

Van Gölü Havzası'ndan Toplanan Bazı Kavun Genotiplerinde Virüse Karşı Dayanıklılığın Mekanik İnokulasyon ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi

Sibel TURAN¹, Çeknas ERDİNÇ²

¹Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 38280 Kayseri, Türkiye, ²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 65040, Van, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0003-1233-0077>, ²<https://orcid.org/0000-0003-1208-032X>

✉: ceknaserdinc@yyu.edu.tr

ÖZET

Kavun (*Cucumis melo* L.) Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerinde yetiştirilen önemli bir sebze türüdür. Zucchini yellow mosaic virüs (ZYMV) başta olmak üzere cucumber mosaic virüs (CMV) ve watermelon mosaic virüs (WMV) kavunda oluşturduğu yıkıcı hasarlardan dolayı büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışmada, Van Gölü Havzası'ndan toplanmış olan 22 farklı kavun genotipi ile birlikte 3 dayanıklı genotip ve 2 ticari çeşit bu üç virüse karşı mekanik inokulasyon ve moleküler yöntemlerle taranmıştır. Çalışmada ilk etapta ZYMV virüsü kullanılarak kavun genotiplerine virüs inokulasyonu gerçekleştirilmiş ve genotiplerde morfolojik gözlemler yapılarak 0-5 skalasına göre hastalık şiddeti belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında bu genotiplerde 3 adet SCAR ve 4 adet CAPS olmak üzere 7 adet primer ile tarama yapılarak ZYMV, CMV ve WMV'ye karşı dayanıklılık ile ilgili belirteçlerin varlığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Şiddetli ZYMV izolatına karşı mekanik olarak test edilen genotiplerin hiçbirinin virüse tolerant, dayanıklı ya da immun olmadığı saptanmıştır. Kavun genotiplerinde görülen hastalık şiddetinin %8.80-95.00 arasında değiştiği belirlenmiştir. SCOPE14541 primerinde 21 genotipte bant tespit edilirken, Creb-2 dayanıklılık genine bağlı olarak geliştirilen SCAPB051046 primerinde 25 genotipten yalnızca U6, U13 ve YYU6 genotiplerinde bant varlığı belirlenmiştir. ZYMV ve WMV'ye karşı dayanıklılık genlerine bağlı olarak geliştirilmiş olan VirSq-F19 primeri YYU47 genotipi dışında tüm genotiplerde bant vermiştir. Zym dayanıklılık geni ile ilişkili 4 CAPS primerinden sadece ikisinden sonuç elde edilmiştir.

Tarımsal Biyoteknoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 16.11.2020

Kabul Tarihi : 20.09.2021

Anahtar Kelimeler

CAPS

Kavun

Mekanik inokulasyon

SCAR

Virüse dayanıklılık

Determination of Virus Resistance in Some Melon Accession Collected from Van Lake Basin by Mechanic Inoculation and Molecular Methods

ABSTRACT

Melon (*Cucumis melo* L.) is an important vegetable crop grown in different geographical regions of Turkey. Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV), cucumber mosaic virus (CMV) and watermelon mosaic virus (WMV) cause major economic losses because of their destructive effects on melon. In this study, 22 different melon genotypes collected from the Lake Van Basin, three resistant genotypes and two commercial varieties were screened against these three viruses by mechanical inoculation and molecular methods. In the first step, virus inoculation was performed on melon genotypes using ZYMV virus, and disease severity was determined according to 0-5 scale by performing morphological observations in the genotypes. In second stage of the study the presence of markers related to resistance genes against to ZYMV, CMV and WMV were determined by screening with 7 primers including 3 SCAR primers and 4 CAPS primers in these genotypes. None of the genotypes tested mechanically against the severe ZYMV isolate were found to be tolerant, resistant or immune to the virus. It was determined that

Agricultural Biotechnology

Research Article

Article History

Received : 16.11.2020

Accepted : 20.09.2021

Keywords

CAPS

Melon

Mechanic inoculation

SCAR

Resistance to virus

the disease severity was ranged between 8.80-95.00% in melon genotypes. While bands were obtained from SCOPE14541 primer in 21 genotypes, only U6, U13 and YYU6 genotypes from 25 genotypes gave bands with SCAPB051046 primer that was developed based on the Creb-2 resistance gene. VirSq-F19 primer that was developed based on the resistance genes to ZYMV and WMV gave bands in all genotypes excluding YYU47. Only two of the 4 CAPS primers associated with the Zym resistance gene produced band.

Atf Şekli: Turan S, Erdinç Ç 2022. Van Gölü Havzası'ndan Toplanan Bazı Kavun Genotiplerinde Virüse Karşı Dayanıklılığın Mekanik İnokulasyon ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (4): 735-744. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.826692>

To Cite : Turan S, Erdinç Ç 2022. Determination of Virus Resistance in Some Melon Accession Collected from Van Lake Basin by Mechanic Inoculation and Molecular Methods. KSU J. Agric Nat 25 (4): 735-744. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.826692>

GİRİŞ

Cucurbitaceae familyasına ait olan kavun (*Cucumis melo* L., $2x=2n=24$), gerek ülkemizde, gerekse dünyada ekonomik olarak çok önemli bir sebze türüdür. Dünyanın ikinci büyük kavun üretici ülkesi olan Türkiye aynı zamanda kavunun ikincil gen merkezleri arasında yer almaktadır. Yerel kavun populasyonları, doğal mutasyonlar ve kavunun döllenme yapısından kaynaklanan özelliklerinden dolayı, zengin bir çeşitlilik göstermektedir (Yıldız ve ark., 2014). Özellikle Türkiye Van Gölü Havzası, kavunun ikincil gen merkezi olarak önemli bir genetik çeşitliliğe sahiptir (Erdinç ve ark., 2013). Bu zengin genetik çeşitliliğinden dolayı Van Gölü Havzası'nda abiyotik ve biyotik stres ile ilgili birçok çalışma yürütülmüştür (Şensoy ve ark., 2005; Türkmen ve ark., 2008; Şensoy ve ark., 2012; Erdinç, 2018; Ekincialp, 2019). Bu zengin çeşitliliğin kaybolmasını önlemek ve seçilecek materyallerin ıslah çalışmalarında kullanılmasını sağlamak için gen kaynaklarının korunması ve seleksiyon çalışmalarının devam etmesi gerekmektedir.

