

PAPER DETAILS

TITLE: Dogu Akdeniz Bölgesi'nde Karpuz Yetistirilen Alanlarda Karpuz Mozayik Virüsü (WMV-2)'nın Biyolojik, Serolojik ve Moleküler Olarak Belirlenmesi

AUTHORS: Muharrem Arap KAMBEROGLU,Mehmet Aydın KEÇE

PAGES: 156-164

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/226334>

Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Karpuz Yetiştirilen Alanlarda Karpuz Mozayik Virüsü (WMV-2)'nün Biyolojik, Serolojik ve Moleküler Olarak Belirlenmesi*

Mehmet Aydın KEÇE

Muharrem Arap KAMBEROĞLU*

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 01330 Sarıçam, Adana, Türkiye

*Sorumlu yazar: Email: makamber@cu.edu.tr

Geliş Tarihi (Received): 04.03.2015

Kabul Tarihi (Accepted): 29.08.2016

Çalışma, Adana, Mersin ve Osmaniye illerinde karpuz yetiştirilen alanlarda WMV-2'nin serolojik, biyolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak saptanması ve tanımlanması amacı ile 2012 yılı ilkbahar ve yaz aylarında yürütülmüştür. Araziden toplanan ve virüslü olduğundan şüphelenilen 182 bitki örneği öncelikle ELISA yöntemi ile testlenmiş ve toplanan örneklerde WMV-2 enfeksiyon oranı % 46.7 olarak hesaplanmıştır. Seçilen WMV-2 izolatları mekanik inokulasyon ve RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır. Mekanik inokulasyon yöntemi ile WMV-2 bulaştırılan kabak (*Cucurbita pepo* L.), kavun (*Cucumis melo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve karpuz (*Citrillus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) bitkilerinin yapraklarında mozayik, deformasyon, kabarcıklaşma ve damar bantlaşması, akkazyacı (*C. quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste and Reynier) ve hanım düğmesi (*G. globosa* L.) bitkilerinin yapraklarında ise, klorotik lokal lezyonlar gözlenmiştir. Tütün (*N. tabacum* L. *Nicotiana benthamiana* L. *N. glutinosa* L. ve *N. rustica* L.) bitkilerinin yapraklarında ise, herhangi bir semptom ortaya çıkmamıştır. Sonuçlar, ELISA testleri ile doğrulanmıştır. WMV-2 ile enfekteli olduğu saptanan bitkilerden elde edilen total RNA'lar RT-PCR çalışmalarında kullanılmış ve 408 bp büyüklüğe sahip band % 1'lik agaroz jelde elektroforez yöntemi ile gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: WMV-2, RT-PCR, ELISA, karpuz, survey, mekanik inokulasyon

Biological, Serological and Molecular Detection of Watermelon Mosaic Virus (WMV-2) in Watermelon Growing Fields in Eastern Mediterranean Region

This study was carried out with the aim of biological, serological and molecular detection and identification of WMV-2 in watermelon growing fields in Adana, Mersin and Osmaniye provinces in the spring and summer months of 2012. The presence of WMV infection in collected 182 samples was firstly investigated by ELISA and infection ratio was determined as 46.7%. Selected WMV-2 isolates were used in mechanical inoculation and RT-PCR studies. In mechanical inoculation studies, squash (*Cucurbita pepo* L.), melon (*Cucumis melo* L.), cucumber (*Cucumis sativus* L.) and watermelon (*Citrillus lanatus* (Thunb.) Matsum.&Nakai) produced mosaic, mottle, deformation and vein banding while *C. quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste and Reynier and *G. globosa* L. showed chlorotic local lesions of leaves. WMV-2 did not induce any symptoms in tobacco species (*N. tabacum* L., *Nicotiana benthamiana* L., *N. glutinosa* L. and *N. rustica* L.). The results were confirmed by ELISA. Total RNAs were used in RT-PCR and respected size of DNA band (408 bp) was observed by 1% agarose gel electrophoresis.

