



Bazı Kırmızıbiber Hatlarının Patates Y Virüs (*Potato Virus Y*, Pvy) Patotiplerine Reaksiyonları

Kerim KARATAŞ^{1*} Bekir Bülent ARPACI²

Nihal BUZKAN³ Ayşe Gül TEKİK³

¹Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Kahramanmaraş

²Kilis Yedi Aralık Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Kilis

³Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş.

*e-posta: kerim.karatas@gthb.gov.tr

Alındığı tarih (Received): 19.05.2015

Kabul tarihi (Accepted): 24.05.2017

Online Baskı tarihi (Printed Online): 09.08.2017

Yazılı baskı tarihi (Printed): 09.09.2017

Öz: Bu çalışmada, baharat yapımına uygun aday 43 kırmızıbiber hattının Patates Y virüsü (PVY)'nin (0), (0,1), ve (0,1,2) patotiplerine reaksiyonları araştırılmıştır. PVY'nin, LYE84 (0), CAA 16 (0,1) ve SON41P (0,1,2) izolatları *Nicotiana tabacum* L. "Samsun" tütün çeşidi üzerinde çoğaltılmış ve virüsün varlığı PVY poliklonal antiserum kullanılarak DAS-ELISA testi ile doğrulanmıştır. Daha sonra patotiplerin *pvr* lokusuyla ilişkileri Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2 ve W4 biber genotiplerinde biyolojik ve serolojik olarak kontrol edilmiştir. Denemeye alınan kırmızıbiber hatlarına, PVY patotipleri mekanik olarak inokule edilmiştir. Biber hatlarında PVY patotiplerinin çoğalması ve yayılması, pozitif kontrollerde ilk belirtileri takiben DAS-ELISA testiyle üç hafta süreyle izlenmiştir. PVY (0) patotipi, bitki yapraklarında mozaik, PVY (0,1) patotipi, yaprak yüzeyinde deformasyon, yapraklarda içe kıvrılma, bitki gövdesinde şekil bozukluğu ve meyvede şeritler halinde renk açılması belirtileri oluşturmuştur. PVY (0,1,2) patotipi, yaprak damarı çevresinde nekrozlar oluşturmuş ve yapraklar dökülmüştür. Üç kırmızıbiber hattında PVY patotiplerinden kaynaklı semptom meydana gelmemiştir. Serolojik testlerden alınan sonuçlara göre, bu üç hattın, PVY'nin üç patotipine dayanıklı aday hatlar olduğunu söylemek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: *Capsicum annuum*, ELISA, patotip, *Potyvirus*, PVY

Investigation For Reactions Of Peppers With *Pvr* Loci To *Potato Virus Y* (Pvy)

Abstract: Reactions of 43 red pepper lines to PVY pathotypes, (0), (0,1), (0,1,2) were investigated in this study. PVY isolates LYE84, CAA 16 and SON41P which are PVY pathotypes (0), (0,1) and (0,1,2) were multiplied in *Nicotiana tabacum* L. "Samsun" and the virus presence was confirmed ELISA tests. The relationship between pathotypes and *pvr* loci was biologically and serologically checked onto Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2 and W4 pepper genotypes. PVY pathotypes were mechanically inoculated into red pepper lines. The virus multiplication and spread regarding with three pathotypes were tested by DAS-ELISA for three weeks after first symptom appearance on positive controls. PVY (0) caused leaf mosaic while PVY (0,1) induced deformation on leaf surface, downward leaf rolling, stem deformation and elongated color deformation on fruits. PVY (0,1,2) caused necrosis along the veins and defoliation afterwards. Three lines did not have any symptoms due to virus infection. According to results of serological tests, they can be accepted as resistant candidates to three of PVY pathotypes

Keywords: *Capsicum annuum*, ELISA, pathotype, *Potyvirus*, PVY

1. Giriş

Biberin insanların beslenmesinde 7 bin yıldır kullanıldığı, yetiştiriciliğinin ise 5 bin yıldan beri yapıldığı birçok yayında rapor edilmiştir (Heiser 1973). *Solanaceae* familyasına dahil olan *Capsicum* cinsi içerisinde yaklaşık 30 tür bulunmaktadır. Bunlardan, *Capsicum annuum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* L., *C. frutescens* L., ve *C. pubescens* L. olmak üzere 5 tür kültüre alınmıştır (Abak 1982).

Dünyanın toplam taze biber üretimi 30 milyon ton, kurutulmuş biber üretimi ise 3 milyon tondur. Dünyada en çok biber üretimi yapan ülke, 15 milyon ton üretimi olan Çin'dir. Türkiye ise 2 milyon ton biber üretimi ile Meksika'dan sonra üçüncü sıradadır. Kurutulmuş kırmızıbiber üretiminde ise, 1.500.000 ton ile ilk sırada yer alan Hindistan'ı, 280.000 ton ile Çin ve 200.000 ton üretim ile Pakistan izlemektedir. Türkiye 15.000 ton kırmızıbiber üretimiyle, Jamaika'nın ardından 26. sıradadır (FAO 2016).

Biberin, dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliğini sınırlandıran önemli sorun, biber hastalıklarıdır. Bu hastalıkların en tehlikelisi olarak kabul edilenler, biber kök boğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici* Leon) (Yoon ve ark.1989) ve viral etmenlerdir. Biber yetiştiriciliğinde virüsler verim ve kaliteyi düşürmek suretiyle, ekonomik kayıplara neden olmaları bakımından ayrı bir öneme sahiptir.

