

# 苹果花脸病田间病情发展及 ASSVd 在组培条件下的传播

郝娜娜, 赵 珂, 杨金凤, 孟祥龙, 胡同乐, 王树桐, 王亚南\*, 曹克强\*

(河北农业大学植物保护学院, 河北保定 071001)

**摘 要:** 为了明确苹果锈果类病毒 (apple scar skin viroid, ASSVd) 引起的苹果花脸病在田间的病情发展情况以及 ASSVd 在组培条件下的传播方式, 2012—2015 年对河北省顺平南神南村 3 个果园进行持续调查和检测。结果显示, 果园 A、B、C 的显症率分别从 3.00%、19.35% 和 10.00% 上升至 10.00%、34.41% 和 22.00%, 带毒率分别从 11.00%、20.43% 和 14.00% 上升至 23.00%、37.63% 和 30.00%, 带毒率和显症率都逐年增加, 而且带毒率大于显症率, 即有些带毒果树不显症。发病果树田间分布有明显的发病中心。通过高通量测序发现显症果树 ASSVd vsiRNA reads 数是带毒未显症 reads 数的 4.08 倍, 同时实时荧光定量 PCR 检测发现显症树 ASSVd 病毒积累量显著高于带毒未显症树。以携带 ASSVd 的组培苗和无毒组培苗为试材, 利用 RT-PCR 检测明确了 ASSVd 可通过伤口沾染带毒汁液、组培剪污染、含毒培养基、根系接触进行传播, 其中根系接触传染率较高。

**关键词:** 苹果; 苹果锈果类病毒; 高通量测序; RT-PCR; 病情发展; 传播方式

**中图分类号:** S 661.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2020) 12-2397-08

## The Disease Development of Apple Scar Skin Viroid in the Field and Its Transmission Mode in Tissue Culture

XI Nana, ZHAO Ke, YANG Jinfeng, MENG Xianglong, HU Tongle, WANG Shutong, WANG Yanan\*, and CAO Keqiang\*

(College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

**Abstract:** Apple scar skin disease caused by apple scar skin viroid (ASSVd) is common in apple producing areas northern in China and it has led to serious economic losses in recent years. At present, there are no effective treatment measures. In order to clarify the disease development and transmission mode in the field, three orchards in Nanshennan Village, Shunping, Baoding were continuously investigated and tested from 2012 to 2015. In orchard A, B, C, the change of symptom rate from 3.00%, 19.35% and 10.00% to 10.00%, 34.41% and 22.00%, and the change of virus-taking rate from 11.00%, 20.43% and 14.00% to 23.00%, 37.63% and 30.00%. The rate of symptom-showing and virus-taking

**收稿日期:** 2020-04-18; **修回日期:** 2020-06-03

**基金项目:** 国家重点研发计划专项 (2016YFD0201100); 河北省自然科学基金项目 (C2019204327); 河北省引进留学人员资助项目 (C201839); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (CARS-27); 河北省高等学校优秀青年基金项目 (YQ2014023); 河北省农业高质量发展关键共性技术攻关专项 (19226508D)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wyn3215347@163.com, cao\_keqiang@163.com)

increased year by year, and the virus-taking rate was greater than the symptom-showing rate. The incidence of fruit trees in the field distribution has an obvious incidence center. Some fruit tree taking virus did not show symptom. By high-throughput sequencing method, it was found that the number of ASSVd vsRNA reads in symptomatic fruit trees was 4.08 times that of asymptomatic fruit trees with virus, and the accumulation of ASSVd in symptomatic fruit trees was significantly higher than that in asymptomatic fruit trees with virus by quantitative real-time PCR detection. ASSVd-carrying tissue culture seedlings and non-ASSVd-carrying tissue culture seedlings were used as test materials to simulate different transmission modes in the field, and RT-PCR was used to confirm that ASSVd could be transmitted through wound contamination, tissue culture shear pollution, virus-taking medium and root contact, among which the root contact transmission rate was the highest.

