



Karadeniz Bölgesi'nde Kestane Kanseri (*Cryphonectria parasitica* (murr) barr.)'ne Karşı Hipovirüent İzolatlarla Biyolojik Savaşım Çalışmaları

Seçil AKILLI¹, Çiğdem ULUBAŞ SERÇE², Kadri TOPÇU³, Y. Zekai KATIRCIOĞLU⁴, Salih MADEN⁴

Özet

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesi'nde değişik yerlerden elde edilen 380 Kestane kanseri etmeni (*Cryphonectria parasitica*) izolatu arasından hipovirüensliği ds-RNA testleriyle kanıtlanmış olan ve en yaygın uyum tipi olan EU-1 içinde yer alan 23 izolatu etkinliği hastalandırma gücü en yüksek olan K-19 izolatu karşı Sinop – Erfelek' de 3 yaşlı sürgünlerde araştırılmıştır. Bu amaçla sürgünlere aynı anda hipovirüent ve virüent izolatlar 5 tekerrürlü olarak aşılanmış ve 6 ay sonra kanser gelişmeleri ölçülerek etkinlikleri belirlenmiştir.

Yapılan değerlendirmede 10 hipovirüent izolatu virüent K-19 izolatının kanser oluşumunu %80' üzerinde önlediği tespit edilmiştir. Bu etkin hipovirüent izolatlar arasında yer alan Z-1 (EU-1 uyum tipinde) aynı yörede doğal kanserlerde 5 tekerrürlü olarak denenmiş ve kanserlerde ortalama %50 gerileme oluşturmuştur. Uygulanan kanserlerden 3 tekerrürde tamamen kallus oluşumu ve iyileşme belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Karadeniz, kestane, kanser, hipovirüent, biyolojik savaşım

Studies On The Biological Control Of Chestnut Blight (*Cryphonectria parasitica* (murr) barr.) With Hypovirulent Isolates In Black Sea Region Of Turkey

Abstract

Effectiveness of 23 hypovirulent isolates of chestnut blight pathogen, *Cryphonectria parasitica*, which was determined by ds-RNA analyses and obtained from Black Sea region of Turkey and belong to EU-1 vegetative type was tested on newly emerged 3 years old chestnut sprouts in Sinop-Erfelek. For this aim, every hypovirulent isolate was inoculated to 3 years old sprouts together with the virulent isolate with 5 replicates and after 6 months canker lengths were measured and effectiveness of the hypovirulent isolates was determined.

In the evaluations, 10 hypovirulent isolates suppressed the canker development of the aggressive isolate K-19 more than 80%. One of the effective hypovirulent isolates, Z-1, was tested on natural cankers in the same region with five replicates and it suppressed the disease development about 50%. In three of the replicates treated by Z-1, profuse callus formation and recovery was detected.

Key words: Black Sea, chestnut, canker, hypovirulent, biological control

1. Giriş

Ülkemiz kestane ormanlarının her yerinde bulunan ve *Cryphonectria parasitica* adlı fungus tarafından oluşturulan Kestane kanseri, gerek ülkemizde gerekse dünyada bazı kestane türlerinde, özellikle Avrupa kestanesi (*Castanea sativa* L.) de önemli derecede zarar oluşturan bir hastalıktır.

Bu hastalıkla mücadelede kültürel önlemler ile birlikte biyolojik savaş dışında dünyada etkili olan ekonomik bir mücadele yöntemi yoktur (Allemann ve Ark., 1999; Griffin ve Ark., 2004; Sotirovski ve Ark., 2004). Biyolojik savaş bu hastalık etmeninin bir virüsle enfeksiyonuna dayanmaktadır. *Cryphonectria hypovirus* 1, 2, 3 ve 4 (CHV) olarak adlandırılan dört farklı virüs bu fungal hastalık etmeninde enfeksiyon yapmakta ve fungusun

¹ Çankırı Karatekin Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Çankırı. secilakilli@gmail.com

² Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Hatay.

³ Orman Genel Müdürlüğü, Sinop Orman Bölge Müdürlüğü, Sinop.

