

The Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF) on *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) in Summer Squash Cultivars*

Ayşe COŞKUN** Semra DEMİR** H. Murat SİPAHİOĞLU***

** Department of Plant Protection, Agricultural Faculty, Yuzuncu Yil University, Van, Turkey, E-mail: semrademir@yyu.edu.tr

*** Department of Plant Protection, Agricultural Faculty, İnönü University, Malatya, Turkey

Accepted for publication September 10, 2015

ABSTRACT

In this study, the effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) was investigated on the growth some parameters of squash (*Cucurbita pepo* L.) (morphological and physiological) and yellow mosaic disease caused by *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV) which has been known as an important problem of squash cultivation leading yield losses. Under controlled conditions, three squash cultivars (Comet F₁, Focus F₁ and Sakız) were inoculated with four different AMF strains (*Gigaspora margarita*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* and a commercial AMF) in order to determine the most appropriate combination of squash cultivar and AMF species. Considering colonization rate and mycorrhizal dependency, the most appropriate combination was determined between Sakız and commercial AMF, Focus F₁ and commercial AMF, and Comet F₁ and *Glomus mosseae*. These combinations were used in the subsequent experiment. At the end of the study, it was found that the application of AMF was stimulated plant growth positively. Generally, chlorophyll contents were decreased in plants inoculated with AMF and ZYMV compared to control plants. The phosphorus content was not statistically significant between the applications. It was determined that the disease severity was increased in mycorrhizal plants compared with non-mycorrhizal plants. On the other hand the virus concentration was decreased in AMF and ZYMV pathosystem.

Key words: Summer squash, Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV)

ÖZET

Bazı Yazlık Kabak Çeşitlerinde (*Cucurbita pepo* L.) Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) Uygulamasının Kabak Sarı Mozaik Virüsü (*Zucchini yellow mosaic potyvirus*-ZYMV)'NE Etkileri

Bu çalışmada Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) uygulamalarının kabak (*Cucurbita pepo* L.) yetiştiriciliğinde oldukça önemli sorun olan ve verim kayıplarına yol açan *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV) patojeninin neden olduğu mozaik hastalığına ve kabak bitkisinin bazı gelişim parametreleri (morfolojik ve fizyolojik) üzerine etkisi incelenmiştir. Denemede en uygun kabak çeşidi x AMF türü kombinasyonunu bulmak amacıyla iklim odasında kontrollü şartlarda üç farklı kabak çeşidi (Comet F₁, Focus F₁ ve Sakız) dört farklı AMF türü ile (*Gigaspora margarita*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* ve Ticari AMF) inokule edilmişlerdir. Gerek kolonizasyon ve gerekse mikorhizal bağımlılık açısından en iyi uyum Sakız x Ticari AMF, Focus F₁ x Ticari AMF ve Comet F₁ x *Glomus mosseae* kombinasyonlarında belirlenmiştir. Çalışma sonucunda; AMF uygulamalarının kabak bitkisinin gelişimini pozitif yönde etkilediği ortaya konmuştur. Klorofil içeriğinin genel olarak ZYMV ve AMF inokule edilmiş bitkilerde kontrol bitkilerine göre azaldığı, fosfor içeriği açısından ise uygulamalar arasında istatistiki açıdan önemli farklılıkların olmadığı görülmüştür. AMF x ZYMV patosisteminde ise mikorhizal bitkilerde

* This study is Ms thesis, supported by YJU BAPB (2010-FBE-YL169). It was also presented at the Vth Plant Protection Congress of Turkey (3-5 February 2014, Antalya).

hastalık şiddetinin mikorhizal olmayanlara göre arttığı, buna karşılık, virüs konsantrasyonunun düştüğü belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kabak, Arbusküler Mikorhiza Fungus (AMF), *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV)

GİRİŞ

Anavatanı Meksika ve ABD'nin Güneybatı eyaletleri olan kabak bitkisi, *Cucurbitaceae* familyasındadır. Amerika'nın keşfinden sonra Avrupa'ya getirilen kabak bitkisi buradan da dünyanın diğer ülkelerine yayılmıştır (Sensoy et al., 2011). Yıllara göre değişmekle birlikte dünya kabak üretimi 16 milyon ton, ülkemiz kabak üretimi ise 360.000 ton'dur (FAOSTAT, 2010). Ülkemiz kabak üretiminin 80.000 ton'ukışık, 280.000 ton'uyazlık kabaktır (Anonim, 2010).

Kabak bitkisinde birçok fitopatojen hastalık etmeni önemli zararlanmalara yol açmaktadır. Bu hastalık etmenleri arasında yer alan *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV), 750 x 11 nm boyutlarında iplikli partiküllere sahip olup, genomu tek iplikli RNA yapısındadır (Brunt et al., 1996). ZYMV, diğer potyviruslerde olduğu gibi yaprak bitleri ile non - persistent olarak taşınmaktadır (Lisa et al., 1981; Lecoq et al., 1991). Virüs, mekanik olarak da taşınabilmekle beraber, tohumla taşınmanın olmadığı belirtilmektedir (Yuan and Ullman, 1996). ZYMV, kabakgil türlerinde, bodurluk, klorosis, deformasyon ve çiçek azalışına, buna bağlı olarak da önemli verim kayıplarına neden olmaktadır (Blua and Perring, 1989).

Mikorhiza, bitki kökleri ile bazı funguslar arasında sürekli bir şekilde mutualistik simbiyotik yaşamın oluşmasına denir. Mikorhizal funguslar 7 farklı grupta bitkilerle simbiyotik bir ilişki kurarlar. Bu gruplar içinde Arbusküler Mikorhizal Funguslar (AMF) en eski ve en büyük grubu oluşturmakta ve karasal bitkilerin %80'inde görülmektedir (Smith and Read, 2008). AMF başta fosfor (P) olmak üzere bitkilerin besin alınımını artırmasının yanısıra, biyotik (bazı fungal kök hastalıkları ve nematod zararı) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, pH, toprak yapısı, ağır metal veya toksisite) stres faktörlerine karşı bitkinin direncini arttırmaktadır (Demir and Akköprü, 2007).

