

Mikovirüsler ve Mikolojideki Önemi

Mycoviruses and Importance in Mycology

Sema Aşkın KEÇELİ¹

¹ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli.

¹ Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kocaeli, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 08.11.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 05.07.2017

ÖZ

İnvaziv kandidiyaz ve aspergilloz gibi fırsatçı mantar enfeksiyonları özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde halen yüksek mortalite oranına sahiptir. Bu fungal enfeksiyonların antifungal ajanlarla tedavisinde başarı oranı genellikle düşüktür. Konağın antifungallere yanıtını artırmak için immünoterapi yöntemleri geliştirilmesine rağmen, invaziv aspergilloz ve diğer fırsatçı mantar enfeksiyonlarının tedavisinde yeni antifungal tedavi ajanlarına gereksinim bulunmaktadır. Mikovirüslerin invaziv fungal enfeksiyonların tedavisinde kullanılması henüz önerilmemektedir. Bununla birlikte, bu derlemede anlatıldığı üzere, mikovirüslerin terapötik ajan olarak kullanılabilmesi konusundaki araştırmalar devam etmektedir. Mikovirüsler seçici olarak fungusları enfekte eden virüslerdir. Serbest virüs partikülleri olarak enfektiviteleri yoktur. Mikovirüslerin çoğunun RNA genomu vardır: "çift zincirli (ds) RNA, dsDNA veya tek zincirli RNA genomu içeren mantarlar" olarak tanımlanmaktadır. Mikovirüsler arasında, birçok bitki patojeni mantarlar olmakla birlikte, insan patojeni mantarlar da yer almaktadır. Bugüne kadar belirlenen patojenik mikovirüslerin çoğunda dsRNA genomu vardır. İnsanlar için patojenik olabilecek dsRNA genomu olan mikovirüsler; *Partitiviridae*, *Totiviridae*, *Chrysoviridae*, *Reoviridae* ve *Hypoviridae* olarak sınıflandırılmıştır. Mikovirüsler genel olarak persistan veya latent enfeksiyona neden olur. Bazı mikovirüsler konak oldukları mantarda görünür bir enfeksiyon belirtisine yol açmazken, bazıları ise çeşitli hipovirülans veya letal etkiye neden olmaktadır. Hipovirülans varlığında, mantarın pigmentasyonunda, miçelyum oluşumunda, aseksüel sporlanmasında, üreme hızında azalma ve fertilitate kaybı gözlenmektedir. Mikovirüsün fungusa transferi intraselüler veya ekstraselüler yolla gerçekleşmektedir. Genetik içeriğin fungusa aktarımı ise transformasyon ve transfeksiyon şeklinde iki yolla olmaktadır. Her iki yolda da hücre duvarı olmayan sferoblasta gereksinim vardır. Mikovirüslerin tedavide kullanılabilmesi için farklı senaryolar bulunmaktadır. Birinci senaryoda seçici mikovirüsün ekstraselüler yolla etkili bir şekilde transferi sağlanır, daha sonra mikovirüsün genetik modifikasyonla hedef fungusa bağlanması hedeflenmektedir. İkinci senaryoda, mikovirüsün gen yerleştirme vektörü olarak görev yapması öngörülmektedir. Bu yöntem, aslında bitkilerin mantar hastalıklarında toksinler aracılığıyla kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca, toksin-kodlayan sitoplazmik dsRNA-mikovirüslerinin toksinlerinden öldürücü antikorlar ve antikor derivesi peptitler elde edilmesi

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Sema Aşkın Keçeli, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 41380 Umutepe Kampüsü, Kocaeli, Türkiye.
Tel (Phone): +90 262 303 7541, E-posta (E-mail): sema.keceli@yahoo.com.tr

yeni bir yaklaşım olabilir. Bu derivatiflerin, *Candida albicans* dahil birçok insan patojeni mantarlara karşı parenteral terapötik ajan olarak kullanılabileceği ileri sürülmektedir. Bu derleme yazıda, mikovirüslerin mikolojideki önemi tartışılmaktadır.

Anahtar sözcükler: Mikovirüsler; fungus; fungal enfeksiyonlar; antifungal tedavi.

