

南方番茄病毒在海南省的发生分布及全基因组序列分析

车海彦, 林雅婷, 罗大全, 龙海波*

中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物有害生物综合治理重点实验室/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海南海口 571101

摘要: 病毒病是海南番茄生产中危害最严重的病害之一, 在利用小 RNA 深度测序技术鉴定海南番茄病毒病原时发现, 南方番茄病毒 (*Southern tomato virus*, STV) 在海南省多个市 (县) 的样品中存在, 而且发现 1 株 STV 单独侵染的样品。为了解 STV 在海南省的发生分布情况, 利用 RT-PCR 技术, 对 2015—2021 年采自海南省的 987 份疑似病毒侵染的番茄叶片样品进行检测, 结果表明: 在 9 个市 (县) 的 142 份样品中检测到 STV, 早在 2015 年 STV 就已经在海南番茄上存在, 检出率从 2015 年 (8.82%) 到 2021 年 (22.45%) 呈逐年上升趋势。同时结合 RACE 和 RT-PCR 技术扩增到 4 个 STV 海南分离物的全长基因组, 长度均为 3446 nt, 包含 2 个部分重叠的 ORFs, ORF1 (147~1280 nt) 和 ORF2 (1048~3336 nt) 分别编码 p42 蛋白 (377 aa) 和 RdRp 蛋白 (762 aa), 5'UTR 和 3'UTR 的长度分别为 146 nt 和 110 nt。序列一致性分析表明, 4 个 STV 海南分离物间基因组序列一致性为 99.86%~100.00%, 与目前 GenBank 公布的所有 STV 分离物基因组间序列一致性为 98.45%~99.94%。基于全基因组序列构建的系统发育树显示, 80 个 STV 分离物被明显分为 2 个组 (组 I 和组 II), 组 I 包括亚洲、美洲、欧洲和非洲分离物; 组 II 中除 1 个亚洲分离物外, 其他均为欧洲分离物; 4 个海南分离物被分在组 I, STV 分离物的分组与地域呈一定的相关性, 而与寄主无相关性。4 个海南分离物与组 I 分离物基因组序列变异度较高的区域位于 881~1061 nt 和 1521~1721 nt, 与组 II 分离物基因组序列变异度较高的区域位于 2041~2241 nt 和 2761~2921 nt。STV 分离物基因组间未发现重组事件。这是在海南省首次报道发现 STV。本研究结果有助于了解 STV 在海南省的分布、发生趋势及遗传多样性, 为病害防控提供科学依据。

关键词: 南方番茄病毒; 小 RNA 深度测序; RT-PCR 检测; 基因组

中图分类号: S432.41 文献标识码: A

Distribution and Genome Sequence Analysis of Southern Tomato Virus in Hainan, China

CHE Haiyan, LIN Yating, LUO Daquan, LONG Haibo*

Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Integrated Pest Management on Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Key Laboratory for Monitoring and Control of Tropical Agricultural Pests, Haikou, Hainan 571101, China

Abstract: Virus disease is one of the most serious diseases in tomato production in Hainan, China. The small RNA deep sequencing data of tomato virome in Hainan revealed the presence of *Southern tomato virus* (STV) in samples from several regions, and a single STV infected sample was found. RT-PCR screening of 987 field samples with virus-like symptoms collected from 2015 to 2021, was carried out to determine the distribution of STV in Hainan province. Results indicated that STV was detected in 142 samples from nine regions, STV had existed in Hainan tomatoes as early as 2015, STV detection rate increased from 8.82% in 2015 to 22.45% in 2021, showing an upward trend year by year. The complete genome length of four isolates amplified using RT-PCR and RACE was identical, each consisting of 3446 nt.

收稿日期 2022-10-25; 修回日期 2022-11-08

基金项目 海南省基础与应用基础研究计划 (自然科学领域) 高层次人才项目 (No. 2019RC284); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630042019001)。

作者简介 车海彦 (1976—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 植物病毒与植原体病害。*通信作者 (Corresponding author): 龙海波 (LONG Haibo), E-mail: longhb@catas.cn。

Two partially overlapping open reading frames (ORFs) presented in the positive-sense RNA strand, the 5'-proximal ORF (position 147–1280 nt) encoded a 377 amino acid (aa) peptide representing a potential coat protein (p42), the second ORF (position 1048–3336 nt) contained typical motifs for an RNA-dependent RNA polymerase (762 aa). The length of 5' untranslated region (UTR) and 3' UTR was 146 nt and 110 nt respectively. Paired comparison showed that the nucleotide similarity among four STV isolates was 99.86%–100.00%, the nucleotide similarities with other STV isolates available in GenBank were 98.45%–99.94%. In phylogenetic trees based on the complete genome of STV, eighty STV isolates were obviously divided into two groups (Group I and Group II). Group I included Asian, American, European and African isolates. In group II, except for one Asian isolate, the others were European isolates, and four Hainan isolates were divided into group I. The grouping of STV isolates was related to geographical location, may not be related to the host. The regions with high genomic sequence variability between Hainan isolates and group I isolates were 881–1061 nt and 1521–1721 nt, and the regions with high genomic sequence variability between Hainan isolate and group II isolate were 2041–2241 nt and 2761–2921 nt. No recombination events were found between STV isolates. This is the first report of STV in Hainan Province. The findings of this study would provide an important basis for understanding the distribution and occurrence trends of STV in Hainan province and for the development of effective surveillance and control measure.

Keywords: *Southern tomato virus*; small RNAs deep sequencing; RT-PCR detection; genome

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.01.004

1984 年, 美国加利福尼亚因皮里尔河谷的番茄上出现叶片黄化、生长衰退和坐果少等症状^[1]。2005 年, 墨西哥西南部和美国密西西比州东北部的番茄上也出现相似的症状, 上述 3 地的病株体内均分离到一种基因组为 3.5 kb 的 dsRNA 病毒, SABANADZOVIC 等^[2]将其命名为南方番茄病毒 (*Southern tomato virus*, STV)。目前, STV 在亚洲 (中国、孟加拉国、韩国、越南、日本、土耳其、泰国、巴基斯坦和以色列)^[3-8]、欧洲 (法国、意大利、西班牙、英国、瑞士、德国和塞尔维亚)^[8, 9-19]、非洲 (留尼汪岛)^[9]、北美洲 (美国、墨西哥和加拿大)^[1-2, 8]、中美洲 (多米尼加和巴拿马)^[9]和南美洲 (哥伦比亚和巴西)^[8, 20]的很多国家均有报道发生。2011 年, 我国首次在新疆加工番茄上发现 STV 感染的植株^[3], 随后在山东^[21-22]、浙江^[23]、江西^[23]、四川^[24]、重庆^[25]、北京^[26]、广东^[27]、江苏^[28]、宁夏^[29]和贵州^[8]等地的番茄上也相继检测到 STV。但目前我国仅公布 2 条 STV 基因组全长序列^[4, 30], 对 STV 的深入研究报道较少。