Kabakgiller familyası da genel olarak mikorhizal uyumu yüksek olan kültür bitkisi familyaları içinde yer alır. AMF oluşumunun bu familyaya ait bazı kültür bitkilerindeki uyumu ve gelişme etkisine dair birçok çalışma yapılmış ve bazı verim ve gelişim parametrelerinin olumlu yönde teşvik edildiği ifade edilmiştir (Trimble and Knowles, 1994; Çığışar ve ark., 2000; Demir, 2002; Sensoy et al., 2011).

Söz konusu çalışmada; AMF uygulamasının, kabak yetiştiriciliğinde oldukça önemli sorun olan ve verim kayıplarına yol açan *Zucchini yellow mosaic potyvirus* (ZYMV)'nün yol açtığı hastalığa ve kabak bitkisinin bazı gelişim parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada birinci aşama olarak yazlık kabak (*Cucurbita pepo*) türünün ZYMV' ye farklı dayanıklılık reaksiyonları gösteren Comet F₁ (dayanıklı), Focus F₁ (tolerant) ve Sakız (duyarlı) kabak çeşitleri ve *Gigaspora margarita*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* ve Ticari AMF (MYCOR TREE SAVER = *Pisolithus tinctorius*, *Entrophora columbiana*, *Glomus clarum*, *G. etunicatum* ve *G. intraradices*) AMF izolatları kullanılarak en iyi performansı gösteren yazlık kabak çeşidi x AMF türü kombinasyonu belirlenmiş ve bu kombinasyon daha sonra çalışmanın 2. aşamasında kullanılmıştır. Patojen inokulasyonlarında kabak bitkisinden izole edilmiş olan ve hastalık şiddeti yüksek olan ZYMV izolatu kullanılmıştır.

Bitki yetiştirme ortamı

Çalışmanın 1. aşamasında (uygun yazlık kabak çeşidi x AMF türü kombinasyonunun belirlenmesi) kabak fideleri, bir gözü 4,7x4,7x6,0 cm ebatlarındaki 45'lik plastik viollerde yetiştirilmiştir. 2. aşama'da (AMF ve patojen

uygulaması) ise 22x20x10 cm ebatlarında plastik saksılar kullanılmıştır. Her iki uygulamada da 1:1 oranında torf-perlitkarışımından oluşan harç materyali, örtü materyali olarak da vermikülit kullanılmıştır. Denemeler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, 25-27 °C sıcaklık %60-65 nem koşullarına sahip iklim odasında yürütülmüştür.

Uygun kabak çeşidi x AMF türü kombinasyonunun belirlenmesi

Çalışmanın bu aşamasında bir gözü 4,7 x 4,7 x 6,0 cm ebatlarındaki plastik viyoller kullanılmış ve üç farklı kabak çeşidi dört AMF fungus türü ile inokule edilmiştir. Bitki yetiştirme ortamı viyollere konularak, mikorhiza inokulasyonu yapılacak viyollerde tohum yatağına 2.5 gr AMF inokulumu, kontrol olarak kullanılacak viyollerde ise tohum yatağına 2.5 g steril torf/perlit karışımı ilave edilmiştir. Ekimi yapılacak kabak tohumları üç defa saf su ile yıkanarak, % 2'lik NaOH'da 5 dakika tutulmuş, tekrar iki defa steril saf su'dan geçirilerek yüzey dezenfeksiyonuna sağlanmıştır. İki faktörlü, 15 farklı uygulama grubu ve 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 15 bitki olacak şekilde tesadüfi parseller deneme desenine göre oluşturulan bitki grupları 12 saat ışıklandırma süresi, 25-27°C ve %60-65 nem koşullarına sahip kontrollü koşullardaki iklim odalarında yetiştirilmiştir. Tohumlar çimlenene kadar iki günde bir, çimlenme gerçekleştiğinden sonra her gün saf su ile sulanmıştır. Yetiştirme periyodu süresince bitkilere 3 kez her viyole 5 ml gelecek şekilde seyreltilmiş besin solüsyonu verilmiştir. Deneme sekiz hafta sonra sonlandırılarak, bitki köklerinde AMF oluşumunu tespit etmek üzere fiksasyon ve boyama işlemleri yapılmıştır (Phillips and Hayman 1970). Boyalı köklerdeki AM funguslarının kolonizasyon %'sini saptamak üzere Grid-Line Intersect Metodu (Giovanetti and Mosseae, 1980) kullanılmış ve stereoskop mikroskop altında (4x10 ve 10x10) kolonizasyon oranları belirlenmiştir. Mikorhizal bağımlılık oranları ise Declerc et al. (1995)'a göre hesaplanmıştır. Kolonizasyon ve mikorhizal bağımlılık sonuçlarına göre en iyi çeşit x AMF kombinasyonu daha sonra ikinci denemede kullanılmıştır.

Kabak Fidelerinde AMF Uygulamasının *Zucchini yellow mosaic virus*'üne Etkileri'nin Belirlenmesi Fidelerin yetiştirilmesi

Mikorhizal kolonizasyon ve bağımlılık belirleme çalışmaları sonucunda belirlenen en iyi kabak çeşidi x AMF türü kombinasyonları (Comet F₁ x *Glomus mosseae*, Focus F₁ x Ticari AMF ve Sakız x Ticari AMF), çalışmanın 2. kısmında kullanılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre kurularak 12 farklı muamele grubu oluşturulmuş ve her muamele 5 tekerrürden oluşmuştur. Muamele grupları: Comet F₁ Kontrol, 2: Comet F₁ x *Glomus mosseae*, 3: Comet F₁ x ZYMV, 4: Comet F₁ x *Glomus mosseae* x ZYMV, 5: Focus F₁ Kontrol, 6: Focus F₁ x Ticari AMF, 7: Focus F₁ x ZYMV, 8: Focus F₁ x Ticari AMF x ZYMV, 9: Sakız Kontrol, 10: Sakız x Ticari AMF, 11: Sakız x ZYMV, 12: Sakız x ZYMV x Ticari AMF olarak düzenlenmiştir.

