



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 32 (2017)

ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)

doi: 10.7161/omuanajas.320424



Samsun ili ıspanak üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi

Murat Güngör, Hüseyin Uzunbacak, Nazlı Dide Kutluk Yılmaz, Mehmet Ali Şevik*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Samsun

*Sorumlu yazar/corresponding author: malis@omu.edu.tr

Geliş/Received 04/11/2016

Kabul/Accepted 22/05/2017

ÖZET

Samsun ilinde ıspanakta (*Spinacia oleracea* L.) enfeksiyon oluşturan virüsleri ve bunların yayılışlarını belirlemek amacıyla, Kasım 2014 - Ocak 2015 tarihleri arasında Bafra ve Çarşamba ilçelerine bağlı köylerden yapraklarında bükülme, kıvrılma, klorotik lezyon, mozayik ve cüceleşme belirtisi gösteren 100 adet bitki örneği toplanmıştır. Bu sürveyler sonucunda, Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile örneklerin % 8'inin *Cucumber mosaic virus* (CMV) ve % 3'ünün *Turnip mosaic virus* (TuMV) ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, Samsun ilinde ıspanakta CMV ve TuMV enfeksiyonunun ilk kaydı niteliğindedir. Bölgeden toplanan örneklerin hiçbirinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ve *Tobacco mosaic virus* (TMV) enfeksiyonuna rastlanmamıştır.

Anahtar Sözcükler:

CMV
Ispanak
TMV
TSWV
TuMV

Determination of viruses causing infection in spinach fields in Samsun province

ABSTRACT

To detect viruses infecting spinach (*Spinacia oleracea* L.) and find out their distribution in Samsun province, 100 plant samples including distortion, curling of leaves, chlorotic lesion, and mosaic on leaves and stunting symptoms were collected from the fields in villages of Bafra, and Carsamba districts during November 2014 - January 2015. At the end of the surveys, *Cucumber mosaic virus* (CMV), and *Turnip mosaic virus* (TuMV) were detected in 8 % and 3 % by ELISA, respectively. This is the first record of CMV and TuMV infecting spinach in Samsun province. In the research area, none of the samples collected were infected with *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), and *Tobacco mosaic virus* (TMV).

Keywords:

CMV
Spinach
TMV
TSWV
TuMV

© OMU ANAJAS 2017

1. Giriş

Ispanak (*Spinacia oleracea* L.), Amaranthaceae familyası içerisinde yer alan ve yaprağı yenen en önemli kışlık sebze türlerinden biridir. Dünya çapında yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ıspanağın yıllık üretimi 21 milyon tondan fazladır. Bu üretimde 225.225 ton üretim ile Türkiye, Çin, ABD ve Japonya'dan sonra 4. sırada yer almaktadır (FAOSTAT, 2012). Ülkemizde ise Samsun ili 25.761 ton üretim ve % 13'lük bir pay ile İzmir ilinden sonra 2. sırada yer almaktadır. Samsun ilinde ticari olarak ıspanak yetiştiriciliği daha çok Bafra ve Çarşamba ilçelerinde (% 91) yoğunlaşmıştır (TUİK, 2015).

Ispanak üretimini olumsuz etkileyen birçok fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmeni bulunmaktadır (Correll ve ark., 1994). Ispanak bitkilerinde çok sayıda viral etmen rapor edilmesine rağmen (Brunt ve ark.,

1996), ekonomik öneme sahip bazı virüsler arasında; *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV), *Turnip mosaic potyvirus* (TuMV), *Tobacco mosaic tobamovirus* (TMV), *Tomato spotted wilt tospovirus* (TSWV), *Beet curly top geminivirus* (BCTV), *Beet mosaic potyvirus* (BtMV), *Beet western yellow luteovirus* (BWYV), *Beet necrotic yellow vein benyvirus* (BNYVV), *Lettuce mosaic potyvirus* (LMV) yer almaktadır (Smith ve ark., 1988; Fotopoulos ve ark., 2011).

Ülkemizde daha önce farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda ıspanak bitkilerinde; CMV, TuMV, TMV, BWYV (Gümüş ve ark., 2014), BNYVV (Gümüş ve ark., 2014; Kutluk-Yılmaz ve ark., 2016), TSWV ve LMV (Sertkaya, 2015) enfeksiyonları tespit edilmiştir. Ancak ülke ve bölge ekonomisi için son derece önemli bir yere sahip olan ve üretim bakımından ülkemizde ilk sıralarda yer alan Samsun ilinde, ıspanak

bitkilerinde virüs hastalıkları konusunda geniş kapsamlı bir araştırma yapılmamıştır.

