果 树 学 报 2026,43(10):2866-2876
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20250645

杏树梅相关黄症病毒的基因组序列分析及田间检测

刘子怡[1],张鲁豫[2#],刘保军[2],王 澍[1],王雪颖[1],顾爱星[1*],白剑宇[2*]

([1]新疆农业大学农学院,乌鲁木齐 830052;[2]新疆维吾尔自治区林业科学院森林生态与园林绿化研究所,乌鲁木齐 830063)

摘 要:【目的】获得梅相关黄症病毒(Mume-associated luteovirus,MaLV)的完整基因组序列,解析其基因组结构特征,并基于序列一致性及系统发育分析,明确其遗传进化关系;同时探寻该病毒的田间侵染动态规律,为病害的精准防控提供理论依据。**【方法】**以出现褪绿、环斑、边缘黄化等症状的杏树叶片为试验材料,采用高通量测序、RT-PCR及cDNA末端快速扩增(RACE)技术,克隆MaLV新疆分离物的全基因组序列;利用生物信息学软件对其进行基因组系统进化分析;建立MaLV特异性分子检测体系,并应用于该病毒的田间侵染动态检测。**【结果】**成功获得MaLV完整基因组序列(命名为MaLV-XH-1),全长为5753 nt,包含6个开放阅读框(ORFs);该基因组与已报道的4个MaLV分离物的核苷酸一致性为92.10%~96.92%;本研究所获分离物与中国分离物(GenBank No: OR523245.1)亲缘关系最近,核苷酸同源性达96.92%;在5个MaLV全长基因组序列中无重组事件;5月中下旬为防治该病毒的关键时期。**【结论】**成功获得MaLV全基因组序列,明确了其与已知MaLV分离物的进化关系,为我国MaLV的分类地位及进化研究提供了理论依据;杏树叶片带毒率随生育进程呈上升趋势,其中5—6月病毒检出率较低,7—8月检出率显著升高,与该病毒前期存在隐症阶段、后期进入显症高峰期的田间表现一致。本研究为后续杏树病毒病的精准防控提供了理论支撑。

关键词:杏;梅相关黄症病毒;系统进化分析;基因组;序列分析;侵染动态

中图分类号:S662.2;S436.629 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2026)10-2866-11

Genomic sequence analysis and field detection of mume-associated luteovirus in apricot trees

Liu Ziyi[1], Zhang Luyu[2#], Liu Baojun[2], Wang Shu[1], Wang Xueying[1], Gu Aixing[1*], Bai Jianyu[2*]

([1]College of Agriculture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China; [2]Institute of Forest Ecology and Landscaping, Xinjiang Academy of Forestry Sciences, Urumqi 830063, Xinjiang, China)

Abstract:【Objective】In Aksu Prefecture, Xinjiang, symptoms including chlorosis, ring spots, and marginal yellowing were observed on apricot tree leaves, which are suspected to be caused by viral infection. At present, the occurrence and epidemic patterns of this virus in the field remain unclear, making it difficult to develop targeted prevention and control strategies and provide effective field management guidance. According to field investigations, leaf symptoms are not obvious in the early stage of this disease, so the optimal window for prevention and control is often missed. Therefore, this study aimed to obtain the complete genomic sequence of Mume-associated luteovirus (MaLV), analyze its genomic structural characteristics, and perform sequence identity and phylogenetic analysis to clarify its genetic and evolutionary relationships. Meanwhile, molecular detection technology can be applied to achieve early diagnosis and dynamic monitoring of viral diseases in apricot trees. By clarifying the dynamic patterns of field infection of this virus, we can determine the critical period for disease control.【Methods】Apricot tree leaves exhibiting symptoms such as chlorosis, ring spots, and marginal yellowing were used as experimental materials. Through high-throughput sequencing, RT-PCR and rapid amplification

收稿日期:2025-11-21 **接受日期:**2026-03-13

基金项目:新疆林草科技支撑项目(YHSWFZ-20240912560000)

作者简介:刘子怡,女,在读硕士研究生,研究方向为植物病原学及病害控制。E-mail:liuziyi323000@163.com。#为共同第一作者。

*通信作者 Author for correspondence. E-mail:gax@xjau.edu.cn;E-mail:bjyhao2010@sina.com

of cDNA ends (RACE) techniques, specific primers were designed using Primer Premier 6.0 and Snap Gene software. The whole genome sequence of the Xinjiang isolate of Mume-associated luteovirus was cloned; Based on the obtained whole genome sequence, we designed primers with high specificity. Cherry luteovirus A, plum pox virus, apple rust fruit virus, apple mosaic virus, and peach-associated luteovirus were used as materials for primer specificity verification, and the specificity was detected using the primers (MaLV-7F/7R). After measuring the concentration of cDNA from leaf samples infected with Mume-associated luteovirus using an ultraviolet spectrophotometer, the cDNA was diluted to test the sensitivity of the primers. We then established a molecular detection method by optimizing the reaction system, and applied it to dynamic field tracking and detection of Mume-associated luteovirus.【Results】The results showed that the complete genome sequence of a Mume-associated luteovirus isolate (designated MaLV-XH-1) was successfully obtained. The full length of this sequence is 5753 nt, and it contains 6 open reading frames (ORFs). The nucleotide sequence identity between this isolate and the four reported Mume-associated luteovirus isolates ranged from 92.10% to 96.92%. We performed recombination analysis on all five full-length MaLV genomic sequences using seven methods: RDP, GENECONV, BOOTSCAN, MACCHI, CHIMAERA, SISCAN and 3SEQ, and no recombination events were detected. Phylogenetic analysis showed that the isolates obtained in this study are genetically most closely related to the Chinese isolate (GenBank No: OR523245.1), with a nucleotide homology of 96.92%. When the initial cDNA of collected viral disease samples was diluted 10^5-fold, the target band could still be detected, while no bands were observed in other crops, confirming that the primers have high specificity and sensitivity. Dynamic field tracking of Mume-associated luteovirus conducted via the established molecular detection technology showed that as plant reproduction progresses, the field detection rate of this virus presents a continuous increasing trend and peaks in July and August. This is associated with the latent infection symptoms of this virus observed in field investigations. The investigation results obtained during the peak period when symptoms become obvious in the later stage are consistent with this conclusion.【Conclusion】In this study, we obtained the complete genome sequence of MaLV, and clarified the evolutionary relationship between the isolated Mume-associated luteovirus and other known isolates of this virus. The established molecular detection technology enables rapid and accurate detection and identification of Mume-associated luteovirus. Through dynamic tracking and detection of field infections, we determined that mid-to-late May is the optimal time for prevention and control of Mume-associated luteovirus.

