植物保护学报 Journal of Plant Protection，2020，47(2)：365-371 DOI：10.13802/j.cnki.zwbhxb.2020.2019108

猕猴桃褪绿环斑相关病毒在陕西省的分布、分子变异及其2个分离物的基因组序列

赵 磊[1] 吴 宽[1,2] 顾沛雯[3] 曹孟籍[4] 王乔春[1,5*] 吴云锋[1*]

（1. 西北农林科技大学植物保护学院，旱区作物逆境生物学国家重点实验室，农业部西北黄土高原作物有害生物综合治理重点实验室，陕西 杨凌 712100；2. 杨凌职业技术学院，陕西 杨凌 712100；3. 宁夏大学农学院，银川 750002；4. 西南大学柑橘研究所，重庆 400712；5. 西北农林科技大学园艺学院，陕西 杨凌 712100）

摘要：为明确我国陕西省猕猴桃主产区的徐香、海沃德、华优和秦美4个猕猴桃品种上的猕猴桃褪绿环斑相关病毒（Actinidia chlorotic ringspot-associated virus，AcCRaV）的分布情况，对采集自该省4个地区的493份样品进行AcCRaV检测，基于*cp*基因序列对获得的AcCRaV分离物进行分子变异分析，并采用高通量测序技术对其中2份样品进行转录组测序。结果显示：AcCRaV在陕西省猕猴桃上分布广泛，且检出率较高，其中周至县秦美猕猴桃上AcCRaV的检出率最高，为45.0%，在杨凌区秦美猕猴桃上AcCRaV的检出率最低，为10.0%。测定的23个AcCRaV分离物*cp*基因序列全长均为945 nt。系统发育树显示AcCRaV分离物共分成2个组，存在较大的分子变异。AcCRaV的*cp*基因分子变异与猕猴桃品种有一定关系，而与地理位置相关性不明显。获得了2个AcCRaV分离物ZZ1和ZZ2的基因组序列，RNA1长度分别为7 049 nt和7 274 nt，RNA2长度均为2 266 nt，RNA3长度分别为1 691 nt和1 696 nt，RNA4长度分别为1 736 nt和1 683 nt，RNA5长度分别为1 460 nt和1 497 nt。分离物ZZ1和ZZ2的基因组序列与GenBank中唯一报道的我国湖北省AcCRaV分离物HN-6基因组序列比对中，分离物ZZ2与HN-6的RNA4同源率最高，为96.0%，分离物ZZ2与HN-6的RNA1同源率最低，为87.8%。表明AcCRaV在我国陕西省猕猴桃主产区分布较广泛，且其分子变异与猕猴桃品种有一定关系。

关键词：猕猴桃；猕猴桃褪绿环斑相关病毒；基因组；分子变异；陕西

Distribution, molecular characterization of Actinidia chlorotic ringspot-associated virus (AcCRaV) from *Actinidia* in Shaanxi and complete genome sequences of two isolates

ZHAO Lei[1] WU Kuan[1,2] GU Peiwen[3] CAO Mengji[4] WANG Qiaochun[1,5*] WU Yunfeng[1*]

（1. State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas; Key Laboratory of Crop Pest Integrated Pest Management on Crop in Northwestern Loess Plateau, Ministry of Agriculture; College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 2. Yangling Vocational & Technical College, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 3. College of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750002, Ningxia Hui Autonomous Region, China; 4. Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400712, China; 5. College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China）

Abstract: To investigate the incidence and distribution of Actinidia chlorotic ringspot-associated virus (AcCRaV) in the four major kiwifruit cultivars Xuxiang, Hayward, Huayou and Qinmei grown in

基金项目：宁夏回族自治区重点研发计划（2019BBF02013），陕西省重点研发计划（2018NY-101，2018ZDXM-NY-058）

* 通信作者（Authors for correspondence），E-mail：qiaochunwang@nwsuaf.edu.cn，wuyf@nwsuaf.edu.cn