ABSTRACT

Opportunistic fungal infections like invasive candidiasis and aspergillosis have high mortality rate particularly in immunosuppressive patients. The rate of therapy success with antifungal agents is usually low. Although immunotherapy methods have been developed to increase the host response against antifungals, there has been a need for new antifungal therapeutic agents in the treatment of invasive aspergillosis and other opportunistic fungal infections. Mycoviruses are the viruses that specifically infect fungi. The use of mycoviruses in the treatment of invasive fungal infections has not been suggested yet. However, as mentioned in this review, the researches about the use of mycoviruses as a therapeutic agent have been still carried on. Mycoviruses have no infectivity as free particules. Many of them have RNA genome. They are classified as: Fungi containing "double stranded (ds) RNA, ds DNA or single stranded RNA". Although most of them are found in plant pathogenic fungi, they are also found in human pathogenic fungi. In most of the mycoviruses identified up to now, dsRNA genome are present. Mycoviruses that can be pathogenic for human and carrying dsRNA genome have been classified as *Partitiviridae*, *Totiviridae*, *Chrysoviridae*, *Reoviridae* and *Hypoviridae*. A part of mycoviruses may not cause any sign of infection in fungal host. The other part of mycoviruses causes hypovirulence or lethal effect. When hypovirulence occurred in fungi, the observed effects are the decrease in pigmentation, mycelium formation, asexual sporulation, growing rate and the loss of fertility. The transfer of mycovirus to fungi may occur by intracellular or extracellular way. The transfer of genetic content to fungi occurs in two way: transformation and transfection. In both ways, there is a need for a spheroblast that has no cell wall. There are various scenarios about mycoviruses for their use in the treatment. In the first scenario, the transfer of selective mycovirus is ensured by extracellular way, and then the binding of mycovirus to target fungus by genetic modifications is aimed. The second scenario is about the use of mycovirus as a vector for genetic transformation. In fact, this method is applied by using toxins in fungal diseases of plants. In addition, the production of lethal antibodies or peptides derived from antibodies obtained from toxin-coding cytoplasmic dsRNA mycovirus toxins may be a new therapeutic approach. It has been claimed that these derivatives may be used as parenteral therapeutic agents against human pathogenic fungi including *Candida albicans*. In this review article, the importance of mycoviruses in mycology has been discussed.

Keywords: Mycoviruses; fungi; fungal infections; antifungal therapy.

GİRİŞ

İnvaziv kandidiyaz ve aspergilloz gibi fırsatçı mantar enfeksiyonları özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde halen yüksek mortaliteye sahiptir. Bu fungal enfeksiyonların antifungal ajanlarla tedavisinde başarı oranı genellikle düşüktür. Konağın antifungallere yanıtını artırmak için immünoterapi yöntemleri geliştirilmesine rağmen, invaziv aspergilloz ve diğer fırsatçı mantar enfeksiyonlarının tedavisinde yeni antifungal ilaçlara gereksinim bulunmaktadır.

Mikovirüsler seçici olarak mantarları enfekte eden virüslerdir. Serbest virüs partikülleri olarak enfektiviteleri yoktur. Mikovirüslerin çoğunun RNA genomu vardır: "çift zincirli (ds) RNA veya tek zincirli RNA (ss) RNA genomu içeren mantarlar" olarak tanımlanmaktadır. Mi-

kovirüsler, makrofunguslar dahil daha çok bitki funguslarında olmak üzere pek çok fungus-ta enfeksiyon yapmaktadır. 1960'lı yıllardan beri ekonomik açıdan önemli şapkali mantar, maya ve tarımda verim kaybına neden olan diğer bitki fungal patojenlerinin enfeksiyonuna bu virüslerin neden olduğu saptanmıştır¹. İnsana patojen funguslardaki mikovirüslere dair çok az veri olmasına rağmen, insanlara patojen birçok fungal cinste mikovirüslerin varlığına dair kanıtlar bulunmaktadır². Mikovirüslerin invaziv fungal enfeksiyonların tedavisinde kullanılması henüz önerilmemektedir ama bu derlemede anlatıldığı üzere mikovirüslerin tedavide kullanılabilmesi konusundaki araştırmalar devam etmektedir. Bu derleme yazıda, mikovirüslerin mikolojideki önemi tartışılmaktadır.

