

# 江苏小麦上两种新发病毒的分子鉴定及系统进化分析

靳道然<sup>1,2</sup>, 张家瑞<sup>1,2</sup>, 缪倩<sup>1</sup>, 朴君<sup>2</sup>, 杨荣明<sup>3</sup>, 季英华<sup>1</sup>, 李硕<sup>1</sup>

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏南京 210014; 2. 辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁大连 116081;

3. 江苏省植物保护植物检疫站, 江苏南京 210036)

**摘要:**2022年春江苏省南京和淮安两地部分田块小麦出现叶片褪绿黄化、植株矮化的疑似病毒病症状,为明确小麦感染病毒的种类,对其进行了病原分子鉴定和系统进化分析。结果显示,使用黄症病毒通用引物 Lu-1/Lu-4 检测时,两地样本有较高比例的(53.6%和 86.7%)大麦黄矮病毒 PAV(barley yellow dwarf virus-PAV, BYDV-PAV)感染。使用通用引物 Leu-F/Leu-R 检测,在部分样品中扩增到约 624 bp 目的条带,经测序分析,4份南京样品的扩增产物与小麦黄矮病毒(wheat yellow dwarf virus, WYDV)同源性最高(97.78%),4份淮安样品与黍扭曲花叶病毒(panicum distortion mosaic virus, PDMV)同源性最高(97.60%)。为进一步确认病毒种类,针对两种病毒外壳蛋白(CP)设计特异性引物进行 RT-PCR 检测,阳性样本均能扩增到目的条带,对其克隆测序后发现,南京分离物 CP 基因序列全长 612 bp,与 WYDV 河南分离物(OK216142)同源性高达 98.69%,淮安分离物 CP 基因全长 615 bp,与 PDMV 湖北分离物(OM514390)和韩国分离物(LC424839)同源性分别为 97.89%和 97.72%。系统进化分析表明,两种病毒均聚类到马铃薯卷叶病毒属分支。综上,在南京和淮安小麦病株上检测到的病毒分别为 WYDV 和 PDMV,这是江苏省农作物上发生这两种病毒的首次报道。

**关键词:** 小麦黄矮病毒; 黍扭曲花叶病毒; 小麦; 分子鉴定

中图分类号: S512.1; S435.12

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2025)07-0984-09

## Molecular Identification and Phylogenetic Analysis of Two Novel Viruses in Wheat from Jiangsu Province

JIN Daoran<sup>1,2</sup>, ZHANG Jiarui<sup>1,2</sup>, MIAO Qian<sup>1</sup>, PIAO Jun<sup>2</sup>, YANG Rongming<sup>3</sup>, JI Yinghua<sup>1</sup>, LI Shuo<sup>1</sup>

(1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014, China; 2. School of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116081, China; 3. Plant Protection and Quarantine Station of Jiangsu, Nanjing, Jiangsu 210036, China)

**Abstract:** In the spring of 2022, wheat plants showed suspected viral disease symptoms of chlorosis, yellowing and dwarfing in Nanjing and Huai'an in Jiangsu Province. To verify the virus species, the pathogen molecular identification and phylogenetic analysis were carried out. The results showed a high incidence(53.6% and 86.7%) of barley yellow dwarf virus-PAV(BYDV-PAV) in the samples using the universal primer Lu-1/Lu-4 for *Luteoviruses*. When the universal Leu-F/Leu-R primer was used, a target fragment(624 bp) was amplified in partial samples. Sequencing analysis suggested that the four amplicons from Nanjing samples shared the highest homology(97.78%) with wheat yellow dwarf virus(WYDV), and the four amplicons from Huai'an samples had the highest homology(97.60%) with panicum distortion mosaic virus(PDMV). In order to further identify virus species, the specific primers against coat proteins(CP) of the two viruses were designed for RT-PCR detection, and the

收稿日期:2024-05-05

修回日期:2024-06-11

基金项目:国家重点研发计划项目(2023YFD1400300)

第一作者 E-mail:jdrhhhh@163.com(靳道然)

通讯作者 E-mail:lishuo@jaas.ac.cn(李硕)

target fragments can be amplified from positive samples. The cloning and sequencing results revealed that CP gene of Nanjing isolate was 612 bp in full-length, with 98.69% homologous to WYDV Henan isolate(OK216142), and CP gene of Huai'an isolate was 615 bp in full-length, sharing 97.89% and 97.72% nucleotide identity to PDMV Hubei isolate(OM514390) and Korean isolate(LC424839), respectively. Phylogenetic analysis suggested that the two viruses were clustered into the branch of *Poleroviruses*. These results indicate that the two novel viruses detected in wheat from Nanjing and Huai'an are the isolates of WYDV and PDMV, respectively, which is the first report of the two viruses infected in crops in Jiangsu Province.

