

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

**BURDUR İLİNDE YETİŞTİRİLEN FASULYE BİTKİLERİNDE
Bean Yellow Mosaic Virus (BYMV) 'ÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

Merve ULUM

**Danışman
Prof. Dr. Nejla YARDIMCI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ISPARTA – 2019**



© 2019 [Merve ULUM]

TEZ ONAYI

Merve ULUM tarafından hazırlanan "**Burdur İlinde Yetiştirilen Fasulye Bitkilerinde Bean Yellow Mosaic Virus (BYMV)'ünün Araştırılması**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tarım Bilimleri ve Teknolojileri *Fakültesi* **Bitki Koruma Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.


Danışman

Prof. Dr. Nejla YARDIMCI.
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



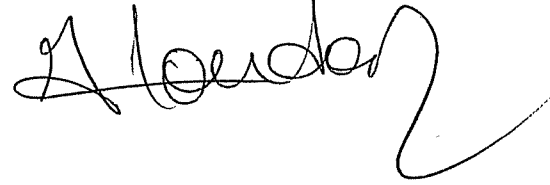
Jüri Üyesi

Doç. Dr. Oktay ERDOĞAN
Pamukkale Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Handan ÇULAL KILIÇ
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.

Merve ULUM



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	i
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM	11
3.1. Materyal	11
3.1.1. Sörvey alanı ve çalışma materyali	11
3.1.2. Serolojik çalışmalarda kullanılan materyal	12
3.1.3. Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında kullanılan materyal.....	13
3.2. Yöntem	14
3.2.1. DAS-ELİSA çalışmaları	14
3.2.2. ELISA testinin yapılışı	14
3.2.3. Mekaniksel inokulasyon	15
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	17
4.1. Sörvey Çalışmaları	17
4.2. DAS-ELISA Test Sonuçları	18
4.3. Mekaniksel İnokulasyon Sonuçları	19
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	21
KAYNAKLAR	23
ÖZGEÇMİŞ	28

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BURDUR İLİNDE YETİŞTİRİLEN FASULYE BİTKİLERİNDE *Bean Yellow Mosaic Virus* (BYMV)'ÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Merve ULUM

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nejla YARDIMCI

Bu çalışmada, Türkiye'deki fasulye yetiştiriciliğinde önemli bir paya sahip olan Burdur ilinde BYMV(*Bean yellow mosaic virus*)'nin varlığı araştırılmıştır. Öncelikli olarak bu bölgedeki fasulye üretim alanlarına surveyler yapılarak virüs enfeksiyon simptomu sergileyen fasulye yaprak örnekleri alınmıştır. Toplanan fasulye yaprak örneklerinde BYMV virüsünün varlığı biyolojik ve serolojik olarak araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda Burdur fasulye üretim alanlarından alınan yaprak örneklerinde BYMV enfeksiyonları saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Burdur, fasulye, BYMV, DAS-ELİSA, mekaniksel inokulasyon

2019, 28 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF *Bean Yellow Mosaic Virus* (BYMV) IN THE BEAN PLANTS FROM BURDUR PROVINCE

Merve ULUM

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

Supervisor: Prof. Dr. Nejla YARDIMCI

In this study, *Bean Yellow Mosaic Virus* (BYMV) was investigated in Burdur province which a significant portion of beans growing of Turkey. First, surveys were conducted the bean production areas and virus like symptoms showing leaf samples were collected in this region. The presence of BYMV in the collected bean leaf was investigated by biological and serological methods. As a result of the study, BYMV infections were detected in bean leaf samples in Burdur growing areas.

Keywords: Burdur, bean, BYMV, DAS-ELISA, mechanical inoculation

2019, 28 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni ynlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrbesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Sayın Hocam Prof. Dr. Nejla YARDIMCI'ya teőekkürlerimi sunmayı borç bilirim. Literatür taramalarımnda ve laboratuvar çalışmalarımnda yardımcı olan değerli Hocam Sayın Doç. Dr. Handan ÇULAL KILIÇ'a, arazi çalışmalarımnda, araştırmamın yürütülmesinde maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Merve ULUM
ISPARTA, 2019



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Büyütme kabinlerinde yetiştirilen indikatör bitkiler.....	16
Şekil 4.1. Klorotik beneklenme, mozayik ve şekil bozukluğu belirtileri.....	17
Şekil 4.2. Pozitif reaksiyon veren örneklerin bulunduğu çukurlarda sarı renk oluşumu	18
Şekil 4.3. BCMV ile inokule edilen Tütün ve Fasulye bitkisinde gelişen mozaik belirtileri.....	20



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Burdur’da 2015 Yılına Ait Açıkta Sebze Üretimi	3
Çizelge 1.2. Burdur’da 2015 Yılına Ait Örtü Altı Sebze Üretimi	3
Çizelge 3.1. Survey yapılan alanlar, yaprak örnek sayıları.....	12
Çizelge 3.2. Mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan test bitkiler	13
Çizelge 4.1. Fasulye yaprak örneklerinin alındığı yerler ve BYMV ile bulaşıklık oranları.....	19
Çizelge 4.2. Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında gözlemlenen belirtileri....	20



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	santimetre
daa	Dekar
DAS-ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda Ve Tarım Teşkilatı
H ₂ O	Su
KH ₂ PO ₄	Potasyum Di Hidrojen Fosfat
ml	Mililitre
Na ₂ PO ₄	Sodyum Di Hidrojen Fosfat
nm	Nanometere, metrenin milyarda biri
pH	Asitlik Derecesi
RNA	Ribo Nükleik Asit
RT-PCR	Revers-Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TL	Türk Lirası
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
°C	Santigrad Derece

1. GİRİŞ

Bitkisel üretimde kapsamlı bir yere sahip olan Baklagiller (*Leguminosae*) familyasında bulunan bitki türleri binlerce yıldır insanların beslenmesinde önemini korumaktadırlar. Fasulye, bezelye, mercimek, börülce, soya, nohut ve bakla gibi yemeklik baklagiller dünyadaki 2 milyardan fazla insan için protein kaynağıdır. Tahıllardan sonra tarım alanlarında en fazla üretimi yapılan baklagiller, içerisinde yaklaşık 700 cins ve 18.000–20.000 civarında türün bulunduğu en geniş üç familyadan biridir (Pekşen ve Artık, 2004; Anonim, 2014).

Phaseolus cinsinde bulunan türler arasında fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)'in dünyada yetiştirilen baklagillerin %75'ini kapsadığı ve en fazla yetiştirilen tür olduğu bildirilmektedir (Singh, 1999). Fasulye bir yıllık otsu bir bitkidir.

Yemeklik tane baklagiller %18-37 gibi yüksek oranda biyolojik değeri yüksek proteini, A, B ve D vitaminleri ve bazı mineral maddelerce zengin içeriği ve hayvansal kaynaklı proteinlere göre daha ucuz olması nedeniyle gıda kaynağı olarak son derece önemli bir yere sahiptirler. Ayrıca baklagil proteinleri insan beslenmesi için mutlaka dışarıdan alınması gerekli olan (esansiyel=olmazsa olmaz) amino asitlerce zengindir. Ayrıca çeşitli baklagiller hayvan yemi için kullanılmaktadır. İnsan ve hayvan beslenmesindeki öneminin yanı sıra baklagil bitkileri, girdikleri ekim nöbetlerinde yetiştirildikleri toprağı azot yönünden besleyen bitkilerdir. Baklagil bitkilerinin derinlere ulaşan kökleri hem toprağın fiziksel yapısını düzeltmekte hem de derinlerdeki besin maddelerini üst katmanlara çıkararak diğer bitkilerin kullanımına sunmaktadır. Ekim nöbetlerinde mutlaka yer alması gereken bitkilerdir (Pekşen ve Artık, 2004; Anonim, 2014).

