

番茄斑驳花叶病毒在广东省的首次报道

汤亚飞¹, 李正刚¹, 余小漫¹, 于琳¹, 蓝国兵¹, 李战彪^{2*}, 何自福^{1*}

(1. 广东省农业科学院植物保护研究所, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640;
2. 广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所, 广西作物病虫害生物学重点实验室, 南宁 530007)

摘要 番茄斑驳花叶病毒 (tomato mottle mosaic virus, ToMMV) 是 2013 年发现的烟草花叶病毒属一个新种, 目前在多国(地区)有发生。本文采用小 RNA 深度测序及 RT-PCR 检测方法在广东省广州市南沙区辣椒疑似病样中检测到 ToMMV, 命名为番茄斑驳花叶病毒广东分离物 (ToMMV-GD-2020)。采用 RT-PCR 分段扩增获得了 ToMMV-GD-2020 的基因组全序列, 该分离物基因组全长 6 399 nt, 包含 4 个开放阅读框, 分别编码 4 个蛋白。序列相似性分析表明, ToMMV-GD-2020 与已登录 GenBank 的 14 个 ToMMV 分离物基因组序列相似性分别为 99.0%~99.7%, 其中与中国辽宁分离物 ToMMV-LN (GenBank 登录号: MN853592) 的相似性最高 (99.7%), 与危害我国番茄、同属烟草花叶病毒属的番茄花叶病毒 (tomato mosaic virus, ToMV)、番茄褐色皱果病毒 (tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV) 代表分离物的相似性分别为 84.6% 和 81.0%。系统进化分析表明, ToMMV-GD-2020 与该病毒各分离物亲缘关系均较近, 与中国辽宁分离物亲缘关系最近。利用 ToMMV 的 PCR 特异引物对广东其他 6 个市采集的 67 份辣椒疑似病毒病样品进行检测, 结果均为阴性, 这说明 ToMMV 目前还是局部危害广东省辣椒。本文是首次报道在广东发现 ToMMV, 对监测 ToMMV 在我国的扩散具有重要意义。

关键词 番茄斑驳花叶病毒; 辣椒; 分子鉴定; 病毒基因组序列

中图分类号: S 436.412.11 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2022085

First report of tomato mottle mosaic virus in Guangdong province of China

TANG Yafei¹, LI Zhenggang¹, SHE Xiaoman¹, YU Lin¹, LAN Guobing¹, LI Zhanbiao^{2*}, HE Zifu^{1*}

(1. *Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640, China*; 2. *Plant Protection Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Guangxi Key Laboratory for Biology of Crop Diseases and Insect Pests, Nanning 530007, China*)

Abstract Tomato mottle mosaic virus (ToMMV) was a novel species belonging to *Tobamovirus* genus discovered in 2013. At present, ToMMV has occurred in many countries (regions). In this paper, ToMMV was detected in disease pepper samples collected from Nansha district, Guangzhou city, Guangdong province, using small RNA deep sequencing and RT-PCR techniques. The isolate was named as tomato mottle mosaic virus Guangdong isolate (ToMMV-GD-2020). The whole genome sequence of ToMMV-GD-2020 was obtained by RT-PCR. The whole genome of this isolate was 6 399 nt in length and contained four open reading frames, encoding four proteins, respectively. The whole genome sequence of ToMMV-GD-2020 shared 99.0%–99.7% nt identities with other isolates of ToMMV deposited in GenBank, with the highest nt identity to the isolate Liaoning (GenBank accession number: MN853592) at 99.7%, shared 84.6% and 81.0% nt identities with tomato mosaic virus (ToMV) and tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), which belonged to the genus *Tobamovirus*, respectively. Phylogenetic analysis showed that ToMMV-GD-2020 shared more relationship with each of ToMMV isolates, and the closest relationship with Liaoning isolate of ToMMV. ToMMV was not detected in 67 diseased pepper samples collected from other six cities in Guangdong province. The result indicated that ToMMV infected peppers locally

收稿日期: 2022-02-18 修订日期: 2022-04-07

基金项目: 广东省现代农业产业技术体系果菜创新团队建设项目 (2021KJ110); 广西作物病虫害生物学重点实验室基金 (20-065-30-KF-06); 广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队建设项目 (2021KJ134); 科技创新战略专项资金 (高水平农科院建设) (R2019PY-JX005); 广东省农业科学院“十四五”学科团队建设项目 (202105TD)

* 通信作者 E-mail: 李战彪 lizhanbizo8410@sina.com; 何自福 hezf@gdpri.com

in Guangdong province. This is the first report of ToMMV in Guangdong province, which is great significance for monitoring the spread of ToMMV in China.