收稿日期：2019-06-04

Shaanxi Province of China, a total of 493 samples from the four regions of Shaanxi were collected for AcCRaV detection. Their molecular variations were analyzed based on *cp* gene sequences, and transcriptome sequencing was also conducted in two isolates. The results showed that AcCRaV was widespread in kiwifruit in Shaanxi, with the highest detection rate in the cultivar Qinmei from Zhouzhi County (45.0%) and the lowest in the cultivar Qinmei from Yangling (10.0%). The full-length *cp* gene sequences were obtained from 23 AcCRaV isolates. The phylogenetic tree showed that these isolates were divided into two groups, with large molecular variations. The molecular variation of AcCRaV *cp* gene was related to different kiwifruit cultivars, but its correlation with different geographical regions was not significant. In this study, genome sequences of two AcCRaV isolates (ZZ1 and ZZ2) were obtained, with sequence lengths of 7 049 nt and 7 274 nt for RNA1, both 2 266 nt for RNA2, 1 691 nt and 1 696 nt for RNA3, 1 736 nt and 1 683 nt for RNA4, and 1 460 nt and 1 497 nt for RNA5, respectively. The genomes of the two isolates were compared with that of the Hubei isolate HN-6, which was the only entry from China in GenBank. Among the five RNA strands, the highest nucleotide identity (96.0%) was observed between ZZ2 and HN-6 for RNA4, while the lowest nucleotide identity (87.8%) was observed between ZZ2 and HN-6 for RNA1. It indicated that AcCRaV was widely distributed in the four kiwifruit cultivars in Shaanxi, and its molecular variation was related to different kiwifruit cultivars.

Key words: kiwifruit; Actinidia chlorotic ringspot-associated virus; genome; molecular variability; Shaanxi

猕猴桃属于雌雄异株的大型落叶木质藤本植物，中国是猕猴桃的起源与分布中心，也是目前猕猴桃栽培面积最大、产量最多的国家（Ferguson & Huang，2007）。此外，新西兰、智利、意大利、法国和日本也都是猕猴桃生产大国（Blouin et al.，2013）。目前，世界上生产栽培的猕猴桃品种主要是美味猕猴桃（包括秦美、徐香、海沃德等品种）和中华猕猴桃（有红阳、华优、黄金果等品种）2个种（Ferguson & Huang，2007）。截至2014年，世界猕猴桃种植面积约为21.9万hm^2，总产量达到约344万t，而中国猕猴桃种植面积为14.5万hm^2，产量约为184万t，占世界猕猴桃总产量的53.4%（FAO，2014）。陕西省是我国最大的猕猴桃产区，2017年该省猕猴桃栽培面积超过6.7万hm^2，产量超过130万t，占我国猕猴桃总产量的50.0%，占世界猕猴桃总产量的33.3%（FAO，2017）。近年来，随着猕猴桃栽培面积的不断扩大，病毒病的扩散和蔓延也成为威胁猕猴桃安全生产的隐患之一。猕猴桃被病毒侵染后通常会表现出叶片花叶、斑驳、扭曲和褪绿等症状，危害严重时会造成树势减弱，甚至整个植株失去生机（Pearson et al.，2011）。

自2003年新西兰从我国引进猕猴桃苗木时首次检测到苹果茎沟病毒（apple stem grooving virus，ASGV）以来，不断有猕猴桃病毒被鉴定出（Clover et al.，2003；Blouin et al.，2018；Veerakone et al.，2018）。目前，已鉴定出可侵染猕猴桃的病毒共有18种，包括6种新病毒（Pearson et al.，2011；Chavan et al.，2012；Blouin et al.，2013）和12种已知的、猕猴桃是其新寄主的病毒（Blouin et al.，2012；Chavan et al.，2013；James & Phelan，2016）。在我国栽培猕猴桃中鉴定出的病毒有9种，分别是ASGV、猕猴桃病毒A（Actinidia virus A，AcVA）、猕猴桃病毒B（Actinidia virus B，AcVB）（郑亚洲等，2015）、柑橘叶斑驳病毒（citrus leaf blotch virus，CLBV）、番茄坏死斑点相关病毒（tomato necrotic spot associated virus，TNSaV）（Wang et al.，2016）、猕猴桃褪绿环斑相关病毒（Actinidia chlorotic ringspot-associated virus，AcCRaV）（Zheng et al.，2017）、黄瓜花叶病毒（cucumber mosaic virus，CMV）（Wang et al.，2018）、猕猴桃病毒1（Actinidia virus 1，AcV-1）（Peng et al.，2019；Wen et al.，2019）和马铃薯X病毒（potato virus X，PVX）（Zhao et al.，2019）。本课题组前期研究发现，AcCRaV在陕西省徐香猕猴桃上的检出率较高，达到41.6%（Zhao et al.，2019）。然而该病毒在陕西省海沃德、华优和秦美猕猴桃品种上的分布及其分子变异和基因组信息均未见报道。