STV 隶属于混合病毒科 (*Amalgaviridae*) 混合病毒属 (*Amalgavirus*), 尚未发现病毒粒子, 其基因组由 1 条线性 dsRNA 组成, 长约 3.5 kb, 在正义链上有 2 个部分重叠的开放阅读框 (open reading frame, ORF), 结构上与 *Totiviridae* 成员相似。ORF1 长 1134 bp, 编码由 377 个氨基酸组成的 p42 蛋白, 推测为外壳蛋白 (coat protein, CP),

分子量约为 42.4 kDa。ORF2 长 2289 nt, 编码由 762 个氨基酸组成的 RNA 依赖的 RNA 聚合酶 (RNA dependent RNA polymerase, RdRp), RdRp 可能通过程序性+1 核糖体移码 (programmed+1 ribosomal frameshifting, +1 PRF) 表达为与 ORF1 的融合蛋白 (类似于逆转录病毒的 gag-pol 融合蛋白), 分子量约为 121.5 kDa^[2, 31]。尽管 STV 在基因组结构上与 *Totiviridae* 成员相似, 但基于 RdRp 氨基酸的系统发育分析表明, STV 与分体病毒科 (*Partitiviridae*) 成员的亲缘关系更近^[2, 31]。目前, 尚未观察到 STV 的病毒粒子。STV 除通过种子和花粉传播外, 尚未发现其他传播途径^[2, 30-31]。仅在番茄 (*Solanum lycopersicum*)、辣椒 (*Capsicum annuum*)、龙葵 (*Solanum nigrum*) 和灯笼果 (*Physalis peruviana*) 4 种茄科植物上检测到 STV^[8, 10, 20, 32]。

番茄是海南冬季重要的北运瓜菜品种之一, 主要种植于陵水、昌江、定安等地, 至 2019 年, 海南省种植面积达 7822 hm², 产量为 28.15 万 t^[33]。随着种植面积的增加和种植年限的延长, 生产中病虫害发生为害日趋严重, 其中病毒病是为害最严重的病害, 部分田块病株率高达 100%。笔者在利用小 RNA 深度测序技术鉴定海南番茄病毒病原时发现, STV 在海南多个市 (县) 的样品中均存在, 而且发现 1 株 STV 单独侵染的样品。为进一步了解 STV 在海南的发生分布情况, 利用 RT-PCR 技术检测了 2015—2021 年采集自海南的

番茄样品,同时结合 RACE 和 RT-PCR 技术扩增了海南番茄样品上的 STV 全基因组序列,本研究结果有助于了解 STV 在海南的分布、发生趋势及遗传多样性,为病害防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

小 RNA 深度测序的番茄叶片样品(编号为 T-DZ-2)于 2019 年采自海南儋州宝岛新村,田间症状表现为叶脉坏死、叶脉间不均匀褪绿,长势衰弱。STV 检测的样品共 987 份,于 2015—2021 年采自海南陵水、定安、昌江、海口、琼海、三亚、儋州、文昌、临高、乐东共 10 个市(县)。

植物总 RNA 提取试剂盒和普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司,TRIzol Reagent 购自美国 Invitrogen 公司,反转录试剂盒 TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 购自北京全式金生物技术有限公司,2×Rapid Taq Master Mix 和 2×Phanta Flash Master Mix 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司,pMD 18-T Vector Cloning Kit、*E. coli* Competent Cell DH5α、Poly(A) Polymerase 和 SMARTer RACE 5'/3' Kit 均购自宝日医生物技术(北京)有限公司。其他试剂均为国产或进口分析纯。

1.2 方法

1.2.1 小 RNA 深度测序和分析 使用 TRIzol Reagent 提取番茄叶片样品(编号为 T-DZ-2)的总 RNA。委托上海美吉生物医药科技有限公司构建小 RNA 文库,使用 Hiseq 2000 平台进行 SE50 测序,原始数据经过质控分析后,获得 clean small RNA 序列,使用 Velvet 1.2.10 软件^[34]对其进行拼接组装。将拼接结果在 NCBI 数据库中进行 Blastn 和 Blastx 比对,将得到的病毒序列进行统计并注释。

1.2.2 RT-PCR 验证 以 1.2.1 提取的总 RNA 为模板,采用反转录试剂盒 TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 将总 RNA 反转录成 cDNA。使用 STV 特异性检测引物 STV-F/STV-R^[23]对小 RNA 深度测序结果进行验证,引物序列见表 1。PCR 反应体系(25 μL): 12.5 μL 2×Rapid Taq Master Mix、10 μmol/L 的上游引物和下游引物各 1 μL,1 μL cDNA,9.5 μL 无菌 ddH₂O。PCR 反应程序:98 ℃ 预变性 30 s;98 ℃ 变性 10 s,52 ℃ 退火 5 s,72 ℃ 延伸 5 s,循环 35 次;72 ℃ 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用普通琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收特异片段,回收产物直接测序。本研究所有的引物合成和测序均委托北京六合华大基因科技有限公司完成。

表 1 本研究所用引物
Tab. 1 Primers used in this study

引物 Primer	序列(5'–3') Sequence (5'–3')	退火温度 Annealing temperature/℃	预期产物大小 Expected product siz/bp	参考文献 Reference
STV-F	TGATGGAGGATATCTACTGTCATT	52	582	[23]
STV-R	ACAAGATGTTTAAAGCCGTGTCC			[23]
STV-F1	TGAAACATCCAGTGAGAGTC	53	3307	本研究
STV-R1	GTAGATTTACAATGAGAGTCAGA			本研究
STV-GSP5	CTATCTCAACTATCTCCCTCATCA	57	300	本研究
STV-GSP3	CGTCATGGATTGGATCAGAT	53	345	本研究
UPM	CTAATACGACTCACTATAGGGCAA GCAGTGGTATCAACGCAGAGT			SMARTer RACE 5'/3' Kit 提供

1.2.3 田间番茄样品的 STV 检测 使用植物总 RNA 提取试剂盒提取田间采集的 987 份样品总 RNA,cDNA 合成和 PCR 检测反应参见 1.2.2。

1.2.4 STV 全基因组序列扩增 根据田间样品的检测结果,选取海南儋州(T-DZ-2)、陵水(T-LS-52)、定安(T-DA-23)和昌江(T-CJ-15)共 4 个样品进行全基因组扩增。STV 全基因组扩增策略如图 1 所示。根据小 RNA 深度测序结果和

GenBank 已有序列,利用在线引物设计工具 Primer 3(<https://bioinfo.ut.ee/primer3/>)设计基因组扩增引物对 STV-F1/STV-R1(表 1),按照 1.2.2 方法对 STV 的基因组编码区进行扩增。5'和 3'末端非编码区扩增:利用 Poly(A) Polymerase 将 4 个样品的 RNA 3'端加上 poly(A)尾,使用 SMARTer RACE 5'/3' Kit 进行 cDNA 合成。根据基因组编码区测序结果,设计特异性引物

