

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ISPARTA YÖRESİNDEKİ DOMATES KÜLTÜRLERİNDE
ENFEKSİYON OLUSTURAN VIRAL ETMENİN TANILANMASINA YÖNELİK
ÇALIŞMALAR**

Handan ERYİĞİT

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nejlâ YARDIMCI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BITKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

ISPARTA, 2004

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TESEKKÜR.....	iv
SEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	7
3.MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
3.1.Çalışma Bölgesi Hakkında Bilgi ve Domates Örneklerinin Toplanması.....	17
3.2. Test Bitkilerinin Yetistirilmesi.....	17
3.3. Test Bitkilerine Mekaniksel İnokulasyon Yöntemi.....	18
3.4. DAS-ELISA Testinin Uygulanması.....	19
3.4.1. Bitki Örneklerinin Hazırlanması.....	19
3.4.2. DAS-ELISA Yöntemi.....	20
3.4.3. ELISA Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	21
3.5. Nükleik Asit İzolasyonu ve Analizi Çalışmaları.....	21
3.5.1. Hişar Mozayik Virüsü'nün İzolasyonu ve Çoğaltılması.....	21
3.5.2. Hişar Mozayik Virüsü'ne ait dsRNA'nın İzolasyonu ve Analizi.....	22
3.5.3. dsRNA Analizi.....	24
4. ARASTIRMA BULGULARI	27
4.1. Sürvey Sonuçları.....	27
4.2. İnokulasyon Çalışmalarının Sonuçları.....	27
4.3. ELISA Testi Sonuçları.....	36
4.4. dsRNA İzolasyonu ve Analizi Sonuçları.....	43
5. TARTISMA ve SONUÇ.....	45
6. KAYNAKLAR.....	52
ÖZGEÇMİŞ.....	62

ÖZET

Bu çalışma, Isparta yöresindeki domates üretim alanlarında bulunan viral enfeksiyonun belirlenmesi amacıyla 2001-2003 yılları arasında yürütülmüştür. Üretim alanlarında yapılan sürveyler sırasında bitkilerde hiyar mozayik virüsünün tipik semptomlarının gözlenmesi araştırma bu doğrultuda yönlendirmiştir.

Tanılama çalışmalarında mekanik inokulasyon, DAS-ELISA testleri ve dsRNA analizi yapılmıştır.

Sürveyler sırasında toplanan yaprak örneklerinin, hassas test bitkilerine mekanik inokulasyonları sonucunda hiyar mozayik virüsü için tipik belirtiler gözlenmiştir.

Viral enfeksiyon belirtisi gösteren bitkilerden alınan toplam 138 örnek DAS-ELISA yöntemine göre test edilmiş ve bu örneklerden 56 adedinin CMV ile enfekteli olduğu saptanmıştır. Alınan örneklerin % 40.57'sinde CMV enfeksiyonu bulunmuştur.

CMV'nin dsRNA izolasyonu ve analizi çalışmalarında, çarpıcı sistemik enfeksiyon sergileyen *Nicotiana tabacum* "Xanthii", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN" ve *Capsicum annuum* L. bitkilerinin inokulasyondan 12 gün sonra hasat edilen 7'er gr enfekteli yaprak dokuları kullanılmıştır. Virüse ait dsRNA'lar %1.2'lik agar jelde 100 V.'da 2.5-3 saat süreyle elektroforetik ayırma tabi tutulduklarında CMV'ye ait üç banta sahip dsRNA profilleri elde edilmiştir. *Nicotiana tabacum* "Xanthii" ve *Capsicum annuum* L.'den elde edilen profiller *Nicotiana tabacum* "Samsun NN" den elde edilen profilden daha belirgin olduğu görülmüştür

Anahtar Kelimeler: Domates, Hiyar mozayik virüsü, ELISA, dsRNA Analizi.

ABSTRACT

This study was conducted between 2001 and 2003 to determine viral pathogens in tomato production areas in Isparta province. Due to high occurrence of cucumber mosaic virus (CMV) symptoms in field surveys the study mainly focused on identification of this virus in tomato plantations.

For this purpose, different identification methods including mechanical inoculation to indicator plants, DAS-ELISA and dsRNA analysis were used in this study. Virus-infected samples collected during surveys were first mechanically inoculated into sensitive indicator plants for symptom development. These plants produced typical CMV symptoms suggesting that field samples were infected with CMV.

Then 138 infected field samples were analyzed by DAS-ELISA. DAS-ELISA showed that among 138 samples, 56 were infected with CMV indicating that about 40.57% of the field samples were infected with CMV.

Later, 7 gr leaf samples were collected from systemically CMV infected *Nicotiana tabacum* "Xanthii", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN" and *Capsicum annuum* L. plants 12 days after inoculation for dsRNA isolation.

Finally, isolated dsRNA were analyzed in 1.2% agarose gel by electrophoresis at 100 volt for 2.5-3 hr. dsRNA analysis revealed the existence of CMV specific dsRNA profile in plants confirming the results of previous assays. DsRNA profiles observed in infected *Nicotiana tabacum* "Xanthii" and *Capsicum annuum* L. were more obvious than that of *Nicotiana tabacum* "Samsun NN".

Key Words: *Lycopersicon esculentum*, cucumber mosaic virus, ELISA, dsRNA Analysis.

TESEKKÜR

Çalışmalarım sırasında yakın ilgi ve yardımını gördüğüm, çalışmalarımın her aşamasında bana destek olan ve çalışma ortamı sağlayan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Nejla YARDIMCI' ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana büyük destek ve yardımcı olan S.D.Ü. Merkezi Arastırma Laboratuvarı'ndaki arkadaşım Meryem ATES'e içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca araştırmaya maddi destek veren Süleyman Demirel Üniversitesi, Arastırma Projeleri Yönetim Birimi ve Türkiye Bilimsel ve Teknik Arastırma Kurumu (TÜBİTAK) 'na teşekkür ederim.

20.07.2004

Handan ERYİĞİT

SEKILLER DIZINI

Sekil 3.1. DAS-ELISA yönteminin sematik olarak gösterimi	21
Sekil 3.2. Enfekteli bitki dokusundan dsRNA izolasyonu ve saflastırılması	24
Sekil 4.1. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Nicotiana rustica</i> 'ya yapılan mekanik inokulasyondan 13 gün sonra görülen belirtiler	29
Sekil 4.2. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Nicotiana glutinosa</i> 'ya yapılan mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler	29
Sekil 4.3. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Nicotiana tabacum</i> "White Burley"de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler	30
Sekil 4.4. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Nicotiana tabacum</i> "Xanthii"de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler	31
Sekil 4.5. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Nicotiana tabacum</i> "Xanthii"de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler	31
Sekil 4.6. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Nicotiana tabacum</i> "Samsun NN"de mekanik inokulasyondan 10 gün sonra görülen belirtiler	32
Sekil 4.7. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Nicotiana tabacum</i> "Samsun NN"de mekanik inokulasyondan 10 gün sonra görülen belirtiler	32
Sekil 4.8. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Capsicum annuum</i> L.de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler	33
Sekil 4.9. CMV belirtisi gösteren yaprak özsuğundan <i>Capsicum annuum</i> L.de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler	33
Sekil 4.10. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan <i>Cucumis sativus</i> 'a yapılan mekanik inokulasyondan 15 gün sonra görülen mozayik belirtileri	34

Sekil 4.11.CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsu­yundan <i>Chenopodium amaranticolor</i> 'a yapılan mekanik inokulasyondan 5 gün sonra görülen belirtiler	35
Sekil 4.12.CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsu­yundan <i>Chenopodium quinoa</i> 'ya yapılan mekanik inokulasyondan 7 gün sonra görülen belirtiler	35
Sekil 4.13.CMV belirtisi gösteren yaprak özsu­yundan <i>Lycopersicum esculentum</i> 'a yapılan mekanik inokulasyondan 14 gün sonra görülen belirtiler	36
Sekil 4.14. I.ELISA pleytinde pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerde meydana gelen renk değişimi	41
Sekil 4.15. 2. ELISA pleytinde farklı reaksiyon veren örneklerde meydana gelen renk değişimi	42
Sekil 4.16.3.ELISA pleytinde farklı reaksiyon veren örneklerde renk değişimi	42
Sekil 4.17. CMV ile enfekteli test bitkilerinden izole edilen dsRNA'ların elektroforetik analizleri.....	44

ÇİZELGELER DIZINI

Çizelge 3.1. Hiyar Mozayik Virüsünün İzole Edilmesinde ve Konukçularinin Saptanmasında Kullanılan Test Bitkileri... ..	18
Çizelge 3.2. dsRNA Analizinde Kullanılan Tampon Çözeltiler	25
Çizelge 4.1. CMV'nin Test Bitkilerinde Oluşturduğu Belirtiler	28
Çizelge 4.2. DAS-ELISA Testlerinde Elde Edilen Absorbans Değerleri.....	37
Çizelge 4.3. Isparta ilinde domates yetistirilen alanlardan alınan örneklerde DAS-ELISA sonuçlarına göre CMV'nün bulunma oranları	40

1. GIRIS

Ülkemizin sahip oldugu farklı ekolojik koşullar, geniş ve çeşitli tarım kollarının uygulanmasına olanak sağlamaktadır. Her mevsimde bir çok sebzenin yetistirilebildiği ülkemiz dünya sebze üretiminde besinci sırada yer almaktadır (Seniz, 1992). 2001 yılı istatistiklerine göre ülkemiz 800.000 hektar alan üzerinde 20 milyon ton sebze üretilmektedir. Meyvesi yenen sebzeler içerisinde domates 8.500.000 ton ile ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizdeki toplam domates üretiminin yarısına yakını sofralık domates, diğer yarısını da sanayi tipi domates oluşturmaktadır (Alan vd., 1992).

Sebzeler içerdikleri zengin mineral maddeler ve vitaminler nedeniyle insan beslenmesinde büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle gerek dünyada gerekse ülkemizde, artan nüfusun dengeli beslenebilmesini sağlamak için daha kaliteli ve bol sebze üretiminin gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

Gerek taze olarak gerekse gıda endüstrisinde işlendikten sonra tüketilen domates ülkemizin hemen her yöresinde yetistirilmektedir. Özellikle Ege, Marmara ve Akdeniz bölgesinde yoğun olarak üretimi yapılan domates Türkiye için ihracat açısından da önemli bir yere sahiptir.

Isparta ili Akdeniz Bölgesi ile İç Anadolu Bölgesi arasında bir geçit zonunda bulunması ve her iki bölgenin de ekolojik koşullarını yansıtmaları açısından sebze yetistireciliğinde önemli bir konuma sahiptir. Isparta ilinde yıllık sebze üretimi 147.634 ton civarındadır. Bu miktarın 85.000 tonunu domates oluşturmaktadır (Anonymous, 2001).

İklim koşullarının ve toprak özelliğinin uygun olması ayrıca sulama olanaklarının uygunluğu nedeniyle yörede özellikle domates tarımı giderek yaygınlaşmaktadır. Özellikle Çandır ve Çayköy yöresinde ağırlıklı olarak domates üretiminin yapıldığı görülmektedir.

Domates, *Solanaceae* familyasının *Lycopersicum* cinsi içinde yer alan ve meyveleri yenen tek yıllık bir kültür bitkisidir. Bu cins içinde çok sayıda tür bulunmaktadır. Kültür domatesi olarak yetistirilen tür *Lycopersicum esculentum* Mill' dur.

Domatesin anavatanı Orta ve Güney Amerika olup, kültür şeklinde kullanımı Peru kıyılarında başlamıştır (Günay, 1992). Domates, orjini olan Peru, Bolivya ve Ekvator'dan 16. yüzyılda Avrupa'ya getirilerek yetistirilmeye başlanmıştır. Anadolu'ya 150 yıl önce getirilmiş olup, günümüzde yaygın olarak yetistirilmekte ve sevilerek tüketilmektedir (Yazgan ve Fidan, 1996). Domates bugün beslenme programlarında önemli yeri olan bir sebzedir. Domatesin 100 gr'ında 0.55 mg vitamin B₆, 1700 IU vitamin A ve 0.10 mg vitamin B₁ ile 21 mg vitamin C bulunmaktadır (Sevgican, 1999).

Domatesin yemeklerde çesni ve renk kaynagi, sofralarda salata, çerez ve garnitür olması yanında salça, ketçap, domates suyu, tursu, reçel ve daha birçok şekilde bütün yıl boyunca bol miktarlarda kullanılması, bu değerli sebzenin ziraatinin günden güne gelişmesine yardım etmektedir (Bayraktar, 1970). Buna karşılık, ülkemizde domatesin ortalama verim değeri dünya ortalamalarının oldukça gerisinde ve iklim özellikleri ülkemize benzeyen birçok ülkeye göre %20-40 oranında daha azdır. Birim alandan alınan ürün miktarının artırılmasının yolu, verimli, kaliteli çesit seçimi, dikim şekli, sulama, gübreleme gibi tarımsal işlemlerin teknige uygun olarak yapılmasının yanında, domates üretim alanlarının yabancı ot, hastalık ve zararlılardan korunmasıdır (Seniz, 1993).

Domates yetistiriciliğinin yapıldığı bütün alanlarda fide döneminden hasata kadar geçen gelişme dönemlerinde 200'den fazla hastalık domates bitkisine zarar vermektedir (Chupp ve Sherf, 1960; Dixon, 1981; Berlinger, 1986; Watterson, 1986; Ganoo ve Saumtally, 1998;).

Tüm dünyada domatesi enfekte eden birçok fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmeni rapor edilmiştir. Fungal ve bakteriyel patojenlerden en önde gelenleri; domates mildiyösü (*Phytophthora infestans*), erken yanıklık (*Alternaria solani*),

külleme (*Leveillula taurica*), antraknoz (*Colletotrichum phomides*), kursuni küf (*Botrytis cinerea*), solgunluk (*Fusarium spp.*), yaprak lekesi (*Septoria lycopersici*), bakteriyel solgunluk (*Pseudomonas solanacearum*), bakteriyel benek (*Pseudomonas syringae pv. tomato*), bakteriyel leke (*Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*), yas çürüklük (*Erwinia carotovora*)'dir (Jones vd., 1997).

Domates üretim alanlarında görülen en önemli viral hastalıklar ise; Hiyar mozayik virüsü (Cucumber mosaic virus= CMV), domates mozayik virüsü (Tomato mosaic virus=ToMV), Patates X virüsü (Potato X virus), domates sari yaprak kivrıkligi (Tomato yellow leaf curl=TYLCV), Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus=TSWV), domates halkali leke virüsü (Tomato ring spot virüsü=TRSV)'dir (Coohen ve Nitzany, 1966; Berks, 1970; Ie, 1970; Hollings ve Huttinga, 1976; Francki vd., 1979; Powel, 1984). Bu hastalıklar domates verimini ve kalitesini sınırlayıcı düzeyde zararlı olabilmektedir.

Domateste görülen hastalıklar içerisinde virüslerin neden olduğu hastalıklar, yol açtığı yoğun zararlar ve mücadelesinde etkili bir kimyasal preparat bulunmayışı nedeniyle büyük öneme sahiptirler. Viral hastalıklar üretim materyali, mekanik yol ve vektör aracılığı ile kolayca bulaşabildiği için etkili bir mücadele yapılamamaktadır. Bu yüzden viral hastalıklardan kaynaklanan ürün kayıpları üretimi tehdit etmektedir. Son yıllarda virüs hastalıklarının verdiği ürün kayıpları bazı bölgelerde domates üretiminden tamamen vazgeçilmesine neden olmuştur. Viral hastalıklar sonucunda domates üretim alanlarında ortaya çıkan ürün kayıplarını ülkemizde Yorgancı (1975); %50 olarak ifade ederken, Filipinler'de Xuan vd., (1990); %45 olarak belirtmektedir.

Domateslere zarar veren viral hastalıklar arasında hiyar mozayik virüsü ilk sıralarda yer almaktadır. Bu yüzyilin başında Amerika Birleşik Devletleri'nde rapor edilen virüs günümüzde tüm kıtalara yayılmış durumdadır. Hiyar mozayik virüsünün konukçu çevresi oldukça geniştir. Etkilediği bitkiler arasında önemli endüstri bitkileri, sebzeler, tahıllar, baklagiller, yem bitkileri, meyve ağaçları, yabancı otlar ve süs bitkileri bulunur. Bugüne kadar virüsün konukçusu olarak yaklaşık 1000 adet

bitki türü saptanmıştır (Sikora, 1998; Hobbs vd., 2000; Roossinck, 2001). Genel olarak CMV ile enfekteli bitkilerde hastalık oranı arttıkça verimde de bir azalma göze çarpar (Nameth, 2002). Zarar sadece verim düşmesi ile kalmaz aynı zamanda ürünün kalitesi de düşer. Özellikle yaz ve sonbahar mevsimlerinde aktif olan virüs genç bitkileri etkilediği için zararı çok olmaktadır.

Tarimi yapılan tüm domates çeşitleri hiyar mozayik virüsüne duyarlıdır. Virüsle bulaşık bitkilerde yaprak ayasının incilmesi, mozayik, kıvrılma, damar açılması, bitkide cüceleşme, çalılama, meyvelerde çöküntü ile şekil bozukluklarının ortaya çıktığı ve hastalıklı meyvelerin ekonomik değerini kaybettiği belirtilmektedir. (Yorgancı ve Erkan, 1991).

Nüfusun giderek arttığı dünyamızda beslenmenin en önemli sorun olduğu bir gerçektir. Birim alandan daha fazla ürün almak, kaliteyi ve verimi yükseltmek amacıyla yapılan çalışmalar; çevresel koşulların düzenlenmesi, tarımsal faaliyetlerin uygun biçimde yapılması, bitkilerin ve ürünlerin hastalık ve zararlılardan korunmasını kapsar. Viral hastalıklarda korunma çalışmalarında öncelikle etmenin tanınması gereklidir.

Bitki hastalıklarında herhangi bir virüsün tanısını yapabilmek için birden fazla tanı yöntemi kullanılması önerilmektedir (Dodds vd., 1984a; Valverde vd., 1990; Matthews, 1991).

