

Isparta İli Elma Üretim Alanlarında Apple Mosaic Virus (Elma Mozayik Virüsü)(ApMV)'nün Belirlenmesi

N. YARDIMCI, H. ERYİĞİT

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü-İSPARTA

Özet: Yıllık 2.5 milyon ton üretimi ile dünyada elma üreten ülkeler arasında üçüncü sırada yer alan Türkiye’de toplam elma üretiminin 1/5 i Isparta’da gerçekleşmektedir (1,2). Bu çalışma, ülke elmacılığında çok önemli bir yeri olan Isparta’daki elma alanlarında elma mozayik virüsünün varlığı araştırılmıştır. 2001-2003 yılları arasında bahçelere sürveyler yapılarak Golden Delicious, Starking Delicious, Granny Smith ve İmparator çeşitleri ile M9 anaçlarından mozayik belirtisi sergileyen toplam 276 yaprak örneği alınmıştır. DAS-ELISA testleri sonucunda örneklerin 82’sinde ApMV saptanmıştır. Granny Smith, İmparator ve M9 anaçlarından alınan örneklerde ApMV belirlenirken Golden Delicious ve Starking Delicious örneklerinde virüs saptanamamıştır. Testler sonunda pozitif reaksiyon veren yaprak örnekleri ile otsu bitkilere mekaniksel inokulasyon yapılarak oluşan belirtiler değerlendirilmiştir. Bu çalışma Isparta yöresindeki elma üretim alanlarında ApMV’ nün belirlenmesine ilişkin yürütülen ilk çalışmadır.

Anahtar Sözcükler: Elma, elma mozayik virüsü, DAS-ELISA

Determination of Apple Mosaic Virus (ApMV) of Apple Production Areas in Isparta Province

Abstract: With an annual production of 2.5 million tons, Turkey is the third largest producer of apple in the world. Isparta region is the most important apple production region providing 1/5 of the total apple production of Turkey (1). Apple mosaic virus is one of the important and common pathogen in commercial cultivars (2). Symptoms of apple mosaic virus (ApMV) are observed in apple orchards during field surveys between 2001 and 2003. A total of 276 leaf samples were collected from trees of showing virus symptoms and tested for ApMV. It was determined by DAS-ELISA that 82 of the 276 samples were infected with ApMV. While ApMV was detected in Granny Smith, İmparator cultivars and M9 rootstocks, none of the samples from Golden Delicious and Starking Delicious cultivars was infected with ApMV. DAS-ELISA positive samples were later inoculated into herbaceous indicator plants. The presence of ApMV in the southwest region of Turkey was determined first time by this study.

Key Words: Apple, apple mosaic virus, DAS-ELISA

Giriş

Dünyada en fazla yetiştirilen meyvelerden biri olan elma (*Malus domestica* Borkh.) üretimi açısından Türkiye üçüncü sırada yer almaktadır. Ülkemizin toplam elma üretiminin 1/5’i ise Isparta yöresinden sağlanmaktadır (3). Yaklaşık 184 000 dekar alanda, 2.5 milyon elma ağacı bulunan il, Türkiye genelinde elma üretiminde birinci sıradadır (4).

Elma yetiştiriciliğinde görülen çok sayıda fungal, bakteriyel ve bazı kaynaklara göre 43 adedi bulan virüs ve virüs benzeri hastalık görülmektedir (5).

Virüs hastalıklarının kontrolünde kimyasal mücadelenin etkisiz kalması bu hastalıkların önemini daha da artırmaktadır. Elma mozayik virüsü, elma klorotik yaprak leke virüsü (Apple chlorotic leaf spot virüs), elma gövde çukurlaşması virüsü (Apple stem grooving virüs), elma gövde gözenekleşme virüsü (Apple stem pitting virüs), elma rozetleşme virüsü (Apple rosette virüs), elma halkalı leke virüsü (Apple ring spot virüs), elma yumuşak odunluluk fitoplazma (Apple rubbery wood phytoplasma) ve elma cadı süpürgelilik fitoplazma (Apple proliferation

phytoplasma), elma üretim alanlarında görülen en önemli hastalıklardır. (5,6,7). Fidan tarafından yürütülen bir çalışmada 1994 yılında Balıkesir, Denizli, Çanakkale, İzmir ve Uşak illerindeki elma bahçelerinden toplanan örneklerde ELISA testi ile apple chlorotic leaf spot virüs, apple stem grooving virüs ve apple mozayik virüsü bulunmuştur (8).

