甘肃省定西市玉米坏死条纹病毒分离物的分子鉴定及全基因组序列分析

房静静[1] 胡小平[2] 马 悦[1] 徐亨昊[1] 张树武[1] 徐秉良[1] 薛应钰[1]
梁巧兰[1] 牛二波[1*] 王嘉荟[1*]

（1. 甘肃农业大学植物保护学院，安宁 730070；2. 西北农林科技大学植物保护学院，陕西 杨凌 712100）

摘要：为鉴定甘肃省定西市导致玉米表现褪绿条纹症状的病原，利用高通量测序结合反转录PCR和5′/3′ RACE技术对病原进行鉴定并解析其基因组序列，采用NCBI BLAST、MegAlign和IQ-TREE软件开展序列特征分析与系统发育树构建，并通过反转录PCR调查该病原在甘肃省不同地区的发生分布。结果表明：在定西市玉米病样中分离鉴定到玉米坏死条纹病毒（maize necrotic streak virus，MNeSV），将该分离物命名为MNeSV-DX，经序列拼接获得全长4 094 nt的基因组，包含5个开放阅读框，其基因组结构与两个MNeSV美国分离物（登录号分别为AF266518.2和NC_007729.1）一致，全基因组核苷酸和氨基酸序列相似性均分别为98.8%和99.0%，系统发育分析显示三者聚类于同一分支，亲缘关系近，遗传差异较小。检测结果显示MNeSV已侵染甘肃省定西、甘南和陇南3个市州的玉米。表明MneSV在我国可自然侵染玉米，MNeSV与定西市玉米褪绿条纹症状存在相关性，应给于高度重视。

关键词：玉米；玉米坏死条纹病毒；病毒鉴定；进化分析；发生；分布

Molecular identification and complete genome sequence analysis of a maize necrotic streak virus isolate from Dingxi, Gansu Province, China

Fang Jingjing[1] Hu Xiaoping[2] Ma Yue[1] Xu Henghao[1] Zhang Shuwu[1] Xu Bingliang[1]
Xue Yingyu[1] Liang Qiaolan[1] Niu Erbo[1*] Wang Jiahui[1*]

（1. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Anning 730070, Gansu Province, China;
2. College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China）

Abstract: To identify the pathogen associated with chlorotic streak symptoms in maize (*Zea mays*) in Dingxi City, Gansu Province, high-throughput sequencing combined with reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and 5′/3′ rapid amplification of cDNA ends (5′/3′ RACE) was used to identify the virus and determine its complete genome sequence. Sequence characteristics and phylogenetic relationships were analyzed using NCBI BLAST, MegAlign, and IQ-TREE. RT-PCR was further used to investigate the occurrence and distribution of the virus in different regions of Gansu Province. The results showed that maize necrotic streak virus (MNeSV) was identified from symptomatic maize samples collected in Dingxi City and the isolate was designated MNeSV-DX. The complete genome of MNeSV-DX was 4 094 nt in length and contained five predicted open reading frames. Its genomic organizationwas identical to that of the US isolates (GenBank accession numbers NC_007729.1 and

基金项目：国家重点研发计划项目（2025YFC2609000），甘肃省青年科技基金项目（23JRRA1431），甘肃农业大学人才启动金项目（GAU-KYQD-2022-28），宁夏农业科技自主创新资金专项（NKYG-25-11），甘肃农业大学植物病害绿色防控团队建设项目（26000102）

* 通信作者（Authors for correspondence），E-mail：13907@gsau.edu.cn，13453295106@163.com

收稿日期：2026-01-15

AF266518.2). The complete genome shared 98.8% nucleotide sequence identity and 99.0% amino acid sequence identity with these reference isolates. Phylogenetic analysis demonstrated that the three isolates clustered within the same clade, indicating a close evolutionary relationship with limited genetic divergence. RT-PCR detection further demonstrated the presence of MNeSV in maize samples collected from Dingxi, Gannan, and Longnan in Gansu Province. These findings indicate that MNeSV can naturally infect maize in China and is closely associated with the chlorotic streak symptoms observed in Dingxi City, highlighting the need for increased attention to the occurrence and spread of this virus.

Key words: maize; maize necrotic streak virus (MNeSV); virus identification; phylogenetic analysis; occurrence; distribution

玉米*Zea mays*是全球广泛种植的重要粮食作物，种植面积大，总产量长期位居作物生产的前列。中国玉米产量约占全球玉米总产量的20%，其产量仅次于水稻*Oryza sativa*和小麦*Triticum aestivum*，中国是全球第二大玉米生产和消费国（王琦琪和陈印军，2018）。玉米不仅具有重要的营养和经济价值，还是饲料、工业原料及食用作物的关键来源，对保障国家粮食安全、推动畜牧业发展及提升食品加工业均具有重要意义（李秋芳和段丽红，2025）。然而，随着玉米种植规模的不断扩大，病虫害问题日益突出，其中病毒病发生尤为严重，对玉米产量和品质构成巨大威胁，严重时甚至可致绝收，被称为玉米“癌症”。