Key Words: WMV-2, RT-PCR, ELISA, watermelon, survey, mechanical inoculation

* Bu araştırma birinci yazarın 'Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Karpuz Yetiştirilen Bazı Alanlarda Karpuz Mozayik Virüs (Watermelon Mosaic Virus-2)'nün Biyolojik, Serolojik ve Moleküler Olarak Belirlenmesi' isimli yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Giriş

Sebzeler, içerdikleri vitamin ve mineral maddelerden dolayı insan sağlığı ve beslenmesinde çok önemli bir yere sahiptirler. Ekolojik koşulların uygun olması nedeni ile Adana, Mersin ve Osmaniye illeri ve çevresinde kabakgillerin (hıyar, kabak, karpuz ve kavun) üretimi yoğun olarak yapılmaktadır. 2011 yılı verilerine göre, Türkiye’de toplam kabakgil üretimi 2.087.117 ton olarak gerçekleşmiş, bunun 947.550 tonu Adana, Mersin ve Osmaniye illeri ve çevresinden elde edilmiştir. Türkiye karpuz üretiminin (722.447 ton) ise, yaklaşık % 90’ı (647.731 ton) yine bu illerde üretilmiştir. Adana ili ve çevresinde, karpuz üretimi 521.129 ton ile dikkati çekerken, İçel ili ve çevresinde, 153.725 ton ile hıyar ilk sırayı almış, bunu 123.060 ton ile karpuz üretimi takip etmiştir. Osmaniye ilinde ise, karpuz üretimi 3.542 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonymous, 2011).

Virüs hastalıkları, kabakgil yetiştiriciliğini tehdit eden en önemli problemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu etmenler bitkinin normal gelişme düzenini bozmakta, bitkilerde anormal meyve oluşumuna neden olup pazarlanabilir ürün miktarını düşürerek veya meyve oluşumunu tamamen engelleyerek ekonomik anlamda büyük kayıplar meydana getirmektedir. Bunlara ilaveten, virüsler diğer hastalık etmenlerinden farklı olarak kimyasal mücadelesi olmamaları nedeni ile de ayrı bir öneme sahiptirler.

Kabakgillerde zarara neden olan 32 adet virüs ve virüs benzeri hastalık etmeni rapor edilmiştir. Bunlar içerisinde, Kabak sarı mozayik virüsü (Zucchini yellow mosaic virus, ZYMV), Hıyar mozayik virüsü (Cucumber mosaic virus, CMV), Kabak mozayik virüsü (Squash mosaic virus, SqMV), Karpuz mozayik virüsü 2 (Watermelon mosaic virus 2, WMV-2) ve Papaya halkalı leke virüsü (Papaya ringspot virus, PRSV) kabakgillerde zarara neden olan önemli virüs hastalıklarından bazılarıdır (Hollings ve Brunt, 1981; Lisa ve Lecoq, 1984; Purcifull ve ark., 1984).

Potyvirus üyesi olan WMV-2, tüm dünyada, özellikle de ılıman iklimlerde ve Akdeniz Bölgesi’nde oldukça yaygındır (Sharifi ve ark., 2008). WMV-2, ilk olarak 1965 yılında Webb tarafından karpuz bitkisinde saptanmıştır ve daha sonra dünyanın karpuz ve kabakgil yetiştirilen birçok ülkesinde rapor edilmiştir (Nameth ve ark., 1983; Davis, 1986). Türkiye’de ise, ilk olarak Nogay

ve Yorgancı tarafından 1984 yılında tespit edilmiş olan bu virüs hastalığı, daha sonra kabakgiller üzerinde yapılan sürvey çalışmalarında diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Erdiller ve Ertunç, 1987; Yılmaz ve ark., 1994; Çitir ve ark., 1998; Şevik ve Arlı-Sökmen, 2003; Kaya ve Erkan, 2011).

WMV-2, esnek çubuk formunda ipliksi partiküllere sahip olan, 730-765 nm uzunluğunda yaklaşık 10.035 nükleotid içeren tek iplikçikli RNA yapısındadır. 49 kDa büyüklüğünde kılıf protein içermektedir. *Aphis citricola*, *A. craccivora*, *A. gossypii*, *Aulacorthum solani*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae* ve *Toxoptera citricidus* başta olmak üzere, Aphididae takımından 19 cinse ait en az 38 yaprak biti türü ile non-persistent bir davranışla çok etkin ve kolay bir şekilde taşınarak yayılabilmektedir (Karl ve Schmelzer, 1971; Adlerz, 1974; Greber, 1978; Yamamoto ve Ishii, 1980; Yamamoto ve ark., 1982).

Bu virüs hastalığı ile infekteli kabakgil bitkilerinde bodurluk, kloroz, deformasyon, mozayik, genç sürgünlerde iplikleşmeye ve çiçek azalmasına neden olmakta ve buna bağlı olarak da ürün kayıplarına yol açmaktadır (Thomas, 1971; Greber, 1978; Demski ve Sumner, 1979; Dukić ve ark., 2002). Ayrıca WMV-2, fasulye başta olmak üzere, Malvaceae, Leguminosae ve Chenopodiaceae gibi çeşitli familyalara dahil yabancı otlarda ve süs bitkilerinde de hastalık meydana getirebilmektedir (Grogan ve ark., 1959; Nelson ve Tuttle, 1969; Adlerz, 1969).