Çalışmada 4,7x4,7x6,0 cm ebatlarındaki 45'lik plastik viyollere 1:1 oranında torf-perlitkarışımından oluşan harç materyali konularak tohum yatağına 2.5 gr AMF inokulum (25 spor/g toprak) uygulaması yapılmış, AMF kullanılmayan uygulamalar için hazırlanan fide yataklarına ise AMF izolatu yerine sadece torf:perlit ve vermikülit bırakılmıştır. Viyollerde bulunan kabak fideleri 8 hafta süresince 12 saat ışıklandırma süresi, 22±2 °C sıcaklık ve %60-70 orantılı nem koşullarına iklim odasında tutularak, bu sürenin sonunda her uygulama grubunda 5 bitki olacak şekilde 22x20x10 cm ebatlarında ve içinde 1:1 oranında perlit:torf karışımı bulunan plastik saksılara şaşırtılmışlardır.

ZYM virüsünün bitkilere bulaştırılması

Saksılara şaşırtılan kabak fidelerine ZYMV - Adana izolatu kotiledon döneminde mekanik inokulasyon yöntemiyle bulaştırılmıştır. Enfeksiyonun gerçekleşip gerçekleşmediği inokulasyon sonrası iki hafta boyunca yapılan semptomatolojik gözlemler ve aynı süre sonunda gerçekleştirilen Reverse Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PZR) testiyle belirlenmiştir. Kabak bitkilerinden total nükleik asit ekstraksiyonu Foissac et al. (2002)'in bildirdiği silika temelli yöntemle yapılmıştır. Viral etmenin bulaştırıldığı her bir uygulamada 0.5 gr taze bitki yaprağı için 2.5 ml ekstraksiyon tamponu kullanılmıştır. PZR testinde kullanılan total nükleik asit içerisindeki viral RNA'ya cDNA sentezi, RT enziminin temin edildiği firmanın bildirdiği yöntemle yapılmıştır. Ayrıca virüsün bulaştırıldığı uygulamalarda virüs konsantrasyonunun arttığı yada azaldığı

hakkında tahmin yürütülebilmesi amacı ile denemedeki 6 örneğin eşit hacimdeki total RNA'larına beş farklı sulandırma (1:1, 1:10, 1:50, 1:100, 1:500) gerçekleştirilmiştir. Uygulamada, klıf protein geninin tamamını çoğaltan ve bünyesinde kesim enzimi dizisi barındıran primer dizileri kullanılmıştır (*Z-HindIII-F-5'-CAGTAAGCTTTCAGGCACTCAGCCAAC-3'*, *Z-SacI-R-5'-CAGTGAGCTCCTGCATTGTATTACACCTAGT-3'*). PCR çoğaltımından sonra elde edilen PZR ürünleri, %1.5'lük agaroz jel'de elektroforez edilmiş, daha sonra etidyum bromid ile boyanarak jelgörüntülemesi yapılmıştır.

Hastalık şiddetinin değerlendirilmesi

Kabak bitkilerinde ZYMV'nin neden olduğu hastalık şiddetini belirlemek amacıyla, hastalık etmeninin bulaştırıldığı periyottan itibaren gözlemler yapılmış ve bitkideki hastalık belirtileri inokulasyondan 4 hafta sonra değerlendirilmiştir. Bu amaçla 1 - 5 skalası (1: hiç symptom yok, 2: hafif ve orta düzeyde belirti, 3: şiddetli belirti, 4: çok şiddetli belirti, 5: yaprak ve gövdede şiddetli malformasyon) kullanılmıştır (Mignouna et al., 2001). Bu değerlendirme sonuçları aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanarak hastalık şiddeti (%) olarak tespit edilmiştir.

$$\text{Hast. Şid. (\%)} = \left[\sum_{i=1}^n (\text{Skala değeri} \times \text{frekans})_i \right] \times 100 / [\text{Toplam bitki sayısı (n)} \times \text{En yüksek skala değeri}]$$

Kabak bitkisi yapraklarında klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarının belirlenmesi

AMF (+) ve AMF (-) kabak bitkilerindeki klorofil miktarını belirlemek amacıyla yapraklarda klorofil tayini yapılmıştır (Smith and Benitez, 1955). Her uygulamadan 0.5 g'lık yaprak örnekleri alınarak derin dondurucuya konmuştur. Klorofil tayini yapılacağı zaman derin dondurucudaki yaprak örnekleri porselen havan konarak üzerine spatül ucu ile CaCO₃ ve kuvars kumu konulmuş ve 10 ml % 80'lik aseton ilave edilerek iyice ezilmişlerdir. Hazırlanan bu karışımın hepsi tüpe aktarılmış ve 5 ml % 80'lik asetonla 2 kez yıkanan havandaki kalıntı da yine aynı tüpe ilave edilmiştir. Karışımın olduğu tüp daha sonra 5000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstte oluşan sıvı tekrar aynı devirde santrifüj edilerek berrak üst faz elde edilmiştir. Bu üst fazdan 4 ml çekilerek bir tüpe konmuş ve üzerine 12 ml % 80'lik aseton ilave edilmiştir. Tüp hafifçe alt üst edilerek çalkalanmış daha sonra 645 ve 663 nm dalga boyunda spektrofotometrede okumaları yapıp, kabak bitkisi yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içerikleri saptanmıştır.

Kabak bitkilerin morfolojik gelişim parametreleri ve total fosfor içeriğinin belirlenmesi

Deneme kapsamında kullanılan kabak fidelerinin boyu cetvel yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir. Bunun dışında biber bitkilerin kök ve sürgün ağırlıkları tespit edilmiş; yaş ağırlıkları tespit edilen bitkilerin kök ve yeşil aksam örnekleri kese kâğıtlarına konularak 70 °C'de 48 saat süresince kurutma dolaplarında tutularak toplam kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Kacar, 1984). Ayrıca, kuru ağırlıkları belirlenen bitki örneklerinde vanadomolibdofosforik sarı renk yöntemi ile spektrofotometre kullanılarak fosfor değerleri (%) de tespit edilmiştir (Kacar, 1994).

İstatistikî değerlendirmeler

Çalışma sonunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SAS paket programı kullanılmış ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır (SAS, 1998).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Uygun AMF ve Kabak Çeşidi Kombinasyonları

Çalışmada öncelikle ZYMV'ye farklı dayanıklılık reaksiyonları gösteren Comet F₁ (dayanıklı), Focus F₁ (tolerant) ve Sakız (duyarlı) kabak çeşitleri ile dört farklı AMF (*Gigaspora margarita*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* ve Ticari AMF) türü kontrollü koşullarda denemeye alınmıştır. İklim odası ve laboratuvar çalışması sonucunda yapılan değerlendirmeler ışığında kabak çeşitlerinin farklı mikorhizal funguslarla kurdukları simbiyotik yaşam sonucu ortaya çıkan sonuçlara göre kolonizasyon oranları %23- 79, mikorhizal bağımlılık oranları ise %41.53

- 1.83 arasında değişmiştir (Çizelge 1). Elde edilen değerler dikkate alınarak çalışmanın daha sonraki aşamalarında Sakız ve Focus F₁ çeşitlerinde ticari AMF, Comet F₁ çeşidinde ise *G. mosseae* AMF türü kullanılmıştır.