Key words tomato mottle mosaic virus; pepper; molecular identification; virus genome sequence

辣椒 *Capsicum annuum* L. 是一种重要蔬菜作物和调味品。据国家大宗蔬菜产业技术体系统计,近年来辣椒种植面积稳定在 210 万 hm^2 以上,占全国蔬菜总播种面积的 9.28%,已成为种植面积最大的蔬菜作物^[1]。病毒病是辣椒生产上的主要病害,在全球各辣椒产区普遍发生,严重影响辣椒的产量与品质。广东省是我国辣椒生产大省之一,年种植面积约 10 万 hm^2 ,其中冬种面积超过 70%。病毒病每年给广东辣椒生产造成不同程度的损失,危害辣椒的病毒种类繁多,世界各地已报道危害辣椒的病毒有 70 种以上,而我国发现至少有 37 种^[2]。关于危害广东辣椒的病毒种类,前人利用鉴别寄主、血清学及 RT-PCR 等技术从广东辣椒病样中检测到黄瓜花叶病毒(cucumber mosaic virus, CMV)、烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)、马铃薯 Y 病毒(potato virus Y, PVY)等 13 种^[3-6]。本团队利用小 RNA 深度测序及 RT-PCR 检测技术,鉴定出侵染广东辣椒的病毒有 14 种,分别为 CMV、TMV、PVY、辣椒轻斑驳病毒(pepper mild mottle virus, PMMoV)、甜椒内源 RNA 病毒(bell pepper endornavirus, BPEV)、烟草轻型绿花叶病毒(tobacco mild green mosaic virus, TMGMV)、辣椒脉斑驳病毒(chilli veinal mottle virus, ChiVMV)、辣椒黄脉病毒 1 (pepper vein yellow virus 1, PeVYV-1)、甜椒斑驳病毒(pepper veinal mottle virus, PVMV)、辣椒环斑病毒(chilli ringspot virus, ChiRSV)、辣椒黄脉病毒 6 (pepper vein yellow virus 6, PeVYV-6)、辣椒褪绿病毒(capsicum chlorosis virus, CaCV)、蚕豆萎蔫病毒 2 号(broad bean wilt virus 2, BBWV-2)、辣椒隐症病毒 1 (pepper cryptic virus 1, PCV1),且复合侵染很普遍^[7]。

番茄斑驳花叶病毒 tomato mottle mosaic virus (ToMMV) 属植物杆状病毒科 *Virgaviridae* 烟草花叶病毒属 *Tobamovirus* 成员,是一种(+)ssRNA 病毒,基因组全长约为 6.4 kb,主要侵染番茄、辣椒、茄子等茄科作物,引起植株表现斑驳、花叶、生长缓慢等症状,严重影响产量和品质。ToMMV 最先发现于墨西哥番茄上^[8],随后在中国^[9-10]、美国^[11]、以色列^[12]、西班牙^[13]、巴西^[14]等国家也相继报道发现该病毒危害番茄、辣椒。在我国,最先发现危害云南的

辣椒^[9],截至目前,海南、云南、湖南、辽宁、山东、河南、河北、陕西、西藏和内蒙古等省(自治区)的番茄、辣椒、茄子等茄科作物已受到该病毒的危害,该病毒已在我国扩散和流行,极有可能成为危害茄科作物的主要病毒之一^[15-16]。目前,GenBank 数据库中已登录有来自墨西哥、美国、巴西、荷兰、西班牙和中国 6 个国家的 14 个 ToMMV 分离物的全基因组序列,包括来自中国海南和辽宁的 2 个番茄分离物、云南和西藏的 2 个辣椒分离物全基因组序列。

2020 年,作者团队对危害广东省辣椒的病毒种类进行监测与鉴定,首次在广州市南沙区辣椒病样中检测到 ToMMV,进一步对 ToMMV 广东分离物的全基因组进行了克隆与序列分析,同时对广东省其他地区辣椒病样进行分子检测,以期监测该病毒并为该病毒病的防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试样品:2019 年—2021 年,从广东省辣椒产区采集田间表现花叶、斑驳、环斑、皱缩、褪绿等症状疑似病毒病的辣椒叶片样品 77 份,其中湛江 19 份、茂名 9 份、韶关 16 份、肇庆 8 份、河源 7 份、佛山 8 份、广州 10 份,置于 -80°C 冰箱保存待用。