Bu çalışma, 2012 yılı ilkbahar ve yaz aylarında, Adana, İçel ve Osmaniye illerinde karpuz yetiştirilen alanlarda viral belirtiler gösteren bitkilerden alınan örneklerde, serolojik, biyolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak WMV-2’nin saptanması ve tanılanması amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Sürvey çalışmaları, Adana (Abdioğlu, Mıdık, Seyhan, Ceyhan, Yılkale ve Karataş), İçel (Tarsus) ve Osmaniye (Kadirli) illerinde karpuz yetiştiriciliği yapılan alanlarda yürütülmüştür (Şekil 1). Sürvey çalışmaları sonunda, WMV-2 ile infekteli olduğundan şüphelenilen gelişme geriliği, sararma, deformasyon, mozayik ve iplikleşme gibi belirtileri gösteren karpuz bitkilerinden alınan

genç yaprak ve sürgün dokuları çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.



Şekil 1. Adana, Mersin ve Osmaniye illerinde survey çalışmasının yürütüldüğü alanları gösteren harita (Sol köşede yer alan harita Adana, Mersin ve Osmaniye illerinin Türkiye’deki konumunu göstermektedir).

Adana İli: 1. Abdioğlu, 2. Yüreğir, 3. Seyhan, 4. Ceyhan, 5. Yılankale, 6. Karataş, Mersin İli: 7. Tarsus, Osmaniye İli; 8. Kadirli

Figure 1. Map of Adana, Mersin and Osmaniye provinces showing districts in which surveys were conducted (Map in the corner indicates the location of Adana, Mersin and Osmaniye provinces in Turkey). Adana province: 1. Abdioğlu, 2. Yüreğir, 3. Seyhan, 4. Ceyhan, 5. Yılankale, 6. Karataş, Mersin province: 7. Tarsus, Osmaniye province; 8. Kadirli

Arazide WMV-2 ile infekteli olduğundan şüphelenilen karpuz bitkileri ile mekanik inokulasyon çalışmaları sonucunda symptom gözlenen ve gözlenmeyen indikatör bitkilerden alınan bitki dokuları, serolojik çalışmalarda materyal olarak kullanılmıştır. WMV-2’ye spesifik ELISA kiti, BİOREBA firmasından temin edilmiştir.

Araziden toplanan ve ELISA testleri sonucunda, WMV-2 ile infekteli olduğu saptanan karpuz bitkilerinden alınan genç bitki dokuları, mekanik inokulasyon çalışmalarında materyal olarak kullanılmıştır. Virüsün biyolojik tanısı amacıyla mekanik inokulasyon çalışmaları, kabak (*Cucurbita pepo* L.), kavun (*Cucumis melo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.), karpuz (*Citrillus lanatus* (Thunb.)

Matsum. & Nakai), *Chenopodium amaranticolor* Coste and Reynier, *C. quinoa* Willd., *Gomphrena globosa* L., *Nicotiana benthamiana* L., *N. glutinosa* L., *N. rustica* L., *N. tabacum* L. test bitkileri üzerine yapılmıştır.

WMV-2’nin moleküler tanısı amacıyla, WMV-2 ile infekteli indikatör bitkilerden elde edilen total nükleik asit preparasyonları ile WMV-2’nin kılıf proteininin N ucu üzerindeki 408 nükleotid’lik bölgeye spesifik primer çifti (WMV-5’; 5’-GGCTTCTGAGCAAAGATG-3’ ve WMV-3’; 5’-CCCAYCAACTGTYGGAAG-3’) (Desbiez et al., 2009) ve çeşitli tampon çözeltiler materyal olarak kullanılmıştır.



Şekil 2. Arazide karpuz bitkileri yapraklarında mozayik, sararma, kabarcıklıklar ve deformasyon belirtileri

Figure 1. Mosaic, yellowing, mottle and deformation symptoms in watermelon leaves in the field

Yöntem

Çalışma Materyalinin Toplanması

Sürvey çalışmaları sırasında, genel olarak bitkide gelişme geriliği ve yapraklarda sararma, deformasyon, mozayik, kabarcıklık ve genç sürgünlerde iplikleşme gibi belirtileri (Şekil 2) gösteren karpuz bitkilerinden özellikle taze sürgünler alınmış ve naylon torbalara konulup etiketlenerek, buz kutuları içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Toplanan bitki örnekleri kullanılıncaya kadar, kısa süre için +4 °C'de, daha uzun süreler için de -20'de muhafaza edilmişlerdir.