Dünyada üretimi gerçekleştirilen baklagil bitkileri arasında ilk sırada yer alan fasulye, dünya genelinde ve özellikle subtropik kuşakta üretilmektedir. Dünya taze fasulye üretiminde %78.41'lik pay ile Çin ilk sırada yer almaktadır. Bunu sırasıyla Endonezya (%3.94), Türkiye (%2.94), Hindistan (%2.93), Tayland (%1.40) ve Mısır (%1.66) gibi ülkeler takip etmektedir (FAO, 2017). Dünya üretiminde %2.94' lük bir pay ile 3. sırada yer alan Türkiye, taze fasulyede lider ülkelerden biri durumundadır. 2016 yılı itibarıyla dünyada en önemli kuru fasulye üreticileri ise Myanmar (%19),

Hindistan (%14) ve Brezilya (%9)'dir. Türkiye aynı yıl dünya fasulye üretiminde binde 84'lük bir paya sahip olmuştur (TÜİK, 2016). Türk mutfağının ve özellikle dar gelirli ailelerin protein kaynağını oluşturan kuru fasulye ise toplam baklagil üretiminden %17 pay almaktadır.

Tohumdan üretilen fasulye hemen her tür toprakta yetişmektedir. En fazla yetiştirilen türler *Phaseolus vulgaris* L. ile *Phaseolus coccineus* L.'tir. Ülkemizde yetiştirilen fasulyelerin ise tamamı *P. vulgaris* türü içinde yer almaktadır. *P. vulgaris*'in, *P. vulgaris* var. *communis* (sırik fasulyesi) ve *P. vulgaris* var. *nanus* (yer fasulyesi) olarak iki formu bulunmaktadır. Ülkemizde fasulye yetiştiriciliği açıkta ya da örtü altı yetiştiriciliği şeklinde yapılmaktadır. Üretimi yapılan sebzeler arasında ilk sıralarda gelen fasulye, kullanım alanı çok geniş olan bir sebzedir. Yeşil veya tohum olarak tüketiminin yanında işlenmiş konserve sanayinde, turşu, dondurulmuş ve kurutulmuş olarak da kullanılmaktadır.

Türkiye ekonomisinde çok önemli bir yeri olan fasulye, yetiştirildiği bölgelerde çiftçinin önemli gelir kaynaklarından birisini oluşturmaktadır. Tüm bölgelerimizde üretimi yapılmakla beraber fasulye ekim alanları en çok İç Anadolu Bölgesinde yaygın olup, bunu Karadeniz Bölgesi (Samsun, Gümüşhane) ve Ege Bölgesi izlemektedir (Aydoğan vd., 2015).

Bu tez çalışmasının yürütüldüğü Burdur ili, Akdeniz ılıman iklimi ile İç Anadolu karasal iklimi arasındaki geçiş bölgesinde yer almaktadır. İl, iklim ve toprak yapısı açısından birçok sebzenin yetiştirilebildiği bir ekolojiye sahiptir. İlin bitkisel üretiminin büyük bir kısmını hububat, baklagiller ve yem bitkileri oluşturmaktadır. Fasulye, Burdur tarımı için son derece önemli ve ekonomik değer taşıyan en önemli ürünlerden biridir. Son yıllarda oldukça ivme kazanan fasulye yetiştiriciliği hem açık alanlarda hem de örtü altında yapılmaktadır. Yörede hem taze hem de kuru fasulye üretimi yapılmaktadır.

Türkiye, taze fasulye üretiminin yaklaşık %20-25'i Burdur'un en verimli ovaları olan Çine ve Merkez İnsuyu mevkisinden sağlanmaktadır. Burdur çiftçisinin ana gelir kaynaklarından olan ve Burdur'a para girdisi sağlayan bir ürün olan fasulye üretimi yaklaşık 30 yıldır bölgede yapılmaktadır. Burdur Tarım ve Orman İl Müdürlüğü'nün

2015 yılı verilerine göre ilk altı ürünün üretim alanı, üretim miktarı ve toplam gayri safi hasılası Çizelge 1 ve Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Burdur ilinde 2015 yılına ait açıkta sebze üretimi

Ürün Cinsi	Alanı (daa)	Üretim Miktarı (Ton)	Toplam Gayri Safi Hasıla (TL/Yıl)
Fasulye (taze)	10.634	20.003,64	60.010.920,00
Domates (sofralık)	9.485	40.581,70	50.727.125,00
Karpuz	7.153	33.534,50	16.767.250,00
Kavun	5.227	17.238,15	12.066.705,00
Havuç	1.678	3.696,00	3.696.000,00
Domates (salçalık)	1.107	3.503,73	2.627.797,50

Çizelge 1.2. Burdur ilinde 2015 yılına ait örtü altı sebze üretimi

Ürün Cinsi	Alanı (daa)	Üretim Miktarı (Ton)	Toplam Gayri Safi Hasıla (TL/Yıl)
Domates (sofralık)	4166	61524,6	92.286.900,00
Marul (göbekli)	398	744	1.488.000,00
Hıyar (sofralık)	328	4905	3.924.000,00
Ispanak	134	136	272.000,00
Fasulye (taze)	65	195	633.750,00

Fasulye bitkisinde görülen verim ve kalite kayıplarının en önemli nedenlerinden birisi de hastalıklar gelmektedir. Üretimi etkileyen ve verimi azaltan birçok canlı ve cansız etmenin yanı sıra yüksek protein içerikleri nedeniyle fasulye bitkisi hastalıklara ve zararlı böceklere karşı da hassasiyet göstermektedir. Dünya’da ve Türkiye’de fasulye alanlarında üretimi sınırlayan çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral etmen bulunmaktadır. Çeşitli ülkelerde fasulye üretiminde sorun olan virüslerin yol açtığı hastalıklar ülkemizde de görülmekte ve zaman zaman ürün kayıplarına neden olmaktadır.

Virüslere karşı etkin bir mücadelenin olmayışı bu hastalıkların önemini günden güne daha da artırmaktadır (Agrios, 1997). Gerek etkili kimyasal mücadelenin uygulanamaması ve gerekse diğer kontrol yöntemlerinin de üretici tarafından yeterli

düzyeyde bilinmeyişi nedeniyle viral enfeksiyonlardan kaynaklanan kayıplar giderek artmaktadır. Baklagil bitkilerini etkileyen 140' tan fazla virüsün bulunduğu ve en fazla enfekte edilen türün *P. vulgaris* olduğu bildirilmiştir (Edwardson ve Christie, 1991; Loebenstein ve Carr, 2006). Virüsler bitki tohumları ile yıldan yıla, yıl içerisinde de vektörlerle ya da mekanik olarak taşınarak yayılmaktadır. Böylece, her yıl hastalıklı bitki sayısı artmakta ve buna paralel olarak da verimde devamlı olarak azalma meydana gelmektedir (Yılmaz vd., 1995). Virüslerin etkileri, hafif simptomlardan, kültür bitkilerinin üretildiği geniş alanların yok olması şeklindeki felâketlere kadar uzanabilmektedir.

Dünyada baklagil bitkilerini etkileyen çok sayıda virüsler arasında *Bean common mosaic virus* (BCMV), *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV), *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Clover yellow vein virus* (CYVV) *Tobacco ve tomato ringspot virus* (TRSV ve TmRSV), *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Soybean mosaic virus* (SMV) ve *Watermelon mosaic virus 2* (WMV-2)'lerinin yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Zitter ve Provvidenti, 1984; Provvidenti, 1996).

Fasulye sarı mozaik virüsü (*Bean yellow mosaic potyvirus*- BYMV) dünyada baklagil yetiştiriciliği yapılan her yerde yaygındır. *Potyviridae* familyasına bağlı *potyvirus* cinsine dahil olan BYMV, 750 nm uzunluğunda 12-15 nm genişliğinde esnek çubuk şeklinde partikül yapısına sahiptir. Linear tek sarmal RNA genomu içeren virüsün çok sayıda ırkı bulunmaktadır. 50'den fazla afit türüyle taşınan BYMV'nün en önemli vektörleri, *Acyrtosiphon pisum*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis fabae*, *Aphis gossypii*, *Aulacorthum solani*, *Brevicoryne brassicae*, *Rhopalosiphum maidis* ve *Myzus persicae*'dir. BYMV, yaprak bitleri ile non-persistent yolla taşınmaktadır. Ayrıca mekanik olarak bitki öz suyu ile, tarımsal ekipmanlarla ve acı bakla (*Lupinus albus*, *L. luteus*), bakla (*Vicia faba*) ve çayır üçgülü (*Trifolium pratense*) gibi bazı baklagillerde ise düşük oranda (%3) tohumla taşınmaktadır. Fasulyede tohumla taşınmamaktadır. Virüsün yıldan yıla taşınmasında çok yıllık baklagil bitkileri, çiçekler ve yabancı otlar da etkilidir.

