

# 福建西番莲上首次检出东亚西番莲病毒

谢丽雪, 张立杰, 张小艳, 郑 姍, 李 韬\*

(福建省农业科学院果树研究所, 福州 350013)

**摘 要:** 为明确东亚西番莲病毒 (*East Asian passiflora virus*, EAPV) 在福建西番莲上的发生情况, 采用血清学和 RT-PCR 检测技术对采集的西番莲病样进行检测, 并对阳性样品 PCR 产物进一步克隆、测序和序列分析。结果表明, 11 份样品的马铃薯 Y 病毒属 (*Potyvirus*) 病毒血清学检测结果为阳性, 大豆花叶病毒 (*Soybean mosaic virus*, SMV) 血清学检测结果均为阴性; 应用 *Potyvirus* 属通用引物从 11 份样品中扩增得到预期大小约 660 bp 的目的片段, 序列比对发现, 其中 10 份阳性样品与已报道的夜来香花叶病毒 (*Telosma mosaic virus*, TeMV) 核苷酸序列高度一致, 1 份样品与已报道的 EAPV 核苷酸序列一致性超过 98.3%。针对 EAPV 疑似样品 (命名为 FJBXG-P1), 利用特异性引物扩增得到预期大小约 955 bp 的目的片段, 获得的外壳蛋白 (Coat protein, CP) 基因序列全长 870 bp (GenBank 登录号: MG650164)。序列比对发现, EAPV 分离物 FJBXG-P1 的 CP 基因序列与已报道的 EAPV 核苷酸序列、氨基酸序列一致性分别为 81.0%~97.6% 和 84.0%~96.9%; 系统发育分析结果表明, 38 个 EAPV 分离物在系统发育关系上聚为两簇 (Group I 和 Group II), 其中 Group I 为 AO 株系, Group II 为 IB 株系, FJBXG-P1 分离物属于 AO 株系。福建西番莲上 EAPV 的检出, 是该病毒在中国大陆地区发生的首次报道。

**关键词:** 西番莲; 东亚西番莲病毒; 分子鉴定

**中图分类号:** S 667.9

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2018) 08-1587-08

## First Report of *East Asian passiflora virus* Infecting *Passiflora edulis* in Fujian, China

XIE Lixue, ZHANG Lijie, ZHANG Xiaoyan, ZHENG Shan, and LI Tao\*

(Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China)

**Abstract:** In order to investigate the occurrence of *East Asian passiflora virus* (EAPV) on *Passiflora edulis* in Fujian Province, the suspected samples of *Passiflora edulis* were detected by serological and RT-PCR technology, and the positive samples were further cloned, sequenced and analyzed. The results showed that the serological test of 11 samples were positive for detection of *Potyvirus*, but all were negative for detection of *Soybean mosaic virus* (SMV). The expected fragments of about 660 bp in size were amplified from 11 samples using universal degenerate primers for detection of virus species from the genus *Potyvirus*. Results of sequence determination and analysis revealed that the sequences of 10 samples were highly consistent with those of the reported *Telosma mosaic virus* (TeMV) isolates, and the

**收稿日期:** 2018-05-02; **修回日期:** 2018-08-09

**基金项目:** 国家重点研发计划资助项目 (2016YFF0203200); 福建省现代农业水果产业技术体系岗位项目 (闽农科教 (2017) 129); 福建省农业科学院新兴特色果类创新团队项目 (STIT2017-2-4); 福建省农业科学院院管 A 类项目三农业一融合项目 (A2017-15)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: leetao06@163.com)

sequence of one sample shared more than 98.3% nucleotide identity with those of the reported EAPV isolates. For the suspected EAPV sample (named FJBXG-P1), the expected size of  $\approx 955$  fragment was amplified using specific primers. The total length of CP gene of this EAPV-positive sample was 870 nucleotides (GenBank accession number: MG650164). The sequence of CP gene of FJBXG-P1 were 81.0% – 97.6% and 84.0% – 96.9% identity with the reported nucleotide sequence and amino acid sequence of EAPV, respectively. Phylogenetic analysis showed that 38 EAPV isolates were clustered into two groups (Group I and Group II), in which Group I was AO strain and Group II was IB strain. FJBXG-P1 isolate in this study belonged to AO strain. To the best of our knowledge, EAPV infected *Passiflora edulis* in Fujian Province is the first report of the virus in mainland China.