本研究拟对陕西省4个猕猴桃品种徐香、海沃德、华优和秦美上AcCRaV的分布情况开展系统检测和调查，通过测定该病毒在不同猕猴桃品种、不同地区的分离物外壳蛋白（coat protein，CP）基因序列，分析其分子变异情况，并通过高通量测序技术测定海沃德品种上AcCRaV分离物的基因组序列，分析

其基因组结构特征，以期为陕西省猕猴桃病毒病防治策略的制定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病样：分别于2018—2019年的4—5月，在陕西省周至县（147份）、眉县（181份）、杨凌区（85份）和汉中市（80份）采集表现为叶片花叶、皱缩、畸形、褪绿等疑似被病毒侵染的徐香、海沃德、华优和秦美猕猴桃叶片共493份，于−80℃保存备用。

试剂：TRIzol试剂盒，美国Invitrogen公司；M-MLV反转录酶，美国Thermo Fisher Scientific公司；随机六聚体引物、聚合酶、连接酶、pMD19-T载体、大肠杆菌 *Escherichia coli* JM109感受态细胞，日本TaKaRa公司；2×*Taq* Mastermix，北京康为世纪生物科技有限公司；质粒提取试剂盒、凝胶回收试剂盒，北京百泰克生物技术有限公司；琼脂糖、dNTPs、DNA Marker，加拿大MBI Fermentas公司；其余试剂均为国产分析纯。

仪器：T100TM Thermal Cycler PCR仪、Gel Doc XR+凝胶成像系统，美国Bio-Rad公司；5804 R高速离心机，德国Eppendorf公司；NanoDrop 2000c型超微量紫外可见分光光度计，美国Thermo Fisher Scientific公司；DYCP-38C型卧式水平电泳仪，北京六一仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 供试样品中AcCRaV的RT-PCR检测

参照TRIzol试剂盒说明书对采集的493份样品分别提取其总RNA，用超微量紫外可见分光光度计测定总RNA浓度，选择浓度大于200 ng/μL的总RNA用于后续试验。取1 μg总RNA用随机六聚体引物和M-MLV反转录酶在37℃条件下反应60 min合成cDNA(Zhao et al.,2012)。参照Zheng et al.(2017)报道设计引物AcCRaV3F（5′-ATCCAAGAATTCCT-TAACAGCA-3′）和AcCRaV3R（5′-TGTGCAATCA-TGGCTTATCAGA-3′），并对供试样品进行AcCRaV的RT-PCR检测，预期目的片段大小为477 bp。本研究所用引物均由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。25 μL反应体系：2×*Taq* MasterMix 12.5 μL、上下游引物各1 μL、模板cDNA 1 μL、双蒸水9.5 μL；反应程序：94℃预变性3 min；94℃变性30 s，52℃退火30 s，72℃延伸1 min，35次循环。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后，将含有目标条带的产物送至北京奥科鼎盛生物科技有限公司测序，以确定供试样品中有无目标病毒。

1.2.2 AcCRaV的*cp*基因分子变异分析

为研究AcCRaV的*cp*基因分子变异，随机挑选采自周至县（7份）、眉县（8份）、杨凌区（4份）和汉中市（4份）不同猕猴桃品种的23份样品，其中徐香、海沃德、华优和秦美猕猴桃分别为8、6、5、4份，参照1.2.1方法分别提取总RNA并反转录合成cDNA。参照Zheng et al.（2017）报道设计AcCRaV的*cp*基因扩增引物AcCCP-F（5′-CGAGCTCAGTGGAAGAA-CCACAATATT-3′）和AcCCP-R（5′-CGG-GATCCAT-GCCAAAGCCTATGCAAGG-3′），预期目的片段大小约945 bp。PCR反应体系和程序同1.2.1，将获得的PCR产物经DNA回收试剂盒纯化后，连接到pMD19-T载体，转化大肠杆菌JM109感受态细胞。将经PCR检测的阳性克隆送北京奥科鼎盛生物科技有限公司进行测序，每个样品至少筛选3个阳性克隆，以获得测序一致的序列。使用CLUSTAL X软件（Thompson et al.，1997）对本研究获得的23个、本课题组之前测定的25个（Zhao et al.，2019）以及NCBI下载的1个（Zheng et al.，2017）AcCRaV *cp*基因序列进行比对分析，并利用MEGA 7.0软件以邻接法构建系统发育树，自检设置重复次数1 000次（Tamura et al.，2011）。

