ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşe KARAMANLI

KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHUR İYETİ (KKTC)' NDE KABAKG İL YETİŞTİRİLEN ALANLARDA HIYAR MOZAY İK V İRÜSÜ (CUCUMBER MOSAIC VIRUS, CMV) VE KABAK SARI MOZAY İK VİRÜSÜ (ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS, ZYMV)' NÜN SURVEYİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ (KKTC)' NDE KABAKGİL YETİŞTİRİLEN ALANLARDA HIYAR MOZAYİK VİRÜSÜ (CUCUMBER MOSAIC VIRUS, CMV) VE KABAK SARI MOZAYİK VİRÜSÜ (ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS, ZYMV)' NÜN SURVEYİ

Ayşe KARAMANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 21/08/2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Yrd.Doç.Dr.MuharremA.KAMBEROĞLU	Prof.Dr.Saadettin BALOĞLU	Prof.Dr.Mehmet E. GÜLDÜR
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: ZF2006YL18

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ (KKTC)' NDE KABAKGİL YETİŞTİRİLEN ALANLARDA HIYAR MOZAYİK VİRÜSÜ (CUCUMBER MOSAIC VIRUS, CMV) VE KABAK SARI MOZAYİK VİRÜSÜ (ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS, ZYMV)'NÜN SURVEYİ

Ayşe KARAMANLI

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Muharrem Arap KAMBEROĞLU
Yıl: 2007, Sayfa: 86

Jüri: Yrd. Doç. Dr. Muharrem Arap KAMBEROĞLU
Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU
Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR

Bu çalışma, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde yetiştirilen kabakgillerde zararlı Hıyar Mozayik Virüsü (Cucumber Mosaic Virus, CMV) ve Kabak Sarı Mozayik Virüsü (Zucchini Yellow Mosaic Virus, ZYMV)'nün biyolojik, serolojik ve moleküler tanısının yapılması amacıyla 2006- 2007 yılları arasında yürütülmüştür.

Araziden toplanan virüslü olduğundan şüphelenilen bitkiler, öncelikle ELISA yöntemi ile testlenmiş ve hastalık oranı CMV için % 8.07 ve ZYMV için % 34.5 olarak saptanmıştır. Ayrıca her iki virüsün karışık hastalık oranı da % 7.4 olarak bulunmuştur.

CMV ve ZYMV ile infekteli örnekler kodlanarak mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılmış ve indikatör bitkiler üzerinde 15- 30 gün gibi bir sürede simptom çıkışına neden olmuştur.

CMV ve ZYMV ile infekteli indikatör bitkilerinden total RNA ekstraksiyonu yapılmış ve bunlar RT- PCR yönteminde kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforezde CMV ve ZYMV için sırasıyla 250 ve 650 bp'lik band büyüklükleri gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: CMV, ZYMV, ELISA, Mekanik inokulasyon, RT-PCR

ABSTRACT

MSc THESIS

SURVEY OF CUCUMBER MOSAIC VIRUS (CMV) AND ZUCCHINI YELLOW MOSAIC VIRUS (ZYMV) IN TURKISH REPUBLIC OF NORTHERN CYPRUS IN CUCURBITS GROWTH FIELDS

Ayşe KARAMANLI

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor: Asst. Prof. Muharrem Arap KAMBEROGLU
Year: 2007, Pages: 86

Jury: Asst.Prof. Muharrem Arap KAMBEROGLU
Prof. Dr. Saadettin BALOGLU
Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GULDUR

The objectives of this study are biological, serological and molecular detection of CMV and ZYMV in cucurbits growing in Turkish Rebublic of Northern Cyprus provinces between 2006 and 2007.

Collected samples suspected to be CMV or ZYMV were firstly tested with ELISA test and infection ratio for CMV and ZYMV was determined as 8.07% and 34.5%, respectively. Mix infection ratio of CMV and ZYMV was 7.4%.

CMV and ZYMV positives were coded and used for mechanical inoculation. The symptoms were observed on indicator plants in 15- 30 days after inoculation.

Total RNAs were extracted from infected indicator plants and used for RT-PCR method. The respected size of bands with 250 and 650 bp were observed on agarose gel electrophoresis for CMV and ZYMV respectively.

Key Words: CMV, ZYMV, ELISA, Mechanical Inoculation, RT- PCR

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren danışman hocam sayın Yard.Doç.Dr. Muharrem Arap KAMBEROĞLU'na ve sayın Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU'na teşekkür ederim.

Çalışmalarımın her aşamasında büyük bir özveri ile bana yardımcı ve destek olan Zir. Yük. Müh. A. Filiz ÇALIŞKAN'a, laboratuar çalışmalarımdaki yardımlarından dolayı Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR'a ve Arş. Gör. Gökmen KOÇ'a teşekkür ederim.

Manevi destekleri ile her zaman yanımda olan arkadaşlarım Özge SOĞUKPINAR, Başak PİSKOBULU, Yasemin KONCUK ve Konce BAYDAR' a teşekkür ederim.

Bunlara ek olarak projenin yürütülmesinde çalışmalarıma maddi olanak sağlayan Ç.Ü. Araştırma Fonu Merkezine teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi master çalışmalarım sırasında da maddi ve manevi hiçbir desteği esirgemeyen ve beni destekleyen babam, annem, ailemin tüm fertleri ve nişanlım Evren ERK'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER SAYFA

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR.....III
İÇİNDEKİLER.....IV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....X
1.GİRİŞ 1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
3. MATERYAL VE METOD.....24
3.1.Materyal.....24
3.1.1. Çal ışmanın Yürütüldüğü Alan ve Çalışma Materyali Hakk ında Bilgiler.....24
3.1.2. Serolojik Çal ışmalarda Kullanılan Materyal.....25
3.1.3. Mekanik İnokulasyon Çalışmalarında Kullanılan Materyal.....25
3.1.4. Total RNA Ekstraksiyon Çal ışmalarında Kullanılan Materyal.....26
3.1.5. RT-PCR Çal ışmalarında Kullanılan Materyal 27
3.1.6. Agaroz Jel Elektroforez Çal ışmalarında Kullanılan Materyal.....28
3.2. Metod 29
3.2.1. Survey Çal ışmaları, Bitki Örneklerinin Toplanması ve Muhafazas ı 30
3.2.2. İndikatör Bitkilerinin Yetiştirilmesi 30
3.2.3. Virüsün Mekanik İnokulasyon Yöntemiyle Taşınması 31
3.2.4. Serolojik Çal ışmalar 32
3.2.4.1. DAS-ELISA Testi Çal ışmaları 32
3.2.5. Total RNA Ekstraksiyonu.....34
3.2.6. RT- PCR Çal ışmaları 35
3.2.6.1. PCR için Materyalin Olu şturulması.....35
3.2.6.1.(1). Hedef Nükleik Asitlerin Elde Edilmesi 35