Mekanik İnokulasyon Yöntemi

Mekanik inokulasyon çalışmaları, ELISA testleri sonucunda, WMV-2 ile infekteli olduğu saptanan bitkilerden elde edilen WMV-2 izolatlarının biyolojik tanısı amacıyla, Mandal ve ark. (2001)'nin önerdiği yöntemle göre yapılmıştır.

Genç bitki dokuları, içerisinde soğuk 0.01 M potasyum fosfat tampon çözeltisi (0.01 M 2-mercaptoethanol içeren), pH 7.0 bulunan bir havanda, 1g bitki dokusu/ 5ml tampon çözelti oranında parçalanmış ve elde edilen ekstraktlar, karborandum tozu serpilmiş indikatör bitkilerin yaprakları üzerine inokule edilmiştir. Daha sonra yapraklar bitki artıklarının uzaklaştırılması amacıyla, çeşme suyu ile yıkanmıştır. Mekanik inokulasyon çalışmalarında, her bir indikatör bitki

türünden 5'er adet WMV-2 ile bulaştırılırken, 5'er adet bitki kontrol olarak bırakılmıştır. Bütün indikatör bitkiler, 22-24 °C sıcaklık, %70 nem, 16/8 saat (Işık/Karanlık) ve 5000 Lüks ışık aydınlatma kontrollu koşullara sahip klima odalarında muhafaza edilmiş ve simptom çıkışı için günlük olarak gözlenmişlerdir.

Serolojik Çalışmalar

Double Antibody Sandwich (DAS) ELISA yöntemi, ELISA kitlerinin temin edildiği ticari firmanın önerdiği yöntemle göre toplanan tüm örnekler için uygulanmıştır.

ELISA pleytleri (NUNC, Danimarka) kaplama tampon çözeltisinde sulandırılan WMV-2'ye spesifik polyclonal antibody ile kaplandıktan sonra, 35 °C'de 4 saat inkübe edilmiş ve yıkama tampon çözeltisi ile her biri 3'er dakika olacak şekilde, 3'er kere yıkanmıştır. Kuyulara ekstraksiyon tampon çözeltisinde hazırlanan bitki örnekleri ilave edilmiş ve pleytler, 4 °C'de gece boyu inkübasyona bırakılmış ve yıkama tamponu ile yıkandıktan sonra konjugat tampon çözeltisinde hazırlanan alkaline phosphatase enzimi ile işaretli antibody (konjugat) ilave edilmiştir. 35 °C'de 4 saat inkübasyona bırakılan pleytler tekrar yıkanmış ve substrat tampon çözeltisinde 1 mg/ml olacak şekilde hazırlanan p-nitrophenyl phosphate konulmuştur. Absorbans değerleri, oda sıcaklığında bekletilen pleytlerin, Mediaspec ESR200 marka ELISA okuyucuda, 405 nm dalga boyunda, 60 ve 120 dakika okumaları ile elde

edilmiştir. Yapılan ELISA testlerinde, her bir pleytte negatif, pozitif ve buffer kontrol olmak üzere 3 farklı kontrol kullanılmış ve negatif kontrol için alınan absorbans değerinin 2 veya 3 katı absorbans değeri veren kuyulardaki örnekler WMV-2 ile infekteli kabul edilmiştir (Wang ve Gonsalves, 1990).

RT-PCR Çalışmaları

WMV-2 izolatlarının moleküler olarak tanılanması amacıyla kullanılan RT-PCR yöntemi, Desbiez ve ark. (2009)'un bildirdiği yöntemle göre uygulanmıştır.

cDNA'nın elde edilmesi aşamasında, 1µl total nükleik asit, 1 µl reverse primer (10 mM) ile 70 °C'de 5 dakika süre ile inkübe edilmiş ve buz

Bulgular ve Tartışma

ELISA Testleri

Çalışma süresinde yapılan arazi çıkışlarında 735 da karpuz alanı gezilmiş ve semptomatolojik olarak WMV-2 ile infekteli olduğundan şüphelenilen toplam 182 karpuz bitkisinden örnekleme yapılmıştır. İller düzeyinde bakıldığında, Adana ilinde 6 ilçede toplam 595 da alandan 139 örnek, Mersin ilinde 1 ilçeden 54 da alandan 18 örnek ve Osmaniye ilinde 1 ilçeden 86 da alandan 25 örnek alınmış ve ELISA yöntemiyle testlenmiştir. ELISA testleri sonucunda, testlenen 182 örnekten, Adana ilinden 70, Mersin ilinden 3 ve Osmaniye ilinden 12 tane olmak üzere toplam 85 karpuz örneğinin WMV-2 ile infekteli olduğu saptanmıştır. Adana ilinde enfeksiyon oranı %50.36 iken Mersin ilinde % 16.67 ve Osmaniye ilinde % 48.0 olarak saptanmıştır. Tüm survey alanında, toplamda

