

番茄黄化曲叶病毒的鉴定与群体进化分析

周莹¹, 尚巧霞², 罗晨¹, 乔广行¹, 刘梅¹, 张玮¹, 燕继晔^{1*}

(1. 北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100097; 2. 北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206)

摘要 番茄黄化曲叶病(tomato yellow leaf curl disease, TYLCD)是番茄上的重要病害,可由多种双生病毒引起。为了明确北京地区番茄黄化曲叶病的病毒种类和病毒基因组变异情况,本研究收集了51个采自北京不同区县的病毒疑似样品,进行了双生病毒的检测及分离物的基因组分析。经双生病毒简并引物检测25个样品呈阳性;扩增获得10个代表性分离物的全基因组,大小均为2 781 bp,共含有6个开放阅读框;经比对,10个分离物与 *Tomato yellow leaf curl virus-Israel* (TYLCV-IL)同源率大于99%;基于我国TYLCV分离物全基因组序列的变异分析表明,TYLCV在进化上比较保守,整个基因组上的变异是不均匀的;系统发育树显示我国TYLCV分离物在进化树上可分为3个组群,分析了我国TYLCV群体进化情况。

关键词 双生病毒鉴定; 基因组变异; 系统发育

中图分类号: S 432.4 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2016.01.018

Identification and evolutionary analysis of *Tomato yellow leaf curl virus* isolates in China

Zhou Ying¹, Shang Qiaoxia², Luo Chen¹, Qiao Guanghang¹, Liu Mei¹, Zhang Wei¹, Yan Jiye¹

(1. *Institute of Plant and Environmental Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China*; 2. *Plant Science and Technology College, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China*)

Abstract Tomato yellow leaf curl disease(TYLCD)is an important disease of tomato caused by many geminivirus-es. A geminivirus was found in 25 of the 51 samples collected in Beijing, and complete genome sequences of 10 isolates were determined. All of the sequences contained 2 781 nucleotides encoding six proteins and shared more than 99% nucleotide identity with *Tomato yellow leaf curl virus-Israel*(TYLCV-IL). Genetic analysis based on the genome sequence of TYLCV isolates in China revealed that TYLCV had little genetic variability, and phylogenetic analyses showed that they clustered into three groups.

Key words identification of geminivirus; genetic variation of genome; phylogenetic analysis

番茄黄化曲叶病(tomato yellow leaf curl disease, TYLCD)是世界范围内引起番茄严重减产的重要病害,该病害由双生病毒科病毒侵染引起。双生病毒科(*Geminiviridae*)病毒是一类具有孪生颗粒形态的单链环状DNA病毒,国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)第九次报告中将双生病毒科病毒分成7个属^[1],其中菜豆金色黄花叶病毒属(*Begomovirus*)的成员最多。该属成员多数为双组分基因组,含有2条大小为2.5~3.0 kb的DNA分子,即DNA-A

和DNA-B;少数成员为单组分,其基因组结构类似于双组分的DNA-A,大小约2.8 kb^[2],单个组分就能侵染致病,如番茄黄化曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)^[3];还有一些单组分的病毒伴随有一种卫星分子DNA β ,两者必须共同侵染才能引起典型症状^[4-5]。

番茄被双生病毒侵染后,主要表现为曲叶、斑驳、黄化、节间缩短以及植株矮化等症状。即使症状相似,引起番茄黄化曲叶病的病原也可能不同;引起番茄黄化曲叶的病毒种类较为复杂,同一地区的番

收稿日期: 2015-01-15

修订日期: 2015-03-25

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201003065);北京市农林科学院青年科研基金(QNJJ 201320)

* 通信作者 E-mail:jiyeyan@gmail.com

茄往往被多种双生病毒所侵染。Fauquet 等报道番茄至少受到 60 多种双生病毒的侵染^[6],在我国侵染番茄的双生病毒至少有 9 种,包括番茄黄化曲叶病毒(TYLCV)^[7]、中国番茄黄化曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl China virus*, TYLCCNV)^[5]、广东番茄黄化曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl Guangdong virus*, ToYLCGDV)^[8]、泰国番茄黄化曲叶病毒(*Tomato yellow leaf curl Thailand virus*, TYLCTHV)^[9]、中国番茄曲叶病毒(*Tomato leaf curl China virus*, ToLCCNV)^[10]、海南番茄曲叶病毒(*Tomato leaf curl Hainan virus*, ToLCHnV)^[11]、台湾番茄曲叶病毒(*Tomato leaf curl Taiwan virus*, ToLCT-WV)^[12]、中国番木瓜曲叶病毒(*Papaya leaf curl China virus*, PaLCuCNV)^[13]和烟草曲茎病毒(*Tobacco curly shoot virus*, TbCSV)^[14]等。