MİKOVİRÜS BİYOLOJİSİ ve FUNGAL KONAKLA İLİŞKİSİ

Mikovirüsler içerisinde, uluslararası virüs taksonomisi komitesi "International Committee for Taxonomy of Viruses (ICTV)" tarafından ortaya konulmuş 10 viral aile ve buna dahil olan 90'dan fazla mikovirüs olduğu belirlenmiştir³. Mikovirüslerin bir çoğu bitki patojeni mantarlarda olmakla birlikte, bu grupta insan patojenik mantarları da yer almaktadır. Bu gruplar içerisinde çift zincirli RNA (dsRNA), tek zincirli RNA [ss(+)RNA-RT], çift-zincirli DNA (dsDNA) içeren virüsler bulunmaktadır⁴. Bununla birlikte, bugüne kadar belirlenen patojenik mantar mikovirüslerinin çoğunda dsRNA genomu vardır. İnsanlar için patojenik olabilen ve dsRNA genomu olan mikovirüslerin beş ailesi: *Partitiviridae*, *Totiviridae*, *Chrysoviridae*, *Reoviridae* ve *Hypoviridae* olarak sınıflandırılmıştır³. *Hypoviridae* dışında bütün grupların kapsitleri bulunmasına rağmen, zarf yapıları bulunmamaktadır (Tablo I).

Hücre İçi Virüs Transferi

Mikovirüslerin hücreye geçişi, sadece fungus sporları ortama salındığında gerçekleşir. Bunun için virüs, mantar sporu içinde olmalıdır. Virüs transferi vertikal veya horizontal yolla olabilir. Vertikal yolla eşeyli veya eşeysiz spor oluşumuyla geçiş yapılabilir fakat en fazla eşeysiz sporlarla geçiş olduğu bildirilmiştir. Horizontal yol geçişinde, hücre bölünmesi sırasında sitoplazmik değişim de olabilir. Virüs transferi olabilmesi için genetik olarak uyumlu fungal cins olması zorunlu değildir^{5,6}.

Fungal hifler arasında mikovirüs transferi, alıcı ve verici hifin teması arasındaki uyumuna bağlıdır. Genetik uyumsuzluk hifal füzyon hücresinin (heterokaryon) ve çevre hücrelerinin ölümüyle sonuçlanır ve mikovirüs transferi gerçekleşemez. İki hif genetik olarak birbiriyle uyumsuz ise birbirlerini "nonself" yani kendinden olmayan olarak algılar. Bu da programlı hücre ölümünü (PHÖ) başlatır. *Aspergillus*'da, PHÖ reaksiyonlarının aktivasyonunda rol alan genler belirlenmiştir. Bu genlerin belirlenmesiyle, invaziv aspergilloz ile mücadelede yeni bir umut doğmuştur⁷. Bu olay bakteriyofajların, *Enterococcus faecium*'da olduğu gibi çoğul dirençli bakterilerin neden olduğu bakteremiye tedavi etmesine benzetilebilir⁸. Bakteriyofaj lizinlerinin birçok enfeksiyöz bakteriyi öldürdüğünü kanıtlayan deneysel çalışmalar bulunmaktadır⁹. Çocuklarda görülen çoğul dirençli bakteri enfeksiyonlarında da enfeksiyon tedavisinde bakteriyofajlar başarılı bulunmuştur¹⁰.

Tablo 1. Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi (ICTV) Tarafından Belirlenen, İnsanlar İçin Patojenik Olan Mikovirüsler

