

甘蔗杆状病毒及其启动子功能的研究进展

孙生仁¹, 张慧丽¹, 吴小斌², 高三基^{1*}

¹福建农林大学国家甘蔗工程技术研究中心, 福州350002

²广东省生物工程研究所(广州甘蔗糖业研究所), 广州510316

摘要: 甘蔗杆状病毒(SCBV)是侵染甘蔗的重要病原物之一, 属于花椰菜花叶病毒科(*Caulimoviridae*)杆状DNA病毒属(*Badnavirus*)。该病害在多数种植甘蔗的国家和地区普遍发生, 可导致甘蔗品质和产量下降, 对甘蔗产业构成潜在威胁。SCBV基因组为环状双链DNA, 长度为7.3~8.0 kb。不同地理来源的SCBV分离物遗传多样性丰富, 全球至少存在18种系统进化组群或基因型(SCBV-A~R), 其中, 来自摩洛哥的SCBMOV、澳大利亚的SCBIMV及瓜德罗普岛的SCBGAV和SCBGDV被国际病毒分类委员会(ICTV)认定为杆状DNA病毒属下的4个不同病毒种。SCBV基因组编码3个开放阅读框(ORF), 其中ORF3的3'端和ORF1的5'端之间基因间隔区域为病毒启动子区域。本文主要综述了SCBV生物学和基因组特性、遗传多样性、检测方法、病毒启动子的功能及应用等方面的最新研究进展, 旨在为SCBV的进一步研究提供参考。

关键词: 杆状DNA病毒; 甘蔗杆状病毒; 遗传多样性; 基因组结构; 病毒启动子

甘蔗杆状病毒(sugarcane bacilliform viruses, SCBV)属于花椰菜花叶病毒科(*Caulimoviridae*)杆状DNA病毒属(*Badnavirus*), 是危害甘蔗的主要病毒之一, 严重影响甘蔗的产量和品质。该病害于1985年在古巴的甘蔗品种B34104上首次被发现, 随后从甘蔗品种Mex. 57-473上提纯到SCBV病毒(Lockhart和Autrey 1988)。目前, SCBV在世界许多主要甘蔗产区均有发现, 包括巴西、美国、中国、印度、澳大利亚、南非、毛里求斯、马达加斯加、马德拉、马拉维、巴布亚新几内亚、摩洛哥和留尼汪岛等20多个国家地区(Autrey等1995; Lockhart和Autrey 2000)。SCBV复合种群存在高度遗传多样性, 全球已报道的SCBV基因型有18个, 按英文字母顺序标记, 即SCBV-A~R (Wu等2016)。近年来, 在我国广西、广东、云南、福建、海南等蔗区均有检测到SCBV, 并发现该病毒存在多种系统进化组群或基因型混合侵染的现象, 该病害对我国甘蔗产业健康可持续发展已构成潜在威胁。本文就SCBV生物学及基因组的特性、遗传多样性、基因组编码的启动子功能和应用等方面的研究进展作一综述, 以期为该病害的生态防控和转基因抗病分子育种提供借鉴。

1 甘蔗杆状病毒的生物学特征

1.1 病毒粒子形态及传播方式

SCBV病毒粒子为杆状, 无包膜, 两端圆滑, 两边平行, 大小为30 nm×(130~150) nm (Bouhida等

1993; Geijskes等2002)。SCBV主要通过甘蔗红粉蚧(*Saccharicoccus sacchari*)和甘蔗灰粉蚧(*Dysmiococcus boninsis*)以半持久性方式进行传播, 可通过感病的甘蔗无性繁殖种茎进行长距离传播, 但难以通过收获工具等方式进行机械传播(Lockhart等1996; Lockhart和Autrey 2000)。虽然通过组培脱毒可有效去除甘蔗无性繁殖种茎的多种病毒, 但是SCBV很难通过组培方式脱毒(Lockhart等1996; Parmessur和Saumtally 2003)。

1.2 寄主及症状

杆状DNA病毒的寄主范围一般比较窄。但是SCBV在自然条件下除了能侵染甘蔗属中的热带种(*Saccharum officinarum*)、大茎野生种(*S. robustum*)、中国种(*S. sinensis*)、割手密(*S. spontaneum*)、印度种(*S. barberi*)、甘蔗属内种间杂交种(*S. spp. hybrids*)之外, 还能侵染假高粱(*Sorghum halepense*)、臂形草(*Brachiaria sp.*)、天竺草(*Panicum maximum*)、筒轴草(*Rottboellia exaltata*)。在实验条件下, SCBV也可侵染蔗茅属(*Erianthus sp.*)、水稻(*Oryza sativa*)、香蕉(*Musa sp.*)和高粱(*Sorghum vulgare*)等单子叶植物(Bouhida等1993; Braithwaite等1995; Lockhart等1996)。

