

Virusi fitopatogenih gljiva roda *Heterobasidion*

Božić, Filip

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:144117>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

VIRUSI FITOPATOGENIH GLJIVA RODA *Heterobasidion*

VIRUSES OF THE PHYTOPATHOGENIC FUNGI BELONGING
TO THE GENUS *Heterobasidion*

SEMINARSKI RAD

Filip Božić

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: prof. dr. sc. Mirna Ćurković Perica

Zagreb, 2021.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za mikrobiologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Mirne Ćurković Perice

Popis kratica

ak	aminokiselina
CP	protein kapside (engl. <i>coat protein</i>)
dsRNA	dvolančana ribonukleinska kiselina (engl. <i>double-stranded ribonucleic acid</i>)
nt	nukleotid
ORF	otvoreni okvir čitanja (engl. <i>open reading frame</i>)
RdRp	RNA ovisna RNA polimeraza (engl. <i>RNA-dependent RNA polymerase</i>)
s.l.	sensu lato
s.s.	sensu stricto
UTR	netranslatirana regija (engl. <i>untranslated region</i>)

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Gljive roda <i>Heterobasidion</i>	2
2.1. Taksonomija i rasprostanjenost <i>Heterobasidion annosum</i> kompleksa.....	2
2.2. Životni ciklus.....	3
2.3. Simptomi i kontrola <i>Heterobasidion</i> infekcija.....	4
3. Virusi gljiva roda <i>Heterobasidion</i>	6
3.1. Genom i genska ekspresija.....	6
3.2. Učestalost i prijenos virusa.....	8
3.3. Efekti virusa na domaćina i potencijalna primjena u biološkoj kontroli.....	9
4. Zaključak.....	11
5. Literatura.....	12
6. Sažetak.....	15
7. Summary.....	15
ŽIVOTOPIS.....	16

1. Uvod

Rod *Heterobasidion* (Basidiomycota, Russulales, Bondarzewiaceae), a posebno *Heterobasidion annosum* kompleks vrsta, uključuje neke od najštetnijih šumskih patogena u crnogoričnim šumama diljem svijeta. Ove fitopatogene gljive izazivaju takozvanu bijelu trulež (engl. *white rot*) i odumiranje stabala što ih čini velikom prijetnjom u proizvodnji drveta, naročito u područjima gdje je prisutno intenzivno gospodarenje šumama, stvarajući goleme ekonomske gubitke (Garbelotto i Gonthier 2013, Vainio i Hantula 2016). Osim narušavanja zdravlja šume, dovode i do velike emisije ugljikovog dioksida iz trulog drveta, smanjujući sposobnost šuma četinjača da djeluju kao ponori ugljika (Olson i sur. 2012).

U rod *Heterobasidion* ubrajaju se *Heterobasidion annosum* i *Heterobasidion insulare* kompleksi vrsta, u daljnjem tekstu kao *H. annosum* i *H. insulare* sensu lato (s.l.), te vrsta *H. araucariae* koja nije u sastavu dva navedena kompleksa (Chen i sur. 2015). *H. annosum* s.l. sastoji se od nekrotrofnih patogena koji se smatraju najštetnijim uzročnicima bolesti četinjača (Garbelotto i Gonthier 2013), dok je većina vrsta *H. insulare* s.l. nepatogena (Chen i sur. 2014). Upravo su zato vrste *H. annosum* s.l. jedne od najviše istraženih šumskih gljiva te je razvijen niz metoda kontrole ovih patogena, a kao novo potencijalno rješenje javlja se korištenje mikovirusa kao sredstva biološke kontrole.