Genom ve aile	Virüs	Genom özellikleri	Türler
ss(+)RNA <i>Narnaviridae</i>	Narnavirüs	Segmentsiz, nükleoprotein kompleks, kapsitsiz	<i>Saccharomyces</i> 20S RNA narnavirüs <i>Saccharomyces</i> 23S RNA narnavirüs
ss(+)RNA-RT- <i>Pseudoviridae</i>	Hemivirüs	50 nm, segmentsiz, zarfsız	<i>Candida albicans</i> Tca2 virüs <i>Candida albicans</i> Tca5 virüs <i>Saccharomyces paradoxus</i> Ty5 virüs
	Pseudovirüs	30-40 nm, segmentsiz, zarfsız	<i>Saccharomyces cereviceae</i> Ty1 virüs <i>Saccharomyces cereviceae</i> Ty2 virüs <i>Saccharomyces cereviceae</i> Ty4 virüs
<i>Metaviridae</i>	Metavirüs	50 nm, segmentsiz, zarfsız	<i>Cladosporium fulvum</i> T-1 virüs <i>Fusarium oxysporum</i> skippy virüs <i>Saccharomyces cereviceae</i> Ty3 virüs
dsRNA <i>Chrysoviridae</i>	Chrysovirüs	30-35 nm, segmente, zarfsız, çoğul komponentli	<i>Penicillium brevicopactus</i> virüs <i>Penicillium chrysogenum</i> virüs <i>Penicillium cyaneo-fulvum</i> virüs
<i>Hypoviridae</i>	Hypovirus	-	-
<i>Partitiviridae</i>	Partitivirus	30-40 nm, segmente, zarfsız, çoğul komponentli	<i>Aspergillus ochreous</i> virüs <i>Fusarium poae</i> virüs <i>Fusarium solani</i> virüs 1 <i>Penicillium stolineferum</i> virüs S <i>Penicillium stolineferum</i> virüs F
<i>Reoviridae</i>	Mycoreovirus	-	-
<i>Totoviridae</i>	Totivirus	4-43 nm, segmentsiz, zarfsız	<i>Saccharomyces cereviceae</i> LA(L1) <i>Saccharomyces cereviceae</i> L-BC(BA) <i>Aspergillus foetidus</i> virüs S <i>Aspergillus niger</i> virüs S

ICTVdB-Universal virüs veritabanı, versiyon 4, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/ICTVdB/>. ve Fauquet ve arkadaşları⁴ alınarak düzenlenmiştir.

Mikovirüslerin bir fungal türden diğerine doğrudan transferi protoplast ile, yani hücre duvarı olmayan funguslar ile indüklenmiş füzyon şeklinde de olabilir. Protoplast füzyonunu kullanarak, mikovirüslerin heterokaryon uyumu olmayan fungal suşlar arasında bile geçişi mümkün olabilir⁵.

Hücre Dışı Mikovirüs Transferi

Fungal hücre duvarının kalın oluşu, virüsün hücre membranından geçişini önler. Bu açıdan mikovirüslerin hücre dışı yolla enfeksiyonu başlatamadığı görüşü yanlış olarak değerlendirilmektedir. Mikovirüs partikülleri sağlıklı mantarları enfekte edebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, mikovirüs SsHADV-1, *Sclerotinia sclerotiorum*'un, sağlıklı suşlarına verilmiş ve virüsün başarılı bir şekilde mantarı enfekte edip morfolojisini değiştirdiği gözlenmiştir¹¹.

Hücre dışı yolla enfeksiyon, ancak özel deney koşullarında protoplastları kullanarak yapılabilir. Bu yöntemle, dsRNA içeren *Partitiviridae*, *Totiviridae* ve *Reoviridae* ailesinin saflaştırılmış virüs partiküllerinin fungal protoplastları başarıyla enfekte ettiği gösterilmiştir¹².

Genetik İçeriğin Deneysel Aktarımı

Genetik içeriğin mantara aktarımı iki şekilde olmaktadır: transformasyon ve transfeksiyon¹³. Her iki yolda da hücre duvarı olmayan sferoblasta ihtiyaç vardır. Transformasyonda ilk basamak olarak mikovirüs RNA'sının DNA kopyası (cDNA) oluşturulur. Bu cDNA ve seçici bir belirteç plazmide transforme edilir. Daha sonra plazmit sferoblasta aktararak mantarın kromozomuna entegre olması sağlanır. Bu şekilde yeni hücre kendi RNA'sını oluşturmaya devam eder.

