



番茄斑驳花叶病毒在我国茄科作物上的发生及生物学特性

李月月^{1,5}, 周文鹏¹, 路思倩¹, 陈德荣¹, 戴剑鸿², 郭乔优², 刘勇³, 李凡¹, 谭冠林^{1,4}

(¹云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201; ²元谋县植保植检站, 云南元谋 651300; ³湖南省植物保护研究所, 长沙 410125;

⁴云南农业大学现代教育技术中心, 昆明 650201; ⁵洛阳师范学院生命科学学院, 河南洛阳 471934)

摘要:【目的】鉴定烟草花叶病毒属(*Tobamovirus*)新种番茄斑驳花叶病毒(*Tomato mottle mosaic virus*, ToMMV)当前在我国茄科作物上的发生危害情况、主要分布地区和自然寄主,明确其主要寄主范围、传播途径和致病性等生物学特性。【方法】利用 RT-PCR 方法对 2013—2017 年采自我国云南、贵州、四川、海南、湖南、河南、陕西、山东、湖北、浙江、辽宁、西藏和内蒙古 13 个省(自治区),表现为花叶、皱缩、畸形、黄化、坏死等疑似病毒病症状的茄科作物辣椒、番茄、茄子、马铃薯和烟草等样品进行 ToMMV 的检测。分别将 ToMMV 进行摩擦接种和注射接种,对感染 ToMMV 的珊西烟获得的种子及由种子萌发的幼苗进行 ToMMV 检测,对由健康种子萌发且在含有 ToMMV 毒源土壤中生长的 6—8 叶龄辣椒和番茄幼苗进行 ToMMV 检测,以此开展 ToMMV 传播方式的测试。在茄科、葫芦科、豆科和十字花科等 6 科 30 种植株上开展 ToMMV 的寄主范围鉴定和不同辣椒、番茄材料对 ToMMV 的抗性鉴定。【结果】我国 13 个省(区)共采集茄科作物疑似病毒病样品 1 622 份,ToMMV 的平均检出率为 2.59%,目前 ToMMV 已在我国云南、湖南、海南、辽宁、陕西、西藏和内蒙古 7 个省(区)发生。其中云南、湖南、海南、陕西和西藏的辣椒上有 ToMMV 的发生,而云南、海南、辽宁及内蒙古的番茄上有 ToMMV 的发生,平均检出率分别为 2.51%和 3.46%,尚未在茄子、马铃薯和烟草样品中检测到 ToMMV 的侵染。ToMMV 可通过摩擦、注射、种子带毒及土壤带毒进行传播,且种子带毒率越高,对种苗生长的影响越大;寄主范围测试发现,ToMMV 可侵染几乎所有供试的茄科和十字花科植物,及部分豆科和葫芦科植物。筛选出对 ToMMV 免疫的辣椒材料 1 份、高抗的辣椒材料 2 份以及对 ToMMV 高抗的番茄材料 2 份。【结论】ToMMV 目前已在我国辣椒、番茄上发生,人工条件下 ToMMV 的寄主范围较广,致病力强,在我国有逐渐扩散和流行的趋势,很可能会成为未来蔬菜作物尤其是茄科作物上危害严重的主要病毒之一。

关键词: 番茄斑驳花叶病毒; 茄科作物; 发生分布; 传播方式; 致病性

Occurrence and Biological Characteristics of *Tomato mottle mosaic virus* on Solanaceae Crops in China

LI YueYue^{1,5}, ZHOU WenPeng¹, LU SiQian¹, CHEN DeRong¹, DAI JianHong², GUO QiaoYou²,
LIU Yong³, LI Fan¹, TAN GuanLin^{1,4}

(¹College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; ²Plant Protection and Plant Inspection Station of Yuanmou, Yuanmou 651300, Yunnan; ³Plant Protection Institute of Hunan, Changsha 410125; ⁴Center for Modern Educational Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; ⁵College of Life Science, Luoyang Normal University, Luoyang 471934, Henan)

收稿日期: 2019-08-07; 接受日期: 2019-09-19

基金项目: 国家自然科学基金(31660039)、国家公益性行业(农业)科研专项(201303028)、云南省高校科技创新团队支持计划(云教科[2014]22号)

联系方式: 李月月, E-mail: yuey_li@126.com. 通信作者谭冠林, E-mail: gltan@126.com

Abstract: 【Objective】 The objective of this study is to determine the occurrence, main distribution area, natural host and biological characteristics including host range, transmission way and pathogenicity of *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) in solanaceae crops of China, which is a newly identified species in the genus *Tobamovirus*. **【Method】** Using RT-PCR method, the suspected virus-infected pepper, tomato, eggplant, potato, tobacco of solanaceae crops showing mosaic, shrinking, malformation, yellowing, necrosis symptoms collected from 13 provinces/autonomous regions (Yunnan, Guizhou, Sichuan, Hainan, Hunan, Henan, Shaanxi, Shandong, Hubei, Zhejiang, Liaoning, Tibet and Inner Mongolia) of China in 2013-2017 were detected. Transmission ways were tested by mechanical inoculation and injection, by ToMMV detection in the seeds obtained from ToMMV-infecting tobacco and the seedlings germinated from the seeds, as well as in the 6-8 leaves seedlings of pepper and tomato germinated from the healthy seeds grew in the ToMMV-contaminated soils. Host range test of ToMMV on 30 plants in 6 families such as Solanaceae, Cucurbitaceae, Leguminosae, Cruciferae and disease resistance evaluation of different pepper and tomato varieties against ToMMV were carried out. **【Result】** A total of 1 622 suspected virus-diseased samples of solanaceae crops were collected from 13 provinces/autonomous regions, and the average detection rate of ToMMV was 2.59%, which occurred in 7 provinces/autonomous regions including Yunnan, Hunan, Hainan, Liaoning, Shaanxi, Tibet and Inner Mongolia. ToMMV infection in pepper was detected in Yunnan, Hunan, Hainan, Shaanxi and Tibet, while the infection of ToMMV in tomato was detected in Yunnan, Hainan, Liaoning and Inner Mongolia, with the average detection rates of 2.51% and 3.46%, respectively. No ToMMV was detected in eggplant, potato and tobacco. ToMMV could be transmitted by mechanical inoculation, injection, virus-contaminated seeds and virus-contaminated soils under experimental conditions, and showed the higher ToMMV infection rate in the seeds, the greater impact on the growth of seedlings. ToMMV could infect almost all of the tested solanaceae and cruciferae plants, and some leguminosae and cucurbitaceae plants. One pepper germplasm material was identified as immune to ToMMV, and two pepper germplasm materials were high resistance to ToMMV, while two tomato germplasm materials showed high resistance to ToMMV. **【Conclusion】** ToMMV has been occurring on pepper and tomato in China at present, and the host range of ToMMV is wide and the pathogenicity is strong under experimental conditions. ToMMV has a gradual spread and epidemic trend in China, and it is likely to become one of the most harmful viruses on vegetable crop production, especially in solanaceae crops in the future.

