

王鑫,刘莹莹,肖俊博,等.4类食用菌中RNA病毒的检测和种类分析[J].华中农业大学学报,2025,44(4):160-173.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.04.016

4类食用菌中RNA病毒的检测和种类分析

王鑫,刘莹莹,肖俊博,李华平,李鹏飞

绿色农药全国重点实验室/华南农业大学植物保护学院,广州510642

摘要 为明确生产中不同食用菌中的病毒种类,采用高通量测序技术,对53株侧耳属(*Pleurotus* spp.)和10株灵芝属(*Ganoderma* spp.),以及17株金针菇(*Flammulina filiformis*)和12株鸡腿菇(*Coprinus comatus*)的菌株中的真菌病毒进行检测,对新发现的可能新病毒进行PCR扩增和序列分析,在序列比较的基础上进行系统发育树分析。BLASTx序列比对分析结果显示,4类92个食用菌菌株共有51条contigs可注释为41种病毒,RT-PCR扩增和序列分析共鉴定到13种可能的新病毒,其中,侧耳属菌株中发现7种,鸡腿菇中发现3种,金针菇中发现1种,灵芝属菌株中发现2种。系统发育分析结果显示,这些病毒分属于+ssRNA病毒、-ssRNA病毒和dsRNA病毒,分布在8个病毒科,包括Barnaviridae、Botourmiaviridae、Deltaflexiviridae、Mymonaviridae、Partitiviridae、Phenuiviridae、Phlegiviridae和1个未分类的Bunyavirales病毒。研究结果表明:4类食用菌中存在较为丰富的真菌病毒。

关键词 食用菌;侧耳属;灵芝属;鸡腿菇;金针菇;真菌病毒;病毒检测

中图分类号 S432.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2025)04-0160-14

食用菌通常是指大型的真菌,俗称菇、菌、耳等,具有极高的经济价值,广泛用于食品、医药、养殖、生物农药、生物修复等多个领域^[1]。我国食用菌的种类丰富,其中平菇(*Pleurotus ostreatus*)和金针菇(*Flammulina filiformis*)在2021年我国食用菌年产量位居前四^[2];鸡腿菇(*Coprinus comatus*)生长周期短,生物转化率高,栽培技术易于掌握,具有较高的商业潜能和广阔的发展市场^[3];灵芝(*Ganoderma* spp.)是我国一味传统的名贵中药,具有重要的药用价值^[4]。

真菌病毒(mycoviruses或fungal viruses)是指在各大类群真菌中普遍存在的一类感染或携带并在其中复制的病毒,食用菌病毒属于真菌病毒的一部分^[5]。1962年,Hollings^[6]在生长异常的双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)中,鉴定到第一个真菌病毒。虽然真菌病毒较为显著的特点是寄主感染或携带后具有很强的潜隐性(latency),但是一些真菌病毒可以对其真菌宿主产生各种影响,包括生长、形态、色素沉着、产孢和宿主致病力的改变。因此,许多研究都集中在真菌病毒作为作物真菌病生物防治剂的潜力上,如防治栗疫病菌(*Cryphonectria parastica*)^[7]和核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)^[8]。对于食用菌而言,

一些真菌病毒会导致某些蘑菇病害,如双孢蘑菇的La France病和mushroom virus X(MVX)病。“La France”等长病毒可导致菌丝退化、纱膜过早打开、子实体畸形、组织腐烂、变色等,导致严重的产量损失;MVX病毒可导致原基破坏,使得双孢蘑菇子实体裸床或“斑块”、伞盖过早打开、变色和畸形^[9-10];Kim等^[11]证实感染了Lentinus edodes mycovirus(LeV)的香菇菌株的菌丝生长速率和质量明显降低。

传统的检测食用菌病毒的方法主要包括电镜法、血清学检测、dsRNA检测和RT-PCR检测等。Hollings首次通过电镜在畸形的双孢蘑菇子实体中观察到3种类型的病毒颗粒^[6];Ro等^[12]通过dsRNA技术在平菇中检测到一种新型真菌病毒——Oyster mushroom isometric virus(OMIV),并构建TAS-ELISA系统,使用抗OMIV小鼠单克隆抗体和抗OMIV兔多克隆血清检测平菇中的OMIV。但这些方法存在着操作繁琐、时间长、灵敏度低等问题^[13]。病毒宏转录组学正是在高通量测序技术迅速发展的基础上所产生的一种检测病毒的方法^[14],它不仅可以快速检测病毒,而且还可以高效精确地检测出新病毒的序列,为新病毒的发现奠定基础。高通量测

收稿日期:2024-11-25

基金项目:国家香蕉产业技术体系建设专项(CARS-31-09)

王鑫,E-mail:1163592165@qq.com

通信作者:李鹏飞,E-mail:lipengfei@scau.edu.cn

序技术已经用于探索一些重要的病原真菌^[15-17]和部分食用菌种中存在的病毒,有学者采用siRNA高通量测序技术检测畸形平菇是否携带病毒,来确定菌株畸形是不是由病毒引起的^[18],Liu等^[19]通过高通量测序检测到牛肝菌中携带多种病毒,并通过RT-PCR验证了高通量测序的准确性。尽管前人在平菇和金针菇中检测到一些真菌病毒,如在平菇中发现的OMIV^[12]、Oyster mushroom spherical virus (OMSV)^[20]、Pleurotus citrinopileatus ourmiavirus 1 (PcOV1)^[21]和Pleurotus ostreatus deltaflexivirus 1 (PoDFV1)^[22]以及在金针菇中发现的Flammulina velutipes browning virus (FvBV)^[23],但总体上发现的病毒种类不多,并且目前为止还没有鸡腿菇和灵芝携带病毒报道。为此,本研究通过高通量测序方法检测了4类食用菌(侧耳属、灵芝属、金针菇和鸡腿菇)中的不同病毒类群,旨在为食用菌病毒的多样性解析及食用菌病毒病防控提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

用于病毒检测的92株食用菌栽培菌种,包括53个侧耳属(*Pleurotus*)菌株和10个灵芝属(*Ganoderma*)菌株,以及17株金针菇(*Flammulina filiformis*)和12株鸡腿菇(*Coprinus comatus*),均由山东省寿光市食用菌研究所提供。

1.2 菌株活化

用接菌棒将供试菌株从斜面培养试管接种至PDA加富固体培养基^[13]平板上,于25℃避光培养7d。

1.3 菌株总RNA提取

将活化的菌株接种到铺有玻璃纸的PDA加富固体培养基平板上,在25℃下避光培养7d,使用普洛麦格(北京)总RNA提取试剂盒(LS1040)提取总RNA,方法详见说明书。用1%的琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白仪(Thermo Fisher)检测总RNA的质量和浓度。

1.4 菌株混合RNA样品送样

92个菌株RNA样品分别吸取约2μg并混合,剩余RNA样品于-80℃保存,交由上海伯豪生物技术有限公司进行高通量测序。具体程序为:混合样品在去除核糖体RNA后,使用Zymo-Seq RiboFree总RNA文库制备试剂盒(Zymo Research,美国)进行文库构建,上机进行Illumina HiSeq 2000/2500测序仪测序。

1.5 高通量测序数据分析

1)数据筛选过滤。对原始数据进行处理,去除

总体质量偏低的测序片段(reads),包括质量大于20碱基所占比例小于50%的reads、3'端质量低于20的碱基、长度小于20的reads、测序接头序列以及食用菌mRNA序列。

2)序列拼接。对获得的clean reads用CLC Genomics Workbench (6.0.4版本)^[24-25]的scaffolding contig算法进行de novo拼接,得到初始序列称为Primary UniGene。应用CAP3 EST拼接软件对Primary UniGene进行2次拼接,第1次使用宽松拼接参数进行初始拼接,此阶段生成的拼接产物为First_contig,第2次使用严格拼接参数进行拼接,此阶段生成的拼接产物为Second_contig。

3)病毒相关序列注释。将拼接得到的contigs与国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中的非冗余蛋白质数据库(non-redundant protein database)进行BLASTx比对,选择具有病毒信息注释的contigs作为候选病毒。

4)新病毒RT-PCR验证。根据获得的候选新病毒序列,选择contig序列长度大于1 000 bp且与已知病毒氨基酸序列相似性低于70%序列,为其设计特异引物进行RT-PCR扩增和序列分析,进行可能的新病毒种类的验证。

