

BİTKİ PATOJENİ VİRÜSLER



VİRÜSLERİN YAPISI

Bitkilerde hastalık oluşturan etmenlerden birisi de virüslerdir. Virüs 1720 yılında hazırlanan Philips sözlüğünde **zehir, kokmuş** olarak ifade edilmektedir. Virüs kelimesi İngilizce’de “**virus**”, Türkçe’de “**virüs**” şeklinde ifade edilir.

Bugün bilinen virüslerin yarısından fazlası bitki patojenidir. Genel olarak RNA içerdiği bilinmekte iken son yıllarda çift ve tek sarmal DNA içeren virüsler de saptanmıştır.

Genel olarak virüsler bir protein kılıfı ve bir nükleik asit helezonundan ibarettir.

Protein kılıfı olmayan virüsler “**viroid**” adını alırlar. Bazı virüslerde genetik materyal birden fazla parçaya bölünmüştür. Bu tür virüslere “**çok komponentli virüsler**” adı verilmektedir. Örneğin, şeker pancarında *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV, Rhizomania virus) ve yoncada *Alfalfa mosaic virus* (AMV) bunlara örnektir.

VİRÜSLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

1. Virüs sadece insan hayvan ve bitki hücrelerinde çoğalabilen ve hastalık yapma yeteneğine sahip nükleoproteinlerdir.
2. Virüsler bakterilerin geçemediği filtrelerden geçer.
3. Obligat parazittirler. Sadece canlı hücrede çoğalır, ölü dokularda gelişmezler.
4. Işık mikroskobu ile görülmeyip sadece elektron mikroskobunda gözlemlenebilirler.
5. Bitki dokusuna yaralardan giriş yaparlar. Bu yara mekanik olabildiği gibi böcek ve nematod emgisi ile açılan yaralarda olabilir.

Virüslerin morfolojik yapıları

Virüsler yapısal olarak değişik şekillerdedir. Yuvarlak, çubuk, bükülebilir iplik, ikiz partikül ve mermi şeklinde farklı yapılara sahiptirler. Yapısı eksiksiz (tam) olan virüslere **virion** adı verilir.

Çubuk şeklindeki virüslerin en tanınmış1 Tütün mozaik virüsü (*Tobacco mosaic virus*, TMV), küresel şekildeki virüslerin en tanınmış1 ise Hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*, CMV)' dür .

VİRÜS KONUKÇULARI

Virüsler konukçularda bulunuşlara göre řu gruplara ayrılır.

Bakterofajlar = Bakterilere arız olanlar

Siyonafajlar = Mavi yeşil algelere arız olanlar

Fitofajlar = Çiçekli ve tohumlu bitkilere arız olanlar

Zoofajlar = insan ve hayvanlarda enfeksiyon oluřturanlar

Arthropodafajlar = Böceklere patojen olan virüsler

Virüsler bitkilerde oluşturdıkları belirtilere göre adlandırılır. Örneğin ;
Tütün mozaik virüsü tütünlerde mozaik simptomuna yol açtığı için *Tobacco mosaic virus* (TMV),
Şeker pancarı nekrotik sarı damar virüsü de şeker pancarlarında nekrotik sarı damarlara yol açtığı için *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) adlarını almışlardır.

Virüslerin İngilizce isimlerinin baş harflerinin bir araya getirilmesiyle oluşturulan kısaltmalara **akronim** denilmektedir. Yazışmalarda önce genel adı yazıldıktan sonra akronimler kullanılır.. Virüslerin adlandırılmasında İngilizce adları esas olarak alınır. Ancak Türkçeye'de aynen tercüme edilerek Türkçe adları da mevcuttur.

BİTKİ PATOJENİ VİRÜSLERİN OLUŞTURDUĞU BELİRTİLER

Virüsler bitkilerde belli belirsiz şekillerde ölüme kadar değişen semptomlara sebep olur. Bazı enfeksiyonlarda ise hiçbir semptom gelişimi gözlenmez, bu tür enfeksiyonlara **latent enfeksiyon** adı verilir.

Semptomların oluşumunu etkileyen faktörler;

- 1) Virüsün tipi ve ırkı
- 2) Konukçunun tip ve varyetesi
- 3) Konukçunun yaşı ve gelişme devresi
- 4) Konukçunun fizyolojisi
- 5) Enfeksiyon süresi
- 6) Diğer virüs ve patojenlerin varlığı
- 7) İklim ve çevre şartları

Bir virüs her birinde farklı simptomlara neden olan farklı konukçu bitkilerde çoğalabilirler. Bu nedenle simptomlar konukçunun reaksiyonunu yansıtır. Virüslerin çoğu konukçuda yayılarak sistemik enfeksiyon meydana getirir. Kök ve sürgün uçları (meristematik dokular) patojenden ari olarak kalabilir. İstila edilen hücrelerin hızlı ölümü sonucunda enfeksiyon daha ileriye yayılmadan bu ölü alanlarda hapsedilmiş olarak kalır. Bu reaksiyona **hipersensitiv reaksiyon**, bu olaya da **hipersensitivite** denir.