Key words: *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV); solanaceae crops; occurrence and distribution; transmission way; pathogenicity

0 引言

【研究意义】番茄斑驳花叶病毒 (*Tomato mottle mosaic virus*, ToMMV) 为近几年发现的烟草花叶病毒属 (*Tobamovirus*) 的一种新成员, 该病毒的致病力比同属的烟草花叶病毒 (*Tobacco mosaic virus*, TMV) 和番茄花叶病毒 (*Tomato mosaic virus*, ToMV) 均强, 且自该病毒首次被发现以来, 已在越来越多的国家被发现。尽快了解和掌握 ToMMV 目前在我国的发病情况、分布地区和自然寄主, 以及病毒的寄主范围和传播方式等生物学特性对 ToMMV 的预测防控具有重要意义。**【前人研究进展】**ToMMV 是 2013 年首次在墨西哥番茄 (*Solanum lycopersicum*) 上发现的 *Tobamovirus* 一个新种^[1], 同年笔者实验室在我国西藏自治区拉萨市和云南省元谋县的辣椒 (*Capsicum annuum*) 上也发现了该病毒, 并于 2014 年进行了报道^[2]。2015—2019 年美国的佛罗里达和纽约^[3-4]、以色列^[5]、西班牙^[6]、巴西^[7]、中国^[8-9]等相继报道了番茄上 ToMMV 的侵染。2018 年我国山东、河南、辽宁和

河北的茄子 (*Solanum melongena*) 上也报道了 ToMMV 的侵染^[10]。GenBank 中已公布的来自伊朗的病毒分离物 HQ593616、JX112024、JX112025、JX121570、JX121574、JX121575、JX121576, 来自巴西的病毒分离物 AF411922、AM411425、AM411430^[11]以及中国病毒分离物 JX025564 在 ToMMV 被鉴定成为一个新种之前, 均被认为是 ToMV, 而根据核苷酸序列的同源性比对结果, 发现这些病毒分离物外壳蛋白 (coat protein, CP) 基因的核苷酸序列与 ToMMV 的同源性在 97.7%—99.2%, 所以这些 ToMV 分离物应该也是 ToMMV, 其中 2003 年在巴西发现的番茄分离物 (AF41192) 可能是第一个被发现的 ToMMV 分离物。这些病毒分离物有的来自番茄 (AF411922、JX025564、JX112024、JX112025、JX121575 和 JX121576), 有的来自辣椒 (AM411425、AM411430 和 JX121574), 有的来自菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) (JX121570), 还有的来自墙生藜 (*Chenopodium murale*) (HQ593616)。由此推断, ToMMV 很可能早就在国内外很多地区发生, 而且可能是侵染茄科作物的主要病毒之一, 除了

茄科作物外, ToMMV 还可以侵染豆科和藜科作物, 只是由于被误认为是与 ToMMV 全基因组序列同源性达 84.3% 的 ToMV 而被忽略^[8,12]。将 ToMMV 人工接种至辣椒、番茄、烟草等茄科作物上, 感病植株表现严重花叶、泡斑、畸形、坏死, 生长期缩短, 比同一环境下接种 TMV 的植物表现症状更为严重^[12]。SUI 等^[13]通过人工接种, 将 ToMMV 和 ToMV 分别接种至 7 科 27 种植物上, 发现 ToMMV 可以侵染茄科大部分植物, 比 ToMV 的寄主范围更广, 侵染性更强, ToMMV 可以系统性侵染珊西烟 (*Nicotiana tabacum* var. Xanthi nc) 和曼陀罗 (*Datura stramonium*), 但 ToMV 在珊西烟和曼陀罗上无明显症状, 且有些对 ToMV 有抗性的番茄品种却可以被 ToMMV 系统性侵染; AMBRÓS 等^[6]将 ToMMV 西班牙分离物人工接种到番茄、辣椒、本氏烟 (*N. benthamiana*)、昆诺藜 (*Chenopodium quinoa*) 和拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 等植物上, 发现 ToMMV 对这些接种植物均可侵染, 除拟南芥外, 其余几种植物发病症状均比较明显。【本研究切入点】虽然 ToMMV 及其引起的病毒病目前在中国尚未出现大发生及流行, 但是一旦具备合适的气候、感病品种等有利于病害发生的条件, ToMMV 很有可能会在茄科作物上大面积发生, 而一旦暴发, 对茄科作物造成的损失将非常严重。近年来番茄褪绿病毒 (*Tomato chlorosis virus*, ToCV) 在我国多地暴发流行并造成巨大经济损失的案例^[14-18], 显示对新发病害前期基础研究不够充分带来的严重后果, 因此, 亟需加强对 ToMMV 的研究以防范其在我国的流行危害。【拟解决的关键问题】全面普查我国 13 个省 (自治区) 尤其是云南省主要茄科作物上 ToMMV 的发生与分布, 测试 ToMMV 的寄主范围和传播方式, 开展不同辣椒和番茄材料对 ToMMV 的抗性鉴定, 并分析 ToMMV 在国内的发生趋势, 为该病毒的预防及综合防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 样本来源 ToMMV 检测的样品为 2013 年 4 月至 2017 年 10 月, 在我国云南、贵州、四川、湖南、海南、河南、陕西、山东、湖北、浙江、辽宁、西藏和内蒙古 13 个省 (自治区) 采集/收集的表现为花叶、皱缩、畸形、黄化、坏死等疑似病毒病症状的茄科作物样品 1 622 份, 其中辣椒样品 958 份、番茄样品 520 份、茄子样品 19 份、马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 样

品 50 份、烟草样品 75 份。ToMMV 初始毒源为感染 ToMMV 单一病毒的辣椒样品, 后期寄主范围测定毒源为再次接种至珊西烟进行扩繁的珊西烟样品。所有采集的样品均于 -80℃ 或 -20℃ 超低温冰箱中保存备用。

1.1.2 ToMMV 传播方式测定材料 摩擦和注射鉴定材料为健康的黄花烟 (*N. rustica*) 和珊西烟; 种传鉴定材料为自然条件下感染 ToMMV 的辣椒种子、ToMMV 接种并感病的珊西烟种子; 土传鉴定材料为健康的辣椒和番茄种子、灭菌无毒土壤, 培育过感染了 ToMMV 的辣椒和番茄植株且检测到 ToMMV 的土壤。

1.1.3 ToMMV 寄主范围测定供试植物 茄科的辣椒、番茄、茄子、马铃薯、普通烟 (*N. tabacum*)、本氏烟、黄花烟、珊西烟、三生烟 (*N. tabacum* var. Samsun)、心叶烟 (*N. glutinosa*)、矮牵牛 (*Petunia hybrida*)、酸浆 (*Physalis alkekengi*)、假酸浆 (*Nicandra physaloides*)、曼陀罗; 十字花科的大白菜 (*Brassica pekinensis*)、青菜 (*B. chinensis*)、青花菜 (*B. oleracea* var. *italica*)、花椰菜 (*B. oleracea* var. *botrytis*)、油菜 (*B. campestris*)、萝卜 (*Raphanus sativus*); 葫芦科的西葫芦 (*Cucurbita pepo*)、黄瓜 (*Cucumis sativus*)、南瓜 (*Cucurbita moschata*)、丝瓜 (*Luffa cylindrica*)、苦瓜 (*Momordica charantia*); 豆科的菜豆、豇豆 (*Vigna unguiculata*)、豌豆 (*Pisum sativum*); 旋花科的蕹菜 (*Ipomoea aquatica*), 藜科的昆诺藜, 共 6 科 30 种植物。

1.1.4 辣椒和番茄抗性鉴定供试材料 接种测试的辣椒材料有 10 份, 分别为当前云南市场所售和实验室收集保存, 其中韩国原种朝天椒、8819 线椒、金满田 II 号、丘北辣、日本朝天椒、日本高抗天鹰椒、新陇 2 号和甜椒王这 8 个品种为云南市场所售, 野生小辣椒和小米辣为笔者实验室在云南当地所收集。接种测试的番茄材料共 10 份, 为湖南省农业科学院蔬菜研究所张战泓研究员提供, 分别为 T596 小樱桃、钻红 1 号、T3108、TM40456、T3068 粉果、T808、TM3167、宝石 F1、T367 和 T364。

1.1.5 试剂 反转录 (RT) 试剂盒 TaKaRa Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H⁻)、PCR 扩增试剂盒 TaKaRa TaqTM 以及克隆连接载体 pMD19-T simple Vector 购自宝生物工程 (大连) 有限公司; DNA 纯化回收试剂盒 Universal DNA Purification Kit 购自天根生化科技 (北京) 有限公司。E. coli DH5α 菌株为笔

