

İNTİHAL BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı : Fatih ÖZÇİÇEKÇİ

İmza :

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İNCİR MOZAIK HASTALIĞININ AYDIN İLİNDEKİ İNCİR BAHÇE VE FİDANLIKLARINDAKİ YAYGINLIĞININ SAPTANMASI İLE HASTALIK ETMENİNİN, BİTKİ ÖZSUYU İLE TAŞINMASI, KONUKÇU ÇEVRESİ VE SEROLOJİK YÖNTEMLERLE (ELISA) KARAKTERİZASYONUNUN BELİRLENMESİ

Fatih ÖZÇİÇEKÇİ

Adnan Menderes Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ

Türkiye, incir ağaç sayısı ve yıllık üretim miktarı bakımından Dünya’da lider konumundadır. Aydın İli kuru incir üretiminde % 61’lik pay ile Ülkemizde birinci sırada yer almaktadır. Dünyada incir yetiştiriciliğinin yapıldığı hemen her yerde görülen incir mozaik hastalığı incir bitkilerinin yapraklarında mozaik, sararma, klorotik lekeler, deformasyon; meyvelerinde ise klorotik lezyonlar şeklinde semptomlara ve ekonomik anlamda kayıplara neden olabilen önemli bir hastalıktır. Yapılan çalışmalar sonucunda viral bir etmen tarafından oluşturulduğu düşünülen incir mozaik hastalığının Aydın Yöresi bahçe ve fidanlıklarında da bulunduğu bilinmektedir. Bu nedenle, Aydın İlindeki incir bahçe ve fidanlıklarda mozaik belirtileri sergileyen hastalığın bulunma oranı ve şiddetinin saptanması, hastalık etmeninin bitki özsuyla ile taşınıp konukçu çevresinin belirlenmesi ve bazı virüsler ile serolojik ilişkisinin tespit edilmesi bu çalışmanın amacını oluşturmuştur.

2006 yılında Aydın'da incir ağaç sayısı ve üretim miktarı açısından büyük paya sahip olan İncirliova, Germencik ve Nazilli ilçelerinde survey sırasında incelenen 2.745 adet ağaçtan 2.181 adedinin çeşitli oranlarda enfekteli olduğu saptanmıştır. Belirti gösteren ağaçların 442'sinin hastalık şiddeti % 80 ve üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

2006 yılında Aydın İlinde ruhsatlı fidan üretimi yapan özel ve kamu kuruluşlarına ait fidanlıklarda toplam 41.898 adet fidan incelenmiştir. 22.534 adet fidanda mozaik ve deformasyon belirtisi tespit edilmiş ve belirti gösteren bu fidanlardan 772'sinin hastalık şiddeti % 80 ve üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu fidanlarda gelişme geriliği, yaprak deformasyonu ve mozaik simptomlarının çok yoğun olduğu gözlemlenmiştir.

İncir mozaik hastalık etmenin bitki özsuğu ile taşınma özelliği ve konukçu çevresini belirlemek amacıyla 11 çeşide ait toplam 1.291 adet test bitkisine mekanik inokulasyon yapılmıştır. Yalnızca 26 test bitkisinde çeşitli simptomlar görülmüştür. *Nicotiana rustica*'da, *Nicotiana glutinosa*'da ve *Datura stramonium*'da nekrotik lokal lezyon, *Lycopersicon esculentum*'da ve *Capsicum annum*'da sistemik renk açılmaları ve klorotik lokal lezyon ve *Cucumis sativus*'ta nekrotik lokal lezyon ve yaprak deformasyonu gözlenmiştir.

Daha önceki çalışmalarda incir mozaik hastalık etmeni ile serolojik olarak ilişkisi olduğu belirlenen Potyvirus Grubu antiserumu için PTA-ELISA ve ilk kez bu çalışmada denenen Pancar sarılık virüs antiserumu için TAS-ELISA, Erik şarka virüs antiserumu için DAS-ELISA testleri, mozaik belirtisi gösteren 180 adet incir yaprak örneğine uygulanmıştır. Hastalık etmeninin yalnızca Potyvirus gruba karşı düşük absorbansa sahip pozitif reaksiyon verdiği belirlenmiştir.