主要试剂和仪器:植物 RNA 提取试剂 RNAiso Plus、反转录试剂盒(PrimeScript II 1st Strand cDNA Synthesis Kit)、Premix TaqTM (Ex TaqTM Version 2.0 plus dye)和 pMD 19-T Vector 购自宝生物工程(大连)有限公司;琼脂糖凝胶回收试剂盒(GeneJET Gel Extraction Kit)购自美国 Thermo 赛默飞公司;大肠杆菌 *Escherichia coli* T1 化学感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司;T100TM Thermal cycler PCR 仪、Universal Hood II 凝胶成像系统以及电泳仪均购自美国 BIO-RAD 公司;植物组织自动研磨仪 MM400 购自德国 Retsch(莱驰)公司。

1.2 小 RNA 深度测序和分析

对 2020 年 6 月从广东省广州市南沙区万顷沙镇采集的 10 份辣椒病叶混合成 2 份样品进行小 RNA 深度测序。采用 TRIzol 方法提取待测样品总 RNA,构建满足 Illumina 平台测序的小 RNA 文库,

通过 Illumina nextseq 500 测序仪进行深度测序;应用 Cutadapt^[17] 和质量分数预处理方法对原始数据进行去除接头序列等预处理,然后对预处理后的数据采用 SPAdes^[18] 拼接;利用 BLAST 程序将拼接序列与 GenBank 数据库中的已知病毒基因组序列进行相似性比对,根据相似性结果初步判断样品中存在的病毒。上述深度测序和分析由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

1.3 RT-PCR 扩增验证

根据小 RNA 深度测序获得病毒序列,应用引物在线设计网站 (<http://primer3.ut.ee/>) 设计引物,检测 ToMMV 的引物为 ToMMV-F:5'-CACG-CAGAACTACGCTGCGTTGTCGG-3', ToMMV-R:5'-CCGGACAACCTCAGGTGAATTAAAGTTC-3', 扩增的目的片段大小为 807 bp;检测 PVMV 的引物为 PVMV-F:5'-GGTTTGGTGTATAGAAAATGGG-3', PVMV-R:5'-CAGACTCTATCAGGTGGTATA-AC-3', 扩增的目的片段大小为 758 bp;检测 ToMV 的引物为 ToMV-F:5'-AAACCGCTTTTATAGCG-GCAG-3', ToMV-R:5'-TATTAATGAGTTTATC-GATCTGTC-3', 扩增的目的片段大小为 322 bp;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。以用于小 RNA 深度测序的单个病样为模板,采用 Trizol 法分别提取 10 份待测辣椒病叶的总 RNA,进一步

用随机引物(大连 TaKaRa 公司)逆转录合成 cDNA,反应体系和具体方法按照试剂盒说明书操作,然后利用所设计的引物进行 PCR 扩增。PCR 反应体系:反转录合成 cDNA 1 μL, ExTaq PCR MIX-ER 25 μL, 10 μmol/L 的上、下游引物各 2 μL, 加灭菌水至总体积 50 μL。反应程序为:94 ℃ 4 min; 94 ℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72 ℃ 1 min, 35 个循环;72 ℃ 10 min。根据扩增产物的大小和产物直接测序结果确定病样中的病毒种类。

1.4 病毒基因组全长的扩增与测定

通过对登录在 GenBank 数据库中 14 条 ToMMV 全基因组序列进行对比,设计 4 对覆盖全基因组的引物(表 1)。以小 RNA 深度测序与 RT-PCR 相结合确定存在 ToMMV 的样品 cDNA 为模板,利用所设计覆盖 ToMMV 全基因组 4 对引物分别进行 PCR 扩增(图 1)。PCR 反应体系同 1.3, 反应程序为:94 ℃ 4 min;94 ℃ 30 s, 55 ℃ 30 s, 72 ℃ 2 min, 35 个循环;72 ℃ 10 min。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。应用琼脂糖凝胶回收试剂盒回收 PCR 扩增产物,纯化后连接到 pMD19-T 载体,并转化大肠杆菌 T1 感受态细胞。在含 100 μg/mL Amp、40 μL/mL X-gal 的 LB 固体培养基上 37℃ 倒置培养过夜;每个平板随机挑取 3 个阳性克隆送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

