

Edremit Körfez Bölgesi'ndeki Satsuma Owari Mandarinlerinde Yaygın Olan Virüs ve Viroid Hastalıklarının Biyolojik ve Serolojik Yöntemlerle Saptanması¹

S. Önder²

S. Korkmaz³

² Suşehri İlçe Tarım Müdürlüğü, Suşehri - Sivas

³ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Çanakkale

Bu çalışma, Edremit Körfez Bölgesi'nde yer alan Edremit, Havran ve Burhaniye ilçelerindeki turuncgil bahçelerinde 2005 ve 2006 yılları arasında Satsuma Owari mandarinlerinde virüs ve viroid hastalık etmenlerinden Exocortis, Tristeza, Satsuma dwarf ve Psorosis'in varlıklarının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla Edremit Körfez Bölgesi turuncgil üretim alanlarında bir survey çalışması yapılarak belirtilen hastalık etmenlerinin oluşturduğu semptomlara benzer belirtiler oluşturan ağaçlardan örnekler alınmış ve alınan örnekler Exocortis viroidi ve Satsuma dwarf virüs hastalıkları için biyolojik indeksleme, Psorosis için DAS-ELISA ve Tristeza içinse hem DAS-ELISA hem de biyolojik indeksleme yöntemleri uygulanarak test edilmiştir. Yapılan DAS-ELISA testi sonucunda Tristeza için alınan 156 örnekten 38'i pozitif bulunurken, Psorosis için alınan 10 örnekten hiçbirinde pozitif sonuç elde edilememiştir. Yapılan biyolojik indeksleme çalışmalarında ise Exocortis viroidi için alınan 20 örnekten 1'inde hastalık semptomlarına rastlanılırken, Satsuma dwarf için indekslenen 15 örnekte ise herhangi bir semptom gözlenmemiştir. Ayrıca DAS-ELISA testi sonucunda Tristeza için pozitif bulunan örneklerden 6'sı biyolojik indekslemede kullanılmış ve indikatör bitkilerden Meksika laymında damar açılması ve gövde çukurlaşması semptomları gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Satsuma Owari mandarini, Tristeza, DAS-ELISA, biyolojik indeksleme

Determination of Virus and Viroid Diseases on Satsuma Owari Mandarins by Biological and Serological Methods in Edremit Gulf Region

This study was carried out during 2005–2006 in citrus orchards in Edremit Gulf Region (Edremit, Havran and Burhaniye subprovince) to determine prevalence of virus and viroid diseases including Exocortis, Citrus tristeza virus, Satsuma dwarf and Psorosis on Satsuma Owari mandarins. During 2005-2006 in citrus production areas in Edremit Gulf region were surveyed and samples were collected from symptomatic trees. Samples were tested by biological indexing for Exocortis and Satsuma dwarf, DAS-ELISA for Psorosis and DAS-ELISA and biological indexing for Citrus tristeza virus. DAS-ELISA test reveal that while 38 of 156 samples were infected with Citrus tristeza virus, none of the 10 samples tested was positive for Psorosis. Biological indexing showed that 1 of 20 samples tested was infected with Exocortis viroid, however no symptoms were observed from the Satsuma dwarf samples. On the other hand, indexed Citrus tristeza virus isolates induced vein clearing and stem pitting symptoms on Mexican lime plants.

Key Words: Satsuma Owari mandarins, Tristeza, ELISA, biological indexing method

¹ Bu makale yüksek lisans tezinin bir bölümünden alınmıştır.

Giriş

Edremit Körfez Bölge'sinde yer alan Edremit, Havran ve Burhaniye ilçeleri Balıkesir ilinin batısında Ege sahili boyunca uzanan, ekonomisi tarıma ve özellikle de zeytincilik ve turuncgil yetiştiriciliğine dayanan ilçelerdir. Edremit Körfez Bölgesi'nde turuncgil yetiştiriciliği giderek artan bir öneme sahip olup; üreticiler tarımsal alanların değerlendirilmesinde önceliği turuncgil yetiştiriciliğine vermekte ve Satsuma Owari mandarinini kolaylıkla ve yüksek fiyatlarla pazarlayabildiklerini belirtmektedirler (Özdemir, 2006).

Yörede turuncgil yetiştiriciliği kontrolsüz koşullarda yapılmakta ve sertifikalı turuncgil fidanı kullanılmadığı için yetiştirilen turuncgiller, birçok virüs ve viroid hastalıklarının tehdidi altında kalmaktadır. Bölgenin önemli tarım ürünü olan Satsuma Owari mandarinlerinde sorun olan virüs ve viroid hastalıklarının belirlenmesi, şu an ve gelecekte karşılaşılabilecek sorunların önlenmesi açısından büyük bir önem taşımaktadır.

Dünyada turuncgil üretim alanlarında sorun oluşturan 75'den fazla virüs ve viroid hastalığı belirlenmiştir. Ancak bu hastalıklar arasında ülkemizdeki turuncgillerde sorun oluşturan 15 virüs ve viroid hastalığı rapor edilmiştir (Çınar ve ark. 1993). Ülkemizdeki turuncgillerde sorun oluşturan virüs ve viroid hastalıkları arasında Tristeza, Exocortis, Satsuma dwarf ve Psorosis grubu hastalıkları, diğer virüs ve viroid hastalıklarına oranla daha yaygın olarak görülmekte ve önemli kayıplara neden olmaktadır.

Turuncgil Exocortis viroid hastalığının (*Citrus exocortis* viroid=CEVd) Türkiye'de varlığı ilk olarak Norman (1963), tarafından bildirilmiştir. Çınar ve ark. (1993), Çukurova bölgesinde yaptıkları survey çalışmasında, Navel portakal ve mandarin ağaçlarının genelde CEVd'i ile bulaşık olduğunu belirtmişlerdir. Hastalığın belirtileri daha çok *Poncirus trifoliata* (L.) anacı üzerine aşılı turuncgil türlerinde yaprak buruşukluğu (yaprak orta damarından büzülme), bitkide bodurlaşma ve anaç kısmında kabuk pullanması şeklinde görülmektedir.