**Keywords:** *Passiflora edulis*; *East Asian passiflora virus*; molecular identification

马铃薯 Y 病毒属 (*Potyvirus*) 病毒是西番莲 (*Passiflora edulis*) 上危害较为严重的一类病毒。已报道的能够侵染西番莲的该属病毒主要有 9 种: 东亚西番莲病毒 (*East Asian passiflora virus*, EAPV) (Iwai et al., 2006a, 2006b)、西番莲木质化病毒 (*Passionfruit woodiness virus*, PWV) (Wylie & Jones, 2011; Fukumoto et al., 2013)、豇豆蚜传花叶病毒 (*Cowpea aphid borne mosaic virus*, CABMV) (Rodrigues et al., 2014; Garcez et al., 2015)、西番莲果环斑病毒 (*Passionfruit ring spot virus*, PFRSV) (Wijs & Mobach, 1975)、马来西亚西番莲病毒 (*Malaysian Passiflora virus*, MPV) (Abdullah et al., 2009)、西番莲斑驳病毒 (*Passionfruit mottle virus*, PaMV) (Chang, 1992)、西番莲 Y 病毒 (*Passionfruit virus Y*, PaVY) (Parry et al., 2004; Coutts et al., 2011)、大豆花叶病毒 (*Soybean mosaic virus*, SMV) (Benschner et al., 1996) 和夜来香花叶病毒 (*Telosma mosaic virus*, TeMV) (Chiemsoombat et al., 2014; 谢丽雪 等, 2017) 等。东亚西番莲病毒 (EAPV) 是继 PWV、CABMV 之后第 3 个被明确报道能引起西番莲木质化病的 *Potyvirus* 属病毒 (Fukumoto et al., 2012b)。EAPV 按照生物学和血清学特性分为 AO 和 IB 株系, 两者都能引起叶片花叶, 区别在于 AO 株系引起果实畸形和木质化, 而 IB 株系引起斑驳症状 (Iwai et al., 2006a)。EAPV 基因组为 +ssRNA, 包含一个长的开放阅读框 (Open reading frame, ORF), 编码聚合蛋白, AO、IB 株系分离物的基因组全长分别约 10 046 和 9 982 nt。

目前, EAPV 已在日本、韩国以及中国台湾等亚洲国家和地区陆续发生, 对西番莲产量和品质造成了不同程度的影响 (Iwai et al., 2006b; Chong et al., 2018), 但该病毒在中国大陆地区尚未有发生的报道。由于 EAPV 对西番莲生产具有巨大的潜在威胁性, 因此对该病毒的研究越来越受到人们的重视。中国大陆地区至今未见有关 EAPV 检测鉴定的研究报道。近年来, 福建省西番莲产业发展迅速, 西番莲种植面积越来越广, 与此同时病毒病的发生情况也十分严重, 田间出现花叶、斑驳、皱缩等病毒典型为害症状, 造成了较大的经济损失。为明确福建省西番莲上是否有 EAPV 发生, 2016 年起对福建西番莲病毒病进行了详细的调查, 针对疑似样品采用血清学 ELISA 方法初筛、RT-PCR 和序列测定确认的方法进行了 EAPV 的检测鉴定, 以期能及时采取有效的防控措施提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验在福建省农业科学院果树研究所完成。2016—2017 年在福建福州、厦门、南平、宁德、泉州、漳州等地区采集西番莲疑似病株叶片, 样品症状包括花叶、斑驳和皱缩, 共 60 份, 液氮速冻后

保存于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  超低温冰箱备用。

*Potyvirus* 通用抗体检测试剂盒和大豆花叶病毒 (SMV) 检测试剂盒购自 Agdia 公司; Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司; 随机引物、反转录试剂、PCR mix 购自 Promega 公司; *Taq* DNA 聚合酶、pMD-18T 载体购自宝生物 (大连) 有限公司产品; DNA Marker、胶回收试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司。通用引物为正向 Legpoty-F: 5'-GCWKCHATGATYGARGCHTGGG-3', 反向 Legpoty-R: 5'-AAYTGTYT YMTCHCCATCCATC-3' (Wylie et al., 2010); 根据已报道的 EAPV 基因序列保守区域设计一对特异性引物, 正向 EAPV-F: 5'-CTTGCATGTCCTAGACCTCG-3', 反向 EAPV-R: 5'-AACTGTGGTCGG TTTACCCAA-3'。引物均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

## 1.2 血清学检测

取西番莲病叶 0.1 g, 加入 1 mL 提取缓冲液 (PBST, pH 7.4) 充分研磨后,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下  $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 上清液即为样品提取液。*Potyvirus* 属通用抗体检测试剂盒采用 Indirect-ELISA 检测, SMV 检测试剂盒采用 DAS-ELISA 检测。设置阴性对照、阳性对照和空白对照, 重复 2 次。检测结果以  $\text{OD}_{405\text{ nm, 样品}}/\text{OD}_{405\text{ nm, 阴性对照}} > 2$  判定为阳性;  $\text{OD}_{405\text{ nm, 样品}}/\text{OD}_{405\text{ nm, 阴性对照}} < 2$  判定为阴性。

