



刺盘孢菌真菌病毒研究进展

李春霞¹, 李敏¹, 高兆银¹, 弓德强¹, 洪小雨¹, 姜瑛¹, 常圣鑫², 胡美姣^{1*}

(¹中国热带农业科学院环境与植物保护研究所, 海口 571101; ²中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海口 571101)

摘要: 真菌病毒是指寄生于各种真菌中的病毒, 其中部分弱毒相关病毒可使寄主真菌致病力发生衰退, 甚至导致病原群体致病力下降, 是一种具有生防潜能的微生物资源。刺盘孢菌 (*Colletotrichum* spp.) 可引起植物严重的炭疽病, 造成巨大的经济损失。文章归纳总结了刺盘孢菌中真菌病毒的种类和特征: 仅有9种刺盘孢菌中存在真菌病毒, 且病毒基因组类型均为dsRNA; 绝大部分病毒为直径25-50 nm的球状病毒颗粒, 另有目前唯一一例线状真菌病毒; 序列已知的6例刺盘孢菌病毒中有2例为双分病毒, 2例为产黄青霉病毒, 2例还未确定归类。通过分析病毒对寄主真菌的影响发现不同病毒对刺盘孢菌表型、生长、产孢和致病力等方面的影响存在明显差异, 但仅有2例为能使寄主致病力衰退的弱毒相关病毒。弱毒相关病毒的发现为植物炭疽病的生防研究提供了新契机, 但由于存在真菌病毒数量不足、真菌病毒分离鉴定进展缓慢、真菌病毒传播效率低及病毒与刺盘孢菌间的互作研究不够深入等问题, 刺盘孢菌应用于田间炭疽病的防治还有一定距离。针对上述问题, 未来研究方向可从以下方面着手: 采用宏转录组等技术鉴定和发掘更多的真菌病毒; 通过遗传转化手段或挖掘可利用的化学物质或传播介体提高病毒的传播效率; 建立刺盘孢菌遗传转化体系及病毒反向遗传转化系统, 结合多组学手段深入研究病毒与寄主真菌互作, 为刺盘孢菌的致病机理研究及真菌病毒的生防利用提供参考。

关键词: 刺盘孢菌; 真菌病毒; 炭疽病; 生物防治

中图分类号: S476

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2020)01-0123-10

Mycoviruses of *Colletotrichum* spp. : A review

LI Chun-xia¹, LI Min¹, GAO Zhao-yin¹, GONG De-qiang¹, HONG Xiao-yu¹,
JIANG Ying¹, CHANG Sheng-xin², HU Mei-jiao^{1*}

(¹Environment and Plant Protection Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; ²Tropical Crop Germplasm Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China)

Abstract: Mycoviruses are parasitic viruses in various fungi. Some hypovirulence-associated mycoviruses are microbial resources with the potential of biocontrol, which reduce the pathogenicity of plant pathogenic fungi and even cause the decline of pathogenicity of pathogenic groups. *Colletotrichum* spp. can cause severe anthracnose in plants, leading to enormous economic loss. This paper summarized the types and characteristics of mycoviruses in *Colletotrichum* spp. from literature. Currently, it has been found that mycoviruses infected only nine species of *Colletotrichum* spp., and their genome types are dsRNA. Most of the mycoviruses are a spherical particle with the diameter of 25-50 nm, but a filamentous mycovirus is found for the first time in the world. Among the six known sequence cases, two cases are partitivirus, two cases are chrysovirus, and two cases are unclassified. By summing up the effects of viruses on host fungi, it is shown that there are differences in phenotype, growth, sporulation, and pathogenicity among different mycoviruses but only two mycoviruses could make host pathogenicity decline. The discovery of hypovirulence-associated mycovirus provides a new opportunity for the biocontrol of plant anthracnose, but there is still a long way to go for the control of anthracnose in the field with the following reasons: the quantity of mycoviruses is insufficient; the progress of isolation and identification of mycoviruses is slow; the transmission of fungal viruses is insufficient; the interaction study between viruses and *Colletotrichum* spp. is not thorough enough; a long distance between the study and its application to field control. Given the above problems, it was suggested that researchers could carry out their researches from the following aspects: identifying and discovering more mycoviruses in *Colletotrichum* spp. by metatranscriptome technology; improving virus transmission ef-

收稿日期: 2019-06-13

基金项目: 海南省自然科学基金项目(319MS095); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项(1630042019041)

作者简介: *为通讯作者, 胡美姣(1973-), 博士, 研究员, 主要从事热带果蔬采后病害与贮藏保鲜研究工作, E-mail: humeijiao320@163.com。李春霞(1987-), 博士, 主要从事热带果蔬采后病害研究工作, E-mail: lichunxia2012@foxmail.com

iciency by using genetic transformations or digging available chemicals or transmission mediators; establishment of *Colletotrichum* spp. genetic transformation system and mycovirus reverse genetic transformation system combine with multi-omics methods to study the interaction between mycoviruses and *Colletotrichum* spp., providing references for the study of pathogenic mechanism of *Colletotrichum* spp. and biocontrol of mycoviruses.

Key words: *Colletotrichum* spp.; mycoviruses; anthracnose; biocontrol

Foundation item: Hainan Natural Science Foundation(319MS095); Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences Basic Research Special Project(1630042019041)

0 引言

刺盘孢菌(*Colletotrichum* spp.)隶属于半知菌亚门腔孢纲黑盘孢目黑盘孢科刺盘孢属真菌,其有性阶段是子囊菌亚门的小丛壳属或无柄盘菌属,是禾本科、果树、蔬菜等经济作物的寄生菌,可引起严重的炭疽病(周德庆和徐士菊,2005)。据统计,受刺盘孢菌侵染的影响,热带、亚热带及地中海地区出口水果品质显著下降,所造成的经济损失甚至可达80%以上(Joshi, 2018),《2016全球植物现状评估报告》(Willis and Bachman, 2016)更是将刺盘孢菌列为十大影响植物的病原真菌之首,可见其对世界经济和科学研究的重要性。

真菌病毒(Fungal virus或Mycovirus)是指寄生在真菌中的一系列病毒,它们广泛地存在于各种真菌中。迄今为止,在美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库可查询到超过250种真菌病毒被成功测序并注册(Xie and Jiang, 2014)。国际病毒分类委员会(ICTV)将已发现的真菌病毒划分为17个类群,包括16个科和1个不包括在科里的属(Kotta-Loizou and Coutts, 2017),根据基因组类型可分为双链(ds)RNA病毒(8个类群):*Botybirnavirus*、*Endornaviridae*、*Partitiviridae*、*Megabirnaviridae*、*Reoviridae*、*Chysovriidae*、*Totiviridae*和*Quadriviridae*;单股正链RNA[(+)ssRNA]病毒(6个类群):*Alphaflexiviridae*、*Gammaflexiviridae*、*Hypoviridae*、*Pseudoviridae*、*Barnaviridae*和*Metaviridae*;单股负链[(-)ssRNA]病毒(1个类群):*Myonnaviridae*;环状ssDNA病毒(1个类群):*Genomoviridae*。研究发现有部分真菌病毒可降低植物病原真菌的致病力,甚至使病原群体致病力发生衰退,这种特殊的致病功能使得真菌病毒兼具理论研究的重大意义和应用开发的广泛前景,为农业绿色可持续发展提供坚实基础,是一种有待开发的、具有生防潜能的微生物资源。

本研究对刺盘孢菌中真菌病毒的种类和特征进行归纳总结,分析弱毒相关病毒对刺盘孢菌表型、生长、产孢及致病力等方面的影响,指出利用真菌病毒防治植物炭疽病的优势和存在的问题,展望未来研究方向,为刺盘孢菌真菌病毒的深入研究和利用提供参考。