Key words: Apoicot; Mume-associated luteovirus; System evolution analysis; Genomes; Sequence analysis; Infection dynamics

杏（*Prunus armeniaca* L.）属蔷薇科（Rosaceae），杏属（*Armeniaca* Mill.）植物，其果实营养丰富，具有较高的食用价值，在全球广泛种植，在我国已有3000多年的栽培历史[1]。我国杏树主要分布在新疆、甘肃、山西、山东、河北、辽宁等多个地区，其中新疆杏果相比其他地区品质较好，主要得益于其独特的地理位置和气候特点[2]。新疆作为我国主要杏产区之一，其杏树资源丰富，优良品种多，栽培品种有小白杏、大白杏、油光大白杏、大青杏等120多个品种[2]，主要种植于喀什、和田、阿克苏、托克逊等地区[3]。截至2023年，新疆杏树种植面积已达10.41万hm^2，产量为79.8万t，约占全国总产量的35%，其种植规模及产量均居全国首位，杏产业已成为当地特色林果业的重要组成部分，对促进经济发展和提高农民收入具有显著意义[4]。然而，随着杏树种植面积的不断扩大及苗木跨区域流转，其在生长过程中常受到各种病毒侵害，病毒病可导致树体生长衰退、产量损失和品质下降。病毒病主要通过嫁接、扦插等方式进行传播，一旦侵入可能导致果树终生带毒，难以防治[5-7]。据文献报道，目前可侵染杏树的病毒已超

过20种[8]。

梅相关黄症病毒(Mume-associated luteovirus，MaLV)属黄症病毒科(Luteoviridae)黄症病毒属(*Luteovirus*)[9]，基因组编码5~6个开放阅读框(open reading frame，ORF)，其中ORF1和ORF2共同编码RNA复制相关蛋白(replication-associated protein，Rep)，ORF3编码外壳蛋白(coat protein，CP)，ORF4编码移动蛋白(movement protein，MP)，ORF3~ORF5共同编码的融合蛋白由亚基因组RNA1表达[10-11]。目前，GenBank中发布的MaLV全基因组仅有4条，其核苷酸序列一致性为92%~97%。黄症病毒属病毒可侵染樱桃、苹果、杏等植物，可通过嫁接繁殖传播[11-13]。目前，MaLV在梅、杏、桃及富士樱上均有报道[9]；2023年，米美璇等[12]在中国新疆的天山野杏上报道了该病毒。

关于梅相关黄症病毒(MaLV)侵染新建栽培杏品种的研究尚未见系统报道。因此，本研究在新疆阿克苏地区系统开展了杏树病毒的检测与分析工作。首先，综合利用高通量测序与RT-PCR技术，成功分离获得MaLV全长基因组序列；其次，基于设计的特异性引物，建立了针对该病毒的分子检测方法，并系统检测了其在杏树整个生育期内的田间侵染动态，为该病毒的防控提供了可靠的技术支持；最后，通过系统进化分析，明确了该分离物的遗传进化特征及其在病毒分类体系中的地位。该研究不仅深化了对MaLV分类学地位的科学认知，也揭示了其潜在的进化规律，为后续深入研究该病毒的致病机制提供了重要参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 于新疆阿克苏新和县国家桃杏桑种质资源库中采集疑似杏树病毒病叶片样本，多数感染叶片表现为环斑、褪绿、边缘黄化等症状(图1)，样品经无菌水清洗并放于携带的液氮罐速冻。样品详细标注名称、采集日期、采集地点及编号，带回实验室保存于−80 ℃超低温冰箱备用。

1.1.2 供试仪器和试剂 仪器：DW-86L338J超低温

A~E. 田间病叶症状；F. 无症状叶片。

A-E. Symptoms of diseased leaves in the field; F. Symptom-free leaves.

图1 疑似病毒病症状叶片

Fig. 1 Leaves with suspected symptoms of viral disease

冰箱（青岛海尔公司）、BSD-TX270台式智能精密摇床（上海博讯医疗公司）、TGL-16高速台式冷冻离心机（湖南湘仪公司）、BIO-RAD T100 PCR仪（美国伯乐公司）、keebio-600N电泳仪（上海嘉鹏公司）、KCBIO2008凝胶成像系统（北京原平皓公司）、BSD-TX270台式智能精密摇床（上海博讯医疗公司）等。

试剂：总RNA提取试剂盒购自成都福际生物科技有限公司）；反转录试剂盒、2×Phanta UniFi Master Mix（Dye Plus）购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；Marker（DNA Marker III、DL200）购自北京全式金生物技术股份有限公司；pUCm-T克隆载体、DH5α感受态、琼脂糖凝胶回收试剂盒购自上海生工生物工程股份有限公司。

1.1.3　*供试引物*　基于高通量测序结果确定的病毒种类，将其与NCBI GenBank数据库中已报道的全基因组序列进行比对。在此基础上，使用Primer Premier 6.0与SnapGene软件，针对梅相关黄症病毒（MaLV）全基因组序列设计特异性扩增引物。引物均由上海生工生物工程股份有限公司及新疆有康生物科技有限公司合成（表1）。