TYLCV 是番茄上发生很普遍的一种双生病毒,我国于 2006 年在上海首次发现^[7],随后由南向北扩散^[15-20],给番茄生产造成了严重影响。国际病毒委员会根据地区和序列的不同将 TYLCV 分为以下几个株系:*Tomato yellow leaf curl virus*-Gezira (TYLCV-Gez)、*Tomato yellow leaf curl virus*-Mild (TYLCV-MLD)、*Tomato yellow leaf curl virus*-Iran (TYLCV-IR)、*Tomato yellow leaf curl virus*-Israel (TYLCV-IL)和 *Tomato yellow leaf curl virus*-Oman (TYLCV-OM)^[6]。2009 年北京地区首次报道了 TYLCD 的发生^[16],随后宋晰等确定北京的优势株系为 TYLCV-IL 株系^[21]。为进一步明晰近几年北京地区 TYLCD 病原种类变化以及病毒基因组变异进化等情况,我们于 2011 年—2013 年分别在北京不同区县采集 TYLCD 疑似病株,进行了病毒鉴定及分离物基因组序列分析。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2011 年—2013 年分别在北京延庆、平谷、顺义、大兴、房山以及通州的日光温室和大棚中采集表现疑似病毒症状的番茄叶片,保存于-80℃冰箱。样品编号详见结果部分。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂

基因组 DNA 快速提取试剂盒和琼脂糖凝胶 DNA 快速纯化回收试剂盒;dNTPs、Ex Taq DNA

聚合酶、载体 pMD18-T、连接酶、大肠杆菌(*Escherichia coli*) DH5α 为 TaKaRa 公司产品。

1.2.2 番茄样品总 DNA 的提取

样品 DNA 使用 TaKaRa MiniBEST Plant Genomic DNA Extraction Kit 提取,按照试剂盒说明书操作。

1.2.3 引物合成

参照 GenBank 中报道的危害番茄的双生病毒 DNA-A 序列,通过 Blastn 比对,根据其序列保守区,设计了 3 对扩增引物,F1/R1 用于检测或扩增 DNA-A 部分区域,与 F6/R6 扩增片段拼接获得全长;F4/R5 可扩增 DNA-A 全长。引物由上海生工生物技术有限公司合成。引物序列见表 1。

表 1 用于检测和扩增双生病毒序列的引物¹⁾

Table 1 Primers used for detection and amplification of geminiviruses			
引物名称	Primer	引物序列(5'-3')	Sequence
F1		GATTGCADAGGAAGATAGT	
R1		GCACAATTWCCATCCRAAC	
F6		CGGATGGAAATTGTGCTGA	
R6		ACTATCTTCCTCTGCAATC	
F4		GAATGTTTCGGATGGAAATGTGC	
R5		CAGGCAGCTAAGAGCTCAACAG	

1) R=A/G, W=A/T, D=A/G /T.

1.2.4 PCR 扩增、克隆及测序

PCR 反应体系:10×PCR 反应缓冲液 5 μL,2.5 mmol/L dNTPs 4 μL,20 μmol/L 上下游引物各 2 μL,Ex Taq 酶 0.5 μL,基因组 DNA 1 μL,加 ddH₂O 至总体积到 50 μL。充分混匀后于 PCR 仪上进行反应。引物 F1 和 R1 PCR 程序:94℃ 预变性 4 min;94℃ 变性 45 s,53℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 45 s,30 个循环;72℃ 延伸 5 min。引物 F6 和 R6 的 PCR 程序:94℃ 预变性 4 min;94℃ 变性 45 s,60℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 45 s,30 个循环;72℃ 延伸 10 min。引物 F4 和 R5 的 PCR 程序:94℃ 预变性 4 min;94℃ 变性 45 s,53℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 90 s,30 个循环;72℃ 延伸 10 min。PCR 反应以测序样品为阳性对照,以健康植株为阴性对照。

将 PCR 产物回收克隆到载体 pMD18-T 上,筛选阳性克隆,委托博迈德科技发展有限公司测序。

1.2.5 序列分析

引物 F1/R1 的扩增片段与引物 F6/R6 扩增片段利用 DNAMAN 软件 (Version 6.0) 拼接获得基

因组全长序列;DnaSP 软件 (Version 5) 进行分离物全基因组序列的变异分析;进化树采用 MEGA (Version 5. 05) 软件 neighbor-joining 方法构建。用于序列分析的 GenBank 序列见表 2。