Çok sayıda virüs hastalığı kavun yetiştirilen alanlarda etkili olmakla birlikte, ZYMV, CMV ve WMV Türkiye'de en yaygın bulunanlar arasındadır (Yılmaz ve ark., 1992). Zucchini yellow mosaic virus, (ZYMV) Potyviriidae familyası içerisindeki Potyvirus genusunda yer alan ekonomik bakımdan oldukça önemli bir virüs hastalığıdır. Sipahioğlu ve ark., (2015) Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen bazı kavun çeşitleri ile yaptığı tarama çalışmalarında, tüm çeşitlerin ZYMV'ye karşı hassas olduğunu belirlerken, özellikle Yuva ve Hasanbey çeşitlerinde önemli verim kayıplarının yaşandığını rapor etmişlerdir. Aynı şekilde cucumber mosaic virus (CMV), pek çok konukçu bitkide sistemik enfeksiyonlara neden olmakta, fakat bazı bitkilerde hastalık semptomsuz bulunabilmektedir. Semptomlar infekte edilen bitkiye ve enfeksiyon zamanında bitkilerin yaşına bağlı olarak büyük oranda değişiklik gösterebilmektedir (Gallitelli, 2000). CMV, infekteli bitkilerin yapraklarında mozaik oluşumuna, meyve

ve yapraklarda deformasyon oluşumuna ve ve bitkilerin ölümüne neden olabilmektedir. İlk olarak 1965 yılında karpuzda tespit edilen watermelon mosaic virus (WMV), tüm dünyada, özellikle de ılıman iklimlerde ve Akdeniz Bölgesi'nde hemen hemen tüm kabakgillerde oldukça yaygın bir etmendir (Sharifi ve ark., 2008).

Günümüzde kavunun da dahil olduğu ve geniş alanlarda yetiştirilen kabakgillerde çok sayıda F₁ hibrit çeşitler kullanılmakta ve geliştirilmektedir (Kurtar ve ark., 2020). Bu ihtiyacı karşılamak için gen havuzlarının olumsuz çevre koşullarına karşı taranması ve ebeveyn olma özelliği taşıyan elit hatların seçimi, yeni çeşitlerin geliştirilmesi bakımından oldukça önemlidir. Ülkemizin kavun üretiminin yapıldığı değişik bölgelerinde yürütülen survey çalışmalarında virüs hastalıklarının yoğun olarak bulunduğu ve ciddi ekonomik zararlara yol açtığı tespit edilmiştir. Yerel ve eski çeşitler, virüs hastalıklarından dolayı yok olma tehdidi ile karşı karşıya bulunmaktadır (Şensoy ve Şahin, 2012; Sipahioğlu ve ark., 2015). Bu nedenle, yerel ve eski çeşitlerde olup mevcut çeşitlerde bulunmayan genlerin korunması ve hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin belirlenmesi için moleküler ıslah çalışmaları hayati önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, Van Gölü Havzası'ndan toplanmış olan bazı yerel kavun genotiplerinin ZYMV'ye karşı dayanıklılık durumları mekanik inokulasyon yöntemi ile belirlenmiştir. Aynı zamanda ZYMV, CMV ve WMV için geliştirilmiş olan bazı SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) ve CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) primerleri kullanılarak söz konusu kavun genotiplerinde bu üç virüse karşı dayanıklılık genlerinin varlığının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu şekilde özellikle yaygın bir virüs olan ZYMV'ye dayanıklılığın mekanik inokulasyon ve moleküler yöntemler ile birlikte test edilmesinin yanı sıra CMV ve WMV virüslerine dayanıklılık açısından da genotiplerin moleküler yöntemlerle taranması sağlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Materyal

Çalışmanın ana materyalini Van Gölü Havzası'ndan toplanmış 22 adet kavun genotipi ile kontrol amaçlı 2 adet ticari çeşit ve Ekbiç ve ark., (2010) tarafından Çukurova Üniversitesi'nde yürütülen bir çalışmada

ZYMV'ye dayanıklı olduğu belirlenen 3 adet çeşit oluşturmuştur (Çizelge 1). Virüs kaynağı olarak Doç. Dr. Mustafa USTA'dan temin edilen, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü virüs koleksiyonunda yer alan oldukça şiddetli yerli ZYMV virüs izolatu kullanılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan kavun genotipleri

Table 1. The melon genotypes used in the study

Genotip	Orijin	Temin Edildiği Yer	Genotip	Orijin	Temin Edildiği Yer
U6	Van	Van-Sihke-Kıratlı	YYU24	Van	Van-Edremit-Köprüler
U7	Van	Van-Sihke	YYU39	Van	Van-Erçek-Aktaş
U10	Van	Van-Sihke	YYU40	Van	Van-Edremit-Köprüler
U11	Van	Van-Sihke-Kıratlı	YYU41	Van	Van-Muradiye
U13	Van	Van-Sihke-Kıratlı	YYU42	Van	Van-Sihke
U19	Van	Van-Ünseli	YYU45	Van	Van-Edremit-Köprüler
U22	Van	Van-Erciş	YYU46	Van	Van-Muradiye
U25	Van	Van-Erçek-Irgatlı	YYU47	Van	Van-Edremit-Köprüler
U28	Van	Van-Erçek-Irgatlı	Kırkağaç	Ticari çeşit	Arzuman
U30	Van	Van-Erçek-Irgatlı	Lokum	Ticari çeşit	Arzuman
YYU1	Van	Van-Erciş-Ünseli	CU-305	Adana	Çukurova Üniv.
YYU6	Van	Van-Erciş-Kozluca	CU-100	Türkmenistan	Çukurova Üniv.
YYU9	Van	Van-Erciş-Çelebibağı	CU-328	Ankara/Ayaş	Çukurova Üniv.
YYU15	Van	Van-Erçek-Irgatlı			

