

doi:10.11937/bfyy.20171234

侵染番茄的黄瓜花叶病毒、烟草花叶病毒和马铃薯 S 病毒 CP 基因克隆及序列分析

于沛侠¹, 赵慧琪¹, 刘勇², 王德富¹, 牛颜冰¹

(1. 山西农业大学 生命科学学院, 山西 晋中 030801; 2. 湖南省农业科学院 植物保护研究所, 湖南 长沙 410125)

摘 要:以山西省晋中地区表现褪绿黄化、卷曲、叶脉变黑症状的番茄植株叶片为试材, 采用双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)技术和非序列依赖 PCR 扩增(Sequence-independent amplification, SIA)方法, 对侵染番茄病样的病毒病原进行检测, 以期对山西省番茄病毒病的防治提供参考文献依据。结果表明:该病样由黄瓜花叶病毒(CMV)、烟草花叶病毒(TMV)和马铃薯 S 病毒(PVS)3 种病毒复合侵染, 将其分别命名为 CMV-SXFQ、TMV-FQ 和 PVS-SXFQ。为明确 CMV-SXFQ、TMV-FQ 和 PVS-SXFQ 的分类地位, 进一步克隆到了这 3 个病毒的 CP 基因序列并进行相似性比较, 发现 CMV-SXFQ 与 CMV 各亚组代表株系相似性为 74.9%~98.8%, 氨基酸序列的相似性为 82.5%~99.5%; TMV-FQ 与 TMV 代表株系相似性为 74.4%~99.8%, 氨基酸序列的相似性为 83.6%~100.0%; PVS-SXFQ 与 PVS 代表株系相似性为 93.2%~99.3%, 氨基酸序列的相似性为 92.4%~100.0%; 系统进化分析表明:CMV-SXFQ 分离物与亚组 I B 的 CH、HLJ、XJ2、Am、As 株系亲缘关系最近; TMV-FQ 分离物与 IM、Jimo、SXFQ 株系亲缘关系最近; PVS-SXFQ 分离物与 Cm、St 株系亲缘关系最近。

关键词:番茄; 复合侵染; 烟草花叶病毒; 黄瓜花叶病毒; 马铃薯 S 病毒

中图分类号:S 641.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)22-0012-07

番茄是经济效益较高的蔬菜品种之一, 近年来, 随着种植面积不断扩大, 以及种子带毒传播、气候条件等因素的影响, 病毒病发病率迅速上升, 危害严重^[1]。番茄感染病毒后主要表现为以下 5 种症状:重花叶型、轻花叶型、蕨叶型、条斑型和黄色花叶型^[2-4]。目前, 国内报道的侵染番茄的病毒主要包括烟草花叶病毒(tobacco mosaic

virus, TMV)、黄瓜花叶病毒(cucumber mosaic virus, CMV)、马铃薯 Y 病毒(potato virus Y, PVY)、番茄花叶病毒(tomato mosaic virus, ToMV)、蚕豆萎蔫病毒(bean broad wilt virus, BBWV)^[5]、番茄黄化曲叶病毒病(tomato yellow leaf curl virus, TYLCV)、番茄褪绿病毒(tomato chlorosis virus, ToCV)^[6]、番茄斑萎病毒(tomato spotted wilt virus, TSWV)^[7]等。

黄瓜花叶病毒(cucumber mosaic virus, CMV)是雀麦花叶病毒科(Bromoviridae)黄瓜花叶病毒属(*Cucumovirus*)的代表性成员, CMV 能侵染 85 科 365 属的 1 000 多种植物, 所有 CMV 株系可分为 I 和 II 两大亚组^[8]。烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)属烟草花叶病毒属(*Tobamovirus*), 迄今已确认的该属病毒有 22 种,

第一作者简介:于沛侠(1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向为分子植物病毒学。E-mail:13546640863@163.com.

责任作者:牛颜冰(1968-), 女, 博士, 教授, 现主要从事分子植物病毒学和中药 GAP 等研究工作。E-mail:niuyanbingbest@163.com.