**Keywords:** Wheat yellow dwarf virus; Panicum distortion mosaic virus; Wheat; Molecular identification

小麦(*Triticum aestivum* L.)是目前世界上分布最广、种植面积最大的粮食作物。中国是世界上小麦生产、消费和进口最多的国家<sup>[1]</sup>。作为第二大粮食作物,小麦生产对中国粮食安全和经济发展具有重要的意义<sup>[2]</sup>。小麦在生长过程中容易受到各种病害的威胁,目前已报道可感染小麦的病毒有50多种,中国常见的有大麦黄矮病毒(barley yellow dwarf viruses, BYDVs)、小麦黄花叶病毒(wheat yellow mosaic virus, WYMV)、中国小麦花叶病毒(chinese wheat mosaic virus, CWMV)、土传小麦花叶病毒(soil-borne wheat mosaic virus, SBWMV)、大麦条纹花叶病毒(barley stripe mosaic virus, BSMV)、小麦矮缩病毒(wheat dwarf virus, WDV)、水稻黑条矮缩病毒(rice black-streaked dwarf virus, RBSDV)等<sup>[3-6]</sup>。感染病毒的小麦常常会出现叶片斑驳、褪绿、植株矮小等的症状,严重的还会发生叶片枯黄、僵苗、不能抽穗和穗不实现象,对小麦的产量和品质造成不利影响。中国小麦土壤真菌传花叶病毒病常年发生面积约为 $2.0 \times 10^6$  hm<sup>2</sup>,严重威胁河南、山东、江苏、安徽等地方的小麦生产<sup>[4,7]</sup>;小麦矮缩病毒2007年在陕西韩城发生面积约为700 hm<sup>2</sup>,导致发病田小麦减产50%~80%<sup>[8]</sup>。近年来,一些可以感染小麦的新病毒被陆续报道,如小麦黄矮病毒(wheat yellow dwarf virus, WYDV)<sup>[9]</sup>、玉米黄花叶病毒(maize yellow mosaic virus, MaYMV)<sup>[10]</sup>和甜菜西黄病毒(beet western yellows virus, BWYV)<sup>[11]</sup>。

马铃薯卷叶病毒属(*Polerovirus*)病毒是一类由蚜虫传播的植物病毒,病毒粒子为直径25~30 nm的等轴对称二十面体,基因组为含有约5 600个核苷酸的单链线性RNA<sup>[12]</sup>,植株感染后会出现叶片枯黄、卷曲、发育迟缓等症状,严重影

响作物的产量和质量。*Polerovirus*原属于黄症病毒科(Luteoviridae),国际病毒分类委员会(IC-TV)在2021年最新发布的病毒分类法中将黄症病毒科撤销,改为黄症病毒属(*Luteovirus*),隶属于番茄丛矮病毒科(Tombusviridae),*Polerovirus*则归于南方菜豆一品红花叶病毒科(Solemoviridae)<sup>[9]</sup>。已报道可感染禾本科谷物的*Polerovirus*成员包括禾谷类黄矮病毒RPV(cereal yellow dwarf virus RPV,即原BYDV-RPV)<sup>[13]</sup>、禾谷类黄矮病毒RPS(cereal yellow dwarf virus RPS,即原BYDV-RPS)<sup>[14]</sup>、玉米黄矮病毒RMV(maize yellow dwarf virus RMV,即原BYDV-RMV)<sup>[15]</sup>、MaYMV<sup>[16]</sup>和甘蔗黄叶病毒(Sugarcane yellow leaf virus, ScYLV)<sup>[17]</sup>五个种。

江苏小麦上的病毒病种类较多,常见的病毒有WYMV、CWMV和RBSDV等<sup>[18]</sup>,但对蚜传病毒的发生情况一直缺乏系统调查。2022年春季,本课题组在对江苏省小麦病毒病田间调查时,发现部分地区小麦植株出现了叶片褪绿、黄化等类似于病毒病感染的情况,为明确小麦感染病毒的种类,采集病样后通过RT-PCR、基因克隆和测序等进行病原检测和鉴定,并根据序列对新发生的两种病毒进行系统进化分析,以期小麦抗病病毒栽培提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试样品

2022年春季在江苏南京和淮安两地部分麦田,选择叶片出现褪绿、黄化等疑似病毒病症状的小麦植株采集叶片,共采集样品86份(南京56份,淮安30份);将样品带回实验室,分别取100 mg叶片放到2 mL离心管中并做好标记,液氮冷冻并置于-80℃保存备用。

### 1.2 小麦病样总 RNA 提取

取保存在-80℃冰箱的小麦病样,经液氮冷冻后用全自动样品研磨机磨成粉末,采用 Trizol 法(参照 Invitrogen 公司 Trizol 试剂说明书)提取叶片总 RNA,-20℃保存备用。

### 1.3 小麦病毒分类

以提取的小麦叶片总 RNA 作为模板,用 PrimerScript™ RT Master Mix 试剂盒 (TaKaRa) 进行反转录,合成第 1 链 cDNA。具体步骤:1 μL RNA 模板加入 7 μL RNase Free ddH<sub>2</sub>O,72 °C 5 min,立即冰浴;加入 2 μL 5×Prime Script RT Master Mix,混匀;37 °C 15 min,85 °C 5 s,4 °C 结束。以 cDNA 为模板,利用 2 对黄症病毒通用引物<sup>[11]</sup> (Lu-1/Lu-4 和 Leu-F/Leu-R,表 1) 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系 20 μL:2×Taq Master Mix (Vazyme) 10 μL,上下游引物各 1 μL,cDNA 1 μL,ddH<sub>2</sub>O 7 μL。反应程序:95 °C 3 min;95 °C 15 s,52 °C 15 s,72 °C 40 s,34 个循环;72 °C 5 min。扩增产物用 1%琼脂糖凝胶电泳分离,对目标产物进行测序验证,测序由生工生

物工程(上海)公司完成。所获序列信息使用 NCBI 的 BLAST 程序(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>)进行同源性分析。

### 1.4 PDMV 和 WYDV 的分子检测

根据测序结果,发现部分样本的序列分别与 WYDV 和黍扭曲花叶病毒 (panicum distortion mosaic virus, PDMV) 的相似度极高,故使用高保真 DNA 聚合酶 (TaKaRa),利用特异引物 WYDV-cp-F/WYDV-cp-R 和 PDMV-cp-F/PDMV-cp-R 分别对相应的阳性样本进行 PCR 扩增,引物根据 WYDV (Genbank 登录号:OK216142)和 PDMV (LC424839)外壳蛋白序列设计完成(表 1),PCR 反应体系和程度同 1.3。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳分离,回收目的条带,与 pMD18-T 载体 (TaKaRa) 16 °C 过夜连接;用热激法将连接产物转入大肠杆菌 Top 10 感受态细胞(北京擎科生物),并涂布 LB 培养基平板(含氨苄青霉素),37 °C 倒置过夜培养;挑取单克隆进行 PCR 和酶切验证,阳性克隆进行序列分析。

