

Bitki Virüsleriyle Mücadelede Yeni Stratejiler: Virüs Enfeksiyonlarına ve Vektörlerine Karşı Dayanıklılığın Geliştirilmesi

Serkan YEŞİL¹ Filiz ERTUNÇ²

ÖZET: Kültür bitkilerinde kalite ve verim azalışına sebep olan virüs hastalıkları mücadele zorluğu açısından ayrı bir önem taşımaktadır. Virüsten ari (virüssüz) üretim materyali kullanmak, virüse ve vektör organizmaya dayanıklılık ıslahı ve vektör organizmalarla mücadele ederek hastalığın bulaşmasını engellemek viral hastalık etmenleriyle mücadelede en etkili yöntemlerdir. Üzerinde en fazla çalışılan yöntem virüslere karşı dayanıklı bitki genotiplerinin geliştirilmesidir. Virüslere dayanıklı çeşitler, hem doğal dayanıklılık genleri içeren hatlarla ekonomik değeri olan çeşitlerin tozlaştırılması şeklinde klasik ıslah metotlarıyla hem de son yıllarda, genetik mühendisliği yöntemleri kullanılarak transgenik olarak elde edilebilmektedir. Bitkileri virüslere karşı dayanıklı hale getirmek için üç temel transgen kaynağından faydalanılmaktadır. Bunlar doğal dayanıklılık genleri, viral sekanslardan türetilen genler (Patojen kaynaklı dayanıklılık) ve diğer kaynaklardan elde edilen ve hedef virüsü engelleyici çeşitli genlerdir. Patojen kaynaklı dayanıklılık (PDR) uygulamalarının temeli, patojenezdeki moleküler etkileşimlerin anlaşılması ve bunların patojen aleyhine bozulmasıdır. Hedef virüsün kılıf proteini (CP) geninin aktarılması ve transkripsiyon sonrası gen susturulması (Post Transcriptional Gene Silencing) patojen kaynaklı dayanıklılıkta son yıllarda en çok üzerinde durulan uygulamalardır. Bu derlemede bitki patojeni virüslerle mücadelede özellikle virüslere ve vektörlerine karşı kültür bitkilerini dayanıklı hale getirme yöntemleri özetlenmektedir.

Anahtar kelimeler: Virüs hastalıkları, doğal dayanıklılık, patojen kaynaklı dayanıklılık, kılıf proteini geni

New Strategies in Control of Plant Viruses: Resistance Development to Virus Infections and Their Vectors

ABSTRACT: Virus diseases, which decrease quality and quantity of crop yield, have importance because of the difficulties in control. The most efficient methods to control virus diseases are use of virus-free plant material, breeding resistant varieties to viruses or vectors, controlling vector organisms to prevent the viral diseases. Recently, development of resistant varieties became one of the prevalent methods. Besides the naturally resistant varieties, it can be obtained by classically crossing of varieties containing natural resistance genes with commercial varieties or by genetic engineering methods in two decades. There are three main trans-gene sources to obtain resistant transgenic plants against virus infections. Naturally resistance genes, pathogen derived resistance genes and various genes are obtained from the other sources. Pathogen derived resistance is commonly used comparing to the others. These methods are based on understanding of molecular interactions in pathogenesis and interference of these interactions against plant pathogens. The most commonly used methods are transfer coat protein (CP) gene of target virus and gene silencing (Post Transcriptional Gene Silencing). In this review, the methods for making resistant plants against viruses and vectors are summarized.

Keywords: Virus diseases, natural resistance, pathogen derived resistance, coat protein gene

¹ Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Konya, Türkiye

² Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ankara, Türkiye

Sorumlu yazar/Corresponding Author: Serkan YEŞİL, serkanyesil@selcuk.edu.tr

GİRİŞ

Kültür bitkilerinde kalite ve verim kaybına sebep olan ve diğer zararlıların aksine pestisitlerle kontrolü mümkün olmayan virüs hastalıkları ile günümüzde değişik kültürel önlemler kullanılarak mücadele yapılmaktadır. Bunların başında; termoterapi ve doku kültürü gibi yöntemlerle elde edilmiş virüslerden ari üretim materyali kullanılması, ürün münavebesi, çapraz koruma, inokulum kaynağı olabilecek bulaşık bitkilerin tarım alanlarından uzaklaştırılması, virüs vektörleri (böcek, nematod, fungus vs.) ile mücadele edilmesi ve virüslere dayanıklı bitkilerin elde edilmesi (Klasik ıslah ve moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak) gelmektedir. Bununla birlikte, özellikle virüs vektörleriyle kimyasal mücadelede kullanılan insektisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri ve bu kimyasallara karşı dayanıklı vektör ırklarının ortaya çıkması, virüslerden ari bitkilerin ise arazi koşullarında meydana gelen bir enfeksiyonlara karşı dayanıklılık göstermemesi araştırmacıları son yıllarda moleküler biyoloji tabanlı tekniklerle virüslere ve vektörlere dayanıklı bitkilerin elde edilmesine yönlendirmiştir (Ergül ve ark., 2001; Hull, 2002; Goldbach et al., 2003; Murphy, 2006).

Bu derlemede, bitkilerde virüslere ve virüs vektörlerine karşı biyokimyasal ve yapısal dayanıklılık mekanizmaları kısaca açıklandıktan sonra genetik dayanıklılık mekanizmaları, bu mekanizmaların bitkilerde doğal dayanıklılığı nasıl sağladığı ve virüslere dayanıklı transgenik bitki elde etme çalışmalarında kullanılan kaynaklar irdelenmiştir.

BİTKİLERDE VİRÜSLERE KARŞI DAYANIKLILIK MEKANİZMALARI

Bitki Patojeni Virüslere Karşı Doğal Dayanıklılık

Bitkilerde virüslere karşı yapısal dayanıklılık: Konukçu bitkilerde var olan anatomik ve morfolojik yapısal değişiklikler, bitkiyi virüs enfeksiyonuna karşı dayanıklı, tolerant veya bağışık kılabilir. Kalın bir kütikula tabakası, tüylü bir yaprak yüzeyi veya kalın duvarlı bir epidermis hücresi ile bitki, üzerinde bir vektörün beslenmesine veya sokucu emici ağız tipindeki bir vektörün stiletini kullanmasına karşı koyabilmektedir. Olgun bitki dayanıklılığı da yapısal dayanıklılık içinde anılmaktadır.

Bitkilerde virüslere karşı biyokimyasal dayanıklılık: Bu türlü dayanıklılık şekli, bitkiler açısından iki farklı yönde oluşmaktadır. Bunlardan ilki, bitkinin enfeksiyondan önce sahip olduğu ve sentezlediği bazı biyokimyasal moleküllerle patojene karşı koymasındadır. Bu durum, virüs sentezini engelleyen bazı biyokimyasal maddelerin varlığı ve virüs sentezi için gerekli moleküllerin yetersiz olması şeklinde ortaya çıkmaktadır. Diğer ise enfeksiyonun başlaması ile birlikte, yine enfeksiyonun tetiklediği bazı moleküllerin sentezi sonucu ortaya çıkmaktadır. Bunlar: fenolik bileşikler ve fitoaleksinler, polifenoloksidaz (PPO) ve peroksidaz (PO) enzimleri ile toksik kinon bileşikleridir.