Bitkilerde virüsler nedeniyle ortaya çıkan simptomlar;

a. Makroskobik

b. Mikroskobik olarak ikiye ayrılır.

a.Makroskobik (dış) simptomlar

Viral enfeksiyonların isimlendirilmeleri bu belirtilere göre yapılmaktadır. Ancak bazı enfeksiyonlar aynı bitki türünde benzer şekilde belirti meydana getirmektedir. Bu nedenle bu belirtilere bakılarak yapılan virüslerin teşhisi hatalı olmaktadır. Örneğin kabakgillerde aynı şekilde mozaik belirtisi yapan 8 tane virüs enfeksiyonu mevcuttur.

Bitki virüs enfeksiyonu sonucunda meydana gelen dış (makroskobik) belirtiler;

I. Primer (lokal)

II. Sekonder (sistemik) belirtiler olmak üzere ikiye ayrılır.

I. Primer (lokal) belirtiler: Virüs-konukçu bitki ilişkisine göre, virüs bulaşmasından sonra bitkilerde çok küçük, toplu iğne başı büyüklüğünde yuvarlak klorotik (sararma) lekeler veya kahve rengi-siyah nekrotik lekeler meydana gelir. Bunlara **lokal leke** denir. İki şekilde gözlenir. Birinci tip primer belirtiler virüslerin aşılındıkları yerde meydana gelen belirtilerdir. Bunlar **nekrotik ve ya klorotik lokal lekeler** olabilir. İkinci tip belirtiler ise **damarlarda renk açılması (vein clearing)** şeklindedir.

II. Sekonder simptomlar (sistemik); Bunlar değişkendir, sekonder olarak gelişir. Damarlarda renk açılması simptomu kaybolduktan sonra ortaya çıkar ve akut veya kronik fazda gelişir. Akut fazda bazen bitkiyi kurutur veya öldürür, bazen de sadece verim düşüklüğüne neden olur. Sekonder simptomlar bitkide yavaş yavaş gelişir.

Virüs enfeksiyonları yaprak, gövde, kök, çiçek ve meyvede olmak üzere tüm bitki aksamında belirtiler meydana getirir. Bitkilerde oluşan simptomlar, oluştukları bölgeye göre sınıflandırılırlar.

1. Yaprak ve Yeşil Aksam Simptomları
2. Gövde ve Kök Simptomları
3. Çiçek Simptomları
4. Meyve Simptomları

YAPRAK VE YEŞİL AKSAM SİMPTOMLARI

Genellikle bu simptomlar yapraklarda renk değişmesi ile ortaya çıkar. Buna esas olarak **mozaik, beneklenme, sararma, damar bantlaşması, halkalı leke, meşe yaprağı formu ve enasyon** şeklinde görölmektedir.

Tipik olarak mozaik belirtisinde yapraklarda koyu ve açık yeşil sarı bölgeler, genellikle köşeli ve damarlarda sınırlı haldedir. Monokotiledonlarda mozaik belirtisi yaprak ana damarına paralel çizgiler şeklindedir. Örneğın arpa çizgi virüsü (*Barley streak mosaic virus, BSMV*), buğday çizgi mozaik virüsü (*Wheat streak mosaic virus, WSMV*).

Genellikle virüsler yapraklarda klorofilin azalmasına ve parçalanmasına neden olurlar. Bazı enfeksiyonlarda hastalık nedeniyle **antosiyantin** miktarı artmakta ve yaprak kırmızılaşıp mor rengi almaktadır. Örneğın bağlarda leaf roll hastalıkları (*Grapevine leaf roll virus, GLRV*), arpalarda arpa sarı cücelik virüsü (*Barley yellow dwarf virus, BYDV*) v.b.

GÖVDE VE KÖK SİMPTOMLARI

Gövdelerde yapraklardakine benzer şekilde **benek, çizgi ve nokta** simptomları görülür. Nekrotik bölgeler gövdede görülür. İletim demetleri nekrozu, sürgünlerin kuruması ve solmasına neden olur.

Özellikle turunçgil fidanlarında virüs enfeksiyonu sonucunda anaç-kalem uyumsuzluğu görülmektedir. Turunçgillerde tristeza virüsünde (*Citrus tristeza virus*, CTV) aşısı yerinde odun dokusunda çukurluklar kabukta ise buna denk gelecek şekilde şişkinlikler gözlenir.

