

番茄黄化曲叶病毒与番茄褪绿病毒复合感染对番茄黄化曲叶病毒传播的影响

罗瑞雪^{1,2}, 赵丹³, 潘求一⁴, 曾颖⁴, 张战泓⁵,
史晓斌², 张德咏², 史彩华^{1*}, 刘勇^{1,2*}

(1. 长江大学农学院, 荆州 434000; 2. 湖南省农业科学院植物保护研究所, 长沙 410125;
3. 双峰县农业农村局, 娄底 417700; 4. 安乡县植保植检站, 常德 415600;
5. 湖南省农业科学院蔬菜研究所, 长沙 410125)

摘要 番茄黄化曲叶病毒(tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)是一种由烟粉虱传播的单链环状 DNA 病毒,在田间可与多种病毒发生复合感染,如番茄褪绿病毒(tomato chlorosis virus, ToCV)等。本文对比了 TYLCV 单独感染和 TYLCV 与 ToCV 复合感染对烟粉虱获取和传播 TYLCV 的影响。结果表明,与取食 TYLCV 单独感染的番茄相比,取食复合感染番茄的烟粉虱对 TYLCV 的传毒率显著提高,且番茄植株和烟粉虱体内 TYLCV 的病毒积累量也显著提高。试验结果说明复合感染会提高烟粉虱的传毒率,促进 TYLCV 的发生与流行。

关键词 番茄黄化曲叶病毒; 复合感染; 番茄褪绿病毒; 烟粉虱; 实时荧光定量 PCR

中图分类号: S436.412.11 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2021499

Influences of co-infection of tomato yellow leaf curl virus and tomato chlorosis virus on the transmission of tomato yellow leaf curl virus

LUO Ruixue^{1,2}, ZHAO Dan³, PAN Qiuyi⁴, ZENG Ying⁴, ZHANG Zhanhong⁵, SHI Xiaobin²,
ZHANG Deyong², SHI Caihua^{1*}, LIU Yong^{1,2*}

(1. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434000, China; 2. Institute of Plant Protection, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China; 3. Shuangfeng Bureau of Agriculture and Rural Affairs, Loudi 417700, China; 4. Anxiang Plant Protection and Quarantine Station, Changde 415600, China;
5. Vegetable Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) is a single-strand circular DNA virus transmitted by *Bemisia tabaci*, which can co-infect plants with multiple plant viruses in the field, such as tomato chlorosis virus (ToCV) and so on. RT-PCR and real-time quantitative PCR were used to clarify the influence of co-infection of TYLCV and ToCV on the acquisition and transmission of TYLCV by *B. tabaci* in this study. The results showed that, the rate of TYLCV transmitted by *B. tabaci* feeding on the co-infected tomato plants was significantly increased, compared with those *B. tabaci* feeding on the tomato infected by TYLCV alone, and the virus accumulation of TYLCV in tomato plants and *B. tabaci* was also significantly improved compared with the tomato plants infected with TYLCV alone. Our results revealed that co-infection of TYLCV and ToCV in the field increased the transmission rate by *B. tabaci*, and promoted the spread and epidemic of TYLCV.

Key words tomato yellow leaf curl virus; co-infection; tomato chlorosis virus; *Bemisia tabaci*; real-time quantitative PCR

番茄黄化曲叶病毒(tomato yellow leaf curl virus, TYLCV),隶属于双生病毒科 *Geminiviridae*, 菜豆

收稿日期: 2021-09-09 修订日期: 2021-11-29

基金项目: 国家自然科学基金(32030088, 32072383, 31972242, 31872932); 国家大宗蔬菜产业技术体系(CARS-23-D-02)

* 通信作者 E-mail: 史彩华 shicaihua1980@126.com; 刘勇 liuyong@hunaas.cn

金色花叶病毒属 *Begomovirus*^[1], 具有单链(ss)环状 DNA 基因组^[2-3], 大小约 2.8 kb。TYLCV 于 1964 年在以色列被首次报道^[4], 随后在全球各地迅速传播, 中国于 2006 年在上海被首次报道^[1]。TYLCV 由烟粉虱 *Bemisia tabaci* 以持久性方式传播^[5], 在田间造成的损失高达 80%~100%^[6]。感染 TYLCV 后, 植株发育迟缓并向上卷曲、黄化, 植株叶片会变少、变小^[7-8]。番茄褪绿病毒(tomato chlorosis virus, ToCV)隶属于长线形病毒科 *Closteroviridae*, 毛形病毒属 *Crinivirus*, 于 20 世纪 90 年代中期在美国佛罗里达州被首次报道, 中国于 2004 年在台湾被首次报道^[10], 迄今已在 35 个国家和地区发生^[9]。ToCV 是由烟粉虱传播的半持久性 RNA 病毒。带毒烟粉虱取食健康植株后, 可造成植株 100% 的发病率^[9]。与大多数植物病毒不同, 感染 ToCV 的植株表现为老叶先发病, 叶脉间黄化褪绿、变厚变脆且边缘向内卷曲^[7-8], 一般要 3~4 周才表现症状^[7-8]。