表 1 本研究用到的引物信息  
Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer	序列(5'-3') Sequence (5'-3')	退火温度 T <sub>m</sub> /°C	片段长度 Fragment length/bp
Lu-1	CCAGTGGTTRTGGTC	46	531
Lu-4	GTCTACCTATTTGG		
Leu-F	GCTCTAGAATTGTTAATGARTACGGTCG	52	624
Leu-R	CACGCGTCNACCTATTTNGGRTTNTG		
WYDV-cp-F	ATGAGTACGGTCGTCCTTAG	50	612
WYDV-cp-R	CTATTTGGGATTCTGGGTGTG		
PDMV-cp-F	ATGAGTACGGTCGTTGTTAAAG	52	615
PDMV-cp-R	CTATTTCCGGGTTTTGCATGCT		

### 1.5 病毒序列分析

将测序获得的病毒 CP 基因信息使用 NCBI 的 BLAST 程序进行同源性分析,并利用 DNAs-tar 软件 MegAlign 程序完成序列比对。CP 序列聚类分析及进化树构建使用 MEGA-X 软件<sup>[19]</sup> 采用邻接法 (Neighbor-Joining)<sup>[20]</sup> 完成,核苷酸序列进化距离使用最大组成似然模型 (Maximum Composite Likelihood) 计算,氨基酸序列进化距离选择泊松修正模型 (Poisson Correction) 计算,使用 1 000 次 Bootstrap Replications 评价进化树可信度。

## 2 结果与分析

### 2.1 小麦病毒病的田间症状

2022 年春季在对江苏省小麦病毒病进行田间调查时,发现南京和淮安两地部分田块小麦植株出现了叶片褪绿黄化、植株矮化等症状(图 1),疑似为大麦黄矮病毒感染。两地田间调查田块各 5 块,发现类似病毒病在被调查麦田均有一定程度的发生,病株率约 5%~15%,但没有发现大面积连片感病的麦田。

### 2.2 小麦病毒的检测

对采集的 86 份小麦病样 cDNA 使用黄症病毒通用引物进行检测。样品使用引物 Lu-1/Lu-4 检测时,南京样品(56 份)的阳性检出率为 53.6%,淮安样品(30 份)的阳性检出率为 86.7%,经测序分析,所扩增序列一致,均为 BYDV-PAV,说明所采集样本中有较高比例的 BYDV-PAV 感染。样品使用引物 Leu-F/Leu-R 检测,南京的 56 份样品中,有 4 份检测出约 624 bp 的目的条带;来自淮安漕运镇的 10 份样品中,有 4 份检测出目的条带(图 2),而健康小麦样品和淮安其它采集地的 20 份样品没有此条带检出,这表明采集的小麦病样可能还感染了 BYDV-PAV 之外的其它病毒。

为了确定小麦感染病毒的种类,对 Leu-F/Leu-R 引物扩增出的 8 个条带进行序列分析,测序结果经 BLAST 分析发现,南京样品的 4 个扩增条带序列相同,与 WYDV 河南分离物(OK216142)的同源性最高(97.78%),而来自淮安漕运镇样品的 4 个扩增条带序列一致,与 PDMV 湖北 MTXG121 分离物(OM514390)同源性最高(97.60%),表明两地小麦病样分别感染了小麦黄矮病毒和黍扭曲花叶病毒。南京病样中,没有单一样本被 Lu-1/Lu-4 和 Leu-F/Leu-R 引物同时扩增出目的条带,说明所采集样本中没有上述病毒的复合感染,而淮安漕运镇病样中,有 3 份样本出现了 BYDV-PAV 和 PDMV 的复合感染。

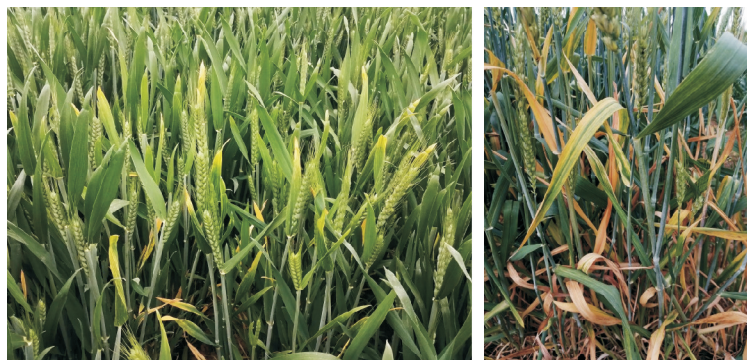
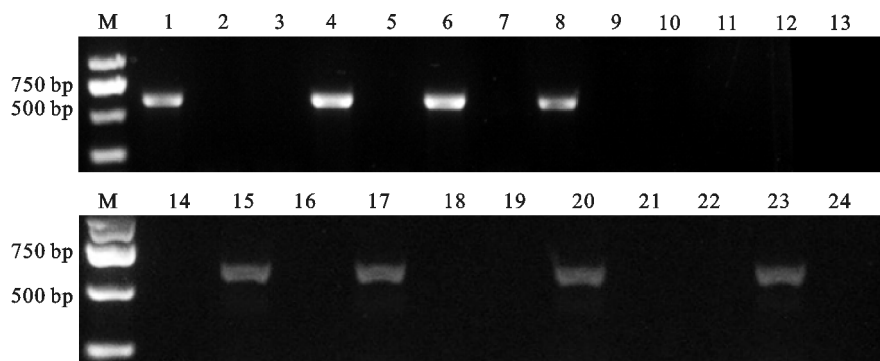


图 1 田间小麦感病症状

Fig. 1 Symptoms of virus-infected wheat in field



M:DNA 标准分子量;1~13:南京小麦病样;14~24:淮安小麦病样。

M: DNA marker; 1-13:Wheat samples from Nanjing; 14-24: Wheat samples from Huai'an.