迄今为止，全球已报道的玉米病毒约有50余种（郭思思等，2025）。其中，玉米坏死条纹病毒（maize necrotic streak virus，MNeSV）是番茄丛矮病毒科*Tombusviridae*中首个被报道能够系统侵染单子叶植物的成员，其病毒粒子呈二十面体结构，直径约32 nm。MNeSV基因组为长约4 100 nt的正义单链RNA，包含5个开放阅读框（open reading frame，ORF），其中ORF1编码约30 kD的复制相关蛋白（p30），ORF2通过通读ORF1终止密码子编码约89 kD的RNA依赖RNA聚合酶（p89），ORF3编码外壳蛋白（coat protein，CP），ORF4编码运动蛋白（movement protein，MP），ORF5编码RNA沉默抑制子（p19）（Louie et al.，2000；Broadbent & Fletcher，1963）。该病毒侵染玉米后，导致叶片出现淡绿色至黄色斑点和条纹等症状，严重威胁玉米的正常生长，同时常与玉米矮花叶病毒（maize dwarf mosaic virus，MDMV）等复合侵染，加剧病害发生（Louie et al.，2000；Scheets & Redinbaugh，2006）。目前中国已报道的玉米病毒包括MDMV（史春霖和徐绍华，1979）、甘蔗花叶病毒（sugarcane mosaic virus，SCMV）（王宏伟等，2000）、水稻黑条矮缩病毒（rice black-streaked dwarf virus，RBSDV）（王增辉等，2016）、黄瓜花叶病毒（cucumber mosaic virus，CMV）（王蓉，2016）、玉米粗缩病毒（maize rough dwarf virus，MRDV）（王同伟，1997；张超等，2017）、玉米褪绿斑驳病毒（maize chlorotic mottle virus，MCMV）（赵明富等，2014）等12种（张超等，2017；张旭辉等，2025），分布广泛，危害严重，但迄今尚未见关于MNeSV侵染我国玉米的报道。

甘肃省光热资源丰富，昼夜温差明显，灌溉条件优越，积温能满足玉米生育期热量需求，使甘肃省成为现代玉米种业核心基地之一（彭加木等，1979；张志良等，2000；张旭辉等，2025）。2022年8月本研究团队在甘肃省定西市玉米种植基地发现大量叶片出现淡绿色至黄色的斑点和条纹及植株矮化等典型病毒病症状。为明确其病原，本研究采用全基因组高通量测序和5′/3′ RACE技术进行系统鉴定与全基因组解析，基于所获序列利用NCBI BLAST、MegAlign和IQ-TREE等软件开展序列特征分析，以阐明其分子特征与进化地位，并进一步通过反转录聚合酶链式反应（reverse transcription-polymerase chain reaction，RT-PCR）方法调查该病原的发生分布，以期为甘肃省MNeSV的发生流行规律及综合防控提供理论依据。

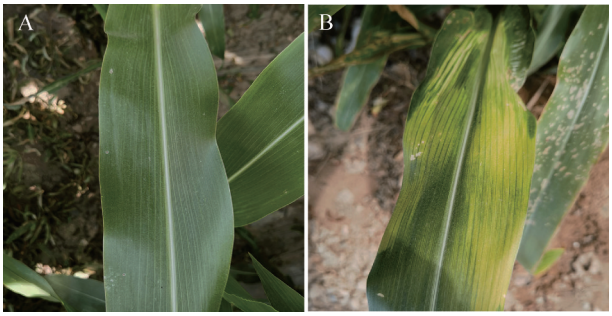
1 材料与方法

1.1 材料

供试病样：于2022年8月在甘肃省定西市玉米种植区采集3份表现淡绿色至黄色斑点、条纹疑似病毒病典型症状的玉米病样供试（图1）。同时从甘肃省定西、酒泉、张掖、金昌、武威、白银、兰州、临夏、甘南、天水、庆阳以及陇南共12个市（州）各采集3份表现上述典型症状的玉米样本，经液氮速冻后于−80 ℃保存备用。

试剂和仪器：通用型RNA提取试剂盒，北京酷

来搏科技有限公司；PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit，宝生物工程有限公司；2×*Taq* Plus Master Mix（Dye），江苏康为世纪生物科技股份有限公司；D2500胶回收试剂盒、质粒小提试剂盒，天根生化科技（北京）有限公司；Poly（A）Polymerase、SMARTer RACE 5′/3′ Kit，日本TaKaRa公司；Agarose 1110GR100、氨苄青霉素钠，北京兰杰柯科技有限公司；pClone007 Versatile Simple Vector Kit、大肠杆菌*Escherichia coli* DH5*α*感受态细胞，北京擎科生物科技股份有限公司；其余试剂均为国产分析纯。Illumina MiSeq/NovaSeq 6000平台，美国Illumina公司；T100™ Thermal Cycler PCR仪，美国Bio-Rad公司；DYY-6D电泳仪，北京六一生物科技有限公司。



A：健康玉米叶片；B：被侵染玉米叶片。A: Healthy maize leaf; B: maize leaf infected with maize necrotic streak virus.

图1 甘肃省定西市疑似玉米坏死条纹病毒侵染的玉米植株典型田间症状

Fig.1 Typical field symptoms of maize plants suspected to be infected with maize necrotic streak virus in Dingxi City, Gansu Province

1.2 方法

1.2.1 供试样品的高通量测序

选取采集自定西市的表现典型症状的3份玉米病样叶片，参照通用型RNA提取试剂盒操作流程进行样本总RNA的提取，−80 ℃保存备用。将提取的总RNA送至上海睿星生物技术有限公司，在Illumina MiSeq/NovaSeq6000平台进行高通量测序。原始测序数据经FastQC 0.11.9软件进行质控后，用Trimmomatic软件修剪两端碱基质量值低于3的片段，保留长度≥36 bp的高质量序列；通过STAR软件比对玉米基因组以剔除宿主来源序列，剩余序列经Trinity 2.15.1软件从头组装获得contig。利用MetaProdigal 2.6.3软件预测contig中的ORF，结合NCBI数据库进行BLAST同源比对，筛选并注释相关序列，最终将注释序列与NCBI数据库中两个MNeSV美国分离物基因组（登录号分别为NC_007729.1和AF266518.2）进行比对。基于测序结果进行分析，使用FastQC 0.11.9软件计算碱基质量值Q20、Q30（分别指测序错误率≤1%和≤0.1%的碱基所占百分比），以及N50、N90分别（指将所有contig按长度从大到小排列后累加长度达到总长度50%和90%时所对应contig的长度）和GC含量。