3.2.6.1.(2). Primerlerin Olu şturulması.....36
3.2.6.2. RT-PCR 36
3.2.6.3. RT-PCR Yönteminin Uygulanmas ı.....37
3.2.6.3.(1). CMV için RT-PCR 37
3.2.6.3.(2). ZYMV için RT-PCR 38
3.2.7. Agaroz Jel Elektroforez Çal ışmaları 40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 41
4.1. Survey Çal ışmalar 41
4.2. Serolojik Çal ışmalar.....46
4.2.1. DAS-ELISA Testi Çal ışmaları.....46
4.3. Mekanik İnokulasyon Çalışmaları 57
4.4. Total RNA Ekstraksiyon Çal ışmaları.....63
4.4. RT-PCR Çal ışmaları.....64
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 66
6. KAYNAKLAR.....71
ÖZGEÇMİŞ.....82
EKLER.....83

SİMGELER ve KISALTMALAR

A : Adenine

APS : Ammonium persülfate

Bp : Base pair

BPYV : Beet Pseudo-Yellows V ırus

C : Cytosine

°C : Santigrad derece

CABYV : Cucurbite Aphid-Borne Yellows Virus

CARNA : Cucumber mosaic virus associated RNA

cDNA : Komplementer Deoksiribonükleikasid

CMV : Cucumber Mosaic Virus

CP : Coat Protein (K ılıf protein)

CYSDV : Cucurbite Yellow Stunting Disorder Virus

CVYV : Cucumber Vein Yellowing Virus

Da : Dalton

da : Dekar

dATP : Deoksiadenozintrifosfat

dCTP : Deoksisitidintrifosfat

dd : Double distile

dGTP : Deoksiguanozintrifosfat

DİECA-Na : Sodyum dietildithiocarbomat

DNA : Deoksiribonükleikasit

dNTP : Deoksinükleotidtrifosfat

dsRNA : Double stranded (çift iplikli) RNA

dTTP : Deoksitimidintrifosfat

Eco RI : Endonükleaz restriksiyon enzimi

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid

ELISA : Enzim Linked Immunosorbent Assay

G : Guanine

gr : Gram

H_2O : Su

Kb : Kilo base

kDa : Kilo dalton

M : Molarite

Mg : Miligram

µl : Mikrolitre

Ml : Mililitre

mM : Milimolar

M-MLV : Moloney Murine Leukemia Virus

mRNA : Messenger RNA

MW : Molekül a ğırlığı

Nm : Nanometre

Nt : Nükleotit

ORF : Okunabilir aç ık alanlar

PBS : Potasyum fosfat tuz tamponu

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

pH : Hidrojen iyonu konsantrasyonu

Pmol : Pikomol

Pr : Primer

PRSV-W : Papaya Ring Spotted Virüs- type W

PVX : Potato Virus X

RNA : Ribonükleikasit

RNAse : Ribonükleaz

rpm : Dakikadaki devir say ısı

RT : Reverse Transcriptase

Sat-RNA : Satellit RNA

SDS : Sodyum dodesil sulfat

SLS : Sodyum lauril sarkosin

SqMV : Squash Mosaic Virus

T : Thymine

TAE : Tris Asetik Asit EDTA

Taq : Termo stabil polimeraz enzimi

TBE : Tris Boric Asit EDTA

TE : Tris EDTA

TMV : Tobacco Mosaic Virus

ToMV : Tomato Mosaic Virus

tRNA : Transfer RNA

U : Ünite

V : Hacim

WMV- II : Watermelon Mosaic Virus- II

W/V : A ğırlık/hacim

ZYMV : Zucchini Yellow Mosaic Virus

ZYMV-CT : Zucchini Yellow Mosaic Virus -Connecticut izolat ı

ZYMV-FL : Zucchini Yellow Mosaic Virus -Florida izolat ı

ZYMV-TW : Zucchini Yellow Mosaic Virus -Taiwan izolat ı

ZYMV-WK : Zucchini Yellow Mosaic Virus -Zayıf izolatı

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 3.1. Survey Yapılan Bölgelerin Harita Üzerinde Görünümü.....24
Çizelge 3.2. Mekanik İnokulasyonda Kullanılan Test Bitkileri.....26
Çizelge 3.3. CMV için Kullanılan Primerler ve Baz Dizilimleri.....27
Çizelge 3.4. ZYMV için Kullanılan Primerler ve Baz Dizilimleri.....28
Çizelge 3.5. CMV ve ZYMV'nün Tanılanmasında İzlenilen Yol.....29
Çizelge 4.1. Örnekleme Yapılan Yerler ile Toplanan Bitki Türleri ve Sayısı.....42
Çizelge 4.2. Çalışmada Kullanılan Bitkisel Materyalin Bölgelere Göre Dağılımı.....43
Çizelge 4.3. CMV ile İnfekteli Bulunan Bitki Sayısı ve Hastalık Oranı.....46
Çizelge 4.4. ZYMV ile İnfekteli Bulunan Bitki Sayısı ve Hastalık Oranı.....47
Çizelge 4.5. CMV ve ZYMV'nün Karışık İnfeksiyonu, Saptanan Bitki Sayısı ve Hastalık Oranı.....48
Çizelge 4.6. Mağosa Bölgesi Köy ve Yörelerine Göre CMV İnfeksiyonu.....48
Çizelge 4.7. Güzelyurt Bölgesi Köy ve Yörelerine Göre CMV İnfeksiyonu.....49
Çizelge 4.8. Mağosa Bölgesi Köy ve Yörelerine Göre ZYMV İnfeksiyonu.....50
Çizelge 4.9. Güzelyurt Bölgesi Köy ve Yörelerine Göre ZYMV İnfeksiyonu.....51
Çizelge 4.10. Mağosa Bölgesi Köy ve Yörelerine Göre CMV ve ZYMV İnfeksiyonu.....52
Çizelge 4.11. Güzelyurt Bölgesi Köy ve Yörelerine Göre CMV ve ZYMV İnfeksiyonu.....53
Çizelge 4.12. Mağosa Bölgesine Göre CMV infeksiyonu.....54
Çizelge 4.13. Mağosa Bölgesine Göre ZYMV İnfeksiyonu.....54
Çizelge 4.14. Mağosa Bölgesine Göre CMV ve ZYMV İnfeksiyonu.....55
Çizelge 4.15. Güzelyurt Bölgesine Göre CMV İnfeksiyonu.....56
Çizelge 4.16. Güzelyurt Bölgesine Göre ZYMV İnfeksiyonu.....56
Çizelge 4.17. Güzelyurt Bölgesine Göre CMV ve ZYMV İnfeksiyonu.....57
Çizelge 4.18. CMV ve ZYMV'nün Mekanik İnokulasyon Çalışmalarında Kullanılan Test Bitkileri ve Gözlenen Simptomlar.....59

