

## VAN GÖLÜ YÖRESİNDE YETİŞTİRİLEN YONCA (*Medicago sativa*)'LARDA MOZAYİK VİRÜSÜ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Nejla YARDIMCI

Süleyman Demirel Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü, Isparta

Süleyman ŞENGÜL

Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum

**ÖZET:** Çalışmalarda Van Gölü yöresinde uzun yıllardan beri tarımı yapılan yoncalarda yonca mozayik virüsünün (Alfalfa mosaic virus: AMV) olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla, yörede yerli yonca ekimi yapılan 12 köyden alınan tohumlardan yetiştirilen bitkilerle mekanik inokulasyon çalışmaları yapılarak test bitkilerinde gelişen belirtiler gözlemlenmiştir. Ayrıca virüsle bulaşık olduğu belirlenen yaprak örneklerinden hazırlanan preparatların elektronmikroskop fotoğrafları çekilmiştir. Çalışmada Van Gölü yöresinde yonca ekimi yapılan alanlarda AMV saptanmıştır.

### STUDIES ON MOSAIC VIRUS OF ALFALFA IN THE VAN LAKE REGION

**SUMMARY:** In this research, the existence of Alfalfa mosaic virus (AMV) on alfalfa which is grown for years in Van Lake Region. For this purpose the symptoms developed on test hosts were observed by doing mechanical inoculation experiments with the seeds taken from 12 villages growing alfalfa in the region. In addition, the electron micrographs of the samples from virus infected leaves were taken. The results of the research have shown, that the existence of AMV in alfalfa growing Van Lake Region was positive.

### GİRİŞ

Ülkemizde yonca ekim alanı yönünden ilk sırada yer alan Doğu Anadolu Bölgesi'nde, Van 20.484. ha. ekiliş alanına sahiptir (Anon. 1994) Yörede yıllardır yerli yonca tarımı yapılagelmektedir. Yonca, yüksek protein içeriği nedeniyle iyi bir yem bitkisidir. Ayrıca, köklerinde havanın serbest nitrojenini fikse eden Rhizobium bakterilerine sahip olması yoncanın önemini artırmaktadır.

Yonca ekim alanları pek çok fungal, viral, bakteriyel etmenlerin yanı sıra çeşitli zararlı ve yabancı otların tehdidi altındadır. Beczner (1974) ekim alanlarında yonca verimini sınırlayan 24 farklı virüsün bulunduğunu ifade ederken, Edwardson ve Christie (1986) ise yoncanın 28 adet virüse konukçu olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar yoncanın en önemli virüs hastalığı olarak alfalfa mozayik virüsü (Alfalfa mosaic virüs= AMV)'nü göstermektedirler. AMV, 68 familyadan 245 cinsle ait 599 tür bitkiyi enfekte edebilen ve dünyada yaygın olan bir hastalık etmenidir (Edwardson ve Christie, 1986).

Hastalık etmeni virüs, mekanik olarak bitki özsuyla, afitlerle non-persistent olarak, tohumla, küskütle ve yabancı ot tohumlarıyla taşınabilmektedir (Smith, 1957; Hull, 1969; Şahtiyancı, 1971; Jaspars ve Bos, 1980; Nienhaus, 1981; Çalı, 1990).

AMV ile inokule edilen tütün yapraklarının nekrotik ya da klorotik lokal lezyonlar veya halkalı benekler sergilediği, sistemik belirtilerin hafif lekelerden, klorotik damar bantlaşmasına kadar değişimler sergilediği saptanmıştır (Hull, 1969; Bos ve Jaspars, 1971). Virüsün izole edilmesinde kullanılan test bitkilerinden *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium guinoa* ve *Gomphrena globosa*'nın ise lokal lezyonlar sergilediği belirlenmiştir (Bos ve Jaspars, 1971; Pietersen et al, 1985).

Yapılan elektron mikroskopik çalışmalarda Alfamovirus grubunda ele alınan bu virüsün 4 alt birime sahip olduğu, basil şeklinde olan üç alt biriminin fonksiyonel ve tek iplikçikli RNA içerdiği saptanmıştır (Conrat et al., 1988; Bos ve Jaspars 1971; Goldbach, 1987).

