

侵染红肉火龙果的蟹爪兰 X 病毒 贵州分离物基因组分析

郑乾明, 王小柯, 王壮, 马玉华*

(贵州省农业科学院果树科学研究所, 贵阳 550006)

摘要:通过高通量测序和 RT-PCR 扩增, 克隆并分析蟹爪兰 X 病毒 (*Zygocactus virus X*, ZyVX) 贵州分离物 ZyVX-GZ 基因组序列。对表现病毒病症状的红肉火龙果植株进行高通量测序, 获得 4 条 ZyVX 相关 contig。RT-PCR 扩增并拼接获得 ZyVX-GZ 基因组, 全长为 6 567 nt, 5'-UTR 和 3'-UTR 分别为 60 nt 和 70 nt。含有 5 个 ORF, 分别编码复制酶蛋白、TGB1、TGB2、TGB3 蛋白和外壳蛋白。ZyVX-GZ 与 P39 和 B1 分离物基因组序列一致性均为 91%。TGB1-3、外壳蛋白基因与大多数分离物核苷酸和推导的氨基酸序列一致性分别为 95%~99% 和 96%~100%; 复制酶基因的核苷酸和推导的氨基酸序列一致性分别为 80%~89% 和 92%~97%。系统进化分析表明, ZyVX 群体的遗传分化与寄主种类、地理分布不存在相关性。本研究结果丰富了 ZyVX 群体的基因组序列信息, 为 ZyVX 的监测和防控提供了基础。

关键词:复制酶; 外壳蛋白; 核苷酸; 序列一致性

The genomic sequence analysis of *Zygocactus virus X* Guizhou isolate infecting the red pitaya ZHENG Qian-ming, WANG Xiao-ke, WANG Zhuang, MA Yu-hua* (Institute of Pomology Science, Guizhou Academy of Agricultural Science, Guiyang 550006, China)

Abstract: Based on high-throughput sequencing and RT-PCR amplification, the genomic sequence of the ZyVX (*Zygocactus virus X*) Guizhou isolate ZyVX-GZ was cloned and analyzed. Using high-throughput sequencing for the red pitaya samples, which displayed the virus-like symptoms, four ZyVX-related contigs were obtained. RT-PCR amplification and assembly showed that the full-length genome of ZyVX-GZ was 6 567 nt, of which the 5'-untranslated region (UTR) and 3'-UTR were 60 nt and 70 nt, respectively. ZyVX-GZ genome contained five open reading frames (ORFs), which encoded RNA dependent RNA polymerase (RdRP), triple gene block 1 (TGB1), TGB2, TGB3 and coat protein (CP). ZyVX-GZ genome shared nucleotide sequence identities of both 91% with P39 and B1 isolates. The nucleotide and deduced amino acid sequence identities of TGB1-3, CP with most ZyVX isolates were 95%–99% and 96%–100%, respectively. The nucleotide and deduced amino acid sequence identities of RdRP with most isolates were 80%–89% and 92%–97%, respectively. Phylogenetic analysis suggested that there was no correlation between the genetic differentiation of the current ZyVX population and host species, geographic distribution. The results of this study enriched the genomic information of the ZyVX population, and provided basis for the monitor and control of ZyVX.

Key words: replicase; coat protein; nucleotide; sequence identity

中图分类号: S432.41

文献标识码: A

文章编号: 0412-0914(2019)02-0219-07

收稿日期: 2018-07-23; 修回日期: 2018-09-19; 网络出版时间: 2018-09-25

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2184.Q.20180925.1441.011.html>

基金项目: 贵州省农业科学院青年基金[(2017) 11]; 贵州省农业科学院博士启动基金; 贵州省优秀青年科技人才培养计划[黔科合平台人才(2017)5603]

通讯作者: 马玉华, 研究员, 主要从事果树栽培及生理生态研究; Tel: 0851-82270646, E-mail: m_yh79@163.com

第一作者: 郑乾明, 博士, 副研究员, 主要从事火龙果分子生物学相关研究; E-mail: zqm851015@163.com.

