

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2023.02.006

甘蔗花叶病毒四川分离物的 鉴定和遗传变异分析

李明骏, 钟源, 廖豪杰, 吴根土, 青玲

西南大学 植物保护学院/植物病害生物学高校市级重点实验室, 重庆 400716

摘要: 玉米和甘蔗是西南地区两种重要的禾本科农作物, 而病毒病的常年发生严重威胁着玉米和甘蔗的生产。从四川攀枝花田间采集表现花叶、褪绿、斑驳或矮化等病毒病症状的玉米样品 54 份和甘蔗样品 42 份, 用小 RNA 深度测序结合反转录聚合酶链式反应进行病毒检测, 以明确引起该地区玉米和甘蔗病毒病的病原。结果显示: 从玉米病株上检测到甘蔗花叶病毒(sugarcane mosaic virus, SCMV)、玉米黄花叶病毒(maize yellow mosaic virus, MaY-MV)和留尼旺玉米线条病毒(maize streak Reunion virus, MSR), 3 种病毒的检出率分别为 66.7%, 59.3% 和 3.7%; 从甘蔗病样中检测到 SCMV(52.4%)、甘蔗瓜德罗普杆状病毒 A(sugarcane bacilliform Guadeloupe A virus, SCBGAV)(76.2%)和高粱花叶病毒(sorghum mosaic virus, SrMV)(28.6%)。鉴于 SCMV 在玉米和甘蔗田间样品中的高检出率, 利用其外壳蛋白基因对 SCMV 四川分离物的遗传变异进行综合分析。系统发育分析表明: 120 个 SCMV 中国分离物被分为 5 组, 且其进化分组表现出宿主和地理起源的相关性, 来源于玉米的 SCMV 四川分离物主要被聚入 C 组, 而来源于甘蔗的 SCMV 四川分离物被聚入 E 组。核苷酸多样性分析表明: 来源于玉米和甘蔗的 SCMV 四川分离物群体间变异度较高。F_{ST} 测试表明: 四川和云南两地 SCMV 群体间存在频繁基因流, 且群体统计分析结果显示 SCMV 四川和云南分离物群体存在潜在的扩张趋势。该研究是对四川玉米和甘蔗上病毒病原的综合鉴定, 也是对 SCMV 四川分离物遗传变异情况的首次报道, 为 SCMV 病毒病的防控提供了重要参考依据。

关键词: 甘蔗花叶病毒; 玉米; 甘蔗; 病毒检测; 遗传变异

中图分类号: S432.1 文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2023)02-0045-09

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Identification and Genetic Variability of the Isolates of Sugarcane Mosaic Virus from Sichuan Province, China

LI Mingjun, ZHONG Yuan, LIAO Haojie,
WU Gentu, QING Ling

School of Plant Protection, Southwest University/Chongqing Key Laboratory of
Plant Disease Biology, Chongqing 400716, China

Abstract: Maize (*Zea mays*) and sugarcane (*Saccharum officinarum*) are both important and widely

收稿日期: 2021-10-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31801706); 西南大学博士基金(含引进人才计划)项目(swu118002).

作者简介: 李明骏, 博士, 副教授, 主要从事分子植物病毒学的研究.

通信作者: 青玲, 教授.

grown gramineous crops in Southwest China, whereas some viral diseases pose serious threats to their production and quality. In this study, small RNA deep sequencing and reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) were performed to identify the pathogens of viral disease with 54 maize and 42 sugarcane samples collected from Panzhihua City of Sichuan Province. Sugarcane mosaic virus (SCMV), maize yellow mosaic virus (MaYMV) and maize streak Reunion virus (MSRV) were found in 66.7%, 59.3% and 3.7% of the maize samples, respectively. For sugarcane plants, sugarcane bacilliform Guadeloupe A virus (SCBGAV), SCMV and sorghum mosaic virus (SrMV) were detected in 76.2%, 52.4% and 28.6% of the samples, respectively. The genetic variability of the China SCMV isolates, with high positive rate in the fields, was comprehensively characterized based on the coat protein gene. Phylogenetic analysis clustered CP genes of all 120 available SCMV isolates from China (including 11 newly obtained Sichuan isolates) into five groups in relation to the hosts and geographical origins. The Sichuan SCMV isolates were clustered in group C and E. The F_{ST} test revealed that frequent gene flow existed between the Sichuan and Yunnan SCMV isolates populations, and the population demographical analyses suggested a trend of inter-transmission of SCMV populations (SC/YN-group C and SC/YN-group E) between these two provinces and the expansion of SCMV subpopulations in these two groups (SC/YN-group C and SC/YN-group E). This is the first report to identify virus pathogens and genetic variation of SCMV isolates from maize and sugarcane in Sichuan Province.