ŞEKİLLER DİZİNİ SAYFA

Şekil 4.1. Kabak Bitkisinde Kabarcıklık ve Deformasyon 44
Şekil 4.2. Kabak Yaprağında Mozayik Simptomu 44
Şekil 4.3. Kavun Yaprağında Kabarcıklık ve Deformasyon 45
Şekil 4.4. Kabak Yaprağında Ayakkabıbağı Simptomu 45
Şekil 4.5. CMV İnfekteli Kabak Bitkisinde Mozayik ve Sararmalar 59
Şekil 4.6. CMV İle İnfekteli Kavun Bitkisinde Mozayik, Sararma ve Geriye Ölüm 60
Şekil 4.7. CMV İnfekteli *N.tabacum* L. "Xanthi" Test Bitkisinde Klorotik Lekeler ve Mozayik 60
Şekil 4.8. CMV İnfekteli *N.tabacum* L. "Xanthi" Test Bitkisinde Klorotik Lekeler ve Mozayik 60
Şekil 4.9. CMV İnfekteli *N.tabacum* L. "Xanthi nc" Test Bitkisinde Klorotik Lekeler ve Mozayik.....61
Şekil 4.10. CMV İnfekteli *N. tabacum* "Samsun" Test Bitkisinde Klorotik Lekeler, Mozayik, Sararma, Deformasyon ve Yaprak Kıvrılması…….....61
Şekil 4.11. CMV İnfekteli *N. rustica* Test Bitkisinde Mozayik, Deformasyon ve Yaprak Kıvrılması……61
Şekil 4.12. ZYMV İnfekteli Kavun Bitkisinde Mozayik, Sararma, İplikleşme, Yapraklarda Kıvrılma ve Beneklenme.....62
Şekil 4.13. ZYMV İnfekteli Kabak Bitkisinde Mozayik, Sararma**,** İplikleşme ve Beneklenme.....62
Şekil 4.14. ZYMV İnfekteli Kabak Bitkisinde Mozayik, Sararma ve Beneklenme 62
Şekil 4.15. ZYMV İnfekteli Hıyar Bitkisinde Mozayik, Sararma, Deformasyon ve Yaprak Kıvrılması 63
Şekil 4.16. CMV ve ZYMV İzolatlarının Agaroz Jeldeki Total RNA Bandları.....63
Şekil 4.17. RW 8 ve RV 11 Kodlu Primer Çifti ile Yapılan RT-PCR 64
Şekil 4.18. ZYMV-R1 ve ZYMV-F1 Kodlu Primer Çifti ile Yapılan RT-PCR.....65

1. GİRİŞ

Gerek serada gerekse açık alanda yetiştirilen sebzelerden kavun, karpuz, hıyar ve kabak gerek besin içerikleri, gerekse vitamin içerikleri bakımından oldukça zengindir. Özellikle kavun ve karpuz yüksek su içerikleri, tat, iştah açıcılık ve serinletici özellikleri bakımında yaz mevsiminde en çok tüketilen sebzelerdendir. Hıyar sebzesi de zengin su içeriği ve vitamin içeriği bakımından gerek taze olarak, gerekse turşu olarak sofralarımızda sürekli bulunan bir sebzedir. Kabak, içerdiği mineral maddeler, vitaminler ve az kalorili olmasına nedeniyle diyet menülerinde rastlanan bir üründür. Ayrıca bu sebzeler, özellikle yaz mevsiminde, taze olarak, yoğunlaştırılmış su, konserve turşu ve reçel, olarak tüketilmeleri nedeni ile hayatımızda önemli bir yere sahiptirler.

Akdeniz ikliminin hüküm sürdüğü KKTC' nde ülke gelirinin önemli bir kısmı tarımdan sağlanmaktadır. 329.890 hektarlık toplam arazi varlığının, 187.068 hektarı (%56.71) tarım arazisi olarak kullanılmaktadır. Meyvesi yenen sebzeler grubunda yer alan kabakgillerin üretimi, açık alan ve örtü altında yapılmaktadır. Genel olarak kabak ve hıyar yetiştiriciliği tünel ve seralarda, kavun ve karpuz üretimi ise açık alanda gerçekleştirilmektedir.

2005 yılı verilerine göre, KKTC' nde toplam 697.5 da'lık alanda 4602 ton kabakgil üretimi yapılmaktadır. Kabakgil üretimi içerisinde 233.5 da'lık bir alanda toplam 1877 ton hıyar, 68 da'lık alanda 205 ton kabak, 64 da'lık alanda 262 ton kavun ve 332 da'lık alanda 2258 ton karpuz üretimi yer almaktadır. Bu verilere göre gerek üretim yapılan alan ve gerekse de üretim miktarına bakımından kabakgiller içerisinde karpuz üretimi birinci sırada yer yapılmaktadır (Anonymous, 2005) .

KKTC' nde meyvesi yenen sebzeler içinde domatesten sonra önemli üretim değerlerine sahip olan ve önemli gelir kaynağı oluşturan kabakgillerde, hastalık ve zararlılar tarafından neden olunan ekonomik kayıplar yetiştiriciler için oldukça önemlidir.

KKTC' nde ve dünyada nüfusun hızla artması ve yaklaşmakta olan küresel ısınma sürecinde su kaynaklarında azalma yaşanması nedeniyle besin kaynaklarının giderek azalması daha fazla ürün yetiştirme zorunluluğunu da beraberinde

getirmektedir. Sebze üretim alanlarının sınırlı olması nedeniyle, verimin artırılması ve mevcut durumun korunması gerekmektedir. Sebze tarımında, üretimi ve daha fazla verim elde edilmesini engelleyen birçok canlı ve cansız etmen bulunmaktadır. Canlı etmenler içerisinde kimyasal ve fiziksel yapısı, boyutu, enfeksiyon şekli, simptom oluşturması, taşınması ve etkin bir mücadelesinin olmayışı nedeni ile virüs hastalıklarının önemli bir yeri vardır (Agrios, 1997; Yılmaz ve Davis, 1984; Yılmaz ve ark., 1979).

Kabakgiller pek çok virüs hastalığına konukçuluk etmekte ve bu ürünlerde önemli düzeylerde ürün kayıpları meydana gelmektedir. Dünya'da kabakgiller familyası içindeki bitki türlerinde zarar yapan ve ekonomik kayıplara neden olan çok sayıda virüs hastalığı bulunmaktadır (Zitter ve ark, 1996).