1 刺盘孢菌相关真菌病毒

早在1975年Moffitt和Lister就应用血清学筛选试验在高粱刺盘孢病菌(*C. graminicola*)和甘蔗刺盘孢病菌(*C. falcatum*)中检测到dsRNA真菌病毒。同年,Rawlinson等(1975)从菜豆刺盘孢病菌(*C. lindemuthianum*)菌株中提取获得dsRNA,电镜观察到直径30 nm的等距病毒粒子。截至目前,分别在尖孢刺盘孢(*C. acutatum*)、山茶刺盘孢(*C. camelliae*)、镰形刺盘孢(*C. falcatum*)、果生刺盘孢(*C. fructicola*)、盘长孢状刺盘孢(*C. gloeosporioides*)、禾生刺盘孢(*C. graminicola*)、希金斯刺盘孢(*C. higginsianum*)、豆刺盘孢(*C. lindemuthianum*)和平头刺盘孢(*C. truncatum*)等9种刺盘孢菌中发现真菌病毒,且基因组类型均为dsRNA,绝大部分病毒为直径25~50 nm的球状病毒颗粒;此外,在山茶刺盘孢中发现目前唯一一例线状真菌病毒。以下将已发表的刺盘孢菌病毒分为序列已知和序列未知两类进行介绍。

1.1 序列已知的刺盘孢菌病毒

1.1.1 *C. acutatum partitivirus 1*(CaPV1) Zhong等(2014)从辣椒果实上分离的尖孢刺盘孢中发现直径约40 nm的球形病毒样颗粒,分离检测后获得2条dsRNA条带,大小分别为1762和1381 nt;分析发现这2条dsRNA条带各包含一个开放阅读框(ORF),分别编码62和40 kD蛋白;其中,62 kD蛋白与部分病毒的RNA依赖RNA聚合酶(RdRp)相似,而40 kD蛋白与所有数据库中已发表的任何衣壳蛋白(CP)均无显著相似性;基因组比对和系统发育分析表明,该病毒与双分病毒科的真菌病毒密切相关,因此,将其命名为*C. acutatum partitivirus 1*(CaPV1)。

1.1.2 *C. higginsianum Non-segmented dsRNA virus 1*(ChNRV1) Campo等(2016)发现希金斯刺盘孢菌株存在基因组未分段的dsRNA真菌病毒,命名为*C. higginsianum Non-segmented dsRNA virus 1*(ChNRV1);分析发现该dsRNA大小为2923 nt,包含两个不同的ORF:ORF1编码一个假定的CP,而ORF2编码一种假定的RdRp;通过对病毒RdRp进行最大似然系统发育分析发现ChNRV1既不属于*Totiviridae*也不属于*Partitiviridae*,而被归为*Partitiviridae*家族的姐妹支——*Amalgaviridae*,作者认为ChNRV1要么

是 *Amalgaviridae* 的新成员, 要么属于一个尚未确定的家族。

1. 1. 3 *C. truncatum partitivirus 1* (CtParV1) Marzano等(2016)发现平头刺盘孢菌株中存在两个与 *Partitiviridae* 亲缘关系较近的 dsRNA 序列: dsRNA1 (1820 nt, 编码病毒 RdRp 蛋白) 和 dsRNA2 (1535 nt, 编码病毒 CP 蛋白), 这两个 dsRNA 的序列长度及其编码的多肽长度均与 *gammapartitivirus* 属病毒相近, 且 dsRNA1 与 *gammapartitivirus* 属 *Verticillium dahliae partitivirus 1* RNA1 的相似性达 87%, 因此将该病毒命名为 *C. truncatum partitivirus 1*。

1. 1. 4 *C. gloeosporioides chrysovirus 1* (CgCV1) Zhong等(2016)从盘长孢状刺盘孢中分离出一种新型 dsRNA 真菌病毒 (*C. gloeosporioides chrysovirus 1*, CgCV1), 由 3 个 dsRNA 基因组片段组成 (dsRNA 1~dsRNA 3), 长度分别为 3397、2869 和 2630 bp, 各包含一个 ORF, 推定 dsRNA 1~dsRNA 3 分别编码 RdRp、CP 和蛋白酶; CgCV1 RdRp 的系统发育分析表明该病毒与 *Fusarium oxysporum chrysovirus 1* 密切相关; 根据病毒基因组片段大小、序列和结构特征, RdRp 的氨基酸序列相似性, 特定基序的特征, 病毒粒子的大小和结构特征, 作者认为 CgCV1 是 *Chrysovirus* 属的一个新物种。

1. 1. 5 *C. camelliae filamentous virus 1* (CcFV-1) Jia等(2017)在山茶刺盘孢菌中发现一种长达 4661.6 nm 的线状病毒, 命名为 *C. camelliae filamentous virus 1* (CcFV-1), 是目前唯一一例线状真菌病毒; CcFV-1 有 8 个 dsRNA, 长度分别为 990、1053、1085、1122、1299、2012、2253 和 2444 bp, 共编码 10 个 ORF, 其中 ORF1 编码一个 RdRp, ORF4 编码 CP; 系统发育分析发现 CcFV-1 与 *Aspergillus fumigatus tetramycovirus-1* 和 *Beauveria bassiana polymycovirus-1* 有一定的系统亲缘关系, 但在病毒形态和基因组组成上存在差异; CcFV1 病毒的基因组大小不到 3000 bp, 却包被在长约 4000 nm 的病毒中, 这可能是一种新的病毒包装机制。CcFV1 病毒的发现对进一步了解 RNA 病毒的形态、进化及分子特性等具有重要意义。

1. 1. 6 *C. fructicola chrysovirus 1* (CfCV1) Zhai等(2018)从果生刺盘孢菌株中分离并鉴定出一种新型 7 段 dsRNA 病毒, 命名为 *C. fructicola chrysovirus 1* (CfCV1)。CfCV1 为直径 35 nm 的球状病毒粒子; dsRNA 1~dsRNA 7 的全长分别为 3620、2801、2687、2437、1750、1536 和 1211 bp; 其中, dsRNA 1 编码 RdRp, dsRNA 2 编码 CP, dsRNA 5 编码一种 C₂H₂ 型锌指蛋白, dsRNA 3、dsRNA 4 和 dsRNA 6 编码其他蛋

白的功能尚不清楚; 基于 RdRp 和 CP 的系统发育分析表明 CfCV1 与 *Botryosphaeria dothidea chrysovirus 1* 和 *Penicillium janczewskii chrysovirus 2* 有系统亲缘关系, 同属于产黄青霉科病毒。

1. 2 序列未知的刺盘孢菌病毒

除上述刺盘孢菌真菌病毒的基因组已进行测序外, 还有一些真菌病毒基因组未完成测序, 仅观察到类似病毒的颗粒和/或提取到部分 dsRNA 片段。如 Moffitt 和 Lister (1975)、Rawlinson 等 (1975) 使用血清学方法检测发现禾生刺盘孢、镰形刺盘孢和豆刺盘孢含 dsRNA 真菌病毒, 通过电镜可观察到豆刺盘孢的病毒粒子为直径 30 nm 的等距粒子。Dale 等 (1988) 使用纤维素柱层析法提取了 14 株盘长孢状刺盘孢菌株的 dsRNA, 发现菌株所含 dsRNA 的数量和大小与炭疽病类型存在相关性。Figueirêdo 等 (2012) 利用纤维素柱层析法从腰果刺盘孢病菌 (*C. gloeosporioides*) 菌株上分离得到 9 条 dsRNA, 透射电镜可观察到分离所得的 RNA 为直径 30~35 nm 的球形病毒颗粒。Liao 等 (2012) 利用纤维素粉抽提法提取 3 株不同致病力的尖孢刺盘孢病菌的 dsRNA, 发现不同致病力菌株中 dsRNA 的组成和大小存在差异, 其中弱致病力菌株 Coll-365 中包含 2 条大小分别为 1300 和 2500 bp 的 dsRNA, 而强致病力菌株 Coll-524 中为 1400 和 1700 bp 的 2 条 dsRNA 条带。Lima 等 (2012) 对 39 株巴西胡椒刺盘孢病菌 (*C. gloeosporioides*) 进行 dsRNA 提取, 只在 3 株中发现 1 条 3000 bp 的 dsRNA 条带。