**Keywords:** apple; apple scar skin viroid; high-throughput; RT-PCR; disease development; transmission mode

类病毒 (Viroid) 是一类单链共价闭环状的裸露 RNA 分子, 由美国植物病理学家 Diener 在 1971 年首次发现, 是迄今为止发现的最小病原物 (Diener, 1971; 赵英和牛建新, 2008a)。Flores 等 (1998) 根据类病毒保守区的有无与核酶活性将其分为 2 个科, 包括马铃薯纺锤块茎类病毒科 (*Pospiviroidae*) 和鳄梨日斑类病毒科 (*Avsunviroidae*)。苹果锈果类病毒 (apple skin scar viroid, ASSVd) 属于马铃薯纺锤块茎类病毒科马铃薯纺锤块茎类病毒属 (*Pospiviroid*)。ASSVd 引起的苹果花脸病主要在果实上显症, 包括锈果型、花脸型、锈果—花脸型、绿点型和环斑型等 5 种类型, 其中主要症状类型为花脸型和锈果型, 表现为果面着色不均、凹凸不平, 或形成铁锈色病斑, 从而失去商品价值 (陈东玫 等, 2011)。

据报道在中国山东、陕西、山西、北京、辽宁、黑龙江、河北等地均有苹果花脸病的发生, 严重制约了苹果产业的发展 (赵英和牛建新, 2008b; 郝璐 等, 2015; 杨金凤 等, 2016)。ASSVd 的自然传播方式是苹果花脸病防控中需要阐明的重要问题, 当发病果树被根除后, 果园中还会再出现花脸病。Desvignes 等 (1999) 认为 ASSVd 在田间临近植株的传播几率很低, 也有报道认为田间的扩散主要通过根接传染, 但没有直接的试验证据 (黄家凤和刘升学, 2007; 郭超, 2014)。到目前为止 ASSVd 的传播方式仍存在争议。由于果园环境比较复杂, 影响因素较多, 关于 ASSVd 传播的研究较少。

本试验中拟通过连年调查的方式明确苹果花脸病在田间的病情发展及扩散规律, 组织培养模拟田间自然传播方式, 探明 ASSVd 田间可能存在的传播方式, 为进一步有针对性的深入研究提供依据, 为缓解苹果花脸病的蔓延、寻找有效防控措施奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

田间病情发展调查 3 个果园均为河北省顺平县南神南村 2008 年前后定植的 ‘富士’ 品种园, 行间距为 4 m 左右, 株间距为 2 m 左右。

ASSVd 带毒和健康组培苗为河北农业大学园艺学院生物技术实验室馈赠, 由河北农业大学植物

保护学院植物病害流行与综合防控研究室扩繁保存。25 °C 光照培养箱 (16 h 光照/8 h 黑暗) 中培养, 继代培养基为 MS + 30 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖 + 7 g · L<sup>-1</sup> 琼脂 + 萘乙酸 (NAA) 0.05 mg · L<sup>-1</sup> + 6 - 苄氨基腺嘌呤 (6-BA) 1.0 mg · L<sup>-1</sup>。

## 1.2 苹果花脸病田间病情发展的调查与检测

于 2012—2015 年连续 4 年对 3 个富士苹果园中所有果树进行症状调查, 并采集 RT-PCR 检测样本。采集每株树的东、西、南、北 4 个方位的一年生枝皮, 混样检测, 统计 3 个苹果园苹果花脸病显症率 (表现典型苹果花脸病症状的果树) 和带毒率, 同时标记显症植株, 绘制病害扩散趋势图, 对比 2014 年检测带毒果树在田间的分布模式图, 分析果树带毒与显症的关系。通过实时荧光定量 RT-PCR 技术 (qRT-PCR) 比较显症植株与带毒不显症植株病毒相对积累量的差异。

显症率 (%) = 显症株数/调查总株数 × 100;

带毒率 (%) = 病毒检测阳性株数/调查总株数 × 100。

2014—2015 年在河北农业大学植物病害流行与综合防治实验室进行 ASSVd RT-PCR 检测。参考 RNA 提取改良法, 取 100 mg 植物新鲜枝皮组织, 液氮研磨, 加入 0.5 mL 提取液提取, 加入 20 μL 焦磷酸二乙酯 (DEPC) 水充分溶解 RNA, -80 °C 保存备用。用 Promega 公司的 Reverse Transcription System 试剂盒进行反转录, 按照反转录试剂盒说明书合成第 1 链 cDNA。RT-PCR 检测体系和程序由本课题组自行研发 (杨金凤, 2015)。

