

The Effects of Various Inactivation Treatments on Seed Germination Characteristics in Vegetable Seeds Infected with the Viruses

Ismail Can PAYLAN, Semih ERKAN, Nedim ÇETINKAYA, Müge ERGUN, Ayşe CANDAR

Ege University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, 35100 Bornova, Izmir, Turkey

Accepted by April, 24 2013

ABSTRACT

The effects of different virus inactivation methods on seed germination properties were investigated in the present study. Certain inactivation treatments applied to essential vegetable seed such as tomato, pepper, melon, squash, bean and lettuce which are important for seed production in Turkey. For the study, 8 different seed samples infected by *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Soybean mosaic virus* (SMV) and *Lettuce mosaic virus* (LMV) were exposed to virus-inactivation treatments such as chemicals, dry heat, ozone, heat water and UV. As a result of treatments in question, the germination tests were applied to seed samples and the obtained data were assessed statistically. Germination powers (%) and average germination periods (day) of seeds in our work were considered for the criteria of assessments. According to test results, other seed treatments except from HCl and ozone, reduced the germination power of vegetable seeds generally. On the other hand, germination power in HCl and ozone treatments found at the similar levels with control values. The heat water treatments (65 °C) reduced the germination power of seeds from 94% to 34%. Consequently, HCl and ozone treatments did not have any negative effects on germination values where these treatments were also successful in elimination of viral agents.

Keywords: Vegetable, seed, virus inactivation treatments, seed germination.

GİRİŞ

Bitkisel üretimde tohumun rolü ve tohumluğun ticari bir nitelik kazanması kalite unsurunu ön plana çıkarmış ve bunun sonucunda da ulusal ve uluslararası bazda yeni yapılanmalara gidilmiştir. Bu değişimin ilk sonucu üretilen tohumluk miktarındaki artış ve bunun dikkati çeken diğer yönü ise sağlanan parasal değerde yükseliş olmasıdır. Bazı tahminlere göre dünya ölçeğinde günümüzde yılda 127-128 milyon ton tohumluk kullanılmaktadır. Bu üretimin parasal değeri yaklaşık 50 milyar \$'dır. Bunun da yaklaşık 30 milyar \$'lık bölümünü ticari tohumluk oluşturmaktadır. Ticari tohumluk üretimi içinde ilk sırayı ABD yaklaşık 5,7 milyar \$ ile almakta onu 4,9 milyar \$ toplam değerle diğer AB ülkeleri izlemektedir. Ülkemiz ise tahmini 170 milyon \$ olan bir değerle oldukça gerilerde yer almaktadır. Türkiye 20-25 milyon \$'lık tohum ihracatı ve 40-45 milyon \$'lık tohum ithalatı değerlerine sahiptir (Açıkgöz vd.,1997).

Kültür bitkilerinin yetiştirilmesinde tohumun niteliği diğer girdilerin potansiyellerini gerçekleştirebilmeleri üzerinde etkili olmaktadır. Tohumlarda kalite ve verim gibi özelliklerin yanında sağlık durumu da önem taşıyan bir konudur. Tohumlar bünyelerinde bulundukları hastalık etmenlerinden zarar görebildikleri gibi, bu patojenlerin yayılmalarında ve taşınmalarında aracılık görevi de yapabilmektedirler. Kültür bitkilerinin üretiminde nicel ve nitel biçimde ürün kayıplarına neden olan faktörler arasında viral kaynaklı etmenlerin ayrı bir önemi vardır. Bu etmenlere karşı diğer patojen gruplarının önlenmesi için sıkça başvurulan kimyasal savaş yönteminin uygulanamaması ve diğer kontrol yöntemlerinin de üretici tarafından yeterli düzeyde bilinmeyişi virüslerden kaynaklanan kayıpların

THE EFFECTS OF VARIOUS INACTIVATION TREATMENTS ON SEED GERMINATION
CHARACTERISTICS IN VEGETABLE SEEDS INFECTED WITH THE VIRUSES

artmasına neden olmaktadır. Viral kökenli etmenlerin önemli taşınma ve bulaşma yollarından biride tohumdur. Bitki virüslerinin belirlenen taksonomik gruplarının 28'nin 21'inde tohumla taşınmagerçekleşmektedir. Tüm bitki virüslerinin % 18'i tohumla taşınabilmektedir (Antignus, 1999). Özellikle dar konukçu dizisine sahip virüsler için tohumla taşınma yaşamı devam ettirme ve mevsimler arası geçişte bir araç olarak düşünülmektedir. Tohumla taşınma, viral hastalıkların böcek vektörler ile yayılabilmesi için ilk enfeksiyon kaynağını oluşturmaları açısından da önemlidir. Tohumla taşınan viral etmenler ticari yolla uzun mesafelere ulaşabildiği gibi, tohumun doğal özelliği nedeni ile kısa mesafelere de taşınabilmektedir (Erkan, 1998). Tohumla taşınan bazı virüslerin neden oldukları ürün kayıplarına ait örnekler Çizelge 1 'de görülmektedir.