2 真菌病毒对刺盘孢菌的影响

2. 1 表型

Zhong 等 (2014) 通过环己胺法脱除尖孢刺盘孢病菌菌株中的 CaPV1 病毒, 获得 2 株脱毒菌株, 在感染病毒和脱除病毒的分离株之间, 菌落表型在色素沉着和菌丝生长上有轻微差异, 脱毒菌株黑色素积累显著减少, 菌丝生长松散或稀疏并出现隆起的同心轮纹圈; Jia 等 (2017) 通过对含毒山茶刺盘孢菌株进行单孢分离获得无毒菌株, 发现脱毒后的菌株呈现隆起的同心轮纹圈, 且分泌黑色素减少; 而转染 CcFV-1 后, 菌落形态恢复至与带毒亲本相似, 即菌株轮纹圈消失, 黑色素增加, 且随着培养时间延长 (15 d), 黑色素累积显著增多, 说明病毒的存在显著影响了寄主真菌的菌落形态。但也有研究指出病毒存在对果生刺盘孢菌株的菌落形态无明显影响 (Zhai et al., 2018), 说明不同病毒粒子对寄主真菌的影响存在差异。

2.2 生长

Jia等(2017)通过对山茶刺盘孢菌株和脱毒菌株进行生长速度测定,结果显示3株脱毒菌株相比带毒菌株生长速度变快(6.3~6.5 mm/d);转染CcFV-1后,3株菌株的生长速度变慢(5.6~5.9 mm/d),与带毒菌株LT-3-1(生长速度5.4 mm/d)近似。而Zhai等(2018)通过对带毒果生刺盘孢菌株进行单孢分离获得脱毒菌株,发现带CfCV1病毒菌株与无毒菌株间菌株生长速率差异不大。

2.3 产孢

Zhong等(2014)研究发现在尖孢刺盘孢病菌分生孢子的产生方面,带毒菌株与脱毒菌株之间存在显著差异,即脱毒菌株的产孢量几乎是带毒菌株HNZJ001的3倍,意味着病毒可能对尖孢刺盘孢病菌有一定的影响,至少在分生孢子的产生方面,这可能有利于这种病原菌的广泛传播。与之相反,Campo等(2016)采用环己胺处理获得1株ChNRV1病毒固化/脱除的野生型*C. higginsianum*菌株IMI 349063A,研究发现无病毒菌株产孢水平是含毒菌株的8.8倍,证实*C. higginsianum*菌株产孢缺陷与ChNRV1病毒有关。

2.4 致病力

前人研究发现有一类病毒能使寄主真菌出现产孢能力下降、生长速率减慢、致病力降低等症状,这一类真菌病毒称为弱毒相关病毒(Hypovirulence-associated mycovirus)。目前,在刺盘孢菌中仅发现2例能使寄主致病力衰退的弱毒相关病毒:Jia等(2017)通过对带毒山茶刺盘孢菌株和脱毒菌株进行致病力测定,发现3株脱毒菌株相比带毒菌株致病力增强(6.1~14.9 mm);而转染CcFV-1后,3株菌株的致病力减弱(1.0~4.0 mm),与带毒菌株LT-3-1(病斑长度1.0 mm)近似,因此作者认为CcFV-1通过损害山茶刺盘孢细胞的动态平衡引发弱毒现象,从而影响寄主形态,如色素生产和分配、生长率和菌丝轮纹。值得一提的是,CcFV-1裸露的dsRNA也具有感染性,可侵染真菌原生质体诱导其产生并积累病毒颗粒,同时,被CcFV-1病毒感染后的真菌仍能维持生长活动,CcFV-1这种强传播又不影响宿主生存的能力使其具有显著的生防潜能。Zhai等(2018)通过对带毒果生刺盘孢进行单孢分离获得脱毒菌株,发现带CfCV1病毒菌株与脱毒菌株间菌落形态和菌株生长速率差异不大,但对离体果实的弱毒力作用较无CfCV1菌株强。虽然Liao等(2012)研究发现带毒尖孢刺盘孢Coll-365对辣椒的致病力显著低于Coll-153(无毒)和Coll-524(带毒),侵染辣椒果实96 hpi后仍

无法产生分生孢子盘,但作者并未对菌株进行脱毒或将病毒转入无毒菌株,因此不能确定菌株Coll-365所带病毒为弱毒相关病毒。

2.5 其他

病原真菌分泌的角质酶、蛋白酶及漆酶等可降解寄主植物的细胞壁和角质层等,以利于病原真菌的侵入、定殖与扩展。另外,真菌附着胞还可通过在细胞内积累大量的丙三醇从而形成巨大的膨胀压力帮助其穿透植物寄主角质层启动侵染植物的进程(Money, 1999)。Liao等(2012)检测发现携带不同类型dsRNA的尖孢刺盘孢具有不同的酶活力和细胞膨压,其中弱致病力带毒菌株Coll-365具有较高的蛋白酶和角质酶活性,而强致病力带毒菌株Coll-524的漆酶活性最高,且Coll-365的细胞膨压(<4.9 Mpa)低于Coll-524和无毒菌株Coll-153(>6.0 Mpa)。同样由于Liao等(2012)未对带毒菌株进行脱毒或对无毒菌株进行转染,因此无法准确证实病毒与菌株酶活力和细胞膨压的相关性。Zhong等(2014)研究也指出携带CaPV1病毒的尖孢刺盘孢菌株与脱毒菌株的漆酶活性无明显差异。Campo等(2016)发现ChNRV1病毒粒子的积累量受真菌DCL1和AGO1蛋白的负向调控,但病毒粒子并未被真菌完全清除,作者猜测ChNRV1可能在尚未研究的环境中为尖孢刺盘孢提供了一些优势,也可能作为载体促进真菌基因组的可塑性,通过进化促进新的毒力性状出现。Jia等(2017)对比脱毒菌株与带毒菌株的菌丝超微细胞结构,在带毒菌株菌丝体细胞中发现大量的为病毒提供复制和组装场所的囊泡结构,缺少液泡和伏鲁宁体,并且囊泡内部还观察到疑似病毒样颗粒,说明CcFV-1病毒的存在显著影响了菌丝的细胞结构。

如上所述,确实有部分病毒对寄主真菌的产孢能力、生长速率、致病力等存在显著影响,但也有研究表明某些真菌病毒对寄主没有明显的影响(Buck, 2017)。在菜豆刺盘孢病菌中,Rawlinson等(1975)对比同一株系的带毒菌株与无毒菌株,发现病毒的存在并不会对菜豆刺盘孢病菌菌株/菌落的形态、产孢特性及菌株致病力产生影响,甚至在不同碳源培养基(无碳源或1%葡萄糖、聚果胶或纤维素的Mathur培养基)中,带毒菌株与无毒菌株的菌丝生长速率均无明显差异。