者实验室保存。

1.2 试验方法

1.2.1 总核酸提取、RT-PCR 扩增 利用 CTAB 法,从疑似病毒病样本中提取病株总核酸^[19]。其中土壤样本总核酸的提取也采用 CTAB 法,但不宜采用高通量组织研磨仪,应在灭菌的研钵中加入液氮进行研磨,将研磨后的土壤粉末加入 1.5 mL 灭菌离心管 1/3 处,加入 1.2 mL CTAB 缓冲液(含 0.2% β -巯基乙醇);混匀后离心管放入 65℃ 水浴中保温 45—60 min,保温过程中不时颠倒离心管充分混匀;水浴完成后,4℃,13 000 r/min 离心 10 min,取 650 μ L 上清液至一新的 1.5 mL 灭菌离心管中,按 1:1 比例加入氯仿/异戊醇(24:1),涡旋振荡混匀 30 s;之后再次 4℃,13 000 r/min 离心 10 min,取 500 μ L 上清液至一新的 1.5 mL 灭菌离心管中,加入 350 μ L 异丙醇,反复颠倒数次,室温放置 10 min 后 4℃,13 000 r/min 离心 15 min,小心地用微量移液器吸除上清丢弃;最后向沉淀中加入 75%乙醇 1 mL,4℃,13 000 r/min 离心 10 min,小心地用微量移液器吸除上清丢弃,室温下自然干燥 10—30 min,至沉淀完全干燥;干燥后根据沉淀的量加入适量(70—100 μ L) ddH₂O 至核酸沉淀,置于冰上 30 min 后离心振荡使沉淀充分溶解,于-20℃冰箱保存备用。

以提取的样品总核酸为模板,使用 Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H⁻) 试剂盒反转录合成病毒 cDNA,检测引物为 ToMMV 特异性检测引物 ToMMVdF (CTGGAGAAGACTGGGTCTAG)/ToMMVdR (TTCGGTAAGTTCAATGGGACCT)。反转录(10 μ L 体系)方法:将含 2 μ L 核酸模板、1 μ L 下游引物 ToMMVdR、3 μ L ddH₂O 的混合样混匀后,70℃ 下反应 10 min,迅速拿出,置冰上冷却 3 min,依次加入含 2 μ L 5×M-MLV Buffer、0.5 μ L dNTP Mixture (10 mmol·L⁻¹ each)、0.5 μ L RTase M-MLV (RNase H⁻) 和 1 μ L ddH₂O 的混合液,42℃ 反应 1 h,70℃ 下 15 min 终止反应。PCR (10 μ L) 反应体系:上述合成的 cDNA 模板 1 μ L、6.7 μ L ddH₂O,1 μ L 10×PCR Buffer (Mg²⁺ plus)、0.8 μ L dNTP Mixture (2.5 mmol·L⁻¹ each)、上游引物 ToMMVdF 和下游引物 ToMMVdR 各 0.2 μ L,0.1 μ L TaKaRa Taq。反应程序:94℃ 预变性 2 min;94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,循环 35 次;72℃ 延伸 10 min;4℃ 终止反应。反应产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳后在紫外灯下观察结果。

1.2.2 克隆和测序 参照 DNA 纯化回收试剂盒说明书割胶纯化目标 PCR 产物,回收目的片段与载体 pMD19-T simple 连接,转化 *E. coli* DH5 α ,菌落 PCR 筛选阳性克隆。阳性克隆测序由华大基因科技有限公司完成,测序结果提交 NCBI 核酸数据库进行 BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) 序列比对分析。

1.2.3 生物学接种 当供试植物幼苗在 4—5 片真叶期时用常规摩擦接种方法和注射接种方法分别进行接种。注射接种方法:用 PBS 缓冲液(NaCl 136 mmol·L⁻¹, KCl 2.7 mmol·L⁻¹, Na₂HPO₄·12H₂O 8 mmol·L⁻¹, KH₂PO₄ 1.5 mmol·L⁻¹, pH 7.2) 浸泡 ToMMV 染病叶片 1 h 后充分研磨,6 000 r/min 稍离心后取上清,接种前先用 1 mL 注射器针头在接种植株叶片扎孔数个,注射器吸取上清后从叶片背面轻轻注射,注射时按住注射孔另一端以免溢出。

1.2.4 ToMMV 种传和土传测试 种传测试方法:对感染 ToMMV 的珊西烟获得的种子进行 ToMMV 检测,并对土壤进行高温高压灭菌和 ToMMV 检测以确保土壤不带毒,将检测后确定携带 ToMMV 的珊西烟种子 150 粒播种到不含 ToMMV 的灭菌土壤上,播种 30 d 后,对珊西烟幼苗进行 ToMMV 检测。土传测试方法:对辣椒、番茄种子及培育过感染 ToMMV 的辣椒和番茄植株的土壤(可能含 ToMMV 病残体)分别进行 ToMMV 检测,在确定辣椒和番茄种子不携带 ToMMV 而土壤中含有 ToMMV 后,将健康的辣椒和番茄种子播种到含有 ToMMV 的土壤中,待辣椒和番茄幼苗长至 6—8 叶期,对其进行 ToMMV 检测。

1.2.5 辣椒和番茄种质资源对 ToMMV 的抗/感性鉴定 ToMMV 为 *Tobamovirus* 的新成员,目前尚无对其病级划分标准和抗性鉴定等相关技术规程,因此本文中辣椒和番茄对 ToMMV 抗性鉴定的病级划分标准和抗性鉴定技术规程均分别参考中华人民共和国农业行业标准 NY/T 2060.3—2011 辣椒抗病性鉴定技术规程第 3 部分的辣椒抗烟草花叶病毒病鉴定技术规程和 NY/T 1858.6—2010 番茄主要病害抗病性鉴定技术规程第 6 部分的番茄抗番茄花叶病毒病鉴定技术规程。病情指数 $DI=100 \times \Sigma$ (病级值×该病情级别的植株数)/(最高病级值×调查总植株数)。根据抗病程度分为免疫(I)、高抗(HR)、抗病(R)、中抗(MR)、感病(S)、高感(HS)6 大类,辣椒抗性鉴定结果对应的病情指数(DI)分别为 $DI=0$ 、 $0 < DI < 10$ 、 $10 \leq DI < 20$ 、 $20 \leq DI < 40$ 、 $40 \leq DI < 60$ 、 $60 \leq DI < 100$;

番茄抗性鉴定结果对应的病情指数分别为 $DI=0$ 、 $0<DI<10$ 、 $10\leq DI<30$ 、 $30\leq DI<50$ 、 $50\leq DI<70$ 、 $70\leq DI<100$ 。依据鉴定材料 3 次重复的 DI 平均值确定其抗性水平。

2 结果

2.1 ToMMV 在我国的发生情况及分布

在我国 13 个省(区)尤以云南省为主采集的 1 622 份茄科疑似病毒病样品中，ToMMV 的平均检出率为 2.59%，共在 7 个省(区)有发生，分别为云南、湖南、海南、辽宁、陕西、西藏和内蒙古。在辣椒样品中共检测到感染 ToMMV 的样品 24 份，在番茄样品中共检测到感染 ToMMV 的样品 18 份，在茄子、马铃薯和烟草样品中均尚未检测到 ToMMV 的侵染。根据所收集样品的病毒检测结果，目前 ToMMV 主要在我国辣椒和番茄上发生。

2.1.1 ToMMV 在辣椒上的发生情况 共在全国 13 个省(区)采集辣椒疑似病毒病样品 958 份，ToMMV 在所有辣椒样品中的平均检出率为 2.51%，发生地区为云南、湖南、西藏、陕西以及海南(表 1)，其中在云南省楚雄州的元谋县、红河州蒙自市、玉溪市澄

江县和峨山县等多个地区有发生。在云南采集的样品数较多，而其他地区由于样品采集地区范围窄、数量少，ToMMV 的检出率反而较高。受 ToMMV 侵染的辣椒主要表现为斑驳、花叶、坏死和皱缩，不同地区或不同品种辣椒上表现症状有一定的差异。

2.1.2 ToMMV 在番茄上的发生情况 共在全国 8 个省(区)采集番茄样品 520 份，ToMMV 在所有番茄样品中的平均检出率为 3.46%，发生地区为云南、辽宁、内蒙古及海南(表 2)。受 ToMMV 侵染的番茄主要表现为斑驳、黄化、坏死、畸形、泡斑等，同样，不同地区或不同品种番茄的表现症状也有一定的差异。