表 2 用于系统进化及同源性分析的双生病毒来源及基因组序列
Table 2 GenBank sequences used in phylogenetic and homology analysis

病毒/分离物 Isolate name	地点 Location	登录号 Accession no.	病毒/分离物 Isolate name	地点 Location	登录号 Accession no.
TYLCV- Israel_China (TYLCV-IL)	中国上海	AM282874	TYLCV-HBSJZ1	中国河北	KF612971
TYLCV-IR	伊朗	AJ132711	TYLCV-HNHJ	中国河南	JQ004048
TYLCV-MLD	日本	DD033365	TYLCV-HNKF	中国河南	JQ004049
TYLCV-Gez	苏丹	AY044138	TYLCV-HNNH	中国河南	JN990925
TYLCV-OM	阿曼	DQ644565	TYLCV-HNZZ	中国河南	KC312661
TYLCCNV-Chu	中国云南	AJ457985	TYLCV-HuBWH1	中国湖北	KC312659
TYLCGdV	中国广州	AY602166	TYLCV-HuBWH2	中国湖北	KC312660
TYLCThV	中国云南	AJ495812	TYLCV-JLSY	中国吉林	KC702798
TYLCV-Israel_ Cuba	古巴	AJ223505	TYLCV-JS	中国江苏	KF906542
TYLCV-Israel_ Dominican	多米尼加	AF024715	TYLCV-JSNJ	中国江苏	KC312662
TYLCV-Israel_ Egypt	埃及	AY594174	TYLCV-JSNJ1	中国江苏	FN256259
TYLCV-Israel_ Israel	以色列	X15656	TYLCV-LNAS	中国辽宁	KJ754186
TYLCV-Israel_ Italy	意大利	DQ144621	TYLCV-LNBX	中国辽宁	KJ754187
TYLCV-Israel_ Japan	日本	AB192966	TYLCV-LNhud1	中国辽宁	KJ140787
TYLCV-Israel_ Jordan	约旦	EF054893	TYLCV-SDLC	中国山东	KC312664
TYLCV-Israel_ Lebanon	黎巴嫩	EF051116	TYLCV-SDSG	中国山东	KC999843
TYLCV-Israel_ Mexico	墨西哥	DQ631892	TYLCV-SDWF	中国山东	KC312666
TYLCV-Israel_ Morocco	摩洛哥	EF060196	TYLCV-SH	中国上海	GU434141
TYLCV-Israel_ Puerto	波多黎各	AY134494	TYLCV-SH2	中国上海	KC312668
TYLCV-Israel_ Spain	西班牙	AJ489258	TYLCV-SHXXA1	中国陕西	KC312669
TYLCV-Israel_ Tunisia	突尼斯	EF101929	TYLCV-SHXXA2	中国陕西	KC312670
TYLCV-Israel_ Turkey	土耳其	AJ812277	TYLCV-SX8	中国山西	JN412854
TYLCV-Israel_ US	美国	AY530931	TYLCV-SX73	中国山西	JX997798
TYLCV-AH	中国安徽	GU434142	TYLCV-TJ	中国天津	GU563330
TYLCV-GDGY	中国广东	KF356163	TYLCV-XJKS	中国新疆	JX456638
TYLCV-GDSS	中国广东	JQ867092	TYLCV-XJKS1	中国新疆	KC428753
TYLCV-HB01	中国河北	KJ850344	TYLCV-ZJHZ	中国浙江	KC312671
TYLCV-HBFN	中国河北	KC702797	TYLCV-ZJHZ1	中国浙江	FN252890
TYLCV-HBSJZ	中国河北	KC312657	TYLCV-ZJHZ12	中国浙江	FN256256

2 结果与分析

2.1 样品检测

以番茄叶片总 DNA 为模板,利用引物 F1/R1 对采集的 51 个样品进行 PCR 检测,其中 25 个样品扩增得到约 660 bp 特异条带,检出率为 49%(表 1)。

2.2 DNA 全序列特征及北京地区优势株系初步分析

选择代表性样品 YQ11 - 1、PG11 - 4、SY13 - 2、DX13 - 1、DX13 - 9、FS13 - 2、FS13 - 3、FS13 - 5、FS13 -