İlk kez 1925 yılında ABD ve Hollanda'da üretilen fasulyelerde varlığı bildirilen BYMV şu anda dünya çapında dağılmış ve yayılmış bir virüstür. Konukçu dizisi

sadece baklagil bitkilerinden ibaret değildir. Virüsün 14 familyadan yaklaşık 200 tür bitkiyi enfekte edebildiği bildirilmiştir. Yemelik baklagiller, çayır meralardaki baklagil yem bitkileri, tropikal baklagiller ve süs bitkileri virüsün konukçuları arasında önemli yer tutmaktadır. Özellikle *Iridaceae* familyasında bulunan Glayöl türleri BYMV'den oldukça fazla etkilenmektedirler (Sharma vd.,2015).

BYMV ile enfekteli bitkilerde ortaya çıkan belirtiler virüsün ırkına, fasulye çeşidine, ortam koşullarına ve bitkinin enfekte olduğu döneme göre değişmektedir. Virüsle bulaşık bitkilerde tipik belirtiler yapraklarda parlak sarı mozaik renkte lekeler ve beneklenmedir. Belirtiler yaşlı yapraklarda daha belirgindir. Yapraklarda sertleşme, aşağı doğru kıvrılma ve kırışıklık oluşabilmektedir. Erken enfeksiyonlarda bitkide bodurlaşma ve geç dönemde çiçeklenme ve meyve tutma gözlenmektedir. Erken enfekte olanlarda kapsül ve ürün kaybı yüksek olmakta ve bitki yavaş gelişme sergilemektedir. Sarılıcı ve yarı sarılıcı tipteki fasulyelerde şiddetli enfeksiyonlarda sürgün uçlarındaki nekrozlardan geriye doğru ölüm oluşmaktadır. Baklalarda genellikle belirti görülmemekle birlikte bazen bakladaki tohum sayısında azalma ortaya çıkabilmektedir. Virüsün şiddetli enfeksiyonlarının kırmızı Meksika fasulyesinin kapsül veriminde %33, üründe %41, baklada %90'ın üzerinde verim kaybına neden kayba neden olduğu bildirilmiştir (Hampton,1975)

Glayöl, acı bakla ve bazı fiğlerde yapraklarda çizgi mozaik lekeler, biçim bozukluğuna, soya, bakla, yonca ve üçgüllerde yapraklarda mozaığe neden olmaktadır. Bezelyede yapraklarda mozaik ve sürgün uçlarında nekrozlar meydana gelmektedir.

Tüm virüslerle olduğu gibi BYMV ile mücadelede de en etkin yol dayanıklı çeşitlerin kullanılmasıdır. Günümüzde bu yöndeki çalışmalar devam etmektedir. Ülkemizin tüm yörelerinde yetiştirilen ve kültürümüzde ağırlıklı bir yeri olan fasulye bitkisinde sorun olan viral hastalıkların saptanarak bu doğrultuda etkili mücadele yöntemlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Bu çalışmada dünyadaki üretim alanlarında en önemli ve yaygın olan ve ciddi boyutlarda verim ve ürün kaybına yol açtığı çeşitli çalışmalarla ortaya konan, BYMV'nün Burdur yöresindeki fasulye üretim alanlarında varlığı araştırılmıştır.

Ülkemizde yetiştirilen fasulye bitkilerinde bulunan virüs hastalıklarının belirlenmesine yönelik çalışmalarda Tokat, Samsun ve Burdur illerindeki fasulye üretim alanlarında BCMV, BCMNV ve CMV virüs enfeksiyonları saptanmıştır (Kutluk Yılmaz vd., 2002; Deligöz ve Sökmen, 2011; Çulal Kılıç vd., 2013; Çulal Kılıç ve Yardımcı, 2012; Çulal Kılıç ve Yardımcı, 2013). Ancak dünyadaki fasulye üretim alanlarında sıklıkla görülen ve oldukça tahripkar olan Fasulye Sarı Mozayik Virüsü (BYMV)'nün varlığına dair çalışma sayısı oldukça sınırlıdır.

Burdur ili İnsuyu bölgesindeki fasulye üretim alanlarına daha önce yapılan sörveylerde fasulye bitkilerinde gözlemlenen belirtiler ve yoğun yaprak biti popülasyonu daha önce tespit edilen diğer virüslerin yanı sıra BYMV'nün de bulunabileceği düşüncesini doğurmuştur. BYMV'nün varlığının araştırılması için Serolojik test yöntemi olan ELISA'dan yararlanılmıştır. Bu amaçla fasulye üretiminin yoğun olarak yapıldığı alanlarda sörveyler yapılarak fasulye sarı mozaik virüsünün tipik semptomlarını sergileyen yaprak örnekleri alınmıştır. Virüs şüpheli yaprak örneklerinde BYMV'nün varlığı, yaygın kullanılan ve rutin testlemelerde tavsiye edilen ELISA ile ortaya konmuştur. Ayrıca indikatör bitkilerle semptomatolojik çalışmalar yürütülmüştür. Fasulye üretiminde nitelikli olmanın yanı sıra dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi ve bu çeşitlerin üretim alanlarında yer alabilmesi için gerekli stratejilerin belirlenmesinde öncelikle yörelerin bitkilerinin hastalık profilinin belirlenmesine gereksinim vardır. Burdur'da yetiştirilen fasulye üretim alanlarında BYMV'nün varlığının ilk kez ortaya konulduğu bu araştırma sonuçları daha sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünyada oldukça fazla miktarda üretilen ve tüketilen başlıca baklagillerden biri olan fasulye bitkisinde çok sayıda viral etmen hastalığa neden olmaktadır. 1988 yılında Morales ve Bos tarafından doğada fasulye bitkisinde enfeksiyona neden olan 44 civarında virüsün bulunduğu bildirilirken, Edwardson ve Christie (1991) baklagil bitkilerini etkileyen 140'tan fazla virüsün bulunduğunu ifade etmişlerdir. Baklagiller içerisinde ise virüsler tarafından en fazla enfekte edilen türün ise *P.vulgaris* olduğu bilinmektedir (Loebenstein ve Carr, 2006).

Fasulye üretim alanlarında önemli verim kayıplarına yol açan *Alfavirus*, *Bromovirus*, *Comovirus*, *Cucumovirus*, *Begomovirus*, *Ilarvirus*, *Luteovirus*, *Potyvirus*, *Sobemovirus*, *Tobamovirus*, *Tobacco necrosis* ve *Tospovirus* cinsinde yer alan en az 30 virüs hastalığı tanımlanmıştır (Mathews, 1982; Hall, 1991; Loebenstein ve Thottappilly, 2004).

Fasulye bitkisini enfekte eden ve ekonomik düzeyde zararlı olanların çoğu *Potyviriidae* familyasında ve *Potyvirus* cinsinde bulunmaktadır. Potyviruslerden, *Bean common mosaic potyvirus* (BCMV), *Bean common mosaic necrosis potyvirus* (BCMNV) ve *Bean yellow mosaic potyvirus* (BYMV) fasulye üretim alanlarında sık rastlanan ve zararı fazla olan virüsler arasında yer almaktadır. (Brunt vd., 1996; Kumar vd., 1994; Florez –Estevez vd., 2003).

Viral hastalıkların fasulyedeki zararı çeşidin hassasiyetine, enfeksiyonun olduğu dönemde bitkinin gelişme dönemine, çevresel faktörlere ve bu faktörlerin vektör aktivitesine olan etkilerine bağlıdır (Petrovic vd., 2010). Virüsün bir tarladaki bitkilerin neredeyse tamamını etkileyerek, üründe %30-40 verim kaybına sebep olduğu bildirilmiştir (Provvidenti, 1994).