Çizelge 1. Farklı AMF türlerinin ZYMV'ne farklı tolerans gösteren kabak çeşitlerindeki arbusküler mikorhizal fungus (AMF) kolonizasyonu ve mikorhizal bağımlılık oranları

Uygulamalar	AMF Kolonizasyon Yüzdesi (%)	Mikorhizal Bağımlılık Oranı (%)
Sakız x Kontrol	-	-
Sakız x <i>Glomus mosseae</i>	79	0
Sakız x <i>Glomus intraradices</i>	76.9	-42.55*
Sakız x <i>Gigaspora margarita</i>	69.2	-2.03
Sakız x Ticari AMF	68.3	39.46
Focus F ₁ x Kontrol	-	-
Focus F ₁ x <i>Glomus mosseae</i>	40.5	-11.7
Focus F ₁ x <i>Glomus intraradices</i>	23	-5.08
Focus F ₁ x <i>Gigaspora margarita</i>	42	-0.81
Focus F₁ x Ticari AMF	41.9	13.29
Comet F ₁ x Kontrol	-	-
Comet F₁ x <i>Glomus mosseae</i>	49.1	20.15
Comet F ₁ x <i>Glomus intraradices</i>	23.1	23.02
Comet F ₁ x <i>Gigaspora margarita</i>	32.8	1.83
Comet F ₁ x Ticari AMF	30.1	41.53

* (-): mikorhizal bağımlılık yok.

Mikorhizal funguslara uyum ve mikorhizal yaşama bağımlılık doğal ekosistemlerde bitkilerin populasyon yapısı ve dinamiğini birinci derecede etkilemekte (Van der Heijden et al., 1998), tarımsal ekosistemlerde ise farklı tür x AMF veya aynı tür içindeki farklı genotip x AMF etkileşimlerinin araştırılması ve uygun kombinasyonların ortaya konması ise bitki gelişimi ve dayanıklılığı artırmak açısından oldukça önemli görülmektedir (Sensoy et al., 2007). AM funguslar gerek biyotik gerekse abiyotik stres koşullarına karşı birçok kültür bitkisini olumlu yönde teşvik etmekle beraber son yıllarda yapılan çalışmalar, bitkilerdeki pozitif etkinin, genetik varyasyona bağlı olarak çeşitler arasında farklılık gösterebileceğini göstermiştir (Declerck et al., 1995; Linderman and Davis, 2004; Sensoy et al., 2007). Sensoy et al., (2011) tarafından yapılan bir çalışmada dört farklı hibrid kabak çeşidinde üç farklı AMF fungusunun kolonizasyon ve mikorhizal bağımlılık oranları birbirinden farklılık göstermiştir. Bu çalışmada da farklı kabak çeşitlerinin aynı veya farklı AMF'lara tepkileri hem kolonizasyon oranı hem de mikorhizal bağımlılık açısından değişkenlik göstermiştir (Çizelge 1).

ZYMV ve AMF inokulasyonu yapılmış kabak bitkilerinde hastalık şiddeti, virus konsantrasyonu ve AMF kolonizasyonu

Çalışma kapsamında elde edilen bulgulara göre ZYMV inokulasyonu yapılmış bitkilerde, ZYMV inokulasyonu yapılmamış bitkilere oranla her çeşitte farklı simptomların olduğu gözlenmiştir. Bu bağlamda ZYMV' nin tek başına kullanıldığı bitkilerde belirtiler biraz daha ılımlı olduğu belirlenmişken, ZYMV' nin AMF ile kombinasyonlarında ise simptomların şiddetlendiği gözlenmiştir. Hastalık şiddetibelirleme çalışmalarında buna paralel sonuçlar elde edilmiş, AMF türlerinin ZYMV ile kombinasyonunun hastalığı daha çok şiddetlendirdiği belirlenmiştir (Çizelge 2) gözlenmiştir.

Çizelge 2. ZYMV ve AMF inokulasyonu yapılmış kabak bitkilerinde hastalık şiddeti oranları

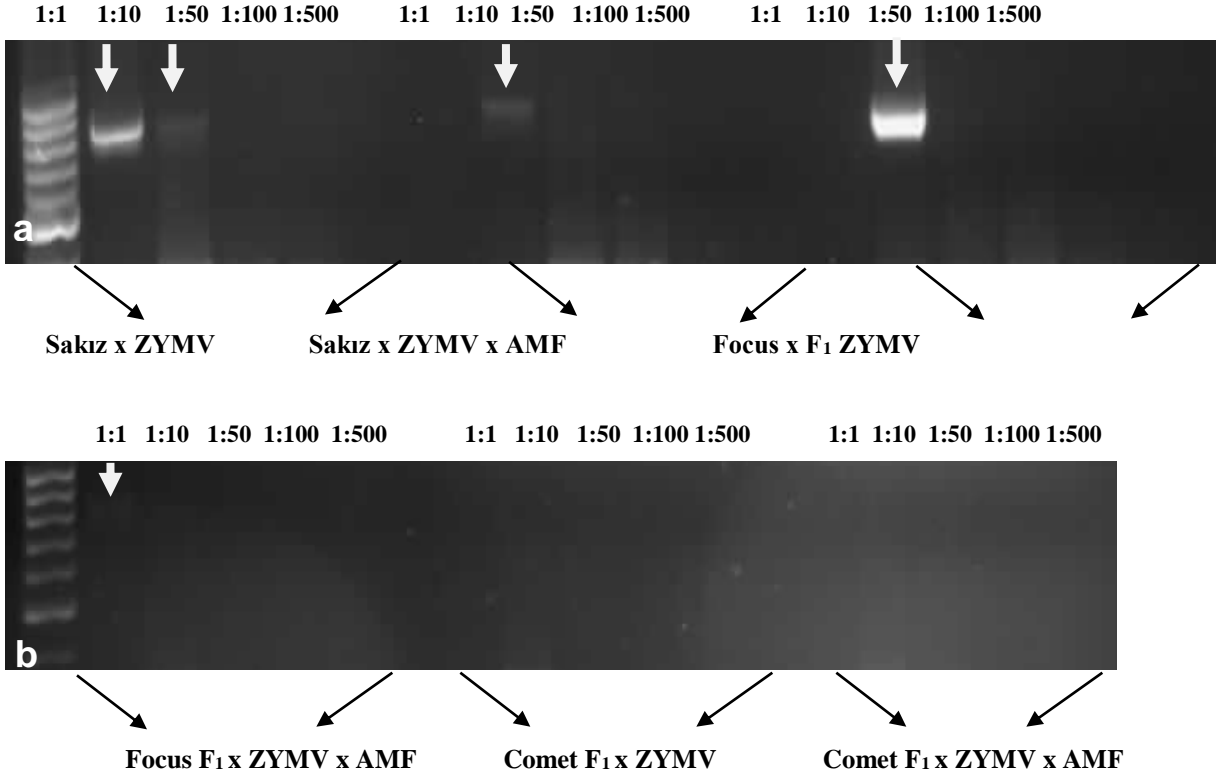
Uygulamalar	Hastalık şiddeti (%)
Sakız x ZYMV	44 e
Sakız x Ticari AMF x ZYMV	76 a***
Focus F ₁ ZYMV	52 c
Focus F ₁ x Ticari AMF x ZYMV	72 b
Comet F ₁ x ZYMV	36 f
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i> x ZYMV	48 d