### MATERYAL VE METOD

Van Gölü yöresinde yonca üretimi yapılan köylerden elde edilen tohum örnekleri bu çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Tohum örnekleri içlerinde steril toprak karışımı bulunan saksılara 5'er tekrarlı olarak ekilmiştir. Bitkiler sera koşullarında gelişmeye bırakılmıştır. Bitkilerden mozayik belirtisi sergileyenlerin yaprakları steril polietilen torbalara konularak, mekanik inokulasyon çalışmaları için -20 °C'deki derin dondurucuda kullanıncaya kadar muhafaza edilmişlerdir.

Yonca virüs hastalıklarına duyarlı test bitkileri (Smith, 1972)'nin yetiştirileceği toprak karışımı hazırlanarak steril edilmiştir. 18-20 °C'deki Sera koşullarında yetiştirilen test bitkileri 4-6 yapraklı dönemlerinde mekanik inokulasyonda kullanılmıştır.

-20 °C de muhafaza edilen hastalıklı yapraklar 1 gr. yaprak doku başına 1ml. fosfat tampon solüsyonu (0.01M, pH :7.2) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Hazırlanan bu inokulum test bitkilerine mekanik olarak inokule edilmiştir. İnokulasyondan önce bitkilerin yaprakları 500 mesh'lik karborandum ile tozlanmış, inokulasyondan sonra ise hemen musluk suyu ile yıkanmıştır. Test bitkileri, belirtileri izlemek üzere 18-20 °C de sera koşullarına konulmuştur.

Sistemik enfeksiyon sergileyen *Nicotiana tabacum* "*Xanthii*" bitkisinin yaprağından alınan çok küçük bir parça (2mm x 2mm) 50 µ lt fosfat tampon çözeltisi (0.1 µ, pH;7.0) içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenat kapillat çubukla alınarak 400 mesh'lik grid (Cul/ pd) üzerine konduktan sonra % 1'lik uranil asetat ile negatif boyama yapılmıştır (Mattews,1993; Milne, 1994). Hazırlanan preparatların elektron mikroskopik fotoğrafları, Torino-Fitoviroloji enstitüsünde görevli Prof. Dr. Milne tarafından çekilmiştir.

### SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Van Gölü yöresinde yonca üretimi yapılan 12 köyden sağlanan tohumlardan üç köye ait tohum örneklerinden gelişen yonca bitkilerinin tipik mozayik semptomları ve yaprak deformasyonları sergiledikleri gözlenmiştir (Tablo 1).

Tipik mozayik semptomları sergileyen bitkilerden test konukçularına yapılan mekaniksel inokulasyonlar sonucunda *Chenopodium quinoa* ve *Chenopodium amaranticolor* bitkileri lokal lezyonlar sergilemişlerdir. Test bitkilerinden *Nicotiana tabacum* "*Samsun NN*", "*White Burley*", *Nicotiana glutinosa* ve *Nicotiana tabacum* "*Xanthii*" ise sistemik enfeksiyonlar ve klorotik ve nekrotik lokal lezyonlar sergilerken yapraklarda belirgin bir şekilde deformasyonlar da gözlenmiştir (Tablo 2). Alfalfa mozayik virüsünün *Chenopodium* türlerinde lokal lezyonlara, tütünlere ise sistemik enfeksiyon ve nekrotik, klorotik lokal lezyonlara neden olduğu pek çok araştırmacı tarafından saptanmıştır (Van Regenmortel ve Pinck, 1981; Pietersen et al,1985; Esbroeck ve Hiruki, 1990; Fidan,1992).

Çalışmada çok çarpıcı sistemik semptomlar sergileyen *Nicotiana tabacum* "*Xanthii*" bitkisinin yaprağından hazırlanan ve negatif boyama yapılan preparatların elektron mikroskopik fotoğrafları çekilmiştir. Çekilen fotoğraflarda alfalfa mozayik virüsünün basil formundaki partikülleri gözlenmiştir. Fotoğraflar Torino-Fitoviroloji Enstitüsünde görevli olan Prof. Dr. Milne tarafından 250 .000 büyütme olarak çekilmiştir (Şekil 1).

Tablo. 1. Van Gölü yöresinden tohum alınan köyler ve gözlenen semptomlar.

Table. 1. The villages where the seeds were taken in Van Lake Region, and the symptoms were observed.

