

# 侵染广西烟草的中国番茄黄化曲叶病毒及其 伴随的卫星 DNA 分子的基因组特征

徐幼平<sup>1,2</sup>, 周雪平<sup>1\*</sup>

(浙江大学<sup>1</sup> 生物技术研究所<sup>2</sup> 分析测试中心 杭州 310029)

**摘 要** 从中国广西靖西的烟草病株上分离到病毒分离物 G102 和 G103, 用双生病毒特异性引物均扩增出约 500bp 的片段, 两者序列同源性达 99%。对 G102 基因组 DNA-A 全序列测定表明, 其全长为 2728 个核苷酸, 与中国番茄黄化曲叶病毒(TYLCCNV)同源性最高, 达 96.5%。进一步研究发现, G102 和 G103 都伴随有长为 1342 个核苷酸的卫星 DNA 分子(DNA $\beta$ )。这两个 DNA $\beta$  分子的全序列与 TYLCCNV 的 DNA $\beta$  同源性最高, 分别为 92.9% 和 93.4%。这是首次明确广西分离的 TYLCCNV 也伴随有卫星分子。

**关键词**: 中国番茄黄化曲叶病毒; *Begomovirus*; DNA-A; DNA $\beta$

中图分类号: Q78 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2006)03-0358-05

双生病毒是世界范围内广泛发生的一类植物单链 DNA 病毒, 已在多种作物上引起严重危害<sup>[1-3]</sup>。我国广东、广西、云南和海南等地的烟草、番茄、南瓜和番木瓜等多种作物受到双生病毒的侵染, 给农业生产造成极大损失<sup>[4-7]</sup>。根据介体传播、寄主范围和基因组结构可将双生病毒分成 4 个属, 其中危害严重、发生广泛的双生病毒大多属于菜豆金色花叶病毒属(*Begomovirus*)。这些病毒在自然条件下由烟粉虱(*Bemisia tabaci*)传播, 因而也称粉虱传双生病毒<sup>[8]</sup>。大多数 begomoviruses 为双组分病毒, 基因组含有两条大小均为 2.5 ~ 3.0kb 的 DNA 分子, 即 DNA-A 和 DNA-B。少数 begomoviruses 为单组分病毒, 基因组只含 1 条 DNA 分子, 即 DNA-A, 大小约 2.8kb<sup>[9]</sup>。近年来, 在一些单组分双生病毒中发现了一类对这些病毒诱导典型病害症状必需的卫星 DNA 分子——DNA $\beta$ , DNA $\beta$  与辅助病毒之间具有共进化关系<sup>[10]</sup>。

烟草曲叶病是热带和亚热带烟区的重要病害, 1982 年龚祖坝等<sup>[11]</sup>初步确定我国烟草曲叶病为双生病毒引起, 1994 年洪益国等<sup>[12]</sup>从分子水平证实了这一点。随后, 刘玉乐等<sup>[13]</sup>报道了引起广西烟草曲叶病的另一双生病毒——中国番茄黄化曲叶病毒(TYLCCNV), 但当时并没有测定其是否伴随有 DNA $\beta$ 。我们实验室曾报道从云南分离的 TYLCCNV

分离物均伴随有 DNA $\beta$ <sup>[14]</sup>。本文报道了从广西烟草上分离的 TYLCCNV 分离物也伴随有 DNA $\beta$  分子。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 毒源** 病毒分离物 G102 和 G103 分离自广西靖西表现曲叶、耳突症状的烟草病株。

**1.1.2 试剂**: *Taq* 酶、T4 DNA 连接酶及克隆载体 pGEM-T 购自 Promega 公司, 测序试剂盒为 Pharmacia 公司的 DYEnamic ET Dye Terminator Cycle Sequencing Kit。