*** $P < 0,001$

THE EFFECT OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS (AMF) ON *ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS* (ZYMV) IN SUMMER SQUASH CULTIVARS

ZYMV'nin kabak bitkilerinde oluşturduğu hastalık şiddeti uygulamalara göre %36 - 76 arasında değişmiş, aradaki farklılıklar istatistiki olarak da önemli bulunmuştur (Çizelge 4.6). En yüksek hastalık şiddeti Sakız x Ticari AMF x ZYMV uygulama grubunda (%76) tespit edilirken, en düşük hastalık şiddeti ise Comet F₁ x ZYMV muamele grubunda (% 36) belirlenmiştir.

ZYMV ile inokule edilmiş kabak bitkilerinden alınan örneklerle yapılan PCR uygulaması sonuçlarına göre, hastalık şiddetinin tersine, AMF uygulamasının virüs konsantrasyonunu ciddi şekilde azalttığı belirlenmiştir (Şekil 1 a,b).



Şekil 1. ZYMV inokulasyonu yapılmış kabak bitkilerinin PCR uygulaması sonucunda elde edilen jel görüntüleri a) sulandırılmış oranlardaki Sakız x ZYMV, Sakız x ZYMV x AMF, Focus F₁ x ZYMV b) sulandırılmış oranlardaki Focus F₁ x ZYMV x AMF, Comet F₁ x ZYMV ve Comet F₁ x ZYMV x AMF

PCR sonuçlarına göre Sakız x ZYMV uygulamasında 1:1 ve 1:10 sulandırma oranlarında sonuç alınabilmiş, diğer sulandırma oranlarında ise sonuç alınamamıştır. Sakız çeşidinde ZYMV ve AMF kombinasyonlarında yalnızca 1:1 sulandırma oranında sonuç alınmıştır. Focus F₁ x ZYMV uygulamasında sadece 1:1 sulandırma oranında sonuç alınmıştır, diğer sulandırma oranlarında ise sonuç alınamamıştır (Şekil 1 a). Focus F₁ x ZYMV x AMF uygulamasında da sadece 1:1 sulandırma oranında sonuç alınmış, diğer sulandırma oranlarında ise sonuç alınamamıştır. Comet F₁ x ZYMV ve Comet F₁ x ZYMV x AMF uygulamalarında ise PCR görüntüleme sonuçlarına göre hiçbir bant gözlenmemiştir (Şekil 1 b).

Bitki ile simbiyotik ilişkiye giren AM fungusu, bitkiye penetrasyon yaptıktan sonra bitkide önemli fizyolojik değişikliklere yol açmakta ve bu durum bitkilerin hastalık etmenlerine karşı davranışlarını da etkilemektedir. Obligat ve fakültatif patojenler mikorhizalı bitkilerin yeşil aksamına uygulandıklarında bitkilerin daha şiddetli hastalanmalarına yol açmaktadırlar. Virüs, pas ve külleme gibi obligat patojenlerle, yeşil aksamda hastalık yapan bazı fakültatif patojenler mikorhizalı bitkilerde daha etkili olabilmektedir (Dehne, 1982). Çalışma kapsamında elde

edilen veriler ışığında AMF'nin ZYMV'nin semptomlarını arttırdığı, buna bağlı olarak da hastalık şiddetini teşvik ettiği gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Davis et al. (1979), Schönbeck (1980), Dehne (1982)'nin yaptıkları çalışmada elde ettikleri "AM funguslarının viral hastalıklara etkisi ise daha çok teşvik edici yöndedir" olgusunu da desteklemektedir. Özellikle mikorhizal Sakız çeşidinde (duyarlı çeşit) ZYMV'nin hastalık şiddetinin mikorhizal olmayan çeşide göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 2). Öte yandan PCR sonuçlarına göre ise mikorhizal kabak bitkilerindeki virus konsantrasyonunun mikorhizal olmayan bitkilere göre azaldığı belirlenmiştir.

