

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2013.03.13

柑橘衰退病毒基因组的简单重复序列分布分析

赵哲^{1,3}, 谭钟扬², 李世访³, 王红清^{1*}

(1. 中国农业大学农学与生物技术学院果树系, 北京 100193; 2. 湖南大学, 湖南长沙 410082; 3. 中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要: 柑橘衰退病毒(Citrus tristeza virus, CTV)属于长线性病毒科(Closteroviridae),是目前已知植物病毒中基因组最大的病毒,其引起的柑橘衰退病对全世界的柑橘产业造成严重影响。本文以在 GenBank 登录的 32 条全长 CTV 基因组序列为材料,分析简单重复序列(Simple Sequence Repeats, SSRs)在其基因组序列中的分布情况。研究结果显示,在所有的 CTV 基因组中均有 SSRs 的分布,SSRs 重复次数较少,二型 SSRs 占主导地位,未在 CTV 基因组序列中发现五型和六型 SSRs。在 32 条基因组全长序列中仅在 5 条序列中发现四型 SSRs。这是首次以柑橘病毒为材料进行的 SSRs 分析研究。

关键词: 柑橘衰退病毒;简单重复序列;植物病毒

中图分类号:Q518.2 文献标识码:A 文章编号:1672-5565(2013)-03-237-06

Distributional analysis of SSRs in genomes of citrus tristeza virus

ZHAO Zhe^{1,3}, TAN Zhong-yang², LI Shi-fang³, WANG Hong-qing^{1*}

(1. Department of Fruit Science, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;
2. Hunan University, Changsha 410082, China; 3. State Key Laboratory of Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: Citrus tristeza virus (CTV) belongs to the family of Closteroviridae, which has the biggest genome compared with the other plant viruses, and impacts on the worldwide citrus industry negatively. 32 complete genome sequences of CTV downloaded from GenBank were used to analyze the distribution of simple sequence repeats (SSRs) types. The results suggested that SSRs existed in all CTV genome sequences whereas the numbers were low. Dinucleotide repeats were the major type in CTV sequence while pentanucleotide repeats and hexanucleotide repeats were not found in CTV, and tetranucleotide repeats were rare, found in merely 5 of 32 CTV genome sequences. This is the first report about the SSRs analysis in citrus virus genome.

Key words: Citrus Tristeza Virus, Simple Sequence Repeats, Plant Viruses

柑橘衰退病毒(*Citrus tristeza virus*) (CTV)是属于长线性病毒科(*Closteroviridae*),长线性病毒属(*Closterovirus*)的一种正义单链 RNA 病毒,其基因组长 192 26 ~ 192 96nt,病毒粒子大小为 2 000nm × 12nm,是目前已知植物病毒中基因组最大的病毒^[1-4]。CTV 的基因组包含 12 个开放阅读框(Open Reading Frame, ORF),至少编码 19 种大小不同的蛋白质^[5]。由 CTV 引起的柑橘衰退病是世界范围内一种极对世界柑橘产业具有重要影响的病害^[6]。赵学源等在我国广东,广西,四川,湖南,江

西,浙江 6 省区发现 79.2% 的柑橘受到柑橘衰退病毒的感染^[7]。此外,有研究发现 CTV 还能引起蜜柑船形叶症状和柚的矮化病^[8]。

简单重复序列(Simple Sequence Repeats, SSRs)是一类以 1~6 个核苷酸为重复单位组成的串联序列^[9]。越来越多的研究证明 SSRs 在调控基因的复制,转录和稳定性等方面发挥着重要的作用^[10]。之前大部分的有关 SSRs 的研究侧重于其在真核和原核生物基因组中的分布规律^[11-12]。近年来,冯海平,彭军等人报道了动物病毒中 SSRs 的分布情况,

收稿日期:2013-03-20;修回日期:2013-04-21.

作者简介:赵哲,男,硕士研究生,研究方向:果树病毒学,生物信息学;E-mail:zhaoesd@163.com.

* 通讯作者:王红清,女,副教授,研究方向:园艺学与果树病毒学;E-mail:wanghq@cau.edu.cn.

