

**T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**ANTALYA'DA ÖRTÜALTI HIYAR, KABAK VE KAVUN
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE BAZI SARILIK VİRÜSLERİ ÜZERİNDE
ARAŞTIRMALAR**

Safnaz ARSLAN

**Danışman
Prof. Dr. Nejla YARDIMCI**

**DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ISPARTA – 2019**



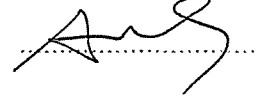
© 2019 [Safinaz ARSLAN]

TEZ ONAYI

Safnaz ARSLAN tarafından hazırlanan "**Antalya'da Örtüaltı Hıyar, Kabak ve Kavun Yetiştiriciliğinde Bazı Sarılık Virüsleri Üzerinde Araştırmalar**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Bitki Koruma Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

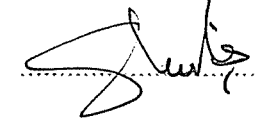
Danışman

Prof. Dr. Nejla YARDIMCI
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ
Adnan Menderes Üniversitesi



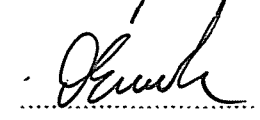
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Gürsel KARACA
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



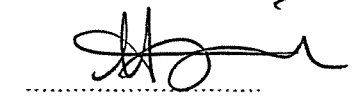
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Ömer ERİNCİK
Adnan Menderes Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Yusuf UÇAR

.....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Safnaz ARSLAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	14
2.1. Cucurbit aphid-borne yellows virüs Üzerinde Yapılan Çalışmalar	15
2.2. Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Üzerinde Yapılan Çalışmalar	20
2.3. Cucurbit Chlorotic Yellows Virus Üzerinde Çalışmalar	26
2.4. Ülkemizde Kabakgil Virüsleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar	32
3. MATERYAL VE YÖNTEM	37
3.1. Materyal	37
3.1.1. Çalışma bölgesi hakkında bilgi	37
3.1.2. Virüs ile enfekteli kabakgil bitki materyalinin temini	37
3.1.3. Serolojik testlerde kullanılan materyaller	37
3.1.4. Moleküler çalışmalarda kullanılan materyaller.....	38
3.1.4.1. Total RNA ekstraksiyonu çalışmalarında kullanılan materyaller	38
3.1.4.2. RT-PCR testlerinde kullanılan materyaller	38
3.1.5. Agaroz jel elektroforez çalışmalarında kullanılan materyaller	38
3.1.6. Dizi belirleme ve BLAST analizi çalışmalarında kullanılan materyaller	39
3.1.7. Filogenetik analiz çalışmalarında kullanılan materyaller	39
3.2. Yöntem.....	39
3.2.1. Sürvey Çalışmaları ve Örneklerin Alınması	39
3.2.2. ELISA testlerinin uygulanması	41
3.2.2.1. DAS-ELISA testinin uygulanması	41
3.2.2.2. TAS-ELISA testinin uygulanması	42
3.2.3. Moleküler çalışmalar.....	44
3.2.3.1. Total RNA (TRNA) ekstraksiyonu	44
3.2.3.2. RT-PCR çalışmaları	46
3.2.3.2.1. Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün RT-PCR ile tanısı.....	47
3.2.3.2.2. Cucurbit chlorotic yellows virus'ün RT-PCR ile tanısı	48
3.2.3.2.3. Cucurbit yellow stunting disorder virus'ün RT-PCR ile tanısı..	49
3.2.3.4. Agaroz-Jel Elektroforez Çalışmaları.....	50
3.2.3.5. Dizi Belirleme ve BLAST Analizi Çalışmaları	51
3.2.3.6. Filogenetik Analiz	52
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	53
4.1. Örtüaltı Kabakgil Üretim Alanlarında Yapılan Sürvey Çalışmaları	53
4.2. DAS-ELISA ve TAS-ELISA Testi Sonuçları.....	56
4.3. Vektör Teşhis sonuçları.....	62
4.4. Moleküler Çalışmalar	63
4.4.1. TRNA (Total Ribonükleik Asit) ekstraksiyon çalışmaları	63
4.4.2. RT-PCR çalışmaları	65
4.5. Dizi Belirleme Çalışmaları.....	68

4.5.1. Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün Kılıf Protein Gen Dizileme ve Dizi Analizleri	68
4.5.2. Cucurbit chlorotic yellows virus'ün Kılıf Protein Gen Dizileme ve Dizi Analizleri	71
4.5.3. Cucurbit yellow stunting disorder virüs'ün Hsp70h Gen Dizileme ve Dizi Analizleri	74
4.6. Filogenetik Analiz Çalışmaları	77
4.6.1. Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün Maksimum Parsimony Yöntemi ile Yapılan Filogenetik Analizi	77
4.6.2. Cucurbit chlorotic yellows virus'ün Maksimum Parsimony Yöntemi ile Yapılan Filogenetik Analizi	79
4.6.3. Cucurbit yellow stunting disorder virüs'ün Maksimum Parsimony Yöntemi ile Yapılan Filogenetik Analizi	80
TARTIŞMA ve SONUÇLAR	82
KAYNAKLAR	89
EKLER	100
EK-1. Cucurbit aphid-borne yellow virus'e ait DNA dizi örnekleri	100
EK-2. Cucurbit chlorotic yellows virus'e ait DNA dizi örnekleri	104
EK-3. Cucurbit yellow stunting disorder virus'e ait DNA dizi örnekleri	107
ÖZGEÇMİŞ	112

ÖZET

Doktora Tezi

ANTALYA'DA ÖRTÜALTI HIYAR, KABAK VE KAVUN YETİŞTİRİCİLİĞİNDE BAZI SARILIK VİRÜSLERİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Safnaz ARSLAN

**Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı**

Danışman: Prof Dr. Nejla YARDIMCI

Bu çalışma Antalya ili ve ilçelerindeki yoğun olarak üretimi yapılan örtüaltı hıyar, kabak ve kavun üretim alanlarında son yıllarda yaygın olarak görülen ve özellikle besin noksanlığı ile karıştırılan sarılık virüslerini tanılamak amacıyla yürütülmüştür.

Örtüaltı üretim alanlarına 2015-2016 yıllarında yapılan surveyler sırasında, özellikle alt yapraklarda klorotik köşeli noktalar, damarlar arası alanlarda klorotikleşme, kalın ve kırılğan görünümlü yapraklar, damarlarda renk açılması ve sararma şeklinde şiddetli ve yaygın sarılık belirtileri gözlenmiştir.

Bu nedenle yörede sarılık semptomuna neden olan Kabakgil afidle taşınan sarılık virüsü (Cucurbit aphid-borne yellow virus, CABYV), Kabakgil klorotik sarılık virüsü (Cucurbit chlorotic yellows virus, CCYV) ve Kabakgilsarıbodurlukbozukluğuvirüsü (Cucurbit yellow stunting disorder virus, CYSDV) 'nün varlığı serolojik ve moleküler yöntemlerle belirlenmiştir.

Sarılık belirtileri gözlenen hıyar, kabak ve kavun bitkilerinden toplanan 460 şüpheli bitki örneğinin %89'ununbu üç viral etmenin en az biri ile bulaşık olduğu DAS-ELISA ve TAS-ELISA testleri ile saptanmıştır.

ELISA testleri ile tanılanan CABYV, CCYV ve CYSDV ile tek enfeksiyon verdiği belirlenen örneklerin tanısı Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu(RT-PCR) ile doğrulanmıştır.

CABYV ve CCYV'ün tanısında kılıf protein (CP) gen bölgesi, CYSDV için ise ısı şok protein gen bölgesi (Hsp70)'den elde edilmiş olan primerler RT-PCR çalışmalarında kullanılmış ve her üç virüs için beklenen seviyelerde bant elde edilmiştir.

CABYV ve CCYV için protein kılıf, CYSDV için ise ısı şok protein gen bölgesine ait DNA dizilimlerini belirlemek için RT-PCR ürünleri kullanılmıştır.

Elde edilen DNA dizilimleri dünyanın farklı üretim bölgelerinden elde edilen ve Gen Bankasında kayıtlı olan CP ve Hsp70 genleriyle karşılaştırmış ve izolatların birbirleriyle ve diğer dünya izolatlarıyla benzerlik oranları ve filogenetik ilişkileri ortaya konmuştur.

CABYV izolatları ile gen bankası veri tabanında bulunan CABYV izolatlarının kılıf protein gen bölgeleri arasında %96-100, CCYV izolatlarının kılıf protein gen bölgeleri arasında % 91-95 oranında benzerlik bulunmuştur. CYSDV izolatlarının hsp70h gen dizilimleri arasında % 91-100 arasında benzerlik bulunmuştur. CABYV izolatı MK129536, CYSDV izolatı MK129537, CCYV izolatı ise MK129538 kabul numarası ile gen bankasına kaydedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: hıyar, kabak, kavun, CABYV, CCYV, CYSDV, kılıf protein geni (CP), ısı şok protein geni (Hsp70), DNA dizileme, filogenetik analiz

2019, 112 sayfa

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

INVESTIGATIONS ON SOME YELLOWING VIRUSES ON CUCUMBER, SQUASH AND MELON GROWN IN GREENHOUSE IN ANTALYA

Safinaz ARSLAN

**Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Plant Protection**

Supervisor: Prof. Dr. Nejla YARDIMCI

This study was carried out in order to diagnose yellowing viruses which are common in recent years and mixed with nutrient deficiency intensively cultivated cucumber, squash and melon production areas in Antalya province and its districts.

During the surveys carried out in 2015-2016 in the production areas, severe and widespread yellowing symptoms were observed, especially chlorotic spots in the old leaves, chloroticisation in the interatomic areas, leaves with thick and fragile appearance, color opening in the veins and yellowing.

For this reason, the presence of Kabakgil aphid-borne virus (Cucurbit aphid-borne yellow virus, CABYV), Cucurbit chlorotic yellows virus (CCYV) and Cucurbit yellow stunting disorder virus (CYSDV) was determined by serological and molecular methods.

89% of 460 suspected plant species which collected from cucumber, squash and melon plants were contaminated with at least one of these three viral agents, were determined by DAS-ELISA and TAS-ELISA tests.

The species identified by ELISA tests as single infection with CABYV, CCYV and CYSDV were confirmed by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

The coat protein (CP) gene region was used for the diagnosis of CABYV and CCYV and the primers obtained from the heat shock protein gene region (Hsp70) for CYSDV were used in RT-PCR studies and the expected levels of band were obtained for all three viruses.

RT-PCR products were used to determine the coat protein gene for CABYV and CCYV and the DNA sequences of the heat shock protein gene region for CYSDV.

The DNA sequences obtained were compared with the CP and Hsp70 genes obtained from the different production regions of the world and registered in the

GenBank, and the similarities and phylogenetic relationships of the isolates with each other and with other world isolates were revealed.

CABYV isolates that found in the gene bank database were found to have similarities between the coat protein gene regions of the CABYV isolates is %96-100, and between 91-95% of the coat protein gene regions of the CCYV isolates. There was a 91-100% similarity between the hsp70h gene sequences of CYSDV isolates. CABYV, CCYV and CYSDV isolates were registered to gene bank with accession number of respectively MK129536, MK12953, MK129538.

Key words: Cucumber, squash, melon, CABYV, CCYV, CYSDV, coat protein gene (CP), heat shock protein gene (Hsp70), DNA sequencing, Phylogenetic analysis

2019, 112 pages



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın tüm aşamalarında gerekli tüm teknikleri öğrenmem ve uygulamam konusunda her türlü bilgi ve desteğini esirgemeyen, değerli hocam Prof. Dr. Nejla YARDIMCI'ya göstermiş olduğu özen ve sabrından dolayı çok teşekkür ederim.

Tez izleme komitemde yer alan sayın Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ ve Doç. Dr. Hülya ÖZGÖNEN ÖZKAYA'ya tez aşamamda bana yol gösterdikleri için çok teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları sırasında bana rehberlik eden ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Handan ÇULAL KILIÇ'a teşekkürü borç bilirim.

Tüm moleküler çalışmalarım sırasında kilometrelerce uzaktan bana yol gösteren, tüm desteğini esirgemeyen ve sayesinde çok şey öğrendiğim Dr. Veli Vural USLU'ya sonsuz teşekkür ederim.

Filogenetik analizler esnasında bana desteklerini esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünden araştırma görevlisi Duygu SARI YOL'a teşekkür ederim.

4584-D2-16No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan çocuklarım ve eşime bana gösterdiği sabırlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Safnaz ARSLAN
ISPARTA, 2019

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3. 1. Hıyar, kabak ve kavun örneklerinin alındığı ilçeler.....	40
Şekil 3. 2. ELISA çalışmalarının aşamaları	44
Şekil 4. 1. Kavun bitkisinde; a) bitkilerin alt yapraklarından başlayan sarılık belirtisi, b) bitki geneline yayılan sarılık belirtisi, c) serada genel sarılık belirtisi d) yapraklarda damarlararası sararma ve klorotik beneklenme belirtisi.....	53
Şekil 4. 2. Hıyar bitkisinde a) bitkilerin alt yapraklarından başlayan sarılık belirtisi, b) bitki geneline yayılan sarılık belirtisi, c) sera genelinde sarılık belirtisi d) yapraklarda damarlararası sararma ve klorotik beneklenme belirtisi.....	54
Şekil 4. 3. Kabak bitkisinde; a) bitkilerin alt yapraklarından başlayan sarılık belirtisi, b) bitki geneline yayılan sarılık belirtisi, c) sera genelinde sarılık belirtisi d) yapraklarda damarlararası sararma belirtisi.	55
Şekil 4. 4. ELISA Pleytinde Cucurbit yellow stunting disorder virus'ün pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerinde meydana gelen renk değişimi...56	56
Şekil 4. 5. ELISA Pleytinde Cucurbit chlorotic yellows virus'ün pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerinde meydana gelen renk değişimi.....	57
Şekil 4. 6. ELISA Pleytinde Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerinde meydana gelen renk değişimi....	57
Şekil 4. 7. Toplanan kabakgil bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı	58
Şekil 4. 8. Toplanan hıyar bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı.....	60
Şekil 4. 9. Kabak örneklerinde saptanan virüslerin dağılımı	60
Şekil 4. 10. Toplanan kavun bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı	61
Şekil 4. 11. Enfekteli kabakgil bitkileri üzerindeki yaprak bitleri	63
Şekil 4. 12. Enfekteli kabakgil bitkileri üzerindeki beyaz sinekler	63
Şekil 4. 13. TAS-ELISA testi sonucunda Cucurbit aphid-borne yellow virus ile bulaşık olduğu tespit edilen bitkilere ait Total RNA ların elektroforez görüntüleri	64
Şekil 4. 14. DAS-ELISA testi sonucunda Cucurbit chlorotic yellows virus ile bulaşık olduğu tespit edilen bitkilere ait Total RNA ların elektroforez görüntüleri	64
Şekil 4. 15. DAS-ELISA testi sonucunda Cucurbit yellow stunting disorder virüs ile bulaşık olduğu tespit edilen bitkilere ait Total RNA'ların elektroforez görüntüleri	65
Şekil 4. 16. Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatlarının CABYV-F ve CABYV-R primerleri ile Gradient RT-PCR tekniği kullanılarak elde edilen optimum sıcaklık değerleri.	66
Şekil 4. 17. Cucurbit chlorotic yellows virus izolatlarının CCYV-F ve CCYV-R primerleri ile Gradient RT-PCR tekniği kullanılarak elde edilen optimum sıcaklık değerleri	66
Şekil 4. 18. Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatlarının CABYV-F ve CABYV-R primerleri kullanılarak klasik RT-PCR yöntemiyle yapılan amplifikasyonu	67
Şekil 4. 19. Cucurbit chlorotic yellows virus izolatlarının CCYV-F ve CCYV-R primerleri kullanılarak klasik RT-PCR yöntemiyle yapılan amplifikasyonu.....	67

Şekil 4. 20. Cucurbit yellow stunting disorder virüs izolatlarının CYSDV-F ve CYSDV-R primerleri kullanılarak yapılan klasik RT-PCR yöntemiyle yapılan amplifikasyonu.....	68
Şekil 4. 21. Cucurbit aphid-borne yellow virus 10 izolatı için yapılan BLAST analizi sonucu	69
Şekil 4. 22. Cucurbit aphid-borne yellow virüs kılıf protein genine ait çoklu nükleotid dizi karşılaştırmalarının ekran görüntüsü	70
Şekil 4. 23. Cucurbit chlorotic yellows virus 22 izolatı için yapılan BLAST analizi sonucu	72
Şekil 4. 24. Cucurbit chlorotic yellows virus kılıf protein genine ait çoklu nükleotid dizi karşılaştırmalarının ekran görüntüsü	73
Şekil 4. 25. Cucurbit yellow stunting disorder virüs 54 izolatı için yapılan BLAST analizi sonucu.....	75
Şekil 4. 26. Cucurbit yellow stunting disorder virüs'ün Hsp70 gen bölgesine ait çoklu nükleotid dizi karşılaştırmalarının ekran görüntüsü	76
Şekil 4. 27. Gen bankasında kayıtlı dünyanın farklı bölgelerinden ve Antalya ilinden elde edilen Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatlarının kılıf protein gen dizilimlerinin karşılaştırılması sonucunda Maksimum Parsimoni metodu ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.....	78
Şekil 4. 28. Gen bankasında kayıtlı dünyanın farklı bölgelerinden ve Antalya ilinden elde edilen Cucurbit chlorotic yellows virus izolatlarının kılıf protein gen dizilimlerinin karşılaştırılması sonucunda Maksimum Parsimoni metodu ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.....	79
Şekil 4. 29. Gen bankasında kayıtlı dünyanın farklı bölgelerinden ve Antalya ilinden elde edilen Cucurbit yellow stunting disorder virus izolatlarının Hsp70 gen dizilimlerinin karşılaştırılması sonucunda Maksimum Parsimoni metodu ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.....	80

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1. 1. Türkiye’de yetiştirilen kabakgil türlerinin üretim miktarları.....	3
Çizelge 1. 2. Türkiye’de örtüaltı sebze üretim alanları ve miktarları	4
Çizelge 1. 3. 2017 yılında Antalya’da yetiştirilen örtüaltı kabakgil bitkilerinin ekim alanı ve üretim miktarları.....	6
Çizelge 1. 4. Antalya’nın ilçelerinde 2017 yılında üretilen örtüaltı kabakgil üretim alanı ve miktarları.....	7
Çizelge 3. 1.Çalışmada kullanılan örneklerin alındığı ilçeler ve alınan örnek sayısı	40
Çizelge 3. 2. RT-PCR çalışmalarında kullanılan primerler ve baz dizilimleri	46
Çizelge 3. 3. RT-PCR çalışmalarında kullanılan programlar	47
Çizelge 3. 4. RT-PCR çalışmalarında kullanılan Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatları	48
Çizelge 3. 5. RT-PCR çalışmalarında kullanılan Cucurbit chlorotic yellows virus izolatları	49
Çizelge 3. 6. RT-PCR çalışmalarında kullanılan Cucurbit yellow stunting disorder virus izolatları	50
Çizelge 3. 7. Dizi Belirleme Çalışmalarında Kullanılan İzolatlar	51
Çizelge 4. 1. Toplanan kabakgil bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı	58
Çizelge 4. 2. ELISA testi ile hıyar bitki örneklerinde saptanan virüslerin dağılımı	59
Çizelge 4. 3.Toplanan örneklerin çeşitleri ve incelenen virüsler yönünden bulaşıklık oranları	62
Çizelge 4. 4. Antalya ili Cucurbit aphid-borne yellow virüsizolatları ile dünyadaki Cucurbit aphid-borne yellow virüsizolatlarının kılıf protein genlerinin nükleotid dizilimlerinin benzerlik oranları.....	71
Çizelge 4. 5. Antalya ili Cucurbit chlorotic yellowsvirüs izolatları ile dünyadaki Cucurbit chlorotic yellowsvirüs izolatlarının kılıf protein genlerinin nükleotid dizilimlerinin benzerlik oranları	74
Çizelge 4. 6. Antalya ili Cucurbit yellow stunting disorder virüs izolatları ile dünyadaki Cucurbit yellow stunting disorder virüs izolatlarının Hsp70 genlerinin nükleotid dizilimlerinin benzerlik oranları.....	77

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

Cp	Kılıf protein geni
dNTPs	Adenin, Guanin, Sitozin ve Timinden oluşan nükleotid solüsyonu
Hsp70	Isı şok protein geni
kb	Kilo baz (1000 baz çifti)
µl	Mikro Litre
nm	Nanometre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Time PCR
UV	Ultraviyole
TAE	Tris-asetat EDTA tampon çözeltisi
°C	Santigrad Derece

Kisaltmalar

BPYV	Beet pseudo yellows virus
CABYV	Cucurbit aphid-borne yellow virus
CCYV	Cucurbit chlorotic yellows virüs
CMV	Cucumber mosaic virus
CYSDV	Cucurbit yellow stunting disorder virüs
DAS-ELISA	Double Sandwich Elisa
LIYV	Lettuce infectious yellows virus
PABYV	Pepo aphid borne yellows virus
PRSV	Papaya ringspot virus
SqMV	Squash mosaic virus,
TAS-ELISA	Triple Sandwich Elisa
WMV	Watermelon mosaic virüs
ZYFV	Zucchini yellow fleck virus
ZYMV	Zucchini yellow mosaic virus

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun sürekli artması, insanların tarım ürünlerine talebini de aynı oranda artırmaktadır. Büyüklüğü artmayan tarım arazileri ile gıda ihtiyacının karşılanabilmesi yüz yılımızın en büyük sorunu haline gelmekte ve tarımda ön görülen tek yol verim artışı olarak görülmektedir. Tarımsal üretimde artış sağlamanın yolları ise yüksek verimli ve dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi, gübreleme, sulama ve diğer verim artırıcı tarımsal faaliyetlerin doğru ve bilinçli olarak yapılması ve hastalıklarla ve zararlılarla mücadeledir.

Tropikal, sub-tropikal ve ılıman tarım ekolojilerinde hemen hemen tüm tarım ürünleri etkileyen zararlılar ve patojenler, önemli ve bazen de yıkıcı kayıplara yol açmaktadır. Patojenler, zararlılar ve yabancı otlar küresel tarım verimliliğinde %20 ile %40 arasında değişen kayıplardan sorumludurlar. Bitkilerde birkaç yüz nükleotidden oluşan viroidlerden, virüslere, bakterilere, funguslara ve yüksek bitkilere kadar çok sayıda bitki patojeni, bitkilerde hastalıklara neden olmaktadır.

Bitkileri hastalandıran patojenlerin etkileri, hafif semptomlardan, kültür bitkilerinin üretildiği geniş alanların yok olması şeklindeki felâketlere kadar uzanabilmektedir. Bitki patojenlerinin popülasyonları zaman, mekan ve genotip açısından değişkenlik gösterdiğinden kontrol edilmesi zordur. Neden oldukları kayıplarla mücadele etmek için, sorunu tanımlamak ve çözüm yolları bulmak gerekir. Patojenle mücadele, organizmanın hızlı ve doğru tanılanmasını, hastalığın şiddetinin tahminini, verim üzerindeki etkisini ve virülens mekanizmalarının tanımlanmasını gerektirmektedir (Richard vd., 2005).

Bitki patojenleri arasında virüslerin neden olduğu hastalıklar, pek çok bitki üretim sisteminde önemli sınırlayıcı bir faktördür. Antiviral ürünlerin mevcut olmaması nedeniyle, viral hastalıkları önlemek için kontrol stratejileri genellikle genetik dayanıklılık veya hijyenik önlemlere ya da hastalıklı bitkilerin yok edilmesi temeline dayanmaktadır. Uluslararası seyahat ve bitki materyali ticareti, yeni virüsleri ve vektörlerini dünyanın değişik üretim sistemlerine dahil etme riskini artırmaktadır. Ayrıca, değişen iklim koşulları, yeni getirilen virüslerin veya vektörlerinin başarılı bir şekilde yayılmasına katkıda bulunabilmektedir (Hanssen vd., 2010).

Kültür bitkilerini değişik oranlarda etkileyerek ürün kayıplarına neden olan virüs hastalıklarına karşı önlem alınmadığı takdirde % 100'lere varan oranlarda verim kayıpları ortaya çıkabilmektedir. Bu hastalıklarından dolayı Dünya'da her yıl 60 milyar dolar civarında ürün kaybı meydana geldiği tahmin edilmektedir (Matthews, 1992).

Dünyadaki tarım sektörü içerisinde en önemli alt sektörlerden biri sebze yetiştiriciliğidir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre; 2017 yılında dünyada 57,2 milyon hektar alanda, 1,1 milyar ton yaş sebze üretimi yapılmıştır (Anonim, 2017 a). Sebzeler insanlığın temel ihtiyacı olan bitkisel karbonhidrat, protein ve vitaminlere sahip besinlerin üretilmesi ve tüketime sunulması gibi insanlık için hayati bir işlevi yerine getirmektedir.

Türkiye, üretime müsait verimli ve geniş tarım alanları, iklim ve ekolojik koşulların elverişli olması sayesinde meyve ve sebzelerinin iyi koşullarda ve kaliteli olarak yetiştiği sayılı ülkelerden biridir. Ülkemizde neredeyse her mevsimde ve her bölgede sebze ve meyve üretimi mümkündür. Türkiye'de yaklaşık 23.375 bin hektar tarım alanının % 15,8 (3.697 bin ha)'lık kısmı nadas alanı olmak üzere, % 66,4 (15.532 bin ha)'lük kısmında tarla bitkileri, % 3,4 (798 bin ha)'lük kısmında sebze tarımı, % 14,3 (3.340 bin ha)'lük kısmında ise meyve tarımı yapılmaktadır. TÜİK verilerine göre 2017 yılında ülkemizin toplam sebze üretimi 30,8 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (Anonim, 2017b).

Çin 574 milyon tonluk üretimi ile dünyada en fazla yaş sebze üreten ülke konumundadır. Çin dünya yaş sebze üretiminden %52 oranında pay almaktadır. Bu ülkeyi sırasıyla Hindistan (109 milyon ton) ve ABD (36 milyon ton) izlemektedir. Türkiye 28 milyon tonluk üretimi ile dünya sıralamasında dördüncü sırada yer almakta ve dünya yaş sebze üretiminden % 2,5 oranında pay almaktadır (Anonim, 2017a).

Tarım ve Orman Bakanlığı, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü'nün 2014 yılı verilerine göre karpuz, kavun ve hıyar üretiminde ikinci, biber üretiminde üçüncü ve

domates üretiminde de dördüncü sırada yer alan Türkiye, dünya sebze üretiminde lider ülkeler arasında bulunmaktadır (Anonim, 2014).

Türkiye'nin sebze üretim kompozisyonuna bakıldığında domates, hıyar, biber, patlıcan, karpuz, kavun gibi ürünlerin de dahil olduğu meyvesi için yetiştirilen sebze grubunun toplam sebze üretiminin büyük kısmını oluşturduğu görülmektedir (Anonim, 2017 a). Üretim miktarları bakımından ise ülkemizde en çok yetiştirilen sebzelerin başında domates gelmekte bunu ise kabakgil bitkileri izlemektedir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1. 1. Türkiye'de yetiştirilen kabakgil türlerinin üretim miktarları (Ton)
(Anonim, 2017 b)

Yıl	Hıyar	Karpuz	Kavun	Kabak
2004	1 725 000	3 825 000	1 750 000	292 000
2005	1 745 000	3 970 000	1 825 000	294 000
2006	1 799 613	3 805 306	1 765 605	288 336
2007	1 670 459	3 796 680	1 661 130	267 142
2008	1 682 776	4 002 285	1 749 935	279 451
2009	1 735 010	3 810 205	1 679 191	307 419
2010	1 739 191	3 683 103	1 611 695	314 340
2011	1 749 174	3 864 489	1 647 988	317 705
2012	1 741 878	4 022 296	1 688 687	293 709
2013	1 754 613	3 887 324	1 699 550	299 858
2014	1 780 472	3 885 617	1 707 302	312 923
2015	1 822 636	3 918 558	1 719 620	351 550
2016	1 811 681	3 928 892	1 854 356	449 561
2017	1 827 782	4 011 313	1 813 422	292 000

Ülkemiz, oldukça değişik ekolojik şartlara sahip olduğundan, pek çok bahçe bitkileri türlerinin yetiştiriciliğine olanak sağlar. Örtüaltı yetiştiriciliği de bu grup içerisinde önemli bir yere sahiptir. İşletme maliyeti yüksek, iş gücü yoğun olmasına rağmen birim alandan yüksek verim alınmasını sağlayarak küçük alanların marjinal olarak değerlendirilmesine olanak veren örtüaltı yetiştiriciliği, aynı zamanda yıl içerisinde

düzenli bir işgücü kullanımı sağlaması nedeniyle de ülkemizdeki en önemli tarımsal faaliyetlerden birisi haline gelmiştir.

Türkiye’de seracılık oldukça yakın bir geçmişe sahiptir. Ülkemizde seracılık faaliyetleri ilk kez 1940’lı yıllarda güney illerimizdeki bazı tarımsal kuruluşlarda araştırma amaçlı seraların inşa edilmesi ile başlamıştır. Seracılıkta 1940-1960 yılları arasında gelişim hızı oldukça yavaş olmuştur. Bu dönemde Antalya ve İzmir illeri dolaylarında az sayıda ticari amaçlı sera kurulabilmiştir. Türkiye’de seracılığın asıl büyük aşaması 1970 yılından sonra görülmektedir. Bu gelişmenin en büyük nedeni saydam polietilenin seralarda örtü malzemesi olarak kullanılmasına başlanması olmuştur (Emekli vd., 2008). Örtü altı tarımda kullanılan yapılar, alçak plastik tüneller, yüksek plastik tüneller ve seralar olmak üzere üç grupta incelenebilir (Öneş 1990).

Türkiye, örtüaltı varlığı bakımından Dünyada ilk dört ülke arasında Avrupa’da ise İspanya ile ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizde 75.200 hektar alanda örtüaltı üretim yapılmaktadır. Ülkemizde seralarda yetiştirilen ürünlerin % 95’ini sebze türleri (737.177 da), % 4’ünü meyve ve % 1’ini de süs bitkileri türleri oluşturmaktadır. Toplam 6,1 milyon tonluk örtüaltı üretimimizin 5,9 milyon tonunu sebze grubu oluşturmaktadır (Çizelge 1.2) (Anonim, 2017b).

Çizelge 1. 2. Türkiye’de örtüaltı sebze üretim alanları ve miktarları (Anonim, 2017b)

Ürünler	Üretim Miktarı (Ton)	Toplam Üretimdeki Pay (%)
Domates	3.829.831	% 52
Hıyar	1.121.625	% 15
Karpuz	791.277	% 11
Biber	704.293	% 9,5
Patlıcan	344.620	% 5
Kabak	219.304	% 3
Kavun	185.762	% 2,5

Ülkemizde örtüaltı yetiştiriciliği ekolojik koşullara bağımlı bir gelişme göstererek, özellikle Akdeniz kıyısında yoğunlaşmıştır. Örtüaltı üretim miktarı olarak Antalya % 51'lik payla (3.2 milyon ton) birinci sırada yer almaktadır. Bu ilimizi sırasıyla, Mersin % 18 (1 milyon ton), Adana % 11 (670 bin ton) ve Muğla % 9 (527 bin ton) illeri takip etmektedir. Bu 4 ildeki toplam örtü altı üretimimiz yaklaşık 5.4 milyon ton ile toplam örtüaltı üretiminin yaklaşık % 90'nını oluşturmaktadır. Ülkemizdeki örtüaltı toplam üretim alanının % 37'si ise Antalya ilinde bulunmaktadır (Anonim, 2017b)

Ülkemizde en çok yetiştirilen sebze türleri göz önüne alındığında domatesten sonra sırayı *Cucurbitaceae* familyası içerisinde bulunan kabakgil bitkilerinin aldığı görülmektedir. Kabakgil sebzeleri ülkemizde hem açık alanda hem de örtüaltında yaygın olarak yetiştirilen bitkilerdir. Gerek serada gerekse açık alanda yetiştirilen sebzelerden kavun, karpuz, hıyar ve kabak gerek besin içerikleri, gerekse vitamin içerikleri bakımından oldukça zengindir. Özellikle kavun ve karpuz yüksek su içerikleri, tat, iştah açıcılık ve serinletici özellikleri bakımında yaz mevsiminde en çok tüketilen sebzelerdendir. Hıyar da zengin su içeriği ve vitamin içeriği bakımından gerek taze olarak, gerekse turşu olarak sofralarımızda sürekli bulunan bir sebzedir.

Kabakgiller, dünya çapında yetiştiriciliği yapılan *Cucurbitacea* familyasına ait 119 cins ve 825 türden oluşmaktadır (Jeffrey, 2005). Türkiye'de 3 cins ve bunlara ait 8 tür doğal olarak yayılış göstermektedir. Bunlar *C. melo*, *C. sativus*, *C. anguria*, *Cucurbita pepo*, *C. moschata*, *C. maxima*, *Lagenaria vulgaris* ve *Luffa cylindrica*'dır.

Bu familya içerisinde yer alan ve tarımı yapılan başlıca kabakgil türleri ise kavun (*Cucumis melo* L.), hıyar (*C. sativus* L.), kabak (*Cucurbita pepo*), ve karpuz (*Citrullus lanatus* L.)'dur (Günay, 1993). Ülkemizdeki kabakgil üretiminde ilk sırayı karpuz alırken bunu sırasıyla hıyar, kavun ve kabak takip etmektedir (Anonymous, 2014). Türkiye'de kabakgiller (kavun, karpuz, hıyar ve kabak) toplam sebze üretiminde % 33'lük bir paya sahiptir (Gümüş vd., 2004).

Örtüaltı sebze üretiminin merkezi konumunda olan Antalyailindeen önemli tarımsal ürün olan domatesi hıyar, karpuz ve kavun üretimi izlemektedir. TUİK'in 2014 yılı rakamlarına göre Antalya genelinde yetiştirilen örtüaltıkabakgil bitkilerinin üretim alanları ve üretim miktarları Çizelge 1.3. ' de verilmiştir.

Çizelge 1. 3. 2017 yılında Antalya'da yetiştirilen örtüaltı kabakgil bitkilerinin ekim alanı ve üretim miktarları (Anonim, 2017 b).

		Ekilen Alan (Dekar)	Üretim (Ton)
Örtü Altı Alçak Tünel	Kabak (Sakız)	3905	17105
	Karpuz	3370	17150
	Kavun	60	240
Örtü Altı Cam Sera	Hıyar	17486	232501
	Kabak (Sakız)	630	3130
	Karpuz	1115	8673
	Kavun	685	4815
Örtü Altı Plastik Sera	Hıyar	19633	247358
	Kabak (Sakız)	4036	31498
	Karpuz	3611	26159
	Kavun	3819	27852
Örtü Altı Yüksek Tünel	Hıyar	705	6095
	Kabak (Sakız)	540	3060
	Karpuz	660	3600
	Kavun	15	64

2017 yılı üretim verilerine göre Antalya ili olarak örtüaltıkabakgil üretim değerleri incelendiğinde ilk sırayı 37.824 dekar üretimle hıyar bitkisi almaktadır. Bunu 9.111 dekar üretimle kabak, 8.756 dekar karpuz ve 4.579 dekar üretimle kavun izlemektedir.

Antalya ilinde sebze üretimi kapladığı alan açısından hububat ve meyveden sonra gelmesine karşın üretim değeri açısından ilk sırayı almaktadır. Antalya ili sebze üretimi açısından örtüaltı sebze yetiştiriciliği ile tanınmakla beraber özellikle yayla bölgelerinde örtüaltı yetiştiriciliği yanında açık tarlada sebze yetiştiriciliği yapılmaktadır.(Çizelge 1.4) Antalya'da örtü altı tarımda Aksu, Kepez, Kumluca, Serik, Manavgat, Alanya ve Gazipaşa ilçeleri öne çıkarken, Korkuteli ve Elmalı'da ise yayla seraları bulunmaktadır.

Çizelge 1. 4. Antalya'nın ilçelerinde 2017 yılında üretilen örtüaltı kabakgil üretim alanı ve miktarları (Anonim, 2017b).

İlçe	Ürün	Ekilen Alan (Dekar)	Üretim (Ton)
Akseki	Hıyar	3	30
Aksu	Hıyar	1650	25590
	Kabak (Sakız)	150	1540
	Kavun	465	1950
Alanya	Kabak (Sakız)	2055	8015
	Hıyar	7895	132720
Demre	Hıyar	1083	20370
	Kabak (Sakız)	528	6336
Döşemealtı	Hıyar	18	108
Elmalı	Hıyar	1800	12600
Finike	Hıyar	1115	18590
	Kavun	75	900
	Kabak (Sakız)	900	8100
Gazipaşa	Hıyar	16001	182280
	Kabak (Sakız)	270	810
Kaş	Hıyar	85	950
	Kabak (Sakız)	35	91
Kemer	Hıyar	2	16
	Kabak (Sakız)	128	896
	Kavun	4	32
Kepez	Hıyar	370	5180
	Kabak (Sakız)	140	980
	Kavun	390	2340
Konyaaltı	Hıyar	7	105
Korkuteli	Hıyar	100	1200
Kumluca	Hıyar	3650	40150
	Kavun	3200	25600
	Kabak (Sakız)	1800	12600
Manavgat	Hıyar	620	10955
	Kabak (Sakız)	2270	12140
Muratpaşa	Hıyar	95	1810
	Kavun	30	130
	Kabak (Sakız)	5	25
Serik	Hıyar	3330	33300
	Kabak (Sakız)	830	3260
	Kavun	415	1749

Bitki patojenleri arasında virüslerin neden olduğu hastalıkların, diğer tüm kültür bitkileri gibi kabakgil bitkilerinin üretim sisteminde de önemli sınırlayıcı bir faktör olduğu bilinmektedir. Virüslerden kaynaklanan çok sayıda hastalık nedeniyle kabakgiller familyasındaki bitkiler olumsuz etkilenmekte üretimi ve verimleri

azalmaktadır. Virüs infeksiyonları bu bitkilerde bazen orta derecede, bazen de yıkıcı zararlara neden olabilmektedir.

Özellikle vektörlerle taşınan virüslerin yol açtığı hastalıklar % 100'e varan kayıplara neden olabilmektedir (Ullman vd., 1991). Hastalık oranı ve şiddeti virüsün ırkına, konukçu bitkiye, vektöre, çevre koşullarına ve bulunduğu bölgeye göre değişkenlik göstermektedir (Lovisolo, 1980; Zitter vd., 1996; Sidek 1999; Şevik ve Arlı-Sökmen 2001). Bazı araştırmacılar virüs hastalıklarının kabakgil ürünlerinde nitelik ve nicelik yönünden % 50-100 arasında kayıplara yol açtığını ifade etmişlerdir (Nome vd., 1974; Mansourand ve Al-Musa, 1982; Blua ve Perring 1989; Alonso-Prados vd., 1997; Dahal vd., 1997; Racciah, 1999).

Kabakgiller familyasında bulunan bitki türlerinin çok sayıda virüse konukçuluk ettiği bilinmektedir (Zitter vd., 1996). Provvidenti kabakgillerden 35 ten fazla virüs izole edildiğini bildirirken (Provvidenti, 1996), Lecoq ve Desbiez (2012) ise bu sayının 60'tan fazla olduğunu ve bu sayıya her yıl yeni viral etmenlerin eklendiğini ifade etmektedir. Çoğunluğu vektör kaynaklı olan bu virüsler ya yaprak bitleri ya da beyazsineklerle taşınmaktadır. Kabakgil bitkileri Crinivirus, Begomovirus ve Ipomovirus cinslerinde bulunan ve beyazsinekle taşınan çok sayıda virüskonukçuluk yapmaktadır.

Sadece Akdeniz bölgesinde yetiştirilen kabakgillerin en az 28 farklı virüs tarafından etkilendiği ve bu bölgede en yaygın virüslerin Cucumber mosaic virus (CMV), Cucurbit aphid-borne yellow virus (CABYV), Papaya ringspot virus (PRSV), Squash mosaic virus (SqMV), Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) and Watermelon mosaic virus (WMV)'leri olduğu bildirilmiştir (Lecoq ve Desbiez,2012).

Hem dünyada hem de içerisinde Türkiye'nin de yer aldığı Akdeniz ülkelerinin çoğunda büyük ekonomik öneme sahip bir sektör olan örtüaltında kabakgil yetiştiriciliğinde de çok sayıda virüs hastalığı bulunmaktadır. Bu hastalıklar arasında son yıllarda örtüaltı kabakgil alanlarında hızla yayılansarılık virüslerinin önemi büyüktür. Wisler vd., (1998) dünya genelinde kabakgil yetiştirilen seralarda ve açık tarlalarda beyaz sineklerle bulaşan bazı virüslerin, sarılık hastalıklarına neden olduğu bildirilmiştir (Wisler vd., 1998). Zaman içerisinde bu virüslerin dağılımı ve görülme

sıklığı hızla artış göstermiştir. Örneğin Yunanistan'da ilk sarılık semptomlarının görüldüğü 1992 yılından sonra ülkenin önemli örtüaltı hıyar seralarında hastalığın hızla yayıldığı belirlenmiştir (Livieratos vd., 1998). Bu belirtiler daha sonra açık tarlalarda yetiştirilen hıyar bitkilerinde ve sera ya da tarlada yetiştirilen kavunlarda da görülmüştür. Önceleri bu belirtiler afit kökenli sarılık virüsü (CABYV) ile ilişkilendirilmiştir (Lecoq vd., 1994). Hastalığın ilk belirtileri olarak alt yapraklar üzerinde klorotik köşeli noktalar belirdiği ve daha sonra damarlar arası alanlarda klorotikleşme meydana geldiği, yaprakların kalın ve kırılğan bir görünüm aldığı ifade edilmiştir. Önceleri bu semptomlar genellikle yaz aylarında veya sonbaharın başlarında yüksek sera sıcaklıklarına, beslenme bozukluklarına, hatta pestisit fitotoksitesine atfedilmiştir. Bununla birlikte, hastalıklı bitkilerin ilk odağının sera açıklıklarının (kapılar ve pencereler) yakınında oluşu, sonradan rastgele dağılımı, hızlı yayılımı, besin maddelerinin ilavesinin etkisiz oluşu ve beyaz sinek yoğunluğunun yüksekliği hastalığın nedeninin bir viral etmen olduğu hipotezini desteklemiştir (Wisler vd., 1998). Sarılık hastalığının belirtileri diğer kabakgil virüs hastalıklarının belirtilerinden farklılık gösterdiği, etkilenen bitkilerin sergilediği belirtilerin, beyaz sineklerle bulaşan crinivirüslerin yol açtığı semptomlara veya kabakgillerde sararmaya neden olan CABYV'ye benzediği bildirilmiştir (Lecoq vd., 1994).