üzerine alınarak, 90 sn. bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 16.6 µl steril distile su, 5 µl reverse transcriptase buffer (5X), 1 µl dNTPs (10mM), 0.3 µl RNase inhibitor (40U/µl) ve 0.1 µl MMLV-RT (200 U/µl) ilave edilerek, tüpler 42 °C'de 60 dak. inokule edilmiştir.

PCR aşamasında ise, 1 µl cDNA, 16.8 µl steril distile su, 2.5 µl 10X Taq polymerase buffer, 1.5 µl MgCl₂, 1 µl dNTPs, 0.2 µl Taq DNA polymerase (5 U/µl), 1 µl forward primer (10 mM) ve 1 µl reverse primer (10 mM) karıştırılarak, 94°C'de 2 dakikayı takibinde, 35 döngü olacak şekilde, 94 °C'de 30 sn., 52 °C'de 30 sn. ve 72 °C'de 2 dak. ve sonuç adımı olarak 72 °C'de 10 dak. PCR koşullarında işleme tabi tutulmuştur.

PCR sonuçları, % 1'lik agarose jelde elektroforez işlemi ile gözlenmiştir.

testlenen karpuz bitkilerinde ise enfeksiyon oranı, % 46.7 olarak hesaplanmıştır. Örnekleme yapılan ilçeler göz önüne alındığında, en yüksek WMV-2 enfeksiyon oranı % 57.14 ile Seyhan (Adana) ilçesinde saptanmış, en düşük enfeksiyon oranı ise, % 16.67 ile Tarsus (Mersin) ilçesinde bulunmuştur (Çizelge 1).

Ayrıca, mekanik inokulasyon yöntemi ile WMV-2 inokule edilen indikatör bitkilerden yapılan ELISA testleri sonucunda, semptom gözlenen *Cucurbita pepo* L., *Cucumis melo* L., *Cucumis sativus* L., *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai, *Chenopodium quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste and Reynier, *Gomphrena globosa* L. indikatör bitkilerinde WMV-2'nin varlığı saptanmış, diğer semptom göstermeyen *Nicotiana tabacum* L., *N. benthamiana* L., *N. glutinosa* L., *N. rustica* L. bitkileri ise, negatif bulunmuştur.

Çizelge 1. Sürvey çalışmalarının yapıldığı iller ve ilçeler, sürvey alanı (da), testlenen ve infekteli örnek sayısı ve infeksiyon oranları

Table 1. Provinces and districts where the survey work, survey area (da), the number of samples tested and infected and infection rates

İLLER	İlçeler	Sürvey Alanı (da)	Testlenen Örnek Sayısı	İnfekteli Örnek Sayısı	İnfeksiyon Oranı (%)
ADANA	Abdioğlu	22	10	5	50.0
	Yüreğir	35	16	9	56.25
	Seyhan	38	14	8	57.14
	Ceyhan	400	56	30	53.57
	Yılkale	48	21	7	33.33
	Karataş	52	22	11	50.0
MERSİN	Tarsus	54	18	3	16.67
OSMANİYE	Kadirli	86	25	12	48.0
TOPLAM		735	182	85	46.7

Mekanik İnokulasyon Çalışmaları

Mekanik inokulasyon çalışmalarında, WMV-2 inokule edilen kabak (*Cucurbita pepo* L.), kavun (*Cucumis melo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) indikatör bitkilerinin yaprakları üzerinde mozayik, deformasyon, kabarcıklaşma ve damar bantlaşması simptomları gözlenmiştir. Simptomlar inokulasyondan 5-7 gün sonra ortaya çıkmıştır. Bunun yanında, akkazayağı (*C. quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste and Reynier) ve hanım düğmesi (*G. globosa* L.) bitkilerinin yapraklarında ise, klorotik lokal lezyonlar gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan tütün (*Nicotiana tabacum* L. *N. benthamiana* L. *N. glutinosa* L. ve *N. rustica* L.) bitkilerinin yapraklarında ise, herhangi bir simptom gözlenmemiştir (Çizelge 2).