3 利用真菌病毒防治植物炭疽病存在的问题与前景展望

3.1 存在问题

刺盘孢属真菌的种类多达600余种,且多数种

类可引起植物严重的炭疽病,造成巨大损失(Jayawardena et al., 2016; Carbú et al., 2019)。目前植物炭疽病的防治主要通过化学药剂,若药剂施用不当,不仅防效显著下降,还将污染环境,影响人类健康。利用弱毒相关病毒防治植物真菌病害不仅绿色安全高效,而且与其他生物防治方法相比具有明显优势:首先,弱毒相关病毒一旦进入寄主病原菌即可抑制病斑扩展,防效精准快速;其次,含弱毒相关病毒的弱致病力菌株进入寄主植物后不仅不会伤害寄主植物,还会诱导寄主植物产生防御反应,增强寄主对强致病力菌株的抗性;再者,弱毒相关病毒一旦进入农田生态系统,既可长久定殖于病原菌体内,又可在不同菌株间进行传播,防效长、作用范围广(Xie and Jiang, 2014)。最经典的是1965年Grente等通过寄生板栗疫病菌(*Cryphonectria parasitica*)的弱毒相关病毒*C. parasitica hypovirus 1*防治欧洲板栗疫病的蔓延,直至1994年,Heiniger和Rigling对当时欧洲板栗疫病情况的调查综述中还指出,含有弱毒相关病毒的低毒菌株不仅成功控制了欧洲板栗疫病情,还显著降低了板栗疫病的严重性,由此可见真菌病毒确实具有巨大的生防潜能。但是,利用真菌病毒防治植物炭疽病目前仍存在许多问题,主要表现为:

(1)刺盘孢菌真菌病毒数量不足。目前,有超过250种真菌病毒被成功测序并在NCBI注册(Xie and Jiang, 2014),其中可引起植物病原真菌致病力衰退的弱毒相关真菌病毒至少有30余例(表1),其寄主包括栗疫病菌(*C. parasitica*)、核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)、灰霉菌(*Botrytis cinerea*)、葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)和水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)等10余种真菌。由表1可知,核盘菌中发现的弱毒相关病毒数量较多,种类丰富,为防治菌核病提供了坚实后盾。相比于核盘菌,600多种刺盘孢菌中仅有9种刺盘孢菌报道发现真菌病毒显得远远不够,且仅有2例弱毒相关病毒能降低寄主致病力,因此,还需进一步挖掘刺盘孢菌中的真菌病毒,为防治植物炭疽病提供支撑。

(2)真菌病毒分离鉴定进展缓慢。早期刺盘孢菌真菌病毒的分离鉴定大多是通过显微镜观察和/或血清学检测法(Moffitt and Lister, 1975; Rawlinson et al., 1975; Figueirêdo et al., 2012; Zhong et al., 2014),针对基因组为dsRNA类型的真菌病毒也可使用纤维素粉抽提结合酶解法获得菌株内的dsRNA病毒(Liao et al., 2012; Rosseto et al., 2016; Zhong et al., 2016)。显微镜鉴定结果准确,但对仪器设备要

求较高,血清学可批量检测样品,但对微量病毒检出率低,如Lima等(2012)、Rosseto等(2016)研究中刺盘孢菌真菌病毒检出率较低,分别为7.7%(3/39)和3.85%(1/26),原因可能是刺盘孢菌中仍有部分真菌病毒基因组类型为单链RNA或DNA。此外,在显微镜下未观察到病毒颗粒并不意味着没有真菌病毒。正如Nuss(2005)所描述,这可能是由于许多真菌病毒并不编码衣壳蛋白,而是以裸露的dsRNA分子存在,因此,醋酸双氧铀无法染色病毒蛋白,从而无法观察到病毒颗粒,而纤维素粉抽提结合酶解法仅局限于dsRNA病毒,因此,还需探索更高效准确的真菌病毒检测鉴定方法。

(3)真菌病毒传播效率低。真菌病毒粒子普遍不具有侵染性,不能在体外对寄主真菌进行传播,而真菌的细胞壁也在一定程度上拦截了真菌细胞对病毒的摄入。因此,大部分真菌病毒只能通过寄主细胞分裂和孢子产生的垂直传播方式或菌丝细胞融合的水平传播方式在细胞内传播,其中垂直传播主要通过产生无性孢子进行(Varga et al., 2003),而水平传播仅限于在遗传上可亲和的菌株间进行(Hutchison et al., 2009)。Hutchison等(2009)研究表明,营养体不亲和的菌株在菌丝接触时会出现程序性细胞死亡现象,使真菌病毒不能通过菌丝融合进行水平传播。另外,携带弱毒相关病毒的真菌菌株一般生命力弱、不易存活,在自然环境中竞争力差,进一步影响了病毒的传播力。所以传播效率不足是真菌病毒生防应用的主要限制因素。在核盘菌中已发现病毒SsHADV-1不仅能在寄主细胞内传播,降低寄主致病力,还可通过纯病毒颗粒和基因组DNA进行体外侵染,抑制PDA上核盘菌的生长,或接喷在拟南芥和甘蓝油菜叶子上,可感染无病毒油菜菌核病菌丝,减缓发病程度,提高野外培养油菜籽的产量(Yu et al., 2010, 2013; 于晓, 2013);而病毒SsMYRV4可作为其他病毒粒子传播的桥梁,介导弱毒相关病毒在不同菌株个体间传播,降低病原菌群体的致病力(Wu et al., 2017)。在刺盘孢菌中,仅发现一例病毒粒子裸露的dsRNA具有感染性,可通过原生质体融合侵染真菌原生质体,诱导其产生并积累CcFV-1病毒颗粒(Jia等, 2017),但未有研究指出其具有田间防治效果,值得进一步探究。因此,还需进一步发掘具有高传播效率的真菌病毒资源及探索更高效的辅助病毒传播的方法,提高真菌病毒应用潜力和价值。