基金项目:公益性行业(农业)科研专项资助项目(201303028); 国家自然科学基金资助项目(31540050)。

收稿日期:2017-07-24

另有一个暂定种^[9]。TMV 能侵染 300 多种植物并引起严重危害。马铃薯 S 病毒(potato virus S, PVS)属于麝香石竹潜隐病毒属成员,寄主范围较窄,仅能侵染少数的茄科、黎科植物^[10],单独侵染时一般可使马铃薯减产 10%~20%^[11]。

课题组于 2012—2013 年对山西省晋中地区番茄进行病毒病调查时,发现番茄出现叶片褪绿黄化、卷曲,叶脉变黑等症状,造成了番茄的减产和品质的下降,严重影响到番茄种植产业的发展 and 农民的经济收入。为了明确山西省晋中地区番茄病毒病爆发流行的主要毒原种类,该研究采用双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)技术和非序列依赖 PCR 扩增(Sequence-independent amplification, SIA)方法,对病样中的病原进行鉴定及序列分析,以确认番茄被病毒侵染的状况及病毒的分类地位,以期对山西省番茄病毒病的防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

病样采自山西晋中地区番茄种植田块,病株叶片表现为植株叶片褪绿黄化、卷曲,叶脉变黑等症状。

主要试剂:莫洛尼鼠白血病毒逆转录酶(M-MLV)和 RNasin 核酸酶抑制剂等,购自 Promega 公司;克隆载体 pMD 18-T 购自 TaKaRa 公司、Taq Plus DNA polymerase、Taq DNA polymerase 和琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒等购自生工(Sangon Biotech)公司。

1.2 试验方法

1.2.1 植物病原双链 RNA(dsRNA)的提取

选取症状明显褪绿黄化、卷曲,叶脉变黑的番茄叶片,参照牛颜冰等^[12]和 TZANETAKIS 等^[13]的方法,采用 CF-11 纤维素分离病毒 dsRNA。首先将 10 g 病样用液氮充分研磨,加入 15 mL 提取液(100 mmol·L⁻¹ NaCl, 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl pH 8.0, 1 mmol·L⁻¹ EDTA pH 8.0, 1.25% SDS, 2% polyvinylpyrrolidone, 1% β-mercaptoethanol),充分混匀,加入等体积酚/氯仿,轻轻混匀,4℃、4 800 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液,再加入等体积酚/氯仿至蛋白去除干净;

然后用 16.5%乙醇的 STE (100 mmol·L⁻¹ NaCl, 50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl pH 8.0, 1 mmol·L⁻¹ EDTA pH 8.0)活化的 CF-11 去分离 dsRNA,加入 1/10 体积 3 mol·L⁻¹ NaAC pH 5.2 和 3 倍体积的无水乙醇沉淀 dsRNA;最后用 75%乙醇洗涤,干燥,溶于 ddH₂O, -20℃ 保存备用。

1.2.2 非序列依赖性 PCR(SIA)和特异 PCR 检测

采用随机引物 XTN269^[14],以 1.2.1 中获取的 dsRNA 为模板,反转录扩增获得病毒 cDNA;再利用 XTN177 引物进行 SIA 检测,具体反应体系和程序参照牛颜冰等^[15]的方法;明确番茄病毒毒源时,根据 NCBI 上已收录的 CMV、TMV、PVS 分离物 CP 区设计特异引物对病毒部分序列进行 RT-PCR 扩增,同时以健康植株 cDNA 为阴性对照。所使用的随机引物序列与特异引物序列见表 1。