STV-GSP5 和 STV-GSP3 (表 1), 分别对 STV 基因组的 5' 和 3' 末端序列进行扩增, 获得的特异性片段产物经纯化回收后, 与 pMD18-T vector 连接, 转化到 *E. coli* Competent Cell DH5 α 中, 利用 PCR 反应筛选阳性克隆。

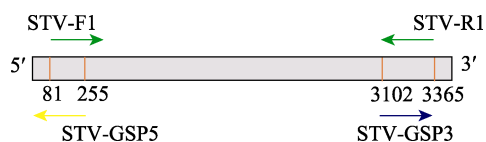


图 1 STV 基因组全长序列扩增策略

Fig. 1 Amplification strategy of STV genome full-length sequence

1.2.5 STV 基因组结构分析 使用 Vector NTI Advance 11 软件对测序结果进行校正、拼接。采用 NCBI 中 BLAST 程序进行相似性查找^[35]。使用在线工具 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 进行 ORF 预测。分别使用在线软件 MAFFT (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mafft/>) 和 Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) 进行核苷酸和氨基酸序列一致性比对。

1.2.6 STV 基因组序列的系统发育分析 利用 MEGA X 软件^[36]的 Clustal W 法进行多序列比对, 基于 STV 的全长基因组核苷酸序列, 采用最大似然法 (maximum likelihood, ML) 构建进化树, bootstrap 值设置为 1000。

1.2.7 STV 群体基因组序列相似性分析 为进一步明确系统进化树分组中 STV 分离物在基因组水平上的差异, 从组 I 和组 II 中选取 29 个代表性分离物, 连同本研究获得的 4 个海南分离物, 利用 SDT v1.2 软件^[37]和 Simplot 3.5 软件^[38]进行相似性比对分析。

1.2.8 重组分析 使用 RDP5 软件^[39]提供的 7 种重组检测算法 (RDP、GENECONV、BootScan、MaxChi、Chimaera、SiScan 和 3Seq) 对 STV 分离物的全基因组序列进行潜在重组事件分析, 参数为软件默认。为了保证分析结果的可靠性, 每个重组事件至少需要被上述 7 种算法中的 5 种所支持。

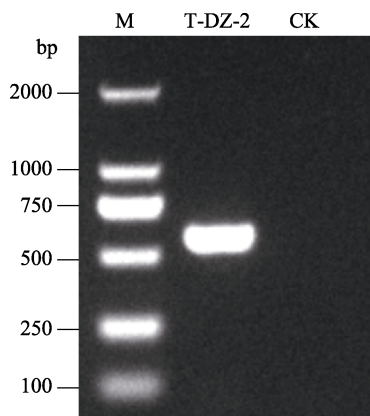
2 结果与分析

2.1 小 RNA 深度测序结果及 RT-PCR 验证

番茄样品经小 RNA 深度测序后获得 22 875 457 条 raw reads, 质控后得到 9 971 315 条 clean reads, 将质控后获得的序列进行拼接组装, 得到 1509 条 contigs, 将拼接结果与 NCBI 病毒库比对, 获得 3

条源于病毒的 contigs, 均匹配到 STV 基因组, 说明 T-DZ-2 样品中可能含有 STV。

为了验证小 RNA 深度测序结果的准确性, 利用 STV 特异性检测引物 STV-F 和 STV-R 对样品 T-DZ-2 进行 RT-PCR 检测 (图 2), 扩增到 582 bp 的目标条带, 将 PCR 产物直接测序。Blastn 比对分析发现, 目标条带序列与已公布的 STV 基因组序列相似一致性为 98.45%~99.83%, 说明样品 T-DZ-2 中存在 STV。



M: DL2000 DNA marker.

图 2 T-DZ-2 样品中 STV 的 RT-PCR 检测

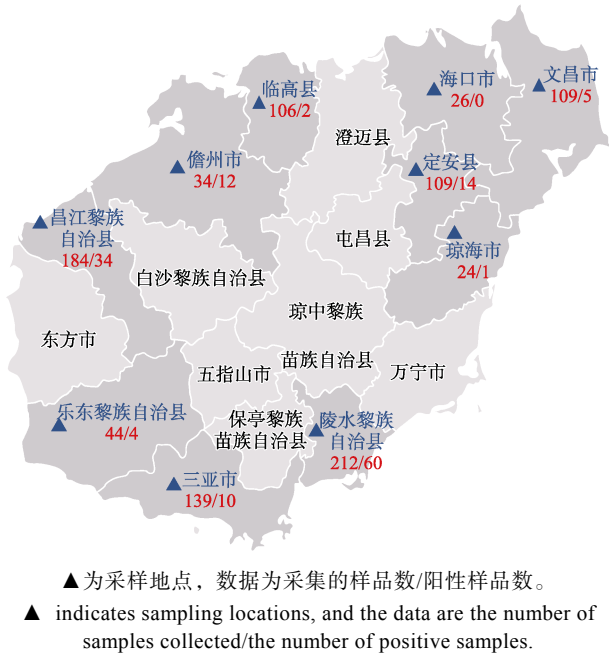
Fig. 2 Detection of STV in T-DZ-2 sample by RT-PCR

2.2 STV 在海南的发生与分布

利用 STV 特异性引物 STV-F 和 STV-R 对 2015—2021 年采集的 987 份番茄叶片样品进行检测, 结果表明: 在 9 个市 (县) 的 142 份样品中检测到 STV (图 3、表 2)。2015 年, 仅在陵水和昌江样品中检测到 STV。此后 STV 在海南的发生分布范围逐渐扩大, 检出率逐年增加, 到 2021 年, 在陵水、文昌、昌江、三亚、临高、定安、乐东、儋州、琼海共 9 个市 (县) 检测到 STV, 检出率由 2015 年的 8.82% 上升到 2021 年的 22.45%。上述结果说明, 至少从 2015 年开始, 海南番茄就已经被 STV 感染, 而且 STV 在田间的发病率总体呈逐年上升趋势。

2.3 STV 全基因组序列分析

使用引物对 STV-F1/STV-R1、STV-GSP5/UPM、STV-GSP3/UPM 分别对海南儋州 (T-DZ-2)、陵水 (T-LS-52)、定安 (T-DA-23) 和昌江 (T-CJ-15) 的 4 个 STV 分离物基因组编码区、5' 末端和 3' 末端非编码区进行扩增 (图 4), 将测序获得的 STV 基因组编码区序列与 5' 和 3' 末端序列拼接, 4 个分离物的全基因组序列长度均为 3446 nt, 不含 3'

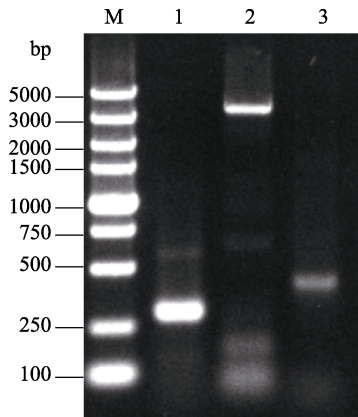


▲为采样地点，数据为采集的样品数/阳性样品数。
▲ indicates sampling locations, and the data are the number of samples collected/the number of positive samples.