然而迄今为止未有以植物病毒为材料进行的 SSRs 分析研究。本文以柑橘衰退病毒全长基因组为材料,分析了各型 SSRs 在其基因组中的分布情况及及其原因。这是首次对柑橘病毒基因组中的 SSRs 进行的一次分析研究。

1 材料与方法

从 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) 中搜索并下载来自 6 个大洲 11 个地区的已收录的 CTV 基因组全长序列共 32 条,相关信息

如表 1 所示。本研究使用 IMEx 在线 SSRs 分析软件的“Genome-level Extraction mode”分析这些基因组中所存在的 6 种 SSRs(一型,二型,三型,四型,五型和六型)^[13]。软件设置如下:重复类型(Type of Repeat):perfect;重复次数(Repeat Size):all;最小重复次数(Minimum Repeat Number):6,3,3,3,3,3。其他设置为默认数值。本文分析了各 CTV 基因组序列中六种 SSRs 的密度和丰度,并分析了序列间 SSRs 的平均相对密度和平均相对丰度,以及相应的标准偏差和变异系数,从而系统分析 CTV 基因组中 SSRs 的分布和波动情况。

表 1 CTV 基因组序列信息
Table 1 Information about the genomes of CTV

No.	Isolate	Acc. No.	Place	Host	Strain	size(nt)
C1	CT14A	JQ911663	China	Citrus sinensis	Mild	19 247
C2	AT - 1	JQ061137	China	Citrus sinensis	Mild	19 252
C3	CT11A	JQ911664	China	Citrus sinensis	Mild	19 253
C4	SP - T1	JX266712	Taiwan	Citrus grandis	SP	19 270
C5	M - T5	JX266713	Taiwan	Citrus grandis	Mild	19 236
C6	A18	JQ798289	Thailand	Citrus reticulata	SP	19 302
C7	Kpg 3	HM573451	India	Citrus reticulata	\	19253
C8	B165	EU076703	India	Citrus reticulata	VT	19 247
C9	NUagA	AB046398	Japan	Citrus sp.	SY	19 302
C10	T318A	DQ151548	Spain	Citrus sp.	SP	19 252
C11	T385	Y18420	Spain	Citrus sp.	SP	19 259
C12	Qaha	AY340974	Egypt	Citrus sp.	\	19 296
C13	TH30	FJ525434	New Zealand	Poncirus trifoliata	RB	19 270
C14	G90	FJ525432	New Zealand	Poncirus trifoliata	RB	19255
C15	M17	FJ525435	New Zealand	Poncirus trifoliata	RB	19 273
C16	TH28	FJ525433	New Zealand	Poncirus trifoliata	RB	19 255
C17	M12	FJ525431	New Zealand	Poncirus trifoliata	RB	19 255
C18	NZ - B18	FJ525436	New Zealand	Citrus sinensis	SP	19 245
C19	NZ - M16	EU857538	New Zealand	Citrus aurantifolia	SP	19 251
C20	B301	JF957196	Puerto Rico	sweet orange	RB	19 255
C21	\	DQ272579	Mexico	Citrus sp.	SP + DI	19 300
C22	T68 - 1	JQ965169	USA	Citrus macrophylla	\	19 246
C23	HA18 - 9	GQ454869	USA	Citrus latifolia	\	19 245
C24	HA16 - 5	GQ454870	USA	Citrus latifolia	\	19 269
C25	SY568	AF001623	USA	sweet orange	SP	19 249
C26	T36	NC_001661	USA	Citrus sp.	\	19 296
C27	T30	AF260651	USA	Citrus sp.	Mild	19 259
C28	FS2 - 2	EU937520	USA	Citrus sinensis	\	19 260
C29	FS2 - 2	EU937521	USA	Citrus sinensis	\	19 293
C30	FS2 - 2	EU937519	USA	Citrus sinensis	VT	19 251
C31	T36	U16304	USA	Citrus sp.	DI	19 296
C32	T36	AY170468	USA	\	IC	19 293

注:SY:苗黄;DI:下降诱导;SP:茎痘;RB:抗阻力;IC:感染性克隆;VT:媒介传播。

Notes: SY: seedling yellows; DI: decline inducing; SP: stem pitting; RB: resistance breaking; IC: infectious clone; VT: vector transmission.

