

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜ HAVZASI'NDAN TOPLANAN BAZI KAVUN GENOTİPLERİNDE
VİRÜSE KARŞI DAYANIKLILIĞIN MEKANİK İNOKULASYON VE
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Sibel TURAN
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi. Çeknas ERDİNÇ

VAN-2018

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**VAN GÖLÜ HAVZASI'NDAN TOPLANAN BAZI KAVUN GENOTİPLERİNDE
VİRÜSE KARŞI DAYANIKLILIĞIN MEKANİK İNOKULASYON VE
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Sibel TURAN

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından **FYL-2017-5899** no'lu projesi ve Öğretim Üyesi Yerleştirme Programı (ÖYP) kapsamında desteklenmiştir.

VAN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Dr. Öğr. Üyesi Çeknas ERDİNÇ danışmanlığında, Sibel TURAN tarafından sunulan “ **Van Gölü Havzasından Toplanan Bazı Kavun Genotiplerinde Virüse Karşı Dayanıklılığın Mekanik İnokulasyon ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi** ” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 28/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Dr. Öğr. Üyesi Çeknas ERDİNÇ

İmza: 

Üye: Doç. Dr. Mehtap YILDIZ

İmza: 

Üye: Doç. Dr. Faheem Shahzad BALOCH

İmza: 

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~2017/2018~~ tarih ve ~~2018/130-I~~ sayılı kararı ile onaylanmıştır.



YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 28/06/2018

Tez Başlığı / Konusu:

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

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 10 sayfalık kısmına ilişkin, 06/06/2018 tarihinde /tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 (Yedi) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.


28.06.2018
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Sibel TURAN

Öğrenci No: 169101117

Anabilim Dalı: Tarımsal Biyoteknoloji

Program: Tarımsal Biyoteknoloji

Statüsü: Y. Lisans

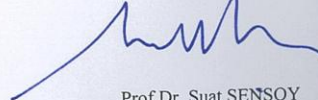
Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR



Dr. Öğr. Üyesi Çeknas ERDİNÇ

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR



Prof. Dr. Suat ŞENSOY

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sibel TURAN

ÖZET

VAN GÖLÜ HAVZASI'NDAN TOPLANAN BAZI KAVUN GENOTİPLERİNDE VİRÜSE KARŞI DAYANIKLILIĞIN MEKANİK İNOKULASYON VE MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

TURAN, Sibel

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi. Çeknas ERDİNÇ

Haziran 2018, 43 sayfa

Bu çalışmada, Van Gölü Havzasından toplanan 22 adet kavun genotipi ile 3 adet dayanıklı genotip ve 2 adet ticari çeşitte hem mekanik inokulasyon yöntemi kullanılarak genotip ve çeşitlerin ZYMV (*Zucchini Yellow Mosaic Virus*)'ye karşı dayanıklılığını belirlemek hem de bazı SCAR ve CAPS markör yöntemleri ile kavun genotip ve çeşitlerinde ZYMV (*Zucchini Yellow Mosaic Virus*), CMV (*Cucumber Mosaic Virus*) ve WMV (*Watermelon Mosaic Virus*) türlerine dayanıklılık belirteçlerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Mekanik inokulasyon sonrasında genotiplerde morfolojik gözlemler yapılarak 0-5 skalasına göre hastalık şiddeti belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında bu genotiplerde 3 adet SCAR ve 4 adet CAPS primeri olmak üzere 7 adet primer ile tarama yapılarak ZYMV, CMV ve WMV'ne karşı dayanıklılık ile ilgili belirteçlerin varlığı tespit edilmeye çalışılmıştır. SCOPE14₅₄₁ primerinde 21 genotipte bant tespit edilirken, *Creb-2* dayanıklılık genine bağlı olarak geliştirilen SCAPB05₁₀₄₆ primerinin 25 genotipten yalnızca U6, U13 ve YYU6 genotiplerinde bant verdiği görülmüştür. 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. dCAPS-G99A ve CAPS-T86C primerleri ile istenilen gen bölgesi çoğaltılmış fakat kesim enzimleri (*Dra I/MnI I*) için istenilen bant aralıklarında kesme işlemi gerçekleşmemiştir.

Anahtar kelimeler: CAPS, Kavun, Mekanik inokulasyon, SCAR, Virüse dayanıklılık



ABSTRACT

DETERMINATION OF VIRUS RESISTANCE WITH MECHANIC INOCULATION AND MOLECULAR METHODS IN SOME MELON ACCESSION COLLECTED FROM VAN LAKE BASIN

TURAN, Sibel

M. Sc. Thesis, Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Çeknas ERDİNÇ

June, 2018, 43 pages

In this study, it was aimed to determine the resistance of 22 melon genotypes collected from Van Lake Basin, 3 resistant genotypes and 2 commercial varieties to ZYMV (*Zucchini Yellow Mosaic Virus*) by using mechanical inoculation method, also it was aimed to determinate the presence of resistance markers ZYMV (*Zucchini Yellow Mosaic Virus*), CMV (*Cucumber Mosaic Virus*) and WMV (*Watermelon Mosaic Virus*) genotypes in melon genotypes and varieties through SCAR and CAPS marker methods. After mechanic inoculation disease severity was determined according to 0-5 scale by performing morphological observations in genotypes. In second stage of the study the presence of markers related to resistance genes against to ZYMV, CMV and WMV were defined in these genotypes by screening with 7 primers including 3 SCAR primers and 4 CAPS primers. While bands were obtained from SCOPE14₅₄₁ primer in 21 genotypes SCAPB05₁₀₄₆ primer that was developed based on the *Creb-2* resistance gene gave bands only in the U6, U13 and YYU6 genotypes from 25 genotypes. VirSq-F19 primer that was developed based on the resistance genes to ZYMV and WMV gave band in all genotypes excluding YYU47. Only two of the 4 CAPS primers associated with the *Zym* resistance gene produced band. The desired gene region was amplified with the primers dCAPS-G99A and CAPS-T86C, but no restriction was performed at the desired band intervals for the restriction enzymes (*Dra I / Mn II*).

Keywords: CAPS, Melon, Mechanic inoculation, SCAR, Resistance to virus



ÖN SÖZ

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi. Çeknas ERDİNÇ'e teşekkür ederim.

Tezimin için tohum temin etmeme yardımcı olan değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Suat ŞENSOY'a ve sayın Doç. Dr. Mehtap YILDIZ'a teşekkür ederim. Çalışmamın inokulasyon aşamasında destek ve bilgilerinden yararlandığım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi. Mustafa USTA'ya teşekkür ederim. Tez jürimde yer alan ve değerli katkıları sunan sayın Dr. Öğr. Üyesi Faheem Shehzad BALOCH'a teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca beni manevi olarak teşvik eden ve her türlü desteği veren değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Metin KOÇAK, Rabia Nur BAYRAM, Buse Nihan DERİCİOĞLU, Yasemin KOÇAK, Arş. Gör. Özlem ÇAKMAKCI ve Arş. Gör. Hilal YILMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Sevgi ve desteklerini hayatım boyunca hissettiğim ailem canım annem Zennure TURAN'a, canım babam Paşa TURAN'a ve canımdan çok sevdiğim kardeşlerime bu süreçte gösterdikleri sabır, anlayış ve destek için çok teşekkür ederim.

Çalışmaya FYL-2017-5899 nolu proje ile destek veren Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

2018

Sibel TURAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal	15
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Virüs kaynağının oluşturulması	15
3.2.2. Kavun genotip ve çeşitlerinin iklim odasında yetiştirilmesi.....	16
3.2.3. ZYMV inokulasyonu	17
3.2.4. Belirtilerin gözlenmesi, skalanın oluşturulması ve değerlendirme.....	18
3.2.5. DNA izolasyonu.....	20
3.2.6. PCR çalışmaları.....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25
4.1. Yapay İnokulasyon Yöntemi İle Kavun Genotiplerinin Dayanıklılık Durumlarının Belirlenmesi	25
4.2. Moleküler Belirteçlerle Kavun Genotiplerinin Dayanıklılık Durumlarının Belirlenmesi	28
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
KAYNAKLAR.....	37
ÖZ GEÇMİŞ.....	43



ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kavun genotipleri	15
Çizelge 3.2. Elde edilen Nanodrop sonuçları	21
Çizelge 3.3.Çalışmada kullanılan primerler	22
Çizelge 4.1. Periyodik gözlemler ve skala ortalamaları ile elde edilen hastalık şiddeti (%) değerleri	26
Çizelge 4.2. SCAR primerlerinin genotiplere göre mevcudiyeti.....	31



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Sakız kabağı yapraklarında ZYMV nin neden olduğu mozaik, kabarcıklanma ve deformasyon görünümü	16
Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan kavun genotiplerinin iklim odasında yetiştirilmesi	17
Şekil 3.3. Kavun genotiplerinin kotiledon yapraklarına ZYMV inokulasyon aşamaları.	18
Şekil 3.4. ZYMV'nin oluşturduğu hastalık şiddetini değerlendirmede kullanılan 0-5 skalasının değerleri ve yapraktaki görünümü	19
Şekil. 4.1. SCAPB05 SCAR primerine ait 25 genotip için jel görüntüsü	28
Şekil 4.2. SCOPE14 SCAR primerine ait 25 genotip için jel görüntüsü	29
Şekil 4.3. VirSq-F19 SCAR primerine ait 25 genotip için jel görüntüsü	29
Şekil 4.4. dCAPS-G99A CAPS primerine ait jel görüntüsü	32
Şekil 4.5. CAPS-T86C CAPS primerine ait jel görüntüsü	32
Şekil 4.6. CAPS-2 CAPS primerine ait jel görüntüsü	33



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
MgCl ₂	Magnezyum klorür
µl	Mikrolitre
%	Yüzde
mm	Milimetre
pH	Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
Kısaltmalar	Açıklama
CAPS	Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
CMV	Cucumber Mosaic Virus
DNA	Deoksiribonükleik asit
ddH ₂ O	Deiyonize su
dNTP _s	Deoksiribonükleotit fosfatlar
ELISA	Enzim Linked Immunosorbent Assay
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SCAR	Sırayla Karakterize Edilmiş Amplifiye Bölgeler
WMV	Watermelon Mosaic Virus
ZYMV	Zucchini Yellow Mosaic Virus



1. GİRİŞ

Türkiye, Dünya ülkeleri arasında sebzeçilik potansiyeli yönünden önemli bir yere sahiptir. Sebzeçilik sektörü geçmişten günümüze büyük aşamalar kaydetmiştir. Gerek birim alandan fazla gelir getirmesi, gerek üretiminin teknolojiye yakınlığı ve gerekse yeni sebze tür ve çeşitlerinin devreye girmesiyle 1980'li yıllardan itibaren değişime uğramıştır. Günümüzde sebze tüketimine olan iç ve dış talebin artışı, farklı sektörlerin sebzeçilik sektörüne yaptıkları yatırımlarla sebzeçilik faaliyetleri ülkemizde aile sebzeçiliğinden modern sebzeçiliğe doğru yönelmiştir (TÜİK, 2017). Dünyada 57.2 milyon hektar alanda, 1.1 milyar ton yaş sebze üretimi yapılmıştır. Türkiye, 30 milyon tonluk üretimi ile dünya sıralamasında dördüncü sırada yer almakta ve dünya yaş sebze üretiminden % 2.5 oranında pay almaktadır (FAO, 2016).

Türkiye'de 808.000 ha'lık alanda yaklaşık 30 milyon ton sebze üretimi yapılmaktadır. Bu üretimin yaklaşık %80'ini meyvesi yenen sebze türleri oluşturmakta ve kavun bu türler içerisinde üretim bakımından yaklaşık 1.813.422 ile dördüncü sırayı almaktadır (TÜİK, 2017). Ülkemizin çok soğuk bölgeleri dışında hemen her bölgesinde yetiştiriciliği yapılan kavunun en fazla üretimi Marmara, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yapılmaktadır. Türkiye'de kavunun en fazla yetiştirildiği il Ankara iken bunu Manisa, Diyarbakır, Balıkesir ve Konya takip etmektedir (TÜİK, 2017).

Kavun (*Cucumis melo* L.); Cucurbitaceae familyası, Cucurbitoideae alt familyası, Melothriaceae takımı, Cucumerinae alt takımına ait, $2n=2x=24$ kromozoma sahip diploid bir sebze türüdür (Robinson ve Decker-Walters, 1997; Pitrat ve ark. 1999). Meyvelerinin yüksek oranda aromaya sahip olması, farklı tatlarda yazlık ve kışlık çeşitlerinin bulunması, yıl içerisinde uzun bir dönemde tüketilebilmesi kavunun ekonomik açıdan en önemli sebze türleri arasında yer almasını sağlamaktadır.

Kavun tipleri arasında çok büyük bir çeşitlilik olduğu gözlemlenmiş ve bu nedenle farklı şekillerde sınıflandırmalar yapılmıştır. Agronomik özelliklerine göre kavunları farklı gruplara ayıran araştırmacılar bu özelliklere göre kavunları kısaca; *cantalupensis* (kantaloop veya muskmelon), *inodorus* (kışlık kavunlar), *flexuosus* (acur), *conomon* (turşuluk kavunlar), *dudaim* veya *chito* (kokulu cep kavunları) ve *momordica*

(çatlak kavunlar) diye altı ana grupta sınıflandırmışlardır. Araştırmacılar bu altı gruba giren kavunların, subsp. *melo*' ya ait kavunlar olduğunu ve Asya' da önemli ölçüde yetiştirilmekte olduğunu belirtmişlerdir (Robinson ve Decker- Walters, 1997). Bu sınıflandırmaların ardından birçok araştırmacı daha önceki kavun sınıflandırma çalışmalarını karşılaştırmış ve 11 tanesi (*cantalupensis*, *reticulatus*, *adana*, *chandalak*, *ameri*, *inodorus*, *chate*, *flexuosus*, *chito*, *dudaim* ve *tibish*) subsp. *melo* alt türüne ait, 5 tanesi (*momordica*, *acidulus*, *conomon*, *makuwa* ve *chinensis*) de subsp. *agrestis* alt türüne ait olmak üzere toplam 16 tipin kavun sınıflandırması için kullanılabileceğini belirtmişlerdir (Pitrat ve ark. 2000; Nunez-Palenius ve ark. 2008).

Diğer bitki türlerinde olduğu gibi kabakgil familyasında bulunan sebzelerin de üretimini sınırlandıran en önemli faktörlerin başında hastalıklar ve zararlılar gelmektedir. Hastalık ve zararlılar, birim alandan alınan verimin azalmasına, bazı çeşitlerin kaybolmasına ve üründe kalite kaybına neden olmaktadır. Bunlar içerisinde doğrudan mücadelesi olmadığı için virüs hastalıkları oldukça önemli bir yere sahiptir. Virüs hastalıklarının şiddeti yıldan yıla, virüs-konukçu-vektör ve çevre faktörlerinin etkisine göre değişebilmektedir.

