

Kestane Kanseri Etmeni *Cryphonectria parasitica*'nın Türkiye'deki Güncel Durumu

Current Situation of *Cryphonectria parasitica*, the Causal Agent of Chestnut Canker, in Turkey

Deniz ÇAKAR^{1,*}

¹Central Research Laboratory Application and Research Center, Çankırı Karatekin University, Çankırı 18100, Türkiye

Eser Bilgisi / Article Info
Derleme / Review

Geliş tarihi / Received

21.12.2022

Kabul tarihi / Accepted

26.12.2022

Yayın tarihi / Published

31.12.2022

Anahtar kelimeler

Kestane kanseri, biyolojik kontrol, fungus

Keywords

Chestnut blight, biological control, fungi

Abstract

Chestnut blight caused by the *Cryphonectria parasitica*, is an important disease of chestnut trees. This disease was reported for the first time in 1967, and after the introduction of the disease, it was disseminated in many chestnut growing areas causing severe damages. Later on, naturally healed cankers were identified. A virus, named as *Cryphonectria hypovirus* reduced the virulence of the pathogen and the cankers were healed. The hypovirus was investigated in detail and was started to be used for the biological control of the diseases. This review contains information about the current situation of chestnut blight and its biological control in Turkey.

Özet

Cryphonectria parasitica isimli fungusun neden olduğu kestane kanseri hastalığı, kestane ağaçlarında kurumalara yol açan önemli bir hastalıktır. Türkiye'de bu hastalık ilkez 1967 yılında tespit edilmiş ve sonrasında hastalık birçok bölgeye yayılmış ve kestane ağaçlarında önemli derecede kayıplara yol açmıştır. Daha sonra hastalığın olduğu bölgelerde doğal olarak iyileşmiş kanserler tespit edilmiştir. Kanserlerdeki bu iyileşme durumuna fungusun bir mikovirüsle enfekte olması nedeniyle virülensliğinin azalmasının neden olduğu ortaya çıkmıştır. Hipoviridea familyasında bulunan mikovirüsler tarafından *C. parasitica*'nın enfeksiyonu ile oluşan hipovirulent strainlerin kanserlere uygulanması şeklinde kullanımı, kestane kanseriyle biyolojik mücadele çalışmasının temelini oluşturmuştur. Bu derlemede, ülkemizde kestane kanserinin güncel durumu ve biyolojik savaşımı ile ilgili çalışmalar ele alınmıştır.

1. INTRODUCTION

Castanea sativa Mill., diğer bir adıyla Anadolu kestanesi; odunu, balı ve

meyvesi hatta çiçeği ile birçok kullanım alanına sahip çok yönlü bir orman ağacıdır. Türkiye Dünya'da kestane meyve üretiminde yaklaşık 81.323 ha

alanla 4. sırada yer almaktadır (OGM 2021; FAOSTAT D 2022).

Gerek ekolojik açıdan gerekse ekonomik açıdan değerli bir ağaç olan kestane, birçok hastalık ve zararlı ile karşı karşıya kalmaktadır. Kestane hastalıklarının en önemlilerinden birisi, *Cryphonectria parasitica* (Murr.) M.E. Barr (syn: *Endothia parasitica* (Murr.) isimli fungusun sebep olduğu kestane kanseri hastalığıdır.

Bu hastalığın ilk olarak 1904 yılında Amerikan kestanesinde (*Castanea dentata* (Marsh.) Borkh.) yıkıcı bir hasara neden olduğu tespit edilmiştir (Merkel 1905). Daha sonra hastalık etmeni Avrupa'ya oradan da Türkiye'ye yayılmıştır. Avrupa'da ilk olarak 1938 yılında İtalya'da görülen bu etmen (Biraghi 1946), ülkemizde ise 1967 yılında ilk olarak Marmara Bölgesinde, Kocaeli (Gölcük, Karamürsel) ve İstanbul (Şile, Beykoz)'da kayıt edilmiştir (Akdoğan ve Erkam 1968; Delen 1975).

Hastalığın ülkemizde ilk kaydından sonra birçok bölgede görüldüğü ve ağaçlarda aşırı kurumalara neden olduğu bildirilmiştir (Coşkun et al. 1999; Gürer et al. 2001; Akıllı et al. 2009).

Etmen fungus *C.parasitica*, yara paraziti bir fungus olmasından dolayı

konukçusuna ağaçtaki yaralardan giriş yapmaktadır. Etmen, kabuk altında ilerleyerek ağaçların iletim demetlerini tıkamakta ve su alımını engelleyerek dallarda uçtan itibaren kurumalara yol açmaktadır (Rigling and Prospero 2018). Hastalık etmeni yalnızca ağacın toprak üstü kısımlarını yani gövde, dal ve ince dallarını enfekte etmektedir (Heinger and Rigling 1994).

Hastalık etmenine karşı etkili ve hızlı bir mücadele olmaması sebebiyle etmen kestane ağaçları arasında hızlı bir şekilde yayılmış, ağacın odunu ve meyvesini etkileyerek verimini ve kaliteyi düşürmüştür. Kestane ağacındaki bu çok yönlü verim kaybı orman köylüsünü de ekonomik olarak etkilemiştir. Bu hastalık, karantina hastalıklarından biri olmasına rağmen alınan önlemler Dünya'da bu hastalığın yayılmasına engel olamamıştır (EPPO 2005). Bu hastalıkla mücadelede Dünya'da ve ülkemizde uygulanan en etkili yöntem biyolojik mücadele çalışmalarıdır. Hastalıkla mücadele hipovirüent bir fungus straini, yani bir virüsle enfekteli etmen fungusun tedavi edici olarak kullanılmasına dayanmaktadır (Robin et al. 2000; Milgroom and Cortesi 2004; Heiniger and Rigling 2009; FAO 2014; Çakar et al. 2020).

Cryphonectria parasitica'nın yaşam döngüsü ve üremesi

Hastalık etmeni *C. parasitica*, Sordariomycete (Ascomycete) sınıfında, Cryphonectriaceae (Order Diaporthales) familyasına ait fungustur (Rigling and Prospero 2018). Hastalık etmeni *C. parasitica*'nın ana konukçuları Amerikan kestanesi (*C. dentata* (Marsh.) Borkh.), Avrupa kestanesi (*C. sativa*), Çin kestanesi (*C. mollissima* Blume) ve Japon kestanesi (*C. crenata* Siebold & Zucc.)'dir (Rigling and Prospero 2018).

Bu etmenin eşeyli ve eşeysiz sporları enfeksiyona neden olabilir. Fungusun dokuya girişi ile birlikte spor çimlenmesinden sonra ilk lezyonlar görülmeye başlamakta, dokuda ilerlemesiyle de kabuk kanseri oluşmaktadır (Şekil 1). İlerleyen dönemlerde etmen enfekteli kabukta ve ölü kestone odununda spor yığınları meydana getirmektedir (Prospero et al. 2006).



Şekil 1. Kestane ağacında aktif kanser

Cryphonectria parasitica'nın eşeyli dönem üreme yapıları olan peritesleri 10 veya 20'li gruplar şeklinde görülmektedir. Askosporları şeffaf (hyaline), iki hücreli, bölmede daralmış olup 10 x 4 µm boyutlardadır. Eşeysiz üreme yapısı olan konidileri, sarımsı iplikçik görünümünde, şeffaf, hafif kıvrılmış veya düz olup, 2-3 x 1 µm'dir. Eşeyli ve eşeysiz sporları stroma içerisinde oluşmaktadır. Peritesleri, stromada çok belirgin bir halde oluşmaktayken, eşeysiz sporları ise stroma içinde kadehe benzeyen ağız geniş bir yapı içinde oluşmaktadır (EPPO 2005).

Bu fungus heterothallik'tir, yani eşeyli çoğalması için farklı iki tipte yapıları vardır. *Cryphonectria parasitica*'da eşleşme (mating), tek bir eşleşme tipi (mating type) *MAT* lokusu tarafından kontrol edilmektedir. Bu lokus ya *MAT-1* ya da *MAT-2* alleli içermektedir (Marra and Milgroom 2001). Bu nedenle

fungus kendi içinde eşeyli üreyememektedir. Eşeyli üremenin olabilmesi için eşey yönünden bu iki eşleşme tipinin birarada olması gerekmektedir (Milgroom et al. 2008). Ayrıca *C. parasitica*'nın doğal popülasyonlarda yapılan araştırmalar, bu etmenin değişik frekanslarda meydana gelen kendi dölleme (self-fertilization) ve karşı dölleme (outcrossing) ile karışık bir mating sistemine sahip olduğunu göstermiştir (Marra et al. 2004). Kendi döllenen izolatlar, eşleşme tipi için heterokaryotiktir (McGuire et al. 2004) ve bu heterokaryonlar çift ebeveynli eşleşme veya mitotik crossing over içeren paraseksüel rekombinasyonla meydana gelmektedir (Milgroom et al. 2009).

***Cryphonectria parasitica*'nın vejetatif uyum tipleri**

Vejetatif uyumsuzluk funguslarda yaygın olarak görülmektedir. Funguslarda vejetatif uyumsuzluk sitoplazmik olarak geçen hastalıklara karşı bireyler arasında sitoplazmik değişim ve hifsel birleşmeyi önleyen bir nevi savunma mekanizması olarak görülmektedir (Caten 1972). Ancak vejetatif uyumsuzluk *C. parasitica*'da bireyler arasında virülensi düşüren mikovirüslerin yatay geçişini kısıtladığı için önemli bir durum olmuştur (Anagnostakis 1977).

Fungusların gerek eşeyli gerekse eşeysiz üreme döngülerinde hücresel tanıma önemlidir (Ni et al. 2011). Vejetatif hifler arasında birkaç *vic* lokusu tarafından vejetatif uyumsuzluk sistemi (vegetative incompatibility=*vic*) yönetilir (Paoletti 2016). Fungusun vejetatif olarak uyumsuz hiflerin birleşmesi sırasında uyumsuz *vic* gen proteinleri arasındaki reaksiyon programlanmış bir hücre ölümüne neden olmaktadır. Böylelikle sitoplazmik değişim ve heterokaryon şekli önlenmektedir (Cornejo et al. 2019).

Hipovirüent strainler sahip olduğu, çift iplikçikli RNA virüsünü (double-stranded RNA viruses=*dsRNA*) hifsel kaynaşma (anastomosis) yoluyla, virüent strainlere aktararak onları hipovirüent hale dönüştürebilir (Heiniger and Rigling 1994). Etmenin sitoplazmasında bulunan hipovirüsler sadece uyumlu fungus hiflerinin birleşmesiyle (anastomosis) geçmektedirler (Anagnostakis 1977; Jaynes and Elliston 1980; Griffin et al. 2004; Milgroom and Cortesi 2004). Bu aşamada fungusun hifsel uyumu önemlidir. Şuana kadar iki allelli, altı *vic* lokusu ve $2^6 = 64$ *vic* genotipleri veya vejetatif uyumluluk (vegetative compatibility=*vc*) tipleri tanımlanmıştır. Aynı *vc* uyum tipinde yer alan *C. parasitica* izolatları, tüm *vic* lokuslarında

aynı allellere sahiptir yani vejetatif uyumluluk göstermektedir (Biella et al. 2002). Fakat bazı araştırmalar, bilinen tüm *vic* lokusuna sahip ancak bilinen uyum tipleri ile uyum göstermeyen yeni farklı uyum tipleri de tespit etmeye başlanmıştır (Short et al. 2015).

Elde edilen bulgular doğrultusunda, *C. parasitica*'nın vejetatif uyumsuzluğunu kontrol eden *vic* lokusunun altıdan fazla olduğu ya da bilinen *vic* lokusuna ek aleller olduğunu göstermektedir. Buna bağlı olarak *C. parasitica*'nın bilinen 64 uyum tipine ek 10 yeni uyum tipi varlığı daha tespit etmiştir (Rigling and Prospero 2018; Cornejo et al. 2019).

Cryphonectria parasitica izolatları arasında virüs geçişi, vejetatif uyumsuzluk genleri tarafından kontrol edilmektedir (Cortesi et al. 2001). Alıcı ve verici izolatlar aynı *vic* genotipine sahipse virüs transferi %100, fakat heteroallelizm bir veya daha fazla *vic* lokusunda ise virüs geçişi düşmektedir. Tek heteroallelik lokuslar da virüs geçişi değişkendir. *vic* lokusunda heteroallelizm, asimetri ve epistasis (yani bir genin etkisinin ilgili olmayan diğer bir gen ile baskılanması) virüs geçişin de rol oynayan baskın faktörlerdir. Ayrıca istatistiksel olarak değerlendirildiğinde konukçu bilgisi (background) de önemli olduğu bulunmuştur. Bu verilere göre virüs

transferinde tüm varyasyonların yalnızca *vic* genleriyle ilişkili olmadığı da görölmektedir.

Türkiye'de vejetatif uyum tipi tespit çalışmaları

Ölkemizde ilk çalışmalar etmenin varlığının tespiti, yaygınlık tespiti, vejetatif uyum tipi, hipovirüslüğün varlığı ve izolat eldesi üzerine olmuştur (Coşkun et al. 1999; Çeliker 2000; Gürer et al. 2001).

Hipovirüslüğün tespiti kadar uyum tiplerinin tespiti de hypovirüslerin taşınabilmesi ve uygulamaların başarısı için çok önemlidir.

Çeliker ve Onoğur (1998, 2009) Karadeniz, Marmara ve Ege Bölgelerinde çalışmalar yürütmüşlerdir. Elde ettikleri *C. parasitica* izolatlarından yaygın olarak %93,3 oranında EU-1, belirli sahalarda %6,7 oranında EU-12 uyum tipini tespit etmişlerdir. Coşkun et al. (1999) Marmara, Doğu ve Batı Karadeniz Bölgelerine ait 265 izolat üzerinde Avrupa uyum tipinden farklı bir grupta olan İtalyan uyum tipi olarak adlandırılan gruba ait 10 İtalyan tipi ve 2 Avrupa uyum tipi (EU-4, EU-5) tespit etmişlerdir. Ancak çalışmada bahsedilen İtalyan uyum tipleri ile ilgili net bir bilgi elde edilememiştir.

Gürer et al. (2001) ise Karadeniz ve Marmara Bölgesinden elde edilen 134 *C. parasitica* izolatının uyum tipini EU-1 olarak belirtmişlerdir. Döken et al. (2004) Aydın Bölgesinden elde edilen 97 *C. parasitica* izolatında EU-12 ve EU-1 tespit etmişlerdir. Akıllı et al. (2009) Karadeniz Bölgesinden, 11 farklı il, 32 lokasyondan 296 izolatın EU-14, EU-1, EU-2, EU-12, EU-5 olmak üzere 5 uyum tipini saptayarak ülkemizde farklı uyum tipleri olabileceğini ortaya çıkarmışlardır. O ana kadar tespit edilen uyum tiplerinden farklı beş uyum tipinin tümünün sadece Kastamonu ilinde çok düşük oranlarda olduğu bildirilmiştir.

Erincik et al. (2011) iki ilde yürüttüğü çalışmada, Aydın'da %77 EU-1, %23, EU-12; İzmir'de, EU-12 %70, EU-1 %30 oranında tespit etmişlerdir.

Akıllı (2012) Bursa ve Yalova'da 15 farklı sahada 198 *C. parasitica* izolatının Avrupa uyum tiplerinden EU-1 olarak tespit etmiştir. Orman Genel Müdürlüğü (OGM) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 'nün iş birliği ile yapılan proje sonucunda İzmir yöresinde EU-1, EU-12'in yaygın olduğu belirtilmiştir (FAO 2014). Daldal (2015) İzmir, Denizli, Manisa ve Muğla il sınırlarındaki 19 köyden 268 izolat üzerinde çalışmalar yürütmüş ve İzmir ilinde, EU-12, EU-2 ve EU-1; Manisa ve

Denizli illerinde EU-12 ve EU-1 uyum tiplerini belirlemiştir.

Mangıl (2017) Artvin, Rize ve Trabzon illerinden 344 izolatla yaptığı uyum tipi çalışmasında, 235'i EU-1, 23'ü EU-17, 21'i EU-12, 14'ü EU-3 olduğu, 51 izolat içinse herhangi bir uyum tipinde tespit edilmediğini bildirmiştir.

Hatipoğlu (2019) Doğu Karadeniz bölgesinde *C. parasitica*'nın ve tiplerini, vic genlerine dayalı 6 vic lokusları markör sistemini kullanarak, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile 20 arazi izolatının EU-2, EU-3, EU-7, EU-8, EU-12, EU-17, EU-21, EU-22, EU-30 ve EU-55 olmak üzere ve uyum tiplerini tespit ederken 30 adet tek askospor izolatlarının ve uyum tiplerini ise EU-1, EU-2, EU-3, EU-5, EU-8, EU-11, EU-12, EU-17, EU-21, EU-22, EU-29, EU-35, EU-36, EU-51 ve EU-58 olarak tespit edilmiştir.

Çakar vd. (2021) Bolu ve İzmir Orman Bölge Müdürlüğünde uyum tipi çalışmaları yürütmüşlerdir. Bu çalışmada İzmir yöresinden 2015 ve 2016 yılında elde ettikleri 409 izolat için 255 tanesinin Avrupa uyum tipi EU-12, 154 tanesinin EU-1 olduğunu belirtmişlerdir. Bolu Orman Bölge Müdürlüğü kestane alanlarından iyileşen kanserlerden izole edilmiş 76 adet izolatın 2 adedinin EU-12,

72 adedinin ise EU-1 uyum tipi olduğu saptanmıştır. Çakar (2022), Kestane üretimin yoğun olduğu 13 bölgeden iyileşmiş kanserler ve aktif kanserlerden toplamda 215 kabuk örneği toplamış ve ülkemizde en yaygın olan iki uyum tipinin (EU-1 ve EU-12) olduğunu tespit etmiştir. Ülkemizde yapılam tüm çalışmalar değerlendirildiğinde; son zamanlarda Ege Bölgesinde sınırlı bir alanda, düşük oranda EU-2 uyum tipi bulunmasına rağmen (Daldal 2015) ülkemizde *C. parasitica*'nın vc tip çeşitliliğinin fazla olmadığı, yaygın olarak da EU-12 ve EU-1 uyum tiplerinin olduğu görülmektedir.

Cryphonectria hypovirus (CHV)

Cryphonectria hypovirus'ler, *C. parasitica*'da viral bir enfeksiyona neden olan Hypoviridae familyasında bulunan mikovirüslerdir (Choi and Nuss 1992). Hipovirüsler positive-strand RNA virüsleridir. Konukçularının sitoplazmasında bulunurlar ve vejetatif uyumluluk gösteren fungus hiflerinin kaynaşması yoluyla sitoplazmalarının birleşmesi ile taşınırlar (Anagnostakis and Day 1979, Jaynes and Elliston 1980, Griffin et al. 2004, Milgroom and Cortesi 2004, Perlerou and Diamandis 2006). *Cryphonectria parasitica*'da enfeksiyona yol açan *Cryphonectria hypovirus* (CHV) 'ün, 1.2.3 ve 4 olarak adlandırılan 4 tipi vardır.

Bu virüsler filogenetik olarak CHV-1 ile benzerlik göstermekte fakat fungal konukçuda farklı etkilere sahiptir. CHV-1 en yaygın görülen ve en çok bilinenidir. CHV-2 ve CHV-3, *C. parasitica*'da hipovirülensliğe neden olmaktadır ancak CHV-4 hipovirülensliği sağlamamaktadır (Rigling et al. 2021). CHV-4 genom yapısı nedeniyle taksonomik olarak hipovirüstür ancak diğer hipovirüslere benzemekle birlikte diğer virus tiplerine göre virülenslikleri ya yoktur ya da azdır (Enebak et al. 1994; Peever et al. 2000; Milgroom and Cortesi 2004).

Avrupa'da en çok yayılım alanına sahip olan ve en çok bilinen virus tipi CHV-1'dir (Alleman et al. 1999). Kuzey Amerika'da CHV-1'e birkaç alan dışında rastlanmamış, en yaygın hipovirüs CHV-3 ve CHV-4 olup (Griffin 1999; Peever et al. 1997; Anagnostakis 2001; Liu et al. 2002) ayrıca CHV-2 de bulunmaktadır (Hillman et al. 1992, 1994; Chung et al. 1994). Asya'da ise hem CHV-1 hem de CHV-2 bulunmaktadır (Peever et al. 1998; Liu et al. 2003). Avrupa'da kestane kanserine karşı biyolojik kontrolde CHV-1'in en etkili hipovirüs olduğu bildirilmektedir (Rigling and Prospero 2018). Avrupa'da CHV-1'in alt tipleri (subtype) tanımlanmıştır (Alleman et al. 1999; Gobbin et al. 2003). İtalyan alt tipi (subtype I) en yaygın olanıdır ve İtalya,

İsviçre, Güneydoğu Fransa, Bosna Hersek, Hırvatistan, Slovenya, Makedonya, Yunanistan ve Türkiye’de baskın olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Alleman et al. 1999; Sotirovski et al. 2006; Krstin et al. 2011; Akıllı et al. 2013). CHV-1 alt tiplerinden Fransa’da F1 ve F2 (Feau et al. 2014), İspanya’da F1, F2, E ve D (Gobbin et al. 2003; Zamora et al. 2012) Almanya’da E ve D (Peters et al. 2014) ve Türkiye’nin doğusunda F2 alt tipi (Akıllı et al. 2013) tespit edilmiştir. Son zamanlarda Gürcistan’da bir çalışmada izolatlardan elde edilen CHV-1’in tüm hipovirüs strainleri belirgin bir şekilde farklı bir filogenetik grupta yer almış ve araştırmacılar Georgian CHV-1 alt tipi (subtype G) isimli yeni bir hipovirüs alt tipi önermişlerdir (Rigling et al. 2018).

Dünya’da hipovirüslerin *C. parasitica*’nın virülensliğini azalttığına tespiti üzerine hipovirulent olarak tanımlanan bu virüsü içeren *C. parasitica* izolatları yapay inokulasyon ile bulaştırmaları yolu biyolojik savaşta sık kullanılan bir yöntem olmuştur. Hipovirulent *C. parasitica* ile enfeksiyonlu kanserlerde fungusun etkinliği azaldığı için yeni kallus dokusu gelişmekte ve ağaçlar iyileşmektedir. Bu tarz kanserler hafif şişkin görünümündedir ve kabuk

kaldırıldığında kabuk altında canlı doku görülmektedir (Şekil 2). Bu şekildeki kanserlere iyileşen kanserler denilmekte ve bu kanserlerin ağaca zararı yok veya az zarar meydana getirmektedir. (Milgroom and Cortesi 2004).



Şekil 2. İyileşmeye başlamış bir kanser, yeni bir kallus dokusu oluşturan kanserli kabuk görüntüsü

Hipovirüsün dağılımında ve uyum tipleri sınırlayıcı rol oynamaktadır. Avrupa ülkelerinde ve tipleri sınırlı ancak Amerika’da uyum tipi çeşitliliği fazladır. Bu da Avrupa ülkelerinde biyolojik mücadele çalışmalarının daha başarılı yürümesini sağlamaktadır.

Vejetatif uyumsuzluğun, hipovirülensliğin dağılmasında her zaman bir ana engel olmadığı bazı çalışmalarda görülmektedir. Robbins (1997)’ye göre farklı ve tipleri arasında eşleştirmelerde izolatların hipovirülensliğe dönüşüm sağladığı görülmüştür. Anagnostakis

(1981) de vejetatif uyumsuz bazı *C. parasitica* strainlerinin zayıf baraj zonu meydana getirmiş olsa da strainlerin çoğunda hipovirüent fenotipin aktarıldığını göstermiştir. Bu çalışmalar laboratuvar koşullarında yapılmıştır ve ormanlık alanda bu dönüşümün kolay olmayacağı kanısı vardır (Robbins 1997). Cortesi et al. (2001) çalışmalarında farklı uyum tipleri arasında virüs geçişini kanıtlamıştır.

Biyolojik Mücadele

Ülkemizde uyum tipi çalışmaları birçok bölgede yapılmıştır. Uyum tipi çeşitliliğinin az olması ve doğal yayılım gösteren hipovirüensliğin bulunması, *C. parasitica*'nın hipovirüent izolatları araziden temin edilmesi, ülkemizde biyolojik mücadele çalışmalarının yürütülebilmesi için avantajdır.