2 结果分析

数据表明在所有 32 条 CTV 的基因组序列中都发现有 SSRs 的存在(见表 2,表 3),进一步证明了

SSRs 除了在真核和原核生物中广泛存在外,也在病毒的基因组中具有分布。在 SSRs 类型方面,五型和六型 SSRs 均未在 CTV 的基因组中被发现,一型,二型和三型 SSRs 在全部 32 条 CTV 基因组中均有分布仅有 5 条 CTV 序列(C12, C21, C26, C31 和 C32)

含有四型 SSRs (GTTT)_n。这一现象在真核与原核生物中比较少见,却与乙型肝炎病毒,基因组中 SSRs 的分布类似^[14]。同时,由表 4 可见,在 SSRs 的平均相对密度与平均相对丰度方面,一型与三型相近,二型大于一型和三型,此结果同样与 SSRs 在病毒基因组中的分布状况类似,这种现象可能与病毒基因组序列较小且序列突变率较高相关。

2.1 相对丰度数值分析

CTV 的基因组与真核生物和原核生物相比较小,约为 19 300nt。同样与真核和原核生物相比,CTV 基因组中 SSRs 的重复单元也较小。如表 2 所示,SSRs 在 C25 中为 139 个,在 C23 中为 235 个,平均含量为 185.69 个,远远小于真核生物和原核生物中 SSRs 的总数,而接近却也小于已报道的某些病毒中 SSRs 总数^[15],由此推测 SSRs 的数目总基因组大小成一定相关性^[16]。

表 4 所示,一型 SSRs 的相对丰度平均值为 1.68 (每 1 000nt 柑橘衰退病毒序列中含有的一型 SSRs 数量),标准偏差为 0.58,变异系数为 34.64,可见一型 SSRs 在 CTV 基因组中含量较低,并且含

量分布差异性较大。二型 SSRs 的平均相对丰度为 6.10,占 CTV 的 SSRs 总平均相对丰度(9.634)的 63.33%,由此可知 CTV 基因组中存在的 SSRs 主要为二型 SSRs。此外,二型 SSRs 平均相对丰度的标准偏差为 0.51,变异系数为 8.38,与一型 SSRs 平均相对丰度的变异系数相比较小,可知二型 SSRs 的含量在各 CTV 基因组中较为稳定。三型 SSRs 有 60 种之多,各种三型 SSRs 在 CTV 各基因组中分布较为分散,为了便于统计,本研究使用 Jerzy 对于三型 SSRs 的分类方法的三型 SSRs 分类法将其分为 10 类(T1 ~ T10)^[17]。T2, T3, T5 型 SSRs 含量较高,分别为 0.34, 0.32, 和 0.44。三型 SSRs 平均相对丰度值与一型相近,为 1.83,变异系数为 13.63,介于一型和二型变异系数之间。然而,仅在少数 CTV 基因组中发现四型 SSRs,且序列均为 (GTTT)_n 型重复,并且在基因组中含量近似,其相对丰度值均为 0.02。此外由表 2 可见,C23 的基因组中相对其他 CTV 序列含有最高的 SSRs 丰度,为 1.22,而 C25 中的 SSRs 丰度最低,相对丰度值为 0.72。未在 CTV 基因组中发现五型和六型 SSRs 的存在。