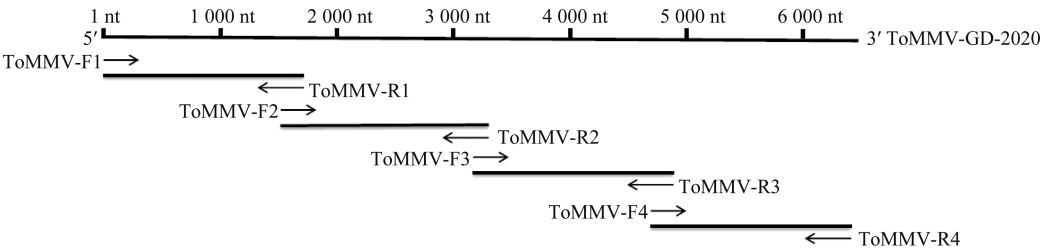


图 1 ToMMV 广东分离物的基因组分段扩增示意图
Fig. 1 Schematic diagram for segmented amplification genome of ToMMV Guangdong isolate

表 1 扩增 ToMMV 广东分离物全基因组序列的引物

Table 1 Primers for amplification of whole genomic sequence of ToMMV Guangdong isolate

引物 Primer	序列 (5'-3') Sequence	位置/nt Location	片段大小/bp Fragment size
ToMMV-F1	GTATTTATTATTACAACAATTACCA	1—25	1 693
ToMMV-R1	CGACTGAGAGCTTGTACTCGG	1 693—1 673	
ToMMV-F2	GATTGATCAACCGTAAACTGA	1 580—1 600	1 715
ToMMV-R2	TGCGACAAGCACATGGGGACTGTC	3 294—3 271	
ToMMV-F3	CCACTCAGTGGAAGGTCTTGA	3 109—3 130	1 687
ToMMV-R3	GCATGTAATACGCACAATTGTTC	4 795—4 773	
ToMMV-F4	ACACATCAAGGATTGGGATCAT	4 707—4 728	1 693
ToMMV-R4	TGGGCCCTACCGGGGTTCCGG	6 399—6 377	

1.5 病毒基因组全长序列分析

利用 DNASTar 软件的 SeqMan 对所获得的基因序列进行拼接,获得 ToMMV 基因组全长序列,利用 BLAST 程序在 GenBank 数据库中进行序列相似性搜索,并从 GenBank 数据库下载已报道的 14 个 ToMMV 分离物及危害我国番茄且同属于烟草花叶病毒属的番茄花叶病毒(tomato mosaic virus, ToMV)、番茄褐色皱果病毒(tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV)代表分离物的全基因组序列,用 DNASTar 的 MegAlign 进行序列比较分析,采用 MEGA 6.06 的邻接法(neighbor joining, NJ)构建进化树,bootstrap 检验 1 000 次。

1.6 其他地区病样的检测

利用扩增 ToMMV 的引物 ToMMV-F/ToMMV-R 对 2019 年—2021 年从广东省其他地区采集的 67 份辣椒病样进行 RT-PCR 检测,反应体系和反应程序同 1.3。根据 PCR 检测确定 ToMMV 在广东地区的分布。

2 结果与分析

2.1 小 RNA 深度测序以及 RT-PCR 验证结果

2020 年 6 月从广东省广州市南沙区采集田间表现花叶、斑驳、叶片皱缩、轻微丛生等典型病毒病症状的辣椒样品 10 份(图 2),将其混合成 2 份样品进行小 RNA 深度测序。结果显示,样品 1 共获得 17 474 690 条 reads,除杂后为 2 921 707 条 reads,拼接获得 179 个 contigs;经与 GenBank 数据库中报道的病毒序列进行比对,其中有 14 条比对到 ToMMV,相似性均高于 94%~100%,长度为 144~1 183 bp,11 条比对到 ToMV,相似性在 97%以上,长度为 111~322 bp,6 条比对到 PVMV,相似性在



图 2 广州南沙辣椒病样田间症状表现
Fig. 2 Field symptoms of pepper diseased samples from Nansha district, Guangzhou

97%以上,长度为 549~4 261 bp。样品 2 共获得 16 853 953 条 reads,除杂后为 4 835 767 条 reads,拼接获得 468 个 contigs;经与 GenBank 数据库中报道的病毒序列进行比对,其中有 7 条比对到 ToMMV,相似性在 99%,长度为 153~2 529 bp,9 条比对到 PVMV,相似性在 97%以上,长度为 235~2 261 bp。测序结果初步表明,广东广州南沙辣椒病叶混合样品中可能含有 ToMMV、ToMV、PVMV 3 种病毒。

