

Amasya ve Tokat illerinde yetiştirilen eriklerde Elma mozaik virüs (*Apple mosaic virus*, ApMV)'ü enfeksiyonu ve yaygınlığı

Kemal DEĞİRMENCI¹

Birol AKBAŞ¹

SUMMARY

Infection and distribution of *Apple mosaic virus* (ApMV) on cultivating plum in Amasya and Tokat provinces

This work was conducted in plum orchards of Amasya and Tokat provinces in the year between 2008–2010. The aim of the study was to determine the current status of European plum line pattern disease caused by *Apple mosaic virus* (ApMV) in these provinces. Plum trees were examined in all surveyed fruit orchards of the provinces. A total of 549 plum samples were collected and tested by DAS-ELISA and RT-PCR against the causal agent *Apple mosaic virus*. In DAS-ELISA tests, ApMV was detected only in *Prunus cerasifera* cv. Süt eriği among all collected plum varieties. The prevalence of the disease in cv. Süt eriği was 46.1 % and 16.6 % in the surveyed plantations of Amasya and Tokat, respectively. The RT-PCR results were confirmed the ELISA test results.

Key words: ApMV, plum, ELISA, RT-PCR

ÖZET

Bu çalışma Amasya ve Tokat illerinde 2008–2010 yılları arasında Erik bahçelerinde yürütülmüştür. Çalışmada Amasya ve Tokat illerindeki erik plantasyonlarında European plum line pattern hastalığının etmeni olan Elma Mozaik virüsü (*Apple mosaic virus*, ApMV)'ün tespiti ve yaygınlığı araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda erik bahçeleri ve diğer meyve plantasyonları dolaşmış ve erik ağaçları makroskobik olarak incelenmiştir. Üç yıl süreyle yapılan sürveylerde 549 erik örneği toplanmıştır. Toplanan örnekler laboratuvar çalışmalarında DAS-ELISA ve RT-PCR test metotları ile *Apple mosaic virus*'üne karşı test edilmiştir. DAS-ELISA testi sonucunda sadece Süt eriklerinden toplanan örneklerde bu hastalığa neden olan virüs saptanmıştır. Amasya ve Tokat illerinde süt eriği ağaçlarında hastalığın yaygınlık oranının sırasıyla %46.1 ve %16.6 olduğu saptanmıştır. ELISA test sonuçlarına paralel olarak yürütülen RT-PCR testlerinde European plum line pattern hastalığına neden olan ApMV2nin varlığı moleküler olarak da doğrulanmıştır.

Anahtar kelimeler: ApMV, erik, ELISA, RT-PCR

¹ Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü, ANKARA
Sorumlu Yazar (Corresponding author) e-mail: k_degirmenci@hotmail.com
Yazının Yayın Kuruluna Geliş Tarihi (Received): 24.08.2010