Birçok kültür bitkisinde özellikle de *Solanaceae* familyasında yer alan domates, patates, patlıcan ve diğer bitkilerde hastalığa neden olan çok sayıda virüsler aynı zamanda biberde de hastalığa neden olmakta ve farklı şekillerde bu türler arasında karşılıklı taşınmaktadır (Edwardson ve Christie 1997).

Biberde verim ve kalite kaybına sebep olan 43 adet virüsten en önemlileri Hıyar mozaik virüsü (CMV), Patates Y virüsü (PVY), Biber çizgili damar virüsü (PVBV), Tütün mozaik virüsü (TMV) dür (Palloix ve ark. 1994a). Türkiye'de biber üretim alanlarından; Akdeniz kıyılarında, PVY, TMV, CMV, Tütün yanıklık virüsü (TEV) yaygındır (Yılmaz ve Davis 1985). Güneydoğu ve Doğu Akdeniz bölgelerinde PVY, PVX, Yonca mozaik virüsü (AMV), TEV, Biber hafif benek virüsü (PMMoV)ve CMV, enfeksiyonları rapor

edilmiştir (Buzkan ve ark. 2006). Samsun ilinde AMV, CMV, PVY, Domates mozaik virüsü (ToMV), TMV, Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)yaygın virüslerdendir (Arlı-Sökmen ve ark. 2005). Kemaliye ve Yusufeli ilçelerinde PVY, TMV enfeksiyonlarının olduğu tespit edilmiştir (Bostan ve Dursun 2002).

PVY, dünya patates üretimini ekonomik olarak tehdit etmekle birlikte diğer pek çok kültür bitkisinde (biber, tütün ve domates) önemli zararlar yapmaktadır (Kaliciak ve Seller 2009). PVY, bitki virüs alemi içerisinde en geniş familya olan *Potyviriidae* familyasında *Potyvirus* cinsinde yer almaktadır. Virüs yaygın olarak patateslerde enfeksiyon yapmakla birlikte sebze tarımının yapıldığı bölgelerde önemli bir bitki patojenidir. Ürünün kalite ve verimini % 80'e kadar düşürmektedir (Hamalainen ve ark. 1997). PVY, genel olarak, aralarında *Solanaceae*, *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae*, *Compositae*, *Leguminosae* gibi ekonomik öneme sahip ürünler başta olmak üzere 27 familya içerisinde yer alan 69 cinsin, yaklaşık 340 türünü hastalandırabilmekte (Boonham ve Barker 1998) ve 73 farklı yaprak biti türü ile taşınabilmektedir (Varveri 2000).

Patotip, konukçuda spesifik bir gen tarafından kontrol edilen viral ajanın alt türü olarak ifade edilmektedir (Hampton ve Provvidenti 1992). *pvr2⁺* genini taşıyan duyarlı *C. annuum* genotiplerini enfekte eden izolatlar, 0 grubuna dahil olmaktadır. İzolatlardan *pvr2¹* allelini taşıyan genotipleri enfekte edenler patotip 0,1 olarak kabul edilmektedir. *pvr2¹* ve *pvr2²* alellerini taşıyan genotipleri enfekte edenler patotip 0,1,2 olarak gruplanmaktadır. PVY izolatlarının büyük bir çoğunluğu patotip 0 veya 0,1'dir (Palloix ve ark. 1994b). Türkiye'de PVY'nin 0 ve 0,1 patotipleri bulunmaktadır (Ekbiç ve ark. 1997)

Son yıllarda virüslerle mücadelede bitkilerdeki genetik dayanıklılık mekanizmasının araştırılması üzerinde yoğunlaşmıştır. Genel kural olarak, potyviruslere dayanıklılık lokusu "*pvr*" sembolü ile ifade edilmekte ve bunu teşhis edilmiş oldukları kronolojik sıraya göre de lokus üzerinde üst bilgi olarak gösterilmektedir. Bu lokuslardaki

dominant duyarlılık geni ise üst bilgi olarak '+' işaretini taşımaktadır. Biberde *pvr1*, *pvr2*, *pvr3*, *Pvr4*, *pvr5*, *pvr6* lokusları teşhis edilmiştir (Lindhout 2002).

Potyvürlere karşı resesif dayanıklılık, bitkideki dayanıklılık faktörü "eIF4E" (ökaryotik translasyon başlangıç faktörü 4E) (Robaglia ve Caranta 2006) yokluğunda meydana gelmektedir. Bu faktörün yokluğunda veya mutasyona uğramasıyla viral protein geni (VPg) ile fiziksel interaksiyon gerçekleşmemekte ve bitkideki dayanıklılık ortaya çıkmaktadır (Kang ve ark. 2005; Maule ve ark. 2007). Biber ıslah çalışmalarında sıklıkla kullanılan diğer dayanıklılık mekanizması ise dominant dayanıklılık allelerinin bulunduğu P10 kromozomunda, *Pvr4* lokusundan gelmektedir. Açık arazide hiçbir PVY izolatının *Pvr4* dayanıklılığı bulunan bitkileri hastalandırmadığı bilinmektedir. *Pvr4* lokusu Meksika orijinli 'Criollo de Morelos 334'(CM344) biber genotipinde bulunmakta ve bilinen PVY'nin bütün patotiplerine karşı dominant dayanıklılık sağlamaktadır (Caranta ve ark. 1997).