Transfeksiyonda ise mantar sitoplazmasında replike olan hücre içermeyen transkripsiyon ile virüs RNA'sı içeren sentetik transkriptler oluşturulur. Bu dsRNA içeren sentetik transkript, mikovirüsün kodlanan dsRNA'sıdır. Bu RNA elektroporasyon ile sferoblasta aktarılır. Transfekte virüs fungal sferoblasta verildiğinde enfeksiyonu başlatabilir. Sonuç olarak, viral RNA'dan cDNA elde edilmesiyle mutant ve şimerik hipovirüsler oluşturulabilir ve bu virüslerin terapötik amaçlı kullanılabileceği düşünülmektedir¹⁴.

MİKOVİRÜS ENFEKSİYONU BELİRTİLERİ

Mikovirüsler, genel olarak persistan veya latent enfeksiyona neden olurlar. Bazı mikovirüsler konak mantarda görünür bir enfeksiyon belirtisine yol açmayabilir. Bazıları ise çeşitli hipovirülans veya öldürücü etki gibi fenotipik olaylara neden olur. Hipovirülans gerçekleştiğinde mantarda pigmentasyonda azalma, miçelyum oluşumunda azalma, aseksüel sporlanmanın azalması, fertilite kaybı ve üreme hızının azalması gözlenen etkilerdir. Hipovirülans ile ilişkili mikovirüslerde ssRNA veya başlıca dsRNA genomu bulunmaktadır. Öldürücü mekanizma ise Totivirüs ilişkili uydu dsRNA proteinleri tarafından indüklenmektedir.

MİKOVİRÜS İZOLASYONU ve SAKLANMASI

Mantarlar başarılı bir şekilde transfekte edildikten sonra, pasajlardan sonra da enfeksiyon paternlerinin oldukça stabil olduğu gözlenmiştir¹⁵. *Aspergillus* virüsleri aseksüel nesillere oldukça verimli aktarılmıştır. Birçok virüs çok az oranda izole edilebilmektedir. Her 2 L mantardan 3-6 µg reovirüs elde edilebilmiştir. Bununla birlikte, stabil ve uzun stoklamadan sonra bile enfektivite korunmaktadır¹⁶. *Saccharomyces cerevisiae* Totivirüs preparasyonları üç hafta buzdolabında bekletildiğinde enfektivitelerini kaybetmişlerdir¹⁷.

MİKOVİRÜSLER ve ENFEKTİVİTE

Toksin-kodlayan sitoplazmik dsRNA-mikovirüsleri *S.cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum* ve *Zygosaccharomyces bailii*'da saptanmıştır. *Saccharomyces* grubundan olmayan mayaların öldürücü toksinleri ve özellikle virüsle enfekte *H.uvarum* ve *Z.bailii* insanda patojenik türler olan *Candida albicans*, *Sporothrix schenckii* ve *Fusarium spp.*'ye karşı geniş spekt-

rumlu antimikotik potansiyel göstermişlerdir. Zygocinin, mayaları öldürmede klotrimazol veya mikonazolden daha fazla antifungal aktiviteye sahip olduğu¹⁸ ve Hansenula viral toksininin, maya hücre duvarı komponentlerine bağlanarak, 1,3-D-glukan sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir¹⁹.

Deneyssel dermatomikoz çalışmalarında topikal toksin uygulamasıyla klinik iyileşme ve mikolojik testlerde negatifleşme saptanmıştır. Bu toksinler sitotoksik aktivitelerini sadece 20°C ve 30°C'de dar pH aralığında gösterirler²⁰. Bu nedenle bu toksinlerin intravenöz veya oral kullanım için uygun olamayacağı belirlenmiştir. Bununla birlikte, bu toksinlerden öldürücü antikorlar ve antikor türevi peptitlerin elde edilmesi yeni bir yaklaşım olabilir. Bu türevler, *C.albicans* dahil birçok insan patojen mantarlarına terapötik olabilir ve parenteral kullanılabilir.

FUNGAL ENFEKSİYON TEDAVİSİNDE YENİ BİR UMUT

S.cerevisiae Ty1 transpozonu, *Aspergillus* peptitlerinin hücre yüzeyinde eksprese edilmelerinde başarıyla kullanılmıştır. Bu bifonksiyonel virüs-benzeri partiküller genetik mühendisliği ile *Aspergillus*'un dominant T ve B hücre epitoplarını içeren peptitler içerecek şekilde üretilir²¹. Bu peptitler, aspergilloz tedavisinde kullanılmak üzere yeni bir umut oluşturmaktadır.