2016 年 10 月分别采集花脸病症状严重的、轻微的和带毒不显症的各 3 株富士苹果树的果实, 每株取 4 个, 清水洗净, 削取果皮、果肉, 收取种子, 进行 qRT-PCR 检测 (赵英和牛建新, 2018a)。

## 1.3 显症与带毒未显症苹果树的高通量测序

2017 年 8 月于果实成熟期采集显症及未显症 (ASSVd 检测阳性) 苹果树各 3 株, 不同方向采集 4 枝一年生枝皮, 混样, 进行高通量测序。委托北京诺禾致源科技股份有限公司对 RNA 进行质量检测, 通过 Epicentre Ribo-Zero<sup>TM</sup> 试剂盒去除 rRNA。随后加入 Fragmentation Buffer 将 RNA 打断成短片段, 以短片段 RNA 为模板, 用六碱基随机引物 (random hexamers) 合成一链 cDNA, 然后加入缓冲液、dNTPs (dUTP、dATP、dGTP 和 dCTP) 和 DNA polymerase I 合成二链 cDNA, 利用 AMPure XP beads 纯化双链 cDNA。纯化的双链 cDNA 再进行末端修复、加 A 尾并连接测序接头, 用 AMPure XP beads 进行片段大小选择。之后用 USER 酶降解含有 U 的 cDNA 第一链, 最后进行 PCR 富集得到链特异性 cDNA 文库。采用 Illumina HiSeq 2000 测序系统进行高通量测序, 并对 ASSVd 来源的 vsiRNA 数量进行分析。

## 1.4 显症与带毒未显症苹果树 ASSVd 积累量的差异测定

2016 年于果实成熟期采集同一株显症果树上花脸病症状严重、轻微的果实、以及带毒不显症果树上的果实, 清洗后取果皮、果肉、种子, 用液氮冷冻打碎混匀, 置于离心管中, -80 °C 保存, 用于荧光定量 RT-PCR 检测。每处理 3 株树, 每株树自不同方向采集 4 个果实, 各组织分别混样作为待测样本。

## 1.5 组培条件下 ASSVd 传播方式的测试

2014 年将携带 ASSVd 的一年生幼嫩枝皮液氮研磨, 加入磷酸缓冲液 (20 mmol · L<sup>-1</sup>, pH 7.0) 匀浆后, 利用细菌过滤器过滤, 获得 ASSVd 带毒组织粗提液进行以下试验。

伤口沾染处理: 在继代过程中, 将无毒 ‘富士’ 组培苗切口处沾取 ASSVd 粗提液 10 s、2 min

和 5 min 后转接扩繁。每处理 3 次重复，每重复 10 株，总计 90 株。

组培剪沾染处理：（1）组培剪沾染 ASSVd 粗提液，立即剪取无毒组培苗继代扩繁；（2）组培剪剪切带毒‘富士’组培苗后，立即转接无毒组培苗继代扩繁；（3）组培剪剪切‘富士’带毒组培苗后，用 75%乙醇对组培剪进行消毒，然后转接无毒组培苗继代扩繁。每处理 3 次重复，每重复 10 株。

基质处理：将无毒组培苗置于生根培养基（MS 培养基 + IBA 0.4 mg · L<sup>-1</sup> + IAA 1.0 mg · L<sup>-1</sup>），于不同光照条件下培养，30 d 后调查生根情况，待长出根系后在培养基中滴加 ASSVd 粗提液。进行 3 次重复，每重复 10 株苗。

根系接触处理：将带毒组培苗 2 株与无毒组培苗 1 株置于同一三角瓶中进行生根培养，培养期间尽量保证二者的叶片不接触。3 次重复，每重复 10 株苗。

各处理组培苗 25 °C 光照培养箱（16 h 光照/8 h 黑暗）中培养，60 d 后 RT-PCR 检测组培苗新生组织中的 ASSVd 携带情况。传染率（%）=（传染组培苗株数/接种组培苗总株数）× 100。