Key words: sugarcane mosaic virus; maize; sugarcane; virus detection; genetic variability

玉米(*Zea mays* L.)是我国广泛种植的粮饲作物,也是重要的生物能源和工业原料,在我国农业生产中占据重要地位^[1].随着我国种植结构的调整和气候变暖导致的媒介昆虫大面积迁飞和分布,玉米矮花叶病、玉米粗缩病、玉米致死性坏死病等病毒病害在我国一些玉米种植区间歇性大面积发生.目前在我国玉米上已检测出甘蔗花叶病毒(sugarcane mosaic virus, SCMV)、水稻黑条矮缩病毒(rice black streaked dwarf virus, RBSDV)、玉米褪绿斑驳病毒(maize chlorotic mottle virus, MCMV)、玉米黄花叶病毒(maize yellow mosaic virus, MaYMV)、留尼旺玉米线条病毒(maize streak Reunion virus, MSRV)等 12 种病毒,严重威胁着我国玉米的生产^[2].甘蔗(*Saccharum officinarum* L.)在四川、云南、广东和福建等地区广泛种植,是我国最重要的糖料作物,也是生产葡萄糖、乙醇等产品的重要原料.甘蔗上的常发病毒病主要包括 SCMV、高粱花叶病毒(sorghum mosaic virus, SrMV)和甘蔗线条花叶病毒(sugarcane streak mosaic virus, SCSMV)引起的甘蔗花叶病,甘蔗黄叶病毒(sugarcane yellow leaf virus, SCYLV)引起的甘蔗黄叶病,以及甘蔗线条病毒(sugarcane streak virus, SSV)、甘蔗斐济病病毒(sugarcane Fiji disease virus, SFDV)和甘蔗杆状病毒(sugarcane bacilliform virus, SCBV)等引起的病毒病^[3].

SCMV 在我国广泛分布,其引起的玉米矮花叶病和甘蔗花叶病是我国玉米和甘蔗上的两种重要病毒病害^[4-5].SCMV 是马铃薯 Y 病毒科(Potyviriidae)马铃薯 Y 病毒属(*Potyvirus*)的成员,经由玉米蚜、麦二叉蚜等多种蚜虫以非持久性方式进行传播,是侵染玉米、高粱、甘蔗等禾本科植物的重要病毒病原^[6-8].SCMV 侵染可诱导花叶、褪绿和矮化等多种症状,最终造成严重的产量损失^[9-10].SCMV 为线状病毒颗粒,包裹 1 条长约 10 000 碱基且 3'末端有 poly(A)结构的正单链 RNA 基因组^[11].SCMV 基因组编码 1 个大的多聚蛋白,随后被切割为 10 个成熟蛋白以及转录滑移所产生的 P3N-PIPO 蛋白^[12].马铃薯 Y 病毒属病毒编码的外壳蛋白(CP)是一个多功能蛋白,参与病毒基因组的包被、病毒移动、蚜虫传播等生物学过程^[13-14].因为外壳蛋白基因功能和序列的保守性,通常被用于病毒分类和病毒变异、重组等遗传进化研究^[8,15].

病毒检测和病毒群体的遗传变异分析有利于了解病毒的地理分布和寄主适应性,且有益于对病毒病流行趋势进行评估,是病毒病害防控的重要手段^[16-18].玉米是我国西南地区广泛种植的重要粮饲作物,甘蔗是四川和云南部分地区种植的重要经济作物,但病毒病的发生严重威胁着玉米和甘蔗的生产.基于本课题组前期对四川玉米和甘蔗病毒病田间调查结果,本研究从四川攀枝花市采集共计 54 份表现花叶、斑驳、矮

化等症状的玉米病叶和 42 份甘蔗病叶, 以小 RNA 高通量测序结合反转录-聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)法对玉米和甘蔗病样中的病毒种类和发生率进行检测; 并扩增获得四川玉米上 6 个和甘蔗上 5 个 SCMV 分离物的 CP 基因序列, 综合 NCBI 数据库中的 SCMV 所有中国分离物 CP 基因序列分析 SCMV 四川分离物群体的遗传变异情况。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 毒源

分别于 2019 年 7 月和 2020 年 8 月从四川攀枝花田间采集表现花叶、褪绿、斑驳、矮化等症状的玉米病叶样品 54 份和甘蔗病叶 42 份, 保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。

