

Tokat İlinde Fasulye Tohumlarındaki Viral Etmenlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar

Nazlı Dide KUTLUK YILMAZ¹ Mustafa GÜMÜŞ²
Semih ERKAN³

Summary

Studies on Determination of Virus Diseases in the Seeds of Bean from Tokat Province

The symptoms like crinkle, reduction in size, cracking, splitting, break down in colour and yellowing were observed in seeds of bean samples collected from Tokat Province and the districts in its surroundings. It was determined by das-Elisa that the seed samples of bean were totally infected with BCMV (bean common mosaic virus = BCMV) at the rate of 59 %. The incidence of the virus under test in the bean seed samples changed from 25 % to 100 %, when considering the situation in the districts. In the seed samples obtained there was not any signs of infections BYMV (bean yellow mosaic virus) and AMV (alfalfa mosaic virus). In the young bean plants produced from seeds infected with BCMV it was seen some symptoms such as systemic mosaic and leaf deformations in growing on tests.

Key Words: Bean, seed-borne, BCMV, BYMV, AMV

Giriş

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ülkemizde insan beslenmesinde çok önemli yeri olan bir kültür bitkisidir. Özellikle protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir rol oynayan fasulye, aynı zamanda toprağa azot sağlaması bakımından ekim nöbetine sokulması gereken bir bitkidir (19). Ülkemizde 450.000 ton taze fasulye, 38.500 ton barbunya fasulyesi ve 235.000 ton kuru fasulye

¹Araş. Gör. Dr, GOP.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Taşlı Çiftlik, Tokat.
e-mail: nazlik@gop.edu.tr

²Yard. Doç. Dr., E.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 35100 Bornova, İzmir.
e-mail: gumus@ziraat.ege.edu.tr

³Prof. Dr., E.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, 35100 Bornova, İzmir.
e-mail: erkan@ziraat.ege.edu.tr

üretimi yapılmaktadır (2). 1999 yılı kayıtlarına göre Tokat ilinde 2.896 ha alanda taze fasulye, 4.138 ha alanda kuru fasulye ve 130 ha'da ise barbunya fasulyesi ekimi yapılmış, bu ürünlerin verimleri sırasıyla 8.653 kg/ha, 1.360 kg/ha ve 7.401 kg/ha olmuştur (3).

Beslenme amacı ile yetiştirilen ürünlerin %90'a yakın bir kısmının tohum ile üretilmeleri tohum sağlığı konusunun ayrıntılı bir biçimde incelenmesini gerektirmektedir. Nitekim, bitki tohumlarında yaklaşık olarak 2400 adet viral, fungal, bakteriyel vb. kökenli etmen bulunmakta ve bunlar 383 adet bitki cinsinin tohumlarında hastalık meydana getirmektedir (11). Bu etmenler arasında virüslerin payı oldukça önemli olup 108 adet bitki virüsünün tohum veya polenle taşınabildiği kesin olarak saptanmıştır (14). Fasulye tohumlarında da toplam 57 adet hastalık etmeninin bulunduğu belirlenmiş olup bunlardan 14'ten fazla sayıda virüsün tohum ile taşındığı bildirilmektedir. Fasulye adi mozaik virüsü (bean common mosaic virus = BCMV) ve yonca mozaik virüsü (alfalfa mosaic virus = AMV) fasulye tohumlarında saptanan yaygın virüsler arasında yer alırken, fasulye sarı mozaik virüsü (bean yellow mosaic virus = BYMV)'nün tohumla taşındığı yönünde bir kayıt bulunmamaktadır. Genel olarak virüslerin tohumlarda oluşturduğu makroskobik belirtiler şekil bozuklukları ve renk değişiklikleri şeklinde ortaya çıkmaktadır (11). Kaiser ve Hannan (13), AMV inokule edilmiş fasulye bitkilerinden elde edilen tohumlarda % 0.7-5 oranında taşınmanın gerçekleştiğini belirtmektedir. BCMV'nün fasulye tohumları ile taşındığı ve özellikle genç dönemde enfekte olmuş bitkilerden elde edilen tohumlarda taşınma oranının % 83 düzeyine kadar artabileceği bazı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (5,15,17). Fidan ve Yorgancı (12), çalışmalarında Ege Bölgesi'nde bu virüs için taşınma oranını % 56 olduğunu belirtmektedirler. Richardson (17), domates siyah halka virüsü (tomato black ring virus =TBRV)'nün patates ırkı ile inokule edilen fasulye bitkilerinden elde edilen tohumlardan oluşan 144 fasulye fidesinden yalnızca 1 adedinde bu virüsün varlığının belirlendiğini bildirmektedir. Soya fasülyesi mozaik virüsü (soybean mosaic virus = SMV) üzerinde yapılan çalışmalarda, bu virüsün tohumla taşınma oranını enfeksiyon zamanının belirlediği ve çiçeklenmeden önce gerçekleşen enfeksiyonlarda bu oranın % 16'ya kadar çıkabildiği ortaya koyulmuştur (6). Castano ve Morales (8) ise Brezilya'da bu oranı %1.6 olarak belirlemiştir.

Bu çalışmada Tokat yöresinde yetiştirilen fasulye tohumlarındaki BCMV, BYMV ve AMV adlı virüslerin bulunma durumunun araştırılması amaçlanmaktadır.

Materyal ve Yöntem

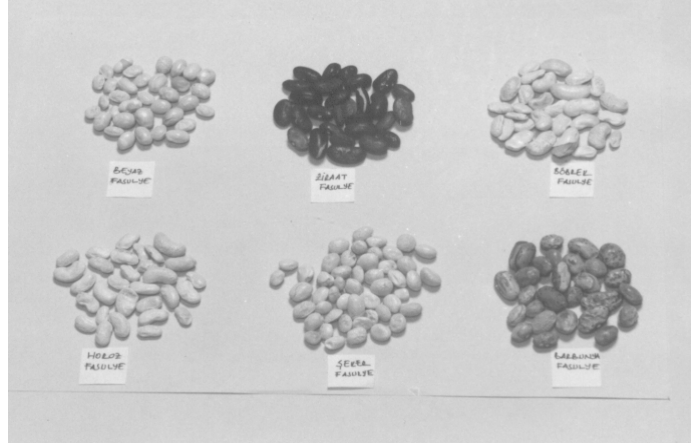
Çalışma Mart-Nisan (2000) aylarında Tokat yöresinde fasulye yetiştiriciliği yapılan Artova, Erbaa, Niksar, Pazar, Turhal, Zile ve Merkez ilçelerine bağlı köylerden toplanan 88 adet tohum örnekler ile gerçekleştirilmiştir. Her bir örnekten yaklaşık 50 adet fasulye tohumu tesadüfi olarak ayrılmış ve tohumlarda görülen makroskopik belirtiler kaydedilmiştir. Elisa testleri için tohumlar 1/7 oranında ekstraksiyon tamponu içinde ezilmiş ve virüslerin incelenmesi için Elisa testi aracılığıyla (7, 10) E.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuvarı'nda bulunan cihaz ve ekipmanlar ile yapılmıştır. Çalışmalar sırasında kullanılan Elisa kitleri ve reagentleri Loewe (Almanya) firmasından sağlanmıştır. Bu testlerde sağlıklı ve bulaşık örnek sınırlarının saptanmasında $x + 3.25 s$ formülü kullanılmıştır (x: 8-10 adet sağlıklı örneğin absorbans değeri ortalaması, s: belirlenen değerlere ait standart sapma) (9). Elisa testinde 0.100'ün altındaki absorbans değerleri temiz olarak, bu değerlerin üstündekiler ise enfekteli olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmanın diğer bir aşamasında ise virüslerin varlığını belirlemek için bitki yetiştirme yönteminden de yararlanılmıştır (1, 16). Bu amaçla das-Elisa testi sonuçlarına göre pozitif (virüs ile enfekteli) olan örneklerden alınan fasulye tohumları önceden sterilize edilmiş kum, yanmış gübre ve toprak karışımı (1: 1: 1) içeren 30 cm çaplı steril saksılara ekilmiştir. Oluşan bitkiler kontrollü koşullardaki ortamlarda tutularak sergilenen belirtiler gözlenmiş ve kaydedilmiştir.

Sonuçlar ve Tartışma

İnceleme yapılan alanlardan toplanan farklı çeşitlere ait fasulye tohum örneklerinde görsel olarak yapılan incelemelerde; enfekteli tohumlarda virüslerin genel olarak buruşma, küçülme, çatlama, yarıma, renk değişikliği, sararma ve şekil bozukluğu gibi belirtiler gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 1).