Bitkilerde virüslere karşı kalıtsal dayanıklılık: Bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılığın kalıtsal olarak sonraki nesile aktarılmasının esaslarının anlaşılmasından sonra dayanıklılık için bitki ıslahı çalışmaları bitki virüsleriyle mücadelede en etkili ve basit yaklaşımlardan birisi olmuştur. Bitkiler sert hücre duvarı gibi engellerin varlığı ile ortaya çıkan pasif savunmanın yanında virüsler gibi patojenleri tanıyarak aktif savunma mekanizmalarını da ortaya koymaktadırlar. Bunlardan en çok görüleni aşırı duyarlılık reaksiyonları (hypersensitive response, HR)'dir. Bu reaksiyonda virüsün ilk enfeksiyon yaptığı bölgenin etrafını saran hücrelerde programlı bir hücre ölümü görülür ve virüs yayılamayıp, inaktif olur. Bitkide de lokal lezyonlar ortaya çıkar. Bu HR cevabının ortaya çıkmasından önce virüs ve bitki arasında spesifik bir tanıma durumunun ortaya çıkması gerekir. Bu da bitkideki dominant *R* (Resistance) genlerinin ürünleri ile virüsteki *Avr* (avirulence genes) genlerinin ürünleri arasında bir uyuşma/tanım (gene-karşı-gen, gene-for-gene) ile gerçekleşir (Goldbach et al., 2003; Agrios, 2005). Her ne kadar tersi de görülebilirse de, patojende avirulentlik ve konukçuda da dayanıklılık dominanttır. Genel olarak, patojenin *Avr* genindeki bir değişimle (mutasyon gibi herhangi bir nedenle) bitki, patojeni tanımamakta ve sonuçta da dayanıklılıktan ziyade normal hastalık seyri devam etmektedir. Dolayısıyla, tanışmanın sağlanabilmesi için, bitkideki *R* geninde de belirgin bir değişikliğin yapılması gerekmektedir. Yine buradan da anlaşılıyor ki, dayanıklılık; konukçu ve patojen arasındaki özel bir tanışma sonucu ortaya çıkmaktadır (Agrios, 2005).

Dominant dayanıklılık genlerince dayanıklılığın sağlanması: Günümüze kadar, farklı bitki patojenlerine karşı tanımlanan *R* dayanıklılık genlerinin çok büyük bir kısmı monogenik dominant dayanıklılık or-

Çizelge 1. Bilinen virüs dayanıklılık genlerinin özeti (Hull, 2002)

Dayanıklılık geni	Monogenik	Oligogenik veya poligenik
Dominant	81	10
Resesif	43	20
Tamamlanmamış dominant	15	6
Bilinmiyor	---	4
Toplam	139	40

taya koymaktadırlar (Çizelge 1) (Maule et al., 2007). Patojen dizininin geniş olmasına rağmen (virüs, fungus ve bakterilerden nematod ve böceklerle kadar değişen) farklı bitkilerden tanımlanan tüm *R* genlerinin kodladıkları proteinlerin 8 gruba ayrıldığı saptanmıştır (Ritzenthaler, 2005). Dikkat çekecek derecede, virüslere karşı dayanıklılık sağlayan tüm *R* genlerinin (*RTM1* ve *RTM2* dışında) NBS-LRR (Nucleotide-binding site plus leucine-rich repeat) sınıfına bağlı olduğu saptanmıştır. NBS-LRR virüs dayanıklılık genleri, çoğunlukla komple (kalitatif) dayanıklılık ortaya koyarlar, fakat bu her zaman hücre ölümü ve/veya doku nekrozu ile birlikte olmaz. En iyi karakterize edilen örneği PVX (Patates X virüsü)'e karşı *Rx* genidir. Bu, PVX'e karşı aşırı dayanıklılık sağlar ve aşırı duyarlılık hücre ölümü olmadan virüs replikasyonunu engeller (Maule et al., 2007). Bu tip dayanıklılığın virüs mutasyonlarıncı kırılması daha kolay gerçekleşebilmektedir (Lecoq et al., 2004).

Resesif dayanıklılık genlerince dayanıklılığın sağlanması: Resesif dayanıklılık mekanizmalarını açıklamak için genel olarak kabul edilen iki hipotez vardır. Bunlara göre: Dayanıklılık ya pasif mekanizma sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu durumda dayanıklılık, virüsün yaşam çemberini tamamlamak için gerekli olan konukçu faktörlerinin eksikliği sonucu veya bu faktörlerin mutantlarının varlığı sonucunda ortaya çıkar veya dayanıklılık aktif mekanizma sonucu ortaya çıkar. Burada dayanıklı bitki, virüs yaşam çemberinin bazı safhalarını bozucu bir inhibitör üretir veya virüs tarafından kodlanan bazı molekülleri tanıyan bir faktörü taşıması sonucu ortaya çıkar. Bu tip dayanıklılıkların çok büyük bir kısmı potyvirus enfeksiyonlarına karşı etkilidir, (Çizelge 2) bununla birlikte son zamanlarda mutant *elF4E* geninin aynı zamanda BaYMV (Arpa sarı mozayik virüsü), MNSV (Kavun nekrotik halkalıleke virüsü) ve CMV (Hıyar mozayik virüsü)'ye karşı resesif dayanıklılıkta da etkili olduğu saptanmıştır (Maule et al., 2007).

Bitki Patojeni Virüslere Karşı Transgenik Koruma

Günümüzde, genetik mühendisliği yöntemleri kullanılarak virüslere dayanıklı bitkiler elde edilebilmektedir. Bitkileri virüslere karşı dayanıklı hale getirmek için yararlanılan temel olarak 3 transgen kaynağı bulunmaktadır.

Doğal dayanıklılık genleri: Bitki varyetelerinde doğal olarak var olan ve virüs hastalıklarına karşı dayanıklılık sağlayan genlerdir. Bu şekilde bir gen tanımlandığında izole edilebilir ve bir başka bitki çeşidine aktarılabilir. Patates X virüsüne aşırı dayanıklılık sağlayan *Rx1* geni, patatesten izole edilerek *Nicotiana benthamiana* ve *N. tabacum*'a aktarılmıştır ve bu virüse karşı dayanıklılığı sağlamıştır. Benzer olarak, *N. glutinosa*'da doğal olarak var olan ve TMV (Tütün mozayik virüsü)'ye karşı dayanıklılık sağlayan *N* geni, domatese aktarılmıştır (Hull, 2002).