Beet necrotic yellow vein virus'un (Rhizomania virus) sebep olduğu Rhizomania hastalığında olduğu gibi bazı virüsler aşırı kök oluşumuna sebep olurlar. Bu hastalıkta kılcal köklerde aşırı derecede artış meydana gelmektedir.

Bazı virüs ve viroidler bitkilerde cüceleşmeye (bodurlaşma) de neden olabilmektedir. Örneğin *Barley yellow dwarf virus* ü tahıllarda, *Citrus exocortis viroid* de turunçgillerde cüceliğe sebep olmaktadır.

MEYVE SİMPTOMLARI

Bazı virüsler meyvelerde mozaik, farklı renk değişiklikleri ve şekil bozuklukları şeklinde belirtilere yol açarlar. Örneğin *Plum pox virus*'u (PPV) erik ve kayısı meyvelerinde şekil bozukluklarına, *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) kabak meyvelerinde mozaik ve şekil bozukluklarına, *Cucumber mosaic virus*'u (CMV) da hıyar meyvelerinde renk değişiklikleri ve siğil şeklinde oluşumlara sebep olmaktadır. PPV aynı zamanda kayısı ve eriklerde erken meyve dökümüne, bağlarda *Grapevine fanleaf* (GFLV) ve *Grapevine leafroll virus*'ları (GLRV) da irili ufaklı dane oluşumuna sebep olurlar.

VİRÜSLERİN YAYILMA YOLLARI

Bitki virüslerinin konukçudan konukçuya taşınması farklı şekillerde olmaktadır.

1. Mekanik Taşınma
2. Tohumla Taşınma
3. Toprakla Taşınma
4. Parazit Bitkilerle Taşınma
5. Böceklerle Taşınma
6. Akarlarla Taşınma

1. MEKANİK TAŞINMA

Mekanik yolla yayılmanın birçok tipleri vardır.

Virüsler mekanik olarak

- rüzgarlarla,
- insanlarla,
- hayvanlarla,
- hatalı yapılan çalışmalarla,
- tarım alet ve makinalarıyla,
- budama bıçakları ve makaslarıyla yayılır.

Bu şekilde taşınan virüslere örnek olarak;

- Tütün mozaik virüsü (TMV),
- Domates mozaik virüsü (ToMV),
- Hıyar mozaik virüsü (CMV)
- Patates Y ve X virüslerini gösterebiliriz.

2. TOHUMLA TAŞINMA

Virüsle bulaşık tohumların primer inokulum kaynağı olması nedeniyle tohumla yayılma virüslerin epidemiyolojisinde önemli olmaktadır.

Virüsler tohumla 3 şekilde taşınır. Tohumun dış yüzeyinde, endospermde ve embriyosunda bulunabilir.

Tohumun kabuğunda= *Tobamovirus* (Domateslerde ToMV), SBMV (*Southern bean mosaic virus*)

Tohumun endospermde= PNRSV (*Prunus necrotic ringspot virus*), TMV

Tohumun embriyosunda= BCMV, PSTVd (*Potato spindle tuber viroid*), CMV.

Virüslerin tohumla taşınmasında önemli olan faktörler;

- Virüs ve virüsün straini (ırkı),
- Konukçu bitki türü ve çeşidi,
- Enfeksiyon zamanı v
- Bitkinin yetiştirilme sıcaklığıdır.

3. TOPRAKLA TAŞINMA

Virüslerin toprakla taşınması nematod ve funguslarla olmaktadır.

3.1 Nematodla yayılma

Nematodlarla nakledilen virüslerin geniş bir konukçusu olan Nepovirüsler *Longidorus* ve *Xiphinema*; Netovirüsler ise *Trichodorus* türleri ile taşınır.

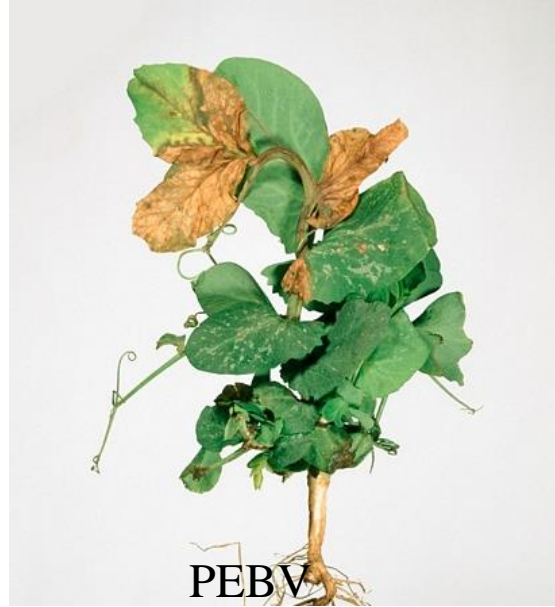
Nematod ile taşınan virüsler nematodun özefagus ve stylet uzantılarında bulunmakta ve emgi sırasında konukçuya aktarılmaktadır.