Metod

Kavun genotip ve çeşitlerinin iklim odasında yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılacak kavun genotip/çeşitlerine ait tohumlar iklim odasında 2:1 oranında torf: perlit içeren 250 mL hacmindeki kaplara tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrür ve her tekerrürde 4 bitki olacak şekilde ekilmiştir. Çimlenmeden sonra iklim odası koşullarında gelişen 10 günlük bitkilerin kotiledon yapraklarına şiddetli ZYMV izolatu mekanik inokulasyon yöntemi ile bulaştırılmıştır.

ZYMV İnokulasyonu

İklim odasında virüs kültürünün oluşturulduğu kabak bitkilerine ait simptom gösteren yapraklar 0.01 M fosfat tamponu (pH:7.2) içinde buz üzerinde ekstrakte edilerek, aday bitkilerin kotiledon yapraklarına mekanik olarak inokule edilmiştir. Virüs partiküllerinin kavunlara bulaşmasını kolaylaştırmak amacıyla ekstrakt içerisine karborandum tozu ilave edilmiştir. İnokule edilen bitkiler daha sonra fosfat tamponu yakmalarına karşı çeşme suyu ile yıkanmıştır. Virüs bulaştırılan bitkiler simptom gelişimi için 22-24 °C sıcaklık, %70 nem, 16/8 saat (ışık/karanlık) ve 10000 lüks ışık aydınlatma koşullarına sahip iklim odasında tutulmuş ve simptom çıkışı için üçer gün arayla gözlemlenmiştir (Simmons ve ark., 2011).

Belirtilerin Gözlemlenmesi, Skalanın Oluşturulması ve Değerlendirmesi

Fideler ZYMV ile inokule edildikten sonra 1 hafta simptom gelişimi için beklenmiş ve üçer gün arayla toplam 3 gözlem yapılmıştır. Bu süre sonrasında 0-5 skalasına (0 = belirti yok, 1 = yaprak beneklenmesi yaprağın %50'sinden az, 2 = yaprak beneklenmesi yaprağın %50'sinden fazla, 3 = beneklenme ve mozaik, 4 = beneklenme, mozaik ve yaprak deformasyonu, 5 = ayakkabı bağı simptomu dahil ağır hastalık tablosu) göre bitkilerdeki hastalık şiddeti değerlendirilmiştir (Şekil 1). Elde edilen skala değerleri Eşitlik 1'e göre Townsend-Heuberger* formülü (Townsend ve Heuberger,1943) yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür (Sipahioğlu ve ark., 2015).

$$\% \text{Hastalık Şiddeti} = \frac{\sum(SD \times SDS)}{(TYS \times ESD)} \times 100 \quad (1)$$

SD: Skala değeri, SDS: Skalada değerlendirilen yaprak sayısı, TYS: Toplam yaprak sayısı, ESD: En yüksek skala değeri

DNA İzolasyonu

İnokulasyon sonrası 0-5 skalasına göre değerlendirmeler yapıldıktan sonra her genotipten yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri Doyle ve Doyle (1987) ile Doyle ve Dickson (1987)'in bildirmiş olduğu yöntemler ve Cullings (1992)'nin

yaptığı minör modifikasyona göre yapılmıştır. İzolasyon sonrası DNA miktarları Nanodrop cihazı ile ölçülerek seyreltilmiştir.

SCAR analizi

Çalışmada kavunda CMV-B2 direnç geni *Creb-2* ile ilişkili belirteci belirlemek için 2 SCAR primeri (Daryono ve ark., 2009) ve bal kabağında ZYMV ve

WMV' e karşı geliştirilen 1 SCAR primeri (Kim ve ark., 2016) kullanılmıştır (Çizelge 2). Toplam 25 µl PCR reaksiyonu için; 25-50 ng DNA, 1X DreamTaq PCR buffer, 0.4 µM primer (her bir primer için), 0.3 mM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 unit Taq DNA polimeraz kullanılmıştır. Her primer için farklı PCR döngüleri kullanılmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 2. Çalışmada kullanılan primerler

Table 2. The primers used in the study

Primer	Baz Dizilimi	Baz Büyüklüğü	Bağlı Bulunduğu Gen
SCAPB05	AAC GCG CAA CTT GAT ACA AAT ATAG (F) AAC GCG CAA CAA TAG AAG AAC ATC (R)	1046 bp	CMV-B2
SCOPE14	TGC GGC TGA GGA CGG TTG GAG GTC (F) TGC GGC TGA GCA TTC TCG AGC AG (R)	541 bp	CMV-B2
VirSq-F19	CCT CTA GAC CAA GTA TAA ATT AGA TAG (F) CCT CTA GAC CCA CAG TAG GTT (R)	444 bp	WMV\ ZYMV
CAPS-T86C <i>Mnl I (Enzim)</i>	AGC AGG CGG TAC ATG AAG AT (F) CCT GTT CTG GAT CCT CTC CA (R)	288 (236\52) bp	<i>zym</i>
dCAPS-G99A <i>Dra I (Enzim)</i>	ACG CAA AAG CCT CTC CGC TGT ATT T (F) GCT CTC CAA TCC AGC AAC AT (R)	338 (313\25) bp	<i>zym</i>
CAPS-1 <i>MseI (Enzim)</i>	TTT GGT TCG ATA ACC CAT CC (F) CCA ACA GCA AGA ACC GAA AG (R)	368-349 bp 203-222 bp	<i>zym</i>
CAPS-2 <i>PasI (Enzim)</i>	AAA GCT ACA TCC ACG GAA GA (F) CTC CAA AAC TCC TCA ACA GTA G (R)	22-41 bp 299-278 bp	<i>zym</i>