2.2 RT-PCR 验证小 RNA 深度测序结果

利用根据小 RNA 深度测序获得病毒序列所设计的检测 ToMMV、ToMV 和 PVMV 特异引物,对广东省广州市南沙区万顷沙镇 2 份混合样品的 10 份单个样品分别进行 RT-PCR 检测,结果显示:ToMMV、ToMV 和 PVMV 特异引物能从不同的单株病样中扩增出预期大小的目的条带(图 3),其中 1 份病样为 ToMV 单独侵染,1 份病样为 ToMV 和 PVMV 复合侵染,2 份病样为 ToMMV 和 PVMV 复合侵染,5 份样品为 3 种病毒复合侵染,还有 1 份病样未检测到这 3 种病毒。PCR 产物测序结果表明,上述 3 个特异片段分别是对应病毒 ToMMV、ToMV 和 PVMV 的基因片段。因此,引起广东省广州市南沙区辣椒病毒病的病原至少有 ToMMV、ToMV 和 PVMV 3 种病毒,且以复合侵染为主。

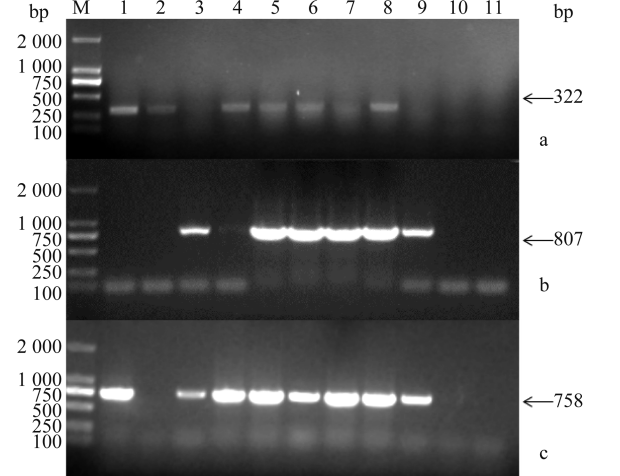


图 3 3 种病毒特异引物 RT-PCR 验证小 RNA 深度测序结果
a: ToMV; b: ToMMV; c: PVMV; M: DL2000 DNA marker; 1~10: 辣椒病样; 11: 清水对照。
a: ToMV; b: ToMMV; c: PVMV; M: DL2000 DNA marker; 1~10: Pepper diseased samples; 11: ddH₂O.

图 3 3 种病毒特异引物 RT-PCR 验证小 RNA 深度测序结果
Fig. 3 The results of small RNA deep sequencing validated by RT-PCR with three virus-specific primers

2.3 ToMMV 广东分离物的基因组结构

以小 RNA 深度测序和 RT-PCR 检测验证确定含有 ToMMV 的病样总 RNA 为模板,利用设计覆盖全基因组的 4 对引物进行分段 PCR 扩增,均能扩增出预期大小的目的片段(图 4),克隆、测序分析获得大小分别为 1 693、1 717、1 687、1 694 bp 的 4 条片段,进一步通过拼接获得 ToMMV 广东分离物(ToMMV-GD-2020)基因组全序列大小为 6 399 nt (GenBank 登录号:OK180812),包含 4 个开放阅读框,分别编码复制相关蛋白(76—3 426 nt)、复制酶蛋白(76—4 926 nt)、运动蛋白(4 910—5 716 nt)、外壳蛋白(5 719—6 198 nt)。

2.4 ToMMV 广东分离物的基因组全长序列分析

BLAST 结果显示,与 ToMMV-GD-2020 基因组全序列具有较高相似性的序列均为 ToMMV 分离物。采用 MegAlign 的 Clustal W 方法比较结果表明(表 2),ToMMV-GD-2020 与登录 GenBank 的 ToMMV 14 个分离物全基因组核苷酸序列相似性为 99.0%~99.7%,其中与中国辽宁分离物 ToMMV-

LN(GenBank 登录号:MN853592)的相似性最高,为 99.7%,而与危害我国番茄、同属烟草花叶病毒属的 ToMV-SGZZ(GenBank 登录号:KY967221)、ToBRFV-SD(GenBank 登录号:MT018320)的相似性分别为 84.6%和 81.0%。