Bu çalışma ile Samsun ili ıspanak üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüsler ve bunların yayılış durumları DAS-ELISA yöntemi ile belirlenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitki Örnekleri

Samsun ilinde ıspanakta enfeksiyon oluşturan virüsleri ve bunların yayılış durumlarını belirlemek amacıyla, 2014 yılı Aralık ve 2015 yılı Ocak aylarında ticari olarak ıspanak yetiştiriciliğinin en yoğun yapıldığı Bafra ve Çarşamba ilçelerinde sürveyler yapılmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Samsun ili ıspanak üretim alanlarında sürveyler sırasında örnekleme yapılan ilçeler ve köyler

Bu ilçelerde yoğun ıspanak yetiştirilen köylerde ıspanak üretim alanlarında arazi içerisinde çapraz giderek (Gümüş ve ark., 2014) yapraklarında bükülme, kıvrılma, klorotik lezyon, mozayik, cüceleşme gibi hastalık belirtisi gösteren 100 adet bitki örneği toplanmıştır. Örneklerin toplanması aşamasında bitkiler tek tek incelenmiş, belirti gösteren bitkilerden alınan örnekler kayıt edilmiştir. Daha sonra polietilen torbalara konularak laboratuara getirilmiş ve analiz edilinceye kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

2.2. DAS-ELISA Yöntemi

ıspanak örneklerinde enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi için Double Antibody Sandwich- Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) yöntemi, Clark ve Adams (1977) ve antiserumların temin edildiği firmanın (Bioreba) önerdiği protokole uyularak uygulanmıştır. Örnekler, *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Turnip mosaic virus* (TuMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ve *Tobacco mosaic virus* (TMV) için test edilmiştir. ELISA testleri; düztabanlı 96 kuyu içeren ELISA pleytleri (TPP, İsviçre), çeşitli (kaplama, örnek, konjugat, substrat, yıkama) tampon çözeltiler ve ELISA Plate Reader (Tecan Spectra II) cihazı kullanılarak uygulanmıştır.

ELISA sonuçları, substrat inkubasyonundan 60-120 dk. sonra ELISA Plate Reader kullanılarak 405 nm

dalga boyunda spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrollerin absorbans değerlerinin 2 katı ve daha fazla değer veren örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fotopoulos ve ark., 2011).

3. Bulgular ve Tartışma

Samsun ilinde ticari olarak ıspanak yetiştiriciliğinin en yoğun yapıldığı Bafra ve Çarşamba ilçelerinde 2014 ve 2015 yıllarında arazi sürveyleri yapılmıştır. Sürveyler sırasında bazı ıspanak üretim alanlarında virüs belirtisi gösteren bitkilere rastlanmıştır (Şekil 2). Bulaşık alanlarda en çok karşılaşılan belirtiler arasında yapraklarında bükülme, kıvrılma, mozayik, cüceleşme gibi belirtiler yer almıştır (Şekil 3).



Şekil 2. Virüs ile enfekteli ıspanak tarlasının genel görünümü



Şekil 3. Arazi koşullarında virüs belirtisi gösteren ıspanak bitkisi

Arazi koşullarında belirti gösteren bitkilerden yaprak örnekleri alınarak, DAS-ELISA yöntemi ile ıspanak bitkilerinde bulunması muhtemel bazı virüsler açısından incelenmiştir. DAS-ELISA sonuçlarına göre; incelenen örneklerin CMV ve TuMV ile bulaşık olduğu belirlenirken, toplanan örneklerin hiçbirinde TSWV ve TMV enfeksiyonuna rastlanmamıştır (Çizelge 1).

Bu çalışmada, DAS-ELISA yöntemi ile örneklerin % 8'inin CMV, % 3'ünün ise TuMV ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada, Fotopoulos ve ark., (2011) tarafından Yunanistan'da ıspanak üretim alanlarından toplanan ve analiz edilen örneklerin benzer

oranlarda CMV (% 7) ve TuMV (% 5.4) ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. İlçeler bazında incelendiğinde; CMV ile enfekteli örnekler Bafra ilçesinde; TuMV ile enfekteli olanlar ise Çarşamba ilçesi örneklerinde tespit

edilmiştir (Çizelge 1). Elde edilen bu sonuç, Samsun ilinde ispanakta CMV ve TuMV enfeksiyonu için ilk kayıt niteliğindedir.

