

云南省豆科蔬菜常见病毒种类鉴定及发生分布

孟钰¹, 肖龙¹, 李月月¹, 谭冠林²,
陈小姣¹, 谭明珠¹, 兰平秀¹, 李凡¹

1. 云南农业大学 植物保护学院, 昆明 650201;
2. 云南农业大学 现代教育技术中心, 昆明 650201

摘 要: 对云南省豆科蔬菜主要产区开展病毒病调查, 并采集病样进行烟草花叶病毒(Tobacco Mosaic Virus, TMV)、豌豆种传花叶病毒(Pea Seed-borne Mosaic Virus, PSbMV)、菜豆黄花叶病毒(Bean Yellow Mosaic Virus, BYMV)、蚕豆萎蔫病毒 2 号(Broad Bean Wilt Virus 2, BBWV2)和番茄斑萎病毒(Tomato Spotted Wilt Orthotospovirus, TSWV)等豆科作物常见病毒的 RT-PCR 检测与鉴定. 豆科蔬菜病毒病的症状蚕豆主要为坏死、花叶、畸形、卷叶等; 豌豆主要为花叶, 有时伴随有黄化、坏死、卷叶、畸形等; 菜豆主要为花叶和皱缩; 豇豆主要有斑驳、皱缩和叶脉黄化. 检测结果发现, 侵染豌豆的病毒有 PSbMV, BBWV2 和 TSWV, 检出率分别为 44.74%, 1.32% 和 1.32%; 侵染蚕豆的病毒有 BYMV, BBWV2 和 PSbMV, 检出率分别为 39.42%, 9.62% 和 8.65%, 存在 PSbMV 与 BYMV 复合侵染现象, 二者的复合侵染率为 4.81%; 侵染菜豆的病毒有 CMV, PSbMV 和 BYMV, 检出率分别为 8.57%, 1.43% 和 1.43%; 在豇豆上只检测到 TSWV, 检出率为 9.38%. 豆科蔬菜病毒病主要分布于昆明市、楚雄州、玉溪市和红河州等滇中、滇南地区, 昆明市的样品主要检测到 BBWV2, PSbMV, BYMV, CMV 等; 玉溪市样品检测到 BBWV2, PSbMV, TSWV 等; 红河州样品检测到 BBWV2, PSbMV 等; 楚雄州样品主要检测到 BYMV, PSbMV 等. 当前为害云南蚕豆、豌豆、菜豆、豇豆的主要病毒有 PSbMV, BYMV, CMV, BBWV2 和 TSWV 5 种病毒, 其中优势病毒为 BYMV 和 PSbMV, PSbMV 在云南省分布最广且检出率相对较高.

关 键 词: 豆科蔬菜; 病毒病; 病原鉴定;
豌豆种传花叶病毒; 发生与分布

中图分类号: S52

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文 章 编 号: 2097-1354(2022)05-0054-10

收稿日期: 2022-09-22

基金项目: 云南省专家工作站(202005AF150040); 农业部公益性行业(农业)科研专项(201303028).

作者简介: 孟钰, 硕士, 主要从事植物病毒学研究.

共同第一作者: 肖龙, 硕士, 主要从事植物病毒学研究.

通信作者: 李凡, 教授.

Identification and Distribution of Main Viruses in Leguminous Vegetables in Yunnan

MENG Yu¹, XIAO Long¹, LI Yueyue¹, TAN Guanlin²,
CHEN Xiaojiao¹, TAN Mingzhu¹, LAN Pingxiu¹, LI Fan¹

1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Modern Education Technology Center, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: Viral diseases were surveyed and the diseased samples of broad bean, pea, bean and cowpea were collected from different leguminous vegetable planting areas in Yunnan Province, and then the viruses of Tobacco Mosaic Virus (TMV), Pea Seed-borne Mosaic Virus (PSbMV), Bean Yellow Mosaic Virus (BYMV), Broad Bean Wilt Virus 2 (BBWV2) and Tomato Spotted Wilt Orthotospovirus (TSWV) commonly reported on leguminous vegetables were detected by RT-PCR. The main symptoms of leguminous vegetable viral diseases were necrosis, mosaic, malformation and leaf roll in broad bean; mosaic, and mostly with yellowing, necrosis, leaf roll, malformation in pea; mosaic and shrinking in bean; mottling, shrinking and vein yellowing in cowpea. Virus detection results showed that PSbMV, BBWV2 and TSWV were detected in pea samples with the detection ratio of 44.74%, 1.32% and 1.32%, respectively. BYMV, BBWV2 and PSbMV were detected in broad bean samples at 39.42%, 9.62% and 8.65% of detection rate, respectively. The 4.81% of the broad bean plants were co-infected with PSbMV and BYMV, and 8.57%, 1.43% and 1.43% of the bean samples were infected with CMV, PSbMV and BYMV, respectively. Only TSWV was detected in cowpea plants with 9.38% of detection rate. The virus diseases of leguminous vegetables were mainly distributed in Kunming, Chuxiong, Yuxi and Honghe. Samples from Kunming were infected with BBWV2, PSbMV, BYMV and CMV, from Yuxi were infected with BBWV2, PSbMV and TSWV, from Honghe were infected with BBWV2 and PSbMV, and from Chuxiong were infected with BYMV and PSbMV. PSbMV, BYMV, CMV, BBWV2 and TSWV are the main viruses infecting pea, broad bean, bean and cowpea, among which PSbMV and BYMV are the dominant viruses in Yunnan. PSbMV is the most widely distributed virus in Yunnan Province with relatively high detection rate.