红肉火龙果 (*Hylocereus polyrhizus*) 是仙人掌科 (Cactaceae) 量天尺属 (*Hylocereus*) 多年生攀援植物, 原产于中、南美洲地区^[1]。红肉火龙果果实色泽鲜艳, 含有丰富的可溶性糖、有机酸、维生素 C、氨基酸、甜菜苷色素、低聚糖、多酚和黄酮类等营养成分^[2-6], 深受消费者喜爱, 我国海南、广东、贵州、云南和广西等地种植规模不断扩大。红肉火龙果植株具有耐干旱、耐贫瘠的特点, 尤其适合在喀斯特石漠化地区种植, 具有良好的经济效益和生态效益。种植红肉火龙果已成为贵州省南部低海拔富热量河谷地区的特色产业, 极大地促进了当地生态环境的保护以及贫困人口的脱贫增收。

火龙果植株常以成熟茎扦插或嫁接方式繁殖。据报道, 5 个属的病毒均能侵染仙人掌科植物, 包括烟草花叶病毒 (*Tobamovirus*)、香石竹潜隐病毒属 (*Carlavirus*)、马铃薯 X 病毒属 (*Potexvirus*)、香石竹斑驳病毒属 (*Carmovirus*) 和番茄斑萎病毒属 (*Tospovirus*)^[7]。研究表明, 侵染火龙果的病毒都属于马铃薯 X 病毒属, 包括 CVX (*Cactus virus X*)、ZyVX (*Zygocactus virus X*)、SchVX (*Schlumbergera virus X*) 和 PiVX (*Pitaya virus X*), 及其不同分离物^[8-14]。我国台湾^[8-10]、海南^[12], 以及韩国^[13]、美国^[14]等均有 CVX 侵染火龙果植株的报道。2015 年, 对贵州省镇宁县热带水果种植基地中疑似感染病毒的火龙果植株进行了高通量测序分析, 发现 CVX-NTU、ZyVX、SchVX 和 CVX 4 种病毒^[15], 并对 CVX-NTU 分离物的基因组全长进行拼接和遗传变异分析, ZyVX 等 3 种病毒序列较少, 无法获得基因组全长。ZyVX 可侵染包括火龙果在内的多种仙人掌科植物, 世界多地均有报道, 其基因组全长序列较少分离, 序列信息缺乏, 不利于开展遗传变异和系统进化分析。

2017 年对贵州省南部地区多个红肉火龙果种植园进行田间调查, 采集疑似感染病毒的茎样品进行高通量测序、拼接和注释, 获得 ZyVX 相关序列。本研究对 ZyVX 相关序列进行拼接、比对和 RT-PCR 扩增, 获得 ZyVX 贵州分离物的基因组全长。研究结果丰富了 ZyVX 群体基因组全长信息, 通过比较各分离物基因组序列的遗传变异及系统进化分析, 为 ZyVX 侵染红肉火龙果的致病机理研究, 以及监测和防控提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

2017 年 9 月对贵州省罗甸、镇宁和关岭等地红肉火龙果种植园进行调查, 采集具有黄化、褪绿、斑驳、畸形等疑似病毒病症状的 5 份植株茎组织, 无菌水清洗并擦干, 切取病组织液氮速冻, 置 -80℃ 保存。火龙果种植园栽培品种为“紫红龙”。

主要试剂: Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司, 反转录试剂购自 Thermo Scientific 公司, 大肠杆菌 DH5 α 购自鼎国生物技术有限公司, DNA 回收纯化试剂 (DP214-03) 购自 TIANGEN 公司, LA Taq DNA 聚合酶和 PMD18-T 载体购自 TaKaRa 公司。

1.2 高通量测序及数据分析

利用 Trizol 试剂盒提取火龙果茎样品的总 RNA, 使用琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 检测其质量和浓度。利用 Bioanalyzer 2100 (Agilent) 检测样品的 RIN 值 (RNA Integrity Number)。合格的总 RNA 样品经过分离 mRNA, 片段化、反转录合成双链 cDNA、纯化、加接头等一系列步骤构建测序文库。利用 illumina HiSeq 4000 进行双末端各 150 bp 测序 (委托上海美吉生物医药科技有限公司完成)。过滤原始 Reads, 利用 Trinity 软件进行拼接^[16], 使用 BLAST 程序在 NCBI 非冗余核酸和蛋白质数据库注释。