10 和 TZ13 - 1 等 10 个分离物进行全基因组序列测定,通过 PCR 扩增、克隆及测序,10 个分离物基因组大小均为 2 781 bp(登录号见表 4),具有典型的双生病毒基因组特征:闭合环状的单链 DNA,共编码 6 个开放阅读框(ORF)。10 个病毒分离物间同源率为 99. 41%,通过 NCBI 比对,与 TYLCV 同源性很高;经与 TYLCV 主要株系进行同源性比对发现(图 1),这些来源于北京不同区县的病毒分离物与 TYLCV-IL 株系同源率高达 99%,推断目前北京地区引起 TYL-CD 的病原为 TYLCV,优势株系为 TYLCV-IL。

表 3 样品采集信息及带毒情况

Table 3 Sampling details and detection results of collected samples

采集地点 Region	采集时间/年 Sampling time	样品编号 Tomato sample	检测数量/个 No. of tested sample	阳性数量/个 No. of positive sample
延庆 Yanqing	2011	YQ11-1~YQ11-8	8	5
平谷 Pinggu	2011	PG11-1~PG11-6	6	2
顺义 Shunyi	2012	SY13-1~SY13-12	12	1
大兴 Daxing	2013	DX13-1~DX13-11	11	6
房山 Fangshan	2013	FS13-1~FS13-11	11	8
通州 Tongzhou	2013	TZ13-1~TZ13-3	3	3
合计 Total			51	25

表 4 TYLCV 北京分离物 GenBank 登录信息

Table 4 GenBank accession numbers of
TYLCV isolates from Beijing

TYLCV 分离物 Isolate of TYLCV	登录号 GenBank accession number
YQ11-1	KJ879950
PG11-4	KM506959
SY13-2	KM506961
DX13-1	KM506947
DX13-9	KM506949
FS13-2	KJ879948
FS13-3	KM506950
FS13-5	KM506952
FS13-10	KM506958
TZ13-1	KJ879949

2.3 我国 TYLCV 分离物进化变异分析

将来自北京的 10 个 TYLCV 分离物全序列与我国其他地区 TYLCV 分离物全序列进行比对,发现其同源率高达 98.94%,说明 TYLCV 在进化上比较保守。为进一步分析我国 TYLCV 分离物基因组变异情况,用 DnaSP (Version 5) 对 45 个我国 TYLCV 分离物进行了全基因组的序列变异分析,发现整个基因组上的变异是不均匀的,最大变异峰值在 IR 区,另外 1 个变异峰值位于 AC2 和 AC3 的 ORF 的交叠处,最保守区段位于 AC1 ORF 中间区域(图 2)。

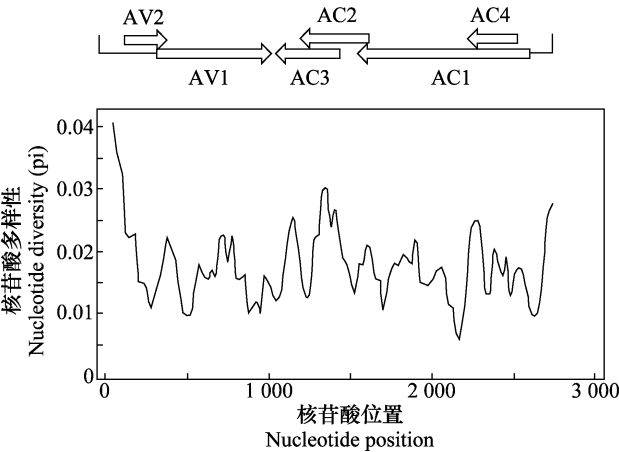


图 2 我国 TYLCV 全基因组核苷酸变异分析
Fig. 2 Distribution of genetic variation estimated by
nucleotide diversity(Pi) of TYLCV isolates in China

我国番茄黄化曲叶病毒病发生地域广,发生时间也各异,为进一步分析我国番茄黄化曲叶病毒的来源和进化情况,选择国内主要发病省市的 TYLCV 分离物、其他代表性的番茄双生病毒分离物以及国外代表性的 TYLCV- Israel 分离物,利用 MEGA (Version 5.05) 软件 neighbor-joining 方法构建了系统进化树(图 3)。

