV-JSXH 与已经公布的和其一致性较高的 3 个分离物(JQ904628、MW768903、MZ392420)的序列进行比较分析。结果(表 4)显示,这 4 个分离物中共有 51 个位点存在碱基变化,RNA1 中有 21 个差异碱基位点,RNA2 中有 30 个。JSXH 与其他 3 个分离物均不相同的位点有 23 个,RNA1 中 8 个,RNA2 中 15 个。RNA1 上的差异碱基位点共有 13 个为同义突变,8 个位点为错义突变;RNA2 上有 9 个位点为同义突变,12 个错义突变,另外还有 9 个突变位点处于 RNA2 的 UTR 区域。错义突变存在的位置分别位于 ORF1a、ORF1b、P22、HSP70h、CP、CPm 和 P26 上。

将 NCBI 中有全基因组序列报道的 CCYV RNA1 和 RNA2 序列分别使用邻接法(neighbor-joining, NJ)进行聚类分析,将毛形病毒属成员莴苣褪绿病毒(LCV)(NC012909)作为外群,进化树分支置信度(Bootstrap)使用 1 000 次自导复制验证,由此构建的 Bootstrap consensus tree 结果(图 2)显示,

表 2 CCYV – JSXH 分离物与 NCBI 中其他分离物 RNA1 的序列相似性

登录号	分离物	宿主	地区	相似性(%)						
				基因组	5'UTR	ORF1a	ORF1b	P6	P22	3'UTR
JQ904628	Beijing	黄瓜	中国北京	99.88	100	99.88	99.87	100	99.82	100
MW629379	CaF1 – 523_1	哈密瓜	美国乔治亚州	99.58	100	99.66	99.27	99.37	99.47	100
MT048668	CC – XH	西葫芦	中国山东	99.83	100	99.82	99.80	100	99.82	100
MW768903	CCYV – Rg	地黄	中国河南	99.88	100	99.90	99.87	100	99.65	100
MW629381	CF1 – 525_1	黄瓜	美国乔治亚州	99.71	100	99.70	99.74	100	99.47	100
MZ392420	GDLJ	黄瓜	中国广东	99.77	100	99.78	99.67	100	99.65	100
MZ392418	GDNS	黄瓜	中国广东	99.76	100	99.78	99.80	100	99.29	100
MZ392422	GDXW	黄瓜	中国广东	99.74	100	99.77	99.67	99.37	99.82	99.60
OM489400	Georgia	野萝卜	美国乔治亚州	99.67	100	99.66	99.74	100	99.65	99.20
KY400637	HeNan	甜瓜	中国河南	99.83	100	99.82	99.87	100	99.65	100
MH477611	IL	西瓜	以色列	99.73	100	99.71	99.74	100	99.65	100
KU507601	pCCYCRNA13	—	中国河南	99.58	100	99.56	99.60	99.37	99.47	100
MH819190	SD	黄瓜	中国山东	99.80	100	99.82	99.87	99.37	99.82	99.20
KY400636	ShangHai	甜瓜	中国上海	99.87	100	99.87	99.87	100	99.82	100
KY618798	TW	甜瓜	中国台湾	99.87	100	99.87	99.87	100	99.82	100
KY400635	XinJiang	甜瓜	中国新疆	99.85	100	99.83	99.87	100	99.82	100
NC_018173	—	甜瓜	日本熊本	99.71	100	99.70	99.80	99.37	99.47	100