Nepovirüsler

Nepovirüsler polihedral, netuvirüsler ise tüp şeklindedir. Nematodlarla nakledilen ve partikül yapıları yuvarlak yapıda olan virüslerdir. Bu gruptaki virüsler *Xiphinema* ve *Longidorus* cinsi nematodlar ile taşınır.

Netuvirüsler

Partikülleri çubuk veya silindir şeklinde olan nematodlarla taşınan virüslerdir. *Tobacco rattle* (TRV) ve *Pea early browning virus* (Bezelye erken kahverengileşme virüsü).



Nepovirüsler;

Arabis mosaic virus (ArMV, Kazotu mozaik virüsü)

Brome mosaic virus (BMV, Brom mozaik virüsü)

Grapevine fanleaf virus (GFLV, Bağ kısa boğum virüsü)

Strawberry latent ringspot virus (SLRSV, Çilek latent halkalı leke virüsü)

Tomato ringspot virus (TRSV, Domates halkalı leke virüsü)

3.2. Funguslarla Taşınma

Bazı virüs enfeksiyonları toprakta mevcut bulunan fungus ve protozoa enfeksiyonları ile taşınmaktadır. Funguslarla taşınan çubuk şeklindeki virüsler **Furovirus** cinsi içinde yer almaktadır. Fungus türleri içinde *Polymyxa*, *Spongospora* ve *Olpidium* türleri en az 30 virüsü taşımaktadır. Bunların bazılarında virüs içinde veya üzerinde dinlenen sporelarda veya zoosporlarda taşınmaktadır.

Patates X virüsü *Synchytrium endobioticum* tarafından nakledilir.

Soil borne wheat mosaic virus (SBWMV, Toprakla taşınan buğday mozaik virüsü) ise *Polymyxa graminis* tarafından nakledilir.

Bazı funguslar ve taşıdıkları virüsler aşağıdaki gibidir.

Potato mop-top virus : *Spongospora subterrenea*

Olpidium brassicae : *Tobacco necrosis virus* (TNV)- *Lettuce big vein virus* (LBVV)

Olpidium cucurbiteacearum : *Cucumber necrosis virus* (CNV)

Puccinia graminis tritici : *Brome mosaic virus* (BMV)

Synchytrium endobioticum : *Potato X virus* (PVX)

Polymyxa betae : *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV)

4.PARAZİT BİTKİLERLE TAŞINMA

Küsküt (*Cuscuta* spp.) tam parazit bir bitki olup kökleri bulunmamaktadır. Emeçleri sayesinde bulunduğu bitkinin öz suyunu emerek beslenmektedir. Bu esnada bitki öz suyunda bulunan virüsleri de bünyesine almakta ve başka bir bitki ile beslenirken virüsü bu bitkiye bulaştırmaktadır.

5. BÖCEKLERLE TAŞINMA

Virüslerin taşınmasında arthropodlar (böcekler, akarlar), nematodlar ve funguslar vektörlük yapar. Hareket yeteneği olmayan virüslerin konukçudan konukçuya taşınmasını sağlayan organizmalara **VEKTÖR** adı verilmektedir.

Arthropodlar bitkilerin yapraklarında beslenirler ve bu sırada virüsü bitkiden alırlar veya bitkiyi enfekte ederler. Virüslerin geniş bitki topluluklarına taşınmasında önemli rol oynarlar.

- Böcekler içerisinde en önemli vektörler ise **Homoptera** takımını içerisinde yer almaktadır.
- Homoptera tarafından afidler, Aphididae; yaprak pireleri Cicadellidae ve bitki pireleri Delphacidae en önemli ve en büyük virüs vektörleridir.
- Virüs nakleden diğer Homoptera üyeleri ise Aleyrodidae olup bazı Geminivirus'ları nakleder. Diğer bazı virüsleri ise Coccoidea, bazı ağaç pireleri Membracidea tarafından taşınırlar.
- Diğer virüs vektörü olan böcekler ise Hemiptera, Tysanoptera ve Coleoptera takımına aittir. Orthoptera takımından olan çekirgeler ise birkaç virüsü taşır ve naklederler.