Çizelge 3. Primerler için kullanılan PCR döngüleri

Table 3. PCR cycles used for the primers

PRİMER	PCR DÖNGÜSÜ
SCAPB05\ SCOPE14	95 °C'de 5 dakika 95 °C'de 1 dakika 60 °C'de 1 dakika 72 °C'de 2 dakika (Daryono ve ark.,2009) } 30 döngü
VirSq-F19	95 °C'de 5 dakika 95 °C'de 30 saniye 54 °C'de 30 saniye 72 °C'de 30 saniye 72 °C'de 7 dakika (Kim ve ark.,2016) } 35 döngü
CAPS-1 / CAPS-2	94 °C'de 3 dakika 94 °C'de 30 saniye 55 °C'de 1 dakika 72 °C'de 1 dakika 72 °C'de 10 dakika (Ling ve ark., 2009). } 35 döngü
CAPS-T86C / dCAPS- G99A	94 °C'de 1 dakika 95 °C'de 30 saniye 54 °C'de 30 saniye 72 °C'de 30 saniye 72 °C'de 7 dakika (Amano ve ark., 2013). } 35 döngü

CAPS analizi

Çalışmada ZYMV 'ye karşı *zym* direnç geni ile ilişkili belirteci belirlemek için kullanılan 4 CAPS primer (Çizelge 2) kullanılmıştır (Amano ve ark., 2013, Ling ve ark., 2009). Toplam 25 µl PCR reaksiyonu için; 25-50 ng DNA, 1X DreamTaq PCR buffer, 0.4 uM primer

(her bir primer için), 0.3 mM dNTPs, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 unit Taq DNA polimeraz kullanılmıştır. Her primer için farklı PCR döngüleri kullanılmıştır (Çizelge 3). Ayrıca CAPS primerlerinde PCR ürünlerinin kesimi için, üreticinin prosedürüne göre 5 µl PCR ürününe 10X buffer ve MnII, Mse I, Dra I ve

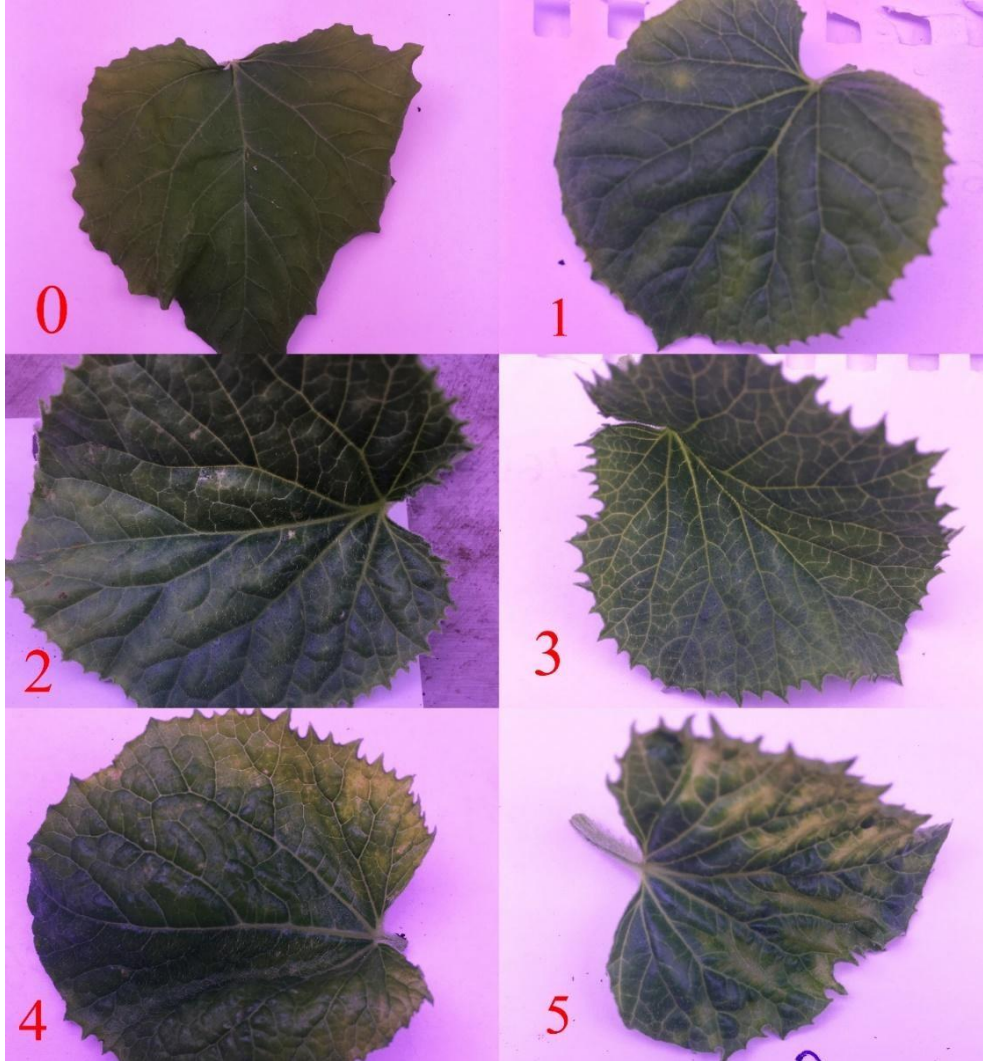
Pas I kesim enzimleri (Thermo Scientific) eklenmiş ve her kesim enzimi için önerilen sıcaklıkta 3 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Elde edilen PCR ürünleri %1,5'lik agaroz jelde 90 Voltta 2 saat süreyle koşturulduktan sonra UV altında bant görüntüsü alınmıştır ve her primer için belirtilen bant boyutuna göre genotiplerde dayanıklılık genleri ile ilişkili belirteçlerin varlığı/yokluğu belirlenmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Mekanik İnokülasyon