### 1.2 DNA 提取

按谢艳等<sup>[5]</sup>报道的方法提取总 DNA。

### 1.3 PCR 扩增、克隆和序列测定

根据双生病毒基因间隔区及外壳蛋白保守序列设计引物 PA 和 PB, 扩增 DNA-A 部分区域, 并进行克隆及序列测定, 然后根据测出的序列设计特异引物 G102F 和 G102R 扩增近全长的 DNA-A。PCR 反应条件参照 Zhou 等<sup>[15]</sup>的方法。根据谢艳等<sup>[16]</sup>报道的方法扩增 DNA $\beta$  全长序列。PCR 产物克隆到 pGEM-T 载体, 然后利用通用引物及各特异测序引物在 MegaBACE 1000 DNA 测序仪上进行序列测定。所用引物序列见表 1。

基金项目 国家自然科学基金(30370927, 30530520)

\* 通讯作者。E-mail: zzhou@zju.edu.cn

作者简介 徐幼平(1970-), 女, 浙江诸暨人, 博士研究生, 研究方向为植物病毒学。E-mail: ypxu@zju.edu.cn

收稿日期 2005-07-27; 接受日期 2005-09-19; 修回日期 2005-11-07

表 1 PCR 扩增和测序所用引物

Table 1 Primers used for cloning and sequencing of DNA-A and DNA $\beta$ 

Primers	Sequence (5'→3')*	Position in G102 DNA-A or DNA $\beta$ (nt)
PA	TAATATTACCKGWKGVCCSC	2722 ~ 13
PB	TGGACYTTRCAWGGBCCTTCACA	488 ~ 510
G102F	CCGGCTCACCAGAAGACAAAT	394 ~ 414
G102R	TGGGGGCTACGTTTATAGGG	90 ~ 111
G102FM	GACAATGAACCTAGCACTG	764 ~ 782
G102RM	AAGATGGGTCTCCTCACTTGC	2417 ~ 2437
Y6F2	CCTTTAATTTGAAGCTGGCTTCC	1708 ~ 1729
Y6R2	GGAAGCCAGTTCAAATTAAGG	1729 ~ 1708
beta01	GTAGGTACCACTACGCTACCGCAGCAGCC	1278 ~ 1302
beta02	AGTGGTACCTACCCTCCAGGGGTACAC	1259 ~ 1283
G102 $\beta$	CTGGTGCTTCTCCATCATG	265 ~ 284

\* B = C, T or G; K = G or T; R = A or G; S = C or G; V = A, C or G; W = A or T; Y = C or T.

## 1.4 序列分析

利用软件 DNASTar (Madison, Wisconsin, USA) 和 DNAMAN Version 5.2.2 (Lynnon Biosoft, Quebec, Canada) 进行序列分析。多序列比较采用 DNASTar clustal W 方法, 进化树构建采用 DNAMAN 的邻近相连法 (Neighbor-joining)。用于 DNA-A 序列比较和进化分析的病毒有: 斯里兰卡胜红蓟黄脉病毒 (*Ageratum yellow vein Sri Lanka virus*, AYVSLV, AF314144) 秋葵黄脉花叶病毒 (*Bhendi yellow vein mosaic virus*, BYVMV, AJ002453) 科克蓝棉花曲叶病毒 (*Cotton leaf curl Kokhran virus*, CLCuKV, AJ002449) 一品红曲叶病毒 (*Euphorbia leaf curl virus*, ELCV, AJ558121) 忍冬黄脉花叶病毒 (*Honeysuckle yellow vein mosaic virus*, HYVMV, AB020781) 赛葵黄脉病毒 (*Malvastrum yellow vein virus*, MYVV, AJ457824) 秋葵黄脉花叶病毒 (*Okra yellow vein mosaic virus*, OYVMV, AJ002451) 中国番木瓜曲叶病毒 (*Papaya leaf curl China virus*, PaLCuCNV, AJ558117) 马来西亚胡椒曲叶病毒 (*Pepper leaf curl Malaysia virus*, PepLCV, AF414287) 大豆皱叶病毒 (*Soybean crinkle leaf virus*, SbCLV, AB050781) 假马鞭曲叶病毒 (*Stachytarpheta leaf curl virus*, StaLCV, AJ564742) 烟草曲茎病毒 (*Tobacco curly shoot virus*, TbCSV, AJ457986) 云南烟草曲叶病毒 (*Tobacco leaf curl Yunnan virus*, TblCYNV, AJ512761) 中国番茄曲叶病毒 (*Tomato leaf curl China virus*, ToLCCNV, AJ558119) TYLCCNV 的 Y10、Y25、Y36 和广西分离物 (TYLCCNV-[Y10], AJ319675; TYLCCNV-[Y25], AJ457985; TYLCCNV-[Y36], AJ420316; TYLCCNV-GX, AF311734) 泰国番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl Thailand virus*, TYLCTHV, AJ495812)。

