

85317

HATAY YÖRESİNDE YETİŞEN ZEYTİN AĞAÇLARINDA GÖRÜLEN BAZI
VİRÜS HASTALIKLARININ SEROLOJİK ve BİYOLOJİK YÖNTEMLERLE
SAPTANMASI

Gülcan TARLA

M. K. Ü.
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTAKYA
EYLÜL - 1998

85312

Bu alışma M. K. Ő. Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir

M. K. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma jürümüz tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Kadriye ÇAĞLAYAN



Üye : Doç. Dr. Mehmet GÜLDÜR

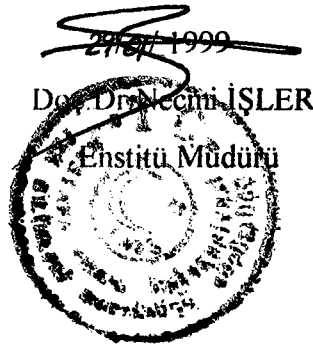


Üye : Yrd. Doç. Dr. Şener KURT



Kod No : 23

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER	I
ÇİZELGE LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
ÖZ	V
ABSTRACT	VI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Türkiye’de Yapılan Çalışmalar.....	3
2.2. Yurtdışında Yapılan Çalışmalar.....	4
3. MATERYAL ve METOD	8
3.1. Materyal.....	8
3.2. Metot.....	9
3.2.1. Arazi Çalışmaları.....	9
3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları.....	9
3.2.2.1. Bitki Örneklerinin Hazırlanması.....	9
3.2.2.2. Belirteçlerin Hazırlanması.....	10
3.2.2.3. DAS-ELISA Testinin Uygulanışı.....	10
3.2.2.4. ELISA Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	11
3.2.2.5. Kaba Antiserumların Pürifikasyon İşlemi.....	12
3.2.2.6. Konjuguatların Hazırlanması.....	14
3.2.2.7. IgG ve Konjuguatların Konsantrasyonlarının Hazırlanması.....	15
3.2.2.8. Mekanik inokulasyon Çalışmaları.....	16

4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	17
4.1. Arazi Çalışmalarından Elde Edilen Bulgular.....	17
4.2. Laboratuvar Çalışmalarından Elde Edilen Bulgular.....	21
4.2.1. ELISA Testi Sonuçları.....	21
4.2.2. Kaba Antiserumların Pürifikasyon İşlemlerinin Sonuçları.....	28
4.2.3. Mekanik İnokulasyon Sonuçları.....	29
5. TARTIŞMA.....	33
ÖZET.....	38
SUMMARY.....	40
EK.....	41
KAYNAKLAR.....	43
TEŞEKKÜR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	48

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

- Çizelge 1.** . Bir ELISA plakası üzerinde λ -globulin ve konjuguat sulandırması..... 15
- Çizelge 2.** Hatay ilinde zeytin yetiştirilen bahçelerden alınan örneklerde saptanan virüslerin bölgelere göre ayrı ayrı dağılımları, toplam bulaşık örnek sayısı ve bunların yüzde oranları 22
- Çizelge 3** Bölgelere göre bitkilerde görülen karışık infeksiyonlar..... 23
- Çizelge 4.** Altınözü'nden toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması..... 24
- Çizelge 5.** Yayladağı'ndan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması 24
- Çizelge 6.** Kırkhan(Kurtlu-Soğuksu)'dan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması..... 24
- Çizelge 7.** Samandağı(Batıayaz)'dan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması..... 25
- Çizelge 8.** Hassa (Aktepe, Akbez, Ceylanlı, Söğüt)'dan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması..... 25
- Çizelge 9.** Merkez (Çekmece, Narlıca, Serinyol, Ekinci)'den toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması..... 25

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. SLRV ve CLRV ile enfekteli örneğin yaprak deformasyonları.....	18
Şekil 2. Virüsle bulaşık bir bitkinin yaprağında gözlenen klorotik lekelenmeler.....	18
Şekil 3. Özellikle yaşlı bahçelerde, virüsle bulaşık yaprakların iç şeklinde uzayarak daralması, kaşık şeklinde içe doğru kıvrılmalar.....	19
Şekil 4. Virüsle enfekteli zeytin yapraklarının orak şeklinde bir yada birkaç merkezden kıvrılmaları	19
Şekil 5. Meyvelerde şekil bozuklukları.....	20
Şekil 6. SLRV infekteli meyvelerin çekirdeklerinin yüzeyinde küçük çukurcuklar ve çekirdeğin uç kısmında deformasyonlar gözlenmektedir.....	20
Şekil 7. Aynı ağaçların meyve ve yaprak dokularından alınan örneklerde CLRV, SLRV ve AMV'nün enfeksiyon oranları	26
Şekil 8. Aynı ağaçların çiçek ve yaprak dokularından alınan örneklerde CLRV, SLRV ve AMV'nün enfeksiyon oranları	27
Şekil 9 ArMV ile enfekteli <i>N.tabaccum</i> test bitkilerinin yapraklarında mozaik şeklinde desenler ve hafif küçülmeler.....	31
Şekil 10. SLRV ile enfekteli <i>N.benthamicana</i> test bitkilerinin alt yapraklarında klorotik beneklenmeler.....	31
Şekil 11. CLRV ile enfekteli <i>Cucumis sativus</i> test bitkilerinde gelişme geriliği, bodurluk, yapraklarda kıvrılmalar ve küçülmeler.....	32
Şekil 12. CLRV ile enfekteli <i>Datura stramonium</i> test bitkilerinde ise gelişme geriliği ve yapraklarda kıvrılmalar.....	32

ÖZ

Hatay yöresinde 1997-1998 yıllarında yürütülen bu çalışmada zeytin ağaçlarında gözlenen virüs hastalıklarının serolojik ve biyolojik yöntemlerle tanıları yapılmış ve bunların bulaşıklık oranları belirlenmiştir.

Çilek Latent Halkalı Leke Virüsü (SLRV), Kiraz Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (CLRV), Arabis Mozaik Virüsü (ArMV), Zeytin Latent Virüs-1 (OLV-1), Zeytin Latent Virüs-2 (OLV-2) ve Zeytin Latent Halkalı Leke Virüsü (OLRSV)'nün saptanmasında poliklonal antiserumlar kullanılarak DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile şüpheli zeytin örnekleri testlenmiştir..

Bu bölgede testlenen 180 örnek % 47.7 oranında SLRV, % 46.1 oranında CLRV ve % 32.2 oranında ArMV ile enfekteli olarak saptanmıştır. Testlenen 76 adet örneğin hiçbirinde Zeytin Latent Halkalı Leke Virüs Hastalığı (OLRSV), Zeytin Latent Virüs-1 (OLV-1) ve Zeytin Latent Virüs-2 (OLV-2)'ye rastlanmamıştır.

Mekanik inokulasyon denemelerinde *N.tabaccum* ArMV ile, *N.benthamiana* SLRV ile, *Cucumis sativus* ve *Datura stramonium* test bitkileride CLRV ile infekte olabilmışlerdir.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, Virüs, ELISA

ABSTRACT

In this study which had been carried out in 1997-1998 in Hatay Province, identification of virus diseases of olive trees by using serological and biological methods were made and detected infection rates of them.

The technique of Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) using polyclonal antibodies was used for the detection of Strawberry Latent Ringspot Virus (SLRV), Cherry Leaf Roll Virus (CLRV), Arabis Mosaic Virus (ArMV), Olive Latent Virus-1 (OLV-1), Olive Latent Virus-1 (OLV-1) and Olive Latent Ring Spot Virus (OLRSV) in olive.

In this region, the 180 samples were found infected 47.7 %, 46.1 % and 32.2 % infected by SLRV, CLRV and ArMV respectively. Olive Latent Ring Spot Virus(OLRSV), Olive Latent Virus-1(OLV-1) and Olive Latent Virus-2(OLV-2) were not found in 76 tested samples.

In assays of mechanical inoculation, *N.tabaccum* and *N.benthamiana* could be infected with ArMV and SLRV, respectively. CLRV was observed also on *Cucumis sativus* ve *Datura stramonium* testing plants.

Key Words: Olive, Virus, ELISA

1.GİRİŞ

Anavatanı Anadolu olan zeytin bitkisinin dünya üzerinde esas gen merkezi Mardin, Gaziantep ve Hatay şerididir. Bu bitki daha sonra asıl gen merkezinden batıya doğru özellikle Ege bölgesi ve oradan da Ege denizindeki adalara, Yunanistan, İtalya ve İspanya'ya yayılmıştır. Zeytin bitkisi için en uygun ekolojik koşullar Akdeniz iklim kuşağındaki ülkelerde mevcuttur. Bu yüzden dünya zeytin yetiştiriciliğinin tamamına yakın kısmı (%97'si) Akdeniz havzasında yapılmaktadır (Anonim,1994).

Zeytin, yüzyıllardır yılda 300 mm'den fazla yağış alan kuru tarım yapılan alanlarda yetiştirilmektedir. Kültür zeytinleri, sofralık ve yağlık olarak kullanılan çeşitlere sahiptir. FAO'nun 1995 yılı verilerine göre dünya zeytin üretimi 9.824.000 ton dolayında gerçekleşmiştir. Asya kıtasında en büyük üretici ülke Türkiye'dir. Türkiye 1994 yılı itibarıyla 1.200.000 tonluk zeytin üretimiyle dünya üretiminin % 10.93'lük bir kısmını oluşturmaktadır. Ülkemizde 188.000 hektar alanda zeytin yetiştiriciliği yapılmakta olup 88.147.000 adet ağaç bulunmaktadır (Anonim,1994). Akdeniz bölgesinde zeytin diğer kültür bitkileri ile rekabet etmek zorunda kalması nedeniyle ikinci plana atılmış olmasına rağmen oldukça yüksek bir potansiyele sahiptir. Hatay'da hemen hemen tüm ilçelerde zeytin üretimi yapılmakta olup bazı ilçelerde zeytin tek üründür ve bölge halkının tek geçim kaynağıdır. Akdeniz bölgesinde en fazla üretimin gerçekleştiği Hatay ili, gerçekleşmekte olup, bölge üretiminin % 35.23'ünü, Türkiye üretiminin % 3.84'ünü karşılamaktadır. Dünya zeytin yağı üretimi ise 1.465.000 ton civarında olup Türkiye 50.000 ton zeytin yağı üretimi ile dünyada İtalya, Yunanistan, İspanya ve Suriye'den sonra beşinci sırada Asya kıtasında %35 ile Suriye'den sonra ikinci sırada yer almaktadır (Anonim, 1995).