收稿 2018-03-21 修定 2018-05-28

资助 国家现代农业产业技术体系(糖料)建设专项(CARS-170302)和福建省科技重大专项(2015NZ0002-2)。

* 通讯作者(gaosanji@yahoo.com)。

在多数情况下, SCBV侵染后甘蔗叶部会出现褪绿斑块、斑驳或各种长度的褪绿条纹, 叶片皱缩, 茎秆节间出现裂缝, 植株束顶矮化, 品质变劣和产量下降, 但是有些甘蔗品种在感染SCBV后, 植株并无明显症状(Lockhart等1996; Lockhart和Autrey 2000)。由甘蔗花叶病毒(*Sugarcane mosaic virus*, SCMV)、高粱花叶病毒(*Sorghum mosaic virus*, SrMV)和甘蔗条纹花叶病毒(*Sugarcane streak mosaic virus*, SCSMV)引起的花叶病也有类似这种病害症状(Luo等2016)。有研究表明SCBV与甘蔗花叶病毒混合侵染的情况下会产生协同作用, 使花叶病症状明显加重(Lockhart和Autrey 1988)。由于感染SCBV的植株无法单凭外部病害症状进行诊断, 这给该病毒病的防控、检疫和监测等方面工作带来严重的困扰。

2 SCBV基因组结构和编码蛋白功能

SCBV基因组为环状双链DNA, 大小为7.3~8.0 kb, 拥有典型的杆状DNA病毒属基因组结构, 通过病毒编码的反转录酶(reverse transcriptase, RT)进行复制, 正义链上包含3个开放阅读框(open reading frame, ORF), 分别编码3个蛋白P1、P2和P3(Bouhida等1993; Geering和Hull 2012)。ORF1与ORF2所编码的P1和P2蛋白的功能尚未清楚, 但在其同属的鸭跖草黄斑驳病毒(*Commelina yellow motile virus*, ComYMV)编码的P1蛋白可能与病毒粒子和植物细胞连接有关, 而P2蛋白可能与病毒粒子的装配有关(Cheng等1996; Vo等2016)。ORF3所编码的P3蛋白是一个多聚蛋白, 经剪切后形成外壳蛋白(coat protein, CP)、天冬氨酸蛋白酶(aspartic protease, AP)、RT、RNA酶H(RNase H, RH)和运动蛋白(movement protein, MP)等结构和功能蛋白(Bouhida等1993; Geijskes等2002; Geering和Hull 2012)。对12条SCBV全基因组分离物进行序列比对后, 发现其tRNA^{met}结合位点的19个核苷酸(TGG-TATCAGAGCGAGGT)具有高度保守性; 在3个ORFs编码的氨基酸中, P3蛋白含有的氨基酸数量差异最大, 变化幅度在1 786~1 912个氨基酸之间; 多数SCBV分离物P1和P2蛋白含有的氨基酸数量相对稳定, 分别为185和123个氨基酸, 但是法国分离物变异较大, 如: SCBGAV-R570和SCBGAV-51129

分离物ORF1均编码177个氨基酸, ORF2都编码135个氨基酸, 而SCBGDV-Batavia分离物ORF1和ORF2分别编码176和129个氨基酸(Muller等2011; Sun等2016)。此外, SCBV基因组在编码P2和P3蛋白时, 存在-1或者-4的移码翻译, 即ORF1的终止密码子与ORF2的起始密码子以及ORF2的终止密码子与ORF3的起始密码子之间都有存在1个或者4个碱基的重叠(Sun等2016)。

3 SCBV复合种群遗传多样性

与其他杆状DNA病毒属的成员一样, SCBV也具有高度的遗传多样性。对不同SCBV分离物的RT/RNase H片段进行限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析, 发现SCBV之间存在不同RFLP模式, 表明SCBV存在遗传多样性(Braithwaite等1995), 另外, 也存在不同血清学反应类型的株系(Lockhart等1996)。基于部分RT/RNase H序列分析结果, 将已报道的SCBV分离物划分成18个系统进化组群或基因型, 按英文字母顺序标记为SCBV-A~R。其中, 将来自法国瓜德罗普岛(Guadeloupe)的分离物划分成5个SCBV组群, 标记为SCBV-A、SCBV-B、SCBV-C、SCBV-D和SCBV-G; 将来自摩洛哥和澳大利亚的分离物分别标记为SCBV-E和SCBV-F组群(Muller等2011); 在印度发现6个SCBV组群, 标记为SCBV-H~M (Karuppaiah等2013; Rao等2014)。最近, 在中国发现5个新的SCBV组群, 标记为SCBV-N~R (Wu等2016)。

自1993年第一条SCBV全基因组报道以来, 至今已报道的SCBV全基因组有12条, 分别来自摩洛哥的sugarcane bacilliform MO virus-Morocco (SCBMOV-MOR) (Bouhida等1993), 澳大利亚的sugarcane bacilliform IM virus-Queensland (SCBIMV-QLD) (Geijskes等2002), 法国的SCBGDV-BataviaD、SCBGAV-B51129和SCBGAV-R570 (Muller等2011), 印度的SCBV-BB、SCBV-BO91、SCBV-BRU、SCBV-BT和SCBV-Iscam (Karuppaiah等2013)以及中国的SCBV-CHN1和SCBV-CHN2 (Sun等2016)。杆状DNA病毒属一般以RT/RNase H核苷酸序列的差异超过20%作为种的鉴定标准(Geering和Hull 2012)。鉴此, 国际病毒分类委员会(The International

Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)将SCB-MOV-MOR、SCBIMV-QLD、SCBGDV-BataviaD、SCBGAV-B51129和SCBGAV-R570分离物划分为4个不同SCBV病毒种,分别为*Sugarcane bacilliform MO virus* (SCBMOV)、*Sugarcane bacilliform IM virus* (SCBIMV)、*Sugarcane bacilliform Guadeloupe D virus* (SCBGDV)和*Sugarcane bacilliform Guadeloupe A virus* (SCBGAV) (Adams和Carstens 2012; Adams等2016)。

SCBV系统进化组群或基因型的分布与地理来源有一定相关性。如:在法国存在5种基因型,分别为SCBV-A~D和SCBV-G (Muller等2011);在印度存在7种基因型,分别为SCBV-E、SCBV-H~M (Karuppaiah等2013; Rao等2014);在巴西存在5种基因型,分别为SCBV-A、SCBV-C、SCBV-F、SCBV-H和SCBV-M (Silva等2011)。我们的研究结果发现在美国存在SCBV-L基因型,在澳大利亚除了SCBV-F,还存在SCBV-P和SCBV-Q基因型,在中国主要蔗区除了存在2个病毒种SCBMOV (SCBV-E)和SCBIMV (SCBV-F),还普遍存在多种SCBV株系,如SCBV-G、SCBV-H、SCBV-L、SCBV-N、SCBV-O~R,其中以SCBV-Q和SCBV-R株系为主,并且不同SCBV基因型混合侵染普遍存在(Wu等2016)。此外,国内其他课题组也证实在中国广东、云南、广西蔗区SCBV存在显著的遗传变异(蔡艳清等2004;李文凤等2010;徐正银等2015)。

4 SCBV检测方法

目前,SCBV检测方法有电子显微镜观察、血清学检测和PCR检测,后两种方法因快速、高效而被广泛采用。美国米尼苏达大学Lockhart教授较早利用电子显微镜观察该病毒粒子形态,随后利用免疫电镜(immunoelectron microscopy, IEM)进行病毒粒子的检测和鉴定,但是该方法耗时费力,且灵敏度低(Lockhart和Autrey 1988)。在血清学检测方法上,以SCBV-4M为特异性抗体的双夹心酶联免疫吸附测定(double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay, DAS-ELISA)和抗原直接包被酶联免疫吸附测定(direct antibody coating ELISA, DAC-ELISA)等检测技术已在SCBV检测上得到广泛应用(Lockhart等1996; Lockhart和Autrey

2000)。PCR是目前最常用的分子检测方法之一,最早应用的一对PCR检测引物是SCBV-F5和SCBV-R5,但该引物对仅能检测到有限的SCBV株系(Braithwaite等1995)。Yang等(2003a)根据杆状DNA病毒RT/RNase H的保守区域设计了一对通用检测引物BadnaFP和BadnaRP,但是存在假阳性和病毒株系漏检等现象(Yang等2003a; Wu等2016)。结合血清学反应和PCR技术建立的免疫捕捉PCR (immuno-capture polymerase chain reaction, IC-PCR)对法国瓜德罗普岛的61份甘蔗热带种及其种间杂交种的叶片进行检测,绝大多数样品检测为阳性,但由于SCBV序列遗传变异广泛,无法检测到所有株系(Muller等2011)。最近,我们根据已报道的SCBV基因组RT/RNase H保守序列设计了一对简并引物SCBV-F和SCBV-R,对来自中国、澳大利亚和美国的310份样品进行检测,可以有效地检测到多种SCBV基因型,其中有5个是首次报道的基因型,即SCBV-N~R (Wu等2016)。虽然荧光定量PCR技术已广泛用于植物病害检测,但目前尚无关于SCBV荧光定量PCR方法的报道。

当病毒基因组或片段整合到寄主基因组时,利用PCR方法检测病毒容易出现假阳性,而通过IC-PCR和滚环扩增方法(rolling-circle amplification, RCA)进行检测,可排除假阳性(James等2011; Le等2006)。由于IC-PCR检测需要病毒特异性抗体为诱饵,才能捕获到病毒,因此,在病毒检测的实践应用上存在一定的局限性(James等2011)。RCA技术是一种等温DNA扩增技术,通过 Φ 29 DNA聚合酶进行环状扩增,从而实现既能特异检测病毒,又能鉴别是否存在整合现象。有研究报道将RCA与RFLP技术相结合可以有效地区分出整合的和游离的香蕉条纹病毒(banana streak virus, BSV)序列,该方法已广泛应用于BSV检测(James等2011; Sharma等2015)。