Turuncgillerde sorun oluşturan virüs hastalıkları içerisinde son 60 yılın en önemli hastalığı ise Turuncgil tristeza virüsüdür (*Citrus*

tristeza virus=CTV). (Bar-Joseph ve ark., 1989). Etmen, üretim materyali ve vektörlerle taşındığı için dünyada turuncgil yetiştiriciliği yapılan alanların tümünde sorun oluşturan bir hastalık olma özelliğine sahiptir. CTV'nin ülkemizde de bulunduğu ilk kez Norman (1963) tarafından bildirilmiştir. CTV'ye duyarlı turuncgillerde anaç kalem birleşimleri üzerindeki belirtiler bodurluk, yaprak dökümü, büyümede duraklama, geriye doğru yavaş yavaş ölüm, ani solgunluk ve şiddetli streynlerinin neden olduğu infeksiyonlarda, infeksiyonu takiben 2-3 ay içinde ağaç ölümü şeklinde ortaya çıkmaktadır.

Turuncgillerde sıklıkla görülen bir diğer virüs hastalığı ise Turuncgil psorosis virüsüdür (*Citrus psorosis* virus=CPsV). Psorosis turuncgillerin aşı ile taşınan hastalıkları arasında yer almakta olup dünya genelinde yaygın olarak görülmekte (Roistacher, 1991;1993) ve ülkemizde de uzun süredir bilinmektedir (Çınar ve ark. 1993). Hastalığın en sık olarak görülen karakteristik belirtileri arasında yetişkin ağaçlarda kabuk kavlaması ve iç odun doku ile sürgünlerde lekelenmeler yer almaktadır. Genç yapraklar üzerinde oluşan klorotik lekeler zaman zaman ilkbaharda oluşan taze sürgünler üzerinde ortaya çıkmaktadır. CPsV çok seyrek olarak bulaşık olduğu ağaçların ölümüne neden olur; fakat bazı streynler ağaçlarda zayıf yaprak gelişimi, ince dalların geriye doğru ölümü, büyümede duraklama, düşük verim ve meyvelerin küçük kalması gibi belirtilerinde ortaya çıkmasına neden olurlar (Roistacher, 1993). Satsuma mandarinlerinde sorun oluşturan bir diğer virüs hastalığı ise Satsuma dwarf virüsüdür (Satsuma dwarf virus=SDV). Hastalık ilk olarak Japonya'da Yamada ve Tanaka (1968) tarafından rapor edilmiştir. Ülkemizde ise ilk defa Azeri (1973) tarafından bildirilmiştir. SDV, infekte ettiği mandarin ağaçlarında kayık ve kaşık şekilli yaprak oluşumuna, yaprak buruşukluğuna, boğum aralarının kısalmasına, ayrıca ince dal ve sürgünlerin çalı süpürgesi şeklini alıp yaprakların aşağıya doğru kıvrılmasına neden olmaktadır (Tanaka, 1968).

Bu çalışmada; 2005–2006 yılları arasında Edremit Körfez Bölgesi'nde yetiştirilen Satsuma Owari mandarinlerinde yaygın olan virüs ve viroid hastalıklardan CTV, CEVd, CPsV ve SDV'nin varlığının belirlenmesi

amacıyla bir survey çalışması yürütülmüştür. Survey çalışması sonucunda, belirtilen hastalıkların semptomlarına benzer semptom gösteren ağaçlardan örnekler alınmış, alınan örnekler biyolojik indeksleme ve/veya serolojik bir yöntem olan DAS-ELISA testi uygulanarak hastalıkların bölgedeki yoğunluğu belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Survey çalışması: Survey çalışması 2005–2006 yıllarında Edremit Körfez Bölgesi'nde yer alan Edremit, Havran ve Burhaniye ilçelerinde bulunan Satsuma Owari mandarin bahçelerinde yürütülmüştür. Survey çalışmasında bahçe büyüklüğü en az 10 dekar ve üzeri olan bahçeler seçilmiştir. Ayrıca turuncgillerde virüs ve viroid hastalıklarının oluşturduğu semptomlar genellikle ağaçlar 8–10 yaşına ulaştıktan sonra ortaya çıktığından dolayı survey çalışmalarında büyüklükleri 10 yaş ve bunun üzerinde olan bahçeler seçilmiştir. Survey yöntemi Gottwald (1995)'in belirttiği sistematik W örnekleme yöntemine göre yapılmıştır. Bahçenin bir ucundan çaprazlama girilerek bahçenin diğer ucuna kadar gidilmiş ve aynı yöntemle tekrar bahçenin öbür ucuna çıkılmıştır. Bu şekilde bahçenin sonuna kadar W şeklinde örnekleme yapılmıştır. Bu şekilde bahçede bulunan toplam bitkilerin ortalama % 6 ile 8'inde gözlem yapılmıştır.

Yapılan survey çalışması sırasında Edremit ilçesi Merkez, Çıkrıkçı, Kumluklar, Kuruçay ve Soğuk Tulumba mevkiilerinde bulunan 48 bahçede, 1340 da alanda yer alan 1920, Havran ilçesi Merkez ve Kumbağlar mevkiilerinde bulunan 11 bahçede, 290 da alanda yer alan 440 ve Burhaniye Merkez'de bulunan 20 da alana sahip 1 bahçedeki 40 Satsuma Owari mandarin ağacı; toplamda ise 60 bahçede, 1650 da alanda bulunan 2400 Satsuma Owari mandarin ağacı belirtilen hastalıklar bakımından survey çalışması kapsamında semptomolojik olarak incelenmiştir.

