

TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (ToBRFV) HASTALIĞINA TOLERANTLI DOMATES HATLARININ BELİRLENMESİ

Damla ULUSOY^{1*}, Serkan KASAPOĞLU², Hakan FİDAN²

¹Anamas Tarım Ltd. Şti. Antalya; ORCID:

²Anamas Tarım Ltd. Şti. Antalya; ORCID:

³Doç. Dr., Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Antalya; ORCID:

ÖZ

Bu çalışmada Anamas Tohum firması gen havuzunda bulunan F6 kademesindeki 416 tekli, 80 kokteyl, 97 pembe domates hattı ToBRFV etmeni ile klasik testlemeye tabi tutulmuştur. Domatesler gerçek iki yapraklı döneme geldiğinde elimizde bulunan “ToBRFV-Ant-Tom: MT107885” izolatlarıyla belli aralıklarla bu bitkilere “soft sponge pad” yöntemi ile mekanik inokulasyon yapılmıştır. Hastalık etmeninin belirtilerinin gözlemlenmesine domates bitkilerinin 6. salkım meyveleri kızarıncaya kadar devam edilmiştir. Bitkilerin gelişim dönemlerinin sona ermesi ve gözlemlerin tamamlanması ile birlikte yaprak ve meyvede hastalık belirtisi göstermeyen 51 adet domates hattı ToBRFV etmenine karşı tolerant olarak belirlenmiştir. Belirlenen bu hatlardan 30 hat tekli domates, 13 hat kokteyl domates, 8 hat pembe domates grubundadır. Dikimi yapılan genotiplerin yetiştirilme dönemleri boyunca ToBRFV belirtilerine rastlanmamıştır. Genotipleri temsil eden hatların melezlenerek hibrit çeşit elde etmek amacıyla emesküle işlemleri yapılmıştır. Tüm hatların kendi grupları içerisinde birbirleri ile melezlemesi sonucunda tekli domates grubunda 870 hibrit, kokteyl grubunda 156 hibrit, pembe grupta ise 56 hibrit çeşit elde edilmiştir. Elde edilen 1082 hibrit çeşidin 2020 Güz sezonunda ve 2021 Bahar sezonunda seralara dikimleri gerçekleştirilmiştir. Hibrit performansı ile şahitler karşısında öne çıkan ve ToBRFV etmeni belirtilerine rastlanmayan 28 tekli, 15 kokteyl ve 3 pembe domates çeşidi belirlenmiştir. Çeşitlerin geniş çaplı denemelerinin sonunda tescil ve üretim izin başvuruları yapılarak ticarileştirilecektir.

Anahtar Kelimeler: Dayanıklılık, genotip, klasik testleme, ToBRFV

DEVELOPMENT PROJECT OF TOLERANT TOMATO LINES AGAINST TO TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) DISEASE

ABSTRACT

In this study, 416 single, 80 cocktail and 97 pink tomato lines in the F6 level in the gene pool of Anamas Tohum company were subjected to the classical test with the ToBRFV factor. When the tomatoes reached the true two-leaf stage, mechanical inoculation was made with the "ToBRFV-Ant-Tom: MT107885" isolates, which we had, at regular intervals, with the "soft sponge pad" method. Observation of the symptoms of the disease factor continued until the 6th cluster fruits of tomato plants were reddened. With the end of the developmental period of the plants and the completion of the observations, 51 tomato lines that did not show any disease symptoms on leaves and fruits were determined to be tolerant against ToBRFV. Among these lines, 30 lines of single tomatoes, 13 lines of cocktail tomatoes and 8 lines of pink tomatoes are in the group. ToBRFV symptoms were not observed during the growing period of the planted genotypes. In order to obtain hybrid varieties by crossing the lines representing the genotypes, emasculation processes were carried out. As a result of hybridization of all lines within their own groups, 870 hybrid varieties were obtained in the single tomato group, 156 hybrid varieties in the cocktail group, and 56 hybrid varieties in the pink group. The 1082 hybrid varieties obtained were planted in greenhouses in 2020 Fall season and 2021 Spring season. 28 single, 15 cocktail and 3 pink tomato cultivars were determined, which stood out against the witnesses with their hybrid performance and did not show signs of ToBRFV. At the end of the large-scale trials of the cultivars, registration and production permit applications will be made and commercialized.