5 SCBV分子进化动力

病毒在遗传进化过程中,为了适应新的生态环境和突破植物寄主抗性,种群不断分化产生新的株系(Nagy 2008; van der Walt等2009)。重组(recombination)是病毒进化的主要动力之一,会引起天然的植物病毒群体的改变,从而提高了病毒致病性、扩大寄主范围和克服宿主的抗性因子(Rooss-

inck 1997; van der Walt等2009)。在植物DNA病毒中,如双生病毒科(*Geminiviridae*)和花椰菜花叶病毒科,重组现象普遍发生,是其进化的主要动力(Padidam等1999; Nagy 2008)。有研究表明杆状DNA病毒属的成员之间存在重组事件,如SCBV与BSV之间存在重组现象(Sharma等2015)。前人的研究表明,SCBV与BSV之间序列高度相似,澳大利亚的SCBV和BSV分离物的RNase H序列一致性达90%,法国分离物SCBGAV-R570与SCBGAV-B51129和banana streak Obino l'Ewai virus分离物的RT/RNase H序列一致性达90%以上(Karuppaiah等2013)。这些结果支持了SCBV和BSV可能是同一种病毒来源的推测(Geering等2000; Karuppaiah等2013)。对12条SCBV基因组序列进行重组分析,发现重组区域主要发生在ORF3的N-端和C-端、基因间隔区域(intergenic region, IGR)和ORF1之间,存在种间和种内遗传重组,推测遗传重组是SCBV进化的主要动力之一(Sun等2016)。此外,通过群体遗传分析发现SCBV种群进化受到地理隔离和遗传瓶颈的影响,国际间或中国不同省(区)之间的SCBV种群不存在频繁的基因流,遗传分化明显,不同种群存在高度的遗传多样性(Wu等2016)。

6 SCBV病毒基因组是否整合到寄主基因组

通常DNA病毒存在将其基因组或片段整合到寄主基因组的现象,如:双生病毒科菜豆金色花叶病毒属(*Begomovirus*)的番茄金色花叶病毒(*Tomato golden mosaic virus*, TGMV)整合到烟草(*Nicotiana tabacum*)基因组上(Kenton等1995; Bejarano等1996);花椰菜花叶病毒科茄内源病毒属(*Solendovirus*)的烟草脉明病毒(*Tobacco vein clearing virus*, TVCV)整合到烟草杂交种毛叶烟(*N. edwardsonii*)基因组上(Lockhart等2000),杆状DNA病毒属BSV整合到香蕉基因组上(Ndowora等1999)以及碧冬茄病毒属(*Petuvirus*)的矮牵牛明脉病毒(*Petunia vein clearing virus*, PVCV)整合到矮牵牛(*Petunia hybrida*)基因组上(Richert-Pöggeler等2003)。杆状DNA病毒属BSV既能整合到香蕉的A基因组,也能整合到B基因组中,但这些整合进去的序列一般不会被激活;一般认为整合入A基因组的序列不会被激活,而整合入B基因组的序列会在某种特定的条件下

被激活,如组培或机械损伤,这些序列才会被激活,致使植株产生病害(Harper等1999; Ndowora等1999; Dallot等2001)。到目前为止,只发现4种BSV病毒序列能整合到香蕉基因组中,分别为*Banana streak OL virus* (BSOLV)、*Banana streak GF virus* (BSGFV)、*Banana streak MY virus* (BSMYV)和*Banana streak IM virus* (BSIMV)(Gayral等2008; James等2011)。目前,对于病毒的这种整合及激活机制尚未清楚,主要有两个假说用来解释这种现象:(1)病毒能编码整合酶,如在一些副逆转录病毒(pararetroviruses)中存在这种整合酶,能将其序列整合入寄主基因组中,但至今在BSV上还未发现这种酶的存在;(2)这种整合是一种随机的插入,序列通过这种方式来达到与寄主基因组的非法重组,在副逆转录病毒和双生病毒中有发现这种整合机制(Kenton等1995; Ndowora等1999; Lockhart等2000)。

SCBV是否整合到甘蔗基因组中仍存在争议。Geijskes等(2004)的研究指出,SCBV基因组片段并不会整合到甘蔗属热带种‘Ireng Maleng’品系的基因组中,但蔡艳清等(2009)克隆到一条SCBV-YS分离物,该病毒基因组ORF3发生片段缺失,通过Southern杂交分析,初步推测SCBV基因组有一段序列可能整合到甘蔗杂交品种‘新台糖25号’基因组。我们以SCBMOV-MOR基因组为探针,利用原位杂交技术对甘蔗属热带种‘Badila’品种中期染色体进行定位分析,并未发现该病毒基因组与‘Badila’基因组整合的现象(数据未发表)。

7 SCBV启动子克隆及应用

植物病毒由于其基因组序列和结构简单,病毒启动子容易克隆获得,且能高效驱动外源基因表达,因此已被广泛应用于基因工程研究。常见的病毒启动子是来自花椰菜花叶病毒科的成员(Mushegian和Shepherd 1995; Gao等2017),其中侵染双子叶植物的花椰菜花叶病毒(*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) 35S启动子是应用最广的病毒启动子(Gao等2017)。虽然35S启动子能在大部分双子叶植物转基因植株中驱动异源基因高效表达,但在甘蔗等单子叶植物上的表达活性相对较弱,不能与玉米泛素基因(*ubiquitin*, *Ubi*)启动子相媲美(Cornejo等1993; Gao等2017)。有研究表明,加强

型35S启动子虽然能够在单子叶植物中高效、稳定地驱动外源基因表达,但同时也会提高植物内源基因的表达,从而扰乱植物的正常生长发育,导致植物出现畸形等症状(朱丽萍等2010)。杆状DNA病毒属作为花椰菜花叶病毒科中最大的一个病毒属,其启动子的研究报道越来越多,这些启动子在单子叶和双子叶植物转基因植株均能高效表达,具有组织特异性,如在植物维管组织中特异表达(Medberry等1992; Schenk等1999, 2001; Yang等2003b; Gao等2017)。