## 2 结果与分析

### 2.1 苹果花脸病田间病情发展

2012—2015 连续 4 年调查发现，显症及带毒果树均逐年增加（表 1），果园 A 花脸病显症率由 3%增加至 10%，带毒率由 11%增加至 23%，果园 B 花脸病显症率由 19.35%增加至 34.41%，带毒率由 20.43%增加至 37.63%，果园 C 花脸病显症率由 10%增加至 22%，带毒率由 2012 年的 14%增加至 2015 年的 30%。

表 1 2012—2015 年河北保定市顺平县南神南村的 3 个果园苹果花脸病的发生情况  
Table 1 The occurrence of ASSVd in three Shunping Nanshennan orchards from 2012 to 2015

果园 Orchard	年份 Year	总株数 Number	显症 With symptom		带毒 With virus	
			株数 Number	显症率/% Rate	株数 Number	带毒率/% Rate
A	2012	100	3	3.00	11	11.00
	2013	100	6	6.00	15	15.00
	2014	100	7	7.00	20	20.00
	2015	100	10	10.00	23	23.00
B	2012	93	18	19.35	19	20.43
	2013	93	23	24.73	25	26.88
	2014	93	27	29.03	32	34.40
	2015	93	32	34.41	35	37.63
C	2012	50	5	10.00	7	14.00
	2013	50	6	12.00	9	18.00
	2014	50	8	16.00	12	24.00
	2015	50	11	22.00	15	30.00

注：显症：表现典型苹果花脸病症状；带毒：RT-PCR 检测苹果锈果类病毒为阳性。

Note: With symptom: Fruit trees with typical symptoms of apple scar skin; Fruit trees taking virus: Fruit trees positive for apple scar skin viroid by RT-PCR.

分析 3 个苹果园 243 株苹果花脸病树田间分布情况，每年都有新增显症树，而且新增树多数在以往显症树的周围，有明显的发病中心。图 1 展示了果园 B 不同年份新增显症树的田间分布。进一步分析 B 果园 2014 年果树带毒情况，发现所有往年显症果树（图 1）均检测为阳性（图 2），有 5 株（编号为 171、173、176、180、188）2014 年检测为阳性，但 2014—2015 年均未显症；5 株（编

号为 138、139、142、177、186) 2014 年检测为阴性, 但 2015 年显症, 说明果树被侵染不到 1 年就有明显症状出现。

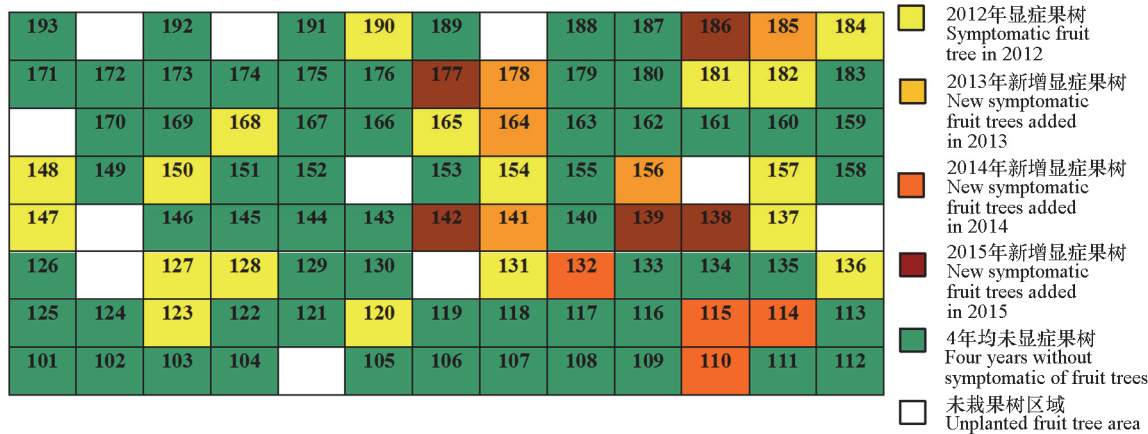


图 1 河北顺平县南神南村的 B 果园 2012—2015 年 ASSVd 显症果树的田间分布

Fig. 1 Distribution of the tree with ASSVd symptom in Shunping Nanshennan orchard B from 2012 to 2015