Geçtiğimiz on yılda kültür bitkilerinin üzerindeki zararlı etkileri ile crinivirus grubundaki virüslerin ortaya çıkması araştırmacıların ve üreticilerin dikkatini çekmiştir. Crinivirüs cinsine mensup yeni ortaya çıkan virüsler bitkisel üretimi sınırlayan bir engel olarak kabul edilmektedir (Navas-Castillo vd., 2011). Closteroviridae familyası içerisinde yer alan Crinivirüsler tek sarmal RNA (ssRNA)'lı virüslerdir. Closteroviridae familyası içerisinde ayrıca Ampelovirus, Closterovirus ve yeni önerilen Velarivirusler de bulunmaktadır (Martelli vd., 2012; Al Rwahnih vd.,2012).

Crinivirusler beyazsinekler ile ampelovirüsler ve closterovirüsler sırasıyla unlu bitler ve yaprak bitleri ile taşınırken velariviruslerin taşınma yolu ise hala belirsizdir (Martelli vd.,2012). Crinivirüsler beyazsinek populasyonlarının artması ile hızlı yayılma artışı gösteren tehlikeli virüsler olarak kategorize edilirler. Şimdiye kadar saptanan 14 crinivirüsün sadece dördünün kabakgilleri enfekte ettiği bildirilmiştir.

Bunlar; Cucurbit yellow stunting disorder virüs (CYSDV), Cucurbit chlorotic yellows virus (CCYV), Beet pseudo yellows virus (BPYV) ve Lettuce infectious yellows virus (LIYV)'leridir (Abrahamian ve Abou-Jawdah, 2014).

Crinivirüsler olarak kategorize edilen virüslerin ortaya çıkışı ve hızla yayılışı beyazsinek populasyonlarının artışına ve yayılmasına atfedilmektedir. Beyazsinek populasyonlarının artışının onların pestisitlere karşı direnç kazanması veya küresel ısınmayla ilişkili olabileceği ifade edilmektedir (Navas-Castillo vd., 2011). Dolaylı olarak da insanların yaptığı yoğun tarım uygulamaları, yabancı zararlıların girişi ve vejatatif materyallerin hareketi gibi eylemler bu virüslerin yayılımını şiddetlendirebilmektedir.

Crinivirüslerin benzer semptomlara yol açması virüsler arasında ayırım yapılmasını güçleştirmektedir. Dört crinivirüs de kabakgillerde benzer tarzda sararma semptomları meydana getirmektedir. Alt yaprakların damarlararası bölgelerinde görülen klorotik benekler parlak sarı bir renk alarak birleşirken, aşağıya doğru hafifçe kıvrık yapraklar kırılğan ve bombeli bir görünümündedir. Yapraklar büyüyüp yaşlandıkça daha şiddetli bir sararma semptomu ortaya çıkar. Semptomlar giderek yayılır ancak genç yapraklara asla ulaşmaz. Meyve şekli ve rengi değişmez ancak meyve sayısı, toplam ağırlık ve şeker içeriği önemli ölçüde azalır (Abou-Jawdah vd., 2000a; Abrahamian vd., 2013). Kavun ve karpuz gibi diğer kabakgil bitkilerinde de benzer şekilde alt yapraklarda sararma belirtileri görülür. CCYV ve CYSDV crinivirüsleri sık sık bitkide karışık enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. Kavun ve hıyarda bu iki virüsün karışık enfeksiyonlarında meydana gelen sararma semptomlarının bu virüslerden hangisinden kaynaklandığı ayırt edilemez (Abrahamian vd., 2012). Sararma belirtileri çoğu zaman fizyolojik ve / veya beslenme bozuklukları, aşırı toprak pHsının etkileri, mikro gıda noksanlıkları, doğal yaşlanma ve pestisit fitotoksitesisi ile karışabilmektedir. Sonuçta, sararmanın nedenleri olarak crinivirüslerin görsel olarak tanınması yetiştiriciler ve araştırmacılar için zordur (Wisler vd.,1998).

Beyazsinek populasyonlarını azaltıcı uygulamalar (nadas, bitkisel artıkların yok edilmesi, ekim tarihleri, yabancı otların ortadan kaldırılması, malçlar ve sulama) crinivirüs yoğunluğunu azaltılabilir veya geciktirebilir. Seralarda böcekleri

geçirmeyen tül ve çift kapı kullanımı ile crinivirüs infeksiyonunda azalma sağlanabilmektedir. Çeşitli renklerdeki renkli plastik malçların kullanımının, beyazsineklerle bulaşan virüslerin görülme oranını azaltmada etkili olduğu kanıtlanmıştır (Simmons vd., 2010). Vektör popülasyonlarını ya biyolojik ya da kimyasal kontrol yoluyla azaltmak önemli olmakla birlikte genellikle, Closterovirüsleri nakleden vektörlerin kimyasal kontrolü, hızlı direnç geliştirdikleri için hastalıkların yayılmasının önlemede etkili olmamıştır (Berdiales vd., 1999). Sıkı karantina önlemlerine ek olarak, crinivirüslerin kontrolü şu anda geleneksel entegre zararlı yönetimi yaklaşımına odaklanmaktadır. Bu virüslere karşı dayanıklı çeşitlerin araştırılmasına yönelik umut verici çalışmalar da mevcuttur.

Geniş bir konukçu dizisini enfekte edebilme kapasiteleri, kabakgil bitkilerinde yıkıcı zararlara neden olmaları ve beyazsinekler tarafından hızlı bir şekilde bulaşma yeteneklerinden dolayı crinivirüsler geçtiğimiz on yılda, giderek önem kazanmışlardır. Sadece beyazsinekler tarafından taşınan Crinivirüs cinsinin bazı üyeleri yeni ortaya çıkan virüsler olarak kabul edilirler. Yeni crinivirüslerin bildirilme oranı dikkat çekicidir. Günümüzde seralarda ve açık tarla alanlarında yetiştirilen kabakgilleri enfekte eden ve sarılık hastalıklarına yol açan dört crinivirüs kabakgil konukçularının dışında ticari önemi olan diğer bitkileri ve yabancıotları da enfekte etmektedirler.

Tüm kültür bitkilerinde sıklıkla, bazıları yıkıcı sonuçlar doğuran yeni virüsler ortaya çıkmaktadır. Bitki virüsleri ve virüs hastalıklarının kontrolü ile ilgili çalışmalar 100 yılı aşkın bir süredir yürütülmekle birlikte, virüsle bulaşık bitkilerin tedavisinde etkili herhangi bir yol bulunamamıştır. Kemoterapi, termoterapi ve meristem uç kültürü yöntemleri ile başarılı sonuçlar alınsa da büyük ölçekte kullanılma olanakları yoktur. Bu nedenle virüs hastalıklarıyla mücadelede ana yaklaşım viral infeksiyonu önlemek veya geciktirmek ya da etkilerini azaltmak olmuştur. Bu hedefleri gerçekleştirmek için karantina önlemleri, hastalıklı bitkilerin imhası, ürün hijyeni, virüssüz bitki materyali ve eradikasyon gibi bitki sağlığına yönelik uygulamaların yanı sıra üretim faaliyetlerinde değişiklikler, vektörleri kontrol etmek için pestisitlerin kullanılması, ılımlı ırkların korunması ve yaygınlaştırılması, dayanıklı veya tolerant çeşitlerin yetiştirilmesi gibi çeşitli yollar kullanılmaktadır. Bu tedbirler tek başlarına veya kombinasyon halinde kullanılabilir

(Thresh,2002). Bu etmenlere karşı, diğer patojenler karşı uygulanan kimyasal savaş önlemlerinin olmayışı ve diğer kontrol yöntemlerinin de üretici tarafından yeterli düzeyde bilinmeyişi bitkilerde virüslerden kaynaklanan kayıpların giderek artmasına neden olmaktadır.

Antalya ilinde örtüaltı üretim alanlarında yapılan surveyler sırasında ise özellikle kabakgil üretim alanlarında besin noksanlığını andıran sarılık belirtilerinin (özellikle alt yaprakların damarlararası bölgelerinde görülen klorotik beneklerin parlak sarı bir renk alarak birleşmesi, yaprakların aşağıya doğru hafifçe kıvrık, kırılğan ve bombeli bir hale dönüşmesi) yoğun bir şekilde görülmesi, meyve renginde ve kalitesinde herhangi bir değişiklik olmamasına karşın üreticiler ile yapılan görüşmelerde verim kayıplarının fazla olduğunun belirtilmesi nedeni ile bu belirtilerin sarılık virüslerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Aynı zamanda sarılık belirtileri görülen üretim alanlarında sarılık belirtilerinin hızlı bir şekilde yayılması ve gerek yaprak biti gerekse beyazsinek popülasyonunun yoğun olması bu belirtilerin vektörler aracılığı ile taşınan virüsler kaynaklı olabileceği kanaatini doğurmuştur.

Dünya'daki kabakgil bitkilerini tehdit eden ve sarılık virüsleri olarak tanımlanan CABYV, BPYV, CYSDV, CVYV ve CCYV virüsleri ele alındığında; özellikle kabak üretim seralarında sarılık belirtileri yanında yaprakbiti popülasyonunun yoğun olması nedeni ile bu belirtilere neden olan virüsün CABYV olabileceği, aynı zamanda özellikle kavun ve kabak üretim alanlarından toplanan şüpheli bitki örnekleri üzerinde beyazsinek popülasyonunun yoğun olması ve yapılan literatür taramalarında, sarılık belirtileri veren bitkilerde özellikle CCYV ve CYSDV virüslerinin büyük oranda bir arada bulunduğu belirtilmesi nedeni ile çalışmada bu virüsler ele alınmıştır.

Neredeyse ülkemizin tüm yörelerinde yetiştirilen ve kültürümüzde ağırlıklı bir yer sahip olan kabakgil bitkilerini enfekte ederek verim ve kalite kaybına neden olan virüslerin tanılanması, dayanıklılık çalışmalarında bir ön koşuldur. Ayrıca etmenin biyolojisi ve epidemiyolojisi hakkında bilgi sahip olmak ve bu doğrultuda etkili mücadele yöntemleri belirlemek açısından şarttır.

Ülkemizde ise örtüaltı kabakgil bitkilerinin üretim alanlarında sarılık virüslerinin durumunu ortaya koyan çalışma sayısı son derece azdır. Bu tez çalışmasında dünyadaki kabakgil üretimini ciddi anlamda tehdit eden bu üç sarılık virüsünün (CABYV, CYSDV ve CCYV) Antalya ilindeki örtüaltı kabakgil üretim alanlarındaki durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya’da kabakgiller familyası içindeki bitki türlerinde zararlı olan ve ekonomik düzeyde kayıplara yol açan çok sayıda virüs hastalığı bulunmaktadır (Zitter vd., 1996). Akdeniz Havzası'nın birçok ülkesinde yaygın olan sarılık hastalıklarına başlıca üç farklı virüsün neden olduğu bildirilmektedir. Sardinya’da 2001 yılından beri kavun ve hıyarları etkileyen sarılık virüslerinin Beet pseudo-yellows virus (BPYV, genus Crinivirus, family Closteroviridae) (Tomassoli vd., 2003); CYSDV, genus Crinivirus , family Closteroviridae) (Celix vd., 1996) ve CABYV, genus Polerovirus, family Luteoviridae) olduğu saptanmıştır (Lecoq vd., 1992).

İspanya’da sarılık hastalıkları 20 yıldan fazla bir süredir gözlenmektedir. Gıda yetersizliğinden ya da hatalı tarımsal uygulamalardan kaynaklandığı sanılan bu belirtilere aslında virüslerinneden olduğu belirlenmiştir. 1980’li yıllar süresince sararma simptomları *Trialeurodes vaporariorum* tarafından taşınan Beet pseudo yellows virus (BPYV) ile ilişkilendirilmiştir. Ancak, 1990’lı yıllarda, *T. vaporariorum* yerini giderek yeni bir crinivirüs olan Cucurbit yellow stunting disorder virüsünün (CYSDV) vektörü olan *Bemisiatabaci*’ye bırakmıştır.

Son yıllarda Dünya’daki kabakgil bitkilerini tehdit eden ve sarılık virüsleri olarak tanımlanan CABYV, BPYV, CYSDV, CVYV ve CCYV virüsleri ile ilgili çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Bunlardan Cucumber vein yellowing virus (CVYV, genus Ipomovirus) ve Cucurbit aphid-borne yellows virüslerinin (CABYV) ileride tehlikeli virüsler haline gelebileceği düşünülmektedir (Kassem vd., 2007).

Crinivirüsler, semi-persistent şekilde iletilir ve nispeten kısa bir süre için vektör içerisinde muhafaza edilirler. CCYV, *B. tabaci* (B) ve (Q) türleri ile taşınmaktadır (Gyoutoku vd., 2009). Enfekteli bitkilerde floemle sınırlı ve genel olarak düşük yoğunlukta bulunmaları nedeniyle teşhis çalışmalarında serolojik yöntemlerden ziyade daha duyarlı olan nükleik asit saptama yöntemlerinin daha güvenilir olduğu bildirilmektedir.

Tüm crinivirusler önemli düzeyde verim azalmasına neden olmakta ve bitkinin büyümesini engellemektedirler. Örneğin CYSDV enfeksiyonu nedeniyle hıyarda

%30-50 arasında, kavunda %80'i geçen verim kaybı meydana geldiği bildirilmiştir (Brown vd., 2007; Abou-Jawdah vd., 2000b; Lo'pez-Sese'vd., 2000). Yeni ortaya çıkan bir crinivirüs olan CCYV kavunda CYSDV'den daha az, %10-20 arasında verim kaybına yol açmaktadır (Gu vd.,2011).

2.1. Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virüs Üzerinde Yapılan Çalışmalar

1992 yılında kabakgillerde uzun zamandır bilinen tek polerovirus olan Cucurbit aphid-borne yellows virüs(CABYV)tanımlanmıştır (Lecoq vd., 1992). Ürün verimi üzerindeki etkilerine rağmen yaşlı yapraklarda ortaya çıkan sarılık simptomları göze çarpmadığı ya da gıda noksanlığıyla karıştırılabildiği için polerovirüsler sık sık göz ardı edilmişlerdir.

1994 yılında Akdeniz havzasında bu virüsün kabakgil bitkilerinde kontrolü için dayanıklılık çalışmaları yürütülmüştür. Virüs, kavun ve kabaklarda, çeşitli yabancı otlarda (*Lamium amplexicaule*, *Senecio vulgaris*, *Capsella bursa-pastoris*) saptanmıştır. Farklı ülkelerden gelen çeşitli türlerde virüse karşı ıslah edilen hatlarda dayanıklılık oluştuğu ve klasik ıslah programlarıyla etkili bir virüs kontrolünün yapılabileceği belirlenmiştir (Lecoq vd., 1994).

CABYV'nün diğer virüslerle karışık enfeksiyonu üzerinde yürütülen bir çalışmada kokulu kavunlarda ZYMV ile karışık enfeksiyondan maksimum 3 hafta sonra CABYV konsantrasyonunun arttığı DAS-ELISA testleriyle ortaya çıkarılmıştır. Virüsün diğer kabakgil konukçularında mekanik olarak taşınan potyviruslerin çoğu ile birlikte bulunduğu konsantrasyon artışı tespit edilmiştir (Bourdin ve Lecoq, 1994).

Fransa'da 1996 yılında yapılan bir çalışmada kabakgil familyasındaki bitkilerin afit kaynaklı birçok virüsten etkilendiği bildirilmiştir. Çalışmada yaygın olduğu görülen CMV, WMV-2 ve ZYMV virüslerinin yanı sıra o yıllarda yeni tanımlanan CABYV'nün de kabakgil üretim alanlarında bulunduğu saptanmıştır. Çalışmada CABYV'nün *Myzus persicae* ve *Aphis gossypii* tarafından taşınan Luteovirüs grubunun geçici bir üyesi olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada Faizabadi Phoont, 90625, PI 124112, PI 124440, PI 255478, PI 282448 ve PI 414723 genotiplerinin virüse dirençli olduğu

belirlenmiştir (Dogimont vd., 1996).Dogimont vd., (1997) de ise PI 124112'de CABYV'ye karşı direncin, cab-1 ve cab-2 olarak sembolize edilen iki bağımsız tamamlayıcı resesif gen tarafından geldiği hipotezini doğrulamıştır.

Dahal vd., (1997),tarafından Nepal'in 68 farklı lokasyonunda, papaya ve kabakgil sebzelerinin yetiştirildiği ekim alanlarında yoğun biçimde farklı virüs benzeri belirtiler gözlenmiştir. Bitki örneklerinin DAS-ELISA ve SDS-immuno difüzyon testleri sonucunda; kış kavunu, hıyar ve balkabağı örneklerinde CABYV saptanmıştır.

Lübnan'da açık tarla kabakgil üretimindeki ekonomik kayıpların en başta gelen nedeninin virüs hastalıklarolduğu ifade edilen bir çalışmada en yaygın virüslerin ZYMV ve CABYV olduğu belirlenmiştir (Abou-Jawdah vd., 2000 a).

Kabakgillerde sarılığa neden olan ve son yıllarda dünya çapında önem kazanan virüslerden kabakgil afitle taşınan sarılık virüsü (CABYV) Luteoviridae familyasından Poevirus cinsinin bir üyesidir. *Aphis gossypii* ve *Myzus persicae* ile persistent ve sirkülatif olarak taşınan CABYV, mekanik olarak taşınmamaktadır. Kabakgiller familyasında zarar yapan ve bitki içerisinde floemde lokalize olan virüsün konukçuları arasında marul ve yemeklik pancar da bulunmaktadır (Reinbold vd., 2003).

Kıbrıs' ta üretilen kabakgil bitkilerinde etkili olan virüslerin varlığını ve yaygınlığını saptamak amacıyla yapılan çalışmada hıyar, kabak, kavun ve karpuz bitkilerinden alınan 2993 adet bitki örneği ZYMV, CMV, SqMV, WMV, PRSW-V (Papaya ringstop virüs type W) ve CABYV'ler testlenmiştir. Sonuçlar %45'lik bir oranla ZYMV'nin en yaygın virüs olduğunu, bunu sırası ile % 20.8 ile PRSV-W, %20.8 ile CABYV ve %7.8 oranı ile WMV'nün izlediğini göstermiştir (Papayiannis vd., 2005).

İran'ın önemli kabakgil üretim alanlarında bulunan virüsleri ve yoğunluklarını saptamak amacıyla 2001-2004 yıllarında yürütülen surveylerde ise kavun, hıyar, kabak ve karpuz bitkilerinden toplam 1019 yaprak örneğinde CABYV'nün varlığı DAS-ELISA ile araştırılmıştır. Bu testler sonucunda 1019 örneğin 471'i CABYV ile

enfekteli bulunmuştur. Bu testler sonucunda kabakgillerde en yaygın virüsün CABYV olduğunu ortaya koymuştur. Bu araştırma İran'da çeşitli kabakgil bitkilerinde CABYV'nün varlığını ortaya koyan ilk çalışmadır (Bananej vd., 2006).

2006 yılında güney İtalya'nın en önemli kabakgil üretim alanlarında BPYV ve CYSDV'nin varlığını araştırmak amacıyla yapılan çalışmada sadece semptomlu birkaç bitkide BPYV saptanmış ve örneklerin hiçbirinde CYSDV bulunmamıştır. Bu kez çalışmalar CABYV'nün CP genine spesifik primerler ile tek aşamalı RT-PCR ile sürdürülmüştür. RT-PCR sonucunda semptomlu 80 örneğin 39' unda beklenen büyüklükte 600bp'lik bir fragment elde edilmiştir. İki örnekten çoğaltılan DNA sekanslanmış ve BLAST kullanılarak nükleotid sekanslama işlemine tabi tutulmuştur. Her iki izolat da CABYV-N (GeneBank Acc. No. X76931) izolatu ile yüksek oranda (%99) nükleotid dizilim benzerliği göstermiştir. Bu çalışma CABYV'nün İtalya'daki ilk bildirimidir (Tomassoli ve Meneghini, 2007).

Lecoq vd., (2007) 1988 yılından beri, Fransa'da sarılık belirtilerinin *Myzus persicae* ve *Aphis gossypii* ile persistent olarak taşındığı ancak mekaniksel yolla taşınmadığı ve yaklaşık 25 nm çapında küresel bir virüsün varlığıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Serolojik analizler, nükleik asit hibridizasyon denemeleri ve konukçu dizisi çalışmaları CABYV'nün Beet western yellows virus (BWYV) ile uzaktan akraba, ancak farklı olduğunu göstermiştir. CABYV'nün kavun ve hıyarın meyve şekli veya kalitesini değiştirerek ve bitki başına meyve sayısını azaltarak verimi önemli düzeyde azalttığı ve CABYV'nün ülkede kabak bitkilerini enfekte eden en yaygın virüslerden biri olduğu bildirilmiştir.

İspanya'da 2003-2004 yetiştirme sezonunda tarla yetiştiriciliği yapılan kavun ve kabak alanlarından virüs şüpheli örnekler BPYV, CABYV, CMV, CVYV, CYSDV, Melon necrotic spot virus (MNSV), Papaya ringspot virus (PRSV), WMV ve ZYMV'leri açısından moleküler hibridizasyon ile analiz edilmiştir. Özellikle kavunların %83'ünde ve kabakların % 66'sında CABYV enfeksiyonu belirlenmiştir. CABYV'nün tek ve karışık enfeksiyonlarda yüksek oranda bulunuşu bu virüsün kabakgil üretim alanlarında önemli bir tehdit haline geleceğini akla getirmiştir. RT-PCR çalışmasında kullanılan oligonükleotitler; 5'-GAATACGGTCGCGGCTAGA AATC-3' (CE9) ve 5'-CTATTCGGGTTCTGGACCTGGC-3' (CE10)' dir. Bu

primerler kullanılarak yaklaşık 600bp büyüklüğünde tek sarmal DNA sağlıklı kontrollerden elde edilmiştir (Kassem vd., 2007).

Bananej ve Vahdat (2008) tarafından İran'ın 17 ilinde virüs ve benzeri belirti gösteren kavun, kabak, hıyar ve karpuz bitkilerinden örnekler toplanmıştır. Toplanan örnekler ELISA veya RT-PCR yöntemleri kullanılarak 11 kabakgil virüsü yönünden incelenmiştir. İncelenen tüm alanlarda en çok rastlanan virüsler CABYV, WMV ve ZYMV olmuştur.

Bananej vd., (2009) CABYV'nin İran ve Slovakya'dan elde edilen izolatlarının kılıf protein genlerinin sekanslarını ilk kez rapor etmişlerdir. Çalışmada referans olarak kullanılan Fransız CABYV-N izolatı ile nükleotit benzerliğine bakıldığında üç İran izolatı ile % 96.2–99.3 ve Slovak izolatı ile % 98.9 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Filogenetik analizler, incelenen CABYV izolatlarının CP geninin sekansının çok az farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Coğrafik açıdan uzak olan CABYV izolatlarının nisbeten yakın bir ilişki ve sekans benzerliğinin, konukçu ve vektör bolluğunda dünya genelinde salgınların patlak vermesi ve virüsün hızla genişlemesini yansıtıyor olabileceği bildirilmiştir.

Tunus'un başlıca kabakgil üretim alanlarında 2003-2004 yıllarında açık alanlarda ve plastik tünellerdeki kabakgillerde afit popülasyonunun yüksekliği ve bitkilerin yaşlı yapraklarındaki sararmalar CABYV'nün varlığını desteklemiştir. Örnekler CABYV'ne karşı ELISA ve RT-PCR ile taranmıştır. Akdeniz havzasında yaygın olduğu bilinen CABYV'nün Tunus'taki farklı kabakgil bitkilerinde varlığı ilk kez bu çalışmayla ortaya konmuştur (Hattab,2005). Tunus'ta kabakgilleri etkileyen CABYV'in bu virüsün kavun, karpuz, kabak ve hıyar üretiminde geniş alanlara yayılmış olduğu belirlenmiştir (Hattab vd., 2009).

Shanga vd., (2009), Çin'de kabakgil bitkilerinde görülen sararmalara CABYV ve MABYV (Melon aphid-borne yellows virus)'ün neden olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca üretim alanlarından toplanan 214 adet örneğin RT-PCR ile yapılan analizleri sonucunda, 108'inin CABYV ve 40'ının da MABYV yönünden pozitif olduğu bulunmuştur.

Knierim vd., (2010), tarafından 2008-2009 yılları arasında, Tayvan'da kabakgilleri enfekte eden Polerovirüslerin genetik çeşitliliğini araştırmak amacıyla sarılık belirtisi sergileyen 102 kabak örneği üniversal primerler kullanılarak RT-PCR ile test edilerek 29 adedinin polerovirüs olduğu belirlenmiştir. Çalışmada yaygın CABYV ırkına ilaveten rekombinant ırkı da tespit edilmiştir. Kabakgilleri enfekte eden farklı virüsleri ve CABYV'nün farklı 2 ırkının tanımlanmasında RT-PCR protokolü geliştirilmiş ve primerler dizayn edilmiştir. Ayrıca CABYV'nün filogenetik analizleri CP ve MP aminoasit sekanslarına bakılarak yapılmıştır.

İran'ın Sistan kavunlardan toplanan örneklerde DAS-ELISA ve RT-PCR ile testleri, etmenin CABYV olduğunu ortaya koymuştur. DAS-ELISA testleri sonucunda tüm örnekler CABYV ile bulaşık bulunmuştur. Bu çalışma ile yüksek oranda CABYV enfeksiyonunun Sistan bölgesinde kabakgil üretimini tehdit eder boyutlara ulaşabileceği bildirilmiştir (Abkhoo., 2012).

Akdeniz bölgesinde kabakgil bitkilerini etkileyen en az 28 farklı virüsün bulunduğu, bunların bazılarının çok yaygın ve yıkıcı zararlara neden olurken diğerlerinin sınırlı alanlarda ve spesifik ürünlerde etkili olduğu ve daha az zarar verdiği bildirilmektedir. Bu bölgedeki kabakgil virüslerinin çarpıcı bir özelliği sürekli artan bir çeşitlilik göstermeleridir. Nitekim, son 35 yıldır her 2 yılda bir sürekli yeni bir kabakgil virüsü rapor edilmiştir. Bu yeni virüslerden bazıları daha önceden dünyanın diğer bölgelerinde saptanan virüslerdir. Kabakgillerde en tahripkar virüslerden olan ZYMV ve CABYV Akdeniz bölgesi'nde ilk kez tanımlanmıştır (Lecoq ve Desbiez, 2012).

2010 yılında Mısır'daki kabak üretim alanlarından alınan 717 semptomatik kabak yaprağının serolojik analizleri örneklerde %95.6 oranında CABYV enfeksiyonunu göstermiştir. Elde edilen 12 izolatın viral genomunun iki bölgesi ORF3 ve ORFs4/5 dizi analizleri ile karakterize edildiğinde Mısır izolatları arasında çok benzerlik bulunmuştur. Mısır izolatlarının filogenetik analizleri sonucunda bir Fransız izolatı ile aynı kökeni paylaştığı ortaya çıkmıştır (Ayman ve Bagdady., 2012).

Bananej vd., (2015), tarafından İran'da 439 sera ve 106 açık tarla örneği DAS-ELISA ve RT-PCR metodlarıyla testlenmiştir. Sera örneklerinde %44 ve tarla

örneklerinde %43 oranlarında CABYV enfeksiyonu belirlenmiştir. Kısmi olarak sekanslanan İran CABYV izolatının sekans analizleri CABYV'nin bağımsız bir kökene sahip ve/veya İran'a giriş yapmış olabileceği düşünülmüştür.

2014 yılında Korede plastik tünel ve açık tarlada kavun (*Cucumis melo* cv. catalupo), oryantal kavunu (*C. melo* cv. oriental melon) ve hıyarlarda sararma virüsleri çalışılmıştır. PCR çalışmaları sonucunda CABYV'nün varlığı ve *Aphis gossypii* ile iletimi belirlenmiştir (Choi vd., 2015). Daha sonra RT-PCR analizi CABYV'ün CP genine özgü CABYV-CP-for: 5'-ATGAATACGGCCGCGGCTAGAAATC-3', CABYV-CP-Rev: 5'-CTATTTTCGGGTCTGGACCTGGCA-3' bir çift primer ile gerçekleştirilmiştir. Simptomlu tüm kavun örneklerinden beklenen seviyede (600 bp) RT-PCR ürünü, amplifiye edilmiştir. Sekans analizleri bir Japonya CABYV izolatının kılıf protein geni ile %100 benzerlik göstermiştir. Bu çalışma CABYV'nün Korede'ki ilk tespitidir (Choi ve Choi, 2016).

2015-2016 yıllarında Sri Lanka'da 5 adet acı kabak ve 2 adet dikenli kabakta virüsün varlığı tespit edilmiştir. Daha sonra 4 adet örnekte virüsün kılıf protein gen bölgesine ait primerler kullanılarak RT-PCR ile virüsün varlığı doğrulanmıştır. 1 adet örnek sekanslanmış ve sekans sonuçlarına göre yapılan BLAST analizi ile sekanslanan örneğin Güney Kore izolatı ile % 99 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile CABYV Sri Lanka'da ilk defa tespit edilmiştir (Abeykoon vd., 2018).

2.2.Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Üzerinde Yapılan Çalışmalar

CYSDV, Portekiz (Louro vd.,2000), Kıbrıs, Sudi Arabistan, İsrail (Wisler vd., 1998) ve Türkiye'deki kabakgil üretim alanlarında büyük tehditler oluşturmaktadır (Rubio vd., 1999). CYSDV ilk olarak Birleşik Arap Emirlikleri (Hassan and Duffus, 1991) ve daha sonra İspanya (Célix vd., 1996)'da, Lübnan (Abou-Jawdah vd., 2000b) tanımlanmıştır. CYSDV tütün beyaz sineği *Bemisia tabaci* biyotip A ve B ile *Bemisia argentifolii* (Bellows vd., 1994), tarafından sempersistent olarak taşınır (Perring vd., 1993).

İspanya'nın güneydoğu kıyılarındaki seralardaki kavun ya da hıyar bitkilerinde yoğun olarak damarlar arası kloroz semptomlarına neden olan etmenin CYSDV

olduğu belirlenmiştir. CYSDV'nün özellikle tütün beyazsineği ile iletildiği ve en az 7 gün boyunca vektör tarafından muhafaza edildiği grlmştir. Virüsün deneysel konukçu dizisi çalışmalarında *Cucurbitaceae* familyasına ait bitkilerle ilgili sınırlı olduğu grlmştir. DsRNA analizleri yaklaşık olarak 8 ve 9 kbp civarında iki majör dsRNA türünün varlığını göstermiştir. Viral dsRNA ile yürütülen random cDNA çalışmaları ve bilgisayar destekli analizler sonucunda virüsün Lettuce infectious yellows closterovirus (LIYV) ile büyük oranda benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu veriler CYSDV'nin Closterovirslerin yeni tanımlanan bir alt grubunun yesi olduğunu desteklemiştir (Celix vd., 1996).

Güneydoğu İşpanya ve Akdeniz bölgesinde kavun ve hıyar bitkilerinde sarılık hastalığına neden olan ciddi bir patojen olarak ortaya çıkan CYSDV'nin jelden elde edilen dsRNA kalıpları kullanılarak modifiye edilen RT-PCR protokolü ile CYSDV'nin RNA2 fragmenti amplifiye edilmiş ve klonlanmıştır. Klonlanmış fragmentlerin sekans analizleri ısı şok protein 70 (Hsp70) homolog bölgesini kodlayan ve işlevi bilinmeyen iki protein (p58 ve p9) ve LIVY RNA2 kılıf protein genine benzediği belirlenmiştir. CYSDV kılıf protein geninin 756 nükleotid uzunluğunda ve 28,5 kDA moleküler kütleye sahip proteini kodladığı bildirilmiştir. CYSDV'nin CP genine ait aminoasit sekansı, diğer Closterovirslerle kıyaslandığında ortaya her ikisinde Crinivirüs cinsi olan Sweet potato chlorotic stuntıng virüs (SPCSV) ve LIVY ile yüksek derecede benzerlik ortaya çıkmıştır (Liviartatos vd., 1999).

İşpanya'da hıyar ve kavun seralarında benzer sarılık hastalıklarına neden olan ve iki beyazsinekle taşınan closterovirsler üzerinde çalışılmıştır. Sonuçlar *Bemisia tabaci* ile taşınan CYSDV'nn 1970'lerin sonundan bu yana bölgede mevcut olan ve *Trialeurodes vaporariorum* ile bulaşan BPYV'n yerinden ettiğini göstermiştir. İşpanya'da mevcut olan *Bemisia tabaci*'nin iki biyotipinin CYSDV' iletim hızları karşılaştırıldığında biyotip 'B' ve biyotip 'Q'nn CYSDV' aynı verimlilikte iletteği grlmştir (Berdiales vd., 1999).

Rubio vd., (1999), tarafından yürütülen bir çalışmada beyazsinek kökenli  closterovirs LIYV, CYSDV ve BPYV'nn coğrafik görülme sıklığını ve moleküler varyasyonunu belirlemek için birkaç farklı coğrafik bölgeden kabakgil önekleri

toplanmıştır. Analiz edilen 498 örnekten 69 örneğin CYSDV enfekteli olduğu belirlenmiştir. İzolatların arasında ve kendi içindeki moleküler değişkenliği belirlemek için ısı şok protein 70 homolog kodlama bölgesinin bir kısmının RT-PCR'ı, bunu takiben tek sarmal polimorfizminin uyumu ve nükleotid sekans analizleri kullanılmıştır. Bu analizlerde CYSDV izolatları birbirinden farklı iki gruba ayrılmıştır. Grup 1. Sadece İspanya, Ürdün ve Türkiye izolatlarından, grup 2 ise ağırlıklı olarak Suudi Arabistan izolatlarından oluşmuştur. Aynı grubun izolatları arasındaki nükleotid benzerliği %99'dan daha büyük iken her iki grup arasındaki benzerlik %92'den daha az bulunmuştur.

CYSDV'ün pozitif polariteli tek sarmal RNA2 den oluşan genomu RNA1 ve RNA 2 olarak iki molekülden oluşmuştur (Celix vd., 1996). Dünyanın farklı alanlarından alınan CYSDV izolatlarının genetik farklılığı üzerindeki çalışmalar ısı şok proteini 70 homologunun (Hsp70) ve RNA 2'nin kılıf proteini genleri ile yapılmıştır. Closteroviridae familyasının diğer üyeleri ile karşılaştırıldığında CYSDV izolatları arasındaki genetik farklılık olağanüstü az olmasına rağmen Doğu ve Batı CYSDV subpopülasyonu olarak adlandırılan iki genetik grup arasındaki farklılığı ayırt etmek mümkündür (Rubio vd., 1999, 2001).

1999 yılında Fas'ın Agadir yöresindeki plastik tünellerde kavunlarda şiddetli sarılık belirtileri gözlenmiş ve ürünün yetiştiği erken dönemlerde beyazsinek (*Bemisia tabaci*) popülasyonunun yüksekliği dikkati çekmiştir. RT-PCR çalışmalarında tüm örneklerden CYSDV'ne spesifik primerler ile beklenen seviyede 465 bp'lik ürün amplifiye edilmiştir. Bu çalışma ile *B. tabaci* ile taşınan CYSDV Fas'ta ilk kez teşhis edilmiştir (Desbiez ve Lecoq., 2000).

Lübnan'da ticari kabakgil alanlarında şiddetli sarıma belirtilerinin Lübnan kıyıları boyunca çeşitli yerlerde özellikle sonbahar ürünlerinde % 100'e kadar ulaştığı bildirilmiştir. CYSDV *Bemisiatabaci* ile hıyara, kavuna ve kabağa taşınırken marula ve *Physalis floridana* bitkilerine taşınmamıştır. Yürütülen çalışmada Crinivirüsler ile ilgili raporlarda belirtilen ve enfekteli bitkilerde 8 ve 9 kpb civarında iki ds RNA'nın varlığı belirlenmiştir. Elektron mikroskopu ile yapılan incelemelerde çeşitli esnek çubuk şeklinde partiküller görülmüştür CYSDV'ne spesifik primerler kullanılarak RT-PCR çalışmaları sonucunda 460bp lik spesifik DNA görülürken

sağlıklı kontrollerde böyle bir durum görülmemiştir. Bir izolatın DNA fragmentinin nükleotid dizilimi İspanya'dan bir izolatla %99 benzerlik göstermiştir. Bu çalışma ile Lübnan'da CYSDV ilk kez bildirilmiştir (Abou-Jawdah vd., 2000b).

Kavunun 44 türü ve bunların yabancı ırklarında sarılık hastalığına yol açan CYSDV'nin, doğal ve kontrollü inokülasyon koşulları altında reaksiyonlarına bakıldığı bir çalışmada, *C. melo* TGR-1551 ve bir *Cucumis metuliferus* asimptomatik belirti vermiştir. Kontrollü inokülasyonları takiben elde edilen segregasyon oranları TGR-1551'i duyarlı İspanyol cv. Piel de Sapo ile çaprazlamanın, TGR-1551'deki CYSDV'ye karşı direncin, bir lokusta dominant bir alel ile şartlandığını ortaya çıkarmıştır. Kabakgil sarı bodurluk ismi ve Cys sembolü bu lokus için önerilmiştir (Lopez-Sesé vd., 2000).

İran'ın 10 farklı bölgesinde 2008-2012 yetiştirme sezonlarında CYSDV'nin tipik belirtilerini sergileyen kavun, hıyar, acur ve kabak bitkilerinden toplanan 366 kabakgil örneği CYSDV'ne karşı indirect-ELISA testleriyle taranmıştır. Pozitif olan örnekler RT-PCR'la doğrulanmıştır. Sonuçlar 366 örneğin 306'sının CYSDV ile enfekteli olduğunu göstermiştir. Çalışmada CYSDV kılıf proteininin nükleotid ve amino asit sekans analizleri İran izolatları arasındaki benzerliğin %99'dan fazla olduğu ve düşük bir genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermiştir (Rubio vd., 2001).

CYSDV, Closteroviridae familyasında yeni belirlenmiş bipartite, ssRNA, Crinivirus Genus'un bir üyesidir. Virüs, Kuzey Amerika'da *Bemisia tabaci* biyotip B ile taşınmaktadır. İlk belirtiler arasında damarlararası kloroz ve en eski yapraklar üzerinde yeşil lekeler şeklindedir. Şiddetli semptomlarda yaprak sararması (damarlar hariç) ve genel kırılabilirlik görülür. Enfekteli bitkilerde meyve kalitesi ciddi şekilde etkilenmekte ve ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. *B. tabaci*'de virüsün tespiti DIG işaretli probalar kullanılarak mümkün olmaktadır. CYSDV'nin coğrafi olarak uzak izolatları arasında majör CP genindeki düşük genetik çeşitlilik (<% 1), *B. tabaci* ile birlikte hızlı yayılma ile ilintili olabilmektedir. CYSDV'ne karşı kimyasal kontrolün etkili olmadığı kanıtlanmıştır. Genetik direnci, virüsü kontrol etmek için en iyi yöntem olduğu belirlenmiştir (Sinclair ve Crosby, 2002).

CYSDV'nün RNA seviyesininin çeşitli kabakgil bitkilerinde analiz edildiği bir çalışmada, kavun, hıyar, sakız kabağıve kabak bitkisine yapılan post inokulasyonda birinci haftadan ikinci haftaya kadar en üst düzeye ulaşmış, inokulasyon yapılan birinci ve üçüncü yaprakta yoğun, genç yapraklarda ise çok az ya da hiç CYSDV RNA'sına rastlanmamıştır (Marco vd., 2003)

Güney Fransa'da seralarda yetiştirilen hıyar yapraklarında şiddetli sararma belirtileri gözlemlenen sarılık virüslerine karşı yapılan RT-PCR çalışmalarında örneklerin tamamında CYSDV enfeksiyonu saptanmıştır. Spesifik primerler yardımıyla CYSDV kılıf protein geni amplifiye edilmiş ve beklenen seviyede 756bp lik band elde edilmiştir. Fransa izolatının sekanslanan Cp fragmentlerinin (700 nt) CYSDV'nün en yaygın, son derece homojen olan ve son zamanlarda Ortadoğu, güneybatı Avrupa, Amerika Birleşik Devletleri ve Fas'da belirlenen izolatlarla %99.6 - %100 oranında benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu çalışma Fransa'da tehditkar CYSDV'nün ilk raporudur (Desbiez vd., 2003).

Yunanistan'daki seralarda ve bazı açık alanlarda yetiştirilen hıyar ve kavunlarda sarılık hastalığının %50-%80 oranları arasında değiştiği saptanmıştır. Yunanistan'da ilk kez rapor edilen CYSDV, sadece güney Yunanistan'dan izole edilmiştir (Boubourakas vd., 2006).

Yabani hıyar, yerli ırklar, ticari çeşitler ve ıslah hatları kapsayan 300 hıyar çeşidinin doğal enfeksiyon şartlarında CYSDV'ne karşı dayanıklılık kaynağı olma potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada duyarlı kontrol bitkilerinin % 100'ü CYSDV'nin neden olduğu tipik sararma belirtilerini gösterirken diğer 24 hıyar çeşidinde kısmen sararma belirtileri gözlenmiş, bazıları ise hiç belirtiler vermemiştir (Aguilar vd., 2006).

2007 yılında Florida'da ticari karpuz üretimi yapılan tarlalardan alınan örneklerdesimptomlu yedi karpuz ve iki kabak bitkisinden alınan yaprak örneklerinden total RNA lar elde edilmiştir. RT-PCR çalışmalarında CYSDV'nün CP geni ve Hsp70 genleri spesifik primerler ile amplifiye edilmiştir. RT-PCR çalışmalarında beklenen seviyede kılıf proteine spesifik 394 bp lik band elde edilirken, 175 bp lik Hsp70 fragmenti elde edilmiştir. Bir izolattan elde edilen kılıf

protein amplikonunun sekans analizleri Texas, California, Ürdün ve Fransa izolatları ile %100 benzerlik gösterirken bir İspanya izolatıyla % 99 benzerlik, bir İran izolatı ile ise sadece %91 benzerlik göstermiştir (Polston vd., 2008).

CYSDV ile enfekteli bitkilerin olgun yapraklarının damarlararasındaortaya çıkan klorotik noktalar zamanla genişleyerek ve birleşerek sonunda tüm yaprak alanının sararmasına neden olmaktadır. Yapraklarda damarlar yeşildir (Celix vd., 1996). Enfekteli bitkilerde sararma simptomlarına ürün kalitesi ve veriminde azalmanın eşlik etmesi virüsün önemini artırmaktadır. Yapılan çalışmalar virüsün sadece kabakgil bitkilerini değil diğer bitki türlerini de enfekte ettiğini ortaya koymuştur. Bu türler arasında yonca (*Medicago sativa*), marul (*Lactuca sativa*), fasulye (*Phaseolus vulgaris*) ve buffalo kabağı (*Cucurbita foetidissima*) da yer almaktadır (Wintermantel vd., 2009).

