

Entomopoksvirüsler ve Biyolojik Kontrol

Kazım SEZEN, Zihni DEMİRBAĞ

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü; Trabzon

ÖZET: Poxviridae omurgalıları enfekte eden Chordopoxvirinae ve böcekleri enfekte eden Entomopoxvirinae olmak üzere iki alt familyaya ayrılır. Entomopoksvirüsler (EPVs) büyük (300-400 nm) oval şekilli virüslerdir. Genomları doğrusal, büyük, kovalent uçlu ve çift zincirli DNA molekülüdür (200-240 kbp). Entomopoxvirinae konağın türüne ve virion morfolojine göre 3 cinse ayrılır. Cins A Coleoptera takımı, cins B Lepidoptera ve Orthoptera takımı, cins C ise Diptera takımı böcekleri enfekte eder. *Melolontha melolontha* entomopoksvirüs (MmEPV) böcek hastalıkları ile ilişkili olarak izole edilen ilk poksvirüs'dür. Sonraları, birçok entomopoksvirüsün Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera ve Orthoptera takımlarına ait böcekleri enfekte ettiği bulunmuştur. Entomopoksvirüsler insanlarda deri lezyonları ve çiçek hastalığına sebep olan orthopoksvirüs ve mollusko poksvirüslerine çok benzerdirler. Bu nedenle entomopoksvirüsler replikasyon mekanizmalarının anlaşılması, gen ekspresyon vektörü ve zirai mücadele ajanı olarak kullanılması bakımından büyük öneme sahiptirler. Bu derleme makalede son yıllarda üzerinde önemli çalışmalar yapılan entomopoksvirüsler hakkında bilgiler sunulmaktadır.

Anahtar sözcükler: Entomopoksvirüs, Biyolojik Kontrol, Böcek Virüsleri

Entomopoxviruses and Biological Control

SUMMARY: Poxviridae are divided into two subfamilies: the Chordopoxvirinae (poxviruses of vertebrates) and the Entomopoxvirinae (insect poxviruses). Entomopoxviruses (EPVs) are large (300-400 nm) oval shaped viruses. The genome of EPVs is large, with covalent ends and is a linear double-stranded DNA (200-240 kbp) molecule. The Entomopoxvirinae comprises three genera based on host insect and virion morphology. Genus A viruses infect coleopterans, genus B viruses infect lepidopterans and orthopterans, and genus C viruses infect dipterans. The *Melolontha melolontha* entomopoxvirus (MmEPV) was the first poxvirus to be described as being associated with an insect disease. Then, several entomopoxviruses (EPVs) have been found to infect Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, and Orthoptera. Entomopoxviruses are very similar to orthopoxvirus and molluscipoxvirus that cause dermal lesions and pox diseases in humans. Therefore, these viruses have great importance in understanding their replication mechanism as well as in the use as a gene expression vector and as a pest control agent. In this review article, we present information about entomopoxviruses on which important studies have been done recently.

Key words: Entomopoxvirus, Biological Control, Insect Viruses

GİRİŞ

Zararlılar ile mücadele büyük oranda kimyasal insektisitlerle yapılmaktadır. Kimyasal insektisitler sadece zararlı böceklerle değil, aynı zamanda zararsız ve hatta faydalı böceklerle ve diğer organizmalara da zarar vermektedir. Bununla birlikte, şu anda tüm dünyada kimyasal ilaçların yerini gelecekte biyolojik mücadelenin alacağı tartışılmaktadır.

Biyolojik mücadele kapsamında mikroorganizmaların kullanımını "mikrobiyal mücadele" olarak adlandırılır (50). Biyolojik mücadelenin en büyük avantajı kimyasal mücadele yöntemleriyle bağlantılı birçok problemi ortadan kaldırmasıdır.

Biyolojik mücadele de kullanılan organizmaların pek çoğu bakteriler, virüsler, mantarlar, nematodlar ve protozoa gruplarına ait organizmalardır. Bunlar arasında, virüsler en çok gelecek vaad eden biyolojik mücadele ajanlarıdır (13, 14, 49).

Virüslerin biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmasının pek çok avantajı vardır. Bunların başında dar konak hassasiyetine sahip olmaları yani doğrudan hedefledikleri organizmalar üzerinde etkili olmaları gelmektedir. Ayrıca insanlarda hastalık oluşturmamaları ve kolayca çevre şartlarında etkisiz kalabilmeleri açısından da oldukça önem arz ederler (15). Günümüzde yaklaşık 500 böcek türünden 450'den fazla virüs tanımlanarak sınıflandırılmıştır. Virüsler bir çok böcek takımıyla bağlantılıdır. Bununla birlikte büyük bir kısmı Lepidoptera (%83), Hymenoptera (%10) ve Diptera (%4) takımlarında bulunmaktadır (33).