## 1.3 RT-PCR 检测

总 RNA 提取参照谢丽雪等 (2017) 的方法略加修改。取西番莲病叶 0.1 g, 加入液氮充分研磨, 置于 1.5 mL 离心管, 再加入 1 mL Trizol 试剂, 剧烈振荡后静置 5 min; 加入氯仿 200  $\mu\text{L}$ , 充分颠倒混匀 30 s, 室温下静置 5 min,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下  $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 15 min。小心吸取上层水相, 加入等体积异丙醇, 轻轻颠倒混匀后室温静置 15 ~ 20 min,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下  $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min。弃上清液, 沉淀用 1 mL 75% 冷乙醇洗涤,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  下  $7\,500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 3 min。弃上清液, 重复 2 次; 沉淀在室温下晾干后用 30  $\mu\text{L}$  DEPC- $\text{H}_2\text{O}$  溶解,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

反转录参照谢丽雪等 (2017) 等的方法略加修改。取 3  $\mu\text{L}$  RNA, 加入随机引物 1  $\mu\text{L}$ 、dd $\text{H}_2\text{O}$  7  $\mu\text{L}$ ,  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  水浴 10 min 后迅速冰浴 5 min, 再加入  $5\times$  M-MuLV 反转录酶缓冲液 5  $\mu\text{L}$ 、dNTPs ( $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 2  $\mu\text{L}$ 、RNasin ( $40\text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ 、M-MuLV 反转录酶 ( $200\text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ ;  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$  1 h、 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  10 min 合成 cDNA。通用引物 Legpoty-F/Legpoty-R 反应体系及条件: Legpoty-F ( $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , Legpoty-R ( $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ ,  $2\times$  *Taq* PCR mix 12.5  $\mu\text{L}$ , cDNA 模板 3  $\mu\text{L}$ , dd $\text{H}_2\text{O}$  7.5  $\mu\text{L}$ ;  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min 后  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  30 s、 $51\text{ }^{\circ}\text{C}$  45 s、 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  1 min, 共 35 个循环, 最后一轮循环后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。特异性引物 EAPV-F/EAPV-R 反应体系及条件: EAPV-F ( $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , EAPV-R ( $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 1  $\mu\text{L}$ ,  $\text{MgCl}_2$  ( $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 2.5  $\mu\text{L}$ ,  $10\times$  PCR buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , dNTPs ( $2.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 2  $\mu\text{L}$ , *Taq* DNA 聚合酶 ( $5\text{ U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ) 0.2  $\mu\text{L}$ , cDNA 模板 2  $\mu\text{L}$ , dd $\text{H}_2\text{O}$  13.8  $\mu\text{L}$ ;  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min 后  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$  30 s、 $48\text{ }^{\circ}\text{C}$  45 s、 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  1 min, 共 35 个循环, 最后一轮循环后  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。取 5  $\mu\text{L}$  PCR 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶 (含 GelRed 染料) 进行电泳检测。

## 1.4 CP 基因克隆及序列分析

将 PCR 扩增获得的目的片段用琼脂糖凝胶回收试剂盒回收、纯化后, 连接于 pMD18-T 载体, 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ , 挑选阳性克隆, 提取重组质粒 PCR 鉴定后测序。测序由生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成。序列测定结果的比对采用 BLAST 程序和 DNAMAN 软件。

## 1.5 CP 基因系统发育树构建及分析

采用最大似然法 (Maximum likelihood, ML) 基于 CP 基因的核苷酸序列重建 EAPV 的系统发育关系。建树前, 使用 TranslatorX (Abascal et al., 2010) 对建树序列基于密码子进行多重序列的比对, ModelFinder (Kalyaanamoorthy et al., 2017) 计算数据最适的核苷酸替代模型, 并参照贝叶斯信息标准 (Bayesian information criterion, BIC) 设置建树参数, 应用 IQ-TREE1.6.1 (Nguyen et al., 2014) 重建 EAPV CP 基因系统发育树, 各分支或节点的置信度同时采用常规自举检验 (Standard bootstrap) 和 Shimodaira-Hasegawa 近似似然率检验 (Shimodaira-Hasegawa approximate likelihood ratio test, SH-aLRT), 各重复 1 000 次抽样进行评估。以紫藤花叶病毒 (*Wisteria vein mosaic virus*, WVMV, AF484549) 为外群 (Outgroup)。用于系统发育分析的 EAPV 不同来源分离物 37 个。