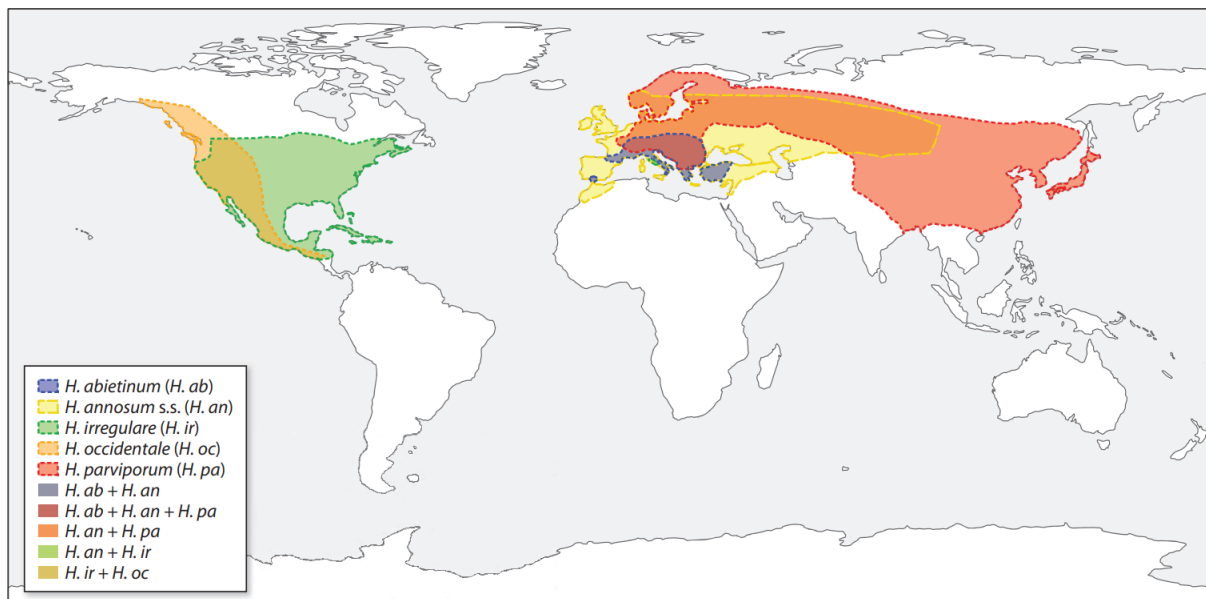
2. Gljive roda *Heterobasidion*

2.1. Taksonomija i rasprostranjenost *Heterobasidion annosum* kompleksa

Chen i sur. (2015) navode pet priznatih vrsta unutar *H. annosum* s.l. i šest vrsta unutar *H. insulare* s.l. U *H. insulare* s.l. svrstane su vrste *H. linzhiense* (Dai i sur. 2007), *H. australe* (Dai i Korhonen 2009), *H. ecrustosum*, *H. orientale* (Tokuda i sur. 2009), *H. amyloideum* i *H. tibeticum* (Chen i sur. 2014). *H. annosum* s.l. je kompleks vrsta široko rasprostranjen u crnogoričnim šumama sjeverne polutke (Garbelotto i Gonthier 2013). Tri su vrste opisane na području Euroazije, *H. annosum* sensu stricto (s.s.), *H. abietinum* i *H. parviporum* (Niemelä i Korhonen 1998, citirano u Chen i sur. 2015), a dvije u Sjevernoj Americi, *H. irregulare* i *H. occidentale* (Otrosina i Garbelotto 2010).

Svaka vrsta inficira određeni skup domaćina. *H. annosum* uglavnom napada borove (*Pinus*) iako može inficirati i jele i smreke (Garbelotto i Gonthier 2013; Vainio i Hantula 2016). *H. parviporum* isključivo inficira norvešku smreku (*Picea abies*), a *H. abietinum* srebrnu jelu (*Abies alba*) i ostale vrste u rodu *Abies*. *H. irregulare* napada borove, smreke i cedar, a *H. occidentale* se može nalaziti na širem skupu domaćina rodova *Abies*, *Picea*, *Tsuga*, *Pseudotsuga* i *Sequoiadendron* (Garbelotto i Gonthier 2013).

Geografska rasprostranjenost *H. annosum* s.l. vrsta (Slika 1) odgovara rasprostranjenosti njihovih preferiranih domaćina. *H. annosum* se nalazi na područjima gotovo cijele Europe, osim u sjevernim predjelima, te istočnije u predjelima južnog Sibira. *H. parviporum* javlja se od sjevernih predjela Europe do Alpa i u Kini, Japanu i južnom Sibiru. *H. abietinum* zauzima centralnu i južnu Europu i područja oko Sredozemnog mora. *H. occidentale* se nalazi na zapadu Sjeverne Amerike dok je *H. irregulare* zabilježen i u istočnim šumama Sjeverne Amerike. *H. irregulare* također zauzima i predjele srednje Italije nakon što je tamo uveden tijekom Drugog svjetskog rata (Garbelotto i Gonthier 2013).



Slika 1. Geografska rasprostranjenost *H. annosum* s.l. (prilagođeno prema: Garbelotto i Gonthier 2013).

2.2. Životni ciklus

Primarna infekcija izazvana je ulaskom bazidiospora prenošenih vjetrom kroz rane na deblu ili korijenu domaćina, a infekcija se može razviti i na svježe posjećenim panjevima. Vjerojatnost razvoja infekcije kroz rane ovisi o veličini oštećenja i vrsti domaćina (Garbelotto i Gonthier 2013). Germinacijom jedne bazidiospore nastaje homokariotski, efektivno haploidni, primarni micelij (Korhonen 1978, citirano u Vainio i Hantula 2016). Iako *H. annosum* s.l. proizvode i konidije, smatra se da njihova uloga nije važna u procesu zaraze te da infekcije u prirodi izazivaju samo spolne spore (Redfern i Stenlid 1998, citirano u Garbelotto i Gonthier 2013). Micelij se potom širi korijenom te može sekundarno inficirati nezaražene okolne jedinice vegetativnim rastom micelija preko kontakata korijenja (Garbelotto i Gonthier 2013).