表 2 CTV 基因组中 SSRs 的数量与相对丰度

Table 2 Number and relative abundance of SSRs in CTV genome

No.	Size	Number of SSRs identified				Total	Relative abundance (%)				
		Mono -	Di -	Tri -	Ter -		Mono -	Di -	Tri -	Ter -	Total
C1	19247	18	117	31	0	166	0.94	6.08	1.61	0.00	8.62
C2	19252	18	116	37	0	171	0.93	6.03	1.92	0.00	8.88
C3	19253	18	113	34	0	165	0.93	5.87	1.77	0.00	8.57
C4	19270	36	97	31	0	164	1.87	5.03	1.61	0.00	8.51
C5	19236	30	116	37	0	183	1.56	6.03	1.92	0.00	9.51
C6	19302	44	99	46	0	189	2.28	5.13	2.38	0.00	9.79
C7	19253	24	116	42	0	182	1.25	6.03	2.18	0.00	9.45
C8	19247	24	117	28	0	169	1.25	6.08	1.45	0.00	8.78
C9	19302	19	102	31	0	152	0.98	5.28	1.61	0.00	7.87
C10	19252	18	109	34	0	161	0.93	5.66	1.77	0.00	8.36
C11	19259	18	103	32	0	153	0.93	5.35	1.66	0.00	7.94
C12	19296	48	131	29	3	211	2.49	6.79	1.50	0.16	10.93
C13	19300	30	110	51	0	191	1.55	5.70	2.64	0.00	9.90
C14	19270	48	127	43	0	218	2.49	6.59	2.23	0.00	11.31
C15	19255	31	116	49	0	196	1.61	6.02	2.54	0.00	10.18
C16	19273	42	121	41	0	204	2.18	6.28	2.13	0.00	10.58
C17	19255	42	113	38	0	193	2.18	5.87	1.97	0.00	10.02
C18	19255	24	123	34	0	181	1.25	6.39	1.77	0.00	9.40
C19	19245	31	127	37	0	195	1.61	6.60	1.92	0.00	10.13
C20	19251	48	138	40	0	226	2.49	7.17	2.08	0.00	11.74
C21	19255	36	140	35	3	214	1.87	7.27	1.82	0.16	11.11
C22	19246	36	132	30	0	198	1.87	6.86	1.56	0.00	10.29
C23	19245	60	137	38	0	235	3.12	7.12	1.97	0.00	12.21
C24	19269	12	119	28	0	159	0.62	6.18	1.45	0.00	8.25
C25	19249	26	85	28	0	139	1.35	4.42	1.45	0.00	7.22
C26	19296	48	131	32	3	214	2.49	6.79	1.66	0.16	11.09
C27	19259	24	106	29	0	159	1.25	5.50	1.51	0.00	8.26
C28	19260	18	106	32	0	156	0.93	5.50	1.66	0.00	8.10

续(表 2)

No.	Size	Number of SSRs identified					Relative abundance (%)				
		Mono -	Di -	Tri -	Ter -	Total	Mono -	Di -	Tri -	Ter -	Total
C29	19293	48	122	32	0	202	2.49	6.32	1.66	0.00	10.47
C30	19251	19	118	37	0	174	0.99	6.13	1.92	0.00	9.04
C31	19296	48	131	32	3	214	2.49	6.79	1.66	0.16	11.09
C32	19293	48	125	32	3	208	2.49	6.48	1.66	0.16	10.78
Aver	19265					184.60	1.62	6.07	1.88	0.01	9.58

注:表中 Aver 行的各个数值表示其对应列的平均数。Mono -, Di -, Tri -, Ter - 分别表示一,二,三,四型 SSRs。

Notes; Aver each row in the table represents the corresponding numerical averages. Mono -, Di -, Tri -, Ter - represent four styles of SSRs.

表 3 CTV 基因组中 SSRs 的含量与相对密度(kb)