(4)真菌病毒与刺盘孢菌间的互作研究不够深入。大量研究表明,弱毒相关病毒的侵染将造成寄主的基因表达异常、蛋白质合成受阻或代谢等功能

表 1 主要弱毒相关病毒详情

Table 1 The details of main hypovirulence-associated mycovirus

寄主真菌 Host fungi	已发现的低毒真菌病毒 The hypovirulence-associated mycovirus discovered	所涉及的病毒科 The virus families involved	参考文献 References
栗疫病菌 <i>C. parasitica</i>	CHV1(<i>C. parasitica hypovirus 1</i>)	低毒病毒科	MacDonald et al., 1978; 林海燕, 2004; 张林巧等, 2012
	CHV2(<i>C. parasitica hypovirus 2</i>)		Hillman et al., 1994
	CHV3(<i>C. parasitica hypovirus 3</i>)		Hillman et al., 1994
	CHV4(<i>C. parasitica hypovirus 4</i>)		Linder-Basso et al., 2005
核盘菌 <i>S. sclerotiorum</i>	SsHV1(<i>S. sclerotiorum hypovirus 1</i>)	低毒病毒科	Xie et al., 2011
	SsHV2(<i>S. sclerotiorum hypovirus 2</i>)		Hu et al., 2014
	SsDRV(<i>S. sclerotiorum debilitation-associated RNA virus</i>)	Alpha线形病毒科	Xie et al., 2006; 滕飞, 2008; 杜磊, 2012
	SsHADV-1(<i>S. sclerotiorum hypovirulence-associated DNA virus 1</i>)	Genomoviridae	Yu et al., 2010; 于晓, 2013
	SsMV1(<i>S. sclerotiorum mitovirus 1</i>)	裸露RNA病毒科	Xie and Ghabrial, 2012; Khalifa and Pearson, 2013
	SsMV2(<i>S. sclerotiorum mitovirus 2</i>)		
	SsMV3(<i>S. sclerotiorum mitovirus 3</i>)		
	SsMV4(<i>S. sclerotiorum mitovirus 4</i>)		
	SsPV1(<i>S. sclerotiorum partitivirus 1</i>)	双分病毒科	Xiao et al., 2014
	SsPV3(<i>S. sclerotiorum partitivirus 3</i>)		蔡婷, 2015
灰霉菌 <i>B. cinerea</i>	SsMYRV4(<i>S. sclerotiorum mycoreovirus 4</i>)	呼肠孤病毒科	Wu et al., 2017
	SsEV2(<i>S. sclerotiorum endornavirus 2</i>)	内源病毒科	李波, 2016; 成淑芬等, 2017
	BotV-F(<i>B. virus F</i>)	Gamma线形病毒科	Howitt et al., 2001
	BotV-X(<i>B. virus X</i>)	Alpha线形病毒科	Howitt et al., 2006
葡萄座腔菌 <i>B. dothidea</i>	BcDRV(<i>B. cinerea debilitation-related virus</i>)	裸露RNA病毒科	Wu et al., 2007
	BcMV1(<i>B. cinerea mitovirus 1</i>)		Wu et al., 2010
	BdPV1(<i>B. dothidea partitivirus 1</i>)	双分病毒科	Wang et al., 2014
	BdCV1(<i>B. dothidea chrysovirus 1</i>)	产黄青霉病毒科	Wang et al., 2014
禾谷镰刀菌 <i>F. graminearum</i>	BdVV2(<i>B. dothidea Victorivirus 2</i>)	全病毒科	于晓静, 2018
	FgHV1(<i>F. graminearum hypovirus 1</i>)	低毒病毒科	Wang et al., 2013
水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	FgHV2(<i>F. graminearum hypovirus 2</i>)		Li et al., 2015; 章海龙, 2014
	RsPV2(<i>R. solani partitivirus 2</i>)	双分病毒科	Zheng et al., 2014
大蒜盲种葡萄孢 <i>Botrytis porri</i>	RsEV1(<i>R. solani endornavirus 1</i>)	内源病毒科	Zheng et al., 2019
	BpRV1(<i>B. porri RNA virus 1</i>)	-	Wu et al., 2012
大丽轮枝菌 <i>Verticillium dahliae Kleb.</i>	VdPV1(<i>V. dahliae partitivirus 1</i>)	双分病毒科	冯自力, 2013
	PdV1(<i>P. digitatum virus 1</i>)	全病毒科	牛玉慧, 2017
果生炭疽菌 <i>Colletotrichum fructicola</i>	CfCV1(<i>C. fructicola chrysovirus 1</i>)	产黄青霉病毒科	Jia et al., 2017
	CcFV-1(<i>C. camelliae filamentous virus 1</i>)	未分类	Zhai et al., 2018
山茶炭疽菌 <i>Colletotrichum camelliae</i>			

发生改变。携带弱毒相关病毒的弱毒株可视为遗传背景相同且无病毒的强毒株在毒力调控途径中发生突变的突变体,故可通过比较强毒株与遗传背景相同的弱毒株之间的表达差异来研究影响真菌毒力的因子(康宁, 2004)。因此,弱毒相关病毒除具有应用于生物防治的潜力外,还可作为模式病毒用于病毒与寄主的互作以及植物病原真菌的致病机理研究(李文静等, 2015)。目前,研究弱毒相关病毒与寄主真菌互作相对成熟的系统主要包括:CHV1-栗疫病菌互作系统、SsDRV-核盘菌互作系统、FgV1-镰刀菌互作系统和BVX/BVF-灰霉菌互作系统(刘忱等, 2018)。在刺盘孢真菌病毒的报道中仅有Zhong等(2014)、Campo等(2016)、Jia等(2017)、Zhai等(2018)的研究成功获得脱毒菌株,通过对比带毒菌株与脱

毒菌株,验证病毒粒子对寄主真菌的影响;只有Campo等(2016)研究了寄主真菌对病毒粒子的影响,指出*C. higginsianum*中涉及ChDCL1和ChAGO1的RNA沉默可能具有抗病毒作用;仅有Jia等(2017)报道将CcFV-1病毒dsRNA成功转染了脱毒*C. camelliae*菌株。由此可见,病毒与刺盘孢菌间的互作研究仍需进一步深入。

3.2 前景展望

3.2.1 病毒挖掘 近期研究表明,利用宏转录组技术可不依赖于病毒培养及病毒序列,直接以环境(样本)中病毒核酸为研究对象,快速准确地鉴定出样本中所有的病毒序列组成,为病毒资源的挖掘与研究提供了极大便利(Shi et al., 2016)。宏转录组是一门研究环境中总RNA的技术,由于真菌病毒基

因组多为dsRNA和ssRNA类型,因此,宏转录组技术的开发和应用对刺盘孢菌真菌病毒研究具有重要意义。Marzano等(2016)研究指出,相比传统先富集样本中病毒再提取病毒RNA进行测序的方法,宏转录组技术直接提取真菌总RNA进行测序,避免了富集过程造成大量病毒序列信息的损失。Mu等(2017)利用该技术对澳大利亚84株核盘菌进行检测,发现57例真菌病毒,包括32例新病毒,为植物菌核病的防治提供了丰富的生防资源。笔者通过宏转录组测序(数据未发表)发现弱致病力芒果刺盘孢病菌(*Colletotrichum* spp.)中的病毒基因组序列占比远高于强致病菌株,且弱致病力菌株中平均70%的病毒基因组序列为Partitiviridae,而强致病力菌株中未发现Partitiviridae病毒序列,由此推定弱致病力菌株中可能存在能引起致病力衰退的弱毒相关病毒,且该病毒与Partitiviridae亲缘关系较近。因此,利用宏转录组技术可快速鉴定刺盘孢菌中的真菌病毒,挖掘更多具有生防潜力的真菌病毒,促进植物炭疽病的生防研究。

3.2.2 提高病毒传播效率 除筛选具有强感染力的弱毒相关真菌病毒资源外,还可通过人为技术手段打破菌株营养体不亲和限制,帮助病毒粒子转移和繁殖。(1)利用化学物质。Hutchison等(2009)研究发现,磷脂酰肌醇、活性氧(ROS)及Ca²⁺信号途径均与粗糙脉孢霉的营养不亲和性密切相关。Kenichi等(2013)研究发现,锌的化合物可减弱白纹羽病菌菌株间的营养体不亲和性,提高菌株间病毒粒子的传播效率。因此,Xie和Jiang(2014)推测,ROS清除剂或可用于克服真菌间的营养不亲和性。(2)遗传转化。通过原生质体融合(Lecoq et al., 1979)、电击法(Chen et al., 1994)、聚乙二醇(PEG)介导(Varga et al., 1994)、基因枪轰击(Sasaki et al., 2002)和农杆菌介导(于晓, 2013)等方法将病毒粒子/病毒RNA/病毒cDNA转入真菌原生质体获得可复制的病毒,以克服营养体非亲和性限制,实现病毒粒体在不同菌株间的扩散,甚至在远缘不同种之间转移,拓宽病毒的寄主范围。另一方面,Zhang和Nuss(2016)、Stauder等(2018)通过破坏板栗疫病菌的多个营养不亲和位点打破菌株间的营养不亲和,使改造后的病原菌成为低毒病毒的超级供体,通过菌丝融合将病毒传播至不同菌株,用于野外板栗疫病菌的防治。(3)挖掘传播介体。Liu等(2016)研究发现厉眼蕈蚊幼虫食用了感染SsHADV-1病毒的核盘菌后,SsHADV-1会在厉眼蕈蚊体内及其细胞中复制积累,然后再经厉眼蕈蚊转移至其他不携带病毒的核盘菌菌株。因

