



Jarkko Hantula



Eeva J. Vainio

Jarkko Hantula ja Eeva J. Vainio

Sienivirusten potentiaali juurikäävän torjunnassa

Hantula, J. & Vainio, E.J. 2016. Sienivirusten potentiaali juurikäävän torjunnassa. Metsätieteen aikakauskirja 2/2016: 111–123.

Suomessa esiintyvät juurikäävät kuuluvat boreaalisten metsien haitallisimpiin puiden sienitautien aiheuttajiin. Niitä torjutaan aktiivisesti erilaisilla keinoilla, mutta metsätaloudessa olisi edelleen tarvetta uusille torjuntamenetelmille, joita voitaisiin hyödyntää sellaisilla kasvupaikoilla, joille juurikääpä on jo valmiiksi levinnyt. Tässä yhteenvetoartikkelissa tarkastellaan juurikäävän virustorjunnan mahdollisuuksia keräämällä yhteen nykyinen tutkittu tieto juurikäävän virusten vaikutuksista isäntäänsä, niiden biologisesta monimuotoisuudesta ja leviämisbiologiasta sekä juurikäävän puolustautumisesta virusinfektiota vastaan. Juurikäävän virustorjunnan mahdollisuudet näyttävät lupaavilta, mutta sienen ja sen virusten välinen suhde pitäisi tuntea nykyistä paremmin ennen kuin uusi torjuntamenetelmä voidaan ottaa käyttöön.

Avainsanat: biologinen torjunta, kuusentyvilaho, männyntyvitervastauti, sienivirus

Yhteystiedot: Luonnonvarakeskus, Vantaa

Sähköposti jarkko.hantula@luke.fi

Hyväksytty 31.5.2016

Saatavana <http://www.metla.fi/aikakauskirja/>

I Johdanto

I.1 Juurikäätä

Sienisukuun *Heterobasidion* kuuluu useita merkittäviä metsätautien aiheuttajia (Niemelä ja Korhonen 1998). Niiden aiheuttamat taloudelliset tappiot ovat vuosittain Suomessa noin 50 miljoonaa ja koko Euroopassa jopa 300 miljoonaa euroa. Männyjuurikäätä (*H. annosum*) pystyy tartuttamaan monia isäntälajeja kuten mäntyjä (männy tyvitervastauti), kuusia (tyvilaho) ja jossain määrin myös lehtipuita. Kuusenuurikäätä (*H. parviporum*) puolestaan aiheuttaa kuusen tyvilahoa ja pihdanjuurikäätä (*H. abietinum*) samankaltaista tautia eri pihdalajeilla eteläisessä Euroopassa. Kuusenuurikäätä pystyy myös tappamaan nuoria mäntyjä.

Pohjois-Amerikassa esiintyy kaksi juurikäätälajia: amerikankuusenjuurikäätä (*H. occidentale*) ja amerikanmännyjuurikäätä (*H. irregulare*). Niistä jälkimmäinen on ilmeisesti toisen maailmansodan aikana kulkeutunut sotatarvikkeiden kuljetuksessa ja pakkaamisessa käytetyn puutavaran mukana Italiaan (Gonthier ym. 2007), missä se on sittemmin risteytynyt eurooppalaisen männyjuurikäävän kanssa (D'Amico ym. 2007, Gonthier ja Garbelotto 2011). Juurikäävän suku on todennäköisesti peräisin Itä-Aasiasta, mutta lajien evoluutiota ja lajiutumista on tapahtunut myös Euroopassa (Chen ym. 2015, Dai ym. 2003). Tätä näkemystä tukee se, että itäisessä ja eteläisessä Aasiassa sekä Oseaniassa esiintyy monia saprotrofisia eli kuollutta puuta lahottavia juurikäätälajeja: *H. insulare*, *H. ecrustosum*, *H. australe*, *H. orientale*, *H. linzhienense*, *H. amyloideum* ja *H. tibeticum* (Buchanan 1988, Chen ym. 2014, Dai ym. 2007, Dai ja Korhonen 2009, Tokuda ym. 2009).

Juurikäätälajit tartuttavat puuta yhdistelemällä erilaisia leviämiskeinoja. Uudelle kasvupaikalle ne leviävät ilmaitse kantaitiönä, jotka sisältävät haploidin eli yksinkertaisen kromosomiston (n). Tuoreille kantopinnoille tai puun vauriokohtiin laskeuduttuaan itiöt muodostavat samatumaista (eli homokaryoottista) rihmastoa, joka voi pariuua toisesta kantaitiöstä kasvaneen rihmaston kanssa muodostaen molempien kantaitiöiden genomien sisältävän eritumaisen (eli heterokaryoottisen; 2n) varsinaisen kasvullisen rihmaston (Korhonen 1978). Tämä kas-

vaa edelleen juuriyhteyksien kautta naapuripuihin ja niistä eteenpäin (Stenlid ja Redfern 1998). Puiden kuollessa niissä elävien juurikäätien rihmastot tuottavat uusia itiöemiä, joissa syntyy edelleen kantaitiöitä tartuttamaan tuoreita kantopintoja hakkuiden tai esimerkiksi myrskytuhojen kohteena olevissa lähimetsissä. Siten juurikäävän saaneella kasvupaikalla sieni jatkaa leviämistään puusta puuhun saastuttaen havupuusukupolven toisensa jälkeen sekä siirtyy mahdollisuuden avautuessa itiöinä myös uusille kasvupaikoille. Juurikäävän muodostamien suvuttomien kuromaitiöiden merkitystä sienien levinnästä ei täysin tunneta, mutta sen kuromankannattimia on havaittu havutikaskuoriaisen käytävissä (Bakshi 1950), ja on arveltu, että lahoavassa puuaineksessa yleisesti esiintyvät hyönteiset tai punkit saattaisivat kuljettaa kuromia mukanaan.

Käytännön metsätaloudessa juurikäätä voidaan torjua puulajikierron, kemiallisen tai biologisen kantopintojen käsittelyn tai kantojen poistamisen avulla sekä ajoittamalla hakkuut talviaikaan, jolloin ilmassa ei ole uuden tartunnan aloittavia kantaitiöitä. Näistä menetelmistä vain puulajikierto (juurikäävän kestävä puusukupolven kasvatus) soveltuu juurikäätälajin kasvupaikan puhdistamiseen ja senkin käyttöä rajoittavat hirvituhoriski sekä lehtipuulle soveltumaton kasvupaikka. Pelkästään uutta tartuntaa ehkäisevistä menetelmistä tehokkain on hakkuiden ajoittaminen talviaikaan. Hyvä tulos saavutetaan myös kemiallisella tai biologisella torjunnalla. Kannonosto jättää maahan infektoituneet juuret, joten lähtökohtaisesti sen teho vastaa lähinnä biologista tai kemiallista kantokäsittelyä. Nykyinen hakkuupaikoille jätettävien kantojen määrä on kuitenkin liian suuri tehokkaan juurikäävän torjunnan kannalta (Piri ja Hamberg 2015).

Edellä kuvatuista nykyisten menetelmien rajoitusta johtuen metsänhoidon työkaluvalikoimaan tarvittaisiin uusia menetelmiä erityisesti kasvupaikalla jo olevan juurikäävän torjuntaan. Yksi sellainen saattaisi olla juurikäävällä elävien sienivirusten hyödyntäminen.

1.2 Sienivirukset biologisina torjuntaeliöinä

Virukset ovat isännälleen haitallisia taudinaiheuttajia. Siitä syystä bakteeriviruksia (bakteriofageja) yritettiin jo viime vuosisadan alkupuolella käyttää bakteeritautien torjuntaan. Kiinnostus niihin väheni länsimaissa antibioottien kehittämisen jälkeen, mutta on virinnyt uudelleen resistenttien bakteerikantojen myötä. Näin syntyneen tutkimusaallon myötä saadut tulokset ovat olleet erittäin lupaavia (Wright ym. 2009, Gilmer ym. 2013). Siksi bakteeritautien virusterapian käytön edellytykset sekä terapioiden tehokkuuden riittävän dokumentoinnin että käyttöturvallisuuden kannalta ovat nousseet tutkimuksen ja poliittisen keskustelun piiriin (katso esim. Alavizze ym. 2016).

