

贵州省四种蝙蝠携带病毒组

肖宁^① 曾祥^② 周江^{②*}

① 贵阳护理职业学院 贵阳 550000; ② 贵州师范大学 贵阳 550000

摘要: 翼手目 (Chiroptera) 动物已被确认是人畜共患病毒的重要自然宿主。贵州省翼手目物种多样性资源丰富, 包括了 2 亚目 7 科 19 属 65 种, 但在其携带病毒方面的研究仍然不全面。本文基于病毒宏基因组学和 sRNA 病毒检测, 对贵州省广泛分布的大蹄蝠 (*Hipposiderideros armiger*)、三叶蹄蝠 (*Aselliscus wheeleri*)、贵州菊头蝠 (*Rhinolophus rex*) 和皮氏菊头蝠 (*R. pearsoni*) 携带的病毒进行注释及鉴定。通过分析得到所携带病毒的种类; 并比较了贵州省与云南省和广西省 3 个地区翼手目携带病毒在种类上的差异。结果显示, 在 4 种蝙蝠中检测出脊椎动物病毒、昆虫病毒、植物病毒、细菌病毒 4 大类, 共计 53 科 111 属 170 余种病毒, 其中具有公共卫生学意义病毒 9 科 10 属 46 种, 如: 人疱疹病毒 1 型病毒 (*Human herpesvirus 1*)、戊型肝炎病毒 (*Hepatitis E virus*)、人乳头瘤病毒 16 型 (*Human papillomavirus type 16*) 等相关的病毒。贵州省与云南省和广西省 3 个地区的蝙蝠所携带病毒种类比较发现, 只有腺病毒科 (Adenoviridae) 和逆转录病毒科 (Retroviridae) 均存在于 3 个省份的蝙蝠体内, 说明病毒种类在不同地域分布的蝙蝠种类中存在较大的差异。贵州省分布的大蹄蝠、三叶蹄蝠、贵州菊头蝠和皮氏菊头蝠携带病毒的种类较多, 其病毒种类在公共卫生学上具有一定的代表性, 对开展贵州省分子流行病学调查具有重要价值。

关键词: 蝙蝠病毒; sRNA; 病毒宏基因组学; 公共卫生

中图分类号: Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2020) 03-339-14

Viruses Carried by Four Species of Bats in Guizhou Province

XIAO Ning^① ZENG Xiang^② ZHOU Jiang^{②*}

① *Guiyang Nursing Vocational College, Guiyang 550014; ② Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China*

Abstract: Chiroptera has been identified as a natural reservoir of emerging infectious diseases for carrying zoonotic viruses. An astonishing amount of genetic diversity of viruses has been isolated from the bats in different populations throughout the world. The diversity resource of chiropteran species in Guizhou province is abundant, consisting 65 species, 19 genera and 7 families of 2 suborders. However, there has been limited research on their zoonotic viruses. In this study, 253 faecal samples and 258 bat tissue samples were collected in Guizhou Province, including 10 species in 2 families, 6 genera (S1). Based on viral metagenomics and

基金项目 贵州省科技厅自然科学基金项目 (黔科合基础[2016]1004), 贵州师范大学地理学一流学科建设项目 (黔教科研发[2017]85 号), 国家重点研发计划项目 (No. 2016YFC0503200), 国家科技基础条件平台工作重点项目 (No. 2005DKA21402);

* 通讯作者, E-mail: zhoujiang@ioz.ac.cn;

第一作者介绍 肖宁, 女, 副教授; 研究方向: 动物遗传学; E-mail: armiger@163.com。

收稿日期: 2019-11-12, 修回日期: 2020-03-20 DOI: 10.13859/j.cjz.202003008

sRNA virus detection, this research identified the viruses carried by four species of bats that are widely found in Guizhou Province. By analysing different types of bat viruses, and comparing the species differentiation between bats from Guizhou and those from Yunnan and Guangxi, the study detected four types of viruses in four bat species, including vertebrate viruses, insect viruses, plant viruses and bacterial viruses. Furthermore, there were totally 53 families, 111 genera and more than 170 virus species found, including 9 families, 10 genera and 46 species with public health significance, such as *Human herpesvirus 1*, *Hepatitis E virus*, *Human papillomavirus type 16 (S2)*. The comparison of virus species among the three regions revealed that only Adenoviridae and Retroviridae were found in the bats inhabiting in all the three provinces, which might indicate that there could be large differences in types of bat viruses distributed in different regions. Since Chiropterans in Guizhou are found to carry a wide range of virus species which have certain representativeness in public health, it is crucial to carry out further molecular epidemiological investigations.

Key words: Bat virus; sRNA; Virus metagenomics; Public health

翼手目 (Chiroptera) 动物, 俗称蝙蝠, 物种多样性高, 是哺乳纲动物中的第二大目, 仅次于啮齿目 (Rodentia)。迄今为止, 有超过 200 种病毒在蝙蝠体内被检测并报道 (Moratell et al. 2015, Wu et al. 2016)。尽管蝙蝠新病毒不断被发现, 但全球病毒种类多样性仍然是被低估的 (Anthony et al. 2013), 在公共卫生安全上也一度被忽视。当前, 蝙蝠已被确认是人畜共患病毒的主要自然宿主 (Leroy et al. 2005, Calisher et al. 2006, Wang et al. 2011, Plowright et al. 2015)。

目前, 国外已开展了大量的蝙蝠病毒研究, 1996 年, Halpin 和 Young 等对狐蝠 (*Pteropus dasymallus*) 进行血清学调查, 其体内检测到了亨德拉病毒 (*Hendra viruses*) 的中和抗体, 同时在灰首狐蝠 (*P. poliocephalus*) 和菲果蝠 (*Rousettus aegyptiacus*) 中也成功分离出亨德拉病毒, 证实了亨德拉病毒的自然宿主是狐蝠 (Young et al. 1996, Halpin et al. 2000)。有研究证实, SARS 冠状病毒 (SARS-CoV) 是引起 2003 年严重急性呼吸综合征 (Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS) 大爆发的主要病原体, 此后该病原体在全球范围内迅速扩散, 最终累计造成约 8 000 起病例, 近 900 人死亡 (Drosten et al. 2003, Peiris et al. 2003)。之后, Lau 等 (2005) 在中国的蝙蝠样品中检测出与