⁴ Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara.

neden olduğu hastalığı geriletmektedir (Nuss, 1992; Hillman ve Ark., 1995). Ancak doğada bu virüsle enfeksiyonlu fungus strainlerinin (izolatlarının) her yerde uygulanması uygun değildir. Bu virüsün doğada agresif (saldırgan) olan bireylere geçebilmesi için virüslü bireyle arazideki saldırgan bireyin hiflerinin kaynaşması yani vejetatif uyumlu (VC) olması gerekmektedir (Anagnostakis ve Day, 1979; Anagnostakis ve Waggoner, 1981). Bu hastalığın bu şekilde çok sayıda uyum tipleri vardır ve bir yerde biyolojik savaş için öncelikle bu uyum tiplerinin (VC) belirlenmesi gerekmektedir (Cortesi ve Ark., 1998; Robin ve Ark., 2000) . Ayrıca virüsün 4 türü yanında aynı türün içinde de farklı alt tipler vardır ve bunlar subtype olarak isimlendirilmektedir. Örneğin ülkemizde bulunan virüs türü CHV1' in yine ülkemizde 2 subtype'ı (subtype I ve subtype F) saptanmıştır (Akıllı ve Ark. Yayımlanmamış çalışma). Aynı subtype içinde bile virüsün farklılıkları vardır. Bu nedenlerle biyolojik savaşın bir bölgede başlatılması için oradaki patojenin uyum tipi ve virüs alt tipi (subtype) bilinse bile elde mevcut hipovirulent izolatların doğada test edilmesi gerekmektedir.

Ülkemizde de daha önce bazı biyolojik mücadele çalışmaları yapılmıştır. Örneğin, Gürer ve Ark. (2001) yaptıkları çalışmada doğada fidanlara inokule edilen hipovirulent strainlerin virulent strainlere göre daha küçük ve iyileşmeye başlayan kanserler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çeliker ve Onoğur (2000) virulent izolatları aşılardan bir hafta sonra hipovirulent izolatları geliştirmekte olan kanserlerin alt ve üstlerine aşılama ve değişik zamanlarda kanser alanlarını ölçmüşlerdir. İki ay sonra virulent izolatan kanserli alanı artmasına rağmen, virulent + hipovirulent verilen fidanlarda kanserli alanda çok az bir gelişme olduğunu, kallus oluşumu ile alanın giderek küçüldüğünü ifade etmişlerdir. Çeliker ve Onoğur (2000) hipovirulent izolatlarını sadece bir virulent izolatla test etmişler ve etkin bulmuşlardır. Diğer yandan Gürer ve Ark. (2001) böyle bir etkinlik çalışması yapmamışlar sadece hipovirulent izolatların oluşturduğu kanserlerin gelişimini incelemişlerdir. Doğada bu hastalığa karşı biyolojik savaş için öncelikle hipovirulent izolatların bir bölgedeki virulent izolatlara karşı etkinliğinin belirlenmesi gerekmektedir. Çünkü yaptığımız bir çalışmada hipovirulent izolatların farklı virulent izolatlara karşı farklı derecelerde etkili olduğu saptanmıştır (Akıllı ve Ark., 2011). Bu nedenle çok sayıda etkili hipovirulent izolatların belirlenmesi ve birden fazla virulent izolata karşı test edilmeleri gerekmektedir.

Bu çalışmada Karadeniz Bölgesi'nde kestane kanseri etmeninin en yaygın uyum tipi olarak bilinen EU-1' e ait 23 hipovirulent izolatan aynı bölgeden elde edilen hastalandırma gücü yüksek (virulent) bir izolata (K-19) karşı etkinlikleri 3 yıllık kestane sürgünleri üzerinde Sinop-Erfelek' de doğada araştırılmıştır. Ayrıca bu çalışma sonucu etkin bulunan bir hipovirulent izolatan (Z-1) yine aynı yörede kestane ağaçlarında görülen doğal kanserler üzerinde etkinliği incelenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Çalışmada kullanılan izolatlar

Bu çalışmada kullanılan 23 hipovirulent izolat, Karadeniz Bölgesi'nde yürütülen bir çalışmada elde edilen 380 izolatan kültürel özellikleri ve ds-RNA analizleri değerlendirilmesi sonucu (Katırcıoğlu ve Ark., 2010) belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan izolatlar ve elde edildikleri yerler Çizelge 1.' de verilmektedir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan hipovirüent izolatların elde edildiği yerler

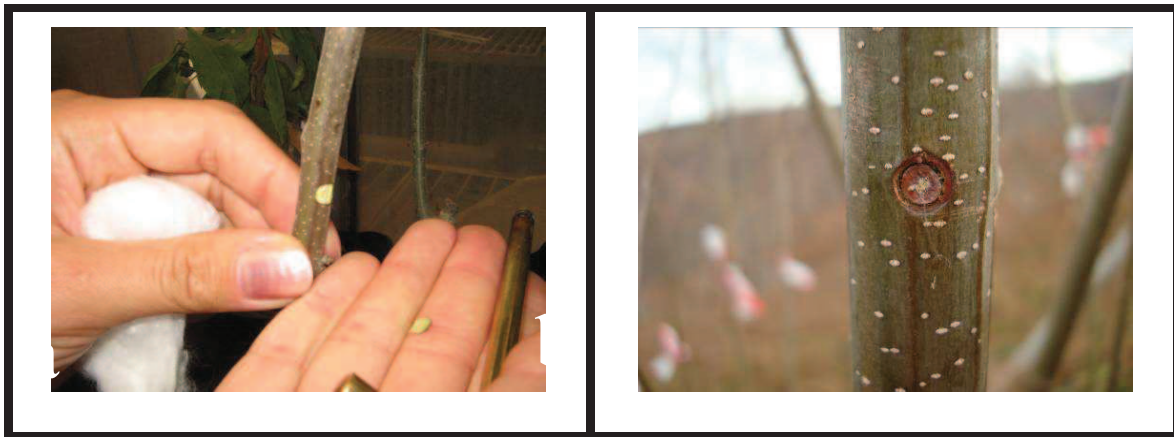
İzolatin elde edildiği yer	İzolat sayısı
Sinop	5
Zonguldak	7
Trabzon	2
Bartın	5
Kastamonu	2
Giresun	1
Rize	1
Toplam	23

Çalışmada kullanılan hastalandırma gücü en yüksek (virüent) izolat (K-19), yine yukarıda bahsedilen çalışmada kullanılan izolatlar arasından elma testi ve kesik dal inokülasyon yöntemleri ile belirlenmiştir.

2.2. Hipovirüent izolatların inokülasyonu

2.2.1. İki yıllık kestane sürgünlerine inokülasyon

İki yıllık sürgünlerde inokülasyon işlemleri sırasıyla, sürgünlerin orta bölümünde, bir mantar delici ile kabuk kısmında 0.5 cm çapta çukurlar açılmıştır (Şekil 1a). Bu çukurlara önce methionin (100mg/l) ve biotin (1mg/l) içeren PDA (PDAMB) ortamında geliştirilen virüent *C. parasitica* (K-19) izolatı, sonra üzerine yine aynı ortamda geliştirilen hipovirüent izolatlardan alınan diskler, daha sonra da çukurlardan çıkan kabuk kapatılıp üzerine nemli bir pamukla konulmuş ve parafilmle sarılmıştır. Rutubetin çabuk uçmaması için nemli pamuklar da streç film ile kapatılmıştır. Hava koşullarına göre pamuklar 2-3 hafta inokülasyon yerlerinde tutulmuştur. Kontrol olarak 5 sürgüne de sadece temiz besi yeri konmuştur (Şekil 1b).



Şekil 1. Sürgünlere inokülasyonda a) mantar deliciyle çukurlar açılması, b) kontrol çukurlarının inokülasyondan sonraki durumu.

2.2.2. Beş altı yaşlı ağaçlardaki kanserlere hipovirüent izolat uygulanması

Elma ve kesik dal inokülasyon yöntemine göre düşük virüensli bulunan Z-1 izolatı Sinop-Erfelek' de 5-6 yaşlı ağaçlarda görülen muhtelif boylardaki kanserlere 5 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Seçilen kanserlerden çalışma öncesi kabuk örneği alınmış ve izolasyon

yapılarak hipovirülensliğin varlığı, vejetatif uyum tipleri araştırılmış ve aynı uyum tipindeki kanserler çalışmaya dahil edilmiştir. Doğada seçilen kanserlerin etrafı mantar delici ile 3–4 cm aralıklarla delinmiş ve her deliğe PDAMB ortamında geliştirilen hipovirüent izolat diskleri yerleştirilmiştir (Şekil 2). Hipovirüent izolat açılan deliklere konduktan sonra üzerleri dal inokülasyonunda olduğu gibi nemli pamukla sarılmış ve bir sene boyunca gelişmeler gözlenmiştir. Kontrol olarak alınan 5 kansere herhangi bir uygulama yapılmamış, sadece kanser boylarının sınırları belirlenmiş ve belirlenen sürelerde boyları ölçülmüştür.



Şekil 2. Kestane kanserlerine hipovirüent izolatların uygulanması.

2.2.3. Uygulamaların değerlendirilmesi

Sürgün inokülasyonları Haziran 2009 yılında yapılmış, inokülasyondan 2 ve 6 ay sonra inokülasyon noktaları gözlenmiş, kanser boyları ölçülmüş ve iyileşme ve kallus oluşumu değerlendirilmiştir. Hipovirüent izolat ve virüent izolatın birlikte uygulandığı her bir tekerrürde ölçülen kanser boyları, aynı tekerrürdeki virüent izolat uygulanan kanser boyu ile mukayese edilmiştir. Etkinlik Abbott formülü ile aşağıdaki gibi hesaplanmıştır. Burada;

$$\% \text{ etki} = \frac{\text{Virüent izolat kanser boyu} - \text{hipovirüent izolat kanser boyu}}{\text{Virüent izolat kanser boyu}} \times 100$$

Kanser boyları üzerinden varyasyon analizi yapılarak uygulama farklılıklarının istatistikî olarak önemli olup olmadığı belirlenmiştir. Uygulamalar arasında görülen farklılık Duncan testi ile tespit edilmiştir.

Doğal kanserlere uygulanan Z-1 izolatının değerlendirmesi uygulamadan bir yıl sonra yapılmış ve Z-1 uygulanan kanserlerde yapılan ölçümlerle yine uygulama yapılmamış kanserlerdeki ölçümler dikkate alınarak yüzde kanser artış (büyüme) oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Kontrol sırasındaki kanser boyu- İlk uygulamadaki kanser boyu

$$\% \text{ Kanser artışı} = \frac{\text{Kontrol sırasındaki kanser boyu} - \text{İlk uygulamadaki kanser boyu}}{\text{İlk uygulamadaki kanser boyu}} \times 100$$

Kanser artış oranları üzerinden varyans analizi yapılmıştır. Tekerrürlerdeki uygulamaların etkinliği Abbott formülüne göre yukarıda verildiği gibi hesaplanmıştır.

Uygulama ile kontrol arasındaki farklılık Duncan testi ile belirlenmiştir.

3. Bulgular

3.1. Hipovirüent izolatların arazi koşullarında kestane sürgünlerindeki etkinliği

Uygulamadan 2 ve 6 ay sonra sürgünlerdeki kanser boyları değerlendirildiğinde (Çizelge 2.) virüent izolat K-19' un 2 ay sonra ortalama 3.3 cm, 6 ay sonra 12.7 cm uzunlukta kanserler oluşturduğu bulunmuştur. Aynı izolatın 23 hipovirüent izolatla birlikte uygulandığı sürgünlerdeki kanser boyları oldukça değişiklik göstermiştir. Bazı hipovirüent izolatlar kanser boyunu kontrole göre azaltırken bazıları da artırmıştır. Hatta S-37 hipovirüent izolatı kanser boyunu 7.80 cm'e çıkarmıştır. Altı ay sonraki ölçümlerde ise kontroldeki kanser boyu 12.78 cm ulaşırken, hipovirüent izolat uygulamalarında en fazla kanser boyu 7.90 cm ile Tb-34 izolatında olmuştur ki; bu izolat zaten 2 ay sonraki ölçüme göre kanser boyunu artırmıştır. Dolayısıyla % 38.18' lik etki oranı ile en düşük etkiyi göstermiş ve etkisiz kabul edilmiştir.

Diğer hipovirüent izolatların çoğu ilk ölçüme göre kanser boylarını azaltmışlardır. Hatta kanseri durduran yani tamamen kapatan izolatlar (Gd-11 ve Ra-26) olmuştur. Bu izolatlar hipovirüent uygulamasından 6 ay sonra % 100 etkili olmuş ve kanseri tamamen durdurmuştur. Bu izolatlar dışında 8 izolat daha; B-13, B-15, B-25, Z-1, Z-3, Z-4, Z-11, Z-19 kanser boyunu %80' in üzerinde engellemişlerdir.

Çizelge 2. Virüent K-19 izolatına karşı kullanılan 23 hipovirüent izolatın 2 ve 6 ay sonra ölçülen ortalama kanser boyları (cm) ile % etkileri*

İzolatlar	Kanser boyları (cm)		Yüzde etkiler (%)	
	2 ay sonra	6 ay sonra	2 ay sonra	6 ay sonra
K-19	3.30 abcde	12.78 i		
K-19+Si-50	2.62 abcd	6.20 defg	20.60	51.4
K-19+Ze-24	1.50 ab	3.12 abcd	54.54	75.58
K-19+Z-4	1.40 abc	1.60 ab	57.57	87.48
K-19+Zur	2.30 abc	5.78 cdefg	30.30	54.77
K-19+S-53	2.30 cdef	5.24 bcdef	30.30	58.99
K-19+Tb-34	3.00 abc	7.90 fgh	9.09	38.18
K-19+Ba-6	2.00 abc	5.58 cdefg	39.39	56.33

Çizelge 2 nin devamı				
K-19+S-7	2.60 abcd	6.08 cdefg	21.21	52.42
K-19+K-13	1.00 a	3.16 abcd	69.69	75.27
K-19+B-15	4.00 bcde	0.40 a	-21.21	96.87
K-19+Z-19	8.60 h	1.78 ab	-160.60	86.07
K-19+B-25	1.70 def	1.60 a	48.48	87.48
K-19+Gd-11	2.50 abcd	0.00 a	24.24	100.00
K-19+Z-3	5.42 fgh	1.60 a	-64.24	85.9
K-19+Z-1	3.50 abcde	3.20 ab	-6.06	87.48
K-19+K-61	6.84 gh	2.08 abcd	-107.27	74.96
K-19+Z-11	6.98 gh	4.80 ab	-111.51	83.72
K-19+Si-3	5.04 defg	6.03 bcde	-52.72	62.44
K-19+Tb-32	5.70 defg	3.62 efgh	-72.72	52.81
K-19+Ba-2	3.62 abcde	3.00 abc	-9.69	71.67
K-19+B-13	3.00 abcde	1.60 ab	9.09	87.48
K-19+Ra-26	2.40 abc	0.00 a	27.27	100.00
K-19+S-37	17.80 abc	7.00 efgh	-439.39	45.22

* Kanser boyları 5 tekrerrün ortalamasıdır. Aynı harfi alan değerler Duncan testine göre ($p=0.05$) birbirinden farklı değildir.

Uygulanan bu 23 izolattan 2 tanesi % 50' nin altında etkili bulunmuştur. Bu denemede kullanılan Z-1 ve Ba-6 izolatları diğer bir çalışmada K-19 ve K-44 virulent izolatlarına karşı denenmiş ve bu izolatlar her 2 virulent izolata karşı etkili bulunmuşlardır. Z-1 izolatu aynı çalışmada K-44 virulent izolata da %50' nin üzerinde etkili olmuştur (Akıllı ve Ark., 2011). Aynı hipovirulent izolatin (Z-1) sürgün denemesinde %87.48' lik yüksek bir etki görülmektedir.

3.2. Z-1 hipovirulent izolatin 5-6 yıllık kestane ağaçlarındaki kanserlerdeki etkinliği

Doğada rastgele seçilen 5 kansere sürgün testlerinde etkili bulunan hipovirulent izolatlardan biri olan Z-1 uygulanmıştır. Çalışmaya başlamadan önce seçilen kanserlerden kabuk örnekleri alınıp izolasyon yapılmış ve kanserlerde hipovirulensliğin olmadığı ve izolatların uyum grubunun Eu-1 olduğu saptanmıştır. Kanserlerden elde edilen izolatlar Z-1 izolatıyla eşleştirilmiş ve hipovirulent izolatin virulent izolatu dönüştürdüğü saptanmıştır.

Bu uygulamalarda uygulamadan bir yıl sonra hesaplanan kanser gelişim yüzdeleri ve uygulamanın yüzde etkinliği Çizelge 3.' de verilmiştir. Çizelge 3.' ten de anlaşılacağı gibi Z-1 hipovirulent izolatu doğal oluşan eski kanserlerin gelişmesini %50 geriletmiştir. Bu uygulamalarda 3 tekrerründe kanserlerde iyileşme, 4 tekrerründe de sporulasyon görülmüştür.

Çizelge 3. Z-1 hipovirulent izolatının uygulamadan bir yıl sonra 5 kanserdeki gelişme yüzdeleri ve kontrole göre yüzde engelleme (etki)*

Uygulamalar	Kanser gelişimi yüzdesi					Ortalama	% Etki	Açıklama
	Tekerrürler							
	1	2	3	4	5			
Hipovirulent izolat (Z-1)	14.3	15.7	17.6	20.0	31.3	19.78 a	50	Üç tekerrürde kanserlerde iyileşmeler var. Dört tekerrürde sporulasyon gözlenmiş, birinde herhangi bir değişiklik yok
Kontrol	22.0	45.2	96.6	55.5	135.0	39.30 b		Kanserlerde önemli bir değişiklik yok

*Aynı harfi alan değerler Duncan testine göre istatistik olarak farklı değildir (p=0.05)

4. Tartışma ve Sonuç

Kestane Kanseri, Karadeniz Bölgesi'nde kestanenin bulunduğu her yerde yaygın olarak bulunmaktadır (Katırcıoğlu ve Ark., 2010). Bu çalışmada, bu bölgedeki Orman Bölge Müdürlüklerine bağlı 11 ilden 380 adet Kestane kanseri (*Cryphonectria parasitica*) izolatı elde edilmiştir. Bu izolatların özellikle biyolojik mücadeleye temel oluşturacak özellik olan Avrupa uyum tipleri belirlenmiş ve bölgede 5 uyum tipinin (EU-1, EU-2, EU-5, EU-12 ve EU-14) bulunduğu saptanmıştır. Bu uyum tiplerinden en yaygın olanları EU-1 (% 91.5) ve EU-12 (% 6.8) olduğu ifade edilmektedir (Akıllı ve Ark., 2009). Bu bölgede uyum tiplerinin azlığı, bu hastalığa karşı biyolojik mücadelenin başarılı bir şekilde uygulanabileceğini göstermektedir. Katırcıoğlu ve Ark. (2010)'a göre Kestane kanserine karşı biyolojik mücadelede kullanılacak hipovirulent izolatların tanımlanmaları hem kültürel özelliklerini hem de moleküler yöntemlere (dsRNA analizi) esas alınarak yapılmıştır.

Hipovirulent izolatların belirlenmesi biyolojik mücadele için bir başlangıç olup, tanımlanan EU-1 uyum tipindeki 23 izolatın etkinliklerinin öncelikle arazi koşullarında belirlenmesi gerekmektedir. Çünkü her hipovirulent izolat aynı etkiyi göstermemektedir. Bu nedenle bu çalışmada bu izolatların etkinlikleri arazi koşullarında belirlenmiştir.

Ele alınan 23 hipovirulent izolattan 10 adedi, virulent izolatın kanser oluşumunu %80' in üzerinde engellemiş ve bunlardan bir izolat (Z-1) ise doğal kanserlerin gelişmesini %50 geriletmiştir. Z-1 izolatın biyolojik mücadelede uygun vejetatif uyum tipine ait virulent izolatlara karşı başarı ile kullanılabilmesi görülmüştür. Hipovirülensliğin doğada dağılması için hipovirulent izolat kanserlerinin biraz gelişmesi ve sporulasyonu istenir ki hipovirülenslik doğada dağılabilir. Bu nedenle doğal kanserlere karşı yapılan uygulamalarda Z-1 izolatı tercih edilmelidir.

Bu hastalığa karşı tek etkili yöntem olan hipovirulent izolatlarla biyolojik savaş bu bölgede başarılı şekilde uygulanabilir. Bunun için gerekli bilgi desteği ile yeterli donanıma sahip Orman Genel Müdürlüğü kurumları bu mücadeleyi başarılı bir şekilde yürütebilirler. Bu uygulamalar yaygınlaştırılmadan önce hipovirulent izolatlardaki virüslerin alt tiplerinin de belirlenmesinde yarar vardır. Çünkü bu alt tiplerdeki kararlılık, biyolojik savaşın kalıcılığını da etkileyecektir.

Teşekkür

Bu çalışma Ankara Üniversitesi BAP tarafından desteklenen 06B4347004 nolu proje

olanakları kullanılarak yürütülmüştür. Ayrıca Çevre ve Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü ve Sinop Orman Bölge Müdürlüğü ile ilgili teşkilatın diğer Orman Bölge Müdürlüklerinin büyük destekleri olmuştur. Bu kuruma katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Akıllı S, Katırcıoğlu Y Z and 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, Katırcıoğlu Y Z and Maden S. 2011. Biological Control of Chestnut Canker, Caused by *Cryphonectria parasitica*, by Antagonistic Organisms and Hypovirulent Isolates. *Türk Tarım Ve Ormancılık Dergisi*. doi:10.3906/tar-0912-579.2010
- Allemann C, Hoeiniger P, Heiniger U and Rigling D. 1999. Genetic Variation of *Cryphonectria hypoviruses* (Chv1) in Europe Assessed Using Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) Markers. *Molecular Ecology* 8: 843–854.
- Anagnostakis S L and Day P R. 1979. Hypovirulence Conversion in *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 69: 1226–1229.
- Anagnostakis S L and Waggoner PE. 1981. Hypovirulence, Vegetative Incompatibility and The Growth of Cankers of Chestnut Blight. *Phytopathology* 71: 1198–1202.
- Cortesi P, Rigling D, Heiniger U. 1998. Comparison of Vegetative Compatibility Types in Italian and Swiss Populations of *Cryphonectria parasitica*. *European Journal Forest Pathology*. 28:167–176.
- Çeliker, N. M. 2000. Kestane kanseri (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.)’nın Hipovirulent Irklarla Savaşımı Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bornova–İzmir, 116s.
- Çeliker N M, Onoğur E. 2001. Evaluation of Hypovirulent Isolates of *Cryphonectria parasitica* for The Biological Control of Chestnut Blight. *Forest Snow Landsc. Res.* 76:378–382.
- Griffin G J, Robbins N, Hogan E P and Farias-Santopietro G. 2004. Nucleotide Sequence Identification of *Cryphonectria* Hypovirus Infecting *Cryphonectria parasitica* on Grafted American Chestnut Trees 12-18 Years After Inoculation with a Hypovirulent Strain Mixture. *Forest Pathology* 34: 33–46.
- Gürer M, Turchetti T, Biagioni P, Maresi G. 2001. Assessment and Characterization of Turkish Hypovirulent Isolates of *Cryphonectria parasitica* (Murr) Barr. *J. Phytopathology* 40: 265–275.
- Hillman B I, Fulbright D W, Nuss D L, Van Alfen N K. 1995. Hypoviridae. In: Sixth Report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses. Ed. By Murphy, F. A.; Fauquet, C. M.; Bishop, D. H. L. New York: Springer Verlag, pp. 261–264.
- Katırcıoğlu Y Z, Maden S, Akıllı S, Ulubaş (Serçe) C. 2010. Karadeniz Bölgesi’nde Kestane Kanserinin Biyolojik Mücadelesi Üzerinde Araştırmalar. Proje Nihai Raporu, 06 B 4347004 Nolu Ankara Üniversitesi BAP Projesi, 83 s.
- Nuss, D L 1992. Biological Control of Chestnut Blight: an Example of Virus-Mediated Attenuation of Fungal Pathogenesis. *Microbiology Rev.* 56: 561–576.
- 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: 730–737.
- Sotirovski K, Papazova-Anakieva I, Grünwald, N J and Milgroom M G. 2004. Low Diversity of Vegetative Compatibility Types and Mating Type of *Cryphonectria parasitica* in the Southern Balkans. *Plant Pathology* 53: 325–333.