表 1 PCR 扩增所用引物序列

Table 1 Sequences of primer pairs for PCR amplification

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
XTN269	5'-AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGNNNNNN-3'
XTN177	5'-AAGCAGTGGTATCAACGCAGAG-3'
CMV CP-F	5'-ACGTCGACCATGGACAAATC-3'
CMV CP-R	5'-TACCCGGGTCAGACTGGTAGCACC-3'
PVS CP-F	5'-CCTCAAAAAGGCACAATTCAAC-3'
PVS CP-R	5'-AATCTCAGCGCCAAGCATC-3'
TMV CP-F	5'-ATTAGACCGCTAGTCACAGCAC-3'
TMV CP-R	5'-GTGGGGTTTCGCTGATTTT-3'
M13-47	5'-CGCCAGGGTTTCCAGTCACGAC-3'
RV-M	5'-GAGCGGATAACAATTTCACACAGG-3'

1.2.3 PCR 产物克隆及序列分析

利用琼脂糖凝胶回收试剂盒回收目的片段,并将其与 PMD 18-T vector 进行连接转化,以 M13-47 和 RV-M 为引物进行菌落 PCR 鉴定,选取 3 个阳性的重组质粒送至北京华大基因研究中心进行测序。得到测序结果后利用 NCBI 中的 BLAST 检索同源序列;利用 DNAMAN 6.0 软件对所测序列与已报道的分离物进行核苷酸序列、氨基酸序列的同源性和相似性比较分析,运用 MEGA 5.2 软件构建系统进化树。

2 结果与分析

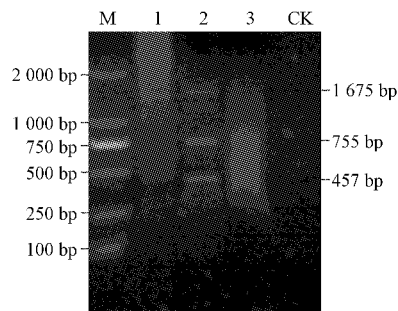
2.1 SIA 检测

以采集的番茄病样提取 dsRNA 反转录后形成的 cDNA 为模板,采用 XTN177 为随机引物,进行 SIA 扩增,得到大小为 1 675、755、457 bp 的片段,而健康样品中则未扩增出任何片段(图 1)。经克隆、测序和序列比对,与已报道的 CMV、TMV、PVS 同源性很高,同源性分别在 92.9%~98.1%、93.6%~99.2%、95.1%~99.2%,初步确定番茄被 CMV、TMV、PVS 混合侵染,将该分离物命名为 CMV-SXFQ、TMV-FQ、PVS-SXFQ。

2.2 特异引物 PCR 检测

为了进一步确定 CMV-SXFQ、TMV-FQ、PVS-SXFQ 的分类地位,该试验以提取的番茄感病叶片中的 dsRNA 反转录后形成的 cDNA 为模板,CMV-CP-F/CMV-CP-R、TMV-CP-F/TMV-CP-R、PVS-CP-F/PVS-CP-R(用于扩增 CMV、TMV、PVS 外壳蛋白基因 CP)为引物进行特异

引物 PCR 检测。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,分别得到大小为 670 bp (GenBank 登录号:JX993914)(图 2A)、480 bp (GenBank 登录号:KC007531)(图 2B)、683 bp (GenBank 登录号:JX993907)(图 2C)的目的片段,而健康样品中未扩增出相应大小的片段。

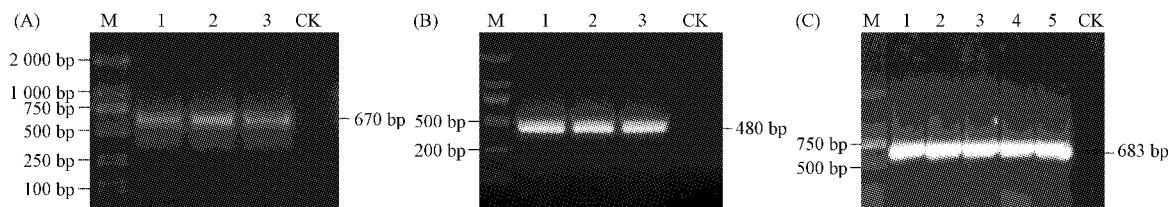


注: M, DL 2 000™ DNA Marker; CK, 健康植株; 1~3, 感病植株。

Note: M, DL 2 000™ DNA Marker; CK, Healthy plant; 1-3, Infected plant.

