郭孟泽,尹任,孙平平,等.蚕豆萎蔫病毒2根芹分离物全基因组测序与分析[J].山西农业大学学报(自然科学版),2025,45(1):21-28.
Guo M Z, Yin R, Sun P P, et al.Identification and analysis of genomic sequence of broad bean wilt virus 2 isolated from celeriac [J].Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2025,45(1):21-28.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202408004

蚕豆萎蔫病毒2根芹分离物全基因组测序与分析

郭孟泽[1],尹任[1],孙平平[1],张磊[1],李文彪[2],郑莎[2],李正男[1*]

(1.内蒙古农业大学 园艺与植物保护学院,内蒙古 呼和浩特 010018;
2.内蒙古自治区农牧业技术推广中心 经济作物技术处,内蒙古 呼和浩特 010013)

摘　要:[目的]获取蚕豆萎蔫病毒2(broad bean wilt virus 2,BBWV 2)内蒙古根芹(*Apium graveolens* var. *rapaceum*)分离物全基因组序列,并将该基因组序列与其它BBWV 2分离物基因组序列进行一致性、系统发育及重组等分析。[方法]以疑似感染病毒的根芹叶片样品为试验材料,利用NGS技术确定样品中感染病毒的种类,通过RT-PCR技术结合cDNA末端快速扩增技术(Rapid amplification of cDNA ends,RACE)验证病毒种类,使用VectorNTI、MEGA11、SDTV1.2以及RDP4等软件对克隆到的BBWV 2内蒙古根芹分离物20IM-ApGr进行全基因组序列分析。[结果]成功克隆了BBWV 2内蒙古根芹分离物20IM-ApGr两条RNA的完整序列;序列一致性分析结果显示,20IM-ApGr与其它分离物在Pro-RdRp区域和CPs区域的氨基酸序列一致率分别为85.2%~99.5%和82.8%~92.7%;基于BBWV 2基因组的Pro-RdRp区域和CPs区域所构建的系统发育树均可以将目前已知的BBWV 2分离物分为2个分支,其中本研究所获得的分离物均处于第II分支,并分别与中国辣椒分离物Hunan、XJ14-3亲缘关系最近。[结论]明确了造成根芹叶脉黄化以及叶片皱缩的病毒性病原为BBWV2,首次获得BBWV 2内蒙古根芹分离物的全基因组序列,并阐述了其与已知的BBWV 2分离物之间的进化关系,可为BBWV 2株系划分、遗传进化研究奠定理论基础。

关键词:根芹; 蚕豆萎蔫病毒2号; 序列一致性; 系统发育分析
中图分类号:S432.41　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2025)01-0021-08

Identification and analysis of genomic sequence of broad bean wilt virus 2 isolated from celeriac

Guo Mengze[1], Yin Ren[1], Sun Pingping[1], Zhang Lei[1], Li Wenbiao[2], Zheng Sha[2], Li Zhengnan[1*]

(*1.College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China; 2.Department of Cash Crop Technology, Agriculture and Animal Husbandry Technology Extension Center of Inner Mongolia, Hohhot 010013, China*)

Abstract: [Objective] This study aimed to obtain the complete genome sequence of the broad bean wilt virus 2 (BBWV 2) isolate from *Apium graveolens* var. *rapaceum* in Inner Mongolia and analyze its sequence identity, phylogenetics, and recombination in comparison with other BBWV 2 isolates. [Methods] Suspected virus-infected leaf samples of *A. graveolens* var. *rapaceum* were collected. Next-generation sequencing (NGS) technology was employed to identify the virus species present in the samples. RT-PCR and Rapid Amplification of cDNA Ends (RACE) were utilized to verify the virus species. The complete genome sequence of the cloned BBWV 2 Inner Mongolia isolate 20IM-ApGr was analyzed using software such as VectorNTI, MEGA11, SDTV1.2, and RDP4. [Results] The complete sequences of the two RNAs of the BBWV 2 Inner Mongolia isolate, 20IM-ApGr, were successfully cloned. Sequence identity analysis showed that the amino acid sequence identity of 20IM-

收稿日期:2024-08-04　　**修回日期**:2024-11-11
基金项目:内蒙古自治区自然科学基金(2023LHMS03020);内蒙古自治区科技重大专项(2021ZD0001);内蒙古农业大学高层次人才科研启动金项目(NDYB2019-1)
作者简介:郭孟泽(ORCID:0009-0002-8932-2761),硕士,研究方向:植物病毒学;尹任(ORCID:0009-0009-3070-6067),学士;郭孟泽和尹任为同等贡献作者
*通信作者:李正男(ORCID:0000-0003-3268-2096),教授,博士研究生导师,E-mail:lizhengnan@imau.edu.cn

ApGr with other isolates ranged from 85.2% to 99.5% in the Pro-RdRp region and 82.8% to 92.7% in the CPs region. Phylogenetic trees based on the Pro-RdRp and CPs regions of the BBWV 2 genome grouped known isolates into two clades. The isolates obtained in this study were classified into Clade II and showed the closest relationship with Chinese pepper isolates Hunan and XJ14-3. [Conclusion]The causative agent of yellowing and shrinking in *A. graveolens* var. *rapaceum* leaves was identified as BBWV 2. This study successfully obtained the complete genome sequence of the BBWV 2 Inner Mongolia isolate for the first time, elucidating its evolutionary relationship with known BBWV 2 isolates. These findings provide a theoretical foundation for the classification and genetic evolution study of BBWV 2 strains.