用于 DNA $\beta$  序列比较的 DNA $\beta$  分子有: 新加坡胜红蓟黄脉病毒 (*Ageratum yellow vein virus*, AYVV $\beta$ , AJ252072), BYVMV (BYVMV $\beta$ , AJ308425), 木尔坦棉花曲叶病毒 (*Cotton leaf curl Multan virus*, CLCuMV $\beta$ 01, AJ292769), MYVV (MYVV $\beta$ , AJ421482), 秋葵曲叶病 (*Okra leaf curl disease*, OLCDB, AJ316029), 中国黄花稔黄花叶病毒 (*Sida yellow mosaic China virus*, SiYMCNV $\beta$ , AJ810093), TbCSV (TbCSV $\beta$ , AJ421485), 番茄曲叶病 (*Tomato leaf curl disease*, ToLCD $\beta$ , AJ316035), TYLCCNV 的 Y10、Y25 和 Y36 分离物 (TYLCCNV-Y10 $\beta$ , AJ421621; TYLCCNV-Y25 $\beta$ , AJ421619; TYLCCNV-Y36 $\beta$ , AJ596791), TYLCTHV (TYLCTHV-Y7 $\beta$ , AJ566746) 的 DNA $\beta$  分子。

## 2 结果和分析

### 2.1 病毒分离物 G102 基因组 DNA-A 结构

以提取的 G102 和 G103 基因组 DNA 为模板, PA 和 PB 为引物进行 PCR 扩增, 均得到约 500bp 的特异性条带。对此 500bp 产物进行克隆后测序, 发现 G102 和 G103 这一段序列之间的同源性达 99%, 因而推测它们为同一双生病毒的不同分离物。对其中 G102 进行全序列测定、拼接后发现, G102 DNA-A 全长 2728 个核苷酸 (nt) (EMBL 登录号为: AM050555), 其基因组结构具有典型的粉虱传双生病毒特性, 为闭合环状单链 DNA, 共编码 6 个 ORF, 分别是位于病毒链上的 AV1 基因 (287nt ~ 1057nt), AV2 基因 (127nt ~ 474nt) 及位于互补链上的 AC1 基因 (1506nt ~ 2591nt), AC2 基因 (1199nt ~ 1603nt), AC3 基因 (1054nt ~ 1458nt) 和 AC4 基因 (2141nt ~ 2434nt)。另外在 AV2 和 AC1 之间 (对应于核苷酸 2592nt ~ 126nt) 含 1 个长 263nt 的基因间隔区 (Intergenic region, IR)。IR 区含有双生病毒保守的各种顺式元件 (cis-element): 包括茎环结构 (含有 9 个核苷酸 TAATATTAC) 和 TATA box 等; 重复序列 GGTGTCT (位于核苷酸 2605nt ~ 2611nt, 重复于 2633nt ~ 2639nt) 及 CAAATGG (位于 2628nt ~ 2634nt, 重复于 2664nt ~ 2670nt)。这些顺式元件是双生病毒转录和复制所必需的。

### 2.2 G102 DNA-A 与其它双生病毒的同源性比较

将 G102 DNA-A 全序列在 NCBI 上进行 BLAST 检索发现, 它与 TYLCCNV 各分离物的 DNA-A 全长的同源性最高, 其中与 TYLCCNV-GX 和 TYLCCNV-[Y36] 相似性高达 96.5% 和 95.7%, 各 ORF 也都与这两个分离物同源性最高 (表 2)。即使是变异最大