5)新病毒系统发育树构建。使用开放式阅读框(open reading frame, ORF)检测网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)来预测这些新病毒序列的ORF,在NCBI的保守结构域(conserved domain, CD)搜索服务中检测氨基酸(amino acid, aa)序列的保守域,通过MEGA-X软件进行多重序列比对(clustal muscle方法)并利用邻接法(neighbor-joining method, NJ法)构建系统发育树,Bootstrap检验设定为1 000个重复。

2 结果与分析

2.1 高通量测序数据过滤和拼接

92个菌株经转录组测序后共获得原始reads 65 591 438条,过滤不合格的reads后,获得共64 436 868条clean reads, clean ratio为98.24%。采用CLC Genomics Workbench软件对clean reads进行拼接后获得Primary UniGene共194 986条,对Primary UniGene进行2次拼接后得到最终的拼接contig总数为177 385,片段总长度为95 326 195 bp, N50为617 bp, GC含量为51.59%,其中最长的片段长度为12 093 bp。

表 1 病毒相关基因序列注释结果汇总

Table 1 Summary of annotation results of virus-related gene sequences

基因组类型 Genome type	科 Family	Contig 编号 Contig number	Contig 长度/bp Contig length	同源病毒 Matched virus	同源蛋白 Matched protein	E 值 E-value	覆盖率/% Coverage	序列相似性/% Similarity
+ ssRNA	<i>Barnaviridae</i>	Contig125261	434	<i>Mushroom bacilliform virus</i>	Hypothetical protein MBV gp3	5.00E-44	99	65.28
		Contig176382	546	<i>Mushroom bacilliform virus</i>	Hypothetical protein MBV gp2	3.00E-34	97	40.00
		Contig3128	3 778	<i>Barnaviridae</i> sp.	Hypothetical protein 2	7.00E-93	25	52.04
	<i>Betaflexiviridae</i>	Contig20740	4 008	<i>Barnaviridae</i> sp.	Hypothetical protein 2	1.00E-107	26	51.52
<i>Botourmiaviridae</i>		Contig14843	4 458	Lentinula edodes betaflexi-like virus 1	RdRp	0.00E+00	70	94.57
		Contig82521	650	Magnaporthe oryzae ourmia-like virus	RdRp	7.00E-20	39	56.32
		Contig2482	3 392	Apple ourmia-like virus 3	RdRp	3.00E-150	53	42.97
		Contig119147	437	Ourmia-like virus 3	RdRp	1.00E-32	97	54.23
<i>Deltaflexiviridae</i>		Contig2716	1 805	Apple ourmia-like virus 3	RdRp	0.00E+00	69	98.76
		Contig1964	4 334	Lentinula edodes magoulivirus virus 1	RdRp	0.00E+00	76	98.28
		Contig636	7 304	Lentinula edodes deltaflexi virus 2	Putative polyprotein	0.00E+00	73	83.59
		Contig5084	3 672	Pleurotus ostreatus deltaflexivirus 1	Putative polyprotein	0.00E+00	51	85.22
<i>Fusariviridae</i>		Contig46835	1 551	Pleurotus ostreatus deltaflexivirus 1	Putative polyprotein	0.00E+00	94	66.53
		Contig9722	2 524	Lentinula edodes fusarivirus 5	RdRp	2.00E-86	96	98.56
		Contig1798	7 104	Lentinula edodes fusarivirus 3	RdRp	0.00E+00	29	94.10
		Contig3257	3 083	Lentinula edodes fusarivirus 5	RdRp	0.00E+00	87	88.50
<i>Hypoviridae</i>		Contig15	9 327	Lentinula eaodes hypovirus 2	RdRp	0.00E+00	82	94.93
		Contig78	2 093	Lentinula eaodes hypovirus 2	RdRp	0.00E+00	99	96.90
Unclassified Tymovirales		Contig108475	742	<i>Narnaviridae</i> sp.	RdRp	4.00E-56	98	46.34
		Contig49848	534	Rhizoctonia cerealis tymo-like virus	RdRp	2.00E-06	74	30.50
		Contig167825	358	Purple passionfruit leaf deformation virus	Polyprotein	8.00E-15	99	41.18

续表 1 Continued Table 1

基因组类型 Genome type	科 Family	Contig 编号 Contig number	Contig 长度/bp Contig length	同源病毒 Matched virus	同源蛋白 Matched protein	E 值 E-value	覆盖度/% Coverage	序列相似性/% Similarity
+ssRNA	<i>Tymoviridae</i>	Contig112271	397	Davidia involucreta marafivirus 2	Polyprotein	3.00E-09	86	33.04
	Unclassified	Contig162785	817	Bee Macula-like virus	Polyprotein	2.00E-34	85	39.59
		Contig12594	4 630	Oyster mushroom spherical virus	RdRp	0.00E+00	67	98.09
-ssRNA	<i>Phenuiviridae</i>	Contig13234	7 590	Lentinula edodes negative-strand RNA virus 3	Large protein	0.00E+00	79	34.57
	Unclassified	Contig821	7 112	Armillaria bunya-like virus 2	Polyprotein	0.00E+00	93	36.00
		Contig5596	7 053	Rhizoctonia cerealis lentivirus	RdRp	0.00E+00	85	34.09
		Contig2444	1 190	Lentinula edodes negative-strand RNA virus 2	Large protein	0.00E+00	99	99.75
		Contig79073	1 799	Lentinula edodes negative-strand RNA virus 2	Large protein	0.00E+00	98	98.82
	Unclassified	Contig5873	2 137	Lentinula edodes negative-strand RNA virus 2	Large protein	0.00E+00	99	99.44
		Contig36382	4 765	Heterobasidium irregulare negative-stranded RNA virus 1	RdRp	0.00E+00	94	48.22
	<i>Bunyavirales</i>	Contig719	5 540	Armillaria mellea negative strand RNA virus 1	Large protein	0.00E+00	93	38.75
dsRNA	<i>Mymonaviridae</i>	Contig533	11 545	Lentinula edodes negative-strand RNA virus 1	Large protein	0.00E+00	51	96.39
	<i>Partitiviridae</i>	Contig1339	7 465	Lentinula edodes partitivirus 2	RdRp	0.00E+00	74	99.21
		Contig115996	592	Xiaoqan partiti-like virus 1	RT-like protein	3.00E-84	99	65.66
		Contig5050	1 819	Flammulina velutipes browning virus	RdRp	0.00E+00	89	99.74
		Contig10860	1 903	Rosellinia necatrix partitivirus 24	RdRp	0.00E+00	94	98.33
	Unclassified	Contig9428	1 858	Heterobasidium partitivirus 12	RdRp	0.00E+00	95	58.78
		Contig27286	1 799	Raphanus sativus cryptic virus 1	RdRp	0.00E+00	94	65.66
		Contig48415	1 706	Gaeumannomyces tritici partitivirus 1	Coat protein	4.00E-116	82	43.31
		Contig134005	248	Sclerotinia sclerotiorum partitivirus 1	Putative capsid protein	8.00E-14	64	77.36
	Unclassified	Contig86334	734	Podosphaera prunicola partitivirus 4	Coat protein	5.00E-55	86	46.54

2.2 病毒相关序列注释

对 92 个菌株获得的最终 contigs 进行 BLASTx 分析(表 1),发现共有 51 条 contigs 可注释为 41 种病毒。根据核酸类型可将这些病毒分为+ssRNA 病毒、-ssRNA 病毒和 dsRNA 病毒。其中,24 条 contigs 具有+ssRNA 病毒基因组信息,分布在 7 个病毒科,包括 *Barnaviridae*、*Betaflexiviridae*、*Botourmiaviridae*、*Deltaflexiviridae*、*Fusariviridae*、*Hypoviridae* 和 *Narnaviridae*,以及 2 个未分类的+ssRNA 病毒;9 条 contigs 具有 -ssRNA 病毒基因组信息,分布在 *Mymo-*

naviridae、*Phenuiviridae* 病毒科、以及 1 个未分类的 *Bunyavirales* 病毒目病毒;18 条 contigs 具有 dsRNA 基因组信息,分布在 *Partitiviridae* 和 *Totiviridae* 科以及 2 个未分类的 dsRNA 病毒。

2.3 病毒序列的 RT-PCR 验证

为了验证高通量测序的可靠性以及将病毒种类序列定位到具体的食用菌菌株,依据高通量测序获得的序列分别设计 13 对可能新病毒的特异引物(表 2),以供试的各个菌株的总 RNA 为模板进行 RT-PCR 扩增验证和序列分析。