## 2 结果与分析

### 2.1 血清学检测结果

利用马铃薯 Y 病毒属 (*Potyvirus*) 通用抗体对 60 份西番莲病样进行 Indirect-ELISA 检测, 结果发现 11 份样品为阳性, 检出率为 18.3%, 表明这些样品上可能携带有 *Potyvirus* 属病毒。大豆花叶病毒 (SMV) 的 DAS-ELISA 检测结果表明, 11 份与 *Potyvirus* 属通用抗体反应呈阳性的样品, 与 SMV 特异性抗体反应全部为阴性, 表明均未检测到 SMV。

### 2.2 *Potyvirus* 通用引物 RT-PCR 检测结果

针对 11 份 *Potyvirus* 属血清学检测为阳性的样品, 提取叶片总 RNA 后进行反转录合成 cDNA。以合成的 cDNA 作为模板, 利用 *Potyvirus* 属通用引物 Legpoty-F/Legpoty-R 进行 RT-PCR, 从 Indirect-ELISA 检测 *Potyvirus* 属为阳性的 11 份样品中, 扩增得到大小约 660 bp 的目的片段 (图 1), 与预期大小相符, 包含 *NIb* 基因 3'末端和 *CP* 基因 5'端部分序列。11 份样品 PCR 产物的目的片段克隆、测序后进行 BLAST 比对, 结果发现, 其中 1 份样品 (FJBXG-P1) 的核苷酸序列与 GenBank 上报道的东亚西番莲病毒 (EAPV) 序列高度一致, 尤其与中国台湾分离物 KP114136 的一致性最高, 为 98.3%; 其余 10 份样品的核苷酸序列与 GenBank 上报道的夜来香花叶病毒 (TeMV) 序列具有较高的一致性, 最高达到 98% 以上。上述结果表明, 样品 FJBXG-P1 可能携带有东亚西番莲病毒。

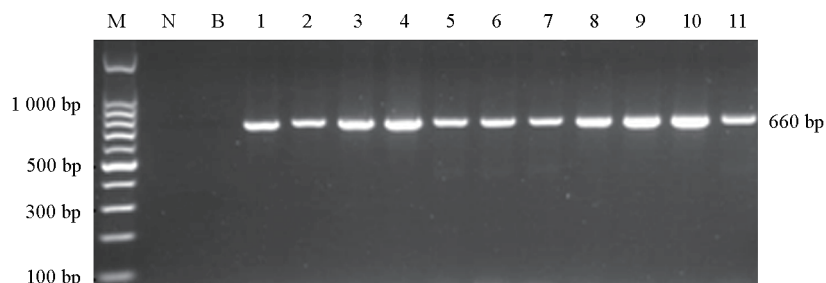


图 1 11 份 *Potyvirus* 属血清学阳性样品的通用引物 RT-PCR 结果

M: DNA marker; N: 阴性对照; B: 空白对照; 1~11: 样品。

Fig. 1 Amplification result of RT-PCR of 11 *Potyvirus* serological positive samples using universal primers

M: DNA marker; N: Negative control; B: Blank control; 1 – 11: Sample.

2.3 东亚西番莲病毒疑似样品的 CP 基因序列测定及比对分析

对东亚西番莲病毒（EAPV）疑似样品（FJBXG-P1）利用特异性引物 EAPV-F/EAPV-R 进行 RT-PCR 扩增，从该样品上扩增得到目的片段（图 2），而从阴性对照及空白对照中未扩增到相应片段。目的片段克隆测序结果显示，该片段序列全长为 955 bp，包含完整的 CP 基因序列，其中 CP 基因序列全长为 870 bp。将 CP 基因序列提交至 GenBank，序列登录号为 MG650164。

序列比对结果显示，该分离物的 CP 基因核苷酸序列及编码的氨基酸序列与已报道的 EAPV 分离物序列具有很高的-致性，核苷酸序列-致性为 81.0%~97.6%，其中与中国台湾分离物 KP114136 最高（97.6%）；与日本分离物 AB185021 最低（81%）；氨基酸序列-致性为 84.0%~96.9%，其中与中国台湾分离物 KP114137 最高（96.9%）；与韩国分离物 KY077656 最低（84%）。在该分离物 CP 基因的氨基酸序列中，第 16、17 和 18 个氨基酸构成与病毒蚜传相关的 DAG（Asp-Ala-Gly）保守基序（图 3）。