Elisa testi sonuçları bu çalışmada kullanılan fasulye tohum örneklerinin tümünde BYMV ve AMV enfeksiyonlarının mevcut olmadığını, buna karşın bazı örneklerde BCMV enfeksiyonunun bulunduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bulgulara göre, Tokat ve çevresinden alınan 88 adet fasulye tohum örneğinde BCMV bulunma durumu Çizelge 1'de verilmiştir. Yapılan çalışma sonucu bu virüs ile



Şekil 1. BCMV ile enfekteli bazı fasulye çeşitlerine ait tohumların Genel Görünüşleri

enfekteli olduğu belirlenen örnek sayısı 54'dür ve bu değer alınan örneklerin % 61.4'lük kısmını oluşturmaktadır. Adı geçen virüsün örneklerdeki bulunma oranına ilçeler düzeyinde bakıldığında; Erbaa ilçesinden alınan 14 örneğin tamamının BCMV ile enfekteli olduğu ve bunu % 87.5 değeri ile Zile ilçesinin takip ettiği belirlenmiştir. İncelenen ilçeler içerisinde BCMV'nin en düşük oranda yaygın olduğu yerin ise Artova ilçesi (% 25) olduğu saptanmıştır (Çizelge 2). Nitekim, BCMV'nün tohumla taşınma oranının çok yüksek olduğu (*P. vulgaris*'de % 83'ün üstünde)'nun bildirilmesi (3) bulgularımızı doğrular niteliktedir. Yine Smith ve Hewitt (18), BCMV ile enfekteli 51 adet fasulye çeşidi ile yürüttükleri çalışmalarında, çeşitlerin tohumlarındaki virüs taşınma düzeyinin %1-75 arasında değiştiğini bildirmişler ve patojenin tohumla taşınma oranının çeşitlerin virüse karşı olan reaksiyonları ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Elisa testlerinde enfekteli oldukları saptanan örneklerden alınan tohumların saksılara ekilmesi sonucu oluşan bitkilerde BCMV'nün olası belirtileri izlenmiştir. Bu bitkilerin genellikle sistemik mozaik ve yaprak deformasyonları tipinde belirtiler oluşturdukları gözlenmiştir (Şekil 2). Bos (5) ise BCMV'nün doğal konukçuları olan *P. vulgaris* ve *P. coccineus* adlı türlerin değişik çeşitlerinde virüsün neden olduğu belirtileri mozaik, yaprak deformasyonu ve kıvrılması, yapraklarda nekroz ve bitki ölümü şeklinde sıralamıştır.

Çizelge 1. Fasulye Tohum Örneklerinde BCMV'nün Bulunma Durumu ve Enfeksiyon Düzeyleri

Örnek No.	Enfeksiyon Düzeyi	Örnek No.	Enfeksiyon Düzeyi	Örnek No.	Enfeksiyon Düzeyi	Örnek No.	Enfeksiyon Düzeyi
1	+++	23	+++	45	-	67	+++
2	++	24	+++	46	-	68	+++
3	+++	25	++	47	+++	69	+++
4	+++	26	-	48	+++	70	+++
5	-	27	-	49	++	71	+
6	+	28	-	50	+	72	-
7	+++	29	+++	51	-	73	-
8	-	30	+++	52	-	74	++
9	-	31	+++	53	+++	75	-
10	+	32	+++	54	-	76	-
11	-	33	+++	55	-	77	+++
12	-	34	+++	56	-	78	-
13	-	35	+++	57	-	79	-
14	+++	36	+++	58	-	80	-
15	+++	37	+++	59	+++	81	-
16	+++	38	+++	60	+++	82	-
17	+++	39	+++	61	+++	83	-
18	+++	40	+++	62	+++	84	-
19	+++	41	+++	63	+	85	-
20	+++	42	++	64	-	86	-
21	+++	43	-	65	+++	87	+
22	+++	44	-	66	+++	88	++

* 0,000-0,100: Temiz (-) 0,201-0,400: Orta (++)
0,101-0,200: Düşük (+) 0,401< :Yüksek (++++)

Çizelge 2. Tokat Yöresinde Toplanan Fasulye Tohum Örneklerinde BCMV'nün Bulunma Durumu ve İlçeler Düzeyindeki Dağılımı

İlçe	Toplam Örnek Sayısı	Enfekteli Örnek Sayısı	
		Adet	%
Niksar	15	9	60.0
Turhal	13	10	76.9
Erbaa	14	14	100.0
Merkez	13	5	38.5
Pazar	9	5	55.6
Zile	8	7	87.5
Artova	16	4	25.0
Toplam	88	54	61.4



Şekil 2. BCMV ile Enfekteli Fasulye Tohumlarından Oluşan Bitkilerde Görülen Mozaik Belirtisi