此,食用真菌的昆虫或可发掘成为真菌病毒传播介体。

3.2.3 建立真菌和病毒的遗传操作系统 栗疫病菌、核盘菌、灰霉菌和禾谷镰刀菌的基因组均为单倍体,遗传性状稳定,不仅建立了原生质体再生、基因敲除或互补等分子遗传转化体系,还建立了病毒侵染性克隆和高效病毒反向遗传操作系统,可简便、快速地克隆和鉴定出寄主靶基因。由此可知,建立真菌遗传操作系统和病毒反向遗传学系统,是研究寄主真菌与真菌病毒互作机制的首要条件(Nuss, 2011)。迄今已有27种刺盘孢菌基因组(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>)被测定,同时,盘长孢状刺盘孢菌、瓜类刺盘孢菌和禾生刺盘孢菌等多种刺盘孢菌的遗传转化体系已成功构建(Yan et al., 2018),这为进一步研究刺盘孢菌与病毒的分子互作提供了有力支持。但刺盘孢菌中病毒反向遗传学系统仍存在许多困难需要克服,如病毒侵染性克隆、转化及病毒基因组/病毒粒子转染等,因此,还需认真借鉴CHV1-栗疫病菌和SsDRV-核盘菌等互作系统中的分子技术在刺盘孢菌中建立相应的病毒反向遗传学系统。

3.2.4 结合多组学手段研究病毒与寄主真菌互作 弱毒相关病毒与寄主真菌这一特殊系统再结合快速发展的组学研究技术将为研究病毒在寄主中复制并引起症状的机理、病原真菌致病力/毒力的构成及调控机理等病毒学和病原真菌学的核心问题提供极大便利。Allen等(2003)应用转录组学技术在一定程度上揭示了低毒病毒CHV1-EP713对板栗疫病菌基因转录调节的规模和程度:超过2200个差异表达基因,涉及的生物功能包括应激反应、碳代谢和转录调节等。Kwon等(2009)利用比较蛋白组学研究弱毒相关病毒*Fusarium graminearum* virus-DK21(FgV-DK21)的侵染对禾谷镰刀菌的影响,发现病毒特异性地影响寄主碳代谢、氨基酸代谢及能量代谢等通路中关键酶和成分的积累。Lee Marzano等(2018)研究发现,弱毒相关病毒侵染核盘菌后寄主真菌会产生大量特殊的mRNA和sRNA重新编码产物。因此,利用组学手段可确定真菌病毒侵染对刺盘孢菌转录、翻译和加工的调控模式,确定病毒与刺盘孢菌互作的关键基因及刺盘孢菌的致病关键基因,为利用真菌病毒防治刺盘孢菌引起的植物炭疽病打下坚实基础。

参考文献:

- 蔡婷. 2015. 核盘菌弱毒菌株8-2-3中病毒分子特性及其对寄主生物学特性的影响[D]. 武汉: 华中农业大学. [Cai T. 2015. Molecular characterization of mycoviruses from

- Sclerotinia sclerotiorum* hypovirulence strain 8-2-3 and their influence on the host[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]
- 成淑芬,李波,谢甲涛,陈桃,程家森,付艳苹,姜道宏. 2017. 核盘菌低毒相关内源病毒SsEV2的分子特性研究[C]//中国植物病理学会2017年学术年会论文集. 北京:中国农业科学技术出版社. [Cheng S F, Li B, Xie J T, Chen T, Cheng J S, Fu Y P, Jiang D H. 2017. Molecular Characterization of debilitation-associated *Sclerotinia sclerotiorum* endogenous virus SsEV2[C]//Proceedings of the Academic Annual Conference of Chinese Society of Plant Pathology. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press.]
- 杜磊. 2012. 核盘菌致病力衰退相关病毒SsDRV防治油菜菌核病的研究[D]. 武汉:华中农业大学. [Du L. 2012. Research on biological control of sclerotinia stem rot of oilseed rape with *Sclerotinia sclerotiorum* debilitation-associated RNA virus[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]
- 冯自力. 2013. 棉花黄萎病菌Vd08284弱毒相关病毒研究[D]. 武汉:华中农业大学. [Feng Z L. 2013. Research on hypovirulent-associated mycovirus in cotton *Verticillium dahliae* Vd08284 [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]
- 康宁. 2004. 板栗疫病菌脱毒方法比较及受病毒侵染后与症状表达有关的靶标基因的克隆[D]. 南宁:广西大学. [Kang N. 2004. Comparison of methods to eliminate virus from *Cryphonectria parasitica* and cloning of the target gene involved in the symptom expression during infection by a hypovirus[D]. Nanning:Guangxi University.]
- 李波. 2016. 核盘菌弱毒菌株SX276生物学特性及其携带RNA病毒的研究[D]. 武汉:华中农业大学. [Li B. 2016. Research on biological characteristics and RNA viruses from the hypovirulent strain SX276 of *Sclerotinia sclerotiorum*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]
- 李文静,吴明德,李国庆. 2015. 葡萄孢真菌病毒研究进展[J]. 亚热带植物科学,44(1): 72-76. [Li W J, Wu M D, Li G Q. 2015. Research advances in mycoviruses of *Botrytis*[J]. Subtropical Plant Science,44(1): 72-76.]
- 林海燕. 2004. 低毒病毒CHV1-EP721基因组序列的测定及侵染性全长cDNA克隆的构建[D]. 南宁:广西大学. [Lin H Y. 2004. The genome sequence and construction of full-length infectious cDNA clone of hypovirus CHV1-EP721[D]. Nanning:Guangxi University.]
- 刘忱,皮磊,舒灿伟,周而勋. 2018. 低毒真菌病毒在植物病害生物防治中的研究及应用进展[J]. 分子植物育种,16(2): 552-559. [Liu C, Pi L, Shu C W, Zhou E X. 2018. The progress of research and application of hypoviruses in biological control of plant diseases[J]. Molecular Plant Breeding,16(2): 552-559.]
- 牛玉慧. 2017. 柑橘指状青霉中两种新型dsRNA病毒的分离鉴定与特性研究[D]. 武汉:华中师范大学. [Niu Y H. 2017. Identification and characterization of novel dsRNA viruses from *Penicillium digitatum*[D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University.]
- 滕飞. 2008. 核盘菌弱毒相关RNA病毒(SsDRV)感染雪腐核盘菌的初步研究[D]. 武汉:华中农业大学. [Teng F. 2008. Preliminary study on interspecies transmission of *Sclerotinia sclerotiorum* debilitation-associated RNA virus (SsDRV) from *S. sclerotiorum* to *S. nivalis*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]
- 于晓. 2013. 核盘菌弱毒相关DNA病毒1特性及其应用潜能研究[D]. 武汉:华中农业大学. [Yu X. 2013. Characterization and the biocontrol potential of *Sclerotinia sclerotiorum* hypovirulence-associated DNA virus 1 [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University.]
- 于晓静. 2018. 葡萄座腔菌dsRNA病毒鉴定及功能分析[D]. 泰安:山东农业大学. [Yu X J. 2018. Identification and function analysis of dsRNA from *Botryosphaeria dothidea* [D]. Tai'an:Shandong Agricultural University.]
- 张林巧,高坤,邓清超,叶云,王克荣. 2012. 低毒病毒CHV1-CN280生防潜力的初步研究[J]. 中国生物防治学报,28(1): 80-86. [Zhang L Q, Gao K, Deng Q C, Ye Y, Wang K R. 2012. Biological control potential of the hypovirus CHV1-CN280 against chestnut blight[J]. Chinese Journal of Biological Control,28(1): 80-86.]
- 章海龙. 2014. 禾谷镰刀菌低毒病毒FgHV 2-JS 16的全序列分析与生物学功能研究[D]. 兰州:甘肃农业大学. [Zhang H L. 2014. Sequence analysis and biological characteristics of hypovirus FgHV 2-JS 16 from *Fusarium graminearum* [D]. Lanzhou:Gansu Agricultural University.]
- 周德庆,徐士菊. 2005. 微生物学词典[M]. 天津:天津科学技术出版社. [Zhou D Q, Xu S J. 2005. Glossary of microbiology[M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press.]
- Allen T D, Dawe A L, Nuss D L. 2003. Use of cDNA microarrays to monitor transcriptional responses of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* infection by virulence-attenuating hypoviruses [J]. Eukaryotic Cell, 2(6): 1253-1265.
- Buck K W. 2017. Fungal virology—An overview [M]//Buck K W. Fungal virology. Boca Raton: CRC Press: 1-84.
- Campo S, Gilbert K B, Carrington J C. 2016. Small RNA-based antiviral defense in the phytopathogenic fungus *Colletotrichum higginsianum*[J]. PLoS Pathogens, 12(6): 1-36.
- Carbú M, Moraga J, Cantoral J M, Collado I G, Garrido C. 2019. Recent approaches on the genomic analysis of the phytopathogenic fungus *Colletotrichum* spp. [J]. Phytochemistry Reviews, doi: 10.1007/s11101-019-09608-0.
- Chen B, Choi G H, Nuss D L. 1994. Attenuation of fungal virulence by synthetic infectious hypovirus transcripts [J]. Science, 264(5166): 1762-1764.
- Dale J L, Manners J M, Irwin J A G. 1988. *Colletotrichum gloeosporioides* isolates causing different anthracnose diseases on *Stylosanthes* in Australia carry distinct double-stranded RNAs[J]. Transactions of the British Mycological Society, 91(4): 671-676.
- Figueirêdo L C D, Figueirêdo G S D, Giancoli Á C, Tanaka F A, Silva L A, Kitajima E W, Filho S A, Azevedo J L. 2012. Detection of isometric, dsRNA-containing viral particles in *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from cashew tree[J]. Tropical Plant Pathology, 37(2): 142-145.
- Grente J. 1965. Les formes hypovirulentes d'*Endothia parasitica* et les espoirs de lutte contre le chancre du châtaignier[J]. Comptes Rendus Acad Agric France, 51: 1033-1037.
- Heiniger U, Rigling D. 1994. Biological control of chestnut blight in Europe [J]. Annual Review of Phytopathology, 32: 581-599.