Doğal mutasyonlar ve kavunun döllenme biyolojisinden kaynaklanan özelliklerden dolayı yerel kavun populasyonlarının zengin bir çeşitlilik gösterme olasılığı yüksektir. Bu zengin çeşitliliğin kaybolmasını önlemek ve seçilecek materyallerin ıslah çalışmalarında kullanılmasını sağlamak amacıyla, gen kaynaklarının korunmasına ve ıslahına yönelik çalışmaların olduğu bildirilmektedir (Şensoy ve ark., 2007).

20. yüzyılda klasik ıslah yöntemleriyle elde edilen yeni çeşitler, bitkisel üretimin önemli bir düzeyde arttırmasını sağlamasına rağmen, 21. yüzyılda artan nüfusun ihtiyaç duyacağı bitkisel ürünü karşılamada yetersiz kalacağı düşünülmektedir. Klasik ıslah yöntemleriyle yürütülen ıslah programları yıllarca devam etmiş olsa da, kısırlık ve uyuşmazlık gibi durumlarda işlevini yitirmekte ve organizmalar arasında gen alışverişini sınırlamaktadır. Bu gibi durumlarda biyoteknolojik yöntemlere başvurulmaktadır.

Bitkilerde hastalık oluşturan virüsler ile ilgili kimyasal mücadele yöntemlerinin bulunmayışı bu hastalıkların önemini giderek arttırmaktadır. Üretim alanlarında sorun olan bu viral hastalıkların kontrolünde kültürel yöntemlerin uygulanması, dayanıklı

çeşitlerin kullanılması ve vektörlerle mücadele etmenin önemi oldukça büyüktür. Virüsler ile mücadelede uygun teşhis ve gerekli önlemlerin alınması oldukça önem arz etmektedir.

Kabakgiller pek çok virüs hastalığına konukçuluk etmekte ve bu durum önemli düzeylerde ürün kayıplarına neden olmaktadır. Dünya'da kabakgiller familyası içindeki bitki türlerinde zarar yapan ve ekonomik kayıplara neden olan çok sayıda virüs etmeni bulunmaktadır (Zitter ve ark. 1996). Kabakgilleri infekte eden, çoğu ekonomik öneme sahip 32 bitki virüsü tespit edilmiştir. Bu virüslerin çoğu farklı cins ve familyaya ait bitkileri infekte ederken bir kaç tanesi kabakgillerle sınırlı kalmıştır.

Virüslerle mücadelede en önemli kontrol stratejileri; vektör böcekler için insektisidlerin, konukçu bitkiler için ise herbisitlerin kullanılması veya genetik dayanıklılıktır (Provvidenti ve Kyle, 1993). Dayanıklılık genellikle patojen spesifik olmasına rağmen, virüs hastalıklarının kontrolünde en ekonomik metottur. Bazı kabakgillerde virüs hastalıklarına dayanıklılık, virüs kılıf proteinleri ile sağlanmakla birlikte (Quemada ve ark., 1990; Namba ve ark., 1992;) ıslahçıların yararlanabileceği doğal dayanıklılık kaynakları da bulunmaktadır.

Virüs hastalıklarına karşı değişik kabakgil türlerinde dayanıklılık özelliği bulunmaktadır. Kavunda PI414723 ıslah materyalinde ZYMV'ye dayanıklılığın olduğu ve bu dayanıklılığın tek bir genle idare edildiği saptanmıştır (Pitrat ve Lecoq, 1984). Virüs hastalıkları ve zararlılarla mücadelede kimyasal materyaller kullanılarak kayıplar az da olsa azaltılabilmektedir. Ancak hastalık etmenlerinin kimyasal maddelere dayanıklı ırklar (suşlar) geliştirmeleri, yeni kimyasalların kullanımını gerekli kılmakta, bu da doğal dengeyi bozarak önemli çevre sorunlarına neden olmaktadır. Özellikle son yıllarda çevre bilincinin artmasıyla kimyasal ilaçların ekolojik denge ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri daha fazla tartışılır hale gelmiş ve böylece kimyasal maddelere alternatif olabilecek sistemler üzerindeki çalışmalar artmıştır (Çetiner, 1993).

Türkiye'de kabakgil yetiştirme alanlarında bulunan en önemli virüslerin kabak sarı mozaik virüsü (*Zucchini Yellow Mosaic Virus*=ZYMV), hıyar mozaik virüsü (*Cucumber Mosaic Virus*=CMV), karpuz mozaik virüsü 1 (*Watermelon Mosaic 1 Virus*=WMV1), karpuz mozaik virüsü 2 (*Watermelon Mosaic 2 Virus*=WMV2) ve kabakgil afitle taşınan sarılık virüsü (*Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus*=CABYV) olduğu belirlenmiştir (Nogay, 1983; Ertunç, 1992; Yılmaz ve ark., 1992; Çıtır ve ark.,

1998; Şevik ve Sökmen, 2001). Bu virüsler bitkilerde gelişme geriliğine, şiddetli enfeksiyonlar sonucu anormal meyve ve yeşil aksam oluşumuna neden olmakla birlikte meyve oluşumunu da tamamen engelleyebilmektedir.

Kavun türünde etkili olan çok sayıda virüs hastalığı bulunmakla birlikte, Türkiye’de bunlardan en yaygın olarak bulunanlarının ZYMV ve CMV (Yılmaz ve Davis 1984, Yılmaz ve ark., 1992) olduğu tespit edilmiştir. Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen bazı kavun genotipleriyle yapılan çalışmalarda, denemede yer alan tüm çeşitlerin ZYMV’ye hassas oldukları; bu hassasiyetin özellikle Yuva ve Hasanbey çeşitlerinde önemli kayıplara neden olduğu belirlenmiştir (Sarı ve ark., 1994).

Bir potyvirus olan ZYMV kabakgillerde dünya çapında ekonomik açıdan en önemli virüs hastalığı olarak kabul edilmektedir. Kabakgillerde erken dönemde enfeksiyon olursa, toplam verimde ve pazarlanabilir meyvelerde kayıp % 100'e kadar çıkabilmektedir (Blua ve Perring 1989, Desbiez ve Lecoq 1997, Fletcher ve ark. 2000, Coutts ve ark. 2011a). ZYMV ilk kez 1973 yılında İtalya'da bulunmuş ancak 1981'de tanımlanmıştır (Lisa ve ark. 1981). ZYMV koloni oluşturan ve oluşturmeyen yaprak bitleri türleriyle, *Aphis gossypii*, *A. craccivora*, *A. spireacola*, *A. middletoni*, *Acyrtosiphon kondoi*, *Acyrtosiphon pisum*, *Lipaphis eriysimi*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae*, *Uroleucon* sp. ile non-persistent olarak (Yuan ve Ullman 1996, Katis ve ark. 2006) bazı kabakgil türlerinin tohumlarında düşük seviyelerde taşınmaktadır (Schrijnwerkers ve ark. 1991, Fletcher ve ark. 2000, Tobias ve ark. 2008, Simmons ve ark. 2011, Coutts ve ark. 2011b). Kabakgil yetiştirildiği dönemler dışında enfeksiyon kaynağı olarak çok az konukçu bitki türüne sahiptir (Perring ve ark. 1992, Desbiez ve Lecoq 1997, Svoboda ve Polak 2002, Coutts ve Jones 2005, Coutts ve ark. 2011b). ZYMV, iplikli bir yapıda 750 nm uzunlukta ve 11 nm genişlikte bir virüstür. Virionlar % 4.5- 7 oranında nükleik asit ve % 93-95.5 oranında protein içermektedir. Genom parçaları tek iplikli doğrusal RNA dan meydana gelmekte, genom bölmesiz ve en büyük genom parçası 9 kb'dir (Brunt ve ark. 1996).

ZYMV'nin enfeksiyon zamanı ve bitkide meydana getirdiği belirtiler çevre koşullarına bağlı olarak değişmekle birlikte, bulaşık bitkilerde bodurluk, kloroz, deformasyon, mozaik, genç sürgünlerde iplikleşmeye ve çiçek azalmasına neden olmakta ve buna bağlı olarak da ürün azalmasına yol açmaktadır (Blua ve Perring, 1989). ZYMV, *Cucumis sativus*, *C. melo*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata* indikatör

bitkileri üzerinde lokal lezyon ve latent infeksiyonlara neden olmaktadır. *Chenopodium amaranticolor* ve *Chenopodium quinoa* bitkilerinde bölgesel lezyonlara, *Sesamum indicum* 'da mekanik inokulasyon ile bulaştırılmış ZYMV, mozaik ve deformasyon belirtilerine neden olmaktadır (Brunt ve ark. 1996).

ZYMV'ye dayanıklılık kabakgillerden hıyar (*Cucumis sativus* L.), kavun (*Cucurbita melo* L.) ve kabak (*Cucurbita pepo* L.) türlerinde rapor edilmiştir. Portekiz'de yetiştirilen 'Mennina 15' isimli bir kabak (*Cucurbita moschata* Duchesne) çeşidinde ZYMV'ye dayanıklılığın tek bir dominant gen ile idare edildiği tespit edilmiştir (Gilbert-Albertini ve ark., 1993). Yakın zamanda, Ekbiç ve ark., (2010) mekanik inokulasyon yöntemi ile testledikleri 67 kavun genotipinden 4'ünün ZYMV'ye karşı dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. Provvidenti (1991), iki yabancı çeşit hariç test ettiği tüm kabak çeşitlerinin ZYMV'ye karşı duyarlı olduğunu belirlemiştir. Viral hastalıkların kontrolünde kullanılabilecek etkili bir kimyasal bulunmamasından dolayı, ZYMV'ye dayanıklı çeşitlerin ıslahı ve üretimde kullanılması en önemli mücadele yöntemi olarak görülmektedir (Amano ve ark., 2013).

Hıyar mozaik virüsü (CMV) , ilk olarak hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkisi üzerinde 1934 yılında Amerika'da Price tarafından bulunmuştur. Bu virüs Bromoviridae familyası içerisinde yer alan Cucumovirus cinsinin en önemli üyelerinden birisi olarak kabul edilmektedir. Virüs 100 familyaya giren 1200'den fazla bitkiyi enfekte edebilme yeteneğine sahiptir (Zitter ve Murphy, 2009). CMV izometrik yapıda olup, yaklaşık olarak 28 nm çapındadır. Virionlar, % 18 nükleik asit ve % 82 protein içermektedir. Genom yapıları tek iplikçikli doğrusal RNA' dan meydana gelmektedir ve en büyük genom parçası (RNA 1) yaklaşık 3350 nükleotid, ikinci en büyük parçası (RNA 2) yaklaşık 3035 nükleotid, üçüncü en büyük parçası (RNA 3) ise yaklaşık 2200 nükleotitten oluşmaktadır. RNA 3 ayrıca yaklaşık 1030 nükleotid olan RNA 4'ü de içerisinde kapsamaktadır. Genomik nükleik asitleri Ernest A. Gould tarafından izole edilmiştir. Temel bileşiminde % 24 G, % 23 A, % 23 C, % 30 U bazı bulunmaktadır (Francki ve ark. 1979, Brunt ve ark. 1996).

CMV, 80'den fazla yaprak biti türü (Insecta: Hemiptera: *Aphidoidea*), ile nonpersistent (nesilden nesile taşınım) biçimde taşınmaktadır (Francki ve ark. 1979, Raccach ve ark. 1985, Nault 1997). *Aphis gossypii*, *Myzus persicae* ve *Acyrtosiphon pisum* bu yaprak bitleri arasında bulunan önemli vektörlerdir (Palukaitis ve ark. 1992,

Perry ve ark. 1998). CMV yaprak bitleriyle taşınmanın yanı sıra mekanik inokulasyon ve tohumla da taşınabilmektedir (Neergaard 1977, Tomlinson ve Carter 1970). Belirtileri değişken olmasına rağmen, hemen hemen tüm kabakgiller CMV' ye karşı duyarlıdır.

CMV, pek çok konukçu bitkide sistemik infeksiyonlara neden olmakta, fakat bazı bitkilerde simptomsuz olabilmektedir. Simptomlar infekte edilen bitkiye ve infeksiyon zamanında bitkilerin yaşına bağlı olarak büyük oranda değişiklik gösterebilmektedir (Gallitelli 2000). CMV, infekteli bitkilerde mozaik, meyve oluşumuna ve yapraklarda şekil bozukluğuna ve bitkilerin ölümüne neden olabilmektedir (Kosaka ve Fukunishi 1997). CMV, *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *Citrullus lanatus*, *Solanum lycopersicon*, *Capsium annum*, *Nicotiana tabacum*, *N. rustica*, *Chenopodium amaranticolor* ve *C. quinoa* indikatör bitkilerinde mekanik inokulasyonlar sonucunda damar açılması ve mozaik simptom göstermektedir (Franki ve ark. 1979, Kosaka ve Fukunishi 1997).

Potyvirus üyesi olan WMV-2, tüm dünyada, özellikle de ılıman iklimlerde ve Akdeniz Bölgesi'nde oldukça yaygın bir bitki virüsüdür (Sharifi ve ark., 2008). WMV-2, ilk olarak 1965 yılında Webb tarafından karpuz bitkisinde saptanmış ve daha sonra dünyanın karpuz ve kabakgil yetiştirilen birçok ülkesinde rapor edilmiştir (Nameth ve ark., 1983; Davis, 1986). Türkiye'de ise, ilk olarak Nogay ve Yorgancı tarafından 1984 yılında tespit edilmiş olan bu virüs hastalığı, daha sonra kabakgiller üzerinde yapılan sürvey çalışmalarında diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Erdiller ve Ertunç, 1987; Yılmaz ve ark., 1994; Çıtır ve ark.,1998; Şevik ve Arlı-Sökmen, 2003; Kaya ve Erkan, 2011).

WMV-2, esnek çubuk formunda ipliksi partiküllere sahip olan, 730-765 nm uzunluğunda yaklaşık 10 035 nükleotid içeren tek iplikçikli RNA yapısındadır. Kılıf proteini 49 kDA büyüklüğündedir. Bu virüs hastalığı ile infekteli kabakgil bitkilerinde bodurluk, kloroz, deformasyon, mozaik, genç sürgünlerde iplikleşme ve çiçek azalması görülmekte ve buna bağlı olarak da ürün kayıpları meydana gelmektedir (Thomas, 1971; Lecoq ve Desbiez, 2012). Ayrıca WMV-2, fasulye başta olmak üzere, Malvaceae, Leguminosae ve Chenopodiaceae gibi çeşitli familyalara dahil yabancı otlarda ve süs bitkilerinde de hastalık meydana getirebilmektedir.