Key words: leguminous vegetable; virus disease; pathogen identification; Pea seed-borne mosaic virus; occurrence and distribution

很多豆科作物不仅是粮食作物,也是非常重要的经济作物。云南省为我国豆科作物种植大省,依托有利的气候条件豆科蔬菜产业发展迅速,如蚕豆种植面积 2007—2012 年增加了大约 5 万 hm^2 ^[1-2]。豆科(Leguminosae)蔬菜主要有豌豆(*Pisum sativum* L.)、蚕豆(*Vicia faba* L.)、菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)、豇豆[*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]、扁豆[*Lablab purpureus* (L.) Sweet]、绿豆[*Vigna radiata* (L.) Wilczek]、大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]等。随着豆科蔬菜种植面积不断扩大,侵染为害豆科植物的病毒病也逐渐增多。全球侵染豆科作物的病毒超过 130 多种^[3],其中侵染豌豆的病毒接近 40 种,包括蚕豆萎蔫病毒 2 号(Broad Bean Wilt Virus 2, BBWV2)、菜豆普通花叶病毒(Been Common Mosaic Virus, BCMV)、菜豆黄花叶病毒(Been Yellow Mosaic Virus, BYMV)、黄瓜花叶病毒(Cucumber Mosaic Virus, CMV)、豌豆轻型花叶病毒(Pea Mild Mosaic Virus, PMiMV)、豌豆种传花叶病毒(Pea Seed-borne Mosaic Vi-

rus, PSbMV)等^[4-13]. 我国已报道侵染豌豆的病毒有 10 余种, 包括苜蓿花叶病毒(Alfalfa Mosaic Virus, AMV)、三叶草黄脉病毒(Clover Yellow Vein Virus, CIYVV)、莴苣花叶病毒(Lettuce Mosaic Virus, LMV)、花生斑驳病毒(Peanut Mottle Virus, PeMoV)、大豆花叶病毒(Soybean Mosaic Virus, SMV)、芜菁花叶病毒(Turnip Mosaic Virus, TuMV)、西瓜花叶病毒(Watermelon Mosaic Virus, WMV), BBWV2, BCMV, BYMV, CMV 和 PSbMV 等病毒^[4-10]. 然而, 近几年国内外对豌豆病毒病的相关研究报道相对较少. 2004 年 Gao 等^[14]开展了豌豆抗 PSbMV 隐性基因 *sbm* 的分子标记并确定了 PSbMV 抗性基因可能的靶标位点; 2007 年王信等^[15]通过云南省豆类作物病毒病的调查发现危害云南省豌豆的主要病毒为 BYMV. 目前报道的侵染蚕豆的病毒已超过 50 种, 中国有 20 余种, 主要为烟草花叶病毒(Tobacco Mosaic Virus, TMV), AMV, BBWV2, BCMV, BYMV, CIYVV, CMV, PSbMV, TuMV 等^[10-11, 13, 16-18]. 其中 AMV, BBWV2, BCMV, BYMV, CIYVV, CMV, TuMV, PSbMV 等 20 种病毒可以同时侵染蚕豆和豌豆. 国内外报道的侵染菜豆的病毒有 30 余种^[19], 其中能通过种传的病毒有近 20 种, 我国报道菜豆种传病毒有 8 种, 分别为豇豆轻型斑驳病毒(Cowpea Mild Mottle Virus, CPMMV)、花生矮化病毒(Peanut Stunt Virus, PSV)、南方菜豆花叶病毒(Southern Bean Mosaic Virus, SBMV)、番茄黑环病毒(Tomato Black Ring Virus, TBRV)、烟草线条病毒(Tobacco Streak Virus, TSV)、BCMV, CMV 和 SMV^[20]. 国内外已报道侵染豇豆的病毒有 10 多种, 为豇豆花叶病毒(Cowpea Mosaic Virus, CPMV)、豇豆重型花叶病毒(Cowpea Severe Mosaic Virus, CPSMV), AMV, BCMV, BYMV, CMV, SBMV, TMV 等^[21-22]. 近年来, 我国报道侵染豇豆的主要病毒为 BBWV2 和 CMV, 且存在复合侵染现象^[23-24]. 在我国, 豆科作物受病毒病危害较大的有豌豆、蚕豆、大豆和菜豆等, 鉴定出的病毒主要有 AMV, BBWV2, BYMV, CMV, LMV, PSbMV, SMV, TuMV 等^[3-10, 18-19, 21-22, 25-26], 但国内关于豆科蔬菜病毒种类鉴定的相关报道主要集中在 20 世纪 60—90 年代, 且云南省豆科蔬菜病毒病的病原物种类、整体的发生分布等情况也没有完整的、系统性的报道. 在新的农业产业发展规划以及蔬菜生产布局、种植模式等形势下, 尽快明确侵染云南豆科蔬菜主要病毒种类, 对于云南省豆科蔬菜病毒病的预警防控等具有重要意义, 并可为国内外其他地区相关病毒病的研究提供参考.

