

**KİLİS 7 ARALIK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI BİBER GENOTİPLERİNİN DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ
(TSWV) NE KARŞI DAYANIKLILIKLARININ BELİRLENMESİ**

KADİR ÇELİK

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

HAZİRAN 2019

KİLİS

KABUL VE ONAY SAYFASI

Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI danışmanlığında, Kadir ÇELİK tarafından hazırlanan “Bazı Biber Genotiplerinin Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) ne Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi” adlı tez çalışması 14/06/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı (Kurumu)	İmza
Başkan	Doç. Dr. Tamer SERMENLİ Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Bölümü Anabilim Dalı	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Bölümü Anabilim Dalı	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Faika YARALI KARAKAN Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Bölümü Anabilim Dalı	

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../201... tarih ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Tez No:

Bu tez çalışmasıtarafından desteklemiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Hülya DEDE
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI BİBER GENOTİPLERİNİN DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TSWV) NE KARŞI DAYANIKLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Kadir ÇELİK

Kilis 7 Aralık Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI

YIL: 2019 Sayfa: 38

Biberlerde Domates Lekeli Solgunluk virüsüne bilinen tek dayanıklılık geni olan *Tsw*, dayanıklılığın üstesinden gelen izolatların yaygınlaşması nedeniyle etkisini yitirmişir. Bu tez çalışmasında, Kilis ili biber üretim alanlarında Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün yaygınlığı ve bazı biber genotiplerinin TSWV'ne tepkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

Kilis ili'nden toplanan 32 örneğin 12'sinde (%37,5) Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'ne rastlanmıştır. Seçilen TSWV 7 izolatı *Nicotiana tabacum* ve *Nicotiana benthamiana* bitkilerinde çoğaltılarak, TSWV etmenine dayanıklılık kaynağı belirlemek amacı ile 32 biber genotipine mekanik olarak bulaştırılmıştır. Bu genotiplerde *Tsw* geninin olup olmadığı moleküler yöntemlerle belirlenmiştir. *Tsw* geni bulunan PI 152225, PI159236 ve Chi 7 genotiplerinde TSWV 7 izolatı inokülasyonun 15. gününde negatif sonuç vermiş, bu genin bulunmadığı P4 ve P7 negatife yakın değerler almıştır. TSWV 7 izolatı dayanıklılığı kırmayan izolat olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : TSWV, Biber, Dayanıklılık, *Tsw*

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

DETERMINATION OF RESPONSE OF THE SOME PEPPER GENOTYPES TO THE TOMATO SPOTTED WILT VIRUS (TSWV)

Kadir ÇELİK

Kilis 7 Aralık University
The Institute of Naturel and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Assist. Prof. Dr.Bekir Bülent ARPACI

Year: 2019 Page: 38

The only resistance gene *Tsw* known to the tomato spotted wilt virus in peppers has lost its effect due to the spread of isolates that overcome resistance. In this thesis, the prevalence of Tomato-spotted wilt virus in pepper cultivated field in Kilis and the response of some pepper genotypes to TSWV was investigated. Twelve of the 32 samples (37.5%) collected from Kilis Province were infected with Tomato Spotted Wilt Virus. The selected TSWV 7 isolate was multiplied in *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana benthamiana* plants and mechanically inoculated with 32 pepper genotypes to determine the source of resistance to TSWV. The *Tsw* gene was determined by molecular methods in these genotypes. *Tsw* gene was determined in PI 152225, PI159236 and Chi 7 genotypes, TSWV 7 isolate showed negative results on the 15th day after inoculation, and P4 and P7 were negative. The isolate of TSWV 7 was determined as common and not resistant breaking isolate.

Key Words : TSWV, Pepper, Resistance, *Tsw*

TEŐEKKÖR

Bana bu araştırma konusunun belirlenmesinde büyük katkı sağlayan ve Yüksek Lisans programı süresince yardımlarını benden esirgemeyen, çalışmalarım esnasında her türlü desteğini aldığım, her türlü özveriği gösteren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Bekir Bülent ARPACI ve ders aşamasında her türlü yardımını esirgemeyen Doç.Dr.Tamer SERMENLİ hocama teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tez jürisinde yer olan hocalarıma tezimin biçimlenmesinde ve değerlendirilmesinde verdikleri olumlu katkılardan dolayı teşekkür ederim.

Kadir ÇELİK
KİLİS 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
3. MATERYAL ve METOT	18
3.1. Materyal	18
3.2. METOT	18
3.2.1. Arazi surveyi ve bitkisel örneklerinin toplanması:	18
3.2.2. Virüs enfeksiyonlarının serolojik teşhisi :	18
3.2.3. Toplam Nükleik Asit İzolasyonu :	19
3.2.4. Viral İzolatların RT-PCR ile belirlenmesi:	20
3.2.4.1 Tamamlayıcı DNA (cDNA, complementary DNA) sentezi	20
3.2.4.2 Polimeaz Zincir Reaksiyon (Polymerase Chain Reaction, PCR)	20
3.2.5. Virüs izolatlarının kültüre alınması.....	21
3.2.6. PCR Sonrası DNA'ların Elektroforetik Analizi.....	21
3.2.7. Mekanik İnokulasyon.....	21
3.2.8 DAS-ELISA Testi	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	24
4.1. Domates Lekeli Solgunluk İzolatlarının Yaygınlık Durumu	24
4.2. Biber Genotiplerinin Etmene Dayanıklılıklarının belirlenmesi	25
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	28
6. KAYNAKLAR	30
7. ÖZGEÇMİŞ	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μ l:	Mikrolitre
AMV:	Alfalfa mosaic virus (Yonca mozaik virüsü)
Avr	Avirulens
CAPS	Kesilip Çoğaltılmış Polimorfik Diziler
CM344	Criollo de Morelos 334
CMV	Cucumber mosaic virus (Hıyar mozaik virüsü)
DAGTEM	Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
DAS	Double Antibody Sandwich
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu
eIF4E	Ökaryotik translasyon başlangıç faktörü 4E
ELISA	Enzim ilintili immün test
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
Gl	Glikoprotein
GM	Geriye melez
GRSV	Groundnut ringspot virus
ha	Hektar
INSV	Impatiens necrotic spot virus
IYSV	Iris yellow spot virüs
kb	Kilobaz
M	Molar
MAS	Marker Assisted Selection (Markırlara dayalı seleksiyon)
mg	Miligram
ml	Mililitre
mRNA	Mesajcı RNA
nm	Nano metre
O.D. ₄₀₅	405 nm okuma değeri
ORF	açık okuma bölgesi
PeVeMoV	Pepper veinal mottle virus(Biber damar beneklenme virüsü)
PLRV	Potato leafroll virus (Patates yaprak kıvrıcıklığı virüsü)
PMMoV	Pepper mild mottle virus (Biber noktalı benek virüsü)
PVA	Potato virüs A (Patates A virüsü)
PVBV	Biber çizgili damar Virüsü
PVM	Potato virüs M (Patates M virüsü)
<i>Pvr</i>	Potyvirüslere dayanıklılık lokusu
PVX	Potato virus X (Patates X virüsü)

PVY	Potato virus Y (Patates Y virüsü)
R	Dayanıklı
RB	Direnç kıran
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	reverse transcription-polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism
S	Hassas
ssRNA	Tek sarmallı RNA
TCSV	Tomato chlorotic spot virus
TEV	Tobacco etch virus (Tütün yanıklık virüsü)
TMV	Tobacco mosaic virus (Tütün mozaik virüsü)
ToMV	Tomato mosaic virus (Domates mozaik virüsü)
TSWV	Domates lekeli solgunluk virüsü
TÜİK:	Türkiye İstatistik Kurumu
VPg:	Viral protein kodlayan bölge
W/V:	Ağırlık/Hacim
WSMoV	Watermelon silver mottle virus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1. TSWV'nin Dünya'da Yayılış Alanı.....	3
Şekil 2. TSWV'nin Avrupa ve Akdeniz Ülkelerinde Yayılış Alanı.....	3
Şekil 3. Biber Genotiplerine Bulaştırılan TSWV 7 İzolatının <i>Nicotiana tabacum</i> ve <i>Nicotiana benthamiana</i> Üzerindeki Belirtileri.....	21
Şekil 4. İnokülasyon Yapılmış Biber Genotipleri.....	22
Şekil 5. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Survey Alanından Toplanan Örneklerde Meydana Getirdiği Semptomlar.....	24
Şekil 6. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Survey Alanından Toplanan Örneklerde PCR ile Belirlenmesi.....	25
Şekil 7. Biber Genotiplerinin TSWV 7 ile Mekanik İnokülasyonu Sonrası 15. Günde Göstermiş Oldukları ELISA Değerleri.....	26
Şekil 8. SCAC568 Primeri İle Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılan PCR Ürünlerinin Bant Görüntüsü.....	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge Adı

Sayfa No

Çizelge 1.	Çalışmada Materyal Olarak Kullanılan Biber Genotipleri.....	18
------------	--	----



1.GİRİŞ

Dünyanın neredeyse bütün ülkelerinde yoğun olarak üretilmekte olan sebzeler, insanoğlunun temel besin unsurlarından birini oluşturur ve geniş bir tür çeşit zenginliğine sahiptir. Ülkemizde meyvesi yenilen sebzeler içerisinde domates ve biber, yaprağı yenen sebzeler içerisinde ise marul üretim değerleri bakımından ilk sıralarda yer almaktadır (Bozdoğan, 2009).

Dünyanın hemen her bölgesinde yetiştirilmekte olan biber (*Capsicum spp.*), Solanaceae familyasının önemli cinslerinden biridir. Biberin sebze tarımı içerisindeki öneminin arttırmasındaki neden, meyvelerinin taze olarak tüketildiği gibi toz biber, konserve, turşu ve salça yapımında kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Biberi insan beslenmesinde önemli kılan faktörler; sindirimi kolaylaştırması, kanser riskini azaltması, çeşitli ağrılara iyi gelmesi, doğal yatıştırıcı ve antibakteriyel özellikte olmasıdır (Akıncı, 1999).

Türkiye, yaklaşık 2.600.000 ton (FAO, 2015) yıllık biber üretimiyle Dünya’da üçüncü sırada, Akdeniz havzasında bulunan diğer ülkeler içerisinde ise en önemli üretici ülke konumundadır. Üretimin büyük bir kısmı (470.000 ton) örtü altında, özellikle Antalya, Mersin ve Hatay illerinde yapılmaktadır. Samsun, Manisa, Bursa, İzmir, Çanakkale’de ise biber üretiminin açık alanlarda yapıldığı önemli illerdir. Ayrıca Şanlıurfa, Gaziantep, Kilis ve Kahramanmaraş’taki üretimin önemli bir kısmı toz ve pul biber imalatında kullanılmaktadır. Türkiye’de 2017 yılında 26.187 dekar ekilen alanda 114.891 ton, dolmalık biber için 147.145 dekar alanda 418.435 ton çarliston biber, salçalık ve kapyra biber için 325.584 dekar alanda 957.030 ton ve sivri biber için 316.716 dekar alanda ise 967.466 ton sivri biber üretimi gerçekleştirilmiştir. Baharatlık biber üretimi ise 122.415 da alanda 228.531 tondur (TÜİK, 2018).

Biber yetiştiriciliğinde virüs, bakteri, nematod ve mantar v.b. gibi biyotik etmenlerin sebep olduğu verim kayıpları, ana sınırlayıcı faktörlerden bazılarıdır. Kimyasal uygulamalar, kültürel uygulamalar (budama, sulama, gübreleme, vb.) ve dayanıklı çeşit kullanımı, hastalık ve zararlıların yayılmasının kontrolünde ön plana çıkmaktadır.

Kimyasal mücadele bazı hastalık ve zararlıların yayılmasını önlemesine rağmen virüs hastalıklarına karşı etkili değildir. Kültürel uygulamalar da hastalık ve zararlı kontrolünde her zaman ekonomik koruma sağlamayabilmektedir. Bu durumda Dayanıklı çeşit kullanımı, en etkin mücadele yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır (Şimşek ve ark., 2015).

Biberde hastalık yapan viral etmenlerden Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV), Dünya’da ilk olarak 1919 yılın’da Avustralya’da tespit edilmiş ve Brittlebank tarafından ‘domatesin lekeli solgunluğu’ olarak adlandırılmıştır (Murphy ve ark., 1995; Adkins, 2000; Stevens ve ark., 1992).