Kavun bitkilerine ZYMV bulaştırıldıktan sonra 0-5 skalasına göre değerlendirilen genotiplerin tamamının yüksek hastalık şiddeti gösterdiği tespit edilmiştir. Bu genotiplerde görülen hastalık şiddeti oranının %8.80-95.00 arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4). Mekanik olarak inoküle edilen kavun bitkilerinin yapraklarında mozaik, sararma, kabarcıklanma, kıvrılmalar, iplikleşme ve beneklenme simptomları ortaya çıkmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. ZYMV'nin oluşturduğu hastalık şiddetini değerlendirmede kullanılan 0-5 skalasının değerleri ve yapraktaki görünümü

Figure 1. Values of the 0-5 scale used in evaluating the disease severity caused by ZYMV and its appearance on the leaf.

Skala değerlerinin dağılım oranlarına göre birinci gözlemde genotiplerin 4.00-4.99 skala değer aralıklarında %25 ile en yüksek orana ulaştıkları görülmüştür. İkinci gözlemde genotiplerin %41.67'si 3.00-3.99 skala değerlerine sahip olmuş, üçüncü gözlemde ise aynı skala değerinde bu oran %33.33 olmuştur. Birinci ve ikinci gözlemlerde en yüksek

skala değerine rastlanmazken üçüncü gözlemde simptom göstermeyen genotipin olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 2).

Birinci gözlem sonucu elde edilen hastalık şiddetine göre genotiplerin oransal dağılımı incelendiğinde, genotiplerin %37.50 'si %0-25 hastalık şiddeti

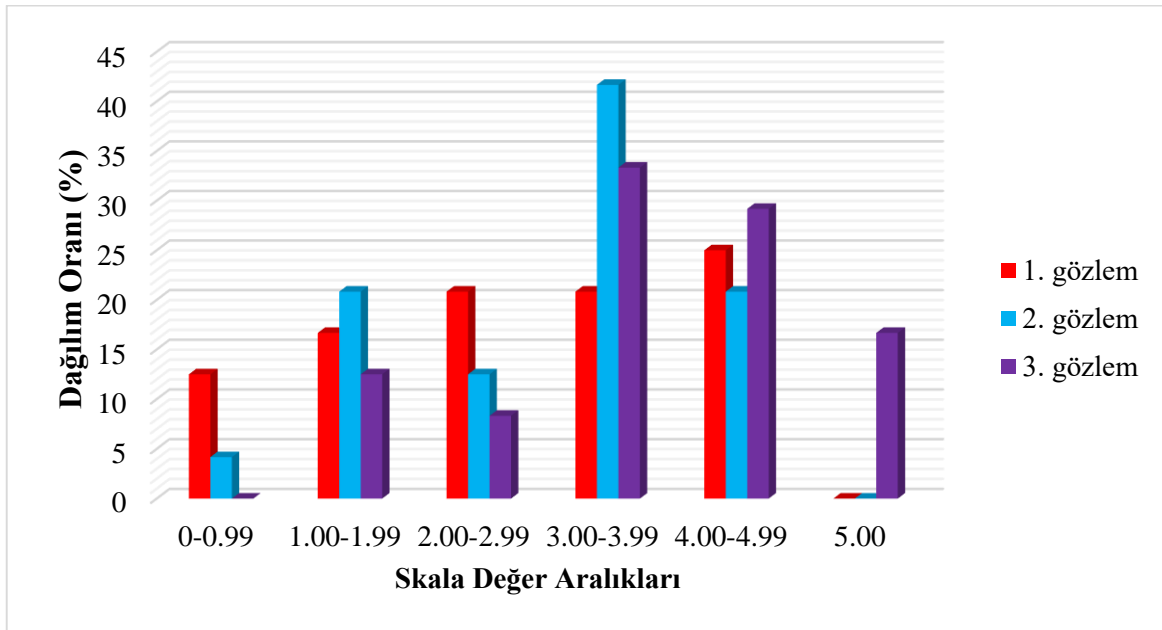
aralığında yer almıştır. İkinci gözlemden hastalık şiddetinin biraz daha arttığı ve genotiplerin %41.67'si %51-75 aralığında hastalık şiddetini göstermiştir. Bu iki gözlemden %76 hastalık şiddetinin üstüne çıkan hiçbir genotip tespit edilememiştir. Üçüncü gözlemden

en fazla sayıda genotipin %26-50 ve %51-75 arasında hastalık şiddetine sahip olduğu (sırasıyla %33.33 ve %37.50) %12.50'sinin ise hastalık şiddetinin %76'nın üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3).