1 材料与方法

1.1 试验材料

2015 年 4 月至 2018 年 11 月, 对云南省昆明市、曲靖市、玉溪市、楚雄彝族自治州、红河哈尼族彝族自治州、文山壮族苗族自治州、大理白族自治州、普洱市、保山市、德宏傣族景颇族自治州等 10 个州(市)的豆科蔬菜病毒病开展调查, 并采集坏死、花叶、畸形、皱缩和卷叶等疑似病毒病的蚕豆、豌豆、菜豆、豇豆等豆科蔬菜样品 284 份, 其中豌豆 76 份, 蚕豆 106 份, 菜豆 70 份, 豇豆 32 份.

1.2 总核酸的提取、RT-PCR 及电泳检测

采用 CTAB 法^[27]提取豆科蔬菜作物样品叶片中的总核酸. 以豆科蔬菜作物感病叶片总核酸为模板, 用各病毒通用引物、特异性引物的下游引物或 Random Primer, 按照 TaKaRa Reverse Transcriptase M-MLV(RNase H⁻)反转录酶说明书获得病毒的 cDNA, 置于冰上或 -20 °C 保存备用.

PCR 扩增体系为 10 μ L, 含 1 μ L cDNA 模板, 1 μ L 10 $\times$ Buffer(Mg²⁺ plus), 0.8 μ L dNTP

mix(2.5 mM), 上下游引物(10 μ M)各 0.2 μ L, 0.2 μ L Taq DNA Polymerase, 6.6 μ L dd H₂O. 扩增条件为: 94 $^{\circ}$ C 变性 2 min 后, 94 $^{\circ}$ C 30 s, X $^{\circ}$ C 30 s(具体到每一种病毒的退火温度, 详见表 1), 72 $^{\circ}$ C 50 s, 共 35~40 次循环, 最后, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min. 取 PCR 扩增产物在 1% 琼脂糖凝胶上进行电泳, 检测并拍照.

表 1 云南省豆科蔬菜病毒检测所用引物

病毒	引物名称	序列(5'~3')	扩增产物(bp)	退火温度/ $^{\circ}$ C	参考文献
TMV	TMVF	CGGTCAGTGCCGAACAAGAA	693	55	[28]
	TMVR	ATTTAAGTGGASGGAATAVCACT			
CMV	CMVF	ATGGACAAATCTGRATCWMCC	760	55	[29]
	CMVR	CTGGATGGACAACCCGTTC			
Potyvirus	CIFor	GGIVVIGTIGGIWSIGGIAARTCIAC	700	40	[30]
	CIRRev	ACICCRTTYTCDATDATRTTIGTIGC			
PSbMV	PSbMVdF	GCAAGTGGTTTGTATGGTRTGG	536	55	本研究
	PSbMVdR	CATGGTGTCAAAGACACACTG			
BYMV	BYMVdF	GGTGAATGGACAATGATGGATG	550	55	本研究
	BYMVdR	CCTCACTAACTGCTTACCCCTG			
BBWV2	BBWV2dF	AGAAAYAGGAAGGTGCGTGC	1 656	53	本研究
	BBWV2dR	TCTRTTGCACATGGCATACC			
TSWV	TSWVF	TCACTGTAATGTTCCATAGCAA	861	52	[31]
	TSWVR	AGAGCAATYGTGTCAATTTTATTC			

1.3 PCR 产物的纯化回收、克隆及序列分析

PCR 产物的回收使用天根生化科技(北京)有限公司的通用性 DNA 纯化回收试剂盒(Universal DNA Purification Kit), 具体步骤参照说明书. 克隆所用的大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞由实验室自己制备, 采用 TaKaRa 公司的 pMD 19-T Vector 对 PCR 纯化回收产物进行连接. 克隆菌液经 PCR 鉴定后送深圳华大基因科技有限公司测序, 将测序结果通过 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast> 和 DNAMAN 等网站和生物信息学软件进行比较分析.