Çizelge 1. Tohumla taşınan virüslerin neden oldukları ürün kayıpları (%)

Virüs Adı	Ürün	% Ürün Kayıp Oranı
<i>Bean common mosaic potyvirus</i>	Fasulye	35-98 ^a
<i>Broad bean stain comovirus</i>	Mercimek	14-61 ^b
<i>Cucumber mosaic cucumovirus</i>	Acı bakla	25-42 ^c
<i>Lettuce mosaic potyvirus</i>	Marul	≤30 ^a
<i>Pea seed-borne mosaic potyvirus</i>	Bezelye	11-36 ^d
<i>Soybean mosaic potyvirus</i>	Soya Fasülyesi	48-99 ^e
<i>Tomato mosaic tobamovirus</i>	Domates	5-50 ^f
<i>Tobacco mosaic tobamovirus</i>	Domates	≤94 ^f
<i>Zucchini yellow mosaic potyvirus</i>	Kabakgil	0-99 ^a

Kaynaklar: ^aShukla et al. (1994), Richardson, 1990; ^bMakkouk and Kumari (1990); ^cBwye et al. (1994); ^dKhetarpal and Maury (1987); ^eTu (1989); ^fWalkey (1991);

Sebze tohumlarının kalite ve kantitesini bu denli etkileyen tohum kaynaklı virüslerin mücadelesi de oldukça önem taşıyan konu haline almıştır. Bu nedenle de, sebze tohumlarındaki viral etmenlerin inaktifleştirilmesi konusunda önceki yıllarda dünyada ve ülkemizde bazı kimyasal maddeler, sıcak su ve sıcak hava uygulaması, ozon uygulaması ve depolama gibi çeşitli uygulamalar gerçekleştirilmiştir (John and Sova, 1955; Taylor et al., 1961; Gooding and Suggs, 1976; Erkan, 1983; Yorgancı vd., 1993; Değirmenci vd., 2009). Bahsedilen çalışmaların bazılarında önemli başarılar elde edilmiş, bazıları ise başarısız olmuştur. İnaktifleştirme uygulamalarında başarılı olursa dahi en önemli konu tohumun çimlenme gücünün korunmasıdır. Zira, genelde virüsün inaktif duruma gelmesine neden olan uygulamalar aynı zamanda tohumun canlılığını da azaltmaktadır (Erkan, 1998).

Bu çalışmada, sebze tohumlarında belirlenen viral etmenlerin elemine edilmesi amacıyla tohum örneklerine çeşitli kimyasal maddeler ve bazı inaktifleştirme yöntemleri uygulanmıştır. Ayrıca, bahsedilen uygulamaların tohumun çimlenmesine etkileri araştırılmıştır. Sonuçta; ülkemiz sebze üretiminde sağlıklı tohum kullanmak ve sağlıklı bitki yetiştirmek amacına hizmet etmek için gerçekleştirilecek sonraki çalışmalara basamak oluşturacak önemli bulgular elde edilmiştir.

MATERYAL VE METOD

Virüs İnaktifleştirme Çalışmaları ve Çimlendirme Testlerinde Kullanılan Tohum Örnekleri

Gerçekleştirilen DAS-ELISA ve RT-PCR testlerinde enfeksiyon düzeyi diğerlerine oranla daha yüksek olarak saptanan örneklerden tesadüf ilkesi dikkate alınarak, her uygulama için tohum örnekleri seçilmiş ve virüs ile enfekteli tohum örnekleri inaktifleştirme uygulamalarının materyalini oluşturmuştur. Virüs inaktifleştirme uygulamalarında kullanılan tohum örnekleri ayrıca, yapılan değişik uygulamaların tohumların çimlenme güçlerine olan etkilerini araştırmak için yürütülen çimlenme testlerinin de materyalini oluşturmuştur.

Tanılanan Viral Etmenlerin İnaktifleştirilmeleri

Tohumlardaki virüsleri inaktifleştirme işlemleri yapılacak olan virüslü tohum örnekleri, inaktifleştirme uygulamaları belirlenmiş ve virüslerle enfekteli olan tohum örneklerinde bu uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Daha

önceden DAS-ELISA ve RT-PCR testleri ile virüs(ler)le enfekteli oldukları belirlenen tohum örnekleri, inaktifleştirme uygulamalarından önce kontrol amaçlı olarak DAS-ELISA yöntemi ile tekrar testlenmiştir.

Virüs(ler) ile enfekteli tohum örneklerine yapılacak olan inaktifleştirme uygulamaları için değişik virüsler ile enfekteli olan 8 farklı tohum örneği seçilmiştir. Bunlar arasında;

- ToMV ve TMV ile enfekteli domates tohum örnekleri,
- TMV ve CMV ile enfekteli biber tohum örnekleri,
- CMV ile enfekteli kavun tohum örnekleri,
- CMV ile enfekteli kabak tohum örnekleri,
- SMV ile enfekteli fasulye tohum örnekleri ve
- LMV ile enfekteli marul tohum örnekleri bulunmaktadır.