Virüslerin böcekler ile taşınması üç şekilde olmaktadır;

a. Non persistent virüsler

b. Semi persistent virüsler

c. Persistent virüsler

a. Non persistent virüsler

Sokucu delici ağız parçasına ait böcekler virüsleri styletleri üzerinde taşırlar. Bu tür virüslere **non persistent** veya **stylet borne virus** adı verilir.

Böcek enfekteli bitkide birkaç saniye ile birkaç dakika arasında beslenmekle virüsü kazanır ve sağlıklı bitkiye taşır. Virüs çok kısa bir beslenme periyodu ile alınıp bulaştırılmakta ve virüs vektör bünyesine geçmemektedir. Vektör bünyesinde birkaç saatten fazla kalmaz. Bu yolla taşınan virüsler genellikle bitkinin epidermis hücrelerinde bulunmaktadır.

Afitler en önemli virüs vektörüdür.

Patates Y virüsü (PVY),

Hıyar mozaik virüsü (CMV),

Fasülye adi mozaik virüsü (BCMV),

Fasülye sarı mozaik virüsü (BYMV) gibi birçok virüs bu yolla taşınmaktadır.

b. Semi persistent virüsler

Semipersistent taşınmada virüsler vektör bünyesinde birkaç dakika, saat ve birkaç gün arasında kalabilir. Bu yolla taşınan virüsler floem veya floemin etrafındaki hücrelerde bulunmaktadırlar. Latent periyot mevcut olmasına karşın virüs vektör bünyesinde sirkülatif olmamaktadır.

Bu yolla taşınan virüslerden bazıları Pancar sarılık virüsü, Turunçgil tristeza virüsü ve Patates yaprak kıvrıcıklık virüsü' dür.

c.Persistent virüsler

Böcekler virüsü vücutlarında böcek dokuları ile çoğalttıktan sonra yeniden ağız parçaları ile bitkilere naklederler. Böcek vücudu içinde hemoselde dolanmasından ve çoğalmasından dolayı böyle bitki virüslerine **sirkülatif propagatif** virüslerde denir. Yaprak pireleri ile taşınan virüslerin hepsi sirkülatiftir. Bazıları vektöründe de çoğalır, hatta vektör yumurtasına da geçer. Bazı yaprak pireleri taşınmadan önce virüsü bünyelerine alabilmeleri için bir ve birkaç günlük beslenme periyoduna ihtiyaç duyar. Ancak bir kez virüsü bünyelerine aldıktan sonra yaşamları boyunca taşır. Cicadellidae türleri virüsü almaları ve virüsü ilk olarak nakletmeleri arasında bir iki haftalık bir süreye gereksinim duyarlar.

Vektör vücudunda çoğalabilen persistent virüslere “**propagatif virüsler**”de denir. Sirkülatif virüslerin afitlerle taşınmasında afit virüsü vücuduna aldıktan sonra hemen taşımaz. Beslendikten sonra birkaç saat beklemesi gerekir. Ancak bir kere başladıktan sonra virüs kaynağından ayrıldıktan sonra uzun bir süre taşımaya devam eder. Çeltikte enfeksiyon oluşturan virüslerin çoğu cicadellidler tarafından persistent olarak taşınır.

AKARLARLA TAŞINMA

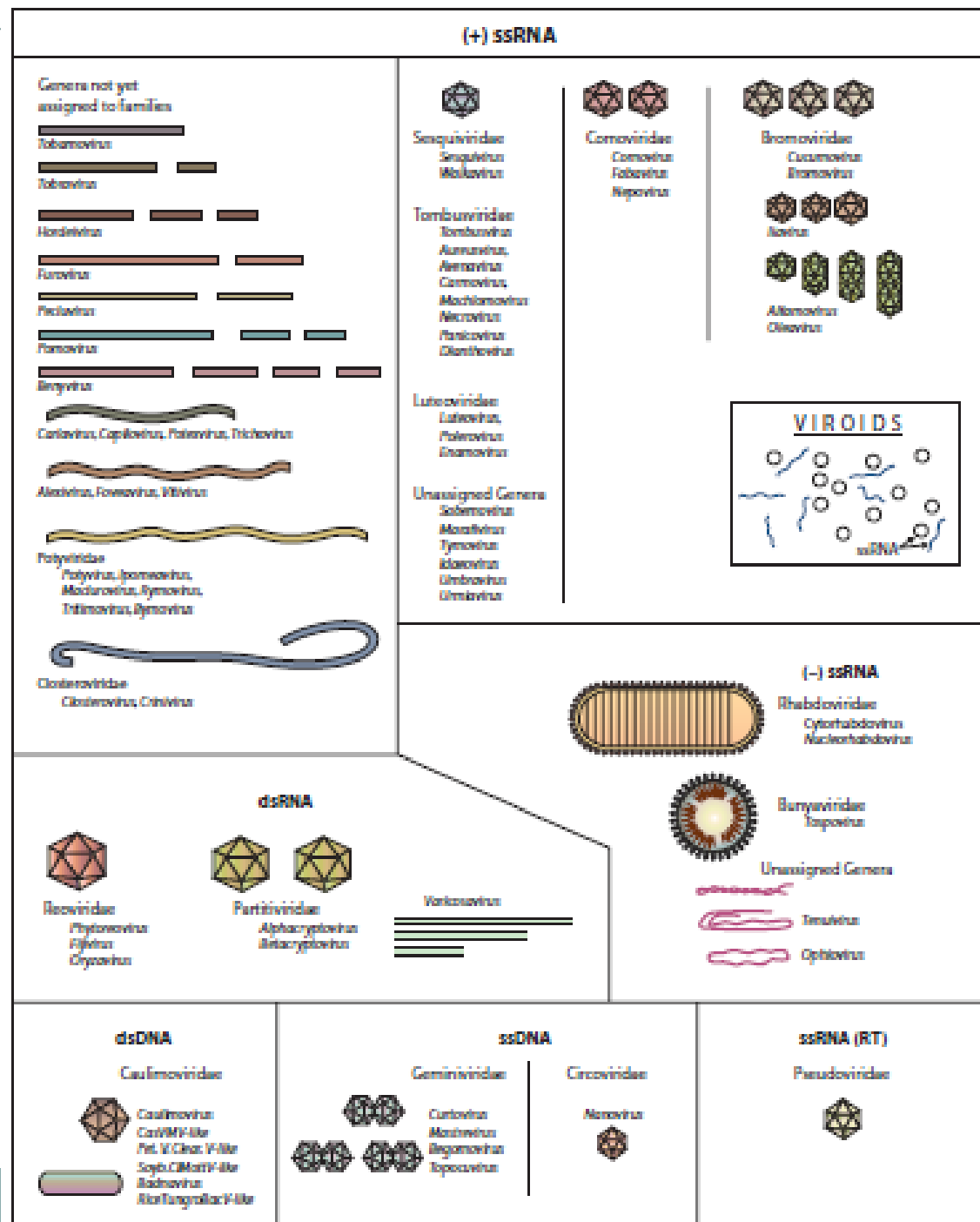
Akarlardan Eriophyidae familyası üyelerinin 9 virüsü (*Wheat streak mosaic*, *Peach mosaic* ve *Fig mosaic virus*) taşır. Bu akarlar sokucu emici ağız yapısına sahiptir. Eriophyidae akarlar virüs nakli oldukça spesifiktir. Çünkü bu akarların sınırlı konukçu dizileri mevcuttur. Bilinen bir veya birkaç virüsün vektörüdür. Akarlarla taşınan virüsler stylet kökenlidir. Ancak bazı virüsler sirkülatif olup döllere dahi geçer.



VİRÜS TAKSONOMİSİ

Virüslerin sınıflandırılması

Tüm virüsler Virüs alemi içinde yer alır. Virüsler aleminde nükleik asit yapılarının RNA veya DNA olmasına göre DNA ve RNA virüsleri olarak ikiye ayrılır. DNA ve RNA virüsleri de kendi içinde tek ya da çift sarmal olmalarına veya pozitif ve negatif duyarlı olmalarına göre alt gruplara ayrılırlar.





**ÜLKEMİZDE SORUN OLAN
ÖNEMLİ VİRÜS
HASTALIKLARI**

• Tütün Mozaik Virüsü

Tobacco mosaic virus (TMV)

TMV'nin önemli konukçuları arasında tütün, domates, biber, patlıcan, fasulye, soya, sarımsak, börülce, kereviz, patates, bazı süs bitkileri ve yabancı otlar olmak üzere 300'den fazla bitkide hastalık meydana getirir.

- **Hıyar mozaik virüsü**

Cucumber mosaic virus (CMV)

Geniş bir konukçu dizisine sahip olmakla birlikte özellikle kabakgillerde ve domateste zararlıdır.

•**Pancar Nekrotik Sarı Damar Virüsü-Rhizomania**
Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV)

Şekerpancarlarında zararlıdır.

Kabak sarı mozaik virüsü
Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)

Kabakgillerde zararlıdır

Şarka hastalığı

Plum Pox Virus (PPV)

Özellikle kayısı, erik ve şeftalilerde zararlıdır.

Asma Yelpeze Yaprak Virüsü- Kısa Boğum Hastalığı

Grapevine fanleaf virus (GFLV)

Asmalarda zararlıdır

Yaprak kıvrılma virüsü
Grapevine leafroll virus (GLRV)

Asmalarda zararlıdır

Turunçgil Exocortis viroidi
Citrus exocortis viroid (CEVd)

Turunçgillerde zararlıdır.

Turunçgil tristeza virüs
Citrus tristeza virus (CTV)

Turunçgillerde zararlıdır.

Domates Lekeli Solgunluk Virüsü
Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV)

Özellikle domates ve biberlerde zararlıdır.

Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü Tomato Yellow leaf Curl Virus (TYLCV)

Domateslerde zararlıdır

Patates Yaprak Kıvrıklığı Virüsü
Potato leaf roll virus (PLRV)

Patateslerde zararlıdır

Patates Y virüsü Potato virus Y (PVY)

Özellikle patateslerde zararlıdır. **PVY** patatesden başka domates, tütün ve biberin yanında birçok yabancı otu da hastalandırır.

Yonca Mozaik Virüsü
Alfalfa mosaic virus (AMV)

Özellikle yoncalarda zararlıdır

Fasulye Adi Mozaik Virüsü
Bean Common Mosaic Virus

Özellikle fasülyelerde zararlıdır

VİRÜS HASTALIKLARININ TESPİTİ

Virüs hastalıklarının tespiti çeşitli şekillerde yapılmaktadır.

Bunlar;

1. Mekanik inokulasyon
2. Fiziksel özellikler
3. Serolojik özellikler
4. Moleküler yöntemler

1. Mekanik inokulasyon

Konukçu olabilecek bitkileri yapraklarında oluşan lokal ve sistemik belirtiler virüslerin simptomatolojik olarak tanımlanmasında kullanılabilir.

2. Serolojik yöntemler

Serolojik yöntemler virüslerin nükleik asitlerini çevreleyen kılıf ya da membran proteinlerine ve onların özelliklerine dayalı olarak yapılmaktadır. Serolojik yöntemlerde immunolojideki antijen ile antikor arasındaki ilişkiler temel alınmaktadır

3. Fiziksel özellikler

a. En son sulandırma noktası

b. İn vitro ömür uzunluğu

c. Termal inaktivasyon noktası

En son sulandırma noktasında virüs, virüs enf bitki özuyu 10^{-19} den kadar sulandırma seri hazırlanır. Daha sonra bunlar her bir örnek virüsün lokal leke konukçusuna aşılansarak virüs enfeksiyonun gelişmediği sulandırma derecesi saptanır

Termal inaktivasyon noktasında, virüs ile bulaşık bitki özsuğu çeşitli sıcaklık derecelerinde 10 dakika tutulur virüsün lokal leke konukçularına aşılansarak virüsün hangi sıcaklık derecelerine kadar aktif olduğu belli olur.

İN vitro ömür uzunluğu, enfekteli bir özsuğu hazırlanır. İçine birkaç damla streptomycin ilave edilir. Bu şekilde oda sıcaklığında tutulan ekstraktan belli aralıklarla örnek alınarak konukçu aşılır.

d. Elektromikroskop

Bu teknikte virüs (formvar ile kaplı) küçük bakır giritlere virüs enfekteli bitki özsuğu konur. Giritler %1'lik uranil aseatat veya fosfotungustik asit (PTA) ile boyanarak elektromikroskopunda gözlenir. Bu yöntem virüsün büyüklüğü hakkında fikir vermektedir.

4. Moleküler yöntemler

En son gelişen tekniktir. RT-PCR RNA virüslerinde uygulanır. Direkt PCR ise DNA virüslerinde uygulanır. Bu yöntemlerde virüsün DNA'sı veya RNA'sı izole edilerek taq DNA polimeraz enzimi ve 20-30 baz uzunluğundaki primerlerle suni ortamda çoğaltılır. Genellikle virüslerde RNA olduğundan dolayı RT enzimi yardımıyla RNA' dan cDNA elde edilir. Daha sonra PCR uygulanır. Genom büyüklüğüne göre virüsün ne olduğu saptanır.

Viroid enfeksiyonlarında serolojik olarak tespitleri mümkün değildir. Sadece moleküler teknikler kullanılarak tespitler yapılabilir.

VİRÜS HASTALIKLARI İLE MÜCADELE

Kültürel önlemler

Virüsün negatif etkilerini önlemek azaltmak için

1. Virüs kaynağını ortadan kaldırmak,
2. Bitkiden virüsü elemine etmek
3. Vektör kontrolü
4. Zıt korunma
5. Dayanıklı çeşit kullanmak gerekir.

Bitkisel virüslerle henüz etkin bir kimyasal mücadele mevcut değildir.

1. Virüs kaynakları

Yabancıotlar, diğer kültür bitkileri, döküntü ve bitki artıkları, aletler, insanlar, tohum, enfekteli üretim materyali.....

Yabancıotlar : Kültür bitkileri çevresindeki ve içindeki yabancı otlar gerek virüs gerekse virüsün vektörleri açısından barınma yeri oluşturur. Örnek CMV *Stelleria media* (kuş otu, serçe dili) isimli tek yıllık yabancı otların tohumlarıyla yayılabilir.

Döküntü ve bitki artıkları: Hasat sırasında bir kısım patates tarlada kalır. Bunlar gelecek yıl enfeksiyon kaynağını oluşturur.

Aletler : Sodium hipoklorit (NaOH) ile muamele edilmelidir. NaOH ¼ oranında seyreltilerek kullanılır.

Tohum: Yüzeyde taşınıyorsa yüzeysel ilaçlanmalıdır. Embriyo veya endosperm ile taşınanlarda etkin bir yol değildir. Sıcaklık uygulaması yapılabilir. Bu işlem sırasında embriyo zarar görmemelidir. Tohumlar 35-54 derece sıcak su içinde birkaç dakika veya saat batırılarak yüzey patojenleri inaktif edilir. Fidancılıktan kaynaklı bir bulaşma söz konusu ise 37-40 derecedeki screenhouse'larda 4-6 hafta tutularak fidandan virüs elemine edilir.

Virüs hastalıklarının mücadelesinde en uygun yöntem karantina önlemleri, sertifikasyon ve gözlemlerle sürekli olarak tarım alanının gözlem altına alınması sayesinde gerçekleşir.

2. Enfekteli bitkilerden virüslerin temizlenmesi

Kemoterapi

Termoterapi

Doku (Meristem) kültürü

Virüsten ari anaç üretimi ve bunlardan üretim yapma amacıyla uygulanır.

Bitki parçalarına değişik derecelerde ve sürelerde sıcaklık uygulayarak bunlarda bulunması olası virüsleri temizleme işlemine **termoterapi** (sıcaklıkla tedavi) denir.

Kemoterapi de kimyasal maddeler kullanarak virüsleri giderme işlemidir. 2- thiouracil ve 8- azoguanin adlı kimyasallar virüs RNA'sındaki nükleotidleri parçalayarak RNA'nın yapısını bozan maddelerdir.

Doku kültürünün de yonca ve hıyar mozaik virüsünün konsantrasyonunun azalttığı belirlenmiştir.

3. Vektör mücadelesi

Vektörler ile yapılan mücadele bitkileri çeşitli virüs saldırısına karşı korur. Vektör mücadelesi ve yabancı otların uzaklaştırılması virüs hastalıklarının önlenmesinde önemlidir. Ancak nematodlar ile taşınan virüslerin önlenmesinde toprak fumigasyonu önemlidir.

4. Zıt korunma (Cross protection)

Bir bitkiye herhangi bir virüsün virülansı düşük ırkları verilerek virülansı yüksek ırklarından o bitki türünü korumaya yönelik olarak yapılan çalışmalardır. Ülkemizde seralarda yetişen kabakları ZYMV enfeksiyonundan korumak amacıyla zıt koruma çalışması yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır.

5. Dayanıklı çeşitler

Son 10 yılda virüs hastalıklarının engellenmesinde patojene bağlı dayanıklılık çalışmaları hız kazanmıştır. Ülkemizde ve dünyada henüz kullanımı yasak olmasına rağmen virüslere karşı dayanıklılık çalışmaları hızla gerçekleşmekte ve bunun karşılığında transgenik bitkiler üretilmiştir.

Son dönemlerde gen susturulması çalışmaları ile virüs hastalıkları engellenmeye çalışılmaktadır.

Bitki patojeni virüslerin mücadelesinde etkin bir kimyasal (virisid) mevcut değildir.

Ancak bazı bitki ekstraktları ve kimyasalların virüslerin gelişimini azalttığı tespit edilmiştir. Örneğin, Ribavirinin sprey ve enjeksiyon şeklinde uygulamaları virüsün gelişimini geriletmiştir. Gelişme düzenleyici bileşikler, örneğin giberellik asit uygulamaları, bodurlaşan bitkilerde bodurlaşmayı azaltmış ve yan tomurcuk ve dalların virüs enfekteli bitkilerde gelişmesini sağlamıştır. Malahit yeşili boyası nikotinic asit, IAA, 2-4 D, çeşitli mineral tuzlar virüs repikasyonuna engel olur. Süt ve süt ekstraktları, biber, karanfil ekstraktı da virüs replikasyonuna engel olmaktadır.