Baklagillerin yetiştirildiği alanlarda sık olarak görülen *Bean yellow mosaic virus* (BYMV) ilk olarak enginarıda, kaydedilmiştir (Russo ve Rana ,1978; Rana ve Kyriakopoulou, 1980). Fasulye bitkisinde ise 1993 yılında Pierce tarafından saptanmıştır (Pierce, 1993). BYMV'nin enfekte ettiği fasulye bitkilerinin yapraklarında konukçu çeşidine, virüs ırkına ve enfeksiyon zamanına bağlı olarak;

yapraklarda sarı mozaik veya mozaik lekeleri, bodurluk, deformasyon, çukurlaşma, buruşma, damar bantlaşması ve klorozise kadar değişen tipte belirtiler görülmektedir. BYMV'nün bazı izolatları, duyarlı fasulye çeşitlerinde apikal tomurcuk nekrozu nedeniyle bitkinin ölümüne yol açmaktadır. Monokotiledon ve dikotiledon bitki familyalarında bulunan çok sayıda bitki bu virüsten etkilenmektedir (Wylie vd., 2008). Virüsün konukçuları arasında fasulye, bezelye, soya, bakla, acı bakla gibi kültür bitkileri, yonca, ak üçgül, kırmızı üçgül, fiğ gibi yem bitkileri ve bazı süs bitkileri yer almaktadır (Bos, 1970).

Virüsün ipliksi partikülleri 750 nm uzunluğunda, 12-15 nm genişliğinde ve tek sarmal RNA'dan oluşmuştur (Fauquet vd., 2005). Virüs, *Acyrtosiphon pisum*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis fabae*, *Aulacorthum solani* ve *Myzus persicae* gibi birçok yaprak biti türü ile non-persistent yolla, mekanik olarak bitki öz suyu ile, tarımsal ekipmanlarla, acı bakla (*Lupinus albus*, *L. Luteus*), bakla (*Vicia faba*) ve çayır üçgülü (*Trifolium pratense*) gibi bazı baklagillerde düşük oranda (%3) tohumla taşınmaktadır. Fasulyede (*Phaseolus vulgaris*) tohumla taşınmamaktadır. BYMV tohum ile taşınmamakla birlikte mekanik olarak ve afit vektörleriyle diğer konukçularından fasulyeye kolayca taşınır ve yayılır. Sıcaklık ve nem koşulları afit vektörlerinin etkinliği açısından önemlidir (Provvidenti, 1994). BYMV mekaniksel inokulasyon ile başarılı bir şekilde taşınmaktadır. Mekaniksel inokulasyonda kullanılan bitki türleri arasında; *Gomphrena globosa*, *Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Vicia faba* yer almaktadır. Virüsün muhafazası ve çoğaltımı amacıyla kullanılan bitki türleri *P. sativum*, *V. faba*, *P. vulgaris* ve *N. clevelandii*'dir.

Türkiye, baklagillerin üretim ve tüketim oranları açısından dünyada önemli bir yere sahiptir. Türkiye'de tarla bitkileri üretimi yapılan toplam alanın yaklaşık %74'ünü oluşturan tahıllardan sonra %8.3'lük bir oranla ikinci sırada yer alan yemeklik tane baklagillerden birisi olan fasulye ülkemizin önemli bir ürünüdür. Toprak dostu, çiftçi dostu olmasının yanı sıra tüketicinin tercih edebileceği çok sağlıklı ve besleyici ürünler olan baklagillere gereken önem verilmemektedir. Dünyada fasulye ekiliş alanlarında önemli verim kaybına yol açan virüs hastalıklarının ülkemizdeki durumunu ortaya koyan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır Açıkgoz (1984), Fidan ve Yorgancı (1989), Gümüş vd., (2001) tarafından yapılan çalışmalarda fasulye

bitkilerinde farklı virüs enfeksiyonları belirlenmiştir. Açıkgöz ve Çıtır, (1986); Fidan ve Yorgancı, (1989) yıllarında yürütmüş oldukları çalışmalarda Fasulye Adi Mozayik Virüsü (BCMV) ve Fasulye Sarı Mozayik Virüsü (BYMV) Erzincan yöresi ve Batı Anadolu'daki en yaygın ve zararlı viral hastalıklar olarak tespit edilmiştir (Açıkgöz ve Çıtır, 1986; Fidan ve Yorgancı, 1989).

Tokat ili ve çevresindeki ilçelerden alınan fasulye tohum örneklerinde BYMV'nün araştırıldığı bir çalışmada fasulye tohum örneklerinde BYMV enfeksiyonlarına rastlanılmamıştır (Kutluk Yılmaz vd., 2002). Samsun ilinde yapılan bir çalışmada ise fasulye alanlarından toplanan 499 yaprak örneğinin %36'sının BCMV, %10.8'inin CMV, %2.8'inin BCMNV, %2'sinin ise BYMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Güzel ve Arlı-Sökmen, 2003).

2008 yılında Suriye'de yapılan bir çalışmada fasulyelerde BYMV enfeksiyonu serolojik testler, mekaniksel inokulasyon çalışmaları ve kılıf protein ile yapılan PCR çalışmaları ile gerçekleştirilmiştir (Al-Khalaf vd., 2008).

2014 yılında Arjantin'de yapılan bir çalışmada soya fasulyesi üretim alanlarında sarı mozayik yaprak belirtileri görülen bitki örnekleri ile yapılan serolojik testler, transmission elektron mikroskopik yöntemler ve RT-PCR ile etmenin BYMV olduğu belirlenmiştir (Campos vd., 2014).

Duraisamy vd. (2011) tarafından mozayik belirtilerinin gözlemlendiği glayöl bitkilerinde BYMV enfeksiyonunun belirlenmesinde serolojik ve moleküler yöntemlerden yararlanılmıştır. Çalışmada bu amaçla DAS-ELISA, one step RT-PCR,real time (rt)-RT-PCR ve IC-RT-PCR yöntemleri kullanılmıştır.

2015 yılında Hindistan'da sarı mozayik belirtisi görülen fasulye bitkilerinin yaprakları ile yapılan çalışmalarda etmenin BYMV olduğu belirlenmiştir. Virüsün mekaniksel inokulasyonu başarı ile gerçekleştirilmiş, DAS ELISA çalışmaları ile kılıf protein geninin çoğaltılması ve analizi etmenin BYMV olduğunu doğrulamıştır (Sharma vd., 2015).

2014 yılında İnan'da yapılan bir çalışmada fasulyede görülen en yaygın virüslerin potyvirusler olduğu ifade edilmiştir. İnan'ın Kerman bölgesinde simptom sergileyen 520 fasulye bitki rneğinde BYMV'nn varlığı araştırılmıştır. Bu amaçla ELISA testleri ve RT-PCR alışmaları yapılmıştır. Çalışmada rnekerin %20.7 oranında BYMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca virüsün CP genine spesifik primerler ile yürütülen PCR alışmalarında BYMV açısından beklenen seviyede 900 bp'lik kısım çoğaltılmıştır (Hosseini ve Hosseini, 2014).

Mısır'da 2017 yılında yapılan bir çalışmada BYMV şüpheli acı bakla (*Lupinus albus*) bitkilerinden alınan yaprak rnekeri ile yürütülen mekaniksel inokulasyon çalışmaları ile PCR alışmaları sonucunda etmenin BYMV olduğu saptanmıştır (Barakat ve Torky, 2017).

Portekiz'de 2005 yılında çok yaygın olarak klorotik lekelenme ve çizgi simptomları sergileyen *Dactylorhiza foliosa* orkide türündeki etmeni tanılamak amacıyla bir çalışma yrtlmştir. Çeşitli virüslerin araştırıldığı DAS-ELISA testleri sonucunda bitki rnekerinde sadece BYMV'ünün varlığı saptanmıştır. Transmission elektronmikroskopik çalışmalarda yaklaşık 750 nm uzunluğunda potyvirus-benzeri partiküller gözlenmiştir. Ayrıca RT-PCR alışmaları ile virüse özgü beklenen seviyede bant elde edilerek virüsün varlığı doğrulanmıştır. Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında *Chenopodium quinoa* yapraklarında klorotik lokal lezyonlar ve *Nicotiana benthamiana*'da ise bükülme ve mozayik belirtileri ortaya çıkmıştır (Skelton vd., 2007).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Sörvey alanı ve çalışma materyali

Burdur tarımı için son derece önemli ürünlerden biri olan fasulye üretimi merkeze bağlı İnsuyu mevkinde 20 yıl önce yaklaşık 1000 dekar arazide başlamış ve bugün 15 bin dekar alana ulaşmıştır. Burdur'un Merkez, Ağlasun, Altınyayla, Bucak, Çavdır, Çeltikçi, Gölhisar, Karamanlı, Kemer, Tefenni ve Yeşilova ilçelerinde fasulye yetiştiriciliği yapılmakla birlikte Merkez, Çavdır, Bucak ve Çeltikçi başı çekmektedir. İnsuyu mevki ve Çine köyü taraflarında su kaynağının bol olması ve tarlaların verimli olması nedeniyle taze fasulye üretiminin önemli bir kısmı bu bölgeden sağlanmaktadır. Ayrıca örtü altı yetiştiriciliğinde, 10 bin dekarı aşan Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına kayıtlı sera varlığı ile ülkede dördüncü sıraya gelmiş ve her geçen gün Burdur'un sera varlığı artmaktadır. İl'de fasulye üretimi hem örtü altında hem de açıkta yapılmaktadır.