Viral etmenlerin inaktifleştirilmesi uygulamaları 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, yüksek enfeksiyon düzeyine sahip oldukları belirlenmiş olan tohum örneklerinden tesadüf ilkesi dikkate alınarak, her uygulama için 600 tohum seçilmiştir. Bu tohumlar tülbenet bezi içerisine konularak ağızları lastikle kapatılmıştır. Daha sonra, hazırlanmış olan bu tohumlar 1000 ml'lik beherler içerisine belirlenen sürelerde daldırılmıştır. HCl uygulamasından sonra, tohumlar bir kap içerisinde su ile 30 dakika yıkanmıştır. Ozon uygulamalarında özel delikli kaplara konulan tohumlar belirtilen sürelerde ozon tanklarına daldırılmıştır. Kuru sıcaklık ve UV uygulamaları tohumlara direkt olarak gerçekleştirilmiştir. Sıcak su uygulaması ise ozon uygulamalarında olduğu gibi özel delikli kaplar içinde sıcak su banyosuna daldırılarak gerçekleştirilmiştir. Sıcak hava uygulamaları da etüv içerisinde kontrollü olarak belirli sıcaklık, süre ve nemde gerçekleştirilmiştir. Tohumlarda belirlenen viral etmenleri inaktifleştirmek amacı ile yapılmış olan uygulamalar Çizelge 2'de görülmektedir.

Çizelge 2. Bazı Sebze Tohumu Örneklerinde Bulunan Viral Etmenlerin İnaktifleştirilmeleri İçin Yapılmış Olan Uygulamalar

Uygulama	Uygulama Oranı / Sıcaklık Derecesi	Uygulama Süresi
Asetik asit (CH ₃ -COOH)	% 0.8	20 dakika
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	% 4	20 dakika
Hidroklorik asit (HCl)	% 2	30 dakika – 30 dakika su ile yıkama
Kuru sıcaklık	80 °C (%30-40 nem)	1 gün
Ozon (O ₃)	5g/m ³	60 dakika
Ozon (O ₃)	10g/m ³	3 dakika
Ozon (O ₃)	10g/m ³	10 dakika
Sıcak su	65 °C	25 dakika
Sodyum Hipoklorit (NaOCl)	% 0.4	30 dakika
Triton X 100	% 10	20 dakika
UV	305 nm	10 dakika

Çimlenme Testleri

Virüslerle enfekteli olan tohum örneklerine gerçekleştirilen inaktifleştirme uygulamalarının, bazı sebze tohumlarındaki çimlenme güçlerine olan etkilerini araştırmak için bu tohumlara çimlenme testleri uygulanmıştır. Çimlenme testleri 12-15 cm petri kaplarında 25'er adet tohum kullanılarak 4 tekerrürlü olarak çift katlı kurutma kağıtları arasında yapılmıştır. Radikula 2 mm uzunluğuna ulaştığında tohumlar çimlenmiş olarak sayılmıştır ve çimlenen tohumlar ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Her gün sayım yapılmış ve 3 gün aynı değer kaydedilince deneme sonlandırılmıştır. Bu denemelerde çimlenme gücü, standart ISTA çimlenme koşulları (24-28 °C, nemli ortam ve 14 günlük gözlem) ile tespit edilmiştir. (Anderson, 1987; Duman ve Eşiyok, 1998; ISTA, 2007).

İstatistik Analizler

Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen inaktifleştirme uygulamalarının ardından virüslerle enfekteli tohumlardaki çimlenme testleri ve çimlenme süreleri dikkate alınarak SPSS 15.0 İstatistik Programında Duncan

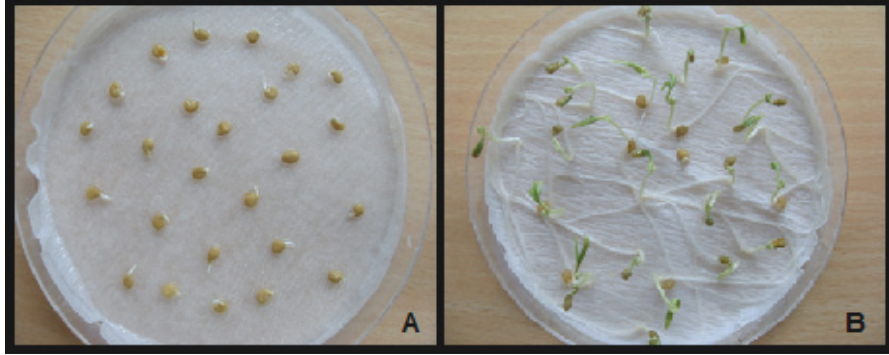
THE EFFECTS OF VARIOUS INACTIVATION TREATMENTS ON SEED GERMINATION
CHARACTERISTICS IN VEGETABLE SEEDS INFECTED WITH THE VIRUSES

çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve yapılan uygulamalar arasındaki farklar ortaya konulmuştur. (Karman, 1971; Durmuşoğlu, 2010; Knezevic et al., 2007).

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Viral etmenler ile enfekteli olan tohum örneklerine yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri için değişik virüsler ile enfekteli olan 8 farklı tohum örneği seçilmiştir. Seçim sırasında tohum örneklerindeki virüsler ve bulunma durumları dikkate alınmıştır. Buna göre; inaktifleştirme çalışmaları ve çimlendirme testleri ToMV ve TMV ile enfekteli olan domates, TMV ve CMV ile enfekteli olarak belirlenen biber, CMV ile enfekteli bulunan kavun ve kabak, SMV ile enfekteli olan fasulye ve LMV enfeksiyonu belirlenen marul tohum örnekleri ile yürütülmüş ve elde edilen bulgular Çizelge 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10'da gösterilmiştir.