表 2 病毒 RT-PCR 验证序列

Table 2 List of PCR primers used for viral contig detection

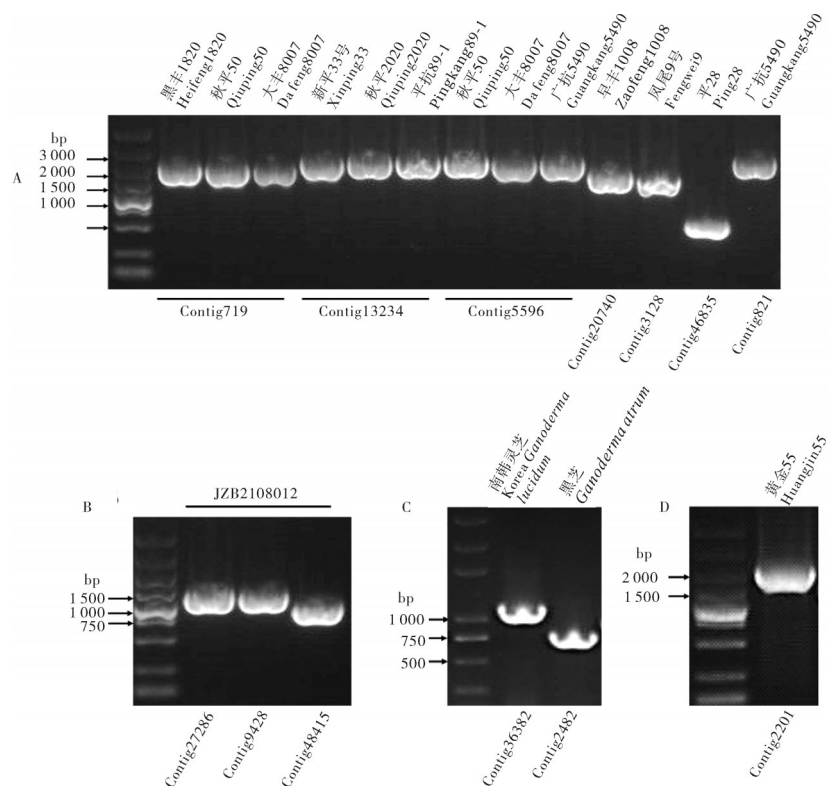
Contig 编号 Contig number	正向引物(5'-3') Primer forward	反向引物(5'-3') Primer reverse	产物大小/bp Product size
Contig719	TGACTATCCCACACGATTA	CTTACCGTATTGGCTCTGC	1 700
Contig13234	AAAGGTTGTGGACTCGTTG	ACTGGTGTGTCATCATCCC	2 334
Contig5596	GAATACAACCTGTGTGGTGGG	CTTCCAATCCGTCAAACG	2 324
Contig20740	GCACTTTGGGAATCTAACACG	AGTCTGGTGAGGATGTCCGA	1 700
Contig3128	GATTGGATGCCGATGAGTA	TGCCACTTGAGGTGTTGAA	1 489
Contig46835	GACTTACCTCAGTTCTGCCG	ACCAAGACGCTGTAGAGACA	577
Contig821	GCAGACTGGGTTTAGCCTT	AGGTGTCCTTGGTATTAGGGT	2 324
Contig27286	TGTATGCCTGTCTCCTTGGT	CGGGATAACCGTTGTTGT	1 208
Contig9428	CGCAACTCTTGACAAAGGTG	GCAAATCCACAGCACTTAGC	1 229
Contig48415	TGCTTCAGACAGGTTTGGA	AGCGGCATCATCAACTC	701
Contig36382	TGCTTGTTGTTGGACTGC	TTGACGAACCTCAGGGACT	1 007
Contig2482	GTTGGAGGAAGGAAATCGTT	CCGAAAGGGTGAATGTTGAT	667
Contig2201	GCACCTTACCATCTCCATACAG	TTGAGCCAAGCAATGTGG	1 800

结果表明,在侧耳属菌株‘黑丰 1820’‘秋平 50’和‘大丰 8007’中检测到 Contig719 病毒片段,在‘新平 33 号’‘秋平 2020’和‘平抗 89-1’中检测到 Contig13234 病毒条带,在‘秋平 50’‘大丰 8007’和‘广抗 5490’中检测到 Contig5596 病毒条带,在‘早丰 1008’中检测到 Contig20740 病毒片段,‘凤尾 9 号’中检测到 Contig3128 病毒片段,在‘平 28’中检测到 Contig46835 以及在‘广抗 5490’检测到 Contig821 病毒片段(图 1A);在鸡腿菇‘JZB2108012’中检测到 Contig27286、Contig9428 以及 Contig48415 病毒条带(图 1B);分别在灵芝属菌株‘南韩灵芝’和‘黑芝’中检测到 Contig36382 和 Contig2482 病毒条带(图 1C);在金针菇‘黄金 55’中扩增到 Contig2201 病毒片段(图 1D)。进一步对扩增片段进行核苷酸序列分析,结果显示这些片段的核苷酸序列与相应病毒的 contigs 序列高度一致。这一方面验证了高通量测序结果的可靠性,另一方面也证明在高通量测序的菌株中的确存在这些可能的病毒。

2.4 食用菌新病毒系统发育分析

通过高通量测序和 RT-PCR 验证,在 92 个供试的侧耳属、灵芝属菌株以及金针菇、鸡腿菇中发现 13 种可能的新病毒,其中包括 4 个+ssRNA 病毒、5 个 -ssRNA 病毒和 4 个 dsRNA 病毒。

1)+ssRNA 病毒。如表 1 所示,高通量测序共获得 4 条与 *Barnaviridae* 病毒科病毒相关的 contigs。通过 RT-PCR 扩增和序列测定,在糙皮侧耳(*Pleurotus ostreatus*)菌株‘早丰 1008’中检测到 Contig20740,与 *Barnaviridae* sp. 的相应序列相似性最高为 51.52%(表 1);在肺形侧耳(*Pleurotus pulmonarius*)菌株‘凤尾 9 号’中检测到 Contig3128,与 *Barnaviridae* sp. 的相应序列相似性最高为 52.04%(表 1)。*Barnaviridae* 病毒科属于 *Sobelivirales* 病毒目,我们选取了该病毒目中不同病毒属的病毒 RdRp 蛋白序列构建系统发育树(图 2),系统发育分析显示,这 2 个病毒均属于 *Barnaviridae* 病毒科,它们和 *Barnaviridae* 病毒科病毒聚集在一起,可能为该病毒科的 2



A:侧耳属菌株 *Pleurotus* spp.; B:鸡腿菇 *Coprinus comatus*; C:灵芝属菌株 *Ganoderma* spp.; D:金针菇 *Flammulina filiformis*.

图1 食用菌病毒RT-PCR验证结果

Fig. 1 RT-PCR confirmation of viral-like contigs in edible mushrooms

种新病毒。

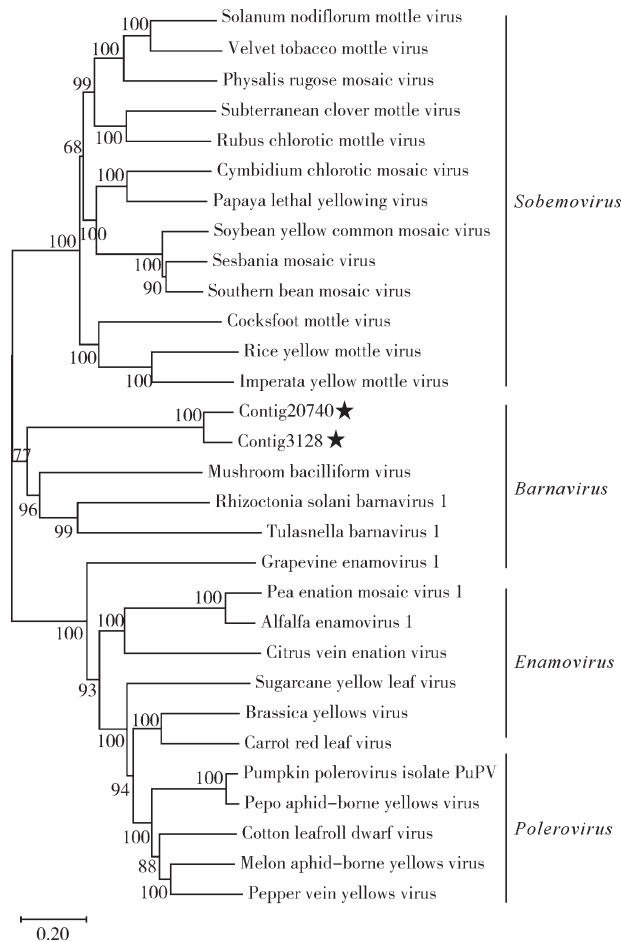
高通量测序共获得4条与 *Deltaflexiviridae* 病毒科相关 contigs(表1),根据 ICTV 对 *Deltaflexivirus* 属新病毒的划分标准,即复制相关蛋白的氨基酸序列同一性低于70%,而本研究中 Contig1964、Contig636 和 Contig5084 与已知病毒复制相关蛋白的蛋白序列相似性均高于70%,属于新病毒的可能性低;而 Contig46835 与 *Pleurotus ostreatus deltaflexivirus* 1 (PoDV1) 相应病毒序列相似性最高仅为66.53%。进一步通过 RT-PCR 扩增和序列分析证实该 Contig46835 存在于糙皮侧耳菌株‘平28’中;将 Contig46835 和 *Tymovirales* 病毒目中 *Alphaflexiviridae*、*Betaflexiviridae*、*Deltaflexiviridae*、*Gammapflexiviridae* 和 *Tymoviridae* 病毒科病毒的复制相关蛋白的氨基酸序列进行系统发育树分析(图3),初步表明该 Contig46835 为 *Deltaflexiviridae* 病毒科新病毒。

