

都梦丹, 李正刚, 何自福, 余小漫, 汤亚飞. 甘薯曲叶病毒广东种群的遗传特征分析 [J]. 广东农业科学, 2025, 52 (1): 60–69.

DU Mengdan, LI Zhenggang, HE Zifu, SHE Xiaoman, TANG Yafei. Analysis on genetic characteristics of the Guangdong population of sweetpotato leaf curl virus [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2025, 52 (1): 60–69.

# 甘薯曲叶病毒广东种群的遗传特征分析

都梦丹<sup>1,2</sup>, 李正刚<sup>2</sup>, 何自福<sup>2</sup>, 余小漫<sup>2</sup>, 汤亚飞<sup>2</sup>

(1. 华南农业大学植物保护学院, 广东 广州 510640; 2. 广东省农业科学院植物保护研究所 / 农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室 / 广东省植物保护新技术重点实验室, 广东 广州 510640)

**摘要:**【目的】甘薯曲叶病是影响甘薯产业的一种重要病害, 旨在监测该病害在广东甘薯产区的发生与分布, 明确甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl virus, SPLCV) 广东种群的遗传特征, 为 SPLCV 的防控提供理论依据。【方法】2019—2023 年, 通过对广州、茂名、湛江、汕尾 4 个广东省甘薯主要产区进行系统调查, 采集疑似甘薯曲叶病样本。利用 RCA 扩增、分子克隆以及序列分析方法, 获得 SPLCV 分离物的基因组全长序列。进一步利用 SDT、MEGA、RDP、DnaSP 等生物学软件对 SPLCV 广东种群各分离物的基因组结构特征、全长序列相似性、系统进化、重组、种群多态性等进行分析。【结果】获得 SPLCV 广州 (GS01)、湛江 (GS02)、茂名 (MM01) 3 个分离物的基因组全长序列。进一步序列分析发现, SPLCV 广东种群的基因组结构基本一致, 均编码 6 个 ORFs, 但病毒基因组全长序列存在差异, 序列相似性为 87.00%~99.90%, 其中 GS01 分离物的序列差异明显, 与其他分离物相似性低 (87.00%~87.90%)。系统进化树分析同样表明, GS01 分离物与广东其他分离物遗传距离较远, 聚集在不同分支, 表明 GS01 分离物与广东其他 6 个分离物的来源不同。重组分析显示, SPLCV 广东种群的基因组未发生重组。种群多态性分析发现, SPLCV 广东分离物核苷酸多样性为 0.06544, 总体变异程度较低。进一步分析 SPLCV 广东分离物 *AV1*、*AV2*、*AC1*、*AC2*、*AC3*、*AC4* 基因的选择压力, 发现 *AC4* 基因所承受的选择压力大, 处于多样性选择。【结论】甘薯曲叶病在广东省广州、茂名、湛江等甘薯主产区均有发生, 其病原物 SPLCV 广东种群存在一定程度的差异, *AC4* 基因的突变是引起 SPLCV 广东种群变异的主要原因。同时, 首次在广东茂名甘薯产区检测到 SPLCV, 表明 SPLCV 在广东省的分布正在扩大, 对甘薯生产安全构成威胁。因此, 需加强对 SPLCV 监测及甘薯种苗调运监管, 及时控制田间烟粉虱, 以有效控制甘薯曲叶病的发生与为害。

**关键词:** 甘薯; 甘薯曲叶病毒; 广东种群; 病毒序列; 种群多态性; 选择压力

中图分类号: S432.41

文献标志: A

文章编号: 1004-874X (2025) 01-0060-10

## Analysis on Genetic Characteristics of the Guangdong Population of Sweetpotato Leaf Curl Virus

DU Mengdan<sup>1,2</sup>, LI Zhenggang<sup>2</sup>, HE Zifu<sup>2</sup>, SHE Xiaoman<sup>2</sup>, TANG Yafei<sup>2</sup>

(1. College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China;

2. Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Green Prevention and Control of Fruits and Vegetables in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Guangdong Key Laboratory of New Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640, China)

收稿日期: 2024-07-18

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2024YFD1401200); 国家自然科学基金 (32072392); 广东省农业科学院协同创新中心项目 (XT202210)

作者简介: 都梦丹 (2000—), 女, 在读硕士生, 研究方向为植物病毒学, E-mail: go\_ahead0220@163.com

通信作者: 汤亚飞 (1980—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为植物病毒学, E-mail: tangyafei@gdppr.com

**Abstract:** 【 Objective 】 Sweetpotato leaf curl disease is an important disease affecting the production of sweetpotato. This study aims to monitor the occurrence and distribution of sweetpotato leaf curl disease in major sweetpotato production areas of Guangdong Province, and to clarify the genetic characteristics of the Guangdong population of sweetpotato leaf curl virus (SPLCV), providing a theoretical basis for the prevention and control of such disease. 【 Method 】 From 2019 to 2023, systematic surveys were conducted in 4 major sweetpotato production areas of Guangdong Province, including Guangzhou, Maoming, Zhanjiang, and Shanwei. Suspected samples were collected, and the full-length genome sequences of SPLCV isolates were obtained by RCA amplification, molecular cloning, and sequence analysis methods. Further, biological software tools such as SDT, MEGA, RDP and DnaSP were utilized to analyze the genomic structural characteristics, full-length sequence similarity, phylogenetic analysis, recombination and population polymorphism between SPLCV Guangdong isolates. 【 Result 】 The full-length genome sequences of three new SPLCV isolates were obtained from Guangzhou (GS01), Zhanjiang (GS02), and Maoming (MM01). Sequence analysis revealed that the genomic structure of the Guangdong population of SPLCV was generally consistent, all encoding six ORFs, but there were differences in the full-length genome sequences. The sequence similarity among the SPLCV Guangdong isolates ranged from 87.00% to 99.90%, with the GS01 isolate exhibiting significant sequence differences and low similarity (87.00% to 87.90%) to other isolates. Phylogenetic tree analysis also indicated that the GS01 isolate was genetically distant from the other six Guangdong isolates, clustering in different branches, suggesting that the source of the GS01 isolate was different from that of the other Guangdong isolates. Recombination analysis showed that no recombination occurred between SPLCV Guangdong isolates. Population polymorphism analysis revealed that the nucleotide diversity of SPLCV Guangdong isolates was 0.06544, with a relatively low degree of variation. Further selection pressure analysis of *AV1*, *AV2*, *AC1*, *AC2*, *AC3*, and *AC4* genes of SPLCV Guangdong isolates revealed that *AC4* gene experienced high selection pressure, within a state of diversity selection. 【 Conclusion 】 The study found that sweetpotato leaf curl disease occurred in Guangzhou, Maoming, and Zhanjiang sweetpotato production areas in Guangdong Province, and there were certain differences in the SPLCV Guangdong population. *AC4* gene mutation was the main cause of the variation in the SPLCV Guangdong population. At the same time, SPLCV was first detected in Maoming sweetpotato production area, indicating that the distribution of SPLCV in Guangdong Province is expanding and posing a threat to the safety of sweetpotato production. Therefore, it is necessary to strengthen the monitoring of SPLCV and the regulation of sweetpotato seedling transportation, timely control *Bemisia tabaci* in the field, to effectively control the occurrence and damage of sweetpotato leaf curl disease.

