

甜菜坏死黄脉病毒分子生物学的研究进展

姚华建 于嘉林 刘 仪

(北京农业大学农业生物技术国家重点实验室, 北京 100094)

S+32.41

Advances of Research on Molecular Biology of
Beet Necrotic Yellow Vein Virus

Yao Huajian Yu Jialin Liu Yi

(National Laboratory for Agrobiotechnology, Beijing Agricultural University, Beijing 100094)

关键词 甜菜坏死黄脉病毒, 分子生物学

病毒

Key words Beet necrotic yellow vein virus, Molecular biology

甜菜坏死黄脉病毒(Beet Necrotic Yellow Vein Virus, BNYVV)是一种由甜菜多粘菌(*Polymyxa betae*)传播的病毒。1987年,国际病毒分类委员会将其划分为真菌传杆状病毒组(Furovirus)的可能成员^[1]。由于甜菜坏死黄脉病毒引起甜菜丛根病,造成甜菜产量和含糖量的严重下降,给制糖业的发展带来了很大的威胁,所以引起了世界各国的广泛重视。近年来,在甜菜坏死黄脉病毒分子生物学研究方面取得了很大的进展,本文将对此作一综述。

1 BNYVV 的形态结构及核酸组分

甜菜坏死黄脉病毒的粒子是由RNA和分子量为20682道尔顿(21kD)的外壳蛋白组成的直杆状螺旋体^[2,3],螺距为2.6nm。组成粒子的核酸含量约4.5%^[4]。其粒子宽度一致(20nm),长度则依据所包被的RNA长度由60到390nm不等。

BNYVV是一种多分体病毒,已有五条RNA的序列被测定^[5-7],依据大小分别称为RNA1-5(RNA1:6.8kb;RNA2:4.7kb;RNA3:1.8kb;RNA4:1.5kb;RNA5:1.45kb)。目前只在一些BNYVV日本分离物中发现有RNA5^[8],而欧洲、美洲和中国的分离物中尚未发现它的存在。RNA1-4对于自然侵染过程是必需和足够的。所谓自然侵染过程就是介体将病毒传播到甜菜根部,病毒在根内繁殖并引起丛根症状^[9-11]。RNA5在自然侵染过程中的作用有待进一步阐明。分子杂交分析来自欧洲不同国家的13个BNYVV分离物,结果表明它们的RNA1和RNA2都相似,但是小RNAs在数目、长短和含量的相对比例方面却不同^[15,16]。

2 BNYVV 基因组结构

BNYVV RNA的遗传组成的重要特点如图1所示。RNA1-4带有5'帽子结构,RNA5可能具有5'帽子结构,RNA1-5都具有3'poly(A)尾^[17]。五条RNA的同源序列局限于5'端的8-9

个核苷酸和 3'端 poly(A)尾前面的约 70 个核苷酸。BNYVV 基因组的一个有趣的特点是在不同的病毒繁殖条件下 RNA3、RNA4 和 RNA5 的行为不同。在自然侵染的甜菜根部, RNA1-4 通常是存在的, RNA5 有时也存在。当用病根的提取物进行机械接种, 将病毒传到桔斑寄主蕃杏或昆诺藜的叶子上时, 只有 RNA1 和 RNA2 对侵染是必需的, 而 RNA3-5 可能被丢失^[2,8,10,12,16,17]。当 BNYVV 在叶片上进行繁殖时, RNA3 和 RNA4 常常自发地产生内部缺失^[18]。RNA3、RNA4 和 RNA5 组分上的差异常常与一定的桔斑类型相联系^[19], 这就很容易通过选择叶上的表型来制备不同小 RNA 遗传类型的 BNYVV 分离物。也就是说, 在叶上繁殖 BNYVV 就可以产生 RNA3、4 和 5 组成的遗传变化。

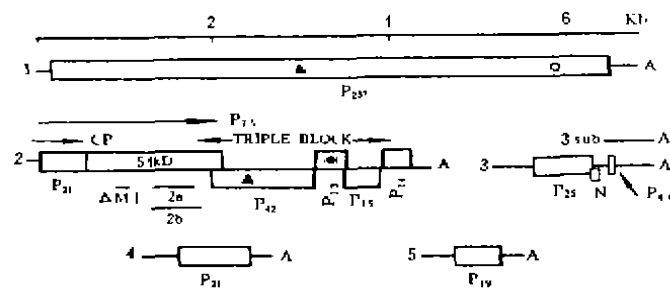


图 1 BNYVV RNAs 的遗传图谱。开放阅读框(ORF)以矩形框表示。“A”代表 3' poly(A)尾。P13 上疏水区域以线条表示。RNA2 54kD ORF 下面的横线表示 RNA2a 和 2b 传播缺陷型及 RNA2 组装突变体 $\Delta M1$ 的缺失位置。▲表示 ATP/GTP 结合域, ○表示“GDD”结构域, ●表示保守的 P13 序列结构域。