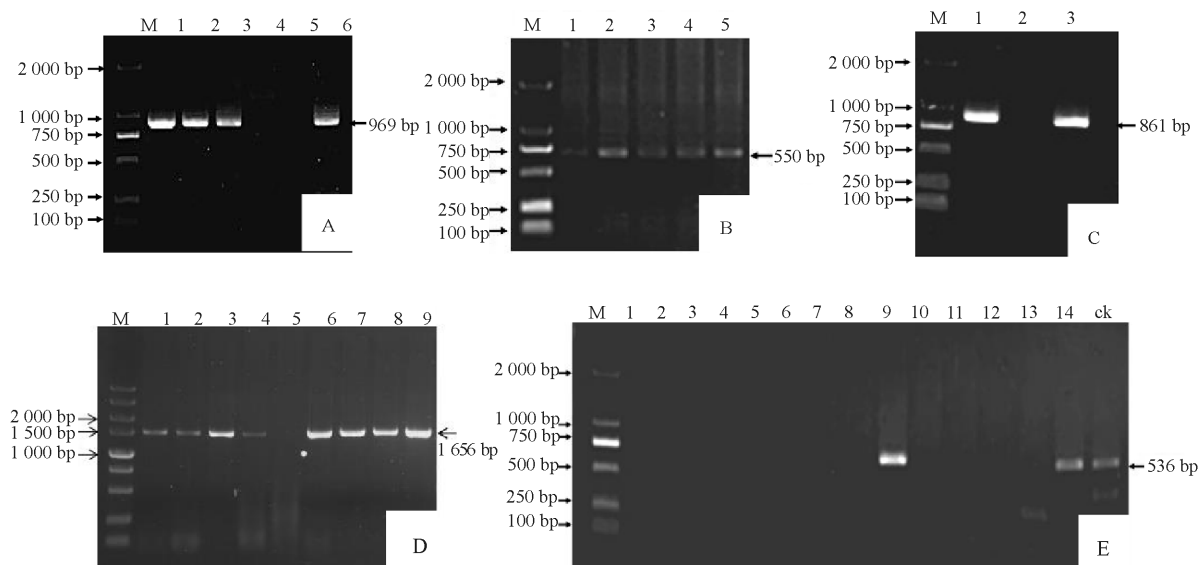
2 结果与分析

2015 年 4 月至 2018 年 11 月, 在云南省的 10 个州(市)23 个地区主要蔬菜种植区进行了豆科蔬菜病毒病的调查和样品采集, 豆科蔬菜作物主要包括蚕豆、豌豆、菜豆、豇豆等. 调查发现, 云南豆科蔬菜病毒病几乎在每个调查的地区都有发生, 其中田间蚕豆和豌豆病毒病的发生较为普遍, 这些豆科蔬菜病毒病的症状主要有花叶、褪绿、斑驳、黄化、皱缩和坏死等.

2.1 云南省豆科蔬菜病毒病常见病毒检测结果

利用 RT-PCR 方法对采自云南 10 个州(市)23 个地区 284 份豆科蔬菜病毒病样品开展了 TMVU, CMV, PSbMV, BYMV, BBWV2, 番茄斑萎病毒(Tomato Spotted Wilt Orthotospovirus, TSWV)以及马铃薯 Y 病毒属(Potyvirus)等豆科蔬菜常见病毒的检测, 共在菜豆、蚕豆、豇豆和豌豆病样中检测到 CMV, BYMV, TSWV, BBWV2 和 PSbMV 等 5 种病毒(图 1), 未检测到 TMV 和其他马铃薯 Y 病毒属病毒. 对 RT-PCR 扩增产物进行了克隆和测序分析, 证实了

相关病毒在所检测样品中的真实性.



A 为菜豆 CMV 检测; B 为蚕豆 BYMV 检测; C 为豇豆 TSWV 检测; D 为蚕豆 BBWV2 检测; E 为豌豆 PSbMV 检测.

图 1 部分豆科蔬菜样品中病毒的 RT-PCR 检测结果

通过 RT-PCR 检测, 共在 76 个豌豆样品中检测到 PSbMV, BBWV2 和 TSWV 3 种病毒, 检出率分别为 44.74%, 1.32% 和 1.32%; 106 个蚕豆样品中检测到 BYMV, BBWV2 和 PSbMV 3 种病毒, 检出率分别为 39.42%, 9.62% 和 8.65%; 70 个菜豆样品中检测到 CMV, PSbMV 和 BYMV 3 种病毒, 检出率分别为 8.57%, 1.43% 和 1.43%; 在 32 个豇豆样品中只检测到 TSWV 一种病毒, 检出率为 9.38%, 未检测到 TMV 和其他马铃薯 Y 病毒属病毒(表 2). 其中, PSbMV 和 BYMV 是云南豆科蔬菜病毒病的优势病毒, PSbMV 的平均检出率达 15.60%, BYMV 的平均检出率为 14.89%. 从 5 个蚕豆样品中检测到 PSbMV 和 BYMV 复合侵染, 检出率为 4.81%. 根据检测结果可以看出, 云南省豆科蔬菜中, 豌豆和蚕豆病毒病的发生比较普遍, 菜豆和豇豆上危害相对较轻.