1.2.2 MNeSV全基因组序列扩增

基于1.2.1提取的定西市样本总RNA，参照PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit说明书合成第一链cDNA，以此作为模板进行MneSV全基因组序列扩增。参考1.2.1高通量测序结果，通过Primer 3 Input在线网站设计用于RACE、分段克隆和RT-PCR的引物（表1），本研究所有引物均委托北京擎科生物科技股份有限公司合成。通过分段PCR扩增获得病毒基因组中间区段序列，50 μL PCR扩增体系：2×*Taq* Master Mix（Dye）25 μL、10 μmol/L MNeSV-A-F/MNeSV-A-R各2.0 μL、cDNA模板2.0 μL、RNase Free ddH_2O 19 μL。反应程序：94 ℃预变性2 min；94 ℃变性30 s，52 ℃退火4 min，72 ℃延伸30 s，40个循环；72 ℃终延伸5 min。运用5′ RACE和3′ RACE技术扩增获得病毒5′和3′末端序列，参照SMARTer RACE 5′/3′ Kit试剂盒说明书，使用RACE-3′-1-F和RACE-3′-2-F引物对扩增MNeSV 3′末端序列，RACE-5′-2-R和RACE-3′-2-F引物对扩增5′末端序列，PCR扩增体系和程序同上。扩增产物经过纯化后，参照pClone007 Versatile Simple Vector Kit说明书与载体连接，并转化至大肠杆菌DH5*α*感受态细胞中，在37 ℃恒温条件下培养。挑取单菌落扩大培养，利用质粒小提试剂盒参照说明书提取质粒，经PCR鉴定筛选阳性克隆，委托北京擎科生物科技股份有限公司进行测序，PCR扩增体系和程序同上。

1.2.3 MNeSV全基因序列分析

利用DNAMAN 7.0软件对1.2.2测序所得序列进行拼接，使用NCBI网站的ORF Finder程序进行ORF预测，进一步从GenBank获取番茄丛矮病毒科12属的15个代表性成员的全基因组序列，利用IQ-TREE软件采用最大似然法构建系统发育树，以南方菜豆花叶病毒（southern bean mosaic virus，SBMV）作为外群，自展值设为1 000次。采用DNASTAR软件的MegAlign程序对本研究分离物及15个相关病毒分离物进行核苷酸和氨基酸序列的比对，分析MNeSV定西分离物的分子进化特征。

表1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

引物 Primer	序列(5′–3′) Sequence (5′–3′)	产物大小 Product size/bp
MNeSV-A-F	CTGACCAGGCTGAGATTGC	3 345
MNeSV-A-R	GCTTGCTGACTTGCTCGTATT	
RACE-5′-1-R	GATTACGCCAAGCTTACCAAGAAGCGCGCCTGTGATGGAC	579
RACE-5′-2-R	GATTACGCCAAGCTTATTCGGTTGCGTCACTCTCGTCCCC	
RACE-3′-1-F	GATTACGCCAAGCTTTGGCCAAATACACCGTCGAACTGCT	856
RACE-3′-2-F	GATTACGCCAAGCTTACACCGTCGAACTGCTTGAACCTGT	
RT-PCR-F	CCGGCGTAGTTGGTATCTCT	1 197
RT-PCR-R	CACTACCGCTTTCCTGAACG	

1.2.4 甘肃省不同地区样品中MNeSV的检测

针对NCBI已报道两个MNeSV美国分离物序列(登录号分别为NC_007729.1和AF266518.2)及高通量测序结果设计特异性检测引物RT-PCR-F/RT-PCR-R(表1)。使用通用型RNA提取试剂盒提取采集自甘肃省12个市州的36份疑似样本的总RNA,并以反转录获得的cDNA为模板进行RT-PCR检测,方法同1.2.2,分析MNeSV在甘肃省不同地区的发生分布情况。

2 结果与分析

2.1 供试样品高通量测序结果分析

对甘肃省定西市玉米疑似感病叶片样本进行总RNA高通量测序,共获得8 654 659条原始序列,去除接头及低质量序列后得到35 512条有效序列,其Q20与Q30碱基占比分别为98.7%~99.4%与95.1%~97.3%。将有效序列从头组装,共得到1 079条contig,平均长度为982 bp,N50与N90分别为1 094 bp与563 bp,GC含量为43.46%。所得contig中(0~1 000] bp的短序列最多,共计984条,占比为91.2%;其次为(1 000~4 000] bp的序列,共94条,占比为8.7%;大于4 000 bp的序列仅有2条,长度最长的为4 094 bp。将得到的contig上传至NCBI数据库进行BLASTX比对,结果显示样品中只存在1种病毒,即MNeSV,与NCBI参考两个MNeSV美国分离物基因组序列(登录号分别为NC_007729.1和AF266518.2)的一致性达98.9%。上述结果表明导致定西市玉米出现淡绿色至黄色斑点、条纹和植株矮化症状的病原是MneSV。