Bünyaviridae familyası Tospovirus cinsinde yer alan ve bitkilerle birlikte böceklerde enfeksiyona neden olan tek tür, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) dür. TSWV dünyada geniş bir yayılış alanına sahiptir. TSWV’nin konukçuları arasında domates, biber, patlıcan, marul, yer fıstığı, kabakgiller (hıyar, kavun, karpuz), enginar gibi türler süs bitkileri ve bazı yabancı otlar yer almaktadır (Marchoux ve ark., 1991). TSWV, Japonya’da krizantem üretimini sınırlayan en önemli faktörlerden birisidir (Matsuura ve ark., 2002). Onbeş virüs türünün yer aldığı tospovirüs cinsinde tarımsal ürünlerde en fazla zarar vereni TSWV (German ve ark., 1992; Tomlinson, 1987)’dir. Dünya’da kültür bitkilerinde en fazla zarar oluşturan ilk 10 virüs arasında yer alan ve ekonomik öneminden dolayı günümüzde üzerinde en yoğun çalışma yapılan bitki virüslerinden birisi TSWV’dir (Şevik ve Arli-Sökmen, 2012). Türkiye’de TSWV Mersin, Antalya, Samsun, Muğla Adana, Şanlıurfa, Çanakkale illerinde bildirilmiştir (Yıldırım, 2010).

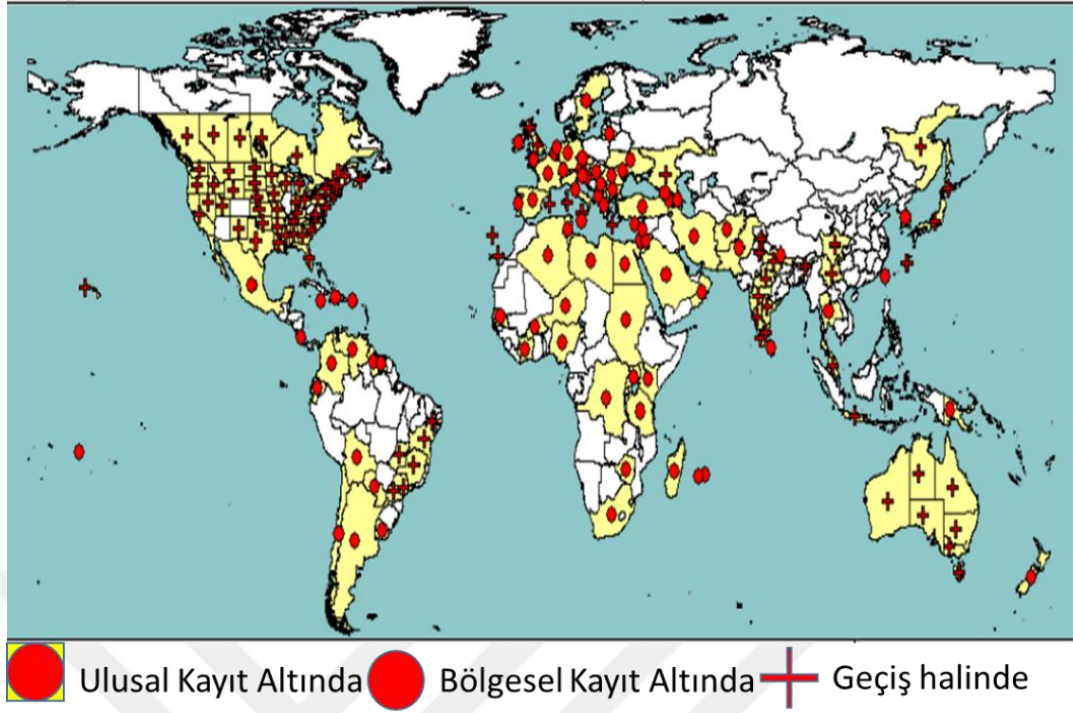
Trips türleri etmenin yayılışında etkili olmaktadır. TSWV’ nin en önemli vektörleri *F. occidentalis* ve *T. tabaci*’ dir (Krishna-Kumar ve ark., 1993). Tripslerin biyolojik ve kimyasal kontrolü, açık alan ve örtü altı biber yetiştiriciliğinde oldukça zordur. Mücadeleyi daha da güçleştiren en önemli faktör, etmenin geniş bir yabancı ot konukçu dizisinin bulunmasıdır.

Önemli mücadele alternatifleri, etmene dayanıklılık kaynaklarının araştırılması ve dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesidir. Bu mücadele alternatifinin zayıf yönü ise, birçok

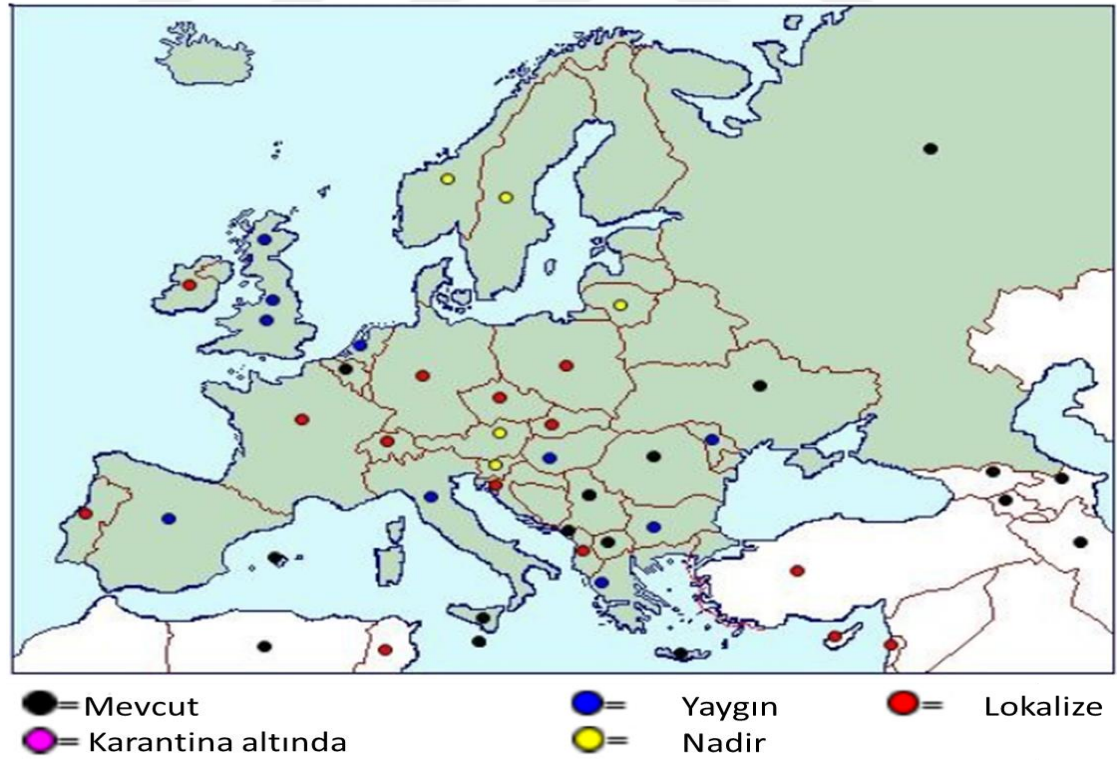
sebze türünde TSWV'ne karşı kullanılabilir etkili bir dayanıklılık geninin bulunmadığıdır. Domateste yabancı bir türde (*Lycopersicon peruvianum*) var olan dominant Sw-5 geni TSWV'nin bitkide sistemik olarak yayılışını engellemektedir (Stevens ve ark., 1991). Biberde ise birçok *Capsicum chinense* Jacq. hattı ("PI 152225" ve "PI 159236" Black ve ark., 1991; "CNPH 275"Boiteux ve ark., 1993; "PI 15"Jorda ve ark., 1994 ; "C00943"Hobbs ve ark., 1994; "7204"Nuez ve ark., 1994) TSWV karşı hipersensitiv dayanıklılık sergilemektedir. PI152225, PI159236 ve CNPH 275 biber genotipleri etmene monogenik dominant bir dayanıklılık sağlamakta ve *Tsw* olarak isimlendirilen bu gen üç genotipte de aynı lokus üzerinde yer almaktadır (Boiteux, 1995). Bu lokus biberde onuncu kromozom üzerindedir ve Pvr4 ve Pvr7 lokusuna oldukça yakındır. Geriye melez populasyonları üzerinde yapılan haritalama çalışmaları dayanıklılığı sağlayan başka genlerin de var olabileceğini göstermiştir (Jahn ve ark., 2000).

Domates lekeli solgunluk virüsü, boyutları 80 ila 120 nm arasında değişen küre şeklindedir (Lian ve ark., 2013). Tospovirus cinsinin virüsleri, tek sarmallı RNA'dan oluşan üç parçalı bir genoma sahiptir. Bu genom, RNA polimeraz RNA'sını kodlayan yaklaşık 9 Kb'lik büyük bir segmentten NSm ve bir öncü proteini kodlayan yaklaşık 4.8 Kb'lik bir orta segmentten ve glikoproteinlerden G1 ve G2 proteinini kodlayan yaklaşık 3 kb'lik küçük bir segmentten oluşmaktadır (Tsompana ve ark., 2005). Etmen yapraklarda nekrozlar, mozaikler şeklinde semptomlar, gümüş ya da bronzlaşmış yapraklar belirtileri arasındadır. Meyvelerde düzensiz şekiller veya nekrozlar görülebilir (Moury ve ark., 1998).

1919 yılında Güney Avustralya'da keşfedilen TSWV, tüm kıtalara yayılmıştır (Lian ve ark., 2013). Thripsleri kontrol etmek için yoğun pestisit kullanımının ardından 1940'lar ve 1980'lerde yaygınlığı azalmıştır. Batı Avrupa ve Kuzey Amerika'da yaygınlığı azalırken Doğu Avrupa, Güney Amerika ve Amerika Birleşik Devletleri'nin batısında özellikle Kaliforniya ve Hawaii de etkinliğini devam ettirmiştir (Moury ve ark., 1998). Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu verilerine göre patojen tüm kıtalarda ve Avrupa Birliği'nin tüm ülkelerinde mevcuttur (Şekil 1, 2) (EFSA, 2012).



Şekil 1. TSWV'nin Dünya'da Yayılış Alanı (EFSA, 2012)



Şekil 2. TSWV'nin Avrupa ve Akdeniz Ülkelerinde Yayılış Alanı (EFSA, 2012)

Thrips vektörü ile kimyasal mücadele TSWV'yi kontrol etmek için yaygın bir şekilde kullanılmış, ancak vektörde insektisit direnci gelişmiştir. Thrips vektörlerine karşı avcı böceklerin kullanılması, başka etkili kontrol aracı olmuştur (Moury ve ark., 1998). Bu vektörleri kontrol etme girişimlerine paralel olarak, dayanıklı çeşitler geliştirilmiştir. Biberde, *Tsw* geni, etmene dayanıklılığı sağlayan tek dominant gendir (Black ve ark., 1991) ve 2000 yılında yayınlanmasından sonra (Moury ve ark., 2000) ticari kayda giren biber çeşitlerinin birçoğuna aktarılmıştır.

Tsw geni bulunduran biber çeşitlerinin geniş çapta kullanımının ardından, hızlı bir şekilde dayanıklılığın üstesinden gelen TSWV izolatları ortaya çıkmıştır (Tentchev ve ark., 2011; Almasi ve ark., 2015). Bu yeni izolatlar ilk olarak İtalya ve İspanya gibi Akdeniz'e kıyısı olan biber üreten bölgelerde bildirilmiştir (Almasi ve ark. 2015). Bugün, *Tsw* geninin üstesinden gelen virülant TSWV izolatlarına dayanıklı çeşitlerin yetiştirildiği her alanda rastlanmıştır. Bazı çalışmalar etmenin NSs protein bölgesinin *Tsw* geninin dayanıklılığının kırılmasından sorumlu olduğunu göstermiştir (Almasi ve ark., 2015; Tentchev ve ark., 2011).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Domates Lekeli Solgunluk Virüsü, biber ve domatesin de içerisinde yer aldığı 800'den fazla üründe zarara yol açmaktadır (Roselló ve ark., 1996). Solanaceae familyası, birbirine benzer özelliklere sahip birçok patojen tarafından enfekte edilmesi sebebiyle patojenlere dayanıklılık genlerinin haritalanması ve çalışma mekanizmaları konusunda sıklıkla kullanılmaktadır. Tütün Mozaik Virüsü (Whitham ve ark., 1994) ve Domates Lekeli Solgunluk Virüsü karakterizasyonu tamamlanmış ve dayanıklılık genleri klonlanmış patlıcangillerde hastalık yapan iki önemli virüstür. Üç kısımdan oluşan tek sarmallı RNA'ya sahip TSWV; S, M, ve L (Mumford ve ark., 1996) bölgelerinden oluşmaktadır. L bölgesi RNA'dan bağımsız RNA polimeraz, M bölgesi viral kılıfı oluşturan 2 glikoprotein ile birlikte taşınım proteinini oluştururken S bölgesi nükleokapsid proteinini sentezlemektedir. Farklı RNA bölgelerine sahip olması TSWV'nü genetik olarak modifikasyonlara uygun hale getirmektedir. Bu nedenlerle viral fonksiyonların haritalanmasında ve patojen konukçu ilişkilerini açıklamada kullanılabilir (Qiu ve ark., 1998).