Mikovirüslerin tedavide kullanılabilmesi için farklı senaryolar bulunmaktadır. Birinci senaryoda selektif mikovirüsün ekstraselüler yolla etkili bir şekilde transferi sağlanır, daha sonra mikovirüsün genetik modifikasyonla hedef mantara bağlanması hedeflenmektedir. Ancak, böyle bir mikovirüs yoktur. İnsanlarda enfeksiyon yapmayan Totivirüs ailesinden enfeksiyöz miyonekroz virüsü (IMNV)'nün karideslerde oluşan mantarların yüzeyine bağlandığı gösterilmiştir. IMNV'nin yüzey çıkıntılarının genetik modifikasyonu ile hücre dışı yolla iletilen ve seçici olarak mantar enfeksiyonunu önleyen şimerik virüs oluşturma çalışmaları yeni bir yaklaşımdır.

İkinci senaryoda, mikovirüsün gen yerleştirme vektörü olarak yaptığı görevden faydalanılmaktadır. Bu yöntem, aslında bitkilerde mantar hastalıklarında toksinler aracılığıyla kullanılan bir yöntemdir. Geniş spektrumlu maya öldürücü toksini kodlayan gen, patates X virüsüne aktarılmış ve bitki mantar patojenlerini öldüren peptitlere dönüşmüştür ve *C.albicans*'a karşı da aktivite göstermiştir²².

Mikovirüste Olması Gereken Özellikler

Mikovirüsün, araştırmalarda veya tedavide kullanılabilmesi için insanda enfeksiyon yapmaması, diğer insana patojenik virüsler ile rekombine olmaması, insan genomuna entegre olmaması, ciddi yan etkiler göstermemesi ve nötralize antikor üretimini indüklememesi gerekmektedir².

Mikovirüsün transfer şekli hücre dışı olmalı, insana patojenik mantarlarda replike olabilmeli, fungal hedefin %100'ünü parçalayabilmeli, antifungal spektrumu geniş olmalı, çok miktarda, yüksek saflıkta elde edilebilmeli ve düşük maliyetle stabil olması sağlanmalıdır. Ayrıca, topikal ve sistemik uygulanımı olmalı ve genetik manipülasyonu kolaylaştıran

bir genomu olmalıdır. Truva atı misali gerektiğinde yabancı insersiyonları eksprese edebilmeli ve bu insersiyonların ekspresyonları değiştirilebilir düzeyde olmalıdır. Yabancı gen insersiyonları, normal virüs “assembly” yani toplanma aşamasını önlememeli ve virüs hareketiyle etkileşimi önlemelidir².

Fungal Hücre Duvarı ile Mikovirüs İlişkisi

Öncelikle, antifungal tedavi ile fungal duvarda delik açılarak mikovirüsün hücre membranı yüzeyine aplikasyonunun kolaylaştırılması gerekir. Diğer bir strateji de taşıma sistemleridir. Lipozomlar ilginç bir taşıma sistemidir ve buna örnek olarak amfoterisin B lipozomları (100 nm) verilebilir ki bunlar dsRNA virüslerinden 2.5 kat daha büyüktür. Bu taşıma sisteminin veya mikovirüsün kendisinin, gluknaz veya kitinaz aktivitesini eksprese eden enzimler olabileceği düşünülmektedir.

MİKOVİRÜSLER ve *ASPERGİLLUS*

Mikovirüslerin saptandığı *Aspergillus* türleri Tablo II’de gösterilmiştir. *A.fumigatus* enfeksiyonunu kontrol amacıyla dsRNA mikovirüsleri kullanabilmek için mikovirüslerin tüm *A.fumigatus* izolatlarında enfeksiyon yapıp yapmadığını veya sadece bazı genetik özelliği olan belli izolatlarda enfeksiyon yapıp yapmadığını bilmek gerekir. Mikovirüs enfeksiyonu yüzey proteinlerine ve üreme şekline (seksüel veya aseksüel) bağlı değildir²³.

