

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE'DEKİ SU KABAK
(*Lagenaria siceraria*)'LARINDA KABAK
SARI MOZAYİK VİRÜSÜNE (ZYMV) DAYANIKLILIK
KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Emel ÜNLÜ**

**Danışman
Prof. Dr. Halit YETİŞİR**

Yüksek Lisans Tezi

**Temmuz 2016
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**TÜRKİYE'DEKİ SU KABAK
(*Lagenaria siceraria*)'LARINDA KABAK
SARI MOZAYİK VİRÜSÜNE (ZYMV) DAYANIKLILIK
KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Emel ÜNLÜ**

**Danışman
Prof. Dr. Halit YETİŞİR**

**Temmuz 2016
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.



Emel ÜNLÜ

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Türkiye’deki Su Kabak (*Lagenaria siceraria*)’larında Kabak Sarı Mozayik Virüsüne (ZYMV) Dayanıklılık Kaynaklarının Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.



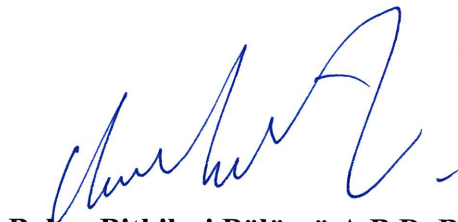
Hazırlayan

Emel ÜNLÜ



Danışman

Prof. Dr. Halit YETİŞİR



Bahçe Bitkileri Bölümü A.B.D. Başkanı

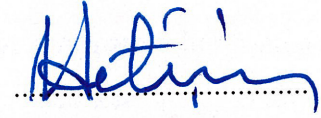
Prof. Dr. Osman GÜLŞEN

Prof. Dr. Halit YETİŞİR danışmanlığında **Emel ÜNLÜ** tarafından hazırlanan “**Türkiye’deki Su Kabak (*Lagenaria siceraria*)’larında Kabak Sarı Mozayik Virüsüne (ZYMV) Dayanıklılık Kaynaklarının Belirlenmesi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

.../.../2016

JÜRİ:

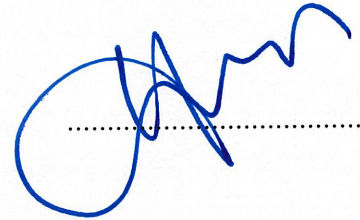
Danışman : Prof. Dr. Halit YETİŞİR



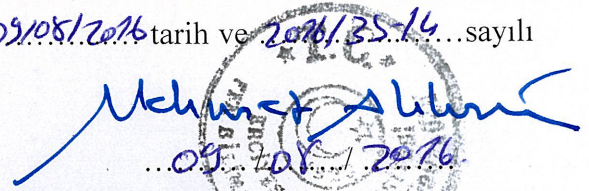
Üye : Yard. Doç. Dr. Hakan FİDAN



Üye : Yard. Doç. Dr. Hasan PINAR

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 09/08/2016 tarih ve 2016/35/14...sayılı kararı ile onaylanmıştır.



...09/08/2016

Prof. Dr. Mehmet AKKURT**Enstitü Müdürü**

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve tez çalışmalarımın yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, 14 yıl sonra yeniden eğitim almamda yardımcı olarak beni cesaretlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Halit YETİŞİR'e teşekkür ederim. Ayrıca hastalığım bulaştırılması, değerlendirilmesi ve test aşamalarında bana yardımcı olan Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü öğretim üyesi hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan FİDAN'a teşekkür ederim.

Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Hasan PINAR'a laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde yaptığım çalışmalarımın her aşamasında özveri ile bana yardımcı ve destek olan, benimle birlikte çalışan Zir. Yük. Müh. Nihal DENLİ'ye çok teşekkür ederim.

Bu çalışmada kullanılan su kabağı genotipleri iki farklı TÜBİTAK projesi kapsamında toplanmıştır (TOVAG 3216 ve 111O117). Projeleri destekleyen TÜBİTAK'a, Prof. Dr. Halit YETİŞİR yürütücülüğündeki proje ekiplerine ve üniversitemiz araştırma birimine de teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi master çalışmalarım sırasında da maddi ve manevi hiçbir desteği esirgemeyen ve beni destekleyen eşim Zir. Müh. Timuçin ÜNLÜ'ye ve çocuklarıma teşekkür ederim.

Emel ÜNLÜ,

Temmuz 2016, KAYSERİ

**TÜRKİYE'DEKİ SU KABAK(*Lagenaria siceraria*)'LARINDA
KABAK SARI MOZAYİK VİRÜSÜNE (ZYMV) DAYANIKLILIK
KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ**

Emel ÜNLÜ

**Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Temmuz 2016
Danışman: Prof. Dr. Halit YETİŞİR**

ÖZET

Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen iki farklı proje kapsamında ülkemizin farklı noktalarından toplanmış olan ve morfolojik karakterizasyon sonucuna göre çekirdek koleksiyonu oluşturulmuş su kabaklarının Kabak Sarı Mozayik Virüsü [*Zucchini Yellow Mosaic Virüsü*(ZYMV)] hastalığına karşı taranması amacıyla yapılmıştır. Su kabağı çekirdek koleksiyonunda bulunan genotiplerin hastalığa tepkilerini ortaya koymak amacı ile 2015 yılında Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde serada mekanik bulaştırma ve arazide doğal bulaşma ile hastalığa karşı genotiplerin tepkileri belirlenmiştir. Bu çalışmalar ayrı ayrı değerlendirilmiş ve hastalığın genotiplerdeki enfeksiyon oranları ayrı ayrı gözlenmiştir. Araziden toplanan virüs simptomu gösteren bitki örnekleri, öncelikle ELISA ve RT-PCR yöntemi ile testlenmiş ve genotipler arasında dayanıklı, duyarlı ve tolerant olanlar tespit edilmiştir.

İlk bulaştırma sonuçlarına göre dört genotip 63-05, 66-02, 07-42 ve USA23 hem arazide hem de serada virüslü bitkilerle iç içe girdiği halde hiçbir hastalık belirtisi göstermemiştir. Yapılan DAS-ELISA testleri sonucunda çalışmada kullanılan populasyon içerisinde ZYMV yanında *Watermelon Mosaic Virus*(WMV)'de tespit edilmiştir. Populasyon kabakgillerde görülen diğer virüsler açısından temiz bulunmuştur. Çalışmanın devamında hassas ve dayanıklı genotiplerin tohum kabuğu, embriyo, kotiledon yaprak ve gerçek yaprakta yapılan RNA izolasyonundan sonra yapılan RT-PCR sonuçlarına göre 791 bp bant aralığında 32 genotipin %46,5'i ZYMV primerlerinde bant vermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Lagenaria siceraria*, ZYMV, WMV, ELISA, Mekanik inokulasyon, RT-PCR

**DETERMINATION OF SOURCES OF RESISTANCE TO ZUCCHINI YELLOW
MOSAIC VIRUS IN TURKISH BOTTLE GOURD (*Lagenaria siceraria*)
GERMPLASM**

Emel ÜNLÜ

**Erciyes University, Institute of Natural and Applied Science
Master's Thesis, July 2016
Supervisor: Prof. Dr. Halit YETİŞİR**

ABSTRACT

This study was carried out to screen Turkish bottle gourd germplasm whose core collection was formed according to morphologic characteristic within frame work of two different projects supported by TÜBİTAK's to *Zucchini Yellow Mosaic Virus* (ZYMV). The reactions of bottle gourd genotypes were determined by mechanic transmission in greenhouse and natural contamination in open field in Alata Horticultural Research Institute of The Ministry of Food, Agriculture and Livestock in summer season of 2015. These studies have been evaluated separately. Plant samples which show the virus symptoms collected from the field have been tested by DAS-ELISA and RT-PCR methods susceptible and tolerant genotypes have been detected. Possibility of seed transmission of ZYMV has been tested by RT-PCR in seeds (seed coat and embryo), cotyledon leaf and true leaf of selected genotypes.

According to results, four genotypes 63-05, 66-02, 07-42 and USA23 were found tolerant in both mechanical and natural contamination studies. In open field study, *Watermelon Mosaic Virus* (WMV) was also in bottle gourd population and the population was found clean in terms of other viruses. In seed transmission test study, seed transmission of ZYMV in bottle gourd is possible.

Key Words: *Lagenaria siceraria*, ZYMV, WMV, ELISA, Mechanical inoculation, PCR

İÇİNDEKİLER

TÜRKİYE'DEKİ SU KABAK(*Lagenaria siceraria*)'LARINDA KABAKSARI MOZAYİK VİRÜSÜNE (ZYMV) DAYANIKLILIK KAYNAKLARININ BELİRLENMESİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	ii
KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi

1. BÖLÜM

GİRİŞ	1
-------------	---

2. BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
-------------------------	---

3. BÖLÜM

MATERYAL VE METOD.....	24
3.1. Materyal	24
3.1.1. Çalışma Alanı ve Çalışma Materyali	24
3.1.2. Mekanik İnokulasyon Çalışmasında Kullanılan Materyaller	31
3.2. Metot.....	31

3.2.1. Virüsün Mekanik İnokulasyonla Bulaştırılması	31
3.2.2. DAS-ELISA Testi	35
3.2.3. RT-PCR Testi	36
3.2.3.1. Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Materyal	36
3.2.3.2. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Materyal	37
3.2.3.3. RT-PCR ile Tohumla Taşınım Testleri	37
3.2.3.4. RT-PCR ile Tohumla Taşınım Testleri	40

4. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Doğal Bulaşma Sonuçları	41
4.2. Mekanik Bulaştırma Sonuçları	47
4.3. DAS-ELISA Testi Sonuçları	52
4.4. RT-PCR Çalışmaları	54
4.4.1. RT-PCR Uygulamaları	54
4.4.2. RT-PCR'da Tohumla Taşınımın Testi Sonuçları	55

5. BÖLÜM

SONUÇLAR VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZ GEÇMİŞ	72

SİMGELER ve KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
ai	: Aktif madde(active ingredient)
BPYV	: <i>Beet Pseuda-Yellows Virüs</i>
CABYV	: <i>Cucurbite Aphid Borne Yellows Virüs</i>
CMV	: <i>Cucumber Mosaic Virus</i>
CVYV	: <i>Cucumber Vein Yellowing Virus</i>
CYSDV	: <i>Cucurbite Yellow Stunting Disorder Virüs</i>
DAS-ELISA	: Double antibody- Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay
gr	: Gram
H₂O	: Su
K₂HPO₄	:Potasyum hidrofosfat
M	: Molar
Medispec ESR	: Medispec Elisa Microplate Okuyucu
ml	:Mililitre
Na₂SO₃	:Sodyum sülfid
NaOH	:Sodyum Hidroksit
nm	:Nanometre
PCR	:Polimeraz Zincirleme Tepkimesi
PRSV	: <i>Papaya Ringspot Virus</i>
PTA-ELISA	:Plate Trapped Antibody-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
RT-PCR	: Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction
SqMV	: <i>Squash Mosaic Virus</i>
WMV	: <i>Watermelon Mosaic Virus</i>
ZYMV	: <i>Zucchini Yellow Mosaic Virus</i>
PRSV-W	: <i>Papaya Ringspot Virus Watermelon</i>

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1.1. TÜİK verilerine göre 2009-2014 yılları arasında bazı kabakgıl türlerinin üretim miktarları.	3
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan sukabağı genotiplerinin kodları, menşei ve kendileme generasyonları.....	27
Tablo 3.2. RT-PCR Çalışmalarında kullanılan primer çiftleri ve sentezlenen bölgenin, moleküler büyüklüğü	36
Tablo 3.3. DAS-ELISA ve RT-PCR testinde testlenen virüs ve testlenme yöntemi.	38
Tablo 3.4. RT-PCR’da tohumla taşınımı testlemek için kullanılan genotipler.....	40
Tablo 4.1. Arazideki genotiplerin gözlem sonuçları.....	42
Tablo 4.2. Mekanik inokulasyon sonuçları	48
Tablo 4.3. DAS-ELISA testi sonuçları	53
Tablo 4.4. ZYMV’nin tohumla taşınma testi sonuçları	56

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	ZYMV'nin etkili vektörü <i>Aphis gossypii</i>	7
Şekil 3.1.	Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Mersin	24
Şekil 3.2.	Deneme alanının Mart-Temmuz aylarındaki son 5 yıllık sıcaklık ve nem verileri	26
Şekil 3.3.	Tohumların viyollere ekilmesi ve fide üretimi	30
Şekil 3.4.	Ortam hazırlığı ve fidelerin saksılara dikilmesi.	31
Şekil 3.5.	Virüs izolatının hazırlanması.....	32
Şekil 3.6.	Mekanik inokulasyonun yapılış şekli	33
Şekil 3.7.	ZYMV için kullanılan 0-9 skalası ve simptomlar	34
Şekil 3.8.	ZYMV'nin tohumla taşınımının testlenmesinde toplam nükleik asit ekstraksiyonu	40
Şekil 4.1.	Bitkilerde şiddetli bodurlaşma, yaprakların küçölerek inceliplikleşmesi ve genel sarılık	43
Şekil 4.2.	Yapraklarda şiddetli mozayik, beneklenme ve bitki boyunda kısalma	43
Şekil 4.3.	Yapraklarda çok şiddetli mozayik ile iplikleşme	44
Şekil 4.4.	Şiddetli bodurlaşma, yaprakların çok küçölerek inceliplikleşmesi ve genel sarılık	44
Şekil 4.5.	Yapraklarında şiddetli mozayik belirtisi ve bitki boyunda kısalma belirtisi	45
Şekil 4.6.	Şiddetli bodurlaşma, yaprakların çok küçölerek inceliplikleşmesi ve genel sarılık	45
Şekil 4.7.	Yapraklarda şiddetli mozayik, beneklenme ve genel sararma	46
Şekil 4.8.	Doğal bulaştırmada herhangi bir belirti göstermeyen genotip (47-02)	46
Şekil 4.9.	Doğal bulaştırmada herhangi bir belirti göstermeyen genotip (10-01)	47
Şekil 4.10.	Mekanik bulaştırmada yapraklarda şiddetli mozayik ve genel sarılık	50
Şekil 4.11.	Mekanik bulaştırmada yapraklarda şiddetli mozayik ve daha belirgin genel sarılık	50
Şekil 4.12.	Mekanik bulaştırmada yapraklarda mozayik, hafif deformasyon ve bitki boyunda kısalma	50

Şekil 4.13. ZYMV'ye özgü koyu yeşil leke şeklinde mozayikler.....	50
Şekil 4.14. Mekanik bulaştırmada herhangi bir belirti göstermeyen genotip(USA-23).	51
Şekil 4.15. Arazide yetiştirilen genotiplerde WMV ve ZYMV symptom karşılaştırması.....	52
Şekil 4.16. Arazide yetiştirilen genotiplerde ZYMV ve WMV karışık simptom.....	53
Şekil 4.17. RT-PCR çalışmasında elde edilen bantlar.....	54
Şekil 4.18. Arazide kurulan denemede kendileme çalışmaları.....	57



1. BÖLÜM

GİRİŞ

Dünya ülkeleri ve ülkemizde de önemli konulardan birisi genetik kaynakların korunmasıdır. Bu amaçla bu kaynakların özelliklerinin belirlenmesi ve muhafaza altına alınması önemli konular arasındadır. Elimizde var olan gen kaynaklarının biyotik ve abiyotik streslere karşı hassasiyet ya da dayanıklılıklarının ortaya konulması bitki ıslahının ve dolayısı ile bitkisel üretiminin sürdürülebilirliği ve güvenliği açısından en önemli aşamalardan birisidir.

Gelecekte kullanılacak gen kaynaklarını oluşturacak olan tüm bitkisel materyali koruma altına alma çalışmalarına, bugünün insanların en önemli görevi olarak bakılmaktadır. Florasında 163 familyaya ilişkin 1.225 cins ve 9.000 tür bulunan ve bunlardan 3.000 türü endemik nitelikte olan Türkiye'nin; 203 familyaya bağlı 2.500'ü endemik 12.000 türe sahip tüm Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında bitkisel gen kaynakları bakımından ne kadar zengin bir ülke konumunda olduğu kolaylıkla anlaşılmaktadır. Bu nedenle, genetik materyalin korunması ve kullanımına ilişkin çalışmaların Türkiye için ayrı bir önemi vardır [1]. Türkiye'nin Avrupa-Sibirya, Akdeniz ve İran-Turan fitocoğrafik bölgelerin kesiştiği yerde bulunması, Avrupa ile Güneybatı Asya arasında köprü görevi yapan bir göç yolu olması, birçok cinste çeşitliliğin görüldüğü bir merkez olması, Türkiye'nin önemli bir genetik çeşitlilik merkezi olduğunun kanıtıdır [2].

Bitki genetik kaynakları, özellikleri belirlenmiş kültür bitkilerini ve bunların yabani akrabalarını bünyesinde toplaması nedeniyle ıslah çalışmaları açısından vazgeçilmez bir değer ve öneme sahiptir [3].

Genetik kaynakların kullanımı, tarım tarihi kadar eskidir. Binlerce yılı aşkın bir süredir yüzlerce farklı bitki türü ıslah edilmiş, doğal ve yapay seleksiyonlarla binlerce farklı varyete elde edilmiştir. Genetik erozyon önceki yıllarda doğal nedenlerden

kaynaklanırken, günümüzde orman yangınları ve tahribatı, tarım arazilerinin elden çıkarılması, bilinçsiz gübre ve zirai ilaç kullanımı ve ıslah edilmiş hibrit çeşitlerin baskınlığı, genetik çeşitliliğin yok olmasına neden olmaktadır [4].

Günümüzde birçok ülke genetik kaynakların korunması, tanımlanması ve değerlendirmesine yönelik yoğun çalışmalar yapmaktadır [5].

Tüm dünyanın sorunu haline gelen bitkisel gen kaynaklarının korunması, özellikle son 20 yıldan beri gündemde en çok kalan konulardan biri olmuştur. Bitkisel gen kaynaklarının, özellikle yabani türlerin korunması, gelecekte yapılacak olan bitki ıslahı çalışmaları için son derece önemlidir. Başarılı bir koruma öncelikle bu kaynakların miktarının ve risk durumlarının saptanarak koruma önceliklerinin belirlenmesine bağlıdır. Günümüzde bitkisel gen kaynakları yapay koruma (*ex situ*), doğal koruma (*in situ*) ve botanik bahçeleri şeklinde olmak üzere başlıca 3 klasik teknikle korunmaya çalışılmaktadır. Türkiye’de de yapay koruma tekniğinin en yaygın biçimi olan gen bankaları tekniği ile birçok materyal koruma altına alınmakla birlikte, bitkisel gen kaynakları bakımından çok zengin olan ülkemizde, bunun yeterli olduğu söylenemez.

Halen 100'e yakın cinse bağlı 200 türden, yaklaşık 30.000 materyal uluslararası ya da ulusal gen bankalarında korunmaya çalışılmaktadır. Türkiye’de bitkisel gen kaynaklarının doğal olarak korunması ise 1999 yılı verilerine göre, 30 milli park, 12 tabiat parkı, 32 tabiatı koruma alanı, 54 tabiat anıtı ve 12 özel çevre koruma alanı ile yapılmaktadır [6].

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*), *Cucurbitales* takımına ait bir bitki familyası, eski ve yeni dünyanın sıcak bölgelerinde yayılmış 100 cins ve 850 türü vardır. Türkiye’de 8 cins ve bunlara ait 8 tür doğal olarak yayılış gösterir. Kavun(*Cucumis melo*), Hıyar(*Cucumis sativus*), Lif kabağı(*Luffa cylndrica*), Su kabağı(*Lagenaria siceraria*), *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita maxima*, Karpuz(*Citrullus lanatus*) ülkemizde yaygın olan kabakgil türleridir.

Tüm Türkiye’de ekolojik ve ekonomik koşulların uygun olması dolayısıyla insan sağlığı ve beslenmesinde önemli bir yeri olan kabak türü hem sebze, hem de çerez olarak tüketilmesinden dolayı önemlidir. Kavun ve karpuz yüksek su içerikleri, tat, iştah açıcılık ve yaz mevsiminde serinletici özellikleri bakımından en çok tüketilen sebzelerdendir. Hıyar sebzesi de zengin su içeriği ve vitamin içeriği bakımından gerek taze olarak, gerekse turşu olarak sofralarımızda her zaman yer bulunan bir sebzedir.

Yazlık kabak, içerdiği mineral maddeler, vitaminler ve düşük kalori nedeniyle diyet menülerinde sıkça rastlanan bir üründür.