1.1.2 载体和菌株

克隆载体 pMDTM19-T, 日本 TaKaRa 公司; 大肠杆菌 *Escherichia coli* Trans5 α , 北京全式金生物技术有限公司。

1.1.3 主要试剂

Ex Taq[®] DNA 聚合酶, RNAiso Plus 总 RNA 提取试剂, M-MLV 反转录试剂盒, T4 DNA 连接酶, 日本 TaKaRa 公司; 通用型 DNA 纯化回收试剂盒, 天根生化科技(北京)有限公司。

1.1.4 引物

本研究中所用引物序列信息见表 1, SCMV 检测引物引自文献[19], 其他检测引物和 SCMV CP 基因扩增引物根据 GenBank 中多个病毒分离物基因组序列多重比对分析后在序列保守区设计。

表 1 本研究所用引物

引物名称	引物序列(5'-3')	用途	扩增片段大小/bp
SCMV-F	GGCGAGACTCAGGAGAATACA	检测 SCMV 侵染	268
SCMV-R	ACACGCTACACCAGAAGACACT		
MaYMV-F	TCTCCTCGAACGTGCGTTCAATTG	检测 MaYMV 侵染	884
MaYMV-R	AGACTGAATTTCGGCTTTCCGGAAC		
MSRV-F	CTCCAGATCCAGACAATTACCAAC	检测 MSRV 侵染	608
MSRV-R	TTGAAGTACAGACGGGTCTTGC		
SCBGAV-F	CTGCTTGACGTAAGCAATGACGATC	检测 SCBGAV 侵染	300
SCBGAV-R	CGTTAGGTGCACCCACCAATAATG		
SrMV-F	GTKTTYCATCAAGCAGRRGGCGG	检测 SrMV 侵染	1 000
SrMV-R	TGCAGACAGGGTTTCCGTCACGTC		
SCMV-CP-F	TGGCTTCTVGAATGCAACC	扩增 SCMV CP 基因序列	1 157
SCMV-CP-R	CTGCAAACAGGGTTTCCAGGA		

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取及 RT-PCR

取玉米或甘蔗病叶约 0.1 g, 充分研磨后用 TaKaRa 公司 RNAiso Plus 试剂参照说明书流程提取总 RNA, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

以提取的总 RNA 为模板, 用 TaKaRa 公司的 M-MLV 反转录试剂盒进行反转录合成 cDNA. 反应体系(10 μL): 总 RNA 1 μg , Oligo(dT) Primer (50 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , Random Primers (25 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , RNase-free ddH₂O 补至 6 μL ; 于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴孵育 10 min 后冰上冷却 2 min; 向上述溶液中依次加入 5 \times M-MLV buffer 2 μL , 10 mmol/L dNTP 混合物 0.5 μL , 40 U/ μL RNA 酶抑制剂 0.25 μL , 200 U/ μL M-MLV 反转录酶 0.5 μL , RNase-free ddH₂O 补至 10 μL ; 42 $^{\circ}\text{C}$ 保温 1 h. 反应获得 cDNA 产物直接用于 PCR 扩增或于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存备用。

以反转录获得 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 病毒检测 PCR 反应体系 (25 μL): ddH₂O 11.0 μL , cDNA 0.5 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 上下游引物各 0.5 μL , PCR mix 12.5 μL . SCMV *CP* 基因克隆的 PCR 反应体系 (50 μL): ddH₂O 37.5 μL , 10 \times Ex Taq buffer (Mg²⁺ plus) 5.0 μL , dNTPs 4.0 μL , cDNA 1.0 μL , 10 $\mu\text{mol/L}$ 上下游引物各 1.0 μL , Ex Taq 0.5 μL . PCR 反应程序设定: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s 后退火 30 s (退火温度根据引物溶解温度确定), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30~60 s (根据扩增片段长度确定), 34 次循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min. PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分析.

1.2.2 DNA 纯化回收、连接 T 载体及转化大肠杆菌

PCR 产物用天根通用型 DNA 纯化回收试剂盒 (Universal DNA Purification Kit, TIANGEN) 参照说明书流程纯化回收. 回收产物连入 pMDTM19-T 载体, 连接反应体系 (10 μL): 10 \times T4 DNA Ligase buffer 1 μL , 回收产物 5 μL , pMDTM19-T 0.5 μL , T4 DNA Ligase 0.5 μL , ddH₂O 补至 10 μL , 置于 16 $^{\circ}\text{C}$ 过夜反应. 将连接产物转化大肠杆菌 Trans5 α 感受态, 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养后挑取单菌落在含抗生素 (100 mg/L 氨苄青霉素) LB 液体培养基中培养 6~8 h, 菌液经 PCR 检测后选阳性克隆进行测序分析.