Ağaçlarda cüceleşme, cılız gelişme, zayıflama, sararma, geriye doğru ölüm, çalılışma, yapraklarda kıvrılma, küçülme, lekelenme, damar bantlaşması, meyvelerde şekil bozukluğu, asimetri, renk bozulması, gövdede çöküntüler ve şiddetli çiçek dökülmesine neden olan m virüs hastalıklarının belirtileri ağaçlarda geç dönemlerde ortaya çıkmaktadır. Meyve ağaçlarının üretimi, vejetatif yolla, aşı gözü veya kalem kullanılarak yapılmaktadır. Bunun sonucunda bir çoğu aşı yolu ile taşınan virüs hastalıkları daha kolay ve bilinçsizce yayılmaktadır. Etmem bazen ani zarara yol açarken bazen de ağaç yavaş yavaş etkilenmektedir. Ağacın yaşının ilerlemiş oluşu ve ürün alma zamanına ulaşılmış olması nedeniyle çoğu zaman üretici ağacın sökülmesinden kaçınmaktadır. Bu şekildeki

bulaşık ağaçlarda hastalık sinsi bir şekilde ilerlemekte ve bu bitkiler devamlı inokulum kaynağı oluşturmaktadır. Hastalık, uzun vadede oldukça tehlikeli boyutlara ulaşabilmektedir. Elma yetiştiriciliğinde görülen viral hastalıkların bir kısmı latent enfeksiyona yol açtığı için uzun süre bir belirti görülmemektedir. Ancak bu hastalıklar sebebiyle önemli miktarda verim ve kalite kaybı ortaya çıktığında ise çok geç kalınmış olmaktadır. Bilinen en eski elma virüslerinden biri olan elma mozayik virüsü, elma virüslerinin en yaygın olanıdır. Ticari olarak yetiştiriciliği yapılan elma varyetelerinin çoğu virüsün konukçusudur. Aşı materyali ile ve mekanik inokulasyon yöntemiyle taşınabilen bu virüsle enfekteli bitkilerin yapraklarında genellikle ilkbaharda ve yaz başında parlak krem renkli beneklenme, halkalı lekeler, damar bantlaşması ve mozayik lekeleri ortaya çıkmaktadır. Yazın belirtiler maskelenebilmektedir. Tüm elma varyeteleri virüse duyarlı olmakla birlikte Granny Smith, Golden Delicious ve Jonathan gibi çeşitler hastalıktan şiddetli etkilenirken Winsap ve McIntosh çeşitleri çok az etkilenmektedir. Ağacın gelişimini ve verimini düşüren apple mozayik virüsü nedeniyle ortaya çıkan ürün kayıpları zayıf strainlerde % 25 civarında iken şiddetli strainlerde zaman zaman %50'nin üzerine çıkabilmektedir (6, 9,10).

Isparta bölgesinde elma bahçelerinin büyük çoğunluğunda Golden Delicious ve Starking Delicious çeşitleri yetiştirilmektedir. Son yıllarda üreticilerin Granny Smith çeşidine rağbet ettikleri görülmüştür. Bu çeşitler dışında bölgedeki İmparator çeşidi de araştırma kapsamına alınmıştır. Ülke elmacılığı bakımından çok önemli bir bölge olan Isparta'da elmanın virüs hastalıkları bakımından durumunu aydınlatmak için girişilen bu araştırmada sürveyler sırasında ağaçlarda yaygın olarak elma mozayik virüsü belirtilerinin görülmesi, çalışmada öncelikle bu virüsün ele alınmasında etkili olmuştur. Tanılama çalışmalarında gerekli olan kimyasal malzemelerin maliyetinin araştırmanın bütçesini aşması, çalışmanın tek bir virüs açısından yürütülmesini zorunlu kılmıştır. Ancak bu konu ile ilgili daha sonra yapılacak çalışmalarda diğer elma virüsleri de ele alınacaktır. Bu çalışmada dünyadaki elma üretim alanlarında yaygın olarak bulunduğu bildirilen elma mozayik virüsü'nün Isparta yöresindeki elma bahçelerinde varlığı araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

2003-2004 yıllarının Mayıs ve Temmuz ayları arasında bölgedeki elma üretim alanlarına gidilerek toplanan yaprak örnekleri bu çalışmanın materyalini oluşturmuştur.