图 2 小麦病样中黄症病毒的 RT-PCR 检测

Fig. 2 RT-PCR detection of *Luteoviruses* in diseased wheat samples using the universal primer Leu-F/Leu-R

### 2.3 WYDV 和 PDMV 中 CP 基因的克隆

为了验证来自南京和淮安漕运镇的小麦病样分别感染了 WYDV 和 PDMV,根据两个病毒的 CP 基因设计特异性引物(表 1)进行 RT-PCR 检测。结果显示,4 份南京阳性样品均能扩增到与

预期大小一致的特异性条带(图 3a),扩增产物经克隆测序和分析,所获 CP 基因全长 612 bp(Genbank 登录号:PP445237),编码 1 个大小约 22.0 kDa 的蛋白质,与已报道的 WYDV 唯一分离物河南分离物(OK216142)同源性 98.69%,表明该

病毒属于 WYDV,说明南京小麦中存在 WYDV 的感染。4 份漕运镇阳性样品都能扩增到 PDMV 的 CP 基因片段(图 3b),经克隆测序和分析,其全长 615 bp(Genbank 登录号:PP445238),编码 22.7 kDa 蛋白,与 PDMV 仅有的两个分离物湖北的 MTXG121 (OM514390)和韩国的 Uiseong (LC424839)同源性分别为 97.89%和 97.72%,说明该病毒属于 PDMV,证明淮安漕运镇小麦病样受到了 PDMV 的侵染。在此之前,这两种病毒在江苏农作物上没有发生危害的报道,属于首次报道。

### 2.4 两种病毒 CP 序列分析

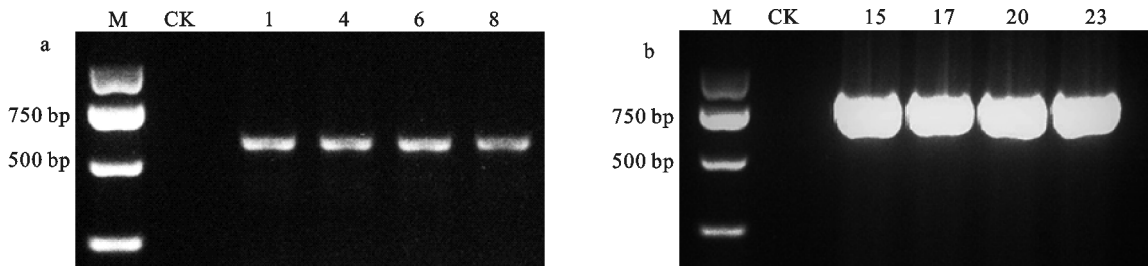
为分析这两种新发现病毒的分类地位,选取马铃薯卷叶病毒属和黄症病毒属的 18 种病毒代表性分离物,使用 DNASTAR 软件完成序列相似性分析,利用 MEGA-X 软件将测定的 WYDV 和 PDMV 中 CP 基因序列与 18 种病毒进行系统进化分析。结果显示,在不同病毒之间,WYDV 和 PDMV 均与 BYDV-GPV 的核苷酸序列相似性最高,分别为 81.5%和 69.2%;氨基酸序列相似性方面,WYDV 和 PDMV 均与 CYDV-RPV 同源性最高,分别为 77.5%和 65.5%(表 2)。这些病毒的 CP 序列在核苷酸和氨基酸系统进化树中均可聚类形成两个大的分支(图 4),即马铃薯卷叶病毒属分支和黄症病毒属分支,WYDV 和 PDMV 均位于马铃薯卷叶病毒属分支,由此推测这两个病毒均属于马铃薯卷叶病毒属。

## 3 讨论

本课题组于 2022 年春季进行江苏省小麦病毒田间调查,对采集自南京和淮安的叶片褪绿黄化、植株矮化的小麦进行病毒检测时,发现病样

中除有较高比例的 BYDV-PAV 感染外,还存在着其它种类的黄症病毒侵染。对阳性样品检测到的病毒基因进行分子克隆和测序分析,发现南京地区小麦上检出的病毒与 WYDV 河南分离物序列同源性最高(98.69%),说明小麦植株存在 WYDV 感染,淮安区漕运镇小麦上检出的病毒与 PDMV 湖北 MTXG121 分离物相似度最高(97.89%),说明其存在 PDMV 感染。这是在江苏省农作物上首次发现 WYDV 和 PDMV 侵染危害。小麦植株感染这两种病毒的症状与感染大麦黄矮病毒的症状非常相似,田间难以通过肉眼观察症状区分,要借助分子检测等手段进行鉴定。