表1　本研究供试引物

Table 1　Primers for the experiment in this paper

引物名称 Primer name	引物序列（5'−3'） Primer sequence (5'−3')	退火温度 Tm/℃	扩增产物大小 Amplified product size/bp	位点 Site/nt	参考文献 Reference
MaLV-1F MaLV-1R	AATCCGCTGGTATTACTCTGAC GGAGTGTGTCTTACAGAACCCTAC	55	1472	68~1539	[12]
MaLV-2F MaLV-2R	ACTGGTTATGGTTCCAATCGTGTC GTTCAACCGAAACCTGTGTCTG	52	1582	1102~2683	[12]
MaLV-3F MaLV-3R	TGTTGAGGAGCCAGTAACTATG GGAGATAAGTCGTGATTCCACTC	50	770	2598~3367	[12]
MaLV-4F MaLV-4R	CCTCGCTTTCACAGTACCCA GAGGTGGAGATACATCCGGC	58	1539	3189~4727	本研究 This research
MaLV-5F MaLV-5R	ATCCACCTGTTACCAATCAACC GTATTCCTCCAGTGTCTTCACC	55	522	4671~5192	[12]
MaLV-6F MaLV-6R	AGGTACAACGTTGAGCTCGG CCGGTGGCAGATATGAACGA	57	722	1720~2441	本研究 This research
MaLV-7F MaLV-7R	GGGAGAAATTCCGGAGACCG GAACCCGTACTCCTCGAACC	59	401	1859~2259	本研究 This research
MaLV-8F MaLV-8R	CAACCGGAGTGGAATCACGA GACAGCCTGATAGCCCTCAC	58	536	3339~3874	本研究 This research

1.2　方法

1.2.1　*高通量测序*　将采集的具有典型症状（环斑、褪绿及叶缘黄化）的杏树叶片样品等量混合，共制备3份混合样本，送往Illumina HiSeq高通量测序平台进行检测，对样本RNA纯度（$OD_{260/280}$）、浓度、核酸吸收峰及完整性进行质控分析。质控合格后，采用试剂盒去除rRNA，并构建测序文库。文库构建完成后进行质量检测，合格后根据目标数据量将各文库进行混合，使用Illumina HiSeq平台进行测序。获得原始测序数据后，先对其进行质控与预处理，以获取高质量有效数据。随后对有效数据进行拼接与组装，开展物种分类分析以鉴定病毒种类。基于组装获得的病毒序列信息，进一步开展病毒基因组组装分析，明确病毒种类组成。对未能注释的序列进行双链RNA（dsRNA）预测分析，最终系统获得RNA病毒及类病毒完整序列信息[14-17]。高通量测序由上海生工生物工程股份有限公司完成。

1.2.2　*RNA提取及cDNA合成*　选取适量叶片样本，剪碎置于预冷研钵中，加入液氮充分研磨。称取50 mg粉末于1.5 mL离心管中，参照多糖多酚植物总RNA快速提取试剂盒说明书提取总RNA，并检测其浓度和纯度。将提取的总RNA参照反转录试剂盒方法进行反转录，cDNA放置于−20 ℃冰箱保存。

1.2.3　*RT-PCR检测*　基于高通量测序结果，设计特异性引物对采集的杏树叶片样本进行检测和鉴定，引物信息见表1。PCR扩增总体系（50 μL）：2×Phanta UniFi Master Mix（Dye Plus）25 μL，正反引物各1 μL，cDNA模板3 μL，ddH_2O 20 μL。PCR扩增程序：98 ℃ 30 s；98 ℃ 10 s，50~60 ℃ 30 s，72 ℃延伸30 s（根据片段大小决定），30个循环；72 ℃ 5 min。

1.2.4 MaLV全基因组克隆及序列测定 扩增产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳分离后，通过凝胶成像系统进行分析，目标条带使用DNA回收试剂盒进行回收并纯化。纯化后的DNA片段连接至pUCm-T克隆载体，随后转化至大肠杆菌DH5α感受态细胞。通过蓝白斑筛选，挑取形态清晰、饱满的白色菌落，接种于含氨苄青霉素的LB液体培养基中，在37 ℃、200 r·min^{-1}条件下振荡培养5 h。对菌液进行PCR鉴定，筛选获得阳性克隆。为确保测序结果的可靠性，每个样品至少选取3个独立阳性克隆送至新疆有康生物科技有限公司进行测序。使用DNAMAN软件对测序结果进行拼接分析。将拼接获得的全长基因组序列通过NCBI的BLAST工具进行同源性比对，以确认病毒种类。

1.2.5 系统发育分析和重组分析 从GenBank数据库中检索并下载MaLV分离株的完整基因组序列，用于后续的基因组多序列比对以及分析与各ORF间的核苷酸和氨基酸相似性。进一步利用SnapGene软件对序列进行结构分析，并通过MAFFT软件进行多序列比对。最终，采用MEGA 7软件中的邻接法，Bootstrap设置1000次，基于本研究所获分离物的全基因组序列构建系统发育树，并开展系统进化分析。采用RDP4软件对MaLV各序列进行重组分析，检测过程中综合应用RDP、GENECONV、BootScan、MaxChi、Chimaera、SiScan及3SEQ共7种算法，用于检测的分离物均来自GenBank数据库。

1.2.6 引物的灵敏度检测 将提取的总RNA反转录为cDNA，经紫外分光光度计测定浓度后，取10 μL cDNA原液，采用ddH$_2$O依次进行10倍梯度稀释，共获得8份稀释液，对应的稀释倍数依次为10、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、10^7、10^8。以各稀释液为模板，利用所建立PCR体系进行扩增，并设置以ddH$_2$O为模板的阴性对照。通过分析不同浓度模板的扩增结果，评估所用引物的检测灵敏度。

1.2.7 梅相关黄症病毒田间侵染动态检测 为明确梅相关黄症病毒在新疆阿克苏地区的发生与分布规律，选取该病毒高发区域作为病害田间动态检测点，包括哈尼喀勒克乡、阿拉哈格镇及新和县杏树种植园，检测总面积约26 hm^2。检测对象为当地主栽品种小白杏，树龄9 a（年），种植模式为3 m×4 m。根据田间系统观测结果，确定每年5—8月为该地区杏树感染梅相关黄症病毒后叶片症状显现的关键时期。在各检测点内，采用五点取样法分别于5月、6月、7月及8月在预设固定位置采集叶片样本，每月每点采集30份样本，累计获取120份样本。提取各样本总RNA后，采用PCR技术进行病毒检测，分析植株带毒率及病害的田间侵染动态变化规律。

2 结果与分析

2.1 高通量测序分析

通过高通量测序及生物信息学分析，样品中共检测到3种病毒，分别为梅相关黄症病毒（MaLV）、桃褪绿叶斑病毒（Peach chlorotic leaf spot virus，PCLSV）和小樱桃病毒-1（Little cherry virus 1，LChV-1）（表2）。在获得的序列中，与MaLV参考序列（GenBank登录号：ON408236.1）同源的序列共27条，其中最长片段为1634 bp，最短片段为101 bp，相似性为88.11%~100%；与PCLSV参考序列（OP923917.1）同源的序列共8条，最长片段为3649 bp，最短为350 bp，相似性为82.96%~99.12%；与LChV-1参考序列（KY368385.1）同源的序列共4条，最长片段为17 003 bp，最短片段为3943 bp，相似性为72.59%~98.21%。