1.2.3 序列测定及生物信息学分析

经 PCR 检测呈阳性的菌液委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司测序, 测序结果在 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 数据库用 BLAST 进行序列相似性检索. 用本研究中克隆获得 SCMV 四川分离物 *CP* 基因和 NCBI 数据库中已上传的所有 SCMV 中国分离物 *CP* 基因序列进行系统进化分析, 以玉米矮花叶病毒 (maize dwarf mosaic virus, MDMV) *CP* 基因为外组, 用 MEGA4 软件的邻接 (Neighbor-Joining) 法构建系统进化树, 重复取样 1 000 次^[20]. SCMV 核苷酸变异、群体分化和基因流、群体中性测试均用 DNaSP 软件进行分析^[21].

2 结果与分析

2.1 四川玉米和甘蔗病样中的病毒检测

从四川攀枝花田间采集表现病毒病症状的玉米和甘蔗植株病叶, 玉米叶片主要表现褪绿、斑驳和花叶症状, 甘蔗叶片主要表现褪绿、黄化、坏死和叶卷曲症状 (图 1).

为综合分析所采集样品中存在的病毒种类, 各样品均取 0.1 g 混合研磨制备混样并提取总 RNA, 委托上海美吉生物医药科技有限公司进行小 RNA 高通量测序. 测序共获得 13 868 023 个 reads, 去除接头以及长度小于 18 或大于 32 个核苷酸的 reads, 获得 9 505 185 个 Clean reads. 将 Clean reads 通过从头组装产生重叠群后与病毒数据库 GenBank Virus RefSeq 进行比对并注释得到的病毒序列. 所有重叠群共比对到 5 种病毒: SrMV, MaYMV, SCMV, SCBGAV 和 MSRV (表 2).



PZH1, PZH2, PZH7, PZH8 为本研究中样品编号.

图 1 四川攀枝花田间部分玉米和甘蔗病样症状

表 2 小 RNA 高通量测序鉴定玉米和甘蔗样品中的病毒种类

病毒名称	重叠群数	占比/%
SrMV	52	28.89
MaYMV	38	21.11
SCBGAV	30	16.67
SCMV	9	5.00
MSRV	6	3.33

注: 占比为比对到该病毒重叠群数与比对到该病毒的重叠群总数之比。

为验证玉米和甘蔗样品中存在的病毒种类, 分别提取本研究中采集的 54 份玉米和 42 份甘蔗样品总 RNA, 反转录合成 cDNA, 以表 1 中引物分别进行 PCR 扩增, 琼脂糖凝胶电泳检测结果表明: 四川攀枝花玉米病样中可检出 SCMV, MaYMV 和 MSRV 3 种病毒, 检出率分别为 66.7%, 59.3% 和 3.7%; 甘蔗病样中可检出 SCBGAV, SCMV 和 SrMV 3 种病毒, 检出率分别为 76.2%, 52.4% 和 28.6% (表 3)。从每种病毒的阳性样品中随机选取 2 个 PCR 扩增产物经切胶回收后连入 pMDTM19-T 载体, 转化大肠杆菌 Trans5 α 感受态, 挑取阳性克隆进行序列测定, 序列分析显示扩增产物均为对应病毒基因组序列, 表明扩增出目标片段的玉米或甘蔗样品被该病毒侵染。

表 3 四川攀枝花玉米和甘蔗样品中病毒种类和侵染率的 RT-PCR 检测结果

寄主	样品总数	SCMV		MSRV		MaYMV		SCBGAV		SrMV	
		阳性数	检出率/%	阳性数	检出率/%	阳性数	检出率/%	阳性数	检出率/%	阳性数	检出率/%
玉米	54	36	66.7	2	3.7	32	59.3	—	—	—	—
甘蔗	42	22	52.4	—	—	—	—	32	76.2	12	28.6

2.2 SCMV 四川分离物 CP 基因克隆及遗传变异分析

目前 GenBank 数据库中尚无 SCMV 四川分离物的基因序列, 本研究随机选取 6 个检出 SCMV 的玉米和 5 个检出 SCMV 的甘蔗样品 cDNA 为模板, 以引物对 SCMV-CP-F/SCMV-CP-R 扩增 CP 基因全序列。扩增产物经纯化回收后连入 pMDTM19-T 载体并转化大肠杆菌 Trans5 α 感受态, 每个转化子挑取 3 个阳性克隆经测序鉴定 SCMV CP 基因序列 (表 4)。