Çizelge 1. Samsun ili ispanak üretim alanlarında virüslerin bulunma durumları

İlçe Adı	Köy Adı	Örnek Sayısı	Virüsler*			
			TuMV	TSWV	CMV	TMV
BAFRA	Yağmurca	28	0	0	5	0
	Çetinkaya	38	0	0	3	0
Toplam		66	0	0	8	0
ÇARŞAMBA	Ustacalı	11	2	0	0	0
	Kumarlı	7	0	0	0	0
	Kızılot	2	0	0	0	0
	Bafracalı	14	1	0	0	0
Toplam		34	3	0	0	0
Genel Toplam		100	3	0	8	0

* TuMV: *Turnip mosaic virus*, TSWV: *Tomato spotted wilt virus*, CMV: *Cucumber mosaic virus*, TMV: *Tobacco mosaic virus*

Ülkemizde ispanak bitkilerinde; CMV (Alan, 2012; Gümüş ve ark., 2014; Sertkaya, 2015), TuMV, TMV (Gümüş ve ark., 2014), BNYVV (Gümüş ve ark., 2014; Karanfil ve ark., 2016; Kutluk-Yılmaz ve ark., 2016), BWYV (Alan, 2012), TSWV ve LMV (Sertkaya, 2015) enfeksiyonları tespit edilmiştir. Ancak Orta Karadeniz Bölgesi'nde yapılan bu çalışmada toplanan örneklerde test edilen diğer virüslere rastlanmamıştır.

Ülkemizde daha önce farklı araştırmacılar tarafından değişik bölgelerde yapılan benzer çalışmalarda, ispanak üretim alanlarında değişen oranlarda viral enfeksiyonlar tespit edilmiştir. Ege Bölgesi'nde (İzmir ve Manisa) 2008-2010 yılları arasında ispanak üretim alanlarında yapılan sürveylerde virüs belirtisi gösteren 192 yaprak örneği toplanmıştır. Analiz sonucu örneklerin; CMV(29), BNYVV (28), TMV (3), BWYV (1), TuMV (1) ve *Spinach latent virus* (SpLV) (1) ile enfekteli olduğu belirlenirken, bazı örneklerde ise CMV+BNYVV, CMV+TMV, CMV+SpLV, CMV+TMV+TuMV karışık enfeksiyonlara rastlanmıştır (Gümüş ve ark., 2014). Samsun ilinden toplanan ispanak örneklerinde sadece CMV ve TuMV tespit edilirken, herhangi bir karışık enfeksiyonlu örnek tespit edilmemiştir.

Yine, benzer olarak Doğu Akdeniz Bölgesi'nde (Adana, Mersin, Hatay, Osmaniye ve Kahramanmaraş) 2007-2010 yılları arasında ispanak üretim alanlarında yapılan sürveylerde, simptomatolojik olarak, virüs ile enfekteli olduğundan şüphelenilen, 225 ispanak örneği alınmış ve ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Analiz sonucu, 90 bitkide BWYV (% 35.2), 3 bitkide CMV (%1.1) saptanmıştır (Alan, 2012). Yine aynı bölgede, Hatay ilinde 2011-2012 yıllarında yapılan arazi çalışmalarında, yapraklarında belirtiler gözlenen ispanak bitkilerinden alınan 18 örneğin biyolojik ve serolojik (DAS-ELISA) yöntemler ile analiz edilmesi sonucu, CMV (% 16.6), TSWV (%11.1) ve LMV

(% 11.1) ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Sertkaya, 2015).

Marmara Bölgesi'nde, Çanakkale ili ispanak üretim alanlarında 2013-2015 üretim sezonu boyunca arazi çıkışları yapılarak hastalık belirtisi gösteren 52 ispanak örneği toplanmıştır. Toplanan örnekler DAS-ELISA yöntemi ile BNYVV enfeksiyonu açısından testlenmiştir. Test sonuçlarına göre 18 örnek BNYVV (% 34.6) ile enfekteli olarak bulunmuştur (Karanfil ve ark., 2016).

