

PaLCuCNV 和 TYLCCNV 复合侵染引起更严重的番茄黄化曲叶病

熊艳¹, 周常勇^{1,2,*}, 李茵¹, 王春艳¹, 孙现超¹, 青玲^{1,2,*}

(¹西南大学植物保护学院, 植物病害生物学重庆市高校级重点实验室, 重庆 400716; ²中国农业科学院柑桔研究所, 重庆 400712)

摘要: 从四川攀枝花市田间采集 36 份表现严重矮化、黄化和曲叶症状的番茄病株样本, 利用双生病毒简并引物 PA/PB 从所有样本中均扩增得到约 500 bp 的片段, 经全序列测定及分析, 检测出中国番木瓜曲叶病毒 (*Papaya leaf curl China virus*, PaLCuCNV) 和中国番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl China virus*, TYLCCNV), 这两种双生病毒的复合侵染率达 97.2%。系统进化分析表明, 这两种双生病毒分别与已报道的 PaLCuCNV 河南番茄分离物 (PaLCuCNV-[HeNZMI]) 及 TYLCCNV 云南元谋烟草分离物 (TYLCCNV-[Y295]) 的核苷酸序列相似性最高, 分别为 99.1% 和 97.9%。检测发现, 所有分离物均伴随有卫星 DNA β 分子, 全序列测定表明所得 9 个 DNA β 分子均为 TYLCCNV 的卫星 TYLCCNB, 且与其四川番茄分离物 (TYLCCNB-[SC65]) 的核苷酸序列相似性最高, 为 87.7% ~ 94.5%。本文首次报道 PaLCuCNV 与 TYLCCNV/TYLCCNB 病害复合体复合侵染番茄引起更严重的番茄黄化曲叶病。

关键词: 番茄; 中国番木瓜曲叶病毒; 中国番茄黄化曲叶病毒; 全序列; 复合侵染; 卫星 DNA β 分子

中图分类号: S 641.2

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2014) 02-0268-09

The More Severe Tomato Yellow Leaf Curl Disease is Caused by Co-infection of PaLCuCNV and TYLCCNV

XIONG Yan¹, ZHOU Chang-yong^{1,2,*}, LI Yin¹, WANG Chun-yan¹, SUN Xian-chao¹, and QING Ling^{1,2,*}

(¹Chongqing Key Laboratory of Plant Disease Biology, College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China; ²Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China)

Abstract: Thirty-six tomato samples with severe stunting, yellowing and leaf-curling symptoms were collected in Panzhihua, Sichuan Province. Fragments of about 500 bp were amplified from all samples using the begomoviruses degenerate primers PA and PB. The complete genome sequence analysis showed that the diseased tomato samples were infected by *Papaya leaf curl China virus* (PaLCuCNV) and *Tomato yellow leaf curl China virus* (TYLCCNV) and 97.2% samples were infected with both viruses. Sequence analysis showed that PaLCuCNV had the highest sequence identity (99.1%) with PaLCuCNV-[HeNZMI] isolated from tomato in Henan, and TYLCCNV shared the highest sequence identity (97.9%) with TYLCCNV-[Y295] isolated from tobacco in Yuanmou, Yunnan. In addition, all isolates were found to be associated with DNA β molecules. Nine complete DNA β sequences were determined and showed

收稿日期: 2013-08-05; **修回日期:** 2014-01-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30971897, 31272013)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: qling@swu.edu.cn; changyong@hotmail.com)

the highest sequence identity with DNA β of TYLCCNV (TYLCCNB-[SC65]), being ranged from 87.7% to 94.5%. This is the first report that tomato yellow leaf curl disease was caused by the co-infection of PaLCuCNV and TYLCCNV/TYLCCNB.

Key words: tomato; *Papaya leaf curl China virus*; *Tomato yellow leaf curl China virus*; full length DNA sequences; co-infection; satellite DNA β

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 是双生病毒 (whitefly-transmitted geminiviruses, WTGs) 的重要寄主 (Fauquet et al., 2008)。目前全世界已报道 60 余种双生病毒侵染番茄造成严重危害, 这些 WTGs 引起的番茄病毒病已在多个国家番茄种植区暴发, 造成巨大经济损失 (Moriones & Navas-Castillo, 2000; Mansoor et al., 2003; Hanssen et al., 2010; Nava et al., 2013)。在中国自 2006 年上海大面积暴发番茄黄化曲叶病以来 (Wu et al., 2006), 该病已在浙江、江苏、山东、河北、北京、陕西、河南、四川、新疆等地迅速蔓延, 给番茄主产区造成严重损失 (Zhang et al., 2009; 熊艳 等, 2011; 张升 等, 2012; 宗园园 等, 2012; 阮涛 等, 2013; 宋晰 等, 2013)。目前在中国能引起番茄黄化曲叶病的双生病毒有近 10 种, 包括番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)、中国番茄曲叶病毒 (*Tomato leaf curl China virus*, ToLCCNV)、中国番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl China virus*, TYLCCNV)、广东番茄曲叶病毒 (*Tomato leaf curl Guangdong virus*, ToLCGDV)、台湾番茄曲叶病毒 (*Tomato leaf curl Taiwan virus*, ToLCTWV)、泰国番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl Thailand virus*, TYLCTHV)、烟草曲茎病毒 (*Tobacco curly shoot virus*, TbCSV) 和中国番木瓜曲叶病毒 (*Papaya leaf curl China virus*, PaLCuCNV) 等, 且各地毒源不近相同。