**Key words:** sweetpotato; sweetpotato leaf curl virus; Guangdong population; viral sequence; population polymorphism; selection pressure

【研究意义】甘薯 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] 是旋花科 (Convolvulaceae) 甘薯属 (*Ipomoea*) 块根植物, 含有丰富的纤维、维生素、矿物质等人体必需的营养成分以及多酚、多糖和花青素等抗氧化活性物质, 是一种重要的粮食、饲料、能源以及工业原料作物。甘薯起源于拉丁美洲, 全球有 110 多个国家种植, 主要分布在亚洲和非洲<sup>[1]</sup>。我国是世界上最大的甘薯生产国, 根据世界粮农组织 (FAO) 统计, 2022 年中国甘薯种植面积约为 230.4 万  $\text{hm}^2$ , 总产量大约为 5 109.1 万 t。广东省气候温暖潮湿, 可周年种植甘薯, 是我国主要的甘薯产区之一<sup>[2]</sup>。广东地区主要专注于优质食用鲜薯的种植、生产、销售及消费, 是全国范围内最大的鲜食甘薯消费市场及集散中心<sup>[3]</sup>。2022 年, 全省甘薯种植面积达 17.2

万  $\text{hm}^2$ , 年产量为 428 万 t, 其中粤西地区种植面积最大, 主要分布在湛江和茂名<sup>[4]</sup>。病毒病是甘薯生产上主要制约因子, 严重影响甘薯的产量和品质。根据国际病毒分类委员会公告 (<https://ictv.global/taxonomy>) 及文献报道, 可感染甘薯的病毒超过 38 种, 而感染中国甘薯的病毒至少有 31 种, 其中隶属于双生病毒科 (*Geminiviridae*) 菜豆金色黄花叶病毒属 (*Begomovirus*) 病毒有 10 种<sup>[5]</sup>。由 *Begomovirus* 侵染引起的甘薯曲叶病是全球甘薯生产上重要病害。目前, 关于广东省甘薯曲叶病发生情况尚不明确, 亟需对广东省甘薯产区病毒病进行监测与调查, 明确广东省甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl virus, SPLCV) 种群遗传特征, 为该病害的防控提供理论依据。

【前人研究进展】甘薯曲叶病最早于 1985 年在

中国台湾发现<sup>[6]</sup>, 1994年, 首次从美国观赏甘薯曲叶病样中鉴定出 SPLCV<sup>[7]</sup>。2006年, 栾雨娟等<sup>[8]</sup>在辽宁省大连市甘薯曲叶病样中鉴定出中国甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl China virus, SPLCNV)。近年来, 国内学者从安徽、北京、河南、山东、四川、重庆、广西、广东、海南、福建、湖北、湖南、江西、浙江、江苏、贵州、云南等省(市、区)的甘薯病样中共鉴定出 10 种双生病毒, 分别为 SPLCV、SPLCNV、加那利甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl Canary virus, SPLCCV)、佐治亚甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl Georgia virus, SPLCGV)、广西甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl Guangxi virus, SPLCGxV)、河南甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl Henan virus, SPLCHnV)、湖北甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl Hubei virus, SPLCHbV)、山东甘薯曲叶病毒 (Sweetpotato leaf curl Shandong virus, SPLCSdV)、四川甘薯曲叶病毒 1 (Sweetpotato leaf curl Sichuan virus 1, SPLCScV1)、四川甘薯曲叶病毒 2 (Sweetpotato leaf curl Sichuan virus 2, SPLCScV2)、甘薯金脉病毒 (Sweetpotato golden vein virus, SPGVV), 其中 SPLCV 分布最广泛<sup>[5]</sup>。在广东, 本团队于 2011—2012 年首次在广州市和梅州市发现甘薯曲叶病, 经鉴定为 SPLCV 感染引起<sup>[9]</sup>。此后, Ma 等<sup>[10]</sup>在采集于广州、梅州、湛江的甘薯样品中检测到 SPLCV。陈新亮等<sup>[11]</sup>从国家种质广州甘薯资源圃中表现曲叶症状的病样品中检测到 SPLCV。【本研究切入点】广东省是我国甘薯产业的主要产区之一, 目前关于 SPLCV 在广东省的发生和种群遗传特征尚不清楚, 对甘薯产业高质量发展造成潜在危害。【拟解决的关键问题】通过监测甘薯曲叶病在广东甘薯主产区的发生与分布, 采用分子生物学方法明确其病毒种类, 进一步对广东各分离物的基因组序列进行相似性、系统进化等分析, 明确其广东种群的遗传特征, 为该病害的防控提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 病害调查与采样

本团队于 2019—2023 年根据甘薯曲叶病在田间表现叶片卷曲、叶脉肿大典型症状对广东省

湛江、茂名、汕尾、广州 4 个甘薯主要产区的该病发生情况进行调查, 并采集疑似曲叶病甘薯样品 52 份, 其中湛江 16 份、茂名 13 份、广州 23 份, 做好标记带回实验室进行分子鉴定。本试验于 2023 年 5 月至 2024 年 10 月在广东省农业科学院植物保护研究所完成。

### 1.2 病毒分离物基因检测

取疑似甘薯曲叶病叶片约 100 mg, 利用植物 DNA 提取试剂盒 (EasyPure® Plant Genomic DNA Kit) 提取样品总 DNA。所用引物为 *Begomovirus AVI* 基因部分序列通用简并引物 AV<sub>494</sub>/CoPR<sup>[12-13]</sup>, 分别以代表性阳性病样总 DNA 为模板, 利用 Templiphi™ RCA Kit (GE Healthcare) 进行滚环扩增 (Rolling circle amplification, RCA), 具体操作步骤按说明书进行; 用限制性内切酶 *BamH I* 对 RCA 扩增产物进行酶切, 酶切体系为 RCA 产物 3 μL, *BamH I* 1 μL, 10×Fast Digest 缓冲液 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 14 μL。37℃ 反应 2 h, 然后进行电泳检测。若能切出目的大小条带, 则进行胶回收、克隆这些特异性条带, 委托生工生物工程(上海)股份有限公司完成序列测定。