Ayrıca kabakgiller, özellikle yaz mevsiminde, taze olarak, yoğunlaştırılmış su, konserve turşu ve reçel, olarak tüketilmeleri nedeni ile hayatımızda önemli bir yere sahiptirler. Dünyada önemli kabakgiller üretici ülkelerden biriside ülkemizdir. Ülkemiz karpuz, hıyar ve kavunda da Çin'den sonra 2. sırada yer almaktadır. Türkiye de 2014 TÜİK verilerine göre bazı kabakgillerin üretimi toplam 6.022.780 ton'dur (Tablo1.1).

Tablo1.1. TÜİK verilerine göre 2009-2014 yılları arasında bazı kabakgil türlerinin üretim miktarları(ton).

Tür	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Kabak(sakız)	307.419	314.340	317.705	302.374	293.709	299.858
Balkabağı	82.552	89.368	93.099	93.612	95.076	93.672
Kabak(çerezlik)	21.971	26.694	32.396	32.144	35.586	36.331
Kavun	1.679.191	1.611.695	1.647.988	1.688.687	1.699.550	1.707.302
Karpuz	3.810.205	3.683.103	3.864.489	4.022.296	3.887.324	3.885.617
Hıyar	1.735.010	1.739.191	1.749.174	1.741.878	1.754.613	1.845.749
Toplam	5.901.338	5.725.200	5.955.677	6.139.113	6.011.245	6.022.780

Kabakgillerden tropik bir tür olan ve subtropiklerde de yetişebilen su kabağı insanlar tarafından çok erken dönemlerde kültüre alınmış ve çok farklı amaçlarla kullanılmıştır [7, 8].

Su kabağının [*Lagenaria siceraria* (Malign) Stanley] anavatanı olarak Afrika ve Amerika kıtası bildirilmekte ise de, Afrika'daki su kabağı tohumu ve meyve şekli çeşitliğinin Amerika'dakinden daha zengin olduğuna dayanarak, su kabağının anavatanının tropik Afrika olduğu sonucuna varılmıştır. Yabani su kabağı formları Güney Afrika ve Hindistan'da yaygındır. Arkeolojik deliller su kabağının yaklaşık 12.000 yıl önce Peru'da var olduğunu göstermektedir [9]. Teknolojinin gelişmesi ve özellikle plastiğin kullanım alanlarının artması ile su kabağının kullanımı giderek azalmıştır. Buna bağlı olarak bazı genotipler kaybolmuş veya kaybolma tehlikesi ile yüz yüze kalmıştır. Ülkemizde bu tür üzerine yapılan çalışmalar henüz çok yeni ve azdır.

Ülkemiz su kabağının ana vatanı olmamasına rağmen, su kabağının ülkemizin çok farklı bölgelerinde farklı amaçlarla yetiştirilmesinden ve açık tozlanan bir tür olmasından dolayı zengin bir genetik çeşitliliğe sahip olmuştur.

Beyaz çiçekli kabak olarak da bilinen su kabağı monoik çiçek yapısına sahip, sürünerek veya tırmanarak büyüyen, büyük beyaz çiçekleri olan, tek yıllık bir kabak türüdür. Gövdesi üzerinde bulunan sülükler vasıtası ile tırmanma özelliğine sahip olan su kabağı bitkisi genotipe göre değişmekle birlikte uygun ekolojik koşullarda güçlü bitkiler oluşturabilmekte ve 5-10m yükseklikteki ağaçların üzerine tırmanabilmekte ve genotipin gücüne bağlı olarak çok sayıda meyve tutabilmektedir. Su kabağının tam olgunlaşmamış meyveleri sebze olarak tüketilirken, kurumuş ve içi boşaltılmış olgun meyveleri kavanoz yapmak, müzik aleti yapmak, balıkçılıkta ağ tutucu ve dekoratif amaçlarla da kullanılmaktadır [7,8].

Su kabağı bazı Asya ülkelerinde sebze olarak tüketilmektedir. Hindistan'da sebze olarak kullanılmak üzere çeşitler ıslah edilmiştir. Ülkemizde de farklı şehirlerimizde (Kayseri, Kahramanmaraş, Şanlıurfa, Gaziantep, Hatay, Afyonkarahisar) su kabağının taze meyveleri diğer yazlık kabak gibi hem taze olarak hem de kurutularak tüketilmektedir. Ülkemizde son zamanlarda turizmde kaydedilen gelişme ile birlikte turizme yönelik, su kabağından yapılan süs eşyası miktarında artış olmuştur ve özellikle şişe şekilli genotipler turizmin yoğun olduğu illerimizde yetiştirilmekte ve süs eşyası üreten küçük işletmelere satılmaktadır. İşlenmiş kuru meyveleri yanında işlenmemiş meyveleri de süs eşyası olarak alıcı bulmaktadır. Su kabağı tohumları yağ ve protein bakımından zengindir [10]. Bu nedenle yemeklerde veya yağ çıkartmak amaçlı da kullanılabilir. Bunun yanında sülüklerinin ve yapraklarının bazı tıbbi değerlere sahip olduğu da bildirilmektedir. Kabakgiller familyasına ait su kabağı yukarıda ifade edilen kullanım amaçlarının yanında tıbbi bitki olarakta kullanılmaktadır. Su kabağının olgunlaşmamış meyveleri kalp koruyucu, kalp güçlendirici, genel güçlendirici ve afrodisyak etkilerinden dolayı Afrika ve Hindistan'da kullanılmaktadır. Bunların yanında astım, nazal enfeksiyonlar, bronşit, romatizma ve birçok alerjik ve iltihaplanmalara karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Su kabağının olgunlaşmamış meyvelerinin enfeksiyon giderici (*antiinflammatory*), ağrı kesici (*analgesic*), karaciğer koruyucu (*hepatoprotective*), *antihyperlipidemic*, idrar söktürücü ve antibakteriyel etkilerinin olduğu bildirilmiştir [11].

Diğer bir çalışmada su kabağı ekstratlarının antioksidatif etkilerinin olduğu bildirilmektedir [12].

Hassanpour Fard ve arkadaşları 2010 yılında farelerde yaptıkları deneylerde kemoterapide kullanılan ve kalp üzerinde toksik etkiler oluşturabilen doxorubicine karşı 10 ml kg⁻¹ dozundaki su kabağı meyvesinin suyunun kalbi koruyucu etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, su kabağı meyve suyunun laboratuvar koşullarında oleik asit ile uyarılmış olan akciğer deformasyonunda zararı azalttığı rapor edilmiştir [13].

Su kabağının diğer bir kullanım alanı ise toprak kökenli hastalıklara karşı karpuz bitkisine anaç olarak kullanılmasıdır. Ülkemizde 2000'lerden sonra başlayan aşılı karpuz üretiminde su kabağı karpuz anaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Su kabağı, karpuz türüne anaç olarak kullanılan ve gayet iyi uyuma gösteren bir türdür [8].

Sebze tarımında, yüksek verim ve kalitenin elde edilmesini engelleyen birçok canlı ve cansız etmenler bulunmaktadır. Canlı etmenler içerisinde kimyasal ve fiziksel yapısı, boyutu, enfeksiyon şekli, simptom oluşturmaya, taşınması ve etkin bir mücadelesinin olmayışı nedeni ile virüs hastalıklarının önemli bir yeri vardır [14-16].

Günümüzde bitkilerde 1000'e yakın sayıda virüsün bulunduğu ve bunların bitkilerde gelişme, ürün oluşması, oluşan üründe kalite ve pazarlama değeri gibi önemli kriterler üzerine doğrudan veya dolaylı olarak etki yaptığı bilinmektedir. Konukçu-virüs kombinasyonuna bağımlı olarak, virüslerin değişik ülkelerde yıl bazında milyonlarca ifade edilen sayıda bitkinin ölümüne veya milyar dolarlarla nitelenen miktarda ürün kaybına neden oldukları açıklanmıştır [17].

Kabakgiller pek çok virüs hastalığına konukçuluk etmekte ve bu ürünlerde virüs kaynaklı önemli düzeylerde ürün kayıpları olmaktadır. Dünya'da kabakgiller familyası içindeki bitki türlerinde zarar yapan ve ekonomik kayıplara neden olan önemli virüs hastalıkları bulunmaktadır [18].

Türkiye'de kabakgil yetiştirilen alanlarda bulunan en önemli virüslerin Kabak Sarı Mozaik Virüsü (*Zucchini Yellow Mosaic potyvirus*, ZYMV), Hıyar Mozaik Virüsü (*Cucumber Mosaic Cucumovirus*, CMV), Karpuz Mozaik Virüsü 1 (*Watermelon Mosaic 1 potyvirus*, WMV-1=syn. *Papaya Ringspot potyvirus-W*, PRSV-W), Karpuz Mozaik Virüsü 2 (*Watermelon Mosaic 2 potyvirus*, WMV-2) ve Kabakgil Afitle Taşınan Sarılık Virüsü (*Cucurbit Aphid-borne Yellows luteovirus*, CABYV) olduğu bildirilmektedir [30, 47-49].

Kabakgillerde zararlı 32 adet virüs ve virüs benzeri hastalık etmeni rapor edilmiştir. Bu virüsler içerisinde, ZYMV(*Zucchini Yellow Mosaic Potyvirus*) kabakgil yetiştiriciliğinde ekonomik olarak büyük ürün kayıplarına yol açan en önemlilerden bir tanesidir [19]. Bitkilerde hastalık oluşturan diğer patojenlerin aksine, virüsleri kontrol etmek amacıyla kullanılan doğrudan mücadele yöntemleri ve araçları henüz mevcut değildir.

Bir potyvirus olan ZYMV, ilk kez 1981 yılında İtalya’ da Lisa tarafından rapor edilmiştir ve daha sonra dünyanın kabakgil yetiştirilen birçok ülkesinde rapor edilmiştir [20-24].

ZYMV, iplikli yapıda olup 750 nm uzunlukta ve 11 nm genişlikte bir virüstür. Genom parçaları tek iplikli doğrusal RNA’dan meydana gelmekte ve toplam genom büyüklüğü 9 Kb’dir. Genom bölmesizdir(25).ZYMV Aphididae takımından *Aphis gossypii* (Şekil1.1), *A. craccivora*, *A. spireacola*, *A. middletoni*, *Acyrtosiphon kondoi*, *Acyrtosiphon pisum*, *Lipaphis eriysimi*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persicae*, *Uroleucon sp.* ile non-persistent olarak taşınmaktadır [26].

ZYMV, *C. sativus*, *C. melo*, *C. pepo*, *C. moschata* indikatör bitkileri üzerinde lokal lezyon ve latent enfeksiyonlara neden olmaktadır. *C. amaranticolor* ve *C. quinoa* bitkilerinde lokal lezyonlara neden olmaktadır [25].

Meyve ve yapraklarda şiddetli deformasyon şeklinde semptomlara neden olan bu virüs hastalığından dolayı, bazı ülkelerde %80 ve daha fazla oranlarda ürün kayıpları meydana gelmiştir. Kabakgil üretim alanları sınırlanmıştır [27, 28].

Bu virüs hastalığı, bulaşık bitkilerde bodurluk, kloroz, deformasyon, mozayik, genç sürgünlerde iplikleşmeye ve çiçek azalmasına neden olmakta vebuna bağlı olarak da ürün kayıplarına yol açmaktadır [29].



Şekil 1.1. ZYMV'nin etkili vektörü *Aphis gossypii*

Türkiye'de değişik bölgelerde yapılan çalışmalarda kabakgil üretiminin yapıldığı yerlerde ZYMV'nin yoğun olarak bulunduğu ve ciddi zarar oluşturduğu tespit edilmiştir [113]. Yoğun kabakgil üretimi yapılan bölgelerde 1992 yılında yapılan bir survey çalışmasında, son yıllarda en yaygın virüsün ZYMV olduğu gözlenmiş, bütün bölgelerde ve türlerde önemli boyutlarda nitel ve nicel zararlar yaptığı belirlenmiştir [30].

Bakteriyel ve fungal hastalıklarla kimyasal mücadele yapılmaktadır. Ancak hastalık etmenlerinin kimyasal maddelere dayanıklı ırklar geliştirmeleri, yeni kimyasalların kullanımını gerekli kılmakta, bu da doğal dengeyi bozarak önemli çevre sorunlarına yol açmaktadır. Özellikle son yıllarda çevre bilincinin artmasıyla kimyasal ilaçların ekolojik denge ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri daha fazla tartışılır hale gelmiş ve böylece kimyasal maddelere alternatif olabilecek sistemler üzerindeki çalışmalar artmıştır [31].

Bitki virüs hastalıklarına karşı henüz herhangi bir kimyasalın mücadelede kullanılmamasından dolayı virüs hastalıklarının bitki sağlığı açısından önemi daha da

artmaktadır. ZYMV yaprak bitleri ile taşınan bir hastalık olduğundan bazı insektisitlerin kullanılma olanağı varsa da uygulamalar sadece zararlının doğrudan etkisini önlemekte, dolaylı olarak hastalığın yayılması geciktirilmektedir. Neticede ZYMV'nin de kontrolünde kimyasal mücadele etkili olmamaktadır. Virüs hastalıkları ile mücadelede dayanıklı çeşitlerin kullanımı, ekim dikim zamanının ayarlanması, bitkilerin erken dönem enfeksiyonlardan ve vektör böceklerden korunması, eradikasyon ve enfeksiyon kaynaklarının ortadan kaldırılması, karantina önlemlerinin uygulanması gibi işlemler ve biyolojik yöntemlerin uygulanması hastalığın zararını azaltabilmektedir [10].

Virüs hastalıkları ile mücadelede en etkin mücadele dayanıklı çeşitler geliştirilmesidir. Hastalığa karşı değişik kabakgil türlerinde dayanıklılık özelliği bulunmaktadır. Kavun türünde de *C. melo*'ya giren PI414723 materyalinde ZYMV'ye dayanıklılık ve bu dayanıklılığın tek bir genle idare edildiği saptanmıştır [32].

ZYMV karşı su kabağında ilk çalışma [33] Hawaii'de yapılmış. Bu çalışmaları Hindistan, Sırbistan ve ABD izlemiştir [33-35]. Su kabağında da dayanıklı ve tolerant genotiplerin varlığı rapor edilmiştir [36].

Türkiye'de bulunan su kabakları TÜBİTAK tarafından desteklenen projeler kapsamında daha önceki yıllarda toplanmış, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu yapılarak çekirdek koleksiyonu oluşturulmuştur. Türkiye su kabakları genetik kaynaklarında karpuzun *Fusarium* solgunluk etmenine karşı ve nematoda karşı çalışmalar yapılmış, tuz stresine karşı çalışma ise devam etmektedir. Bu çalışmada ise ülkemiz su kabağı koleksiyonunda ZYMV'ye karşı dayanıklılık kaynaklarının bulunup bulunmadığının tespiti amaçlanmıştır.

2. BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ülkemizde farklı enstitülerde olmak üzere 12 kabakgil türünde 223 genotip toplanmış ve bunlar üzerinde bazı karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu toplanmış olan türler arasında yazlık-kışlık kabaklar, kavun, hıyar, karpuz ve su kabağı rakamsal anlamda öne çıkmaktadır. Son zamanlarda yürütülen projeler çerçevesinde yapılan toplama çalışmaları ile yukarıdaki genetik kaynaklara yenileri eklenerek kabakgil türlerinde önemli koleksiyonlar oluşturulmuştur [37].

Dünya'da kabakgiller familyası içindeki bitki türlerinde zarar yapan ve ekonomik kayıplara neden olan çok sayıda virüs hastalığı bulunmaktadır. Virüslerin meydana getirdiği hastalık oranı ve şiddeti virüsün irkına, konukçu bitkiye, vektöre, çevre koşullarına ve bulunduğu bölgeye göre değişkenlik göstermektedir [18, 30, 38-40].

Virüs hastalıkları kabakgillerde bitki gelişmesinde, elde edilen üründe de nitelik ve nicelik yönünden olumsuz etkiler yapmaktadır. Bu nedenle ortaya çıkan ürün kayıpları % 50-100 arasında değişmektedir [29, 41-45]

Yaprak bitlerinin bitki virüslerini farklı iki taşıma mekanizmasıyla taşıdığını, vektör tarafından alınan virüs, vektör stiletlerinin dış kısmında ve uç bölgede external, mekanik olarak, persistent olmayan yolla taşınmaktadır. Taşınmada etkili diğer mekanizmada ise vektörün gömlek değiştirmesinden sonra virüslerin tutunabilmesi ve beslenme sırasında bitki dokuları içine salgısının ilave edilmesi şeklinde olmaktadır. Buna bağlı olarak virüs, vektörü tarafından internal, biyolojik, persistent veya sirkülatif olarak da taşınabilmektedir [46].

New York, Florida ve California'daki kabakgil üretim alanlarında ZYMV üzerine yapılan bir çalışmada, ZYMV-CT ve ZYMV-FL ırklarını tanımlanmıştır. ZYMV-CT ırkının İtalya ve Fransa kaynaklı izolatlarına benzer belirtiler gösterdiğini ve ZYMV-FL'nin ise WMV-1 ile benzerlik gösterdiğini, ayrıca bu iki ırka karşı *Citrullus*

colocynthis, Cucurbita spp, Cucumis sativus, Cucumis melo, Leganaria sceraria türlerinden bazı genotiplerin dayanıklı ve tolerant olduğunu tespit etmişlerdir [50].

Arkansas'ta kabak bitkisinde meyvede şekil bozukluğu, renk bozukluğu, yeşil aksamda çarpıklık ve mozayik gibi belirtilere rastlanmıştır. Biyolojik indeksleme ve serolojik testler bu virüsün ZYMV olduğunu ortaya çıkmıştır. Araştırmacılar, ZYMV'nin kabak ve karpuz üretim alanlarında geniş yayılım gösterdiğini rapor etmişlerdir [51].

New Jersey'de 3 yıl boyunca yürütülen bir çalışmada, kabakgil bitkilerinde hastalığa neden olan farklı virüsler bulunmuştur. WMV-2 kabak bitkisinde 1983'te en yaygın virüs olmasına rağmen, CMV görülen en şiddetli virüsolmuştur. PRSV-W 1984'te kabak bitkisinin en tahrip edici virüsü olmuştur. ZYMV 1985'te ise ilk kez New Jersey'de tespit edilmiş ve kabakgillerde şiddetli kayıplara neden olmuştur [52].

Al-Musa (1989), Ürdün'de kavun tarlalarında görülen mozayik belirtileri üzerine, biyolojik indeksleme, yaprak bitleri ile taşınma testleri, serolojik ve elektron mikroskobu çalışmaları ile söz konusu belirtilerin nedeninin ZYMV olduğunu ve ZYMV'nin kabakgil alanlarında yaygın olduğunu rapor etmiştir [53].

Hawaii adaları (Oahu, Maui ve Molokai) kabakgil üretim alanlarında yapılan bir çalışmada ZYMV, PRSV-W ve CMV saptanmıştır. Bu çalışma ile adalar arasında virüs bulunma oranlarının değişiklik gösterdiği ve çeşitli yabancı otların alternatif konukçu olarak yer aldığı tespit edilmiştir [54].

ZYMV'ye karşı en başarılı sonuçlar ise, cross protection(çapraz koruma) çalışmalarında elde edilmiş ve ZYMV'nin zayıf ırkı (ZYMV-WK) şiddetli ırka karşı başarı ile kullanılmıştır [55].

Louisiana'nın güneydoğusunda virüs belirtileri gösteren kavun, karpuz, kabak ve hıyar bitkilerinden toplanan örnekler, DAS-ELISA ve indikatör konukçu bitkileri kullanarak testlenmiştir. Elde edilen örnekler ZYMV, PRSV-W, WMV-2, CMV ve TRSV (*Tobacco Ringspot Virus*) için taranmıştır. Dört kabakgil bitkisinde de bu beş virüse rastlanmıştır. Hastalık oranları WMV-2 için %50, PRSV-W için %45, CMV için %43, ZYMV için %27 ve TRSV için %21 olarak belirlenmiştir. Bu virüslerin varlığı Louisiana için ilk kayıt olmuştur [56].

Yılmaz ve ark. (1991), Çukurova bölgesinde açık alanda ve ek olarak örtü altı sebzeçilik koşullarında yetiştirilen kavun, karpuz ve hıyar alanlarında yaptıkları surveylerde bitkiler üzerinde damar açılması, damar sararması, cüceleşme, sarı mozaik ve üründe önemli azalmalar gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda etmenin *Cucumber Vein Yellowing Virus* (CVYV) olduğu, beyaz sinekle etkili bir şekilde taşınarak ürün üzerinde önemli ekonomik kayıplara neden olduğu saptanmıştır [57].

Çukurova'da kabakgillerde en çok görülen virüs hastalıklarından biri olan ZYMV' nin çapraz koruma ile kontrolü üzerine yapılan çalışmada, kabak ve hıyarda ZYMV-WK'nın çapraz koruma amacıyla etkili bir şekilde kullanılabileceğini ortaya konmuştur [58].