表 4 克隆 CP 基因序列的 SCMV 分离物

样品序号	寄主	样品编号	GeneBank 登录号
1	玉米	PZH1	MT519598
2	玉米	PZH2	MT519599
3	玉米	PZH3	MT519600
4	玉米	PZH4	MT519601
5	玉米	PZH5	MT519602
6	玉米	PZH6	MT519603
7	甘蔗	PZH7	MT519604
8	甘蔗	PZH8	MT519605
9	甘蔗	PZH9	MT519606
10	甘蔗	PZH10	MT519607
11	甘蔗	PZH11	MT519608

为综合分析 SCMV 四川分离物群体在 SCMV 中国分离物群体中的遗传进化, 利用从四川玉米和甘蔗上扩增获得的 SCMV 分离物 CP 基因序列, 并从 GenBank 数据库中下载获得所有来源于我国不同地区及寄主的 SCMV CP 基因序列, 构建系统进化树并分析其遗传变异情况。序列比对结果显示, 120 个 SCMV 中国分离物的 CP 基因序列的核苷酸同源性为 73.8%~100.0%。以 MEGA4 软件构建系统进化树, 结果显示, 所有 SCMV 中国分离物聚为 5 个进化组分支 (图 2)。

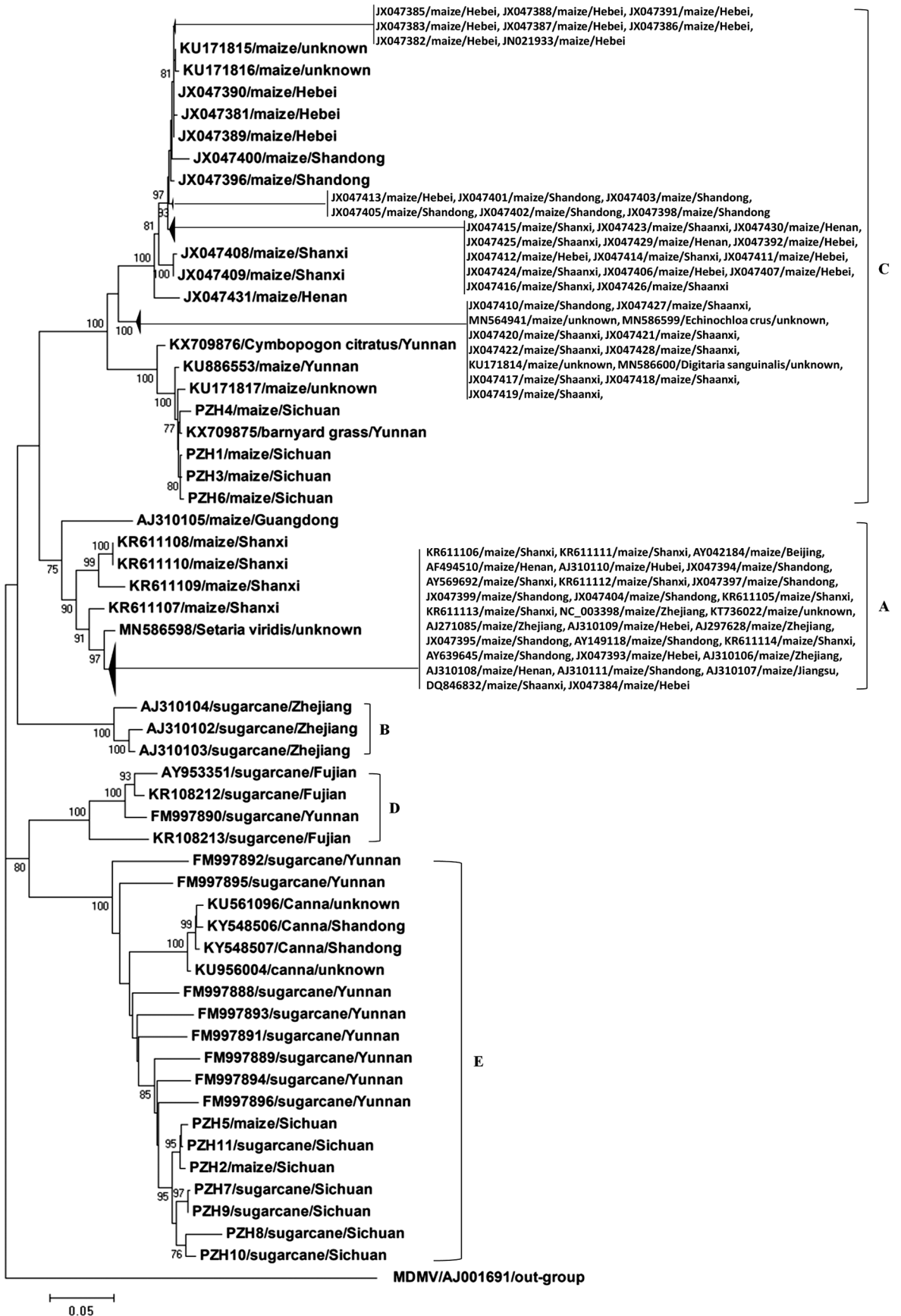


图 2 基于 SCMV 中国分离物 CP 基因序列的系统进化树

A 组和 C 组中 SCMV 分离物主要来自玉米, 而 B 组和 D 组分离物则主要来自甘蔗. 来自于玉米的 SCMV 四川分离物 PZH1, PZH3, PZH4 和 PZH6 位于 C 组, 而来自于甘蔗的 SCMV 四川分离物 PZH7, PZH8, PZH9, PZH10 和 PZH11 均位于 E 组, 表明 SCMV 的遗传进化具有明显的寄主特异性. 进化树聚类结果还表明, 来自于四川和云南甘蔗上的 SCMV 分离物主要聚于 E 组, 来自于福建和浙江甘蔗上的 SCMV 分离物分别聚于 D 组和 B 组, 来自于四川、山西、陕西、河北和山东几个地域依次毗邻省份玉米上的 SCMV 分离物同聚于 C 组, 即来自于同种寄主、同一省份或邻近省份的 SCMV 分离物可聚为同一组, 这说明地理起源对于 SCMV 的遗传进化也具有重要作用.