1.2.3 AcCRaV基因组测序与分析方法

选取采自周至县病毒病发生较严重的2个海沃德猕猴桃园中且经1.2.1中RT-PCR检测确定被AcCRaV侵染的2份样品，送北京华大基因研究中心进行转录组测序。首先参照1.2.1方法分别提取总RNA，然后去除核糖体RNA后进行建库，应用Illumina HiSeq X-ten平台进行测序。测序后进行AcCRaV基因组序列分析，首先用CLC Genomics Workbench 9.5软件去除测序获得片段的接头和低质量的序列；然后与GenBank中已报道的猕猴桃基因组进行匹配分析，去除测序结果中与猕猴桃基因组匹配的序列；用Trinity program软件（Haas et al.，2013）对没有匹配的序列进行组装，获得大片段序列，在NCBI数据库对所获得的大片段序列进行BLAST比对，分别找到与AcCRaV同源的序列，获得AcCRaV基因组。使用Vector NTI 11.5软件对AcCRaV基因组结构特征进行分析，并对其核苷酸序列及各个预测编码蛋白氨基酸序列分别与GenBank中唯一报道的我国湖北省AcCRaV分离物HN-6基因组核苷酸序列及其对应编码蛋白氨基酸序列进行比对分析。

2 结果与分析

2.1 陕西省猕猴桃上AcCRaV的分布情况

在陕西省周至县、眉县、杨凌区和汉中市采集的表现花叶、环斑和皱缩的猕猴桃叶片样品中均检测到了AcCRaV，检出率为24.3%，但不同地区、不同猕猴桃品种中的检出率不同。在周至县、眉县、杨凌区和汉中市猕猴桃样品中AcCRaV的检出率分别为29.8%、27.9%、16.5%和13.8%，在徐香、海沃德、华优和秦美猕猴桃品种上AcCRaV的检出率分别为28.3%、26.2%、17.7%和21.1%，其中，在周至县的秦美品种上AcCRaV的检出率最高，为45.0%，在杨凌区的秦美品种上AcCRaV的检出率最低，为10.0%（表1）。

表1 猕猴桃褪绿环斑相关病毒在陕西省猕猴桃样品中的检出率

Table 1 The incidences of Actinidia chlorotic ringspot-associated virus in tested *Actinidia* plants in Shaanxi Province

采样地点 Sampling site	猕猴桃品种 *Actinidia* species	总样品数 Total no. of samples	阳性样品数 Positive no. of samples	检出率/% Detection rate
眉县	徐香 Xuxiang	75	26	34.6
Meixian County	海沃德 Hayward	40	15	37.5
	华优 Huayou	26	6	23.1
	秦美 Qinmei	40	7	17.5
小计 Subtotal		181	54	29.8
周至县	徐香 Xuxiang	55	17	30.9
Zhouzhi County	海沃德 Hayward	42	11	26.2
	华优 Huayou	30	4	13.3
	秦美 Qinmei	20	9	45.0
小计 Subtotal		147	41	27.9
杨凌区	徐香 Xuxiang	25	5	20.0
Yangling District	海沃德 Hayward	20	3	15.0
	华优 Huayou	20	4	20.0
	秦美 Qinmei	20	2	10.0
小计 Subtotal		85	14	16.5
汉中市	徐香 Xuxiang	25	3	12.0
Hanzhong City	海沃德 Hayward	20	3	15.0
	华优 Huayou	20	3	15.0
	秦美 Qinmei	15	2	13.3
小计 Subtotal		80	11	13.8
合计 Total		493	120	24.3

2.2 AcCRaV的*cp*基因分子变异分析

从随机挑选的23份猕猴桃样品中均扩增到了大小为945 bp的AcCRaV *cp*基因序列，提交GenBank后获得的登录号分别为MN022329~MN022351。基于AcCRaV的*cp*基因序列构建的系统进化树明显分为2组，其中第1组又分为3个亚组，本研究获得的分离物只聚集在第1组，但在3个亚组中均有分布（图1）。且AcCRaV的*cp*基因分子变异与猕猴桃品种有一定关系，其中AcCRaV在徐香品种间的分子变异较大，在第1组的3个亚组以及第2组中均有分布。AcCRaV在海沃德、秦美和华优品种间也存在一定的分子变异，但分子变异程度较低。AcCRaV的*cp*基因分子变异与不同地理位置的相关性不明显。