Survey çalışması sonucu DAS-ELISA testi ve Biyolojik indeksleme çalışmaları için alınan tüm örnekler polietilen torba içine konularak, etiketlenip buz kabı içerisinde laboratuara getirilmiş ve +4°C'de saklanmış ve test ve indeksleme işlemleri en geç 1 hafta içinde tamamlanmıştır.

DAS-ELISA testi: CTV ve CPsV hastalıklarının serolojik bir yöntem olan DAS-

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) testi ile tanılanmasında CTV için Bioreba (İsviçre) ve CPsV için Agrigest (İtalya) firmasından sağlanan kit ve kimyasallar kullanılmıştır. DAS-ELISA, Clark ve Adams (1977)'in belirttiği yöntem temel alınarak yapılmıştır. Yöntemin uygulanmasında önce plate virüse spesifik antipadi ile kaplanmış, ikinci adımda ise örnekler eklenmiştir. Üçüncü adımda konjugat ilave edilmiş ve son adımda ise substrat (p-nitrophenol phosphate) eklenerek 405 nm dalga boyunda Medispec ESR 200 ELISA plate okuyucusunda sonuçlar değerlendirilmiştir. Antipadi ve konjugat firmaların önerileri doğrultusunda fosfat tampon çözeltisi (PBS) içinde 1:1000 oranında sulandırılarak, örnekler ise örnek tampon çözeltisi içerisinde 1:16 oranında sulandırılarak kullanılmıştır. Her bir aşamada plate üçer defa PBS-Tween ile yıkanmıştır. Test sonucunda 405 nm dalga boyunda yapılan okumada negatif kontrolün 2,5 katı veya üzerinde oluşan değerler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Testlerde, CTV için genç sürgün kabuk dokusu, CPsV için ise çiçek dokusu kullanılmıştır.

İndeksleme çalışması: Biyolojik indeksleme çalışmalarında CEVd için kaba limon: *Citrus jambhiri* Lush üzerine aşılı Etrog citron 861-S-1 klonu (*Citrus medica* L.) CTV için Meksika laymı: *Citrus aurantifolia* Swingle, Madam vinous portakalı: *Citrus cinensis* L., Rio-red altın topu: *Citrus paradisi* Macf. ve turunç: *Citrus aurantium* L.; SDV için ise beyaz susam: *Sesamum indicum* L. kullanılmıştır. Belirtilen indikatör bitkilerin yetiştirilmesinde 1:1:1 oranında tarla toprağı, kum ve ticari torf karışımından oluşan yetiştirme ortamı kullanılmıştır. Ayrıca indikatör bitkilerin yetiştirilmesi süresince ortaya çıkabilecek zararlılar için insektisit ve akarisitler, hastalıklara karşı ise fungusitler kullanılmıştır.

Belirtilen indikatör bitkilerin yetiştirilmesi için gerekli olan tohumlar, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi koleksiyon bahçesinde yer alan turuncgil parselindeki ağaçlardan, olgunlaşma dönemine ulaşmış turuncgil meyveleri toplanarak elde edilmiştir. İndeksleme çalışmalarında kullanılmak üzere yetiştirilen indikatör bitkilerin tümü kullanılmadan önce gelişme hızları, uzunluk ve gövde kalınlıkları bakımından incelenip tip dışı gelişme gösterenler ayrılmıştır. SDV

hastalığının indikatör bitkisi olan beyaz susamın yetiştirilmesinde ise üretim materyali olarak tohum kullanılmıştır. İndikatör bitki olarak kullanılan beyaz susam bitkisinin tohumları ticari firmalardan sağlanmış ve 1:1 oranında torf ve kum içeren yetiştirme ortamı kullanılarak plastik saksılara ekilmiştir. Ekim yapılan saksılar 25 °C'ye ayarlı iklim odasına konulmuş ve bitkiler iki buçuk hafta içinde indekslemeye hazır (2-4 yapraklı) hale gelmiştir.

CEVd'in biyolojik indekslenmesinde indikatör bitkilere aday ağaçlardan alınan göz ve kabuk dokuları, T-göz aşısı şeklinde, yaprak dokusu ise yaprak yaması şeklinde verilmiş ve aşı bandı ile sarılmıştır. Böylece her bir örnekten üç inokulum, her bir örnek için ise üç indikatör bitki kullanılmıştır. Ayrıca bir indikatör bitki ise negatif kontrol olarak bırakılmıştır. İnokulasyonu tamamlanan ve kontrol olarak bırakılan bitkiler 28-30 °C'deki serada muhafaza edilmiştir. CEVd'in varlığı inokulasyondan yaklaşık olarak 6-10 hafta sonra Etrog citron sürgünlerindeki genç yaprak epinastisi, yaprak altı ana damarındaki kahverengileşmeler ve yaprak sapında oluşan nekrozlara göre belirlenmiştir.

CTV'nin biyolojik indekslenmesinde indikatör bitkilere DAS-ELISA testi sonuçlarına göre pozitif çıkan ve elde edildiği yöre ve bahçelerde dikkate alınarak belirlenen ağaçlardan alınan dokular T-göz aşısı şeklinde, kabuk ve yaprak dokusu ise yama şeklinde verilmiş ve aşı bandı ile sarılmıştır. İndeksleme çalışmasında her bir örnek için belirtilen indikatör bitkilerden dörder adet kullanılmış bir bitki ise negatif kontrol olarak bırakılmıştır. İnokulasyon işlemi tamamlanan ve kontrol olarak bırakılan bitkiler 18-25 °C'deki serada muhafaza edilmiştir. İndekslemesi yapılan bitkilerde, indekslemeden sonra üçer aylık periyotlarla 12-15 ay süresince CTV'ye özgü damar açılması (vein-clearing), yaprak küçülmesi (leaf cupping), sararma (chlorosis) ve gövde çukurlaşması (stem pitting) belirtilen semptomları gözlenmeye çalışılmıştır.