Farklı bir açıdan yapılan çalışmada, Ankara'nın akarsu ve göllerinde bitki virüsleri adlı bir çalışmada Ankara ilinde bulunan 9 farklı su kaynağından su örnekleri toplanmış ve bu örnekler filtre ve santrifüj edildikten sonra otsu bitkilerle inokule edilmiş. Enfekteli bitkiler, agar jel ve mikroprespitasyon testleri ile serolojik olarak test edilmiş. Bu testler sonucunda *Yonca Mozayik Virüsü* (AMV), CMV, *Domates Halkalı Leke Virüsü* (TBRV), WMV-2 ve ZYMV'nin var olduğu saptanmıştır [59].

Vega ve ark. (1995), ZYMV ile ilgili yapmış oldukları mekanik inokulasyon çalışmalarında 29 bitki türü kullanmışlardır. Bunlar içerisinde sistemik belirtiler sadece 4 kabakgil türünde (*Citrullus lanatus*, *Cucumis melo*, *C. sativus*, *Cucurbita pepo* cv. Caserta) görülmüş, lokal lezyonlar ise 3 tür indikatör bitkide (*Chenopodium amaranticolor*, *C. quinoa* ve *Gomprena globosa*) belirlenmiştir. Vektörle taşıma denemelerinde kullanılan 5 yaprak biti türü (*Dactynotus* sp, *Geopemphigus flocculosus*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Myzus persica* ve *Toxoptera citricidus*) virüsü non-persistent bir şekilde taşımışlardır. Tarladan alınan örneklerde DAS-ELISA ve ISEM çalışmalarında ZYMV ve PRSV-W antiserumlarıyla pozitif sonuç alınmıştır. Mekanik olarak inokule edilen ve lokal lezyon gösteren *C. quinoa*'dan ZYMV izole edilmiştir. ZYMV ile infekteli bitkilerden alınan ultrathin kesitlerde EM'de mezofil hücrelerinde silindirik hücreiçi cisimcikler belirlemişlerdir. Araştırmacılar ISEM'de dekorasyon yapılan örneklerde virüs partikülerinin ZYMV antibody ile dengesiz kaplandığı belirlemişlerdir [60].

Amerika'da su kabağı genetik kaynakları ZYMV'ye dayanıklılık kaynakları çalışmasında ZYMV izolatları Kuzey Amerika'da ZYMV-BT şiddetli hastalık belirtileri gösterirken, ZYMV-FL daha yaygın olarak etki göstermiştir. Amerika'daki kabakgillerde ZYMV-FL daha yaygın tür olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma ile su kabaklarında ZYMV'ye dayanıklı genotiplerin var olduğunu ortaya konmuştur. Bu nedenle ABD'de bulunan *L.siceraria* genetik kaynaklarının taranmasının iyi sonuçlar vereceği belirtilmiştir [61].

Umman Sultanlığı'nda Batinah bölgesinde 1994/95 ve 1995/96 yetiştirme sezonlarında kabakgillerde virüs survey gerçekleştirilmiştir. Toplamda 320 ticari kabakgil bitkisi incelenmiş ve her bir tarlada rastgele 100 bitki değerlendirilmiştir. Toplamda 320 tarladan virüs hastalık belirtileri gösteren toplam 716 kabak, karpuz, misk kavunu, hıyar, bal kabağı ve su kabağı bitkilerinden yaprak örnekleri alınmıştır. Hasat zamanında simptomoloji ile tespit edilen ortalama hastalık sıklığı 1994/1995'te %34,2 ve %78,1 arasında, 1995/96 sezonunda %25,6 ile %75 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bal kabağı, kabak ve su kabağı nispeten daha yüksek hastalık sıklığına sahip olarak belirlenmiştir. DAS-ELISA sonuçları WMV-2, ZYMV, PRSV-W, CMV, SqMV, ToRSV, TRSV ve TSWV'nin Batinah bölgesinde tüm kabakgil bitki türlerinde enfeksiyon oluşturduğunu göstermiştir [62].

Özellikle dar konukçu dizisine sahip virüsler için tohum yoluyla taşınma, yaşamı devam ettirme ve mevsimler arası geçişte bir araç olarak düşünülmektedir [63]. Tüm bitki virüslerinin 1/5'ine yakın bir kısmının tohumla taşınabildiği belirtilmektedir [64].

Luis-Arteaga ve ark. (1998), İspanya'nın yoğun kavun üretimi yapılan alanlarda CMV, PRSV-W, WMV-2 ve ZYMV'nin yaygınlığı ve hastalık oranlarını tespit amacıyla topladıkları bitki örneklerini DAS-ELISA yöntemini kullanarak testlemişlerdir. CMV ve WMV-2 hem lokasyon sayısı hem de hastalığın yaygınlığı yönünden en çok görülen virüsler olmuştur. Buna karşın, PRSV-W ve ZYMV daha az sayıda alanda ve daha az yoğunlukta tespit edilmiştir. Örneklerin %79'u tek enfeksiyonlu, %10'u ikili enfeksiyonlu olarak bulunmuştur [65].

Diyarbakır'daki karpuz üretim alanlarını kapsayan çalışmada, indikatör bitkiler ve DAS-ELISA yöntemi kullanılarak, alınan örnekler ZYMV, CMV, WMV-2, SqMV, *Papaya Ringspot Virus*(PRSV) ve *Cucurbite Aphid Borne Yellows Virus*(CABYV)

virüslerine karşı testlenmiştir. Testler sonucunda bahsedilen virüslerin tümünün varlığı tespit edilmiştir. Alınan örneklerde en çok ZYMV'nin bulunduğu bunu WMV-2 ve CMV'nin takip ettiği belirlenmiştir [66].

Lübnan'da hıyar yetiştirilen bölgelerde zarar yapan virüs hastalıklarını belirlemek amacıyla yapılan survey çalışmalarında CABYV ve ZYMV virüslerinin yaygın virüsler olduğu saptanmıştır [67].

Brezilya'nın Sao Paulo bölgesinde kabakgillerde zarar oluşturan 5 virüsün (CMV, PRSV-W, WMV-2, ZLCV (*ZucchiniLeaf Curl Virus*) ve ZYMV varlığı, yayılışı ve yaygınlık oranları üzerinde yapılan bir çalışmada, 7 kültürü yapılan tür; 6 yabancı tür ve 1 ticari hibrit çeşidinden alınan 621 örnek PTA-ELISA (Plate Trapped Antibody-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemiyle test edilmiştir. PRSV-W ve ZYMV sırasıyla %49,1 ve %24,8 ile en çok bulunan virüsler olarak saptanmıştır. Ayrıca ZLCV, CMV ve WMV-2 sırasıyla %7,8, %6,0 ve %4,5 oranlarında tespit edilmiştir [68].

Şevik ve Sökmen (2001), Samsun'da kabakgil bitkilerinde zararlı olan virüsleri ve bunların yayılışlarını belirlemek amacıyla 5 ilçeye bağlı 18 köyde 523 örnek toplamışlardır. Örneklerin biyolojik ve serolojik yöntemlerle testlenmesi sonucunda bölgede CMV, ZYMV ve WMV-2'nin en zararlı virüsler olduğu belirlenmiştir. DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile testlenen toplam 165 örneğin %53,93'ünün WMV-2, %38,78'inin ZYMV ve %20,60'ının CMV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir [40].

Gümüş ve ark. (2001), kabakgillerin de bulunduğu bazı sebzelerin tohumlarında bulunan viral etmenlerin saptanması üzerine yaptıkları araştırmalarda hıyar tohum örneklerinin %40,54'ünün *Cucumber Green Mottle Mosaic Virus*(CGMMV), %29,72'sinin CMV; kabak tohum örneklerinin %20'sinin CMV, %6,66'sının SqMV; kavun tohum örneklerinin %31,25'inin CMV, %6,25'inin TRSV ile bulaşık olduğu saptanmıştır [69].

Macaristan'da Szarvas, Kecskemet ve Tordas şehirlerinde kabakgillerde viral hastalıkların araştırıldığı bir çalışmada, karpuz, kavun, hıyar ve yazlık kabakta konum ve tarlaya bağlı olarak %10-100 arasında enfeksiyon belirlenmiştir. En yaygın

simptomların klorotik lekeler veya mozayik, koyu yeşil mozayik veya yeşil damar bantlaşması, yaprak deformasyonu; sarı lekeler ve sarı damar; klorotik lekeler veyahalkalar ve şiddetli yaprak deformasyonu ile birlikte mozayik şeklinde olduğunu bildirilmiştir. Toplanan örnekler ZYMV, WMV-2 ve CMV antiserum kullanılarak dot blot serolojik metot ile test edilmiş, toplam 50 örnekten 48'i infekteli bulunmuş, örneklerin 32'sinde CMV, 31'inde ZYMV ve 24'ünde WMV-2 belirlenmiştir (70).

Yunanistan'da kabakgillerde 2002'de yapılan çalışmada, bulaşıcı virüslerin yüksek etki alanının var olduğu rapor edilmiş. Bu çalışmanın sonucunda WMV(%67), ZYMV(%27), CMV(%20), PRSV(%3) ve SqMV(%2) virüs hastalıklarının bulaşıklık oranları tespit edilmiştir [71].

Dukić ve ark. (2002), Yugoslavya'daki kabak üretim alanlarında bulunan önemli virüs hastalıklarını tespit etmek amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişler ve bu çalışma sonucunda, ZYMV'yi Eski Yugoslavya'da ilk kez rapor etmişlerdir [72].

Bostan ve ark. (2002) serolojik ve biyolojik metotlar kullanarak Erzurum, Erzincan ve Artvin illerinde kabak bitkisinde CMV ve ZYMV taraması yaptıkları çalışmada, DAS-ELISA testi sonucunda tüm örneklerin ZYMV ile enfekteli olduğunu, aynı alanlardan toplanan örneklerde CMV'ye rastlanmadığını, ayrıca yaptıkları gözlemlerde hastalığın yıldan yıla değişiklik arz ettiği ve gittikçe artış gösterdiğini belirlemişlerdir [73].

2002-2003 yıllarında yapılan bir araştırmada, *Cucurbita pepo* L.subsp. *pepo* var. *styriaca* GREB. ZYMV'nin bulaşması ile sitolojik modifikasyonlara etkisi Avustralya'da araştırılmıştır. Üç hafta sonra Styrian pumpkin bitkilerinde şiddetli simptom belirtilerigenç ve yaşlı yapraklarda kendini göstermeye başlamıştır. Kontrol bitkilerive bulaşık bitkiler karşılaştırıldığında bulaşık bitkiler bodur ve dik büyüme sergilemiştir. Çiçeklenme kontrol bitkilere göre bulaşık bitkilerde bir hafta sonra olmuştur. Ayrıca yaprak öz suyunda ipliksi parçacıklar gözlenmiştir. Hücre aktiviterinde, mitokondri yapısında, dokular ve kloroplastta tahriplere neden olmuştur [74].

Hatay ilinde yetiştirilen kabakgillerde ZYMV yaygınlığının ve taşınmasının araştırılması amaçlı yapılan çalışmada Hatay ilinin farklı yörelerinden 2003 yılında yazlık kabak (*C. pepo*), kışlık kabak (*C. maxima*) ve hıyar (*Cucumis sativus*)

bitkilerinden simptom gösteren yaprak ve meyveler toplanmıştır. Tarla koşullarında doğal enfekteli bitkilerde şiddetli mozayik lekeler, sararma, uç sürgünlerdeki yapraklarda ayakkabı bağı görünümü, bodurlaşma ve meyvelerde şekil bozukluğu belirtileri görülmüştür. Simptomlu bitkiler DAS-ELISA ile testlenmiştir. Şiddetli simptom gösteren meyvelerden çıkan tohumlar çimlendirilerek her bir çeşitten 100'er fide testlenmiş ve 200 bitkide simptom gözlemleri yapılmıştır. Tohumlardan %84-94 oranında bitki elde edilmiştir. Özellikle *C. pepo* ve *C. maxima* fidelerde %2-3 oranında kloroz, bodurlaşma ve yaprak deformasyonu gözlenmiştir. DAS-ELISA testi sonucu tohumlardan elde edile fidelerin hiçbirinde ZYMV belirlenmemiştir [75].

Kıbrıs'ta yapılmış olan bir çalışmada, kabakgil türleri üzerinde etkili olan virüslerin varlığını ve yaygınlığını saptamak amacıyla kabakgil yetiştiriciliği yapılan 5 ana bölgeden hıyar, kabak, kavun ve karpuz bitkisinden oluşan 2993 adet örnek toplanmıştır. Toplanan bu 2993 adet örneği ZYMV, CMV, SqMV, WMV, PRSV-V ve CABYV DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. CYSDV, BPYV ve CVYV için ise RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) yapılmıştır. Sonuç olarak testlenen tüm virüsler içinde %45'lik bir oranla ZYMV'nin en yaygın virüs olduğunu saptanmıştır. ZYMV'yi sırası ile %20,8 ile PRSV-W, %20,8 ile CABYV ve %7,8 oranı ile WMV izlemiştir. CYSDV birçok serada sararma semptomu gösteren hıyar örneklerinde %88,1 oranında, BPYV %2,4 oranında ve CVYV ise %9,5 oranında tespit edilmiştir. Ancak CMV ve SqMV bu çalışma boyunca herhangi bir kabakgil bitkisinde tespit edilememiştir [76].

Özaslan ve ark. (2006), Gaziantep'te kabakgillerde görülen virüs hastalıklarına yönelik 56 örnek ile yapmış oldukları çalışmada DAS-ELISA yöntemiyle 20 örnekte CMV, 22 örnekte ZYMV ve 3 örnekte PVY (*Potato Y Virus*)'ne rastlamışlardır. Ayrıca 10 örnekte bir veya daha fazla virüs tespit edildiğini bildirmişlerdir [77].

Trakya bölgesi Tekirdağ, Edirne, Kırklareli illerinde kavun ve karpuz üretim alanlarında mevcut virüsleri tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada CMV, PRSV-W, SqMV, MNSV (*Melon Necrotic Spot Virus*), CGMMV, ZYMV ve WMV-2 için ELISA yöntemiyle tarama yapılmıştır. Bu amaçla 17 kavun ve 19 karpuz tarlasında survey yapılmış ve toplanan 502 örnekten 333 tanesinin virüsle bulaşık olduğu saptanmıştır. Serolojik testler bu yedi virüsün de Trakya bölgesinde varlığını göstermiştir. Virüsler

yaygınlık oranları, karpuz alanlarında; ZYMV %45,5, WMV-2 %34,2, CMV %19,9, PRSV-W %2,1, SqMV %1,8 ve MNSV %0,4, kavun alanlarında; ZYMV %40,3, WMV-2 %31,2, CMV %7,2, PRSV-W %2,3, SqMV %0,5 ve MNSV %1,8 olarak tespit edilmiştir [78].

Ling ve Levi (2007), 190 su kabağı genotipinin ZYMV'nin Florida suşuna karşı tepkisini belirlemeye çalışmışlardır. İlk gerçek yaprak aşamasında mekanik inokulasyon yoluyla ZYMV bulaştırılmış, bulaştırmadan dört hafta sonra bitkilerde görsel değerlendirme yapılmış ve yapraklardan serolojik analiz için örnekler alınmıştır. Dayanıklılık yada duyarlılık belirlenmesinde her genotip için görsel değerlendirme ve DAS-ELISA test sonuçları birlikte değerlendirilmiştir. Taranan 190 genotipin 36'sı tam dayanıklı, 64 genotip kısmi dayanıklı (test edilen bitkilerin bazıları dayanıklılık gösterirken diğerleri hassas) ve 90 genotip ise hassas (test edilen bitkilerde ciddi semptomlar ve DAS-ELISA sonuçları pozitif) olarak bulunmuştur [36].

Güney Kore'nin Jeonnam ilinde kavun üretim alanlarında CMV, ZYMV, PRSV, WMV, CGMMV, KGMMV, MNSV'den kaynaklı hastalıkların oran ve yaygınlığını tespit etmek için yapılan bir çalışmada tipik hastalık belirtileri gösteren 101 bitki örneği toplanmış ve RT-PCR ile yapılan testlerde; WMV, ZYMV, PRSV, MNSV, CMV sırasıyla 46, 5, 4, 18, ve 3 örnekte tespit edilmiştir [79].

Massumi ve ark. (2007), İran'ın farklı bölgelerinde sera şartlarında yetiştirilen kabakgilleri CMV, SqMV, PRSV-W, WMV-2, ZYMV, CuNV (*Cucumber necrosis Virus*) ve TSWV (*Tomato Spotted Wilt Virus*) yönünden incelemişlerdir. Bu alanlardan toplanan bitki örnekleri DAS-ELISA yöntemi ile analiz edilmiştir. CMV ve ZYMV %21,2 ve %18 ile en sık rastlanan virüsler olmuştur. WMV-2 %4,3 ve TSWV %1,25 oranlarında tespit edilmiştir. CuNV, SqMV ve PRSV-W ise hiçbir örnekte rastlanmamıştır [80].

İran'nın 17 ilinde kabakgil yetiştirilen alanlarda bulunan virüsleri tespit etmek amacıyla virüs ve benzeri belirti gösteren kavun, kabak, hıyar ve karpuz bitkilerinden örnekler toplanmıştır. Toplanan örnekler DAS-ELISA veya RT-PCR yöntemleri kullanılarak 11 kabakgil türü virüsü yönünden incelenmiştir. Örneklerin %71'inde en az bir virüs enfeksiyonuna rastlanmıştır. Belirti bulunan örneklerin %49'unda karma enfeksiyon ortaya çıkmıştır. CABYV hıyar, kabak, kavun ve karpuz örneklerinde sırasıyla %49,

%7, %40 ve %33 oranlarıyla en yaygın virüs olmuştur. İkinci en yaygın virüs, kavun ve karpuzda, WMV %30-33; hıyarda, CMV %33 ve kabakta, ZYMV %38 olmuştur. Ayrıca İran için MNSV ve ZYFV (*Zucchini Yellow Fleck Virus*) ilk kez rapor edilmiştir. İncelenen tüm alanlarda en çok rastlanan virüsler CABYV, WMV ve ZYMV olmuştur [81].

Levi ve ark. (2009) 56 su kabağı genotipi (IP), ve önemli kabakgil türlerinde (*C. maxima* Duch., *C. pepo* L., *Citrullus* spp., *Cucumis melo* L., *Cucumis sativus* L.) 236 SRAP markerını kullanarak akrabalık ilişkilerini araştırmışlardır. Su kabağı açık bir şekilde diğer türlerden ayrılmıştır. Su kabakları iki ana gruba ayrılmış ve birinci grup çoğunlukla Güney Asya kaynaklı genotipleri, daha az sayıda ise Akdeniz havzasından ve Kuzey Doğu Asya'dan toplanmış olan genotipleri kapsarken, diğer grup ise Güney Afrika, Kuzey, Orta ve Güney Amerika, Çin, Endonezya ve Kıbrıs'tan gelen genotiplerden oluşmuştur. Çalışmada bütün su kabaklarının kök ur nematoduna duyarlı olduğufakat Meksika ve Florida'dan toplanmış olan genotiplerin kısmi bir dayanıklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bütün su kabağı genotipleri beyaz sinek tarafından infekte edilirken, daha az etkilenen genotiplerin olduğu gözlemlenmiştir. ZYMV virüsüne ve küllemeye dayanıklılık gösteren genotiplerin tamamı toplanmıştır. Farklı poligenetik gruplara sahip olan genotipler karpuzla önemli derecede aşı tutma oranı göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçlarının hastalık ve zararlılara dayanıklı güçlü anaçların ıslah edilmesine altyapı teşkil edeceği bildirilmiştir [82].

Jossey ve ark. (2008), Amerika Illinois'te sakız kabağı, su kabağı ve bal kabağında enfeksiyona sebep olan virüsleri tanımlamak için bir çalışma yürütmüşlerdir. Toplanan bitki örnekleri DAS-ELISA yöntemi kullanılarak CMV, PRSV, SqMV, TRSV, ToRSV (*Tomato Ringspot Virus*), WMV ve ZYMV yönünden taranmıştır. WMV 2004, 2005 ve 2006 yıllarında sırasıyla örneklerin %47, %46 ve %52'sinde tespit edilmiş ve en çok rastlanan virüs olmuştur. SqMV aynı yıllarda sırasıyla örneklerin %6, %41 ve %48'inde tespit edilmiştir. Surveyler esnasında, CMV örneklerin %6, %4 ve %3'ünde; PRSV %6, %11 ve %4'ünde; ZYMV %18, %4 ve %4'ünde bulunmuştur. Illinois'te TRSV'nin balkabağındaki varlığı ilk kez bu çalışma ile tespit edilmiştir. Böylece taranan virüslerin sakız kabağı, su kabağı ve bal kabağında varlığı kanıtlanmıştır. Enfeksiyona sebep olan virüslerin çoğu benzer belirtiler göstermiştir. Yapraklarda mozayik, damar bantlaşması,

damarlarda renk açılması, buruşukluk ve deformasyon en çok görülen belirtiler olmuştur. Meyvelerde ise renk açılması ve deformasyon ortaya çıkmıştır [83].

