甘薯G病毒吉林分离物的全基因组序列测定与分析

马俊丰[1,2]， 李小宇[2]， 张春雨[2]， 周雪平[3*]， 王永志[2*]

（1. 吉林农业大学，长春 130118；2. 吉林省农业科学院，公主岭 136100；
3. 中国农业科学院植物保护研究所，北京 100193）

摘要 利用RT-PCR结合RACE方法，从感染SPVG的甘薯叶片中获得甘薯G病毒吉林分离物Jilin-gzl的全基因组序列。测序获得的Jilin-gzl分离物（GenBank No. Mk392509）基因组为10 797 nt。该病毒基因组含有一个10 464 nt的开放阅读框，编码由3 488个氨基酸构成的多聚蛋白。在*P*1和*P*3基因中也发现了由移码翻译产生的PISPO蛋白和PIPO蛋白。比对分析显示，在开放阅读框水平上Jilin-gzl与6个不同分离物核苷酸序列一致性为79%～99%，氨基酸一致性为92%～99%，其中与SC11、IS103、HG167和Jesus_Maria分离物一致性最高，与WT325和AI一致性最低。系统发育分析显示，Jilin-gzl与HG167和WCFR11系统发育关系最近，与中国台湾地区分离物WT325系统发育关系较远。这是中国大陆地区关于SPVG分离物全基因序列的首次报道，同时也是首次在中国东北地区发现SPVG。该研究探明了Jilin-gzl分离物的基因结构，系统发育关系，丰富了SPVG基因组序列信息，为后续开展SPVG种群的遗传进化及功能研究奠定了基础。

关键词 甘薯G病毒(SPVG)； 全基因组； 比对分析； 系统发育

中图分类号： S 432.41 **文献标识码：** A **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2019163

Complete genome sequencing and analysis of *Sweet potato virus G* isolate from Jilin, China

MA Junfeng[1,2]， LI Xiaoyu[2]， ZHANG Chunyu[2]， ZHOU Xueping[3*]， WANG Yongzhi[2*]

（1. *Jilin Agricultural University*, *Changchun* 130118, *China*; 2. *Jilin Academy of Agricultural Sciences*, *Gongzhuling* 136100, *China*; 3. *Institute of Plant Protection*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*）

Abstract The complete genome of Jilin-gzl was determined by using rapid-amplification of cDNA ends (RACE) and RT-PCR. The complete sequence of Jilin-gzl (GenBank No. Mk392509) had 10 797 nucleotides, excluding the 3′-terminal poly (A) tail. Its genome contained an open reading frame of 10 464 nucleotides and encoded a polyprotein of 3 488 amino acids. Two additional proteins, termed 'PISPO' and 'PIPO', were also translated by frame shifting within the *P*1 and *P*3 cistron. The results of sequence identity analysis of Jilin-gzl isolate with the 6 reference SPVG isolates showed that Jilin-gzl isolate shared a 79% — 99% nucleotide identity and 92% — 99% amino acid identity with other SPVG isolates at the ORF sequence level. Jilin-gzl isolate shared a highest sequence identity with SC11, IS103, HG167, Jesus_Maria isolates, and a lowest identity with WT325 and AI isolates. Phylogenetic analysis indicated that Jilin-gzl shared high sequence homology with HG167 and WCFR11 isolates, and shared low sequence homology with WT325 isolate from Taiwan, China. This work was the first report about the complete sequence of SPVG in Mainland China and it was also the first time that SPVG has been found in Northeast China. This research elucidated the genetic structure and phylogenetic relationship of Jilin-gzl isolate,

收稿日期： 2019-04-02 **修订日期：** 2019-06-01
基金项目： 国家重点研发计划(2017YFD0201604)；吉林省农业科技创新工程(CXGC2017JQ021)；吉林省农业产业技术体系马铃薯(甘薯)综合栽培技术示范与推广(2018)
* 通信作者 E-mail：周雪平 zzhou@zju.edu.cn；王永志 yzwang@126.com

and enriched the information of SPVG genome sequence. These will provide useful information for further study of the phylogenesis and function of this pathogen.