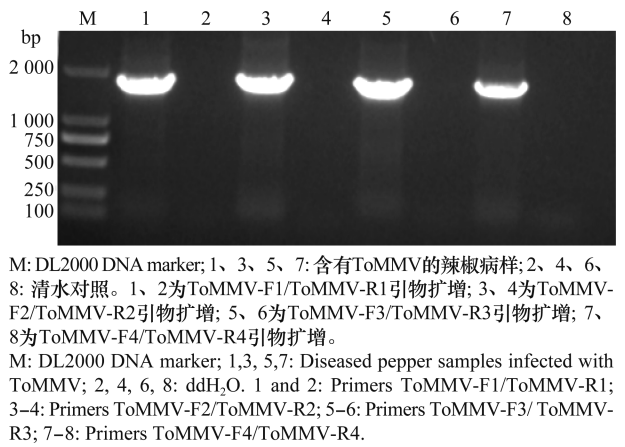


图 4 RT-PCR 扩增 ToMMV 广东分离物全基因组的结果
Fig. 4 Amplification of ToMMV Guangdong isolate whole genome with RT-PCR

表 2 ToMMV-GD-2020 与已报道的 ToMMV 分离物全基因组核苷酸序列相似性
Table 2 Nucleotide sequence identities between ToMMV-GD-2020 and other reported isolates

病毒 Virus	分离物 Isolate	登录号 Accession no.	地理来源 Geographic origin	寄主 Host	年份 Year	相似性/% Identity
ToMMV	LN	MN853592	中国辽宁	番茄	2020	99.7
ToMMV	MX5	KF477193	墨西哥	番茄	2013	99.4
ToMMV	10-100	KP202857	美国	番茄	2015	99.3
ToMMV	NY-13	KT810183	美国	番茄	2016	99.3
ToMMV	YYMLJ	KR824950	中国云南	辣椒	2016	99.3
ToMMV	TiLhaLJ	KR824951	中国西藏	辣椒	2016	99.3
ToMMV	SC13-05	KX898033	美国	番茄	2017	99.3
ToMMV	HN	MH381817	中国海南	番茄	2019	99.2
ToMMV	Hainan	MG171192	中国海南	番茄	2018	99.2
ToMMV	DSMZ PV-1267	MW582804	美国	番茄	2021	99.1
ToMMV	CA16-01	KX898034	美国	番茄	2017	99.1
ToMMV	CpB1	MH128145	巴西	番茄	2018	99.1
ToMMV	19-02305	MN654021	荷兰	辣椒	2020	99.1
ToMMV	VLC-1	KU594507	西班牙	番茄	2017	99.0
ToMV	SGZZ	KY967221	中国	番茄	2018	84.6
ToBRFV	SD	MT018320	中国	番茄	2021	81.0

对 ToMMV-GD-2020、已登录 GenBank 的 14 个 ToMMV 分离物、ToMV-SGZZ 和 ToBRFV-SD 的全基因组序列构建系统进化树,结果显示(图 5),ToMMV-GD-2020 与来自墨西哥、中国、美国、巴

西、荷兰、西班牙 6 国的 14 个 ToMMV 分离物聚集在一个大分支上,其中与来自中国辽宁的 LN 分离物聚集在一个小分支,二者亲缘关系最近,而与危害我国番茄的同属病毒 ToMV-SGZZ 和 ToBRFV-SD