基于病毒 CP 序列的系统进化树分析显示,这两个新发现病毒均属于马铃薯卷叶病毒属。马铃薯卷叶病毒属病毒寄主种类非常广泛,包括茄科、葫芦科、十字花科、禾本科和葡萄科<sup>[9,21-23]</sup>。该类病毒主要存在于植物的韧皮部组织,在自然界中一般只能通过蚜虫以持久循环、非增殖型方式传播<sup>[24]</sup>。病毒感染植物后,会严重影响植物生长发育,从而造成严重的产量损失。近年来随着新病毒的发现,马铃薯卷叶病毒属的成员也逐渐增加,WYDV 和 PDMV 均是该属的新成员。WYDV 是中国农科院于 2022 年在河南安阳小麦上最新鉴定的病毒<sup>[9]</sup>。PDMV 最早于 2018 年在韩国粮食作物黍稷上分离得到,2019 年中国研究人员通过宏基因组测序在湖北孝感水稻田中的杂草—马唐(*Digitaria sanguinalis*)中鉴定到该病毒,这说明禾本科杂草在 PDMV 的侵染循环中可能是一个重要的“桥梁寄主”。本研究在江苏小麦上发现了 WYDV 和 PDMV,暗示这两种病毒在中国小麦产区可能早已存在,只是之前缺乏有效的鉴定手段而鲜有报道。



M:DNA 标准分子量;CK:健康对照;1、4、6、8、15、17、20、23 为图 2 筛选的小麦病样。

M: DNA marker; CK: Virus-free wheat control; 1, 4, 6, 8, 15, 17, 20, 23: Selected wheat samples in Fig. 2.

图 3 小麦病样中 WYDV(a)和 PDMV(b)的 RT-PCR 检测

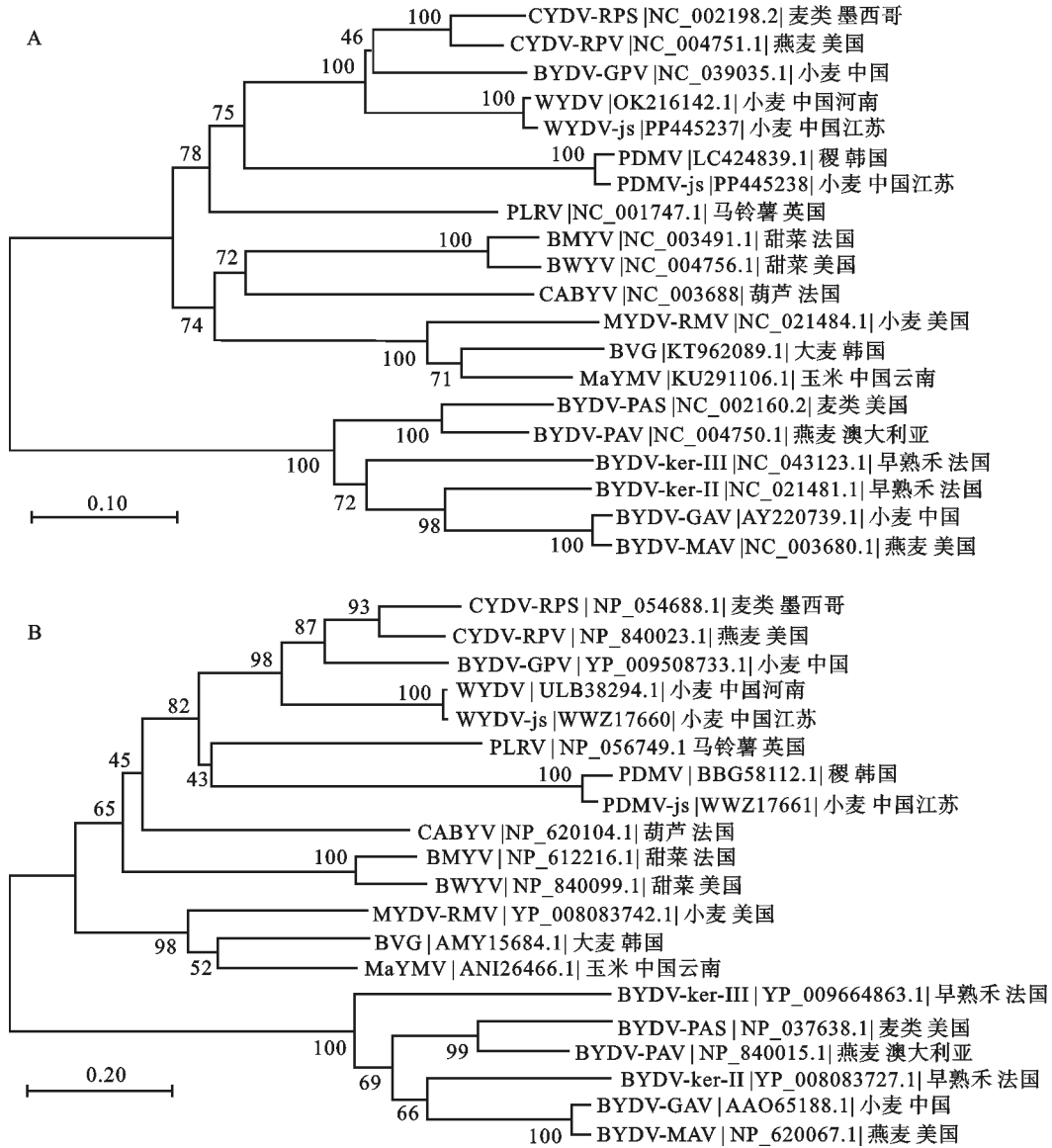
Fig. 3 RT-PCR detection of WYDV(a) and PDMV(b) in diseased wheat samples

表 2 WYDV 和 PDMV 与黄症病毒代表性成员 CP 序列的同源性  
Table 2 Homology of CP sequence among WYDV/PDMV and representative members of Luteoviruses