2.2 ToMMV 的传播方式

2.2.1 ToMMV 可通过摩擦和注射方式进行传播 通过 PBS 缓冲液摩擦或注射接种方式，将 ToMMV 分别接种到健康的黄花烟和珊西烟上，接种 30 d 后，供试的黄花烟表现出泡斑、皱缩、系统性坏死斑等症状(图 1-A、1-C)，珊西烟表现出花叶、泡斑、皱缩、畸形、线形叶的症状(图 1-B、1-D)，且在接种植株上均检测到 ToMMV，说明 ToMMV 可以通过摩擦和注射接种的方式进行传播。

表 1 我国 13 个省(区)辣椒样品 ToMMV 检测结果

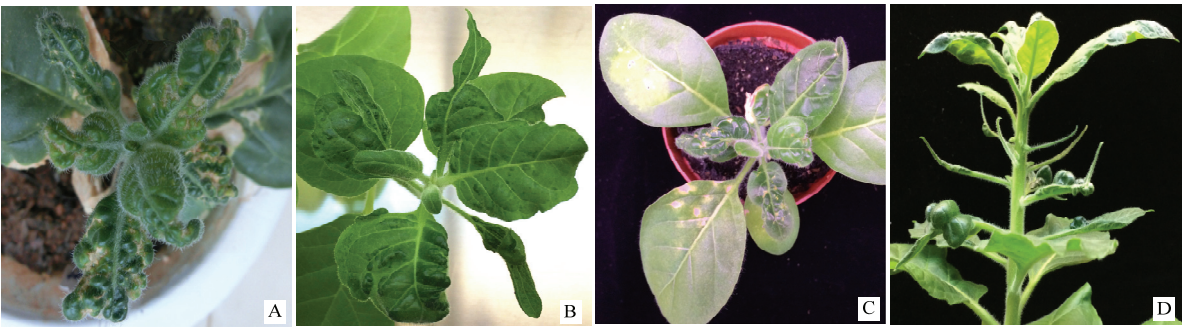
Table 1 ToMMV detection results from pepper samples in 13 provinces/autonomous regions of China

| 采样地区 Sampling area | 样品采集数 Sampling number | 检出数 Number of positive | 检出率 Detection rate (%) |
|--|-----------------------|------------------------|------------------------|
| 云南 Yunnan | 847 | 17 | 2.01 |
| 湖南 Hunan | 4 | 4 | 100.00 |
| 西藏 Tibet | 7 | 1 | 14.29 |
| 陕西 Shaanxi | 9 | 1 | 11.11 |
| 海南 Hainan | 12 | 1 | 8.33 |
| 贵州 Guizhou、湖北 Hubei、河南 Henan、山东 Shandong、辽宁 Liaoning、内蒙古 Inner Mongolia、浙江 Zhejiang、四川 Sichuan | 79 | 0 | 0 |
| 总检出率 Total detection rate (%) | 958 | 24 | 2.51 |

表 2 我国 8 个省(区)番茄样品 ToMMV 检测结果

Table 2 ToMMV detection results of tomato samples in 8 provinces/autonomous regions of China

| 采样地区 Sampling area | 样品采集数 Sampling number | 检出数 Number of positive | 检出率 Detection rate (%) |
|--|-----------------------|------------------------|------------------------|
| 云南 Yunnan | 446 | 5 | 1.12 |
| 辽宁 Liaoning | 8 | 6 | 75.00 |
| 内蒙古 Inner Mongolia | 6 | 2 | 33.33 |
| 海南 Hainan | 17 | 5 | 29.41 |
| 陕西 Shaanxi、山东 Shandong、西藏 Tibet、河南 Henan | 43 | 0 | 0 |
| 总检出率 Total detection rate (%) | 520 | 18 | 3.46 |



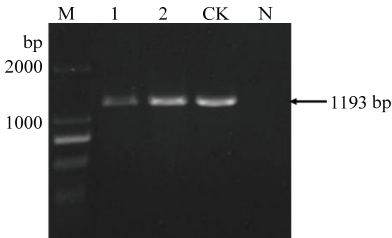
A: 摩擦接种黄花烟 *N. rustica* infected by mechanical inoculation; B: 摩擦接种珊西烟 *N. tabacum* var. Xanthi nc infected by mechanical inoculation; C: 注射接种黄花烟 *N. rustica* infected by injection; D: 注射接种珊西烟 *N. tabacum* var. Xanthi nc infected by injection

图 1 ToMMV 接种黄花烟和珊西烟的症状

Fig. 1 Symptoms on *N. rustica* and *N. tabacum* var. Xanthi nc inoculated with ToMMV

2.2.2 ToMMV 可通过珊西烟种子进行传播 收集田间感染了 ToMMV 的辣椒种子和温室条件下 ToMMV 接种发病的珊西烟种子，将这些种子提取核酸进行 ToMMV 检测，在种子上均能检测到 ToMMV（图 2）。为了进一步验证携带 ToMMV 的珊西烟种子是否可以 将病毒传递到种苗，将感染 ToMMV 的珊西烟种子在 无毒土壤中进行育苗，并对种苗系统叶进行 ToMMV 检测。共检测种苗 122 株，检出带毒种苗 48 株，平均 检出率为 39.34%。其中同一生育时期长势较好、长势 一般、长势较差的种苗中，ToMMV 的检出率分别为 23.26%、42.86%和 56.67%。说明携带 ToMMV 的珊 西烟种子可以将 ToMMV 垂直传播到烟苗，且传毒效 率较高。另外，出苗时种子携带 ToMMV 的比率越高， 对种苗的生长影响越大。

2.2.3 ToMMV 可通过土壤进行传播 分别随机挑选 8 个品种的辣椒、番茄种子进行 ToMMV 检测，结果显

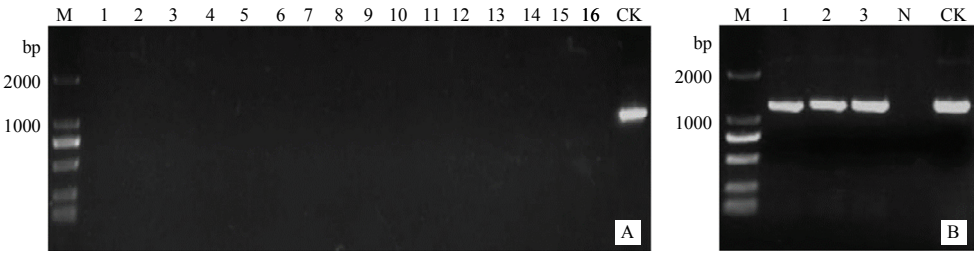


M: DL 2000 Marker; 1、2: 感病珊西烟种子 Seeds of *N. tabacum* var. Xanthi nc infected with ToMMV; CK: ToMMV 阳性对照 ToMMV positive control; N: 阴性对照（健康烟种子）Negative control (healthy tobacco seeds)

图 2 感病珊西烟种子的 ToMMV 检测结果

Fig. 2 ToMMV detection results of *N. tabacum* var. Xanthi nc seeds infected with ToMMV

示这些辣椒和番茄种子均未携带 ToMMV，为健康的 种子（图 3-A）。同时对培育过感染 ToMMV 植株的



A: 健康辣椒、番茄种子中 ToMMV 的检测 ToMMV detection of the healthy pepper and tomato seeds, M: DL 2000 Marker; 1—8: 健康辣椒种子 Healthy pepper seeds; 9—16: 健康番茄种子 Healthy tomato seeds; CK: ToMMV 阳性对照 ToMMV positive control. B: 土壤中 ToMMV 的检测 ToMMV detection in the soil, M: DL 2000 Marker; 1—3: 带毒土壤 Soil pre-grew ToMMV-infected plants; N: 无毒灭菌土壤 Sterilized soil; CK: ToMMV 阳性对照 ToMMV positive control