ToMV ile enfekteli domates tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme çalışmaları ve çimlenme testlerinin sonuçlarına göre sıcak su uygulaması çimlenme gücünü kontrol değeri olan %99'dan %36'ya indirirken, ortalama çimlenme zamanını da 5,14 günden 7,81 güne çıkartmıştır. Sıcak su uygulaması dışındaki diğer inaktifleştirme uygulamalarının çimlenme değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı istatistiki olarak belirlenmiştir. İnaktifleştirme uygulamalarının ardından belirlenen çimlenme gücü değerleri; HCl için %90, Ozon (60 dk. 5g/m³) için %96, Ozon (10 dk. 10 g/m³) için %96, UV için %93, Triton için %94, H₂O₂ için %93, Ozon (3 dk. 10g/m³) için %95, NaClO için %94, CH₃COOH için %89, Etüv (80°C 24saat) için %86 ve kontrol için %99 olarak belirlenmiştir. Ortalama çimlenme zamanı değerlerinin sıcak su uygulaması dışındaki uygulamalar için 5.23 ile 6.28 gün arasında değişmekte olduğu saptanmıştır. ToMV enfekteli domates tohumlarına uygulanan inaktifleştirme çalışmalarına ve çimlenme testlerine ait bulgular Çizelge 3'de, uygulamaya ait resimler ise Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. Domates tohumlarına uygulanan çimlenme testleri sonuçları, (A) ToMV ile enfekteli domates tohumlarında gerçekleştirilen çimlenme testlerine (kontrol) ait görünümü, (B) Ozon (3 dk. 10g/m³) uygulaması yapılmış olan ToMV ile enfekteli domates tohumlarında gerçekleştirilen çimlenme testlerine ait görünüm.

Çizelge 3. ToMV ile enfekteli domates tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
HCl	90 c-e*	5,23 a
Sıcak Su (65 °C)	36 f	7,81 c
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	96 ab	5,50 ab
Ozon (10 dk. 10g/m ³)	96 ab	5,88 ab
UV	93 b-d	5,61 ab
Triton	94 a-d	6,28 b
H ₂ O ₂	93 b-d	5,75 ab
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	95 a-c	5,75 ab
NaClO	94 a-d	5,67 ab
CH ₃ COOH	89 de	5,35 ab
Etüv (80°C 24saat)	86 e	5,61 ab
Kontrol	99 a	5,14 a

* Farklı harfler farklı istatistiki grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

TMV ile enfekteli domates tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme ve çimlenme testleri çalışmalarından elde edilen bulgulara göre çimlenme gücü değerleri; HCl için %89, ozon (10 dk. 10 g/m³) için %92, sıcak su (65°C) için %36, ozon (60 dk. 5g/m³) için %91, ozon (3 dk. 10g/m³) için %92, CH₃COOH için %86, Triton için %92, NaClO için %90, etüv (80°C 24 saat) için %86, H₂O₂ için %93, UV için %88 ve kontrol için %95 olarak belirlenirken, ortalama çimlenme zamanı verileri 4.93 ile 8.83 gün arasında değişmektedir. TMV enfekteli domates tohumlarına uygulanan inaktifleştirme çalışmalarına ve çimlenme testlerine ait bulgular Çizelge 4’de verilmiştir.

Çizelge 4. TMV ile enfekteli domates tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
HCl	89 a-c*	5,34 a
Ozon (10 dk. 10 g/m ³)	92 a-c	5,26 a
Sıcak Su (65 °C)	36 d	8,83 c
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	91 a-c	5,25 a
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	92 a-c	5,36 a
CH ₃ COOH	86 c	5,21 a
Triton	92 a-c	5,41 a
NaClO	90 a-c	4,93 a
Etüv (80°C 24saat)	86 c	5,43 a
H ₂ O ₂	93 ab	5,22 a
UV	88 bc	7,05 b
Kontrol	95 a	4,97 a

* Farklı harfler farklı istatistikî grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

TMV ile enfekteli biber tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme ve çimlenme testleri çalışmalarından elde edilen bulgulara göre çimlenme gücü değerleri; ozon (10 dk. 10 g/m³) için %91, ozon (3 dk. 10g/m³) için %90, ozon (60 dk. 5g/m³) için %91, NaClO için %90, Triton için %86, etüv (80 °C 24saat) için %66, HCl için %80, H₂O₂ için %82, sıcak su (65°C) için %30, CH₃COOH için %78, UV için %74 ve kontrol için %95 olarak belirlenirken, ortalama çimlenme zamanı verileri 9.13 ile 11.12 gün arasında değişmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. TMV ile enfekteli biber tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
Ozon (10 dk. 10 g/m ³)	91 ab*	9,42 bc
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	90 ab	9,85 bc
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	91 ab	9,64 bc
NaClO	90 ab	9,36 bc
Triton	86 bc	9,87 bc
Etüv (80°C 24saat)	66 f	10,01 c
HCl	80 c-e	10,83 d
H ₂ O ₂	82 cd	9,78 bc
Sıcak Su (65 °C)	30 g	11,12 d
CH ₃ COOH	78 de	10,04 c
UV	74 e	9,13 ab
Kontrol	95 a	8,46 a