1980' lerde Birleşik Arap Emirlikleri'nde ilk olarak kavunda görülen CYSDV, 2016 üretim sezonunda Meksika ve 2017 üretim sezonunda Florida'da ortaya çıkmıştır. Hindistanda bir salata tipi kavun olan PI 313970, *C. melo* var. *acidulus* 2006 üretim sezonunda Yuma ve Imperial Valley'de CYSDV'ye karşı yüksek dayanım göstermiştir. PI 313970'de CYSDV'ye karşı direnç çalışmaları, 2007 ve 2008 sonbahar mevsimlerinde ve 2009 ilkbahar mevsimlerinde Imperial Valley'de doğal olarak enfekte olmuş üç tekrarlı saha testinde incelenmiştir. PI 313970 deki direnç çekinik olarak belirlenmiştir (McCreight ve Winterminal, 2011)

Webster vd., (2011), Florida'daki *Amaranthus* cinsi yabancı otların taranmasına yönelik yürüttüğü çalışmalarında, CYSDV, Cucumber leaf curl virüs (CuLCrV) ve SquashVeinYellowVirus (SqVYV)'leri saptamış ve ayrıca bu bitkinin virüs vektörü olan beyazsineğe ilaveten çok sayıda virüs, fungus ve nematodun konukçusu da olduğu da bildirilmiştir.

CYSDV ve CVYV'nün örtüaltı hıyarlarda tek ve karışık enfeksiyonlarının kıyaslandığı bir çalışmada; ZYMV ya tek başına ya da bu iki etmeden biri ile karışık enfeksiyon vermiştir. CVYV'ün tek enfeksiyonunda ya da CYSDV ile karışık enfeksiyonunda post inokulasyondan 15-60 gün sonrasında Real Time PCR ile test

edilmiş sonuçlar benzerlik göstermiştir. Fakat CYSDV, CVYV ile enfekte olduğunda simptomlarda önemli derecede artış gözlenmiştir (Gil-Salas vd., 2011).

2008-2012 yıllarında, CYSDV infeksiyonunun tipik belirtilerini sergileyen kavun, salatalık, acur ve kabaktan alınan 366 kabakgil örneği, ELISA ve RT-PCR testleri ile taranmıştır. RT-PCR çalışmalarında beklenen seviyede 750 bp lik bir fragmant elde edilmiştir. Onbir izolatanın tam uzunluktaki CP (756nt)'nin nükleotid dizileri Gen Bank veri tabanında belirlenerek muhafaza edilmiştir. Bu izolatların nükleotid dizileri arasında %99'luk bir benzerlik bulunduğu belirlenmiştir. Diğer ülkelerin CYSD izolatları ile karşılaştırılmasında ise en yüksek benzerliği (%98.8) ile Suudi Arabistan izolatu (AF312798) ile ve en düşük benzerliği ise % 92.2 ile Guatamela izolatu (EF021561) ile göstermiştir (Keshavarz vd., 2013b).

Epidemiyolojik ve ekonomik açıdan bakıldığında kabakgil üretim alanlarını en fazla tehdit eden crinivirüsün CYSDV olduğu görülmektedir. Birleşik Arap Emirlikleri'nde 1990'ların başında ilk kez rapor edilen CYSDV son yirmi yılda Kuzey Amerika, Kuzey Afrika, Avrupa ve Asya'daki çeşitli bölgelere küresel olarak yayılmıştır (Abrahamian ve Abou-Jawdah., 2014).

Mısır'da yapılan bir çalışmada CYSDV simptomlu kabak yaprakları CP genine spesifik primerlerden yararlanılarak RT-PCR ile testlenmiştir. İzole edilen CYSDV sağlıklı kabakgillere beyazsinek kullanılarak aktarılmıştır. Mısır izolatu'nun moleküler karakterizasyonu, RT-PCR ile çoğaltılan CYSDV CP geninin DNA sekanslaması ve gen klonlama çalışmalarıyla yürütülmüş ve daha sonra pGEM-Teasy vektör içerisinde klonlanarak dizilenmiştir. CP gen sekansı diğer CYSDV izolatlarıyla karşılaştırılmıştır. Sekans sıralaması ve filogenetik analizler Mısır izolatu'nun CYSDV'nün doğu genetik grubuna ait İran izolatıyla %100 ve Suudi Arabistan izolatıyla da %98 benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur (El Rahmany vd., 2014).

2.3. Cucurbit Chlorotic Yellows Virus Üzerinde Çalışmalar

Kabakgil bitkilerinde sararmaya neden olan diğer bir virüs de CCYV'dür. İlk kez 2004 yılında, Japonya'da kavun ve hıyarlarda gözlemlenen sararma simptomlarına neden olan etmenin yeni bir crinivirüs olan CCYV olduğu birkaç yıl sonra

tanımlanmıştır (Gyoutoku vd., 2009). CCYV ilk olarak 2010 yılında sekansının tamamen dizilendiğinden beri Crinivirüs cinsinin geçici bir üyesi olarak kalmıştır. CCYV RNA1'de dört, RNA2'de sekiz proteinin kodlandığı, tipik bir bipartit crinivirüs genomuna sahiptir. Son zamanlarda, ticari olarak yetiştirilen kabakgillerde CYSDV ve CCYV'lerinin karışık enfeksiyonları bildirilmiştir (Abrahamian vd., 2012). Bu virüs son zamanlarda Japonya'dan Sudan, Lübnan ve İran'a taşınmıştır (Abrahamian vd., 2012; Hamed vd., 2011). Lübnan'da yapılan çalışmalarda şimdiye kadar CCYV'nün CYSDV ile rekabetçi bir yayılım gösterdiği ifade edilmektedir. 2012-2013 yıllarında toplanan hıyar örneklerinin yaklaşık olarak % 60'ında CCYV ve CYSDV karışık enfeksiyonları saptanmıştır.

Crinivirüslerden bir diğeri olan CCYV, Closteroviridae familyasının crinivirüs cinsinde yer alan ve yeni ortaya çıkan bir virüstür. İlk kez 2004 yılında Japonya'da üretilen kavunlarda saptanan ve yeni bir kabakgil virüsü olan CCYV (Gyoutoku vd., 2008) şu an ülke genelinde yaygınlaşmıştır (Furuta vd., 2008; Okuda vd., 2010). 2004 yılında Japonya'da ilk rapor edildiğinden beri CCYV'nin Tayvan'da (Huang vd., 2010), Çin'de (Gu vd., 2011; Zeng vd., 2011), Sudan'da (Hamed vd., 2011), Suudi Arabistan'da (Al-Saleh vd., 2014) ve Lübnan'da (Abrahamian vd., 2012) da yayıldığı bildirilmiştir. Her ikisi de beyazsinekle taşınan CYSDV ve CCYV'lerinin karışık enfeksiyonları Cucurbitaceae familyası bitkilerine oldukça fazla hasar vermektedir (Wintermantel vd., 2009; Okuda vd., 2010).

CCYV, hıyar, kavun ve karpuz bitkilerinin yapraklarında klorotik yaprak lekelerine ve yaprakta tamamen sararmaya neden olmakta ve şiddetli ekonomik kayıplar meydana gelmektedir. CCYV'nin etkin kontrolü için, acilen basit ve doğru teşhis gereklidir. CCYV'nün tanınması amacıyla ELISA, Tissue-Blot Immuno Assay (TBIA), Dot-Blot Immuno Assay (DBIA), dot-blot hybridization ve RT-PCR gibi çeşitli yöntemlerden yararlanılmaktadır (Hourani ve Abou-Jawdah, 2003; Ruiz vd., 2002; Gyoutoku vd., 2008).

CCYV'nün konukçu dizisini belirlemek için, beyazsinek vektörleri kullanılarak 21 kabakgil ve 12 diğeri bitki türüne inokulasyon yapılmıştır. Test edilen Tüm *Cucumis* türleri, *Cucumis anguria* ve *Cucumis zeyheri* hariç olmak üzere, CCYV ile sistemik olarak enfekte olmuştur. *Citrullus lanatus*, *Cucurbita pepo* ve *Luffa cylindrica*

CCYV'yle enfekte olmasına rağmen infeksiyon oranları düşük ve semptomlarının belirsiz olduğu tespit edilmiştir. Kabakgil bitkilerine ek olarak *Beta vulgaris*, *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *Spinacia oleracea*, *Lactuca sativa*, *Datura stramonium* ve *Nicotiana benthamiana*'da sistemik olarak CCYV tarafından enfekte edilmiştir. RNA1 ve RNA2 nin tamamını klonlanmış ve sekansı elde edilmiştir. RNA1'in 8,607 nükleotid (nt) uzunluğunda ve dört açık okuma çerçevesi (ORF) içerdiği belirlenmiştir. Filogenetik analizler CCYV'nin genetik olarak Lettuce chlorosis virus, Bean yellow disorder virus, and Cucurbit yellow stunting disorder virüse yakın olduğunu ortaya koymuş ve bu virüslerle amino asit sekansı benzerliklerine bakılarak CCYV'nin farklı bir crinivirüs türü olarak sınıflandırılması gerektiği ifade edilmiştir (Okuda vd., 2010) .

Bemisia tabaci ile taşınan CCYV enfeksiyonu İran'da ilk kez 2011 ve 2012 yıllarında örtüaltı kabakgil üretim alanlarında tespit edilmiştir. RT-PCR çalışmasında CCYV için tasarlanan primer çifti (CCYV-F /CCYV-R), örneklerden CP (870 bp) geninin tespiti için kullanılmıştır. İran CCYV izolatlarının nükleotid dizileri Gen bankasındaki CCYV izolatlarının kılıf proteinleri ile kıyaslanmıştır. Filogenetik olarak tüm CCYV izolatlar iki grupta toplanmış; birinci grupta Çin, Lübnan, Japonya, Sudan ve Tayvan'dan izolatlar ikinci grupta ise iki İran izolatu bulunmuştur. İran izolatları arasında Eyvanakay izolatu, Boushehr ve Varamin izolatu ile ayrı bir sınıfta kümelenmiştir. CP'nin amino asidi dizilimine dayanan filogenetik ağaç CCYV' nin, LCV, BnYDV ve CYSDV ile yakın akraba olduğunu göstermiştir (Keshavarz vd., 2013a)

Mısır'da 2014 yılında hıyarlarda görülen CCYV enfeksiyonu DAS ELISA testi ile saptanmıştır. Yaprak örneklerinde CYSDV+CCYV ve CABYV+CCYV ile karışık enfeksiyonları da bulunmuştur. CCYV için spesifik primerler ile yürütülen RT-PCR çalışmalarında Hsp70 genine özgü 353 bp lik DNA fragmenti çoğaltılmıştır. Elde edilen izolatlar Japonya, Çin, Tayvan, Lübnan ve Sudan izolatlarıyla çok yüksek oranda benzerlik (%100) gösterirken, İran'da saptanan kavun ve hıyar izolatlarıyla düşük oranda (%94) özdeşlik sergilemiştir. Bu çalışma ile Mısır'daki hıyar bitkilerinde CCYV ilk kez rapor edilmiştir (Amer, 2015).

2007 yılında, Çin'de Şanghay'ın Nanhui bölgesinde yüksek tünelde yetiştirilen hamı kavununun (*Cucumis melo* cv. Xuelihong) simptomlu bitkilerden ekstrakte edilen total RNA larla gerçekleştirilen RT-PCR çalışmalarında random primerler (9-mer) kullanılmıştır. CCYV'ün Hsp70 geninin 462 bp lik fragmentini amplifiye etmek için spesifik primerler kullanılmıştır. CCYV ye özgü 462 bp lik hedef fragment bütün örneklerden elde edilmiştir. Sekans analizleri sonucunda elde edilen izolatların Japon, Tayvan ve Çin anakara izolatlarıyla %100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile Çin'de kavun bitkisinde Crinivirüs cinsinin üyesi olan CCYV ilk kez rapor edilmiştir (Zeng vd., 2011).

2009 yılında Sudan'daki açık tarla ve seralardaki kavunların çoğunda ve hıyarların yaklaşık %80'inde CCYV simptomlarına benzediği görülmüştür. Tüm örneklerden Hsp70 geninin bir 353 bp lik DNA fragmenti, RT-PCR ile amplifiye edilmiştir. İki PCR ürününün direkt sekanslama analizleri sonucunda Asya CCYV izolatları ile %99-100 benzerlik olduğu görülmüştür. Kılıf protein bölgesinden edilen 760 bp'lik ürünün sekans analizleri sonucunda tüm Asya izolatları ile %99 oranında özdeşleştiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile Sudan'da CCYV ilk kez rapor edilmiştir (Hamed vd., 2011).

2008 yılında Çin'in Shanghai bölgesinde bulunan seralardaki sarılık belirtisi gösteren simptomatik kavun, karpuz ve hıyarlarda toplanan yaprak örneklerinde Crinivirüs ve Closterovirüs cinsine spesifik bir çift dejenere primer; F-5'-GGNTTAGANTTC GGNACNAC-3' and R-5'-TCAAANGTNCNCNCNCNAA-3' ile Hsp70 geninin 636bp'lik kısmı amplifiye edilmiştir. Bu çalışma ile CCYV Çin'de ilk kez rapor edilmiştir (Gu vd., 2011).

2009 yılında Tayvan'da kavun, hıyar, balkabağı (*Cucurbita moschata* Duchesne), karpuz, su kabağı (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) bitkilerinde hastalıklı bitkiler ile ilişkili olarak geniş beyazsinek popülasyonları gözlenmiştir. RT-PCR çalışmalarında beyazsineklerin Gümüşi yaprak beyazsineği (*Bemisia argentifolii*) olduğu belirlenmiştir. CCYV'ne spesifik primerler kullanılarak gerçekleştirilen RT-PCR çalışmalarında 389bp lik kısım çoğaltılmıştır. Bu çalışma ile Tayvan'daki kabakgil üretim alanlarını tehdit eden bu yeni virüsün CCYV olduğu saptanmıştır (Huang vd., 2010).

2012 yılında Hindistan, Pakistan ve Bangladeş kaynaklı 51 adet kavun örneği Crinivirus cinsinde yeni ortaya çıkan bir tür olan CCYV direnci açısından değerlendirilmiştir. CCYV, *Bemisia tabaci* biyotip Q kullanılarak aşılansmıştır. JP 138332, JP 216154, JP 216155, JP 216751 ve JP 91204 hiç veya hafif simptomlar göstermiştir ancak CCYV inoküle edilmemiş üst yapraklardan ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile virüs tespit edilmiştir. Özellikle, JP 138332, CCYV için umut verici bir direnç özelliğine sahip bulunmuştur (Okuda vd., 2013)

2011-2012 yıllarında İran'ın en önemli kabakgil üretilen bölgelerindeki hıyar seralarında ve açıkta yetiştirilen hıyar, kabak ve kavun hıyar seralarından alınan 347 hıyar yaprak örneğinin 170 adedinin CCYV ve 65 adedinin ise CYSDV ile enfekteli olduğunu göstermiştir. Ayrıca 45 örneğin her iki virüs ile karışık enfekteli olduğu belirlenmiştir. CCYV ve CYSDV'lerinin varlığı DAS-ELISA testi pozitif 18 örnekle yapılan RT-PCR çalışmalarıyla doğrulanmıştır. RT-PCR'da CYSDV için Hsp70 geninin 460 bp lik fragmentinin amplifikasyonunda CCYV için ise Hsp70 geninin 462bp lik bir fragmentinin amplifikasyonunda spesifik primerleri kullanılmıştır. Beklenen seviyedeki DNA fragmentleri 18 örneğin 11'inden elde edilirken sağlıklı kontrolde herhangi bir bant oluşumu görülmemiştir. Seçilen üç izolatanın sekanslama çalışmaları ve filogenetik analizleri en yüksek oranda benzerliğin (%94 nükleotid, %98 aminoasit) Asya CCYV izolatları ile olduğunu göstermiştir. Yapılan çalışmalar kabakgil üretimin yapıldığı alanlarda vektör *Bemisia tabaci*'nin varlığında virüsün yayılma ihtimalini göstermektedir. Bu çalışma ile İran'da varlığı ortaya konan CCYV'nün beyazsinek popülasyonunun artışıyla kabakgil üretiminde ciddi bir tehdit oluşturduğu ifade edilmiştir (Bananej vd.,2013).

Yunanistan'ın Rodos adasında hıyar ve kavun bitkilerinde örnekleri CYSDV, CCYV, BPYV ve CABYV virüsleri yönünden test edilmiştir. CCYV için iki basamaklı RT-PCR metodu geliştirilmiştir. Tüm örneklerde CCYV belirlenmiştir. CCYV'nin varlığını doğrulamak için bir adet hıyar izolatanın CC-HSP-up/CC-HSP-do ve CC-RdRp-up/CC-RdRp-do primerleri kullanılarak ısı şok proteini (Hsp70) ve RNA bağımlı RNA polimeraz geninin (RdRp) sekansı çıkarılmıştır. BLAST analizi ile çıkarılan sekansların sırasıyla Lübnan'daki salatalık CCYV izolatlarının Hsp70h ve

RdRp'leriyle (KC990511 ve 22) %99 ve %100 oranında benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile CCYV Yunanistan'da ilk defa tespit edilmiştir (Orfanidou vd., 2014).

Abrahamian vd., (2012) tarafından son yirmi yılda, beyaz sinekler tarafından nakledilen Crinivirus cinsindeki CCYV ve CYSDV'lerin Lübnan'daki hıyar seralarında karışık enfeksiyonlar halinde ve yüksek oranlarda görüldüğü bildirilmiştir. CYSDV'nün tek enfeksiyonlarda, mevsim ve çeşite bağlı olarak sırasıyla bitki büyümesinde %25 -%62 ve verimde %52-%63 arasında değişen büyük düşümlere neden olduğu bildirilen çalışmada CCYV'nün ise büyümede %10 - %33 oranlarında ve meyve sayısında %10-%12 azalmaya neden olarak daha az şiddetli bir etki gösterdiğine dikkat çekilmiştir. Tek ya da ikili enfeksiyonlarda ortaya çıkan sarılık belirtileri birbirine benzerlik göstermiştir. Araştırmacıların yürüttüğü RT-PCR çalışmalarında CCYV ısı şok proteinine (Hsp70h)(CCYV-HSP-F1/CCYV-HSP-R1)ve kılıf proteine (CP) spesifik primer çiftleri (CCYV-CPs/CCYV-CPas) yardımıyla beklenen seviyede (462 bp ve 725 bp) bantlar elde edilmiştir. Pürifiye edilen ampliconların sekans analizleri sonucunda çalışmada elde edilen Hsp70 ve CP genlerinin Japon CCYV izolatlarıyla yüksek oranda homolog olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile Akdeniz Bölgesi'nde ve Lübnan'da varlığı ilk kez rapor edilen CCYV'nin muhtemelen komşu ülkelerde de bulunduğunu ancak henüz rapor edilmediğini bildiren araştırmacılar beyazsinekle hızlı bir şekilde taşınan bu yeni virüslerin, Akdeniz bölgesi ve Avrupa'daki kabakgil üretiminde ciddi bir tehdit oluşturduğunu ifade etmişlerdir (Abrahamian vd., 2012).

2016 yılında, Çin Hainan'da enfekteli yapraklarda çok sayıda *B. tabaci* bulunan domates ve salatalık bitkilerinin enfekteli yapraklarında sırasıyla %69,8 ve %62,6 oranında kloroz belirtisi görülmüştür. Moleküler tanımlamalara dayanarak, Q biyotip, sırasıyla domates ve salatalık bitkilerinde %65.0 ve %55.0'lık bir virulens oranı ile belirlenmiştir. ToCV ve CCYV'nin insidans dinamiğinin, domates ve salatalık üretim alanlarının yakınında yaygın olarak bulunan yabancı ot, *Alternanthera philoxeroides* ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (Tang vd. 2017).

Shakeel vd., (2018) tarafından yapılan bir çalışmada çeşitli seralardan toplanan beyazsineklerin, RT-PCR çalışmaları ile *Bemisia tabaci* olduğu belirlenmiştir.

CCYV'nün beyazsinekle taşıma çalışmaları, tek bir beyazsineğin bile virüsü sağlıklı fidelere iletmek için yeterli olduğunu göstermiştir. Vektörün, virüsü başarıyla nakletmek için 90 dakikalık bir süreye gereksinim duyduğu ve virüsü 6 gün boyunca bünyesinde taşıyabildiği belirlenmiştir. *B. tabaci* tarafından CCYV kazanımı açısından inokulum kaynağı olarak hıyar ve *Datura stramonium*'un etkinliği karşılaştırıldığında, hıyarın *D. stramonium*'dan daha etkili bir kaynak olduğunu ortaya koymuştur.

2.4. Ülkemizde Kabakgil Virüsleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Ülkemizde kabakgil üretim alanlarında birçok viral etmen saptanmıştır. Kabakgil üretim alanlarında ZYMV, CMV, SqMV, PRSV-W, Melon necrotic spot virus (MNSV), WMV1 ve WMV2 bulunduğu rapor edilmiştir (Nogay, 1983; Yılmaz ve Davis, 1985, Ertunç, 1992; Yılmaz vd., 1992; Çıtır vd., 1998; Şevik ve Arlı-Sökmen, 2001; Bostan vd., 2002); Çağlar ve Yılmaz, 2002; Yardımcı ve Korkmaz, 2004; Köklü ve Yılmaz, 2006). Araştırmalarda bu virüs hastalıklarının bitkilerde gelişme geriliğine, şiddetli infeksiyonlarda anormal meyve ve yeşil aksam oluşumuna yol açtığı, hatta meyve oluşumunu tamamen engelleyebildiği ifade edilmiştir. Çukurova Bölgesinde kabakgil familyası bitkilerine zarar veren virüs hastalıklarından farklı olarak kavun, karpuz ve hıyar bitkilerinde damar açılması, damar sararması, cüceleşme, sarı mozayik ve üründe önemli miktarda azalmaya neden CVYV virüsü tespit edilmiştir (Yılmaz vd., 1992). 2000 ve 2001 yıllarında çeşitli tohum şirketlerinden toplanan kabak, kavun ve salatalık tohum örneklerinde viral patojenlerin varlığı araştırılmış, yapılan testler sonucunda hıyar tohumlarının %36,8, kavun ve kabak tohumlarının %18,5 oranında CMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca hıyar tohumlarının % 36,8 CGMMV, kabak tohumlarının %18,5 oranlarında SqMV ile enfekteli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, bir kavun tohumu örneğinde TRSV tespit edilmiştir (Gümüş vd., 2004).

1991 yılında Adana ve İçel, İzmir, Manisa, Afyon ve Konya illerinden; hıyar, yazlık kabak, kışlık kabaklar, karpuz, kavun, lif kabağı, su kabağı ve acurdan oluşmak üzere toplam 76 adet bitki örneğinde DAS-ELISA testleri ile ZYMV, WMV-2, CMV, CABYV, PRSV-W virüslerinin varlığı test edilmiştir. Bunun yanında söz konusu

çalışma bölgelerinde en yaygın virüsün ZYMV olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma ile CABYV ülkemizde ilk kez rapor edilmiştir (Yılmaz vd., 1992).

Diyarbakır'daki karpuz üretim alanlarını kapsayan çalışmada, indikatör bitkiler ve DAS-ELISA yöntemi kullanılarak, alınan örnekler ZYMV, CMV, WMV-2, SqMV, PRSV ve CABYV virüslerine karşı testlenmiştir. Testler sonucunda bahsedilen virüslerin tümünün varlığı tespit edilmiştir. Alınan örneklerde en çok ZYMV'nin bulunduğunu bunu WMV-2 ve CMV'nin takip ettiği belirlenmiştir (Öztürk, 2000).

Gaziantep ili kabakgil ekim alanlarında sorun olan viral etmenleri ortaya koymak için 2004 yılında gerçekleştirilen çalışmada toplanan örnekler DAS-ELISA yöntemiyle CMV, CABYV, ZYMV, ToMV, PVX, PVY, PMMV ye karşı testlenmiştir. Yapılan testler sonucunda 56 örnekten 10 tanesinin bir veya daha fazla virüsle bulaşık olduğu ortaya konulmuştur (Dağ, 2005)

Ülkemizin Trakya Bölgesinde yetiştirilen karpuz ve kavun ekim alanlarında bulunan kabakgil virüslerinin araştırıldığı bir çalışmada 17 kavun ve 19 karpuz tarlasından toplanan 502 örnek 7 virüs açısından ELISA testine tabi tutulmuştur. Sonuç olarak, testlenen 502 örneğin 333'ünde viral enfeksiyon saptanmıştır. Testlenen örneklerde virüslerin bulunma oranları; ZYMV (%45.5), WMV-2 (%34.2), CMV (%19.9), PRSV-W (%2.1), SqMV (%1.8) ve MNSV (%0.4), kavun örneklerinde ise ZYMV (%40.3), WMV-2 (%31.2), CMV (%7.2), PRSV-W (%2.3), SqMV (%0.5) ve MNSV (%1.8) olarak belirlenmiştir (Köklü ve Yılmaz, 2006).

2004 yılında Gaziantep ili ve ilçelerinde alınan 56 adet bitki örneğinde CABYV, ZYMV, ToMV, PMMV, PVX ve PVY virüslerinin bulaşıklık durumuna bakılmıştır. DAS-ELISA metodu ile 20 örnek CMV, 22 örnek ZYMV ve 3 örnekte PVY ile enfekteli bulunmuştur (Özaslan vd., 2006).

Yardımcı ve Özgönen (2007) Isparta'dan alınan 30 adet helvacı kabağı, 14 adet kavun, 20 adet acur, 56 adet hıyar, 64 adet kabak ve 16 adet karpuz olmak üzere toplam 200 yaprak örneğinin ELISA testleri sonucunda 94 bitkinin CABYV ile enfekteli olduğunu belirlemişlerdir.

Adana ve Mersin illerinde, 2008-2010 yıllarında 18 ilçeden toplanan kabakgil örnekleri, CMV, CABYV, Papaya ringpot virüsü (PRSV), Kabak mozaik virüsü (SqMV), ZYMV ve WMV yönünden test edilmiştir. DAS-ELISA yöntemiyle test edilen virüsler için 485 örnekten 449'u pozitif bulunmuş; Adana'da 350 örnekten 327'si ve Mersin'de 135 örnekten 122'si en az bir virüs ile enfekteli bulunmuştur. Adana Mersin ilindeki tüm örnekler CABY için negatif bulunmuştur. Türk ZYMV izolatlarının sekans analizleri, Avrupa, Afrika, Orta Doğu, Hint Yarımadası ve Güney Amerika'dan gelen izolatlar dahil olmak üzere dünya çapında en yaygın ZYMV moleküler kümesine ait olduğunu göstermiştir (Kamberoğlu vd., 2016).

2013 yılında Diyarbakır ve Mardin illerinde 160 kabakgil örneğinin DAS-ELISA testleri sonucunda 96 örnekte WMV (%60.00), 63 örnekte ZYMV (%39.38), 69 örnekte CMV (%43.13), 26 örnekte CABYV (%16.25) ve 34 örnekte PRSV (%21.25) enfeksiyonları belirlenmiştir. Bunlardan 11'inin CMV, 24'ünün WMV ve 3'ünün ZYMV ile tek enfekteli olduğu, geriye kalan örneklerin ise birden çok virüsle karışık enfekteli olduğu saptanmıştır (Kızmaz vd., 2016).

Mersin ilinde 2016 yılında, bakla üretim alanlarında genç yapraklarda kloroz ve yaşlı yapraklarda sararmaya neden olan ve polerovirüs ile enfekteli olduğu düşünülen 36 adet bitkiye yapılan DAS-ELISA testi sonucunda 26 adet örnek pozitif bulunmuştur. Polerovirüs genomunun 1.1kb'lik bir kısmı, genel polerovirüs primer çifti Pol-G-F ve Pol-G-R kullanılarak RT-PCR metodu ile amplifiye edilmiştir. PCR ürünleri sekansları BLAST analizine tabi tutularak polerovirüs türleri belirlenmeye çalışılmıştır. RdRp'nin 473 nükleotidlik baz dizisi İran'dan gelen bir hıyar CABYV izolatı ile % 98 nükleotid özdeşliği göstermiştir. Bu CABYV'nin bakla bitkisinde tespit edildiğine dair ülkemizde ve dünyada tek rapordur (Buzkan vd. 2017).

Yukarıdaki kaynaklardan görüldüğü üzere Ülkemizde çeşitli kabakgil virüsleri ile ilgili çeşitli çalışmalar olmakla birlikte sarılık virüslerine yönelik olarak yürütülen çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bunun yanında özellikle örtüaltı kabakgil üretiminin yoğun olarak yapıldığı Antalya ili ve ilçelerinde kabakgil bitkilerinde önemli derecede zarara yol açan ve vektörlerle taşınması nedeni ile çok hızlı bir şekilde yayılan sarılık virüsleri ile ilgili olarak çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Kabakgil virüsleri ile ilgili olarak Antalya ilinde yapılan çalışmalar aşağıda kısaca özetlenmiştir.

2012 yılında Topkaya ve Ertunç (2012) tarafından Ankara ve Antalya illerindeki kabakgil üretim alanlarından elde edilen semptomatik kabakgil bitkilerinde ZYMV, CMV, WMV-2, CGMMV, PRSV-W ve SqMV'nin varlığı DAS-ELISA testleri ile araştırılmıştır. Ankara örneklerinde test edilen tüm virüslerin mevcut olduğu, ZYMV, CMV ve WMV-2 virüslerinin ise Antalya ilinde yaygın bulunmuştur. WMV-2 ve ZYMV'lerinin, her iki ilde de yaygın virüsler olduğu bildirilmiştir.

Adana, Mersin ve Antalya illerinde örtüaltı kavun ve hıyar bitkilerinde sararma ve damarlaşmaya neden olan ve *Bemisia tabaci* ile taşınan zararlı organizmaları belirlemek amacıyla 2010-2011 yıllarında yapılan çalışmada bitki örnekleri BPYV, CABYV, CYSDV ve CVYV virüsleri yönünden test edilmiştir. CYSDV, DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemi ile diğer virüsler ise RT-PCR yöntemi ile testlenmiştir. Yapılan RT-PCR çalışması ile belirtilere neden olan organizmaların CVYV ve CYSDV olduğu saptanmıştır. 134 kavun örneğinin 63 adedi CYSDV ve 24 adedi CVYV ile bulaşık olarak bulunmuştur. 110 hıyar örneğinin 82 adedi CYSDV, 12 adedi CVYV ile enfekteli bulunmuştur. Vektörler PCR ile test edildiğinde *B. tabaci* biotip B (%92) etkin bir şekilde virüsü taşımış, fakat Q biotip (%8) virüsü zayıf bir şekilde transfer etmiştir. DNA fragmentleri sekanslanarak CVYV ve CYSDV örnekleri İsrail, Amerika ve İspanya izolatları ile kıyaslanmıştır. CYSDV'ün %96, CVYV'ün %95 oranında İsrail, Amerika ve İspanya izolatları ile kılıf protein genlerinin özdeşleştiği sonucuna varılmıştır (Fidan vd., 2012).

2014-2015 yılları arasında Antalya ili ve ilçelerinde örtüaltı hıyar ve kabak üretim alanlarında ZYM, PRSV, SqMV ve CMV'nün DAS-ELISA ile araştırıldığı bir çalışmada, 455 örneğin 346 adedinin de (%76) bu virüslerden biri ve daha fazlasıyla enfekteli olduğu belirlenmiştir (Çat vd., 2016).

2016'da Antalya'da üç hıyar serasında BPYV, CYSDV ve CCYV belirtisini andıran 30 adet bitki örneğinin RNA'sı elde edilerek RT-PCR yöntemi ile BPYV, CYSDV ve CCYV yönünden taranmıştır. 15 örnek CYSDV, 21 örnek CCYV ve 6 örnekte her iki virüs ile bulaşık olarak bulunmuştur. CYSDV Türkiye'de bilindiğinden,

CCYV'nin 2 izolatının RdRp bölgesi sekanslanmış ve yapılan BLAST analizi sonucunda Japonya'dan bir CCYV izolatı ile % 99 benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. Daha sonrasında *Bemisia tabaci* biotype Q tarafından taşıma deneyleri yapılmış, inokulasyondan 3 hafta sonra RT-PCR ile CCYV inoküle edilmiş 5 bitkiden 4'ü bulaşık olarak bulunmuştur. Bilindiği kadarıyla bu alışma CCYV'nin Türkiye'deki ilk tespitidir (Orfanidou vd., 2017).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma bölgesi hakkında bilgi

Bu çalışma 2015 ve 2016 üretim sezonu süresince örtüaltı üretiminin yoğun olarak yapıldığı Antalya ili sahil ve yayla ilçelerinde örtüaltı hıyar, kabak ve kavun üretim alanlarında yürütülmüştür.

3.1.2. Virüs ile enfekteli kabakgil bitki materyalinin temini

Antalya ili ve ilçelerinde hıyar, kabak ve kavun yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı ilçelerde 2015 ve 2016 yıllarında örtüaltı üretim alanlarında surveyler yapılmıştır. Surveyler sırasında sarılık belirtisi sergileyen ve virüsle bulaşık olduğu düşünülen sakız kabağı (*Cucurbita pepo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve kavun (*Cucumis melo* L.) bitkilerinden yaprak örnekleri alınmıştır. Seralarda özellikle alt yapraklarda sarılık, damarlararası klorotik beneklenme, parlak sarı renk oluşumu ya da şiddetli sararma tipinde semptom gösteren kabakgil yaprakları ve bunların üzerinde bulunan yaprak bitleri ile beyazsinekler çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Çalışmada üretim deseni ve miktarı dikkate alınarak 281 adet hıyar, 95 adet kavun ve 84 adet kabak olmak üzere toplam 460 bitki yaprak örneği alınmıştır.

3.1.3. Serolojik testlerde kullanılan materyaller

Serolojik testlerden TAS-ELISA ve DAS-ELISA testleri; Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. ELISA çalışmalarında materyal olarak üretim alanlarından toplanan bitki örnekleri kullanılmıştır. Sarılık hastalığı belirtileri gösteren kabakgil bitkilerinin yaprakları CCYV ve CYSDV için DAS-ELISA ve CABYV için TAS-ELISA yöntemi ile testlenmişlerdir. Serolojik testler Clark ve Adams (1977)'in önerdiği şekilde yürütülmüştür. CABYV ve CCYV ELISA kiti DSMZ (Leibniz-Institut, DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) adlı firmadan, CYSDV ELISA kiti ise Loewe (Biochemica GmbH, Mühlweg 2a, D-82054 Sauerlach, Germany) firmasından

temin edilmiştir. Örnekler yüklenirken referans olarak kitler içerisinde bulunan pozitif ve negatif kontrol örnekleri kullanılmıştır. ELISA çalışmalarında mikropipetler, pipet uçları, ekstraksiyon poşetleri ve örneklerin absorbans değerlerini ölçmek Versamax marka ELISA okuyucusundan yararlanılmıştır.

3.1.4. Moleküler çalışmalarda kullanılan materyaller

3.1.4.1. Total RNA ekstraksiyonu çalışmalarında kullanılan materyaller

Total RNA'ların elde edilmesi çalışmalarında, DAS-ELISA testinde pozitif sonuç veren absorbans değeri yüksek olan bitkilerin örnekleri kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi sırasında GeneAll firmasından temin edilen Ribospin™ Plant Ekstraksiyon kiti, steril havan, havaneli, mikro pipetler, pipet uçları, Kern, Sohn GmbH-Abj 220-4M markalı terazi, Hettich Zentrifugen Universal 32R marka soğutmalı santrifüjden yararlanılmıştır.

3.1.4.2. RT-PCR testlerinde kullanılan materyaller

Daha önceden total RNA ekstraksiyonu yapılmış olan örneklerden tek aşamalı RT-PCR sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla GeneAll firmasından temin edilen One-step RT-PCR master mix kiti, Sigma marka santrifüj ve Eppendorf (miniSpin plus) marka vorteks, Roche marka thermocycler, mikropipetler ve pipet uçları ve 0,2 ml'lik RNase free eppendorf tüpleri kullanılmıştır.

RT-PCR testlerinde; Reverse Transcriptase, Taq DNA polimeraz, dNTPs (mixture), reaksiyon bufer (2.5 mM MgCl₂), stabilizör ve Rnase önleyici içeren One-step RT-PCR master mix kiti, total RNA ve RNA'nın hedef bölgesine spesifik forward ve reverse oligonükleotid primerler (Alpha DNA) ve saf su kullanılmıştır.

3.1.5. Agaroz jel elektroforez çalışmalarında kullanılan materyaller

Agaroz jel elektroforez çalışmalarında kontrol edilecek olan materyal olarak total RNA ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ilgili virüslere ait RNA'lar ile RT-PCR çalışmaları sonucunda çoğaltılan DNA kullanılmıştır.

Çalışmada, Thermo model jel elektroforez düzeneği, Consort E861 marka güçkaynağı, örneklerin ve jellerin hazırlanmasında ve boyanmasında kullanılan kimyasallar ve Genesta markalı DNA Ladder (100 bp) materyal olarak kullanılmıştır. Jellerin fotoğrafları Caution marka jel görüntüleme cihazında çekilmiştir.

3.1.6. Dizi belirleme ve BLAST analizi çalışmalarında kullanılan materyaller

ELISA ve RT-PCR çalışmaları sonucunda elde edilen CABYV, CCYV ve CYSDV'üne ait izolatlar DNA dizi belirleme çalışmalarında kullanılmıştır. Bu amaçla; farklı ilçe, ürün ve üretici dikkate alınarak CABYV'den 10 adet, CCYV'den 6 adet ve CYSDV'den 10 adet izolat seçilmiştir. DNA dizi belirleme işlemi Sentegen firmasına hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

3.1.7. Filogenetik analiz çalışmalarında kullanılan materyaller

Filogenetik analizler için Sentegen firmasına hizmet alımı şeklinde yaptırılan sekans analizleri sonucu elde edilen DNA dizilerinden sekans okumaları temiz olan 5 adet CABYV, 1 adet CCYV ve 10 adet CYSDV izolatı kullanılarak dünyanın farklı üretim bölgelerinden elde edilen izolatların Gen Bankasında bulunan aynı gen bölgeleriyle nükleotid dizilerinin çoklu karşılaştırmaları sonucu soy ağacı oluşturularak, izolatların yakınlık dereceleri ve genetik ilişkileri ortaya konulmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sürvey çalışmaları ve örneklerin alınması

Araştırma alanı Antalya'daki tarımsal kurum ve kuruluşlardan alınan bilgiler doğrultusunda örtüaltı kabak, kavun ve hıyar yetiştiriciliğinin en yoğun yapıldığı ilçelerden oluşmuştur. Bu bağlamda sürveyler Aksu, Alanya, Elmalı, Gazipaşa, Kumluca ve Serik'te 2015- 2016 yıllarında yazlık ve güzlük üretim sezonunda gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Bu ilçelerdeki seralarda sararma belirtisi sergileyen bitkilerden alınan yaprak örnekleri, üzerinde örneğin alındığı yer, bitki türü, bitki çeşidi, üretici ismi ve tarih yazılarak numaralandırılmış plastik torbalar içerisinde konularak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Örnekler serolojik ve moleküler çalışmalarda kullanılıncaya kadar -20°C'deki derin dondurucuda muhafaza

edilmiştir. Ayrıca, sarılık belirtileri gösteren bitkiler üzerinde görülen yaprak bitleri ve beyazsinekler, içerisinde %70'lik etil alkol bulunan küçük şişelere yumuşak uçlu fırça yardımıyla alınarak laboratuvara getirilmiştir. Yaprak bitlerinin tür teşhisleri Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde görev yapan Dr. Işıl ÖZDEMİR tarafından, beyazsineklerin teşhisleri ise Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmail KARACA tarafından yapılmıştır.



Şekil 3. 1. Hıyar, kabak ve kavun örneklerinin alındığı ilçeler

Sarılık belirtisi sergileyen kabakgil (kabak, kavun ve hıyar) bitkilerinden toplam 460 adet şüpheli bitki örneğinin 281 adetini hıyar, 95 adetini kavun ve 84 adetini de kabak yaprak örneği oluşturmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3. 1.Çalışmada kullanılan örneklerin alındığı ilçeler ve alınan örnek sayısı

İLÇE	HIYAR	KAVUN	KABAK	TOPLAM
AKSU	15	0	84	99
ALANYA	86	0	0	86
ELMALI	4	0	0	4
GAZİPAŞA	48	0	0	48
KUMLUCA	19	95	0	114
SERİK	109	0	0	109
TOPLAM	281	95	84	460

Arazi çalışmaları sırasında toplanan ve derin dondurucuda muhafaza edilen hıyar, kavun ve kabak bitkilerinin örneklerine CABYV için TAS-ELISA ve CCYV ile CYSDV için DAS-ELISA testleri uygulanmıştır. ELISA testlerinde pozitif değer veren örnekler RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.2. ELISA testlerinin uygulanması

3.2.2.1. DAS-ELISA testinin uygulanması

Yaprak örneklerinin CCYV ve CYSDV ile bulaşıklık durumu ortaya belirlemek amacıyla DAS-ELISA çalışmaları yürütülmüştür (Şekil.3.2). Örnekler yüklenirken referans olarak kitler içerisinde bulunan pozitif ve negatif kontrol örnekleri kullanılmıştır. DAS-ELISA testleri aşağıdaki şekilde uygulanmıştır (Clark ve Adams, 1977).

1. Kaplama tamponu ile 1:200 oranında sulandırılarak hazırlanan virüse özgü poliklonal antikor, ELISA pleytinin her bir kuyucuğuna 100'er µl ilave edilerek + 4 °C'de tüm gece inkubasyona bırakılmıştır.
2. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu (PBS-TweenBuffer) ile tüm çukurlar 3 kez yıkanmıştır. Pleytler hızlı bir şekilde ters çevrilerek boşaltılmış ve 8-10 katlı kurutma kağıdı üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır.
3. Daha önce 5 gram yaprak dokusu ve 10 ml genel ekstraksiyon tampon solüsyonu ile ezilerek hazırlanarak ependorf tüplerine aktarılmış olan örnekler altalta gelecek şekilde her iki çukura 100'er µl olarak konulmuştur. Pleytler + 4°C'de tüm gece inkubasyona bırakılmıştır.
4. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile tüm çukurlar tekrar 3 kez yıkanmıştır. Örneklerin birbirine karışmaması için pleyt hızlı bir şekilde ters çevrilerek boşaltılmış ve 8-10 katlı kurutma kağıdı üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır.

5. Bu kez konjugat tamponu (ECI Buffer) 1:5 ve konjugatlar (Alkaline fosfataz enzim konjugatı) ise 1:200 oranında sulandırılarak hazırlandıktan sonra her bir çukura 100 µl ilave edilerek 37 °C'de inkubasyona bırakılmıştır.

6. İnkubasyondan 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 kuruması sağlanmıştır.

7. Her bir çukura substrat tamponu ile taze olarak hazırlanan substrattan (P-nitrophenlyphosphate) 100 µl ilave edildikten sonra oda sıcaklığında karanlıkta inkubasyona bırakılmıştır.

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

9. İlk okuma 30 dakikalık sürenin sonunda İkinci okuma ise 60 dakika sonra gerçekleştirilmiştir. Ölçümler VersaMax marka ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda yapılmıştır.

3.2.2.2. TAS-ELISA testinin uygulanması

Yaprak örneklerinin CABYV ile bulaşıklık durumunun araştırılması amacıyla TAS-ELISA çalışmaları gerçekleştirilmiştir. TAS-ELISA testleri üretici firmanın önerisi doğrultusunda ve bazı modifikasyonlar ile aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir. Örnekler yüklenirken referans olarak kitler içerisinde bulunan pozitif ve negatif kontrol örnekleri kullanılmıştır.