Bu çalışmada 2017-2018 yıllarında fasulye yetiştirme sezonu boyunca Burdur ilinin 9 ilçesinde ve bu ilçelere bağlı köylerdeki fasulye üretim alanlarında sörvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sörveyler sırasında mozayik lekelenme, yaprak deformasyonu, büyüme geriliği, yaprakta kıvrılma, bükülme, kabarcıklanma, klorotik ve nekrotik lekeler şeklinde virüs benzeri belirtiler sergileyen bitkilerden yaprak örnekleri alınmıştır. Çarpıcı virüs belirtisi sergileyen bitki örnekleri fotoğraflanmıştır.

Çalışmanın materyalini, virüsle enfekteli olduğundan şüphelenilen fasulye bitkilerinin yaprak örnekleri oluşturmuştur. Arazi çıkışlarında toplamda 443 yaprak örneği alınmıştır. Örnek alınan yerler ve alınan örnek sayısı Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Sörvey yapılan yerler, yaprak örnek sayıları

Sörvey Yapılan Yer	Yaprak Örnek Sayısı
Merkez	308
Bucak	14
Yeşilova	18
Tefenni	23
Çavdır	20
Çeltikçi	28
Karamanlı	13
Dirmil	9
Kemer	10
Toplam	443

Alınan yaprak örnekleri polietilen torbalara içerisine örneğin alındığı yer, örnek alınma tarihi yazılarak etiketlenmiş ve virüs kontrasyonunda herhangi bir kayıp yaşanmaması için buz kutularına konulmuştur. Örnekler serolojik çalışmaların gerçekleştirileceği zamana kadar Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji laboratuvarında bulunan derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Serolojik çalışmalarda kullanılan materyal

Sörveyler sırasında, BYMV ile bulaşık olduğundan şüphelenilen fasulye yaprak örnekleri DAS-ELISA çalışmalarında materyal olarak kullanılmıştır. DAS-ELISA testleri Clark ve Adams (1977)'in önerdiği şekilde yürütülmüştür. Serolojik çalışmalarda Loewe firmasından (Loewe, Almanya) temin edilen BYMV'ne spesifik ELISA kitleri kullanılmıştır. ELISA çalışmalarında düz tabanlı, 96 kuyu içeren ELISA pleytleri, tampon çözeltiler ve Versamax optik okuyucudan yararlanılmıştır.

Ayrıca çalışma sırasında otomatik pipetler, ependorf tüpleri, pipet uçları, otoklav, örnek ezme torbaları, örnek ezme aleti, otoklav, derin dondurucu, buzdolabı, saf su cihazı, çeşitli cam malzemeler ve sarf malzemelerden yararlanılmıştır.

Fasulye üretilen alanlardan alınan ve sergilediği belirtilere göre virüsle enfekteli olduğu tahmin edilen 443 yaprak örneğinin tamamı DAS ELISA ile testlenmiştir. Yapılan testlerde örnekleri karşılaştırmada ELISA kiti içerisinde bulunan negatif ve pozitif kontroller kullanılmıştır. Reaksiyonu takiben ilk 30 ve 60 dakikadan sonra örnekler 405 nm dalga boyundaki ELISA okuyucuda okunmuştur. Negatif absorbans değerinin iki katı ve daha fazla absorbans değerine sahip olan örneklerde enfeksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.1.3. Mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan materyal

ELISA testlerinde BYMV pozitif olduğu belirlenen bitkilerin taze bitki dokuları mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılmıştır. Simptomları gözlemek üzere kullanılan test bitkileri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Yapılan inokulasyon çalışmalarında steril havan ve havan eli, fosfat tampon çözeltisi (250 ml için 0.34 gr KH_2PO_4 ve 250 ml için 0.89 gr $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, pH; 7.2) %0.1 mercaptoethanol, karborandum tozu, tül bent bezi ve çeşme suyu kullanılmıştır. Mekanik inokulasyon çalışmaları Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi Bitki Koruma Bölümü ait bitki büyüme kabinlerinde gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. Mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan test bitkileri

Türkçe Adı	Latince Adı
Tütün	<i>Nicotiana rustica</i> L.
	<i>Nicotiana glutinosa</i>
	<i>Nicotiana benthamiana</i>
	<i>Nicotiana tabacum</i> L. cv. Samsun-NN
	<i>Nicotiana tabacum</i> cv. White Burley
	<i>Nicotiana tabacum</i> L. “Xanthii”
Fasulye	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.

Çizelge 3.2. Mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan test bitkileri(Devam)

Acı Bakla	<i>Lupinus sp</i>
Soya fasulyesi	<i>Glycine max</i>
Kazayağı	<i>Chenopodium amaranticolor</i>

3.2. Yöntem

3.2.1. DAS-ELISA Çalışmaları

Fasulye üretim alanlarına yapılan sörveyler sırasında BYMV belirtisi sergileyen bitkilerin yapraklarından hazırlanan örneklerin tamamı DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Örnek ezme torbalarına konan 1'er gr örneklere 10 ml ekstraksiyon tampon solüsyonu ilave edilerek doku homojenizatörü ile ezilmiştir. Elde edilen bitki özsuyu ependorf tüplerine aktarılmıştır. Bu şekilde hazırlanan tüm örnekler buz kutuları içerisinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. ELISA testlerinde kullanılan her bir pleyt için iki negatif ve iki pozitif örnek kullanılmıştır. DAS-ELISA testleri Clark ve Adams (1977)'in önerdiği aşağıdaki şekilde uygulanmıştır:

3.2.2. ELISA testinin yapılışı:

1. ELISA pleytinin kuyucukları virüslere spesifik antikor ile kaplanarak 37 °C'de 4 saat buzdolabında bekletilmiştir.
2. Kuyucuklar yıkama tamponu (PBS Tween Buffer) ile 3 kez yıkanmıştır.
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. Pleytler hızlı bir şekilde ters çevrilerek örnekler boşaltılmıştır. 3 kez yıkanmıştır.
5. Yıkama işleminin ardından çukurlara Konjugat Buffer (1:5 oranında seyreltilmiş ECL Buffer) içerisinde 1:100 oranında sulandırılarak hazırlanan konjugat (alkaline phosphatase enzimi işaretli) ELISA pleytinin her çukuruna 100 µl ilave edildikten sonra 37°C de) 4-5 saat inkübasyona bırakılmıştır.

6. İnkübasyonun ardından pleytler ters çevrilerek boşaltılmış ve 3 kez yıkanmıştır.
7. Yıkama işleminin ardından çukurlara Substrat eklenerek oda sıcaklığında 15-20 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
8. İnkübasyon süresinin ardından ELISA pleytleri Versamax optik okuyucusunda 405 nm dalga boyunda değerlendirilmiştir. Değerlendirme aşamasında negatif kontrolün iki ve iki katından fazla absorbans değerine sahip örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir (Stellmach, 1985).