Fig 1 Genetic map of BNYVV RNAs. Open reading frames (ORFs) are represented as hollow rectangles except for ORF N, which is shown as a hatched rectangle. “A” indicates the 3' poly(A) tail. The hydrophobic domains in P13 are indicated by stippling. The bars beneath the 54-kD ORF of RNA2 indicate the position of the deletion in the transmission-deficient RNAs 2a and 2b and the assembly-deficient RNA2 mutant $\Delta M1$. Other symbols: ATP/GTP binding domains (▲), “GDD” motif (○), conserved P13 sequence motif (●).

3 BNYVV 基因产物及功能

3.1 RNA1 和病毒复制

RNA1 含有一个长的开放阅读框(ORF), 编码 237kD 的多肽——P237(所有的病毒基因产物都依据其分子量并在其前面缀以字母 P)。具有一个三磷酸核苷结合位点和“核心聚合酶”(GDD)一致序列^[9,20,21](图 1)。RNA1 基因产物具有依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶(RdRp)活性, 它本身带有病毒复制所必需的信息^[22]。

3.2 RNA2 基因产物及功能

3.2.1 外壳蛋白和通读蛋白

BNYVV RNA2 的 5'端 ORF 编码 21kD 的病毒外壳蛋白(CP)(图 1)。外壳蛋白顺反子以一个琥珀密码子终止。该终止密码子能被翻译核糖体以约 1/10 的机率进行抑制。一旦发生通读就产生一个 75kD 的蛋白(P75)。P75 N 端具有外壳蛋白的序列, 外壳蛋白终止密码子之后的其它部分不能明显地进行独立的表达^[23-24]。

利用免疫金电镜技术鉴定出 BNYVV 粒子表面有三个不同的单抗结合位点。其中一个单抗与整个病毒粒子上的抗原决定簇起反应,而另外两个单抗只与粒子两端的决定簇起反应^[26]。Koenig 等^[26]利用单克隆抗体,通过 ELISA 和 Western 印迹鉴定出 BNYVV 病毒粒子上的 5 种不同的抗原决定簇。抗原决定簇 1、2 和 5 对 SDS 不稳定,而抗原决定簇 3 和 4 却对 SDS 稳定。Commandeur 等^[27]进一步将 5 种对 SDS 稳定的抗原决定簇在 BNYVV 外壳蛋白上进行了定位,结果证明决定簇 1 位于氨基酸 1 和 7 之间,即 CP 的 N 端;决定簇 3、6 和 7 分别位于氨基酸 37—59、115—125 和 125—140 之间;决定簇 4 位于 CP 的 C 端(183—188 之间)。

序列分析的结果表明,我国的 BNYVV 内蒙分离物外壳蛋白基因的核苷酸序列与法国的 F13 分离物的同源率为 96.7%,由此序列推导的氨基酸同源率为 98.4%^[28]。

3.2.2 “三联基因区”(The Triple Block)

P75 ORF 之后是三个紧挨着的分别编码 42kD、13kD 和 15kD 多肽的三个顺反子,被称为“三联基因区”(图 1)。P42 具有一个三磷酸核苷结合位点和与螺旋酶相关的结构。P13 高度疏水,其 N 端和 C 端疏水结构域的长度很适合于跨过细胞膜。疏水结构域被一个很亲水的片段分隔开,该片段含有一个 GXY(R/K)DG(T/S)(R/K)的序列,其意义尚不清楚,但它在真菌传杆状病毒组所有成员中是严格保守的。利用免疫化学技术在昆诺藜受感染的组织里检测到了 P42 和 P13,它们几乎只与富含膜的亚细胞组份相关联^[26]。

3.2.3 P14

P14 由 RNA2 的 ORF6 编码(图 1)。在受侵染组织的可溶性亚细胞部分,用血清学方法可以检测到 P14。P14 富含半胱氨酸,有几个可能的锌指(Zn-finger)结构,在体外与 Zn^{2+} 具有亲合性。这些特点证明 P14 具有核酸结合活性^[23]。