- Hillman B I, Halpern B T, Brown M P. 1994. A viral dsRNA element of the chestnut blight fungus with a distinct genetic organization[J]. *Virology*, 201(2): 241-250.
- Howitt R L, Beever R E, Pearson M N, Forster R L. 2001. Genome characterization of *Botrytis virus F*, a flexuous rod-shaped mycovirus resembling plant 'potex-like' viruses[J]. *Journal of General Virology*, 82(1): 67-78.
- Howitt R L, Beever R E, Pearson M N, Forster R L. 2006. Genome characterization of a flexuous rod-shaped mycovirus, *Botrytis virus X*, reveals high amino acid identity to genes from plant 'potex-like' viruses[J]. *Archives of Virology*, 151(3): 563-579.
- Hu Z J, Wu S S, Cheng J S, Fu Y P, Jiang D H, Xie J T. 2014. Molecular characterization of two positive-strand RNA viruses co-infecting a hypovirulent strain of *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Virology*, 464: 450-459.
- Hutchison E, Brown S, Tian C, Glass N L. 2009. Transcriptional profiling and functional analysis of heterokaryon incompatibility in *Neurospora crassa* reveals that reactive oxygen species, but not metacaspases, are associated with programmed cell death[J]. *Microbiology*, 155: 3957-3970.
- Jayawardena R S, Hyde K D, Damm U, Cai L, Liu M, Li X H, Zhang W, Zhao W S, Yan J Y. 2016. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*[J]. *Mycosphere*, 7(8): 1192-1260.
- Jia H X, Dong K L, Zhou L L, Wang G P, Hong N, Jiang D H, Xu W X. 2017. A dsRNA virus with filamentous viral particles[J]. *Nature Communications*, 8(1): 1-12.
- Joshi R. 2018. A review on *Colletotrichum* spp. virulence mechanism against host plant defensive factors[J]. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(6): 64-67.
- Kenichi I, Kanako I, Chiaki K, Takahiro U, Atsuko S, Satoko K, Pyoyun P. 2013. Potentiation of mycovirus transmission by zinc compounds via attenuation of heterogenic incompatibility in *Rosellinia necatrix*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(12): 3684-3691.
- Khalifa M E, Pearson M N. 2013. Molecular characterization of three mitoviruses co-infecting a hypovirulent isolate of *Sclerotinia sclerotiorum* fungus[J]. *Virology*, 441(1): 22-30.
- Kotta-Loizou I, Coutts R H A. 2017. Mycoviruses in *Aspergilli*: A comprehensive review[J]. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1-15.
- Kwon S J, Cho S Y, Lee K M, Yu J, Son M, Kim K H. 2009. Proteomic analysis of fungal host factors differentially expressed by *Fusarium graminearum* infected with *Fusarium graminearum virus-DK21*[J]. *Virus Research*, 144(1-2): 96-106.
- Lecoq H, Boissonnetmenès M, Delhotal P. 1979. Infectivity and transmission of fungal viruses[M]. Berlin: Springer: 34-47.
- Lee Marzano S Y, Neupane A, Domier L. 2018. Transcriptional and small RNA responses of the white mold fungus *Sclerotinia sclerotiorum* to infection by a virulence-attenuating hypovirus[J]. *Viruses*, 10(12): 1-25.
- Li P F, Zhang H L, Chen X G, Qiu D W, Guo L H. 2015. Molecular characterization of a novel hypovirus from the plant pathogenic fungus *Fusarium graminearum*[J]. *Virology*, 481: 151-160.
- Liao C Y, Chen M Y, Chen Y K, Wang T C, Sheu Z M, Kuo K C, Chang P F L, Chung K R, Lee M H. 2012. Characterization of three *Colletotrichum acutatum* isolates from *Capsicum* spp.[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 133(3): 599-608.
- Lima J S, Figueiredo J G, Gomes R G, Stringari D, Goulin E H, Adamoski D, Kava-Cordeiro V, Galli-Terasawa L V, Glienke C. 2012. Genetic diversity of *Colletotrichum* spp. an endophytic fungi in a medicinal plant, Brazilian pepper tree[J]. *International Scholarly Research Notices: Microbiology*, 2012: 1-7.
- Linder-Basso D, Dynek J N, Hillman B I. 2005. Genome analysis of *Cryphonectria hypovirus 4*, the most common hypovirus species in North America[J]. *Virology*, 337(1): 192-203.
- Liu S, Xie J T, Cheng J S, Li B, Chen T, Fu Y P, Li G Q, Wang M Q, Jin H N, Wan H, Jiang D H. 2016. Fungal DNA virus infects a mycophagous insect and utilizes it as a transmission vector[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(45): 12803-12808.
- MacDonald W L, Cech F C, Luchok J, Smith C. 1978. Proceedings of the American chestnut symposium[M]. West Virginia: West Virginia University: 1-122.
- Marzano S L, Nelson B D, Ajayi-Oyetunde O, Bradley C A, Hughes T J, Hartman G L, Eastburn D M, Domier L L. 2016. Identification of diverse mycoviruses through metatranscriptomics characterization of the viromes of five major fungal plant pathogens[J]. *Journal of Virology*, 90(15): 6846-6863.
- Moffitt E M, Lister R M. 1975. Application of a serological screening test for detecting double-stranded RNA mycoviruses[J]. *Phytopathology*, 65: 581-589.
- Money N P. 1999. Fungus punches its way in[J]. *Nature*, 401: 332-333.
- Mu F, Xie J T, Cheng S F, You M P, Barbetti M J, Jia J C, Wang Q Q, Cheng J S, Fu Y P, Chen T, Jiang D H. 2017. Virome characterization of a collection of *Sclerotinia sclerotiorum* from Australia[J]. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1-18.
- Nuss D L. 2005. Hypovirulence: Mycoviruses at the fungal-plant interface[J]. *Nature Reviews: Microbiology*, 3(8): 632-642.
- Nuss D L. 2011. Mycoviruses, RNA silencing, and viral RNA recombination[J]. *Advances in Virus Research*, 80: 25-48.
- Rawlinson C J, Carpenter J M, Muthyalu G. 1975. Double-stranded RNA virus in *Colletotrichum lindemuthianum*[J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 65(2): 305-308.
- Rosseto P, Costa A T, Polonio J C, da Silva A A, Pamphile J A, Azevedo J L. 2016. Investigation of mycoviruses in endophytic and phytopathogenic strains of *Colletotrichum* from different hosts[J]. *Genetics and Molecular Research*, doi:10.4238/gmr.15017651.
- Sasaki A, Onoue M, Kanematsu S, Suzaki K, Miyanishi M, Suzuki N, Nuss D L, Yoshida K. 2002. Extending chestnut blight hypovirus host range within diaporphales by biolistic delivery of viral cDNA[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15(8): 780.