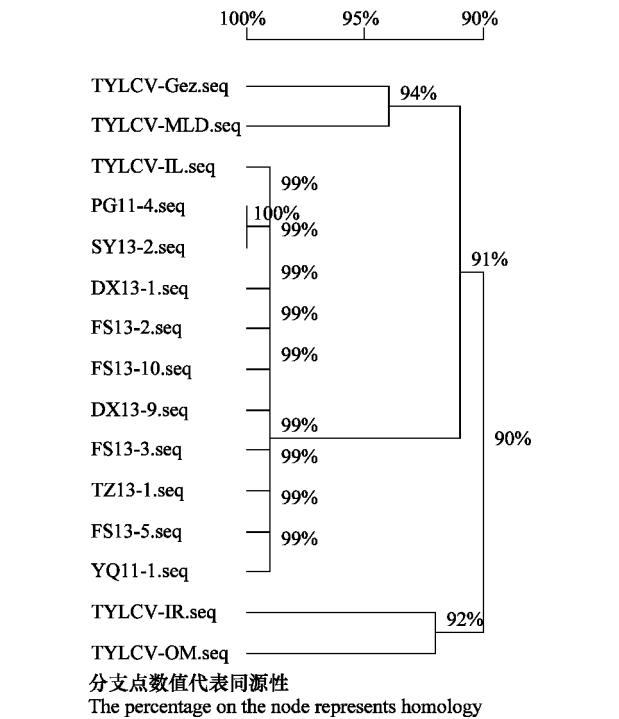


图 1 TYLCV 北京分离物与 TYLCV 主要株系的同源性分析
Fig. 1 Homology analysis between Beijing isolates and
main overseas strains of TYLCV

