

温度对番茄花叶病毒 (ToMV) 增殖及番茄 叶片可溶性蛋白变化的影响

许仁林 易琼华

(江苏省农科院遗传生理所, 南京210014)

提 要

局部枯斑法测定结果表明, 番茄 GCR-267 品系叶片内 ToMV 的含量仅为番茄 GCR-26 品系叶片内病毒含量的 1/40—1/50; GCR-267 品系含有的 Tm-2* 基因对 ToMV 增殖的抑制作用不受温度变化的影响; 而 ToMV 在 GCR-26 体内的增殖却依赖于环境温度, 高温对它有部分的抑制作用。

用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析上述两个品系在常温 and 高温下接种 ToMV 后其叶片可溶性蛋白的变化, 结果发现在 GCR-26 品系中, ToMV 的增殖与寄主体内新产生的 14.2KD 蛋白呈正相关, 而在 GCR-267 品系中未检测到这种蛋白。我们推测 14.2KD 蛋白可能是一种能参与或促进 ToMV 增殖过程的温度敏感因子, 称之为番茄“S”蛋白。

关键词: 番茄花叶病毒 番茄“S”蛋白 近等基因系

病毒侵染寄主后对寄主产生的危害与两方面的因素有关, 其一是寄主基因表达的改变, 二是病毒的增殖^[14]。番茄上这两方面的研究近年来已有不少报道^[6,8,7,8,9,11,12]。我们通过对接种 ToMV 后不同抗性番茄品系叶片可溶性蛋白的电泳分析, 发现抗病品系 GCR-267 在常温下感染 ToMV 后, 其叶片可溶性蛋白的变化很小, 而感病品系 GCR-26 受 ToMV 侵染后其叶片可溶性蛋白的变化却很大, 除了检测到 ToMV 的外壳蛋白大量产生外, 还检测到几种新增加的蛋白质, 其中 Rf0.39 蛋白与病毒外壳蛋白的产生有平行关系, 此外还发现有一部分蛋白质的含量减少^[1]。为了进一步弄清 Rf0.39 蛋白与 ToMV 增殖间的关系, 同时研究温度对 ToMV 增殖和番茄叶片可溶性蛋白变化的影响, 我们设计了本实验, 这里报道研究的初步结果。

材料与方 法

一、供试植物和病毒

枯斑寄主选用心叶烟 (*N. glutinosa*), 番茄为近等基因系 GCR-26(+ / +) 和 GCR-267 (Tm-2* / Tm2*) 两个品系; 病毒为 TMV 番茄 O 株系即 ToMV。毒源制备, 番茄育苗及病毒接种等方法均同前报道^[1]。接种后把植株分为常温 (25℃) 和高温 (34℃) 两个处理组, 立即转入人工气

本文于1988年7月19日收到

候箱内培育, 控制其它实验条件完全一致(光照: 30,000lux/12小时/天; 相对湿度: 65—80%)。

二、病毒含量的测定

采用局部枯斑法^[2], 枯斑寄主为四叶龄心叶烟幼苗。对各处理组在接种 ToMV 后第 7 天, 第 10 天取供试番茄植株的下部接种叶片和上部新生幼叶, 干燥保存备用。测定时取等量的干燥带毒叶片加 10 倍体积的 PBS (0.01mol/L, pH7.2) 置于消毒的研钵内磨成匀浆, 再用 PBS 稀释 10 倍后作为接种病毒液, PBS 用作对照。接种后的枯斑寄主的培育条件为: 光照 8,000—10,000lux/12 小时/天; 温度白天为 23—25℃, 夜晚为 18—22℃。培育 48 小时后统计枯斑数目。为减少实验误差, 选取叶位, 叶龄及叶面积基本相同的心叶烟幼苗作病毒增殖的相对含量测定, 每一种材料共接种 3 张叶片。

三、叶片可溶性蛋白的提取和电泳

1. 非变性 PAGE: 叶片可溶性蛋白用 0.1mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH8.0) 提取, 然后在 10% (W/V) 聚丙烯酰胺凝胶平板上电泳, 方法同前^[1]。上样量为 15μl 叶片可溶性蛋白提取液, 含 132μg 可溶性蛋白。电泳后凝胶用考马斯亮兰 R-250 染色, 脱色后蛋白质区带用岛津 Cs-910 双波长色谱仪扫描记录。2. SDS-PAGE: 番茄叶片可溶性蛋白的提取及分离按下述方法进行: 取 1 克新鲜番茄叶片加 4 ml 0.1mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH8.0 含 0.5mol/L 蔗糖; 5mmol/L MgCl₂; 0.1% 半胱氨酸 (W/V) 和 0.1% 抗坏血酸 (W/V) 在冰浴中研磨成匀浆, 四层尼龙纱布过滤, 研钵再用 1 ml 的缓冲液清洗, 过滤, 合并二次滤液用 850g 冷冻离心 3 分钟; 去沉淀, 绿色上清液再用 72,000g 冷冻离心 3 小时, 去沉淀, 上清液中加入 3 倍体积的冷丙酮 (4℃ 予冷 12 小时), 置 -20℃ 至少 1 小时, 然后再用 10,000g 离心 10 分钟, 沉淀经真空干燥后用 0.5ml 的 SDS-样品缓冲液 (SEB: 0.0625mol/L Tris-HCl, pH6.8, 含 2% SDS, 5% α-巯基乙醇和 10% 甘油) 溶解, 不溶物再经 2,400r/m (TGL-16 型台式高速离心机) 离心 10 分钟除去, 上清液即为分离的番茄叶片可溶性蛋白样品液。将此液煮沸 3 分钟, 冷却后即可点样进行 SDS-PAGE。SDS-PAGE 按 Laemmli 的方法^[10]进行。电泳条件同前^[1]。