Özet

Tokat ili ve çevresindeki ilçelerden alınan fasulye tohum örneklerinde yapılan makroskobik incelemelerde buruşma, küçülme, çatlama, yarıma, renk değişmesi ve sararma gibi belirtilerin olduğu gözlemlenmiştir. Das-Elisa tekniği kullanılarak yapılan testlerde fasulye tohum örneklerinin % 59 oranında BCMV (fasulye adi mozaik virüsü) ile enfekteli oldukları saptanmıştır. Adı geçen virüsün ilçelere göre fasulye tohum örneklerindeki bulunma durumu % 25-100 arasında değişmiştir. Toplanan fasulye tohum örneklerinde BYMV (fasulye sarı mozaik virüsü) ve AMV (yonca mozaik virüsü) enfeksiyonlarına rastlanılmamıştır. BCMV ile enfekteli olan tohumlardan oluşan genç fasulye bitkilerinde ise genellikle sistemik mozaik ve yapraklarda şekil bozulmaları tipinde belirtiler ortaya çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fasulye, tohum kaynaklı, BCMV, BYMV, AMV

Kaynaklar

1. Agarwal, V. K., Sinclair, J. B., 1987. Principles of Seed Pathology Vol. 1 (XII+176p.) and Vol. 2 (XII+168p.). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
2. Anonymous, 1998. Türkiye İstatistik Yıllığı. T. C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü. Yayın No: 2240, Ankara.
3. Anonymous, 2000. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tokat İl Müdürlüğü 1999 Yılı Çalışma Planı, Tokat, 121 s.
4. Anonymous, 2002. <http://www.fs.uidaho.edu/vide/descr068.htm>
5. Bos, L., 1971. Bean Common Mosaic Virus C.M.I./A.A.B. Description of Plant Viruses. No: 73.
6. Bowers, G. R. Jr., Goodman, M. R., 1979. Soybean mosaic virus: infection of soybean seed parts and seed transmission. *Phytopathology*, 25:7.
7. Casper, R., Meyer, S., 1981. Die Anwendung des Elisa-Verfahrens zum Nachweis pflanzenpathogener Viren. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, 33, 49-54.

- 8.Castano, M., Morales, F. J., 1983. Seed transmission of soybean mosaic virus in *Phaseolus vulgaris* L. *Phytopathologica Brasileira*, 8 (1): 103-107.
- 9.Clark, M. F., 1981. Immunosorbent Assays in Plant Pathology. *Ann. Rev. Phytopath.* 19, 83-106.
- 10.Clark, M. F., Adams, A. N., 1997. Characteristics of the microplate method of Enzyme- Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *J. Gen. Virol.*, 34: 475-483.
- 11.Erkan, S., 1998. Tohum Patolojisi. Ege Üniv. Zir. Fak. Bitki Kor. Böl., İzmir, 275 s.
- 12.Fidan, Ü., Yorgancı, Ü., 1990. Investigation on the detection and seed transmission of the virus diseases occurring on the pulse crops in Aegean Region. 2. Seed transmission of virus diseases by grower seeds and seeds of artificial infected pulse crops. *J. Turkish Phytopath.*, 19 (1): 1-6.
- 13.Kaiser, W. J., Hannan, R. M., 1983. Additional hosts of alfalfa mosaic virus and its seed transmission in tumble pigweed and bean. *Pl. Dis. Repr.*, 59:770.
- 14.Mink, G. I., 1993. Pollen- and seed-transmitted viruses and viroids. *Ann. Rev. Phytopath.* 31: 375-402.
- 15.Omar, R. A., Mehjar, F. F., Zayed, E. A., Deit, A. A., 1985. Biological studies on some seed-borne viruses and their effect on vegetative growth and yield component of the host plant. *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hungaricae*, 20 (3): 80-85.
- 16.Phatak, H. C., 1974. Seed-borne plant viruses- Identification and diagnosis in seed health testing. *Seed Sci. and Technol.* 2: 3-155.
- 17.Richardson, M. J., 1990. An annotated list of seed borne diseases. The International Seed Testing Association (ISTA), Zurich, Switzerland.
- 18.Smith, F. L., Hewitt, W. B., 1938. Varietal susceptibility to common bean mosaic virus and transmission through seed. *Calif. Agric. Exp. Stn. Bull.* No: 621, 18p.
- 19.Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme) Ege Üniv. Zir. Fak. Bahçe Bit. Böl., İzmir, 440 s.