SARS-CoV 病毒极高相似度的冠状病毒 Bat-SARS-CoV 和 SARS-like CoV, 这次发现有力地说明了蝙蝠是 SARS-CoV 病毒的自然宿主。在马来西亚, 首次发现尼帕病毒 (*Nipah virus*) 引起了猪神经和呼吸系统疾病的爆发, 进一步研究检测表明, 狐蝠科的马来亚狐蝠 (*P. vampyrus*) 和黑喉狐蝠 (*P. hypomenalus*) (Yob et al. 2001, Chua et al. 2002, Cha 2003), 以及孟加拉国和印度的大狐蝠 (*P. giganteus*) 是尼帕病毒的宿主 (Epstein et al. 2008, Yadav et al. 2012)。2005 年, Leroy 等通过野外调查和血清学研究, 第一次直接证实了果蝠是埃博拉病毒的自然宿主, 果蝠种类包括锤头果蝠 (*Hypsignathus monstrosus*)、无尾肩章果蝠 (*Epomops franqueti*) 和小项圈果蝠 (*Myonycteris torquata*)。此外, 蝙蝠还携带多种流感病毒, 是新发现病毒的“混合容器”, 甚至有可能是新病毒的来源 (Tong et al. 2012, Sun et al. 2013, Tong et al. 2013, Zhu et al. 2013)。

中国地貌环境复杂多样, 蝙蝠种类繁多, 但对其携带病毒的生态学研究起步较晚。在 20 世纪 80 年代, 从云南省棕果蝠 (*R. leschenaultii*) 的组织及血液样本中分离到流行性乙型脑炎病毒 (*Japanese encephalitis virus*) (张海林等 1898)。随后, 又从云南和海南省采集的棕果蝠体内分离到基孔肯雅病毒 (*Chikungunya virus*),

并在蝙蝠血清中检测到多种虫媒病毒抗体（张海林等 2001）。到 2004 年为止，已在蝙蝠体内陆续发现罗斯河病毒（*Ross River virus*, RR）（赵春生等 1997）、森林脑炎病毒（*Russian spring summer encephalitis*, RSSE）（杨蓝萍等 1993）、SARS 相关冠状病毒（SARS-CoV-related）（Guan et al. 2003）等。随着病毒鉴定技术手段的不断发展，在开展蝙蝠携带病毒的研究中有了许多突破性的发现，如从采自我国不同地区的 692 份蝙蝠血清标本中检测到病毒 ELISA 抗体阳性 33 份，提示我国蝙蝠等野生动物中可能存在该病毒传播（Li et al. 2008）；采用病毒宏基因组学对不同地方的蝙蝠进行研究，获得了大量的蝙蝠病毒数据，如圆环病毒属（*Circovirus*）、哺乳动物腺病毒属（*Mastadenovirus*）、博卡病毒属（*Bocavirus*）和甲型乳头瘤病毒属（*Alphapapillomavirus*）等（Ge et al. 2012, Wu et al. 2012）；Yuan 等（2012）在中国不同省份采集到蝙蝠血清标本 843 份，并用他们建立的 ELISA 法检测蝙蝠血清中的埃博拉病毒抗体，结果阳性 32 份，其中 10 份经蛋白质印记分析也得到证实；从与中国云南省相邻的缅甸边境地区的蝙蝠体内分离到新型肝炎病毒（*Bat hepatitis virus*, BtHV）（He et al. 2013）；何彪等于 2015 年采用血清学方法首次成功在云南棕果蝠身上发现了丝状病毒属（*Filoviruses*）病毒，这也是亚洲的首次发现。蔡建秋（2017）的最新研究证实，丝状病毒科包含了 3 个属，分别是埃博拉病毒属（*Ebolavirus*）、马尔堡病毒属（*Marburgvirus*）和库瓦病毒属（*Cuevavirus*）。综上，研究蝙蝠携带病毒对公共卫生安全具有重要的科学价值。

贵州省翼手目种类繁多，目前物种数量为 2 亚目 7 科 19 属 65 种（本实验室调查结果）。然而，有关贵州省翼手目动物携带病毒方面的研究仍然不全面。本研究基于病毒宏基因组学和 sRNA 病毒检测方法，通过对贵州省内采集的蝙蝠粪便样品和组织样品进行检测，分析不同种类蝙蝠携带病毒的组成成分，与广西、云

南周边地区蝙蝠携带病毒种类进行比较，探讨以下两个问题：贵州省翼手目动物携带病毒的本底情况；与周边地区翼手目动物携带病毒在组成上的差异比较，评估贵州省翼手目动物携带病毒研究对公共卫生预防的价值，为翼手目动物携带相关病毒的分子流行病学调查和预防实践工作提供基础数据支持。

1 材料与方法

1.1 蝙蝠样本采集及解剖

采样地点的选定依据《贵州兽类志》（罗蓉等 1993）所描述的贵州省动物地理区划，以及翼手目物种的分布记录，把每一个地理亚省的分布区都考虑到，由北到南、由西到东基本覆盖整个贵州省。同时，在此基础上优先选择蝙蝠种类丰富、分布有贵州蝙蝠特有种和广布种、与人和家禽家畜接触较为频繁的区域。采样地包括贵州省内 15 个县市，详细采集地点见附录 1。对采集的蝙蝠样本首先依据外部形态进行初步物种鉴定，参考书籍为《贵州兽类志》（罗蓉等 1993）和《中国哺乳动物多样性及地理分布》（蒋志刚等 2015）。对于无法确定的物种，提取蝙蝠肌肉组织 DNA 样品，采用 PCR 扩增线粒体 *Cyt b* 序列，进行分子鉴定。

收集蝙蝠粪便样品时，首先对洞内栖息的蝙蝠种群进行拍照鉴定，选择只有 1 种蝙蝠栖息的洞穴，于晚上将干净塑料薄膜铺设在蝙蝠种群栖息位置的正下方，第二天一早用装有 1 ml 病毒保存液（virus transportation medium, VTM）的无菌试管收集掉落在薄膜上的粪便，每个试管收集 4 或 5 颗粪球，不少于 10 份，上下颠倒 5 ~ 10 次混合后放入液氮中保存。对捕捉到的蝙蝠活体使用解剖器具在 2 级安全柜中解剖，取蝙蝠肺（包括气管）、肠道（直肠近肛门处 1 cm 长）和肝，各组织样品装于 1.5 ml 的无菌离心管中，-80 °C 液氮储存。所有样品均编号标记，并记录采样的时间、地点和物种名称。将所有样品使用干冰运送回实验室后，按照 1/10（质量体积比）加入 SM buffer，使