Key words *Sweet potato virus G* (SPVG); complete genome; comparative analysis; phylogeny

甘薯 *Ipomoea batatas* 为旋花科 Convolvulaceae 薯蓣属 *Dioscorea* 代表植物，是中国主要粮食作物之一。中国是世界第一大甘薯生产国[1]，据联合国粮食及农业组织(FAO)统计，2017 年中国甘薯总产量约 7 203 万 t，占世界甘薯总产量(11 283 万 t)的 63.8%。甘薯作为无性繁殖作物，主要通过块茎进行繁殖，这种繁殖方式极易积累病毒。被侵染后的甘薯，其产量和品质大幅降低，造成严重的经济损失。据 Clark 等 2012 年报道，在世界范围内已发现的能够侵染甘薯的病毒共有 30 多种[2]，其中有 20 多种病毒已经在中国被发现[3-9]。甘薯 G 病毒 *Sweet potato virus G*(SPVG)，是马铃薯 Y 病毒科 *Potyviridae* 马铃薯 Y 病毒属 *Potyvirus* 成员之一，于 1994 年最早在中国被发现，之后美国、秘鲁、韩国、阿根廷等国家也相继报道了该病毒[10-13]。SPVG 在自然条件下通过蚜虫以非持久性方式传播，同时也可以通过汁液摩擦、嫁接等机械方式传播。近几年在中国各个甘薯种植区，SPVG 时有发生，并且已成为影响甘薯品质与产量的重要病毒之一。

SPVG 基因组由正单链 RNA 组成，含有一个较大开放阅读框(open reading frame，ORF)，编码一个多聚蛋白(polyprotein)。基因组 5′和 3′端各有一段非编码区(untranslated regions，UTRs)，3′非编码区末尾具有 poly(A)尾序列。多聚蛋白经自身编码的蛋白酶切割后，得到不同的功能蛋白。除此之外，SPVG 基因组中还有两个小的开放阅读框，通过移码翻译(read frame shift)的方式编码蛋白 PISPO 和蛋白 PIPO，这两个蛋白分别与 P1 和 P3 蛋白的 N 端以 P1N-PISPO 和 P3N-PIPO 融合形式存在[14]。SPVG 基因组通过这两种方式生成 12 个成熟的功能蛋白，使各个基因呈现不同程度的遗传多样性。目前，中国大陆地区关于 SPVG 基因组序列的报道仅集中在部分基因区段，如外壳蛋白(CP)基因等[15]，尚未见有关 SPVG 全基因组序列的报道。本次研究拟通过对 SPVG 吉林分离物 Jilin-gzl 的全基因序列测定，对其序列特征、系统发育关系等进行系统分析，为后续开展 SPVG 相关功能研究奠定基础。

1 材料与方法

本试验于 2018 年 11 月至 2019 年 1 月在吉林省农业科学院植物保护研究所微生物实验室完成。

1.1 试验材料

SPVG 吉林分离物 Jilin-gzl 于 2018 年 9 月采集自吉林省长春市甘薯种植区，呈典型明脉、花叶症状，前期经血清学检测和 *CP* 基因扩增初步确定为 SPVG 分离物，将新鲜样品置于密封袋中，于−80℃冻存。

1.2 主要试剂

RNeasy Plant Mini Kit 为 QIAGEN 公司产品，ReverAid First Strand cDNA Synthesis Kit 为赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific)产品，AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 为爱思进生物技术公司(Axygen)产品，SMARTer RACE 5′/3′ Kit、TaKaRa LA *Taq*、pMD18-T Vector Cloning Kit、RNA Marker、DNA Marker 为宝生物工程公司(TaKaRa)产品。