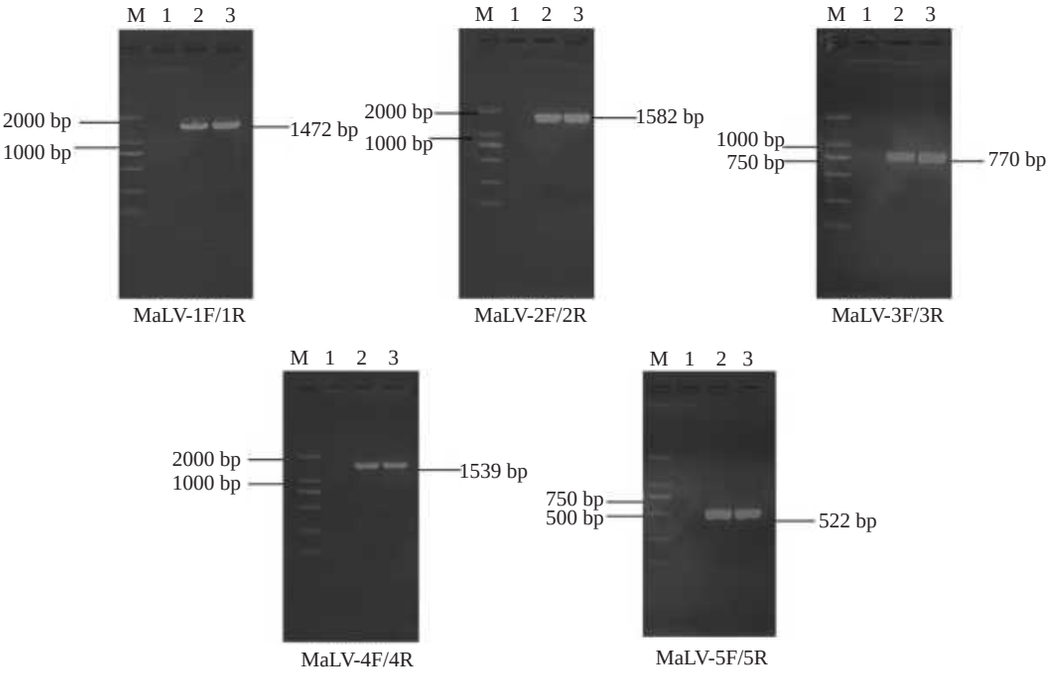
表2 病毒测序Reads信息

Table 2 Virus sequencing Reads information

属 Genus	种 Species	重叠群数量 Number of contigs	病毒读取数 Number of reads from virus
黄症病毒属 *Luteovirus*	梅相关黄症病毒 Mume-associated luteovirus	27	53
纤毛病毒属 *Trichovirus*	桃褪绿叶斑病毒 Peach chlorosis leaf spot virus	8	94
隐症病毒属 *Velarivirus*	小樱桃病毒-1 Little cherry virus 1	4	5236
未分类 NA	未分类 NA	33	1925

2.2　梅相关黄症病毒分离物全基因组序列分析

以提取的杏树叶片样本总RNA为模板，经反转录合成cDNA后，采用表1全基因组扩增引物进行RT-PCR。扩增结果显示特异性条带大小分别为1472 bp、1582 bp、770 bp、1539 bp和522 bp，与预期目标片段大小一致（图2）。



M. DNA marker；1. 阴性对照；2~3. 杏树叶片扩增产物。

M. DNA marker; 1. Negative control; 2-3. Amplification products of apricot tree leaves.

图2　MaLV基因组片段扩增结果

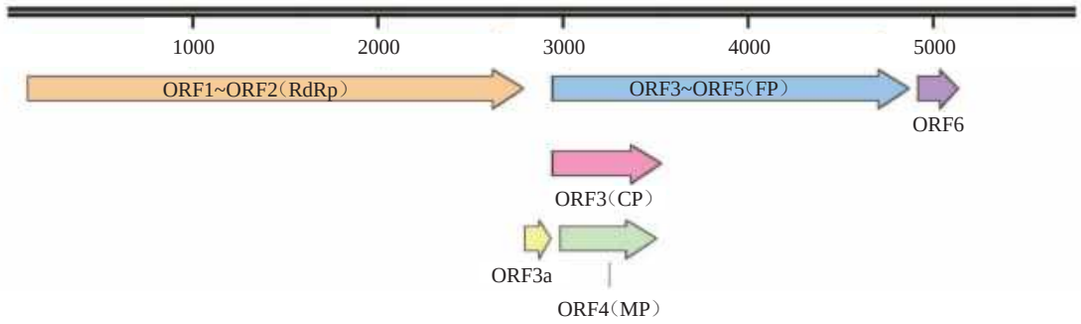
Fig. 2　Amplification results of MaLV genomic fragments

将测序获得的梅相关黄症病毒基因组片段进行拼接，获得了MaLV分离物的完整基因序列，全基因组序列长度为5753 nt，命名为MaLV-XH-1，其序列已提交至GenBank（登录号：PX289965）。基因组结构与已报道的MaLV一致，共包含6个开放阅读框（ORF）（图3）。ORF1~ORF2共同编码1个长度为2687 nt（113~2799 bp）、RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）；ORF3a由亚基因组RNA1表达，序列长度为147 nt（2802~2948 bp），推测参与病毒的移动功能；ORF3编码1个长度为594 nt（2948~3541 bp）的外壳蛋白（CP）；ORF4编码1个长度为528 nt（2994~3521 bp）的运动蛋白（MP）；ORF3~ORF5属于融合蛋白（FP），序列长度为1932 nt（为2948~4879 bp）；ORF6序列长度为225 nt（4923~5147 bp）[11,18]。