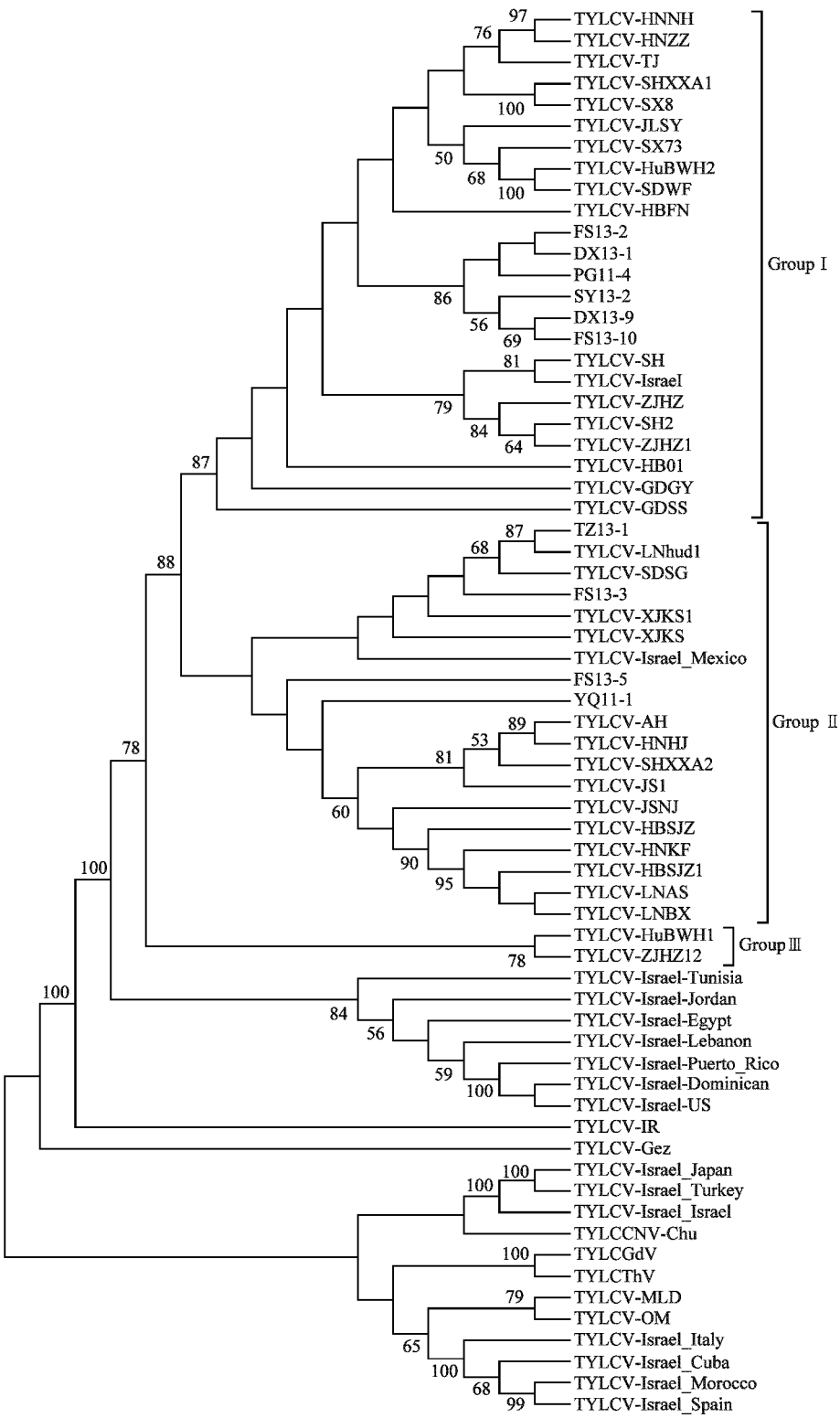


图 3 基于侵染番茄的番茄黄化曲成病毒基因组序列构建的系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of the genomic sequences of TYLCV-infesting tomato isolates from China and other countries

从进化树看出:我国 TYLCV 分离物与 TYLCV-IL 株系处于同一分支,在进化树上可分为 3 个组群,从每个组群包括的不同地理区域初步分析出

TYLCV 入境我国的 2 条路线,第一条由广东一带入境,经过上海、浙江,逐步传入内陆湖北、河南、山东、河北、山西、北京及天津等地,第二条由江苏一带

入境,逐步传入内陆安徽、河南、河北、山东、北京、辽宁、新疆等地;我国 TYLCV 分离物与墨西哥分离物 (TYLCV-Israel_ Mexico) 亲缘关系最近,与亚洲国家约旦、黎巴嫩、非洲国家突尼斯、埃及、美洲波多黎各、多米尼加以及美国 TYLCV-Israel 分离物亲缘关系次之。我国另外 3 种重要的番茄双生病毒中,中国番茄黄化曲叶病毒云南分离物 (TYLCCNV-Chu) 与日本、土耳其以及以色列 TYLCV-Israel 分离物亲缘关系最近,广东番茄黄化曲叶病毒 (TYLCGdV) 广东分离物和泰国番茄黄化曲叶病毒 (TYLCThV) 云南分离物与 TYLCV-MLD 分离物、TYLCV-OM 分离物、意大利、古巴、摩洛哥以及西班牙 TYLCV-Israel 分离物亲缘关系最近。

3 讨论

本试验对 2011 年—2013 年采自于北京不同区县的疑似病毒感染的 51 个番茄样品进行了双生病毒的检测,阳性率为 49%,说明北京地区番茄双生病毒危害依然很普遍;对部分代表性阳性样品进行了病毒全基因组扩增和序列测定,获得 10 个病毒分离物,序列分析显示,这些来源于北京不同区县的病毒分离物均与 TYLCV-Israel 株系同源性高,推测目前北京地区引起 TYLCD 的病原为 TYLCV,优势株系为 TYLCV-Israel 株系。

北京的 10 个 TYLCV 分离物全序列与我国其他地区的 35 个 TYLCV 分离物全序列同源率为 98.94%,利用 DnaSP 对共计 45 个 TYLCV 分离物进行全基因组序列变异分析后发现,TYLCV 在进化上比较保守,而且整个基因组上的变异是不均匀的,最大变异峰值在 IR 区,另外 1 个变异峰值位于 AC2 和 AC3 的 ORF 的交叠处,最保守区段位于 AC1 ORF 中间区域。

系统进化树中我国 TYLCV 分离物与 TYLCV-IL 株系处于同一分支,表明目前我国 TYLCV 种群仍以 TYLCV-IL 为优势株系;我国 TYLCV 分离物在进化树上可分为 3 个组群,从地理区域角度分析 TYLCV 入境我国的 2 条路线:广东路线和江苏路线,均由东部沿海一带入境,沿邻近省市向内陆蔓延,反映出依靠烟粉虱的迁徙以及频繁的苗木调运等由我国东南沿海地区向中部内陆逐渐扩散的过程;对于北京各区县的 TYLCV 毒源分析,大部分可能来源于广东路线,小部分来源于江苏路线;对我国

TYLCV 分离物与其他国家 TYLCV 分离物亲缘关系分析发现,我国 TYLCV 分离物与墨西哥分离物 (TYLCV-Israel_ Mexico) 亲缘关系最近,与亚洲国家约旦、黎巴嫩、非洲国家突尼斯、埃及、美洲波多黎各、多米尼加以及美国 TYLCV-Israel 分离物关系次之,反映了 TYLCV-IL 种群的进化过程,由此也推测国家之间频繁的经济贸易可能是此类病毒长距离传播最为重要的一种方式。而对我国另外 3 种重要的番茄双生病毒亲缘关系分析中,中国番茄黄化曲叶病毒云南分离物 (TYLCCNV-Chu) 与日本、土耳其以及以色列 TYLCV-Israel 分离物亲缘关系最近,广东番茄黄化曲叶病毒 (TYLCGdV) 和泰国番茄黄化曲叶病毒 (TYLCThV) 云南分离物与 TYLCV-MLD 分离物、TYLCV-OM 分离物、意大利、古巴、摩洛哥以及西班牙的 TYLCV-Israel 分离物亲缘关系最近,以上结果是否能反映侵染番茄的不同双生病毒间的变异演化过程,有待于进一步分析。

综上所述,TYLCV 的发展与烟粉虱的迁徙和苗木贸易关系密切,因此加强苗木的检测和烟粉虱的防治对于控制该病害具有非常重要的意义。

参考文献

- [1] Varsani A, Navas-Castillo J, Moriones E, et al. Establishment of three new genera in the family *Geminiviridae*: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* and *Turncurtovirus* [J]. Archives of Virology, 2014, 159(8): 2193–2203.
- [2] Lazarowitz S G, Shepherd R J. Geminiviruses: Genome structure and gene function [J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1992, 11(4): 327–349.
- [3] Moriones E, Navas-Castillo J. *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide [J]. Virus Research, 2000, 71(1-2): 123–134.
- [4] Zhou Xueping, Xie Yan, Tao Xiaorong, et al. Characterization of DNA β associated with *Begomoviruses* in China and evidence for co-evolution with their cognate viral DNA-A [J]. Journal of General Virology, 2003, 84(1): 237–247.
- [5] Cui Xiaofeng, Tao Xiaorong, Xie Yan, et al. A DNA β associated with *Tomato yellow leaf curl China virus* is required for symptom induction [J]. Journal of Virology, 2004, 78(24): 13966–13974.
- [6] Fauquet C. M, Briddon R. W, Brown J. K, et al. Geminivirus strain demarcation and nomenclature [J]. Archives of Virology, 2008, 153(4): 783–821.
- [7] Wu Jianbing, Dai Fuming, Zhou Xueping. First report of *Tomato yellow leaf curl virus* in China [J]. Plant Disease, 2006, 90(10): 1359.

乳糖醛酸酶及菌落生长速率进行相关性分析,结果表明菌株致病力与草酸、多聚半乳糖醛酸酶成正相关,与总酸的 pH 成负相关,而与菌落生长速率无关^[15]。

本文对采自黑龙江省 10 个地区 29 个市县 5 种寄主的 100 个菌株(39 个亲和组)进行了比较研究,亲和组间菌落的生长速率达到了显著性差异,同时发现来源于同一地区间、不同地区间及亲和组内的菌株菌落生长速率的差异很大,说明菌株的生长速度呈现出多样性,并与地理来源无关,亲和组间致病力的差异未发现与菌株的地理来源有关。通过相关性分析表明,菌株的致病力与草酸产量呈正相关,与总酸产量(pH)之间呈负相关,与菌落的生长速率无关;草酸产量与总酸的 pH 之间呈显著负相关。

参考文献

- [1] Boland G J, Hall R. Index of plant host of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1994, 16: 93 - 108.
- [2] 黄绪堂. 向日葵抗菌核病育种研究现状[J]. 中国油料, 1993 (2): 78 - 80.
- [3] Partyka R E, Mai W F. Effects of environment and some chemicals on *Sclerotinia sclerotiorum* in laboratory and potato field [J]. Phytopathology, 1962, 52(8): 766 - 770.
- [4] Tu J C. Integrated disease control of white mold (*Sclerotinia*

(上接 111 页)

- [8] 何自福,虞皓,罗方芳. 广东番茄曲叶病毒 G3 分离物基因组 DNA-A 的分子特征[J]. 植物病理学报, 2005, 35(3): 208 - 213.
- [9] Guo Wei, Yang Xiuling, Xie Yan, et al. *Tomato yellow leaf curl Thailand virus*-[Y72] from Yunnan is a monopartite *Begomovirus* associated with DNA β [J]. Virus Genes, 2009, 38(2): 328 - 333.
- [10] Yang Xiuling, Guo Wei, Ma Xinying, et al. Molecular characterization of *Tomato leaf curl China virus*, infecting tomato plants in China, and functional analyses of its associated betasatellite [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77 (9): 3092 - 3101.
- [11] Zhang Hui, Hu Gaojie, Zhou Xueping. Molecular characterization of *Tomato leaf curl Hainan virus*, a new *Begomovirus* and evidence for recombination [J]. Journal of Phytopathology, 2010, 158(11/12): 829 - 832.
- [12] Mugiira R B, Liu Shusheng, Zhou Xueping. *Tomato yellow leaf curl virus* and *Tomato leaf curl Taiwan virus* invade South-east coast of China [J]. Journal of Phytopathology, 2008, 156(4): 217 - 221.
- [13] Zhang Hui, Ma Xinying, Qian Yajuan, et al. Molecular characterization and infectivity of *Papaya leaf curl China virus* infecting tomato in China [J]. Journal of Zhejiang University (Sci-

- sclerotiorum*) in navy bean (*Phaseolus vulgaris*) [J]. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent, 1986, 51: 731 - 740.
- [5] 黄绪堂. 向日葵菌核病抗性的遗传机制与育种研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 1999(2): 45 - 46.
- [6] 李国庆,王道本,黄鸿章,等. 来源于佳木斯茄子上的核盘菌菌株多样性的研究[J]. 植物病理学报, 1996, 26(3): 237 - 242.
- [7] 李建厂,李永红,陈文杰,等. 向日葵核盘菌菌株致病性研究及其温度效应[J]. 西北农业学报, 2003, 12(1): 114 - 117.
- [8] 李永红,王灏,李建厂,等. 核盘菌对油菜、向日葵和大豆的侵染及其致病性分化研究[J]. 植物病理学报, 2005, 35(6): 486 - 492.
- [9] 刘勇,刘红雨,曾正宜. 油菜菌核病菌系致病性研究[J]. 中国油料作物学报, 2001, 23(3): 54 - 56.
- [10] 李振歧. 植物免疫学[M]. 北京:中国农业出版社, 1995: 22 - 31.
- [11] 刘晓红,周航,姬红丽,等. 四川蔬菜核盘菌种群结构初步研究[J]. 西南农业学报, 2004, 17(5): 618 - 623.
- [12] Anderson F N, Steadman J R, Coyne D P, et al. Tolerance to white mold in *Phaseolus vulgaris* dry edible bean types [J]. Plant Disease Report, 1974, 58(9): 782 - 784.
- [13] Gracia-Garza J A, Neumann S, Vyn T J, et al. Influence of crop rotation and tillage on production of apothecia by *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2002, 24(2): 137 - 143.
- [14] 刘春来,刘兴龙,王爽,等. 不同来源向日葵菌核病分离物致病性分化研究[J]. 黑龙江农业科学, 2013(4): 37 - 40.
- [15] 王玉杰. 向日葵菌核病原菌遗传多样性及致病力分化的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2011.

(责任编辑:杨明丽)

ence B), 2010, 11(2): 109 - 114.

- [14] Li Zhenghe, Zhou Xueping, Zhang Xi, et al. Molecular characterization of tomato-infecting begomoviruses in Yunnan, China [J]. Archives of Virology, 2004, 149(9): 1721 - 1732.
- [15] 赵统敏,余文贵,周益军,等. 江苏省番茄黄化曲叶病毒病(TYL-CD)的发生与诊断初报[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(6): 654 - 655.
- [16] 李明远. 黄化曲叶病毒病传入北京,番茄生产面临威胁[J]. 植物保护, 2009, 35(6): 179 - 180.
- [17] 余文贵,赵统敏,杨玛丽,等. 山东、安徽两省栽培番茄烟粉虱传双生病毒的 PCR 检测及序列分析[J]. 江苏农业学报, 2009, 25 (4): 747 - 751.
- [18] 周莹,李兴红,刘建华,等. 河北省番茄黄化曲叶病毒病的分子鉴定初报[J]. 植物保护, 2010, 36(1): 60 - 64.
- [19] 金凤媚,薛俊,郑艳红,等. 天津地区番茄黄化曲叶病毒 DNA-A 的克隆和序列分析[J]. 华北农学报, 2011, 26(1): 58 - 62.
- [20] 熊艳,杨帅,青玲,等. 四川番茄黄化曲叶病病原分子鉴定及变异分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(3): 477 - 484.
- [21] 宋晰,师迎春,张世晨,等. 北京地区番茄黄化曲叶病毒分离物测定及株系的初步鉴定[J]. 植物病理学报, 2013, 43(2): 113 - 119.

(责任编辑:杨明丽)