Keywords: Celeriac, Broad bean wilt virus 2, Sequence identity, Phylogenetic Analysis

根芹(*Apium graveolens* var. *rapaceum*)是一种多年生园艺植物,原产于地中海沿岸,近年来经引种后,逐渐种植于我国内蒙古和东北冷凉气候区[1-2],其肉质根极具营养和药用价值。由于气候变化、昆虫危害以及作物连作效应的影响,根芹病毒病发生不断加重,严重影响了根芹产量及品质。目前,可感染根芹的病毒有芹菜花叶病毒(celery mosaic virus, CeMV)、黄瓜花叶病毒(cucumber mosaic virus, CMV)、芹菜潜隐病毒(celery latent virus, CeLV)以及烟草脆裂病毒(tobacco rattle virus, TRV)[3-5]。我国根芹病毒病研究鲜有报道[6],因此,明确危害我国根芹的病毒性病原十分重要。

蚕豆萎蔫病毒2(broad bean wilt virus 2, BBWV 2)是伴生豇豆病毒科(*Secoviridae*)蚕豆病毒属(*Fabavirus*)的典型种[7]。该病毒粒子为二十面体,基因组由2条编码多聚蛋白的正义单链RNA组成,其中RNA1编码的多聚蛋白可进一步被加工成5种功能蛋白:辅因子(cofactor protease, Co-Pro)、病毒的末端结合蛋白(viral protein genome, VPg)、蛋白酶(protease, Pro)、基因结合蛋白(NTP-binding protein, NTBM)和RNA依赖性RNA聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)[8-11],RNA2编码的多聚蛋白可进一步加工为3种功能蛋白:1种运动蛋白(motor protein, MP)和2种外壳蛋白(coat protein, CP)[12]。该病毒主要通过棉蚜(*Aphis gossypii*)、桃蚜(*Myzus persicae*)等蚜虫以非持久性方式传播[11,13-15]。其寄主范围广泛,据NCBI GenBank数据库记载,其可侵染25科43属中的69种植物,其中豆科(Leguminosae)、茄科(Solanaceae)、菊科(Asteraceae)等园艺植物是其主要危害对象[16-18]。BBWV 2引起的症状根据宿主植物和病毒分离株的不同而变化,主要包括萎蔫、脉明、轻度花叶、畸形、矮化和褪绿等[19]。目前,在我国16个省份的园艺植物和药用植物上检测出该病毒,其中青海、湖南、新疆等地已有BBWV 2全基因组序列的报道[20-23]。本研究在内蒙古自治区呼和浩特市赛罕区黄河少镇采集病毒标样,分离并克隆了分离物全基因组序列,并进行了系统进化以及重组分析,以期为BBWV 2的流行及防治研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2021年8月于内蒙古自治区呼和浩特市赛罕区黄河少镇采集1份表现出叶脉黄化、叶片皱缩等疑似病毒病症状的根芹样品(图1),经液氮速冻后存放至-80 ℃备用。

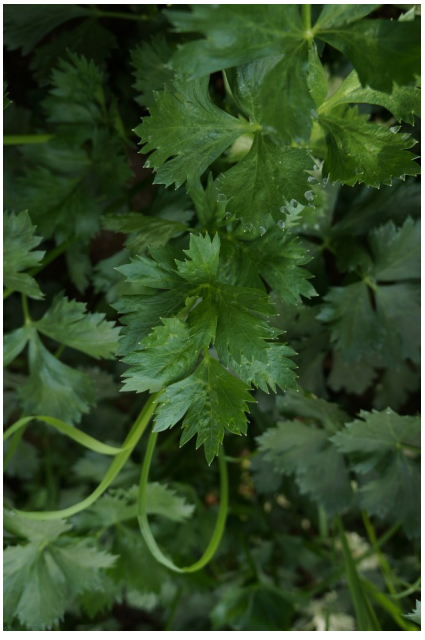


图1 发病根芹田间症状

Fig.1 Field symptoms of *A. graveolens*

主要试剂:SMARTer® RACE 5'/3' Kit(宝日医生物技术有限公司);ABScript III RT master mix(爱博泰克生物科技有限公司);2×M5 Hiper超光速mix(北京聚合美生物科技有限公司);Zero

Background pTOPO-TA Cloning Kit(北京艾德莱生物科技有限公司);Gel Extraction Kit,RNAprep Pure 多糖多酚植物总RNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司);DL 2000 DNA Marker,DL 5000 DNA Marker(Takara 公司)。