结 果

(一) 不同抗性番茄品系感染 ToMV 后的症状表现

抗病品系 GCR-267 接种 ToMV 后, 在 25℃ 外观不表现任何症状, 长势亦与健株相同, 但在 34℃, 接种后第六天接种植株的子叶便明显黄化并逐渐枯萎, 第 7 天上部新生幼叶出现扭曲、叶变小, 第 10 天可观察到系统性叶、茎部坏死, 植株矮化。这是一种不完全的过敏性抗病反应^[9]。由此可见, 高温会改变由 Tm-2^a 基因所控制的抗病反应类型。

感病品系 GCR-26 接种 ToMV 后表现为系统花叶症状, 不过, 它们在两种温度中的症状表现却存在差别。在常温 (25℃) 中病株的子叶从接种后第 5 天开始黄化并逐渐枯萎, 接着第 1 对真叶 (接种叶) 变黄, 第 7 天在新生幼叶上出现退绿和轻度花叶, 第 10 天就表现为典型的花叶症状, 但植株矮化不明显。在高温 (34℃) 下, 病症表现较早且危害程度加重。接种后第 3 天子叶就开始变黄, 第 4 天枯萎, 第 5 天第 1 对真叶变黄, 新生幼叶上出现花叶症状, 植株亦矮化; 此后新生幼叶有的扭曲, 叶色变淡, 但花叶症状反而不明显。这显然是高温隐症现象^[3]。

(二)病株体内病毒增殖的相对含量

局部枯斑法测定结果见表1。从表中可以看出,抗病品系 GCR-267 接种 ToMV 后无论在哪一种温度中生长,其体内的 ToMV 含量均比感病品系 GCR-26 少得多,前者只有后者的 1/40—1/50。这个结果与 Motoyoshi 等人的报道是一致的,它表明在整株水平上 ToMV 的增殖受到 Tm-2^{*} 基因强有力地抑制,这种抑制作用并不受温度变化的影响。

表1 番茄病株体内 ToMV 含量的局部枯斑法测定结果

Table 1. Relative concentration of ToMV in diseased tomato plants by local lesion test

材 料 Materials	接种后天数 Days after inoculation	枯斑数目 ^a No. of local lesions	
		25°C	34°C
接种叶片 GCR-26 Inoculated leaves	7	48.3	45.3
	10	51.0	19.6
(+/+) 新生叶片 New leaves	7	6.8	12.7
	10	27.0	19.8
接种叶片 GCR-267 Inoculated leaves	7	1	1
	10	1	0
(Tm-2 [*] /Tm-2 [*]) 新生叶片 New leaves	7	0	1
	10	0	1

a. 三个重复结果的平均值 Mean value of three repetitions

b. 植株生长温度 Plant growth temperature

ToMV 在 GCR-26 品系内的增殖似乎有如下特点:接种后 ToMV 先在接种叶片内增殖,然后向新生幼叶转移,当新生幼叶显症时其中的病毒含量即大大增加。比较在两种温度生长的病株叶片中 ToMV 的含量可以看到,在接种后第 7 天,25°C 生长的病株比 34°C 生长的病株的病毒含量要高;到接种后第 10 天,25°C 生长的病株的接种叶片中 ToMV 的含量仍有增加,而同期在 34°C 生长的病株的接种叶片中 ToMV 的含量却大为减少。新生幼叶内 ToMV 的含量虽然在两种温度都有增加,但 25°C 生长的病株比 34°C 生长的病株增加多得多。这些数据表明,ToMV 在 GCR-26 品系内的增殖依赖于植株生长温度,高温对它的增殖有抑制效应。这与 Fraser 等人(1982)的研究结果相吻合^[5]。

(三)接种 ToMV 后不同抗性蕃茄品系叶片可溶性蛋白的变化及植株生长温度对它们的影响

1. 非变性-PAGE 蛋白质图谱的比较分析

蕃茄抗病品系 GCR-267 与感病品系 GCR-26 叶片可溶性蛋白的电泳结果(表 2)显示,两个品系健株的蛋白质组成基本相同,但是接种病毒后的病株的蛋白质组成两者间就产生了显著的差异;同一品系接种 ToMV 后在常温或高温中生长其叶片可溶性蛋白的变化趋势也不相同,这种现象感病品系 GCR-26 表现尤为明显。