Bu araştırmada 43 kırmızıbiber hattının, PVY'nin PVY(0), PVY(0,1), PVY(0,1,2) patotiplerinin enfeksiyonlarına reaksiyonları araştırılmıştır. Biber hatlarında, PVY patotiplerinin çoğalmasında ve yayılmasını takiben oluşan semptomlar ve virüs akümülyasyonunun PVY-spesifik poliklonal antiserumla serolojik olarak değerlendirilmesi ile hassas ve dayanıklı hatlar belirlenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

PVY'nin; patotiplerine reaksiyonları araştırılan 43 adet hattın 21'i Sena çeşidi ile C15 (KM2-11 x CM334)'in 22'si ise Sena çeşidi ile P45 (KM2-11 x PBC178)'in melezlenip iki generasyon Sena çeşidi ile geriye melezlenip 4 generasyon kendilenmesi ile elde edilmiştir. Hatların geliştirilmesinde kullanılan CM334, PVY'ne dayanıklılık dominant ve resesif *pvr* lokuslarına sahiptir. Denemede dayanıklı kontrol olarak CM334, hassas kontrol olarak Serademre 8 çeşidi kullanılmıştır. ELISA testlerinde kullanılan

PVY poliklonal antiserumu Agdia firmasından temin edilmiştir.

Mekanik inokülasyonlarda, PVY'nin, LYE84 (PVY-0), CAA16 (PVY-0,1) ve SON41P (PVY-0,1,2) izolatları kullanılmıştır. PVY patotiplerinin çoğaltılmasında *Nicotiana tabacum* L. "Samsun" tütün çeşidi kullanılmıştır.

Çalışmada, Yolo Wonder (PM 031), Yolo Y (PM 162), Florida VR2 (PM 604), ve W4 biber genotipleri PVY patotiplerini kontrol etmek amacıyla kullanılmıştır. Bu genotiplerde bulunan *pvr* lokusları; Yolo Wonder; *Pvr2*⁺, Yolo Y; *pvr2*¹, Florida VR2 *pvr2*², W4; *pvr2*³ ve *Pvr4* lokuslarına sahiptir.

2.2. Fidelerin yetiştirilmesi

Biber hatlarının tohumları 3:1 (hacim/hacim) torf: perlit ortamına ekilip, iklim odasında (24°C sıcaklık, 16 saat fotoperiyot, 3000 lux ışık yoğunluğu, %60 oransal nem) tutulmuştur. Her hat ve kontrol bitkisinden 27 adet fide yetiştirilmiştir. Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2 ve W4 biber genotiplerinin her biri için 36 adet fide yetiştirilmiştir.

2.3. Mekanik inokülasyon

PVY patotiplerinin biber hatlarına ve referans bitkilerine mekanik inokülasyonu, biber fidelerinin ilk gerçek yapraklarının çıkışını takiben kotiledon yapraklarına yapılmıştır (Moury ve ark., 2004). Steril porselen havan içerisinde yaprak örneği (1 g), 4 ml 0.03 M fosfat tamponu (pH 7.0) ve %2 (ağırlık/hacim) DIECA (diethyldithiocarbamate), 20 mg/ml aktif kömür ve 20 mg/ml karborandum içeren tampon ile ezilerek inokulum hazırlanmıştır. Hazırlanan inokulum, biber fidelerinin kotiledon yapraklarına sürülmüştür. Yapılan ilk ELISA testinde negatif değer alınan bitkilere ikinci kez mekanik inokülasyon yapılmış ve semptomlar haftalık olarak kontrol edilmiştir.

2.4. Serolojik Testler: DAS-ELISA (Double antibody-enzyme linked immunosorbent assay)

İnokülasyonun 3., 6. ve 7. haftasında bitkilerden alınan örnekler DAS-ELISA yöntemi

ile Legnani ve ark. (1995)'nin önerdiği şekilde test edilmiştir.

PVY poliklonal antiserumu seyreltme oranları üretici firmanın (Agida) tavsiye ettiği oranda (1:1000)seyreltilerek kullanılmıştır. Plakalarda pozitif kontrollerde renk değişiminin gözlemlendiği 30 - 60 dk. aralıklarında 405 nm dalga boyunda okumalar yapılmıştır. Negatif kontrollerin 3 katı ve üzeri absorbans değeri veren örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. PVY patotiplerinin indikatör biber genotiplerde oluşturduğu belirtiler

Patotiplerle spesifik reaksiyona giren genotiplere (Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2, W4) (patotip / 10 adet bitki) mekanik inokulasyon yapılmış, patotipler biber genotiplerinde farklı belirtiler oluşturmuştur.

Yolo Wonder genotipinde, PVY'nin (0) patotipi, mozaik ve kloroz, (0,1) patotipi yapraklarda renk ve şekil bozukluğuna, (0,1,2) patotipi yapraklarda nekrozlara neden olmuştur.

Yolo Y genotipinde, PVY(0) belirtiler oluşturmamıştır. PVY(0,1) patotipi yapraklarda mozaik, şekil bozukluğu, PVY(0,1,2) patotipi yapraklarda mozaik, şekil bozukluğu ve yaprak damarlarında kahverengi nekrozlar oluşturmuştur. Florida VR2 genotipinde, PVY (0) ile PVY(0,1) patotiplerinden kaynaklanan belirtiler meydana gelmemiştir. PVY (0,1,2) patotipi yapraklarda şekil bozukluğu, damar bantlaşması ve kloroz belirtilerine neden olmuştur. W4 genotipi PVY'nin bilinen patotiplerine dayanıklılığı sağlayan Pvr4 genini bulundurduğundan bu genotipte belirtiler meydana gelmemiştir.