图 3 2015—2021 年采样分布图
Fig. 3 Sampling distribution map from 2015 to 2021

表 2 2015—2021 年 STV 在海南番茄中的检出率
Tab. 2 Detection rate of STV in tomato in Hainan from 2015 to 2021

年份 Year	样品数 Number of samples	STV 阳性样品数 STV positive samples	检出率 Detection rate/%
2015	170	15	8.82
2016	170	16	9.41
2017	170	25	14.71
2018	123	18	14.63
2019	120	20	16.67
2020	136	26	19.12
2021	98	22	22.45



M: DL5000 DNA marker; 1: 5'端序列;
2: STV 主要片段; 3: 3'端序列。
M: DL5000 DNA marker; 1: The 5' terminal sequence;
2: Main fragment of STV; 3: The 3' terminal sequence.

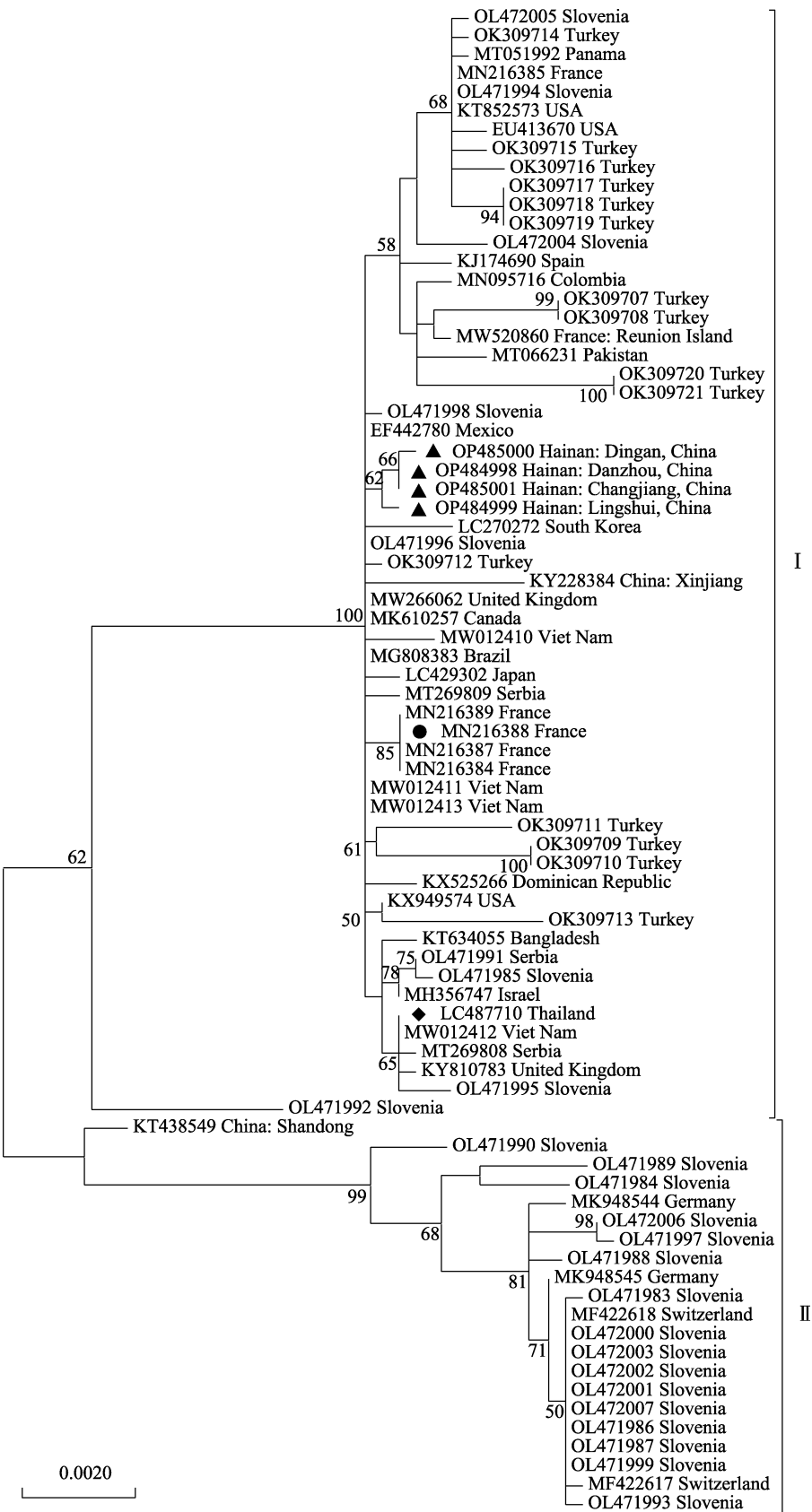
图 4 STV 全基因组扩增
Fig. 4 Amplification of complete genome of STV

端 poly(A)尾，GenBank 登录号分别为 OP484998、OP484999、OP485000、OP485001。STV 基因组包含 2 个部分重叠的 ORFs，ORF1 位于基因组 147~1280 nt，编码 377 aa。ORF2 位于基因组 1048~3336 nt，编码 762 aa。编码区 A+T 的含量为 50.72%~50.75%。在 993~999 nt 之间存在可能有助于核糖体移码的滑动序列 GGG AAGA；5'UTR 的长度为 146 nt，比已公布的 STV 分离物至少长 8 nt，A+T 的含量为 57.59%~58.12%。3'UTR 的长度为 110 nt，A+T 的含量为 68.18%~69.09%。基因组非编码区比编码区富含更多的 A+T。