的 IR 区,两者相似性也达 96.5%~97.0%。G102 DNA-A 全序列与其它双生病毒的相似性却均在 83% 以下。从系统关系树得知,G102 DNA-A 与

TYLCCNV 各分离物形成一独立分支,而与其它 15 种病毒的 DNA-A 同源关系均较远(图 1)。

表 2 G102 与其它双生病毒之间全长 DNA-A、IR 及各 ORFs 的同源性比较(%)

Table 2 Comparison of nucleotide and amino acid sequence identities of complete DNA-A, IR and encoded ORFs between G102 and other 19 begomovirus species or isolates (%)

Virus	DNA-A <sup>a</sup>	IR <sup>a</sup>	AV2 <sup>b</sup>	AV1 <sup>b</sup>	AC1 <sup>b</sup>	AC2 <sup>b</sup>	AC3 <sup>b</sup>	AC4 <sup>b</sup>
TYLCCNV-GX	96.5	97.0	96.5	96.1	98.6	97.8	97.0	96.9
TYLCCNV-[Y36]	95.7	96.5	96.6	96.1	98.6	94.8	94.8	95.9
TYLCCNV-[Y10]	90.6	87.8	90.5	94.9	91.4	83.7	83.0	89.8
TYLCCNV-[Y25]	89.9	92.4	88.7	91.0	95.6	87.3	87.3	86.6
PepLCV	82.5	81.4	78.4	81.3	87.6	82.1	81.3	76.3
TYLCTHV	82.4	77.2	66.1	78.5	89.8	85.8	87.3	81.6
PaLCuCNV	81.2	77.9	80.2	82.5	83.4	74.8	73.3	79.6
TbCSV	81.2	80.6	71.3	77.0	90.9	67.9	64.9	86.7
ToLCCNV	79.4	84.4	65.5	73.5	88.1	66.7	61.2	90.7
AYVSLV	78.8	76.8	70.4	75.4	86.1	69.4	67.9	77.3
StaLCV	78.4	64.3	76.7	80.9	80.9	81.3	76.9	38.5
SbCLV	77.7	79.1	74.1	80.5	75.7	74.1	72.6	41.2
TbLCYNV	77.3	71.1	71.6	78.5	76.2	71.9	72.4	42.7
MYVV	76.7	68.4	66.1	78.1	83.1	64.4	61.9	78.6
CLCuKV	76.0	47.5	72.4	78.5	79.4	70.9	64.2	44.9
ELCV	76.0	50.6	65.5	76.3	80.8	68.9	68.1	43.3
HYVMV	74.9	55.1	68.1	70.8	81.2	59.3	64.2	68.0
OYVMV	74.5	51.7	64.7	77.8	77.6	62.2	64.9	42.9
BYVMV	73.1	40.7	64.7	77.7	79.3	61.5	65.7	40.6

a: Nucleotide sequence identity; b: Amino acid sequence identity.

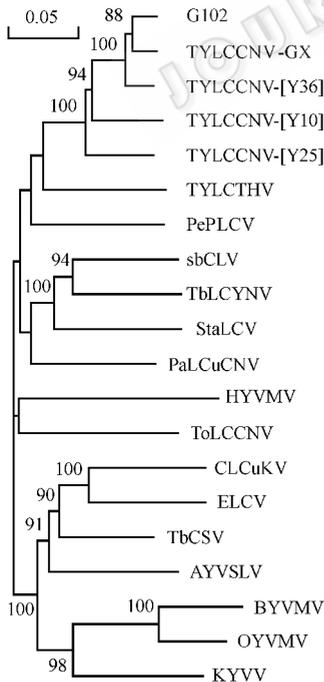


图 1 基于 DNA-A 全长序列构建的系统进化树

Fig. 1 Relationship dendrogram based on DNA-A of G102 and other 19 begomovirus species or isolates.