MaLV-XH-1与新疆野杏分离物、日本梅分离物、捷克杏分离物和法国富士樱分离物的全基因组核苷酸序列一致性为96.92%、95.86%、95.22%和92.10%。相关功能蛋白RdRp与新疆野杏分离物、日本梅分离物、捷克杏分离物和法国富士樱分离物的核苷酸一致性为95.54%、95.06%、93.98%和94.50%；ORF3编码的外壳蛋白CP与新疆野杏分离物、日本梅分离物、捷克杏分离物和法国富士樱分离物的核苷酸一致性为97.47%、97.47%、97.47%和94.97%；ORF4编码的运动蛋白MP与新疆野杏分离物、日本梅分离物、捷克杏分离物和法国富士樱分离物的核苷酸一致性为97.16%、97.16%、97.16%和95.45%；融合蛋白FP与新疆野杏分离物、日本梅分离物、捷克杏分离物和法国富士樱分离物的核苷酸一致性为97.31%、97.41%、96.64%和91.28%。综上所述，该分离物与新疆本地野杏分离物的亲缘关系最近，不同功能基因保守程度存在明显差异，CP与MP基因在供试分离物中高度保守。

2.3　梅相关黄症病毒分离物的系统进化树分析

基于梅相关黄症病毒及黄症病毒属其他已报道病毒分离物的全长核苷酸序列，构建系统进化树（图4），并以GVB（登录号：KX790785）作为外群。系统发



RdRp. RNA 依赖的 RNA 聚合酶，113~2799 bp；CP. 外壳蛋白，2948~3541 bp；MP. 运动蛋白，2994~3521 bp；FP. 融合蛋白，2948~4879 bp。

RdRp. RNA-dependent RNA polymerase, 113-2799 bp; CP. Coat Protein, 2948-3541 bp: MP. Movement Protein, 2994-3521bp; FP. Fusion Protein, 2948-4879 bp.

图 3 MaLV 的基因组结构图

Fig. 3 Genomic structure map of MaLV

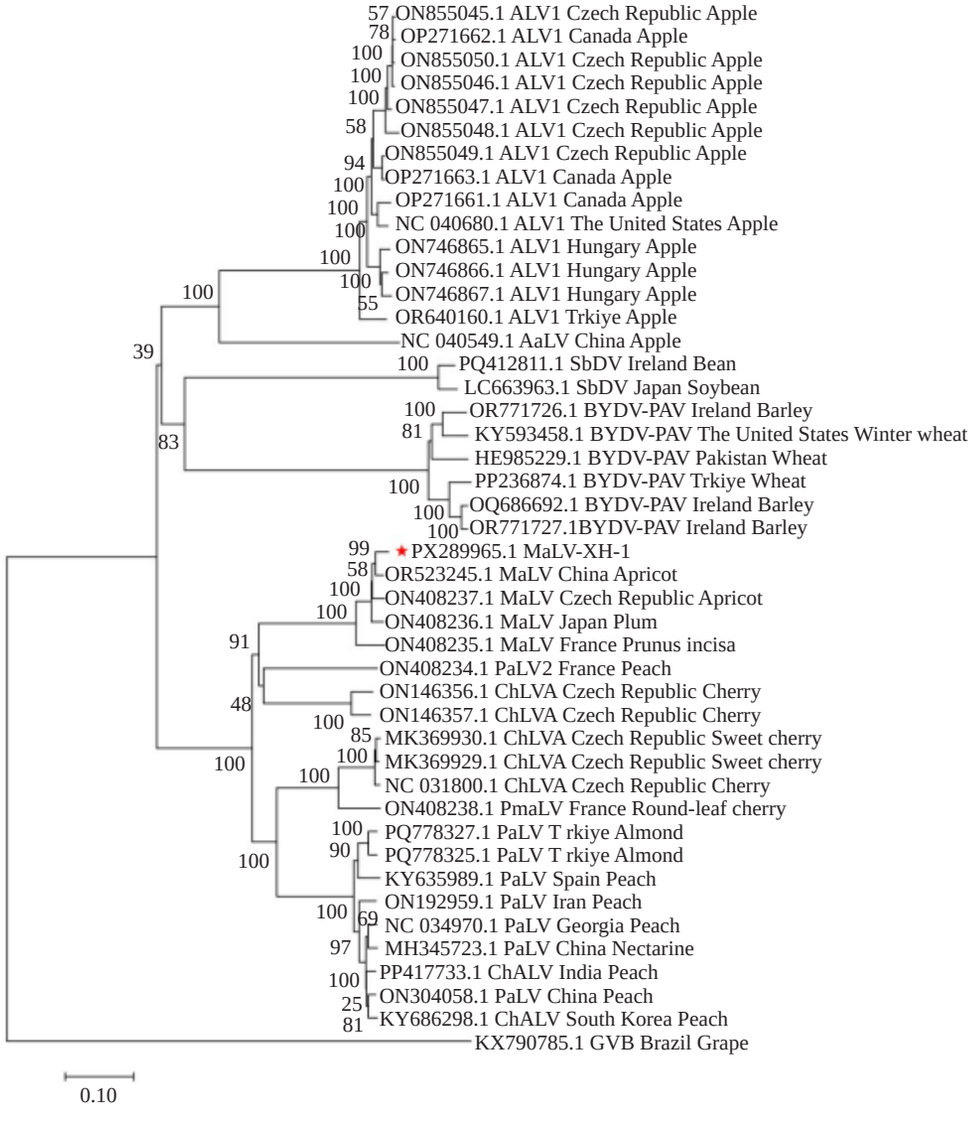


图 4 基于 MaLV-XH-1 全长核苷酸序列的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on the full-length nucleotide sequence of MaLV-XH-1