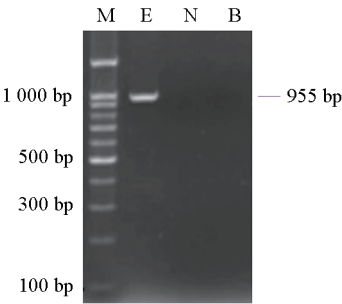


图 2 东亚西番莲病毒（EAPV）疑似样品的  
特异性引物 RT-PCR 结果

M: DNA marker; E: EAPV 疑似样品;  
N: 阴性对照; B: 空白对照。

Fig. 2 Amplification result of RT-PCR of the suspected  
EAPV sample using specific primers

M: DNA marker; E: EAPV suspected sample;  
N: Negative control; B: Blank control.

保守基序  
Conserved motif  
TKSENDKEELGKDAIDAGNDGKRRDKEKERMVTTTP  
MNPNPKNSEFGGSSFNRKDKDVDAGSKGKMVPR  
LKITKKMNLPTVKGRVILDLDHLEIYAPNQVDLFNT  
RATKSQFESWYSAVQREYELDDNQMSVIMNGFM  
VWRIDNGTSPNVNGTWVMMDGEEQIEYPLKPLV  
ENAQPTLRQIMHHFSDAAEAYIEMRNSKEPYMPRY  
GTLRNLRLSLARYAFDFYEVTSKTPNRAREAVAQM  
KAAALANVSTRLFGLDGNVSTTGENTERHTVRDIN  
QNMHTLLGMNSPQ

图 3 东亚西番莲病毒（EAPV）疑似样品（FJBXG-P1）分离物 CP 基因的氨基酸序列  
Fig. 3 Amino acid sequence of CP gene of FJBXG-P1 isolate

2.4 东亚西番莲病毒疑似样品的 CP 基因系统发育树分析

建树序列多重比对后的 CP 基因序列长度为 870 bp，最适合的核苷酸代模型为 TPM2u+G4，重建的系统发育树如图 4 所示，所有的东亚西番莲病毒（EAPV）分离物以非常高的置信度聚为两个大簇。来自日本、德国、中国台湾和福建的分离物聚在 Group I 中，属于 EAPV 的 AO 株系；其他 EAPV 分离物同样以高置信值（98.8/97）聚在 Group II 中，属于 EAPV 的 IB 株系成员。在本试验中获得的 EAPV 分离物 FJBXG-P1 与两个中国台湾地区分离物（KP114136 和 AF208662）和德国分离物 DSMZ PV-0292（FR694184）优先聚在一个分支内。