1.2　试验方法

1.2.1　高通量测序及数据分析

取适量上述疑似感染病毒病的根芹叶片,送至青岛百迈客生物科技有限公司进行总RNA提取和转录组文库构建。使用Nova Seq6000测序平台对根芹样品进行高通量测序。获得的原始数据用SPAdes(v3.15.3)软件(https://github.com/ablab/spades)拼接成病毒相关的contigs。最后通过BLASTn和BLASTx将获得的contigs在NCBI数据库中进行比对,以完成contigs的病毒注释。

1.2.2　引物设计及RT-PCR扩增

根据高通量测序结果及GenBank数据库中所登录的BBWV 2所有全基因组序列设计BBWV 2检测引物和全基因组扩增引物(表1)。引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。试验反应体系及流程与前期研究一致[24]。RT-PCR和RACE技术所获的PCR产物经DNA纯化后,连接至pTOPO-TA Cloning Kit克隆载体。随后通过菌液PCR筛选3个阳性单克隆菌液送至生工生物工程有限公司(北京)进行Sanger测序。

1.2.3　基因组序列分析

利用Vector NTI软件对BBWV 2全基因组序列进行ORFs预测,以明确本研究所获得的BBWV 2根芹分离物的ORFs、Pro-RdRp以及完整CP的氨基酸序列和核苷酸序列。通过软件MEGA11中的ClustalW方法对所有BBWV 2全基因组序列进行比对,利用最大似然法(Maximum Likelihood)构建系统发育树,自展校正值为1000。通过SDTv1.2软件中的ClustalW方法对BBWV 2根芹分离物及NCBI GenBank数据库所下载的所有BBWV 2完整基因组序列进行核苷酸序列一致性分析和氨基酸序列一致性分析。利用RDP4软件提供的7种重组检测算法对所有BBWV 2全基因组序列进行种内重组分析[25]。

2　结果与分析

2.1　高通量测序结果与分析

使用Trimmomatic软件去除接头序列并排除低质量序列后,共获得41 205 310条干净读取,其Q30质量评分为92.95%。随后BLASTn比对结果表明,2个contigs分别比对到BBWV 2的RNA1和RNA2,并且分别与感染中国番茄(*Solanum lycopersicum*)和德国菠菜(*Spinacia oleracea*)的BBWV 2分离物XJ14-3、PV-0537(GenBank登录号:FN985164、OP722593)的核苷酸序列一致率最高,分别为96.95%、88.46%。

2.2　BBWV2根芹分离物全基因组克隆及结构分析

本研究以分段扩增的方法对BBWV 2分离物20IM-ApGr进行全基因组序列克隆。利用3对特异性引物(B02-9/B02-10、B02-11/B02-12和B02-13/B02-14)获得BBWV 2 RNA1和RNA2的近完整核苷酸序列,目的片段与扩增结果一致,长度分别为3239 nt、2805 nt和3597 nt。随后结合BBWV 2双末端扩增引物(B02-1、B02-2、B02-3、B02-4、B02-5、B02-6、B02-7和B02-8)和RACE技术获得BBWV 2 RNA1和RNA2的双末端序列,其中5'末端序列最终长度依次582、321 nt,3'末端序列最终长度依次为431、235 nt。通过Vector NTI软件分别对BBWV 2 RNA1和RNA2的序列片段进行拼接,最终获得的RNA1全长为5911 nt,RNA2全长为3578 nt,且基因组结构与已知的BBWV 2基因组结构一致(图2)。

2.3　序列一致性分析

通过SDTv1.2软件对BBWV 2完整基因组序列的2条RNA链分别进行了序列一致性分析,结果表明:本研究所克隆到的分离物20IM-ApGr RNA1和RNA2与已报道的BBWV 2分离物全基因组核苷酸序列一致率分别为74.0%~96.9%和71.3%~88.0%,ORF的氨基酸序列一致率分别为82.4%~99.0%和80.1%~96.5%(附表1)。其中BBWV2中国番茄分离物XJ143(GenBank登录号:FN985164)与本研究所获的RNA1的核苷酸序列和氨基酸序列一致率均最高,而与本研究所获得的分离物RNA2核苷酸序列和氨基酸序列一致率最高的分别是中国万寿菊(*Tagetes erecta*)分离物WSJ(GenBank登录号:MW556592)和中国龙葵(*Black nightshade*)分离物BJLK(GenBank登录号:OP785726)。另外,20IM-ApGr与其它分离物Pro-RdRp区域和CPs区域的氨基酸序列一致率分别为85.2%~99.5%和82.8%~92.7%,均