1.3 RT-PCR 扩增

以获得的 contig 序列为模板设计 RT-PCR 引物, 引物序列见表 1。利用反转录试剂盒进行反转录合成 cDNA 第一链。以反转录产物作为扩增模板进行 RT-PCR 扩增, RT-PCR 扩增体系 20.0 μ L: cDNA 1.0 μ L、上下游引物各 0.2 μ L、LA Taq DNA 聚合酶 0.2 μ L、PCR Buffer 2.0 μ L、dNTPs 1.0 μ L、ddH₂O 15.4 μ L。PCR 扩增程序: 94℃ 变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 60~150 s, 循环 30~35 次; 最后 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存扩增产物。扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分离, 使用回收试剂盒回收并纯化。连接 PMD18-T 载体, 转化大肠杆菌 DH5 α 。挑取单菌落进行 PCR 检测, 每个插入片段选择 5~6 个阳性克隆测序。测序结果经过 BioEdit 软件比对, 选择至少有 4 个

克隆测序结果完全一致的序列作为最终结果。

1.4 序列分析

Contig 序列使用 BLASTN 和 BLASTX 程序 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行序列一致性计算。RT-PCR 扩增测序获得的序列通过 DNAMAN 软件进行拼接。ORF 预测使用 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder>)。蛋白质分子量使用 ExPASy 工具 (https://web.expasy.org/compute_pi/) 预测。利用 Clustal W 软件进行序列比对。在 MEGA7.0 软件中,分别使用最大似然法、邻接法和最小进化法构建系统发育树,Bootstrap 值计算进行 1 000 次重复。使用 Simplot (Similarity Plotting) 软件进行序列相似性分析。

2 结果

2.1 ZyVX 相关序列分析

统计高通量测序数据的注释结果,共获得 4 条与 ZyVX-P39(JF930326)和 ZyVX-B1(AY366208)分离物具有高度一致性的 contig(表 2)。4 条 contig 的长度为 1 803~2 704 nt,与 ZyVX-P39 基因组核苷酸一致性为 83%~96%,与 ZyVX-B1 基因组核苷酸一致性 82%~95%。以 ZyVX-P39 为参考基因组,将 4 条 contig 进行了拼接。结果表明,4

条 contig 序列完全覆盖 ZyVX 基因组,同时存在大量的核苷酸位点差异。

2.2 ZyVX-GZ 基因组序列分离

为准确获得 ZyVX 基因组全长序列,根据 4 条 contig 序列设计引物进行 RT-PCR 扩增(图 1)。RT-PCR 分别扩增出 1 749、2 450、2 678 和 1 245 bp 的 DNA 片段。分别回收、连接、测序和拼接,获得 *Zygodactylus virus X* 贵州分离物的基因组全长,命名为 ZyVX-GZ。

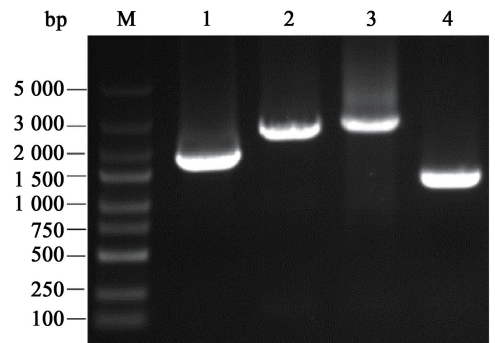


Fig. 1 RT-PCR amplification of 4 ZyVX-GZ-related contigs

M:DNA marker; 1-4: Amplification of primer pairs 1-4 listed in Table 1.