Çizelge 4. Kavun genotiplerine ait hastalık şiddeti değerleri

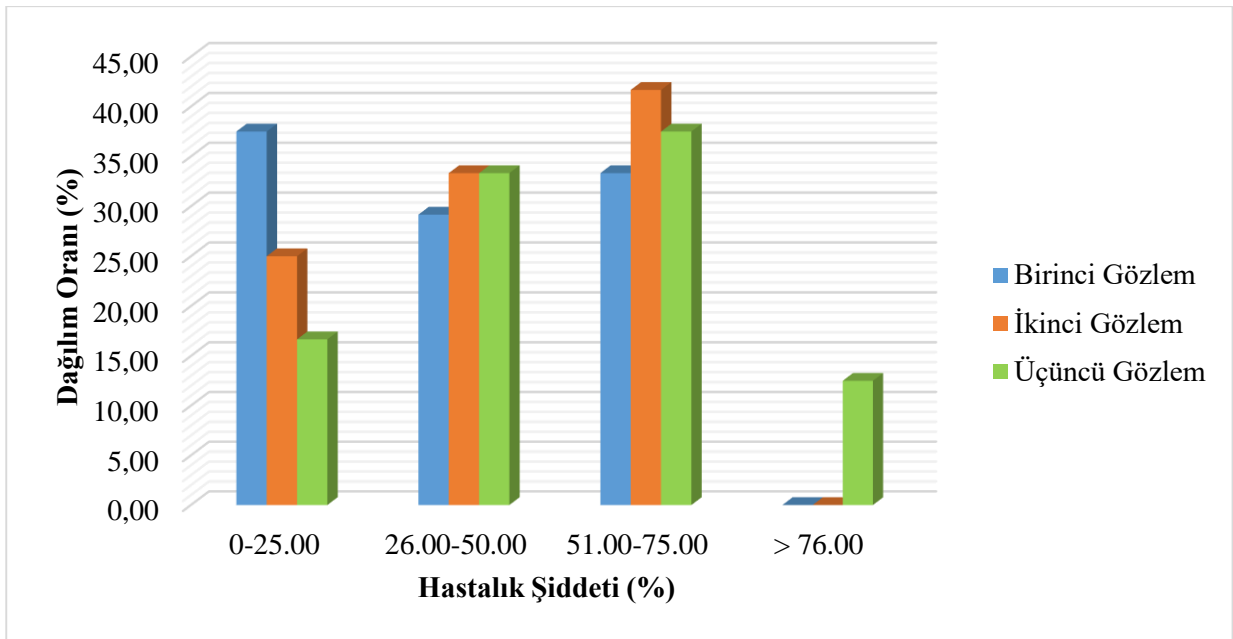
Table 4. Disease severity values of melon genotypes

Genotip	1.gözlem ort.	2.gözlem ort.	3. gözlem ort.
U6	39.50	55.50	61.60
U7	0.00	50.60	94.10
U10	50.00	51.60	72.80
U11	75.00	54.20	57.40
U13	60.42	62.40	23.60
U19	68.00	66.40	86.18
U22	56.90	63.40	67.00
U25	51.40	50.60	42.50
U28	55.50	64.20	64.50
U30	16.60	47.20	58.30
YYU1	23.00	14.50	41.60
YYU6	48.60	49.30	88.70
YYU9	37.50	34.70	54.10
YYU24	33.30	40.60	49.80
YYU39	56.25	55.00	57.30
YYU40	33.30	32.40	40.70
YYU42	25.00	18.00	35.40
YYU46	0.00	16.90	28.90
YYU47	28.60	36.00	38.40
Kırkağaç	58.30	30.50	42.90
Lokum	25.00	47.80	64.50
CU-305	0.00	0.00	11.10
CU-100	12.50	15.60	22.60
CU-328	11.60	8.80	10.10



Şekil 2. Kavun genotiplerinin ZYMV'ye karşı gösterdikleri reaksiyona bağlı olarak skala değerlerine göre dağılım oranları (%)

Figure 2. Distribution rates according to the scale values of the melon genotypes depending on their reaction against ZYMV



Şekil 3. Kavun genotiplerinde ZYMV inokulasyonu sonucunda gözlenen hastalık şiddeti değerlerinin oransal dağılımı

Figure 3. Proportional distribution of disease severity values observed as a result of ZYMV inoculation in the melon genotypes

ZYMV'ye karşı tolerant, dayanıklı veya immün genotipleri belirlemek için yapılan bu çalışma sonucunda toplam 27 genotipin 24'ünde gözlem yapılmış ve tamamının ZYMV enfeksiyonuna oldukça duyarlı olması ve hiçbirinin tolerant ya da dayanıklı olmadığı görülmüştür. Ekbiç ve ark.,(2010) çalışmada ZYMV'ye karşı test edilen 46 kavun genotipinden sadece yabancı akraba (*C. melo var. agrestis*) türlerde ZYMV'ye karşı dayanıklılık olduğunu tespit etmişlerdir. Pitrat ve Lecoq (1984) yürüttükleri çalışmada kabakgillerde ZYMV'ye karşı olan dayanıklılığın "Zym" ismini verdikleri tek bir dominant gen tarafından idare edildiğini belirtmişlerdir. Kabelka ve Grumet (1997) henüz tanınan Fas WMV'ne dayanıklılıkla ilgili kalıtım mekanizmasını TMG-1 hıyar çeşidinde çalışmışlar ve bu mekanizmanın ZYMV ile ilişkisini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar söz konusu hıyar çeşidinin; ZYMV, zucchini yellow fleck virus, WMV ve watermelon strain of papaya ringspot virüs hastalıklarına karşı dayanıklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada aynı ZYMV'ye dayanıklılıkta olduğu gibi Fas karpuz mozaik virüsüne (MWMV) dayanıklılıkta çekinik bir allelin söz konusu olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca her iki virüse dayanıklılığın da aynı lokus veya birbiri ile çok yakın iki lokus tarafından kontrol edildiğini ortaya koymuşlardır.

Moleküler çalışmalar

Kavunda ZYMV, CMV ve WMV hastalıklarına karşı dayanıklılığı belirlemede özellikle kavunda bulunan

dayanıklılık genlerine bağlanan CAPS ve SCAR primerlerinin kullanıldığı bilinmektedir. Dayanıklılık genlerinin tespiti için kullanılan *Creb-2* genine bağlı olarak geliştirilen SCAPB05₁₀₄₆ primerinin 25 genotipte yapılan taramasında yalnızca U6, U13 ve YYU6 genotiplerinde bant verdiği görülmüştür. SCOPE14₅₄₁ için yapılan taramada 21 genotipte bant tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre Daryono ve ark., (2009)'nın 125 genotipte CMV'ye karşı dayanıklılığı tespit etmek için yaptıkları çalışmadan elde edilen dayanıklılık geni ile ilişkili bant profillerinin sonuçlarımızla uyum sağladığı belirlenmiştir.