- Shi M, Lin X D, Tian J H, Chen L J, Chen X, Li C X, Qin X C, Li J, Cao J P, Eden J S, Buchmann J, Wang W, Xu J, Holmes E C, Zhang Y Z. 2016. Redefining the invertebrate RNA virosphere[J]. *Nature*, 540(7634): 539-543.
- Stauder C M, Nuss D L, Zhang D X, Double M L, MacDonald W L, Metheny A M, Kasson M T. 2018. Enhanced hypovirus transmission by engineered super donor strains of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*, into a natural population of strains exhibiting diverse vegetative compatibility genotypes[J]. *Virology*, 528: 1-6.
- Varga J, Kevei F, Vágvölgyi C, Vriesema A, Croft J. 1994. Double-stranded RNA mycoviruses in section Nigri of the *Aspergillus* genus[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 40(4): 325-329.
- Varga J, Vágvölgyi C, Tóth B. 2003. Recent advances in mycovirus research[J]. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 50(1): 77-94.
- Wang L P, Jiang J J, Wang Y F, Hong N, Zhang F P, Xu W X, Wang G P. 2014. Hypovirulence of the phytopathogenic fungus *Botryosphaeria dothidea*: Association with a coinfecting chrysovirus and a partitivirus[J]. *Journal of Virology*, 88(13): 7517-7527.
- Wang S C, Kondo H, Liu L, Guo L H, Qiu D W. 2013. A novel virus in the family *Hypoviridae* from the plant pathogenic fungus *Fusarium graminearum*[J]. *Virus Research*, 174(1-2): 69-77.
- Willis K J, Bachman S. 2016. State of the world's plants[R]. London: Royal Botanic Gardens.
- Wu M D, Jin F Y, Zhang J, Yang L, Jiang D H, Li G Q. 2012. Characterization of a novel bipartite double-stranded RNA mycovirus conferring hypovirulence in the phytopathogenic fungus *Botrytis porri*[J]. *Journal of Virology*, 86(12): 6605-6619.
- Wu M D, Zhang L, Li G Q, Jiang D H, Ghabrial S A. 2010. Genome characterization of a debilitation-associated mitovirus infecting the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*[J]. *Virology*, 406(1): 117-126.
- Wu M D, Zhang L, Li G Q, Jiang D H, Hou M S, Huang H C. 2007. Hypovirulence and double-stranded RNA in *Botrytis cinerea*[J]. *Phytopathology*, 97(12): 1590-1599.
- Wu S S, Cheng J S, Fu Y P, Chen T, Jiang D H, Ghabrial S A, Xie J T. 2017. Virus-mediated suppression of host non-self recognition facilitates horizontal transmission of heterologous viruses[J]. *PLoS Pathogens*, 13(3): 1-25.
- Xiao X Q, Cheng J S, Tang J H, Fu Y P, Jiang D H, Baker T S, Ghabrial S A, Xie J T. 2014. A novel partitivirus that confers hypovirulence on plant pathogenic fungi[J]. *Journal of Virology*, 88(17): 10120-10133.
- Xie J, Ghabrial S A. 2012. Molecular characterization of two mitoviruses co-infecting a hypovirulent isolate of the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Virology*, 428(2): 77-85.
- Xie J, Wei D, Jiang D, Fu Y, Li G, Ghabrial S, Peng Y. 2006. Characterization of debilitation-associated mycovirus infecting the plant-pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Journal of General Virology*, 87(1): 241-249.
- Xie J T, Jiang D H. 2014. New insights into mycoviruses and exploration for the biological control of crop fungal diseases[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 52: 45-68.
- Xie J T, Xiao X Q, Fu Y P, Liu H Q, Cheng J S, Ghabrial S A, Li G Q, Jiang D H. 2011. A novel mycovirus closely related to hypoviruses that infects the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Virology*, 418(1): 49-56.
- Yan Y Q, Yuan Q F, Tang J T, Huang J B, Hsiang T, Wei Y D, Zheng L. 2018. *Colletotrichum higginsianum* as a model for understanding host-pathogen interactions: A review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7): 1-18.
- Yu X, Li B, Fu Y, Jiang D, Ghabrial S A, Li G, Peng Y, Xie J, Cheng J, Huang J, Yi X. 2010. A geminivirus-related DNA mycovirus that confers hypovirulence to a plant pathogenic fungus[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(18): 8387-8392.
- Yu X, Li B, Fu Y, Xie J, Cheng J, Ghabrial S A, Li G, Yi X, Jiang D. 2013. Extracellular transmission of a DNA mycovirus and its use as a natural fungicide[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4): 1452-1457.
- Zhai L F, Zhang M X, Hong N, Xiao F, Fu M, Xiang J, Wang G P. 2018. Identification and characterization of a novel hepta-segmented dsRNA virus from the phytopathogenic fungus *Colletotrichum fructicola*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 9(754): 1-13.
- Zhang D X, Nuss D L. 2016. Engineering super mycovirus donor strains of chestnut blight fungus by systematic disruption of multilocus vic genes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(8): 2062-2067.
- Zheng L, Shu C, Zhang M L, Yang M, Zhou E. 2019. Molecular characterization of a novel endornavirus conferring hypovirulence in rice sheath blight fungus *Rhizoctonia solani* AG-1 IA strain GD-2[J]. *Viruses*, 11(2): 1-14.
- Zheng L, Zhang M L, Chen Q G, Zhu M H, Zhou E. 2014. A novel mycovirus closely related to viruses in the genus *Alphapartitivirus* confers hypovirulence in the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani*[J]. *Virology*, 456-457: 220-226.
- Zhong J, Chen D, Lei X H, Zhu H J, Zhu J Z, Gao B D. 2014. Detection and characterization of a novel *Gammapartitivirus* in the phytopathogenic fungus *Colletotrichum acutatum* strain HNZJ001[J]. *Virus Research*, 190: 104-109.
- Zhong J, Pang X D, Zhu H J, Gao B D, Huang W K, Zhou Q. 2016. Molecular characterization of a trisegmented mycovirus from the plant pathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. *Viruses*, 8(10): 1-12.