Elma alanlarından toplanan 276 şüpheli örnek tanılama çalışmalarda kullanılmıştır. Örneklerin toplanması sırasında yetiştirilen çeşitler hakkında da bilgi edinilmiştir. Şüpheli yaprak örnekleri polietilen torbalara konularak buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Örnekler daha sonra serolojik testlerde ve semptomatolojik çalışmalarda kullanılmak üzere -20° C'deki derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Ağaçların yapraklarında gözlenen tipik mozayik belirtileri apple mozayik virüsünü (Şekil.1) çağrıştırmıştır.



Şekil.1. Elma yapraklarında görülen mozayik belirtileri

Toplanan örneklerin tümüne Clark ve Adams'ın önerdiği şekilde DAS- ELISA testi (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) uygulanmıştır (11). Serolojik testlerde kullanılan ELISA kitleri AGDIA (PSA 30700/0288 PathoScreen Kit, Alk. Phos.) firmasından sağlanmıştır.

Sonuçlar 405 nm (EIX800 Universal Microplate Reader) de okunmuştur. Sağlıklı bitkinin absorbans değerinin iki katı ve daha fazlası pozitif olarak değerlendirilmiştir. (12). Örneklerin hazırlanışı ve testlerin uygulanışı aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

- Derin dondurucuda bekletilen şüpheli örneklere ekstraksiyon tamponu ilave edilerek ezilerek homojenat temiz tüplere aktarılmıştır. Elma mozayik virüsüne özgü antiserumla kaplı çukurlara 100 µl örnek konularak 4° C'de 1 gece bekletilmiştir.
- Çukurlar 3 dakika ara ile yıkama tamponuyla 3-4 kez yıkanmıştır.
- Her bir çukura 100 µl enzim konjugatı ilave edilerek oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir.
- Çukurlar 3 dakika ara ile yıkama tamponu ile 3-4 kez yıkandıktan sonra her çukura 100 µl PNP (P-nitrophenyl- phosphate) ilave edilerek oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.
- Okumalar 405 nm de yapılmıştır.

Testler sonunda pozitif reaksiyon veren örnekler ile yürütülen mekaniksel inokulasyon çalışmalarında enfekteli yaprak örnekleri(1g/ml) fosfat tampon solüsyonu (0.01M, pH 7.2) ve % 0.1'lik 2-merkaptolanol içerisinde homojenize edilmesiyle hazırlanan inokulum (1g/1ml) kullanılmıştır(13). Test bitkileri sera koşullarına konarak virüse özgü semptomların gelişmesi beklenmiş ve belirtiler değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Bu araştırmada elma üretim alanlarında gözlenen ve ApMV benzeri enfeksiyon belirtisi sergileyen etmenin tespiti amacıyla serolojik ve semptomatolojik çalışmalar yürütülmüştür. Sürveyler sırasında araziden toplanan örneklerin tümüne DAS-ELISA testi uygulanmıştır. Testlenen 276 şüpheli örnekten 82'sinde elma mozayik virüsü saptanmıştır. Granny Smith, İmparator çeşitleri ve M9 anaçlarından alınan örneklerin virüsle enfekteli olduğu belirlenirken Golden Delicious ve Starking Delicious örnekleri temiz bulunmuştur. Özellikle Granny Smith örneklerinin çoğu testlerde pozitif sonuç vermiştir.

Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında *Chenopodium amaranticolor*'da nekrotik benekler, *Cucumis sativus*'ta ise oldukça belirgin klorotik lokal lezyonlar ortaya çıkmıştır (Şekil.2). İndikatör bitkilerde ortaya çıkan belirtiler daha önce elma mozayik virüsü ile yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiş ve elma örneklerinde saptanan etmenin ApMV olduğunu desteklemiştir (7, 8,14).