ZYMV ve WMV'ye karşı dayanıklılık genlerine bağlı olarak geliştirilmiş olan VirSq-F19 primeri YYU47 genotipi dışında tüm genotiplerde bant vermiştir. Eldeki bulgulara göre, U22/U25/U28/U30 genotipleri sadece ZYMV/WMV genleri ile ilişkili belirteçleri taşıırken YYU47 genotipinin yalnızca CMV-B2 geni ile ilişkili olan belirteci taşıdığı tespit edilmiştir. Geriye kalan genotiplerde ZYMV/WMV/CMV-B2 genleri ile ilişkili tüm belirteçlerin mevcut olduğu dikkat çekmiştir (Çizelge 5).

Amano ve ark., (2013) tarafından hıyarda ZYMV'e karşı direnç sağlayan geni (*zym*) belirlemek için geliştirilen 2 CAPS (CAPS-T86C ve dCAPS – G99A) primeri ve yine *zym* geni için Ling ve ark., (2009)'nın geliştirdikleri 2 CAPS (CAPS-1 ve CAPS-2) primeri bu çalışmada 25 kavun genotipinde denenmiştir. Yapılan taramada sadece CAPS-T86C ve dCAPS – G99A primerleri için *MnI I* ve *Dra I* restriksiyon enzimlerinde kesme görülmeyip sadece beklenen bant aralıklarında (288bp/ 338 bp) görüntü elde edilmiştir.

Literatür bilgilerinden anlaşıldığı kadarıyla ZYMV'ye dayanıklılık mekanizması kalitatif nitelikte ve tek gen tarafından kontrol edildiğinden dolayı çalışması en kolay olanlarından birisidir. Bu virüse dayanıklılıkla ilgili erken seleksiyona izin vermesi için geliştirilen CAPS primerlerinin ZYMV lokusuna 5 cM'dan fazla

mesafede yapışma bölgesinde olduğu belirtilmiştir (Ling ve ark., 2009; Amano ve ark., 2013). Ancak bu primerlerin mevcut çalışmada kullanılan kavun genotipleri için dayanıklı ve hassas tipleri ayıramadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 5. Kavun genotiplerine göre SCAR belirteçlerinin mevcudiyeti
Table 5. Presence of SCAR markers according to melon genotypes

Genotip	Primer	Gen
U6	SCOPE14/SCAPB05/VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
U7	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
U10	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
U11	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
U13	SCOPE14/ SCAPB05/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
U19	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
U22	VirSq-F19	ZYMV/WMV
U25	VirSq-F19	ZYMV/WMV
U28	VirSq-F19	ZYMV/WMV
U30	VirSq-F19	ZYMV/WMV
YYU1	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU6	SCOPE14/ SCAPB05/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU9	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU24	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU39	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU40	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU42	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU45	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU46	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU47	SCOPE14	CMV-B2
Kırkağaç	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
Lokum	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
CU-305	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
CU-100	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
CU-328	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV

SONUÇ ve ÖNERİLER

Kavun yetiştiriciliğini sınırlayan ve etkin mücadelesi bulunmayan ZYMV, CMV ve WMV'nin kavun genotipleri arasında saptanması için yapılan bu çalışmada kullanılan genotip ve çeşitlerin hiçbirinde mekanik inokülasyon sonucunda ZYMV'ye potansiyel genetik dayanıklılık kaynağı tespit edilememiştir. Moleküler yöntem ile ZYMV, CMV ve WMV dayanıklılık geni ile ilişkili belirteçlere ait

sonuçlar incelendiğinde büyük oranda genotiplerin birden fazla belirteci içerdikleri görülmüştür. Mekanik inokulasyonda kullanılan ZYMV ile ilişkili belirteci sadece bir genotipin taşımadığı ve bu gen ile ilişkili VirSq-F19 markırının genotiplerin %96'sında mevcut olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda CMV-B2 dayanıklılık geni ile ilişkili olan primerlerden SCOPE14 genotiplerin %84'ünde bant vermiştir. Bu bağlamda SCOPE14 primerinin SCAPB05'e göre genotiplerde daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Ancak bu belirteçlerin söz konusu genlere yakınlığı dayanıklılığın var olmasında önemli bir faktördür. Mekanik inokulasyonda kullanılan ZYMV'ye karşı dayanıklı genotip olmamasına rağmen moleküler yöntemde VirSq-F19 primerinin 24 genotipte bant verdiği görülmüştür. Sadece mekanik inokulasyon yöntemi veya moleküler markır sistemleri kullanılarak yapılan tarama çalışmalarının tek başına yeterli olmadığı görülmektedir. Bu nedenle farklı DNA belirteçleri ve virüs inokulum kaynakları kullanılarak değişik gen havuzlarının taranması ile farklı sonuçların elde edilmesi mümkün olabilir. Bu bölgenin kavunun gen merkezleri arasında yer aldığı dikkate alınırsa bölgenin gen kaynaklarında bu tür taramaların devam ettirilmesi, ülkemizin çeşit geliştirme ve tohum sektöründe dünya pazarında öne çıkması için elzem görünmektedir. Aynı zamanda havzada yoğun olarak yetiştirilen kavun için de hastalığın yayılmasını önlemek ve dolaylı olarak verimi artırmak için dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi önemli bir husustur. Bu bağlamda dayanıklı hatların araştırılmaya devam edilmesi ve virüsten ari üretim materyalinin elde edilmesi kavun ıslahı için önemli bir adım olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon birimi tarafından FYL-2017-5899 no'lu yüksek lisans tez projesi ve Öğretim Üyesi Yerleştirme Programı (ÖYP) kapsamında desteklenmiştir. Virüs kültürünün elde edilmesinde yardımlarından dolayı Doç. Dr. Mustafa USTA'ya, genotiplerin tohumlarının temini için Prof.Dr. Suat ŞENDOY ve Doç. Dr. Mehtap YILDIZ'a teşekkür ederiz.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

Amano M, Mochizuki A, Kawagoe Y, Iwahori K, Niwa K, Svoboda J, Maeda T, Imura Y 2013. High-resolution mapping of *zym*, a recessive gene for Zucchini yellow mosaic virus resistance in cucumber. *Theoretical and Applied Genetics*, 126: 2983–2993.

Cullings KW 1992. Design and testing of a plant-specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. *Molecular Ecology*, 1: 233-240.

Daryono BS, Wakui K, Natsuaki KT 2009. Development of random amplified polymorphism DNA markers linked to CMV-B2 resistance gene

in melon. *Hayati Journal of Biosciences*, 35: 142-146.

Doyle JJ, Dickson EE 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon*, 36: 715-722.

Doyle JJ, Doyle JL 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin*, 19: 11-15.

Ekbiç E, Fidan H, Yıldız M, Abak K 2010. Screening of Turkish melon accessions for resistance to ZYMV, WMV and CMV. *Notulae Scientia Biologicae*, 2 (1): 55-57.

Ekincialp A 2019. The differences among melon genotypes and varieties under salt stress based on certain morphological and physiological properties-mixture modeling and principal component analysis (PCA). *Applied Ecology and Environmental Research*, 17: 2965-2981.

Erdoğan Ç 2018. Changes in ion (K, Ca and Na) regulation, antioxidant enzyme activity and photosynthetic pigment content in melon genotypes subjected to salt stress - A mixture modeling analysis. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 17: 165-183.

Erdoğan Ç Ekincialp A, Yıldız M, Kabay T, Türkmen Ö, Şensoy S. 2013. Molecular genetic diversity in Lake Van Basin melons (*Cucumis melo L.*) based on RAPD and ISSR markers. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science*, 23(3): 264- 270.

Gallitelli D 2000. The ecology of Cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. *Virus Research*, 71:9-21.

Kabelka E, Grumet R 1997. Inheritance of resistance to the Moroccan watermelon mosaic virus in the cucumber line TMG-1 and co-segregation with zucchini yellow mosaic virus resistance. *Euphytica*, 95: 237–242.

Kim DK, Seo S, Kwon SB, Park Y 2016. Development of RAPD and SCAR markers related to watermelon mosaic virus and zucchini yellow mosaic virus resistance in *Cucurbita moschata*. *Hortic. Environ. Biotechnol.*, 57(1): 61-68. Doi: 10.1007/s13580-016 0090-0.

Kurtar ES, Seymen M, Kal Ü 2020. An overview of doubled haploid plant production in *Cucurbita* species. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science*, 30 (3): 510-520.

Ling K, Harris KR, Meyer JDF, Levi A, Güner N, Wehner TC, Bendahmane A, Havey MJ. 2009. Non-synonymous single nucleotide polymorphisms in the watermelon eIF4E gene are closely associated with resistance to zucchini yellow mosaic virus. *Theor. Appl. Genet.*, 120(1): 191-200. doi: 10.1007/s00122-009-1169-0.

Pitrat M, Lecoq H 1984. Inheritance of zucchini yellow mosaic virus resistance in *Cucumis melo L.* *Euphytica*, 33: 57-61.

- Sensoy S, Demir S, Turkmen O, Erdinc C, Durak Demirer E 2012. Variation in the reaction of Lake Van Basin melon genotypes to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Int. J. Agric. Biol., 14: 1024–1026.
- Sensoy S, Sahin U 2012. Genetic Relationships Among Various Sihke Melon Landraces. Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science, 22(3): 147-154.
- Şensoy S, Turkmen O, Kabay T, Erdinc C, Turan M, Yıldız M 2005. Determination of salinity tolerance of melon genotypes collected from Lake Van Basin. J. Bio-Sci., 5: 637–642.
- Sharifi M, Massumi H, Heydarnejad J, Pour AH, Shaabani M, Rahimian H 2008. Analysis of the biological and molecular variability of watermelon mosaic virus isolates from Iran. Virus Genes, 37: 304-313.
- Simmons HE, Holmes EC, Gildow FE, Bothe-Goralczyk MA, Stephenson AG 2011. Experimental verification of seed transmission of Zucchini yellow mosaic virus. Plant Diseases, 95(6): 751-754.
- Sipahioğlu HM, Türkmen Ö, Usta M, Güller A, Seymen M, Paksoy M, Fidan S 2015. Bazı yerli çerezlik kabak çeşit adaylarının zucchini yellow mosaic virusüne karşı dayanıklılığının araştırılması. Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi, 2 (2): 136-143.
- Townsend GK, Heuberger JW 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experimentsç. Plant Disease Report, 27: 340-343.
- Türkmen Ö, Şensoy S, Erdinç Ç 2008. Van Gölü Havzası'ndan toplanan bazı kavun genotiplerinin verim ve verim özelliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(44): 64-70.
- Yıldız M, Akgül N, Şensoy S 2014. Morphological and molecular characterization of Turkish landraces of *Cucumis melo* L. Not. Bot. Horti. Agrobi, 42(1): 51-58.
- Yılmaz MA, Lecoq H, Abak K, Baloğlu S, Sarı N 1992. Türkiye'de kabakgil sebze türlerinde zarar yapan virüsler. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt:II. E.Ü.Ziraat Fakültesi Bornova, İzmir, 13-16 Ekim 1992, 439-442.