	BYDV -GAV	BYDV -ker-II	BYDV -ker-III	BYDV -MAV	BYDV -PAS	BYDV -PAV	BMYV	BVG	BWYV	BYDV -GPV	CYDV -RPS	CABYV	CYDV -RPV	MaYMV	MYDV -RMV	PDMV PDMV-js	PLRV	WYDV	WYDV-js	%
BYDV-GAV	82.1	64.5	75.5	97.5	75.8	75.8	51.9	52.2	51.8	50.9	50.3	51.2	51.7	51.5	52.1	49.2	49.7	52.3	52.8	52.6
BYDV-ker-II	77.2	64.5	75.1	81.9	73.6	74.2	50.9	53.1	51.6	49.9	50.3	51.0	51.3	53.6	53.9	50.7	50.8	51.3	52.8	52.8
BYDV-ker-III	64.5	64.0	76.0	76.0	73.2	72.5	53.8	52.1	53.3	52.7	49.4	52.5	52.4	51.3	51.4	52.5	53.5	52.7	53.7	53.2
BYDV-MAV	96.0	76.6	65.0	68.0	76.3	76.4	52.4	53.0	52.3	50.9	50.3	51.7	51.8	51.6	52.8	49.1	50.3	52.3	53.3	53.1
BYDV-PAS	67.5	64.5	58.7	68.0	89.4	89.4	54.1	52.8	53.4	52.8	52.9	52.5	53.3	53.2	51.6	51.7	52.2	55.4	52.9	52.8
BYDV-PAV	69.5	66.0	57.7	70.5	86.6	47.7	55.6	53.5	55.6	52.6	52.3	53.4	53.3	54.4	52.6	51.8	52.5	55.9	54.3	54.1
BMYV	43.4	41.5	41.1	43.4	46.7	47.7	64.0	66.0	92.9	62.4	65.3	69.5	65.0	65.9	63.5	62.0	62.0	68.1	63.7	63.8
BVG	41.8	42.5	44.4	43.4	41.3	43.9	93.6	64.5	65.9	62.5	61.8	65.0	61.4	84.3	82.5	59.4	59.6	62.8	62.8	62.4
BWYV	44.4	43.0	41.6	44.4	45.7	46.7	58.8	56.6	58.3	62.5	64.8	70.3	64.8	65.0	63.4	61.5	61.7	66.9	63.5	63.7
BYDV-GPV	41.3	43.5	42.6	42.3	46.2	46.7	61.4	64.5	60.9	73.3	81.7	64.1	84.7	64.5	62.4	68.5	69.2	68.3	81.5	81.5
CYDV-RPS	42.4	43.1	40.2	42.4	45.2	45.2	65.5	58.1	60.9	61.4	63.3	65.2	91.7	64.8	62.0	68.3	67.7	70.4	80.7	79.9
CABYV	44.8	45.0	44.6	45.4	46.7	45.6	64.1	64.1	66.5	61.4	63.3	65.7	65.7	65.0	64.5	61.0	61.3	66.7	63.9	63.4
CYDV-RPV	43.4	45.1	42.2	43.4	47.2	46.7	62.4	59.1	61.9	78.2	91.7	65.8	61.1	63.6	61.8	68.8	68.1	69.4	81.4	81.4
MaYMV	43.9	45.6	42.3	43.9	42.9	44.4	62.4	80.8	61.4	57.1	59.6	63.1	61.1	80.3	80.3	59.2	58.9	65.8	63.1	62.9
MYDV-RMV	42.6	42.3	41.6	42.1	39.6	42.1	58.6	80.3	59.6	57.9	58.5	61.2	60.0	77.8	57.5	57.5	57.3	62.0	63.3	62.6
PDMV	37.2	40.8	42.0	38.7	42.5	41.5	58.7	56.9	59.2	62.7	65.0	58.8	66.0	55.8	54.8	97.7	97.7	64.7	66.7	66.8
PDMV-js	37.7	41.3	42.5	39.2	43.0	42.0	57.7	55.8	58.2	62.7	64.5	58.3	65.5	55.3	54.3	99.0	65.2	67.2	67.2	67.0
PLRV	40.2	40.8	39.0	40.2	44.0	44.5	61.5	57.9	60.0	64.7	67.0	62.3	65.5	59.4	52.8	62.3	61.8	67.8	67.8	67.5
WYDV	40.9	42.6	41.7	41.4	44.7	44.7	62.2	57.1	60.2	75.7	75.5	60.1	77.9	58.1	57.3	64.9	64.9	63.4	98.7	98.7
WYDV-js	40.9	42.6	41.7	41.4	44.7	44.7	62.2	57.1	60.2	75.7	75.0	60.1	77.5	58.1	57.3	64.9	64.9	62.9	99.5	99.5

右上部为核苷酸序列相似性,左下部为氨基酸序列相似性;比对所用病毒序列信息同图 4 一致。

Top right is nucleotide sequence identity, and bottom left is amino acid sequence identity; Viral sequence information used in homology analysis is consistent with Fig. 4.



A:核苷酸序列系统进化树;B:氨基酸序列系统进化树。所用病毒序列信息在系统树中注明,WYDV-js 和 PDMV-js 为本研究所获序列。

A: Phylogenetic tree based on nucleotide sequence; B: Phylogenetic tree based on amino acid sequence. Viral sequence information is indicated in the phylogenetic tree, and WYDV-js and PDMV-js are obtained in this study.