### 1.3 病毒分离物序列分析

利用 DNASTar 软件的 SeqMan 对测序结果进行拼接, 获得病毒基因组全长序列。利用 BLASTn 程序对所获病毒基因组序列进行相似性搜索, 挑选相似性最高的相关病毒代表分离物序列, 进一步用 SDT1.2 的 MUSCLE alignment 进行序列相似性分析<sup>[14]</sup>, 再依据最新 *Begomovirus* 病毒分类标准确定病毒种类。分类标准: 将所获分离物的基因组序列与已报道各个种的基因组序列进行相似性比对, 若病毒基因组序列或 DNA-A 序列与已知种的相似性 <91%, 则为 1 个新种; 若 91% < 相似性 <94%, 则该分离物为 1 个新的株系; 若相似性 >94%, 表明该分离物与已知种为同一病毒同一株系的不同分离物<sup>[15]</sup>。

### 1.4 甘薯曲叶病毒广东分离物的种群特征分析

将本研究所获得的 SPLCV 3 个广东分离物与已报道的 4 个广东分离物: GZ01 (登录号 JX286653)、GZ02 (登录号 JX286654)、XN01 (登录号 JX286655)、三裂叶薯 (*Ipomoea triloba* L.) 分离物 (登录号 MN909042) 进行种群特征分析。

利用 Open Reading Frame Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 在线网站对 7 个广东分离物进行开放阅读框 (ORF) 分析。采用 MEGA6.0 的邻接法 (Neighbor joining, NJ) 构建系统进化树, 设置 Bootstrapping 值为 1 000, 根据进化树的距离来对其亲缘关系进行分析<sup>[16]</sup>。采用 RDP4.95 软件对序列进行重组分析<sup>[17]</sup>。利用 DnaSP5.1 软件对 SPLCV 广东分离物进行种群多态性分析, 进一步对各基因进行选择压力分析:  $\omega = \text{非同义突变}(d_n) / \text{同义突变}(d_s)$ ; 若  $\omega > 1$ , 表明基因的非同义突变高于同义突变, 处于多样性选择, 即正向选择; 若  $\omega < 1$ , 则说明基因处于纯化选择, 即负向选择。

## 2 结果与分析

### 2.1 甘薯曲叶病田间发生情况和病毒检测

经调查发现, 甘薯曲叶病在广东省湛江、茂名、广州甘薯产区均有发生, 田间病株主要表现为叶片皱缩、卷曲等症状 (图 1)。甘薯曲叶病田间发病率比大棚低, 一般为 3%~20%, 而大棚发病率严重时可达到 100%。对采集的 52 份疑似病样进行 *Begomovirus* 病毒检测, PCR 检测均为阳性, 表明 52 份甘薯病样中均存在 *Begomovirus* 病毒。

### 2.2 甘薯曲叶病毒广东分离物基因组序列

通过 RCA、酶切、分子克隆技术, 共获得 3 个广东 SPLCV 分离物的基因组全长序列, 并利用 SDT1.2 生物软件对 3 个广东 SPLCV 分离



图 1 甘薯曲叶病田间发病症状

Fig. 1 Disease symptoms of sweetpotato leaf curl virus in the field

物与相似性最高的其他 SPLCV 分离物进行序列相似性分析。结果 (图 2) 显示, 从广州病样中获得病毒分离物 1 个, 命名为 GS01 (登录号 MW678598), 全长为 2 809 bp, 该序列与江苏 XU10\_14 分离物 (登录号 MH602263) 相似性最高、为 97.30%; 从湛江病样中获得病毒分离物 1 个, 命名为 GS02 (登录号 MW779525), 全长为 2 827 bp, 该序列与 SPLCV 福建 F-p1 分离物 (登录号 FJ515896) 相似性最高、为 97.60%; 从茂名病样中获得病毒分离物 1 个, 命名为 MM01 (登录号 PP583540), 全长为 2 826 bp, 该序列与 SPLCV 山东 Shandong11:2012 分离物 (登录号 KF040466) 相似性最高、为 95.00%。根据最新分类标准, GS01、GS02、MM01 分离物为 SPLCV 的 3 个新分离物。

### 2.3 甘薯曲叶病毒广东分离物的基因组结构特征

基因组结构分析显示, 获得的 3 个 SPLCV 广东分离物和已报道 4 个 SPLCV 广东分离物的基因组结构基本一致, 均具有典型的单组分双

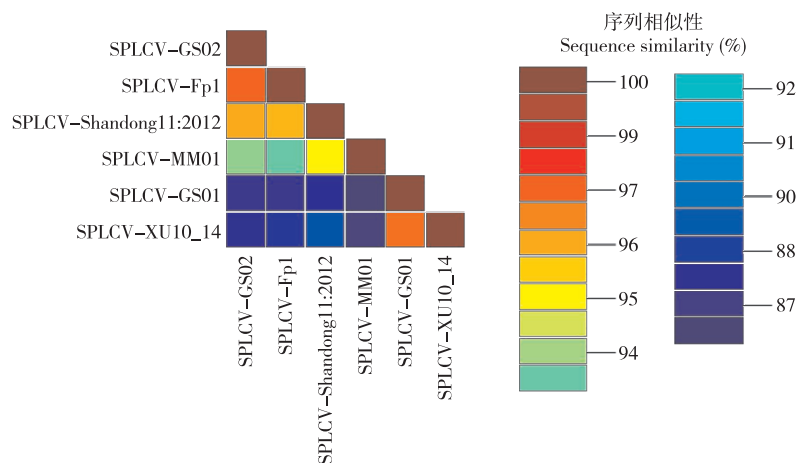


图 2 3 个 SPLCV 广东分离物与其他 SPLCV 分离物的序列相似性分析

Fig. 2 Sequence similarity analysis between three SPLCV isolates from Guangdong and other representative SPLCV isolates

生病毒结构特征, 全长大小为 2 809~2 829 nt, 编码 6 个 ORF (表 1, 图 3), 分别是位于病毒链上编码病毒外壳蛋白的 *AV1* 基因和可能参与 RNA 沉默抑制子抑制 RNA 沉默介导防御反应的 *AV2* 基因、位于互补链上编码病毒复制相关蛋白的 *AC1* 基因、转录激活蛋白的 *AC2* 基因、复制增强蛋白的 *AC3* 基因以及症状决定因子的 *AC4* 基因。其中, *AC1* 和 *AV2* 间存在 1 个基因间隔

区 (Intergenic Region, IR), 该区域含有病毒复制起始有关的“TAATATT/AC” 9 碱基保守序列和转录所需的结构域<sup>[18]</sup>。

#### 2.4 甘薯曲叶病毒广东分离物的基因组相似性分析

利用 SDT1.2 软件对 7 个 SPLCV 广东分离物及 GenBank 中 31 个其他 SPLCV 分离物全长基因组核苷酸序列进行相似性分析, 结果(图 4)发现,