SCBV启动子位于病毒基因组基因间隔区域,具有启动子的一般特征,包括转录起始位点(transcription start site, TSS)、一个TATA-box和一些特异性的顺式作用元件(Gao等2017)。SCBV启动子的5'端RT/RNase H区域并不会影响启动子的表达活性,而第二个假定的启动子区域(putative promoter region)是SCBV启动子的关键区域(Tzafrir等1998; Braithwaite等2004; Gao等2017)。SCBV启动子在许多单子叶和双子叶植物甘蔗、甜高粱、香蕉、小麦、大麦、利马豆、拟南芥和烟草转基因植株上均能保持高效的启动子活性。目前已报道的3个SCBV启动子分别来自是SCBMOV-MOR、SCBIMV-QLD和SCBV-TX分离物,由于序列存在明显的差异,这3个启动子在功能及表达模式上也存在差异(Tzafrir等1998; Schenk等1999; Al-Saad等2004; Braithwaite等2004; Gao等2017)。尽管SCBMOV-MOR启动子在单子叶和双子叶植物转基因植株中均保持高效的启动子活性,但在不同转基因植物中呈现不一样的表达特性。如:在大多数转基因植株的组织中,燕麦和大麦的*GUS*报告基因活性高于小麦;在香蕉转基因植株根部中SCBMOV-MOR启动子呈现组织特异性,在根部的维管组织高效表达,但在烟草转基因植株中却呈现组成型启动子的特性(Schenk等1999; Al-Saad等2004)。SCBIMV-QLD启动子驱动*GUS*报告基因在甘蔗转基因植株的叶片、顶端分生组织和根部中高效表达(Braithwaite等2004),而SCBV-TX分离物启动子(*SCBV2I*)在甘蔗转基因植株蔗茎的表达活性明显高于蔗叶和根部,尤其在蔗茎维管束和薄壁细胞上高效表达(Gao等2017)。

有研究表明,SCBIMV启动子存在一段增强子

区域,位于启动子TSS的上游153~434处,该区域序列与玉米的乙醇脱氢酶1基因(*maize alcohol dehydrogenase 1, ZmADH1*)启动子串联,使玉米外源基因萤火虫荧光素酶基因(*firefly luciferase, LUC*)的表达活性提高了5倍,而将4个SCBIMV增强子序列串联后再与水稻肌动蛋白基因(*Oryza sativa actin, OsActin*)启动子串联,发现该增强子还可激活转基因玉米外源T-DNA插入位点上游或下游附近的内源基因转录本的表达水平(Davies等2014)。

8 展望

目前,SCBV分子生物学的研究主要集中在病毒分子检测、遗传多样性和系统进化分析、病毒启动子克隆和功能鉴定等方面的研究,其致病机制和与寄主互作机理尚未见报道。植物可通过RNA沉默(RNA silencing)机制,降解病毒RNA或抑制病毒基因的转录,抵抗病毒入侵;而病毒在与植物长期共进化过程中,病毒编码一个或多个沉默抑制子(RNA silencing suppressor)来抑制植物这种天然免疫机制,从而实现对植物的有效侵染。Laird等(2013)和Rajeswaran等(2014)报道,花椰菜花叶病毒科的CaMV编码的P6蛋白和水稻东格鲁杆状病毒(*Rice tungro bacilliform virus, RTBV*)编码的P4蛋白具有沉默抑制子功能,SCBV是否也存在通过编码沉默抑制子来拮抗寄主RNA沉默,从而逃脱植物这种防卫反应值得探索。

基因工程为植物遗传改良和基因功能验证提供了一种重要手段,但基因的稳定表达却常常受到转录基因沉默(transcriptional gene silencing, TGS)或转录后基因沉默(post-transcriptional gene silencing, PTGS)的制约(Ingelbrecht等1999; Birch等2010)。在基因表达过程中,启动子是影响基因表达水平的关键因素之一(Birch等2010; Peremarti等2010)。同源的启动子在转基因植株中容易产生启动子甲基化,导致外源基因表达活性降低,甚至基因沉默。挖掘更多的不同病毒来源的启动子,为基因工程提供更多可供选择的启动子具有重要的理论和实践意义。由于SCBV复合种群存在高度遗传变异性,其启动子结构和序列也同样具有显著差异,不同株系病毒启动子在功能及表达模式上是否有差异,还有待进一步系统研究。

参考文献(References)