图 3 健康种子和带毒土壤中 ToMMV 的检测结果

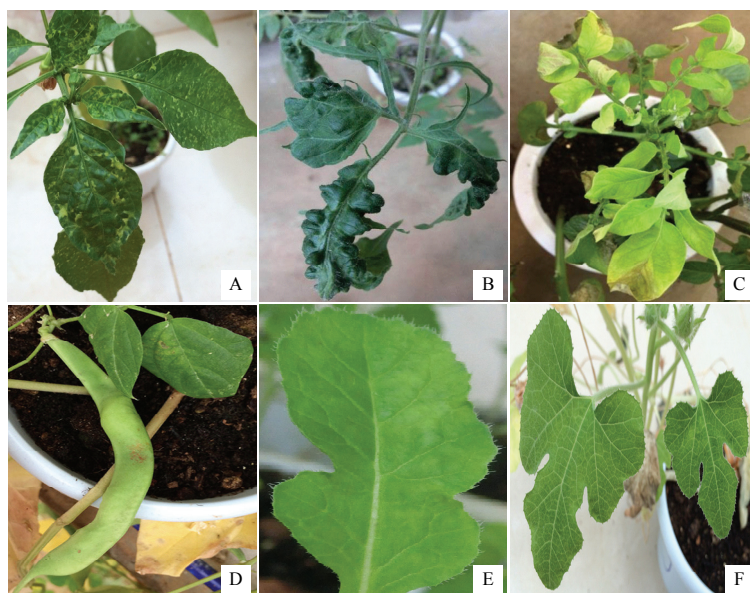
Fig. 3 ToMMV detection results from the healthy pepper and tomato seeds as well as the soil pre-grew ToMMV-infected plants

土壤进行 ToMMV 检测, 确认土壤中含有 ToMMV(图 3-B)。用含 ToMMV 的土壤对健康无毒的辣椒和番茄种子进行育苗, 并对苗期的辣椒和番茄进行 ToMMV 的检测, 在辣椒和番茄的种苗上均检测到 ToMMV, 检出率分别为 80%和 78.79%, 说明 ToMMV 可以通过土壤进行传播, 且传毒效率非常高。

2.3 ToMMV 的寄主范围

通过摩擦和注射接种, 将 ToMMV 分别接种到茄科作物辣椒、番茄、茄子、马铃薯、普通烟、本氏烟、黄花烟、珊西烟、三生烟、心叶烟、矮牵牛、酸浆、假酸浆、曼陀罗; 十字花科作物大白菜、青菜、青花菜、花椰菜、油菜、萝卜; 葫芦科作物西葫芦、黄瓜、南瓜、丝瓜、苦瓜; 豆科作物菜豆、豇豆、豌豆; 旋花科薤菜及藜科的昆诺藜 6 个科 30 种植物上。接种

20 d 后, 用 ToMMV 检测引物进行 RT-PCR 检测, 在茄科的辣椒、番茄、茄子、马铃薯、普通烟、本氏烟、黄花烟、珊西烟、三生烟、心叶烟、矮牵牛、酸浆、假酸浆, 十字花科的大白菜、青菜、青花菜、花椰菜、油菜、萝卜, 葫芦科的西葫芦、黄瓜和南瓜, 以及豆科的菜豆这 4 个科 23 种供试植株中检测到 ToMMV (表 3)。感染 ToMMV 的茄科植株发病症状均比较明显, 主要为斑驳、花叶和泡斑, 严重的伴随有畸形、坏死(图 4-A—C); 感染 ToMMV 的菜豆叶片有斑驳、坏死症状, 豆角上有坏死症状(图 4-D), 将豆荚和豆粒进行 ToMMV 特异性检测, 均可以检测到 ToMMV; 而感染 ToMMV 的十字花科和葫芦科植株的症状不明显, 主要为褪绿或轻斑驳(图 4-E、4-F)。



A: 辣椒上花叶、黄化、坏死、皱缩症状 Mosaic, yellowing, necrosis and shrinking symptoms on *Capsicum annuum*; B: 番茄上花叶、泡斑、畸形、线形叶症状 Mosaic, blistering, distortion and leaf narrowing symptoms on *Solanum lycopersicum*; C: 马铃薯上黄化、坏死症状 Yellowing and necrosis symptoms on *Solanum tuberosum*; D: 四季豆上斑驳、坏死症状 Mottle and necrosis symptoms on *Phaseolus vulgaris*; E: 油菜上褪绿、轻斑驳症状 Chlorosis and mild mottle symptoms on *Brassica campestris*; F: 西葫芦上斑驳症状 Mottle symptom on *Cucurbita pepo*

图 4 部分供试植株接种 ToMMV 后的症状

Fig. 4 Symptoms on some tested plants inoculated with ToMMV

2.4 不同辣椒、番茄材料对 ToMMV 的抗/感性鉴定

将 ToMMV 毒源样品分别以摩擦和注射两种方式接种到供试的辣椒和番茄植株上, 21 d 后对接种植株进行症状观察, 记录每株接种植株的发病情况, 并采样进行 ToMMV 检测。每份材料重复 3 次。

2.4.1 辣椒材料对 ToMMV 的抗/感性 10 份辣椒材料

共接种 193 株, 接种的辣椒中感病的植株多生长缓慢但发病症状较轻, 多数表现为轻斑驳, 少数有严重花叶、畸形和坏死。病情级别多为 3 级和 5 级, 少部分为 7 级。鉴定的这 10 份辣椒材料中, 大多为抗性品种, 其中野生小辣椒为对 ToMMV 免疫的品种, 小米辣和韩国原种朝天椒为高抗品种, 8819 线椒、金满田 II 号

和丘北辣为抗病品种，日本朝天椒和日本高抗天鹰椒为中抗品种，新陇 2 号为感病品种，甜椒王为高感品种（表 4）。

2.4.2 番茄材料对 ToMMV 的抗/感性 10 份番茄材料中共接种 428 株，接种的番茄品种中感病植株多数症状为斑驳，一部分为花叶，一部分为蕨叶或线形叶，少数为黄化、坏死。病情级别多为 3 级和 5 级，一部分为 7 级，极少数为 9 级。高抗的番茄品种有少数植株可以被 ToMMV 侵染，但无明显症状，高感的番茄

品种表现症状多为花叶、泡斑、畸形、线形叶和坏死。供试番茄种质资源中尚无对 ToMMV 免疫的品种，10 份材料均可以感染 ToMMV，其中 T596 小樱桃和钻红 1 号仅有个别接种植株感病，且无症状表现，为高抗品种，T3108、TM40456 和 T3068 粉果为抗病品种，T808、TM3167、宝石 F1 为中抗品种，T367 为感病品种，T364 为高感品种。仅从发病率来看，接种 ToMMV 的 10 份番茄材料发病率均较高，说明番茄易被 ToMMV 感染（表 4）。

表 3 供试植株接种 ToMMV 后的症状表现及 ToMMV 的 RT-PCR 检测结果

Table 3 Symptoms on the tested plants inoculated with ToMMV and ToMMV detection results by RT-PCR