Table 3 Content and relative density of SSRs in CTV genome

No.	Size	Content of SSRs identified (nt)					Relative density (%)				
		Mono -	Di -	Tri -	Ter -	Total	Mono -	Di -	Tri -	Ter -	Total
C1	19247	18	234	93	0	345	0.94	12.16	4.83	0.00	17.92
C2	19252	18	232	111	0	361	0.93	12.05	5.77	0.00	18.75
C3	19253	18	226	102	0	346	0.93	11.74	5.30	0.00	17.97
C4	19270	36	194	93	0	323	1.87	10.07	4.83	0.00	16.76
C5	19236	30	232	111	0	373	1.56	12.06	5.77	0.00	19.39
C6	19302	44	198	138	0	380	2.28	10.26	7.15	0.00	19.69
C7	19253	24	232	126	0	382	1.25	12.05	6.54	0.00	19.84
C8	19247	24	234	84	0	342	1.25	12.16	4.36	0.00	17.77
C9	19302	19	204	93	0	316	0.98	10.57	4.82	0.00	16.37
C10	19252	18	218	102	0	338	0.93	11.32	5.30	0.00	17.56
C11	19259	18	206	96	0	320	0.93	10.70	4.98	0.00	16.62
C12	19296	48	262	87	12	409	2.49	13.58	4.51	0.62	21.20
C13	19300	30	220	153	0	403	1.55	11.40	7.93	0.00	20.88
C14	19270	48	254	129	0	431	2.49	13.18	6.69	0.00	22.37
C15	19255	31	232	147	0	410	1.61	12.05	7.63	0.00	21.29
C16	19273	42	242	123	0	407	2.18	12.56	6.38	0.00	21.12
C17	19255	42	226	114	0	382	2.18	11.74	5.92	0.00	19.84
C18	19255	24	246	102	0	372	1.25	12.78	5.30	0.00	19.32
C19	19245	31	254	111	0	396	1.61	13.20	5.77	0.00	20.58
C20	19251	48	276	120	0	444	2.49	14.34	6.23	0.00	23.06
C21	19255	36	280	105	12	433	1.87	14.54	5.45	0.62	22.49
C22	19246	36	264	90	0	390	1.87	13.72	4.68	0.00	20.26
C23	19245	60	274	114	0	448	3.12	14.24	5.92	0.00	23.28
C24	19269	12	238	84	0	334	0.62	12.35	4.36	0.00	17.33
C25	19249	26	170	84	0	280	1.35	8.83	4.36	0.00	14.55
C26	19296	48	262	96	12	418	2.49	13.58	4.98	0.62	21.66
C27	19259	24	212	87	0	323	1.25	11.01	4.52	0.00	16.77
C28	19260	18	212	96	0	326	0.93	11.01	4.98	0.00	16.93
C29	19293	48	244	96	0	388	2.49	12.65	4.98	0.00	20.11
C30	19251	19	236	111	0	366	0.93	12.26	5.77	0.00	19.01
C31	19296	48	262	96	12	418	2.49	13.58	4.98	0.62	21.66
C32	19293	48	250	96	12	406	2.49	12.96	4.98	0.62	21.04
Aver	19265						1.68	12.21	5.50	0.10	19.48

注:表中 Aver 行的各个数值表示其对应列的平均数。Mono -, Di -, Tri -, Ter - 分别表示一,二,三,四型 SSRs。

Notes; Aver each row in the table represents the corresponding numerical averages. Mono -, Di -, Tri -, Ter - represent four styles of SSRs.

2.2 相对密度值分析

CTV 基因组中 SSRs 的平均相对密度较低,平均每 1kb 中仅有 19.48nt 的 SSRs。总 SSRs 的相对密度差异并不太明显,变异系数为 9.37,而某具体 SSRs 的丰度在各 CTV 基因组中含量变化较大(见表 4)。由表 4 可知,二型 SSRs 是 CTV 基因组中相对于其他类型的 SSRs 含量较高,平均相对密度为 12.21,排在第二位的是三型 SSRs,平均相对密度为 5.50。一型 SSRs 的平均相对密度为 1.68,并且在这些单核苷酸重复序列中“C”型含量最低,每 kb 基因组中仅有 0.09nt,仅为“T”型单核苷酸重复序列

的平均相对密度的九分之一。仅在少数 CTV 序列中发现四型 SSRs 并且均为“GTTT”*n* 型。五型和六型 SSRs 的丰度为 0。

虽然这 32 条 CTV 序列来自 6 个大洲的 11 个地区,从表 3 可知,虽然总 SSRs 的相对丰度具有一定的规律,但是由于分析样本较小,尚且无法做出较准确的关于 SSRs 丰度与 CTV 的地域相关性的论断。SSRs 密度最高(C23, 23.28%)和密度最低(C25, 14.55%)的 CTV 序列均来自美国,前者的含量是后者的 1.6 倍。这种差异可能与他们分离自不同的寄主以及病毒基因组变异率较高有关。