2.2 MNeSV-DX全长基因组的克隆

本研究以感病玉米总RNA为模板进行MNeSV基因组的5′/3′ RACE和中间区段扩增,分别获得579、856和3 345 bp目的序列(图2-A),经DNAMAN 7.0软件拼接获得全长4 094 nt的全基因组序列,将该分离物命名为MNeSV-DX。序列分析表明该分离物含有5个ORF(图2-B),其中ORF1位于123~926 nt处,长度为804 nt,编码分子量为30 kD的复制相关蛋白(p30);ORF2位于123~2 489 nt处,长度为2 367 nt,编码89 kD的RNA依赖RNA聚合酶(p89);ORF3位于2 520~3 293 nt处,长度为774 nt,编码27 kD的CP;ORF4位于3 329~3 898 nt处,长度为570 nt,编码21 kD的MP;ORF5位于3 361~3 973 nt处,长度为613 nt,编码19 kD的RNA沉默抑制子(p19)。

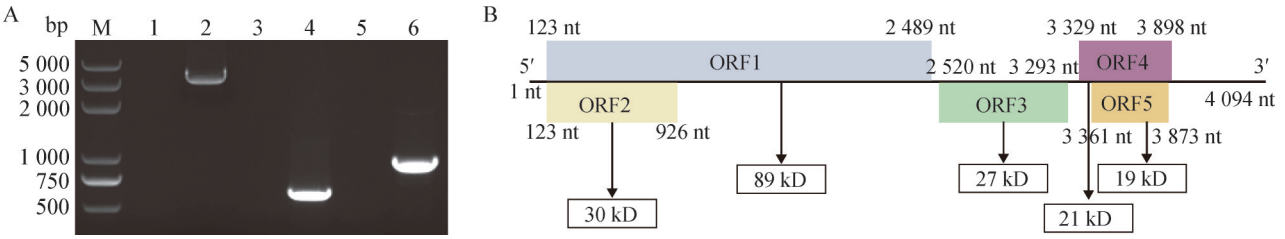
2.3 MNeSV-DX全长序列相似性分析

比对结果显示,MNeSV-DX分离物与MNeSV美国分离物全基因组(登录号分别为AF266518.2和NC_007729.1)的核苷酸和氨基酸序列相似性最高,均分别为98.8%和99.0%,亲缘关系最近;与同属于番茄丛矮病毒属 *Tombusvirus* 的建兰环斑病毒(Cymbidium ringspot virus, CymRSV)(登录号为NC_003532.1)全基因组的核苷酸和氨基酸序列相似性为67.6%和65.2%,与其各ORF的核苷酸和氨基酸序列相似性在46.9%~78.4%和56.6%~78.6%之间;与香石竹斑驳病毒属 *Carmovirus* 的甜瓜坏死斑点病毒(melon necrotic spot virus, MNSV)(登录号KY124135.1)全基因组的核苷酸和氨基酸序列相似性仅为47.7%和40.1%,分子分化显著;与其他属病毒全基因组的核苷酸和氨基酸序列相似性介于41.8%~48.1%和35.2%~42.5%之间,亲缘关系较远(表2)。

2.4 MNeSV-DX的系统发育分析结果

系统发育进化树显示,MNeSV-DX分离物与已报道的两个MNeSV美国分离物(登录号分别为

NC_007729.1及AF266518.2)聚为独立分支，表明三者亲缘关系最近，属于同种病毒的不同地理株系；且MNeSV-DX分离物所在分支与香石竹斑驳病毒属的CRSV和MNSV、坏死病毒属*Necrovirus*的烟草坏死病毒D(tobacco necrosis virus D，TNV-D)以及番茄丛矮病毒属的CymRSV所聚分支共同构成稳定的大支系，其中MNSV及CymRSV与MNeSV-DX所在的独立分支亲缘关系尤为接近(图3)。鉴于CRSV、MNSV和CymRSV均为已明确的种传病毒，这一进化聚类特征提示MNeSV-DX可能具备相似的种子传播潜能。



M：DL5000 plus DNA分子量标准；1：阴性对照；2：中间片段扩增产物；3：阴性对照；4：5′ RACE扩增产物；5：阴性对照；6：3′ RACE扩增产物。M: DL5000 plus DNA molecular weight marker; 1: negative control; 2: amplification product of the internal genomic fragment; 3: negative control; 4: 5′ RACE amplification product; 5: negative control; 6: 3′ RACE amplification product.

图2　MNeSV-DX的中间序列扩增、5′和3′RACE克隆电泳图(A)及基因组结构(B)

Fig. 2　IAgarose gel electrophoresis of the internal genomic fragment amplification and 5′/3′ RACE products of MNeSV-DX (A), and genomic organization of MNeSV-DX (B)

表2　玉米坏死条纹病毒DX分离物与相关病毒间的核苷酸和氨基酸序列相似性

Table 2　Nucleotide and amino acid sequence identities between the MNeSV-DX isolate and related viruses　%