注:—表示没有相应信息。

表 3 CCYV – JSXH 分离物与 NCBI 中其他分离物 RNA2 的序列相似性

序列号	分离物	相似性(%)										
		基因组	5'UTR	P4.9	HSP70h	P6	P59	P9	CP	CPm	P26	3'UTR
JQ904629	Beijing	99.65	99.52	100	99.88	100	99.94	100	99.60	99.44	99.22	99.55
MW629380	CaF1 – 523_1	99.47	99.32	100	99.52	100	99.61	99.58	99.47	99.37	99.38	99.55
MT048669	CC – XH	99.69	99.52	100	99.82	100	99.87	100	99.60	99.65	99.53	100
MW768904	CCYV – Rg	99.74	99.61	100	99.82	100	99.94	100	99.60	99.65	99.69	100
MW685456	CF1 – 525	99.53	99.23	100	99.82	100	99.81	99.58	99.34	99.37	99.22	99.55
MZ392421	GDLJ	99.80	99.61	100	99.94	100	99.94	100	99.73	99.72	99.84	100
MZ392419	GDNS	99.61	99.32	100	99.88	100	99.87	100	99.60	99.44	99.22	99.55
MZ392423	GDXW	99.58	99.52	100	99.76	99.39	99.68	100	99.60	99.37	99.69	99.55
OM489401	Georgia	99.56	99.32	100	99.82	100	99.81	99.58	99.47	99.37	99.38	99.55
KY400634	HeNan	99.58	99.42	100	99.76	100	99.61	99.17	99.47	99.58	99.69	99.10
MH477612	IL	99.53	99.13	100	99.52	100	99.87	100	99.47	99.51	99.38	99.55
KU507602	pCCYCRNA27	99.50	99.52	100	99.76	100	99.61	99.58	99.34	99.09	99.53	100
MH819191	SD	99.75	99.61	100	99.88	100	99.94	100	99.60	99.65	99.69	100
KY400633	ShangHai	99.71	99.61	100	99.88	100	99.74	100	99.60	99.65	99.69	100
KY618799	TW	99.66	99.23	100	99.88	99.39	99.87	100	99.47	99.65	99.69	100
KY400632	XinJiang	99.68	99.42	98.48	99.88	100	99.87	100	99.47	99.65	99.69	100
NC_018174	—	99.64	99.23	100	99.82	100	99.87	100	99.47	99.58	99.53	100

注:—表示没有相应信息。

CCYV – JSXH 与其他 CCYV 分离物聚在一起,表明该分离物确实为 CCYV 成员之一。根据 RNA1 序列

的系统进化树拓扑结构分析可以看出 CCYV – JSXH 与山东分离物 CC – XH 聚为一支(图 2 – A),说明

表 4 4 种 CCYV 分离物序列突变位点比较分析

片段	碱基位点	基因或 UTR	CCYV - JSXH	Beijing JQ904 628	CCYV - Rg MW76 8903	GDLJ MZ39 2420	氨基酸替换
RNA1	437	ORF1a	A	G	A	A	M - V
	445	ORF1a	T	T	T	C	Synonymous
	1 492	ORF1a	G	G	G	A	Synonymous
	1 615	ORF1a	C	C	C	T	Synonymous
	1 826	ORF1a	G	G	G	A	D - N
	1 976	ORF1a	G	A	A	A	E - K
	2 179	ORF1a	C	T	T	T	Synonymous
	2 635	ORF1a	A	A	A	G	Synonymous
	3 190	ORF1a	G	G	G	A	Synonymous
	3 637	ORF1a	A	G	G	G	Synonymous
	3 814	ORF1a	T	C	C	C	Synonymous
	5 536	ORF1a	A	A	A	G	Synonymous
	5 808	ORF1a	A	T	T	T	E - V
	6 149	ORF1b	T	T	T	C	Synonymous
	6 229	ORF1b	G	T	T	T	G - V
	6 233	ORF1b	A	G	G	G	Synonymous
	6 659	ORF1b	C	C	C	T	Synonymous
	7 475	ORF1b	A	A	A	G	Synonymous
	8 085	P22	A	A	A	G	M - I - V
	8 087	P22	G	A	A	A	M - I - V
	8 197	P22	T	T	C	T	V - A
RNA2	691	5'UTR	G	T	T	T	—
	734	5'UTR	T	G	G	G	—
	896	5'UTR	C	T	T	T	—
	902	5'UTR	G	T	T	T	—
	935	5'UTR	T	C	T	T	—
	1 180	UTR	A	T	T	T	—
	1 185	UTR	G	T	T	T	—
	1 191	UTR	C	T	T	T	—
	1 548	HSP70h	T	A	A	T	Synonymous
	2 070	HSP70h	C	C	T	C	Synonymous
	2 203	HSP70h	A	G	G	G	T - A
	3 233	P59	G	T	T	T	Synonymous
	5 016	CP	G	T	T	T	D - Y
	5 069	CP	G	A	A	A	Synonymous
	5 365	CP	A	G	G	A	K - R
	5 702	CPm	G	A	A	G	E - K
	5 818	CPm	G	T	G	G	L - F
	6 085	CPm	C	T	T	T	Synonymous
	6 200	CPm	C	G	G	C	Q - E
	6 355	CPm	T	T	T	C	Synonymous
	6 501	CPm	A	G	A	A	K - R
	6 614	CPm	T	C	T	T	Synonymous