以 DnaSP5 软件计算 SCMV 中国分离物群体的核苷酸多样性为 0.129 88, 表明 SCMV 中国分离物群体的总体变异度较低. 对 SCMV 分离物序列信息超过 10 个的四川、云南、河北、山西、陕西、山东等地的 SCMV 分离物 *CP* 基因的核苷酸多样性进行分析, 结果表明, 来源于河北、山西和陕西 3 省的 SCMV 分离物核苷酸变异度更低, 且均来自于各省相同的宿主. 而来源于四川、云南和山东的 SCMV 分离物来自于至少两种以上的宿主, 且各省 SCMV 群体的核酸变异度也相对更高(表 5). 该结果与对 SCMV 系统进化的分析一致, 均可表明宿主在 SCMV 中国分离物的遗传分化过程中发挥着重要的作用.

表 5 SCMV 群体 *CP* 基因核苷酸多样性分析

SCMV 群体	分离物数量	核苷酸多样性	标准误
中国	120	0.129 88	0.004 32
河北	20	0.053 59	0.004 15
陕西	13	0.051 86	0.004 87
四川	11	0.120 68	0.005 70
山东	18	0.130 51	0.005 51
山西	16	0.099 24	0.004 76
云南	12	0.143 82	0.005 55

基于上述结果分析, 宿主和地理分布在 SCMV 中国分离物的遗传进化过程中作用明显, 且 SCMV 在田间主要由蚜虫进行传播, 暗示着邻近地理区域的 SCMV 群体可能因蚜虫的交叉传播出现趋同进化. 本研究以 DnaSP5 软件分析了四川与云南、山西、陕西、河北和山东等省 SCMV 分离物群体间的遗传分化和基因流, 种群间的遗传分化程度采用 K_s^* , Z 和 S_{nn} 3 个参数来反映, 种群间的基因流采用 F_{ST} 值来反映^[16, 21-22]. F_{ST} 测试结果表明, SCMV 四川和云南分离物之间的 F_{ST} 值(表示不同群体间的遗传多样性, 反映基因流迁移率)为 0.011 23, 而四川与其他省份分离物群体间的 F_{ST} 值均大于 0.33, 表明四川和云南的 SCMV 分离物群体间基因流更为频繁(表 6). 本研究中的 SCMV 四川分离物来源于四川最南端川滇结合部的攀枝花市, 与云南相邻, 这表明更近的地理分布更易导致相邻地区 SCMV 群体的频繁基因流.

