

Bitki Fungal Hastalıkları ile Biyolojik Savaşmada Alternatif Yaklaşımlar: Fungal VirüslerAraştırma Görevlisi Çiğdem ÖZKAN KAHRAMAN^{1*} Prof. Dr. Figen YILDIZ²**Geliş tarihi: 08.02.2019**
Kabul tarihi: 09.04.2019**Atf bilgisi:**
İzlek AkademikDergi (izlek)
Cilt: 2 Sayı: 1
Sayfa: 33-48 Yıl: 2019
Dönem: Kış¹ Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Türkiye, e-mail: cgdmdn5@gmail.com**ORCID ID 0000-0002-7589-1085**² Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Türkiye, e-mail: figenyildiz57@gmail.com**ORCID ID 0000-0002-9562-5657**

* Sorumlu yazar

ÖZ

Fungal virüsler diğer adıyla mikovirüsler bitki patojeni funguslarda yaygın olarak bulunan obligat parazitlerdir. Mikovirüslerin çoğunluğu dsRNA genomuna sahip olmakla birlikte, DNA genomuna sahip mikovirüsler ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. Mikovirüsler, fungal hücre içerisinde hücre birleşmesi, hücre bölünmesi veya eşeyli-eşeysiz fungal yapılar sayesinde yayılış göstermektedir. Enfeksiyon için hücre dışı taşınmadan yoksun olan mikovirüsler konukçusunda fenotipik değişikliklere neden olmakta, virulensliği arttırmakta ya da azaltmaktadır. Özellikle virulensliği azaltma etkisi nedeniyle, mikovirüsleri bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesinde kullanmak mümkün olabilmektedir. Türkiye’de ve diğer ülkelerde yapılan çalışmalarda bazı önemli fungal patojenlerde pek çok mikovirüs saptanmış ve biyolojik mücadelede kullanılmıştır. Mikovirüslerin yapısal analizlerinin, fonksiyonlarının ve evrimlerinin araştırılması onların daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Mikovirüsler ve bitki patojeni funguslar arasındaki etkileşimin anlaşılması ile mikovirüslerin bitki hastalıklarına karşı biyolojik mücadelede kullanılma olanaklarını geliştirebilmek mümkün olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Mikovirüs, dsRNA, hipovirulenslik, biyolojik kontrol

Alternative Approaches in Biological Control of Plant Fungal Diseases: Fungal Viruses

Research Assistant Çiğdem ÖZKAN KAHRAMAN^{1*} Prof. Dr. Figen YILDIZ²

First received: 08.02.2019

Accepted: 09.04.2019

Citation:

Izlek AcademicalJournal (izlek)

Volume: 2 Issue: 1

Pages: 33-48 Year: 2019

Session: Winter

¹ Ege University, Faculty of Agriculture,
Department of Plant Protection, Turkey,
e-mail: cgdmdn5@gmail.com

ORCID ID 0000-0002-7589-1085

² Ege University, Faculty of Agriculture,
Department of Plant Protection, Turkey,
e-mail: figenyildiz57@gmail.com

ORCID ID 0000-0002-9562-5657

*** Corresponding Author: Çiğdem
ÖZKAN KAHRAMAN**

ABSTRACT

Fungal viruses also known as mycoviruses are obligate parasites commonly found in plant pathogenic fungi. Although the majority of mycoviruses have dsRNA genome, there are several mycoviruses having DNA genome. Mycoviruses spread in fungal cells by cell fusion, cell division or sexual-asexual fungal structures. Most mycoviruses lacking extracellular transmission for infection, cause phenotypic changes in the host, including increasing or reducing virulence. It is possible to use mycoviruses in biological control, especially because of the virulence reducing effect. Studies in Turkey and in the other countries, several mycoviruses have been identified in some important plant pathogenic fungi and have been used in biological control. Investigation of structural analyzes, functions and evolution of mycoviruses will provide a better understanding of the mycoviruses. Understanding the interaction between mycoviruses and plant pathogenic fungi, it will be possible to improve possibilities of their use in biological control in plant diseases.

Keywords: Mycovirus, dsRNA, hypovirulence, biological control

1. GİRİŞ

Mikovirüs fungal hücrelerde replike olan, infekte ettiği funguslarda hücreler arasında ve içinde yayılış gösteren obligat parazitlerdir. Mikovirüsler, fungal virüs, mikofaj ve virüs benzeri partikül (VLPs) olarak ta isimlendirilmektedir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, mikovirüslerin biyolojik mekanizmalarını, fungal hücrelerdeki replikasyon ve aktarımını, ekolojik açıdan fungal hastalıkların yönetimi konusundaki bilinmeyenleri bulmaya yöneliktir. Bugüne kadar 250'den fazla mikovirüs genomunun sekans analizi yapılmış ve NCBI veri sistemine girişi yapılmıştır (Xie ve Jiang, 2014).

Mikovirüsler genellikle dsRNA (çift sarmal RNA) veya ssRNA (tek sarmal RNA) genomu taşımaktadır, fakat son zamanlarda yapılan çalışmalarda *Sclerotinia sclerotiorum*'da saptanan bir mikovirüsün DNA genomu taşıdığı belirlenmiştir. Bununla birlikte fungusların hem RNA virüslerine hem de DNA virüslerine konukçuluk ettiği düşünülmektedir. Mikovirüsler Totiviridae, Partitiviridae, Chrysoviridae, Hypoviridae ve Nanoviridae gibi farklı familyalar içerisinde gruplandırılmaktadır. Hala pek çok mikovirüsün familyası belirlenmemiş olup mikovirüslerin filogenetik açıdan bitki virüsleri ve hatta hayvan virüsleri ile benzer olduğu düşünülmektedir (Xie ve Jiang, 2014).

İlk mikovirüsün keşfedilmesinden günümüze yarım yüzyıl geçmiştir fakat bitki hastalıkları ile biyolojik savaşındaki önemleri ve virüslerin evrimi hakkındaki bilinmeyenler gibi konular sayesinde mikovirüslere olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Çok sayıda çalışma mikovirüslerin bitki patolojisi, viroloji, mikoloji ve hatta ekoloji açısından önemli etkilerini anlatmaktadır. Mikovirüslerin biyolojik kontrol amaçlı kullanılması, mücadelesi mümkün ya da istenilen düzeyde olmayan fungal hastalık etmenleri açısından alternatif bir yönetim biçimi olarak değerlendirilmektedir.