表4 CTV 基因组序列间 SSRs 的平均相对丰度和平均相对密度(kb)

Table 4 Average relative abundance and average relative density of SSRs in CTV genomes

Motif	Average relative abundance	Average relative density
A	0.39 ± 0.13 (33.94)	0.39 ± 0.13 (33.94)
C	0.09 ± 0.13 (50.00)	0.09 ± 0.13 (50.00)
G	0.40 ± 0.17 (41.89)	0.40 ± 0.17 (41.89)
T	0.80 ± 0.52 (64.60)	0.80 ± 0.52 (64.60)
Mono -	1.68 ± 0.58 (34.64)	1.68 ± 0.58 (34.70)
AC/CA	0.56 ± 0.15 (26.81)	1.11 ± 0.30 (26.81)
AG/GA	0.77 ± 0.19 (23.96)	1.55 ± 0.37 (23.96)
AT/TA	0.98 ± 0.18 (18.48)	1.95 ± 0.36 (18.48)
CG/GC	0.83 ± 0.23 (28.12)	1.66 ± 0.47 (28.12)
TC/CT	1.14 ± 0.33 (29.03)	2.28 ± 0.66 (29.03)
TG/GT	1.83 ± 0.27 (14.57)	3.66 ± 0.53 (14.57)
Di -	6.10 ± 0.51 (8.38)	12.21 ± 1.02 (8.38)
T1	0.07 ± 0.09 (125.00)	0.22 ± 0.27 (125.00)
T2	0.34 ± 0.17 (51.19)	1.01 ± 0.52 (51.19)
T3	0.32 ± 0.23 (70.96)	0.97 ± 0.69 (70.96)
T4	0.03 ± 0.05 (62.50)	0.09 ± 0.14 (62.50)
T5	0.44 ± 0.10 (23.04)	1.33 ± 0.31 (23.04)
T6	0.04 ± 0.06 (43.75)	0.13 ± 0.19 (43.75)
T7	0.17 ± 0.12 (81.25)	0.44 ± 0.36 (81.25)
T8	0.18 ± 0.09 (50.02)	0.53 ± 0.26 (50.02)
T9	0.22 ± 0.11 (50.00)	0.67 ± 0.34 (50.00)
T10	0.04 ± 0.06 (50.00)	0.18 ± 0.18 (50.00)
Tri -	1.83 ± 0.25 (13.63)	5.50 ± 0.75 (13.63)
GTTT	0.02 ± 0.04 (68.75)	0.10 ± 0.16 (68.75)
Total SSRs	9.64 ± 1.09 (11.30)	19.48 ± 1.83 (9.37)

注:T1 - T10 表示在 CTV 基因组中出现的三型 SSRs 的 10 种合。

Notes:T1:ATT,TAT;T2:ACA,CAA,GTT,TGT,TTG;T3:CTT,GAA,TCT,TTT;T4:GGA;T5:CCA,GGT,GTG,TGG;T6:CCG,GCC;T7:GAT,TCA,TGA;T8:ACG,CGA,GAC,GTC,TCG;T9:ACT,CTA,TAG;T10:CTG,GCT.

3 讨论

与其他类型 SSRs 相比,二型 SSRs 的滑动突变率较高,因此二型 SSRs 具有更高的不稳定性^[18]。在 CTV 基因组中,二型 SSRs 的相对丰度和密度均要大于其他种类的 SSRs,没有发现五型和六型 SSRs 的存在,并且仅有 5 条 CTV 序列中发现有(GTTT)_n型的四型 SSRs 的存在,这些分布现象与 SSRs 在乙型肝炎病毒中的分布情况类似^[14]。在 CTV 基因组中,一型 SSRs 的相对丰度与三型接近,但是相对密度要低于三型,而在甲型流感病毒 HA 基因中,一型 SSRs 是含量最高的 SSRs。由此可见在不同的病毒中,SSRs 的分布具有特异性。

在 CTV 基因组中 SSRs 的总重复次数和含量均较低,不但远低于真核生物和原核生物中 SSRs 的相对丰度值和相对浓度值,也低于其他种类病毒中 SSRs 的含量。产生这一现象的原因可能与 CTV 基因组的大小和 CTV 基因组的突变率较大有关。

CTV 基因组中总 SSRs 的平均相对密度值与平均相对丰度值比较稳定,但是各 SSRs 在不同的 CTV 基因组中含量差异较大。此现象可能与 CTV 基因组较大的突变率有关,但 CTV 的相对稳定的 SSRs 含量的功能仍然未知。相对于其他一型 SSRs 相比,单核苷酸重复序列“C”在 CTV 中分布非常少。在

二型 SSRs 中,(TG/GT)_n 型重复序列的相对密度最大,是(AC/CA)_n 型的三倍,说明 CTV 基因组中同种类型 SSRs 在核苷酸序列选择方面具有偏好性。相对于其他种类的三型 SSRs,包(GTT)_n,(TGT)_n,(CTT)_n,(TGG)_n 的含量较大,并且(TGG)_n 是唯一在所有 CTV 基因组序列中均存在的三型 SSRs,表现出明显的偏好性。但是三型 SSRs 的重复个数一般为 3 个或 4 个,与二型 SSRs 相比表现出较低的稳定性,而较少被发现的四型及未出现的五型和六型 SSRs 更加证明了这从另一个角度证明了病毒基因组高度的变异性。

4 结论

通过分析已报道的 CTV 全长基因组序列,发现在其基因组中均有 SSRs 的存在。相对于已知的动物病毒基因组中的 SSRs,CTV 基因组中 SSRs 的平均相对密度与丰度较低,但是仍表现出一定的规律性。在 CTV 各基因组中,二型 SSRs 的相对丰度和密度最高,一型 SSRs 的相对丰度与三型接近,但是相对密度要低于三型。仅在少数 CTV 序列中发现四型 SSRs,且均为(GTTT)_n 型重复。未发现五型和六型 SSRs 的存在。本研究首次分析了柑橘病毒基因组中 SSRs 的分布情况,是继赵相艳等之后第二次以植物病毒为材料分析 SSRs 的分布情况,为 CTV

病毒及其他植物病毒的研究提供了数据支持^[19]。

参考文献(References)