Tunus'ta yetiştirilen kabakgillerde 2 büyük survey yapılmış ve toplanan örnekler ZYMV, PRSV-W, WMV, *Moroccan Watermelon Mosaic Virus* (MWMV), ZYFV, CMV, SqMV ve MNSV enfeksiyonları varlığını tespit etmek amacıyla DAS-ELISA ile test edilmiştir. Çalışma sonucunda WMV, CMV, PRSV-W, ZYMV, ZYFV ve SqMV survey yapılan tüm alanlarda tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonunda ZYMV'nin %34 oranında en yaygın virüs olduğu belirlenmiştir [84].

Fidan ve ark. (2010), Çukurova Bölgesinde yapıkları çalışmada Türkiye, Fransa ve İspanya'da farklı bölgelerden toplanan kavun çeşitlerinde CMV, WMV ve ZYMV virüs hastalıkları için DAS-ELISA testi ile testlemişlerdir. 67 kavun çeşidinden CU305'in ZYMV ve WMV'e dirençli olduğu, Türkmenistan'dan 100PB, CU287 çeşiti ile birlikte İç Anadolu'dan CU328 de ZYMV'e dirençli olduğu tespit edilmiştir. İspanya'dan CU305 WMV direnç göstermiştir. Hindistan'dan PI4144.723 genotipi ZYMV'ye dirençli olarak test edilmiştir. Çalışma sonucu CMV ye dayanıklı hiçbir genotip bulunmamıştır [85].

2009-2010 yılında Samsun'da kabak üretim alanlarının büyük bir kısmında, yapraklarda hafif veya şiddetli mozayik, koyu yeşil damar bantlaşması, yaprak ve meyvede şekil bozukluğu veya yaprak ayasının daralması şeklinde virüs belirtileri gözlenmiştir. Kabak bitkilerinde SqMV'yi saptamak amacıyla yapılan survey çalışmasında üretimin yoğun olarak yapıldığı 22 alandan virüs belirtisi gösteren sakız (*C. pepo* L.), bal (*C. moschata* Duch.) ve kestane (*C. maxima* Duch.) kabağı örneklerinde %20,9'unun SqMV ile enfekteli olduğu görülmüştür. Ayrıca yapılan çalışmada DAS-ELISA testi ile ZYMV, CYMV gibi virüs hastalıkları tespit edilmiştir [40].

Kaya ve Erkan (2011), İzmir, Manisa, Aydın, Balıkesir illeri kabakgil üretim alanlarındaki virüsleri belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada bitkilerde yaygın olarak mozayik, beneklenme, sararma, kıvrılma, şekil bozukluğu, odunlaşma ve yeşil aksam ölümü şeklinde belirtiler gözlemlenmiştir. Söz konusu illerde tarla bazında virüslerin yaygınlık oranlarının %4,98 ile %15,60 arasında değiştiği belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre örneklerin %42 oranında WMV-2, CMV, WMV-1 ve ZYMV ile enfekteli olduğu ortaya konmuştur. Kabakgil örneklerinde en yaygın virüsün %21,5

oranı ile WMV-2 olduğu ve bu virüsün kavunda, sakız kabağında ve bal kabağında mevcut olduğu tespit edilmiştir. CMV'nin en yüksek oranda hıyar (%29,7); WMV-1 sadece karpuz (%24); ZYMV ise kavun (%2,8) ve bal kabağı (%4,4) örneklerinde belirlendiği bildirilmiştir [86].

Bal kabaklarında ZYMV'ye karşı Actigard® ve ISR-2000® bitki aktivatörlerinin etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada en uygun dozların ISR-2000® için 90 ml/100 l su Actigard® için 67 ve 87 g/da olduğu belirlenmiş. Actigard® uygulamasının simptom çıkışını 5-21 gün arasında geciktirdiği, ISR-2000®'in ise simptom çıkış süresinde etkisi olmadığı ancak bitki gelişimini olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir [87].

Mando ve ark. (2011) ZYMV, WMV ve CMV enfeksiyon oranlarını belirlemek amacıyla 2006 ve 2007 yıllarında Suriye'de yapmış oldukları çalışmalarda, kabak, hıyar, kavun, karpuz ve bal kabağı bitkilerinden 387 örnek toplamışlar ve bunların 323'ünün (%83,9) DAS-ELISA ile pozitif bulunduğunu, bunlardan 112'sinin (%34,6) karışık enfeksiyon şeklinde olduklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar ZYMV'nin en yaygın virüs olduğunu (%67,9), bunu WMV (%39,9) ve CMV'nin (%10,8) izlediğini ifade etmişlerdir [88].

Vučurović ve ark. (2012), tarafından Sırbistan'ın Gornji Tavankut bölgesindeki karpuz alanlarında yapılan surveylerde mozayik belirtileri gözlemlemişlerdir. Bu alanlarda yaprak bitlerinin aşırı kolonize olduğunu saptamışlar, belirti gösteren veya göstermeyen 26 farklı bitki örneği alınarak CMV, ZYMV ve WMV-2 için DAS-ELISA yöntemiyle test etmişler ve ZYMV' nin Sırbistan için karpuzda ilk kayıt olduğunu ve bu virüsün diğer kabakgillerde de yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca vektörlerinin de Sırbistan'da geniş yayılma gösterdiği rapor etmişlerdir [89].

Ali ve ark. (2012), Oklahoma'nın kabakgil yetişen alanların büyük bir kısmında virüs bulunma oranını tespit etmek amacıyla, 90 tarlada 890'ı kabakgiller, 109'u yabancı bitkiler ve 50'si diğer kültür bitkilerinden olmak üzere toplam 1049 örnek toplamış; CMV, CGMMV, MNSV, PRSV-W, SqMV, WMV-2 ve ZYMV'ye karşı Dot-Immunobinding Assay (DIBA) yöntemiyle test etmişlerdir. Toplanan örnekler arasında PRSV %51, WMV-2 %14 ve ZYMV %10 en yüksek oranda bulunurken, SqMV,

MNSV ve CMV sırasıyla %3,8, %3,3 ve %1,1 olarak tespit edilmiştir. Örneklerden hiç birinde CGMMV tespit edilmemiştir [90].

Türkiye'nin Karadeniz bölgesinden toplanan kışlık kabak çeşitlerinin tohum kaynaklarında virüs kaynağı tespit edilmesi amaçlanan çalışmada CMV ve ZYMV ELISA testi ile testlenmiştir. Test sonucuna göre bu örneklerin %11,3 'ü enfekteli bulunurken, ZYMV %6,2 ve CMV %5,1 oranında bulunmuştur. Ayrıca tekrar yetiştirilen tohumlarda SqMV, TRSV ve CGMMV ile enfekteli bitkiler tespit edilmiştir [85].

Maharashtra'da Suresh ve ark. (2013), 2009 ve 2010 yıllarında yapmış oldukları surveylerde topladıkları farklı virüsler tarafından oluşturulan viral hastalıkları çalışmışlardır. Farklı olarak seçilen kabakgillerden virüs izolatlarını toplamışlar ve konukçu aralıklarını belirlemek için bitki özsuyu ile taşıma çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalar sonucunda CMV, ZYMV, WMV ve CGMMV'un Nashik bölgesinde, *Watermelon Bud Necrosis Virus* (WBNV), ZYMV, WMV ve *Watermelon Silver Mottle Virus* (WSMoV)'nin Aurangabad ve Paithan bölgelerinde bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Sangamner bölgesinde ürünlerin özellikle WBNV, ZYMV ve WSMoV ile etkilendiğini, CMV'nin ise sadece Sillod bölgesinde bulunduğunu belirlemişlerdir [91].

Diyarbakır ve Mardin illerinde yoğun olarak üretimi yapılan kavun, karpuz, kabak ve hıyar bitkilerinde virüs hastalıklarının yaygınlık ve oranlarını ile etmenlerini belirlemek amacıyla yapılan tez çalışmasında fide ve yetişkin dönemlerde toplam 194 yapraklarında mozayik, iplikleşme, kabarılaşma ve şekil bozukluğu; meyvede renk açılması ve şekil bozukluğu; bitkinin genelinde bodurlaşma, uç sürgünlerde rozetleşme, gelişme geriliği ve renk açılması gibi belirtileri gösteren hastalıklı bitkilerden örnekler toplanmıştır. Her iki ilin hastalığın ortalama yaygınlık ve oranı sırasıyla birinci dönemde %38,01 ve %4,57, ikinci dönemde ise %52,26 ve %21,59 olarak belirlenmiştir. Belirlenen tarlalardan toplanan 160 örnek DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Virüs türlerinin örneklerdeki dağılımı büyük farklılık göstermiş, çoğu örneklerde birden fazla virüs türü saptanmıştır. Test sonuçlarına göre; WMV 96 örnekte %60,00 oranında, ZYMV 63 örnekte %39,38 oranında, CMV 69 örnekte %43,13 oranında, CABYV 26 örnekte %16,25 oranında, PRSV 34 örnekte %21,25 oranında

belirlenmiştir. Test edilen örneklerde SqMV enfeksiyonu belirlenememiştir. Örneklerden 11'i CMV, 24'ü WMV ve 3'ü ZYMV ile tek enfeksiyonlu olup, geriye kalanının ise birden çok virüsle enfekteli olduğu saptanmıştır [92].

Topkaya ve ark. (2014), Ankara ve Antalya'da kabakgil üretim alanlarında yapmış oldukları çalışmalarda DAS-ELISA ile ZYMV, CMV, WMV-2, CGMMV, PRSV-W ve SqMV virüslerinin varlığını belirlemişlerdir. Ankara'da bütün test edilen virüslerin bulunduğunu, buna karşın Antalya'da ZYMV, CMV ve WMV-2'nin yaygın olduğunu bildirmişlerdir.

İstanbul ilindeki karpuz üretim alanlarında 2014 yılı üretim döneminde gerçekleştirilen sürvey çalışmalarında, verim kayıplarına neden olan virüs hastalıklarını saptamak amacıyla 344 yaprak örneği toplanmıştır. Karpuz üretim alanlarında karpuz yapraklarında sararma, nekroz, mozayik ve şekil bozukluğu belirtileri gösteren yapraklarda CMV, ZYMV hastalıklarını saptamak üzere DAS-ELISA testi gerçekleştirilmiştir. Test edilen toplam 344 yaprak örneğinden 13'ünde CMV, 20'sinde ZYMV bulunduğu saptanmış, 2 örnekte CMV+ZYMV enfekteli oldukları tespit edilmiştir. DAS-ELISA testi sonucunda İstanbul ilinden alınan 344 adet yaprak örneğinin 35'inde tekli ve karışık enfeksiyonlar saptanmıştır. CMV'ü tekli enfeksiyon halinde %3.7, ZYMV'ü tekli enfeksiyon halinde %5.8, CMV ve ZYMV karışık enfeksiyonlar halinde %0.5 olarak belirlenmiştir. Toplamda test edilen bitkilerde CMV %4.3 oranında ve ZYMV %6.9 oranında enfeksiyona sahip bulunmuştur [94].

Türkiye'nin tüm coğrafi bölgelerinde yetiştirilen önemli türlerden birisi olan *C. pepo* (çerezlik/sebze) Konya'da yürütülen bir çalışmada ZYMV'ye karşı testlenerek dayanıklılık gösteren genotiplerin sayısının artırılması hedeflenmiştir. Çalışmada 2005 yılında Kırşehir, Kayseri, Sakarya, Tekirdağ, Nevşehir ve Konya'dan toplanan genotipler kullanılmıştır. Yüksek verimli, albenisi yüksek ve kolay çitlanan 108 kabak çeşit veya genotipi toplanarak ZYMV'ye dayanıklılık bakımından test edilmiştir. Test edilen kabak çeşit adaylarının hiç birisinin ZYMV enfeksiyonuna karşı toleran, dayanıklı ya da immun olmadığı test edilmiştir. Test edilen ümitvar kabak bitkilerinin tümü, ZYMV Türkiye izolatına karşı şiddetli viral belirtiler sergilemiştir. Tüm testlenen adaylarda hastalık şiddetinin %60 ile %100 arasında değişen aralıklarda farklılık gösterdiği tespit edilmiştir [95].

Tohum, en önemli generatif çoğaltım materyalidir. Beslenme amacıyla üretilen bitkisel ürünlerin yaklaşık %90'ının tohumla çoğaltılması, virüsleri de içeren tohum kaynaklı patojenlerin neden olduğu kayıplar, konunun önemini daha da artırmaktadır. Uluslararası tohum ticaretinin artmasıyla, çok sayıda hastalık etmeni tohum ile dünya çapında hızlı bir şekilde yayılabilmektedir. Bitki virüslerinin yaklaşık %20'sinin tohum ile generasyondan generasyona taşınabilmesi, salgın oluşumunda önemli bir rol oynayabilmektedir. Bu nedenle sağlıklı tohum, üretimde ve virüs hastalıkları ile mücadelede son derece önemlidir [96].

Enfekteli tohum muhtemelen virüslerin yayılmasında en önemli kaynaklardan birisidir. Tohumla yayılabilen virüsler ticari bitkisel üretimi önemli derecede sınırlayan faktörler arasında yer alır [97].

Yukarıda literatürlerde de verildiği gibi ülkemizde kabakgillerde görülen virüslerin çoğunluğu rapor edilmiş durumdadır. Hastalık ve zararlılar ile en etkili yöntemin dayanıklı/tolerant çeşit/anaçların geliştirilmesi ile mümkün olacağı birçok literatüde bildirilmiştir. Genetik dayanıklılık ile mücadele yöntemi sadece ekonomik üretim sağlamamakta aynı zamanda kimyasalların kullanımını da azalttığı için sürdürülebilir çevre ve tarımsal üretime de katkı sağlamaktadır. Bu sebeple genetik kaynaklar içerisinde bulunan dayanıklılık kaynaklarının tespit edilerek kullanılabilir hale getirilmesi önem arz etmektedir.

Ülkemizde, su kabağı üzerinde yapılan ilk çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenen ve Yetişir ve ark. (2006) tarafından yürütülen bir proje çerçevesinde yürütülmüştür (98). Çalışmada, Akdeniz havzasından (212) su kabağı genotipleri toplanmış ve karpuz anaçlık potansiyelleri tespit edilmiştir. Su kabağı genotipleri karpuz ile %80'in üzerinde uyuma göstermiştir. Genotipler arasından seçilen 70 su kabağında *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*'un bilinen üç ırkına (0, 1 ve 2) karşı testleme yapılmış ve genotiplerin hepsi dayanıklı bulunmuştur. Yapılan nematod testinde, farklı oranlarda olmakla birlikte test edilen bütün genotiplerde nematottan kaynaklı nodül oluşumu tespit edilmiştir. Devam eden süreçte yapılan çalışmalarda ülkemiz su kabağı genetik kaynakları toplama çalışmaları ve karakterizasyon çalışmaları devam etmiştir. Nematod testlemeleri yapılmış, ancak test edilen genotiplerin hepsi (60 adet) duyarlı bulunmuştur [99]. 2011-2014 yılları arasında yapılan toplamalar ile koleksiyondaki

genotip sayısı 322'ye çıkarılmıştır. 322 genotip içinden seçilen 160 genotipte tuz için tarama yapılmış 10 genotip belirlenmiştir. Yukarıda belirtildiği gibi virüs hastalıkları kabakgillerde önemli verim ve kalite kayıplarına sebep olmaktadır. Hem sebze olarak tüketilen hem de farklı şekillerde kullanılan su kabağının diğer önemli kullanım alanı ise karpuz anaç olarak kullanılmasıdır. Olumsuz koşullarda bile büyüeyebilen ve farklı kullanım alanları olabilen su kabağının virüslere dayanımının tespit edilmesi ve dayanıklı bireylerin ortaya çıkarılması bitkisel üretim ve ıslah açısından önemli konular arasındadır. Bu sebeple bu çalışmada, ülkemiz su kabağı genetik kaynaklarının ZYMV'e karşı testlenmesi amaçlanmıştır.



3. BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Alanı ve Çalışma Materyali

Tez çalışması Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'nde Mersin'in Erdemli ilçesinde gerçekleştirilmiştir (Şekil3.1).

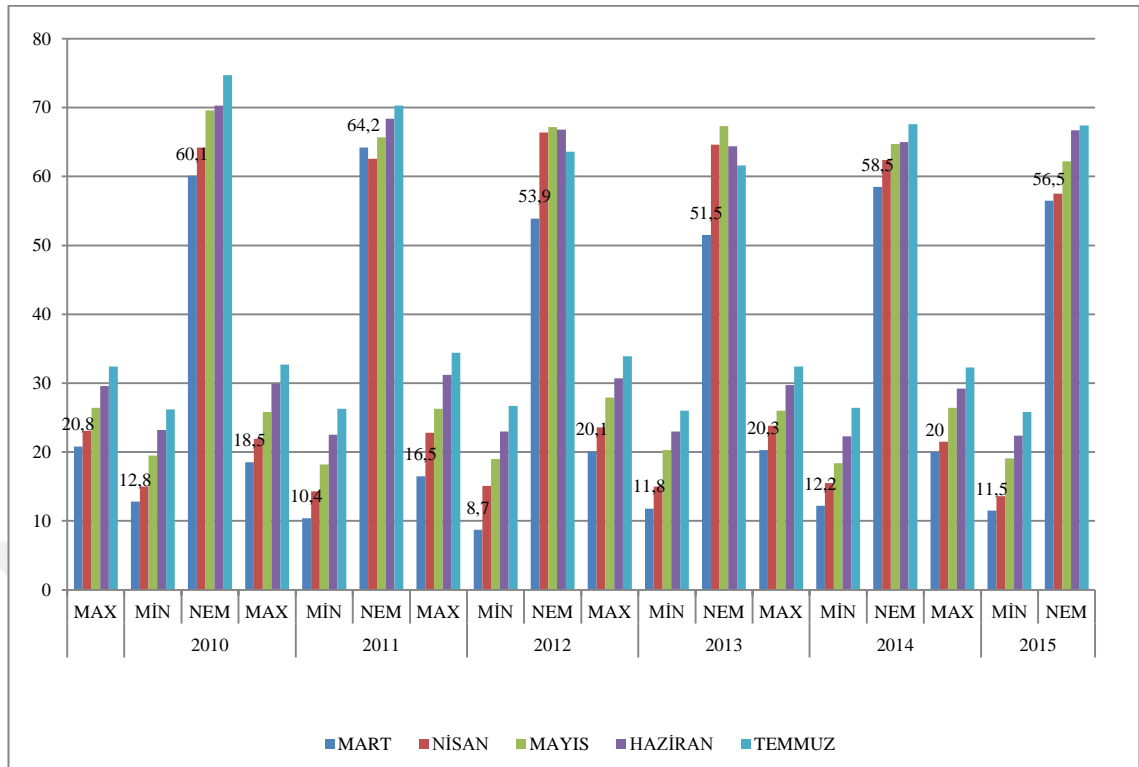


Şekil 3.1. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Mersin

Tez çalışması iki aşamalı gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada doğal bulaşma ikinci aşama mekanik bulaştırma olarak planlanmıştır. Doğal bulaşmada amaç Alata Araştırma Merkezi Arazilerde önceden kullanılan parsellerinde kurulan denemeler, bulaşık bitki varlığı ve arazide ZYMV'nin önceden yapılan denemelerde test edilmesidir.

Arazi çalışmalarında TUBİTAK projeleri TOVAG 3216 ve TOVAG 1110117 kapsamında toplanan 322 adet su kabağı genotipi içerisinde morfolojik özelliklerine göre seçilen 168 su kabağı genotipi kullanılmıştır. Kullanılan genotipler Tablo 3'te verilmiştir. Arazi çalışmaları için tohumlar 15 Nisan 2015 tarihinde 1:1 torf-perlit karışımı içeren viyollere ekilmiştir. 5 Mayıs 2015 tarihinde ise iki gerçek yaprak aşamasında olan fideler her genotipten 10'ar bitki 3 x 0,5 m aralıklar ile bulaştırma yapılmadan araziye dikilmiştir. Bitkiler damlama sulama sistemi ile bitki ve toprak gözlemlerine bağlı olarak sulanmıştır. Dekara 10:10:10 (N:P:K) olacak şekilde fertigasyon yöntemi ile gübreleme yapılmıştır. Virüs belirtileri üretim sezonu sonuna doğru gözlem yapılarak tespit edilmiştir. Mekanik bulaştırma çalışmaları serada yapılmıştır. Serada yapılan mekanik bulaştırmada ise seçilen 118 adet su kabağı genotipinin, 5 adeti Amerika Bileşik Devletleri'nden dayanıklı olduğu rapor edilen kontrol bitkisi olarak ve Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü kabak gen havuzunda bulunan 5 adet *Cucurbita pepo*(Otto-dayanıklı, Z5 ve Z38-tolerant, Perlette ve Alata Yeşili hassas) materyal olarak çalışmada kullanılmıştır.