| 供试植株所属科 | 供试植株 | 表现症状 | RT-PCR 检测结果 |
|-------------------------|---|--|-------------------|
| Family of tested plants | Tested plant | Symptom | Results of RT-PCR |
| 茄科 Solanaceae | 辣椒 <i>Capsicum annuum</i> | 花叶 Mosaic、黄化 Yellowing、坏死 Necrosis、皱缩 Shrinking | + |
| | 番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> | 花叶 Mosaic、泡斑 Blistering、畸形 Distortion、线形叶 Leaf narrowing | + |
| | 茄子 <i>Solanum melongena</i> | 斑驳 Mottle、坏死 Necrosis | + |
| | 马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i> | 斑驳 Mottle、黄化 Yellowing、坏死 Necrosis | + |
| | 普通烟 <i>Nicotiana tobacum</i> | 花叶 Mosaic | + |
| | 本氏烟 <i>N. benthamiana</i> | 褪绿 Chlorosis、黄化 Yellowing | + |
| | 黄花烟 <i>N. rustica</i> | 泡斑 Blistering、畸形 Distortion、坏死 Necrosis | + |
| | 珊西烟 <i>N. tabacum</i> var. Xanthi nc | 花叶 Mosaic、泡斑 Blistering、畸形 Distortion、线形叶 Leaf narrowing | + |
| | 三生烟 <i>N. tabacum</i> var. Samsun | 花叶 Mosaic、线性叶 Leaf narrowing | + |
| | 心叶烟 <i>N. glutinosa</i> | 坏死斑 Necrosis spot | + |
| | 矮牵牛 <i>Petunia hybrida</i> | 泡斑 Blistering、畸形 Distortion | + |
| | 酸浆 <i>Physalis alkekengi</i> | 褪绿 Chlorosis、斑驳 Mottle | + |
| | 假酸浆 <i>Nicandra physaloides</i> | 花叶 Mosaic | + |
| | 曼陀罗 <i>Datura stramonium</i> | 无症状 No symptom | - |
| | 大白菜 <i>Brassica pekinensis</i> | 褪绿 Chlorosis、轻斑驳 Mild mottle | + |
| 十字花科 Cruciferae | 青菜 <i>B. chinensis</i> | 褪绿 Chlorosis、轻斑驳 Mild mottle | + |
| | 青花菜 <i>B. oleacea</i> var. <i>italica</i> | 症状不明显 No obvious symptom | + |
| | 花椰菜 <i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> | 症状不明显 No obvious symptom | + |
| | 油菜 <i>B. campestris</i> | 轻斑驳 Mild mottle | + |
| | 萝卜 <i>Raphanus sativus</i> | 轻斑驳 Mild mottle | + |
| 葫芦科 Cucurbitaceae | 西葫芦 <i>Cucurbita pepo</i> | 褪绿 Chlorosis、轻斑驳 Mild mottle | + |
| | 黄瓜 <i>Cucumis sativus</i> | 症状不明显 No obvious symptom | + |
| | 南瓜 <i>Cucurbita moschata</i> | 症状不明显 No obvious symptom | + |
| | 丝瓜 <i>Luffa cylindrica</i> | 无症状 No symptom | - |
| | 苦瓜 <i>Momordica charantia</i> | 无症状 No symptom | - |
| 豆科 Leguminosae | 菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i> | 斑驳 Mottle、坏死 Necrosis | + |
| | 豇豆 <i>Vigna unguiculata</i> | 无症状 No symptom | - |
| | 豌豆 <i>Pisum sativum</i> | 无症状 No symptom | - |
| 旋花科 Convolvulaceae | 蕹菜 <i>Ipomoea aquatica</i> | 无症状 No symptom | - |
| 藜科 Chenopodiaceae | 昆诺藜 <i>Chenopodium quinoa</i> | 无症状 No symptom | - |

“+”：检测到 ToMMV ToMMV was detected; “-”：未检测到 ToMMV ToMMV was not detected

表 4 辣椒、番茄材料对 ToMMV 的抗/感性表现

Table 4 Resistance/susceptibility response of pepper and tomato resources to ToMMV

| 供试植株 | 品种 | 发病率 | 病情指数 | 抗性评价 |
|--------------|--|---------------|--------------------|--------------------------------|
| Tested plant | Variety | Incidence (%) | Disease index (DI) | Evaluation of resistance level |
| 辣椒 Pepper | 野生小辣椒 Wild little pepper | 0 | 0 | 免疫 I |
| | 小米辣 Spicy millet | 8.33 | 6.48 | 高抗 HR |
| | 韩国原种朝天椒 Korea pod pepper | 20.00 | 7.78 | 高抗 HR |
| | 8819 线椒 8819 string-pepper | 30.77 | 15.38 | 抗病 R |
| | 金满田 II 号 Jinmantian II | 32.00 | 16.00 | 抗病 R |
| | 丘北辣 Qiubei pepper | 34.15 | 18.43 | 抗病 R |
| | 日本朝天椒 Japan pod pepper | 38.10 | 21.16 | 中抗 MR |
| | 日本高抗天鹰椒 Japan highly resistant tianying pepper | 50.00 | 25.56 | 中抗 MR |
| | 新陇 2 号 Xinlong 2 | 100.00 | 54.25 | 感病 S |
| | 甜椒王 Sweet pepper king | 90.00 | 61.11 | 高感 HS |
| 番茄 Tomato | T596 小樱桃 T596 little cherry | 35.85 | 3.98 | 高抗 HR |
| | 钻红 1 号 Zuan hong 1 | 38.64 | 8.84 | 高抗 HR |
| | T3108 | 50.00 | 16.18 | 抗病 R |
| | TM40456 | 65.31 | 23.13 | 抗病 R |
| | T3068 粉果 T3068 pink tomato | 64.44 | 28.40 | 抗病 R |
| | T808 | 76.09 | 35.02 | 中抗 MR |
| | TM3167 | 61.36 | 35.61 | 中抗 MR |
| | 宝石 F1 Baoshi F1 | 85.71 | 42.86 | 中抗 MR |
| | T367 | 89.47 | 57.89 | 感病 S |
| | T364 | 91.84 | 70.52 | 高感 HS |

3 讨论

本研究对我国 13 个省（区）的茄科作物进行了 ToMMV 特异性检测，并结合目前我国对 ToMMV 的相关报道发现，自 2014 年首次报道了 ToMMV 在我国辣椒上的侵染^[2]，短短几年，我国辣椒、番茄和茄子上均已发现了 ToMMV 的侵染，在云南、湖南、海南、辽宁、陕西、西藏、内蒙古、山东、河南、河北 10 个省（区）均已有 ToMMV 的发生^[8-10,12]。2013 年仅在云南和西藏的辣椒上检测到 ToMMV^[2]，2015—2016 年又在湖南和云南的辣椒上检测到 ToMMV^[12]，2017 年在云南、海南、内蒙古以及辽宁的番茄上检测到 ToMMV^[9]，同年相继在云南、陕西、海南的辣椒上检测到 ToMMV，其中先后在云南元谋县、蒙自县、澄江县和峨山县等多个地区检测到 ToMMV。2018 年国内其他课题组也相继报道了 ToMMV 在海南、山东、河南和河北的发生^[8,10]，尤其是在海南番茄上发生比较严重。在国际上，自 2013 年首次在墨西哥番茄上报

道了 ToMMV 的侵染后，相继在我国的辣椒上^[2]，美国的佛罗里达和纽约等地区^[3-4]，以色列北部^[5]，西班牙巴伦西亚^[6]，巴西圣保罗^[7]，我国番茄^[8-9]、茄子上^[10]报道了 ToMMV 的侵染。这些结果表明，ToMMV 正在经历由点到面的发展、扩散，正在由最初的番茄向其他植物扩散，有发生流行的趋势，很有可能像 ToCV 一样，形成大面积暴发。ToCV 自 2013 年在北京和山东发生以来^[20-21]，短短几年已从北京和山东扩散到河北、天津、陕西、甘肃、广东、山西、内蒙古、辽宁、吉林、云南等地^[14-18,20-25]，其中 ToCV 于 2016 年才在陕西、广东和云南被发现，但是已经在这些省份的局部地区造成番茄绝产等严重损失^[15,17-18]。因此，应采取相关措施，提早防范 ToMMV 在我国的发生流行。

本研究对 ToMMV 的寄主范围鉴定结果表明，ToMMV 可侵染茄科、十字花科、豆科和葫芦科作物，几乎供试的茄科和十字花科植株均可以被 ToMMV 侵染，而部分豆科和葫芦科的作物可以被侵染。ToMMV 在茄科作物上的表现症状较其他科作物严重，由此可

