

Identifikasi Infeksi Virus Pada Tubuh Buah Jamur Shiitake (*Lentinula edodes*) Menggunakan Metode Teknologi Molekuler***Viral Infection Identification of Abnormal Fruit Body of Lentinula edodes Using Molecular Technique Method*****Fauzia Mustikasari, S.Si., M.Agr. ^{*1)}**

¹⁾ Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Singaperbangsa Karawang
Jalan HS Ronggowaluyo Puseurjaya, Telukjambe Timur, Karawang, Jawa Barat 41361

^{*1)} Penulis untuk korespondensi: fauzia.mustikasari@faperta.unsika.ac.id

Diterima 20 April 2023 / Disetujui 24 Mei 2023

ABSTRACT

Lentinula edodes (shiitake) is one of the most produced mushrooms in China. Not only famous with its medicinal value but also with its unique taste. Shiitake's growth and fruit body formation influenced by many factors including biological, chemical, and physical factors. Virus infection in mushroom especially in shiitake is a relatively new. Group of viruses that infect fungi are called mycovirus. Effect of virus infection in mushroom are still unclear. Some viruses able to cause severe disease while others just reside inside basidiocarp and mycelium without causing any abnormality or physiological change. This research was conducted to discover is there any relationship between abnormal fruit body with virus infection. Study used molecular genetics method to prove relationship between them. RT-PCR conducted to prove whether abnormal basidiocarp contain the mycovirus or not. Result of BLAST sequence analysis showed that there is no significant similarity found with other sequences in NCBI data. It might be because of unsuitable primer used to detect viral sequence, or new sequences of viral material genetic that has not registered yet in NCBI. Many factors influence the formation of fruit body including genetic and environmental factors. Abnormalities of shiitake's basidiocarp might have relationship with environmental factor because virus infected shiitake were not discovered.

Keywords: abnormal shiitake basidiocarp, mushroom cultivation, shiitake mycovirus;

ABSTRAK

Jamur shiitake atau *Lentinula edodes* adalah salah satu jamur yang memiliki rasa yang unik dan memiliki nilai medis yang tinggi. Pertumbuhan dan perkembangan tubuh buah shiitake dipengaruhi oleh banyak faktor termasuk faktor fisika, kimia, dan biologi. Faktor biologi berhubungan erat dengan infeksi atau serangan dari organisme lain termasuk serangga, virus, bakteri, cacing, atau siput. Penelitian mengenai infeksi mycovirus (virus yang menyerang fungi) pada jamur konsumsi saat ini masih minim. Untuk itu, dilakukan riset untuk mengetahui kemungkinan infeksi virus pada salah satu jamur konsumsi, yaitu shiitake menggunakan RT-PCR pada 17 sampel shiitake yang memiliki tubuh buah yang abnormal. Metode RT-PCR digunakan untuk mengonfirmasi sampel yang mengandung virus. Hasil pemetaan sekuens menggunakan BLAST menunjukkan tidak ada data yang sesuai dengan data pada NCBI. Hal ini bisa disebabkan karena penggunaan primer yang kurang tepat untuk mendeteksi RNA virus, atau kemungkinan keberadaan virus baru sehingga datanya belum tersimpan di NCBI. Pertumbuhan badan buah shiitake dipengaruhi oleh faktor genetik dan faktor lingkungan. Faktor lingkungan seperti kelembaban dan cahaya matahari juga dapat menjadi pemicu terbentuknya badan buah yang abnormal.

Kata kunci: badan buah abnormal, infeksi virus shiitake, mikovirus, RT-PCR

PENDAHULUAN

Mikovirus adalah golongan virus yang menginfeksi fungi dan mampu bereproduksi dalam sel fungi (Son, 2015). Tidak seperti virus hewan atau tumbuhan yang ditemukan lebih awal, mikovirus pertama kali ditemukan pada tahun 1960an (Pearson *et al.*, 2008, 2009; Ghabrial,

1980). Infeksi mikovirus dapat menginduksi perubahan fenotip dan fisiologis dari sel maupun jaringan fungi (Magae, 2012). Sampai saat ini, mikovirus telah berhasil diisolasi dari jamur konsumsi, jamur medis, bahkan jamur patogen pada tanaman.