Köyler (Villages)	Semptomlar (Symptoms)
Adıgüzel	-
Gülgören	-
Erciş	-
Alaköy	Şiddetli mozayik, yapraklarda buruşma
Otluyazı	-
Köprüler	Mozayik, yapraklarda deformasyon, kırışma
Dilburnu	Mozayik, yapraklarda buruşma, kırışma
Hıdırköy	-
Kasımoğlu	-
Hollakasım	-
Çayırbaşı	-
Ahlat	-

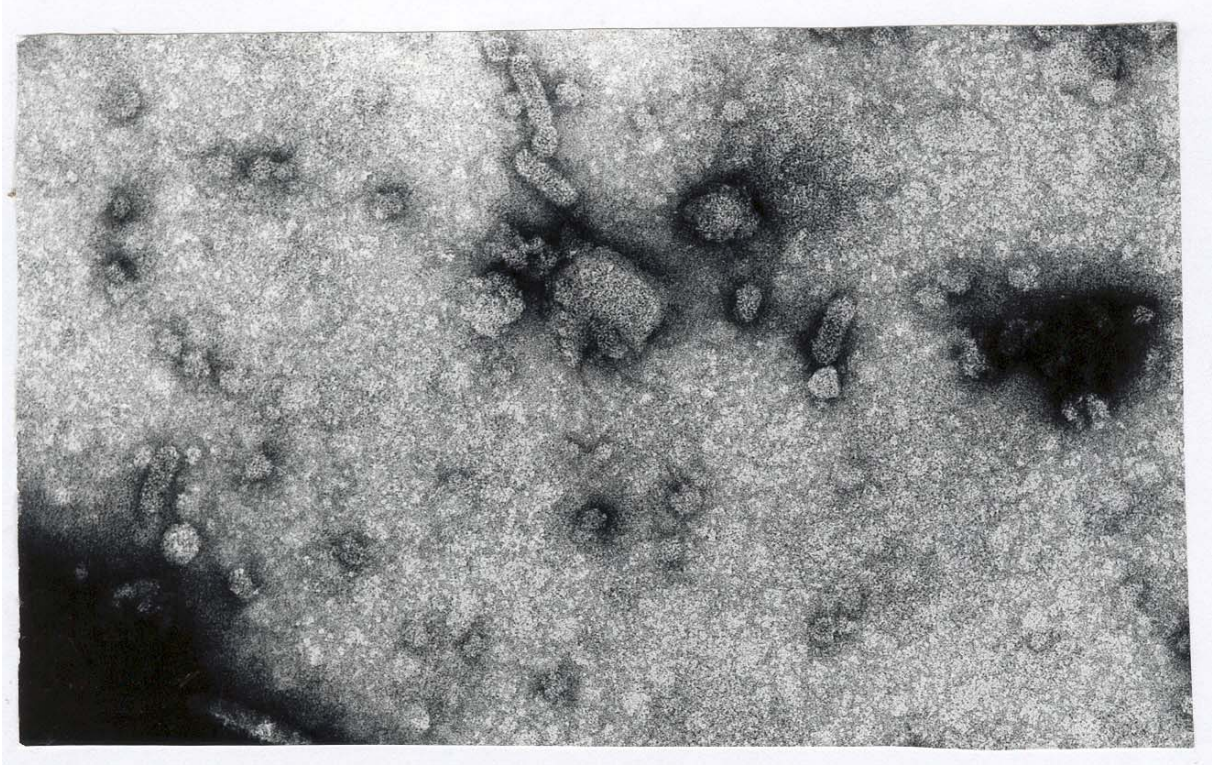
Test bitkilerine yapılan mekaniksel inokulasyonlar sonucunda gelişen belirtilere ve elektron mikroskopik fotoğraflara dayanılarak yöreden alınan yonca tohum örneklerinden yetiştirilen bitkilerdeki mozayik belirtilerinin alfalfa mozayik virüsü olduğu saptanmıştır.

Tablo.2. Enfekteli yonca örnekleri ile inokuleli test bitkilerindeki belirtiler.

Table. 2. Symptoms on inoculated test plants with infected alfalfa samples.