Jedinke gljiva održavaju svoj identitet putem sustava somatske inkompatibilnosti ili vegetativne kompatibilnosti, koji kao posljedicu imaju izolaciju micelija u interakciji, sprječavajući fuziju hifa (anastomozu) te onemogućujući izmjenu citoplazme i jezgri (Hansen i sur. 1993). Identificirane su tri intersterilne populacije unutar *H. annosum* s.l., nazvane S, P i F grupa (Korhonen 1978, citirano u Stenlid i Rayner 1991). Opisan je i sustav pet genetskih bialelnih lokusa (sa + i - alelima), nazvanih S, P, V₁, V₂ i V₃. Parenje između jedinki kompatibilnih tipova parenja omogućeno je kada su jedinice homoalelne za + alel barem u jednom od ovih pet lokusa (Chase 1986, citirano u Stenlid i Rayner 1991).

Za razliku od primarnog micelija, sekundarni micelij čini mozaik homokariotskog i heterokariotskog micelija. Heterokariotski micelij nastaje parenjem homokariotskih micelija

koji nose različite alele parenja nakon čega može doći do ponovne uspostave originalnih homokariota putem jednojezgrenih konidija (Hansen i sur. 1993). Somatska inkompatibilnost, izražena u obliku zona s manjim brojem hifa, vidljiva je između genetički različitih heterokariotskih jedinki (Korhonen 1978, citirano u Hansen i sur. 1993). Anastomoza je ipak zabilježena in vitro između somatski inkompatibilnih micelija, ali čini se da dolazi do fuzije samo homokariotskih hifa unutar suprotstavljajućih kolonija te nastajanja novog heterokariotskog genotipa između inkompatibilnih heterokariota. Novonastali heterokarioti u međuprostoru i dalje izoliraju i razdvajaju somatski inkompatibilne kolonije, ali je njihovo postojanje pokazatelj da reakcije somatske inkompatibilnosti ne blokiraju potpuno razmjenu citoplazme i jezgara između nesrodnih heterokariotskih kolonija (Hansen i sur. 1993).

Velika količina genetički različitih micelija iste vrste uočena je u mladim plantaža nakon prve sječe što ukazuje na primarnu infekciju panjeva putem bazidiospora. Miceliji su bili ograničeni na malom prostoru, obično uključujući samo panj ili nekoliko stabala. U slučaju infekcije istog panja sa više različitih bazidiospora, zbog genetskih razlika se na mjestima dodira različitih micelija razvijaju zone koje prostorno odvajaju micelije na sektore. Drvo u kontaktnim zonama manje je oštećeno od drveta na prostoru koje zauzima samo jedan micelij (Swedjemark i Stenlid 1993). U starijim šumskim područjima zasebni miceliji su veći i inficiraju nekoliko stabala (Stenlid 1985, citirano u Swedjemark i Stenlid 1993). Upravo činjenica da miceliji identičnog genotipa nisu razdvojeni nego zauzimaju kontinuiran prostor koji se povećava u starijim šumama ukazuje na širenje micelija sekundarnom infekcijom preko korijenja, a ne preko konidija (Garbelotto i Gonthier 2013, Swedjemark i Stenlid 1993).

2.3. Simptomi i kontrola *Heterobasidion* infekcija

Gljive bijele truleži sposobne su razgraditi sve komponente biljnih staničnih stijenki, celulozu, hemicelulozu pa čak i lignin, pomoću izvanstaničnih oksidacijskih enzima koji uključuju niz oksidaza i peroksidaza. Ti enzimi stvaraju visoko reaktivne i nespecifične slobodne radikale koji utječu na depolimerizaciju i razgradnju spojeva stanične stijenke (Kersten i Cullen 2007). U ranim fazama infekcije, zbog spojeva izlučenih od strane i domaćina i patogena, dolazi do pojave tamne mrlje na drvetu koja postupnim propadanjem poprima karakterističan izgled bijele truleži, pokazujući laminacije i bijele mrlje kao rezultat oksidativnih procesa (Stenlid i Redfern 1998, citirano u Garbelotto i Gonthier 2013).

Vanjski simptomi uočljivi su prilikom infekcije bjelik, kada se javljaju usporeni rast, kraće zadržavanje iglica i kloroza. Infekcije srži detektiraju se tek nakon rušenja stabala (Slika

2). Vrste *H. annosum* s.s. i *H. irregulare* učinkovitije su od ostalih vrsta u infekciji bjelike i kambija stabla, stoga izazivaju i brže sušenje (Greig 1998, citirano u Garbelotto i Gonthier 2013).



Slika 2. Infekcija i propadanje srži norveške smreke uzrokovano gljivom *H. parviporum* u vjetrom srušenom (lijevo) i posječenom (desno) stablu (preuzeto iz: Garbelotto i Gonthier 2013).