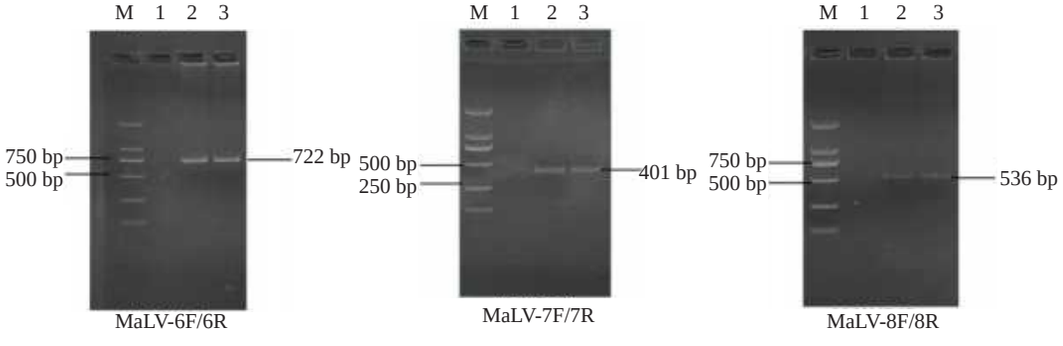
育分析显示，本研究所获分离物与中国（OR523245.1）、捷克（ON408237.1）、日本（ON408236.1）、法国（ON408235.1）的 MaLV 分离物，法国（ON408234.1）的 PaLV2 分离物以及捷克（ON146356.1、ON146357.1）的 ChLVA 分离物共同聚类于同一进化分支，且与中国 MaLV 分离物（OR523245.1）的亲缘关系最近。系统进化分析进一步表明，获得的新疆分离株与国内外已报道毒株具有高度同源性，未表现出明显的地域分化特征，提示该病毒的分布可能不具备显著的地理规律性。

使用 RDP4 软件对包括 MaLV 在内的 5 条 MaLV 全长基因组序列进行重组分析，经 RDP、GENECONV、BOOTSCAN、MACCHI、CHIMAERA、SISCAN、3SEQ 共 7 种方法检测，均未检测到重组事件。

2.4　梅相关黄症病毒引物的特异性验证及检测

为验证序列正确性和引物特异性，设计特异性引物 MaLV-6F/MaLV-6R、MaLV-7F/MaLV-7R、MaLV-8F/MaLV-8R 进行 RT-PCR 检测。电泳结果显示，样品可扩增出与预期片段大小一致的目的条带，阴性对照未出现扩增条带，证明引物特异性良好（图 5）。

以 cDNA 为模板，利用特异性引物（MaLV-7F/MaLV-7R）对疑似感染病毒的杏树叶片样本进行 RT-PCR 检测，以实验室保存的感染樱桃黄体病毒 A、李痘病毒、苹果锈果类病毒、苹果花叶病毒以及桃相关黄体病毒的叶片样本作为对照，清水作为阴性对照。结果显示，疑似梅相关黄症病毒侵染的叶片样本中能够稳定扩增出约 401 bp 的单一、清晰的目的条带，而其他作物样本和阴性对照中均未出现目的条带（图 6），表明该引物具有良好的扩增稳定



M. DNA marker；1. 阴性对照；2~3. MaLV 扩增结果。

M. DNA marker; 1. Negative control; 2-3. The amplification result of MaLV.

图 5　MaLV 特异性引物扩增结果

Fig. 5　Amplification results of MaLV specific primers

M. DNA Marker；1~4. 梅相关黄症病毒叶片；5~8. 樱桃黄体病毒 A 叶片；9~12. 李痘病毒叶片；13~16. 苹果锈果类病毒叶片；17~20. 苹果花叶病毒叶片；21~23. 桃相关黄体病毒叶片；CK. 阴性对照。

M. DNA Marker; 1-4. Leaves of MaLV; 5-8. Leaves of cherry luteovirus A isolate; 9-12. Leaves of plum pox virus; 13-16. Leaves of apple scar skin viroid; 17-20. Leaves of apple mosaic virus; 21-23. Leaves of peach associated luteovirus; CK. Negative control.

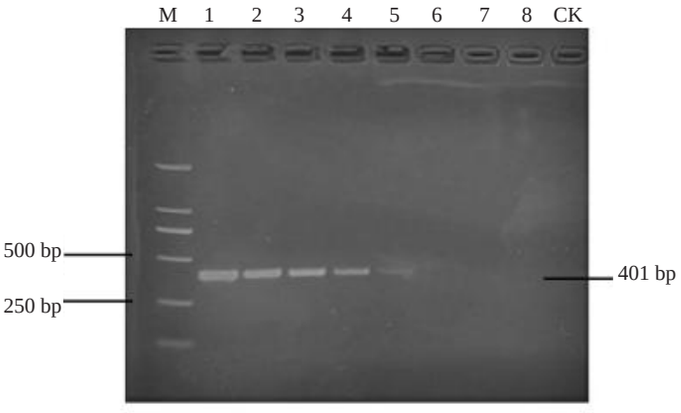
图 6　MaLV 引物的特异性扩增检测

Fig. 6　Specific amplification verification of MaLV primers

性和高度特异性。

2.5 梅相关黄症病毒引物的灵敏度检测

利用分光光度计测量梅相关黄症病毒叶片样本cDNA质量浓度，为2.36 ng·μL^{-1}。按10倍浓度依次稀释后，在优化的PCR反应体系中进行扩增。结果显示，初始cDNA浓度稀释至10^5倍时仍能检测到目的条带（图7），表明该引物对梅相关黄症病毒具有较高的检测灵敏度，适用于梅相关黄症病毒田间侵染动态的追踪检测与验证。



M. DNA Marker；1~8. cDNA 浓度稀释倍数依次为 10~10^8 倍；CK. 阴性对照。

M. Marker; 1-8. Serial dilution of cDNA (10-10^8); CK. Negative control.

图 7 MaLV 引物的灵敏度检测

Fig. 7 Sensitivity detection of MaLV primers

2.6 梅相关黄症病毒田间侵染动态检测

梅相关黄症病毒田间侵染动态检测结果显示，在3个杏树种植园分别于不同日期采集的30份叶片样本中，部分样本检测携带梅相关黄症病毒。由表3可知，该病毒检出率随杏树生育期推进呈现逐步上升趋势。其中，5月采集的杏树叶片样本中梅相关黄症病毒检出率相对较低（13.33%~30.00%）；6月检出率相较5月明显上升；7—8月达到高峰，检出率升至60.00%~93.33%。上述结果表明，杏树体内梅相关黄症病毒侵染水平存在显著的季节性差异。结合动态分析发现，5月中下旬为该病毒防治的关键时期，在此阶段开展防控措施可有效阻断病毒增殖扩散，降低果园病毒侵染与流行风险。