表 6 四川与其他地理区域 SCMV 群体的遗传差异和基因流

参数	四川/云南	四川/河北	四川/陕西	四川/山西	四川/山东
K_s^*	4.416 64 [*]	3.139 25	3.538 36	3.989 92	4.090 5
Z	122.752 31	163.114 83	93.733 79	118.382 74	166.175 59
S_{nn}	0.717 39	1	1	1	1
F_{ST}	0.011 23	0.542 67	0.516 19	0.459 29	0.352 24

注: * 表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义.

SCMV 四川和云南分离物间的频繁基因流暗示这两个区域间的 SCMV 可能以某种方式(如蚜虫的田间传播)进行着交叉传播. 根据 SCMV 中国分离物 *CP* 基因系统进化树分组结果, SCMV 四川和云南分离物均主要聚于 C 组和 E 组. 为分析 C 组和 E 组的 SCMV 四川和云南分离物种群(分别表示为 SC-YN-GpC 和 SC-YN-GpE)的扩展态势, 本研究通过 Tajima's D , Fu and Li's D 和 Fu and Li's F 等方法进行中性测试^[23-24]. 结果显示, 来自于 C 组和 E 组的四川和云南分离物群体的 Tajima's D , Fu and Li's D 和 Fu and

Li's F 值均为负值,但未达到统计学意义,表明 SC-YN-GpC 和 SC-YN-GpE 两个种群在四川和云南可能存在扩张趋势(表 7).

表 7 SCMV 四川和云南分离物群体变异中性测试

	Tajima's D	Fu and Li's D	Fu and Li's F
SC-YN-GpC	-1.375 85	-1.501 95	-1.630 11
SC-YN-GpE	-1.144 09	-1.196 02	-1.362 86

3 结论与讨论

本研究是对四川攀枝花玉米和甘蔗中病毒病原种类和侵染率的综合分析,也是对 SCMV 四川分离物群体遗传变异情况的首次报道.我国玉米和甘蔗上的病毒病害长期发生,随着病毒鉴定技术的发展,目前我国已在田间玉米和甘蔗上鉴定到多种病毒^[2-3,25-26].本研究从四川攀枝花市玉米上检出 SCMV, MaYMV 和 MSRV 3 种病毒,从甘蔗上检出 SCBGAV, SCMV 和 SrMV 3 种病毒,其中 SCMV 是引起该地区玉米和甘蔗病毒病的重要病原.

前期研究对世界上某些地区 SCMV 分离物的遗传进化分析结果暗示宿主和地理因素对 SCMV 进化的重要性^[16,27].本研究对中国不同省区 SCMV 分离物群体的遗传进化分析结果显示,SCMV 中国分离物可聚为 5 个进化分支,且其系统进化和核苷酸多样性分析结果均表明,宿主和地理起源在 SCMV 的遗传进化过程中发挥着重要的作用. F_{ST} 测试表明来源于川滇交界处的四川攀枝花 SCMV 分离物和云南分离物间存在频繁基因流,这也表明地理因素在 SCMV 遗传进化过程中同样作用明显,这可能与蚜虫在较近的地理距离内频繁交叉传播 SCMV 有关.本研究中两个来源于玉米的分离物 PZH2, PZH5 和来源于四川甘蔗的 5 个分离物聚入同一组,这可能也是由于蚜虫在玉米和甘蔗间交叉传播 SCMV 所导致.

参考文献:

- [1] ZUO W, CHAO Q, ZHANG N, et al. A Maize Wall-Associated Kinase Confers Quantitative Resistance to Head Smut [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(2): 151-157.
- [2] 张超, 战斌慧, 周雪平. 我国玉米病毒病分布及危害 [J]. *植物保护*, 2017, 43(1): 1-8.
- [3] 周国辉, 许东林. 甘蔗病毒病及其防治研究进展 [J]. *植物保护学报*, 2005, 32(3): 324-328.
- [4] FAN Z F, CHEN H Y, LIANG X M, et al. Complete Sequence of the Genomic RNA of the Prevalent Strain of a Potyvirus Infecting Maize in China [J]. *Arch Virol*, 2003, 148(4): 773-782.
- [5] ZHANG H, CHENG G, YANG Z, et al. Identification of Sugarcane Host Factors Interacting with the 6K2 Protein of the Sugarcane Mosaic Virus [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(16): E3867.
- [6] KENNEDY J S, DAY M F, EASTOP V F. A Conspectus of Aphids as Vectors of Plant Viruses [M]. London: Commonwealth Institute of Entomology, 1962.
- [7] FUCHS E, GRÜNTZIG M. Influence of Sugarcane Mosaic Virus (SCMV) and Maize Dwarf Mosaic Virus (MDMV) on the Growth and Yield of Two Maize Varieties [J]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 1995, 102 (1): 44-50.
- [8] SHUKLA D D, TOSIC M, JILKA J, et al. Taxonomy of Potyviruses Infecting Maize, Sorghum and Sugarcane in Australia and the United States as Determined by Reactivities of Polyclonal Antibodies Directed Towards Virus-Specific N-Termini of Coat Proteins [J]. *Phytopathology*, 1989, 79(2): 223-229.
- [9] LIU Q, LIU H, GONG Y, et al. An Atypical Thioredoxin Imparts Early Resistance to Sugarcane Mosaic Virus in Maize [J]. *Molecular Plant*, 2017, 10(3): 483-497.
- [10] ZHANG S H, LI X H, WANG Z H, et al. QTL Mapping for Resistance to SCMV in Chinese Maize Germplasm [J]. *Maydica*, 2003, 48(4): 307-312.
- [11] ZHU M, CHEN Y, DING X S, et al. Maize Elongin C Interacts with the Viral Genome-Linked Protein, VPG, of Sugarcane Mosaic Virus and Facilitates Virus Infection [J]. *The New Phytologist*, 2014, 203(4): 1291-1304.
- [12] URCUQUI-INCHIMA S, HAENNI A L, BERNARDI F. Potyvirus Proteins: a Wealth of Functions [J]. *Virus Research*, 2001, 74(1-2): 157-175.