Kabak Sarı Mozayik Virüsü (Zucchini Yellow Mosaic Virus, ZYMV), Hıyar Mozayik Virüsü (Cucumber Mosaic Virus, CMV), Kabak Mozayik Virüsü (Squash Mosaic Virus, SqMV), Karpuz Mozayik Virüsü II (Watermelon Mosaic Virus II, WMV II) kabakgillere zarar veren virüslerden bazılarıdır (Lisa ve Leeoq, 1984; Purcifull ve ark, 1984). Bu virüs hastalıkları bitkilerde gelişme geriliğine, şiddetli infeksiyonlar sonucu anormal meyve ve yeşil aksam oluşumuna neden olmakta, hatta meyve oluşumunu tamamen engelleyebilmektedir.

Bromoviridae familyasının *Cucumovirüs* genusuna ait bir virüs olan CMV, ilk kez 1934 yılında Amerika Birleşik Devletleri' nde Price tarafından izole edilmiştir.

CMV izometrik yapıda olup, çapı 29 nm' dir. Virionlar, % 18 nükleik asit, % 82 protein ve % 0 lipit içermektedir. Genom yapıları tek iplikçikli doğrusal RNA' dan meydana gelmektedir ve en büyük genom parçası 3.389 kb, ikinci en büyük parçası 3.035 kb, üçüncü en büyük parçası ise 2.197 kb'dır. Genomik nükleik asitleri Gould tarafından izole edilmiştir. Temel bileşiminde % 24 G, % 23 A, % 23 C, % 30 U bazı bulunmaktadır (Francki, 1980; Habili, 1987).

Hıyar Mozayik Virüsü, Aphididae takımına bağlı 60' dan fazla yaprak biti türü ile non-persistent biçimde taşınmaktadır (Francki ve ark, 1979; Raccah ve ark., 1985). *Aphis gossypii* , *Myzus persicae* ve *Acyrthosiphon pisum* bu yaprak bitleri

arasında bulanan önemli vektörlerdir (Grube ve ark., 2000). CMV yaprak bitleriyle taşınmanın yanı sıra mekanik inokulasyon ve tohumla da taşınabilmektedir.

CMV, infekteli bitkilerde mozayik, meyve ve yapraklarda şekil bozukluğuna ve hatta bitki ölümlerine yol açmaktadır (Kosaka ve Fukunishi, 1997).

CMV, *Cucumis sativus, Cucurbita pepo, Citrullus lanatus, Lycopersicum esculentum, Capsium annum, Nicotiana tabacum, N. rustica, Chenopodium amaranticolour* ve *C. quinoa* indikatör bitkilerinde mekanik inokülasyonlar sonucuda damar açılması ve mozayik simptomu göstermektedir (Kosaka ve Fukunishi, 1997).

Bir potyvirüs olan ZYMV ise, ilk kez 1981 yılında İtalya' da Lisa tarafından rapor edilmiştir.

ZYMV, ipliksi yapıda olup 750 nm uzunlukta ve 11 nm genişlikte bir virüstür. Virionlar % 4.5- 7 oranında nükleik asit ve % 93- 95.5 oranında protein içermektedir. Genom parçaları tek iplikli doğrusal RNA' den meydana gelmekte ve toplam genom büyüklüğü 9 kb'dir. Genom bölmesiz ve en büyük genom parçası 9 kb'dir (Brunt ve ark, 1996).

Zucchini yellow mosaic virüsü, Aphididae takımından *Aphis gossypii, A. craccivora, A. spireacola, A. middletoni*, *Acyrthosiphon kondoi, Acyrthosiphon pisum, Lipaphis eriysimi, Macrosiphum euphorbiae, Myzus persicae, Uroleucon sp.* ile non-persistent olarak taşınmaktadır (Yuan ve Ullman, 1996).

ZYMV' nün infeksiyon zamanı ve bitkide meydana getirdiği simptomlar çevre koşullarına bağlı olarak değişmekle birlikte, bulaşık bitkilerde bodurluk, kloroz, deformasyon, mozayik, genç sürgünlerde iplikleşmeye ve çiçek azalmasına neden olmaktadır ve buna bağlı olarak da ürün azalmasına ortaya çıkmaktadır (Blua ve Perring, 1989).

ZYMV, *Cucumis sativus*, *C. melo, Cucurbita pepo, C. moschata* indikatör bitkleri üzerinde lokal lezyon ve latent infeksiyonlara neden olmaktadır. *Chenopodium amaranticolour* ve *C. quinoa* bitkilerinde lokal lezyonlara, *Sesamum indicum* 'da mekanik inokulasyon ile bulaştırılmış ZYMV, mozayik ve deformasyon simptomlarına neden olmaktadır (Brunt ve ark, 1996).

Bu virüs hastalıkları içerisinde hıyar mozayik virüsü (CMV) ve kabak sarı

mozayik virüsü (ZYMV) kabakgil yeti şiriciliğinde ekonomik anlamda ürün kayıplarına yol açan en önemli virüslerdir.

Yapılan bu çal ışmada, özellikle son y ıllarda önemi gittikçe artan ve yaprak bitleri arac ılığıyla çok daha uzak alanlara kolayca yay ılarak ekonomik kay ıplara yol açan CMV ve ZYMV' nün KKTC' nde saptanmas ı, biyolojik, serolojik (ELISA) ve moleküler yöntemler (RT-PCR) kullan ılarak te şhislerinin yap ılması ve çal ışmanın yürütüldüğü alanlarda yoğunluklarının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Ayrıca, bu çal ışma ile KKTC' nde yeti ştirilen kabakgillerde zararl ı virüsler ile ilgili herhangi bir çal ışma günümüze kadar mevcut olmad ığı için bu konuda önemli bir literatür aç ığı kapat ılmış ve ileride bu konuda yap ılacak olan çal ışmalara basamak teşkil etmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

CMV *Bromoviridae* familyasının *Cucumovirüs* genusuna ait bir virüs olup ilk kez 1934 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Price tarafından izole edilmiştir. 1916 yılında ise ilk defa Amerika'da hıyar bitkisinde bulunduğu Doolitle tarafından rapor edilmiştir (Brunt ve ark.,1990).

Cucumovirüsler pozitif yüklü üç parçalı genoma sahiptirler, Cucumovirüs genusu içerisinde CMV gibi çeşitli kültür bitkilerine zarar veren Peanut Stunt Virus (PSV), Tomato Aspermy Virus (TAV) (Kaper ve Waterworth, 1981; Palukaitis ve ark., 1992) ve Bean Distortion Mosaic Virus (White ve ark., 1995) gibi önemli virüsler bulunmaktadır.

CMV 365 takım ve 85 familyaya giren en az 775 bitki türünü hastalandırmaktadır (Tien ve ark., 1987; Francki ve ark, 1979; Kaper ve Waterworth, 1981).

