贵州省烟区病毒多样性检测及辣椒脉斑驳病毒的流行特征与群体遗传分析

林 涛[1] 张翼飞[2] 金 鑫[2] 曹 毅[3] 李婷婷[1*] 丁 铭[1*]

（1. 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所，云南省农业生物技术重点实验室，农业农村部西南农业基因资源与种质创制重点实验室，昆明 650205；2. 贵州省烟草公司贵阳市公司，贵阳 550004；3. 贵州省烟草科学研究院，贵阳 550081）

摘要：为明确贵州省烟区病毒多样性及辣椒脉斑驳病毒（chilli veinal mottle virus，ChiVMV）的流行规律，于2025年8—10月在贵阳、安顺和兴义3市采集烟草*Nicotiana tabacum*及其伴生杂草样品共74份，通过宏转录组测序与反转录PCR进行病毒分析与检测，并通过衣壳蛋白（coat protein，CP）基因序列比对、SDT一致性分析及系统发育分析对ChiVMV进行遗传分析。结果显示：从采集样品中共鉴定出8种病毒，检出率排前4位的分别为烟草花叶病毒（tobacco mosaic virus，TMV）、烟草扭脉病毒（tobacco vein distorting virus，TVDV）、马铃薯Y病毒（potato virus Y，PVY）和ChiVMV，其中ChiVMV在贵阳市烟区烟草样品中的检出率达87.50%，且在安顺市烟草及兴义市育苗棚杂草中普遍存在，表明该病毒已在贵州省烟区广泛定殖。基于*CP*基因序列的系统发育分析显示，ChiVMV在以我国云贵川为核心的西南烟区及辽宁等省存在本地循环演化的遗传结构，同时还可能伴随与巴基斯坦、印度等南亚国家和地区之间的长距离扩散或引入事件。此外，兴义市育苗棚伴生杂草中ChiVMV的检出率达100.00%，说明这些伴生杂草是ChiVMV传播的重要初侵染源。表明ChiVMV在贵州省烟区的流行潜力与传播风险较高，应将监测病毒多样性、重点防控育苗环节伴生杂草毒源作为关注重点，从源头控制其传播扩散。

关键词：辣椒脉斑驳病毒；烟草；病毒多样性；*CP*基因；系统发育；杂草

Detection of viral diversity and epidemiological characteristics and population genetic analysis of chilli veinal mottle virus in tobacco-growing areas of Guizhou Province

Lin Tao[1] Zhang Yifei[2] Jin Xin[2] Cao Yi[3] Li Tingting[1*] Ding Ming[1*]

（1. Key Laboratory of the Southwestern Crop Gene Resources and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Yunnan Province Key Laboratory of Agricultural Biotechnology; Institute of Biotechnology and Germplasm Resources, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, Yunnan Province, China; 2. Guiyang Company, Guizhou Tobacco Company, Guiyang 550004, Guizhou Province, China; 3. Guizhou Academy of Tobacco Science, Guiyang 550081, Guizhou Province, China）

Abstract: To clarify the viral diversity and the epidemiological patterns of chilli veinal mottle virus (ChiVMV) in tobacco-growing areas of Guizhou Province, a total of 74 samples of tobacco *Nicotiana tabacum* and associated weeds were collected from Guiyang, Anshun, and Xingyi cities between August and October 2025. Viruses were detected and analyzed using metatranscriptomic sequencing and reverse transcription-PCR. Genetic analysis of ChiVMV was performed based on the coat protein (*CP*)

基金项目：云南省种子种业联合实验室项目（202205AR070001-2），中国烟草总公司贵州省公司科技项目（2025XM03）

* 通信作者（Authors for correspondence），E-mail：591807832@qq.com，mingd73@163.com

收稿日期：2025-12-19

gene sequence alignment, SDT pairwise nucleotide identity analysis, and the construction of a neighbor-joining phylogenetic tree. A total of eight viruses were identified in this research. The top three most frequently detected viruses were tobacco mosaic virus (TMV), tobacco vein distorting virus (TVDV), and potato virus Y (PVY) together with ChiVMV. Notably, the detection rate of ChiVMV in tobacco samples from Guiyang was as high as 87.50%, and the virus was also prevalent in tobacco from Anshun and in weeds from seedling nurseries in Xingyi, indicating that it has become widely established in Guizhou tobacco-growing regions. Phylogenetic analysis based on the *CP* gene revealed that ChiVMV isolates exhibited a genetic structure of local endemic circulation in southwestern China (centered in Yunnan, Guizhou, and Sichuan provinces) as well as in Liaoning Province, and might have undergone long-distance dispersal or introduction events involving South Asian regions such as Pakistan and India. Furthermore, the detection rate of ChiVMV in associated weeds from Xingyi seedling nurseries reached 100.00%, suggesting that these weeds serve as an important primary inoculum source for virus transmission. These findings indicate a high epidemic potential and transmission risk of ChiVMV in Guizhou tobacco-growing areas. Therefore, it is critical to monitor virus diversity and focus on controlling weed-based virus sources during the seedling nursery stage, thereby curbing its spread from the source.

Key words: chilli veinal mottle virus; tobacco; virus diversity; *CP* gene; phylogenetic analysis; weed

烟草*Nicotiana tabacum*是我国重要的叶用经济作物，其安全生产对国家乡村振兴战略和地方经济发展具有重要意义（魏维科等，2025；郑倩萍等，2025）。作为世界最大的烟草生产国，我国烟草种植面积与烟叶产量均居世界首位，其中贵州省是我国第二大烟草产区，烤烟产业不仅是地方经济的重要支柱，也是国家财税收入的重要来源（冷东蔚等，2023）。然而，由植物病毒引起的病毒病是制约烟草产量和品质的主要因素之一。近年来，病毒病在贵州省烟区持续暴发，严重影响了烟草的产量和品质，对烟草产业的健康发展构成严重威胁（彭曙光，2011；代园凤等，2020）。目前，我国已在烟草上发现20余种病毒（陈越等，2024），在贵州省烟区以烟草花叶病毒（tobacco mosaic virus，TMV）、黄瓜花叶病毒（cucumber mosaic virus，CMV）和马铃薯Y病毒（potato virus Y，PVY）的发生最为严重和普遍（张福莉等，2013；任锡毅等，2014；王莉爽等，2014）。这些病毒引起的病毒病害不仅直接导致烟草减产，还常引发难以预测的流行病，严重制约着烟草产业的可持续发展。