3.2.3. Mekaniksel inokulasyon çalışmaları

BYMV'nün test bitkilerindeki simptomlarını belirlemek amacıyla mekaniksel inokulasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla daha önce çeşitli araştırmalarda BYMV'nün tanılama çalışmalarında kullanılan bitkiler kullanılmıştır (Valkonen,1993) (Çizelge 3.2). Küçük tohumlu bitkilerin tohumları önce fidelik olarak kullanılan saksılara ekilmiştir. Çimlendikten sonra saksılara şaşırtılmıştır. Baklagil tohumları ise doğrudan saksılara ekilmiştir. Yetiştirme ortamı olarak 2: 1: 1 oranında steril toprak, kum ve ahır gübresi karışımı kullanılmıştır. Bitkiler 12 cm çapında ve 15 cm yüksekliğinde plastik saksılarda yetiştirilmiştir. Bitkiler 20 ± 2 °C'ye ayarlanmış en az 4000 lüks aydınlatma kapasitesine sahip 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olan iklim odasında muhafaza edilmiştir. Bitkiler, hastalık ve zararlı yönünden araştırma boyunca periyodik olarak kontrol edilerek gerekli önlemler alınmıştır. Çalışmaların yürütüldüğü iklim odasındaki test bitkileri Şekil 3.1.'de görülmektedir.



Şekil 3.1. İklim odasında yetiştirilen test bitkileri

Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında ELISA testleri sonucunda pozitif reaksiyon veren bitkilerden hazırlanan inokulum, test bitkilerine 3-4 yapraklı dönemlerinde inokule edilmiştir. İnokulum olarak kullanılacak yaprak örnekleri bir gün öncesinden havan içerisine konularak havaneli ile birlikte -20°C ' de bekletilmiştir. Fosfat tampon (250 ml için 0.34 gr KH_2PO_4 ve 250 ml için 0.89 gr $\text{NA}_2\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, pH; 7.2) solüsyonu ve %0.1'lik 2-Mercaptoethanol içerisinde ezilerek hazırlanan inokulum karborandum tozu serpiyen test bitkilerine iki katlı tülbent bezi yardımıyla hafif bir şekilde sürülmüştür. Birkaç dakika sonra ise çeşme suyu ile yıkanmıştır. Test bitkilerinde oluşan belirtiler fotoğraflanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Sörvey Çalışmaları

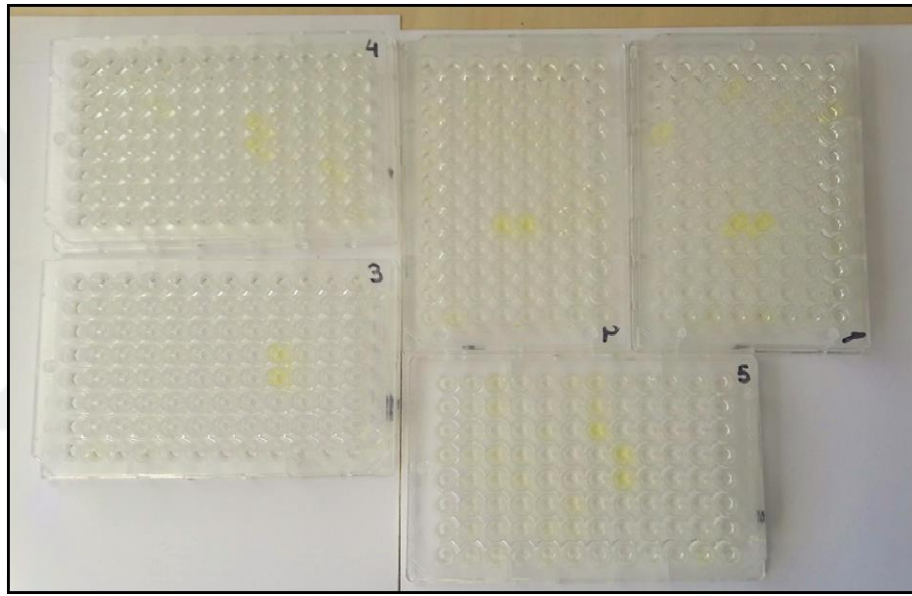
Fasulye üretim alanlarına yapılan sörvey çalışmaları sırasında bitkilerde yaygın olarak yapraklarda mozaik, sararma, Şekil bozukluğu, bodurlaşma gibi virüs benzeri belirtiler sergileyen bitkilerin yapraklarından örnekler alınmıştır. Şekil 4.1.'de Virüs Şüpheli fasulye yapraklarının fotoğrafları çekilmiŐtir.



Şekil 4.1. Sörvey alanındaki fasulye bitkilerinin yapraklarında klorotik beneklenme, mozaik ve Şekil bozukluğu belirtileri

4.2. DAS-ELISA Test Sonuçları

Sörveyler sırasında toplanan ve virüs enfeksiyonu belirtisi sergileyen toplam 443 adet yaprak örneğinde BYMV'ünün bulunma durumunu belirlemek için DAS-ELISA testleri gerçekleştirilmiştir. Test sonuçları ELISA okuyucuda değerlendirilmiştir. 405 nm dalga boyunda okunan değerlere göre sağlıklı kontrol değerinin iki katı ve daha fazlası değer veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. Ayrıca kolorimetrik değerlendirmede pozitif reaksiyon veren örneklerin bulunduğu çukurlarda sarı renk oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. DAS-ELISA testinde pozitif reaksiyon veren örneklerin bulunduğu çukurlarda sarı renk oluşumu.

DAS ELISA test sonuçları 443 adet şüpheli yaprak örneğinin 97 adetinde BYMV enfeksiyonunun var olduğunu göstermiştir. Örneklerin genelinde BYMV ile bulaşıklık oranı %21.89 olarak saptanmıştır. Örnek alınan farklı lokasyonlardaki BYMV enfeksiyon oranları göz önüne alındığında Yeşilova fasulye yaprak örneklerinin %77.77 lik bir oranla ilk sırada yer aldığı görülmektedir. Bunu % 61.53'lük oranla Karamanlı, %60 ile Kemer, %.35.71 ile Bucak, %20 ile Çavdır, %17.85 ile Çeltikçi, %16.88 ile Burdur merkez ve %13.04 ile Tefenni ilçesinden alınan örnekler izlemektedir. Dirmil ilçesinden alınan fasulye yaprak örneklerinde ise BYMV enfeksiyonu saptanmamıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Burdur iline ait sörvey ve ELİSA testinin sonuçları.

Örnek Alınan Yer	Örnek Sayısı	BYMV'lü örnek sayısı	BYMV bulunma oranı (%)
Burdur Merkez	308	52	16.88
Bucak	14	5	35.71
Yeşilova	18	14	77.77
Tefenni	23	3	13.04
Çavdır	20	4	20.00
Çeltikçi	28	5	17.85
Karamanlı	13	8	61.53
Dirmil	9	-	-
Kemer	10	6	60.00
Toplam	443	97	21.89

4.3. Mekaniksel İnokulasyon Çalışmaları

DAS-ELISA testleri sonucunda BYMV ile bulaşık olduğu saptanan ve yüksek absorbans değerine sahip yaprak dokuları ile mekaniksel inokulasyon çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmalarda bazı test bitkilerinde gelişen belirtiler Çizelge 4.2'de, test bitkilerinde gözlenen bazı belirtiler Şekil 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. BYMV izolatuının indikatör bitkilerde neden olduğu belirtiler

Türkçe Adı	Latince Adı	BYMV
Tütün	<i>Nicotiana rustica</i>	Mo*
	<i>N. glutinosa</i>	-
	<i>N. benthamiana</i>	-
	<i>N. tabacum</i> L. cv. Samsun-NN	-
	<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	-
	<i>N. tabacum</i> L. "Xanthii"	-
Fasulye	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Mo*,Def*,KL*
Acı Bakla	<i>Lupinus sp.</i>	Mo*,Def*
Soya fasulyesi	<i>Glycine max</i>	Mo*,Def*
Kazayağı	<i>Chenopodium amaranticolor</i>	-

*Mo: Mozaik, * Def: Deformasyon, * KL: Kloroz.