Bagi manusia, keberadaan mikovirus ini memiliki 2 sisi. Sisi yang menguntungkan adalah

infeksi virus pada fungi patogen tanaman dapat menyebabkan hipovirulensi sehingga dapat digunakan sebagai agen pengendali pertumbuhan fungi patogen (Nuss, 2005; Zheng, 2014; Xie, 2014). Di sisi lain, mikovirus juga dapat menginfeksi jamur konsumsi sehingga menyebabkan produksi jamur yang rendah (Elibuyuk & Bostan, 2010), abnormalitas badan buah, lambatnya pertumbuhan miselia, dan rendahnya nilai jual dari jamur yang diproduksi, walaupun pada beberapa kasus, infeksi virus tidak menunjukkan gejala apapun (Elibuyuk & Bostan, 2010; Yaegashi, 2012). Hal ini kemungkinan besar karena adanya mekanisme pertahanan diri fungi (Romaine & Schlagnhauser, 1989) melalui RNA silencing. Penyebaran mikovirus melalui 2 cara utama, yaitu melalui miselia atau spora (Kim, 2008).

Virus pada jamur konsumsi mayoritas adalah virus RNA (Kondo, 2013), baik dsRNA atau ssRNA dengan ukuran bervariasi, dari 351-11,282 pasang basa. Data sampai saat ini menunjukkan, mikovirus teridentifikasi ada pada tubuh buah jamur shiitake (Magaie, 2012; Won, et al., 2013), jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) (Yu, et al., 2003; Ro, et al., 2006; Kim, et al., 2008; Lim et al., 2005; Qiu et al., 2010; Ro et al., 2007), jamur enokitake (*Flammulina velutipes*) (Magaie & Sunagawa, 2010; Magaie & Hayashi, 1999; Kim, 2015), dan jamur kancing (*Agaricus bisporus*) (Harmsen et al., 1991; Revill & Wright 1997; Revill, 1999; Grogan et al., 2003; Maffeton, 2007).

Pada jamur shiitake setidaknya ada 4 virus yang menginfeksi, yaitu *L. edodes* mycovirus (LeVHKB) (Magaie, 2012; Ohta et al., 2008), *L. edodes* mycovirus HKB strain CZ, *L. edodes* mycovirus (LeVHKA) (Ohta et al., 2008), dan *L. edodes* Spherical Virus (LeSV) (Won, et al., 2013).

Infeksi LeVHKB tidak menyebabkan gejala abnormalitas baik pada tahap miselia ataupun tahap pembentukan badan buah. Berbeda dengan LeVHKB, infeksi LeSV justru menyebabkan badan buah tidak berkembang, bentuk abnormal, dan retak.

Untuk mengidentifikasi keberadaan virus pada fungi, bisa menggunakan pengamatan langsung menggunakan mikroskop elektron, memanfaatkan reaksi antigen-antibodi dengan metode ELISA (Kim, 2008), dengan metode teknologi molekuler (Reece, 2004), atau dengan metode *deep sequencing small RNAs* (Vainio, 2015).

Teknologi molekuler menyediakan hasil diagnosis yang lebih sensitif, lebih cepat, dan dapat diandalkan. Metode ini salah satunya didasarkan pada profil genom mikovirus berupa RNA yang memiliki sekuens khusus yaitu gen RdRP (RNA-dependent RNA Polymerase) yang cenderung tidak banyak mengalami perubahan sehingga bisa

dijadikan sebagai penanda dari keberadaan suatu virus RNA (Hough *et al.*, 2023; Velthuis, 2014). Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan mikovirus dengan menggunakan primer berdasarkan pada urutan materi genetik yang terdapat pada RdRP.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitopatologi Guangxi University, China pada tahun 2017. Sampel shiitake diambil di pasar tradisional Wuliting, Kota Nanning, China.

Ekstraksi RNA dilakukan pada 17 sampel shiitake abnormal menggunakan metode fenol-kloroform. RNA yang diekstraksi kemudian digunakan sebagai cetakan untuk sintesis cDNA. Sintesis cDNA menggunakan kit Quant cDNA Tiangen seri ER121221.