Geliş tarihi/Submission date: 27 Ekim/27 October 2005

Kabul tarihi/Accepted date: 17 Kasım/17 November 2005

Yazışma /Corresponding Author: Kazım Sezen

Tel: (+90) (462) 377 3560/3731 Fax: (+90) (462) 325 31 95

E-mail: sezen@ktu.edu.tr

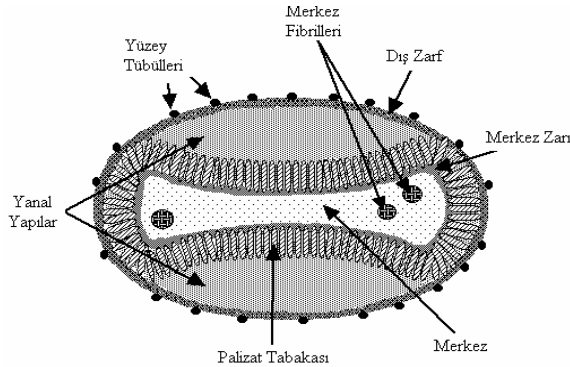
Entomopoks virüsler (EPV) ilk kez Vago (56) tarafından keşfedilmişlerdir. Takip eden çalışmalar bu virüslerin, viral replikasyonun sonunda protein bir yapı içine gömülmesi hariç, morfolojik olarak Orthopoks virüslere benzediklerini ortaya koymuştur. Bu yapı, şekli, içine gömülü olan virionlar, UV ışığına ve ısıya karşı virionları korumasından dolayı sferoid olarak adlandırılmaktadır. Son 30 yıldır yapılan araştırmalar bu böcek virüslerinin omurgalı poksvirüsleriyle olan benzerliklerinin sadece morfolojik olarak değil aynı zamanda moleküler seviyede de mevcut olduğunu göstermiştir (34).

SINIFLANDIRILMASI

Poxviridae familyası böcek poksvirüslerini içeren Entomopoxvirinae ve omurgalı poksvirüslerini içeren Chordopoxvirinae olmak üzere 2 alt familyaya sahiptir. Entomopoxvirinae virüs morfolojisi, konak türü ve genom hacmi bakımından 3 cins ayrılır. Cins A Coleoptera grubu virüsleri (*Melolontha melolontha* EPV), cins B Lepidoptera (*Amsacta moorei* EPV) ve Orthoptera grubu virüsleri (*Melanoplus sanguinipes* EPV) ve cins C ise Diptera (*Chironomus luridis* EPV) grubu virüsleri kapsamaktadır.

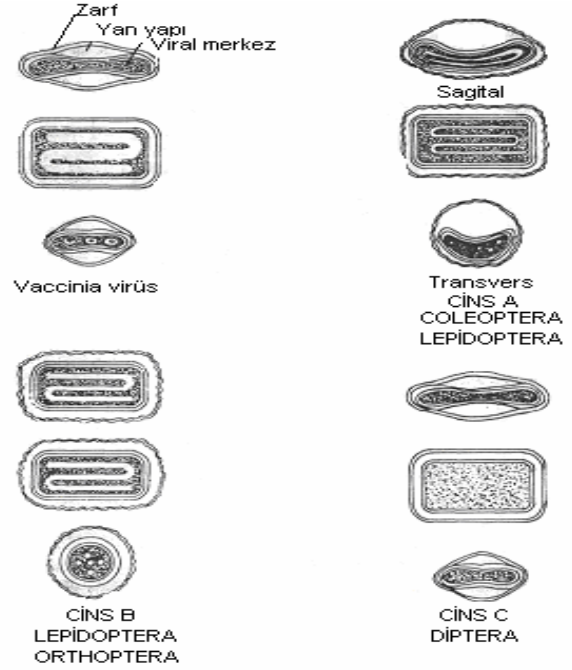
MORFOLOJİSİ

Entomopoks virüs virionları oval şekilli 150-470 nm uzunluğunda ve 165-300 nm genişliğindedir (4). Şekil 1'de bir entomopoks virüsü şematik olarak görülmektedir.



Şekil 1. Entomopoks virüsün şematik görünümü

Entomopoks virüs virionları morfolojik olarak omurgalı poksvirüslerine benzerlik gösterir. DNA genomu virionun merkezinde bulunur. A cinsi virüsler tek yan yapıya konav bir merkez şekline, B cinsi virüsler iki yan yapı ile çevrili silindirik bir merkez şekline ve C cinsi virüsler ise bikonkav bir merkez şekline sahiptir. Şekil 2 entomopoks virüs A, B ve C cinslerine ait virüs şekillerini göstermektedir (5). Entomopoks virüsler konak böceğin yağ dokusu hücrelerinde, bazen de hemositlerde çoğalırlar (40). Entomopoks virüslerin oluşturduğu sferoid yapıları Giemsa ve Buffalo Black 12 B gibi basit boyama yöntemleriyle ışık mikroskopunda kolayca ayırt edilebilirler.



Şekil 2. Vaccinia virüs ve entomopoks virüs gruplarına ait virüs şekilleri

3.1. Sferoidler

EPV'lerin en önemli karakteristik yapısı enfekte olmuş hücrelerin sitoplazmalarında büyük oval şekilli sferoidlerin oluşumudur. Bu yapılar 5-20 µm boyunda ve orijinal olarak "sferule" olarak adlandırılır. Ultra yapısal çalışmalar sferoidlerin parakristal bir ağ içine gömülü virüsleri içeren elektronca yoğun yapılar olduğunu göstermiştir. Tablo 1'de bazı Coleopteran EPV'lerinin morfolojik özellikleri sunulmuştur (5).

3.2. Spindiller

Spindiller cins A ve bazı Lepidoptera grubu üyelerin EPV'ler ile enfekte olmuş hücrelerin sitoplazmalarında ikinci bir protein yapı olarak bulunurlar. Bu yapılar şu ana kadar hiçbir Orthoptera veya Diptera konakta gözlenmemiştir. Spindiller 1-15 µm boyunda, enfekte olmuş hücrelerin sitoplazmalarında veya bir sferoid içinde virüs partikülleriyle beraber görülebilirler. Fusolin proteini tarafından oluşturulan bu yapılar sferoidlerden çok farklıdır ve ilk olarak Bergoin ve ark. (10) tarafından çalışılmıştır. Spindiller bilateral simetriye sahiptirler, bu özellik onları kolayca sferoidlerden ayırmayı sağlar. Sferoidlerden diğer bir önemli farkı ise spindillerin virionlara sahip olmamasıdır.