Virüs hastalıklarının tanısında çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Biyolojik indeksleme, hücresel yapıcıklar, vektörle taşınma özelliği ya da kapasitesi, serolojik testler, partikül morfolojisi ve viral nükleik asitlerle yapılan çalışmalar etmenlerin tanısında kullanılmaktadır. Ancak her metodun kullanımı ve başarılı olma şansı virüse ve konukçuya bağlıdır.

Serolojik testler basit, pratik ve kısa zamanda sonuca ulaşılması sebebiyle virüs teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca çok düşük virüs konsantrasyonlarında ve belirti göstermeyen enfeksiyonların tesbitinde de

kullanilabilir. Bu testlerle pozitif ve negatif reaksiyonlar görsel olarak ayirt edilebilmektedir. Bununla birlikte eger bitki birden fazla virüsle efekteli ise hedef alinmayan virüs tanimlanmayabilir (Clark ve Adams, 1977; Lange vd., 1983).

Sadece indikatör bitki kullanilarak yapilan tani yöntemleri de güvenilir degildir. Çünkü bitkinin göstermis oldugu reaksiyon ve simptomlar; çevre kosullari, bitki çesiti ve virüs streynine göre degisiklik gösterebilmektedir. Virüs bazi konukçularda simptom vermeksizin bulunabildigi gibi etmenin zayif irklari test bitkilerinde kesin taninabilir belirtiler olusturamamaktadır. Dolayisiyla sadece simptomatolojik yöntemle etmen tam olarak saptanamamaktadır. Bunun yani sira bu yöntem uzun zamana ve kontrollü genis yerlere gereksinim duymaktadır (Valverde vd., 1990).

Virüs enfeksiyonlarinin saptanmasinda efekteli bitkilerden dsRNA analizi ve izolasyonu yoluyla bir tani metodu gelistirilmistir. DsRNA yaklasimi; bir RNA virüsü ile ya da virüs benzeri etmenle enfekte olmamis bitkilerin ölçülebilir miktarda, yüksek moleköl agirlikli dsRNA çermeyecegi esasina dayanir. Bu yaklasima göre eger bir bitkide dsRNA var ise bu bize bitkinin bir RNA virüsü veya virüs benzeri bir etmenle enfekte oldugunu gösterir. Ortaya çikarilan bu dsRNA lar da bir tek sarmal RNA virüsünün ya da çift sarmal RNA virüsünün replikatif formuna ait genomu olabilir (Diaz-Ruiz ve Kaper, 1978; Morris ve Dodds 1979; Duran-Vila vd., 1986; Valverde vd., 1990).

Arastirmacilar tarafından, farkli türlerin dsRNA'larinin elde edilmesi viral enfeksiyonlar için ayrintili bir delil olarak yorumlanmistir. Çünkü her virüsün hatta her türün ya da izolatin dsRNA'sinin moleköl agirliklari birbirinden farklıdır. Analiz edilen farkli virüs gruplarinin, moleköl agirlik standartlari ile bagintisi incelenerek virüslerin teshisi yapilmaktadır. Moleköl agirlik standardi olarak önceden moleköl agirliğı bilinen bir makromolekül kullanilmaktadır (Diaz-Ruiz ve Kaper, 1978; Morris ve Dodds 1979; Duran-Vila vd., 1986; Valverde vd., 1990).

Bu metod diger yöntemler ile kiyaslandiginda basit ve göreceli olarak ucuz olmasi, konukçuya bakilmaksizin dsRNA'larin elde edilmesi, sonuçlarin 1-2 gün gibi kısa

sürede alınması, karışık enfeksiyonların da tanısında kullanılabilmesi ve hatta aynı virüsün farklı irklarının bile belirlenebilmesi gibi birçok avantajlara sahiptir. Bu yöntemle RNA virüslerinin enfekte ettiği bitkilerde oluşan dsRNA'lar tanımlanabilmektedir (Rosner vd., 1983; Jordan ve Dodds, 1983; Valverde ve Dodds, 1986).

Bu araştırma, yöredeki domates üretim alanlarında yoğun bir şekilde gözlenen ve hiyar mozayik virüsü belirtileri sergileyen etmenin farklı yöntemlerle tanınması amacıyla yürütülmüştür. Bitkilerin yapraklarında mozayik, kabarcıklar, kıvrılma ve meyve döneminde görülen kahverengi lekelerin yani sıra bitkilerin genellikle genç, büyüme ucuna yakın yapraklarının şiddetli mozayik ve ipliksi yaprak gelişimi sergilemesi ile bitkilerdeki bodurlaşmanın hiyar mozayik virüsü enfeksiyonundan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Araştırmaya bu gözlemler yön vermiştir. Isparta yöresindeki domates üretim alanlarında yetistirilen bitkilerde daha önce yapılan çalışmalarda CMV ve TMV serolojik yöntemlerle belirlenmiştir (Yardımcı ve Çulal, 2002). Ancak bu çalışma CMV'nin üç ayrı tanı yöntemi kullanılarak belirlendiği ilk çalışmadır. Tanılama çalışmalarında kullanılan ilk yöntem test bitkileri üzerinde gelişen semptomların değerlendirilmesidir. Şüpheli bitkilere uygulanan serolojik testler (DAS-ELISA) çalışmanın ikinci kısmını oluşturmıştır. Tanılamada kullanılan üçüncü yöntem ise viral etmene özgü dsRNA'nın moleküler düzeyde analiz edilmesidir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bu bölümde, domatestede yaygın olarak görülen ve en önemli viral hastalıklardan birisi olan hiyar mozayik virüsü ile ilgili yapılan çalışmalar özet halinde verilmiştir.

Cucumber mosaic virus, ilk olarak 1916'da Amerika'da tanımlanmıştır (Doolittle, 1916). Daha sonra Afrika, Avrupa ve dünyanın diğer yerlerinde rapor edilmiştir (Price, 1934).

Cucumber mosaic virus, *Bromoviridae* familyası *Cucumovirus* genusuna dahil bir virüs olup 365 takım ve 85 familyaya giren en az 1000 bitki türünü infektelemektedir (Francki vd., 1979; Kaper ve Waterworth, 1981; Tien vd., 1987; Sikora, 1998; Hobbs vd., 2000; Roossinck, 2001).

Virüs 28-30 nm çapında ve aynı sedimentasyon oranına sahip olan 3 tip ikosaedral partikülden meydana gelmektedir (Francki vd., 1979; Brunt vd., 1996). CMV'nin partiküllerinin %18'i tek sarmalli RNA ve %82'si proteinden oluşmaktadır. Viral genomun en büyük parçası 3.389 kb, ikincisi 3.035 kb, üçüncü en büyük parçası ise, 2.197 kb olarak belirlenmiştir (Paden ve Symons 1973; Lot vd., 1974; Brunt vd., 1996; Roossinck, 2001). Virüsün protein mantosunu oluşturmada rol oynayan RNA, RNAs 4 olarak isimlendirilir (Wang vd., 1988; Roossinck, 2001).

Hiyar mozayik virüsü ile ilgili olan diğer RNA türü ise Satellit RNA olarak isimlendirilen CARNA-5'dir (Kaper ve Waterworth, 1981; Martelli ve Quacquarelli, 1988; Roossinck, 2001).

Cillo vd., (2004), yaptıkları çalışmada bazı konukçularda CMV satRNA variantlarının CMV replikasyonunu, patojenitesini ve semptomlarını etkilediğini belirtmektedir.

CMV, domates tarımının yapıldığı hemen her yerde bulunmaktadır. Erken dönemde enfektelenen bitkiler çalılışmakta, sararmakta, küçülmektedir.

Nameth (2002), Hiyar mozayik virüsünün yaygın simptomlarını hafif veya şiddetli mozayik, yaprak bükülmesi ve şekil bozukluğu, çiçeklerde renk kırılması, bitkinin bodurlanarak sararması olarak ifade ederken, bazı araştırmacılar virüsün domates bitkilerinde neden olduğu en belirgin simptomu yaprakların ayakbağı şeklini alması olarak ifade etmektedir (Babadoost, 1988; Hassan, 1995; Brunt vd., 1996).

Hiyar mozayik virüsünün domateslerde meydana getirdiği bir simptom çeşiti de CARNA-5 ile ilgili olarak bitkilerde görülen hızlı nekrotik ölümlerdir (Kearney vd., 1990; Jorda vd., 1992; Fisher ve Nameth, 2000). Bununla birlikte CARNA-5 domateslerde nekrotik ölüm simptomu göstermeksizin yaprakların beyazlaşmasına da neden olabilmektedir (Sherf ve Macnab, 1986).

CMV, 60'dan fazla yaprak biti türüyle non-persistent biçimde taşınmaktadır ve taşınma oranı yaprak biti türüne ve konukçu bitki çeşidine göre değişmektedir (Dodds vd., 1984b; Palukaitis vd., 1992; Hassan vd., 1993; Brunt vd., 1996; Mercure, 1998).

CMV'nin domates, biber, patlıcan, ispanak, hiyar, fasulye, patates, muz gibi konukçularının yanı sıra krizantem, gladiyöl, çöl gülü, lale, petunya, zambak, sardunya, gibi süs bitkilerinde de önemli zararları bulunmaktadır (Ferreira, 1992).

Yorgancı (1975), İzmir ilinde domateslerde virüslerden kaynaklanan hastalık derecesini ve bulunus oranlarını saptamak için tipik izolatların fiziksel, morfolojik ve serolojik özelliklerini tanımlamıştır. Test bitkilerine mekaniksel inokülasyon sonucu, tütün mozayik virüsü, patates X virüsü ve hiyar mozayik virüsü için tipik belirtiler gözlemlenmiş ve serolojik testlerde bu virüslerin antiserumları ile oldukça iyi reaksiyon verdiğini tesbit etmiştir. Araştırmacı bu virüslerin domateslerde meydana getirdikleri ürün kaybını %50 olarak saptamıştır. Ayrıca elektron mikroskop çalışmalarında bu 3 virüse ait partikül şekil ve boyutları da belirlenmiştir.

Al-Musa ve Mansour (1983)'ün yaptıkları çalışmada, domateslerde hastalık oluşturan virüsler, test bitkileri, fiziksel özellikleri ve serolojik testler yaparak tanımlanmıştır. Çalışmada domateslerde en yoğun olarak sırasıyla domates sarı yaprak kıvrıcılık

virüsü, tütün mozayik virüsü, hiyar mozayik virüsü ve Patates Y virüsü bulunduğu belirlenmiştir.

Yorganci ve Erkan (1991) tarafından, Ege ve Marmara bölgelerinde yürütölen sörveylerde, sanayi domatesi yetistirme alanlarında bitkide mozayik belirtilerinin yanısıra, alt yaprakların yukarı doğru kıvrılması, alt yüzlerinde antosiyan oluşumu, üst ve tepe yapraklarında çarpıcı bir sarı-yeşil lekelenme, daralma ve deformasyonlar, meyvelerde nekrotik lekeler ve çoğu kez bitkinin kısmen veya tamamen ölüğü gibi belirtiler oluşturan bir virüs hastalığını yoğun olarak gözlemlemiştir. Bu hastalığa hiyar mozayik virüsünün bir irkinin neden olduğu mikropresipitasyon ve agar double difüzyon testleri sonucunda belirlenmiştir. Mekaniksel inokulasyon çalışmaları sırasında, %0.2 sodyum sülfid içeren 0.01 M fosfat tamponu (pH;7.1) kullanılarak selit yardımıyla *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana tabacum* “Maden”, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Gomphrena globosa*, *Datura stramonium*, *Lycopersicum esculentum*, *Capsicum annuum* L., *Cucumis sativus*, *Vicia fabae* bitkilerine asılama yapılmıştır.

Gibbs ve Harrison (1970), CMV'nin tanılanması ile ilgili olarak test bitkileri ile yaptıkları çalışmada, *Cucumis sativus*'ta yeşil veya sarı/yeşil sistemik mozayige, *N. tabacum*'da lokal ve sistemik belirtilere, *Nicotiana glutinosa*'da klorotik veya nekrotik lekeler, *Nicotiana clelandii*'de yeşil veya sarı/yeşil sistemik mozayik veya halkalı lekeler, *Lycopersicum esculentum*'da sistemik mozayige ve ayakbağı bağı şeklinde yaprak daralmalarına, *Chenopodium amaranticolor* ve *C. quinoa*'da klorotik veya nekrotik lokal lekeler ve *Vigna sinensis*' de bazı çeşitlerde lokal lekeler yol açtığını bildirmişlerdir.

Brunt vd., (1996); Vizúete vd., (2002), CMV tanısında test bitkisi olarak *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Cucumis sativus*, *Vigna unguiculata*, *Lycopersicum esculentum*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana tabacum*'u kullanmışlardır.

Hassan vd., (1993), Pakistan'ın kuzeybatı sınır bölgesinde, yetistirilen domateslerde görölen virüs hastalıklarını indirekt ELISA, double difüzyon testi ve test bitkileri

kullanarak saptamislardir. Arastiricilar CMV'nin *N. tabacum* "White Burley", *N. glutinosa*, *N. tabacum* "Samsun NN", *Datura stramonium*, *Cucumis sativus* ve *Lycopersicum esculentum*'da mozayik ve yaniklik, *N. rustica*, *Chenopodium amaranticolor* ve *C. quinoa*'da lokal klorotik lezyona neden oldugunu ifade etmislerdir.

CMV mekaniksel inokulasyon yöntemiyle kolayca tasınabilen bir virüstür. Ekstraksiyon işleminde genellikle molaritesi 0.01 ile 0.05 arasında ve pH'si 7 ile 8 arasında değişen Sodyum-Fosfat tampon çözeltisi kullanılmaktadır (Yılmaz ve Davis, 1984; Kearney vd., 1990; Hassan, 1995; Yılmaz vd., 1995).

Yılmaz ve Davis (1985), Akdeniz kıyı seridindeki sebze alanlarında bulunan virüslerin teshisinde serolojik ve biyolojik yöntemler ile elektron mikroskobu kullanmışlardır. Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında, %0.2 mercaptoethanol içeren 0.002 M Fosfat tampon solüsyonunu kullanılmıştır.

Sanliurfa ilinde domateslerde zarar yapan domates mozayik virüsü (ToMV), hiyar mozayik virüsü (CMV) ve patates Y virüsü (PVY)' nün varlığını mekaniksel inokulasyon, immunodifüzyon ve DAS-ELISA testleri ile saptanmıştır. Virüsün çoğaltılması ve purifikasyonu için *Cucurbita pepo* L. bitkisini kullanılmıştır (Güldür ve Yılmaz, 1995).

Marmara, Ege ve Akdeniz kıyılarındaki seralarda üretimi yapılan sebzeler içinde %85 oranıyla ilk sırayı alan domates bitkisinde virüs hastalıklarının hastalık oranı %7.3, yaygınlık oranı ise %30.7-100 olarak belirlenmiştir (Fidan, 1995).

Faan vd., (1984), Çin'de domateslerde yapılan survey çalışmaları sonunda üç virüs hastalığı bildirmiş ve bunların meydana geliş oranlarını tespit etmişlerdir. Arastiricilar 223 adet mozayik belirtisi gösteren domates bitkisinin %34.4'ünü hiyar mozayik virüsü, %12.6'sinin tütün mozayik virüsü ve % 13.9'unun da tütün mozayik virüsünün domatese özelleşmiş irki ile bulaşık olduğunu saptamışlardır.

Lavina vd., (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, Kuzeydogu İspanya'da CMV'nin domates ve yabancı otlarda yüksek seviyede, TSWV (Tomato spotted wilt virus)'ün ise yabancı otlarda düşük seviyede bulunduğunu belirtilmiştir.

Hassan vd., (1993), Pakistan'da domateste görülen CMV'nin meyve ağırlığında %15.38, meyve sayısında %78.56, bitki boyunda %25.77 oranında azalma meydana getirdiğini ifade etmişlerdir.

Yorgancı vd., (1994), yaptıkları çalışmalar sonucunda sebze tohumlarında domates bakteriyel leke hastalığı , domates bakteriyel solgunluğu, domates bakteriyel benek hastalığının yani sıra domates mozayik virüsü, tütün mozayik virüsü, hiyar mozayik virüsü enfeksiyonlarını belirlemişlerdir.

Yılmaz ve Davis (1984), Akdeniz kıyısı boyunca yetistirilen bazı ürünlerden Density Gradient Santrifüj yöntemi ile elde ettikleri CMV, ZYMV ve TMV izolatlarının ultraviolet absorban spektrumlarının 260 nm'de tipik nükleoprotein özelliği gösterdiklerini belirtmişlerdir. 260/280 nm'deki absorban oranlarının CMV için 1.74-1.79, ZYMV için 1.45, TMV için ise 1.02-1.24 olduğunu belirten araştırmacılar elektron mikroskopik incelemeleri sonucunda CMV'nin izometrik, ZYMV'nin iplikli çubuk ve TMV'nin düz çubuk şeklinde olduklarını gözlemlemişlerdir.

Tohum üreten ve pazarlayan kuruluslardan alınan bezelye, biber, domates, fasulye, hiyar, kabak, kavun ve marul tohum örneklerinde tohum kaynaklı virüsleri saptamak için DAS-ELISA yöntemi kullanılmış ve kavun tohum örneklerinin %31.25'inin CMV ile bulaşık olduğunu saptamıştır (Gümüş vd., 2001).

Bostan vd., (2002), Erzurum ve Artvin illerinde 2000-2001 yılları arasında domates ve hiyar seralarında virüs hastalıklarının belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışma da CMV'nin sadece hiyarlarda %4.3 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bedlan (1985), hiyar mozayik virüsünün , test bitkilerinde meydana getirdiği belirtileri, fiziksel özellikleri, yabancı ot konukçuları ve tasınma şeklini incelemiştir.

ve bu virüsün vektörlerle özellikle yaprak bitleri ile kolayca tasınabildiğini belirtmiştir.