### 2.3 与病毒伴随的 DNA $\beta$ 分子结构及与其它已报道 DNA $\beta$ 的同源性比较

利用 DNA $\beta$  全长特异引物 beta01 和 beta02 进行 PCR 扩增,G102 与 G103 均得到一条长约 1.3kb 的特异条带,说明分离物 G102 与 G103 均伴随有卫星 DNA 分子(DNA $\beta$ )。序列测定表明,G102 $\beta$  与 G103 $\beta$  全长均为 1342nt(EMBL 登录号分别为:AM050556 和 AM050557),两者序列相似性高达 96.6%。G102 $\beta$  与其它 DNA $\beta$  的全序列同源性比较表明,它与 TYLCCNV 各分离物伴随的卫星分子相似性最高,例如与 TYLCCNV-Y36 $\beta$ 、Y10 $\beta$  和 Y25 $\beta$  的相似性分别为 94.4%、92.9%、88.4% 和 85.1%,而与 ToLCD $\beta$  及秋葵、棉花和赛葵上的 DNA $\beta$  的同源性较低,仅为 50.7%~56.0%(表 3)。

G102 $\beta$  互补链编码一个分子量约为 13.6kDa 的 ORF  $\beta$ C1。从 C1 编码的氨基酸序列比较看,G102  $\beta$ C1 与其它  $\beta$ C1 的同源性差异很大,分别处于 25.4%~97.5%。G102 $\beta$  分子序列上另一个特点是位于 762~996nt 之间富含 A,占 65.5%。在 1243~15 位核苷酸之间还含有一个长为 115nt 的卫星保守区(satellite conserved region,SCR)。SCR 区含有双生

病毒科病毒共有的茎环结构和保守的九核苷酸 TAATATT↓AC↓ 后的 A 为 DNA $\beta$  的第一个核苷酸) 除 TAATATTAC( 双生病毒滚环复制起始位点) 以外, G102 DNA-A 和 G102 DNA $\beta$  几乎没有序列同源性。SCR 区是 DNA $\beta$  分子中最保守的区域, 从表 3 可以看出, G102 $\beta$  与其它各 DNA $\beta$  的 SCR 区同源性均在 93.0% ~ 100% 之间。虽然 G102 $\beta$  与 SiYMCNV-Hn8 $\beta$  的全长序列同源性仅为 63.2%, 但其 SCR 区序列竟完全一致, 这也充分说明了 SCR 区是一个极为保守的区域。基于 DNA $\beta$  分子全基因组核苷酸序列构建的系统进化树显示, G102 $\beta$  与 G103 $\beta$ 、TYLCCNV-Y36 $\beta$ 、TYLCCNV-Y10 $\beta$  和 TYLCCNV-Y25 $\beta$  形成一个进化分支, 表明 G102 $\beta$  与这些 DNA $\beta$  分子的亲缘关系较近(图 2)。

表 3 G102 DNA $\beta$  和其它双生病毒 DNA $\beta$  分子核苷酸及氨基酸序列的相似性比较 (%)

Table 3 Percentage of nucleotide and amino acid sequence identities between G102 DNA $\beta$  and other DNA $\beta$  molecules

Virus	DNA <sup>a</sup>	C1 <sup>b</sup>	SCR <sup>a</sup>
G103 $\beta$	96.6	97.5	99.1
TYLCCNV-Y36 $\beta$	92.9	96.6	98.3
TYLCCNV-Y10 $\beta$	88.4	94.9	97.4
TYLCCNV-Y25 $\beta$	85.1	90.7	97.4
TbCSV $\beta$	70.9	67.8	96.5
TYLCTHV $\beta$	67.8	69.5	96.5
AYVV $\beta$	66.7	62.7	96.5
SiYMCNV $\beta$	63.2	52.1	100
MYVV $\beta$	56.0	25.4	93.9
ToLCD $\beta$	52.3	57.6	94.8
OLCD $\beta$	52.2	31.9	96.5
BYVMV $\beta$	51.3	30.3	93.0
CLCuMV $\beta$ 01	50.7	32.2	93.0

a: Nucleotide sequence identity b: Amino acid sequence identity.