病毒 Virus	基因登录号 Gene accession no.	核苷酸/氨基酸序列相似性 Nucleotide/amino acid sequence identity					
		ORF1	ORF2	ORF3	ORF4	ORF5	全基因组 Complete genome
MNeSV	NC_007729.1	99.3/99.5	99.1/98.8	98.9/99.2	98.7/98.9	99.0/99.2	98.8/99.0
MNeSV	AF266518.2	99.3/99.5	99.1/98.8	98.9/99.2	98.7/98.9	99.0/99.2	98.8/99.0
CymRSV	NC_003532.1	73.9/70.7	62.8/56.7	46.9/56.6	75.3/78.6	78.4/61.4	67.6/65.2
MNSV	KY124135.1	38.0/52.8	38.8/20.4	24.0/37.9	22.0/36.3	44.0/22.5	47.7/40.1
TNV-D	NC_003487.1	39.2/48.5	37.5/19.6	23.5/35.8	21.8/34.9	42.7/21.3	45.8/38.6
CRSV	NC_003530.1	41.5/51.2	39.3/22.1	42.8/38.7	41.1/37.2	44.3/23.5	48.1/41.2
CMoV	NC_011515.1	40.7/49.8	38.6/20.9	24.3/37.5	22.5/36.1	43.8/22.7	47.3/39.8
PMV	NC_002598.1	37.6/46.3	36.2/18.9	22.7/34.6	20.9/33.8	41.9/20.5	45.2/37.9
MCMV	NC_003627.1	38.9/47.6	37.1/19.8	43.2/35.3	41.4/34.5	42.5/21.1	46.5/38.7
FNSV	NC_020469.1	42.3/52.1	40.1/23.4	26.4/40.2	24.2/38.6	45.6/24.3	43.3/42.5
TNV-A	NC_001777.1	39.5/49.2	38.0/20.3	23.8/36.4	22.1/35.2	43.1/21.8	44.9/39.3
GaMV	NC_001818.1	41.1/50.7	39.7/22.8	25.7/39.5	23.6/37.8	44.8/23.9	43.7/41.8
CarMV	NC_001265.2	36.8/45.1	35.5/18.2	22.1/33.9	20.3/32.7	40.7/19.9	44.6/36.8
OCSV	NC_003633.1	37.3/45.9	36.7/19.1	22.9/34.8	21.1/33.4	41.3/20.6	45.7/37.5
SBMV	NC_004060.2	32.6/39.8	31.2/15.7	19.5/30.5	18.8/31.6	38.9/17.6	41.8/35.2

MNeSV：玉米坏死条纹病毒；CymRSV：建兰环斑病毒；MNSV：甜瓜坏死斑点病毒；TNV-D：烟草坏死病毒D；CRSV：香石竹环斑病毒；CMoV：胡萝卜斑驳病毒；PMV：黍稷花叶病毒；MCMV玉米褪绿斑驳病毒；FNSV：龙舌兰坏死条纹病毒；TNV-A：烟草坏死病毒A；GaMV：猪鼻疽花叶病毒；CarMV：康乃馨斑驳病毒；OCSV：燕麦褪绿矮化病毒；SBMV：南方菜豆花叶病毒。MNeSV: Maize necrotic streak virus; CymRSV: Cymbidium ringspot virus; MNSV: melon necrotic spot virus; TNV-D: tobacco necrosis virus D; CRSV: carnation ringspot virus; CMoV: carrot mottle virus; PMV: Panicum mosaic virus; MCMV: maize chlorotic mottle virus; FNSV: Furcraea necrotic streak virus; TNV-A: tobacco necrosis virus A; GaMV: Galinsoga mosaic virus; CarMV: carnation mottle virus; OCSV: oat chlorotic stunt virus; SBMV: southern bean mosaic virus.

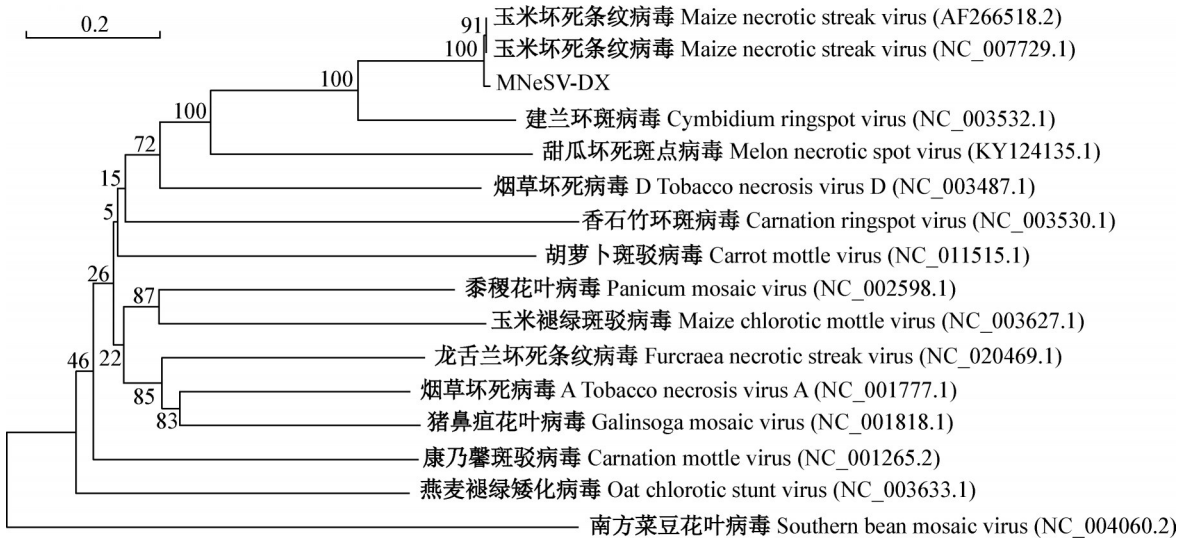
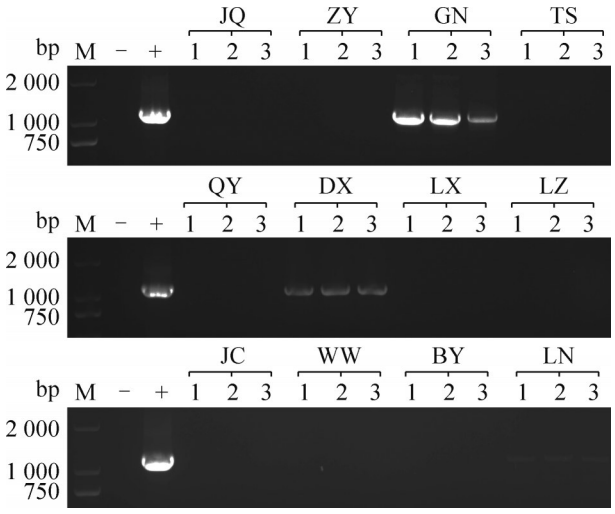