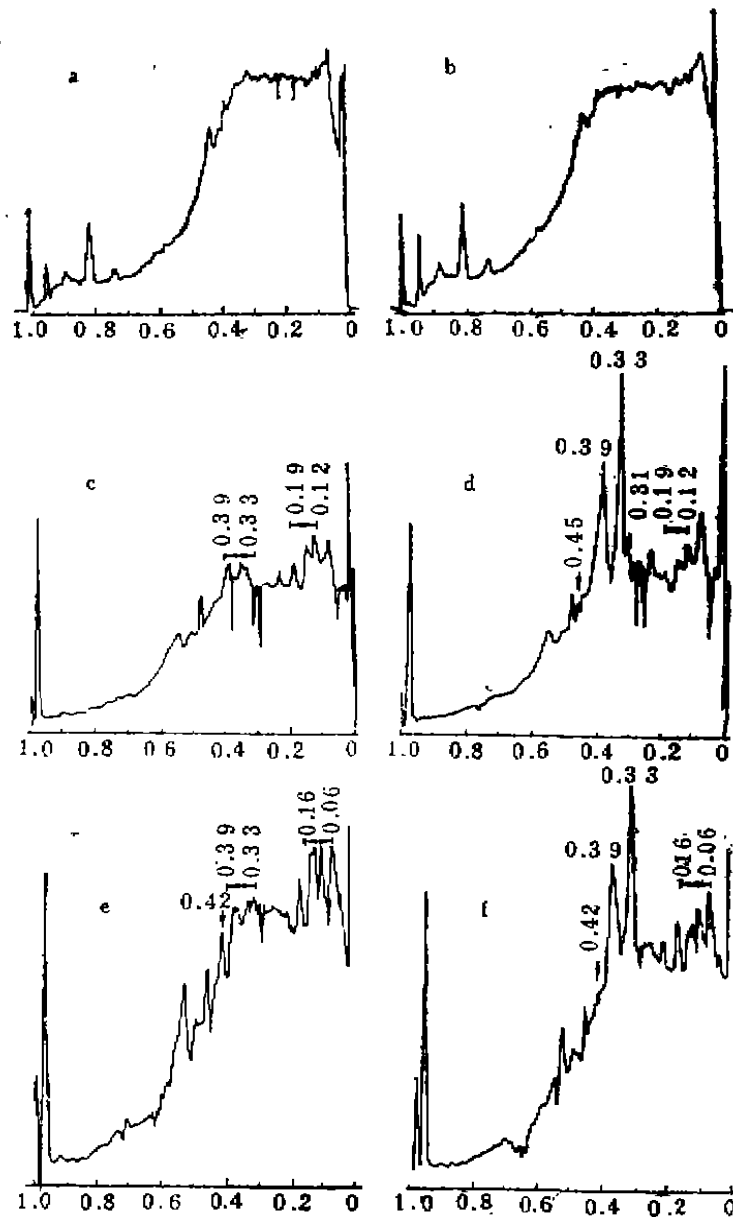


图1 GCR-26 幼苗叶片可溶性蛋白的 PAGE 图谱, 植株生长温度 25℃。对照株 (a, b, e) 和 ToMV 接种株 (b, d, f)。叶片可溶性蛋白的提取时间分别为接种后第 2 (a, b)、7 (c, d) 和 10 (e, f) 天。电泳加样量 15 μ l 提取液, 分离胶浓度 10%。蛋白质区带位置用 Rf 值表示, 溴酚兰前沿作为 1.00。

Fig 1 Densitometer tracings of protein patterns of GCR-26 inoculated with buffer (a, e and e) or with ToMV (b, d and f) at 25°C. The soluble leaf proteins were extracted 2 (a, b), 7 (c, d) and 10 (e, f) days after inoculation. Electrophoresis of 15 μ l of centrifuged extracts was conducted in 10% polyacrylamide gels. The position of the bands is expressed by their Rf value, taking the distance traveled by bromophenol blue tracking dye as 1.00.

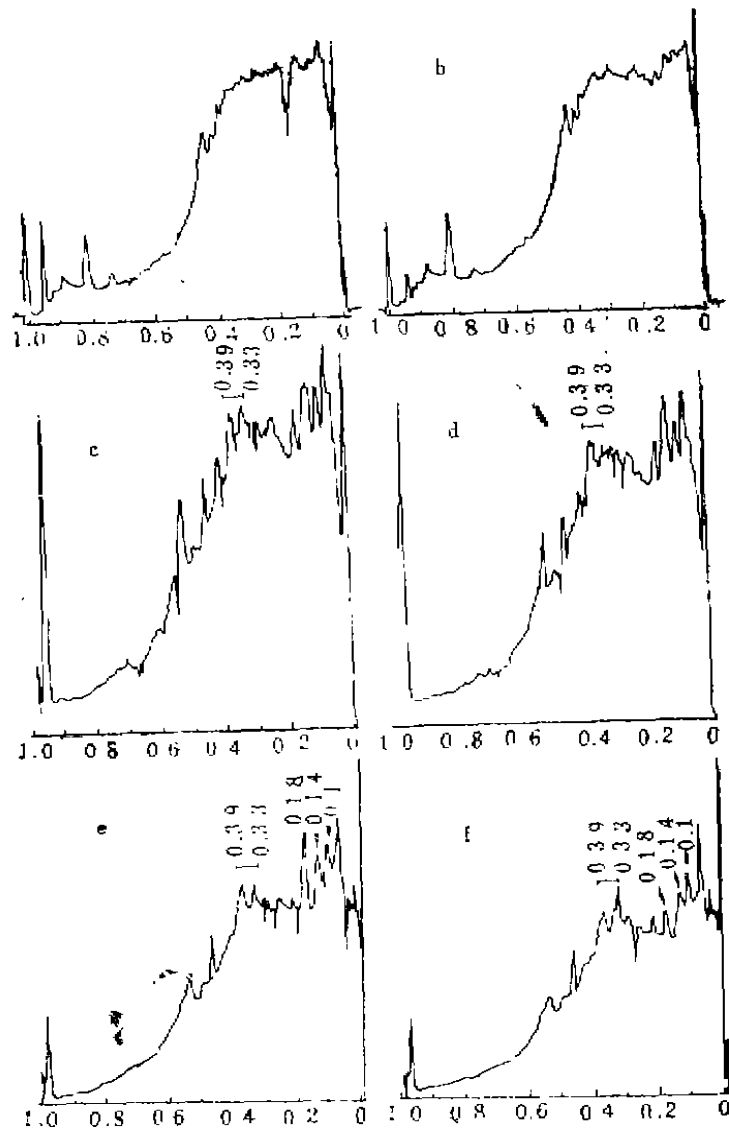


图2 GCR-267幼苗叶片可溶性蛋白的PAGE图谱, 植株生长温度25°C, 说明同图1.