Patojen kaynaklı dayanıklılık (Pathogen-Derived Resistance-PDR): Patojen kaynaklı dayanıklılık (PDR) uygulamalarının temeli, patojenezdeki moleküler etkileşimlerin anlaşılması ve bunların patojen aleyhine bozulmasıdır. Bu yaklaşım tüm patojenler ve omurgasız zararlılara karşı uygulanabilmekle birlikte, özellikle virüslerin daha basit genomu sahip olmalarından dolayı daha çok virüslere karşı uygulanmaktadır. Bu yöntem ilk kez Sanford ve Johnson (1985) tarafından spesifik konukçu dayanıklılığını sağlamak için patojen kaynaklı genlerin kullanılması şeklinde önerilmiştir. Burada, virüs genlerinin yanlış zaman ve miktarlarda veya karşıt fonksiyonel formlarda ifadeleri sağlanarak söz konusu virüsün bitki hücresinde çoğaltması engellenmektedir. Bu durum ise virüsün hayat döngüsündeki replikasyon, translasyon, protein kılıfının uzaklaştırılması ve hücreden hücreye geçişler gibi olaylara müdahale edilmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Bu yaklaşımın ilk uygulaması, Powell-Abel et al. (1986) tarafından tütün bitkisinde TMV kılıf proteini, sekanslarının aktarılması ve bitkinin bu virüse karşı dayanıklı

Çizelge 2. Bitkilerde virüslere karşı dayanıklılık sağlayan genlere örnekler (Hull, 2002; Maule et al., 2007)

Gen	Konukçu	Virüs	Kaynak
Dominant genler tarafından kontrol edilenler			
<i>N</i>	<i>Nicotiana glutinosa</i>	TMV	Holmes, 1929.
<i>N'</i>	<i>N. sylvestris</i>	TMV	Melchers et al., 1966.
<i>Zym*</i>	<i>Cucurbita moschata</i>	ZYMV	Paris et al., 1988
<i>Tm-2</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	TMV	Pilowski et al., 1981.
<i>Tm- 2²</i>	<i>L. esculentum</i>	TMV	Cirulli ve Alexander, 1969.
<i>Nx, Nb</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	PVX	Jones, 1982.
<i>By, By-2</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	BYMV	Schroeder and Provvidenti, 1968.
<i>Rsvv, Rsv2</i>	<i>Glycine max</i>	SbMV	Buzzell and Tu, 1984.
<i>Rx1, Rx2</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	PVX	Bendahmane et al., 1999; 2000.
<i>Y-1</i>	<i>S. tuberosum</i>	PVY	Vidal et al., 2002.
<i>Sw5</i>	<i>L. esculentum</i>	TSWV	Brommonschenkel et al., 2000.
<i>Rsv1</i>	<i>Glycine max</i>	SbMV	Hayes et al., 2004.
<i>RT4-4</i>	<i>P. vulgaris</i>	CMV	Seo et al., 2006.
<i>HRT</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TCV	Cooley et al., 2000.
<i>RTM1</i>	<i>A. thaliana</i>	TEV	Chisholm et al., 2000.
<i>RTM2</i>	<i>A. thaliana</i>	TEV	Whitham et al., 2000.
<i>RCY1</i>	<i>A. thaliana</i>	CMV	Takakashi et al., 2001.
Tamamlanmamış Dominant genler tarafından kontrol edilenler			
<i>L¹, L, L3</i>	<i>Capsicum spp.</i>	TMV	Berzal-Herranz et al., 1995.
<i>Tm-1</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	TMV	Fraser et al., 1980.
İki gen	<i>Hordeum vulgare</i>	BSMV	Sisler and Timian, 1956.
Çok gen	<i>Vigna sinensis</i>	SCPMV	Hobbs et al., 1987.
Resesif genler tarafından kontrol edilenler			
<i>by-3</i>	<i>P. vulgaris</i>	BYMV	Provvidenti and Schroeder, 1973.
<i>sw2, sw3, sw4</i>	<i>L. esculentum</i>	TSWV	Finlay, 1953.
<i>pvr1, pvr2¹, pvr2²+pvr6</i>	<i>Capsicum spp.</i>	PVY, TEV,PVMV	Ruffel et al., 2002; 2006.
<i>pot-1</i>	<i>L. esculentum</i>	PVY, TEV	Kang et al., 2005.
<i>sbm1</i>	<i>Pisum sativum</i>	PSBMV	Ruffel et al., 2005.
<i>mol¹, mol²</i>	<i>Lactuca sativa</i>	LMV	Gao et al., 2004.
<i>rym4/5</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	BaMMV, BaYMV,	Nicaise et al., 2003.
<i>rymv1</i>	<i>Oryza sativa</i>	BaYMV2	Stein et al., 2005; Kanyuka et al., 2005.
<i>nsv</i>	<i>Cucumis melo</i>	RYMV	Albar et al., 2006.
		MNSV	Nieto et al., 2006.
Doğal gen			
<i>pvr1, pvr2¹, pvr2²+pvr6</i>	<i>Capsicum spp.</i>	PVY, TEV,PVMV	Ruffel et al., 2002; 2006.
<i>pot-1</i>	<i>L. esculentum</i>	PVY, TEV	Kang et al., 2005.
<i>sbm1</i>	<i>Pisum sativum</i>	PSBMV	Ruffel et al., 2005.
<i>mol¹, mol²</i>	<i>Lactuca sativa</i>	LMV	Gao et al., 2004.
<i>rym4/5</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	BaMMV, BaYMV,	Nicaise et al., 2003.
<i>rymv1</i>	<i>Oryza sativa</i>	BaYMV2	Stein et al., 2005; Kanyuka et al., 2005.
<i>nsv</i>	<i>Cucumis melo</i>	RYMV	Albar et al., 2006.
		MNSV	Nieto et al., 2006.
Mutantlar			
<i>At-elF4E1</i>	<i>A. thaliana</i>	CIYVV	Sato et al., 2005.
<i>At-elF(iso)4E</i>	<i>A. thaliana</i>	TuMV, LMV,TEV	Duprat et al., 2002;
<i>At-elF4E1 (cum1)</i>	<i>A. thaliana</i>	CMV	Lellis et al., 2002.
<i>At-elF4G (cum2)</i>	<i>A. thaliana</i>	CMV, TCV	Yoshii et al., 2004.

*:Dayanıklılığın *zym-1*, *zym-2* ve *zym-3* genleri tarafından sağlandığı ve bunlardan *zym-1*'in önemli olduğu bildirilmektedir.