表 1 SPLCV 广东分离物基因组结构

Table 1 Genomic structure of the SPLCV Guangdong isolates

分离物 Isolate	登录号 Accession number	地理来源 Geographical origin	大小 Size (bp)	ORFs 位置 Location of ORFs						基因间隔 区 IR
				<i>AV1</i>	<i>AV2</i>	<i>AC1</i>	<i>AC2</i>	<i>AC3</i>	<i>AC4</i>	
MM01	PP583540	茂名	2826	293..1057	97..468	1579..2673	1224..1670	1073..1507	2259..2516	2674..96
GS01	MW678598	广州	2809	293..1051	124..468	1554..2711	1199..1645	1048..1482	2234..2491	2712..123
GS02	MW779525	湛江	2827	293..1057	97..468	1579..2673	1224..1670	1073..1507	2259..2516	2674..90
GZ01	JX286653	广州	2829	295..1059	72..470	1581..2675	1226..1672	1075..1509	2261..2518	2676..71
GZ02	JX286653	广州	2829	295..1059	72..470	1581..2675	1226..1672	1075..1509	2261..2518	2676..71
XN01	JX286655	兴宁	2828	294..1058	71..469	1580..2674	1225..1671	1074..1508	2260..2517	2675..70
-	MN909042	广州	2817	283..1047	27..458	1569..2663	1214..1660	1063..1497	2249..2506	2664..26

注: -: 未登录分离物名称。

Note: -: Unlogged isolate name.

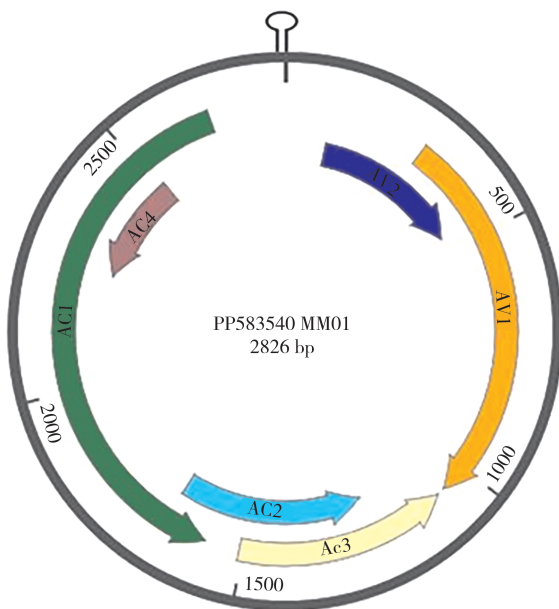


图 3 SPLCV 广东分离物基因组结构示意图

Fig. 3 Diagram of the genomic structure of the SPLCV Guangdong isolates

7 个 SPLCV 广东分离物之间相似性为 87.00% ~ 99.90%, 其中广州 GS01 分离物与其他 6 个分离物相似性低、为 87.00%~87.90%。7 个 SPLCV 广东分离物与来自云南、河南、湖北、江苏、河北、广西、福建、安徽、山东、四川、陕西、海南、重庆、湖南的 17 个分离物相似性为 81.5%~97.6%, 其中与湖南 Hunan-77 分离物 (登录号 MW021476) 相似性最低, 除广州 GS01 分离物相似为 89.8% 外, 其他 6 个分离物相似性仅为 81.50%~81.90%; 与来自印度、葡萄牙、意大利、特立尼达和多巴哥、韩国、苏丹、美国、秘鲁、希腊、以色列、巴西、坦桑尼亚、西班牙、墨西哥的相关分离物相似性为 81.1%~93.9%, 与西班牙 ES-LM8384\_ii61-15 分离物 (登录号 MW574052) 相似性最低、81.1%~82.1%。