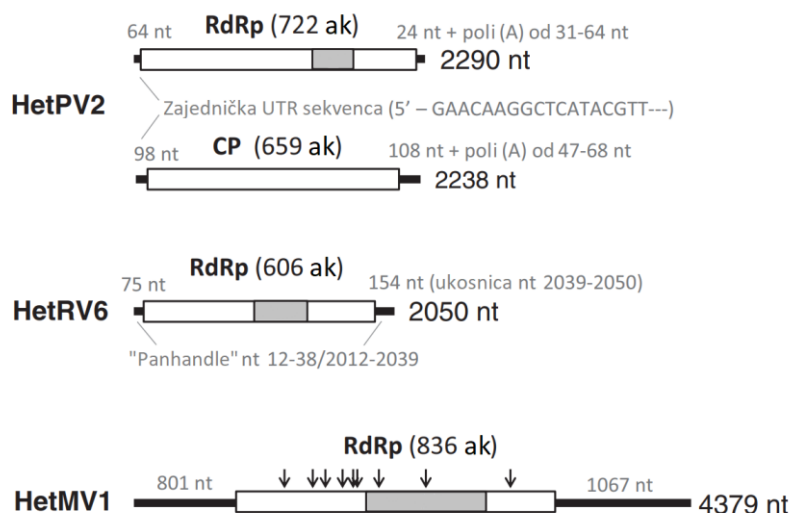
Iako se pokazalo teškim iskorijeniti gljivu jednom kada je infekcija uspješno uspostavljena, činjenice da putevi infekcije uključuju vjetrom nošene spore i da je u svake vrste roda *Heterobasidion* prisutna značajna sklonost zaražavanja točno određenih vrsta omogućile su razvoj niza preventivnih mjera i kontrolnih strategija u zaštiti od infekcija. Vrste roda *Heterobasidion* mogu se kontrolirati promjenom kompozicije vrsta stabala i selekcijom onih vrsta koje su manje podložne lokalno prisutnim vrstama patogena, smanjujući incidenciju bolesti tijekom vremena. Također, kontrola se može vršiti uklanjanjem panjeva, no to je vrlo skupa i dugotrajna metoda koja zahtijeva i korištenje strojeva. Kemijskim i biološkim tretmanom panjeva mogu se spriječiti infekcije sporama i širenje bolesti bez uklanjanja panjeva (Garbelotto i Gonthier 2013). Kao uspješno biološko sredstvo pokazala se vodena otopina gljive *Phlebiopsis gigantea*, koja je smanjila infekciju panjeva za 79% i smanjila opseg koloniziranog područja na inficiranim panjevima u odnosu na kontrolu. Slične rezultate pružili su i kemijski agensi: bakrov oksiklorid ($\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$), boraks ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) i urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) (Nicolotti i Gonthier 2005). Nijedna od ovih metoda ne rezultira potpunom zaštitom od patogena, stoga je potraga za novim rješenjima usmjerena na biološku kontrolu koristeći mikoviruse.

3. Virusi gljiva roda *Heterobasidion*

Gljive roda *Heterobasidion* domaćini su širokom spektru mikovirusa. Detektirano je više od 20 vrsta iz porodice *Partitiviridae* rodova *Alphapartivirus* i *Betapartivirus*, tri vrste iz porodice *Narnaviridae* roda *Mitovirus* i jedna taksonomski neklasificirana vrsta nazvana *Heterobasidion RNA virus 6* (HetRV6). HetRV6, čini se, pripada novoj virusnoj porodici koja je, na temelju sličnosti sekvence koja kodira za RNA ovisnu RNA polimerazu (RdRp, od engl. *RNA-dependent RNA polymerase*), u dalekom srodstvu sa partitivirusima i vrstama porodice *Potyviridae*. Partitivirusima dodijeljena su imena *Heterobasidion partivirus* (HetPV1, HetPV2, HetPV3,...), a mitovirusima *Heterobasidion mitovirus* (HetMV1, HetMV2 i HetMV3) (Kashif i sur. 2019; Vainio 2019; Vainio i Hantula 2016).

3.1. Genom i genska ekspresija

Partitivirusi i HetRV6 imaju dvolančani RNA genom (dsRNA, od engl. *double-stranded RNA*), a mitovirusi pozitivnu jednolančanu RNA (Vainio i Hantula 2016; Vainio i sur. 2015a). Partitivirusi imaju segmentirani genom koji se sastoji od dva segmenta dsRNA, od kojih svaki sadrži jedan veliki otvoreni okvir čitanja (ORF, od engl. *open reading frame*) na pozitivnom lancu RNA molekule. ORF koji kodira za protein kapside (CP, od engl. *coat protein*) obično se nalazi na manjem segmentu, a ORF koji kodira za RdRp na većem (Slika 3). Linearni dsRNA segmenti zasebno se omataju u vlastite kapside (Vainio i sur. 2018). HetRV6 i mitovirusi sadrže jedan segment i kodiraju samo za protein polimeraze (Slika 3) (Vainio i Hantula 2016). Mitovirusi obitavaju u mitohondrijima domaćina, stoga je njihova RdRp obično kodirana mitohondrijskim genetičkim kodom. Kodon UGA u genomu mitovirusa tako kodira za triptofan umjesto za stop kodon (Vainio 2019).