Macaristan’da domateslerde tütün mozayik virüsü, hiyar mozayik virüsü ve patates Y virüslerini ELISA yöntemi ve test bitkilerine mekaniksel inokulasyon çalışmaları ile tanılanmıştır (Tobias ve Andrasfalvy, 1985).

Jin vd., (1990), Çin’in Zhejiang bölgesinde 1984-1985 yılları arasında yaptıkları sürveyde domates varyetelerinde görülen virüs hastalıklarının tütün mozayik virüsü (TMV), hiyar mozayik virüsü (CMV) olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar survey alanlarında TMV’nin oranını %50 ve CMV’nin oranını ise %58 olarak saptamışlardır.

Kyriakopoulou vd., (1992), domateslerde hiyar mozayik virüsünün domateslerde bodurlasmaya neden olduğunu, etmenin patates Y virüsü ile karışık enfeksiyonlarında ise meyvelerde sertleşme meydana geldiğini ifade etmişlerdir.

“CMI/AAB Description Plant Viruses” isimli bitki virüslerinin tanılanmasına yönelik kaynakta hiyar mozayik virüsünün çoğaltılması ve muhafazası için *N. glutinosa* ve *N. tabacum* “Xanthii” nin uygun bitkiler olduğu, *N. tabacum*, *N. clevelandii* ve *Cucurbita pepo*’nun purifikasyon için iyi kaynaklar olduğu ifade edilmektedir. Hiyar mozayik virüsünün izolasyonu, çoğaltılması ve saflastırılması ile ilgili çalışmalarda araştırmacılar aşağıdaki bitkileri tercih etmişlerdir:

Kuwite ve Purcifull, (1982), *Vigna unguiculata* L

Yılmaz ve Davis, (1984), *Cucurbita pepo*

Tien vd., (1987), *Nicotiana tabacum* “Samsun NN”

Sharma vd., (1984), *Nicotiana rustica* ve *N. glutinosa*

Francki vd., (1979), *N. glutinosa*, *N. tabacum* “Xanthii” ve *Cucurbita pepo* L.

Özgöz (1994), *N. glutinosa*

Adkins vd., (2003), *Chenopodium quinoa*

Fisher ve Nameth, (2000), *N. rustica*, *Nicotiana tabacum* “Glurk”, *N. tabacum*

“Turk”, *N. tabacum* “Samsun NN”

Yordanova vd., (2002), *Nicotiana tabacum* “Nevrocop 1146” ve *tobacco* cv. HT, ,
Yao, (1988), *N. glutinosa* ve *Capsicum* spp.

Raj vd., (2002), *Nicotiana rustica*

Wang vd., (1988), *N. tabacum* “Xanthii” , *N. glutinosa*, *Lycopersicum esculentum* cv.

Fujuku, *Cucumis sativus* cv. Suyo

Hobbs vd., (2000), *Capsicum annuum* L.

Morris ve Dodds, (1979), *Nicotiana tabacum*

Wilson ve Halliwell, (1985), *N. tabacum* “Xanthii” bitkileri kullanılmıstır.

Gonsalves vd., (1982), Agar double difüzyon testiyle domates bitkilerinde beyaz yapraklılığa neden olan hiyar mozayik virüsünün saptanmasında %0.75 iyon agar ve %0.1 oranında NaN_3 içeren 0.1 M sodyum fosfat (pH; 7) tampon çözeltisini kullanmışlardır.

Tomlinson vd., (1973), hiyar mozayik virüsünün W irkinin agar double difüzyon testiyle saptanmasında en iyi presipitasyon hattinin %0.75 iyon agar, 5mM EDTA ve %0.02 sodyum asit içeren ve 0.05 M K_2HPO_4 tampon çözeltisi (pH;7-8) ile hazırlanan ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Francki vd., (1979), CMV'nin serolojik tanısında kullanılan agar jel difüzyon testinde, genellikle düşük molariteli tampon solüsyonlarının ve suyun kullanıldığını belirtmişlerdir.

Virüs ve funguslarla infekteli bitkilerden dsRNA analizi ve izolasyonu pek çok araştırmacı tarafından kullanılmıstır(Diaz-Ruiz ve Kaper, 1978; Morris ve Dodds 1979; Duran-Vila vd., 1986).Yalnızca RNA virüsleri ile infekteli bitkiler tarafından oluşturulan dsRNA'ları tanılamak için kullanılmaktadır. Birçok bitki virüsü tek iplikli (single-stranded=ss) veya çift iplikli (double-stranded=ds) RNA'lardan oluşan genlere sahiptir. İlaveten bitkilerde patojen olan birçok fungus içinde dsRNA'ya sahip birçok virüs ve virüs benzeri yapıların bulunduğu bilinmektedir. DsRNA analizi yönteminin geliştirilmesiyle birlikte irkların farklılıkları, irklar içinde bulunan izolatların karşılaştırılması ve bunların ortaya çıkışında etkili olan etmenlerin

belirlenmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (Morris ve Dodds, 1979; Dodds vd., 1984a; Tooley vd., 1989; Bar-Joseph vd., 1989; Newhouse ve McDonald., 1990; Krajacic ve Saric, 1993).

Morris ve Dodds (1979), adli araştırmacılar, günümüzde kullanılan dsRNA analiz yönteminin temeli sayılan yöntemi geliştirerek az miktarda örnek kullanımıyla (1-10 g) hızlı ve etkin izolasyon ve dsRNA analiz yöntemini geliştirmişlerdir.

Bu yöntemin kullanılmaya başlamasıyla birlikte, arazide daha önce biyolojik indeksleme veya diğer metodlarla pozitif olarak test edilen ve seralarda bulunan örneklerden yapılan dsRNA analiz sonuçları hız kazanmıştır.

Bu yöntem sonucunda elde edilen viral nükleik asitlerin tanımlanması ve analizi en basit şekilde jel elektroforez yöntemi ile gerçekleştirilir. Elektroforez tekniği ile RNA'ların başarılı bir şekilde ayrımı 1960'li yılların ortalarında başarılmış ve günümüzde rutin olarak kullanılmaktadır (Giersen, 1982).

Elektroforez terimi genellikle elektrik yüklü bir alan etkisi altında, belirli bir solüsyon içinde küçük iyonların ve yüklü makromoleküllerin hareket ettirilmesini ifade eder (Giersen, 1982). DsRNA'ların elektroforezinde genellikle %6'lık poliakrilamid jel veya %1-1.5 agarose jel kullanılabilir (Maniatis vd., 1982; Valverde vd., 1990; Korkmaz, 1999).

Elektroforez işlemi ile ayrımı yapılan nükleik asitler, ethidium bromide ile veya gümüş nitrat ($AgNO_3$) ile boyanarak nükleik asitlerin gözle görünür hale gelmesi sağlanır (Blum vd., 1987; Valverde vd., 1990; Korkmaz, 1999).

Klasik tanı yöntemleri ile kıyaslandığında basit ve göreceli olarak ucuz olması, konukçuya ya da virüs RNA'sına bakılmaksızın dsRNA'nın elde edilmesi, sonuçların 1-2 gün gibi kısa sürede alınması, karışık infeksiyonların tanısında kullanılabilmesi ve hatta aynı virüsün farklı streynlerinin bile belirlenebilmesi gibi birçok avantajlara sahip olan bu yöntemin kuskusuz bazı dezavantajları da vardır. Bu yöntemle sadece

RNA virüsleri tanımlanabilir. Ayrıca diğer viral grupların viral RNA'larının sayısına ve miktarına ait bilgiler gereklidir. Luteovirüsler ve birçok potyvirus çok miktarda dsRNA üretmezler ve bu durum onların bu yöntemle tanısını imkansız kılmaktadır. Bazı durumlarda arazi örneklerinin düşük miktarda dsRNA'lara sahip olduğu ve bu gibi örneklerin seralarda duyarlı bitkiler üzerinde çoğaltılması gerektiği belirtilmektedir (Rosner vd., 1983; Jordan ve Dodds, 1983; Valverde ve Dodds, 1986).

Wang vd., (1988), %5 poliakrilamid jel elektroforezde hiyar mozayik virüsüne ait 4 RNA bantını elde ederek molekül ağırlığını saptamışlardır.

Korkmaz ve Çınar (1998), %6'lık poliakrilamid jel elektroforez yardımıyla CMV'ye özgü viral dsRNA'lari elde ederek molekül ağırlıklarını; 2.3, 2.0, 1.4 ve 0.7 X 10⁶ olarak belirlemişlerdir. Valverde vd., (1994) ise %1.2'lik agarose jelde RNA 1, RNA 2 ve RNA 3' ü saptamışlardır.

Honda vd., (1986), CMV ile enfekte olmuş biber yapraklarından viral dsRNA'yi izole ederek, %5 agarose içeren %2'lik akrilamid jelde elektroforetik analizini gerçekleştirmiş ve dsRNA profilinin 4 bant içerdiğini saptamışlardır.

Güney Hindistan'da kara biberlerde cücelik hastalığına neden olan hiyar mozayik virüsünü kara biberde çoğaltmış ve viral dsRNA Diaz-Ruiz ve Kaper (1978)'in önerdiği yöntemle izole edip, dsRNA örneklerini agar jel elektroforezde TBE tampon solüsyonunda 60 volt akımda 2 saat süreyle fraksiyonlarına ayırmışlardır. Jeli ethidium bromide ile boyanmıştır (Sarma vd., 2001).

Fisher ve Nameth (2000), ABD'de yaptıkları çalışma da *Ajuga reptans* L. isimli süs bitkisinde CMV'nin satRNA'sini dsRNA analizi ile belirlemişlerdir. Örnekleri %5 ve %10 poliakrilamid jelde fraksiyonlarına ayırmışlar ve bantları ethidium bromide ile boyamışlardır.

Bir süs bitkisi olan gladiollerle ilgili yapılan çalışmada viral dsRNA izole edilerek %1.2 agar jel elektroforezde TBE tampon solüsyonunda fraksiyonlarına ayrılmıştır. CMV'ye ait 4 RNA bandinin molekül ağırlıklarını 3.2, 3, 2.1 ve 1 kb olarak belirlenmiştir (Raj vd., 2002).

Yordanova vd., (2002), domateslerde meyve nekrozuna neden olan CMV-NB irkinin elektroforetik ve serolojik karakterizasyonunu gerçekleştirmişler ve bu irkin diğer CMV irklarına oranla elektriksel alanda daha hızlı olduğunu belirtmişlerdir. Viral dsRNA'lara ait bantları %1'lik agarose jelde, 5 mM EDTA içeren 0.075 M veronal bufferda (pH;8.6) 150 volt akımda 2-2.5 saat 10 °C'de fraksiyonlarına ayırmışlar ve jeli Blue R-250 ile boyamışlardır.

Wilson ve Halliwell (1985), Texas'ta yaptıkları çalışma da ispanakta hiyar mozayik virüsünün neden olduğu hastalığı incelemişler ve bu hastalığın CMV'nin S irki ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Bunu yaparken de elektron mikroskobu, ultrasantrifüj yöntemi, agarose jel elektroforez ve poliakrilamid jel elektroforez yöntemlerini kullanmışlardır. Viral RNA'ları, %1.4 agar jel elektroforezde fraksiyonlarına ayırmışlar ve molekül ağırlıklarını 1.22, 1.09, 0.77, 0.36 X 10⁶ Dalton olarak saptamışlardır. Besinci RNA komponenti olan CARNA-5 ise teşhis edilmemiştir. Molekül ağırlık standardi olarak 3 marker kullanılmıştır. Bunlar Tobacco mosaic virus, Brome mosaic virus ve Lambda DNA Hind III'dür. Virüsün saflastırılması McMaster ve Carmichael (1977) yöntemine göre uygulanmıştır.

CMV ve TMV ile infektelenmiş bitkilerden izole edilen dsRNA'ların çalışmalarda molekül ağırlık standardi olarak kullanıldığını bazı araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Valverde vd., 1990; Watkins vd.,1990).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Bölgesi Hakkında Bilgi ve Domates Örneklerinin Toplanması

Bu araştırma 2001-2003 yılları arasında Isparta ili merkez ve ilçelerinde yürütülmüştür. Sürveyler sırasında Aksu, Atabey, Gönen, Gelendost, Keçiborlu, Senirkent, Sütçüler, Egirdir, Sarkikaraağaç ilçeleri ile merkez köylerden toplanan domates örnekleri çalışmanın materyalini oluşturmıştır.

Bu sözü edilen ilçeler Isparta yöresinde domates yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı yerlerdir. Yörede domates tarımı aile işletmeciliği şeklinde veya geniş alanlarda yapılmaktadır.

Yapılan sürveyler sırasında araştırma kapsamına giren üretim alanlarından CMV enfeksiyonu belirtisi gösteren 138 domates yaprak örneği alınmıştır. Örnek alma işlemi sırasında sararma, yaprak kıvrılması, bodurlasma, yapraklarında mozayik şeklinde renk açılması, yaprak simetrisinin bozulması, yapraklarında incelme, anormal ve küçük meyve oluşumu semptomları sergileyen bitkiler tercih edilmiştir.

Her bitkiden alınan yaprak örnekleri ayrı steril polietilen torbalara konulduktan sonra içlerine gerekli bilgileri kapsayan etiketler yerleştirilmiştir. Buz kutuları içerisinde laboratuvara getirilen örnekler -20°C deki derin dondurucuya konmuştur. Bu örnekler uygun test bitkilerine inokulasyon çalışmaları ile diğer çalışmalarda kullanılmak üzere derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.2. Test Bitkilerinin Yetiştirilmesi

Çalışmalarda kullanılan test bitkileri Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Test bitkilerinin tohumları Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünden temin edilmiştir. Yetiştirme ortamı olarak 2 kısım toprak, bir kısım kum, bir kısım gübre karışımı kullanılmıştır. Kullanılan toprak ve saksılar önceden

otoklavda sterilize edilmiştir. Küçük tohumlu olan bitkiler, içlerinde steril toprak bulunan kaplara ekilerek çimlendirilmiş ve 2-4 yapraklı döneme ulaşınca yine steril toprak bulunan 10 cm ağız çaplı saksılara sasırtılmıştır

Test bitkileri 18-20 °C sıcaklık ile aydınlanma periyodu 16 saat/gün olarak ayarlanan kabinlerde yetiştirilmiştir.

Çizelge 3.1. Hiyar Mozayik Virüsünün İzole Edilmesinde ve Konukçularının Saptanmasında Kullanılan Test Bitkileri

Türkçe Adı	Latince Adı	Saglandığı Yer
Ak kazayagi	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	S.D.Ü. Zir.Fak.
Ak kazayagi	<i>Chenopodium quinoa</i>	S.D.Ü. Zir. Fak.
Domates	<i>Lycopersicum esculentum</i>	S.D.Ü. Zir. Fak.
Hiyar	<i>Cucumis sativus</i>	S.D.Ü. Zir. Fak.
Seytan Elmasi	<i>Datura stramonium</i>	S.D.Ü. Zir. Fak.
Biber	<i>Capsicum annuum</i> L.	S.D.Ü. Zir. Fak.
Tütün	<i>Nicotiana glutinosa</i>	S.D.Ü. Zir. Fak.
	<i>Nicotiana rustica</i>	S.D.Ü. Zir. Fak.
	<i>Nicotiana tabacum</i> L.	S.D.Ü. Zir. Fak.
	“Samsun NN”	S.D.Ü. Zir. Fak.
	“White Burley”	S.D.Ü. Zir. Fak.
	“Xanthii”	S.D.Ü. Zir. Fak.

3.3. Test Bitkilerine Mekaniksel İnokulasyon Yöntemi

Sürvey çalışmaları sırasında CMV enfeksiyonu belirtisi sergileyen domates yaprakları toplanmıştır. Bu yapraklar mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılmıştır. Domates bitkilerinin derin dondurucuda saklanan yaprakları %0.01’lik 2-Merkaptoethanol içeren 0.01 M fosfat tampon çözeltisi (pH; 7.2) içerisinde 1:1 (W/V) oranında steril porselen havanda iyice ezilerek inokulum hazırlanmıştır. Homojenat iki katlı tülbent bezinden süzülmüştür. İnokulum karborandum tozu

serpilmis olan test bitkilerinin yapraklarına tülbent bezi yardimi ile asilanmistir (Smith, 1972).

Asilanan bitkilerin yapraklari hemen musluk suyu ile yikanarak, gelisecek simptomlari izlemek üzere 18-20 °C'deki büyütme kabinlerine konulmustur. Kontrol olarak kullanılan bitkilere ise sadece musluk suyu uygulanmistir.

Çalışmada kullanılan test bitkilerinden hiyar bitkileri 2, digerleri 3-4 yaprakli olduklari dönemde inokule edilmistir. Her inokulasyondan önce ve sonra eller sabunlu su ile yikanmistir. Bitkiler periyodik olarak izlenmis ve gelisen simptomlar degerlendirilmistir. Toplanan örneklerden yapılan mekaniksel inokulasyon testi sonucu test bitkilerinden elde edilen belirtiler Descriptions of Plant Viruses isimli tanilamaya yönelik yayin ile elde edilen literatürler yardimiyla degerlendirilmistir.

3.4. DAS-ELISA Testinin Uygulanmasi

Araziden toplanan 138 adet süpheli yaprak örneğinin tamamina serolojik testler uygulanmistir. Serolojik çalışmalarda Clark ve Adams, (1977)'nin önerdiği DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi uygulanmistir.

ELISA testlerinde, Agdia Company (Elkhart, USA) adli firmadan saglanan kitleler kullanilmistir. Yapilan testlerde saglikli domates bitkilerinden elde edilen yapraklar negatif kontrol olarak kullanilmistir. Kit içerisinde bulunan ve CMV ile bulasik olan örnekler pozitif kontrol olarak kullanilmistir.

3.4.1. Bitki Örneklerinin Hazirlanmasi

Bitki örnekleri 1'er gram olarak tartilmis ve steril porselen havan içerisinde yaklaşık 5 ml genel ekstraksiyon tampon solüsyonu ile ezilerek ependorf tüplerine alinmistir. Etiketli bu örnekler kullanilincaya kadar buzdolabinda + 4 °C'de bekletilmistir.