Myöskään ajatus virusten käyttämisestä metsätauteja aiheuttavien tautien torjumiseksi ei ole uusi. Niiden hyödyntämiselle tarjoavat esimerkin kastanjansurman virukset, jotka osoittavat ajatuksen toimivuuden. Viime vuosisadan alkupuolella Yhdysvaltoihin saapui kastanjansurma-sieni (*Cryphonectria parasitica*), joka hävitti vuoteen 1950 mennessä kaikkiaan 3,6 miljoonaa hehtaaria metsää. Sen seurauksena aiemmin hyvin yleinen ja taloudellisesti merkittävä amerikankastanja (*Castanea dentata*) harvinaistui uhanalaiseksi (Anagnostakis 1982).

Euroopasta sieni löydettiin vuonna 1938, minkä jälkeen myös tšekäläiset kastanjametsät alkoivat tuhoutua. Vuonna 1951 italialainen tutkija Antonio Biraghi kuitenkin havaitsi kastanjan juurivesakon, jossa sienien aiheuttamat korot näyttivät parantuvan itsestään (Biraghi 1953). Parantuneista sienikoroista eristettyjen sienikantojen todettiin parantavan myös muissa puissa esiintyvän taudin. Nämä ns. hypovirulentit sienikannat sisältävät heimoon *Hypoviridae* kuuluvia viruksia (Day ym. 1977) ja niitä on jo kymmeniä vuosia hyödynnetty kastanjansurman torjunnassa Etelä- ja Keski-Euroopassa.

Kastanjansurman virusten lisäksi on olemassa monia muita viruksia, joiden vaikutus isäntänsä on sille haitallinen (Xie ja Jiang 2014, Ghabrial ym. 2015). Sellaisia tunnetaan esimerkiksi merkittäviä kasvitauteja aiheuttavilta punahomeilta (*Fusarium*), harmaahomeilta (*Botrytis*), taimipoltesieniltä (*Rhizoctonia*), pahkahomeelta (*Sclerotinia*) ja sinistäjänsieniltä (*Ophiostoma*) (Chu ym. 2002, Deng ym. 2003, Lakshman ym. 1998, Wu ym. 2007, Yu ym.

2010). Toistaiseksi kuitenkin vain kastanjansurman virus on valjastettu palvelemaan käytäntöä.

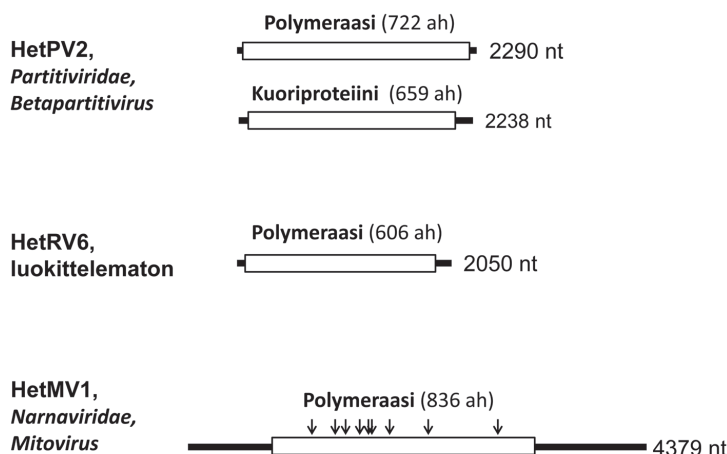
Yksi syy virusten vähäiseen hyödyntämiseen saattaa olla se, että toisin kuin useimmat muut virukset, hyvin harvat sienivirukset muodostavat tartuttavia solunulkoisia partikkeleita. Sen sijaan ne leviävät sienirihmastosta toiseen ns. rihmastosiltojen (anastomoosien) kautta. Siksi niiden hyödyntäminen edellyttää viruksen sisältävän sienirihmastosta saatamista yhteyteen parannettavan kasvin solukossa elävän ja torjunnan kohteena olevan patogeenin kanssa. Tämä on paljon hankalampaa kuin pelkkien viruspartikkeleiden levittäminen.

2 Juurikäävän virukset

2.1 Juurikääpävirusten monimuotoisuus

Noin 15% eurooppalaisista ja länsiaasialaisista kuusen- ja männynjuurikäävistä kantaa rihmastoissaan RNA-viruksia (Ihrmark 2001). Yleisin juurikäävän viruslaji on HetRV6 (Heterobasidion RNA virus 6; Vainio ym. 2012), joka on levinnyt Eurooppaan ja Pohjois-Amerikkaan. Sitä ei ole kuitenkaan löytenyt Itä-Aasian saprofyttisistä juurikäävistä. Noin 70 % juurikäävältä löydettyistä viruksista kuuluu tähän taksonomisesti luokittelemattomaan lajiin, ja yksittäiseltä metsäkuviolta voi löytää useita eri HetRV6-kantoja (Vainio ym. 2015b). HetRV6 on etäistä sukua *Curvularia thermal tolerance* -virukselle (CThTV), joka on symbionttinen ja endofyyttiselle isäntäsienelleen välttämätön virus kuuman maaperän eliöyhteisössä (Márquez ym. 2007). HetRV6:sta on julkaistu pelkkä RNA-riippuvaisen RNA-polymeraasin (jatkossa vain polymeraasi) sisältävä kaksijuoste-RNA-segmentti (kuva 1, Vainio ym. 2012), mutta monilla sen sukulaisilla on myös toinen genomisegmentti, joka mahdollisesti koodaa kuoriproteiinia (Márquez ym. 2007). Uusien, vielä julkaisemattomien tulosten perusteella myös HetRV6:lla näyttäisi olevan kahdessa segmentissä yhteensä kaksi geeniä.

Virusheimo *Partitiviridae* on lajimäärältään suurin juurikääpien virusryhmä. Sienisuvulta *Heterobasidion* tunnetaan kaikkiaan noin 20 partitiviruslajia (Ihrmark 2001, Kashif ym. 2015, Vainio ym. 2010,



Kuva 1. Kaavakuva juurikäävän virusten genomirakenteista, esimerkkeinä HetPV2 (*Partitiviridae*, *Betapartitivirus*), HetRV6 (luokittlematon) ja HetMV1 (*Mitovirus*, *Narnaviridae*). Genomisegmenttien koko on esitetty nukleotidiketjujen pituuksina (nt), ja mustat alueet osoittavat ei-koodaavia alueita. Proteiinituotteiden koko on merkitty aminohappoketjujen pituuksina (ah). Nuolet osoittavat UGA-kodonien sijainnin mitoviruksen genomissa. Mitokondrioissa UGA-emästripletit (mitovirus) koodaavat tryptofaani-aminohappoa, kun taas soluliman aminohapposynteesissä (partitivirukset ja HetRV6) ne toimivat translaation lopetuskodoneina. Partitivirusten polymeraasi- ja kapsidigeenin sisältävät dsRNA-molekyylit pakataan partikkeliin yksittäin, jolloin yksi toimiva virus koostuu vähintään kahdesta partikkelista. Myös HetRV6 saattaa todellisuudessa sisältää muitakin kuin polymeraasigeenin. Kuva on muokattu artikkelista Vainio ja Hantula 2016.