Mekanik bulaştırma çalışmasında kullanılan ZYMV izolatu Adana Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü'nden edinilmiş symptom vermemesi üzerine Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü arazisinde bulunan hastalıkla bulaşık bitkilerden alınan izolatlara ile ikinci bir bulaştırma yapılmıştır. Bulaştırma yapıldığı zamandaki Mersin'deki meteorolojik veriler son 5 yıllık olarak göz önüne alınarak planlamalar yapılmıştır.



Şekil 3.2. Deneme alanının Mart-Temmuz aylarındaki son 5 yıllık sıcaklık ve nem verileri

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan su kabağı genotiplerinin kodları, menşei ve kendileme generasyonları

Sıra No	Genotip No	Alındığı yer	Kendileme Generasyonu
1	47745	Yavuzeli Gaziantep (Ege Tarımsal Araştırma Aracılığı ile)	S5
2*	47765	Yavuzeli Gaziantep (Ege Tarımsal Araştırma Aracılığı ile)	S4
3	01-02	Çamlıca Köyü Yüreğir- Adana	S5
4	01-18	Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü-Adana	S5
5	01-17	Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü-Adana	S5
6*	03-01	Seyidler -İscehisar -Afyonkarahisar	S3
7	07-03	Mescit Köyü Alanya-Antalya	S2
8	07-10	Gözüküçüklü Köyü Alanya--Antalya	S4
9	07-15	Mahmutlar Alanya-Antalya	S5
10*	07-17	Payallar Alanya-Antalya	S4
11*	07-20	Afsallar Alanya-Antalya	S4
12	07-25	Payallar Alanya -Antalya	S4
13	07-31	Karakese Alanya -Antalya	S3
14*	07-42	Şahin tepesi Kumluca -Antalya	S4
15*	07-47	Çamköy Pınarlı Beldesi -Antalya	S4
16*	08-01	Hızarlı Köyü -Artvin	S3
17*	08-02	Tepeköy- Şavşat -Artvin	S3
18	09-01	Horsunlu girişi -Aydın	S4
19*	09-03	Hallaçlar köyü -Aydın	S4
20	10-01	Gönen- Balıkesir	S4
21*	15-01	Merkez -Zeki BÜYÜKSOLAK- Burdur	S3
22*	16-04	Mustafa Kemal Paşa Doğacı-Bursa	S3
23*	16-09	İznik Çamoluk-Bursa	S3
24*	17-02	Çan-Çanakkale	S3
25	19-02	İskilip Merkez -Mustafa KARTAL-Çorum	S3
26	20-01	Büyük karcı köyü (Kahveci)-Denizli	S5
27*	20-05	Tavas (merkez) - Denizli	S4
28*	21-01	Lice Merkez-Diyarbakır	S3
29*	22-01	Hafsa - Necatiye Köyü-Edirne	S3
30	23-04	Yurtbaşı köyü-Elazığ	S3
31*	27-03	Yeşilova Köyü, Nurdağı-Gaziantep	S4
32	27-07	Oğuzeli Merkez -Gaziantep	S3
33	27-11	Yamaçoba Köyü Cemalettin Çam-Gaziantep	S3
34*	27-13	Merkez Eski Et Hali-Gaziantep	S3
35*	27-14	Merkez Fıstık Araştırma Enstitüsü Bahçesi-Gaziantep	S3
36	28-01	Sağca Köyü-Giresun	S3
37*	28-04	Yağlıdere- Koçlu Köyü-Giresun	S3
38*	31-15	Topboğazı-Kırıkhan Hatay	S3
39*	31-18	Aktepe-Hatay	S4
40*	31-37	Kuyuluk Erzincan-Hatay	S4
41	32-01	Isparta - Merkez Küçük Gökçeli Kasabası - Önder Öndeğirmen	S4
42*	33-01	Elvanlı Köyü Erdemli-Mersin	S3
43	33-02	Karakaya Köyü Silifke - Mersin	S5
44*	33-03	Keven Köyü Silifke - Mersin	S4
45	33-04	Akkuyu Köyü Erdemli - Mersin	S4
46*	33-07	Elvanlı Köyü Erdemli - Mersin	S5
47*	33-11	Horamşalı Köyü Erdemli - Mersin	S4
48*	33-13	Pınarbaşı Köyü Erdemli - Mersin	S4
49*	33-15	Kızkalesi Silifke - Mersin	S6

Sıra No	Genotip No	Alındığı yer	Kendileme Generasyonu
50	33-18	Elvanlı Köyü Erdemli - Mersin	S4
51*	33-23	Fakılı Köyü Erdemli - Mersin	S4
52*	33-25	Ulupınar Köyü Gülnar - Mersin	S4
53	33-26	Keben Köyü Silifke - Mersin	S4
54*	33-27	Değirmendere Silifke - Mersin	S4
55	33-29	Ulupınar Köyü Gülnar - Mersin	S4
56	33-40	Elvanlı Köyü Erdemli - Mersin	S4
57*	33-42	Fatih Mh. Erdemli - Mersin	S4
58*	33-49	Anamur -Mersin	S4
59*	33-50	Tarsus merkez-Mersin	S3
60*	34-02	Pendik -Kurtköy-İstanbul	S3
61	34-03	Pendik - Kurtköy -İstanbul	S3
62*	34-04	Pendik - Kurtköy -İstanbul	S3
63*	35-05	Şirince- Gölgen ÖZTEKİN-İzmir	S3
64*	35-06	Şirince -Gölgen ÖZTEKİN-İzmir	S3
65*	35-10	Şirince-Gölgen ÖZTEKİN -İzmir	S3
66	37-03	Kastamonu	S3
67	38-02	Merkez Cırkalan Köyü-Kayseri	S3
68	38-06	Merkez Dalyan Balıkçısı-Kayseri	S3
69	38-07	Kocasinan İlçesi Düven Kasabası Bahri Değirmencioğlu-Kayseri	S3
70*	39-01	Babaeski- Haznedar Gülce YILMAZ-Kırıklareli	S3
71*	42-05	Konya -Merkez -Önder Türkmen	S3
72*	42-06	Konya- Hadim- Bolat	S3
73*	42-09	Ereğli Merkez Sebzehalı-Konya	S3
74*	42-01	Hadim-Yukarıağıl-Konya	S3
75	43-02	Simav- Merkez-Kütahya	S3
76	43-04	Simav- Merkez-Kütahya	S3
77*	43-06	Simav- Merkez-Kütahya	S3
78	45-01	BağyoluKöyü Erdal ATICI-Manisa	S3
79*	45-02	BağyoluKöyü Erdal ATICI-Manisa	S3
80	45-03	BağyoluKöyü Erdal ATICI-Manisa	S3
81*	45-04	BağyoluKöyü Erdal ATICI-Manisa	S3
82*	45-07	Kıran Çiftliği -Manisa	S3
83	46-14	Jandarmalı -Kahramanmaraş	S3
84*	46-17	Kayseri girişi 10 km-Kahramanmaraş	S3
85*	47-02	Nusaybin Merkez- Nurs Lokman Hekim-Mardin	S3
86	47-03	Mardin Midyat arası Yeşilli-Mardin	S3
87	47-04	Midyat- Kayalı Köyü İsmat YILDIZ-Mardin	S3
88*	48-07	Kemer, Fethiye-Muğla	S3
89*	48-06	Saklıkent, Fethiye-Muğla	S3
90*	48-09	Ortaca, Muğla	S3
91	48-11	Yeşilyurt-Muğla	S3
92	48-13	Yeşilyurt-Muğla	S3
93*	50-01	Orta Hisar Necati Oyman-Nevşehir	S3
94*	50-04	Orta Hisar Ürgüp Necati OYMAN-Nevşehir	S3
95*	51-01	Bor Manastır Mevkii-Niğde	S3
96	53-02	Irmak Yeni Köy-Rize	S3
97*	54-01	Geyve -Adapazarı	S3
98*	55-01	Karadeniz Tarımsal Araştırma-Samsun	S5
99*	55-02	Karadeniz Tarımsal Araştırma-Samsun	S4
100	55-03	Merkez -Samsun	S3
101*	55-06	Tekkeköy-Sarıyurt-Samsun	S3
102	56-01	Pervari- Doğan Köyü Bedir ATAN -Siirt	S3
103*	57-01	Gerze Mahmuttırı Köyü - Sinop	S3

Sıra No	Genotip No	Alındığı yer	Kendileme Generasyonu
104*	59-03	Merkez- Altınova Şenay BECERİKLİ-Tekirdağ	S3
105	59-05	Merkez- Ahmet AKÇAM -Tekirdağ	S3
106	59-07	Altınova- Şenay BECERİKLİ -Tekirdağ-	S3
107	59-11	Merkez- Banarlı- Hamit AKDEMİR-Tekirdağ-	S3
108	60-02	Büyük Yıldız Köyü-Tokat	S3
109	60-04	Niksar Gökçeli Kasabası-Tokat	S3
110*	60-06	Bahçe Başı-Tokat	S3
111*	61-11	Merkez Sultantepe Köyü-Şanlıurfa	S3
112	62-03	Merkez Gedikli Köyü Dursun Öztürk-Tunceli	S3
113	63-04	Merkez Çamlıdere Köyü-Şanlıurfa	S3
114*	63-05	Siverek Mezre Köyü-Şanlıurfa	S3
115	63-11	Merkez Sultantepe Köyü -Şanlıurfa	S3
116	63-12	Birecik Karabaş Köyü-Şanlıurfa	S3
117	63-13	Yeni Halfeti Seldek Mahallesi Ase Teyze-Şanlıurfa	S3
118	64-07	Kızılca söğüt- Banas Uşak	S3
119*	64-08	Kızılca söğüt- Banas Uşak	S3
120*	66-02	Boğazlıyan-Devecipınar-Yozgat	S3
121	66-03	Boğazlıyan Devecipınar-Yozgat	S3
122*	70-07	Narlıdere-Köyü Karaman	S3
123	72-01	Gerçüş Merkez Özler Köyü-Batman	S3
124	73-03	Şırnak - Nebahat SARI	S3
125	73-05	Cizre -Kasrın Boğazı-Şırnak	S3
126*	77-01	Merkez- Elmalık- Yalova	S3
127	79-03	Erbeyli- Sazgın Köyü-Kilis	S3
128*	80-01	Doğancılar Köyü, Kadirli - Osmaniye	S4
129*	80-02	Akarcalı Köyü, Kadirli- Osmaniye	S4
130*	80-04	Derele Köyü, Osmaniye	S5
131	NJR-01	Nijerya (Osman GÜLŞEN)	S3
132*	PI-1	Hindistan - (NarinderDhlon)	S3
133	PI-3	Hindistan - (NarinderDhlon)	S3
134*	PI-4	Hindistan - (NarinderDhlon)	S3
135	PI-6	Hindistan - (NarinderDhlon)	S3
136	PI-8	Hindistan - (NarinderDhlon)	S3
137*	TR-12	ETA E Elvanlı Köyü, Erdemli- Mersin	S4
138	TR-13	ETA E Kızkalesi, Silifke-Mersin	S4
139*	TR-22	ETA E Fidanlı Köyü, Samandağ- Hatay	S4
140	TR-28	ETA E Aktepe- Hatay	S4
141*	TR-29	ETA E Soğuksu Köyü, Kırıkhan- Hatay	S4
142*	TR-32	ETA E Kömürçukuru, Belen- Hatay	S4
143	TR-37	ETA E Soğuksu Köyü, Kırıkhan- Hatay	S4
144*	TR-38	ETA E Ekinciler Beldesi- Hatay	S4
145	TR-44	ETA E Erzin Merkez- Hatay	S4
146*	TR-50	ETA E Yoncadüzü Köyü, Erzin-Hatay	S4
147*	US-1	PI 500814 (USDA kanalı ile) Zambia	S3
148*	US-04	PI 534553 (USDA kanalı ile) Suriye	S3
149*	US-09	PI 458736 (USDA kanalı ile) Arjantin	S3
150*	US-10	PI 381822 (USDA kanalı ile) Hindistan	S3
151*	US-11	PI 642043 (USDA kanalı ile) ABD	S3
152*	US-13	PI 491334 (USDA kanalı ile) Zimbabve	S3
153*	US-17	PI 381846 (USDA kanalı ile) Hindistan	S3
154*	US-18	PI 379367 (USDA kanalı ile) Sırbistan	S3
155*	US-19	PI 470260 (USDA Kanalı ile) Endonezya	S3
156*	US-21	PI 368640 (USDA kanalı ile) Sırbistan	S3
157*	US-22	PI 287534 (USDA kanalı ile) İtalya	S3

Sıra No	Genotip No	Alındığı yer	Kendileme Generasyonu
158*	USA-23	PI 442368 (USDA kanalı ile) Meksika	S3
159	VIR-1210	Senpetersburg Gen Bankası Rusya	S4
160*	VIR-1247	Senpetersburg Gen Bankası Rusya	S4
161**	USA-05	USA'dan getirilen dayanıklı genotip	S2
162**	USA-20	Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü	S2
163**	OTTO(<i>C.pepo</i>)	Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü	
164**	Z-38(<i>C.pepo</i>)	Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü	
165**	Z-5(<i>C.pepo</i>)	Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü	
166**	PERLETTE(<i>C.pepo</i>)	Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü	
167**	PI-381831	USA	
168**	ALATA YEŞİLİ(<i>C.pepo</i>)	Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü	

* Arazi ve serada ortak kullanılan genotipler

** Serada olup arazide olmayan genotipler

Mekanik bulaştırmada kullanılan genotiplerin tohumları 16 Nisan 2015 tarihinde Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü seralarında 2:1 (torf:perlit) karışımı ile viyollere ekilmiştir (Şekil 3.3). 27 Nisan 2015 tarihinde çıkışları gerçekleşen ve 2-3 gerçek yaprak aşamasına gelen fideler 5 kontrol, 5 testlenecek bitki olacak şekilde 1 litrelik saksılara dikilmiştir (toplam 118x10=1180 saksı) (Şekil 3.3-4).



Şekil 3.3. Tohumların viyollere ekilmesi ve fide üretimi



Şekil 3.4. Ortam hazırlığı ve fidelerin saksılara dikilmesi.

3.1.2. Mekanik İnokulasyon Çalışmasında Kullanılan Materyaller

İnokulasyonda kullanılan ZYMV kuvvetli virulentürk izolatları Adana Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü'nden liyofilize olarak temin edilmiştir (ZYMV AD). Virüs izolatu hassas olan Sedyen F1 çeşidine inokule edilerek çoğaltılmıştır. Çalışmada test edilen genotiplerin yanında hassas kontrol olarak Perlette ve Alata Yeşili (*C. pepo*), dayanıklı kontrol olarak da OttoF1çeşidi (*C. pepo*) ve PI381831 genotipi (*L. siceraria*) kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Virüsün Mekanik İnokulasyonla Bulaştırılması

Genotiplerin tohumları ekildikten sonra çimlenen bitkilerin ilk iki gerçek yaprağının çıktığı dönemde kotiledon yaprağa virüs izolatu mekanik inokulasyon yöntemi ile bulaştırılmıştır. Test edilen her genotip için 10 bitki (5 bulaştırılmış ve 5 kontrol olarak) kullanılmıştır. İnokulum hazırlamada 1 gr taze bitki inokulum kaynağı 10 ml tampon çözelti olacak şekilde steril havanda fosfat tampon çözeltisi (%1 K_2HPO_4 , %0,1

Na_2SO_3 , %0,01 *Merapto ethanol* pH:7.5) içerisinde ekstrakte edilmiştir [103].(Şekil 3.5). İnokulasyon 05 Mayıs 2015 tarihinde yapılmıştır.



Şekil 3.5. Virüs izolatının hazırlanması

Daha sonra 10 cm çapındaki saksılarda steril torf içinde 10 tekerrürlü olarak yetiştirilen genotipleri kotiledon yaprağına 500 meshlikkarborandum tozu püskürtülerek tek kullanımlık plastik eldiven kullanılmış ve "Softspongypad" (yumuşak sünger) yöntemi kullanarak bulaştırma Şekil 3.6'te görüldüğü gibi yapılmıştır [100].



Şekil 3.6. Mekanik inokulasyonun yapıış şekli

Çalışmada kullanılan su kabağı genotiplerinin virüs inokulasyonu yapıldıktan sonra bitkilerin gösterdiği belirtiler hassas kontrolde belirtilerin gözlemlenmesi ile birlikte 21 gün boyunca gözlemlenmiştir ve oluşan belirtiler kayıtlı edilmiştir. İnokulasyon sonrası sistemik enfeksiyon gösteren çeşitler 0-9 (Şekil 3.7) skalasına göre değerlendirilmiş 2 ve yukarı değer alanlar hassas (S), sistemik enfeksiyon göstermeyen 0 ve 1 skala değeri alan genotiplerise dayanıklı (R) olarak kabul edilmiştir.

•Virüs belirtilerinin şiddetinin belirlenmesinde aşağıda gösterilen 0-9 skalası kullanılmıştır [58];

0. Herhangi bir belirtiler gelişiminin olmadığı bitkiler

1. Yaprak damarlarında çok hafif şekilde açılma gösteren bitkiler

2. Yapraklarında çok hafif mozayik belirtisi gösteren bitkiler

3. Yapraklarında damar açılması yanında orta derecede mozayik gösteren bitkiler

4. Yapraklarında orta şiddetli mozayik ve sararmalar gösteren bitkiler

5. Yapraklarında şiddetli mozayik belirtileri ve bitki boyunda kısalma gösteren bitkiler

6. Yapraklarında şiddetli mozayik ve hafif deformasyonlar ile bitki boyunda kısıalma gösteren bitkiler
7. Yapraklarda şiddetli mozayik, beneklenme, bitki boyunda orta derecede kısıalma ve yapraklarında orta şiddette deformasyon gösteren bitkiler
8. Yapraklarda çok şiddetli mozayik ile iplikleşme ve meyvelerde orta şiddette deformasyonların oluştuğu bitkiler
9. Şiddetli bodurlaşma, meyvelerde şiddetli deformasyon ve yaprakların çok küçülerek incelik iplikleşme ve genel anlamda sarılık gösteren bitkiler (Şekil 3.6).



Şekil 3.7. ZYMV için kullanılan 0-9 skalası ve simptomlar.

3.2.2. DAS-ELISA Testi

Virüsle bulaşık bitkilerden alınan yaprak örneklerinde virüslerin tespiti için DAS-ELISA ve RT-PCR yöntemleri kullanılmıştır.

DAS-ELISA testinin uygulamasında izlenen basamaklar:

- a. Kaplama tamponu ile firmanın önerdiği optimum konsantrasyona göre sulandırılmış γ -globulinden DAS-ELISA platenin her bir çukuruna 100 μ l konmuş ve plate üzeri kapatılarak 37 °C' de 4 saat inkübe edilmiştir.
- b. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile tüm çukurlar üçer kez yıkanmıştır. Yıkama işleminde, yıkama tamponu üç dakika süreyle çukurlarda bekletilmiş ve ters çevrilerek plate boşaltıldıktan sonra kağıt havlu üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır.
- c. Her örnek için birer çukura 100 μ l örnek tamponu ile hazırlanmış örneklerden konmuş ve platenin üzeri kapatılıp +4 °C' de gece boyunca inkübe edilmiştir.
- d. İnkübasyondan sonra plâtelere yıkama tamponu ile yukarıdaki şekilde tekrar yıkanmıştır.
- e. Konjugate tamponu ile firmanın önerdiği optimum konsantrasyona göre sulandırılmış konjugate dan her bir çukura 100 μ l konmuş ve plate 37 °C' de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- f. İnkübasyondan sonra plâtelere yukarıda belirtildiği şekilde tekrar yıkanmıştır.
- g. Substrat tamponunda taze olarak hazırlanmış substrattan (1mg/ml p-nitrophenylphosphate) her bir çukura 100 μ l konmuş ve 30- 60 dk veya gerekli görüldüğünde daha uzun süre oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edilmiştir.
- h. İnkübasyon süresi sonunda, gerekli olduğu durumlarda reaksiyonu durdurmak için her bir çukura 50 μ l 3M NaOH ilave edilmiştir.
- i. Absorbans ölçümleri Medispec ESR 200 marka ELISA okuyucusu ile 405nm dalga boyunda yapılmıştır. Pozitif sonuç veren örnekler test bitkilerine periyodik olarak aşılanmış ve bitkilerde belirtilen semptomlar gözlenmiştir. Testlerde sağlıklı bitki, negatif kontrol, pozitif kontrol ve tampon çözelti kontrol kullanılmıştır. Sağlıklı kontrol için 405nm de elde edilen absorbans değerinin en az iki katı ve daha fazla absorbans değeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir [101].