图3 基于全基因组序列采用最大似然法构建的MNeSV-DX及其他相关病毒分离物的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of MNeSV-DX and other related virus isolates constructed by the maximum-likelihood method based on whole-genome sequences

2.5 MneSV在甘肃省不同地区的发生和分布

在定西市和甘南市样本中扩增到明显的目的条带，在陇南市样本中观察到了微弱的目的条带，而在其他区域样本中均未检测到MNeSV（图4）。



M：DL2000 DNA marker；−：健康玉米叶片；+：明显感染MNeSV玉米叶片；JQ：酒泉；ZY：张掖；GN：甘南；TS：天水；QY：庆阳；DX：定西；LX：临夏；LZ：兰州；JC：金昌；WW：武威；BY：白银；LN：陇南。M: DL2000 DNA marker; −: healthy maize leaf; +: maize leaf confirmed to be infected with MNeSV; JQ: Jiuquan; ZY: Zhangye; GN: Gannan; TS: Tianshui; QY: Qingyang; DX: Dingxi; LX: Linxia; LZ: Lanzhou; JC: Jinchang; WW: Wuwei; BY: Baiyin; LN: Longnan.

图4 甘肃省不同地区疑似感染MNeSV玉米叶片的RT-PCR检测结果

Fig. 4 RT-PCR detection of maize leaves suspected to be infected with MNeSV from different regions of Gansu Province

3 讨论

玉米是甘肃省重要的粮食作物之一，2024年种植面积达110.8万hm^2，居该省作物种植面积之首，对保障区域粮食安全具有战略意义。随着种植规模扩大，玉米病毒病日益严重，导致玉米籽粒瘪小、品质劣变，严重降低其商品价值。甘肃省玉米病毒病鲜有报道，仅有少量针对性研究，如蒋军喜等（2003）采用间接酶联免疫吸附测定（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）和免疫捕获RT-PCR技术对采自甘肃省兰州市的18份玉米样品进行检测，均检出MCMV，但该检测方法存在靶向性强、灵敏度有限、操作繁琐等缺陷，且采样范围有限，难以系统了解甘肃省病毒的发生规律和分布特点。本研究于2022年8月在定西市发现具有典型病毒病症状的玉米植株，叶片上出现淡绿色至黄色斑点与条纹，为明确其病原，采用高通量测序技术对病样进行系统性分析。该技术具有无靶标、高通量和高灵敏度等优势，能够在单次测序中全面解析植物样品中多种已知及潜在新发病毒的基因组信息，为植物病毒的快速鉴定、新病原发现及流行病学分析提供了有力的技术支撑（Jones et al.，2017；Jo et al.，2023），目前已在玉米病毒研究中得到广泛应用（陈莎，2015；Maurino et al.，2018；Wijayasekara & Ali，2021）。基于高通量测序及BLASTX比对结果，发现定西市玉米样品中存在MNeSV相关序列。进一步结合症状分析，发现MNeSV-DX分离物引起的症状与Louie et

al.（2000）报道的MNeSV侵染玉米所致症状基本一致。

本研究利用分段克隆、RACE技术获得MNeSV-DX基因组全长序列，首次解析了中国甘肃省定西市MNeSV分离株的全基因组序列。该基因组全长4 094 nt，包含5个ORF，分别编码p89、p30、CP、MP和p19，与两个MNeSV美国分离物（登录号分别为AF266518.2、NC_007729.1）完全一致。在获得MNeSV-DX全长序列的基础上，本研究进一步对甘肃省12个玉米产区的田间样本进行了RT-PCR检测，仅在定西市、甘南藏族自治州和陇南市检测到MNeSV阳性样本，其他调查区域均未检出该病毒。甘肃省玉米主产区主要分布于河西走廊灌区以及陇中、陇东旱作区，其中河西走廊灌区是全国重要的玉米制种和商品玉米生产基地，种植规模较大（Li et al.，2020）。本研究在临夏、兰州、金昌、武威、白银、定西、甘南、酒泉、张掖、天水、陇南和庆阳共12个市州开展了玉米样本采集，调查区域已覆盖甘肃省多个主要玉米产区，结果揭示了MNeSV在甘肃省部分地区玉米上的发生情况。然而，由于本次调查中各地区样本量仍相对有限，主产区内部采样点分布密度不足，且尚未对更多县域和重点种植区进行连续系统调查，因此现有结果仍不足以全面反映MNeSV在甘肃省玉米产区的实际分布范围及发生程度。后续仍需进一步扩大调查范围、增加样本数量并优化采样布局，更系统明确该病毒在甘肃省的分布格局与流行特征。