图 1 SIA 扩增产物电泳结果

Fig. 1 Electrophoresis of SIA products



注: M, DL 2 000™ DNA Marker; CK, 健康植株; 1~5, 感病植株。

Note: M, DL 2 000™ DNA Marker; CK, Healthy plant; 1-5, Infected plant.

图 2 特异引物 PCR 检测结果

Fig. 2 Electrophoresis of PCR products of specific primer

2.3 序列相似性分析和系统进化分析

利用 DNAMAN 6.0 软件,首先对 CMV-SXFQ 编码的 CP 序列与来自美国、中国、日本、韩国、印度的 14 个分离物进行核苷酸序列、氨基酸序列同源性和相似性比较分析(表 2),结果表明,CMV-SXFQ 的 CP 基因序列与 CMV 各亚组代表株系相似性均高于 70%,而与 PSV 代表株系的相似性低于 60%;CMV-SXFQ 与 CMV 亚组 I 代表株系核苷酸和氨基酸序列相似性(90%以上)远高于与亚组 II 代表株系的相似性(85%以

下)。因此 CMV-SXFQ 属于 CMV 亚组 I。

为了进一步研究 CMV-SXFQ 的起源与进化关系,使用 MEGA 5.2 软件,并以同属的 PSV 株系为外群,对该分离物和已报道的其它 14 个 CMV 株系构建 CP 基因的氨基酸序列系统进化树。由图 3 可知,CMV-SXFQ 与亚组 I B 代表株系 CH、HLJ、XJ2、Am、As 形成一个独立分支,聚为一簇。进一步表明 CMV-SXFQ 属于 CMV 亚组 I B。

表 2 CMV-SXFQ CP 与已报道的 CMV 分离物核苷酸与氨基酸的同源性比对分析

Table 2 Identity analysis of nucleotide and deduced amino acid sequence of CMV-SXFQ CP with other CMV strains

株系或分离物 Strain or isolate	GenBank 登录号 GenBank accession numbers	来源 Origin	亚组 Subgroup	核苷酸序列同源性 Homology of nucleotide sequence/%	氨基酸序列同源性 Homology of amino acid sequence/%
M	AF268599	中国福建	I A	93.8	95.9
Fny	D10538	美国	I A	93.8	98.2
Y	D12499	日本	I A	93.8	97.2
Legume	D16405	日本	I A	93.4	97.2
As	X77855	韩国	I B	96.2	99.1
XJ2	DQ070746	中国四川	I B	98.6	99.1
DanShen	AY600989	中国河北	I B	97.7	99.5
Am	JQ362394	中国山西	I B	98.8	99.1
HLJ	DQ459481	中国云南	I B	98.6	98.6
CH	JX993913	中国山西	I B	97.9	99.5
Indian	AM396983	印度	II	76.8	84.3
lily	DQ885291	中国云南	II	74.9	82.5
PaFM	AB109908	韩国	II	76.0	82.9
PSV-ER	U15730	美国	—	52.4	45.4

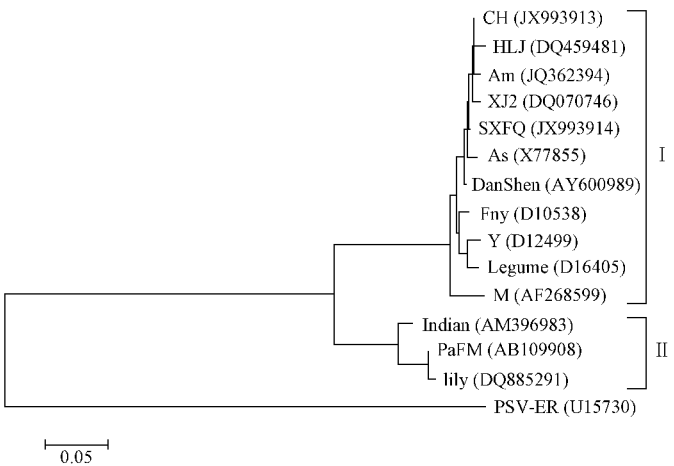


图 3 CMV-SXFQ CP 基因氨基酸序列系统进化分析

Fig. 3 Phylogenetic tree analysis on CP amino acid sequence of CMV-SXFQ and other reported isolates