Bu çalışmada Samsun ili ispanak bitkilerinde saptanan her iki virüs (CMV ve TuMV) yaprak bitleri ile taşınabilmektedir (Wang ve ark., 1998; Gildow ve ark., 2008). CMV, Dünya çapında yaygın olan ekonomik açıdan son derecede önemli olan bir virüstür (Palukaitis ve ark., 1992). Bromaviridae familyası, Cucumovirus grubu içerisinde yer almaktadır (Palukaitis ve Garcia-Arenal, 2003). Virüs çok sayıda yaprakbiti türü ile non-persistent olarak (Gildow ve ark., 2008) ve mekaniksel yollarla kolayca yayılabilmektedir. Ayrıca virüs ispanak tohumlarında % 15'lere varan oranlarda taşınabilmektedir (Yang ve ark., 1997). Birçok kültür bitkisinde enfeksiyon gerçekleştirebilen CMV'nin bitkilerde oluşturduğu belirtiler, çeşide, bitki gelişme dönemine, sıcaklığa, virüs irkına bağlı olarak değişebilmektedir. CMV ispanakta genç yapraklarda kloroz, mozaik, tepe kıvrıcılığı ve bodurluğa neden olabilmektedir (Correll ve ark., 1994). Bu çalışmada da arazi sürveyleri sırasında benzer belirtiler gözlenmiştir (Şekil 3).

Bu çalışmada saptanan diğer virüs TuMV, Potyvirus familyası, *Potyvirus* grubu içerisinde yer almaktadır ve % 95 protein, % 5 RNA içeren esnek çubuk şekilli partiküllere sahiptir (Walsh ve Jenner, 2002). Oldukça fazla sayıda konukçu bitkide enfeksiyon gerçekleştirebilen virüs (Edwardson ve Christie, 1991), çok sayıda yaprak biti türü ile non-persistent olarak

taşınabilmektedir (Walsh ve Jenner, 2002). Dünya çapında yaygın bir virüs olan TuMV izolatları, ıspanak bitkilerinde yapraklarda kıvrılma, şekil bozulması ve beneklenme gibi belirtilere yol açabilmektedir (Erkan ve ark., 2013).

İspanak bitkilerinde virüslerin bulunma durumları ve dağılımları farklı bölgelere göre değişkenlik gösterebilmektedir (Gümüş ve ark., 2014). Bu araştırmada Bafra Ovası'ndan toplanan örneklerin CMV, Çarşamba Ovası'ndan toplanan örneklerin TuMV ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Bitkilerde saptanan virüslerin bölgelere göre farklılık göstermesinde; vektör türleri ve taşıma etkinlikleri (Gildow ve ark., 2008), tohumla taşınma (Yang ve ark., 1997) durumları gibi bazı faktörler etkili olabilmektedir. Çarşamba ilçesinde %3 oranında saptanan TuMV yaprak biti türleri ile taşınabilirken, Bafra ilçesinde % 8 oranında tespit edilen CMV, hem yaprak bitleri hem de tohum ile taşınabilmektedir. CMV'nin Bafra'da, TuMV'nin ise Çarşamba ilçesinde az sayıda örnekte belirlenmiş olması; bu çalışmada test edilen örnek sayısının sınırlı olması ile ilgili olabilir. Bölgede daha kapsamlı bir survey çalışması ve örnekleme ile ileride hem bu virüslerin hem de diğer ıspanak virüslerinin araştırılması gerekmektedir. Ayrıca, survey çalışmalarının kış aylarına (Aralık-Ocak) denk gelmesi ve bitkinin erken döneminde etkili vektörlerinin bölgede popülasyonlarının azalmış olması, her iki virüsün enfeksiyon oranının düşük olması ile ilişkili olabilir. Bu çalışmada, bazı bitki örneklerinde virüs-benzeri belirtiler gözlenmesine rağmen, test edilen diğer viral etmenler (TMV ve TSWV) ile enfekteli olmadığı belirlenmiştir. Bu durum, virüs benzeri belirtilerin bitki besin elementi noksanlıkları gibi abiyotik veya böcek zararı gibi biyotik etkenler ile ilişkili olabileceğini veya bu çalışmaya dahil edilmeyen diğer virüslerden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür.