Virüs ve diğer obligat patojenlerdeki duyarlılık artışı; mikorhizal yaşama sahip bitkilerin daha iyi beslenmesi sonucu gelişimin ve fizyolojik uyarımların artması (Davis et al., 1979; Dehne, 1982), ve P'un virüslerin yapı taşı olan nükleik asitler ve enerjice zengin bileşiklerdeki rolü dikkate alınarak stimule edilmiş protein sentezinin bu olaya yardım ettiği ifade edilmektedir (Daft and Okusanya, 1973; Dehne, 1982; Shaul et al., 1999). Bu çalışmada da P içeriği açısından uygulamalar arasında, Sakız x Ticari AMF x ZYMV ve Focus1 x ZYMV uygulamaları hariç, istatistiki olarak önemli farklılıklar bulunmamakla beraber, ZYMV'nin veya AMF + ZYMV inokulasyonlarının yer aldığı uygulamalarda P içeriğinin yüksek olduğu (Çizelge 6), özellikle hastalık şiddetinin en yüksek olduğu Sakız x Ticari AMF x ZYMV uygulamasında P içeriğinin diğer uygulamalara göre daha yüksek olduğu, buna paralel olarak hastalık şiddetinin arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Grid-Line Intersect metodu kullanılarak kabak bitkisi köklerindeki AMF türlerinin kolonizasyon oranları % 44.2 -65.7 arasında değiştiği ve deneme kapsamındaki tüm kabak çeşitlerinin AMF türleri ile kolonize olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3). Kontrol bitkilerindeki AMF kolonizasyonunun Sakız ticari çeşit hariç genel olarak virus enfeksiyonuna paralel olarak azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 3). Bu çalışmaya benzer sonuçlar Takahashi et al. (1994) tarafından da elde edilmiş ve virus inokulasyonunun AMF kolonizasyonunu azalttığını bildirmişlerdir. TMV ve AMF ilişkisinin araştırıldığı başka bir çalışmada, elektron mikroskop gözlemleri sonucunda TMV partiküllerinin AMF hücrelerinin çevresinde bulunmadığı ve AMF'nin viruslarla temas halinde olmadığı tespit edilmiştir kanaatine varılmıştır (Jabaji-Hare and Stobbs 1984).

Çizelge 3. ZYMV ve AMF inokulasyonu yapılmış kabak bitkilerinde AMF kolonizasyon oranları (%)

Uygulamalar	AMF Kolonizasyon oranı (%)
Sakız x Ticari AMF	52.5 b
Sakız x Ticari AMF x ZYMV	65.7 a***
Focus F ₁ x Ticari AMF	46.7 b
Focus F ₁ x Ticari AMF x ZYMV	53.8 b
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i>	53.6 b
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i> x ZYMV	44.2 b

*** $P < 0,001$

ZYMV ve AMF inokulasyonlarının kabak fidelerinin morfolojik gelişimine etkisi

Çalışma kapsamında yer alan muamele gruplarında bazı morfolojik parametreler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiş ve bu farklılıkların istatistiki anlamda da önemli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4). Kabak bitkilerinin toplam yaş ağırlıkları ve bitki boyu açısından uygulamalar arasında $P < 0,001$ düzeyinde farklılıklar göstermiştir. En yüksek yaş ağırlık ve boy değeri sırasıyla Focus F₁ x Ticari AMF (53.600 gr) ve Sakız x Ticari AMF (32.625 cm) uygulamalarında, en düşük yaş ağırlık ve boy değerleri ise Sakız x Ticari AMF x ZYMV (sırasıyla 5.950 gr ve 11.69 cm) uygulamasında tespit edilmiştir (Çizelge 4). Uygulamalar arasında, toplam kuru ağırlığı bakımından istatistiki açıdan önemli farklılıklar olmadığı görülmüştür (Çizelge 4).

THE EFFECT OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS (AMF) ON *ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS* (ZYMV) IN SUMMER SQUASH CULTIVARS

Çizelge 4. AMF ve ZYMV inokulasyonlarının kabak çeşitlerinde bazı morfolojik gelişim parametrelerine etkisi

Uygulamalar	Yaş Ağırlık(g)	Kuru Ağırlık (g)	Bitki Boyu(cm)
Sakız x Kontrol	18.94 cde	2.79 a öd	29.25 ab
Sakız x Ticari AMF	53.50 a***	6.02 a	32.62 a***
Sakız x ZYMV	8.22 de	1.29 a	20.75 de
Sakız x Ticari AMF x ZYMV	5.95 e	1.67 a	11.69 f
Focus F ₁ x Kontrol	21.34 cd	2.65 a	26.33 bcd
Focus F ₁ x Ticari AMF	53.60 a	5.63 a	28.25 abc
Focus F ₁ x ZYMV	12.18 de	1.54 a	17.00 e
Focus F ₁ x Ticari AMF x ZYMV	19.43 cde	2.84 a	20.75 de
Comet F ₁ x Kontrol	27.57 bc	2.58 a	23.25 cd
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i>	37.82 b	4.60 a	30.50 ab
Comet F ₁ x ZYMV	19.38 cde	2.15 a	26.75 bc
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i> x ZYMV	35.89 b	4.11 a	25.87 bcd

*** $P < 0,001$, öd : önemli değil

Mikorhizal yaşam büyük ölçüde bitki - fungus arasındaki besin alışverişine dayanan ve karşılıklı beslenme ilişkisi içinde yürüyen bir simbiyotik yaşam şeklidir. Bu konuda yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu bitki lehine olan beslenme yönüne dikkati çekmişler ve AM bitkilerinin daha iyi geliştiğini ifade etmişlerdir (Rhodes, 1980; Hayman, 1982; Marschner, 1995). Bu çalışmanın temel amaçlarından biri de bu beslenmenin, özellikle bitki açısından avantajlarını ortaya koymak olmuştur. Nitekim morfolojik parametreler açısından mikorhizal kabak bitkilerinin mikorhizal olmayanlara göre daha teşvik edildiği ve söz konusu parametre değerlerinin arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4). Sadece AMF türlerinin yer aldığı uygulamalarda bitki yaş ağırlığında ve bitki boyunda kontrol uygulamalarına göre artış gözlenirken, AMF ve ZYMV'nin kullanıldığı kombinasyonlarda ise bitki yaş ağırlığı ve bitki boyunda düşüşlerin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4). AMF'nin kabakgil bitkileri üzerindeki olumlu etkisi, Demir (1998) ve Çiğşar ve ark.(2000) tarafından yapılan çalışmalarda da tespit edilmiştir. Söz konusu araştırmalar sonucunda AMF inokulasyonunun bitki büyümesini olumlu yönde etkilediği, mikorhizal bitkilerin yaprak, gövde, kök yaş kuru ağırlıkları ve yaprak alanı değerleri mikorhizal olmayanlara göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. ZYMV'nin mikorhizal kabak bitkilerdeki morfolojik parametreleri olumsuz yönde etkilemesi'ne dair sonuçlar Sipahioğlu et al. (2009) tarafından patatesten yapılan araştırmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