亲缘关系较远。

2.5 广东其他地区辣椒疑似病毒病样品检测结果

利用 ToMMV 的检测引物 ToMMV-F/ToMMV-R 对 2019 年—2021 年从广东省湛江、茂名、韶

关、肇庆、河源、佛山 6 个市采集的 67 份辣椒病样进行 RT-PCR 扩增,均未扩增出目的片段,该结果初步表明 ToMMV 目前是在局部地区危害广东省辣椒。

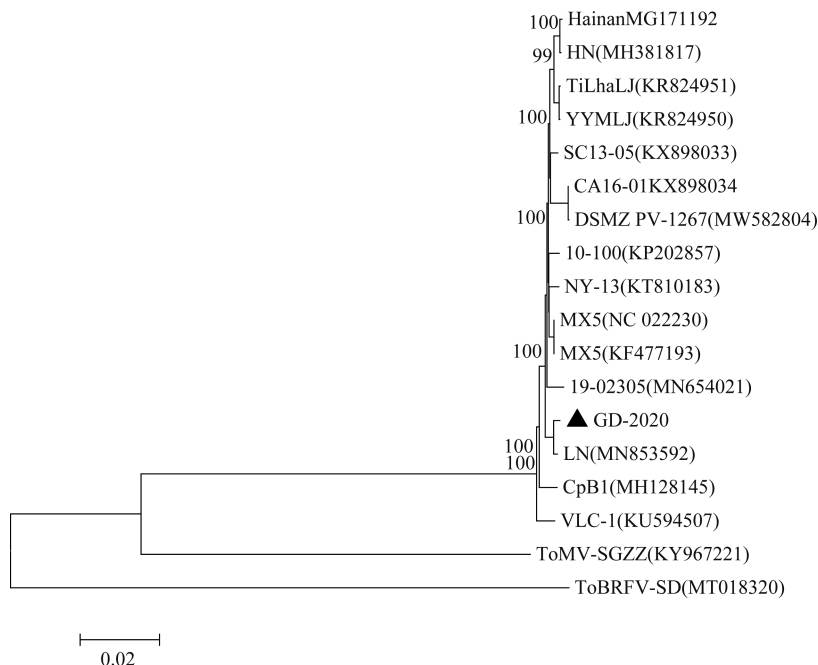


图 5 基于 ToMMV 全基因组序列构建 ToMMV-GD-2020 与其他相关分离物的系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of ToMMV-GD-2020 and other related isolates based on whole genome sequence of ToMMV

3 结论与讨论

本文应用小 RNA 深度测序与 RT-PCR 检测相结合的方法在广东辣椒病样中检测到 ToMMV,该病毒分离物基因组全长为 6 399 nt,与国际上已报道的 14 个 ToMMV 分离物基因组核苷酸序列相似性均超过 99.0%,但在广东 7 个市辣椒产区病样中仅广州市南沙区检测发现该病毒。这是在广东首次发现该病毒。

ToMMV 是 2013 年发现的烟草花叶病毒属一个新种,目前已在多国有发生和分布。在我国,2014 年首次在辣椒上检测到该病毒,目前我国至少 10 个省(自治区)已有发生,可见该病毒扩散速度快,存在发生流行的趋势^[16]。2013 年—2016 年,本团队利用小 RNA 深度测序技术对侵染危害广东辣椒的病毒进行调查与鉴定,从广东各地采集的辣椒病样中检测到 14 种病毒,但未检测到 ToMMV^[6]。此后,本团队持续监测辣椒病毒病发生动态。2020 年,在广州市南沙区辣椒产区病样中检测到 ToM-

MV,说明 ToMMV 已扩散传播到广东省,并危害辣椒。

本文采用分段扩增、克隆获得了 ToMMV 广东分离物的基因组全长序列,该序列与国际上已报道的 ToMMV 各分离物间相似性均在 99.0%以上;同时,ToMMV 各分离物基因组序列相似性也均在 99.0%以上,说明该病毒高度保守。这对开展抗病资源筛选与抗病品种选育十分有利。

ToMMV 可通过汁液摩擦传播,也可通过种子带毒传播^[19]。该病毒自然条件下可侵染番茄、辣椒等茄科作物;人工接种条件下除茄科作物外,还可以侵染葫芦科、豆科、十字花科等多种作物,且致病性比同属的 TMV 更强,接种植株症状更严重^[20],而且 ToMMV 比 ToMV 的寄主范围更广,侵染性更强^[21]。可见,ToMMV 的潜在危害性很大。2014 年首次在云南辣椒上检测到该病毒以来,ToMMV 目前已在我国多个省(自治区)发生,呈现流行与扩散的趋势,很有可能将成为危害我国蔬菜作物的主要病毒。本研究仅在广东省广州市南沙区辣椒上检测

到 ToMMV,至于其是否危害其他作物及扩散动态,还有待于进一步监测。

参考文献

- [1] 邹学校,马艳青,戴雄泽,等. 辣椒在中国的传播与产业发展[J]. 园艺学报, 2020, 47(9):1715-1726.
- [2] 刘勇,李凡,李月月,等. 侵染我国主要蔬菜作物的病毒种类、分布与发生趋势[J]. 中国农业科学, 2019, 52(2): 239-261.
- [3] 饶雪琴,蓝翠钰. 广州市郊及其邻近地区辣椒 CMV 和 TMV 的鉴定[J]. 江西农业大学学报(自然科学), 2003, 25(4):558-561.
- [4] 张竹青. 辣椒病毒病研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- [5] 汤亚飞,何自福. 广东辣椒上首次检测到西瓜银斑驳病毒[J]. 园艺学报, 2015, 42(11):2261-2266.
- [6] 汤亚飞,裴凡,李正刚,等. 基于小 RNA 深度测序技术鉴定侵染广东辣椒的病毒种类[J]. 中国农业科学, 2019, 52(13): 2259-2267.
- [7] 姚玉荣,陈国华,冯兰香,等. 北运蔬菜基地辣椒病毒病原种类的分子检测[J]. 中国蔬菜, 2013(10):84-89.
- [8] LI Rugang, GAO Shan, FEI Zhangjun, et al. Complete genome sequence of a new tobamovirus naturally infecting tomatoes in Mexico [J/OL]. Genome Announcements, 2013,1(5): e00794-13. DOI: 10.1128/genomeA.00794-13.
- [9] LI Yueyue, WANG Cuiling, XIANG Dong, et al. First report of tomato mottle mosaic virus infection of pepper in China [J]. Plant Disease, 2014, 98(10): 1447.
- [10] ZHAN Binhui, CAO Ning, WANG Kaina, et al. Detection and characterization of an isolate of tomato mottle mosaic virus infecting tomato in China [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018,17(5):1207-1212.
- [11] FILLMER K, ADKINS S, PONGAM P, et al. Complete genome sequence of a tomato mottle mosaic virus isolate from the United States [J/OL]. Genome Announcements, 2015,3(2): e00167-15. DOI: 10.1128/genomeA.00167-15.
- [12] TURINA M, GERAATS B P J, CIUFFO M. First report of

tomato mottle mosaic virus in tomato crops in Israel [J]. New Disease Reports, 2016,33:1.

- [13] AMBROS S, MARTINEZ F, IVARS P, et al. Molecular and biological characterization of an isolate of tomato mottle mosaic virus (ToMMV) infecting tomato and other experimental hosts in eastern Spain [J]. European Journal of Plant Pathology, 2017, 149(2): 261-268.
- [14] NAGAI A, DUARTE L M L, CHAVES A L RA, et al. First complete genome sequence of an isolate of tomato mottle mosaic virus infecting plants of *Solanum lycopersicum* in South America [J/OL]. Genome Announcements, 2018, 6(19): e00427-18. DOI:10.1128/genomeA.00427-18.
- [15] 刘晓璇,李威霖,张彤,等. 番茄斑驳花叶病毒海南分离物全基因组序列分析[J]. 热带作物学报, 2019, 40(1): 139-144.
- [16] 李月月,周文鹏,路思倩,等. 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[J]. 中国农业科学, 2020, 53(3): 539-550.
- [17] MARTIN M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads [J]. EMBnet Journal, 2011,17(1):10-12.
- [18] BANKEVICH A, NURK S, ANTIPOV D, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing [J]. Journal of Computational Biology, 2012, 19(5):455-477.
- [19] LOVELOCK D A, KINOTI W M, BOTTCHE C, et al. Tomato mottle mosaic virus intercepted by Australian biosecurity in *Capsicum annuum* seed [J]. Australasian Plant Disease Notes, 2020,15(1): 8.
- [20] LI Yueyue, WANG Yang, HU J, et al. The complete genome sequence, occurrence and host range of tomato mottle mosaic virus Chinese isolate [J]. Virology Journal, 2017,14: 15.
- [21] SUI Xuelian, ZHENG Hengyi, LI Rugang, et al. Molecular and biological characterization of tomato mottle mosaic virus and development of RT-PCR detection [J]. Plant Disease, 2017,101(5): 704-711.

(责任编辑:田 喆)

(上接 218 页)

- [12] 王启宇,杨敏,魏环宇,等. 引起云南省珠芽魔芋叶斑病的链格孢菌种类鉴定[J]. 植物保护, 2022, 48(4): 240-244.
- [13] TAO Wenchen, ZHANG Wei, YAN Jiye, et al. A new *Alternaria* species from grapevine in China [J]. Mycological Progress, 2014, 13(4): 1119-1125.
- [14] 王彩霞,李兴红,魏艳敏,等. 引起葡萄叶斑病的链格孢种类的初步鉴定[J]. 植物保护学报, 2019, 46(1): 175-183.
- [15] 张志铭,王江柱,李玉琴,等. 深州蜜桃黑斑病(*Alternaria alternata*)的研究 I 发生情况, 症状和病原鉴定[J]. 河北农业大学学报, 1995, 18(4): 49-52.

- [16] INOUE K, NASU H. Black spot of peach caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler [J]. Journal of General Plant Pathology, 2000, 66(1): 18-22.
- [17] ABATA L K, VIERA W F, PAZ I A, et al. First report of *Alternaria* rot caused by *Alternaria alternata* on peach in Ecuador [J]. Plant Disease, 2016, 100(11): 2323.
- [18] ALAM M W, REHMAN A, MALIK A U, et al. First report of *Alternaria alternata* causing postharvest fruit rot of peach in Pakistan [J]. Journal of Plant Pathology, 2019, 101: 209.

(责任编辑:田 喆)