2007, 64 sayfa

Anahtar Sözcükler:

Ficus carica, incir mozaik, hastalık oranı, hastalık şiddeti, özsuğu taşınması, konukçu çevresi, ELISA (DAS, TAS, PTA)

ABSTRACT

MSc. Thesis

DETERMINATION OF INCIDENCE OF THE FIG MOSAIC DISEASE IN FIG ORCHARDS AND NURSERIES OF AYDIN PROVINCE, AND CHARACTERIZATION OF THE CAUSAL AGENT WITH SEROLOGICAL METHODS, HOST RANGE AND TRANSMISSION BY PLANT SAP

Fatih ÖZÇİÇEKÇİ

Adnan Menderes University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ

Turkey is the leading country in dry fig (*Ficus carica*) production and tree population in world. In Turkey, Aydın Province is ranked first in dry fig production with a rate of 61 %. Fig mosaic which is economically important disease, occurs wherever figs are grown in the world. It causes mosaic, yellowing, chlorotic spotting and deformation on leaves and chlorotic lesions on fruits. Presence of the fig mosaic disease is caused by a viral agent has been reported in the orchards and nurseries of Aydın Province in the previous studies. The objectives of this study are to determine, severity and incidence of exhibiting mosaic symptoms in orchards and nurseries of Aydın Province, and transmission of causal agent by plant sap it's host range and serological reaction to some other viruses. In 2006, out of 2.745 fig trees examined for the presence of mosaic symptoms in İncirliova, Germencik and Nazilli counties 2.181 were infected. In addition it was found that disease severity in 442 trees was 80 % and more. In 2006, 41.898 certified seedlings were examined in nurseries of the Aydın Province and 22.534 of them exhibited mosaic and deformation symptoms. It was found that disease severity of 772 seedlings was 80 % and more. These plants were heavingly infected showing stunting and leaf deformation.

Transmission with plant sap and host range of causal agent were studied by testing on 11 plant species. Out of 1.291 test plants, only 26 exhibited various symptoms. Necrotic local lesions were observed in *Nicotiana rustica*, *Nicotiana glutinosa* and *Datura stramonium*. In *Lycopersicon esculentum* and *Capsicum annum*, systemic discoloration and chlorotic local lesion were produced. Necrotic local lesion and leaf deformation were seen in *Cucumis sativus*. It was known that Potyvirus Group is related to mosaic disease agent serologically; therefore, in serological studies, Potyvirus Group antisera was tested on 180 leaf samples by using PTA-ELISA. Samples were also tested by DAS-ELISA for Plum pox virus antisera and TAS-ELISA for Beet yellows virus antisera that were tested first in this study. As a result the causal agent gave positive reaction against only Potyvirus Group antisera; however, the reaction was low in absorbance.

2007, 64 pages

Key Words :

Ficus carica, fig mosaic, incidence, severity, sap transmission, host range, ELISA (DAS, TAS, PTA)

ÖNSÖZ

Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından (ZRF – 07007 No’lu Proje) desteklenen araştırmamızda, ülkemizde ve dünyada incir üretimi açısından çok önemli paya sahip Aydın İlindeki bahçe ve fidanlıklarda incir mozaik hastalığının bulunma oranı ile ilgili çok az araştırmanın yapılmış olması ve hastalık etmeninin tanısı ile karakterizasyonuna yönelik bulguların henüz kesinleşmemiş ve birbirinden farklı olması nedeniyle bu çalışmanın yapılması planlanmıştır. Bu çalışma, incir mozaik hastalığının Aydın İlindeki bulunma oranı ve hastalık şiddeti hakkında bilimsel anlamda güncel bilgileri elde etmeye yönelik olarak hazırlanmıştır. Aydın Yöresi incir üreticilerine de faydalı olacağı kanısındayız.