其次,对 TMV-FQ 编码的 CP 序列与来自中国、日本、韩国、澳大利亚的 13 个 TMV 分离物进行核苷酸序列和氨基酸序列同源性(表 3),结果表明,TMV-FQ 与 TMV 代表株系核苷酸序列相似性在 74.4%~99.8%,氨基酸序列相似性在 83.6%~100.0%,确定 TMV-FQ 属于 TMV。

为了进一步研究 TMV-FQ 的起源与进化关系,对该分离物和已报道的其它 TMV 株系构建 CP 基因的氨基酸序列系统进化树。由图 4 可知,TMV-FQ 分离物与 IM、Jimo、SXFQ 株系聚为一簇,亲缘关系最近。

最后,对 PVS-SXFQ 编码的 CP 序列与来自

中国、澳大利亚、哥伦比亚、德国、英国的 16 个分离物进行核苷酸序列、氨基酸序列同源性和相似性比较分析(表 4),结果表明,PVS-SXFQ 的 CP 基因序列与 PVS 各代表株系相似性都高于 90%;PVS-SXFQ 与 PVS 代表株系核苷酸序列相似性在 93.2%~99.3%,氨基酸序列相似性在 92.4%~100.0%。

为了进一步研究 PVS-SXFQ 的起源与进化关系,对该分离物和已报道的其它 PVS-SXFQ 株系构建 CP 基因的氨基酸序列系统进化树。由图 5 可知,PVS-SXFQ 分离物与 Cm、St 株系聚为一簇,亲缘关系最近。

表 3 TMV-FQ CP 与已报道的 TMV 分离物核苷酸与氨基酸的同源性比对分析

Table 3 Identity analysis of nucleotide and deduced amino acid sequence of TMV-FQ CP with other TMV strains

株系或分离物	GenBank 登录号	来源	核苷酸序列同源性	氨基酸序列同源性
Strain or isolate	GenBank accession numbers	Origin	Homology of nucleotide sequence/%	Homology of amino acid sequence/%
IM	AB369276	韩国	99.8	100.0
Jimo	HE818443	中国山东	99.4	100.0
Chuxiong-1	HE818417	中国山东	96.0	99.4
Rakkyo	D63809	日本	94.6	96.2
pet-TW	EF392659	中国台湾	89.2	95.6
Japanese	AB628188	日本	86.9	93.7
Henan	EF375551	中国河南	85.2	95.0
Shanxi	JX575184	中国山西	85.0	94.3
Queensland	AF332868	澳大利亚	74.4	83.6
Mangshi-2	HE818437	中国山东	97.5	98.7
Yongren-1	HE818457	中国山东	97.1	98.7
SXFQ	JX993906	中国山西	99.8	100.0
TMV-152	AF395129	中国福建	98.5	99.4