### 3 讨论

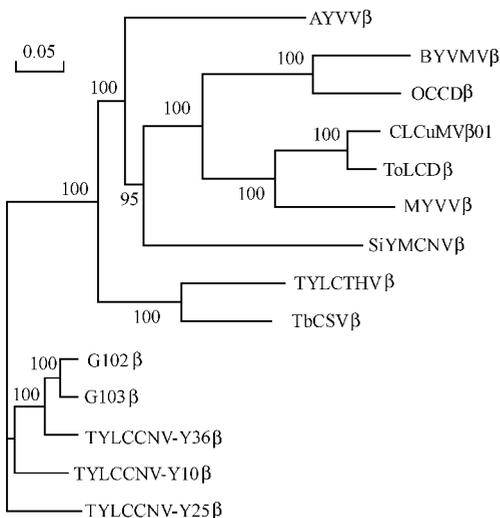
从广西烟草上分离到 G102 和 G103 分离物, 用双生病毒特异引物 PA 和 PB 扩增出约 500bp 片段, 两者序列同源性为 99%, 推测它们属于同一病毒。对 G102 DNA-A 序列分析和 BLAST 比对发现, G102 DNA-A 与中国科学院微生物所刘玉乐等<sup>[13]</sup>报道的 TYLCCNV 同源性最高, 达 96.5%, 与 TYLCCNV-[Y36] 分离物的同源性次之(95.7%)。双生病毒科病毒全基因组核苷酸序列同源性小于 89%, 往往定名为不同病毒, 而大于 89%, 则认为是同一病毒的不同株系<sup>[17]</sup>。由此, 我们认为 G102 和 G103 是 TYLCCNV 的两个分离物, TYLCCNV 是引起广西烟草曲叶病的病原。TYLCCNV 分离物 G102 和 G103 还伴随有卫星 DNA 分子, 且均与 TYLCCNV 各分离物的 DNA $\beta$  的相似性最高, 达 85% 以上, 而与有些 TYLCCNV 分离物的相似性大于 92%。对云南地区 TYLCCNV 分离物的研究表明, TYLCCNV 总是伴随有 DNA $\beta$ <sup>[10]</sup>, 致病性测定表明 DNA $\beta$  是病毒诱导症状必需的。而我们从广西烟草上分离的 TYLCCNV 分离物也均伴随有 DNA $\beta$ , 进一步证明了 TYLCCNV 在自然界总是与 DNA $\beta$  相伴随的。推测广西 TYLCCNV 也是必需依赖于 DNA $\beta$  才能引起典型的曲叶症状。

### 参 考 文 献

- [1] Harrison BD, Robinson DJ. Natural genomic and antigenic variation in whitefly-transmitted geminiviruses (Begomoviruses). *Annu Rev Phytopathol*, 1999, **37**: 369 - 398.
- [2] Moffat AS. Plant pathology: Geminiviruses emerge as serious crop threat. *Science*, 1999, **286**: 1835.
- [3] Zhou XP, Liu YL, Robinson DJ, et al. Four DNA-A variants among Pakistani isolates of cotton leaf curl virus and their affinities to DNA-A of geminivirus isolates from okra. *J Gen Virol*, 1998, **79**: 915 - 923.
- [4] Zhou XP, Xie Y, Zhang ZK. Molecular characterization of a distinct begomovirus infecting tobacco in Yunnan, China. *Arch Virol*, 2001, **146**: 1599 - 1606.
- [5] 谢 艳, 周雪平, 张仲凯, 等. 从云南分离的烟草曲叶病毒为菜豆金色花叶病毒属的一个新种. *科学通报*, 2001, **46**(17): 1459 - 1462.
- [6] 洪益国, 蔡健和, 王小凤, 等. 中国南瓜曲叶病毒: 一个双生病毒新种. *中国科学(B辑)*, 1994, **24**(7): 608 - 613.
- [7] Wang XY, Xie Y, Zhou XP. Molecular characterization of two distinct begomoviruses from papaya in China. *Virus Genes*, 2004, **29**(3): 303 - 309.
- [8] Rybick EP, Bridson RW, Brown JK, et al. Family Geminiviridae [A]. Van Regenmortel MHV, et al. *Virus Taxonomy: Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses* [C]. New York: Academic Press, 2000. 285 - 297.

