

KIRAZ ÜRETİM ALANLARINDA GÖRÜLEN ÖNEMLİ VİRÜSLERİN SEROLOJİK VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE TEŞHİSİ VE KILIF PROTEİN GEN DİZİLİMLERİNİN BELİRLENMESİ

Yusuf ÖZTÜRK

Meyvecilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Eğirdir-Isparta

Kiraz Dünyada ve Türkiye’ de yetiştirilen ekonomik açıdan önemli meyve türlerinden birisidir. Türkiye kiraz üretiminde dünyada 1. Sırada yer almaktadır. Kiraz üretimindeki artışla beraber pek çok sorun da gün yüzüne çıkmıştır. Bu sorunlardan bir tanesi de virüs hastalıklarıdır. Kimyasal mücadelesi olmaması, ciddi anlamda ekonomik kayba neden olması virüs hastalıklarının önemini arttırmaktadır. Elma mozaik virüsü (*Apple mosaic virus*, ApMV), Prunus nekrotik halkalı leke virüsü (*Prunus necrotic ring spot virus*, PNRSV) ve Erik cücelik virüsüyle (*Prune dwarf virus*, PDV) birlikte Şarka hastalığının etmeni Şarka virüsü (*Plum pox virus*, PPV) ve Elma klorotik yaprak leke virüsü (*Apple chlorotic leaf spot virus*, ACLSV) sert çekirdekli meyve virüslerinin en önemlileri ve en yaygınlarıdır



Şekil 1- Kiraz ağaçlarında PDV'nin yol açtığı belirtiler.

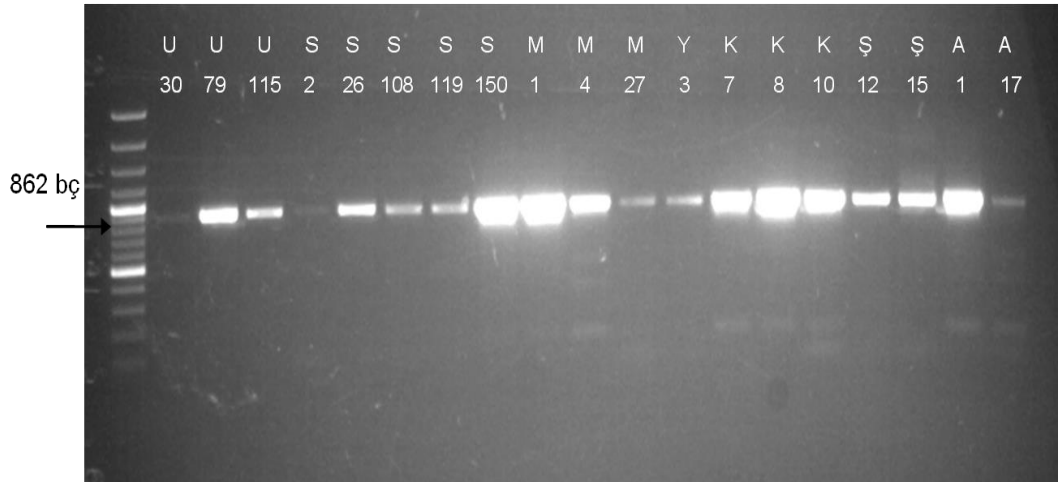
Şekil 2- Kiraz ağaçlarında PNRSV+PDV'nin yol açtığı belirtiler.

Bu çalışma da ülkemizin kiraz üretiminde önemli bir yere sahip olan Isparta ilinin 10 ilçesindeki 142 kiraz bahçesinde ApMV, PDV, PNRSV, CLRV, ACLSV ve PPV'nin varlığı DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri ile araştırılmış, belirlenen bazı izolatların biyolojik ve moleküler karakterizasyonu yapılmıştır.