表 3 杏树叶片样本及 MaLV 田间侵染动态检测结果

Table 3 Dynamic detection results of leaf samples and MaLV field infection

采集地点 Collection location	采集时间 Collection time	叶片样本数 Number of leaf-samples	带毒叶片样本数 Number of virus-infected samples	检出率 Positive rate/%
哈尼喀勒克乡 Hanikalek Township	5月11日 May 11th	30	7	23.33
	6月13日 Jun. 13th	30	11	36.67
	7月9日 Jul. 9th	30	19	63.33
	8月14日 Aug. 14th	30	24	80.00
阿拉哈格镇 Alahag Town	5月11日 May 11th	30	4	13.33
	6月13日 Jun. 13th	30	9	30.00
	7月9日 Jul. 9th	30	18	60.00
	8月14日 Aug. 14th	30	21	70.00
新和县 Xinhe County	5月11日 May 11th	30	9	30.00
	6月13日 Jun. 13th	30	17	56.67
	7月9日 Jul. 9th	30	22	73.33
	8月14日 Aug. 14th	30	28	93.33

3 讨 论

新疆作为世界公认的多种果树起源地与次生演

化中心，是我国野生果树资源分布的关键区域，尤其在我国的杏树种植中，其栽培面积与种质资源丰富度均居首位[19-20]。然而，病毒病的侵染导致杏树叶片出现褪绿、环斑、黄化等症状，影响杏果产业发展，严重威胁果实产量和品质。本研究在新疆阿克苏地区栽培杏树上成功检测到MaLV，且在不同地理位置、不同杏树类型中均检出，表明该病毒已经开始在当地扩散传播，需加强对其的检测与防控。

本研究于新疆阿克苏地区采集具有褪绿、黄化症状的杏树叶片样本，基于高通量测序数据初步判断该病害由梅相关黄症病毒侵染引起。进一步结合高通量测序信息和已报道的参考序列设计特异性引物，成功获得了MaLV全长基因组序列，其与已知的MaLV全基因序列同源性为92.10%~96.92%，具有高度同源性。MaLV分离物全基因序列构建的系统进化树显示，MaLV分离物XH-1与新疆野杏分离物XJYX-S5（OR523245.1）聚集在同一分支，且亲缘关系最近。前人研究发现，黄症病毒属病毒ORF1和ORF2编码的RNA依赖的RNA聚合酶（RdRp）在病毒复制中发挥关键作用[21]。本研究中梅相关黄症病毒的RdRp编码区序列较为保守，在当地杏树群体中可能存在相对稳定的复制效率。Brault等[22]研究发现，ORF3编码的外壳蛋白（CP）在参与病毒粒子组装的同时，还在病毒媒介的传播过程中发挥重要作用。本研究中*CP*基因序列和其他梅相关黄症病毒分离物的同源性较高，表明该病毒可能具有类似的传播机制。然而，病毒在不同寄主中的适应性存在差异，未来可通过遗传学技术对该病毒致病机制进行深入研究。

基于梅相关黄症病毒全基因组序列，设计高特异性引物，将初始cDNA浓度稀释至10^5倍时，仍能通过PCR扩增检测到目的条带，表明该引物具有较高的特异性和灵敏度。与传统血清学方法相比，RT-PCR技术筛选效率高、检测速度快等，适用于大规模处理检测样本[23]，在实际操作中具有良好可行性，可用于田间条件下梅相关黄症病毒的侵染动态检测。

田间侵染动态检测结果显示，在阿克苏地区3个杏树种植园采集的叶片样本中，梅相关黄症病毒的检出率随着时间的推移呈逐渐升高趋势。5月检出率较低，7—8月检出率明显升高，这一动态变化规律与该病毒前期隐症、后期进入显症高峰期的调查结果相符，也与多种木本植物病毒病在田间发生情况和流行规律相似[24]。因此，前期一旦错过防控的关键节点，后期防治效果将很难达到预期目标。黄症病毒属成员可通过蚜虫进行传播[25]，而季节变化和蚜虫种群数量之间也存在关联性[26]。因此，媒介昆虫的种群动态与田间病毒扩散间的关系有待进一步研究。

4　结　论

本研究成功获得了梅相关黄症病毒（MaLV）的完整基因组序列，全长5753 nt，共编码6个开放阅读框，与已报道的4个MaLV分离株的全基因组序列的核苷酸一致性为92.10%~96.92%，具有较高的序列保守性。该分离物与中国（OR523245.1）、捷克（ON408237.1）、日本（ON408236.1）、法国（ON408235.1）的4个MaLV分离物聚类于同一进化分支，且与中国分离物（登录号：OR523245.1）亲缘关系最近，在5个MaLV全长基因组序列间无重组事件。梅相关黄症病毒的检出率随杏树生育期的推进而逐渐升高。本研究丰富了MaLV在进化谱系中的分类学依据，初步揭示了其在田间的流行规律，为病害的精准防控提供了理论依据。在此基础上，后续研究应进一步探究该病毒的分子进化机制，明确其传播途径，为优化关键防控措施提供理论依据。

参考文献 References:

[1] 宁宁 . 我国杏核心种质的构建[D]. 南京：南京农业大学，2009.
Ning Ning. Development of apricot core collection in China[D]. Nanjing：Nanjing Agricultural University，2009.

[2] 顾天齐 . 新疆杏果实不同采收成熟度及贮藏条件下品质特性研究[D]. 乌鲁木齐：新疆农业大学，2020.
Gu Tianqi. Study on the quality characteristics of Xinjiang apricot fruits under different harvest maturity and storage conditions[D]. Urumqi：Xinjiang Agricultural University，2020.

[3] 张鲁豫，赵莉，张滋林 . 新疆杏树害虫的发生、危害与防治[J]. 北方果树，2010(6)：11-17.
Zhang Luyu，Zhao Li，Zhang Zilin. The occurrence，damage and control of pests on apricot trees in Xinjiang[J]. Northern Fruits，2010(6)：11-17.

[4] 王磊 . 新疆杏产业发展现状与思考[J]. 新疆林业，2025(4)：24-26.
Wang Lei. The current situation and thoughts on Xinjiang's apricot industry[J]. Forestry of Xinjiang，2025(4)：24-26.

[5] Milošević T，Milošević N，Mladenović J，Jevremović D. Impact of sharka disease on tree growth，productivity and fruit quality

of apricot (*Prunus armeniaca* L.) [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 244: 270-276.