Tez çalışması süresince bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ’e, ELISA konusunda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan İzmir Bornova Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü’nden Sayın Dr. Aydan KAYA’ya ve laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan Sayın Ahmet DEMİRYOL’a, fidanlıklar konusunda bilgilerine danıştığım Erbeyli İncir Araştırma Enstitüsü’nün değerli çalışanlarına, Aydın Tarım İl Müdürlüğü ile Germencik, İncirliova ve Nazilli Tarım İlçe Müdürlüğü çalışanlarına, viroloji konusunda tecrübelerini paylaşan Dr. Öğr. Nazlı Funda DEĞİRMENCİ’ye ve her zaman bana destek olan Anneme teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER DİZİNİ

Al ₂ O ₃	: Aluminium oxide
ApMV	: Apple Mosaic Virus
ASGV	: Apple Stern Grooving Virus
bp	: Base Pair
BYV	: Beet Yellow Virus
cDNA	: Complementary DNA
CEVd	: Citrus Exocortis Viroid
CMV	: Cucumber Mosaic Virus
CTV	: Citrus Tristeza Virus
DAS-ELISA	: Double Antibody Sandwich - Enzyme Linked Immunosorbent Assay
DMB	: Double Membran Body
dsRNA	: Double - Stranded RNA
ELISA	: Enzyme - Linked Immunosorbent Assay
FLMaV	: Fig Leaf Mottle - Associated Virus
FMV	: Fig Mosaic Virus
HSP70h	: Heat Shock - Protein 70 homologue
HSVd	: Hop Stunt Viroid
IgG	: Immunoglobulin G
Kbp	: Kilobase Pair
LYSV	: Leek Yellow Stripe Virus
M	: Molarity
µg/ml	: Micrograms / milliliter
µl	: Microliter
mg/ml	: Miligram / milliliter
ml	: Mililiter
mM	: Millimolar
Na-K	: Sodium - Potassium
nm	: Nanometer
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PCR	: Polymerase Chain Reaction
pNPP	: p-nitrophenyl phosphate
PPSMV	: Pigeon Pea Sterility Mosaic Virus
PPV	: Plum Pox Virus
PTA-ELISA	: Plate Trapped Antigen - Enzyme Linked Immunosorbent Assay
RT-PCR	: Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction
SiO ₂	: Silicon Dioxide (Silica)
ssRNA	: Single - Stranded RNA
TAS-ELISA	: Triple Antibody Sandwich - Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.** 2005 Yılı dünya incir üretim miktarları (ton) ve oranları (%) (FAO) 1
- Şekil 2.** 2002 Yılı Aydın İlinin ülkemizdeki kuru incir üretim miktarı payı 2
- Şekil 3.** İncir mozaik hastalığının, incir yapraklarında oluşturduğu klorotik lokal lezyonlar (A), mozaikleşme ve şekil bozukluğu (B), damarlar arası renk açılması ve mozaikleşme (C) ile incir meyvelerinde meydana getirdiği sarı renkli bantlar ve beneklenme (D) belirtileri 5
- Şekil 4.** Aydın İlinde survey alanı olarak seçilen ilçeler (X: Survey yapılan alanlar) 19
- Şekil 5.** İncirliova'nın İsafakılar Köyünden alınan izolatin *Cucumis sativus*'ta oluşturduğu yaprak deformasyonu (enasyon) ve gelişme geriliği (A,B,C) belirtileri ile A.D.Ü. Ziraat Fakültesi Kocakır Mevkiinden alınan izolatin *Cucumis sativus* bitkisinde oluşturduğu nekrotik lokal lezyon belirtisi (D) 49
- Şekil 6.** A.D.Ü. Ziraat Fakültesinin 1 No'lu incir fidanlığından alınan izolatin *Nicotiana rustica*'da oluşturduğu nekrotik lokal lezyon belirtileri (A), yine 1 No'lu incir fidanlığından alınan başka bir izolatin *Datura stramonium*'da oluşturduğu nekrotik lokal lezyon belirtileri (B), Erbeyli İncir Araş. Enst.'nün 1 No'lu fidan üretim parselinden alınan izolatin *Lycopersicon esculentum*'da meydana getirdiği sistemik ve klorotik lokal lezyon belirtileri(C) ile *Capsicum annuum*'da oluşturduğu sistemik belirtiler (D) 50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. 2004 Yılı Aydın merkez ve ilçelerindeki incir ağacı sayısı (Adet)	2
Çizelge 2. 2004 Yılı Aydın merkez ve ilçelerinde incir üretim miktarları (ton)	3
Çizelge 3. Türkiye’de meyve fidanı üretiminin dağılımı (2000-2001)	3
Çizelge 4. Türkiye incir fidanı üretiminin illere göre dağılımı	4
Çizelge 5. İncir mozaik hastalığının konukçu çevresini belirlemek amacıyla yapılan mekanik taşınma ve inokulum kaynağı olarak kullanılan enfekteli 5 incir çeşidi (Serrano <i>et al.</i> , 2004)	11
Çizelge 6. 2006 - 2007 yılı Aydın İlinde incir üretiminin ve ağaç sayılarının en fazla olduğu ilçeler ve buna bağlı köylerde survey yapılan bahçe ve incelenen ağaç sayıları ile incir çeşidine göre toplanan enfekteli yaprak örneği sayısı	21
Çizelge 7. 2006 - 2007 yılları arası Aydın İlinde survey yapılan incir fidanlıklardaki toplam fidan sayısı ve incir çeşitleri ve toplanan enfekteli yaprak örnek sayısı	22
Çizelge 8. Konukçu test bitkilerinin Latince ve Türkçe isimleri ve inokule edildiği dönemler	28
Çizelge 9. Germencik ilçesine bağlı köylerde surveyde incelenen ağaç ile enfekteli ağaç sayısı ve hastalık şiddeti oranları	35
Çizelge 10. İncirliova ilçesine bağlı köylerde surveyde incelenen ağaç ile enfekteli ağaç sayısı ve hastalık şiddeti oranları	36
Çizelge 11. Nazilli ilçesine bağlı köylerde surveyde incelenen ağaç ile enfekteli ağaç sayısı ve hastalık şiddeti oranları	37
Çizelge 12. Aydın İlinde üretim için ruhsat almış 2 kamu 3 özel fidanlıktaki toplam fidan ve enfekteli fidan sayısı ile hastalık şiddet oranları	40
Çizelge 13. Mekanik inokulasyon sonrası simptom gösteren bitki sayısı ile simptomların ortaya çıkış süresi ve meydana gelen simptomlar	48