2. FUNGAL VİRÜSLER

2.1 Fungal Virüslerin Tarihsel Gelişimi

Fungal virüsler ilk olarak *Agaricus bisporus* ve *Penicillium* spp. türlerinde keşfedilmiştir. 1970'li yıllarda tahıllarda *Gaeumannomyces graminis*, *Helminthosporium victoriae* ve kestanelerde görülen *Cryphonectria parasitica* gibi bitki fungal hastalıkları için yürütülen çalışmalar mikovirüslerin keşfedilmesine öncülük eden çalışmalar olmuştur (Xie ve Jiang, 2014). Kestane kanseri hastalığında mikovirüsün hipovirülenslik özelliği ile başarılı bir biyolojik kontrol sağlanması, diğer fungal hastalıkların kontrolünde de mikovirüslerin etkili olabileceği fikrinin araştırılmasına olanak sağlamıştır.

1950'li yıllarda yulaflarda ve diğer tahıllarda yanıklık yapan Ascomycota üyesi olan *Helminthosporium victoriae* 'nin saptanması ile birlikte mikovirüslerin varlığına ilişkin ilk ipuçları elde edilmiştir (Ghabrial ve ark., 2013). Fakat mikovirüsler ile ilgili ilk detaylı çalışma 1962 yılında *Agaricus bisporus*'u infekte eden viral partiküller ile ilgili olmuştur. Geriye doğru ölüm belirtileri *A. bisporus*'ta ilk olarak 1948

yılında Pensilvanya’da mantar üretim tesisleri olan La France kardeşler tarafından tespit edilmiştir. Tespit edilen hastalık La France disease olarak isimlendirilmiş ve benzer bir hastalık hemen arkasından Avrupa, Japonya ve Avustralya’da görülmüştür. 1962 yılında Hollings, hastalıklı mantar dokularından en az 3 cins virüs partikülü izole etmiş ve izole edilen bu virüs partikülleri ile modern mikoviroloji için yeni bir bilgi olan hastalık aktarımının mantarlardaki durumunu saptamıştır (Hollings, 1962).

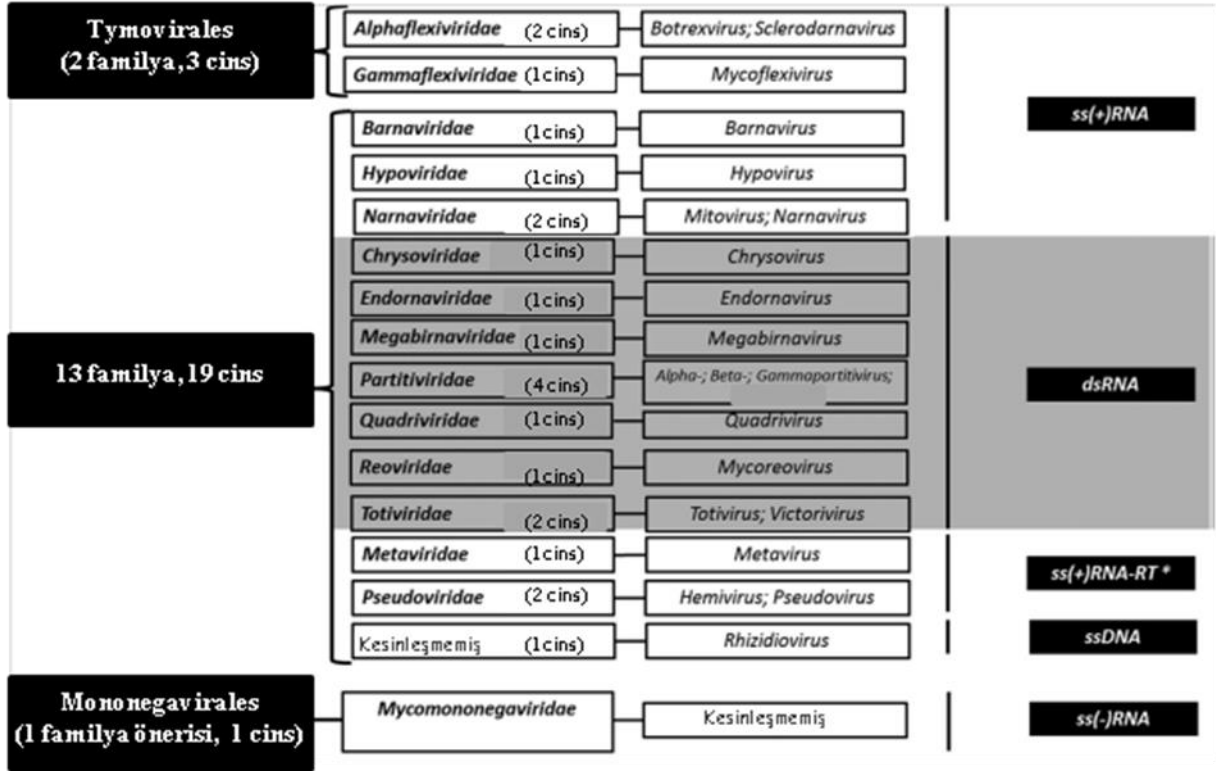
1960’lı yıllarda çift sarmallı viral RNA’ nın (dsRNA) Ascomycota şubesinde bulunan *Penicillium* türlerinden olan *Penicillium chrysogenum*’dan izole edilmesi ile birlikte, ekonomik ve tıbbi önem taşıyan mikovirüslerin araştırılma gerekliliği ortaya çıkmıştır (Lampson ve ark., 1967). *P. chrysogenum*’u infekte ettiği bilinen tek mikovirüs olan *P. chrysogenum virus* (PcV), günümüz çalışmaları ile karakterize edilmiştir (Jiang ve Ghabrial, 2004).

Fransız mikolog Jean Grente 1950’li yıllarda kestane kanserinde *C. parasitica* etmeninin hipovirulent streynini saptamış ve bu streynin kanserli dokuları iyileştirdiğini keşfetmiştir. Yapılan çalışmalarda, tüm izole edilen streylerin dsRNA içerdiği saptanmıştır. *Cryphonectria hipovirüs 1* genomunun dizi analizi yapıldıktan sonra, infeksiyöz cDNA klonu *C. parasitica*’nın virüs içermeyen streynlerini hipovirüslüğe başarılı bir şekilde dönüştürmek için kullanılmıştır. Mikovirüsler ve hipovirüslük arasında ilişki, *Cryphonectria hipovirüs 1* (CHV1)’in hipovirüslük kaynağı olduğunun bulunmasıyla kanıtlanmıştır (Chen ve Nuss,1999; Choi ve Nuss, 1992).

2.2 Fungal Virüslerin Taksonomisi

Fungal virüsler genellikle fungal sitoplazmada replike olmakta, bazıları ise (Mitovirüsler) konukçusunun mitokondrisinde replike olmaktadır (Göker ve ark., 2011). Yapısal olarak mikovirüs genomu virüs replikasyonunu ve bazen de kapsid sentezini sağlayan proteinleri kodlayan open reading frame (ORFs) bölgeleri içermektedir. Moleküler genom büyüklükleri mikovirüsler arasında farklılık göstermektedir (Munoz-Adalia ve ark., 2016)

Bugüne kadar 250’den fazla fungal virüsün genom dizi analizleri yapılarak tanılanmış ve NCBI gen bankasına verileri girilmiştir (Xie ve Jiang, 2014). Bu fungal virüsler International Committee on Taxonomy of Viruses tarafından yayınlanan listede 15 familya içinde 22 cins olarak ayrılmıştır ve Şekil 1’de gösterilmiştir (ICTV, 2014). Günümüzde hala mikovirüslerin birçoğu kategorize edilememiştir (Pearson ve ark., 2009).



Şekil 1. ICTV 2014 sınıflandırma kriterlerine göre mikovirüs taksonomisi (Ghabrial ve ark., 2015)

Figure 1. Taxonomy of mycoviruses according to ICTV 2014 classification criteria (2014) (Family proposed by Ghabrial et al., 2015)

Fungal virüs familyalarının sınıflandırılmasında, genom organizasyonu, viral proteinlerin yapısı ve sayısı gibi birbirlerinden ayırt edici özelliklerden yararlanılmaktadır. Viral genomlar, tek veya çift sarmallı DNA ya da RNA' dan oluşmaktadır. Mikovirüslerden 7 familyaya ait olanlar çift sarmal RNA genomuna sahipken, 6 familyaya ait mikovirüsler ise tek sarmal RNA genomuna sahiptir. SsRNA virüsleri, sarmal yapının direk kodlanıp kodlanmamasına göre negatif ve pozitif gruplara ayrılmaktadır. SsRNA mikovirüslerinden 5 familya ss(+) RNA genomuna sahipken, 1 familyada bulunan üyeler ise ss(-) RNA genomuna sahiptir (Munoz-Adalia ve ark., 2016).

2.3 Fungal Virüslerin Taşınması

Fungal virüsler başlıca hifsel birleşme (protoplazmik füzyon, anastomosis) veya sporulasyon ile taşınmaktadır. Hücre içi taşınmada ise dikey ve yatay olmak üzere iki önemli yol bulunmaktadır (Wang ve ark., 2017). Fungusların anastomosis özelliği, mikovirüslerin hücre içinde taşınması bakımından önemlidir (Munoz-Adalia ve ark., 2016). Yatay taşınmada, fungusun vejetatif uyum grup (VCGs) çeşitliliği önemli bir rol üstlenmektedir. Vejetatif uyumsuzluk mikovirüslerin yatay taşınmasında ana

bariyer olarak görev almaktadır. Vejetatif uyumsuzluk hifsel birleşmeyi engellemekte ve viral taşınmayı sınırlandırmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. Anastomosis ve mikovirüs taşınımı

Figure 2. Anastomosis and mycovirus transmission

Dikey taşınma eşeysiz ve eşeyli spor formları aracılığıyla olmaktadır. Genel olarak çoğu mikovirüs eşeysiz sporlarla taşınmada oldukça başarılıdır. Eşeyli sporlarla taşınma eşeysiz sporlarla taşınmaya oranla daha düşüktür. Fakat fungal virüsler eşeyli sporlarda da kolonize olabilmekte, konukçu fungusun yeni nesillerini infekte edebilmektedir (Chun ve Lee, 1997).

RNA mikovirüsleri ise hücre dışı taşınmamaktadırlar. Çünkü RNA mikovirüsleri hücre dışı taşınma için gerekli olan hareket proteininden yoksundurlar. Bütün virüslerin infeksiyöz yaşam döngüsünde başlıca adımı hücre duvarını geçmektir. Fungusların hücre duvarları virüslerin hücre dışı taşınımında koruyucu membran olarak bir bariyer görevi üstlenmektedir. Sonuç olarak, mikovirüslerin çoğu hücre dışı taşınmayla fungal infeksiyonları başlatma yeteneğine sahip değildirler. Hücre dışı taşınmada *S. sclerotiorum* hipovirulensite-associate DNA virus 1 (SsHADV-1)'de bulunan saf viral partiküller *S. sclerotiorum*'un virüs bulunmayan protoplastını, bozulmamış hifini ve hifsel parçalarını hücre dışı infekte etmektedir. Bu hücre dışı taşınma *in vitro* (PDA ortamı) ve *in vivo* (infekteli bitkinin yaprakları) testlerle bildirilmiştir (Yu ve ark., 2013).

2.4 Fungal Virüslerin Etki Mekanizması

Fungal virüsler genellikle gizli veya semptom vermeden devam eden infeksiyonlara neden olmaktadır. İnfekte ettikleri fungusların gelişimini yavaşlatma, virülensliğini azaltma veya arttırma, pigmentasyonu ve sporulasyonu azaltma gibi fenotipik özelliklerini değiştirebilen mikovirüsler konukçu fungusta olumsuz etkiler yaratmaktadır. Hipovirulenslik önemli etkilerinden olup, mikovirüsün konukçu fungusunda pigmentasyon azalması, aseksüel sporulasyonun durması, gelişme hızında düşüşler gibi özellikleri ile tanımlanmaktadır (Deng ve ark., 2007).

Hipovirulenslik bitki patojeni fungusların virülensliğini azaltan bir durumdur. Daha başka bir tanımlamayla hipovirulenslik, patojenin hastalık oluşturma kabiliyetinde meydana gelen azalmadır. Hipovirulenslik fungal virüslerin bitki fungal hastalıklarının biyolojik kontrolünde en sık kullanılan etki

mekanizmasıdır. Mekanizma hala çok net anlaşılmış olmamakla birlikte, farklı araştırmacılar tarafından çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. Bu hipotezlerden bazıları sinyal iletim yolları ile ilgilidir (Nuss, 2011). Bir diğer hipotez ise bitki patolojisinde önemli bir konu olan fungusların mikovirüslere karşı antiviral yanıtı veya RNA susturulmasıdır. Virüs sağlıklı hücreleri infekte ettiğinde, çeşitli proteinler viral RNA segmentlerini üreterek yanıt başlatmaktadır. Nuss (2011) yaptığı çalışma ile RNA susturulmasının antiviral savunma yanıtı olduğunu ve viral RNA rekombinasyonunda RNA susturulması için beklenmedik bir rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır.

3. FUNGAL VİRÜSLERİN BİTKİ PATOJENİ FUNGUSLARDA KULLANIM OLANAKLARI

3.1 *Cryphonectria parasitica*

Cryphonectria parasitica kestane kanseri etmeni olup, pek çok mikovirüse ev sahipliği yapmaktadır. *Cryphonectria hipovirus 1-4* (CHV-1, CHV-2, CHV-3 ve CHV-4) kuzey yarımkürenin farklı bölgelerinde rapor edilmiştir (Shapira ve ark., 1991; Smart ve ark., 1999). Fungusun sitoplazmasında bulunan virüsler, virüsle infekteli olmayan funguslara hissel anastomosis yoluyla bulaşmaktadır (Griffin ve ark., 2004).

Kestane kanserinde görülen mikovirüsler içerisinde en iyi bilinen CHV-1'dir. CHV-1 *C. parasitica* etmenini infekte ettiğinde, etmenin miseliyal gelişiminde, sporulasyonunda azalmaya neden olmakta ve fungus gelişimini sekteye uğratmaktadır. Mikovirüs ile infekteli fungus sadece gövde yüzeyinde geçici kanserler oluşturmakta ve ağaç yaşamını sürdürmektedir. CHV-1'in kestane kanserinde varolmasının diğer belirtileri ise koloni morfolojisinde ve rengindeki değişikliklerdir (Peever ve ark., 2000). CHV-1 ilk olarak Avrupa'da (İtalya ve Fransa), Asya'da daha sonra da Amerika'da bildirilmiştir (Allemann ve ark., 1999). CHV-1 günümüzde Avrupa'da, CHV-2 ve CHV-3 ise Kuzey Amerika'da biyokontrol amaçlı kullanılmaktadır. *Mycoreovirus 1* (MyRV-1) (Reoviridae) kestane kanserinde tanılanan bir diğer hipovirulent streyndir. *Mycoreovirus* sp.'lerin viral taşınmasının eşeyli sporlar ile olduğu bildirilmiştir (Deng ve ark., 2007). Diğer mikovirüsler *Mycoreovirus 2* (MyRV-2) ve *Cryphonectria mitovirus 1* (CpMV-1) ise Reoviridae ve Narnaviridae familyasına aittirler. (Hillman ve Suzuki, 2004).

Türkiye'de ise kestane kanserine karşı biyolojik mücadele çalışmaları hipovirulent ırkların kullanılmasıyla günümüzde hala devam etmektedir. (Akıllı ve ark., 2012; Erincik ve ark., 2018).

3.2 *Ophiostoma novo-ulmi*

Karaağaç ölümüne neden olan *Ophiostoma ulmi* ve *Ophiostoma novo-ulmi*'de mikovirüslerin varlığını anlatan d-factor sitoplazmik iletilen ajan olarak tanılanmıştır. D-factor dsRNA virüs partikülü olarak karakterize edilmiştir. D-factor kabuk böceklerinin beslenmesi sonucu oluşan yaralarda bulunan fungal etmenin büyümesinde zayıflamalara neden olmaktadır. Ayrıca d-factor virüs partikülü ile infekteli fungal

izolatların gelişmesini yavaşlatmakta, konidilerin canlılık sürelerini azaltmakta ve spor sayılarını kısıtlamaktadır. Bunun yanı sıra cerato-ulmin toksin salınımını azalttığı da saptanmıştır (Sutherland ve Brasier, 1995). *O. novo-ulmi* izolatlarında çok sayıda farklı boyutta dsRNA genomuna rastlanmıştır. Yapılan çalışmalarla birlikte fungusun virulensliği üzerinde etkili olan 3 partikül saptanmıştır. *O. novo-ulmi*'de enfeksiyona neden olan dsRNA mitokondride tespit edilmiş ve mitokondriyal cytochrome c-oxidase düzeyini etkileyerek fungusta solunum kaybına neden olduğu bildirilmiştir (Rogers ve ark., 1987).

3.3 *Sclerotinia sclerotiorum*

Farklı pek çok mikovirüs genomu (ssRNA, dsRNA ve ssDNA) *Sclerotinia sclerotiorum*'da tanılanmıştır. *S. sclerotiorum* hipovirulence associated DNA virus 1 (SsHADV-1) patojeni infekte eden ve hipovirulenslik gösteren ilk keşfedilen DNA mikovirüsü olmuştur (Yu ve ark., 2010). SsDRV (*Sclerotinia sclerotiorum* debilitation-associated RNA virus) Ep-1PN streyninde hipovirulenslik sağlamaktadır. *S. sclerotiorum*-SsDRV sistemini kullanarak, Ep-1PN streyninde ifadesi azalan 150 gen tanılanmıştır (Li ve ark., 2008). SsDRV tarafından ifadesi azalan genler biyolojik fonksiyonlarda geniş bir spektrum sunmaktadır. Yapılan çalışmalarda Amerika ve Yeni Zelanda *S. sclerotiorum* streynlerinden 4 mitovirüs izole edilmiştir (Khalifa ve Pearson, 2013; Xie ve Ghabrial, 2012). Bir RNA virüsü olan SsHV-1 tanılanmış ve Hypoviridae familyasında bulunan CVH-3 ve CHV-4 mikovirüsleri ile benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (Xie ve ark., 2011). Yeni genetik yaklaşımlarla *S. sclerotiorum*'da bulunan integrin like geninin (SSITL) ise SsDRV varlığını baskıladığı keşfedilmiştir. SSITL geninin susturulması virulenslikte ve fungusun büyümesinde azalmalar ile sonuçlanmıştır (Zhu ve ark., 2013).

3.4 *Rosellinia necatrix*

Çok sayıda odunsu bitkide zarar meydana getiren *R. necatrix*'in farklı familyalara ait (Chrysoviridae, Quadriviridae, Partitiviridae, Reoviridae ve Totiviridae) pek çok mikovirüsü taşıdığı bildirilmiştir (Xie ve Jiang, 2014). DsRNA mikovirüsleri olan *Rosellinia necatrix* megabirnavirus 1 (RnMBV1) ve *Rosellinia necatrix* partitivirus 2 (RnPV2)'nin hipovirulenslik ile bağlantılı olduğu keşfedilmiştir (Xie ve Jiang, 2014). Yapılan bir çalışmada elma ağaçlarına *R. necatrix* izole edildikten 2-3 yıl sonra türe ait 42 alt tür niteliğinde izolat elde edilmiştir. Bu izolatların 22'sinde dsRNA saptanmıştır (Yaegashi ve ark., 2012). Bu çalışmada dsRNA taşıyan 6 adet yeni mikovirüs izole edilmiştir (S1-S6). İzole edilen bu mikovirüsler miseliyal gelişimi yavaşlatmakta, patojenisiteyi azaltmakta ve fungus morfolojisinde değişikliklere neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada ise RnPV1, RnPV2, MyRV3 ve RnMBV1 mikovirüsleri virüs taşımayan ve RNA susturmayı indükleyen protein GFP (green fluorescent protein)'yi içeren *R. necatrix* streynine tanıtılmıştır (Yaegashi ve ark., 2013). MyRV3 VP10 geninin, CHV1 P29 hipovirüs geni ile benzer olduğunu ve doğal konukçusunda RNA susturmada baskılayıcı bir viral rol oynadığını ortaya çıkarmıştır.

3.5 *Fusarium spp.*

Günümüze kadar *Fusarium graminearum*, *Fusarium poae*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium boothii* ve *Fusarium virguliforme*'de mikovirüsler teşhis edilmiştir (Cho ve ark., 2013; Marvelli ve ark., 2014). Yapılan dizi analizleri sonucu teşhis edilen *Fusarium* virüslerinin çoğunun Partitiviridae, Totiviridae veya Chrysoviridae familyasına ait olduğu bildirilmiştir. *Fusarium* türlerinde 11 tane mikovirüs tanılanmasına rağmen özellikle FgV1 hipovirulent etki göstermiştir (Cho ve ark., 2013; Wang ve ark., 2013).

FgV1 *F. graminearum* streyn DK21'de hipovirulenslik ile ilişkili bir virüstür. *F. graminearum*'un mikovirüs infeksiyonuna olan cevabı veya ilişkisi proteomik ve transkripsiyonel düzeylerde incelenmiştir. FgV1 infeksiyonu sırasında, farklı *F. graminearum* proteinlerinin ifade edildiği keşfedilmiştir. Çalışmada 148 noktada değişen ifadelerde 33 protein 2-DE (2-dimensional gel electrophoresis) tekniği kullanılarak tanılanmıştır (Kwon ve ark., 2009). Fakat elde edilen bu 33 protein konukçunun virüse olan cevabını ayrıntılı olarak anlamak için yetersizdir. Daha sonra transkriptomik yaklaşımla FgV1 infekteli *F. graminearum*'un tüm genomundaki gen ifadelerinin farklılıkları 2 farklı zamanda (36 ve 120 saat) analiz edilmiştir (Cho ve ark., 2012). Toplamda 1775 *F. graminearum* geninin FgV1 infeksiyonu tarafından etkilendiği tanılanmıştır. FgV1-DK21 virus replikasyonu için gerekli olan protein sentezi genleri, sinyal iletişimde kullanılan genler ve transkripsiyonda gerekli olan genlerin ifadesinin artmasını tetiklemektedir. Tam tersi olarak, viral infeksiyona karşı oluşturulan fungal savunmada rol oynayan metabolik süreçle bağlantılı genlerin ifadesinde 36 saat içinde düşüş gözlenmiş, fakat 120'nci saatte kademeli olarak bu genler tekrar teşvik edilmiştir. Bunlara ek olarak, stres koşullarında aktive olan genlerin ifadesinin 120. saatte arttığı, membran bağlantılı taşıyıcı genlerin ifadesinin ise 36'ncı ve 120'nci saatlerde azaldığı bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada *Fusarium graminearum* izolatında (China9) dsRNA mikovirüsü FgV'in hipovirulenslik bağlantısı araştırılmıştır. Tek konidi üreten kültürler yoğun, orta ve düşük miktarda viral dsRNA ile ilişkili olabilmektedir. Yüksek ve orta yoğunluktaki dsRNA düzeylerinde, izolatın miseliyal gelişiminde ve konidi kapasitesinde yavaşlama, anormal koloni morfolojisi, düzensiz sitoplazma görüntüsü olduğu görülmüştür. Düşük dsRNA düzeyinde ise fungusta herhangi bir belirti gözlenmemiştir (Darissa ve ark., 2012).

3.6 Diğer Bitki Patojeni Funguslar

Diğer bitki patojeni funguslar gibi *Botrytis* popülasyonu içinde de çeşitli mikovirüsler bulunmaktadır. *Botrytis virus F* (BVF), *Botrytis virus X* (BVX), *Botrytis cinerea mitovirus 1* (BcMV1) ve *Botrytis porri RNA virus 1* (BpRV1) bunlardan bazılarıdır (Castro ve ark., 2003; Howitt ve ark., 1995). *Botrytis porri*'de ise dsRNA virüsü (BpRV1) hipovirulent streynden (GarlicBc-72) izole edilmiştir (Wu ve ark., 2012).

Verticillium türlerinde de mikovirüslerin varlığı kendini göstermektedir. *Verticillium dahliae chrysovirus 1* (VdCV1) ve Partitiviridae familyasına ait *Verticillium albo-atrum partitivirus 1* (VaaPV1) farklı araştırmacılar tarafından tanılanmıştır (Cao ve ark., 2011; Canizares ve ark., 2014). Fakat yapılan çalışmalarda fungal konukçu üzerindeki patojenik etki ile ilgili detaylar bildirilmemiştir.