PVY patotiplerinin mekanik olarak inoküle edildiği Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2 ve W4 genotiplerinden alınan belirtilmatolojik ve serolojik sonuçlar birbirini destekler nitelikte olmuştur. ELISA testlerine göre Yolo Wonder genotipinde, PVY'nin bütün patotiplerinin enfeksiyonu pozitif değer vermiştir. Yolo Y genotipi, PVY (0,1) ve (0,1,2) patotiplerine, Florida VR2 genotipi ise PVY (0,1,2) patotipine pozitif reaksiyon vermiştir. W4 genotipi ise tüm

patotiplere direnç göstermiş ve ELISA okumaları negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 1).

3.2. PVY patotiplerinin biber hatlarında oluşturduğu belirtiler

PVY patotipleriyle biber hatlarına yapılan mekanik inokulasyonu takiben 8-10 gün içerisinde ilk belirtiler belirlemeye başlamıştır. İlk belirtiler yaprak yüzeyinde deformasyon, yapraklarda içe doğru kıvrılma şeklinde olmuştur. Üçüncü haftadan sonra izolatların oluşturduğu belirtiler farklılıklar göstermeye başlamıştır. Dayanıklı kontrol olarak kullanılan CM334 genotipinde ve 47, 62, 63 numaralı hatlarda belirtiler oluşmamıştır. PVY (0) patotipi; bitki yapraklarında, mozaik, kloroz, damar nekrozu (Şekil 1) belirtilerine neden olmuştur. Altı hatta (4, 8, 47, 51, 62, 63) belirtiler oluşturmamıştır.

PVY (0,1) patotipi, mekanik inokulasyondan bir hafta sonra yapraklarda yüzey deformasyonu, ilerleyen dönemde yapraklarda içe kıvrılma, dördüncü haftadan sonra bitki gövdesinde şekil bozukluğu oluşturmuştur. PVY (0,1) patotipinin genel olarak duyarlı biber hatlarında meydana getirdiği tipik belirtilmaları gövde ve yapraklarda şekil bozukluğu (Şekil 2), yaprak ve meyvelerde renk açılmalarıdır. Meyvelerdeki renk açılmaları meyvede, boyuna şeritler halinde yeşilden beyaza renk değişimleri şeklinde olmuştur. Üç hatta (47,62, 63), belirtiler gözlenmemiştir.

PVY (0,1,2) patotipi, duyarlı biber hatlarında mekanik inokulasyonu takiben birinci hafta sonunda yaprak yüzeyinde deformasyona, daha sonra kloroz ve nekrozlara (Şekil 3) neden olmuştur.

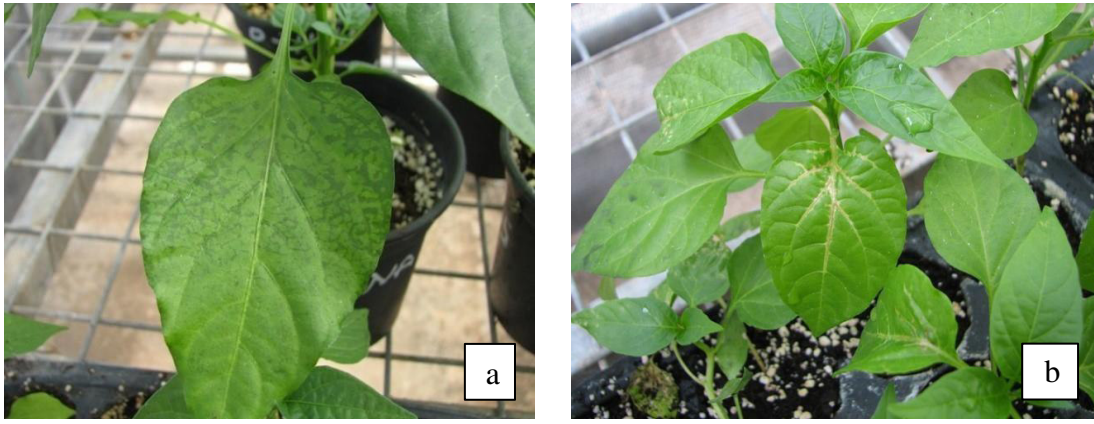
Dördüncü hafta sonunda nekrozlu yapraklar dökülmüştür. Yeni oluşan yapraklarda hafif şiddette nekrozlar oluşmuş ve yaprak dökülmesi olmamıştır. Üç hatta (47,62, 63) belirtiler oluşmamıştır.

Çizelge 1. PVY patotiplerinin Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2 ve W4 genotiplerine inokulasyonu sonrası ELISA testi okuma değerleri (O.D. : 405 nm)

Table 1. Optical Density (O.D.) Values of ELISA test after inoculation of PVY patotypes on Yolo Wonder, Yolo Y, Florida VR2 and W4 genotypes (405 nm)

Genotip	PVY (0)	PVY (0,1)	PVY (0,1,2)
Yolo Wonder	0,175 H	0,191 H	0,389 H
Yolo Y	0,023 D	0,156 H	0,369 H
Florida VR2	0,006 D	0,018 D	0,174 H
W4	0,011 D	0,020 D	0,009 D
Kontrol Agdia (-)	0,015	0,010	0,014
Kontrol Agdia (+)	0,355	0,438	0,378

*D: Dayanıklı; H: Hassas



Şekil 1. PVY (0) patotipinin biber hatlarında oluşturduğu simp.; a: Mozaik, b: Damar nekrozu
Figure 1. Symptoms generated by PVY patotype (0) on pepper lines a. Mosaic b. Vein necrosis



Şekil 2. PVY (0,1) patotipinin biber hatlarında oluşturduğu belirtiler; a: gövde şekil bozukluğu ve yapraklarda sararma b: Yaprak şekil bozukluğu
Figure 2. Symptoms generated by PVY patotype (0,1) on pepper lines a. stem deformation and leaf chlorosis b. Leaf deformation



Şekil 3. PVY (0,1,2) patotipinin biber hatlarında oluşturduğu belirtiler a: Yapraklarda nekroz b: Yapraklarda kabarcıklanma ve şekil bozukluğu

Figure 3. Symptoms generated by PVY patotype (0,1,2) on pepper lines a. necrosis on leaves b. Leaf blistering and deformation

3.4. Serolojik Testler

Mekanik inokulasyondan sonra 3., 6. ve 7. hafta sonunda denemede kullanılan genotiplere ait alınan örnekler DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiş ve ELISA absorbans değerleri O.D. (405nm) kaydedilmiştir.