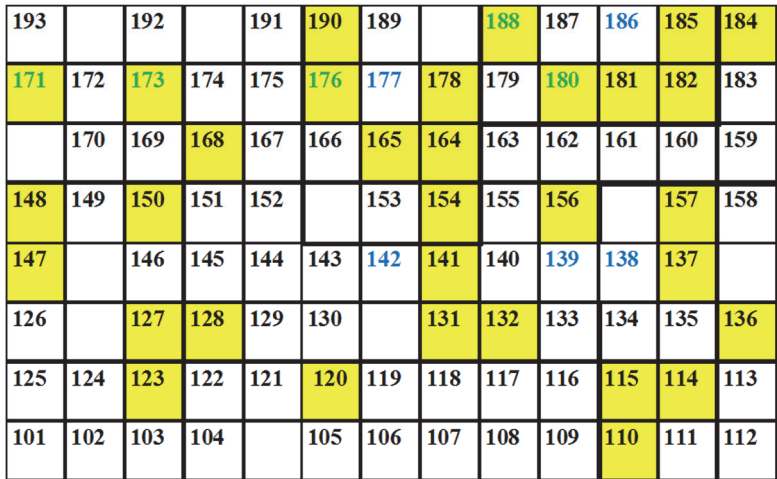


图 2 河北顺平县南神南村的 B 果园 2014 年 RT-PCR 检测确定携带 ASSVd 果树的田间分布

黄色背为带毒树; 绿色编号为 2014—2015 年未显症树; 蓝色编号为 2015 年显症树。

Fig. 2 Distribution of the trees confirmed with ASSVd by RT-PCR in Shunping Nanshennan orchard B in 2014

The yellow color is the tree confirmed with ASSVd; The green number is showing asymptom-tree from 2014—2015;

The blue number is showing asymptom-tree in 2015.

## 2.2 显症与带毒未显症果树 ASSVd 的高通量测序

将显症与带毒未显症树的 1 年生枝皮作为样本进行高通量测序, 未显症果树 reads 数为 1 479, 显症果树为 6 038, 是未显症 reads 数的 4.08 倍。

## 2.3 显症与带毒未显症树 ASSVd 积累量的差异

实时荧光定量 PCR 分析结果 (图 3) 显示, 以带毒未显症果实各组织 ASSVd 基因组表达量为基准, 显症果树果实的果皮和种子中的相对表达量显著高于带毒未显症相应组织, 而带毒未显症果实的果肉与症状轻微果树果实的果肉没有显著差异。同一植株花脸症状严重的果实各组织部位 ASSVd 基因组相对表达量与花脸症状轻微果实相应组织的病毒基因组表达量差异不显著。

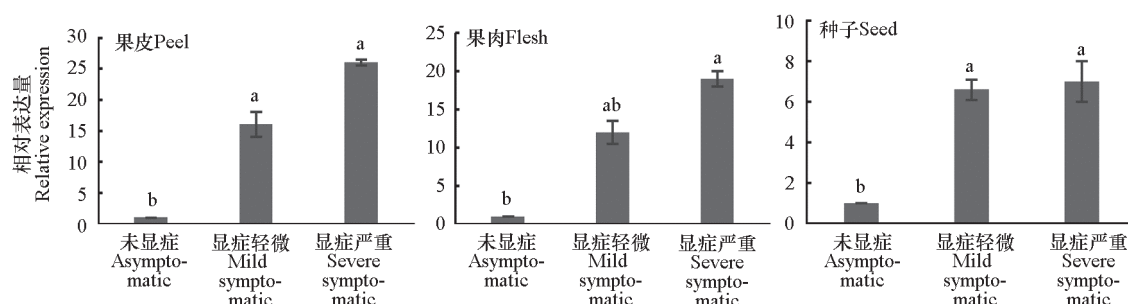


图3 ASSVd在带毒显症和带毒未显症苹果果实中的相对表达量

相同小写字母表示经邓肯氏新复极差法检验,在0.05水平上差异不显著。

Fig. 3 The relative expression of ASSVd in apple fruits with symptom

The same letters means there are no significant difference at 0.05 level by Duncan's multiple range test.