3.3. Yapısal Polipeptidler

EPV virionlarının protein yapısı SDS-PAGE ile aydınlatılmış ve bir virionun 12-250 kDa arasında değişen ağırlıklarda yaklaşık 40 yapısal proteine sahip olduğu belirlenmiştir (12, 37,

39, 44). Bu polipeptidlerin virüs partikülündeki dağılımı hakkında çok az bilgi bulunmaktadır (5, 12).

GENOM

Virüsler büyük, doğrusal, çift zincir, yaklaşık 225 kb'lık bir genomu sahiptirler (4, 26). Entomopoksvirüs DNA'sı vaccinia virüsünün sahip olduğu %37'lik G+C oranına karşın %18-24'lük düşük bir oranda G+C oranına sahiptir (3). Virüs genomu, iki membran veya bir yada iki yan yapı ile çevrili nükleoid yapı içinde bulunur. Bu yapılar dış virion zarı ile çevrilidir. EPV genlerinin birkaçının tanımlanmış ve sıraları belirlenmiş olmasına rağmen, halen daha genom organizasyonu bakımından çok az şey bilinmektedir (34). Sadece *Amsacta moorei* (Lepidoptera: Arctiidae) (7) ve *Melanolpus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae) (1)'in komple genomları aydınlatılmıştır.

DNA hibridizasyon çalışmaları sonucunda, 3 Orthoptera EPV genomunun yüksek oranda baz sırası homolojisi belirlenmesine rağmen, MsEPV DNA'sı ile vaccinia virüs, Lepidoptera veya Coleoptera EPV DNA'ları arasında ya çok düşük ya da hiç homoloji olmadığı belirlenmiştir (35, 36).

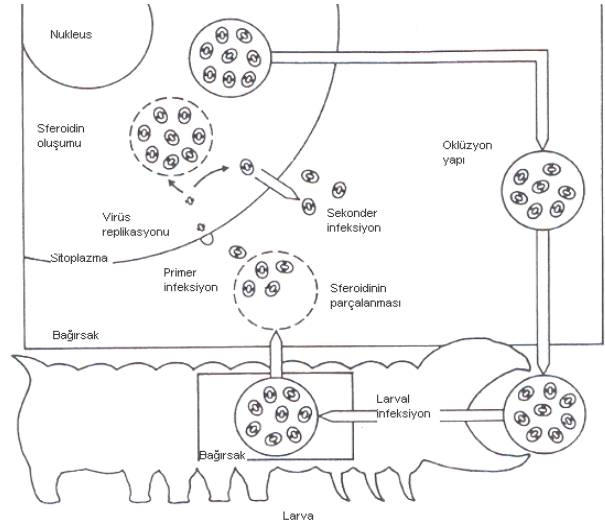
REPLİKASYONU

Virüs ile enfekte olmuş bir hücrenin sahip olduğu en önemli özellik, sferoidleri meydana getiren bir protein yapı içine, olgun virionların gömülü oluşudur. Larval enfeksiyonun ilk işlemi tıpkı baculovirüslerde olduğu gibi inklüzyon yapıların bağırsağın alkali ortamında çözülmesi ile başlar (20). Serbest kalan virionlar, virion dış membranı ile mikrovilluslerin membranı arasında gerçekleşen füzyon yolu ile bağırsak epitel hücrelerine geçerek primer enfeksiyonu meydana getirirler. Hücre sitoplazmasındaki virüs replikasyonunu takiben bir kısım virion, sferoid içine gömülmeden membrandan tekrar dışarı çıkarak diğer dokularda enfeksiyon oluştururlar. Diğerleri ise sitoplazmada sferoidin proteininden meydana gelen sferoid içine gömülürler. Replikasyon birçok dokuda olabileceği gibi en çok yağ dokusu içinde gerçekleşir (34). EPV DNA'sı yalnız başına replikasyon oluşturamaz. DNA replikasyonu için erkenci virüs proteinlerine ihtiyaç duyar.

EPV'lere ait replikasyon çalışmaları çeşitli hücre kültürleri kullanılarak yapılmaktadır. *Amsacta moorei* entomopoksvirüsü (AmEPV) için *Estigmene acrea* (Ea-BTI) ve *Lymantria dispar* (IPLB-LD-652) (21, 24) hücre kültürleri kullanılmaktadır (42). *Pseudaletia separata* entomopoksvirüsü (PsEPV) için ise *Bombyx mori* ve *Pseudaletia separata*'dan geliştirilen iki hücre kültürü üretken olarak belirlenmiştir (32).