用 Waring 公司的研磨器研磨 5 min, 将研磨液离心 (10 000 g 10 min) 后, 吸取上清液待用。

1.2 粪便样品的病毒宏基因组鉴定分析

根据蝙蝠物种将样品分为 8 组, 分别为亚洲长翼蝠 (*Miniopterus fuliginosus*) 组、西南鼠耳蝠 (*Myotis altarium*) 组、南蝠 (*Ia io*) 组、贵州菊头蝠 (*Rhinolophus rex*) 组、皮氏菊头蝠 (*R. pearsoni*) 组、大蹄蝠 (*Hipposideros armiger*) 组、中蹄蝠 (*Hipposideros larvatus*) 组和三叶蹄蝠 (*Aselliscus wheeleri*) 组。对每组粪便样品进行去背景核酸抽提处理, 每组样取 2 ml 样品做样品总 DNA 质量检测。为了最大可能降低细菌、细胞碎片等杂质对样品的污染, 取离心上清液 500 μm , 通过 0.45 μm 过滤器 (微孔) 过滤, 去除真核细胞和细菌大小的颗粒。用 DNase 和 RNase 处理病毒颗粒滤液, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下消化无保护核酸 60 min。将消化液使用 RNA 提取试剂盒在 Qiacube 上进行 RNA 提取。使用 Nextera XT DNA Sample Preparation Kit (Illumina) 构建文库, 质检合格的文库用 Illumina 平台进行测序, 测序工作在北京百迈客公司完成。

为了保证信息分析质量, 需要对 Raw reads 进行过滤, 得到 clean reads, 对其进行拼接组装 (主要参数: mink 21, maxk 101, step 20, pre_correction), 输出大于 500 bp 的 contig 序列。使用 BLASTn 将非冗余基因集的基因序列与 Nt 数据库中的病毒数据库进行比对, 使用 BLASTP 软件 (Altschuli et al. 1997) 将非冗余基因集的基因序列与 NR 数据库比对, 获得注释信息, 使用 Blast 2GO (Aparicio et al. 2006) (<https://www.blast2go.com/>, Version 2.5) 将 NR 注释结果转化为 GO (Ashburner et al. 2000) 注释结果, 使用 HMMER (Misstry et al. 2013) (<http://www.hmmer.org/>, Version 3.0) 进行 Pfam (Finn et al. 2014) 数据库比对。

1.3 组织样品的小 RNA 鉴定分析

本研究根据蝙蝠物种进行分组, 共分为 8 组, 分别为亚洲长翼蝠组、西南鼠耳蝠、南蝠组、

贵州菊头蝠组、马铁菊头蝠 (*R. ferrumequinum*) 组、中华菊头蝠 (*R. sinicus*) 组、大蹄蝠组和中蹄蝠组。将每组样品中的肺、肠道、肝组织样品混合进行背景核酸抽提处理, 每组样取 2 ml 样品做总 RNA 质量检测。样品检测合格后, 使用 small RNA Sample Pre Kit 构建文库, 利用小 RNA (small RNA, sRNA) 的 3' 及 5' 端特殊结构 (5' 端有完整的磷酸基团, 3' 端有羟基), 以总 RNA 为起始样品, sRNA 3' 端加上接头, 添加反转录引物, 防止多余 3' 接头与 5' 接头连接, 减少接头自连产物, 然后加 5' 接头, 反转录合成 cDNA。随后经过 PCR 扩增, PAGE 胶电泳分离目标 DNA 片段, 切胶回收得到的即为 cDNA 文库。

使用 Bowtie 软件, 将 clean reads 分别与 Silva 数据库、GtRNAdb 数据库、Rfam 数据库和 Repbase 数据库进行序列比对、过滤处理。经过病毒小 RNA 测序得到的 reads 片段, 通过 velvet 软件对所得 sRNA 进行拼接, 组装成较长的病毒 contigs 后, 可以获得更为准确的样品感染病毒信息。将拼接所得 contigs 进行分类注释, 检测其物种分布情况。参考数据库包括 GenBank Virus RefSeq 核酸数据库、GenBank Virus RefSeq 蛋白数据库、NCBI NR、NCBI NT 和宿主基因组序列 (host genome)。比对算法采用 Blast 比对算法, 采用参数限制 evalue ($1e^{-5}$)。

2 结果

2.1 病毒宏基因组检测结果

2.1.1 数据质控 本研究在贵州省境内共采集蝙蝠粪便样品 253 份, 涵括贵州省境内翼手目 2 科 6 属 8 种 (附录 1)。共准备 8 个样本进行建库和高通量测序, 经过样品质量检测后, 只有大蹄蝠组一组符合建库要求。将检测合格的组样上机测序, 所测得的原始序列数据量 (raw data) 13 562 394 350 条, 但该集合中含有带接头的、低质量的序列, 以及宿主来源的序列, 过滤后数据量 (clean data) 11 098 366

140 条, 占比 81.83%。统计 Pair-end 序列的个数, 得到过滤后的 read 读长 (clean reads) 为 37 347 042。

2.1.2 病毒成分组成 对大蹄蝠组样粪便样品进行病毒鉴定, 对拼接组装后的 contig 序列进行筛选, 输出大于 500 bp 的序列, 最终得到 406 061 条 contigs 序列。将筛选序列分别与 Nt 和 Nr 病毒数据库比对, 共得到 8 149 条病毒相关 contigs 序列 (Nt/Nr = 551/7 598), 对其进行分类鉴定, 完成 6 841 条病毒序列的分类 (Nt/Nr = 215/6 628), 共获得约 150 余种病毒。根据病毒的宿主类型可分为脊椎动物病毒、非脊椎动物 (昆虫) 病毒、植物病毒、细菌病毒。

对大蹄蝠粪便样品病毒进一步分类。细菌病毒序列 4 456 条, 分属于 10 科 21 属, 在总序列中占比 65.14%; 昆虫病毒序列 998 条, 分属于 8 科 13 属, 总序列中占比 14.59%; 脊椎动物病毒序列 975 条, 分属于 22 科 49 属, 总序列中占比 14.25%; 植物病毒序列 412 条, 分属于 10 科 19 属, 总序列中占比 6.02%。主要检测到的病毒有腺病毒科 (Adenoviridae) 中的禽腺病毒 (*Aviadenovirus*)、环状病毒科 (Circoviridae) 中的圆环病毒属 (*Circovirus*)、冠状病毒科 (Coronaviridae) 中的 α 冠状病毒属 (*Alphacoronavirus*)、乳头瘤病毒科 (Papillomaviridae) 中的丙型乳头瘤病毒属