Keywords: Resistance, classic testing, genotype, ToBRFV

GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), dünyada ekonomik açıdan en gerekli sebzelerdendir. Dünya domates üretimi 5.03 milyon hektarlık bir alanda 180 milyon tonun üzerindedir [1].

Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) ilk olarak 2014 yılında İsrail’de görülmeye başlanmıştır. 2016 yılında Ürdün’den ilk raporu bildirilmiştir. Hastalık etmeni bu bildirimden 7 ay sonra İsrail’in Ramat Negev Bölgesinde tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, hastalığın bir yıl içinde ülkenin domates

*Sorumlu yazar / Corresponding author: damla.ulusoym@anamastohum.com

yetiştiriciliği yapılan çeşitli alanlarda yayıldığını ortaya koymaktadır. (Salem vd. 2016; Luria vd. 2017). Dünyanın yaşadığı iklim değişiklikleri, ortaya yeni çıkan virüslerin hızlı bir şekilde yayılmasına neden olmuştur bu virüslerden biri de ToBRFV'dir. 2019 yılında ülkemizde domates yaprak ve meyve örneklerinde ilk raporu yayınlanmıştır [2]. Tobamovirus cinsi içinde yer alan ToBRFV, seralar ve üretim alanlarında yeni ortaya çıkmış ve oldukça geniş yayılım göstermiş bir virüs hastalığıdır, kısa zamanda dünya çapında büyük önem kazanmıştır. 1 yılda 20 den fazla ülkede rapor edilen bulaş yüzdesi çok yüksek olan ToBRFV yaş sebze meyve ihracatında da testi istenen tehlikeli virüsler arasında ilk sıralarda yer almaktadır. ToBRFV'nin ana konukçuları domates ve biberdir. ToBRFV, mekanik yollar ile konukçu bitkilere, enfekteli tohumlar ve meyveler ile uzak mesafelere taşınarak yayılmaktadır.

Bu çalışmada Anamas Tohum bünyesinde bulunan, morfolojik özellikleri, kalite ve verim kriterleri bakımından ön plana çıkmış hatların ToBRFV'ye tolerantlarının klasik testleme yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. ToBRFV hastalığına tolerant hatların melezlenmesi ile elde edilen hastalık etmenine toleranlı F₁ çeşitlerin domates yetiştiriciliğinde kullanılması ile hastalığın yayılımının azaltılması, tohum ve meyve ticaretinin devam etmesi amaçlanmaktadır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma 2021 Bahar sezonunda Anamas Tohum firmasına ait Ar-Ge seralarında gerçekleştirilmiştir.

Materyal

Çalışmanın ana materyalini, Anamas Tohum firmasına ait domates bitkileri oluşturmaktadır.

Domates Kahverengi Meyve Buruşukluk Virüsünün (ToBRFV) mekanik inokulasyon aşamasında kullanılacak olan 'ToBRFV-Ant-Tom: MT107885' izolatı Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Laboratuvarından temin edilmiştir.

Metot

Dayanıklılık markeri geliştirilmemiş virüsler için klasik dayanıklılık çalışmaları yapmak en güvenli, hızlı ve çevreci bir yöntemdir. Moleküler marker geliştirmenin ilk aşaması olan bu klasik testlemeler virüsler ile mücadelenin en önemli yoludur. Bu çalışmada hastalığın ülkemizde tespit edilmesinin

akabinde, zaman kaybetmemek ve ıslah çalışmalarına yön vermesi amacıyla, klasik testleme yöntemi ile mevcut gen havuzu taranarak ToBRFV etmenine karşı tolerantlı genotipler tespit edilmiştir.

Bitkilerin yetiştirilmesi

Bu çalışmada Anamas Tohum firması gen havuzunda bulunan F6 kademesindeki 416 tekli, 80 kokteyl, 97 pembe domates hattı ToBRFV etmeni ile klasik testlemeye tabi tutulmuştur. Genotiplerin tohum ekimleri Haziran 2019 tarihinde yapılmış, yetiştirilen fidelerin ilk gerçek yaprakları çıktıktan sonra hastalık testlemelerinin yapılacağı yetiştirme ortamına alınmıştır.