表 4(续)

片段	碱基位点	基因或 UTR	CCYV - JSXH	Beijing JQ904 628	CCYV - Rg MW76 8903	GDLJ MZ39 2420	氨基酸替换
RNA2	7 067	CPm	G	T	T	T	V - L
	7 101	CPm	G	T	T	T	G - V
	7 514	P26	C	T	T	C	Synonymous
	7 615	P26	G	A	G	G	R - K
	7 673	P26	T	C	T	T	Synonymous
	7 756	P26	G	T	T	T	G - V
	7 780	P26	G	A	G	G	G - D
	7 851	3'UTR	A	G	A	A	—

注：—表示该位点突变的碱基由于位于非编码区域,因此不涉及氨基酸变化。Synonymous 表示同义突变。

它们之间 RNA1 亲缘关系较近。但从 RNA2 序列的系统进化树拓扑结构可以看出 CCYV - JSXH 与广东分离物 GDLJ 聚为一支(图 2 - B),表明这 2 个分离物的 RNA2 亲缘关系较近。

3 讨论与结论

CCYV 最初在 2009 年被发现,后来在世界许多国家的葫芦科作物上均有发生报道,近些年来出现越来越多的报道,2010 年该病毒在我国台湾地区被发现,而后在多个省市陆续被发现。刘放等调查发现湖南省南瓜 CCYV 检出率呈上升趋势,并且对 CCYV 分离物的 CP 基因进行选择压力和中性检测分析,结果显示,我国种群受到正向选择压力或多样化选择作用,其种群多态性较低,正处于扩张趋势,但从世界范围来看,CCYV 维持相对稳定状态^[21]。本研究团队在前期研究普查中,曾于 2019 年在山东寿光的黄瓜上发现 CCYV 感染^[29],后于 2019—2020 年在江苏 7 个地区的 7 种葫芦科作物调查中发现丰县、睢宁、南京、苏州采集的样品中出现该病毒,感染寄主有黄瓜、西瓜和甜瓜,总感染率为 6.64%^[30],这是首次在江苏省境内发现 CCYV 的侵染。2022 年在对南京市、泰州市姜堰区和另外 6 个地区进行葫芦科作物调研的过程中,又发现了该病毒的侵染,除了黄瓜和甜瓜外,丝瓜和西葫芦也检出 CCYV,本次样品 CCYV 总检出率为 18.3%。该病毒在江苏省内的传播可能也呈现逐渐扩大的趋势。