521 kiraz yaprak örneği öncelikle DAS-ELISA yöntemiyle test edilmiştir. ELISA testi sonucunda 269'u PDV, 23'ü ACLSV, 7'si PNRSV, 36'sı PDV+ACLSV, 8'i PDV+PNRSV, 1'i PDV+ApMV, 3'ü ACLSV+PNRSV, 2'si PDV+PNRSV+ApMV olmak üzere toplamda 349 örnek virüslerle enfekteli bulunmuştur. PDV en sık görülen virüs olurken CLRV ve PPV hiç bir örnekte tespit edilememiştir.

| İlçe | ÖRNEK SAYISI | | | BELİRLENEN VİRÜSLER | | | | | | | | Toplam | Enfeksiyon oranı (%) |
|----------------------|--------------|-------------|----------|---------------------|-------|-------|-------------|-------------|---------------|------------|--------------------|--------|----------------------|
| | Bahçe sayısı | Test edilen | Sağlıklı | PDV | ACLSV | PNRSV | PDV + ACLSV | PDV + PNRSV | ACLSV + PNRSV | PDV + ApMV | ApMV + PNRSV + PDV | | |
| Ulubolu | 44 | 160 | 39 | 96 | 6 | | 17 | 1 | | 1 | | 121 | 75,6 |
| Seniçkent | 39 | 166 | 59 | 99 | 3 | 1 | 3 | 1 | | | | 107 | 64,4 |
| Merkez | 16 | 42 | 11 | 18 | 2 | 1 | 5 | 3 | | | 2 | 31 | 73,8 |
| Atabey | 20 | 48 | 16 | 22 | 5 | | 5 | | | | | 32 | 66,6 |
| Gönen | 6 | 15 | 7 | 6 | | | | 2 | | | | 8 | 53,3 |
| Yaboc | 3 | 10 | 7 | 2 | 1 | | | | | | | 3 | 30,0 |
| Gelenüst | 2 | 10 | 4 | 6 | | | | | | | | 6 | 60,0 |
| Şarkkaraağaç | 4 | 27 | 12 | 5 | 5 | | 5 | | | | | 15 | 55,5 |
| Keçibolu | 4 | 20 | 8 | 10 | 1 | | 1 | | | | | 12 | 60,0 |
| Eğirdir | 4 | 23 | 9 | 5 | | 5 | | 1 | 3 | | | 14 | 60,8 |
| Toplam | 142 | 521 | 172 | 269 | 23 | 7 | 36 | 8 | 3 | 1 | 2 | 349 | 66,9 |
| Enfeksiyon oranı (%) | | | | 51,6 | 4,41 | 1,3 | 6,9 | 1,5 | 0,5 | 0,2 | 0,4 | 66,9 | |

RNA izolasyonundan sonra 22 PDV, 5 PNRSV ve 7 ACLSV izolatından sırasıyla 862 bç, 616 bç ve 677 bç büyüklüğünde hedeflenen bölgeye spesifik DNA'lar çoğaltılmıştır. RT-PCR yöntemiyle çoğaltılan PDV, PNRSV ve ACLSV'ye ait bantlar saflaştırılarak doğrudan dizileme için kullanılmıştır. Dizileme sonucunda bu virüslere ait CP genlerinin nükleotid dizileri ve kodladıkları amino asit dizilimleri belirlenmiştir.



Isparta ili kiraz üretim alanlarından elde edilen örneklerden PDV'ye ait yaklaşık 862 bç uzunluğundaki kılıf protein geninin çoğaltıldığını gösteren jel fotoğrafı

PDV, PNRSV ve ACLSV Isparta izolatları sırasıyla %86-98 ile %82 -%99, %86-99 ile %89-100 ve %80-98 ile %88-%100 arasında değişen oranlarda kılıf protein genlerinin nükleotid ve amino asit diziliminde benzerlik olduğu bulunmuştur. Filogenetik analizler sonucunda ACLSV izolatlarının coğrafik bölgelere ve konukçuya göre gruplandığı ve Isparta izolatların Avrupa izolatlarıyla gruplanarak Avrupa kaynaklı olabileceğini gösterirken PNRSV ve PDV izolatlarının filogenetik analizleri coğrafik bölge ve konukçuya göre gruplanmadığını göstermiştir. Yapılan inokülasyon çalışmalarında PDV izolatları mekanik olarak inoküle edilen otsu bitkilerden *Nicotiana occidentalis*'de, PNRSV ve ACLSV izolatları ise aşılansarak inokülasyon yapılan odunsu Bing kiraz çeşidinde virüslere özgü belirtiler göstermişlerdir.