BNYVV P14 由一个小的亚基因组 RNA 表达产生,这个亚基因组 RNA 在受侵染的叶组织的 RNA 提取物中已被检测出来。它的 5' 端位于 P14 起始密码子上游的 5Ints 处。可能引起 P42 和 P13 合成的亚基因组 RNAs 也已被检测到^[29]。

3.2.4 RNA2 基因产物的功能

3.2.4.1 “三联基因区”蛋白的功能

在“三联基因区”中产生突变的 RNA2 转录体在原生质体里能进行复制,在叶片上却不能。所以“三联基因区”蛋白参与细胞到细胞的移动。

带有不同突变的 P14 转录体在昆诺藜上具有侵染性,但枯斑中的病毒数量明显地比野生型减少^[29]。这可能是由于:(1)P14 上的突变可能破坏了 RNA2 复制中参与顺式作用的序列。(2)P14 起反式作用调节 RNA2 的复制或基因功能。

3.2.4.2 P75 与病毒的装配

P75 通读蛋白参与病毒的装配。BNYVV 分离物在叶片上不断转接过程中自然产生的 P75 通读结构域里的突变并不干扰病毒对叶部的侵染或外壳蛋白在受侵叶片上的合成,却抑制病毒粒子的形成^[19]。病毒 cDNA 在体外进行缺失突变造成转录体突变后也得到了相似的结果^[30]。干扰包装的突变是一个位于外壳蛋白终止子下游约 350nts 处短的缺失(109nts)(Δ M1 突变体,见图 1)。P75 在提纯的病毒中不能被灵敏的血清方法检测到,一个可能的解释是:P75 对于病毒的装配起始是必需的。装配起始是在包装过程中可以进行精细调控的唯一步骤。P75 分子间的蛋白-蛋白相互作用导致一个多聚体形成,在功能上类似于 TMV 的盘状聚集,特异地

与病毒 RNA 相结合并起始装配。通读结构域可能由核蛋白螺旋中突出并在病毒提纯过程中对蛋白质水解敏感。另外, P75 和组装的粒子之间的结合是不稳定的(可以在病毒提纯过程中丢失)或是暂时的^[19]。

3.2.4.3 P75 与介体传播

P75 对于 BNYVV 通过 *Polymyza betae* 传播也是必需的。包含在 P75 C 端的序列结构域在游动孢子和休眠孢子传播中起关键的作用^[31]。

传播缺陷型的 RNA2a 和 RNA2b 缺失突变株产生病毒粒子,但电镜观察发现这些颗粒比野生型病毒粒子要长得多^[9]。这可能表明 P75 C 端部分的缺失改变了病毒装配的机制或病毒粒子的特性(比如,导致病毒粒子首尾相连的聚集作用的增加)。含有 RNA2a 和 RNA2b 的 BNYVV 分离物比野生型病毒在 *Beta macrocarpa* 上产生系统症状稍慢,而且在接种的根部里的病毒含量也稍低^[31]。

3.3 RNA3、RNA4 和 RNA5

BNYVV RNA3、RNA4 和 RNA5 具有长的 ORF,分别编码 25kD、31kD 和 19kD 的多肽。采用血清学方法在病毒侵染的昆诺藜叶片的提取物中检测到了 P25 和 P31^[29]。在病毒侵染过程中,由 RNA3 的 3'端部分产生一条 600nts 的亚基因组 RNA(RNA-3Sub,图 1)。在受侵染的叶片和根部提取物的总 RNA 中已检测到它的存在,但它并不包被到病毒粒子中^[32]。

3.3.1 小 RNA 对于叶部症状的影响

尽管对叶部的侵染不需要小 RNAs,但 RNA3 对叶部症状的影响却很明显。没有 RNA3 时, BNYVV 侵染番杏或昆诺藜产生很微弱的病斑,形成轻微的褪绿斑(CS 症状)或轻微的同心环(CR 症状)^[3,32]。含有全长 RNA3 的 BNYVV 分离物却产生严重褪绿的黄色枯斑(YS 症状),全长 RNA3 的存在也常常和系统寄主 *B. macrocarpa* 上产生严重症状相关^[8,15,16,33]。