3.2.3.RT-PCRTesti

3.2.3.1.Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Materyal

ZYMV'nin moleküler tanısı amacıyla, RT-PCR yöntemi uygulanmıştır. RT-PCR çalışmalarında, ZYMV ile bulaşık kabak bitkilerinden elde edilen totalnükleik asit preparasyonları materyal olarak kullanılmıştır.

RT-PCR işlemleri, Moloney Murine Leukaemia Virus'den oluşan reversetranscriptase (MMLV-RT, 200U/μl, Fermentas, EP0441) enzimi ve reversetranscriptase reaksiyon tampon çözeltisi, Taq polymerase enzimi (Termostabil DNAPolymerase enzyme, 5U/μl, Fermentas, EP0401) ve reaksiyon tampon çözeltisi, dNTP set (dATP, dGTP, dCTP, dTTP, 25mM, Promega), MgCl₂, buffer, RNase inhibitör (40U/μl Fermentas, EO0311), Bench Top 1 kb DNA Laddermarker (Promega), çeşitli tampon çözeltiler ve saf su, ile Tablo 4' de verilen İONTEK Firması'ndan temin edilen ZYMV'ye spesifik primerler (10mM) kullanılarak yapılmıştır. Virüs genomu üzerindeki hedef bölgelerin çoğaltılması işlemi için gerekli sıcaklıklar, TECHNO GENIUS marka termocycle cihazı kullanılarak sağlanmıştır. Çalışmada kullanılan vrüse spesifik primerler Toblo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. RT-PCR Çalışmalarında kullanılan virüse spesifik primer çiftleri ve sentezlenen bölgenin, moleküler büyüklüğü

Primer	Dizi	Bant büyüklüğü (bç)
ZYMVF	ATGCTCCAATCAGGCACYC	791
ZYMVR	GTGTGCCGTTTCAGTGTCTTC	
CVYVF*	AGCTAGCGCGTATGGGGTGAC	450
CVYVR	GCGCCGCAAGTGCAAATAAAT	
CGMMVF*	TTGCGTTTAGTGCTTCTTATGT	440
CGMMVR*	GAGGTGGTAGCCTCTGACCAGA	
CABYVF	GAATACGGTCGCGGCTAGAAATC	600
CABYVR	CTATTCGGGTTCTGGACCTGGC	
CYSDVF	AGTGACATGCCTAACTGTACTT	364
CYSDVR	ATAGCTGCTGCAGATGGTTC	
MNSVF	CTCCATAAGCGCCAAGCAACC	485
MNSVR	AGCGGGGGAAAACAGAAGAA	

R=A ve G; Y=C ve T; B=C, G veT; D=A, G ve T; N=A, C,G ve T

3.2.3.2. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Agaroz jel elektroforez çalışmalarında, total nükleik asit ekstraksiyonu işlemi sonunda elde edilen total RNA'lar ve RT-PCR çalışmalarında elde edilen PCR ürünleri ile RFLP çalışmaları sonunda kesim yapılmış PCR ürünleri materyal olarak kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforez işleminde, agaroz, tampon çözeltiler, BIORAD marka Mini Sub. DNA Cell Elektroforez cihazı ve güç kaynağı, UVP Ultraviolet Transilluminator marka UV ışık kaynağı, poloraïd film ve poloraïd Gel Cam markafotoğraf makinesinden yararlanılmıştır.

3.2.3.3. RT-PCR ile Tohumla Taşınım Testleri

Reverse Transcriptase (RT) enzimi yardımı ile cDNA'lar elde edilmiş ve daha sonra bu cDNA'lar PCR işlemiyle çoğaltılmıştır (RT-PCR).

RT-PCR işlemi, Finetti-Sialer ve ark. (1999)'nın bildirdiği yöntem modifiye edilerek aşağıdaki şekilde yürütülmüştür. İki aşamada yapılan RT-PCR yönteminde I. aşamada; RT (Reversetranscription) işlemi ile cDNA'lar elde edilmiş, II. aşamada ise, bu cDNA'lar kullanılarak PCR işlemi yapılmıştır [102].

I. RT aşamasında; her PCR tüpüne, elde edilmiş total RNA'dan 3µl konulmuş ve üzerine 2µl reverse primer ve 10µl ddH₂O ilave edilerek 95°C'de 3 dakika bekletilmiştir. Daha sonra tüpler buz üzerine alınmış ve bu PCR tüplerine, 3,6µl saf su, 5µl RT tampon çözeltisi 250mM Tris- HCl (pH 8,3), 250mM KCl, 20mM MgCl₂, 50 mM DTI), 1µl dNTP (10mM), 0,3µl RNAse ve 0.1µl RT enzim ilave edilerek, 42 °C' de 60 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçta, cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

II. PCR aşamasında ise, ayrı bir PCR tüpüne, yukarıdaki işlemlerden elde edilen cDNA'dan 10µl konulmuş, üzerine 26,5µl saf su, 5µl 10X PCR tampon çözeltisi (100 mM) Tris- HCl (pH 8,8), 500mM KCl, % 0,8 Nonidet P40), 3µl MgCl₂ (25mM), 2µl dNTP (10 mM), 0,5µl Taq DNA polymerase, 2µl forward primer ve 1µl reverse primer ilave edilmiştir.

Daha sonra tüpler; dengede ve sorun çıkarmayacak şekilde ayarlanmış termocycler'a yerleştirilerek PCR aşaması tamamlanmıştır. RT-PCR çalışmalarının sonuçları, agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak gözlenmiştir. RT-PCR yönteminin I. aşamasında

tüp içerisindeki karışımın toplam hacmi 25µl, II. aşamasındaki toplam hacim ise, 50µl olacak şekilde hesaplanarak hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan farklı sıcaklıklar ve bunların neden kullanıldıkları aşağıda verilmiştir.

- a. **42 °C’ de 1 saat;** Amplifikasyonu yapılacak olan ZYMV-AD’nin RNA’sından komplementer DNA (cDNA) elde etmek amacıyla kullanılmıştır. 42 °C MMLV reverse transcriptase enziminin çalışma sıcaklığıdır.
- b. **94 °C’ de 4 dakika;** Virüsün RNA’sına komplementer olarak elde edilmiş olan cDNA’yı virüse ait olan RNA’dan ayırmak amacıyla ayarlanmıştır. Çift iplikli nükleik asitteki zincirler 94 °C’ de birbirinden ayrılmaktadır. PCR aşamasında bu cDNA çoğaltılacaktır.
- c. **94 °C’ de 30 saniye;** Amplifikasyonda b’deki programın çalıştırılması sırasında birbirinden ayrılmayan RNA ve cDNA’ların ayrılması ve daha sonra oluşacak çift ipliklerin sürekli birbirinden ayrılması için ayarlanmıştır.
- d. **52 °C’ de 1 dakika;** Kullanılan primerlerdeki G, C, A ve T baz miktarları göz önünde bulundurularak $Tm=(G+C)x4+(A+T)x2$ formülü (Tm =meltingtemperature=erime ısısı) ile ayarlanmıştır ve bu sıcaklıktan 5 °C aşağısı kullanılmıştır.

Bu programdaki sıcaklık seviyesi; primerlerin, çoğaltılması olacak şekilde ayarlanmış termocycler'a yerleştirilerek PCR aşaması tamamlanmıştır. RT-PCR çalışmalarının sonuçları, agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak görüntülenmiştir. ELISA ve RT-PCR testinde testlenen virüsler Tablo 3.3’de verilmiştir (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. ELISA ve RT-PCR testinde testlenen virüs ve testlenme yöntemi

Virüsİsmi	TestlemeYöntemi
<i>Cucumber mosaic virüs (CMV)</i>	ELISA
<i>Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)</i>	ELISA
<i>Watermelon mosaic virus (WMV)</i>	ELISA
<i>Squash mosaic virus (SqMV),</i>	ELISA
<i>Papaya ringspot virus (PRSV)</i>	ELISA
<i>Cucumber vein yellowing virus(CVYV)</i>	RT-PCR
<i>Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)</i>	RT-PCR
<i>Cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV)</i>	RT-PCR
<i>Cucurbit yellow stunting disorder virus (CYSDV)</i>	RT-PCR
<i>Melon necrotic spot virus (MNSV)</i>	RT-PCR

3.2.3.4. RT-PCR’da Tohumla Taşınım

RT-PCR’da tohumla taşınımı test etmek amacı ile kullanılan genotiplerin (Tablo3.4) tohumlar 5’er tane olarak 19.04.2016 tarihinde ekilmiştir. Kotiledon ve gerçek yapraklardan, tohum kabuğundan ve embriyodan toplam nükleik asit ekstraksiyon işlemleri 2016 Nisan ve Mayıs aylarında yapılmıştır. cDNA ve PCR aşamaları ise yukarıda ifade edildiği gibi yapılmıştır [102].

Tablo3.4. RT-PCR’da tohumla taşınımı testlemek için kullanılan genotipler

Gerçek yaprak		Kabuk	Kotiledon yaprak		Embriyo	
Dayanıklı	Hassas	Dayanıklı	Dayanıklı	Hassas	Dayanıklı	Hassas
63-12	77-01	63-12	63-05	31-37	63-12	77-01
USA-21	54-01	USA-21	47-02	80-04	USA-21	54-01
TR-38	55-06			07-47		55-06
USA-23	07-45			16-04		07-45
	09-03			27-13		09-03
	20-05			TR-32		20-05
	33-50					33-50
	31-37					31-37
	80-04					80-04
	07-47					07-47



Şekil 3.8. ZYMV'nin tohumla taşınımının testlenmesinde toplam nükleik asit ekstraksiyonu

4. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Doğal Bulaşma Sonuçları

Arazi çalışmalarında kullanılan genotiplerin hastalık belirtileri 22.07.2015 tarihinde yapılan gözlemlere göre skalave hassasiyet değerlendirilmeleri yapılarak sonuçlar alınmıştır. Tablo 4.1’de görüldüğü gibi 3 yerli(47-02, 63-12, 63-04) ve 2 tane (USA-23 ve US-10)de ABD’den temin edilen genotipte virüs simptomsu gözlemlenmemiştir. Su kabağı genotiplerinden 90 tanesinde düşük seviyede simptomsu görülürken, 67 tanesinde şiddetli simptomsu görülmüştür. Bu gözlemler sonucunda 5 genotip dayanıklı, 90 genotip kısmen tolerant ve 67 genotip ise duyarlı olarak tespit edilmiştir. NJ-01(Nijerya), US-5(USA Dayanıklı genotip), 61-11(Urfa), 64-07(Uşak), Z-38(*C. pepo*), Z-5(*C. pepo*) genotiplerinde bitkiler farklı sebeplerden (diğer hastalıklar) dolayı öldüğü için gözlem yapılamamıştır.

Arazide yapılan doğal bulaşmadaskala değerlendirmesinde 0 skalasında 5, 1-2 skalasında 12, 2 skalasında 20, 3 skalasında 14, 4 skalasında 9, 5 skalasında 11, 6 skalasında 9, 7 skalasında 11, 8 skalasında 9, 9 skalasında 3 genotip yer almıştır.

Tablo 4.1.Arazideki genotiplerin gözlem sonuçları

Dayanıklı (0 Skala)	Tolerant (1-2 Skala)				Duyarlı (3-9 Skala)			
47-02 *	TR-29	56-01	10-01	35-10	35-05	TR-12	US21	34-04
63-12*	70-07	54-01	27-14	55-06	42-05	31-15	48-09	38-07
63-04	US-17	55-01	US-13	TR-32	PI-6	43-04	53-02	72-01
USA-23*	27-03	07-10	45-02	46-17	33-23	59-05	33-26	45-07
USA-10*	21-01	20-02	38-06	US-18	01-02	63-11	TR-28	50-04
	31-18	73-03	48-11	46-15	31-37	45-01	35-05	66-02
	38-02	07-31	07-25	US-20	63-05	42-01	42-09	07-17
	48-13	63-13	47765	PI-8	33-01	20-05	80-01	32-01
	39-01	07-03	45-04	33-04	33-27	33-50	28-01	64-08
	34-03	16-09	09-01	27-11	34-02	60-04	VIR-1247330	
	33-29	43-06	07-15	59-11	08-01	45-03	79-03	47-04
	US-4	VIR-1210	55-02	33-49	50-01	33-15	09-03	US-11
	43-02	73-05	22-01	60-02	33-18	48-06	66-03	80-02
	TR-37	59-07	47-03	55-03	US-1	TR-44	47745	33-04
	PI-4	17-02	33-07	19-02	US-9	US-22	37-03	TR-38
	15-01	33-40	07-47	48-07	33-42	TR-50	28-04	08-02
	33-25	35-06	03-01	57-01	TR-13	60-06	77-01	
	33-13	01-17	80-04	27-07				
	07-31	27-13	TR-22	33-11				
	US-19	46-14	42-06	20-01				
	07-31	62-03	PI-3	59-03				
	51-01	PI-1	23-04	33-02				
	33-03	PI-381331						

Doğal bulaşma sonrasında simptom belirtisine (Şekil 3.7), skala değerlerine göre çekilen resimler aşağıda verilmiştir (Şekil4.1-7).



Şekil 4.1.Şiddetli bodurlaşma, yaprakların küçülerek incelişmesi ve genel sarılık



Şekil 4.2.Yapraklarda şiddetli mozayik, beneklenme ve bitki boyunda kısalma



33-01, skala 8

Şekil 4.3. Yapraklarda çok şiddetli mozayik ve iplikleşme



60-06, skala 8-9

Şekil 4.4. Şiddetli bodurlaşma, yaprakların çok küçülerek incelop iplikleşmesi ve genel sarılık



Şekil 4.5. Yapraklarında şiddetli mozayik belirtileri ve bitki boyunda kısılma belirtisi



Şekil 4.6. Şiddetli bodurlaşma, yaprakların çok küçülerek inceliş ve iplikleşme ve genel sarılık



TR-50, skala 8

Şekil 4.7. Yapraklarında şiddetli mozayik, beneklenme ve genel sararma



Şekil 4.8. Doğal bulaşmada herhangi bir belirti göstermeyen genotip (47-02)



Şekil 4.9. Doğal bulaşmada herhangi bir belirti göstermeyen bir genotip (10-01)

4.2. Mekanik Bulaştırma Sonuçları

Mekanik bulaştırma yapılan bitkilerde ilk gözlem 22.05.2015 tarihinde yapılmıştır. Ancak simptomlar yeterince belirgin olmadığı için haziran temmuz aylarında da gözlemler yapılarak sonuçlar alınmıştır. Farklı sebeplerden dolayı USA-11, 46-17, 16-04, 07-23, 62-03 ve 45-04 genotiplerinde virüsten kaynaklan belirtilen oluşmadan bitkilerde ölümler olmuş ve gözlem yapılamamıştır. Dört genotip (63-05, 66-02, 07-42 ve USA23) dayanıklı bulunurken, 25 genotip tolerant (1-2 skala değeri), 83 genotip ise duyarlı bulunmuştur (Tablo 8). Şiddetli simptom gösteren bazı genotiplere ait resimler 4.8-11’de verilmiştir. Mekanik bulaştırmada ise 6 genotip 0, 7 genotip 1, 21 genotip 2, 27 genotip 3, 18 genotip 4, 3 genotip 5, 9 genotip 6, 3 genotip 7, 5 genotip 8 ve 3 genotip 9 skala değeri almıştır(Tablo 8).

Tablo 4.2. Mekanik inokulasyon sonuçları

Dayanıklı (0 Skala)	Tolerant (1-2 Skala)		Duyarlı (3-9 Skala)			
63-05*	PI-381831	USA-17	USA-4	USA-19	USA-9	USA-18
66-02 *	USA-21	USA-1	USA-11	USA-13	07-03	39-01
07-42*	48-09	43-06	55-02	33-49	22-01	33-23
USA-23*	80-02	16-04	27-14	45-07	55-06	77-01
	USA-5	57-01	33-42	51-01	27-03	TR-29
	33-03	USA-20	20-01	42-05	34-04	31-15
	Z-38	33-42	59-03	60-06	07-20	08-02
	Z-5	PI 4	45-02	28-04	55-01	35-10
	USA-22	PI-1	TR-12	TR-50	31-18	61-11
	21-03	TR-38	TR-32	23-04	35-06	77-07
	15-01	09-03	35-05	54-01	48-07	42-10
	USA-17	31-37	20-05	07-47	08-01	03-01
	USA-10		80-01	51-07	63-12	33-25
			33-27	80-04	09-03	48-06
			34-02	33-11	33-13	42-06
			07-45	27-13	66-03	TR-22
			50-01	33-15	33-01	07-17
*iki bulaştırmada			64-08	07-25	50-04	42-09
ortak sonuç veren			42-01	17-02	33-50	33-07
genotipler			16-09	45-04	33-35	07-24
			77-65	62-03	46-17	

Şiddetli simptom gösteren bazı genotiplere ait resimler 4.8-11’de verilmiştir.



Şekil 4.10. Mekanik bulaştırmada yapraklarda şiddetli mozayik ve genel sarılık



Şekil 4.11. Mekanik bulaştırmada yapraklarda şiddetli mozayik ve daha belirgin genel sarılık



Şekil 4.12. Mekanik bulaştırmada yapraklarda mozayik, hafif deformasyon ve bitki boyunda kısalma



Şekil 4.13. ZYMV'ye özgü koyu yeşil leke şeklinde mozayikler



Şekil 4.14. Mekanik bulaştırmada herhangi bir belirti göstermeyen genotip (USA-23)

Mekanik bulaştırmada hastalık symptomlarının gözlemlerinin geç alınması ve bulaştırmanın 3 kez tekrarlanması mevsim sıcaklıklarının (Tablo2), virüsün symptom göstermesi için yeterli gelmemesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Kişisel iletişim, Hakan Fidan).

4.3. DAS-ELISA Testi Sonuçları

Araziden toplanan bitki örneklerinde çalışma konusu olan virüslerin varlığının ortaya konulması için yapılan ticari olarak antiserumu bulunanlar için DAS-ELISA testi, Clark ve Adams (1977)'a göre modifiye edilerek uygulanmıştır (Tablo10) [103]. Ticari olarak Antiserumu olmayanlar için RT-PCR testi yapılmıştır (Tablo 3.3).

Yapılan DAS-ELISA testleri sonucunda testlenen örneklerde arazide yetiştirilen genotiplerden 47-02 (Nusaybin/Mardin), 63-12 (Birecik/Urfa), 63-04 (Urfa),US-23 (Kanada), US-10 (Hindistan) genotiplerinin bulaşık olmadığı belirlenmiştir. Serada ise 63-05 (Siverek/Urfa), 66-02 (Boğazlıyan/Yozgat), 07-42 (Kumluca/Antalya), US-23 (Kanada) genotipleri ZYMV'ye bulaşık olmadığı belirlenmiştir. 110 su kabağı genotipinden %96.4'ü (88 adet) hastalıkla tamamen bulaşık bulunurken, %3.6 oranı ile 4 genotipte hastalığa rastlanmamıştır. Yapılan testlemeler sonucu ZYMV yanında su kabağı bitkilerinde WMV (9 tanesinde) hastalığı da testlenmiştir. Diğer virüs hastalıkları gözlenmemiştir (Şekil 4.15-16).