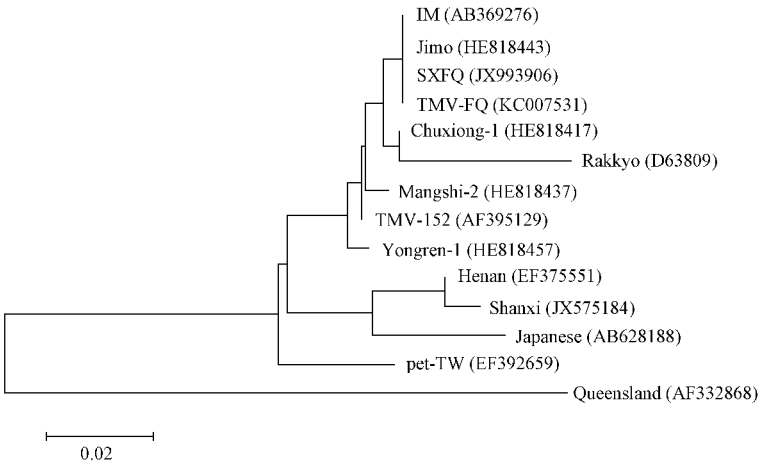


图 4 TMV-SXFQ CP 基因氨基酸序列系统进化分析

Fig. 4 Phylogenetic tree analysis on CP amino acid sequence of TMV-SXFQ and other reported isolates

表 4 PVS-SXFQ CP 与已报道的 PVS 分离物核苷酸与氨基酸的同源性比对分析

Table 4 Identity analysis of nucleotide and deduced amino acid sequence of PVS-SXFQ CP with other PVS strains

株系或分离物	GenBank 登录号	来源	核苷酸序列同源性	氨基酸序列同源性
Strain or isolate	GenBank accession numbers	Origin	Homology of nucleotide sequence/%	Homology of amino acid sequence/%
144-PVS	GU144327	英国	96.7	97.7
Chasques	JN082762	哥伦比亚	95.8	95.4
TAS03-NE58.5	JN244091	澳大利亚	96.6	95.4
TAS03-NE59.2	JN244093	澳大利亚	95.4	95.4
TAS03-NW7.5	JN244087	澳大利亚	95.0	95.4
TAS03-NW16.5	JN244097	澳大利亚	95.3	94.7
Cm	KC818635	中国	99.2	100.0
Genomic	S45593	—	93.2	92.4
St	KC818634	中国	99.3	100.0
Leona	AJ863509	德国	95.3	95.4
PVS3-5	AB364945	叙利亚	95.3	94.7
Yunnan	KC430335	中国	96.3	94.7
Hebei	DQ315387	中国	95.8	94.7
Id4106-US	FJ813513	美国	94.8	93.9

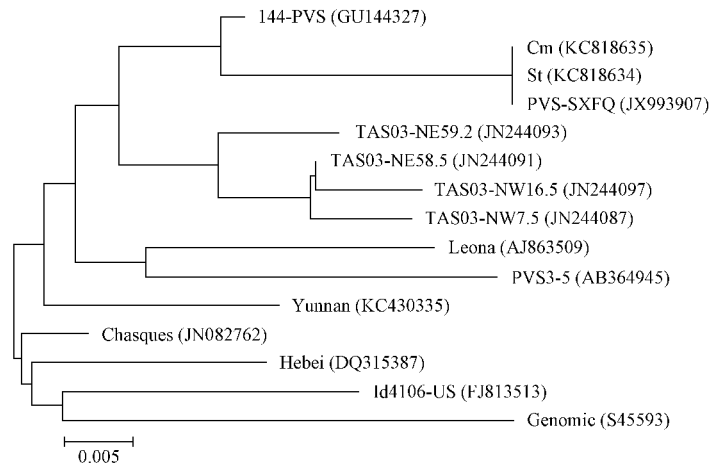


图 5 PVS-SXFQ CP 基因氨基酸序列系统进化分析

Fig. 5 Phylogenetic tree analysis on CP amino acid sequence of PVS-SXFQ and other reported isolates

3 结论与讨论

植物病毒素称植物“癌症”，它们单独或复合侵染均会影响蔬菜等农作物的正常生长和产量^[16]。课题组于 2012—2013 年在山西晋中进行病害调查时，发现田间蔬菜病毒病害发生尤为普遍，已引起减产，但具体病毒病原尚不清楚。该试验采用 dsRNA 分离技术和 SIA 相结合的方法对其进行了病原鉴定，发现感病番茄植株受到 CMV、TMV 和 PVS 的复合侵染。