Primer disintesis berdasarkan sekuens konsensus dari 7 sekuens RNA mikovirus pada shiitake yang telah tersimpan dalam NCBI, yaitu LeVHKB hypothetical protein and putative RdRP, LeVHKB strain CZ hypothetical protein and RdRP, LeVHKA hypothetical protein and putative RdRP, LeVHKB putative RdRP, LeSV putative RdRP, LeVF1 RdRP sequence dan LeVHKA RdRP. Sintesis primer pada RdRP menggunakan perangkat lunak SnapGen.

Untuk mengidentifikasi keberadaan sekuens virus pada shiitake, dilakukan PCR dari cDNA menggunakan primer yang sudah didesain. 1 μ L cDNA, 10 μ L 2xES Taq Polimerase, 1 μ L (10 μ mol/L) primer forward, 1 μ L (10 μ mol/L) primer reverse, dan 7 μ L ddH₂O dimasukkan dalam tabung PCR berukuran 200 μ L. Kondisi untuk reaksi PCR adalah 95°C 2 menit untuk pre-denaturasi, siklus PCR dimulai dengan denaturasi pada suhu 95°C 30 menit, penempelan primer (annealing) pada suhu 55°C selama 30 detik, dan elongasi pada suhu 72°C selama 2 menit. Jumlah siklus PCR adalah 35 kali.

3 μ L hasil PCR lalu dielektroforesis menggunakan agarose 1% yang direndam dalam larutan 1xTAE, pada tegangan 150V selama 15 menit. Hasil elektroforesis diamati di bawah sinar UV. Pita elektroforesis dengan ukuran yang sesuai diisolasi DNAny menggunakan kit dari Tiangen Biotech (Beijing) Co., Ltd seri DP214.

Segmen DNA hasil PCR di klon ke dalam plasmid untuk membentuk plasmid rekombinan menggunakan pLB Rapid Cloning Kit dari Tiangen Biotech (Beijing) Co., Ltd. Plasmid rekombinan kemudian ditransformasi ke dalam sel kompeten Top 10 pada medium LB yang ditambah dengan antibiotik ampicillin. Setelah transformasi, koloni bakteri ditumbuhkan pada media agar LB pada suhu 37°C. Konfirmasi keberadaan plasmid di dalam bakteri *E. coli* dilakukan dengan PCR koloni bakteri.

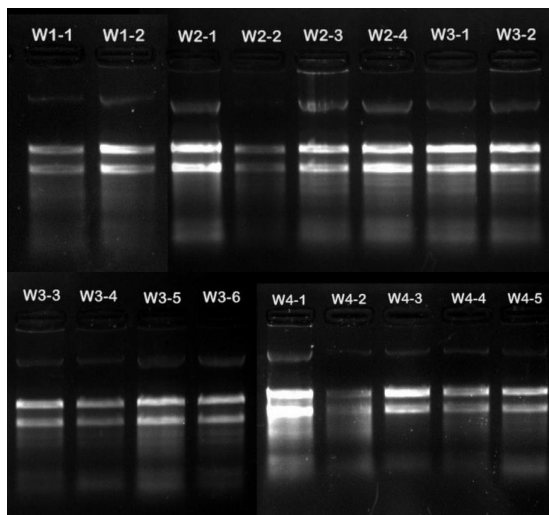
Setelah terkonfirmasi plasmid sudah tertransformasi di sel bakteri, dilakukan ekstraksi plasmid menggunakan high-purity plasmid mini prep kit dari Tiangen Biotech (Beijing) Co., Ltd. Plasmid kemudian dikirim ke Shanghai Life Biotechnology Co., Ltd. Untuk disekuensing. Hasil sekuensing, lalu dianalisis menggunakan BLAST untuk melihat ada tidaknya segmen materi genetic dari mikovirus.