(a)



(b)

Şekil 4.3. BCMV ile inokule edilen a) Fasulye ve b)Tütün bitkisinde tipik mozaik belirtileri

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Tarımsal üretim için uygun iklim ve sulama koşullarına sahip olan Burdur ilinde sebze çeşitliliği oldukça fazladır. Bu durum birçok hastalık ve zararlı etmenin görülmesini kaçınılmaz kılmaktadır. Tüm kültür bitkilerinde olduğu gibi sebze üretim alanlarında da sorun olan ve ekonomik kayıplara yol açan etmenlerden birisi de virüslerdir. Viral etmenlerle kimyasal bir mücadele yolunun bulunmaması, vektörler vasıtasıyla uzak ve geniş alanlara yayılma potansiyelinin yüksek olması ve yetersiz ve etkisiz vektör mücadelesi nedeniyle virüs hastalıkları tarım ürünlerinde giderek artan bir öneme sahiptirler.

Ülkemizde insan beslenmesinde tahıllardan sonraki en büyük paya sahip olan fasulye yetiştiriciliğinde sorun olan virüs enfeksiyonlarının bir kısmı belirlenmiştir. Fasulye yetiştiriciliği açısından önemli bir paya sahip olan Burdur ilinde fasulye üretimine etki eden bazı viral etmenlerin saptanmasına yönelik birtakım çalışmalar mevcuttur. Ancak dünyadaki fasulye üretim alanlarını tehdit eden ve ekonomik anlamda büyük kayıplara neden olan BYMV ülkemizde fazlaca ele alınmamıştır. Yaprak bitleri ile etkili bir şekilde çok geniş alanlara kolayca taşınabilen bir virüs olması BYMV'nün önemini daha da arttırmaktadır. Bu çalışmada ülkemizin toplam fasulye üretiminde önemli bir paya sahip olan Burdur ilinde herhangi bir çalışma bulunmayan BYMV'nün durumunun ortaya konması amaçlanmıştır. Bilindiği gibi virüs hastalıkları ile mücadele edebilmek için öncelikle etmenin saptanması ve kesin tanısının yapılması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında Burdur Merkez, Bucak, Yeşilova, Tefenni, Çavdır, Çeltikçi, Karamanlı, Dirmil ve Kemer ilçelerinde fasulye üretimi yapılan alanlarda mozaik, sarıma, şekil bozuklukları, bodurlaşma gibi virüs belirtileri aranmış ve yaprak örnekleri bu tarz belirtilere sahip olan bitkilerden alınmıştır (Kutluk Yılmaz vd., 2002; Melgarejo vd., 2007; Abtahi vd., 2009; Pudashini vd., 2013). Yaprak örneklerinde BYMV'nün tanınması biyolojik ve serolojik yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Virüs semptomlu 443 adet yaprak örneği DAS-ELISA yöntemiyle testlenmiş ve örneklerin 97 adetinin (%21.89) bu virüs ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Virüsün tanılama çalışmalarında yaygın kullanımı olan ve yapılan çeşitli çalışmalarda önerilen bir yöntem olan ELISA testleri sonucunda, BYMV'nün

Burdur ilindeki fasulye üretim alanlarında varlığı ortaya konmuştur. Bu virüsün aranması amacıyla daha önce yapılan çalışmalarda da DAS-ELISA testleri kullanılmış ve değişen oranlarda bulaşıklık değerleri belirlenmiştir. (Duraisamy vd., 2011; Campos vd., 2013; Hosseini ve Hosseini, 2014; Sharma vd., 2015).

Mekaniksel inokulasyon çalışmalarında BYMV, tütün türlerinden sadece *N. rustica*'da hafif mozaığe yol açarken fasulye, acı bakla ve soya fasulyesinde mozaığe ilaveten, yapraklarda şekil bozukluğu meydana gelmiştir. *Chenopodium amaranticolor* bitkisinde herhangi bir belirti elde edilememiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda fasulye de virüs etmenlerinin bitkide genellikle karışık enfeksiyonlar halinde bulunduğu ve simptomatolojik çalışmalarda farklı belirtiler olabileceği bildirilmiştir. Sharma vd. (2015) BYMV'nün mekaniksel inokulasyonlar sonucunda bitkilerde sarı mozaik, deformasyon ve daha sonra bodurluğa yol açtığını ifade etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen belirtiler daha önce yapılmış çalışmalarla paralellik göstermektedir. Enfekteli bitkilerde ortaya çıkan belirtiler virüslerin irkına, fasulye çeşidine, ortam koşullarına ve bitkinin enfekte olduğu döneme göre değişmektedir. Kullanılan fasulye türlerinin tolerant ya da duyarlı olması meydana gelecek belirtilere etki etmektedir. Bazen de kullanılan bitki belirti göstermeksizin taşıyıcı olabilmektedir. Bu nedenle mekaniksel inokulasyon yönteminin tek başına kullanımı yanılığa yol açabileceğinden tanılama çalışmaları daha duyarlı bir yöntem olan DAS-ELISA testleri ile desteklenmiştir. BYMV'nin varlığı hem serolojik hem de biyolojik yöntemlerle ortaya konarak, fasulye yetiştiriciliğini sınırlandıran ve etkin mücadele yöntemi bulunmayan BYMV'nün Burdur ilindeki üretim alanlarında varlığı saptanmıştır.

Bundan sonra yürütülecek çalışmalarda, BYMV'nün karakterize edilmesi ve irklarının ortaya konularak aralarındaki farklılıkların saptanması gerekmektedir. Ayrıca, bu virüsün vektörü olan yaprak bitlerinin ve ilinde populasyon durumlarının belirlenerek bunlara karşı kullanılabilir uygulamaların da ortaya konulması gerekmektedir. Fasulye bitkilerini virüs hastalıklarından korumada etkili bir strateji olan dayanıklılık çalışmalarına ağırlık verilmelidir. Böylece kimyasal mücadelesi bulunmayan ve fasulye bitkisinde önemli zarara neden olan BYMV'nün kontrol altına alınması söz konusu olabilecektir. Bu tez çalışması daha sonra yapılacak olan çeşitli çalışmalara da temel oluşturacaktır.

KAYNAKLAR

- Abtahi, F. S., Habibi, M.K. Motlagh, M.K. 2009. Some Biological and Molecular Characterization of Bean Common Mosaic Necrosis Virus Isolated from Soybean in Tahrán Province, Iran. World Academy of Science, Engineering and Technology, 49, 126-129.
- Açıkgöz, S. 1984. Erzincan ve Erzurum Yörelerinde *Phaseolus vulgaris* üzerinde Virüslerin Tanılanması, Yayılışları ve Zararları Üzerinde Araştırmalar. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Doktora Tezi, 75s.
- Açıkgöz, S. Çıtır A. 1986. Incidence, Epidemiology and Identification of Viruses on *Phaseolus vulgaris* L. in Erzincan Plain in Journal of Turkish Phytopathology. 15(2), 61-67.
- Agrios, G. N. 1997. Plant Diseases Caused by Viruses. In Plant Pathology. p. 479-556.
- Al-Khalaf, M., Kumari S. G., Kasem, H.A., Makkouk K. M., A. Shalaby, A. B., Al-Chaabı. S. 2008. Molecular Characterization of a Bean yellow mosaic virüs Isolate from Syria Phytopathology. Mediterr. 47, 282–285.
- Anonim, 2016. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Erişim tarihi: 09.05.2019. <http://www.tuik.gov.tr>
- Anonim, 2014. Yemeklik Baklagil Çalıştayı T.C. Gıda Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü, 5-6 Mart 2014, Konya.
- Aydoğan M., Demiryürek K., Abacı N.İ. 2015. Türkiye’de Kuru Fasulye Üretiminin Mevcut Durumu ve Gelecek Dönemler Üretimine Tahmin Edilmesi. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(12), 962-968.
- Barakat,A., Torky, Z.A., 2017. Molecular Detection of Bean Yellow Mosaic Virus in *Lupinus albus* Plants and its Associated Alterations in Biochemical and Physiological Parameters.J. Antivir Antiretrovir, 9,2.
- Bos L. 1970. Handbook of Plant Virüs Diseases. Institute of Phytopathological Research. 6. Dragoljub DS, Richard EF, Malisa TT. Boca Raton, CRC Press, LLC.
- Brunt, A.A., Crabtree, K.,Dallwitz, M.J., Gibbs, A.J., Watson, L., Zurcher, E.J. (Ed.), 1996. Viruses of Plant Description and Lists from the Vide Database. University Pres, Cambridge, U.K. 1444.
- Campos, R. E., N. Bejerman, C. Nome, I. G. Laguna, P. Rodriguez Pardina.2013. Bean yellow mosaic virus in Soybean from Argentina. Journal Phytopathology . 162, 322–325.