Rhizoctonia solani AG-11A pirinçte yanıklık oluşturan streyninde yapılan bir çalışmada ise dsRNA mikovirüsü *Rhizoctonia solani partitivirus 2* (RsPV2) tespit edilmiştir. Saflaştırılmış RsPV2 partikülleri *R. solani* AG-11A'nın virüs taşımayan GD-118 streyninin protoplastına verildiğinde türetilmiş GD-118T izogenik streynde miseliyal gelişiminde yavaşlama görülmüştür. Bu belirtiden sonra dsRNA virüsünün biyolojik kontrol amaçlı kullanılabilceği düşünülmüştür (Zheng ve ark., 2014).

Botryosphaeria dothidea *Pyrus pyrifolia* izolatlarında 2 yeni dsRNA mikovirüsü tespit edilmiştir. Bu virüsler Chrysoviridae familyasına ait *Botryosphaeria dothidea chrysovirus 1* (BdCV1) ve Partitiviridae familyasına ait *Botryosphaeria dothidea partitivirus 1* (BdPV1)'dir. Bu çalışma chrysovirüsün biyolojik savaşmada hipovirulens özelliği nedeniyle kullanılabilceğini göstermiştir (Wang ve ark., 2014).

Fungus benzeri organizmalardan özellikle *Phytophthora infestans*'da şiddetli kimyasal mücadele çalışmaları başarısız olmakta bu nedenle biyolojik savaşmada uygulanabilecek yöntemler aranmaktadır. *P. infestans*'ta *Phytophthora infestans RNA virus 1* (PiRV-1), PiRV-2, PiRV-3 ve PiRV-4 mikovirüsleri saptanmış ve karakterize edilmiştir (Cai ve Hillman, 2013). Henüz kategorize edilmemiş pek çok mikovirüsün Oomycota şubesi etmenlerinde bulunduğu düşünülmektedir.

4. SONUÇ

Mikovirüsler pek çok bitki patojeni fungus ve fungus benzeri organizmaları infekte etmekte ve infekte ettiği patojenin fenotipinde ve virulensliğinde farklılıklar meydana getirebilmektedir. Mikovirüslerin çoğu dsRNA genomuna sahip olup, infekte ettikleri konukçularında genellikle belirti meydana getirmediklerinden tespit edilmelerinde sıkıntılar yaşanmaktadır.

Mikovirüs uygulandığında, başarılı bir uygulama olabilmesi için virüs popülasyonunun tarla koşullarındaki durumu çok önemlidir. Tarla koşullarında vejetatif uyumsuz gruplar arasındaki virüs taşınımının etkililiği mikovirüslerin biyolojik ajan olarak kullanılma talebini yok etmektedir ve programlı hücre ölümüne neden olmaktadır. Fakat programlı hücre ölümünün makul bir şekilde dışarıdan kimyasallarla baskılanması söz konusudur. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada çinko bileşiklerinin *R. necatrix* bireyleri arasındaki uyumsuzluğu azalttığı bildirilmiştir. Çinko bileşikleri eklenmiş besi yerinde vejetatif uyumsuz streynlerin ekimleri sonucunda testlenen streynler arasında hifsel anastomosis gerçekleşmiş ve mikovirüs taşınımı gerçekleşmiştir (Ikeda ve ark., 2013). Vejetatif uyum sorununu çözmeye bir diğer strateji ise vektörlerdir. Vektörler aracılığıyla gerçekleşen viral taşınımında vejetatif uyumsuz bireyler arasındaki taşınım sorunu yok olmakta ve tarla koşullarında mikovirüs popülasyonu hızlıca artmaktadır. Viral vektörlerle viral partikülün taşınımı, vektörlerin

üretimini ve doğaya salınımının kolay olmaması nedeniyle günümüzde uygulanabilir değildir. Ayrıca bazı mikoparazitleri de mikovirüs taşıyıcı olarak kullanmak akılcı bir çözüm olabilmektedir. Mikovirüsü mikoparazitik etkiye sahip organizmaya tanıtmak transfeksiyon tekniklerle veya ikili kültür teknikleriyle mümkün olabilmektedir. Eğer mikovirüs mikoparazit organizmanın içinde replike olabilirse, bir sonraki aşama mikovirüs taşıyan mikoparazitin aynı konukçu ile karşılaştığında mikovirüsün konukçu fungus içine salınıp salınmadığını kontrol etmektir.

Tarla koşullarında başarılı bir mikovirüs taşınımını sağlayabilmek en önemli stratejilerdendir. Şaşırtıcı ve cesaret verici bir durum saflaştırılmış *S. sclerotiorum hipovirulence-associated virus 1* (SsHADV1) partiküllerinin direkt *S. sclerotiorum*'u infekte etmek için kullanılması ile ortaya çıkmıştır. SsHADV1 sprey uygulaması ile direkt kullanılmıştır (Yu ve ark., 2013). Sprey uygulaması ile püskürtülen dsRNA'nın fungal hücre içinde absorbe edildiği ve biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabilceği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Günümüzde moleküler tekniklerin gelişimi ile birlikte, viral genom ekstraksiyonu yöntemiyle virüs varlığını tespit etmek çok daha basit hale gelmiştir. Yapılan çalışmalara bakıldığında, çoğu çalışma mikovirüslerin izole edilmesi ve funguslar üzerindeki etkisini ortaya koymak yönündedir. Funguslar üzerindeki etki mekanizmasına bakıldığında mikovirüslerin genellikle hipovirulenslik etki gösterdiği ve virulensiği düşürdüğü tespit edilmiştir. Dolayısıyla tespit edilen mikovirüslerin biyolojik mücadelede kullanılabilme olanakları hala araştırılmakta ve özellikle arazi koşullarında nasıl uygulanabileceği sorusu hala yanıt aramaktadır.

En iyi örneklerden biri olan kestane kanserinde olduğu gibi, yakın gelecekte pek çok bitki hastalığının kontrolünde mikovirüslerin kullanımının daha da yaygınlaşması gerektiği düşüncesi araştırmacılar tarafından benimsenmektedir. Biyolojik temelli mücadele yöntemi olarak mikovirüslerin kullanılması, uzun zaman ve çaba gerektiren bir uygulamadır. Mikovirüslü izolatların doğaya yayılması ise yine uzun bir süreç gerektirmektedir. Ancak bu süreç başarılı bir şekilde tamamlandığında biyolojik savaşın başarısı yüksek olacaktır.

Bitki hastalıklarına karşı biyolojik temelli mücadele yöntemlerinin yaygınlaştırılması doğal dengeyi koruyan ekosistem temelli bir gerekliliktir. Dolayısıyla, öncelikli olarak biyolojik mücadele yöntemlerinden faydalanılarak, doğaya ve çevreye verilecek zararın minimize edilmesi amacıyla mikovirüslerin hastalık etmenlerinin kontrolünde kullanılma olanaklarının araştırılması tarım adına olumlu katkılar sağlayacaktır. Virüs ile infekteli fungal streynlerin ekolojik istekleri ve arazi koşullarında virüs taşınımının mekanizmasını anlayabilmek başarılı bir mikovirüs yönetimi için gereklidir. Mikovirüs, bitki ve fungus arasındaki etkileşim, laboratuvar ortamında virüs infekteli fungal kültürün elde edilmesinden çok daha önemli bir diğer konudur. Bu etkileşimi anlayabilmek için farklı mikovirüs-bitki sistemleri üzerinde çalışılmalıdır. Yeni bulunan mikovirüslerin etki mekanizmalarını ve latent infeksiyon mekanizmasını anlamaya yönelik çalışmalar yapılmalıdır. Ayrıca henüz başarısız olmuş olsa da virüs

infekteli fungal streynlerin veya virüs partiküllerinin formülize edilmesi ve ticari olarak üretilmesi bitki hastalıkları ile biyolojik savaşmada son derece gereklidir.

KAYNAKÇA

- Akıllı, S., Ulubaş-Serçe, Ç., Katırcıoğlu, 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.
- Alleman, 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.
- Cai, G., Hillman, B. I. (2013). Phytophthora viruses. *Advances in virus research*, 86, 327-350.
- Cañizares, M. C., Pérez-Artés, E., García-Pedrajas, M. D. (2014). The complete nucleotide sequence of a novel partitivirus isolated from the plant pathogenic fungus *Verticillium albo-atrum*. *Archives of Virology*, 159, 3141–3144.
- Cao, Y.-F., Zhu, X.-W., Xiang, Y., Li, D.-Q., Yang, J.-R., Mao, Q.-Z., Chen, J. S. (2011). Genomic characterization of a novel dsRNA virus detected in the phytopathogenic fungus *Verticillium dahliae* Kleb. *Virus Research*, 159,73–78.
- Castro, M., Kramer, K., Valdivia, L., Ortiz, S., Castillo, A. (2003). A double-stranded RNA mycovirus confers hypovirulence-associated traits to *Botrytis cinerea*. *FEMS Microbiology Letters*, 228(1),87-91.
- Chen, B., Nuss, D. L. (1999). Infectious cDNA clone of hypovirus CHV1-Euro7: a comparative virology approach to investigate virus-mediated hypovirulence of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *Journal of Virology*, 73(2), 985-992.
- Cho, W. K., Lee, K. M., Yu, J., Son, M., Kim, K. H. (2013). Insight into mycoviruses infecting *Fusarium* species. *Advances in Virus Research*, 86, 273-288.
- Cho, W. K., Yu, J., Lee, K. M., Son, M., Min, K., Lee, Y. W., Kim, K. H. (2012). Genome-wide expression profiling shows transcriptional reprogramming in *Fusarium graminearum* by *Fusarium graminearum* virus 1-DK21 infection. *Bmc Genomics*, 13(1),173.
- Choi, G. H., Nuss, D. L. (1992). Hypovirulence of chestnut blight fungus conferred by an infectious viral cDNA. *Science*, 257(5071),800-803.
- Chun, S. J., Lee, Y. H. (1997). Inheritance of dsRNAs in the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *FEMS microbiology letters*, 148(2),159-162.

- Darissa, O., Adam, G., Schäfer, W. (2012). A dsRNA mycovirus causes hypovirulence of *Fusarium graminearum* to wheat and maize. *European Journal of Plant Pathology*, 134(1),181-189.
- Deng, F., Allen, T. D., Hillman, B. I., Nuss, D. L. (2007). Comparative analysis of alterations in host phenotype and transcript accumulation following hypovirus and mycoreovirus infections of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *Eukaryotic Cell*, 6(8), 1286-1298.
- Erincik, Ö., Mersin, E., Açıkgöz, S., (2018). *Cryphonectria parasitica*'nın hipovirulent strainlerinin fenol ve kloroform içermeyen dsRNA analiz yöntemi ile belirlenmesi ve *Cryphonectria hypovirus 1*'in RT-PCR İle Tanılanması. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(2), 25-32.
- Ghabrial, S. A., Dunn, S. E., Li, H., Xie, J., Baker, T. S. (2013). Viruses of *Helminthosporium (Cochliobolus) victoriae*. *Advances in Virus Research*, 86, 289-325.
- Ghabrial, S. A., Castón, J. R., Jiang, D., Nibert, M. L., Suzuki, N. (2015). 50-plus years of fungalviruses. *Virology*, 479–480, 356–368.
- Göker, M., Scheuner, C., Klenk, H. P., Stielow, J. B., Menzel, W. (2011). Codivergence of mycoviruses with their hosts. *PLoS One*, 6(7), e22252.
- 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(1), 33-46.
- Hillman, B.I., Suzuki, N. (2004). Viruses of the chestnut blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Adv. Virus Res*, 63, 423-472.
- Hollings, M. (1962). Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom. *Nature*, 196(4858), 962.
- Howitt, R. L., Beever, R. E., Pearson, M. N., Forster, R. L. (1995). Presence of double-stranded RNA and virus-like particles in *Botrytis cinerea*. *Mycological Research*, 99(12),1472-1478.
- ICTV (2014). International committee on taxonomy of viruses. 10.12.2018 tarihinde <http://ictvonline.org/index.asp> adresinden erişildi.
- Ikeda, K., Inoue, K., Kida, C., Uwamori, T., Sasaki, A., Kanematsu, S., Park, P. (2013). Potentiation of mycovirus transmission by zinc compounds via attenuation of heterogenic incompatibility in *Rosellinia necatrix*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(12), 3684-3691.

- Jiang, D., Ghabrial, S. A. (2004). Molecular characterization of *Penicillium chrysogenum* virus: reconsideration of the taxonomy of the genus Chrysovirus. *Journal of General Virology*, 85(7),2111-2121.
- Khalifa, M. E., Pearson, M. N. (2013). Molecular characterization of three mitoviruses co-infecting a hypovirulent isolate of *Sclerotinia sclerotiorum* fungus. *Virology*, 441(1), 22-30.
- Kwon, S. J., Cho, S. Y., Lee, K. M., Yu, J., Son, M., Kim, K. H. (2009). Proteomic analysis of fungal host factors differentially expressed by *Fusarium graminearum* infected with *Fusarium graminearum* virus-DK21. *Virus Research*, 144(1-2),96-106.
- Lampson, G. P., Tytell, A. A., Field, A. K., Nemes, M. M., Hilleman, M. R. (1967). Inducers of interferon and host resistance. I. Double-stranded RNA from extracts of *Penicillium funiculosum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 58(2),782-789.
- Li, H., Fu, Y., Jiang, D., Li, G., Ghabrial, S. A., Yi, X. (2008). Down-regulation of *Sclerotinia sclerotiorum* gene expression in response to infection with *Sclerotinia sclerotiorum* debilitation-associated RNA virus. *Virus Research*, 135(1), 95-106.
- Marvelli, R. A., Hobbs, H. A., Li, S., McCoppin, N. K., Domier, L. L., Hartman, G. L., Eastburn, D. M. (2014). Identification of novel double-stranded RNA mycoviruses of *Fusarium virguliforme* and evidence of their effects on virulence. *Archives of Virology*, 159(2), 349-352.
- Muñoz-Adalia, E. J., Fernández, M. M., Diez, J. J. (2016). The use of mycoviruses in the control of forest diseases. *Biocontrol Science and Technology*, 26(5), 577-604.
- Nuss, D.L. (2011). Mycoviruses, RNA silencing, and viral RNA recombination. *Adv. Virus Res*, 80, 25-48.
- Pearson, M. N., Beever, R. E., Boine, B., Arthur, K. (2009). Mycoviruses of filamentous fungi and their relevance to plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 10(1),115-128.
- Peever, T. L., Liu, Y. C., Cortesi, P., Milgroom, M. G. (2000). Variation in tolerance and virulence in the chestnut blight fungus-hypovirus interaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 4863-4869.
- Rogers, H. J., Buck, K. W., Brasier, C. M. (1987). A mitochondrial target for double-stranded RNA in diseased isolates of the fungus that causes Dutch elm disease. *Nature*, 329(6139), 558.
- Shapira, R., Choi, G. H., Nuss, D. L. (1991). Virus-like genetic organization and expression strategy for a double-stranded RNA genetic element associated with biological control of chestnut blight. *The EMBO Journal*, 10(4),731-739.

- Smart, C. D., Yuan, W., Foglia, R., Nuss, D. L., Fulbright, D. W., Hillman, B. I. (1999). Cryphonectria hypovirus 3, a virus species in the family Hypoviridae with a single open reading frame. *Virology*, 265(1), 66-73.
- Sutherland, M. L., Brasier, C. M. (1995). Effect of d-factors on in vitro cerato-ulmin production by the Dutch elm disease pathogen *Ophiostoma novo-ulmi*. *Mycological Research*, 99(10), 1211-1217.
- Wang, L., Jiang, J., Wang, Y., Hong, N., Zhang, F., Xu, W., Wang, G. (2014). Hypovirulence of the phytopathogenic fungus *Botryosphaeria dothidea*: association with a co-infecting chrysovirus and a partitivirus. *Journal of Virology*, JVI-00538.
- Wang, S., Kondo, H., Liu, L., Guo, L., Qiu, D. (2013). A novel virus in the family Hypoviridae from the plant pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. *Virus Research*, 174(1-2), 69-77.
- Wang, S., Ongena, M., Qiu, D., Guo, L. (2017). Fungal viruses: Promising fundamental research and biological control agents of fungi. *SM Virol*, 2(1), 1011.
- Wu, M., Jin, F., Zhang, J., Yang, L., Jiang, D., Li, G. (2012). Characterization of a novel bipartite double-stranded RNA mycovirus conferring hypovirulence in the phytopathogenic fungus *Botrytis porri*. *Journal of Virology*, JVI-00292.
- Xie, J., Ghabrial, S. A. (2012). Molecular characterizations of two mitoviruses co-infecting a hypovirulent isolate of the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Virology*, 428(2), 77-85.
- Xie, J., Jiang, D. (2014). New insights into mycoviruses and exploration for the biological control of crop fungal diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 52, 45-68.
- Xie, J., Xiao, X., Fu, Y., Liu, H., Cheng, J., Ghabrial, S. A., Li, G., Jiang, D. (2011). A novel mycovirus closely related to hypoviruses that infects the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Virology*, 418(1), 49-56.
- Yaegashi, H., Nakamura, H., Sawahata, T., Sasaki, A., Iwanami, Y., Ito, T., Kanematsu, S. (2012). Appearance of mycovirus-like double-stranded RNAs in the white root rot fungus, *Rosellinia necatrix*, in an apple orchard. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(1), 49-62.
- Yaegashi, H., Yoshikawa, N., Ito, T., Kanematsu, S. (2013). A mycoreovirus suppresses RNA silencing in the white root rot fungus, *Rosellinia necatrix*. *Virology*, 444(1-2), 409-416.
- Yu, X., Li, B., Fu, Y., Jiang, D., Ghabrial, S. A., Li, G., Peng, Y., Xie, J., Cheng, J., Huang, J., Yi, X. (2010). A geminivirus-related DNA mycovirus that confers hypovirulence to a plant pathogenic fungus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(18), 8387-8392.

- Yu, X., Li, B., Fu, Y., Xie, J., Cheng, J., Ghabrial, S. A., Li, G., Yi, X., Jiang, D. (2013). Extracellular transmission of a DNA mycovirus and its use as a natural fungicide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(4), 1452-1457.
- Zheng, L., Zhang, M., Chen, Q., Zhu, M., Zhou, E. (2014). A novel mycovirus closely related to viruses in the genus Alphapartitivirus confers hypovirulence in the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. *Virology*, 456, 220-226.
- Zhu, W., Wei, W., Fu, Y., Cheng, J., Xie, J., Li, G., Yi, X., Kang, Z., Dickman, M. B., Jiang, D. (2013). A secretory protein of necrotrophic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* that suppresses host resistance. *PLoS One*, 8(1), e53901.