见, ToMMV 很可能会成为侵染茄科作物的潜在重要病毒之一。除茄科作物外,人工接种实验发现 ToMMV 能被接种在十字花科、豆科和葫芦科等植物上,但在云南省检测了十字花科、豆科、葫芦科等非茄科作物样品 940 份,均未发现 ToMMV 的感染(相关数据未展示),推测可能与采集样品的数量和地域有限有关,不排除 ToMMV 目前在我国除番茄、辣椒和茄子外的其他植物上的发生,ToMMV 对这些植物依然存在潜在的威胁。*Tobamovirus* 属中与该病毒亲缘关系较近的 ToMV 寄主范围很广,能够侵染茄科、十字花科、豆科、禾本科、藜科等多种植物^[26],因此推测比 ToMV 侵染性更强的 ToMMV 的寄主范围应该也很广^[13],下一步还需要更广泛的测试供试寄主,为探寻 ToMMV 的初侵染源、侵染循环以及抗病育种等提供依据。

Tobamovirus 病毒中已被证实可种传的病毒有 TMV、ToMV、辣椒轻斑驳病毒(*Pepper mild mottle virus*, PMMoV)、烟草轻绿花叶病毒(*Tobacco mild green mosaic virus*, TMGMV)、黄瓜绿斑驳花叶病毒(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)等^[27-29],其中 CGMMV 是我国禁止进境的检疫性有害生物^[30],足以说明种传病毒在作物上的危害程度之大。本研究证实了 ToMMV 也可进行种传,且出苗时带毒率越高,对种苗的生长影响越大,再次证实了播种种子带毒率的高低直接影响该病害在田间的流行和危害的程度。本研究还发现健康的种子在混有 ToMMV 病残体的土壤中育出的苗也会带毒,证实了混有病残体的土壤也可以成为 ToMMV 的初侵染源。既可种传又能土传的病毒病是最难防治的病害之一,在实践生产中,育苗前除了应对种子进行抽样检测是否带毒,也应提取土样检测是否带毒。选择无病良种、加强对种子的消毒处理均能有效地降低种子传毒的概率,并应做好土壤的消毒工作和育苗期预防工作,以防止 ToMMV 的发生传播和蔓延。

病毒病的发生给作物的生产造成严重的经济损失,且一旦发生难以防控,最经济有效的防治措施是培育抗病品种。在病毒病的抗病育种研究方面,国内外已经有一些通过常规杂交和转基因技术获得抗病材料或品种的研究报道^[31-32]。在病毒病的防控中,抗源材料的筛选十分重要,而优良品种的抗性鉴定对抗性基因的筛选及抗病品种的培育都具有重要的意义^[33-35]。鉴于 ToMMV 较强的致病性,应全面开展茄科常见作物辣椒、番茄、茄子、马铃薯、烟草等种质资源抗 ToMMV 的筛选和鉴定,为抗 ToMMV 育种提供具有

更高抗性水平的抗源材料,并加强 ToMMV 抗病基因的筛选鉴定等研究,通过相关技术达到有效防治番茄斑驳花叶病毒病的目的。

4 结论

目前 *Tobamovirus* 属新种 ToMMV 在我国多个地区的辣椒和番茄上有发生,且传播方式多样、寄主范围广、致病性强。可通过摩擦、注射、带毒种子和带毒土壤进行传播;在常见的茄科、十字花科、豆科和葫芦科作物上均可侵染,尤其是在茄科作物上的致病力较强。结果暗示 ToMMV 很可能会成为我国蔬菜作物尤其是茄科作物上危害严重的主要病毒之一,且正在经历由点到面的发展、扩散过程,有发生流行和不断向其他省(区)和作物扩散的趋势,应在 ToMMV 流行发生之前做好相关防控和抗病品种、抗病基因筛选鉴定等方面的工作。

致谢:湖南省植物保护研究所张松柏博士、西藏自治区农牧科学院相栋先生和王翠玲女士、中国热带农业科学院环境与植物保护研究所车海彦博士、西北农林科技大学郝兴安博士和刘欢博士、山东农业大学竺晓平教授、内蒙古农业大学李正男博士、长江大学章松柏博士等在样品收集中给予了大力支持和帮助;湖南省农业科学院蔬菜研究所张战泓研究员提供了番茄种质资源。在此一并表示感谢!

References

- [1] LI R G, GAO S, FEI Z J, LING K S. Complete genome sequence of a new tobamovirus naturally infecting tomatoes in Mexico. *Genome Announcements*, 2013, 1(5): e00794-13.
- [2] LI Y Y, WANG C L, XIANG D, LI R H, LIU Y, LI F. First report of *Tomato mottle mosaic virus* infection of pepper in China. *Plant Disease*, 2014, 98(10): 1447.
- [3] FILLMER K, ADKINS S, PONGAM P, D'ELIA T. Complete genome sequence of a *Tomato mottle mosaic virus* isolate from the United States. *Genome Announcements*, 2015, 3(2): e00167-15.
- [4] PADMANABHAN C, ZHENG Y, LI R G, MARTIN G B, FEI Z J, LING K S. Complete genome sequence of a tomato-infecting *Tomato mottle mosaic virus* in New York. *Genome Announcements*, 2015, 3(6): e01523-15.
- [5] TURINA M, GERAATS B P J, CIUFFO M. First report of *Tomato mottle mosaic virus* in tomato crops in Israel. *New Disease Reports*, 2016, 33: 1.
- [6] AMBRÓS S, MARTÍNEZ F, IVARS P, HERNÁNDEZ C, DE LA