GİRİŞ

Sert çekirdekli meyve üretimi ülkemiz için önemli bir gelir kaynağıdır. Ülkemizde yaklaşık 53.573.000 adet sert çekirdekli meyve ağacından, 2.040.853 ton meyve üretimi yapılmaktadır. Bu üretim içerisinde 7.750.000 adet ağaç varlığı ve 248.736 ton meyve üretimi ile erik önemli bir yere sahiptir. Amasya ve Tokat illeri yaklaşık 160.000 ağaç sayısı ve 7.000 ton erik üretimleri ile ülkemizde önemli ölçüde üretim yapan iller arasındadır (Anonim 2008). Ülkemizde yetiştirilen çok sayıda erik çeşidi bulunmaktadır. Bu erik çeşitlerinden biri, Amasya ve Tokat illerinde yetiştirilen ve Süt Eriği olarak isimlendirilen, *Prunus cerasifera* türüne ait yerel bir erik çeşididir. *P. cerasifera* genel olarak Avrupa ve Amerika'da myrobolan eriği olarak isimlendirilmekte ve anaç olarak kullanılmaktadır. *P. cerasifera* değişik iklim ve toprak şartlarına uyabilen bir erik türüdür (Karamürsel ve ark. 2009). Amasya ve Tokat illerinde diğer erik çeşitleri kapama bahçe tarzında yetiştirilmelerine rağmen, süt eriği kapama bahçe tarzından daha çok, ev bahçelerinde ve diğer kapama bahçelerin kenarlarında yetiştirilmektedir. Sert çekirdekli meyve ağaçlarında fungal, bakteriyel ve viral etmenlerden kaynaklanan çok sayıda hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıklar içerisinde virüs hastalıkları, ciddi verim kayıplarına neden olmaları ve kimyasal mücadelelerinin olmaması nedeniyle önemli bir yere sahiptir. Sert çekirdekli meyve ağaçlarında zarar yapan en önemli virüs hastalıkları, *Plum pox virus* (PPV), *Prune dwarf virus* (PDV), *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV), *Apple mosaic virus* (ApMV) ve *Apple chlorotic leafspot virus* (ACLSV) olarak bilinmektedir. Bu viral etmenlerden ApMV, eriklerde European plum line pattern hastalığına neden olmaktadır (Desvignes 1999, Nemeth 1986, Uyemoto and Scott 1992.). ApMV *Bromoviridae* familyasına ait *Ilarvirüs* cinsinde altgrup 3 içerisinde yer alan ve odunsu bitkilerde enfeksiyon yapan en önemli virüslerden biridir. ApMV 19 familyada 65 türde enfeksiyon yapmaktadır. Bu türlerden betula (*Betula* sp.), fındık (*Corylus avellana*), çilek (*Fragaria* spp.), karaağaç (*Humulus lupulus*), yaban elması (*Malus sylvestris*), elma (*Malus pumila*), kayısı (*Prunus armeniaca*), kiraz (*Prunus avium*), badem (*Prunus dulcis*), frenk üzümü (*Ribes rubrum*), ahududu (*Rubus* sp), bitkileri ApMV' nin hassas konukçuları arasındadır (Petrzik 2005, Rybicki 1995). ApMV' nin değişik konukçularda meydana getirdiği hastalıklar *Birch line pattern virus*, *Birch ringspot virus*, *Dutch plum line pattern virus*, *European plum line pattern virus*, *Hop A virus*, *Hop C virus*, *Horsechestnut yellow mosaic virus*, *Mild apple mosaic virus*, *Mountain ash variegation virus*, *Rose mosaic virus*, and *Severe apple mosaic virus* gibi farklı isimlerle isimlendirilmektedir (Sanches- Navarro and Pallas 1994). ApMV' nin bilinen herhangi bir vektörü bulunmamasının yanında, mekanik olarak, aşı ve vejetatif üretim materyali ile taşınmaktadır (Dhingra 1972, Fulton 1983, Hunter et al. 1958, Petrzik 2005). ApMV bütün dünyada çok yıllık bitkilerdeki en yaygın virüslerin başında yer almaktadır. Ülkemizde de özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda meyve plantasyonlarındaki en yaygın virüs hastalıklarının başında geldiği görülmektedir (Akbaş et al. 2004, Akbaş and Değirmenci 2009, Arlı-Sökmen et al. 2005, Ertunç et al. 2009, Sipahioğlu ve ark.

2001). ApMV' nin fındıklarda %15–42, bademlerde %25, elmalarda %20 ürün kayıplarına neden olduğu ayrıca aşılı elma fidanlarında göz oluşumunda ve büyümede durgunluğa neden olduğu bildirilmektedir (Akbaş and Değirmenci 2009, Aramburu and Rovira 1995, Barbara 1988, Martelli and Savino 1997, Rebandel et al. 1979).