Şekil 4.15. Arazide yetiştirilen genotiplerden WMV ve ZYMV symptom karşılaştırması



Şekil 4.16. Arazide yetiştirilen genotiplerde ZYMV ve WMV karışık simptom

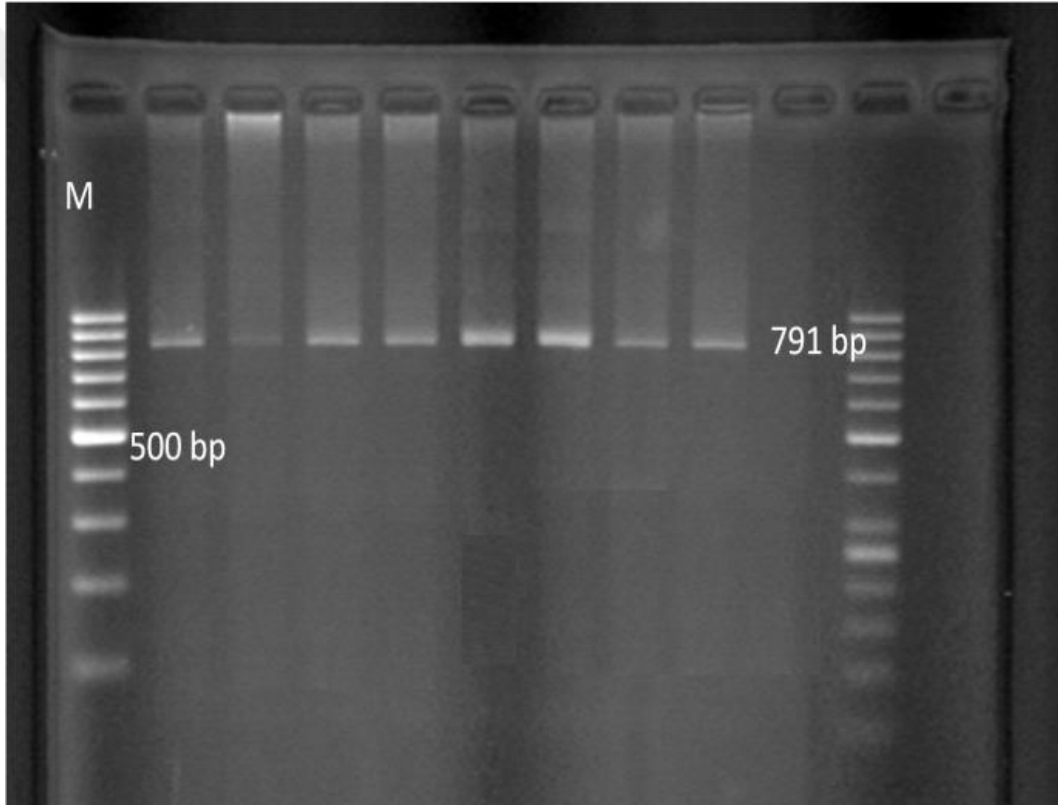
Tablo 4.3. ELISA testi sonuçları

Genotip No	ZYMV	WMV	Genotip No	ZYMV	VMV	Genotip No	ZYMV	WMV
31-15	+		53-02	+		33-18	+	
42-09	+	+	48-09	+	+	66-03	+	
42-01	+		38-07	+		80-02	+	
6305		+	63-17	+	+	55-01	+	
66-02		+	72-02	+		TR-50	+	
07-42		+	33-26	+		28-04	+	
33-27	+		01-02	+		09-03	+	
80-01	+	+	TR-28	+		41-01	+	
28-01	+		31-37	+		34-04	+	
20-05	+		35-05	+		47-04	+	
33-01	+		31-32	+		USA21	+	
60-04	+		51-07	+		79-03	+	
Vır1274	+		33-50	+		TR12	+	
08-01	+		28-01	+		08-01	+	
USA23			64-08	+		33-02	+	
45-01	+	+	34-02	+	+	60-04	+	

4.4. RT-PCR Çalışmaları

4.4.1. RT-PCR Uygulamaları

Bitki virolojisi alanında günümüzde yapılan araştırmalarda yoğun bir şekilde kullanılan moleküler yöntemlerden biri olan RT-PCR yöntemi, bu tez çalışmasında ZYMV'nin saptanması amacıyla 07.06.2016 tarihinde yapılmıştır. ZYMV-AD izolatu ile bulaşık kabak bitkilerinden elde edilen total RNA'lar kullanılarak başarı ile uygulanmıştır. RT-PCR çalışmalarında, gen parçalarını çoğaltılmak amacıyla kullanılmış olan ZYMV kılıf proteinine özgü primerlerde beklenen bant büyüklükleri elde edilmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. RT-PCR çalışmasında elde edilen bantlar

Bu primer çiftleri ile elde edilen RT-PCR sonuçları, çalışmada kullanılan ZYMV-AD kodlu izolatu, potyvirus grubuna dahil ZYMV olduğunu ve ZYMV'inde şiddetli izolatu olduğunu göstermiştir.

Mekanik inokulasyon doğal bulaşmadaki ve semptomatik gözlemlerle ZYMV nin varlığı belirlenen bitkiler DAS-ELISA testi serolojik olarak varlığı doğrulanmıştır.

DAS-ELISA testine göre daha hassas bir yöntem olan RT-PCR yöntemi ile su kabaklarında ZYMV'nin varlığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Yueh-Chwen Hsu ve ark. (2005) tarafından bildirilen sonuçlar ile uyum içerisindedir. Aynı araştırmacılar, saflaştırılmış viral RNA'lar ile PNIF1-PCPR1 ve ZYMV-F1-ZYMV-R1 primer çiftlerini kullanarak yaptıkları RT-PCR işleminde potyviruslerin ve ZYMV'nin varlığını saptamışlardır. Bu çalışma sonucunda, agaroz jel elektroforez yöntemi ile potyvirusler için 1.2 bp' lik bant, ZYMV için ise 791 bp' lik bant gözlenmiştir (Şekil 4.14).

4.4.2. RT-PCR'da Tohumla Taşınımın Testi Sonuçları

ZYMV'nin tohumla taşınımı konusunda değişik raporlar var olmasından dolayı tez çalışmamızda dayanıklı ve hassas olan genotiplerin tohumlarını yetiştirilerek gerçek yaprak aşamasına getirdik. RT-PCR'la virüsün kılıf proteinine özgü yöntemle test edildi.

On dokuz duyarlı ve 9 dayanıklı genotipin tohum örneklerinden tohum kabuğu, embriyo, kotiledon yaprak ve gerçek yapraklarından çıkartılan total nükleik asitlerde yukarıda belirtilen yöntemler ve primerler ile ZYMV'nin olup olmadığı araştırması yapılmıştır. Hassas olan genotipler arasından 791bp'lik (ZYMV- Genel) bant aralığının da 77-01 embriyosunda ve gerçek yaprağında bant vermiş, 20-05, 33-50, 31-37, 80-04, 07-47 embriyoda ve gerçek yaprakta bant vermemiş, 31-37, 80-04, 07-47, 16-04, 27-13, TR-32 kotiledon yaprakta bant vermiştir.

Dayanıklı olarak sonuç veren genotiplerden USA-21 kabukta, gerçek yaprak ve embriyoda bant vermemiştir. 63-12 embriyoda bant vermezken kabukta bant vermiştir. USA-23 gerçek yaprakta bant vermiştir (Tablo 4.4). Sınırlı sayıda genotipte yapılan bu çalışma ile ZYMV'nin tohumla taşınabileceği sonucuna varılmıştır [102].

Fidan ve ark. su kabaklarında ZYMV enfekteli genotiplerin RT-PCR tekniği ile %3,19 oranında tohumla taşınımı tespit etmişlerdir [105]. Bazı araştırmacıların farklı ülkelerde gerçekleştirdikleri bu konuda yaptıkları yayınlarla mevcuttur [70, 106, 107, 108].

Daha fazla genotiple (tohum kabuğu ve embriyoda) başka çalışmalarda yapılmalıdır.

Tablo 4.4. ZYMV'nin tohumla taşınma testi sonuçları

Duyarlı	Kabuk	Embriyo	Kotiledon	Gerçek yaprak
77-01	-	+		+
54-01		-		+
55-06		-		+
07-45		-		+
09-03		-		+
20-05		-		-
33-50		-		-
31-37		-	+	-
80-04		-	+	-
07-47		-	+	-
16-04			+	
27-13			+	
TR-32			+	
Dayanıklı				
63-12	+	-		-
USA-21	-	-		-
66-02				
TR-38				+
63-05			-	
47-02			-	
33-03				
USA-23				+
07-42				

Yapılan testlemeler sonucu bulaşma olmayan dayanıklı olarak gözlenen genotiplerde (63-05, 66-02, 07-42 ve USA-23) devam edecek çalışmalarda kullanılmak üzere kendilemeler yapılarak meyve ve tohum alınması sağlanmıştır. Şekil 4.18'de su kabağında kendileme çalışmaları görülmektedir.



Şekil 4.18. Arazide kurulan denemede kendileme çalışmaları

5. BÖLÜM

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bitki hastalık etmenleri içerisinde virüsler, kimyasal mücadelelerinin mümkün olmaması ve vektör böceklerle çok uzak ve geniş alanlara yayılmaları nedeniyle büyük öneme sahiptirler. Bunlara ek olarak, kimyasal mücadelenin de virüslerin yayılımını engellemede çok etkin olmayışı, bu hastalık etmenlerinin önemini daha da artırmaktadır.

Sebzelerde, özellikle kabakgil grubuna zarar veren 5 önemli virüs hastalığı içerisinde ZYMV daha yaygın olarak bulunması nedeni ile daha da önemlidir [109, 110, 111, 112]. Bu virüs hastalıklarının sebze yetiştiriciliği açısından önemi son yıllarda hızla artmaktadır. Vektörleri olan yaprak bitleri aracılığıyla etkili bir şekilde çok geniş alanlara kolayca taşınabilmeleri ve çok geniş konukçu dizisine sahip olmaları bu hastalık etmenlerinin önemini artırmaktadır.

ZYMV virüs hastalıklarının bulunuşu, yayılışı ve zararı konukçu virüs-vektör ilişkisi içerisinde yıldan yıla, hatta mevsimden mevsime değişiklik göstermektedir. Bu nedenle bu virüs hastalıklarının neden olduğu zararı en alt seviyeye indirebilmek ve kontrol stratejilerini geliştirebilmek için öncelikle yetiştiriciliği yapılan kabak türünde bulunan virüslerin erken teşhisinin yapılması gerekmektedir. Virüs teşhisinde gözleme dayanılarak yapılan simptomalojik tanıların mutlaka laboratuarda yapılacak serolojik, biyolojik indeksleme ve moleküler testlemelerle doğrulanması gerekmektedir. Çünkü bir virüsün farklı ırkları aynı konukçuyu infekte edebildiği gibi, aynı konukçu üzerinde farklı belirtiler de oluşturabilmektedirler. Etmenin tanısı yapıldıktan sonra bu virüs hastalığının etkisini azaltmak amacıyla önlemler alınmalıdır. Bu önlemlerden en etkili

dayanıklılık kaynaklarının belirlenmesi ve dayanıklı çeşit/anaçların geliştirilerek üreticilerin kullanımına sunulmasıdır.

Bu amaca yönelik olarak 2015 yılında Türkiye'nin farklı yerlerinden toplanan ve farklı uluslararası gen bankalarından temin edilen su kabakları serada ve açık arazi koşullarında ZYMV'nin varlığına karşı taranmış ve dayanıklılık/tolerantlık durumları araştırılmıştır.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir;

Türkiye'de su kabağının ekonomik anlamda yetiştiriciliği yapılmamasına rağmen bir çok bölgemizde farklı amaçlarla yetiştirilmektedir. TÜBİTAK tarafından desteklenen projelerle Türkiye'nin farklı bölgelerinden ve farklı uluslararası kaynaklardan temin edilen su kabaklarının morfolojik ve moleküler olarak karakterizasyonu yapılmış ve gen havuzunu temsil eden çekirdek koleksiyon oluşturulmuştur. Bu koleksiyonda halen su kabağının tuz stresine tepkisi ile ilgili çalışmalar yürütülmektedir. Bilindiği üzere su kabağı karpuz anaçlık edebilecek bir türdür ve anaç potansiyeli yüksektir. Ülkemizde karpuz anaç olarak halen diğer türler kullanılsa da su kabağı özellikle Uzakdoğu ülkelerinde yoğun olarak karpuz anaç olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde oluşturulan bu gen havuzunun iyi bir şekilde tanımlanması ve konulan hedefler doğrultusunda geliştirilmesi bakımından yapılan çalışmanın önemi büyüktür. Zira kabak yetiştiriciliğinde ekonomik olarak büyük kayıplara neden olan hastalıklara dayanıklılık kaynaklarının tespiti ve bunların tarımda yaygın olarak kullanıma sunulması ile kayıpların önüne geçilebilir. Özellikle kimyasal mücadelesi bulunmayan virüs hastalıklarına karşı dayanıklı çeşitlerin ıslah edilmesinin önemi daha da büyüktür. Bu anlamda ülkemizde bu türde yapılmış herhangi bir çalışma şu ana kadar bulunmamaktadır. Çalışma sonucunda hem görsel değerlendirmelerde hem de serolojik testler sonucunda dayanıklı genotiplerin olduğu tespit edilmiştir.

Doğal bulaşma sonucunda su kabağı deneme parselinde ZYMV ve WMV'lerinin varlığı tespit edilmiştir.

Yapılan ELISA testleri sonucunda testlenen örneklerde arazide 47-02, 63-12, US-22, US-10 genotipleri ve serada 63-05, 66-02, 07-42, US-23 genotipleri ZYMV ile bulaşık olmadığı tespit edilmiştir. Amerikan menşeli genotipler dayanıklı olarak testlenmiştir.

Arazide 168 sukabağı genotipinden 97 genotip Tölerant, 78 Duyarlı ve 4 genotip dayanıklı çıkmıştır. Serada ise 4 genotip dayanıklı, 26 genotip tölerant ve 88 genotip duyarlı olarak belirlenmiştir. Bu genotiplerde bundan sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kendilemeler yapılarak tohum üretimi yapılmıştır. Doğal bulaşmalarda yapılan testlemeler sonucu ZYMV yanında su kabağı bitkilerinde WMV hastalığıda tespit edilmiştir. 42-09, 63-05, 66-02, 07-42, 80-01, 45-01, 48-09, 63-17 ve 34-02 nolu genotiplerde WMV’de gözlenmiştir. Diğer virüs hastalıkları gözlenmemiştir.

RT-PCR testleri ile şiddetli ve zayıf izolata spesifik primerler kullanılarak ZYMV izolatının şiddetli irki olduğu moleküler olarak saptanmıştır.

Bulaşık bitkilerden alınan tohumların tohum kabuğu, embriyo ve tohumların ekilmesi ile elde edilen fidelerin kotiledon ve gerçek yapraklarından alınan total nükleik asitlerde yapılan RT-PCR sonuçlarına göre ZYMV’nin belli oranda tohumla taşındığı tespit edilmiştir. Özer ve ark. (2012), Karadeniz bölgesinden toplanan kışlık kabakların tohumlarında virüs bulaşıklığına yönelik yapılan çalışmada CMV ve ZYMV DAS-ELISA testi ile testlenmiştir [104]. Test sonucuna göre bu örneklerin %11,3’ü enfekteli bulunurken, ZYMV %6,2 ve CMV %5,1 oranında bulunmuştur. Bizim yaptığımız tez çalışması da bu çalışma ile uyum içindedir. Tohumların ZYMV’ye bulaşıklık ve taşınabileceği tespit edilmiştir. Enfekteli tohum muhtemelen virüslerin en önemli kaynağı olarak ticari bitkisel üretimi sınırlayan birincil faktörler arasında yer almaktadır [97]. Tohumla taşınan hastalıklar hem kalem hem de anaç bakımından çok önemlidir. Çünkü aşılama işlemi kendi başına birçok etkin bir bulaştırma yöntemidir.

Bu çalışma sonuçlarına göre, ülkemizde bulunan gen kaynaklarının koruma altına alınması ve muhafazası daha sonra yapılacak çalışmalar açısından oldukça büyük önem arz etmektedir. Daha önce bu türde ZYMV ilgili herhangi bir çalışma ülkemizde yapılmamıştır ve bu çalışma bir ilktir. Çalışma hedeflenen sonuca ulaşmış ve ZYMV dayanıklılık gösteren genotipler (yerel ve yabancı) tespit edilmiştir. Bu çalışma bundan sonra yapılacak anaç ve çeşit (kullanım amacına yönelik) ıslah çalışmalarına temel oluşturabilecek niteliktedir. Dayanıklı olarak tespit edilen genotiplerin saflık durumları iletilmeli ve dayanıklılığın genetiği ile ilgili çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Özgen, M., Adak, M., Söylemezoğlu, G. ve Ulukan, H. 2000. Bitkisel Gen Kaynaklarının Korunma ve Kullanımında Yeni Yaklaşımlar, V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 17-20 Ocak 2000, Ankara.
2. Tan, A. 1998. Current status of plant genetic resources conservation in Turkey. In International Symposium on In Situ Conservation of Plant Genetic Diversity, Antalya (Turkey), 4-8 Nov 1996. Central Research Institute for Field Crops.
3. Engels, J. M. M., Arora, R. K. and Guarino, L. 1995. An introduction to plant germ plasm exploration and collecting: planning, methods and procedures, follow-up. Collecting plant genetic diversity. Technical guidelines. CAB International, Wallingford, United Kingdom, 31-63.
4. Solmaz, İ. 2003. Bazı Karpuz Çeşit ve Tiplerinde Karakterizasyon. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
5. Anonymous 2003. <http://www.worldbank.org/html/cgiar/25years/gene.html>. (Erişim Tarihi: Şubat 2016)
6. Anonymous, 1999. Mosaic diseases of cucurbits. Report On *Plant Disease*. Department of Crop Sciences, University of Illinois at Urbana-Champaign. Rpd No. 926: 1-9.
7. Herklots, G.A.C. 1972. Vegetables in South East Asia, London George Allenand Unwin Ltd. 525.
8. Yetişir, H. 2001. Karpuzda aşılı fide kullanımının bitki büyümesi, verim ve meyve kalitesi üzerine etkileri ile aşı yerinin histolojik açıdan incelenmesi. ÇÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana.
9. Kalloo and Berg H.O. 1998. Genetic Improvement of Vegetable Crops. Pergamon Press, 550.
10. Çalışkan, A. F. 2007. Identification of *Zucchini Yellow Mosaic Virus* (ZYMV) isolate and search of possible using of plant activators in ZYMV control Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. 2010. 22-3.

11. Shah, B. N. and Seth, A. K. 2010. Pharmacognostic studies of the *Lagenaria siceraria* (Molina) Standley. **International Journal of Pharm Tech Research**, **2** (1): 121-124.
12. Jadhav, T.A., Yadunath M.J., Vilasrao, J. K. 2010. "In vitro antioxidant activity of ethanolic extract of the leaves of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl." **Journal of Pharmacy Research**, **3** (2): 257-260.
13. Yetişir, F., Salman, E., Önal, Ö., Zeybek, D., Aksoy, M., Dostbil, A., Yetişir, H., Kaymaz, F. F., Ünver, S. and Kiliç, M. 2013. The effect of *Lagenaria siceraria* (Molina) on acute lung injury induced by oleic acid in rats. **World Journal of Surgical Research**, **2** (8): 5
14. Agrios G N., 1997. Plant Diseases Caused by Viruses. **In Plant Pathology**. 479-556.
15. Davis, R. F. and Yilmaz, M. A. 1984. First report of *zucchini yellow mosaic virus* on *watermelon* and *squash* in Turkey. **Plant Dis**, **68**, 537.
16. Yılmaz, M.A., Kaska, N., Gezerel, O. ve Çınar, A. 1979. Turfanda Domateslerde Ekim ve Dikim Zamanlarının Virüs Hastalıklarına Etkisi. Tübitak Proje No: 11.
17. Hull, R. 2009. Comparative plant virology, 2nd Edn. 269–300. **Elsevier Academic Press**, New York.
18. Zitter, T.A., Hopkins, D.L. and Thomas, C.E. 1996. Compendium of cucurbit diseases. APS Press.
19. Lovisolo, O. 1979. Virus and viroid diseases of cucurbits. In III Conference on Epidemiology and Control of Virus Diseases of Vegetables 88:33-82.
20. Nameth, S.T., Dodds, J.A. and Paulus, A.O. 1983. A new potyvirus associated with severe disease of cantaloupe (*Cucumis melo*) in Southern California. (Abstr.) *Phytopath*. 73,793.
21. Lesemann, D. E., Makkouk, K. M., Koenig, R. and Samman, E. N. 1983. Natural infection of *cucumbers* by *zucchini yellow mosaic virus* in Lebanon. **Journal of Phytopathology**, **108** (3-4): 304-313.

22. Lisa, V. and Lecoq, H. 1984. *Zucchini yellow mosaic virus*. CMI/AAB Descriptions of plant viruses, 282.
23. Davis, R. F. 1986. Partial characterization of *zucchini yellow mosaic virus* isolated from squash in Turkey. **Plant disease (USA)**. **70**: 735-738.
24. Dolorez, L.M. and Valdez, R.B. 1988. Identification of squash viruses and screening for resistance. Philipp. **Phytopathol.** **24**: 43-52.
25. Brunt, A., Crabtree, K. and Gibbs, A. 1990. **Viruses of Tropical Plants**, 225-229
26. Yuan, C. and Ullman, D. E. 1996. Comparison of efficiency and propensity as measures of vector importance in *zucchini yellow mosaic potyvirus* transmission by *Aphis gossypii* and *A. craccivora*. **Phytopathology**, **86** (7):698-703.
27. Al-Shahwan, I. M. 1990. First report of *Zucchini yellow mosaic virus* in cucurbits in the central region of Saudi Arabia. **J King Saud Uni**, **2** (2): 251-260.
28. Stobbs, L. W. and Van Schagen, J.G., 1990. First Report of *Zucchini Yellow Mosaic Virus* in Squash in Arkansas. **Plant Disease** **56** (2): 70-78
29. Blua, M.J. and Perring, T.M. 1992. Alatae production and population increase of aphid vectors on virus-infected host plants. **Oecologia** **92**: 65-70.
30. 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, 13–16 Ekim 1992, İzmir. Cilt: II. S, 439-442.
31. Çetiner, S. 1993. Hastalıklara dayanıklı bitki ıslahında genetik mühendisliği. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **17**: 1121-1131.
32. Pitrat, M. and H. Lecoq. 1984. Inheritance of *Zucchini Yellow Mosaic Virus*-resistance in *Cucumis melo*. **Euphytica** **33**: 57- 61.
33. Katzir, N., Leshzeshen, E., Tzuri, G., Reis, N., Danin-Poleg, Y. and Paris, H. S. 1998. Relationships among accessions of *Cucurbita pepo* based on ISSR analysis. **In Cucurbitaceae**, **98**: 331-335.
34. Gürcan, K., Mehlenbacher, S. A. and Cristofori, V. 2008. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in hazelnut. In VII International Congress on Hazelnut 845: 159-162.