Dayanıklılık genlerinin ve bu genlerle ilişkili markörlerin klonlanması dayanıklılık genlerinin fonksiyonları, konukçunun patojene tepkileri ve bu genlerin evrimi konusunda önemli bilgiler elde edilmesine olanak sağlamaktadır (Meyers ve ark., 1999). Monokotiledon ve dikotiledon birçok bitki türünde klonlanan funguslara, bakterilere, nematodlara ve virüslere dayanıklılık genleri arasında önemli ölçüde benzerlikler bulunmaktadır. Bu benzerlikler nükleotid bağlanma bölgeleri, lōsin tekrarlamaları gibi benzer gen fonksiyonlarını ortaya çıkaran gen dizilerinde yer almaktadır (Bent ve ark., 1994; Milligan ve ark., 1998).

Virüslere karşı dayanıklı çeşitlere olan ihtiyaç, Capsicum türlerinde mevcut genetik dayanıklılık kaynaklarının kullanılmasını teşvik etmiştir. İslahçılar virüslerle etkili mücadele stratejisi olarak, biberdeki dominant/resesif dayanıklılık mekanizması çalışmaları üzerinde yoğunlaşmışlardır. Tarımsal üretimde önemli verim kayıplarına neden olan TSWV'ne genetik dayanıklılık çalışmaları son yıllarda hız kazanmıştır. Domateste TSWV ilk dayanıklılık çalışmaları *L. pimpinellifolium* ve *L. esculentum*

türlerinde iki dominant (Sw-1a ve Sw-1b) ve üç resesif (sw-2, sw-3, ve sw-4) genin dayanıklılığı sağladığını göstermektedir (Stevens ve ark, 1994). Bu üç gen domatestte mevcut izolatlara dayanıklılığı artık sağlayamamaktadırlar. Bununla birlikte *L. peruvianum*' da tanımlanan Sw-5 geni daha stabil bir dayanıklılık sağlamakta, etmenle bulaştırılan bu gene sahip bitkiler lokal nekrozlar göstermesine rağmen belirtiler mozaik haline dönüşmemektedir. *L. peruvianum*'da bulunan diğer bir TSWV dayanıklılık geni Sw-6 dır. Sw-5 lokusu haritalanmış, Sw-6 lokusu ise haritalanmamıştır (Stevens ve ark., 1991).

Biberde ise TSWV dayanıklılığı ile ilgili sadece tek bir gen tanımlanmıştır. *Tsw* olarak isimlendirilen bu dayanıklılık geni *C. chinense* Jacq. türüne giren USDA PI 152225, PI 159236, Panca ve 7204 çeşitlerinde yer almaktadır (Boiteux 1995; Moury ve ark., 1997). *Tsw* geni içeren biber çeşitleri mekanik inokulasyondan sonra belirti göstermemekte, lokal lezyonlar oluşturduktan sonra Sw-5 geni taşıyan TSWV bulaştırılmış domates bitkilerine benzer şekilde yapraklarını dökerek hipersensitiv dayanıklılık sergilemektedir (Boiteux 1995). Bu genotipler TSWV ile aynı familya içerisinde yer alan TCSV ve GRSV'ne karşı dayanıklılık sağlayamamaktadırlar (Boiteux ve Nagata, 1993; Boiteux ve Avila, 1994).

NSs proteinini kodlayan gen dizileri karşılaştırıldığında, virulent ve avirulent izolatlar arasında kayda değer bir mutasyon farkı görülmemiş, birçok farklı mutasyonun *Tsw* geninin kırılmasında rol oynayabileceği bildirilmiştir. Öte yandan bu genin üstesinden gelen virulent izolatlar filogenetik olarak diğer izolatlardan ayrılmıştır (Tentchev ve ark. 2011).

TSWV mevcut 3 genomunu diğer izolatlarla değiştirme kapasitesine sahiptir ve bu özelliği genetik olarak farklılaşma potansiyeli sağlamaktadır (Tsompana ve ark. 2005). Reassortment olarak isimlendirilen bu değişik tokuş biberlerde dayanıklılığın üstesinden gelmesine olanak sağlamaktadır (Margaria ve ark., 2007).

TSWV genomu L, M ve S (large, medium and small) olarak tanımlanan 3 farklı ssRNA kısmından oluşmaktadır. Genomun bu yapıda olması aynı bitkiye bulaşan iki farklı

izolatın birbiri ile bu kısımları değiştirme olanağı sağlamaktadır. Bu yeteneği sayesinde TSWV izolatlarının biberdeki dayanıklılığın üstesinden gelebildikleri açıklanmıştır (Jahn ve ark., 2000; Margaria ve ark., 2007).

Virüslerin neden olduğu hastalıklar tarımsal üretimde en önemli problemlerden biridir. Viral enfeksiyonların yayılmasını önlemek için farklı yöntemler mevcuttur. Hastalıklı bitkilerin ağaçların imhası, virüslere direnç gösteren genlere sahip çeşitlerin kullanımı vektör böceklerle mücadele bunlardan bazılarıdır. Bu yöntemler arasında, dayanıklı çeşitlerin kullanımı en etkili ve çevreye duyarlı yöntemdir. Ancak, bazı bitki virüsleri zaman içerisinde direnç genlerinin üstesinde gelirler. Potivirüslere dayanıklılık genleri gibi bazı genler 50 yıldan beri kullanımlarına rağmen etkili olmaya devam ederken, diğerleri birkaç yıl içerisinde etkinliğini kaybedebilir (Moury ve ark., 2010).

Bitkilerde direnç mekanizmaları etmenin virulent hale gelmesi ile doğrudan ilişkilidir. Avirulent virüs, bir direnç geni taşıyan bitki genotipinde enfeksiyona neden olmayan virüştür. Direnç geninin üstesinden gelen viral izolat, direnç gösteren popülasyonda hücre seviyesinde mutasyon veya nadiren rekombinasyon yoluyla ortaya çıkar. Daha sonra, virulent izolat, diğer izolatlarla rekabet halinde bitkide çoğalır ve birikir. Son olarak, virulent izolat çevreye yayılabilir ve diğer bitkilere bulaşabilir (Moury ve ark., 2010).

Nükleotid bağlanma bölgelerine örnek olarak Ökaryotik translasyon başlangıç faktörü 4E (eIF(iso)4E) bölgesi verilebilir. Bu bölge Potyviridae familyası virüs türlerinin viral protein genomuna bağlanmakta ve etmenin enfeksiyonunu doğrudan ilgilendirmektedir. 4E (eIF(iso)4E) bölgesi mutasyona uğramış mutant duyarlı bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar biberde önemli ekonomik kayıplara sebep olan Tütün yanıklık virüsü (Tobacco etch virus=TEV) nün de yer aldığı potyvirüslere resesif dayanıklılığı bu bölgenin sağladığını göstermiştir (Lellis ve ark., 2002; Ruffel ve ark., 2002). Resesif dayanıklı mutant allel ile karşılaştırıldığında duyarlı allelde meydana gelen mutasyonların bitkiye dayanıklılığı kazandırdığı, pvr2 geni içeren dayanıklı bitkilerde ise duyarlılığın eIF4E'ün geçici etkisi ile olduğu ve eIF4E'nin pvr2 genini kodladığı kanıtlanmıştır (Ruffel ve ark., 2002). Kang ve ark., (2005) ise eIF4E bölgesinin pvr1

geninin kodladığını öne sürmüştür, tür içi ve türler arası melezlemelerle pvr1 ve pvr2 genlerinin allelik yapıda olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Flor (1942)'ye göre kalitatif direnç gene karşı gen ilişkisine karşılık gelir. Bitkideki savunma reaksiyonlarını tetikleyen patojen enfeksiyonun gelişmesini önler. Dayanıklılığın ortaya çıkması için, bitkide direnç geni (R) bulunmalı ve patojen kendine özgü avirulens genine (Avr) sahip olmalıdır. Etkileşim, patojenin gelişimini engelleyen hızlı bir aşırı duyarlılık savunmasına (HR) neden olur (Hossard ve ark., 2010)

Kantitatif direnç ise patojen üzerinde kısmi bir etki yaratır ve genellikle etkileri kantitatif ve kümülatif olan çeşitli poligenik genlerin etkisinden kaynaklanır. QTL olarak tanımlanır ve her QTL'in patojenin gelişimine dayanıklılık sağlayan bir veya daha fazla gen içerdiği düşünülür (Hossard ve ark. 2010).

Patojenin farklı evrelerini etkileyen kantitatif genlerin kombinasyonu genellikle yüksek seviyede direnç sağlar ve ürün kaybını önler (Palloix ve Ordon 2011). Patojene direnç, uzun süre boyunca geniş alanlarda yetiştirilen çeşitlerde hastalığın gelişimi için uygun koşullar altında etkili olduğunda sürdürülebilir kabul edilir (Johnson, 1981).

Dayanıklılık patojen popülasyonlarında direnç mekanizmalarının kırılımını tetikleyen evrimsel kuvvetlerin yoğunluğuna bağlıdır. Bu parametreler, virülans mutasyonlarının sayısı, yayılma yeteneği ve genetik sürüklenmenin etkisi şeklinde sayılabilir. Dayanıklılığın sürdürülebilmesi için kalitatif direnç geni ile birlikte bir veya daha fazla QTL kombinasyonunun farklı patojenlerde etkinliği kanıtlanmıştır (Palloix ve ark., 2009). Bununla birlikte QTL tarafından sağlanan dayanıklılığın, kalitatif dayanıklılıktan daha etkin olduğu söylenemez. Diğer taraftan majör bir dayanıklılık geni ile kantitatif dayanıklılığın kombinasyonu dayanıklılığı daha sürdürülebilir hale getirilebilir. Kantitatif dayanıklılığın biberde Patates Y virüsü (PVY)'ünde sürdürülebilir olmadığı bildirilmiştir (Montarry ve ark., 2012).

Sıcaklığın 28 °C'nin üzerine çıktığı koşullarda TSWV Tsw geninin üstesinden gelmekte 33 santigrad derecenin üzerine çıkmasıyla virüsün sistemik olarak yayılması

kolaylaşmaktadır (Roggero ve ark., 1996). Bununla birlikte Hoffman ve ark., (2001), düşük sıcaklık koşullarında Tsw geninin üstesinden gelen TSWV izolatlarının ya da patotiplerinin bulunduğunu belirtmiştir.

Culbreath ve ark., (1991) yaptıkları bir çalışmada, TSWV' nin neden olduğu Domates Lekeli Solgunluk Hastalığının, 1986 yılında Georgia da ilk olarak tütün (*Nicotiana tabacum*) üzerinde teşhis edildiğini bildirmişlerdir. 1988' de tütün üretimi yapılan 48 şehirden 28'inde ürünlerin TSWV ile enfekteli olduğunu ancak hastalık etmeninin ortaya çıkma oranının % 1' den düşük olduğunu bildirmişlerdir. 1989 yılında, Georgia' da tütün üretimi yapılan bütün alanlarda lekeli solgunluk gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Bu alanlarda yapılan incelemeler sonucunda simptom gösteren bitkilerde hastalığın ortaya çıkma oranının % 5- 7' den az olmasına rağmen bazı tütün bitkilerinde etmenin ortaya çıkma oranının % 20' den fazla olduğunu ve bunun da üründe kayıplar meydana getirdiğini gözlemlemişlerdir.

TSWV, ülkemizde ilk olarak tütünde; Çanakkale'yi takiben Balıkesir, Manisa, Uşak ve Samsun' da, daha sonra ise, domateste; İzmir, Manisa' da (Azeri, 1981; 1994) ve Çukurova' da (Güldür ve ark, 1995) teşhis edilmiştir. Önce sadece domates bitkisinde olduğu düşünülmüş, fakat 1997- 1998 yılları süresince İçel' in Kazanlı bölgesinde biber bitkisinde de ortaya çıkarılmıştır ve bu bölgede TSWV' nin *Frankliniella occidentalis* ve *Thrips tabaci* vektörleri ile taşındığı bildirilmiştir (Bozdoğan, 2009).