3.4.2. DAS-ELISA Yöntemi

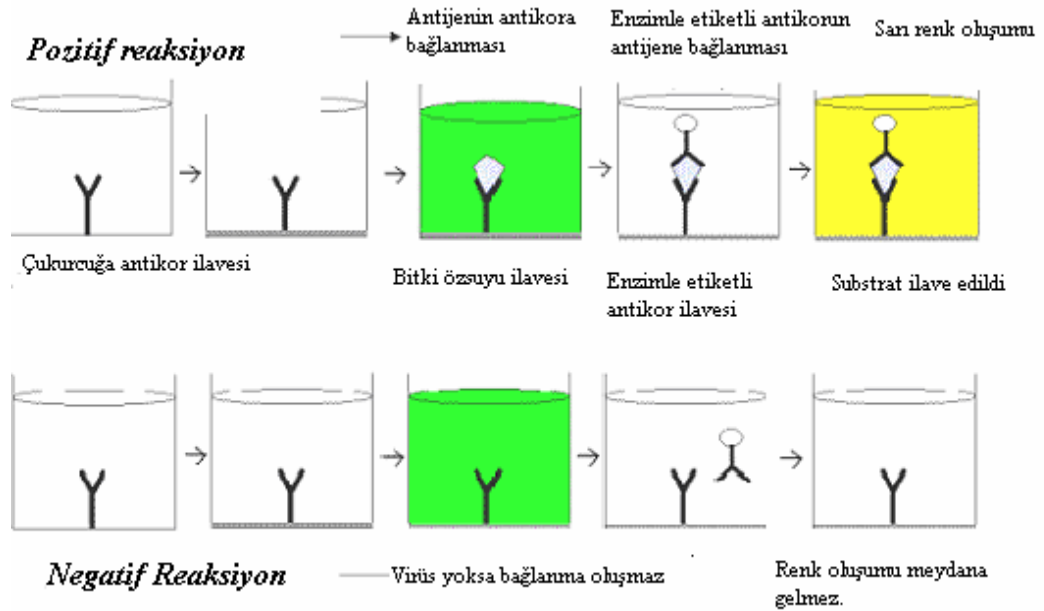
DAS-ELISA yöntemi aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

1. ELISA pleytinin kuyucukları kaplama tamponu ile kaplı olduğundan tekrar bir kaplama yapılmamıştır.
2. Genel ekstraksiyon tampon solüsyonunda ezilen ve bekletilen örnekler altalta gelecek şekilde her çift çukura 100' er µl olarak konulmuştur. + 4 °C'de tüm gece inkubasyona bırakılmıştır.
3. Inkubasyondan sonra yıkama tamponu (PBS-Tween Buffer) ile tüm çukurlar 3 kez yıkanmıştır. Yıkama tamponu 3 dakika süreyle çukurlarda bekletilmiştir. Örneklerin birbirine karışmaması için pleyt hızlı bir şekilde ters çevrilerek boşaltılmış ve 8-10 katlı kurutma kağıdı üzerine vurularak kurumasi sağlanmıştır.
4. Konjugat buffer (ECI Buffer)1:5 ; konjugatlar (Alkaline phosphatase enzim konjugat) ise 1:100 oranında sulandırılarak hazırlanmış ve her bir çukura 100 µl ilave edilerek 37 °C'de inkubasyona bırakılmıştır.
5. Inkubasyondan sonra yıkama tamponu ile tüm çukurlar 3 kez yıkanmıştır. Yıkama tamponu 3 dakika süreyle çukurlarda bekletilmiş ve pleyt hızla ters çevrilerek boşaltılmış ve 8-10 kurutma kağıdı üzerine vurularak kurumasi sağlanmıştır.
6. Substrat tamponu (P-nitrophenly phosphate) ile taze olarak hazırlanan substrattan her bir çukura 100 µl konularak oda sıcaklığında inkubasyona bırakılmıştır. Renk değişimine bağlı olarak 30 ve 60 dakika sonra pleytler El X 800 Universal Microplate Reader Bio-Tek Instruments, Inc.B-2610, Wilrijk, Belgium optik okuyucusunda okumalar 405 nm dalga boyunda yapılmıştır.

7. Inkübasyon süresi sonunda reaksiyonu durdurmak için her bir çukura 50 µl 3 M NaOH ilave edilmiştir.

3.4.3. ELISA Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

405 nm dalga boyunda okunan absorbanans değerlerine göre sağlıklı kontrol değerinin en az iki kati ve daha yukarı okuma değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir (Cardin vd., 1984).



Sekil 3.1. DAS-ELISA yönteminin sematik olarak gösterimi (Anonymous, 2000).

3.5. Nükleik Asit İzolasyonu ve Analizi Çalışmaları

3.5.1. Hiyar Mozayik Virüsü'nün İzolasyonu ve Çoğaltılması

Domates bitkisinden hiyar mozayik virüsünün izolasyonu ve çoğaltılmasında, Wilson ve Halliwell (1985), Yao (1988), Wang vd., (1988), Hobbs vd., (2000)

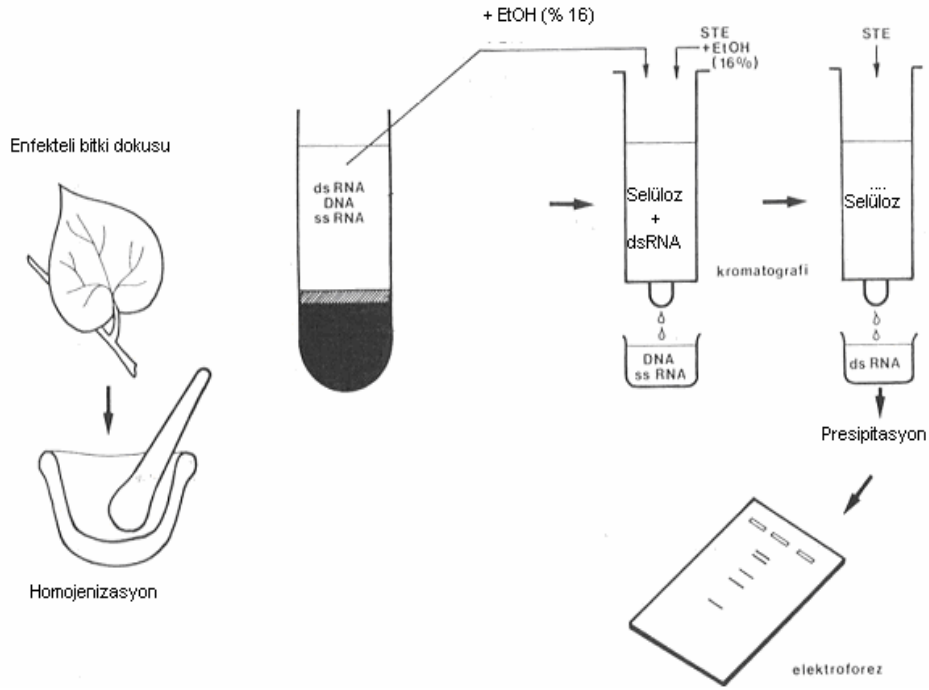
sistemik konukçu olarak *Nicotiana tabacum* “Xanthii” ve *Capsicum annuum* L. bitkilerini önermişlerdir.

3.5.2. Hiyar Mozayik Virüsü’ne ait dsRNA’nin İzolasyonu ve Analizi

Mekanik inokulasyonlar sonucunda sistemik enfeksiyon sergileyen *Nicotiana tabacum* “Xanthii”, *Nicotiana tabacum* “Samsun NN” ve *Capsicum annuum* L. bitkileri virüsün çoğaltılması için kullanılmıştır. Daha sonra yapılan dsRNA çalışmalarında bu çoğaltım konukçularının yapraklarından yararlanılmıştır. DsRNA çalışmalarında bu bitkilerin yaprakları inokulasyondan 12-14 gün sonra hasat edilerek 7’er gram olarak kullanılmıştır. DsRNA analizi Morris ve Dodds (1979) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek aşağıdaki şekilde uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2.’de verilmiştir.

1. Enfekteli ve sağlıklı yaprak dokuları steril porselen havanlar içerisinde bir gece -20°C ’de bekletildikten sonra çözündürülmeden süratle ezilerek 50 ml’lik steril santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
2. 5 ml Chloroform-Pentanol (25:1), 10 ml Fenol (Trisile Doyurulmuş), 1.5 ml %10’luk SDS (Sodium Dodecyl Sulfate), 1 ml %2’lik Bentonit, 10 ml 1XSTE (0.1 M NaCl, 0.05 M Tris, 0.001 M EDTA, pH:6.9) tampon çözeltisi ilave edilerek 20 dakika süreyle vortekste çalkalanmış ve daha sonra örnekler buz içerisinde 2-3 saat süreyle çalkalayıcı üzerinde bekletilmiştir.
3. Homojenat 10.000 rpm’de $+4^{\circ}\text{C}$ ’de 20 dakika süreyle santrifüj (B.Braun, Biotek International) edildikten sonra en üst fazdan pastör pipeti ile 10 ml alınarak 50 ml’lik steril santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
4. Her tüpe %96’lik etanolden 2.1 ml ilave edilerek karıştırılmış ve örnekler gece boyunca $+4^{\circ}\text{C}$ ’de bekletilmiştir.

5. Selüloz kromatografisi için 30 ml'lik enjektörler alınarak taban kısmı bir kurutma kagidi ile kapatılmıştır. 1.5 gr selüloz ve 20 ml %16 ethanol içeren 1XSTE tampon solüsyonu ilave edilerek kolonlar hazırlanmıştır.
6. Her örneğe 1'er gr selüloz ilave edilerek karıştırıldıktan sonra örnekler hazırlanan kolonlara dökülmüştür.
7. Her bir kolon 60 ml %16 ethanol içeren 1X STE ile yıkanarak örneklerdeki ssRNA ve DNA'lar uzaklaştırılmıştır.
8. Daha sonra kolonlara 6 ml ethanol içermeyen 1X STE ilave edilerek süzüntü 50 ml'lik steril santrifüj tüplerinde biriktirilmiş ve 0.5 ml 3 M sodyum asetat (pH:5.5) ile 20 ml %96'lik soğuk ethanol ilave edilerek tüm gece -20°C 'de dsRNA'nin çökmesi için bekletilmiştir.
9. Örnekler 10.000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilerek bu kez pellet alınmış ve desikatörde kurutulmuştur. 200 μl 1X TBE (0.089 M Tris-Borate, 0.089 M Boric acid, 0.002 M EDTA) tampon çözeltisi ilave edilen pellet resüspense edildikten sonra ependorf tüplerine aktarılmıştır.
10. Örneklerle 30 μl sodyum asetat (pH: 5.5) ve 0.9 ml % 96'lik ethanol ilave edilmiştir.
11. dsRNA örnekleri elektroforetik analizleri yapılincaya kadar -20°C 'de muhafaza edilmiştir.



Sekil 3.2. Enfekteli bitki dokusundan dsRNA izolasyonu ve saflastırılması (Krajacic ve Lorkovic, 1992).

3.5.3. dsRNA Analizi

Bitkilerde hastalık oluşturan virüslerin tanınmasında kullanılan yöntemlerden biride viral nükleik asitlerin analizidir. Bu çalışmada virüsün tanınması amacıyla yapılan çalışmaların son kısmını dsRNA çalışmaları oluşturmıştır. Nükleik asitlerin bir elektrik göç ortamında molekül ağırlıklarına bağlı olarak kendilerine özgü fraksiyonlarına ayrılabilceği gerçeğinden hareketle gerçekleştirilen dsRNA analizi çalışmaları bitki virüslerinin tanınması amacıyla uygulama olanagi bulmuştur.

Örneklerden elde edilen viral dsRNA'ları analiz etmek için %1.2 agar jel elektroforez (Maniatis vd., 1982) kullanılmıştır.

1. – 20 °C'deki derin dondurucuda bekletilen örnekler 5000 rpm'de oda sıcaklığında 20 dakika santrifüj edilerek, pellet alınmıştır. Pellet desikatörde kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler 20 µl distile su ile resüspense

edildikten sonra 10 µl %60 Sukroz + 0.01 Bromophenol Blue ilave edilerek 3000 rpm'de 1-2 saniye tutulmuş ve dipte toplanma sağlanmıştır.

2. Örneklerin elektroforetik analizi %1.2'lik agarose jel ortamında gerçekleştirilmiştir. Elektroforez çalışmaları 1X TBE (0.089 M Tris-Borate, 0.089 M Boric acid, 0.002 M EDTA) tampon solüsyonunda 100 V'da 3 saat süreyle yapılmıştır.
3. Jel, 1 X TBE tampon solüsyon içerisine 10 µl Ethidium bromide ilave edilerek boyanmıştır. Elde edilen viral dsRNA profilleri ultraviyole transilluminatör (Uvi-Tec) yardımıyla fotoğraflanmıştır.

Çizelge 3.2. dsRNA Analizinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

Tampon Çözeltiler

1 X STE Buffer

0.1 M NaCl

0.05 M Tris

0.001 M EDTA

pH:6.9'a ayarlanmış ve hacim 1 lt'ye tamamlanmıştır

% 10 Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

SDS

Distile su

Chloroform-Pentanol (25:1)

Chloroform

Pentanol

Fenol Çözeltilisi

0.2 M Tris

Bu kimyasal bir miktar suda çözülür 200 ml'ye tamamlanır.

Phenol

8-hydroxy-quinoline

pH:8

STE-Ethanol (%16)

Ethanol (%96)

STE Buffer

1X TBE Buffer (Elektroforez Buffer)

Tris

Boric acid

EDTA

Hacim 1 lt'ye tamamlanir.

pH:8

Sodyum Asetat (3 M)

Sodium acetat

Distile Su

% 60Sukroz + % 0.01 Bromophenol Blue (BPB)

Sukroz

Distile su

Bromophenol Blue

4. ARASTIRMA BULGULARI

4.1. Sürvey Sonuçlari

Arastirmanin yürütüldüğü Isparta ili merkez ve ilçelerinde yapılan sürveyler sirasinda domates üretilen alanlarda yer yer yogun, yer yer hafif siddette virüs enfeksiyonu gözlenmistir.

Siddetli enfeksiyon gösteren alanlarda bitkilerde yapraklarda incelme, simetri bozuklugu, mozayik, sararma, nekrotik lekeler, kivirciklasma ve bitkilerde bodurlasma, gövde de yassilasma belirtileri görülmüştür. Bu bitkiler üzerindeki meyvelerin sekileri bozuk ve normale oranla küçük oldugu ve üzerinde lekeler bulunduğu dikkati çekmistir.

4.2. Inokulasyon Çalışmalarinin Sonuçlari

Inokulasyondan bir süre sonra test bitkileri üzerinde inokulasyon yapılan ve yeni gelisen yapraklarda belirtiler ortaya çıkmistir. Bu belirtiler degerlendirilmis ve çarpici simptomların fotoğraflari çekilmistir

Mekanik inokulasyonlar sonucunda test bitkilerinde elde edilen belirtiler Çizelge 4.1' de verilmistir.

Çizelge 4.1. CMV'nin Test Bitkilerinde Olusturdugu Belirtiler

Test Bitkileri	Belirtilerin Görülme Zamani	Olusan Belirtiler
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	5-7 gün	NLL
<i>Chenopodium quinoa</i>	5-7 gün	NLL
<i>Lycopersicum esculentum</i>	14 gün	Yi, Mo
<i>Cucumis sativus</i>	13-15 gün	Mo
<i>Datura stramonium</i>	*	*
<i>Capsicum annuum L.</i>	12-14 gün	Yi, Mo, Def, Bo
<i>Nicotiana glutinosa</i>	12-14 gün	Se, Def, NLL, Mo
<i>Nicotiana rustica</i>	13-15 gün	Se, Def, Mo
<i>Nicotiana tabacum L.</i>		
“Samsun NN”	7-10 gün	Se, Mo, KLL
“White Burley”	12-14 gün	Se, Def
“Xanthii”	12-14 gün	Se, Def, Mo

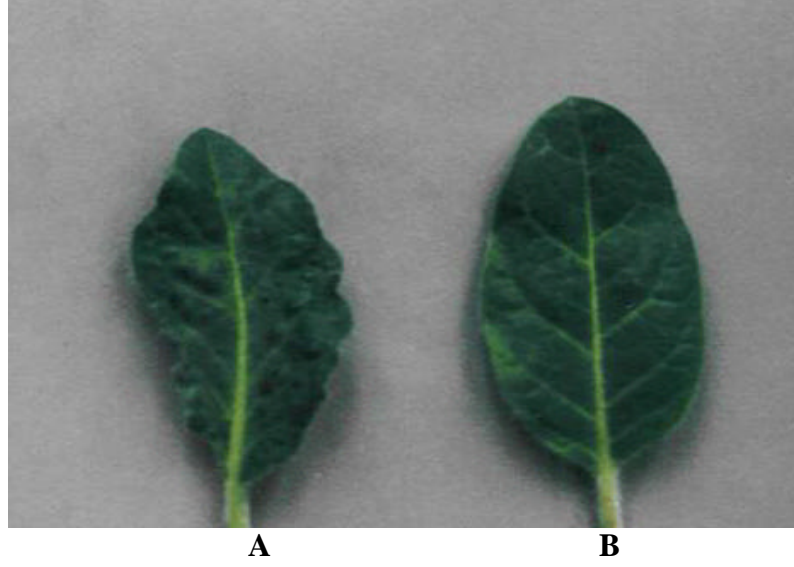
NLL: Nekrotik Lokal Lezyon, **KLL:** Klorotik Lokal Lezyon, **Bo:** Bodurlasma
Se :Sistemik enfeksiyon, **Mo :** Mozayik, **Def:** Deformasyon, **Yi:** Yaprak incilmesi
 * Belirti yok.