Çizelge 3. Virüs kılıf protein genlerinin aktarılmasıyla virüslere karşı dayanıklılığın sağlandığı bazı virüsler (Reavy and Mayo, 1992'den değiştirilerek)

Kılıf Proteini Geni kaynağı	Kılıf Proteini Geninin aktarıldığı bitki	Dayanıklılık sağlanan virüs	Kaynaklar
TMV	Tütün	TMV	Powell-Abell et al. 1986
TMV	Tütün	ToMV, TMGMV	Stark et al. 1990
TMV	Tütün	CMV, AMV, SHMV	Anderson et al. 1989
TMV	Domates	TMV, ToMV	Nelson et al. 1988
AMV	Tütün	AMV	Van Dun et al. 1987
AMV	Tütün	PVX, CMV	Anderson et al. 1989
AMV	Domates	AMV	Tumer et al. 1987
TRV	Tütün	PEBV	Van Dun and Bol, 1988
TSV	Tütün	TSV	Van Dun et al. 1988
CMV	Tütün	CMV	Cuozzo et al. 1988
PVX	Tütün	PVX	Hemenway et al. 1988
PLRV	Patates	PLRV	Kawchuk et al. 1990
CMV, WMV2, ZYMV	Kabak	CMV, WMV2, ZYMV	Fuchs et al. 1998
CymMV-CS	Orkide	CymMV-CS	Lin et al. 2005.

hale getirilmesi şeklinde olmuştur (Hull, 2002; Goldbach et al., 2003). Günümüzde patojen kaynaklı dayanıklılık (PDR) çalışmalarında üzerinde çalışılan iki temel moleküler mekanizma karşımıza çıkmaktadır.

Protein kaynaklı koruma

a. Kılıf proteinleri (Coat Protein-Mediated Resistance-CP-MR): Bitkilerde dayanıklılığı sağlamak için en yaygın olarak viral kılıf proteinlerini kodlayan sekanslar kullanılmaktadır. 15 viral taksonomik gruptaki, en az 35 virüsten çok sayıdaki farklı bitki türüne kılıf proteini geni aktarılmıştır (Çizelge 3). Bitkilerde kılıf proteinine bağlı dayanıklılık sağlamak amacıyla, ilgili virüsün kılıf protein genini içeren yapı, partikül bombardımanı veya *Agrobacterium tumefaciens* aracılığı ile bitkilere aktarılmaktadır. Aktarılan bu genlerin bir veya birden fazla kopyasının bitkinin genomik DNA'sıyla rastgele bütünleşmesi ve ifadesi sonucunda üretilen virüs kılıf proteini, sonuçta bitkileri virüse karşı dayanıklı hale getirmektedir (Hull, 2002; Goldbach, et al., 2003; Ritzenthaler, 2005). Bevan et al. (1985) ve Beachy et al. (1986) cDNA'sında TMV'nin kılıf proteini geni içeren tütün bitkilerinde TMV'nin kılıf proteininin ifade edildiğini ilk kez bildirmişlerdir. Bunu, Yonca mozayik virüsü (AMV)'nün (Loesch-Fries et al., 1987), Tütün rattle virüsü (TRV)'nün (van Dun et al., 1987) ve Patates X virüsü (PVX)'nün kılıf proteininin ifade edildiğini gösteren raporlar takip etmektedir. Kılıf proteini geninden yararlanılarak bitkilerde dayanıklılık sağlamak amacıyla yapılan ilk çalışma Powell-

Abel et al. (1986) tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar TMV kılıf proteini ifade eden transgenik bitkilerde, inokulasyonu takiben enfeksiyon oluşmadığını veya bu geni taşımayan bitkilere göre sistemik hastalık belirtilerini çok daha sonra oluştuğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışmada transgenik bitkiler, TMV'nin lokal lezyon oluşturan bir straini ile inokulasyonundan sonra kontrol bitkilerine oranla % 10-20 daha az lokal lezyon oluşturmuşlardır (Nelson et al., 1987). Bazı araştırma sonuçlarında ise kılıf protein geni aktarılmış transgenik bitkilerde dayanıklılığın, kılıf proteininden bağımsız olarak bu genin RNA'sına bağlı olduğu bildirilmektedir. Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'ne karşı dayanıklı transgenik tütün bitkilerinde, dayanıklılığın genin kılıf proteininden kaynaklanmadığı, gen transkriptlerine, yani RNA varlığına bağlı olduğu bildirilmektedir (Ergül ve ark., 2001). Bu yaklaşımın uygulanmasında iki sorunla karşılaşmaktadır. Bunlar; virüs inokulum miktarının artmasıyla, dayanıklılığın azalması ve tam uzunluktaki kılıf protein geninin bitkiye aktarılmasıyla, transgenik bitkilerde kılıf proteininin artması sonucu dayanıklılığın azalmasıdır.

b. Virüsün hareketinden sorumlu viral proteinler: Virüslere karşı dayanıklı bitkilerin elde edilmesi amacıyla üzerinde durulan diğer bir yaklaşım ise virüs tarafından sentezlenen ve özellikle virüsün hareketinde fonksiyonu olan proteinlerin kullanılmasıdır. Bitki hücrelerinde plazmodezmatanın geçirgenliğini artırarak virüsün sistemik hareketini, yani hücreden hücreye geçişini kolaylaştıran bu proteinlere yönelik mutant proteinler oluşturularak virüsün yayılımını önle-

mek bu çalışmaların esasını oluşturmaktadır (Goldbach et al., 2003; Hull, 2002). Yapılan çalışmalarda, transgenik tütün bitkilerinde 3., 4. ve 5. amino asitleri eksik olan mutant TMV hareket proteininin (MPA 3-5) virüsün sistemik belirti oluşumunu geciktirdiği belirlenmiştir. Bu çalışmalarda yapılan gözlemlerde, yalnızca MPA 3-5 proteinini ifade eden transgenik bitkilerde belirti oluşumu durdurulmuştur. Ayrıca, bu mutant proteinin aynı cinse ait (*Tobamovirus*) TGMV (Domates altın mozayik virüsü) ve SHMV (Güneşkeneviri mozayik virüsü) virüslerinin yayılımında da azalmalara sebep olduğu belirlenmiştir (Lapidot et al., 1993). Bu çalışmaların sonucunda; inaktif hareket proteininin üretiminin yapıldığı transgenik bitkilerde, virüs yayılımının azalması, hücreden hücreye virüs geçişinin inaktif hareketli protein tarafından engellenmesine bağlanmaktadır (Horn et al., 1996)

c. Viral replikaz proteinleri: Replikaz dizilerinin ifade ettiği proteinlerin AMV, CMV ve TMV'ye karşı koruma sağladığı ortaya konmuştur. Bu teknik ilk olarak Goleombski et al. (1990) tarafından TMV'ye karşı geliştirilmiştir. Araştırmacılar, TMV'de saptadıkları 54 kDa'luk proteini ifade eden transgenik bitkiler kullanarak bu proteinin fonksiyonlarını araştırmışlardır. 54 kDa'luk proteinin kaynağı olan TMV'nin U1 ırkı ile yaptıkları enfeksiyonlarda transgenik bitkilerin U1 ırkının replikasyonuna tamamen dayanıklı oldukları gözlenmiştir (Ergül ve ark., 2001). Burada kılıf proteini ile sağlanan dayanıklılığın tersine, artırılan inokulum konsantrasyonlarına karşın replikaz aracılığıyla TMV RNA ve TMV virionlarına karşı da dayanıklılık sağlanmıştır. İlk çalışmalar replikaza bağlı dayanıklılığı RNA'dan çok replikaz proteinine bağlarken, sonraki çalışmalarda dayanıklılıkta proteinden daha çok replikaz geninin kullanıldığı RNA dizilerinin etkili olduğu belirlenmiştir. TMV'den başka bu yöntemle PVX, PVY (Patates Y virüsü), AMV, CymRSV (Cymbidium halkalı leke virüsü), CMV, PEBV (Bezelye erken kahverengileşme virüsü), PLRV (Patates yaprak kıvrıcılığı virüsü) ve CPMV (Börülce mozayik virüsü)'ye karşı da dayanıklılık sağlandığı bildirilmektedir (Fraser, 1998; Hull, 2002).

