

崔丽艳, 杨佼丽, 柳建丽, 等. 大豆花叶病毒山西半夏分离物全基因组序列分析[J]. 山西农业科学, 2025, 53(4): 109-120.

CUI L Y, YANG J L, LIU J L, et al. Analysis of the complete genome sequence of soybean mosaic virus shanxi *Pinellia ternata* isolate[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(4): 109-120.

doi:10.26942/j.cnki.issn.1002-2481.2025.04.13

## 大豆花叶病毒山西半夏分离物全基因组序列分析

崔丽艳<sup>1</sup>, 杨佼丽<sup>1</sup>, 柳建丽<sup>2</sup>, 侯 钊<sup>3</sup>, 郭成英<sup>1</sup>, 王德富<sup>1</sup>, 牛颜冰<sup>1</sup>

(1. 山西农业大学 生命科学学院, 山西 晋中 030801; 2. 晋城市现代农业发展中心, 山西 晋城 048000;  
3. 陵川县中药材产业发展中心, 山西 陵川 048300)

**摘 要:**大豆花叶病毒(SMV)在大豆生产中会造成产量和品质的严重下降, 具有传播广泛和致病性强的特点, 但宿主范围相对较窄, 以豆科植物为主。近年来研究却表明, SMV 能够跨科侵染天南星科植物半夏(*Pinellia ternata*)。为明确侵染山西半夏的大豆花叶病毒分离物(SMV-SXBX)的基因组特征, 采用生物信息学软件对侵染山西半夏的 SMV-SXBX 进行了序列相似性分析、系统进化分析、氨基酸功能位点分析和重组分析。序列相似性分析结果表明, SMV-SXBX 与 SMV-Hangzhou 分离物(GenBank 登录号: AJ507388.2)的相似性最高, 核苷酸序列相似性为 92.09%, 氨基酸序列相似性为 95.91%; 系统进化分析结果显示, SMV-SXBX 与 SMV-Hangzhou 分离物聚为一簇, 亲缘关系最近。在 SMV-SXBX 基因组中, P1 蛋白的序列差异性最大, 核苷酸和氨基酸序列差异性分别为 34.93% 和 36.28%。突变与氨基酸功能分析结果表明, SMV-SXBX 氨基酸序列中存在多个氨基酸突变位点; 重组分析结果表明, SMV-SXBX 在 3 056—6 895 bp 处有重组事件的发生, 主要亲本为 SMV-HZ1 分离物(GenBank 登录号: AJ628750.1), 次要亲本为 SMV-XFQ008 分离物(GenBank 登录号: KP710873.1)。综上所述, 明确了 SMV-SXBX 的基因组特征, 其发生的氨基酸突变及基因重组可能是导致大豆花叶病毒跨科侵染半夏的原因之一。

**关键词:**大豆花叶病毒; 半夏; 全序列分析; 系统进化分析; 氨基酸功能位点分析; 重组分析

**中图分类号:** S435.67 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2481(2025)04-0109-12

### Analysis of the Complete Genome Sequence of Soybean Mosaic Virus Shanxi *Pinellia ternata* Isolate

CUI Liyan<sup>1</sup>, YANG Jiaoli<sup>1</sup>, LIU Jianli<sup>2</sup>, HOU Yue<sup>3</sup>,  
GUO Chengying<sup>1</sup>, WANG Defu<sup>1</sup>, NIU Yanbing<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, China;

2. Jincheng Modern Agricultural Development Center, Jincheng 048000, China;

3. Lingchuan County Chinese Herbal Medicine Industry Development Center, Lingchuan 048300, China)

**Abstract:** Soybean mosaic virus(SMV) can cause a serious decline in yield and quality in soybean production. It has the characteristics of wide spread and strong pathogenicity, but the host range is relatively narrow, mainly legumes. In recent years, studies have shown that SMV can cross-family infect *Pinellia ternata*. In order to clarify the genomic characteristics of soybean mosaic virus isolate infecting *P. ternata* in Shanxi province(SMV-SXBX), in this study, bioinformatics software was used to analyze the sequence similarity, phylogenetic analysis, amino acid functional site analysis, and recombination analysis of SMV-SXBX. Sequence similarity analysis showed that SMV-SXBX had the highest similarity with SMV-Hangzhou isolate (GenBank accession number: AJ507388.2), and the nucleotide sequence similarity was 92.09%, the amino acid sequence similarity was 95.91%. Phylogenetic analysis also showed that SMV-SXBX and SMV-Hangzhou isolates were clustered together and had the closest genetic relationship. In the SMV-SXBX genome, the sequence difference of P1 protein was the

收稿日期: 2024-10-16

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系(CARS-21)

作者简介: 崔丽艳, 讲师, 主要从事中药资源与开发研究, E-mail: cui liyan20191059@163.com

通信作者: 牛颜冰, 教授, 博士, 主要从事中药材生态栽培研究, E-mail: niu yanbingbest@163.com

largest, and the nucleotide and amino acid sequence differences were 34.93% and 36.28%, respectively. Mutation and amino acid function analysis showed that there were multiple amino acid mutation sites in the SMV-SXBX amino acid sequence. Recombination analysis showed that SMV-SXBX had a recombination event at 3 056-6 895 bp. The major parent was SMV-HZ1 isolate(GenBank accession number: AJ628750.1), and the minor parent was SMV-XFQ008 isolate(GenBank accession number: KP710873.1). In summary, the results clarified the genomic characteristics of SMV-SXBX, and the amino acid mutations and gene recombination may be the reason why SMV-SXBS can cross-family infect *P. ternata*.

**Keywords:** soybean mosaic virus; *Pinellia ternata*; full sequence analysis; system evolution analysis; analysis of amino acid functional sites; recombination analysis

药材半夏为天南星科半夏属植物半夏(*Pinellia ternata*(Thunb.)Breit.)的干燥块茎,在我国各地均有分布,主产区位于我国长江流域的四川、湖南、河南、贵州、安徽等省<sup>[1]</sup>。其属于耐阴不喜阳植物,在适度的遮光条件下生长茂盛,但光照过强时难以生存。半夏的生长对温度有极高的要求,温度过低或者过高都容易引发倒苗问题,在温度低于 10℃时抑制生长,高于 30℃时也会使其生长不良,最适生长温度为 15~25℃。此外,半夏根系较浅,生长在海拔 2 500 m 以下的潮湿、温暖、隐蔽和疏松的砂壤土中,而且喜阴喜湿,土壤最适含水量为 15%~30%,过早易倒苗枯死,过湿易烂根生病<sup>[2]</sup>。半夏既可以进行有性繁殖,也可以进行无性繁殖,其中,有性繁殖以种子为主,无性繁殖以块茎和珠芽为主<sup>[3-4]</sup>。半夏作为一味大宗药材,具有广泛的临床应用价值,不仅可以治疗梅核气症、痰多咳喘、胸脘痞闷、呕吐反胃、痰厥头痛、风痰眩晕、痰饮眩悸等多种疾病,也应用在多种经典方剂中,如半夏厚朴汤、半夏泻心汤、桑白皮汤、越婢加半夏汤等<sup>[5]</sup>。半夏的现代药理学研究表明,其含有的生物碱等多种活性成分,具有镇咳化痰、平喘、止呕、降压、降脂等作用<sup>[6-7]</sup>。除此之外,根据不同的病情和症状,可通过特定的炮制方法或与其他药物搭配发挥独特疗效,具有很好的开发前景。

目前,随着市场需求及临床用药量的不断增长,野生半夏被无节制采挖,导致其生长环境逐渐恶化,大幅减产。为了满足市场对半夏的需求,开始进行大面积的无性繁殖,然而无性繁殖却导致了诸多问题的出现,比如病毒病、块茎腐烂病、疫病等病害<sup>[8-9]</sup>,造成半夏品质退化<sup>[10]</sup>,对其产量和品质影响较大。其中,病毒病害对半夏造成的损失最为严重,同时也最难防治。山西农业大学中药材旱作栽培与综合开发利用团队前期研究发现,侵染半夏的病毒病原有黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus, CMV)、芋花叶病毒(Dasheen mosaic

virus, DsMV)、魔芋花叶病毒(Konjac mosaic virus, KoMV)、烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)、大豆花叶病毒(Soybean mosaic virus, SMV)等,且已经克隆得到了侵染山西半夏 SMV 的全基因组序列<sup>[11]</sup>。

SMV 为马铃薯 Y 病毒科中的马铃薯 Y 病毒属(*Potyvirus*)成员,宿主范围相对较窄,主要以大豆、蚕豆、豌豆、四季豆等豆科植物为主<sup>[12-14]</sup>。但中药材旱作栽培与综合开发利用团队前期研究发现,SMV 还可以跨科侵染天南星科植物半夏<sup>[11]</sup>和菊科植物白术<sup>[15]</sup>,不过其实现跨科侵染的机制还不清楚。

本研究利用生物信息学手段对侵染山西半夏的大豆花叶病毒全基因组序列进行分析,以期能够发现与病毒致病性相关的关键基因或位点,为揭示 SMV 跨科侵染半夏的分子机制奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

山西半夏大豆花叶病毒分离物(SMV-SXBX)的核苷酸和氨基酸序列为山西农业大学中药材旱作栽培与综合开发利用课题组前期在山西调研过程中发现并分离、测序所得<sup>[11]</sup>。106 株 SMV 分离物的核苷酸及氨基酸序列来自美国国家生物信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)。

### 1.2 试验方法

1.2.1 SMV-SXBX 分离物序列的相似性与差异性分析 利用生物信息学软件 DNAMAN 将 SMV-SXBX 序列与 NCBI 中的 106 条 SMV 分离物序列进行核苷酸和氨基酸序列同源性分析。

1.2.2 SMV-SXBX 分离物序列系统进化分析 利用 MEGA 7.0 软件对 SMV-SXBX 序列与 106 条 SMV 分离物序列以最大似然值法(Maximum Likelihood, ML)进行系统进化分析,并构建系统

进化树。

1.2.3 SMV-SXBX 分离物突变与氨基酸功能分析 利用在线软件 Network Protein Sequence (<http://npsa-pbil.ibcp.fr>)对 SMV-SXBX 氨基酸序列进行功能位点分析。

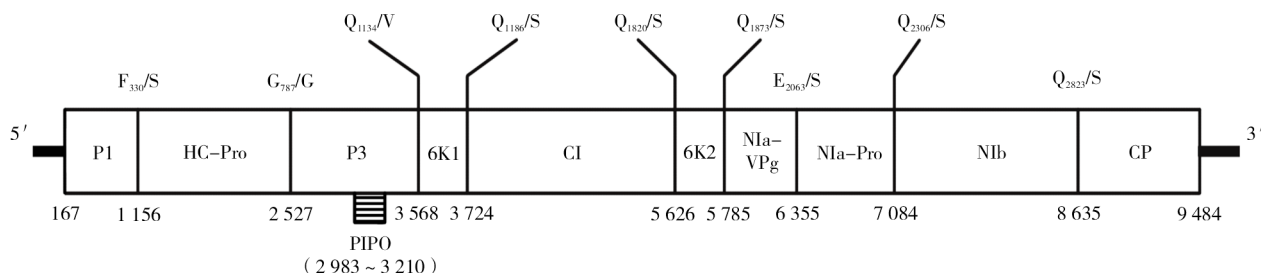
1.2.4 SMV-SXBX 分离物基因重组分析 利用生物信息学软件 RDP4 中的 RDP、GENENCONY、BootScan、MaxChi、Chimaera、SiScan 和 3SEQ 共 7 种方法对包括 SMV-SXBX 在内的 107 株 SMV 分离物核苷酸序列进行重组分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 SMV-SXBX 基因组结构

SMV-SXBX 基因组结构如图 1 所示<sup>[11]</sup>,由 9 735 个核苷酸组成(登录号为 MT712111),是

典型的 *Potyvirus* 属成员,与其他报道的 SMV 一致,具有一个大的开放阅读框(ORF),编码一个由 3 105 个氨基酸组成的多蛋白,预测分子质量为 354.7 ku。ORF 从 167 bp 开始,在 9 482—9 484 bp 位置以终止密码子结束,共编码 11 个蛋白质,分别是 P1、HC-Pro、P3、P3N-PIPO(位于 P3 阅读框内部)、6K1、CI、6K2、NIa-VPg、NIa-Pro、Nib、CP,各蛋白的预测切割位点分别为:IVQF<sub>330</sub>/S(PI/HC-Pro)、YRVG<sub>787</sub>/G(HC-Pro/P3)、VSVQ<sub>1134</sub>/V(P3/6K1)、VKVQ<sub>1186</sub>/S(6K1/CI)、VQLQ<sub>1820</sub>/S(CI/6K2)、VTTQ<sub>1873</sub>/G(6K2/NIa-VPg)、VEVE<sub>2063</sub>/S(NIa-VPg/NIa-Pro)、VAVQ<sub>2306</sub>/S(NIa-Pro/Nib)和 VSLQ<sub>2823</sub>/S(Nib/CP),5' 和 3'UTR 分别由 166、252 bp 组成。



方框下方的数字和方框上方的大写字母分别表示多蛋白加工成 10 种成熟功能蛋白的预测切割位点的核苷酸和氨基酸位置

Numbers under the boxes and capital letters above the boxes indicated nucleotide and amino-acid positions, respectively, for predicted cleavage sites for polyprotein processed into 10 mature functional proteins

图 1 SMV-SXBX 基因组结构

Fig.1 Genome structure of SMV-SXBX

### 2.2 序列同源性分析

为了比较 SMV-SXBX 与其他已知 SMV 分离物的差异,将 SMV-SXBX 与其他 106 株已知 SMV 分离物的核苷酸和氨基酸序列进行同源性分析,结果如表 1 所示,核苷酸序列相似性为 73.84%~

92.09%,氨基酸序列相似性为 79.27%~95.91%;其中,与 SMV-SXBX 序列相似性最高的是 SMV- Hangzhou 分离物(GenBank number: AJ507388.2),核苷酸序列相似性为 92.09%,氨基酸序列相似性为 95.91%。

表 1 SMV-SXBX 与其他 106 株 SMV 分离物的核苷酸和氨基酸序列同源性比较分析

Tab.1 Comparison analysis of nucleotide and amino acid sequence homology of SMV-SXBX and other 106 SMV isolates

株系或分离物 Strain of isolate	GenBank 登陆号 GenBank accession number	国家 Country	寄主 Host	核苷酸序列同源性/% Homology of nucleotide sequence	氨基酸序列同源性/% Homology of amino acid sequence
Aa	AB100442.1	China	<i>Atractylodes macrocephala</i>	76.13	82.61
Aa15-M2	AB100443.1	Japan	Soybean	76.14	82.54
G7	AF241739.1	USA	Soybean	76.01	82.29
SAAS	AJ310200.1	China	Soybean	76.26	82.45
Hangzhou	AJ312439.1	China	Soybean	76.27	82.49
Hangzhou	AJ507388.2	China	Soybean	92.09	95.91

续表 1 SMV-SXBX 与其他 106 株 SMV 分离物的核苷酸和氨基酸序列同源性比较分析  
 Tab.1(Continued) Comparison analysis of nucleotide and amino acid sequence homology of  
 SMV-SXBX and other 106 SMV isolates

株系或分离物 Strain of isolate	GenBank 登陆号 GenBank accession number	国家 Country	寄主 Host	核苷酸序列同源性/% Homology of nucleotide sequence	氨基酸序列同源性/% Homology of amino acid sequence
CN18	AJ619757.1	South Korea	Soybean	75.61	81.00
HZ1	AJ628750.1	China	<i>P. ternata</i>	83.67	91.43
G7	AY216010.1	USA	Soybean	76.03	82.58
G7d	AY216987.1	USA	Soybean	76.01	82.58
G5	AY294044.1	South Korea	Soybean	76.28	82.42
G7H	AY294045.1	South Korea	Soybean	76.25	82.32
N	D00507.2	USA	Soybean	76.12	82.51
L	EU871724.1	Canada	Soybean	76.17	82.71
L-RB	EU871725.1	Canada	Soybean	76.14	82.71
G5H	FJ376388.1	South Korea	Soybean	76.24	82.58
WS200	FJ548849.1	South Korea	Soybean	76.05	82.48
WS32	FJ640954.1	South Korea	Soybean	76.22	82.71
WS37	FJ640955.1	South Korea	Soybean	76.03	82.58
WS84	FJ640956.1	South Korea	Soybean	76.38	82.71
WS101	FJ640957.1	South Korea	Soybean	76.36	82.64
WS105	FJ640958.1	South Korea	Soybean	76.31	82.67
WS109	FJ640959.1	South Korea	Soybean	76.12	82.54
WS110	FJ640960.1	South Korea	Soybean	76.30	82.58
WS116	FJ640961.1	South Korea	Soybean	76.29	82.67
WS117	FJ640962.1	South Korea	Soybean	76.60	82.64
WS128	FJ640963.1	South Korea	Soybean	76.13	82.45
WS132	FJ640964.1	South Korea	Soybean	76.26	82.61
WS135	FJ640965.1	South Korea	Soybean	76.23	82.54
WS144	FJ640966.1	South Korea	Soybean	76.11	82.54
WS145	FJ640967.1	South Korea	Soybean	76.02	82.42
WS149	FJ640968.1	South Korea	Soybean	76.13	82.51
WS151	FJ640969.1	South Korea	Soybean	76.24	82.61
WS155	FJ640970.1	South Korea	Soybean	76.24	82.61
WS156	FJ640971.1	South Korea	Soybean	76.32	82.54
WS160	FJ640972.1	South Korea	Soybean	76.10	82.58
WS162	FJ640973.1	South Korea	Soybean	76.06	82.80
WS202	FJ640974.1	South Korea	Soybean	76.11	82.58
WS205	FJ640975.1	South Korea	Soybean	76.10	82.48
WS209	FJ640976.1	South Korea	Soybean	76.08	82.51
G1	FJ640977.1	South Korea	Soybean	75.96	82.42
G3	FJ640978.1	South Korea	Soybean	75.99	82.61
G4	FJ640979.1	South Korea	Soybean	76.18	82.61
G6	FJ640980.1	South Korea	Soybean	76.48	82.65
G6H	FJ640981.1	South Korea	Soybean	76.37	82.61
G7A	FJ640982.1	South Korea	Soybean	76.00	82.58
G7H	FJ807700.1	South Korea	Soybean	76.23	82.54

续表1 SMV-SXBX与其他106株SMV分离物的核苷酸和氨基酸序列同源性比较分析  
 Tab.1(Continued) Comparison analysis of nucleotide and amino acid sequence homology of  
 SMV-SXBX and other 106 SMV isolates

株系或分离物 Strain of isolate	GenBank 登陆号 GenBank accession number	国家 Country	寄主 Host	核苷酸序列同源性/% Homology of nucleotide sequence	氨基酸序列同源性/% Homology of amino acid sequence
G5H	FJ807701.1	South Korea	Soybean	76.30	82.58
413	GU015011.1	USA	Soybean	76.19	82.51
Sc6	HM590054.1	China	Soybean	76.47	82.84
NP-C-L	HQ166265.1	Canada	Soybean	75.88	82.67
NP-L	HQ166266.1	Canada	Soybean	75.91	82.64
4547/CHN/2004	HQ396725.1	China	Soybean	74.21	79.58
TNP	HQ845735.1	USA	Soybean	76.08	82.61
KY	HQ845736.1	USA	Soybean	76.37	82.71
SC3	JF833013.1	China	Soybean	76.49	82.58
6202-2	JF833014.1	China	Soybean	75.99	82.32
6067-1	JF833015.1	China	Soybean	75.93	82.06
Rsv4-RB3	JN416770.1	Canada	Soybean	75.91	82.58
SX	KC845321.1	China	Soybean	75.99	82.25
Am	KC845322.1	China	<i>Atractylodes macrocephala</i>	74.00	79.86
Ar13	KF135488.1	Iran	Soybean	76.24	82.64
Ar33	KF135489.1	Iran	Soybean	76.39	82.67
Lo3	KF135490.1	Iran	Soybean	76.36	82.67
Go11	KF135491.1	Iran	Soybean	76.16	82.58
Ar33	KF297335.1	Iran	Soybean	76.40	82.67
NN	KF982784.1	China	<i>Pinellia pedatisecta</i>	84.62	92.46
India	KM979229.1	India	Soybean	76.10	82.64
BYX006	KP710861.1	China	Soybean	74.05	79.64
HGT005	KP710862.1	China	Soybean	73.84	79.78
HGT008	KP710863.1	China	Soybean	73.87	79.84
HGT009	KP710864.1	China	Soybean	73.89	79.84
LJZ002	KP710865.1	China	Soybean	74.13	79.33
LJZ010	KP710866.1	China	Soybean	74.02	79.45
SC6-N	KP710867.1	China	Soybean	76.54	82.84
SC7-N	KP710868.1	China	Soybean	74.00	78.80
NE-N1	KP710869.1	China	Soybean	76.39	82.83
SX-Z	KP710870.1	China	Soybean	76.33	82.71
XFQ001	KP710871.1	China	Soybean	75.87	82.74
XFQ005	KP710872.1	China	Soybean	76.37	82.51
XFQ008	KP710873.1	China	Soybean	76.40	82.48
XFQ010	KP710874.1	China	Soybean	76.33	82.74
XFQ012	KP710875.1	China	Soybean	76.40	82.54
XFQ014	KP710876.1	China	Soybean	76.38	82.74
XFQ018	KP710877.1	China	Soybean	76.27	82.61
XFQ020	KP710878.1	China	Soybean	76.36	82.90
HB-RS	KR065437.1	China	Soybean	74.07	78.96
4278-1	KT285170.1	China	Soybean	74.00	79.49

续表 1 SMV-SXBX 与其他 106 株 SMV 分离物的核苷酸和氨基酸序列同源性比较分析  
 Tab.1(Continued) Comparison analysis of nucleotide and amino acid sequence homology of  
 SMV-SXBX and other 106 SMV isolates

株系或分离物 Strain of isolate	GenBank 登陆号 GenBank accession number	国家 Country	寄主 Host	核苷酸序列同源性/% Homology of nucleotide sequence	氨基酸序列同源性/% Homology of amino acid sequence
China	KX096578.1	China	Soybean	75.75	82.77
FJTN001	KX834319.1	China	Soybean	74.38	79.61
SC001	KX834320.1	China	Soybean	74.54	79.27
JSJJ001	KX834321.1	China	Soybean	74.39	79.52
GXQZ001	KX834322.1	China	Soybean	74.72	79.27
HLJSB001	KX834323.1	China	Soybean	76.04	82.71
HLJBADS001	KX834324.1	China	Soybean	75.93	82.80
HLJHLQF001	KX834325.1	China	Soybean	76.01	82.67
Gulupa	KY249378.1	Colombia	<i>Passiflora edulis</i> f. <i>edulis</i>	76.37	82.29
CC2515	KY986929.1	South Korea	<i>Vigna angularis</i>	76.67	82.54
SV-15	LC323107.1	Japan	Soybean	75.93	82.64
pCB301-SC3	MH919384.1	China	Soybean	76.49	82.74
pCB301-SC7	MH919385.1	China	Soybean	73.97	79.52
pCB301-SC15	MH919386.1	China	Soybean	75.95	82.32
Liaoning	MK350280.1	China	Soybean	76.35	82.51
SMV/BSB1	MN124783.1	Brazil	<i>Passiflora</i> sp.	75.69	82.53
N	NC_002634.1	USA	Soybean	76.12	82.51
G2	S42280.1	USA	Soybean	76.05	82.06

从表 2 可以看出,包括 SMV-SXBX 在内的 107 条 SMV 序列的 P1、HC-Pro、P3、6K1、CI、6K2、NIa-VPg、NIa-Pro、NIb 和 CP 蛋白的核苷酸序列差异分别为 34.93%、4.56%、4.25%、3.71%、4.31%、3.79%、4.52%、3.71%、4.06% 和 9.63%,氨基酸序列差异分别为 36.28%、2.17%、2.93%、1.62%、1.40%、0.79%、1.05%、0.59%、1.47% 和 6.94%,表明序列差异最大的蛋白为 P1 蛋白。

表 2 SMV-SXBX 基因组序列与其他 SMV 分离物差异性分析  
 Tab.2 Divergence analysis of genome sequence of SMV-SXBX and other SMV isolates %

序列 Sequence	P1	HC-Pro	P3	6K1	CI	6K2	NIa-VPg	NIa-Pro	NIb	CP
核苷酸 Nucleotide	34.93	4.56	4.25	3.71	4.31	3.79	4.52	3.71	4.06	9.63
氨基酸 Amino acid	36.28	2.17	2.93	1.62	1.40	0.79	1.05	0.59	1.47	6.94

### 2.3 系统进化分析

为明确 SMV-SXBX 和其他 SMV 分离物之间的进化关系,以最大似然法自展值 1 000(Bootstrap=1 000)构建核苷酸序列系统发育树,结果如图 2 所示,SMV-SXBX 与 SMV-Hangzhou 分离物聚为一簇,亲缘关系最近,与相似性分析结果一致。

### 2.4 突变与氨基酸功能分析

包括 SMV-SXBX 在内的 107 株 SMV 分离物的氨基酸序列比对结果表明,P1、HC-Pro、CI、6K2、NIa-VPg 和 NIa-Pro 中一些特定的氨基酸位

点发生了变化,这些氨基酸位点的变化直接导致相应蛋白功能位点的变化(表 3)。经 Proscan 检测发现,一些特定的氨基酸残基与相应功能有关,例如,HC-Pro 蛋白中的 K<sub>126</sub>/T 突变和 CI 蛋白中的 P<sub>485</sub>/S 突变改变了相应蛋白的 N-糖基化位点;P3 蛋白中的 A<sub>182</sub>/T 和 CP 蛋白中的 S<sub>18</sub>/N 突变改变了 cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶磷酸化位点;6K2 蛋白中的 H<sub>3</sub>/Y 突变和 NIa-VPg 蛋白中的 S<sub>178</sub>/A 突变改变了酪蛋白激酶 II 磷酸化位点;NIa-Pro 蛋白的 S<sub>39</sub>/A 和 CP 蛋白的 S<sub>256</sub>/A 突变改变了相应蛋白的 N-酰基化位点。

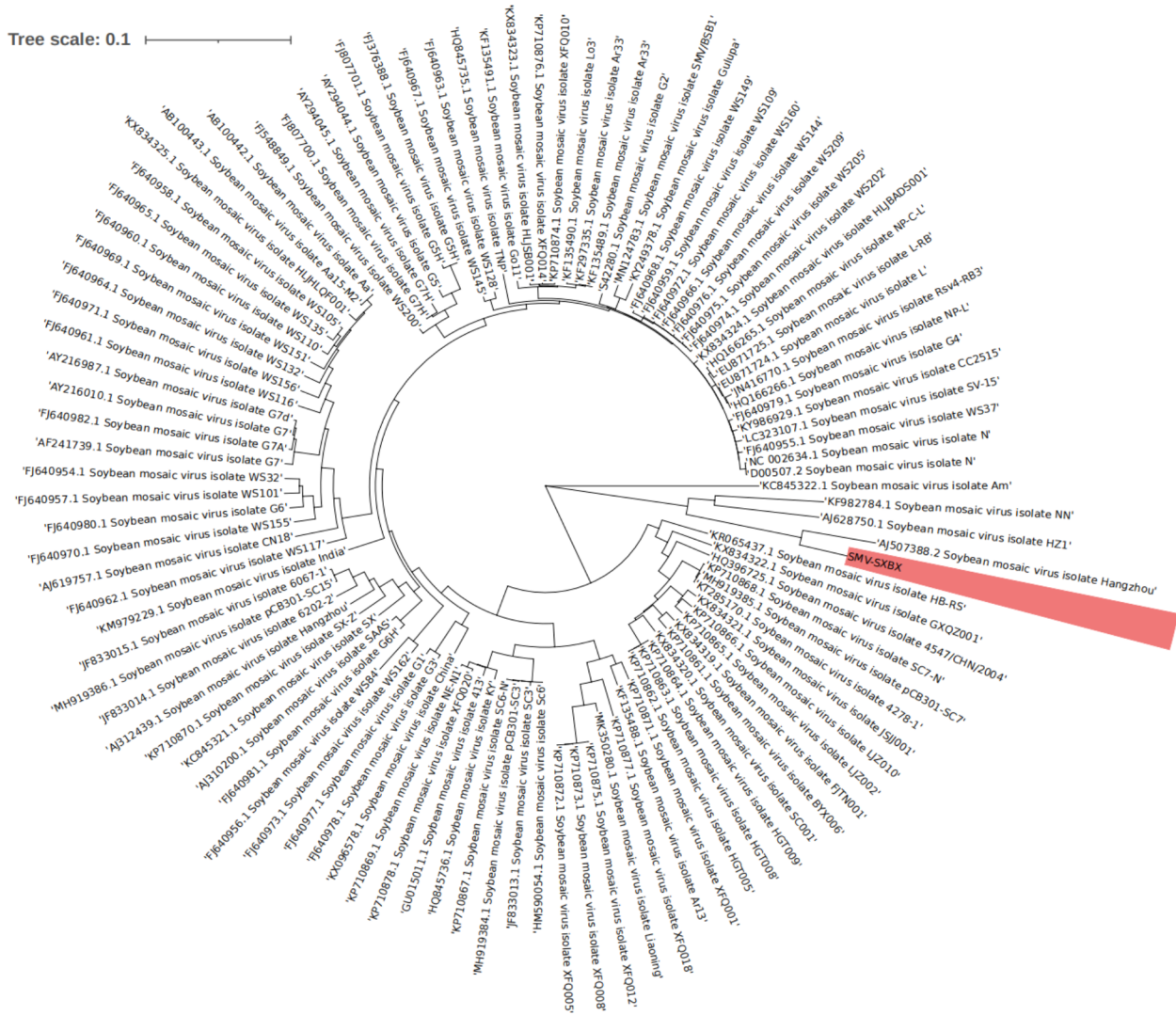


图2 SMV-SXBX和106株SMV分离物的系统进化分析

Fig.2 Phylogenetic tree analysis of SMV-SXBX and 106 SMV isolates

表3 SMV-SXBX基因组突变及氨基酸功能分析

Tab.3 Mutation and amino acid functional analysis of SMV-SXBX genome

蛋白 Protein	功能位点 Functional site	位置/aa Position	序列 Sequence
P1	N-糖基化位点	251—254	NSTV
		299—302	NSSF
	蛋白激酶C磷酸化位点	16—18	SAK
		107—109	SWR
		156—158	TKR
	酪蛋白激酶II磷酸化位点	192—195	SQIE
		207—210	TKIE
		33—38	GIRGAT
	N-酰基化位点	36—41	GATITT
		63—66	YGRR
N-酰胺化位点	102—105	RGRK	
	212—215	IGKK	
HC-Pro	N-糖基化位点	124—127	NYTS

续表 3 SMV-SXBX 基因组突变及氨基酸功能分析  
**Tab.3(Continued) Mutation and amino acid functional analysis of SMV-SXBX genome**

蛋白 Protein	功能位点 Functional site	位置/aa Position	序列 Sequence
P3	蛋白激酶 C 磷酸化位点	332—334	SDR
	酪氨酸激酶磷酸化位点	143—148	GSSVTQ
	cAMP-和 cGMP-依赖性蛋白激酶磷酸化位点	179—182	KRFT
	酪蛋白激酶 II 磷酸化位点	315—318	SIGE
	N-酰基化位点	202—207	GNFVSA
CI		275—280	GIVSTA
	N-糖基化位点	484—487	NCSF
6K2	N-酰基化位点	480—485	GIHINC
	酪蛋白激酶 II 磷酸化位点	1—4	SKYE
NIa-VPg	cAMP-和 cGMP-依赖性蛋白激酶磷酸化位点	3—6	KRQT
	蛋白激酶 C 磷酸化位点	6—8	TQK
		39—41	TKK
	酪蛋白激酶 II 磷酸化位点	176—179	SKAD
NIa-Pro	N-酰基化位点	46—51	GSTQTK
	酪蛋白激酶 II 磷酸化位点	157—160	SVSD
	N-酰基化位点	34—39	GVGYGA
NIb	酪蛋白激酶 II 磷酸化位点	337—340	SEKE
		460—463	SKDE
CP	cAMP-和 cGMP-依赖性蛋白激酶磷酸化位点	16—19	KKNT
	蛋白激酶 C 磷酸化位点	15—17	TKK
	酪蛋白激酶 II 磷酸化位点	5—8	TGED
		19—22	TNNE
		255—258	TNAE
	N-酰基化位点	38—43	GTTSSG
		251—256	GNISTN

### 2.5 重组分析

采用 RDP4 软件中的 RDP、GENENCONY、BootScan、MaxChi、Chimaera、SiScan 和 3SEQ 共 7 种方法对包括 SMV-SXBX 在内的 107 株 SMV 分离物核苷酸序列进行重组分析,结果如图 3 所示,

7 种方法均检测到在 SMV-SXBX 基因组 3 056—6 895 bp 位置有重组事件的发生,且主要亲本为 SMV-HZ1 分离物(GenBank number:AJ628750.1),次要亲本为 SMV-XFQ008 分离物(GenBank number:KP710873.1),2 个亲本均来自中国。

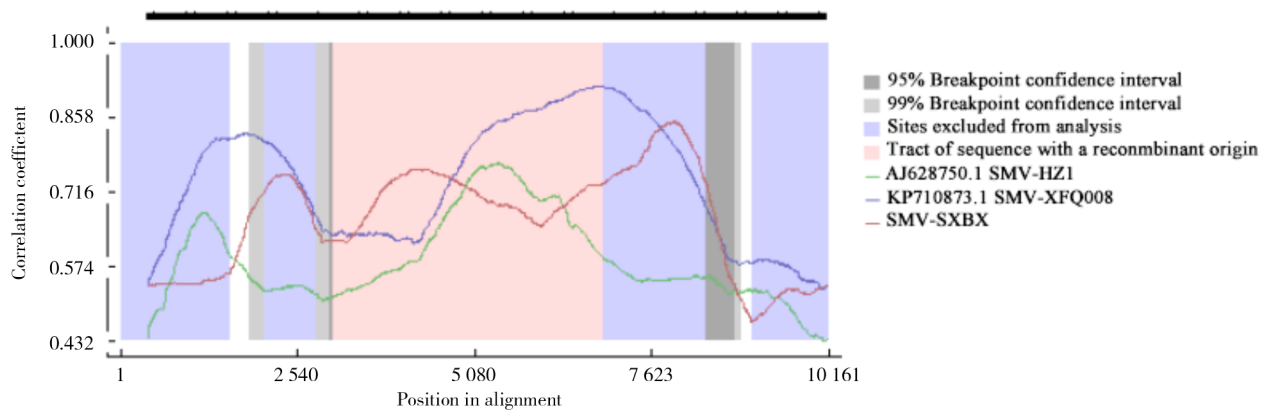


图 3 SMV-SXBX 的重组分析  
**Fig.3 Recombination analysis of SMV-SXBX**

### 3 结论与讨论

半夏是一种常用的药用植物,具有很高的经济价值,然而,半夏的病害问题逐年严重,其中,病毒病害是最难防治的一种病害。病毒侵染植株后,叶片会出现花叶、褪绿斑驳、皱缩、植株矮化甚至坏死等病症,使植株的生长严重受损,长此以往将会造成植物种质退化,进而导致半夏的产量减少、品质下降<sup>[16]</sup>。病毒侵染导致的病害在半夏产区较为常见,严重制约半夏产业的发展。已有研究表明<sup>[17]</sup>,SMV是大豆病毒病害中最严重的病原体,破坏力极强,对大豆生产影响最重,在SMV大流行年份,受侵染的大豆种植区可能出现70%以上的严重减产,极端情况下甚至导致绝收。因此,SMV对半夏的侵染也可能造成半夏的减产。