HASIL DAN PEMBAHASAN

17 sampel dari shiitake yang memiliki bentuk badan buah abnormal diisolasi dari Pasar Wuliting, China. Kategorisasi abnormalitas badan buah menjadi 4 kelompok. Kelompok 1 pinggiran badan buah retak, bentuk kerucut, Kelompok 2 warna coklat kekuningan dan badan buah tidak berkembang sempurna, Kelompok 3 ada lebih dari satu badan buah yang melekat satu sama lain membentuk struktur abnormal, kelompok 4 badan buah tidak berkembang dan bentuk tidak beraturan. Berbagai badan buah abnormal ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Sampel shiitake dengan badan buah abnormal



Gambar 2. Hasil Elektroforesis RNA Total Shiitake

Hasil elektroforesis total RNA yang diekstrak dari badan buah sampel ditunjukkan pada Gambar 2. Terlihat ada 2 pita yang dominan, yang

merupakan rRNA 28S dan 18S. 28S rRNA digunakan sebagai penanda karena rRNA kuantitasnya paling melimpah di sel (sekitar 80-85%) dan memberikan indikasi integritas dari sampel (Li Jun Hui, et al. 2006). Di bagian atas ada pita tipis yang merupakan kontaminasi dari DNA genom, yang terbawa saat proses ekstraksi RNA. Di bagian bawah pita rRNA ada pita tipis mRNA, yang persentasenya hanya 3% dari total RNA sel

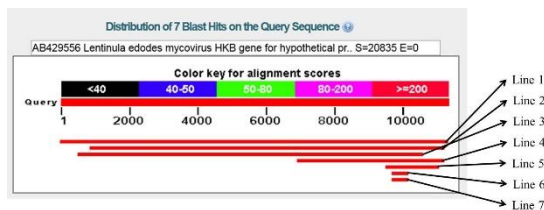
RNA juga diuji kemurniannya menggunakan spektrofotometer dengan absorbansi (A) 260/280. Selain itu juga diukur A260/230 untuk mengukur kemurnian DNA dan RNA. RNA yg murni memiliki nilai A 260/280 2.0 ± 0.1 sedangkan DNA dan RNA memiliki nilai 2-2.4 (Farrel, 2010). Tabel 1 menunjukkan nilai A260/280 diatas 2, hal ini menunjukkan bahwa kemurnian RNA cukup tinggi. Nilai absorbansi yang terlalu tinggi atau terlalu rendah menunjukkan adanya kontaminasi. Rendahnya nilai A260/280 biasanya mengindikasikan kontaminasi protein selama proses ekstraksi RNA karena protein dapat meningkatkan absorbansi pada 280 nm. Rendahnya nilai A260/A230 pada sampel dapat mengindikasikan kontaminasi senyawa organik seperti polisakarida atau β -mercaptoethanol yang digunakan sebagai buffer lisis.

Tabel 1 Uji Spektrofotometer UV Hasil Ekstraksi RNA

Sampel	A 260/280	A 260/230	Konsentrasi (ng/ μ L)
W1-1	2.05	2.52	112.2
W1-2	2.04	2.6	66.9
W2-1	2.05	2.47	153.9
W2-2	2.02	2.52	55.5
W2-3	2.08	2.66	199.3
W2-4	2.06	2.75	178.5
W3-1	2.11	2.47	255.5
W3-2	2.08	2.55	185
W3-3	2.07	2.53	142
W3-4	2.13	2.68	165.7
W3-5	2.1	2.58	273.5
W3-6	2.08	2.71	152.6
W4-1	2.08	2.71	169.2
W4-2	2.06	2.6	98.7
W4-3	2.13	2.51	103
W4-4	2.07	2.77	70.7
W4-5	2.05	2.53	92.5

Untuk menentukan sekuens untuk membuat primer, dilakukan analisis terhadap sekuens RNA mikovirus pada shiitake yang diperoleh dari NCBI. Gambar 3 menunjukkan skala penjajaran (alignment score) dari 7 sekuens yang sudah terdaftar.

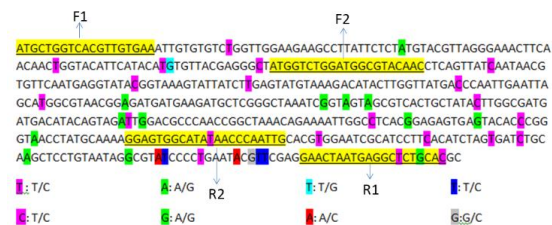
Hasil penjajaran menunjukkan bahwa bagian dari AB429556.2 LeVHKB *hypothetical* and *putative* RdRP urutan pasang basa ke 9629-10,127 adalah sekuens konsensus. Total panjang sekuens konsensus adalah 498 pasang basa (pb). RdRP adalah gen yang mengkode protein RdRP (RNA-dependent RNA Polymerase) yang terlibat dalam replikasi RNA dan urutannya cenderung bersifat lestari sehingga sering digunakan sebagai acuan dalam menentukan kekerabatan filogeni dari virus. RdRP adalah protein penting dalam replikasi dari transkripsi virus, khususnya virus RNA (Hough *et al.*, 2023; Velthuis, 2014).



Gambar 3. Hasil Penjajaran Sekuens RNA Mikovirus pada Shiitake

Keterangan:

- Line 1 : LeVHKB *hypothetical* protein and putative RdRP
 Line 2 : LeVHKB strain CZ *hypothetical* protein and RdRP
 Line 3 : LeVHKA *hypothetical* protein and putative RdRP
 Line 4 : LeVHKB *putative* RdRP
 Line 5 : LeSV *putative* RdRP
 Line 6 : LeVF1 RdRP sequence
 Line 7 : LeVHKA RdRP



Gambar 4. Primer pada Sekuens AB429556.2 LeVHKB *hypothetical* protein and putative RdRP urutan ke 9629-10,127 pb

Dari sekuens konsensus tersebut, kemudian dibuat desain primer menggunakan SnapGen, dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 4. Primer digunakan untuk memperbanyak sekuens virus untuk kemudian diidentifikasi lebih lanjut. Rangkaian penelitian mulai dari PCR, pembuatan plasmid rekombinan, transformasi plasmid rekombinan pada sel kompeten, seleksi sel transforman, ekstraksi plasmid, dan diakhiri dengan sekuensing.

Tabel 2. Daftar Primer yang Digunakan pada PCR Untuk Mendeteksi Virus pada Shiitake

Nama Primer	Sekuens Primer
LeMv-F1	ATGCTGGTCACGTTGTGAA
LeMv-R1	GTGCAGAGCCTCATTAGTTC
LeMv-F2	TATGGTCTGGATGGCGTACAAC
LeMv-R2	CAATTGGGTTATATGCCACTCC

Hasil seleksi sel transforman adalah 5 klon sel. Plasmid rekombinannya hasil ekstraksi sel klon lalu disejajarkan dengan sekuens yang terdapat di NCBI, hasilnya seperti ditunjukkan pada Tabel 3, tidak ada kesamaan dengan sekuens manapun di bank data NCBI, kecuali pada klon 1 yang ada kemiripan dengan sekuens Human Mastadenovirus C Strain 80%. Ini bisa terjadi kemungkinan karena adanya kontaminasi saat proses ekstraksi plasmid.

Tabel 3. Hasil BLAST sekuens sampel

Sumber plasmid	Primer	Kesamaan
Klon 1	F2	Human mastadenovirus C strain 80%
	R1	No significant similarity found
Klon 2	F2	No significant similarity found
	R1	No significant similarity found
Klon 3	F2	No significant similarity found
	R1	No significant similarity found
Klon 4	F2	No significant similarity found
	R1	No significant similarity found
Klon 5	F2	No significant similarity found
	R1	No significant similarity found

Tidak adanya kesesuaian dengan sekuens yang ada di NCBI menunjukkan beberapa kemungkinan, diantaranya adalah memang tidak ada virus di dalam badan buah shiitake yang

abnormal atau kalaupun ada dalam kuantitas yang sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi. Kemungkinan lain adalah sekuens yang didapat adalah sekuens dari virus baru yang sekuensnya belum terdaftar di NCBI.

Faktor lain yang juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan badan buah adalah faktor lingkungan yang meliputi pH, kadar CO₂, suhu, cahaya, dan kelembaban.

KESIMPULAN

Abnormalitas pada badan buah dari jamur shiitake yang diisolasi dari Pasar Wuliting di China tidak berhubungan dengan keberadaan virus karena hasil penjajaran sekuens melalui BLAST menunjukkan tidak ada persamaan dengan sekuens lain yang ada di bank data NCBI. Kemungkinan primer yang digunakan kurang tepat atau sekuens yang didapat belum terdaftar di NCBI.