Nükleik asit kaynaklı koruma: Kılıf proteini kaynaklı dayanıklılık çalışmalarında beklenmeyen bazı gözlemler yapılmıştır. Örneğin, patatesten PLRV veya PVY kılıf proteinlerinin ifadesi ve bu virüslere dayanıklılık arasında bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Lindbo ve Dougherty (1992), TEV (Tütün etch virüsü)'nin

transle olmayan kılıf proteini geninin, tam uzunluktaki veya kesilmiş transle olabilen yapılardan daha fazla dayanıklılık sağladığını saptamışlardır. Bu gözlemler, en azından bu örnek çalışmalarda ortaya konan dayanıklılığın proteinden daha çok nükleik asit kaynaklı olduğunu ortaya koymaktadır (Hull, 2002).

a. RNA kaynaklı koruma: Bir bitkiye aktarılan yapı şayet bir protein ortaya koymuyorsa ve dayanıklılık ortaya çıkıyorsa bunun sebebi RNA'dır. Bununla birlikte, protein kodlamayan bir RNA taşıyan tüm bitki hatları da dayanıklılık ortaya koymazlar. Bir viral proteini ifade etmek için tasarlanan yapının aktarıldığı transgenik bitkide meydana gelen korumanın, proteinin ifadesi sonucuyla mı yoksa bu proteini kodlayan RNA sekansı sebebiyle mi ortaya çıktığını tespit etmek oldukça güçtür. Örneğin CPMV hareket proteinini geni aktarılan börülce bitkileri RNA kaynaklı mekanizma sayesinde korunmuşlardır. Yine bu yöntemle PVX, BMV (Brom mozayik virüsü), TVMV (Tütün damar beneklilik virüsü) ve BYDV-PAV (Arpa sarı cücelik virüsü PAV alt grubu)'a karşı koruma ortaya koyulmuştur (Hull, 2002).

b. Antisens RNA'lar ifade eden transgenik bitkiler: Bu teknik basit olarak, bir mRNA'ya ait cDNA kopyasının tamamlayıcı mRNA dizisi oluşturmak üzere ilgili genoma aktarılmasıdır. Tek sarmal antisens RNA'ların tek sarmal viral RNA'lar ile dubleks oluşturması sonucunda gen ifadesinin veya virüs replikasyonunun engellendiği düşünülmektedir (Ergül ve ark., 2001; Hull, 2002). Uygun antisens sekanslarının bitki genomuna aktarılmasıyla spesifik genlerin aktivitesinin engellendiği gösterilmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarda virüs genlerine karşı oluşturulan antisens yapılarının aktarıldığı transgenik bitkilerde, dayanıklılık oranı genellikle düşük bulunmuştur (Cuozzo et al., 1988; Ergül ve ark., 2001). CMV, PVX ve TMV'ye karşı bu tekniğin kullanıldığı bitkilerde, düşük dereceli inokulasyonlarda belli oranlarda dayanıklılık sağlanmıştır. Bununla birlikte, zamanla belirti oluşumunun arttığı ve dayanıklılığın azaldığı görülmüştür (Ergül ve ark., 2001). Bu yöntemle ayrıca; PLRV, TGMV (Domates altın mozayik virüsü), BCTV (Şekerpancarı tepe kıvrıcılığı virüsü) ve ACMV (Afrikan kassava mozayik virüsü)'ye karşı dayanıklılık sağlanmıştır (Hull, 2002).

c. Ribozimler: Ribozimler, enzimler gibi davranan RNA molekülleridir. Bunlar herhangi bir RNA'ya karşı hedeflenerek bu RNA üzerinde kesim yapabilir-

ler (Timmerman, 1993). Ribozim hedef viral sekansa tamamlayıcı olduğundan bir antisens RNA gibi düşünülebilir (Hull, 2002). Transgenik bitkilerde ribozimlerin etkisi ile ilgili çalışmalar kısıtlı olmasına ve yöntemin güçlüklerine karşın, yöntem virüslere dayanıklılıkta kullanılan mekanizmalara alternatif bir mekanizma olarak görülmektedir (Buck, 1991; Ergül ve ark., 2001). TMV ve PPV (Erik beneklenme virüsü)'ye yönelik çalışmalar mevcuttur (Hull, 2002).

d. Uydu RNA (Satellite RNA) kaynaklı koruma: Bazı virüs izolatları genomik RNA'larına ilaveten uydu (satellit) RNA denilen ekstra bir RNA türünü de bulundurmaktadırlar. Bunlar, replikasyonları için tamamen yardımcı virüse bağımlıdırlar (Hull, 2002). Uydu RNA'lar yardımcı virüsün bitkide oluşturduğu belirtileri zayıflatırlar. Bunlar yardımcı virüsün replikasyonu için gerekli olmadıkları gibi bazı durumlarda yardımcı virüsün replikasyonunu engelleyebilmektedirler. Yöntem ilk olarak TRSV (Tütün halkalıleke virüsü)'nin uydu RNA'sının aktarıldığı tütün bitkilerinde ortaya konmuştur (Gerlach et al., 1987). Bu çalışmada transgenik tütün bitkileri, uydu bulundurmayan TRSV ile enfekte edildiklerinde, aktarılan uydu dizilerinde yüksek oranlarda artış saptanmıştır. Bu bitkilerin yapraklarında belirtilerin hafif veya hiç olmadığı, ayrıca virüs birikiminde azalmanın olduğu gözlenmiştir. Bundan başka CMV, GRV (Yerfıstığı rozet virüsü) ve TAV (Domates aspermi virüsü) ile ilgili çalışmalar karşımıza çıkmaktadır. (Hull, 2002).