中国攀西地区是重要的蔬菜生产基地, 番茄是当地的主要蔬菜作物。作者在攀枝花市曾发现该地区番茄受 TYLCCNV 的侵染危害 (熊艳 等, 2011), 随后在调查 WTGs 的发生为害时, 从该地区红格镇和益民乡共采集到 36 份番茄病株, 与 2009 年所观察到的感染 TYLCCNV 的症状相比, 叶片下卷症状更加严重。本研究中利用 PCR 及克隆测序等技术, 对番茄样品中可能存在的双生病毒种类进行了分子鉴定, 并进行了序列分析。

1 材料与方法

1.1 材料

36 份染病番茄样品于 2010—2012 年间采自四川省攀枝花市红格镇和益民乡, 植株表现矮化、叶片黄化且严重下卷等双生病毒侵染的典型症状 (图 1), 病叶保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。



图 1 田间表现植株矮化、叶片黄化卷曲症状的番茄植株

Fig. 1 Severe stunting, yellowing and leaf-curling symptoms on tomato plants with tomato yellow leaf curl disease

酶、克隆载体及菌株: Ex *Taq*TM Polymerase 购自 TaKaRa 公司; PCR 产物回收采用 TIANGEN 试剂盒; 克隆载体 pGEM-T Easy 购于 Promega 公司; 大肠杆菌 *Escherichia coli* DH5 α 菌株为西南大学植物病毒实验室保存。

1.2 植物总 DNA 提取

以常规 CTAB 法提取番茄病叶总 DNA, -20 °C 保存备用。

1.3 PCR 扩增、克隆和序列测定

利用双生病毒简并引物 PA/PB (Deng et al., 1994) 扩增双生病毒共同区及外壳蛋白部分区域(约 500 bp), 并进行克隆及序列测定, 然后根据测出的序列设计引物对 SC249F (5'-ACTCCCCAGATACA TTAGGGTACG-3') /SC249R (5'-TGTTTGACGTGACTACTTGGGGAC-3') 及 TYLCCNV-Y6F1 (5'-ACCGGATGTACAGAAGCCCTGA-3') /S1C1 (5'-CTTTCGATACATGGGCCTGTTG-3'), 分别扩增 PaLCuCNV 和 TYLCCNV 的 DNA-A 近全长分子; 特异引物对 YM1PF (5'-TCACAAACAAAAGG AGGTCA-3') /YM1PR (5'-GAATATGTAACACATTCAA-3'), 及 YM8TF (5'-TCACCAGAAGACAAA T-3') /YM8TR (5'-AATTGATGTAATTGAAGATC-3') 分别用于检测 TYLCCNV 和中国番木瓜曲叶病毒 (*Papaya leaf curl China virus*, PaLCuCNV) 的 DNA-A。根据已报道的简并引物 PCRe1 和 PBLv2040 扩增双生病毒的 DNA-B 组分 (Rojas et al., 1993), 根据已报道的方法分别扩增双生病毒伴随的卫星 DNA β 与 DNA α 全长序列 (Bridson et al., 2002; Bull et al., 2003), 并设计特异引物 Y10 β (5'-CGGCATTATTTGAGGCAGT-3') / β 02 (5'-GGTACCTACCCTCCC AGGGGTACAC-3') 检测 TYLCCNV 的卫星分子 TYLCCNB。PCR 产物纯化后克隆至 pGEM-T Easy 载体, 经 PCR 菌液鉴定后委托华大基因工程有限公司进行序列测定。

1.4 序列分析及进化树的构建

采用 DNASTar (Version 7.0, Madison, Wis., USA) 和 DNAMAN (Version 5.2.2, Lynnon Biosoft, Quebec Canada) 软件进行序列分析及相似性比较, 进化树构建采用 DNAMAN 的邻近相连法 (Neighbor-joining)。用于序列比较和进化分析的 TYLCCNV 各分离物及伴随卫星分子 TYLCCNB 包括: TYLCCNV-[Bean-YM] (DQ256460)、TYLCCNV-[CHI] (AF311734)、TYLCCNV-[Dali-198] (EU365686)、TYLCCNV-[G102] (AM050555)、TYLCCNV-[GX] (NC-004044)、TYLCCNV-[SC65] (GU199588)、TYLCCNV-[XJ26-4] (FN985163)、TYLCCNV-[Y5] (AJ319674)、TYLCCNV-[Y8] (AJ319677)、TYLCCNV-[Y10] (AJ319675)、TYLCCNV-[Y11] (AJ319676)、TYLCCNV-[Y25] (AJ457985)、TYLCCNV-[Y36] (AJ420316)、TYLCCNV-[Y38] (AJ420317)、TYLCCNV-[Y43] (J781302)、TYLCCNV-[Y64] (AJ457823)、TYLCCNV-[Y72] (EF011559)、TYLCCNV-[Y193] (AJ971524)、TYLCCNV-[Y194] (AJ971265)、TYLCCNV-[Y231] (AM260701)、TYLCCNV-[Y244] (AM260702)、TYLCCNV-[Y264] (AM261326)、TYLCCNV-[Y278] (AM980509)、TYLCCNV-[Y295] (AM260703)、TYLCCNV-[Y322] (AM181683)、TYLCCNB-[Bean-YM] (DQ256459)、TYLCCNB-[Dali-198] (EU365687)、TYLCCNB-[G102] (AM050556)、TYLCCNB-[SC65] (GU199589)、TYLCCNB-[Y5] (AJ421623)、TYLCCNB-[Y8] (AJ421622)、TYLCCNB-[Y10] (AJ421621)、TYLCCNB-[Y11] (AJ421620)、TYLCCNB-[Y25] (AJ421619)、TYLCCNB-[Y36] (AJ506791)、TYLCCNB-[Y38] (AJ420315)、TYLCCNB-[Y43] (AJ420314)、TYLCCNB-[Y64] (AJ421483)、TYLCCNB-[Y72] (EF011560)、TYLCCNB-[Y231] (AM260714)、TYLCCNB-[Y244] (AM260717)、TYLCCNB-[Y264] (AM260722)、TYLCCNB-[Y278] (AM980511)、TYLCCNB-[Y295]