Turhan ve Korkmaz (2006), iki yıl süresince toplam 9.2 ha alanda gözlem yapmışlar ve TSWV simptomlarını gösteren toplam 200 bitkiden örnek almışlardır. ELISA testleri ve DTBIA yöntemi sonucunda 9 örneği TSWV ile enfekteli bulduklarını, her iki yöntemin TSWV tanısında güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Arlı-Sökmen ve Şevik. (2006), Samsun ilinde biber üretim yerlerinde birçok virüs hastalığı olduğunu ve 1998 ve 1999 yılları arasında bu virüsleri tespit için toplam 313 örnek aldıklarını ve ELISA ile test ettiklerini vurgulamışlardır. Bu örneklerde AMV, CMV, PVY, ToMV, TMV ve TSWV olmak üzere 6 adet virüs tespit etmişler, ayrıca TSWV' nin birçok yabancı ot üzerinde de varlığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışma ile

biber tarlalarında bulunan bu yabancı otların aynı zamanda biberler için TSWV enfeksiyon riski meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Küçük (2006), E8, D2, M5 kodlu izolatlar ile aşılı indikatör bitkilerde 5-15 gün içerisinde simptom gözlerken, T1 izolatının 30-60 gün gibi bir sürede simptom çıkışına neden olduğunu, yapılan SDS-PAGE yönteminde TSWV' ye ait bir protein band gözlediğini ve molekül ağırlığının 27 kDa olarak saptadığını bildirmiştir.

Bozdoğan (2009), Antalya ili Merkez, Serik ve Kumluca ilçelerinde yaptığı çalışmada 193 domates, 345 biber ve 58 marul bitkisi olmak üzere toplam 596 bitki örneğini ELISA ile test etmiş ve domates örneklerinin % 80.8' inin, biber örneklerinin % 91.6'sının ve marul örneklerinin ise % 93.1'inin TSWV ile enfekteli olduğunu saptamıştır.

Yıldırım (2010), TSWV' nin kontrolünün hem virüs hem vektörün konukçu çevresinin geniş olmasından dolayı oldukça zor olduğunu belirtmiştir. En etkili yöntem dayanıklı çeşit kullanmaktır. Bitkinin hassasiyetine, tür ve çeşidine ve ekolojik şartlara bağlı olarak TSWV' nin oluşturduğu simptomlar farklılık göstermektedir. Bitkinin gelişme dönemine, yaşına ve virüs ırkına bağlı olarak simptomların görüntüsü ve şiddeti farklılık göstermektedir. Etmen mozayik, konsantrik halka lekeler, geriye doğru ölüm, boğum aralarında kısılma, nekroz, kloroz ve yapraklarda sekil bozukluğu gibi belirtilere neden olmaktadır. En tipik belirtisi, bitkinin tümünde genel bir bodurluk ve sararma ile solgunluktur. klorotik çizgili lekeler ya da nekrotik lekeler ise, yapraklarda gözlenir. Tepe sürgünlerde beneklenmelerle birlikte ölümler oluşur. Olgun meyvede konsantrik sarı halkalı noktalar veya nekrotik çizgiler oluşmaktadır.

Değirmenci ve Uzunoğulları (2007), 2003 ve 2004 yıllarında domates üretiminin yapıldığı Marmara Bölgesi'nde (Bursa, Bilecik, Sakarya ve Tekirdağ) Tomato mosaic tobamovirus (ToMV), Tomato spotted wilt tospovirus (TSWV), Cucumber mosaic cucumovirus (CMV), Potato X potyvirus (PVX), Potato Y potyvirus (PVY)'lerinin belirlemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Örnekleri serolojik (DAS-ELISA) ve biyolojik yöntemlerle test etmişler ve çalışma sonucunda, testlenen örnekler %1.2–35,3

ToMV, %5.5– 78.6 TSWV, %4.8–18.1 PVX, %7.7–37.5 PVY ve %9–68.7 CMV virüsleri ile bulaşık bulmuşlardır.

Roggero ve Masenga (2002) Tsw dayanıklılık genini bulunduran *Capsicum chinense* PI152225 genitörü kullanılarak geliştirilen ticari biber çeşitlerinde hastalığa neden olan Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) izolatları bulmuşlardır. Direnç kıran (RB) izolatlar C. chinense PI152225'deki direnci kırmış RB olmayan izolatlarla benzer şekilde diğer konukçularda enfeksiyon oluşturduğunu belirlemişlerdir. RB izolatların serolojik ve elektron mikroskobu ile TSWV'den ayırt edilemediğini bildirmişler ve *Frankliniella occidentalis* tarafından etkili bir şekilde aktarıldığını belirtmişlerdir. Bu izolatların, aynı üretim alanında bulunan domates, biber ve enginarada görüldüğünü etmenin dirençli bitkilerden yayılma olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

35

Margaria ve ark (2007), TSWV'nin nucleokapsid proteini (N) ve yapısal olmayan proteini (NSs) kodlayan S RNA'nın, biberlerde Tsw dayanıklılığının üstesinden geldiğini belirlemişlerdir. Ayrıca NSs bölgesinin avirulenslikle ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Hoffmann ve ark. (2001) Domates lekeli solgunluk virüsünün (TSWV) domatesdeki Sw-5 genini ve TSWV'nin (N geni) tütün içindeki nükleokapsid geninin üstesinden gelme genini haritalamak için bir viral genetik sistem kullanılmışlardır. TSWV izolatları A ve D' den tam bir yeniden birleştirici genotip seti oluşturmuştur. TSWV-A, domateste Sw-5 genini ve tütünde TSWV N genini yenebilmiştir; buna karşın TSWV-D her iki direnç çeşidi tarafından bastırılmıştır. Her iki direnç biçiminin de üstesinden gelme özelliği, TSWV-A'nın (MA) M RNA bölümüyle bağlantılı olduğu bulunmuştur. Sw-5 geninin üstesinden gelebilmenin sadece MA varlığına bağlı olduğu bulunmuş ve MA'nin TSWV N genini aşma kabiliyeti, TSWV-A'nın L RNA ve S RNA tarafından modifiye edilmiştir; Nucleocapsid geninin, nucleocapsid aracılığı ile direncin üstesinden gelebilmek için birincil belirteç olmadığı belirlenmiştir. TSWV-A, -D ve tip izolat BR-01'in M RNA bölümünün dizi analizi, kodlayıcı ve kodlamayan bölgelerde, dirençli nükleotid dizilerinin tanımlanmasını önleyen çoklu farklılıklar ortaya koymuştur.

Birçok bitki virüsü tarafından Patojen ve konukçu kaynaklı direncin enfeksiyonu baskıladığı gözlemlenmiştir. Bu sistemlerin arasında domates lekeli solgun tospovirüs (TSWV) bulunmaktadır. Bununla birlikte, neredeyse tüm konukçu direnç genlerini kolayca aşmıştır ve TSWV N geninin aracılık ettiği direncin üstesinden geldiği gösterilmiştir. Direnç kırma mekanizmalarını daha iyi anlamak için, bitki virüslerinin direnç genlerini nasıl yendiğini incelemek gerekir. Bunun için de bir model olarak TSWV N gen türevi direnci (TNDR) seçilmiştir. Tanımlanmış bir viral izolat TSWV-D ve TSWV-10 popülasyonu, her ikisi tarafından baskılanmıştır. TNDR, bir N-gen transgenik bitkisinde seri geçişle TNDR'ye tabi tutulmuştur. Birinci, dördüncü ve yedinci transferlerden 120 lokal lezyon izolatının genotip analizi, genomik kompozisyonun kaymasını doğrulamıştır. L10, M10 ve SD RNA bölümlerinin her biri mutasyon veya rekombinasyon olayından ziyade TNDR seçimine tepki olarak bağımsız olarak seçildiğini göstermiştir. N-geni transgenik bitkiler üzerindeki yedinci transferi takiben, TSWV S RNA, TSWV-D'den gelen S RNA'ya esas olarak özdeş kalmıştır; bu, TSWV-D'den iki S RNA arasında moleküler- olmayan rekombinasyonun gerçekleşmediğini ve 10 ve TSWV-D'ye veya aktarılan N genine sahip olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlar, TSWV'nin yeni konakçı genotiplerine hızla adapte olmak için genomun yeniden sınıflandırmayı kullandığı ve iki veya daha fazla parçadan oluşan unsurları desteklediği hipotezini desteklemektedir.

Sharman ve Persley (2006), 2002'de Güney Avustralya'daki Virginia'da, Domates lekeli solgunluk virüsüne (TSWV) karşı *Tsw* direnç genine sahip olan Capsicum çeşitleri, TSWV enfeksiyonuna özgü semptomlar geliştirmiştir. Serada yetiştirilen ürünün neredeyse % 100'ü enfekte olmuştur. Örnekler ELISA'da TSWV antikorları ile reaksiyona girmiştir. Virüs izolatları, *Tsw* direnç genini taşıyan Capsicum çeşitlerine ve Capsicum chinense genotiplerine (PI 152225 ve PI 159236) bulaştırıldığında, aşırı duyarlı bir reaksiyon yerine şiddetli sistemik semptomlara yol açmıştır. *Tsw* genine karşı öldürücü olan izolatların Sw-5 (TSWV'ye dirençli) domates genotiplerinde aşırı duyarlı olduğu belirlenmiştir. Standart TSWV izolatlarına çok benzer moleküler ve biyolojik özelliklerinin olduğu belirtilmiştir. *Tsw* virülant izolatları, 2002 ve 2004 yıllarında Virginia ve TSWV'ye dirençli ve duyarlı kıvırcık ve domates çeşitlerinde

yapılan araştırmalar sonucunda bulunmuştur. İzole edilmiş tarlalarda Domates Solgunluk Virüsü dayanıklı biber çeşitlerine virüs bulaştırmıştır.

Biberlerde TSWV direnç kıran izolatları daha önce ABD Louisiana eyaletinde, İtalya'da, İspanya'da, Avustralya'da ve Macaristan'da görölmüştür. İzole edilen SC3-RB'nin hem tarla hem de laboratuvar koşullarında biber üzerindeki Tsw direnç genini kırabileceğini belirlemişlerdir (Deligoz v ark., 2014).

Bu hastalık ile mücadelede virüsün bir bölgeye girişini önlemek, eğer virüs bulaşmış ise diğer bölgelere ve diğer bitkilere bulaşma ve yayılmasının önlenmesi gerekmektedir. Bitki virüs hastalıklarına karşı ilaçlı mücadelenin mümkün olmamasından dolayı günümüzde değişik metotlarla korunma yollarına gidilmektedir. Bunların başında; virüsten ari bitkilerle üretim yapılması, münavebe, sanitasyon, eradikasyon, dezenfeksiyon, üretim alanların birbirinden ayrılması, vektör bulunmayan alanlarda üretim yapılması, virüs taşıyıcı vektörlerle kimyasal veya kimyasal olmayan mücadele edilerek bitkiden bitkiye taşınmasının önlenmesi ve virüse dayanıklı bitkilerin elde edilmesi gelmektedir. TSWV'nin mücadelesinde tek bir yöntem yeterli olmayabilmektedir. Bu yüzden birçoğ mücadele yönteminin entegre olarak bir arada kullanılması ve oluşan ekonomik kayıpların en aza indirilmesi gerekmektedir (şevik, 2015).

TSWV, nükleotid dizisi ve serolojik özelliklerine göre, Impatiens necrotic spot virus (INSV), Tomato chlorotic spot virus (TCSV), Groundnut ringspot virus (GRSV), Iris yellow spot virus (IYSV) ve Watermelon silver mottle virus (WSMoV) olmak üzere altı türe ayrılmıştır (Mumford ve ark. 1996).

Mun ve ark (2008), Kore' de 2006 ağustos ayında mozaik ve nekrotiksimptomlar gösteren seralarda biberlerde öldürücü bir hastalık tespit etmişlerdir. Bu viral hastalığın tespit edilmesi için semptom gösteren ve göstermeyen 11 meyvedenörnek alınmış ve ezilerek total RNA izolasyonunu yapmışlardır. CMV, PepMoV, TSWV ve PMMoVvirusleri için spesifikprimerler dizayn edilerek kullandıklarınıbelirtmişlerdir. Analiz sonucunda elde edilen ürünler % 98 ve 100 oranında TSWV ile CMV'nin kılıf

proteini ile uyum sağladığını rapor etmişlerdir. Bunun dabiberlerde bu semptomlara neden olan viral etmenlerin CMV ve TSWV olduğunun tespit edildiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmayı Kore’ de biberlerde TSWV ve CMV için yapılmış olan ilk çalışma olarak bildirmişlerdir.

Mavrik ve ark (2001), yapmış olduğu çalışmada seralarda yetiştirilen biberlerde 2000 yılı temmuz ayında nekrotik halkalı lekeler olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Semptomları sadece alt yapraklarda gözlenmesine rağmen genç yapraklar ve meyvelerde de gözlemediklerini bildirmişlerdir. Semptom gösteren yapraklardan örnekler alınmış ve elektron mikroskopu altında gözlenmiş ve TSWV’ye özel partiküller belirlediklerini belirtmişlerdir.