Slika 3. Organizacija genoma HetPV2 (*Partitiviridae*, *Betapartitivirus*), HetRV6 i HetMV1 (*Narnaviridae*, *Mitovirus*). Netranslatirane regije (UTR, od engl. *untranslated region*) prikazane su crno, a konzervirane regije RdRp sivo. „Panhandle“ označava strukturu koja nastaje spajanjem komplementarnih sekvenci na 5'- i 3'- kraju transkripta. Strelice označavaju pozicije UGA kodona u RdRp kodirajućoj regiji HetMV1 genoma koji kodira za triptofan koristeći mitohondrijsku translacijsku tablicu (prilagođeno prema: Vainio i Hantula 2016).

Heterobasidion partitirovirusi proizvode različite količine CP i RdRp segmenata, gdje CP segmenata obično ima više, što ima smisla uzmemo li u obzir činjenicu da se virusna čestica partitirovirusa sastoji od 120 CP molekula i od samo jedne RdRp molekule. Zabilježeni omjer količine segmenata u izolata HetPV1-ab1 (iz *H. abietinum*) i HetPV2-pa1 (iz *H. parviporum*) je uglavnom održavan konstantim pri različitim uvjetima u prirodnim domaćinima, uz veće fluktuacije nakon njihovog uvođenja u nove domaćine (Jurvansuu i sur. 2014). Značajno više RdRp segmenata u odnosu na CP segmente zabilježeno je u virusa HetPV13-an1 (iz *H. annosum*) (Vainio i sur. 2015a) i HetPV3-ec1 (iz *H. ecrustosum*), u kojeg je omjer segmenata bio osobito nestabilan (Jurvansuu i sur. 2014).

5'-krajevi segmenata istog partitirovirusa sadrže slične sekvence po kojima ih virusni proteini potencijalno prepoznaju kao virusnu RNA i koordiniraju njihovu transkripciju i pakiranje u virusne čestice. CP transkripti prosječno imaju dulji poli(A) rep na 3'-kraju od RdRp segmenata, što moguće doprinosi većoj stabilnosti CP transkripata. Obilježja poput ovih mogu biti putevi kojima se regulira količina virusnih transkripata (Jurvansuu i sur. 2014).

3.2. Učestalost i prijenos virusa

Virusi s dsRNA genomom detektirani su u oko 17% izolata gljiva roda *Heterobasidion* s područja Europe, Azije i Sjeverne Amerike. Partitivirusima je pripadalo manje od 30% ukupnog broja detektiranih virusa, a pronađeni su u svim *H. annosum* s.l. vrstama te u dvije *H. insulare* s.l. vrste (Vainio i sur. 2011). HetRV6 najčešće je detektirana vrsta mikovirusa u *H. annosum* s.l. čineći više od 70% dsRNA pozitivnih izolata, ali nije pronađen u *H. insulare* s.l., stoga je moguće da je ovaj virus specifičan samo za *H. annosum* s.l. (Vainio i sur. 2012). Izolati gljiva roda *Heterobasidion* s manjih šumskih područja s dugom poviješću infekcija ovim šumskim patogenima pokazali su stopu infekcije od čak 48-67% u *H. parviporum* (Vainio i sur. 2015b) i 29% u *H. annosum* (Hyder i sur. 2018), što je znatno više od prethodno zabilježenih 17% te ukazuje na akumulaciju virusa tijekom vremena.

Većina mikovirusa nema ekstracelularnu fazu replikacijskog ciklusa, odnosno sposobnost stvaranja infektivnih ekstracelularnih čestica, stoga se prenose intracelularnim putem. Virusna dsRNA horizontalno se prenosi između sojeva gljiva roda *Heterobasidion* putem anastomoze (Ihrmark i sur. 2002; Vainio i sur. 2010). Anastomoza je, kao što je navedeno ranije, zabilježena in vitro i između somatski inkompatibilnih i različitih intersterilnih grupa (Hansen i sur. 1993). Horizontalno širenje virusa između vrsta roda *Heterobasidion* zabilježeno je po prvi puta i u prirodi, kada je detektirana dsRNA *Heterobasidion* partitivirusa 1 (HetPV1) u *H. parviporum* i *H. australe* na području Butana (Vainio i sur. 2011). Prijenos virusa između izolata istih vrsta roda *Heterobasidion* je ipak češći od međuvrskog prijenosa (Hantula i sur. 2020; Vainio i sur. 2018). Moguć je i vertikalni prijenos dsRNA preko bazidiospora i konidija, no frekvencija prijenosa dsRNA u konidije je manja od frekvencije prijenosa u bazidiospore, stoga konidije vjerojatno nose manji značaj u transmisiji dsRNA (Ihrmark i sur. 2002; Ihrmark i sur. 2004).

Vainio i sur. (2015b) utvrdili su da spore uistinu sadrže virusnu dsRNA, ali detektiran je samo HetRV6. Infekcija partitivirusima nije detektirana u izolatima dobivenima iz uzorkovanih spora, već se čini da se partitivirusi šire samo kontaktom hifa između susjednih micelija. Također je utvrđeno da virusni sojevi nakupljaju točkaste mutacije tijekom dugotrajnih infekcija (Vainio i sur. 2015b). Upravo bi razlika u načinu prenošenja mogla objasniti razliku u rasprostranjenosti i raznolikosti HetRV6 u odnosu na ostale virusne skupine, odnosno činjenicu da je HetRV6 češći i lokalno mnogo raznovrsniji u usporedbi s bilo kojim od partitivirusa (Vainio i sur. 2016).