SDV'nin indekslenmesinde şüpheli bulunan ağaçlardan ilkbahar döneminde alınan örnekler inokulasyon için 2-3 yapraklı hale ulaşmış beyaz susam fidelerine inokule edilmiştir. İnokulasyon işlemi aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır. Satsuma Owari mandarin ağaçlarının hastalığa özgü semptom gösteren

kısımlarından alınan taze yaprak örnekleri bir havan içerisinde, 0,01 M ve pH 7 olan fosfat tampon çözeltisi ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ve KH_2PO_4) içine 1/10 oranında eklenmiş ve iyice ezilerek özsu elde edilmiştir. İndikatör bitki olarak kullanılan beyaz susam bitkilerinin yapraklarına yara oluşumunu sağlamak amacıyla karborandum tozu serpilmiş ve bir pamuklu çubuk yardımıyla elde edilen bitki özsularından her bir örnek için üç bitkiye inokulasyon yapılmıştır. Bir bitki ise negatif kontrol olarak bırakılmış olup sadece örneklerin ezilmesinde kullanılan fosfat tampon çözeltisi ile inokule edilmiştir. İnokule edilen bitkiler 25 °C sıcaklık ve % 80 nispi nemdeki iklim odasında tutulmuştur. İnokulasyondan 2-3 gün sonra periyodik aralıklarla bitkilerin gözlemlenmesine başlanılmış ve yapraklarda damar açılmaları, şekil bozuklukları; inokulasyon yapılan yapraklarda ise nekrotik lekeler ve yaprak bükülmesi semptomlarının oluşup oluşmadığı 6-8 hafta süresince kontrol edilmiştir.

Biyolojik indeksleme ve mekanik inokulasyon çalışmaları Roistacher (1991)'a göre yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Survey çalışmasına ait bulgular: Exocortis viroidinin survey çalışması sırasında Satsuma Owari mandarin ağaçlarının anaç kısımlarında oluşan kabuk kavlaması, basık gelişme ve şişe boynu belirtisi gibi semptomlar dikkate alınarak yapılan gözlemler sonucunda 12 bahçeden Exocortis viroidinin oluşturduğu semptomlara benzer belirtiler oluşturan toplam 20 örnek indeksleme çalışmalarında kullanılmak üzere alınmıştır.

Tristeza virüs hastalığı için anaç olarak üç yapraklının kullanıldığı Satsuma Owari çeşitlerinde; bodurluk, gelişme geriliği, sürgün ve yapraklarda durgunluk, küçülme ve sararma, geriye doğru kuruma gibi belirtilerin görüldüğü bitkilerden 43 bahçeden toplam 156 örnek alınmıştır.

Psorosis virüs hastalığı için, ağacın kalem kısmında gövde ve ana dallarda kabuğun pul pul veya tabakalar halinde kavlaması, ilkbaharda büyüme mevsiminde oluşan henüz sertleşmemiş genç yapraklarda damar bantlaşması (vein banding) veya meşe yaprağı (oak-leaf) semptomu gibi belirtilerin görüldüğü 5 bahçeden toplam 10 örnek alınmıştır.

Satsuma dwarf virüs hastalığının survey çalışması sırasında; ağaçların yapraklarında kaşık veya gondol biçiminde şekil bozukluğu, boğum aralarında kısılma ve rozetleşme, ağaçta gelişme geriliği ve dalların uç yapraklarında şekil bozukluğu şeklinde simptom gösteren tek bir bahçeden toplam 15 örnek indeksleme çalışmalarında kullanılmak üzere alınmıştır.

Serolojik yöntemlere ait bulgular:

Tristeza virüs hastalığı için yürütülen survey çalışması sonucunda Edremit Körfez Bölgesi'nde turuncgil yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplam 156 örnek alınmış ve alınan örnekler DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Yapılan testler sonucunda 156 örnekten 38'i

infekteli bulunurken 118 örneğin ise sağlıklı olduğu saptanmıştır (Çizelge 1). Alınan örnekler bazında bölgede CTV enfeksiyon oranı ise % 24.35 olarak gerçekleşmiştir. DAS-ELISA testi çalışmalarında infekteli örnekler negatif kontrolün 2,5 katı (0,175 OD₄₀₅) ile 10 katı (0,715 OD₄₀₅) arasında bir konsantrasyon değerine ulaşmıştır. Survey yapılan hemen hemen tüm yörelerde CTV ile infekteli bitkilere rastlanılmıştır. Sadece Burhaniye Merkeze bağlı bahçelerde yapılan gözlemlerde hastalıklı bitki simptomları görülmemesi nedeniyle örnek alınmamıştır. Çizelge 1'de survey yapılan yöreler ve bu yörelerde elde edilen CTV pozitif örnek sayıları görülmektedir.

