

УДК 578.52

П. В. КУЗМИЦКАЯ, О. Ю. УРБАНОВИЧ

## ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ВИРУСА БОРОЗДЧАТОСТИ ДРЕВЕСИНЫ ЯБЛОНИ И ЕГО РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ В САДАХ БЕЛАРУСИ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, e-mail: P.Kuzmitskaya@igc.bas-net.by

(Поступила в редакцию 06.02.2015)

**Введение.** Яблоня является одной из важнейших плодовых культур в мире. Она восприимчива к различным инфекциям, среди которых большое значение имеют вирусные заболевания. Наибольший урон садоводству наносят вирус хлоротической пятнистости листьев яблони (ACLSV), вирус ямчатости древесины яблони (ASPV), вирус бороздчатости древесины яблони (ASGV) и вирус мозаики яблони (AMV) [1]. У растений, инфицированных этими возбудителями, визуально различимых симптомов, как правило, не отмечается, однако при этом могут значительно снижаться урожайность и качество плодов [2, 3]. Размножение сортовых яблонь и клоновых подвоев производится вегетативным способом, что может приводить к передаче инфекции от маточного растения всем его потомкам [4]. В связи с этим в промышленном питомниководстве рекомендовано проводить тестирование маточных деревьев на предмет заражения наиболее вредоносными вирусными инфекциями [1]. Поскольку вирусы яблони могут переноситься от больных растений к здоровым насекомыми и через инструменты при проведении агротехнических мероприятий, с целью борьбы с распространением инфекции необходимо проводить периодические тестирования растений из садовых насаждений и удалять зараженные деревья.

В настоящий момент существует несколько методов тестирования садовых насаждений для выявления инфицированных растений. Наиболее точным и быстрым из них является метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) [5]. В представленном исследовании данный метод был использован для изучения распространенности вируса бороздчатости древесины яблони в отдельных садовых насаждениях Беларуси, а также для получения последовательности генома вируса с целью анализа его генетической близости с вирусами, распространенными в других странах.

**Материалы и методы исследования.** Растительный материал для анализа был собран на территории трех хозяйств, находящихся в Минской, Брестской и Гродненской областях Беларуси. Тестированию было подвергнуто 115 деревьев яблони (*Malus domestica*), относящихся к 59 сортам, и 64 ряда клоновых подвоев, выращиваемых на территории Беларуси в трех хозяйствах. Из хозяйства Минской области протестировано 51 дерево разных сортов и 5 рядов подвоев, из хозяйства Брестской области – 18 деревьев 13 сортов и 46 рядов подвоев, из хозяйства Гродненской области – 46 деревьев, относящихся к 21 сорту, и 13 рядов подвоев (табл. 1, 2).

Для выделения РНК использовали фрагменты листовой пластинки отдельных растений яблони. При тестировании подвоев (ввиду невозможности выделить индивидуальные растения) с ряда производили отбор 10–15 листьев, которые впоследствии подвергали анализу совместно. Выделение РНК из растительного материала проводили с помощью GeneJet™ Plant Genomic RNA Purification Mini Kit (Thermo scientific), синтез минус-цепи кДНК – с помощью RevertAid™ H-Minus First

**Т а б л и ц а 1. Результат тестирования методом ОТ-ПЦР яблонь разных сортов на их зараженность вирусом бороздчатости древесины яблони**

Сорт (образец) яблони	К-во протестированных яблонь			
	Всего	Минская область	Брестская область	Гродненская область
97-32/2(15)	1 (0)	1 (0)	–	–
Айдаред	3 (2)	1 (0)	2 (2)	–
Алдас	1 (0)	1 (0)	–	–
Алеся	4 (0)	1 (0)	–	3 (0)
Антоновка обыкновенная	1 (0)	1 (0)	–	–
Ауксис	1 (0)	–	–	1 (0)
Банановое	1 (0)	1 (0)	–	–
Белана	1 (0)	1 (0)	–	–
Белорусский синап	1 (0)	1 (0)	–	–
Белорусское малиновое	1 (0)	1 (0)	–	–
Белорусское сладкое	6 (0)	1 (0)	1 (0)	4 (0)
Белый налив	1 (0)	–	1 (0)	–
Вербнае	3 (0)	1 (0)	1 (0)	1 (0)
Весялина	1 (0)	1 (0)	–	–
Глостер	4 (1)	1 (1)	–	3 (0)
Голден Делишес	1 (0)	–	–	1 (0)
Дарунак	4 (0)	1 (0)	1 (0)	2 (0)
Джонаголд	2 (0)	1 (0)	1 (0)	–
Дьямент	1 (0)	1 (0)	–	–
Елена	1 (0)	1 (0)	–	–
Заря Алатау	1 (0)	1 (0)	–	–
Заславское	2 (0)	1 (0)	–	1 (0)
Зорка	1 (0)	1 (0)	–	–
Имант	7 (0)	1 (0)	2 (0)	4 (0)
Имрус	1 (0)	1 (0)	–	–
Коваленковское	2 (0)	1 (0)	1 (0)	–
Коштеля	1 (0)	1 (0)	–	–
Красавіта	1 (0)	1 (0)	–	–
Лигол	2 (1)	–	1 (1)	1 (0)
Лучезарное	1 (0)	1 (0)	–	–
Мелба	1 (0)	1 (0)	–	–
Мечта	1 (0)	1 (0)	–	–
Минское	1 (0)	1 (0)	–	–
Нававіта	1 (0)	1 (0)	–	–
Надзейны	5 (0)	1 (0)	2 (0)	2 (0)
Найдаред	1 (1)	–	–	1 (1)
Народное	1 (0)	1 (0)	–	–
Осеннее полосатое	1 (0)	1 (0)	–	–
Память Коваленко	2 (0)	1 (0)	1 (0)	–
Память Сикоры	1 (0)	1 (0)	–	–
Память Сюбаровой	4 (0)	1 (0)	–	3 (0)
Папировка	1 (1)	1 (1)	–	–
Пепинка золотистая	1 (0)	1 (0)	–	–
Поспех	5 (0)	1 (0)	2 (0)	2 (0)
Ред Крафт	1 (1)	–	–	1 (1)
Сакавіта	1 (0)	1 (0)	–	–
Серуэл	1 (0)	1 (0)	–	–
Синап орловский	2 (1)	1 (0)	–	1 (1)
Слава победителям	1 (0)	1 (0)	–	–
Сябрына	4 (0)	1 (0)	–	3 (0)
Теллисааре	1 (0)	1 (0)	–	–
Топаз	1 (0)	–	–	1 (0)

Сорт (образец) яблони	К-во протестированных яблонь			
	Всего	Минская область	Брестская область	Гродненская область
Утро	1 (1)	1 (1)	–	–
Уэлси	1 (0)	1 (0)	–	–
Фридом	1 (0)	1 (0)	–	–
Хани Крисп	4 (1)	–	–	4 (1)
Чаравница	1 (0)	1 (0)	–	–
Шампион	7 (1)	1 (0)	2 (1)	4 (0)
Эрли Женева	3 (0)	–	–	3 (0)
Юбиляр	1 (0)	1 (0)	–	–

Примечание. В скобках указано количество яблонь, зараженных ASGV.

Таблица 2. Результат тестирования методом ОТ-ПЦР клоновых подвоев яблони на их зараженность вирусом бороздчатости древесины яблони

Подвой	К-во протестированных рядов			
	Всего	Минская область	Брестская область	Гродненская область
106–13	3 (0)	1 (0)	2 (0)	–
5–25–3	1 (0)	–	1 (0)	–
54–118	27 (1)	1 (0)	26 (1)	–
57–545	1 (0)	–	1 (0)	–
62–396	3 (0)	1 (0)	2 (0)	–
M26	7 (2)	1 (1)	4 (1)	2 (0)
M7	5 (0)	–	2 (0)	3 (0)
M9	5 (0)	–	3 (0)	2 (0)
MM106	5 (0)	–	2 (0)	3 (0)
П14	2 (0)	–	–	2 (0)
П60	1 (0)	–	–	1 (0)
ПБ-4	4 (1)	1 (1)	3 (0)	–

Примечание. В скобках указано число рядов, в которых были найдены растения, зараженные ASGV.

Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo scientific) согласно протоколам производителей. Для идентификации вируса использовали маркеры, описанные в методике [6]. Амплификацию кДНК проводили по методике [7] с модификациями. В реакции использовали внутренний контроль, а именно амплификацию растительной мРНК. Контрольную амплификацию проводили с помощью праймеров созревшей мРНК гена, кодирующего субъединицу 5-НАДН-дегидрогеназы. Такой контроль позволяет избежать ложноотрицательных результатов, связанных с деградацией РНК или с присутствием ингибиторов обратной транскриптазы [6]. В качестве отрицательного контроля матрицу кДНК в реакции заменяли равным количеством деионизированной воды. Внешним положительным контролем являлась РНК, выделенная из двух образцов растительной ткани растений, зараженных вирусом ASGV.

Продукты амплификации разделяли в 1 %-ном агарозном геле в трис-ацетатном буфере. Гели документировали с помощью фотографирования после окрашивания этидиум бромидом. В качестве маркера молекулярного веса использовали 100 bp DNA Ladder Plus (Thermo scientific).

Продукты амплификации одного из образцов после электрофоретического разделения вырезали из агарозного геля для последующего выделения фрагментов ДНК набором GeneJet™ Gel Extraction Kit (Thermo scientific). Выделенные ампликоны лигировали в плазмиду pTZ57R/T, которой трансформировали штамм *E. coli* DH5α, с помощью InsTAclone™ PCR Cloning Kit (Thermo scientific) согласно рекомендациям производителя. После выращивания на LB-Amp сре-

де из трансформантов выделяли плазмидную ДНК, используя Plasmid GeneJet™ Miniprep Kit (Thermo scientific), согласно протоколу производителя. Фрагмент, встроенный в плазмидную ДНК, сиквенировали с помощью праймеров к последовательности полилинкера вектора pTZ57R/T M13F (GTAAAACGACGGCCAGT) и M13 R (CAGGAAACAGCTATGAC). Для проведения реакции использовали BigDye Terminatorv3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Амплификацию для сиквенирования и очистку полученных продуктов проводили в соответствии с методикой производителя. Продукты амплификации разделяли на сиквенаторе GeneticAnalyzer 3500 (Applied Biosystems). Компьютерный анализ нуклеотидной последовательности выполняли с помощью программного обеспечения, представленного на сайте NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), и программы Geneious 7.1. Дендрограмма филогенетического сходства построена методом Neighbour-Joining с привлечением попарного выравнивания, выполненного BLAST.

**Результаты и их обсуждение.** Вирус бороздчатости древесины яблони является типичным представителем рода *Capillovirus* семейства Betaflexiviridae. Его геном представлен однонитевой РНК длиной около 6500 п. н. Он имеет две перекрывающиеся рамки считывания. Первая кодирует белок, ассоциированный с репликацией, и белок капсида, вторая, находящаяся внутри первой, кодирует двигательный белок [8, 9]. Для идентификации вируса бороздчатости древесины яблони в представленном исследовании был использован молекулярный маркер – амплифицирующий фрагмент первой открытой рамки считывания. О наличии вируса говорит присутствие ампликона длиной 273 п. н.

По результатам исследования было выявлено 11 деревьев, зараженных вирусом бороздчатости древесины яблони, относящихся к сортам Айдаред, Глостер, Лигол, Найдаред, Папировка, Ред Крафт, Синап орловский, Утро, Хани Крип, Шампион (см. табл. 1). Доля зараженных деревьев составила 9,6 % от их общего количества. У растений, зараженных вирусом ASGV, не наблюдалось видимых симптомов инфекции. Свободными от вируса оказались 104 дерева. При этом деревья, относящиеся к одному сорту, могли быть как свободными от вируса, так и зараженными. Результаты проведенного нами с помощью метода ОТ-ПЦР обследования свидетельствуют о неоднородном распространении вирусных инфекций в разных садовых насаждениях. По результатам тестирования, в хозяйстве из Минской области доля зараженных деревьев в маточном саду составила 5,9 %, сравнительно небольшая часть инфицированных деревьев (8,7 %) была обнаружена в промышленном саду хозяйства из Гродненской области, а в хозяйстве из Брестской области было заражено 22,2 % растений (рис. 1).

В связи с особенностями культивирования клоновых подвоев яблони выявление зараженных растений проводилось по рядам. Наибольшая встречаемость вируса была отмечена среди рядов клоновых подвоев из хозяйства Минской области (в 40 % от общего числа протестированных рядов были найдены зараженные растения). В хозяйстве из Гродненской области не было выявлено зараженных растений. В хозяйстве из Брестской области в 4,3 % протестированных рядов клоновых подвоев были найдены зараженные растения (табл. 2, рис. 2).

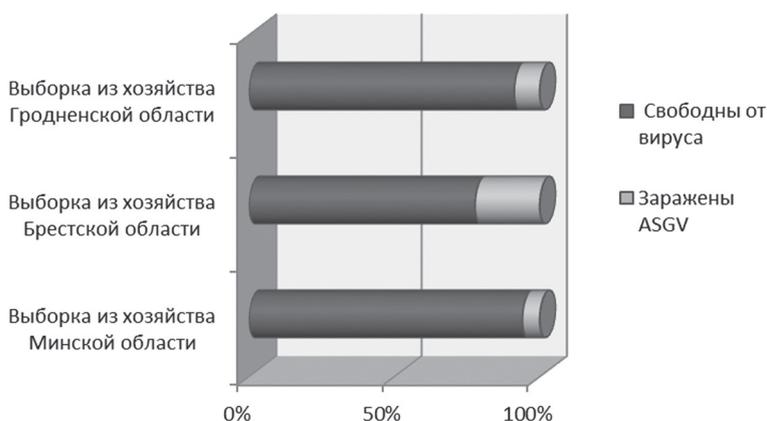


Рис. 1. Доля деревьев яблони, зараженных вирусом ASGV, в выборках из садовых насаждений Беларуси

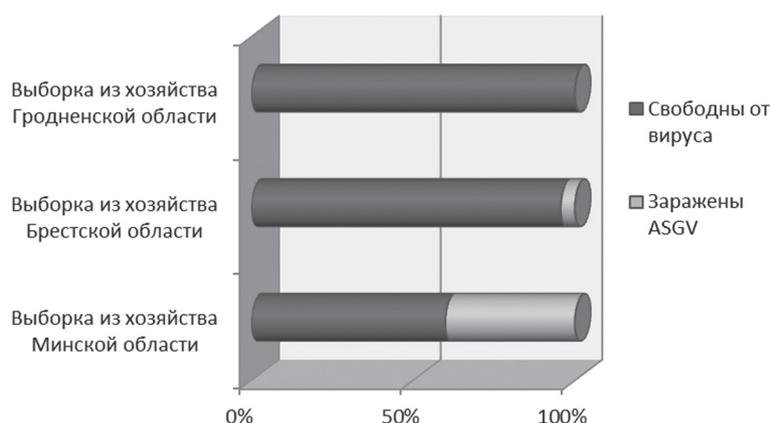


Рис. 2. Доля клоновых подвоев, зараженных вирусом ASGV, в выборках из садовых насаждений Беларуси

Мониторинг зараженностью вирусными инфекциями садовых насаждений Беларуси, проведенный в период с 1998 по 2009 г. сотрудниками РУП «Институт плодородства» под руководством д-ра с/х наук Н. В. Кухарчик с помощью метода ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), также показал различную распространенность вируса ASGV среди отдельных садовых насаждений – от 8,89 % в коллекционных садах до 21,74 % в маточных [10]. Сравнение результатов, полученных в период с 1998 по 2009 г. и в настоящее время, говорит о том, что увеличения инфицированных вирусом ASGV растений не наблюдается.

Степень распространения вируса бороздчатости древесины яблони в соседних с Беларусью странах колеблется в пределах от 0 до 32,9 %. Так, в Латвии вирус был обнаружен у 32,9 % протестированных деревьев [11]. При оценке распространенности вирусных инфекций в садовых насаждениях Литвы данное заболевание не было выявлено среди клоновых подвоев и сортовых яблонь [12]. В садах г. Киева и в Киевском районе Украины инфицированными оказалось 18,3 % растений [13]. В центральной Польше тестирование яблонь сорта Mutsu (коммерческий синоним – Crispin) показало, что 24,04 % растений заражены вирусом бороздчатости древесины яблони [14]. Выявление инфицированных яблонь сорта Джонаголд, выращенных в польских питомниках, показало, что, в зависимости от региона, вирусом поражено от 5 до 55 % деревьев [15]. В Центральном Черноземье России в разных садовых насаждениях уровень поражения вирусом ASGV сортовых яблонь колебался от 0 до 7 %, а уровень заражения древесных индикаторов составил 14 % [16]. В европейской части России встречаемость вируса среди сортовых деревьев и клоновых подвоев яблони достигала 23,9 % [17]. В географически удаленных от Беларуси странах, например Египте, доля инфицированных растений среди сортов яблони и груши из разных садов составила 17 % [18].

Таким образом, доля пораженных деревьев различается как между странами, так и между отдельными садовыми насаждениями внутри страны. Неравномерность заражения насаждений связана, по всей видимости, с тем, что на степень распространения вирусной инфекции могут влиять как природные факторы, например перенос инфекции насекомыми, так и антропогенные, имеющие место при проведении агротехнических мероприятий и вегетативном размножении сортов человеком. Присутствие инфицированных растений в садах способствует дальнейшему распространению вируса. В связи с этим большое значение имеет мониторинг и своевременное удаление из садовых насаждений зараженных деревьев. Результаты, полученные в данном исследовании, показывают, что для проведения тестирования вполне успешно может быть применен метод ОТ-ПЦР. Он позволяет выявить присутствие вируса в течение всего вегетационного периода, в то время как тест ELISA имеет сезонные ограничения [10]. Кроме того, метод ОТ-ПЦР отличается большей точностью [5, 7].

Фрагмент генома вируса бороздчатости древесины яблони, выделенного из дерева сорта Шампион, растущего на территории Брестской области, был клонирован и сиквенирован. Последовательность была зарегистрирована в базе данных GenBank под номером KP994200. Анализ гомологов полученной нуклеотидной последовательности длиной 274 п. н. из базы данных GenBank под-

твердил, что она кодирует фрагмент белка капсида вируса. Гомологичные секвенированному фрагменту последовательности были аннотированы как фрагменты генома Apple stem grooving virus (ASGV) либо как Citrus tatter leaf virus (CTLV). Первоначально CTLV был описан как агент, вызывающий заражение цитрусовых культур, позже было установлено его соответствие вирусу бороздчатости древесины яблони [19]. Степень идентичности исследуемой нуклеотидной последовательности вируса ASGV последовательностям вирусов, выделенных в других странах, находилась в пределах 91–99 % при 100 %-ном перекрытии их по длине. Дивергенция нуклеотидных последовательностей обусловлена однонуклеотидными заменами, инсерциями и делециями. Инсерций и делеций длиной более двух нуклеотидов среди анализируемых последовательностей не обнаружено. Дивергенция последовательностей может объясняться ошибками репликации, возникающими в большом количестве ввиду того, что у РНК-зависимой РНК-полимеразы, амплифицирующей геном вируса, отсутствует корректирующая активность [20, 21].

На основании анализа нуклеотидной последовательности фрагмента генома вируса, выделенного на территории Беларуси, и его гомологов из базы данных GenBank было построено филогенетическое дерево, представляющее собой модель эволюционных отношений последовательностей (рис. 3). Наиболее близкими белорусскому изоляту по нуклеотидному составу оказались последовательности фрагментов генома вируса, выделенные в граничащих с Беларусью странах – Украине и Латвии. Вместе с тем высокая гомология белорусского изолята наблюдается также с вирусами, выделенными в Республике Корея, Китае, Турции, Индии. Не обнаружено прямой зависимости между степенью идентичности изолятов, их географическим распространением, а также видовой принадлежностью растения-хозяина, что согласуется с имеющимися литературными данными [11, 22]. Так, идентичность по нуклеотидному составу отдельных вирусов, выделенных из яблони и груши, была выше, чем между вирусами, выделенными из одного вида

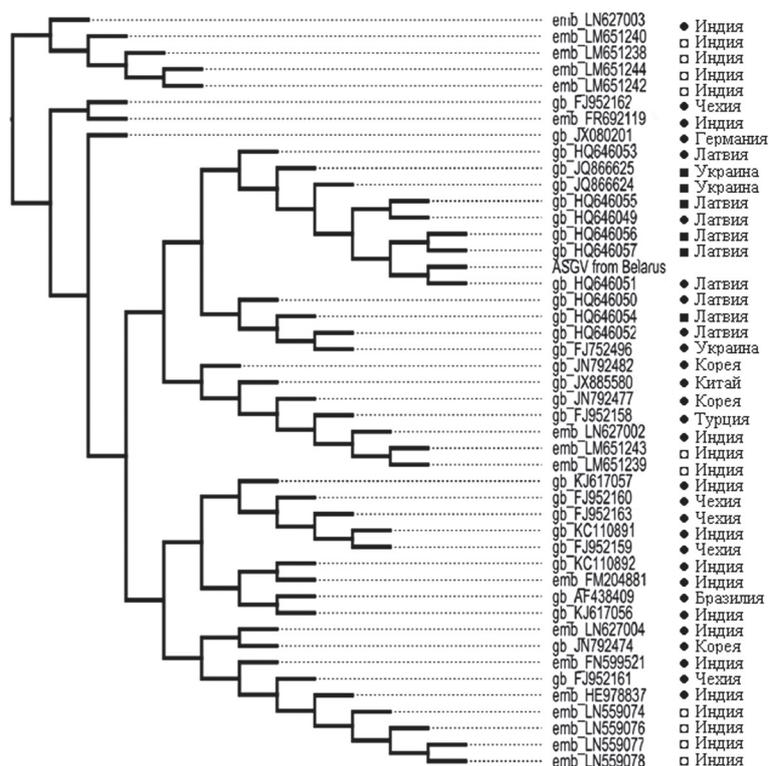


Рис. 3. Дендрограмма генетического сходства нуклеотидных последовательностей вируса бороздчатости древесины яблони. Фрагмент генома вируса ASGV белорусского изолята обозначен как ASGV from Belarus. Цифры на дендрограмме обозначают номера последовательностей в GenBank. Названия стран, в которых были выделены изоляты вируса ASGV, указаны справа. Выделенные последовательности: ● – из яблони, ■ – из груши, □ – из растений других видов

(рис. 3). Вирусы ASGV, обнаруженные у систематически далеких от яблони и груши видов, таких как бамбук, фикус, фаргезия и др., близки по нуклеотидному составу.

Компьютерная трансляция секвенированной нуклеотидной последовательности белорусского изолята в аминокислотную и последующий ее анализ показали, что гипотетический белок содержит консервативный домен белка оболочки триховирусов. В это семейство входят отдельные белки капсида, специфичные для плюс-нитевых одноцепочечных РНК-содержащих вирусов, не имеющих ДНК-стадии, таких как триховирусы и витивирусы [23]. Степень идентичности исследуемого гипотетического белка и гомологичных последовательностей из GenBank колеблется в пределах 97–100 % при их перекрытии по длине на 96–97 %. Изоляты вируса, выделенные в Латвии, также показывают более высокую степень идентичности по аминокислотному составу относительно нуклеотидного [11]. Гомологи, полностью идентичные исследуемой последовательности, были получены при изучении генетического разнообразия вирусов как в соседних с Беларусью странах (Латвия, Украина), так и в значительно удаленных от нее (Индия, Китай, Бразилия).

**Заключение.** С помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией изучена распространенность вируса бороздчатости древесины яблони в отдельных хозяйствах, находящихся на территории Беларуси. Доля инфицированных растений в исследованных садовых насаждениях различалась. В среднем вирусом бороздчатости древесины яблони было заражено 9,6 % яблонь разных сортов. Зараженные вирусом подвои обнаружены среди 6,2 % рядов.

Максимальная степень идентичности фрагмента генома вируса ASGV, выделенного на территории Беларуси, с нуклеотидными последовательностями, приведенными в базе данных GenBank, составила 99 % при 100 %-ном перекрытии их по длине. Полученный при помощи компьютерной трансляции гипотетический белок имел степень идентичности до 100 % со своими гомологами.

## Литература

1. EPPO Standards – Certification schemes – PM 4/27(1) Pathogen-tested material of Malus, Pyrus and Cydonia // EPPO Bull. 1999. Vol. 29. P. 239–252.
2. Pleše N., Hoxha E., Miličić D. // J. of Phytopathol. 1975. Vol. 82. P. 315–325.
3. Cembali T., Folwell R. J., Wandschneider P. et al. // Crop Protection. 2003. Vol. 22. P. 1149–1156.
4. Yanase H. // XII Inter. Symp. on Fruit Tree Virus Dis. 1982. P. 117–122.
5. Caglayan K., Ulubas Serce C., Gazel M. et al. // Turk. J. Agric. For. 2006. Vol. 30. P. 241–246.
6. Menzel W., Jelkmann W., Maiss E. // J. of Virol. Meth. 2002. Vol. 99. P. 81–92.
7. Hassan M., Myrta A., Polak J. // J. of Virol. Meth. 2006. Vol. 133. P. 124–129.
8. Yoshikawa N., Sasaki E., Kato M., Takahashi T. // Virology. 1992. Vol. 191. P. 98–105.
9. Hirata H., Lu X., Yamaji Y. et al. // J. of Gen. Virol. 2003. Vol. 84. P. 2579–2583.
10. Кухарчик Н. В. Вирусные и фитоплазменные болезни плодовых и ягодных культур в Беларуси. Минск: Беларуская навука, 2012. С. 64–83.
11. Pūpolā N., Moročko-Bičevska I., Kāle A. et al. // J. of Phytopathol. 2011. Vol. 159. P. 597–605.
12. Stankienė J., Mažeikienė I., Gelvonauskienė D. et al. // Žemdirbystė – Agriculture. 2012. Vol. 99. P. 93–98.
13. Gospodaryk A., Budzanivska I., Demyanenko F., Polischuk V. // Вестн. Киевск. нац. ун-та имени Тараса Шевченко. Сер. Биология. 2008. Т. 51. С. 25–27.
14. Paduch-Cichal E., Szyndel M. S., Tomala K. // Phytopathol. Pol. 2005. Vol. 37. P. 87–90.
15. Poniedziałek W., Nosal K., Porębski S., Banach P. // Folia Horticulturae. 2001. Vol. 13 (2). P. 23–29.
16. Супоткин Е. Н. // АгроXXI. 2012. Vol. 4–6. P. 19–21.
17. Приходько Ю. Н., Редин Д. В., Бриндаров Д. Д. // Плодоводство и ягодоводство России. 2004. Vol. 11. P. 337–353.
18. Youssef S. A., Moawad S. M., Nosseir F. M., Shalaby A. A. // Julius-Kühn-Archiv. 2010. Vol. 427. P. 248–250.
19. King A. M. Q., Adams M. J., Carstens E. B., Lefkowitz E. J. // Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Inc., 2012. P. 923.
20. Drake J. W., Holland J. J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 13910–13913.
21. Roossinck M. J. // Annu. Rev. Phytopathol. 1997. Vol. 35. P. 191–209.
22. Gadiou S., Kundu J. K., Paunovic S. et al. // J. of Plant Pathol. 2010. Vol. 92 (3). P. 685–691.
23. Minafra A., Saldarelli P., Grieco F., Martelli G. P. // Arch. Virol. 1994. Vol. 137 (3–4). P. 249–261.

*P. V. KUZMITSKAYA, O. Yu. URBANOVICH*

**PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF APPLE STEM GROOVING VIRUS  
AND ITS PREVALENCE IN THE GARDENS OF BELARUS**

**Summary**

Apple trees of different cultivars growing in Belarus were tested using RT-PCR for Apple stem grooving virus, an important economically and common pathogens in commercial orchards. 115 apple trees and 64 rows of clonal rootstocks were tested. 9.6 % of apple trees were infected with ASGV. In 6.2 % of clonal rootstock were found infected plants. Specificity of molecular markers was confirmed by sequencing the RT-PCR product. The nucleotide and deduced amino acid sequences were compared with sequences published in GenBank. Alignment of these nucleotide and amino acid sequences of hypothetical protein sequence with other similar sequences from GenBank showed up to 99 and 100 % identity, respectively.