高通量测序检测到4条与 *Botourmiaviridae* 相关的 contigs(表1),通过 RT-PCR 扩增和序列分析,在黑灵芝‘黑芝’中检测到 Contig2482,它与 Apple ourmia-like virus 3 相应基因序列的相似性仅为42.97%

(表1)。ICTV 对 *Botourmiaviridae* 科新病毒的划分标准为 RdRp 氨基酸序列同一性低于90%,基于 *Botourmiaviridae* 病毒科 RdRp 构建的系统发育树分析结果(图4)表明,Contig2482 与 Apple ourmia-like virus 3 聚集在一起,同属于 *Magoulivirus* 病毒属,可能为该病毒属的新病毒。

2) -ssRNA 病毒。高通量测序共获得2条与 *Lentimonavirus* 病毒属相关 contigs,通过 RT-PCR 扩增和序列分析。在糙皮侧耳‘黑丰1820’‘秋平50’和‘大丰8007’中都检测到 Contig719,该 Contig719 与 *Armillaria mellea negative strand RNA virus* 1 相应序列最高相似性为38.75%(表1)。根据以 *Mymonaviridae* 科病毒 Large protein 氨基酸序列进行进化发育树分析(图5),以及 ICTV 对 *Mymonaviridae* 科新病毒的划分标准,即 Large protein 氨基酸序列同一性低于80%,结果显示,Contig719 是 *Lentimonavirus* 病毒属的可能新病毒。

高通量测序共获得7条与 *Bunyavirales* 病毒目相关 contigs,通过 RT-PCR 扩增和序列分析,在糙皮侧耳菌株‘新平33号’‘秋平2020’和‘平抗89-1’中均检测到了 Contig13234,它与 *Lentinula edodes nega-*



Contig20740和Contig3128用五角星标示。Contig20740 and Contig3128 are marked with stars.

图2 基于 *Sobelivirales* 病毒目病毒 RdRp 蛋白序列的系统发育树分析

Fig. 2 Phylogenetic tree analysis based on RdRp of members of the order *Sobelivirales*

tive-strand RNA virus 3 病毒相应序列相似性最高为 34.57% (表 1); 在糙皮侧耳菌株‘广抗 5490’中检测到 Contig821, 它与 *Armillaria bunya-like virus 2* 相应序列相似性最高为 36% (表 1); 在糙皮侧耳菌株‘秋平 50’‘大丰 8007’和‘广抗 5490’均检测到 Contig5596, 它与 *Rhizoctonia cerealis lentivirus* 相应序列的相似性最高为 34.09% (表 1); 在灵芝‘南韩灵芝’菌株中检测到 Contig36382, 它与 *Heterobasidion irregulare negative-stranded RNA virus 1* 的相应序列的相似性最高为 48.22% (表 1)。

ICTV 对 *Phenuiviridae* 科新病毒的划分标准为 RdRp 氨基酸序列同一性低于 95%, 同时根据 *Bunyavirales* 目中病毒 RdRp 蛋白序列进行系统发育树分析 (图 6), 结果表明, Contig13234、Contig5596 和 Contig821 均属于 *Phenuiviridae* 病毒科中 3 种可能的

病毒, 而 Contig36382 与一些未分类的 *Bunyavirales* 病毒目的病毒聚集在一个分支。

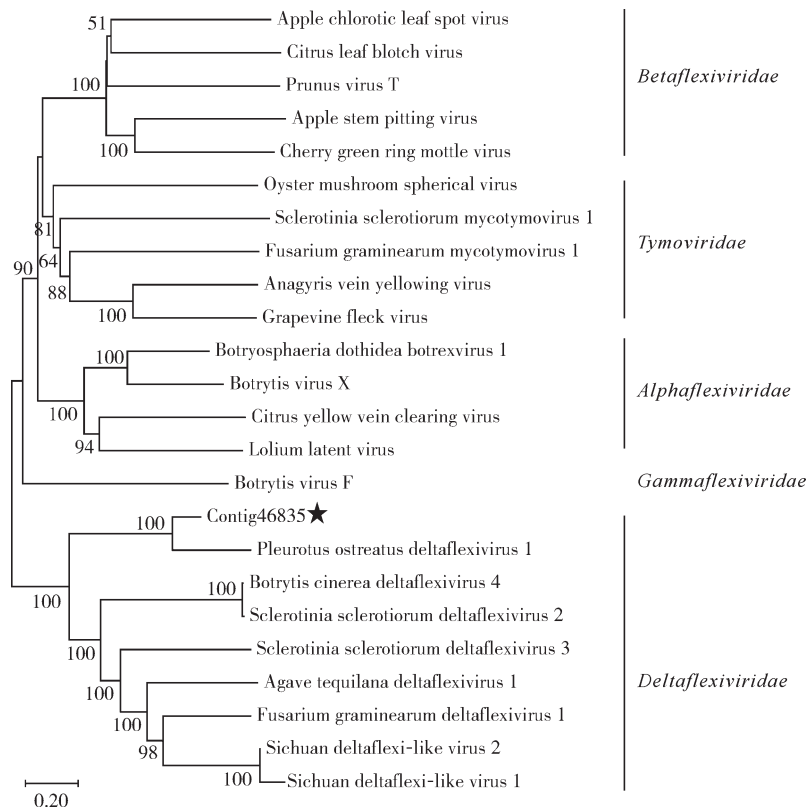
3) dsRNA 病毒。高通量测序共得到 14 条 *Partitiviridae* 病毒科相关序列, 通过 RT-PCR 扩增和序列分析, 在鸡腿菇‘JZB2108012’中检测到 Contig27286、Contig9428 和 Contig48415。其中, Contig27286 与 *Raphanus sativus cryptic virus 1* 的 RdRp 相似性最高为 65.66% (表 1); Contig9428 与 *Heterobasidion partitivirus 12* 的 RdRp 相似性最高为 58.78% (表 1); Contig48415 与 *Gaeumannomyces tritici partitivirus 1* 的外壳蛋白氨基酸序列相似性最高为 43.31% (表 1)。依据 *Partitiviridae* 病毒科病毒 RdRp 序列 (图 7) 和衣壳蛋白氨基酸序列 (图 8) 构建进化发育树, 结果显示 Contig27286、Contig9428 和 Contig48415 均属于 *Alphapartitivirus* 病毒属中的 3 种可能的新病毒。

高通量测序共获得 2 条与 *Totiviridae* 病毒科病毒相关的 contigs, 通过 RT-PCR 扩增和序列分析, 在金针菇‘黄金 55’中检测到 Contig2201。该 Contig2201 与 *Phlebiopsis gigantea mycovirus dsRNA 1* 相应序列相似性最高为 48.90%, 基于 *Ghabrivirales* 病毒目病毒和 *Phlegiviridae* 病毒科病毒的 RdRp 蛋白序列构建进化树 (图 9), 发现 Contig2201 与 *Phlegiviridae* 病毒科病毒有明显独立的系统发育状态, 可能是 *Phlegiviridae* 病毒科的新病毒。

3 讨论

高通量测序技术极大地丰富了我们对于病毒多样性的认识。本研究利用下一代测序技术 (next-generation sequencing, NGS) 对 92 个侧耳属菌株、灵芝属菌株、金针菇菌株和鸡腿菇菌株中携带的 RNA 病毒进行了研究。通过 BLAST 分析和系统发育树构建, 共获得 51 条 contigs, 并注释为 41 种潜在的病毒。通过 RT-PCR 检测和序列分析, 共检测到 13 种可能的病毒, 其中在侧耳属菌株中发现 7 种, 在鸡腿菇中发现 3 种, 在金针菇中发现 1 种, 在灵芝属菌株中发现 2 种。这些新病毒分属于 +ssRNA 病毒中的 *Barnaviridae*、*Botourmiaviridae* 和 *Deltaflexiviridae* 病毒科, -ssRNA 病毒中的 *Mymonaviridae*、*Phenuiviridae* 病毒科和 1 个未分类的 *Bunyavirales* 病毒目病毒, 以及 dsRNA 病毒中的 *Partitiviridae* 和 *Phlegiviridae* 病毒科等共 8 个病毒科。

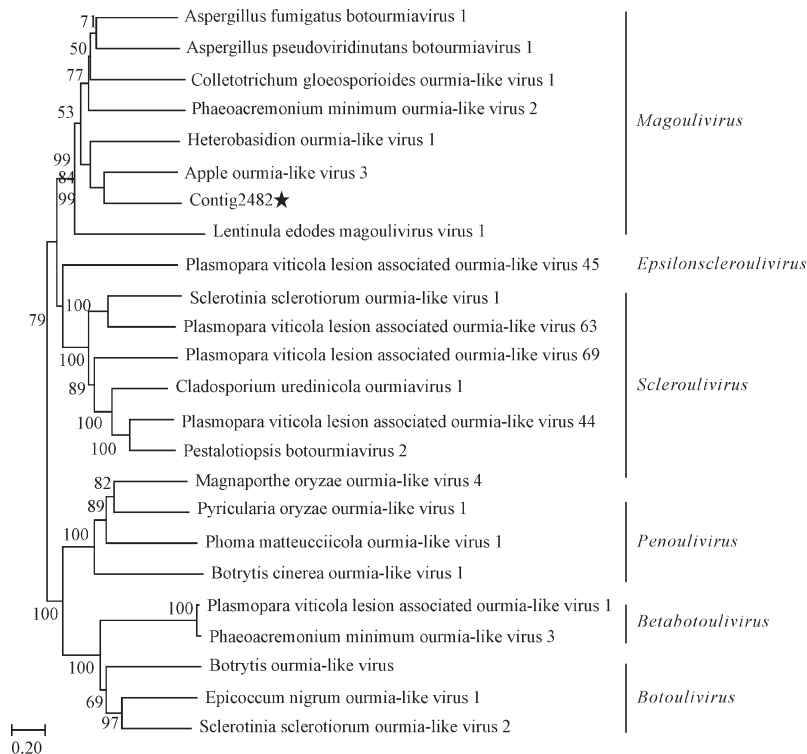
截至目前, 人们已在双孢蘑菇 (*Agaricus bispo-*



Contig46835用五角星标示。Contig46835 is marked with a star.

图 3 基于 *Tymovirales* 病毒目病毒 RdRp 蛋白序列的系统发育树分析

Fig. 3 Phylogenetic tree analysis based on RdRp of members of the order *Tymovirales*



Contig2482用五角星标示。Contig2482 is marked with a star.

图 4 基于 *Botourmiaviridae* 病毒科病毒 RdRp 蛋白序列的系统发育树分析

Fig. 4 Phylogenetic tree analysis based on RdRp of members of the family *Botourmiaviridae*

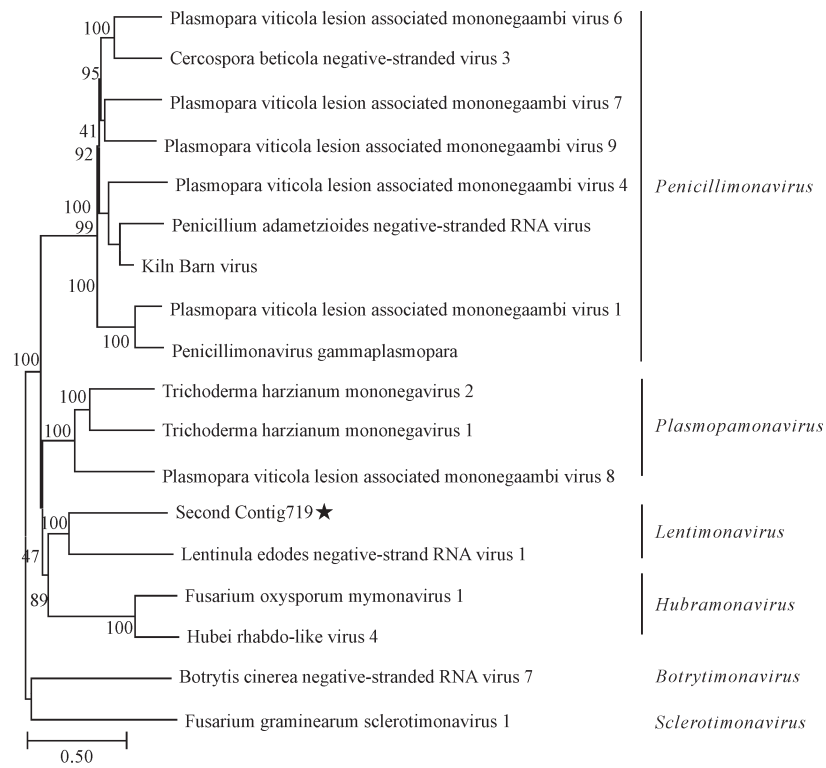
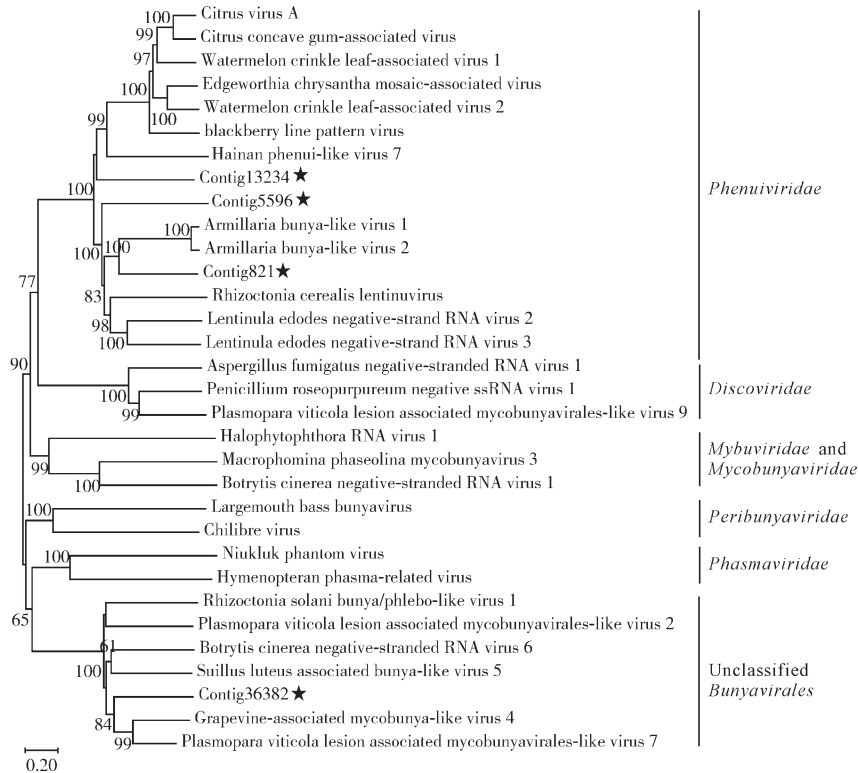


图 5 基于 *Mymonaviridae* 病毒科病毒 L 蛋白序列的系统发育树分析

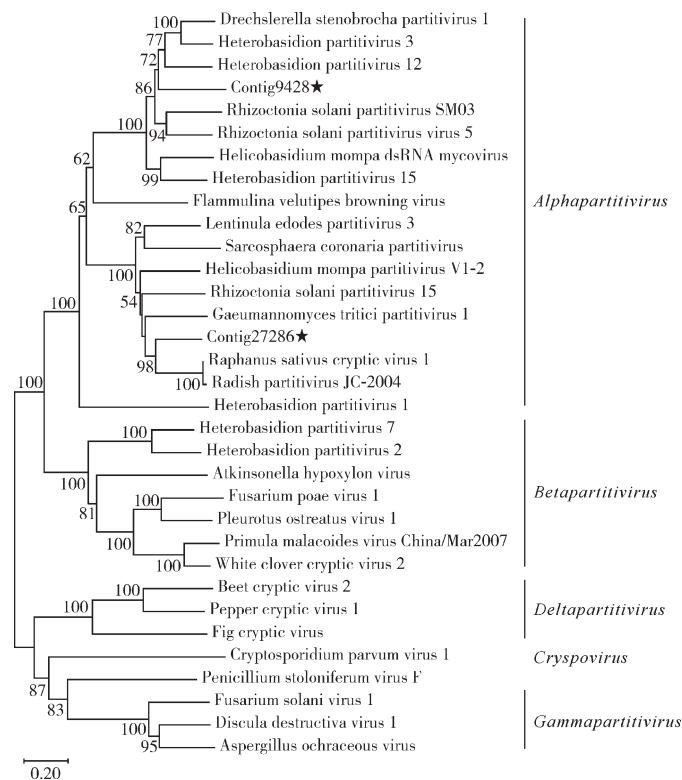
Fig. 5 Phylogenetic tree analysis based on Large protein of members of the family *Mymonaviridae*



Contig13234、Contig5596、Contig821 和 Contig36382 用五角星标示。Contig13234, Contig5596, Contig821, and Contig36382 are marked with stars.

图 6 基于 *Bunyavirales* 病毒目病毒 RdRp 蛋白序列的系统发育树分析

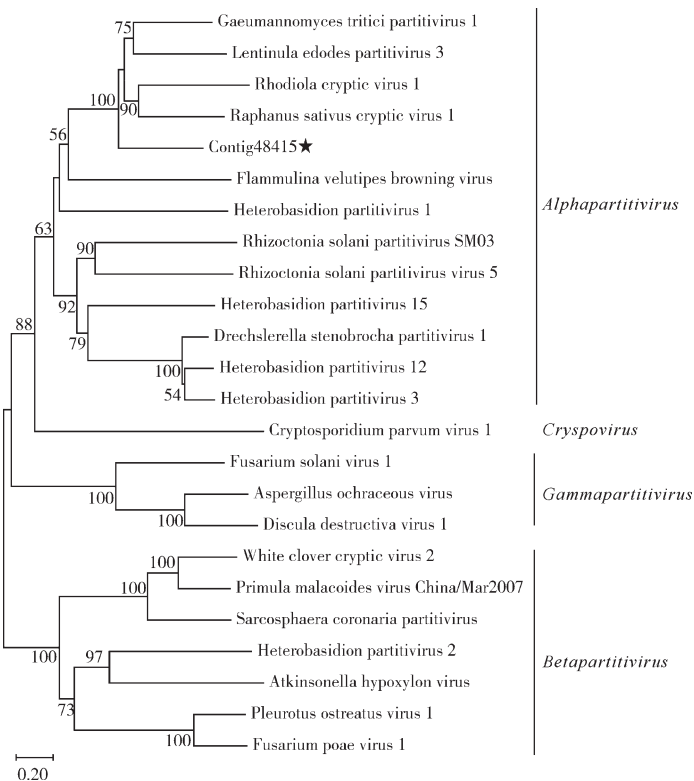
Fig. 6 Phylogenetic tree analysis based on Large protein of members of the order *Bunyavirales*



Contig9428 和 Contig27286 用五角星标示。Contig9428 and Contig27286 are marked with stars.

图 7 基于 *Partitiviridae* 病毒科病毒 RdRp 蛋白序列的系统发育树分析

Fig. 7 Phylogenetic tree analysis based on RdRp of members of the family *Partitiviridae*



Contig48415 用五角星标示。Contig48415 is marked with a star.

图 8 基于 *Partitiviridae* 病毒科病毒 CP 蛋白序列的系统发育树分析

Fig. 8 Phylogenetic tree analysis based on CP of members of the family *Partitiviridae*

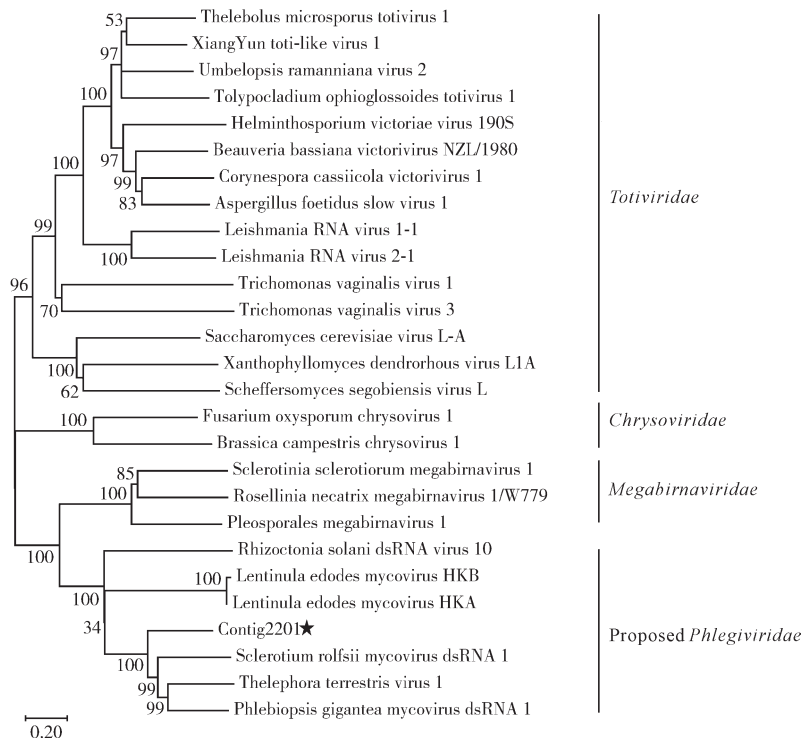


图9 基于 *Ghabrivirales* 病毒目病毒 RdRp 蛋白序列的系统发育树分析

Fig. 9 Phylogenetic tree analysis based on RdRp of members of the order *Ghabrivirales*

rus)、香菇 (*Lentinula edodes*)、糙皮侧耳 (*Pleurotus ostreatus*)、金针菇 (*Flammulina filiformis*)、灰树花 (*Grifola frondosa*) 和黑木耳 (*Auricularia heimuer*) 等食用菌中检测到病毒, 并得到一些食用菌病毒的基因组序列^[26-28]。其中, 我国对香菇病毒的研究最为深入。据 Liu 等^[29]调查中国香菇种质资源中真菌病毒的流行率和多样性发现, 真菌病毒在中国香菇的栽培株和野生型菌株中广泛存在。截至目前在香菇中鉴定到的 +ssRNA 病毒有 *Botourmiaviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* magoulivirus 1^[30]、*Lentinula edodes* magoulivirus 2 和 *Lentinula edodes* ourmia-like virus 1^[29], *Deltaflexiviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* deltaflexivirus 1 和 *Lentinula edodes* deltaflexivirus 2^[30], *Fusariviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* fusarivirus 1、*Lentinula edodes* fusarivirus 2、*Lentinula edodes* fusarivirus 3^[30]、*Lentinula edodes* fusarivirus 4 和 *Lentinula edodes* fusarivirus 5^[29], *Hypoviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* hypovirus 1^[30] 和 *Lentinula edodes* hypovirus 2^[29], *Narnaviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* mitovirus 1^[30] 和 *Lentinula edodes* narnavirus 1^[29], *Tymoviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* tymo-like virus 1^[30], 以及未分类的 *Lentinula edodes*

beny-like virus 1、*Lentinula edodes* betaflexi-like virus 1、*Lentinula edodes* tobamo-like virus 1^[30] 和 *Lentinula edodes* beny-like virus 1-Hunong-1^[29]; -ssRNA 病毒有 *Myonnaviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* negative-stranded RNA virus 1^[31], *Phenuiviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* negative-stranded RNA virus 2^[31]、*Lentinula edodes* negative-stranded RNA virus 3^[30]; dsRNA 病毒有 *Partitiviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* partitivirus 1^[32]、*Lentinula edodes* partitivirus 2、*Lentinula edodes* partitivirus 3^[30] 和 *Lentinula edodes* partitivirus 4^[29], *Phlegiviridae* 病毒科的 *Lentinula edodes* mycovirus HKB^[33]、*Lentinula edodes* mycovirus HKA、*Lentinula edodes* spherical virus^[34], 以及未分类的 *Lentinula edodes* bipartite virus 1^[29]。

在侧耳属菌株中, 已鉴定到多种病毒, 例如: +ssRNA 病毒有 *Tymoviridae* 病毒科的 OMSV、*Botourmiaviridae* 病毒科的 PcOV1 和 *Deltaflexiviridae* 病毒科的 PoDFV1^[20-22]; dsRNA 病毒有 *Partitiviridae* 病毒科的 OMIV、*Pleurotus ostreatus* virus 1 (PoV1)、*Pleurotus ostreatus* spherical virus (POSV) 和 *Pleurotus ostreatus* ASI2792 mycovirus (PoV-

ASI2792)^[12,35-37]。在本研究中,我们首次和平菇菌株中发现有2种可能的 *Barnaviridae* 病毒科病毒。该病毒科仅包含1个 *Barnavirus* 病毒属,在该属中 ICTV 只正式收录了1种该病毒属病毒——*Mushroom bacilliform virus* (MBV),而且是在双孢蘑菇中鉴定到的。此前在平菇上已报道过1种 *Deltaflexiviridae* 病毒——PoDFV1,在本研究中我们也发现了一种类似的平菇 *Deltaflexiviridae* 病毒,它与 PoDFV1 的亲缘关系很近。此外,本研究也首次和平菇中发现了-ssRNA 病毒,分别属于 *Mymonaviridae* 和 *Phenuiviridae* 病毒科。目前为止,在食用菌中仅在香菇和伯氏圆孢地花中鉴定到 *Mymonaviridae* 病毒科病毒,分别是 *Lentinula edodes negative-stranded RNA virus 1* (LeNSRV1)^[31] 和 *Bondarzewia berkeleyi negative-stranded RNA virus 1* (BbN-SRV1)^[38],以及在香菇中鉴定到2个 *Phenuiviridae* 病毒科病毒——*Lentinula edodes negative-stranded RNA virus 2* (LeNSRV2) 和 *Lentinula edodes negative-stranded RNA virus 3* (LeNSRV3)^[30-31]。此外,我们在多个不同的平菇菌株中鉴定到同一种病毒,推测是在食用菌栽培期间,病毒可能由原寄主菌株传染到其他菌株中;而且也发现了在同一个菌株中存在有2种及以上病毒的现象。

截至目前,在金针菇中只报道过2种病毒,分别是 FvBV 和 *Flammulina velutipes isometric virus* (FvIV)^[23],均属于 dsRNA 病毒的 *Partitiviridae* 病毒科。在本研究中,我们在金针菇菌株中发现了1种新的 dsRNA 病毒,该病毒属于 *Phlegiviridae* 病毒科。此前仅在香菇菌株鉴定到3种该病毒科病毒,分别是 *Lentinula edodes mycovirus HKB*^[33]、*Lentinula edodes mycovirus HKA* 和 *Lentinula edodes spherical virus*^[34]。

迄今为止,还未见有鸡腿菇和灵芝属菌株携带病毒的报道。本研究在1株鸡腿菇菌株中发现了3种可能的 *Partitiviridae* 病毒科的新病毒。该病毒科已有15种 *Partitiviridae* 病毒科成员感染食用菌,分别感染平菇、香菇、金针菇、伯氏圆孢地花和灰树花等,其中5种属于 *Alphapartitivirus* 属,9种属于 *Betapartitivirus* 属^[26],本研究中在鸡腿菇中发现的该病毒科的病毒均属于 *Alphapartitivirus*。

本研究在灵芝属菌株‘黑芝’和‘南韩灵芝’中分别鉴定到属于+ssRNA 病毒和-ssRNA 病毒类型的各1种新病毒。其中+ssRNA 病毒类型的新病毒属

于 *Botourmiaviridae* 病毒科 *Magoulivirus* 病毒属。此前该病毒科中已在平菇和香菇菌株分别鉴定到2种该病毒科的病毒——PcOV1 和 *Lentinula edodes magoulivirus 1* (LeOLV1)^[21,30],但它们分别属于 *Ourmiavirus* 和 *Magoulivirus* 病毒属。在灵芝中鉴定到的-ssRNA 病毒属于 *Bunyavirales* 病毒目中1个未分类的新的病毒科,此前仅在该病毒目中的 *Mymonaviridae*、*Phenuiviridae* 病毒科中鉴定到食用菌病毒^[26]。

尽管目前报道过的食用菌病毒大多数似乎对寄主生长没有显著影响,但部分具有致病性的病毒可能导致食用菌出现症状,且其症状随着感染病毒时间、环境等因素的变化而改变^[13]。OMSV 是从糙皮侧耳中鉴定到的1种+ssRNA 病毒,有研究者发现 OMSV 中国株系会抑制糙皮侧耳菌丝生长并造成子实体畸形,导致减产,并且该病毒能通过菌丝融合的方式从糙皮侧耳传播到肺形侧耳中,并引起后者生长异常^[39-40]。本研究通过高通量测序和 PCR 分析得到的只是病毒的部分序列或近全长序列,以上病毒种类要得到完整的鉴定需要进一步开展全基因组序列的测定,在确定病毒种类的基础上,再进一步深入分析这些病毒对食用菌生长发育等的影响,为食用菌病毒的防控奠定基础。

参考文献 References

- [1] BELL V, SILVA C G, GUINA J, et al. Mushrooms as future generation healthy foods[J/OL]. *Frontiers in nutrition*, 2022, 9: 1050099 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1050099>.
- [2] 中国食用菌协会. 2021 年度全国食用菌统计调查结果分析[J]. *中国食用菌*, 2023, 42(1): 118-127. China Edible Fungi Association. Analysis of the results of the national edible fungi statistical survey in 2021[J]. *Edible fungi of China*, 2023, 42(1): 118-127 (in Chinese).
- [3] 张金霞, 蔡为明, 黄晨阳. 中国食用菌栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020. ZHANG J X, CAI W M, HUANG C Y. Chinese edible mushroom cultivation[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020 (in Chinese).
- [4] 金鑫, 刘宗敏, 黄羽佳, 等. 我国灵芝栽培现状及发展趋势[J]. *食药菌*, 2016, 24(1): 33-37. JIN X, LIU Z M, HUANG Y J, et al. Current situation and development trend of *Ganoderma lucidum* cultivation in China[J]. *Edible and medicinal mushrooms*, 2016, 24(1): 33-37 (in Chinese).
- [5] 刘忱, 张美玲, 舒灿伟, 等. 真菌病毒的研究进展[J]. *中国植保导刊*, 2016, 36(9): 18-27. LIU C, ZHANG M L, SHU C W, et al. Research progress on mycovirus[J]. *China plant protection*, 2016, 36(9): 18-27 (in Chinese with English ab-

- stract).
- [6] HOLLINGS M. Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom[J]. *Nature*, 1962, 196(4858): 962-965.
 - [7] HEINIGER U. Biological control of chestnut blight in Europe [J]. *Annual review of phytopathology*, 1994, 32: 581-599.
 - [8] GAO Z X, WU J Y, JIANG D H, et al. ORF I of mycovirus SsNSRV-1 is associated with debilitating symptoms of *Sclerotinia sclerotiorum* [J/OL]. *Viruses*, 2020, 12(4): 456 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.3390/v12040456>.
 - [9] DIELEMAN-VAN ZAAYEN A. Intracellular appearance of mushroom virus in fruiting bodies and basidiospores of *Agaricus bisporus* [J]. *Virology*, 1972, 47(1): 94-104.
 - [10] SCHISLER L C, SINDEN J W, SIGEL E M. Etiology, symptomatology, and epidemiology of a virus disease of cultivated mushrooms [J]. *Phytopathology*, 1967, 57(4): 519-526.
 - [11] KIM J M, SONG H Y, CHOI H J, et al. Changes in the mycovirus (LeV) titer and viral effect on the vegetative growth of the edible mushroom *Lentinula edodes* [J]. *Virus research*, 2015, 197: 8-12.
 - [12] RO H S, LEE N J, LEE C W, et al. Isolation of a novel mycovirus OMIV in *Pleurotus ostreatus* and its detection using a triple antibody sandwich-ELISA [J]. *Journal of virological methods*, 2006, 138(1/2): 24-29.
 - [13] 李雪飞, 宋冰, 李玉. 食用菌病毒的研究进展 [J]. *微生物学报*, 2019, 59(10): 1841-1854. LI X F, SONG B, LI Y. Research progress in mushroom virus [J]. *Acta microbiologica sinica*, 2019, 59(10): 1841-1854 (in Chinese with English abstract).
 - [14] KREUZE J F, PEREZ A, UNTIVEROS M, et al. Complete viral genome sequence and discovery of novel viruses by deep sequencing of small RNAs: a generic method for diagnosis, discovery and sequencing of viruses [J]. *Virology*, 2009, 388(1): 1-7.
 - [15] DOLJA V V, KOONIN E V. Metagenomics reshapes the concepts of RNA virus evolution by revealing extensive horizontal virus transfer [J]. *Virus research*, 2018, 244: 36-52.
 - [16] WANG W Q, WANG X H, TU C Y, et al. Novel mycoviruses discovered from a metatranscriptomics survey of the phytopathogenic *Alternaria* fungus [J/OL]. *Viruses*, 2022, 14(11): 2552 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.3390/v14112552>.
 - [17] YE Y T, LIU Y Y, ZHANG Y F, et al. Metatranscriptome-based strategy reveals the existence of novel mycoviruses in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* [J/OL]. *Frontiers in microbiology*, 2023, 14: 1193714 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1193714>.
 - [18] 丛倩倩, 兰玉菲, 崔晓, 等. 利用 siRNA 高通量测序技术检测平菇病毒 [J]. *中国食用菌*, 2018, 37(1): 61-64. CONG Q Q, LAN Y F, CUI X, et al. Detection of *Pleurotus ostreatus* virus by siRNA high-throughput sequencing [J]. *Edible fungi of China*, 2018, 37(1): 61-64 (in Chinese with English abstract).
 - [19] LIU H Z, ZHANG Y F, LIU Y Y, et al. Virome analysis of an ectomycorrhizal fungus *Suillus luteus* revealing potential evolutionary implications [J/OL]. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2023, 13: 1229859 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1229859>.
 - [20] YU H J, LIM D, LEE H S. Characterization of a novel single-stranded RNA mycovirus in *Pleurotus ostreatus* [J]. *Virology*, 2003, 314(1): 9-15.
 - [21] LI X F, LI S Y, YIN W Q, et al. Complete genome sequence of a novel mycovirus from *Pleurotus citrinopileatus* [J/OL]. *Archives of virology*, 2023, 168(2): 66 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05668-4>.
 - [22] XIAO J B, WANG X, ZHENG Z R, et al. Molecular characterization of a novel deltaflexivirus infecting the edible fungus *Pleurotus ostreatus* [J/OL]. *Archives of virology*, 2023, 168(6): 162 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.1007/s00705-023-05789-4>.
 - [23] MAGAE Y, SUNAGAWA M. Characterization of a mycovirus associated with the brown discoloration of edible mushroom, *Flammulina velutipes* [J/OL]. *Virology journal*, 2010, 7: 342 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-7-342>.
 - [24] BRÄUTIGAM A, MULLICK T, SCHLIESKY S, et al. Critical assessment of assembly strategies for non-model species mRNA-Seq data and application of next-generation sequencing to the comparison of C(3) and C(4) species [J]. *Journal of experimental botany*, 2011, 62(9): 3093-3102.
 - [25] GARG R, PATEL R K, TYAGI A K, et al. *De novo* assembly of chickpea transcriptome using short reads for gene discovery and marker identification [J]. *DNA research*, 2011, 18(1): 53-63.
 - [26] ZHANG Y J, GAO J, LI Y. Diversity of mycoviruses in edible fungi [J]. *Virus genes*, 2022, 58(5): 377-391.
 - [27] LI X F, SUI K P, XIE J T, et al. Molecular characterization of a novel fusarivirus infecting the edible fungus *Auricularia heimuer* [J]. *Archives of virology*, 2020, 165(11): 2689-2693.
 - [28] LI X F, LIU Q C, LI S Y, et al. A novel fungal negative-stranded RNA virus related to mymonaviruses in *Auricularia heimuer* [J]. *Archives of virology*, 2022, 167(11): 2223-2227.
 - [29] LIU C X, GUO M P, WANG J J, et al. Prevalence and diversity of mycoviruses occurring in Chinese *Lentinula edodes* germplasm resource [J]. *Virology*, 2023, 582: 71-82.
 - [30] GUO M P, SHEN G Y, WANG J J, et al. Mycoviral diversity and characteristics of a negative-stranded RNA virus LeN-SRV1 in the edible mushroom *Lentinula edodes* [J]. *Virology*, 2021, 555: 89-101.
 - [31] LIN Y H, FUJITA M, CHIBA S, et al. Two novel fungal negative-strand RNA viruses related to mymonaviruses and phe-nuiviruses in the shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) [J].

Virology, 2019, 533:125-136.

[32] GUO M P, BIAN Y B, WANG J J, et al. Biological and molecular characteristics of a novel partitivirus infecting the edible fungus *Lentinula edodes* [J]. Plant disease, 2017, 101 (5) : 726-733.

[33] MAGAE Y. Molecular characterization of a novel mycovirus in the cultivated mushroom, *Lentinula edodes* [J/OL]. Virology journal, 2012, 9: 60 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.1186/1743-422x-9-60>.

[34] WON H K, PARK S J, KIM D K, et al. Isolation and characterization of a mycovirus in *Lentinula edodes* [J]. Journal of microbiology, 2013, 51(1):118-122.

[35] LIM W S, JEONG J H, JEONG R D, et al. Complete nucleotide sequence and genome organization of a dsRNA partitivirus infecting *Pleurotus ostreatus* [J]. Virus research, 2005, 108 (1/2):111-119.

[36] QIU L Y, LI Y P, LIU Y M, et al. Particle and naked RNA mycoviruses in industrially cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus* in China [J]. Fungal biology, 2010, 114 (5/6):507-513.

[37] SONG H Y, CHOI H J, JEONG H, et al. Viral effects of a dsRNA mycovirus (PoV-ASI2792) on the vegetative growth of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* [J]. Mycobiology, 2016, 44(4):283-290.

[38] VAINIO E J, SUTELA S. Mixed infection by a partitivirus and a negative-sense RNA virus related to mymonaviruses in the polypore fungus *Bondarzewia berkeleyi* [J/OL]. Virus research, 2020, 286: 198079 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198079>.

[39] HU H J, WANG J R, CHENG X H, et al. Preliminary studies on the effects of oyster mushroom spherical virus China strain on the mycelial growth and fruiting body yield of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* [J/OL]. Biology, 2022, 11 (4): 574 [2024-11-25].

[40] ZHANG X Y, HU H J, ZHAO Y X, et al. Oyster mushroom spherical virus crosses the species barrier and is pathogenic to a new host *Pleurotus pulmonarius* [J/OL]. International journal of molecular sciences, 2023, 24 (13): 10584 [2024-11-25]. <https://doi.org/10.3390/ijms241310584>.

Detection and species analysis of RNA mycoviruses
in four types of edible mushrooms

WANG Xin, LIU Yingying, XIAO Junbo, LI Huaping, LI Pengfei

State Key Laboratory of Green Pesticide/College of Plant Protection,
South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract To clarify the types of viruses present in various edible mushrooms during production, high-throughput sequencing technology was employed to detect fungal viruses in 53 strains of *Pleurotus* spp., 10 strains of *Ganoderma* spp., 17 strains of *Flammulina filiformis*, and 12 strains of *Coprinus comatus*. PCR amplification and sequence analysis were performed on newly identified potential viruses, and phylogenetic tree analyses were conducted based on sequence comparisons. BLASTx sequence alignment results indicated that a total of 51 contigs were annotated as 41 viruses detected from 92 strains of four types of edible mushrooms. Thirteen potential novel viruses were identified through RT-PCR amplification and sequence analysis, including seven species found in *Pleurotus* spp., three species in *Coprinus comatus*, one species in *Flammulina filiformis*, and two species in *Ganoderma* spp.. Phylogenetic analyses showed that these viruses belong to +ssRNA viruses, -ssRNA viruses, and dsRNA viruses, distributed across eight viral families: *Barnaviridae*, *Botourmiaviridae*, *Deltaflexiviridae*, *Mymonaviridae*, *Partitiviridae*, *Phe-nuiviridae*, *Phlegiviridae*, and an unclassified member of the order *Bunyavirales*. In conclusion, there is a relatively abundant presence of fungal viruses in the four types of edible mushrooms.

Keywords edible mushroom; *Pleurotus*; *Ganoderma*; *Coprinus comatus*; *Flammulina filiformis*; fungal virus; virus detection

(责任编辑:边书京)