ApMV virüsünün eriklerde neden olduğu European plum line pattern hastalığı ülkemizde ilk defa Akbaş and Değirmenci (2010) tarafından yapılan çalışmada Amasya ve Tokat illerinde yerel bir erik çeşidi olan Süt eriğinde rapor edilmiştir. Bu çalışmada, bu hastalığın Amasya ve Tokat illerinde erik alanlarındaki enfeksiyon durumunun ortaya konması ile birlikte diğer erik çeşitlerinde de olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Amasya ve Tokat illerindeki erik bahçelerinden toplanan örnekler çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur. ApMV' nin varlığını saptamada kullanılan DAS-ELISA kitleri (Agdia, Inc., Elkhart, IN) ve diğer serolojik ve moleküler sarf malzemeler çalışmanın diğer materyalini oluşturmuştur.

Sürvey çalışmaları: Amasya ve Tokat illerinde 2008–2010 yılları arasında erik bahçelerinden sistematik örnek alma yöntemine göre örnek toplanmıştır. Erik ağaçları öncelikle makroskobik olarak değerlendirilmiş ve her bahçeden en az 1 örnek alınmıştır. Daha önce bu bölgede bu hastalık sadece Süt eriklerinde saptandığından dolayı, örnek toplama sırasında bu erik çeşitleri mümkün olduğunca kontrol edilmeye çalışılmış ve bunlardan toplanan örnekler ayrı olarak değerlendirilmiştir. Örnekler ApMV belirtisi gösteren ağaçların yanı sıra göstermeyen ağaçlardan da bahçeyi ve bölgeyi temsil edecek şekilde alınmıştır.

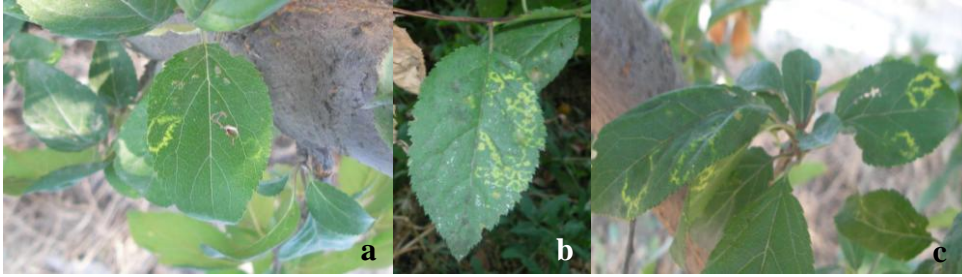
Serolojik çalışmalar: Toplanan örnekler polietilen torbalara koyularak buz kutusu içerisinde laboratuara getirildikten sonra ApMV' ye karşı DAS-ELISA yöntemi ile antiserumun temin edildiği firmanın (Agdia, Inc., Elkhart, IN) protokolüne göre testlenmiştir.

Moleküler çalışmalar: Hastalık belirtisi gösteren ve göstermeyen erik çeşitlerinden bazıları RT-PCR ile moleküler testlere tabi tutulmuştur. RT-PCR metodunda total RNA ekstraksiyonu Foissac et al. (2001)'a göre yapılmıştır. Ekstraksiyonda protokole uygun olarak 100 mg taze yaprak örnekleri kullanılmıştır. PCR amplifikasyonunu etmen virüsün kılıf protein geni üzerinde 262 bp uzunluğundaki bir alanı çoğaltan 5'-ATCCGAGTGAACAGTCTATCCTCTAA-3' (forward) ve 5'-GTAACCTCACTCGTTATCACGTACAA-3' (reverse) primerleri ile gerçekleştirilmiştir (Menzel ve ark. 2002). PCR karışımı ve amplifikasyonu yapılan ufak modifikasyonlarla Menzel et al. (2002)'a göre uygulanmıştır. Buna göre steril PCR tüpüne 2.5 µl 10X reaksiyon buffer (200 mM Tris-HCL, pH:8.4, 500 mM KCl), 0.75 µl MgCl₂ (25mM), 0.25µl dNTP her primerden 0.5 µl, 0.2 µl Taq DNA