表 2 云南省豆科蔬菜作物样品病毒检测结果

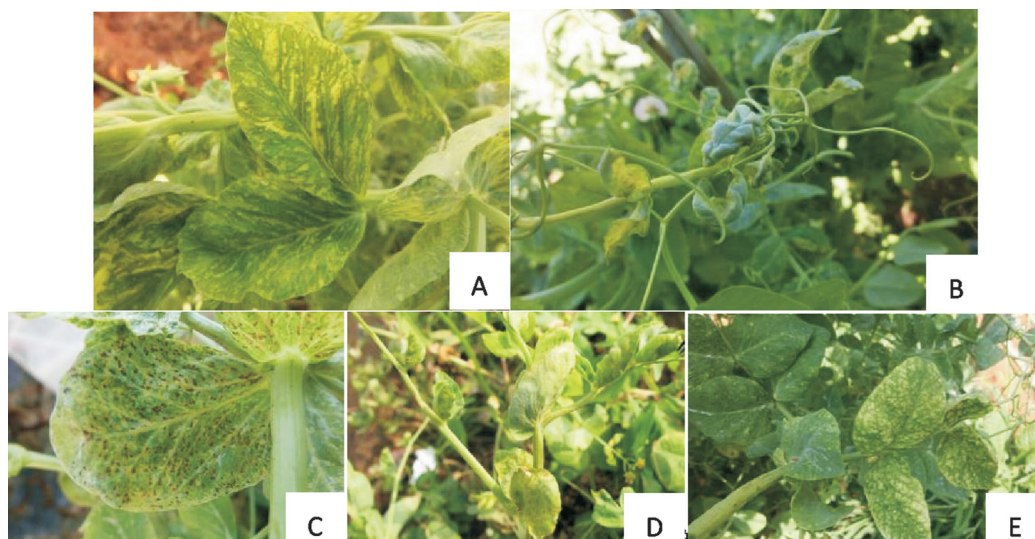
%

作物名称	样品数量	病毒种类	平均检出率	种植区
豌豆	76	BBWV2	1.32	玉溪市
		TSWV	1.32	昆明市
		PSbMV	44.74	昆明市、玉溪市、楚雄彝族自治州、红河哈尼族彝族自治州
蚕豆	106	PSbMV	8.65	昆明市
		BBWV2	9.62	红河哈尼族彝族自治州
		BYMV	39.42	昆明市、楚雄彝族自治州
菜豆	70	BYMV	1.43	昆明市
		PSbMV	1.43	昆明市
		CMV	8.57	昆明市
豇豆	32	TSWV	9.38	玉溪市、大理白族自治州、德宏傣族景颇族自治州

2.2 豆科蔬菜病毒病田间危害症状及相关致病病毒

1) 豌豆病毒病

豌豆病毒病的主要症状为花叶,部分花叶症状的样品上还伴随着黄化、坏死、卷叶和畸形等(图 2A、图 2B、图 2C),但花叶症状明显的豌豆样品主要是被 PSbMV 感染,而感染了 BBWV2 的豌豆样品主要症状为畸形和坏死(图 2D),受 TSWV 感染的豌豆样品主要表现为斑驳和皱缩(图 2E).同种病毒在豌豆植株上表现的症状基本一致但也存在一定的差异,这可能是由于豌豆的品种或病毒感染时期不同所导致,也可能是由于豌豆的生育期不同所致.同时也可以看出,感染的病毒种类不同,豌豆的症状差异也较大.



A 为 PSbMV 引起的花叶和黄化; B 为 PSbMV 引起的卷叶、皱缩;
C 为 PSbMV 引起的坏死和花叶; D 为 BBWV2 引起的畸形及坏死; E 为 TSWV 引起的斑驳和皱缩.

图 2 田间豌豆病毒病为害症状

2) 蚕豆病毒病

云南省蚕豆病毒病的发生较为普遍,田间平均发病率可达 70%~90%.主要症状为坏死、花叶、畸形和卷叶等(图 3),其中花叶症状又分为几种不同类型,感染 BYMV 的样品主要表现为叶脉及脉间褪绿黄化和斑驳,叶缘向内卷曲,有时还带有轻微的坏死(图 3A);感染 PSbMV 的样品主要表现为带泡斑症状的花叶、皱缩,且叶脉黄化(图 3B);感染 BBWV2 的样品主要表现为黄绿相间的羽状纹理花叶,而叶脉保持绿色(图 3C);其他具有坏死及卷叶症状的蚕豆样品目前尚未鉴定出具体是何种病毒感染所致.由此可见,蚕豆上症状的形成和病毒种类密切相关.



A 为 BYMV 引起的花叶; B 为 PSbMV 引起的花叶; C 为 BBWV2 引起的花叶.

图 3 田间蚕豆病毒病为害症状

3) 菜豆和豇豆病毒病

菜豆和豇豆病毒病主要症状为斑驳、花叶(图 4A), 其中有花叶症状的样品主要检测到 CMV, 而豇豆样品的主要症状有斑驳、皱缩和叶脉褪绿(图 4B、图 4C), 但仅检测到 TSWV.



A 为 CMV 引起的菜豆花叶、斑驳; B 为 TSWV 引起的豇豆叶脉褪绿; C 为 TSWV 引起的豇豆斑驳、皱缩和坏死.