Çizelge 1. CTV için survey yapılan yöreler ve bu yörelerde elde edilen CTV pozitif örnek sayıları.
Table 1. Detection of Citrus tristeza virus from different citrus growing regions of Edremit Gulf district by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

İlçe Sub province	Mevki Location	Gözlem yapılan bitki sayısı Number of plant observed	Toplam örnek sayısı Numbers of plants tested	Pozitif CTV örnek sayısı Number of CTV positive samples	CTV enfeksiyonu (%) % CTV infection
Edremit	Merkez Center	480	28	5	17.86
	Çikrikçi	560	22	8	36.36
	Kumluklar	480	34	8	23.53
	Kuruçay	240	32	8	25.00
	Soğuk Tulumba	160	8	1	12.50
Havran	Merkez	240	18	7	38.89
	Kumbağlar	200	14	1	7.14
Burhaniye	Merkez Center	40	0	0	0.00
TOPLAM TOTAL		2400	156	38	24.35

Havran ilçesi Merkez'den alınan 18 örnekten, yapılan DAS-ELISA testi sonucunda 7'sinin CTV açısından pozitif olduğu tespit edilirken, CTV enfeksiyonu açısından da %38.89 ile en yüksek orana sahip olduğu belirlenmiştir; buna karşılık Kumbağlar Mevki'den alınan 14 örnekten yapılan DAS-ELISA testi sonucunda 1'inin CTV açısından pozitif olduğu tespit edilmiş ve CTV enfeksiyonu açısından %7.14 ile en düşük orana sahip olduğu belirlenmiştir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde Psorosis virüs hastalığı için yürütülen survey çalışması sonucunda belirlenen 5 turuncgil bahçesinden toplam 10 örnek alınmış ve alınan örneklerden

hiçbiri DAS-ELISA testinde pozitif sonuç vermemiştir.

İndeksleme çalışmalarına ait bulgular:

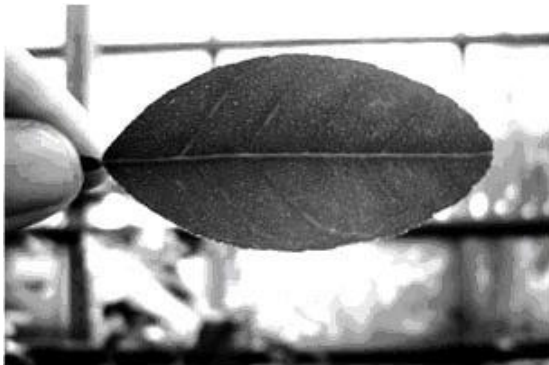
Exocortis viroidi için yapılan indeksleme çalışmaları sonucunda yalnızca tek bir örnekte Exocortis viroidine özgü tipik simptomlar gözlenmiş, diğer 19 örnekte ise hiçbir simptom oluşmamıştır. Toplam 20 örnekten 19'u Satsuma Owari mandarininden, bir örnek ise yine bir Satsuma Owari bahçesi içinde bulunan Washington Navel portakal bitkisinden alınmıştır. Pozitif bulunan örnek ise W. Navel portakal bitkisine ait olup hiçbir Satsuma Owari bitkisi CEVd ile infekteli bulunmamıştır. İnfekteli olarak bulunan bu örnek indikatör bitki üzerinde 4 hafta sonra şiddetli yaprak

epinastisi (Şekil 1) ve bu yaprakların alt yüzeylerinde şiddetli damar nekrozları oluşturmuştur (Şekil 2).

Tristeza virüs hastalığı için yapılan biyolojik indeksleme çalışmalarında 6 CTV izolatının tamamı 6-9 aylık periyotlar içerisinde Meksika laymı bitkisinde damarlarda renk açılması (Şekil 3), bazı izolatlar ise yaprak küçülmesi ve klorosis belirtileri oluşturmuşlardır. Ancak hiçbir izolat bu süre içerisinde gövde çukurlaşması belirtisi oluşturmamıştır. Bununla birlikte bu izolatların tamamı 12-15 aylık gözlemler sonucunda yine M. laymı bitkisinde gövde çukurlaşması



Şekil 1. Exocortis viroidinin Etrog citron bitkisinde oluşturduğu yaprak epinastisi.
Figure 1. Leaf epinasty symptom induced in indicator plant Etrog citron after graft inoculation of Citrus exocortis viroid.



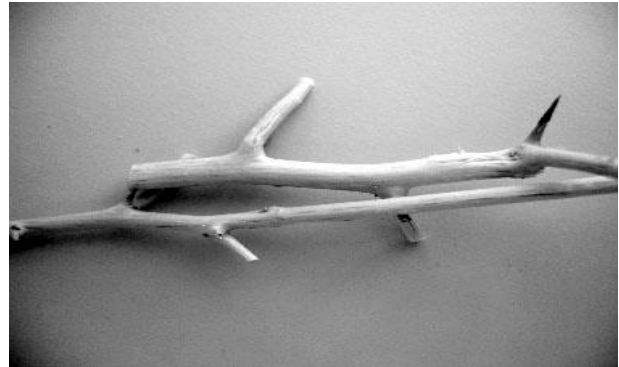
Şekil 3. Meksika laymı bitkisinin yaprak damarındaki renk açılması belirtisi.
Figure 3. Vein clearing symptoms on Mexican lime plant leaves that produced by Citrus tristeza virus.

simptomu (Şekil 4) oluşturmuşlardır. İnokulasyon yapılan Madam Vinous portakalı, Rio-red altıntopu ve turunç bitkilerinde ise gözlem yapılan süre içerisinde belirtiler oluşmamıştır.

Satsuma dwarf virüs hastalığı için Edremit Körfez Bölgesi turunçgil üretim alanlarında yapılan survey çalışması sonucu belirlenen 15 Satsuma Owari mandarin ağacından alınan örnekler mekanik olarak inokule edilen beyaz susam bitkilerinin hiçbirinde belirtiler oluşturmamışlardır. Körfez bölgesi Satsuma dwarf virüs hastalığı açısından temiz olarak bulunmuştur.



Şekil 2. Etrog citron test bitkisinin yaprak damarında oluşan nekrozlar (solda) ve sağlıklı yaprak (sağda).
Figure 2. Necrosis symptoms induced in indicator plant Etrog citron after graft inoculation of Citrus exocortis viroid (left side) and healthy leaf (right side).



Şekil 4. Meksika laymı bitkisindeki gövde çukurlaşması belirtisi.
Figure 4. Stem pitting symptoms on Mexican lime plant that produced by Citrus tristeza virus.