Ülkemizde zeytin ağaçlarında sorun olan zararlı ve hastalıkları konusunda çok sayıda çalışma olmakla birlikte zeytinde virus hastalıkları ile ilgili şimdiye kadar kayda değer fazla çalışma yapılmamıştır. Akdeniz'de kıyısı bulunan ülkelerde zeytin ağaçları üzerinde yapılan çalışmalar sonunda Kiraz Yaprak Kıvrıcılık Virüs Hastalığı (CLRV), Arabis Mozaik Virüs

Hastalığı (ArMV), Çilek Latent Halkalı Leke Virüs Hastalığı (SLRV), Hıyar Mozaik Virüs Hastalığı (CMV), Zeytin Latent Halkalı Leke Virüs Hastalığı (OLRV), Zeytin Latent Virüs-1 (OLV-1) ve Zeytin Latent Virüs-2 (OLV-2) hastalığının bulunduğu saptanmıştır (PACINI ve CRESI, 1977; MARTE ve CADANI,1986; CASTELLANO ve ark., 1987; WATEWORTH ve MONROE, 1988). İtalya'da zeytin ağaçlarında SLRV bulunmuş ve bu hastalık etmenin meyve ve yapraklardaki spesifik hastalanmalarla ilgisi olduğu belirtilmiştir (BARBA, 1993). Yine bazı araştırmacılar İtalya, Amerika, Arjantin, İsrail ve Portekiz gibi birkaç ülkede virüse benzeyen semptomlar içeren zeytin hastalıkları kaydetmişlerdir (MARTELLI and GALLITELLI, 1985; HENRIQUES et al., 1990,1991). Zeytinde şimdiye kadar yedi virüs izole edilebilmiş ve tanımlanmıştır. Bunlar yukarıda bahsedilen Nepovirüs grubuna giren 4, Cucumovirüs grubuna giren 1 ve henüz herhangi bir gruba dahil olmayan 2 virüsdür(SAVINO ve GALLITELLI, 1981,1983; SAVINO ve ark., 1979,1984; GALLITELLI ve SAVINO, 1985; MARTELLI ve ark., 1986). Portekiz'de giderek daha da önem kazanan eski bahçeler sökülerek yerine hem bölgeye daha iyi adapte olabilen hemde yüksek kaliteye sahip ve hastalıklara karşı dayanıklı yeni çeşitler dikilmektedir.

Virüs hastalıkları zeytin üreticiliği açısından önemli bir potansiyele sahip Hatay ilinde büyük bir tehdit unsurudur. Bölgemizde mevcut zeytin bahçelerinin ve fidanlıklarının virüs hastalıkları açısından incelenmesi, hastalıkla bulaşık durumda olanların tespiti, bulaşık olanların belirlenmesi ve mevcut virüslerin tanımlamalarının yapılması bu çalışmanın temel amacıdır. Ayrıca bu çalışma ile bölgemizde tespit edilen virüslere karşı testlenmiş fidan üretimi maksadıyla Avrupa Topluluğuna üye ülkeler arasında uygulanmakta olan “Sanitasyon ve Sertifikasyon” programı yerleştirilerek gerek bölgemizin gerekse ülkemizin ihtiyacı olan fidanların hastalıktan ari olarak üretilmesi ve varlığı belirlenen virüs hastalıklarının bulaşık olmayan alanlara yayılmasının engellenmesi konusundaki diğer çalışmalara temel oluşturabilecektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zeytin ağaçlarında zarar verdiği bilinen ve mekanik olarak taşınabilen yedi virüs tanımlanmıştır. Bunlar Nepovirüs grubundan Hıyar Mozaik Virüsü (Cucumber Mosaic Virus), Arabis Mosaic Virüsü (Arabis Mosaic Virus), Kiraz Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (Cherry Leaf Roll Virus) ve Çilek Latent Halkalı Leke Virüsü (Strawberry Latent Ringspot Virus) ile henüz sınıflandırılmamış Zeytin Latent Virüs-1 (Olive Latent Virus-1) ve Zeytin Latent Virüs-2 (Olive Latent Virus-2)'dir. Son iki virüsün fiziksel özellikleri bakımından muhtemelen ilki Sobemovirüs diğeri ise Bromovirüs grubuna dahil olabileceği bildirilmiştir(MARTELLI et. all.,1994). Bu virüsler ile ilgili ülkemizde sadece Bornova-İZMİR'de bir çalışma yapılmış olmakla beraber yurt dışında yapılmış olan pek çok çalışma bulunmaktadır.

2.1. Ülkemizde yapılan çalışmalar

Zeytin virüs hastalıkları ile ilgili yurdumuzda önceden yapılmış tek çalışmada Balıkesir, Çanakkale, İzmir (1995) ve Manisa (1995) illerindeki Zeytin ağaçlarında Strawberry Latent Ringspot Virus (SLRV), Cherry Latent Ringspot Virus (CLRV), Cucumber Mosaic Virus (CMV) ve Arabis Mosaic Virus (ArMV) hastalığına rastlanmıştır (FİDAN ve ark., 1995).

Yılmaz ve ark.,(1993) zeytinde bulunan virüslerin bazılarının grupları ve diğerkültür bitkilerindeki vektörlerini belirtmiştir. Buna göre CLRV ve SLRV'nin diğerkültür bitkilerinde vektörünün *X.diversicaudatum* olduğunu, CMV nin ise *Myzus persica*, *M.pseudosolani*, *M.circumflexus*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis gossypii*, *Phorodon humuli* ve *P.cannabis* olduğunu bildirmiştir.

2.2. Yurtdışında yapılan çalışmalar

Dış ülkelerde zeytin ağaçlarında zarar yapan virüsler hakkında pek çok çalışma yapılmış ve bu virüslerin morfolojik yapıları, simptomları, zarar dereceleri, bölgelere göre yayılışları, farklı zeytin çeşitlerinin duyarlılık dereceleri, virüs-vektör ilişkileri araştırılarak serolojik ve indeksleme yöntemleriyle tanımlanmaları yapılmıştır.

NICOLINI ve TRAVERSI (1950), Arjantin’de viral özelliklere sahip bazı zeytin hastalıklarının olduğunu bildirmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

CIFERRI ve ark.(1953), Zeytin orak yapraklılık hastalığının Amerika’da da görüldüğünü ve ilk kez 1953 yılında İtalya’da “fogli falciformi” olarak tanımlandığını bildirmişlerdir

THOMAS (1958), Amerika’da viral özelliklere sahip bazı zeytin hastalıkları görüldüğünü (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992) ve zeytinde orak yaprak hastalığının Kalifornia’da 1944’den beri gözlemlendiğini bildirmiştir (KYRIAKOPOULOU, 1993).

WATERWORTH ve MONROE (1975), Maryland’da yapraklarda orak şeklinde kıvrılmalara neden olan bu hastalığın İsrail’den bölgeye hastalıklı çeliklerin ithali ile taşındığını bildirmiştir (KYRIAKOPOULOU, 1993).

WATERWORTH ve MONROE (1975), İsrail’de viral özelliklere sahip bazı zeytin hastalıkları rapor etmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

PACINI ve CRESI (1977); MARTE ve CADANI (1986); CASTELLANO ve ark., (1987); WATERWORTH ve MONROE (1988). Akdeniz’de kıyısı bulunan ülkelerde yaptıkları çalışmaları sonucunda zeytin ağaçları üzerinde Kiraz Yaprak Kıvrıcılık Virüs Hastalığı (CLRV), Arabis Mozaik Virüs Hastalığı (ArMV), Çilek Latent Halkalı Leke Virüs Hastalığı

(SLRV), Hıyar Mozaik Virüs Hastalığı (CMV), Zeytin Latent Halkalı Leke Virüs Hastalığı (OLRV), Zeytin Latent Virüs-1 (OLV-1) ve Zeytin Latent Virüs-2 (OLV-2) hastalığının bulunduğunu saptamışlardır (FİDAN ve ark., 1995).

SAVINO ve ark. (1979), İtalya'da zeytin ağaçlarından izole ettikleri virüslerin tanımlanması konusunda yürüttükleri bir çalışmada Arabis Mozaik virüsü ve Çilek Latent Halkalı Leke virüsünü teşhis etmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

KYRIAKOPOULOU (1980-1990, 1987), Yunanistan'da ilk olarak Atina'da daha sonra Peloponnisos ve Makedonia bölgelerinde zeytin orak yaprak semptomlarının gözlemlendiğini bildirmiştir.

SAVINO ve GALLITELLI (1981), İtalya'da zeytin ağaçlarından izole ettikleri virüslerin tanımlanması konusunda yürüttükleri bir çalışmada Kiraz yaprak Kıvrıcıklık virüsünü teşhis etmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

MARTELLI (1981); BARBA (1993), Zeytin bitkisine aşı ile taşınabildiği ispatlanan ve bu yüzden virüs yada virüs benzeri bir organizma olarak tahmin edilen bitkide sararmalara neden olan iki etmenden birisinin zeytin orak yaprak hastalığı olduğunu belirtmişlerdir (KYRIAKOPOULOU, 1993).

SAVINO ve GALLITELLI (1981,1983); SAVINO ve ark., (1979,1984); GALLITELLI ve SAVINO, (1985); MARTELLI ve ark.(1986), Zeytinde Nepovirüs grubuna giren 4, Cucumovirüs grubuna giren 1 ve henüz herhangi bir gruba dahil olmayan 2 virüs olmak üzere şimdiye kadar yedi virüs izole edebilmiş ve tanımlamıştır.

SAVINO ve ark. (1983), İtalya'da zeytin ağaçlarından izole ettikleri virüslerin tanımlanması konusunda yürüttükleri bir çalışmada Zeytin Latent Halkalı Leke virüsünü

teşhis etmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

SAVINO ve GALLITELLI (1983), İtalya'da zeytin ağaçlarından izole ettikleri virüslerin tanımlanması konusunda yürüttükleri bir çalışmada Hıyar Mozaik virüsünü teşhis etmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

SAVINO ve ark. (1984), İtalya'da zeytin ağaçlarından izole ettikleri virüslerin tanımlanması konusunda yürüttükleri bir çalışmada Zeytin Latent Virüs-2'yi teşhis etmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

MARTELLI ve GALLITELLI (1985); 1976 yılında bazı zeytin çeşitlerinin polenlerinde şans eseri olarak izometrik yapılı virüs benzeri partiküller gözlemlemiş ve daha sonra zeytin ağaçlarından yedi farklı virüs izole etmişlerdir. (BARBA,1993).

MARTELLI ve GALLITELLI (1985); HENRIQUES ve ark., (1990,1991), İtalya, Amerika, Arjantin, İsrail ve Portekiz gibi birkaç ülkede virüse benzeyen semptomlar içeren zeytin hastalıkları kaydetmişlerdir

GALLITELLI ve SAVINO (1985), İtalya'da zeytin ağaçlarından izole ettikleri virüslerin tanımlanması konusunda yürüttükleri bir çalışmada Zeytin Latent Virüs-1'i teşhis etmişlerdir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

MARTE (1986), İtalya'nın merkezinde yetiştirilen zeytinlerde şiddetli semptomlara neden olan bir SLRV izolatının semptom göstermeyen ağaçlardan elde edilen virüs izolatına benzediğini bildirmiştir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

FIALHO (1990), Portekiz'in kuzeyinde yetiştirilen "Negrinha" çeşidi zeytinlerde SLRV'nin şiddetli meyve simptomlarına neden olduğunu bildirmiştir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRAO ve M.F. POTES, 1992).