TMV 和 CMV 寄主范围广泛，均能够侵染茄科、葫芦科、十字花科及豆科的多种植物，二者复合侵染常致番茄表现出花叶、斑驳、条斑和蕨叶等症状^[17]。PVS 是侵染马铃薯常见的病毒之一，在我国北方及南方均有报道，其单独侵染马铃薯时常不引起病症^[18]，目前尚鲜见 PVS 侵染番茄的报道。该试验发现感病番茄症状明显，但这种表型是否是由于 TMV 和 CMV 的侵染降低了寄主的抵抗力，促进了 PVS 的侵入和症状的突显，其具体原因尚不清楚。

病毒复合侵染包括协生、干扰和交叉保护作用等，其中协生作用又会导致 3 种不同的情况：病害症状加重、使寄主丧失抗病性和改变病毒的致病性^[19]。许文博等^[20]研究发现 CMV 和 BBWV 复合侵染后产生协生作用，导致植株病害症状加重；GARCIA-CANO 等^[21]研究发现 ToCV 与 TSWV 共同侵染抗 TSWV 的番茄时，ToCV 的

侵染会导致寄主番茄丧失 TSWV 抗性，即 2 种病毒协生使寄主丧失抗病性；MANZER 等^[22]研究发现 PVS 一般不表现症状，单独侵染可使马铃薯减产 10%~20%，而 PVS 与其它病毒复合侵染马铃薯会造成更为严重的危害，即 2 种病毒协生可改变病毒的致病性，例如当 PVS 与马铃薯 M 病毒 (potato virus M, PVM) 或马铃薯 X 病毒 (potato virus X, PVX) 复合侵染时能引起马铃薯减产 20%~30%^[11]。该研究利用非序列依赖 PCR 扩增和特异引物扩增确定感染番茄病样的病毒种类为 CMV、TMV 和 PVS，而 PVS 与 CMV 或 TMV 的复合侵染是通过哪条途径来影响番茄植株的产量和症状，还需进一步深入研究。

参考文献

- [1] 文朝慧, 刘雅莉, 刘箐, 等. 甘肃河西地区番茄病毒病病原种类鉴定[J]. 西北农业学报, 2009, 18(6): 291-294.
- [2] 冯兰香, 杨翠荣. 北京地区番茄病毒病病原种类的监测与黄瓜[J]. 中国蔬菜, 1991(5): 9-11.
- [3] 邱慧琴, 李传华, 刘治权. 番茄病毒病的发生与防治[J]. 农业与技术, 2004, 24(2): 109.
- [4] 韦公远. 番茄病毒病发生及防治[J]. 广西植保, 2005, 18(1): 15-16.
- [5] 都业娟. 新疆番茄病毒病及植原体病害的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2013.
- [6] 赵黎明, 李刚, 刘永光, 等. 番茄褪绿病毒与番茄黄化曲叶病毒复合侵染的分子鉴定[J]. 中国蔬菜, 2014, 1(12): 15-20.
- [7] 王勇, 高苇, 张春祥. 天津地区番茄病毒病发生情况调查及其毒源 ELISA 检测[J]. 天津农业科学, 2014, 20(12): 1-5.