35. Ullman, E. D., Cho, J.J. and German, T. L., 1991. Occurrence and Distribution of Cucurbit Viruses in the Hawaiian Islands. **Plant Disease**. **75**: 367-370.
36. Kai-Shu Ling and Ammon Levi.,U.S. 2007. Sources of resistance to *Zucchini Yellow Mosaic Virus* in *Lagenaria Siceraria* Germplasm. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Vegetable Laboratory, 2700 Savannah Highway, Charleston, SC29414, **Hortscience**, **42** (5): 1124-1126.
37. Sari, N., Yetişir, H., Kurt, Ş. and TOK, F. M. 2007. Rootstock potential of Turkish *Lagenaria siceraria* germplasm for *watermelon*: plant growth, graft compatibility, and resistance to Fusarium. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **31** (6): 381-388.
38. Lovisolo, O. 1980. Virus and viroid diseases of cucurbits. **Acta Horticulturae** **88**: 33-82.
39. Sidek, Z. 1999. Viruses of cucurbits: The strategies. MCB-MAPPS Plant Protection Conference Proceeding, 11-12 November 1999, Kota Kinabalu, Malaysia. 68-71.
40. Şevik, M.A, ve Arlı, S., M. 2001. Samsun ilinde kabakgil bitkilerinde görülen virüs hastalıkları. IX. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 3-8 Eylül 2001, Tekirdağ. 180-189.
41. Nome, S. F., March, G. J. and Giorda, L. M. 1974. Reduction in Productivity of *Cucurbita maxima* Duch. var. Zapallito Carr. Millan Plants Infected by *Watermelon Mosaic Virus*. 2.**IDIA**, 321-324: 26-31
42. Mansour, A. and Al-musa, A. 1982. Incidence, Economic Importance, and Prevention of *Watermelon Mosaic Virus-2* in *Squash (Cucurbita pepo)* Fields in Jordan. **Journal of Phytopathology**, **103** (1): 35-40.
43. Alonso-Prados, J. L., Aranda, M. A., Malpica, J. M., García-Arenal, F. and Fraile, A. 1998. Satellite RNA of *Cucumber Mosaic Cucumovirus* spreads epidemically in natural populations of its helper virus. **Phytopathology**, **88** (6): 520-524.

44. Dahal, G., Lecoq, H. and Albrechtsen, S. E. 1997. Occurrence of *papaya ringspot potyvirus and cucurbit viruses* in Nepal. **Annals of applied biology**,130(3): 491-502.
45. Raccah, B. 1999. Epidemiology and control of cucurbit viruses in Israel. 1. Israeli-Turkish Workshop "Detection of virus diseases by advanced techniques and control", 22-29 August 1999, Adana, Turkey. 46-56.
46. Toros, S.,1973. Bitki Patojen Virüslerin Aphidlerle Nakil Mekanizması. **Bitki Koruma Bülteni**, 13 (2): 83
47. Nogay A. 1983. Marmara bölgesi *Cucurbitaceae* familyası kültür bitkilerinde görülen virüs hastalıklarının tanılanması, tohumla geçici durumlarının ve konukçu dizilerinin saptanması üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
48. Çıtır, A., Kutluk, N. D., Sağlam, N. ve İlbağı, H. 1998. Amasya, Çorum, Samsun ve Tokat illerinde hıyar ve kabak kültürlerinde görülen virüs hastalıklarının simptomatolojik ve biyolojik yöntemlerle tanıları. VIII. Türkiye Fitopatoloji Kongre Bildirileri, 21-25.
49. Şevik, M.A. and Toksöz, Y. 2008. Occurrence of squash mosaic virus (SqMV) infecting pumpkin and squash growing in Samsun, Turkey. The Journal Of Turkish, 37 (1-3): 15-25.
50. Provvidenti, R., Gonsalves, D. and Humaydan, H.S. 1984. Occurrence of *zucchini yellow mosaic virüs* in *cucurbits* from Connecticut, New York, Florida and California. **Plant Disease**, 68: 443-446.
51. Wickizer, S. L., Scott, H. A. and McGuire, J. M. 1986. *Zucchini yellow mosaic virus in squash* in Arkansas. **Plant Disease**, 70 (1): 78
52. Davis, R. F. and Mizuki, M. K. 1987. Detection of *cucurbit viruses* in New Jersey. **Plant Disease**, 71 (1): 40-44.
53. Al-Musa, A. M. 1989. Severe mosaic caused by *zucchini yellow mosaic virus* in *cucurbits* from Jordan. **Plant pathology**, 38 (4): 541-546.
54. Ullman, D. E., Cho, J. and German, L. 1991. Occurrence and distribution of *cucurbit viruses* in the Hawaiian Islands. **Plant disease**, 75 (4): 367-370.

55. Wang, H. L., Gonsalves, D., Provvidenti, R. and Lecoq, H. L. 1991. Effectiveness of cross protection by a mild strain of *zucchini yellow mosaic virus* in *cucumber, melon, and squash*. **Plant Disease**, **75** (2): 203-207.
56. Fernandes, F. F., Valverde, R. A. and Black, L. L. 1991. Viruses infecting cucurbit crops in Louisiana. **Plant Disease**, **75** (4): 431
57. Yılmaz, M.A., Özaslan, M. and Baloğlu, S. 1991. Çukurova bölgesinde yetiştiriciliği yapılan kavun, karpuz ve hıyar bitkilerine zararlı yeni bir virüs hastalığı. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 7-11 Ekim 1991, İzmir. Türkiye Fitopatoloji Derneği Yayınları, 387-391.
58. Yılmaz, M. A., Abak, K., Lecoq, H., Baloglu, S., Sari, N., Kesici, S. and Guldur, M. E. 1994. Control of *zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) in *cucurbits* by ZYMV-WK strain. In 9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union-Kuşadası-Aydın-Türkiye, 353-356.
59. Erdiller, G. and Akbas, B., (1994). Plant Viruses in Ankara Rivers and Lakes Ankara **Turkey J. Turk. Phytopat**, **23** (3): 119-126.
60. Vega J, Rezende JAM, Yuki VA. (1995). Detection of zucchini yellow mosaic virus in Brazil: partial characterization of an isolate found in São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, **20** (1): 72-79.
61. Greber, R. S., McLean, G. D. and Grice, M. S. 1987. *Zucchini yellow mosaic virus* in three states of Australia. **Australasian Plant Pathology**, **16** (1): 19-21.
62. Zouba, A. A., Khan, A. J., Lopez, M., and Al-Maqbaly, Y. M. 1997. Survey of virus diseases of cucurbits in the Batinah region of the Sultanate of Oman. **Arab Journal of Plant Protection**, **15** (1): 43-46.
63. Erkan, S. 1998. Tohum Patolojisi Gözlem Ofisi, 275.
64. Antignus Y. 1999. Diagnosis and control of vegetable seed-borne viruses. Detection of virus diseases by advanced techniques and control. Proceedings of the 1th Israeli-Turkish Workshop, 22-29 August, Adana, Turkey. Abstract, 1

65. Luis-Arteaga, M., Alvarez, J. M., Alonso-Prados, J. L., Bernal, J. J., García-Arenal, F., Laviña, A. and Moriones, E. 1998. Occurrence, distribution, and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown melon in Spain. **Plant Disease**, **82** (9): 979-982.
66. Öztürk, S. 2000. Diyarbakır Ve İlçelerinde Karpuzlarda Görülen Virüs Hastalıklarının Surveyi. Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
67. H. Sobh, Y., Abou-Jawdah, S., El-Zammar, A., Fayyad and H, Lecoq. 2000. Incidence and management of virus diseases of cucurbits in Lebanon, **Crop Protection** **19** (4): 217-224
68. Yuki, V. A., Rezende, J. A. M., Kitajima, E. W., Barroso, P. A. V., Kuniyuki, H., Groppo, G. A., and Pavan, M. A. 2000. Occurrence, distribution, and relative incidence of five viruses infecting *cucurbits* in the state of Sao Paulo, Brazil. **Plant Disease**, **84** (5): 516-520.
69. Gümüş, M., Erkan, S., Yorgancı, Ü. ve Duman, I. 2001. Bazı sebzelerin tohumlarında bulunan viral etmenlerin saptanması üzerine araştırmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi, 190-197.
70. Tobias I, Tulipan M 2002. Results of virological assay on *cucurbits* in 2001. **Növényvédelem**, **38** (1): 23-27.
71. Papavassiliou, C., Dovas, C. I., and Papayiannis, L. C. 2002. Occurrence of insect-borne cucurbit viruses in Greece. In Proceedings of the 11th Hellenic Phytopathological Conference, Preveza, Greece, 115.
72. Dukić, N., Krstić, B. B., Vico, I. M., Katis, N. I., Papavassiliou, C., and Berenji, J. B. 2002. Biological and serological characterization of viruses of summer squash crops in Yugoslavia. **Journal of Agricultural Sciences**, **47** (2): 149-160.
73. Bostan, H., Kaymak, H. Ç. and Haliloglu, 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.

74. Zechmann B., Müller M. and Zellning G., 2003. Effects of different fixation and freeze substitution methods on the ultrastructural preservation of ZYMV-infected *Cucurbita pepo*(L.) **Leaves Arch Virol**, **148**: 1119-1133.
75. Sertkaya, G., Sertkaya, E., Yetişir, H. and Kaya, K. 2004. Investigations on incidence and transmission of *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) in cucurbits Hatay province. In Proceedings of the First Plant Protection Congress of Turkey, 8-10.
76. Ioannou, N., Papayiannis L. C., Bourakas, I. N., Dovas C. I., Katis N. I. and Falk B. W., 2005. Incidence of Viruses Infecting Cucurbits in Cyprus. **Plant Pathology**, **153**: 530-535
77. Özaslan, M., Aytakin, T., Baş, B., Kılıç, İ.H., Afacan, I.D. and Dağ, D.S. 2006. Virus Diseases of *Cucurbit* in Gaziantep-Turkey. **Plant Pathology Journal**, **5** (1): 24-27.
78. Köklü, G., and Yılmaz, Ö. 2006. Occurrence of *cucurbit viruses* on field-grown melon and watermelon in the Thrace region of Turkey. **Phytoprotection**, **87**(3): 123-130.
79. Ko, S. J., Lee, Y. H., Cho, M. S., Park, J. W., Choi, H. S., Lim, G. C. and Kim, K. H. (2007). The incidence of virus diseases on melon in Jeonnam province during 2000-2002. **The Plant Pathology Journal**, **23** (3): 215-218.
80. Massumi, H., Samei, A., Pour, A. H., Shaabani, M. and Rahimian, H. 2007. Occurrence, distribution, and relative incidence of seven viruses infecting greenhouse-grown cucurbits in Iran. **Plant Disease**, **91** (2): 159-163.
81. Bananej, K. and Vahdat, A. 2009. Identification, distribution and incidence of viruses in field-grown cucurbit crops of Iran. **Phytopathologia Mediterranea**, **47** (3): 247-257.
82. Levi, A., Thies, J., Ling, K. S., Simmons, A. M., Kousik, C. and Hassell, R. 2009. Genetic diversity among *Lagenaria siceraria* accessions containing resistance to root-knot nematodes, whiteflies, ZYMV or powdery mildew. **Plant Genetic Resources**, **7** (03): 216-226.

83. Jossey, S. and Babadoost, M. 2008. Occurrence and distribution of pumpkin and squash viruses in Illinois. **Plant Disease**, **92** (1): 61-68.
84. Mnari-Hattab, M., Jebari, H. and Zouba, A. 2008. Identification and distribution of viruses responsible for mosaic diseases affecting cucurbits in Tunisia. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, **38** (3): 497-506.
85. Fidan, H., Unlu, M., Unlu, A., Sari, N., Solmaz, I. and Aras, V. 2012. Determination of BATEM's Melon Pure Lines for Resistance to ZYMV. In Cucurbitaceae 2012. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012. 476-481.
86. Kaya, A., Erkan, S. 2011. İzmir, Aydın, Manisa ve Balıkesir İllerinde üretilen kabakgillerdeki viral etmenlerin tanılanması ve yaygınlıklarının belirlenmesi. **Bitki Koruma Bülteni**, **51**(4): 387-405.
87. Kashtban, A. H. ve Elibüyük, İ. Ö. 2011. Bal kabaklarında Kabak Sarı Mozaik Virus'una karşı bazı bitki aktivatörlerinin etkilerinin belirlenmesi. Türkiye IV Bitki Koruma Bildirileri, 28-30 Haziran, Kahraman Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Yayınları. 403
88. Mando, MJ., Kasem A. H., Al-Chaabi, S., Kumari, S.G. and Turina, M. 2011. Survey of some *mosaic viruses* on *cucurbits* in Syria and molecular detection of Zucchini yellow mosaic virus. **Arab Journal of Plant Protection**, **29** (1): 14-20.
89. Vucurovic, A., Bulajic, A., Stankovic, I., Ristic, D., Nikolic, D., Berenji, J. and Krstic, B. 2012. First report of *Zucchini yellow mosaic virus* in *watermelon* in Serbia. **Plant Disease**, **96** (1): 149-149.
90. Ali, A., Mohammad, O. and Khattab, A. 2012. Distribution of viruses infecting cucurbit crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in Oklahoma. **Plant Disease**, **96** (2): 243-248.
91. Suresh LM, Malathi VG, Shivanna M B 2013. Serological diagnosis and host range studies of important viral diseases of a few cucurbitaceous crops in Maharashtra, India. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, **46** (16): 1919-1930.

92. Kızmaz, M.Z. 2014. Diyarbakır ve Mardin illeri kabakgil üretim alanlarında görülen viral hastalıkların yaygınlığı, oranları ve etmenlerinin belirlenmesi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
93. Topkaya, Ş. and Ertunç, F. 2012. Current status of virus infections in cucurbit plantations in Ankara and Antalya provinces. Ankara University, Faculty of Agriculture, **Dep. Of Plant Protection**, 759-762,
94. Karakurt, M. Y. 2015. İstanbul ilinde karpuz ekim alanlarında *cucumber mosaic virus* (CMV) ve *zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV)'nin yaygınlıklarının araştırılması, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans tezi.
95. Sipahioğlu, H. M. ve ark. 2015. Bazı yerli çerzlik kabak çeşit adaylarının ZYMV karşı dayanıklılığının araştırılması. **Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi**, 2 (2): 136-143
96. Şevik, M. A. 2012. Tohum ile taşınan virüsler ve tohum sağlığı. **Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi** 26 (3): 75-79
97. Sastry, K. S. 2013. Methods of Combating Seed-Transmitted Virus Diseases. Seed-borne plant virus diseases. **New Delhi, Springer**: 101–163.
98. Yetişir H., Sarı, N., Elekçioğlu, H., Kurt, S., Özarıslandan, A., Söğüt, M. A., Sakar, M., 2006. Akdeniz Havzasında Bulunan Mevcut Su Kabak (*Lagenaria siceraria*)'larının Karpuz Anaçlık Potansiyelinin Belirlenmesi. Proj no: TOVAG 32-16. 44 s.
99. Yeşil, Ş. 2014 Virüs diseases of edible seed squash (*Cucurbita pepo* L.) Fifth International Scientific Agricultural Symposium, Agrosym 2014, 576-581
100. Fidan, H., Ünlü, M., Unlü, A., Sarı, N., Solmaz, I., and Aras, V. 2012. Determination of BATEM's Melon Pure Lines for Resistance to ZYMV. In Cucurbitaceae 2012. Proceedings of the Xth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya, Turkey, 15-18 October, 2012. 476-481.

101. Barbara, M. and Riccioni, L., 1993. Improvement of Diagnostic Methods to Detect Plum Pox. Virus in Apricot Plants. *Agriculture*, 139- 141.
102. Finetti-Sialer, M.M., Cillo, F., Barbarossa, L. and Gallitelli, D., 1999. Differentiation of Cucumber Mosaic Virus Subgroups by RT-PCR RFLP. **Journal of Plant Pathology**, 81 (2): 145-148.
103. Drijfhout, E., Silbernagel M. J. and Burke D.W. 1978. Differentiation of strains of Bean common *mosaic virus*. *Neth. J. PlantPathol.*, 84, 13-26.
104. Özer, M., Sipahioğlu H. M, Usta, M., and Fidan H. 2012. Cloning and sequencing of coat protein gene of *Zucchini yellow mosaic virus* isolated from squash and muskmelon in **Turkish Journal of Biology** 36: 423-429
105. Fidan, H., Denli, N., Öztürk, P., K., Nacar, N. and Yetisir H. 2013. Current situation of gourd germplasm against virus diseases in Turkey' 1st Annual Conference COST ACTION FA 1204 - ROOTOPOWER Workshop 12-14 November 2013 Murcia, Spain. Abstract.
106. Dukic', N., B. Krstic', I. Vico, J. Berenji, and B. Duduk. 2006. First report of *Zucchini yellow mosaic virus*, *Watermelon mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* in bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) in Serbia. **Plant Disease**. 90: 380
107. Bonilha, E., Gioria, R., Kobori, R. F., Vecchia, P. T. D., Piedade, S. M. de S. and Rezende, J. A. M. 2009. Yield of varieties of *Cucurbita pepo* preimmunized with mild strains of Papaya ringspot virus - type W and *Zucchini yellow mosaic virus*. **Scientia Agricola**, 66 (3): 419-424
108. Verma, R., Ahlawat, Y. S., Tomer, S.P.S., Prakash, S. and Pant, R.P.. 2004. First Report of *Zucchini yellow mosaic virus* in bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) in India. **Plant Disease**, 88: 426.
109. Noda, C., Kittipakorn K., Inchan P., Wanapee L., and Deema N.. 1993. Distribution of *cucurbit viruses* and reactions of some cucurbits species to certain viruses. In: Proceedings of the 31th Kasetsart University Annual Conference: Plants, Bangkok (Thailand): 341-347.
110. Thonmo, Y. and P., Thummabenjapone. 2008. Virus diseases in cucurbit seed production fields in Northeast Thailand. KRU Agricultural Science Seminar 2008. Abstract.

111. Nontajak, S., Jonglaekha N. and Smitamana, P. 2012. Incidence and distribution viruses infecting cucurbits in the Royal Project's areas. In: Poster O-III-09. The International Conference Tropical and **Sub-tropical Plant Diseases** 2012, **Plant Diseases in Agriculture** and Food Security, Feb 7-10, 2012.
112. Unruean, P., Lertrat K., and Thummabenjapone, P. 2013. Evaluation the stability of CGMMV resistant phenotype in *cucumber* lines S2 and S3 generations served from commercial varieties and tentative inbred lines resistant to CGMMV. *KhonKaen Agricultural Journal* **41 supplements 1**: 199-204.
- 113.Özalp, M. O. 1964. İzmir ili civarında görülen önemli sebze virüsleri üzerinde incelemeler. **Bitki Koruma Bülteni**, **4 (1)**: 18-25.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Emel ÜNLÜ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 10 Nisan 1975, Kahramanmaraş

Medeni Durumu: Evli

Tel: 05546763087

email: urunguunlu@hotmail.com

Yazışma Adresi: Selimiye mah. Zelve sok. No:21/11 Bayrak apt. Melikgazi/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri A.B.D	- - -
Lisans	Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi	1999
Lise	Tevfik Sırrı Gür Lisesi	1992

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2003-2005	Milli Eğitim Bakanlığı	İngilizce öğretmenliği
2005	Harman Un Fabrikası	Sorumlu Yönetici
2006-2007	Sarıoğlan/Palas Belediyesi	AB Projesi Eğitimci
2010-2011	ORAKAB	AB Projesi Eğitim Koordinatörü
2012-2014	Serbest	Tarım Danışmanlığı

YABANCI DİL

İngilizce