- Adams MJ, Carstens EB (2012). Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2012). *Arch Virol*, 157 (7): 1411–1422
- Adams MJ, Lefkowitz EJ, King AM, et al (2016). Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2016). *Arch Virol*, 161 (10): 2921–2949
- Al-Saady NA, Torbert KA, Smith L, et al (2004). Tissue specificity of the sugarcane bacilliform virus promoter in oat, barley and wheat. *Mol Breeding*, 14 (3): 331–338
- Autrey LJC, Boolell LJC, Jones S, et al (1995). The distribution of sugarcane bacilliform virus in various geographical regions. *Proc Int Soc Sugar Cane Technol*, 21: 527–541
- Bejarano ER, Khashoggi A, Witty M, et al (1996). Integration of multiple repeats of geminiviral DNA into the nuclear genome of tobacco during evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93 (2): 759–764
- Birch RG, Shen B, Sawyer BJ, et al (2010). Evaluation and application of a luciferase fusion system for rapid *in vivo* analysis of RNAi targets and constructs in plants. *Plant Biotechnol J*, 8 (4): 465–475
- Bouhida M, Lockhart BEL, Olszewski NE (1993). An analysis of the complete sequence of a sugarcane bacilliform virus genome infectious to banana and rice. *J Gen Virol*, 74 (1): 15–22
- Braithwaite KS, Egeskov N, Smith G (1995). Detection of sugarcane bacilliform virus using the polymerase chain reaction. *Plant Dis*, 79 (8): 792–796
- Braithwaite KS, Geijskes RJ, Smith GR (2004). A variable region of the sugarcane bacilliform virus (SCBV) genome can be used to generate promoters for transgene expression in sugarcane. *Plant Cell Rep*, 23 (5): 319–326
- Cai YQ, Xu DL, Zhou GH, et al (2004). First report of sugarcane bacilliform virus in China. In: *Proceedings of the Annual Meeting of Chinese Society for Plant Pathology*. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 213–215 (in Chinese) [蔡艳清, 许东林, 周国辉等 (2004). 广东首次发现甘蔗秆状病毒. 见: 中国植物病理学会2004年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 213–215]
- Cai YQ, Xu DL, Zhou GH (2009). Evidence of sugarcane bacilliform virus DNA fragment integrated into the *Saccharum* inter-specific hybrids genome. *J South Chin Agric Univ*, 30 (4): 19–23 (in Chinese with English abstract) [蔡艳清, 许东林, 周国辉(2009). 甘蔗秆状病毒基因组片段整合入杂种甘蔗基因组的证据. *华南农业大学学报*, 30 (4): 19–23]
- Cheng CP, Lockhart BEL, Olszewski NE (1996). The ORF I and II proteins of *Commelina yellow mottle virus* are virus-associated. *Virology*, 223 (2): 263–271
- Cornejo MJ, Luth D, Blankenship KM, et al (1993). Activity of a maize ubiquitin promoter in transgenic rice. *Plant Mol Biol*, 23 (3): 567–581
- Dallot S, Acuña P, Rivera C, et al (2001). Evidence that the proliferation stage of micropropagation procedure is determinant in the expression of banana streak virus integrated into the genome of the FHIA 21 hybrid (*Musa AAAB*). *Arch Virol*, 146 (11): 2179–2190
- Davies JP, Reddy V, Liu XL, et al (2014). Identification and use of the sugarcane bacilliform virus enhancer in transgenic maize. *BMC Plant Biol*, 14 (1): 359–360
- Gao S, Damaj MB, Park J, et al (2017). A novel sugarcane bacilliform virus promoter confers gene expression preferentially in the vascular bundle and storage parenchyma of the sugarcane culm. *Biotechnol Biofuels*, 10 (1): 172
- Gayral P, Noa-Carrazana JC, Lescot M, et al (2008). A single banana streak virus integration event in the banana genome as the origin of infectious endogenous pararetrovirus. *J Virol*, 82 (13): 6697–6710
- Geering ADW, Hull R (2012). Family *Caulimoviridae*. In: King AMQ, Adams MJ, Carestens EB, et al (eds). *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier, 424–443
- Geering ADW, McMichael L, Dietzgen RG, et al (2000). Genetic diversity among banana streak virus isolates from Australia. *Virology*, 90 (8): 921–928
- Geering ADW, Pooggin MM, Olszewski NE, et al (2005). Characterisation of banana streak Mysore virus and evidence that its DNA is integrated in the B genome of cultivated *Musa*. *Arch Virol*, 150 (4): 787–796
- Geijskes RJ, Braithwaite KS, Dale JL, et al (2002). Sequence analysis of an Australian isolate of sugarcane bacilliform badnavirus. *Arch Virol*, 147 (12): 2393–2404
- Geijskes RJ, Braithwaite KS, Smith GR, et al (2004). Sugarcane bacilliform virus encapsidates genome concatamers and does not appear to integrate into the *Saccharum officinarum* genome. *Arch Virol*, 149 (4): 791–798
- Harper G, Osuji JO, Heslop-Harrison JS, et al (1999). Integration of banana streak badnavirus into the *Musa* genome: molecular and cytogenetic evidence. *Virology*, 255 (2): 207–213
- Ingelbrecht IL, Irvine JE, Mirkov TE (1999). Posttranscriptional gene silencing in transgenic sugarcane. Dissection of homology-dependent virus resistance in a monocot that has a complex polyploid genome. *Plant Physiol*, 119 (4): 1187–1198
- James AP, Geijskes RJ, Dale JL, et al (2011). Development of a novel rolling-circle amplification technique to detect banana streak virus that also discriminates between integrated and episomal virus sequences. *Plant Dis*, 95 (1):