#### 2.5 甘薯曲叶病毒广东分离物的进化树分析

为分析 SPLCV 广东分离物与已登录 GenBank

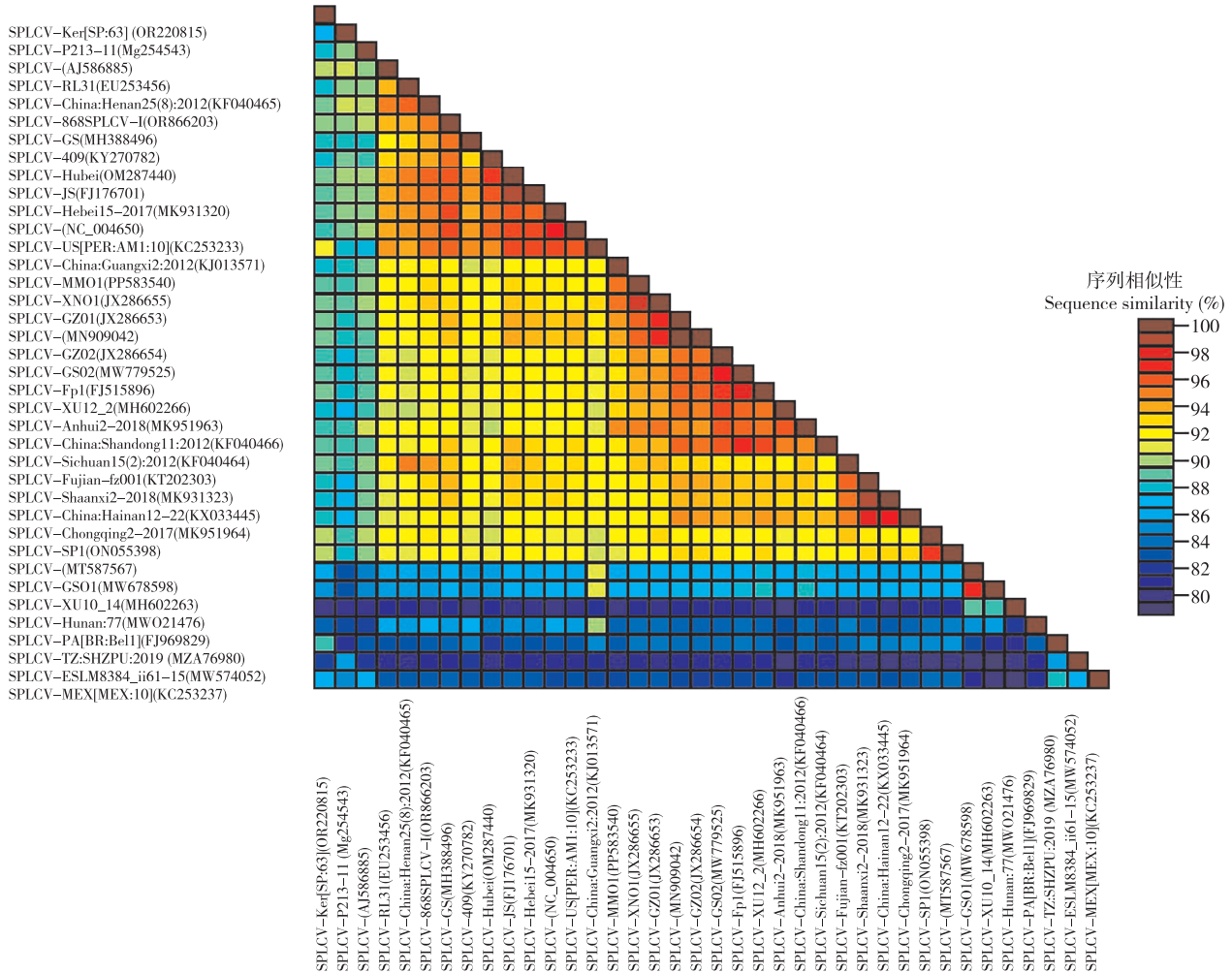


图 4 SPLCV 广东分离物与其他 31 个 SPLCV 分离物相似性分析图

Fig. 4 Similarity analysis diagram of the SPLCV Guangdong isolates compared with 31 other SPLCV isolates

的 SPLCV 分离物的亲缘关系, 利用 MEGA6.0 软件的邻接法进行进化树分析, 以 TYLCV 为外组, 结果 (图 5) 显示, 7 个 SPLCV 广东分离物与 GenBank 中中国、印度、葡萄牙、意大利、特立尼达和多巴哥、韩国、苏丹、美国、秘鲁、希腊、以色列、巴西、坦桑尼亚、西班牙、墨西哥 31 个相关分离物聚为一个大分支, 其中坦桑尼亚 TZ:SHZPU:2019 分离物、西班牙 ES-LM8384\_ii61-15 分离物、墨西哥 MEX [MEX:10] 分离物聚为一支, 与其他 SPLCV 分离物亲缘关系较远; 进一步分析发现, 7 个 SPLCV 广东分离物中, 广州 GS01 分离物与其他 6 个分离物亲缘关系较远。而与江苏 XU10\_14 分离物亲缘关系最近, 聚集在同一个小分支, 进一步与湖南 Hunan-77 分离物以及巴西 PA [BR:Bel1] 分离物聚集在一个分

支; 而其他 6 个广东分离物与安徽 Anhui2-2018 分离物、山东 China:Shandong11:2012 分离物、四川 Sichuan15(2):2012 分离物、江苏 XU12\_2 分离物和福建 F-p1 分离物聚为一支、亲缘关系近; 其中广东 GZ02、MM01、XN01、GZ01 以及三裂叶薯 (登录号 MN909042) 5 个分离物聚在一个独立分支、亲缘关系最近, 而来自湛江的 GS02 分离物与来自江苏和福建的亲缘关系最近。由此可见, SPLCV 广东分离物的来源存在差异, 推测分离物 GS01 来自江苏, 其他 6 个分离物来自安徽、山东等地。

### 2.6 甘薯曲叶病毒广东分离物的重组分析

利用 MEGA6.0 软件 CLUSTAL W 程序对 SPLCV 广东分离物及与其相似性较高的 31 个 SPLCV 分离物进行基因组序列比对, 进一步

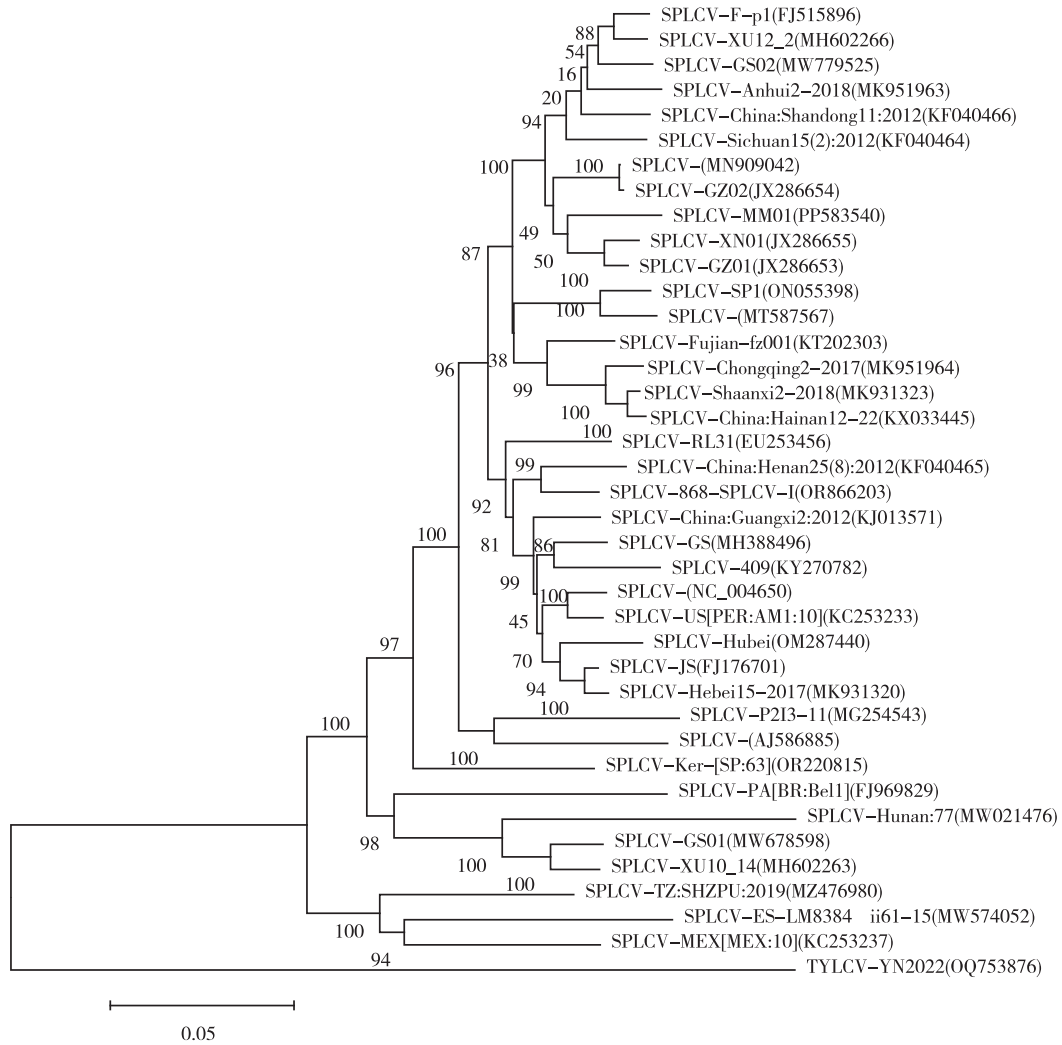


图 5 S PLCV 广东分离物与其他 S PLCV 分离物的系统进化树  
 Fig. 5 Phylogenetic tree of the S PLCV Guangdong isolates and other S PLCV isolates