烟粉虱的流行暴发本身就会给蔬菜产业造成损失,而且烟粉虱又可以同时携带多种病毒,再加上它们食性繁杂、寄主广泛,这就给相关病毒的扩

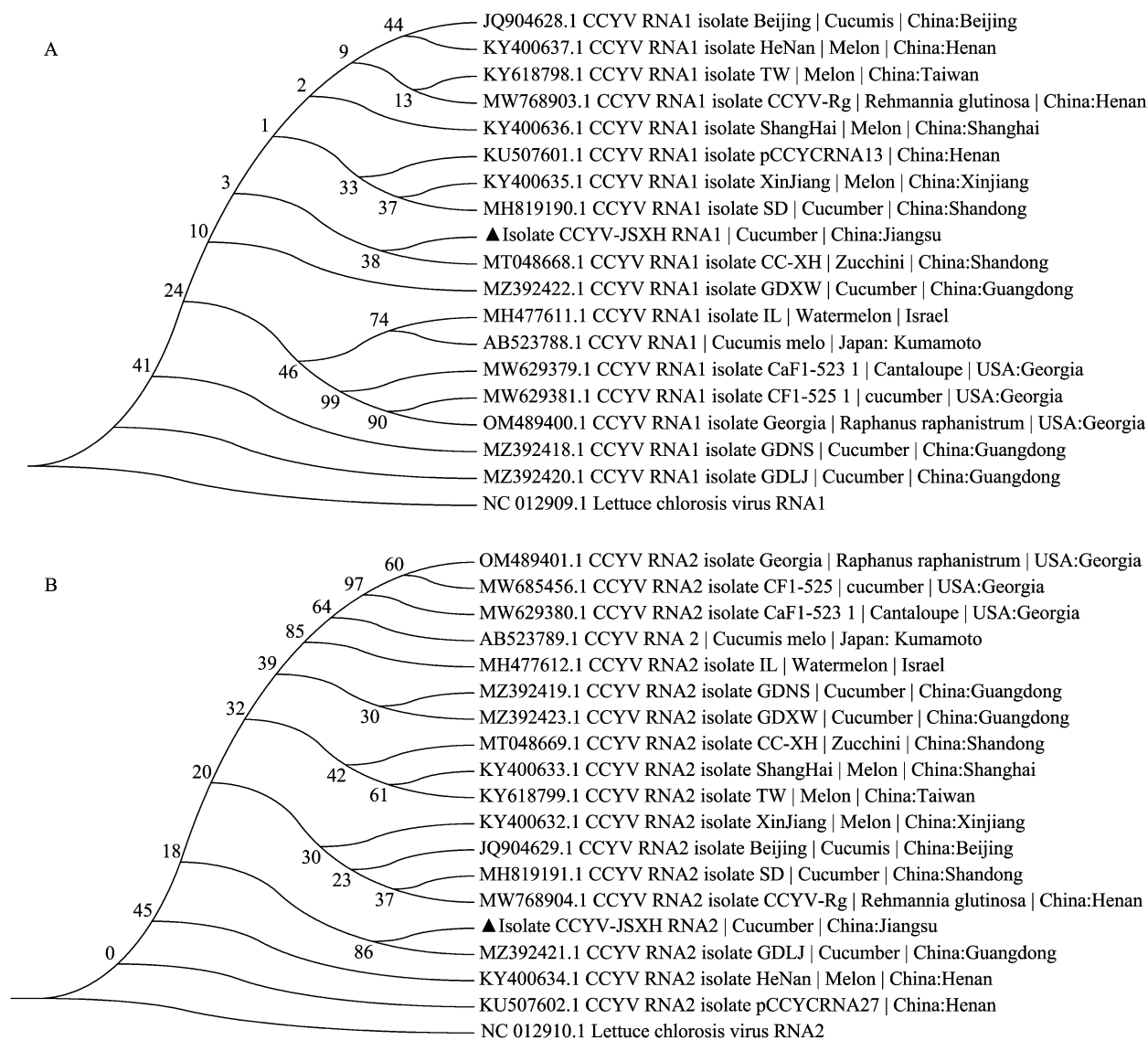


图2 利用邻接法对 CCYV 不同分离物的 RNA1(A)和 RNA2(B)序列构建系统进化树

展蔓延提供了很多机会^[31]。走访调查发现该病毒病的暴发时间与烟粉虱的暴发时间相吻合,条件适宜的温室环境下随时可能暴发;而露地作物在 8—10 月期间也有可能集中暴发。不仅烟粉虱向周边地区的扩散会造成病毒的蔓延,蔬菜作物和种子的贸易往来等也会造成病毒长距离的传播^[32]。图 2 为分别基于 NCBI 中不同 CCYV 分离物的 RNA1 和 RNA2 全序列分析构建的系统进化树,该类型的进化树是很多次 Bootstrap 得到的平均结果。从图 2 可以看出,无论是 RNA1 还是 RNA2,来自国外的分离物(美国分离物、日本分离物和以色列分离物)都聚在一个大分支上,这说明 CCYV 的进化具有一定的地域性。在国内分离物中,江苏分离物 JSXH 的 RNA1 与山东分离物 CC-XH 亲缘关系最近,但是