Fig. 2. Densitometer tracings of protein patterns of GCR-267 inoculated with buffer (a, c and e) or with ToMV (b, d and f) at 25°C.

Details see Fig 1.

图1是25°C中生长的蕃茄幼苗叶片可溶性蛋白提取液电泳图谱。从图中看出, 在接种处理后的初期阶段, GCR-26病株和健株的叶片可溶性蛋白组成无差别(图1a, b), 到接种后7天, 与健株相比较, 病株内除Rf0.12—0.19区间的蛋白质含量减少外, 还出现四种新蛋白质即Rf0.31、0.33、0.39和0.45, 其中Rf0.33和0.39两种蛋白质的含量很大(图1c, d), 经鉴定Rf0.33是在病株内增殖的ToMV外壳蛋白带⁽¹⁾。接种后十天, Rf0.33和0.39两带继续积累, 而Rf0.31和0.45两带趋于消失, 与同期

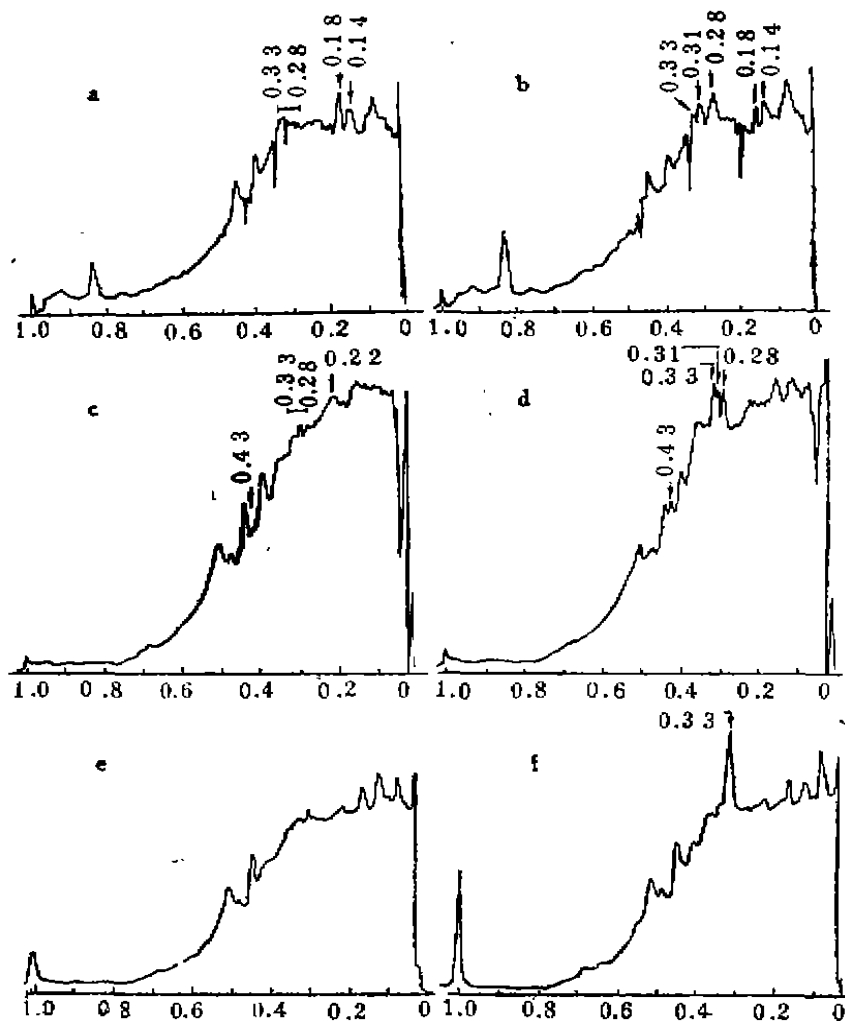


图3 GCR-26 叶片可溶性蛋白的PAGE图谱, 植株生长温度34℃. 说明见图1.

Fig 3. Densitometer tracings of protein patterns of GCR-26 inoculated with buffer (a, c and e) or with ToMV (b, d and f) at 34℃. Details see Fig 1

的健株相比较, Rf0.06—0.16 区间带以及 Rf0.42 带的含量较低 (图 1 e, f)。

抗病品系 GCR-267 在接种处理后的最初 7 天内, 其 ToMV 接种株与健株的叶片可溶性蛋白的组成均无差别 (图 2 a—d), 只是在接种 ToMV 后 10 天, ToMV 外壳蛋白带才有微弱积累, 此外 Rf0.10、0.14 和 0.18 三种蛋白质的含量减少, 没有出现新合成的蛋白质组分 (图 2 e、f)。

图 3、4 是在 34℃ 中生长的蕃茄幼苗叶片可溶性蛋白的电泳图谱。由图可知, GCR-26 在接种 ToMV 后第 2 天叶片可溶性蛋白的组成就发生变化, 即产生 3 条新的 Rf 分别为 0.28、0.31 和 0.33 的蛋白质带, 同时 Rf 0.14 和 0.18 两种蛋白带含量降低 (图 3 a, b); 接种后第 7 天, Rf 上 0.18、0.31 和 0.33 三种蛋白的含量有所增加, 但未出

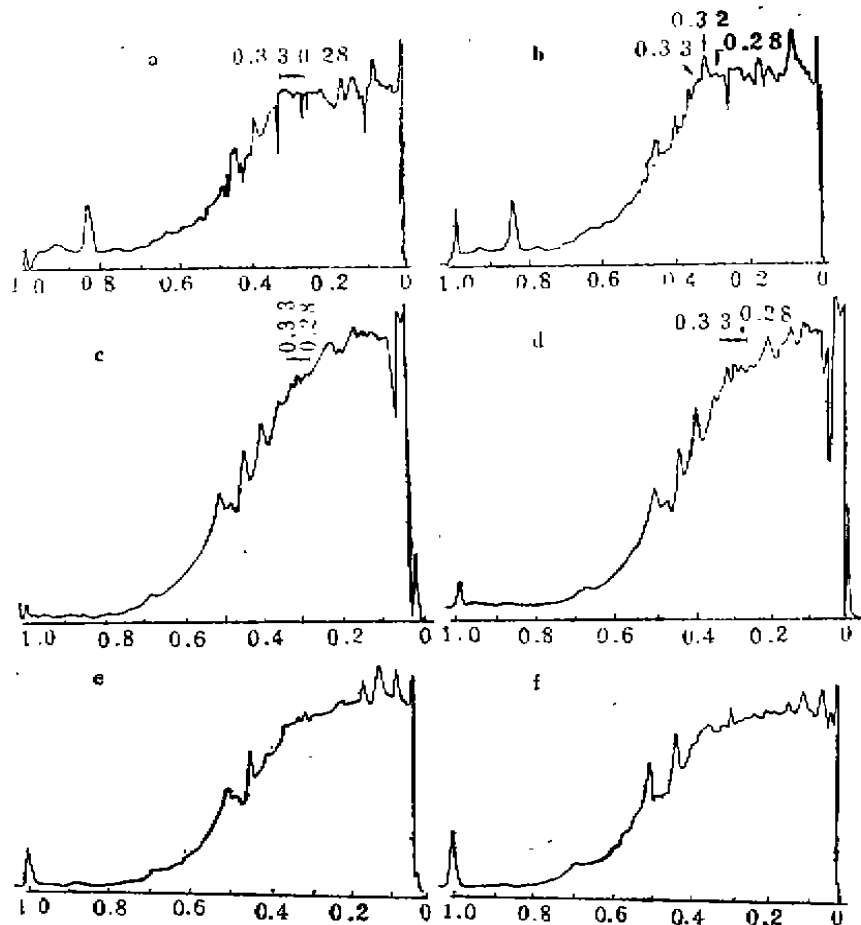


图4 GCR-267叶片可溶性蛋白的PAGE图谱, 植株生长温度34℃。说明见图1。

Fig 4. Densitometer tracings of protein patterns of GCR-267 inoculated with buffer (a, c and e) or with ToMV (b, d and f) at 34℃. Explanation is as same as that in Fig 1.

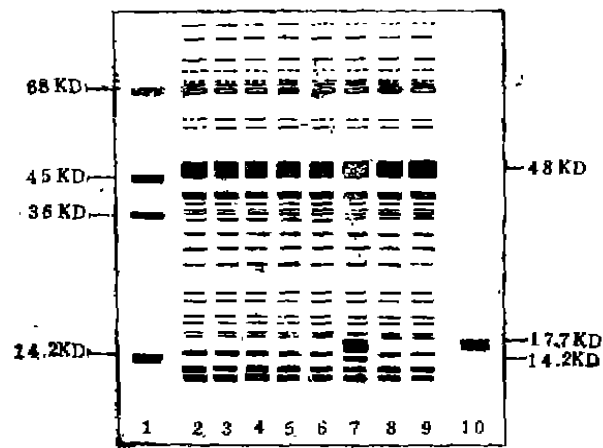
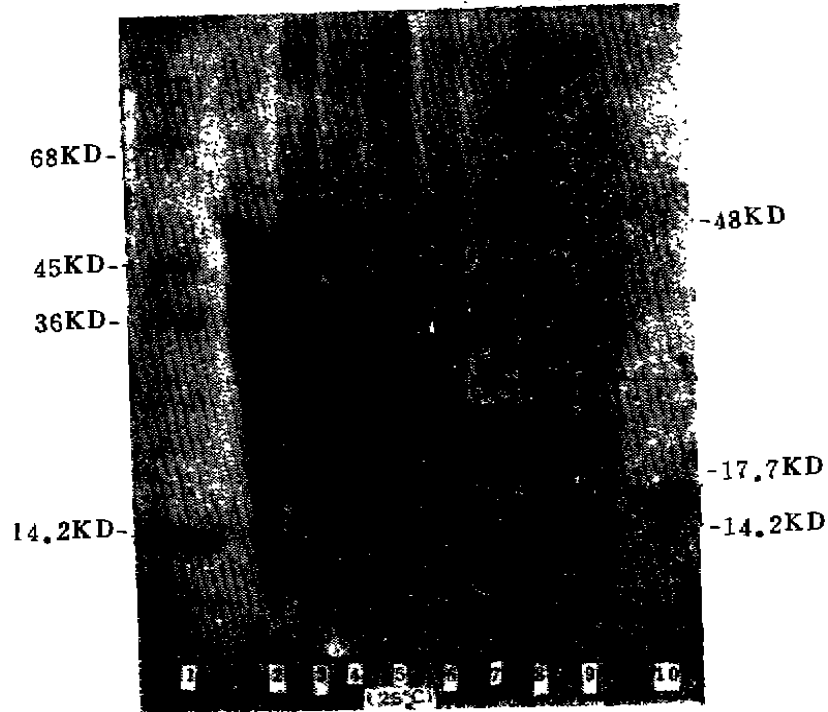
现在 25℃ 生长的病株叶片内大量产生的 Rf0.39 的蛋白质, ToMV 外壳蛋白带 (Rf0.33) 的量也比在 25℃ 中生长的病株中产生的量低得多 (图 3.d), 接种后第 10 天, Rf0.28 和 0.31 两条带检测不出, Rf0.33 蛋白带有所增加, 但仍未能检测到 Rf0.39 的蛋白质带 (图 3.f)。

GCR-267 在 34℃ 接种 ToMV 后第 2 天其叶片可溶性蛋白中有 1 条新的 Rf 上 0.32 带产生 (图 4.b)。接种后第 7 天, Rf0.32 蛋白质带的含量下降, 同时出现病毒外壳蛋白带 Rf0.33 (图 4.d), 接种后第 10 天, Rf0.32 蛋白带检测不出, ToMV 外壳蛋白带的含量稍有增加, 除此之外未检测到其它蛋白质组分的变化 (图 4.f)。

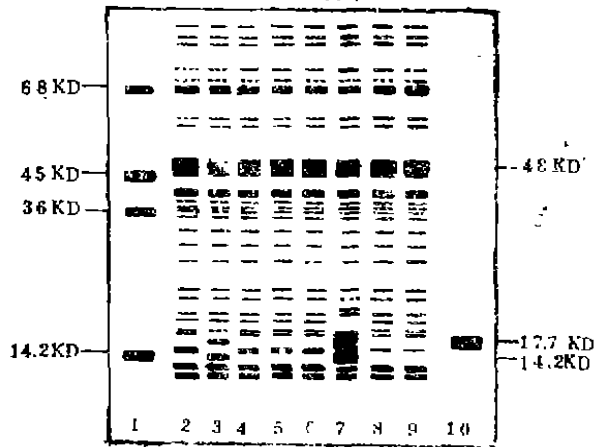
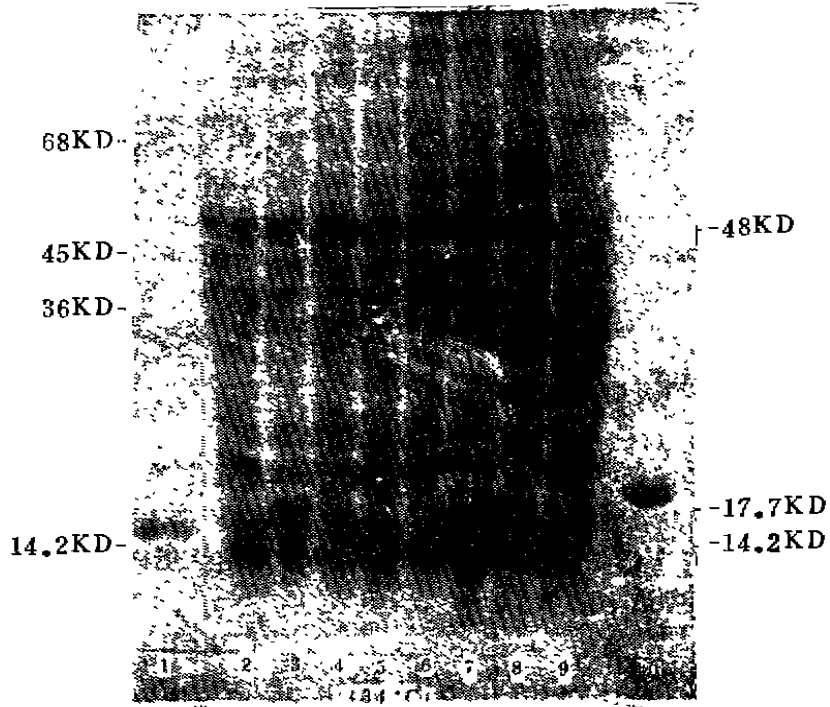
2. SDS-PAGE 蛋白质图谱的比较分析

GCR-26 和 GCR-267 幼苗叶片可溶性蛋白的 SDS-PAGE 图谱如图 5 所示。在 25℃,

接种 ToMV 后第 2 天, 两个品种系的叶片可溶性蛋白的组成均未出现变化, 这与非变性-PAGE 的结果相一致。接种 ToMV 后第 7 天, 两个品系的叶片可溶性蛋白都产生变化, 但存在着很大差别。在 GCR-26 中, 48KD 蛋白的含量大大降低, 17.7KD 和 14.2KD 这两种新蛋白的大量产生。经鉴定 17.7KD 蛋白是在寄主内增殖的 ToMV 外壳蛋白亚基, 14.2KD 蛋白对应于非变性-PAGE 图谱上的 Rf0.39 蛋白区带。然而, 在 GCR-267 中, 只有 48KD 蛋白的含量有所减少, 但比 GCR-26 中该蛋白减少的幅度小, 未见到



A



B

图5 番茄幼苗叶片可溶性蛋白SDS-PAGE图谱,电泳上样量 $80\mu\text{l}$ (1.2mg蛋白)电泳按Laemmli系统,分离胶浓度10%, 1号:标准蛋白质,含牛血清白蛋白的(68KD)、卵清蛋白(45KD)、乳酸脱氢酶(38KD)和溶菌酶(14.2KD)上样量每种蛋白 $5\mu\text{g}$ 。2, 6号, GCR-28对照株, 3, 7号, GCR-28 ToMV接种株; 4, 8号, GCR-267对照株; 5, 9号, GCR-267 ToMV接种株, 取材时间分别为接种后第2 (2, 3, 4, 5号), 7 (6, 7, 8, 9号)天。10号, ToMV提纯物, 样品量 $15\mu\text{l}$, 箭头指示变化的蛋白亚基。

A, 植株生长温度 26°C , 左图为蛋白质电泳图谱, 右图是它们的示意图,

B, 植株生长温度 34°C ,

Fig 5. SDS-PAGE profiles of the soluble leaf proteins (2mg) of tomato seedling. Electrophoresis was performed in 10% polyacrylamide gels by Laemmli's system. Lane 1, marker proteins: BSA (68KD), ovalbumin (45KD), LDH (36KD), and lysozyme (14.2KD). Lanes 2, 6, buffer inoculated GCR-26; Lanes 3, 7, ToMV inoculated GCR-26; Lanes 4, 8, buffer inoculated GCR-267; Lanes 5, 9, ToMV inoculated GCR-267. The soluble leaf protein was extracted 2 (Lanes 2, 3, 4, 5), and 7 (Lanes 6, 7, 8, 9) days after inoculation. Lane 10, purified ToMV. Arrows indicate the changing protein bands. A, Plants grown at 25°C; B, Plants grown at 34°C.

17.7KD 和 14.2KD 这两种蛋白 (图 5 A)。

在 34°C, GCR-26 在接种 ToMV 后第 2 天就产生了 17.7KD 和 14.2KD 两种蛋白, 这与该品系在 25°C 的结果明显不同。接种后第 7 天, 48KD 蛋白的含量下降, 17.7KD 和 14.2KD 两种蛋白的含量显著增加, 尤其是 17.7KD 蛋白, 从染色程度上看它比同期在 25°C 检测到的该蛋白带的含量要高得多。GCR-267 叶片可溶性蛋白的 SDS-PAGE 图谱与它在 25°C 的图谱基本相同 (图 5 B)。

讨 论

不同抗性蕃茄品系感染 ToMV 后在外部症状表现及体内病毒含量两方面皆有显著差异, 这显然是不同抗性基因作用的结果。同一品系在不同温度中生长而上述两方面也存在较大差别, 表明温度对不同抗性基因的作用均有影响^[8,9,13]。Tm-2⁺ 基因所控制的抗病反应在常温和高温下有不同的表现, 但根据 ToMV 含量测定的结果可以看出, 它对 ToMV 增殖的强烈抑制作用并不受温度变化的影响。感病品系 GCR-26 在常温和高温下的症状表现不同, 这可能与 ToMV 在其体内的增殖量有关。ToMV 在 GCR-26 内的增殖依赖于环境温度, 表现为常温下的病毒含量比高温下的病毒含量高。Fraser 等(1982) 根据对 ToMV-RNA 的测定结果, 对此现象的解释是: 高温会阻碍 ToMV 外壳蛋白的亚基的聚合, 从而导致大量合成的病毒-RNA 由于没有足够的蛋白质外壳来包装而被寄主的酶降解^[8]。我们的结果显示, 在 GCR-26 体内, ToMV 外壳蛋白在 34°C 的合成量比在 25°C 的合成量大, 但是有侵染力的病毒粒子在 34°C 却比在 25°C 产生的少。这些结果支持了 Fraser 等的推论。

引起我们重视的是, ToMV 外壳蛋白的合成与寄主的 14.2KD 蛋白的产生密切相关。高温抑制 ToMV 增殖的同时似乎也阻抑了 14.2KD 蛋白的聚合。对在 25°C 生长的 GCR-26 病株的叶片可溶性蛋白作 SDS-PAGE 分析发现其中的 14.2KD 蛋白与 ToMV 外壳的亚基一道产生, 用非变性-PAGE 也能检测到与之对应的 Rf_{0.39} 和 Rf_{0.33} 两条蛋白质带。然而, 在 34°C 生长的 GCR-26 病株的叶片可溶性蛋白, 用 SDS-PAGE 分析能检测到 14.2KD 蛋白与病毒外壳蛋白同时大量合成, 而用非变性-PAGE 分析时却从未找到与 14.2KD 蛋白对应的 Rf_{0.39} 蛋白的区带 (表 2)。这些结果暗示, 高温对 ToMV 增殖的抑制效应可能还与寄主 14.2KD 蛋白的温度敏感性有关, 常温下该蛋白能以多聚

表 2 TMV 接种后不同抗性番茄品系叶片可溶性蛋白的变化
Table 2 Changes of the soluble leaf proteins of the resistant and susceptible lines of tomato after inoculation with ToMV

品系 Tomato line		GCR-26 (+/+)						GCR-267 (Tm-2 ⁺ /Tm-2 ⁺)					
		25°C			34°C			25°C			34°C		
植株生长温度 Plant Growth temperature	接种后天数 Days after inoculation	电 泳 条 件		电 泳 条 件		电 泳 条 件		电 泳 条 件		电 泳 条 件		电 泳 条 件	
		Conditions of electrophoresis		Conditions of electrophoresis		Conditions of electrophoresis		Conditions of electrophoresis		Conditions of electrophoresis		Conditions of electrophoresis	
PAGE	蛋白质区带 (Rf) (protein bands (Rf))	2	7	10	2	7	10	2	7	10	2	7	10
	0.18	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0
	0.22	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0
	0.28	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0
	0.31	0	+	0	+	±	0	0	0	0	0	0	0
	0.32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
	0.33	0	+++	+++	±	+	++	0	0	+	0	±	+
	0.39	0	++	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.42	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.43	0	0	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0
0.45	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
SDS-PAGE	多肽分子量 (Molecular weight of polypeptide)												
	48KD	0	-	未	0	-	未	0	-	未	0	-	未
	17.7KD	0	++	测	+	+++	测	0	0	测	0	0	测
	14.2KD	0	++	(NT)	+	++	(NT)	0	0	(NT)	0	0	(NT)

说明: 可溶性蛋白区带的变化是病株与健康株相比较而言。“0”表示无变化;“-”表示含量降低;“±”表示新增弱带;“+”表示新增带含量增加明显;“++”表示新增带含量增加较大;“+++”表示新增带含量增加最大。

Note: The changing protein band recorded here is on basis of comparison between the diseased and healthy plants. “0”, no changing; “±”, new band just detectable; “++”, prominent new band.

体 (Rf0.39 蛋白) 形式参与或促进 ToMV 的增殖过程, 持续的高温会使它们难以聚合成有功能的多聚体。我们把 14.2KD 蛋白称之为蕃茄敏感蛋白质因子, 简称蕃茄“S”蛋白, 以区别于从蕃茄上发现的另一种 PR-类似蛋白-P[4⁽⁴⁾]。对其结构、功能及其调控的深入研究可能有助于揭示 ToMV 在蕃茄中增殖的分子机制。

抗病品系 GCR-267 感染 ToMV 后无论在哪种温度中生长, 其叶片可溶性蛋白中既未产生与抗性有关的特异蛋白质也从未能检测到 14.2KD 蛋白(表 2), 我们认为 Tm-2⁺ 基因对 ToMV 增殖的抑制作用可能是通过阻抑蕃茄“S”蛋白的合成间接实现的。这个问题值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 许仁林, 易琼华, 1989, 植物病理学报 (即将发表)。
- [2] 梁训生, 袁维藩主编, 1985, 《植物病毒学》pp87-100, 科学出版社
- [3] 袁维藩, 1984, 植物病毒学 (修订版) pp160, 农业出版社
- [4] Camacho-Henquez, A. et al., 1982, *Archives of Virology* 74: 181-196.
- [5] Cirulli, M. et al., 1989, *Phytopathology* 59: 1287-1297.
- [6] Cirulli, M. et al., 1975, *Phytopathologica Mediterranea* 14: 100-105.
- [7] Fraser, R. S. S. et al., 1980, *J. Gen. Virol.* 50: 221-224.
- [8] Fraser, R. S. S. et al., 1982, *Physiol. Pl. Path.* 20: 109-117.
- [9] Hall, J. T. 1980, *Euphytica* 29, 189-197.
- [10] Laemmli, U. K. 1970, *Nature* 227, 680-685.
- [11] Motoyoshi, F. et al., 1975, *J. Gen. Virol.* 29: 89-91.
- [12] Motoyoshi, F. et al., 1977, *J. Gen. Virol.* 34: 499-506.
- [13] Pelham, J. 1972, *Ann. Biol.* 71, 219-228.
- [14] Van Tolgan, H. J. et al., 1985, *Physiol. Pl. Path.* 26: 99-109.

Effects of Temperature on ToMV Multiplication and Changes of Soluble Leaf Proteins in Tomato

Xu Ren-lin Yi Qiong-hua

(*Institute of Agrobiological Genetics and Physiology, Jiangsu
Academy of Agricultural Sciences, Nanjing*)

ToMV concentrations in virus inoculated tomato plants were analyzed by local lesion test. The results showed that virus concentrations in resistant line GCR-267 was 1/40—1/50 that in susceptible line GCR-26. ToMV multiplication was strongly inhibited by gene Tm-2^a, which was not influenced by temperature. ToMV multiplication in GCR-26 was dependent on temperature, the higher the temperature, the less the virus concentration.

The changes of the soluble leaf proteins of tomato plants grown at constant or high temperature after inoculation with ToMV were analyzed by PAGE and SDS-PAGE. It was found that there was a positive relationship between ToMV multiplication and the production of new protein (MW, 14.2 KD) in GCR-26. This protein was not detected in GCR-267. It is suggested that 14.2 KD protein be a high temperature sensitive protein factor. We suggested it tomato "S" protein.

Key words: ToMV Isogenic line Tomato "S" protein