(AM260730)、TYLCCNB-[Y322] (AM181684)。

选择 17 个寄主来源相同或地理起源相近的 PaLCuCNV 分离物进行序列比对 PaLCuCNV-[G2] (AJ558123)、PaLCuCNV-[G4] (AJ811914)、PaLCuCNV-[G7] (AJ811439)、PaLCuCNV-[G8] (AJ558124)、PaLCuCNV-[G10] (AJ558125)、PaLCuCNV-[G12] (AJ558116)、PaLCuCNV-[G22] (AJ704604)、PaLCuCNV-[G30] (AJ558117)、PaLCuCNV-[GX4] (FN297834)、PaLCuCNV-[GZ] (AY650283)、PaLCuCNV-[FQ1] (AM691554)、PaLCuCNV-[Fz10] (JF682837)、PaLCuCNV-[F25] (AM691552)、PaLCuCNV-[Hat] (DQ641700)、PaLCuCNV-[HeNZM1] (N256260)、PaLCuCNV-[LC1-2] (AM691553) 及 PaLCuCNV-[ZM1] (EU874386)。

2 结果与分析

2.1 番茄样品中的双生病毒的检测

以提取的 36 份番茄样品总 DNA 为模板, 利用检测双生病毒 (WTGs) 的简并引物 PA/PB 进行 PCR 扩增, 从 36 份样品中均扩增到 1 条约 500 bp 的条带 (图 2, A); 利用已报道的扩增双生病毒 DNA-B 组分的通用引物 PCRc1/PBLv2040, 均未得到预期大小为 0.5 ~ 0.65 kb 的条带; 利用双生病毒卫星 DNA β 通用引物 β 01/ β 02 进行 PCR 扩增, 从 36 份样品中均得到预期大小为 1.3 kb 的特异性条带 (图 2, B); 利用卫星 DNA α 的通用引物 UNA101/UNA102 对样品进行检测, 均未能扩增到 1.3 kb 的条带。这表明 36 份样品中扩增到的 WTGs 均为单组分双生病毒, 且伴随卫星 DNA β 分子。

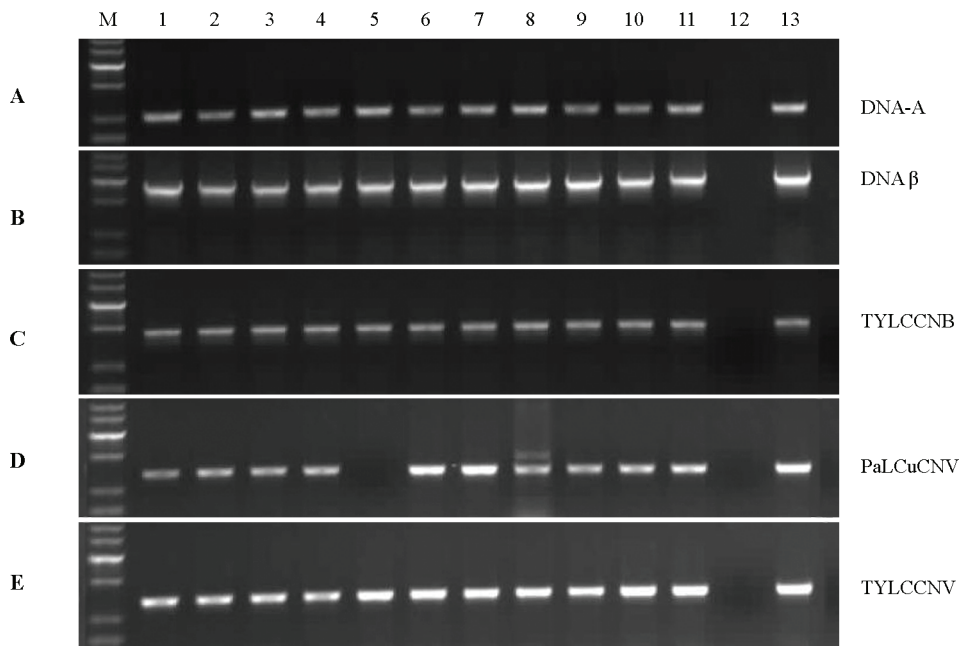


图 2 部分番茄样品中双生病毒 DNA-A、卫星 DNA β 、TYLCCNB、PaLCuCNV 和 TYLCCNV 的 PCR 检测

M: Marker V; 1~11: 样品 YM1~YM11; 12: 阴性对照 (健康番茄植株); 13: 阳性对照 (含 PaLCuCNV、TYLCCNV、TYLCCNB 全长 DNA-A 的质粒)。