## 2.4 组培条件下 ASSVd 的传播方式

### 2.4.1 伤口沾染带毒汁液的传染率

在无毒组培苗切口处沾染带毒组织液,在沾染 10 s、2 min 和 5 min 处理中,随着时间的增长传染率变大,由 0 上升至到 9.7% (表 2)。

### 2.4.2 组培条件下通过组培剪的传染率

如表 3 所示,组培剪沾染病毒粗提液后剪取无毒组培苗的传染率为 20%;组培剪转接带毒组培苗后立即转接无毒组培苗的传染率为 16.7%。组培剪转接带毒组培苗后用 75%乙醇消毒后转接无病毒组培苗,传染率为 10.0%。

表2 组培条件下 ASSVd 通过伤口沾染带毒汁液的传染率

Table 2 The transmission risk of ASSVd by wound contaminated with virus crude extract in tissue culture

处理时间 Treated time	处理株数 Treated sample	感染株数 ASSVd infected sample	感染率/% Transmission rate
10 s	30	0	0 b
2 min	30	2	6.7 ab
5 min	31	3	9.7 a

注:相同小写字母者表示经邓肯氏新复极差法检验,在0.05水平上差异不显著。下同。

Note: The same lower letters means there are no significant difference at 0.05 level by Duncan's multiple range test. The same below.

表3 组培条件下 ASSVd 通过组培剪的传染率

Table 3 The transmission risk of ASSVd by tissue culture scissors in tissue culture

组培剪 Tissue culture scissor	处理株数 Treated sample	感染株数 ASSVd infected sample	感染率/% Transmission rate
沾染粗提液 Contaminated with crude extract	30	6	20.0 a
剪过带毒苗 Seedlings treated with shear contaminated with ASSVd	30	5	16.7 ab
剪过带毒苗后 75%乙醇消毒 Seedlings treated with shear contaminated with ASSVd after 75% alcohol disinfection	30	3	10.0 b

### 2.4.3 组培条件下基质带毒和根系接触的传染率

如表 4 所示,无病毒组培苗培养基中滴加病毒粗提液,传染率为 33.3%;带毒组培苗和无病毒组培苗共培养,传染率为 30.0%。

表 4 组培条件下 ASSVd 通过基质带毒和根系接触的传染率  
Table 4 The transmission risk of ASSVd by culture medium or root touch in tissue culture

处理 Treatment	处理株数 Treated sample	传染株数 ASSVd infected sample	传染率/% Transmission rate
培养基中加病毒粗提液 Culture in medium with ASSVd crude extract	30	10	33.3 a
带毒与无毒组培苗共培养 Co-culture with virus-free seedling and virus-taking seedling	30	9	30.0 a

3 讨论

本研究结果表明，果园中的苹果花脸病带毒率高于显症率，说明一部分树带毒但并不显症。Desvignes 等（1999）报道，芽接 ASSVd 的指示植物苹果品种‘新红星’两年后才表现斑驳症状，芽接苹果品种‘印度’3 年后才出现锈皮症状，也就是说 ASSVd 侵染果树后需要一定的时间才能显症。通过荧光定量检测发现，显症树 ASSVd 积累量远高于未显症果树，因此推测带毒未显症树可能为新被感染的树，病毒还未增殖到可以显症的程度，处于隐症状态。高通量测序中显症果树 ASSVd vsiRNA reads 数量是未显症果树的 4.08 倍。因为条件限制，高通量测序样本量小，所以该结论还需进一步验证，但可以从中获得一些启示，前人研究表明 vsiRNA 可以精准的和病毒的 dsRNA 或同源序列结合，并最终导致其降解，发病寄主中 vsiRNA 可作为一种沉默抑制子作用于寄主植物，这种互动可能会促进或导致寄主的发病（Golem & Culver, 2003；朱慧和郭惠珊，2012），所以未显症果树可能为新感染植株，病毒表达量和 vsiRNA 还未达到可以表现症状的程度。本研究中通过田间调查和分子检测，发现有 5 株果树 2014 年检测为阳性，但 2014—2015 年未显症；有 5 株果树 2014 年检测为阴性，2015 年显症，即果树在被侵染不到一年就有明显症状出现，与 Desvignes 等（1999）报道的‘新红星’苹果接种两年后才表现斑驳症状，‘印度’3 年后才出现锈皮症状的结果略有出入，说明病毒的侵染显症可能与品种有关，同时也受其他因素的影响，比如树势和环境等因素。