Nicotiana rustica

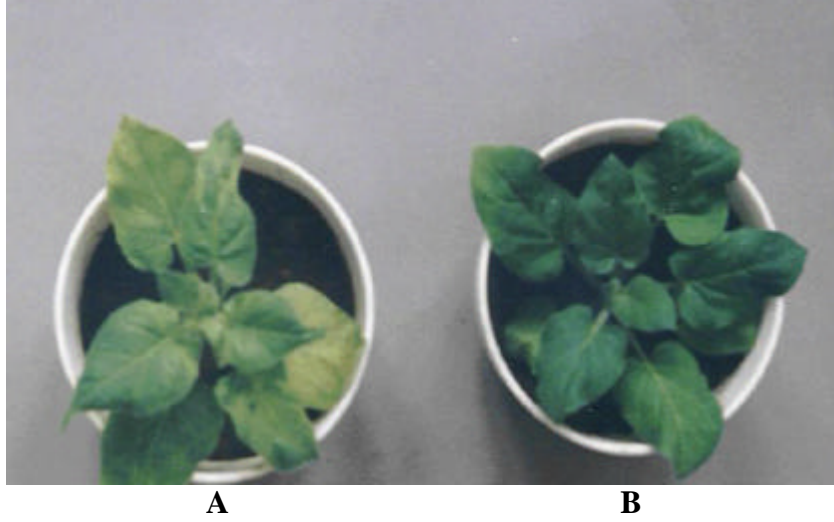
CMV ile bulasik tütün bitkilerinde inokulasyondan 13-15 gün sonra sistemik enfeksiyon belirtileri gözlenmiştir. Yapraklarda mozayik ve deformasyonlar meydana gelmiştir (Sekil 4.1.).

Nicotiana glutinosa

Bitkilerin yeni gelisen yapraklarında inokulasyonundan 12-14 gün sonra sistemik enfeksiyon belirmiştir. Yapraklarda sekil bozuklugu, nekrotik lokal lezyonlar ve mozayik gözlenmiştir (Sekil. 4.2.).



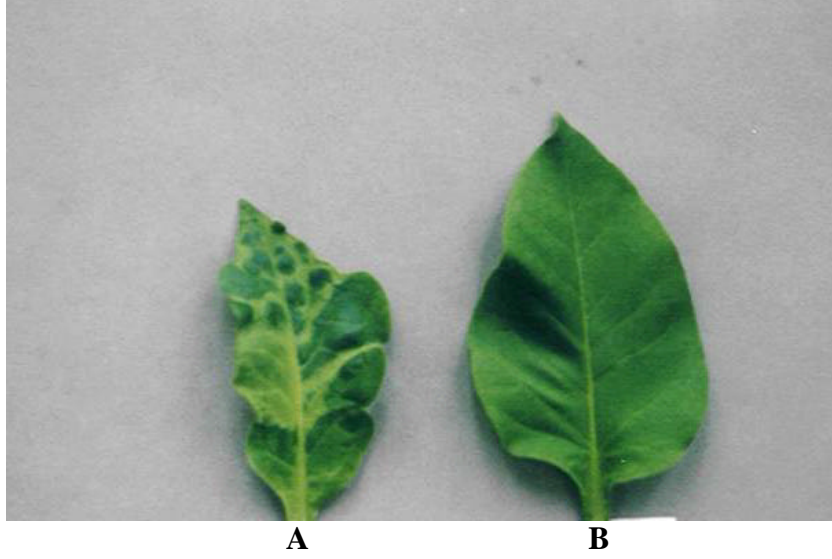
Sekil 4.1. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan *Nicotiana rustica*'ya yapılan mekanik inokulasyondan 13 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen yaprak B- Kontrol bitkisinin yapragi



Sekil 4.2. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan *Nicotiana glutinosa*'ya yapılan mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen Bitki B- Kontrol Bitkisi

Nicotiana tabacum “White Burley”

Inokulasyondan 12-14 gün sonra *Nicotiana tabacum* “White Burley” bitkisinin yaprakları üzerinde sistemik enfeksiyonla birlikte yapraklarda şiddetli deformasyonlar ortaya çıkmıştır (Sekil 4.3.).



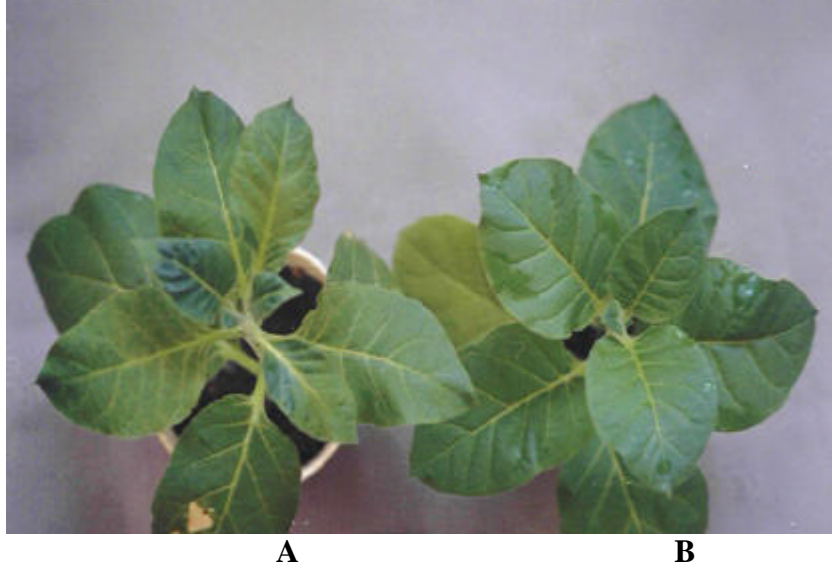
Sekil 4.3. CMV belirtisi gösteren domates yaprak öz suyundan *Nicotiana tabacum* “White Burley”de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen yaprak B- Kontrol bitkisinin yaprağı

Nicotiana tabacum “Xanthii”

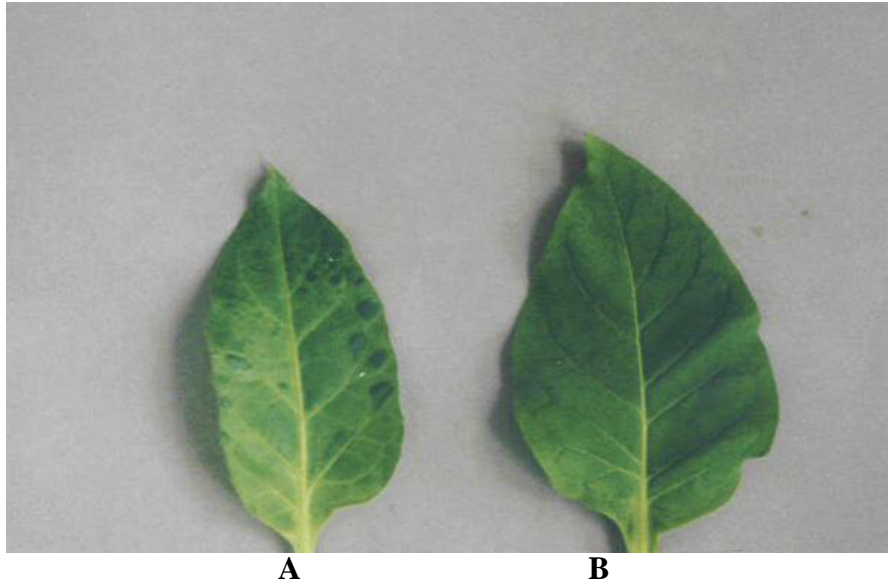
Inokulasyondan 12-14 gün sonra bitkinin yeni gelişen yapraklarında sistemik enfeksiyon, şekil bozuklukları, sararma ve mozayik gözlenmiştir (Sekil 4.4., 4.5.).

Nicotiana tabacum “Samsun NN”

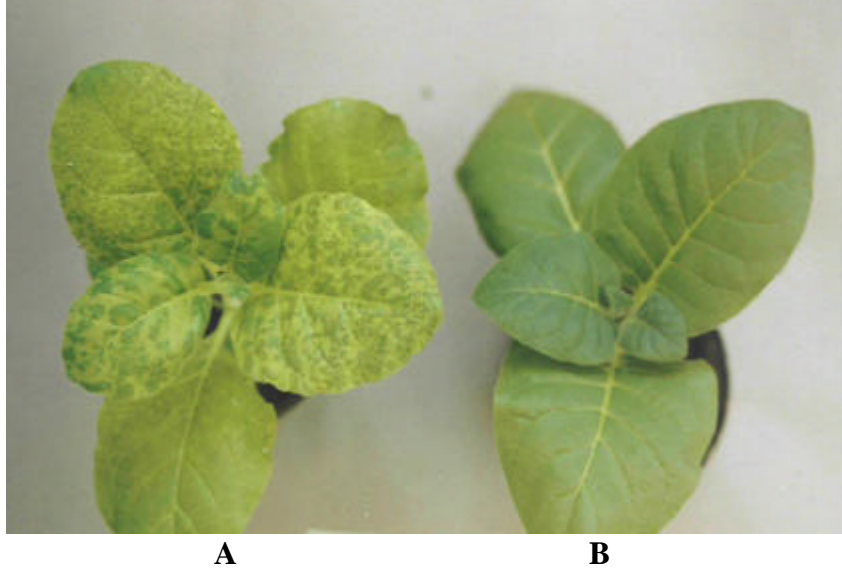
Inokulasyondan bir hafta sonra *Nicotiana tabacum* “Samsun NN” bitkisinin yapraklarında çapı 1-5 mm’ye kadar genişleyen klorotik lokal lezyonlar oluşmuş ve daha sonra mozayik biçiminde çarpıcı renklemeler meydana gelmiştir (Sekil 4.6., 4.7.).



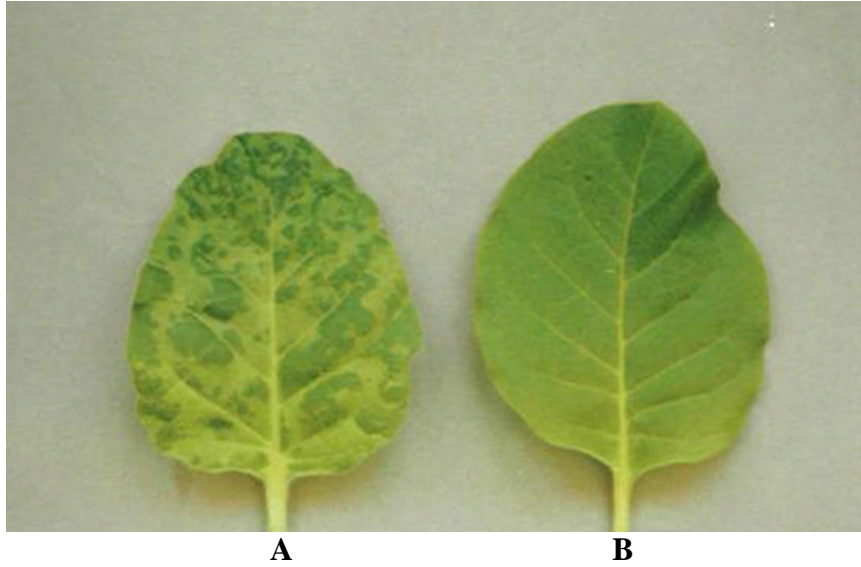
Sekil 4.4. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuysundan *Nicotiana tabacum* "Xanthii"de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki B- Kontrol bitkisi



Sekil 4.5. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuysundan *Nicotiana tabacum* "Xanthii"de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki yapragi B- Kontrol bitkisinin yapragi



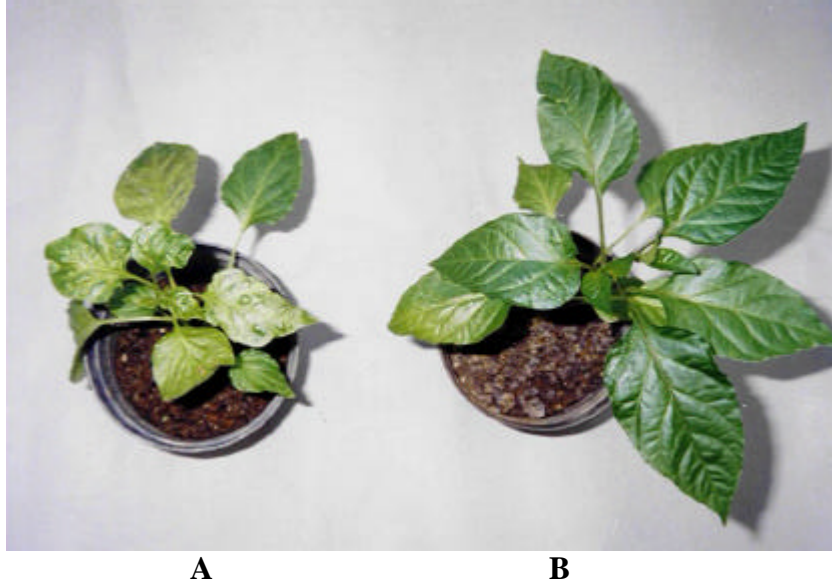
Sekil 4.6. CMV belirtisi gösteren domates yaprak öz suyundan *Nicotiana tabacum* "Samsun NN"de mekanik inokulasyondan 10 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki B- Kontrol bitkisi



Sekil 4.7 CMV belirtisi gösteren domates yaprak öz suyundan *Nicotiana tabacum* "Samsun NN"de mekanik inokulasyondan 10 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki yaprağı B- Kontrol bitkisinin yaprağı

Capsicum annuum L.

CMV ile inokulasyondan 12-14 gün sonra biber bitkisinin yapraklarında incelme biçiminde siddetli deformasyon ve mozayik gelişmiştir. Ayrıca bitkide bodurlasma da görülmüştür (Şekil 4.8., 4.9.).



Şekil 4.8. CMV belirtisi gösteren domates yaprak öz suyundan *Capsicum annuum* L. de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki B- Kontrol bitkisi



Şekil 4.9 CMV belirtisi gösteren yaprak öz suyundan *Capsicum annuum* L. de mekanik inokulasyondan 12 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki yaprağı B- Kontrol bitkisinin yaprağı

Hiyar bitkilerine yapılan inokulasyondan 15 gün sonra yaprak damarlarında renk açılması ile birlikte mozayik belirtileri meydana gelmiştir (Sekil 4.10.).



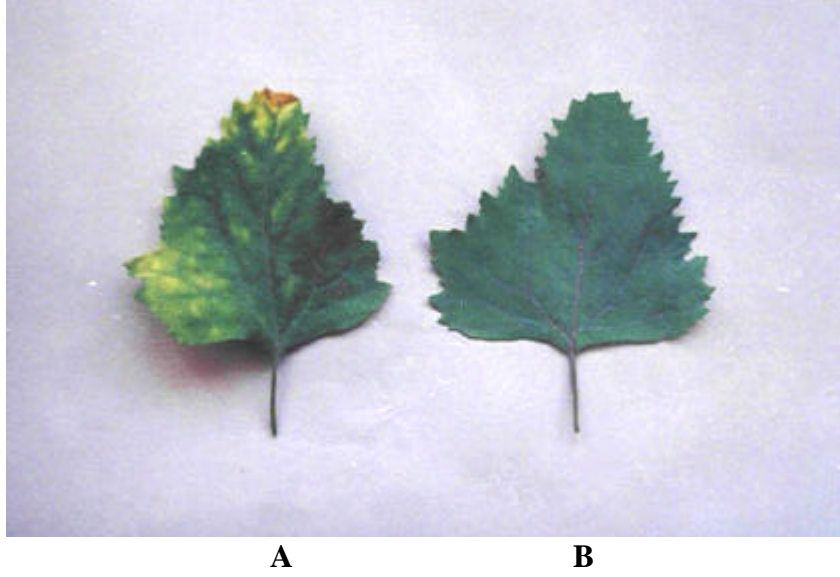
Sekil 4.10. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuğundan *Cucumis sativus*'a yapılan mekanik inokulasyondan 15 gün sonra görülen mozayik belirtileri

Chenopodium amaranticolor

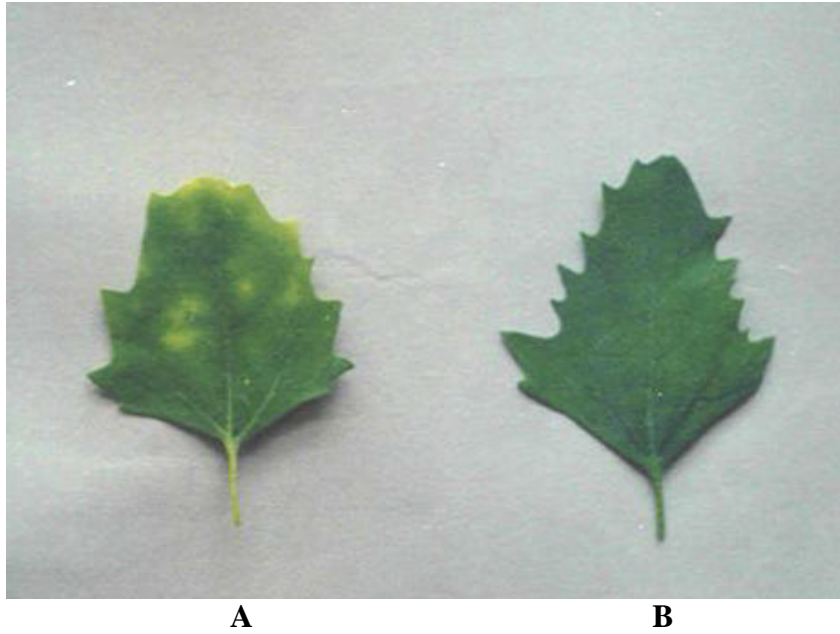
Inokulasyondan 5 gün sonra bitkinin yapraklarında belirgin sarı nekrotik lokal lezyonlar görülmüştür (Sekil 4.11.).

Chenopodium quinoa

Inokulasyondan 7 gün sonra nekrotik lokal lezyonlar görülmüştür (Sekil 4.12.)