其 RNA2 却与广东分离物 GDLJ 亲缘关系最近,这可能意味着该病毒通过多种途径传入江苏,并在不同毒株之间发生了复制重组。

实验室条件下发现该病毒能感染 19 种葫芦科作物,本研究在葫芦科作物集中生产地采集的黄瓜、甜瓜、丝瓜和西葫芦上均发现了该病毒,这说明该病毒在自然状态下确实可以感染多种作物导致生产问题。目前已有报道该病毒在自然情况下感染西甜瓜、西葫芦、黄瓜等多种葫芦科作物,其中 CCYV 感染丝瓜还未有详细报道。因此该病毒是葫芦科作物生产中的巨大威胁。还有研究报道其能感染 13 种杂草,这更加大了该病毒的防控难度,在生产中不仅要注意作物本身的防控还要注意田边杂草的管理。此外,相似度和系统进化分析发现来

源于同一寄主的分离物并没有聚在一起(图 2),表明该病毒的进化不受寄主的影响。

参考文献:

- [1] Okuda M, Okazaki S, Yamasaki S, et al. Host range and complete genome sequence of cucurbit chlorotic yellows virus, a new member of the genus *Crinivirus* [J]. *Phytopathology*, 2010, 100 (6): 560 – 566.
- [2] Hamed K, Menzel W, Dafalla G, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus infecting muskmelon and cucumber in Sudan [J]. *Plant Disease*, 2011, 95(10): 1321.
- [3] Abrahamian P E, Sobh H, Abou – Jawdah Y. First report of cucurbit chlorotic yellows virus on cucumber in Lebanon [J]. *Plant Disease*, 2012, 96(11): 1704.
- [4] Bananej K, Menzel W, Kianfar N, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus Infecting cucumber, melon, and squash in Iran [J]. *Plant Disease*, 2013, 97(7): 1005.
- [5] Orfanidou C, Maliogka V I, Katis N I. First report of cucurbit chlorotic yellows virus in cucumber, melon, and watermelon in Greece [J]. *Plant Disease*, 2014, 98(10): 1446.
- [6] Orfanidou C G, Cara M, Mercuri J, et al. First report of cucurbit aphid – borne yellows virus in cucumber in Albania [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2023, 105(1): 367 – 368.
- [7] Al – Saleh M A, Al – Shahwan I M, Amer M A, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus in cucumber in Saudi Arabia [J]. *Plant Disease*, 2015, 99(5): 734.
- [8] Orfanidou C G, Papayiannis L C, Pappi P G, et al. Criniviruses associated with cucurbit yellows disease in Greece and Cyprus: an ever – changing scene [J]. *Plant Pathology*, 2019, 68 (4): 764 – 774.
- [9] Luria N, Smith E, Sela N, et al. Insights into a watermelon virome contribute to monitoring distribution of whitefly – borne viruses [J]. *Phytobiomes Journal*, 2019, 3(1): 61 – 70.
- [10] Jailani A K, Iriarte F, Hochmuth R, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus affecting watermelon in USA [J]. *Plant Disease*, 2021, 106(2): 774.
- [11] Kheireddine A, Súz C, Sifres A, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus infecting cucumber and zucchini in Algeria [J]. *Plant Disease*, 2020, 104(4): 1264.