Table 1 Primer pairs for RT-PCR amplification of 4 ZyVX-GZ-related contigs

Primer name	Sequence (5'-3')	Length/nt
ZyVX-GZ-1F	ACTCACTCACACCTATCCA	1 749
ZyVX-GZ-1R	ATTGCTGAGGATRAAGTG	
ZyVX-GZ-2F	GTGGCAGCACTTCAAGGAGA	2 450
ZyVX-GZ-2R	AGCATATTGGGGACGTAC	
ZyVX-GZ-3F	TCCAACAGGAGGCRGTCATGC	2 678
ZyVX-GZ-3R	ATTAAGTTAAGCTGGATA	
ZyVX-GZ-4F	CAAGGAATCACTGCCAATGAG	1 245
ZyVX-GZ-4R	CTTTTCCTCAGGAGCGTAATC	

Table 2 List of ZyVX-related contigs from high-throughput sequencing results

Contig No.	Length/nt	ZyVX-P39 (JF930326)		ZyVX-B1 (AY366208)	
		Identity/%	E value	Identity/%	E value
ZyVX-contig1	1 803	83	0	82	0
ZyVX-contig2	2 454	96	0	95	0
ZyVX-contig3	2 704	92	0	91	0
ZyVX-contig4	2 202	83	0	83	0

获得的 ZyVX-GZ 基因组全长为 6 567 nt,其中 5'UTR 长度为 60 nt,位于 1-60 nt,3'UTR 长度为 70 nt,位于 6 498-6 567 nt。ZyVX-GZ 基因组共包含 5 个 ORF。ORF1 长度为 4 632 nt,编码 1 543 个氨基酸,分子量为 174 kDa 的 RdRP (RNA dependent RNA polymerase) 蛋白。ORF2 长度为 690 nt,编码 229 个氨基酸,分子量为 25 kDa 的 TGB1 (Triple gene block 1) 蛋白。ORF3 长度为 342 nt,编码 113 个氨基酸,分子量为 12 kDa 的 TGB2 (Triple gene block 2) 蛋白。ORF4 与 ORF3 有 80 个核苷酸的重叠,长度为 195 nt,编码 64 个氨基酸,分子量为 7 kDa 的 TGB3 (Triple gene block 3) 蛋白。ORF 5 长度为 681 nt,编码 226 个氨基酸,分子量为 24 kDa 的 CP (Coat protein) 蛋白。

2.3 序列一致性比较

NCBI 公布的 ZyVX 相关序列共计 11 条,包含的序列、寄主以及地理来源(表 3)。将 ZyVX-GZ 基因组序列与上述 11 条序列进行核苷酸和氨基酸序列一致性计算(表 4)。ZyVX-GZ 基因组核苷酸序列与 P39 和 B1 的一致性均为 91%,5'UTR 与 P39 和 B1 的一致性分别为 92% 和 90%,3'UTR 与 P39 和 B1 的一致性分别为 97% 和 99%。序列差异均为单核苷酸的变异,未发现插入或缺失等变异。

ZyVX-GZ 基因组 RdRP 的核苷酸和氨基酸序列与 P39 和 B1 的一致性最高,分别为 88%~89%

和 96%~97%,与其他 ZyVX 分离物的核苷酸和氨基酸序列一致性为 80%~83% 和 92%~97%。ZyVX-GZ 基因组的 TGB1 与 TW-456Y-4 的核苷酸和氨基酸序列一致性最高,为 99% 和 100%,与 P39 的一致性较高,为 97% 和 100%;与 TW-5149-17 的一致性最低,为 83% 和 92%。ZyVX-GZ 基因组 TGB2 的核苷酸和氨基酸序列与 P39、B1、TW-5149-5、TW-4XB-2 和 TW-456Y-4 的一致性较高,分别为 97%~99% 和 98%~98%;与 TW-5149-17 较低,分别为 84% 和 89%。ZyVX-GZ 基因组 TGB3 的核苷酸和氨基酸序列与 P39、B1、TW-5149-5、TW-4XB-2 和 TW-456Y-4 的一致性较高,分别为 97%~98% 和 96%~98%;与 TW-5149-17 较低,分别为 81% 和 85%。ZyVX-GZ 基因组 CP 的核苷酸和氨基酸序列与 P39、B1、TW-5149-5、TW-4XB-2、TW-456Y-4 和 Ni 的一致性较高,分别为 96%~97% 和 96%~98%,与 TW-5149-17 较低,分别为 81% 和 92%。