Mekanik inokulasyon çalışmalarında elde edilen bulgular, Purcifull ve ark. (1984) ve Dukić ve ark. (2002) tarafından bildirilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Aynı araştırmacılar, WMV-2'nin karpuz bitkisi yapraklarında, mozayik

simptomuna, çok nadir olarak da çok geniş klorotik lokal lezyonlara neden olduğunu, *C. quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste and Reynier bitkilerinde de klorotik lokal lezyonlar ortaya çıktığını ve bunların birkaç gün içerisinde nekrotiğe döndüğünü bildirmişlerdir. Bunlara ilaveten, WMV-2'nin tütün türlerine ait bitkilerde infeksiyon yapmadığını da rapor etmişlerdir.

RT- PCR Uygulamaları

Araziden toplanan örnekler ile mekanik inokulasyon çalışmalarında simptom gözlenen indikatör bitkilerden yapılan RT- PCR çalışmaları sonucunda, % 1'lik agaroz jel elektroforez yöntemi ile her infekteli örnek için 408 bp büyüklüğe sahip band gözlenmiş ve bu bitkilerin yapraklarında gözlenen simptomların WMV-2 tarafından meydana getirildiği ortaya konulmuştur. WMV-2'nin varlığı, hem arazi örneklerinde, hem de indikatör bitkilerde, biyolojik ve serolojik yöntemlere ilaveten moleküler olarak da doğrulanmıştır.

Çizelge 2. Mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan indikatör bitkiler ve gözlenen semptomlar

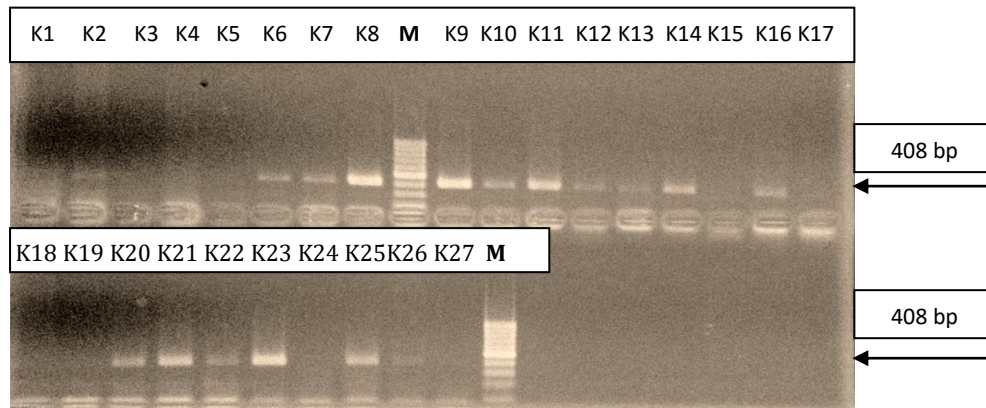
Table 2. Indicator plants used in mechanical inoculation studies and observed symptoms

İndikatör Bitki Adı	Latince Adı	Gözlenen Semptomlar
Kabak	<i>Cucurbita pepo</i> L.	M, De, K, DB
Kavun	<i>Cucumis melo</i> L.	M, De, K, DB
Hıyar	<i>Cucumis sativus</i> L.	M, De, K, DB
Karpuz	<i>Citrillus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. & Nakai	M, De, K, DB
Akkazayağı	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	KLL
	<i>C. amaranticolor</i> Coste and Reynier	KLL
Hanım Düğmesi	<i>Gomphrena globosa</i> L.	KLL
Tütün	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	-
	<i>N. benthamiana</i> L.	-
	<i>N. glutinosa</i> L.	-
	<i>N. rustica</i> L.	-

M: Mozayik, **De:** Deformasyon, **K:** Kabarcıklaşma; **DB:** Damar bantlaşması

Yürütülen bu çalışmanın moleküler kısmında elde edilen sonuçlar, Desbiez ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada bildirilen sonuçlar ile uyum içerisindedir. Aynı araştırmacılar, WMV-5 ve WMV-3 primer çifti kullanarak yaptıkları çalışmada,

Fransa'da kabakgil yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı alanlarda, WMV-2'nin varlığını RT-PCR yöntemi ile saptamışlar ve çalışma sonunda agaroz jel elektroforez yöntemi ile WMV-2 için 408 bp'lik band gözlemişlerdir.