HENRIQUES ve ark. (1990), Portekiz'in güneyinde yetiştirilen zeytinlerde SLRV'nin ve nadiren CLRV ve OLRV'nin tespit edildiğini bildirmiştir (M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES, 1992).

M.I.C. HENRIQUEZ, F.T. REI, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO ve M.F. POTES (1992), Yaptığı bazı denemeler sonucunda şiddetli yaprak ve meyve simptomları gösteren ağaçlardan alınan çeliklerin aynı çeşitten semptom göstermeyen ağaçlardan alınanlara oranla daha düşük köklenme yeteneğine sahip olduğunu saptamışlardır.

BARBA (1993). İtalya'da zeytin ağaçlarında SLRV tespit etmiş ve bu hastalık etmeninin meyve ve yapraklardaki spesifik hastalanmalarla ilişkisi olduğunu belirtmiştir

KYRIAKOPOULOU (1993)..(1993). Zeytin orak yaprak hastalığı ile bulaşık olan bitkilerde yapraklarda görülen semptomlarla elde edilen ürün arasında bir ilişki bulunmadığını, Yunanistan'da 1981 yılında bu hastalığın yoğun olarak görüldüğünü ve bu tip yaprak semptomlarına sahip ağaçların iyi bakımlı ve sağlıklı ağaçları kadar fazla ürün verdiğini bildirmiştir.

REI ve ark. (1993), Portekiz'de çoğu yaprak semptomları gösteren farklı bazı zeytin çeşitlerinde Hıyar Mozaik virüsü ve Çilek Latent Halkalı Leke virüsünü tespit etmişlerdir (BARBA,1993).

MARTELLI SAVINO, DI TERLIZZI, CATALANO, SABANADZOVIC ve GRECO, (1994), İtalya'da semptom gösteren veya hiç bir semptom göstermeyen ağaçlarda *Olea europaea*'yı infekte ettiği bilinen, mekanik olarak taşınabilen ve CMV, CLRV, SLRV, ArMV, OLRSV, OLV-1 ve OLV-2 olarak tanımlanan yedi virüsün varlığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Bu çalışma Antakya Merkeze bağlı Serinyol, ekmece, Narlıca Ekinci, Hacıpaşa Batıayaz, Sögüt, Ceylanlı Akbez ve Aktepe beldelerinde, İskenderun, Altınözü, Yayladağı, Samandağı, Erzin ve Dörtyol ilçelerinde bulunan kapama zeytin bahçelerinde veya fidanlıklar ile Kırıkhan ilçesindeki Tarım Bakanlığına bağlı Kurtlu-Soğuksu Fidan retim Merkezindeki zeytin bahçelerinde yapılmıştır.

Arazi alışmaları sırasındaki bitki materyallerini srvey yapılan tesadüfi olarak seçilmiş bahçelerdeki geriye doğru ölüm, bodurluk, gövdede kabuk çatlamaları, yapraklarda yukarıya doğru kıvrılma, klorotik ve nekrotik lekeler ve lezyonlar, orak selinde yapraklar, meyvelerde küçülme ve deformasyon gibi belirtilere sahip olan şüpheli ağaçlar ve bu ağaçlardan alınan yaprak, iek ve meyve örnekleri oluşturmaktadır. Belirgin olarak bir simptom göstermeyen bahçelerde ise bahçeyi temsil edecek seilde tesadüfi olarak örnek alınmıştır.

Araziden alınan ve etiketlenerek naylaon torbalarda laboratuvara getirilen bitki örnekleri testleninceye kadar muhafaza etmek amacıyla derin dondurucuda (-20 C° de) bekletilmiştir.

Laboratuvar alışmalarında ELISA testi amacıyla kullanılan belirteçler Bioreba firması-İsviçre'den sağlanmıştır. OLV1 ve OLV2 kaba antiserumları ise Bari Üniversitesi-İtalya'dan getirtilimştir. Test sonuçları Denley WS050 Wellscan marka otomatik mikroplaka okuyucusunda 405 nm de okunarak değerlendirilmiştir ELISA testleri için U tabanlı polystyrene plakalar, pipet uçları, cam malzemeler, tampon zelteler ve kimyasal maddeler kullanılmıştır.

Araziden getirilen süpheli örnekler testlenirken bu örneklerin özellikle hastalık belirtisi gösteren kısımlarından alınan 1 gram bitki dokusu steril havan içerisinde vaklasık

3.2.2.1. Bitki Örneklerinin Hazırlanması

3.2.2. Laboratuvar Çalışmaları

Çalışmanın arazide kullanılan materyalini toplarken tesadüfi olarak seçilmiş olan kapama bahçelerdeki süpheli ağaçlar kırmızı boya ile işaretlenerek belirli dönemlerde yaprak, çiçek ve meyve örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerin ilgilere göre dağılımı her ilgedeki toplam ağaç sayısına göre belirlenmiştir (BORA ve KARACA, 1970). Belirgin olarak örnek alınmıştır. Alınan örneklerin sayısı bahçenin büyüklüğüne göre % 1-5 arasındadır. Örnekler her ağacın zeytin ağaçlarının çiçek döneminde yaprak ve çiçeklerden, meyve döneminde ise meyveden olmak üzere iki kez yapılmıştır (MARTELLI ve ark., 1994). Örnekler her ağacın doğusundan, batısından, güneyinden ve kuzeyinden olmak üzere tüm ağacı temsil edecek şekilde toplanmıştır.

3.2.1. Arazi Çalışmaları

3.2. Metot

Ayrıca mekanik inokulasyon çalışmalarında otsu test bitkileri olarak *Cucumis sativus*, *Nicotiana tabacum*, *N.benihamiana*, *Phaseolus vilgariis*, *Vicia faba* ve *Datura stramonium* kullanılmıştır. Bu bitkilerin tohumları sertifikalı olarak piyasadan alınmıştır veya Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden temin edilmiştir.

5 ml tampon çözeltisi içinde ezilerek bitki özsuğu çıkarılmıştır. Ekstrakte edilen bu örnekler hemen buzdolabına alınarak kullanılıncaya kadar burada bekletilmiştir.

3.2.2.2. Belirteçlerin Hazırlanması

OLV1 ve OLV2 dışındaki tüm virüsler için hazır belirteçler kullanılmıştır. Bioreba-İsviçre firmasının önerileri doğrultusunda her bir virüs için IgG ve konjuguat seyreltmeleri yapılmıştır.

3.2.2.3. DAS-ELISA Testinin Uygulanışı

Örneklerin testlenmesi Clark ve Adams (1977)'in geliştirdiği standart "Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA)" prosedürüne göre yapılmıştır. Testin uygulanışı sırasında kullanılan ELISA plakalarının 1. ve 12. sütunları kullanılmamıştır.

1. Kaplama tampon çözeltisi içinde immunogammaglobulinleri (IgG) antiserumun satın alındığı Bioreba firmasının göndermiş olduğu prosedüre göre 1/1.000 oranında sulandırarak polystyrene ELISA plakalarının her bir çukurcuğuna 100 µl konulmuştur. Plakalar üzeri kapatılmak suretiyle nemli bir ortam sağlanarak 30 C° de 4 saat inkübe edilmiştir.

2. İnkübasyon süresi tamamlandığında çıkarılan plakalar yıkama tamponu ile üç kez yıkanmıştır. Her yıkama arasında 3 dakika beklenmiştir. Bu işlem bitince plakalar ters çevrilerek boşaltılmış ve katlanmış kağıt havlu üzerinde hızlıca vurularak kuruması sağlanmıştır.

3. Ekstrakte edilen her bir örnek plakalar üzerinde önceden çıkarılmış olan testleme haritası esas alınarak çift çukur olacak şekilde uygun kuyucuklara 100 µl konulmuştur. Bu aşamada plakalara yine çift kuyucuk olarak pozitif ve negatif kontrollerde konulmuş ve plakalar nemli ortamda 30 C° de 4 saat yada +4 C° de gece boyunca inkübe edilmiştir.

4. İnkübasyondan sonra plakalar önceden açıklandığı gibi üç kez yıkanmış ve kurutulmuştur.

5. Plakalara konjuguat tamponu içerisinde 1/1.000 oranında sulandırılan konjuguatlar yine her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde konularak 30 C° de 4 saat inkübe edilmiştir.

6. İnkübasyon süresi tamamlandığında plakalar tekrar üç kez yıkanarak kurutulmuştur.

7. Substrat tamponu içerisinde 1 mg/1 ml oranında taze olarak hazırlanmış substrattan (p-nitrophenyl phosphate) her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde konularak plakalar oda sıcaklığında (+25 C°) karanlık bir ortamda reaksiyon gelişmesi için bırakılmıştır. Renk gelişmesine göre 30 dakika, bir saat ve iki saat sonra plakalar optik okuyucuda 405 nm dalga boyunda okutulmuştur.

8. Gerekli olduğu durumlarda reaksiyonu durdurmak amacıyla her bir kuyucuğa 3M NaOH solüsyonundan 50 µl ilave edilmiştir.

3.2.2.4. ELISA Testi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Testlenen örneklerin 405 nm dalga boyunda okunan absorbands değerlerine bakılarak sağlıklı örneklerin (negatif kontrollerin) en az iki katı yada daha fazla değerlere sahip olanlar enfekteli olarak kabul edilmiştir. Şüpheli örneklerde $X + 3SD$ formülü

uygulanarak bulunan negatif değerlerin ortalamasının üzerinde olan değerler enfekteli olarak kabul edilmiştir (CLARK, 1981).

3.2.2.5. Kaba Antiserumların Pürifikasyonu İşlemi

1. 0.5 ml kaba OLV-1, OLV-2 ve OLRSV antiserumlarının her birine 4.5 ml steril bidistile su ilave edilmiştir.

2. Bu karışıma 5 ml doymuş amonyum sülfatın $(NH_4)SO_4$ 'ın çökelti üzerinde kalan duru kısmından eklenerek bu solüsyonu oda koşullarında yarım saat süreyle çökmeye bırakılmıştır.

3. Bu solüsyonu $+4\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 6000 devir/dakika'ya ayarlanmış santrifüj aletinde 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sırasında proteinler (IgG) tüpün dip kısmına çökerek çökelti oluşturmuşlardır.

4. Bu işlemden sonra tüpleri sarsmadan üstte kalan berrak kısmı pastör pipeti yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Tüplerin her birine 1 ml $\frac{1}{2}$ oranında seyreltilmiş PBS solüsyonu ilave edilerek pH'sı 7.4'e ayarlanmıştır. Ölçüm sonucu PBS nin pH'sı 1 M HCl'den damla damla ilave ederek ayarlanmış ve pH 7.4'e düşürülmüştür. Bu işlemler sırasında PBS içeren beher elektromanyetik bir karıştırıcı vasıtasıyla sürekli karıştırılmıştır ve son süspansiyondan 2 ml alınarak santrifüjden sonra elde edilen çökeltinin üzerine ilave edilerek ve çözünmesi sağlanmıştır.