1. ELISA pleytinin kuyucukları virüslere önerilen oranlarda seyreltmeden sonra spesifik antikor ile kaplanarak 37 °C de 2- 4 saat bekletilmiştir.

2. ELISA pleytinin kuyucukları yıkama tamponu (PBS Tween Buffer) ile 2 kez yıkandıktan sonra kurutma kağıdı üzerine vurularak temizlenmiştir.

3. Daha önceden ezilen ve ependorf tüplerinde bekleyen örnekler her çukura 200'er µl olacak şekilde ilave edilmiş ve +4°C de 1 gece bekletilmiştir.

4. Ertesi gün örnekler 3 kez yıkama tamponu ile yıkanmıştır.

5. Yıkama işleminin ardından çukurlara önerilen oranda Konjugat Buffer içerisinde seyreltilmiş 200 µl MAb eklenmiştir.

6. Pleytler 37 °C de 2- 4 saat süreyle inkübasyondan sonra 2 kez yıkama tamponu ile yıkanmıştır.

7. Bu kez konjugat buffer içerisinde 1:1000 oranında seyreltilen RAM-AP'den 200 µl her bir çukura eklenmiştir.

8. Örnekler 1 saat süreyle 37 °C de inkübasyona bırakıldıktan sonra 2 kez yıkama tamponu ile yıkanmıştır.

9. Her bir çukura yeni hazırlanmış olan substrattan (1 mg/ ml para-nitrophenyl-phosphate in substrate buffer) 200 µl ilave edilmiştir.

10. Pleytler 37°C'de 30-60 dakika inkübe edildikten sonra 405 nm absorbans değerinde spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Ölçümler VersaMax marka ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Sürveyler sırasında sararma belirtisi gösteren bitkilerden elde edilen 460 adet bitki yaprak örneğinin tamamına ELISA testleri uygulanmıştır. CYSDV ve CCYV için uygulanan DAS-ELISA ve CABYV için uygulanan TAS-ELISA testlerinde virüslere spesifik antiserumlardan yararlanılmıştır. Her pleytteikişer adet pozitif ve negatif kontrol bulunmasına dikkat edilmiştir. Değerlendirme aşamasında negatif kontrolün iki ve iki katından fazla absorbans değerine sahip örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir (Stellmach,1985).



Şekil 3. 2. ELISA çalışmalarının aşamaları

3.2.3. Moleküler çalışmalar

3.2.3.1. Total RNA (TRNA) ekstraksiyonu

Kabak, hıyar ve kavun yaprak örnekleri ile yapılan TAS ve DAS-ELISA testleri sonucunda CYSDV, CCYV ve CABYV ile bulaşık olduğu belirlenen örneklerden RT-PCR çalışmalarında kullanılmak üzere TRNA ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ELISA testlerinde yüksek absorbans değeri veren örnekler tercih edilmiştir. Yaprak örneklerinden TRNA izolasyonunda Geneall

firmasından temin edilen Ribospin TM Total RNA İzolasyon Kiti kullanılmıştır. TRNA çalışması aşağıda belirtilen şekilde yürütülmüştür.

1. 100 mg yaprak doku örneği sıvı azot içerisinde ezilerek 1,5 ml lik mikrofüj tüpüne aktarılmıştır.
2. 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne 350 µl tampon RPL eklenerek kuvvetle vortekslenmiştir.
3. Oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildikten sonra karışım EzPure™ filtresine aktarılmıştır.
4. Oda sıcaklığında 30 saniye boyunca $\geq 10,000$ x g'de santrifüj işlemi takiben süpernatantı yeni bir 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.
5. Tüp içine 350 µl % 70 EtOH eklenerek santrifüj edilmeden pipet ile karıştırıldıktan sonra mini spin kolona aktarılmıştır.
6. Oda sıcaklığında 30 saniye boyunca $\geq 10,000$ x g'de santrifüjlenmiştir.
7. Mini spin kolonuna 500 µl RBW tamponu ilave edilerek oda sıcaklığında 30 saniye boyunca $\geq 10,000$ x g'de santrifüjlenmiştir.
8. Mini spin kolonun tam merkezine yeni hazırlanmış 70 µl DNase I reaksiyon karışımı eklenmiş, oda sıcaklığında 10 dakika beklenmiştir.
9. Mini spin kolona 500 µl RBW tamponu ilave edilerek, 2 dakika beklenmiş ve ardından oda sıcaklığında 30 saniye boyunca $\geq 10,000$ x g'de santrifüjlenmiştir.
10. 500 µl Tampon RNW eklenen Mini spin kolon oda sıcaklığında 30 saniye boyunca $\geq 10,000$ x g'de santrifüjlenmiştir.
11. 10. Adım tekrar edilmiştir.

12. Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca $\geq 10,000 \times g$ 'de santrifüjlenmiş, karışım yeni bir mikrofüj tüpüne aktarılmıştır.
13. Mini spin kolonun ortasına 50 μ l RNaz içermeyen su eklenmiştir.
14. Oda sıcaklığında 1 dakika boyunca $\geq 10,000 \times g$ 'de santrifüjlenmiştir.

Total RNA izolasyonu çalışmaları sonucunda elde edilen RNA'ların varlığı agaroz jel elektroforezile kontrol edilmiştir. Total RNA elde edilen örnekler, tek aşamalı RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.3.2. RT-PCR çalışmaları

RT-PCR çalışmalarında, CABYV, CCYV ve CYSDV açısından DAS-ELISA ve TAS-ELISA testlerinde pozitif sonuç veren örnekler arasından tek enfeksiyon veren örnekler kullanılmıştır.

RT-PCR çalışmalarında, bu üç sarılık virüsü için daha önce yapılan literatür taramalarında kullanılan spesifik primerlerden yararlanılmıştır. CABYV ve CCYV için kılıf protein gen bölgesini sentezleyen primer çiftleri; CYSDV için ise hsp70h gen bölgesini sentezleyen primer çifti kullanılmıştır. Primer sentezleri Sentegen firmasına hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. Kullanılan primerler ve primerlere ait baz dizileri Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. RT-PCR çalışmalarında kullanılan primerler ve baz dizilimleri

Virüs	Primer Adı	Baz Dizisi	Gen Bölgesi	Beklenen Büyüklük	Kaynak
CABYV	CABYV-F	5'-GAATACGGTCGCGGCTAGAAATC	Kılıf Protein	600 bp	Kassem vd., 2007
	CABYV-R	5'-CTATTTTCGGTCTGACCTGGC			
CYSDV	CYSDV-F	5'-ATGGACATGCCTAACTGTTACTT	Hsp 70	364 bp	Boubourakas vd., 2006
	CYSDV-R	5'-ATAGCTGCTGCAGATGGTTC			
CCYV	CCYV-F	5'-AGTGATCGCAATCAATAAG	Kılıf Protein	870 bp	Keshavarz vd., 2013 a
	CCYV-R	5'-GTG ATCACTTGACCATCTC			

RT-PCR çalışmalarının optimizasyonu sırasında, daha önce bu virüslerle yapılan çalışmalar ve kullanılan RT-PCR kiti içerisinde verilen RT-PCR programları dikkate alınarak çeşitli programlar denenmiştir. Optimum bağlanma sıcaklıkları gradient RT-PCR yöntemi ile farklı sıcaklıklar belirlenerek yapılmıştır. CABYV ve CYSDV için aynı RT-PCR programı kullanılmış ve 52°C - 62°C arası annealing sıcaklıkları denenmiştir. CCYV için ise 50°C - 60°C arasındaki annealing sıcaklıkları denenmiştir. Kullanılan RNA, mix ve primerlerin yoğunlukları modifiye edilmiştir. Buna göre CABY, CCYV ve CYSDV'leri ile yapılan PCR çalışmalarında elde edilen ve kullanılan optimum RT-PCR koşulları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3. 3. RT-PCR çalışmalarında kullanılan programlar

CABYV		CCYV		CYSDV	
55°C- 1 saat		42°C-30 dakika		55°C- 1 saat	
94°C- 5 dakika		94°C- 2 dakika		94°C- 5 dakika	
94°C- 30 saniye	33 döngü	94°C-30 saniye	28 döngü	94°C- 30 saniye	33 döngü
55°C- 45 saniye		55°C-30 saniye		55°C- 45 saniye	
72°C- 1 dakika		72°C-30 saniye		72°C- 1 dakika	
72°C- 5 dakika		72°C- 5 dakika		72°C- 5 dakika	
+4°C- ∞		+4°C- ∞		+4°C- ∞	

3.2.3.2.1. Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün RT-PCR ile tanısı

Kullanılan spesifik RT-PCR yönteminde yapılan amplifikasyonlar bitki yapraklarından elde edilen total RNA lar kullanılarak yapılmıştır. RT-PCR için 5 µl RT-PCR master mix, 0,5 µl RNA, 1 µl forward primer, 1,5 µl reverse primer ve 12 µl ddH₂O olmak üzere toplamda 20 µl mix kullanılmıştır. Kullanılan RT-PCR programı; 55 °C'de 1 ssat, 94 °C'de 1 döngü (5 dakika), 94 °C'de (30 saniye), 54 °C'de (45 saniye), 72 °C'de (1 dakika) 33 döngü ve 72 °C'de 1 döngü (5 dakika) şeklindedir. CABY için RT-PCR çalışmalarında kullanılan örneklerin listesi aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.4)

Çizelge 3. 4. RT-PCR çalışmalarında kullanılan Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatları

Sayı	Tür	Çeşit	İlçe
1	Hıyar	Kafkas	Alanya
2	Hıyar	Sal 33	Serik
3	Hıyar	66-08	Alanya
4	Hıyar	Kafkas	Alanya
5	Kavun	Çıtırex	Kumluca
6	Hıyar	Zarif	Serik
7	Kabak	Seyden	Aksu
8	Kabak	Seyden	Aksu
9	Kabak	Amati	Aksu
10	Kabak	Amati	Aksu
11	Kabak	Amati	Aksu
12	Hıyar	PTK-40	Serik
13	Hıyar	Yazel	Elmalı
14	Hıyar	PTK-40	Aksu
15	Kavun	Çıtırex	Kumluca
16	Hıyar	PTK-40	Gazipaşa
17	Kabak	Seyden	Aksu
18	Hıyar	PTK-40	Serik
19	Kabak	Amati	Aksu
20	Kabak	Amati	Aksu

3.2.3.2.2. Cucurbit chlorotic yellows virus'ün RT-PCR ile tanısı

Kullanılan spesifik RT-PCR yönteminde yapılan amplifikasyonlar bitki yapraklarından elde edilen total RNA kullanılarak yapılmıştır. RT-PCR için 5 µl RT-PCR master mix, 0,5 µl RNA, 1 µl forward primer, 1,5 µl reverse primer ve 12 µl ddH₂O olmak üzere toplamda 20 µl mix kullanılmıştır. Kullanılan RT-PCR programı; 42 °C'de 30 dakika, 94 °C'de 1 döngü (2 dakika), 94 °C'de (30 saniye), 55 °C'de (30 saniye), 72 °C'de (30 saniye) 28 döngü ve 72 °C'de 1 döngü (5 dakika) şeklindedir. CCYV için RT-PCR yapılan örneklerin listesi aşağıda verilmiştir (Çizelge 3.5)

Çizelge 3. 5. RT-PCR çalışmalarında kullanılan Cucurbit chlorotic yellows virus izolatları

Sayı	Tür	Çeşit	İlçe
1	Kavun	Çıtirex	Kumluca
2	Kavun	Çıtirex	Kumluca
3	Kavun	Çıtirex	Kumluca
4	Kavun	Çıtirex	Kumluca
5	Kavun	Çıtirex	Kumluca
6	Hıyar	Sal 33	Serik
7	Kavun	Çıtirex	Kumluca
8	Hıyar	Pıtırak	Aksu
9	Kavun	Çıtirex	Kumluca
10	Hıyar	Vista	Alanya
11	Kavun	Çıtirex	Kumluca
12	Hıyar	Zarif	Serik
13	Hıyar	Termosos	Kumluca
14	Kavun	Çıtirex	Kumluca
15	Hıyar	PTK-40	Gazipaşa
16	Hıyar	Cemre	Gazipaşa
17	Kavun	Çıtirex	Kumluca
18	Kavun	Çıtirex	Kumluca
19	Hıyar	PTK-40	Serik
20	Kavun	Çıtirex	Kumluca

3.2.3.2.3. Cucurbit yellow stunting disorder virus'ün RT-PCR ile tanısı

Kullanılan spesifik RT-PCR çalışmalarında amplifikasyonlar bitki yapraklarından elde edilen total RNA kullanılarak yapılmıştır. RT-PCR için 5 µl RT-PCR master mix, 0,5 µl RNA, 1 µl forward primer, 1,5 µl reverse primer ve 12 µl ddH₂O olmak üzere toplamda 20 µl mix kullanılmıştır. Kullanılan RT-PCR programı; 55°C'de 1 ssat, 94°C'de 1 döngü (5 dakika), 94°C'de (30 saniye), 54°C'de (45 saniye), 72°C'de (1 dakika)'da 33 döngü ve 72°C'de 1 döngü (5 dakika) şeklindedir. CYSDV için RT-PCR yapılan örneklerin listesi aşağıda verilmiştir (Çizelge3.6).

Çizelge 3. 6. RT-PCR çalışmalarında kullanılan Cucurbit yellow stunting disorder virus izolatları

Sayı	Tür	Çeşit	İlçe
1	Kavun	Çıtirex	Kumluca
2	Hıyar	Sal 33	Serik
3	Kavun	Çıtirex	Kumluca
4	Hıyar	PTK-40	Serik
5	Kavun	Çıtirex	Kumluca
6	Hıyar	PTK-40	Serik
7	Hıyar	66-08	Alanya
8	Hıyar	Cemre	Alanya
9	Hıyar	Tonton	Alanya
10	Hıyar	Kafkas	Alanya
11	Kavun	Çıtirex	Kumluca
12	Hıyar	Cemre	Gazipaşa
13	Hıyar	PTK-40	Serik
14	Hıyar	PTK-40	Kumluca
15	Kavun	Çıtirex	Kumluca
16	Hıyar	PTK-40	Serik
17	Kavun	Çıtirex	Kumluca
18	Hıyar	PTK-40	Kumluca
19	Hıyar	PTK-40	Kumluca

3.2.3.4. Agaroz-Jel elektroforez çalışmaları

Agaroz jel elektroforez çalışmalarında Lee vd., (2012)'nin önerdiği yöntem uygulanmıştır. Kullanılan agaroz-jel %2'lik konsantrasyonda hazırlanmıştır. Bu amaçla 100 ml 1x TBE içerisine ilave edilen 2 g agaroz eriyinceye kadar mikrodalga fırın içerisinde tutularak agarozun tampon içerisinde erimesi sağlanmıştır. Agaroz TBE karışımı 60°C'ye kadar soğumaya bırakılmış ve içerisine 2 µl Gelred™ 10,000X isimli boya maddesi eklenerek tank içerisine boşaltılmıştır. Bu arada tarak jel içerisine yerleştirilmiştir. Jel donduktan sonra tarak dikkatli bir şekilde çıkartılmış ve jelin üzerini 1-2 mm kadar kaplayıncaya kadar TBE ilave edilmiştir. Her örnek, 4 µl örnek +2 µl yükleme tamponu ile birlikte, toplam 6 µl karışım olacak şekilde jelin çukurlarına dikkatli bir şekilde yüklenmiştir. İlk çukura ticari marker konulmuş ve elektroforez koşumu, 80 V akımda, yatay düzende 120 dakika süreyle gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra sonuçlar UV ışık altında kontrol edilmiştir.

3.2.3.5. Dizi Belirleme ve BLAST analizi çalışmaları

ELISA ve RT-PCR çalışmaları sonucunda elde edilen CABYV, CCYV ve CYSDV'üne ait izolatlar DNA dizi belirleme çalışmalarında kullanılmıştır. Bu amaçla ELISA'da yüksek absorbans değeri ve tek infeksiyon veren örneklerle yapılan total RNA izolasyonları sonucunda yapılan RT-PCR çalışmaları ile de varlığı doğrulanan virüs izolatları seçilerek dizi belirleme çalışmalarında kullanılmıştır. RT-PCR sonucunda pozitif sonuç veren örneklerden farklı ilçe, ürün ve üretici dikkate alınarak CABYV'den 5 adet, CCYV'den 1 adet ve CYSDV'den 10 adet izolat seçilmiştir (Çizelge 3.4). DNA dizi belirleme işlemi için RT-PCR işlemi sonucunda elde edilen RT-PCR ürünleri Sentegen firmasına gönderilmiş ve pürifikasyon işlemi firma tarafından yapılmıştır. Tüm örneklere ait sekans işlemleri Sentegen firmasına hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

Çizelge 3. 7. Dizi Belirleme Çalışmalarında Kullanılan İzolatlar

	Virüs	Tür	Çeşit	İlçe
7	CABYV	Kabak	Seyden	Aksu
9	CABYV	Kabak	Amati	Aksu
10	CABYV	Kabak	Amati	Aksu
11	CABYV	Kabak	Amati	Aksu
16	CABYV	Hıyar	PTK-40	Gazipaşa
22	CCYV	Kavun	Çıtirex	Kumluca
3	CYSDV	Kavun	Çıtirex	Kumluca
42	CYSDV	Hıyar	Sal 33	Serik
43	CYSDV	Kavun	Çıtirex	Kumluca
45	CYSDV	Kavun	Çıtirex	Kumluca
47	CYSDV	Hıyar	66-08	Alanya
50	CYSDV	Hıyar	Kafkas	Alanya
51	CYSDV	Kavun	Çıtirex	Kumluca
52	CYSDV	Hıyar	Cemre	Gazipaşa
54	CYSDV	Hıyar	PTK-40	Kumluca
55	CYSDV	Hıyar	PTK-40	Serik

Elde edilen ham DNA dizileri diziler öncelikle Chromas version 1.45 (McCarthy, 1996-1998) programında kontrol edilerek yanlış okumalar düzeltilmiş, baş ve son kısımdaki kirli okuma bölgeleri kesilmiştir. Daha sonra Bioedit version 7.0.5.3.

(Hall, 1999) programına aktararak GenBankası'dan CABYV'nin kılıf protein gen dizilimi bulunan örneklerden elde edilen referans diziler ve Antalya ili ve ilçelerinden elde edilen dizi örnekleri kullanılarak Bioedit programında hizalanmış, okuma hatası nedeniyle oluşabilecek insersiyon ve delesyonlar kontrol edilmiştir.

Diziler hizalandıktan sonra örnekler sonra NCBI BLAST modülü ile dünyadaki izolatlarla karşılaştırılmışlardır (Şekil 4.21). Ayrıca her bir virüs için birer örnek GenBank veri tabanına kayıt ettirilmiştir. Daha sonra MEGA 7 programında(Kumar vd., 2015), genetik uzaklık matrisi oluşturulmuş ve bu çalışmada izole edilen örnekler dünyadaki izolatlarla karşılaştırılmışlardır.

3.2.3.6. Filogenetik analiz

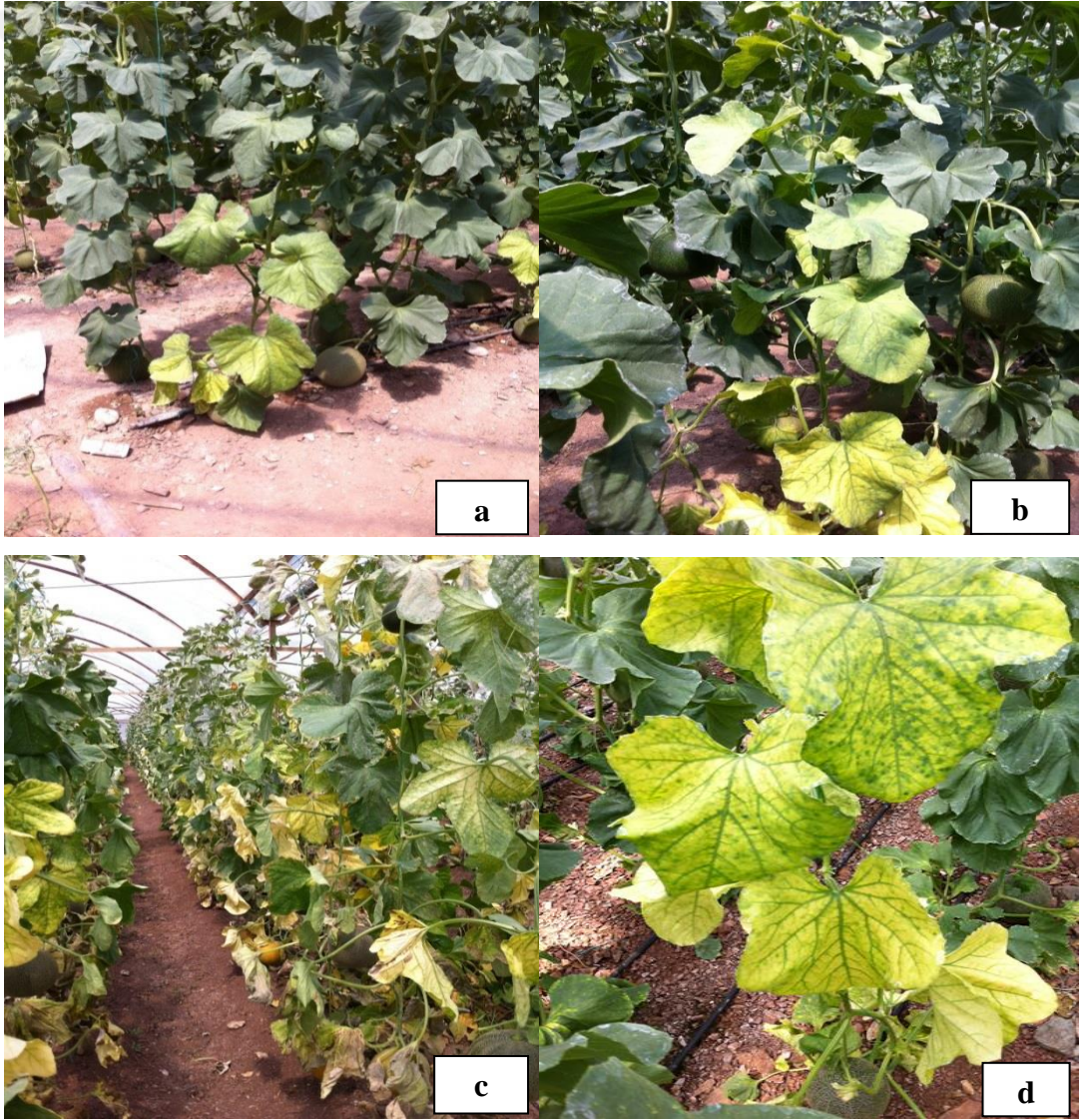
Dizi analizi sonrasında kabakgil üretim alanlarından toplanan yaprak örneklerinden elde edilen nükleotid dizilerinin Gen bankası veri tabanlarında bulunan ve dünyanın farklı kabakgil üretim alanlarından elde edilen izolatlar ile genetik ilişkisini belirlemek amacıyla CABYV ve CCYV'nin kılıf proteingene bölgesi ile CYSDV'nin ise ısı şok proteingene bölgesine ait nükleotid dizileri kullanılarak filogenetik analizler yapılmıştır.

Filogenetik analizler yapılırken en sık kullanılan metotlardan biri olan Maksimum Parsimoni (MP) metodu kullanılmıştır. İncelenen diziler ya da genetik uzaklıklar ile uyumlu bir ağaç elde etmek için gerekli en az mutasyonların saptanmasına dayanan bir yöntem olan Maksimum Parsimoni, minimum evrimsel metod (parsimoni=tutumluluk) olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntem, evrimsel süreçler kısa sürede nadir görüldüğü için eklentileri az olan ağaçlar, karşılaştırılan türler arasındaki farklılığı en iyi şekilde ifade etmektedir (Freeman ve Herron, 1999). Ağaçların çiziminde kullanılan genetik mesafe nükleotid değişim oranları yardımıyla da hesaplanabilmektedir. Dizi çiftleri arasındaki benzerliklerin çok güçlü olduğu ve az sayıda dizinin olduğu durumlarda en iyi sonuçların alınmasından dolayı MP analizi yöntemi kullanılmıştır

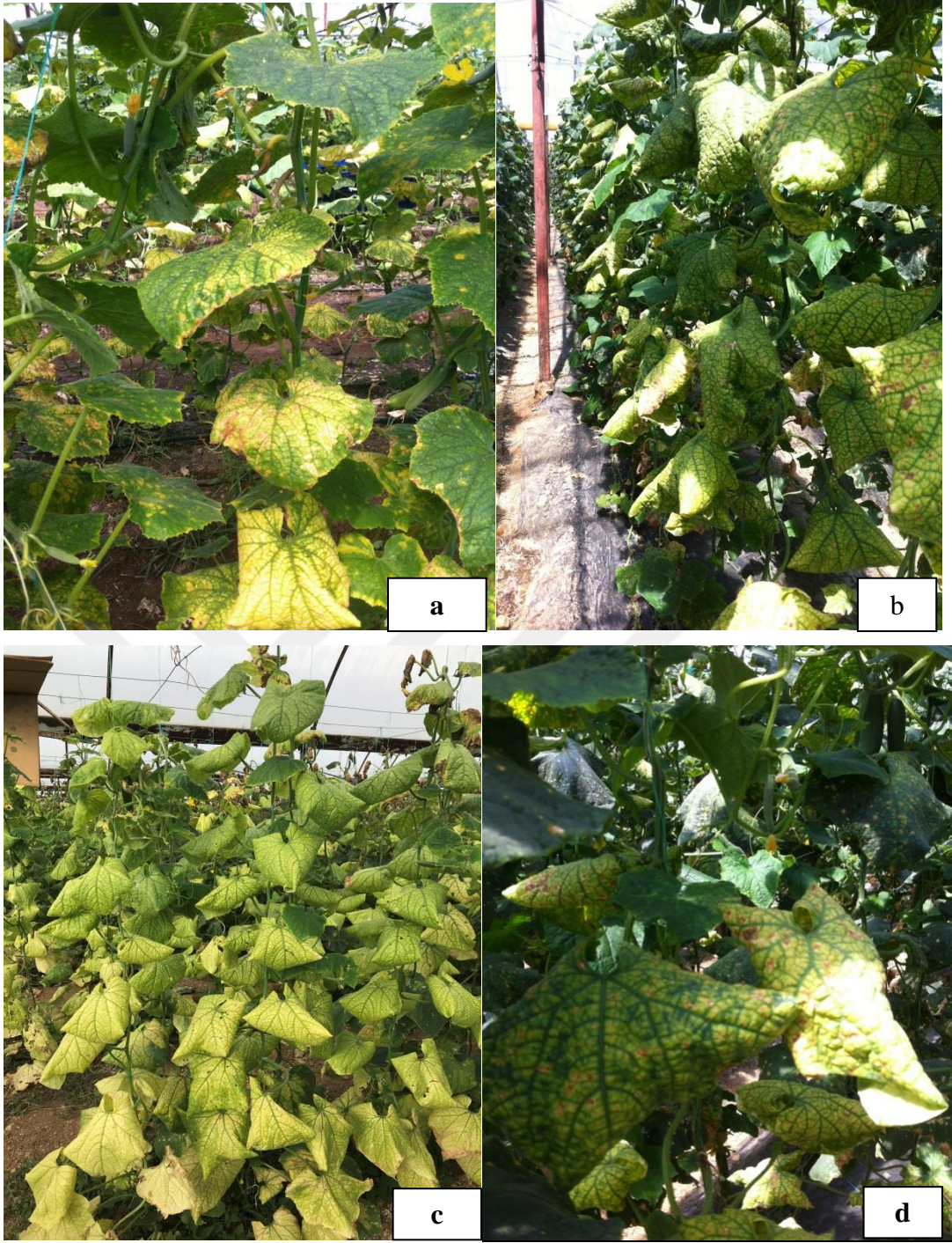
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Örtüaltı Kabakgil Üretim Alanlarında Yapılan Survey Çalışmaları

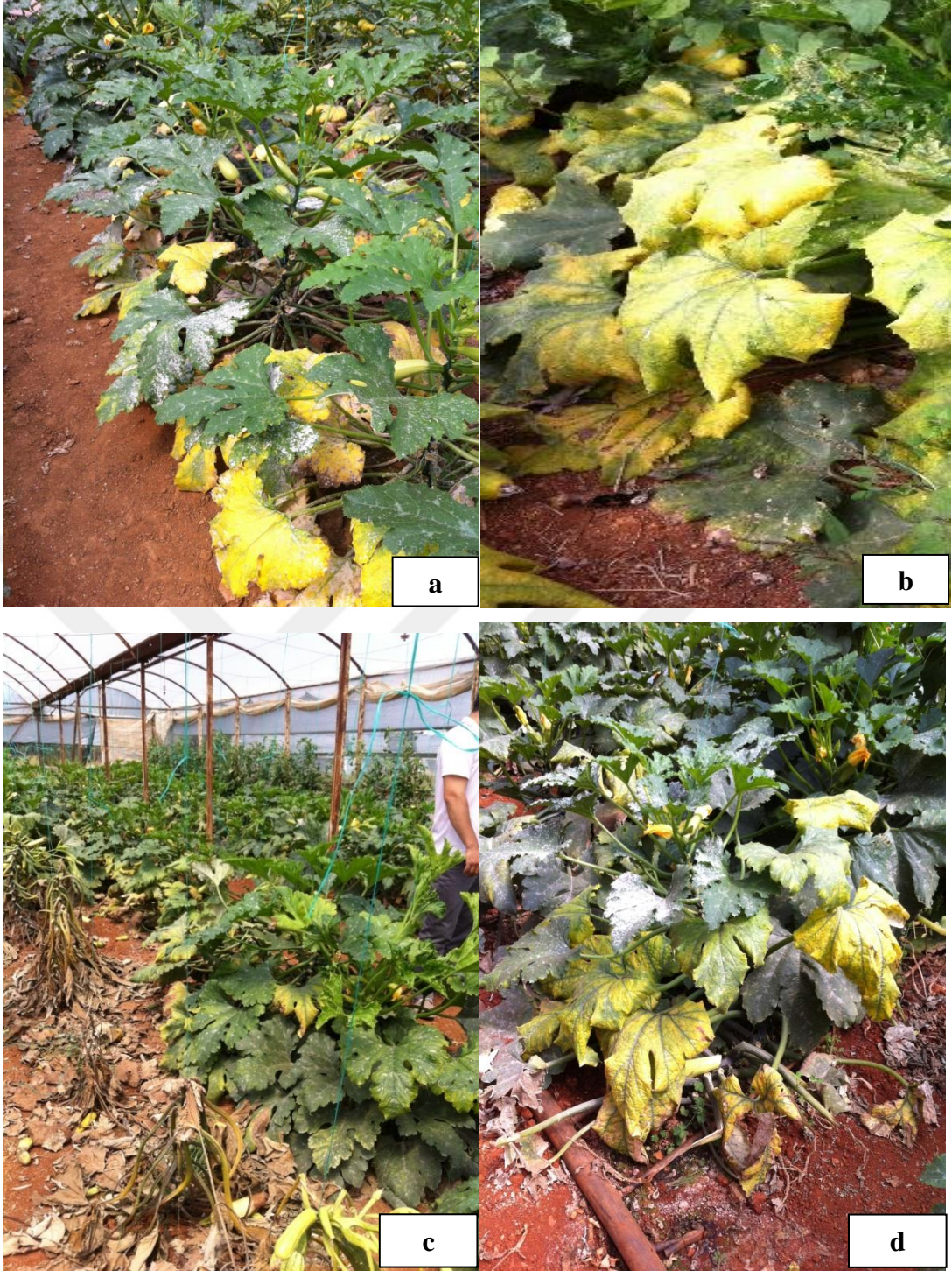
Antalya ili ve ilçelerinde yapılan surveyler sırasında hıyar, kavun ve kabak üretim alanlarındaki bitkilerde özellikle alt yapraklarında besin eksikliğine benzeyen tarzda sararmalar, yapraklarda yukarı doğru kıvrılma ve kırılğan bir görünümle birlikte orta damar ve primer damarların yeşil kaldığı dikkat çekmiştir. Surveyler sırasında tipik sarılık belirtileri sergileyen kavun, hıyar ve kabak bitkilerinin fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 4.1,4.2,4.3).



Şekil 4. 1. Kavun bitkisinde; a) bitkilerin alt yapraklarından başlayan sarılık belirtisi, b) bitki geneline yayılan sarılık belirtisi, c) serada genel sarılık belirtisi d) yapraklarda damarlararası sararma ve klorotik beneklenme belirtisi.



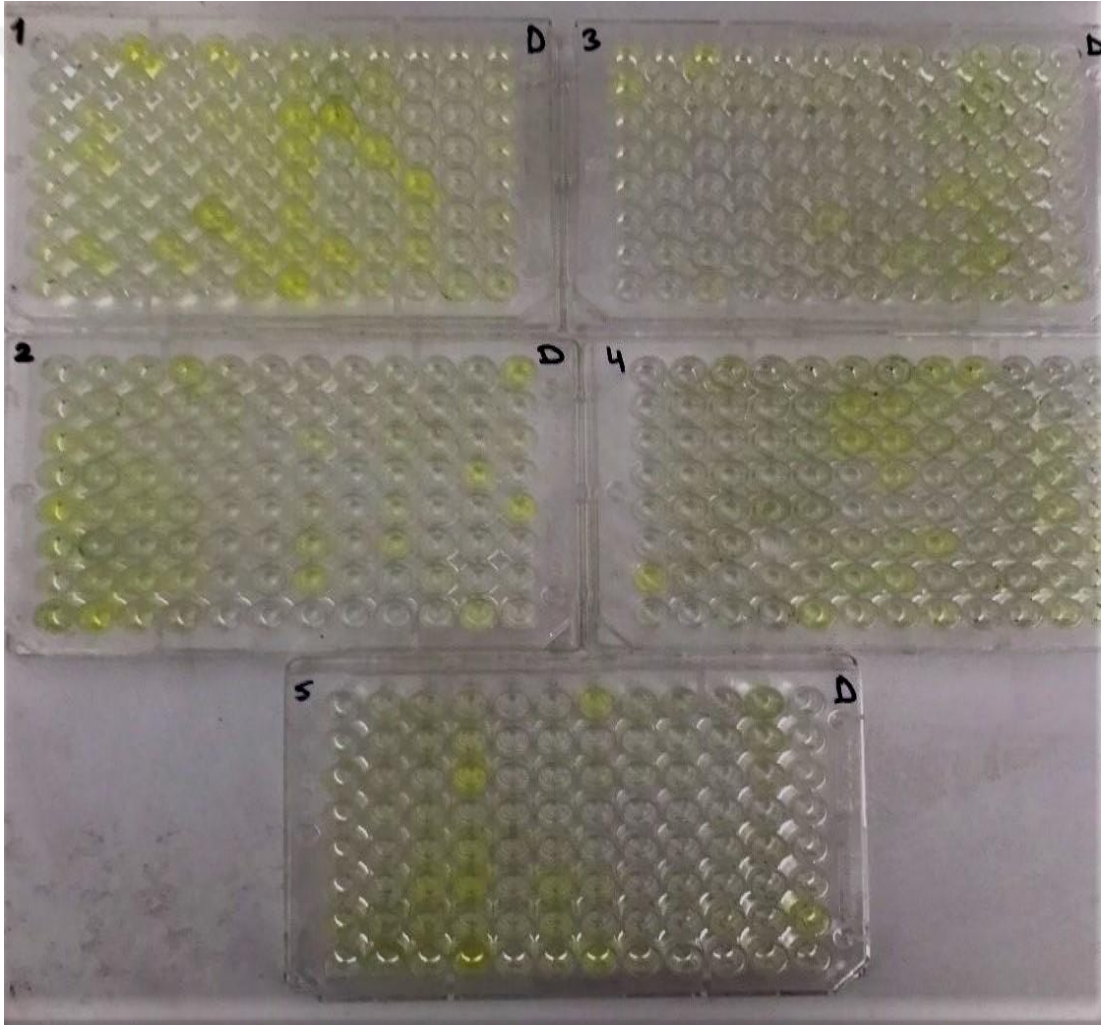
Şekil 4. 2. Hıyar bitkisinde a) bitkilerin alt yapraklarından başlayan sarılık belirtisi, b) bitki geneline yayılan sarılık belirtisi, c) sera genelinde sarılık belirtisi d) yapraklarda damarlararası sararma ve klorotik beneklenme belirtisi.



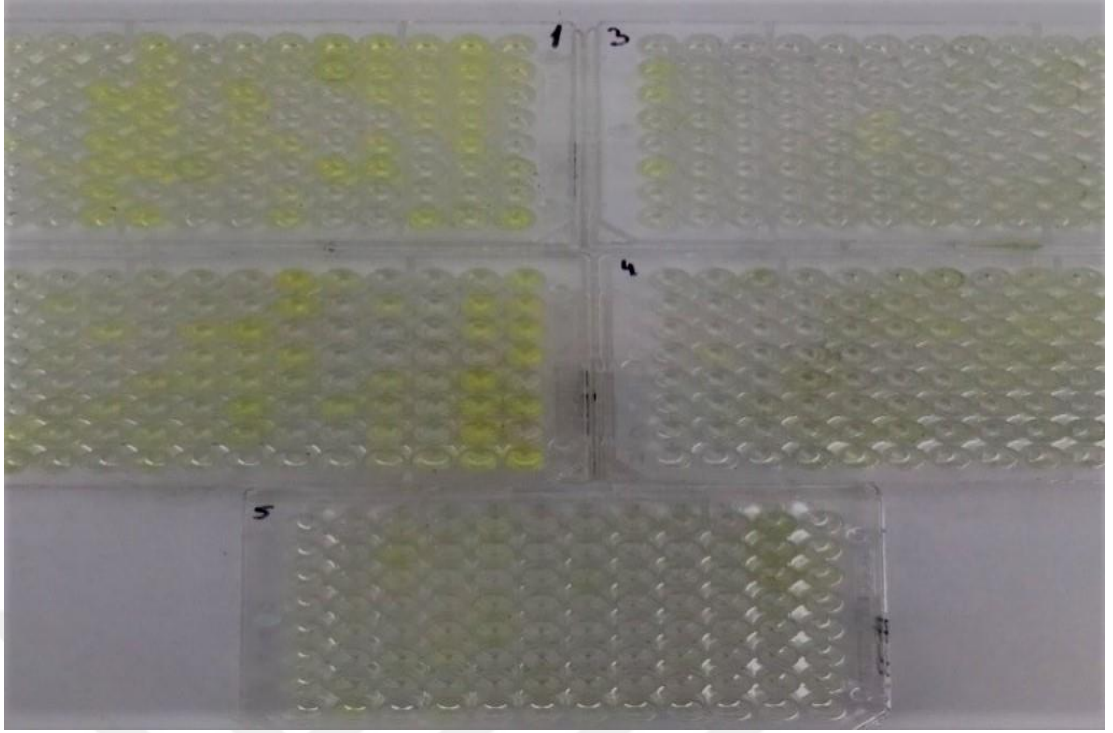
Şekil 4. 3. Kabak bitkisinde; a) bitkilerin alt yapraklarından başlayan sarılık belirtisi, b) bitki geneline yayılan sarılık belirtisi, c) sera genelinde sarılık belirtisi d) yapraklarda damarlararası sararma belirtisi.

4.2. DAS-ELISA ve TAS-ELISA Testi Sonuçları

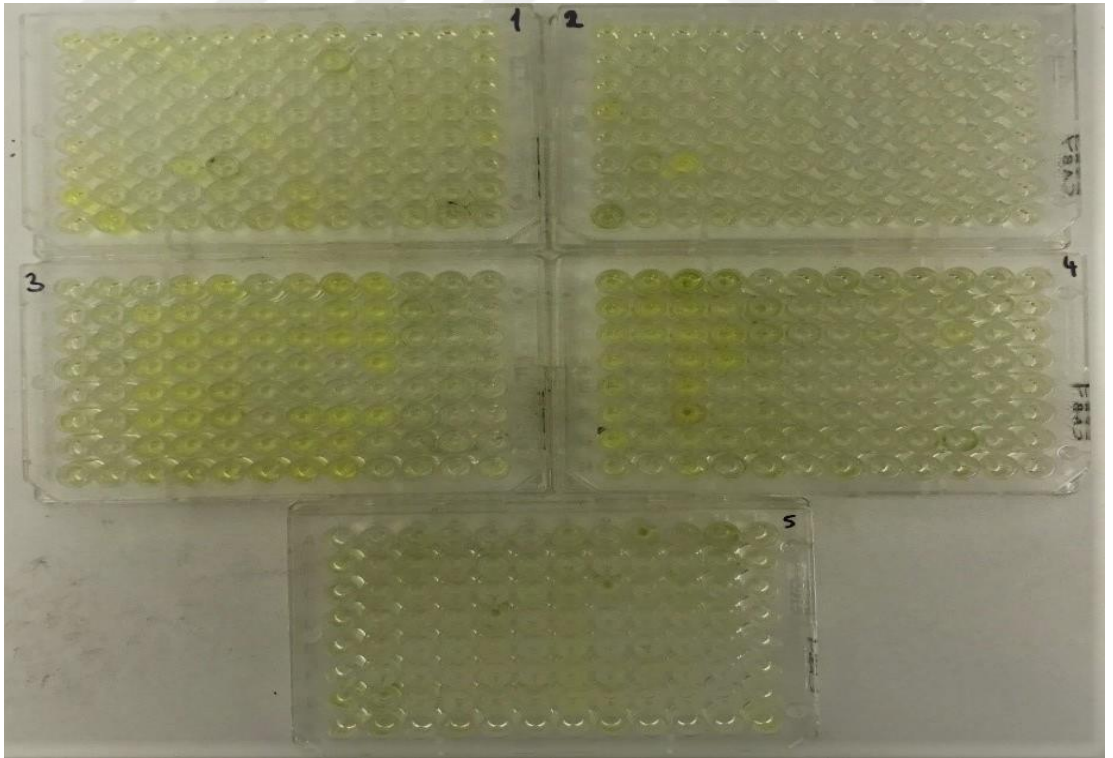
Antalya ili ve ilçelerinde 2015-2016 üretim sezonu boyunca sahil ve yaylada bulunan çeşitli seralarda yürütülen survey çalışmaları sırasında tipik sarılık belirtisi gösteren 460 adet bitkiden yaprak örnekleri alınmıştır. Sarılık virüsleriyle enfekteli olduğundan şüphelenilen örneklerin tamamında CABYV, CYSDV ve CCYV'lerinin durumunu belirlemek için DAS-ELISA ve TAS-ELISA testleri uygulanmıştır. Yapılan testler, örneklerin 410 adedinin bir kısmının tek, bir kısmının ise karışık infeksiyon halinde bu virüsler ile bulaşık olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4.4, 4.5, 4.6).



Şekil 4. 4. ELISA Pleytinde Cucurbit yellow stunting disorder virus'ün pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerinde meydana gelen renk değişimi. Sarı renkli çukurlar pozitif, şeffaf renkli çukurlar negatif sonucu göstermektedir



Şekil 4. 5. ELISA Pleytinde Cucurbit chlorotic yellows virus'ün pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerinde meydana gelen renk değişimi. Sarı renkli çukurlar pozitif, şeffaf renkli çukurlar negatif sonucu göstermektedir.



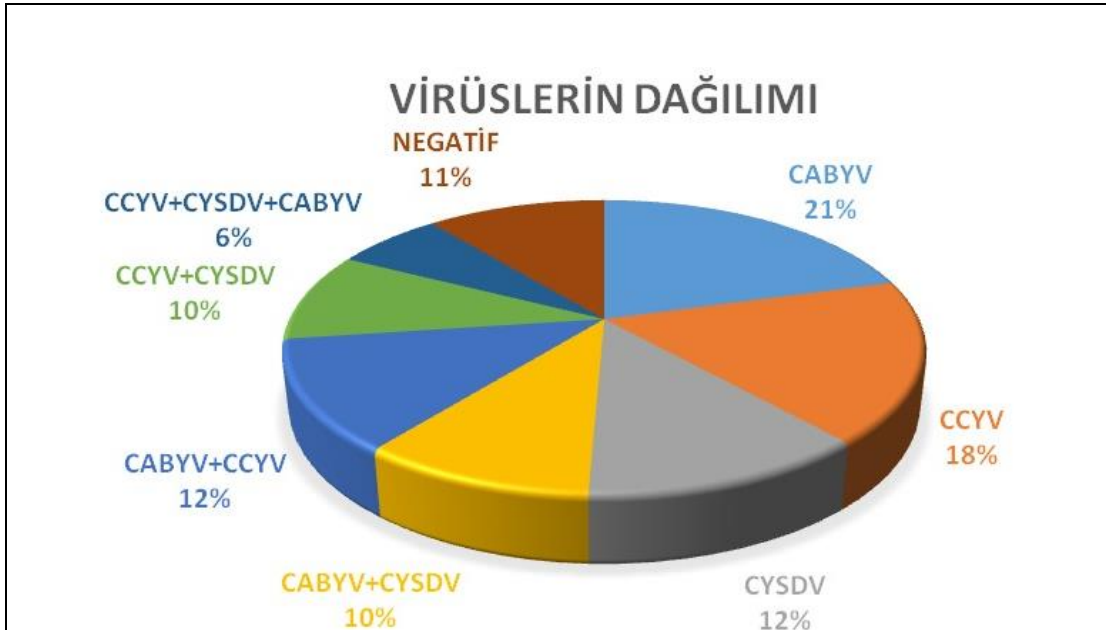
Şekil 4. 6. ELISA Pleytinde Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün pozitif ve negatif reaksiyon veren örneklerinde meydana gelen renk değişimi. Sarı renkli çukurlar pozitif, şeffaf renkli çukurlar negatif sonucu göstermektedir

ELISA uygulanan 460 bitki örneğinin 410 adedinin CABYV, CCYV ve CYSDV'lerinden biri veya birkaçı ile bulaşık olduğu belirlenmiştir (% 89,13) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. Toplanan kabakgil bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı

VİRÜS	HIYAR	KABAK	KAVUN	TOPLAM
CABYV	31	62	3	96
CCYV	36	0	46	82
CYSDV	42	2	12	56
CABYV+CYSDV	25	18	3	46
CABYV+CCYV	34	0	22	56
CCYV+CYSDV	41	0	3	44
CCYV+CYSDV+CABYV	27	1	2	30
NEGATİF	45	1	4	50
TOPLAM	281	84	95	460

Bitki örneklerinden 96 adedinde tek enfeksiyon halinde CABYV (% 21), 82 adedinde CCYV (% 18) ve 56 adedinde CYSDV (% 12) bulaşık olarak bulunmuştur. İkili enfeksiyon halinde 46 adedinde CABYV + CYSDV (% 10), 56 adedinde CABYV+CCYV (% 12) ve 44 adedinde ise CCYV + CYSDV (% 10) ikili enfeksiyonlar belirlenmiştir. Örneklerin 30 adedinde ise CABYV + CCYV + CYSDV (% 6) olmak üzere üçlü enfeksiyonun varlığı saptanmıştır. Toplanan 50 (% 11) örnekte ise bu virüs enfeksiyonlarından herhangi biri bulunmamıştır (Şekil 4.7).



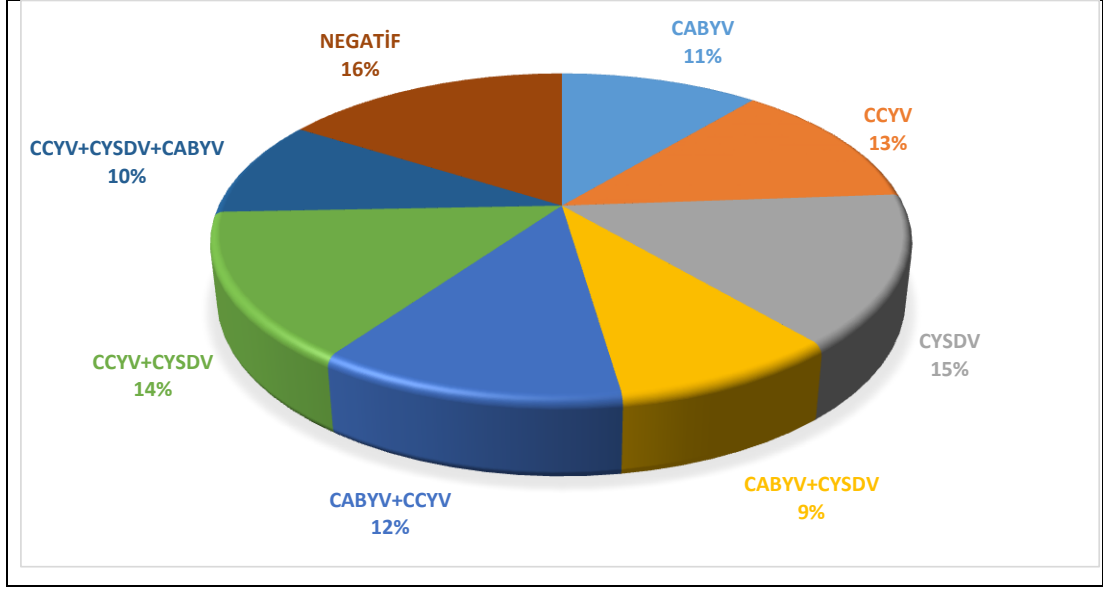
Şekil 4. 7. Toplanan kabakgil bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı

Hıyar seralarından Alanya'dan 86, Kumluca'dan 19, Gazipaşa'dan 48, Serik'ten 109, Elmalı'dan 4 ve Aksu ilçesinden 15 adet olmak üzere 281 virüs şüpheli örnekle çalışılmıştır. Bu örneklerde belirlenen virüsler ve ilçelere göre dağılımları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4. 2. ELISA testi ile hıyar bitki örneklerinde saptanan virüslerin dağılımı

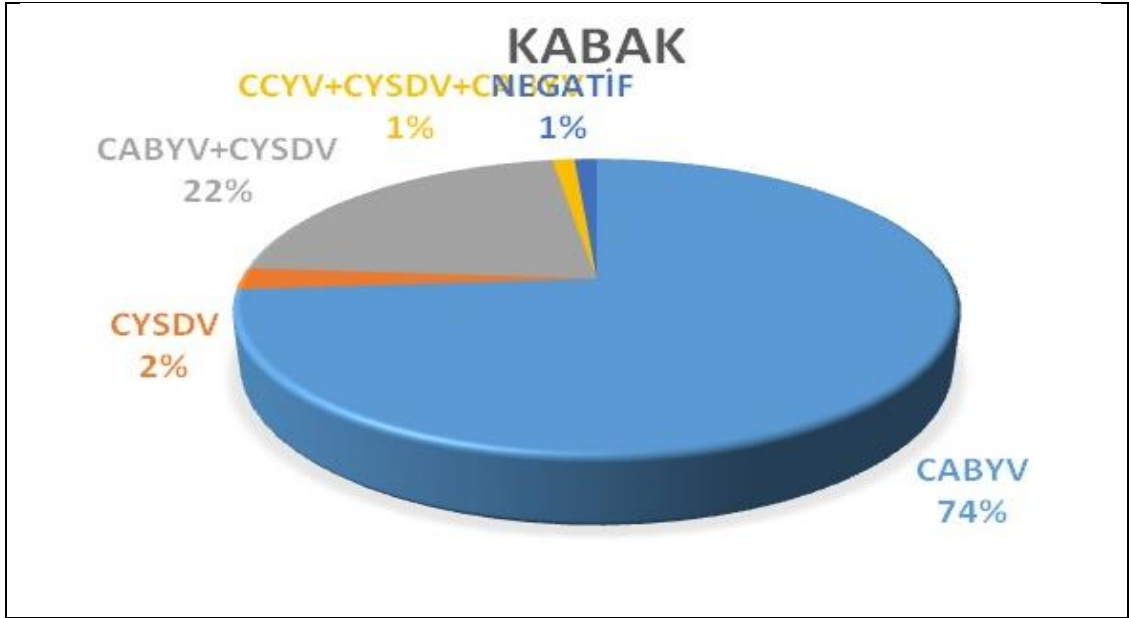
VİRÜS	ALANYA	KUMLUCA	GAZİPAŞA	SERİK	ELMALI	AKSU
CABYV	11	0	6	9	2	3
CCYV	5	2	9	16	0	4
CYSDV	13	8	2	18	0	1
CABYV+CYSDV	12	1	1	10	0	1
CABYV+CCYV	12	4	4	13	0	1
CCYV+CYSDV	12	3	4	22	0	0
CCYV+CYSDV+CABYV	16	0	6	3	0	2
NEGATİF	5	1	16	18	2	3
Toplam	86	19	48	109	4	15

ELISA testi sonucunda 281 adet hıyar örneğinin 31'inde CABYV (%11) , 36'sında CCYV (%13), 42'sinde CYSDV (% 15) ve 25'inde CABYV + CYSDV (%9), 34'ünde CABYV+CCYV (%12), 41'inde CCYV + CYSDV (%14) ikili enfeksiyonları belirlenmiştir. Örneklerin 27 adedinde ise CABYV + CCYV + CYSDV (%10) üçlü enfeksiyonu tespit edilmiştir. 45 adet (%11) örnekte ise herhangi bir virüs belirlenmemiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4. 8. Toplanan hıyar bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı

ELISA testi sonuçlarına göre 84 adet kabak örneğinden 62'sinde CABYV (%74), 2'sinde CYSDV (% 2) ve 18'inde ise CABYV + CYSDV (%22) ikili enfeksiyonları bulunmuştur. 1 Örnekte ise CABYV + CCYV + CYSDV (%1) üçlü enfeksiyonu görülmüştür. 1 (%1) örnekte bu virüslerden herhangi biri bulunmamıştır (Şekil 4.9).

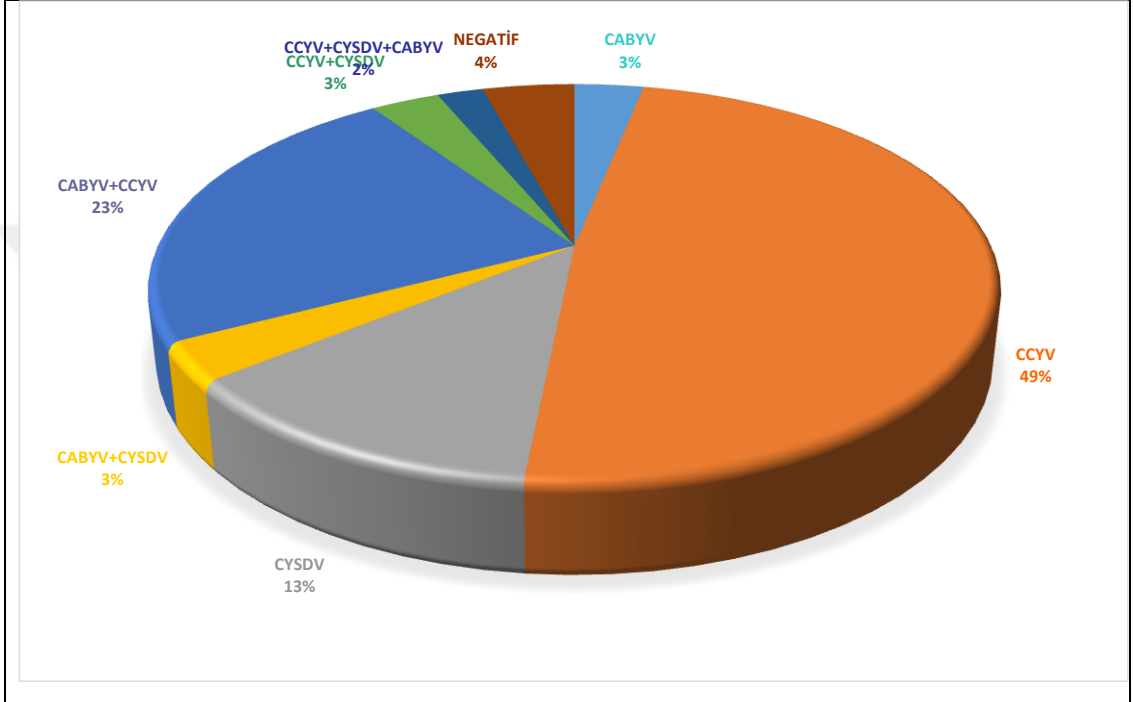


Şekil 4. 9. Kabak örneklerinde saptanan virüslerin dağılımı

ELISA testi sonuçlarına göre kavun üretiminin yoğun olarak yapıldığı Kumluca ilçesinden alınan 95 adet kavun örneğinin 3'ünde CABYV (%3) , 46'sında CCYV (% 49) ve 12'sinde CYSDV (%13) tekli enfeksiyonları; 3'ünde CABYV + CYSDV

(%3), 22'sinde CABYV+CCYV (% 23) ve 3'ünde CCYV + CYSDV (%3) ikili infeksiyonları tesbit edilmiştir.

Örneklerin 2 adedinde ise CABYV + CCYV + CYSDV (%2) üçlü infeksiyon bulunmuştur.4 adet (%4) örnekte ise herhangi bir virüs tespit edilmemiştir(Şekil 4.10).



Şekil 4. 10. Toplanan kavun bitkilerinde tespit edilen virüslerin dağılımı

Toplanan bitki örnekleri Antalya ilinde örtüaltında yetiştirilen ve üreticilerin tercih ettiği farklı çeşitlerden alınmış olup, ilçelerin üretim deseni dikkate alındığında belli başlı çeşitlerin hakim olduğu görülmektedir.

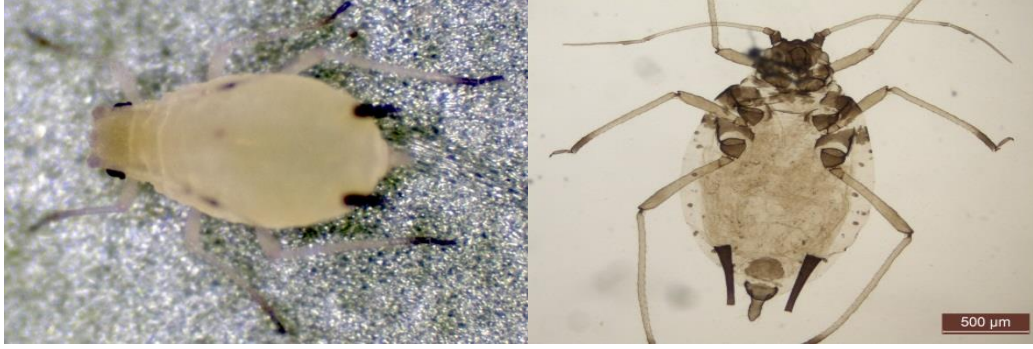
Özellikle kavun ve kabak bitkileri dikkate alındığında örtüaltında çok az sayıda çeşidin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bu çalışma sırasında sürveyi yapılan örtüaltı alanlarda yetiştirilen ve örneklerin alındığı çeşitler aşağıdaki çizelgede belirtilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4. 3.Toplanan örneklerin çeşitleri ve incelenen virüsler yönünden bulaşıklık oranları

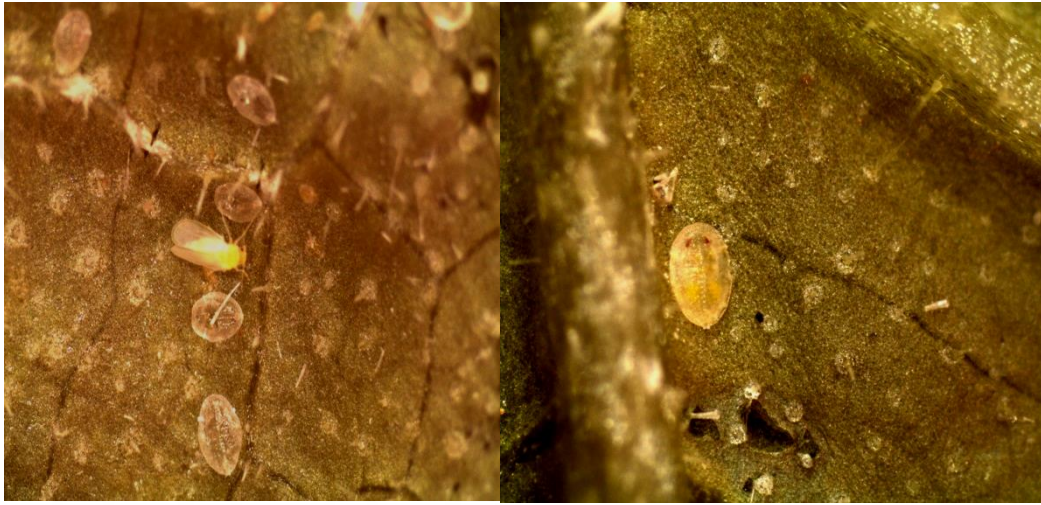
Bitki Türü	Çeşit	Alınan Örnek Sayısı	CABYV	CCYV	CYSDV	Karışık Enfeksiyon	Virüslü Toplam Bitki Sayısı
Hıyar	22-32	8	1	2	1	3	7
Hıyar	66-08	27	4	0	3	19	26
Hıyar	-	2	0	0	0	2	2
Hıyar	Botanik	1	0	0	0	1	1
Hıyar	Cemre	35	1	5	6	16	28
Hıyar	Cevher	8	3	0	0	1	4
Hıyar	Dörtel	3	0	2	0	0	2
Hıyar	Kafkas	25	4	2	5	13	24
Hıyar	Pıtıracık	4	0	2	0	1	3
Hıyar	PTK-40	106	9	9	24	43	85
Hıyar	Sal 33	12	1	4	1	6	12
Hıyar	Sıla	6	1	1	0	2	4
Hıyar	Termosos	5	0	2	0	2	4
Hıyar	Tonton	2	0	0	0	2	2
Hıyar	Vista	19	3	3	0	12	18
Hıyar	Yazel	4	2	0	0	0	2
Hıyar	Zarif	14	2	4	1	5	12
Kabak	Amati	53	41	0	0	11	52
Kabak	Seyden	31	21	0	2	8	31
Kavun	Çıtırex	95	3	46	12	30	91
Toplam		460	96	82	55	177	410

4.3. Vektör Teşhis Sonuçları

Surveyler sırasında sarılık belirtisi görülen seralarda ve enfekteli bitkiler üzerinde yoğun olarak görülen, vektör olması muhtemel beyazsinek ve yaprakbitleri alınarak fotoğraflanmıştır. Yaprak bitlerinin tür teşhisleri Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde görev yapan Dr. Işıl ÖZDEMİR tarafından yapılmış ve toplanan yaprak bitleri *Aphis gossypii* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 4.11). Beyazsineklerin teşhisleri ise Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmail KARACA tarafından yapılmış ve toplanan beyazsinek ergin ve nimflerinden yapılan teşhis sonucunda *Bemisia tabaci* olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4. 11. Enfekteli kabakgil bitkileri üzerindeki yaprak bitleri (*Aphis gossypii*)

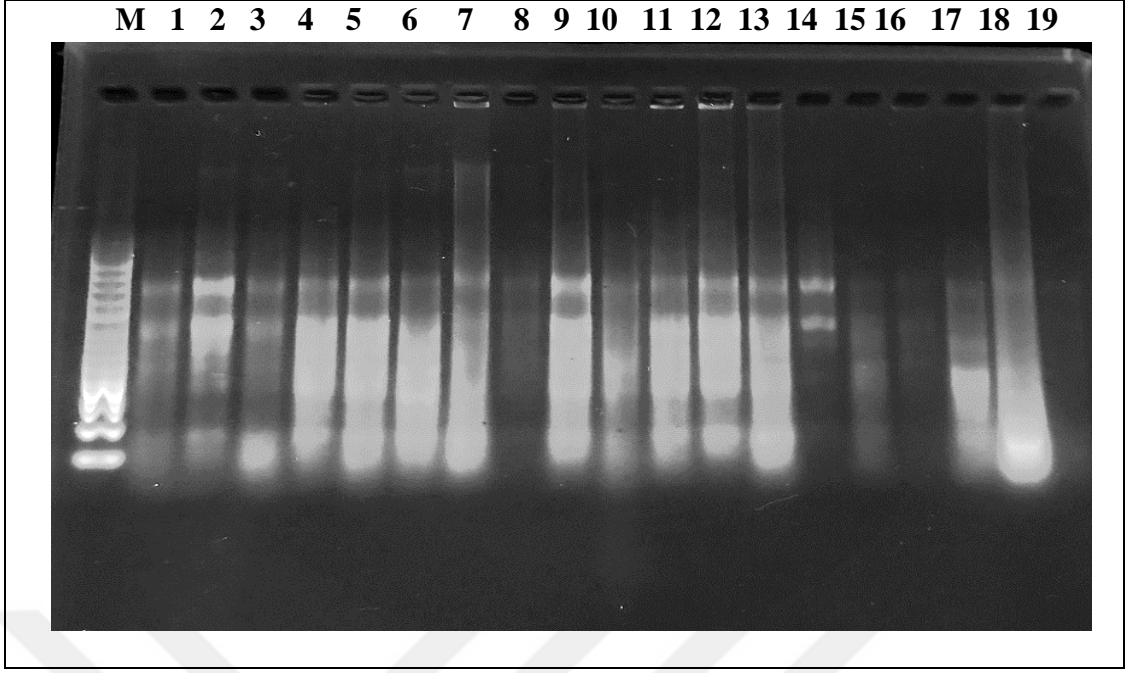


Şekil 4. 12. Enfekteli kabakgil bitkileri üzerindeki beyaz sinekler (*Bemisia tabaci*)

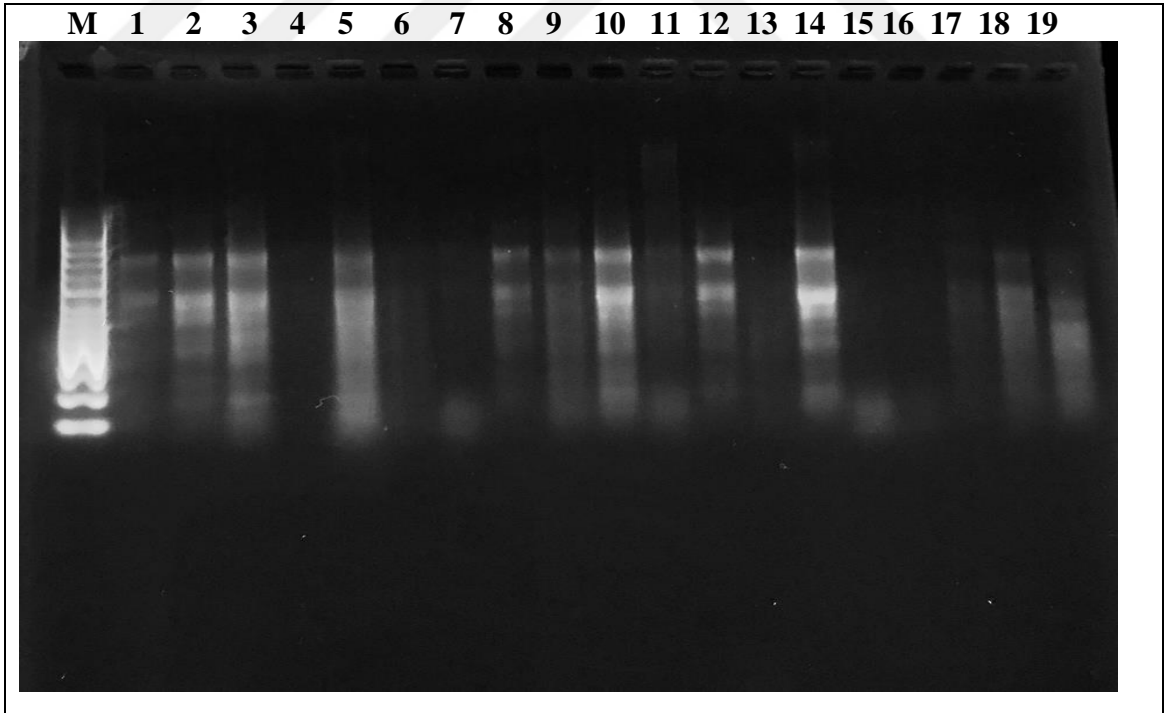
4.4. Moleküler Çalışmalar

4.4.1. TRNA (Total Ribonükleik Asit) ekstraksiyon çalışmaları

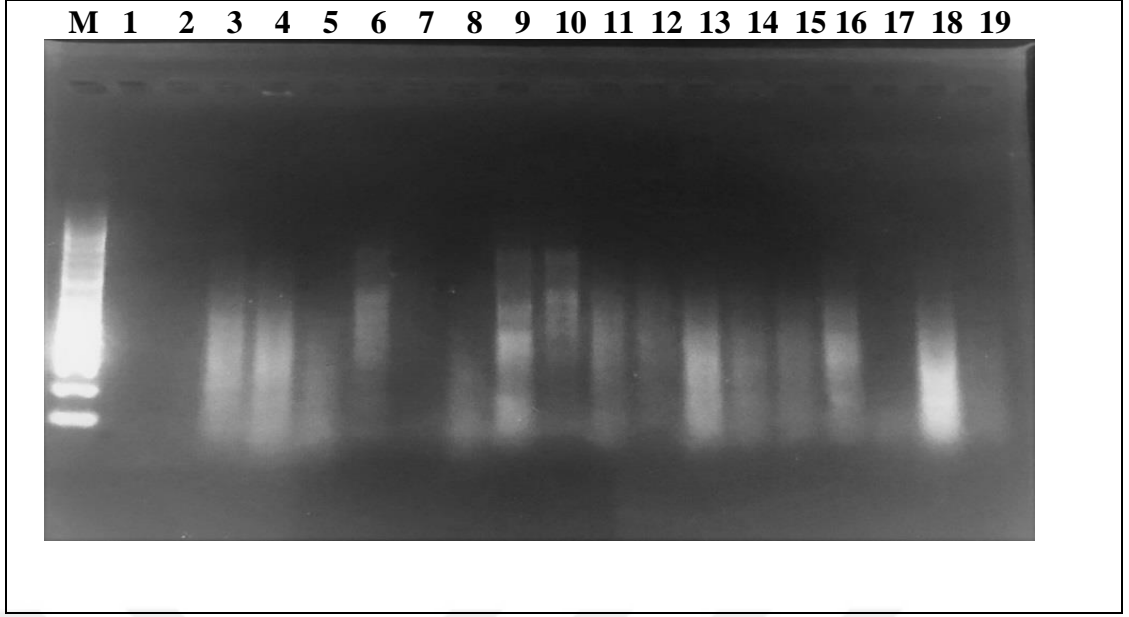
DAS-ELISA ve TAS –ELISA testleri sonucunda CABYV, CCYV ve CYSDV ile tek enfeksiyon veren yaprak örnekleri total nükleik asit ekstraksiyonu çalışmalarında kullanılmıştır. Ekstraktlardaki toplam nükleik asit varlığı agaroz jel elektroforez çalışmasıyla kontrol edilmiştir (Şekil 4.13,4.14,4.15).



Şekil 4. 13. TAS-ELISA testi sonucunda Cucurbit aphid-borne yellow virus ile bulaşık olduğu tespit edilen bitkilere ait Total RNA ların elektroforez görüntüleri; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17. M: 100 bp'lik DNA ladder.



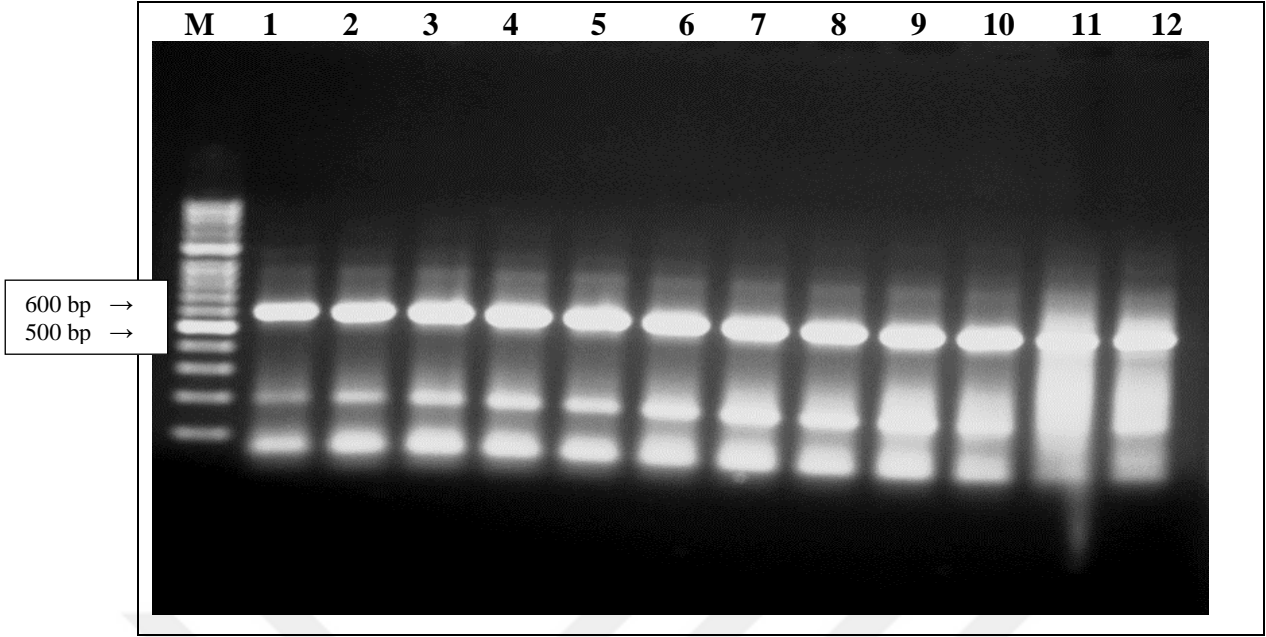
Şekil 4. 14. DAS-ELISA testi sonucunda Cucurbit chlorotic yellows virus ile bulaşık olduğu tespit edilen bitkilere ait Total RNA ların elektroforez görüntüleri; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17. M: 100 bp'lik DNA ladder.



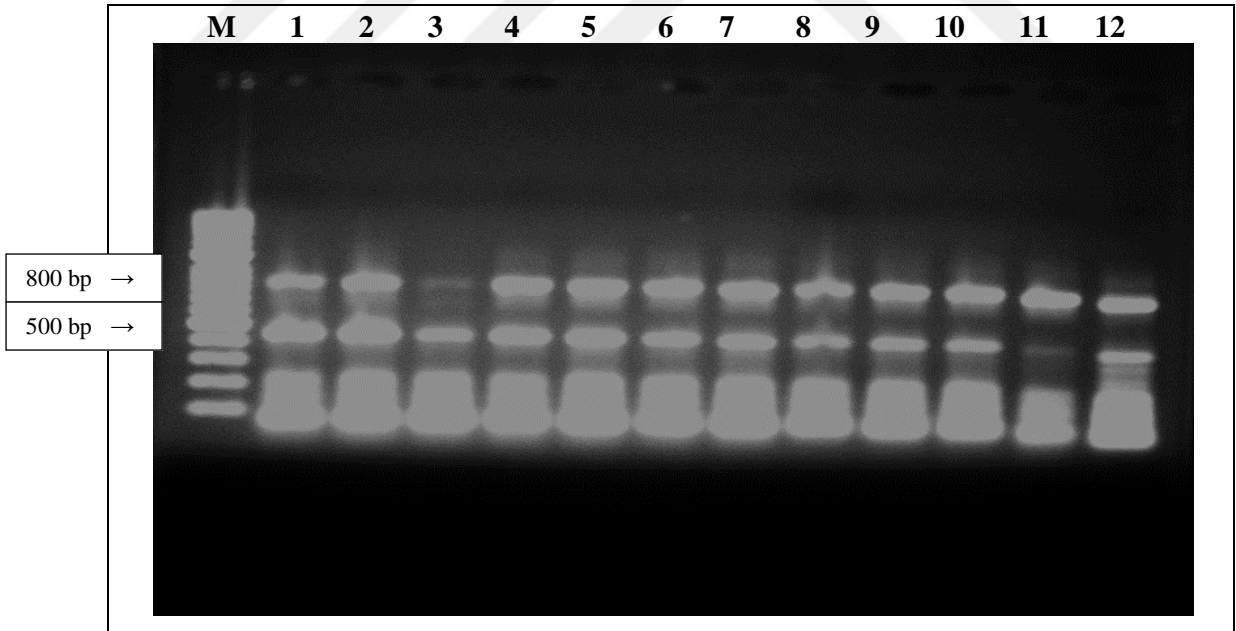
Şekil 4. 15. DAS-ELISA testi sonucunda Cucurbit yellow stunting disorder virüs ile bulaşık olduğu tespit edilen bitkilere ait Total RNA ların elektroforez görüntüleri; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17. M: 100 bp'lik DNA ladder

4.4.2. RT-PCR çalışmaları

DAS-ELISA ve TAS-ELISA testlerinde CABYV, CCYV ve CYSDV virüsün sadece biri ile enfekteli olduğu belirlenen yaprak örnekleri kullanılarak yapılan total RNA izolasyonu sonucunda miktarı ve kalitesi yüksek olan örnekler seçilerek RT-PCR testinde kullanılmıştır. Serolojik testlerde adı geçen virüslerle enfekte olduğu belirlenen örnekler doğruluğunu teyit etmek ve CABYV, CCYV ve CYSDV'lerinin belirlenme çalışmalarında kullanılan amplifikasyon ürünlerinin elde etmek amacıyla RT-PCR çalışmaları yürütülmüştür. Gradient PCR çalışmaları ve diğer optimizasyon denemeleri sonucunda CABYV ve CYSDV virüsleri için optimum annealing sıcaklığı 54 °C, CCYV için ise 55 °C olarak belirlenmiştir. Çalışmalarda 100 bp'lik DNA Ladder kullanılarak bant büyüklükleri saptanmıştır(Şekil 4.16, 17).

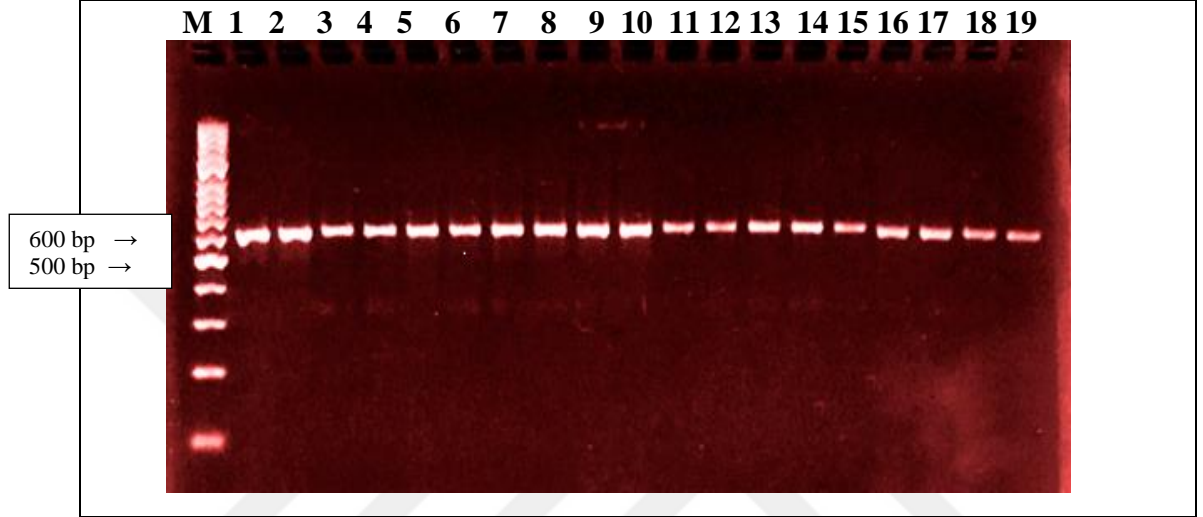


Şekil 4. 16. Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatlarının CABYV-F ve CABYV-R primerleri ile Gradient RT-PCR tekniği kullanılarak elde edilen optimum sıcaklık değerleri; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,10,11,12 annealig sıcaklıkları sırasıyla; 55.5 °C, 56.6 °C, 57.3 °C, 58.7 °C, 59.2 °C, 59.9 °C, 60.7 °C, 61.4°C, 62.0 °C.M:100 bp'lik DNA ladder.

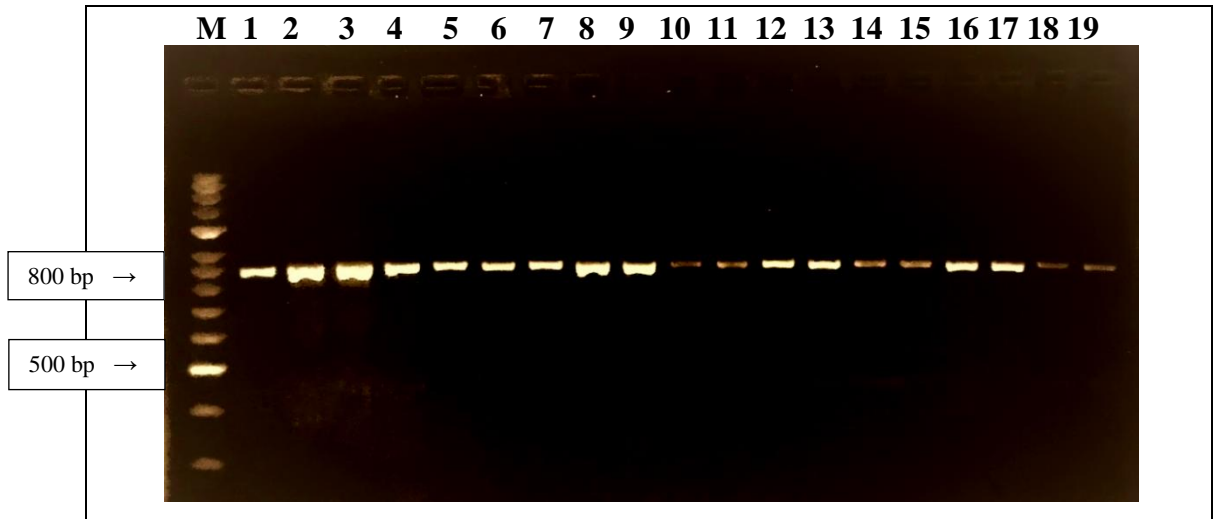


Şekil 4. 17. Cucurbit chlorotic yellows virus izolatlarının CCYV-F ve CCYV-R primerleri ile Gradient RT-PCR tekniği kullanılarak elde edilen optimum sıcaklık değerleri; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,10,11,12 annealig sıcaklıkları sırasıyla; 55.5 °C, 56.6 °C, 57.3 °C, 58.7 °C, 59.2 °C, 59.9 °C, 60.7 °C, 61.4°C, 62.0 °C.M 100 bp'lik DNA ladder

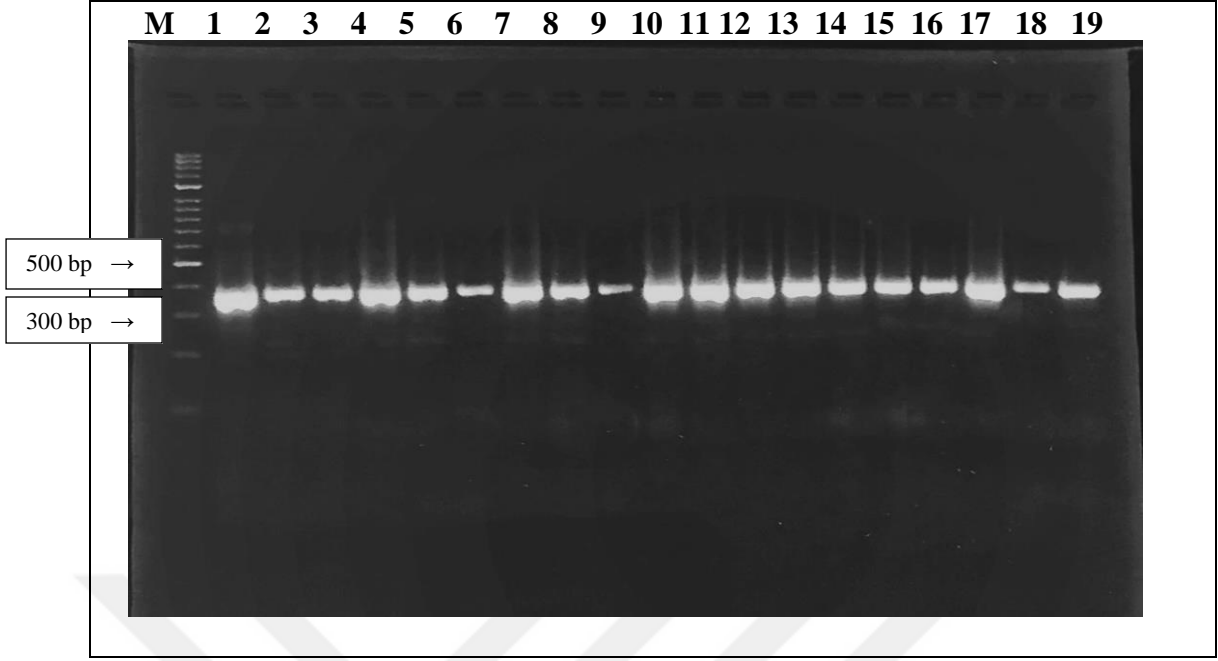
CABYV ve CCYV'nün moleküler tanısı patojene spesifik kılıf proteinlerinin, CYSDV'nün ise Hsp70h bölgesini sentezleyen gen dizilerinin amplifikasyonları ile elde edilmiştir. Çalışmada tüm bitki örneklerin CABYV, CCYV ve CYSDV açısından istenilen bant seviyesinde amplifikasyon verdiği görülmüştür. RT-PCR çalışmaları ile DAS-ELISA ve TAS-ELISA testleri virüslerin varlığı yönünden birbirini desteklemiştir (Şekil 4.18,19,20).



Şekil 4. 18. Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatlarının CABYV-F ve CABYV-R primerleri kullanılarak klasik RT-PCR yöntemiyle yapılan amplifikasyonu; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19. M 100 bp'lik DNA ladder



Şekil 4. 19. Cucurbit chlorotic yellows virus izolatlarının CCYV-F ve CCYV-R primerleri kullanılarak klasik RT-PCR yöntemiyle yapılan amplifikasyonu; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19. M 100 bp'lik DNA ladder



Şekil 4. 20. Cucurbit yellow stunting disorder virüs izolatlarının CYSDV-F ve CYSDV-R primerleri kullanılarak yapılan klasik RT-PCR yöntemiyle yapılan amplifikasyonu; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19. M 100 bp'lik DNA ladder

4.5. Dizi Belirleme Çalışmaları

4.5.1. Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün kılıf protein gen dizileme ve dizi analizleri

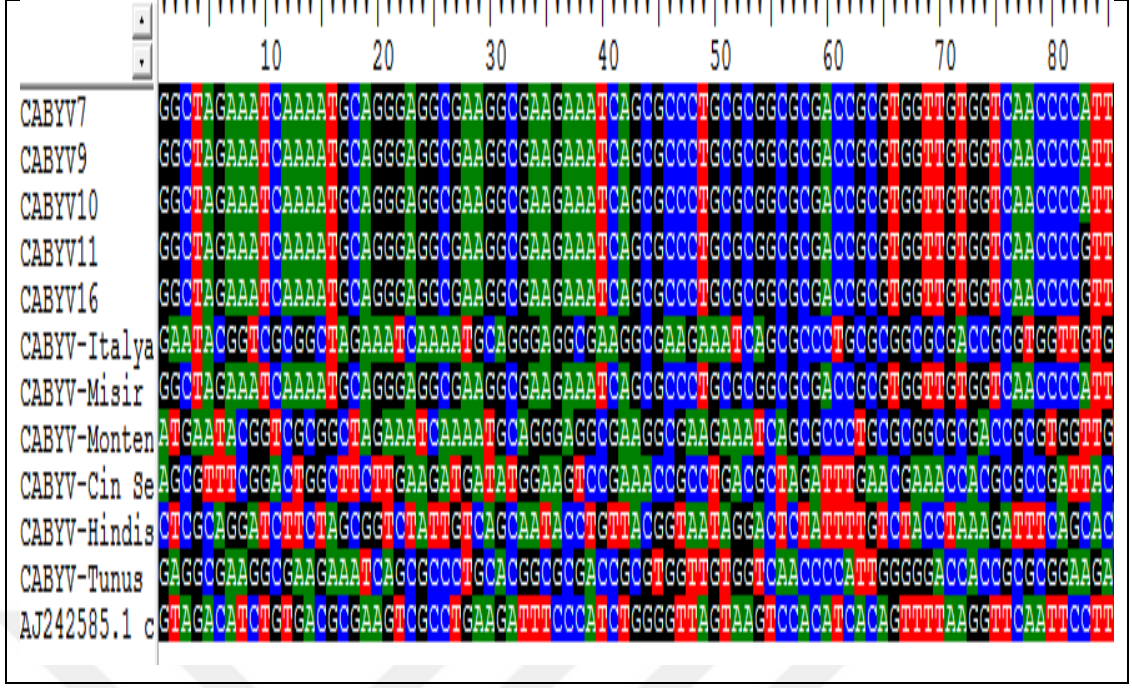
CABYV'nin kılıf protein gen dizileme ve dizi analizleri çalışmalarında RT-PCR yöntemi ile tespit edilen enfekteli kabakgil örneklerinin beş tanesi seçilerek kılıf protein genine ait 600 bp kısmı yeniden çoğaltılmıştır. Çoğaltılan kılıf protein gen bölgesi Sentegen firması tarafından saflaştırılarak doğrudan dizileme yöntemiyle RT-PCR ürünlerinin DNA dizilimi belirlenmiştir.

Daha sonra elde edilen her DNA dizisi fasta formatında kaydedilip <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> web sitesi üzerinden NCBI BLAST modülü ile GenBankası'nda bulunan dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CABYV izolatlarının aynı gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.21).

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Ekoreen-2, genomic RNA	953	953	99%	0.0	100%	FR822385.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Elsalheia, genomic RNA	953	953	99%	0.0	100%	FR822383.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Bad3	952	952	98%	0.0	100%	FR717149.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus genomic RNA	952	952	100%	0.0	99%	X76931.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Ekoreen-4, genomic RNA	948	948	99%	0.0	99%	FR822387.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Ekoreen-3, genomic RNA	946	946	98%	0.0	99%	FR822386.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Ekoreen-1, genomic RNA	946	946	98%	0.0	99%	FR822384.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Bad5	942	942	99%	0.0	99%	FR717151.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Bad4	942	942	99%	0.0	99%	FR717150.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Bad1	942	942	99%	0.0	99%	FR717147.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Kafsheikh 2	942	942	99%	0.0	99%	FR717146.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate C49 coat protein and hypothetical protein genes, partial cds	942	942	99%	0.0	99%	EF029115.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Bad2	941	941	98%	0.0	99%	FR717148.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate 153/15 coat protein gene, partial cds	937	937	99%	0.0	99%	KX398962.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus partial cp gene for coat protein isolate Kafsheikh 1	937	937	99%	0.0	96%	FR717145.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate S89 coat protein and hypothetical protein genes, partial cds	937	937	99%	0.0	99%	EF029112.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate 200/15 coat protein gene, partial cds	935	935	100%	0.0	96%	KX398964.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate 170/15 coat protein gene, partial cds	935	935	100%	0.0	99%	KX398963.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate S7 coat protein and hypothetical protein genes, partial cds	935	935	100%	0.0	96%	EF029114.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate Raik-1 coat protein (CP) gene, complete cds	929	929	100%	0.0	99%	HM771271.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate 211/15 coat protein gene, partial cds	924	924	100%	0.0	99%	KX398965.1
Cucurbit aphid-borne yellow virus isolate 66-09 coat protein (CP) and movement protein (MP) genes, partial cds	924	924	100%	0.0	99%	KX398966.1

Şekil 4. 21. Cucurbit aphid-borne yellow virus 10 izolatu için yapılan BLAST analizi sonucu (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

GenBankası'nda en yüksek benzerlik gösteren diziler seçilerek BioEdit programında çoklu eşleme yöntemi ile elde edilen dizilerle birlikte analiz edilerek, benzerlik oranları ve baz kompozisyonları ortaya konulmuştur. Antalya ili ve ilçelerinden elde edilen izolatların dizi örnekleri birbirleriyle ve dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CABYV izolatlarının aynı gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır. Okuma hatası nedeniyle oluşabilecek insersiyon ve delesyonlar kontrol edilmiştir. Okunmayan veya yanlış okunan nükleotidler gözle kontrol edilerek düzeltilmiştir. (Şekil 4.22). Daha sonra CABYV 10 izolatu MK129536 kabul numarası ile Gen Bankası veri tabanına kayıt edilmiştir.



Şekil 4. 22. Cucurbit aphid-borne yellow virüs kılıf protein genine ait çoklu nükleotid dizi karşılaştırmalarının ekran görüntüsü

Daha sonra Mega 7 programında genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur (Çizelge 4.4). Yapılan dizi analizleri sonucunda Antalya ilinden elde edilen CABYV izolatlarının kılıf protein genlerinin nükleotid dizilimleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, % 97-100 arasında değişen oranlarda benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek benzerliğin %100 ile CABYV7 ile CABYV10 gösterirken, en düşük benzerlik oranının %97 ile CABYV9 ile CABYV16 arasında olduğu görülmüştür. Gen bankası veri tabanlarında bulunan farklı ülkelerin kabakgil üretim alanlarından elde edilen kılıf protein gen dizilimleri alınarak yapılan çoklu dizi karşılaştırmaları sonucunda ise; izolatların kılıf protein gen bölgeleri arasındaki benzerliğin % 94-100 arasında değiştiği görülmüştür. Antalya izolatlarının en çok % 100 oranıyla Mısır ve İtalya izolatları ile benzer olduğu görülmüştür. En az benzerliği ise % 94 oranıyla Çin ve Hindistan izolatlarıyla göstermiştir. CABYV izolatları arasında % 6'ya varan nükleotid farklılıkları olduğu ve bu farklılıkların 600 bazlık kısmı üzerinde belirli bir yerde yoğunlaşmayıp homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür.

Çizelge 4. 4. Antalya ili Cucurbit aphid-borne yellow virüsizolatları ile dünyadaki Cucurbit aphid-borne yellow virüsizolatlarının kılıf protein genlerinin nükleotid dizilimlerinin benzerlik oranları

	CABYV7	CABYV9	CABYV10	CABYV11	CABYV16	İtalya	Mısır	Montenegro	Çin	Hindistan	Tunus	CMV
CABYV7		99	100	99	98	100	100	99	96	96	99	46
CABYV9			99	98	97	99	99	99	96	96	99	46
CABYV10				99	98	100	100	99	96	96	99	46
CABYV11					98	99	99	99	96	96	98	47
CABYV16						98	98	97	94	94	97	45
CABYV- İtalya-EF029115.1							100	99	96	96	99	46
CABYV-Mısır-FR822385.1								99	96	96	99	46
CABYV-Montenegro-KX398664.1									96	96	99	46
CABYV-Cin-EU.244319.1										96	96	45
CABYV-Hindistan-KY711340.1											96	45
CABYV-Tunus--Ef187338.1												46
AJ242585.1-CMV												

4.5.2. Cucurbit chlorotic yellows virus'ün kılıf protein gen dizileme ve dizi analizleri

CCYV'nün kılıf protein gen dizileme ve dizi analizleri çalışmalarında PT-PCR yöntemi ile tespit edilen enfekteli kabakgil örneklerinin beş tanesi seçilerek kılıf protein genine ait 870 bp kısmı yeniden çoğaltılmıştır. Çoğaltılan kılıf protein gen bölgesi Sentegen firması tarafından saflaştırılarak doğrudan dizileme yöntemiyle RT-PCR ürünlerinin DNA dizilimi belirlenmiştir.

Daha sonra elde edilen her DNA dizisi fasta formatında kaydedilip <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> web sitesi üzerinden NCBI BLAST modülü ile GenBankası'nda bulunan dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CCYV izolatlarının aynı gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.23).

Sequences producing significant alignments:

Select All None Selected 0

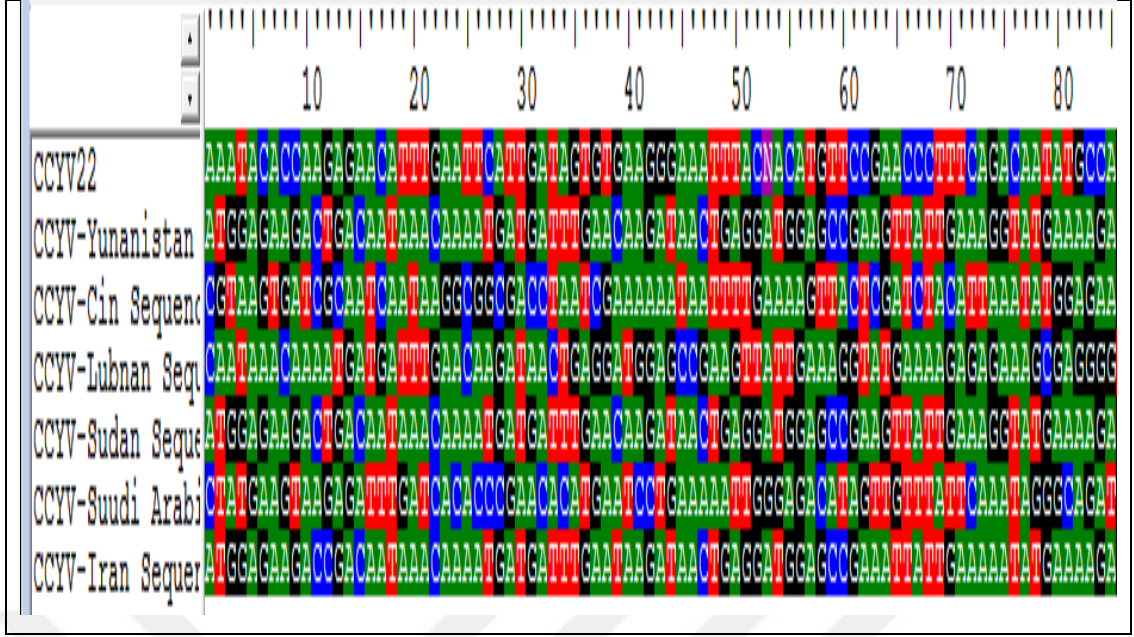
Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for coat protein segment RNA2 isolate CC1420	438	438	99%	4e-119	95%	LT992811.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for coat protein segment RNA2 isolate CC1390	438	438	99%	4e-119	95%	LT992810.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for coat protein segment RNA2 isolate CC1337	438	438	99%	4e-119	95%	LT992609.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate Shanghai segment RNA2 complete sequence	438	438	99%	4e-119	95%	KY400633.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate Xinjiang segment RNA2 complete sequence	438	438	99%	4e-119	95%	KY400632.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for Coat protein segment RNA2 isolate A3	438	438	99%	4e-119	95%	LT716006.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for Coat protein segment RNA2 isolate EL37	438	438	99%	4e-119	95%	LT716005.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for Coat protein segment RNA2 isolate EE22	438	438	99%	4e-119	95%	LT716004.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for Coat protein segment RNA2 isolate EL32	438	438	99%	4e-119	95%	LT716003.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for Coat protein segment RNA2 isolate EE25	438	438	99%	4e-119	95%	LT716002.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for Coat protein segment RNA2 isolate EE24	438	438	99%	4e-119	95%	LT716001.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus CP gene for Coat protein segment RNA2 isolate CC75	438	438	99%	4e-119	95%	LT716000.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate TW segment RNA2 complete sequence	438	438	99%	4e-119	95%	KY618799.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate GX-RH capsid protein gene complete cds	438	438	99%	4e-119	95%	KX118632.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate cCCYRNA27 segment RNA2 complete sequence	438	438	99%	4e-119	95%	KJ507802.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate 390CCY-SA coat protein (CP) gene partial cds	438	438	99%	4e-119	95%	KT946817.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate 481CCY-SA CP gene partial sequence	438	438	99%	4e-119	95%	KT946815.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate 477CCY-SA coat protein (CP) gene partial cds	438	438	99%	4e-119	95%	KT946814.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate 458CCY-SA coat protein (CP) gene partial cds	438	438	99%	4e-119	95%	KT946813.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate 453CCY-SA coat protein (CP) gene partial cds	438	438	99%	4e-119	95%	KT946812.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate 400CCY-SA coat protein (CP) gene partial cds	438	438	99%	4e-119	95%	KT946810.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate sdhz-cc coat protein gene complete cds	438	438	99%	4e-119	95%	KJ889506.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit chlorotic yellows virus isolate SDJufia coat protein (CP) gene complete cds	438	438	99%	4e-119	95%	KT946809.1

15:49 22.10.2018

Şekil 4. 23. Cucurbit chlorotic yellows virus 22 izolatı için yapılan BLAST analizi sonucu (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

GenBankası'nda en yüksek benzerlik gösteren diziler seçilerek BioEdit programında çoklu eşleme yöntemi ile elde ettiğimiz dizilerle birlikte analize alınmış, benzerlik oranları ve baz kompozisyonları ortaya konulmuştur. Antalya ili Kumluca ilçesinden elde edilen dizi örneğidünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CCYV izolatlarının aynı gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır. Okuma hatası nedeniyle oluşabilecek insersiyon ve delesyonlar kontrol edilmiştir. Okunmayan veya yanlış okunan nükleotidler gözle kontrol edilerek düzeltilmiştir. (Şekil 4.24). Daha sonra CCYV 22 izolatı MK129538 kabul numarası ile Gen Bankası veri tabanına kayıt edilmiştir.



Şekil 4. 24. Cucurbit chlorotic yellows virus kılıf protein genine ait çoklu nükleotid dizi karşılaştırmalarının ekran görüntüsü

Daha sonra Mega 7 programında genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur (Çizelge 4.5). Yapılan dizi analizleri sonucunda Antalya ilinden elde edilen CCYV izolatının kılıf protein geninin nükleotid dizilimi Gen bankası veri tabanında bulunan dünyanın farklı kabakgil üretim alanlarında elde edilen CCYV'nin kılıf protein gen dizimleri alınarak yapılan çoklu dizi karşılaştırmaları sonucunda; izolatların kılıf protein gen bölgeleri arasındaki benzerliğin % 96-100 arasında değiştiği görülmüştür.

Yapılan çoklu dizi karşılaştırmaları sonucunda Antalya ilinden elde edilen CCYV izolatının tüm dünya izolatları ile karşılaştırıldığında izolatların kılıf protein gen bölgeleri arasındaki benzerliğin % 92-95 arasında değiştiği görülmüştür. Antalya izolatı en çok benzerliği % 95 oranıyla Yunanistan, Suudi Arabistan, Sudan, Lübnan ve Çin izolatı ile gösterirken, en az benzerliği % 92 oranıyla İran izolatıyla göstermiştir. CCYV izolatları arasında % 8'e varan nükleotid farklılıkları olduğu ve bu farklılıkların 870 bazlık kısmı üzerinde belirli bir yerde yoğunlaşmayıp homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür.

Çizelge 4. 5. Antalya ili Cucurbit chlorotic yellowsvirüs izolatları ile dünyadaki Cucurbit chlorotic yellowsvirüs izolatlarının kılıf protein genlerinin nükleotid dizilimlerinin benzerlik oranları

	CCYV22	CCYV-YUNANISTAN	CCYV-ÇİN	CCYV-LÜBNAN	CCYV-SUDAN	CCYV-S.ARABİSTAN	CCYV-İRAN	CMV-AJ242585
CCYV22		96	96	96	96	96	93	47
CCYV-Yunanistan-LT716006.1			100	100	100	100	96	46
CCYV-Cin-KY400633.1				100	100	100	96	46
CCYV-Lubnan-JX014262.1					100	100	96	46
CCYV-Sudan-JF807053.1						100	96	46
CCYV-Suudi_Arabistan-KT946817.1							96	46
CCYV-Iran-KC577202.1								46
AJ242585.1- cucumber_mosaic_virus_coat_protein								

4.5.3. Cucurbit yellow stunting disorder virüs'ün Hsp70h gen dizileme ve dizi analizleri

CYSDV'nin Hsp70 gen dizileme ve dizi analizleri çalışmalarında PT-PCR yöntemi ile CYSDV enfeksiyonu saptanan kabakgil örneklerinin on tanesi seçilerek Hsp70 genine at 364 bp kısmı çoğaltılmıştır. Çoğaltılan Hsp70 gen bölgesi Sentegen firması tarafından saflaştırılarak doğrudan dizileme yöntemiyle RT-PCR ürünlerinin DNA dizilimi belirlenmiştir. Elde edilen DNA dizileri birbirleriyle ve dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CYSDV izolatlarının aynı gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır.

Daha sonra elde edilen her DNA dizisi fasta formatında kaydedilip <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> web sitesi üzerinden NCBI BLAST modülü ile GenBankası'nda bulunan dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CYSDV izolatlarının aynı gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır (Şekil 4.25).

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected:0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate Arizona-1 segment RNA2, complete sequence	564	564	100%	7e-157	100%	FJ492808.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus hsp70 gene, complete CDS	564	564	100%	7e-157	100%	AJ223619.2
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus c5, Hsp70h, p6, p9, p4, co, CPm and c26 genes, genomic segment RNA2	564	564	100%	7e-157	100%	AJ439690.2
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus heat shock protein 70 homolog gene, partial cds	564	564	100%	7e-157	100%	U67448.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 99022 HSP70h (HSP70h) gene, partial cds	560	560	99%	9e-156	100%	AY580974.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 94003 HSP70h (HSP70h) gene, partial cds	560	560	99%	9e-156	100%	AY580952.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate Jb8 heat shock protein 70-like protein (Hsp70h) gene, partial cds	558	558	100%	3e-155	99%	KC633820.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate AILM segment RNA2, complete sequence	558	558	100%	3e-155	99%	AY242078.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 01021 HSP70h (HSP70h) gene, partial cds	555	555	99%	4e-154	99%	AY580979.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 278CYS-SA heat shock protein (HSP70) gene, partial cds	411	411	99%	1e-110	91%	KX120126.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 4CYS-SA heat shock protein gene, partial cds	411	411	99%	1e-110	91%	KX120125.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 3CYS-SA heat shock protein 70 (hsp70) gene, partial cds	411	411	99%	1e-110	91%	KT946803.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 2CYS-SA heat shock protein 70 (hsp70) gene, partial cds	411	411	99%	1e-110	91%	KT946802.1
<input type="checkbox"/> Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate 1CYS-SA heat shock protein 70 (hsp70) gene, partial cds	411	411	99%	1e-110	91%	KT946801.1

Alignments

Download GenBank Graphics

Next

Questions/comments

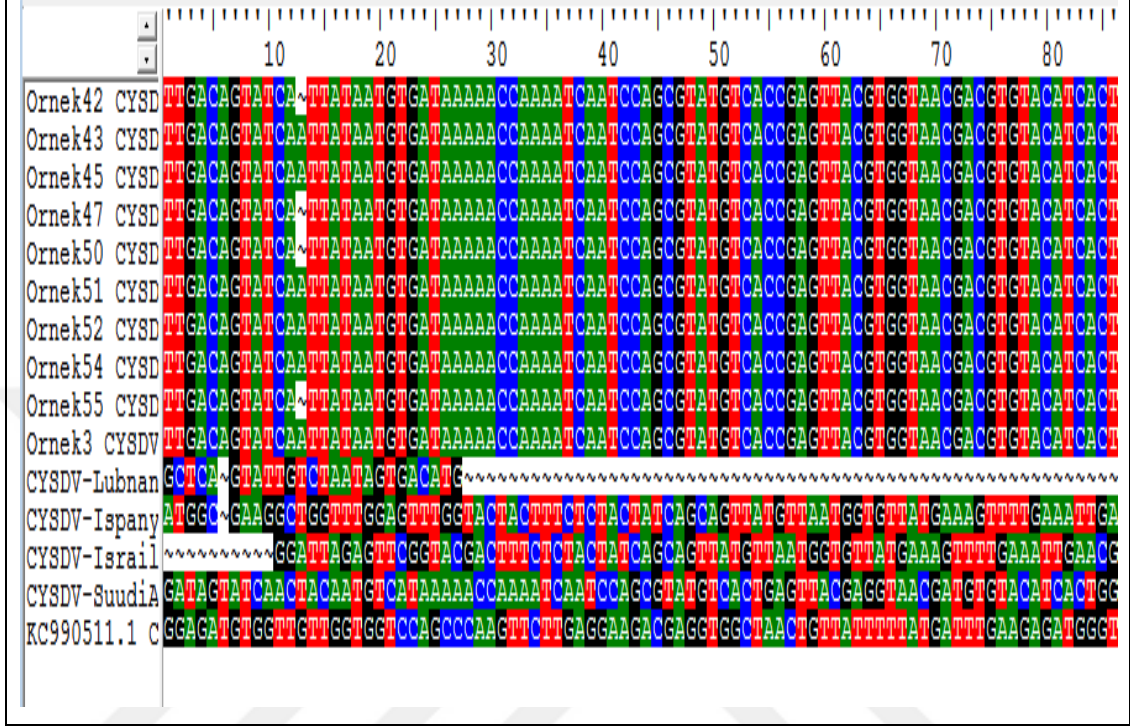
Cucurbit yellow stunting disorder virus isolate Arizona-1 segment RNA2, complete sequence

TR 09:26 19.10.2018

Şekil 4. 25. Cucurbit yellow stunting disorder virüs 54 izolatu için yapılan BLAST analizi sonucu (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

GenBankası'nda en yüksek benzerlik gösteren diziler seçilerek BioEdit programında çoklu eşleme yöntemi ile elde edilen dizilerle birlikte analize alınmış, benzerlik oranları ve baz kompozisyonları ortaya konulmuştur. Antalya ili ve ilçelerinden elde edilen dizi örnekleri birbirleriyle ve dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CYSDV izolatlarının aynı gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır. Okuma hatası nedeniyle oluşabilecek insersiyon ve delesyonlar kontrol edilmiştir.

Okunmayan veya yanlış okunan nükleotidler gözle kontrol edilerek düzeltilmiştir.(Şekil 4.26). Daha sonra CYSDV 54 izolatı MK129537 kabul numarası ile Gen Banlası veri tabanına kayıt edilmiştir.



Şekil 4. 26. Cucurbit yellow stunting disorder virüs'ün Hsp70 gen bölgesine ait çoklu nükleotid dizi karşılaştırmalarının ekran görüntüsü

Yapılan kontrolde Antalya ili ve ilçelerinden toplanan örnekler kıyaslandığında Serik ve Alanya ilçelerinden toplanan 42, 47, 50 ve 55 nolu örneklerin diğer örneklerle kıyasla 1 baz eksik içerdiği görülmüştür. Daha sonra Mega 7 programında genetik uzaklık matrisi oluşturulmuştur (Çizelge 4.6). Yapılan dizi analizleri sonucunda Antalya CYSDV izolatlarının Hsp70 genlerinin nükleotid dizilimleri kendi aralarında karşılaştırıldığında, % 100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Gen bankası veri tabanlarında bulunan dünyanın farklı kabakgil üretim alanlarında elde edilen Hsp70 gen dizilimleri alınarak yapılan çoklu dizi karşılaştırmaları sonucunda; izolatların Hsp70 gen bölgeleri arasındaki benzerliğin % 91-100 arasında değiştiği görülmüştür. Antalya izolatları en çok benzerliği % 100 oranıyla Lübnan, İspanya ve İsrail izolatı ile gösterirken, en az benzerliği % 91 oranıyla Suudi Arabistan izolatı ile göstermiştir. CYSDV izolatları arasında %9'a varan nükleotid farklılıkları olduğu ve bu farklılıkların 364 bazlık kısmı üzerinde belirli bir yerde yoğunlaşmayıp homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür.

Çizelge 4. 6. Antalya ili Cucurbit yellow stunting disorder virüs izolatları ile dünyadaki Cucurbit yellow stunting disorder virüs izolatlarının Hsp70 genlerinin nükleotid dizilimlerinin benzerlik oranları

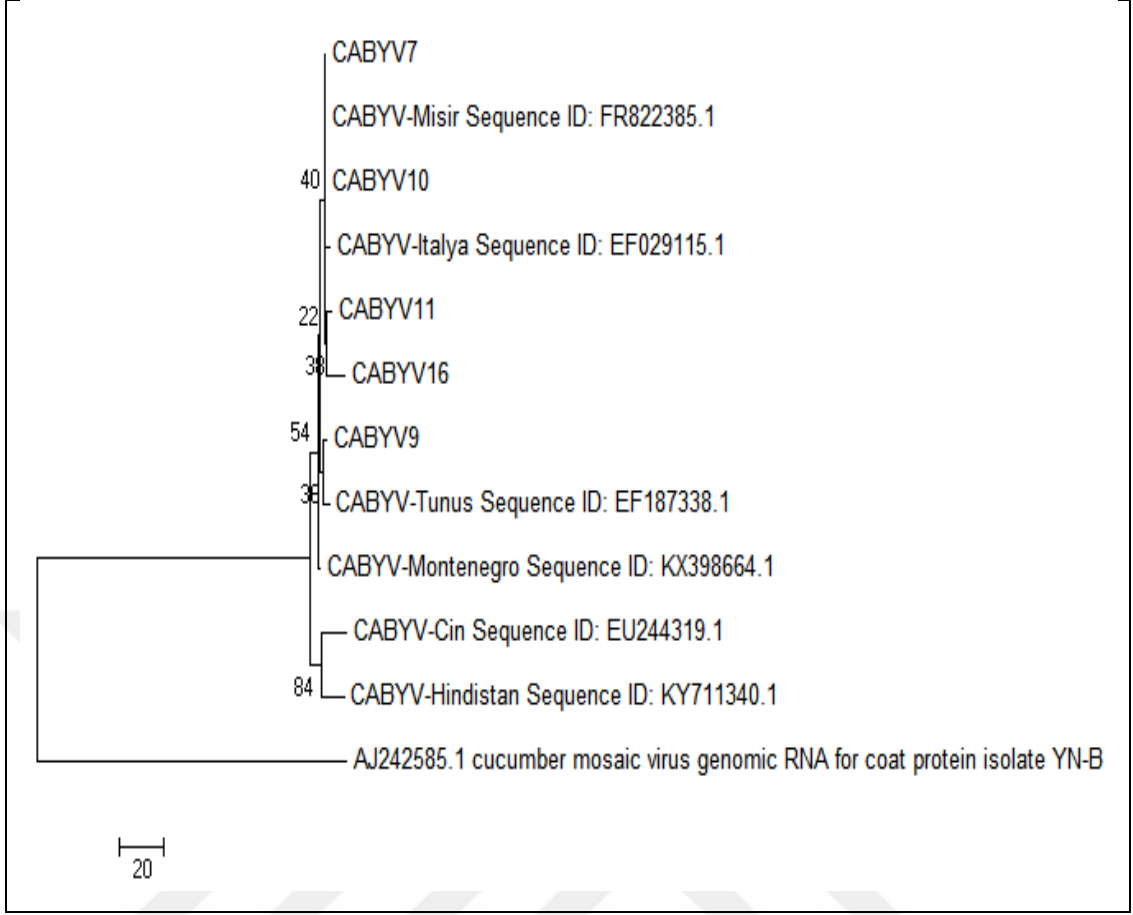
	CYSDV42	CYSDV43	CYSDV45	CYSDV47	CYSDV50	CYSDV51	CYSDV52	CYSDV54	CYSDV55	CYSDV3	Lubnan	İspanya	S. Arabistan	İsrail	AB513442
CYSDV42		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	91	100	62
CYSDV43			100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	91	100	62
CYSDV45				100	100	100	100	100	100	100	100	100	91	100	62
CYSDV47					100	100	100	100	100	100	100	100	91	100	62
CYSDV50						100	100	100	100	100	100	100	91	100	62
CYSDV51							100	100	100	100	99	100	91	100	62
CYSDV52								100	100	100	100	100	91	100	62
CYSDV54									100	100	100	100	91	100	62
CYSDV55										100	100	100	91	100	62
CYSDV3											100	100	91	100	62
CYSDV-Lubnan ID:KC633820.1												100	91	100	62
CYSDV-Ispanya ID:AJ223619.2													91	100	62
CYSDV-SuudiArabistan ID:KX120126.1														91	61
CYSDV-İsrail ID:U67448.1															62
AB513442. Tomato chlorosis virüs															

4.6. Filogenetik Analiz Çalışmaları

4.6.1. Cucurbit aphid-borne yellow virus'ün maksimum parsimony yöntemi ile yapılan filogenetik analizi

Antalya CABYV izolatlarının kılıf protein geninin Gen bankası veri tabanlarında bulunan 6 farklı ülkeye ait CABYV izolatlarının kılıf protein genleriyle yapılan filogenetik analizleri sonucunda elde edilen soyağacı Şekil 4.27'de verilmiştir.

Maksimum parsimoni analizi yapılırken diziler analize 1000 rastgele tekrarlı olarak (Felsenstein, 1985) alınmış, CABYV izolatlarının kılıf protein genlerinin farklılıklarının ve filogenetik analizlerinin daha doğru sonuç vermesi açısından CMV AJ242585 izolatu dış grup olarak eklenmiştir.

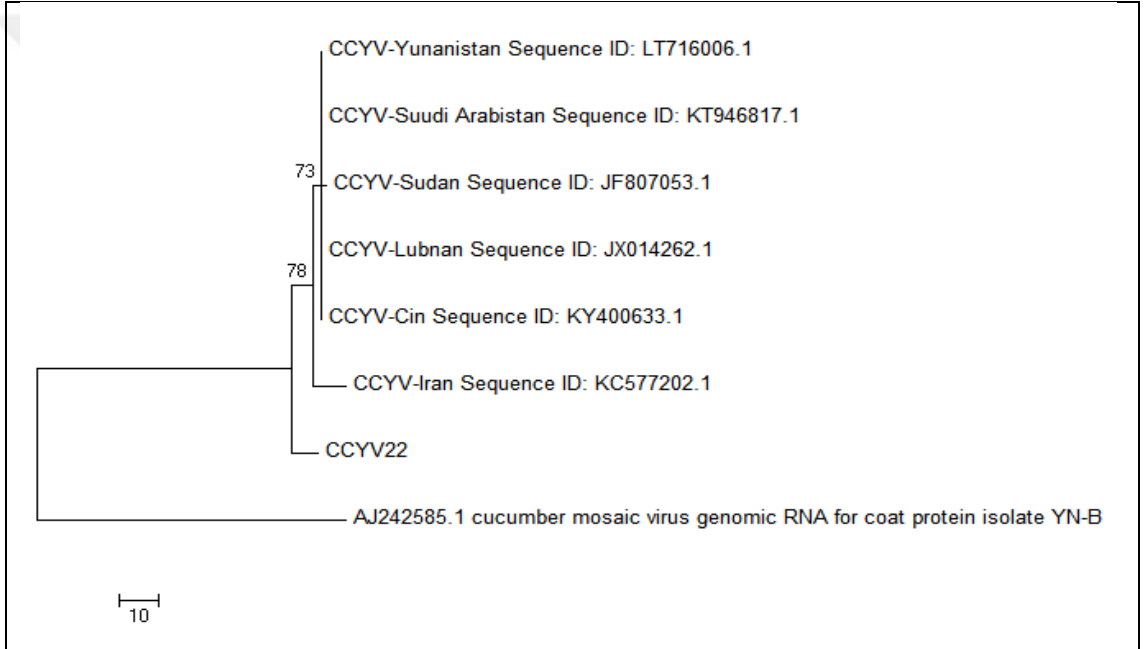


Şekil 4. 27. Gen bankasında kayıtlı dünyanın farklı bölgelerinden ve Antalya ilinden elde edilen Cucurbit aphid-borne yellow virus izolatlarının kılıf protein gen dizilimlerinin karşılaştırılması sonucunda Maksimum Parsimoni metodu ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

Filogenetik analizler Antalya CABYV izolatlarının birbirleriyle yakın ilişkide olduğunu ve Mısır, İtalya, Tunus ve Montegro ile aynı kümede yer aldığını göstermiştir. Antalya izolatları ile dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerindeki CABYV izolatlarının kılıf protein genlerine göre iki ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Bunlardan ilki Türkiye ve diğer ülke izolatlarının bir arada bulunduğu küme iken diğeri dış grup olarak belirlenen izolatın bulunduğu kümedir. İlk kümenin kendi içerisinde 2 gruba ayrıldığı gözlenmiştir. Grup I, aralarında Türkiye'nin de bulunduğu Mısır, İtalya, Tunus ve Montegro'nun yer aldığı 5 farklı ülkeden 9 izolatı içermektedir. CABYV 9 numaralı örnek Tunus ile yakın benzerlik gösterirken, CABYV 7, 10, 11, 16 numaralı örnekler ise İtalya ve Mısır ile yüksek oranda benzerlik göstermektedir. Grup II'de ise sadece Çin ve Hindistan izolatı yer almaktadır.

4.6.2. Cucurbit chlorotic yellows virus'ün maksimum parsimony yöntemi ile yapılan filogenetik analizi

Antalya CCYV izolatlarının kılıf protein geninin Gen bankası veri tabanlarında bulunan 6 farklı ülkeden CCYV izolatlarının kılıf protein genleriyle yapılan filogenetik analizler sonucunda elde edilen soyağacı Şekil 4.28'de verilmiştir. Maksimum parsimoni analizi yapılırken diziler analize 1000 rastgele tekrarlı olarak alınmış, CCYV izolatlarının kılıf protein genlerinin farklılıklarının ve filogenetik analizlerinin daha doğru sonuç vermesi açısından CMV AJ242585 izolatu dış grup olarak eklenmiştir.



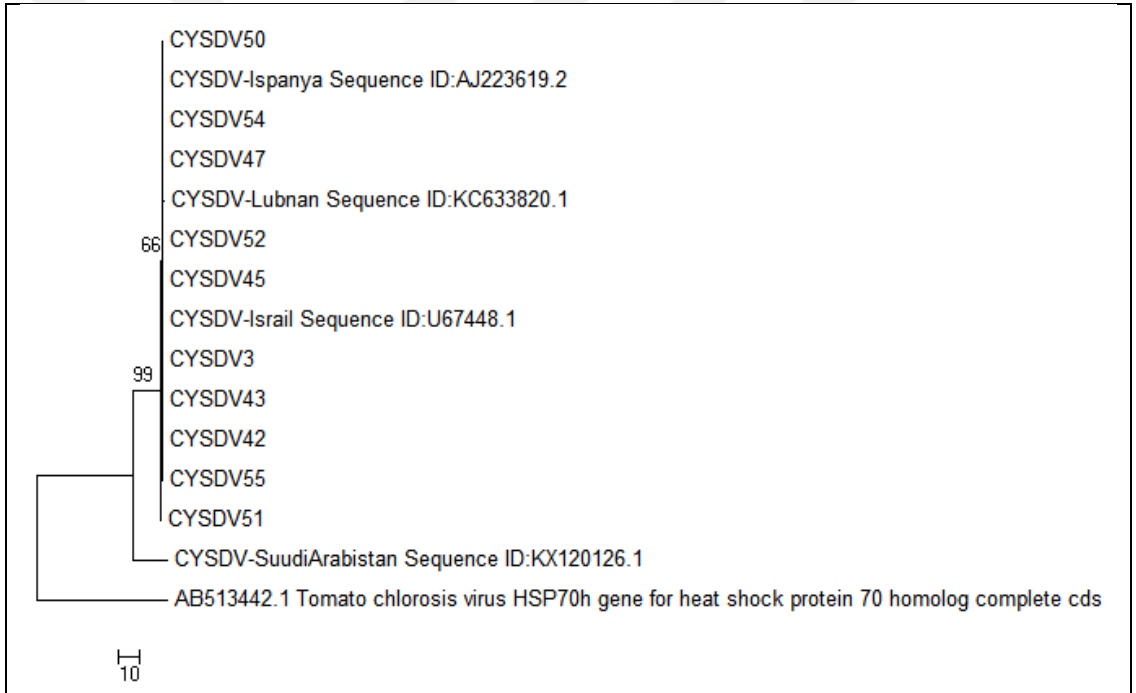
Şekil 4. 28. Gen bankasında kayıtlı dünyanın farklı bölgelerinden ve Antalya ilinden elde edilen Cucurbit chlorotic yellows virus izolatlarının kılıf protein gen dizilimlerinin karşılaştırılması sonucunda Maksimum Parsimoni metodu ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

Yapılan filogenetik analiz sonucunda; Antalya izolatları ile dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CCYV izolatlarının kılıf protein genlerine göre iki ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Bunlardan ilki Türkiye ve diğer ülke izolatlarının bir arada bulunduğu küme iken diğeri dış grup olarak belirlenen izolatu bulunduğu kümedir. İlk kümenin kendi içerisinde 2 gruba ayrıldığı gözlenmiştir. Grup I,

aralarında Yunanistan, Suudi Arabistan, Sudan, Lübnan ve Çin izolatlarının 5 farklı ülkeden 5 izolatu içermektedir. Grup II'de ise sadece Türkiye izolatu yer almaktadır.

4.6.3. Cucurbit yellow stunting disorder virüs'ün maksimum parsimony yöntemi ile yapılan filogenetik analizi

Antalya CYSDV izolatlarının Hsp70 geninin Gen bankası veri tabanlarında bulunan 4 farklı CYSDV izolatu aittir. Hsp70 genleriyle yapılan filogenetik analizler sonucunda elde edilen soyağacı Şekil 4.29'da verilmiştir. Maksimum parsimoni analizi yapılırken diziler analize 1000 rastgele tekarlı olarak alınmış, CYSDV izolatlarının Hsp70 genlerinin farklılıklarının ve filogenetik analizlerinin daha doğru sonuç vermesi açısından ToCV AB513442 izolatu dış grup olarak eklenmiştir.



Şekil 4. 29. Gen bankasında kayıtlı dünyanın farklı bölgelerinden ve Antalya ilinden elde edilen Cucurbit yellow stunting disorder virus izolatlarının Hsp70 gen dizilimlerinin karşılaştırılması sonucunda Maksimum Parsimoni metodu ile oluşturulan filogenetik soy ağacı.

Yapılan filogenetik analizler Antalya CYSDV izolatlarının birbirleriyle yakın ilişkide olduğunu ve İspanya, İsrail ve Lübnan ile aynı kümede yer aldığını göstermiştir. Analizler sonucunda dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen ve analizi yapılan CYSDV izolatlarının Hsp70 genlerine göre iki ana gruba

ayrıldığı belirlenmiştir. Bunlardan ilki Türkiye ve diğer ülke izolatlarının bir arada bulunduğu küme iken diğeri dış grup olarak belirlenen izolatın bulunduğu kümedir. İlk kümenin kendi içerisinde 2 gruba ayrıldığı gözlenmiştir. Türkiye'nin de bulunduğu İspanya, İsrail ve Lübnan'ın yer aldığı 4 farklı ülkeden 13 izolatı içerdiği tespit edilmiştir. Grup II ise sadece Suudi Arabistan izolatı yer almaktadır.



TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Sürekli artan dünya nüfusuna paralel olarak tarımsal üretime olan talebin de artması, tarım arazilerinden elde edilecek ürünün ve verimin arttırılmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Tarımsal üretimde artış sağlamanın yolları ise yüksek verimli ve dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi, gübreleme, sulama ve diğer verim artırıcı tarımsal faaliyetlerin doğru ve bilinçli olarak yapılmasının yanı sıra hastalıklarla ve zararlılarla mücadeledir.

Bitki patojenlerinden virüslerin neden olduğu hastalıkların, bitkisel üretimde önemli sınırlayıcı bir faktör olmasının başlıca nedenleri; etkili antiviral ürünlerin bulunmaması ve virüs kontrol stratejilerinin daha ziyade dayanıklılığa veya hijyene ya da hastalıklı bitkilerin yok edilmesi temeline dayanmasıdır. Uluslararası seyahat ve bitki materyali ticaretinin artması, günden güne yeni virüsleri ve vektörlerini dünyanın değişik tarım alanlarına dahil etme riskini arttırmaktadır. Değişen iklim koşulları, yeni getirilen virüslerin veya vektörlerinin başarılı bir şekilde yayılmasına katkıda bulunmaktadır. Tarımsal üretimde ortaya çıkan viral hastalıklara karşı önlem alınmadığı takdirde % 100' lere varan oranlarda verim kayıpları ortaya çıkabilmektedir. Bu hastalıkların Dünya'da her yıl 60 milyar dolar civarında ürün kaybından sorumlu olduğu tahmin edilmektedir.

Bu tez çalışmasında son yıllarda örtüaltı kabakgil alanlarında hızla yayılan sarılık virüslerinden bazıları ele alınmıştır. Dünya genelinde ve ülkemize komşu ülkelerin seralarında ve açık tarlalarında yetiştirilen kabakgillerde beyazsineklerle taşınan ve sarılık hastalıklarına neden bazı virüslerin dağılımının ve görülme sıklığının hızla artış göstermesi bu çalışmanın planlanmasında etkili olmuştur. Ülkemizdeki sebze üretim alanları arasında ilk sıralarda bulunan Antalya'nın kabakgil üretim alanlarında sarılık virüslerinin durumu araştırılmıştır.

Arazi çalışmaları sırasında hıyar bitkisinde Abou-Jawdah vd., 2000 a ve Abrahamian vd., 2013 belirtildiği şekilde özellikle alt yaprakların damarlararası bölgelerinde görülen klorotik beneklerin parlak sarı bir renk alarak birleştiği, yaprakların aşağıya doğru hafifçe kıvrık, kırılkan ve bombeli olduğu görülmüştür. Ayrıca yapraklar büyüyüp yaşlandıkça daha şiddetli bir sararma semptomu ortaya çıktığı, meyve şekli

ve renginindeğişmediği ancak meyve sayısı ve toplam ağırlıkta azalma (Gu vd., 2011) olduğu görülmüştür. Kavun üretim alanlarında ise aynı şekilde belirtilerin olduğu görülmüştür.

Araştırma alanlarında yaprak biti popülasyonu yanında özellikle beyazsinek polulasyonunun yoğun olması bu sarılık virüslerinin Crinivirüs kaynaklı olabileceğini düşündürmüştür. Abrahamian vd., 2012 ye göre kavun ve hıyarda özellikle CCYV ve CYSDV virüsten kaynaklanan karışık enfeksiyonlarda meydana gelen sararma semptomlarının bu virüslerden hangisinden kaynaklandığı ayırt etmenin mümkün olmadığı görülmüştür. Wintermantel vd., 2009 ve Okuda vd., 2010' a göre her ikisi de beyazsinekle taşınan CYSDV ve CCYV'lerinin karışık enfeksiyonları Cucurbitaceae familyası bitkilerine oldukça fazla hasar vermektedir.

Özellikle CCYV'nü tek bir beyazsineğin bile virüsü sağlıklı fidelere iletmek için yeterli ve vektörün virüsü başarıyla nakletmek için 90 dakikalık bir süreye gereksinim duyması ve virüsü 6 gün boyunca bünyesinde taşıyabilmesi (Shakeel vd., 2018) sarılık belirtilerinin yörede hızlı bir şekilde yayılmasını açıklamaktadır.

Özellikle örtüaltı kabak üretim alanlarında beyazsinek popülasyonundan ziyade yaprak biti popülasyonunun da yoğun olması ve Akdeniz bölgesinde yetiştirilen kabakgillerde en yaygın virüslerden birinde CABYV olması (Lecoq ve Desbiez, 2012), yanında üretim alanlarında bitkilerin yaşlı yapraklarında kalınlaşma ve kırılgenlikle beraber sararma, damarlararası alanlarda lekelenme şeklinde semptomlar nedeni ile bu virüsün CABYV olabileceği fikrini desteklemiştir.

Yaprak biti ve beyazsinek popülasyonu dikkate alınarak yörede yaygın şikayete neden olan ve özellikle besin noksanlığı ile sıkça karıştırılan belirtilerin önemli ve yaygın sarılık virüslerinden CABYV, CYSDV ve CCYV olabileceği düşünülerek, bu virüslerin Antalya ilinde varlığının araştırılması amacıyla serolojik ve moleküler yöntemler uygulanmıştır.

CABYV için yapılan TAS-ELISA testi sonucunda özellikle kabak bitkisinde toplanan bitki örneklerinden % 96'sında tekli ya da karışık enfeksiyon şeklinde bu virüsün varlığı belirlenmiştir. Hıyar örneklerinde bu oran % 43 iken kavun bitkisinde

%30 larda kalmıştır. Bu sonuçlarda *Aphis gossypii* ve *Myzus persicae* ile persistent ve sirkülatif olarak taşınan CABYV nin bitkilerde yoğun olarak bulunan yaprak biti popülasyonu ile orantılı olduğunu ortaya koymuştur.

Şüpheli örneklerle birlikte toplanan vektörlerin teşhisi tür teşhisleri Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde görev yapan Dr. Işıl ÖZDEMİR tarafından yapılmış ve yaprak bitleri *Aphis gossypii* olarak belirlenmiştir.

CCYV için yapılan DAS-ELISA testinde özellikle kavun bitkisinde %77 oranında tekli ya da karışık enfeksiyon şeklinde bu virüsün varlığı belirlenmiştir. Hıyar örneklerinde bu oran % 49 iken kabak bitkisinde sadece bir örnekte karışık enfeksiyon şeklinde virüsün varlığı belirlenmiştir.

CYSDV'nin DAS-ELISA testi sonuçlarında ise toplanan hıyar bitki örneklerinin % 48'inde tekli ya da karışık enfeksiyon şeklinde bu virüsün varlığı belirlenmiştir. Kabak örneklerinde bu oran % 25 iken kavun bitkisinde % 21 oranında bulunmuştur.

Beyazsineklerin teşhisleri ise Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmail KARACA tarafından yapılmış ve toplanan beyazsinek ergin ve nimflerinden yapılan teşhis sonucunda *Bemisia tabaci* olduğu belirlenmiştir. Bu da ELISA testleri sonucunda bitkilerde yoğun miktarda CCYV ve CYSDV virüslerinin tespit edilmesini desteklemektedir.

CABYV virüs için Kassem vd., 2007 referans alınarak kullanılan primerler ile yapılan RT-PCR çalışmaları sonucunda kılıf protein gen bölgesine ait beklenen büyüklükte, Tomassoli ve Meneghini, 2007 de vurgulandığı üzere 600 bp uzunluğundaki fragmentler elde edilmiştir.

ELISA, RT-PCR ve filogenetik analiz çalışmaları sonucunda araştırma alanlarında CABYV, CCYV ve CYSDV'nin varlığı ortaya konmuştur. Uygulanan tüm bu yöntemler birbirini desteklemiştir.

Yine aynı şekilde CCYV için 870 bp (Keshavarz vd., 2013 a) uzunluğundaki kılıf protein gen bölgesi ve CYVSV için 364 bp (Boubourakas vd., 2006) uzunluğundaki ısı şok protein gen bölgesine ait istenen seviyede bantlar elde edilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü 2015-2016 üretim sezonu boyunca alınan virüs şüpheli kabak, hıyar ve kavun yaprak örneklerinin büyük bir kısmının TAS ve DAS-ELISA testleri sonucunda CABYV, CYSDV, CCYV ile tek ya da karışık enfekteli olduğu belirlenmiştir. Serolojik testleri takiben yapılan moleküler düzeydeki çalışmalar da virüslerin varlığını doğrulamıştır. Bu amaçla yapılan total RNA izolasyonu çalışmaları sonrasında seçilen örneklerle CABYV ve CCYV'nin kılıf protein gen bölgesi ile CYSDV'nin Hsp 70 gen bölgesine ait genleri belirlemek için RT-PCR testi uygulandığında virüslere özgü beklenen seviyedeki profillere ulaşılmıştır.

Sekans analizleri sonucunda her bir virüs için birer örnek GenBankası veri tabanına CABYV için MK129536 kabul numarası, CYSDV için MK129537 kabul numarası ve CCYV için MK129538 kabul numarası ile kayıt ettirilmiştir. Elde edilen nükleotid dizileri Gen bankası veri tabanlarında bulunan ve dünyanın farklı kabakgil üretim alanlarından elde edilen izolatlar ile genetik ilişkisini belirlemek amacıyla CABYV ve CCYV'nin CP ile CYSDV'nin Hsp70 gen bölgesine ait nükleotid dizileri kullanılarak filogenetik analizler yapılmıştır.

Yapılan çoklu dizi karşılaştırmaları sonucunda Antalya ilinden elde edilen CABYV izolatlarının kılıf protein homolog genlerinin %100 benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Tüm dünya izolatları karşılaştırıldığında da izolatların kılıf protein gen bölgeleri arasındaki benzerliğin % 95-100 arasında değiştiği görülmüştür. Antalya izolatları en çok benzerliği % 100 oranıyla Mısır, İtalya ve Montenegro izolatu ile gösterirken, en az benzerliği % 94 oranıyla Hindistan izolatıyla göstermiştir. CABYV izolatları arasında %5'e varan nükleotid farklılıkları olduğu ve bu farklılıkların 600 bazlık kısmı üzerinde belirli bir yerde yoğunlaşmayıp homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür.

Analizi yapılan CABYV izolatlarının kılıf protein genlerine göre iki ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Grup I'de aralarında Türkiye'nin de bulunduğu Mısır, İtalya,

Tunus ve Montegro'nun yer aldığı 5 farklı ülkeden 13 izolatı içerdiği tespit edilmiştir. CABYV 9 numaralı örnek Tunus ile yakın benzerlik gösterirken, CABYV 7, 10, 11, 16 numaralı örnekler ise İtalya ve Mısır ile yüksek oranda benzerlik göstermektedir. Grup II'de ise sadece Çin ve Hindistan izolatı yer almaktadır.

Sekans analizleri sonucunda incelenen CABYV izolatlarının CP geninin sekansının çok az farklılık gösterdiğini görülmüştür. Coğrafik açıdan uzak olan CABYV izolatlarının nisbeten yakın bir ilişki ve sekans benzerliğinin, Bananej vd., (2009)' de belirtildiği gibi konukçu ve vektör bolluğunda dünya genelinde salgınların patlak vermesi ve virüsün hızla genişlemesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Antalya kabakgil üretim alanlarından ve dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CYSDV izolatlarının Hsp70 gen bölgeleriyle karşılaştırılmıştır. Tüm dünya izolatları karşılaştırıldığında da izolatların Hsp70 gen bölgeleri arasındaki benzerliğin % 91-100 arasında değiştiği görülmüştür. Antalya izolatları en çok benzerliği % 100 oranıyla İspanya, İsrail ve Lübnan izolatı ile gösterirken, en az benzerliği % 91 oranıyla Suudi Arabistan izolatıyla göstermiştir. CYSDV izolatları arasında % 9'a varan nükleotid farklılıkları olduğu ve bu farklılıkların 364 bazlık kısmı üzerinde belirli bir yerde yoğunlaşmayıp homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür.

Filogenetik analizler sonucunda dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen ve analizi yapılan CYSDV izolatlarının hsHsp70 genlerine göre iki ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Grup I'de aralarında Türkiye'nin de bulunduğu İspanya, İsrail ve Lübnan'ın yer aldığı 4 farklı ülkeden 13 izolatı içerdiği tespit edilmiştir. Grup II ise sadece Sudi Arabistan izolatı yer almaktadır.

Antalya kabakgil üretim alanlarından ve dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen CCYV izolatları ile yapılan çoklu dizi karşılaştırmaları sonucunda Antalya ilinden elde edilen CCYV izolatının tüm dünya izolatları ile karşılaştırıldığında izolatların kılıf protein gen bölgeleri arasındaki benzerliğin %92-95 arasında değiştiği görülmüştür. Antalya izolatları en çok benzerliği %95 oranıyla Yunanistan, Suudi Arabistan, Sudan, Lübnan ve Çin izolatı ile gösterirken, en az benzerliği % 92 oranıyla İran izolatıyla göstermiştir. CCYV izolatları arasında % 8'e

varan nükleotid farklılıkları olduğu ve bu farklılıkların 870 bazlık kısmı üzerinde belirli bir yerde yoğunlaşmayıp homojen bir şekilde dağıldığı görülmüştür.

Analizler sonucunda; Antalya CCYV izolatının diğer ülkelere farklı dallandığı Yunanistan, Suudi Arabistan, Sudan, Lübnan ve Çin izolatlarının birbirleriyle yakın ilişkide olduğu ve İran izolatı ile biraz farklılık arzettiği görülmüştür.

Filogenetik analizler sonucunda dünyanın farklı kabakgil üretim bölgelerinden elde edilen ve analizi yapılan CCYV izolatlarının kılıf protein genlerine göre üç ana gruba ayrıldığı belirlenmiştir. Grup I'de Yunanistan, Suudi Arabistan, Sudan, Lübnan ve Çin, Grup II de İran ve Grup III de Türkiye izolatları yer almaktadır. Gruplar arasındaki dallanmanın konukçu bitki ya da orjin kökenli olmadığı gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmasıyla Antalya ili ve ilçelerinde kabakgil üretim alanlarında sarılık hastalıklarına yol açan CABYV, CCYV ve CYSDV varlığı belirlenmiş ve serolojik testler ile moleküler yöntemler birbirini desteklemiştir. Antalya ilinde daha önce kabakgil üretim alanlarında sarılık virüsleri belirlenmesine karşın kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile örtüaltı üretim alanlarında genellikle besin noksanlığına atfedilen belirtilerin sarılık virüslerinin infeksiyonlarından kaynaklandığı ortaya konmuştur. Araştırma alanlarından elde edilen kabakgil yaprak örneklerinde sarılık virüslerinin yoğun olduğu belirlenmiştir.

Dizileme, dizi karşılaştırmaları ve filogenetik analizlerle Antalya bölgesinde bulunan CABYV ve CCYV izolatlarının CP geninden CYSDV izolatlarının ise Hsp70 genlerinin kısmi moleküler karakterizasyonu yapılarak izolatların gen bölgelerinin dünyanın farklı bölgelerinden izolatların aynı gen bölgeleriyle benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Yapılan filogenetik analizler CABYV, CCYV ve CYSDV izolatlarının gruplanmasında coğrafik orjinlerin etkili olmadığını göstermiştir. Ancak daha kesin bir gruplandırma ve izolatların genetik ilişkilerinin belirlenmesi için daha farklı coğrafik bölgeden daha fazla izolat ile çalışma yapılması gerekmektedir.

CABYV, CCYV ve CYSDV'lerinin doğru ve hızlı bir şekilde teşhisi ve moleküler karakterizasyonu virüs epidemiyolojisinin anlaşılması ve virüsün yol açtığı hastalığın mücadelesinde önem arz etmektedir. Günümüzde CABYV, CCYV ve CYSDV'nin tanılama çalışmalarında yaygın olarak ELİSA ve RT-PCR yöntemleri kullanılmaktadır. CABYV, CCYV ve CYSDV'nin moleküler tanısında virüs genomunun farklı kısımlarını hedefleyen birçok RT-PCR yöntemi geliştirilmiştir. Dünya genelinde yapılan çalışmalarda CABYV ve CCYV'lerini tanılamada en çok kullanılan hedefin, kılıf protein geni olduğu görülmektedir. CYSDV'ne özgü olan ve yüksek oranda korunmuş diziye sahip olan Hsp70 geni ise CYSDV ve benzer virüslerin moleküler tanılanmasında hedef olarak kullanılmaktadır.

Farklı kabakgil çeşitlerinin testlenmesi sonucunda örnek alınan ticari çeşitlerin neredeyse tümünde sarılık virüsleri tespit edilmiş olup, piyasaya hakim olan çeşitlerin sarılık virüslerine hassas olduğu görülmüştür. Her ne kadar piyasada CYSDV ye dayanıklı çeşitler bulunsa da bu çeşitler bölgede hakim olarak üretilen çeşitler arasında yer almamaktadır.

Bölgedeki üretici ve tüketicilerin ilgilendiği karakterlere sahip yeni dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi adına bu çalışmada nükleik asit dizileri ortaya konulan ve yörede hâkim olan izolatların dikkate alınması gerekmektedir. Bitkilerde patojen olan virüslerin moleküler yapılar ile ilgili bilgilerin bulunması, etkili mücadele yöntemlerini bulmada yardımcı olacaktır. Bu virüslerin tanılama çalışmalarında yararlanılan moleküler teknikler çok kısa sürede çok sayıda örnek analiz edilebilmesi, güvenilir sonuçlar vermesi ve sonuçların tekrar edilebilmesi yanında, zaman ve iş gücünden büyük oranda tasarruf edilebilmesi nedeniyle ıslah çalışmalarına katkı sağlayacak ve çalışmaları hızlandıracak niteliktedir. Araştırmadan elde edilen bulguların, kabakgil virüsleri konusunda çalışacak araştırmacılara faydalı olacağı düşünülmektedir. Yapılan çalışma ile CABYV, CCYV ve CYSDV'nin moleküler yapısı hakkında bilgi edinilmiş olup bu çalışma, ileride yapılacak olan diğer çalışmalara temel oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abeykoon, A.M.S.K., Basnayake, B.M.V.S., Salim N. 2018. First Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellow Virus Infecting Bitter Gourd (*Momordica Charantia*) and Spiny Gourd (*Momordica Dioica*) in Sri Lanka. *New Disease Reports*, 38, 22.
- Abkhoo, J.2012. Serological and Molecular Detection and Prevalence of Cucurbit Aphid-Borne Yellow Virus in The Sistan Region, Iran. *African Journal of Biotechnology*, 11(67), 13119-13122.
- Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., El-Zammar, S., Fayyad , A., Lecoq, H., 2000 A. Incidence and Management of Virus Diseases of Cucurbits in Lebanon. *Crop Protection*, 19, 217–24.
- Abou-Jawdah, Y., Sobh H., Fayad A., Lecoq H., Delécolle, B., Trad-Ferré, J., 2000 b. Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus - A New Threat to Cucurbits in Lebanon. *Journal of Plant Pathology*, 82 (1), 55-60
- Abrahamian, PE, Seblani R, Sobh H, Abou-Jawdah Y., 2013. Detection and Quantitation of Two Cucurbit Criniviruses in Mixed Infection by Real-Time RT-PCR. *Journal of Virology Methods*, 193, 320–6.
- Abrahamian, P. E., Abou-Jawdah, Y. 2014. Whitefly-Transmitted Criniviruses of Cucurbits: Current Status and Future Prospects. *Virus Disease*, 25 (1),26–38.
- Abrahamian, P.E, Sobh H, Abou-Jawdah Y., 2012. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellow Virus on Cucumber in Lebanon. *Plant Disease*, 96, 1704.
- Aguilar, J. M., Abad, J., Aranda, M. A. 2006. Resistance to Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus in Cucumber. *Plant Disease*, 90, 583-586.
- Alonso-Prados, J.L., Fraile A., Garcia-Arenal F. 1997. Impact of Cucumber Mosaic Virus and Watermelon Mosaic Virus 2 Infection on Melon Production in Central Spain. *Journal of Plant Pathology*, 79 (2), 131-134.
- Al Rwahnih, M., Dolja V.V., Daubert S., Koonin E.V., Rowhani A., 2012. Genomic and Biological Analyses of A Virus from A Symptomless Grapevine Support A New Genus Within the Family Closteroviridae. *Virus Research*, 163, 302-309.
- Al-Saleh, M.A., Ahmadm, H., Al-Shahwan, I.M., Brownj.K., Idrisa.M., 2014. First Report of Watermelon Chlorotic Stunt Virus Infecting Watermelon in Saudi Arabia. *Plant Disease*, 98, 1451-1451.
- Amer, M. A., 2015. Serological and Molecular Characterization of Cucurbit Chlorotic Yellow Virus Affecting Cucumber Plants in Egypt. *International Journal of Virology*, 11 (1), 1-11

- Anonim, 2014. Tarım ve Orman Bakanlığı, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü Verileri. <http://www.tarim.gov.tr>
- Anonim, 2017 a. Dünyada ve Türkiye’de Yaş Sebze ve Meyve Üretimi. Ankara Ticaret Borsası, Raporlar. Ankara, 23/01/2017.
- Anonymous, 2017 b. <http://www.tuik.org>
- Ayman, F. O., Bagdady, N. A., 2012. Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Egypt. *Phytoparasitica*, 40, 177–184
- Bananej, K., Menzel, V., Glasa, M. 2015. Current Status of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Some Greenhouse and Open Field Cucumber in Iran. *Appl. Ent. Phytopathology*, 82, 2,
- Bananej, K., Menzel, W., Kianfar, N., Vahdat, A., Winter, S., 2013. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus Infecting Cucumber, Melon and Squash in Iran. *Plant Disease*, 2013, 97, 1005.
- Bananej, K., Desbiez C., Wipf-Scheibel C., Vahdat I., Kheyr-Pour., A, Ahoonmanesh A., Lecoq H., 2006. First Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Iran Causing Yellows on Four Cucurbit Crops. *Disease Notes, Plant Disease*, 90, 4, 526.
- Bananej, K., Vahdat, A, 2008. Identification, Distribution and Incidence of Viruses in Field-Grown Cucurbit Crops of Iran. *Phytopathology Meditterreanean*, 47, 247
- Bananej, K., Vahdat, A., Predajna, L., Glasa, M., 2009. Molecular Characterization of Geographically Different Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus Isolates. *Acta Virologica*, 53, 61 – 64.
- Bellows, T. S., Perring, T. M., Gill, R. J., Headrick, D. H., 1994. Description of A New Species of *Bemisia* (Homoptera: *Aleyrodidae*). *Annals of the Entomological Society of America*, 87, 195–206.
- Berdiales, B., Juan, J., S’Aez, B., Woudt, B., Beitia, F., Rodr’iguez, E.C., 1999. Occurrence of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus (CYSDV) and Beet Pseudo-Yellows Virus in Cucurbit Crops in Spain and Transmission of CYSDV by Two Biotypes of *Bemisia tabaci*. *European Journal of Plant Pathology*, 105, 211–215.
- Blua, M.J., Perring, T.M., 1989. Effect of Zucchini Yellow Mosaic Virus on Development and Yield of Cantaloupe (*Cucumis melo*). *Plant Disease*, 73, 317-320.
- Bostan, H., Kaymak, H.Ç., Haliloğlu, K., 2002. Detection Of Cucumber Mosaic Virus (CMV) and Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) in Squash in Erzurum, Erzincan and Artvin Provinces by Serological and Biological Methods. *Journal of Turkish Phytopathology*, 31 (1), 9-14.

- Boubourakas, IN, Avgelis, AD, Kyriakopoulou, PE, Katis NI., 2006. Occurrence of Yellowing Viruses (Beet Pseudo-Yellows Virus, Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus and Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus) Affecting Cucurbits in Greece. *Plant Pathology*, 55, 276–83.
- Bourdin, D., Lecoq, H., 1994. Increase in Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus Concentration by Co-Infection with Sap-Transmissible Viruses Does Not Increase Its Aphid Transmissibility. *Journal of Phytopathology*, 141, 143–152.
- Brown, JK, Guerrero JC, Matheron M, Olsen M, Idris AM. 2007. Widespread Outbreak of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus in Melon, Squash and Watermelon Crops in The Sonoran Desert of Arizona and Sonora, Mexico. *Plant Disease*, 91, 773.
- Buzkan, N, Arpacı, BB., Apalak, A., 2017. First Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in *Vicia faba*. *New Disease Reports*, 35, 13.
- Celix, A., Lopez-Sese, A., Almarza, N., Gomez-Guillamon, M. L., Rodriguez-Cerezo, E., 1996. Characterization of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus, A *Bemisia tabaci*-Transmitted Closterovirus. *Phytopathology*, 86, 1370-1376
- Choi, S.-K., Choi, G.-S., 2016. First Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Cucumis Melo in Korea. *Plant Disease*, 100, 234
- Choi, S.-K., Yoon, J.-Y., Choi, G.-S., 2015. Biological and Molecular Characterization of A Korean Isolate of Cucurbit Aphidborne Yellows Virus Infecting Cucumis Species in Korea. *Plant Pathology Journal*, 31(4), 371-378
- Clark, M.F., Adams, A.N., 1977. Characteristic of The Microplate Method of Enzym Linked Immunosorbent Assay for The Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34, 475-483.
- Çağlar, B. K., Yılmaz, M. A., 2002, Detection of Squash Mosaic Comovirus (Sqmv) of Cucurbits by Biological, Serological and Advanced Techniques Methods İn Çukurova Region İn Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 31 (2), 79–87.
- Çat, A., Yardımcı, N., Çulal Kılıç, H., 2016. Antalya İli ve İlçelerindeki Örtüaltı Hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve Kabak (*Cucurbita pepo* L.) Üretim Alanlarında Viral Etmenlerin Saptanması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20 (1), 129-132.
- Çıtır, A., Kutluk, N. D., Sağlam, N., İlbağı, H., 1998. Amasya, Çorum, Samsun Ve Tokat İllerinde Hıyar ve Kabak Kültürlerinde Görülen Virüs Hastalıklarının Simptomatolojik ve Biyolojik Yöntemlerle Tanıları. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 21–25 Eylül, Ankara, 331–335.

- Dağ, D. S., 2005. Gaziantep İl ve İlçelerinde Yetiştirilen Kabakgillere Zarar Veren Virüslerin DAS-ELISA Yöntemiyle Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, F.B.E., Biyoloji A.B.D., Gaziantep, 58 Sayfa.
- Dahal, G., Lecoq, H., Albrechtsen, S.E. 1997. Occurrence of Papaya Ringspot Potyvirus and Cucurbit Viruses in Nepal. *Annals of Applied Biology*, 130 (3), 491-502.
- Desbiez, C., Lecoq, H. 2000. First Report of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus in Morocco. *Plant Disease*, Volume 84, Number 5, Page 596.
- Desbiez, C., Lecoq, H., Girard, M., 2003. First Report of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus in Commercial Cucumber Greenhouses in France *Plant Disease*. 87, 5, 600.
- Dogimont, C., Bussemakers A., Martin, J., Slama, S., Lecoq H., Pitrat, M. 1997. Two Complementary Recessive Genes Conferring Resistance to Cucurbit Aphid Borne Yellows Luteovirus in An Indian Melon Line (*Cucumis melo* L.). *Euphytica*, 96, 391-395.
- Dogimont, C., Slama, S., Martin, J., Lecoq, H., Pitrat, M., 1996. Sources of Resistance to Cucurbit Aphid-Borne Yellows Luteovirus in A Melon Germ Plasm Collection. *Plant Disease*, 80, 1379 -1382.
- Duffus, JE, Larsen, RC, Liu, HY. 1986. Lettuce Infectious Yellows Virus: A New Type of Whitefly-Transmitted Virus. *Phytopathology*, 76, 97-100.
- El Rahmany, R.G., El Attar, A.K., Zein, H.S., Abdallah, N.A., Mazyad, H.M., 2014. Characterization of An Egyptian Isolate of The Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virüs. *Arab J. Biotechnology*, 17 (1), 29-42.
- Emekli, N.Y., Büyüктаş. D., Büyüктаş, K. 2008. Antalya Yöresinde Seracılığın Mevcut Durumu ve Yapısal Sorunları. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 25(1), 26-39
- Ertunç, F., 1992. Ankara İlinde Kabaklarda Enfeksiyon Oluşturan Viral Etmenin Teşhisi Üzerinde Araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 1252, 13
- Felsenstein, J., 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution* 39, 783-791.
- Freeman, S., Herron, J. C. 1999. *Evrimsel Analiz*. Çıplak, B., Başbüyük. H. H., Karaytuğ. S., Gündüz. İ., Palme Yayıncılık, 28-29, 438-449
- Furuta, A., J., Yamaguchi, T., Etou, K., Kuno, M., 2008. The Whitefly Transmissibility of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus and The Occurrences in the Cucumber Greenhouses. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 74, 218-218.

- Gerling, D., Alomar, O., Arno, J., 2001. Biological Control of *Bemisia tabaci* Using Predators and Parasitoids. *Crop Protection*, 20, 779–99.
- Gholamalizadeh, R., Vahdat, A., Keshavarz, T., Elahinia, A., Bananej, K., 2008 Occurrence and Distribution of Ten Viruses Infecting Cucurbit Plants in Guilan Province, Iran. *Acta Virology*, 52 (2),113-118.
- Gil-Salas, F. M., Peters, J., Boonham, N., Cuadrado, I. M., Janssen, D., 2011, Co-Infection with Cucumber Vein Yellowing Virus and Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Leading to Synergism in Cucumber. *Plant Pathology*, 61 (3), 468-478.
- Gu, QS., Liu, YH., Wang, YH., Huangfu, WG., Gu, HF., Xu, L., Song, FM., Brown ,JK., 2011. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellows Virüs in Cucumber, Melon, and Watermelon in China. *Plant Disease, Disease Notes*, 95, 1,73.
- Gümüş, M., Erkan, S., Tok, S., 2004. Bazı Kabakgil Türlerinin Tohumlarındaki Viral Etmenlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (1), 49-56
- Günay, A., 1993, Özel Sebze Yetiştiriciliği, Cilt:V, Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Ankara, 117s
- Gyoutoku, Y., Hayashida, S., Okazaki,S., Okudam., 2008. The Occurrence of Melon Yellowing Disease Caused by Cucurbit Chlorotic Yellows Virus in Kumamoto Prefecture. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 74, 219-219.
- Gyoutoku, Y., Okazaki S, Furuta A, Etoh T, Mizobe M, Kuno K.,Hayashida S, Okuda M. 2009. Chlorotic Yellows Disease of Melon Caused by Cucurbit Chlorotic Yellows Virus, A New Crinivirus. *Jpn J Phytopathology*, 75, 109–111.
- Hall, T.A., 1999. Bioedit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program For Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95- 98.
- Hamed, K, Menzel, W., Dafalla, G., Gadelseed, AMA., Winter, S., 2011. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus Infecting Muskmelon and Cucumber in Sudan. *Plant Disease*, 95, 1321.
- Hanssen, I.M., Lapidot, M., Thomma, B.P.H.J., 2010. Emerging Viral Diseases of Tomato Crops. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 23(5), 539-48.
- Hassan, AA, Duffus, JE, 1991. A Review of A Yellowing and Stunting Disorder of Cucurbits in The United Arab Emirates. *Emirate Journal of Agricultural Sciences* 2, 1–16.

- Hattab, MM. 2005. First Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Tunisia Causing Yellows on Five Cucurbitaceous Species. *Plant Disease*. 89, 7, 776-776.
- Hourani, H., Abou-Jawdah, Y., 2003. Immunodiagnosis of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Using Polyclonal Antibodies Developed Against Recombinant Coat Protein. *Journal of Plant Pathology*, 85, 197–204.
- Huang, L., Tseng, H.H., Li, J.T., Chen, T.-C., 2010. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus Infecting Cucurbits in Taiwan. *Plant Disease, Disease Notes*, 94 (9), 1168.
- Jeffrey, C.A., 2005. New System of Cucurbitaceae *Botanicheskii. Zhurnal*, 90, 332–335
- Kubota, K., Usugi, T., Tsuda, S., 2011. Production of Antiserum and Immunodetection of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus, A Novel Whitefly-Transmitted Crinivirus. *J Gen Plant Pathology*, 77, 116–120.
- Kameroğlu, M.A., Çalişkan, A.F., Desbiez, C., 2016. Current Status of Some Cucurbit Viruses in Cukurova Region (Adana and Mersin Provinces) of Turkey and Molecular Characterization of Zucchini Yellow Mosaic Virus Isolates. *Romanian Biotechnological Letters*, 21, 11709-11719,
- Kassem, M. A., Sempere, R. N., Juárez, M., Aranda, M. A., And Truniger, V., 2007. Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus Is Prevalent in Field-Grown Cucurbit Crops of Southeastern Spain. *Plant Disease*, 91, 232-238.
- Keshavarz, T., Shams-Bakhsh, M., Izadpanah, K., Malboobi, M.A., 2013 a. Occurrence and Genome Analysis of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus in Iran. *Journal of Phytopathology* 162 (7–8), 523–526.
- Keshavarz, T., Shams-Bakhsh, M., Izadpanah, K., Nassaj Hossini, S. M. 2013 b. Geographic Distribution and Phylogenetic Analysis Of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus in Iran. *Acta Virologica* 57, 415 – 420
- Köklü, G., Yılmaz, Ö., 2006. Occurrence of Cucurbit Viruses on Field-Grown Melon and Watermelon in the Thrace Region Of Turkey, *Phytoprotection*, 87, 123-130.
- Knierim, D., Deng, T.C., Tsai, W.S., Green S.K., Kenyon, L., 2010. Molecular Identification of Three Distinct Polerovirus Species and A Recombinant Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus Strain Infecting Cucurbit Crops in Taiwan. *Plant Pathology*, 59, 991–1002
- Kızmaz., M.Z., Sağır., A., Baloğlu S., 2016. Diyarbakır ve Mardin İlleri Kabakgil Üretim Alanlarında Görülen Viral Hastalıkların Yaygınlıklarının ve Etmelerinin Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53 (4), 397-406.

- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K. 2015. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 For Bigger Datasets. *Molecular Biology And Evolution*
- López-Sesé, A. I., Gómez-Guillamón, M. L., 2000. Resistance to Cucurbit Yellowing Stunting Disorder Virus (CYSDV) in *Cucumis melo* L. *Hortscience* 35, 110-113.
- Louro, D., Vicente, M., Vaira, AM., Accotto, GR., Nolasco, G., 2000. Cucurbits Yellow Stunting Disorder Virus (Genus Crinivirus) Associated with the Yellowing Disease of Cucurbit Crops in Portugal. *Plant Disease*, 84, 1156.
- Lecoq, H., Bourdin, D., Wipf-Scheibel, C., Herrbach E., 2007. A New Yellowing Disease of Cucurbits Caused by A Luteovirus, Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus. *Plant Pathology*, 41(6), 749 – 761.
- Lecoq, H, Gilbert-Albertini, F, Wipfscheibel, C, Pitrat, M, Bourdin, D, Belkhala, H., Katis, N., Yılmaz, M., 1994. Occurrence of A New Yellowing Disease of Cucurbits in the Mediterranean Basin Caused by A Luteovirus, Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus and Prospects for Control. In ‘The 9 th Congress of The Mediterranean Phytopathological Union. September 18–24, Kusadasi-Aydin, Turkey, 461–463.
- Lecoq, H, Bourdin, D., Wipf-Scheibel, C., Bon, M., Lot, H., Lemaire, O., Herrbach, E., 1992. A New Yellowing Disease of Cucurbits Caused by A Luteovirus, Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus. *Plant Pathology*, 41, 749-761
- Lecoq, H., Desbiez C., 2012. Viruses of Cucurbit Crops in The Mediterranean Region: An Ever-Changing Picture. In: Gad L, Herve´ L, Editors. *Advances In Virus Research*. London, 67–126.
- Lee, P.Y., Costumbrado, J., Hsu, C.Y., Kim, Y.H. 2012. Agorose Gel Electrophoresis for The Seperation of DNA Fragments. *Journal of Visualized Experimets*. 62, 3923, 1-5
- Livieratos, I. C., Avgelis, A. D., Coutts, R. H. A., 1999. Molecular Characterization of The Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Coat Protein Gene. *Phytopathology*, 89, 1050-1055.
- Livieratos, IC, Katis, N., Courtts, R.H.A., 1998. Differentiation Between Cucurbits Yellow Stunting Disorder Virus and Beet Pseudo-Yellows Virus by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction Assay. *Plant Pathology*, 47, 302–309.
- Lovisolo, O. 1980. Virus and Viroid Diseases of Cucurbits. *Acta Horticulture*, 88, 33-63.
- Marco, C. F., Aguilar, J. M., Abad, J., Gómez-Guillamón, M. L., And Aranda, M. A. 2003. Melon Resistance to Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Is Characterized by Reduced Virus Accumulation. *Phytopathology*, 93, 844-852.

- Martelli, G.P., Agranovsky, A.A., Bar-Joseph, M., Boscia, D., Candresse, T., Coutts, R.H.A., Dolja, V.V, Hu J.S, Jelkmann W, Karasev, A.V, Martin R.R, Minafra A, Namba S, Vetten HJ., 2012. Closteroviridae. In: King, A.M.Q, Adams, M.J, Carstens, E.B, Lefkowitz, E.J, Editors. Virus Taxonomy Ninth Report of The International Committee on Taxonomy of Viruses. London: Elsevier; 987–1001
- Matthews, REF, 1992. Fundamentals of Plant Virology. Academic Press, Inc. California, USA. 403 P
- Mccreight, J.D., Wintermantel, W.M., 2011. Genetic Resistance in Melon PI 313970 to Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus. Hortscience, 46, 1582-1587.
- Mansour, A., Al-Musa, A. 1982. Incidence, Economic Importance and Prevention of Watermelon Mosaic Virus 2 In Squash (*Cucurbita pepo*) Fields in Jordan. Phytopathologische Zeitschrift, 103 (1), 35-40.
- Navas-Castillo, J., Fiallo-Olivero, E., Sanchez-Campos, S., 2011. Emerging Virus Diseases Transmitted by Whiteflies. Annu Rev Phytopathology, 49, 219–48.
- Nogay, A., 1983. Marmara Bölgesi Cucurbitaceae Familyası Kültür Bitkilerinde Görülen Virüs Hastalıklarının Tanılanması, Tohumla Geçiş Durumlarının ve Konukçu Dizilerinin Saptanması Üzerinde Araştırmalar. (Doktora Tezi). Erenköy – İstanbul, 120s
- Nome, S.F., March, G.J., Giorda, L.M. 1974. Reduction in Productivity of Cucurbita Maxima Duch. var. Zapallito Carr. Millan Plants Infected by Watermelon Mosaic Virus 2. IDIA, No, 321-324.
- Okuda, M, Okazaki, S., Yamasaki, S, Okuda S., Sugiyama, M., 2010. Host Range and Complete Genome Sequence of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus, A New Member of The Genus Crinivirus. Phytopathology, 100, 560–6.
- Okuda, S., Okuda, M., Sugiyama, M., Sakata, Y., Takeshita, M, I. Resistance in Melon to Cucurbit Chlorotic Yellows Virus, Awhitefly-Transmitted Crinivirus. Eur J Plant Pathology, 135, 313–21
- Orfanidou, C., Maliogka, V. I., Katis, N. I. 2014. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus in Cucumber, Melon and Watermelon in Greece. Plant Disease, 98(10), 1446
- Orfanidou, C.G., Maliogka, V.I., Katis, N.I., Kontosfyris, G., Smith, T., Caglayan, K., 2017. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus in Cucumber in Turkey. Journal of Plant Pathology, 99, 533
- Öneş, A., 1990. Sera Yapım Tekniği. Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları, 1165, Ders Kitabı No:331, Ankara

- Özaslan, M., Aytekin, T., Bas, B., Kilic, H., Afacan, I.D., Dag, D.S., 2006, Virus Diseases of Cucurbits in Gaziantep, Turkey, *The Plant Pathology Journal*, 5, 24-27.
- Öztürk, S., 2000. Diyarbakır ve İlçelerinde Karpuzlarda Görülen Virüs Hastalıklarının Surveyi. Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. 58s.
- Papayiannis, L.C., Ioannou, N., Boubourakas, I.N., Dovas, C.I., Katis, N.I., Falk, B.W., 2005. Incidence of Viruses Infecting Cucurbits in Cyprus. *Journal of Phytopathology*, 153, 530-535.
- Perring, T.M., Cooper, A.D., Rodriguez, J., Farrar, C.A., Bellows, T.S., 1993. Identification of A Whitefly Species by Genomic and Behavioral Studies. *Science*, 259, 74-7.
- Polston, J.E., Hladky, L.L., Akad, F., Wintermantel, W.M., 2008. First Report of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus in Cucurbits in Florida. *Plant Disease*, 92, 1251.
- Provvidenti, R., 1996. Diseases Caused by Viruses. In: Zitter T.A., Hopkins D.L., Thomas C.E. (Eds.). *Compendium of Cucurbit Diseases*. APS Press, 37-45.
- Raccah, B. 1999. Epidemiology and Control of Cucurbit Viruses in Israel. 1. Israel-Turkish Workshop "Detection of Virus Diseases by Advanced Techniques And Control", 22-29 August, Adana, Turkey, 46-56.
- Rubio, L., Soong, J., Kao, J., Falk, B. W. 1999. Geographic Distribution and Molecular Variation of Isolates of Three Whitefly-Borne Closteroviruses of Cucurbits: Lettuce Infectious Yellows Virus, Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus and Beet Pseudo-Yellows Virus. *Phytopathology*, 89, 707-711.
- Rubio, L., Abou-Jawdah, Y, Lin, H.X, Falk, B.W, 2001. Geographically Distant Isolates of the Crinivirus Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Show Very Low Genetic Diversity in the Coat Protein Gene. *Journal of General Virology*, 82, 929-933.
- Richard, N. Strange, P.R., 2005. Scotland Plant Disease: A Threat to Global Food Security, *Annual Review of Phytopathology*, 43,83-116
- Reinbold, C., Herrbach, E., Brault, V., 2003. Posterior Midgut and Hindgut are Both Sites of Acquisition of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in *Myzus persicae* and *Aphis gossypii*. *J. Gen. Virol.* 84, 3473-3484.
- Ruiz, L., D. Janssen, L. Velasco, E., Segundo, I.M., Cuadrado, 2002. Quantitation of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus in *Bemisia tabaci* (Genn.) Using Digoxigenin-Labelled Hybridisation Probes. *J. Virol. Methods*, 101, 95-103

- Shakeel, M.T., Al-Saleh, M.A., Amer, I.M. Al-Shahwan, M.U., Umar, O.A., Abdalla, Zakri, M.A., Katis N.I., 2018. Transmission of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus (CCYV) by Whitefly Biotype B in Riyadh, Saudi Arabia. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20(2), 241-248
- Shanga, QX., Xianga, HY., Hana, CG., Li, DW., Yua, J.L. 2009. Distribution and Molecular Diversity of Three Cucurbit-Infesting Poleroviruses in China. *Virus Research*, 145, 341–346
- Simmons, AM., Kousik, CS., Levi, A., 2010. Combining Reflective Mulch and Host Plant Resistance for Sweetpotato Whitefly (Hemiptera: *Aleyrodidae*) Management in Watermelon. *Crop Protection*, 29, 898–902.
- Sinclair, J.W., Crosby, K M., 2002. A Review of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus (CYSDV) A “New” Virus Affecting Melons in The Lower Rio Grande Valley. *Subtrop. Plant Sciences*, 54, 54-58.
- Sidek, Z., 1999. Viruses of Cucurbits: The Strategies. MCB-MAPPS Plant Protection Conference Proceeding, 68-71.
- Stellmach, G., 1985. ELISA Testing of Grapevine Rootings Reared From Nepovirus-Infected Mother Plants Forced to Rapid Growth. *Phytopathologia Mediterranea*, 24, 123–124.
- Şevik, M.A., Arlı Sökmen, M., 2001. Samsun İlinde Kabakgil Bitkilerinde Görülen Virüs Hastalıkları. IX. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 3–8 Eylül, Tekirdağ, 180-189.
- Tang, X, Shi X, Zhang, D, Li, F., Yan, F., Zhang, Y, Liu, Y., Zhou, X., 2017. Detection and Epidemic Dynamic of ToCV and CCYV with *Bemisia tabaci* and Weed in Hainan of China. *Virology Journal*. 14, 169.
- Thresh, J.M., 2002. Control of Plant Virus Diseases in Sub-Saharan Africa: The Possibility and Feasibility of An Integrated Approach. *African Crop Science Journal*, 11 (3), 199-223,
- Tomassoli, L., Lumia, V., Siddu, GF., Barba, M., 2003. Yellowing Diseases of Melon in Sardinia (Italy) Caused by Beet Pseudo-Yellows Virus. *Journal of Phytopathology*, 85, 59-61
- Tomassoli, L., Meneghini, M., 2007. First Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Italy. *Plant Pathology*, 56, 720, *New Disease Reports*, 14, 27.
- Topkaya, Ş., Ertunç, F., 2012, Current Status of Virus Infections in Cucurbit Plantations in Ankara and Antalya Provinces, *Cucurbitaceae 2012, Proceedings of The Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae* (Eds. Sari, Solmaz and Aras) Antalya (Turkey), October 15-18th, 759-762.