Çoşkun et al. (1999), Türkiye'de *C. parasitica*'nın hipovirüent strainin varlığını ortaya çıkarmıştır. Hipovirüent izolatları kullanarak yapılan ilk biyolojik mücadele çalışmaları Gürer et al. (2001) tarafından 1999 yılında arazide doğal fidanlara hipovirüent strainlerin uygulanması ile başlatılmıştır.

Birçok araştırmacı tarafından hipovirüent izolatların etkinlikleri de ortaya konmuştur (Akıllı et al. 2009, 2013). Bu sonuçlarla Orman Genel

Müdürlüğü biyolojik mücadele çalışmalarına başlamıştır. FAO ve OGM arasında, 2008-2009 yılında yapılan TCP / TUR / 3201 "Support to Turkish Government in development and implementation of a Feasibility Study (FS) for management of chestnut blight in chestnuts and other hardwoods" isimli bir proje ile hastalık durumu ve yapılması gereken işlemler belirlenmiştir. Daha sonra 'TCP / TUR / 615676 FAO-Management of Chestnut Blight And Increased Capacity For Improving Forest Health And Vitality' isimli başka proje yürütülmüştür. Bu proje kapsamında pilot bölgeler (Kütahya, İzmir ve Sinop) seçilmiş ve biyolojik mücadele çalışmaları başlatılmıştır. Çalışmalar sonunda aktif kanserlerde iyileşmeler tespit edilmiştir. Çeliker et al. (2017), Ege Bölgesinde Manisa/Turgutlu'da yapay inokulasyonlarla hipovirüent izolatları kullanarak biyolojik mücadele çalışmaları yürütmüşler ve hipovirüensliğin yayıldığını tespit etmişlerdir. Çakar vd. (2018, 2020), İzmir yöresinde, uygun hipovirüent izolatları kullanarak biyolojik mücadele çalışmaları yürütmüşler ve uygulama yapılmayan kanserlerde de iyileşmeler gözlemlemişlerdir.

2. SONUÇ

Cryphonectria parasitica, kestane ağacının önemli bir hastalığıdır. Hastalığın tespiti, vejetatif uyum tiplerinin ve içerdikleri hipovirüslerin ve alt tipleri üzerine ülkemizde birçok çalışma yapılmıştır (Coşkun et al. 1999; Erincik et al. 2008; Akıllı et al. 2013).

Türkiye’de yapılan çalışmalarda, kestane kanserinin kestane yetişen tüm alanlarımızda bulunduğu tespit edilmiştir. Karadeniz ve Marmara Bölgesinde hem aktif kanserlerin hem de iyileşmiş kanserlerin bulunduğu kayıt edilirken (Akıllı et al. 2009), Ege Bölgesinde ise sadece aktif kanserlerin bulunduğu tespit edilmiştir (FAO 2014; Erincik et al. 2011; Akıllı Şimşek et al. 2019; Çakar et al. 2020).

Bu hastalıkla mücadele de Dünya’da ve ülkemizde en etkili mücadele yöntemi olan biyolojik mücadele üzerine çalışmalar yürütülmüştür (FAO 2014; Akıllı et al. 2019; Çakar et al. 2020).

Biyolojik mücadele çalışmalarının temeli fungusun hipovirulent strainine dayanmaktadır (Choi and Nuss 1992) yani fungusun sitoplazmasında bulunan hipovirüsler önem arz etmektedir. Hipovirüsler *C. parasitica*’nın sitoplazmasında bulunur ve enfekte ettiği

fungusun fenotipinde ve virulensliğinde farklılıklar meydana getirebilme yeteneğindedir. Hipovirüsler dsRNA genomuna sahiptir ve virulent fungusa girdiklerinde fungusun virulansını azaltmakta ve kanserlerin iyileşmesine yol açmaktadırlar.

Biyolojik mücadele çalışmalarında başarı için fungusun vejetatif uyum tiplerinin tespiti ve uygun hipovirüsün kullanımı önemlidir.

Ülkemizde, FAO ve OGM’nün 2012-2014 yılları arasında yürütülen projesi kapsamında biyolojik mücadele çalışmalarını yürütülecek Bolu’da bir laboratuvar kurulmuştur ve bu laboratuvar kestane kanseriyle enfekteli alanlarda mücadele çalışmalarını yürütmektedir.

Ülkemizin bazı bölgelerinde doğada kendiliğinden var olan iyileşmiş kanserler tespit edilmiş (Akıllı et al. 2009, 2019; Çakar et al. 2020, 2021) bazı bölgelerimizde ise doğada kendiliğinden var olan iyileşmiş kanserler bulunmadığı gözlemlenmiştir (Ericik et al. 2008; FAO 2014; Akıllı Şimşek et al. 2019; Çakar et al. 2020).

Biyolojik mücadele çalışmalarını özellikle doğal iyileşmelerin olmadığı alanlarda yapılmaya başlanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (FAO 2014;

Çakar vd. 2018). Özellikle uygun hipovirüsle uygulama yapılan İzmir ve Aydın kestane sahalarında doğal hipovirüs yayılımının da başladığı yaptığımız arazi çalışmaları ve kestane üreticilerinin geri bildirimleri ile tespit edilmiştir (Çakar et al. 2018, 2020).

Bu uygulamalarda hipovirulent izolatların en etkili yöntemi daha önce araştırmacılarca tespit edilen klasik yöntem olarak adlandırılan kanserlerin etrafına mantar delici (cork borer) kullanılarak delikler açılıp, hipovirulent fungus macunlarının bu deliklere yerleştirilmesi ile yapılmaktadır. Macun ise uygun besi ortamında petrielerde geliştirilen hipovirulent izolatların steril koşullarda bir parçalayıcı ile karıştırılması ile oluşturulmaktadır. Bu şekliyle kanserlere uygulama daha kolay hale gelmektedir (FAO 2014; Akıllı et al. 2019). Ancak araştırmacılar kanser etrafındaki kabuklardan kabuk delici kullanılarak açılan çukurlara macun yapılmış hipovirulent izolatın uygulanması, çivili bir el düzeneği ile yaralanmış kanserler üzerine seyreltilen hipovirulent macunu fırça kullanarak uygulama, yaralanmayan kanserlere seyreltilen hipovirulent macunun fırçayla uygulanması gibi üç farklı yöntemi de kıyaslamıştır. Bu çalışmada en etkili yöntemin yine klasik yöntem olduğu bulunmasına rağmen,

ulaşılması güç kanserlere bu şekilde uygulamalar zor olduğu için, çiviler bulunan el düzeneği ile yaralanmış kanserlere sıvılaştırılmış hipovirulent macunun fırça ile uygulanmasının daha pratik olacağı önerilmiştir (Çakar et al. 2020)

Cryphonectria parasitica ile gerek ülkemizde gerekse dünyada mücadelede en etkili yöntem olan biyolojik savaş ülkemizde de geniş alanlardaki kestane sahalarında başarılı sonuçlar vermeye başlamıştır. Biyolojik savaş uygulaması tüm Dünya’da kabul edilmiştir. Ancak üzerinde çalışılması gereken konu; hipovirulent uygulama yönteminin pratikliğini sağlamak, yeni uyum tiplerine karşı kullanılabilir hipovirüs içeren uyumlu fungus izolatlarını elde etmek olmalıdır. Ayrıca kestane kanserlerine karşı vejetatif uyumdan dolayı kullanımı sınırlı olan hipovirulent izolatların yerine sınırlayıcı bir etkisi olmadan doğada hızlı yayılabilecek antagonistik fungusların ve bakterilerin etkileri de araştırılmıştır (Akıllı 2008; Akıllı et al. 2011; Kolp et al. 2018).

Bu konuda da *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp, *Bacillus* sp. gibi etmenler kullanılarak yapılan başarılı biyolojik kontrol deneme çalışmaları bulunmaktadır (Akıllı et al. 2011; Groome et al 2001). Bu nedenle antagonist funguslar ile

C. parasitica arasındaki ilişki incelenmeye devam edilmelidir (Kolp et al. 2018).

Yazar Katkısı

Bu çalışmada tüm yazarlar eşit bir şekilde çalışmışlardır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan etmektedir.

Teşekkür

Prof. Dr. Salih MADEN ve Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK'e çalışmaya katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Kaynaklar

Allemann C, Hoegger P, Heiniger U & Rigling D (1999) Genetic variation of *Cryphonectria hypoviruses* (CHV1) in Europe, assessed using restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Molecular Ecology*, 8(5), 843-854.

Anagnostakis S (1977) Vegetative incompatibility in *Endothia parasitica*. *Experimental Mycology*, 1, 306-316.

Anagnostakis SL & Day PR (1979) Hypovirulence conversion in *Endothia parasitica*. *Phytopathology*, 69(12), 1226-1229.

Anagnostakis SL & Waggoner PE (1981) Hypovirulence, vegetative incompatibility and the growth of cankers of chestnut blight. *Phytopathology*, 71(1), 1198-1202.

Akdoğan S & Erkan E (1968) Dikkat! Kestane kanseri görüldü. *Tomurcuk* 1: 4-5.

Anagnostakis SL (2001) American chestnut sprout survival with biological control of the chestnut-blight fungus population. *Forest Ecology and Management*, 152(1-3), 225-233.

Akıllı S, Katırcıoğlu YZ & Maden S (2009) Vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica*, chestnut blight agent, in Black Sea region. *Forest Pathology*, 39(6), 390-396.

Akıllı S, Katırcıoğlu YZ & Maden S (2011) Biological control of chestnut canker, caused by *Cryphonectria parasitica*, by antagonistic organisms and hypovirulent isolates. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35(5), 515-523.

Akıllı S (2012) Feasibility of biological control of chestnut blight caused by *Cryphonectria parasitica*, in Marmara region of Turkey. *African*

- Journal of Agricultural Research, 7(45), 6068-6072.
- Akıllı S, Ulubaş-Serçe Ç, Katırcıoğlu YZ Maden S & Rigling D (2013) 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.
- Akıllı Şimşek SA, Katırcıoğlu YZ, Borst N, Çakar D, Prospero S, Rigling D & Maden S (2019) Identification and characterization of hypovirus-infected *Cryphonectria parasitica* isolates from biological control plots in İzmir, Kütahya, and Sinop. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43(6), 527-537.
- Biella S, Smith ML, Aist JR, Cortesi P & Milgroom MG (2002) Programmed cell death correlates with virus transmission in a filamentous fungus. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 269(1506), 2269- 2276.
- Biraghi A (1950) La distribuzione del cancro del castagno in Italia. *L'italia Forestale e Montana*, 5, 18-21.
- Caten CE (1972) Vegetative incompatibility and cytoplasmic infection in fungi. *Journal of General Microbiology*, 72(2), 221-229.
- Choi GH & Nuss DL (1992) Hypovirulence of chestnut blight fungus conferred by an infectious viral cDNA. *Science*, 257(5071), 800-803.
- Choi GH, Dawe AL, Churbanov A, Smith ML, Milgroom MG & Nuss DL (2012) Molecular characterization of vegetative incompatibility genes that restrict hypovirus transmission in the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *Genetics*, 190(1), 113-127.
- Cornejo C, Šever B, Kupper Q, Prospero S & Rigling D (2019) A multiplexed genotyping assay to determine vegetative incompatibility and mating type in *Cryphonectria parasitica*. *European Journal of Plant Pathology*, 155(1), 81-91.
- Cortesi P, McCulloch CE, Song H, Lin H & Milgroom MG (2001) Genetic control of horizontal virus transmission in the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Genetics*, 159(1), 107-118.
- Coşkun H, Turchetti, T, Maresi G & Santagada A (1999) Preliminary investigations into *Cryphonectria*

- parasitica* (Murr) Barr isolates from Turkey. *Phytopathology Mediterranean*, 38, 101-110.
- Çakar D, Akıllı Şimşek S, Katırcıoğlu YZ, Maden S & Can T (2018) Bolu ve İzmir Orman Bölge Müdürlüğü ormanlarında kestane kanseri hastalığı (*Cryphonectria parasitica* (Murr.))'nın hipovirulent izolatlarla biyolojik savaşımı (2015-2018). 08.4801/2015-2018.
- Çakar D, Akıllı Şimşek S, Katırcıoğlu YZ & Maden S (2020) Biological control of chestnut canker caused by *Cryphonectria parasitica* (Murr.) by hypovirulent strains at selected orchards in İzmir and Aydın Provinces of Turkey. *Current Researches in Science and Mathematics Sciences*, 12.
- Çakar D, Akıllı Şimşek S, Can T, Katırcıoğlu YZ & Maden S (2021) Bolu ve İzmir Orman Bölge Müdürlüğü kestane ormanlarında kestane kanseri etmeni *Cryphonectria parasitica*'nın uyum tiplerinin tespiti ve hipovirülenslik değerlendirilmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 7(1), 41-55.
- Çakar D (2022) Türkiye'nin farklı bölgelerinden elde edilen kestane kanseri etmeni *Cryphonectria parasitica* ve *Cryphonectria* izolatlarının. Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 95 s, Çankırı.
- Çeliker NM & Onoğur E (1998) Determining the hypovirulence in the chestnut blight (*Cryphonectria parasitica* [Murr.] Barr.) in Turkey. *The Journal Turkish Phytopathology*, 27, 145-146.
- Çeliker NM (2000) Kestane kanseri (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.)'nın hipovirulent ırklarla savaşımı üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi.
- Çeliker NM & Onoğur E (2009) Biological control of chestnut blight and prospect for future: Turkey as a case study. *Acta Horticulturae*, 815, 221-226.
- Çeliker NM, Kaplan C, Onoğur EE, Cetinel B, Poyraz D & Uysal A (2017) Natural dissemination of hypovirulent *Cryphonectria parasitica* strain used for biological control of chestnut blight. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41(4), 278-284.

- Delen N (1975) Distribution and the biology of chestnut blight (*Endothia parasitica*) (Murrill) Anderson and Anderson. *Journal of Turkish Phytopathology*, 4, 93-113.
- Daldal M (2015) İzmir, Manisa, Muğla ve Denizli illerinde *Cryphonectria parasitica* populasyonlarının vejetatif uyum grupları ve mating tipler yönünden karakterizasyonu. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 53 sayfa, Aydın.
- Döken MT, Açıkgöz S, Erincik Ö & Ertan E (2004) Studies in the chestnut growing areas of Aydın-Turkey to determine the incidence of *Cryphonectria parasitica* (Murrill) Barr infections (Chestnut Blight) and vegetative compatibility group diversity among the isolates. Türkiye 1. Bitki Koruma Kongresi, 8-10 Eylül, Samsun.
- Enebak SA, MacDonald WL & Hillman BI (1994) Effect of dsRNA associated with isolates of *Cryphonectria parasitica* from the central Appalachians and their relatedness to other dsRNAs from North America and Europe. *Phytopathology*, 84(5), 528–34.
- EPPO (2005) European and Mediterranean plant protection organization. *Cryphonectria parasitica*. EPPO Bulletin, 35, 295-298.
- Erincik Ö, Döken MT, Açıkgöz S & Ertan E (2008) Characterization of *Cryphonectria parasitica* isolates collected from Aydın province in Turkey. *Phytoparasitica*, 36(3), 249-259.
- Erincik Ö, Özdemir Z, Durdu ÖF, Döken MT & Açıkgöz S (2011) Diversity and spatial distribution of vegetative compatibility types and mating types of *Cryphonectria parasitica* in the Aydın Mountains, Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 129(4), 555-566.
- FAO (2009) Support to Turkish Government in development and implementation of a Feasibility Study (FS) for management of chestnut blight in chestnuts and other hardwoods (2008-2009), Report, TCP/TUR/3201.
- FAO (2014) Management of chestnut blight and for improving forest health and vitality (2012-2014), Report, TCP/TUR/615676.
- FAOSTAT D (2022) Web sitesi. Food and agriculture organization of the

- United Nations. Statistical database. <http://www.fao.org/faostat>. Erişim tarihi: 27.11.2022.
- Gobbin D, Hoegger PJ, Heiniger U & Rigling D (2003) Sequence variation and evolution of *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV-1) in Europe. *Virus Research*, 97(1), 39-46.
- Griffin GJ, Robbins N, Hogan EP & Farias-Santopietro G (2004) Nucleotide sequence identification of *Cryphonectria hypovirus* infecting *Cryphonectria parasitica* on grafted American chestnut trees 12-18 years after inoculation with hypovirulent strain mixture. *Forest Pathology*, 34(1), 33-46.
- Groome RC, Tattar AT & Mount MS (2001) *Bacillus megaterium*: A potential agent against chestnut blight. *Science and Natural History*, 15 (1), 45-49.
- Gürer M, Turchetti T, Biagioni P & Maresi G (2001) Assessment and characterisation of Turkish hypovirulent isolates of *Cryphonectria parasitica* (Murr) Barr. *Phytopathologia Mediterranea*, 40(3), 265-275.
- OGM (2021) Orman Genel Müdürlüğü, Türkiye Orman Varlığı. 56 sayfa, Ankara.
- Merkel HW (1905) A deadly fungus on the American chestnut. N.Y. Zoological Society, 10th Annual Report, 97-103.
- Hatipoğlu E (2019) Doğu Karadeniz Bölgesinde *Cryphonectria parasitica* populasyonunda vejetatif uyumsuzluk (*vic*) genlerinin dağılımının PCR ile belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü Anabilim Dalı, 53 sayfa, Aydın.
- Heiniger U & Rigling D (1994) Biological control of chestnut blight in Europe. *Annual Review Phytopathology*, 32(1), 581-599.
- Heiniger U & Rigling D (2009) Application of the *Cryphonectria hypovirus* (CHV-1) to control the chestnut blight, experience from Switzerland. *Acta Horticulture*, 815, 233-245.
- Jaynes RA & Elliston JE (1980) Pathogenicity and canker control by mixtures of hypovirulent strains of *Endothia parasitica* in American chestnut. *Phytopathology*, 70(5), 453-456.

- Krstin L, Novak-Agbaba S, Rigling D & Ćurković-Perica M (2011) Diversity of vegetative compatibility types and mating types of *Cryphonectria parasitica* in Slovenia and occurrence of associated *Cryphonectria hypovirus* 1. *Plant Pathology*, 60(4), 752-761.
- Kulhman EG & Bhattacharyya H (1984) Vegetative compatibility and hypovirulence conversion among naturally occurring isolates of *Cryphonectria parasitica*. *Phytopathology*, 74,659-664.
- Kolp M, Fulbright DW & Jarosz AM (2018) Inhibition of virulent and hypovirulent *Cryphonectria parasitica* growth in dual culture by fungi commonly isolated from chestnut blight cankers. *Fungal biology*, 122(10), 935-942.
- Liu YC, Double ML, MacDonald WL & Milgroom MG (2002) Persistence of *Cryphonectria hypoviruses* after their release for biological control of chestnut blight in West Virginia forests. *Forest Pathology*, 32(6), 345-356.
- Liu YC, Hillman BI, Linder-Basso D, Kaneko S, Milgroom MG (2003) Evidence for interspecies transmission of viruses in natural populations of filamentous fungi in the genus *Cryphonectria*. *Molecular Ecology*, 12(6),1619-28.
- Mangıl E (2017) Doğu Karadeniz Bölgesinde kestane kanseri etmeni *Cryphonectria parasitica*'nın vejetatif uyum tipi çeşitliliğinde eşeyli üremenin rolü. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü Anabilim Dalı, 55 sayfa, Aydın.
- Marra RE & Milgroom MG (2001) The mating system of the fungus *Cryphonectriaparasitica*: selfing and self-incompatibility. *Heredity*, 86(2), 134-143.
- Marra RE, Cortesi P, Bissegger M & Milgroom MG (2004) Mixed mating in natural populations of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Heredity*, 93(2), 189-195.
- McGuire IC, Marra RE & Milgroom MG (2004) Mating-type heterokaryosis and selfing in *Cryphonectria parasitica*. *Fungal Genetics and Biology*, 41(5), 521-533.
- Milgroom GM & Cortes P (2004) Biological control of chestnut blight with hypovirulence; a critical analysis. *Annual Review Phytopathology*, 42, 311-338.

- Milgroom MG, Sotirovski K, Spica D, Davis JE, Brewer MT, Milev M & Cortesi P (2008) Clonal population structure of the chestnut blight fungus in expanding ranges in southeastern Europe. *Molecular Ecology*, 17(20), 4446-4458.
- Milgroom MG, Sotirovski K, Risteski M & Brewer MT (2009) Heterokaryons and parasexual recombinants of *Cryphonectria parasitica* in two clonal populations in southeastern Europe. *Fungal Genetics and Biology*, 46(11), 849-854.
- Ni M, Feretzaki M, Sun S, Wang X & Heitman J (2011) Sex in Fungi. *Annual Review of Genetics*, 45, 405-430.
- Paoletti M (2016) Vegetative incompatibility in fungi: From recognition to cell death, whatever does the trick. *Fungal Biology Reviews*, 30(4), 152-162.
- Peever TL, Liu YC & Milgroom MG (1997) Diversity of hypoviruses and other double-stranded RNAs in *Cryphonectria parasitica* in North America. *Phytopathology*, 87(10), 1026-1033.
- Peever TL, Liu YC, Wang K, Hillman BI, Foglia R & Milgroom MG (1998) Incidence and diversity of double-stranded RNAs occurring in the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*, in China and Japan. *Phytopathology*, 88(8), 811-817.
- Peever TL, Liu Y, Cortesi P & Milgroom MG (2000) Variation in tolerance and virulence in the chestnut blight fungus-hypovirus interaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (11), 4863-4869.
- Perlerou C & Diamandis S (2006) Identification and geographic distribution of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* and occurrence of hypovirulence in Greece. *Forest Pathology*, 36(6), 413-421.
- Peters FS, Bußkamp J, Prospero S, Rigling D & Metzler B (2014) Genetic diversification of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* and its associated hypovirus in Germany. *Fungal Biology*, 118(2), 193-210.
- Prospero S, Conedera M, Heiniger U & Rigling D (2006) Saprophytic activity and sporulation of *Cryphonectria parasitica* on dead chestnut wood in forests with

- naturally established hypovirulence. *Phytopathology*, 96(12), 1337-1344.
- Rigling D, Heiniger U & Hohl HR (1989) Reduction of laccase activity in dsRNA-containing hypovirulent strains of *Cryphonectria (Endothia) parasitica*. *Phytopathology*, 79(2), 219-223.
- Rigling D & Prospero S (2018) *Cryphonectria parasitica*, the causal agent of chestnut blight: invasion history, population biology and disease control. *Molecular Plant Pathology*, 19(1), 7-20.
- Rigling D, Robin C & Prospero S (2021) Mycovirus-Mediated Biological Control. *Encyclopedia of Virology*, 4 (s), 468-477.
- Robin C, Anziani C & Cortesi P (2000) Relationship between biological control, incidence of hypovirulence, and diversity of vegetative compatibility types of *Cryphonectria parasitica* in France. *Phytopathology*, 90(7), 730-737.
- Robin C & Heiniger U (2001) Chestnut blight in Europe: diversity of *Cryphonectria parasitica*, hypovirulence and biocontrol. *Forest Snow and Landscape Research*, 76(3), 361-367.
- Robbins NE (1997) Spread of white hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica* among American Chestnut trees at the lesesne state forest. Master of Science in Plant Pathology, Physiology, And Weed Science. Blacksburg, Virginia.
- Short DPG, Double M, Nuss DL, Stauder CM, MacDonald W & Kasson MT (2015) Multilocus PCR assays elucidate vegetative incompatibility gene profiles of *Cryphonectria parasitica* in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(17), 5736-5742.
- Sotirovski K, Milgroom MG, Rigling D & Heiniger U (2006) Occurrence of *Cryphonectria hypovirus 1* in the chestnut blight fungus in Macedonia. *Forest Pathology*, 36(2), 136-143.
- Zamora P, Martín AB, Rigling, D & Diez JJ (2012) Diversity of *Cryphonectria parasitica* in Western Spain and identification of hypovirus-infected isolates. *Forest Pathology*, 42(5), 412-419.