本研究中的 4 个 STV 海南分离物间基因组核苷酸一致性为 99.86%~100.00%，*CP*、*RdRp* 的核苷酸一致性分别为 99.82%~100.00%和 99.91%~100.00%，氨基酸一致性分别为 99.73%~100.00%和 99.87%~100.00%；与我国已报道的 2 个 STV 分离物（KY228384，KT438549）的基因组核苷酸一致性分别为 99.53%~99.65%和 99.07%~99.19%，*CP*、*RdRp* 的核苷酸一致性分别为 99.47%~99.65%和 99.26%~99.74%，氨基酸一致性分别为 98.67%~99.73%和 99.34%~99.61%；与 GenBank 中所有已公布的 76 个 STV 分离物（截至 2022 年 9 月 28 日）基因组核苷酸一致性为 98.45%~99.94%，*CP*、*RdRp* 的核苷酸序列一致性分别为 98.68%~100.00%和 98.38%~100.00%，氨基酸序列一致性分别为 98.41%~100.00%和 98.95%~100.00%。与所有已知的 STV 分离物全基因组核苷酸序列一致性为 98.28%~100.00%，*CP*、*RdRp* 的核苷酸一致性分别为 98.41%~100.00%和 97.99%~100.00%，氨基酸一致性分别为 97.61%~100.00%和 98.29%~100.00%。

2.4 STV 的系统发育和重组分析

基于 80 个 STV 分离物的全基因组序列构建的系统进化树显示，STV 分离物明显分为 2 个组，组 I 包括亚洲、美洲、欧洲和非洲分离物；组 II 中除 1 个亚洲分离物外，其他均为欧洲分离物；欧洲的斯洛文尼亚分离物在组 I 和组 II 均有分布。我国的 6 个 STV 分离物中，4 个海南分离物在同一个小的进化分支上，与新疆分离物（KY228384）一起分在组 I，山东分离物（KT438549）分在组 II；泰国辣椒分离物（LC487710）和法国龙葵分离物（MN216388）分在组 I，与其他番茄分离物在小的进化分支上，未单独分支（图 5）。



▲：本研究中的分离物；●：来自龙葵的分离物；◆：来自辣椒的分离物。
▲：Isolate obtained in this study; ●：Isolate obtained from *Solanum nigrum*; ◆：Isolate obtained from *Capsicum annuum*.

图 5 基于 80 个 STV 分离物全基因组构建的系统进化树
Fig. 5 Phylogenetic trees constructed based on the complete genome of 80 STV isolates

全基因组重组分析结果表明,80 个 STV 分离物基因组间未发现重组事件。

2.5 STV 群体基因组序列相似性分析

为明确系统进化树分组中 STV 分离物在基因

组水平上的差异,从组 I 和组 II 中选取 29 个代表性分离物,与本研究获得的 4 个海南分离物,进一步利用 SDT 软件(图 6)和 Simplot 软件(图 7)进行相似性分析,发现 4 个 STV 海南分离物的核

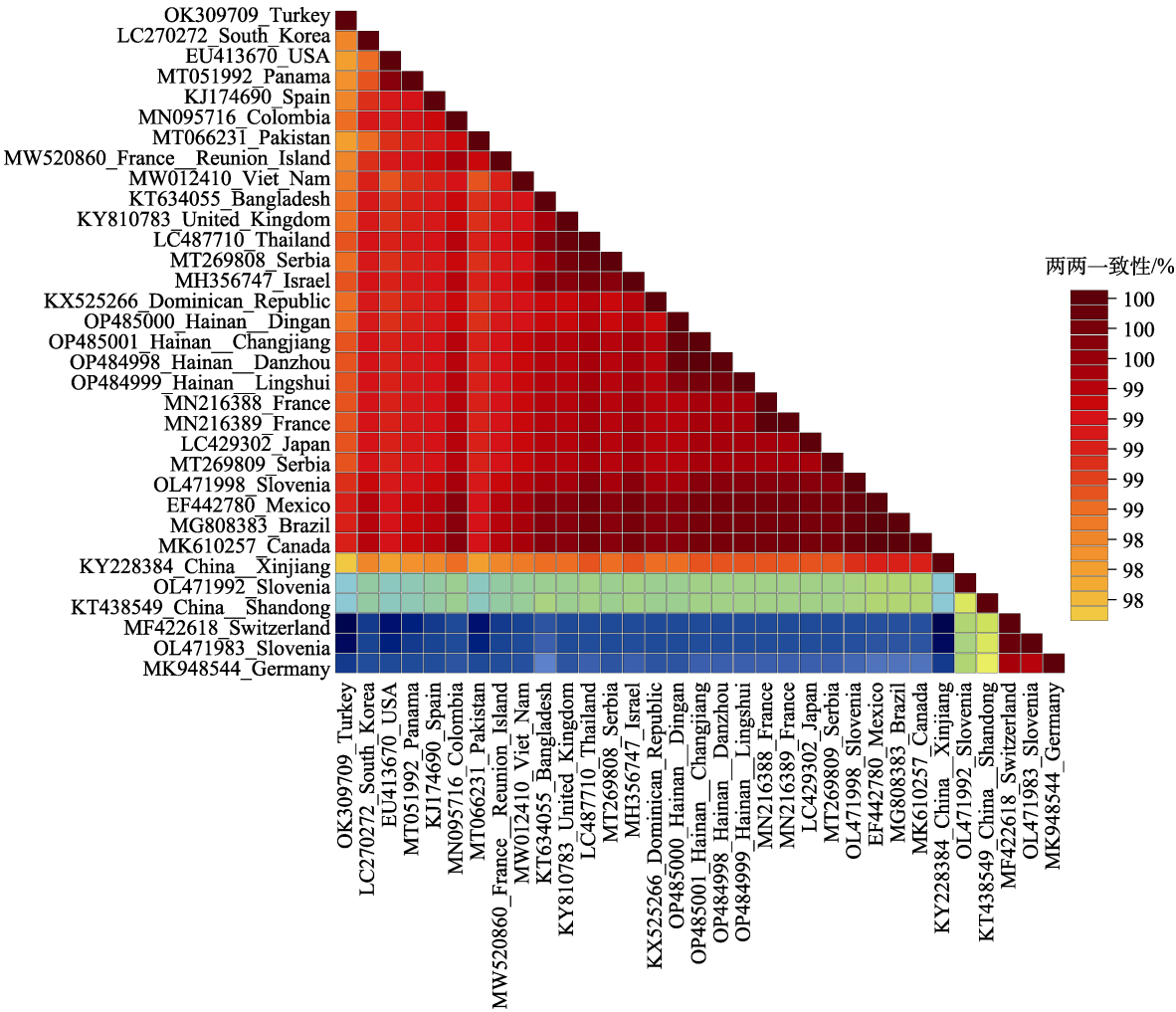


图 6 STV 海南分离物与其他 STV 分离物间的基因组核苷酸一致性矩阵
Fig. 6 The matrix of nucleotide identity of STV Hainan isolates and other STV isolates