1.3 试验方法

1.3.1 RNA 提取及基因组克隆

采用 TRIzol 试剂法从确定感染 SPVG 的甘薯叶片中提取总 RNA，提取步骤参照 RNeasy Plant Mini 试剂盒(QIAGEN)说明书。以总 RNA 为模板，参照反转录试剂盒说明书进行反转录，反应体系：Oligo dT Primer 1 μL、dNTP Mixture 1 μL、Total RNA 1 μL、RNase Free H_2O 7 μL，于 65℃温浴 5 min，然后立即冰上冷却，并依次加入：RNase Inhibitor (40 U/μL) 0.5 μL、PrimeScript Ⅱ RTase (200 U/μL) 1 μL、5×PrimeScript Ⅱ Buffer 4 μL，30℃反应 10 min，42℃反应 60 min。根据 GenBank 中已登录的 12 个 SPVG 不同分离物(登录号及名称见图 3)全基因序列的保守区，设计用于合成全基因序列的简并引物和特异性引物(表 1)，以上引物委托吉林省库美生物科技有限公司合成。

表 1　甘薯 G 病毒全基因组扩增引物[1)]

Table 1　Primers used for amplification of *Sweet potato virus G* complete genome

引物 Primer	引物序列(5′-3′) Primer sequence	片段大小/bp Expected size	退火温度/℃ Annealing temperature
AF	ATGGCGTGTTTRGYGAATGGAAAC	3 243	52
AR	CCACCGACCAGGTAATGCTTCA		
BF	CAAATGAAGGGTGAACCGATCCC	2 900	54
BR	CCAATTCACAGGGCTATTCCTGCC		
CF	GTCACAAGTGGAACAAGTGYTCG	2 874	52
CR	CTCCTCTGTATCCGTCACAAAG		
DF	CCTGTTTACACGCAATCTCGAAC	2 646	53
DR	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTACTGCACACCYCTCATACC		
R5	GATTACGCCAAGCTTCAGCTGTTGGAGCAACCTCCAACATGTC	609	65

1) 引物 R5 和 SMARTer RACE 5′/3′试剂盒一同使用,用于扩增 SPVG 5′端非编码区。
Primer R5 was used to amplify 5′UTR of SPVG-with SMARTer RACE 5′/3′ Kit.

PCR 扩增采用 50 μL 反应体系:TaKaRa LA*Taq* (5 U/μL) 0.5 μL、10×LA PCR Buffer Ⅱ (Mg^{2+} Plus) 5 μL、dNTP Mixture 5 μL、cDNA 1 μL、正向引物(10 μmol/L)1 μL、反向引物(10 μmol/L)1 μL、超纯水 36.5 μL。PCR 反应体系:94℃预变性 5 min;94℃变性 30 s,退火 30 s(退火温度视基因片段而定,表 1),72℃延伸若干分钟(延伸时间按 1 kb/min 计算),共 30 个循环;最后 72℃再延伸 5 min。

PCR 反应结束后,取 3 μL 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳进行检测,检测后切取目的条带,利用胶回收试剂盒进行纯化,纯化产物与 pMD18-T 载体进行连接,并转化到 *E. coli* DH5α 感受态细胞中。通过菌落 PCR 筛选出阳性克隆子,随机选取 3～5 个,委托吉林省库美生物科技有限公司进行测序。根据测序结果设计用于扩增 5′非编码区的引物(表 1),5′非编码区的扩增采用 SMARTer RACE 5′/3′试剂盒(TaKaRa),步骤依照说明书进行。

1.3.2　序列分析

利用 DNAMAN 软件进行序列拼接,在网站 http://www.dpvweb.net/potycleavage/index.html 上进行多聚蛋白剪切位点分析,在 http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/上进行序列一致性分析。