用 RNA3 转录体进行的体外突变试验表明,YS 症状表型需要最长的 RNA3 基因产物 P25 的表达,编码 P4、6 的区域的缺失不影响症状的表现。含有 RNA3 内部缺失的 BNYVV 分离物引起严重的坏死枯斑(NS 症状)^[3,19]。NS 症状是由一个内部 ORF-ORF N(图 1)的表达引起的。ORF N 在全长的 RNA3 上不起作用,但通过缺失而产生翻译激活,ORF N 在靠近 5'端具有位置效应^[34]。

3.3.2 小 RNSs 对真菌传毒的影响

RNA3 和 RNA4(有时还有 RNA5)在田间 BNYVV 分离物中总是存在的这一事实表明,这些小 RNAs 对于病毒在田间的生存是必需的。RNA4 的存在与真菌有效传播病毒相关。如果接种物中同时还存在 RNA3 或 RNA5,传播效率比 RNA3 或 RNA5 单独接种时的效率明显要高,三者同时存在时尤其有效。所以 RNA3 或 RNA5 与 RNA4 间有协同作用。在没有 RNA4 时,含有 RNA3 的分离物比不含 RNA3 的分离物的传播效率高。用不同小 RNA 组分的 BNYVV 分离物接种甜菜根的试验表明, RNA3 的存在显著地增加病毒在根部的积累^[8,14]。所以, RNA4 是真菌传毒的最初决定因子, RNA3 只是在初侵染后对病毒增殖产生影响。

3.3.3 小 RNAs 对根部症状的影响

含有 RNA3 的分离物接种甜菜幼苗根部可以造成高感甜菜品种主根的重量下降 95%。用不含小 RNAs 或只含有 RNA4 的病毒分离物接种时,只造成轻微的产生下降。RNA3 造成主根重量下降的同时,还造成侧根变褐、变脆^[35]。同时含有 RNA3 和 RNA4 的病毒分离物引起甜菜

含糖量和根重的下降最严重,这表明 RNA4 的存在加重了症状^[14]。含有 RNA4 和 RNA5 的分离物比只含有 RNA4 的分离物更容易被真菌传播,同时引起根重和含糖量的显著下降。所以 RNA4 和 RNA5 也影响根部症状的严重程度。

尽管 RNA4 和 RNA5 对根部症状的影响相似,但 RNA5 的毒性可能更大,因为它有利于病毒系统地侵染根系。分离物中 RNA5 的存在有时可以引起对 *B. macrocarpa* 的系统侵染,而 RNA4 则不能^[8]。

综上所述, RNA3 在甜菜丛根病症状的显现上是作为一个首要的决定因子。根部病毒滴度的大量增加与 RNA3 的存在相关, RNA3 能够促进病毒在根系内的扩展。

RNA3 和 RNA4 及 RNA4、RNA5 之间对症状的发展具有协同作用,而 RNA3 和 RNA5 之间则没有这种作用。小 RNAs 通过不同的途径促进病毒对根系的侵染。含有 RNA4 的分离物有效地通过甜菜多粘菌对植株进行再侵染,而含有 RNA3 和少量 RNA5 的分离物则显示出由初侵染和再侵染位点进行系统扩展的能力^[3]。异常的须根增生和病毒在根部的有效繁殖与全长的 RNA3 的存在紧密相关^[14]。

4 分子生物学研究成果在病害防治中的应用

人们正在试图将 BNYVV 分子生物学的研究成果应用于防治由 BNYVV 引起的甜菜丛根病。首选是利用 BNYVV 的部分基因生产抗甜菜丛根病的甜菜品种。Kallerhoff 等^[36]通过农杆菌介导法将 BNYVV CP 基因转到甜菜原生质体中并得到了表达,转基因的原生质体对 BNYVV 具有明显的抗性。Ehlers 等^[37]将 BNYVV CP 基因转到甜菜组织中并在发状根中检测出了 5—20ng CP/μg 总蛋白的表达。我们已获得了转 BNYVV CP 基因的甜菜植株^[38],这些转基因植株对 BNYVV 的抗性还有待作进一步的鉴定。BNYVV 54-kD 非结构蛋白基因也被克隆和转化^[39]。其次, Tamada 等^[40]将甜菜幼苗预先接种上含有内部产生缺失的 RNA3 的 BNYVV 突变株后再移到病田,这些植株比对照植株的丛根病症状轻、产量高。这表明通过筛选 RNA3 内部产生缺失的 BNYVV 突变株或不含 RNA3 的 BNYVV 分离物来接种甜菜幼苗,可以防治甜菜丛根病。随着对 BNYVV 分子生物学的不断深入,人们将开辟更有效的防治甜菜丛根病的新途径。