ELISA testi sonucunda 62, 63 numaralı hatlardan alınan örnekler, PVY'nin tüm patotiplerine negatif değerler vermiştir. Diğer hatlardan alınan örnekler ise farklı sonuçlar vermiştir. Hatların 16 tanesinden alınan bütün örnekler pozitif değer vermiştir. 25 adet hattın alınan örnekler ise farklı sonuçlar vermiştir. Bu durum, farklı sonuçlar veren hatlara mekanik inokulasyonun iyi yapılmadığı veya bu hatlarda PVY'nin patotiplerine reaksiyonları yönünden açılımın devam ettiğini düşündürmektedir. Bu nedenle simptomatolojik ve serolojik değerlendirmeler sonucunda, 10 adet hat seçilmiş (4, 8, 11, 27, 41, 47, 51, 62, 63 ve 64 nolu hatlar), bu hatların PVY'nin patotiplerine reaksiyonları tam olarak belirlemek için ikinci bir deneme kurulmuştur.

Her hattın 27 fide yetiştirilmiş ve her patotip için 9 adet bitkiye mekanik inokulasyon yapılarak simptomatolojik ve serolojik olarak hatların reaksiyonları belirlenmiştir. Mekanik inokulasyondan üç hafta sonra uygulanan ELISA testinde negatif değer veren bitkilere ikinci kez mekanik inokulasyon yapılmıştır.

Hatlarda, PVY patotipleri birinci denemede oluşturdukları belirtilere benzer belirtiler oluşturmuştur. Bunlardan 62 ve 63 nolu hatlarda simptom oluşmamıştır. Mekanik inokulasyondan sonra 3., 6. ve 7. haftalarda, her patotip için her hatta ait 5 adet bitkiden örnekler alınmış ve DAS-ELISA testi uygulanmıştır. ELISA sonuçlarına (Çizelge 2) ve simptomatolojik gözlemlere göre iki kırmızıbiber ıslah hattının PVY'nin her üç patotipine karşı dayanıklı olduğu tespit edilmiştir.

ELISA testlerinden alınan O.D. değerlerine göre, 47 numaralı hat içerisinde iki bireyde PVY (0) patotipinin inokulasyonunda yüksek virüs akümüasyonu belirlenmiş, üç bitkide ise düşük değerler alınmıştır. PVY (0,1) ve (0,1,2) patotiplerine karşı ise bütün bitkilerde çok düşük değerler elde edilmiştir. Bu durum hat içerisinde açılımın kısmen devam ettiğini göstermektedir.

ELISA testlerinde, 62 ve 63 numaralı hatların tüm bitkilerinde düşük değerlerde virüs akümüasyonu gözlenmiştir. Bu iki hattın PVY'nin üç patotipine karşı dayanıklı olduğunu söylemek mümkündür. Diğer hatların (4, 8, 11, 27, 41, 51, 64) bitkilerinde PVY patotiplerinin tamamı için ELISA testlerinde yüksek değerler alınmıştır.

Çizelge 2. PVY patotipleriyle inokule edilmiş biber hatlarından 3.,4., ve 7. haftalarda ELISA testinden alınan O.D. (450 nm) değerleri

Table 2. Optical Density (O.D.) Values of ELISA test 3, 4 and 7 weeks after inoculation of pepper lines with PVY patotypes (405 nm)