e. Hasarlı müdahaleci (Defective interfering) nükleik asit kaynaklı koruma: Hasarlı müdahaleci (DI) nükleik asitler viral genomların mutantlarıdır. Bunlar kendi başlarına replike olamaz, fakat ebeveyn yardımcı virüsün varlığında replike olmalarını sağlayan sekansları taşırlar. Çoğu durumda, bunlar ebeveyn virüsün zararına çoğalırlar ve hastalığa sebep olan virüsün belirtilerini azaltırlar. Böylesi nükleik asitler transgenik olarak ifade edildiğinde, ebeveyn virüsün enfeksiyonu ile harekete geçerler ve çoğalırlar. DI-RNA'ların transgenik ifadeleri, *Nicotiana benthamiana* bitkilerinde apikal nekroz ve ölüme sebep olan CymRSV (Cymbidium halkalı leke virüsü)'ye karşı korumaya sebep olması ile gösterilmiştir (Hull, 2002).

f. Transkripsiyon sonrası gen susturulması (Post-Transcriptional Gene Silencing): Gen susturulması, transkripsiyon sonrası hedef RNA dizilerinin parçalanması şeklinde ifade edilmektedir (Goodwin et al.,

1996). Bu yöntemde, pozitif sens RNA'ları kodlayan, ancak protein birikimine neden olmayan genler kullanılmaktadır. Gen inaktivasyonu ile sağlanan bu dayanıklılık yönteminde, hücreler anormal olarak yüksek orandaki RNA sekanslarını, anormal RNA yapılarını veya modifiye olmuş nükleotidleri yakalayarak, gen transkriptlerinin nükleaz parçalanmasına neden olan bir mekanizmayı uyarırlar (Goodwin et al., 1996; Ritzenthaler, 2005). Bugüne kadar, bitkilerde virüslere karşı dayanıklılık kazandırmak için yapılan çalışmalarda, öncelikle sitoplazmik siRNA (short interfering RNA) susturma yönteminden yararlanılmıştır (Ritzenthaler, 2005). PVX, PPV, PMMoV (Biber hafif beneklilik virüsü), MYMV (Mungfasulyesi sarı mozayik virüsü) ve PVY'ye karşı yapılmış çalışmalar mevcuttur (Tenllado et al., 2004; Ritzenthaler, 2005).

Diğer Kaynaklardan Elde Edilen ve Hedef Virüsü Engelleyici Çeşitli Genler

- PR (Patojen-ilişkili) proteinleri ifade eden transgenik bitkiler,
- β -1,3-glucanase için antisens,
- Virüse özel antibadiler ifade eden transgenik bitkiler,
- 2',5'-oligoadenylate synthetase ifade eden transgenik bitkiler,
- Ribozomları inaktive edici proteinler ifade eden transgenik bitkiler,
- Ribonukleaz geni *pac-1* ifade eden transgenik bitkiler,
- İnsan sistatin C.

BİTKİLERDE VİRÜS VEKTÖRLERİNE KARŞI DAYANIKLILIK

Kimyasal kullanımına bir alternatif olarak zararlı böceklere karşı dayanıklı bitki ıslahı konusuna olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Böceklerde; insektisitlere karşı dayanıklılık gelişimi, bitkisel ürünlerdeki kalıntı sorunu, yeni pestisit geliştirme maliyetinin yüksekliği ve pestisitlerin doğaya ve hedef dışı organizmalara olan olumsuz etkileri de bu çalışmaların gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu gelişmeler ile birlikte, virüs vektörleri omurgasızlara karşı dayanıklılık çalışmaları

da artış göstermiştir (Çizelge 4). Vektörlere karşı dayanıklılığın temelleri tam manasıyla anlaşılmış değildir, fakat bazı faktörler tanımlanmıştır. Genel anlamda vektörlerin kontrolü ile ilgili olarak iki tip dayanıklılık-tan söz edilebilir;

Tercih edilmeme (antixenosis): Bir bitkinin çeşitli özellikleri böcek tarafından tercih edilmez niteliktedir. Yani bu bitki böcek için iyi bir konukçu değildir. Ya beslenemez, ya yumurta bırakamaz veya üzerinde barınmaz. Bu nedenle böcek bu bitkiyi tercih etmez. Buna etki eden faktörler daha çok dışsal faktörlerdir.

Antibiyosis: Bu durumda bitki, böceğin biyolojisi için uygun olmayan niteliklere sahiptir. Böcek bu bitki üzerinde yaşayamaz, gelişemez ya da çoğalamaz. Buna etki eden faktörler daha çok içsel faktörlerdir.

Bunların dışında bitkilerde zararlı böceklere karşı görülen bir başka dayanıklılık mekanizması ise toleranstır. Zararlılara karşı genel dayanıklılık düşünüldüğünde kullanılabilir olan bu mekanizma, virüs vektörlerine karşı çok az etkili veya etkisizdir. Hatta bazı durumlarda vektör miktarının ve virüs enfeksiyonunun artmasına sebep olabilmektedir (Hull, 2002; Jones, 1998). Bu iki dayanıklılık tipi her zaman birbirinden kolaylıkla ayırt edilememektedir. Vektör böceklere karşı dayanıklılıktaki bazı özel mekanizmalar şunlardır;

-Glandular trikomlar (salgı bezlerine sahip tüyler) tarafından yapışkan maddelerin salgılanması (*Lycopersicon penellii* bitkisindeki *Bemisia tabaci* dayanıklılığı),

-Yoğun yaprak tüylülüğü (soya fasulyesinde yaprak tüylülüğü arttıkça *Myzus persicae*, *Aphis citricola* ve *Rhopalosiphum maidis* gibi vektörlerin etkinliklerinin azalması sebebiyle SMV: Soya fasulyesi mozayik virüsü epidemilerinin gecikmesi),

-*Solanum berthaultii* 'deki A tipi tüyler kırıldıklarında içerikleri ile afitleri yakalar ve aynı konukçudaki

B tipi tüyler afitlere dolaşarak onların çabalmasına ve böylece daha çok A tipi tüyün kırılmasına sebep olurlar,

-*Agropyron* türlerinde vektörün floemi bulamaması, bununla birlikte bu etki arpada BYDV'nin afit vektörü için geçerli değildir,

-Vektörün konukçu bitkiye yerleşme yeteneğinin bozulması (vektör afitlerin yeşil renkli yapraklara sahip bitkilere kıyasla gümüşü renkli kabakgil bitkilerini daha az ziyaret etmeleri sebebiyle CIYVV: Yonca sarı damarlılık virüsü ve CMV enfeksiyonunun daha geç görüldüğü ve gümüşü yapraklı bitkilerin tamamının hastalanmasına karşın satılabilir ürün alınabilmektedir).