Edremit Körfez Bölgesi'nde anaç olarak sadece üç yapraklı kullanılmasına rağmen Exocortis viroidinin indeksleme çalışmaları sonucunda sadece 1 Washington Navel portakal ağacında tespit edilmesi ve diğer 19 Satsuma Owari mandarin ağacının negatif olarak bulunması bu yörenin Exocortis viroidi açısından hala temiz olduğunu göstermektedir. Bu durum Körfez Bölgesi açısından sevindiricidir. Diğer yandan; Çınar ve ark. (1993), Doğu Akdeniz Bölgesinde yaptıkları bir çalışmada, bölge turunçgilinin en az bir ya da daha fazla virüs ve viroid hastalıkları ile bulaşık olduğunu özellikle de Exocortis'in yaygın olarak bulunduğunu belirtmiştir.

Şeker ve ark. (2003), Edremit ve Burhaniye'de yaptıkları bir çalışmada belirtilen bölgelerde anaç olarak *P. trifoliata* kullanılmasına rağmen gerçekleştirdikleri arazi çalışmaları sırasında üç yapraklı anacı üzerinde Exocortis viroidinin neden olduğu kabukta kavlama belirtilerine rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Azeri (1975), 1966–1969 yılları arasında İzmir'de üretilen Satsuma mandarinlerinde Exocortis viroidinin belirtilerini, yayılışı, aşısı ve anaç gelişmesine etkisi ve bulaşma yollarını araştırmış ve Satsuma mandarinlerinin ortalama olarak %15,6'sının bu hastalık ile bulaşık olduğunu, hastalık şiddetinin anaç yaşına göre değiştiğini, hastalığın etkisiyle ağaçların anaç ve kalem kısmında gelişmenin ortalama %20 kadar geri kaldığını tespit etmiştir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde turunçgil fidan üretimi bu bölgede yapılmakta ve dışarıdan fidan alımı olmamaktadır. Bunun sonucunda aşısı gözleri de yine Körfez Bölgesi'nde bulunan turunçgil bahçelerinden temin edilmektedir. Bu nedenle mekanik olarak ve aşısı gözü yolu ile taşınan hastalıkların bu bölgeye girişi önlenmektedir. Bu nedenle Exocortis'in ülkemizin diğer turunçgil üretim bölgelerinde yaygın olmasına rağmen bu bölgede Satsuma Owari mandarinlerinde tespit edilememiş olması büyük bir olasılıkla dışarıdan fidan girişinin olmamasına bağlıdır.

Survey çalışmaları süresince özellikle bazı bitkilerin hem anaç hem de kalem kısımlarında Exocortis viroidi tarafından oluşturulan semptomlara benzer kabuk kavlamaları semptomlarına rastlanılmıştır. Ancak bu semptomlarında hiçbir mekanik inokülasyon çalışmalarında pozitif sonuç vermemiştir. Bu

semptomların büyük bir olasılıkla 2004 yılında yaşanan don olayından sonra oluştuğu düşünülmektedir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde yürütülen bu çalışmada; bölgede anaç olarak üç yapraklı kullanılması ve kullanılan üç yapraklı anacının CTV'ye karşı dayanıklı olmasına rağmen ELISA testi yapılan örnekler içinde CTV için enfeksiyon oranının % 24.35 çıkması ve survey çalışması için seçilen 60 bahçeden 21'inde hastalığın tespit edilmesi hastalığın yörede önemli boyutlara ulaştığının bir göstergesidir. CTV'nin bölgedeki Satsuma Owari mandarin ağaçlarında bu derece yoğun görülmesinin en büyük nedeni olarak kullanılan aşısı gözü kaynağının CTV virüsü ile infekteli olabileceği düşünülmektedir. Bilindiği gibi Satsuma Owari mandarinleri 1970'li yılların başında Batum yolu ile ilk defa Rize ilimizden ülkemize giriş yapmış ve bu bölgeden yetiştiricilik yapılan diğer bölgelere yayılmıştır. Edremit Körfezinde ise Satsuma mandarin yetiştiriciliği ilk kez 1970 yılında Tarım Bakanlığı'nın dağıttığı fidanlar ile başlamıştır. Nitekim CTV'nin bölgede yoğun olarak görülmesi bahçelerin tesis edildiği tarihten itibaren CTV ile bulaşık olabileceğini göstermektedir.

Güllü (1990), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yürüttüğü survey çalışmaları sonucunda Navel grubu portakal ağaçlarında, Satsuma mandarin ağaçlarına göre daha yüksek oranda tristeza virüsü hastalığı semptomlarına rastlandığını bildirmiştir. Araştırmacı, tristeza hastalığı semptomlarını taşıyan Navel portakal ağacı oranının alt bölgelere göre değişmekle birlikte %0.06 ile %2,1 oranında olduğunu; Satsuma mandarin ağaçlarında ise bu oranın %0.08 olarak bulunduğunu bildirmiştir.

Azeri (1993), üç yapraklı anacı üzerine aşılı Satsuma mandarinini üzerinde CTV'nin oluşturduğu semptomları biyolojik indeksleme ve ELISA testi ile belirlemiştir. Meksika laymı üzerine hastalıklı bitkilerden alınan yaprak parçalarını aşılama ve bu indikatör bitkide CTV'nin karakteristik semptomları olan damar bantlaşması, küçük ve dik sararmış yapraklar, damar tıkanması ve stem pitting (gövde çukurlaşması) semptomlarını inokülasyondan 6-8 hafta sonra belirlemiştir. Gerileme belirtisi gösteren Satsuma mandarin ağaçlarından elde ettiği yaprak örnekleriyle yaptığı ELISA testinden pozitif sonuç aldığını belirtmiştir. Sonuç olarak İzmir ilinde üç yapraklı anacı

üzerine aşılı Satsuma mandarinlerindeki gerilemenin sebebinin şiddetli CTV izolatları tarafından meydana getirildiğini belirtmiştir.