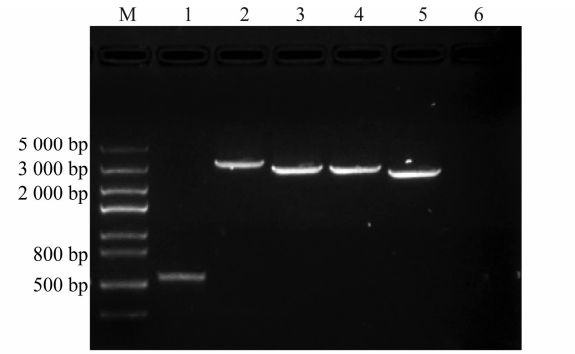
1.3.3　系统发育分析

为探究 SPVG 不同分离物的系统发育关系,从 GenBank 中选取 11 个其他 SPVG 分离物的核苷酸序列作为参考,使用最大似然法(maximum likehood, ML)基于全基因序列编码区(coding sequence, CDS)核苷酸序列构建 SPVG 系统发育树。建树之前,采用 DAMBE 软件检测核苷酸序列替换是否饱和。利用 MEGA 6 软件选择最优化的核苷酸替换模型,并参照 BIC(Bayesian information criterion)标准设置相应参数,最后通过自举法(bootstrap)来对各分支节点的置信度(bootstrap confidence level)进行评估。

2　结果与分析

2.1　Jilin-gzl 分离物的全基因组序列特征

Jilin-gzl 分离物全基因组分段扩增结果如图 1 所示,各片段大小均符合预期。



M: DNA分子标准; 1~5: Jilin-gzl分离物分段扩增产物; 6: 空白对照
M: DNA Marker; 1-5: Segmented amplification products of Jilin-gzl isolate; 6: Negative control (water)

图 1　Jilin-gzl 分离物分段扩增结果

Fig. 1　Results of segmented amplification of Jilin-gzl isolate

通过测序、拼接获得的 Jilin-gzl 分离物基因组全长为 10 797 nt (GenBank No. Mk392509),5′端和 3′端非编码区(untranslated regions, UTRs)的长度分别为 113 nt 和 238 nt,其中 3′末端具有 poly(A)尾序列(图 2)。该分离物仅包含一个开放阅读框,位于 114－10 577 nt,翻译出一个包含 3 488 个氨基酸残基的多聚蛋白,属于典型的 *Potyvirus* 属病毒的基因结构。剪切位点分析显示,Jilin-gzl 分离物

的 9 个剪切位点分别为 PYMEQY/S、KHYLVG/G、DEVQHQ/A、GPVYHQ/S、NCVQHQ/S、EIVQHQ/A、TVVEHE/S、VPVYTQ/S、NNVHHQ/S。Jilin-gzl 分离物不同基因的位置、大小以及编码蛋白的大小如表 2 所示。

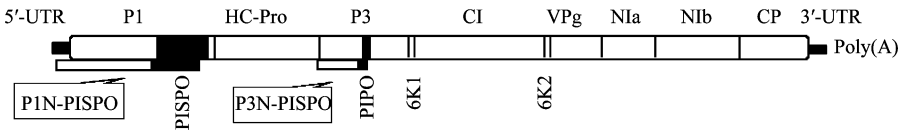


图 2 Jilin-gzl 基因组结构图

Fig. 2 Diagram of Jilin-gzl genome structure

表 2 Jilin-gzl 分离物全基因组信息及其序列一致性比较

Table 2 Genomic information and sequence identity of Jilin-gzl isolate with the reference SPVG isolates