图 2 基于 G102 $\beta$  与其它双生病毒 DNA $\beta$  核苷酸序列构建的系统关系树

Fig. 2 Relationship dendrogram based on alignments of nucleotide sequences of G102 $\beta$  and other begomovirus DNA $\beta$  molecules.



- [ 9 ] Lazarowitz DG. Geminiviruses : Genome structure and gene function. *Crit Rev Plant Sci* ,1992 , **11** ( 4 ) :327 - 349.
- [ 10 ] Zhou XP , Xie Y , Tao XR , *et al.* Characterization of DNA $\beta$  associated with begomoviruses in China and evidence for co-evolution with their cognate viral DNA-A. *J Gen Virol* ,2003 , **84** :237 - 247.
- [ 11 ] 龚祖坝 ,沈菊英 ,郑巧兮 ,等. 我国第一例双联病毒—烟草曲叶病毒的分离. *科学通报* ,1982 , **22** :1393 - 1396.
- [ 12 ] 洪益国 ,蔡健和 ,王小凤 ,等. 烟草曲叶双生病毒分子进化的初步研究. *科学通报* ,1994 , **39** ( 6 ) :165 - 168.
- [ 13 ] 刘玉乐 ,蔡健和 ,李冬玲 ,等. 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)* ,1998 , **28** ( 2 ) :148 - 153.
- [ 14 ] Cui XF , Tao XR , Xie Y , *et al.* A DNA associated with Tomato yellow leaf curl China virus is required for symptom induction in hosts. *J Virol* ,2004 , **78** :13966 - 13974.
- [ 15 ] Zhou XP , Liu Y , Calvert L , *et al.* Evidence that DNA-A of a geminivirus associated with severe cassava mosaic disease in Uganda has arisen by interspecific recombination. *J Gen Virol* ,1997 , **78** :2101 - 2111.
- [ 16 ] 谢 艳 ,周雪平 ,李正和 ,等. 与烟草曲叶病毒伴随的新型 DNA 分子鉴定. *科学通报* ,2002 , **47** ( 10 ) :768 - 771.
- [ 17 ] Fauquet CM , Bisaro DM , Bridson RW , *et al.* Revision of taxonomic criteria for species demarcation in the family *Geminiviridae* , and an updated list of begomovirus species. *Arch Virol* ,2003 , **148** :405 - 421.

## Genomic characterization of Tomato yellow leaf curl China virus and its associated satellite DNA infecting tobacco in Guangxi

XU You-ping<sup>1,2</sup> , ZHOU Xue-ping<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> Institute of Biotechnology , <sup>2</sup> Center of Analysis and Measurement , Zhejiang University , Hangzhou 310029 , China )

**Abstract** :The virus isolates G102 and G103 were collected from tobacco showing leaf curl symptoms in Jingxi , Guangxi Province. A 0.5kb fragment was obtained by PCR using primers specific to geminivirus genome. The nucleotide sequence identity of the partial DNA-A sequence between the two isolates was over 99% . The complete DNA-A sequence of G102 was determined to be 2728 nucleotides. Comparisons showed that the DNA-A of G102 had the highest sequence identity ( 96.5% ) with that of Tomato yellow leaf curl China virus ( TYLCCNV ). Further studies showed that both G102 and G103 were associated with satellite DNA molecules ( DNA $\beta$  ). Sequence analysis revealed that DNA $\beta$  of G102 and G103 contained 1342nt and they shared the highest sequence identities ( 92.9% and 93.4% , respectively ) with that of TYLCCNV. This is the first report that TYLCCNV isolates in Guangxi were also associated with satellite DNA molecules. The previously results demonstrated that all 25 TYLCCNV isolates collected in Yunnan province were associated with DNA  $\beta$  molecules. The finding that TYLCCNV isolates collected in Guangxi province were also associated with DNA  $\beta$  molecules gives further evidence that TYLCCNV isolates are associated with DNA  $\beta$  molecules in nature.

**Keywords** : Tomato yellow leaf curl China virus ; Begomovirus ; DNA-A ; DNA $\beta$