Şekil 1. Bitkilerin araziye dikimi

Figure 1. Planting of plants on the soil

Mekanik inokulasyon çalışmaları

ToBRFV enfekteli yapraklar 1/10 (g/v) oranında alınarak, 0.02 M Fosfat tampon (pH:7) çözeltisi + %0.1'lik 2-mercaptoethanol eklenerek ezilmiştir. Domatesler gerçek iki yapraklı döneme geldiğinde elimizde bulunan "ToBRFV-Ant-Tom: MT107885" izolatlarıyla belli aralıklarla bu bitkilere "soft sponge pad" yöntemi ile mekanik inokulasyon yapılmıştır. Bu noktada süngerin pürüzlü tarafı ile bitkinin yapraklarında açılan mikro düzeydeki yaraların derin olmamasına ve doku ölümü gerçekleşmemesine dikkat edilmiştir.

İlk bulaştırma işleminden 3 gün sonra ikinci bulaştırma yapılmış, bu işlem ardından 7 gün aralıklara 3 kez daha inokulasyon işlemi tekrar edilmiştir. Domates fidelerine toplamda 5 kez mekanik inokulasyon işlemi yapılmıştır. Tekrarlanan bulaştırmaların amacı hastalık etmeninin bitki bünyesine alınmama ihtimalini ya da uygulama hatalarını ortadan kaldırmaktır. Bulaştırmayı takip eden 21. günden itibaren kontrolleri yapılan fidelerde genotiplere göre farklılık göstermekle beraber, mozaik desenler, yaprak ayalarında daralmalar, yaprak yüzeyinde yumrular ve yaprak damarlarında sarılaşma tespit edilmiştir.



Şekil 2. Mekanik inokulasyon
Figure 2. Mechanical inoculation

BULGULAR VE TARTIŞMA

ToBRFV etmeni domates bitkisinde yaprakta ve meyvede aynı anda semptom göstermesinin yanında, bazı durumlarda yaprakta gösterirken meyve göstermemekte, bazı durumlarda ise yaprakta semptom göstermiyorken sadece meyvede göstermektedir. Fidelerin sağlıklı bir şekilde büyümelerine devam edebilmeleri adına ToBRFV etmeni görülmeyen genotiplerin Ağustos 2019 tarihinde sera ortamına dikimleri gerçekleştirilmiştir. Gözlemlerin devam ettiği erken dönemde, ToBRFV etmeni belirtisi olan kaliks damarlarında belirgin kahverengileşme, kaliks uçlarında kuruma bazı genotiplerde rastlanmıştır. Hastalık etmeninin belirtilerinin gözlemlenmesine domates bitkilerinin 6. salkım meyveleri kızarıncaya kadar devam edilmiştir. Meyvelerin olgunlaşma dönemi boyunca yapılan gözlemlerde ToBRFV etmeninin yol açtığı, meyvede kahverengi lezyonlara, nekroza yol açan sarı noktalara, olgunlaşmayan, deforme olmuş ve buruşuk meyvelere rastlanmıştır.

Bitkilerin gelişim dönemlerinin sona ermesi ve gözlemlerin tamamlanması ile birlikte yaprak ve meyvede hastalık semptomu göstermeyen 51 adet domates hattı ToBRFV etmenine karşı tolerant olarak belirlenmiştir. Belirlenen bu hatlardan 30 hat tekli domates, 13 hat kokteyl domates, 8 hat pembe domates grubundadır. Hatların tohum hasatları yapılmış ve tohumların ekim tarihine kadar uygun ortamda muhafazaları sağlanmıştır. Tohumların ekim ve fide dikim işlemleri Ocak-Şubat 2020 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Dikimi yapılan genotiplerin yetiştirilme dönemleri boyunca ToBRFV etmenine rastlanmamıştır. Genotipleri temsil eden hatların melezlenerek hibrit çeşit elde etmek amacıyla emesküle işlemleri Nisan 2020 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Tüm hatların kendi grupları içerisinde birbirleri ile melezlemesi sonucunda tekli domates grubunda 870 hibrit, kokteyl grubunda 156 hibrit, pembe grupta ise 56 hibrit çeşit elde edilmiştir.