5. Tüplerin içindeki bu solüsyon yaklaşık 15 cm uzunluğunda kesilerek bir ucu sıkıca bağlanmış ve etiketlendirilmiş dializ tüplerine pastör pipeti yardımıyla doldurulmuştur. Tüpün açıkta kalan ucu sıkıca bağlanarak bu tüpler 1 lt $\frac{1}{2}$ 'lik PBS içerisinde bir manyetik karıştırıcı yardımıyla yavaşça karıştırmak suretiyle $+4\text{ }^\circ\text{C}$ 'de dialize bırakılmıştır. Yaklaşık 4 saat süren bu birinci dializden sonra PBS yi uzaklaştırarak yerine

yeniden 1 lt ½'lik PBS ilave edilmiş ve sabaha kadar ikinci dializ işlemi yapılmıştır. Ertesi sabah 4 saat süre ile dializ işlemi tekrarlanmıştır.

6. Üç adet antiserum için 35 gram Cellülose DE 52 tartılmış, 350 ml ½'lik PBS içerisinde yavaşça karıştırılarak çözündürülerek DE 52 Cellülose kolonu hazırlanmıştır. +4 °C'de yarım saat bekletildikten sonra beherin dibinde jel oluşumu gözlenmiş ve jelin üzerindeki PBS'nin pH sı ölçülerek 1 M HCl solüsyonu ile pH 7.4'e ayarlanmıştır.

7. DE Cellülosekolonu hazırlanarak elde edilen süpernatant . Önceden hazırlanan cellülose jel üzerindeki süpernatant yavaşça karıştırılmış ve kolona dökülmüştür. Dipte toplanan jelin üzerine çapı kolonunki ile aynı olan filtre kağıdı konularak üstten ½ lik PBS ile devamlı yıkanmıştır. Böylece jelin kuruması engellenmiştir.

8. Hazırlanan bu kolona dializden çıkarılan antiserumlar bir defada olmak üzere aktarılmıştır. Kolonun alttaki hortum ucu numaralandırılmış ve etiketlenmiş olan steril tüplere yerleştirilerek her tüp içerisine 1 ml kadar immunoglobulinler sırasıyla toplanmıştır. Bu esnada kolon üstten sürekli olarak ½ lik PBS ile yıkanarak jelin kurumamasına dikkat edilmiştir.

9. Numaralı tüpler içerisinde toplanan antiserumlar 280 nm dalga boyunda sırasıyla okutulmuştur.

Her üç antiserumdan elde edilen absorbans değerleri arzu edilen 1.4 ün atında olduğu için bu değere ulaşmak için her antiserumda en yoğun olarak işaretlenen tüpler birbirine karıştırılmıştır. Buna göre OLV-1 de 2. ve 3. tüpler, OLV-2 de 3.,4. ve 5. tüpler, OLRV de ise yine 2. ve 3. tüpler birleştirilmiştir. Miktarları ölçüldü ve aynı oranda doymuş amonyum sülfat solüsyonunun süpernatantı ilave edilmiştir. Bu karışım +4 °C de gece boyunca bekletilmiştir. Böylece proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. Ertesi sabah antiserumlar dakikada 6000 devirde +4 °C de 15 dakika santrifüj yapılmıştır.

Santrifüj işleminden sonra dibe çöken pellet kısmına zarar verilmeden üstte kalan süpernatant kısmı bir pastör pipeti yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Tüplere 2 ml ½ lik PBS ilave edilerek tüpler sıkıca çalkalanmıştır. Bu solüsyon dializ tüplerine aktararak etiketlenmiştir. 1 lt ½ lik PBS içinde +4 °C de Hafifçe karıştırılarak her biri 4 saat olmak üzere üç kez dialize bırakılmıştır. Her dializ işlemi başında tampon solüsyon düzenli olarak değiştirilmiştir. Tüm bu yeniden çöktürme işlemleri tamamlandığında elde edilen antiserumların yeniden spektrophotometerde 280 nm de absorbans değerleri okutulmuştur.

Elde edilen antiserumlar yeterince konsantre olduğu düşünülerek ikinci kez çöktürme işlemine gerek duyulmamıştır.

3.2.2.6. Konjugatların Hazırlanması

1. 0.3 ml amonyum sülfatın (NH₄)SO₄ duru kısmından alarak 0.3 ml (1000 ünits) alkaline phosphatase ile karıştırılmış ve cam tüp içerisinde oda sıcaklığında yarım saat bekletilmiştir.

2. 4000 devir/dakika ve +4 °C'de 15 dakika santrifüjlenmiş ve böylece tüpün dip kısmında beyazımsı bir çökelti oluşturması sağlanmıştır.

3. Çökeltiyi zedelemeyen üstte kalan duru kısım uzaklaştırılmıştır. Üzerine 0.4 ml immunoglobulin ilave edilerek bir ucu sıkıca bağlanmış etiketlenmiş ince dializ tüpüne boşaltılmış sıkıca bağlanmıştır.

4. Dializ tüpünün içindeki solüsyon +4 °C'de öğleden sonra, gece boyunca ve sabah olmak üzere 0.5 lt ½ lik PBS içerisinde bir manyetik karıştırıcı ile hafifçe karıştırılmak suretiyle üç defa dialize bırakılmıştır .

5. Antiserum bir cam tüp içerisine alınarak üzerine % 0.05 oranında glutaraldehide (2µl) ilave edilmiş ve solüsyon steril distile su ile 1 ml ye tamamlanmıştır

(%25 lik taze gluteraldehide solüsyonundan 2µl alınarak 1 ml antiseruma ilave edilerek oran % 0.05' ayarlanmıştır).

6. Antiserum oda koşullarında 4 saat bekletildikten sonra çok hafif bir sarımsı-kahverengi renk oluşumu gözlenmiş gluteraldehide solüsyonunun uzaklaştırılması amacıyla yine +4 °C'de öğleden sonra, gece boyunca ve sabah olmak üzere 0.5 lt ½ lik PBS içerisinde bir manyetik karıştırıcı ile hafifçe karıştırılmak suretiyle üç defa dialize bırakılmıştır.

7. Antiseruma 5mg/ml oranında BSA (Bovine Serum Albumine) ilave edilerek enzimle işaretlenen antiserumlar -20 °C'ye konulmuştur.

3.2.2.7. IgG ve Konjuguatların Konsantrasyonlarının Hazırlanması

Antiserum ve konjuguatların seyreltme serileri Çizelge 1'deki gibi hazırlanmıştır.

Çizelge 1. Bir ELISA plakası üzerinde λ-globulin ve konjuguatların sulandırması

λ-globulin sulandırması											
1/100				1/500				1/1000			
1/100		1/500		1/100		1/500		1/100		1/500	
Konjuguat sulandırması											

3.2.2.8. Mekanik İnokulasyon Çalışmaları

Mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan indikatör bitkiler 1:1:1 oranlarında steril kum, torf ve toprak içeren karışımlarla doldurulan saksılarda yetiştirilmiştir. Bitkiler 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık tutulan iklim odalarında %60-70 oransal nem ve 25 °C de gözlem altına alınmıştır (CHOUEIRI ve ark.,1993). Küçük tohumlu indikatör bitkiler önce tohum yastıklarına ekilmiş ve buradan daha sonra 3-4 yapraklı döneme gelenler normal saksılara her saksıya bir adet olmak üzere şaşırtılmıştır. Fasulye, bakla ve hıyar gibi iri tohumlu olanlar ise direk olarak her saksıya 3-4 adet ekilmiştir. Bu bitkiler gerek bitki besin maddeleri gerekse muhtemel zararlılar açısından periyodik olarak kontrol edilmiştir. Test bitkilerinden hıyar kotitedon yaprakları oluştuğunda, fasulye ve bakla ilk iki yaprağı oluştuğunda ve tütün ile kazayağı bitkileri ise 5-6 yapraklı dönemde inokule edilmiştir. Daha önceden SLRV, CLRV ve ArMV ile infekteli olduğu ELISA testleri ile tespit edilmiş olan ağaçların meyve örnekleri taze olarak pH sı 7.2 olan 0.1 M'lık Fosfat Tampon Çözeltisi ve % 2.5'luk Nikotin Çözeltisi içinde 1:0.5:0.5 oranında steril porselen havanlar içerisinde ezilerek ekstrakte edilmiştir (CHOUEIRI ve ark.,1993; MESKAT ve ark.,1993). Elde edilen bitki özsuyu bir iki dakika önceden celite serpilmiş olan indikatör bitki yapraklarına elimizin işaret parmağı ile yavaşça sürülerek inokulasyon gerçekleştirilmiştir. Her inokulasyondan sonra elimizi çeşme suyu ile yıkadıktan sonra alkolle yüzeyden sterilizasyon yaptıktan sonra diğer örneğe geçilmiştir. İnokulasyondan sonra yapraklar yine çeşme suyu ile yıkanarak bitki üzerindeki artıklar uzaklaştırılmıştır. Her örnek için denemeye tabii tutulan bitki çeşitlerinden birer adet kontrol olarak bırakılmıştır. İnokule edilen tüm bitkiler ve kontrolleri iklim odalarına alınarak gözlemler yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Arazi alıŐmalarından Elde Edilen Bulgular

Hatay ilinde zeytin bahçelerinde kültürel ve bakım işlemlerinin yeterince ve zamanında yapılmadığı, hastalık ve zararlılar ile mücadele konusunda yeterince nlem alınmadığı ve gerekli iŐlemlerin yapılmadığı gözlenmiştir. Bu durum virüs hastalıklarının tipik belirtilerinin gözlenmesini zorlaŐtıran bir faktör olmuştur. Özellikle yaşlı bahçelerde genel bir bodurlaşma, ağaçlarının kısmen ya da tamamen kuruması, sürgünlerde çalışma, gelişme geriliği, yaprak deformasyonları (Şekil 1), yapraklarda klorotik (Şekil 2), ve nekrotik lekeler, sararmalar, boğum aralarının kısa oluşu, yaprakların iğ şeklinde uzayarak daralması, kaşık şeklinde içe doğru kıvrılmalar (Şekil 3), yaprakların orak şeklinde bir yada birkaç merkezden kıvrılmaları ve meyvelerde Şekil bozuklukları (Şekil 4 ve 5) en belirgin virus simptomları olarak saptanmıştır.