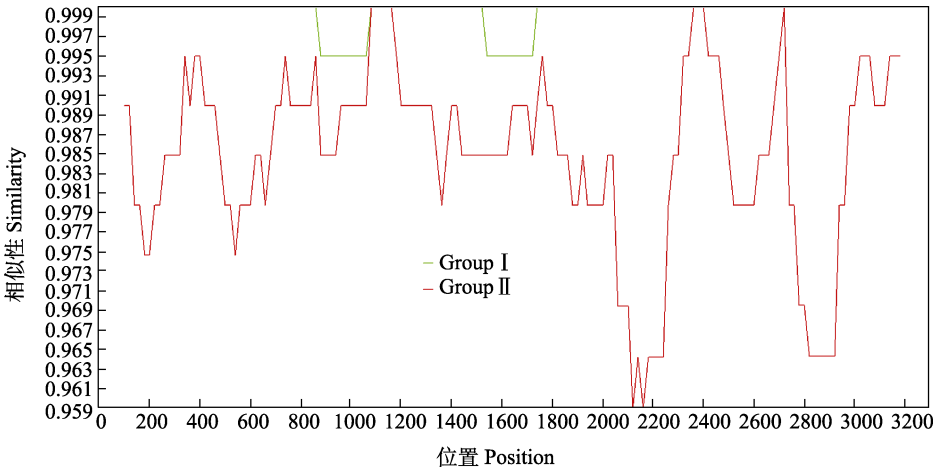


图 7 STV 海南分离物与其他 STV 分离物的序列相似性
Fig. 7 Sequence similarity between STV Hainan isolates and other STV isolates

苷酸序列与组 I 中用于分析的其他 STV 分离物间的相似性为 99.65%~100.00%, 基因组序列变异度比较高的区域位于 881~1061 nt 和 1521~1721 nt; 4 个 STV 海南分离物的核苷酸序列与组 II 中的分离物相似性为 98.72%~99.07%, 基因组序列变异度比较高的区域位于 2041~2241 nt 和 2761~2921 nt。

3 讨论

南方番茄病毒经常与其他病毒复合侵染番茄, 如在我国北京房山, STV 与番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV)、番茄褪绿病毒 (*Tomato chlorosis virus*, ToCV) 复合侵染番茄^[26]; 在意大利, STV 与凤果花叶病毒 (*Pepino mosaic virus*, PepMV) 和马铃薯 Y 病毒 (*Potato virus Y*, PVY) 复合侵染番茄^[11], 故 STV 单独侵染引起的寄主症状尚不明确。但本研究通过小 RNA 深度测序发现 1 株单独侵染番茄的 STV 分离物, 田间症状表现为叶脉坏死、叶脉间不均匀褪绿, 这些症状与 HARJU 等^[16]在英国南部发现的 STV 单独侵染番茄的表现症状极为相似, 与美国加利福尼亚的因皮里尔河谷^[1]、密西西比州东北部和墨西哥西南部^[2]发现的 STV 引起的番茄感病症状存在明显不同。STV 有时也会在健康植株上检测到^[17, 40], 研究人员甚至发现感染 STV 的番茄植株不仅会结出更多的果实, 而且结出的种子发芽率也高于无 STV 感染的植株^[8]。根据上述研究结果推测: STV 可能不仅存在致病性分化, 而且同一毒株对同一寄主植物不同品种的致病性也有很大差异。

所有已知的 STV 分离物全基因组核苷酸序列一致性为 98.28%~100.00%, 说明不同地理来源的 STV 基因组序列变异率低, 具有高度保守性。全基因组重组分析也未发现重组现象, 与 ELVIRA-GONZÁLEZ 等^[14]的分析结果一致。

GenBank 数据库 (截至 2022 年 9 月 28 日) 中共有 119 条 STV 序列, 其中 76 条为全基因组序列^[9]。STV 的自然寄主均为茄科植物, 除 3 个分离物的寄主为辣椒 (LC487710)、龙葵 (MN216388) 和灯笼果 (MN417999) 外, 其他分离物的寄主均为番茄^[8]。基于全基因组序列构建的系统进化树显示, 所有的 STV 分离物被明显分为 2 个组。除中国分离物 (5 个被分在组 I, 1 个被分在组 II)、塞尔维亚 (4 个被分在组 I, 1 个被分在组 II) 和斯洛文尼亚分离物 (6 个被分

在组 I, 16 个被分在组 II) 外, 同一国家的分离物均在同一组内, 如 5 个法国分离物、15 个土耳其分离物、2 个英国分离物、3 个美国分离物和 4 个越南分离物均被分在组 I, 2 个德国分离物和 2 个瑞士分离物均被分在组 II。泰国辣椒分离物 (LC487710) 和法国龙葵分离物 (MN216388) 被分在组 I (STV 灯笼果分离物的序列片段不完整, 未参与进化树构建), 与其他番茄分离物在小的进化支上, 未单独分支。说明 STV 分离物的分组与地域存在一定相关性, 而与寄主植物之间不存在相关性。由于 STV 分离物主要来自番茄, 而来自其他寄主植物的报道还较少, 上述推论还需要更多的试验数据进行验证。

2011 年, 我国首次在新疆番茄上发现 STV, 目前该病毒至少已在 10 个省 (区) 的番茄植株上检测到^[3, 8, 21-29], XU 等^[41]研究认为 STV 已经成为我国番茄上第四大流行病毒。本研究结果表明, 早在 2015 年, 海南陵水和昌江的田间番茄上就已存在 STV。到 2021 年, STV 已在陵水、文昌、昌江、三亚、临高、定安、乐东、儋州、琼海共 9 个市 (县) 检测到, STV 在海南的发生分布范围逐渐扩大, 发病率逐年上升。因为 STV 是严格的种传病毒, 有必要开展制种田中番茄的抽样检测工作, 对番茄种子实行严格检疫, 同时加强 STV 的田间监测, 及时清理早期感病植株, 对 STV 的综合防控具有重要意义。

参考文献

- [1] LAEMMLEN F F, VAN MAREN A F, ENDO R M, VALVERDE R A. A tomato decline of unknown etiology in Imperial Valley, CA[J]. *Phytopathology*, 1985, 75: 1287.
- [2] SABANADZOVIC S, VALVERDE R A, BROWN J K, MARTIN R R, TZANETAKIS I E. *Southern tomato virus*: the link between the families *Totiviridae* and *Partitiviridae*[J]. *Virus Research*, 2009, 140: 130-137.
- [3] 苏海娣, 梁学超, 崔百明, 郑银英, 王建江, 向本春. 新疆加工番茄上一种类似南方番茄病毒的分子检测[J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2013, 31(3): 271-275.
SU H D, LIANG X C, CUI B M, ZHENG Y Y, WANG J J, XIANG B C. Molecular detection of a virus similar to *Southern tomato virus* (STV) of processing tomato in Xinjiang[J]. *Journal of Shihezi University (Natural Science)*, 2013, 31(3): 271-275. (in Chinese)
- [4] PADMANABHAN C, ZHENG Y, LI R G, SUN S E, ZHANG D Y, LIU Y, FEI Z J, LING K S. Complete genome