Bunyaviridae familyasına ait virüslere tipik bir örnek olan TSWV’nin morfolojik yapısı, 80-110 nm çapında küreye benzer partiküllerden oluşur (Mohammed ve ark., 1973).

Domates lekeli solgunluk virüsünün mRNA olan bütün dizilimi belirlenmiştir. RNA 4821 nükleotid uzunluğundadır ve bir ambisense sahiptir ve kodlama stratejisi sRNA ya benzemektedir. mRNA segmentinde iki açık okuma bulunmaktadır (ORFs) bir tanesinin viral anlamda tahmin edilen protein boyu 33-6K dır ve öncüyü kodlayan viral tamamlayıcı duyu G1 ve G2 glikoproteinlerinin 127.4K boyutunda olduğu tahmin edilmektedir. Her iki ORFs de mRNA nın subgenomik sentezi yoluyla ifade edilmektedir. Glikoproteinler için haberci bir dizi sekans içermektedir ve hücresel bağlanma alanlarının karakteristik olduğu belirlenmiştir. G1 proteinlerinin Bünyavirüs cinsi üyeleri arasında önemli benzer sekanslar bulunmaktadır. mRNA sekansının açıklanmasıyla TSWV’nin tamamen nükleotid dizisi tespit edilmiştir.

Domates lekeli solgun virüsünün Nükleokapsid protein (N) geni, Hawaii L izolatından klonlanmıştır. 777 nükleotid içeren N geni, bir domates (CNPH1) ve iki marul (L3 ve BL) izolatı ile sırasıyla% 97 ve% 99 benzerliğe sahiptir. *Nicotiana tabacum* cv. Xanthine ve *Lycopersicon esculentum* cv. VF36’nın kotiledonları. TSWV N geni barındıran *Agrobacterium tumefaciens* ile transforme edilmiştir. TSWV N genini eksprese eden R1 transjenik tütün bitkilerinde TSWV’ne dayanıklılık oluşturduğu,

belirgin olarak daha düşük sayıda lokal lezyon ve semptom gelişiminde gecikme gözlemlendiği bildirilmiştir. (Kim ve ark., 1994).

Tospovirüsler thripsler (Thysanoptera:Thripidae) tarafından nakledilmektedir ve hem thrips vektörlerinde hem de bitkiler ev sahipliği yaparak çoğalmaktadırlar. Tospovirüslerde önemli farklılıklar vardır ve onların ilişkileri spesifik trips türleri iledir bu yüzden burada TSWV ye sunulan şey Tospovirüs-trips etkileşiminin tümü için geçerli değildir (Sherwood, 2003).

Plastik film malçlamanın tripslerin yayılımı ve TSWV nin domates, biber ve tütün bitkilerinin enfeksiyonu üzerinde çalışmalar yürütülmüştür. Üç tür tesadüf blokları deneme deseninde üç malç uygulaması ile birlikte (alüminyum yüzey plastik malçlama, siyah plastik malçlama ve kontrol grubu) araziye yerleştirilmiştir. Trips yayılışı sarı yapışkan tuzaklarla belirlenmiştir. Malçlama uygulamaları karşılaştırıldığında alüminyum ile yapılan malçlamada dometeste trips oranı %68 den %64'e düşmüştür. Biberde trips sayıları ve TSWV oranları sırasıyla %60 ve %78 azalmıştır. Trips sayısı alimünyum yüzeyli malç uygulaması ile %33 azaltılmıştır. TSWV yayılış oranı % 60 azalmıştır. *Thrips tabaci* ve *Frankliniella fusca* etmeni taşıyan vektörler olarak belirlenmiştir (Greenough, 1990).

TSWV'nin neden olduğu pawpaw diye adlandırılan yeni bir hastalık ilk kez Hawaii Kauai'de 1962'de gözlemlenmiştir. Bitkilerdeki belirtileri üstteki yaprakların lekelenmesi, nekrozu ve klorozudur. Meyve taşıyan enfekteli bitkilerin olgunlaştıkça sarı bir zemin üzerine belirgin yeşil halkalara sahip olan deforme olmuş meyve ürettikleri belirlenmiştir. TSWV'nin yayılışı *Emilia fosbergii* ve *E.sonchifolia* gibi birçok yabancı otlarla ilişkilendirilmiştir. Pawpaw virüsünün konukçu aralığı ve fiziksel özellikleri incelendiğinde hastalığın TSWV olduğu anlaşılmıştır (Gonsalves, 1986).

Bitki virüsleri arasında, Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) en geniş yayılım gösteren virüs olarak kabul edilmektedir ve en geniş konukçu aralığına sahiptir. Bu virüs, dünyanın çeşitli bölgelerinde, başta bahçe ve süs bitkileri olmak üzere çok sayıda epidemiden sorumludur. Konukçu sayısının fazlalığı, yayılış etkinliği, vektörlerinin

biyolojik aktivitesi, yeni izolatların oluşmasındaki hız ve vektörlerin kontrolündeki zorluklar, TSWV'yi en korkulan bitki virüslerinden biri haline getirmiştir. Vektör yönetimi stratejileri ile birlikte virüs kaynağı olaran yabancı otlarla mücadele entegre kültürel uygulamalar, virüsün kontrolünde çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu yüzden, TSWV konakçı bitkilerinin bilinmesi, araştırmacılar ve çiftçiler için yararlı görülmektedir (Parrella, 2003).

Hawai'in büyük sebze üretim bölgelerinde 9000'den fazla bitki örneğinde TSWV ile enfekte bulunan bitkilerin % 25'inin virüs ile bulaşık olduğu 24 türün etmenin hastalandığı yeni türler olduğu belirlenmiştir (Cho, 1986).

Etmen dünyada biber üretimi yapılan alanların tamamında yaygınlık göstermektedir. Yapılan bu çalışmada, CM334 ve Perennial, PM217 genotiplerinden geliştirilen, Kilis İli biber üretim alanlarından selekte edilen, Kahramanmaraş kırmızıbiber popülasyonundan seçilen KM211 ve Sena çeşitleri melezlenmesi sonucu DAGTEM (Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü) tarafından geliştirilen genotiplere ek olarak TSWV'ye dayanıklılık kaynağı olarak kullanılan toplam 32 genotip çalışmanın bitkisel materyalini oluşturmuştur. Çalışmada etmenin Kilis ili'ndeki yaygınlığı araştırılmış, materyal olarak kullanılan biber genotiplerinin Kilis İli'nde belirlenen TSWV 7 izolatına tepkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak kullanılacak genotipler Çizelge 1 de verilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada Materyal Olarak Kullanılan Biber Genotipleri

Sıra No	Genotip	Sıra No	Genotip	Sıra No	Genotip	Sıra No	Genotip
1	CHI 7	9	HD MOR-3	17	PC-13	25	PM-815
2	Elbeyli 24	10	PI 159236	18	PC-24	26	PVN 3
3	Elbeyli 3	11	HD MOR-5	19	PC-3	27	PVN 4
4	Elbeyli 8	12	ORİENT E3-2	20	PC-38	28	PVN 8
5	Elbeyli 17	13	ORİENT E3-4	21	PC-38	29	Şahinbey
6	Florida VR2	14	ORİENT E3-5	22	PC-42	30	W4
7	HD MOR-1	15	P4	23	PI152225	31	Yolo Wonder
8	HD MOR-2	16	PC-124	24	P7	32	Yolo Y

3.2. METOT

3.2.1. Arazi surveyi ve bitkisel örneklerinin toplanması:

Kilis ili biber ekili alanlarda virüs enfeksiyonu için semptom gözlenmesi ve örnek toplamak üzere surveyler yapılmıştır. Surveyler biber üretilen alanlarda Ağustos ayından itibaren sürdürülmüş, ve iki dönemde gerçekleştirilmiştir. Yaprak örneklerinin yanı sıra genç meyveler de örneklenmiştir (Ben Khalifa ve ark., 2009). Biberlerde aranacak semptomlar; yapraklarda halka, elips, dalgalı halkalar meyvelerde halka şeklinde çöküntüler, bitkide solgunlukluk belirtileri olmuştur. Semptomatolojik olarak şüpheli görülen bitkilerden örnekler toplanarak, buz dolu kaplar içerisine yerleştirilen plastik torbalarda laboratuvar ortamına getirilmiş ve analizler için kullanılmak üzere +4 °C’de saklanmıştır.

3.2.2. Virüs enfeksiyonlarının serolojik teşhisi :

Biber örnekleri TSWV enfeksiyonlarını ortaya koymak üzere virüslere spesifik poliklonal antiserum ile testlenmiştir (Tentchev ve ark., 2011). TSWV enfeksiyonları tespit edilmiş örnekler, viral popülasyonun, tersine transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu-fragment uzunluk polimorfizm (reverse transcription-polymerase chain

reaction-restriction fragment length polymorphism; RT-PCR) ile analizi yapılmak üzere kullanılmıştır.

3.2.3. Toplam Nükleik Asit İzolasyonu :

Surveylerde araziden toplanan örneklerin ve Tsw geni için taranan biber genotiplerinin toplan nükleik asit izolasyonunda uygulanan yöntemle ait aşamalar aşağıda verilmiştir.

- a) Yaprak ve meyve örnekleri (500 mg), 2 ml fosfat (ezme) tamponu içerisinde porselen havan ve havan eli kullanılarak ezilip, kullanılıncaya kadar havan içerisinde +4°C’de saklanmıştır.
- b) Ezilen örnekler tüplere aktarılıp 500 µl TriReagent eklenmiştir.
- c) Vortekslenen örnekler oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir.
- d) Örnekler üzerine 200 µl kroloform eklenip iyice karıştırılmıştır.
- e) 14.000 devir/dakikada 15 dakika santrifüj yapılmıştır.
- f) Ayırıştırılan ve tüpün üstünde kalan temiz sıvı kısımdan yaklaşık 200-300 µl yeni tüplere aktarılmıştır.
- g) 300 µl izopropanol eklenerek karıştırılmıştır.
- h) Tüpler 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş, daha sonra 14.000 devir/dakikada 15 dakika santrifüj edilmiştir.
- i) Sıvı kısım atıldıktan sonra çökeltiye 1 ml % 70 etanol eklenmiştir.
- j) Hafifçe vortekslenen tüpler 14.000 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edilmiştir.
- k) Daha sonra sıvı kısım atılıp tüpler kurutulmuştur.
- l) Tüplere 50 µl saf su eklenip vortekslenerek -20°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.4. Viral İzolatların RT-PCR ile belirlenmesi:

Yaprak ve/veya biber meyveleri viral RNA izolasyonu için kullanılmıştır. Yaklaşık 0,5 gr örnek Tri-Reagent kit (Molecular Research Center Inc.) kullanılarak RNA izolasyonu gerçekleştirildikten sonra Tentchev ve ark. (2011)'nin bildirdiği protokol kullanılarak cDNA sentezi ve PCR analizi gerçekleştirilmiştir. PCR analizi için TSWV izolatlarındaki RNA L – replikaz geni kodlayan bölgelere spesifik primer dizinleri kullanılmıştır Bu primerler TSWV grupları için polivalent özellikte olacak şekilde hazırlanmıştır. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü NSm bölgesi ileri ve geri primerleri sırasıyla ACATTACACAAGCTCCTCTACC ve CCTTTAGGRATTATCAGCTTGC şeklinde sentezlenmiştir. PCR ürünün yaklaşık büyüğü 800 bazdır(Tentchev ve ark. (2011)).

3.2.4.1 Tamamlayıcı DNA (cDNA, complementary DNA) sentezi

TNA izolasyonu yapılan örnekler PCR aşamasından önce Moury ve ark., (2004)'nin bildirdiği protokol kullanılarak aşağıdaki adımlarla tamamlayıcı tersine transkripsiyon ile cDNA sentez aşaması gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon için 2 µl TNA kullanılmıştır. Sentez için Dombrovsky ve ark. (2010) tarafından hazırlanmış primer çiftinin 10 µM heterolog primeri kullanılmıştır. Karışım sırasıyla 70 °C'de 5 dakika ve buzda 5 dakika bekletilmiştir. Karışıma 4 µl 5X tersine transkripsiyon tamponu, 0.8 µl 10 mM dNTP ve 0.5 µl Maloney Murine Leukemia Virus (M-MLV) Reverse Transcriptase (20.000 U) enzim eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 37°C'de 1 saat bekletilerek cDNA sentezi tamamlanmıştır.