- Ullman, E.D., Cho, J.J. German, T.L., 1991. Occurrence and Distribution of Cucurbit Viruses in The Hawaiian Islands. *Plant Disease*, 75, 367-370.
- Webster, C.G., Kousik, C.S., Roberts, P.D., Roskopf, E.N., Turechek, W.W., Adkins, S. 2011. Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Detected in Pigweed in Florida. *Plant Disease*, 95 (3), 360.
- Wintermantel, W. M., Hladky, L. L., Cortez, A. A., Natwick, E. T., 2009. A New Expanded Host Range of Cucurbit Yellow Stunting Disorder Virus Includes Three Agricultural Crops. *Plant Disease*, 93, 685-690.
- Wisler, GC, Duffus, JE, Li, RH, 1998. Ecology and Epidemiology of Whitefly-Transmitted Closteroviruses. *Plant Disease*, 82, 270–80.
- Yardımcı, N., Korkmaz, S., 2004. Studies on Spread and Identification of Zucchini Yellow Mosaic Virus Disease in The North-West Mediterraneanen Region of Turkey by Biological Indexing and Double-Stranded RNA Analysis. *Plant Pathology Journal*, 3(1), 1-4
- Yardımcı,N., Özgönen, H., 2007. First Report of Cucurbit Aphid-Borne Yellows Virus in Turkey. *Australasian Plant Disease Notes*, 2(1), 59
- Yılmaz, M. A., Davis, R. F., 1985. Identification of Viruses Infecting Vegetable Crops Along The Mediterranean Sea Coast in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 14 (1), 1-8.
- Yılmaz, M. A., Lecoq, H., Abak, K., Baloğlu, S., Sarı, N., 1992. Türkiye’de Kabakgil Sebze Türlerinde Zarar Yapan Virüsler. *Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Cilt:II. E.Ü. Ziraat Fakültesi*, 13-16 Ekim, İzmir, 439-442.
- Zeng, R., Dai, F. M., Chen, W. J., Lu, J. P. 2011. First Report of Cucurbit Chlorotic Yellows Virus Infecting Melon in China. *Plant Disease, Disease Notes*. 95 (3), 354.
- Zitter T.A., Hopkins, D.L., Thomas, C.E., 1996. *Compendium of Cucurbit Diseases*. APS Press, 87

EKLER

EK-1.Cucurbit aphid-borne yellow virus'e ait DNA dizi örnekleri

>CABYV7

GGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGAAGAAATCAGCGCCC
TGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCATTGGGGGACCACCG
CGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCCCTAATCGAGGAGGC
AGAGCTAGAAGAGGAAGCCCAGGCGAAACATTTGTATTTTCAAAGGACA
ATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGCCGTCTCTTTCA
GAGAGCCCAGCATTAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTACCATGAATATA
AGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCCTCTTCCACCTCC
TCGGGTTCCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAGCTTAGCTCCCTC
CAATCCACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAGTGGATTGCGACGTTG
GACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGATGCAACCGAAGAC
CAATTCAAGATCCTCTATAAAG

>CABYV9

GGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGAAGAAATCAGCGCCC
TGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCATTGGGGGACCACCG
CGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCCCTAATCGAGGAGGC
AGAGCTAGAAGAGGAAGCCCAGGCGAGACATTTGTATTTTCAAAGGACA
ATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGCCGTCTCTATCA
GAGAGCCCAGCATTAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTACCATGAATATA
AGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCCTCTTCCACCTCC
TCGGGTTCCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAGCTTAGCTCCCTC
CAATCCACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAATGGATTGCGACGTTG
GACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGATGCAACCGAAGAC
CAGTTCAAGATCCTCTATAAAGGGAATGGATC

>CABYV10

GGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGAAGAAATCAGCGCCC
TGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCATTGGGGGACCACCG
CGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCCCTAATCGAGGAGGC
AGAGCTAGAAGAGGAAGCCCAGGCGAAACATTTGTATTTTCAAAGGACA
ATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGCCGTCTCTTTCA
GAGAGCCCAGCATTAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTACCATGAATATA
AGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCCTCTTCCACCTCC
TCGGGTTCCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAGCTTAGCTCCCTC
CAATCCACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAGTGGATTGCGACGTTG
GACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGATGCAACCGAAGAC
CAATTCAAGATCCTCTATAAAGGAATGG

>CABYV11

GGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGAAGAAATCAGCGCCC
TGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCCGTTGGGGGACCACCG
CGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCTCTAATCGAGGAGGC

AGAGCTAGAAGAGGAAGCCCAGGCGAAACATTTGTATTTTCAAAGGACA
ATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGGCCGTCTTTCA
GAGAGCCCAGCATTTCAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTACCATGAATATA
AGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCCTCTTCCACCTCC
TCGGGTTCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAGCTTAGCTCCCTC
CAATCCACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAGTGGATTGCGACGTTG
GACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGATGCAACCGAAGAC
CAATTC AAGATCCTCTACAAAGGAACGGATCT

>CABYV16

GGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGAAGAAATCAGCGCCC
TGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCCGTTGGGGGACCACCG
CGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCGGACGCCCTAATCGAGGAGGC
AGAGCTAGAAGAGGAAGCCCAGGCGAAACATTTGTATTTTCAAAGGACA
ATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGGCCGTCTTTCA
GAGAGCCCAGCATTTCAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTACCATGAATATA
AGATCATCATGGTCCAGGTGGAGTTCATCTCTGAGGCCTCTTCCACCTCC
TCGGGTTCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCAATGCAAGCTTAGCTCCCTC
CAATCCCCGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAGTGGACTGCGACGTTG
GACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGATGCAACCGAAGAC
CAATTC AAGCTCCTCTATAAAGTGAACCGATCT

>CABYV-Italy Sequence ID: EF029115.1

GAATACGGTCGCGGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGAAG
AAATCAGCGCCCTGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCCATTTG
GGGACCACCGCGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCCCTA
ATCGAGGAGGCAGAGCTAGAAGAGGAAGCCCAGGCGAAACATTTGTATT
TTCAAAGGACAATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGC
CGTCTCTTTCAGAGAGCCCAGCATTTCAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTAC
CATGAATATAAGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCCTC
TTCCACCTCCTCGGGTTCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAGCT
TAGCTCCCTCCAATCCACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAGTGGAT
TGCGACGTTGGACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCACGATGC
AACCGAAGATCAATTC AAGATCCTCTATAAAGGGAACGGATCTTCTCGG
TTGCGGGCAGCTTCAGAATCACCATCAAGTGCCAGGTCCAGAACCCGAA
ATAG

> CABYV-Misir Sequence ID: FR822385.1

GGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGAAGAAATCAGCGCCC
TGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCCATTTGGGGGACCACCG
CGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCCCTAATCGAGGAGGC
AGAGCTAGAAGAGGAAGCCCAGGCGAAACATTTGTATTTTCAAAGGACA
ATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGGCCGTCTTTCA
GAGAGCCCAGCATTTCAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTACCATGAATATA
AGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCCTCTTCCACCTCC
TCGGGTTCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAGCTTAGCTCCCTC
CAATCCACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAGTGGATTGCGACGTTG
GACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGATGCAACCGAAGAC
CAATTC AAGATCCTCTATAAAGGGAACGGATCTTCTCGGTTGCGGGCAG
CTTCAAATCACCATCAAGTGCCAGG

>CABYV-Montenegro Sequence ID: KX398664.1

ATGAATACGGTCGCGGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGAAGGCGA
AGAAATCAGCGCCCTGCGCGGCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCCA
TTGGGGGACCACCGCGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCC
TAATCGAGGAGGCAGAGCTAGAAGAGGAAGCCAGGCGAGACATTTGTA
TTTTCAAAGGACAATCTCACGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGG
GCCGTCTCTTTCAGAGAGCCCAGCATTAGCTCTGGAATACTCAAGGCCT
ACCATGAATATAAGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCC
TCTTCCACCTCCTCGGGTTCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAG
CTTAGCTCCCTCCAATCCACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAATGG
ATTGCGACGTTGGACCGCTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGAT
GCAACCGAAGACCAGTTCAAGATCCTCTACAAAGGGAATGGATCTTCCTC
GGTTGCGGGCAGCTTCAGAATCACCATCAAGTGCCAGGTCCAGAACCCG
AAATAG

> CABYV-Cin Sequence ID: EU244319.1

AGCGTTTCGGACTGGCTTCTTGAAGATGATATGGAAGTCCGAAACCGCCT
GACGCTAGATTTGAACGAAACCACGCGCCGATTACGAGCAGCATGGTTA
TATTGCATATCAAACAGCGTCCTCTGCCTTTCTGATGGAACATTATTAGC
GCAGAGAGTCCCAGGCGTGCAGAAGAGTGGCAGCTACAATACGTCATCG
AGTAATTCCCATTTCGGGTGATGGCTGCCTACCACTGCGGCGCAGAATG
GGCAATAGCAATGGGCGATGACGCCCTGGAGTCAGCTTGCTCGAACCTC
GAGCGTTATAAATCGCTCGGTTTCAAAGTTCGAGGAGTCTCAAACCTGGA
ATTCTGTTCTCACATTTTTGAGAAAGAGGACCTCGCCATTCCGGTCAACA
AGGCCAAAATGCTTTACAAGCTCATAATGGGTATGAACCGGAATGCGG
CAACGTGGAAGTGCTGATCAACTACTTGGCCGCTTGTTTCTCAATTCTGA
ATGAGTTGCGGTCCGATCCTTCCCTTGTCGAACTCTCCACCAGTGGCTG
GTCCTTCCAGTGCAGCCACAAAAGATATAAGGGGAGTATAAAGAACA
AGCCAAGCACACAGAGTTGCAAGCATTGGAAGTACAAGTCTCGTTACC
AAGAGTCCACACAATAGATTATAAATTTCTCGCAGGATTTTCTAGCGGTC
TATTGTCTGCAGTACCAGTACGGTAATAGGACTCTATTTTGTCTACCTAA
AGATTTAGCACACGTGCGATCAATTGTTAATGAATACGGTTCGCGGCTAG
AAATCAAATGCAGGGAGGCGGAGGCGAAGAAATCAGCGCCCTATACG
GCGCGACCGCGTGGTTGTGGTCAACCCCTCTGGGGGACCATCGCGTGGA
AGACGACAACGAAGAAACCGCCGACGCCCTAATCGAGGAGGCAGAGCT
AGAGGAAGGAGCCCAGGCGAAACATTCGTATTTCAAAGGACAATCTCA
CGGGCAGTTCCACAGGAAGTATCACCTTCGGGCCGTCTCTATCAGAGAGC
CCAGCATTAGCTCTGGAATACTCAAGGCCTACCATGAATATAAGATCAT
CATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAGGCCTCTTCCACCTCCTCGGGCT
CCATCTCTTATGAGTTGGACCCCCACTGCAAGCTTAGCTCCCTCCAATCC
ACGATTAATAAATTTGGAATCACCAAGAATGGATTGCGACGTTGGACAG
CTAAGCAGATCAACGGGATGGAATGGCATGACGCAACTGAGGACCAATT
CAAGATCCTCTACAAAGGGAACGGATCTTCCCTCGGTTGCAGGCAGCTTCA
GGATCACCATCAAGTGCCAGGTC

> CABYV-Hindistan Sequence ID: KY711340.1

CTCGCAGGATCTTCTAGCGGTCTATTGTCAGCAATACCTGTTACGGTAAT
AGGACTCTATTTTGTCTACCTAAAGATTTTCAGCACACGTGCGATCAATTG
TTAATGAATACGGCCGCGGCTAGAAATCAAATGCAGGGAGGCGGAGGC
GAAGAAATCAGCGCCTTGCACGGCGCGACCCGCGTGGTTGTGGTCAACCC
CATTGGGGGACCACCGCGCGGAAGACGACAACGAAGAAACCGCCGACG
CCCTAATCGAGGAGGCAGAGCTAGAGGAAGAAGCCCGGGCGAAACATTT
GTATTTTCAAAGGACAATCTCACGGGCAGTTCCTCAGGAAGTATCACCTT
CGGGCCGTCTCTTTCAGAGAGCCAGCATTTCAGCTCTGGAATACTCAAGG
CCTACCATGAGTATAAGATCATCATGGTCCAGCTGGAGTTCATCTCCGAG
GCCTCTTCCACCTCCTCGGGTTCATCTCTTATGAGTTGGACCCCACTGC
AAGCTTAGCTCCCTCCAATCCACGATTAATAAGTTTGAATTACCAAGAA
CGGATTGCGACGATGGACAGCTAAGCAGATTAACGGGATGGAATGGCAC
GACGCAACAGAGGACCAGTTCAAGATCCTCTACAAAGGGAACGGATCTT
CCTCGGTTGCGGGGAGCTTCAGGATCACCATCAAGTGCCAGGTCCACAAC
CCCAAATAGGTAGACGGCAG

>CABYV-Tunus Sequence ID: EF187338.1

GAGGCGAAGGCGAAGAAATCAGCGCCCTGCACGGCGCGACCCGCGTGGTT
GTGGTCAACCCCAATTGGGGGACCACCGCGCGGAAGACGACAACGAAGAA
ACCGCCGACGCCCTAATCGAGGAGGCAGAGCTAGAAGAGGAAGCCAG
GCGAAACATTTGTATTTTCAAAGGACAATCTCACGGGCAGTTCACAGGA
AGTATCACCTTCGGGCCGTCTCTATCAGAGAGCCAGCATTTCAGCTCTGG
AATACTCAAGGCCTACCATGAATATAAGATCATCATGGTCCAGTTGGAGT
TCATCTCCGAGGCCTCTTCCACCTCCTCGGGTTCATCTCTTATGAGTTGG
ACCCCACTGCAAGCTTAGCTCCCTCCAATCCACGATTAATAAATTTGGA
ATCACCAAGAATGGATTGCGACGTTGGACCGCTAAGCAGATCAACGGGA
TGGAATGGCACGATGCAACCGAAGACCAGTTCAAGATCCTCTATAAAGG
GAATGGATCTTCTCGGTTGCGGGCAGCTTCAGAATCACCATCAAGTGCC
AGGTCCAGA

>AJ242585.1 cucumber mosaic virus genomic RNA for coat protein, isolate YN-B

GTAGACATCTGTGACGCGAAGTCGCCTGAAGATTTCCCATCTGGGGTTAG
TAAGTCCACATCACAGTTTTAAAGTTCAATTCTTTTGTCTCCCTGTTGGGC
CCCTTACTTTCTCATGGATGCTTCTCCGCGAGTTAGCGTTTAGTTGTTTAC
CTGAGTCGTGCGTTTTCTTTGTGTTTTGCGTCTTAGTGATTCATGGACAA
ATCTGGATCTCCCAATGCTAGTAGAACCTCCCGGCGTCGTCGCCCGCGTA
GAGGTTCTCGGTCCGCTTCTGGTGC GGATGCAGGGTTGCGTGCTTTGACT
CAGCAGATGCTGAGACTCAATAAAACCCTCGCCATTGGTTCGTCCTCACTCT
TAACCACCCAACCTTCGTGGGTAGTGAAAGTTGTAAACCCGGTTACACTT
TCACATCTATTACCCTGAAACCGCCTGAAATTGAAAAAGGTTTCATATTTT
GGTAGAAGGTTGTCTTTGCCAGATTCAGTCACGGACTATGATAAGAAGCT
TGTTTCGCGCATTCAAATCAGGATTAATCCTCTGCCGAAATTTGATTCTAC
CGTGTGGGTTACAGTTCGGAAAGTACCTTCATCATCCGATCTTTCCGTCG
CCGCCATCTCTGCTATGTTTGGTGATGGTAACTACCGGTTTTGGTTTATC
AGTATGCTGCGTCCGGAGTTCAGGCCAACAATAAGTTACTTTATGACCTG
ACCGAGATGCGTGCTGATATCGGCGACATGCGTAAGTACGCCGTCTGGT
TACTCGAAAGACGATAAACTAGAGAAGGACGAGATTGTACTTCATGTC
GACGTCGAGCATCAACGAATTCCTATCTCGCGGATGCTCCCGACTTAGTC
CGTGTGTTT

EK-2. Cucurbit chlorotic yellows virus'e ait DNA dizi örnekleri

>CCYV22

AAATACACCAAGAGAACATTTGAATTCATTGATAGTGTGAAGGGAAATT
TACACATGTTCCGAACCCTTTCAGACAATATGCCAGGAAACACGAGTCAG
ATATTGAAATTTTAAAGCCACTGGTAAGGTAATGAACGACCATCTTACAG
GCAAACACGGTGTCTTATCACAATATTGGGCTTTACCGGCTGATTACGT
TAATGGTTCTTTGATAAACATCTCAGATGATGATTTGGCGGCAAACCTTGC
TGATGAAGTGCCAAGCTCTGAAAGGGA

>CCYV-Yunanistan Sequence ID: LT716006.1

ATGGAGAAGACTGACAATAAACAAAATGATGATTTGAACAAGATAACTG
AGGATGGAGCCGAAGTTATTGAAAGGTATGAAAAGAGAGAAAGCGAGG
GGTCGAAAAGTTCAAGCAACTATGAAGTAAGAGATTTGATCACACCCGA
ACACATGAATCCTGAAAAATTGGGAGACATAGTTGTTTATTCAAATAGGC
AGATGTGATGACAGAGGAAGATGAACTCAAATTCGAACAGTGTATGAGG
GATTTGCGGAAGAAGTTTGTTTTTAAGAAATCTGACTCTGAACCATCACC
AGACGAGTTCATGGCTTTCTATGTGAGTTTGGTTCAAAGTTGGTTGACAC
AAAGCACATCAATGAAAAACGCGCGGCAGAGGAATTTGTCAAACACATT
ATCAGTAAAAAATCAAAAATACACCTGGAGGACAGCTGAATTCATTGAT
TTTGTGAAGGGAAATCTACCACATGTTCCGAACCCTTTCAGACAATATGC
CAGGAAACACGAGTCAGATATTGAAATTCTTAAAGCCACTGGTAAGGTA
ATGAGCGACCATCATCTACAGGCAAACACGGTGTCTTATCACAATATTG
GGCTTTACCGGCTGATTACGTTAATGGTTCTTTGATAAACATCTCAGATG
ATGATTTGGCGGCAAACCTTGCTGATGAAGTGCCAAGCTCTGAAAGGAAC
AAGTCAGGAAAGAAAATCTATAACGTGTCTCAGTTGGCACCGGGAGGT
TGTAAGTAAATAA

>CCYV-Cin Sequence ID: KY400633.1

CGTAAGTGATCGCAATCAATAAGGCGGCGACCTAATCGAAAAAATAATT
TTGAAAAGTTACTCGATCTACATTAATATGGAGAAGACTGACAATAAA
CAAAATGATGATTTGAACAAGATAACTGAGGATGGAGCCGAAGTTATTG
AAAGGTATGAAAAGAGAGAAAGCGAGGGGTCGAAAAGTTCAAGCAACT
ATGAAGTAAGAGATTTGATCACACCCGAACACATGAATCCTGAAAAATT
GGGAGACATAGTTGTTTATTCAAATAGGGCAGATGTGATGACAGAGGAA
GATGAACTCAAATTCGAACAGTGTATGAGGGATTTGCGGAAGAAGTTTGT
TTTTAAGAAATCTGACTCTGAACCATCACCAGACGAGTTCATGGCTTTCT
ATGTGAGTTTGGTTCAAAGTTGGTTGACACAAAGCACATCAATGAAAAA
CGCGCGGCAGAGGAATTTGTCAAACACATTATCAGTAAAAAATCAAAA
TACACCTGGAGGACAGCTGAATTCATTGATTTTGTGAAGGGAAATCTACC
ACATGTTCCGAACCCTTTCAGACAATATGCCAGGAAACACGAGTCAGAT
ATTGAAATTCTTAAAGCCACTGGTAAGGTAATGAGCGACCATCATCTACA
GGCAAACACGGTGTCTTATCACAATATTGGGCTTTACCGGCTGATTAC
GTTAATGGTTCTTTGATAAACATCTCAGATGATGATTTGGCGGCAAACCT
GCTGATGAAGTGCCAAGCTCTGAAAGGAACAAGTCAGGAAAGAAAATTC
TATAACGTGTCTCAGTTGGCACCGGGAGGTTGTAGTAAATAATGGAGAG
CAAAGATTTTTATGAAGAAGGAGATGGTCAAGTGATCACT

>CCYV-Lubnan Sequence ID: JX014262.1

CAATAAACAAAATGATGATTTGAACAAGATAACTGAGGATGGAGCCGAA
GTTATTGAAAGGTATGAAAAGAGAGAAAGCGAGGGGTCGAAAAGTTCAG
GCAACTATGAAGTAAGAGATTTGATCACACCCGAACACATGAATCCTGA
AAAATTGGGAGACATAGTTGTTTATTCAAATAGGGCAGATGTGATGACA
GAGGAAGATGAACTCAAATTCGAACAGTGTATGAGGGATTTGCGGAAGA
AGTTTGTTTTTAAGAAATCTGACTCTGAACCATCACCAGACGAGTTCATG
GCTTCTATGTGAGTTTGGTTCAAAGTTGGTTGACACAAAGCACATCAAT
GAAAACCGCGCGGCAGAGGAATTTGTCAAACACATTATCAGTAAAAAAT
CAAAAATACACCTGGAGGACAGCTGAATTCATTGATTTTGTGAAGGGAA
ATCTACCACATGTTCCGAACCCTTTCAGACAATATGCCAGGAAACACGAG
TCAGATATTGAAATTCCTAAAGCCACTGGTAAGGTAATGAGCGACCATCA
TCTACAGGCAAAACACGGTGTCTTATCACAATATTGGGCTTTACCGGCTG
ATTACGTTAATGGTTCTTTGATAAACATCTCAGATGATGATTTGGCGGCA
AACTTGCTGATGAAGTGCCAAGCTCTGAAAGGAACAAGTCAGGAAAGAA
AATTCTATAACGTGTCTCAGTTGGCACCGGGAG

>CCYV-Sudan Sequence ID: JF807053.1

ATGGAGAAGACTGACAATAAACAAAATGATGATTTGAACAAGATAACTG
AGGATGGAGCCGAAGTTATTGAAAGGTATGAAAAGAGAGAAAGCGAGG
GGTCGAAAAGTTCAAGCAACTATGAAGTAAGAGATTTGATCACACCCGA
ACACATGAATCCTGAAAAATTGGGAGACATAGTTGTTTATTCAAATAGGG
CAGATGTGATGACAGAGGAAGATGAACTCAAATTCGAACAGTGTATGAG
GGATTTGCGGAAGAAGTTTGTTTTTAAGAAATCTGACTCTGAACCATCAC
CAGACGAGTTCATGGCTTTCTATGTGAGTTTGGTTCAAAGTTGGTTGACA
CAAAGCACATCAATGAAAAATGCGCGGCAGAGGAATTTGTCAAACACAT
TATCAGTAAAAAATCAAAAATACACCTGGAGGACAGCTGAATTCATTGA
TTTTGTGAAGGGAAATCTACCACATGTTCCGAACCCTTTCAGACAATATG
CCAGGAAACACGAGTCAGATATTGAAATTCCTAAAGCCACTGGTAAGGT
AATGAGCGACCATCATCTACAGGCAAAACACGGTGTCTTATCACAATATT
GGGCTTTACCGGCTGATTACGTTAATGGTTCTTTGATAAACATCTCAGAT
GATGATTTGGCGGCAAACCTTGCTGATGAAGTGCCAAGCTCTGAAAGGAA
CAAGTCAGGAAAGAAAATTCTATAACGTGTCTCAGTCGGCACCGGGAGG
TTGTAGTAAA

>CCYV-Suudi Arabistan Sequence ID: KT946817.1

CTATGAAGTAAGAGATTTGATCACACCCGAACACATGAATCCTGAAAA
TTGGGAGACATAGTTGTTTATTCAAATAGGGCAGATGTGATGACAGAGG
AAGATGAACTCAAATTCGAACAGTGTATGAGGGATTTGCGGAAGAAGTT
TGTTTTTAAGAAATCTGACTCTGAACCATCACCAGACGAGTTCATGGCTT
TCTATGTGAGTTTGGTTCAAAGTTGGTTGACACAAAGCACATCAATGAAA
AACGCGCGGCAGAGGAATTTGTCAAACACATTATCAGTAAAAAATCAAA
AATACACCTGGAGGACAGCTGAATTCATTGATTTTGTGAAGGGAAATCTA
CCACATGTTCCGAACCCTTTCAGACAATATGCCAGGAAACACGAGTCAG
ATATTGAAATTCCTAAAGCCACTGGTAAGGTAATGAGCGACCATCATCTA
CAGGCAAAACACGGTGTCTTATCACAATATTGGGCTTTACCGGCTGATTA
CGTTAATGGTTCTTTGATAAACATCTCAGATGATGATTTGGCGGCAAACCT
TGCTGATGAAGTGCCAAGCTCTGAAAGGAACAAGTCAGGAAA

>CCYV-Iran Sequence ID: KC577202.1

ATGGAGAAGACCGACAATAAACAAAATGATGATTTGAATAAGATAACTG
AGGATGGAGCCGAAATTATTGAAAAATATGAAAAGAGAGAAAGCGAGG
GGTCGAAAAGTACAAGCAACTATGAAGTGAGAGATTTGATCACACCTGA
ACATATGAATCCTGAGAAATTGGGAGACATAGTAGTGTACTCAAATAGG
GCTGATGTGATGACAGAGGAAGATGAACTCAAATTCGAACAGTGCATGA
GAGATTTTCGCGAAAAAATTTGTTTTCAAGAAATCAGACTCTGAACCATCA
CCAGATGAGTTTATGGCTTTCTATGTGAGTTTGGTTCAAAGTTGGTTGAC
ACAAAGCACGTCAATGAAAAACGCGCGACAGAGGAATTTGTCAAACACA
TTATCAGTGAAAAATCAAAAGTACACCTGGAGGACAGCCGAATTCATTG
ATTTTGTTAAGGGAACTTACCGCATGTTCCAAATCCTTTCAGACAATAT
GCCAGGAAACACGAGTCAGATATTGAAATTCTTAAAGCCACTGGTAAGG
TAATGAGTGACCATCATCTACAGGCGAAACACGGTGTCTTATACAATAT
TGGGCTTTACCGGCTGATTACGTTAATGGTTCTTTGATAAACATCTCAGAT
GATGATTTGGCGGCCAACTTGCTGATGAAGTGCCAAGCTCTGAAAGGAT
CAAGTCAGGAAAGAAAATTCTATAACGTGTCTCAGTTGGCACCGGGAGT
TGTAGGAAATAA

>AJ242585.1 cucumber mosaic virus genomic RNA for coat protein, isolate YN-B
GTAGACATCTGTGACGCGAAGTCGCCTGAAGATTTCCCATCTGGGGTTAG
TAAGTCCACATCACAGTTTTAAGGTTCAATTCCTTTTGCTCCCTGTTGGGC
CCCTTACTTTCTCATGGATGCTTCTCCGCGAGTTAGCGTTTAGTTGTTTAC
CTGAGTCGTGCGTTTTCTTTGTGTTTTGCGTCTTAGTGTATTCATGGACAA
ATCTGGATCTCCCAATGCTAGTAGAACCTCCCGGCGTCGTCGCCCGCGTA
GAGGTTCTCGGTCCGTTCTGGTGCGGATGCAGGGTTGCGTGCTTTGACT
CAGCAGATGCTGAGACTCAATAAAACCCTCGCCATTGGTCGTCCCCTCT
TAACCACCCAACCTTCGTGGGTAGTGAAAGTTGTAAACCCGGTTACACTT
TCACATCTATTACCCTGAAACCGCCTGAAATTGAAAAAGGTTTCATATTT
GGTAGAAGGTTGTCTTTGCCAGATTCAGTCACGGACTATGATAAGAAGCT
TGTTTCGCGCATTCAAATCAGGATTAATCCTCTGCCGAAATTTGATTCTAC
CGTGTGGGTTACAGTTCGGAAAGTACCTTCATCATCCGATCTTCCGTCG
CCGCCATCTCTGCTATGTTTGGTGATGGTAACTCACCGGTTTTGGTTTATC
AGTATGCTGCGTCCGGAGTTCAGGCCAACAATAAGTTACTTTATGACCTG
ACCGAGATGCGTGCTGATATCGGCGACATGCGTAAGTACGCCGTCTGGT
TACTCGAAAGACGATAAACTAGAGAAGGACGAGATTGTACTTCATGTC
GACGTCGAGCATCAACGAATTCCTATCTCGCGGATG
CTCCCGACTTAGTCCGTGTGTTT

EK-3. Cucurbit yellow stunting disorder virus'e ait DNA dizi örnekleri

>CYSDV42

TTGACAGTATCATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTATG
TCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGGT
TATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATACATTGAAAC
TTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTAA
CGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAAT
CAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACCA
TCT

>CYSDV43

TTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTAT
GTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGG
TTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATACATTGAAA
CTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTA
ACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAA
TCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACC
ATCT

>CYSDV45

TTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTAT
GTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGG
TTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATACATTGAAA
CTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTA
ACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAA
TCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACC
ATCT

>CYSDV47

TTGACAGTATCATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTATG
TCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGGT
TATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATACATTGAAAC
TTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTAA
CGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAAT
CAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACCA
TCT

>CYSDV50

TTGACAGTATCATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTATG
TCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGGT
TATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATACATTGAAAC
TTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTAA
CGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAAT
CAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACCA
TCT

>CYSDV51

TTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTAT
GTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGG
TTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATAACATTGAAA
CTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAATCCATAACCATAACTAGTCTTA
ACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAA
TCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACC
ATCT

>CYSDV52

TTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTAT
GTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGG
TTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATAACATTGAAA
CTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTA
ACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAA
TCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACC
ATCT

>CYSDV54

TTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTAT
GTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGG
TTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATAACATTGAAA
CTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTA
ACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAA
TCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACC
ATCT

>CYSDV55

TTGACAGTATCATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTATG
TCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGG
TATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATAACATTGAAAC
TTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTAA
CGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAAT
CAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACCA
TCT

>CYSDV3

TTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTAT
GTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCGATAGAGG
TTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATAACATTGAAA
CTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAACTAGTCTTA
ACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAA
TCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAAACGAACC
ATCT

> CYSDV-Lubnan Sequence ID:KC633820.1

GCTCAGTATTGTCTAATAGTGACATGCCTAACTGTTACTTTTATGACTTGA
AAAGGTGGGTAGGTGTTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAA
AATCAATCCAGCGTATGTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCA
CTGGTATCGATAGAGGTTATACTTGCCTTACACAGTCAAACAATTGATA

TTGTTATACATTGAAACTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATA
ACCATAACTAGTCTTAACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCA
GCGTATGTTTATGAAATCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAG
AATTATAAACGAACCATCTGCAGCAGCTATATACTTTGTTTCAAAGTATC
CGCAGTATAACAACCTTCTGATGTATGACTTCGGAGGAGGAACTTTTGAT
TCTTCTCTAATAGTCAGAGACGGTAAGTATGTCACAGTGGCTGATACTGA
AGGTGATTCGTTTTTGGGAGGTAGAGACATTGATAATGCTATCGCTGACT
ATATAACAACGACGTATGGTATGAAAGGTGGTTTGTCCGCTGACGTACTG
GCGTCTATAAAGGAGGATTGTAATTCTAAGGGTAGAGAGAATTTCAATGT
TATAGATTCATCAGGCAAACCTTCATAATGTGAAATTCACAAGACAAGATC
TGAGTCGTTGCATTGAACCTTTCTCTAAGAAGAGCATAGCACTGCTTGAT
AATATGGTAGTGCGTAACATAACAAAAGATTCCGCTGTGTTTATGGTTGG
AGGTTTCATCATTGTTGAAGAAAGTTCAACATGATGTGATGAATTAAGTGTG
CTAGAACGAACTAGAAATGCATCATTGATAAAGACCTTAGATCAGCAGT
GTCATTTGGTTGCTCTATGTCACATGCCAAGAAGACACAAAAAATATGA
TATACATCGATTGTAATTCACATCCCTTAATGGACATATCATATTTTTGTT
CTCCAAAGATTATAGTTAGGAAACCTATGGCCATACCTT

>CYSDV-Ispanya Sequence ID:AJ223619.2

ATGGCGAAGGCTGGTTTGGAGTTTGGTACTACTTTCTCTACTATCAGCAG
TTATGTTAATGGTGTATGAAAGTTTTGAAATTGAACGAACTGAATTTA
TCCCTACCTGTTTAGCCATAACGTCTAATAATGATGTGGTTGTTGGAGGT
CCCGCTCAAGTATTGTCTAATAGTGACATGCCTAACTGTTACTTTTTATGAC
TTGAAAAGGTGGGTAGGTGTTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAA
CCAAAATCAATCCAGCGTATGTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTAC
ATCACTGGTATCGATAGAGGTTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATT
GATATTGTTATACATTGAAACTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTC
CATAACCATAACTAGTCTTAACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTA
AGCAGCGTATGTTTATGAAATCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTAC
GTAGAATTATAAACGAACCATCTGCAGCAGCTATATACTTTGTTTCAAAG
TATCCGCAGTATAACAACCTTCTGATGTATGACTTCGGAGGAGGAACCTT
TGATTCTTCTCTAATAGTCAGAGACGGTAAGTATGTCACAGTGGCTGATA
CTGAAGGTGATTCGTTTTTGGGAGGTAGAGACATTGATAATGCTATCGCT
GACTATATAACAACGACGTATGGTATGAAAGGTGGTTTGTCCGCTGACGT
ACTGGCGTCTATAAAGGAGGATTGTAATTCTAAGGGTAGAGAGAATTTCT
AATGTTATAGATTCATCAGGCAAACCTTCATAATGTGAAATTCACAAGACA
AGATCTGAGTCGTTGCATTGAACCTTTCTCTAAGAAGAGCATAGCACTGC
TTGATAATATGGTAGTGCGTAACATAACAAAAGATTCCGCTGTGTTTATG
GTTGGAGGTTTCATCATTGTTGAAGAAAGTTCAACATGATGTGATGAATTA
CTGTGCTAGGACGAACTAGAAATGCATCATTGATAAAGACCTTAGATCA
GCAGTGTCAATTTGGTTGCTCTATGTCACATGCCAAGAAGACACAAAAA
TATGATATACATCGATTGTAATTCACATCCCTTAATGGGCATATCATATTT
TTGTTCTCCAAAGATTATAGTTAGGAAACCTGTGGCCATACCTTATACTG
GAGTGCAGAGAAGAAACCTTAACAAGACACTATAACAATTTTGAACGTTTA
CGAGGGATCAGATCCCTTCGTTTTGAACAACGATTGGTTGATTAGTGCCA
ATATGCAGTCCAACAAGTACGGTGAGATAGGTGATACATTACAATATCTT
TACAAATATAATGTAGATGGCATCTTAGAGTTGGTTGTGAGGAATAAAA
GAACAGGTAAGGAGACGGTACTTCCAATTCCTTTGCTTTTGAAGTACTGAGAGT
ATAAAGAAGCTGGATGTAATCTAACTCAATTGTCAAATATTGATGAATT
GGCAACTTTGGTAGCTATTATGAGTTACTATAAGCCTGAATTAAGTACC

TCCTGACTTATGTAAAGACACCAACTATTTTTGAAAATGAAATTAAGAAA
TTTGGATCTGGTGAAGATTTATATAAATCCTTAGCTGCTCTGAATAAAAA
TTCAAGTAA

>CYSDV-SuudiArabistan Sequence ID:KX120126.1

GATAGTATCAACTACAATGTCATAAAAACCAAATCAATCCAGCGTATGT
CACTGAGTTACGAGGTAACGATGTGTACATCACTGGAGTTGACAGAGGTT
ATACCTGCACTTATACGGTCAAACAGTTGATATTGTTGTATATTGAAACT
TTGGTGAGATTGTTCTCCAAGGTTGAATCCATAACCATAACTAGTCTTAA
CGTGTCCGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTTTATGAAAT
CAGTTTGTGATAGTTTAGGTTTTTCATTACGTAGAATAATAAACGAACCA
TCTGCAGCAGCTA

>CYSDV-Israil Sequence ID:U67448.1

GGATTAGAGTTCGGTACGACTTTCTCTACTATCAGCAGTTATGTAAATGG
TGTTATGAAAGTTTTGAAATTGAACGAAACTGAATTTATCCCTACCTGTTT
AGCCATAACGTCTAATAATGATGTGGTTGTTGGAGGTCCCGCTCAAGTAT
TGTCTAATAGTGACATGCCTAACTGTTACTTTTATGACTTGAAAAGGTGG
GTAGGTGTTGACAGTATCAATTATAATGTGATAAAAACCAAATCAATCC
AGCGTATGTCACCGAGTTACGTGGTAACGACGTGTACATCACTGGTATCG
ATAGAGGTTATACCTGCACTTACACAGTCAAACAATTGATATTGTTATAC
ATTGAAACTTTAGTAAGATTGTTTTCTAAAGTTGAGTCCATAACCATAAC
TAGTCTTAACGTCTCTGTTCCAGCTGATTATAAATGTAAGCAGCGTATGTT
TATGAAATCAGTTTGTGACAGTCTAGGTTTTTCATTACGTAGAATTATAA
ACGAACCATCTGCAGCAGCTATATACTTTGTTTCAAAGTATCCGCAGTAT
AACAACCTCCTGATGTATGACTTCGGAGGAGGAACCTTTGATTCTTCTCT
AATAGTCAGAGACGGTAAGTATGTCACAGTGGTTGATACTGAAGGTGAT
TCGTTTTTAGGAGGCGGCACGTTTGA

>AB513442.1 Tomato chlorosis virus HSP70h gene for heat shock protein 70
homolog, complete cds

ATGAGTATTAAGCTGGTTTGGATTTTGGTACTACATTCAGTACTATTAGT
TGTTTCTATAATAACAAATTGTTTTCATTAACAACTCAATGGGACCGAGTA
CATTCCAACCTTGTCTCTCCATAACTCCAAATAATGAGGTGATAGTCGGGG
GCCCTTCTCAAGTTTTAGAAAGCTTCCGAAACTCCGTCTTGTTATTTCTATG
ATTTGAAAAGATGGGTTGGTGTCACTTCGGTCAATTATGAGGTCGTGAAA
GCCGAAGATAAACCCAATGTATAAACGCGTTTATCTAATAATAAAGTGT
ATATAACTGGTATCAATAAAGGTTTCTCGACCGAGTTTTCGGTTGAGCAA
CTTATATTACATTATGTAAATACTTTAGTTTCGATTATTCTCAAAAACAGAA
AACTTAAAATAACCGATCTCAATGTGTCTGTTCCGGCTGATTACAAGTC
TGGGCAGAGACTTTTCATGCAGGCAGTTTGTTCCTCTTTGGGTTTCAATTT
ACGTCGCATAGTCAATGAACCGTCGGCTGCCGCTATTTACTGCGTTTCTA
AATATCCGCAGTATGCTTATTTCTATATTTACGATTTTGGTGGCGGTACTT
TCGACACTTCTTTAATAGTGCATATGGTAAGTTTGTCACTGTTGCTGATA
CCCAGGGAGATTCGTTTCTTGGTGGGCGAGATATAGATAAAGCCATATCG
AAATTCATAATGGATAAAAATGCTTTGAACGCCCCACTGTCGGCAGATAT
GTTAGCGTCTATAAAGGAAGAGACAAATTCACCGGGCGCAGTTCATAC
AATATAATAAGTATGATGGGAGTATAATCAATATTCAGTTTACGTTTGA
CGATTTGGTCAAGTGCCTTGAACCATTCAGTACGAGTTTTTCAATAC
TTCGAAGTCTCGTTTCTCGTAACAAACTTCGAATGGAGCGCTGTTTCTTG

TCGGTGGTTCCTCATTGCTTAGACCGATTTCAGAATAGAGCAGATGGTTTT
GCGCGTAATCATGGGTTAGCTCTCATTATAGACCCAGATCTCAGAGCTGC
TGTGTCATTTGGTTGTTCAATGCTCCATGCACAAGAGGATTCTGGGAATA
TGACATATATAGACTGCAATTCACATCCGTTGATGGATTTGGGTTTATATT
GTCATCCTAGAATTATCATCAGAAAACCCATGTCTGTTCCGTACACACAC
AAGATCGAGAGGGAGGTCACAAGATTTATCACCACTGCTCTCAATGTTTA
TGAAGGGTCTGACCTTTTCGTACTIONAACAACGATTGGTTAATCAGCGCAG
ATGTTGACTATTCAAAGTACGCTAAAATGGGTGAGACATTAGTTAGTGTT
TATAAGTACACCATTGACGGCATTGGAACACTGTCGATGGCTAATAAAAC
CACTGGCAAGTCGTGGGTCCTTCCGAACACCTTTGCCAGGTCCGAAAAGA
TAGTCATTAGTGACTTAACCTTGACTCAATTGTCGAATGTCGATGAATTG
GCCACTATAGTGTCAATTTTGAGTTATTTTATGCAACATTCAACTATCTTA
TTCCATGTTCAACACTCCGTCGATTTTGGAGCGAGAAGTTGGAAAGATA
TCTGACGCCAAAGGTCTTTATAACCGACTCGTTGAACAAAACAGAAATTT
CTCTTGA



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Safinaz ARSLAN

Doğum Yeri ve Yılı: Antalya, 1979

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dil: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Antalya Karatay Lisesi (1994-1997)

Lisans: Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Konya. (1998-2002)

Yüksek Lisans: Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Antalya. (2003-2005)

Çalıştığı kurum/Kurumlar ve Yılı:

Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya (2003-2006)

İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Antalya (2006-Devam Ediyor)

Yayımlar

Basım, H., Basım, E., **Yılmaz, S.**, Dickstein, E.R., Jones, J.B., 2004. An outbreak of bacterial speck caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* on tomato transplants grown in commercial seedling companies located in the Western Mediterranean region of Turkey. *Plant Disease*, 9(88), 1050.

Basım, H., Basım, E., **Yılmaz, S.**, İlkuçan, M., 2005. First report of pith necrosis of tomato caused by *Pseudomonas mediterranea* in Turkey. *Plant Pathology*, 2(54), 240.

Basım, H., Basım, E., **Yılmaz, S.**, Taşkiran, S., 2004. Box, Eric ve Rep-PCR ile *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in genetik çeşitliliği. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi, SAMSUN, 143.

Basım, H., Basım, E., Yegen, O., Ünlü, A., **Yılmaz, S.**, 2004. Türkiye'deki *Erwinia amylovora* strainlerinin moleküler karakterizasyonu. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi, SAMSUN, 145.