马铃薯Y病毒科(Potyviridae)马铃薯Y病毒属(*Potyvirus*)成员的共同特征为种子带毒,且蚜虫是主要的传毒介体<sup>[18]</sup>。基因组长度在10 kb左右,共编码10个蛋白质,从N端到C端分别为P1、HC-Pro、P3、6K1、CI、6K2、NIa-VPg、NIa-Pro、NIb和CP蛋白,除此之外,还有一个P3N-PIPO蛋白,位于P3阅读框内部<sup>[19]</sup>。本研究将SMV-SXBX的核苷酸和氨基酸序列与NCBI收录的其他SMV分离物序列进行比对分析,序列相似性分析结果表明,SMV-SXBX与SMV-Hangzhou分离物的相似性最高,核苷酸序列相似性为92.09%,氨基酸序列相似性为95.91%;系统进化分析结果也表明,SMV-SXBX和SMV-Hangzhou分离物亲缘关系最近。

植物感染SMV后,会出现花叶、斑点、叶片畸形等症<sup>[20]</sup>,在田间具体表现为植株矮化,叶片表现为花叶、皱缩,叶缘下卷或叶片扭曲,质地硬而脆,叶脉颜色加深变褐,两侧时常有疱状突起且症状表现以嫩叶较重<sup>[21]</sup>。SMV的宿主范围相对较窄,大部分株系的寄主范围以大豆、蚕豆、豌豆、四季豆等豆科植物为主<sup>[12-14]</sup>,但也有研究人员证明金花菜和紫云英是SMV的越冬寄主<sup>[14]</sup>。自2004年,CHEN等<sup>[22]</sup>首次发现SMV能够侵染半夏以来,越来越多的研究人员从半夏中分离得到SMV<sup>[23-25]</sup>,但SMV能够突破豆科植物的寄主范围侵染半夏的原因还未可知,推测可能是由于SMV在进化过程中发生了某种变异。已有研究表明,SMV编码的P1<sup>[26]</sup>、HC-Pro<sup>[27]</sup>、P3<sup>[28]</sup>和CP<sup>[29]</sup>蛋白均与寄主范围

有关,SMV-SXBX序列相似性分析表明,在SMV基因组编码的11个蛋白中,差异性最大的蛋白为P1蛋白,核苷酸和氨基酸序列差异性分别为34.93%和36.28%。

P1蛋白是最不保守且大小变化最大的蛋白,研究表明,SMV基因组编码的P1蛋白在不同病毒以及同一病毒不同株系间均会出现较大变异<sup>[30]</sup>,这种非保守蛋白可能有助于病毒适应广泛的宿主物种<sup>[31-32]</sup>。同时,HC-Pro、P3和CI蛋白中存在一些毒力决定因素,少数氨基酸突变可能导致毒力增强或丧失<sup>[33-36]</sup>,而且大多数病毒能够通过改变其毒力决定因素以逃避宿主的检测和耐药性<sup>[37-38]</sup>。本研究通过对不同SMV分离物的多序列比对发现,SMV-SXBX基因组具有多个由于氨基酸突变产生的功能位点,包括磷酸化、酰基化、糖基化位点等。其中,P1蛋白的251—254、299—302位点和HC-Pro蛋白的124—127位点,这些区域的氨基酸突变成Asn-X-Thr/Ser,从而获得N-糖基化功能;P1蛋白的16—18、107—109、156—158位点,HC-Pro蛋白的332—334位点,以及CP蛋白的15—17位点,这些区域的氨基酸突变获得蛋白激酶C磷酸化功能;P1蛋白的192—195、207—210位点,HC-Pro蛋白的143—148位点,P3蛋白的315—318位点,以及CP蛋白的5—8、19—22、255—258位点,这些区域的氨基酸突变获得酪蛋白激酶II磷酸化功能;P3蛋白的179—182位点和CP蛋白的16—19位点,这些区域的氨基酸突变获得cAMP-和cGMP-依赖性蛋白激酶磷酸化功能。已有研究表明磷酸化通过蛋白质构象变化调节病毒蛋白的活性、亚细胞定位以及与胞内蛋白的相互作用,激酶的磷酸化和磷酸酶的去磷酸化会改变病毒的积累量<sup>[39]</sup>。芜菁黄花叶病毒(Turnip yellow mosaic virus, TYMV)基因组OR1编码的RdRp蛋白的3个磷酸化位点对病毒的侵染性有显著影响,能够降低病毒基因组RNA和CP蛋白的水平,进而影响病毒的侵染能力<sup>[40]</sup>。中国小麦花叶病毒(Chinese wheat mosaic virus, CWMV)富含半胱氨酸蛋白的2个磷酸化位点通过抑制细胞死亡和过氧化氢的产生增强病毒在植物中的侵染性<sup>[41]</sup>。病毒蛋白的糖基化则可能引起免疫原性、致病性、宿主范围等发生变化<sup>[42]</sup>。蛋白质的功能往往依赖于其翻译后的修饰作用,目前,SMV-SXBX基因组编码的蛋白活性验证工作正在进行中,相关结果有望为

SMV 异源侵染半夏的侵染机制提供线索。

基因重组在病毒进化过程中担任重要角色, BUJARSKI 等<sup>[43]</sup>首次在雀麦草花叶病毒(Brome mosaic virus, BMV)中发现了植物病毒 RNA 重组现象,且新基因的引入使得病毒的功能增加。基因重组会引起病毒基因组的重排以及病毒与寄主之间功能区域的转移或丧失<sup>[44-45]</sup>,还会使病毒增强对新寄主的适应能力<sup>[46]</sup>,尤其在马铃薯 Y 病毒(Potato virus Y)属病毒中的发生比较频繁。OHSHIMA 等<sup>[47]</sup>发现,在芜菁花叶病毒的 76 个分离物中有 10% 具有重组现象。REVERS 等<sup>[48]</sup>发现,在 109 个马铃薯 Y 病毒分离物中有 18 个具有重组现象。已有研究表明,SMV 在漫长的进化过程中极易发生重组现象,与其密切相关的病毒有马蹄莲潜隐病毒(Calla latent virus, CLLV)、西瓜花叶病毒(Watermelon mosaic virus, WMV)、紫藤脉花叶病毒(Wisteria vein mosaic virus, WVMV)、菜豆普通花叶病毒(Bean common mosaic virus, BCMV)、豇豆蚜传花叶病毒(Cowpea aphid-borne mosaic virus, CABMV)和菜豆普通花叶坏死病毒(Bean common leaf necrosis virus, BCMNV) 6 种 PVY 属病毒<sup>[49]</sup>。SEO 等<sup>[50]</sup>研究表明,由不同致病性病毒重组产生的 SMV 能够突破对朝鲜大豆的抗性。本研究利用 RDP4 软件对 SMV-SXBX 基因组进行重组分析,发现在其 3 056—6 895 bp 区域内存在重组事件,主要亲本为 SMV-HZ1 分离物,次要亲本为 SMV-XFQ008 分离物。

然而,对于 SMV 跨科侵染半夏的具体机制,还需要构建侵染性克隆并进行相关试验。目前,山西农业大学中药材旱作栽培与综合开发利用团队已成功构建得到 SMV 大豆分离物<sup>[51]</sup>和 SMV 半夏分离物侵染性克隆<sup>[52]</sup>,相关工作正在开展。本研究采用生物信息学方法对 SMV-SXBX 的基因组结构和功能进行分析,研究结果可为明确 SMV 跨科侵染半夏的机制研究奠定理论基础。

#### 参考文献:

- [1] 王化东,吴发明. 我国半夏资源调查研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(1): 150-151.  
WANG H D, WU F M. Investigation of *Pinellia ternate* resources in China[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(1): 150-151.
- [2] 赵鑫. 半夏优良品系选育及其耐湿耐盐性研究[D]. 甘肃: 甘肃中医药大学, 2022.

