

## Mikovirüslerin orman patojenlerine karşı kullanım olanakları

Ayşe Gülden Aday Kaya <sup>1\*</sup>, Hatice Tuğba Doğmuş-Lehtijarvi <sup>1</sup>, Asko Lehtijarvi <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Süleyman Demirel University, Faculty of Forestry, Isparta, Turkey

<sup>2</sup> Bursa Technical University, Faculty of Forestry, Bursa, Turkey

Corresponding Author: [guldenaday@sdu.edu.tr](mailto:guldenaday@sdu.edu.tr)

Received: 07 August 2014 - Accepted: 17 August 2014

**Özet:** Mikovirüsler bitki patojeni funguslarının da bulunduğu birçok organizmada yaygın olarak bulunan obligat parazitlerdir. Eşeyli veya eşeysiz fungal yapılar sayesinde hücreler arası yayılış göstermekte ve konukçularında bazı değişikliklere neden olmaktadır. Mikovirüslerin konukçularında neden olduğu değişiklikler tam anlamıyla bilinmemekteyse de, enfekte ettikleri funguslarda bazı fenotipik değişimlere yol açtığı düşünülmektedir. Özellikle, bitki patojeni fungusların virülensi artırma ya da azaltma yönünde üzerine etkide bulunmaktadır. Virülensi azaltmaları durumunda, kestane kanseri örneğinde olduğu gibi, mikovirüslerin biyolojik mücadelede kullanmak mümkün olabilmektedir. Bu derlemede, dünyada ve ülkemizde orman ağaçlarında hastalığa neden olan bazı önemli fungal patojenlerde görülen mikovirüsler tanıtılarak, bunların biyolojik mücadelede kullanım olanakları üzerine yapılan araştırmalar özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** dsRNA, fungus, orman, hastalık, kontrol

## The usage of mycoviruses in biological control against tree pathogenic fungi

**Abstract:** Mycoviruses are common obligate parasites in many organisms including plant pathogenic fungi. They are mostly spread intracellularly via asexual and sexual reproduction of the fungi and cause some changes on them. Although many mycoviruses have no clear effect on their hosts, there are also many reports that they cause some phenotypic changes. Especially, they have effect on plant pathogenic fungi by increasing or decreasing their virulence. When they reduce the virulence of the host like in Chestnut canker sample, it is possible to use them in biological control. In this review, mycoviruses detected on some important fungal pathogens of forest trees both in our country and world were introduced and the studies carried out were summarized.

**Keywords:** dsRNA, fungi, forest, disease, control

### 1.GİRİŞ

Virüsler taşıdıkları genetik şifre ile konukçu hücrede tekrarlarını sürdürebilen, çoğalmaları için canlı hücrelere gereksinim duyan basit ve küçük canlı yapılardır. Virüsler dışındaki çoğu canlının, metabolik faaliyetlerini kendi enzimatik aktiviteleri ile düzenledikleri, virüslerin ise bundan yoksun oldukları bilinmektedir. Dolayısıyla virüslerde hücresel bir yapıdan söz edilmemektedir. Virüsler yaşamları için gerekli enerjiyi ve genetik faaliyetlerini konukçu hücrelerinde gerçekleştirmektedirler. Bu özelliklerinden ötürü “genetik parazitler” olarak adlandırılırlar. Virüsler temel olarak; DNA ya da RNA içeren bir nükleer materyal (genom) ve bunu saran bir protein bir kılıftan (kapsid) oluşur. Bazı virüslerde kapsidin dışında glikoproteinler veya lipoproteinlerden oluşan ve zarf adı verilen bir örtü bulunmaktadır.

Farklı canlı organizmalarda parazitik karakterde birçok virüs türünün bulunduğu bilinmektedir (Boland, 1992). Bunlardan biri olan ‘mikovirüsler’, adından da anlaşılacağı üzere, fungusları konak organizma olarak kullanılmaktadır. Mikovirüsler, hücreler arası yayılış gösteren obligat parazitlerdir. Bu virüslerin çoğunlukla bitkide fungusun neden olduğu hastalık belirtisi ile doğrudan ilişkili olmadıkları, ancak konukçularında bazı fenotipik değişikliklere yol açtıkları bilinmektedir. Bunun yanı sıra bazı virüslerin, fungusları toksin salgılama yönünde teşvik ettiği (Magliani ve ark., 1997), hücresel bozukluklara

**To cite this article:** Kaya, A.G.A., Doğmuş-Lehtijarvi, H.T., Lehtijarvi, A., 2015. Mikovirüslerin orman patojenlerine karşı kullanım olanakları. Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University 65(1): 60-71. DOI: 10.17099/jffiu.46043

(Newhouse ve ark., 1983) neden olduğu görülmüştür. Virüsler, büyüme ve gelişme (Boland, 1992), sporülasyon (Bottacin ve ark., 1994), pigmentasyon (Anagnostakis ve Day, 1979) ve enzim aktivitelerinde değişikliklere de (Rigling ve Van Alfen, 1993) yol açmaktadırlar. Örneğin *Cryphonectria parasitica*'da enfeksiyon oluşturan kestane kanseri hipovirusü (CPV) gibi bazı mikovirüslerin, konukçularının patojenitesini (hipovirulens) azalttığı yapılan in vitro ve in vivo araştırmalarla doğrulanmıştır (Milgroom ve Cortesi, 2004).

Mikovirüsler, makrofunguslar da dahil olmak üzere pek çok fungusta enfeksiyona neden olmaktadır (Lemke ve Nash, 1974). Mikovirüsler yaşam döngülerinde, enfekte ettikleri funguslarda hücreler arasında ve içinde yayılış göstermektedir. Mikovirüslerin taşınmasında, fungal sporlar ve anastomosis önemli rol oynamaktadır (Buck, 1986; Ghabrial, 1998).

Virüslerin genomları, DNA ya da RNA' dan oluşan tek sarmallı (ss-single-stranded) ya da çift-sarmallı (ds-double-stranded) nükleik asitlerden oluşmaktadır. Funguslarda bulunan virüslerin büyük bir kısmı Partitiviridae ve Totiviridae familyası üyeleridir. Sadece dsRNA, dsDNA ve pozitif ssRNA virüsleri, fungusları enfekte eden virüs familyasında yer almaktadır (Van Regenmortel ve ark., 2000).

Bitki ve orman ağacı patojeni funguslardan, *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* (Sacc.) Arx & D.L. Olivier, *Pyricularia oryzae* Cavara, *Helminthosporium victoriae* F. Meehan & H.C. Murphy 1946, *Helminthosporium maydis* (autor), *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, *Nectria radicolica* Gerlach & L. Nilsson, *Cryphonectria parasitica* (Murrill) M.E. Barr, *Ceratocystis ulmi* (Buisman) C. Moreau, *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier, *Ustilago maydis* (DC.) Corda, *Heterobasidion annosum* Niemelä & Korhonen, *Gremmeniella abietina* (Lagerb.) M. Morelet, ve *Diplodia sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton dahil olmak üzere pek çok fungusta dsRNA içeren virüs partiküllerine rastlanmıştır (Hollings, 1982; Varga ve ark., 1994; Coenen ve ark., 1997; Van Diepeningen ve ark., 1998; Tuomivirta, 2003a,b; Vainio ve ark., 2010).

Virüs enfeksiyonlarının tanısında birçok yöntem kullanılmakla birlikte, elde edilen başarı virüs ve konukçuya bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Önceki dönemlerde, fungal virüsler ya da virüs benzeri partiküller (VPLs), transmission elektron mikroskobu (TEM) yardımı ile gözlemlenmekteydi (Buck, 1986). TEM, virüsün yüksek konsantrasyonda olması koşuluyla kolay ve uygulanabilir bir araç olarak karşımıza çıkarırken, az miktardaki virüs partiküllerinin tanılanmasında sorunlar yaşanmaktaydı. Ayrıca, hücrede virüs parçalarını andıran diğer birçok yapının olması, bu metodun güvenilirliğini azaltmaktaydı. Bu nedenle artık günümüzde virüs benzeri partiküllerin taranması yerine, mikovirüsün dsRNA içeren genomlarının varlığına bakılarak virüsün varlığı da ortaya koyulabilmektedir. Başka bir ifade ile, fungal virüslerin tespiti, fungus misellerindeki dsRNA varlığının belirlenmesi ile daha kolay bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Çünkü fungusun misellerinde dsRNA partiküllerinin bulunması, viral bir enfeksiyonun varlığına işaret etmektedir.






## 2. MİKOVİRÜSLER

### 2.1 Mikovirüslerin Taksonomisi

Virüs familyalarının sınıflandırılmasında, virion morfolojisi, genom organizasyonu, çoğaltma metotları ve viral proteinlerin yapısı ve sayısı gibi birbirlerinden ayırt edici özelliklerden yararlanılmaktadır (Van Regenmortel ve ark., 2000). Diğer dsRNA genomuna sahip canlı hücrelere kıyasla, virüs genomları farklı tipte nükleik asit içermektedir. Viral genomlar, tek veya çift sarmallı ya DNA ya da RNA' dan oluşmaktadır. ssRNA virüsleri, sarmal yapının direk kodlanıp kodlanmamasına göre negatif ve pozitif gruplara ayrılmaktadır.

Mikovirüsler, yaygın olarak, Narvaviridae, Totiviridae ve Partitiviridae virüs familyalarında bulunmaktadır (Van Regenmortel ve ark., 2000). Bunlar arasından, Totiviridae ve Partitiviridae familyasında yer alanlar, konukçularında belirti göstermeksizin hastalığa neden olmaktadır (Şekil / Figure 1). İsometik nitelikteki dsRNA mikovirüsleri Totiviridae ve Partitiviridae olmak üzere iki familya altında incelenmektedir.

Günümüzde funguslarda enfeksiyon yapan RNA virüsleri genom segment sayıları, kapsid yapıları ve nükleotid dizilerine göre Barnaviridae, Chrysoviridae, Hypoviridae, Metaviridae, Narnaviridae, Partitiviridae, Pseudoviridae ve Totiviridae olmak üzere 8 familya ve 1 cins (Rhizidiovirus) altında incelenmektedir (Van Regenmortel ve ark., 2000; Ghabrial, 2001; Büchen-Osmond, 2004). Birçok bitki virüsü bir veya birkaç parça halinde olan tek iplikçikli ssRNA genomuna sahiptir. Viral replikasyon sırasında, her bir genom parçasına karşılık gelen çift iplikçikli dsRNA türleri enfekteli dokuda birikebilmektedir (Krajacic ve Lorkovic, 1992).

	<b>Hypoviridae</b>	<b>Totiviridae</b>	<b>Partitiviridae</b>	<b>Chrysoviridae</b>	<b>Reoviridae</b>
<u>genom</u>	monopartite	monopartite	bipartite	tertrapartite	mutisegmented
<u>Kapsid sayısı</u>	 unencapsidated membrane vesicle	 IMNV, tentative totivirus			
<u>hipovirulensi</u>	evet	evet	—	hayır	evet
<u>konukçu</u>	fungi	Fungi Protozoa	Omurgasızlar	Fungi Bitkiler	Fungi Bitkiler Protozoa Omurgalılar

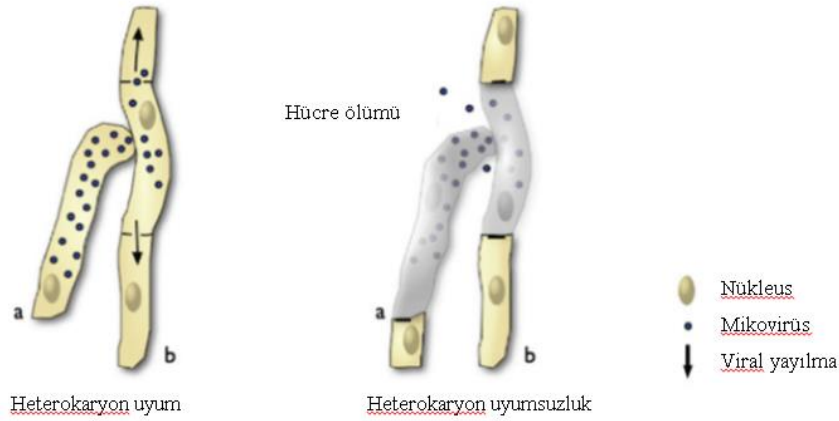
Şekil 1. Genom türü ağırlıklı dsRNA mikovirüslerinin listesi. Patojenik fungusların yer aldığı taksonomik familyalar; genom konumu, virüs yapısı, hipovirülensi ve konukçu tipine göre gösterilmiştir (Van de Sande ve ark., 2010).

Figure 1. List of mycoviruses

## 2.2 Mikovirüslerin Funguslarla Taşınması

Fungus gibi birçok organizma, virüslerin hücre duvarlarından geçişine izin vermezler. Dolayısıyla virüs partikülü bu engeli, vektörlerle taşınmak suretiyle aşmaktadır. Bakteri virüslerinde durum biraz farklıdır. Burada virüs bakteri hücresinin dışına tutunmakta ve viral materyali hücre içinde enjekte ederek, viral kılıfı hücre duvarı dışında bırakmaktadır. Fungal virüslerde ise hücre içine sızamayan virüs partikülü, sadece hücreler arasında taşınmaktadır. Fungal virüsler hücre içi ve dışı olmak üzere iki tipte yayılış gösterirler. Fungusların anastomosis özelliği, mikovirüslerin hücre içinde taşınması bakımından önemlidir. Bunun yanı sıra eşeysiz ve eşeyli sporlar, hücre bölünmesi esnasında sitoplazmik değişimlerde önemli rol oynarlar.

Mikovirüslerin fungal ırklar arasında taşınması anastomosis ve izolatlar arasındaki uyuma bağlıdır (Buck, 1998). Bu olgu detaylı olarak, *C. parasitica* izolatlarında araştırılmıştır. Farklı VC (Vegetative compatibility) gruplarının gen transferi ve aynı zamanda virüs transferinin başarılı bir şekilde gerçekleştiği tespit edilmiştir (Liu ve Milgroom, 1996). Benzer bir sonuca, *Ophistoma novo-ulmi* ve *Aspergillus nidulans* izolatlarında da rastlanılmıştır (Brasier, 1986; Coenen ve ark., 1997). Mikovirüslerin taşınması, heterokaryotik ve uyum özelliği olan basidiomisetlerde de araştırılmış ve heterokaryotik özelliğin virüs taşınmasında doğrudan etkili olmadığı, genetik benzerlik taşıyan hiflerin birleşmesinin önemli olduğu saptanmıştır (Sonnenberg ve Van Griensven, 1991; Sonnenberg ve ark., 1995). Askomisetlerdeki mikovirüslerin taşınması ise, çoğunlukla mikovirüs ile enfekteli askosporlar ile gerçekleşmektedir (Şekil / Figure 2).



Şekil 2. Fungal hifler arasında transfer olan mikovirüsler donorün uyumluluğu  
Figure 2. Transferred mycoviruses among fungal hyphae on the compatibility of donors

### 2.3 dsRNA Mikovirüslerinin Konukçu Fenotipi Üzerindeki Etkileri

Birçok mikovirüsün konukçusu üzerinde gözle görünür bir etkisi olmadığı bilinse de, bazı mikovirüslerin konukçusunda fenotipik değişimlere neden olduğu rapor edilmiştir. Virüs ile enfekteli fungusların miselleri normale göre daha zayıf bir gelişim gösterir ve üreme yapılarının sayısı daha azdır. Bunun yanı sıra sporların da daha kısa zamanda olgunlaşıp, doğaya salındığı ve daha kısa sürede çimlendiği tespit edilmiştir. Mikovirüsler, bazı durumlarda konukçusu olduğu patojenin virülensi üzerine etkiye bulunmaktadır. Birçok çalışmada, dsRNA mikovirüslerinin, enfekteli olan izolatlarda virülensi arttırdığı (hipervirülens) ya da azalttığı (hypovirülens) tespit edilmiştir (Sonnenberg ve Van Griensven, 1991; Sonnenberg ve ark., 1995). Hipervirülenslik, *Nectria radicola* gibi bazı funguslarda var olan dsRNA partiküllerinin varlığına bağlı olmakla birlikte (Ahn ve Lee, 2001), virülens arasındaki ilişki bazı fungal patojenler için oldukça karmaşıktır. Konukçuların hastalık oluşturma yeteneğini azaltan virüsler, bitki patojenlerine karşı biyokontrol etmeni olarak kullanılması açısından dikkat çekicidir.

## 3. MİKOVİRÜS TAŞIYAN ORMAN AĞACI PATOJENLERİ

Mikovirüsler üzerine gerçekleştirilen bu erken buluşlar, ilerleyen yıllarda bu viral partiküllerin birçok fungusta tespit edildiğini göstermektedir (Buck, 1986; Nuss ve Koltin, 1990; Ghabrial, 1994; Ghabrial ve Hillman, 1999).

Söz konusu dsRNA virüslerinin birçoğunun konukçularında hastalık oluşturma yeteneğinde azalış ya da artışa neden olduğu araştırmalar sonucunda ortaya koyulmuştur (McCabe ve ark., 1999; Ahn ve Lee, 2001). Günümüze kadar yapılan çalışmalar, mikovirüslerin orman ağaçlarında hastalık yaptığı bilinen basidiomiset ve askomisetlerde yaygın olarak bulduklarını, bunun yanında, *Mucor* ve *Rhizopus* gibi türlerde de rastlanıldıklarını göstermektedir.

### 3.1 *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr

Kestane kanserine neden olan *C. parasitica*'yı enfekte ettiği bilinen hypovirüsler, özellikle kestane yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı ve kestane kanserinin sıkça görüldüğü ülkelerde geniş kapsamlı olarak çalışılmaktadır.

Kuzey Amerika'da geçmişte ciddi epidemilere neden olan hastalık, Avrupa kestane ormanlarını da tehdit etmekte, ancak fungustaki hypovirüs sayesinde fungal etmenin zararı birçok ülkede önlenilmektedir (Choi ve Nuss, 1992). *C. parasitica* izolatlarında Hypoviridae familyası üyelerine ait çok sayıda dsRNA tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, Reoviridae, Totiviridae, Chrysoviridae ve Partitiviridae familyaları üyeleri kestane kanseri fungusunda yaygın olarak bulunan diğer virüs türlerinin yer aldığı familyalardır (Heiniger ve Rigling, 1994; Perlerou ve Diamandis, 2006). Fungusun sitoplazmasındaki virüsler, bulunmadığı funguslara hiflerin anastomosis yoluyla birleşmesi sayesinde bulaşır (Anagnostakis ve Day, 1979; Griffin ve ark., 2004; Milgroom ve Cortesi, 2004; Perlerou ve Diamandis, 2006). Çift sarmallı

RNA (dsRNA)'nın bulunması fungusta sporülasyonu azalttığı gibi seksüel çoğalmayı da engellemektedir. Bu virüslerin arasından biyolojik mücadele çalışmalarında en çok çalışılan Hypoviridae familyasında yer alan ve ilk kez Fransa'dan elde edilen izolatlarda bulunan Cryphonectria hipovirüs 1 (CHV1)'tür. Bunlara ek olarak, Yeni Jersey ve Michigan orjinli CHV2-NB58 ve CHV3-GH2 hipovirüsleri de bulunmaktadır.

CHV1 ile enfekteli olan fungal strainlerin kestane ağaçlarında kanserlere neden olmadığı ve az sayıda spor oluşturdukları, ancak yapay besi ortamlarında virüs ile enfekteli olmayan strainler kadar iyi geliştikleri belirlenmiştir. CHV1, enfekte ettiği fungusta zayıflatmaya sebep olmamakla beraber, fungal gelişimin sekteye uğramasına neden olmaktadır.

*C. parasitica*'da bulunan ve bulaşıcı hipovirülens ile ilişkili olan dsRNA enfekteli konukçu hücrenin, viral polimeraz ve transfeksiyon özelliğine sahip olan membran vesiküllerinde çoğaldığı bilinmektedir.

Avrupa ülkelerinde kestane kanserine karşı etkili biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılan *C. parasitica*'nın hipovirürent ırkında doğal olarak dsRNA virüsü bulunmaktadır (Elliston, 1982; Heiniger ve Rigling, 1994). Yapılan bazı ön çalışmalar, *D. sapinea*'ya ait bazı izolatlarda *C. parasitica* hipovirürent ırkındaki virüs partiküllerine benzer olan dsRNA varlığından söz edilmiş ve dsRNA virüsünün olduğu izolatların biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılabilirliği tartışılmıştır (Steenkamp ve ark., 1995).

Kestane kanserine karşı biyolojik mücadele çalışmaları Türkiye'de de son yıllarda hız kazanmıştır. Akıllı ve arkadaşları (2012)'de *C. parasitica* izolatlarında hipovirüs varlığı ve bu hipovirüslerin biyolojik mücadelede kullanım olanakları üzerine yaptıkları çalışmalarında izolatlardan yoğunlukla CHV-1-I ve CHV-1-F2 hipovirüsleri izole etmişlerdir. Elde edilen 23 hipovirürent izolat, 2-3 yaşındaki kütük sürgünlerine bulaştırılan bir virürent ırka karşı denenmiştir. Deneme sonuçlarına göre, 10 hipovirürent ırkın kanser gelişimini %80 durdurduğunu belirlemişler ve virüs ile enfekteli bu hipovirürent ırkın biyolojik mücadele kullanılabileceği kanısına varmışlardır. Çalışmalar halen devam etmektedir.

### 3.2 *Ophiostoma novo-ulmi* (Brasier)

Karaağaç ölümüne neden olan *Ophiostoma ulmi* ve *O. novo-ulmi* türlerinde bulunan ve d-faktör olarak bilinen dsRNA partikülü, konukçusunda oldukça zararlı etki yapmaktadır (Brasier, 1986). Virüs ile enfekteli izolatların, düzensiz gelişim gösterdiği, az sayıda spor oluşturduğu ve cerato-ulmin toksin salınımını azalttığı saptanmıştır (Brasier, 1986; Rogers ve ark., 1987; Cole ve ark., 2000). *O. novo ulmi* izolatlarında çok sayıda farklı boyutta dsRNA genomuna rastlanmıştır. Araştırmalar, fungusun patojenisitesi üzerinde etkili olan 3 partikülün varlığını ortaya koymuştur. *O. novo-ulmi*'de hastalığa neden olan dsRNA, mitokondride tespit edilmiş ve bunun mitokondrial cytochrome c-oxidase düzeyini azalttığı ve dolayısıyla fungusta solunum kaybına neden olduğu belirlenmiştir. *O. novo-ulmi*'de bulunan dsRNA, fungusun hastalık oluşturma yeteneğini azalttığından, karaağaç ölümünü engelleyecek biyolojik mücadele ajanları arasında yer almaktadır. Virüs partikülü dsRNA'nın yayılmasının ise ancak fungal popülasyonun dinamiğine bağlı olarak ilerlediği söylenmektedir (McCabe ve ark., 1999; Tuomivirta ve ark., 2002, 2003a, 2003b, 2005). Fungal popülasyonların klonal olması durumunda dsRNA partiküllerinin yayılışı daha kolay bir şekilde gerçekleşirken, popülasyon içinde vegetatif uyum göstermeyen farklı grupların bulunması durumunda, virüsün yayılışı sınırlı kalmaktadır (McCabe ve ark., 1999).

### 3.3 *Gremmeniella abietina* (Lagerberg) Morelet

*Gremmeniella abietina* (Lagerb.) Morelet var. *abietina* koniferlerde Scleroderris kanserine neden olan önemli bir fungal patojendir. Birçok Avrupa ülkesinde, özelliklerde kış mevsiminde kar altında kalan yaşlı ağaçların alt kısımlarında, genç fidanların ise tümünde bu türün zararı ve tipleri tespit edilmiştir (Uotila, 1983; Kaitera ve ark., 1998). Kaitera ve arkadaşlarının 1980'li yıllarda yaptığı incelemeler sonucunda Finlandiya sarıçam ormanlarında *G. abietina* A tipinin neden olduğu ciddi bir salgının varlığı bildirilmiştir (Kaitera ve ark., 1998). Avrupa'da birçok ülkede görülen hastalık etmeninin, Kuzey Amerika'da da görülmesi üzerine bu fungusu karşı alınabilecek önlemler hakkında çalışmaların arttırılmasına neden olmuştur (Hamelin ve ark., 1996).

Bu önlemlerden biri de kestane kanserinde olduğu gibi hipovirüent ırkın bulunarak, biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmasıdır. Bu olgudan yola çıkan Finlandiyalı araştırmacı Tuomivirta (2002), ilk kez *G. abietina* izolatlarında mikovirüs partiküllerinin varlığını araştırmıştır. Virüs partiküllerini (dsRNA) izole etmek amacıyla CF11 metodunu kullanan araştırmacı, Finlandiya orijinli *G. abietina* izolatlarında Narnaviridae, Partitiviridae ve Totiviridae familyalarına ait mikovirüslerin varlığını ortaya koymuştur.

Ayrıca araştırmacı, bu familyalara ait virüslerin yayılmasında konidiaların büyük etkisi olduğunu belirtmiş ve *G. abietina* A morfotipinde virüsün hipovirülensi azaltmadığını tespit etmiştir. Hipovirüent ırkın bulunması için belirti göstermeyen ağaçlardan izolasyonların yapılmasının gerektiğini rapor etmiştir. Ülkemizde de Oskay ve arkadaşları (2010) *G. abietina*'nın zararını Isparta- Dedegül Dağı'nda ve Zigana' da genç karaçam ve ladin fidanları üzerinde tespit etmiştir. Ancak elde edilen izolatlar henüz mikovirüslerin varlığı açısından incelenmemiştir.

### 3.4 *Diplodia sapinea* (Desm.) Kickx

*Diplodia sapinea* (Desm.) Kickx (*Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & Sutton) dünya üzerinde bulunan birçok çam türünde, kuraklık ve benzeri nedenlerle predispoze olmuş bireylerde zarar yapan fırsatçı bir patojendir (Waterman, 1943; Punithalingam ve Waterstoni 1970). Bu fungus, yetişkin bireylerde sürgün yanıklığına, reçine akıntısına, tepe kuruması ve mavi renklenmeye, fidanlarda ise kök boğazı çürüklüğü gibi belirtilere neden olmaktadır (Waterman, 1943; Eldridge, 1957; Buchanan, 1967; Marks ve Minko, 1969; Wingfield ve Knox- Davies, 1980; Palmer ve Nicholls, 1985; Chou, 1987). Güney Afrika *Pinus radiata* D. Don and *Pinus patula* Schlecht. & Cham ağaçlandırma sahalarında ekonomik boyutu büyük olan kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (Lückhoff, 1964; Evans, 1987; Swart ve Wingfield, 1991). Avustralya ve Yeni Zelanda' da ise *P. radiata* bireylerinde artım ve hacim kaybı meydana getirdiği tespit edilmiştir (Wright ve Marks 1970). Zwolinski ve arkadaşlarının (1990a, 1990b) yaptığı çalışmalarda, Güney Afrika ağaçlandırma sahalarında, *D. sapinea*'nın neden olduğu geriye doğru ölüm nedeniyle yılda yaklaşık 4 milyon Amerikan Doları kaybın olduğu bildirilmiştir. *D. sapinea* izolatlarının koloni morfolojileri, konidi büyüklükleri, morfolojik yapıları, virülensleri ve gelişim oranları bakımından birbirinden çok farklılık gösterdiği saptanmıştır (Slagg ve Wright, 1943; Barker, 1979; Palmer ve Stewart, 1982; Wang ve ark., 1985; Wang ve Blanchette 1986; Swart ve ark., 1991). Fungal türün bu tür farklılıklar göstermesinde en önemli etkenin, *C. parasitica* (Murr.) Barr'da olduğu gibi dsRNA varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Day ve ark., 1977; Anagnostakis ve Day, 1979; Dodds, 1980; Elliston, 1982; McManus ve ark., 1989).

Aday ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan bir çalışmada *D. sapinea* izolatlarında dsRNA virüsü varlığı araştırılmış ve izolatların çoğunluğunun mikovirüs ile enfekte olduğu belirlenmiştir. Elde edilen mikovirüsün hangi familyaya ait olduğu ve biyolojik mücadelede kullanılıp kullanılmayacağını gelecekte yapılacak çalışmalar belirleyecektir.

### 3.5 *Heterobasidion annosum* Niemelä & Korhonen

*Heterobasidion annosum* s.l. kompleksinde yer alan türler, hemen hemen tüm ibreli ağaç türlerinde ve birçok geniş yapraklı türlerde hastalığa neden olmaktadır. Avrupa'da bu komplekste yer alan 3 tür dikkati çekmektedir (Niemelä ve Korhonen, 1998). *H. annosum* s.str. çam ve ladin ağaçlarının yanı sıra birçok ibreli ve geniş yapraklı türleri enfekte etmekte olup, *H. parviporum* genelde doğu ladininde zarar yaparken, Avrupa'nın güneyinde özellikle Gökarnarlarda benzer zarara yol açan *H. abietinum* bulunmaktadır. *Heterobasidion* cinsine ait türler boreal ormanlarına en zarar veren patojenler arasında yer almaktadır.

Avrupa ve Batı Asya' da *H. annosum* s.str ve *H. parviporum* türlerinin, % 15 sıklıkla fungal virüslere konukçuluk ettiği tespit edilmiştir (Ihrmark ve ark., 2001). Şimdiye kadar *Heterobasidion* cinsinden izole edilen mikovirüslerin, Partitiviridae familyasına ait olduğu ve bu virüslerin, farklı *Heterobasidion* türleri arasında yayılma yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Ihrmark ve ark., 2001). Enfekteli misellerden oluşan basidiosporların çimlenmesinde yavaşlama olmasına rağmen, sporların virüsün aktarılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Vainio ve arkadaşları (2012) tarafından yakın zamanda yapılan araştırmada, *Heterobasidion* türlerinde bulunan virüsün çoğunlukla Partitiviridae familyasına ait olduğunu, ancak var olan bir başka mikrovirüsün termal özellik taşıyan *Curvularia protuberata* olduğunu saptamışlardır. Bu virüsü taşıyan fungal izolatlarla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, fungal gelişimin bu virüs tarafından, %28 oranında azalttığını tespit etmişlerdir.

Bilindiği üzere, *Heterobasidion* türleri, yeni kesilmiş taze kütük yüzeylerinden basidiosporlar aracılığıyla girmekte, ardından kök sistemini takip ederek sağlıklı bireylere geçmektedir. *Heterobasidion* türleri ile bulaşık bir meşcerede fungus yayılımını bir ağaçtan diğerine kök kaynaşması yolu ile gerçekleştirmektedir. Fungus, silvikültürel müdahalelerin ardından kesik kütük yüzeyine, üre, boraks ya da biyolojik mücadele ajanı olan *P. gigantea* uygulanması ile kontrol altına alınmaktadır. Bu uygulamaların temelinde, *H. annosum* tarafından meydana gelecek yeni enfeksiyonların önlenmesi yatmaktadır. Kök sisteminde hali hazırda bulunan *H. annosum* s. lato'nun alandan tamamıyla uzaklaştırılması ancak, kütüklerin köklenerek imha edilmesiyle mümkün olabilmektedir (Woodward ve ark., 1998). Bununla birlikte, son yıllarda yapılan çalışmalar *H. annosum* ile enfekte olan bir meşcerede, mikovirüs kullanımının biyolojik mücadelede kullanılabileceğine işaret etmektedir. Vainio ve ark., (2012) dört *Heterobasidion* türünde HetRV6 adlı yeni bir virüs türü rapor etmişlerdir. Bu virüsün *Heterobasidion* türleri için daha önceki çalışmalarda belirtilen virüslerden farklı ve *Curvularia* termal tolerans virüsüne ve *Fusarium graminearum* 4 virüsü ile genetik akrabalık gösterdiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, küresel ölçekte popülasyon analizleri yapılarak, virüsün konukçuları arasında yayılıp yayılmadığını incelemişlerdir. Ancak bu bulgular, in vivo çalışmalarla da doğrulanmalıdır.

#### 4. SONUÇ

Mikovirüsler, bitki ve orman ağacı patojeni olmak üzere birçok fungusu enfekte etmekte ve enfekte ettiği fungusların gelişiminde ve fenotipik yapısında farklılıklar meydana getirebildiği gibi, virüslensleri azaltıp arttırabilmektedirler. Fungusları enfekte eden virüslerin dsRNA genomuna sahip olmaları ve enfekte ettikleri konukçularında herhangi bir belirtiyeye neden olmamalarından bu partiküllerin tespitini zorlaştırmaktadır. Ancak günümüzde, nükleik asit temelli metotların gelişmesi ile dsRNA ekstraksiyonu ve dsRNA varlığının nükleazlar ile enzimatik parçalanması gibi yöntemlerin yardımıyla virüs varlığını tespit etmek mümkün hale gelmiştir. Yapılan birçok çalışma, mikovirüslerin funguslar üzerindeki etkisini ortaya koymak yönündedir. Bu etkinin virülensi düşüren dsRNA partiküllerinden kaynaklandığı tespit edilmiş ve çalışmalar virüsle enfekteli fungusların biyolojik mücadelede kullanılabilecek olanakları üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Fitopatojenik funguslardaki virüslerin varlığının belirlenmesi üzerine devam etmekte olan çalışmalar, yeni mikovirüslerin tanımlanmasına ve literatüre kazandırılmasına olanak sağlayacaktır.

Kestane kanseri örneğinde olduğu gibi, yakın bir gelecekte orman ağacı hastalıklarının önlenmesinde mikovirüslerin kullanımının daha da yaygınlaşacağı düşünülmektedir. Ülkemizde Akıllı vd.'nin (2009, 2012) buna yönelik gerçekleştirdikleri çalışmalar mevcuttur. Ancak, biyolojik temelli mücadele yöntemlerinin pratik ormanlık uygulamalarında kullanılması, uzun zaman ve çaba gerektiren bir uğraştır. Biyolojik mücadelede kullanılan mikovirüslü izolatların doğaya yayılması yine uzun bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu süreç tamamlandığında biyolojik savaşın başarısı da kaçınılmaz olacaktır. Kestane kanseri mikovirüslerin kullanımı ile önlenebilen ağaç hastalıklarına en güzel örneği oluşturur. Mikovirüslerden bağımsız olarak benzer bir başarı örneği de *H. annosum* s.lato'un geçmişten günümüze diğer bir fungus türü olan *Phlebiopsis gigantea* ile etkili bir şekilde gerçekleştirilen biyolojik kontrolüdür. Bu hastalık etmeni de üzerinde birçok araştırmaya konu olmuş önemli bir orman ağacı patojenidir. Fungusun yeni kesilmiş taze kütükler üzerindeki gelişimi Dünyada ve ülkemiz koşullarında biyolojik ve kimyasal yollarla her ne kadar etkili bir şekilde kontrol altına alınmış olsa da, bu hastalık etmeninin mücadelesinde mikovirüslerin kullanımı ile yeni arayışlara gidildiği görülmektedir (Ihrmark ve ark., 2002; Vainio ve ark., 2012).

Benzer şekilde *G. abietinum*, *D. sapinea* gibi önemli sürgün hastalıkları üzerindeki araştırmalar bu fungusların da mikovirüslerle enfekteli ırklarının olduğunu ve bunların patojenin mücadelesinde kullanılabileceğini göstermektedir (Tuomivirta, 2005). Nitekim *D. sapinea*'nin virüsle bulaşık ırkları ülkemizde yapılan çalışmalarla da belirlenmiştir (Aday ve ark., 2012). Laboratuvar ve kontrollü koşullarda önemli orman patojenlerinin mikovirüsler aracılığı ile önlenmesine yönelik gerçekleştirmekte

olan çalışmaların, en yakın zamanda arazi koşullarında başarılarının test edilmesi bundan sonra atılacak adımlar arasında yer almaktadır.

Hastalık etmenleri ve zararlılara karşı biyolojik esaslı mücadele çalışmalarının yaygınlaştırılması ziraat alanında olduğu kadar ormancılık uygulamalarında gereklidir. Ormancılık uygulamalarında, doğal dengeyi koruyan ve gözetilen ve bu sayede en küçüğünden en büyüğüne ekosistemin halkalarını oluşturan canlı türlerinin hiç birine zarar vermeyen metotların kullanımı büyük önem arz etmektedir. Dolayısıyla, öncelikli olarak biyolojik mücadele yöntemlerinden faydalanılarak, doğaya ve çevreye verilecek zararın en düşük düzeyde tutulması ve bu amaçla bir kaç patojen haricinde ülkemizde henüz çok fazla bilinmeyen mikovirüslerin diğer hastalık etmenlerinin kontrolünde de kullanılma olanaklarının araştırılması, ormanlarımızın sağlığını koruma altına alma adına olumlu katkılar sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR (REFERENCES)

Anagnostakis, S.L., Day, P.R., 1979. Hypovirulence conversion in *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 69: 1226–1229.

Ahn, I.P., Lee Y.H., 2001. A viral double-stranded RNA up regulates the fungal virulence of *Nectria radicola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 14: 496-507.

Aday, A.G., Lehtijarvi, A., Doğmuş-Lehtijarvi, H.T., 2012. Frequency of virus in some *Diplodia pinea* and *Gremmeniella abietina* isolates originated from Turkey. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development* 4(9): 181-183.

Akıllı, S., Katircioğlu, Y.Z., Maden, S., 2009. Vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica*, causal agent of chestnut blight in the Black Sea region of Turkey. *Forest Pathology* 39: 390-396.

Akıllı, S., Ulubaş-Serçe, Ç., Katircioğlu, Y.Z., Maden, S., Rigling, D., 2012. Characterization of hypovirulent isolates of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica* from the Marmara and Black Sea regions of Turkey. *European Journal of Plant Pathology* 135(2): 323-334.

Barker, J.L., 1979. Geographical variation in spore morphology of *Diplodia pinea*. Project No. 856. Forestry Commission of New South Wales, Sydney, Australia.

Boland, G.J., 1992. Hypovirulence and double-stranded RNA in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 14: 10–17.

Bottacin, A.M., Levesque, C.A., Punja, Z.K., 1994. Characterization of dsRNA in *Chalara elegans* and effects on growth and virulence. *Phytopathology* 84: 303-312.

Brasier, C.M., 1986. The d-factor in *Ceratocystis ulmi*: its biological characteristics implications for Dutch elm disease. In *Fungal virology*. Edited by K.W. Buck. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.

Buck, K.W., 1986. Fungal virology – an overview. In: Buck, K.W (Ed.), *Fungal virology*. CRC Press. Boca Raton, FL, pp. 1-84.

Buchanan, T.S., 1967. Diplodia twig blight of pine. In Important forest and diseases of mutual concern to Canada, the United States and Mexico. Canadian Department of Forestry and Rural Development, Ottawa, Ont. pp. 189–191.

Büchen-Osmond, A., 2004. ICTVdb Index of viruses. Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm> [Ulaşım: 20 Nisan 2006].

Choi, G.H., Nuss, D.L., 1992. Hypovirulence of the chestnut blight fungus conferred by an infectious viral cDNA. *Science* 257: 800–803.

Chou, C.K.S., 1987. Crown wilt of *Pinus radiata* associated with Diplodia of woody stems. *European Journal of Forest Pathology* 17: 398–411.

Coenen, A., Kevei, F., Hoekstra, R.F., 1997. Factors affecting the spread of doublestranded RNA viruses in *Aspergillus nidulans*. *Genetical Research* 69: 1-10.



- Cole, T.E., Hong, Y., Brasier, C.M. and Buck, K.W., 2000. Detection of an RNA-dependent RNA polymerase in mitochondria from a mitovirus-infected isolate of the Dutch elm disease fungus, *Ophiostoma novo-ulmi*. *Virology* 268: 239-243.
- Day, P.R., Dodds, J.A., Elliston, J.E., Jaynes, R.A., Anagnostakis, S.L., 1977. Double-stranded RNA in *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 67: 1393-1396.
- Dodds, J.A., 1980. Revised estimates of the molecular weights of dsRNA segments in hypovirulent strains of *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 70: 1217-1220.
- Doğmuş- Lehtijärvi, H.T., Lehtijärvi, A., Korhonen, K., 2006: *Heterobasidion abietinum* on *Abies* species in western Turkey. *Forest Pathology* 36: 280-286.
- Doğmuş- Lehtijärvi, H.T., Lehtijärvi, A., Korhonen, K., 2007. *Heterobasidion* on *Abies nordmanniana* in north-eastern Turkey. *Forest Pathology* 37: 387-390.
- Eldridge, K.G., 1957. *Diplodia pinea* (Desm.) Kickx, a parasite on *Pinus radiata*. M.Sc. thesis, University of Melbourne, Melbourne, Australia.
- Elliston, J.E., 1982. Hypovirulence. *Advanced Plant Pathology* 1: 1-33.
- Evans, J., 1987. Some growth effects of hail damage and drought in *P. patula* plantations. *South African Journal of Forestry*, 105: 8-12.
- Ghabrial, S. A., 1994. New developments in fungal virology. *Advanced Virus Research* 43: 303-388.
- Ghabrial, S.A., 1998. Origin, adaptation and evolutionary pathways of fungal viruses. *Virus Genes* 16: 119-131.
- Ghabrial, S.A., Hillman, B.I., 1999. Partitiviruses ± fungal (Partitiviridae). In: *Encyclopedia of Virology*, 2nd edn. London: Academic Press, pp. 1147-1151.
- Ghabrial, S.A., 2001. Fungal viruses. In: Maloy, O. and Murray, T., (Eds.), *Encyclopedia of plant pathology*. John Wiley & Sons, New York, pp. 478-483.
- Griffin, G. J., Robbins, N., Hogan, E. P., Farias-Santopietro, G., 2004. Nucleotide sequence identification of *Cryphonectria hypovirus 1* infecting *Cryphonectria parasitica* on grafted American chestnut trees 12-18 years after inoculation with a hypovirulent strain mixture. *Forest Pathology* 34: 33-46.
- Hamelin, R.C., Lecours, N., Hansson, P., Hellgren, M., LaFlamme, G., 1996. Genetic differentiation within the European race of *Gremmeniella abietina*. *Mycological Research* 100: 49-56.
- Heiniger, U., Rigling, D., 1994. Biological control of chestnut blight in Europe. *Annual Review of Phytopathology*, 32: 581-599.
- Hollings, M., 1982. Mycoviruses and plant pathology. *Plant Disease*, 66: 1106-1112.
- Ihrmark, K., Zheng, J., Stenström, E., Stenlid, J., 2001. Presence of double-stranded RNA in *Heterobasidion annosum*. *Forest Pathology* 31: 387-394.
- Ihrmark, K., Johannesson, H., Stenström, E., Stenlid, J., 2002. Transmission of doublestranded RNA in *Heterobasidion annosum*. *Fungal Genetics and Biology* 36: 147-154.
- Ihrmark, K., Stenström, E., Stenlid, J., 2004. Double-stranded RNA transmission through basidiospores of *Heterobasidion annosum*. *Mycological Research* 108: 149-153.
- Kaitera, J., Müller, M., Hantula, J., 1998. Occurrence of *Gremmeniella abietina* var. *abietina* large- and small-tree types in separate Scots pine stands in northern Finland and in the Kola peninsula. *Mycological Research* 102: 199-208.
- Krajacic, M., Lorkovic, Z., 1992. Double- Stranded RNA from Plants Infected with Two Tymoviruses. *Acta Biologica* 16(2): 11-19
- Lemke, P.A., Nash, C.H., 1974. Fungal viruses. *Bacteriology Review* 38: 29-56.

- Liu, Y.C., Milgroom, M.G., 1996. Correlation between hypovirus transmission and the number of vegetative incompatibility (vic) genes different among isolates from a natural population of *Cryphonectria parasitica*. *Phytopathology* 86: 79–86.
- Lückhoff, H.A., 1964. Disease of exotic plantation trees in the Republic of South Africa. In Food and Agricultural Organization of the United Nations – International Union of Forest Research Organizations Symposium on Internationally Dangerous Forest Diseases and Insects. Meeting No. VI. International Union of Forest Research Organizations, Vienna, Austria.
- Magliani, W., Conti, S., Gerloni, M., Bertolotti, D., Polonelli, L., 1997. Yeast killer systems. *Clinical Microbiology Reviews* 10: 369-400
- Marks, G.C., Minko, G., 1969. The virulence of *Diplodia pinea* to *Pinus radiata* D. Don. *Australian Journal of Botany* 17: 1–12.
- McCabe, P.M., Pfeiffer, P., Van Alfen, N.K., 1999. The influence of dsRNA viruses on the biology of plant pathogenic fungi. *Trends Microbiology* 7: 377–81
- McManus, P.S., Ewers, F.W., Fulbright, D.W., 1989. Characterisation of the chestnut blight canker and the localisation of the pathogen *Cryphonectria parasitica*. *Canadian Journal of Botany* 67: 3600–3607.
- Milgroom, M.G., Cortesi, P., 2004. Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Annual Review of Phytopathology* 42: 311–38.
- Newhouse, J.R., Hoch, H.C., MacDonald W.L., 1983. The ultrastructure of *Endothia parasitica*. Comparison of a virulent with a hypovirulent isolate. *Canadian Journal of Botany* 61: 389–399.
- Niemelä, T., Korhonen, K., 1998. Taxonomy of the genus *Heterobasidion annosum*. In: *Heterobasidion annosum*. Biology, Ecology, Impact and Control. Ed by Woodward, S., Stenlid, J., Huttermann, A., Karjalainen, R. Oxon, New York: CAB International, 27-33.
- Nuss, D.L., Koltin, Y., 1990. Significance of dsRNA genetic elements in plant pathogenic fungi, *Annual Review of Phytopathology* 28: 37–58.
- Oskay, F., Lehtijärvi, A., Doğmuş-Lehtijärvi, H.T., 2011. Yüksek Dağ Konifer Ormanlarında Karla İlişkili Fungal Patojenler. Türkiye IV. Bitki Koruma Kongresi, sayfa: 391, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Haziran 2011, Türkiye
- Palmer, M.A., Stewart, E.L., 1982. Variation in isolates of *Diplodia pinea* in the north-central United States. *Phytopathology* 72: 966.
- Palmer, M.A., Nicholls, T.H., 1985. Shoot blight and collar rot of *Pinus resinosa* caused by *Sphaeropsis sapinea* in forest tree nurseries. *Plant Disease* 69: 739–740.
- Perlerou C., Diamandis S., 2006. Identification and geographic distribution of vc types of *Cryphonectria parasitica* and occurrence of hypovirulence in Greece. *Forest Pathology* 36: 413-421.
- Rigling, D., Van Alfen, N.K., 1993. Intra- and extracellular laccases of the plant pathogenic fungus *Cryphonectria parasitica*. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 3634-3639.
- Rogers, H.J., Buck, K.W., Brazier, C.M., 1986. Transmission of double-stranded RNA and a disease factor in *Ophiostoma ulmi*. *Plant Pathology* 35: 277–287.
- Slagg, C.M., Wright, E., 1943. Diplodia blight in coniferous seedbeds. *Phytopathology* 33: 390–393.
- Sonnenberg, A.S.M., Van Griensven, L.J.L.D., 1991. Evidence for transmission of La France disease in *Agaricus bisporus* by dsRNA. In: Genetics and breeding of *Agaricus*: proceedings of the first international seminar on mushroom science, Mushroom Experimental Station, Horst, the Netherlands. Ed. by Van Griensven, L. J.L.D. Pudoc. Wageningen, the Netherlands. pp. 109-1 13.
- Sonnenberg, A.S.M., Van Kempen, I.P.J., Van Griensven, L.J.L.D., 1995. Detection of *Agaricus bisporus* viral dsRNAs in pure cultures, spawn and spawn-run compost by RTPCR. In: Science and cultivation of edible fungi, volume 2: Proceedings of the 14th International Congress, Oxford,. Ed. by Elliott, T.J. Balkema. Rotterdam, The Netherlands. pp. 587-594.

Steenkamp, E.T., Wingfield, B.D., Swart, W.J., Wingfield, M.J., 1995. First report of double-stranded RNA (dsRNA) from South African isolates of *Sphaeropsis sapinea*. In Abstracts of the 33rd Congress of the South African Society for Plant Pathology. South African Society for Plant Pathology.

Steenkamp, E.T., Wingfield, B.D., Swart, W.J., Wingfield, M.J., 1998: Double-stranded RNA and associated virulence in South African isolates of *Sphaeropsis sapinea*. *Canadian Journal of Botany* 76: 1412–1417.

Swart, W.J., Wingfield, M.J. 1991. Biology and control of *Sphaeropsis sapinea* on *Pinus* species in South Africa. *Plant Disease* 75: 761–766.

Swart, W.J., Wingfield, M.J., Palmer, M.A., Blanchette, R.A., 1991. Variation among South African isolates of *Sphaeropsis sapinea*. *Phytopathology* 81: 489–493.

Tuomivirta, T.T., Uotila, A., Hantula, J., 2002. Two independent doublestranded RNA patterns occur in the Finnish *Gremmeniella abietina* var. *abietina* type A. *Forest Pathology* 32: 197–205.

Tuomivirta, T.T., Hantula, J., 2003a. Two unrelated double-stranded RNA molecule patterns in *Gremmeniella abietina* type A code for putative viruses of the families Totiviridae and Partitiviridae. *Archive of Virology* 148: 2293–2305.

Tuomivirta, T.T., Hantula, J., 2003b. *Gremmeniella abietina* mitochondrial RNA virus S1 is phylogenically related to the members of the genus Mitovirus. *Archive of Virology* 148: 2429–2436.

Tuomivirta, T.T., Hantula, J., 2005. Three unrelated viruses occur in a single isolate of *Gremmeniella abietina* var. *abietina* type A. *Virus Research* 110: 31–39.

Uotila, A., 1983. Physiological and morphological variation among Finnish *Gremmeniella abietina* isolates. *Community Institute Forest Fennica* 119: 1–12.

Vainio, E.J., Korhonen, K., Tuomivirta, T.T., Hantula, J., 2010. A novel putative partitivirus of the saprotrophic fungus *Heterobasidion ecrustosum* infects pathogenic species of the *Heterobasidion annosum* complex. *Fungal Biology* 114: 955-965.

Vainio, E.J., Hyder, R., Aday, G., Hansen, E., Piri, T., Doğmuş-Lehtijärvi, T., Lehtijärvi, A., Korhonen, K., Hantula, J., 2012. Population structure of a novel putative mycovirus infecting the conifer root-rot fungus *Heterobasidion annosum* sensu lato. *Virology* 422(2) :366-76.

Varga, J., Kevei, F., Vagvolgyi, C., Vriesema, A., Croft, J.H., 1994. Double-stranded RNA mycoviruses in section Nigri of the *Aspergillus* genus. *Canadian Journal of Microbiology* 40: 325-329.

Van de Sande, W.W.J., Lo-Ten-Foe, J. R., van Belkum, A., Netea M.G., Kullberg, B.J., Vonk, A.G., 2010. Mycoviruses: future therapeutic agents of invasive fungal infections in humans? *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases* 29: 755–763.

Van Diepeningen, A.D., Debets, A.J.M., Hoekstra, R.F., 1998. Intra- and interspecies virus transfer in *Aspergilli* via protoplast fusion. *Fungal Genetics and Biology* 25: 171-180.

Van Regenmortel, M.H.V., 2000. Introduction to the species concept in virus taxonomy. In *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses*. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Edited by M.H.V. van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carstens, M.K. Estes, S.M. Lemon, J. Maniloff, M.A. Mayo, D.J. McGeoch, C.R. Pringle, and R.B. Wicker. Academic Press, New York. pp. 3–16.

Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E.B., Estes, M.K., Lemon, S.M., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D.J., Pringle, C.R., Wicker, R.B., 2000. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses*. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, New York.

Wang, C.G., Blanchette, R.A., Jackson, W.A., Palmer, M.A., 1985. Differences in conidial morphology among isolates of *Sphaeropsis sapinea*. *Plant Disease* 69: 838–841.

Wang, C.G., Blanchette, R.A., 1986. Ultrastructural aspects of the conidium cell wall of *Sphaeropsis sapinea*. *Mycologia* 78: 960–963.

Waterman, A.M., 1943. *Diplodia pinea*, the cause of disease of hard pines. *Phytopathology* 33: 1018–1031.

Wingfield, M.J., Knox-Davies, P.S., 1980. Association of *Diplodia pinea* with a root disease of pines in South Africa. *Plant Disease* 64: 221–223.

Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Huttermann, A., 1998. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. Wallingford. New York: CAB International.

Wright, J.P., Marks, G.C., 1970. Loss of merchantable wood in radiata pine associated with infection by *Diplodia pinea*. *Australian Journal of Forestry* 34: 107–119.

Zwolinski, J.B., Swart, W.J., Wingfield, M.J., 1990a. Intensity of dieback induced by *Sphaeropsis sapinea* in relation to site factors. *European Journal of Forest Pathology* 20: 167–174.

Zwolinski, J.B., Swart, W.J., Wingfield, M.J., 1990b. Economic impact of a post-hail outbreak of dieback induced by *Sphaeropsis sapinea*. *European Journal of Forest Pathology* 20: 405–411.