* Farklı harfler farklı istatistikî grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

CMV ile enfekteli biber tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme ve çimlenme testleri çalışmalarından elde edilen bulgulara göre sıcak su (65°C) uygulamasının çimlenme gücünü %29’a indirdiği görülürken çimlenme

THE EFFECTS OF VARIOUS INACTIVATION TREATMENTS ON SEED GERMINATION CHARACTERISTICS IN VEGETABLE SEEDS INFECTED WITH THE VIRUSES

değerleri diğer uygulamalar için %70 ile %92 arasında değişen oranlarda veriler oluşturmuştur. Ortalama çimlenme zamanları sıcak su (65°C) uygulaması için 12,68 gün, HCl uygulaması için 10,66 gün, Ozon (10 dk. 10 g/m³) uygulaması için 9,95 gün, CH₃COOH uygulaması için 10,12 gün, Ozon (60 dk. 5g/m³) uygulaması için 10,65 gün, Ozon (3 dk. 10g/m³) uygulaması için 10,37 gün, NaClO uygulaması için 9,50 gün, Triton uygulaması için 9,84 gün, Etüv (80°C 24 saat) uygulaması için 10,40 gün, UV uygulaması için 9,83 gün, H₂O₂ uygulaması için 10,16 gün ve kontrol için 8,81 gün olarak belirlenmiştir. Belirtilen uygulamalara ait veriler Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. CMV ile enfekteli biber tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
Sıcak Su (65 °C)	29 f*	12,68 d
HCl	82 bc	10,66 c
Ozon (10 dk. 10 g/m ³)	88 a-c	9,95 bc
CH ₃ COOH	80 cd	10,12 bc
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	87 a-c	10,53 c
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	90 ab	10,37 bc
NaClO	87 a-c	9,50 ab
Triton	83 bc	9,84 bc
Etüv (80°C 24saat)	70 e	10,40 bc
UV	74 de	9,83 bc
H ₂ O ₂	82 bc	10,16 bc
Kontrol	92 a	8,81 a

* Farklı harfler farklı istatistikî grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

CMV ile enfekteli kavun tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme ve çimlenme testleri çalışmalarından elde edilen bulgulara göre inaktifleştirme uygulamalarının ardından çimlenme gücü değerleri; sıcak su (65°C) için %62, HCl için %99, Ozon (10 dk., 10 g/m³) için %98, Ozon (60 dk., 5g/m³) için %99, CH₃COOH için %100, Ozon (3 dk., 10g/m³) için %96, Triton için %80, etüv (80°C, 24saat) için %92, H₂O₂ için %92, UV için %94, NaClO için %96 ve kontrol için %100 olarak belirlenirken ortalama çimlenme zamanı verileri 3,92 ile 5,58 gün arasında değişmiştir (Çizelge 7).

Çizelge 7. CMV ile enfekteli kavun tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
Sıcak Su (65 °C)	62 d*	5,58 e
HCl	99 a	3,92 ab
Ozon (10 dk. 10 g/m ³)	98 ab	4,08 a-c
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	99 a	4,09 bc
CH ₃ COOH	100 a	3,92 ab
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	96 ab	4,15 c
Triton	80 c	5,01 d
Etüv (80°C 24saat)	92 b	3,94 ab
H ₂ O ₂	92 b	3,92 ab
UV	94 ab	4,17 c
NaClO	96 ab	3,92 ab
Kontrol	100 a	3,88 a

* Farklı harfler farklı istatistikî grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

CMV ile enfekteli kabak tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme uygulamalarının ardından çimlenme gücü değerleri; HCl için %82, sıcak su (65°C) için %24, Triton için %69, Ozon (10 dk., 10 g/m³) için %89, Ozon (3 dk., 10g/m³) için %89, UV için %83, NaClO için %80, Ozon (60 dk., 5g/m³) için %89, H₂O₂ için %88,

CH₃COOH için %86 ve kontrol için %90 olarak belirlenirken ortalama çimlenme zamanı verilerinin 3,91 ile 5,36 gün arasında değişmekte olduğu yapılan denemeler sonucunda belirlenmiştir. CMV enfekteli kabak tohumlarına uygulanan inaktifleştirme çalışmalarına ve çimlenme testlerine ait bulgular Çizelge 8'de verilmiştir.

Çizelge 8. CMV ile enfekteli kabak tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
HCl	82 bc*	3,91 a
Sıcak Su (65 °C)	24 e	5,36 d
Triton	69 d	4,81 c
Ozon (10 dk. 10 g/m ³)	89 ab	4,26 b
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	89 ab	4,38 b
UV	83 a-c	4,30 b
Etüv (80°C 24saat)	80 c	4,07 ab
NaClO	80 c	4,29 b
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	89 ab	4,31 b
H ₂ O ₂	88 ab	4,32 b
CH ₃ COOH	86 a-c	3,92 a
Kontrol	90 a	3,90 a

* Farklı harfler farklı istatistikî grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

SMV ile enfekteli fasulye tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme uygulamalarının ardından çimlenme gücü değerleri; HCl için %66, Ozon (60 dk. 5g/m³) için %83, Ozon (10 dk., 10 g/m³) için %83, etüv (80°C 24saat) için %69, Ozon (3 dk., 10g/m³) için %86, sıcak su (65°C) için %33, Triton için %73, UV için %68, NaClO için %81, H₂O₂ için %72, CH₃COOH için %59 ve kontrol için %86 olarak belirlenirken, ortalama çimlenme zamanı verileri 7,50 ile 8,82 gün arasında değişmiştir (Çizelge 9).