Bu virüs 30 nm çapında ve aynı sedimentasyon oranına sahip olan 3 tip icosahedral partikülden meydana gelmektedir (Francki ve ark, 1979). CMV'nin partikül ağırlığının %18'ini tek kollu RNA oluşturmakta ve viral genom, RNA 1, RNA 2 ve RNA 3 olarak isimlendirilen pozitif duyarlı tek kollu 3 RNA'ya bölünmektedir (Lot ve ark., 1974; Paden ve Symons, 1973). Virüsün protein mantosunun oluşturulmasında rol oynayan RNA, RNA 4 olarak bilinmektedir (Gould ve Symons, 1983; Schwinghamer ve Symons, 1975). Hıyar Mozayik virüsü ile ilgili olan bir diğer RNA türü ise, satellit RNA olarak isimlendirilen RNA 5'tir (Martelli ve Quacquarelli, 1988; Kaper ve Waterworth,1981).

CMV izometrik yapıda olup, çapı 29 nm'dir. Virionlar, % 18 nükleik asit, % 82 protein ve % 0 lipit içermektedir. Genom yapıları tek iplikçikli doğrusal RNA'dan meydana gelmektedir ve en büyük genom parçası 3.389 kb, ikinci en büyük parçası 3.035 kb, üçüncü en büyük parçası ise 2.197 kb'dır. Genomik nükleik asitleri Gould tarafından izole edilmiştir. Temel bileşiminde % 24 G, % 23 A, % 23 C, % 30 U bazı bulunmaktadır (Francki, 1980; Habili, 1987).

Lot ve Kaper (1976)'ın yapmış oldukları çalışmaya göre CMV yaklaşık olarak 29 nm çapında ve 180 alt üniteden (T= icosahedral simetri gösteren) oluşan ve

çökelme katsay ıları yakla şık 98S olan (Rossinck, 2001), polyhedral partiküllere (virionlara) sahip olup bu partiküller ipliksi pozitif yüklü tek iplikli üç adet (RNA–1, RNA–2, RNA–3) genomik RNA'i ve iki adet sub-genomik RNA'i (RNA–4 ve 4A) paketlemektedirler. RNA–1 ve RNA–2 ayr ı ayr ı partiküller içerisinde paketlenmi ş olup RNA–3 ve RNA–4 ve ba şka bir ihtimal olarak RNA–3 ve RNA-4 ayn ı partikül içerisinde birlikte paketlenmi şlerdir. Bu özelliklerinden dolay ı CMV çok partiküllü bir yapıya sahip olup bitkiyi enfekte edebilmesi için üç tip partikülün hepsine birden ihtiyaç duymaktadır.

CMV 1000'e yak ın de ğişik bitki türünde çok çe şitli simptomlar olu şturan geniş konukçu dizisine sahip bir virüstür (Palukaitis ve ark., 1992; Kaper ve Waterworth., 1981). Palukaitis ve arkada şları da 1992 y ılında CMV'nün yabani ve kültür bitkileri içerisinde 800'den fazla say ıda bitki türünde zararl ı oldu ğunu saptamışlardır. Ayn ı şekilde CMV'nün monokotiledon ve dikotiledon 85 bitki familyası içerisinde 800 den fazla bitki türünde zararl ı oldu ğu rapor edilmi ştir (Alonso-Parados ve ark., 1998). Kaper ve Waterworth (1981) CMV'nün tah ıllarda, meyvelerde, sebzelerde ve süs bitkilerinde ekonomik kay ıplara neden oldu ğunu bildirmişlerdir (Hsu ve ark.,2000).

CMV, *Cucumis sativus, Cucurbita pepo, Citrullus lanatus, Lycopersicum esculentum, Capsium annum, Nicotiana tabacum, N. rustica, Chenopodium amaranticolour* ve C *henopodium quinoa* indikatör bitkilerinde mekanik inokulasyonlar sonucunda damar aç ılması ve mozayik simptomu göstermektedir (Kosaka ve Fukunishi, 1997).

Doğal konukçular ı içerisinde ço ğunlukla Cucurbitaceae, Fabaceae ve Solanaceae familyalarına bağlı *Arachis hypogea* (L.), *Capsicum annuum* (L.), *Cicer arietinum* (L.), *Citrullus vulgaris* (L.), *Commelina nudiflora* (L.), *Cucumis sativus* (L.), *Cucumis melo* (L.) , *Cucurbita pepo* (L.) , *Cucurbita maxima* (Dutch.) , *Dioscorea alata* (L.), *Ipomoea batatus* (L.), *Lens esculenta* (Moench), *Lycopersicon esculentum* (Mill), *Musa sapientum* (L.), *Musa textilis* (L.), *Nicotiana tabacum* (L.), *Passiflora edulis, Phaseolus spp.* (L.) , *Pisum sativum* (L.) , *Psophocarpus tetragonolopus* (L.), *Trifolium spp.* (L.), *Vicia faba* (L.), *Vigna angularis* (Willd),

Vigna radiata (L.) , *ve Vigna unguiculata* (L.) gibi bitkiler do ğal konukçular ı içerisinde yer almaktadır (Brunt ve ark, 1990).

Virüs bitkilerin yapraklar ında hafiften şiddetliye do ğru de ğişen mozaik, yaprak deformasyonları ile yada sadece bodurla şma, yapraklarda e ğrelti otu şeklinde yaprak deformasyonları (Kearney ve ark, 1990), yapraklarda ayakkab ı ba ğı olu şumu, meyvelerde nekroz gibi simptomlar olu şturmaktadır (Blancard,1988). Ço ğunlukla konukçu ve virüs izolat ına ba ğlı olarak bitkilerde büyüme bozuklu ğu, yan ıklık, fan leaf, halkal ı lekeler, meyvelerde yumu şamalar ve nekrozlarla birlikte bitki ölümleri (Hsu ve ark, 2000) ve üründe %50 oran ında kay ıplar ortaya ç ıkmaktadır (Kucharek ve ark, 1998). CMV, cezayir menek şesinde simptom olu şturmayan Broad Bean Wilt Virüsü ile birlikte ayn ı bitkiye aşılandığında latent biçimde simptom olu şturmaktadır (Shukla ve ark, 1980).

Shifriss ve ark (1994)'n ın yapt ığı klon çal ışmalarda, biberlerde şiddetli bodurluğa ve kloroza, *Vigna unguniculata* (L) ''Walp California Black Eye'' ve *Nicotiana tabacum* L. ''Xanthi''de mozayik simptomuna sebep olan virüsün CMV'nin bir ırkı oldu ğunu, bitkilerin araziye şaşırtılmasından 3 hafta sonra yap ılan surveylerde hastal ık oran ının %0'dan, hasat döneminde % 88'e ula ştığını saptamışlardır. Ara ştırmacılar ELISA yöntemi ile yapt ıkları testlemelerde bitkilerin % 96's ının TEV ve % 21'inin CMV ile infekteli olduğunu bulmu şlar, çal ışma sonucunda örneklerin % 1'inin ise PVY infeksiyonunu taşıdığını tespit etmi şlerdir. Hastalıklı bitkilerin simptomalojik olarak saptanmas ının zor olduğunu ancak ELISA testi ile hastalıklı bitkilerin saptanabileceğini belirtmişlerdir.