Şekil 1. SLRV ve CLRV ile enfekteli örneğin yaprak deformasyonları



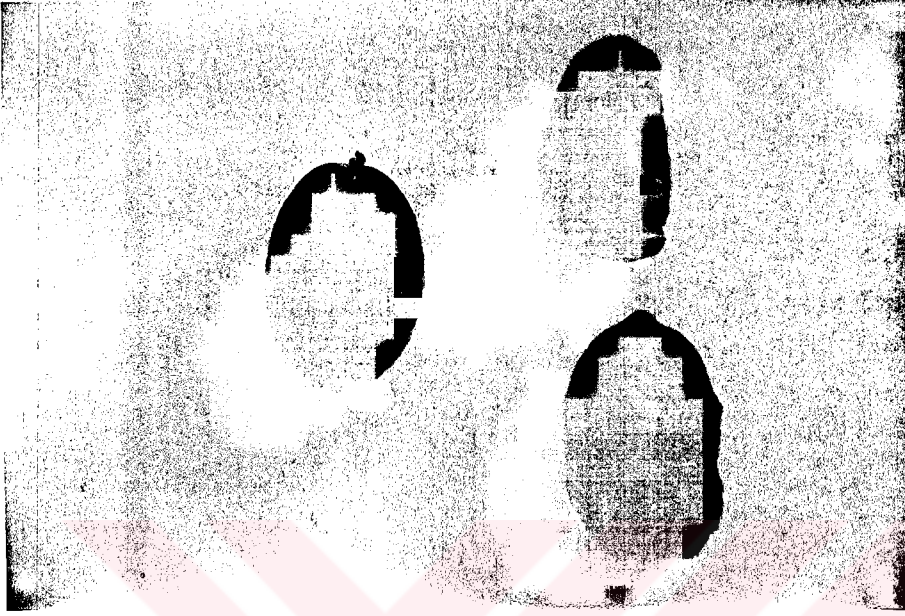
Şekil 2. Virüsle bulaşık bir bitkinin yaprağında gözlenen klorotik lekelenmeler



Şekil 3. Özellikle yaşlı bahçelerde, virüsle bulaşık yaprakların iğ şeklinde uzayarak daralması, kaşık şeklinde içe doğru kıvrılmalar



Şekil 4. Virüs ile bulaşık zeytin yapraklarının orak şeklinde bir yada birkaç merkezden kıvrılmaları



Şekil 5. Meyvelerde şekil bozuklukları



Şekil 6. SLRV infekteli meyvelerin çekirdeklerinin yüzeyinde görülen küçük çukurcuklar ve çekirdeğin uç kısmında meydana gelen deformasyonlar

Çalışmamız sonucu Hatay bölgesinde zeytin yetiştirilen hemen hemen her yöreye gidilerek bölgemizin virüs hastalıkları ile bulaşıklık konusunda bir haritası çıkarılmıştır.

Özellikle yaşlı bahçelerde yada bakımının iyi yapılmadığı bahçelerde SLRV ile infekteli ağaçlarda genellikle orak şeklinde hatta daha fazla deforme olmuş ve sıklıkla bir yarısı kaybolmuş yapraklar şeklinde belirtiler gözlenmiştir. Şiddetle enfekte olmuş meyvelerde ise özellikle yaz sonunda tümör benzeri oluşumlar dikkati çekmiştir. Ayrıca infekteli meyvelerin çekirdekleri incelendiğinde çekirdeklerin yüzeyinde küçük çukurcuklar ve uç kısmında deformasyonlar gözlenmiştir(Şekil 6).

4.2. Laboratuvar Çalışmalarından Elde Edilen Bulgular

4.2.1. ELISA Testi Sonuçları

Yapılan ELISA testlemeleri sonucunda simptom gösteren ağaçların yanısıra hiç bir simptom göstermeyen yaprak ve meyvelerden de pozitif sonuçlar alınmıştır.

Bunun yanı sıra SLRV, CLRV yada ArMV'ne karşı yapılan testlemelerde hastalıkla bulaşık olan ağaçların çiçek ve meyvelerinde tespit edilen virüs yoğunluğunun aynı ağacın yapraklarındaki yoğunluktan çok daha fazla olduğu saptanmıştır. Bazı örneklerde testlemelerde yapraklarda negatif sonuç alınırken meyvelerde yada çiçeklerde pozitif sonuçlar elde edilmiştir.

Hatay ilinde zeytin bahçelerinden alınan toplam 180 örnekte saptanan virüslerin bölgelere göre dağılımları, toplam enfekteli örnek sayıları, % bulaşıklık oranları Çizelge.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. Hatay ilinde zeytin yetiştirilen bahçelerden alınan örneklerde saptanan virüslerin bölgelere göre dağılımları, toplam bulaşık örnek sayısı ve yüzde oranları

Örnek alınan bölge adı	Alınan toplam örnek(Adet)	Saptanan virüsler			Toplam enfekteli örnek	Bulaşıklık oranı (%)
		CLRV	SLRV	ArMV		
Çekmece	9	1	9	0	9	100.00
Altınözü	27	14	24	9	25	92.59
Serinyol	24	4	5	2	7	29.16
Narlıca	4	4	2	1	4	100.00
Yayladağı	38	25	22	23	27	71.05
Ekinci	16	0	0	1	1	06.25
Kurtlu-Soğuksu	14	13	7	13	14	100.00
Aktepe	6	3	3	1	5	83.33
Akbez	9	4	4	2	5	55.55
Ceylanlı	8	7	2	5	6	75.00
Söğüt	2	1	1	0	1	50.00
Batıyaz	7	5	4	0	6	85.71
İskenderun	3	0	0	0	0	00.00
Samandağı	5	1	1	0	2	40.00
Hacıpaşa	8	1	2	1	2	25.00
TOPLAM	180	83	86	58	114	63.33

Çizelge 2'den de görüldüğü gibi toplanan 180 örnekten 86 adedi (%47.77'si) SLRV ile, 83 adedi (%46.11'i) CLRV ile, ve 58 adedi (%32.22'si) ArMV ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. Saptanan bu virüsler içinde en yaygın olan SLRV olarak saptanmıştır. Ayrıca toplanan 180 örnekten 114 adedi bir yada birden fazla virüsle bulaşık olarak bulunmuştur. Çekmece, Narlıca, Aktepe, Kurtlu-Soğuksu'dan getirilen örnekler %100 enfekteli bulunmuştur. Bunu Altınözü (%92.59) ve Batıyaz (% 85.71) takip etmektedir.

Yapılan testlemelerde bazı örneklerin birden fazla virüs hastalığı ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Bölgelere göre toplam ve karışık enfeksiyonlar Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Bölgelere göre bitkilerde görülen karışık enfeksiyonlar

Örnek alınan bölge adı	ArMV + SLRV	ArMV + CLRV	SLRV + CLRV	ArMV+ SLRV+ CLRV	Bulaşıklık oranı (%)	Toplam örnek sayısı
Çekmece	0	0	1	0	11.11	9
Altınözü	1	0	5	8	51.85	27
Serinyol	2	0	0	3	20.83	24
Narlıca	0	1	2	0	75.00	4
Yayladağı	2	3	2	18	65.78	38
Ekinci	0	0	0	0	0	16
Kurtlu-Soğuksu	0	6	1	6	92.85	14
Aktepe	0	0	2	0	40.00	6
Akbez	0	1	1	1	33.33	9
Ceylanlı	0	4	1	1	85.71	8
Söğüt	0	0	1	0	50.00	2
Hacıpaşa	0	0	0	1	12.25	8
Batıyaz	0	0	3	0	42.85	7
İskenderun	0	0	0	0	00.00	3
Samandağı	0	0	0	0	00.00	5
Toplam	5	15	19	38		180

Çizelge 3'den de görüldüğü gibi karışık enfeksiyonun en yoğun olduğu bölge % 92.85 ile Kurtlu-Soğuksu olup bunu % 85.71 ile Ceylanlı ve % 75.00 ile Narlıca izlemiştir.

Bölgelere göre saptanan bu virüslerin DAS-ELISA testi sonucunda elde edilen Optik Densite (OD) değerleri Çizelge 4,5,6,7,8, ve' 9 da verilmiştir.

Çizelge 4. Altınözü'nden toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması

Virüsler	Pozitif Örnekler Ortalaması	Negatif Örnekler Ortalaması	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
SLRV	0.350	0.091	3.429	0.071
CLRV	0.336	0.101	30246	0.127
AMV	0.260	0.070	1.529	0.100

Çizelge 5. Yayladağı'ndan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması

Virüsler	Pozitif Örnekler Ortalaması	Negatif Örnekler Ortalaması	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
SLRV	0.976	0.356	3.517	0.235
CLRV	0.373	0.017	3.392	0.038
AMV	1.155	0.075	1.776	0.078

Çizelge 6. Kırıkhan (Kurtlu-Soğuksu)'dan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması

Virüsler	Pozitif Örnekler Ortalaması	Negatif Örnekler Ortalaması	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
SLRV	0.181	0.049	3.429	0.063
CLRV	0.343	0.041	3.246	0.127
AMV	0.285	0.138	1.529	0.109

Çizelge 7. Samandağı(Batıayaz)'dan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması

Virüsler	Pozitif Örnekler	Negatif Örnekler	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	Ortalaması	Ortalaması		
SLRV	0.268	0.119	3.542	0.073
CLRV	0.469	0.192	3.604	0.413
AMV	---	0.127	0.442	0.128

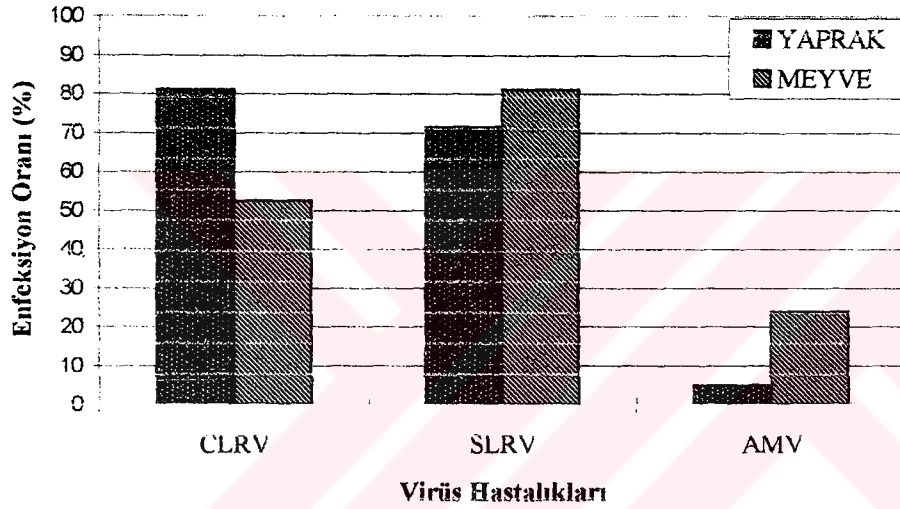
Çizelge 8. Hassa (Aktepe, Akbez, Ceylanlı, Söğüt)'dan toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması

Virüsler	Pozitif Örnek	Negatif Örnek	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
SLRV	0.211	0.048	3.480	0.103
CLRV	0.282	0.094	3.247	0.127
AMV	0.117	0.067	2.036	0.043

Çizelge 9. Merkez (Çekmece, Narlıca, Serinyol, Ekinci)'den toplanan örneklerde saptanan virüslerin DAS-ELISA testinde 405 nm'de okunan optik densite değerlerinin ortalaması

Virüsler	Pozitif Örnekler	Negatif Örnekler	Pozitif Kontrol	Negatif Kontrol
	Ortalaması	Ortalaması		
SLRV	0.723	0.261	3.536	0.365
CLRV	0.573	0.109	3.438	0.128
AMV	0.528	0.148	2.465	0.100

Meyve döneminde alınan 21 örnekte hem meyve hemde yaprak dokusu aynı anda testlenmiştir. Bunun sonucu 21 adet örnekte AMV için yaprakta 1 adedi (% 4.6), meyveden 5 adedi (%23.80). SLRV için yaprakta 15 adedi (% 71.42), meyveden 17 adedi (%80.95) ve CLRV için yaprakta 17 adedi (%80.95), meyveden 11 adedi (% 52.38) pozitif olarak tespit edilmiştir (Şekil 7).