Fig. 2 PCR detection of geminiviruses DNA-A, satellite DNA β , TYLCCNB, PaLCuCNV and TYLCCNV in some diseased tomato plants

M: Marker V; 1 - 11: Samples of YM1 - YM11; 12: Negative control (healthy tomato plant); 13: Positive control (Plasmids containing full length DNA-A of PaLCuCNV, TYLCCNV and TYLCCNB respectively).

2.2 双生病毒的种类鉴定及变异分析

将病毒分离物 SC249、SC255、YM1 和 YM8 的 PA/PB 扩增产物进行回收并克隆,同时各随机挑选 5 个阳性克隆进行序列测定。序列比较发现所得 20 个序列间的相似性在 70.5%~99.8%, 明显分为两组, 其中分离物 YM8 所得的 5 个克隆序列单独聚为一组。进一步将这些序列与 GenBank 中的序列进行对比发现, YM8 的 5 个克隆均与 TYLCCNV-Y295 相似性最高, 为 95.4%~96.1%; 其余分离物序列则均与 PaLCuCNV-G30 相似性最高, 为 96.4%~97.5%。

根据所得片段序列分别设计引物 SC249-F/SC249-R 及 TYLCCNV-Y6F1/S1C1 扩增样品中可能存在的 WTGs 的近全长 DNA-A 分子, 经克隆、测序及序列拼接后得到其 DNA-A 的全基因组序列。其中, 利用引物对 SC249-F/SC249-R 从 YM1 和 YM8 中扩增到的 DNA-A (YM1-P 和 YM8-P) 长度均为 2 749 nt, 序列相似性为 99.1%。利用引物对 TYLCCNV-Y6F1/S1C1 从 YM8 中扩增到的 DNA-A (YM8-T) 长度为 2 738 nt。进一步与 GenBank 中的序列进行比对发现, YM1-P 与 PaLCuCNV 分离自广西的 1 个番茄分离物 (PaLCuCNV-[G30]) 相似性最高, 为 99.3%; YM8-P 与 PaLCuCNV 来自河南的 1 个番茄分离物 (PaLCuCNV-[HeNZMI]) 相似性最高, 为 99.1%; YM8-T 则与 TYLCCNV 来自云南元谋的 1 个烟草分离物 (TYLCCNV-[Y295]) 相似性最高, 为 97.9%。这些结果表明 YM1-P 和 YM8-P 均为 PaLCuCNV 分离物, YM8-T 是 TYLCCNV 分离物。

为进一步明确 YM1-P、YM8-P 及 YM8-T 的起源及与 PaLCuCNV 和 TYLCCNV 各分离物的进化关系, 基于其全基因组分别构建系统关系树。从系统关系树中可以看出, YM8-T 与 TYLCCNV-[Y295]的亲缘关系较近 (图 3, A); YM1-P 和 YM8-P 与另外 3 个分离自番茄的 PaLCuCNV 分离物 (PaLCuCNV-[G30]、PaLCuCNV-[HeNZMI] 和 PaLCuCNV-[ZM1]) 位于一个独立分支, 表明 PaLCuCNV 这 5 个分离物间亲缘关系较近 (图 3, B)。