片段 Segment	序列位置与长度 Sequence position and length			核苷酸/氨基酸序列一致性/% Nucleotide/amino acid sequence identity					
	位置 Position	nt	aa	Jesus_Maria	WT325	SC11	IS103	HG167	AI
polyprotein	114－10 577	10 464	3 488	99/99	79/88	99/99	99/99	99/99	83/92
5′UTR	1－113	113	—	76/-	65/-	97/-	97/-	98/-	96/-
P1	114－1 967	1 854	618	99/98	70/53	99/98	99/98	99/97	87/85
PISPO	1 244－1 918	675	225	99/97	66/37	99/99	99/98	99/98	73/46
HC-Pro	1 968－3 341	1 374	458	99/99	75/84	99/99	99/99	99/98	81/93
P3	3 342－4 397	1 056	352	99/99	78/87	99/99	99/99	99/99	77/85
PIPO	3 806－3 991	186	62	99/98	79/67	99/97	99/98	99/98	81/72
6K1	4 398－4 556	159	53	99/100	78/96	99/100	99/98	98/100	78/92
CI	4 557－6 485	1 929	643	99/99	80/95	99/99	99/99	99/99	82/96
6K2	6 486－6 644	159	53	99/100	81/92	98/100	99/100	98/100	78/88
NIa-VPg	6 645－7 220	576	192	99/100	81/93	99/99	99/100	99/99	84/95
NIa-Pro	7 221－7 949	729	243	99/99	83/97	99/99	99/99	99/99	84/96
NIb	7 950－9 512	1 563	521	99/99	82/94	99/99	99/99	99/99	81/92
CP	9 513－10 577	1 065	355	99/99	86/95	99/99	99/99	99/99	87/95
3′UTR	10 581－10 797	238	—	96/-	91/-	97/-	99/-	99/-	91/-

2.2 Jilin-gzl 分离物的序列一致性分析

序列一致性分析显示，在开放阅读框水平上 Jilin-gzl与其他 6 个分离物的核苷酸和氨基酸相似性分别为 79%～99%、92%～99%（表 2），其中与 Jesus_Maria、SC11、IS103、HG167 相似性最高，均为 99%，与 WT325 相似性最低，仅为 79%和 88%。在 5′和 3′非编码区上，核苷酸一致性分别为 65%～98%和 91%～99%，其中在 5′非编码区上 Jilin-gzl 与 Jesus_Maria、WT325 一致性较低，仅为 76%和 65%，而与 SC11、IS103、HG167、AI 一致性较高，均超过 90%；在 3′非编码区上一致性较高，均超过 90%。在单个基因区段上 Jilin-gzl 与 Jesus_Maria、SC11、IS103、HG167 的核苷酸和氨基酸一致性分别为 98%～99%和 97%～100%，一致性均非常高；而与 WT325 和 AI 的核苷酸和氨基酸一致性为 66%～87%和 37%～97%，一致性较低。综上所述，Jilin-gzl 与分离物 SC11、IS103、HG167、Jesus_Maria 一致性非常高，与 WT325、AI 一致性较低。

2.3 系统发育分析

建树序列经过多重比对与 Gblock 剪裁后，得到长度为 10 231 bp 的序列保守区。根据 MEGA 软件的 BIC 标准，建树序列最合适的核苷酸替换模型为 $GTR+I+G$。ML 法构建的系统发育树如图 3 所示，12 个分离物共形成 4 个区域，其中系统发育关系较近的分离物聚为一簇，GWB-2（JN613807，SPVG2）和 SPFMV-UNB-01（MF185715，SPFMV）为外族。从图中可以看到，区域Ⅲ的各个分离物并未像区域Ⅰ和区域Ⅱ那样聚为一簇，但是从图中的拓扑结构来看，Jilin-gzl 与 HG167 和 WCFR11 系统发育关系最近，而与该区域其他分离物系统发育关系相对较远。同时 Jilin-gzl 与中国台湾地区分离物 WT325 系统发育关系相对较远而与两个国外分离