2011a, 2011b, 2013a, 2015b; Nibert ym. 2014, Vainio ja Hantula 2016, Hyder ym. julkaisematon, taukukko 1). Juurikäävän partitivirukset eivät muodosta yhtenäistä, keskenään lähisukuista ryhmää, vaan jotkut juurikäävän partitiviruksista ovat jopa varsin läheistä sukua kasvivirusille (Vainio ja Hantula 2016). Monet juurikäävän yleisimmät partitivirukset näyttäisivät levinneen maailmanlaajuisesti (Eurooppa, Aasia ja Pohjois-Amerikka) ja esiintyvän sekä patogeenisilla että saprofyttisillä juurikääpälajeilla. Kaikki juurikäävän partitiviruslajit ovat kuitenkin melko harvinaisia ja niihin kuuluu alle kolmannes kaikista juurikääpien viruksista (Vainio ym. 2011a). Partitivirukset sisältävät kaksi kaksijuosteista RNA-segmenttiä, joissa molemmissa on yksi geeni (kuva 1, Nibert ym. 2014). Nämä segmentit sijaitsevat kahdessa erillisessä viruspartikkelissa, joista toisessa on RNA-genomin kahdentamiseen tarvittavan polymeraasin ja toisessa viruspartikkelin kuoriproteiinin geeni.

Uusin ja huonoiten tunnettu juurikäävästä löydetty sienivirus on HetMV1 (Heterobasidion mitovirus 1), joka kuuluu heimoon *Narnaviridae* (Vainio ym. 2015a). Tämän viruksen perimä on luettu, mutta sen vaikutuksista isäntään ei tiedetä mitään. Sama koskee useimpia muitakin sienten mitovirusia, joita näyttäisi sinänsä esiintyvän yleisesti (Hillman ja Cai 2013). Muista sieniviruksista poiketen mitovirukset esiintyvät ja monistuvat isäntäsienensä mitokondrioiden sisällä. Niiden genomissa on vain yksi yksijuosteisesta RNA:sta muodostuva segmentti, joka sisältää polymeraasigeenin (kuva 1, Vainio ym. 2015a).

2.2 Virusinfektion vaikutukset juurikääpään

Ensimmäiseksi tutkittujen virusinfektioiden vaikutukset juurikääpä-isäntäsienensä kasvuun laboratorio-olosuhteissa olivat hyvin vähäisiä tai jopa ole-

Taulukko 1. Juurikäävän virusten taksonominen luokittelu ja isäntälajit. *Tekstissä mainitut viruslajit on merkitty lihavoituna.

Virussuku Viruslaji*	Tunnettujen viruskantojen lukumäärä	Isäntälaji(t)	Eristyspaikka	Viitteet
<i>Alphapartitivirus (Partitiviridae)</i>				
HetPV1	1	<i>H. abietinum</i>	Kreikka	Vainio ym. 2011a
HetPV10	1	<i>H. occidentale</i>	USA	Vainio ym. 2011a
HetPV11	6	<i>H. parviporum</i> , <i>H. australe</i> , <i>H. annosum</i>	Bhutan, Puola	Vainio ym. 2011a, Vainio ym. 2012, Vainio ja Hantula 2016
HetPV9	1	<i>H. parviporum</i>	Suomi	Vainio ym. 2015b
HetPV17	1	<i>H. irregulare</i>	Italia	julkaisematon
HetPV3	1	<i>H. ecrustosum</i>	Kiina	Vainio ym. 2010
HetPV12	1	<i>H. annosum</i>	Puola	Kashif ym. 2015
HetPV13	4	<i>H. annosum</i> <i>H. parviporum</i>	Puola, Suomi	Kashif ym. 2015
HetPV14	1	<i>H. irregulare</i>	USA	Kashif ym. 2015
HetPV15	1	<i>H. parviporum</i>	Venäjä	Kashif ym. 2015
HetPV4	2	<i>H. parviporum</i>	Suomi	Vainio ym. 2011a, Vainio ym. 2013b
HetPV5	2	<i>H. parviporum</i>	Kiina	Vainio ym. 2011a
<i>Betapartitivirus (Partitiviridae)</i>				
HetPV2	7	<i>H. parviporum</i>	Suomi	Vainio ym. 2011b Vainio ym. 2015b
HetPV8	1	<i>H. irregulare</i>	Italia	Vainio ym. 2013a
HetPV7	3	<i>H. parviporum</i>	Suomi	Vainio ym. 2015b
HetPVP	1	<i>H. annosum</i>	Ruotsi	Ihrmark 2001
<i>Mitovirus (Narnaviridae)</i>				
HetMV1	1	<i>H. annosum</i>	Puola	Vainio ym. 2015a
Luokittelematon				
HetRV6	63	<i>H. abietinum</i> , <i>H. annosum</i> , <i>H. parviporum</i> , <i>H. occidentale</i>	Turkki, Itävalta, Viro Suomi, Ranska, Kreikka, Italia Puola, Venäjä, USA	Vainio ym. 2012, Vainio ym. 2013b, Vainio ym. 2015b, Kashif ym. 2015

mattomia (Ihrmark 2001, Vainio ym. 2010, Vainio ym. 2011a, Vainio ym. 2011b ja Vainio ym. 2012). Tämä ei ollut yllättävää, sillä kastanjansurman virusten aiheuttamasta hypovirulenssista poiketen suurimman osan sieniviruksista tiedettiin vaikuttavan isäntänsä fenotyyppiin vain vähän tai ei lainkaan (Deng ja Boland 2007, Seo ym. 2004 ja Shamoun ym. 2008).

Vasta vuonna 2013 julkaistiin ensimmäinen tutkimus, jossa juurikäävän virusten vaikutusta selvitettiin myös muiden ominaisuuksien kuin pelkän kasvun suhteen (Hyder ym. 2013). Tutkimuksessa tutkittiin kahden eri viruskannan (HetPV3-ec1

ja HetRV6-ab6) vaikutusta useiden eri isäntälajien fenotyyppiin (ilmiasuun). Käytännössä työssä verrattiin toisiinsa viruksella tartutetun ja saman sieniyksilön alkuperäisen viruksettomon viljelmän kasvunopeutta sekä kilpailukykyä muita sieniä (pulkkosieni (*Paxillus involutus*), *Meliniomyces bicolor* -niminen sienijuurisieni ja harmaaorvakka (*Phlebiopsis gigantea*)) vastaan (kuva 2). Tulokset osoittivat, että tutkittujen sienivirusten vaikutus isäntäänsä oli odotettua merkittävästi monimutkaisempi: molemmilla viruksilla vaikutus riippui sekä isäntänä käytetystä juurikääpäyksilöstä että tutkittavasta ominaisuudesta. Niinpä julkaisussa päädyttiin



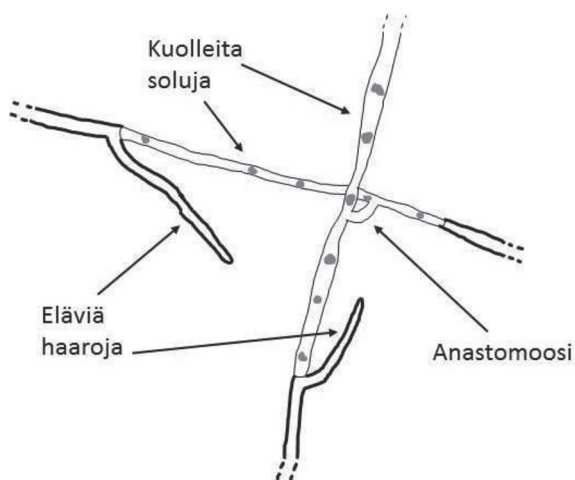
Kuva 2. Juurikäävän virusinfektio vaikuttaa juurikäävän (laaja vaalea rihmasto vasemmalla) ja pulkkosienen (pienempi ja tummempi rihmasto oikealla) väliseen antagonismiin. Vasemmanpuoleisella maljalla juurikääpään on tartutettu HetPV3-lajiin kuuluva virus. Oikeanpuoleisen maljan juurikääpä on geneettisesti identtinen vasemman maljan juurikäävän kanssa, mutta sen rihmastossa ei ole virusta. Valokuva on kokeesta, jonka tulokset on julkaistu artikkelissa Hyder ym. 2013.

siihen, ettei kumpaakaan tutkituista viruksista ole mahdollista luokitella pelkästään hyödylliseksi tai haitalliseksi isännälleen. On kuitenkin huomattava, että myös biologiseen torjuntaan käytetty kastanjansurman CHV1-viruksen alatyypin vaikutus isäntäänsä on riippuvainen ainakin lämpötilasta (Bryner ja Rigling 2011), joten juurikääpvirusten tutkitusta ominaisuudesta, juurikääpökyksilöstä ja olosuhteista riippuvan vaikutuksen merkitys isännälleen jää juurikäävän torjunnan kannalta epäselväksi kunnes käytettävissä on lisää tutkimustietoa erityisesti kenttäkokeista.

Äskettäin julkaistu tutkimus viittaa siihen, että virusten vaikutus isäntäänsä saattaa riippua niiden yhteisestä evoluutiosta (Jurvansuu ym. 2014). Tutkimuksessa kolme euraasialaisesta juurikäävistä eristettyä virusta tartutettiin pohjoisamerikkalaiseen amerikankuusenjuurikääpään. Vaikka näillä viruksilla ei ole juuri lainkaan vaikutusta alkuperäisiin euraasialaisiin isäntiinsä (Jurvansuu ym. 2014 ja Vainio ym. 2010), ne aiheuttivat pääosin negatiivisia, mutta joissain tapauksissa myös positiivisia vaikutuksia amerikankuusenjuurikäävissä. Lisäksi parhaillaan käynnissä olevien laajojen kokeiden alustavat tulokset osoittavat, että alkujaan männynjuurikäävältä eristetty HetPV13-an1 virus vähentää

erittäin merkittävästi juurikäävän kasvua sekä kasvatusaljalla että kuusen sydänpuussa (Vainio ym. julkaisematon). Jälkimmäinen tulos on ensimmäinen suora havainto, joka osoittaa, että juurikääpviruksia olisi mahdollista hyödyntää kuusen tyviosaan juurikääpäinfektion seurauksena syntyvien taloudellisesti erittäin kalliiden lahovaurioiden torjunnassa.

Jurvansuu ym. (2014) havaitsivat myös, että partitiviruksen kahden eri geenikoostumuksen omaavien partikkeleiden (polymeraasi- tai kuoriproteiini-geeni) suhde vaihtelee eri virusten välillä. Useimmilla juurikäävän partitiviruksilla infektoidussa rihmastossa esiintyy odotetusti enemmän viruspartikkelin kuoriproteiinin kuin polymeraasin geenejä ja geenituotteita, koska aktiiviseen virukseen tarvitaan 120 kuoriproteiinia, mutta vain yksi polymeraasi. Poikkeuksen tästä muodostavat kuitenkin kaksi virusta, HetPV3-ec1 ja HetPV13-an1, joiden infektoimassa rihmastossa esiintyy muista poiketen selvästi enemmän polymeraasin kuin kuoriproteiinin geenejä ja myös geenituotteita (Jurvansuu ym. 2014, Vainio ym. 2015a). Syytä havaittuun ilmiöön ei tunneta, mutta on merkittävää, että nämä samat virukset näyttävät heikentävän isäntäänsä enemmän kuin muut testatut juurikääpvirukset (Hyder ym. 2013, Jurvansuu ym. 2014, Vainio ym. julkaisematon). On



Kuva 3. Suvullisesti yhteensopimattomien juurikääpäkantojen välille syntyy rihmastosiltoja, joiden yhdistämät solut kuolevat nopeasti yhteyden muodostumisen jälkeen. Huolimatta solujen nopeasta kuolemasta pystyvät juurikääpävirukset siirtymään niiden kautta sienirihmastosta toiseen.

siis mahdollista, että liiallinen virusperäisen RNA-polymeraasin määrä rihmastossa on juurikäävälle haitallista, koska se saattaa häiritä viruksen muuta geeniekspressiota.

Käytännön torjunnan kannalta on merkittävää, että pelkästään sienirihmastoissa elävien haitallisten virusten löytäminen luonnosta saattaa olla vaikeaa, koska heikosti kasvatusmaljalla kasvavan viruksen sisältämää rihmastoja ei pysty eristämään helposti. Käytännössä tällaisen viruksen löytäminen on kuitenkin mahdollista ainakin seuraavilla tavoilla. Ensimmäinen mahdollisuus avautuu silloin, kun juurikäävän virusten aiheuttama fenotyypinen muutos vaihtelee tutkittavan ominaisuuden tai olosuhteiden mukaan (Hyder ym. 2013, Jurvansuu ym. 2014). Tällöin torjunnan kannalta arvokkaan – virulenssia alentavan viruksen – sisältämä rihmasto voidaan eristää keinoalustalla, mikäli se kasvaa sillä hyvin. Tällöin ongelmaksi jää kuitenkin juurikäätartunnan havaitseminen itse puusta, jossa ei näy oireita tai ne ovat vähäiset. Toinen mahdollisuus hyödyllisen juurikääpäviruksen eristämiseksi tarjoutuu silloin, kun yhdessä isäntälajissa harmiton virus aiheuttaa oireita toisessa lajeissa (Hyder ym. 2013, Jurvansuu ym. 2014). Siten esimerkiksi kuusenjuurikäävälle

vakavan infektion aiheuttava virus saattaa olla oireeton männynjuurikäävässä ja olla eristettävissä sen rihmastossa oireisesta puusta. Samantapainen mahdollisuus avautuu myös silloin, kun viruksen fenotyypinen vaikutus vaihtelee voimakkaasti saman juurikääpälaajin yksilöiden välillä (Vainio ym. julkaisematon), jolloin virus on mahdollista eristää sen esiintyessä virusta hyvin kestävän (tolerantin) sieniyksilön rihmastossa.

2.3 Juurikääpävirusten leviäminen

Sienivirusten kohdalla onnistuneen biologisen torjunnan yksi perusedellytys on tehokas leviäminen sienikannasta toiseen. Kastanjansurman osalta Euroopassa hyvin vuosikymmeniä toiminut hypovirusten käyttö biologisena torjunta-aineena on ollut varsin tehokasta Pohjois-Amerikassa, koska siellä sienien kasvullisten yhteensopivuusryhmien määrä on paljon suurempi kuin Euroopassa (Anagnostakis ja Day 1979, Milgroom ja Cortesi 2004). Rihmastojen välinen kasvullinen yhteensopimattomuus rajoittaa rihmastosiltojen muodostumista ja virusten siirtymistä jopa saman lajin sisällä myös monilla muilla sienilajeilla (Rogers ym. 1986 ja Coenen ym. 1997).

Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että juurikäävän virukset siirtyvät laboratorio-olosuhteissa sekä saman lajin eri yksilöiden, että myös eri juurikääpälaajien rihmastojen välillä (Hyder ym. 2013, Ihrmark ym. 2002, Jurvansuu ym. 2014, Vainio ym. 2010, Vainio ym. 2011a, Vainio ym. 2011b ja Vainio ym. 2012). Tutkittaessa pihdanjuurikäävän (*H. abietinum*) ja itäaasianlaisen *H. ecrustosum*-lajin välillä tapahtuvaa HetPV3-viruksen siirtymistä havaittiin kasvullisesta yhteensopimattomuudesta kertovia lyhytaikaisia rihmastosiltoja, joihin osallistuvat solut kuolivat nopeasti (kuva 3, Vainio ym. 2010). Tämä viittaisi siihen, että virus pystyisi hyödyntämään lajienvälisessä siirtymisessään näitä yhteyksiä ennen niiden sulkeutumista.

Juurikääpävirusten ei ole havaittu siirtyvän lajista toiseen pelkästään laboratorioissa. Ensimmäiset viitteet niiden lajienvälisestä siirtymisestä luonnossa saatiin virusgenomien emäsjärjestyksiä vertailemalla. Kahden Bhutanista eristetyn juurikäävän genomit olivat melkein identtisiä, vaikka niiden isäntäsienet

kuuluvat eri lajeihin. Toinen isännistä oli kuusenjuurikäpää ja toinen itäaasialainen saprofyttinen juurikäpälaji *H. australe* (Vainio ym. 2011a). Viruslajin HetRV6 maailmanlaajuinen populaatiotutkimus puolestaan viittasi siihen, että myös tämä virus on kyennyt siirtymään isäntälajista toiseen luonnossa (Vainio ym. 2012). Kaikkiaan käytössä olevan tutkimustiedon valossa näyttääkin siltä, että juurikäävän virukset pystyvät siirtymään sekä laboratorioissa että luonnossa sienirihmastosta toiseen helposti ja jopa lajirajoja ylittäen.

Juurikääpvirusten kykyä siirtyä läheisten sienilajien välillä ei voi pitää erityisen poikkeuksellisenä. Sienivirusten on nimittäin todettu siirtyneen laboratorioissa myös *Aspergillus*-homesienillä (Coenen ym. 1997), *Sclerotinia*-pahkahomeella (Melzer ym. 2002) ja *Cryphonectria*-suvun (Liu ym. 2003) eri lajien välillä. Lisäksi epäsuorat todisteet osoittavat virusten siirtyneen lajien välillä myös sekä *Ophiostoma*-siniestajäsienillä (Brasier ym. 2004) että *Rhizoctonia*-suvussa (Charlton ym. 2008). Lajirajojen yli siirtymiseen viittaa myös se, että hypoviruslenssia aiheuttavan *Sclerotinia homeocarpa* -sienen viruksen on osoitettu kuuluvan samaan lajiin hollanninajalavatautia aiheuttavasta *Ophiostoma novo-ulmi* -sienestä löytyneen mitoviruksen kanssa (Deng ym. 2003).

Juurikääpvirusten kyky siirtyä kuusenjuurikäpäksilöiden välillä luonnossa on varmistettu myös kenttäkokein. Tämä tehtiin tartuttamalla HetPV4-lajiin kuuluvaa virusta sisältävää juurikäpää selkälaitteiden kantojen pinnalle, joiden tiedettiin sisältävän myös luontaisen juurikäpäpartunnan. Kahden vuoden kuluttua samoista kannoista eristetyistä sieniviljelmistä löytyi keinotekoisesti tartutettua virusta (Vainio ym. 2013b). Virustartunnan saaneiden juurikäpäpien geenimerkkianalyysi paljasti, että tartunta oli tapahtunut kahdella eri mekanismilla: joko siten, että (i) tartuttamiseen käytetty eritumainen (2n) sienikanta oli pariutunut kannossa luontaisesti kasvavan samatuman sienen kanssa tai (ii) että virus oli siirtynyt (todennäköisesti) rihmastosiltojen kautta kannossa luonnostaan olevaan eritumaiseen juurikäpäpiin (Vainio ja Hantula 2016).

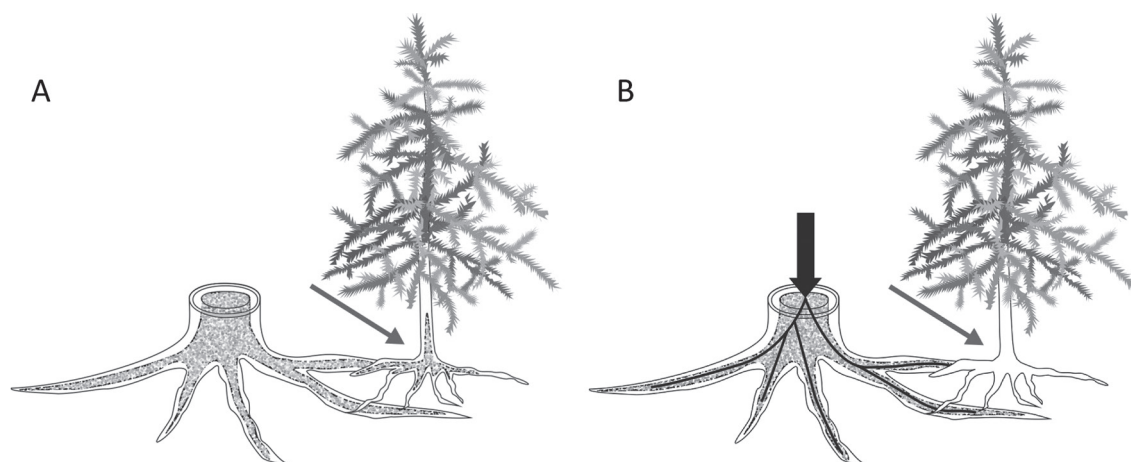
Juurikääpvirusten pitkän matkan leviämistä on tutkittu varsin vähän. On kuitenkin osoitettu, että juurikäävän kantaitiot saattavat sisältää viruksia (Ihrmark ym. 2004). Valitettavasti Ihrmarkin tutki-

muksessa ei identifioitu itiöistä löytyneitä viruksia. Sen sijaan eteläsuomalaisen juurikäävällä pahoin saastuneen kasvupaikan yksityiskohtaisessa analyysissä ilmassa lentävistä itiöistä löytyi vain HetRV6-lajiin kuuluvia viruksia (Vainio ym. 2015b). Yhden tutkimuksen perusteella ei voida kuitenkaan varmasti sanoa, etteivätkö kantaitiot voisi sisältää myös partiti- ja/tai mitoviruksia. Todettakoon kuitenkin, että mikäli HetRV6- ja muiden juurikäävän virusten leviämiskyvyssä olisi suuria eroja, ne voisivat osaltaan selittää HetRV6-lajin yleisyyttä ja paikallisesti korkeaa monimuotoisuutta verrattuna muihin viruslajeihin (Vainio ym. 2015b).

Juurikääpvirusten lyhyen matkan leviämiseen saattavat osallistua myös pienet selkärangattomat eläimet. Niiden osuudesta on saatu viitteitä muiden sienien virusten osalta (Griffin ym. 2009 ja Simoni ym. 2014) ja Drenkhan ym. (2013) osoittivat kahden eri juurikääpviruksen selviävän hengissä isäntäsienensä rihmastossa tukkimiehentäin ruuan-sulatuskanavassa.

Virusten määrä näyttäisi lisääntyvän juurikäävän tartuntapesäkkeissä ajan myötä. Se johtuu sekä kloonien välisten rihmastosiltojen kautta leviävistä, että uusien metsikköön saapuvien ja virusta sisältävien ilmaväntäisten juurikäpäitiöiden kautta syntyvistä virustartunnoista. Tämä tieto on peräisin yksityiskohtaisesta tutkimuksesta, jossa seurattiin juurikäävän ja sen virusten esiintymistä seitsemän vuoden ajan (Vainio ym. 2015b). Viruksia löytyi peräti 48 prosentista tutkituista juurikäpäviljelmistä. Saman tutkimuksen mukaan viruksia esiintyy paljon yleisemmin kuolleissa kannoissa kuin lahoavissa pystyissa (tutkitulla alalla 72% ja 39%).

Useiden virusten yhtäaikaiset tartunnat näyttävät olevan tavallisia juurikäävällä (Kashif ym. 2015 ja Vainio ym. 2015b). Vaikka samassa rihmastossa esiintyvien virusten keskinäisistä vuorovaikutuksista tiedetään hyvin vähän, näyttäisi siltä että kaukaista sukua toisilleen olevien virusten yhtäaikaiset tartunnat ovat stabiilimpia kuin läheisten sukulaisten. Tämä saattaa tarkoittaa sitä, että samaan lajiin kuuluvat viruskannat kilpailevat rihmastossa keskenään ja sitä kautta sulkevat toisensa pois. Tällaisella virusten keskinäisellä poissulkemisella saattaa olla suuri vaikutus virusyhteisöjen rakenteeseen (Vainio ym. 2015b). Tätä näkemystä tukee se, että kirjallisuudesta tunnetaan paljon tapauksia, joissa sienirih-



Kuva 4. Hahmotelma mahdollisesta juurikäävän virustorjuntamenetelmästä. Kuvassa A on tyypillinen juurikääpäinfektio, jossa kannon pinnalta alkaneesta tartunnasta kasvanut rihmasto on levinnyt seuraavaan puusukupolveen (viisto nuoli). Kuvassa B tartutetaan kantaan juurikääpärihmastoa (paksu musta nuoli), joka sisältää juurikääpään negatiivisesti vaikuttavaa virusta. Virus tarttuu kannon lahottaneeseen rihmastoon, leviää siihen kauttaaltaan (ohuet mustat viivat) ja samalla heikentää sen siten, ettei juurikääpä kykene enää tartuttamaan seuraavaa puusukupolvea (viisto nuoli).

mastossa on esiintynyt moninkertaisia infektiota. Kaikissa tapauksissa virukset ovat kuitenkin toisilleen melko kaukaista sukua (esim. Ghabrial ym. 2002, Hong ym. 1999, Lakshman ym. 1998, Osaki ym. 2004, Park ym. 2005, Peever ym. 1997, Preisig ym. 1998, Tuomivirta ja Hantula 2005, Vainio ym. 2012 ja Vainio ym. 2013b).

2.4 Juurikäävän puolustautuminen viruksia vastaan

Juurikäävän puolustusreaktiosta viruksia vastaan tiedetään varsinkin vähän. On kuitenkin yleisesti tunnettua, että aiotumalliset eliöt, kuten sienet, puolustautuvat viruksia vastaan monilla eri tavoilla. Yksi niistä on nimeltään RNA-hiljennys (RNAi, RNA-interferenssi), jossa pienet solun sisällä esiintyvät RNA-molekyylit johtavat saman sekvenssin sisältävien isompien molekyyliden pilkkoutumiseen. Amerikanmännynjuurikäävän koko perimä on luettu, ja se sisältää tähän mekanismiin tarvittavat geenit (Olson ym. 2012). Juurikääpä näyttäisi myös hyödyntävän RNA-hiljennystä viruksia vastaan (Vainio ym. 2015a). Käytettävissä ei kuitenkaan ole tutkimustietoa, jonka perusteella voitaisiin arvioida tämän mekanismin tehoa.

Aiemmin kuvatut juurikäävän virusten eri isäntien mukaan vaihtelevat fenotyypiset vaikutukset saattavat viitata joko RNA-hiljennyksen tai jonkin muun mekanismin kautta eri juurikääpäyksilöillä esiintyvään sietokykyyn virusten vaikutusta vastaan (Hyder ym. 2013, Jurvansuu ym. 2014). Varsinaisesta resistenssistä, jossa virus ei pystyisi lainkaan tartuttamaan sienirihmastoa, ei sen sijaan ole näyttöä.

3 Virusten hyödyntämisen mahdollisuudet

Virusten käyttö juurikäävän torjunnassa (kuva 4) on mahdollista, mikäli käytettävissä on juurikäävälle sairauden aiheuttava virus tai virusyhdistelmä. Lisäksi tarvitaan tehokas levitysmenetelmä. Siksi näiden seikkojen arviointi ja tutkiminen on välttämätöntä.

Edelle kootut tutkimustulokset juurikäävän viruksista osoittavat, että joillain viruksilla on merkittävä negatiivinen vaikutus isäntäänsä. Erityisen lupaavilta vaikuttavat sellaiset partitivirukset (HetPV3-ec1 ja HetPV13-an1), joiden geenien ja geenituotteiden määrät sienirihmastossa ovat tavallisuudesta poik-

keavia, sillä niiden vaikutus näyttäisi olevan enimmäkseen isäntää heikentävä. Toisaalta virusten ja isännän välinen suhde näyttää olevan äärimmäisen monimutkainen ja vaihtelevan isäntärihmaston mukaan. Siksi lupaavimpien virusten osalta tulisi jatkossa selvittää onko niiden vaikutus isäntiinsä aina tai edes useimmiten negatiivinen, vai ovatko tähän mennessä yksittäisillä juurikäpkykilöillä tehdyt tutkimustulokset näyttäneet vain luontaisen vaihtelun ääripäitä.

Juurikäävän virusten kyky siirtyä jopa isäntälajirajojen yli on biologisen torjunnan kannalta erinomainen asia. Siten käytännön kannalta välttämättömän tartuttamismenetelmän kehittämiseksi ei näyttäisi olevan ylipääsemättömiä esteitä. Tältäkin osin käytettävissä ei kuitenkaan ole kovin laajaa tutkimusaineistoa, joten myös sitä on kerättävä lisää, jotta mahdolliset vielä tunnistamattomat esteet virusten liikkumisessa voitaisiin tunnistaa ja niiden ehkä aiheuttamat ongelmat välttää. Toisaalta biologisen torjunnan riskinarviointiin liittyen on syytä selvittää, voisivatko juurikäpkyvirukset siirtyä kaukaisempiinkin sukulaislajeihin tai metsäekosysteemin muuhun sienilajistoon ja mikä niiden fenotyypin vaikutus on näihin lajeihin. Yleisellä tasolla metsäekosysteemissä esiintyvät sienivirukset ovat hyvin huonosti tunnettuja.

Yksi virusten hyödyntämiseen liittyvä, mutta varsin heikosti tunnettu, kysymys ovat samaa rihmastoa yhdessä infektoivien virusten keskinäisten interaktioiden aiheuttamat vaikutukset. Kenttäkokeiden tulokset viittaavat mahdollisiin keskinäisiin hylkimisreaktioihin, jotka yleisinä saattavat ehkäistä tehokkaan virustorjunnan. Käytettävissä ei myöskään ole melkein ollenkaan tietoa siitä, miten virusten yhteisinfektio vaikuttaa isännän fenotyyppiin. Lääketieteellisessä tutkimuksessa on todettu, että mikroparasiittien yhteisinfektion virulenssi on monesti suurempi kuin yksittäisinfektioilla (Read ja Taylor 2001). Myös kasviviruksilla yhteisinfektioit saattavat hyödyttää toista tai molempia virusosapuolia (Mukasa ym. 2006). Tämänkaltaisten, ns. avustavien virusten toiminnasta tiedetään sienivirusten osalta vasta vähän.

Kokonaan uuden näkökulman virusten hyödyntämiseen juurikäävän torjunnassa avasi havainto siitä, että rihmastossa esiintyvien virusten määrä kasvaa ajan myötä juurikäpkyisessä metsikössä (Vainio ym.

2015b). Tämä sieneen kohdistuvan virustaakan lisääntyminen saattaisi olla syynä juurikäpkykloonien rajalliseen ikään. Mikäli tämä hypoteesi on totta, voisi olla mahdollista vähentää juurikäävän aiheuttamia taloudellisia tappioita yksinkertaisesti rihmastossa esiintyvien virusten määrää keinotekoisesti lisäämällä siinäkin tapauksessa, ettei käytettävissä olisi yksittäistä juurikäävän fenotyyppiin merkittävästi vaikuttavaa viruskantaa.

Tähän mennessä tehdyn tutkimuksen valossa sienivirusten hyödyntäminen juurikäävän torjunnassa näyttää siis varsin lupaavalta. Samalla on kuitenkin todettava, että tällä hetkellä käytettävissä oleva tieto on liian vähäistä, jotta asiasta voitaisiin tehdä varmoja johtopäätöksiä.