Bu alışmada, Van Gölü Havzası'ndan toplanmış olan bazı yerel kavun genotiplerinin ZYMV'ye karşı dayanıklılık durumlarının mekanik inokulasyon yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmaktadır. Aynı zamanda ZYMV, CMV ve WMV için geliştirilmiş olan bazı SCAR ve CAPS belirteçleri kullanılarak söz konusu kavun genotiplerinin bu üç virüse karşı dayanıklılık genlerine ait markörlerin varlığının belirlenmesi hedeflenmektedir. Bu şekilde özellikle yaygın bir virüs olan ZYMV'ye dayanıklılığın mekanik inokulasyon ve moleküler yöntemler ile birlikte test edilmesinin yanısıra CMV ve WMV virüslerine dayanıklılık açısından da genotiplerin moleküler yöntemlerle taranması sağlanacaktır.



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Kavunun (*Cucumis melo* L.) anavatanı hakkında araştırma yapan birçok bilim adamı arasında farklı görüşler vardır. Bazıları kavunun Afrika orijinli bir bitki olduğunu belirtirken bazı araştırmacılar da kavunun Asya ve özellikle İran ve Doğu Anadolu kökenli bir bitki olduğu konusunda birleşmektedirler. Kavun, dünyada ikincil gen merkezi olarak Türkiye' den, Japonya' ya kadar olan geniş bir alana yayılmış önemli bir sebze türüdür. Türkiye'de zengin yerel kavun populasyonlarının olduğu değişik araştırmacılar tarafından belirtilmiştir; Zhukovsky (1951) ve Günay (1993), kavunun Avrupa'ya Anadolu'dan götürüldüğünü ve özellikle de Fransa, Almanya ve İtalya' da geniş çapta yetiştiriciliği yapılan kantalop kavununun, Van yöresinden Romalı misyonerler tarafından alınarak yayıldığını belirtmişlerdir. Bu görüşlerin ışığı altında, kavunun anavatanını en kuvvetli görüş olarak Anadolu, İran ve Orta Asya olarak kabul etmek mümkündür(Pitrat ve ark., 1999).

Dünyanın ikinci büyük kavun üretici ülkesi olan Türkiye, kavunun ikincil gen merkezleri arasında yer almaktadır (Pitrat ve ark. 1999). Yerel kavun populasyonlarının, doğal mutasyonlar ve kavunun dölleme yapısından kaynaklanan özelliklerden dolayı, zengin bir çeşitlilik gösterme olasılığı yüksektir. Bu zengin hazinenin kaybolmasını önlemek ve seçilecek materyallerin ıslah çalışmalarında kullanılmasını sağlamak amacıyla, gen kaynaklarının korunması ve bunların içinden seleksiyon çalışmaları devam etmektedir (Şensoy, 2005).

Kabakgil bitkilerinin üretimi sırasında karşılaşılan hastalık ve zararlılar üretimde en büyük sorunu oluşturmaktadırlar. Zitter ve ark. (1996) yaptığı çalışmada kabakgil sebze türlerinde önemli düzeyde verim ve kalite kaybına yol açan 200'den fazla hastalık olduğunu bildirmiştir. Kabakgil bitkilerinde hastalıklara neden olan etmenler arasında virüslerin sebep olduğu zararların daha fazla olduğu bildirilmektedir (Yılmaz ve Çığışar, 2006). Viral hastalıklar dünya çapında önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Kabakgil bitkilerinde 50'den fazla virüs ve 4 viroid enfeksiyon meydana getirmektedir. Kabakgil virüslerinin bir kısmı henüz tam olarak karakterize edilememiş olup aynı virüs farklı adlarla isimlendirilmektedir. Kabakgillerden bugüne kadar 35'ten fazla virüs izole edilmiştir (Provvidenti ve ark., 1996). Lisa ve Lecoq (1984), kabakgillerde 32 adet virüs

ve virüs benzeri hastalık etmeni tespit edildiğini ve bu virüslerin 26 tanesi mekanik olarak özsu ile 9 tanesinde tohum ile taşındığını rapor etmişlerdir. Bunlar içerisinde ise; ZYMV, CMV, Squash Mosaic Virus (SqMV), WMV-2 ve Papaya Ringspot Virus (PRSV)'nün kabakgillere zarar veren önemli virüsler olduğunubildirmişlerdir. Meng ve ark. (2007) ve Gu- Qinsheng ve ark. (2002) , kabakgillerde 46 virüs türünün hastalık yaptığını ve bunlardan en önemlilerinin ise ZYMV, WMV, CMV, PRSV-W ve SqMV olduğunu belirlemişlerdir.

Lecoq ve ark. (1992) Fransa'da kabakgillerin çok sayıda virüs hastalığından etkilendiğini, bunların başında da afitlerle taşınan CMV, WMV-2 ve ZYMV'nin geldiğini, CABYV virüsünün de üretim alanlarında önemli ölçüde soruna neden olduğunu belirtmişlerdir.

Dogimont ve ark. (1996) Fransa'da gerçekleştirdikleri bir çalışmada Cucurbitaceae familyasındaki bitkilerin afit kaynaklı birçok virüsten etkilendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında CMV, WMV-2 ve ZYMV adlı virüslerin yaygın olduğunu, bununla birlikte son yıllarda tanımlanan ve kabakgil afit kaynaklı sarılık virüsü (CABYV) adı verilen virüsün de kabakgil üretim alanlarında saptandığını bildirmişlerdir.

Mekanik inokülasyon çalışmaları, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) testleri sonucunda virüs ile infekteli olduğu saptanan bitkilerden elde edilen izolatların biyolojik tanısı amacıyla yapılmaktadır. Keçe ve ark.(2016), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde karpuz yetiştirilen alanlarda karpuz mozaik virüsünün (WMV-2) biyolojik ve serolojik olarak belirlenmesinde Mandal ve ark. (2001)'nin önerdiği mekanik inokülasyon yöntemini kullanmışlardır. Genç bitki dokularını, içerisinde soğuk 0.01 M potasyum fosfat tampon çözeltisi (0.01 M 2- mercaptoethanol içeren, pH 7.0) bulunan bir havanda, 1g bitki dokusu \5ml tampon çözelti oranında parçalamış ve elde edilen ekstraktları, karborandum tozu serpilmiş indikatör bitkilerin yaprakları üzerine inoküle etmişlerdir. Daha sonra yaprakları bitki artıklarının uzaklaştırılması amacıyla, çeşme suyu ile yıkamışlardır. Mekanik inokülasyon çalışmalarında, her bir indikatör bitki türünden 5'er adet WMV-2 ile bulaştırırlarken, 5'er adet bitkiyi kontrol olarak bırakmışlardır. Araştırmacılar bütün indikatör bitkileri, 22-24 °C sıcaklık, % 70 nem, 16/8 saat ışık/karanlık periyodu ve 5000 lüks ışık şiddetine sahip iklim odalarında muhafaza etmiş ve simptom çıkışını günlük olarak gözlemişlerdir. Skala değerlerine

göre dayanıklı genotipleri belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre ıslah çalışmalarına başlamışlardır.

Erdiller ve Özyanar (1983)'ın Ankara'nın Kalaba semti civarında hıyar ekim alanlarından topladıkları örneklerde; mekanik inokulasyon, serolojik testler ve elektron mikroskobu çalışmalarında CMV'nin bulunduğunu saptamışlardır.

Nogay (1983), Marmara Bölgesinde 9 ilde *Cucurbitaceae* familyası bitkilerinde görülen virüsleri tanılamış, etmenlerin tohumla taşınıp taşınmadıklarını ve familya içindeki konukçularını saptamıştır. Bölgede hastalık yüzdeleri 1979 yılında yapılan araştırmalarda tespit edilmiştir. Alınan örneklerde biyolojik ve serolojik yöntemler, fiziksel özellikler ve elektron mikroskop incelemeleri ile CMV ve WMV-2 belirlenmiştir.

Değirmenci ve ark. (2006)'nın hıyarda ZYMV'nin çapraz koruma (cross protection) ile kontrolü için yaptıkları çalışmada mekanik inokulasyon yöntemi kullanmışlardır. ZYMV'nin şiddetli ırkını kabak bitkilerine iklim odasında mekanik olarak inokule ederek çoğaltmışlardır. Bu şekilde ZYMV-WK'i çoğaltmış ve canlı materyal üzerinde muhafazasını sağlamışlardır. Mekanik olarak inokule edilen bitkilerin genç yapraklarından simptom gelişimini tamamlayanlardan bazı yapraklar alarak $CaCl_2$ ile kurularak çapraz koruma çalışmalarında kullanılmak üzere buzdolabında muhafaza etmişlerdir. Araştırmacılar bitkiler üzerinde ZYMV'nin oluşturduğu simptomları bitkilerin ekiminden hasat dönemine kadar gözlemişlerdir. Simptomların çıkışını, şiddetli ırkın bitkilere bulaştırılmasından itibaren üçüncü ve beşinci haftada olmak üzere iki kez değerlendirmişlerdir. Bu değerlendirmeler sonucunda her tekerrürdeki bitkileri tek tek inceleyerek 0-9 skalasına göre hangi gruba girdiğini belirlemişlerdir.

Nogay ve Yorgancı (1984), Marmara bölgesinde kabakgilleri etkileyen virüs hastalıkları üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Kabakgillerde zararlı virüsleri bitkilerde oluşturdukları reaksiyonlar, fiziksel özellikler, serolojik testler ve elektron mikroskobu yöntemiyle tanımlamışlardır. Yapılan çalışmalarda, Anadolu yakasında CMV'nin, Trakya' da ise WMV-2'nin hakim olduğu belirlenmiştir.

Yardımcı ve ark. (2000) Isparta ilinde *Cucurbitaceae* familyası bitkilerinde hastalığa sebep olan viral etmenleri simptomatolojik ve serolojik yöntemlerle belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda enfeksiyona ZYMV ve WMV-2 adlı virüslerin sebep olduğu saptanmıştır.

Vargün ve Ertunç (1995), kabak bitkisinde CMV ve ZYMV'nün birlikte ve ayrı ayrı enfeksiyonlarının bitki gelişimine (bitki boyu, çiçek ve yaprak sayısı, genç, orta ve yaşlı yaprak alanı) olan etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, ZYMV+CMV uygulamasının bitki boyu ve yaprak sayısında, CMV uygulamasının ise çiçek sayısında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklı çeşitlerin belirlenmesinde morfolojik ve moleküler belirteçlerden yararlanılmaktadır. Morfolojik olarak genotipleri birbirinden ayırmaya yarayan özelliklerin, çok eskiden beri bilinmekte olduğu değişik araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. Görsel olarak belirlenebilen, fenotipik kalitatif bu özellikler genellikle sayıları çok fazla olmayan, mutasyon sonucu oluşmuş epistatik etkiye sahiptir. Son yıllarda morfolojik belirteç kullanımının bu olumsuzluklarını giderebilecek protein ve DNA farklılıklarından yararlanan moleküler belirteçler kullanılmaya başlanmıştır. Proteinlerde meydana gelen değişikliklerle oluşan izoenzimler, belirteç olarak kullanılmaya başlanmış, fakat bu belirteçlerin de sayısının az oluşu ve çevre koşullarından etkilenmeleri kullanımını kısıtlamıştır. DNA moleküler belirteçleri ise DNA dizilimindeki değişikliklerin tespitiyle yararlanan sayılarının çok oluşu ve çevre koşullarından etkilenmemeleri sebebiyle çok faydalı olmuşlardır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Zhao ve ark (2003) Çin'in Hangzhou şehrinden farklı kabakgil bitkilerinden elde ettikleri ZYMV izolatlarından 4 tanesinin tüm genomun ve yine 4 tanesinin kılıf proteinini kodlayan bölgeyi de kapsayacak şekilde genomun 3' ucunun dizi analizini yaparak dünyada mevcut dizilerle karşılaştırmışlardır. Filogenetik analizler sonucunda, izolatların birbirinden farklı 3 gruba ayrıldığını saptamışlardır.

Kim ve ark. (2016), bal kabağında WMV ve ZYMV' e karşı dirençli çeşitleri belirlemek için RAPD ve SCAR markörleri geliştirmişlerdir. Bu markörlerle bal kabağı hatlarında dirençli ve hassas çeşitleri belirlemeyi hedeflemişlerdir. Yüz RAPD primeri taranmış ve sadece 4 primer (OPF10, OPF19, OPF20 VE OPL19) hem WMV hem de ZYMV için dirençliliği belirledikleri için seçilmiştir. RAPD primerlerinden bir tanesi ile başarılı olarak bir SCAR primeri dizayn edilmiştir (VirSq-F19). Bu markör sayesinde kabak ıslahında erken safhada WMV ve ZYMV e karşı dirençli çeşitlerin seçilebileceği bildirilmiştir.

Daryono ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada, kavunda CMV-B2 direnç geni için RAPD ve SCAR primerleri geliştirmişlerdir. Çalışmada F₂ bitkileri kullanılmış ve CMV-B2 direnç geni olan *Creb-2* için kullanılan 2 RAPD marköründen SCAR markörleri dizayn edilmiştir. Böylelikle SCAR markörleri kullanılarak kavunda *Creb-2* geni taranmış ve RAPD markörleri ile dayanıklı çeşitler sınıflandırılmıştır.

Amano ve ark. (2013), hıyarda ZYMV' e karşı dominantlığı sağlayan direnç genini *Zym* taşıyan çeşitlerde DNA markörlerini kullanarak genetik haritalama yapmışlardır. Çalışmada SSR ve CAPS markörleri kullanılmıştır. Toplam 125 SSR primeri kullanılarak *Zym* geninin bulunduğu lokus 6. kromozom için haritalama yapılmıştır. Ayrıca kullanılan 2 CAPS primeri ile ZYMV'e karşı dayanıklı çeşitler belirlenmiştir. Bu sonuçlarla, hıyarda ZYMV'e karşı dirençliliğin belirlenmesinde MAS kullanımının yaygınlaşabileceğini bildirmişlerdir..

Poleg ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada kavunda virüslere karşı dirençliliği belirleyecek moleküler markörleri araştırmışlardır. Dominant *Zym-1* geni ile bağlantılı bir SSR markörü bulunmuştur. ZYMV dirençliliğini içeren başka bir lokusta yeni bir SSR markörü geliştirmişlerdir. Ayrıca yakın izogenik hatlar (NIL) kullanılarak CMV'ye karşı dayanıklılıkla bağlantılı 4 RAPD markörü geliştirilmiştir. RAPD markörlerinin birisi sayesinde dayanıklı çeşit taramada yarar sağlayacak bir SCAR markörü dizayn edilmiştir.