- [12] Chynoweth R, Jimenez D, Liberti D, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus infecting cucumber plants in Spain [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(8): 2258.
- [13] Kwak H R, Byun H S, Choi H S, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus infecting cucumber in South Korea [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(6): 1862.
- [14] Kumar A, Rout B M, Choudhary S, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus infecting pumpkin in India [J]. *Plant Disease*, 2022, 106(6): 1767.
- [15] Huang L H, Tseng H H, Li J T, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus infecting cucurbits in Taiwan [J]. *Plant Disease*, 2010, 94(9): 1168.
- [16] Gu Q S, Liu Y H, Wang Y H, et al. First report of cucurbit chlorotic yellows virus in cucumber, melon, and watermelon in China [J]. *Plant Disease*, 2011, 95(1): 73.
- [17] 孙晓辉, 赵 静, 代惠洁, 等. 瓜类褪绿黄化病毒在山东省的流行调查及西葫芦分离物全基因组扩增与序列分析 [J]. *植物病理学报*, 2023, 53(3): 375 – 385.
- [18] 臧连毅, 孙晓辉, 苏文敏, 等. 瓜类褪绿黄化病毒山东分离物全基因组序列扩增及分析 [J]. *植物保护学报*, 2019, 46(6): 1195 – 1202.
- [19] 刘珊珊, 彭 斌, 吴会杰, 等. 海南省和河南省发生甜瓜褪绿黄化病的分子鉴定 [J]. *果树学报*, 2013, 30(2): 291 – 293.
- [20] 唐 鑫, 张德咏, 李 凡, 等. 瓜类褪绿黄化病毒 (cucurbit chlorotic yellows virus) 在湖南省的首次报道及其流行动态研究 [J]. *植物病理学报*, 2017, 47(4): 573 – 576.
- [21] 刘 放, 刘 勇, 张德咏, 等. 瓜类褪绿黄化病毒自然侵染南瓜及分子进化分析 [J]. *植物病理学报*, 2021, 51(1): 1 – 10.
- [22] 杨世安, 李战彪, 秦碧霞, 等. 广西三种甜瓜病毒分离物的分子检测与鉴定 [J]. *植物保护*, 2017, 43(3): 83 – 89, 102.
- [23] 彭 斌, 刘莉铭, 刘珊珊, 等. 瓜类褪绿黄化病毒新疆分离物基因组分析 [J]. *植物病理学报*, 2017, 47(6): 730 – 737.
- [24] 潘卫萍, 张以和, 吉艳玲. 吐鲁番首次发生甜瓜褪绿黄化病毒病 [J]. *蔬菜*, 2017(2): 60 – 61.
- [25] 韦建明, 岳宁波, 李云洲. 贵州首次报道瓜类褪绿黄化病毒侵染山药 [J]. *植物病理学报*, 2023, 53(3): 550 – 552.
- [26] 庄新建, 郭 泉, 丁诗文, 等. 河南温县地黄上瓜类褪绿黄化病毒的鉴定及其 CP 序列分析 [J]. *植物病理学报*, 2022, 52(2): 296 – 300.
- [27] 古勤生, 彭 斌, 刘珊珊, 等. 瓜类新病毒病害 (一): 瓜类褪绿黄化病 [J]. *中国瓜菜*, 2011, 24(3): 32 – 33, 71.
- [28] 干射香. CCYV 山东黄瓜分离物基因组结构特征及致病相关蛋白研究 [D]. 荆州: 长江大学, 2021.
- [29] 干射香, 涂丽琴, 吴淑华, 等. 山东寿光黄瓜上瓜类褪绿黄化病毒的分子鉴定 [J]. *江苏农业学报*, 2019, 35(5): 1047 – 1053.
- [30] 杨 柳, 况佳颖, 任春梅, 等. 江苏省主要葫芦科作物病毒种类及分布 [J]. *江苏农业学报*, 2022, 38(1): 65 – 72.
- [31] Legg J P, Shirima R, Tajebe L S, et al. Biology and management of *Bemisia* whitefly vectors of cassava virus pandemics in Africa [J]. *Pest Management Science*, 2014, 70(10): 1446 – 1453.
- [32] Dinsdale A, Cook L, Riginos C, et al. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 2010, 103(2): 196 – 208.