Sekil 4.11. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuysundan *Chenopodium amaranticolor*'a yapılan mekanik inokulasyondan 5 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki yapragi B- Kontrol bitkisinin yapragi



Sekil 4.12. CMV belirtisi gösteren domates yaprak özsuysundan *Chenopodium quinoa*'ya yapılan mekanik inokulasyondan 7 gün sonra görülen belirtiler. A- Inokule edilen bitki yapragi B- Kontrol bitkisinin yapragi

Lycopersicum esculentum

Inokulasyondan yaklaşık 14 gün sonra domates bitkilerinde mozayik belirtileri ve yeni oluşan yapraklarda küçülme, incelmeye ve şekil bozuklukları meydana gelmiştir. (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. CMV belirtisi gösteren yaprak öz suyundan *Lycopersicum esculentum*'a yapılan mekanik inokulasyondan 14 gün sonra görülen belirtiler

Datura stramonium bitkisinde ise yapılan mekanik inokulasyondan sonra bitkide herhangi bir belirti gözlenmemiştir.

4.3. ELISA Testi Sonuçları

Arastırma kapsamına giren domates üretim alanlarında hiyar mozayik virüsü belirtisi gösteren toplam 138 bitkiden örnek alınmış ve DAS-ELISA yöntemine göre serolojik olarak test edilmişlerdir (Çizelge 4.2). Örnek alınan yerler, şüpheli örnek sayısı, CMV'li örnek sayısı ve CMV'nün bulunma oranı Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.2’de örneklere uygulanan DAS-ELISA testleri sonucunda okunan absorbands değerleri verilmistir. I. değerler reaksiyon durduktan 30 dakika sonra, II. değerler ise 60 dakika sonra okunan absorbands değerleridir.

Çizelge 4.2. DAS-ELISA Testlerinde Elde Edilen Absorbans Değerleri

Örnek AlinanYer	Absorbans I	Absorbans II	Sonuç
Isparta-Merkez			
1	0.254	0.195	-
2	0.986	1.082	+
3	1.445	1.560	+
4	0.114	0.233	-
5	0.508	0.408	+
Çayköy			
1	0.225	0.208	-
2	2.011	1.840	+
3	2.141	2.387	+
4	2.001	1.700	+
5	1.487	1.349	+
6	1.992	2.050	+
7	2.241	2.051	+
8	2.165	2.889	+
9	2.922	2.651	+
10	2.761	2.505	+
11	1.907	1.936	+
12	0.225	0.206	-
13	1.514	1.491	+
14	1.420	1.550	+
15	0.259	0.265	-
16	1.559	1.480	+
17	0.720	0.867	+
18	0.849	2.093	+
19	1.065	0.645	+
20	2.450	0.753	+
21	2.313	2.260	+
22	2.650	1.904	+
23	2.155	2.632	+
24	2.932	2.065	+
25	2.692	1.778	+
26	2.906	1.890	+
27	2.409	0.817	+
28	1.289	0.410	+
29	1.935	1.661	+
30	2.335	1.200	+

31	2.293	0.852	+
Çandır			
1	0.183	0.252	-
2	0.419	0.439	-
3	0.436	0.599	+
4	1.033	0.661	+
5	0.367	0.424	-
6	0.513	0.448	+
7	0.285	0.370	-
8	0.601	0.416	+
9	0.255	0.312	-
10	0.331	0.290	-
11	2.305	2.328	+
12	0.232	0.344	-
13	0.131	0.134	-
Yesilyurt			
1	0.157	0.316	-
2	1.274	1.430	+
3	0.150	0.227	-
4	0.453	0.462	-
5	0.438	0.273	-
6	0.219	0.343	-
7	0.498	0.240	-
8	0.327	0.264	-
9	0.285	0.275	-
10	0.508	0.235	+
11	0.260	0.223	-
12	0.117	0.341	-
13	0.096	0.251	-
14	0.093	0.114	-
15	0.193	0.701	+
16	0.262	0.131	-
17	0.352	0.141	-
18	0.112	0.113	-
Gönen			
1	0.143	0.192	-
2	0.420	1.370	-
3	0.371	0.450	-
4	0.777	0.548	+
5	0.124	0.118	-
6	0.125	0.109	-
7	0.109	0.107	-
8	0.124	0.116	-
9	0.097	0.111	-
10	0.174	0.145	-
11	0.099	0.128	-
12	0.181	0.177	-
13	0.663	0.773	+
14	0.245	0.549	+
15	0.204	0.590	+

16	0.167	0.765	+
17	1.050	1.024	+
18	1.115	0.507	+
19	0.181	0.193	-
20	0.188	0.244	-
21	0.102	0.106	-
22	0.117	0.341	-
23	0.197	0.178	-
Keçiborlu			
1	0.138	0.122	-
2	0.854	0.949	+
3	0.352	0.141	-
4	0.296	0.309	-
5	0.483	0.510	+
6	0.204	0.155	-
Atabey			
1	0.614	0.636	+
2	0.126	0.120	-
3	0.126	0.214	-
4	0.333	0.191	-
5	0.107	0.140	-
6	0.119	0.151	-
7	0.137	0.144	-
8	0.121	0.158	-
Senirkent			
1	0.229	0.206	-
2	0.140	1.159	+
3	0.160	0.202	-
4	0.130	0.117	-
5	0.125	0.132	-
6	0.231	0.172	-
Sarkikaraağaç			
1	0.145	0.158	-
2	0.158	0.143	-
3	0.195	0.207	-
4	0.157	0.191	-
5	0.143	0.203	-
Gelendost			
1	0.188	0.180	-
2	0.242	0.133	-
3	0.112	0.187	-
4	0.231	0.137	-
5	0.124	0.126	-
6	0.176	0.221	-
Egirdir			
1	0.195	0.175	-
2	0.675	0.687	+
3	0.151	0.248	-
İslamköy			
1	0.121	0.173	-

2	0.135	0.316	-
3	0.439	0.246	-
Büyükgökçeli			
1	0.800	0.856	+
2	0.148	0.148	-
3	0.274	0.292	-
Küçükgökçeli			
1	1.439	1.504	+
2	1.039	1.042	+
3	1.255	1.513	+
4	0.180	0.191	-
5	0.236	0.199	-
6	0.146	0.326	-
7	0.493	0.757	+
8	1.514	1.491	+

Negatif Kontrol-1: 0.225

Pozitif Kontrol-1: 1.042

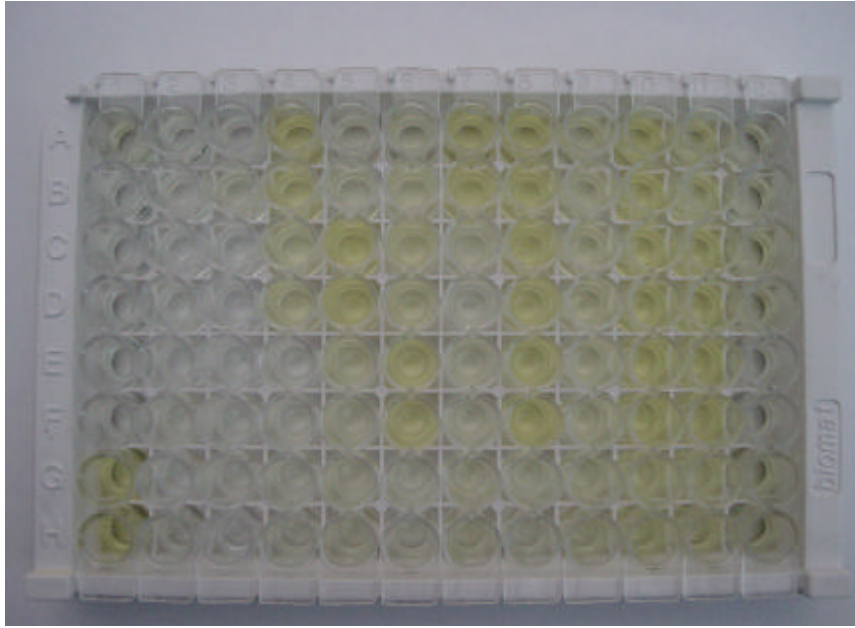
Negatif Kontrol-2: 0.219

Pozitif Kontrol-2: 1.491

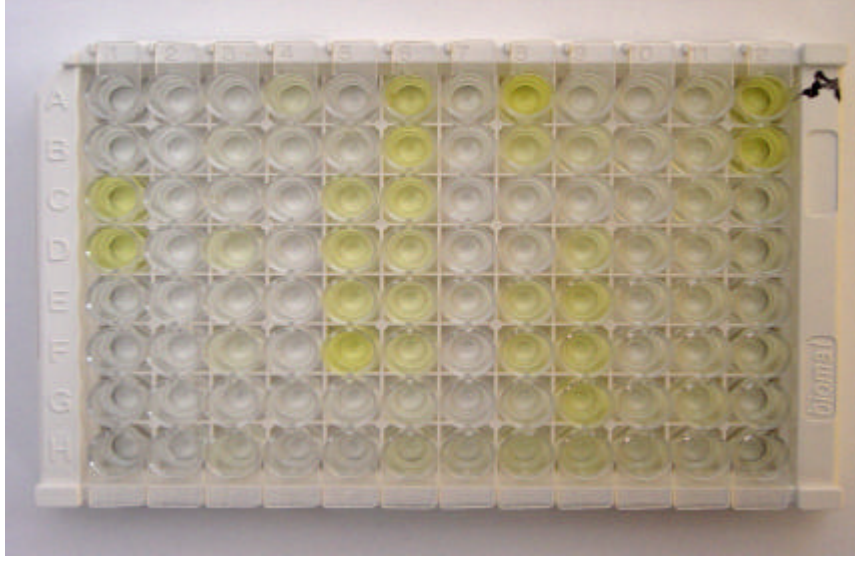
Çizelge 4.3. Isparta ilinde domates yetistirilen alanlardan alınan örneklerde DAS-ELISA testi sonuçlarına göre CMV'nin bulunma oranları

Örnek Alınan Yer	CMV şüpheli örnek sayısı	CMV ile bulasik örnek sayısı	CMV'nin bulunma oranı (%)
Isparta-Merkez	5	3	60
Çayköy	31	28	90.32
Çandır	13	5	38.46
Yesilyurt	18	3	16.66
Gönen	23	7	30.43
Keçiborlu	6	2	33.33
Atabey	8	1	12,5
Senirkent	6	1	16,6
Sarkikaraağaç	5	0	0
Gelendost	6	0	0
Egirdir	3	1	33.33
İslamköy	3	0	0
Büyükgökçeli	3	1	33.33
Küçükgökçeli	8	5	62.5
Toplam	138	56	40.57

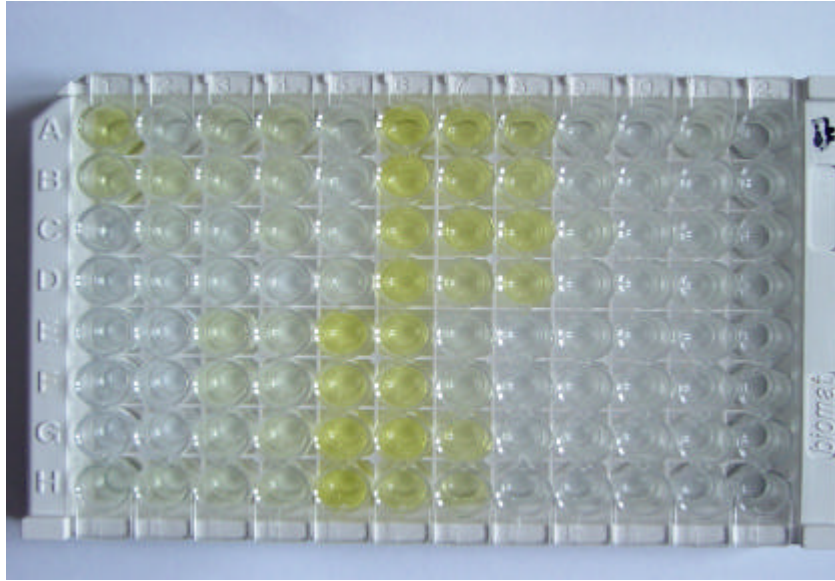
Sürveyler sırasında araziden toplanan 138 örneğin hepsine ELISA testi uygulanmıştır. Örneklerden 56 adedinin (% 40.57) CMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Çizelgeden görülebildiği gibi yörede CMV enfeksiyonu en yoğun olarak Çayköy, Küçükgökçeli, Isparta-Merkez ve Çandır'da bulunmaktadır. Bu bölgeleri Egirdir, Keçiborlu, Gönen, Yesilyurt, Büyükgökçeli ve Senirkent takip etmektedir. İslamköy, Gelendost ve Sarkikaraağaç'tan alınan örneklerde ise CMV enfeksiyonu saptanmamıştır.



Sekil 4.14. I. ELISA pleytinde pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerde meydana gelen renk değişimi.



Sekil 4.15. 2. ELISA pleytinde farkli reaksiyon veren örneklerde meydana gelen renk degisimi.



Sekil 4.16. 3. ELISA pleytinde farkli reaksiyon veren örneklerde renk degisimi.

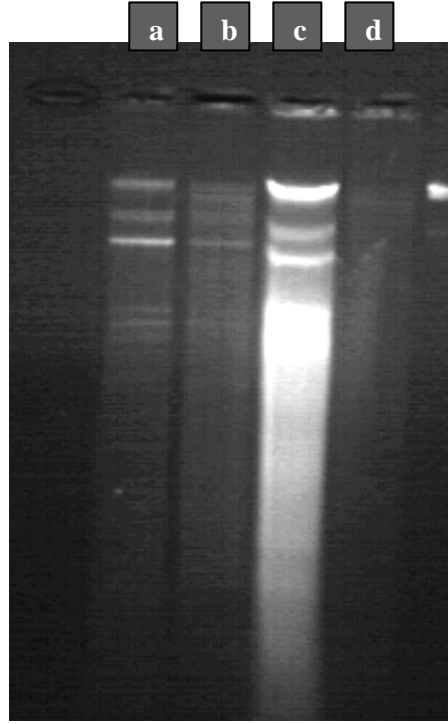
405 nm dalga boyunda okunan absorbans degerlerine göre saglikli kontrol degerinin en az iki kati ve daha yukari okuma degeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmistir. Ayrica gözlemsel olarakta degerlendirildiginde bu örneklerin bulundugu çukurlarda sari renk olusumunun meydana geldiği görülmüştür (Sekil 4.13.).

Çalışmalar sonucunda sarı renkli olarak gözlemlenen çukurlarda bulunan örneklerde CMV enfeksiyonu (+) tir.

4.4. dsRNA İzolasyonu ve Analizi Sonuçları

Bu araştırmada CMV'nin muhafazası, çoğaltılması ve izolasyonu için mekanik inokulasyon çalışmalarında çarpıcı sistemik enfeksiyon sergileyen *Nicotiana tabacum* "Xanthii", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN" ve *Capsicum annuum* L. bitkileri kullanılmıştır. Bu bitkilerin 12 gün sonra hasat edilen enfekteli genç yaprak dokuları viral dsRNA izolasyonunda kullanılmıştır. Çalışmalarda kontrol olarak musluk suyu ile muamele edilmiş bitki örneği de yer almıştır.

Purifikasyon çalışmaları sonucunda bitkisel dokulardan elde edilen CMV'ye ait viral dsRNA'ların analizi için % 1.2'lik agarose jel elektroforez kullanılmıştır. 100 V akımda 2.5-3 saat süreyle yapılan elektroforetik ayırma süreci sonucunda *Nicotiana tabacum* "Xanthii", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN" ve *Capsicum annuum* L. bitkilerinin yapraklarından elde edilen örneğe ait dsRNA profilinin üç bant içerdiği gözlemlenmiştir. *Nicotiana tabacum* "Xanthii" ve *Capsicum annuum* L. örneklerinden elde edilen dsRNA profilleri, *Nicotiana tabacum* "Samsun NN" den elde edilen profilden daha belirgin olarak gözlemlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan *Nicotiana tabacum* "Xanthii" örneğinden herhangi bir profil elde edilmemiştir (Şekil 4.17.).



Sekil 4.17. CMV ile enfekteli **a.** *Nicotiana tabacum* “Xanthii” **b.** *Nicotiana tabacum* “ Samsun NN” **c.** *Capsicum annuum* L. **d.** Saglikli *Nicotiana tabacum* “ Xanthii” test bitkilerinden izole edilen dsRNA’larin elektroforetik analizleri

5. TARTISMA ve SONUÇ

Yeryüzünde oldukça fazla üretilen sebzelerden biri olan domatesin belirli oranlarda verim düşürücü hastalıklardan etkilendiği bilinen bir gerçektir. Diğer patojenik domates hastalıklarında olduğu gibi virüs hastalıkları da domates üretimini ve verimini azaltmaktadır. Viral hastalıkların kontrolünün çoğunlukla güç ve imkansız olması, etkili bir kimyasal preparatın bulunmaması bu hastalıkların önemini daha da artırmaktadır.

İnsan beslenmesinde önemli yeri olan domatesin verimini artırıcı kültürel işlemlerin yanı sıra hastalıklarının da kontrolü gereklidir. Özellikle virüslerden kaynaklanan zararın en alt düzeye indirilebilmesi için öncelikle yetistiriciliği yapılan kültür bitkisinde virüsün bulunup bulunmadığının tanınması gereklidir. Virüs hastalıklarının bulunması ve zararı konukçu-virüs-vektör ilişkisine bağlı olarak yıldan yıla ve hatta mevsimden mevsime değişiklik gösterebilmektedir.

Bu noktadan hareketle çalışma alanına giren Isparta ili ve ilçelerinde domates üretilen alanlarda sürveyler yapılarak hiyar mozayik virüsü belirtisi gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Bu örneklerde hiyar mozayik virüsünün varlığı araştırılmıştır. Bu kapsamda yürütülen tanılama çalışmaları mekaniksel inokulasyon çalışmaları, DAS-ELISA test çalışmaları ve virüse özgü dsRNA analizi çalışmaları olarak üç yöntemle gerçekleştirilmiştir. Uygulanan yöntemler birbirini desteklemiş ve hiyar mozayik virüsünün varlığı üç yöntemle de ortaya konmuştur.