Moguće su i koinfekcije virusima te su dosad u prirodi zabilježene maksimalno trostruke dsRNA virusne infekcije (Vainio i sur. 2015b), dok se stabilnost pet koinficirajućih virusa pokazala niskom u prirodnim uvjetima (Hantula i sur. 2020), ukazujući na postojanje ograničenja broja koinficirajućih virusa u miceliju gljiva roda *Heterobasidion*. Virusi međusobno utječu na stope prijenosa drugih virusa na vrlo kompleksan način te su zabilježene i pozitivne i negativne interakcije. HetPV11-au1 (iz *H. australe*) i HetPV11-pa1 međusobno si otežavaju prijenos između *H. annosum* micelija kada se nalaze u recipijentu, ali zato HetPV11-au1 u recipijentu značajno pojačava prijenos HetPV13-an1 i HetPV15-pa1, dok HetPV11-pa1 nema utjecaja na prijenos spomenutih virusa. HetPV15-pa1 se bez prisutnosti drugih virusa nije prenosio, a u slučaju koinfekcije donora uz HetPV13-an1 oba su virusa imala veću stopu prenošenja (Kashif i sur. 2019).

3.3. Efekti virusa na domaćina i potencijalna primjena u biološkoj kontroli

S obzirom na intracelularni ciklus većine mikovirusa i ovisnost prenošenja o domaćinu, infekcije uglavnom ne izazivaju teže simptome i staničnu smrt, ali često rezultiraju pojavom hipovirulencije fitopatogenih gljiva, otvarajući put razvitku potencijalnih strategija biološke kontrole vrsta roda *Heterobasidion* (Vainio i sur. 2018). Pokazano je da su simptomi virusne infekcije više izraženi nakon promjene domaćina, prijenosom tri vrste partitivirusa (HetPV1-ab1, HetPV3-ec1 i HetPV2-pa1) u soj *H. occidentale*, izoliran s različite vrste domaćina i različitog kontinenta u odnosu na prirodne domaćine ovih virusa. Svi virusi pokazali su značajne učinke na stopu rasta novog domaćina pri različitim temperaturama (uglavnom negativne, uz iznimku HetPV2-pa1 koji je djelovao pozitivno pri temperaturi od 25°C), pokazujući da posljedice na fenotip ovise i o okolišnim uvjetima. S druge strane, svi korišteni virusi imali su blaže negativne učinke na stopu rasta prirodnih domaćina pri testiranim uvjetima (Jurvansuu i sur. 2014).

HetPV13-an1 je, uz oslabljen rast, utjecao i na ekspresiju čak 683 gena u homokariotskim i heterokariotskim sojevima *H. parviporum* i *H. annosum*, uključenih u metabolizam ugljikohidrata, aminokiselina i lipida, redoks reakcije, detoksifikaciju, procese vezane uz stanične membrane i stijenke, stanični ciklus i produkciju energije u mitohondrijima. Promjene u metabolizmu dovode do stanja gladovanja domaćina koje domaćin pokušava kompenzirati alternativnim sintetskim putevima. Navedene promjene u ekspresiji rezultiraju znatno oslabljenim fenotipom domaćina, smanjujući i rast i sposobnost kolonizacije živog drveća u prirodi. HetPV13 sojevi, bliski HetPV13-an1, prirodno su prisutni i inficiraju *H.*

annosum i *H. parviporum*, ali nije zabilježen njihov značajan utjecaj na rast domaćina. Međutim, sama prisutnost sličnih virusa u prirodi čini umjetno uvođenje HetPV13-an1 prilikom biološke kontrole niskorizičnim. Kao metoda inokulacije predloženo je korištenje inficiranih homokariotskih sojeva gljiva roda *Heterobasidion* kao donora, zbog njihove manje patogenosti i mogućnosti prenošenja virusa parenjem i anastomozom (Vainio i sur. 2018).

Kao što virusi međusobno utječu na stopu prijenosa, tako utječu i na fenotipske posljedice prilikom koinfekcija. HetPV13-an1 i HetPV15-pa1 su, uz smanjene stope rasta pri samostalnoj infekciji svojih domaćina, pokazali izrazito negativne posljedice na stopu rasta prilikom dvostruke infekcije *H. annosum*. S druge strane, koinfekcija s HetPV11-au1 je smanjila negativan utjecaj HetPV13-an1, dok koinfekcija s HetPV11-pa1 nije imala značajnijeg utjecaja (Kashif i sur. 2019). Mehanizmi ovih interakcija još nisu razjašnjeni, ali je pokazano da efekti virusa na vrste roda *Heterobasidion* nisu predvidljivi i aditivni te da vjerojatno ovise o unutarstaničnim interakcijama između virusa i domaćina (Hantula i sur. 2020). Uočene interakcije između HetPV13-an1 i HetPV15-pa1, koji si međusobno povećavaju stopu prenošenja, ali i izazivaju negativne posljedice na domaćina, čine ih obećavajućim kandidatima za sredstva biološke kontrole vrsta roda *Heterobasidion*.