Cucumovirüs genusuna ait virüsler birçok yabani ve kültür bitkisinde şiddetlisinden zayıf ırkına göre değişen ölçülerde bodurlaşma, yapraklarda mozaik ve bükülmeler şeklinde simptomlara neden olmaktad ır. Bu virüsler çe şitli vektör böcekler, mekanik inokulasyon, a şı ve tohum ile ta şınabilmekte, fakat bitkilerin birbiriyle teması yoluyla taşınmamaktadırlar (Anonymous, 2002a).

Hıyar Mozayik Virüsü, Aphididae tak ımına ba ğlı 60' dan fazla yaprak biti türü ile non-persistent biçimde ta şınmaktadır (Francki ve ark, 1979; Raccah ve ark., 1985). *Aphis gossypii* , *Myzus persicae* ve *Acyrthosiphon pisum* bu yaprak bitleri

arasında bulanan önemli vektörlerdir (Grube ve ark, 2000). CMV yaprak bitleriyle taşınmanın yanı sıra mekanik inokulasyon ve tohumla da taşınabilmektedir.

CMV'nin yay ılmasında *Acyrthosiphon pisum* , *Aphis craccivora* ve *Myzus persicae* gibi yaprakbitleri mekanik inokulasyon ve bula şık tohumlar etkilidir. CMV vektör yaprakbitleriyle perzistent olmayan yolla ta şınmaktadır. Virüsün pek çok yabancı ot (Kumotu, İpekotu, Semizotu) içeren 775 bitki türünden fazlas ını infekte edebildiğini bildirilmiştir.

Geçmişte yap ılan çal ışmalarda CMV' nün börülce tohumlar ı ile % 4-18 oranında ta şınabildiği, ancak h ıyar tohumlar ı ile yayg ın olarak ta şınmadığı bildirilmektedir (Gibbs, 1970; Richardson, 1990). Ancak, bu çal ışmanın sonuçlarına göre h ıyar tohumlar ında bu etmenin yakla şık % 70 oran ında bulundu ğu belirlenmiştir.

Toros (1973), yaprak bitlerinin bitki virüslerini farkl ı iki ta şıma mekanizmasıyla ta şıdığını bulmu ştur. Vektör taraf ından al ınan virüs, vektör stiletlerinin dış kısmında ve uç bölgede external, mekanik olarak, perzistent olmayan yolla ta şınmaktadır. Ta şınmada etkili di ğer mekanizmada ise vektörün gömlek değiştirmesinden sonra virüslerin tutulabilmesi ve beslenme s ırasında bitki dokular ı içine salg ılanan tükrük salg ısına ilave edilmesi şeklinde olmaktad ır. Buna ba ğlı olarak virüs, vektörü taraf ından internal, biyolojik, perzistent veya sirkülatif olarak da taşınabilmektedir.

Pollard (1973), CMV'nün 80 den fazla, Palukaitis ve ark (1992) 75 den fazla, Kaper ve Waterworth (1981) ise 60'dan fazla yaprak biti türü ile non-persistent olarak taşınabildiğini rapor etmi şlerdir. Yaprak bitleri içerisinde *Myzus persicae*'nın CMV'nün baz ı izolatlar ını *Aphis gossypii* 'den daha etkili ta şıdığı bildirilmi ştir (Tanne ve Zimmernan-Gries, 1980).

Yılmaz (1976), Türkiye'de muzlarda saptanan ve özçürüklü ğüne neden olan iki virülent izolat ın en fazla *A. gossypii* taraf ından, en az oranda ise *M. rosea* tarafından taşındığını, bildirilmiştir.

Ullman ve ark (1991), Havai adalar ında 1988- 1989 y ılları aras ında ticari olarak yetiştirilen kabakgil türlerinden *Momordica charantia, Cucumis dispaceus ve Lagenaria siceraria* 'ne H ıyar Mozay ık Virüsü'nün zarar verdi ğini saptam ışlardır.

Buna ek olarak CMV'nin *Aphis gossypii* ve *Myzus persicae* ile taşındığını ve virüsün yapmış olduğu zararı önlemek için yaprak bitleri ile mücadelenin önemli olduğunu bildirmişlerdir

Devi ve Reddy (1995), *Myzus persicae* (şeftali yaprakbiti) aracılığıyla biber bitkisine, Biber Damar Bantlaşma Virüsü (PVBV) ve CMV'nin taşınmasına karşı, tetracycline hydrochloride, streptomycin sulfate ve chloramphenicol antibiyotiklerini 50, 100 ve 200 ppm oranlarında, yaprak bitine vererek test etmişlerdir. Tetracyclinehydrochloride'in 200 ppm'de kullanılan dozu PVBV'nin vektörle taşınımına karşı en etkili sonucu (% 27.5 oranında) göstermiştir. Bununla beraber streptomycin sulfat vechloramphenicol, CMV taşınmasına karşı PVBV'ye gösterdiğinden daha fazla etki göstermiştir.

Tetragonia expansa bitkisinde potansiyel düzenleyicilerin CMV taşınımı için gerekli olan sistemik infeksiyonun tanımlanması için hibrizidasyon ve immunolojikal çalışmaları yapılmıştır. 36 ºC'de CMV taraf ından *Tetragonia expansa* 'ya sistemik infeksiyon gerçekleştirilmiştir. İnokule edilmiştir yapraklarda 36 ºC'de CMV'nin hücreden hücreye taşınımında 24 ºC'ye göre daha fazla olduğu gözlenlenmiştir. CMV'nin minor damarlarla floem hücrelerinde, epidermal ve mezofil hücrelerde olduğu gibi hem 36 ºC'de hem de 24 ºC'de taşındığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda ise viral etmen floem yoluna girdikten sonra sistemik infeksiyonun Tetragonia expansa'da 36 ºC'de kuruldu ğu sonucuna varılmıştır (Kobori ve ark, 2003).

Erdiller ve Özyanar (1983)' ın Ankara'nın Kalaba semti civarında hıyar ekim alanlarından aldığı klon örneklerde mekanik inokulasyon, serolojik testler ve elektron mikroskobu çalışmalarında Hıyar Mozayik Virüsü (CMV)'nün bulunduğunu saptamışlardır. Araştırmada aynı zamanda CMV'nün hıyar bitkilerinin fizyolojik ve biyokimyasal faaliyetleri üzerindeki etkisi, kontrollü koşullarda yetişen sağlam ve hasta bitkilerin primer yaprakları, inokulasyon ile çiçeklenme başlangıcı arasındaki dönemde periyodik olarak solunum, nişasta, protein, indirgenebilir şeker ve klorofil miktarındaki değişimleri araştırmışlardır. İnokulasyondan sonraki ilk hafta içinde nişasta ve indirgenebilir şeker miktarındaki düşüş, solunumdaki artış ile birlikte bitkilerde bu dönemde hızlı bir glukoz parçalanması olayının gerçekleştiğini ve bol

miktarda serbest enerjinin açığa çıktığını göstermektedir. Buna karşılık ise sağlam salatalık primer yapraklarında sürekli bir şekilde nişasta birikimi meydana geldiğini görmüşlerdir. Bu olayın ise yaprağın giderek yaşlanması nedenine bağlamışlardır. Sonuç olarak solunum, nişasta ve indirgenebilir şeker miktarları arasında bir ilişkinin olduğunu saptamışlardır.