polimeraz (Fermantase) 17.8 µl RNase ari su eklenerek toplam hacim 25 µl olarak gerçekleştirilmiştir. PCR amplifikasyonu 37 °C de 50 dk, 94 °C de 3 dk, 94 °C de 30 sn, 58 °C de 30 sn, 72 °C de 1 dk 35 döngü ve 72 °C de 10 dk programına göre yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %1.5' lik agaroz jel elektroforezde koşturulmuş ve etidium bromid'de boyanarak UV ışıkta görüntülenmiştir (Menzel et al. 2002).

SONUÇLAR

Arazi gözlemleri: Amasya ve Tokat illerinde 2008-2010 yılları arasında yapılan sürveyelerde bölgeye ait yerel erik çeşidi olan Süt eriğinde yapraklarda klorotik halkalı lekeler, çizgiler ve meşe yaprağı formunda virüslerin sebep olduğu hastalıklardan kaynaklanabilecek belirtiler gözlenmiştir (Şekil 1, Şekil 2). Diğer erik çeşitlerinde bu tip belirtiler gözlenmemiştir.



Şekil 1. European plum line pattern hastalığının erik yapraklarında oluşturduğu klorotik halkalı lekeler.



Şekil 2. European plum line pattern hastalığının erik yapraklarında oluşturduğu klorotik çizgi ve meşe yaprağı formu.

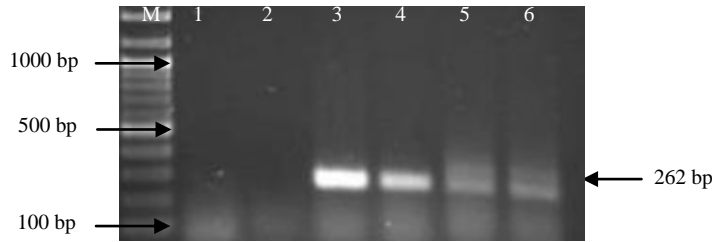
DAS-ELISA sonuçları: Yapılan DAS-ELISA testlerinde erik ağaçlarındaki bu belirtilere ApMV' nin neden olduğu tespit edilmiştir. Yapılan testlerde her iki ilden toplanan 549 örnekten 27 tanesi ApMV ile bulaşık bulunmuştur. ApMV ile bulaşık örneklerin tamamı belirti gösteren Süt eriği örneklerinden olmuştur. Yaygınlık

oranının bu yıllar arasında Amasya ilindeki Süt eriklerinde (%46.1) Tokat iline (%16.6) göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Adı geçen illerde genel erik popülasyonu içinde ise hastalığın yaygınlık oranı sırasıyla %6.8 ve %1.5 olarak bulunmuştur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Sürvey alanlarından toplanan örnekler ve hastalığın yaygınlık oranları

İller	Süt eriği	Diğer erik çeşitleri	Bulaşık örnek sayısı	Toplam örnek sayısı	Süt eriklerindeki yaygınlık oranı (%)	Genel yaygınlık oranı (%)
Amasya	52	299	24	351	46,1	6,8
Tokat	18	180	3	198	16,6	1,5

RT-PCR Sonuçları: Yapılan RT-PCR çalışmalarında, hastalığa neden olan ApMV'nin amplifikasyonu hastalık belirtisi gösteren örneklerden sağlanmıştır. RT-PCR amplifikasyonu sonucunda, 262bp de bant elde edilmiştir. Hastalık belirtisi göstermeyen süt erikleri ile diğer erik çeşitlerinde herhangi bir sonuç alınmamıştır (Şekil 3).



Şekil 3. DAS-ELISA testinde pozitif ve negatif reaksiyon veren ApMV ile infekteli numunelerin RT-PCR testi ile doğrulanması. M. Marker, 1.ve 2 ApMV belirtisi göstermeyen erikler, 3, 4, 5 ve 6 ApMV ile bulaşık Süt eriği.