Kirjallisuus

- Alavidze, X., Aminov, R., ym. (yht. 30 kirjoittajaa). 2016. Silk route to the acceptance and re-implementation of bacteriophage therapy. *Biotechnology Journal* 11: 1–6.
- Anagnostakis S.L. 1982. Biological control of chestnut blight. *Science* 215: 466–471.
- & Day, P.R. 1979. Hypovirulence conversion in *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 69: 1226–1229.
- Bakshi, B.K. 1950. Fungi associated with ambrosia beetles in Great Britain. *Trans. British Mycol. Soc.* 33: 111–120.
- Biraghi, A. 1953. Possible active resistance to *Endothia parasitica* in *Castanea sativa*. *Julkaisussa: Reports to 11th Congress of the International Union of Forest Research Organizations. (Rome: International Union of Forest Research Organizations), s. 643.*
- Brasier, C., Buck, K., Paoletti, M., Crawford, L. & Kirk, S. 2004. Molecular analysis of evolutionary changes in populations of *Ophiostoma novo-ulmi*. *Invest. Agr. Sist. Recur. For.* 13: 93–103.
- Bryner, S.F. & Rigling, D. 2011. Temperature-dependent genotype-by-genotype interaction between a pathogenic fungus and its hyperparasitic virus. *Am. Nat.* 177: 65–74.
- Buchanan, P.K. 1988. A new species of *Heterobasidium* (Polyporaceae) from Australasia. *Mycotaxon* 32: 325–337.
- Charlton, N.D., Carbone, I., Tavantzis, S.M. & Cube-

- ta, M.A. 2008: Phylogenetic relatedness of the M2 double-stranded RNA in *Rhizoctonia* fungi. *Mycologia* 100: 555–564.
- Chen, J.J., Cui, B.K., Zhou, L.W., Korhonen, K. & Dai, Y.C. 2015. Phylogeny, divergence time estimation, and biogeography of the genus *Heterobasidion* (Basidiomycota, Russulales). *Fungal Divers* 71: 185–200.
- , Korhonen, K., Li, W. & Dai, Y.C. 2014. Two new species of the *Heterobasidion insulare* complex based on morphology and molecular data. *Mycoscience* 55: 289–298.
- Chu, Y.-M., Jeon, J.-J., Yea, S.-J., Kim, Y.-H., Yun, S.-H., Lee, Y.-W., Kim, K.-H. 2002. Double-stranded RNA mycovirus from *Fusarium graminearum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2529–2534.
- Coenen, A., Kevei, F. & Hoekstra, R.F. 1997. Factors affecting the spread of double-stranded RNA viruses in *Aspergillus nidulans*. *Genet. Res.* 69: 1–10.
- Dai, Y.C. & Korhonen, K. 2009. *Heterobasidion australe*, a new polypore derived from the *Heterobasidion insulare* complex. *Mycoscience* 50: 353–356.
- , Vainio, E.J., Hantula, J., Niemelä, T. & Korhonen, K.. 2003. Investigations on *Heterobasidion annosum* s.lat. in central and eastern Asia with the aid of mating tests and DNA fingerprinting. *For. Path.* 33: 269–286.
- , Yu, C.J. & Wang, H.C. 2007. Polypores from eastern Xizang (Tibet), western China. *Ann. Bot. Fennici* 44: 135–145.
- Day, P.R., Dodds, J.A., Elliston, J.E., Jaynes, R.A. & Anagnostakis, S.L. 1977. Double-stranded RNA in *Endothia parasitica*. *Phytopathology* 67: 1393–1396
- D'Amico, L., Motta, E., Annesi, T., Sciré, M., Luchi, N., Hantula, J., Korhonen, K. & Capretti, P. 2007. The North American P group of *Heterobasidion annosum* s.l. is widely distributed in *Pinus pinea* forests of the western coast of central Italy. *For. Path.* 37: 303–320.
- Deng, F., Xu, R. & Boland, G.J. 2003. Hypovirulence-associated double-stranded RNA from *Sclerotinia homoeocarpa* is conspecific with *Ophiostoma novo-ulmi* mitovirus 3a-Ld. *Phytopathology* 93: 1407–1414.
- & Boland, G.J. 2007. Natural occurrence of a partiti-virus in the sapstaining fungus *Ceratocystis resinifera*. *Can. J. Plant Pathol.* 29: 182–189.
- Drenkhan, T., Sibul, I., Kasanen, R. & Vainio, E. 2013. Viruses of the conifer pathogenic fungus *Heterobasidion parviporum* resist passing through the alimentary tract of the large pine weevil. *For. Path.* 43: 317–323.
- Ghabrial, S.A., Soldevila, A.I. & Havens, W.M. 2002. Molecular genetics of the viruses infecting the plant pathogenic fungus *Helminthosporium victoriae*. *Julkaisussa: Tavantzis, S. (toim.). Molecular Biology of Double-Stranded RNA: Concepts and Applications in Agriculture, Forestry and Medicine, CRC Press, Boca Raton, s. 213–236.*
- , Castón, J.R., Jiang, D., Nibert, M.L., & Suzuki, N. 2015. 50-plus years of fungal viruses. *Virology* 479: 356–368.
- Gilmer, D.B., Schmitz, J.E., Euler, C.W. & Fischetti, V.A. 2013. Novel bacteriophage lysin with broad lytic activity protects against mixed infection by *Streptococcus pyogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 5: 2743–2750.
- Gonthier, P. & Garbelotto, M. 2011. Amplified fragment length polymorphism and sequence analyses reveal massive gene introgression from the European fungal pathogen *Heterobasidion annosum* into its introduced congener *H. irregular*. *Mol. Ecol.* 20: 2756–2770
- , Nicolotti, G., Linzer, R., Guglielmo, F. & Garbelotto, M. 2007. Invasion of European pine stands by a North American forest pathogen and its hybridization with a native interfertile taxon. *Mol. Ecol.* 16: 1389–1400.
- Griffin, G.J., Eisenback, J.D., Yancey, M.M. & Templeton, J. 2009. *Aphelenchoides hylurgi* as a carrier of white, hypovirulent *Cryphonectria parasitica* and its possible role in hypovirulence spread on blight-controlled American chestnut trees. *J. Nematol.* 41: 267–273.
- Hillman, B.I. & Cai, G.. 2013. The family Narnaviridae: simplest of RNA viruses. *Adv. Virus Res.* 86: 149–176.
- Hong, Y., Dover, S.L., Cole, T.E., Brasier, C.M. & Buck, K.W. 1999. Multiple mitochondrial viruses in an isolate of the Dutch Elm disease fungus *Ophiostoma novo-ulmi*. *Virology* 258: 118–127.
- Hyder, R., Pennanen, T., Hamberg, L., Vainio, E.J., Piri, T. & Hantula, J. 2013. Two viruses of *Heterobasidion* confer beneficial, cryptic or detrimental effects to their hosts in different situations. *Fungal Ecol.* 6: 387–396.
- Ihrmark, K. 2001. Double-stranded RNA Elements in the Root Rot Fungus *Heterobasidion annosum*. PhD dissertation. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala. 36 s.
- , Johannesson, H., Stenström, E. & Stenlid, J. 2002. Transmission of double-stranded RNA in *Heterobasidion annosum*. *Fungal Genet. Biol.* 36: 147–154.
- , Stenström, E. & Stenlid, J. 2004. Double-stranded RNA transmission through basidiospores of *Heterobasidion annosum*. *Mycol. Res.* 108: 149–153.