Hat No	PVY (0)				PVY (0,1)				PVY (0,1,2)			
	Bitki	3. Hafta	6.Hafta	7.Hafta	Bitki	3. Hafta	6.Hafta	7.Hafta	Bitki	3. Hafta	6.Hafta	7.Hafta
4	1	0,011N	0,243P	0,403P	1	0,167P	0,403P	0,224P	3	0,177P	0,291P	0,504P
	2	0,006N	0,259P	0,409P	2	0,183P	0,173P	0,276P	4	0,289P	0,277P	0,415P
	3	0,006N	0,320P	0,307P	3	0,104P	0,105P	0,103P	6	0,240P	0,256P	0,513P
	4	0,032N	0,207P	0,512P	4	0,067P	0,167P	0,251P	8	0,175P	0,252P	0,289P
	5	0,024N	0,201P	0,462P	9	0,216P	0,192P	0,357P	9	0,116P	0,199P	0,493P
8	1	0,028N	0,091P	0,264P	1	0,133P	0,168P	0,163P	2	0,077P	0,189P	0,351P
	3	0,008N	0,113P	0,182P	2	0,095P	0,055P	0,176P	5	0,096P	0,206P	0,414P
	4	0,003N	0,282P	0,426P	3	0,416P	0,018N	0,257P	6	0,242P	0,196P	0,546P
	5	0,012N	0,289P	0,443P	5	0,306P	0,352P	0,270P	7	0,225P	0,356P	0,409P
	6	0,008N	0,369P	0,558P	6	0,219P	0,226P	0,331P	9	0,082P	0,268P	0,379P
11	3	0,012N	0,234P	0,477P	1	0,275P	0,170P	0,155P	1	0,130P	0,182P	0,371P
	4	0,037N	0,204P	0,349P	3	0,156P	0,162P	0,300P	4	0,189P	0,342P	0,382P
	5	0,026N	0,428P	0,542P	4	0,149P	0,204P	0,251P	6	0,101P	0,175P	0,410P
	6	0,023N	0,112P	0,136P	7	0,092P	0,215P	0,265P	7	0,119P	0,253P	0,329P
27	7	0,005N	0,222P	0,560P	9	0,041N	0,363P	0,195P	9	0,130P	0,150P	0,288P
	1	0,038N	0,203P	0,316P	1	0,218P	0,411P	0,274P	2	0,140P	0,280P	0,370P
	2	0,045N	0,119P	0,281P	2	0,189P	0,397P	0,343P	4	0,076P	0,287P	0,601P
	8	0,012N	0,256P	0,578P	3	0,223P	0,049P	0,409P	5	0,087P	0,289P	0,375P
		Ö	Ö	Ö	6	0,184P	0,196P	0,234P	6	0,022N	0,277P	0,369P
41		Ö	Ö	Ö	7	0,150P	0,068P	0,409P	9	0,229P	0,269P	0,418P
	2	0,013N	0,306P	Ö	1	0,002N	0,779P	0,972P	2	0,056N	0,309P	0,118P
	3	0,014N	0,185P	Ö	4	0,077P	0,391P	0,589P	3	0,054N	0,274P	0,043N
	5	0,031N	0,438P	0,408P	5	0,119P	0,186P	0,491P	4	0,039N	0,238P	0,238P
	6	0,038N	0,180P	0,433P	7	0,052N	0,300P	0,290P	6	0,129P	Ö	Ö
47	9	0,035N	0,192P	0,210P	9	0,051N	0,346P	0,329P	7	0,259P	0,199P	Ö
	1	0,006N	0,008N	0,003N	3	0,020N	Ö	Ö	1	0,008N	0,034N	0,025N
	2	0,028N	0,218P	0,301P	5	0,012N	0,018N	0,026N	2	0,006N	0,026N	0,032N
	3	0,046N	0,015N	0,021N	6	0,000N	0,012N	0,015N	3	0,009N	0,022N	0,044N
	7	0,036N	0,163P	0,452P	8	0,017N	0,006N	0,020N	4	0,017N	0,021N	0,014N
51	8	0,025N	0,023N	0,006N	9	0,003N	0,017N	0,014N	5	0,029N	0,003N	0,006N
	2	0,063P	0,278P	0,285P	1	0,038N	0,078P	0,549P	1	0,003N	0,187P	0,275P
	3	0,037N	0,200P	0,435P	4	0,003N	0,400P	0,402P	3	0,026N	0,325P	0,275P
	4	0,055N	0,164P	0,521P	5	0,003N	0,282P	0,837P	4	0,014N	0,404P	0,203P
	6	0,094P	0,208P	0,258P	6	0,003N	0,228P	0,223P	7	0,091P	0,343P	0,249P
62	7	0,107P	0,348P	0,374P	9	0,032N	0,143P	0,117P	8	0,093P	0,971P	0,346P
	1	0,006N	0,000N	0,018N	3	0,011N	0,011N	0,014N	5	0,009N	0,020N	-0,003N
	3	0,017N	0,020N	0,015N	4	0,008N	0,014N	0,000N	6	0,017N	0,021N	0,017N
	4	0,037N	0,018N	0,018N	5	0,017N	0,006N	0,023N	7	0,029N	0,023N	0,017N
	7	0,016N	0,020N	0,009N	7	0,020N	0,014N	0,025N	8	0,017N	0,008N	-0,017N
63	9	0,023N	0,000N	0,000N	8	0,020N	0,012N	0,023N	9	0,023N	0,002N	-0,017N
	1	0,000N	0,020N	0,009N	2	0,003N	0,009N	0,003N	5	0,014N	0,022N	0,008N
	2	0,012N	0,022N	0,032N	4	0,014N	0,020N	0,008N	6	0,006N	0,023N	0,009N
	5	0,003N	0,020N	0,009N	5	0,026N	0,043N	0,026N	7	0,006N	0,005N	0,015N
	6	0,023N	0,003N	0,000N	6	0,020N	0,003N	0,017N	8	0,012N	0,002N	0,030N
64	9	0,016N	0,011N	0,018ND	7	0,003N	0,009N	0,003N	9	0,003N	0,003N	0,009N
	1	0,020N	0,187P	0,164P	1	0,000N	0,393P	0,271P	1	0,042N	0,238P	0,637P
	4	0,003N	0,353P	0,369P	3	0,000N	0,349P	0,467P	3	0,023N	0,274P	Ö
	6	0,025N	0,197P	0,381P	5	0,002N	0,077P	0,379P	4	0,025N	0,210P	0,383P
	7	0,023N	0,218P	0,172P	6	0,040N	0,576P	0,394P	7	0,126P	0,345P	0,354P
(-)		0,019	0,014	0,011		0,018	0,016	0,012		0,020	0,022	0,015
	(+)		0,410	0,218	0,351		0,368	0,280	0,414		0,430	0,295

*N: Negatif, P: Pozitif, Ö: Ölü Bitki

4. Sonuç

Denemelere dahil edilen 43 hattın iki tanesinde (62, 63), PVY patotiplerinin çoğalmas ve yayılmasının düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Yapılan ELISA testlerinde, bu hatların bitkilerinden alınan örneklerde O.D. değerlerinin, pozitif kontrol olarak kullanılan bitkilerden alınan değerlerden az ve/veya negatif kontrollerden alınan değerlere yakın değerler olduğu gözlenmiştir.