(*Gammapapillomavirus*) 等, 数据库比对鉴定出具有卫生学意义的人畜共患型病毒 7 科 7 属 27 种 (附录 2)。

2.2 sRNA 检测结果

2.2.1 数据质控 本研究在贵州省境内共采集蝙蝠组织样品 258 份, 物种包括了贵州省境内翼手目 2 科 6 属 10 种 (附录 1)。经过样品质量检测后挑选出符合建库要求的 3 个样品组 (表 1), 分别为贵州菊头蝠组、皮氏菊头蝠组和三叶蹄蝠组, 进行后续分析。

2.2.2 病毒成分组成 最终完成了 3 个组样的 sRNA 测序, 共得到 147.24 M clean reads, 各样品不少于 47.03 M clean reads。通过 velvet 软件, 对所得到的 sRNA 进行拼接, 总共获得与病毒相关的 contigs 序列数量为 34 613 条。其中, 3 个组样获得与病毒相关的 contigs 序列数量分别为, 皮氏菊头蝠组 9 140 条, 三叶蹄蝠组 4 776 条, 贵州菊头蝠组 20 697 条。共鉴定出病毒序列 195 条, 完成分类的有 156 条, 注释得到 19 科 31 属 73 种病毒, 未分类的病毒 16 种共计 39 条序列。皮氏菊头蝠组鉴定出病毒序列 64 条, 55 条序列完成分类注释, 得出 16 科 23 属 34 种病毒, 未分类的病毒序列 3 种 9 条; 三叶蹄蝠组鉴定出病毒序列 34 条, 22 条序列完成分类注释, 得出 9 科 13 属 19 种病毒, 未分类的病毒 5 种 12 条序列; 贵州菊头蝠

表 1 质量控制统计结果

Table 1 Statistical results of quality control

样本 Sample	原始序列 Raw reads	低质量序列 Low quality	N% > 10%	长度 < 18 Length < 18	长度 > 35 Length > 35	过滤后序列 Clean reads
皮氏菊头蝠 <i>Rhinolophus pearsoni</i>	57 128 618	0	1	3 334 555	1 047 020	52 747 042
三叶蹄蝠 <i>Aselliscus wheeleri</i>	52 750 133	0	456	4 561 387	727 578	47 460 712
贵州菊头蝠 <i>Rhinolophus rex</i>	52 106 433	0	0	4 193 895	879 610	47 032 928

低质量序列: 因低质量过滤掉的 reads 数; N%: 计算含 N 碱基的数量总和占总体碱基数量的百分比; N% > 10%: 因 N 含量超过 10% 过滤掉的 reads 数; 长度 < 18: 去掉接头后, 小于 18 个核苷酸的 reads 数; 长度 > 35: 去掉接头后, 大于 35 个核苷酸的 reads 数; 过滤后序列: 最终得到的 clean reads 数。

Low quality: Number of reads filtered out due to low quality; N%: Calculate the number of N bases as a percentage of the total number of bases; N% > 10%: Number of reads filtered out when N content exceeds 10%; Length < 18: Number of reads less than 18 nucleotides after removing the linker; Length > 35: after removing the linker, the number of reads greater than 35 nucleotides; Clean reads: the final number of clean reads.

鉴定出病毒序列 97 条, 79 条序列完成分类注释, 得出 15 科 29 属 55 种病毒, 未分类的病毒有 8 种 18 条序列。

对病毒进一步分类, 脊椎动物病毒序列 81 条, 分布于 9 科 13 属, 总序列中占比 51.92%; 昆虫病毒序列 13 条, 分布于 3 科 4 属, 总序列中占比 8.33%; 植物病毒序列 28 条, 分布于 1 科 3 属, 总序列中占比 17.95%; 细菌病毒序列 34 条, 分布于 6 科 8 属, 总序列中占比 21.79%。主要检测到的病毒有黄病毒科 (Flaviviridae) 瘟病毒属 (*Pestivirus*)、肝炎病毒科 (Hepeviridae) 戊型肝炎病毒属 (*Hepevirus*)、疱疹病毒科 (Herpesviridae) 单纯疱疹病毒属 (*Simplexvirus*) 和逆转录病毒科 (Retroviridae) α 逆转录病毒属 (*Alpharetrovirus*) 种类, 数据库比对鉴定出具有卫生学意义的人畜共患型病毒共 4 科 4 属 19 种 (附录 3)。

3 讨论

本研究使用病毒宏基因组学和 sRNA 病毒检测技术调查贵州省境内蝙蝠携带病毒情况, 成功从粪便样品和组织样品中检测出 53 科 111 属 170 余种病毒, 鉴定出具有卫生学意义的人畜共患型病毒 9 科 10 属 46 种。采用 sRNA 病毒检测技术对蝙蝠携带病毒进行检测, 在皮氏菊头蝠、三叶蹄蝠、贵州菊头蝠组织样中共鉴定出 4 科 4 属 19 种具有卫生学意义的人畜共患型病毒, 3 种蝙蝠共同携带的病毒有, 黄病毒科的牛病毒性下痢病毒 (*Bovine viral diarrhea virus*)、肝炎病毒科的戊型肝炎病毒 (*Hepatitis E virus*)、乳头瘤病毒科的人乳头瘤病毒 16 型 (*Human papillomavirus type 16*)、拟菌病毒科 (*Mimiviridae*) 的 *Acanthamoeba polyphaga moulmouvirus* 和 *Moulmouvirus monve* 病毒 (附录 3)。sRNA 病毒检测技术相比病毒宏基因组学, 检测范围较窄, 但是检测高效且准确, 适用于从蝙蝠样本中快速检测出相关病毒种类。本研究利用病毒宏基因组学在病毒检测中的广泛性及 sRNA 在病毒检测中的高效性, 能全面、准

确鉴定出贵州省分布蝙蝠携带的病毒信息, 为今后在蝙蝠携带病毒的研究工作提供了可参考的技术路线。

本研究共采集到 10 个蝙蝠物种, 但只有 4 种检测到病毒, 另外 6 种经多次检测, 都依然没有检测出病毒。存在原因可能是, 在野外简陋的取样环境下容易导致组织样品受污染, 病毒 RNA 或 DNA 被降解; 由于野外采样交通不便耗时长, 对新鲜样品的保存条件十分有限。因此, 检测到的病毒主要集中在蹄蝠科、菊头蝠科 2 科的大蹄蝠、三叶蹄蝠、贵州菊头蝠、皮氏菊头蝠 4 种蝙蝠, 结合病毒宏基因组和 sRNA 的检测发现, 蹄蝠科和菊头蝠科共同携带 8 个属病毒, 如禽痘病毒属 (*Avipoxvirus*)、瘟病毒属、戊型肝炎病毒属、单纯疱疹病毒属等 (附录 2、3); 所检测到的病毒中, 痘病毒科 (*Poxviridae*)、疱疹病毒科、肝炎病毒科、拟菌病毒 (*Mimiviridae*) 为人畜共患型病毒, 不同蝙蝠物种均携带多种人畜共患型病毒, 对疾病的传播存在极大的潜在风险。同时, 4 种蝙蝠均检测到脊椎动物病毒、昆虫病毒、植物病毒、细菌病毒 4 类病毒。由于粪便样品只有大蹄蝠组检测成功, 将蹄蝠科的大蹄蝠组粪便样品检测结果与 2 种菊头蝠科蝙蝠及三叶蹄蝠的组织样品检测结果比较发现, 粪便样品中检测到的细菌病毒远高于其他病毒, 其原因可能在于, 肠道微生物丰富度更高; 粪便样品暴露在自然环境下, 易受到外源细菌污染。组织样品检测到更多的脊椎动物病毒。粪便样品检测出更多人兽共患型的病毒种类, 如沙粒病毒科 (*Arenaviridae*)、披膜病毒科 (*Togaviridae*)、呼肠孤病毒科 (*Reoviridae*)、黄病毒科、腺病毒科、乳头状瘤病毒科 (附录 2、3), 这可能与贵州多数地方村民都习惯将牲畜饲养在洞穴中有关, 这种人为活动为病毒在不同宿主间的交叉传染提供了条件。

基于病毒基因组学方法, 与相邻的广西省和云南省研究结果比较 (Woo et al. 2006, 何彪 2014, 张海林 2015, 朱爱薇 2018), 三个地区

均检测到 4 种不同类型的病毒(脊椎动物病毒、昆虫病毒、植物病毒、细菌病毒),同时三个地区均表现出较高的蝙蝠物种多样性,且食性多样,极有可能是蝙蝠在取食时也摄入了昆虫和植物体内的病毒。对比 3 个省份检测到的病毒种类,其中只有腺病毒科和逆转录病毒科均存在于 3 个地区的蝙蝠体内,说明病毒种类在不同地域分布的蝙蝠种类中存在较大的差异。此外,云南地区(张海林 2015)和本研究都检测到多种类型的冠状病毒,近年来新型冠状病毒不断被发现,已有研究证实蝙蝠群或不同蝙蝠种之间或它们与其他动物之间存在着冠状病毒相互传播,其导致的病毒变异可能引起人类疾病需予以长期关注。

综上所述表明,本研究运用两种检测方法,已成功对贵州省 15 个区县的 1 种特有种(贵州菊头蝠)、3 种广布种(皮氏菊头蝠、大蹄蝠和三叶蹄蝠)携带病毒情况进行评估,并发现了多种具有公共卫生意义的病毒和一些新型病毒,对于这些病毒的进化分类地位、分子特性、致病性等相关研究值得进一步的深入。

参 考 文 献

- Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, et al. 1997. Gapped Blast and Psi-Blast: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17): 3389–3402.
- Anthony S J, Epstein J H, Murray A, et al. 2013. A strategy to estimate unknown viral diversity in mammals. *Mbio*, 4(5): 36–38.
- Aparicio G, Gotz S, Conesa A, et al. 2006. Blast2GO goes grid: developing a grid-enabled prototype for functional genomics analysis. *Studies in Health Technology and Informatics*, 120(5): 194–204.
- Ashburner M, Ball C A, Blake J A, et al. 2000. Gene ontology: tool for the unification of biology. *Nature Genetics*, 25(1): 25–29.
- Calisher C H, Childs J E, Field H E, et al. 2006. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3): 531–545.
- Cha K B. A. 2003. Novel approach for collecting samples from fruit bats for isolation of infectious agents. *Microbes and Infection*, 5(6): 487–490.
- Chua K B, Koh C L, Hooi P S, et al. 2002. Isolation of Nipah virus from Malaysian Island flying-foxes. *Microbes and Infection*, 4(2): 145–151.
- Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al. 2003. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 348(20): 1967–1976.
- Epstein J H, Prakash V, Smith C S, et al. 2008. Henipavirus infection in Fruit Bats (*Pteropus giganteus*), India. *Emerging Infectious Diseases*, 14(8): 1309–1311.
- Finn R D, Bateman A, Clements J, et al. 2014. Pfam: the protein families database. *Nucleic Acids Research*, 42(2): 222–230.
- Ge X, Li Y, Yang H. 2012. Metagenomic Analysis of viruses from bat fecal samples reveals many novel viruses in insectivorous bats in China. *Journal of Virology*, 86(8): 4620–4630.
- Guan Y, Zheng B J, He Y Q, et al. 2003. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, 302(5643): 276–278.
- Halpin K, Young P L, Field H E, et al. 2000. Isolation of Hendra virus from pteropid bats: a natural reservoir of Hendra virus. *Journal of General Virology*, 81(8): 1927–1932.
- He B, Fan Q S, Yang F L, et al. 2013. Hepatitis virus in long-fingered bats, Myanmar. *Emerging Infectious Diseases*, 19(4): 638–640.
- Lau S K, Woo P C, Li K S, et al. 2005. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(39): 14040–14045.
- Leroy E M, Kumulungu B, Pourrut X, et al. 2005. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*, 438(7068): 575–576.
- Li Y, Wang J, Hickey A C, et al. 2008. Antibodies to Nipah or Nipah-viruses in bats, China. *Emerging Infectious Diseases*, 14(12): 1974–1976.
- Misstry J, Finn R D, Eddy S R, et al. 2013. Challenges in homology search: HMMER3 and convergent evolution of coiled-coil regions. *Nucleic Acids Research*, 41(12): 56–60.
- Moratell R, Calisher C H. 2015. Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(1): 1–22.

- Peiris J J, Yuen K Y, Osterhaus A D, et al. 2003. The severe acute respiratory syndrome. *The New England Journal of Medicine*, 349(25): 2431–2441.
- Plowright R K, Eby P, Hudson P J, et al. 2015. Ecological dynamics of emerging bat virus spillover. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2124(282): 2014–2124.
- Sun X, Shi Y, Lu X, et al. 2013. Bat-derived influenza Hemagglutinin H17 does not bind canonical Avian or Human receptors and most likely uses a unique entry mechanism. *Cell Reports*, 3(3): 769–778.
- Tong S, Li Y, Rivailier P, et al. 2012. A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(11): 4269–4274.
- Tong S, Zhu X, Li Y, et al. 2013. New World bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathogens*, 9(10): 23–27.
- Wang L F, Walker P J, Poon L L. 2011. Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats ‘special’ as reservoirs for emerging viruses. *Current Opinion in Virology*, 6(1): 8–10.
- Woo P C Y, Lau S K P, Li K S M. 2006. Molecular diversity of coronaviruses in bats. *Virology*, 1(351): 180–187.
- Wu Z X, Ren L, Yang Y, et al. 2012. Virome analysis for identification of novel mammalian viruses in bat species from Chinese Provinces. *Journal of Virology*, 86(20): 145–150.
- Wu Z, Yang L, Ren X, et al. 2016. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *International Society for Microbial Ecology*, 10(3): 609–620.
- Yadav P D, Rayt C G, Shete A M, et al. 2012. Short report: detection of Nipah virus RNA in fruit bat (*Pteropus giganteus*) from India. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(3): 576–578.
- Yob J M, Rashd A M, Morrissy C J, et al. 2001. Nipah virus infection in bats (order Chiroptera) in peninsular Malaysia. *Emerging Infectious Diseases*, 7(3): 439–441.
- Young P L, Halpin K, Selleck P W, et al. 1996. Serologic evidence for the presence in *Pteropus* bats of a paramyxovirus related to equine morbillivirus. *Emerging Infectious Diseases*, 2(3): 239–240.
- Yuan J, Zhang Y, Li J, et al. 2012. Serological evidence of ebolavirus infection in bats, China. *Virology Journal*, 9(1): 236–237.
- Zhu X Y, Yu W L, McBride R, et al. 2013. Hemagglutinin homologue from H17N10 bat influenza virus exhibits divergent receptor-binding and pH-dependent fusion activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4): 1458–1463.
- 蔡建秋. 2017. 蝙蝠感染丝状病毒的血清学调查. 吉林: 吉林大学硕士学位论文.
- 何彪. 2014. 蝙蝠病毒组学及其新病毒的发现与鉴定. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院博士学位论文.
- 何彪. 2015. 亚洲首株蝙蝠丝状病毒的鉴定 // 中国畜牧兽医学会动物传染病学分会, 解放军军事医学科学院军事兽医研究所. 中国畜牧兽医学会动物传染病学分会第十六次学术研讨会论文集. 济南: 中国畜牧兽医学会动物传染病学分会第十六次学术研讨会, 34–38.
- 蒋志刚, 马勇, 吴毅, 等. 2015. 中国哺乳动物多样性及地理分布. 北京: 科学出版社.
- 罗蓉. 1993. 贵州兽类志. 贵阳: 贵州科技出版社.
- 杨蓝萍, 张天寿, 袁晓平, 等. 1993. 从云南蝙蝠及牛虻中分离出两株森林脑炎病毒. *中国人兽共患病杂志*, 9(1): 22–23.
- 张海林. 2015. 我国蝙蝠携带新发现病毒的研究进展. *中国媒介生物学及控制杂志*, 26(3): 223–227.
- 张海林, 施华芳, 刘丽华, 等. 1989. 从云南省蝙蝠中分离基孔肯雅病毒及血清抗体调查. *病毒学报*, 5(1): 31–36.
- 张海林, 张云智, 黄文丽, 等. 2001. 从云南省蝙蝠脑组织中分离出乙型脑炎病毒. *中国病毒学*, 16(1): 74–77.
- 赵春生, 蒋廉华, 余兴龙, 等. 1997. 从海南省蝙蝠脑中分离出 1 株罗斯河病毒及其血清抗体调查. *中国兽医学报*, 17(3): 241–243.
- 朱爱薇. 2018. 蝙蝠细小病毒多样性分析及蝙蝠圆环病毒感染性克隆构建. 吉林: 吉林大学硕士学位论文.

附录 1 2017 至 2019 年蝙蝠样品采集的时间及地点统计情况
 Appendix 1 Sample collection of different bat species according to geographic locations between Jan 2017 and Jan 2019

采集时间 (年-月) Time (Year-month)	地点 Location	物种 Species	数量 Quantity	
			组织样 Tissue sample	粪便样 Stool sample
2017-1	沿河县 Yanhe	马铁菊头蝠 <i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	1	
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	2	
2017-2	荔波县 Libo 甲良镇 Jialiang	贵州菊头蝠 <i>R. rex</i>	4	
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	3	
		三叶蹄蝠 <i>Aselliscus wheeleri</i>	5	
2017-5	荔波县 Libo 板寨村 Banzhai	中蹄蝠 <i>Hipposideros larvatus</i>	8	
		三叶蹄蝠 <i>A. wheeleri</i>	4	
2017-7	毕节市 Bijie	中华菊头蝠 <i>R. sinicus</i>	2	
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	5	5
	仁怀市 Renhuai	大蹄蝠 <i>Hipposideros armiger</i>	27	30
		中华菊头蝠 <i>R. sinicus</i>	2	
	绥阳县 Suiyang	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	9	
		中华菊头蝠 <i>R. sinicus</i>	2	
	务川县 Wuchuan	中华菊头蝠 <i>R. sinicus</i>	1	
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	6	16
		马铁菊头蝠 <i>R. ferrumequinum</i>	2	
		大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	15	25
石阡县 Shiqian	皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	8	18	
	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	9	8	
2018-1	雷山县 Leishan 独山县 Dushan	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	5	
		三叶蹄蝠 <i>A. wheeleri</i>	3	
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	6	
	平塘县 Pingtang	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	5	
		亚洲长翼蝠 <i>Miniopterus fuliginosus</i>	6	
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	3	
		亚洲长翼蝠 <i>M. fuliginosus</i>	3	
2018-5	黄平县 Huangping	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	12	20
		西南鼠耳蝠 <i>Myotis altarium</i>	4	5
2018-7	荔波县 Libo 板寨村 Banzai	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	7	15
		中蹄蝠 <i>Hipposideros larvatus</i>	9	12
	毕节市 Bijie	皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	2	6
		南蝠 <i>Ia io</i>	3	3
		亚洲长翼蝠 <i>Miniopterus fuliginosus</i>	3	3
		贵州菊头蝠 <i>R. rex</i>	1	5
2018-8	独山县 Dushan	三叶蹄蝠 <i>A. wheeleri</i>	6	12
		大蹄蝠 <i>Hipposideros armiger</i>	8	20
	平塘县 Pingtang	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	5	10
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	6	5
2018-9	惠水县 Huishui	大蹄蝠 <i>H. armiger</i>	6	14
		西南鼠耳蝠 <i>Myotis altarium</i>	2	6
2019-1	荔波县 Libo 甲良镇 Jialiang	贵州菊头蝠 <i>R. rex</i>	22	
		皮氏菊头蝠 <i>R. pearsoni</i>	10	
		三叶蹄蝠 <i>A. wheeleri</i>	6	
合计 Total			258	253

附录 2 病毒宏基因组学分析病毒序列注释

Appendix 2 Viral taxonomy of viral-like contigs

宿主 Host	病毒科 Family	病毒属 Genus	大蹄蝠组样		总数 Total	人畜共患型 Zoonotic
			The sample of <i>Hipposideros armiger</i>	Nr		
脊椎动物 Vertebrate	腺病毒科 Adenoviridae	禽腺病毒属 <i>Aviadenovirus</i>	6		6	√ (6)
		哺乳动物腺病毒属 <i>Mastadenovirus</i>	109	2	111	
	Anelloviridae	<i>Iotatorquevirus</i>		1	1	
		<i>Gammatorquevirus</i>	45		45	
	沙粒病毒科 Arenaviridae	<i>Mammarenavirus</i>		3	3	
		<i>Arenavirus</i>		1	1	
	Astroviridae	<i>Mamastrovirus</i>	47		47	
	Bunyaviridae	<i>Orthobunyavirus</i>		35	35	
	环状病毒科 Circoviridae	圆环病毒属 <i>Circovirus</i>		1	1	
	冠状病毒科 Coronaviridae	α 冠状病毒属 <i>Alphacoronavirus</i>	8		8	
		<i>Bafinivirus</i>	1		1	
	黄病毒科 Flaviviridae	<i>Hepacivirus</i>	2		2	
		瘟病毒属 <i>Pestivirus</i>		1	1	√ (1)
	肝炎病毒科 Hepeviridae	戊型肝炎病毒属 <i>Hepevirus</i>	4		4	
		<i>Orthohantavirus</i>		7		
	疱疹病毒科 Herpesviridae	<i>Cytomegalovirus</i>	35		35	
		<i>Lymphocryptovirus</i>	3	1	4	
		<i>Macavirus</i>	5		5	
		<i>Mardivirus</i>	11		11	
		<i>Muromegalovirus</i>	25		25	
		<i>Percavirus</i>	2		2	
		<i>Proboscivirus</i>	69		69	
		<i>Rhadinovirus</i>	2		2	
		<i>Roseolovirus</i>	102		102	
		单纯疱疹病毒属 <i>Simplexvirus</i>	70	16	86	√ (16)
		<i>Varicellovirus</i>	3	12	15	
		<i>Betaherpesvirinae</i>	3	3	6	
		<i>Alpha herpesvirinae</i>	4		4	
	Alloherpesviridae	<i>Ilctoviruses</i>		1	1	
		<i>Cyprinivirus</i>	89	2	91	
	Nairoviridae	<i>Ictalurivirus</i>	170		170	
		<i>Orthonairovirus</i>		16	16	
	Nyamiviridae	<i>Nyavirus</i>	3		3	
	乳头瘤病毒科 Papillomaviridae	<i>Gammapapillomavirus</i>	1		1	
		—		1	1	
	Paramyxoviridae	<i>Rubulavirus</i>	2		2	
	Parvoviridae	<i>Amdovirus</i>	1		1	
		<i>Dependovirus</i>		1	1	
		<i>Parvovirus</i>		1	1	
	Picobirnaviridae	<i>Picobirnavirus</i>		2	2	

续附录 2

宿主 Host	病毒科 Family	病毒属 Genus	大蹄蝠组样 The sample of <i>Hipposideros armiger</i>		总数 Total	人畜共患型 Zoonotic	
			Nr	Nt			
	Picornaviridae	<i>Aquavirus</i>	1		1		
		<i>Salivirus</i>	14		14		
		<i>Aphthovirus</i>		3	3	√ (1)	
		—	4		4		
	痘病毒科 Poxviridae	<i>Orthopoxvirus</i>	1	1	2		
		<i>Parapoxvirus</i>		1	1	√ (1)	
		<i>Yatapoxvirus</i>	7		7		
		—	1		1		
	呼肠孤病毒科 Reoviridae	<i>Orbivirus</i>		3	3		
	逆转录病毒科 Retroviridae	逆转录病毒属 <i>Alpharetrovirus</i>	7		7	√ (1)	
<i>Lentivirus</i>			2	2			
Togaviridae	<i>Alphavirus</i>		1	1			
	合计 Total		857	118	975		
昆虫 Insect	Ascoviridae	<i>Ascovirus</i>	10		10		
	Baculoviridae	<i>Alphabaculovirus</i>	65	4	69		
		<i>Betabaculovirus</i>	535	20	555		
	Dicistroviridae	<i>Cripavirus</i>	2		2		
		—	3		3		
	Hytrosaviridae	<i>Glossinavirus</i>	1		1		
	Iridoviridae	<i>Iridovirus</i>	14		14		
		<i>Lymphocystivirus</i>	1		1		
		<i>Ranavirus</i>		2	2		
	Polydnaviridae	<i>Bracovirus</i>	32	4	36		
		<i>Ichnovirus</i>	141		141		
	Poxviridae	<i>Alphaentmopoxvirus</i>	2		2		
		<i>Betaentmopoxvirus</i>	21		21		
	Nimaviridae	<i>Whispvirus</i>	21		21		
		—	120		120		
		合计 Total		968	30	998	
	植物 Plant	Bacilladnaviridae	<i>Bacilladnavirus</i>	1		1	
		Bromoviridae	<i>Bromovirus</i>	15		15	
			<i>Ilarvirus</i>		8	8	
		Bunyaviridae	<i>Tospovirus</i>	13		13	
Chrysoviridae		<i>Chrysovirus</i>	31	1	32		
Closteroviridae		<i>Ampelovirus</i>		6	6		
Fimoviridae		<i>Emaravirus</i>	1		1		
Partitiviridae		<i>Alphacryptovirus</i>	3	4	7		
		<i>Betacryptovirus</i>	99		99		
		—	1		1		
Phycodnaviridae		<i>Chlorovirus</i>	61	11	72		
		<i>Phaeovirus</i>	21		21		
		<i>Prasinovirus</i>	2		2		

续附录 2

宿主 Host	病毒科 Family	病毒属 Genus	大蹄蝠组样		总数 Total	人畜共患型 Zoonotic
			The sample of <i>Hipposideros armiger</i>			
			Nr	Nt		
		<i>Prymnesiovirus</i>	67	2	69	
		<i>Coccolithovirus</i>		1	1	
		<i>Rhabdovirus</i>		2	2	
		—	54	1	55	
	Tymoviridae	<i>Marafivirus</i>	3		3	
		<i>Tymovirus</i>	2		2	
	Virgaviridae	<i>Furovirus</i>		1	1	
	—	<i>Tenuiviruses</i>	2		2	
		合计 Total	375	37	412	
细菌 Bacteria	Alphaflexiviridae	<i>Potexvirus</i>	1	1	2	
	Betaflexiviridae	<i>Capillovirus</i>	2		2	
	Inoviridae	—	1		1	
	Microviridae	—	254		254	
	Hypoviridae	<i>Hypovirus</i>		9	9	
	Myoviridae	<i>T4-like viruses</i>	1 103		1 103	
		<i>Twort-like virus</i>	11		11	
		<i>P2-like virus</i>	3		3	
		<i>Spouna like virus</i>	12		12	
		—	589		589	
	Podoviridae	<i>Epsilon15-like viruse</i>	1		1	
		<i>N4-like viruses</i>	7		7	
		<i>P22-like viruses</i>	2		2	
		<i>T7-like viruses</i>	1 024		1 024	
		—	64		64	
	Siphoviridae	<i>Lambdalikevirus</i>	350		350	
		<i>N15-like viruses</i>	2		2	
		<i>Phic3unalikevirus</i>	1		1	
		<i>Tunalikevirus</i>	1		1	
		<i>Yualikevirus</i>	3		3	
		—	236		236	
	Mimiviridae	<i>Mimivirus</i>	1		1	√ (1)
		<i>Moumouvirus</i>	1		1	
		<i>Megavirus</i>	2	3	5	
		<i>Cafeteriavirus</i>	16		16	
	Pandoravirus	<i>Pandoravirus</i>	740	16	756	
		Subtotal	4 427	29	4 456	
		合计 Total	6 628	214	6 841	

√及括号内数字表示：经序列比对确定的人畜共患型病毒种类；NR：将基因序列与 NR 数据库比对后获得的具有注释信息的序列数量；NT：通过 NT 数据库进行病毒序列比对所获得的序列数量；—：只鉴定到科级单位，未能确定到种。

√ and numbers in parentheses: Zoonotic virus identified by sequence alignment; NR: the number of sequences with annotation information obtained after aligning the gene sequence with the NR database; NT: the number of sequences obtained by comparing the virus sequence with the NT database; —: Only the family-level unit has been identified, but the species has not been identified.

附录 3 sRNA 分析病毒序列注释

Appendix 3 Viral taxonomy of viral-like contigs

宿主 Host	病毒科 Family	病毒属 Genus	皮氏菊头蝠组样 The sample of <i>Rhinolophus pearsoni</i>	三叶蹄蝠组样 The sample of <i>Aselliscus wheeleri</i>	贵州菊头蝠组样 The sample of <i>Rhinolophus rex</i>	总数 Total	人畜共患型 Zoonotic
脊椎动物 Vertebrate	Bunyaviridae	<i>Orthobunyavirus</i>	2			2	
	黄病毒科 Flaviviridae	瘟病毒属 <i>Pestivirus</i>	4	2	9	15	
	肝炎病毒科 Hepeviridae	戊型肝炎病毒属 <i>Hepevirus</i>	1	1	1	3	√ (3)
		单纯疱疹病毒属 <i>Simplexvirus</i>	3	1	2	6	
	疱疹病毒科 Herpesviridae	<i>Gammaherpesvirinae</i>	2		1	3	
		—			2	2	
	Alloherpesviridae	—			1	1	
	乳头瘤病毒科 Papillomaviridae	甲型乳头瘤病毒属 <i>Alphapapillomavirus</i>	1	1		2	√ (2)
		<i>Orthopoxvirus</i>	1		2	3	
		禽痘病毒属 <i>Avipoxvirus</i>	5	1	2	8	
	痘病毒科 Poxviridae	<i>Capripoxvirus</i>		1		1	
		<i>Molluscipoxvirus</i>	4	4	4	12	√ (12)
		—			1	1	
	呼肠孤病毒科 Reoviridae	<i>Orbivirus</i>	1			1	
	逆转录病毒科 Retroviridae	逆转录病毒属 <i>Alpharetrovirus</i>			1	1	
		<i>Gammaretrovirus</i>	6	3	7	16	
		—	1	1	2	4	
	合计 Total		31	15	35	81	
昆虫 Insect	Baculoviridae	<i>Alphabaculovirus</i>	1		2	3	
		<i>Betabaculovirus</i>		1	2	3	
	Iridoviridae	<i>Ranavirus</i>			2	2	
	Polydnaviridae	<i>Bracovirus</i>	2		3	5	
	合计 Total		3	1	9	13	
植物 Plant	Phycodnaviridae	<i>Chlorovirus</i>			1	1	
		<i>Prasinovirus</i>	1		4	5	
		<i>Prymnesiovirus</i>	4	3	3	10	
		—	5	1	6	12	
	合计 Total		10	4	14	28	
细菌 Bacteria	Myoviridae	<i>P2-like virus</i>	1			1	
		<i>Spouna like virus</i>	1			1	
		—			1	1	
	Podoviridae	—	1		3	4	
	Siphoviridae	—			2	2	
	Mimiviridae	<i>Mimivirus</i>			2	2	√ (2)
		<i>Moumouvirus</i>	5	2	8	15	

续附录 3

宿主 Host	病毒科 Family	病毒属 Genus	皮氏菊头蝠组样 The sample of <i>Rhinolophus pearsoni</i>	三叶蹄蝠组样 The sample of <i>Aselliscus wheeleri</i>	贵州菊头蝠组样 The sample of <i>Rhinolophus rex</i>	总数 Total	人畜共患型 Zoonotic
		<i>Megavirus</i>	1		1	2	
		<i>Cafeteriavirus</i>			3	3	
	Pandoravirus	<i>Pandoravirus</i>	1		1	2	
	Marseillevirus	<i>Marseillevirus</i>	1			1	
	合计 Total		11	2	21	34	
	总数 Total		55	22	79	156	

√及括号内数字表示：经序列比对确定的人畜共患型病毒种类；——：只鉴定到科级单位，未能确定到种。

√ and numbers in parentheses: Zoonotic virus identified by sequence alignment; ——: Only the family-level unit has been identified, but the species has not been identified.