- sequence of *Southern tomato virus* identified in China using next-generation sequencing[J]. *Genome Announcements*, 2015, 3(5): e01226-15.
- [5] OH J, LEE H K, PARK C Y, YEOM Y A, MIN H G, YANG H J. First report of *Southern tomato virus* in tomato (*Solanum lycopersicum*) in Korea[J]. *Plant Disease*, 2017, 102(7): 1467-1468.
 - [6] CHOI H, JO Y, CHO W K, YU J, TRAN P T, SALAIPETH L, KWAK H R, CHOI H S, KIM K H. Identification of viruses and viroids infecting tomato and pepper plants in Vietnam by metatranscriptomics[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21: 7565.
 - [7] FUKUHARA T, TABARA M, KOIWA H, TAKAHASHI H. Effect of asymptomatic infection with *Southern tomato virus* on tomato plants[J]. *Archives of Virology*, 2020, 165: 11-20.
 - [8] SAYERS E W, BOLTON E E, BRISTER J R, CANESE K, CHAN J, COMEAU D C, CONNOR R, FUNK K, KELLY C, KIM S, MADEJ T, MARCHLER-BAUER A, LANCZYCKI C, LATHROP S, LU Z, THIBAUD-NISSEN F, MURPHY T, PHAN L, SKRIPCHENKO Y, TSE T, WANG J, WILLIAMS R, TRAWICK B W, PRUITT K D, SHERRY S T. Database resources of the national center for biotechnology information[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D20-D26.
 - [9] CANDRESSE T, MARAIS A, FAURE C. First report of *Southern tomato virus* on tomatoes in southwest France[J]. *Plant Disease*, 2013, 97: 1124.
 - [10] MA Y X, MARAIS A, LEFEBVRE M, FAURE C, CANDRESSE T. Metagenomic analysis of virome cross-talk between cultivated *Solanum lycopersicum* and wild *Solanum nigrum*[J]. *Virology*, 2020, 540: 38-44.
 - [11] IACONO G, HERNANDEZ-LLOPIS D, ALFARO-FERNANDEZ A M, DAVINO M, FONT M I, PANNO S, GALIPENSO L, RUBIO L, DAVINO S. First report of *Southern tomato virus* in tomato crops in Italy[J]. *New Disease Reports*, 2015, 32: 27.
 - [12] VERBEEK M, DULLEMANS A M, ESPINO A M, BOTELLA M, ALFARO-FERNÁNDEZ A, FONT M I. First report of *Southern tomato virus* in tomatoes in Canary Island, Spain[J]. *Journal of Plant Pathology*, 2015, 97: 392.
 - [13] PUCHADES A V, CARPINO C, ALFARO-FERNANDEZ A, FONT-SAN-AMBROSIO M I, DAVINO S, GUERRI J, RUBIO L, GALIPIENSO L. Detection of *Southern tomato virus* by molecular hybridization[J]. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 2015, 96: 172-178.
 - [14] ELVIRA-GONZÁLEZ L, RUBIO L, GALIPIENSO L. Geographically distant isolates of the persistent *Southern tomato virus* (STV) show very low genetic diversity in the putative coat protein gene[J]. *Virus Genes*, 2020, 56: 668-672.
 - [15] PECMAN A, KUTNJAK D, GUTIÉRREZ-AGUIRRE I, ADAMS I, FOX A, BOONHAM N, RAVNIKAR M. Next generation sequencing for detection and discovery of plant viruses and viroids: comparison of two approaches[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1998.
 - [16] HARJU V, SKELTON A, LAZENBY M, RIMMER T, BUXTON-KIRK A, FOWKES A, FORDE S, WARD R, FREW L, BARKER R, ADAMS I, FOX A. First detection, symptoms and management of *Southern tomato virus* in the United Kingdom[J]. *New Disease Reports*, 2021, 43: e12014
 - [17] TURCO S, GOLYAEV V, SEGUIN J, GILLI C, FARINELLI L, BOLLER T, SCHUMPP O, POOGGIN M M. Small RNA-omics for virome reconstruction and antiviral defense characterization in mixed infections of cultivated *Solanum* plants[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2018, 31(7): 707-723.
 - [18] GAAFAR Y, LÜDDECKE P, HEIDLER C, HARTRICK J, SIEG-MÜLLER A, HÜBERT C, WICHURA A, ZIEBELL H. First report of *Southern tomato virus* in German tomatoes[J]. *New Disease Reports*, 2019, 40: 1.
 - [19] VUČUROVIĆ A, KUTNJAK D, MEHLE N, STANKOVIĆ I, PECMAN A, BULAJIĆ A, KRSTIĆ B, RAVNIKAR M. Detection of four new tomato viruses in Serbia using post-hoc high-throughput sequencing analysis of samples from a large-scale field survey[J]. *Plant Disease*, 2021, 105: 2325-2332.
 - [20] GARCÍA Y G, MONTOYA M M, GUTIÉRREZ P A. Detection of RNA viruses in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) by RNAseq using total RNA and dsRNA inputs[J]. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2020, 53(7): 1-19.
 - [21] PADMANABHAN C, ZHENG Y, LI R G, FEI Z J, LING K S. Complete genome sequence of *Southern tomato virus* naturally infecting tomatoes in Bangladesh[J]. *Genome Announcements*, 2015, 3(6): e01522-15.
 - [22] 闫亚莉. 基于小 RNA 深度测序技术检测鉴定山东省及周边地区番茄病毒种类[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019.
YAN Y L. Detection and identification of virus infecting tomato planted in Shandong province and surrounding areas based on small RNA deep sequencing[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2019. (in Chinese)
 - [23] 刘雪建. 浙江省和江西省蔬菜病毒鉴定与变异研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
LIU X J. Identification and molecular variation of viruses infecting vegetables in Zhejiang and Jiangxi provinces[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015. (in Chinese)