In Vivo Replikasyon : EPV replikasyonu ile ilgili ilk bilgiler enfekte olmuş konaklardan alınan dokulardan elde edilmiştir. Sferoidler larva tarafından yendikten sonra orta bağırsakta çözülür ve serbest kalan virionlar epitel hücrelerine saldırırlar. Bağlantıyı sağlayan reseptörlerin yapıları aydınlatılmıştır (20). Replikasyonu takiben inklüzyon yapılarının oluşumu 8-10 gün alır. Gömülü virionların sayısı aynı konakta farklı hücrelerde oldukça farklılık gösterir. Viroplazm olarak bilinen elektronca

yoğun bölgeler DNA replikasyon yeri olarak aydınlatılmışlardır (23). Coleoptera grubu böceklerin EPV enfeksiyonunda spindil adı verilen ikincil inklüzyon yapılar da oluşur. Spindiller olgun virionlarla birlikte ya sferoidlere gömülürler ya da bağımsız yapı olarak bulunurlar (18). Viral replikasyonun ilk kısmı yağ dokusu hücrelerinin sitoplazmasında gerçekleşmesine rağmen hücre dışı virionlar ve inklüzyon yapılar aynı zamanda hemositler, hipodermis (=epidermis), kas ve genital doku hücrelerinde görülebilirler (31, 51). Şekil 3'de EPV'lerin böcek larvasındaki replikasyonu şematik olarak gösterilmektedir (17).



Şekil 3. Entomopoksvirüsün böcek larvasındaki replikasyonunun şematik görünümü

In Vitro Replikasyon : Çok az sayıda EPV kültür şartlarında büyümeye adapte olduğu için, *in vitro* replikasyonları hakkında hücresel ve moleküler seviyede çok az şey bilinmektedir. AmEPV için iki üretken hücre suşu tespit edilmiştir. *E. acrea* (BTI-EAA) hücre suşu Granados ve Naughton (22) ve *L. dispar* (IPLB-Ld652) hücre suşu ise Goodwin ve Aronson (24) tarafından tespit edilmiştir. *E. acrea* hücreleri AmEPV ile enfekte edildiğinde olgun sferoidler görülmektedir. AmEPV'nin *Spodoptera frugiperda* (Sf9) hücrelerinde replike olduğu da gösterilmiştir (2). Ayrıca *Bombyx mori* ve *Pseudaletia separata* hücre suşlarının PsEPV için üretken oldukları da ispatlanmıştır (32).

Genellikle hücre kültüründe görünen replikatif olaylar *in vivo*'da görünenlerle benzerdir. *E. acrea* hücrelerinde yapılan çalışmada, hücrelerin 12-24 saat sonra yuvarlaklaştığı, 48 saat sonra sitoplazmanın tanecikli bir hal aldığı ve 72 saat sonra ise sferoid olduğu gözlenmiştir (42). Yapılan araştırmalarla AmEPV protein sentez modeli karakterize edilmiş ve viral proteinler iki sınıfa ayrılmıştır. Erken proteinler enfeksiyondan

Tablo 1. Bazı entomopoksvirüslerin morfolojik özellikleri

Konak	Virüs ölçüleri (nm)	Inklüzyon yapı (µm)	Virüs şekli	Merkez şekli	Spindil
<i>Anomala cuprea</i>	440x250	5x8	“	“	var
<i>Aphodius tasmaniae</i>	380-430x250-300	5-12	“	“	“
<i>Demodema boranensis</i>	420x230	8-11	“	“	“
<i>Dermolepida albohirtum</i>	420-450x220-240	3-5	“	“	yok
<i>Figulus sublaevis</i>	330x90	1-5	“	“	var
<i>Geotrupes sylvaticus</i>	366-416x255-286	3,5-11	“	“	“
<i>Melolontha melolontha</i> ¹	450x250	10-24	oval	tek yan yapılı konkav	“
<i>Melolontha melolontha</i> ²	450x250	5,7x11.4	“	“	“
<i>Othonnius batesi</i>	470x265	5-10	“	“	“
<i>Phyllopertha horticola</i>	400x240	6-25	“	“	“

¹Vago1963; ²Sezen 2004

3 saat sonra, geç proteinler ise 12 saat sonra belirlenebilmiştir. Sferoidin sentezinin en erken 15. saatte başladığı ve 72 saate kadar devam ettiği tespit edilmiştir (58).

ÖNEMLİ GENLERİ

Sferoidin Geni (sph) : Sferoidin geni (sph) oklüzyon yapılarının veya sferoidlerin asıl proteini olan sferoidin proteinini kodlar. Protein yaklaşık 100-115 kDa'luk bir moleküler ağırlığa sahiptir (6, 11, 27). İlk sferoidin geni *Amsacta mooeri* EPV'den belirlenmiş, klonlanmış ve dizin analizi yapılmıştır (28). *Melolontha melolontha* EPV (MmEPV) sph geninin de dizin analizi yapılmış ve klonlanmıştır (52). Sferoidini kodlayan bölge diğer kısımlardan daha yoğun bir G+C oranına sahiptir (%29). Baculovirüslerdeki polihedrin geni gibi EPV sferoidin geni de yüksek oranda korunmuş bir bölgedir. sph geni üzerine yapılan delesyon çalışmaları ile bu genin virüsün in vitro replikasyonunda herhangi bir etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir (48). sph geninin geç gen sınıfında olduğu bilinmektedir ve geç promotörün yapısına bağlı olarak yüksek oranda ekspres edilir (6, 28).

Fusolin Geni (fus) : Coleoptera ve bazı Lepidoptera böceklerini enfekte eden çoğu EPV'ler spindil şekilli bir protein sentezlerler. İlk fusolin geni (fus) *Amsacta mooeri* EPV'den belirlenmiş, klonlanmış, sekans edilmiş ve geç grubu genler arasında bulunduğu tespit edilmiştir (6). Daha sonra *Heliothis armigera* EPV ve MmEPV'den de karakterize edilmiştir. Olgun bir protein poliakriamid jelde yaklaşık 50 kDa'luk bir ağırlık gösterir. fus geni baculovirüs glikoprotein 37 (gp37) ile %41-42'lik bir sıra homolojisine sahiptir (18). *Choristoneura biennis* EPV ve HaEPV fus kodlama bölgeleri sırasıyla 1023 ve 1056 nukleotidden oluşmaktadır. MmEPV'nin ki ise biraz daha uzundur (1203 nukleotid) (34). Aminoasit dizin sıralarının incelenmesi HaEPV ve CbEPV'de 9 korunmuş sistein'in, MmEPV'de ise 13 korunmuş sistein'in olduğunu göstermiştir (34).

DNA Polimeraz Geni (dnapol) : İlk DNA polimeraz geni (dnapol) *Choristoneura biennis* entomopoksvirüs (CbEPV) genomunda tanımlanmıştır (46). dnapol geni kodlama bölgesi 2829 nukleotid uzunluğunda ve yaklaşık 115 kDa'luk bir proteini kodlar. CbEPV dnapol geninin yapılan araştırmalar sonucunda vaccinia virüs dnapol geni ile %24.9'luk bir amino asid benzerliği olduğu ortaya çıkarılmıştır (46). Yapılan araştırmalarla çok sayıda ökaryotik ve prokaryotik dnapol geni amino asid sırasında 4 adet yüksek oranda korunmuş bölge belirlenmiştir (19, 16, 38, 55). Bu bölgeler içinde CbEPV ve vaccinia virüs polimeraz genleri arasında %32-46'lık bir benzerlik bulunmuştur (34). Özellikle 3. bölgede TyrGlyAspThrAspSer sırasının filogenetik olarak uzak türlerde yüksek oranda korunmuş olduğu belirlenmiştir (4, 46).

Nukleosid Trifosfat Fosfohidrolaz I Geni (ntpase) : Poksvirüsler enfekte olan hücrelerde erken gen transkripsiyonu için ihtiyaç duyulan birçok enzimi kodlarlar (45). ntpase geni ilk olarak AmEPV (27, 28) ve CbEPV (59) genomunda aydınlatılmıştır. Genin sferoidin geninin karşı yönünde sağ tarafta olduğu belirlenmiştir. CbEPV ntpase kodlama bölgesi 1944 nukleotid uzunluğunda ve %78 A+T oranına sahiptir. Promotor bölgesi geç gen transkripsiyonel motifi olan TAAATG motifini ve iki terminasyon sinyalinin içerir (AATTTTTCT, ATTTTTGT) (59). Bu gen AmEPV ve CbEPV arasında %89 oranı gibi büyük bir oranda korunmuştur (28). CbEPV ve vaccinia virüs arasında ise bu gen bakımından %36.4'lük bir homoloji vardır (4). Poksvirüs ntpase'ları ATP'ye bağlanan proteinler arasında iki korunmuş domaine sahiptir. Bu domainler böcek ve omurgalı poksvirüsler arasında % 56-58'lik bir homolojiye sahiptir (34).

Timidin Kinaz Geni (tk) : İlk timidin kinaz (tk) geni AmEPV genomunda aydınlatılmıştır (25). AmEPV tk geninin dizin analizi sonucunda gen ürününün 182 amino asitlik olduğu ve 21.2 kDa'luk bir proteini kodladığı tespit edilmiştir. Tk proteini orthopoksvirüslerinki ile karşılaştırıldığında %45 oranında

bir benzerlik tespit edilmiştir. Bu oran diğer omurgalı poksvirüslerinde daha düşüktür (%39-41). Lytvyn ve ark. (41) AmEPV, CbEPV ve CfEPV'ye ait *tk* gen sıralarını karşılaştırmış ve amino asit seviyesinde %63.2'lik yakın bir ilişki belirlemiştir. Yapılan araştırmalar ile poksvirüs TK proteinlerinde 7 korunmuş domain tespit edilmiştir (34). Afonso ve ark. (1) yaptıkları araştırmada *Melanoplus sanguinipes* genomunda *tk* genine rastlamamışlardır.

Süperoksid Dismutaz Geni (*sod*): İlk *sod* geni *Autographa californica* NPV'de belirlenmiştir (54). Bu gen bir Cu/Zn süperoksid dismutaz proteinini kodlar. Bu protein doğada oldukça yaygın olarak bulunur ve süperoksid radikallerinin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşmesini katalizleyerek korunmada ilk başlarda rol oynar. Birçok omurgalı poksvirüsler *sod* genini ihtiva etmesine karşın, şu ana kadar hiçbiri aktif olarak gösterilmemiştir. Becker ve ark. (9) daha önce Bawden ve ark. (7) tarafından tespit edilen *A. moorei* *sod* genini (AMV255) *Escherichia coli*'ye transfer ederek ekspres etmişler ve saflaştırmışlardır. Afonso ve ark. (1) yaptıkları çalışma ile MsEPV genomunda *sod* geninin bulunmadığını belirlemişlerdir.

PATOLOJİSİ

EPV'ler ilk olarak Vago (56) tarafından böcek virüslerinin yeni bir grubu olarak keşfedilmelerinden sonra, çok sayıda EPV izolatu beş böcek takımından (Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Hymenoptera ve Orthoptera) izole edilmiş ve tanımlanmıştır (5).

Lepidoptera larvalarının enfeksiyon süresi hızlıdır ve 1-3 hafta arasındadır. Hastalık semptomları konaklar arasında çok çeşitlilik gösterir. Örneğin; AmEPV ile enfekte olmuş *Estigmene acrea* larvaları enfeksiyonun geç saatlerine kadar hareket ve denge eksikliği gibi çok küçük belirtiler gösterir. EPV enfeksiyonlu *Elasmopalpus lignosellus* larvalarının ise renkleri kahverenginden kırmızıya dönüşür ve hemolenfin sferoidlerle dolması yüzünden hemolenf beyazımsı-mavi bir renk alır (44).

Entomopoksvirüsler son yıllarda Orthoptera grubu böceklerden olan çekirgelerden de izole edilmişlerdir. Bugüne kadar baculovirüslerin izole edilmediği bu grup böcekler için entomopoksvirüslerin gelecekte potansiyel bir kontrol ajanı olabileceği düşünülmektedir. Özellikle *Locusta migratoria*'dan izole edilen entomopoksvirüs çok önemlidir, çünkü bu çekirge türü Afrika ve Asya'da çok büyük ekonomik zarara sebep olmaktadır. Virüsle enfekte olmuş böcekler, larval büyümede ve gelişme oranında önemli seviyede bir azalma gösterirler. Birçok sivrisinek türü de EPV enfeksiyonuna karşı oldukça duyarlıdır. Henry ve Jutila (30) tarafından izole edilen *Melanoplus sanguinipes* EPV'nin aynı cinse dahil bir çok türü enfekte ettiği bulunmuştur (47). Özellikle son yıllarda birçok izolat çeşitli zararlılar için potansiyel biyolojik mücadele ajanı olarak önerilmektedir. Örneğin; kabuk böceği (*Ips typographus*) (57), bir tür çekirge (*Melanoplus sanguinipes*) (8) ve kakao zararlısı (*Adoretus versutus*)'dır (43).

Melanoplus sanguinipes EPV (MsEPV) için 1988 yılında ilk alan çalışmaları yapılabilmesi amacıyla deneysel kullanım izni alınmıştır. 1988-1990 yılları arasında insan ve çeşitli hayvanlar üzerinde yapılan enfekte çalışmalarında herhangi bir enfeksiyona rastlanılmamıştır. MsEPV, alan uygulamalarında nişasta granülleri içinde uygulanmıştır (57).

BİYOTEKNOLOJİK ÖNEMİ

EPV'lerin mikrobiyal mücadele ajanı olarak geliştirilmesi hem çok sayıdaki böcek takımından izole edilmelerinden hem de baculovirüslerin kullanımını tamamlaması açısından çok büyük bir potansiyele sahiptir. Lepidoptera, Orthoptera, Coleoptera ve Diptera gibi dünyanın en önemli tarımsal zararlılarını içeren bu takımlardan izole edilmeleri, son yıllarda artan *in vitro* ve *in vivo* çalışmaları ve moleküler biyolojileri üzerine devam eden çalışmalar bu virüsleri çok önemli kılmaktadır. Çekirgeler, ağustos böcekleri ve sivrisinekler gibi en önemli zararlıların mikrobiyal kontrolü bu takımlardan yeni EPV'lerin izole edilip tanımlanmasına bağlıdır (34).

Özellikle son yıllarda entomopoksvirüsler biyoteknolojik çalışmalarda ekspresyon vektör sistemi olarak kullanılmaya da başlanmıştır. Bir çalışmada AmEPV'nin *sph* kodlama bölgesi çıkartılıp yerine kloramfenikol asetil transferaz (*cat*) geni yerleştirildi. Daha sonra rekombinant AmEPV-cat transfeksiyon ile AmEPV ile enfekte olmuş Ld652 hücrelerinde üretildi (34). Ayrıca yapılan bu tip çalışmalarda interlökinler, sitokinler, büyüme faktörleri, interferonlar, enzimler ve yapısal proteinleri kodlayan genler büyük DNA fragmentlerini yapısına alabilen poksvirüs vektörlerine klonlanıp ekspresyonu yapılabilmektedir. Bir çalışmada kanser gen tedavisinde kullanılan interlökin-2 geni (IL-2) vaccinia virüs ekspresyon vektörüne klonlanıp (pMJ601) büyük miktarda ekspresyonu sağlanmıştır (29).

EPV'ler birçok zararlı tür için biyolojik kontrol ajanı olarak düşünülmektedir, özellikle de baculovirüslerin hiç izole edilmediği, çekirgeler, ağustos böcekleri ve sivrisineklere karşı. EPV'lerin baculovirüslerle kıyaslandıklarında en önemli dezavantajı, konaklarını öldürme sürelerinin uzun olmasıdır, bu problem EPV genomuna yabancı genlerin yerleştirilmesi sonucu genetik olarak değiştirilmiş EPV'lerin oluşturulmasıyla aşılabilir.

KAYNAKLAR

1. Afonso CL, Tulman ER, Lu Z, Oma E, Kutish GF, Rock DL, 1999. The Genome of *Melanoplus sanguinipes* entomopoxvirus. *J Virol*, 73: 533-552.
2. Aloui-Ismaili MH, Richardson CD, 1996. Identification and characterization of a filament-associated protein encoded by *Amsacta moorei* entomopoxvirus. *J Virol*, 70: 2697.
3. Arif BM, 1984. The entomopoxviruses. *Advances in Virus Research*, 29: 195-213 (1984).
4. Arif BM, 1995. Recent advances in the molecular biology of entomopoxviruses. *J General Virol*, 76: 1-13.

5. **Arif B M, Kurstak E**, 1991. *Viruses of Invertebrates*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA, p. 179.
6. **Banville M, Dumas F, Trifiro S, Arif BM, Richardson C**, 1992. The predicted amino acid sequence of the spheroidin protein from *Amsacta moorei* entomopoxvirus: lack of homology between major occlusion body proteins of different poxviruses. *J General Virol*, 73: 559-566.
7. **Bawden AL, Glassberg KJ, Diggans J, Shaw R, Farmerie W, Moyer RW**, 2000. Complete genomic sequence of the *Amsacta moorei* entomopoxvirus: analysis and comparison with other poxviruses. *Virology*, 274: 120-39.
8. **Beaudoin L, Robert P, Lal SN, Decazy B**, 1994. *Adoretus versutus* control using entomopoxvirus in Fiji. *Plantation Recherche Dev*, 1: 50.
9. **Becker MN, Greenleaf WB, Ostrov DA, Moyer RW**, 2004. *Amsacta moorei* entomopoxvirus expresses an active superoxide dismutase. *J Virol*, 78: 10265-10275.
10. **Bergoin M, Veyrunes JC, Scalla R**, 1970. Isolation and amino acid composition of the inclusions of *Melolontha melolontha* poxvirus. *Virology*, 40: 760-763.
11. **Bilimoria SL, Arif BM**, 1979. Subunit protein and alkaline protease of entomopoxvirus spheroids. *Virology*, 96: 596-603.
12. **Bilimoria SL, Arif BM**, 1980. Structural polypeptides of *Choristoneura biennis* entomopoxvirus. *Virology*, 104: 253-257.
13. **Cunningham JC**, 1988. *Baculoviruses-Their Status Compared to Bacillus thuringiensis as Microbial Insecticides*. Outlook on Agriculture.
14. **Cunningham J T, Entwistle PF**, 1981. *Control of Sawflies by Baculovirus*, Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, Academic Press, London, 379-407.
15. **Demirbağ Z, Beldüz AO**, 1997. Baculovirüs'ün biyolojik mücadeledeki önemi. *Kökem Derg*, 20 (1): 49-58.
16. **Earl PE, Jones EV, Moss B**, 1986. Homology between DNA polymerase of poxviruses, herpesviruses, and adenoviruses: nucleotide se luence of the vaccinia virus DNA polymerase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, USA, 83: 3659-3663.
17. **Evans H, Shapiro M**, 1997. Viruses. Lawrence AL. ed. *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, London, 17-53.
18. **Gauthier L, Cousserans F, Veyrunes JC, Bergoin M**, 1995. The *Melolontha melolontha* entomopoxvirus (MmEPV) fusolin is related to fusolins of lepidopteran EPVs and to the 37 K baculovirus glycoprotein. *Virology*, 208: 427-436.
19. **Gibbs JS, Chiou HC, Hall JD, Mount DW, Retondo MJ, Weller SK, Coen DM**, 1985. Sequence and mapping analyses of the herpes simplex virus DNA polymerase gene predict a C-terminal substrate binding domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, USA, 82: 7969-7973.
20. **Granados RR**, 1973. Entry of an insect poxvirus by fusion of the virus envelope with the host cell membrane. *Virology*, 52: 305-309.
21. **Granados RR**, 1981. Entomopoxvirus infections in insects. Dawidson EW. ed. *Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases*, New Jersey: Allanheld Totowa, 102-126.
22. **Granados RR, Naughton M**, 1975. Development of *Amsacta moorei* entomopoxvirus in ovarian and hemocyte cultures from *Estigmene acrea* larvae. *Intervirolgy*, 5: 62.
23. **Granados RR, Roberts DW**, 1970. Electron microscopy of a pox-like virus infecting an invertebrate host. *Virology*, 40: 230.
24. **Goodwin RH, Adams JR, Shapiro M**, 1990. Replication of the entomopoxvirus from *Amsacta moorei* in serum-free cultures of a gypsy moth cell line. *J Invertebr Pathol*, 56: 190-205.
25. **Gruidl ME, Hall RL, Moyer RW**, 1992. Mapping and molecular characterization of a functional thymidine kinase from *Amsacta moorei* entomopoxvirus. *Virology*, 186: 507-516.
26. **Hall RL, Hink WF**, 1990. Physical mapping and field inversion gel electrophoresis of *Amsacta moorei* entomopoxvirus DNA. *Archives of Virology*, 110: 77-90.
27. **Hall RL, Moyer RW**, 1991. Identification, cloning, and sequencing of a fragment of *Amsacta moorei* entomopoxvirus DNA containing the spheroidin gene and three vaccinia virus-related open reading frames. *J Virol*, 65: 6516-6527.
28. **Hall RL, Moyer RW**, 1993. Identification of an *Amsacta* spheroidin-like protein within the occlusion bodies of *Choristoneura fumiferana* entomopoxviruses. *Virology*, 192: 179-187.
29. **Hengjun G, Hongyin Z, Weiqi G, Yi L, Weiping R, Shudong X**, 2001. Construction and identification of the eukaryotic expression vector of vaccinia virus expressing human interleukin-2. *Chinese J Digestive Diseases*, 2: 129-132.
30. **Henry JE, Jutila JW**, 1966. The isolation of a polyhedrosis virus from a grasshopper. *J Invertebr Pathol*, 8: 417-418.
31. **Henry JE, Nelson BP, Jutila, JW**, 1969. Pathology and development of the grasshopper inclusion body virus in *Melanoplus sanguinipes*. *J Virol*, 3: 605.
32. **Hukuhara T, Xu J, Yano K**, 1990. Replication of an entomopoxvirus in two lepidopteran cell lines. *J Invertebr Pathol*, 56: 222-232.
33. **Ignoffo CM**, 1974. Microbial control of insects. Harris FA. ed. *Viral Pathogens, Proceedings of the Summer Institute on Biological Control of Plants Insects and Diseases*, Maxwell, Jackson: Univ. Mississippi, 541-557.
34. **King LA, Wilkinson N, Miller DP, Marlow SA**, 1998. Entomopoxvirus. Miller LK. Andrew Ball L. eds. *The Insect Viruses*. Plenum Publishing Corporation, New York, 1-25.
35. **Langridge WHR**, 1983. Partial characterization of DNA from five entomopoxviruses. *J Invertebr Pathol*, 41: 341-349.
36. **Langridge WHR, Oma E., Henry JE**, 1983. Characterization of the DNA and structural proteins of entomopoxviruses from *Melanoplus sanguinipes*, *Arphia conspisa* and *Phoetaliotes nebrascensis* (Orthoptera). *J Invertebr Pathol*, 42: 327.

37. **Langridge WR, Roberts DW**, 1982. Structural proteins of *Amsacta moorei*, *Euxoa auxillaris* and *Melanoplus sanguinipes* entomopoxviruses. *J Invertebr Pathol*, 39: 346-353.
38. **Larder BA, Kemp SD, Darby G**, 1987. Related functional domains in virus DNA polymerase. *EMBO Journal*, 6: 169-175.
39. **Levin DB, Adachi D, Williams LL, Myles TG**, 1993. Host specificity and molecular characterization of the entomopoxvirus of the lesser migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *J Invertebr Pathol*, 62: 241-247.
40. **Lipa JJ**, 1975. *An Outline of Insect Pathology*, Warsaw, Poland.
41. **Lytvyn V, Fortin Y, Banville M, Arif BM, Richardson C**, 1992. Comparison of thymidine kinase genes from three entomopoxviruses. *J General Virol*, 73: 3235-3240.
42. **Marlow SA, Billam LJ, Palmer CP, King LA**, 1993. Replication and morphogenesis of *Amsacta moorei* entomopoxvirus in cultured cells *Estigmene acrea* (salt marsh caterpillar). *J General Virol*, 74: 1457-1461.
43. **McGuire MR, Streett DA, Shasha BS**, 1991. Evaluation of starch-encapsulation for formulation of grasshopper (Orthoptera: Acrididae) entomopoxviruses. *J Econ Entomo.*, 84: 1652-1656.
44. **Mitchel FL, Smith GE, Smith JW**, 1983. Characterization of an entomopoxvirus of the lesser cornstalk borer (*Elasmopalpus lignosellus*). *J Invertebr Pathol*, 42: 299-305.
45. **Moss B**, 1995. Poxviridae. Fields BN. Knipe DM. Howley PM. Chanock R.M. Melnick JL. Monath T.P. Roizman B. Straus S.E. eds. *The Viruses and Their Replication*, Lippencott-Raven, New York, 2637-2671.
46. **Mustafa A, Yuen L**, 1991. Identification and sequencing of the *Choristoneura biennis* entomopoxvirus DNA polymerase gene. *J. DNA Sequencing and Mapping*, 2: 39-45.
47. **Oma EA, Henry JE**, 1986. Host relationships of entomopoxviruses isolated from grasshoppers. Grasshopper Symposium Proceedings, March 1986, North Dakota Extension Service, North Dakota State University, 48-49.
48. **Palmer CP, Miller D, Marlow SA, Wilson LE, Lawrie AM, King LA**, 1995. Genetic modification of an entomopoxvirus deletion of the spheroidin gene does not affect virus replication in vitro. *J General Virol*, 76: 15-23.
49. **Payne CA**, 1988. Pathogens for the Control of Insects”, Where Next? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, B 318, 225-248.
50. **Peter G**, 1984. *Plant Pests and Their Control*. Fenemore, London.
51. **Roberts DW, Granados RR**, 1968. A poxlike virus from *Amsacta moorei* (Lepidoptera: Arcxtiidae). *J Invertebr Pathol*, 12: 141.
52. **Sanz P, Veyrunes JC, Cousserans F, Bergoin M**, 1994. Cloning and sequencing gene, the occlusion body major polypeptide of the *Melolontha melolontha* entomopoxvirus (MmEPV). *Virology*, 202: 449-457.
53. **Sezen K**, 2004. Coleoptera Takımına Ait Fındık Zararlılarında Virüs Tespiti ve Biyolojik Mücadelede Kullanım Potansiyeli”, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, s.1-61.
54. **Tomalski MD, Eldridge R, Miller LK**, 1991. A baculovirus homolog of a Cu/Zn superoxide dismutase gene. *Virology*, 184: 149-161.
55. **Tomalski MD, Wu J, Miller LK**, 1988. The location, sequence, transcription, and regulation of a baculovirus DNA polymerase gene. *Virology*, 167: 591-600.
56. **Vago C**, 1963. A new type of insect virus. *J Insect Pathol*, 6: 275-276.
57. **Wegensteiner R, Weiser J**, 1995. A new entomopoxvirus in the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Scolytidae). *J Invertebr Pathol*, 65: 203-205.
58. **Winter J, Hall RL, Moyer RW**, 1995. The effects of inhibitors on the growth of the entomopoxvirus from *Amsacta moorei* in *Lymantria dispar* (Gypsy moth) cells. *Virology*, 211: 462.
59. **Yuen L, Noiseux M, Gomes M**, 1991. DNA sequence of the nucleotide triphosphate phosphohydrolase I (NPH I) of the *Choristoneura biennis* entomopoxvirus. *Virology*, 182: 403-406.