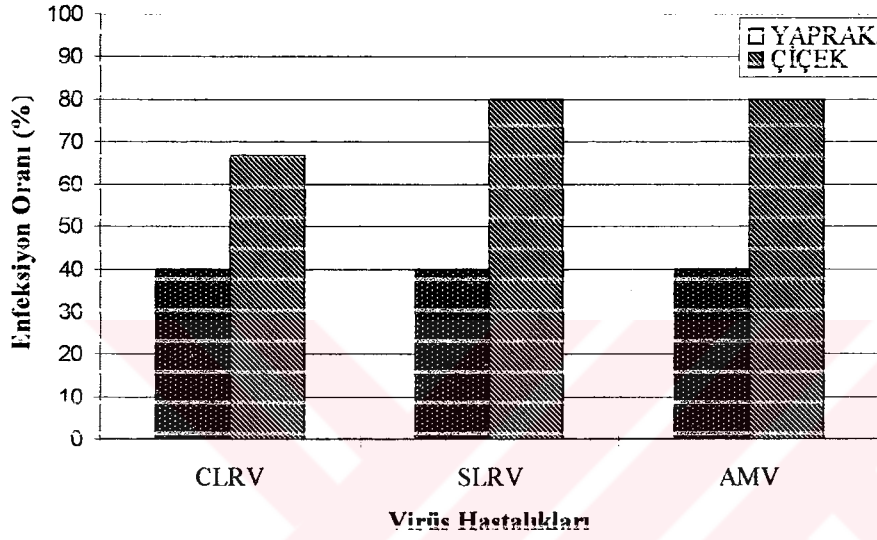


Şekil 7. Aynı ağaçların meyve ve yaprak dokularından alınan örneklerde CLRV, SLRV ve AMV'nün enfeksiyon oranları

Bu verilere dayanarak aynı ağacın yaprak ve meyve dokusu karşılaştırıldığında CLRV hariç diğer virüslerde hem pozitif çıkan örnek sayısının fazla olduğunu hemde çıkan pozitif örnekler kıyaslandığında meyvelerin yapraklara oranla daha yüksek optik densiteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yine alınan 15 adet örnekte hem yaprak hemde çiçek dokusundan aynı anda testlemeler yapılmıştır. Bunların AMV ve SLRV için yaprakta 6 adedi (% 40.00), çiçekte

12 adedi (% 80.00). CLRV için ise yaprakta 6 adedi (% 40.00), çiçekte 10 adedi (%66.66) pozitif olarak bulunmuştur (Şekil 8).



Sekil 8. Aynı ağaçların çiçek ve yaprak dokularından alınan örneklerde CLRV, SLRV ve AMV'nün enfeksiyon oranları

Bu veriler sonucunda yine benzer şekilde aynı 15 örnekte yaprak ve çiçek dokusu karşılaştırıldığında tüm virüsler için çiçek dokusunun hem daha fazla örneklerde pozitif reaksiyon verdiği hemde çıkan pozitif örneklerin yapraklardan daha yüksek optik densiteye sahip olduğu belirlenmiştir.

4.2.2. Kaba Antiserumların Pürifikasyon İşlemleri Sonuçları

Pürifikasyon işlemleri sonucunda numaralandırılmış tüpler içerisinde toplanan antiserumlar 280 nm dalga boyunda sırasıyla okutulmuştur. Elde edilen absorbans değerleri şöyle bulunmuştur:

Tüp numarası OLV-1 için absorbans değeri

1. tüp 0.006
2. tüp 0.900
3. tüp 0.112
4. tüp 0.021
5. tüp 0.013
6. tüp 0.029
7. tüp 0.002

Tüp numarası OLV-2 için Absorbans değeri

1. tüp 0.006
2. tüp 0.003
3. tüp 0.266
4. tüp 0.628
5. tüp 0.112
6. tüp 0.049
7. tüp 0.027
8. tüp 0.020
9. tüp 0.019
10. tüp 0.017

Tüp numarasıOLRSV için absorbans değeri

1. tüp 0.001
2. tüp 0.322
3. tüp 0.205
4. tüp 0.037
5. tüp 0.017

Her üç antiserumdan elde edilen absorbans değerleri arzu standart değer olan 1.4'ün altında bulunmasından dolayı bu değere ulaşmak için her antiserumda en yoğun olarak işaretlenen OLV-1 de 2. ve 3. tüpler, OLV-2 de 3.,4. ve 5. tüpler, OLRV de ise yine 2. ve 3. tüpler birleştirilerek çöktürülmüş ve yeniden bir purifikasyon işlemi yapılmıştır. Tüm bu işlemleri tamamlandığında elde edilen antiserumların spektrophotometerde 280 nm de absorbans değerleri yeniden okutulmuştur. Elde edilen sonuçlar her bir virüs için şöyle bulunmuştur:

	OLV-1	OLV-2	OLRSV
Absorbans değeri:	1.344	0.986	1.079

4.2.3. Mekanik İnokulasyon Sonuçları

Mekanik inokulasyon denemelerinde *N.tabaccum* ArMV ile, *N.benthamiana* SLRV ile, *Cucumis sativus* ve *Datura stramonium* test bitkilerinde CLRV ile infekte olabilmışlerdir. Simptomlar inokule edilen bitkilerde gözlenmiştir ancak kontrol bitkilerinde gözlenmemiştir.

ArMV ile enfekteli bitkilerden yapılan inokulasyonlarda yaklaşık 15 gün sonra *N.tabaccum* bitkilerinin yapraklarında mozaik şeklinde desenler ve hafif küçülme gözlenmiştir(Şekil 9).

SLRV ile enfekteli bitkilerden yapılan inokulasyonlarda *N.benthamiana* bitkilerinin alt yapraklarında klorotik beneklenmeler gözlenmiştir (Şekil 10).

CLRV ile enfekteli bitkilerden yapılan inokulasyonlarda *Cucumis sativus* test bitkilerinde gelişme geriliği, bodurluk ve yapraklarda kıvrılmalar ve küçülmeler (Şekil 11), *Datura stramonium* test bitkilerinde ise gelişme geriliği ve yapraklarda kıvrılmalar gözlenmiştir (Şekil 12).





Şekil 9. ArMV ile enfekteli *N.tabaccum* test bitkilerinin yapraklarında mozaik şeklinde desenler ve hafif küçülmeler.



Şekil 10. SLRV ile enfekteli *N.benthamiana* test bitkilerinin alt yapraklarında klorotik beneklenmeler



Şekil 11. CLRV ile enfekteli *Cucumis sativus* test bitkilerinde gelişme geriliği, bodurluk, yapraklarda kıvrılmalar ve küçülmeler



Şekil 12. CLRV ile enfekteli *Datura stramonium* test bitkilerinde ise gelişme geriliği ve yapraklarda kıvrılmalar

5. TARTIŞMA

Zeytin üretimi ülkemizin hem iç hem de dış piyasasına yönelik faaliyet gösteren önemli bir iş koludur. Gerek zeytin bitkisinin ana vatanının Türkiye olması gerekse Akdeniz iklim kuşağının zeytin üretimi için son derece uygun ekolojik koşullara sahip olması nedeniyle bol miktarda zeytin üretimi ülkemiz tarımını önemli ölçüde etkilemektedir. Akdeniz bölgesinde özellikle Hatay ilinde zeytincilik oldukça yüksek potansiyele sahiptir ve Akdeniz bölgesi üretiminin % 35'ini karşılamakta hatta bazı ilçelerde halkın tek geçim kaynağını oluşturmaktadır.

Pek çok kültür bitkisinde olduğu gibi zeytin ve zeytin yağı üretimini sınırlayan birçok zararlı ve hastalık mevcuttur. Ülkemizde bilhassa zeytin zararlıları konusunda çok sayıda bilimsel araştırma yapılmış olmasına rağmen virüs hastalıkları konusunda yapılan pek fazla çalışma yoktur. Önemli derecede zararlanmalara ve ürünün kalite ve miktarında değer kaybına neden olduğu bilinen virüs hastalıkları ile mücadelede en önemli esas hastalığın tanısının doğru konmasıdır. Bu amaçla arazide gözlemlere ve semptomlara bakılarak konulan tanılar mutlak suretle laboratuvarda yapılacak çeşitli testlerle doğrulanmalıdır. Çünkü aynı viral etmen birden fazla konukçuyu enfekte edebilmekte ve her birinde farklı şekilde semptom oluşumuna neden olabilmektedir. Ayrıca bir çok virüs etmeni arazide bitkinin fenolojisine bakıldığında kendine has karakteristik semptomlar meydana getirilmeden latent enfeksiyonlar oluşturabilmektedir. Bitkinin görünüşüne fazlaca bir etki yapmayan bu latent hastalıklar ürünün miktarına önemli oranlarda etki edebilmektedir. Sürveyler sırasında bunun gibi latent enfeksiyonlar doğru tanı konulmasında yanıltıcı ve zorlaştırıcı bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır.

Laboratuvarında çeşitli testlerle tanısı yapılmış virüs hastalıkları ile mücadele edilmesi atılacak ikinci önemli adımdır.

Laboratuvarında çeşitli testlerle tanısı yapılmış virüs hastalıkları ile mücadele edilmesi atılacak ikinci önemli adımdır.

Bu çalışmada Hatay yöresinde zeytin bitkisinde zararlı SLRV, CLRV, AMV, OLRV, OLV-1 ve OLV-2'nin ELISA testi ile tanıları yapılmış ve her bir virüs hastalığının çalışma alanı içerisinde gerek tanılanması gerekse yaygınlığını araştırılmıştır. Günümüzde bunun gibi belirli bir bölgenin bazı virüsler açısından taramasının yapıldığı arazi çalışmalarında ELISA testi yaygın, güvenilir ve hızlı bir metot olarak kabul edilmektedir (CLARK ve ADAMS, 1977).

Yapılan mekanik inokulasyon denemelerinde *N.tabaccum* ArMV'ne, *N.benthamiana* SLRV'ye, *Cucumis sativus* ve *Datura stramonium* test bitkileri ise CLRV'ye karşı reaksiyon göstermişlerdir ve virüse benzer belirtiler meydana gelmiştir. Bu bitkilerle aynı koşullarda bulunan kontrol bitkilerinde ise belirtiler gözlenmemiştir.