TARTIŞMA VE KANI

Amasya ve Tokat illerinde 2008–2010 yılları arasında yapılan sürveylerde, aynı kültürel işlemlerin uygulandığı erik plantasyonlarında virüs belirtisine benzer belirtilerin süt eriklerinde görülürken diğer erik çeşitlerinde görülmemesi dikkat çekici bulunmuştur. Gözlemler neticesinde bu hastalık belirtilerinin bütün erik çeşitlerinde görülmediği, sadece süt eriklerini hastalandırıldığı ya da diğer erik çeşitlerinde latent olarak kaldığı kanaatine varılmıştır.

Yapılan DAS-ELISA testlerinde erik ağaçlarındaki bu belirtilere ApMV'nin neden olduğu tespit edilmiştir. Enfeksiyonun çalışmanın yapıldığı yıllar arasında Amasya ilinde Tokat iline göre hem süt eriklerinde (%46.1) hem de genel erik plantasyonunda (%6.8) daha yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir. DAS-ELISA testi sonucunda bulaşık bulunan örneklerin hepsi virüs belirtisi gösteren Süt eriği çeşidine ait örnekler olmuştur. Bu sonuçlar makroskobik gözlemlerle paralel olarak ApMV enfeksiyonunun bu illerde genel olarak sadece Süt eriği çeşitlerinde

bulduğunu göstermektedir. Nemeth (1986) tarafından yapılan çalışmada da ApMV' ye karşı erik çeşitlerinin farklı reaksiyonlar verdiği rapor edilmiştir. Ayrıca DAS-ELISA testi sonuçlarında ApMV belirtisi gösteren Süt eriği örneklerinin pozitif, ApMV belirtisi göstermeyen süt eriklerine ve diğer erik çeşitlerine ait örneklerin negatif sonuç vermesi, ApMV' nin hastalık belirtisi göstermeyen bu ağaçlarda latent olarak bulunmadığı ya da toplanan örneklerde teşhis edilebilecek konsantrasyonda olmadığı kanaati oluşturmuştur.

RT-PCR çalışmalarından alınan sonuçlarla DAS-ELISA sonuçları doğrulanmıştır. Yapılan çalışmada makroskopik gözlemler, DAS-ELISA sonuçları ve RT-PCR sonuçları paralellik göstermiştir.

European plum line pattern hastalığının ekonomik anlamda önemli bir erik hastalığı olmasına (Nemeth 1986) rağmen, Amasya ve Tokat illerinde süt eriklerinin kapama bahçe tarzından daha çok, bahçe kenarlarında yetiştirilmesi bu virüsün bu illerde erik yetiştiriciliğini ve üretimini ekonomik anlamda olumsuz etkileme şansını zayıflatmaktadır. Bilinen vektörü bulunmayan ApMV' nin bulaşık olmayan meyve plantasyonlarına yayılmasının kültürel işlemler sırasında alınacak bazı tedbirlerle engellenebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbaş B. and Değirmenci K. 2009. Incidence And Natural Spread Of *Apple Mosaic Virus* On Hazelnut In The West Black Sea Coast Of Turkey And Its Effect On Yield. *Journal of Plant Pathology* (2009), 91 (3), 767-771
- Akbaş B. and Değirmenci K. 2010. First Report from Turkey of European Plum Line Pattern Caused by *Apple mosaic virus*, *Plant disease*, Volume: 94, Number:5 Page:641
- Akbaş B., İlhan D. and Atlamaz A., 2004. A preliminary survey for Hazelnut (*Corylus avellana* L.) viruses in Turkey. *Proceedings 6th International Congress on Hazelnut*: 94. June 2004, Spain.
- Anonim 2008. Tarımsal Yapı Üretim, Fiyat, Değer, TC Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Matbası, ANKARA. Yayın No: 2949 (Erişim tarihi: 15.07.2010)
- Aramburu J.M. and Rovira M. 1995. Effect of Apple mosaic virus (ApMV) on the growth and yield of "Negret" hazelnut. *Acta Horticulture* 386:565-568.
- Arlı-Sökmen M., Kutluk-Yılmaz N.D., Mennan H. and Sevik M.A. 2005. Natural weed hosts *apple mosaic virus* in hazelnut orchards in Turkey. *Journal of Plant pathology* 87 (3): 239-242.
- Barbara D.C. 1988. Apple virus in European Handbook of Plant Diseases. Blackwell Scientific Publication Oxford. 17-19 p:13-14,U.S.A.
- Desvignes J.C. 1999. Les virus des arbres fruitiers. Ctifl, Paris.
- Dhingra K.L. 1972. Transmission of Apple mosaic by natural root grafting. *Indian Journal of Horticulture* 29: 348-350.