物系统发育关系较近,表明 SPVG 各分离物在遗传多样性上与地理分布无显著联系。

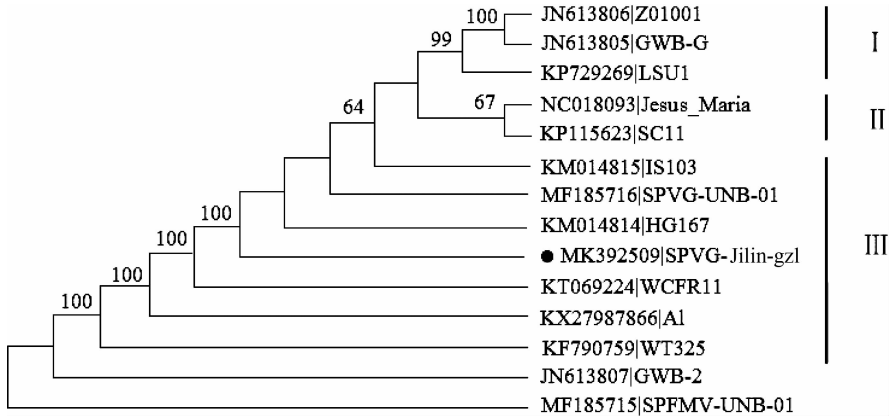


图 3　基于全基因组氨基酸序列的 Jilin-gzl 与其他分离物的系统发育关系

Fig. 3　Phylogenetic relationships of Jilin-gzl with other reported isolates based on complete genome

3　结论与讨论

本研究通过克隆、测序等手段获得了 SPVG 吉林分离物 Jilin-gzl 的全基因组序列,并且通过序列一致性比对,构建系统发育树等方法对其基因组结构特征及其系统发育关系进行了全面的探究与分析。这是中国大陆地区首次关于 SPVG 全基因组序列的报道,同时也是首次在中国东北地区发现 SPVG。本研究结果为后续深入开展 SPVG 种群的遗传进化及相关功能研究奠定了基础。

序列一致性比对分析结果中有一部分数据值得注意,首先在 Jilin-gzl 与 Jesus_Maria 和 AI 比对结果中发现,Jilin-gzl 与 Jesus_Maria 在 5′非编码区核苷酸序列差异性较大,而在编码区和 3′非编码区核苷酸序列差异性较小,与此相反的是,Jilin-gzl 与 AI 在 5′和 3′非编码区核苷酸序列差异性较小,在编码区核苷酸序列差异性较大,类似数据差异在同为 *Potyvirus* 的马铃薯 Y 病毒 *Potato virus Y*(PVY)全基因组序列一致性比对分析中也有发现,并且研究已表明这种数据差异是由 PVY 不同株系重组造成的[16],据此推断,Jilin-gzl 分离物的形成也可能与不同 SPVG 分离物的重组有关。其次,在 Jilin-gzl 与 WT325 和 AI 的比较中发现,Jilin-gzl 与这两个分离物在全基因组水平上序列差异较大,同时在系统发育树中也发现 WT325 和 AI 这两个分离物与 Jilin-gzl 系统发育关系较远,因此,SPVG 可能存在多种株系。除此之外,本试验基于 SPVG 全基因组序列构建系统发育树,相较单基因序列建树,全基因组序列建树能够从基因组水平上,更准确地探究不同分离物之间的系统发育关系。

参考文献

[1] 马代夫,李强,曹清河,等. 中国甘薯产业及产业技术的发展与展望[J]. 江苏农业学报,2012,28(5):969-973.

[2] CLARK C A, DAVIS J A, ABAD J A, et al. Sweet potato viruses: 15 years of progress on understanding and managing complex diseases [J]. Plant Disease, 2012, 96(2): 168-185.

[3] 黄艳岚,张超凡,邹学校. 甘薯杆状病毒湖南分离物基因组全序列测定及比较分析[J]. 植物病理学报,2019,49(6):790-798.

[4] 黄艳岚,张道微,董芳,等. Small RNA 深度测序鉴定甘薯种质的甘薯曲叶病毒[J]. 分子育种,2019,17(11):3641-3649.

[5] 刘起丽,张建新,李学成,等. 侵染甘薯的 DNA 病毒研究进展[J]. 植物保护,2017,43(3):36-42.

[6] 范平民. 广西甘薯病毒病的检测及 2 种病毒(SPFMV 和 SPLCV)的基因组序列分析[D]. 南宁:广西大学,2016.