- [8] 曾蓉,陈燕飞,严师节,等. 侵染白菜的黄瓜花叶病毒分离物基因组的全序列分析[J]. 园艺学报, 2008, 35(2): 213-220.
- [9] 牛颜冰,姚敏,王德富,等. 臭椿病毒病原鉴定[J]. 植物病理学报, 2011, 41(4): 437-440.
- [10] 宋革. 马铃薯 S 病毒和马铃薯 Y 病毒单克隆抗体的制备及应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [11] 吴丽萍,王蒂,司怀军,等. 马铃薯 S 病毒的 RT-PCR 检测[J]. 中国马铃薯, 2006, 20(4): 200-203.
- [12] 牛颜冰,王德富,姚敏,等. 侵染苘麻的烟草花叶病毒鉴定[J]. 植物保护学报, 2011, 38(2): 187-188.
- [13] TZANETAKIS I E, MARTIN R R. A new method for extraction of double-stranded RNA from plants[J]. Journal of Virol Methods, 2008, 149(1): 167-170.
- [14] AGINDOTAN B, PERRY K L. Macroarray detection of plant RNA viruses using randomly primed and amplified complementary DNAs from infected plants[J]. Phytopathology, 2007, 97(1): 119-27.
- [15] 牛颜冰,时晓丽,张西梅,等. 侵染白术的蚕豆萎蔫病毒 2 号的分子检测与序列分析[J]. 病毒学报, 2015, 31(1): 58-64.
- [16] 周凤侠. 蔬菜病毒病的综合防治策略[J]. 中国果菜, 2013(11): 21-22.
- [17] 赵世民,李秀生,谈文. 番茄病毒病调查及其毒源种类的鉴定[J]. 河南农业大学学报, 1991(4): 407-414.
- [18] 吴兴泉,时妍,杨庆东. 我国马铃薯病毒的种类及脱毒种薯生产过程中病毒的检测[J]. 中国马铃薯, 2011, 25(6): 363-366.
- [19] 鲁瑞芳,李为民. 植物病毒协生作用及其分子机理[J]. Virologica Sinica, 2001, 16(3): 195-201.
- [20] 许文博,阮涛,黄家凤. 加工番茄上 CMV 与 BBWV 的 ELISA 检测及相关性分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(13): 6030-6031.
- [21] GARCIA-CANO E, RESENDE R O, FERNANDEZMUÑOZ R, et al. Synergistic interaction between tomato chlorosis virus and tomato spotted wilt virus results in breakdown of resistance in tomato[J]. Phytopathology, 2006, 96(11): 1263-1269.
- [22] MANZER F E, MERRIAM D C, HEPLER P R. Effects of potato virus S and two strains of potato virus X on yields of Russet Burbank, Kennebec, and Katahdin cultivars in Maine[J]. American Journal of Potato Research, 1978, 55(11): 601-609.

Cloning and Sequence Analysis of Coat Protein Genes of CMV, TMV and PVS From *Lycopersicon esculentum* Mill. Plant

YU Peixia¹, ZHAO Huiqi¹, LIU Yong², WANG Defu¹, NIU Yanbing¹

(1. College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801; 2. Hunan Plant Protection Institute, Hunan Academy of Agricultural Science, Changsha, Hunan 410125)

Abstract: The leaves of tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Jinzhong region of Shanxi Province shown chlorotic yellows, curly, black leaf pathogen were used as materials, the technology of double-stranded RNA (dsRNA) and sequence-independent amplification(SIA) was used to identify the virus pathogen that induced tomato, in order to provide reference for the prevention and control of virus disease infecting tomato in Shanxi Province. The results showed that samples of plants were infected with tobacco mosaic virus (TMV), cucumber mosaic virus (CMV) and potato virus S (PVS) respectively and named CMV-SXFQ, TMV-FQ and PVS-SXFQ. To further characterize the isolate of CMV-SXFQ, TMV-FQ and PVS-SXFQ, the coat protein (CP) of CMV-SXFQ, TMV-FQ and PVS-SXFQ were cloned and analyzed. Sequence alignments showed that the nucleotide homology similarity between CMV-SXFQ and CMV subgroup virus were 74.9%—98.8%, and the amino acid sequence similarity were 82.5%—99.5%. The nucleotide homology similarity between TMV-FQ and TMV subgroup virus was 74.4%—99.5%, and the amino acid sequence similarity were 83.6%—100.0%. The nucleotide homology similarity between PVS-SXFQ and PVS subgroup virus were 93.3%—99.3%, and the amino acid sequence similarity were 92.4%—100.0%. Phylogenetic analysis suggested that CMV-SXFQ was the same as CH, HLJ, XJ2, Am and As, which belonged to the CMV subgroup I B; TMV-FQ was closely related to IM, Jimo and SXFQ; PVS-SXFQ was closely related to Cm, St.

Keywords: *Lycopersicon esculentum* Mill.; mixed infection; tobacco mosaic virus; cucumber mosaic virus; potato virus S