图 4 根据黄症病毒代表性成员 CP 序列构建的系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on CP sequence consistency of representative members of *Luteoviruses*

根据马铃薯卷叶病毒属的特点,我们可以判断 WYDV 和 PDMV 这两种病毒由蚜虫传播,然而具体是哪一种(类)蚜虫仍不得而知。分析病毒系统进化树,可以看到在马铃薯卷叶病毒属分支中,还可以分成 3 个小的分支(图 4),一个由 BWYV、BMYV 和 CABYV 组成,主要侵染非禾本科植物,由桃蚜等传播<sup>[25-28]</sup>;第二个由 MYDV-RMV、BVG 和 MaYMV 构成,侵染禾本科作物,主要由玉米蚜传播<sup>[15,29,30]</sup>;其余病毒构成第三个小分支,WYDV、PDMV 以及与其同源性较高的

CYDV-RPV、CYDV-RPS、BYDV-GPV 均在其中,侵染禾本科作物,主要由禾谷缢管蚜传播(BYDV-GPV 亦可由麦二叉蚜传播)<sup>[31-33]</sup>。因此,推测 WYDV 和 PDMV 可能由禾谷缢管蚜传播,定论需要后续进行生物学饲毒传毒实验进行验证。

小麦作为中国主要的粮食作物之一,其产量和品质对国家的粮食安全有重要影响。病毒病对小麦的产量存在着严重的威胁,病毒种类和传播媒介的多样化导致中国小麦病毒病具有暴发性间

歌危害的特点<sup>[34]</sup>。江苏大部分地区种植方式为稻-麦轮作一年两熟,小麦种植面积约 233 万  $\text{hm}^2$ ,是中国稻茬麦面积最大的省份<sup>[35]</sup>。本课题组近年来在对江苏小麦病毒病发生情况进行持续调查发现,在小麦返青期,土传的小麦黄花叶病毒在部分地区发生较重,在小麦生长中后期,随着天气转暖蚜虫活跃,BYDV-PAV 普遍发生。新发现的 WYDV 和 PDMV 目前在江苏属零星发生状态,其对小麦危害程度和扩散风险值得进一步关注。本课题组 2021 年冬对南京地区越冬豆蚜种群进行宏病毒组测序,在蚜虫体内也发现了多种植物病毒,其中包括一种新的细胞质弹状病毒(暂命名为 *Aphis craccivora* associated rhabdovirus)<sup>[36]</sup>,系统分析显示其植物寄主可能为禾本科作物,也表明蚜虫群体对周边农作物具有潜在的传毒威胁。因此,小麦生产上需要加强对蚜虫传播病毒病的监测和防控。

#### 参考文献:

- [1] 汤泽慧. 中国小麦进出口现状及依存度分析[J]. 农业展望, 2018, 14(7): 83.  
TANG Z H. Imports and exports of China's wheat and its dependency [J]. *Agricultural Outlook*, 2018, 14(7): 83.
- [2] 李海泳, 殷贵鸿. 从国家粮食安全角度探讨我国小麦育种发展趋势[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(18): 36.  
LI H Y, YIN G H. On development trend of China's wheat breeding from perspective of national grain security [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(18): 36.
- [3] 张明皓. 小麦矮缩病毒和大麦黄矮病毒 PAV 株系基于单克隆抗体的血清学检测技术[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.  
ZHANG M H. Monoclonal antibody-based serological detection techniques of wheat dwarf virus and the PAV strain of barley yellow dwarf virus [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017.
- [4] 孙炳剑, 羊健, 孙丽英, 等. 禾谷多黏菌传小麦病毒病的分布及变化动态[J]. 麦类作物学报, 2011, 31(5): 969.  
SUN B J, YANG J, SUN L Y, et al. Distribution and dynamics of *Polymyxa graminis* transmitted wheat viruses in China [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2011, 31(5): 969.
- [5] 孙现超, 安德荣, 青玲, 等. 大麦条纹花叶病毒北京分离物的鉴定[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2007, 29(10): 51.  
SUN X C, AN D R, QING L, et al. Identification of the barley stripe mosaic virus (BSMV) from Beijing [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2007, 29(10): 51.
- [6] 庄新建, 徐红梅, 甘海峰, 等. 我国常见小麦病毒病检测与鉴定方法的研究进展[J]. 中国植保导刊, 2020, 40(10): 23.  
ZHUANG X J, XU H M, GAN H F, et al. Research progress in detection and identification methods of common wheat virus diseases in China [J]. *China Plant Protection*, 2020, 40(10): 23.
- [7] 吴斌, 姜珊珊, 张眉, 等. 山东省小麦土传花叶病毒病的分布与病原鉴定[J]. 麦类作物学报, 2018, 38(2): 247.  
WU B, JIANG S S, ZHANG M, et al. Distribution and pathogen identification of wheat soil-borne mosaic virus disease in Shandong Province [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(2): 247.
- [8] 王江飞, 柳树宾, 吴蓓蕾, 等. 陕西韩城严重发生的小麦矮缩病原鉴定与原因分析[J]. 植物保护, 2008, 34(2): 17.  
WANG J F, LIU S B, WU B L, et al. Identification and analyses of the pathogen causing the wheat dwarf virus in Hancheng of Shaanxi Province, China [J]. *Plant Protection*, 2008, 34(2): 17.
- [9] GUO M, YUAN X, WU N, et al. Complete genome sequence of a novel wheat-infecting polerovirus associated with yellowing dwarf disease in China [J]. *Archives of Virology*, 2022, 167(3): 983.
- [10] 谢莉娜, 张玉阳, 于连伟, 等. 玉米黄花叶病毒在河南省小麦玉米上的分布及其 CP 序列分析[J]. 植物病理学报, 2024, 54(2): 476.  
XIE L N, ZHANG Y Y, YU L W, et al. Distribution of maize yellow mosaic virus on wheat and maize in Henan Province and variation of their CP sequences [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2024, 54(2): 476.
- [11] JIN D R, YANG R M, PIAO J, et al. First report of beet western yellows virus infecting wheat in China [J]. *Plant Disease*, 2023, 107: 2565.
- [12] SMIRNOVA E, FIRTH A E, MILLER W A, et al. Discovery of a small non-AUG-initiated ORF in poleroviruses and luteoviruses that is required for long-distance movement [J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(5): e1004868.
- [13] VINCENT J R, LISTER R M, LARKINS B A. Nucleotide sequence analysis and genomic organization of the NY-RPV isolate of barley yellow dwarf virus [J]. *The Journal of General Virology*, 1991, 72 ( Pt 10): 2347.
- [14] ALMASI R, MILLER W A, ZIEGLER-GRAFF V. Mild and severe cereal yellow dwarf viruses differ in silencing suppressor efficiency of the P0 protein [J]. *Virus Research*, 2015, 208: 199.
- [15] KRUEGER E N, BECKETT R J, GRAY S M, et al. The complete nucleotide sequence of the genome of barley yellow dwarf virus-RMV reveals it to be a new polerovirus distantly related to other yellow dwarf viruses [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 205.
- [16] CHEN S, JIANG G, WU J, et al. Characterization of a novel polerovirus infecting maize in China [J]. *Viruses*, 2016, 8(5): 120.
- [17] MOONAN F, MOLINA J, MIRKOV T E. Sugarcane yellow leaf virus: An emerging virus that has evolved by recombination between luteoviral and poleroviral ancestors [J]. *Virology*, 2000, 269(1): 156.