Faktor lain yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan badan buah adalah faktor lingkungan, meliputi pH, suhu, kelembaban, kadar CO₂, dan cahaya. Penelitian lanjutan terhadap mikovirus pada jamur konsumsi, terutama shiitake perlu untuk dilakukan dalam rangka mempelajari relasi antar keduanya baik secara fisiologi maupun secara fisik. Harapannya untuk dapat mencegah infeksi mikovirus yang dapat merugikan budidaya jamur konsumsi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada seluruh staf, kolega, dan Prof. Chen Baoshan, selaku direktur di State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources Guangxi University, kepada dosen pembimbing selama melakukan penelitian Prof. Liao Yongmei atas arahan dan bimbingannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Elibuyuk I. O., Bostan H. Detection of a virus disease on white button mushroom (*Agaricus bisporus*) in Ankara, Turkey [J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2010, 12: 597-600.
- Farrel Jr, Robert R. RNA Methodologies, A Laboratory Guide for Isolation and Characterization 4th Edition, 2010, Beijing: Elsevier.
- Ghabrial, S. A. Origin, Adaptation and Evolutionary Pathways of Fungal Viruses [J]. Virus Genes, 1998, 16(1): 119-131.
- Ghabrial, S. A. Effects of Fungal Viruses on Their Hosts [J]. Annual Review of Phytopathology, 1980, 18: 441-461.
- Grogan, H. M., Adie, B. A. T., Gaze, R. H., *et al.* Double-stranded RNA Elements Associated with the MVX disease of *Agaricus bisporus* [J]. Mycol. Res, 2003, 107 (2): 147-154.
- Harmsen, M. C., Tolner, B., Kram, A., *et al.* Sequences of Three dsRNAs Associated with La France Disease of the Cultivated Mushroom (*Agaricus bisporus*). Current Genetics, 1991, 20: 137-144
- Hough B, Steenkamp E, Wingfield B, Read D. Fungal Viruses Unveiled: A Comprehensive Review of Mycoviruses. *Viruses*. 2023; 15(5):1202.
<https://doi.org/10.3390/v15051202>
- 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*. Virus Research, 2015, 197: 8-12.
- Kim, S. W., Kim, M. G., Jung H. A., *et al.* An Application of Protein Microarray in The Screening of Monoclonal Antibodies Against The Oyster Mushroom Spherical Virus. Analytical Biochemistry, 2008, 374: 313-317.
- Kim, S. W., Kim, M. G., Kim, J., *et al.* Detection of The Mycovirus OMSV in The Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus*, using an SPR Biosensor Chip. Journal of Virological Method, 2008, 148: 120-124.
- Kim, Y. J., Kim, J. Y., Kim, J. H., *et al.* The Identification of a Novel *Pleurotus ostreatus* dsRNA Virus and Determination of the Distribution of Viruses in Mushroom Spores [J]. The Journal of Microbiology, 2008, Vol. 46 No. 1 95-99.
- Kondo, H., Chiba, S., Toyoda, K., *et al.* Evidence for Negative-strand RNA Virus Infection in Fungi. Virology, 2013, 435: 201-209.
- Li Jun Hui, Tang Chuang-hong, Song Chun-yan, *et al.* A Simple, Rapid and Effective Method for Total RNA Extraction from *Lentinula edodes* [J]. Biotechnology Letters, 2006, 28: 1193-1197.
- Lim, W. S., Jeong, J. H., Jeong, R. D., Yoo, Y. B., *et al.* Complete Nucleotide Sequence and Genome Organization of a dsRNA Partitivirus Infecting *Pleurotus ostreatus* [J]. Virus Research, 2005, 108: 111-119.
- Maffettone, Eliana. Characterization of a Novel Virus Associated with the MVX Disease of *Agaricus bisporus*, 2007, PhD Thesis of Cranfield University.
- Magae, Yumi and Noriko Hayashi. Double-stranded RNA and Virus-like Particles in the Edible Basidiomycete *Flammulina velutipes* (Enokitake) [J]. FEMS Microbiology Letters, 1999, 180: 331-335.
- Magae, Yumi and Masahide Sunagawa. Characterization of a Mycovirus Associated with The Brown Discoloration of Edible

- Mushroom, *Flammulina velutipes* [J]. Virology Journal, 2010, 7: 342.
- Magae, Yumi. Molecular Characterization of a Novel Mycovirus in the Cultivated Mushroom, *Lentinula edodes* [J]. Virology Journal, 2012, 9:60.
- Nuss, Donald L. Hypovirulence: Mycoviruses at The Fungal-Plant Interface [J]. Nature Reviews Microbiology, 2005, 3: 632-642.
- Ohta, C., Taguchi, T., Takahashi, S., Ohtsuka, K., et al. Detection of Double Stranded RNA Elements in Cultivated *Lentinula edodes*. Mushroom Sci. Biotech. 2008. 16(4): 155-158.
- Pearson, M. N., Mycoviruses of Filamentous Fungi and Their Relevance to Plant Pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2008, 9(1): 115-128.
- Pearson MN, Beever RE, Boine B, et al. Mycoviruses of filamentous fungi and their relevance to plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2009, 10(1): 115-128.
- Qiu, L., Li Y., Liu, Y., et al. Particle and Naked RNA Mycoviruses in Industrially Cultivated Mushroom *Pleurotus ostreatus* in China [J]. Fungal Biology, 2010, 114: 507-513.
- Reece, Richard J. Analysis of Genes and Genomes, 2004, England: John Wiley and Sons Ltd.
- Revill, P. A., Davidson, A. D., Wright, P. J. Identification of a Subgenomic mRNA Encoding the Capsid Protein of Mushroom Bacilliform Virus, a Single-Stranded RNA Mycovirus [J]. Virology, 1999, 260: 273-276.
- Revill, P. A. and Wright P. J., RT-PCR Detection of dsRNAs Associated with La France Disease of The Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach [J]. Journal of Virological Methods, 1997, 63: 17-26.
- Ro, H. S., Kang, E. J., Yu, J. S., et al. Isolation and Characterization of a Novel Mycovirus, PeSV, in *Pleurotus eryngii* and the Development of a Diagnostic System for It [J]. Biotechnology Letter, 2007, 29:129-135.
- Ro, H. S., Lee N. J., Lee, C. W., et al. Isolation of Novel Mycovirus OMIV in *Pleurotus ostreatus* and Its Detection Using a Triple Antibody Sandwich-ELISA [J]. Journal of Virological Methods, 2006, 138: 24-29.
- Romaine, C. Peter and Beth Schlagnhauer. PCR Analysis of the Viral Complex Associated with La France Disease of *Agaricus bisporus* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, Vol 61 (6): 2322-2325.
- Son, M., Yu, J., Kim, K. H. Five Questions about Mycovirus. PLOS Pathogens, 2015, 11 (11): 1-7.
- Vainio, Eeva J., Jaana J., et al. Diagnosis and Discovery of Fungal Viruses Using Deep Sequencing of small RNAs [J]. Journal of General Virology, 2015, 96: 714-725.
- Velthuis, Aartjan J. W. Common and Unique Features of Viral RNA-Dependent Polymerase. Cellular Molecular Life Sciences, 2014, 71: 4403-4420.
- Won, H. K., Park, S. J., Kim, D. K., et al. Isolation and Characterization of a Mycovirus in *Lentinula edodes*. Journal of Microbiology, 2013, Vol.51. No. 1 118-122.
- Xie, Jiatao and Jiang D. New Insights into Mycoviruses and Exploration for the Biological Control of Crop Fungal Diseases [J]. The Annual Review of Phytopathology, 2014, 52: 45-68.
- Yaegashi, H., Satoko Kanematsu and Tsutae Ito. Molecular Characterization of a New Hypovirus Infecting a Phytopathogenic Fungus, *Valsa ceratosperma*. Virus Research, 2012, 165: 143-150.
- Yu, H. J., Lim, D., Lee, H. S. Characterization of a Novel Single-Stranded RNA Mycovirus in *Pleurotus ostreatus*. Virology, 2003, 314: 9-15.
- Zheng, L., Zhang M., Chen, Q., et al. A Novel Mycovirus Closely Related to Viruses in The Genus Alphapartitivirus Confers Hypovirulence in The Phytopathogenic Fungus *Rhizoctonia solani*. Virology, 2014, 456-457: 220-226.