- 57–62
- Karuppaiah R, Viswanathan R, Kumar VG (2013). Genetic diversity of sugarcane bacilliform virus isolates infecting *Saccharum* spp. in India. *Virus Genes*, 46 (3): 505–516
- Kenton A, Khashoggi A, Parokonny A, et al (1995). Chromosomal location of endogenous geminivirus-related DNA sequences in *Nicotiana tabacum* L. *Chromosome Res*, 3 (6): 346–350
- Laird J, McNally C, Carr C, et al (2013). Identification of the domains of *Cauliflower mosaic virus* protein P6 responsible for suppression of RNA silencing and salicylic acid signalling. *J Gen Virol*, 94 (Pt 12): 2777–2789
- Le PG, Iskra CMI, Teycheney PY (2006). Improved detection of episomal banana streak viruses by multiplex immunocapture PCR. *J Virol Methods*, 137 (1): 7–13
- Li WF, Huang YK, Jiang DM, et al (2010). Detection of sugarcane bacilliform virus isolate and its influence on yield and quality of cane in Yunnan. *Acta Phytopathol Sin*, 40 (6): 651–654 (in Chinese with English abstract) [李文凤, 黄应昆, 姜冬梅等(2010). 云南甘蔗杆状病毒的分子检测及其对甘蔗品质和产量的影响. *植物病理学报*, 40 (6): 651–654]
- Lockhart BEL, Autrey LJC (1988). Occurrence in sugarcane of a bacilliform virus related serologically to banana streak virus. *Plant Dis*, 72 (3): 230–233
- Lockhart BEL, Autrey LJC (2000). Sugarcane bacilliform virus. In: Rott P, Bailey RA, Comstock JC, et al (eds). *A Guide to Sugarcane Diseases*. Montpellier: CIRAD-ISSCT Press, 268–272
- Lockhart BEL, Irely MJ, Comstock JC (1996). Sugarcane bacilliform virus, sugarcane mild mosaic virus and sugarcane yellow leaf syndrome. In: Croft BJ, Piggin CT, Wallis ES, et al (eds). *Sugarcane Germplasm Conservation and Exchange*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR), 108–112
- Lockhart BEL, Menke J, Dahal G, et al (2000). Characterization and genomic analysis of tobacco vein clearing virus, a plant pararetrovirus that is transmitted vertically and related to sequences integrated in the host genome. *J Gen Virol*, 81 (6): 1579–1585
- Luo Q, Ahmad K, Fu HY, et al (2016). Genetic diversity and population structure of *Sorghum mosaic virus* infecting *Saccharum* spp. hybrids. *Ann Appl Biol*, 169 (3): 398–407
- Medberry SL, Lockhart BEL, Olszewski NE (1992). The *Commelina yellow mottle virus* promoter is a strong promoter in vascular and reproductive tissues. *Plant Cell*, 4 (2): 185–192
- Muller E, Dupuy V, Blondin L, et al (2011). High molecular variability of sugarcane bacilliform viruses in Guadeloupe implying the existence of at least three new species. *Virus Res*, 160 (1–2): 414–419
- Mushegian AR, Shepherd RJ (1995). Genetic elements of plant viruses as tools for genetic engineering. *Microbiol Rev*, 59 (4): 548–578
- Nagy P (2008). Recombination in plant RNA viruses. In: Roossinck MJ (ed). *Plant Virus Evolution*. New York: Springer-Verlag, 133–156
- Ndowora T, Dahal G, Lafleur D, et al (1999). Evidence that badnavirus infection in *Musa* can originate from integrated pararetroviral sequences. *Virology*, 255 (2): 214–220
- Padidam M, Sawyer SA, Fauquet CM (1999). Possible emergence of new geminiviruses by frequent recombination. *Virology*, 265 (2): 218–225
- Parmessur Y, Saumtally A (2003). Elimination of *Sugarcane yellow leaf virus* and sugarcane bacilliform virus by tissue culture. In: Lalouette JA, Bachraz DY (eds). *Proceedings of the Fifth Annual Meeting of Agricultural Scientist, Réduit, Mauritius*. Réduit: Food and Agricultural Research Council (FARC) Bachraz, 127–133
- Peremarti A, Twyman RM, Gómez-Galera S, et al (2010). Promoter diversity in multigene transformation. *Plant Mol Biol*, 73 (4–5): 363–378
- Quainoo AK, Wetten AC, Allainguillaume J (2008). The effectiveness of somatic embryogenesis in eliminating the cocoa swollen shoot virus from infected cocoa trees. *J Virol Methods*, 149 (1): 91–96
- Rajeswaran R, Golyaev V, Seguin J, et al (2014). Interactions of rice tungro bacilliform pararetrovirus and its protein P4 with plant RNA-silencing machinery. *Mol Plant Microbe Interact*, 27 (12): 1370–1378
- Rao GP, Sharma SK, Singh D, et al (2014). Genetically diverse variants of sugarcane bacilliform virus infecting sugarcane in India and evidence of a novel recombinant badnavirus variant. *J Phytopathol*, 162 (11–12): 779–787
- Richert-Pöggeler KR, Noreen F, Schwarzacher T, et al (2003). Induction of infectious petunia vein clearing (pararetro) virus from endogenous provirus in petunia. *EMBO J*, 22 (18): 4836–4845
- Roossinck MJ (1997). Mechanisms of plant virus evolution. *Annu Rev Phytopathol*, 35 (35): 191–209
- Schenk PM, Remans T, Sági L, et al (2001). Promoters for pregenomic RNA of banana streak badnavirus are active for transgene expression in monocot and dicot plants. *Plant Mol Biol*, 47 (3): 399–412
- Schenk PM, Sagi L, Remans T, et al (1999). A promoter from sugarcane bacilliform badnavirus drives transgene expression in banana and other monocot and dicot plants. *Plant Mol Biol*, 39 (6): 1221–1230
- Sharma SK, Kumar PV, Geetanjali AS, et al (2015). Subpopulation level variation of banana streak viruses in India and common evolution of banana and sugarcane badnaviruses. *Virus Genes*, 50 (3): 450–465
- Silva JMD, Jobim LJ, Ramos-Sobrinho R, et al (2015). In-