3.2.4.2 Polimeaz Zincir Reaksiyon (Polymerase Chain Reaction, PCR)

Tamamlayıcı DNA sentezlenen örneklerin analizi PCR yöntemi kullanılarak yapılmıştır. PCR basamakları Moury ve ark., (2004)'nin bildirdiği protokol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sentezlenen 5 µl cDNA ile 50 µl karışım içerisinde 1X termofilik Taq tampon, 1.75 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 1U DNA polimeraz enzim (Thermo), homolog ve heterolog primerlerle gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonda hibridizasyon programı 60°C'de 70 sn olarak belirlenmiş ve 40 döngü olarak uygulanmıştır (Knierim ve ark., 2010).

3.2.5. Virüs izolatlarının kültüre alınması

Teşhisi yapılan TSWV izolatları *Nicotiana tabacum* ve *Nicotiana benthamiana* bitkilerine mekanik inokülasyon ile aktarılmıştır (Şekil 3). Tohumları ekilen bitkilerin ilk gerçek yapraklarının çıkışının ardından 2 kotiledon/bitki olacak şekilde el yordamıyla inokülasyon gerçekleştirilmiştir (Moury ve ark., 2004). Bitkiler Kilis 7 Aralık Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi seralarında tutulmuştur. Virüs enfeksiyonlarının kontrolü DAS-ELISA (Legnani ve ark., 1995) ve RT-PCR ile kontrol edilmiştir. TSWV 7 izolatı genotiplerin dayanıklılıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır.



Şekil 3. Biber Genotiplerine Bulaştırılan TSWV 7 İzolatının *Nicotiana tabacum* (sağda) ve *Nicotiana benthamiana* (Solda) Üzerindeki Belirtileri

3.2.6. PCR Sonrası DNA'ların Elektroforetik Analizi

PCR sonrası elde edilen DNA ürünlerinin elektroforetik analizleri % 1.5'lük agaroz jel üzerinde 1X TAE (0,04 M Tris-asetate, 0,001 M EDTA, pH 8.0) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Agaroz jel, etidium bromid boyamasından sonra UV transilluminator üzerinde gözlenmiş, jel fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.7. Mekanik İnokülasyon

Mekanik inokülasyonda Kilis İli'nde yapılan suveyler sonucu belirlenen TSWV 7 izolatu kullanılmıştır. İnokülasyon Moury ve ark. (2004)'nın belirttiği protokole göre yaprak örneğinin 4 hacim 0,03 M fosfat tamponu (Ph 7.0) ve %2 (ağırlık/hacim) DIECA, 0,09 mg/ml aktif kömür ve 0,09 mg/ml karborandumun ezilmesiyle yapılmıştır. Her genotip için yaklaşık 20 bitki kullanılmıştır. Negatif kontroller sadece tampon kullanılmak suretiyle inoküle edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. İnokülasyon Yapılmış Biber Genotipleri

3.2.8 DAS-ELISA Testi

Buzluklarda laboratuvara getirilen örnekler aynı gün içerisinde TSWV enfeksiyonlarının belirlenmesi için DAS-ELISA (Clark ve Adams, 1977) testinde kullanılmıştır. Örneklerden 100 mg tartılarak, TSWV (Agdia) için tavsiye edilen ezme tamponu içerisinde 1:10 oranında kullanılarak ezilmiş ve testlemede kullanılmaya kadar +4°C'de saklanmıştır.

ELISA plakaları TSWV poliklonal antiserum ile kaplanmıştır. Kaplama işlemi için antiserumlar üretici firmaların belirlediği; TSWV için 1:200 oranlarında kaplama tamponu içinde sulandırılmıştır. Plakalar 100 µl/çukur olacak şekilde kaplanmış ve 37°C'de 2 saat süreyle, nem çemberi oluşturulmuş saklama kaplarında bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda plakalar yıkama tamponuyla, 3 kez ve 3 dakika arayla yıkanmış ve iyice kurulanmıştır.

Ezme tamponuyla hazırlanmış örnekler iki tekerrürlü ve 100 µl/çukur olacak şekilde plakalara konulmuştur. Her virüs için pozitif ve negatif kontroller, antiserum üretici

firmalardan virüslere spesifik olarak temin edilmiştir. Plakalar +4 °C'de bir gece (16 saat) bekletilmiştir.

Plakalar yıkama tamponuyla 3 kez ve 3 dakika arayla yıkanmış ve iyice kurulanmıştır.

Antiserum+enzim konjugasyonu firmaların tavsiye ettiği oranlarda (TSWV: 1:200), konjugat tamponu içinde seyreltilmiş ve 100 µl/çukur olacak şekilde çukurlara konulmuştur. Plakalar 37°C'de 2 saat süreyle, nem çemberi oluşturulmuş saklama kaplarında bekletilmiştir.

Plakalar yıkama tamponuyla, 3 kez ve 3 dakika arayla yıkanmış ve iyice kurulanmıştır.

Fosfataz maddesi 1mg/ml olacak şekilde substrat tamponu içinde (substrat tamponu antiserumların temin edildiği firmaların tavsiye ettiği bileşimde ayrı olarak hazırlanmıştır) hazırlanmış ve 100 µl/çukur olacak şekilde çukurlara konulmuştur. Plakalar ışık almayacak şekilde saklama kabında, oda sıcaklığında bekletilerek çukurlardaki renk değişimi izlenmiştir. Pozitif kontrollerde renk değişimin gözlemlendiği ilk 60 dakikada 405 nm dalga boyunda, ELISA plaka okuyucusunda okumalar yapılmıştır. Negatif kontrollerden 405 nm dalga boyunda elde edilen değerlerin iki katından fazla olanları pozitif olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

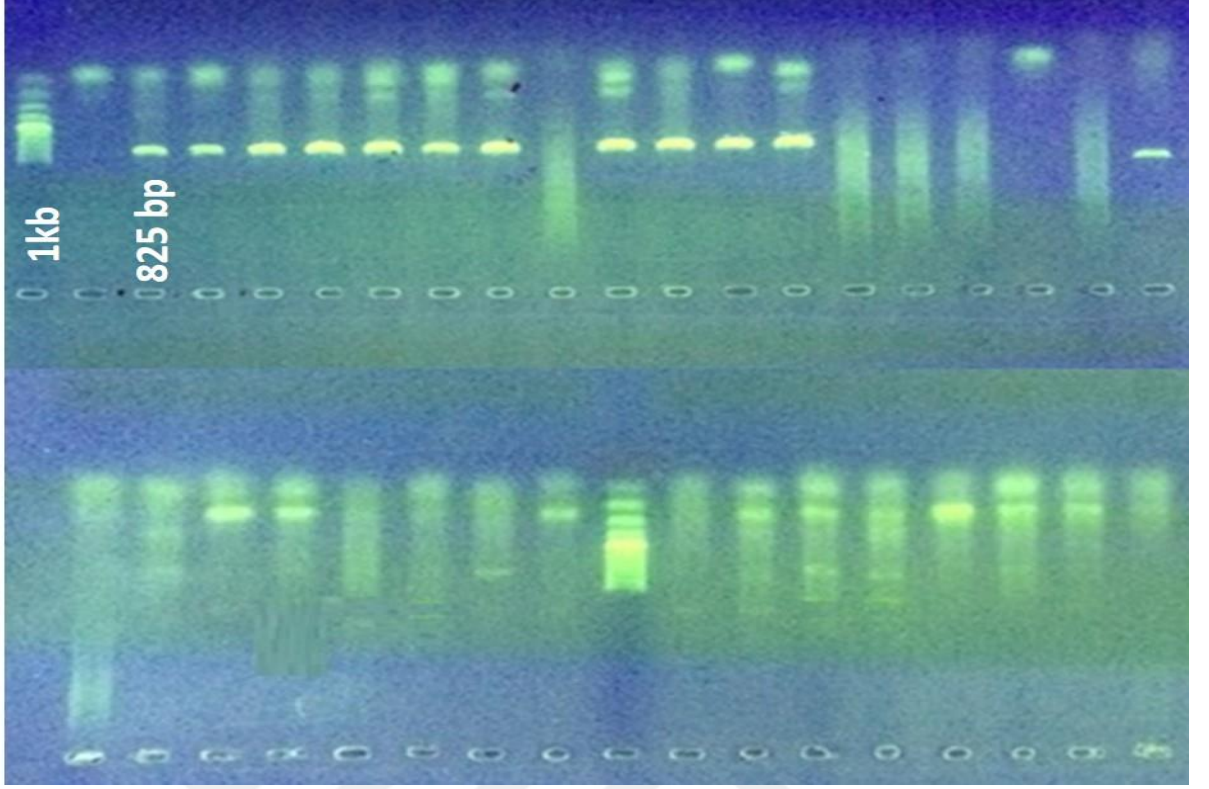
4.1. Domates Lekeli Solgunluk İzolatlarının Yaygınlık Durumu

Survey alanında biber yapraklarında Domates Lekeli Solgunluk etmeninin karakteristik belirtileri olan semptomlara rastlanmıştır. Halkalı lekeler şeklinde kendini gösteren etmenin görüldüğü, halka boyut ve şekillerinin değiştiği gözlenmiştir. Bazı bitkilerde çok küçük halkaların bir araya gelmesi yaprağın tamamen sarı bir hal aldığı nekrotik alanların oluştuğu belirtilere de rastlanmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Survey Alanından Toplanan Örneklerde Meydana Getirdiği Semptomlar

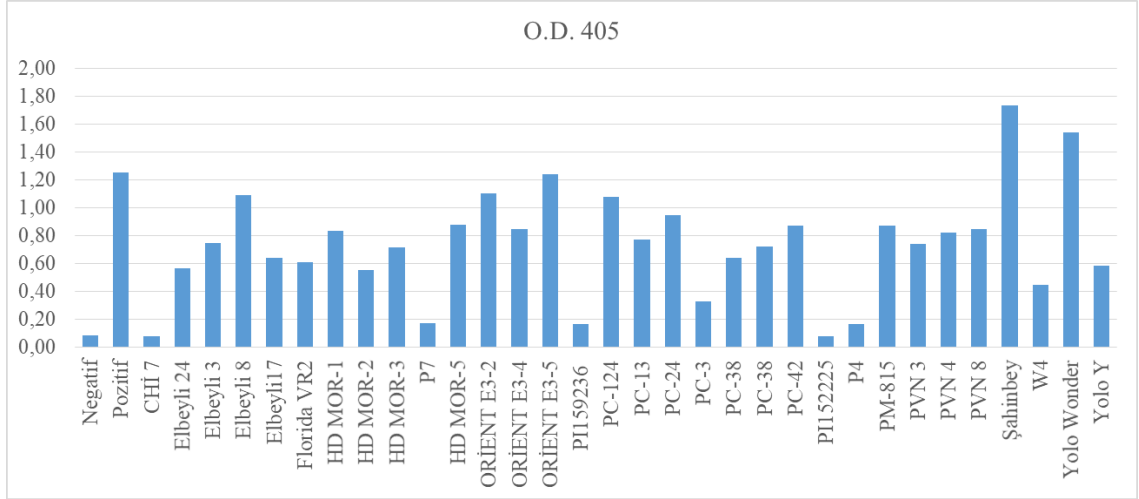
Kilis İli'nde toplanan 32 örneğin 12'sinde (%37,5) Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'ne rastlanmıştır. Örneklerin nükleik asit izolasyonu yapılmış ve TSWV'nin Nsm bölgesine özel primerlerle gerçekleştirilen RT-PCR ile elektroforetik olarak belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Survey Alanından Toplanan Örneklerde PCR ile Belirlenmesi :Markör 1kb (Ayrım100 bp, orta bant 500 bp) PCR Ürünü (Nsm bölgesi) 825 bp

4.2. Biber Genotiplerinin Etmene Dayanıklılıklarının belirlenmesi

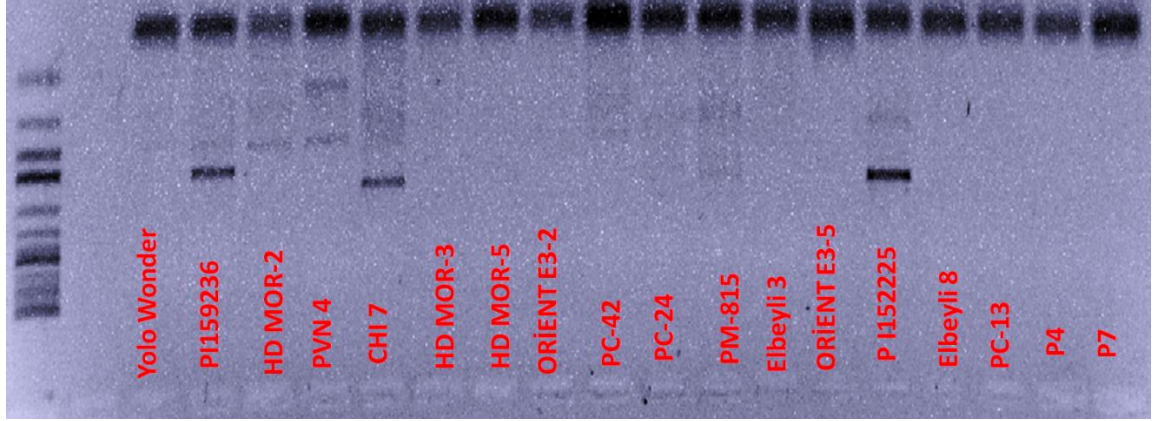
TSWV 7 ile mekanik inokulasyon ve ELISA testleri sonunda biber genotiplerinden beşinde etmen çoğalmamış ve negatif sonuç vermiştir. Kilis İli'nden selekte edilen Ebeyli genotipleri, CM334 ve Yolo Wonder'dan geliştirilen HD-MOR hatları, *P. capsici*'ye dayanıklı çeşitler geliştirmek amacı ile oluşturulan Orient, PVN ve PC hatları etmene dayanıklılık sergilememişlerdir. Tsw genine sahip PI152225, Chi 7 ile PI159236 seçilen izolata dayanıklılık göstermiştir. Bunlara ek olarak bu gene rastlanmayan P4 ve P7 genotiplerinde de negatife yakın ELISA değerleri elde edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Biber Genotiplerinin TSWV 7 ile Mekanik İnokulasyonu Sonrası 15. Günde Göstermiş Oldukları ELISA OD (405 nm) Değerleri

Yapılan çalışmada TSWV'nin bitkide varlığı belirlenmiş ancak sistemik olarak yayılışı araştırılmamıştır. Virüsün bulaştırılan yapraklarda bulunması bununla birlikte apikal yapraklarda bulunmaması virüsün yayılışının bitki tarafından engellendiğinin bir göstergesidir. Virüsün ksilem veya floemde yayılışının engellendiği durumlarda bitki etmene kısmen dayanıklıdır. Etmenin bitkinin tümüne yayıldığı durumlarda dayanıklılıktan söz edilemez. Bu nedenle sonraki çalışmalarda düşük O.D. değeri gösteren genotiplerde etmenin sistemik olarak yayılışı araştırılabilir. Palloix ve ark. (1989) inoküle ettikleri bitkilerin uç kısımlarını keserek yan dallar üzerinde enfeksiyon oluşumunu araştırmış sistemik olarak dayanıklılığı belirlemeye çalışmıştır.

ELISA testi sonuçlarına göre seçilen 18 genotip SCAC568 primeri ile taranmış 4 genotipte beklenen 568 baz çiftine yakın büyüklükte banda rastlanmıştır. Chi 7, PI 152225 ve PI159236 bant gösteren genotipler iken Elbeyli 3, Elbeyli 8, HD MOR-2, HD MOR-3, HD MOR-5, ORIENT E3-2, ORIENT E3-5, P4, PC-13, PC-24, PC-42, PI152225, P7, PM-815, PVN 3, PVN 4, PVN 8, W4 ve Yolo Wonder genotiplerinde band görülmemiştir (Şekil 8).



Şekil 8. SCAC568 Primeri ile Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Çoğaltılan PCR Ürünlerinin Bant Görüntüsü

PI152225, PI159236 ve CNPH 275 biber genotiplerinde bulunan ve etmene monogenik dominant bir dayanıklılık sağlayan *Tsw* geni üç genotipte de aynı lokus üzerinde yer almaktadır (Boiteux, 1995). Biberde etmene dayanıklılığı sağlayan tek dominant gen dir (Black ve ark., 1991). Moury ve ark., (2000) tarafından yayınladığı günden bu yana bir çok ticari biber çeşidine aktarılmıştır. Literatürde bildirildiği üzere yapılan çalışmada kullanılan PI152225 ve PI159236 genotipinde genin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenmiştir. P4 ve P7 genotiplerinde bant görülmemesine rağmen inoklasyonu takip eden 15. günde yapılan ELISA testinde negatife yakın absorbans değerleri görülmüştür.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato spotted wilt virüs=TSWV) biber ve domatesin de içerisinde yer aldığı kültürü yapılan 1000'den fazla bitkide enfeksiyon yapmaktadır. Akdeniz havzasında en yaygın virüsler arasında yer almaktadır. Franklieniella ve Thrips cinslerinde yer alan yaklaşık 10 böcek türüyle taşınmaktadır. TSWV'un 20. yy başlarında ilk kez rapor edilmesinin ardından 1980'li yıllardan sonra Kuzey Amerika'da, 1987 yılında Batı Avrupa'da ve 1993 yılında Avustralya'da ve daha birçok yerde hızla yayılmaya başlamıştır. Türkiye'de de oldukça yaygın olan virüsün Antalya, Hatay ve Samsun illerinde varlığı rapor edilmiştir. Virüsün Türkiye'de ve dünyada hızla yayılmasında vektörü Franklieniella occidentalis etkili olmaktadır.

Çalışmada Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün Kilis İli'nde yaygın olarak görüldüğü belirlenmiştir.

Survey alanında Domates Lekeli Solgunluk etmenine özel belirtilere yaprak ve meyvelerde rastlanmıştır. Bitkinin genç döneminde halkalar şeklinde kendine gösteren tütün bitkisine yapılan mekanik inokulasyonlar sonrasında, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü'nün leke şeklindeki belirtileri ileriki dönemlerde nekrotik lezyonlara dönüştüğü görülmüştür.

Yerel genotipler ve kök boğazı yanıklığı hastalığına çeşit geliştirmek üzere farklı dayanıklılık kaynaklarından oluşturulan popülasyonlarda serolojik ve moleküler testlerde elde edilen sonuçlara göre dayanıklılığa rastlanılmamıştır. Bununla birlikte dayanıklılık kaynaklarında *Tsw* geninin varlığı doğrulanmış, *Tsw* geni bulunmayan P4 ve P7 genotiplerinde inokulasyonu takip eden 15. günde negatif ELISA değerleri alınmıştır. Dayanıklı olabilecek bu genotiplerde etmenin sistemik ilerleyişine yönelik çalışmalarla birlikte kantitatif ELISA yöntemi ile dayanıklılığın doğrulanması gerekmektedir.

Birçok stres faktörü kültür bitkileri yetiştiriciliğinde kalite ve verim kaybına neden olmaktadır. Viral etmenlerin neden olduğu kayıpların yıldan yıla değişmesi ve bu kayıplara karşı koruyucu mücadele dışında seçenek bulunmaması bitkilerdeki viral

etmenlere karşı dayanıklı çeşit kullanımını ve dayanıklılık ıslahınının önemini bir kez daha öne çıkarmaktadır. Virüsler ile mücadelede dayanıklı çeşit kullanımının yanısıra vektörlerle kimyasal, biyolojik ya da entegre mücadele yöntemlerinin kullanılması etmenin zararına en aza indirmek bakımından önemlidir.



6. KAYNAKLAR

- Adkins, S., 2000. Tomato spotted wilt virus-positive steps towards negative success. *Molecular Plant Pathology*, 1(3),151-157.
- Akıncı, S., Akıncı, İ.E, 1999. Kahramanmaraş Kırmızı Biber Yetiştiriciliğinin Sorunları. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Karşısında Kahramanmaraş Biberinin Sorunları ve Çözüm Önerileri Paneli, 6 Mart 1999, Kahramanmaraş.
- Almasi, A, Gabor C, Zsofia C, Katalin N, Laszlo, Katalin, and Istvan T. 2015. Phylogenetic Analysis of Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) NSs Protein Demonstrates the Isolated Emergence of Resistance Breaking Strains in Pepper. *Virus Genes* 50, no. 1: 71–78.
- Arlı Sokmen, M., and Sevik, M., 2006. Viruses infecting field- grown tomatoes in Samsun, Turkey. 2006. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 9(4): 283- 288.
- Azeri, T., 1981. Preliminary Report of Tomato Spotted Wilt Virus and its Epidemy on Tobacco in the Çanakkale Region of Turkey. *J Turkish Phytopathology*, 10(2-3): 79- 87.
- Azeri, T., 1994. Detection of Tomato Spotted Wilt Virus in Tabacco and Tomato Cultivars by Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *J. Turkish Phytopathology*, 23(1): 37- 46.
- Bent, A. F., Kunkel, B. N., Dahlbeck, D., Brown, K. L., Schmidt, R., Giraudat, J., ... & Staskawicz, B. J,1994. RPS2 of *Arabidopsis thaliana*: a leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. *Science*, 265(5180), 1856-1860.
- Black, L. L., Hobbs, H. A., & Gatti Jr, J. M. 1991. Tomato spotted wilt virus resistance in *Capsicum chinense* PI 152225 and 159236. *Plant Disease*, 75(8).
- Boiteux, L. S, 1995. Allelic relationships between genes for resistance to tomato spotted wilt tospovirus in *Capsicum chinense*. *Theoretical and Applied Genetics*, 90(1), 146-149.

- Boiteux, L. S., & De Avila, A. C, 1994. Inheritance of a resistance specific to tomato spotted wilt tospovirus in *Capsicum chinense* 'PI 159236'. *Euphytica*,75(1-2), 139-142.
- Boiteux, L. S., Nagata, T., Dutra, W. P., & Fonseca, M. E. N, 1993. Sources of resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) in cultivated and wild species of *Capsicum*. *Euphytica*, 67(1-2), 89-94.
- Bozdoğan, V, 2009. Antalya İlinde Domates, Biber Ve Marul Yetiştirilen Alanlarda Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, Tswv)' Nün Saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. 65s.
- Brun H, Chevre AM, Fitt BD, Powers S, Besnard AL, Ermel M et al, 2010. Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytol* 185: 285-299.
- Cho, J. J., Mau, R. F. L., Gonsalves, D., & Mitchell, W. C, 1986. Reservoir weed hosts of tomato spotted wilt virus. *Plant Disease*, 70(11), 1014-1017.
- Culbreath, A.K., Csinos, A.S., Bertrant, P.F.And Demski, J.W., 1991. Tomato Spotted Wilt Virüs. Epidemic in Flue- Cured Tobacco in Georgia. *Plant Disease*, 75: 483- 485.
- Değirmenci, K. ve Uzunoğulları, N, 2007. Marmara Bölgesinde domates yetiştiricilik alanlarında sorun olan virüslerin belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*,47 (1-4): 72-77
- Deligoz, I., Sokmen, M. A., & Sari, S, (2014). First report of resistance breaking strain of tomato spotted wilt virus (Tospovirus; Bunyaviridae) on resistant sweet pepper cultivars in Turkey. *New Dis Rep*, 30, 26.
- Dombrovsky, A., Glanz, E., Pearlsman, M., Lachman, O., Antignus, Y., 2010. Characterization of Pepper Yellow Leaf Curl Virus, a Tentative New Polorovirus Species Causing a Yellowing Disease of Pepper. *Phytoparasitica* (2010) 38:477- 486.
- EFSA PLH Panel (EFSA Panel on Plant Health), 2012. Scientific Opinion on the risk to plant health posed by Tomato spotted wilt virus to the EU territory with identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*
- FAO, 2015. FAO Statistical Database, www.fao.org. Com

- German, T. L., Ullman, D. E., & Moyer, J. W., 1992. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships. *Annual review of phytopathology*, 30(1), 315-348.
- Gonsalves, D., & Trujillo, E. E., 1986. Tomato spotted wilt virus in papaya and detection of the virus by ELISA. *Plant Disease*, 70(6), 501-506.
- Greenough, D. R., Black, L. L., & Bond, W. P., 1990 Aluminum-surfaced mulch: an approach to control of Tomato spotted wilt virus in solanaceous crops. *Plant disease*, 74(10), 805-808.
- Güldür, M.E., 1995. Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) Alanına Giren Şanlıurfa, Diyarbakır ve Mardin İllerinde Yetiştirilen Domateslerde Zararlı Virüsler. 58 Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilimdalı. Doktora Tezi ADANA. 120 s.
- Hobbs, H. A., Black, L. L., Johnson, R. R., & Valverde, R. A. 1994. Differences in reactions among tomato spotted wilt virus isolates to three resistant *Capsicum chinense* lines. *Plant Disease*, 78(12), 1220-1220.
- Hoffmann, K., Qiu, W. P., & Moyer, J. W., 2001. Overcoming host-and pathogen-mediated resistance in tomato and tobacco maps to the M RNA of Tomato spotted wilt virus. *Molecular plant-microbe interactions*, 14(2), 242-249.
- Hossard, L., Lannou, C., Papaix, J., Monod, H., Lô-Pelzer, E., Souchère, V., Jeuffroy, M.-H., 2010. Quel déploiement spatio-temporel des variétés et des itinéraires techniques pour accroître la durabilité des résistances variétales?. Presented at Carrefour de l'Innovation Agronomique "Démarches outils et innovations pour utiliser moins de pesticides en grande culture", Versailles, FRA (2010-05-06).
- Jahn, M., Paran, I., Hoffmann, K., Radwanski, E. R., Livingstone, K. D., Grube, R. C., ... & Moyer, J., 2000. Genetic mapping of the Tsw locus for resistance to the Tospovirus Tomato spotted wilt virus in *Capsicum* spp. and its relationship to the Sw-5 gene for resistance to the same pathogen in tomato. *Molecular plant-microbe interactions*, 13(6), 673-682.
- Johnson, R., 1981. Durable resistance: definition of, genetic control and attainment in plant breeding. *Phytopathology* 71:567-568.