表1 本研究使用的引物

Table 1 Primers used in this study

引物名称 Primer	序列(5'－3') Primer sequence	退火温度/℃ Tm	方法 Method	片段 Segment	位点/nt Site
B02－1	CAATCTCTTCCACACACTCTTCT	64	5'－RACE	RNA1	1～626
B02－2	TACCATTGATGGATCCTTTGGT	64	3'－RACE	RNA1	5403～5955
B02－3	TAGCTCCTGACTCTCGTCTTCT	64	5'－RACE	RNA1	1～595
B02－4	CTTTACGATCTCAATAACTACGAG	64	3'－RACE	RNA1	5494～5955
B02－5	CTACAGTGTGGTACTGAGAGCT	64	5'－RACE	RNA2	1～467
B02－6	AGTTGAGCTTCTCTAGAGAAGT	64	3'－RACE	RNA2	3186～3616
B02－7	CTTGTAGAACAAATCCAAACGAGT	64	5'－RACE	RNA2	1～339
B02－8	CAGAAAGGAGGACACTACTTAT	64	3'－RACE	RNA2	3362～3616
B02－9	CTATTAAAACAAACAGCTTTCGTTC	60	RT－PCR	RNA1	13～3252
B02－10	GCTGCGAGACAATGATTCACT				
B02－11	GGAGATTCAGCGTTATGGATAGCT	64	RT－PCR	RNA1	3119～5924
B02－12	CATTTCAACCCTGCATAATACATATT				
B02－13	AAACAAACAGCTTTCGTTCCGAG	64	RT－PCR	RNA2	19～3616
B02－14	AAAATACTACTAAAGCATATTTATAAAG				
B02－F	GAAGACGAGAGTCAGGAGCT	60	RT－PCR	RNA1	575～1101
B02－R	GCAGCTGAAATGGCTGCCAT				

注:RNA1和RNA2扩增产物对应BBWV 2我国分离物XJ14－3的位点(GenBank登录号:FN985164、HQ283389)。

Note: The amplified products of RNA1 and RNA2 correspond to the loci of the BBWV 2 isolate XJ14－3 from China (GenBank accession numbers: FN985164, HQ283389).