Çizelge 9. SMV ile enfekteli fasulye tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
HCl	66 bc*	8,17 c-e
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	83 a	7,69 a-c
Ozon (10 dk. 10 g/m ³)	83 a	8,07 cd
Etüv (80°C 24saat)	69 b	7,95 b-d
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	86 a	8,06 cd
Sıcak Su (65 °C)	33 d	8,82 f
Triton	73 b	8,38 d-f
UV	68 b	8,58 ef
NaClO	81 a	7,50 ab
H ₂ O ₂	72 b	8,28 de
CH ₃ COOH	59 c	8,06 cd
Kontrol	86 a	7,22 a

* Farklı harfler farklı istatistikî grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

LMV ile enfekteli olan marul tohumlarına gerçekleştirilen inaktifleştirme çalışmaları ardından yapılan çimlenme testleri sonucunda sıcak su uygulamalarının marul tohumlarındaki çimlenme gücünü %0'a indirdiği saptanmıştır. Diğer uygulamaların çimlenme gücü değerleri; Triton için %89,5, CH₃COOH için %84, Ozon (10 dk. 10 g/m³) için %89,5, Ozon (3 dk., 10g/m³) için %91, Ozon (60 dk., 5g/m³) için %90, H₂O₂ için %84, Etüv (80°C 24

THE EFFECTS OF VARIOUS INACTIVATION TREATMENTS ON SEED GERMINATION CHARACTERISTICS IN VEGETABLE SEEDS INFECTED WITH THE VIRUSES

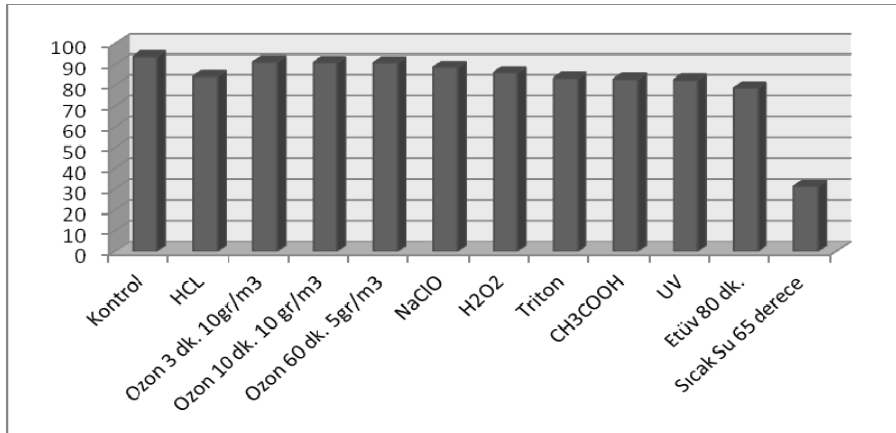
saat) için %80, HCl için %84.5, UV için %85, NaClO için %90 ve kontrol için %92.5 olarak belirlenirken ortalama çimlenme zamanı verileri 4,08 ile 4,78 gün arasında değişmektedir (Çizelge 10).

Çizelge 10. LMV ile enfekteli marul tohumlarına yapılan inaktifleştirme uygulamaları ve çimlenme testleri sonuçları

Uygulama	Çimlenme Gücü (%)	Ortalama Çimlenme Zamanı (gün)
Triton	89,5 a*	4,53 de
CH ₃ COOH	84,0 b	4,08 ab
Ozon (10 dk. 10 g/m ³)	89,5 a	4,33 b-d
Ozon (3 dk. 10g/m ³)	91,0 a	4,24 a-d
Ozon (60 dk. 5g/m ³)	90,0 a	4,53 de
Sıcak Su (65 °C)	0,0 d	0,00 ---
H ₂ O ₂	84,0 b	4,41 cd
Etüv (80°C 24saat)	80,0 c	4,78 e
HCl	84,5 b	4,11 ab
UV	85,0 b	4,14 a-c
NaClO	90,0 a	4,44 d
Kontrol	92,5 a	4,03 a

* Farklı harfler farklı istatistiki grupları ifade etmektedir (Duncan, p ≤ 0,05).