- [18] 缪倩, 季英华, 任春梅, 等. 一种快速同步检测小麦黄花叶病毒和中国小麦花叶病毒的方法[J]. 麦类作物学报, 2013, 33(3): 596.
- MIAO Q, JI Y H, REN C M, *et al.* A simplified method for quick detection of wheat yellow mosaic virus and chinese wheat mosaic virus [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2013, 33(3): 596.
- [19] KUMAR S, STECHER G, LI M, *et al.* MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547.
- [20] SAITOU N, NEI M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4(4): 406.
- [21] MAYO M, RYABOV E, FRASER G, *et al.* Mechanical transmission of potato leafroll virus [J]. *The Journal of General Virology*, 2000, 81(Pt 11): 2791.
- [22] CHIAKI Y, ITO T. Complete genome sequence of a novel putative polerovirus detected in grapevine [J]. *Archives of Virology*, 2020, 165(4): 1007.
- [23] TAN S T, LIU F, LV J, *et al.* Identification of two novel poleroviruses and the occurrence of tobacco bushy top disease causal agents in natural plants [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 21045.
- [24] GRAY S, GILDOW F E. Luteovirus-aphid interactions [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2003, 41: 539.
- [25] BRAULT V, VAN DEN HEUVEL J F, VERBEEK M, *et al.* Aphid transmission of beet western yellows luteovirus requires the minor capsid read-through protein P74 [J]. *The EMBO Journal*, 1995, 14(4): 650.
- [26] NAGA K C, BUCKSETH T, SUBHASH S, *et al.* Transmission efficiency of potato leaf roll virus (Plrv) by potato aphid *Aulacorthum solani* and green peach aphid *Myzus persicae* [J]. *Indian Journal of Entomology*, 2020, 82(1): 68.
- [27] GRAY S, CILIA M, GHANIM M. Circulative, “nonpropagative” virus transmission: An orchestra of virus-, insect-, and plant-derived instruments [J]. *Advances in Virus Research*, 2014, 89: 141.
- [28] EIGENBRODE S D, DING H, SHIEL P, *et al.* Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) [J]. *Proceedings. Biological Sciences*, 2002, 269(1490): 455.
- [29] ZHAO F, LIM S, YOO R H, *et al.* The complete genomic sequence of a tentative new polerovirus identified in barley in South Korea [J]. *Archives of Virology*, 2016, 161(7): 2047.
- [30] GONÇALVES M C, RAMOS A, NASCIMENTO T, *et al.* Aphid transmission of maize yellow mosaic virus: An emerging polerovirus [J]. *Tropical Plant Pathology*, 2020, 45(5): 544.
- [31] SCHLIEPHAKE E, HABEKUSS A, SCHOLZ M, *et al.* Barley yellow dwarf virus transmission and feeding behaviour of *Rhopalosiphum padi* on *Hordeum bulbosum* clones [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2013, 146(3): 347.
- [32] WANG H, WU K, LIU Y, *et al.* Integrative proteomics to understand the transmission mechanism of barley yellow dwarf virus-GPV by its insect vector *Rhopalosiphum padi* [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10971.
- [33] TAMBORINDEGUY C, BEREMAN M S, DEBLASIO S, *et al.* Genomic and proteomic analysis of *Schizaphis graminum* reveals cyclophilin proteins are involved in the transmission of cereal yellow dwarf virus [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71620.
- [34] 邸垫平, 张永亮, 张爱红, 等. 灰飞虱传播的一种小麦病毒病鉴定[J]. 植物病理学报, 2016, 46(4): 453.
- DI D P, ZHANG Y L, ZHANG A H, *et al.* Identification of a virus transmitted by small brown plant hopper in wheat [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2016, 46(4): 453.
- [35] 刘伟. 江苏省小麦产业现状、存在的问题及对策[J]. 中国种业, 2021(9): 19.
- LIU W. Current situation, existing problems and countermeasures of wheat industry in Jiangsu Province [J]. *China Seed Industry*, 2021(9): 19.
- [36] 朴君, 靳道然, 朴敬爱, 等. 宏病毒组测序检测豆蚜田间种群病毒种类[J]. 华北农学报, 2023, 38(3): 191.
- PIAO J, JIN D R, PIAO J A, *et al.* Discovery of viruses from aphid *Aphis craccivora* natural population by virome sequencing [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2023, 38(3): 191.