İndikatör bitkilerden W4; Yolo Wonder ve CM344 'ün melezlenmesi ile geliştirilen *Pvr4* lokusuna sahip ve PVY'nin patotiplerine dayanıklı genotiptir. Bu çalışmada PVY'nin patotiplerine dayanıklı olduğu tespit edilen, 62, 63 nolu hatların geliştirilmesinde, CM344'ün gen kaynağı olarak kullanılması ve PVY'nin patotiplerine dayanıklı olması, bu hatların, *Pvr4* lokusuna sahip olabileceğini düşündürmektedir. Dayanıklılık gösteren hatların üç patotipe aynı anda dayanıklılık göstermesi de bu hatlarda *Pvr4* lokusu olduğu görüşünü güçlendirmektedir. Bu allelin varlığı diğer allellerin patotipler kullanılarak kontrolünü zorlaştırmaktadır. Yoklama melezleri yapılarak veya farklı patotiplerin kullanımı ile diğer lokusların olup olmadığı ortaya konulabilir. Bununla birlikte moleküler işaretleyiciler ile bu lokusun hangi allellerin var olduğu da belirlenebilmektedir (Caranta ve ark., 1999; Charron ve ark., 2008; Hwang ve ark., 2009; Rubio ve ark., 2009;)Hatların dayanıklılığı sağlayan CM334'ün birden fazla *pvr* lokusu bulundurduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Moury ve ark., 2004; Kang ve ark., 2005; Caranta ve ark., 1997).

PVY'ne dayanıklılığı tespit edilen hatların, gen kaynağının CM334 olması nedeniyle, virüse dayanıklı baharatlık kırmızıbiber hatları geliştirme çalışmalarında, bu gen kaynağının gelecekte virüse dayanıklı hatların geliştirilmesinde kullanılmasının uygun olacağını söylemek mümkündür. Bunun yanı sıra gen kaynağı PBC178 olan hatlarda dayanıklılık tespit edilmemiştir.

PVY (0) patotipi hassas hatlarda, mekanik inokulasyondan yedi gün sonra ilk belirtilerini meydana getirmiştir. Başlangıç belirtileri

yapraklarda mozaikler şeklinde, ilerleyen dönemlerde kloroz ve damar nekrozuna dönüşmüştür. Çelik ve ark., (2012) PVY (0) patotipinin Serademre 8 ve Bağcı Çarliston çeşitlerinin meyvelerinde boyuna çizgiler şeklinde belirtiler oluşturduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ise meyvelerdeki renk açılması (0,1) patotipinin belirtilerini oluşturmuştur.

PVY (0,1) patotipi, hassas hatlarda yaprak ve gövdede şekil bozukluklarına neden olmuştur. Mekanik inokulasyondan ortalama 7 gün sonra yaprak yüzey deformasyonları belirmiş, daha sonra yapraklarda içe kıvrılma, sararma, bitki gövdesinde şekil bozukluğu, meyvelerde boyuna renk açılması belirtilerini oluşturmuştur.

PVY (0,1,2) patotipi, diğer patotipler gibi ilk belirtilerini inokulasyondan ortalama 7 gün sonra göstermiştir. Yaprak yüzeyinde deformasyon şeklinde başlayan belirtiler, daha sonra nekrozlara dönüşmüştür. Alt yapraklarda dökülmeler meydana gelmiştir. Dayanıklı olduğu tespit edilen üç hatta PVY'nin patotipleri belirtilerini oluşturmamıştır.

Yürütülen ıslah programında 62, 63 nolu hatlarında içinde bulunduğu 36 adet hattın melez kombinasyonu oluşturulmuş ve *P. capsici*'ye karşı testlenerek F3 kademesine getirilmiş olan, 45 adet sıranın test ve kendileme çalışması devam etmektedir. Islah programında, gen kaynağı olarak kullanılan genotiplerden biri olan CM334, *P. capsici* ile PVY'ne ve kök-ur nematoduna (*Meloidogyne incognita*) dayanıklıdır. Bu etmenlere karşı, söz konusu 45 adet genotipin reaksiyonları araştırılmalı ve üç etmene de dayanabilen hat veya hatların geliştirme doğrultusunda çalışmalar devam etmelidir. Patojenlere karşı dayanıklı çeşitlerin kullanılması, mücadelede etkin, ekonomik ve çevreye duyarlı en iyi yöntemdir.

Kaynaklar

- Abak K (1982). Biberlerde kökboğazı yanıklığına dayanıklılığın kalıtımı üzerinde araştırmalar. (Doçentlik Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Arli Sokmen M, Mennan H, Sevik M A and Ecevit O (2005). Occurrence of Viruses in Field-grown Pepper Crops and Some of Their Reservoir Weed Hosts in Samsun, Turkey. *Phytoparasitica*, 33 (4): 347-358.

- Boonham N and Barker I (1998). Strain Specific Recombinant Antibodies to Potato Virus Y potyvirus. *Journal of Virological Methods*, 74: 193–199.
- Bostan H ve Dursun A (2002). Kemaliye ve Yusufeli İlçelerindeki Biber (*Capsicum annuum* L.) Üretim Alanlarındaki Bazı Virüs Hastalıklarının Belirlenmesi. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, 33: 391-392.
- Buzkan N, Demir M, Öztekin V, Mart C, Çağlar BK and Yılmaz MA (2006). Evaluation of the status of Capsicum viruses in the main growing regions of Turkey. *EPPO Bulletin*, 36: 15-19.
- Caranta C, Thabuis A and Palloix A (1999). Development of a CAPS marker for the Pvr4 locus: a tool for pyramiding potyvirus resistance genes in pepper. *Genome*, 42(6): 1111-1116.
- Caranta C, Lefebvre V, and Palloix A (1997). Polygenic resistance of Pepper to potyviruses consists of a combination of isolate-specific and broad-spectrum quantitative trait loci. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 10: 872-878.
- Charron C, Nicolai M, Gallois JL, Robaglia C, Moury B Palloix A and Caranta C (2008). Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. *The Plant Journal*, 54(1): 56-68.
- Çelik N, Özalp R ve Göçmen M (2012). Antalya İlinde Örtü Altı Biber Yetiştiriciliğinde Patates Y Virüsü (PVY) Patotiplerinin Belirlenmesi ve Bazı Biber Çeşitlerinin PVY' ye Karşı Reaksiyonları. *Bitki Koruma Bülteni*, 52: 235-246.
- Edwardson JR and Christie RG (1997). *Viruses Infecting Peppers and Other Solanaceous Crops*. University of Florida, Agricultural Experiment Station Institute of Food and Agricultural Sciences, Volume 1: 336.
- Ekbic E, Abak K and Yılmaz MA (1997). New PVY Pathotype on Pepper Along Mediterranean Coastal Area of Turkey. *Proc. 10th Cong. Medit. Phytopath. Union*, 187-189, Montpellier France.
- FAO(2016). <http://faostat3.fao.org/wds/rest/exporter/streamexcel> (Accessed to web: 19.11.2016).
- Hamalainen JH, Watanabe KN, Valkonen JPT, Arihara A, Plaisted RL, Pehu E, Miller L and Slack SA (1997). Mapping and Marker-Assisted Selection for a Gene for Extreme Resistance to Potato Virus Y, *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 192–197.
- Hampton RO and Provvidenti R (1992). Specific infectivity and host resistance have redicated potyviral and pathotype nomenclature but relate less to taxonomy. *Arch. Virol. Suppl.* 5: 183-187.
- Heiser B (1973). *Seed to civilization. The story of man's food*, Francisco.
- Hwang J, Li J, Liu WY, An SJ, Cho H, Her NH, Yeami, Kim D and Kang BC (2009). Double mutations in eIF4E and eIFiso4E confer recessive resistance to Chili veinal mottle virus in pepper. *Molecules and cells*, 27(3): 329-336.
- Kaliciak A and Syller J (2009). New hosts of *Potato virus Y* (PVY) among common wild plant in Europe. *Europen Journal of Plant Pathology*, 124: 707–713.
- Kang BC, Yeami I, Frantz JD, Murphy JF and Jahn MM (2005). The *pvr1* locus in *Capsicum* encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with Tobacco etch virus VPg. *Plant Journal*, 42: 392–405.
- Legnani R, Gebre-Selassie K, Nono-Womdim R, Gognalons P, Moretti A, Laterrot H and Marchoux G, (1995). Evaluation and Inheritance of the *Lycopersicon hirsutum* Resistance Against Potato Virus Y. *Euphytica*, 86: 219–226.
- Lindhout P (2002). The perspectives of polygenic resistance in breeding for durable disease resistance. *Euphytica*, 124: 217-226.
- Maule AJ, Caranta C, and Boulton M I (2007). Sources of natural resistance to Plant viruses: status and prospects. *Molecular Plant Pathology*, 8 (2): 223-231.
- Moury B, Morel C, Johansen E, Guilbaud L, Souche S, Ayme V, Caranta C, Palloix A and Jacquemond M (2004). Mutations in potato virus Y genome-linked protein determine virulence towards recessive resistance in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum*. *Molecular Plant- Microbe Interact*, 17: 322-329.
- Palloix A, Abak K, Daubeze AM, Guldur M, Gebre and Selassie K, (1994b). Survey of Pepper diseases affecting the main production region of Turkey with special interest in viruses and potyvirus pathotypes. *Capsicum Eggplant Newsletter*, 13: 78-81.
- Palloix A, Abak K, Gognalons P, Daubeze AM, Guldur M Memouchi G and Gebre-Selassie K (1994a). Virus diseases infecting Pepper crops in Turkey. *Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, 469-472, Kuşadası Aydın Türkiye.
- Robaglia C, and Caranta C (2006). Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends Plant Science*, 11: 40-45.
- Rubio M, Nicolai M, Caranta C and Palloix A (2009). Allele mining in the pepper gene pool provided new complementation effects between pvr2-eIF4E and pvr6-eIF (iso) 4E alleles for resistance to pepper veinal mottle virus. *Journal of General Virology*, 90(11): 2808-2814.
- Varveri C., 2000. Potato Y Potyvirus Detection by Immunological and Molecular Techniques in Plants and Aphids. *Phytoparasitica*, 28: 141-148
- Yılmaz MA and Davis RF (1985). Identification of Viruses Infecting Vegetable Crops along the mediterranean sea Coast in Turkey. *Journal Turkish Phytopathology*, 14: 1-8.
- Yoon J Y, Green S K, Tschanz AT, Tsou SCA and Chang L C (1989). Pepper Improvement in the Tropics: Problems and the Avrvc Approach. *In: Proc Int Symp Integrated Management Practices Tomato and Pepper Production in the Tropics*, 86-98, Tainan, Taiwan.