Çalışma sırasında bölgemizde zeytin bitkisinde gözlenen en yaygın virüs belirtiler; gelişme geriliği, sürgünlerde çalılışma, yaprak deformasyonları, boğum aralarının kısa oluşu, yapraklarda klorotik ve nekrotik lekelenmeler, sararmalar ve meyvelerde şekil bozuklukları olarak tespit edilmiştir. Bu türden simptomolojik gözlemleri FİDAN ve ERTEM (1995) de belirtmiştir. Bu şekilde belirtiler göstermeyen ağaçlardan da latent enfeksiyonların bulunabileceği düşünülerek tesadüfi olarak örnekler alınmış ve bunlarda da bazı virüslerin varlığı saptanmıştır. Özellikle CLRV ile enfekteli bazı ağaçların aynı bahçedeki sağlıklı olarak tespit edilen ağaçlardan görsel olarak ayırt edilmesi oldukça güçtür. Buna benzer bulgular HENRIQUES ve ark.,(1990)'in yaptığı çalışmalar sonucunda da elde edilmiştir. Bununla birlikte özellikle yaşlı ve bakımsız bazı bahçelerde zaman zaman besin maddesi noksanlıklarından dolayı meydana gelen görüntüler virüs hastalıkları ile sıklıkla karıştırılmaktadır. Bu tip örnekler testlendiğinde ise herhangi bir virüse rastlanmamıştır. Ayrıca şiddetle enfekte olmuş meyveler

örneklerinde özellikle yaz sonunda dikkati çeken tümör benzeri oluşumlar *Liothrips olea* zararına benzemekle beraber böcek beslenmesine ait herhangi bir kanıt rastlanmamıştır. Zira bu zararlının beslenmesi sonucunda meydana gelen tümör şeklinde oluşumların etrafi çıplak gözle net bir şekilde görülebilen bir klorotik leke ile çevrilidir (CANTERO, 1965). İnfekteli meyvelerin çekirdekleri incelendiğinde ise çekirdeklerin yüzeyinde küçük çukurcuklar ve uç kısmında deformasyonlar gözlenmiştir. Ancak bu tip belirtiler virüslü olduğu tespit edilen ağacın tüm meyvelerinde ve özellikle de sağlıklı meyvelerin çekirdeklerinde gözlenmemiştir. SLRV ile bulaşık ağaçlardaki bu semptomların varlığı ve dağılım oranları yıldan yıla değişmektedir (HENRIQUES ve ark., 1992).

Zeytinde SLRV'nin neden olduğu orak şeklinde yada deforme olmuş yaprak semptomları HENRIQUES ve ark. (1990) tarafından da belirtilmiştir.

Karışık enfeksiyonların saptandığı ağaçlarda daha şiddetli belirtiler görülmüştür. Bu sonuçlar MARTE ve ark.(1986)'nın bulgularıyla da uyum içerisindedir. Şimdiye kadar elde edilen bilgilere göre yapraklardaki belirtiler ile meyve üretimi arasında bir ilişki tespit edilememiştir. Örneğin, Yunanistan'da hastalığın sıklığının ve şiddetinin çok yüksek olduğu 1981 yılında, çok şiddetli yaprak semptomları gösteren ağaçlar bakımlı ve verimli topraklarda yetiştirilen ağaçlarıki kadar fazla meyve verimine sahip olmuştur (KYRIAKOPOULOU, 1993).

Araştırma yöresinde zeytinde toplam 180 ağaçtan alınan örneğin 86 adedinde (%47.77) SLRV, 83 adedinde (%46.11) CLRV ve 58 adedinde (%32.22) AMV tespit edilmiştir. Temmuz-Ağustos 1998 döneminde yine aynı bahçelerden alınan 76 örnekte OLV-1, OLV-2 ve OLRV tespit edilememiştir. Test edilen bu virüsler içerisinde en yaygın olarak SLRV çıkmıştır. Ayrıca 180 örneğin 114'ünün bir yada birden fazla virüsle bulaşıklık durumu belirlenmiştir. Bazı ilçe ve beldelerden (Çekmece, Narlıca ve Soğuksu) getirilen örneklerin tamamı enfekteli olarak bulunmuştur.

Antakya-Merkez'den alınan örneklerdeki enfeksiyon oranlarının çok yüksek çıkması testlenen az sayıda örneğin hepsinin enfekteli olarak bulunması nedeniyledir. Ayrıca yine Antakya- Merkez'de ve Altınözü'nde çok yaşlı özel kapama bahçelerden alınan örneklerin yüksek oranda enfekteli çıkması bu bahçelerin uzun yıllar boyunca enfeksiyon odağı olarak kaldığını ve gerekli eradikasyon çalışmalarının yapılmadığını göstermektedir. Bu tip çok yaşlı hastalıklı bahçelerin günümüzde hala aşı kalemi temin edilmesinde kullanıldığı ve böylece hastalığın genç bahçelerde taşınma olasılığının yüksek olduğu görülmektedir.

Zeytinde virüslerin epidemiyolojisi hakkında şimdiye kadar yapılan çalışmalar sonucu herhangi bir hayvansal vektör saptanamamıştır. Bu tip hastalıkların yayılmasında temel yol büyük olasılıkla enfekteli üretim materyalinin kullanılmasıdır. Bazı virüslerin polen daneleri içerisinde bulunması ise polenle taşınmasının mümkün olabileceği tezini desteklemektedir. Ancak bu konuda şu anda herhangi bir deneysel kanıt bulunmamaktadır (BARBA, 1993).

Bazı araştırmacıların yapmış olduğu denemeler sonucunda yaprak ve meyvelerde şiddetli hastalık simptomsu gösteren ağaçlardan alınan aşı çubuklarının simptomsu göstermeyenlerden alınanlara oranla daha düşük seviyede köklenme yeteneğine sahip olduklarını bildirmişlerdir (REI ve ark., 1993).

Hiçbir denetlemenin ve mücadelenin yapılmadığı bölgemizde gerek özel gerekse kamuya ait bahçelerde enfeksiyon oranlarının çok yüksek çıkması bu virüs hastalıklarının bölgede çok kısa bir süre içinde tehlikeli boyutlara ulaşabileceğinin bir kanıtıdır. Bölgemizde mevcut zeytin bahçelerinin ve fidanlıkların virüs hastalıkları açısından incelenmesi, hastalıkla bulaşık durumda olanların saptanması, bulaşıklık oranlarının belirlenmesi ve mevcut virüslerin tanımlamalarının yapılması ile eradikasyon çalışmaları da başlatılmalıdır. Ayrıca bölgemizde saptanan virüslere karşı testlenmiş fidan

üretimi konusunda Avrupa Topluluğuna üye ülkeler arasında birçok üründe uygulanmakta olan "Sanitasyon ve Sertifikasyon" programının başlatılması gerek bölgemizin gerekse ülkemizin ihtiyacı olan hastalıktan arı fidanların üretilmesi ülke ekonomimize büyük katkılar sağlayabilecektir.



ÖZET

Pek çok kültür bitkisinde olduğu gibi zeytin bitkisi de virüs hastalık etmenlerinin konukçusudur. Hatay yöresinde 1997-1998 yıllarında yürütülen bu çalışmada zeytin ağaçlarında gözlenen virüs hastalıklarının serolojik ve biyolojik yöntemlerle tanuları yapılarak bulaşıklık oranları belirlenmiştir.

Kültürel ve bakım işlemlerinin yeterince ve zamanında yapılmadığı yaşlı bahçelerde genel bir bodurlaşma, sürgünlerde çalılışma, yaprak deformasyonları, yapraklarda klorotik ve nekrotik lekeler, boğum aralarında kısılma, iğ veya orak şeklinde yaprak oluşumu ve meyvelerde şekil bozuklukları görülmüştür. Bu bahçelerden alınan örneklerde Çilek Latent Halkalı Leke Virüsü (SLRV), Kiraz Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (CLRV) ve Arabis Mozaik Virüsü (ArMV), Zeytin Latent halkalı Leke Virüsü (OLRSV), Zeytin Latent Virüs-1(OLV-1) ve Zeytin Latent Virüs-2 (OLV-2) 'nin saptanması amacıyla poliklonal antiserumlar kullanılarak DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile bitkiler testlenmiştir.

Hatay bölgesinde testlenen 180 örnek % 47.7 oranında SLRV, % 46.1 oranında CLRV ve % 32.2 oranında ArMV ile enfekteli olarak saptanmıştır. Testlenen 76 adet örneğin hiçbirinde Zeytin Latent Halkalı Leke (OLRSV), Zeytin Latent Virüs-1 (OLV-1) ve Zeytin Latent Virüs-2 (OLV-2)'ye rastlanmamıştır.

Hatay bölgesinde farklı ilçe ve beldelerden alınan şüpheli örneklerde virüsle bulaşıklık oranları da belirlenmiştir. En yoğun bulaşıklık oranı Kırıkhan'dan getirilen örneklerde % 100 olarak saptanmıştır. Bunu % 92.59 oranı ile Altınözü, % 71.05 ile Yayladağı, % 68.00 ile Hassa (Akbez, Aktepe, Ceylanlı ve Söğüt), % 66.66 ile Samandağı-Batıyaz ve % 39.62 ile Antakya-Merkez (Çekmece, Serinyol, Narlıca, Ekinci) izlemiştir.

Testlenen bazı bitkilerin ise birden fazla virüs ile karışık enfekteli olduğu ELISA testleriyle saptanmıştır. En yoğun karışık enfeksiyonlar genel olarak AMV+SLRV+CLRV kompleksi şeklinde bulunmuştur.

Ayrıca virüslerle yoğun olarak enfekteli olan örnekler otsu konukçu bitkilere inokule edildiğinde virüs belirtilerine benzer tipik belirtiler gözlenmiştir.



SUMMARY

Olive trees are host to virus diseases like other cultured plants. In this study which had been carried out in 1997-1998 in Hatay Province, identification of virus diseases of olive trees by using serological and biological methods were made and detected infection rates of them.

In old orchards in which cultural procedures and care practices were not well done, general stunting, bushy shoots, leaf deformations, chlorotic and necrotic spots on leaves, deformations on fruit or corn surface were observed. The samples which collected from these orchards were tested to detect Strawberry Latent Ring Spot Virus (SLRV), Cherry Leaf Roll Virus (CLRV), Arabis Mosaic Virus (AMV), Olive Latent Ring Spot Virus (OLRSV), Olive Latent Virus-1 (OLV-1) and Olive Latent Virus-2 (OLV-2) by using DAS-ELISA methods and by using polyclonal antibodies.

180 tested samples in Hatay Province were SLRV, CLRV and AMV with the infection rates of 47.72 %, 46.10 % and 32.24 %, respectively. All of 76 samples, which tested against OLRV, OLV-1 and OLV-2, were negative.

The virus infection rates in the suspicious samples which collected from different areas of Hatay, were also determined. The highest infection was found in Kırıkhan with the infection rate of 100 %. It was followed by 92.59 % in Altınözü, 71.05 % in Yayladağı, 68.00 % in Hassa (Akbez, Aktepe, Ceylanlı, Söğüt areas), 66.66 % in Samandağı- Batıyaz and 39.62 % in Antakya-Center (Çekmece, Serinyol, Narlıca, Ekinci).

Some of the samples were found to be infected with more than one virus diseases according to ELISA results. The most common mix-infections were AMV+SLRV+CLRV.

When the samples are infected with viruses inoculated to herbaceous hosts, typical symptoms like viruses were observed.

EK

**GENEL ELISA TEST İŞLEMİ İÇİN KULLANILAN TAMPON
FORMÜLASYONLARI**

PBS (Phosphate Buffered Saline, 1x, pH 7.4/1000 ml için)

Distile su içerisinde :

NaCl 8.0 gr

KH_2PO_4 0.2 gr

Na_2PO_4 1.15 gr

KCl 0.2 gr

NaN_3 0.2 gr

Kaplama Tamponu (pH 9.6/1000 ml için)

Distile su içerisinde :

Na_2CO_3 1.59 gr

NaHCO_3 2.93 gr

NaN_3 0.2 gr

Yıkama Tamponu (pH 7.4/1000 ml için)

PBS (1x) içerisinde

Tween 20 0.5 ml

Konjugat Tamponu (pH 7.4/1000 ml için)

PBS (1x) içerisinde

PVP MW 24000 20.0 gr

Tween 20 0.5 gr

BSA 2.0 gr

Substrat Tamponu (pH 9.8/1000 ml için)

Distile su içerisinde (pH sı HCl ile ayarlanmış)

Diethanolamine 97 ml

NaN₃ 0.2 gr

Örnek Tamponu (pH 7.4/1000 ml için)

PBS (1x) içerisinde

PVP (Polyvinyl pyrolidone) MW 24000 20.0 gr

Tween 20 0.5 ml



KAYNAKLAR

- ANONİM, 1994. Tarımsal Yapı ve Üretimi. T. C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü. DİE Yayınları, Ankara.
- ANONİM, 1995. Tarımsal Yapı ve Üretimi. T. C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü. DİE Yayınları, Ankara.
- BARBA, M., 1993. Viruses and virüs-like diseases of olive. EPPO Bulletin 23, 493-497.
- BORA, T ve T. KARACA., 1970. Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi, E.Ü. Zir. Fak. Yardımcı Ders Kitabı. No:167. Bornova 43 p.
- CANTERO F. A., 1965. Enfermedades y plagas del olivo. Direccion General de Agricultura. Madrid.
- CASTELLANO, M.A., A.D., FRANCO, G.P. MARTELLI, 1987. Electron Microscopy of Two Olive Viruses in Host Tissue. Plant Diseases Vol. 68 No: 12 (5712)
- CHOUËIRI, E., M. DIGIARO, A. MINAFRA, V. SAVINO, 1993. A Survey of peach viruses in Apulia. *Adv. Hort. Sci.*, 7(2): 61-64.
- CIFERRI, R., BALDACCI, E., RUI, D., SCARAMUZZI, G., FOGILIZNI, G. & ROSTROLLA, G. (1953) [Leaf malformations of the olive tree in Liguria and Garda.] *Annali della Sperimentazione Agraria* 7. 1957-1976 (in Italian).
- _____. R., RUI, D., SCARAMUZZI, G., CANDUSSIO, R. & BONFANTE, S. (1955) [Leptonecrosis of the olive caused by boron deficiency, part I.] *Annali della Sperimentazione Agraria* 9. 1309-1342 (in Italian).
- _____. R., RUI, D., SCARAMUZZI, G., CANDUSSIO, R. & BONFANTE, S. (1956) [Leptonecrosis of the olive caused by boron deficiency, part II.] *Annali della Sperimentazione Agraria* 10. 25-59 (in Italian).

- CLARK, M. F., 1981. Immunosorbent Assays in Plant Pathology. Ann. Rev. Phytopathology, 19 (83-106).
- CLARK, M. F. and A.M. ADAMS, 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assays for the detection of plant viruses. *J. gen. Virol.*, 34, 475-483.
- CORTE, A., CIFERRI, R. & RUI, D. (1961) [Infection of privet with a leaf formation from olive.] *Rivista di Patologia Vegetale* (Sec. III) 1, 251-260 (in Italian).
- ÇALI, S., 1991. Bibliography of Virus and Virus Like Disease of Türkiye (1948-1990). Plant Protection Research Institute, P.O.B.21, Adana (01321), Turkey. 44pp.
- DUNEZ, J., 1977. Application of immuno enzymatic technique (Enzyme-linked immunosorbent assay) Ann. Phytopath. 9:219-223.
- _____, 1987. Perspectives in the control of plant viruses. In innovative approaches to plant disease control, Ed. I. Chet, Publishers J. Wiley and Sons, New York, 297-323.
- FİDAN, Ü. ve ERDEM, G., 1994. Ege Bölgesinde zeytin ağaçlarında virüs hastalıklarının ELISA yöntemi ile belirlenmesi üzerine araştırmalar. Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü, Bornova, İZMİR.
- GALLITELLI, D. and V. SAVINO, 1985. Olive latent virüs-1, an isometric virus with single RNA species isolated from olive in Apulia, Southern Italy. *Ann. appl. Biol.*, 106, 295-303.
- GRANITI, A. (1953) [Results of a first year of research on leaf anomalies of olive in Sardegna.] *Olivicoltura* 8 (5), 1-4 (in Italian).
- _____, A. (1954) [Research on leaf anomalies of olive in Sardegna. I. Effects of *Eriophyes oleae* on olive leaves] *Annali della Sperimentazione Agraria* 8, 709-715 (in Italian).

- _____, A. (1956) [Research on leaf anomalies of olive in Sardegna. II. Effects due to the action of *Pollinia pollini*] *Annali della Sperimentazione Agraria* 10, 953-991 (in Italian).
- HENRIQUES M.-I.C., REI, F.T., F.A.LEITAO, J.F. SERRANO and M.F. POTES., 1990. [Viruses detected in olive.] In / *Congresso Iberico de Ciencias Horticolas*. Lisboa (PT) (in Portuguese).
- _____, M.-I.C., REI, F.T., F.A.LEITAO, J.F. SERRANO and M.F. POTES., 1991. Occurrence of viruses infecting olive trees in Portugal. *Olea* 21, 71.
- _____, M.-I.C., REI, F.T., F.A.LEITAO, J.F. SERRANO and M.F. POTES., 1992. Virus diseases in *Olea europaea* L. cultivars. I. Immunodiagnosis of strawberry latent ring spot nepo virus. *Phytopath. Medit.* 31.127-132.
- _____, M.-I.C., 1994. Virus disease of olive, An overlook *Acta Horticulturae* 356.
- KYRIAPOULOU, P.E., 1993. Olive sickle leaf symptoms widespread in Greece. *EPPO Bulletin* 23, 499-500.
- MARTELLI, G.P. GALLITELLI, D., 1985. [Virus diseases of olive.] *Ital. agric.*, 122 (2). 150-156.
- MARTE, M., F. GADANI, V. SAVINO, E. RUGINI, 1986. Strawberry latent ring spot virus associated a new disease of olive in central Italy. *Plant Disease*. 70 171-172.
- MARTELLI, G.P., V. SAVINO, N. GRECO, B. DI TERLIZZI, L. KATALANO, S. SABANADZOVIC, 1994. Viruses and Certification of Olive in Apulia. Dipartimento di Protezione delle Piante. Università degli Studi and Centro di Studio del CNR Sui Virus e le Virosi delle Colture Mediterranee, Bari, Italy.
- MARTELLI, G.P., S. SABANADZOVIC, V. SAVINO, A.R. ABU-ZURAYK AND M. MASANNAT, 1995. Virus-like diseases and virus in Olive in Jordan. *Phytopath. medit.*, 34, 133-136

- MESKAT, A., M. DIGIARO, B. DI TERLIZZI AND M. A. CASTELLANO, 1992. A filamentous virus isolated from almond. *Phytopath. medit.*, 31: 46-48.
- PACINI, E. and M. CRESTI., 1978. Viral particles in developing pollen grains of *Olea europea*. *Plant Disease* 57 (1329).
- REI, F.T., HENRÍQUES M.I.C., F.A. LEITAO, J.F. SERRANO and M.F. POTES., 1992. Virus disease in *Olea Europaea* L. cultivars. I. Immunodiagnosis of Strawberry latent ringspot nepovirus. *Phytopath. medit.*, 1992, 31, 127-132.
- REI, F.T., M.I.C HENRÍQUES, F.A. LEITAO, J.F. SERRANO and M.F. POTES., 1993. Immunodiagnosis of cucumber mosaic cucumovirus in different olive cultivars. *EPPO Bulletin* 23, 501-504.
- SAVINO, V., M. BARBA, D. GALLITELLI and MARTELLI, 1979. Two nepoviruses isolated from olive in Italy. *Phytopath. medit.*, 18, 135-142.
- SAVINO, V., and D. GALLITELLI, 1981. Cherry leafroll virus in Olive. *Phytopath. medit.*, 20, 202-203.
- SAVINO, V., and D. GALLITELLI, 1983. Isolation of cucumber mosaic virus from Olive in Italy. *Phytopath. medit.*, 20, 76-77.
- WATEWORTH, H.E. and R.L. MONROE, 1988. Graft transmission of olive sickle leaf disorder. *Plant Disease* 59. 366-367.
- YILMAZ, M.A., S. BALOĞLU, M. ÖZASLAN, 1993. Bitki Virüs Hastalıkları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi. Bitki Koruma Bölümü. ADANA.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmalarında bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Kadriye ÇAĞLAYAN'a, bölümümüzdeki diğer araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve çalışmalarım süresince her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Şener TARLA'ya teşekkür ederim.

Ayrıca arazi çıkışlarında araç konusunda yardımlarından dolayı Tarım İl Müdürlüğü, Bitki Koruma Şubesi elemanlarına ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Adana'da doğdum İlk ve Orta öğrenimimi tamamladıktan sonra 1984-1987 yıllarında Adana Erkek Lisesi'nde lise eğitimimi tamamladım. 1988 yılında Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünü kazandım ve 1992 yılında mezun oldum. Mezun olduğum yıl aynı fakültenin yüksek lisans sınavını kazandım. Bir yıl YADEM'de yabancı dil eğitimi gördüm. 1994 yılında Tarım bakanlığının ve yüksek öğretim kurumunun yurtdışında lisans üstü eğitim sağlamak amacıyla birlikte açmış olduğu sınavı kazanarak yurt içi dil öğretimi maksadıyla 8 ay Orta Doğu Teknik Üniversitesi'nde İngilizce eğitim kurslarına katıldım. Tarımla ilgili özel bir şirkette bir yıl çalıştıktan sonra 1996-Şubat eğitim döneminde M. K. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans sınavını kazandım. Kasım-1997 tarihinde Fen bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak M. K. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen bu göreve devam etmekteyim. Evliyim.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMAN MERKEZİ