Şekil 2. Elde edilen WMV-2 izolatları (K1-K2 (Abdioglu), K3-K5 (Yilankale), K6-K8 (Seyhan), K9-K14 (Ceyhan), K15-K17 (Tarsus), K18-K19 (Karataş), K20-K23 (Kadirli), K24-K27 (Yüreğir)) ile yapılan RT-PCR çalışmalarının sonuçları; M: Marker

Figure 2. RT-PCR results with obtained WMV-2 isolates (K1-K2 (Abdioglu), K3-K5 (Yilankale), K6-K8 (Seyhan), K9-K14 (Ceyhan), K15-K17 (Tarsus), K18-K19 (Karatas), K20-K23 (Kadirli), K24-K27 (Yuregir)); M: Marker

Sonuç

Karpuz yetiştiriciliği, bu çalışmanın yürütüldüğü Adana, Mersin ve Osmaniye illeri için ekonomik anlamda büyük öneme sahiptir. Karpuz üretimini kısıtlayan etmenlerin başında viral etmenler gelmektedir. Bunlar içerisinde yer alan karpuz mozayik virüsü 2 (WMV-2) ise en önemlilerinden bir tanesidir. Yürütülen bu çalışmada, karpuz yetiştiriciliğinde önemli zararlara neden olan ve etkili bir mücadele yöntemi bulunmayan WMV-2'nin saptanması ve tanılanması amacıyla, biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler - uygulanarak virüsün varlığı tespit edilmiştir. Ayrıca, yapılan mekanik inokulasyon yöntemi ile WMV-2 izolatları biyolojik olarak karakterize edilmiştir.

Çalışma kapsamında, 735 da alanda sürveyler yapılmış ve simptomatolojik olarak WMV-2 ile infekteli olduğundan şüphelenilen toplam 182 karpuz bitkisinin öncelikle ELISA yöntemi ile testlenmesi sonucunda, 85 karpuz örneğinin WMV-2 ile infekteli olduğu saptanmıştır. Testlenen örneklerde WMV-2 enfeksiyon oranı % 46.7 olarak hesaplanmıştır.

Mekanik inokulasyon çalışmaları sonunda, kabakgil türü indikatör bitkilerin yapraklarında,

Kaynaklar

- Adlerz, W.C., 1974. Spring aphid flights and incidence of watermelon mosaic viruses 1 and 2 in Florida. *Phytopathology* 64: 350-353.
- Adlerz, W.C., 1969. Distribution of watermelon mosaic viruses 1 and 2 in Florida. *Proc. Fla. St. Hort. Soc.* 82: 161-166.
- Anonymous, 2011. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). <http://tuikapp.tuik.gov.tr/Bolgesel/tabloOlustur.do>.
- Çıtır A., N.D. Kutluk, N. Sağlam ve H. İlbağ, 1998. Amasya, Çorum, Samsun ve Tokat illerinde hiyar ve kabak kültürlerinde görülen virüs hastalıklarının simptomatolojik ve biyolojik yöntemlerle tanılması. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongre Bildirileri, 21-25 Eylül 1998, Ankara, 331-335.
- Davis, R.F., 1986. Partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Turkey. *Plant Dis.* 70:735-738.
- Demski, J.W. and D.R. Sumner, 1979. Spread of watermelon mosaic virus in georgia grown squash. *Research Bulletin* (University of Georgia. College of Agriculture. Experiment Stations), 234.
- Desbiez, C., B. Joannon, C. Wipf-scheibel, C. Chandeysson and H. Lecoq, 2009. Emergence of new strains of watermelon mosaic virus in Sout-eastern France: evidence for limited spread but rapid local population shift. *Virus Research* 141: 201-208.
- Dukić, N., B. Krstić, I. Vico, N.I. Katis, C. Papavassiliou and J. Berenji, 2002. Biological and serological characterization of viruses of summer squash crops in mozayik, deformasyon, damar bantlaşması ve kabarcıklık simptomları genel olarak gözlenirken, *Chenopodium quinoa* Willd., *C. amaranticolor* Coste and Reynier ve *Gomphrena globosa* L. bitkilerinde klorotik lokal lezyonlar ortaya çıkmıştır. Bunun yanında, tütün çeşidi indikatör bitkilerde herhangi simptom meydana gelmemiştir.
- Araziden örnekleri ve mekanik inokulasyon çalışmalarında simptom gözlenen indikatör bitkilerden yapılan RT-PCR çalışmalarında agaroz jel (%1'lik) elektroforez yöntemi ile her bir WMV-2 izolatu için 408 bp büyüklüğe sahip band gözlenmiş ve bu bitkilerde gözlenen simptomların WMV-2 tarafından meydana getirildiği ortaya konulmuştur.
- Bundan sonraki çalışmaların, epidemiyoloji, WMV-2 izolatlarının saptanması, izolatların karakterizasyonu, aralarındaki farklılıkların ve bunların coğrafik dağılımlarının ortaya konulması gibi konularda planlanması ve yapılması gerekmektedir. Böylece, özellikle çapraz korunma (cross protection), dayanıklılık ve dayanıklı çeşit geliştirme çalışmalarında kullanılabilecek verilerin toplanması mümkün olacaktır.
- Yugoslavia. *Journal of Agricultural Sciences*, Vol. 47, No 2, 149-160.
- Erdiller, G. and F. Ertunç, 1987. The effect of watermelon mosaic virus 1 infection on the physiological and biochemical activities of muskmelon (*Cucumis melo* L.). *J. Turkish Phytopathol.* 16: 105-118.
- Greber, R.S., 1978. Watermelon mosaic virus-1 and 2 in Queensland cucurbit crops. *Aust. J. Agric. Res.*, 29:1235-1245.
- Grogan, R. G., D. H. Hall and K.A. Kimble, 1959. Cucurbit mosaic viruses in California. *Phytopathology* 49: 366-376.
- Hollings, M. and A.A. Brunt, 1981. Potyviruses. *Handbook of plant virus infection: Comparative diagnosis.* 731-807. Elsevier/ Nort Holland.
- Karl, E. and K. Schmelzer, 1971. Investigations on the transmissibility of watermelon mosaic viruses by aphid species. *Archiv für Pflanzenschutz*, 7 (1): 3-11.
- Kaya, A. ve S. Erkan, 2011. İzmir, Aydın, Manisa ve Balıkesir illerinde üretilen kabakgillerde viral etmenlerin tanılanması ve yaygınlıklarının belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni* (2011), 51 (4): 387-405.
- Lisa, V. and H. Lecoq, 1984. Zucchini yellow mosaic virus. *CMI/AAB Descr. Pl. Viruses*, No. 282, 4 pp.
- Mandal, B., H.R. Pappu and A.S. Csinos, 2001. Suppressing effect of acibenzolar-s-methyl (asm) on tomato spotted wilt virus. Department of Plant Pathology, University of Georgia.