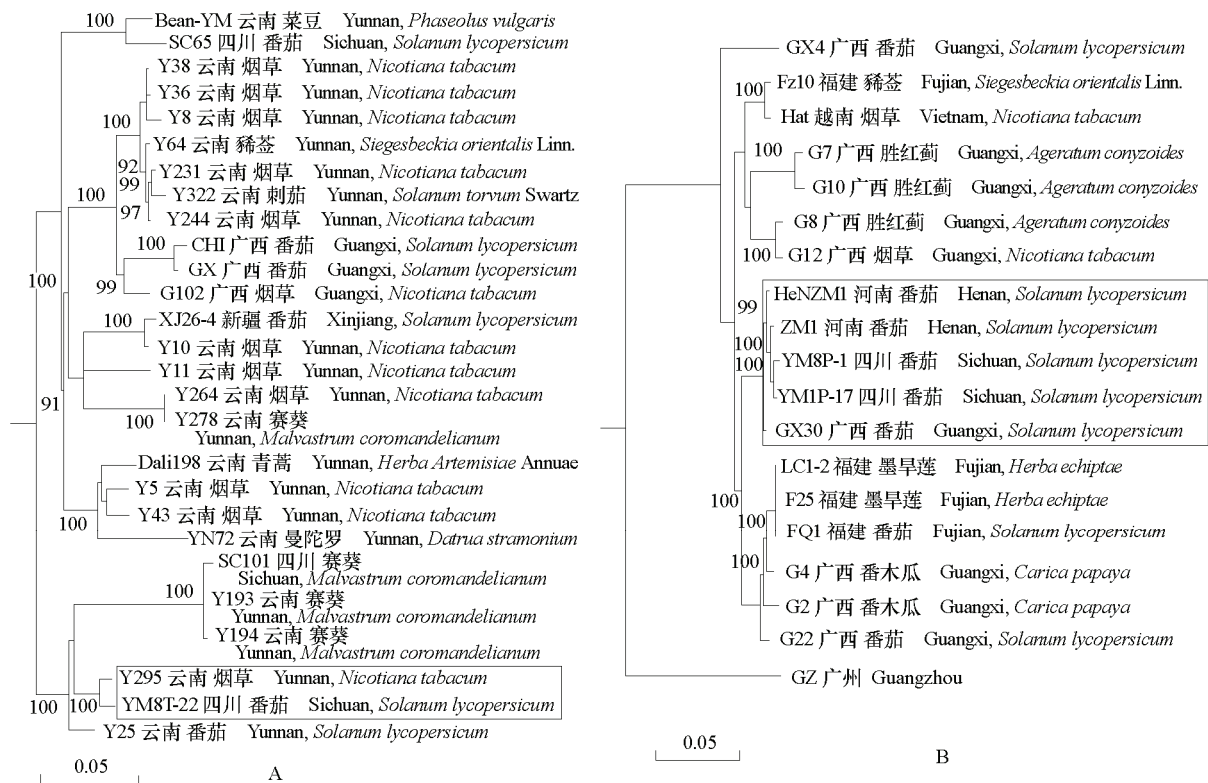


图 3 基于全序列构建的中国番茄黄化曲叶病毒 (A) 和中国番木瓜曲叶病毒 (B) 不同分离物进化树

Fig. 3 Phylogenetic analysis of TYLCCNV (A) and PaLCuCNV (B) isolates based on full length DNA-A sequences

2.3 卫星 DNA β 分子的鉴定

随机选取 YM5、YM8、SC239、SC249 和 SC255 总 DNA 为模板, 利用双生病毒卫星 DNA β 通用引物 $\beta 01/\beta 02$ 进行 PCR 扩增, 回收 PCR 产物并进行克隆, 各挑选 1~3 个克隆进行序列测定。全序列测定表明所得 9 个 DNA β 分子全基因组大小在 1 340~1 357 nt 之间, 其核苷酸序列相似性在 88.8%~100% 之间, 且均与 TYLCCNB-[SC65] 相似性最高, 在 87.7%~94.5% 之间。这些结果表明, DNA β 均为 TYLCCNV 的卫星分子 TYLCCNB。基于 TYLCCNB 全长序列构建的进化关系树, 所有四川番茄上分离得到的卫星分子聚类在一起, 并与云南番茄上的 1 个分离物 TYLCCNB-[Y25] 亲缘关系最近 (图 4)。利用扩增 TYLCCNB 的特异引物 Y10 β / $\beta 02$ 对 36 份样品进行 PCR 扩增, 检测结果表明, 所有样品均伴随 TYLCCNB (图 2, C)。