- Clark, M.F., A.N. Adams. 1977. Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34, 475-483.
- Çulal Kılıç,H., Yardımcı, N. 2012. Burdur Çine Ovası Fasulye Alanlarında Hıyar Mozaik Virüsü. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 3 (2), 12-15.
- Çulal Kılıç,H., Yardımcı, N. 2014. Burdur İli Fasulye Üretim Alanlarında Fasulye Adi Mozaik Virüsü'nün Serolojik Ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi* 1(2), 289–294.
- Deligöz, İ., Sökmen, M.A. 2013. Bazı Fasulye Genotiplerinin Bean Common Mosaic Virus (BCMV) ve Bean Common Mosaic Necrosis Virus (BCMNV)'a Dayanıklılık Durumlarının Kalitatif, Kantitatif ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 53(2), 101-113.
- Duraisamy G. S., Pokorný R., Holková L. 2011. Possibility of Bean Yellow Mosaic Virus Detection in Gladiolus Plants by Different Methods. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 118 (1), 2–6.
- Edwardson, J.R., R.G. Christie. 1991. *CRC Handbook of Viruses Infecting Legumes*. CRC Press, Boca Raton, University of Florida, USA. pp. 293.
- FAO, 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. 2005. *Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London, Elsevier Academic Press, p 1259.
- Fidan, Ü., Yorgancı Ü. 1989. Investigations on the Detection and Seed Transmission of the Virus Diseases Occurring on the Pulse Crops in Aegean Region. *Journal of Turkish Phytopathology*, (3),93-105.
- Flores-Estévez, N., Acosta-Gallegos, J. A., and Silva-Rosales, L. 2003. Bean common mosaic virus and Bean common mosaic necrosis virus in Mexico. *Plant Dis.* 87,21-25
- Gümüş, M., S. Erkan, Ü. Yorgancı, I. Duman. 2001. Bazı Sebzelerin Tohumlarında Bulunan Viral Etmenlerin Saptanması Üzerine Araştırmalar. *Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi*. 190-197, 3-8 Eylül, Tekirdağ.
- Güzel, Ö., M. Arlı-Sökmen. 2003. Determination of some viruses infecting common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and their incidences in seed lots in Samsun Province. *Journal Turkish Phytopathology*. 32 (2), 99-106.
- Hall, R. 1991. *Compendium of Bean Diseases*. St Paul (MN), APS Press Publishers. 102p.

- Hampton, R. O. 1975. The Nature of Bean Yield Reduction by Bean Yellow and Bean Common Mosaic Viruses., *Phytopathology* 65,1342-1346.
- Hosseini A., Hosseini,S.2014. Occurrence And Distribution of Bean Common Mosaic Virus and Bean Yellow Mosaic Virus From Common Bean Fields of Kerman Province, Iran. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*. 528-535.
- Kumar, C.A., R.K. Khetarpal, D.B. Parakh, S. Singh, R. Nath. 1994. Check List on Seed Transmitted Viruses, Leguminous Hosts. National Bureau of Plant Genetic Resources, New Delhi, 110012, 14p.
- Kutluk-Yılmaz, N.D., Gümüş, M., Erkan, S, 2002. Tokat İlinde Fasulye Tohumlarındaki Viral Etmenlerin Saptanması Üzerinde Araştırmalar, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergi* 39 (3), 49-55.
- Loebenstein,G., Carr,J. P. 2006. Natural Resistance mechanisms of Plants to Viruses. 367-382. Springer, printed in the Netherlands.
- Loebenstein, G., G. Thottappilly. 2004. Virus and Virus-Like Diseases of Major Crops in Developing Countries. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. 840p.
- Matthews, R. E. F. 1982. Classification and Nomenclature of Viruses. Forth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology*. 17, 1–199.
- Melgarejo T. A., Lehtonen M. T., Fribourg C. E., Rannali M., Valkonen J. P. T.2007. Strains of BCMV and BCMNV Characterized from Lima Bean Plants Affected by Deforming Mosaic Disease in Peru. Brief Report, *Arch Virol* 152, 1941–1949
- Naghavi, A., Habibi, M.K., Firouzabadi, F.N. 2008. Detection and Identification of Some Soybean Viral Mosaic Viruses, Using Molecular Techniques in Lorestan Province, Southwest of Iran. *Asian Journal of Plant Sciences*, 7 (6), 557-562.
- Pekşen, E., Artık C. 2004. Antibesinsel Maddeler Ve Yemeklik Tane Baklagillerin Besleyici Değerleri, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(2),110-120.
- Petrović ,D., Ignjatov, M., Nikolić ,Z., Vujaković, M., Vasić, M., Milošević, M., Ajduković, K, T. 2010. Occurrence and Distribution Of Viruses 57 Infecting The Bean In Serbia *Archives of Biological Sciences, Belgrade*, 62 (3), 595-601.
- Pierce WH. 1993. Viruses of the Bean. *Phytopathology*,24,87–115.

- Provvidenti, R., 1994. Viruses Occurring in the Common Bean. in, Compendium of Bean Diseases (Ed.). APS press, The American Phytopathological Society, 73 p.
- Pudashini BJ, Shahid MS, Natsuaki KT. 2013. First report of bean common mosaic necrosis virus (BCMNV) Infecting Sweet Bean in Nepal. Plant Disease , 97(2), 290-290.
- Rana G. L., Kyriakopoulou P.E., 1980. Bean yellow mosaic virus in artichokes in Greece. In, Proceedings 5th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, 38-40.
- Russo, M., Rana, G. L. 1978. Occurrence of Two Legume Viruses in Artichoke. Phytopathol. Mediterr. 17, 212-216.
- Sharma P.N., Sharma V., Sharma A., Rajput K., Sharma S.K. 2015. Identification and Molecular Characterization of Bean yellow mosaic virus Infecting French Bean in Himachal Pradesh. Virus Disease. 26(4), 315-8.
- Singh, S.P. 1999. Integrated Genetic Improvement. In, Common Bean Improvement in the Twenty-First Century. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands. pp. 133-165.
- Skelton, A. Daly M., Nixon T., Harju V., Mumford. R. A. 2007. First record of Bean Yellow Mosaic Virus Infecting a Member of The Orchid Genus *Dactylorhiza* Plant Pathology, 56 ,344.
- Stellmach, G. 1985. ELISA Testing of Grapevine Rootings Reared from Nepovirus Infected Mother Plants Forced to Rapid Growth. Phytopathologia Mediterranea. 24, 123-124
- Valkonen, J.P.T. 1993. Three Strains of bean yellow mosaic virus, Symptoms and Accumulation in Eight Pea Cultivars (*Pisum sativum* L.). Agricultural Science Final 2, 41- 49.
- Wylie, S. J., Coutts, B. A., Jones, M. G. K., Jones, R. A. C. 2008. Phylogenetic Analysis of Bean Yellow Mosaic Virus Isolates from Four Continents, Relationship Between the Seven Groups Found and Their Hosts and Origins. Plant Diseases. 92, 1596-1603.
- Yılmaz, M. A., Davis, R. F., 1984. Purification and Particle Morphology of TMV, CMV, and ZYMV Isolated from Various Cultivated Crops Grown Along the Mediterranean Coast of Turkey. Journal of Turkish Phytopathology 13(1), 29-38.
- Yılmaz, M.A., Baloğlu S., Özaslan M., Güldür M.E., 1995. GAP Bölgesinde Kültür Bitkilerinde Belirlenen Virüsler. GAP Bölgesi Bitki Koruma Sorunları ve Çözüm Önerileri Sempozyumu Şanlıurfa, Türkiye, 241-250.

Zitter, T. A., Provvidenti, R. 1984. Virus Diseases of Snap and Dry Beans
Department of Plant Pathology New York State Agricultural Experiment
Station, Geneva, Fact Sheet Page, 729. 30.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Merve ULUM

Doğum Yeri ve Yılı : Burdur, 1993

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : marva993@hotmail.com

Eğitim Durumu

Lise : 15 Temmuz Şehitler Anadolu Lisesi

Lisans : SDÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü