



食用菌病毒的研究进展

李雪飞¹, 宋冰^{1*}, 李玉^{1*}

吉林农业大学食药食用菌教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118

摘要: 病毒是引起食用菌发生病害的重要病原之一, 由于其具有潜隐性、不易辨认的特点, 因而难以被人们所察觉, 一旦发病就难以控制。在食用菌研究领域中, 食用菌病毒使食用菌产量严重下降, 引起的病害越来越受人们的重视, 逐步成为该领域的研究热点。因此, 本文主要针对食用菌病毒的结构与分类、危害、传播方式、检测方法以及食用菌病毒的脱毒技术等方面进行了综述, 并对其存在的问题和前景进行了展望。这为食用菌病毒的检测、脱毒和无毒菌种的生产提供了理论依据, 并为食用菌病毒的深入研究提供参考。

关键词: 食用菌病毒, 结构与分类, 危害, 检测方法, 脱毒

所有人类可以食用的大型真菌被称为食用菌, 分化有机物是其获取营养的首要方式。食用菌被称为“素中之荤”, 因其含有丰富的蛋白质、纤维素等成分, 具有极高的营养价值和独特的口感风味, 受到了越来越多人的欢迎^[1-2]。到目前为止, 食用菌产业已经成为仅次于粮食、油料、水果和蔬菜的第五大种植业。据统计, 2016年我国的食用菌总产量已经达到 3596.66 万 t, 总产值达 2741.78 亿元, 约占世界的 80%^[3]。

病毒是具有生命、极其微小、无细胞结构的一类物质, 它是比细菌更小、必须用电子显微镜

才能看见的病原体, 同时又具有大分子化学物质的特性, 纯化以后可以形成结晶。病毒作为一个大分子的核蛋白结晶, 一旦碰到了较为适合的寄主, 就会经过一定的传染方式进入细胞, 不断地复制本身, 从而表现出自有的生命形式^[4]。食用菌病毒是真菌病毒的一部分, 形状多为球形, 也有线形、细菌状和杆菌状等, 主要寄生在食用菌的菌丝或者孢子中^[5]。病毒病害与细菌、真菌、线虫病害的危害不同, 其发病具有潜隐特性, 并且长期潜伏, 直到生产中的某个时期才开始显症, 其危害较为严重^[6]。虽然食用菌的栽培有几个世纪之

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项资助项目(201503137); 国家重点研发计划资助项目(2017YFD0601002); 高等学校学科创新引智计划资助项目(D17014); 吉林省教育厅项目(JJKH20180670KJ); 长春市科技局资助项目(15SS11); 吉林省科技发展项目(20170101053JC)

*通信作者。E-mail: yuli@126.com (李玉); song19800123@126.com. (宋冰)

收稿日期: 2018-10-09; 修回日期: 2018-12-05; 网络出版日期: 2018-12-27

久,但是对于食用菌病毒病害的研究仅仅只有 70 几年的历史^[7]。目前为止,人们已在双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)、香菇(*Lentinula edodes*)、金针菇(*Flammulina filiformis*)^[8]等食用菌中检测出病毒或者类似病毒的颗粒,并且得到了一些食用菌病毒的基因组序列^[9-10]。随着市场需求以及经济效益的不断提高,食用菌种植规模逐年扩大,而食用菌病毒引起的病害时有发生,严重时可造成 10%–15% 的减产,损失高达几十亿元以上,如果防治不当还会造成更大的损失。但由于病毒的种类繁多,危害的机制也较复杂,发病症状不稳定且不易检测,所以对食用菌病毒病的防治也存在一定的困难。

而有效开展食用菌病毒防治及致病机制的研究,将有利于挖掘新的食用菌病毒,明确食用菌病毒产生的原因、分布范围及致病性,通过制定合理的防控措施,降低企业和农户的损失,进而促进食用菌产业的健康发展,因此,对于食用菌病毒的研究越发重要。本文针对病毒引发的食用菌病害研究进展进行了综述,以期对食用菌新病毒的发现和食用菌病毒病的防治提供理论依据。

1 食用菌病毒的结构与分类

食用菌病毒与其他真菌病毒一样,病毒的基本结构为核蛋白,内部是作为遗传物质的核酸,外部是起保护作用的蛋白质外壳,外壳蛋白分子量为 $(25-130) \times 10^3$ Da^[11]。食用菌病毒分类主要依据病毒粒子的内部遗传物质的类型和形态来进行划分,具体分类如下。

1.1 根据核酸类型

每一种病毒大多只含一种核酸, DNA 或 RNA,因而病毒也就分为了 DNA 病毒和 RNA 病

毒两类,食用菌病毒亦如此。食用菌病毒大多数是 dsRNA 病毒,也有少量的 dsDNA 病毒和 ssRNA 病毒,迄今为止,在食用菌中还没有发现任何的 –ssRNA 病毒和 DNA 病毒。其基因组大多数为双链 RNA(dsRNA),少数为单链 RNA(ssRNA)。食用菌病毒内的核酸物质主要编码外壳蛋白(CP)和 RNA 依赖型的 RNA 聚合酶(RdRp)^[12-13],二者对于病毒来说非常重要,病毒的 RdRp 将复制合成子代基因组,外壳蛋白将新复制的基因组包装成病毒颗粒^[14]。

1.2 根据病毒粒子的形态

病毒的基本单位是病毒粒体,其形状多种多样,其大小在几十至几百纳米之间都有存在。在食用菌病毒中,球状^[15]、杆状^[16]或线状^[17]以及噬菌体^[18]均有存在,但主要还是球状居多,见图 1。例如,在双孢蘑菇确认的病毒中,球状病毒有 4 种^[19];在已报到的香菇病毒中,球状病毒有 3 种以上^[20-22]。2005 年又报道了一种具有球状头部的噬菌体香菇病毒,该噬菌体是首次在香菇中发现的^[18]。

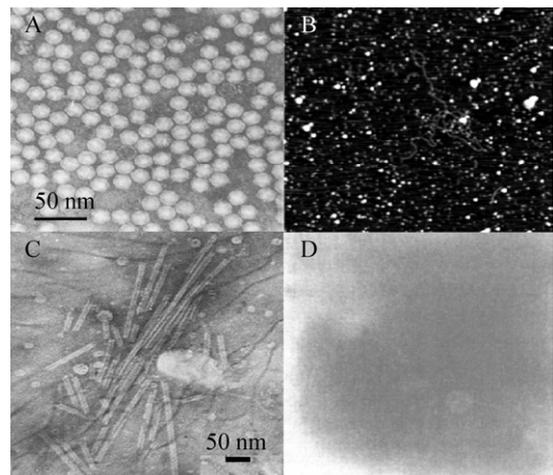


图 1 食用菌中不同的病毒粒子形态^[15-18]

Figure 1. Different virions morphology in edible fungi. A: Spherical; B: Linear; C: Rod shape; D: Phage.

2 食用菌病毒病的发现及危害症状

2.1 食用菌病毒病的发现

食用菌病毒的研究主要集中在双孢蘑菇、香菇以及平菇等食用菌上。随着食用菌产业的快速发展,病害问题愈来愈受到人们的关注,病毒病害方面的研究也逐渐被重视起来。而在侵染了病毒的食用菌中,尤其以栽培的食用菌所产生的病毒病害最为严重,这给食用菌产业造成了巨大的经济损失。双孢蘑菇作为食用菌栽培界的先锋,也是第一个发现侵染病毒的品种。

1948年,美国的La France兄弟在双孢蘑菇(*Agricus bisporus*)的菇床上发现了著名的法兰西蘑菇病“La France Disease”,1950年Sinden和Hauser对其进行了报道,这是最早关于食用菌病毒病害的报道,也是真菌病毒的首次发现^[23]。双孢蘑菇发病时出现黑色斑点、水渍状、子实体畸形且菌丝生长紊乱、菌柄细长等症状,这使当时双孢蘑菇产量大幅度下降^[24-25]。“La France disease”的病原很复杂,曾经检测到至少6种病毒或类似病毒颗粒,它们的作用机制并不是很清楚,但是可以肯定的是所表现出的症状与存在的病毒有一定的相关性^[14,26]。1962年Holling等初次在病发的蘑菇中借助电镜看到了三种不同的病毒粒子,并接种成功^[5],这在病毒学的研究中具有重要意义。

根据现有的文献,感染病毒的大型真菌共34种,其中包括4种子囊菌,30种担子菌,且只有80多个不同的具有线性dsRNA和+ssRNA的基因组;在这34种大型真菌中,栽培以及野生的食用菌品种共计14种^[27]。

到目前为止,真菌病毒报道了62种,能被

病毒侵染的真菌和卵菌大概有100种,且在超过50个真菌和卵菌中都有分布,仅在蘑菇中就发现了5类病毒^[28],而食用菌病毒报道了大约30种,部分报道见表1。当前,各种新的食用菌病毒在世界上也陆续被报道,在香菇(*Lentinula edodes*)、金针菇(*Flammulina filiformis*)、牛肝菌(*Boletus edulis*)等食用菌中均发现了病毒的存在。

2.2 病毒病的危害及症状

大多食用菌病毒由于具备潜隐特性,且潜伏时间较长,初期并不造成明显的危害,症状也不稳定,所以人们难以观察到病害的发生,直到生产中的某个时期才开始显现出一定症状,随着食用菌的生长病状逐渐严重,后期随着病毒的不断复制就使食用菌表现出典型的病毒病症状,造成大幅度的减产和巨大的经济损失。

食用菌感染病毒后,病毒侵染时间、病毒数量及种类或环境条件都会影响所表现出来的症状。食用菌被病毒侵染后,子实体和菌丝体有不同的表现并受到不同的影响,这也是由于环境条件的变化、病毒与寄主之间的相互作用一起产生的结果。子实体畸形或无子实体、菌丝生长缓慢、褐化、烂耳等症状是食用菌病毒病中经常出现的症状^[29-31],首要表现为个体或群体之间的感染。不仅如此,病毒病害一旦发生,将难以抑制,而且会形成细菌、真菌的交叉感染,严重时导致整个病区都不出菇。这不仅会导致当年的产量下降,还会使生产环境遭到恶化,如果处理不好,仍会影响来年的产量,并随着病毒浓度的增多而造成大幅度的减产,循环往复。

菌种退化、产量降低等问题是一直以来困扰种植者们的一个难题,这些问题可能是由其他病害或者遗传因子所造成的,也可能是病毒病害所

表 1. 食用菌病毒的部分报道
Table 1. Partial reports of edible fungi viruses

Edible variety	fungi	Virus name	Nucleic acid type	Virion shape	Diameter	Years	References	
<i>Agricus bisporus</i>		La France isometric virus (LIV)	dsRNA multipartite	Spherical	25 nm and 34 nm–36 nm	1962	[29][40]	
		Mushroom VirusX (MVX)	dsRNA multipartite	/	/	2000	[41–42]	
		Mushroom Bacilliform Virus (MBV)	+ssRNA monopartite	Rod shape	19×50 nm	1999	[43]	
		<i>Agricus bisporus</i> 1 (AbV1)	/	Spherical	/	2017	[44]	
<i>Lentinula edodes</i>		Polyhedral virus	dsRNA	Spherical	25 nm 30 nm 39 nm	1977	[20]	
		Isometric globular virus	ssRNA	Spherical	34 nm	1992	[21,45]	
		Phage virus	/	Has an icosahedral head with a smooth surface a longer tail sheath, and the tail and tail of the tail sheath can be found.	①40 nm ②diameter≈5 nm, long 100 nm	2005	[18]	
		<i>Lentinula edodes</i> baculovirus	dsRNA	Rod shape	20 nm×(100–200) nm	2010	[16]	
		<i>Lentinula edodes</i> mycovirus HKB (LeV)	dsRNA monopartite	Linear	3539 nm	2012	[17]	
		<i>Lentinula edodes</i> Spherical Virus (LeSV)	dsRNA monopartite	Spherical	55 nm	2013	[22]	
		<i>Lentinula edodes</i> Partitivirus1 (LePV1)	dsRNA	/	34 nm	2017	[46]	
<i>Pleurotus ostreatus</i>		Oyster Mushroom Spherical Virus (OMSV)	ssRNA monopartite	Spherical	27 nm	2003	[47]	
		Oyster Mushroom Isometric Virus I and II (OMIV I and OMIV II)	dsRNA	Spherical	34 nm	2004	[48]	
		Oyster Mushroom Isometric Virus	dsRNA	Spherical	43 nm	2006	[49]	
		<i>Pleurotus ostreatus</i> Virus strain Shin-Nong (PoV-SN)	dsRNA	Spherical	33 nm	2008	[50]	
		<i>Pleurotus ostreatus</i> Virus1 (PoV1)	dsRNA	Spherical	28–30 nm	2005	[10]	
		<i>Pleurotus ostreatus</i> Spherical Virus (PoSV)	dsRNA monopartite	Spherical	23 nm	1986	[51,52]	
		<i>Pleurotus eryngii</i> Spherical Virus (PeSV)	ssRNA monopartite	Spherical	31 nm	2007	[53]	
	<i>Flammulina filiformis</i>		①FVBV	dsRNA	①Spherical	①25 nm	1999	[30,54]
			②FvIV		②Spherical	②50 nm	2010	

(待续)

(续表 1)

<i>Volvariella volvacer</i>	Isometric virus	dsRNA	Spherical	35 nm	1988 [55]
<i>Boletus edulis</i>	/	dsRNA	Spherical	30–34 nm	2013 [14]
<i>Wolffiporia cocos</i>	/	dsRNA	①Spherical ②Rod shape	①30 nm ②23–28×230–400 nm and 10×90–180 nm	1982 [56–57] 2007
<i>Tremella fuciformis</i>	/ –	/	/	33 nm	1982 [31,56] 1991
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	/	dsRNA	Spherical	30 nm	1988 [58]
<i>Agrocybe aegerita</i>	/	dsRNA	Spherical	26 nm	1990 [26]
<i>Tuber aestivum</i>	<i>Tuber aestivum</i> Virus 1 (TaV1)	dsRNA	/	/	2010 [59]
	<i>Tuber aestivum</i> Endorna Virus (TaEV)	dsRNA	/	/	2011 [60]
	<i>Tuber aestivum</i> Mitovirus (TaMV)	ssRNA	/	/	2011 [61]
<i>Tuber excavatum</i>	<i>Tuber excavatum</i> Mitovirus (TeMV)	/	/	/	2012 [62]

引起的^[32–33]。菌丝生长缓慢、气生菌丝减少等现象均证明了菌株可能与感染病毒有一定的关联。例如：退化的秀珍菇菌株经一系列的实验从中提取到了 dsRNA，经检测这可能是引起秀珍菇菌种退化的一个重要原因^[34]；在金针菇工厂化栽培的过程中，菌种退化、老化问题严重，影响了其品质以及产量，而这些问题却迟迟得不到解决。同时除了遗传条件和环境因素的影响，病毒的侵染也是不可避免的原因之一^[35–37]。为了解决这些问题，需要对食用菌生产用菌株进行一系列的病毒检测以及脱毒处理，筛选无病毒菌株，并在生产上避免使用退化及老化的菌株。

3 食用菌病毒的传播方式

食用菌病毒主要有两种传播方式：靠菌丝融合的水平传播和靠孢子传毒的垂直传播。垂直传播是最主要的传播方式，双孢蘑菇中的病毒粒子

早在 1972 年就已经被观察到，它主要是通过担孢子的垂直传播来进行传毒；香菇中的病毒粒子也可以通过该种方式进行传毒^[5,25]。

曾有人报道感染病毒的担孢子在 4 °C 下能保存 5 年以上，且侵染力不会消失^[38]。病毒这种经由担孢子传播的方式给通过切断病毒传播途径来控制病毒传播带来较大困难。真菌孢子的类别和数量众多，因而孢子在真菌病毒的传播中起了重要的作用。无性孢子直接来源于菌丝体，它通过胞质传播给分生孢子，因而无性孢子带毒率较高，且易于传播。

病毒的水平传播受到真菌营养体不亲和性的严格影响，食用菌不同种之间的不亲和性可以在一定程度上阻止病毒传播，只有在亲和性的菌株之间才能进行。病毒会通过菌丝融合将无毒菌丝变成有毒菌丝，严重时菌丝将被全面侵染。带毒蘑菇收获后，培养基质中会有一些病毒的残留，这样就会造成旧菌丝与新种植的蘑菇菌丝融合，

使新种植的蘑菇也受病毒的侵染，从而造成病毒往复循环。所以说，菇房的清理工作对防治病毒的传播起到一定的作用。

科赫氏法则用于病原物的鉴定，而食用菌病毒不能通过机械摩擦方法接种给寄主，这就给食用菌病毒后期的传播途径带来了很大困难。由于真菌细胞壁很坚硬，并且穿透细胞壁获得的细胞很难存活，病毒粒子的提取也很困难，这样就对通过柯赫氏法则来验证病毒的侵染性造成了一定的困难^[13,39]。或许可以采用原生质体融合的办法来克服寄主不亲和性和寄主细胞壁坚而厚的障碍，以便于研究病毒的侵染对寄主的影响^[13]。

4 食用菌病毒纯化和检测方法

4.1 食用菌病毒的提纯

以往研究表明，病毒对于食用菌的侵染往往是混合侵染，且食用菌的多糖含量较高，这也给病毒的分离纯化带来了较多的困难^[63-64]。常规的差速离心法并不能得到纯化的病毒抽提液，只能通过反复沉淀的方法以及蔗糖密度梯度离心法得到部分纯化病毒的抽提液，而抽提液中几种混合的病毒却难以分开^[65]。

至今为止，仍然缺乏有效破除细胞壁并且不破坏病毒粒子而得到高纯度病毒的方法。曾经有人发现柠檬酸沉淀法较适用于分离孢子样品中的病毒，但是纯度并不是很高，这与材料的含毒量、培养方法等因素都有直接关系，到目前为止并未报道具体的提纯方法，这给食用菌病毒的纯化和进一步研究带来了一定困难。

4.2 食用菌病毒的检测方法

食用菌病毒病害危害严重，不仅影食用菌的品质以及产量，还严重制约了食用菌产业的发展。

菌种退化、菌株老化等现象均与病毒病有一定的关联，为了减少此类现象的发生，需要对食用菌病毒进行检测。

4.2.1 电镜观察：电镜观察可以最快地观察到病毒粒子的形态大小，从而更容易发现新病毒，跟其他检测方法相比具有较高的优越性。取样方便、节省时间等特点使该方法成为实验室中观察病毒粒子比较常用的方法。

可通过粗提的方法得到子实体的病毒粒子，对其进行染色，在电子显微镜下进行观察，获取病毒粒子的形态大小、内部结构和有无包膜等信息。1962年 Hollings 等首次在电镜下观察到了感病双孢蘑菇的3种病毒粒子^[29]；1990年 Barroso 等也在野生茶树菇中观察到了等轴对称病毒粒子^[26]。但是由于电镜观察需要较高的技术和操作技能，普通实验室快速检测病毒并不适用。

4.2.2 血清学方法：随着病毒学的快速发展，越来越多的检测方式被连续应用到食用菌的病毒检测上。血清学方法具有快捷方便、特异性强、价格低廉、分辨率高以及灵敏度好等特点，被广泛应用于病毒的检测中。

纯化后的病毒可以通过特异性血清与抗体结合的方法来检测，但该方法对于一些病毒含量较低以及含有干扰性物质的样品测定易出现假阳性的结果，特异性也不强，所以必须要获得浓度相对较高的纯化病毒。虽然该方法适用范围较广，但并不适用于所有病毒，如没有外壳蛋白的类病毒或者是在某些情况下缺乏外壳蛋白的病毒就不能使用该方法。

(1) 酶联免疫吸附测定。ELISA 是将抗原与抗体的免疫反应特异性与酶对底物的高效催化作用相结合，具有较高的灵敏性以及特异性，因而被大量应用。与其他方法不同的是，它特异性极强，

检测水平可以达到 ng 级别。1977 年 Clark 等首次将此方法应用于植物病毒的检测^[66]。现在它已经成功应用于食用菌病毒的检测上, 但是并不适用于含有较低浓度病毒的食用菌检测上。

(2) 免疫荧光抗体定位技术。该技术的原理与酶联免疫法相似, 唯一不同的是该方法可以在已知一个因素的基础上确定另外一个未知的因素, 并且该技术把免疫学的方法与荧光标记技术结合在一起^[14]。通过在抗原抗体中标记荧光色素, 并在荧光显微镜下进行观察特异性反应的抗原或抗体; 由于特异性探针进行了分子杂交, 且分子杂交灵敏度以及特异性均较高, 因而可以通过分析特异性探针的变化来确定是否含有目标核酸, 并且来区分不同种类的病毒。

除此之外, 匈牙利的 J2 抗体是抗 dsRNA 的单克隆抗体, J2 抗体最初应用在植物病毒的检测上, 目前已逐渐应用于动物、植物以及食用菌的未知病毒检测上。该抗体对 dsRNA 的识别不依赖于抗原的序列或核苷酸组成。作为一种病毒的检测工具, 对 dsRNA 的识别具有特异性, 它可以应用于电镜学、免疫荧光显微技术, 如斑点免疫印迹和 ELISA 实验等。

(3) 生物芯片技术。该技术是近年来新兴起的一个技术手段, 它主要利用分子杂交反应或者抗原抗体的基本原理, 最终通过计算机快速接收的一些信号以及数据处理并进行分析, 最终得到所需结果^[67]。

2008 年 Kim 等制备了抗 OMSV、OMIV 病毒单克隆抗体的蛋白芯片^[68], 这在检测过程中达到了很好的效果。高灵敏度、检测量大以及强可靠性, 受到越来越多各界科研人士的青睐, 但是由于其所需成本较高、操作技术较复杂使得该技术

并没有在实验室中广泛使用。

4.2.3 分子生物学检测: (1) dsRNA 技术。病毒种类繁多, 各自的特异性也较强, 而食用菌病毒大多数是 RNA 病毒, dsRNA 是其最主要的存在形式, 正常的食用菌中并没有 dsRNA 的存在, 所以可以通过 dsRNA 技术对所含有的病毒进行检测^[42,69]。最早将 dsRNA 技术应用于植物和食用菌病毒检测中的是 1979 年的 Morris 和 Dodd^[70]。提取出的 dsRNA 通过琼脂糖凝胶的方法进行检测, 方便快捷、无需大型实验设备, 提取产物还可以用在后续的 PCR 实验中, 适用于普通实验室对于病毒的快速检测。通过对 dsRNA 的提取也可以确定食用菌体内的病毒含量的高低。

目前关于 dsRNA 的提取方法较少, 在食用菌中大多使用 CF-11 纤维素粉的方法, 其主要原理是 CF-11 纤维素能在一定的酒精浓度下特异吸附 dsRNA 而被广泛使用。得到 dsRNA 后, 可以通过随机引物 cDNA 文库克隆法、单引物扩增法、同源引物克隆法等获得 dsRNA 病毒全基因组序列, 得到的序列用于后续的研究中^[71-72]。

2015 年, 日本 MBL 公司开发的植物病毒 dsRNA 提取试剂盒可以通过试剂盒中的 dsRNA 结合蛋白 (DRB) 来提取和富集植物中的病毒 dsRNA, 进而通过琼脂糖凝胶电泳进行检测^[73]。此试剂盒操作简便, 提取时间较短, 可加快病毒研究的进程。但还未有关于食用菌病毒利用此方法的报道, 是否适于食用菌 dsRNA 病毒的提取还需进一步验证。

(2) 多聚酶链式反应。RT-PCR 灵敏度较高, 检测水平可以达到 pg 级别甚至 fg 级别^[74]。在所测材料中提取得到总 RNA, 利用试剂盒在反转录酶的作用下通过反转录得到 cDNA, 并以其为第

一链模板进行 PCR 扩增, 经电泳检测后得到的目的片段进行测序得到部分序列, 为后期的研究提供材料^[75]。在 PCR 扩增之前需要设计特异性引物, 若为未知病毒, 则选用发病症状较为严重的食用菌子实体作为实验材料, 利用 dsRNA 技术得到的部分序列并设计特异性引物, 用于后期的病毒检测上; 若为已知病毒, 则利用已知序列设计特异性引物用于后续的研究中。此外, RT-PCR 与其他检测方法相结合, 结果会更加准确。

Dop-PCR 方法于 1992 年被 Telenius 等首次报道, 该方法在现在的研究中也得到了应用^[76]。该方法主要用于获得未知病毒的部分基因组序列信息, 之后通过测序确定病毒的类型, 从而对病毒进行有效鉴定。它的主要特点在于引物的设计上, 如果未知 DNA 序列, 但已知一些氨基酸序列, 则可以根据氨基酸序列设计所有可能的引物进行 PCR 反应。引物在 5'端有 10 个特异位点, 3'末端有 6 个特异位点, 它能有效扩增病毒核酸^[14]。

(3) 病毒宏转录组学的应用。高通量测序技术现在已经广泛地应用在生物学各个领域, 2017 年丛倩倩等利用 siRNA 高通量测序技术对平菇中的病毒进行了检测^[77]。病毒宏转录组学正是在高通量测序技术快速发展的基础上产生的检测病毒的一个方法。它不但可以快速检测病毒, 而且可以高效准确地检测出新病毒的序列, 为新病毒的发现奠定基础, 为病毒学的快速发展提供技术支持。

病毒宏转录组学在病毒的资源发掘方面有很大的优势, 早在 2002 年就应用在了海水中病毒组的研究上, 这是最早关于病毒宏转录组的应用^[78]。现在也已经在动植物、微生物等领域逐步应用。在 2012 年 Feldman 等利用该技术在植物

内生真菌中发现许多病毒信息^[79]; 该技术在真菌病毒研究中的应用还相对较少, 但是该技术有很好的前景, 随着该技术的快速发展将会在各个领域中广泛应用。

5 食用菌病毒的防控

病毒的传播方式之一是通过孢子进行传播, 且该种方式传播较严重。这是由于食用菌孢子的扩散性比较强, 当孢子成熟后会随空气流动迅速扩散, 通过紫外灭菌、高压灭菌以及在培养基中加入抑制剂等方法均不能有效阻止病毒的传播, 所以想要通过控制孢子传播来防控病毒的传播较困难, 建立快速灵敏的病毒检测技术迫在眉睫。

在进行菌丝培养时, 一旦发现污染或者是疑似病毒感染的症状, 要立即处理并将其他未感染的菌丝转管培养, 防止菌丝传毒而导致的全面感染。菌丝间融合传播病毒大多只限于同一品种的食用菌, 不同品种食用菌可以避免病毒传播, 因而在进行食用菌的栽培时, 为了避免病毒的传播, 可以将不同的品种置于同一培养室内进行培养。

不仅如此, 在栽培食用菌的过程中, 要及早发现病毒, 在感病孢子弹射之前及时清理病菇。除此之外, 更要对菇房采取严格的清洁措施, 防止细菌、霉菌、病毒等病害对食用菌的混合感染, 在一定程度上对病毒的传播起到防治作用^[80]。

6 食用菌脱毒技术

6.1 菌丝尖端脱毒

在平板或者试管培养基内, 将带毒菌株置于恒温培养箱进行培养, 当菌丝萌发至 2 cm 左右时, 挑取菌丝体尖端培养基进行转板或者转管培养,

记为一次脱毒, 如此往复循环, 转板或转管次数越多, 脱毒效果越好。这是由于菌丝尖端细胞代谢活性较高, 病毒复制的速度相对较慢, 通过一次又一次的转接, 尖端的病毒含量较少, 最终使病毒逐渐消失, 获得脱毒菌株^[81]。

6.2 原生质体再生脱毒

制备原生质体进行再生培养, 菌丝生长到一定长度后, 用显微镜观察是否存在锁状联合^[67]。观察到锁状联合后, 将其菌落转移至 PDA 培养基上继续培养, 长满平板后提取 dsRNA, 如此往复循环, 直至检测不到 dsRNA 条带, 并将无 dsRNA 的菌落转移至试管内, 待长满后于 4 °C 进行保存。

6.3 单孢杂交法

首先制备孢子印得到孢子, 然后将其稀释, 根据血球计数板计数来确定稀释浓度, 将稀释后的孢子悬浮液涂在 PDA 平板上进行培养, 待长出菌落后移接至 PDA 平板或者试管内, 镜检得到的无锁状联合的就是单核菌株, 并检测是否含有 dsRNA^[82]。将无 dsRNA 的两个单核菌株接种在同一平板内, 在交界处取部分菌丝进行镜检, 将含有锁状联合的菌丝转至试管内进行培养, 检测是否有 dsRNA, 若有则往复循环, 若无则 4 °C 保存。

6.4 断桥式脱毒技术

将制备好的 PDA 试管培养基在斜面的最前端切断 1 cm 左右的距离, 然后接种。待菌丝长满后, 挑取穿过断开处最前端粗壮有力的菌丝进行多次转管培养, 如此往复循环便会得到脱毒菌株^[83]。

6.5 核迁移法

此法分为单-单杂交和双-单杂交。将一带毒菌株或者两个带毒菌株分别与无毒的单核菌株进行

单-单杂交或双-单杂交, 单-单杂交的可直接通过核迁移获得双核菌株, 双-单杂交则是在杂交后培养 4-5 d, 取无毒单核菌株一侧远离杂交线最边缘的菌丝进行镜检, 检测有锁状联合的即为核迁移的双核菌株。将最终所得到的双核菌株进行 dsRNA 检测, 若无 dsRNA 条带则为脱毒菌株。在 2015 年张俊玲通过实验证明金针菇带毒菌株通过核迁移所获得的菌株经 dsRNA 检测并无条带, 这表明了带毒菌株中的病毒并没有随着细胞核迁移到受核菌丝内, 此法脱毒率相对也较高^[84]。

7 存在的问题及研究展望

随着食用菌产业的快速发展, 许多食用菌品种实现了周年化生产。而由食用菌病毒引起的菌丝老化、菌种退化也是限制企业发展的一个重要因素, 这不仅影响其产量, 也严重影响了其品质, 并带来了较严重的损失, 迫切需要明晰其致病机理、研制有效的防控措施。但国内外大多数食用菌研究者把主要研究方向集中在栽培以及育种上, 还未有抗病毒育种的相关报道。目前对食用菌病毒的研究相对较少, 且主要停滞在病毒的检测和分类研究上。面对生产过程中可能出现的食用菌病毒病害, 食用菌企业往往采用主动预防或更换菌种的措施来应对, 虽然在一定程度上缓解了病害, 但并未从根本上解决问题。还应加快开发快速而有效的食用菌病毒检测技术, 如研制食用菌病毒检测试剂盒、食用菌 dsRNA 提取试剂盒等, 为预防食用菌病毒病害的发生和食用菌病毒的深入研究提供技术支持。同时, 继续深入探索食用菌病毒侵染、复制以及作用机制, 明确食用菌病毒的致病机理, 从而研发出相应的防控技术和药物, 进而促进食用菌产业的健康发展。

参考文献

- [1] 暴增海, 柳焕章, 李月梅. 食用菌栽培原理与技术. 北京: 中国标准出版社, 2000: 3–5.
- [2] Xiao Y. Development trend of edible fungi industry in China. *Northwest Horticulture*, 2006, (3): 49–50. (in Chinese)
肖艳. 我国食用菌产业发展趋势. 西北园艺, 2006, (3): 49–50.
- [3] Song B, Fu YP, Li D, Ye JQ, Xu AR, Wang F, Su WY, Dai YT, Guo YX, Li X, Li Y. Advances in the mutation breeding of edible and medicinal fungi. *Microbiology China*, 2017, 44(9): 2201–2212. (in Chinese)
宋冰, 付永平, 李丹, 叶建强, 徐安然, 王菲, 苏文英, 代月婷, 郭昱秀, 李晓, 李玉. 食用菌诱变育种研究进展. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2201–2212.
- [4] Li CY. Minimal organism—virus. *Pesticide Market News*, 2011, (20): 47. (in Chinese)
李翠英. 最小生命体——病毒. 农药市场信息, 2011, (20): 47.
- [5] Pan YJ, Wang ZY, Gong SP, Chen MJ, Wang MQ. The transmission way and means of *Agricus bisporus* virus. *Edible Fungi*, 1989, (3): 33. (in Chinese)
潘迎捷, 汪昭月, 龚胜萍, 陈明杰, 王鸣歧. 蘑菇病毒的传播途径和方式. 食用菌, 1989, (3): 33.
- [6] Xu ZY, Bian YB. Advances in research on viral diseases of edible fungi. *Acta Edulis Fungi*, 2008, 15(3): 80–84. (in Chinese)
徐章逸, 边银丙. 食用菌病毒病害研究进展. 食用菌学报, 2008, 15(3): 80–84.
- [7] Pan YJ, Wang ZY, Gong SP, Chen MJ, Wang MQ. Discovery and symptoms of virus from edible fungi. *Edible Fungi*, 1988, (5): 30–31. (in Chinese)
潘迎捷, 汪昭月, 龚胜萍, 陈明杰, 王鸣歧. 食用菌病毒的发现和症状. 食用菌, 1988, (5): 30–31.
- [8] Wang PM, Liu XB, Dai YC, Horak E, Steffen K, Yang ZL. Phylogeny and species delimitation of *Flammulina*: taxonomic status of winter mushroom in East Asia and a new European species identified using an integrated approach. *Mycological Progress*, 2018, 17(9): 1013–1030.
- [9] Li YP, Liang ZP, Zhang XX, Qiu LY. Research progress in mushroom virus. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(8): 408–413. (in Chinese)
李彦鹏, 梁振普, 张小霞, 邱立友. 食用菌病毒研究进展. 中国农学通报, 2006, 22(8): 408–413.
- [10] Lim WS, Jeong JH, Jeon R D, Yoo YB, Yie SW, Kim KH. Complete nucleotide sequence and genome organization of a dsRNA partitivirus infecting *Pleurotus ostreatus*. *Virus Research*, 2005, 108(1/2): 111–119.
- [11] 肖奎. 四川食用菌病毒 dsRNA 的检测和对多菌灵的敏感性测定. 四川农业大学硕士学位论文, 2008.
- [12] Xie LH. Plant pathogenic virology. Beijing: China Agriculture Press, 2008: 1–331. (in Chinese)
谢联辉. 植物病原病毒学. 北京: 中国农业出版社, 2008: 1–331.
- [13] 周素静. 平菇菌株病毒脱除技术研究. 河南农业大学硕士学位论文, 2009.
- [14] 付月月. 食用菌病毒的鉴定及脱除研究. 东北林业大学硕士学位论文, 2013.
- [15] van der Lende TR, Harmsen MC, Wessels JGH. Double-stranded RNAs and proteins associated with the 34 nm virus particles of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Journal of General Virology*, 1994, 75(9): 2533–2536.
- [16] Yao L, Chen CL, Zhang ZX, Ying GH, Sun XL, Lv ML, Xue ZW, Li LL. The partial genome cDNA sequence of a novel dsRNA virus from *Lentinus edodes* and the virus detected by RT-PCR. *Microbiology China*, 2010, 37(1): 61–70. (in Chinese)
姚立, 陈春乐, 张忠信, 应国华, 孙修炼, 吕明亮, 薛振文, 李伶俐. 一种新香菇病毒基因组部分 cDNA 序列及病毒 RT-PCR 检测. 微生物学通报, 2010, 37(1): 61–70.
- [17] Magae Y. Molecular characterization of a novel mycovirus in the cultivated mushroom, *Lentinula edodes*. *Virology Journal*, 2012, 9: 60.
- [18] Liang ZP, Zhang XX, Gao P, Qiu LY. Two kind viruses isolated from fruitbody of *Lentinus edodes*. *Edible Fungi of China*, 2005, 24(6): 32–33. (in Chinese)
梁振普, 张小霞, 高鹏, 邱立友. 从香菇子实体中分离了两种病毒. 中国食用菌, 2005, 24(6): 32–33.
- [19] Zhou MF. Research progress on *Agricus bisporus* virus disease. *Edible Fungi*, 1981, (1): 39–40. (in Chinese)
周茂繁. 蘑菇病毒病研究的进展. 食用菌, 1981, (1): 39–40.
- [20] Ushiyama R, Nakai Y, Ikegami M. Evidence for double-stranded RNA from polyhedral virus-like particles in *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. *Virology*, 1977, 77(2): 880–883.
- [21] Pan YJ, Chen MJ, Wang ZY, Gong SP, Fang BC, Shen XR, Gong ZX, Shen JY, Chen ZY. A novel globular virus from *Lentinula edodes*. *Edible Fungi*, 1992, (3): 39–40. (in Chinese)

- 潘迎捷, 陈明杰, 汪昭月, 龚胜萍, 方炳初, 沈学仁, 龚祖坝, 沈菊英, 陈作义. 一种新发现的香菇球状病毒. 食用菌, 1992, (3): 39–40.
- [22] Won HK, Park SJ, Kim DK, Shin MJ, Kim N, Lee S H, Kwon YC, Ko HK, Ro HS, Lee HS. Isolation and characterization of a mycovirus in *Lentinula edodes*. *Journal of Microbiology*, 2013, 51(1): 118–122.
- [23] Sinden JW, Hauser E. Report on two new mushroom diseases. *Mushroom Science*, 1950, 1(1): 96–100.
- [24] Schisler LC, Sinden JW, Sigel EM. Etiology, symptomatology, and epidemiology of a virus disease of cultivated mushrooms. *Phytopathology*, 1967, 57(4): 519–526.
- [25] Zaayen ADV. Intracellular appearance of mushroom virus in fruiting bodies and basidiospores of *Agaricus bisporus*. *Virology*, 1972, 47(1): 94–104.
- [26] Barroso G, Labarère J. Evidence for viral and naked double-stranded RNAs in the basidiomycete *Agrocybe aegerita*. *Current Genetics*, 1990, 18(3): 231–237.
- [27] Sahin E, Akata I. Viruses infecting macrofungi. *Virus Disease*, 2018, 29(1): 1–18.
- [28] Liu C, Zhang ML, Shu CW, Zhou EX. Research progress on Mycovirus. *China Plant Protection*, 2016, 36(9): 18–27. (in Chinese)
刘忱, 张美玲, 舒灿伟, 周而勋. 真菌病毒的研究进展. 中国植保导刊, 2016, 36(9): 18–27.
- [29] Hollings M. Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom. *Nature*, 1962, 196(4858): 962–965.
- [30] Magae Y, Hayashi N. Double-stranded RNA and virus-like particles in the edible basidiomycete *Flammulina velutipes* (Enokitake). *FEMS Microbiology Letters*, 1999, 180(2): 331–335.
- [31] Yang C. Causes and prevention measures of *Tremella fuciformis*. *Modern Agricultural Science and Technology*, 1991, (2): 27. (in Chinese)
杨草. 银耳烂耳原因及防治措施. 河北农业科技, 1991, (2): 27.
- [32] Li H, Xiao QM, Liu N, Zhang M, Zhang JJ, Song Y, Liu YY. Analysis of edible fungi degraded reasons and discussion of rejuvenation method. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2010, (5): 53–55. (in Chinese)
李红, 肖千明, 刘娜, 张敏, 张季军, 宋莹, 刘岩岩. 食用菌菌种退化原因分析及复壮方法的探讨. 辽宁农业科学, 2010, (5): 53–55.
- [33] Li YJ, Sun GQ, Guo JF, Wang HY, Pang J. Latest research progress on the degradation mechanism and preventive measures of edible fungus strains. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2018, (2): 136–140. (in Chinese)
李亚娇, 孙国琴, 郭九峰, 王海燕, 庞杰. 食用菌菌种退化机制及预防措施的最新研究进展. 黑龙江农业科学, 2018, (2): 136–140.
- [34] Ke BR, Lu ZH, Wu XP, Chen FC, Lan QX. Biological characteristics of degenerated strains of *Pleurotus pulmonarius* and detection of dsRNA virus. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(1): 98–103. (in Chinese)
柯斌榕, 卢政辉, 吴小平, 陈发川, 兰清秀. 秀珍菇退化菌株生物学特征比较及 dsRNA 病毒检测. 南方农业学报, 2018, 49(1): 98–103.
- [35] Chen ZS. Study on degradation and rejuvenation of *Flammulina velutipe* species in industrialized cultivation. *Edible Fungal of Fungi*, 1998, 17(5): 10. (in Chinese)
陈志松. 工厂化栽培金针菇菌种退化与复壮的研究. 中国食用菌, 1998, 17(5): 10.
- [36] 赵淑英. 金针菇菌种质量及亲缘关系评价研究. 河北师范大学硕士学位论文, 2008.
- [37] 邱乙伟. 白色金针菇工厂化生产菌种的选育. 南京农业大学硕士学位论文, 2013.
- [38] Qin Y. Recent achievements of mycovirus research. *Guangxi Agricultural Sciences*, 2005, 36(3): 280–283. (in Chinese)
覃玥. 真菌病毒的研究进展. 广西农业科学, 2005, 36(3): 280–283.
- [39] Ma ZH, Zhou GH. Detection and analysis of maize dwarf mosaic virus (MDMV) in corn seed. *Journal of China Agricultural University*, 1998, 3(S1): 27–30. (in Chinese)
马占鸿, 周广和. 玉米种子中矮花叶病毒分布部位的研究. 中国农业大学学报, 1998, 3(S1): 27–30.
- [40] Goodin MM, Schlagnhauser B, Romaine CP. Encapsidation of the La France disease-specific double-stranded RNAs in 36-nm isometric viruslike particles. *Phytopathology*, 1992, 82(3): 285–290.
- [41] Gaze RH, Calvobado L, Challen MP, Adie BAT, Romaine CP. A new virus disease of *Agaricus bisporus*? *Science and Cultivation of Edible Fungi. Proceedings of the International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Maastricht, Netherlands*, 2000, 15–19 May.
- [42] Grogan HM, Adie BAT, Gaze RH, Challen MP, Mills PR. Double-stranded RNA elements associated with the MVX

- disease of *Agaricus bisporus*. *Mycological Research*, 2003, 107(2): 147–154.
- [43] Revill PA, Davidson AD, Wright PJ. Identification of a subgenomic mRNA encoding the capsid protein of mushroom bacilliform virus, a single-stranded RNA mycovirus. *Virology*, 1999, 260(2): 273–276.
- [44] 方子雅. 异形香菇子实体的病因探索. 广西大学硕士学位论文, 2017.
- [45] Shen XR, Shen JY, Chen ZY, Gong ZX, Chen M J, Pan YJ, Wang ZY, Fang BC, Wang MQ. A single-stranded virus isolated from shiitake mushroom *Lentinus edodes* (berk.) sing. *Virologica Sinica*, 1992, 7(1): 99–105.
- [46] Guo MP, Bian YB, Wang JJ, Wang GZ, Ma XL, Xu ZY. Biological and molecular characteristics of a novel partitivirus infecting the edible fungus *Lentinula edodes*. *Plant Disease*, 2017, 101(5): 726–733.
- [47] Yu HJ, Lim DB, Lee HS. Characterization of a novel single-stranded RNA mycovirus in *Pleurotus ostreatus*. *Virology*, 2003, 314(1): 9–15.
- [48] Jae YH, Sun LJ, Joo LN, Jung HS, Yeon KS, Joo GE, Won BD, Ung CM, Sook LH. Identification of three isometric viruses from *Pleurotus ostreatus* (Running title: ssRNA and dsRNA viruses of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2004, 23(1): 150–156.
- [49] Ro HS, Lee NJ, Lee CW, Lee HS. Isolation of a novel mycovirus OMIV in *Pleurotus ostreatus* and its detection using a triple antibody sandwich-ELISA. *Journal of Virological Methods*, 2006, 138(1/2): 24–29.
- [50] Kim YJ, Kim JY, Kim JH, Yoon SM, Yoo YB, Yie SW. The identification of a novel *Pleurotus ostreatus* dsRNA virus and determination of the distribution of viruses in mushroom spores. *Journal of Microbiology*, 2008, 46(1): 95–99.
- [51] Liu HD, Liang PY. Ultrastructure of *Pleurotus ostreatus* infected with virus. *Acta Microbiologica Sinica*, 1986, 26(3): 221–225. (in Chinese)
刘宏迪, 梁平彦. 感染病毒的侧耳的超微结构. *微生物学报*, 1986, 26(3): 221–225.
- [52] Qiu LY, Li YP, Liu YM, Gao YQ, Qi YC, Shen JW. Particle and naked RNA mycoviruses in industrially cultivated mushroom *Pleurotus ostreatus* in China. *Fungal Biology*, 2010, 114(5/6): 507–513.
- [53] Ro HS, Kang EJ, Yu JS, Lee TS, Lee CW, Lee HS. Isolation and characterization of a novel mycovirus, PESV, in *Pleurotus eryngii* and the development of a diagnostic system for it. *Biotechnology Letters*, 2007, 29(1): 129–135.
- [54] Magae Y, Sunagawa M. Characterization of a mycovirus associated with the brown discoloration of edible mushroom, *Flammulina velutipes*. *Virology Journal*, 2010, 7: 342.
- [55] Chen KY, Liang PY, Zhang ST, You ML. *Volvvariella volvacea* virus—a new fungal dsRNA virus from mushroom. *Acta Microbiologica Sinica*, 1988, 28(1): 19–23. (in Chinese)
陈开英, 梁平彦, 张树庭, 尤美莲. 草菇病毒——一种新的食用菌 ds-RNA 病毒. *微生物学报*, 1988, 28(1): 19–23.
- [56] Liang PY, Chen KY. Study on edible fungal virus. *Microbiology China*, 1982, 9(5): 209–210, 215. (in Chinese)
梁平彦, 陈开英. 食用真菌病毒研究. *微生物学通报*, 1982, 9(5): 209–210, 215.
- [57] 李志国. 茯苓病毒与菌丝褐变现象的研究. 华中农业大学硕士学位论文, 2007.
- [58] Huang WY. A study of some characteristics of the virus in *Pleurotus sajor-caju*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1988, 11(4): 53–56. (in Chinese)
黄为一. 凤尾菇病毒性质的研究. *南京农业大学学报*, 1988, 11(4): 53–56.
- [59] Stielow B, Menzel W. Complete nucleotide sequence of TaV1, a novel totivirus isolated from a black truffle ascocarp (*Tuber aestivum* Vittad.). *Archives of Virology*, 2010, 155(12): 2075–2078.
- [60] Stielow B, Klenk HP, Menzel W. Complete genome sequence of the first endornavirus from the ascocarp of the ectomycorrhizal fungus *Tuber aestivum* Vittad. *Archives of Virology*, 2011, 156(2): 343–345.
- [61] Stielow B, Klenk HP, Winter S, Menzel W. A novel *Tuber aestivum* (Vittad.) mitovirus. *Archives of Virology*, 2011, 156(6): 1107–1110.
- [62] Stielow JB, Bratek Z, Klenk HP, Winter S, Menzel W. A novel mitovirus from the hypogeous ectomycorrhizal fungus *Tuber excavatum*. *Archives of Virology*, 2012, 157(4): 787–790.
- [63] 王云灵. 鸡腿菇菌种质量检测技术研究. 福建农林大学硕士学位论文, 2010.
- [64] 黄贞贞. 杏鲍菇和金针菇菌种质量控制技术研究. 福建农林大学硕士学位论文, 2011.
- [65] Wen M, Cheng AC, Wang MS, Wu T. Comparison of purification methods of duck plague virus. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 2006, 25(2): 115–120. (in

- Chinese)
文明, 程安春, 汪铭书, 吴彤. 鸭瘟病毒提纯方法比较. 山地农业生物学报, 2006, 25(2): 115–120.
- [66] Clark MF, Adams AN. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 1977, 34(3): 475–483.
- [67] Wang L, Chen Q, Huang CY, Zhang JX. Research progress on detection and detoxification technology of edible fungi viruses//National Symposium on Edible Fungi. Shanghai: Editorial Department of Journal of Edible Fungi, Chinese Society of Fungi, 2010. (in Chinese)
王丽, 陈强, 黄晨阳, 张金霞. 食用菌病毒的检测和脱毒技术研究进展//第九届全国食用菌学术研讨会论文集. 上海: 中国菌物学会, 食用菌学报编辑部, 2010.
- [68] Kim S, Kim MG, Jung HA, Lee KH, Lee HS, Ro HS. An application of protein microarray in the screening of monoclonal antibodies against the oyster mushroom spherical virus. *Analytical Biochemistry*, 2008, 374(2): 313–317.
- [69] Rao JR, Nelson DW, McClean S. The enigma of double-stranded RNA (dsRNA) associated with mushroom virus X (MVX). *Current Issues in Molecular Biology*, 2007, 9(2): 103–121.
- [70] Morris TJ, Dodds JA. Isolation and analysis of double-stranded RNA from virus-infected plant and fungal tissue. *Phytopathology*, 1979, 69(8): 854–858.
- [71] 王春兰. 侵染嗜水小核菌(*Sclerotium hydrophilum*)的双链RNA病毒研究. 浙江理工大学硕士学位论文, 2013.
- [72] Wu J, Wang CL, Zhu XW, Chen JS. Sequence analysis of double-strand RNA6 and RNA9 from the fungus *Sclerotium hydrophilum*. *Archives of Virology*, 2017, 162(9): 2913–2917.
- [73] MBL. Plant Viral dsRNA Enrichment Kit. (2015-07-13). <http://ruo.mbl.co.jp/bio/g/sch/index.html?reld=20150713>.
- [74] 杨俊玲. 苹果花叶病毒(ApMV)和李属矮缩病毒(PDV)RT-PCR检测体系的研究. 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2004.
- [75] Liu L, Chen JS, Yu S, Wang C. Full-length cDNA clone and sequences analysis for unknown double-stranded RNA isolated from radish. *Acta Horticulturae Sinica*, 2005, 32(5): 881–884. (in Chinese)
刘莉, 陈集双, 喻珊, 王冲. 萝卜中一未知 dsRNA 全长 cDNA 克隆及其序列. 园艺学报, 2005, 32(5): 881–884.
- [76] Telenius H, Carter NP, Bebb CE, Nordenskjöld M, Ponder BAJ, Tunnacliffe A. Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. *Genomics*, 1992, 13(3): 718–725.
- [77] Cong QQ, Lan YF, Cui X, An XR. Detection of *Pleurotus ostreatus* virus by siRNA high-throughput sequencing. *Edible Fungi of China*, 2018, 37(1): 61–64. (in Chinese)
丛倩倩, 兰玉菲, 崔晓, 安秀荣. 利用 siRNA 高通量测序技术检测平菇病毒. 中国食用菌, 2018, 37(1): 61–64.
- [78] Breitbart M, Salamon P, Andresen B, Mahaffy JM, Segall AM, Mead D, Azam F, Rohwer F. Genomic analysis of uncultured marine viral communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(22): 14250–14255.
- [79] Feldman TS, Morsy MR, Roossinck MJ. Are communities of microbial symbionts more diverse than communities of macrobial hosts?. *Fungal Biology*, 2012, 116(4): 465–477.
- [80] Bellettini MB, Bellettini S, Fiorda FA, Pedro AC, Bach F, Fabela-Morón MF, Hoffmann-Ribani R. Diseases and pests noxious to *Pleurotus* spp. mushroom crops. *Revista Argentina de Microbiología*, 2018, 50(2): 216–226.
- [81] 夏伟. 平菇病毒 dsRNA 检测、脱毒及传播途径的研究. 福建农林大学硕士学位论文, 2011.
- [82] Zhang ZH, Liu YM, Qi YC, Gao YQ, Shen JW, Qiu LY. Comparisons of different methods for virus-elimination of edible fungi. *Chinese Journal of Virology*, 2010, 26(3): 249–254. (in Chinese)
张朝辉, 刘映森, 戚元成, 高玉千, 申进文, 邱立友. 食用菌病毒脱毒方法的比较. 病毒学报, 2010, 26(3): 249–254.
- [83] Wang ZD, Gao WH. Research progress of edible fungi virus and strain detoxification technology. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 2011, 52(1): 15–16, 30. (in Chinese)
王正德, 高伟华. 食用菌病毒及菌种脱毒技术研究进展. 宁夏农林科技, 2011, 52(1): 15–16, 30.
- [84] 张俊玲. 金针菇病毒 dsRNA 快速检测和脱毒方法的研究. 南京农业大学硕士学位论文, 2015.

Research progress in mushroom virus

Xuefei Li¹, Bing Song^{1*}, Yu Li^{1*}

Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi, College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin Province, China

Abstract: Mycoviruses (viruses of fungi) are one of the most important pathogens of edible fungi and cause significant losses in many mushroom production systems. Mycoviruses induce various response in mushrooms, often producing latent or no obvious symptoms that can lead to significant production losses. Research on viral diseases of edible fungi has increased significantly due to the economic importance as a result of production losses and potential application of mycovirus in plant disease management. Therefore, this paper aims to review the structure and classification of mycovirus, symptom expression and disease severity, mode of transmission, detection methods and techniques for eliminating and producing virus free spawns for mushroom cultivation, and suggest future research needs for sustainable management of mushroom viral diseases.

Keywords: edible fungus virus, structure and classification, hazard, detection method, detoxification

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Internet (201503137), by the National Key Research and Development Program of China (2017YFD0601002), by the Programme of Introducing Talents of Discipline to Universities (D17014), by the Jilin Provincial Department of Education (JJKH20180670KJ), by the Changchun Science and Technology Bureau (15SS11) and by the Scientific and Technological Planning Project of Jilin Province (20170101053JC)

*Corresponding author. E-mail: yuli@126.com (Yu Li); song19800123@126.com (Bing Song)

Received: 9 October 2018; Revised: 5 December 2018; Published online: 27 December 2018