ZHAO X. Research on breeding excellent strains of *Pinellia ternata* and its moisture and salt tolerance[D]. Gansu: Gansu University Of Chinese Medicine, 2022.

- [3] 胡珊珊. 半夏疏松愈伤组织形成的关键因素及其作用机理研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2018.  
HU S S. Key factors and mechanism on loose callus formation of *Pinellia ternata*[D]. Guiyang: Guizhou University, 2018.
- [4] 朱树国,陶梅. 半夏高产优质高效栽培技术研究[J]. 种子科技, 2019, 37(6): 109.  
ZHU S G, TAO M. Study on high yield, high quality and high efficiency cultivation techniques of *Pinellia ternata*[J]. Seed Science & Technology, 2019, 37(6): 109.
- [5] 高振杰,罗沙,周建雄,等. 半夏的研究进展[J]. 四川中医, 2019, 37(4): 212-215.  
GAO Z J, LUO S, ZHOU J X, et al. Research progress of *Pinellia ternata*[J]. Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine, 2019, 37(4): 212-215.
- [6] 杨立军,高涵,罗伟,等. 半夏研究进展及展望[J]. 安徽农学通报, 2023, 29(2): 33-38.  
YANG L J, GAO H, LUO W, et al. Research progress and prospect of *Pinellia ternata*[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2023, 29(2): 33-38.
- [7] 王婉怡,朱志军,李航飞,等. 半夏化学成分、药理作用研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(3): 203-215.  
WANG W Y, ZHU Z J, LI H F, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Banxia (Pinellia rhizoma)* and prediction analysis of quality markers[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2024, 26(3): 203-215.
- [8] 耿晓桐,刘琦,花娇娇,等. 半夏化学成分及药理作用研究进展[J]. 山西化工, 2023, 43(9): 53-54.  
GENG X T, LIU Q, HUA J J, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Pinellia ternate*[J]. Shanxi Chemical Industry, 2023, 43(9): 53-54.
- [9] 李婷,李敏,贾君君,等. 全国半夏资源及生产现状调查[J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(2): 11-13.  
LI T, LI M, JIA J J, et al. Survey of national resources and production status of *Pinellia ternata* in China[J]. Research and Practice on Chinese Medicines, 2009, 23(2): 11-13.
- [10] 贾学思,王玉庆. 半夏开花物候与结实特征分析[J]. 山西农业科学, 2024, 52(3): 29-34.  
JIA X S, WANG Y Q. Analysis of flowering phenology and seed setting characteristics of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2024, 52(3): 29-34.
- [11] 崔丽艳,庞小静,齐永红,等. 利用小 RNA 深度测序技术鉴定半夏病毒病原[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(12): 1334-1341.  
CUI L Y, PANG X J, QI Y H, et al. Identification of the pathogens of *Pinellia ternata* virus by small RNA deep sequencing[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2018, 34(12): 1334-1341.
- [12] BOSWELL K F, GIBBS A J. Viruses of legumes: descriptions and keys from VIDE[M]. Canberra: The Australian Na-

- tional University Research School of Biological Science, 1983:107.
- [13] 周雪平, 濮祖芹. 自然侵染豌豆的大豆花叶病毒[J]. 南京农业大学学报, 1990, 13(1):53-56.  
ZHOU X P, PU Z Q. Natural infection of *Pisum sativum* by soybean mosaic virus in Nanjing[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 1990, 13(1):53-56.
- [14] 周建农, 蒋伶俐, 濮祖芹, 等. 大豆花叶病毒的越冬寄主[J]. 江苏农业学报, 1991, 7(2):56.  
ZHOU J N, JIANG L H, PU Z Q, et al. Overwintering hosts of soybean mosaic virus[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 1991, 7(2):56.
- [15] 马振男, 崔丽艳, 张丽, 等. 侵染白术的大豆花叶病毒的全基因组序列测定及分析[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2022, 38(4):515-526.  
MA Z N, CUI L Y, ZHANG L, et al. Identification and analysis of complete genomic sequences of soybean mosaic virus isolates from *Atractylodes macrocephala* koidz[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2022, 38(4):515-526.
- [16] 胡逸超, 卢晓静, 李璞, 等. 一株侵染掌叶半夏的大豆花叶病毒的全基因组序列测定和 vsRNA 特征分析[J]. 南方农业学报, 2021, 52(12):3392-3399.  
HU Y C, LU X J, LI P, et al. Characterization of virus-derived small interfering RNAs and complete sequence of a strain of soybean mosaic virus infected *Pinellia pedatisecta*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2021, 52(12):3392-3399.
- [17] 张丽. 大豆花叶病毒半夏、白术分离物侵染性克隆构建与检测[D]. 晋中:山西农业大学, 2020.  
ZHANG L. Construction and detection of infectious clones of soybean mosaic virus isolates from *Pinellia ternata* and *Atractylodes macrocephala*[D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2020.
- [18] 杨向东, 牛陆, 张伟, 等. RNAi 介导 SMV-P3 基因沉默增强大豆对花叶病毒病的抗性[J]. 作物学报, 2016, 42(11):1647-1655.  
YANG X D, NIU L, ZHANG W, et al. RNAi-mediated SMV-P3 silencing increases soybean resistance to soybean mosaic virus[J]. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(11):1647-1655.
- [19] WIDYASARI K, ALAZEM M, KIM K H. Soybean resistance to soybean mosaic virus[J]. Plants, 2020, 9(2):219.
- [20] 张培培. 大豆异黄酮含量及其对大豆花叶病毒病抗性效应的遗传解析[D]. 南京:南京农业大学, 2021.  
ZHANG P P. Genetic analysis of soybean isoflavone contents and its resistance to soybean mosaic virus[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2021.
- [21] 任秋燕. 大豆花叶病毒 SC8 株系抗病片段内两个候选基因的功能鉴定[D]. 南京:南京农业大学, 2020.  
REN Q Y. Functional identification of two candidate genes located in soybean chromosome segment with resistance to soybean mosaic virus strain SC8[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020.
- [22] CHEN J, ZHENG H Y, LIN L, et al. A virus related to soybean mosaic virus from *Pinellia ternata* in China and its comparison with local soybean SMV isolates[J]. Archives of Virology, 2004, 149(2):349-363.
- [23] 申屠苏苏. 侵染半夏的病毒检测与大豆花叶病毒的分子系统学研究[D]. 杭州:浙江大学, 2006.  
SHENTU S S. Detection of viruses infecting *Pinellia ternata* (thunb.) Breit. and phylogenetic study on soybean mosaic virus [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- [24] 史雨红. 侵染中国天南星科药用植物马铃薯 Y 病毒属成员分子生物学研究[D]. 杭州:浙江大学, 2007.  
SHI Y H. Molecular characterization of potyviruses infecting aroid plants for medicinal use in China[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2007.
- [25] SUN H H, SHENTU S S, XUE F, et al. Molecular characterization and evolutionary analysis of soybean mosaic virus infecting *Pinellia ternata* in China[J]. Virus Genes, 2008, 36(1):177-190.
- [26] 牛妞. 大豆花叶病毒组分蛋白 P1、P3、CI、6K2、HC-Pro 大豆互作因子的筛选及功能研究[D]. 呼和浩特:内蒙古大学, 2023.  
NIU N. Screening and functional study of soybean mosaic virus component proteins P1, P3, CI, 6K2, HC-Pro soybean interaction factors[D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2023.
- [27] WANG Y, XU W, ABE J, et al. Precise exchange of the helper-component proteinase cistron between *Soybean mosaic virus* and *Clover yellow vein virus*: impact on virus viability and host range specificity[J]. Phytopathology, 2020, 110(1):206-214.
- [28] CUI X Y, WEI T Y, CHOWDA-REDDY R V, et al. The tobacco etch virus P3 protein forms mobile inclusions via the early secretory pathway and traffics along actin microfilaments [J]. Virology, 2010, 397(1):56-63.
- [29] KEŽAR A, KAVČIČ L, POLÁK M, et al. Structural basis for the multitasking nature of the potato virus Y coat protein [J]. Science Advances, 2019, 5(7):eaaw3808.
- [30] 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.
- [31] VALLI A, LÓPEZ-MOYA J J, GARCÍA J A. Recombination and gene duplication in the evolutionary diversification of P1 proteins in the family Potyviridae[J]. Journal of General Virology, 2007, 88(3):1016-1028.
- [32] ROHOŽKOVÁ J, NAVRÁTIL M. P1 peptidase-a mysterious protein of family Potyviridae[J]. Journal of Biosciences, 2011, 36(1):189-200.
- [33] EGGENBERGER A L, HAJIMORAD M R, HILL J H. Gain of virulence on Rsv1-genotype soybean by an avirulent soybean mosaic virus requires concurrent mutations in both P3 and HC-Pro[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008, 21(7):931-936.
- [34] 赵文影, 张云静, 白小飞, 等. 猪细小病毒 BJ2 株的分离鉴定及全基因组序列分析[J]. 河南农业科学, 2023, 52(2):136-144.  
ZHAO W Y, ZHANG Y J, BAI X F, et al. Identification and whole genome sequence analysis of porcine parvovirus BJ2 strain[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2023, 52