- Nameth, S.T., J.A. Dodds and A.O. Paulus, 1983. A new potyvirus associated with severe disease of cantaloupe (*Cucumis Melo*) in Souther California. (Abstr.) *Phytopathology*, 73:793.
- Nelson, M.R. and D.M. Tuttle, 1969. The epidemiology of cucumber mosaic and watermelon mosaic 2 of cantaloups in an arid climate. *Phytopathology* 59:849-856.
- Nogay, A. and U. Yorgancı, 1984. Purification and particle morphology of TMV, CMV and ZYMV isolated from various cultivated crops grown along the Mediterranean coast of Turkey. 1: The Identification of viruses infecting cucurbits in Marmara region. *J. Turkish Phytopathology*. 14: 9-28.
- Purcifull, D.E., E. Hiebert and J. Edwardson, 1984. Watermelon mosaic virus 2.CMI/AAB *Descriptions of Plant Viruses*, 293 (No 63 revised).
- Sharifi, M., H. Massumi, J. Heydarnejad, A.H. Pour, M. Shaabani and H. Rahimian, 2008. Analysis of the biological and molecular variability of watermelon mosaic virus isolates from Iran. *Virus Genes* 37: 304-313.
- Şevik, M.A. and M. Arlı-Sökmen, 2003. Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey. *Plant Dis.* 87: 341-344.
- Thomas, W., 1971. Watermelon mosaic virus, a disease of cucurbits in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 14, 235–241
- Wang M, Gonsalves D. 1990. ELISA detection of various Tomato spotted wilt virus isolates using specific antisera to structural proteins of the virus. *Plant Dis* 74:154 – 158.
- Yamamoto, T. and M. Ishii, 1980. *Proc. Ass. Pl. Prot. Shikoku* 15: 37.
- Yamamoto, T., M. Ishii, T. Katsube and M. Sorin, 1982. Transmission of watermelon mosaic virus by aphid species (Hemiptera: Aphididae). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 26: 218-223
- Yılmaz, M.A., K. Abak, H. Lecoq, S. Baloğlu, N. Sarı, S. Kesici, M. Özaslan and M. Güldür, 1994. Control of zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) in cucurbits by ZYMV-WK Strain. 9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union-Kuşadası-Aydın-Türkiye.353-356