- Jurvansuu, J., Kashif, M., Vaario, L., Vainio, E. & Hantula, J. 2014. Partitiviruses of a fungal forest pathogen have species-specific quantities of genome segments and transcripts. *Virology* 462: 25–33.
- Kashif, M., Hyder, R., De Vega Perez, D., Hantula, J. & Vainio, E.J. 2015. *Heterobasidion* wood decay fungi host diverse and globally distributed viruses related to *Helicobasidium mompa* partitivirus V70. *Virus Res.* 195: 119–123.
- Korhonen, K. 1978. Intersterility groups of *Heterobasidion annosum*. *Commun. Inst. Forest. Fenn.* 94: 1–25.
- Lakshman, D.K., Jian, J. & Tavantzis, M. 1998. A double-stranded RNA element from a hypovirulent strain of *Rhizoctonia solani* occurs in DNA form and is genetically related to the pentafunctional AROM protein of the shikimate pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95: 6425–6429.
- Liu, Y., Linder-Basso, D., Hillman, B., Kaneko, S., & Milgroom, M. 2003. Evidence for interspecies transmission of viruses in natural populations of filamentous fungi in the genus *Cryphonectria*. *Mol. Ecol.* 12: 1619–1628.
- Márquez, L.M., Redman, R.S., Rodriguez, R.J. & Roossinck, M.J. 2007. A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science* 315: 513–515.
- Melzer, M.S., Ikeda, S.S. & Boland, G.J. 2002. Interspecific transmission of double-stranded RNA and hypovirulence from *Sclerotinia sclerotiorum* to *S. minor*. *Phytopathology* 92: 780–784.
- Milgroom, M.G. & Cortesi, P. 2004. Biological control of chestnut blight with hypovirulence: a critical analysis. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 311–338.
- Mukasa, S.B., Rubaihayo, P.R., Valkonen, J.P.T. 2006. Interactions between a crinivirus, an ipomovirus and a potyvirus in coinfecting sweetpotato plants. *Plant Pathol.* 55: 458–467.
- Nibert, M.L., Ghabrial, S.A., Maiss, E., Lesker, T., Vainio, E.J., Jiang, D. & Suzuki, N. 2014. Taxonomic reorganization of family *Partitiviridae* and other recent progress in partitivirus research. *Virus Res.* 188: 128–141.
- Niemelä, T. & Korhonen, K. 1998. Taxonomy of the genus *Heterobasidion*. *Julkaisussa: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R. & Hüttermann, A. (toim.). Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control, CAB International, Wallingford, UK (1998), s. 27–41.*
- Olson, A., Aerts, A., ym. (yht. 53 kirjoittajaa). 2012. Insight into trade-off between wood decay and parasitism from the genome of a fungal forest pathogen. *New Phytol.* 194: 1001–1013.
- Osaki, H., Nomura, K., Matsumoto, N. & Ohtsu, Y. 2004. Characterization of double-stranded RNA elements in the violet root rot fungus *Helicobasidium mompa*. *Mycol. Res.* 108: 635–640.
- Park, Y., James, D. & Punja, Z.K. 2005. Co-infection by two distinct totivirus-like double-stranded RNA elements in *Chalara elegans* (*Thielaviopsis basicola*). *Virus Res.* 109: 71–85.
- Peever, T.L., Liu, Y.-C., & Milgroom, M.G. 1997. Diversity of hypoviruses and other double-stranded RNAs in *Cryphonectria parasitica* in North America. *Phytopathology* 87: 1026–1033.
- Piri, T. & Hamberg, L. 2015. Persistence and infectivity of *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce root residuals following stump harvesting. *Forest Ecol. Manag.* 353: 49–58.
- Preisig, O., Wingfield, B.D. & Wingfield, M.J. 1998. Co-infection of a fungal pathogen by two distinct double-stranded RNA viruses. *Virology* 252: 399–406.
- Read, A.F. & Taylor, L.H. 2001. The ecology of genetically diverse infections. *Science* 292: 1099–1102.
- Rogers, H.J., Buck, K.W. & Brasier, C.M. 1986. Transmission of double-stranded RNA and a disease factor in *Ophiostoma ulmi*. *Plant Pathol.* 35: 227–287.
- Seo, J.K., Lim, W.S., Jeong, J.H., Yoo, Y.B., Yie, S.W. & Kim, K.H.. 2004. Characterization and RT-PCR detection of dsRNA mycoviruses from the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Plant Pathol. J.* 20: 200–205.
- Simoni, S., Nannelli, R., Roversi, P.F., Turchetti, T. & Bouneb, M.. 2014. *Thyreophagus corticalis* as a vector of hypovirulence in *Cryphonectria parasitica* in chestnut stands. *Exp. Appl. Acarol.* 62: 363–375.
- Shamoun, S.F., Varga, A., Valverde, R.A., Ramsfield, T., Sumampong, G., Elliott, M. & James, D. 2008. Identification and molecular characterization of a new double-stranded RNA virus infecting *Chondrostereum purpureum*. *Can. J. Plant Pathol.* 30: 604–613.
- Stenlid, J. & Redfern, D.B. 1998. Spread within the tree and stand. *Julkaisussa: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R. & Hüttermann, A. (toim.). Heterobasidion annosum: Biology, Ecology, Impact and Control, CAB International, Wallingford, UK (1998), s. 125–141.*
- Tokuda, S., Hattori, T., Dai, Y.C., Ota, Y. & Buchanan, P.K. 2009. Three species of *Heterobasidion* (Basidiomycota, Hericiales), *H. parviporum*, *H. orientale* sp.

- nov. and *H. ecrustosum* sp. nov. from East Asia. Mycology 50: 190–202.
- Tuomivirta, T.T. & Hantula, J. 2005. Three unrelated viruses occur in a single isolate of *Gremmeniella abietina* var. *abietina* type A. Virus Res. 110: 31–39.
- Vainio, E.J. & Hantula, J. 2016. Taxonomy, biogeography and importance of Heterobasidion viruses. Virus Research doi:10.1016/j.virusres.2015.10.014.
- , Korhonen, K., Tuomivirta, T.T. & Hantula, J. 2010. A novel putative partitivirus of the saprotrophic fungus *Heterobasidion ecrustosum* infects pathogenic species of the *Heterobasidion annosum* complex. Fungal Biol. 114: 955–965.
- , Hakanpää, J., Dai, Y.-C., Hansen, E. & Hantula, J. 2011a. Species of *Heterobasidion* host a diverse pool of partitiviruses with global distribution and interspecies transmission. Fungal Biol. 115: 1234–1243.
- , Keriö, S. & Hantula, J. 2011b. Description of a new putative virus infecting the conifer pathogenic fungus *Heterobasidion parviporum* with resemblance to *Heterobasidion annosum* P-type partitivirus. Arch. Virol. 156: 79–86.
- , Hyder, R., Aday, G., Hansen, E., Piri, T., Dogmus-Lehtijärvi, T., Lehtijärvi, A., Korhonen, K. & Hantula, J. 2012. Population structure of a novel putative mycovirus infecting the conifer root-rot fungus *Heterobasidion annosum* sensu lato. Virology 422: 366–376.
- , Capretti, P., Motta, E. & Hantula, J. 2013a. Molecular characterization of HetRV8-ir1, a partitivirus of the invasive conifer pathogenic fungus *H. irregulare*. Arch. Virol. 158: 1613–1615.
- , Piri, T. & Hantula, J. 2013b. Virus community dynamics in the conifer pathogenic fungus *Heterobasidion parviporum* following an artificial introduction of a partitivirus. Microbial. Ecol. 65: 28–38.
- , Jurvansuu, J., Streng, J., Rajamäki, M.-L., Hantula, J. & Valkonen, J.P.T. 2015a. Diagnosis and discovery of fungal viruses by deep sequencing of small RNAs. J. Gen. Virol. 96: 714–725.
- , Müller, M.M., Korhonen, K., Piri, T. & Hantula, J. 2015b. Viruses accumulate in aging infection centers of a fungal forest pathogen ISME J. 9: 497–507.
- Wright, A., Hawkins, C.H., Anggard, E.E. & Harper, D.R. 2009. A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: a preliminary report of efficacy. Clin. Otolaryngol. 34:349–57.
- Wu, M.D., Zhang, L., Li, G.Q., Jiang, D.H.M., Hou, S. & Huang, H.-C. 2007. Hypovirulence and Double-Stranded RNA in *Botrytis cinerea*. Phytopathology 97: 1590–1599.
- Xie, J. & Jiang, D. 2014. New insights into mycoviruses and exploration for the biological control of crop fungal diseases. Annual Rev. Phytopathol. 52: 45–68.
- 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. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107: 8387–8392.

71 viitettä