Vektörlere dayanıklı çeşitlerin kullanımında bazı sorunlar ortaya çıkmaktadır. Bunlar; virüsün birden fazla vektörle taşınması, bazen dayanıklılığın virüse karşı koruma sağlayamaması (afide karşı dayanıklı bürülcede CABMV: Bürülce afit kaynaklı mozayik virüsü'ne karşı bir koruma sağlanamamış), konukçu bitkinin birden fazla sayıda virüsle bulaşabilmesi ve belki de en önemli sorun insektisitlerin kullanımında olduğu gibi, dayanıklı çeşitlerin geniş alanlarda kullanımından sonra yeni vektör biyotiplerinin ortaya çıkmasıdır. Güneydoğu Asya'da, 1960 ve 70'lerde, yüksek verimli çeltik çeşitlerinin kullanımı ile çeltikte kahverengi bitki piresi (*Nilaparvata lugens* Stal., Hem.:Delphacidae) ve onun taşıdığı RGSV (Çeltik çimensi cücelik virüsü) ciddi bir problem oluşturmuştur. Zararlıya karşı dominant bir dayanıklılık geni (*bph1*) taşıyan çeşitler 1974'te kullanıma sunulmuş ve yaklaşık 3 yıl içinde zararlının dayanıklılık-kırıcı populasyonları ortaya çıkmıştır. Yeni bir resesif dayanıklılık geni (*bph2*) taşıyan çeşitler ise 1975-83 arasında piyasaya sürülmüş ve bunlar da ancak birkaç yıl dayanıklılıklarını koruyabilmişlerdir (Jones, 1998; Hull, 2002).

Virüs Vektörlerine Dayanıklılık Sağlayan Genler: Böceklere karşı dayanıklılık çalışmalarının pek çoğu kimyasal mücadeleye yöneliktir, fakat birkaçı

Çizelge 4. Virüs enfeksiyonlarında azalmayı sağlayan, böcek vektörlere dayanıklı bitkilere örnekler (Hull, 2002)

Vektör	Ürün	Virüs	Kaynak
<i>Aphis gossypii</i>	Misk kavunu	CMV	Lecoq et al., 1981
<i>Myzus persicae</i>	Patates	PLRV	Rizvi and Raman, 1983
<i>Rhopalosiphon maidis</i>	Soya fasulyesi	SMV	Gunasinghe et al., 1988
<i>Nephotettix virescens</i>	Çeltik	Çeltik Tungro Virüsleri	Hibino et al., 1987
<i>Nilaparvata lugens</i>	Çeltik	RRSV	Parejarlarn et al., 1984
<i>Bemisia tabaci</i>	Domates	TYLCV	Berlinger and Dahan, 1987
<i>Frankliniella schiltzei</i>	Yerfıstığı	TSWV	Amin, 1985
<i>Aceria tulipae</i>	Buğday	WSMV	Martin et al., 1984

“gen için gen” ilişkilerini içeren spesifik savunma cevaplarına yönlenmiştir. Günümüze kadar, virüs vektörlerine karşı dayanıklılık sağlayan iki gen klonlanmıştır. Bunlar, bitki *R* genlerinin NBS-LRR grubundadırlar.

Domates *Mi-1* geni: Patates afidine (*Macrosiphum euphorbiae*, beyazsinek (*B. tabaci*) ve kök ur nematodları (*Meloidogyne* spp.)’na karşı dayanıklılık sağlamaktadır.

Kavun *Vat* geni: *A. gossypii* ve non-persistent virüslere karşı dayanıklılığı kontrol etmektedir.

Bununla birlikte, birçok sokucu-emici ve ısırtıcı-çiğneyici böceklere karşı benzer yapıda tek dayanıklılık genleri ile dayanıklılık sağlanabileceği konusunda raporlar bulunmaktadır. Örneğin, fonksiyon olarak *Mi-1* genine benzerlik gösteren *Nr* geni marulda *Nasonovia ribisnigri* isimli afide karşı dayanıklılık sağlamaktadır (Anonymous, 2012a; b).

SONUÇ

Bitki virüs ve vektörleriyle mücadelede en etkin yöntemlerin başında dayanıklı bitki kullanımı gelmektedir. Kültür bitkilerinde virüslere karşı dayanıklılık; doğal dayanıklılık genlerinin (dominant veya resesif) klasik bitki ıslahı yöntemleriyle veya genetik mühendisliği teknikleriyle hassas çeşitlere aktarılması veya virüsün konukçudaki yaşam çemberini sekteye uğratabilecek, yine virüs kaynaklı genlerin bitkilere aktarılması şeklinde ifade edilen transgenik bitki dayanıklılığı olmak üzere temelde iki şekilde ortaya konmaktadır. Doğal dayanıklılık genlerinin sınırlı olması ve bunlara karşı dayanıklılık kırıcı virüs ırklarının ortaya çıkabilmesi sebebiyle daha çok virüs kaynaklı (PDR) dayanıklılık genlerinin bitkilere aktarılması üzerinde durulmaktadır. Fakat özellikle bu yöntemle elde edilen transgenik bitkilerin ileride ne olacağı konusundaki soru işaretleri bu çalışmaların pratiğe aktarılması konusundaki tereddütlerdir. Virüslere dayanıklı transgenik bitki elde etme yöntemleri, kısa zamanda gerçekleştirilmesi, istem dışı genlerin aktarılma riskinin bulunmaması ve farklı türlerden bitkilere gen aktarılması gibi faydaların yanı sıra birçok endişe ve riski de beraberinde getirmektedir. Bu risklerin başında genetik kirlilik, kanser riski, potansiyel toksisite, diğer bitkilere istem dışı gen aktarımı ve yeni virüs ırklarının ve toksinlerin oluşumu riski gelmektedir. Özet olarak transgenik bitkilerin bazı avantaj ve dezavantajları vardır. Bununla birlikte,

ülkemizde virüslere dayanıklı bitki geliştirilmesi konusunda önemli eksiklikler bulunmaktadır. Asıl sorun transgen teknolojilerinin uygulanmasında yaşanmaktadır. Özellikle moleküler biyoloji alt yapısı, hem çalışan hem de laboratuvar düzeyinde oldukça yetersizdir. Bu konuda çalışacak yeterli bilgi ve beceriye sahip araştırmacı sayısı yeterli değildir. Bunun yanında moleküler biyoloji çalışmalarına ayrılan bütçeler gerçekçi değildir, çünkü bu çalışmalar oldukça masraflı çalışmalardır.