Korkmaz (2001), CTV'nin dört farklı streyninin (İğdır, Serdengeçti, Ege ve Kıbrıs) biyolojik özelliklerini ve bu streynlerin Madam Vinous bitkisi üzerindeki dsRNA profillerini incelemiş, ayrıca tek bir streynin yedi farklı turunçgil bitkisinde oluşturmuş olduğu dsRNA yapılarını araştırmıştır. Biyolojik özelliklerini belirlediği dört farklı streynden Kıbrıs'ın greyfurt, portakal ve Meksika laymında simptom oluştururken, Serdengeçti, Ege ve İğdır streynlerinin sadece Meksika laymında simptom oluşturduğunu bildirmiştir.

Bozan (2002), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde turunçgil tarımının yoğun olarak yapıldığı Aşağı Seyhan Ovası'nda CTV'nin yoğunluğunu belirlemek amacıyla bir survey çalışması yürütmüş ve aldığı örnekleri DAS-ELISA yöntemiyle test etmiştir. Araştırmacı 906.029 turunçgil ağacı üzerinde gözlemlerde bulunup bu ağaçlardan aldığı 44.800 örneğe ELISA testi uygulamış ve Bölgedeki CTV oranını %0,04 olarak saptamıştır.

Bu çalışmada elde edilen bulgular ve daha önce yapılmış çalışmalar göstermektedir ki CTV'nin enfeksiyon oranı Edremit Körfezi ve Ege Bölgesi kıyı kesimlerindeki Satsuma Owari mandarin bahçelerinde, ülkemizin diğer turunçgil üretim bölgelerine göre çok daha yüksektir. Bu durum olasılıkla CTV'nin bu bölgeye ilk üretim materyalleri ile geldiğini ve bu bölgede sınırlı kaldığını göstermektedir. Ayrıca CTV'nin etkin bir vektörü olan *Toxoptera citricida*'nın ülkemizde henüz bulunmuyor olması hastalığın diğer üretim bölgelerine vektörler yoluyla taşınmasını da engellemiştir.

Psorosis virüs hastalığının survey çalışması sırasında işaretlenen ağaçlarda yapraklarda damar bantlaşması ve gövdede tabaka halinde kabuk kavlamalarına rastlanıldığı halde; DAS-ELISA testi sonuçlarında örnekler negatif olarak bulunmuştur. Karşılaşılan bu sonucun iki sebepten dolayı kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bunlardan birincisi, belirlenen ağaçların yapraklarında damar bantlaşması simptomu oluşturan başka bir virüs veya virüs benzeri hastalıklar (Impietratura, Cristacortis) ile infekteli olma olasılığıdır. Nitekim Vogel ve Bove (1974) Concave gum ile bulaşık olmayan bununla birlikte Cristacortis

ile infekteli olan bitkilerinde Psorosis genç yaprak simptomları geliştirdiğini ancak bu simptomların teşhiste kullanılamayacağını bildirmişlerdir. Diğer ise daha önceden de belirtildiği gibi 2004 yılında yaşanan ağır kış koşulları nedeniyle yaşanan don olayının ağacın ana ve yan dallarında kabuk kavlamalarına neden olmasıdır.

Timmer ve Benatena (1977), Crinkly leaf, Infectious variegation, Citrus leaf rugose, Satsuma dwarf ve ilişkili bazı virüslerin (Citrus mosaic, Navel infectious mottling) simptom açılması, taşınma yolları, partikül büyüklükleri ve morfolojileri açısından birbirine benzer olduğunu ancak bariz bir şekilde Psorosis ile ilişkili olmadığını, oysa Impietratura, Cristacortis ve Concave gum hastalıklarının genç yaprak simptomu oluşturduklarını fakat simptom benzerliği dışında birbirleri ile veya Psorosis ile ilişkili olduğuna dair çok az kanıt bulunduğunu bildirmişlerdir.

Güllü (1990), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yürüttüğü survey çalışmaları sonucunda, Psorosis kompleksi hastalıklarının Navel grubu portakal ve Satsuma mandarin ağaçlarında önemli ölçüde yaygın olduğunu belirlemiştir.

Bu çalışmada SDV hastalığına Edremit Körfez Bölgesinde rastlanılmamıştır. Sadece bir bahçede hastalığa benzer simptomlar gösteren örneklerle rastlanılmış ancak yapılan mekanik inokulasyon testleri sonucunda negatif olarak bulunmuştur.

Zhou ve ark. (1996), tüm kaşık veya kayık şekilli yaprak oluşumlarının Satsuma dwarf virüsü tarafından oluşturulmadığını, soğuk koşullar altında şiddetli Tristeza virüs enfeksiyonları ile Infectious variegation, Natsudaidai dwarf virüs, Navel infectious mottling virüslerinin de Satsuma mandarin ağaçlarında kayık şekilli yaprak oluşumuna neden olabileceğini vurgulamıştır. Ayrıca araştırmacılar belirtilen simptomların Citrus variegation ve Citrus tatterleaf virüsleri tarafından da oluşturulabileceğini C.N. Roistacher ve T. Miyagawa ile yaptıkları görüşme sonucunda bildirmişlerdir.

Diğer yandan Fidan ve Azeri (1990), İzmir ili mandarinlerinde yaptıkları surveyler sonucunda, İzmir Merkez ilçe ve Seferihisar'da SDV'nin bulunuş oranını ortalama %13.77 olarak saptamışlardır. Ayrıca Gümüşdüz'de bir bahçede yaptıkları ELISA testi sonucunda

SDV'nün %20.6 oranında bulunduğunu belirlemişlerdir.