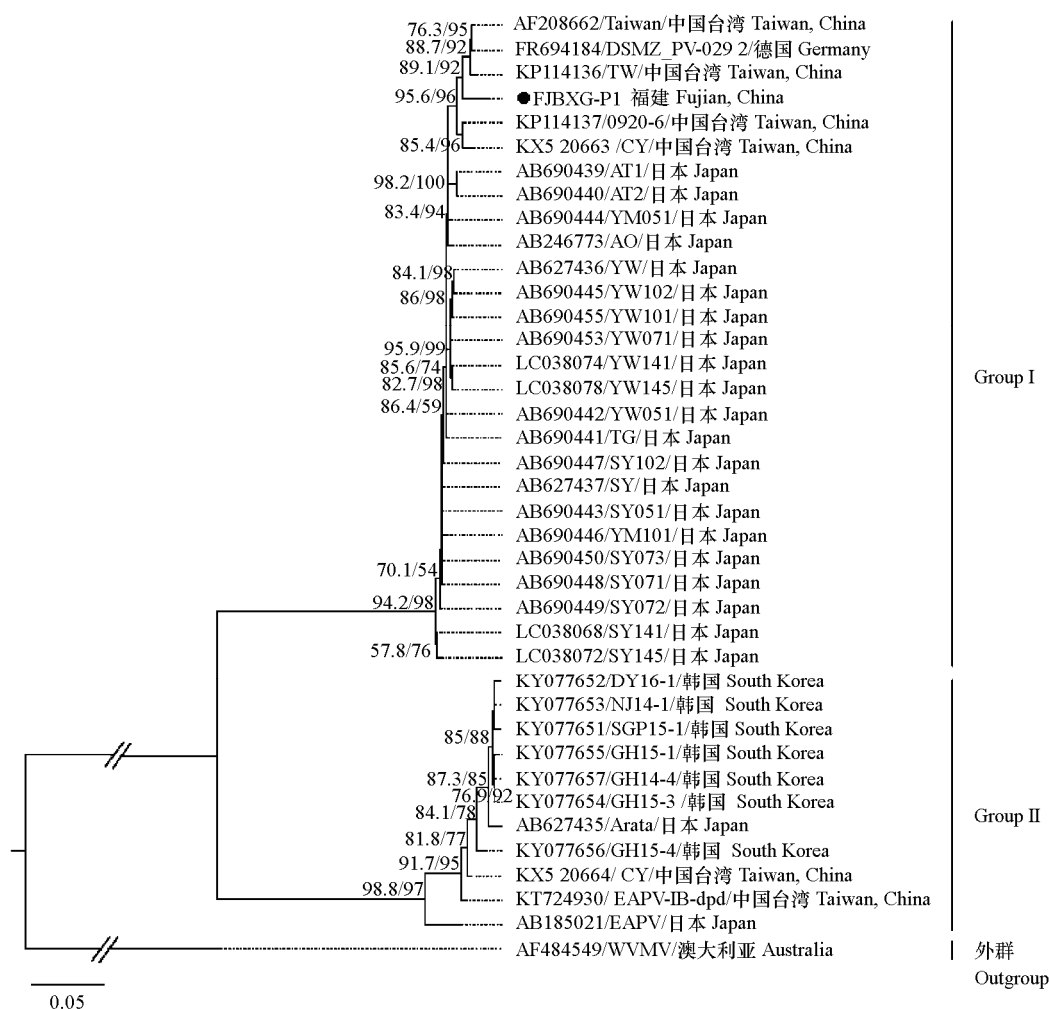


图 4 基于 CP 基因核苷酸序列重建的系统发育树

分支节点上的数值为 SH-aLRT/自举值 (仅显示 SH-aLRT > 75% 且 BP > 70%)。

Fig. 4 Phylogenetic tree based on nucleotide sequence reconstruction of CP gene

The numbers on the branches were the value of SH-aLRT/Bootstrap (only shown SH-aLRT > 70% and BP > 70%) .

### 3 讨论

采用血清学 ELISA、通用引物和特异性引物 RT-PCR 对采集的疑似带病样品进行了检测和鉴定, 在 1 份表现有花叶症状的样品上检出 EAPV, 这是中国大陆地区西番莲上 EAPV 发生的首次报道。

针对 EAPV 目前尚无有效的防治药剂, 早期检测, 建立西番莲无毒苗繁殖体系是预防和控制该病毒的关键。EAPV 与 PWV 侵染西番莲引起的症状相似, 且血清学特性与 PWV 相近, 因而之前一直被认为是 PWV 的一个株系, 但其基因组的 CP 基因序列与 PWV 的一致性低于 *Potyvirus* 种的判断标准, EAPV 被单独认定为 *Potyvirus* 一个新的病毒种类 (Iwai et al., 2006a, 2006b; Fukumoto et al., 2012a, 2012b)。应用血清学 ELISA 方法进行初筛、RT-PCR 检测确认是果树上病毒检测的常用手段。由于 EAPV 没有商品化的检测试剂盒, 所以本研究先用 *Potyvirus* 属通用抗体检测试剂盒进行初筛, 并对检测为阳性的样品进一步用 SMV 的特异性抗体试剂盒检测, 以确认是否存在 *Potyvirus* 属的 SMV。

利用通用简并引物 RT-PCR 筛查 *Potyvirus* 属病毒, 已成功用于西番莲上, 如 TeMV 的检测(谢丽雪 等, 2017)。本研究结果进一步证实该方法能够有效用于西番莲上 *Potyvirus* 属的 EAPV 检测。与血清学 ELISA 筛查方法相比, 尽管通用简并引物 RT-PCR 方法不适合大批量样品的检测, 但该方法具有特异性强、灵敏度高, 且有可能一次检出复合侵染的多个 *Potyvirus* 属病毒的优点。

本研究中通过特异性引物 RT-PCR 和序列测定, 获得了 CP 基因全长序列。疑似病样(FJBXG-P1)分离物与其他已报道的 EAPV 分离物序列一致性比较结果表明, FJBXG-P1 分离物的 CP 基因核苷酸、氨基酸序列与 GenBank 报道的国外和中国台湾地区分离物的一致性分别在 81%~97.6%、84%~96.9%, 其中与中国台湾分离物一致性最高, 分别为 97.6%、96.9%。Adams 等(2005)报道, CP 基因核苷酸序列一致性低于 76%, 氨基酸序列一致性低于 80%时判定为 *Potyvirus* 属病毒的不同种。根据该标准, 判断中国福建西番莲 FJBXG-P1 分离物为 EAPV。从 FJBXG-P1 与其他 EAPV 分离物构建的系统发育树来看, 来自不同国家、地区的 EAPV 分离物按株系划分为 2 个分支, 但未表现出明显的地理相关性, 其中中国台湾地区 PWV 分离物实际上应该为 EAPV, 这与 Iwai 等(2006b)的报道一致。Chong 等(2018)的研究也证实, 中国台湾地区引起西番莲木质化病的主要病原应重新分类为 EAPV, 而不是之前报道的 PWV。系统发育分析结果显示, FJBXG-P1 与中国台湾地区分离物(KP114136、AF208662)具有较近的亲缘关系。近年来, 中国大陆地区从中国台湾引进了较多的西番莲品种, 因此推测大陆地区发现的 EAPV 有可能是引种传入的。

目前关于 EAPV 的传播机制尚不明确。研究表明, *Potyvirus* 属病毒能够通过蚜虫传播, 该属大多数病毒的外壳蛋白基因含有与蚜传相关的保守基序 DAG(郑红英 等, 2006; 赵芹 等, 2016)。TeMV 是危害西番莲的另一种 *Potyvirus* 属病毒。谢丽雪等(2017)研究发现, 福建西番莲上的该病毒 CP 基因编码氨基酸序列中存在与病毒蚜传相关的保守基序 DAG, 但 Chiemsombat 等(2014)研究报道, 泰国西番莲上 TeMV 分离物 CP 基因编码氨基酸序列中的保守基序 DAG 被 DTG 取代, 有可能影响其蚜传能力。在本研究中获得的 FJBXG-P1 分离物的 CP 基因氨基酸序列中也存在 DAG, 且与已报道的 EAPV 分离物 AO 和 IB 株系(Iwai et al., 2006b)相同, 由此推测该病毒可以通过蚜虫传播, 但具体传播的蚜虫种类及机理有待进一步研究。为防止该病毒在福建地区流行, 除采取培育无毒苗的措施外, 还需要加强对传播介体蚜虫的监测与防治, 控制该介体对病毒的传播和扩散。

## References

- Abascal F, Zardoya R, Telford M J. 2010. Translator X: multiple alignment of nucleotide sequences guided by amino acid translations. *Nucleic Acids Research*, 38: W7 - W13.
- Abdullah N, Ismail I, Pillai V, Abdullah R, Sharifudin S A. 2009. Nucleotide sequence of the coat protein gene of the *Malaysian passiflora virus* and its 3' non-coding region. *American Journal of Applied Sciences*, 6 (9): 1633 - 1636.
- Adams M J, Antoniw J F, Fauquet C M. 2005. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. *Archives of Virology*, 150 (3): 459 - 479.
- Bensch D, Pappu S S, Niblett C L, Varón de Agudelo F, Morales F, Hodson E, Alvarez E, Acosta O, Lee R F. 1996. A strain of *Soybean mosaic virus* infecting *Passiflora* spp. in Colombia. *Plant Disease*, 80 (3): 258 - 262.
- Chang C A. 1992. Characterization and comparison of *Passionfruit mottle virus*, a newly recognized potyvirus, with *Passionfruit woodiness virus*. *Phytopathology*, 82 (11): 1358 - 1363.
- Chiemsombat P, Prammanee S, Pipattanawong N. 2014. Occurrence of *Telosma mosaic virus* causing passion fruit severe mosaic disease in Thailand and immunostrip test for rapid virus detection. *Crop Protection*, 63 (5): 41 - 47.
- Chong Y H, Cheng Y H, Cheng H W, Huang Y C, Yeh S D. 2018. The virus causing passionfruit woodiness disease in Taiwan is reclassified as *East Asian passiflora virus*. *Journal of General Plant Pathology*, 84 (3): 208 - 220.

- Coutts B A, Kehoe M A, Webster C G, Wylie S J, Jones R A. 2011. Indigenous and introduced potyviruses of legumes and *Passiflora* spp. from Australia: biological properties and comparison of coat protein nucleotide sequences. *Archives of Virology*, 156 (10): 1757 – 1774.
- Fukumoto T, Nakamura M, Rikitake M, Iwai H. 2012b. Molecular characterization and specific detection of two genetically distinguishable strains of *East Asian Passiflora virus* (EAPV) and their distribution in southern Japan. *Virus Genes*, 44 (1): 141 – 148.
- Fukumoto T, Nakamura M, Ohshima K, Iwai H. 2012a. Genetic structure and variability of *East Asian Passiflora virus* population in Amami-O-shima, Japan. *Journal of Phytopathology*, 160: 404 – 411.
- Fukumoto T, Nakamura M, Wylie S J, Chiaki Y, Iwai H. 2013. Complete nucleotide sequence of a new isolate of *Passion fruit woodiness virus* from Western Australia. *Archives of Virology*, 158 (8): 1821 – 1824.
- Garcez R M, Chaves A L, Eiras M, Meletti L M, de Azevedo Filho J A, da Silva L A, Colariccio A. 2015. Survey of aphid population in a yellow passion fruit crop and its relationship on the spread *Cowpea aphid-borne mosaic virus* in a subtropical region of Brazil. *Springerplus*, (4): 537.
- Iwai H, Terahara R, Yamashita Y, Ueda S, Nakamura M. 2006a. Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of an Amami-O-shima strain of *East Asian Passiflora potyvirus*. *Archives of Virology*, 151 (7): 1457 – 1460.
- Iwai H, Yamashita Y, Nishi N, Nakamura M. 2006b. The potyvirus associated with the dappled fruit of *Passiflora edulis* in Kagoshima prefecture, Japan is the third strain of the proposed new species *East Asian Passiflora virus* (EAPV) phylogenetically distinguished from strains of *Passionfruit woodiness virus*. *Archives of Virology*, 151 (4): 811 – 818.
- Kalyaanamoorthy S, Minh B Q, Wong T K F, von Haeseler A, Jermin L S. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14: 587 – 589.
- Nguyen L T, Schmidt H A, von Haeseler A, Minh B Q. 2014. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32 (1): 268 – 274.
- Parry J N, Davis R I, Thomas J E. 2004. *Passiflora virus* Y, a novel virus infecting *Passiflora* spp. in Australia and the Indonesian Province of Papua. *Australasian Plant Pathology*, 33: 423 – 427.
- Rodrigues L K, Silva L A, Garc ez R M, Chaves A L R, Duarte L M L, Giampani J S, Colariccio A, Harakava R, Eiras M. 2014. Phylogeny and recombination analysis of Brazilian yellow passion fruit isolates of *Cowpea aphid-borne mosaic virus*: origin and relationship with hosts. *Australasian Plant Pathology*, 44 (1): 31 – 41.
- Wijs J J D, Mobach J D. 1975. *Passionfruit ringspot virus* isolated from *Adenia lobata* in Ivory Coast. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 81 (4): 152 – 154.
- Wylie S J, Jones M G. 2011. The complete genome sequence of a *Passion fruit woodiness virus* isolate from Australia determined using deep sequencing, and its relationship to other potyviruses. *Archives of Virology*, 156 (3): 479 – 482.
- Wylie S J, Nouri S, Coutts B A, Jones M G. 2010. *Narcissus late season yellows virus* and *Vallota speciosa virus* found infecting domestic and wild populations of *Narcissus* species in Australia. *Archives of Virology*, 155 (7): 1171 – 1174.
- Xie Li-xie, Zhang Xiao-yan, Zheng Shan, Zhang Li-jie, Li Tao. 2017. Molecular identification and specific detection of *Telosma mosaic virus* infecting passion fruit. *Scientia Agricultura Sinica*, 50 (24): 4725 – 4734.
- 谢丽雪, 张小艳, 郑 珊, 张立杰, 李 韬. 2017. 侵染西番莲的夜来香花叶病毒的分子鉴定及特异性检测. *中国农业科学*, 50 (24): 4725 – 4734. (in Chinese)
- Zhao Qin, Xie Da-sen, He Xiao-ming, Li Hua-ping, You Yi, Luo Shao-bo, Peng Qing-wu. 2016. Detection of *Zucchini yellow mosaic virus* infecting wax gourd in Guangdong Province and genetic variation of its coat protein gene. *Acta Horticulturae Sinica*, 43 (1): 151 – 160. (in Chinese)
- 赵 芹, 谢大森, 何晓明, 李华平, 尤 毅, 罗少波, 彭庆务. 2016. 广东地区冬瓜感染的小西葫芦黄花叶病毒检测及其外壳蛋白基因多样性分析. *园艺学报*, 43 (1): 151 – 160.
- Zheng Hong-ying, Shi Yu-hong, Chen Jiong, Lin Lin, Wang Sheng-ji, Chen Jian-ping. 2006. Identification of a *Shallot yellow stripe virus* isolate from welsh onion in Shandong Province, China. *Chinese Journal of Virology*, 22 (1): 50 – 53. (in Chinese)
- 郑红英, 史雨红, 陈 炯, 林 林, 王升吉, 陈剑平. 2006. 一个侵染山东大葱的葱黄条病毒分离物的鉴定. *病毒学报*, 22 (1): 50 – 53.