2.4 序列相似性分析

利用 Simplot 软件分析 ZyVX-GZ 与 P39、B1 的序列相似性。结果表明,在编码 RdRP 的 ORF 内有 2 个区段相似度较低,分别是 1~1 050 bp 和 3 700~4 500 bp,相似度约 75%。基因组其他区域的相似度均约 93%,未发现明显的基因重组事件。

Table 3 The ZyVX-related isolates in the past years

Name	Accession	Length/nt	Obtained ORFs	Host	Origin
P39	JF930326	6 624	Complete RdRP, TGB1-3, CP	<i>Hylocereus</i> sp.	Taiwan, China
B1	AY366208	6 624	Complete RdRP, TGB1-3, CP	<i>Hylocereus</i> sp.	Taiwan, China
TW-5149-5	KM288844	2 399	Partial RdRP, complete TGB1-3, CP	<i>Hylocereus</i> sp.	Taiwan, China
TW-4XB-2	KM288842	2 403	Partial RdRP, complete TGB1-3, CP	<i>Hylocereus</i> sp.	Taiwan, China
TW-456Y-4	KM288843	1 671	Partial TGB1, complete TGB2-3, CP	<i>Hylocereus</i> sp.	Taiwan, China
TW-5149-17	KM288845	2 397	Partial RdRP, complete TGB1-3, CP	<i>Hylocereus</i> sp.	Taiwan, China
Ni	KY581590	681	Complete CP	<i>Parodia leninghausii</i>	Korea
HU1	EU670720	663	Partial RdRP	<i>Hylocereus undatus</i>	Brazil
ST3	EU676006	663	Partial RdRP	<i>Schlumbergera truncata</i>	Brazil
HU3	EU670722	663	Partial RdRP	<i>Hylocereus undatus</i>	Brazil
OT	EU676009	657	Partial RdRP	<i>Opuntia tuna</i>	Brazil

Table 4 The nucleotide and amino acid sequences identity of ZyVX-GZ and other 11 ZyVX isolates

Virus name	Accession	Sequences identity /% *					
		Complete genome	RdRP	TGB1	TGB2	TGB3	CP
P39	JF930326	91	89/97	97/100	98/99	97/96	97/98
B1	AY366208	91	88/96	95/97	97/99	97/96	96/97
TW-5149-5	KM288844	-	80/92	97/99	98/98	97/96	96/97
TW-4XB-2	KM288842	-	82/94	98/99	99/99	98/98	96/96
TW-456Y-4	KM288843	-	-/-	99/100	98/98	97/96	96/97
TW-5149-17	KM288845	-	81/93	83/92	84/89	81/85	81/92
Ni	KY581590	-	-/-	-/-	-/-	-/-	96/97
HU1	EU670720	-	82/96	-/-	-/-	-/-	-/-
ST3	EU676006	-	83/97	-/-	-/-	-/-	-/-
HU3	EU670722	-	83/95	-/-	-/-	-/-	-/-
OT	EU676009	-	82/93	-/-	-/-	-/-	-/-

* * *: Indicated nucleotide/Amino acid sequence identity.

2.5 系统进化分析

已报道的 ZyVX 分离物, 仅 P39 和 B1 具有全基因组序列, 其他分离物具有部分序列, 选择基因组内 ORF 构建系统进化树。选择 ZyVX-GZ、P39、B1、TW-5149-5、TW-4XB-2、TW-5149-17、HU1、ST3、HU3、OT 等分离物的 RdRP 序列进行系统进化分析。利用 MEGA7.0 软件对上述 10 条核苷酸序列和氨基酸分别进行系统发育分析。使用核苷酸和氨基酸序列, 利用最大似然法、邻接法和最小进化法获得的结果基本一致。如图 2-A 所示, TW-5149-5、TW-4XB-2、TW-5149-17 聚为一类, ZyVX-GZ、P39、B1、HU1、ST3、HU3 和 OT 聚为一类。

选择 ZyVX-GZ、P39、B1、TW-5149-5、TW-4XB-2、TW-456Y-4、TW-5149-17 和 Ni 等 8 个分离物的 CP 序列构建系统进化树(图 2-B)。ZyVX-GZ、P39、TW-5149-5、TW-4XB-2 和 TW-456Y-4 聚为一类, B1 和 Ni 聚为一类。TW-5149-17 与上述分离物亲缘关系较远, 单独为一类。

3 讨论与结论

火龙果植株受到多种病毒的多重感染, 其病毒均属于 *Flexiviridae* 科 *Potexvirus* 属, 为单分体单链正义 RNA 病毒^[8-14]。ZyVX 侵染火龙果, 巴西、韩国、中国大陆和中国台湾均有报道。侵染的寄主种

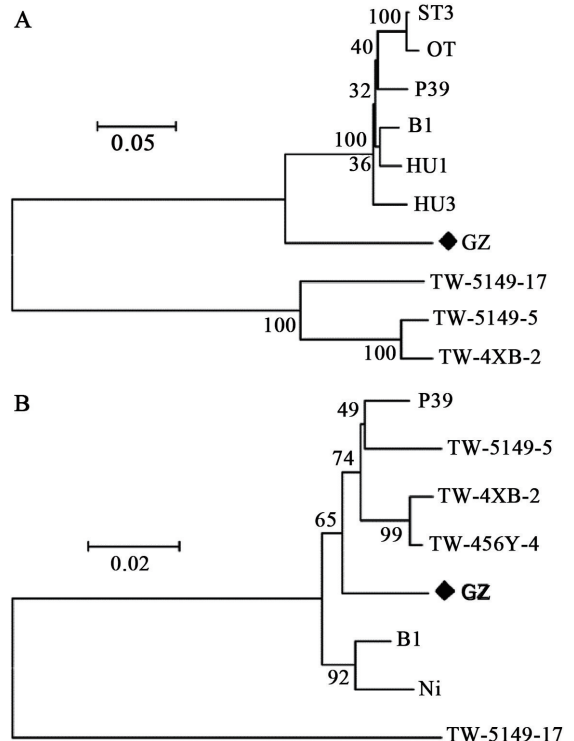


Fig. 2 Phylogenetic analysis of ZyVX-GZ and other ZyVX isolates using the nucleotide sequence of RdRP (A) and CP (B). The phylogenetic trees were constructed using neighbor-joining method. The bootstrap values were calculated by 1 000 replicates.

类包括红肉火龙果、白肉火龙果 (*Hylocereus undatus*)、金晃 (*Parodia leninghausii*)、蟹爪兰 (*Schlumbergera truncata*)、金武团扇仙人掌 (*Opuntia tuna*) 等,均属于仙人掌科不同属或种,表明 ZyVX 的寄主范围较窄。来自中国台湾的 P39 和 B1 分离物已获得基因组全长序列,中国大陆、巴西、韩国仅获得 ZyVX 分离物的部分序列。ZyVX 基因组序列的缺乏,不利于 ZyVX 群体的系统进化分析。本研究获得中国大陆侵染红肉火龙果的 ZyVX-GZ 基因组全长,为分析 ZyVX 群体的遗传变异和系统进化奠定了基础。

大多数 ZyVX 分离物仅有部分基因组序列,尚不能通过全基因组序列开展系统进化分析。本研究利用 ZyVX 的 CP 和 RdRP 序列构建了系统进化树。来源于不同地区、不同寄主的 ZyVX 分离物的聚类与寄主种类、地理分布不存在相关性,说明 ZyVX 群体尚未出现明显的遗传分化。推测其主要原因是 ZyVX 的寄主范围窄,仅限于仙人掌科 4 个属;对 ZyVX 群体的研究较少,群体数量尚不丰富。

RNA 病毒在复制过程中,由于复制相关酶缺乏有效的校正机制,导致复制过程发生频繁的遗传变异^[17]。*Potexvirus* 属的病毒存在不同程度的遗传变异,例如 PVX (*Potato virus x*) 8 个不同分离物的全基因组核苷酸序列一致性为 77%~99%^[18];侵染二齿猪笼草 (*Achyranthes bidentata*) 的 AltMV (*Alternanthera mosaic virus*) 不同分离物的 5 个 ORF 一致性为 71%~80%^[19];侵染车前草 (*Plantago asiatica*) 的 PIAMV (*Plantago asiatica mosaic virus*) 不同地区的分离物基因组核苷酸序列一致性为 76%~78%^[20]。本研究 ZyVX-GZ 基因组与 P39、B1 分离物的一致性均为 91%,在全基因组上的核苷酸序列一致性水平较高。Zheng 等^[15]对红肉火龙果植株中分离到的病毒基因组序列分析结果表明,拼接获得的 CVX-NTU 贵州分离物与 NC-BI 报道的 CVX-NTU 基因组核苷酸序列一致性为 97%,高于 ZyVX-GZ。病毒的遗传变异和进化主要是由病毒与寄主之间的互作关系所决定^[21]。这 2 种侵染红肉火龙果病毒具有相对较小的遗传变异,可能与其流行历史相对较短、寄主种类少有关。

贵州的 ZyVX、CVX-NTU 与中国台湾分离物具有较高的序列一致性,推测这些病毒极有可能是品种引进携带,引种检疫不容忽视。

基因突变和基因重组是 RNA 病毒产生遗传变异,以适应环境的主要机制^[22]。序列相似性分析表明 ZyVX-GZ、P39 和 B1 未发现明显的基因重组事件。核苷酸序列一致性的比较分析说明基因突变是 ZyVX 基因组序列遗传变异的主要原因。进一步比较发现,ZyVX-GZ 基因组内的变异均属于单核苷酸的突变,未发现插入和缺失等变异。因此,ZyVX 群体的遗传变异均是单核苷酸突变引起。

ZyVX-GZ 基因组中编码的 5 个 ORF 与其他分离物相比,以 RdRP 的序列变异最大,核苷酸一致性为 80%~89%。编码的 TGB1-3 和 CP,除去 TW-5149-17 分离物,与其他分离物的核苷酸一致性为 95%~99%,明显高于 RdRP。*Potexvirus* 属的病毒基因组内不同 ORF 普遍表现出不同的序列一致性,例如 AltMV 和 PIAMV 不同分离物中的 ORF 一致性各不相同,RdRP 核苷酸序列一致性较低,CP 和 TGB1-3 一致性略高^[19,20]。ZyVX-GZ 基因组内不同 ORF 变异程度的不同,导致基于 CP 和 RdRP 序列构建的系统进化树结果出现较大差异(图 2)。为准确分析 ZyVX 群体的系统进化,需获得更多分离物的基因组全长。

本研究获得侵染红肉火龙果的 ZyVX-GZ 分离物基因组全长,比较其与其他分离物的遗传变异,并分析系统进化关系,为开展病毒致病机理研究、监测和防控提供了理论基础。

参考文献

- [1] Tel-Zur N, Abbo S, Mizrahi Y. Cytogenetics of semi-fertile triploid and aneuploid intergeneric vine Cacti hybrids [J]. *Journal of Heredity*, 2005, 96(2): 124-131.
- [2] Wu M C, Chen C S. Variation of sugar content in various parts of pitahaya fruit [J], *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 1997, 110: 225-227.
- [3] Wichienchota M, Jatupornpipat R, Rastall A. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties [J]. *Food Chemistry*, 2010, 120(3):

- 850-857.
- [4] Cohen H, Fait A, Tel-Zur N. Morphological, cytological and metabolic consequences of autopolyploidization in *Hylocereus* (Cactaceae) species [J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13: 173.
- [5] Nurul S R, Asmah R. Variability in nutritional composition and phytochemical properties of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) from Malaysia and Australia [J]. *International Food Research Journal*, 2014, 21 (4): 1689-1697.
- [6] Hua Q Z, Chen C B, Qin Y H, et al. Metabolomic characterization of pitaya fruit from three red-skinned cultivars with different pulp colors [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 126: 117-125.
- [7] Park C H, Song E G, Ryu K H. Detection of co-infection of *Notocactus leninghausii* f. *cristatus* with six virus species in south Korea [J]. *Plant Pathology*, 2018, 34(1): 65-70.
- [8] Liou M R, Hung C L, Liou R F, et al. First report of *Cactus virus X* on *Hylocereus undatus* (Cactaceae) in Taiwan [J]. *Plant Disease*, 2001, 85(2): 229.
- [9] Liou M R, Chen Y R, Liou R F, et al. Complete nucleotide sequence and genome organization of a *Cactus virus X* strain from *Hylocereus undatus* (Cactaceae) [J]. *Archives of Virology*, 2004, 149(5): 1037-1043.
- [10] Koenig R, Pleij C, Schiemann J, et al. Molecular characterization of potexviruses isolated from three different genera in the family Cactaceae [J]. *Archives of Virology*, 2004, 149(5): 903-914.
- [11] Duarte L, Alexandre M, Galletti S, et al. Potexvirus diversity in cactaceae from Sao Paulo state in Brazil [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2008, 90(3): 545-551.
- [12] Peng C, Yu N T, Liu Z X, et al. Molecular identification of *Cactus virus X* infecting *Hylocereus polyrhizus* (Cactaceae) in Hainan island, China [J]. *Plant Disease*, 2016, 100(9): 1956.
- [13] Kim J S, Park C Y, Lee S H, et al. First report of *Cactus virus X* infecting *Hylocereus undatus* in Korea [J]. *Plant Disease*, 2016, 100(12): 2544.
- [14] Zhang Y, Liu Z, Yin G, et al. Rapid detection of *Cactus virus X* in *Pitaya* by efficient reverse transcription loop-mediated isothermal amplification [J]. *Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering*, 2016, 3(1): 1055.
- [15] Zheng Q M, Wang Z, Cai Y Q, et al. High-throughput sequencing analysis of viruses in pitaya from Guizhou Province, China (in Chinese) [J]. *Acta Phytopathologica Sinica* (植物病理学报), 2017, 47(3): 364-369.
- [16] Grabherr M G, Haas B J, Regev A, et al. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome [J]. *Nature Biotechnology*, 2011, 29(7): 644-652.
- [17] Yang L, Zhang R Y, Zhang Z C. Advances in research on population structure and molecular variation mechanism of plant virus (in Chinese) [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences* (河南农业科学), 2009, 2(2): 109-112.
- [18] Bai Y F, Bai D M, Tian F R, et al. Cloning and sequencing of cDNA encoding coat protein for *Potato Virus X* (In Chinese) [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* (应用与环境生物学报), 2008, 14(5): 599-603.
- [19] Ivanov P A, Mukhamedzhanova A, Atabekov J G, et al. The complete nucleotide sequence of *Alternanthera mosaic virus* infecting *Portulaca grandiflora* represents a new strain distinct from phlox isolates [J]. *Virus Genes*, 2011, 42: 268-271.
- [20] Komatsu K, Yamaji Y, Namba S, et al. Nucleotide sequence analysis of seven Japanese isolates of *Plantago asiatica mosaic virus* (PIAMV): a unique potexvirus with significantly high genomic and biological variability within the species [J]. *Archives of Virology*, 2008, 153: 193-198.
- [21] William L S, Marilyn J R. Genetic diversity in RNA virus quasispecies is controlled by host-virus interactions [J]. *Journal of Virology*, 2001, 75(14): 6566-6571.
- [22] Chen S H, Zhang H C, Wu X Q, et al. The review on the genetic evolution of plant RNA virus population (in Chinese) [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica* (华北农学报), 2013, S1: 109-112.