4. Zaključak

Fitopatogene gljive roda *Heterobasidion* trenutno su kontrolirane preventivnim kemijskim (bakrov oksiklorid, boraks, urea) i biološkim (*P. gigantea*) tretmanima panjeva njihovih domaćina, ali se u slučajevima kada je infekcija već uspostavljena pokazalo teškim iskorijeniti patogen. Neki od brojnih virusa koji inficiraju vrste roda *Heterobasidion* pokazali su se kao obećavajuća sredstva biološke kontrole, koja bi se mogla koristiti uz postojeće preventivne mjere za što učinkovitiju zaštitu od širenja infekcije. HetPV13-an1 smanjuje rast domaćina i utječe na ekspresiju niza gena uključenih u osnovne stanične funkcije neovisno radi li se o prirodnoj ili prethodno neizloženoj vrsti domaćina. Osim toga, uočene interakcije između HetPV13-an1 i HetPV15-pa1 (međusobno povećavanje stope prenošenja i izazivanje negativnih fenotipskih posljedica prilikom koinfekcije domaćina) potencijalno omogućuju korištenje oba virusa u biološkoj kontroli gljiva roda *Heterobasidion* te se prilikom inokulacije može koristiti *Heterobasidion* donor dvostruko inficiran ovim dvama virusima. Zbog prisutnosti sojeva bliskih HetPV13 u prirodi, a i činjenice da se virus prenosi isključivo intracelularnim putem samo između vrsta roda *Heterobasidion*, umjetno uvođenje HetPV13-an1 u prirodu ne predstavlja veliki rizik. Daljnja istraživanja, usmjerena na razjašnjavanje interakcija prilikom koinfekcija među virusnim vrstama i između virusa i domaćina, potrebna su kako bi olakšala predviđanje utjecaja već postojećih virusnih infekcija na transmisiju i virulentnost virusa korištenih u biološkoj kontroli.

5. Literatura

- 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 Diversity* 71(1): 185-200.
- Chen J. J., Korhonen K., Li W., Dai Y. C. (2014): Two new species of the *Heterobasidion insulare* complex based on morphology and molecular data. *Mycoscience* 55(4): 289-298.
- Dai Y. C., Korhonen K. (2009): *Heterobasidion australe*, a new polypore derived from the *Heterobasidion insulare* complex. *Mycoscience* 50(5): 353-356.
- Dai Y. C., Yu C. J., Wang H. C. (2007): Polypores from eastern Xizang (Tibet), western China. *Annales Botanici Fennici* 44: 135-145.
- Garbelotto M., Gonthier P. (2013): Biology, epidemiology, and control of *Heterobasidion* species worldwide. *Annual Review of Phytopathology* 51: 39-59.
- Hansen E. M., Stenlid J., Johansson M. (1993): Somatic incompatibility and nuclear reassortment in *Heterobasidion annosum*. *Mycological Research* 97(10): 1223-1228.
- Hantula J., Mäkelä S., Xu P., Brusila V., Nuorteva H., Kashif M., Hyder R., Vainio E. J. (2020): Multiple virus infections on *Heterobasidion* sp. *Fungal Biology* 124(2): 102-109.
- Hyder R., Piri T., Hantula J., Nuorteva H., Vainio E. J. (2018): Distribution of viruses inhabiting *Heterobasidion annosum* in a pine-dominated forest plot in Southern Finland. *Microbial Ecology* 75(3): 622-630.
- Ihrmark K., Johannesson H., Stenström E., Stenlid J. (2002): Transmission of double-stranded RNA in *Heterobasidion annosum*. *Fungal Genetics and Biology* 36(2): 147-154.
- Ihrmark K., Stenström E., Stenlid J. (2004): Double-stranded RNA transmission through basidiospores of *Heterobasidion annosum*. *Mycological Research* 108(2): 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., Jurvansuu J., Vainio E. J., Hantula J. (2019): Alphapartitiviruses of *Heterobasidion* wood decay fungi affect each other's transmission and host growth. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 9: 64.
- Kersten P., Cullen D. (2007): Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Fungal Genetics and Biology* 44(2): 77-87.
- Nicolotti G., Gonthier P. (2005): Stump treatment against *Heterobasidion* with *Phlebiopsis gigantea* and some chemicals in *Picea abies* stands in the western Alps. *Forest Pathology* 35(5): 365-374.
- Olson Å., Aerts A., Asiegbu F., Belbahri L., Bouzid O., et al. (2012): Insight into trade-off between wood decay and parasitism from the genome of a fungal forest pathogen. *New Phytologist* 194(4): 1001-1013.
- Otrosina W. J., Garbelotto M. (2010): *Heterobasidion occidentale* sp. nov. and *Heterobasidion irregulare* nom. nov.: a disposition of North American *Heterobasidion* biological species. *Fungal Biology* 114(1): 16-25.
- Stenlid J., Rayner A. D. (1991): Patterns of nuclear migration and heterokaryosis in pairings between sibling homokaryons of *Heterobasidion annosum*. *Mycological Research* 95(11): 1275-1283.
- Swedjemark G., Stenlid J. (1993): Population dynamics of the root rot fungus *Heterobasidion annosum* following thinning of *Picea abies*. *Oikos* 66: 247-254.
- 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. *Mycoscience* 50(3): 190-202.
- Vainio E. J. (2019): Mitoviruses in the conifer root rot pathogens *Heterobasidion annosum* and *H. parviporum*. *Virus Research* 271: 197681.
- Vainio E. J., Chiba S., Ghabrial S. A., Maiss E., Roossinck M., Sabanadzovic S., Suzuki N., Xie J., Nibert M. (2018): ICTV virus taxonomy profile: *Partitiviridae*. *Journal of General Virology* 99(1): 17-18.