参 考 文 献

- 1 Shirako Y, Ehara Y. Comparison of the in vitro translation products of wild-type and a deletion mutant of soil-borne wheat mosaic virus. *J Gen Virol*, 1986; 67:1237—1245
- 2 Putz C. Composition and structure of beet necrotic yellow vein virus. *J Gen Virol*, 1977; 35: 397—401
- 3 Tamada T. Beet necrotic yellow vein virus. CMI/AAB. *Descrip. Plant Viruses*, 1975; No. 144
- 4 Steven AC, Trus BL, Putz C, et al. The molecular organization of beet necrotic yellow vein virus. *Virology*, 1981; 113: 428—438
- 5 Bouzoubaa S, Guilley H, Jonard G, et al. Nucleotide sequence analysis of RNA-3 and RNA-4 of beet necrotic yellow vein virus, isolates F2 and G1. *J Gen Virol*, 1985; 66: 1553—1564
- 6 Bouzoubaa S, Ziegler V, Beck D, et al. Nucleotide sequence of beet necrotic yellow vein virus RNA-2. *J Gen Virol*, 1986; 67: 1689—1700
- 7 Bouzoubaa S, Quillet L, Guilley H, et al. Nucleotide sequence of beet necrotic yellow vein virus RNA-1. *J Gen Virol*, 1987; 68:615—626
- 8 Tamada T, Shirako Y, Abe H, et al. Production and pathogenicity of isolates of beet necrotic yellow vein virus with different

- numbers of RNA components. *J Gen Virol*, 1989; 70: 3399—3409
- 9 Jupin I, Tamada T, Richards KE, *et al.* Pathogenesis of beet necrotic yellow vein virus. *Semin Virol*, 1991; 2: 121—129
 - 10 Koenig R, Burgermeister W, Weich H, *et al.* Uniform RNA patterns of beet necrotic yellow vein virus in sugar beet roots, but not in leaves from several plant species. *J Gen Virol*, 1986; 67: 2043—2046
 - 11 Koenig R, Burgermeister W. Mechanical inoculation of sugar beet roots with isolates of beet necrotic yellow vein virus having different RNA compositions. *J Phytopathol*, 1989; 124: 249—255
 - 12 Lemaire O, Merdinoglu D, Valentin P, *et al.* Effect of beet necrotic yellow vein virus RNA composition on transmission by *Polygala betae*. *Virology*, 1988; 162: 232—235
 - 13 Tamada T, Abe H. Evidence that beet necrotic yellow vein virus RNA-4 is essential for efficient transmission by the fungus *Polygala betae*. *J Gen Virol*, 1989; 70: 3391—3398
 - 14 Tamada T, Saito M, Kiguchi T, *et al.* Effect of isolates of beet necrotic yellow vein virus with different RNA component of rhizomania symptoms. *Proc Symp Int Working Group on Plant Viruses with Fungal Vectors*, 1990; 41—44
 - 15 Kuszala M, Veronique T, Bouzoubaa S, *et al.* Beet necrotic yellow vein virus, different isolates are serologically similar but differ in RNA composition. *Ann Appl Biol*, 1986; 109: 155—162
 - 16 Burgermeister W, Koenig R, Weich H, *et al.* Diversity of the RNAs in thirteen isolates of beet necrotic yellow vein virus in *Chenopodium quinoa* detected by means of cloned cDNAs. *J Phytopathol*, 1986; 115: 229—242
 - 17 Putz C, Pinck M, Fritsch C, *et al.* Identification of the 3' and 5' ends of beet necrotic yellow vein virus RNAs. *FEBS Letters*, 1983; 156: 41—56
 - 18 Bouzoubaa S, Guillely H, Jonard G, *et al.* Genome organization and function of beet necrotic yellow vein virus. In: Cooper J I and Asher M J C ed. *Development in Applied Biology II. Viruses with Fungal Vectors*, 1988; 99—110
 - 19 Richards KE, Tamada T. Mapping functions on the multipartite genome of beet necrotic yellow vein virus. *Annu Rev Phytopathol*, 1992; 30: 291—313
 - 20 Jupin I, Guillet L, Niesbach KU, *et al.* Infectious synthetic transcripts of beet necrotic yellow vein virus RNAs and their use in investigating structure-function relations. In: Pirone T M and Shoo J G ed. *Viral Gene and Plant Pathogenesis*, Springer-Verlag, 1990; 187—204
 - 21 Poch O, Sauvaget J, Delarue M, *et al.* Identification of four conserved motifs among the RNA-dependent polymerase encoding elements. *EMBO J*, 1989; 8: 3867—3874
 - 22 Jupin I, Guillet L, Ziegler G V, *et al.* In vitro translation of natural and synthetic beet necrotic yellow vein virus RNA-1. *J Gen Virol*, 1988; 69: 2359—2367
 - 23 Niesbach K U, Guillely H, Jonard G, *et al.* Immunodetection in vivo of beet necrotic yellow vein virus encoded proteins. *Virology*, 1990; 178: 52—61
 - 24 Ziegler V, Richards K, Guillely H, *et al.* Cell-free translation of beet necrotic yellow vein virus, readthrough of the coat protein cistron. *J Gen Virol*, 1985; 66: 2079—2087
 - 25 Lesemann D E, Koenig R, Torrance L, *et al.* Electron microscopical demonstration of different binding sites for monoclonal antibodies on particles of beet necrotic yellow vein virus. *J Gen Virol*, 1990; 71: 731—733
 - 26 Koenig R, Commandeur U, Lesemann DE, *et al.* Antigenic analysis of the coat protein of beet necrotic yellow vein virus by means of monoclonal antibodies. *J Gen Virol*, 1990; 71: 2229—2232
 - 27 Commandeur U, Koenig R, Lesemann DE, *et al.* Epitope mapping on fragments of beet necrotic yellow vein virus coat protein. *J Gen Virol*, 1992; 73: 695—700
 - 28 姚华建, 等. 甜菜坏死黄脉病毒外壳蛋白基因的克隆及序列分析. *生物工程学报*, 1993; 9(2): 147—151
 - 29 Gilmer D, Bouzoubaa S, Hehn A, *et al.* Efficiency cell-to-cell movement of beet necrotic yellow vein virus requires 3' proximal genes located on RNA 2. *Virology*, 1992; 189: 40—47
 - 30 Schmitt C, Halmoni Z, Jonard G, *et al.* In vitro mutagenesis of biologically active transcripts of beet necrotic yellow vein virus RNA 2; evidence that a domain of the 75 kilodalton readthrough protein is important for efficient virus assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992; 89: 5715—5719