- Ertunç F., Sökmen M.A., Sezer A and Canik D. 2009. Current status of *Apple mosaic ilarvirus* In Turkey. 21st International Conference on Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops. Germany, 5-10.July.
- Foissac X., Svanella-Dumas L., Dulucq M.J., Candresse T. and Gentit P. 2001. Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosine containing primers (PDO RT-PCR). *Acta Hort.* 550: 37-43.
- Fulton R.W. 1983. ilarvirus Group. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 213, Kew, Surrey, UK.
- Hunter J.A., Chamberlain E.E. and Atkinson J.D. 1958. Note on the transmission of Apple mosaic by natural root grafting. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 1: 80-82.
- Karamürsel Ö.F., Sarısu H.C. ve Öztürk F.P. 2009. Bodur Meyve Yetiştiriciliği Eğitim Projesi, Erik-Kiraz Yetiştiriciliği. 1. Bölüm, Sayfa: 3-4.
- Martelli G.P. and Savino V. 1997. Infectious diseases of almond with special reference to the Mediterranean area. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 27: 525-534.
- Menzel W., Jelkmann W. and Maiss E. 2002. Detection of four apple viruses by multiplex RT-PCR assays with coamplification of plant mRNA as internal control. *J. Virol. Methods* 99: 81-92.
- Nemeth M. 1986. Virus, Mycoplasma, and Rickettsia Diseases of Fruit Trees. Martinus-Nijhoff Publishing, Dordrecht, the Netherlands and Akademiai Kiado, Budapest.
- Petrzik K. 2005. Capsid protein sequence gene analysis of Apple mosaic virus infecting pears. *European Journal of Plant Pathology* (2005) 111:355–360
- Rebandel Z., Zawadzka B.J. and Wierszyllowski J., 1979. Effect of Apple mosaic virus on bud-take and growth of trees in the nursery. *Fruit Science Reports* 6: 9-17.
- Rybicki E.P. 1995. The *Bromoviridae*. In *Virus Taxonomy. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, pp. 450±457. Edited by F. A.
- Sanches-Navarro J.A. and Palla' s V. 1994. Nucleotide sequence of apple mosaic ilarvirus RNA4. *Journal of General Virology* 75: 1441–1445.
- Sipahioğlu H.M., Çağlar B.K. ve Baloğlu S. 2001. Doğu Akdeniz Bölgesinde Güllerde Zararlı PNRSV ve ApMV virüs hastalıklarının Serolojik olarak yaygınlıklarının saptanması. Türkiye IX Fitopatoloji Kongresi Bildiriler Kitabı, 3-8 Eylül 2001, Tekirdağ, Trakya Üniversitesi Yayınları No:45:572-577.
- Uyemoto J. K. and Scott S.W. 1992. Important diseases of Prunus caused by viruses and other graft-transmissible pathogens in California and South Carolina. *Plant Dis.* 76:5-11.