Edremit Körfez Bölgesi'nde Satsuma dwarf virüsünün belirtilen semptomlarına benzer semptomlar görülen 15 ağacın yapılan indeksleme çalışması sonucunda negatif olarak belirlenmesi, semptomların başka bir virüs ya da abiyotik faktörler tarafından oluşturulmuş olabileceğini ve bu bölgenin SDV yönünden hala temiz olduğunu göstermektedir.

Kaynaklar

- Azeri, T. 1973. First report of Satsuma dwarf virus disease on Satsuma mandarins in Turkey. *Plant Dis. Report.* 57 : 149-152.
- Azeri, T. 1975. İzmir ilinde üretilen Satsuma mandarinlerinde cüceleşme (Exocortis) hastalığının sürveyi ve bulaşma yolları üzerine araştırmalar. *Teknik Bülten No: 27, İzmir, 715s.*
- Azeri, T. 1993. Occurrence and detection of Citrus tristeza virus (CTV) decline on Satsuma mandarins budod on Trifoliata orange in Izmir Province. *J. Turk Phytopath., 22 (2-3): 65-74.*
- Bar-Joseph, M., Marcus, R and Lee, R.F. 1989. The continuous challenge of citrus tristeza virus control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27:291-316.
- Bozan, O. 2002. Aşağı Seyhan Ovasında Turunçgil tristeza virus (CTV) hastalığının sürveyi ve tanısı üzerine araştırmalar (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 88 s.
- Clark, M.F. and Adams, A.N., 1977. Characteristics of the microplate methods of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-438.
- Çınar, A., Kersting, U., Önelge, N., Korkmaz, S. ve Sas, G. 1993. Citrus virus and virus-like diseases in the Eastern Mediterranean Region of Türkiye. In: P. Moreno, J. V. da Graca and L. W. Timmer, (eds.), *Proc. 12th Conf. IOCV, Riverside, CA, USA, pp:397-400.*
- Fidan, Ü. ve Azeri, T., 1990. Testing Satsuma mandarins for Satsuma dwarf virus by Enzymelinked Immunosorbent Assay (ELISA). *J. Turk Phytopath., 19(3): 111-118.*
- Gottwald, T.R. 1995. Survey strategies for CTV and BCA. Citrus tristeza virus and the Brown citrus aphid in the Caribbean Basin. *Proceedingf of the Third Int. Workshop (Final report). Florida, p.32-38.*
- Güllü, M. 1990. Doğu Akdeniz Bölgesi Navel grubu portakal ve Satsuma mandarin ağaçlarında yaygın virüs ve virüs benzeri hastalıkların sürveyi ve indekslenmesi üzerine çalışmalar. (Doktora Tezi). Araştırma Yayınları Serisi, Yayın No:70, Ankara, 266 s.

Sonuç

Bu çalışma, Edremit Körfez Bölgesi'nde turunçgillerde virüs ve viroid hastalıklarının saptanmasına yönelik ilk çalışma olması nedeniyle önem kazanmaktadır. Elde edilen sonuçlardan da görüleceği üzere bölge viral hastalıklar açısından diğer turunçgil üretim bölgelerinden önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Bununla birlikte bundan sonra özellikle CEVd ve SDV için daha duyarlı yöntemler kullanılarak yapılacak çalışmalar bölge hakkında daha detaylı bilgiler verecektir.

- Korkmaz, S., 2001. Turunçgil Tristeza virüsünün dört farklı ırkının biyolojik özelliklerinin ve dsRNA yapılarının belirlenmesi üzerine araştırmalar. IX. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ, s. 135-144.
- Norman, P.A., 1963. Report to government of Turkey on citrus virus diseases. *FAO Report Rome No:1641. 16 p.*
- Özdemir, Z., 2006. Edremit Körfez Bölgesi turunçgil yetiştiriciliğinin yapısı ve sorunlarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, 64 s.
- Roistacher, C.N., 1991. Graft-Transmissible Diseases of Citrus. In: Food, Agriculture Organization of the United Nations, FAO (Ed.), *Handbook for Detection and Diagnosis, Rome, Italy, pp:115-126.*
- Roistacher, C.N., 1993. Psorosis—a review. In: P. Moreno, J.V. da Graça and L.W. Timmer, (eds.), *Proc.12th Conf. IOCV, Riverside, CA, USA, pp:139-154.*
- Şeker, M., Korkmaz, S., Yücel, Z., ve Turhan, P., 2003. Edremit ve Burhaniye ilçelerinde turunçgil yetiştiriciliğinin özellikleri ve sorunlarının belirlenmesine yönelik bir araştırma. IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 8-12 Eylül 2003, Antalya, s. 211-213.
- Tanaka, S. 1968. Satsuma dwarf. Indexing Procedures for 15 Virus Diseases of Citrus Trees. U.S. Dep. Agr. Res. Serv. Agr. Handbook. Washington D.C. No:333, pp:56-59.
- Timmer, L.W. and Benatena, H.N. 1977. Comparison of psorosis and other viruses causing leaf flecking in citrus. *Proc. Intern. Soc. Citriculture, 3:930-935.*
- Vogel, R., Bove, J.M. 1974. Studies on the cause of leaf symptoms associated with cristicortis disease of citrus. In: L.G. Weathers, M. Cohen, (eds.) *Proc. 6th Conf. IOCV, Berkeley, CA, pp:131-134.*

- Yamada, S., and Tanaka, H. 1968. Virus disease of citrus and research conducted on them in Japon, Japon Agr. Research Quar. 3 (1):10-14.
- Zhou, C., Zhao, X. and Jiang, Y. 1996. Boat-shaped leaf symptoms of Satsuma mandarin associated with Citrus tristeza virus (CTV). In: J. V. da Graca, P. Moreno, and R. K. Yokomi (eds.), Proc. 13th Conf. IOCV, Riverside,CA, pp. 154 - 157.