- [24] 马明鸽, 李彭拜, 王智圆, 吴根土, 李明骏, 孙现超, 青玲. 四川攀枝花番茄病毒病原分子鉴定[C]/彭友良, 王琦. 中国植物病理学会 2018 年学术年会论文集. 北京: 中国农业出版社, 2018: 309.
- MA M G, LI P B, WANG Z Y, WU G T, LI M J, SUN X C, QING L. Molecular identification of tomato virus disease in Panzhihua, Sichuan[C]/PENG Y L, WANG Q. Proceedings of the Annual Meeting of Chinese Society for Plant Pathology (2018). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2018: 309. (in Chinese)
- [25] 汝学娟, 罗佳, 郑阳, 潘光辉. 重庆秋番茄的病毒种类及分布[C]/中国园艺学会 2018 年学术年会论文摘要集, 2018: 159.
- RU X J, LUO J, ZHENG Y, PAN G H. Species and distribution of autumn tomato viruses in Chongqing[C]/Proceedings of the Annual Meeting of Chinese Society for Horticultural Science (2018), 2018: 159. (in Chinese)
- [26] 董云浩, 雷喜红, 李云龙, HUSSAIN M D, 周莹, 竺晓平, 周涛. 警惕种子传带的南方番茄病毒 *Southern tomato virus* 对我国番茄产业的危害[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 254-256.
- DONG Y H, LEI X H, LI Y L, HUSSAIN M D, ZHOU Y, ZHU X P, ZHOU T. Alarming the damage of seed-borne *Southern tomato virus* to tomato industry in China[J]. Plant Protection, 2019, 45(3): 254-256. (in Chinese)
- [27] 汤亚飞, 余小漫, 李正刚, 于琳, 蓝国兵, 邓铭光, 何自福. 广东番茄上首次检测到南方番茄病毒[C]/彭友良, 宋宝安. 中国植物病理学会 2021 年学术年会论文集. 北京: 中国农业出版社, 2021: 316.
- TANG Y F, SHE X M, LI Z G, YU L, LAN G B, DENG M G, HE Z F. *Southern tomato virus* was detected in tomato in Guangdong province for the first time[C]/PENG Y L, SONG B A. Proceedings of the Annual Meeting of Chinese Society for Plant Pathology (2021). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2021: 316. (in Chinese)
- [28] 吴贺, 荆诗韵, 刘丹, 谢洪芳, 詹国勤, 季英华, 陈虹宇, 陶小荣. 苏南五地(市)主要蔬菜作物的病毒种类、区域分布和发生趋势[J]. 植物病理学报, 2021, 51(3): 325-333.
- WU H, JING S Y, LIU D, XIE H F, ZHAN G Q, JI Y H, CHEN H Y, TAO X R. Geographical distribution and frequency of virus species infecting main vegetable crops in southern Jiangsu[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, 51(3): 325-333. (in Chinese)
- [29] 康华军, 李建设, 高艳明, 史娟, 石延霞, 谢学文, 李磊, 范腾飞, 李宝聚, 柴阿丽. 宁夏银川地区番茄斑萎病毒和南方番茄病毒复合侵染分子鉴定[J]. 中国蔬菜, 2022(4): 29-34.
- KANG H J, LI J S, GAO Y M, SHI J, SHI Y X, XIE X W, LI L, FAN T F, LI B J, CHAI A L. Molecular identification of co-infection of *Tomato spotted wilt virus* and *Southern tomato virus* in Yinchuan region of Ningxia[J]. China Vegetables, 2022(4): 29-34. (in Chinese)
- [30] 杨海燕, 崔百明, 张强, 陈英杰, 郑银英, 向本春. 新疆番茄病毒病检测及南方番茄病毒全基因组序列测定与传播特性分析[J]. 植物保护学报, 2017, 44(2): 253-259.
- YANG H Y, CUI B M, ZHANG Q, CHEN Y J, ZHENG Y Y, XIANG B C. Detection of tomato virus in Xinjiang and analysis of complete genomic sequence and transmission characteristic of *Southern tomato virus*[J]. Journal of Plant Protection, 2017, 44 (2): 253-259. (in Chinese)
- [31] TZANETAKIS I E, SABANADZOVIC S, VALVERDE R A. Amalgaviruses (*Amalgaviridae*)[M]/BAMFORD D H, ZUCKERMAN M. Encyclopedia of virology (4th Edition). Oxford: Academic Press, 2021: 154-157.
- [32] 刘勇, 李凡, 李月月, 张松柏, 高希武, 谢艳, 燕飞, 张安盛, 戴良英, 程兆榜, 丁铭, 牛颜冰, 王升吉, 车海彦, 江彤, 史晓斌, 何自福, 吴云锋, 张德咏, 青玲, 严婉荣, 杨学辉, 汤亚飞, 郑红英, 唐前君, 章松柏, 章东方, 蔡丽, 陶小荣. 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.
- LIU Y, LI F, LI Y Y, ZHANG S B, GAO X W, XIE Y, YAN F, ZHANG A S, DAI L Y, CHENG Z B, DING M, NIU Y B, WANG S J, CHE H Y, JIANG T, SHI X B, HE Z F, WU Y F, ZHANG D Y, QING L, YAN W R, YANG X H, TANG Y F, ZHENG H Y, TANG Q J, ZHANG S B, ZHANG D F, CAI L, TAO X R. Identification, distribution and occurrence of viruses in the main vegetables of China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(2): 239-261. (in Chinese)
- [33] 严婉荣, 赵志祥, 肖彤斌, 张善学, 文香玲, 王会芳. 海南辣椒、樱桃番茄病毒病调查及病原 dot-ELISA 鉴定[J]. 广东农业科学, 2021, 48(1): 119-125.
- YAN W R, ZHAO Z X, XIAO T B, ZHANG S X, WEN X L, WANG H F. Investigation and dot-ELISA pathogen identification of virus diseases in pepper and cherry tomato in Hainan[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2021, 48(1): 119-125. (in Chinese)
- [34] ZERBINO D R, BIRNEY E. Velvet: algorithms for *de novo* short read assembly using de Bruijn graphs[J]. Genome Research, 2008, 18 (5): 821-829.
- [35] ALTSCHUL S F, GISH W, MILLER W, MYERS E W, LIPMAN D J. Basic local alignment search tool[J]. Journal of Molecular Biology, 1990, 215: 403-410.
- [36] KUMAR S, STECHER G, LI M, KNYAZ C, TAMURA K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms[J]. Molecular Biology and Evolution,

- 2018, 35: 1547-1549.
- [37] MUHIRE B M, VARSANI A, MARTIN D P. SDT: a virus classification tool based on pairwise sequence alignment and identity calculation[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e108277.
- [38] LOLE K S, BOLLINGER R C, PARANJAPÉ R S, GADKARI D, KULKARNI S S, NOVAK N G, INGERSOLL R, SHEPPARD H W, RAY S C. Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination[J]. Journal of Virology, 1999, 73(1): 152-160.
- [39] MARTIN D P, VARSANI A, ROUMAGNAC P, BOTHA G, MASLAMONEY S, SCHWAB T, KELZ Z, KUMAR V, MURRELL B. RDP5: a computer program for analyzing recombination in, and removing signals of recombination from, nucleotide sequence datasets[J]. Virus Evolution, 2020, 7: veaa087.
- [40] ALCALÁ-BRISÉÑO R I, COŞKAN S, LONDOÑO M A, POLSTON J E. Genome sequence of *Southern tomato virus* in asymptomatic tomato ‘Sweet Hearts’[J]. Genome Announcements, 2017, 5: e01374-16.
- [41] XU C X, SUN X P, TAYLOR A, JIAO C, XU Y M, CAI X F, WANG X L, GE C H, PAN G H, WANG Q X, FEI Z J, WANG Q H. Diversity, distribution and evolution of tomato viruses in China uncovered by small RNA sequencing[J]. Journal of Virology, 2017, 9: e00173-17.