根据Louie et al.（2000）研究发现，MNeSV不能通过蚜虫、叶蝉、飞虱等昆虫介体进行传播，也无法借助机械摩擦接种实现系统性侵染。本研究结合序列相似性与系统发育树分析结果，发现MNeSV-DX分离物与两个MNeSV美国分离物（登录号分别为NC_007729.1和AF266518.2）的全基因组核苷酸和氨基酸序列相似性均分别高达98.8%和99.0%，亲缘关系极近且聚为独立分支，进一步表明该病毒在传播特性上可能与MNeSV美国分离物保持一致。在系统发育分析中MNeSV-DX分离物与已知具有种传能力的MNSV、CyRSV在进化关系上极为接近，同时同支系中的MCMV（田逸英等，2022）和CRSV（杨雷亮等，2009）已证实可通过种子进行传播并造成田间侵染。综合上述分子进化特征与已知种传病毒的关联性，初步推测MNeSV可能通过种子传播，具体有待进一步研究探索。未来可通过开发*Taq*Man探针实时荧光定量PCR、环介导等温扩增及CRISPR等高灵敏度检测技术（Rodriguez-Sanchez et al.，2008；Boonham et al.，2014；Delmiglio et al.，2023；张晓琪等，2025），提高对种子及田间植株病毒的检出效率，以期为甘肃省玉米病毒病防控提供一定的理论依据。

参考文献（References）

Boonham N, Kreuze J, Winter S, van der Vlugt R, Bergervoet J, Tomlinson J, Mumford R, 2014. Methods in virus diagnostics: from ELISA to next generation sequencing[J]. Virus Research, 186: 20−31

Broadbent L, Fletcher JT, 1963. The epidemiology of tomato mosaic, IV: persistence of virus on clothing and glasshouse structures[J]. Annals of Applied Biology, 52(2): 233−241

Chen S, 2015. Identification of plant viruses from maize by deep sequencing and analysis of small RNA in virus infected maize[D]. Hangzhou: Zhejiang University (in Chinese) [陈莎, 2015. 深度测序鉴定玉米病毒及感病玉米组织中小RNA分析[D]. 杭州: 浙江大学]

Delmiglio C, Waite DW, Lilly ST, Yan JC, Elliott CE, Pattemore J, Guy PL, Thompson JR, 2023. New virus diagnostic approaches to ensuring the ongoing plant biosecurity of Aotearoa New Zealand[J]. Viruses, 15(2): 418

Guo SS, Ren CM, Li S, Ji YH, Wang HT, Cheng ZB, 2025. Characterization of maize yellow mosaic virus movement protein and its subcellular localization in insect cells[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 41(1): 35−40 (in Chinese) [郭思思, 任春梅, 李硕, 季英华, 王海涛, 程兆榜, 2025. 玉米黄花叶病毒运动蛋白的特征分析及其在昆虫细胞内的亚细胞定位[J]. 江苏农业学报, 41(1): 35−40]

Jiang JX, Chen ZX, Li GX, Zhou XP, 2003. Identification of the pathogen of maize dwarf mosaic disease in 12 provinces in China and pathogenicity assay[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 33(4): 307−312 (in Chinese) [蒋军喜, 陈正贤, 李桂新, 周雪平, 2003. 我国12省市玉米矮花叶病病原鉴定及病毒致病性测定[J]. 植物病理学报, 33(4): 307−312]

Jo Y, Choi H, Lee BC, Hong JS, Kim SM, Cho WK, 2023. Exploring tomato fruit viromes through transcriptome data analysis[J]. Viruses, 15(11): 2139

Jones S, Baizan-Edge A, MacFarlane S, Torrance L, 2017. Viral diagnostics in plants using next generation sequencing: computational analysis in practice[J]. Frontiers in Plant Science, 8: 1770

Li QF, Duan LH, 2025. Standardized cultivation techniques and pest control of high-quality maize[J]. Seed Science & Technology, 43(19): 155−157, 181 (in Chinese) [李秋芳, 段丽红, 2025. 优质玉米规范化栽培技术与病虫害防治[J]. 种子科技, 43(19): 155−157, 181]

Li X, Fang SB, Wu D, Zhu YC, Wu YJ, 2020. Risk analysis of maize yield losses in mainland China at the county level[J]. Scientific Reports, 10: 10684

Louie R, Redinbaugh MG, Gordon DT, Abt JJ, Anderson RJ, 2000. *Maize necrotic streak virus*, a new maize virus with similarity to species of the family *Tombusviridae*[J]. Plant Disease, 84(10): 1133−1139

Maurino F, Dumón AD, Llauger G, Alemandri V, de Haro LA, Mattio MF, del Vas M, Laguna IG, de la Paz Giménez Pecci M, 2018. Complete genome sequence of maize yellow striate virus, a new cytorhabdovirus infecting maize and wheat crops in Argentina[J]. Archives of Virology, 163(1): 291−295

Peng JM, Chen ZY, Shen JY, Zhu FC, Jin MZ, 1979. Nature of the pathogen of maize streak dwarf disease of Tuenhuang, Kansu Province[J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 11(2): 187−189 (in Chinese) [彭加木, 陈作义, 沈菊英, 朱福成, 靳明章, 1979. 敦煌玉米条纹矮缩病病原体的研究[J]. 生物化学与生物物理学报, 11(2): 187−189]

Rodriguez-Sanchez B, Sanchez-Vizcaino JM, Uttenthal Å, Rasmussen TB, Hakhverdyan M, King DP, Ferris NP, Ebert K, Reid SM, Kiss I, et al., 2008. Improved diagnosis for nine viral diseases considered as notifiable by the world organization for animal health[J]. Transboundary and Emerging Diseases, 55(5/6): 215−225

Scheets K, Redinbaugh MG, 2006. Infectious cDNA transcripts of maize necrotic streak virus: infectivity and translational characteristics[J]. Virology, 350(1): 171−183