[7] 秦艳红,渠瑞娜,乔奇,等. 甘薯病毒 C 中国分离物全基因组序列测定及比较分析[J]. 植物病理学报,2018,48(3):324-329.

[8] 乔奇,张振臣,张德胜,等. 中国甘薯病毒种类的血清学和分子检测[J]. 植物病理学报,2012,42(1):10-16.

[9] 王爽,田雨婷,乔奇,等. 侵染甘薯的菜豆金色花叶病毒属病毒和甘薯褪绿矮化病毒多重 PCR 检测方法的建立与应用[J]. 植物保护学报,2018,45(6):1427-1428.

[10] SOUTO E R, SIM J, CHEN J, et al. Properties of strains of Sweet potato feathery mottle virus and two newly recognized potyviruses infecting sweet potato in the United States [J]. Plant Disease, 2007, 87(10):1226-1232.

[11] UNTIVEROSM, FUENTES S, KREUZE J. Molecular variability of sweet potato feathery mottle virus and other potyviruses infecting sweet potato in Peru [J]. Archives of Virology, 2008, 153(3):473-483.

(下转 69 页)

响。刘盼西等[22]通过助剂的筛选和混料设计的试验方法优化了海洋芽胞杆菌 B-9987 可湿性粉剂的制剂配方,其悬浮率为 73.13%,润湿时间 100 s。由华东理工大学与上海泽元海洋生物技术有限公司联合创制的多黏类芽孢杆菌可湿性粉剂产品的悬浮率为 76.10%,润湿时间为 95 s,活菌含量为 5×10^{10} cfu/g[11]。本研究制得的海洋多黏类芽胞杆菌可湿性粉剂的悬浮率为 75%,润湿时间为 48 s,活菌数为 2.36×10^{11} cfu/g,悬浮率与上述文献报道比较接近,而润湿时间则减少了一半,可能与可湿性粉剂中所选用的载体和助剂有关;本研究制得的可湿性粉剂是通过大罐发酵干燥浓缩得到,其含菌量远高于同类产品。

本文研制的海洋多黏类芽胞杆菌可湿性粉剂,对甜瓜枯萎病的田间综合防效高达 84.9%,高于 3%多抗霉素。使用该菌剂后,甜瓜产量增加,显示该菌株具有良好的应用前景,本研究为该菌株可湿性粉剂的工业生产奠定了基础。

参考文献

[1] 南宇航,朱子成,王学征,等. 甜瓜种质资源苗期对枯萎病和白粉病的抗性评价[J]. 中国蔬菜, 2016(1):37-44.

[2] TRIPATHI P, DUBEY N K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables [J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 32(3):235-245.

[3] 邹立飞,余小兰,邹雨坤,等. 拮抗甜瓜枯萎病链霉菌 D2 菌株发酵条件的优化[J]. 南方农业学报,2018,49(5):905-911.

[4] 张春秋,马光恕,廉华,等. 木霉对黄瓜幼苗生理特性及枯萎病防治效果的影响[J]. 植物保护,2018,44(5):238-246.

[5] 刘振华. 多粘类芽孢杆菌和海洋芽孢杆菌可湿性粉剂的研制及其加工工艺的优化与放大[D]. 上海:华东理工大学,2011.

[6] PARK J Y, OH S A, ANDERSON A J, et al. Production of the antifungal compounds phenazine and pyrrolnitrin from *Pseudomonas chlororaphis* O6 is differentially regulated by glucose [J]. Letters in Applied Microbiology, 2011, 52(5):532-537.

[7] KIM S G, KHAN Z, JEON Y H, et al. Inhibitory effect of *Paenibacillus polymyxa* GBR-462 on *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in Chili pepper [J]. Journal of Phytopathology, 2010, 157(6):329-337.

[8] 宋永燕,李平,李姝晋,等. 生防细菌 LM-3 对水稻的促生性和诱导抗性研究[J]. 西南农业学报, 2006,19(3):438-441.