2.3 猕猴桃样品转录组测序分析结果

2个周至县海沃德猕猴桃样品经转录组测序分别获得67 992 730条和67 500 416条序列，去除接头和低质量序列后分别得到67 825 345和67 585 620条高质量序列，与猕猴桃基因组进行匹配后，分别获得1 670 640条和1 126 427条未匹配序列，分别占高质量序列数的2.46%和1.67%。将未匹配序列进行组装后分别获得8 107条和7 976条大片段序列，长度分别为200~17 857 nt和200~8 222 nt。经BLASTn和BLASTx比对获得了10条与AcCRaV存在较高同源性的序列片段，分别与AcCRaV的5条RNA序列RNA1~RNA5匹配，为2个AcCRaV周至分离物的基因组序列，分别命名为ZZ1和ZZ2。

AcCRaV分离物ZZ1的RNA1~RNA5长度分别为7 049、2 266、1 691、1 736、1 460 nt，GenBank登录号分别为MN022297~MN022301；分离物ZZ2的RNA1~RNA5长度分别为7 274、2 266、1 696、1 683、1 497 nt，

GenBank登录号分别为MN022302~MN022306。分离物ZZ1和ZZ2的基因组均有5个开放阅读框（open reading frame，ORF），其中RNA1的ORF编码依赖于RNA的RNA聚合酶蛋白；RNA2的ORF编码糖蛋白前体蛋白；RNA3的ORF编码核衣壳蛋白；RNA4的ORF编码1个膜蛋白；RNA5的ORF编码1个假定蛋白。2个AcCRaV周至分离物ZZ1和ZZ2与中国湖北省HN-6分离物的5条RNA核苷酸序列中，同源率最高的是分离物ZZ2与HN-6的RNA4，为96.0%，同源率最低的是分离物ZZ2与HN-6的RNA1，为87.8%；3个分离物的5个ORF编码蛋白氨基酸序列之间，同源率最高的是分离物ZZ2与HN-6的ORF4和ORF5，均为100.0%，同源率最低的是分离物ZZ1与HN-6的ORF5以及分离物ZZ1与ZZ2的ORF5，均为95.6%（表2）。

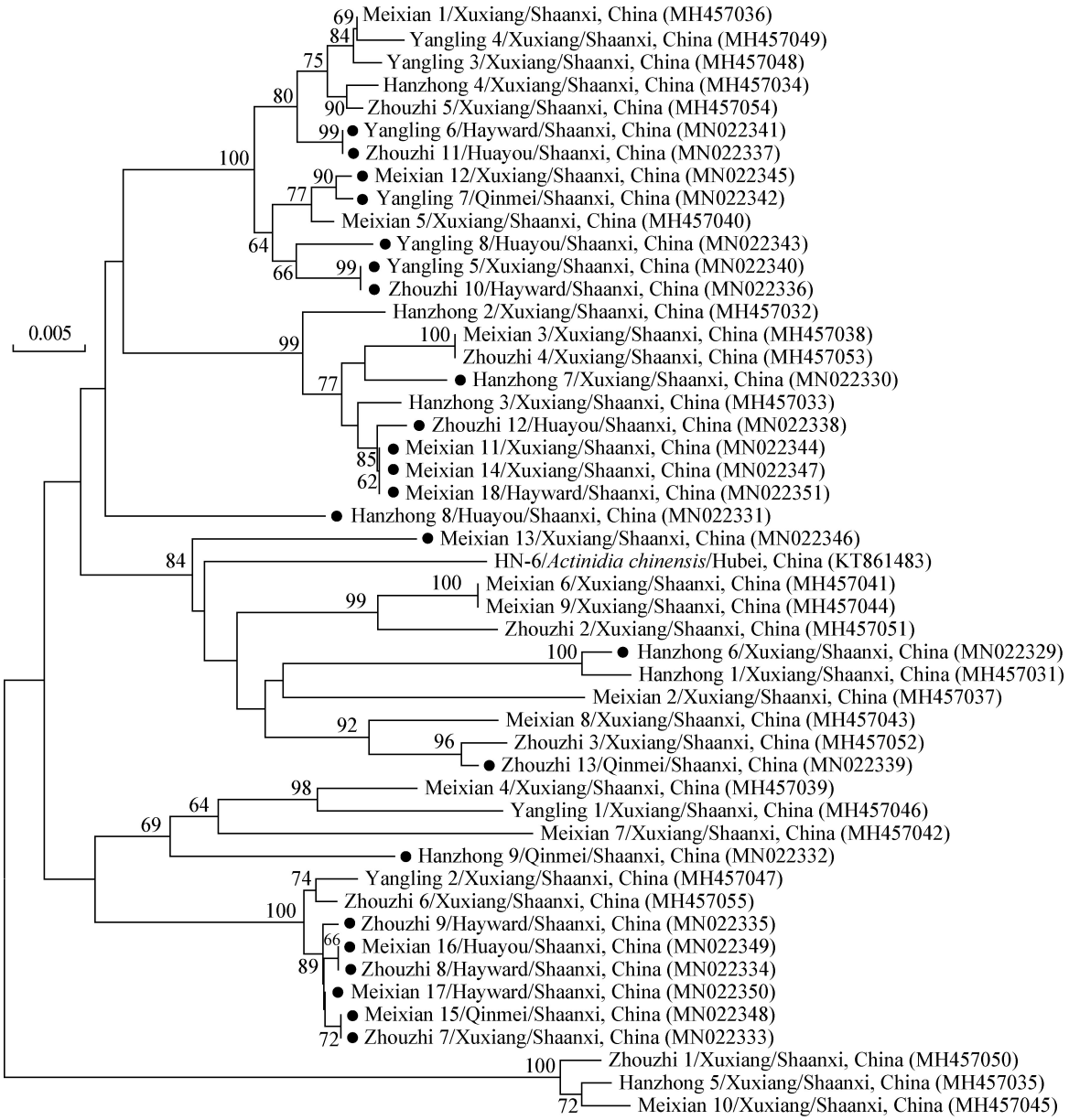

图1　基于*cp*基因序列以邻接法构建猕猴桃褪绿环斑相关病毒不同分离物的系统进化树

Fig. 1　Phylogenetic tree of the isolates of Actinidia chlorotic ringspot-associated virus based on complete nucleotide sequences of *cp* gene by using neighbor-joining method

图中内容表述形式为分离物名称/猕猴桃品种/来源（登录号）。黑点标记分离物为本研究测定序列，未显示低于60%支持率的数值。The description is represented as the isolate/kiwifruit variety/origin (accession number). The black dot indicates the sequence obtained in this study, and bootstrap values below 60% are not shown.

表2 猕猴桃褪绿环斑相关病毒分离物ZZ1、ZZ2和HN-6之间核苷酸与氨基酸序列的同源率

Table 2 Comparison of the nucleotide and predicted amino acid sequences of Actinidia chlorotic ringspot-associated virus ZZ1, ZZ2, and HN-6 isolates %

序列 Sequence			ZZ1	ZZ2
核苷酸 Nucleotide	RNA1	ZZ2	94.4	
		HN-6	90.6	87.8
	RNA2	ZZ2	95.1	
		HN-6	93.7	93.6
	RNA3	ZZ2	95.3	
		HN-6	91.0	92.6
	RNA4	ZZ2	91.8	
		HN-6	92.6	96.0
	RNA5	ZZ2	93.2	
		HN-6	94.5	93.6
氨基酸 Amino acid	依赖RNA的RNA聚合酶 RNA-dependent RNA polymerase	ZZ2	99.4	
		HN-6	97.6	97.7
	糖蛋白前体蛋白 Glycoprotein precursor protein	ZZ2	96.7	
		HN-6	96.2	95.7
	核壳蛋白 Nucleocapsid protein	ZZ2	99.1	
		HN-6	97.9	98.5
	膜定位蛋白 Membrane-located protein	ZZ2	99.8	
		HN-6	99.8	100.0
	假定蛋白 Hypothetical protein	ZZ2	95.6	
		HN-6	95.6	100.0

3 讨论

本研究首次在我国陕西省周至县、眉县、杨凌区和汉中市猕猴桃主产区的徐香、海沃德、华优和秦美猕猴桃品种上系统调查了AcCRaV的分布情况，发现AcCRaV在陕西省猕猴桃产区的检出率较高，达到24.3%。Zheng et al.(2017)采集了湖北、安徽和云南等省的猕猴桃样品，分别在中华猕猴桃、美味猕猴桃、狗枣猕猴桃和毛花猕猴桃上检测到了AcCRaV的存在，并首次报道了AcCRaV中国湖北省HN-6分离物的基因组序列；中华猕猴桃上AcCRaV的检出率为26.1%，美味猕猴桃上AcCRaV的检出率为9.5%，均较本研究中AcCRaV的检出率低。本实验室前期在陕西省也采集了440份疑似被病毒感染的徐香猕猴桃样品，发现AcCRaV在徐香猕猴桃上的检出率为41.8%(Zhao et al.,2019)。表明与湖北、安徽和云南等省猕猴桃主产区相比，AcCRaV在陕西省的发生更普遍。另外，Zhao et al.(2019)除了在陕西省猕猴桃上检出AcCRaV外，还发现AcVA、AcVB、ASGV和CMV等病毒的检出率也较高。陕西省是我国最大的猕猴桃产区，因此猕猴桃生产中对上述病毒的及时检测和防控有重要的现实意义。

从AcCRaV侵染猕猴桃的症状来看，Zheng et al.(2017)研究发现，AcCRaV侵染中华猕猴桃的症状主要表现为褪绿环斑、褪绿斑点和叶脉黄化等症状。本研究除了在表现为褪绿环斑、褪绿斑点和叶脉黄化的猕猴桃叶片上检测到了AcCRaV之外，还在许多表现扭曲的猕猴桃叶片样品中检测到了AcCRaV。表明AcCRaV侵染引起猕猴桃的症状是多样化的。Blouin et al.(2012)和Zhao et al.(2019)研究结果也表明AcVA和AcVB侵染猕猴桃也会引起叶片扭曲的症状。因此，田间病害调查时不能由猕猴桃叶片症状判断是否由AcCRaV侵染引起。而且关于猕猴桃病毒的传播途径目前还未见昆虫媒介传播的报道。本研究在田间采集样品时，发现陕西省猕猴桃果园中除了叶蝉普遍存在外，其余昆虫种类较少，对大田采集的多份叶蝉样品进行检测，未检测到AcCRaV的存在。表明AcCRaV在田间可能主要由嫁接方式进行传播，因此在实际生产中进行嫁接时，不要选择叶片表现为褪绿环斑、褪绿斑点、叶脉黄化和扭曲等症状的猕猴桃作为接穗或砧木，以防止猕猴桃病毒的传播和蔓延。

本研究通过高通量测序分析获得了2个AcCRaV周至分离物的基因组序列，克隆了周至县、眉县、杨凌区和汉中市4个猕猴桃品种上的多个AcCRaV的*cp*基因序列，分析了它们的分子变异情况。从AcCRaV基因组角度来看，本研究从陕西省徐香猕猴桃品种上分离的2个AcCRaV分离物ZZ1、ZZ2的基因组序列与Zheng et al.(2017)从湖北省分离的

HN-6分离物基因组序列相比较，基因组结构相一致，三者对应的5条RNA核苷酸序列之间的同源率在87.8%~96.0%之间。从*cp*基因系统进化树结果来看，陕西省AcCRaV的*cp*基因已形成了明显的2个分组，大部分分离物聚集在第1组。表明，AcCRaV的*cp*基因存在明显的分子变异，且分子变异与猕猴桃品种有一定关系，而与不同地理位置的相关性不明显。

参 考 文 献（References）

BLOUIN AG, BICCHERI R, KHALIFA ME, PEARSON MN, POGGI POLLINI CP, HAMIAUX C, COHEN D, RATTI C. 2018. Characterization of Actinidia virus 1, a new member of the family *Closteroviridae* encoding a thaumatin-like protein. Archive of Virology, 163(1): 229−234

BLOUIN AG, CHAVAN RR, PEARSON MN, MACDIARMID RM, COHEN D. 2012. Detection and characterisation of two novel vitiviruses infecting *Actinidia*. Archive of Virology, 157(4): 713−722

BLOUIN AG, PEARSON MN, CHAVAN RR, WOO ENY, LEBAS BSM, VEERAKONE S, RATTI C, BICCHERI R, MACDIARMID RM, COHEN D. 2013. Viruses of kiwifruit (*Actinidia* species). Journal of Plant Pathology, 95(2): 221−235

CHAVAN RR, BLOUIN AG, COHEN D, PERASON MN. 2013. Characterization of the complete genome of a novel citrivirus infecting *Actinidia chinensis.* Archive of Virology, 158(8): 1679−1686

CHAVAN RR, COHEN D, BLOUIN AG, PERASON MN. 2012. Characterization of the complete genome of ribgrass mosaic virus isolated from *Plantago major* L. from New Zealand and *Actinidia* spp. from China. Archive of Virology, 157(7): 1253−1260

CLOVER GRG, PEARSON MN, ELLIOTT DR, TANG Z, SMALES TE, ALEXANDER BJR. 2003. Characterization of a strain of apple stem grooving virus in *Actinidia chinensis* from China. Plant Pathology, 52(3): 371−378

FAO. 2014. FAOSTAT database on production. Food and Agriculture Organization of the United Nation. http://www.fao.org/faostat/zh/#compare

FAO. 2017. FAOSTAT database on production. Food and Agriculture Organization of the United Nation. http://www.fao.org/faostat/zh/#compare

FERGUSON AR, HUANG H. 2007. Genetic resources of kiwifruit: domestication and breeding. Horticultural Reviews, 33: 1−121

HAAS BJ, PAPANICOLAOU A, YASSOUR M, GRABHERR M, BLOOD PD, BOWDEN J, COUGER MB, ECCLES D, LI B, LIEBER M, et al. 2013. *De novo* transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the trinity platform for reference generation and analysis. Nature Protocols, 8: 1494−1512

JAMES D, PHELAN J. 2016. Complete genome sequence of a strain of *Actinidia* virus X detected in *Ribes nigrum* cv. Baldwin showing unusual symptoms. Archives of Virology, 161(2): 507−511

PEARSON MN, COHEN D, CHAVAN R, BLOUIN A. 2011. *Actinidia* is a natural host to a wide range of plant viruses. Acta Horticulturae, 913: 467−471

PENG QD, LV R, NING JC, YANG T, LIN HH, XI DH, ZHUANG QG. 2019. First report of Actinidia virus 1 infecting *Actinidia chinensis* in China. Plant Disease, 103(4): 782

TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, STECHER G, NEI M, KUMAR S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution, 28(10): 2731−2739

THOMPSON JD, GIBSON TJ, PLEWNIAK F, JEANMOUGIN F, HIGGINS DG. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research, 25(24): 4876−4882

VEERAKONE S, LIEFTING LW, TANG J, WARD LI. 2018. The complete nucleotide sequence and genome organization of a novel member of the family *Betaflexiviridae* from *Actinidia chinensis.* Archive of Virology, 163(5): 1367−1370

WANG D, LIU XX, LI TT, LI Q, LIU Y, GONG GS, YANG H. 2018. First report of *Cucumber mosaic virus* infection in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) in China. Plant Disease, 102(6): 1180

WANG YX, HONG N, WANG GP, YANG ZK, WANG LP, LI L. 2016. First report of the *Tospovirus* tomato necrotic spot associated virus infecting kiwifruit (*Actinidia* sp.) in China. Plant Disease, 100(12): 2539

WEN SH, ZHU CX, HONG N, WANG GP, YANG ZK, WANG YX, WANG LP. 2019. First report of actinidia virus 1 infecting kiwifruit in China. Plant Disease, 103(4): 780

ZHAO L, HAO XA, LIU P, WU YF. 2012. Complete sequence of an apple stem grooving virus (ASGV) isolate from China. Virus Genes, 45(3): 596−599

ZHAO L, YANG W, ZHANG YL, WU ZM, WANG QC, WU YF. 2019. Occurrence and molecular variability of kiwifruit viruses in *Actinidia deliciosa*‘Xuxiang’in the Shaanxi Province of China. Plant Disease, 103(6): 1309−1318

ZHENG YZ, NAVARRO B, WANG GP, WANG YX, YANG ZK, XU WX, ZHU CX, WANG LP, DI SERIO F, HONG N. 2017. Actinidia chlorotic ringspot-associated virus: a novel emaravirus infecting kiwifruit plants. Molecular Plant Pathology, 18(4): 569−581

ZHENG YZ, WANG GP, ZHOU JF, ZHU CX, WANG LP, XU WX, HONG N. 2015. The detection of *Actinidia virus A* and *Actinidia virus B* by RT-PCR and their molecular variation analysis. Acta Horticulturae Sinica, 42(4): 665−671 (in Chinese) [郑亚洲, 王国平, 周菊芳, 朱晨熹, 王利平, 徐文兴, 洪霓. 2015. 猕猴桃病毒A和B的RT-PCR检测及分子变异初步研究. 园艺学报, 42(4): 665−671]

（责任编辑：李美娟）