本研究中所观测的 3 个果园的苹果花脸病不管是果树带毒率还是显症率都有逐年加重的趋势，说明 ASSVd 在通过一些方式进行传播。通过连续 4 年的田间调查，发现病害的发展多数围绕 1 个发病中心，个别新增带毒果树（编号 171）未临近带毒果树，所以推测根接或修剪工具可能为主要的传播方式。通过组培苗模拟试验发现，伤口沾染、组培剪、基质带毒和根系接触都有一定的传播几率，其中基质带毒和根系接触的传播率较高。因田间农事操作中，比如环割、环剥或者腐烂病、轮纹病的防治中可能会有类似带毒汁液沾染的风险，所以为了模拟田间的实际情况，设置了伤口沾染带毒汁液的试验。综合田间调查和组培模拟试验结果，根接触传染的可能性最大。虽然很多报道都有阐述 ASSVd 可能通过根接传播，但未见具体试验验证，本研究为该结论提供了一定的依据。针对个别新增带毒果树未临近带毒果树的现象，有可能是通过修剪或其他农事操作传染，甚至可能是媒介昆虫传播导致。Yashika 等（2015）发现 ASSVd 裸露的 RNA 可以通过白粉虱（*Trialeurodes vaporariorum*）传播给黄瓜、番茄及甜椒等草本植物，但未见自然条件下在果树上传毒介体的报道。另外，种子可以带毒，但能否传毒还有待进一步验证。

苹果病毒病危害极广，目前尚无有效药剂防治（金青和蔡永萍，2006）。病毒病属于系统侵染性病害，树体感染后，会破坏树体的正常生理功能，且不可恢复。要从根本上解决，繁殖推广无病毒苗木是防治病毒病的有效途径（程玉琴和韩振海，2003），同时明确病毒传播规律，切断传播途径，降低病毒侵染传播率。因此，本研究结果有助于深入认识 ASSVd 的传播和扩散，从而提高该病害的防控效率。