Bhatti ve arkadaşlarının²⁴ çalışmasında 366 izolatın sadece %6.6’sında dsRNA segmentleri saptanmıştır. *A.fumigatus*’u enfekte eden Chrysovirus (AfuCV), fenotipik değişime ve miçelyal üremede azalmaya neden olmuştur, fakat antifungal duyarlılığın etkilenmediği gözlenmiştir. AfuCV ile enfekte olan ve olmayan *A.fumigatus* ile enfekte edilen farelerin akciğer dokularından yapılan analize göre fungal enfeksiyon patojenitesinde anlamlı bir fark saptanmamıştır²⁵.

Tablo II. *Aspergillus* Türlerini Enfekte Eden Mikovirüsler ve Bu Konuda Yapılan Çalışmalar

<i>Aspergillus</i> türleri	Mikovirüsler	Kaynaklar
<i>A.flavus</i>	Chrysovirus	(Gussack et al, 1977) ²⁶
<i>A.foetidus</i>	Totivirus	(Border et al, 1972) ²⁷
<i>A.fumigatus</i>	Chrysovirus ve Partitivirus	(Jamal et al, 2010) ²⁸
<i>A.niger</i>	Totivirus ve Chrysovirus	(Hammond et al, 2008) ²⁹
<i>A.ochraceus</i>	Partitivirus	(Liu et al, 2008) ³⁰

SONUÇ

Mikovirüsler, doğal yaşam döngüsünde ekstraselüler yolla geçiş göstermezler. Konakta fenotipik değişim yapmadan persistan enfeksiyona neden olurlar. Mikovirüslerin genetik mühendislik ile modifikasyonları mümkündür ve invaziv fungal enfeksiyonlarda alternatif terapötik biyolojik ajan olarak kullanılması başlangıç aşamasındadır. Mikovirüslerle ilgili çalışmalar arttıkça, tedavide kullanılabilmeleri zaman içinde aydınlatılacaktır.

KAYNAKLAR

1. Hollings M. Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom. *Nature* 2009; 196: 962-5.
2. van de Sande WW, Lo-Ten-Foe JR, van Belkum A, Netea MG, Kullberg BJ, Vonk AG. Mycoviruses: future therapeutic agents of invasive fungal infections in humans? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29(7): 755-63.
3. Pearson MN, Beever RE, Boine B, Arthur K. Mycoviruses of filamentous fungi and their relevance to plant pathology. *Mol Plant Pathol* 2009; 10(1): 115-28.
4. Fauquet CM, Fargette D. International Committee on Taxonomy of Viruses and the 3,142 unassigned species. *Virology* 2005; 2: 64.
5. van Diepeningen AD, Debets AJ, Hoekstra RF. Intra- and interspecies virus transfer in *Aspergilli* via protoplast fusion. *Fungal Genet Biol* 1998; 25(3): 171-80.
6. Liu YC, Linder-Basso D, Hillman BI, Kaneko S, Milgroom MG. Evidence for interspecies transmission of viruses in natural populations of filamentous fungi in the genus *Cryphonectria*. *Mol Ecol* 2003; 12(6): 1619-28.
7. Fedorova ND, Badger JH, Robson GD, Wortman JR, Nierman WC. Comparative analysis of programmed cell death pathways in filamentous fungi. *BMC Genomics* 2005; 6: 177.
8. Biswas B, Adhya S, Washart P, et al. Bacteriophage therapy rescues mice bacteremic from a clinical isolate of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Infect Immun* 2002; 70(1): 204-10.
9. O'Flaherty S, Ross RP, Coffey A. Bacteriophage and their lysins for elimination of infectious bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2009; 33(4): 801-19.
10. Bruttin A, Brussow H. Human volunteers receiving *Escherichia coli* phage T4 orally: a safety test of phage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(7): 2874-8.
11. Jiang D, Fu Y, Guoqing L, Ghabrial SA. Viruses of the plant pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*. *Adv Virus Res* 2013; 86: 215-48.
12. Yu X, Li B, Fu Y, et al. Extracellular transmission of a DNA mycovirus and its use as a natural fungicide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(4): 1452-7.
13. Dawe AL, Nuss DL. Hypoviruses and chestnut blight: exploiting viruses to understand and modulate fungal pathogenesis. *Rev Genet* 2001; 35: 1-29.
14. Chen B, Craven MG, Choi GH, Nuss DL. cDNA-derived hypovirus RNA in transformed chestnut blight fungus is spliced and trimmed of vector nucleotides. *Virology* 1994; 202: 441-8.
15. Sasaki A, Kanematsu S, Onoue M, Oyama Y, Yoshida K. Infection of *Rosellinia necatrix* with purified viral particles of a member of Partitiviridae (RnPV1-W8). *Arch Virol* 2006; 151(4): 697-707.
16. Hillman BI, Supyani S, Kondo H, Suzuki N. A. Reovirus of the fungus *Cryphonectria parasitica* that is infectious as particles and related to the coltivirus genus of animal pathogens. *J Virol* 2004; 78(2): 892-8.
17. el-Sherbeini M, Bostian KA. Viruses in fungi: infection of yeast with the K1 and K2 killer viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84(12): 4293-7.
18. Weiler F, Schmitt MJ. Zygocin, a secreted antifungal toxin of the yeast *Zygosaccharomyces bailii*, and its effect on sensitive fungal cells. *FEMS Yeast Res* 2003; 3(1): 69-76.