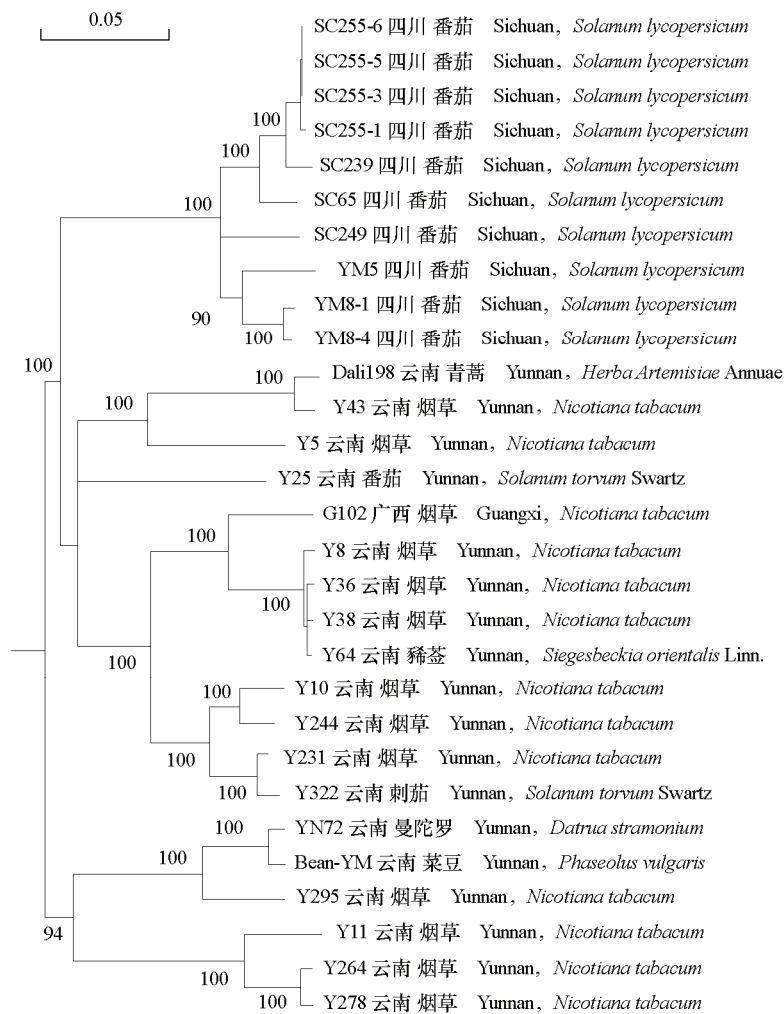


图 4 基于 DNA β 全序列构建的中国番茄黄化曲叶病毒卫星不同分离物进化树

Fig. 4 Phylogenetic analysis of TYLCCNB isolates based on their full length sequences

2.4 病毒复合侵染的检测

由于在 YM8 中检测到两种双生病毒, 为明确四川番茄上是否普遍发生病毒复合侵染, 分别设计 PaLCuCNV 及 TYLCCNV 的特异性引物 YM1P-F/YM1P-R 和 YM8T-F/YM8T-R 对 36 份样品进行 PCR 扩增 (图 2, D 和 E)。结果表明, 35 份样品均受到 PaLCuCNV 和 TYLCCNV 的复合侵染,

仅有一个样品受 TYLCCNV 的单独侵染，复合侵染率为 97.2%（表 1）。

表 1 四川番茄样品中 TYLCCNV 和 PaLCuCNV 复合侵染的 PCR 检测
Table 1 Co-infection of TYLCCNV and PaLCuCNV on diseased tomato samples in Sichuan by PCR detection

地点 County	样品数 Number of samples	病毒检出率/% Percentages of viral detection		
		TYLCCNV	PaLCuCNV	TYLCCNV + PaLCuCNV
红格镇 Hongge	25	100	100	100
益民乡 Yimin	11	100	90.9	90.9
总计 Total	36	100	97.2	97.2

3 讨论

本研究结果表明，从四川攀枝花市采集的番茄黄化曲叶病样品中检测到 TYLCCNV 和 PaLCuCNV 两种双生病毒，其复合侵染的检出率高达 97.2%，且 36 份样品中均伴随有卫星分子 TYLCCNB。

继在广西烟草上分离鉴定到 TYLCCNV 以来（刘玉乐 等，1998），已先后在云南、四川的烟草和番茄等作物上发现其危害（Xie et al., 2003; 熊艳 等，2011），同时在该地区豨苣、赛葵等杂草上也发现 TYLCCNV/DNA β 病害复合体的侵染危害，并呈现逐步扩展的趋势（彭燕 等，2004; 阮涛 等，2011）。本研究中对 TYLCCNV-YM8 与所有 TYLCCNV 分离物序列进行分析发现，与其亲缘关系最近的是分离自云南元谋的烟草分离物 TYLCCNV-Y295，并不是 2009 年在该地区番茄上分离鉴定的 TYLCCNV-SC65，因此推测它们可能来源不同，或者是其入侵后发生了变异。对所有 TYLCCNB 进行序列分析发现，本研究中分离得到的 9 个卫星分子核苷酸序列均与 2009 年在该地区分离得到的 TYLCCNB-SC65 相似性最高，且所有四川番茄上分离的卫星分子为一个独立分支，与云南番茄分离物 TYLCCNB-Y25 亲缘关系较近。由于未见 PaLCuCNV 在云南、四川地区侵染危害的报道，为明确 PaLCuCNV-YM1 和 PaLCuCNV-YM8 的起源，本研究对中国已报道的 PaLCuCNV 所有分离物的进化关系进行了分析，结果表明 PaLCuCNV 种内变异很大，且各分离物并不依赖地理起源而聚类。本研究中所得的 PaLCuCNV-[YM1] 和 PaLCuCNV-[YM8] 与 PaLCuCNV-[G30]、PaLCuCNV-[HeNZMI] 和 PaLCuCNV-[ZM1] 具有较近的亲缘关系，这 5 个分离物聚为一个独立分支，且 5 个分离物均来源于番茄。由于四川攀枝花与广西、河南相距甚远，因此推测该病毒在四川的发生很可能是贸易运输造成的扩散所致。

近年来有关双生病毒在多种作物和杂草上复合侵染的现象被频繁报道，主要表现为多种病毒复合侵染或者是一种病毒伴随多种卫星分子（Ala-Poikela et al., 2005; 王向阳, 2007; Yang et al., 2008; 阮涛 等，2011）。已有研究发现，双生病毒变异很快，而复合侵染是病毒基因重组的前提条件，自然界存在的多种病毒复合侵染现象一方面可能导致病毒之间产生协生作用从而加重其对寄主的危害，另一方面则增加了病毒发生基因重组的几率，由重组产生的新病毒或新株系可能具备更强的致病力和更广的寄主范围，从而成为病毒进化的动力（Monci et al., 2002; Owor et al., 2007; Chen et al., 2009; Davino et al., 2009; Renteria-Canett et al., 2011）。无论 TYLCCNV/DNA β 病害复合体还是 PaLCuCNV 均已有报道在番茄上侵染危害，但本研究中首次发现 PaLCuCNV 与 TYLCCNV/DNA β 复合侵染番茄引起更严重的番茄黄化曲叶病。到目前为止，在 PaLCuCNV 单独侵染的植株中均未检测到卫星 DNA β 分子的存在，有报道表明 DNA β 与双组分双生病毒 DNA-A 和 DNA-B 共同侵染番茄可引起更严重的症状（Sivalingam & Varma, 2012），因而卫星 TYLCCNB 对 PaLCuCNV 侵染是否具有作用，以及这两种病毒之间是否存在互作，还有待进一步研究。