EKLER DİZİNİ

EK 1. TAS-ELISA Testi Sırasında Kullanılan Tampon Çözeltiler	59
EK 1. 1. PBS (pH: 7,4) Hazırlanışı	59
EK 1. 2. PBST (Yıkama Tamponu) Hazırlanışı	59
EK 1. 3. Kaplama Tamponu (Coating Buffer) (pH: 9,6) Hazırlanışı	59
EK 1. 4. Birleştirme Tamponu (Conjugate Buffer) (pH: 7,4) Hazırlanışı	59
EK 1. 5. Substrat Tamponu [Substrate (pNPP) Buffer] (pH: 9.8) Hazırlanışı	60
EK 1. 6. Ekstraksiyon Tamponu (Extraction Buffer) (pH: 7,3) Hazırlanışı	60
EK 2. DAS-ELISA Testi Sırasında Kullanılan Tampon Çözeltiler	60
EK 2. 1. Yıkama Tamponu (Washing Buffer) Hazırlanışı	60
EK 2. 2. Kaplama Tamponu (Coating Buffer) Hazırlanışı	60
EK 2. 3. Birleştirme Tamponu (Conjugate Buffer) Hazırlanışı	61
EK 2. 4. Substrat Tamponu [Substrate (pNPP) Buffer] Hazırlanışı	61
EK 2. 5. Ekstraksiyon Tamponu (Extraction Buffer) Hazırlanışı	61
EK 3. İncir mozaik hastalığında Potyvirus grup virüslerini tespit etmek için yapılan ELISA testleri sonucunda 405 nm'de elde edilen 1 plate için absorbans değerleri ortalamaları	62