- [1] Karasev A. V. , Boyko V. P. , Gowda S. , Nikolaeva O. V. , Hilf M. E. , Koonin E. V. , Niblett C. L. , Cline K. , Gumpf D. J. , Lee R. F. , Garnsey S. M. , Lewandowski D. J. , Dawson W. O. Complete sequence of the citrus tristeza virus RNA genome [J]. *Virology*, 1995, 208:511-520.
- [2] Yang Z. N. , Mathews D. M. , Dodds J. A. , Mirkov T. E. Molecular characterization of isolate of citrus tristeza virus that cause severe symptoms in sweet orange [J]. *Virus Genes*, 1999, 19:131-142.
- [3] Vives M. C. , Rubio L. , López C. , Navas-Castillo J. , Albiach-Marti M. R. , Dawson W. O. , Guerri J. , Flores R. , Moreno P. The complete genome sequence of the major component of a mild citrus tristeza virus isolate [J]. *Journal of General Virology*, 1999, 80:811-816.
- [4] Karasev A. V. , Dawson W. O. , Hilf M. E. , Garnsey S. M. Molecular biology of citrus tristeza virus; implications for disease diagnosis and control [J]. *Acta Horticulturae*, 1998, 472:333-337.
- [5] 余冬冬,刘永清,王国平. 柑橘衰退病毒研究进展[J]. *果树学报*, 2003, 20(3):224-229.
- [6] Roistacher C. N. Should we introduce protective isolates of Citrus tristeza virus [J]. *Citrograph*, 1992, 77:5-9.
- [7] 赵学源,蒋元晖,张权柄,邱柱石,苏维芳. 柑桔苗黄型衰退病毒的分布情况和六种酸橙砧木对它的反应[J]. *植物病理学报*, 1979, 9(1):61-64.
- [8] 周常勇,赵学源,蒋元晖,戴胜根,唐科志,杨方云,黄森,杨育龙,李宗明,王兆兰,张高明,谭晓,张学武. 柚矮化病调查和病原鉴定[J]. *中国南方果树*, 1998, 27(3):20-21.
- [9] Zhang L. , Yuan D. , Yu S. , Li Z. , Cao Y. , Miao Z. , Qian H. , Tang K. Preference of simple sequence repeats in coding and non-coding regions of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Bioinformatics*, 2004, 20:1081-1086.
- [10] Usdin K. The biological effects of simple tandem repeats: Lessons from the repeat expansion diseases[J]. *Genome Research*, 2008, 18:1011-1019.
- [11] Rauscher G. , Simko I. Development of genomic SSR markers for fingerprinting lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars and mapping genes[J]. *BMC Plant Biology*, 2013, doi: 10.1186/1471-2229-13-11.
- [12] Duran C. , Singhania R. , Raman H. , Batley J. , Edwards D. Predicting polymorphic EST-SSRs in silico [J]. *Mol Ecol Resour*, 2013, doi:10.1111/1755-0998.12078.
- [13] Guyot B. , Murai K. , Fujiwara Y. , Valverde-Garduno V. , Characterization of a Megakaryocyte – specific Enhancer of the Key Hemopoietic Transcription Factor GATA1 [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281:13733-13742.
- [14] 冯海平,谭钟扬,李丹,赵相艳,李明福,欧阳清检. 乙型肝炎病毒 B2 和 C2 亚型中 SSRs 的比较分析[J]. *生物信息学*, 2011, 9(4):1672-5565.
- [15] 彭军,谭钟扬,蔡立军,易丽萍,赵相艳. 甲型流感病毒 HA 基因的简单重复序列分布分析[J]. *生物信息学*, 2011, 9(1):54-59.
- [16] Zhao X. , Tan Z. , Feng H. , Yang R. , Li M. , Jiang J. , Shen G. , Yu R. Microsatellites in different Potyvirus genomes: Survey and analysis[J]. *Gene*, 2011, 488:52-56.
- [17] Jurka J. , Pethiyagoda C. Simple Repetitive DNA Sequences from Primates: Compilation and Analysis [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, 40:120-126.
- [18] Katti M. V. , Ranjekar P. K. , Gupta V. S. Different distribution of simple sequence repeats in eukaryotic genome sequences[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2001, 18:1161-1167.
- [19] Zhao X. , Tian Y. , Yang R. , Feng H. , Ouyang Q. , Tian Y. , Tan Z. , Li M. , Niu Y. , Jiang J. , Shen G. , Yu R. Coevolution between simple sequence repeats (SSRs) and virus genome size[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13:435.
- [12] Yuuki Inoue, Mariko Endo, Chiaki Haruta, Toru Taniuchi, Tadaaki Moritomo, Teruyuki Nakanishi. Molecular cloning and sequencing of the silver chimaera (*Chimaera phantasma*) interleukin-8 cDNA[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2003, 15(3):269-274.
- [13] Eun-Young Lee, Hyoun-Hyang Park, Young-Tae Kim, Jong-Kyeong Chung, Tae-Jin Choi. Cloning and sequence analysis of the interleukin-8 gene from flounder (*Paralichthys olivaceous*) [J]. *Gene*, 2001, 274(1-2):237-243.
- [14] 胡云凤,孙军,林小涛,梁卉. 斜带石斑鱼白细胞介素 8 基因的克隆与表达分析[J]. *暨南大学学报*, 2010, 31(3):325-330.
- [15] Kerry J Laing, Niels Bols, Christopher J Secombes. A CXC chemokine sequence isolated from the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* resembles the closely related interferon-gamma-inducible chemokines CXCL9, CXCL10 and CXCL11 [J]. *European Cytokine Network*, 2002, 13:462-473.
- [16] Alexander M. Najakshin, Ludmila V. Mechetina, Boris Y. Alabyev, Alexander V. Taranin. Identification of an IL-8 homolog in lamprey (*Lampetra fluviatilis*): early evolutionary divergence of chemokines[J]. *European Journal of immunology*, 1999, 29:375-382.

(上接第 236 页)