[9] 陈海英,林健荣,廖富蕸,等. 多粘类芽孢杆菌 CP7 对荔枝霜疫霉菌的抗菌活性及其作用机制[J]. 园艺学报, 2010,37(7):1047-1056.

[10] BENT E, BREUIL C, ENEBAK S, et al. Surface colonization of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *latifolia*) roots by *Pseudomonas fluorescens* and *Paenibacillus polymyxa* under antibiotic conditions [J]. Plant and Soil, 2002, 241(2):187-196.

[11] 李元广,魏鸿刚,沈国敏,等. 多粘类芽孢杆菌可湿性粉剂、及其制备和应用[P]. CN101243801,2008-08-20.

[12] 李磊,许敏,王美琴. 生防菌解淀粉芽胞杆菌 Ht-q6 可湿性粉剂的研制及对番茄病害的田间防效[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(5):738-745.

[13] 徐玲,王伟,魏鸿刚,等. 多粘类芽孢杆菌 HY96-2 对番茄青枯病的防治作用[J]. 中国生物防治,2006, 22(3):216-220.

[14] 马桂珍,王淑芳,暴增海,等. 多粘类芽孢杆菌 L_1-9 菌株对番茄早疫病的抑菌防病作用[J]. 中国蔬菜, 2010(12): 55-59.

[15] 马桂珍,暴增海,王淑芳,等. 海洋细菌 L_1-9 菌株对小麦的促生防病作用研究[J]. 中国生物防治学报, 2011,27(1): 228-232.

[16] GB/T 14825-2006. 农药可湿性粉剂悬浮率测定方法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.

[17] GB/T 5451-2001. 农药可湿性粉剂润湿性测定方法[S]. 北京:中国标准出版社,2004.

[18] 李欢,曹雪梅,陈茹,等. 海洋多黏类芽孢杆菌 L_1-9 菌株粉剂对黄瓜的促生防病作用[J]. 河南农业科学,2017,46(12):65-69.

[19] 徐妍,孙宝利,战瑞,等. 浅谈农药可湿性粉剂的质量提升[J]. 现代农药, 2009,8(1): 7-11.

[20] 王剑,王楠,高观朋,等. 200 亿芽孢/g 枯草芽孢杆菌可湿性粉剂的研制[J]. 农药, 2010,49(7): 486-489.

[21] 贺振宁,李海燕,苏媛,等. 枯草芽孢杆菌 B1514 可湿性粉剂的研制及其对小麦纹枯病的防效[J]. 河南农业科学,2015,44(11):67-72.

[22] 刘盼西,李淑兰,李元广,等. 海洋芽孢杆菌可湿性粉剂配方的优化[J]. 农药学报,2014,16(2):206-212.

(责任编辑:田　喆)

(上接 61 页)

[12] KWAK H R, KIM J, KIM M K, et al. Molecular characterization of five potyviruses infecting Korean sweet potatoes based on analyses of complete genome sequences [J]. Plant Pathology Journal, 2015, 31(4):388-401.

[13] RODRÍGUEZ PARDINA P E, BEJERMAN N, LUQUE A V, et al. Complete nucleotide sequence of an Argentinean isolate of *Sweet potato virus G* [J]. Virus Genes, 2012, 45(3): 593-595.

[14] OLSPERT A, CARR J P, FIRTH A E. Mutational analysis of *Potyviridae*, transcriptional slippage site utilized for expression of the P3N-PIPO and P1N-PISPO proteins [J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(16): 7618-7629.

[15] 古英洪, 汤浩茹, 张义正. 甘薯 G 病毒外壳蛋白基因克隆与序列分析[J]. 中国农学通报, 2006(9): 50-55.

[16] CHANG Fei, GAO Fangluan, SHEN Jianguo, et al. Complete genome analysis of a PVY^{N-Wi} recombinant isolate from *Solanum tuberosum* in China [J]. Potato Research, 2015, 58(4): 377-389.

(责任编辑:田　喆)