烟草病毒病的流行与暴发受多种环境与生态因素共同调控。全球气候变化、耕作制度调整以及作物品种跨区域调运等正在显著改变烟草病毒病的发生规律与流行动态（马春森等，2025）。病毒本身具有较高的变异潜力，已知病原可能演化出致病性更强的新株系（Jones & Naidu，2019）；同时，病毒寄主范围广泛、传播途径多样，使得以往局部发生或新发现的病毒也可能在烟草群体中潜伏传播，构成潜在的病害风险（Akinyemi et al.，2016）。近年来，辣椒脉斑驳病毒（chilli veinal mottle virus，ChiVMV）作为一类由蚜虫传播的重要病毒，在我国多个烟区频繁发生，危害程度呈逐年上升趋势（龚明霞等，2020）。该病毒侵染烟草后引起叶片严重花叶、脉带等症状，且其常与其他烟草病毒复合侵染，加剧对烟草生长发育的影响，从而造成更严重的损失（范愉，2024）。这使得烟草病毒病的防治更加复杂，因此，构建准确、高效的病毒鉴定与检测技术体系已成为烟草病害综合防控的重要基础（刘青等，2022）。

目前，高通量测序技术的快速发展为系统解析病毒多样性提供了突破性研究手段。与传统靶向检测方法相比，宏转录组测序技术能够在无预设条件下全面获取样本中的病毒组信息，尤其在新病毒鉴定、复合侵染识别以及病毒群体进化分析方面具有显著优势，为植物病毒监测预警与综合防控提供了新的研究视角（姜帆等，2022；邢飞等，2025）。本研究通过宏转录组测序结合反转录PCR（reverse transcription-PCR，RT-PCR）检测技术，对贵州省贵阳市烟区6块典型烟田的烟草及田间伴生杂草样品进行病毒组分析，同时采集兴义市烟草育苗棚的伴生杂草样品和安顺市烟草混合样品进行区域性比较，明确ChiVMV的检出率及在烟草育苗环节中的潜在初始侵染源，并对所有ChiVMV阳性样品的衣壳蛋白（coat protein，CP）基因进行序列测定与系统

进化分析，以期阐明该病毒在贵州省烟区的群体遗传结构及其演化关系，为贵州省烟区病毒病的综合防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试烟草和杂草样品：于2025年8月至10月在贵阳市核心烟草产区清镇市流长苗族乡的哨坡村（烟草1份、杂草17份）和大关口村（烟草3份、杂草11份）、息烽县的流长镇大水井村（烟草1份、杂草7份）和鹿窝镇小甘泉村（烟草1份、杂草3份）、开阳县楠木渡镇的黄家营村（烟草1份、杂草4份）和羊水坡村（烟草1份、杂草5份）共采集了8份烟草和47份杂草样品；同时从安顺市采集烟草样品2份，从兴义市烟草育苗棚采集杂草样品17份。所有样品均为采集自健康或症状明显植株的新鲜幼嫩叶片，所有样品均按统一规则编号，例如25YN0470中，前两位数字25代表采集年份（2025年），YN为样品采集单位云南省农业科学院的缩写，0470为样品序号。每份样品用锡箔纸独立包裹后，于液氮中速冻，−80 ℃保存备用。

LB（Luria-Bertani）培养基：胰蛋白胨10 g、酵母提取物5 g、NaCl 10 g、琼脂粉15 g，加去离子水定容至1 L，121 ℃高压灭菌20 min。

试剂和仪器：植物总RNA提取试剂盒、2× Rapid *Taq* Master Mix，南京诺唯赞生物科技股份有限公司；ReverTra Ace-α-™反转录试剂盒、KOD FX高保真DNA聚合酶，日本ToYoBo公司；E.Z.N.A.®凝胶回收试剂盒，美国Omega Bio-Tek公司；pEASY®-T & B载体、Trans1-T1克隆感受态细胞，北京全式金生物技术有限公司；其余试剂均为国产分析纯。JXFSTPRP-24L型全自动样品快速研磨仪，上海净信实业发展有限公司；Thermo Scientific™ Multifuge™ X3台式离心机，美国Thermo Fisher Scientific公司；Novaseq 6000平台，美国Illumina公司；S1000 PCR仪，美国Bio-Rad Laboratories公司；EPS-301型电泳仪，美国Cytiva公司。

1.2 方法

1.2.1 贵州省烟区烟草病毒病的调查方法

为明确贵州省烟区病毒多样性，于2025年8—10月开展烟草病毒病调查，调查地点覆盖贵州省贵阳市、安顺市和兴义市3个主要烟草种植区，调查采用随机踏查与定点采样相结合的方法，共设置8个采样点，包括贵阳市清镇市、息烽县、开阳县3个县（市）下辖的6个自然村，同1.1，以及安顺市烟区和兴义市烟草育苗棚。贵阳市烟区于8月（烟草生长后期）进行病毒病调查，包括烟株及烟田周边伴生杂草，同期对安顺市烟区烟草植株进行调查；兴义市烟草育苗棚则于10月（烟草采收后育苗期）进行调查，此时田间烟草已收获，重点调查棚内及周边伴生杂草。

1.2.2 贵阳市采集样品中病毒种类的宏转录组分析

将贵阳市6个烟草种植地采集的8份烟草和47份伴生杂草组织分别混合，各制备成1份混合样品，委托天津诺禾致源生物信息科技有限公司进行宏转录组测序。从各样品中提取的RNA质量检测标准为：总量≥1 μg，RNA完整性数值>5.8，$OD_{260\ nm}/OD_{280\ nm}$为1.8~2.0，$OD_{260\ nm}/OD_{230\ nm}$≥2。合格样品按标准流程构建宏转录组文库，采用Novaseq 6000平台进行双端测序（PE150），每个文库测序深度不低于6 Gb。获得的原始数据经质控后，使用Trinity 2.15.1软件进行从头组装。将组装所得的unigene与NCBI非冗余蛋白数据库进行BLASTX比对，要求*E*值≤1×10^{-5}，解析其序列注释与功能分类。为进一步鉴定样品中的病毒种类，将unigene与NCBI病毒参考序列数据库（RefSeq viral genome database）进行BLASTN比对，并利用Diamond软件将unigene与病毒蛋白家族数据库进行比对，从中筛选出疑似病毒序列。对筛选出的候选病毒序列，进一步通过病毒基因组拼接到分类流程进行病毒基因组组装与物种分类鉴定。最终，统计各样品中检出的病毒种类，计算病毒检出率。

1.2.3 基于病毒*CP*基因序列的RT-PCR验证

采用植物总RNA提取试剂盒对3个烟区的所有样品进行总RNA的提取，并通过1.5%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。取1 μg合格的总RNA为模板，使用反转录试剂盒合成第一链cDNA，于−20 ℃保存备用。基于1.2.2鉴定到的8种病毒，对贵阳市55份样品进行8种病毒的*CP*基因检测，而对安顺、兴义两市的19份样品进行ChiVMV的*CP*基因检测。引物设计和合成（表1）均委托生工生物工程（上海）股份有限公司完成。20 μL反应体系：2×Rapid *Taq* Master Mix 10 μL、cDNA 1 μL、正反向引物各1 μL，ddH_2O补足至20 μL。反应程序：95 ℃预变性3 min；95 ℃变性25 s，相应退火温度（表1）下退火25 s，72 ℃延伸1 min，共35个循环；72 ℃终延伸5 min。取10 μL扩增产物，使用1.5%琼脂糖凝胶进行电泳分析。

表1 病毒*CP*基因序列扩增引物

Table 1 Primers for the viral *CP* gene sequence amplification

病毒 Virus	引物序列(5′-3′) Primers sequence (5′-3′)	片段大小 Product size/bp	退火温度 Annealing temperature/℃
辣椒脉斑驳病毒 Chilli veinal mottle virus	F: ATGGCAGGAGAGAGCGTTGA R: TAATCCCCGAACGCCTAGCA	863	58
烟草花叶病毒 Tobacco mosaic virus	F: ATGTCTTACAGTATCACTACTCCA R: AGTTGCAGGACCAGAGGTCCAAA	476	55
马铃薯Y病毒 Potato virus Y	F: GCAAATGACACAATTGATG R: CATGTTCTTGACTCCAAGTA	801	55
黄瓜花叶病毒 Cucumber mosaic virus	F: ATGGACAAATCTGAATCAATCAG R: AACTGGGAGCACCCCAGATG	653	55
野生番茄花叶病毒 Wild tomato mosaic virus	F: GCCACTTGTGAAAGATAAGG R: TCAGACGCCCCTAACACCAAGCA	722	58
烟草脉带花叶病毒 Tobacco vein banding mosaic virus	F: GGTGATAATCAGACAGTTGATGC R: CACGCCATTCACACCAAGTA	813	55
番茄黄化斑驳相关病毒 Tomato yellow mottle-associated virus	F: TTACTCGTTGGGTGTAGCAG R: ATGAACACTTTGGCATTACA	1 239	52
烟草扭脉病毒 Tobacco vein distorting virus	F: ATGAATACGGGAGGAGCCAGG R: TTTGGGGTTGTGCAGTTGCA	615	50

1.2.4 ChiVMV分离物的*CP*基因序列分析

基于1.2.3验证结果,从贵阳、安顺和兴义3市采集样品中共检出27份样品携带ChiVMV,重新以KOD FX高保真DNA聚合酶对这27份阳性样品进行*CP*基因片段的扩增,方法同1.2.3。扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳后,切胶回收目的片段,并克隆至pEASY®-T & B载体获得重组质粒。将重组质粒转化至Trans1-T1感受态细胞进行培养,将培养液涂布在含50 mg/L卡那霉素的LB固体平板上培养,待长出菌落后利用M13正反向引物进行PCR鉴定,反应体系和程序同1.2.3。随机挑取3个阳性单克隆,送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

将ChiVMV *CP*基因序列的完整编码区核苷酸序列通过NCBI BLAST在线平台进行比对,进一步确认其分类学地位。为量化ChiVMV不同分离物*CP*基因间的遗传差异,使用SDT 1.2软件计算ChiVMV所有分离物与NCBI数据库中来自不同国家、地区和寄主的31个ChiVMV分离物之间的核苷酸序列一致性。并利用MEGA 6.0软件中的Clustal W程序进行多序列比对,采用邻接法构建上述ChiVMV分离物的系统发育树,以马铃薯Y病毒属*Potyvirus*的烟草扭脉病毒(tobacco vein distorting virus,TVDV)作为外类群。为评估系统发育树拓扑结构的可靠性,使用1 000次自举重复进行检验,并将支持率以百分比形式标注于分支节点旁。

1.3 数据分析

用Excel 2019软件进行试验数据分析和绘图。

2 结果与分析

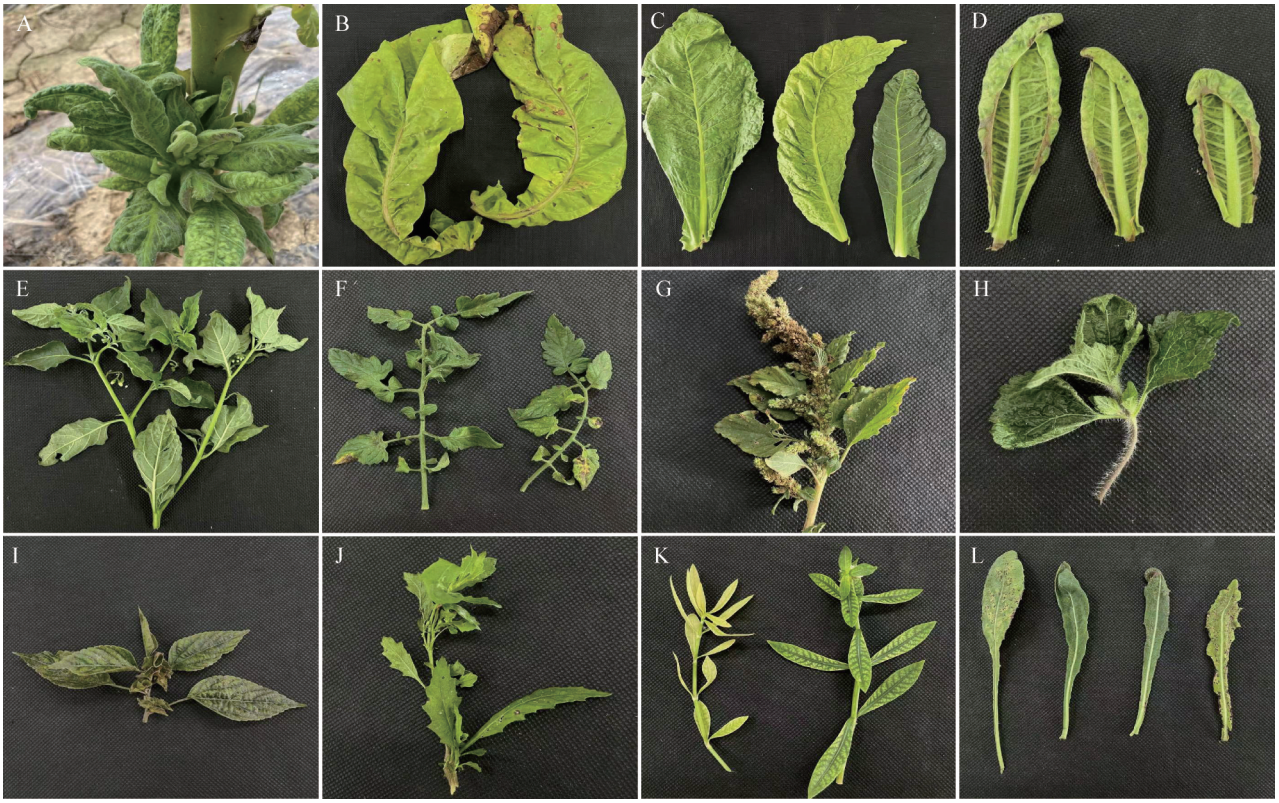
2.1 烟草及伴生杂草的病毒病症状

对贵阳、安顺和兴义3市烟草及田间伴生杂草的系统调查发现部分样品疑似感染病毒病。从地区来看,贵阳市烟区发病相对较重,症状类型最为多样,主要症状表现为叶片花叶、黄化、斑驳、皱缩卷曲及出现坏死斑等;安顺市烟草样品的症状以花叶和斑驳为主,相对单一;兴义市育苗棚杂草多数无明显症状,仅少量叶片表现轻微黄化或斑驳。从寄主类型来看,烟草的症状普遍较杂草更典型和明显,杂草多以隐性带毒为主,仅少数出现可见症状(图1)。

2.2 贵阳市烟区烟草上的病毒种类及发生频率

贵阳市烟区采集的8份烟草及47份伴生杂草样品经宏转录组测序分析,共鉴定出8种潜在的植物病毒,分别为ChiVMV、TMV、PVY、CMV、野生番茄花叶病毒(wild tomato mosaic virus,WTMV)、烟草脉带花叶病毒(tobacco vein banding mosaic virus,TVBMV)、番茄黄化斑驳相关病毒(tomato yellow mottle-associated virus,TYMaV)和TVDV,分属于马铃薯Y病毒属*Potyvirus*(4种)、黄瓜花叶病毒属*Cucumovirus*(1种)、烟草花叶病毒属*Tobamovirus*(1种)、细胞质弹状病毒属*Cytorhabdovirus*(1种)、马铃薯卷叶病毒属*Polerovirus*(1种)这5个病毒属。

依据8种病毒的*CP*基因序列对全部55份样品进行RT-PCR验证，共有10份样品未检出病毒，所有样品中病毒的检出率为81.82%；而8份烟草样品全部携带病毒，其中TMV的检出率最高，达72.73%，说明其在当地烟区广泛分布（表2）。在贵阳市8份烟草样品中，仅开阳县楠木渡镇羊水坡的烟草样品25YN0451中未检出ChiVMV，其余5地的7份烟草样品中均检出了ChiVMV，检出率达87.50%；此外，清镇市流长苗族乡哨坡村的伴生杂草龙葵*Solanum nigrum*样品25YN0465中也检出了该病毒（表2）。



A~D：烟草；E：龙葵；F：番茄；G：苋菜；H：藿香蓟；I：铁苋菜；J：土荆芥；K：铁线莲；L：蒲公英。A–D: *Nicotiana tabacum*; E: *Solanum nigrum*; F: *Solanum lycopersicum*; G: *Amaranthus tricolor*; H: *Ageratum conyzoides*; I: *Acalypha australis*; J: *Dysphania ambrosioides*; K: *Clematis chinensis*; L: *Taraxacum mongolicum.*

图1　部分烟草与伴生杂草的病毒侵染症状

Fig. 1　Infection symptoms on partially collected tobacco and associated weeds

2.3　贵阳市烟区病毒复合侵染情况

对贵阳市烟草阳性样品中的病毒侵染情况进行分析，发现单一病毒侵染最常见，共有26个样品携带1种病毒，占总样品数的47.27%；携带2种病毒的样品有12个，占总样品数的21.82%；携带3种病毒的样品有3个，占总样品数的5.45%；携带4、5及6种病毒的样品分别有2、1和1个，分别占总样品数的3.64%、1.82%和1.82%。在检测到的复合侵染组合中，ChiVMV可与TMV、PVY、WTMV、TVBMV、TYMaV及TVDV共同存在。

2.4　ChiVMV的跨区域分布与育苗环节传播风险

RT-PCR检测结果表明，ChiVMV在贵州省烟区分布广泛，不仅普遍存在于贵阳市各烟区烟草中，而且在兴义市烟草育苗棚的17份杂草样品（龙葵样品25YN0629-1、25YN0629-2、25YN0629-3、25YN0629-4、25YN0636-1、25YN0636-2、25YN0636-3，番茄*Solanum lycopersicum*样品25YN0630，苋菜*Amaranthus tricolor*样品25YN0631-1、25YN0631-2，藿香蓟*Ageratum conyzoides*样品25YN0632-1、25YN0632-2、25YN0635，铁苋菜*Acalypha australis*样品25YN0633，土荆芥*Dysphania ambrosioides*样品25YN0634，铁线莲*Clematis chinensis*样品25YN0637，蒲公英*Taraxacum mongolicum*样品25YN0638）和安顺市的2份烟草样品25YN0560、25YN0561中也均被检出，检出率为100.0%，表明ChiVMV已在贵州省烟草生产的不同环节（大田、育苗棚）和不同生态区域稳定定殖，其中育苗棚高度聚集的带毒杂草极有可能成为向新生烟苗传播病毒的初始毒源。

表2 贵阳市烟区烟草样品及伴生杂草中不同种类病毒的检测结果

Table 2 Detection of various viruses in tobacco and associated weed samples from Guiyang tobacco-growing areas

采样地 Sampling location	寄主 Host	样品编号 Sample ID	ChiVMV	TMV	PVY	CMV	WTMV	TVBMV	TYMaV	TVDV
清镇市哨坡村 Shaopo Village, Qingzhen City	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0470	+	+	+		+	+		
	龙葵 *Solanum nigrum*	25YN0465	+	+	+		+	+	+	
	野茼蒿 *Crassocephalum crepidioides*	25YN0466		+	+					
	菊芋 *Helianthus tuberosus*	25YN0469		+	+					
	水麻 *Debregeasia orientalis*	25YN0455		+				+		
	魔芋 *Amorphophallus konjac*	25YN0459		+		+				
	花叶滇苦菜 *Sonchus asper*	25YN0460		+						
	毛梗豨莶 *Siegesbeckia pubescens*	25YN0461		+						
	番茄 *Solanum lycopersicum*	25YN0462		+						
	苋菜 *Amaranthus tricolor*	25YN0463		+						
	昆诺藜 *Chenopodium quinoa*	25YN0464		+						
	紫花香薷 *Elsholtzia argyi*	25YN0467		+						
	鬼针草 *Bidens pilosa*	25YN0468		+						
	早落通泉草 *Mazus caducifer*	25YN0456				+				
清镇市大关口村 Daguankou Village, Qingzhen City	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0482	+	+	+					
	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0483	+	+	+					+
	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0484	+	+	+					+
	苋菜 *Amaranthus tricolor*	25YN0471		+						+
	龙葵 *Solanum nigrum*	25YN0473		+					+	+
	菊芋 *Helianthus tuberosus*	25YN0475		+						+
	昆诺藜 *Chenopodium quinoa*	25YN0476		+	+					+
	辣子草 *Galinsoga parviflora*	25YN0477		+						+
	南瓜 *Cucurbita moschata*	25YN0478		+						+
	鬼针草 *Bidens pilosa*	25YN0481		+						+
	酸模 *Rumex acetosa*	25YN0472								+
	花叶滇苦菜 *Sonchus asper*	25YN0474								+
	水蓼 *Persicaria hydropiper*	25YN0479								+
	藿香蓟 *Amaranthus tricolor*	25YN0480								+
息烽县大水井村 Dashuijing Village, Xifeng County	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0447	+	+						
	南瓜 *Cucurbita moschata*	25YN0485		+						
	飞蓬 *Conyza canadensis*	25YN0487		+						
	昆诺藜 *Chenopodium quinoa*	25YN0488		+						
	龙葵 *Solanum nigrum*	25YN0489		+						
	旱莲草 *Eclipta prostrata*	25YN0490		+						
息烽县小甘泉村 Xiaoganquan Village, Xifeng County	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0448	+	+						
	昆诺藜 *Chenopodium quinoa*	25YN0495		+						
	序叶苎麻 *Boehmeria clidemioides*	25YN0496		+						
开阳县黄家营村 Huangjiaying Village, Kaiyang County	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0449	+	+						
	饭包草 *Commelina bengalensis*	25YN0499		+						
	刺儿菜 *Cirsium setosum*	25YN0500		+						
	苋菜 *Amaranthus tricolor*	25YN0501		+						
开阳县羊水坡村 Yangshuipo Village, Kaiyang County	烟草 *Nicotiana tabacum*	25YN0451		+						
	番茄 *Solanum lycopersicum*	25YN0503		+						
	昆诺藜 *Chenopodium quinoa*	25YN0504		+						
	旱莲草 *Eclipta prostrata*	25YN0506		+						
合计 Total			8	40	8	2	2	3	2	13
检出率 Detection rate/%			14.55	72.73	14.55	3.64	3.64	5.45	3.64	23.64

ChiVMV：辣椒脉斑驳病毒；TMV：烟草花叶病毒；PVY：马铃薯Y病毒；CMV：黄瓜花叶病毒；WTMV：野生番茄花叶病毒；TVBMV：烟草叶脉带化病毒；TYMaV：番茄黄化斑驳相关病毒；TVDV：烟草扭脉病毒。ChiVMV: Chilli veinal mottle virus; TMV: tobacco mosaic virus; PVY: potato virus Y; CMV: cucumber mosaic virus; WTMV: wild tomato mosaic virus; TVBMV: tobacco vein banding mosaic virus; TYMaV: tomato yellow mottle-associated virus; TVDV: tobacco vein distorting virus.

2.5　ChiVMV *CP*基因序列的一致性分析

对本研究从贵阳、安顺和兴义3市获得的27个ChiVMV分离物的*CP*基因序列进行比对分析，发现部分分离物在核苷酸序列及氨基酸序列上完全一致，经去重处理最终选取14条代表性序列（贵阳市：25YN0447、25YN0448、25YN0449、25YN0465、25YN0470、25YN0482、25YN0483；安顺市：25YN0561；兴义市：25YN0562、25YN631-1、25YN631-2、25YN633、25YN634和25YN636-2）用于后续分析。

利用SDT 1.2软件将上述14个分离物与GenBank中收录的31个源自不同国家及寄主的ChiVMV分离物进行*CP*基因序列比对，发现本研究所有ChiVMV分离物*CP*基因的核苷酸序列一致性在87.32%~99.85%之间；与GenBank中已报道ChiVMV分离物的核苷酸序列一致性在79.68%~99.27%之间；其中，与中国贵州省Zunyi分离物（GenBank登录号PQ126526）及云南省Yuxi4分离物（GenBank登录号ON838425）的核苷酸序列一致性最高，均为99.27%，而与美国Oahu2分离物（GenBank登录号OM108478）的核苷酸序列一致性最低，为79.68%（图2）。表明尽管存在地理和寄主来源的差异，ChiVMV的*CP*基因序列在进化过程中仍保持较高的保守性。

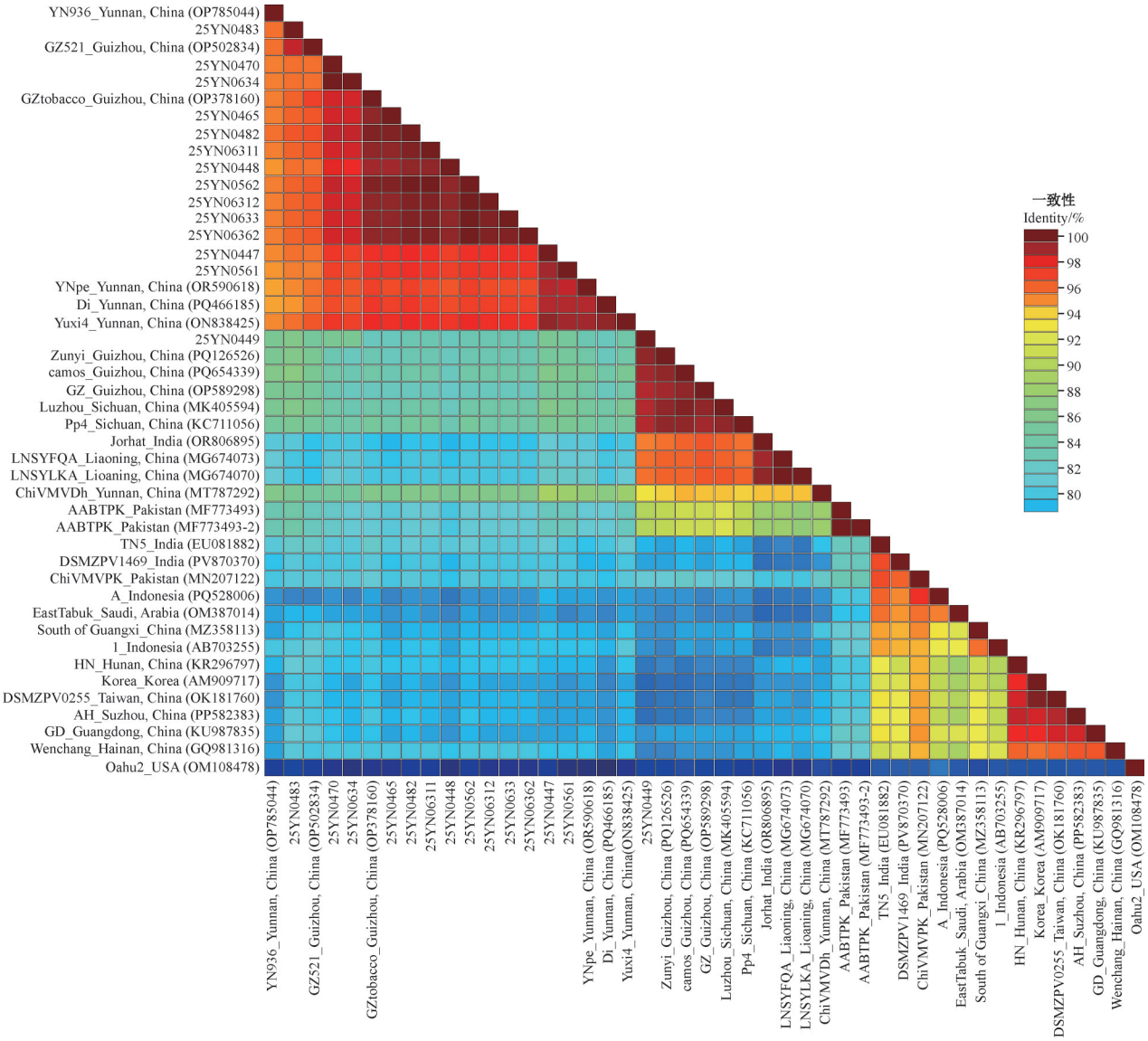


图2　ChiVMV分离物*CP*基因核苷酸序列一致性分析

Fig. 2　Nucleotide sequence identity analysis of the *CP* genes of ChiVMV isolates

2.6　ChiVMV *CP*基因序列的系统发育分析

基于*CP*基因序列，对本研究获得的14个ChiVMV分离物及从GenBank下载的来自不同国家、地区和寄主的31个ChiVMV分离物进行系统发育分析，进化树显示所有序列主要聚类为3个分支，表现出明显的地理分布特征（图3）。

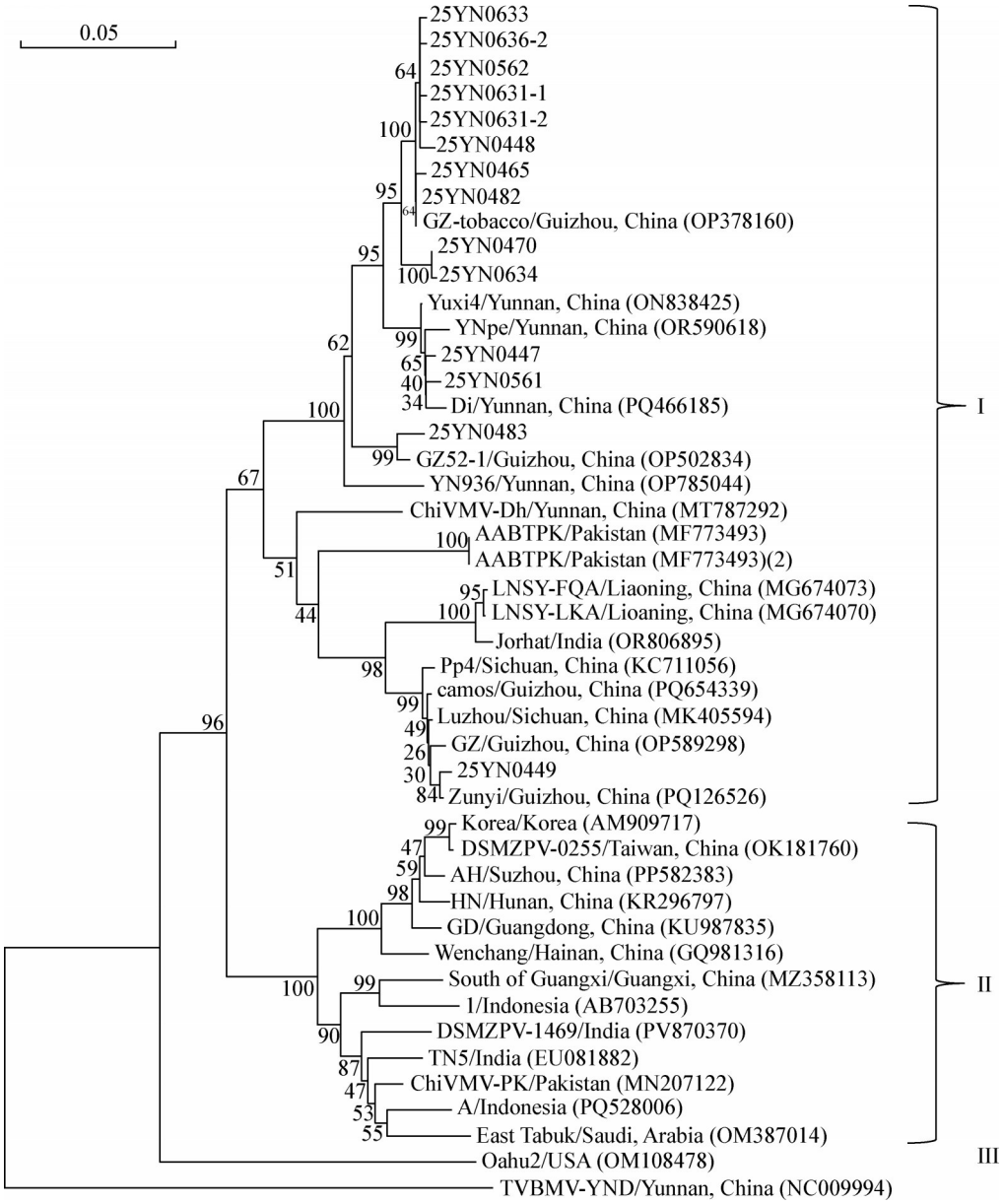


图3 基于*CP*基因核苷酸序列采用邻接法构建的ChiVMV及其相关分离物的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of *CP* gene from ChiVMV and its related isolates by neighbor-joining method

分支I包括本研究所有分离物及采集地周边区域(如贵州、云南、四川等省)已报道的ChiVMV分离物,还包括来自中国辽宁省、巴基斯坦和印度的分离物;该分支可进一步划分为两个亚支,亚支1包含本研究中贵阳市(除25YN0449外)、安顺市和兴义市的分离物序列,以及邻近贵州省、云南省的分离物;亚支2则包含贵阳市分离物25YN0449,并聚合了来自中国贵州、云南、四川、辽宁4省以及巴基斯坦及印度的分离物(图3)。表明本研究分离物与区域内流行株的同源性较高,提示存在区域性传播的可能。

分支II和III分别包含来自中国台湾、苏州、湖南、广东、海南、广西等省区的分离物,以及其他国家的分离物(图3)。这两个分支与分支I处于并列的演化位置,表明本研究获得的贵州省分离物与上述地区及国外的流行株系亲缘关系较远,可能具有独立的传播来源或进化路径。此外,系统发育树中未观察到与寄主来源显著相关的聚类模式。

3 讨论

病毒病是制约烟草产量与品质的主要生物胁迫因素,其田间流行是病毒、寄主、环境及栽培管理等多因素互作的结果(何伟光,2020)。本研究对贵州省贵阳、安顺及兴义市烟田的病毒发生情况进行调查,发现TMV、TVDV、PVY、ChiVMV等常见病毒

分布广泛，虽然ChiVMV的检出率较TMV低，但在贵阳市烟区普遍发生，且于安顺市烟草田及兴义市育苗棚杂草中均有检出，呈现出突出的流行潜力与跨生态位传播特征。鉴于ChiVMV在贵州省烟区的区域性传播规律尚不明确，本研究将在分析整体病毒发生情况的基础上，重点围绕ChiVMV的流行特征与遗传结构展开讨论，以期为区域ChiVMV的精准防控提供依据。

宏转录组测序结果表明，贵阳市烟区主要存在8种病毒，其中以马铃薯Y病毒属成员为主，这与其种类多样、寄主范围广泛且容易通过蚜虫高效传播的特性一致（贺振等，2017）。本次调查中所有烟草样品均携带病毒，病毒携带率达100.00%，且复合侵染现象较普遍，超过半数的阳性样品同时感染2种及以上病毒。复合侵染通常导致作物发病症状加重、病毒积累量上升以及产量损失加剧，这可能是近年来贵州省烟区病毒病危害加重的重要原因之一（潘首慧等，2024）。在单一病毒侵染样品中，TMV最常见，该病毒环境稳定性高，可通过机械接触或土壤残留等方式传播，这也提示需重视田间作业工具的消毒及病残体的清理（魏世清，2019）。

RT-PCR检测结果显示，ChiVMV在贵阳市与安顺市大田烟草及兴义市烟草育苗棚中普遍存在，表明该病毒在贵州省烟区具备较广的生态适应性与跨区域定殖能力。其中，兴义市育苗棚采集的17份杂草样品中ChiVMV的检出率达100.00%，说明该环境已成为病毒的高度聚集场所。育苗棚环境相对封闭，烟苗密度高且组织幼嫩，极易造成病毒的传播与扩散（张元国等，2014）。上述多种杂草不仅可在非耕作季节作为ChiVMV的越冬或越夏寄主，还可在棚内充当持续性的病毒侵染源，并通过媒介蚜虫高效传播至健康烟苗，从而为后续大田病害的系统性暴发提供关键初始毒源。因此，及时清除育苗环境及其周边的杂草寄主，可作为阻断ChiVMV早期传播、降低苗期侵染风险的重要防控措施。

基于*CP*基因序列的系统发育分析表明，本研究从贵阳、安顺和兴义市获得的ChiVMV分离物共同聚类于一个分支，并与西南地区及周边国家流行株系亲缘关系较近，提示该病毒在区域内可能存在持续的基因交流与传播（陈越等，2023）。值得注意的是，贵阳市分离物25YN0449与来自中国辽宁省及巴基斯坦的分离物聚于同一进化亚支，表明其可能通过跨区域传播事件传入，或与上述地区毒株为共同的祖先谱系。此外，该分离物与本研究中其他贵州省分离物*CP*基因的核苷酸序列一致性较低，介于87.61%~89.21%之间，进一步证明其属于不同的引入谱系或经历了独立的本地演化过程。这一结果反映出ChiVMV传播路径的复杂性。整体而言，ChiVMV的遗传结构表现出“区域内聚集、区域间分化”的特点，一方面反映了病毒在局部范围内的适应性扩张，另一方面也暗示贵州省可能曾通过区域间种苗调运、农业物资流通或媒介昆虫迁移等途径多次引入来自不同地理来源的ChiVMV毒株（Ali Shah et al.，2009；龚明霞等，2020；杨宏凯等，2020）。

综上所述，贵州省烟区面临着复杂的病毒病威胁，其中TMV等病毒作为普遍存在的稳定毒源，其防控需持续强化田间卫生管理；同时，ChiVMV作为一种广泛流行且具备跨生产环节传播潜力的病毒，其危害不容忽视。未来贵州省烟区的病毒病防控工作需采取综合治理策略：一是加强田间与育苗环节的病毒监测，尤其关注杂草毒源；二是优化农事操作，减少机械传毒，并探索抗病品种的应用；三是基于病毒群体遗传信息，加强区域间协同合作，严格控制可能引入新毒源的种苗调运，以期实现对烟草病毒病的有效可持续治理。

参 考 文 献（References）

Akinyemi IA, Wang F, Zhou BG, Qi SS, Wu QF, 2016. Ecogenomic survey of plant viruses infecting tobacco by next generation sequencing[J]. Virology Journal, 13(1): 181

Ali Shah H, Yasmin T, Fahim M, Hameed S, Haque MI, 2009. Prevalence, occurrence and distribution of chili veinal mottle virus in Pakistan[J]. Pakistan Journal of Botany, 41: 955−965

Chen Y, Han TH, Ma WG, Zhong J, Yin YY, Zhao LL, Li TT, Ding M, 2024. Survey and genetic diversity analysis of chilli veinal mottle virus in tobacco-producing areas of Yunnan Province[J]. Plant Protection, 50(2): 192−201, 218 (in Chinese) [陈越, 韩天华, 马文广, 钟静, 尹跃艳, 赵丽玲, 李婷婷, 丁铭, 2024. 云南烟草产区辣椒脉斑驳病毒的调查及其遗传多样性分析[J]. 植物保护, 50(2): 192−201, 218]

Chen Y, Zhu D, Li TT, Zhong J, Gao G, Mu Q, Cao Y, Ding M, 2023. Identification and genetic diversity analysis of chilli veinal mottle virus isolates from tobacco plants in southwest Guizhou[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 53(6): 1072−1082 (in Chinese) [陈越, 朱迪, 李婷婷, 钟静, 高贵, 穆青, 曹毅, 丁铭, 2023. 贵州黔西南烟草中辣椒脉斑驳病毒的鉴定及遗传多样性分析[J]. 植物病理学报, 53(6): 1072−1082]

Dai YF, Zhu H, Zhang YZ, Li B, Chen X, Yu HP, Chen DX, Sun XC, 2020. Detection and strain analysis of 3 tobacco viruses in Bijie area[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 42(9): 63−70 (in Chinese) [代园凤, 朱虹, 张永至, 李斌, 陈雪, 喻会平, 陈德鑫, 孙现超, 2020. 毕节市烟草3种主要病毒检

测及株系分析[J]. 西南大学学报(自然科学版), 42(9): 63−70]

Fan Y, 2024. Identification and construction of an infectious clone of a virus infecting tobacco causing leaf curl symptoms[D]. Kunming: Yunnan University (in Chinese) [范愉, 2024. 一种感染烟草引起烟叶卷曲症状病毒的鉴定及侵染性克隆构建[D]. 昆明: 云南大学]

Gong MX, Wang M, Zhao H, Wu X, Zhao ZJ, He Z, Huang JM, Wang RS, 2020. Research progress on chilli veinal mottle virus disease[J]. Acta Horticulturae Sinica, 47(9): 1741−1751 (in Chinese) [龚明霞, 王萌, 赵虎, 吴星, 赵曾菁, 何志, 黄金梅, 王日升, 2020. 辣椒脉斑驳病毒病研究进展[J]. 园艺学报, 47(9): 1741−1751]

He WG, 2020. Research on the traceability and countermeasures of tobacco virus in Chongqing[D].Chongqing: Southwest University (in Chinese) [何伟光, 2020. 重庆烟草病毒病毒源田间溯源与防控对策研究[D]. 重庆: 西南大学]

He Z, Chen CF, Zhang ZX, Li SF, 2017. Advances in molecular evolution of viruses in the family *Potyviridae*[J]. Plant Protection, 43(3): 13−22 (in Chinese) [贺振, 陈春峰, 张志想, 李世访, 2017. 马铃薯Y病毒科分子进化研究进展[J]. 植物保护, 43(3): 13−22]

Jiang F, Xiang J, Liang L, Wang CN, Zhu SF, 2022. Application status and development prospect of detection technologies in plant quarantine[J]. Journal of Plant Protection, 49(6): 1576−1582 (in Chinese) [姜帆, 向均, 梁亮, 王超楠, 朱水芳, 2022. 植物检疫检测技术应用现状及发展趋势[J]. 植物保护学报, 49(6): 1576−1582]

Jones RAC, Naidu RA, 2019. Global dimensions of plant virus diseases: current status and future perspectives[J]. Annual Review of Virology, 6: 387−409

Leng DW, Wei XF, Zhang HB, Ma ZF, Jiang W, Wu HZ, Tian WQ, Cai L, 2023. Identification and genomic molecular characteristics analysis of chilli veinal mottle virus infecting tobacco in Guizhou Province[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 36(12): 2695−2702 (in Chinese) [冷东蔚, 韦学锋, 张洪保, 马志锋, 蒋卫, 吴慧子, 田维强, 蔡璘, 2023. 侵染贵州烟草的辣椒脉斑驳病毒鉴定及其基因组分子特征分析[J]. 西南农业学报, 36(12): 2695−2702]

Liu Q, Zhou SY, Cui DL, Heslop Harrison JS, 2022. High-throughput sequencing technology and its application in plant virus detection[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 44(7): 87−95 (in Chinese) [刘青, 周书玉, 崔冬丽, Heslop Harrison JS, 2022. 高通量测序技术在植物病毒分类中的应用[J]. 西南大学学报(自然科学版), 44(7): 87−95]

Ma CS, Lin QC, Zhao F, 2025. Impacts of global climate change on crop pests and diseases[J]. Plant Protection, 51(5): 55−73 (in Chinese) [马春森, 林清彩, 赵飞, 2025. 全球气候变化对作物病虫害的影响[J]. 植物保护, 51(5): 55−73]

Pan SH, Xue Y, Zhang H, He HY, Gong SJ, Yang FH, Zhao DL, Li JY, Tan QQ, 2024. Identification and analysis of main viral species and mixed infection types of tobacco in Anshun tobacco growing area of Guizhou Province[J]. Tobacco Science & Technology, 57(8): 67−74 (in Chinese) [潘首慧, 薛原, 张海, 何海永, 龚双军, 杨馥韩, 赵玳琳, 李继业, 谭清群, 2024. 贵州省安顺烟区烟草主要病毒种类及复合侵染类型分析[J]. 烟草科技, 57(8): 67−74]

Peng SG, 2011. Research advance in occurrence and integrated control of tobacco virus diseases in China[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 23(1): 115-117 (in Chinese) [彭曙光, 2011. 我国烟草病毒病的发生及综合防治研究进展[J]. 江西农业学报, 23(1): 115−117]

Ren XY, Liu YX, Tan YM, Sun CL, Huang YH, Liu ZY, 2014. Distribution characteristics of main tobacco virus diseases in Guizhou[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 42(5): 117−120 (in Chinese) [任锡毅, 刘永翔, 谭玉梅, 孙成龙, 黄永会, 刘作易, 2014. 贵州烟草病毒病的主要种类及分布特点[J]. 贵州农业科学, 42(5): 117−120]

Wang LS, Tan QQ, Yang XH, Wu SP, Chen XJ, He HY, Yuan J, 2014. Detection of main viruses and analysis of virus mixed infection on tobacco in Guizhou Province[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 32(3): 311−314 (in Chinese) [王莉爽, 谭清群, 杨学辉, 吴石平, 陈小均, 何海永, 袁洁, 2014. 贵州烟草主要病毒种类检测及复合侵染分析[J]. 四川农业大学学报, 32(3): 311−314]

Wei SQ, 2019. The varieties, occurrence and prevention of virus in Yibin tobacco region[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University (in Chinese) [魏世清, 2019. 宜宾烟草病毒病种类、发生规律及防治研究[D]. 成都: 四川农业大学]

Wei WK, Zhang JQ, Yang XL, Yang LH, Liu JX, Deng XH, Yang Y, 2025. Identification of tobacco root exudates and their inhibitory effect on *Myzus persicae*[J]. Acta Laser Biology Sinica, 34(2): 132−139, 156 (in Chinese) [魏维科, 张晋千, 杨馨澜, 杨丽华, 刘介雄, 邓新红, 杨远, 2025. 烟草根系分泌物的鉴定及其对烟蚜的抑制作用[J]. 激光生物学报, 34(2): 132−139, 156]

Xing F, Xia SD, Qi ZE, Jin TH, Chun CP, 2025. Identification of viral pathogen associated with mosaic disease in green Sichuan pepper *Zanthoxylum armatum* with high-throughput sequencing technology[J]. Journal of Plant Protection, 52(2): 307−315 (in Chinese) [邢飞, 夏思丹, 戚志恩, 金灿宏, 淳长品, 2025. 基于高通量测序技术鉴定青花椒花叶病病原[J]. 植物保护学报, 52(2): 307−315]

Yang HK, Yang JW, Shen JG, Cai W, Gao FL, 2020. Multi-gene-based PCR detection and identification of chilli veinal mottle virus[J]. Scientia Agricultura Sinica, 53(16): 3412-3420 (in Chinese) [杨宏凯, 杨晶文, 沈建国, 蔡伟, 高芳銮, 2020. 辣椒脉斑驳病毒的多基因联合检测与鉴定[J]. 中国农业科学, 53(16): 3412−3420]

Zhang FL, Liu TT, Li CC, Yang MF, Yang H, 2013. The detection on CMV, PVY of tobacco in five different tobacco regions of Guizhou[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 40(4): 131−133 (in Chinese) [张福莉, 刘童童, 李创创, 杨茂发, 杨洪, 2013. 贵州省五烟区烟草CMV、PVY带毒率检测[J]. 广东农业科学, 40(4): 131−133]

Zhang YG, Yang XD, Wei JP, Li FJ, Zhang L, Lin XH, Liu SS, 2014. Control technology of virus disease in intensive seedling raising of vegetables[J]. China Vegetables(10): 65−68 (in Chinese) [张元国, 杨晓东, 魏家鹏, 李付军, 张琳, 林秀华, 刘树森, 2014. 蔬菜集约化育苗病毒病防控技术[J]. 中国蔬菜(10): 65−68]

Zheng QP, Miao YS, Zhou JH, Zhou WB, Meng YF, Yang HL, 2025. Research progress on green control technology of tobacco pests[J]. Journal of Plant Protection, 52(1): 31−39 (in Chinese) [郑倩萍, 缪应舜, 周津弘, 周文兵, 孟玉芳, 杨海林, 2025. 烟草害虫绿色防控技术研究进展[J]. 植物保护学报, 52(1): 31−39]

(责任编辑:李美娟)