ZYMV ve AMF inokulasyonlarının kabak fidelerinin yapraklardaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil miktarına etkisi

Çalışma kapsamında bitkilerdeki morfolojik gelişmeye temel olabilecek, fotosentez aktivitesine dayalı bazı fizyolojik kriterleri saptamak amacıyla klorofil analizleri (klorofil a, klorofil b, total klorofil) yapılmıştır. Klorofil içeriklerine bakıldığında klorofil a ve total klorofil açısından uygulamalar arasında önemli fark oluşmazken klorofil b'nin istatistikî açıdan önemli olduğu görülmüştür ($P < 0,001$) (Çizelge 5). En yüksek klorofil b değerine sahip uygulamanın Sakız x Kontrol (0.00014 ml/gr) olduğu tespit edilirken en düşük klorofil b değerine sahip uygulamaların ise Sakız x Ticari AMF x ZYMV (0.00006 ml/gr) ve Comet F₁ x *Glomus mosseae* (0.00006 ml/gr) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. AMF ve ZYMV inokulasyonlarının kabak çeşitlerinin yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve total klorofil değerlerine etkisi

Uygulamalar	Klorofil a(mg/ g)	Klorofil b (mg/(g))	Total Klorofil(mg/ g)
Sakız x Kontrol	0.0002 a öd	0.00014 a***	0.0003 a öd
Sakız x Ticari AMF	0.0002a	0.00011 b	0.0003 a
Sakız x ZYMV	0.0002a	0.00008 c	0.0003 a
Sakız x Ticari AMF x ZYMV	0.0002a	0.00006 d	0.0003 a
Focus F ₁ x Kontrol	0.0002a	0.00007 cd	0.0003 a
Focus F ₁ x Ticari AMF	0.0002a	0.00008 c	0.0003 a
Focus F ₁ x ZYMV	0.0002 a	0.00007 cd	0.0003 a
Focus F ₁ x Ticari AMF x ZYMV	0.0001 a	0.00007 cd	0.0002 a
Comet F ₁ x Kontrol	0.0001 a	0.00006 cd	0.0002 a
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i>	0.0001 a	0.00006 d	0.0002 a
Comet F ₁ x ZYMV	0.0002 a	0.00007 cd	0.0003 a
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i> x ZYMV	0.0002 a	0.00007 cd	0.0003 a

*** P < 0,001 öd: önemli değil

Klorofil b oranları açısından mikorhizal bitkiler ve kontrol bitkileri arasında çok fazla farklılık olmazken ZYMV ile inokule edilmiş bitkilerde ise azalma olduğu tespit edilmiştir. Sipahioğlu et al. (2009) tarafından yapılan çalışmada da PVY inokulasyonunun mikorhizal patates bitkilerindeki total klorofil içeriğini kontrol bitkilerine göre azalttığı tespit edilmiştir. Patosistemlerdeki bu azalış, patojenlerin bitkilerin fotosentez aktivitesine müdahale etmesi sonucu ortaya çıkan bir azalış olarak yorumlanabilir (Demir, 1998).

ZYMV ve AMF inokulasyonlarının kabak fidelerinin toplam fosfor (P) içeriğine etkisi

Kabak bitkisinde yapılan toplam P içeriği sonuçlarına göre Sakız x Ticari AMF x ZYMV (%2.12) ve Focus F₁ x ZYMV (% 1.32) uygulamaları ile diğer uygulamalar arasında istatistiki açıdan önemli farklılıkların olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 6).

Çizelge 6. AMF ve ZYMV inokulasyonlarının kabak çeşitlerinde toplam P içeriğine etkisi

Uygulamalar	Toplam P içeriği (%)
Sakız x Kontrol	1.11 b
Sakız x Ticari AMF	0.93 b
Sakız x ZYMV	1.07 b
Sakız x Ticari AMF x ZYMV	2.12 a ***
Focus F ₁ x Kontrol	1.18 b
Focus F ₁ x Ticari AMF	0.95 b
Focus F ₁ x ZYMV	1.32ab
Focus F ₁ x Ticari AMF x ZYMV	1.11 b
Comet F ₁ x Kontrol	1.18 b
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i>	1.06 b
Comet F ₁ x ZYMV	1.20 b
Comet F ₁ x <i>Glomus mosseae</i> x ZYMV	1.03 b

*** P < 0,001

Elde edilen bulgularda dikkati çeken nokta, genel olarak mikorhizal bitkilerin P içeriğinin, mikorhizal olmayanlara göre daha düşük bulunması olmuştur. Oysa ki AMF türlerinin başta fosfor olmak üzere birçok makro ve mikro besin elementinin (çinko, bakır, mangan, demir, kalsiyum, potasyum ve azot v.b) alımında etkili olduğu, özellikle, toprakta yoğun olarak fikse edilen ve bitki tarafından alınımı sınırlı olan fosforun, AM fungusları tarafından daha kolay bir şekilde bitkiye kazandırıldığı ortaya konmuştur(Hayman, 1982; Marchner, 1995; Demir, 1998; Smith ve Read, 2008). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar sözü edilen çalışmalarla farklılık göstermiş, tek başına AMF inokulasyonlarının kabakta fosfor statüsünü fazla etkilemediği, buna karşılık ZYMV ile inokule edilmiş kabak bitkilerinin P içeriğinin arttığı belirlenmiştir (Çizelge 6). Bununla birlikte, P'un virüslerin yapı taşı olan

THE EFFECT OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS (AMF) ON *ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS* (ZYMV) IN SUMMER SQUASH CULTIVARS

nükleik asitler ve enerjice zengin bileşiklerdeki rolü dikkate alındığında, stimule edilmiş protein sentezinin bu artışa yardım ettiği ifade edilebilir (Daft and Okusanya, 1973; Dehne, 1982; Shaul et al., 1999).