Şekil 3. Çeşitler (a) Yeşim F₁; (b) 1413 F₁
Figure 3. Varieties (a) Yeşim F₁; (b) 1413 F₁

Elde edilen 1082 hibrit çeşidin 2020 Güz sezonunda ve 2021 Bahar sezonunda Anamas Tohum firmasına ait Ar-ge seralarına dikimleri gerçekleştirilmiştir. Denemelerin yetiştirilme dönemleri boyunca verim, erkencilik, meyve şekli, meyve rengi, çevre koşullarına adaptasyon yeteneği, bazı hastalık ve zararlılara dayanımları takip edilmiştir. Hibrit performansı ile şahitler karşısında öne çıkan ve ToBRFV etmeni belirtilerine rastlanmayan 28 tekli, 15 kokteyl ve 3 pembe domates çeşidi belirlenmiştir. 2021 Güz sezonunda, öne çıkan çeşitlerin ilk çiftçi denemeleri kurulmuştur. Güz sezonunda kurulan denemelerde Yeşim F₁ numaralı tekli domates, Bahar sezonu kurulan denemelerde 1413 F₁ tekli domates ve KH1035 F₁ numaralı kokteyl domates çeşitleri performansları ile öne çıkmış ve makro tohum üretimlerinin yapılmasına karar verilmiştir. Çeşitlerin geniş çaplı denemelerinin sonunda tescil ve üretim izin

başvuruları yapılarak ticarileştirilecektir. Çalışma daha kapsamlı olarak Anamas Tohum ve Akdeniz Üniversitesi işbirliği ile devam etmektedir.

Dayanıklılık geninin bulunma çalışmalarının devam ettiği bu dönemde toleranlı çeşitlerin kullanılması ve bununla birlikte bulaş riskini ortadan kaldırmak için hijyen önlemlerinin uygulanması gerekmektedir. Yaprak veya meyve üzerinde çok az veya hiç belirti olmaması hem hastalığın yayılımının azalmasını, hem de pazarlanabilir ürün miktarının devamlılığını sağlayacaktır.

SONUÇ

Hastalık ve zararlılar ile mücadelede kimyasal kullanımının en çok tercih edilen yöntem olması insan ve çevre sağlığını olumsuz etkilemektedir. Hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık ıslahı çalışmaları, kimyasal kullanma oranını azaltmayı, birim alandan daha fazla ürün elde etmeyi ve ürün kayıplarını en aza indirmeyi amaçlamaktadır. Virüs hastalıklarının kimyasal mücadelesinin sınırlı koşullarda olması, dayanıklılık ıslahı çalışmalarını daha da önemli hale getirmektedir.

Yapılan bu çalışma sonucunda ToBRFV etmenine toleranlı hibrit çeşitler geliştirilmiştir. Çeşitlerin

farklı dönem ve lokasyonlarda adaptasyon denemeleri yürütülmekte ve olumlu sonuçlar elde edilmektedir. Hibrit çeşitlerin tescil edilme işlemleri için çalışmalar devam etmektedir. Tescil edilecek olan çeşitlerin tohum ticareti ve meyve yetiştiriciliğinin yapılması ile domates üretiminde ürün kayıplarının yaşanmaması, tohum ve meyve ihracatının devamlılığı ile ülke ekonomisine katkı sağlanması amaçlanmaktadır. Toleranlı çeşitlerin varlığı aynı zamanda ıslah çalışmalarına da kaynak olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. FAO, 2021. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/qcl> (Erişim: 28.07.2022).
2. Fidan, H., Sarıkaya, P., Calis, O., 2019. First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Turkey. *New Disease Reports* 39:18.
3. Salem, N., Mansour, A., Ciuffo, M., Falk, B.W., Turina, M., 2016. A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Arch Virol* 161:503-506. doi.org/10.1007/s00705-015-2677-7.