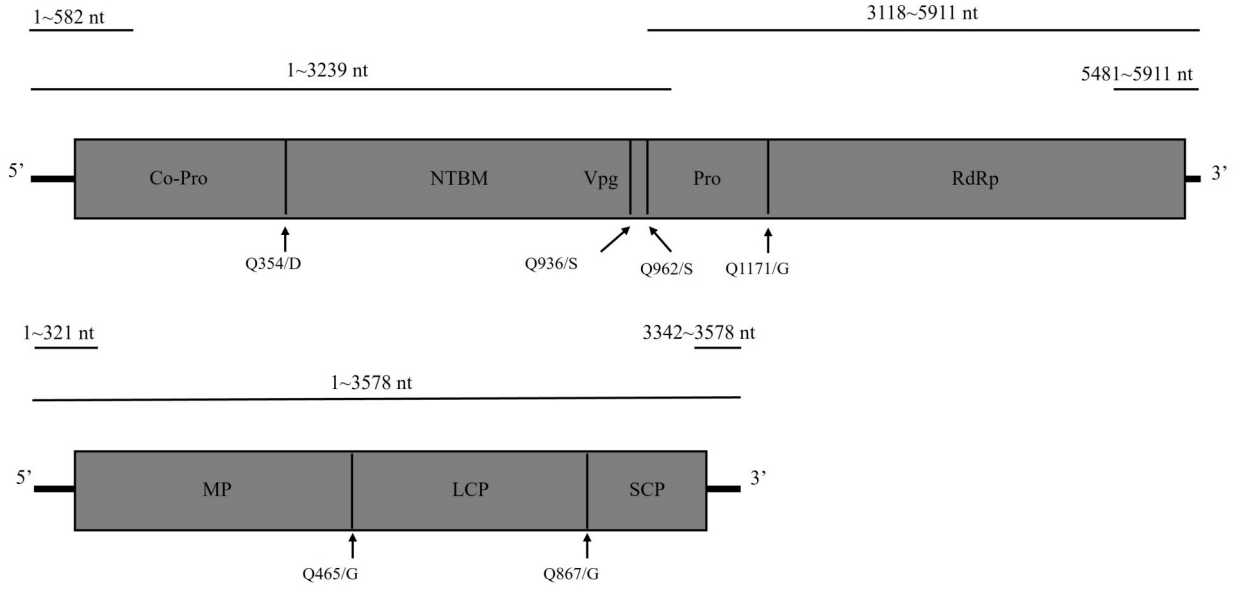


图2 BBWV 2内蒙古根芹分离物基因组结构特征

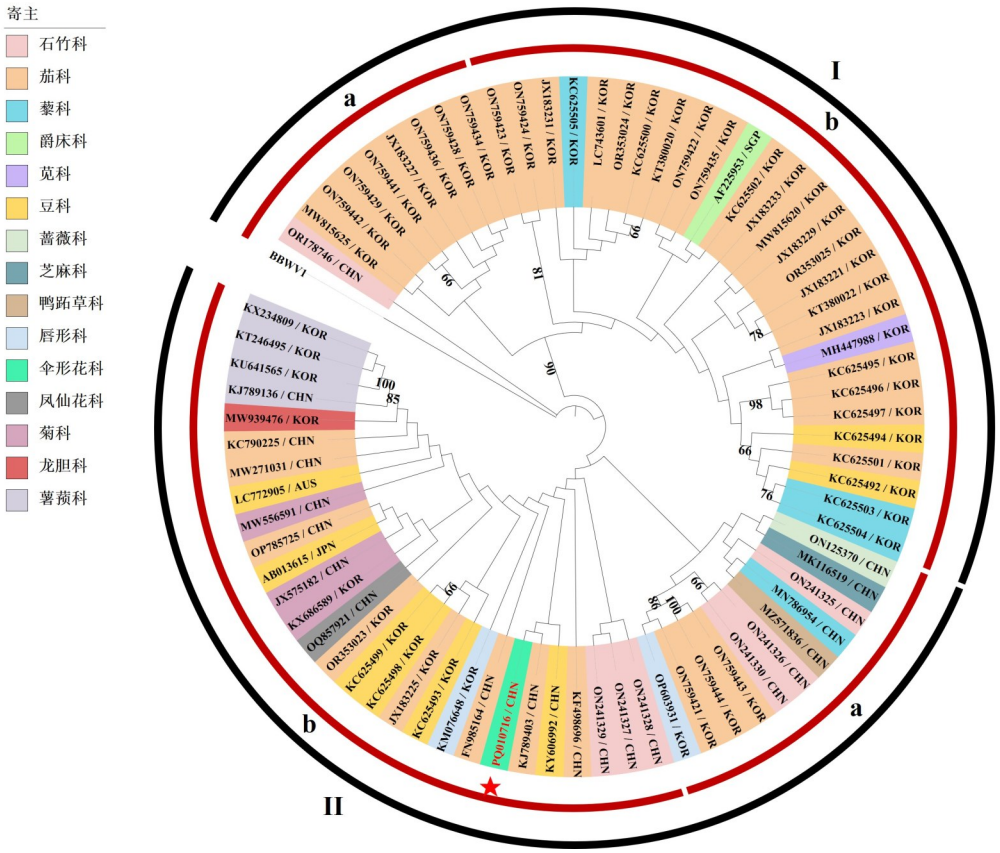
Fig.2 Genomic structural characteristics of BBWV 2 celeriac isolate

为低于该病毒科对于新种划分的阈值(CPs区域氨基酸一致率低于75%或Pro-RdRp区域氨基酸一致率低于80%),表明从内蒙古根芹获得的病毒分离物为BBWV 2。

2.4 系统发育及重组分析

为了明确本研究所获得的BBWV 2分类地位,本研究利用MEGA11中的ClustalW方法对所有BBWV 2完整基因组分离物的Pro-RdRp区域

和CPs区域进行了氨基酸序列比对,并通过MODELS程序确定了最佳进化模型均为Jones-Taylor-Thornton(JTT)+G,随后以BBWV 1分离物ATCC PV132(GenBank登录号:NC_005289、NC_005290)为外参分别构建了系统发育树(图3、图4)。结果表明,基于Pro-RdRp区域和CPs区域构建的系统发育树中BBWV 2均分为I和II这2个大分支,每个大分子又均分为a和b这2个小簇,其中寄主同科的BBWV 2分离物均较多地聚集在同一分支且具有较近的亲缘关系。不同的是基于Pro-RdRp区域所构建的系统进化树中本研究所获的BBWV 2根芹分离物20IM-ApGr与中国辣椒分离物Hunan具有最近的亲缘关系,而基于CPs区域构建的系统发育树中本研究所获的BBWV 2根芹分离物20IM-ApGr则与中国辣椒分离物XJ14-3亲缘关系最近。此外,为明确BBWV 2的遗传进化关系,本研究通过RDP4软件中RDP、GENECONV、BOOTSCAN、MAXCHI、CHIMACRA、SISCAN以及3SEQ这7种计算算法对20IM-ApGr在内的所有BBWV 2完整RNA1和RNA2核苷酸序列进行了重组分析,但未检测出与BBWV 2分离物20IM-ApGr相关的重组事件。



BBWV2可侵染石竹科、茄科、藜科、爵床科、苋科、豆科、蔷薇科、芝麻科、鸭跖草科、唇形科、伞形花科、凤仙花科、菊科、龙胆科以及薯蓣科植物

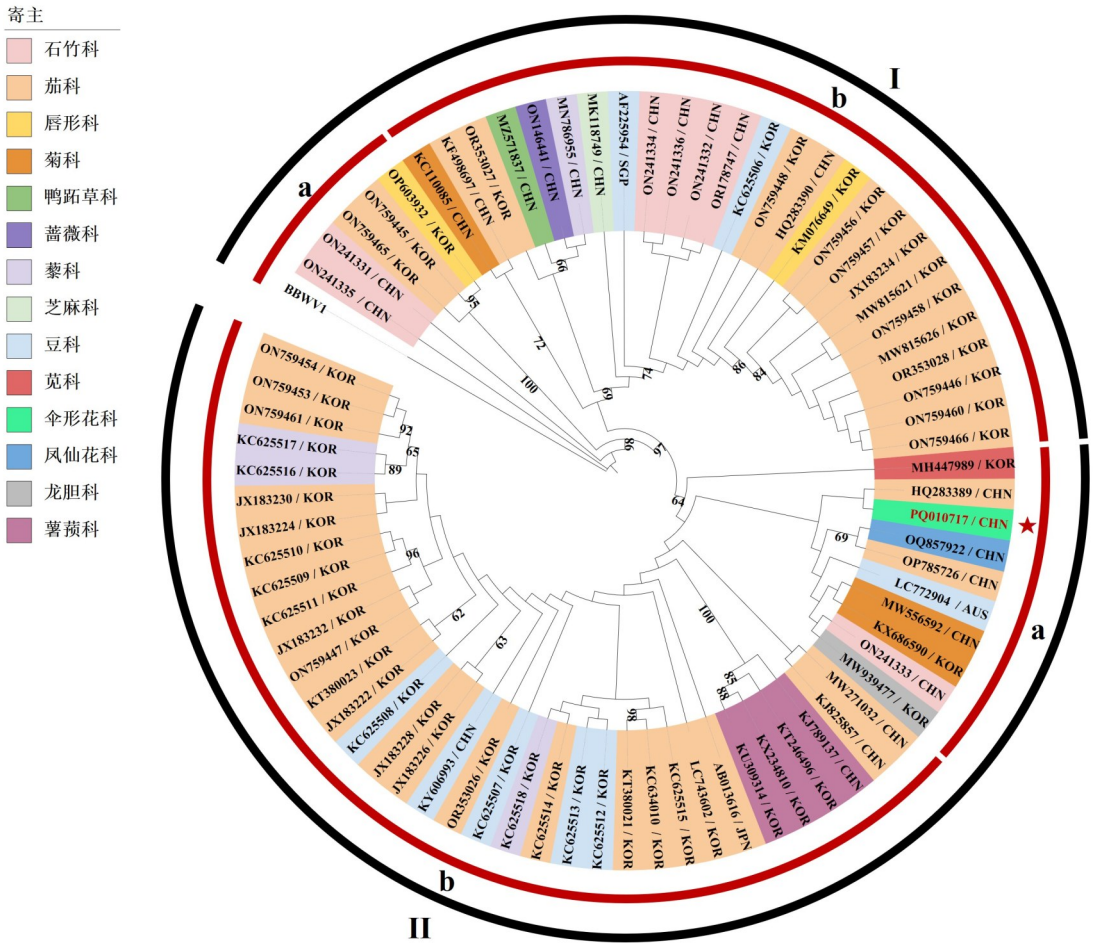
BBWV2 is capable of infecting plants belonging to the families Caryophyllaceae, Solanaceae, Chenopodiaceae, Acanthaceae, Amaranthaceae, Fabaceae, Rosaceae, Pedaliaceae, Commelinaceae, Lamiaceae, Apiaceae, Balsaminaceae, Asteraceae, Gentianaceae, and Dioscoreaceae

图3　基于BBWV2 Pro-RdRp区域构建的系统发育树

Fig.3　Phylogenetic tree constructed based on the Pro-RdRp region of BBWV2

3　讨论

近年来根芹病毒病频发,而国际上感染根芹的病毒性病原(CeMV、CMV、CeLV、以及TRV)均未在我国检出[3-5]。因此,本研究通过NGS技术技术对具有叶脉黄化、叶片皱缩等疑似病毒病症状的根芹样品进行了转录组测序,结果发现了2条与BBWV2同源的RNA。随后利用RT-PCR技术和RACE技术验证了该病毒的存在,并获取了该分离物的全基因组序列,其中RNA1全长为



BBWV2可侵染石竹科、茄科、唇形科、菊科、鸭跖草科、蔷薇科、藜科、芝麻科、豆科、苋科、伞形花科、凤仙花科、龙胆科以及薯蓣科植物

BBWV2 is capable of infecting plants belonging to the families Caryophyllaceae, Solanaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Commelinaceae, Rosaceae, Chenopodiaceae, Pedaliaceae, Fabaceae, Amaranthaceae, Apiaceae, Balsaminaceae, Gentianaceae and Dioscoreaceae

图4 基于BBWV2 CPs区域构建的系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree constructed based on the CPs region of BBWV2

5911 nt,RNA2全长为3578 nt,且具有典型的蚕豆病毒属病毒基因组结构特征[8-12]。序列一致性分析结果表明本研究所获得的分离物20IM-ApGr与其它BBWV 2分离物Pro-RdRp区域和CPs区域的氨基酸序列一致率分别为85.2%~99.5%和82.8%~92.7%,根据国际病毒分类委员会(ICTV)对于伴生豇豆病毒科的分类标准(CPs区域氨基酸一致率低于75%或Pro-RdRp区域氨基酸一致率低于80%可认为是新病毒种),可判定该分离物为BBWV 2[26]。考虑到BBWV 2可在藜(*Chenopodium album*)上发生,在根芹生产中应及时清除藜等田间杂草[27]。此外本研究对BBWV 2进行了科赫氏法则验证,但经汁液摩擦接种的根芹样品并未感染,故无法判断该病害由该病毒所致,导致考虑到样品经长时间存放的问题,后续有待进行侵染性克隆验证。

BBWV 2是伴生豇豆病毒科蚕豆病毒属的主要成员,其所感染的寄主主要为园艺植物和药用植物,例如辣椒(*Capsicum annuum*)、紫苏(*Perilla frutescens*)、万寿菊(*Tagetes erecta*)以及太子参(*Pseudostellaria heterophylla*)等[17-18, 28-29]。本研究首次发现了根芹上BBWV 2的发生,并在重建的Pro-RdRp和CP系统发育树中均发现BBWV 2同科寄主分离物以及BBWV 2同地理位置分离物大多数聚集在同一分支,具有较高的亲缘关系,表明BBWV 2具有一定的寄主特异性和地理特异性。在两种重建的系统发育树中本研究还发现20IM-ApGr均与BBWV 2茄科寄主分离物亲缘关系最

近,序列一致性较高,可能是该分离物进化上的主要来源,但RDP4软件所提供的7种算法均未在所有BBWV 2完整RNA1和RNA2核苷酸序列之间发现重组事件,可见重组非BBWV 2进化上的主要驱动力[15]。考虑到序列一致性分析结果中20IM-ApGr与其它BBWV 2分离物的RNA2核苷酸序列变异较高,突变可能是BBWV 2进化出对根芹感染能力的主要因素,但尚需实验验证。

4　结论

本研究首次获得BBWV 2根芹分离物的全基因组序列,分析结果表明,BBWV 2根芹分离物RNA1全长为5911 nt,与已知BBWV 2 RNA1完整核苷酸序列一致率为74.0%~96.9%,RNA2全长为3578 nt,与已知BBWV 2 RNA1完整核苷酸序列一致率在71.3%~88.0%之间,且基因组结构与BBWV 2一致。基于Pro-RdRp区域和CPs区域氨基酸序列一致性证实了感染根芹的病毒为BBWV 2。基于Pro-RdRp区域和CPs区域构建的系统发育树均被分为2个分支,本研究所获得的BBWV 2分离物均处于第II分支。重组分析中未发现与BBWV2根芹分离物20IM-ApGr相关的重组事件。本研究可为BBWV2的寄主范围、分子特征以及进化关系研究奠定了理论基础。

附加材料:附表1见中国知网增强出版内容。

参　考　文　献

[1]Taning L M, Chann L, Fleerakkers S, et al. Host plant status and damage threshold of Pea (*Pisum sativum*) and Celeriac (*Apium graveolens* var. *rapaceum*) for the temperate root-knot nematode Meloidogyne chitwoodi[J]. European Journal of Plant Pathology. 2023, 167(3): 323-333.

[2]刘庞源,何伟明,张宝海. 根芹优异种质资源的收集评价与筛选[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(33): 16294-16295.
Liu P Y, He W M, Zhang B H. Collection and evaluation and selection on excellent germplasm resource of celeriac[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(33): 16294-16295.

[3]Bos L, Diaz-Ruiz J R, Maat D Z. Further characterization of celery latent virus[J]. Netherlands Journal of Plant Pathology, 1978,84(2):61-79.

[4]Bos L, Mandersloot H J, Vader F, et al. An epidemic of celery mosaic potyvirus in celeriac (A*pium graveolens* var. *rapaceum*) in the Netherlands[J]. Netherlands Journal of Plant Pathology, 1989,95(4):225-240.

[5]Fox A, Gibbs A J, Fowkes A R, et al. Enhanced apiaceous potyvirus phylogeny, novel viruses, and new country and host records from sequencing *Apiaceae* samples[J]. Plants, 2022, 11(15):1951.

[6]Zhou W Y, Liu X Y, Wang M M, et al. Prevalence of celiac disease in China: meta-analysis and serological survey in high-risk populations[J]. Journal of Digestive Diseases, 2021, 22(11):645-655.

[7]Kobayashi Y O, Kobayashi A, Nakano M, et al. Analysis of genetic relations between Broad bean wilt virus 1 and Broad bean wilt virus 2[J]. Journal of General Plant Pathology, 2003, 69(5):320-326.

[8]Qi Y, Zhou X, Li D. Complete nucleotide sequence and infectious cDNA clone of the RNA1 of a Chinese isolate of broad bean wilt virus 2[J]. Virus Genes, 2000, 20(3):201-207.

[9]Ferrer R M, Ferriol I, Moreno P, et al. Genetic variation and evolutionary analysis of broad bean wilt virus 2[J]. Archives of Virology, 2011, 156(8):1445-1450.

[10]Atsumi G, Tomita R, Kobayashi K, et al. Establishment of an agroinoculation system for broad bean wilt virus 2[J]. Archives of Virology, 2013, 158(7):1549-1554.

[11]Kwak H R, Kim M K, Lee Y J, et al. Molecular characterization and variation of the broad bean wilt virus 2 isolates based on analyses of complete genome sequences[J]. Plant Pathology Journal, 2013, 29(4):397-409.

[12]Ferrer R M, Luis-Arteaga M, Guerri J, et al. Detection and identification of species of the genus *Fabavirus* by RT-PCR with a single pair of primers[J]. Journal of Virological Methods, 2007, 144(1-2):156-160.

[13]Benner C P, Kuhn C W, Demski J W, et al. Identification and incidence of pepper viruses in northeastern *Georgia*[J]. Plant Disease, 1985, 69:999-1001.

[14]Ferriol I, Rubio L, Pérez-Panadés J, et al. Transmissibility of *Broad bean wilt virus 1* by aphids: influence of virus accumulation in plants, virus genotype and aphid species[J]. Annals of Applied Biology, 2013, 162(1):71-79.

[15]Balsak S C, Arpacı B B, Buzkan N. Distribution and phylogenetic analysis of *Broad bean wilt virus−2* infecting pepper crops in Turkey[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2023, 126:102037.

[16]He Z, Dong Z Z, Qin L, et al. Phylodynamics and codon usage pattern analysis of broad bean wilt virus 2[J]. Viruses, 2021, 13(2):198.

[17]Han S J, Choi B, Kim M H, et al. Viral strain-specific activation of pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity enhances symptom severity in broad bean wilt virus 2 infection[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12:746543.

[18]Li Y Q, Dong Z, Abuduwaili A, et al. First report of broad bean wilt virus 2 in marigold (*Tagetes erecta* L.) in China[J]. Plant Disease, 2021, 105(11):3767.

[19]Kwak H R, Lee Y J, Kim J, et al. A determinant of disease symptom severity is located in RNA2 of broad bean wilt virus 2[J]. Virus Research, 2016, 211:25-28.

[20]邓小龙,秦朗,王铁霖,等. 河南温县蚕豆萎蔫病毒2的鉴定与多样性分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2024, 45

(2):102-107.
Deng X L, Qin L, Wang T L, et al. Identification and diversity analysis of broad bean wilt virus 2 in Wen county, Henan Province[J]. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 2024, 45(2):102-107.

[21]罗海林,袁雷,翁华,等. 蚕豆萎蔫病毒2号青海辣椒分离物的鉴定与全基因组序列克隆[J]. 园艺学报, 2023, 50(1):161-169.
Luo H L, Yuan L, Weng H, et al. Identification and analysis of complete genomic sequence of broad bean wilt virus 2 pepper isolate in Qinghai Province [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2023, 50(1):161-169.

[22]王蓉,李勇,魏若凡,等. 我国太子参主产区病毒病发生情况调查[J]. 植物保护, 2022, 48(1):204-210, 219.
Wang R, Li Y, Wei R F, et al. Investigation on the occurrence of virus diseases in the main producing areas of *Pseudostellaria heterophylla* in China[J]. Plant Protection, 2022, 48(1):204-210, 219.

[23]严丹侃,郑红英,张海珊,等. 蚕豆萎蔫病毒2号安徽分离物全基因组序列测定与分析[J]. 植物保护, 2018, 44(1):67-73.
Yan D K, Zheng H Y, Zhang H S, et al. Identification and analysis of complete genomic sequence of Broad bean wilt virus 2 Anhui isolate[J]. Plant Protection, 2018, 44(1):67-73.

[24]郭孟泽. 内蒙古洋葱和大蒜病毒性病原检测与五种大蒜病毒多重PCR检测体系建立[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2023.
Guo M Z. Detection of viral pathogens in onions and garlic in Inner Mongolia autonomous region and establishment of a multiplex PCR detection system for five garlic viral pathogens [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.

[25]Martin D P, Murrell B, Golden M, et al. RDP4: detection and analysis of recombination patterns in virus genomes[J]. Virus Evolution, 2015, 1(1):vev003.

[26]Fuchs M, Hily J M, Petrzik K, et al. ICTV virus taxonomy profile: Secoviridae 2022 [J]. Journal of General Virology, 2022, 103(12).

[27]李梁,杨彩霞,侯秋实,等. 蚕豆萎蔫病毒2号辽宁藜分离物的鉴定[J]. 沈阳农业大学学报, 2020, 51(4):446-453.
Li L, Yang C X, Hou Q S, et al. Identification of Broad bean wilt virus 2 on *Chenopodium* album L. in Liaoning [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2020, 51(4):446-453.

[28]Kim M H, Kwak H R, Choi B, et al. Genetic plasticity in RNA2 is associated with pathogenic diversification of broad bean wilt virus 2[J]. Virus Research, 2021, 304:198533.

[29]Liang S, Chen X, Liu Y, et al. Rapid detection of Broad bean wilt virus 2 and Turnip mosaic virus in *Pseudostellaria heterophylla* by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay [J]. Journal of Phytopathology, 2022, 170(7):535-545.

(编辑:吕俊俐)