Sonuç olarak, inaktifleştirme uygulamalarının genel olarak çimlenme güçleri üzerine olan etkisine baktığımız zaman, sıcak su uygulaması dışındaki uygulamaların çoğunlukla kontrol değerlerine yakın değerlerde olduğu görülmüş ve önemli derecede olumsuz etkilerinin olmadığı kanısına varılmıştır. Sıcak su (65°C) uygulamalarının ise hemen hemen tüm bitki türleri ve virüslerle yapılan çalışmalarda çimlenme değerleri üzerinde olumsuz etkileri olmuştur. Sıcak su uygulamaları çimlenme gücünü ortalama %94'ten %31 gibi düşük rakamlara indirmiştir (Şekil 2). Daha önce yürütülen çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir, Değirmenci vd. (2009) 50°C ve 65°C'lik termoterapi uygulamalarının mısır tohumlarında *Maize dwarf mosaic potyvirus* (MDMV) etmeninin konsantrasyonunu azalttığını, ancak çimlenme zamanı üzerinde olumsuz etkileri olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 2. İnaktifleştirme uygulamalarının çimlenme güçleri üzerine ortalama % etkileri

Bu veriler ışığında gerek viral konsantrasyon üzerine etkileri, gerekse çimlenme özellikleri üzerine herhangi bir olumsuz etkileri olmaması nedeniyle, HCl ve ozon uygulamaları viral etmenleri elimine etme amacıyla gerçekleştirilen inaktifleştirme uygulamaları için en etkili ve umutvar uygulamalar olarak göze çarpmaktadır. Benzer şekilde diğer bir çalışmada da, HCl uygulamalarının diğer uygulamalara göre daha etkili olduğu ve çimlenme üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı belirtilirken, sıcak su ve CH₃COOH uygulamalarının çimlenme üzerine olumsuz etki ettikleri vurgulanmıştır (Koyuncu, 1993). CGMMV ile yapılan bir çalışmada 75

dakika süre ile 6 g/saat ozon uygulanması ve ToMV ile yapılan başka bir çalışmada ise 20 gr/saat ozonun 60 dakika muamelesi sonucunda etmenlerin tamamen eradike olduğu belirlenmiştir (Runia, 1995). Ozon bitkilerde gösterdiği benzer etkileri mikrobiyal yapılarda da göstermektedir. Fungal patojenleri toprak veya hava kaynaklı olmalarına bakmaksızın öldürdüğü (Yamamoto et al., 1990), bakteriyel membranları etkilediği, enzim yapılarını ve nükleik asit metabolizmasını bozduğu önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Viral etmenlerde ise, modifiye olmasına neden olduğu veya proteininin parçalanabildiği ifade edilmektedir (EPA, 1999). Bitkilere ozon uygulaması ile virüs konsantrasyonları azalmakla birlikte sinyal iletişim mekanizmaları harekete geçirilerek hastalıklara dayanıklılık sağlayan faktörlerin uyarılabildiği de belirtilmektedir (Sandermann, 1996; Schubert et al., 1997). Tüm bu veriler dikkate alınarak, farklı doz ve sürelerde yapılacak yeni çalışmalar ile HCl ve ozon uygulamalarının viral konsantrasyonu azaltma konusundaki başarısının daha da artabileceği düşünülmektedir.

VİRAL ETMENLER İLE ENFEKTELİ SEBZE TOHULARINA YAPILAN DEĞİŞİK İNAKTİFLEŞTİRME UYGULAMALARININ ÇİMLENME ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZET

Ülkemizde tohumluk üretimi açısından önemli olan domates, biber, kavun, kabak, fasulye ve marul tohumlarına uygulanan virüs inaktifleştirme yöntemlerinin tohumların çimlenme özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması bu çalışmanın içeriğini oluşturmaktadır. Araştırma için *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Soybean mosaic virus* (SMV) ve *Lettuce mosaic virus* (LMV) ile enfekteli 8 tohum örneğine kimyasal, kuru sıcaklık, ozon, sıcak su ve UV gibi virüs inaktifleştirme uygulamaları yapılmıştır. Bahsedilen uygulamalar sonucunda tohum örneklerine çimlendirme testleri uygulanmış ve sonuçlar istatistikî olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme için tohumların çimlenme gücü (%) ve ortalama çimlenme süresi (gün) dikkate alınmıştır. Buna göre, HCl ve ozon uygulaması dışındaki uygulamalar çimlenme gücünü oldukça düşürmüştür. Öte yandan, HCl ve ozon uygulamalarında çimlenme gücü kontrole yakın bulunmuştur. Çimlenme gücünü en çok etkileyen yöntem ise sıcak su (65 °C) uygulaması olmuştur. Sıcak su uygulamaları çimlenme gücünü ortalama %94'ten %31 gibi düşük rakamlara indirmiştir. Sonuç olarak, HCl ve ozon uygulamaları viral etmenleri elimine etmedeki başarısının yanısıra çimlenme değerleri üzerine olumsuz etkileri olmaması nedeniyle, en etkili yöntemler olarak saptanmıştır. Bu veriler ışığında, HCl ve ozon uygulamalarının farklı doz ve sürelerde tohumlardaki viral konsantrasyonu azaltma konusundaki etkisinin daha da artabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Sebze, tohum, virüs, virüs inaktifleştirme uygulamaları, çimlenme özellikleri

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, N., H. Saygılı, B. Eser ve F. Savran, 1997. Türkiye’de tohumculuk ve tohumculuk politikaları. E.Ü.Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi, Yayın no; 32 İzmir.
- Anderson, L., 1987. Survey and control of seed borne diseases of tomatoes in Zambia. Sveriges Landbrukuniversitet Arbetsrapport 56, Working Paper Uppsala, 27p.
- Antignus, Y., 1999. Diagnosis and control of vegetable seed-borne viruses. Detection of virus Diseases by Advanced Techniques and Control. Proceedings of the 1th Israeli-Turkish Workshop, 22-29 August, 1999, Adana Turkey.
- Bwey, A.M., R.A.C. Jones, and W. Proudlove, 1994. Effects of sowing seed with different levels of infection, plant density and the growth stage at which plants first develop symptoms on cucumber mosaic virus infection of narrow-leafed lupins (*Lupinus angustifolius*). Australian Journal of Agricultural Research 45: 1395-1412.
- Değirmenci K., B. Akbaş, ve R. Cengiz., 2009. Bazı mısır hatlarına ait tohumlarda *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV)’nün varlığının belirlenmesi ve termoterapi uygulaması ile tohumlardan arındırılması. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi Bildirileri, pp. 203.