## References

- Chen Dong-mei, Yang Feng-qiu, Zhao Tong-sheng, Zhang Xin-sheng, Li Chun-min, Zhao Yong-bo, Fu You. 2011. Occurrence and control of apple fruit rust and apple scar skin disease. *Hebei Fruits*, (4): 12. (in Chinese)
- 陈东玫, 杨凤秋, 赵同生, 张新生, 李春敏, 赵永波, 付友. 2011. 苹果果锈病与苹果锈果病的发生及防控. *河北果树*, (4): 12.
- Cheng Yu-qin, Han Zhen-hai. 2003. The technology of deleting and detecting virus in apple. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 19 (1): 72 - 76. (in Chinese)
- 程玉琴, 韩振海. 2003. 苹果病毒及其脱毒检测技术研究进展. *中国农学通报*, 19 (1): 72 - 76.
- Desvignes J C, Grasseau N, Boyé R, Cornaggia D, Aparicio F, Di Serio F, Flores R. 1999. Biological properties of apple scar skin viroid: isolates, host range, different sensitivity of apple cultivars, elimination, and natural transmission. *Plant Disease*, 83 (8): 768 - 772.
- Diener T O. 1971. Potato spindle tuber "virus": IV. A replicating, low molecular weight RNA. *Virology*, 45 (2): 411 - 428.
- Flores R, Randles J, Bar-Joseph M, Diener T. 1998. A proposed scheme for viroid classification and nomenclature. *Archives of Virology*, 143 (3): 623 - 629.
- Golem S, Culver J N. 2003. Tobacco mosaic virus induced alterations in the gene expression profile of *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 16 (8): 681.
- Guo Chao. 2014. Research on distribution and transmission routes of apple latent virus in apple shoots *in vitro* [M. D. Dissertation]. Baoding: Hebei Agricultural University. (in Chinese)
- 郭超. 2014. 组培条件下苹果潜隐性病毒的分布特征及传播途径研究[硕士论文]. 保定: 河北农业大学.
- Hao Lu, Ye Ting, Chen Shan-yi, Wang Shao-jie, Zhou Ying, Fan Zai-feng, Guo Li-yun, Zhou Tao. 2015. Occurrence and detection of virus diseases in some major apple-producing regions in Northern China. *Plant Protection*, (2): 158 - 161. (in Chinese)
- 郝璐, 叶婷, 陈善义, 王少杰, 周颖, 范在丰, 国立耘, 周涛. 2015. 我国北方部分苹果主产区病毒病的发生与检测. *植物保护*, (2): 158 - 161.
- Huang Jia-feng, Liu Sheng-xue. 2007. Research progress on fruit tree viruses and detection technology. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, (20): 6165 - 6167. (in Chinese)
- 黄家凤, 刘升学. 2007. 果树类病毒及检测技术研究进展. *安徽农业科学*, (20): 6165 - 6167.
- Jin Qing, Cai Yong-ping. 2006. Advances of research on virus diseases of pear. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 30 (6): 869 - 871, 876. (in Chinese)
- 金青, 蔡永萍. 2006. 梨树病毒病及其脱病毒研究进展. *安徽农业科学*, 30 (6): 869 - 871, 876.
- Walia Y, Dhir S, Zaidi A, Hallan V. 2015. Apple scar skin viroid naked RNA is actively transmitted by the whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *RNA Biology*, 10 (12): 1131 - 1138.
- Yang Jin-feng, Guo Yong-bin, Hu Tong-le, Wang Shu-tong, Wang Ya-nan, Cao Ke-qiang. 2016. Sequence analysis of apple scar skin viroid isolated from Baoding in Hebei. *Northern Horticulture*, (6): 103 - 106. (in Chinese)
- 杨金凤, 郭永斌, 胡同乐, 王树桐, 王亚南, 曹克强. 2016. 河北保定地区苹果锈果类病毒分离物的序列分析. *北方园艺*, (6): 103 - 106.
- Yang Jin-feng, Lü Yun-xia, Tang Xing-min, Wang Ya-nan, Cao Ke-qiang. 2015. Establishment of RT-PCR detection system for apple scar skin viroid. *China Fruits*, (5): 62 - 67. (in Chinese)
- 杨金凤, 吕运霞, 唐兴敏, 王亚南, 曹克强. 2015. 苹果锈果类病毒 RT-PCR 检测体系的建立. *中国果树*, (5): 62 - 67.
- Zhao Ying, Niu Jian-xin. 2008a. Detection and sequencing of apple scar skin viroid from apricot in Xinjiang. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (6): 805 - 810. (in Chinese)
- 赵英, 牛建新. 2008a. 新疆杏树苹果锈果类病毒的检测与全序列分析. *园艺学报*, 35 (6): 805 - 810.
- Zhao Ying, Niu Jian-xin. 2008b. Detection of *Apple scar skin viroid* using two methods. *Plant Protection*, 34 (2): 132 - 138. (in Chinese)
- 赵英, 牛建新. 2008b. 利用两种方法检测苹果锈果类病毒. *植物保护*, 34 (2): 132 - 138.
- Zhu Hui, Guo Hui-shan. 2012. Virus-derived small interfering RNAs-mediated RNA silencing in plants. *SCI China Life Sci*, 42 (1): 29 - 36. (in Chinese)
- 朱慧, 郭惠珊. 2012. 植物中病毒来源的小 RNA 介导的 RNA 沉默. *中国科学: 生命科学*, 42 (1): 29 - 36.