- Vainio E. J., Hakanpää J., Dai Y. C., Hansen E., Korhonen K., Hantula, J. (2011): Species of *Heterobasidion* host a diverse pool of partitiviruses with global distribution and interspecies transmission. *Fungal Biology* 115(12): 1234-1243.
- Vainio E. J., Hantula J. (2016): Taxonomy, biogeography and importance of *Heterobasidion* viruses. *Virus Research* 219: 2-10.
- Vainio E. J., Hyder R., Aday G., Hansen E., Piri T., Doğmuş-Lehtijärvi T., Lehtijärvi A., Korhonen K., Hantula J. (2012): Population structure of a novel putative mycovirus infecting the conifer root-rot fungus *Heterobasidion annosum* sensu lato. *Virology* 422(2): 366-376.
- Vainio E. J., Jurvansuu J., Hyder R., Kashif M., Piri T., Tuomivirta T., Poimala A., Xu P., Mäkelä S., Nitisa D., Hantula, J. (2018): Heterobasidion partitivirus 13 mediates severe growth debilitation and major alterations in the gene expression of a fungal forest pathogen. *Journal of Virology* 92(5): e01744-17.
- Vainio E. J., Jurvansuu J., Streng J., Rajamäki M. L., Hantula J., Valkonen J. P. (2015a): Diagnosis and discovery of fungal viruses using deep sequencing of small RNAs. *Journal of General Virology* 96(3): 714-725.
- Vainio E. J., Korhonen K., Tuomivirta T. T., Hantula J. (2010): A novel putative partitivirus of the saprotrophic fungus *Heterobasidion ecrustosum* infects pathogenic species of the *Heterobasidion annosum* complex. *Fungal Biology* 114(11-12): 955-965.
- Vainio E. J., Müller M. M., Korhonen K., Piri T., Hantula J. (2015b): Viruses accumulate in aging infection centers of a fungal forest pathogen. *The ISME Journal* 9(2): 497-507.

6. Sažetak

Rod *Heterobasidion* uključuje neke od najštetnijih patogena u crnogoričnim šumama diljem svijeta te je razvijen niz metoda njihove kontrole. Vrste roda *Heterobasidion* trenutno su kontrolirane preventivnim kemijskim i biološkim tretmanima panjeva njihovih domaćina, a kao nova potencijalna metoda biološke kontrole već uspostavljenih infekcija javila se mogućnost korištenja mikovirusa. Virusi su sposobni prenositi se između vrsta roda *Heterobasidion*, koinficirati domaćine i utjecati na njihovu stopu rasta i ekspresiju gena. Sojevi HetPV13-an1 i HetPV15-pa1 pokazali su obećavajuća svojstva za korištenje u biološkoj kontroli ovih patogena, ali dodatna istraživanja potrebna su kako bi se razjasnio utjecaj već postojećih virusnih infekcija na učinkovitost kontrole.

Ključne riječi: anastomoza, biološka kontrola, mikovirusi, prijenos virusa, koinfekcija

7. Summary

The genus *Heterobasidion* includes some of the most harmful pathogens in coniferous forests around the world and a series of methods of controlling them has been developed. *Heterobasidion* species are currently being controlled by preventive chemical and biological host stump treatments and the possibility of using mycoviruses has emerged as a new potential method of biological control of already established infections. Viruses affecting growth rate and gene expression are capable of transmission between *Heterobasidion* species, and even coinfection of the hosts. Strains HetPV13-an1 and HetPV15-pa1 have shown promising traits for the use in the biological control of these pathogens, but further research is needed to clarify the effect of existing viral infections on the control's efficiency.

Key words: anastomosis, biological control, mycoviruses, virus transmission, coinfection

ŽIVOTOPIS

Filip Božić nakon završene Osnovne škole Jure Kaštelana upisao je XV. gimnaziju u Zagrebu koju je završio 2018. godine. Iste godine upisao je Preddiplomski sveučilišni studij Molekularna biologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.