- [13] SHUKLA D D, FRCNKEL M, WARD C W. Structure and Function of the Potyvirus Genome with Special Reference to the Coat Protein Coding Region [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1991, 13(2): 178-191.
- [14] ULLAH Z, CHAI B, HAMMAR S, et al. Effect of Substitution of the Amino Termini of Coat Proteins of Distinct Potyvirus Species on Viral Infectivity and Host Specificity [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2003, 63(3): 129-139.
- [15] HANDLEY J A, SMITH G R, DALE J L, et al. Sequence Diversity in the Coat Protein Coding Region of Twelve Sugarcane Mosaic Poty Virus Isolates from Australia, USA and South Africa [J]. *Archives of Virology*, 1998, 143(6): 1145-1153.
- [16] LI Y, LIU R, ZHOU T, et al. Genetic Diversity and Population Structure of Sugarcane Mosaic Virus [J]. *Virus Research*, 2013, 171(1): 242-246.
- [17] LIU M H, LI M J, QI H H, et al. Occurrence of Grapevine Leafroll-Associated Viruses in China [J]. *Plant Dis*, 2013, 97(10): 1339-1345.
- [18] LYU M D, LI X M, GUO R, et al. Prevalence and Distribution of Grapevine Leafroll-Associated Virus 7 in China Detected by an Improved Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Assay [J]. *Plant Pathology*, 2014, 63(5): 1168-1176.
- [19] 李帅, 朱敏, 夏子豪, 等. 云南省玉溪市玉米致死性坏死病毒原的分子鉴定 [J]. *植物保护*, 2015, 41(3): 110-114.
- [20] TAMURA K, DUDLEY J, NEI M, et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24(8): 1596-1599.
- [21] ROZAS J, SÁNCHEZ-DELBARRIO J C, MESSEGUER X, et al. DnaSP, DNA Polymorphism Analyses by the Coalescent and other Methods [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(18): 2496-2497.
- [22] HUDSON R R, SLATKIN M, MADDISON W P. Estimation of Levels of Gene Flow From DNA Sequence Data [J]. *Genetics*, 1992, 132(2): 583-589.
- [23] TAJIMA F. Statistical Method for Testing the Neutral Mutation Hypothesis by DNA Polymorphism [J]. *Genetics*, 1989, 123(3): 585-595.
- [24] FU Y X, LI W H. Statistical Tests of Neutrality of Mutations [J]. *Tree Physiology*, 1993, 133(3): 693-709.
- [25] 冯小艳, 沈林波, 王文治, 等. 中国甘蔗主要杂交亲本病毒性病害的分子鉴定 [J]. *分子植物育种*, 2018, 16(20): 6729-6737.
- [26] 王中康, 殷幼平, COMSTOCK J C. 甘蔗黄叶病毒病早期快速 RT-PCR 诊断和鉴定 [J]. *西南农业大学学报*, 2001, 23(4): 301-303.
- [27] GAO B, CUI X W, LI X D, et al. Complete Genomic Sequence Analysis of a Highly Virulent Isolate Revealed a Novel Strain of Sugarcane Mosaic Virus [J]. *Virus Genes*, 2011, 43(3): 390-397.

责任编辑 周仁惠