- 31 Tamada T, Kusume T. Evidence that the 75K readthrough protein of beet necrotic yellow vein virus RNA-2 is essential for transmission by the fungus *Rhizoglyphus betae*. *J Gen Virol*, 1991; 72, 1497—1504
- 32 Bouzoubas S, Niesbach K U, Jupin I, et al. Shortened forms of beet necrotic yellow vein virus RNA-3 and RNA-4. *J Gen Virol*, 1991; 72, 259—266
- 33 Quillet L, Guilley H, Jonard G, et al. In vitro synthesis of biologically active beet necrotic yellow vein virus RNA. *Virology*, 1989; 172, 293—301
- 34 Jupin I, Guilley H, Richards KE, et al. Two proteins encoded by beet necrotic yellow vein virus RNA 3 influence symptom phenotype on leaves. *EMBO J*, 1992; 11, 479—488
- 35 Koenig R, Jarausch W, Li Y, et al. Effect of recombinant beet necrotic yellow vein virus with different RNA compositions on mechanically inoculated sugarbeets. *J Gen Virol*, 1991; 72, 2243—2246
- 36 Kallerhoff J, Perez P, Bouzoubas S, et al. Beet necrotic yellow vein virus coat protein-mediated protection in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) protoplasts. *Plant Cell Reports*, 1990; 9, 224—228
- 37 Ehlers U, Commandeur U, Frank R, et al. Cloning of the coat protein gene from beet necrotic yellow vein virus and its expression in sugar beet hairy roots. *Theor Appl Genet*, 1991; 81, 777—782
- 38 姚华建, 刘仪. 甜菜坏死黄脉病毒外壳蛋白基因的克隆及表达. [博士学位论文], 北京, 北京农业大学, 1993
- 39 李大伟, 刘仪. 甜菜坏死黄脉病毒 54-kD 非结构蛋白基因的克隆及表达. [博士学位论文], 北京, 北京农业大学, 1994
- 40 Tamada T, Uchino H, Kusume T, et al. Deletion mutants of beet necrotic yellow vein virus RNA3 interfere with Rhizomania disease of sugar beet. Abstracts of 6th International Congress of Plant Pathology, 1993, 312