应用 RDP 4.95 软件的 RDP、3Seq、BootScan、MaxChi、Chimaera、GENECONV、SiScan 等计算方法进行重组分析, 结果表明, S PLCV 广东分离物未检测到明显的重组事件。

2.7 甘薯曲叶病毒广东分离物种群多态性和选择压力分析

用 DnaSP5 软件分别计算 S PLCV 中国分离物和广东分离物群体的核苷酸多样性, 结果 (表 2)

显示, S PLCV 中国分离物和广东分离物核苷酸多样性分别为 0.07361 和 0.06544, 表明 S PLCV 中国分离物和广东分离物群体的总体变异程度较低。进一步通过 Tajima<sup>[19]</sup>、Fu 等<sup>[20]</sup>方法对 S PLCV 中国分离物和广东分离物群体变异进行中性测试, 结果显示 S PLCV 中国分离物和广东分离物群体 3 个参数均为负值, 表明 S PLCV 中国分离物和广东分离物可能存在扩张趋势。

表 2 S PLCV 广东和中国分离物群体的变异中性检测和核苷酸多样性检测分析

Table 2 Analysis of variation neutrality and nucleotide diversity tests in S PLCV isolates from Guangdong and China populations

S PLCV 群体 S PLCV population	分离物数量 Number of isolates	中性检测 Neutrality test			核苷酸多样性 Nucleotide diversity
		Tajima's D	Fu & Li's D	Fu & Li's F	
中国 China	24	-1.02930	-1.18999	-1.33940	0.07361 ± 0.00822
广东 Guangdong	7	-0.93299	-0.84184	-0.95699	0.06544 ± 0.01805

利用 DnaSP5.1 软件对 SPLCV 广东分离物的 *AV1*、*AV2*、*AC1*、*AC2*、*AC3*、*AC4* 基因的选择压力进行分析,并计算其  $\omega$  值,并根据  $\omega$  值大小判断选择压力。由表 3 可知,*AV1*、*AV2*、*AC1*、*AC2*、*AC3* 基因的  $\omega$  值均小于 1,表明这 5 个基因处于纯化选择,即负向选择。而 *AC4* 的  $\omega$  值大于 1、为 1.22942,表明 *AC4* 基因处于多样性选择,即正向选择。

表 3 SPLCV 广东分离物各基因的选择压力

基因 Gene	Guangdong isolates		$\omega$ 值 $\omega$ value
	同义突变 Synonymous mutation	非同义突变 Non-synonymous mutation	
<i>AV1</i>	0.12891	0.00733	0.05686
<i>AV2</i>	0.04384	0.03688	0.84124
<i>AC1</i>	0.17831	0.04291	0.24064
<i>AC2</i>	0.06648	0.03454	0.51955
<i>AC3</i>	0.10509	0.03464	0.32962
<i>AC4</i>	0.07096	0.08724	1.22942

### 3 讨论

甘薯曲叶病是甘薯生产上一种重要病害。本团队长期对全省烟粉虱传双生病毒病进行监测,发现广东广州、湛江、茂名甘薯产区有甘薯曲叶病的发生。进一步从广州、湛江、茂名样品中分别克隆获得病毒 GS01、GS02、MM01 分离物的基因组全长序列,根据国际病毒分类委员会最新分类标准,明确病毒 GS01、GS02、MM01 分离物是 SPLCV 的 3 个新分离物。

SPLCV 是 1994 年首次从美国观赏甘薯曲叶病样中鉴定出一种单组分病毒,不伴随卫星分子。目前在印度尼西亚<sup>[21]</sup>、巴西<sup>[22]</sup>、阿根廷<sup>[23]</sup>、坦桑尼亚<sup>[24]</sup>、布尼纳法<sup>[25]</sup>、印度<sup>[26]</sup>、韩国<sup>[27]</sup>、苏丹<sup>[28]</sup>和中国<sup>[10]</sup>等多国均有报道。在我国,该病毒已在安徽、重庆、北京、广东、福建、广西、海南、河北、河南、湖南、湖北、江苏、江西、吉林、陕西、山东、四川、云南、浙江等 20 多个省(市、区)分布<sup>[5]</sup>。在广东,2012 年首次在广州和梅州的甘薯上检测到该病毒,随后在湛江甘薯产区也有发生。本研究在广东省茂名甘薯产区也检测到 SPLCV,可见,SPLCV 正在广东

省甘薯主要产区扩散蔓延,严重影响甘薯的生产安全。

SPLCV 广东种群存在一定程度的遗传差异。该种群在病毒基因组结构基本一致,均编码 6 个 ORFs,但在具体核苷酸序列上存在明显差异。本研究分析发现,SPLCV 7 个广东分离物间序列相似性为 87.00%~99.90%,其中广州 GS01 分离物与其他 6 个分离物相似性较低(87.00%~87.90%);系统进化树分析结果同样显示广州 GS01 分离物与其他 6 个分离物遗传距离较远,聚集在不同分支。进一步分析发现,广州 GS01 分离物与江苏分离物亲缘关系最近;而其他 6 个分离物与安徽、山东、四川、江苏和福建聚集在一起,亲缘关系近。初步推测广州分离物 GS01 来自江苏,其他 6 个 SPLCV 广东分离物来自安徽、山东等地,有可能是通过甘薯种苗的调运加以传播扩散。整体而言,SPLCV 广东分离物与中国其他省份分离物亲缘关系近,与亚洲、欧洲、美洲相关分离物亲缘关系远。这一结果表明 SPLCV 种群存在一定的地域遗传差异。

基因重组、突变是促进双生病毒发生快速变异的主要因素。基因重组分析发现 SPLCV 广东分离物间未发生重组。由此推测,突变可能是引起 SPLCV 广东种群分子变异的主要原因。本研究分析发现 SPLCV 广东分离物的 *AV1*、*AV2*、*AC1*、*AC2*、*AC3* 5 个基因非同义突变的速率低于同义突变,处于负向选择;而 *AC4* 所承受的选择压力大,处于正向选择即多样性选择, $\omega$  值大于 1。张成玲等<sup>[29-30]</sup>对中国甘薯双生病毒外壳基因和 *AC4* 基因的分子变异及遗传多态性分析结果为两个基因均处于正向选择。而本研究分析发现广东甘薯曲叶病毒外壳基因(*AV1*)处于负向选择,分析其原因可能是由于本研究仅对广东种群进行分析,地理来源单一。由此可推测,*AC4* 基因的突变是引起 SPLCV 广东种群分子变异的主要原因。

2012 年,本团队首次利用 RCA 方法从广州和梅州甘薯中检测到 SPLCV,此后不同研究者先后利用 PCR 方法从广东甘薯病样中分别检测到 SPGVV、SPLCCV、SPLCCNV、SPLCGxV、SPLCScV1、SPLCScV2 等 6 种病毒。本研究采用 RCA 方法从广东甘薯病样中仅获得 SPLCV 一种

病毒的基因组全长序列, 下一步有待增加不同地方来源的样品数量, 监测其他 6 种病毒在广东的发生、分布和危害。

甘薯是一种重要粮食作物, 也是广东近年重点发展的“土”“特”“产”之一。SPLCV 是危害我国甘薯重要病毒种类之一, 自然条件下主要侵染旋花科甘薯属的甘薯, 以及牵牛类<sup>[31]</sup>观赏植物, 引起寄主植物表现曲叶、黄脉等症状, 导致减产甚至绝收。该病毒可通过传播介体烟粉虱或种苗调运传播。茂名市是广东甘薯主产区之一, 本研究首次在茂名甘薯上检测到 SPLCV, 说明 SPLCV 在广东省的危害范围已扩大。因此, 需加强对 SPLCV 等烟粉虱传病毒监测及甘薯种苗调运监管, 确保种苗健康, 及时控制田间烟粉虱发生, 以控制甘薯曲叶病的发生与危害。

#### 4 结论

本文调查发现广东广州、湛江、茂名甘薯产区均有甘薯曲叶病的发生, 通过 RCA 扩增技术获得 3 个 SPLCV 新分离物基因组全长序列, 分别为广州分离物 (GS01, 2 809 bp)、湛江分离物 (GS02, 2 827 bp)、茂名分离物 (MM01, 2 826 bp)。序列分析显示, SPLCV 广东种群病毒基因组结构一致, 但在核苷酸序列上有一定的差异, 7 个广东分离物间序列相似性为 87.00%~99.90%, 其中广州 GS01 分离物序列差异较大, 与其他 6 个分离物相似性为 87.00%~87.90%。系统进化分析显示, 7 个 SPLCV 广东分离物分别与国内其他省份的 SPLCV 分离物聚为单独的小分支, 其中广州 GS01 分离物与江苏分离物聚在一个小分支, 亲缘关系最近; 而其他 6 个分离物与安徽、山东、四川、江苏和福建分离物亲缘关系近, 聚集在一起; 与国外分离物亲缘关系较远。基因重组分析发现, SPLCV 广东分离物间未发生重组, 基因突变 (尤其是 AC4 基因) 可能是 SPLCV 广东分离物分子变异和遗传多样性的主要原因。同时, 本文首次在广东茂名甘薯产区检测到 SPLCV, 表明 SPLCV 在广东省分布有进一步扩大的趋势, 需加强对该病毒的监测与防控。

#### 参考文献 (References):

- [1] 马剑凤, 程金花, 汪洁, 戴红君, 戴起伟. 国内外甘薯产业发展概况 [J]. 江苏农业科学, 2012,40(12):1-5. DOI:10.15889/j.issn.1002-1302.2012.12.044.  
MA J F, CHENG J H, WANG J, DAI H J, DAI Q W. Overview of the development of the sweet potato industry at home and abroad [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2012, 40(12):1-5. DOI:10.15889/j.issn.1002-1302.2012.12.044.
- [2] 黄立飞, 陈景益, 邹宏达, 张雄坚, 王章英, 罗忠霞, 杨义伶, 姚祝芳, 唐朝臣, 江炳志, 房伯平. 广东甘薯遗传育种研究进展与展望 [J]. 广东农业科学, 2020,47(12):62-72. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2020.12.007.  
HUANG L F, CHEN J Y, ZOU H D, ZHANG X J, WANG Z Y, LUO Z X, YANG Y L, YAO Z F, TANG C C, JIANG B Z, FANG B P. Research progress and prospects of genetic breeding of sweet potato in Guangdong Province [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020,47(12):62-72. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2020.12.007.
- [3] 张雄坚, 陈景益, 邹宏达, 黄立飞, 王章英, 罗忠霞, 陈新亮, 房伯平. 甘薯育种创制品种多样性比较鉴定试验 [J]. 广东农业科学, 2021,48 (12): 64-73. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2021.12.008.  
ZHANG X J, CHEN J Y, ZOU H D, HUANG L F, WANG Z Y, LUO Z X, CHEN X P, FANG B P. Comparative identification test for variety diversity created through sweet potato breeding [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2021,48 (12):64-73. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2021.12.008.
- [4] 何元文, 姚俊豪, 聂虎子, 张艳玲. 广东省甘薯生产全程机械化现状与思考 [J]. 现代农业装备, 2024,45(3):84-87,100.  
HE Y W, YAO J H, NIE H Z, ZHANG Y L. Current status and reflections on the full mechanization of sweet potato production in Guangdong Province [J]. *Modern Agricultural Equipment*, 2024,45(3):84-87,100.
- [5] WANG Y J, QIN Y H, WANG S, ZHANG D S, TIAN Y T, ZHAO F M, WANG Y Z, LYU H, QIAO Q, ZHANG C. Species and genetic variability of sweet potato viruses in China [J]. *Phytopathology Research*, 2021,3:1-12. DOI:10.1186/s42483-021-00097-8.
- [6] CHUNG M L, LIAO C H, CHEN M J, CHIU R J. The isolation, transmission and host range of sweet potato leaf curl disease agent in Taiwan [J]. *Plant Protection Bulletin*. 1985,27:333-341.
- [7] LOTRAKUL P, VALVERDE R A, CLARK C A, SIM J, DE LA TORRE R. Detection of a *Geminivirus* infecting sweet potato in the United States [J]. *Plant Disease*, 1998,82(11):1253-1257. DOI: 10.1094/PDIS.1998.82.11.1253.
- [8] LUAN Y S, ZHANG J, AN L J. First report of sweet potato leaf curl virus in China [J]. *Plant Disease*, 2006,90(8):1111. DOI: 10.1094/PD-90-1111C.
- [9] 汤亚飞, 何自福, 韩利芳, 罗方芳. 侵染广东甘薯的甘薯曲叶病毒分子检测与鉴定 [J]. 植物保护, 2013,39(4):25-28.  
TANG Y F, HE Z F, HAN L F, LUO F F. Molecular detection and identification of sweet potato leaf curl virus infecting sweet potatoes in Guangdong Province [J]. *Plant Protection*, 2013,39(4):25-28.

- [10] MA S Q, ZHENG Q F, YE J J, FENG W D, ZHOU G H, ZHANG T. Identification of viruses infecting sweet potato in southern China by small RNA deep sequencing and PCR detection [J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2019,85:122-127. DOI:10.1007/s10327-018-0832-1
- [11] 陈新亮, 房伯平, 王章英, 姚祝芳, 杨义伶, 黄立飞. 国家种质广州甘薯圃病毒种类鉴定及分析 [J]. *植物保护*, 2022,48(1):258-264. CHEN X L, FANG B P, WANG Z Y, YAO Z F, YANG Y L, HUANG L F. Identification and analysis of virus species in the national germplasm Guangzhou sweet potato nursery [J]. *Plant Protection*, 2022,48(1):258-264.
- [12] WYATT S D, BROWN J K. Detection of subgroup III *Geminivirus* isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction [J]. *Phytopathology*, 1996,86(12):1288-1293.
- [13] 何自福, 虞皓, 罗芳芳. 番茄烟草虱传双生病毒 PCR 检测 [J]. *中国病毒学*, 2004,19(1):67-69. HE Z F, YU H, LUO F F. PCR detection of tomato yellow leaf curl virus transmitted by whitefly [J]. *Virologica Sinica*, 2004,19(1):67-69.
- [14] MUHIRE B M, VARSANI A, MARTIN D P. SDT: A virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation [J]. *PLoS One*, 2014,9(9):e108277. DOI:10.1371/journal.pone.0108277.
- [15] BROWN J K, ZERBINI F M, NAVAS-CASTILLO J, MORIONES E, RAMOS-SOBRINHO R, SILVA J C, FIALLO-OLIVE E, BRIDDON R W, HERNANDEZ-ZEPEDA C, IDRIS A. Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons [J]. *Archives of Virology*. 2015,160(6):1593-1619. DOI: 10.1007/s00705-015-2398-y.
- [16] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, FILIPSKI A, KUMAR S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013,30(12):2725-2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197.
- [17] MARTIN D P, MURRELL B, GOLDEN M, KHOOSAL A, MUHIRE B. RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes [J]. *Virus Evolution*, 2015,1(1):3. DOI: 10.1093/ve/vev003.
- [18] HANLEY-BOWDOIN L, SETTLAGE S B, OROZCO B M, NAGAR S, ROBERTSON D. *Geminiviruses*: Models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1999,18(1):71-106.
- [19] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. *Genetics*, 1989,123(3): 585-595
- [20] FU Y X, LI W H. Statistical tests of neutrality of mutations [J]. *Genetics*, 1993,133(3): 693-709
- [21] LISTIHANI L, YUNITI I G A D, LESTARI P F K, ARIATI P E P. First report of sweet potato leaf curl virus (SPLCV) on *Ipomoea batatas* in Bali, Indonesia [J]. *Indian Phytopathology*, 2022,75(2):595-598. DOI:10.1007/s42360-022-00489-6.
- [22] ALBUQUERQUE L C, INOUE-NAGATA A K, PINHEIRO B, RIBEIRO S D G, RESENDE R O, MORIONES E, NAVAS-CASTILLO J. A novel monopartite *Begomovirus* infecting sweet potato in Brazil [J]. *Archives of Virology*, 2011,156:1291-1294. DOI: 10.1007/s00705-011-1016-x.
- [23] FLAMARIQUE S, PEREZ A V, LUQUE A V, PARDINA P E R, DI FEO L D V. Advances in the etiology of sweet potato (*Ipomoea batatas*(L.)Lam) yellow curling disease in Argentina [J]. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 2022,54(2):107-116. DOI:10.48162/rev.39.087.
- [24] BACHWENKIZI H S, TEMU G E, MBANZIBWA D R, LUPEMBE M D, NGAILO S, TAIRO F D, MASSAWE D P. Recombination and darwinian selection as drivers of genetic diversity and evolution of sweet potato leaf curl viruses in Tanzania [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2022,120:101853. DOI:10.1016/j.pmpp.2022.101853.
- [25] TIBIRI E B, TIENDREBEOGO F, PITA J S, SOME K, BANGRATZ M, NEYA J B, BRUGIDOU C, BARRO N. Molecular and biological features of sweet potato leaf curl virus in Burkina Faso [J]. *Acta Scientific Microbiology*, 2019,2:170-177.
- [26] KUMAR M, TARAFDAR J, ADHIKARY N K, DAS S. Genome characterisation of a distinct species of *Begomovirus* causing leaf curl disease in sweet potato [*Ipomoea batatas* L.(Lam)] in India [J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2021,96(1):121-133. DOI: 10.1080/14620316.2020.1805368.
- [27] JO Y, KIM S M, CHOI H, YANG J W, LEE B C, CHO W K. Sweet potato viromes in eight different geographical regions in Korea and two different cultivars [J]. *Scientific Reports*, 2020,10(1):2588. DOI:10.1038/s41598-020-59518-x.
- [28] MOHAMMEDH S, EL SIDDIG M A, EL HUSSEIN A A, IBRAHIM F, ANAVAS-CASTILLO J, FIALLO-OLIVE E. First report of sweet potato leaf curl virus infecting sweet potato in Sudan [J]. *Plant Disease*, 2017,101(5):849. DOI: 10.1094/PDIS-12-16-1705-PDN.
- [29] 张成玲, 孙厚俊, 杨冬静, 徐振, 赵永强, 谢逸萍. 中国甘薯双生病毒外壳蛋白基因分子变异及遗传多样性分析 [J]. *浙江农业学报*, 2017,29(4): 611-617. ZHANG C L, SUN H J, YANG D J, XUN Z, ZHAO Y Q, XIE Y P. Analysis of molecular variation and genetic diversity of coat protein gene in Chinese sweet potato *Geminiviruses* [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2017,29(4):611-617.
- [30] 张成玲, 徐振, 孙厚俊, 赵永强, 杨冬静, 谢逸萍. 中国甘薯双生病毒 C4 基因分子变异及遗传多态性分析 [J]. *江苏农业学报*, 2017,33(3):487-492. ZHANG C L, XUN Z, SUN H J, ZHAO Y Q, YANG D J, XIE Y P. Chinese sweet potato geminivirus C4 gene molecular variation and genetic polymorphism analysis [J]. *Journal of Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017,33(3):487-492.
- [31] 罗婉笛, 王鹏, 莫翠萍, 蔡健和, 章松柏, 李战彪. 侵染湖北圆叶牵牛的甘薯曲叶病毒分子鉴定及遗传进化分析 [J]. *广东农业科学*, 2022,49(10):96-103. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2022.10.011. LUO W D, WANG P, MO C P, CAI J H, ZHANG S B, LI Z B. Molecular identification and genetic evolution analysis of sweet potato leaf curl virus infecting Hubei round leaved morning glory [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2022,49(10): 96-103. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2022.10.011.