Şekil.2. *Cucumis sativus*'ta klorotik lezyonlar

Ülkemizin diğer meyvecilik bölgelerinde olduğu gibi Isparta yöresi'nde de meyve fidanları farklı yerlerden sağlanmaktadır. İlde fidan üretimi, satışı, fidan giriş-çıkışının kontrolündeki aksamalar diğer hastalık etmenleri ile olduğu kadar viral etmenlerle bulaşık üretim materyalinin bölgeye girişine neden olmaktadır. Sürveyler sırasında son yıllarda popüler bir çeşit olan Granny Smith fidanlarına olan talebin genellikle ilçelere gelen fidan satıcılarından sağlandığı, herhangi bir sertifika istenmediği belirlenmiştir.

Bu yönüyle araştırma sonucu ilk kayıt olarak nitelendirilebilir. Daha sonraki çalışmalarda ApMV'nün diğer strainleriyle karşılaştırılarak bölgede hangi strainin bulunduğu tesbit edilebilecektir. İlerleyen çalışmalarda bu büyük önem taşıyacaktır. Bu yüzden moleküler düzeyde yapılacak çalışmalar planlanmaktadır. Bölgedeki elma yetiştiriciliğinde virüs enfeksiyonlarının varlığının araştırılmasının yanı sıra sağlıklı fidan üretiminde izlenecek yolun takip ve teşvik edilmesinin önemini ve gereğinin vurgulanması da önem taşımaktadır.

Dünyada ve ülkemizdeki elma ağaçlarında bulunan pek çok virüsün bu bölgede de bulunması muhtemeldir. Daha sonraki çalışmalarda bölgedeki elma üretim alanlarında bulunan diğer virüslerin belirlenmesi planlanmıştır.

Yazar notu: Bu araştırma Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- (1) Anonymous. 2002. Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer) T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Ankara.
- (2) Desvignes., J.C. 1999. Virus Diseases of Fruit Trees. Ctifl, Paris. EPPO,1999. Certification schemes-Pathogen-tested material of *Malus*, *Pyrus* and *Cydonia*. EPPO Bull.29, 239-252.
- (3) Koyuncu, F., Aşkın,A., Kepenek, K.2000.Isparta Yöresinde Meyve Fidanı Üretim Durumu.II. Ulusal Fidanlık Sempozyumu.25-29 Eylül, İzmir.
- (4) Anonymous. 2000a. Isparta Tarım İl Müdürlüğü Raporları,Isparta
- (5) Anonymous. 2000b. Elma Bahçelerinde Entegre Mücadele Teknik Talimatı (Editör: Dr. Cevdet Zeki) Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. Tarımsal Araş. Gen Müd. Ankara Zirai Mücadele Araş. Enst. Müd. Ankara.
- (6) Yılmaz, M.A., Baloğlu,S., Özaslan,M.1995. Bitki Virus Hastalıkları.Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı, No: 128. Adana.
- (7) Brunt, A.A., Craptree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J.,Watson, L. 1996. Viruses of Plants. Descriptions and Lists from the VIDE Database. University Press Cambridge,U.K.1444p.
- (8) Fidan,Ü.,1994. Indexing of Apple Trees for Apple Mosaic Virus, Apple ChloroticLeaf Spot Virus and Apple Stem Grooving Virus by ELISA. Journal Turk.Phytopath,Vol. 23, No: 3. s, 127-132.
- (9) Anonymous. 1991. Integrated Pest Management for Apples and Pears (Edit: Andrew Alden, Heidi Seney). University of California Statewide Integrated Pest Management Project Division of Agriculture and Natural Resources Publication 3340
- (10)Podeckis, E.V., Welliver, R.2002. Apple Mosaic Virus I. [http /www.caf.wvu.edu/ kearneysville](http://www.caf.wvu.edu/kearneysville).
- (11)Clark, M.F., Adams, A.N. 1977. Characteristics of the Microplate Method of Enzyme Linked Immunosorbent assay for the Deduction Plant Viruses. J. Gen. Virology , 340, 475-483.
- (12) Stellmach., G.1985. ELISA testing of Grapevine rootings reared from nepovirus-infected mother plants forced to rapid growth. Phytopath.medit., 24,123-124.
- (13) Smith, M. K., 1972. A texbook of Plant Virus Diseases. Academic Pres, New york and London,10-14p.
- (14) Fulton,R.W.,1972. Apple Mosaic Virus.CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No: 31.