- (2):136-144.
- [35] AHANGARAN A, HABIBI M K, MOHAMMADI G M, et al. Analysis of Soybean mosaic virus genetic diversity in Iran allows the characterization of a new mutation resulting in overcoming Rsv4-resistance[J]. Journal of General Virology, 2013, 94(11):2557-2568.
- [36] WEN R H, HAJIMORAD M R. Mutational analysis of the putative p10 of soybean mosaic virus suggests disruption of PIPO protein impedes movement[J]. Virology, 2010, 400(1):1-7.
- [37] TSUDA S, KIRITA M, WATANABE Y. Characterization of a pepper mild mottle tobamovirus strain capable of overcoming the L3 gene-mediated resistance, distinct from the resistance-breaking Italian isolate[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1998, 11(4):327-331.
- [38] KARASAWA A, OKADA I, AKASHI K, et al. One amino acid change in cucumber mosaic virus RNA polymerase determines virulent/avirulent phenotypes on cowpea[J]. Phytopathology, 1999, 89(12):1186-1192.
- [39] 吴婷, 王驰, 韩艳红. 植物病毒蛋白磷酸化的研究进展[J]. 激光生物学报, 2023, 32(4):304-311.  
WU T, WANG C, HAN Y H. Advances in phosphorylation of plant virus proteins[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2023, 32(4):304-311.
- [40] AHLQUIST P, NOUEIRY A O, LEE W M, et al. Host factors in positive-strand RNA virus genome replication[J]. Journal of Virology, 2003, 77(15):8181-8186.
- [41] YANG J, ZHANG T Y, LI J, et al. Chinese wheat mosaic virus-derived vsiRNA-20 can regulate virus infection in wheat through inhibition of vacuolar-(H<sup>+</sup>)-PPase induced cell death[J]. New Phytologist, 2020, 226(1):205-220.
- [42] 蒋智勇, 周霞, 李春玲, 等. 不同谱系 D 型流感病毒 HEF 蛋白 N-糖基化位点和 B 细胞表位预测分析[J]. 中国动物保健, 2024, 26(10):123-128.  
JIANG Z Y, ZHOU X, LI C L, et al. Prediction and analysis of N-glycosylation site and B cell epitope of HEF protein of different lineages of influenza D virus[J]. China Animal Health, 2024, 26(10):123-128.
- [43] BUJARSKI J J, KAESBERG P. Genetic recombination between RNA components of a multipartite plant virus[J]. Nature, 1986, 321(6069):528-531.
- [44] LAI M M. RNA recombination in animal and plant viruses[J]. Microbiological Reviews, 1992, 56(1):61-79.
- [45] NAGY P D, SIMON A E. New insights into the mechanisms of RNA recombination[J]. Virology, 1997, 235(1):1-9.
- [46] HU X J, KARASEV A V, BROWN C J, et al. Sequence characteristics of potato virus Y recombinants[J]. Journal of General Virology, 2009, 90(12):3033-3041.
- [47] OHSHIMA K, YAMAGUCHI Y, HIROTA R, et al. Molecular evolution of turnip mosaic virus: evidence of host adaptation, genetic recombination and geographical spread[J]. Journal of General Virology, 2002, 83(6):1511-1521.
- [48] REVERS F, LE GALL O, CANDRESSE T, et al. Frequent occurrence of recombinant potyvirus isolates[J]. Journal of General Virology, 1996, 77(8):1953-1965.
- [49] ZHOU G C, SHAO Z Q, MA F F, et al. The evolution of soybean mosaic virus: an updated analysis by obtaining 18 new genomic sequences of Chinese strains/isolates[J]. Virus Research, 2015, 208:189-198.
- [50] SEO J K, OHSHIMA K, LEE H G, et al. Molecular variability and genetic structure of the population of soybean mosaic virus based on the analysis of complete genome sequences[J]. Virology, 2009, 393(1):91-103.
- [51] WANG D F, CUI L Y, ZHANG L, et al. Complete genome sequencing and infectious cDNA clone construction of soybean mosaic virus isolated from Shanxi[J]. Plant Pathology Journal, 2021, 37(2):162-172.
- [52] 张丽, 王德富, 裴燕妮, 等. 大豆花叶病毒半夏分离物侵染性克隆构建及鉴定[J]. 生物工程学报, 2020, 36(5):949-958.  
ZHANG L, WANG D F, PEI Y N, et al. Construction and characterization of an infectious clone of Soybean mosaic virus isolate from *Pinellia ternata*[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(5):949-958.