References

- Ala-Poikela M, Svensson E, Rojas A, Horko T, Paulin L, Valkonen J P T, Kvarnheden. 2005. Genetic diversity and mixed infections of begomoviruses infecting tomato, pepper and cucurbit crops in Nicaragua. *Plant Pathology*, 54: 448 - 459.
- Briddon R W, Bull S E, Mansoor S, Amin I, Markham P G. 2002. Universal Primers for the PCR-Mediated Amplification of DNA β : A molecule associated with some monopartite begomoviruses. *Molecular Biotechnology*, 20: 315 - 318.
- Bull S E, Briddon R W, Markham P G. 2003. Universal primers for the PCR-Mediated amplification of DNA1: A satellite-like molecule associated with begomovirus-DNA β complexes. *Molecular Biotechnology*, 23: 83 - 86.
- Chen L F, Rojas M, Kon T, Gamby K, Xoconostle-Cazares B, Gilbertson R L. 2009. A severe symptom phenotype in tomato in Mali is caused by a reassortant between a novel recombinant begomovirus (*Tomato yellow leaf curl Mali virus*) and a betasatellite. *Molecular Plant Pathology*, 10 (3): 415 - 430.
- Davino S, Napoli C, Dellacroce C, Miozzi L, Noris E, Davino M, Accotto G P. 2009. Two new natural begomovirus recombinants associated with the tomato yellow Leaf curl disease co-exist with parental viruses in tomato epidemics in Italy. *Virus Research*, 143: 15 - 23.
- Deng D, McGrath P F, Robinson D J, Harrison B D. 1994. Detection and differentiation of whitefly-transmitted geminiviruses in plants and vector insects by the polymerase chain-reaction with degenerate primers. *Annals of Applied Biology*, 125 (2): 327 - 336.
- Fauquet C M, Briddon R W, Brown J K, Moriones E, Stanley J, Zerbini M, Zhou X P. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology*, 153 (4): 783 - 821.
- Hanssen I M, Lapidot M, Thomma B P H J. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23 (5): 539 - 548.
- Liu Yu-le, Cai Jian-he, Li Dong-ling, Qin Bi-xia, Tian Bo. 1998. *Tomato yellow leaf curl China virus* - A distinct begomovirus. *Science in China: Series C*, 28 (2): 148 - 153. (in Chinese)
- 刘玉乐, 蔡健和, 李冬玲, 秦碧霞, 田 波. 1998. 中国番茄黄化曲叶病毒——双生病毒的一个新种. *中国科学: C 辑*, 28 (2): 148 - 153.
- Mansoor S, Briddon R W, Zafar Y, Stanley J. 2003. Geminivirus disease complexes: An emerging threat. *Trends in Plant Science*, 8 (3): 128 - 134.
- Monci F, Sanchez-Campos S, Navas-Castillo J, Moriones E. 2002. A natural recombinant between the geminiviruses *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* and *Tomato yellow leaf curl virus* exhibits a novel pathogenic phenotype and is becoming prevalent in Spanish populations. *Virology*, 303 (2): 317 - 326.
- Moriones E, Navas-Castillo J. 2000. *Tomato yellow leaf curl virus*, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research*, 71 (1 - 2): 123 - 134.
- Nava A, Londono A, Polston J E. 2013. Characterization and distribution of *Tomato yellow margin leaf curl virus*, a begomovirus from Venezuela. *Archives of Virology*, 158: 399 - 406.
- Owor B E, Martin D P, Shepherd D N, Edema R, Monjane A L, Rybicki E P, Thomson J A. 2007. Genetic analysis of *Maize streak virus* isolates from Uganda reveals widespread distribution of a recombinant variant. *Journal of General Virology*, 88: 3154 - 3165.
- Peng Yan, Xie Yan, Zhang Zhong-kai, Zhou Xue-ping. 2004. Molecular characterization of *Tomato yellow leaf curl China virus* and its associated satellite DNA infecting *Siegesbeckia orientalis*. *Acta Microbiologica Sinica*, 44 (1): 29 - 33. (in Chinese)
- 彭 燕, 谢 艳, 张仲凯, 周雪平. 2004. 侵染稀硷的中国番茄黄化曲叶病毒及其卫星 DNA 全基因组结构特征. *微生物学报*, 44 (1): 29 - 33.
- Renteria-Canett I, Xoconostle-Cazares B, Ruiz-Medrano R, Rivera-Bustamante R F. 2011. Geminivirus mixed infection on pepper plants: Synergistic interaction between PHYVV and PepGMV. *Virology Journal*, 8: 104.
- Rojas M R, Gilbertson R L, Russell D R, Maxwell D P. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain-reaction to detect whitefly-transmitted geminiviruses. *Plant Disease*, 77: 340 - 347.
- Ruan Tao, Yang Hui-fang, Yang Shui-ying, Sun Xian-chao, Qing Ling. 2013. Molecular characterization of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) infecting tomato (*Lycopersicon esculentum*) in Jingyang County of Shaanxi Province. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 21 (1): 97 - 105. (in Chinese)
- 阮 涛, 杨会芳, 杨水英, 孙现超, 青 玲. 2013. 分离自陕西泾阳番茄的番茄黄化曲叶病毒 (TYLCD) 的分子特征. *农业生物技术学报*, 21 (1): 97 - 105.
- Ruan Tao, Yu Yun-qi, Bao Ling-yun, Zhang Jing, Qing Ling. 2011. Identification and detection of mix-infection of whitefly-transmitted