Shi CL, Xu SH, 1979. Maize dwarf mosaic virus of corn and sorghum in Beijing[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 9(1): 35−40, 67−68 (in Chinese) [史春霖, 徐绍华. 1979. 北京玉米和高粱上的玉米矮花叶病毒[J]. 植物病理学报, 9(1): 35−40, 67−68]

Tian YY, Qi FF, Jiao ZY, Zhou T, Fan ZF, 2022. Advances in research on four quarantine maize viruses of China[J]. Journal of Plant Protection, 49(5): 1299−1312 (in Chinese) [田逸英, 亓芳芳, 焦志远, 周涛, 范在丰, 2022. 四种中国检疫性玉米病毒的研究进展[J]. 植物保护学报, 49(5): 1299−1312]

Wang HW, Guo YH, Zhang F, 2000. First report of maize's breeding model resistant to MDM[J]. Maize Sciences, 8(2): 24−25, 66 (in Chinese) [王宏伟, 郭玉宏, 张芳, 2000. 玉米矮花叶病抗性育种模式研究初报[J]. 玉米科学, 8(2): 24−25, 66]

Wang QQ, Chen YJ, 2018. Advantages analysis of corn planting in China[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 20(3): 1−9 (in Chinese) [王琦琪, 陈印军, 2018. 我国玉米种植的优势分析[J]. 中国农业科技导报, 20(3): 1−9]

Wang R, 2016. Construction of cucumber, mosaic virus-induced gene silencing vector for maize functional genomics research[D]. Beijing: China Agricultural University (in Chinese) [王蓉, 2016. 用于玉米基因功能研究的黄瓜花叶病毒基因沉默载体的创建[D]. 北京: 中国农业大学]

Wang TW, 1997. Analysis on the epidemic causes of maize rough dwarf disease in Shandong Province and its control countermeasures[J]. China Plant Protection, 17(2): 16−17 (in Chinese) [王同伟, 1997. 山东省玉米粗缩病流行原因分析及防治对策[J]. 植保技术与推广, 17(2): 16−17]

Wang ZH, Wang DY, Wang GL, Hou YM, Zhao KQ, Yu CM, Zhang ZJ, Shi KR, Li XD, Yuan XF, 2016. Phylogenetic analysis of whole genome of Rice black-streaked dwarf virus isolated from *Zea mays* in Jiangsu Province, China[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 46(4): 443−452 (in Chinese) [王增辉, 王德亚, 王国鲁, 侯艳敏, 赵凯茜, 于成明, 张振甲, 师科荣, 李向东, 原雪峰, 2016. 水稻黑条矮缩病毒江苏玉米分离物全基因组序列及进化分析[J]. 植物病理学报, 46(4): 443−452]

Wijayasekara D, Ali A, 2021. Evolutionary study of maize dwarf mosaic virus using nearly complete genome sequences acquired by next-generation sequencing[J]. Scientific Reports, 11: 18786

Yang LL, Chen DH, Li MF, Chen HJ, 2009. Detection of carmavirus and carlavirus with PCR method[J]. Inspection and Quarantine Science(2): 1−3 (in Chinese) [杨雷亮, 陈定虎, 李明福, 陈洪俊, 2009. 香石竹斑驳病毒属和潜隐病毒属的PCR检测方法研究[J]. 检验检疫科学(2): 1−3]

Zhang C, Zhan BH, Zhou XP, 2017. Distribution and damage of maize viral diseases in China[J]. Plant Protection, 43(1): 1−8 (in Chinese) [张超, 战斌慧, 周雪平, 2017. 我国玉米病毒病分布及危害[J]. 植物保护, 43(1): 1−8]

Zhang XH, Wu HM, Yang RY, Zhang Y, Cheng XF, Wang L, 2025. Current situation and countermeasures of the development of maize seed industry in Gansu Province[J]. China Seed Industry(2): 38−41 (in Chinese) [张旭辉, 吴海梅, 杨荣燕, 张瑜, 程晓芳, 王丽, 2025. 甘肃玉米种业发展现状及对策建议[J]. 中国种业(2): 38−41]

Zhang XQ, Shen JG, Liao FR, Li WM, Jin YJ, Wufuer S, Zheng LP. 2025. Establishment and application of RT-RAA-CRISPR/Cas12a-based visual detection of prunus necrotic ringspot virus[J]. Scientia Agricultura Sinica, 58(12): 2371−2381 (in Chinese) [张晓琪, 沈建国, 廖富荣, 李为民, 金雨洁, 沙依旦·吾甫尔, 郑璐平. 2025. 李属坏死环斑病毒RT-RAA-CRISPR/Cas12a可视化检测方法的建立与应用[J]. 中国农业科学, 58(12): 2371−2381]

Zhang ZL, Xu Q, Yang XP, 2000. Agricultural production layout in Gansu. Lanzhou: Gansu Science and Technology Press, pp. 33−51 (in Chinese) [张志良, 徐勤, 杨晓鹏, 2000. 甘肃农业生产布局[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, pp. 33−51]

Zhao MF, Huang J, Wu YX, Yu DH, Yang DF, Yao WF, Tian YT, He YQ, 2014. Research progress on maize chlorotic mottle virus and its transmission vectors[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 16(5): 78−82 (in Chinese) [赵明富, 黄菁, 吴毅歆, 余代宏, 杨定发, 姚万富, 田应涛, 何月秋, 2014. 玉米褪绿斑驳病毒及传播介体研究进展[J]. 中国农业科技导报, 16(5): 78−82]

（责任编辑：李美娟）