- vidence and species diversity of badnaviruses infecting sugarcane from a germplasm collection in Brazil. *Trop Plant Pathol*, 40 (3): 212–217
- Sun SR, Damaj MB, Alabi OJ, et al (2016). Molecular characterization of two divergent variants of sugarcane bacilliform viruses infecting sugarcane in China. *Eur J Plant Pathol*, 145 (2): 375–384
- Tzafrir I, Torbert KA, Lockhart BEL, et al (1998). The sugarcane bacilliform badnavirus promoter is active in both monocots and dicots. *Mol breeding*, 38 (3): 347–356
- van der Walt E, Rybicki EP, Varsani A, et al (2009). Rapid host adaptation by extensive recombination. *J Gen Virol*, 90 (Pt 3): 734–746
- Vo JN, Campbell PR, Mahfuz NN, et al (2016). Characterization of the banana streak virus capsid protein and mapping of the immunodominant continuous B-cell epitopes to the surface-exposed N terminus. *J Gen Virol*, 97 (12): 3446–3457
- Wu XB, Alabi OJ, Damaj MB, et al (2016). Prevalence and RT/RNase H genealogy of sugarcane bacilliform virus isolates from China. *J Phytopathol*, 164 (9): 595–607
- Xu ZY, Zhou LW, Tang Y, et al (2015). Molecular detection and distribution of sugarcane bacilliform virus in Guangxi. *J Southern Agric*, 46 (11): 1980–1984 (in Chinese with English abstract) [徐正银, 周龙武, 唐瑶等 (2015). 广西甘蔗秆状病毒的分子检测及分布调查. *南方农业学报*, 46 (11): 1980–1984]
- Yang IC, Hafner GJ, Revill PA, et al (2003a). Sequence diversity of South Pacific isolates of *Taro bacilliform virus* and the development of a PCR-based diagnostic test. *Arch Virol*, 148 (10): 1957–1968
- Yang IC, Iommarini JP, Becker DK, et al (2003b). A promoter derived from taro bacilliform badnavirus drives strong expression in transgenic banana and tobacco plants. *Plant Cell Rep*, 21 (12): 1199–1206
- Zhu LP, Yu Z, Zou CX, et al (2010). Plant stress-inducible promoters and their function. *Hereditas*, 32 (3): 229–234 (in Chinese with English abstract) [朱丽萍, 于壮, 邹翠霞等 (2010). 植物逆境相关启动子及功能. *遗传*, 32 (3): 229–234]

Research advances in sugarcane bacilliform virus and its encoded promoter

SUN Sheng-Ren¹, ZHANG Hui-Li¹, WU Xiao-Bin², GAO San-Ji^{1,*}

¹National Engineering Research Center for Sugarcane, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

²Guangdong Provincial Bioengineering Institute (Guangzhou Sugarcane Industry Research Institute), Guangzhou 510316, China

Abstract: Sugarcane bacilliform virus (SCBV; genus *Badnavirus*, family *Caulimoviridae*), an important pathogen infecting sugarcane, is prevalent throughout most sugarcane-producing regions and countries. SCBV causes yield losses and decreases juice quality of sugarcane, posing a potential threat to the sugarcane industry. The genome is circular, double-stranded, and 7.3–8.0 kilobase pairs in length. The genomic sequences of SCBV isolates are highly variable and 18 SCBV genotypes/strains (from SCBV-A to -R) have been reported worldwide. The four species, *Sugarcane bacilliform MO virus* (SCBMOV), *Sugarcane bacilliform IM virus* (SCBIMV), *Sugarcane bacilliform Guadeloupe A virus* (SCBGAV) and *Sugarcane bacilliform Guadeloupe D virus* (SCBG-DV) were assigned to the genus *Badnavirus* by the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). The SCBV genome contains three open reading frames (ORFs) and a putative promoter region that is located at the intergenic region (IGR) between the 3' end of ORF3 and the 5' end of ORF1. Research advances in SCBV and its putative promoter functions are reviewed including aspects of viral biology characteristics, methods of detection, genetic diversity, genomic structure and viral promoter. This review will provide valuable insight into further research of SCBV.

Key words: *Badnavirus*; sugarcane bacilliform virus; genetic diversity; genomic construct; viral promoter

Received 2018-03-21 Accepted 2018-05-28

This work was supported by Sugar Crop Research System, CARS (CARS-170302) and Major Science and Technology Project of Fujian Province, China (2015NZ0002-2).

*Corresponding author (gaosanji@yahoo.com).