- geminiviruses on *Malvastrum coromandelianum* in Miyi County of Sichuan Province. *Acta Phytopylacica Sinica*, 38 (5): 419 - 424. (in Chinese)
- 阮 涛, 于云奇, 包凌云, 张 婧, 青 玲. 2011. 四川米易赛葵上粉虱传双生病毒的分子鉴定和复合侵染检测. *植物保护学报*, 38 (5): 419 - 424.
- Sivalingam P N, Varma A. 2012. Role of betasatellite in the pathogenesis of a bipartite begomovirus affecting tomato in India. *Archives of Virology*, 157: 1081 - 1092.
- Song Xi, Shi Ying-chun, Zhang Shi-chen, Liang Yan, Wang Nian, Chen Shan-yi, Zhou Tao. 2013. Detection and preliminary strain identification of the pathogen inducing tomato yellow leaf curl disease in Beijing. *Acta Phytopylacica Sinica*, 43 (2): 113 - 119. (in Chinese)
- 宋 晰, 师迎春, 张世晨, 梁 彦, 王 甘, 陈善义, 周 涛. 2013. 北京地区番茄黄化曲叶病病毒分离物测定及株系的初步鉴定. *植物病理学报*, 43 (2): 113 - 119.
- Wang Xiang-yang. 2007. A mixture infecting of *Begomovirus* with yellow vein on *Ageratum* in Guangxi Province. *Acta Phytopylacica Sinica*, 37 (6): 679 - 682. (in Chinese)
- 王向阳. 2007. 广东胜红蓟黄脉病样中发现多种菜豆金色花叶病毒属的病毒. *植物病理学报*, 37 (6): 679 - 682.
- Wu J B, Dai F M, Zhou X P. 2006. First report of *Tomato yellow leaf curl virus* in China. *Plant Disease*, 90 (10): 1359.
- Xie Y, Zhou X P, Li G X. 2003. Molecular characterization of *Tomato yellow leaf curl China virus* and its satellite DNA isolated from tobacco. *Chinese Science Bulletin*, 48 (8): 766 - 770.
- Xiong Yan, Yang Shuai, Qing Ling, Zhou Chang-yong, Sun Xian-chao, Yang Shui-ying. 2011. Molecular identification and variation analysis of the pathogen causing tomato yellow leaf curl disease in Sichuan Province. *Scientia Agricultura Sinica*, 44 (3): 477 - 484. (in Chinese)
- 熊 艳, 杨 帅, 青 玲, 周常勇, 孙现超, 杨水英. 2011. 四川番茄黄化曲叶病病原分子鉴定及变异分析. *中国农业科学*, 44 (3): 477 - 484.
- Yang C X, Jia F, Liu Z, Cui G X, Xie L H, Wu Z J. 2008. Mixed infection of two begomoviruses in *Malvastrum coromandelianum* in Fujian, China. *Journal of Phytopathology*, 156: 553 - 555.
- Zhang H, Gong H R, Zhou X P. 2009. Molecular characterization and pathogenicity of *Tomato yellow leaf curl virus* in China. *Virus Genes*, 39 (2): 249 - 255.
- Zhang Sheng, He Wei, Yang Hua, Cui Yuan-yu, Sun Xiao-jun, Zhang Ya-li, Zhang Xin-min, Zhang Ju-hong. 2012. Occurrence and control of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) disease in Xinjiang. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 49 (1): 105 - 107. (in Chinese)
- 张 升, 何 伟, 杨 华, 崔元珩, 孙晓军, 张亚莉, 张新民, 张菊红. 2012. 新疆发生番茄黄化曲叶病毒病. *新疆农业科学*, 49 (1): 105 - 107.
- Zong Yuan-yuan, Liu Lei, Li Tao, Sayed Rashid Ali Shah, Zhou Long-xi, Sun Yu-yan, Zheng Zheng, Zheng Qi-gong, Fan Shu-ying, Li Jun-ming. 2012. Mapping of QTLs conferring the resistance to *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV) in *Solanum lycopersicoides*. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (5): 915 - 922. (in Chinese)
- 宗园园, 刘 磊, 李 涛, Sayed Rashid Ali Shah, 周龙溪, 孙玉燕, 郑 峥, 郑启功, 范淑英, 李君明. 2012. 类番茄抗番茄黄化曲叶病毒 QTL 的定位. *园艺学报*, 39 (5): 915 - 922.