[6] Wani S, Iralu N, Rashid S, Meghanath D, Shah M U D, Nabi S U, Hamid A, Mansoor S. Recent advances in characterization and diagnosis of stone fruit tree viruses[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2025, 31(9): 1535-1555.

[7] Wani S, Ashaq M, Sumaira-Hamid, Dar G H, Asha-Nabi, Ahmad M, Padder B A, Shah M D. Major viruses infecting temperate fruit crops and their impact on the fruit industry[M]//Jain S, Gupta A, Verma N. Industrial applications of soil microbes. UAE: Bentham Science Publishers, 2024: 300-323.

[8] 陈雅寒, 马强, 孙平平, 张磊, 李正男 . 杏衰退萎黄病病毒的siRNA高通量测序和RT-PCR鉴定[J]. 园艺学报, 2020, 47(4): 725-733.
Chen Yahan, Ma Qiang, Sun Pingping, Zhang Lei, Li Zhengnan. Identification of viruses causing apricot decline and leaf chlorosis disease by siRNA high-throughput sequencing and RT-PCR detection[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2020, 47(4): 725-733.

[9] Khalili M, Candresse T, Koloniuk I, Safarova D, Brans Y, Faure C, Delmas M, Massart S, Aranda M A, Caglayan K, Decroocq V, Drogoudi P, Glasa M, Pantelidis G, Navratil M, Latour F, Spak J, Pribylova J, Mihalik D, Palmisano F, Saponari A, Necas T, Sedlak J, Marais A. The expanding menagerie of *Prunus*-infecting luteoviruses[J]. Phytopathology, 2023, 113(2): 345-354.

[10] 米美璇, 李世访, 战斌慧, 张志想, 麦合木提江•米吉提 . 新疆野杏桃褪绿叶斑病毒和梅相关黄症病毒的鉴定[J]. 植物病理学报, 2025, 55(1): 170-174.
Mi Meixuan, Li Shifang, Zhan Binhui, Zhang Zhixiang, Maihemuti Mijiti. Identification of peach chlorotic leaf spot virus and mume-associated luteovirus from Xinjiang wild apricot (*Prunus armeniaca*)[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2025, 55(1): 170-174.

[11] 米美璇 . 新疆天山野果林野苹果和野杏病毒的检测与鉴定[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2023.
Mi Meixuan. Virus detection and identification of wild apple and apricot from the wild fruit forest in Tianshan Mountain, Xinjiang[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2023.

[12] Lenz O, Přibylová J, Fránová J, Koloniuk I, Špak J. Identification and characterization of a new member of the genus Luteovirus from cherry[J]. Archives of Virology, 2017, 162(2): 587-590.

[13] Liu H W, Wu L P, Nikolaeva E, Peter K, Liu Z R, Mollov D, Cao M J, Li R H. Characterization of a new apple luteovirus identified by high-throughput sequencing[J]. Virology Journal, 2018, 15(1): 85.

[14] 周俊 . 桃及其野生近缘种中病毒组研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
Zhou Jun. Study on the virome of peach and its wild relative species[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020.

[15] 吴越 . 镉胁迫日本沼虾肝胰腺转录组学及桩蛋白基因的表达与功能分析[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.
Wu Yue. Transcriptome of hepatopancreas on *Macrobrachium nipponense* under cadmium stress and expression and function analysis of paxillin gene[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.

[16] 赵小春 . 新疆葡萄病毒病的病原鉴定及检测[D]. 石河子: 石河子大学, 2022.
Zhao Xiaochun. Identification and detection of grape virus disease in Xinjiang[D]. Shihezi: Shihezi University, 2022.

[17] 王澍, 刘保军, 张李娅, 单佳祁, 白剑宇, 李克梅 . 吐鲁番葡萄病毒病的发生情况及病原鉴定[J]. 植物检疫, 2024, 38(3): 40-46.
Wang Shu, Liu Baojun, Zhang Liya, Shan Jiaqi, Bai Jianyu, Li Kemei. Occurrence and pathogen identification of grape virus disease in Turpan[J]. Plant Quarantine, 2024, 38(3): 40-46.

[18] Smirnova E, Firth A E, Miller W A, Scheidecker D, Brault V, Reinbold C, Rakotondrafara A M, Chung B Y, Ziegler-Graff V. Discovery of a small non-AUG-initiated ORF in poleroviruses and luteoviruses that is required for long-distance movement[J]. PLoS Pathogens, 2015, 11(5): e1004868.

[19] 韩丽丽, 荆珺, 王杰花, 陈卫民 . 杏树梨火疫病在中国首次发生[J]. 植物检疫, 2022, 36(6): 46-49.
Han Lili, Jing Jun, Wang Jiehua, Chen Weimin. First report of pear fire blight on apricot caused by *Erwinia amylovora* in China[J]. Plant Quarantine, 2022, 36(6): 46-49.

[20] 章秋平 . 新疆杏种质资源评价与利用进展[J]. 北方果树, 2025(5): 1-8.
Zhang Qiuping. Progress in evaluation and utilization of apricot germplasm resources in Xinjiang[J]. Northern Fruits, 2025(5): 1-8.

[21] Miller W A, White K A. Long-distance RNA-RNA interactions in plant virus gene expression and replication[J]. Annual Review of Phytopathology, 2006, 44(1): 447-467.

[22] Brault V, Périgon S, Reinbold C, Erdinger M, Scheidecker D, Herrbach E, Richards K, Ziegler-Graff V. The polerovirus minor capsid protein determines vector specificity and intestinal tropism in the aphid[J]. Journal of Virology, 2005, 79(15): 9685-9693.

[23] López-Fabuel I, Wetzel T, Bertolini E, Bassler A, Vidal E, Torres L B, Yuste A, Olmos A. Real-time multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of the five main grapevine viruses[J]. Journal of Virological Methods, 2013, 188(1/2): 21-24.

[24] Cooper J I. Responses of plants to viruses: Proposals for the use of terms[J]. Phytopathology, 1983, 73(2): 127.

[25] Gray S, Gildow F E. Luteovirus-aphid interactions[J]. Annual Review of Phytopathology, 2003, 41(1): 539-566.

[26] Ng J C, Falk B W. Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses[J]. Annual Review of Phytopathology, 2006, 44: 183-212.