- IGLESIA F, ELENA S F. Molecular and biological characterization of an isolate of *Tomato mottle mosaic virus* (ToMMV) infecting tomato and other experimental hosts in eastern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 2017, 149(2): 261-268.
- [7] NAGAI A, DUARTE L M L, CHAVES A L R, ALEXANDRE M A V, RAMOS-GONZÁLEZ P L, CHABI-JESUS C, HARAKAVA R, DOS SANTOS D Y A C. First complete genome sequence of an isolate of *Tomato mottle mosaic virus* infecting plants of *Solanum lycopersicum* in South America. *Genome Announcements*, 2018, 6(19): e00427-18.
- [8] ZHAN B H, CAO N, WANG K N, ZHOU X P. Detection and characterization of an isolate of *Tomato mottle mosaic virus* infecting tomato in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 2018, 17(5): 1207-1212.
- [9] 刘勇, 李凡, 李月月, 张松柏, 高希武, 谢艳, 燕飞, 张安盛, 戴良英, 程兆榜, 丁铭, 牛颜冰, 王升吉, 车海彦, 江彤, 史晓斌, 何自福, 吴云锋, 张德咏, 青玲, 严婉荣, 杨学辉, 汤亚飞, 郑红英, 唐前君, 章松柏, 章东方, 蔡丽, 陶小荣. 侵染我国主要蔬菜作物的病毒种类、分布与发生趋势. *中国农业科学*, 2019, 52(2): 239-261.
- LIU Y, LI F, LI Y Y, ZHANG S B, GAO X W, XIE Y, YAN F, ZHANG A S, DAI L Y, CHENG Z B, DING M, NIU Y B, WANG S J, CHE H Y, JIANG T, SHI X B, HE Z F, WU Y F, ZHANG D Y, QING L, YAN W R, YANG X H, TANG Y F, ZHENG H Y, TANG Q J, ZHANG S B, ZHANG D F, CAI L, TAO X R. Identification, distribution and occurrence of viruses in the main vegetables of China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(2): 239-261. (in Chinese)
- [10] CHAI A L, CHEN L D, LI B J, XIE X W, SHI Y X. First report of a mixed infection of *Tomato mottle mosaic virus* and *Tobacco mild green mosaic virus* on eggplants in China. *Plant Disease*, 2018, 102(12): 2668.
- [11] MOREIRA S R, EIRAS M, CHAVES A L R, GALLETI S R, COLARICCIO A. Characterization of a new *Tomato mosaic virus* strain isolated from tomato in the state of São Paulo, Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 2003, 28(6): 602-607.
- [12] LI Y Y, WANG Y, HU J, XIAO L, TAN G L, LAN P X, LIU Y, LI F. The complete genome sequence, occurrence and host range of *Tomato mottle mosaic virus* Chinese isolate. *Virology Journal*, 2017, 14: 15.
- [13] SUI X L, ZHENG Y, LI R G, PADMANABHAN C, TIAN T Y, GROTH-HELMS D, KEINATH A P, FEI Z J, WU Z J, LING K S. Molecular and biological characterization of *Tomato mottle mosaic virus* and development of RT-PCR detection. *Plant Disease*, 2017, 101(5): 704-711.
- [14] ZHAO L M, LI G, GAO Y, LIU Y J, SUN G Z, ZHU X P. Molecular detection and complete genome sequences of *Tomato chlorosis virus* isolates from infectious outbreaks in China. *Journal of Phytopathology*, 2014, 162(10): 627-634.
- [15] 汤亚飞, 何自福, 余小漫, 蓝国兵. 侵染广东番茄的番茄褪绿病毒分子鉴定. *植物保护*, 2017, 43(2): 133-137.
- TANG Y F, HE Z F, SHE X M, LAN G B. Molecular identification of *Tomato chlorosis virus* infecting tomato in Guangdong Province. *Plant Protection*, 2017, 43(2): 133-137. (in Chinese)
- [16] 王翠琳, 冯佳, 孙晓辉, 王少立, 赵静, 刘金亮, 竺晓平. 北方四省区番茄褪绿病毒的分子鉴定. *植物保护*, 2017, 43(2): 141-145.
- WANG C L, FENG J, SUN X H, WANG S L, ZHAO J, LIU J L, ZHU X P. Molecular identification of *Tomato chlorosis virus* from four provinces or autonomous region in northern China. *Plant Protection*, 2017, 43(2): 141-145. (in Chinese)
- [17] 刘微, 史晓斌, 唐鑫, 张宇, 张德咏, 周序国, 刘勇. 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. *园艺学报*, 2018, 45(3): 552-560.
- LIU W, SHI X B, TANG X, ZHANG Y, ZHANG D Y, ZHOU X G, LIU Y. Molecular identification of *Tomato chlorosis virus* and *Tomato yellow leaf curl virus* in Yunnan province. *Acta Horticulturae Sinica*, 2018, 45(3): 552-560. (in Chinese)
- [18] 王志荣, 李晓东, 朱玉, 黄泽军, 高建昌, 国艳梅, 杜永臣, 王孝宣. 陕西杨凌番茄褪绿病毒的分子检测. *植物保护*, 2018, 44(2): 81-88.
- WANG Z R, LI X D, ZHU Y, HUANG Z J, GAO J C, GUO Y M, DU Y C, WANG X X. Molecular detection of *Tomato chlorosis virus* in Yangling, Shaanxi. *Plant Protection*, 2018, 44(2): 81-88. (in Chinese)
- [19] LI R, MOCK R, HUANG Q, ABAD J, HARTUNG J, KINARD G. A reliable and inexpensive method of nucleic acid extraction for the PCR-based detection of diverse plant pathogens. *Journal of Virological Methods*, 2018, 154: 48-55.
- [20] ZHAO R N, WANG R, WANG N, FAN Z F, ZHOU T, SHI Y C, CHAI M. First report of *Tomato chlorosis virus* in China. *Plant Disease*, 2013, 97(8): 1123.
- [21] KARWITHA M, FENG Z K, YAO M, CHEN X J, ZHANG W N, LIU X F, TAO X R. The complete nucleotide sequence of the RNA 1 of a Chinese isolate of *Tomato chlorosis virus*. *Journal of Phytopathology*, 2014, 162(6): 411-415.
- [22] 周涛, 杨晋云, 赵汝娜, 师迎春, 原锴, 范在丰. 警惕番茄褪绿病毒在我国的传播和危害. *植物保护*, 2014, 40(5): 196-199.
- ZHOU T, YANG J Y, ZHAO R N, SHI Y C, YUAN K, FAN Z F. Alarming the transmission and damage of *Tomato chlorosis virus* in China. *Plant Protection*, 2014, 40(5): 196-199. (in Chinese)
- [23] 高利利, 孙国珍, 王勇, 高苇, 张春祥, 张安胜, 竺晓平. 天津地区番茄褪绿病毒的分子检测和鉴定. *华北农学报*, 2015, 30(3):

- 211-215.
- GAO L L, SUN G Z, WANG Y, GAO W, ZHANG C X, ZHANG A S, ZHU X P. Molecular detection and identification of *Tomato chlorosis virus* in Tianjin. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2015, 30(3): 211-215. (in Chinese)
- [24] 胡京昂, 万秀娟, 李自娟, 黄文, 李武高, 应芳卿. 河南番茄褪绿病毒的分子鉴定. *中国蔬菜*, 2015(12): 25-28.
- HU J A, WAN X J, LI Z J, HUANG W, LI W G, YING F Q. Molecular identification of *Tomato chlorosis virus* in Henan Province. *China Vegetables*, 2015(12): 25-28. (in Chinese)
- [25] 孙国珍, 高利利, 陆文利, 王勇, 张安胜, 竺晓平. 河北省设施番茄褪绿病毒分子检测和鉴定研究. *北方园艺*, 2015(9): 95-98.
- SUN G Z, GAO L L, LU W L, WANG Y, ZHANG A S, ZHU X P. Molecular detection and identification of *Tomato chlorosis virus* infecting greenhouse-grown tomato plants in Hebei Province. *Northern Horticulture*, 2015(9): 95-98. (in Chinese)
- [26] 张海峰. ToMV 引起番茄系统性坏死与移动蛋白相关[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2013.
- ZHANG H F. Systemic necrosis on *Solanum lycopersicum* infected by *Tomato mosaic virus* related to movement protein[D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2013. (in Chinese)
- [27] 杨松. 烟草种传烟草花叶病毒(TMV)的初步研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- YANG S. Preliminary study on seed-borne transmission of *Tobacco mosaic virus* in tobacco[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005. (in Chinese)
- [28] 张娜娜. 辣椒轻斑驳病毒鉴定及种传初步研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2012.
- ZHANG N N. Primarily study on detection and seed transmission of *Pepper mild mottle virus*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2012. (in Chinese)
- [29] 郑棚峻, 张宇, 张松柏, 刘勇, 张德咏. 葫芦科作物重要种传病毒研究进展. *江苏农业科学*, 2017, 45(3): 5-9.
- ZHENG P J, ZHANG Y, ZHANG S B, LIU Y, ZHANG D Y. Advances of main seed-transmitted viruses in cucurbitaceae crops. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45(3): 5-9. (in Chinese)
- [30] 林石明, 廖富荣, 陈青, 陈红运. 葫芦科作物种传病毒及其检疫重要性. *植物检疫*, 2012, 26(1): 52-61.
- LIN S M, LIAO F R, CHEN Q, CHEN H Y. The seed-transmitted viruses in cucurbit (Cucurbitaceae) and their phytosanitary significance. *Plant Quarantine*, 2012, 26(1): 52-61. (in Chinese)
- [31] VIDAUSKY F, CZOSNEK H. Tomato breeding lines resistant and tolerant to *Tomato yellow leaf curl virus* issued from *Lycopersicon hirsutum*. *Phytopathology*, 1998, 88(9): 910-914.
- [32] AKAD F, EYBISHTZ A, EDELBAUM D, GOROVITS R, DAR-ISSA O, IRAKI N, CZOSNEK H. Making a friend from a foe: Expressing a GroEL gene from the whitefly *Bemisia tabaci* in the phloem of tomato plants confers resistance to *Tomato yellow leaf curl virus*. *Archives of Virology*, 2007, 152(7): 1323-1339.
- [33] JOHANSEN E, EDWARDS M C, HAMPOTON R O. Seed transmission of viruses: Current perspectives. *Annuals Review of Phytopathology*, 1994, 32: 363-386.
- [34] JI Y F, SCHUSTER D J, SCOTT J W. Ty-3, a begomovirus resistance locus near the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus Ty-1 on chromosome 6 of tomato. *Molecular Breeding*, 2007, 20: 285.
- [35] JI Y F, SCOTT J W, SCHUSTER D J. Toward fine mapping of the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance gene Ty-2 on chromosome 11 of tomato. *HortScience*, 2009, 44(3): 614-618.

(责任编辑 岳梅)