New Jersey'de kabakgil virüs hastalıklarıyla ilgili 3 yıllık çalışma sonucunda virüs hastalıklarına benzer birçok simptom gözlenmiştir. 1983'de WMV daha yaygın olmasına rağmen kabak bitkisinde CMV daha çok hastalık oluşturmaktadır. (Davis, 1986).

Güllü ve Çalı (1994), İçel, Adana ve Hatay illerini kapsayan örtü altı sebze yetiştiriciliğinde viral hastalık problemlerini ortaya koymaya yönelik bir çalışmada; sera ve alçak plastik tünellerde yetiştiriciliği yapılan domates, biber, patlıcan ve hıyar bitkilerini incelemişlerdir. İçel ilinde incelenen seraların % 70'inde, Adana'da örtülü alanların % 28'inde, Hatay'da ise % 40'ında viral hastalık problemlerinin mevcut olduğunu, bunun da örtüaltı sebze yetiştiriciliği açısından önemli bir sorun teşkil ettiğini ortaya çıkarmışlardır. Hasta ve şüpheli bitki örneklerinden yapılan mekanik inokulasyon çalışmaları ile ToMV, CMV, TMV, Domates Çift Çizgi Virüsü (ToMV+PVX) ve Patlıcan Mozayik Virüsü (EMV)'nün örtüaltı sebze yetiştiriciliğini en çok etkileyen virüsler olduğu belirlemişlerdir.

Lübnan'da hıyar yetiştirilen bölgelerde zararlı olan virüs hastalıklarını belirlemek amacıyla yapılan survey çalışmalarında ZYMV ve CABYV virüslerinin en yaygın virüsler olduğu saptanmıştır (Sobh ve ark, 2000).

Hıyar mozayik virüsünün verdiği zarar nedeniyle biber yetiştiriciliği de olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu zararları önlemek amacıyla biber virüsleri biyolojik ve serolojik yöntemlerle tanımlanmıştır. Biber tarımının yoğun olarak yapıldığı Gaziantep ilinin Nurdağı ve İslahiye ilçelerine yapılan arazi çalışmalarında biber yaprakları üzerinde mozayik, damar büzüşmesi, renk açılması, iplik şeklinde yaprak oluşumu, farklı büyüklüklerde klorotik ve nekrotik lokal lezyonlar, bitki boyunda kısalma, meyvelerde belirgin şekilde deformasyonlar, klorotik ve nekrotik lekeler şeklinde simptomlar gözlenmiştir. Bu simptomlara neden olan etmenleri saptamak amacıyla 2001 yılı Ağustos ayında hastalıklı biber bitkilerinden örnekler

alınmıştır. Alınan örnekler laboratuara götürülerek mekanik inokulasyon yöntemiyle otsu test bitkilerine aşılanmıştır. Ayrıca bu örnekler DAS-ELISA ile, TMV, CMV, TSWV, PMMV, virüslerine karşı testlenmiştir. Yapılan testler sonucunda 81 örnekten 33 tanesinin bir veya daha fazla virüsle bulaşık olduğu ortaya konulmuştur. Bu örnekler içerisinde 16 örneğin CMV ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir (Sığırcı ve Özaslan, 2002).

Dursunoğlu ve Ertunç, (2003) Ankara ili ve çevresinde yetiştirilen kabakgillerde görülen ve kabakgillerin en önemli viral hastalıklarından biri olan *Cucumber mosaic cucumovirus* (CMV) izolatlarının serolojik yöntemlerle belirlenmesini amaçlamışlardır. Bu nedenle, Kabakgil ekim alanlarına 2002 yılı Temmuz-Ağustos- Eylül aylarında düzenlenen surveylerde 230 bitki örneği toplanmışlardır. Surveyler virüs benzeri simptomların görüldüğü Ankara iline bağlı en fazla kabakgil ekimi yapılan Ayaş, Beypazarı, Çubuk, Nallıhan, Haymana, Kalecik, Kazan, Polatlı, Sincan ve Şereflikoçhisar ilçelerine düzenlenmiş ve izolatlar buralardan elde edilmiştir. Örnekler konukçu bitkilere mekaniksel olarak aşılanmış ayrıca serolojik yöntemlerden DAS-ELISA yöntemi uygulanmıştır. CMV izolatları serolojik olarak belirlenmiştir. Araştırma sonucunda toplam 230 örnekten, Nallıhan'dan temin edilen izolatların 7 tanesi CMV alt grup-I olarak tespit edilmiştir. Diğer örneklerden ise herhangi bir sonuç elde edilememiştir.

2003 yılında Şanlıurfa merkez ve ilçelerinde yetiştirilen biberlerde zarar yapan Hıyar Mozayik Virüsü (CMV)'nün bulaşıklılık oranını tespit etmek amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada biber bitkisinin çiçek döneminde ve hasat döneminde olmak üzere iki kez örnekleme yapılmıştır. Çalışma sonucunda simptomotolojik olarak CMV ile bulaşıklık oranı I. Surveyde Şanlıurfa Merkez'de %6.00, Akçakale'de %1.33, Birecik'te %18.33, Bozova'da %6.83, Ceylanpınar'da %17.83, Harran'da %1.66, Suruç'da %11.66 ve Viranşehir'de %12.16 oranında saptanmıştır. CMV bulaşıklılık oranı II. Surveyde ise Şanlıurfa Merkez'de %23.25, Akçakale'de %9.00, Birecik'te %79.66, Bozova'da %28.00, Ceylanpınar'da %62.50, Harran'da %6.33, Suruç'da %46.33 ve Viranşehir'de %55.83 oranında belirlenmiştir. Bulaşık bitkilerin, Hıyar Mozayik Virüsü için ELISA ile testlenmesi sonucunda I. Surveydeki örneklerin genel bulaşıklılık oranı %47, II. Surveydeki örneklerin

bulaşıklılık oranı ise %76 olarak belirlenmi ştir. CMV virüsünün yayg ınlığı bölgede ilk olarak bu çalışmayla ortaya konmuştur (Ünlü ve Güldür, 2004).