Test Bitkileri	Alaköy	Köprüler	Dilburnu
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	NLL	NLL	NLL
<i>C. quinoa</i>	NLL	NLL	NLL
<i>Gamphrena globosa</i>	-	-	-
<i>Nicotiana glutinosa</i>	NLL- SE, Def	KLL, SE, Def	KLL, SE, Def
<i>N. tabacum</i> " <i>Samsun NN</i> "	KLL- SE, Def	NLL- SE, Def	KLL- SE, Def
<i>N. tabacum</i> " <i>White Burley</i> "	KLL- SE, Def	KLL- SE, Def	KLL- SE, Def
<i>N. tabacum</i> " <i>Xanthii</i> "	NLL, SE, Def	NLL, KLL, Def	NLL, KLL, Def

NLL: Nekrotik lokal lezyon, KLL: Klorotik lokal lezyon,  
SE : Sistemik enfeksiyon, Def : Deformasyon.



Şekil : 1. Alfalfa mozayik virüsünün elektron mikroskopik fotoğrafı.  
Figure: 1. Electron micrograph of alfalfa mosaic virus.

### KAYNAKLAR

- Anonymous, 1994. Türkiye İstatistik Yılığ. D.İ.E. Yay. , Ankara.
- Beczner, L., 1974. Review of virus diseases infection. Novenyve Delmi Kutata İntezet Kozlemenyel 8, 73-101.
- Bos, L. E.M.T. Jaspars, 1971. Alfalfa Mosaic Virus. CMI /A.A.B. Description of Plant Viruses, No. 46.
- Conrat, H.F., P.C. Kimball, J.A. Levy, 1988. Unenveloped Plus-Strand RNA Viruses. Virology, Prentice- Hall, Inc.London, 440.
- Çalı, S.,1990. Orta Anadolu Bölgesi Yonca Ekim Alanlarında Görülen Vürüs Enfeksiyonlarının Saptanması, Yabancı Otlar ve Tohumla Taşınması Üzerine Araştırmalar. Adana Zir. Müc. Araş. Ens. Müd. Araş. Yay. No. 72.
- Edwardson, J.R., R.G. Christie, 1986. Viruses infecting forage legumes. Agr. Exp. Stat. İnst., Food and Agr. Sci. Üniv. of Florida, Gainesville, U.S.A. 741.
- Esbroek, Z.PU. C. Hiruki, 1990. Hypersensitive reaction in alfalfa (Medicago sativa) induced by alfalfa mosaic virus. Plant Pathology 39, 524-529.
- Fidan, Ü., 1992. Studies on alfalfa mosaic virus of alfalfa in Aegean region. J. Turk. Phytopath.,Vol. 21, No. 1, 15-20.
- Goldbach, R., 1987. Genom similarities between plant and animal RNA viruses. Acrobiological Science 4 (7), 197.
- Hull, R.,1969. Alfalfa mosaic virus. John Innes İnst., Colney Lane, Norwich, England. Adv. Virus Res. 15, 365-433.
- Jaspars,E.M.J., L. Bos, 1980. Alfalfa Mosaic Virus CMI/AAB. Description of Plant Viruses. No. 229.
- Matthews, R.E.F., 1993. Diagnos is of Virus Diseases,School of Biological Sciences. Üniv. of Auckland. New Zealand.
- Milne, R.G.,1994.Some historical and recent perspectives on immunoelectron microscopy of plant viruses and mycoplasma- like organisms. Virology in the tropics, New delhi, İndia.
- Nienhaus, F.,1981. Virus and similar diseases in tropical and subtropical areas, GT2, Dag-Hammarskjöld- Weg1, 6236 Eschborn 1 F.R. Germany. 221.
- Pietersen, G., O.J. Engelbrecht, J.M. Kotze, 1985. Characterization of two isolates of alfalfa mosaic virus in South Africa. Phytophylactica 17, 61-65.
- Smith, M.K.,1957. A Textbook of Plant Virus Diseases. J. and A. Churchill Ltd., 104 Gloucester Place, WI. London, 652.
- Smith, M.K.,1972. A Textbook of Plant Virus Diseases. Academic Press, New York and London, 10-14 p.
- Şahtiyancı, Ş.,1971. Bitki Virüs Hastalıkları Özel Kısım (Klinowski. M., 1958'den tercüme) Matbaa Teknisyenleri Basmevi, İstanbul. 815.
- Van Regenmortel, M.H.V. L. Pinck, 1981. "Alfalfa Mosaic Virus" Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis, part II. Elsevier/ Nort Holland Biomedical Press. Amsterdam, 943.