19. Kimura T, Kitamoto N, Kito Y, et al. A novel yeast gene, RHK1, is involved in the synthesis of the cell wall receptor for the HM-1 killer toxin that inhibits beta-1,3-glucan synthesis. *Mol Gen Genet* 1997; 254(2): 139-47.
20. Polonelli L, Lorenzini R, De Bernardis F, Morace G. Potential therapeutic effect of yeast killer toxin. *Mycopathologia* 1986; 96(2): 103-7.
21. Marchenko AN, Kozlov DG, Svirshchevskaya EV, Viskova NY, Benevolensky SV. The p1 protein of the yeast transposon Ty1 can be used for the construction of bi-functional virus-like particles. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2003; 5: 97-104.
22. Donini M, Lico C, Baschieri S, et al. Production of an engineered killer peptide in *Nicotiana benthamiana* by using a Potato virus X expression system. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71(10): 6360-67.
23. Refos JM, Vonk AG, Eadie K, et al. Double-stranded RNA mycovirus infection of *Aspergillus fumigatus* is not dependent on the genetic make-up of the host. *PLoS One* 2013; 8(10): e77381.
24. Bhatti MF, Jamal A, Bignell EM, Petrou MA, Coutts RH. Incidence of dsRNA mycoviruses in a collection of *Aspergillus fumigatus* isolates. *Mycopathologia* 2012; 174(4): 323-6.
25. Bhatti MF, Jamal A, Petrou MA, Cairns TC, Bignell EM, Coutts RH. The effects of dsRNA mycoviruses on growth and murine virulence of *Aspergillus fumigatus*. *Fungal Genet Biol* 2011; 48(11): 1071-5.
26. Gussack G, Bennett JW, Cavalier S, Yatsu L. Evidence for the parasexual cycle in a strain of *Aspergillus flavus* containing virus-like particles. *Mycopathologia* 1977; 61(3): 159-65.
27. Border DJ, Buck KW, Chain EB, Kempson-Jones GF, Lhoas P, Ratti G. Viruses of *Penicillium* and *Aspergillus* species. *Biochem J* 1972; 127(2): 4P-6P.
28. Jamal A, Bignell EM, Coutts RH. Complete nucleotide sequences of four dsRNAs associated with a new chrysovirus infecting *Aspergillus fumigatus*. *Virus Res* 2010; 153(1): 64-70.
29. Hammond TM, Andrews MD, Roossinck MJ, Keller NP. *Aspergillus* mycoviruses are targets and suppressors of RNA silencing. *Eukaryot Cell* 2008; 7(2): 350-7.
30. Liu W, Duns G, Chen J. Genomic characterization of a novel partitivirus infecting *Aspergillus ochraceus*. *Virus Genes* 2008; 37(3): 322-7.