4. Sonuç

Yüksek besin değeri içeriği ile önemli bir sebze türü olan ıspanakta, ekonomik kayba neden olan çok sayıda zararlı ve hastalık etmeni bulunmaktadır. İspanakta hastalık oluşturan birçok etmen bulunmasına rağmen ekonomik açıdan en önemli olanlar fungal ve viral kökenli etmenlerdir. Bu çalışmada, Samsun ilinde ıspanak yetiştiriciliğinin en yoğun (% 91) yapıldığı Bafra ve Çarşamba ilçelerinde, ıspanak üretim alanlarında CMV, TuMV, TSWV ve TMV virüslerinin bulunma durumları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; Samsun ilinde yetiştirilen ıspanak bitkilerinde CMV ve TuMV'nin varlığı tespit edilmiştir. Bu sonuç, Samsun ilinde ıspanakta viral (CMV ve TuMV) enfeksiyonlar için ilk kayıt niteliğindedir. Ancak, bölgede ıspanakta enfeksiyon oluşturan diğer virüslerin daha kapsamlı bir çalışma ile araştırılması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Alan, B., 2012. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilen bazı kışlık sebzelerde hastalık yapan virüslerin tanınması ve karakterizasyonu. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 134 s, Adana.
- Brunt, A.A., Crabtree, K., Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L., 1996. Viruses of plants: Descriptions and lists from the VIDE Database. CAB International Publishing, Wallingford, UK. p. 1484.
- Clark, M.F., Adams, A.N., 1977. Characteristic of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. Journal of General Virology, 34, 475-483.
- Correll J.C., Morelock, T.E., Black, M.C., Koike, S.T., Brandenberger, L.P., Dainello, F.J., 1994. Economically important diseases of spinach. Plant Disease, 78, 653-660.
- Edwardson, J.R., Christie, R.G., 1991. The potyvirus group. University of Florida, Florida Agricultural Experiment Station, Monograph Series, 16, p.1244.
- Erkan, S., Gümüş, M., Paylan, İ.C., Duman, İ., Ergün, M., 2013. İzmir ili ve çevresindeki bazı kışlık sebzelerde görülen viral etmenlerin saptanması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 50, 311-322.
- FAOSTAT, 2012. Food and Agriculture Organisation. Available from URL: <http://faostat.fao.org>
- Fotopoulos, V., Dovas, C.I., Katis, N.I., 2011. Incidence of viruses infecting spinach in Greece, highlighting the importance of weeds as reservoir hosts. Journal of Plant Pathology, 93, 389-395.
- Gildow, F.E., Shah, D.A., Sackett, W.M., Butzler, T., Nault, B.A., Fleischer, S.J., 2008. Transmission efficiency of *Cucumber mosaic virus* by aphids associated with virus epidemics in snap bean. Phytopathology, 98, 1233-1241.
- Gümüş, M., Erbay, E., Erkan, S., Paylan, İ.C., 2014. Occurrence of viruses infecting spinach in Western Anatolia of Turkey: The first field survey report. Journal of Food, Agriculture and Environment, 12, 272-275.
- Karanfil, A., Gökdağ, S., Korkmaz, S., 2016. Çanakkale ili ve ilçeleri ıspanak üretim alanlarındaki Pancar nekrotik sarı damar virüsü (*Beet necrotic yellow vein virus*; BNYVV) enfeksiyonunun araştırılması. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi, 592, 5-8 Eylül, Konya.
- Kutluk-Yılmaz, N.D., Kaya-Altop, E., Phillippo, C.J., Mennan, H., 2016. New natural weed host *Raphanus raphanistrum* L. (Brassicaceae) for *Beet necrotic yellow vein virus* and its vector *Polymyxa betae* Keskin. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 40, 120-126.
- Palukaitis, P., Roossinck, M.J., Dietzgen, R.G., Francki, R.I.B., 1992. *Cucumber mosaic virus*. Advances in Virus Research, 41, 281-348.
- Palukaitis, P., Garcia-Arenal, F., 2003. Cucumoviruses. Advances in Virus Research, 62, 241-323.
- Sertkaya, G., 2015. Hatay ili marul ve ıspanak alanlarında bazı virüslerin araştırılması. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20, 7-12.
- Smith, I.M., Dunez, J., Lelliott, R.A., Phillips, D.H., Archer, S.A., 1988. European Handbook of Plant Diseases. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, p. 583.
- TÜİK, 2015. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. Available from URL: <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>

- Walsh J.A., Jenner, C.E., 2002. *Turnip mosaic virus* and the quest for durable resistance. *Molecular Plant Pathology*, 3, 289-300.
- Wang, R.Y., Powell, G., Hardie, J., Pirone, T.P., 1998. Role of the helper component in vector-specific transmission of potyviruses. *Journal of General Virology*, 79, 1519-1524.
- Yang, Y., Kim, K.S., Anderson, E.J., 1997. Seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in spinach. *Phytopathology*, 87, 924-931.