- Jorda C, Viser P, Diez M J, Roselló S, Nuez F, 1994. Biological and serological characterization of TSWV isolates. *Capsicum Newsletter* 13:83-85.
- Kang, B. C., Yeam, I., Frantz, J. D., Murphy, J. F., & Jahn, M. M. 2005. The *pvr1* locus in *Capsicum* encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with Tobacco etch virus VPg. *The Plant Journal*, 42(3), 392-405.
- Kim, J. W., Sun, S. S. M., & German, T. L., 1994. Disease resistance in tobacco and tomato plants transformed with the tomato spotted wilt virus nucleocapsid gene. *Plant Disease*, 78(6), 615-621.
- Knierim, D., Deng, T. C., Tsai, W. S., Green, S. K., Kenyon, L., 2010. Molecular Identification of Three Distinct Polerovirus Species and a Recombinant Cucurbit Aphid-Borne Yellow Virus Strain Infecting Cucurbit Crops in Taiwan. *Plant Pathology*. 59: 991-1002.
- Krishna Kumar, N. K., Ullman, D. E., & Cho, J. J., 1993. Evaluation of *Lycopersicon* germ plasm for tomato spotted wilt tospovirus resistance by mechanical and thrips transmission. *Plant disease*, 77(9), 938-941.
- Küçük, B., 2006. Adana ve Mersin illerinde domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato Spotted Wilt Virus, TSWV)' nin değişik yöntemlerle saptanması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilimdalı Yüksek Lisans Tezi ADANA. 72 s.
- Legnani, R., Selassie, K. G., Womdim, R. N., Gognalons, P., Moretti, A., Laterrot, H., & Marchoux, G, 1995 Evaluation and inheritance of the *Lycopersicon hirsutum* resistance against potato virus Y. *Euphytica*, 86(3), 219-226.
- Lellis, A. D., Kasschau, K. D., Whitham, S. A., & Carrington, J. C, 2002. Loss-of-susceptibility mutants of *Arabidopsis thaliana* reveal an essential role for eIF (iso) 4E during potyvirus infection. *Current Biology*, 12(12), 1046-1051.
- Lian S, Lee J-S, Cho WK, Yu J, Kim M-K, Choi H-S, et al, (2013) Phylogenetic and Recombination Analysis of Tomato Spotted Wilt Virus. *PLoS ONE* 8(5): e63380. doi:10.1371/journal.pone.0063380
- Marchoux, G., gebre-selassie, K., & Villevieille, M. 1991. Detection of tomato spotted wilt virus and transmission by *Frankliniella occidentalis* in France. *Plant Pathology*, 40(3), 347-351.

- Margaria P, Ciuffo M, Pacifico D, Turina M, 2007. Evidence that the non-structural protein of Tomato spotted wilt virus is the avirulence determinant in the interaction with resistant pepper carrying the Tsw gene. *Mol. Plant Microbe Interact.* 20:547–558. 10.1094/MPMI-20-5-0547.
- Matsuura, S., Hoshino, S., Hayashi, H., Kohguchi, T., Hagiwara, K., & Omura, T, 2002. Effects of latent infection of stock plants and abundance of thrips on the occurrence of Tomato spotted wilt virus in chrysanthemum fields. *Journal of general plant pathology*, 68(1), 99-102.
- Mavric, I., and Ravnikar, M., 2001. First Report of Tomato spotted wilt virus and Impatiens necrotic spot virus in Slovenia. *Plant Disease* 85 (12): 1288.
- Meyers, B. C., Dickerman, A. W., Michelmore, R. W., Sivaramakrishnan, S., Sobral, B. W., & Young, N. D, 1999. Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. *The Plant Journal*, 20(3), 317-332.
- Milligan, S. B., Bodeau, J., Yaghoobi, J., Kaloshian, I., Zabel, P., & Williamson, V. M, 1998. The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. *The Plant Cell Online*, 10(8), 1307-1319.
- Mohammed, N.A., Randles, J.W. and Francki, R.I.B. 1973. Protein composition of tomato spotted wilt virus. *Virology*, 56, 12-21.
- Montarry J., Cartier E., Jacquemond M., Palloix A. and Moury B. 2012 Virus adaptation to quantitative plant resistance: erosion or breakdown? *Journal of Evolutionary Biology* 25: 2242-2252.
- Moury B,1997. Evaluation de sources de resistance au tomato spotted wilt tospovirus chez le piment. Creation d'outils d'aide à la selection. Thèse de l'ENSAR, Université de Rennes II. 176 pages
- Moury, B., Pflieger, S., Blattes, A., Lefebvre, V., & Palloix, A, 2000. A CAPS marker to assist selection of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in pepper. *Genome*, 43(1), 137-142.
- Moury, B., Fabre, F., Montarry, J., Janzac, B., Ayme, V., Palloix., A(2010). L'adaptation des virus de plantes aux résistances variétales, *Virologie*. 14(4):227-239. doi:10.1684/vir.2010.0311

- Moury, B., Palloix A., Gebre Selassie K., Marchoux G. 1998 L'émergence des tospovirus. *Virologie*;2(5):357-67.
- Moury, B., Morel, C., Johansen, E., Guilbaud, L., Souche, S., Ayme, V., Caranta, C., Palloix, A., Jacquemond, M., 2004. Mutations in Potato Virus Y Genome-Linked Protein Determine Virulence Towards Recessive Resistance in *Capsicum annuum* and *Lycopersicon hirsutum*. *Mol.Plant Microbe Interact* 17, 322-329.
- Moury, B., Palloix, A., Gebre Selassie, K., Marchoux, G., 1997. Hypersensitive resistance to tomato spotted wilt virus in three *Capsicum chinense* accessions is controlled by a single gene and is overcome by virulent strains. *Euphytica*, 94 : 45-52.
- Mumford, R.A., Barker, I., Wood, K.R., 1996. The Biology of Tospoviruses. *Ann.Appl. Biology*, 128, 159-183.
- Mun, H.Y., Park, M.R., Lee, H.B., and Kim, K.H., 2008. Outbreak of Cucumber mosaic virus and Tomato spotted wilt virus on Bell pepper Grown in Jeonnam Province in Korea. *Plant Pathol. J.* 24 (1): 93- 96.
- Murphy, F.A., Fauquet, G.M., Bishop, D.H.L., Ghabrial, S.A., Jarvis, A.W., Martelli, G.P., Mayo, M.A., Summers, M.D., 1995. Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses, Sixth Report of the International Committee of Taxonomy of viruses. *Archives of virology*, Supplement 10. New York: Springer-Verlag, Wien. 586.
- Nuez, F., Diez, M. J., Roselló, S., Lacasa, A., Jordá, C., Martin, M., & Costa, J. 1994. Genetic resistance to TSWV (tomato spotted wilt virus) in *Capsicum* spp. *Capsicum Eggplant Newsl*, 13, 86-87.
- Palloix A. Ayme, V, Moury B, (2009). Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytol* 183: 190-199.
- Palloix, A. and Ordon, F, 2011. Advanced Breeding for Resistance in Plants. *Recent Advances in Plant Virology*, 195.
- Palloix, A., Nono-Womdim, R., Gebre Selassie, K., Marchoux, G., Pochard, E, 1989. . Migration of Cucumber Mosaic Virus in susceptible and resistant plants of pepper. In: *Genetics and breeding on*

- Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Vovlas, C., & Marchoux, G, 2003. An update of the host range of Tomato spotted wilt virus. *Journal of Plant Pathology*, 227-264.
- Qiu, W. P., Geske, S. M., Hickey, C. M., & Moyer, J. W, 1998. Tomato Spotted Wilt Tospovirus Genome Reassortment and Genome Segment-Specific Adaptation. *Virology*, 244(1), 186-194.
- Roggero, P., Lisa, V., Nervo, G., & Pennazio, S. 1996. Continuous high temperature can break the hypersensitivity of *Capsicum chinense* 'PI 152225' to tomato spotted wilt tospovirus (TSWV). *Phytopathologia Mediterranea*, 117-120.
- Roggero, P., Masenga, V., & Tavella, L, 2002. Field isolates of Tomato spotted wilt virus overcoming resistance in pepper and their spread to other hosts in Italy. *Plant Disease*, 86(9), 950-954.
- Roselló, S., Díez, M. J., & Nuez, F, 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The Tomato spotted wilt virus—a review. *Scientia Horticulturae*, 67(3), 117-150.
- Ruffel, S., Dussault, M. H., Palloix, A., Moury, B., Bendahmane, A., Robaglia, C., & Caranta, C, (2002). A natural recessive resistance gene against potato virus Y in pepper corresponds to the eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E). *The Plant Journal*, 32(6), 1067-1075.
- Sevik, M. Andsökmén, M.A. 2012. "Estimation of the effect of Tomato spotted wilt virus (TSWV) infection on some yield components of tomato." *Phytoparasitica* 40.1 (2012): 87-93.
- Sharman, M., & Persley, D. M, 2006. Field isolates of Tomato spotted wilt virus overcoming resistance in capsicum in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 35(2), 123-128.
- Sherwood, J.L., German, T.L., Moyer, J.W. and D.E. Ullman, 2003. Tomato spotted wilt. *The Plant Health Instructor*. DOI:10.1094/PHI-I-2003-0613-02.
- Stevens, M. R., Scott, S. J., and Gergerich, R. C, 1991. Inheritance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, 59(1), 9-17.

- Stevens, M. R., Scott, S.J., Gergerich., R.C., 1992. Inferitance of a gene for resistance to tomato spotted wilt virus from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, 59, 9-17.
- Şevik, M. A, 2015. Sebze Üretimini Tehdit Eden Viral Hastalık Etmeni: Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus – TSWV). *Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.* 5(2): 17-23.
- Şimşek, D, 2015. Moleküler İslah Yöntemleri Kullanılarak Tospovirus ve Tobamoviruslere Dayanıklı Çarlı Biber (*Capsicum Annum* L.) Hat ve Çeşitlerinin Geliştirilmesi. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi.* 1(1):1-5.
- Tentchev, D., Verdin, E., Marchal, C., Jacquet, M., Aguilar, J. M., & Moury, B, 2011. Evolution and structure of Tomato spotted wilt virus populations: evidence of extensive reassortment and insights into emergence processes. *Journal of general Virology*, 92(4), 961-973.
- Tomlinson, J. A, (1987). Epidemiology and control of virus diseases of vegetables. *Annals of Applied Biology*, 110(3), 661-681.
- Tsompana, M., Abad, J., Purugganan, M., & Moyer, J. W, 2005. The molecular population genetics of the Tomato spotted wilt virus (TSWV) genome. *Molecular Ecology*, 14(1), 53-66.
- TUİK, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu, <http://www.tuik.gov.tr>.
- Turhan, P., ve Korkmaz, S., 2006. Çanakkale İlinde Domates Lekeli Solgunluk Vürüsünün Serolojik ve Biyolojik Yöntemlerle Saptanması. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi* 12(2) 130- 136.
- Whitham, S., Dinesh-Kumar, S. P., Choi, D., Hehl, R., Corr, C., & Baker, B, 1994. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell*, 78(6), 1101-1115.
- Yıldırım, H, 2010. Samsun İlinde Farklı Kültür Bitkilerinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (Tswv)'Nün Bulaşıklık Durumunun Belirlenmesi Ve Bazı Ticari Domates Çeşitlerinde Dayanıklılığı Kıran Tswv Varyantlarının Araştırılması. *Ondokuz mayıs üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, yüksek lisans tezi*, 86s.

7. ÖZGEÇMİŞ

Malatya İli Merkez İlçesinde 1988 yılında doğan Kadir ÇELİK ilk, orta ve lise öğrenimini aynı ilde tamamladı. İnönü Üniversitesi Battalgazi Meslek Yükseokulu Bahçe Ziraati Bölümü'nden mezun oldu. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nden 2016 yılında mezun oldu. Halen Kilis 7 Aralık Üniversitesi'nde park bahçe biriminde Ziraat Mühendisi olarak görev yapmakta.