TYLCV 与 ToCV 复合侵染自 2013 年在山东寿光被首次报道以来, 在江苏和云南等地相继被报道, 且 TYLCV 和 ToCV 的发病率都在逐年上升^[11-13]。复合侵染的番茄植株中, TYLCV 的带毒量比 ToCV 高 262~436 倍^[14], 且复合侵染会给番茄造成 10% 以上的减产, 严重时甚至绝收^[8, 15-16]。已有研究表明, 植株发生复合侵染时会产生协生作用, 发病症状更为严重, 加速寄主植物死亡^[17-19]。复合侵染还会提高病毒的基因重组概率, 导致病毒的侵染能力和扩散速度增加^[20-22]。TYLCV 和 ToCV 复合侵染番茄植株后, 显著提高烟粉虱获取和传播 ToCV 的效率^[23], 但是复合侵染对 TYLCV 传播的影响, 缺乏研究。针对这一问题, 本文研究了 TYLCV 和 ToCV 复合侵染番茄植株后烟粉虱获取和传播 TYLCV 效率的变化, 以及 TYLCV 在烟粉虱和番茄体内积累量的变化, 并进一步明确了复合侵染是否影响烟粉虱对 TYLCV 的传播, 为研究 TYLCV 和 ToCV 复合侵染后二者产生的协生作用及分子机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植株: 番茄品种为‘钻红美娜’, 该品种不抗 TYLCV。

供试昆虫: Q 型烟粉虱, 由中国农业科学院蔬菜花卉研究所张友军研究员馈赠, 之后放在 45 cm×50 cm×60 cm 的养虫笼内, (26±1)℃、RH (70±5)%、光周期 L//D=16 h//8 h 条件下, 用健康番茄饲养, 定期做生物型的鉴定^[24]。

供试菌液: 含 TYLCV 的农杆菌菌液由中国农业科学院植物保护研究所周雪平团队馈赠。

1.2 试验方法

1.2.1 番茄中 TYLCV 的鉴定

用 CTAB 法提取番茄的总 DNA。特异性引物 TYLCV-F/TYLCV-R (表 1) 扩增片段长度为 190 bp^[23], 退火温度为 58℃。经验证该引物特异性及扩增效率良好。使用南京诺维赞 (Vazyme) 生物公司 2×Taq Plus Master Mix II (Dye Plus) 试剂盒, 按照说明书步骤进行 PCR 扩增。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖电泳凝胶进行检测, 紫外灯下观察并记录结果, 将条带正确的 PCR 产物纯化回收后送生工生物工程(上海)股份有限公司测序, 比对序列是否正确。

1.2.2 烟粉虱中 TYLCV 的鉴定

单头烟粉虱 DNA 的提取: 用蛋白酶 K 和树脂提取单头烟粉虱的 DNA, 后续鉴定步骤参照 1.2.1。用 CTAB 法提取多头烟粉虱的总 DNA, 后续鉴定步骤参照 1.2.1。

1.2.3 番茄和烟粉虱中 ToCV 的鉴定

用 TRIzol 法提取番茄或烟粉虱的总 RNA 后用南京诺维赞 (Vazyme) 生物公司的 cDNA 试剂盒, 按照说明书合成 cDNA。以 cDNA 为模板, 采用特异性引物 ToCV-F/ToCV-R (表 1) 扩增, 目的片段长度为 439 bp^[22], 退火温度为 60℃, 后续步骤参照 1.2.1。

1.2.4 侵染性克隆与虫传毒株

将 TYLCV 病毒侵染性克隆接种在含有卡那霉素 (50 mg/L) 和利福平 (50 mg/L) 的 LB 固体培养基上, 28℃ 恒温培养箱中过夜培养。将活化后的农杆菌菌体溶解在去离子水中, 浓度为 OD₆₀₀ = 2。使用 1 mL 医用注射器, 在健康番茄长出 3~4 片真叶时, 将农杆菌菌液注射到番茄茎秆上, 每株番茄接种 0.5 mL 菌液。接种后放置温室内 45 cm×50 cm×60 cm 的养虫笼中, 于 (26±1)℃、RH (70±5)%、光周期 L//D=16 h//8 h 条件下培育。15 d 后用 1.2.1 的方法进行检测, 将 100 头健康烟

粉虱转移到感染了 TYLCV 的毒株上饲毒 48 h 后,取出全部烟粉虱将其转移到健康番茄(3~4 片真叶期)上取食 48 h,15 d 后用 1.2.1 的方法进行检测。

复合侵染的番茄采自田间,经过 PCR 以及小 RNA 测序确定无其他病毒复合侵染,放入温室内 45 cm×50 cm×60 cm 的养虫笼中,(26±1)℃、RH

(70±5)%、光周期 L//D=16 h//8 h 条件下培养。将 100 头健康烟粉虱放到 TYLCV 和 ToCV 复合侵染的病株上取食 48 h 后,取出全部的烟粉虱将其放到健康番茄(3~4 片真叶)上取食 48 h,15 d 后用 1.2.1 的方法检测 TYLCV,30 d 后用 1.2.3 的方法检测 ToCV。选择 TYLCV 的病毒量一致的复合侵染与单独侵染的番茄进行后续试验。

表 1 番茄与烟粉虱带毒情况检测所用引物信息

Table 1 Primers for virus detection in tomato and *Bemisia tabaci*

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	扩增片段大小/bp Fragment size	用途 Purpose
TYLCV-F	GTTACACGGATTTCGTTGTATG	58	190	TYLCV PCR 检测
TYLCV-R	AGAGGGACTGGCAAAGCAACA			
ToCV-F	GGTTTGGATTTTGGTACTACATTTCAGT	60	439	ToCV RT-PCR 检测
ToCV-R	AAACTGCCTGCATGAAAAGTCTC			
TYLCV-qF	GTCTACACGCTTACGCC	58	100	TYLCV qRT-PCR 检测
TYLCV-qR	GCAATCTTCGTCACCC			

1.3 番茄黄化曲叶病毒实时荧光定量 PCR 体系建立

1.3.1 标准曲线的建立

以 TYLCV 的 DNA 为模板,以 TYLCV-qF 和 TYLCV-qR(表 1)为特异性引物,该引物根据 TYLCV 的 AV2 gene (Gene ID: 949226)进行设计^[25],目的片段长度为 100 bp,退火温度为 58℃,经验证该引物特异性及扩增效率良好。使用 2×Taq Plus Master Mix II (Dye Plus)试剂盒进行 PCR 扩增,纯化回收目的片段后,连接至 pMD18-T 载体,并转化感受态细胞 Trelief™ 5α Chemically Competent Cell(北京擎科生物有限公司),在 37℃恒温箱中培养 12~16 h 后,以 TYLCV-qF 和 TYLCV-qR 为引物进行菌落 PCR 检测,将阳性克隆送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

选择测序序列完全正确的阳性克隆接种于含有氨苄青霉素(100 mg/L Amp⁺)的 LB 液体培养基,37℃,250 r/min 振荡培养 12~16 h,用质粒小提试剂盒提取质粒,用紫外分光光度计检测质粒浓度和 OD 值后,运用公式计算质粒浓度拷贝数: $C = [(A \times 10^{-9}) \times (6.02 \times 10^{23})] / (B \times 660 \text{ dalton/bp})$,其中 A 为质粒浓度(ng/μL),B 为分子碱基数,C 为质粒浓度拷贝数(拷贝/μL),将其作为 TYLCV 质粒标准品使用。

用 DNase/RNase free water 将质粒标准品按照 10 倍梯度进行稀释,获得终浓度为 5.15×10^8

~ 5.15×10^{12} 拷贝/μL 的 5 个质粒样品作为模板,使用南京诺维赞(Vazyme)生物公司的 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒在实时荧光定量 PCR 仪上进行 qPCR,每个浓度进行 4 次技术重复,得到 Ct 平均值后制作标准曲线。

1.3.2 实时荧光 PCR 绝对定量

用 CTAB 法提取番茄或烟粉虱的总 DNA,用 NanoDrop 测定所提 DNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 以及浓度,将 DNA 浓度统一定量到 500 ng/μL 作为模板 DNA,进行 qPCR 检测,将所得 Ct 值代入回归方程 $y = -3.072x + 37.568$ 计算得出 TYLCV 的拷贝数,其中 x 为质粒浓度拷贝数对数,y 为循环阈值(Ct),每个处理重复 5 次。

1.4 ToCV 与 TYLCV 复合侵染对烟粉虱获取 TYLCV 效率以及积累量的影响

取 400 头健康的烟粉虱进行 2 h 的饥饿处理,分别在两种病毒复合侵染和 TYLCV 单独侵染 15 d 后的番茄上放入 200 头烟粉虱饲毒 48 h。

随机取 10 头烟粉虱,使用 1.2.2 的方法提取单头烟粉虱 DNA,根据琼脂糖凝胶电泳的结果计算 10 头烟粉虱的带毒率,每个处理重复 5 次。

随机取 10 头烟粉虱参照 1.2.2 方法提取烟粉虱的总 DNA,DNA 浓度统一定量到 500 ng/μL,按照试剂盒说明书进行 qPCR 检测,将 Ct 值代入回归方程计算得出 TYLCV 的拷贝数,每个处理重复 5 次。

1.5 ToCV 与 TYLCV 复合侵染对 TYLCV 传毒率以及积累量的影响

取适量健康的烟粉虱进行 2 h 的饥饿处理后,分别转移到两种病毒复合侵染和 TYLCV 单独侵染 15 d 后的番茄植株上饲毒 48 h。

将 50 头带毒烟粉虱饥饿处理 2 h 后,一起转移到 10 株含 3~4 片真叶的健康番茄上取食 48 h,随后用吸虫管移除烟粉虱。在 10、15、20、25、30 d 后取番茄顶部叶片,采用 1.2.1 所述方法提取番茄的总 DNA,先检测番茄植株的带毒情况计算带毒率,然后将 DNA 含量统一量到 500 ng/ μ L,按照试剂盒说明书进行 qPCR 检测,得到的 Ct 值代入回归方程算出 TYLCV 的拷贝数,每处理重复 5 次。

分别取 5、10、25、50 头的带毒烟粉虱进行 2 h 的饥饿处理后,分别转移到 10 株 3~4 片真叶期的健康番茄上取食 48 h 并移除烟粉虱,15 d 后采用 1.2.1 所述方法检测番茄植株的带毒情况,并计算带毒率以此来反映烟粉虱的传毒率。传毒率=带毒率=检测到 TYLCV 植株数/接种植株数。每处理重复 5 次。

1.6 ToCV 与 TYLCV 复合侵染和 TYLCV 单独侵染对番茄叶片内叶绿素含量的影响

取适量健康的烟粉虱进行 2 h 的饥饿处理后,分别转移到复合侵染和 TYLCV 单独侵染 15 d 后的番茄植株上饲毒 48 h,分别取 50 头带毒烟粉虱进行 2 h 的饥饿处理后,转移到 10 株 3~4 片真叶期的健康番茄上取食 48 h 并移除烟粉虱,在 15 d 后取番茄顶部叶片,用叶绿素测定仪检测叶片的叶绿素含量。每处理重复 5 次。

1.7 数据处理

采用 Microsoft Excel 2012 软件整理试验数据,IBM SPSS Statistics 21 进行数据分析。复合侵染对烟粉虱获取 TYLCV 效率以及积累量的影响、在烟粉虱数量相同时,复合侵染对 TYLCV 传毒率的影响、在传毒后天数相同时,复合侵染对 TYLCV 传毒率和积累量的影响、复合侵染和 TYLCV 单独侵染对番茄叶片内叶绿素含量的影响均采用独立样本 *t* 测验(*t*-test)进行方差分析和差异显著性检验;在侵染方式相同的条件下,不同数量的烟粉虱对 TYLCV 传毒率的影响、相同数量烟粉虱传毒后不同天数对 TYLCV 的传毒率以及积累量的影响采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)进行

方差分析和差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 番茄黄化曲叶病毒 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 体系建立

质粒标准品浓度在 $5.15 \times 10^8 \sim 5.15 \times 10^{12}$ 拷贝/ μ L 时,质粒标准品浓度和 Ct 值两者之间呈良好的线性关系(图 1)。该标准曲线将用于后续 TYLCV 含量的测定。

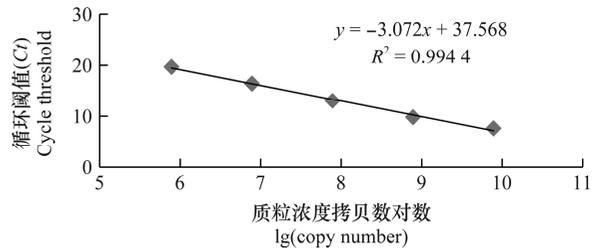


图 1 TYLCV 含量的实时荧光定量 PCR 的标准曲线

Fig. 1 The standard curve of TYLCV amount by real-time quantitative PCR

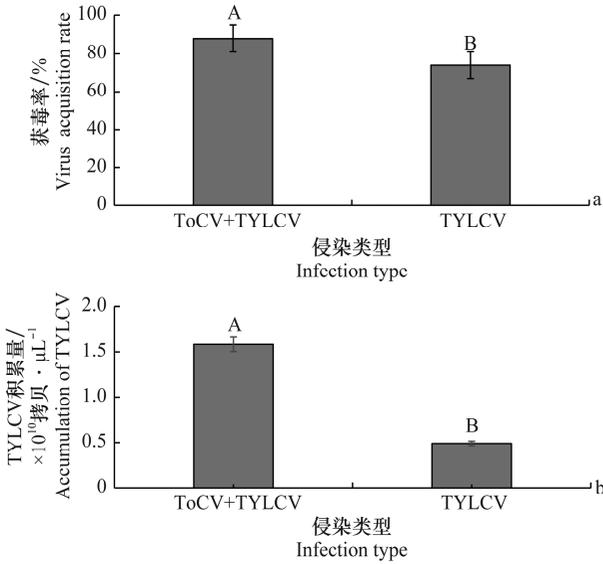
2.2 ToCV 与 TYLCV 复合侵染对烟粉虱获取 TYLCV 效率以及积累量的影响

试验结果表明,烟粉虱在 TYLCV 和 ToCV 复合侵染、TYLCV 单独侵染的番茄植株上饲毒 48 h 后,单头烟粉虱的 TYLCV 获毒率分别为 88% 和 74%(图 2a)。烟粉虱体内 TYLCV 病毒的拷贝数分别为 1.58×10^{10} 拷贝/ μ L 和 0.49×10^{10} 拷贝/ μ L(图 2b)。在复合侵染的番茄上取食的烟粉虱的带毒率和病毒拷贝数都显著高于在 TYLCV 单独侵染的番茄上取食的烟粉虱。

2.3 ToCV 与 TYLCV 复合侵染对 TYLCV 传毒率以及积累量的影响

试验结果表明,对 TYLCV 的传毒率与烟粉虱数量呈正相关,且同等数量的烟粉虱中取食 ToCV 与 TYLCV 复合侵染的番茄植株的烟粉虱对 TYLCV 的传毒率明显高于取食 TYLCV 单独侵染的番茄植株的烟粉虱。分别将 25 头取食复合侵染和单独侵染番茄的烟粉虱接种至健康番茄上,15 d 后对 TYLCV 的传毒率分别为 90% 和 74%。50 头分别取食复合侵染和单独侵染番茄的烟粉虱对 TYLCV 的传毒率均达到 100%(图 3)。

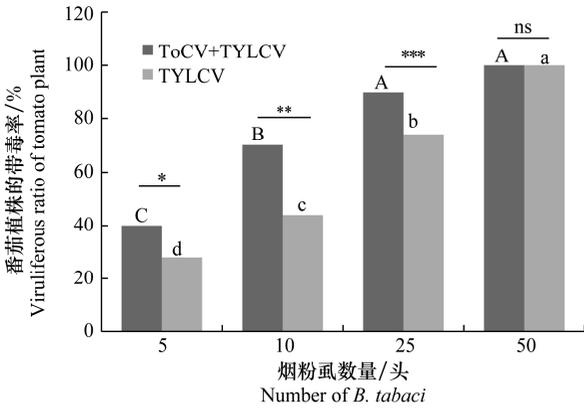
取食复合侵染和 TYLCV 单独侵染番茄的烟粉虱传毒后 10 d,番茄植株带毒率分别为 80% 和 60%,传毒后 15 d 番茄植株的带毒率均达到 100%(图 4a)。



a: 烟粉虱获毒率; b: 烟粉虱体内TYLCV病毒量。图中数据为平均值±标准误差。不同大写字母分别表示两个处理之间差异极显著($P < 0.01$)
a: Acquisition rate by *Bemisia tabaci*; b: Accumulation of TYLCV in *Bemisia tabaci*. The data are mean ± SE. Different uppercase letters indicate extremely significant difference between two treatments ($P < 0.01$)

图2 烟粉虱取食复合感染和单独感染TYLCV植株后的获毒率和带毒量

Fig. 2 Acquisition rate and accumulation of TYLCV by *Bemisia tabaci* feeding on co-infected and single-infected tomato



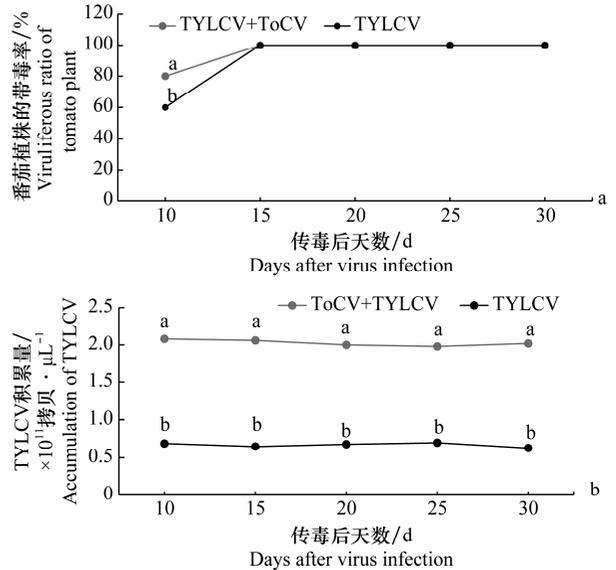
不同大写和小写字母分别表示不同数量的烟粉虱在复合感染和单独感染后的番茄上获毒后传毒率差异显著。ns表示两种感染方式之间差异不显著($P > 0.05$), “*” “**” “****”分别表示两种感染方式之间在0.05, 0.01和0.001水平差异显著
Different capital and lowercase letters on the bars indicate significant differences in the transmission rate of TYLCV by different numbers of *Bemisia tabaci* under the same infection conditions, respectively; ns indicates insignificant difference between two infection types ($P > 0.05$). “*” “**” “****” indicate significant differences between two infection types at 0.05, 0.01 and 0.001 levels, respectively

图3 复合感染和单一感染条件下不同数量烟粉虱对TYLCV的传毒率

Fig. 3 Transmission rate of TYLCV by different numbers of *Bemisia tabaci* on co-infected and single-infected tomato

TYLCV的病毒积累量与烟粉虱传毒后的天数不相关,取食复合感染和TYLCV单独感染番茄后,烟

粉虱传毒的番茄植株体内TYLCV的累积量分别为 2.03×10^{11} 拷贝/ μL 和 0.67×10^{11} 拷贝/ μL (图4b)。



a: 传毒率; b: 番茄叶片内TYLCV积累量。不同字母分别表示两个处理之间差异显著($P < 0.05$)

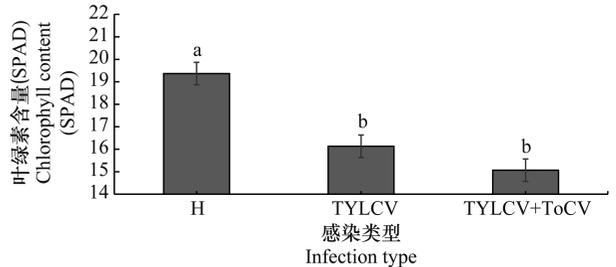
a: Transmission rate; b: Accumulation of TYLCV in tomato leaves. Different letters indicate significant difference between two treatments at 0.05 level

图4 复合感染和单一感染后不同天数烟粉虱对TYLCV的传毒率和番茄叶片内TYLCV积累量

Fig. 4 Transmission rate of TYLCV by *Bemisia tabaci* and accumulation of TYLCV in tomato leaves after co-infection and single infection for different days

2.4 ToCV与TYLCV复合感染和TYLCV单独感染对番茄叶片内叶绿素含量的影响

试验结果表明,烟粉虱传毒后15 d, ToCV与TYLCV复合感染和TYLCV单独感染的番茄植株其叶片叶绿素含量都显著低于健康番茄植株(图5),但两者之间没有明显的差异。



H: 健康植株。图中数据为平均值±标准误差。不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)

H: The healthy plant. The data are mean ± SE. Different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level

图5 复合感染、单独感染和健康的番茄叶片内叶绿素含量
Fig. 5 Contents of chlorophyll in co-infected, single TYLCV-infected and healthy tomato leaves

3 结论与讨论

TYLCV 目前是菜豆金色花叶病毒属中研究的最为全面的单组分病毒之一^[26-27]。TYLCV 与其他病毒在田间容易发生复合侵染,2014 年在我国山东首次发现 TYLCV 和 ToCV 的复合侵染,之后复合侵染在我国呈逐年上升的趋势^[10-12]。本试验主要研究了 TYLCV 和 ToCV 复合侵染与 TYLCV 单独侵染对介体昆虫 Q 型烟粉虱的获毒率、传毒率、番茄植株体内病毒量积累的影响。结果表明,取食复合侵染番茄植株的烟粉虱的获毒率要高于取食 TYLCV 单独侵染番茄植株的烟粉虱,分别为 88% 和 74%。取食复合侵染和单独侵染番茄植株后的烟粉虱传毒率随烟粉虱数量的增加而显著升高,25 头烟粉虱的传毒率分别为 90% 和 74%,50 头烟粉虱的传毒率均为 100%,说明 TYLCV 和 ToCV 复合侵染提高了烟粉虱对 TYLCV 的获取和传播,这一现象需要引起重视和提前防范,以减少病毒侵染所造成的损失。

本试验结果显示, TYLCV 和 ToCV 复合侵染促进了烟粉虱对 TYLCV 的传播, TYLCV 和 ToCV 复合侵染的番茄体内 TYLCV 的积累量大约是 TYLCV 单独侵染的 3 倍。造成差异的原因可能与植物防御反应降低有关。因为 TYLCV 侵染可以抑制植物的 JA 防御途径^[28],而 ToCV 侵染也可以降低植物的 JA 防御反应以及萜类挥发物的释放^[29],推测二者复合侵染后更大程度地降低了植物的防御反应。该推测还有待于进一步验证。

复合侵染也促进了烟粉虱对 ToCV 的传播,并且复合侵染的烟粉虱和番茄体内 ToCV 的积累量大约是 ToCV 单独侵染的 4 倍^[22],说明两种病毒复合侵染促进了烟粉虱对两种病毒的传播,可能是由于两种病毒共同起作用时,引起了介体昆虫与传毒相关特性的改变^[30]。对于 TYLCV 和 ToCV 复合侵染番茄后,番茄植株体内及其与烟粉虱的互作机制还有待研究,可能是由于复合侵染与单独侵染相比,改变了烟粉虱体内防御和代谢相关的酶。前期研究发现,随着烟粉虱体内 ToCV 含量的升高, α -葡糖苷酶活性也逐渐升高^[31],推测 α -葡糖苷酶能够促进烟粉虱对病毒的获取,而复合侵染情况下烟粉虱体内的 α -葡糖苷酶也可能进一步被激活,从而促进了烟粉虱对病毒的获取。这需要后期进一步试验验证。

本研究发现, TYLCV 和 ToCV 复合侵染促进

了烟粉虱对 TYLCV 的传播,因此,探明复合侵染下病毒-媒介昆虫-植物三者之间的协同机制对于植物病毒的防治和治理具有重要意义。

参考文献

- [1] WU J B, DAI F M, ZHOU X P. First report of tomato yellow leaf curl virus in China [J]. *Plant Disease*, 2006, 90(10): 1359.
- [2] KHEYR-POUR A, BANDAHDHMANE M, ACCOTTO G P, et al. Tomato yellow leaf curl virus from Sardinia is a whitefly-transmitted monoparasitic geminivirus [J]. *Nucleic Acids Research*, 1991, 19(24): 6763 - 6769.
- [3] NAVOT N, PICHERSKY E, ZEDAN M, et al. Tomato yellow leaf curl virus: a whitefly transmitted geminivirus with a single genomic component [J]. *Virology*, 1991, 185: 151 - 161.
- [4] COHEN S, HARPAZI I. Periodic, rather than continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius) [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 1964, 7(2): 155 - 166.
- [5] CUI Hongying, SUN Yucheng, ZHAO Zihua, et al. The combined effect of elevated O₃ levels and TYLCV infection increases the fitness of *Bemisia tabaci* Mediterranean on tomato plants [J]. *Environmental Entomology*, 2019, 48(6): 1425 - 1433.
- [6] FONSAH E G, CHEN Yu, STAN D, et al. Economic productivity and profitability analysis for whiteflies and tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) management options [J]. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 2018, 7(1): 1 - 9.
- [7] 刘剑峰, 肖启明, 张德咏, 等. 番茄黄化曲叶病(TYLCV)的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2013, 29(13): 70 - 76.
- [8] 刘永光, 魏家鹏, 乔宁, 等. 番茄褪绿病毒在山东暴发及其防治措施[J]. *中国蔬菜*, 2014(5): 67 - 69.
- [9] ELVIRA F O, JESÚS N C. Tomato chlorosis virus, an emergent plant virus still expanding its geographical and host ranges [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 20(9): 1307 - 1320.
- [10] TSAI W S, SHIH S L, GREEN S K, et al. First report of the occurrence of tomato chlorosis virus and tomato infectious chlorosis virus in Taiwan [J]. *Plant Disease*, 2004, 88(3): 311.
- [11] 赵黎明, 李刚, 刘永光, 等. 番茄褪绿病毒与番茄黄化曲叶病毒复合侵染的分子鉴定[J]. *中国蔬菜*, 2014(12): 15 - 20.
- [12] 吴淑华, 李廷芳, 赵文浩, 等. 江苏省番茄黄化曲叶病毒和褪绿病毒复合侵染的分子检测[J]. *园艺学报*, 2016, 43(1): 89 - 99.
- [13] 刘微, 史晓斌, 唐鑫, 等. 云南番茄褪绿病毒和番茄黄化曲叶病毒复合侵染的分子鉴定[J]. *园艺学报*, 2018, 45(3): 552 - 560.
- [14] 宋建, 薛俊, 金凤媚, 等. ToCV 和 TYLCV 复合侵染番茄后部分病毒基因序列分析及实时荧光定量 PCR 分析[J]. *华北农学报*, 2019, 34(2): 95 - 102.
- [15] 贺志军, 姚贵军, 乔宏喜, 等. 设施番茄黄化曲叶病毒病发生规律与综合防控措施[J]. *西北园艺(蔬菜)*, 2016(6): 28 - 31.
- [16] 王书芳. 河北魏县番茄黄化曲叶病毒病的发生情况及其综合防控措施[J]. *中国植保导刊*, 2011, 31(2): 24 - 25.

2011(13): 47-48.

- [13] 李振高, 骆永明, 腾应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 404-413.
- [14] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准食品中脂肪的测定: GB 5009.6-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [15] 国家食品药品监督管理总局, 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准食品中蛋白质的测定: GB 5009.5-2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [16] HAMMOND R B, PEDIGO L P. Determination of yield-loss relationships for two soybean defoliators by using simulated insect-defoliation techniques [J]. *Journal of Economic Entomology*, 1982, 75(1): 102-107.
- [17] OMOLOYE A A, JODA A O, TOBIH F O. Effects of planting dates and intra-row spacing on field infestation and damage by hemipteran sucking bugs on soybean in Ibadan, Southwest Nigeria [J]. *Journal of Agriculture and Environmental Science*, 2015, 4(1): 134-137.
- [18] 易桂林, 钟林茂, 石兆明, 等. 刚竹毒蛾危害对毛竹叶片糖和蛋白质含量的影响[J]. *林业调查规划*, 2013, 38(6): 62-63.
- [19] 尹飞, 冯夏, 张德雍, 等. 小菜蛾取食对寄主植物蛋白质和糖含量影响研究[J]. *环境昆虫学报*, 2012, 34(2): 168-173.
- [20] 蒲晓娟, 陈辉. 华山松大小蠹危害与寄主华山松营养物质和抗性成分的关系[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2007, 35(3): 106-110.
- [21] MURRAY P J, HATCH D J, CLIQUET J B. Impact of insect root herbivory on the growth and nitrogen and carbon contents of white clover (*Trifolium repens*) seedlings [J]. *Revue Canadienne De Botanique*, 1996, 74(10): 1591-1595.
- [22] CHAPMAN S K, HART S C, COBB N S, et al. Insect herbivory increases litter quality and decomposition: An extension of the acceleration hypothesis [J]. *Ecology*, 2003, 84(11): 2867-2876.
- [23] CLASSEN A T, DEMARCO J, HART S C, et al. Impacts of herbivorous insects on decomposer communities during the early stages of primary succession in a semi-arid woodland [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(5): 972-982.
- (责任编辑: 杨明丽)
- ~~~~~
- (上接 121 页)
- [17] KARYEIJIA R F, KREUZE J F, GIBSON R W, et al. Synergistic interactions of a potyvirus and a phloem-limited crinivirus in sweet potato plants [J]. *Virology*, 2000, 269(1): 26-36.
- [18] VALKONEN J P T, SAVENKOV E I. Potyviral helper-component proteinase expressed in transgenic plants enhances titers of potato leaf roll virus but does not alleviate its phloem limitation [J]. *Virology*, 2001, 283(2): 285-293.
- [19] VANCE V B. Replication of potato virus X RNA is altered in coinfections with potato virus Y [J]. *Virology*, 1991, 182(2): 486-494.
- [20] GIL-SALAS F M, PETERSB J, BOONHAMB N, et al. Co-infection with cucumber vein yellowing virus and cucurbit yellow stunting disorder virus leading to synergism in cucumber [J]. *Plant Pathology*, 2012, 61(3): 468-478.
- [21] OWOR B E, MARTIN D P, SHEPHERD D N, et al. Genetic analysis of maize streak virus isolates from Uganda reveals widespread distribution of a recombinant variant [J]. *Journal of General Virology*, 2007, 88(11): 3154-3165.
- [22] DAVINO S, NAPOLI C, DELLACROCE C, et al. Two new natural begomovirus recombinants associated with the tomato yellow leaf curl disease co-exist with parental viruses in tomato epidemics in Italy [J]. *Virus Research*, 2009, 143(1): 15-23.
- [23] 廖锦钰, 黄莉萍, 张战泓, 等. 番茄褪绿病毒与番茄黄化曲叶病毒复合侵染对番茄褪绿病毒传播的影响[J]. *植物保护*, 2021, 47(3): 89-95.
- [24] SHI Xiaobin, CHEN Gong, TIAN Lixia, et al. The salicylic acid-mediated release of plant volatiles affects the host choice of *Bemisia tabaci* [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(7): 1048. DOI: 10.3390/ijms17071048.
- [25] PAN Huipeng, CHU Dong, YAN Wenqian, et al. Rapid spread of tomato yellow leaf curl virus in China is aided differentially by two invasive whiteflies [J/OL]. *PLoS ONE*, 2012, 7: e34817. DOI: 10.1371/journal.pone.0034817.
- [26] CZOSNEK H. Tomato yellow leaf curl virus disease: management, molecular biology breeding for resistance [M]. The Netherlands: Springer, 2007.
- [27] GHANIM M. A review of the mechanisms and components that determine the transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus (*Geminiviridae; Begomovirus*) by its whitefly vector [J]. *Virus Research*, 2014, 186: 47-54.
- [28] SHI Xiaobin, PREISSER E L, LIU Baiming, et al. Variation in both host defense and prior herbivory can alter plant-vector-virus interactions [J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19: 556. DOI: 10.1186/s12870-019-2178-z.
- [29] 刘微. 番茄褪绿病毒对烟粉虱直接和间接的影响[D]. 长沙: 湖南大学, 2020.
- [30] SHI Xiaobin, ZHANG Zhuo, ZHANG Chi, et al. The molecular mechanism of efficient transmission of plant viruses in variable virus-vector-plant interactions [J]. *Horticultural Plant Journal*, 2021, 7(6): 501-508.
- [31] LU Diyhui, YUE Hao, HUANG Liping, et al. Suppression of *Bta11975*, an α -glucosidase, by RNA interference reduces transmission of tomato chlorosis virus by *Bemisia tabaci* [J]. *Pest Management Science*, 2021, 77(11): 5294-5303.
- (责任编辑: 杨明丽)