Her ne kadar yukarıda bu çalışmalarda görülen eksikliklerden bahsedildiyse de virüs hastalıklarıyla mücadelede en etkili yöntem dayanıklı bitkilerin geliştirilip, üretimde kullanılmasıdır. Zamanla bu konudaki eksikliklerin giderilerek yapılan çalışmalardaki başarı oranlarının artması konusunda ümitli olmak gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Agrios, G.N., 2005. Plant pathology, 5th Edition. Elsevier, Academic Press.
- Anonymous, 2012a. Interference with vector transmission. http://www.resistvir-db.org/docs/deliverables/WP3/WP3_D22_EG5_report.pdf (Erişim tarihi:12.01.2012).
- Anonymous, 2012b. Mechanisms and Sources of Resistance. http://www.resistvir-db.org/docs/deliverables/WP3/WP3_D6_EG2_report.pdf (Erişim tarihi: 12.01.2012).
- Beachy, R.N., Abel, P., Oliver, M.J., 1986. Potential for applying genetic information to studies of virus pathogenesis and cross-protection. Biotechnology in Plant Science: Relevance to Agriculture in the Eighties (Editors: M. Zaitlin, P. Day, A. Hollander), Academic Press, Orlando, pp. 265-275.
- Bevan, M.W., Mason, S.E., Goelet, P., 1985. Expression of tobacco mosaic virus coat protein by a cauliflower mosaic virus promoter in plants transformed by Agrobacterium. European Molecular Biology Organization Journal, 4: 1921-1926.
- Buck, K.W., 1991. Virus-resistant plants. Plant Genetic Engineering (Editor: D. Grierson), Blackie and Son Ltd, London, pp.136-177.
- Cuozzo, M., O’Connell, K.M., Kaniewski, W., Fang, R.X., Chua, N.H., Tumer, N.E., 1988. Viral protection in transgenic tobacco plants expressing the cucumber mosaic virus coat protein or its antisense RNA. Bio/technology, 6: 549-57.
- Ergül, A., Aras, S., Erayman, M., Özcan, S., 2001. Virüslere dayanıklı transgenik bitkilerin geliştirilmesi. Bitki Biyoteknolojisi II-Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları (Editörler: S. Özcan, E. Gürel, M. Babaoğlu), Selçuk Üniversitesi Basımevi s. 239-260.
- Fraser, R.S.S., 1998. Biochemistry of resistance to plant viruses. Breeding for resistance to plant viruses. Plant Virus Disease Control, (Editor: A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa), APS Press, St. Paul, pp. 56-64.

- Gerlach, W.L., Llewellyn, D., Haselhoff, J., 1987. Construction of a plant disease resistance gene from the satellite RNA of tobacco ringspot virus. *Nature*, 328: 802-805.
- Goldbach, R., Bucher, E., Prins, M., 2003. Resistance mechanisms to plant viruses: an overview. *Virus Research*, 92: 207-212.
- Golemboski, D.B., Lomonosoff, G.P., Zaitlin, M., 1990. Plants transformed with a tobacco mosaic virus nonstructural gene sequence are resistant to the virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 87: 6311-6315.
- Goodwin, J., Chapman, K., Swaney, S., Parks, T.D., Wernsman, F.A., Dougherty, W.G., 1996. Genetic and biochemical dissection of transgenic RNA-mediated virus resistance. *Plant Cell*, 8: 95-105.
- Horn, R., Brahm, L., Friedt, W., 1996. Recombination: Novel gene and genome combinations for resistance breeding by interspecific hybridization a genetic transformation. *Progress in Botany*, 57: 177-196.
- Hull, R., 2002. *Matthews' plant virology*, 4th Edition. Academic Press.
- Jones, A.T., 1998. Control of virus infection in crops through breeding plants for vector resistance. *Plant Virus Disease Control* (Editor: A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa), APS Press, St. Paul.
- Lapidot, M., Gafny, R., Ding, B., Wolf, S., Lucas, W.J., Beachy, R.N., 1993. A dysfunctional movement protein of tobacco mosaic virus that partially modifies the plasmodesmata and limits virus spread in transgenic plants. *The Plant Journal*, 4: 959-970.
- Lecoq, H., Moury, B., Desbiez, C., Palloix, A., Pitrat, M., 2004. Durable virus resistance in plants through conventional approaches: a challenge. *Virus Research*, 100: 31-39.
- Loesch-Fries, L.S., Merlo, D., Zinnen, T., Burhop, L., Hill, K., Krahn, K., Jarvis, N., Nelson, S., Halk, E., 1987. Expression of alfalfa mosaic virus RNA 4 in transgenic plants confers virus resistance. *European Molecular Biology Organization Journal*, 6: 1845-51.
- Lindbo, J.A., Dougherty, W.G., 1992. Untranslatable transcripts of the tobacco etch virus coat protein gene sequence can interfere with tobacco etch virus in transgenic plants and protoplasts. *Virology*, 189: 725-733.
- Maule, A.J., Caranta, C., Boulton, M.I., 2007. Sources of natural resistance to plant viruses: status and prospects. *Molecular Plant Pathology*, 8(2): 223-231.
- McGrath, P.F., Vincent, J.R., Lei, C.H., Pawlowski W.P., Torbert K.A., Gu W., Kaeppler, H.F., Wan, Y., Lemaux, P.G., Rines, H.R., Somers, D.A., Larkins, B.A., Lister, R.M., 1997. Coat protein-mediated resistance to isolates of barley yellow dwarf in oats and barley. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 695-710.
- Murphy, J.F., 2006. Applied aspects of induced resistance to plant virus infection. *Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses* (Editors: G. Loebenstein, J.P. Carr), Springer, pp. 1-11.
- Nelson, R.S., Powell Abel, P., Beachy, R.N., 1987. Lesions and virus accumulation in inoculated transgenic tobacco plants expressing the coat protein gene of tobacco mosaic virus. *Virology*, 158: 126-132.
- Powell-Abel, P., Nelson, R.S., De, N., Hoffmann, N., Rogers, S.G., Fraley, R.T., Beachy, R.N., 1986. Delay of disease development in transgenic plants that express tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science*, 232: 738-43.
- Reavy, B., Mayo, M.A., 1992. Genetic engineering of virus resistance. *Plant Genetic Manipulation for Crop Protection* (Editors: A.M.R. Gatehouse, V.A. Hilder, D. Boulter), CAB International, Oxon, UK, pp.183-214.
- Ritzenthaler, C., 2005. Resistance to plant viruses: old issue, news answers? *Current Opinion in Biotechnology*, 16: 118-122.
- Sanford, J.C., Johnson, S.A., 1985. The concept of parasite-derived resistance: deriving resistance genes from the parasites own genome. *Journal of Theoretical Biology*, 115: 395-405.
- Tenllado, F., Llave C., Diaz-Ruiz, J.R., 2004. RNA interference as a new biotechnological tool for the control of virus diseases in plants. *Virus Research*, 102: 85-96.
- Timmerman, G.M., 1993. Genetic engineering for resistance to viruses. *Biotechnology in Agriculture*, No: 4, *Advanced Methods in Plant Breeding and Biotechnology* (Editor: D.R. Murray), CAB International, Wallingford Oxon, UK, Redwood Press Ltd. Melksham, UK.
- Tör, M., 1998. Bitkilerde moleküler konukçu-patojen ilişkilerinde son gelişmeler. *Turkish Journal of Biology*, 22: 271-285.
- Van der Krol, A.R., Mur, L.A., Beld, M., Mol, J.N., Stuitje, A.R., 1990. Flavonoid genes in petunia: addition of a limited number of gene copies may lead to a suppression of gene expression. *Plant Cell*, 2: 291-299.
- Van Dun, C.M.P, Bol, J.F., Van Vloten-Doting, L., 1987. Expression of alfalfa mosaic virus coat protein genes in transgenic tobacco plants. *Virology*, 159: 299-305.