THE EFFECTS OF VARIOUS INACTIVATION TREATMENTS ON SEED GERMINATION
CHARACTERISTICS IN VEGETABLE SEEDS INFECTED WITH THE VIRUSES

- Duman, İ. ve D. Eşiyok, 1998. Ekim Öncesi PEG ve KH₂PO₄ uygulamalarının havuç tohumlarının çimlenme ve çıkış oranı ile verim üzerine etkileri, Tübitak, J. of Agriculture and Forestry, 22: 445–449.
- Durmuşoğlu, E.,2010. Entomolojide Deneme Tekniği. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 54s, Basılmamış Lisansüstü Ders Notu.
- EPA,1999. Unites States Environmental Protection Agency. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual of ice of water. EPA 815-R-99-014, April, 1999. http://www.epa.gov/safewater/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf
- Erkan, S.,1983. Vergleichende untersuchungen über die anwendungsmöglichkeiten von milch und Capsicum pressaft zum schultz von tomatenpflanzen gegen tomaten mosaik. J. Turkish Phytopath. 12 (1):27-31.
- Erkan, S.,1998, Tohum Patolojisi. E. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova, İzmir. Gözdem Ofis, 275 s.
- Gooding, G.V.J.R.,and E.G. Suggs, 1976. Seedborne tobacco mosaic virus in commercial sources of tomato seed. Pl. Dis. Rep.60:441-442.
- ISTA, 2007. <http://www.seedtest.org/en/home.html> (Erişim Tarihi: 2007)
- John, C.A.,and C. Sova, 1955. Incidence of Tobacco Mosaic virus on tomato seed. Phytopathology 45: 636-637.
- Karman, M.,1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları, Bölge Zirai Araştırma Enstitüsü, İzmir, Bornova, 280s.
- Khetarpal, R.K.,and Y. Maury, 1987. Pea seed-borne mosaic: a review. Agronomie 7: 215-224.
- Knezevic, S.Z., J.C. Strebıg, andJ.Ritz, 2007. Utilizing R Software Package for dose–response studies: the concept and data analysis. Weed Technology 21: 840–848.
- Koyuncu, H.,1993. Domates (*Lycopersicon esculentum* L.) Tohumlarındaki Viral Etmenlerin Tanılanması ve İnaktifleştirilmesi Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. 86s. Ege Üniv. Fen Bilimleri Ens. Bitki Koruma ABD. Bornova-İzmir.
- Makkouk, K.M.,and S.G. Kumari, 1990. Variability among 19 lentil genotypes in seed transmission rates and yield loss induced by broad bean stain virus infection. LENS Newsletter 17: 31-32.
- Richardson, M.J.,1990. An annotated list of seed borne diseases. The International Seed Testing Association Zurich, Switzerland.
- Runia, W.T.,1994. Disinfection of recirculation water from closed cultivation systems with ozone. Acta Horticulture 36:388-396.
- Sandermann, H.,1996. Ozone and plant health. Annual Review of Phytopathology, 34:347-366.
- Schubert, R., R. Fischer, R. Hain, P.H. Schreer, G. Bahnweg, D.Ernst, and H.Sandermann, 1997. An ozone-responsive region of grapevine resveratrol synthase promoter differs from the basal pathogen-responsive sequence. Plant Molecular Biology 34:417-426.
- Shukla, D.D., C.W. Ward, and A.A. Brunt, 1994. The *Potyviridae*. CAB International, Wallingford, UK.
- Taylor, R.H., R.G. Grogan, and K.A. Kimble, 1961. Transmission of *Tobacco mosaic virus* in tomato seed. Phytopathology 51:837-842.
- Tu, J.C., 1989. Effect of different strains of soybean mosaic virus on growth, maturity, yield, seed mottling and seed transmissionin several soybean cultivars. Journal of Phytopathology 126: 231-236.
- Walkey, D.G.A., 1991. Applied Plant Virology. Great Britain by St Edmundsbury Press, 338 p.
- Yamamoto, H., Treada, T., Naganawa, T. and Tatsuyama, K.,1990.Disinfectious effect ozonation on water infested with several Rppt-infecting pathogens. Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 56: 250-251.
- Yorgancı, Ü., S. Erkan, H. Özaktan, ve B. Eser, 1993. Biber, domates, patlıcan ve hiyar tohumlarında viral ve bakteriyel hastalık etmenlerinin tanılanması ve inaktifleştirilmesi üzerinde araştırmalar. TUBİTAK, Proje No: TOAG-822.