Domates bitkisine zarar veren viral hastalıklar arasında hiyar mozayik virüsü ilk sırada yer almaktadır (Coohen ve Nitzany, 1966). Virüs, üretim alanlarında esas olarak yaprak bitleriyle non-persistent biçimde taşınır. Çok sayıda yaprak biti cinsi ve türü virüsü hızlı bir şekilde alana buluşturur. Bu virüsle enfekteli bitkilerde genellikle bodurlasma, ipliksi yapraklılık, mozayik ve nekrozlaşma görülür (Brunt vd., 1996).

Arastırma kapsamına giren üretim alanlarında yapılan sürveyler sırasında, yapraklarda sararma, kivrılma, simetri bozulması ile yaprak incilmesi, mozayik

sekinde renk açılmaları, bitkilerde bodurlasma, anormal ve küçük meyve oluşumu gözlenmiştir. Bu belirtiler bitkilerde CMV enfeksiyonunu çağrıştırmış ve değişik araştırmacılar tarafından rapor edilen semptomlarla uyusma göstermiştir (Gibbs ve Harrison, 1970; Yorgancı, 1975; Brunt vd., 1996).

Geniş bir konukçu çevresine sahip olan CMV mekanik inokulasyonla kolayca taşınabilen bir virüstür. Çeşitli araştırmacılar virüsün mekanik inokulasyonla taşınmasının kolaylığını ve pratikliğini bildirerek araştırmalarında bu yöntemi kullanmışlardır (Gibbs ve Harrison, 1970; Tien vd., 1987; Hassan vd., 1993; Brunt vd., 1996; Sikora, 1998; Roossinck, 2001).

Gibbs ve Harrison (1970), test bitkisi olarak *Cucumis sativus*, *Nicotiana glutinosa*, *Lycopersicon esculentum* L., *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa* bitkilerini kullanırken, Hassan vd., (1993), CMV'yi tanımlama çalışmalarında *Nicotiana tabacum* "White burley", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN", *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana rustica*, *Datura stramonium*, *Cucumis sativus*, *Chenopodium amaranticolor* ve *Chenopodium quinoa* bitkilerini kullanmışlardır.

Bu çalışmada virüsün lokal ve sistemik konukçularını belirlemek amacıyla *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Lycopersicon esculentum* L., *Cucumis sativus*, *Datura stramonium*, *Capsicum annuum*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana tabacum* "White burley", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN", *Nicotiana tabacum* "Xanthii" bitkileri kullanılmıştır. Viral etkili yaprak dokusundan hazırlanan inokulumun virüse duyarlı hassas test bitkilerine yapılan inokulasyonları sonucunda ortaya çıkan belirtiler değerlendirilmiştir. *Chenopodium amaranticolor* ve *Chenopodium quinoa* bitkileri lokal lezyon konukçuları, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana rustica*, *Nicotiana tabacum* "Samsun NN", *Nicotiana tabacum* "Xanthii", *Nicotiana tabacum* "White Burley", *Capsicum annuum* L. bitkileri ise virüsün sistemik konukçuları olarak belirlenmiştir.

Çalışma sırasında toplanan bitki örneklerinden yapılan mekanik inokulasyon testleri sonucunda kullanılan test bitkilerinde şu belirtiler gözlenmiştir:

Chenopodium amaranticolor ve *Chenopodium quinoa* bitkilerinin inokulasyon yapılan yaprakları üzerinde 5-7 gün sonra lokal nekrotik lezyonlar gelişmiştir. Bu belirtiler CMV ile çalışmalar yapan araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir. Nitekim Gibbs ve Harrison (1970), Yorgancı ve Erkan (1992), Hassan vd., (1993), Güldür ve Yılmaz (1995), Brunt vd., (1996) ve Vizüete vd., (2002) *Chenopodium amaranticolor* ve *Chenopodium quinoa* bitkilerinin CMV'nin lokal lezyon konukçuları olduğunu ifade etmektedir.

Hiyar mozayik virüsünün tütün türlerinde genellikle sistemik enfeksiyona neden olduğu ve ayrıca bu türlerin virüsün muhafazası ve pürifikasyonu için iyi bir kaynak oluşturduğu bildirilmektedir (Gibbs ve Harrison, 1970; Francki vd., 1979; Güldür ve Yılmaz, 1995). Bu çalışmada test bitkisi olarak kullanılan tütün türlerinden, *Nicotiana tabacum* "White burley", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN", *Nicotiana tabacum* "Xanthii", *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana rustica* bitkileri de daha önce yapılan çalışmalar doğrultusunda sistemik enfeksiyon sergilemiştir. Tütün bitkilerinin yeni gelişen genç yapraklarında hafif-orta-siddetli sararma, mozayik ve yaprak deformasyonları gözlenmiştir.

CMV ile inokule edilen domates bitkisinin yapraklarında ortaya çıkan belirgin sararma ve incelmeler ile yaprak ayasındaki daralmaların virüsle enfekteli domateslerde görülen tipik belirtiler olduğu değişik araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Francki vd., 1979; Kaper ve Waterworth, 1981; Babadoost, 1988; Hassan, 1995; Brunt vd., 1996; Nameth, 2002).

Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında CMV ile inokule edilen *Cucumis sativus* bitkisinde yoğun mozayik belirtileri gözlenmiştir. *Datura stramonium*'da ise herhangi bir semptom elde edilmemiştir. Bu bitkilerle ilgili benzer sonuçlar, Francki vd., (1979) ve Kaper ve Waterworth (1981) tarafından da rapor edilmiştir.

Capsicum annuum L. bitkisine yapılan mekaniksel inokulasyonlardan 12-14 gün sonra bitkilerin yapraklarında çarpıcı deformasyon, incelme ve mozayik ile bitkide

bodurlasma ortaya çıkmıştır. Virüsle enfekteli biber bitkilerinde benzer belirtiler Yao, (1988), Hobbs vd., (2000) ve Sarma vd., (2001) tarafından da elde edilmiştir.

Sürveyler sırasında toplanan domates örneklerinin, hassas test bitkilerine mekanik sel inokulasyonları sonucunda hiyar mozayik virüsü için tipik belirtiler gözlenmiştir. Bu çalışmada inokulasyonlar sonucunda test bitkileri üzerinde gelişen belirtiler daha önceki çalışmalarda, hiyar mozayik virüsünün test bitkileri üzerinde sergilediği belirtilerle paralellik göstermiştir (Güldür ve Yılmaz, 1995; Yorgancı ve Erkan, 1992). Ayrıca elde edilen belirtiler bitki virüslerinin tanımlanmasına yönelik "Descriptions of Plant Viruses" isimli kaynaktan bildirilen sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

İsparta ili ve ilçelerinde CMV enfeksiyonu belirtisi gösteren örneklerden, virüse duyarlı test bitkilerine yapılan mekanik sel inokulasyonlar sonucunda oluşan bu belirtilerin daha önceki çalışmalarda elde edilen bulgularla örtüşmesi virüsün CMV olabileceği kanaatini desteklemiştir. Ancak mekanik inokulasyon testleri ile bazen çeşitli nedenlere bağlı olarak test bitkilerinde belirtiler elde edilemediği bir gerçektir. Bu nedenle mekanik inokulasyon testinin tek başına kullanımının yanlışlığı neden olabileceği göz önüne alınmalı ve tanımlama çalışmaları daha duyarlı test teknikleri ile desteklenmelidir.

Virüsün tanımlanması amacıyla yapılan çalışmaların 2. kısmını serolojik testler oluşturmaktadır. Serolojik testler ile hedeflenen virüs yönünden elde edilen pozitif reaksiyonlar bu virüsün bitkide bulunduğu işaret etmektedir. Diğer pek çok virüs hastalığında olduğu gibi CMV enfeksiyonunu ortaya çıkarmada serolojik testlerden DAS-ELISA yöntemi araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılmıştır (Al-Musa ve Mansour, 1983; Yorgancı ve Erkan, 1992; Güldür ve Yılmaz, 1995; Bostan vd., 2002). Bu çalışmada, toplanan şüpheli örnekler üzerine uygulanan serolojik testler; Clark ve Adams (1977)'in önerdiği DAS-ELISA testidir. DAS-ELISA testinin diğer yöntemlere göre çok daha duyarlı, ekonomik ve güvenilir olduğu bildirilmiştir (Clark ve Adams, 1977; Clark, 1981; Lange vd., 1983).

DAS-ELISA testi sonuçlarının değerlendirilmesinde sağlıklı örneğin iki katı absorbans değeri gösteren örnekler pozitif olarak kabul edilebileceği için (Clark, 1981; Cardin vd., 1984; Bitterlin vd., 1984) test sonuçlarında bu değerlendirme göz önüne alınmıştır. Negatif örneğin gösterdiği absorbans değerinin iki katından yüksek absorbans değeri gösteren örnekler pozitif, diğerleri ise negatif olarak kabul edilmiştir.

DAS-ELISA testi sonucunda Isparta ilinin domates yetiştiriciliği açısından önemli yörelerinden toplanan 138 örnekten 56 adedinin CMV ile enfekteli olduğu ortaya konmuştur. Enfeksiyon en yoğun olarak Çayköy (%90.32), Küçükgökçeli (%62.5), Isparta-Merkez (%60) ve Çandır (%38.46)'da saptanmıştır. Bunu Keçiborlu, Egirdir, Gönen, Yesilyurt, Büyükgökçeli ve Senirkent yöreleri takip etmiştir.

Mekaniksel inokulasyon çalışmaları ve ELISA testleri sonucunda CMV ile enfekteli olduğu belirlenen örnekler virüsün moleküler düzeyde tanılama çalışmalarında kullanılmıştır.

Hiyar mozayik virüsünün izolasyonu ve çoğaltılması için farklı bitkiler kullanılabilir. Yao (1988), *Nicotiana glutinosa* ve *Capsicum spp.*, yi virüsün izolasyonu ve çoğaltılması bakımından uygun bitkiler olarak ifade ederken, Wang vd., (1988), *N. tabacum* "Xanthii", *Nicotiana glutinosa* ve *Cucumis sativus* bitkilerini, Wilson ve Halliwell (1985) ise *N. tabacum* "Xanthii" bitkisini izolasyon ve çoğaltım konukçusu olarak kullanmayı tercih etmiştir.

Viral dsRNA izolasyonu için bitki yapraklarının uygun hasat dönemi araştırmacılara göre değişmektedir. Raj vd., (2002), inokule edilen *Nicotiana rustica* yapraklarında 4-5 gün sonra virüs konsantrasyonunun maksimum düzeyde olduğunu bildirirken Morris ve Dodds (1979) dsRNA izolasyonu ve analizi için en uygun hasat zamanının inokulasyondan 7-14 gün sonra olduğunu ifade etmektedir. Yılmaz ve Davis (1984) ise en uygun zamanın inokulasyondan 10-14 gün sonra olduğunu belirtmiştir.

Bu çalışmada dsRNA izolasyonu ve analizinde kullanılmak üzere yapraklar 12-14 gün sonra hasat edilerek kullanılmıştır.

Hiyar mozayik virüsü ile çalışmalar yapan pek çok araştırmacı viral dsRNA'ların analizi için göç ortamı olarak ya %1-1.5 agar jel (Wilson ve Halliwell, 1985; Raj vd., 2002; Yordanava vd., 2002) ya da %3-6' lik poliakrilamid jel (Korkmaz ve Çınar, 1998; Fisher ve Nameth, 2000) tercih etmişlerdir. Bu araştırmada Morris ve Dodds (1979)'un önerdiği yöntem kullanılarak CMV ile enfekteli örneklerden izole edilen viral dsRNA'lar %1.2'lik agar jel ortamında elektroforeze tabi tutularak fraksiyonlarına ayrılmıştır.

CMV'ye özgü dsRNA profili *Nicotiana tabacum* "Xanthii", *Nicotiana tabacum* "Samsun NN" ve *Capsicum annuum* L. örneklerinden oldukça belirgin olarak gözlemlenirken sağlıklı *Nicotiana tabacum* "Xanthii" bitkisinden herhangi bir bant elde edilmemiştir. Dodds vd., (1984a), virüslerin tanısında dsRNA'nin önemini vurgulayarak sağlıklı bitkilerin yüksek molekül ağırlıklı dsRNA içermeyeceğini ve bir bitkiden elde edilen dsRNA'nin o bitkinin virüs benzeri bir etmen veya bir RNA virüsü ile enfekte olduğu gerçeğine dayandırmışlardır.

CMV'ye ait dsRNA'nin elektroforetik analizi çalışmaları sonucunda bazı araştırmacılar 3 dsRNA profili elde ederken (Morris ve Dodds, 1979; Valverde vd., 1994; Korkmaz ve Çınar, 1998), diğer bazı araştırmacılar ise (Wilson ve Halliwell, 1985; Honda vd., 1986; Wang vd., 1988; Sarma vd., 2001; Raj vd., 2002; Yordanava vd., 2002) bu virüsün profilinin RNA4 olarak isimlendirilen bir satellit RNA banti içerdiğini ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada ise viral RNA1, RNA2 ve RNA3 fraksiyonları belirgin olarak elde edilirken, RNA4 bandının belirsiz olduğu saptanmıştır. Çalışmada RNA4 bandının düşük molekül ağırlığı nedeniyle elektroforez sırasında jelden uzaklaştığı ya da elde bulunan CMV irkinin RNA4 içermemesi sebebiyle elde edilemediği söylenebilir. Nitekim Morris ve Dodds, (1979), Valverde vd., (1994) ile Korkmaz ve Çınar (1998)

tarafından yapılan çalışmalarda da CMV'li örneklerin elektroforetik analizi sonucunda virüse özgü 3 RNA bantinin elde edildiği bildirilmiştir.

Bu araştırmada, Isparta yöresindeki domates üretim alanlarında hiyar mozayik virüsünün tanılama çalışmaları yürütülmüştür. Tanılama çalışmalarında mekaniksel inokulasyonlar ile test bitkilerinde ortaya çıkan belirtiler değerlendirilmiş, serolojik testlerden DAS-ELISA uygulanmış ve virüsünün nükleik asit düzeyinde tanısı gerçekleştirilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Adkins, S., Achor, D., Baker, C.A., 2003. Cucumber mosaic Virus Diagnosed in Desert Rose. Agricultural Research Service.([http:// www.ars.usda.gov](http://www.ars.usda.gov).)
- Alan, M.N., Kovanci, I., Yoltas, Y., Çolakoglu, H., 1992. Domatesin Kaldirmis olduğu Bitki Besin Elementleri, Bunların Tasınması ve Potasyumun Verime olan Etkileri Üzerinde Arastirmalar. Türkite I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt:2, 169-171, İzmir.
- Al-Musa, A., Mansour, A., 1983. Plant Viruses Affecting Tomatoes in Jordan. *Phytopathology*, 106-186.
- Anonymous, 2000. [http:// www.plantpath.wisc.edu/soyhealth/virus/techniques/elisa](http://www.plantpath.wisc.edu/soyhealth/virus/techniques/elisa).
- Anonymous, 2001. Tarımsal Yapı, T.C. Basbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, DİE Matbaası, Ankara.133.
- Babadoost, M., 1988. Viral Diseases of Tomato in Illinois. University of Illinois Extension. Report on Plant Disease.(<http://veg-fruit.cropsci.uiuc.edu>).
- Bar-Joseph, M., Marcus, R., Lee, R.F., 1989. The continuous Challenge of Citrus Tristeza Virus Control. *Ann. Rev. Phytopathology*, 27: 291-316.
- Bayraktar, K., 1970. Sebze Yetistirme. Cilt:2, Ege Üniversitesi, Zir. Fak. Yayın No: 169, 475, İzmir.
- Bedlan, G., 1985. Cucumber Mosaic virus. *Review of Plant Pathology*. 64 (10): 422.
- Berlinger, M.J., 1986. Pests, in the Tomato Crop. Chapman and Hall Ltd., London, pp.391-443.
- Berks, R., 1970. Potato Virus X. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No:4. Common W. Mycology Inst. Ferrylane, Survey, England.
- Bitterlin, M.W., Gonsalves, D., Cummins, J.M., 1984. Irregular Distribution of Tomato Ringspot Virus in Apple Trees. *Plant Disease*, 68: 576-571.

- Blum, H., Beier, H., Gross, H.J., 1987. Improved Silver Staining of Plant Proteins RNA and DNA in Polyacrylamide gels. *Electrophoresis*, 8: 93-99.
- Bostan, H., Demirci, E., Sahin, F., 2002. Determination of Virus Diseases on Tomato and Cucumber Grown in Greenhouses in Erzurum and Artvin Provinces by ELISA. *Journal Turkish Phytopath.*, Vol:31, No:1, 23-29.
- Brunt, A.A., Craptree, K., Dolywitz, M., Gibs, A., Watson, L., 1996. *Viruses of Plant Description and Lists from the Vide Database*. University Pres, Cambridge, U.K.1444.
- Cardin, L., Devergne, J.C., Pitrat, M., 1984. Use of the ELISA Test to Estimate the Concentration of Cucumber Mosaic Virus (CMV). I. Methodological Aspects *Agronomic* 4: 125-135.
- Chupp, C., Sherf, A.F., 1960. *Vegetable Diseases and Their Control*. Ronald Pres Co. Newyork.
- Cillo, F., Finetti-Sialer, M.M., Papanice, M.A., Gallitelli, D., 2004. Analysis of Mechanisms Involved in the Cucumber Mosaic Virus Satellite RNA-mediated Transgenic Resistance in Tomato Plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, Vol:17, No:1.pp.98-108.
- Clark, M.F., Adams, A.N., 1977. Characteristic of the Microplate Method of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34:475-483.
- Clark, M.F., 1981. Immunosorbent Assays in Plant Pathology. *Ann. Rev. Phytopath.*, 19: 83-106.
- Cohen, S., Nitzany, F.E., 1966. Transmission and Host Range of Tomato Yellow Leaf Curl Virus. *Phytopathology*, 56:1127-1131.
- Diaz-Ruiz, J.R., Kaper, J.M.. 1978. Isolation of Viral Double-Stranded RNAs Using LiCl fractionation Procedure *Prepartative Biochemistry*, 8 (1): 1-17.
- Dixon, G.R., 1981. *Vegetable Crop Diseases*. Macmillan Publishers Ltd., Hong Kong, pp 400.