图 4 田间菜豆和豇豆病毒病为害症状

2.3 云南省豆科蔬菜病毒病分布区域及其优势病毒种类

通过对云南省 10 个州(市)豆科蔬菜病毒病的调查和病毒检测结果发现, 云南省豆科蔬菜种植较为密集的地区主要为滇中地区, 同时也是病毒病发生较为普遍的地区. 豆科蔬菜病毒病主要集中分布于昆明市、楚雄彝族自治州、玉溪市和红河哈尼族彝族自治州等 4 个州(市)及其周边地区, 已检测到的 PSbMV, BYMV, BBWV2, CMV 和 TSWV 等 5 种病毒在这些区域都有分布. 其中, 昆明市豆科蔬菜的主要为害病毒为 PSbMV, BYMV, CMV 和 TSWV; 玉溪市主要为害病毒为 BBWV2, PSbMV 和 TSWV; 楚雄彝族自治州主要为害病毒有 BYMV 和 PSbMV; 红河哈尼族彝族自治州主要病毒为 BBWV2 和 PSbMV; 而大理白族自治州和德宏傣族景颇族自治州都只发现 TSWV 一种病毒. 曲靖市、文山壮族苗族自治州和保山市等地采集的豆科蔬菜样品尚未检测到上述 5 种病毒. 在调查采样的地区中, PSbMV 和 TSWV 为分布最广的 2 种病毒, 其中 PSbMV 主要分布于滇中及其相邻的几个地区, 且其检出率相对较高, 如 PSbMV 在昆明市检出率为 18.05%, 玉溪市检出率为 28.00%, 楚雄彝族自治州检出率为 8.77%, 红河哈尼族彝族自治州检出率为 6.67%. TSWV 在昆明市、玉溪市、大理白族自治州和德宏傣族景颇族自治州被检测到, 可能跟这些地区烟草、辣椒和番茄上 TSWV 的发生较为普遍有关. BBWV2 主要分布于玉溪市和红河哈尼族彝族自治州, BYMV 主要分布于昆明市和楚雄彝族自治州, 而 CMV 仅在昆明市被检测到.

3 讨论与结论

本研究中豆科蔬菜样品采集地涉及云南省所辖 16 个州(市)中的 10 个州(市), 检测到病毒侵染的样品主要分布于昆明市、楚雄彝族自治州、玉溪市、红河哈尼族彝族自治州、大理白族自治州和德宏傣族景颇族自治州 6 个州(市), 而在曲靖市、文山壮族苗族自治州、普洱市和保山市等地采集的豆科蔬菜样品上尚未检测到相关病毒. 在昆明周边的滇中各地区大量的种子、种苗转运可能是导致该地区病毒病发病严重的原因之一; 除此之外还可能是由于滇中城市群中玉溪市、楚雄市和昆明市周边地区是云南省蔬菜种植最集中的地区, 豆科蔬菜种植面积大, 病

病毒病发生也相对较普遍.对云南省豆科蔬菜作物病毒病进行系统的调查与检测,发现目前侵染云南省豆科蔬菜主要病毒种类为 PSbMV, BYMV, BBWV2, CMV 和 TSWV. 其中 PSbMV 对豌豆、蚕豆危害较大, BBWV2, BYMV 主要危害蚕豆, CMV 只在菜豆上检测到. 虽然 TSWV 在云南省分布范围较大, 且自然寄主也较多^[32], 但只在豌豆和豇豆中被检测到, 且在这两种作物中检出率都不高. 另外, 在病毒检测过程中, 利用马铃薯 Y 病毒属病毒的通用引物, 还在蚕豆上检测到一些尚未确定种的 Potyvirus, 可能为 *Potyvirus* 属其他病毒, 也可能为新病毒, 目前尚在进一步的鉴定中, 由此也说明云南省豆科蔬菜上可能还存在其他病毒. 目前本研究主要检测到 5 种病毒, 未检测到其他病毒, 可能原因之一是在部分蔬菜产地采集的样品数量较少, 而造成样品数量采集较少的原因是该地区的这类蔬菜田间疑似病毒病症状较少, 这也从侧面说明该地区的这类蔬菜病毒病发病情况较轻; 第二个原因则可能是样品所含病毒暂未在本次病毒的检测范围之内, 后续的工作中可以进一步扩大病毒的检测范围, 或对一些症状明显的病毒病样品进行高通量测序, 探明相关样品中的病毒种类, 甚至还可能会发现一些新病毒. 同时, 在所检测的某些样品如蚕豆中, 由于采集的样品总数较多, 病毒检出率也较高, 除了从检出率上可以看出这种作物容易受病毒侵染为害以外, 也可看出这种作物在田间发病情况较为严重, 导致田间调查时疑似病毒病症状的样品较多, 易于采集.

中国气候类型多样, 地理环境复杂, 豆科蔬菜作物在全国各地均有种植, 不同地区病毒病的发生可能不同, 病毒种类或优势种也有所差异. 王莉爽等^[23]在贵州省豆科蔬菜中检测出 BBWV, CMV, TMV, TuMV 和 TSWV 等 5 种病毒, 且存在以 CMV 为主的复合侵染; 车海彦等^[24]在海南省冬季豆科蔬菜上检测出 BBWV 和 CMV, 少数样品存在两种病毒复合侵染; 甘肃省豆科蔬菜上检测出菜豆金色黄花叶病毒(Bean Golden Yellow Mosaic Virus, BGYMV), BBWV, CMV 和 TMV 4 种病毒, BBWV 和 TMV 为主要毒源^[33]; 浙江省和江西省豆科蔬菜主要病毒为 BBWV 和 CMV, 且存在复合侵染^[34]; 在广东省和广西省豇豆上检测出 BBWV 和 CMV, 菜豆上仅检测出 CMV, CMV 在豇豆上的检出率高达 89.1%^[35]; 在湖北省豇豆、菜豆、蚕豆上检测出 BBWV 和 CMV 2 种病毒, 其中 CMV 检出率均超过 50%^[36]. 本研究在云南省豆科蔬菜作物上检测到 PSbMV, BYMV, BBWV2, CMV 和 TSWV 5 种病毒, 其中 BYMV 和 PSbMV 危害最为严重, 这与其他地区所报道的结果有所差别. 这种差别可能是由不同地区的地理环境所引起, 也可能跟所种植的豆科蔬菜种子的来源地有关. 云南省地处我国西南, 海拔跨度较大, 气候类型多样, 病毒在不同的环境中其适应性也会有所不同.

云南省的豆科蔬菜以 PSbMV, BYMV, BBWV2, CMV 和 TSWV 等几种病毒为主要病原物的原因可能与其传播方式有关, PSbMV, BYMV, BBWV2 及 CMV 均可通过蚜虫进行传播, TSWV 则可以通过蓟马进行传播, 而 PSbMV, CMV 还可以通过种子带毒进行传播^[3, 37]. 云南省豆科蔬菜作物的种植模式中许多都为自留种植, 这就导致其极易通过留种传播, 并造成了发病情况不断加重的趋势. 根据本课题组近几年的调查发现, TSWV 在云南省的发生危害较为普遍和严重, 在云南省很多作物如烟草、辣椒、番茄以及很多花卉上都有发生, 且寄主范围和分布范围都在不断扩大, 推测 TSWV 在云南省豆科蔬菜作物上的寄主范围和分布范围可能还会更广.

同一种病毒在不同的寄主上会形成相似或不同的症状, 如 CMV 能侵染豆科、茄科、葫芦科等多个科的植物, 但其在多种作物上危害症状均有生长迟缓、节间矮化、叶片斑驳黄化、花叶甚至引起叶片畸形和果实发育不良等, 这可能也是该病毒的特征性症状^[38]. 本研究中 PSb-

MV 可以侵染豌豆、蚕豆及菜豆,但其在不同的植物上所表现的症状有所差异,在 PSbMV 侵染的豌豆上主要表现为花叶、黄化、坏死等,但在侵染蚕豆时症状主要表现为花叶.另外,同一种病毒在同一寄主不同的生长期也会造成寄主不同的症状类型,如 TSWV 在茄科作物上均会在一定时期的果实或叶片上出现较为明显的同心圆环斑^[39].本研究中采集的感染了 TSWV 的豇豆没有发现同心圆环斑,但在温室条件下对豇豆进行 TSWV 机械接种的初期阶段出现了类似于田间样品的症状,后期则表现有明显的同心圆环斑,因此所采集的田间样品未出现同心圆环斑可能为 TSWV 侵染初期,尚未显现此症状.

参考文献:

- [1] BAO S Y, WANG X M, ZHU Z D, et al. Survey of Faba Bean and Field Pea Viruses in Yunnan Province, China [J]. Australasian Plant Pathology, 2007, 36(4): 347.
- [2] 何玉华. 云南地方蚕豆种质资源遗传多样性分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [3] 韩俊丽, 郭庆元, 杨知还, 等. 国家种质库保存大豆和菜豆种质的种传病毒检测 [J]. 植物遗传资源学报, 2010, 11(3): 284-289.
- [4] 曹琦, 濮祖芹, 许志刚. 江苏省豌豆病毒病的病原鉴定 [J]. 南京农业大学学报, 1986, 9(3): 125-126.
- [5] 周雪平, 濮祖芹. 侵染豌豆的莠苣花叶病毒研究 [J]. 南京农业大学学报, 1989, 12(1): 142.
- [6] 周雪平, 濮祖芹. 侵染豌豆的两种病毒病的初步鉴定 [J]. 南京农业大学学报, 1990, 13(S1): 64-67.
- [7] 周雪平, 濮祖芹. 侵染豌豆的芜菁花叶病毒研究 [J]. 南京农业大学学报, 1990, 13(S1): 51-55.
- [8] 周雪平, 濮祖芹, 方中达. 豌豆病毒病原研究 [J]. 植物病理学报, 1994, 24(3): 207-212.
- [9] 周雪平, 濮祖芹. 国外豌豆病毒病的种类及防治 [J]. 植物保护, 1994, 20(1): 31-32.
- [10] 周雪平, 余永杰, 刘勇, 等. 侵染豌豆和蚕豆的蚕豆萎蔫病毒研究 [J]. 浙江农业大学学报, 1995(3): 221-226.
- [11] LATHAM L J, JONES R A C (谢国禄·译). 一年生牧草和豆科牧草中的苜蓿花叶病毒和豌豆种子衍生花叶病毒: 感病性、敏感性和种子传染 [J]. 国外作物育种, 2002(2): 64.
- [12] PEREZ-EGUSQUIZA Z, TANG J Z, WARD L I, et al. The Truth about Pea Mild Mosaic Virus [J]. Australasian Plant Pathology, 2014, 43(2): 193-196.
- [13] WORRALL E A, et al. Bean Common Mosaic Virus and Bean Common Mosaic Necrosis Virus: Relationships, Biology and Prospects for Control [J]. Advances in Virus Research, 2015, 93: 1-46.
- [14] GAO Z, EYERS S, THOMAS C, et al. Identification of Markers Tightly Linked to Sbm Recessive Genes for Resistance to Pea Seed-Borne Mosaic Virus [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2004, 109(3): 488-494.
- [15] 王信, 王晓鸣, 杨家荣, 等. 蚕豆和豌豆对菜豆黄花叶病毒引致病病毒的抗性研究 [J]. 作物杂志, 2007(2): 55-58.
- [16] ABRAHAM A, MAKKOUK K M, GORFU D, et al. Survey of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Virus Diseases in Ethiopia [J]. Phytopathologia Mediterranea, 2000, 39(2): 277-282.
- [17] TORNOS T, CEBRIÁN M C, CÓRDOBA-SELLÉS M C, et al. First Report of Pea Enation Mosaic Virus Infecting Pea and Broad Bean in Spain [J]. Plant Disease, 2008, 92(10): 1469.
- [18] 肖洋. 花生矮化病毒病抗性的遗传分析及抗性分子标记研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [19] 文朝慧, 王军平, 张丽萍, 等. 甘肃省河西地区菜豆病毒病分子检测 [J]. 甘肃农业大学学报, 2012, 47(6): 93-96.
- [20] 韩俊丽, 郭庆元, 王晓鸣. 普通菜豆种传病毒及其检测 [C]. 中国植物保护学会 2008 年学术年会, 2008, 123-126.
- [21] 许志纲, COCKBAIN A J, 方中达. 蚕豆染色病毒(BBSV)在中国的发生与鉴定 [J]. 植物病理学报, 1986, 16(2): 55-58.

- [22] 徐慧民. 世界豇豆病毒病和研究概况 [J]. 微生物学杂志, 1986, 6(3): 55-60.
- [23] 王莉爽, 陈小均, 陈文, 等. 贵州蔬菜病毒病主要病毒种类检测 [J]. 广东农业科学, 2015, 42(20): 63-67.
- [24] 车海彦, 曹学仁, 刘培培, 等. 海南省冬季蔬菜病毒病发生情况调查 [J]. 热带农业科学, 2017, 37(1): 71-74.
- [25] 吴元华, 贝纳新, 韦石泉, 等. 辽宁烟区新分离到烟草坏死病毒及其生物学性状的初步研究 [J]. 中国烟草, 1992, 13(3): 1-5.
- [26] 蔡连卫, 李强, 刘吉元, 等. 豆科蔬菜主要病害发生特点及综合防治措施 [J]. 安徽农学通报, 2010, 16(24): 87-89.
- [27] LI R, MOCK R, HUANG Q, et al. A Reliable and Inexpensive Method of Nucleic Acid Extraction for the Pcr-based Detection of Diverse Plant Pathogens [J]. Journal of Virological Methods, 2008, 154(1-2): 48-55.
- [28] ALISHIRI A, RAKHSHANDEHROO F, ZAMANIZADEH H R, et al. Prevalence of Tobacco Mosaic Virus in Iran and Evolutionary Analyses of the Coat Protein Gene [J]. The Plant Pathology Journal, 2013, 29(3): 260-273.
- [29] TAN X Q, ZHANG D Y, WINTGENS C, et al. A Comparative Testing of Cucumber Mosaic Virus (CMV)-Based Constructs to Generate Virus Resistant Plants [J]. American Journal of Plant Sciences, 2012, 3(4): 461-472.
- [30] HA C, COOMBS S, REVILL P A, et al. Design and Application of Two Novel Degenerate Primer Pairs for the Detection and Complete Genomic Characterization of Potyviruses [J]. Archives of Virology, 2008, 153(1): 25-36.
- [31] 尹跃艳, 董家红, 徐兴阳, 等. 昆明番茄斑萎病毒不同分离物 N 基因遗传多样性分析 [J]. 西南农业学报, 2013, 26(1): 159-162.
- [32] 张仲凯, 李毅. 云南植物病毒 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [33] 刘欢. 常见蔬菜病毒病原鉴定及多重 RT-PCR 的建立与应用 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.
- [34] 刘雪建. 浙江省和江西省蔬菜病毒鉴定与变异研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [35] 汤亚飞, 余小漫, 杜振国, 等. 为害广东和广西蔬菜作物主要病毒的检测 [C]. 中国植物保护学会 2015 年学术年会, 2015, 266.
- [36] 张艳超, 侯明生, 蔡丽. 湖北省蔬菜病毒病主要毒原种类检测 [J]. 华中农业大学学报, 2017, 36(6): 31-38.
- [37] 陆建英, 杨晓明. 豌豆种传花叶病毒病研究综述 [J]. 甘肃农业科技, 2013(9): 50-53.
- [38] 王达新, 郭刚, 殷晓敏, 等. 黄瓜花叶病毒研究进展 [J]. 现代农业科技, 2013(3): 121-123.
- [39] 张仲凯, 丁铭, 方琦, 等. 番茄斑萎病毒属 (Tospovirus) 病毒在云南的发生分布研究初报 [J]. 西南农业学报, 2004, 17(S1): 163-168.

责任编辑 苏荣艳