Sipahioğlu ve ark. (2015), bazı yerli çerezlik kabak çeşit adaylarının ZYMV'ye karşı dayanıklılığını araştırmışlardır. Çalışmada 2005 yılında Kırşehir, Kayseri, Sakarya, Tekirdağ, Nevşehir ve Konya'dan toplanan genotipler kullanılmıştır. Dört yıl boyunca bu genotiplerin kendilenmesi ve seleksiyonu gerçekleştirilmiş ve S5 generasyonları üretilmiştir. Yüksek verimli, albenisi yüksek ve kolay çıtlanan 108 kabak çeşit veya genotipi toplanarak ZYMV'ye dayanıklılık bakımından test edilmiştir. Test edilen kabak çeşit adaylarının hiç birisinin ZYMV enfeksiyonuna karşı tolerant, dayanıklı ya da immun olmadığı belirlenmiştir. Test edilen ümitvar kabak bitkilerinin tümü, ZYMV Türkiye izolatına karşı şiddetli viral belirtiler sergilemiştir. Tüm testlenen adaylarda hastalık şiddetinin % 60 ile % 100 arasında değişen aralıklarda farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.

Pachner ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada sakız kabağında ZYMV'ye karşı dirençliliği belirlemek için fenotipik olarak gözlem ve moleküler markörler

kullanmışlardır. Üç dominant direnç geni (*Zym-0*, *Zym-1* ve *Zym-2*) için bir SCAR ve iki SSR markörü bulunmuştur. Bu üç markör sayesinde ZYMV'ye dirençlilik için gen piramitleri oluşturulmuştur.

Ling ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada karpuzda *eIF4E* geni tek nükleotid polimorfizminin Zucchini yellow mosaic virüsüne karşı dirençlilikle yakından bağlantılı olduğunu göstermişlerdir. Çalışmada SNP markörlerinden CAPS markörleri oluşturulmuştur. Araştırmacılar, karpuz eIF4E'nin tüm genomik sekansını elde etmeyi hedeflemişlerdir. Kullanılan CAPS markörleriyle ZYMV'e karşı dayanıklı hatları belirleyerek karpuzun ıslahına yardımcı olunması hedeflenmiştir.

Mandoulakani ve ark. (2015), kavunda ZYMV 'e karşı dirençli popülasyonları belirleyerek ISSR ve retrotranspozon markörleriyle genetik çeşitliliği belirlemişlerdir. REMAP-IRAP ve ISSR markörleriyle genetik çeşitliliği ve bu markörler ile ZYMV 'ye karşı dirençli popülasyonlar arasındaki ilişkiyi araştırmayı hedeflemişlerdir. Çalışmada 11 İran kavunu ve 12 ticari çeşit arasında 5 IRAP, 15 REMAP ve 20 SSR markörü taranmış, polimorfizm oranı % 75.41 olarak belirlenmiştir. Ayrıca kullanılan genotipler arasında ZYMV enfeksiyonuna karşı verilen reaksiyonda büyük farklılıklar gözlenmiştir

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Laboratuvarı ve Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait iklim odasında gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın ana materyalini Van Gölü Havzası'ndan toplanmış 22 adet kavun genotipi, 2 adet ticari çeşit ve pozitif kontrol için 3 adet dayanıklı çeşit oluşturmuştur (Çizelge 3.1). Virüs kaynağı olarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü virüs koleksiyonunda yer alan oldukça şiddetli yerli ZYMV virüs izolatu kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kavun genotipleri

Genotip	Orijin	Temin Edildiği Yer	Genotip	Orijin	Temin Edildiği Yer
U6	Van	Van-Sihke-Kıratlı	YYU39	Van	Van-Erçek-Aktaş
U7	Van	Van-Sihke	YYU40	Van	Van-Edremit-Köprüler
U10	Van	Van-Sihke	YYU45	Van	Van-Edremit-Köprüler
U11	Van	Van-Sihke-Kıratlı	YYU47	Van	Van-Edremit-Köprüler
U13	Van	Van-Sihke-Kıratlı	YYU24	Van	Van-Edremit-Köprüler
U19	Van	Van-Ünseli	YYU46	Van	Van-Muradiye
U22	Van	Van-Erciş	YYU41	Van	Van-Muradiye
U25	Van	Van-Erçek-Irgatlı	YYU42	Van	Van-Sihke
U28	Van	Van-Erçek-Irgatlı	T1	Kırkağaç	
U30	Van	Van-Erçek-Irgatlı	T2	Lokum	
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/Ayas	Çukurova Üniv.
YYU15	Van	Van-Erçek-Irgatlı			

3.2.Yöntem

3.2.1. Virüs kaynağının oluşturulması

Çalışmada referans virüs kaynağı olarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü virüs koleksiyonunda yer alan oldukça şiddetli yerli

ZYMV virüs izolatu kullanılmıştır. Bu amaçla ilk olarak ZYMV'ye hassas olduğu bilinen ‘‘Sakız kabağı’’ iklim odasında birkaç saksıya ekilerek geliştirilmiş ve kotiledon yaprak dönemine ulaştığında şiddetli ZYMV izolatu bulaştırılarak virüs kültürü oluşturulmuştur. Bulaştırmadan yaklaşık bir hafta sonra virüsün tüm belirtileri inokule edilen kabak bitkilerinde gözlenmiştir. Elde edilen virüs kültürü, kavun genotiplerine bulaştırmada inokulum kaynağı olarak kullanılmıştır.



şekil 3.1. Sakız kabağı yapraklarında ZYMV nin neden olduğu mozaik, kabarcıklanma ve deformasyon görünümü.

3.2.2. 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 parsellerin deneme desenine göre c tekerrür ve her tekerrürde 4 bitki olacak şekilde ekilmiştir. Referans alışmalar dikkate alınarak 3 adet dayanıklı ve 2 adet ticari çeşit çalışmaya dhil edilmiştir. imlenmeden sonra iklim odası koşullarında gelişen 10 günlük bitkilerin kotiledon yapraklarına şiddetli ZYMV izolatu bulaştırılmıştır.



Şekil 3.2. Çalışmada kullanılan kavun genotiplerinin iklim odasında yetiştirilmesi.

3.2.3. ZYMV inokulasyonu

İklim odasında virüs kültürünün oluşturulduğu kabak bitkilerine ait semptomatik 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 amacı ile ekstrakt içerisine karborundum tozu ilave edilmiştir. İnokule edilen bitkiler daha sonra fosfat tamponu yakmalarına karşı çeşme suyu ile yıkanmıştır. Virüs bulaştırılan bitkiler semptom gelişimi için 22-24 °C sıcaklık, % 70 nem, 16/8 saat (ışık/karanlık) ve 10000 lüks ışık aydınlatma koşullarına sahip iklim odasında yetiştirilmiş ve semptom çıkışı için 3 er gün arayla gözlemlenmiştir (Sipahioğlu ve ark.,2015).



Şekil 3.3.Kavun genotiplerinin kotiledon yapraklarına ZYMV inokulasyon aşamaları.

3.2.4. Belirtilerin gözlenmesi, skalanın oluşturulması ve değerlendirme

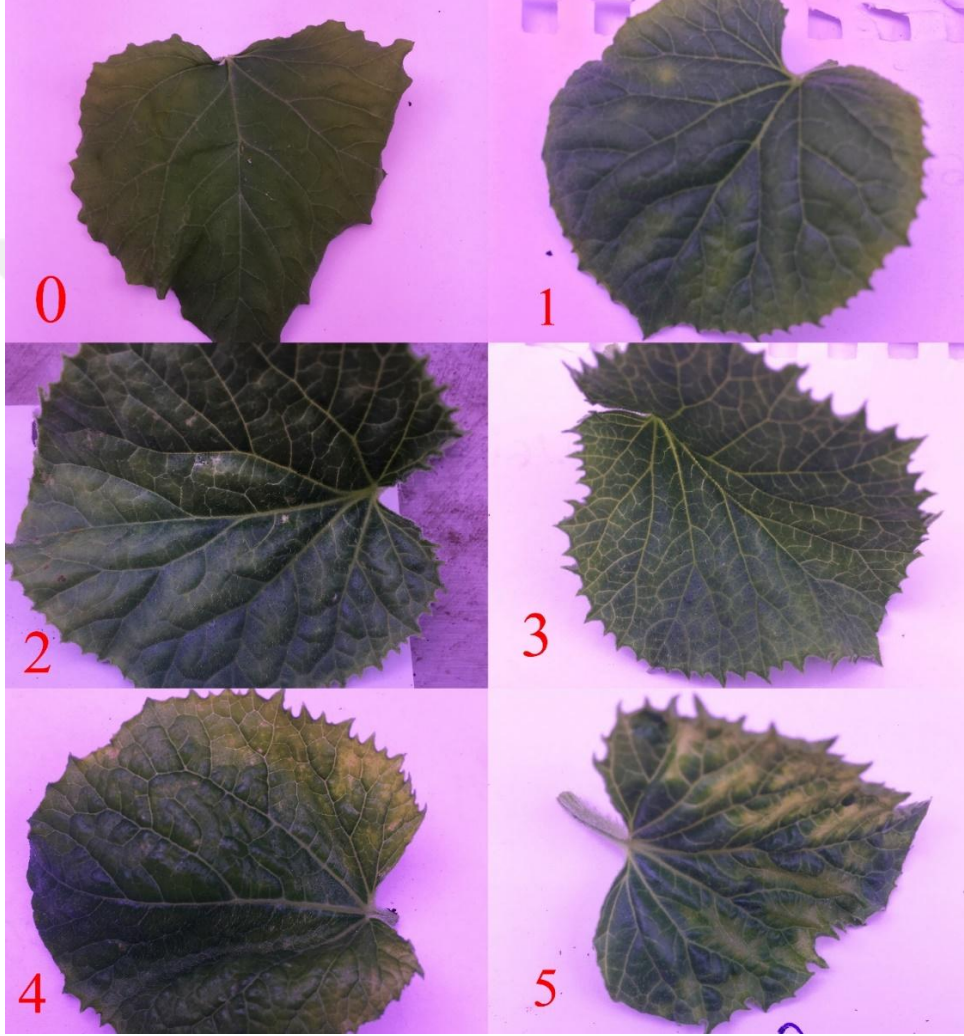
ZYMV ile inokule edilen fideler 1 hafta süre ile simptom gelişimi için beklenmiş ve bu süre sonrasında 0-5 skalasına göre bitkilerdeki hastalık şiddeti değerlendirilmiştir. Bu skalaya göre;

- 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 = iplik yapraklılık

Elde edilen skala değerleri Thousand Heuberger* formülü yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür (Eş.3.1).

$$*\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\sum (\text{Skala değeri} \times \text{Skalada değerlendirilen yaprak sayısı})}{\text{Toplam yaprak sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100 \quad (3.1)$$

Ortalamalar hesaplanırken her bir bitkiye ait tüm yapraklardaki belirtilere skaladan uygun değer verilmiş ve bu değerler yukarıdaki formüle göre hastalık şiddeti olarak hesaplanmıştır. Her genotip için 4 bitki kullanılmış ve elde edilen hastalık şiddeti toplanarak bitki sayısına (4) bölünmek suretiyle o gözlem dönemine ait ortalama hastalık şiddeti elde edilmiştir (Sipahioğlu ve ark.,2015).



Şekil 3.4. ZYMV'nin oluşturduğu hastalık şiddetini değerlendirmede kullanılan 0-5 skalasının değerleri ve yapraktaki görünümü. (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 = iplik yapraklılık dahil ağır hastalık belirtisi).

Virüs bulaştıktan sonra hastalık şiddetinin en fazla % 5 görüleceği genotipler tolerant, virüsün bulaşıp ancak hiçbir belirtisinin görülmediği bitkilerin dayanıklı ve

hiçbir bulaşmanın olmadığı bitkiler ise immün olarak değerlendirilmesi planlanmıştır. Denemeye alınan her genotipin inokulasyon sonrası virüse olan reaksiyonu periyodik olarak üç günde bir kaydedilmiştir.

3.2.5. DNA izolasyonu

İnokulasyon sonrası 0-5 skalasına göre değerlendirmeler yapıldıktan sonra her genotipten yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan yaprak örnekleri 24 saat süre ile -80°C 'de muhafaza edilmiştir. Bu süre sonunda örnekler bekletilmeden liyoflizatörde (CHRIST-ALPHA 2-4 LD plus) 2 gün süre ile bekletilerek kurutulmuştur. DNA izolasyonu Doyle ve Doyle'nin (1987), Doyle ve Dickson (1987) bildirmiş olduğu yöntem ve Cullings (1992)'nin yaptığı minor modifikasyonuna göre yapılmıştır.

Buna göre;

1. Yaklaşık olarak 0.5 g yaprak örneği liyofilizatör kullanılarak kurutulmuştur. Kurutulan örnekler Tissue Lyzer (QIAGEN-Tissue LyserII) ile öğütülmüştür.
2. Öğütülen örnekler 2 ml'lik eppendorf tüplere konularak tüp içerisine ayrıca 700 µl CTAB tampon çözeltisi (100 mM Tris-HCl, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, %2 CTAB, pH 8.0) , 10 µl merkaptolan ve 4µl RNase eklenmiştir.
3. Tampon çözeltisi eklendikten sonra tüplerin ağzı kapatılarak örnekler 65°C sıcaklığa sahip su banyosu içerisinde 30 dk bırakılmış ve bu süre içerisinde birkaç kez hafifçe karıştırılmıştır.
4. Su banyosundan çıkarılan örnekler biraz soğuduktan sonra tampon çözelti ile eşit hacimde 24:1 hacimli kloroform:izoamil alkol konularak 13500 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir.
5. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra ayırım tabakası oluşmuş ve bu tabakanın üstünde kalan sıvı (yaklaşık 350 µl) yeni 2 ml'lik eppendorf tüplerine aktarılıp üzerine 7.5 M soğuk Amonyum asetat (yaklaşık 28µl) ve 204 µl soğuk isopropanol eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Örnekler -20°C de 45 dk bekletilmiştir.
6. 45 dk bekletilen örnekler 13500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip DNA dibe çöktürülmüş ve geri kalan sıvı tüplerden uzaklaştırılmıştır.

7. Tüplere 700µl %70 soğuk etanol eklenip 13500 rpm’de 3 dakika santrifüj yapılarak yıkanma sağlanmıştır. Bu işlem iki kez tekrarlanmıştır.
8. Yıkama tamamlandıktan sonra kurutma işlemi yapılarak 100 µl TE solüsyonu (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA) eklenerek DNA yoğunluğu ve saflığı (A 260/280) NanoDrop (Thermo Scientific-Nanodrop2000) ile belirlenmiştir. DNA miktarı belirlendikten sonra 30 ng olacak şekilde seyreltme yapılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Elde edilen NanoDrop sonuçları

Genotip	DNA miktarı (ng)	DNA saflığı (260\280)
U6	250.50	1.81
U7	1978.10	1.73
U10	1057.00	1.65
U11	1531.00	1.99
U13	1052.10	1.96
U19	1671.10	1.92
U22	1453.20	2.00
U25	1267.00	1.92
U28	545.40	1.58
U30	1288,60	1.61
YYU/1	342.90	1.80
YYU/6	686,80	1.93
YYU/9	1089.50	1.80
YYU/39	915.00	2.06
YYU/40	887.00	2,02
YYU/45	592.00	1.90
YYU/47	2871.20	1.72
YYU/24	2038.00	2.09
YYU/46	1178.00	2.00
YYU/42	2975.30	1.70
T1	1977.70	2.05
T2	1863.00	2.06
CU-305	794.70	1.78
CU-100	1146.60	1.64
CU-328	678.00	1.88

3.2.6. PCR çalışmaları

Bu çalışmada, markör olarak Daryano ve ark. (2009) tarafından kavunda CMV-B2 direnç geni *Creb-2* i belirlemek için kullanılan 2 SCAR markörü, Kim ve ark.(2016) nın bal kabağında ZYMV ve WMV'e karşı geliştirdikleri 1 SCAR markörü, Amano ve ark.(2013) tarafından hıyar da ZYMV' e karşı *Zym* direnç genini belirlemek için kullanılan 2 CAPS markörü ve son olarak yine *Zym* geni için Ling ve ark.(2009) nın karpuzda geliştirdikleri 2 CAPS markörü kullanılmıştır. Bu primerlerin baz dizimleri farklı olduğu için kalıp DNA'ya yapışma sıcaklıkları da farklıdır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan primerler

Markör	Baz Dizilimi	Baz Uzunluğu	Bağlı Bulunduğu Gen
SCAPB05	AACGCGCAACTTGATACAAATATAG (F) AACGCGCAACAATAGAAGAACATC (R)	1046 bp	CMV-B2
SCOPE14	TGCGGCTGAGGACGGTTGGAGGTC (F) TGCGGCTGAGCATTCTCGAGCAG (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>	AGCAGGCGGTACATGAAGAT (F) CCTGTTCTGGATCCTCTCCA (R)	288 (236\52) bp	<i>zym</i>
dCAPS-G99A <i>Dra I (Enzim)</i>	ACGCAAAAGCCTCTCCGCTGTATTT (F) GCTCTCCAATCCAGCAACAT (R)	338 (313\25) bp	<i>zym</i>
CAPS -1 <i>MseI (Enzim)</i>	CCA ACA GCA AGA ACC GAA AG (R) TTT GGT TCG ATA ACC CAT CC (F)	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>

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. Bu döngüler aşağıda belirtilmiştir.

- SCAPB05\ SCOPE14 için; ilk önce 95 °C'de 5 dakika denatürasyon ile başlatılarak 30 döngü 95 °C'de 1 dakika denatürasyon, 60 °C'de 1 dakika bağlanma (primere bağlı olarak değişmek üzere), 72 °C'de 2 dakika bekletilmiştir. (Daryano ve ark.,2009).

- VirSq-F19 için; ilk önce 95 °C'de 5 dakika denatürasyon ile başlatılarak 35 döngü 95 °C'de 30 saniye denatürasyon, 54 °C'de 30 saniye bağlanma (primere bağlı olarak değişmek üzere), 72 °C'de 30 saniye ve son olarak 72 °C'de 7 dakika bekletilmiştir. (Kim ve ark.,2016).
- CAPS-1 ve CAPS-2 primerleri için; ilk önce 94 °C'de 3 dakika denatürasyon ile başlatılarak 35 döngü 94 °C'de 30 saniye denatürasyon, 55 °C'de 1 dakika bağlanma (primere bağlı olarak değişmek üzere), 72 °C'de 1 dakika ve son olarak 72 °C'de 10 dakika bekletilmiştir (Ling ve ark., 2009).
- CAPS-T86C ve dCAPS- G99A primerleri için; ilk önce 94 °C'de 1 dakika denatürasyon ile başlatılarak 35 döngü 95 °C'de 30 saniye denatürasyon, 54 °C'de 30 saniye bağlanma (primere bağlı olarak değişmek üzere), 72 °C'de 30 saniye ve son olarak 72 °C'de 7 dakika bekletilmiştir (Amano ve ark. 2013).

CAPS pimerleri için ayrıca; üreticinin prosedürüne göre 5 µl PCR ürünü *MnI I*, *Mse I*, *Dra I* ve *Pas I* enzimleri ile kesilmiştir. Her bir enzim optimum sıcaklıkta 3 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Elde edilen PCR ürünleri %1.5'lik agaroz jelde 90 V'ta 2 saat süreyle koşurulduktan sonra UV altında bant görüntüsü alınmıştır ve her primer için belirtilen bant boyutuna göre genotiplerde dayanıklılık genleri ile ilişkili belirteçlerin varlığı/yokluğu belirlenmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Sebzelerde, özellikle kabakgil ailesine zarar veren önemli virüs hastalıkları içerisinde CMV ve ZYMV'nin daha yaygın bulunması nedeni ile bu virüslerle mücadele yöntemleri büyük önem taşımaktadır. Bu virüs hastalıklarının sebze yetiştiriciliği açısından önemi son zamanlarda hızla artmaktadır. Vektörleri olan yaprak bitleri aracılığıyla etkili bir şekilde çok geniş alanlara kolayca taşınabilmeleri ve çok geniş konukçu dizisine sahip olmaları bu hastalık etmenlerinin önemini daha da artırmaktadır. CMV ve ZYMV virüs hastalıklarının bulunuşu, yayılışı ve zararı konukçu virüs-vektör ilişkisi içerisinde yıldan yıla, hatta mevsimden mevsime değişiklik göstermektedir. Bu nedenle bu virüs hastalıklarının neden olduğu zararı en alt seviyeye indirebilmek ve kontrol stratejilerini geliştirebilmek için öncelikle yetiştiriciliği yapılan kabak, hıyar, kavun ve karpuz bitkilerinde bulunan virüslerin erken teşhisinin yapılması gerekmektedir. Virüs teşhisinde gözleme dayanılarak yapılan simptomalojik tanıların mutlaka laboratuvarında yapılacak serolojik, biyolojik indeksleme ve moleküler testlemelerle doğrulanması gerekmektedir. Çünkü bir virüsün farklı ırkları aynı konukçuyu infekte edebildiği gibi, aynı konukçu üzerinde farklı belirtiler de oluşturabilmektedirler. Etmenin tanısı yapıldıktan sonra bu virüs hastalığının yayılmasını engellemek amacıyla gerekli önlemleri alınmalıdır.

Bu amaca yönelik yaptığımız çalışmada moleküler markörler aracılığıyla Van Gölü Havzası'nda bulunan kavun genotipleri arasında dayanıklı çeşitlerin belirlenmesi hedeflenmiştir.

4.1. Yapay inokulasyon yöntemi ile kavun genotiplerinin dayanıklılık durumlarının belirlenmesi

Klasik hastalık bulaştırma yönteminde çalışmada kullanılan 27 genotipin dayanıklılık durumları incelenmiştir. Kavun bitkilerine virüs bulaştırıldıktan sonra 0-5 skalasına göre değerlendirilen kavun genotiplerinin tamamının yüksek hastalık şiddeti gösterdikleri tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). ZYMV izolatları ile yapılan mekanik inokulasyon çalışmasında kavun bitkilerinin yapraklarında mozaik, sararma, kabarcıklanma, kıvrılmalar, iplikleşme ve beneklenme belirtileri ortaya çıkmıştır.

Şiddetli ZYMV izolatına karşı test edilen bitkilerin hiçbirinin virüse tolerant, dayanıklı ya da immun olmadığı saptanmıştır. Bu genotiplerde görülen hastalık şiddetinin %10-95 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Periyodik gözlemler ve skala ortalamaları ile elde edilen hastalık şiddeti (%) değerleri

Genotip	1.gözlem ort.	2.gözlem ort	3. gözlem ort.
U6	39.50	55.50	61.60
U7	Çıkış yok	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
YYU10	Çıkış yok	Çıkış yok	Çıkış yok
YYU39	56.25	55.00	57.30
YYU40	33.30	32.40	40.70
YYU45	Çıkış yok	Çıkış yok	Çıkış yok
YYU47	28.60	36.00	38.40
YYU24	33.30	40.60	49.80
YYU46	0	16.90	28.90
YYU41	Çıkış yok	Çıkış yok	Çıkış yok
YYU42	25.00	18.00	35.40
T1	58.30	30.50	42.90
T2	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

ZYMV'ye karşı tolerant, dayanıklı veya immun genotipleri belirlemek amacı ile yürütülen bu çalışma sonucunda denemeye dahil edilen tüm genotip ve çeşitlerin tümü duyarlı olarak bilinen izolat olarak kullanılan Sakız kabağında daha yüksek düzeyde hastalık şiddeti göstermişlerdir. Toplam 27 genotipin 24'ünde gözlem yapılmış ve tamamının ZYMV enfeksiyonuna oldukça duyarlı olması ve hiçbirinin tolerant ya da dayanıklı olmadığı görülmüştür. Denemeye alınan çeşit ve genotiplerin %75.16'sının ZYMV'ye duyarlı olduğu bilinen Sakız kabağında daha şiddetli belirtiler oluşturduğu, %24.84'inin ise Sakız kabağında gözlemlenen en küçük skala değerinin altında olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kontrol amaçlı kullanılan, Ekbiç ve ark.,(2010) tarafından

tespit edilen 3 dayanıklı (CU-305/CU-100/CU-328) kavun genotipinin yapılan skala sonuçlarına göre %20' nin altında hastalık şiddeti gösterdiği belirlenmiştir. Ortaya çıkan bu duruma açık tozlama ile alınan tohumların kullanılmasından dolayı oluşan heterozigotinin neden olduğu düşünülmektedir.

Ekbiç ve ark., (2010) yaptıkları çalışmada 67 kavun genotipinde ZYMV, WMV ve CMV'ye karşı dayanıklı genotipleri belirlemeye çalışmışlardır. Yapılan mekanik inokulasyon sonucu, 4 kavun genotipinin (CU-100/CU-305/CU-287/CU-328) ZYMV' ye, 3 kavun genotipinin (CU-305/CU-264/CU-276) WMV' ye karşı dayanıklılık gösterdikleri tespit edilmiştir. Çalışmada CMV' ye karşı dayanıklılık gösteren genotip bulunamamıştır.

Pitrat ve Lecoq (1984) yürüttükleri araştırmada kabakgillerde ZYMV'ye karşı olan dayanıklılığın *Zym* ismini verdikleri tek bir dominant gen tarafından kontrol edildiğini belirlemişlerdir.

Sipahioğlu ve ark., (2015) tarafından ZYMV' ye karşı dayanıklı çeşitleri belirlemek için yapılan çalışmada 108 kabak genotip ve çeşidin hiçbirinde potansiyel genetik dayanıklılık kaynağının tespit edilemediği bildirilmiştir. ZYMV hastalık etmeninin tarlalarda bu genotip ve çeşitlerde vektörler yardımıyla yayılmasına devam edeceğini belirtmişlerdir.

Provvidenti, (1997) *Cucurbita pepo*, *C. maxima* ve *C. moschata* türlerine ait test edilen tüm çeşitlerin ZYMV enfeksiyonuna oldukça duyarlı olduğunu tespit etmiştir. Etmene karşı yüksek düzeyde dayanıklılığı *Cucurbitae cuadorensis* (Equador) ve *C. moschata* Nijerya isimli iki yerel çeşitte belirlemişlerdir. Guner ve ark., (2008) yürüttükleri ZYMV'ye dayanıklı kabak çeşitlerinin belirlenmesine yönelik çalışmada Provvidenti (1991)'nin dayanıklı olarak tespit ettiği PI 482322, PI 482299, PI 482261, ve PI 482308 numaralı genotiplerin dayanıklı olmadıklarını, test ettikleri ZYMV-Florida ırkına karşı sadece orta düzeyde dayanıklılık sergilediğini rapor etmişlerdir.

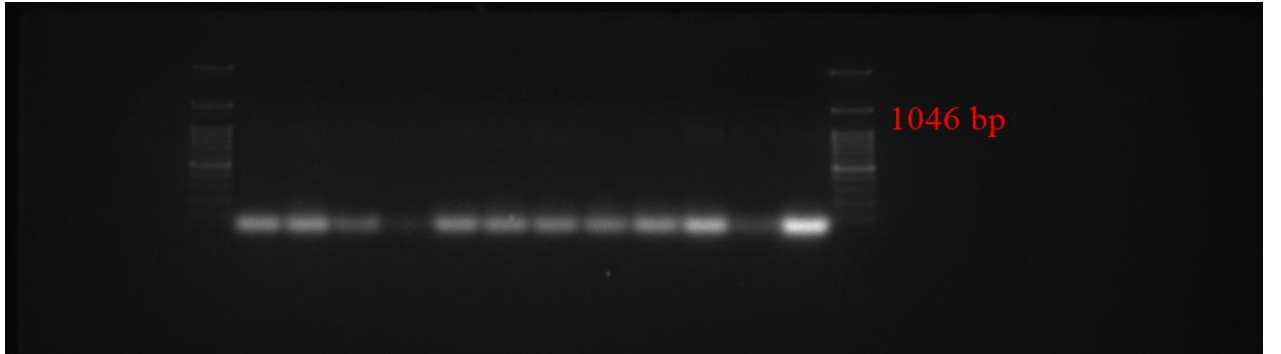
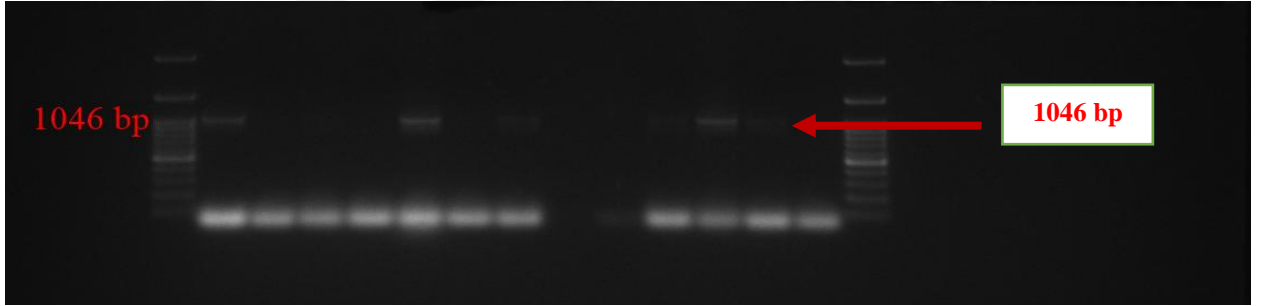
Çalışmamızda mekanik inokulasyon sonucu 27 genotip ve çeşidin hiçbirinde ZYMV' ye karşı dayanıklılık kaynağının tespit edilememesi hastalık belirtilerinin sıklıkla görüleceğini ve Van Gölü Havzası'ndan toplanan kavun genotiplerinin tamamının hastalığa karşı oldukça duyarlı olduğunu göstermektedir. Dünyada kavunda ZYMV'ye karşı genetik dayanıklılık kaynaklarının çok nadir görülmesinden dolayı genetik dayanıklılık çalışmalarının hızla araştırılmaya devam edilmesi ve virüse karşı

dayanıklı bitkilerin kullanımının yaygınlaştırılması için ZYMV ile mücadele önemli bir yere sahip olacaktır.

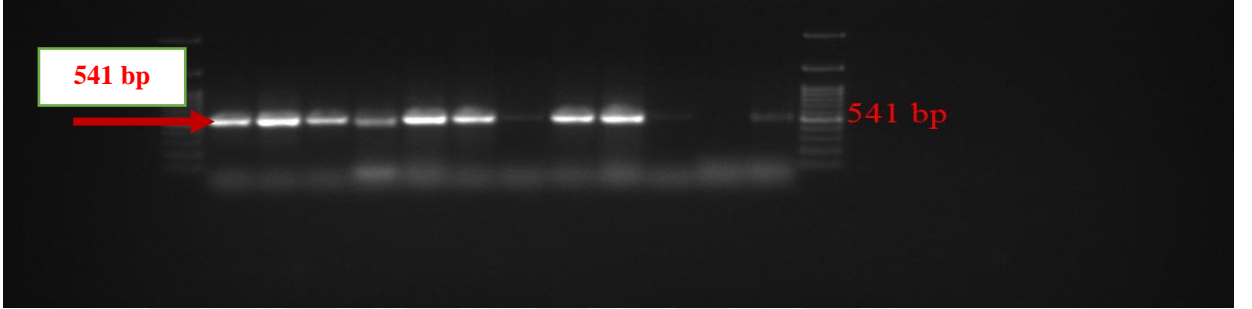
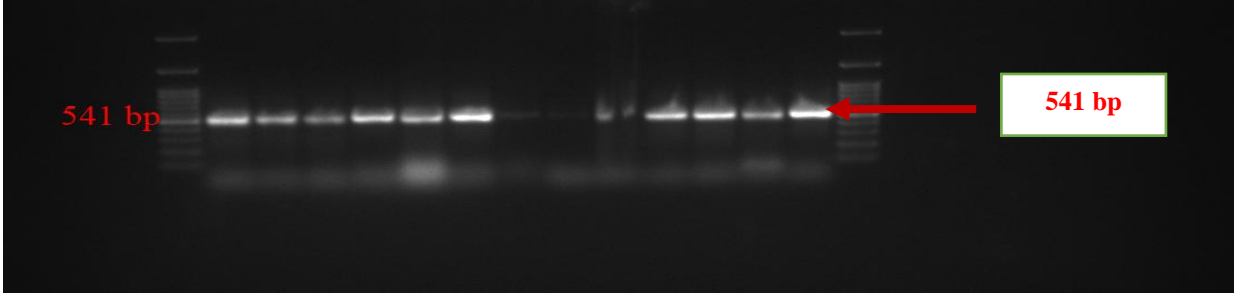
4.2. Moleküler belirteçlerle kavun genotiplerinin dayanıklılık durumlarının belirlenmesi

Kavunda ZYMV, CMV ve WMV hastalıklarına karşı dayanıklılığı belirlemede, özellikle kavunda bulunan dayanıklılık genlerine bağlanan CAPS ve SCAR primerlerinin kullanıldığı bilinmektedir. Buna bağlı olarak kavunda dayanıklılık genlerine bağlı SCAPB05, SCOPE14, VirSq-F19 SCAR primerleri ile CAPS-T86C, dCAPS- G99A, CAPS-1 ve CAPS-2 primerleri kullanılmıştır.

Bu çalışmada, markör olarak Daryano ve ark. (2009) tarafından kavunda CMV-B2 direnç geni *Creb-2* i belirlemek için kullanılan 2 SCAR marköründe sonuç elde edilmiştir. İlgili gen bölgesi SCAPB05 ve SCOPE14 primeri kullanılarak çoğaltılmıştır. PCR ürünlerinden 15 µl alınarak agaroz jele yüklenmiştir. Şekil 4.1. ve Şekil 4.2' de 1046 bp ve 541bp büyüklüğündeki DNA bant profilleri görülmektedir.

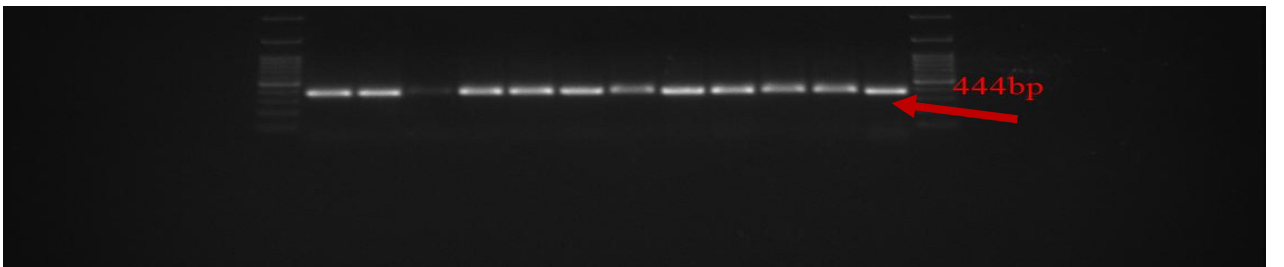
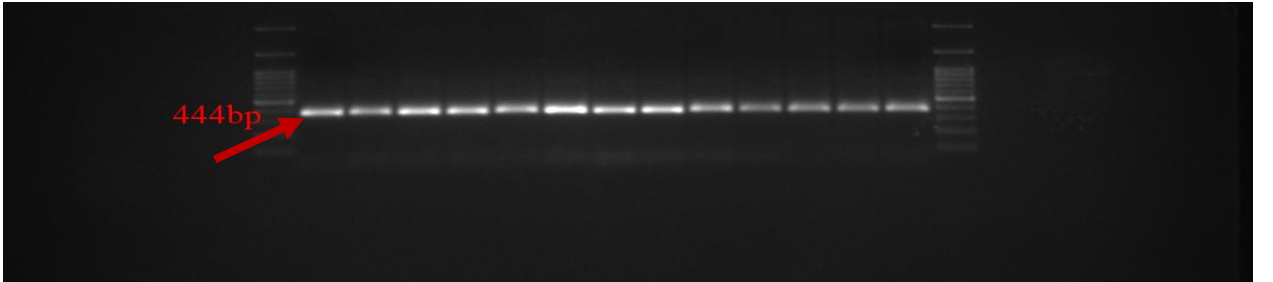


Şekil. 4.1. SCAPB05 SCAR primerine ait 25 genotip için jel görüntüsü.



Şekil 4.2. SCOPE14 SCAR primerine ait 25 genotip için jel görüntüsü.

Kim ve ark.(2016) nın bal kabağında ZYMV ve WMV'e karşı geliştirdikleri VirSq-F19 SCAR markörü kullanılmıştır. PCR ürünlerinden 15 µl alınarak agaroz jele yüklenmiştir. Şekil 4.3.'de 444bp büyüklüğündeki DNA bant profilleri görülmektedir.



Şekil 4.3. VirSq-F19 SCAR primerine ait 25 genotip için jel görüntüsü.

Çalışmamızın bu aşamasında dayanıklılık genlerinin tespiti için kullanılan *Creb-2* genine bağlı olarak geliştirilen SCAPB05₁₀₄₆ markırının 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 Daryano 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.

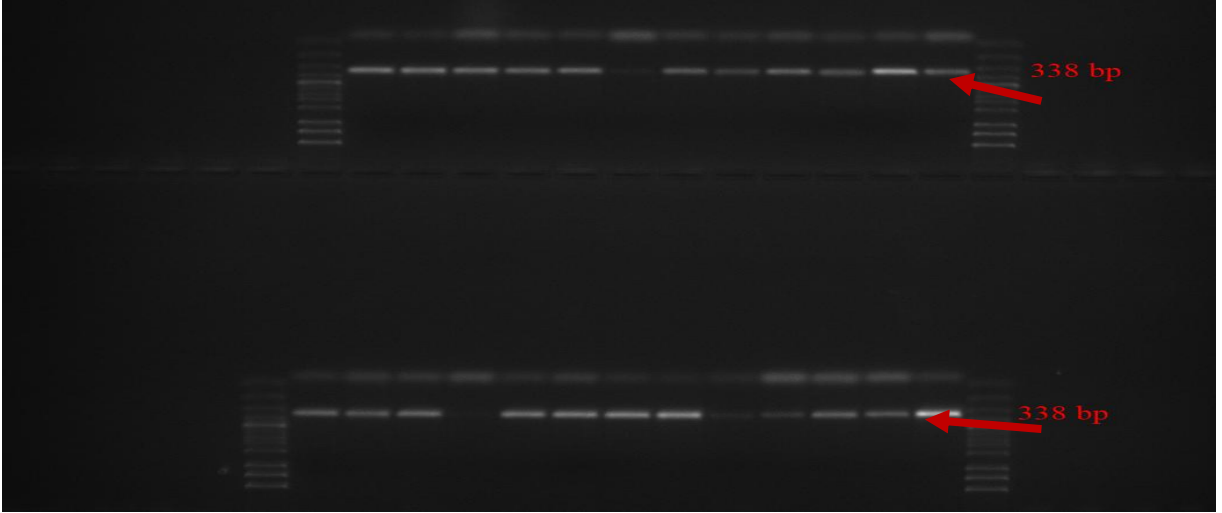
ZYMV ve WMV' ye karşı dayanıklılık genlerine bağlı olarak geliştirilmiş olan VirSq-F19 markırı YYU47 genotipi dışında tüm genotiplerde bant vermiştir. Kim ve ark.(2016) nın bal kabağında ZYMV ve WMV'e karşı geliştirdikleri bu markır bizim çalışmamızda da paralel sonuçlar vermiştir.

Eldeki bulgulara göre; U22/ U25/U28/ U30 genotipleri sadece *ZYMV/WMV* genleri ile ilişkili belirteçleri taşıırken, YYU47 genotipi 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 dikkati çekmiştir (Çizelge 4.2).

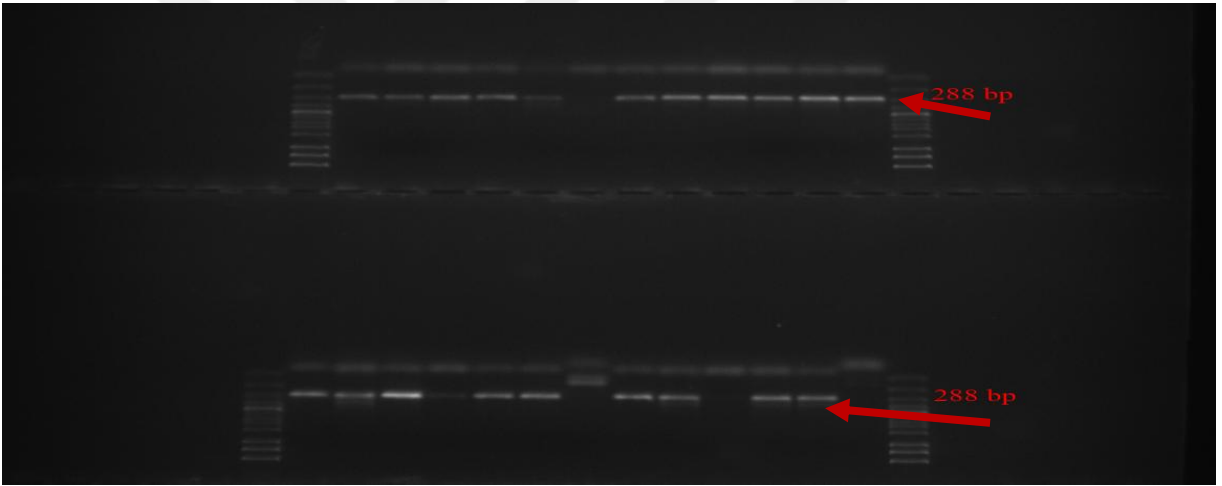
Çizelge 4.2. SCAR primerlerinin genotiplere göre mevcudiyeti

GENOTİP	MARKIR	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
YYU39	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU40	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU45	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU47	SCOPE14	CMV-B2
YYU24	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU46	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
YYU42	SCOPE14 /VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
T1	SCOPE14/ VirSq-F19	CMV-B2/ZYMV/WMV
T2	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

Amano ve ark., (2013) tarafından hıyarda ZYMV' e karşı direnç sağlayan geni (*zym*) belirlemek için kullanılan 2 CAPS (CAPS-T86C ve dCAPS- G99A) markörü ve son olarak yine *zym* geni için Ling ve ark.(2009) nın karpuzda geliştirdikleri 2 CAPS (CAPS-1 ve CAPS-2) markörü kullanılmıştır. Restriksiyon (kesim) enzimleri (*MnI I*, *Dra I*, *Mse I* ve *Pas I*) ile kesim aşamasına geçilmeden önce ilgili gen bölgesi çoğaltılmıştır. PCR ürünleri kesim enzimleri ile kesilerek inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda örnekler agaroz jelde ayrıştırılarak görüntülenmiştir. Elde edilen DNA bant profili dCAPS- G99A için Şekil 4.4.' de, CAPS-T86C için Şekil 4.5.' de görülmektedir.



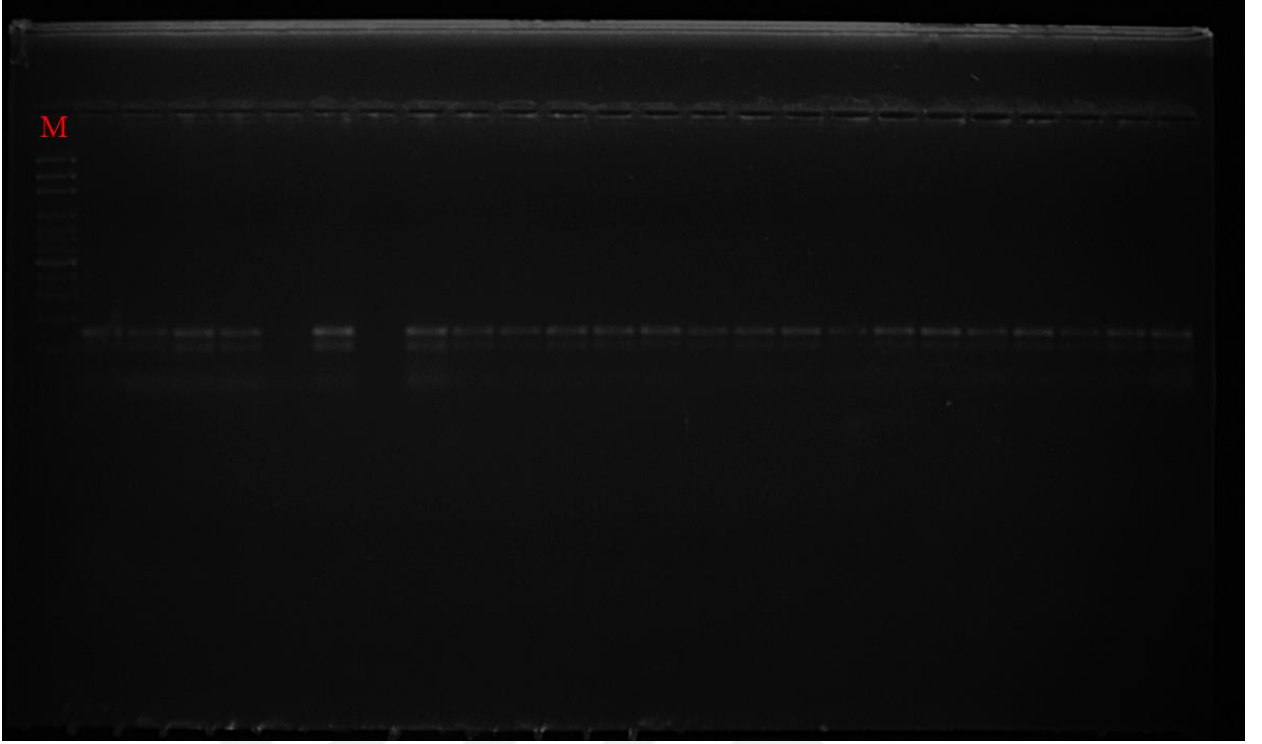
Şekil 4.4. dCAPS-G99A CAPS primerine ait jel görüntüsü.



Şekil 4.5. CAPS-T86C CAPS primerine ait jel görüntüsü.

Zym dayanıklılık genine bağlı olarak geliştirilmiş olan CAPS-T86C / dCAPS-G99A markörlerinin (Amano ve ark., 2013), 25 kavun genotipi üzerinde yapılan taramasında *Mnl I* ve *Dra I* enzimlerinde kesme görülmeyip, sadece bant aralığı CAPS-T86C için 288 bp’de sonuç alınırken, dCAPS-G99A için 338 bp de bant görüntüsü elde edilmiştir.

CAPS-1 ve CAPS-2 primerleri için sırasıyla; *Mse I* ve *Pas I* kesim enzimleri ile kesme işlemi gerçekleştirilmiş ancak CAPS-1 primerinden sonuç elde edilememiştir. CAPS- 2 primeri için elde edilen DNA bant profili Şekil 4.6.’ da görülmektedir.



Şekil 4.6. CAPS-2 CAPS primerine ait jel görüntüsü.

Zym geni için Ling ve ark.(2009) nın karpuzda geliştirdikleri CAPS-2 primerinin 25 genotipte yapılan taramasında 22-44 bp ve 299-278 bp bant aralıklarında sonuç elde edilememiştir.

Zym genine bağlı olarak geliştirilen 4 CAPS primerinden sadece ikisinden sonuç elde edilmiştir. dCAPS-G99A ve CAPS-T86C primerleri sayesinde istenilen gen gölgesi çoğaltılmış fakat kesim enzimleri (*Dra I/ Mnl I*) için istenilen bant aralıklarında kesme işlemi gerçekleşmemiştir. Elde edilen 288 ve 338 bp uzunluğundaki bant boyları Amano ve ark.(2013) tarafından hıyar da ZYMV' ye karşı direnç geni olan *zym* genini belirlemek için yaptıkları çalışma ile örtüşmektedir. Ancak kesme enzimleri ile kesim işleminin gerçekleşmemiş olması bu primerlerin kavun ıslahında uygulanabilirliğini açık bir şekilde kanıtlayamamıştır.

Çalışmada kullanılan CAPS-1 ve CAPS-2 primerleri PCR reaksiyonlarının birkaç kez denenmesine rağmen istenilen sonucu vermemiştir. Bu primerlerin sonuç vermeme nedeninin kesim enzimlerinin çalışmamasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kavun (*Cucumis melo* L.) Cucurbitaceae familyasına ait önemli bir bitkidir. Türkiye, Dünyada en önemli kavun üreticisi olan Çin'den sonra ikinci sırada yer almaktadır. Kavun yetiştiriciliğini etkileyen sorunlar içerisinde bitki hastalıkları en önemli problemdir. Bu hastalıklar içerisinde virüs hastalıkları ayrıca bir öneme sahiptir. Kavun çeşitlerini farklı seviyelerde etkileyen önemli virüs hastalık etmenleri içerisinde Cucumber mosaic virus, Watermelon mosaic virus 2, Zucchini yellow mosaic virus ilk sıralarda yer almaktadır.

Hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi için yapılan ıslah çalışmalarında dayanıklı çeşitleri belirleme en önemli basamağı oluşturmaktadır. Çok sayıda bitkinin kısa sürede uygun çalışma için mümkün olan en kolay, güvenilir ve düşük maliyetli yollarla seçilmesi son derece önemlidir. Bu nedenle birçok tarım ürünüde hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı çeşit geliştirmek amacıyla yapılan ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere moleküler belirteçler geliştirilmiştir. Moleküler çalışmalarını daha iyi hale getirmek için ilgili gen bölgesine daha yakın belirteçler bulmak ya da mevcut metodu iyileştirerek daha başarılı sonuçlar elde etmek için çalışmalar son zamanlarda hızla devam etmektedir.

Bu tez çalışması ile kavun yetiştiriciliğini sınırlayan ve etkin mücadele yöntemi bulunmayan CMV, ZYMV ve WMV'nin genotipler arasında saptanması için mekanik inokülasyon ve moleküler yöntemler başarı ile uygulanmıştır. Çalışma sonunda skala değerleri dikkate alındığında genotiplerin tamamının kullanılan ırka karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Moleküler belirteçler ile yapılan dayanıklılık çalışmalarında birçok genotipin farklı dayanıklılık genleri ile ilişkili belirteçlere veya bir genotipin birden çok dayanıklılık geni ile ilişkili belirtece sahip olduğu da görülmüştür. Özellikle kavunda dayanıklılık genlerine bağlanan SCAR primerleri kullanılmış ve genotiplerde *CMV-B2* geni ile ilişkili belirteçlerin varlığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Çalışmamızda kullandığımız genotip sayısını arttırarak daha geniş popülasyonlarda dayanıklılık genleri ile ilişkili belirteçler taranabilir. Çalışmaların devamını sağlamak amacıyla, MAS ve haritalama çalışmalarına yer verilerek araştırmanın detaylandırılması sağlanabilir. Ayrıca, dayanıklı çeşitleri belirlemede

kullanılan belirteçlerin dezavantajlarını ortadan kaldırmak için sekanslama ve RT-PCR çalışmalarının yapılması hedeflenmiştir. İleride yapılacak çalışmalarda; kullanılacak belirteçlerin kromozom üzerindeki yerleri ve *ZYMV/WMV* ve *CMV-B2* dayanıklılık genlerine yakınlığı fine mapping (yüksek çözünürlüklü haritalama) yapılarak belirlenmesi planlanabilir.

Tüm bu verilere göre, Van Gölü Havzası'ndan elde edilen genotiplerin ıslah çalışmalarında önemli bir materyal olacağı ve gen kaynaklarının yönetiminde kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir. Bu genetik materyalin ileride daha farklı çalışmalarda ışık tutacağı beklenmektedir.



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.
- Blua, M J., Perring, T M.,1989. Effect of Zucchini yellow mosaic virus on development and yield of cantaloupe (*Cucumis melo*). *Plant Disease* **73**: 317-320.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M J., Gibbs, A J., Watson, L., Zurcher, E.,1996. *Plant Virus Online*. Descriptions and Lists from the Vide Database.
- Coutts, B A., Jones, R A C., 2005. Incidence and distribution of viruses infecting cucurbit crops in the Northern Territory and Western Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, **56**(8): 847-858.
- Coutts, B A., Kehoe, M A., Jones, R A C., 2011a. Minimising losses caused by Zucchini yellow mosaic virus in vegetable cucurbit crops in tropical, sub-tropical and Mediterranean environments through cultural methods and host resistance. *Virus Research*, **159**: 141-160.
- Coutts, B A., Kehoe, M A., Webster, C G., Wylie, S J., Jones, R A C., 2011b. Zucchini yellow mosaic virus: Biological properties, detection procedures and comparison of coat protein gene sequences. *Archives of Virology*, **156**(12): 2119-2131.
- Cullings, K.W. 1992. Design and testing of a plant-specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. *Molecular Ecology*, **1**: 233-240
- Çetiner, S., 1993. Hastalıklara dayanıklı bitki ıslahında genetik mühendisliği. *Doğa-Tr. J. of Agriculture and Forestry*, **17**, 1121-1131.
- Çıtır, A., Kutluk, N. D., Sağlam, N., İlbağı H., 1998. Amasya, Çorum, Samsun ve Tokat illerinde hıyar ve kabak kültürlerinde görülen virüs hastalıklarının simptomatolojik ve biyolojik yöntemlerle tanıları. *VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongre Bildirileri, 21-25 Eylül 1998.*, Ankara, 331 335.
- Daryono, B. S., Wakui, K., Natsuaki, K. T., 2009. Development of random amplified polymorphism DNA markers linked to CMV-B2 resistance gene in melon. *Hayati of Biosciences*, **35**: 142-146.
- Davis, R.F., 1986. Partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Turkey. *Plant Dis.*, **70**: 735-738.
- Değirmenci, K., Güldür, M. E., 2006. Hıyarlarda *Zucchini yellow mosaic virüs* (ZYMV)'ün çapraz koruma (cross protection) ile kontrolü. *Bitki Koruma Bülteni*, **46** (1-4):13-23.
- Desbiez, C., Lecoq, H.,1997. Zucchini yellow mosaic virus. *Plant Pathology*, **46**: 809-829.
- Dogimont, C., Slama, S., Martin, J., Lecoq, H., Pitrat, M., 1996. Cucurbit AphidBorne Yellows Luteovirus in a melon Germ Plasm Collection, *Plant Disease*, **80**: 1379-1382.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin*, **19**: 11-15.
- Doyle, J. J., Dickson, E.E., 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon*, **36**: 715-722.

- 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.
- Erdiller, G., Ertunç, F., 1987. The effect of watermelon mosaic virus 1 infection on the physiological and biochemical activities of muskmelon (*Cucumis melo* L.). *J. Turkish Phytopathol*, **16**: 105-118.
- Erdiller, G., Özyanar, F., 1983. Salatalık Mozayik Virüsü (*Cucumber Mosaic Virus*, CMV)'nün Konukçusu *Cucumis sativus* L.'un Fizyolojik ve Biyokimyasal Faaliyetlerine Etkileri Üzerinde Araştırmalar, *Bitki Koruma Bülteni*, cilt 23, no: 2, 61p.
- Ertunç, F., 1992. Ankara ilinde kabaklarda enfeksiyon oluşturan viral etmenin teşhisi üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 13.
- FAO, 2016. Statistic Database. <http://faostat.fao.org/>. (21.05.2018).
- Fletcher, J D., Wallace, A R., Rogers, B T., 2000. Potyviruses in New Zealand buttercup squash (*Cucurbita maxima* Duch.): yield and quality effects of ZYMV and WMV 2 virus infections. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **28**:17-26.
- Francki, R I B., Mossop, D W., Hatta, T., 1979. Cucumber mosaic virus. Descriptions of Plant Viruses, No. 213 (No. 1 revised). *Commonwealth Mycological Institute, Association of Applied Biologists, Kew, Surrey*, England.
- Gallitelli, D., 2000. The ecology of Cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. *Virus Research*, **71**:9-21.
- Gilbert-Albertini, F., Lecoq, H., Pitrat, M., Nicolet, J.L., 1993. Resistance of *Cucurbita moschata* to watermelon mosaic virus type 2 and its genetic relation to resistance to zucchini yellow mosaic virus. *Euphytica*, **69**: 231-237.
- Gu-QinSheng, Roggero, R., Lenzi, R., Fan-ZaiFeng, Li-HuaiFang, YuZhengWang, Gu, Q.S, Fan, Z.F., Li, H.F. and Yu, Z.W., 2002. Detection of zucchini yellow mosaic virus in Northern China and resistance test in some watermelon cultivars, *Journal of Fruit Science*, **19** (3): 184-187.
- Guner, N., PesicVan-Esbroeck, Z., Wehner, TC., 2008. Screening for resistance to Zucchini yellow mosaic virus in 1654 watermelon cultivars and plant introduction accessions. *Crop Science*, **23**:40-46.
- Gülşen, O., Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *Alatarım* 4(2): 27-37.
- Günay, A., 1993. *Özel Sebze Yetiştiriciliği Cilt V*. A.Ü. Ziraat Fakültesi. Ankara. 117 s.
- Katis, N I., Tsitsipis, J A., Lykouressis, D P., Papapanayotou, A., Margaritopoulos, J T., Kokinis, G M., Perdakis, D C., Manoussopoulos, I N. ,2006. Transmission of Zucchini yellow mosaic virus by colonising and noncolonising aphids in Greece and new aphid species vectors of the virus. *Journal of Phytopathology*, **154**: 293-302.
- Kaya, A., Erkan, S., 2011. İzmir, Aydın, Manisa ve Balıkesir illerinde üretilen kabakgillerde viral etmenlerin tanınması ve yaygınlıklarının belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, **51** (4): 387- 405.
- Keçe, M.A., Kamberoğlu, M.A., 2016. Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Karpuz Yetiştirilen Alanlarda Karpuz Mozayik Virüsü (WMV-2)'nün Biyolojik, Serolojik ve Moleküler Olarak Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, **13**(03): 105-112.

- Kim, D. K., Seo, S., Kwon, S.B., 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.
- Kosaka, Y., Fukunishi, T., 1997. Multiple inoculation with three attenuated viruses for the control of cucumber virus disease. *Plant Disease*, **81**(7): 733-738.
- Köklü, G. and Yilmaz, Ö., 2006. Occurrence of cucurbit viruses on field-grown melon and watermelon in the Thrace region of Turkey, *Phytoprotection*, **87**: 123-130.
- Lecoq, H., Desbiez, C., 2012. Viruses of Cucurbit Crops in the Mediterranean Region, an Everchanging Picture. *Adv Virus Res.*, **84**: 67-126. Doi:10.1016/B978-0-12-394314-9.00003 8.
- Lecoq, H., Bourdin, D., Wipf-Scheibel, C., Bon, M., Lot, H., Lemaire, O., Herrbach, E., 1992. A new yellowing disease of cucurbits caused by a luteovirus, cucurbit aphid-borne yellows virus, *Plant Pathology*, **41**: 749-761.
- Ling, K., Harris, K. R., Meyer, J. D. F., Levi, A., Güner, N., Wehner, T.C., Bendahmane, A., Havey, M. J., 2009. Non-synonymous single nucleotide polymorphisms in the watermelon eIF4E gene are closely associated with resistance to *Zucchini yellow mosaic virus*. *Theor. Appl. Genet.*, Doi: 10.1007/s00122-009-1169-0.
- Lisa, V., Boccardo, G., D'Agostino G., Dellavalle G, d'Aquilio M., 1981. Characterization of a potyvirus that causes zucchini yellow mosaic. *Phytopathology*, **71**: 667-672.
- Lisa, V., Lecoq, H., 1984. *Zucchini yellow mosaic virus*. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, 282. Unwin Brothers Press, Surrey, UK.
- Mandal, B., Pappu, H.R., Csinos, A.S., 2001. Suppressive effect of acibenzolar-s-methyl (asm) on tomato spotted wilt virus. *Phytopathology*, **52**: 265.
- Mandoulakani, B. A., Rahmanpour, S., Shaaf, S., Khoei, S. G., Rastgou, M., Rafezi, R., 2015. Towards the identification of retrotransposon-based and ISSR molecular markers associated with populations resistant to ZYMV in melon. *South African Journal of Botany*, **100**: 141–147.
- Meng, J., Gu, Q. S., Lin, S. M., Peng, B., Liu, L. F., Tian, Y. P., Li, L., 2007. DotBlot hybridization for detection of five cucurbit viruses by digoxigenin-labelled cDNA probes, *Agricultural Sciences in China*, **6**(12): 1450-1455.
- Namba, S., Ling, K., Gonsalves, C., Slightom, J.L., Gonsalves, D., 1992. *Protection of Transgenic Plants Expressing the Coat Protein Gene of Watermelon Mosaic Virus II or Zucchini Yellow Mosaic Virus Against Six Potyviruses*. *Phytopathology*, **82**:940 - 946.
- Nameth, S.T., Dodds, J.A., Paulus, A.O., 1983. A new potyvirus associated with severe disease of cantaloupe (*Cucumis Melo*) in Southern California. *Phytopathology*, **73**: 793.
- Nault, L R., 1997. Arthropod Transmission of Plant Viruses: a New Synthesis. *Annals of the Entomological Society of America*, **90**(5): 521-541.
- Neergaard, P., 1977. Seed-borne viruses. *Chapter 3 in "Seed Pathology, vol. I."* Macmillan Press, London and Madras, 839p.
- Nogay, A., 1983. *Marmara bölgesi cucurbitaceae familyası kültür bitkilerinde görülen virüs hastalıklarının tanınması, tohumla geçiş durumlarının ve konukçu dizilerinin saptanması üzerinde araştırmalar*. (Doktora Tezi). Erenköy – İstanbul, 120s.

- Nogay, A., Yorgancı, Ü., 1984. Investigations on the Identification Seed Transmisison and Host Range of Virues Infecting the Culture Plant Cucurbitaceae in Marmara Region, *J. Turkish Path.*, **13**(1): 9-28.
- Nunez-Palenius, H.G., Gomez-Lim, M., Ochoa-Alejo, N., 2008. Melon Fruits: Genetic Diversity, Physiology and Biotechnology Features. *Critical Reviews in Biotechnology*. **28**:13-55
- Pachner, M., Paris, H. S., Winkler, J., Lelley, T., 2014. Phenotypic and marker-assisted pyramiding of genes for resistance to zucchini yellow mosaic virus in oilseed pumpkin (*Cucurbita pepo*). *Plant Breeding*, Doi:10.1111/pbr.12219.
- Palukaitis, P., Rossinck, M. J., Dietzgen, R. G., And Franckı, R. I. B., 1992. Cucumber Mosaic Cucumovirus, *In Advance inVirus Research Academic, San Diego*, 281-348.
- Perry, K L., Zhang, L., Palukaitis, P., 1998. Amino acid changes in the coat protein of cucumber mosaic virus differentially affect transmission by the aphids Myzus persicae and Aphis gossypii. *Virology*, **242**: 204-210.
- Perring, T.M., Farrar, C.A., Mayberry, K., and Blua, M.J., 1992. Research reveals pattern of cucurbit virus spread, *Calif. Agric.* **46**: 35-40.
- Pitrat, M., Chauvet, M. ve Foury, C., 1999. Diversity, History and Production of Cultivated Cucurbits. Proc. 1st Int. Symp. on Cucurbits. Eds. K. Abak & S. Büyükalaca. *Acta Hort.*,**492**:21-28.
- Pitrat, M., Hanelt, P., Hammer, K., 2000. Some comments on intraspecific classification of cultivars of melon. *Proc. Cucurbitaceae 2000*. (Eds. N. Katzir & H.S. Paris.) *Acta Hort.* **510**:29-36
- Pitrat, M., Lecoq, H., 1984. Inheritance of zucchini yellow mosaic virus resistance in *Cucumis melo* L. *Euphytica*, **33**: 57-61.
- Provvidenti, R., 1991. Inheritance of resistance to the Florida strain of *Zucchini yellow mosaic virus* in watermelon. *Horticultural Science*, **26**: 407-408.
- Provvidenti, R., Kyle, M.M., 1993. *Resistance to Viral Diseases of Vegetables*. Timber Press, Portland, OR; 8-43.
- Provvidenti, R., Zitter, T.A., Hopkins, D.L., Thomas, C.E.1996,. Diseases caused by viruses. In: *Compendium of Cucurbit Diseases*, Minnesota, USA, APS Press, pp. 37-45.
- Provvidenti, R., 1997. Resistance to viral diseases of cucurbits conferred by biotechnological and natural resistance genes, *China Vegetables 4*: 55-57.
- Poleg, Y., Tadmor, Y., Tzuri, G., Reis, N., Hirschberg, J., Katzir, N., 2002. Construction of a genetic map of melon with molecular markers and horticultural traits and localization of genes associated with ZYMV resistance. *Euphytica*, **125**: 373- 384.
- Quemada, H., Sive, L.C., Siemiak, D.R., Gonsalves, D., Slightom, J.L., 1990. Watermelon Mosaic Virus Iı And Zucchini Yellow Mosaic Virus: Cloning Of 3'-Terminal Region, Nucleotide Sequences, And Phytogenetic Comparisons. *J. Gen. Virol*, **71**: 1451-1460
- Racah, B., Galon, A., Eastop ,V F., 1985. The role of Flying Aphid Vectors in the Transmission of Cucumber Mosaic Virus and Potato Virus Y to Peppers in Israel. *Annals of Applied Biology*, **106**: 451-460.
- Robinson, R.W., Decker-Walters, D.S., 1997. *Cucurbits*. CAB International.

- Sarı, N., Pitrat, M., Abak, K., Yücel, S., 1994. Türkiye’de Yaygın Olarak Yetiştirilen Karpuz ve Kavun Çeşitlerinin Bazı Fungal Hastalıklara ve Virüslere Karşı Reaksiyonları. *Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, 25. Kuruluş Yılı Özel Sayısı*, 37-50.
- Schrijnwerkers, C.C.F.M., Hujiberts, N., Bos, L., 1991, Zucchini yellow mosaic virus; two outbreaks in the Netherlands and seed transmissibility, *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **97**: 187-191.
- Sharifi, M., Massumi,H., Heydarnejad,J., Pour,A.H., 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, H E., Holmes, E. C., Gildow, F E., Bothe-Goralczyk, M A., Stephenson, A.G., 2011.Experimental verification of seed transmission of Zucchini yellow mosaic virus. *Plant Disease*, **95**: 751-754.
- Sipahioğlu, H. M., Türkmen, Ö., Usta, M., Güller, A., Seymen, M., Paksoy, M., Fidan S., 2015. Bazı Yerli Çerezlik Kabak Çeşit Adaylarının Zucchini yellow mosaic virus’üne Karşı Dayanıklılığının Araştırılması. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, **2** (2): 136-143.
- Svoboda, J., Polak, J., 2002. Distribution, variability and overwintering of Zucchini yellow mosaic virus in the Czech Republic.. *Plant Protection Science*, **38**: 125-130.
- Şensoy, S., 2005. *Türkiye Kavunlarındaki Genetik Varyasyonun ve Fusarium Solgunluğuna Dayanıklılığın Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi 164 (Basılmamış).
- Şensoy, S., Buyukalaca, S., Abak, K., 2007. Evaluation of Genetic Diversity in Turkish Melons (Cucumis melo L.) Based on Phenotypic Characters and RAPD Markers. *Genetic Resource and Crop Evolution*, **54**:1351-1365.
- Şevik, M. A., Sökmen M. A., 2001. Samsun ilinde kabakgil bitkilerinde görülen virüs hastalıkları. *IX. Türkiye Fitopatoloji Kongre Bildirileri, 3-8 Eylül 2001, Trakya Üniversitesi Rektörlüğü Yayınları*, **45**:Tekirdağ, 180- 189.
- Şevik, M.A., Arlı-Sökmen M., 2003. Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey. *Plant Disease*, **87**: 341-344.
- Thomas, W., 1971. Watermelon mosaic virus, a disease of cucurbits in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **14**: 235–241.
- Tobias. I., Szabo, B., Salanki, K., Kuhlmann, H., Palkovics, L., 2008. Seedborne transmission of Zucchini yellow mosaic virus and Cucumber mosaic virus in Styrian Hulless group of Cucurbita pepo. Page 189 in: *Cucurbitaceae 2008, Proc. IXth EUCARPIA Meet. Genet. Breed. Cucurbitaceae. M. Pitrat, ed. Avingnon, France*.
- Tomlinson, J A., Carter, A L.,1970. Studies on the seed transmission of cucumber mosaic virus in chickweed (*Stelaria media*) in relation to the ecology of the virus. *Annals of Applied Biology*, **73**: 293-298.
- TÜİK, 2017. Sebzelelerin Yıllık Üretim Miktarı [.http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp](http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp) (10.06.2018).
- Vargün, Z., Ertunç, F., 1995. Sera koşullarında hıyar mozayik ve Zucchini sarı mozayik virüslerinin kabak bitkisinde karşılıklı etkileşimleri üzerinde araştırmalar, *VII. Türkiye Fitopatoloji Kongre Bildirileri, 26-29. Eylül.1995, Adana*, 387-391.

- Yardımcı, N., Özgönen, H., Arıcı, Ş.E., 2000. Isparta İlinde Cucurbitacea Kültürlerinde Görülen Virüs Hastalıklarının Tanılanması Üzerinde Çalışmalar, **III. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildirileri Kitabı**, 208-212. s., 11-13 Eylül, Isparta.
- Yılmaz, M.A., Davis, R.F., 1984. Purification and Particle Morphology of TMV, CMV and ZYMV Isolated from Various Cultivated Crops Grown Along the Mediterranean Coast of Turkey. **J. Turkish Phytopath.**, **13** (1): 29-38.
- Yılmaz, M. A., 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.
- Yılmaz, M.A., Abak, K., Lecoq, H., Baloğlu, S., Sarı, N., Kesici, S., Özaslan, M., Güldür, M.,1994. Control of zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) in cucurbits by ZYMV-WK Strain. **9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union-Kuşadası- Aydın-Türkiye**,353- 356.
- Yılmaz, M.A., Çığışar, İ., 2006. **Viroloji**. Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana, 281 s.
- Yuan, C., Ullman, D E., 1996. Comparison of Efficiency and Propensity as Measures of Vector Importance in Zucchini Yellow Mosaic Potyvirus Transmission by *Aphis gossypii* and *A. craccivora*. **Pytopathology**, **86**: 698-703.
- Zhao, M.-F., Chen, J., Zheng, H.Y., Adams, M. J., and Chen, J.-P., 2003. 00Molecular Analysis of *Zucchini yellow mosaic virus* Isolates from Hangzhou, China, **J. Phytopathology**, **151**: 307-311.
- Zitter, T.A., Murphy, J. A., 2009. Cucumber mosaic. **The Plant Health Instructor**, Doi:10.1094/PHI-I-2009-0518- 01.
- Zhukovsky, P., 1951. **Türkiye’nin Ziraii Bünyesi (Anadolu)**. (Tercüme edenler: C. Kıpçak, H. Nouiuzha ve S. Türkistanlı). Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. 1951. Yay. No:20., s 887.
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., Thomas, C. E., 1996, **Compendium of Cucurbit Diseases**, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA,87p.

ÖZ GEÇMİŞ

1990 yılında Erzurum’da doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 2009 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü’nden 2013 yılında mezun oldu. 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü’ne ÖYP Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2016 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaya devam etmektedir.

**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU**

Tarih: 28/06/2018

Tez Başlığı / Konusu:

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

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 10 sayfalık kısmına ilişkin, 06/06/2018 tarihinde /tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 (Yedi) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.


28.06.2018
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Sibel TURAN

Öğrenci No: 169101117

Anabilim Dalı: Tarımsal Biyoteknoloji

Programı: Tarımsal Biyoteknoloji

Statüsü: Y. Lisans

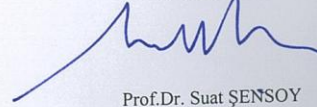
Doktora

**DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR**



Dr. Öğr. Üyesi Çeknas ERDİNÇ

**ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR**



Prof. Dr. Suat ŞENSOY