- Dodds, J.A., Morris, T.J., Jordan, R.L., 1984a. Plant Viral Double-Stranded RNA. *Phytopath.*22: 151-168.
- Dodds, J.A., Lee, J.G., Nameth, S.T., Laemmlen, F.F., 1984b. Aphid and Whitefly-transmitted Cucurbit Viruses in Imperial County, California. *Phytopath.* 74: 221-225.
- Doolittle, S.P., 1916. A new Infectious Mosaic Disease of Cucumber. *Phytopath.* 6: 145-147.
- Duran-Vila, N., Flores, R., Semancik, J.S., 1986. Characterization of Viroid Like RNA_s Associated with the Citrus Exocortis Syndrome. *Virology*, 150: 75-84.
- Faan, H.C., Sang, G.F., Kao, C.W., Chang, S.G., Lo, X.H., Chou, D., 1984. Identification of the Causal Viruses of Tomato Mosaic Virus in Guangdong Province. *Review of Plant Pathology*, 63(9): 385.
- Ferreira, S.A., Boley, R.A., 1992. Cucumber Mosaic Virus. <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/cucvir.htm>
- Fidan, Ü., 1995. Virus Diseases of Vegetables in Greenhouses in Izmir and Mugla. *Journal Turk. Phytopath.*, Vol. 25, No: 1, 7-14.
- Fisher, J.R., Nameth, S.T., 2000. Virus Assessment of *Ajuga reptans* Cultivars Reveals Alfalfa Mosaic Virus, Tobacco Streak and Cucumber Mosaic Viruses and a CMV Satellite RNA. *Hort Science* 35(2): 230-234.
- Francki, R.I.B., Mossop, D.W., Hatta, T., 1979. Cucumber Mosaic Virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No.213, p.6.
- Ganoo, S., Saumtally, S., 1998. Incidence of Virus Diseases in Tomato. Mauritius Sugar Industry Research Institute(<http://ncb.intnet.mu/moa/farc/amas98/>).
- Gibbs, A.J., Harrison, B.D., 1970. Cucumber Mosaic Virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No:1.
- Gierson, D., 1982. Gel Electrophoresis of RNA . Gel Electrophoresis of Nucleic Acids. A Practical Approach. IRL Pres, pp.1-38.

- Gonsalves, D., Provvidenti, R., Edwards, M.C., 1982. Tomato White Leaf: The Relation of an Apparent Satellite RNA and Cucumber Mosaic Virus. *Phytopathology*, 72: 1533-1538.
- Güldür, M.E., Yilmaz, M.A., 1995. Sanliurfa Ilinde Domateslerde Saptanan Virüsler. GAP Kongresi Bildirileri, 251-256.
- Gümüs, M., Erkan, S., Yorganci, Ü., Duman, I., 2001. Bazi Sebze tohumlarında Bulunan Viral Etmenlerin Saptanması Üzerine Arastirmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildiri Özetleri. 3-8 Eylül, Tekirdag.
- Günay, A., 1992. Özel Sebze Yetistiriciligi. Cilt:4, Çağ Matbaasi, s.103, Ankara.
- Hassan, S., Arif, M., Defoer, T., 1993. Preliminary Studies on Viral Diseases of Tomato in Malakand Agency of North West Frontier Province, Pakistan. *Sarhad Journal of Agricul.*, Vol. IX, No: 2.
- Hassan, S., 1995. Investigations on Virus Diseases of Tomato in Malakand, Pakistan. *Sarhad Journal of Agricul.*, Vol. IX, No: 1.
- Hobbs, H.A., Eastburn, D.M., D'Arcy, C.J., 2000. Solanaceous Weeds as Possible Sources of Cucumber Mosaic Virus in Southern Illinois for Aphid Transmission to Pepper. *Plant Disease*, 84: 1221-1224.
- Hollings, M., Huttinga, H., 1976. Tomato Mosaic Virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No:156. Common W. Mycol. Insti., Ferrylane, Surrey, England.
- Honda, Y., Hanada, K., Ushiyama, K., Zenbayashi, R., Tochiara, H., 1986. Alfalfa Mosaic Virus and Cucumber Mosaic Virus Isolated from Pepino (*Solanum muricatum*). *Ann. Phytopath, Soc. Japan*, 52: 870-873.
- Ie, T.S., 1970. Tomato Spotted Wilt Virus. CMI/AAB Description of Plant Viruses. No: 39. Common W. Mycol. Insti., Kew, Surrey, England.
- Jin, D.D., Lin, R.F., Xu, J.B., 1990. Investigation on the Occurence of Tomato Virus Diseases in Some Areas of Zhejiang Province. *Review of Plant Pathology*, 69(10): 807.

- Jones, J.B., Stall, R.E., Zitter, T.A., 1997. Compendium of Tomato Diseases. American Phytopathological Society Pres. Third Printing.
- Jorda, C., Alfora, A., Aranda, M., Moriones, E., Garcia-Arenal, F., 1992. Epidemic of Cucumber Mosaic Virus plus Satellite RNA in Tomatoes in Eastren Spain. *Plant Disease*, 76: 363-366.
- Jordan, R.L., Dodds, J.A., 1983. Hybridization of 5¹-end Labeled RNA to Plant Viral RNA in Agarose and Acrylamide Gels. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 1: 33-37.
- Kaper, J.M., Waterworth, H.E., 1981. Cucumoviruses. In *Handbook of Plant Virus Infections: Comparative Diagnosis*. Elsevier/North Holland, Biomedical Pres, Amsterdam. pp. 257-332.
- Kearney, C.M., Gonsalves, D., Provvidenti, R., 1990. A severe Strain of Cucumber Mosaic Virus from China and It's Associate Satellite RNA. *Plant Disease*, 74: 819-823.
- Korkmaz, S., Çinar, A., 1998. Bitki Virüs Hastalıklarının Double-Stranded RNA Analizi Yöntemiyle Tanisinin Yapılması. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri. Ankara.
- Korkmaz, S., 1999. Double- Stranded RNA (dsRNA) Analizi Yöntemiyle Bitki Virüslerinin Teshisi.Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 14(3) : 1-6.
- Krajacic, M., Lorkovic, Z., 1992. Optimizing Alternative Chromatographic Approach in Isolation of Viral Replicative dsRNA from Infected Plant Tissue. *Acta Biologica Hazu.*, 16/2, 1-9. Zagreb.
- Krajacic, M., Saric, A., 1993. Identification of Plant Viruses by Means of dsRNA Analysis. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 58, 2 : 139-150.
- Kuwite, C.A., Purcifull, D.E., 1982. Some Properties of a Cucumber Mosaic Virus Strain Isolated From Winged Bean in Florida. *Plant Disease*. 66: 1071-1073.
- Kyriakopoulou, P.E., Bem, F., Ververi, C., 1992. Tomato Shrinkage and Tomato Fruit Toughness two New Disease in Greece Probably Related to Cucumber Mosaic Virus. *Review of Plant Pathology*. 71(8), 587.

- Lange, L., Tien, P., Begtrup, J., 1983. The potential of ELISA and ISEM in seed health Testing. Reprint from Seed Science and Technol., 11: 477-490.
- Lavina, A., Garcia, I., Moriones, E., 1994. Incidence and Distribution of TSWV and CMV in Open Field Tomato Crops and Weeds in the Northeastern Spain. 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union-Kusadasi-Aydin-Turkey.
- Lot, H., Marchoux, G., Marrou, J., 1974. Evidence for Three Functional RNA Species in Several Strains of Cucumber Mosaic Virus. J. Gen. Virol. 22: 81-93.
- Maniatis, T., Fritsch, E.F., Sambrook, J., 1982. "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" pp.129-132 : 230-234. Cold Spring Harbor Laboratory.
- Martelli, G.P., Quacquarelli, A., 1988. The Present Status of Tomato and Pepper Viruses. Acta Horticulture 127: 39-64.
- Mathews, R.E.F., 1991. Diagnosis of Plant Diseases Virus. Plant Virology. Third Edition Academic Press, San Diego, USA.
- McMaster, G.K., Carmichael, G.G., 1977. Analysis of Single and Double Stranded Nucleic Acids on Polyacrilamide and Agarose Gels Using Glyoxal and Acridine Orange. Proc. Nat. Acad. Sci.(USA), 74: 4835-4838.
- Mercure, P.S., 1998. Mosaic Diseases of Tomatoes. University of Connecticut. Integrated Pest Management. (<http://www.hort.uconn.edu>)
- Morris, T.J., Dodds, J.A., 1979. Isolation and Analysis of Double-Stranded RNA from Virus-Infected Plant and Fungal Tissue. Phytopathology., 69: 854-858.
- Nameth, S.G.P., 2002. Cucumber Mosaic Virus: The Unknown Virus on Bedding Plants and Perennials. The Ohio State University Extension. <http://floriculture.osu.edu/archive/oct02/cmvm.html>.
- Newhouse, J.R., McDonald, W.L., 1990. Virus-like particles in Hypheae and Conidia of European Hypovirulent (dsRNA containing) strains of *Crphonectria parasitica*. Can. Jour. Bot., 68: 90-101.

- Özgöz, A., 1994. Bursa Yöresi Domateslerinde Virüs Hsataliklarinin Tespiti ve Yayilisi Üzerinde Çalismalar. Uludag Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dali, Yüksek Lisans Tezi, Bursa.
- Paden, K.W.C., Symons, R.H., 1973. Cucumber Mosaic Virus Contains a Functionally Divided Genome. *Virology*, 53: 487-492.
- Palukaitis, P., Roossinck, M.J., Dietzgen, R.G., Franckii, R.I.B., 1992. Cucumber Mosaic Virus. *Adv. Virus Res.* 41: 281-348.
- Powel, C.A., 1984. Comparison of Enzyme Linked Immunosorbent Way Produce for the Detection of Tomato Ringspot Virus in Woody and Herbaceous Hosts. *Plant Diseases*, 68: 908-910.
- Price, W.C., 1934. Isolation and Study of Some Yellow Strains of Cucumber Mosaic Virus. *Phytopathology*, 24: 743-761.
- Raj, S.K., Srivastava, A., Chandra, G., Singh, B.P., 2002. Characterization of Cucumber Mosaic Virus Isolate Infecting Gladiolus Cultivars and Comparative Evaluation of Serological and Molecular Methods for Sensitive Diagnosis. *Current Science*, Vol. 83, No: 9.
- Roossinck, M.J., 2001. Cucumber Mosaic Virus, a Model for RNA Virus Evolution. *Molecular Plant Pathology*, 2(2): 59-63.
- Rosner, A., Bar-Joseph, M., Moscovitz, M., Mevarech, M., 1983. Diagnosis of Spesific Viral RNA Sequences in Plant Extracts by Hybridization with a Polynucleotide Kinase-Mediated 32p-labeled Double-Stranded RNA Probe. *Phytopathology*, 73: 699-702.
- Sarma, Y.R., Kiranmai, G., Sreenivasulu, P., Anandaraj, M., Hema, M., Venkatramana, M., Murthy, A.K., Reddy, D.V.R., 2001. Partial Characterization and Identification of a Virus Associated with Stunt Disease of Black Pepper (*Pepper nigrum*) in South India. *Current Science*, Vol:80, No:3.
- Sevgican, A., 1999. Örtüalti Sebzeçiligi, Cilt 1: Ege Üniv. Ziraat Fak., Bahçe Bitkileri Bölümü, Yayin No: 528, 302, Izmir.

- Sharma, O.P., Khatri, H.L., Bansal, R.D., Komal, H.S., 1984. A New Strain of Cucumber Mosaic Virus Causing Mosaic Disease of Muskmelon. *Phytopathology*. Z. 109: 332-340.
- Sherf, A.F., MacNab, A.A., 1986. *Vegetable Diseases and Their Control*. John Wiley and Sons, New York.
- Sikora, E.J., 1998. *Virus Diseases of Tomato*. The Alabama Cooperative Extension System (Alabama A&M University and Auburn University). (www.aces.edu).
- Smith, M.K., 1972. *A Textbook of Plant Virus Diseases*. Academic Press, New York and London, 10-14 p.
- Seniz, V., 1992. Domates, Biber, Patlican Yetistirciligi. *Tarimsal Arastirmalari Destekleme ve Gelistirme Vakfi*, Yayin No:26, Kocaelik Yayinevi, p.11, Istanbul.
- Seniz, V., 1993. *Genel Sebzeçilik*. Uludag Üniversitesi, Zir.Fak. Ders Notlari, No:53, 230s. Bursa.
- Tien, P., Zhang, X., Qiu, B., Qin, B., Wu, G., 1987. Satellite RNA for the Control of Plant Diseases Caused by Cucumber Mosaic Virus. *Ann. Appl. Biol.* 111: 143-152.
- Tobias, L., Andrasfalvy, A., 1985. Necrotic and Other Virus Diseases on Tomato. *Review of Plant Pathology*, 64(5): 216.
- Tomlinson, J.A., Carter, A.L., Faithfull, E.M., Webb, M.J.M., 1973. Purification and Serology of the W Strain of Cucumber Mosaic Virus. *Ann. Appl. Biol.* 74:118-189.
- Tooley, P.W., Hewings, A.D., Falkenstein, K.F., 1989. Detection of Double-Stranded RNA in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology*, 79: 470-471.
- Valverde, R.A., Dodds, J.A., 1986. Evidence for Satellite RNA Associated Naturally with the U5 Strain and Experimentally with the U1 Strain of Tobacco Mosaic Virus. *J. Gen. Virol.*, 67: 1875-1884.
- Valverde, R.A., Nameth, S.T., Jordan, R.L., 1990. Analysis of Double-Stranded RNA for Plant Virus Diagnosis. *Plant Diseases*, 74: 255-258.

- Valverde, R.A., Arancibia, R.A., Can, F., 1994. Nonradioactive Probes by Direct Labeling of ssRNA from dsRNA. *Biotechniques*, Vol. 17, No: 1.
- Vizuete, B., Insuasti, M.L., Ochoa, J., Ellis, M., 2002. Biological and Serological Characterization of Tree Tomato Virus Diseases in Ecuador. Ninth Annual Report of the Integrated Pest Management Collaborative Research Support Program.
- Wang, W.Q., Natsuaki, T., Okuda, S., Teranaka, M., 1988. Comparison of Cucumber Mosaic Virus Isolates by Double-Stranded RNA Analysis. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*. 54: 536-539.
- Watkins, C.A., Jones, A.T., Mayo, M.A., Mitchell, M.J., 1990. Double-Stranded RNA Analysis of Strawberry Plants Affected by June Yellow. *Ann. Appl. Biol.*, 116: 73-83.
- Watterson, J.C., 1986. Diseases in the Tomato Crop. Chapman and Hall Ltd., University Pres, Cambridge, 443-485.
- Wilson, A.D., Halliwell, R.S., 1985. Characterization and Field Studies of a Cucumber Mosaic Virus Isolate from Spinach in the Winter Garden Area of Texas. *Plant Disease*, Vol:69, No:9.
- Xuan, T.H., Benigro, D.A., Favaliheydayat, M.A., Calilung, V.J., 1990. Virus Diseases of Tomato in the Philippines. I. Tobamovirus Group. *Review of Plant Pathology*. 69(3): 165.
- Yao, Y.C., 1988. A Study on Cucumber Mosaic Virus of Pepper in Thailand. ARC Training Report. China.
- Yardimci, N., Çulal, H., 2002. Isparta Yöresindeki Domateslerde Tütün Mozayik Virüsü ve Hiyar Mozayik Virüsünün Saptanması. *S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 51-56.
- Yazgan, A., Fidan, S., 1996. Tokat Kosullarına Uygun Kiraz Domates (*Lycopersicon esculentum Mill.var. Cerasiforme*) Çesitlerinin Belirlenmesi. GAP I. Sebze Tarimi Sempozyumu, 19-23, Sanliurfa.

- Yilmaz, 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. *Journal Turkish Phytopath.*, Vol. 13, No:1, 29-38.
- Yilmaz, M.A., Davis, R.F., 1985. Identification of Viruses Infecting Vegetable Crops Along the Mediterranean Sea Coast in Turkey. *Journal Turkish Phytopath.*, Vol. 14, No:1, 1-8.
- Yilmaz, M.A., Baloglu, S., Özaslan, M., Güldür, M.E., 1995. GAP Bölgesinde Kültür Bitkilerinde Belirlenen Virüsler. GAP Kongresi, 241-250.
- Yordanova, A., Hristova, D., Stoimenova, E., 2002. Serological and Electrophoretic Characterization of the Necrotic Strain CMV-NB of Cucumber Mosaic Virus. *Journal of Culture Collections.* Vol.3, 84-91.
- Yorganci, Ü., 1975. İzmir İlinde Domateslerdeki Virüs Hastalıkları, Yayılma ve Zarar Durumları, Elde Edilen İzolatlarla Bitolojik ve Serolojik Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Fitopatoloji ve Zirai Botanik Kürsüsü, Doktora Tezi, Bornava-İzmir.
- Yorganci, Ü., Erkan, S., 1991. Domateslerde Epidemiyi Oluşturan Bir Virüs Hastalığı Üzerinde İncelemeler. VI. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, İzmir.
- Yorganci, Ü., Erkan, S., Özaktan, H., Eser, B., 1994. Detection of Agents of Viral and Bacterial Disease in Seeds of Pepper, Tomato, Eggplant, Cucumber and Their Inactivation Ways. 9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union. 37-39. Kusadasi-Aydın-Turkey.

ÖZGEÇMİS

Adi ve Soyadi: Handan ERYIGIT

Dogum Yeri: ISPARTA

Dogum Yili: 1975

Medeni Hali: Evli

Egitim ve Akademik Durumu

Lise: 1989-1992 Isparta Saik Lisesi

Lisans: 1993-1997 Uludag Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü

Yabancı Dil: İngilizce, Almanca

Is Deneyimi : 1999-2000 DEVA Holding A.S.

2000- Arastirma Görevlisi (S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü)