

Sunulması İstenilen Seksiyon

Entomoloji

Fitopatoloji

Herboloji

Biyolojik Mücadele

YÜKSEK DÜZEYDE FENOLİK BİLEŞİKLER İÇEREN KURUTULMUŞ İNFEKTELİ YAPRAKLARIN VİRÜS VE VİROİDLERİN SAKLANMASINDA KULLANIMI VE PCR YÖNTEMLERİ İLE TEŞHİSİ

Hikmet Murat Sipahioglu¹, Mustafa Usta¹, Mustafa Ocak²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, VAN, hmsipahi@yyu.edu.tr

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, VAN

ÖZET

Apricot latent virus (ApLV), *Plum bark necrosis stem pitting associated virus* (PBNSPaV), *Prunus necrotic ring spot virus* (PNRSV), *Potato virus Y* (PVY) ve *Apple scar skin viroid* (ASSVd) hastalık etmenlerine ait RNA'nın infekteli konukçularından ekstraksiyonu, etmenlerin PCR yöntemleri ile moleküler teşhisinde oldukça önem taşımaktadır. Viral RNA'nın ekstraksiyonunda fenolik inhibitörlerin önlenmesi için kurutma metodu tanımlanmıştır. Bu çalışmada 65 °C'de 2 gün süreyle kurutulan ve 4°C'de havasız ortamda muhafaza edilen infekteli bitki dokularının virüs ve viroid etmenlerinin PCR yöntemleri ile teşhisinde iyi birer pozitif kaynak olduğu saptanmıştır. Yapılan ön çalışmalar ApLV, PNRSV, PVY ve ASSVd'nin RT-PCR ile PBNSPaV'nin ise Nested-RT-PCR yöntemi ile kolayca ve yüksek PCR ürünü ile tespit edildiğini göstermiştir. İnfekteli taze örnekler ile kıyaslandığında, kurutulmuş doku örneklerine uygulanarak elde edilen ve ethidium bromide ile boyanan PCR ürünleri arasında ciddi bir fark olmadığı gözlenmiştir. Kurutulmuş örneklerden elde edilen RNA'nın teşhis çalışmalarına uygun olduğu tespit edilmiştir. Ekonomik ve basit bir yöntem olarak geliştirilen kurutarak saklama yönteminin virüs ve viroid izolatlarını uzun dönem muhafaza etmede etkin olduğu kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Virüs/viroid RNA izolasyonu, kurutulmuş infekteli yapraklar; RT-PCR; Nested-RT-PCR

USE OF DRIED HIGH-PHENOLIC LADEN HOST LEAVES FOR VIRUS AND VİROID PRESERVATION AND DETECTION BY PCR METHODS

ABSTRACT

The efficiency of RNA extraction for *Apricot latent virus* (ApLV), *Plum bark necrosis stem pitting associated virus* (PBNSPaV), *Prunus necrotic ring spot virus* (PNRSV), *Potato virus Y* (PVY), and *Apple scar skin viroid* (ASSVd) from infected hosts is of great importance for molecular diagnosis by the polymerase chain reaction (PCR). A method is described for drying tissue to overcome phenolic inhibitors of viral RNA. This study showed that the infected host leaves, dried at 65 °C for 2 days and conserved at 4 °C in air proof conditions, serve as good sources for detection of viral and viroid pathogens by PCR methods. Preliminary results suggest that ApLV, PNRSV, PVY, and ASSVd were detected easily by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and PBNSPaV by nested-RT-PCR with high amplification yields. No significant difference was observed between ethidium bromide-stained band profiles of dried compared to fresh leaves of infected samples. The RNA derived from dry leaf samples was suitable for detection studies. This simple and inexpensive method has proved very effective for long term conservation of virus and viroid isolates.

Key Words: Virus/viroid RNA isolation; Dried infected leaves; RT-PCR; Nested-RT-PCR