LİTERATÜR LİSTESİ

- Anonim, 2010. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr/> (Erişim tarihi: 03.01.2012).
- Blua, M. J., T.M. Perring, 1989. Effect of zucchini yellow mosaic virus on development and yield of cantaloupe (*Cucumis melo*). *Plant Disease*73: 317-320.
- Brunt, A., K. Crabtree, M. Dallwitz, A. Gibbs, L. Watson, 1996. *Virus of Plants*. Cab International Wallingfort. 1484p.
- Çığşar, S., N. Sarı, İ. Ortaş, 2000. Hıyarda vesküler-arbusküler mikorizanın bitki büyümesi ve besin maddeleri alımı üzerine etkileri. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*24: 571-578.
- Daft, M.J., B.O. Okusanya, 1973. Effect of Endogene mycorrhiza on plant growth. V. Influence of infection on the multiplication of viruses in tomato, petunia and strawberry. *Phytopatology* 72: 975-983.
- Davis, R.M., J.A. Menge, D.C. Erwin, 1979. Influence of *Glomus fasciculatus* and soil phosphorus on *Verticillium* Wilt of cotton. *Phytopathology* 69: 453 - 456.
- Declerck, S., C. Plenchette, D.G. Strullu, 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant Soil*176: 183-187.
- Dehne, H.W., 1982. Interactions between vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. *Phytopathology* 72: 1115 - 1119.
- Demir, S., 1998. Bazı Kültür Bitkilerinde Vesiküler-Arbusküler Mikorhiza (VAM) Oluşumu ve Bunun Bitki Gelişimi ve Dayanıklılıktaki Rolü Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmamış), Bornova, İzmir, 144 s.
- Demir, S., 2002. Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) *Glomus intraradices* (Schenck&Smith)'in bazı sebze bitkilerinde oluşumu ve kolonizasyonu. *YYÜ Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi* 12(1): 53-57.
- Demir, S., A. Akköprü, 2007. Using of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. Pages 17-37 in: *Biological Control of Plant Diseases*. S.B. Chincholkar and K.G. Mukerji, eds. Haworth Press, NY, USA.
- FAOSTAT, 2010. *Statistic Database*. <http://apps.fao.org/> (Erişim tarihi: 14.01.2012).
- Foissac, X., M.G. Edwards, J.P. Du, J.A. Gatehouse, 2002. Putative protein digestion in a sap-sucking hom opteran plant pest (rice brown plant hopper; *Nilaparvata lugens*: Delphacidae): identification of tripsin-like and cathepsin B-like proteases. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*32: 967-978.
- Giovanetti, M., B. Mosse, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular- arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*84: 489- 500.
- Hayman, D., 1982. Influence of soils and fertility on activity and survival vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72: 1119-1126.
- Jabaji-Hare, S. H., L. W. Stobbs, 1984. Electron microscopic examination of tomato roots coinfecting with *Glomus* sp. and tobacco mosaic virus. *Phytopathology*74: 277-279.
- Kacar, B., 1984. *Bitki Besleme Uygulama Klavuzu*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 70 s.
- Lecoq, H., J. M., Lemaire, C. Wipf-Scheibel, 1991. Control of *Zucchini yellow mosaic virus* in squash by cross protection. *Plant Disease*75: 208-211.

- Linderman, R.G., A. E., Davis, 2004. Varied response of marigold (*Tagetes* spp.) genotypes to inoculation with different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae* 99: 67-78.
- Lisa, V., G. Boccoardo, G.D'Agostino, G.Delavalle, M. D'Aquilio, 1981. Characterization of a potyvirus that causes zucchini yellow mosaic virus. *Phytopathology* 71: 667-672.
- Marschner, H., 1995. Mycorrhizas. Pages 566-595 in: Mineral Nutrition of Higher Plants. H. Marschner, ed. Academic Press, London.
- Mignouna, H.D., M. M. Abang, K.R. Green, R. Asiedu, 2001. Inheritance of resistance in water yam (*Dioscorea alata*) to anthracnose (*Colletotrichum gleosporoides*). *Theoretical Applied Genetics Journal*, 103: 52-55.
- Phillips, J.M., D.S. Hayman, 1970. Improved procedure for cleaning roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.
- Rhodes, L.H. 1980. The use of mycorrhizae in crop production systems. *Outlook on Agriculture* 10 (6): 275 – 281.
- SAS, 1998. SAS/STAT Software: Hangen and Enhanced. Sas, Ins. Inc. Cri.NCI.
- Schönbeck, F., 1980. Endomycorrhiza in relation to plant diseases. Pages 271-280 in: Soil – Borne Pathogens, B. Schippers and W. Gams eds. Academic Press, New York, NY.
- Sensoy, S. S. Demir, O. Turkmen, C. Erdinc, O.B. Savur, 2007. Responses of some different pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae* 113: 92-95.
- Sensoy S., S. Demir, S. Tufenkci, C. Erdinc, E. Demire Durak. H. Ünsal, G. Halifeoglu, A. Ekincialp, 2011. Response of four hybrid zucchini (*Cucurbita pepo* L.) cultivars to different arbuscular mycorrhizal fungi. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 21(4): 751-757.
- Shaul, O., S. Galili, H. Volpin, I. Ginzberg, Y. Elad, I. Chet, Y. Kapulnik Y., 1999. Mycorrhiza-induced changes in disease severity and PR protein expression in tobacco leaves. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12: 1000-1007.
- Sipahioğlu, H.M., S. Demir, M. Usta, A. Akköprü, 2009. Biological relationship of *Potato virus Y* and arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in potato. *Pest Technology* 3(1):63-66.
- Smith, J.H.C., A. Benitez, 1955. Chlorophylls analysis in plant materials. Pages 159 in: *Modern Methods of Plant Analysis*, K. Paeh and M.V. Tracey eds.
- Smith, S.E., D.J. Read, 2008. Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. Pages 145-148 in: *Mycorrhizal Symbiosis*, Smith, S.E., D.J. Read eds., Academic Press, London.
- Takashi, T., N. Katano, N. Yoshikama, 1994. Evidence for vesicular-arbuscular mycorrhizae infection in viroid-infected root tissues. *Z Pflanzenkr Pflanzenschutz*, 101: 267-271.
- Trimble, R.M., N.R. Knowles, 1994. Influence of phosphorus nutrition and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Canadian Journal of Plant Science*, 75: 251-259.
- Van der Heijden, M.G.A., T. Boller, A. Wiemken, I.R. Sanders, 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology* 79 (6): 2082-2091.
- Yuan, C., D.E. Ullman, 1996. Comparison of efficiency and propensity as measures of vector importance in zucchini yellow mosaic potyvirus transmission by *Aphis gossypii* and *A. craccivora*. *Phytopathology* 86: 698-703.