Erkan ve ark (2004)'n ın 2000-2001 y ıllarında yapm ış olduklar ı çal ışmada çeşitli tohum firmalar ından toplanan h ıyar, kabak, ve kabak tohum örneklerinde bulunması olas ı viral etmenlerin varl ığını Elisa yöntemi ile ara ştırılmışlar ve çalışmanın sonucunda hıyar tohum örneklerinin % 36,8' inde, kabak ve kavun tohum örneklerinin %18,5'inde CMV'nin varl ığını belirlemi şlerdir. H ıyar tohum örneklerinde CGMMV' nün bulunma oran ı % 36,8 iken kabak tohum örneklerinde SqMV' nün bulunma oran ı % 18,5 olarak saptanm ıştır. TRSV' nün sadece 1 kavun tohumu örneğinde bulunduğu belirlenmiştir

Nogano ve ark, (1999), RNA-3 üzerinde farkl ı uçlarda kodlanmış olan, 2a, 3a proteinleri ve kılıf proteinlerinin birbirileri ile olan uyum ilişkisinin virüsün hücreden hücreye hareketinden sorumlu oldu ğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte Gal-On ve ark (1994)'n ın Fny-CMV ve Syn-CMV ırkları ile enfekteli bitkilerde bu ırkların 2a, 3a proteinleri ve k ılıf proteinlerini kodlayan genleri ve bu ırkların olu şturduğu sistemik simptomlar üzerinde yapt ıkları ara ştırmaları, sistemik simptom geli şim hızının virüsün ço ğalma h ızından daha çok hareket proteinlerinin ço ğalma h ızı ile ilişkili olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Satellit RNA'lerin CMV üzerindeki etkisi ile ilgili olarak 1995 y ılında yapılan çal ışmada satellit RNA'in patl ıcangiller ve kabakgiller familyas ına ait bitkilerde CMV'nün miktar ını etkiledi ği sonucu ortaya ç ıkmıştır. Satellit RNA'in bulunmadığı durumda her iki konukçuda son inokulasyondan 7 gün sonra CMV-Fny ve CMV-Sny ırklarının RNA'lerinin birikim seviyelerinin birbirine yakla şık olduğu, 14 gün sonra CMV-Fny RNA'lerinin daha az oldu ğu, CMV-Sny birikiminin sadece tütünde CMV-Fny den daha yüksek oldu ğu bildirilmiştir. Satellit RNA'lerin varl ığı durumunda tütün ve kabakta inokulasyondan 7 gün sonra CMV-Fny ırkının RNA-1, RNA-2 ve protein ço ğalmasının olumsuz yönde etkilendi ği, ancak CMV-Sny ırkını etkilenmediği bildirilmiş olup 14 gün sonra CMV-Fny RNA'leri ve proteinleri her iki konukçuda azalm ış, tütünde CMV-Sny ırkının RNA-1 ve RNA-2' si azalm ış fakat kabakta etki saptanamam ıştır. CMV-Sny ırkı kabakta satellit RNA'i desteklememektedir (Gal-on ve ark, 1995). Çal ışmalar satellit RNA'lerin virüsün

ırklarına ve konukçuya göre de ğişmek üzere virüsün bitkideki ço ğalma miktar ını etkilediği fikrini ortaya koymaktadır..

WMV-2, ZYMV ve CMV'nin zay ıf izolatlar ı ile h ıyar bitkileri çoklu inokulasyona tabii tutulmu ştur. 1994-1995 y ıllarında bu virüslerin tarla denemelerinde birçok epidemik ko şullar alt ında virülent ırklar taraf ından mix infeksiyon oldu ğu zaman önceden a şılanan zay ıf ırkların neden oldu ğu cross-protection ile verim kaybındaki azalışlar sınırlandırılmıştır. Bu koruyucu inokulasyon aşılı h ıyar bitkilerini viral solgunluk sendromundan korumu ştur. Bitkiye virüslerin sadece 3 virülent ırkı aşılandığı zaman sarı mozaik simptomları ve meyve veriminde %15 azalışa neden olmuştur (Kosaka ve Fukunishi, 1997).

Suzuki ve ark (1991)'n ın RNA-3'ün görevi ile ilgili olarak yapm ış oldukları çalışmada CMV-Y ırkının RNA-1, RNA-2 ve RNA-3'ün bütün kopyas ını modifiye edilmiş T7 promotor geni ile cDNA olarak klonlam ışlardır. Genleri 5' ucuna yak ın bölgedeki bu ekstra küçük viral olmayan nükleotitler RNA–1 ve RNA-2'nin infektivitesini azaltmış fakat RNA-3'ü etkilememiştir. RNA–3'ün 3a proteini ve k ılıf proteinin kodlandığı bölgelerinide içine alacak şekilde RNA-3'ün bütün genomundan çeşitli cDNA mutantlar ı elde edilmi ş ve RNA–1 ve RNA–2 ile birlikte tütün bitkilerine aktar ılmıştır. Bu mutantlar bitkide sistemik simptom olu şturmamıştır. RNA-3'ün N-terminal ucunda k ılıf protein bölgesinde küçük de ğişiklik yap ılan bir mutant bakla'da lokal lezyon, tütünde lokal klorotik lekeler şeklinde simptom oluşturmuştur. Bu çal ışmanın sonucunda 3a proteini ve k ılıf proteininin CMV'nün bitki içerisinde uzun mesafelerde hareketini sa ğladığını ortaya koymu şlardır. Ayn ı şekilde Canto ve ark (1997), RNA-3 üzerindeki küçük modifikasyonlar ın bitkilerde sistemik mozaik simptomu oluşumunu gerçekleştiremediklerini bildirmişlerdir.

CMV'nün k ılıf proteinini kodlayan genin fonksiyonlar ı üzerinde Perry ve arkadaşlarının 1994 y ılında yapm ış olduklar ı çal ışmada virüsün Fny-CMV ve M-CMV ırklarını kullanarak *Aphis gossypii* ile ta şıma denemesi yapm ışlardır. Bu çalışma sonucunda k ılıf protein geni üzerindeki genetik de ğişikliklerin virüsün yaprak biti ile ta şınmasını etkiledi ğini ve k ılıf protein geninin vektör böceklerle taşınmayı belirledi ğini rapor etmi şlerdir (Perry ve ark, 1994). Peryy ve ark (1998), tarafından yap ılmış ba şka bir çal ışmada yaprak biti ile ta şınan Fny-CMV ırkı ile

yaprak biti ile çok zay ıf olarak ta şınan M-CMV ırkının k ılıf proteinini kodlayan genlerde bazı genetik farklılıklar olduğunu saptamışlardır.

1994 y ılında Gürcistan'da CMV 'nün yeni bir tohum kökenli ırkının oldu ğu saptanmıştır. Tütünde simptom gösteren bu ırk CMV-Csb olarak isimlendirilmi ştir (Gillaspie ve ark,1998).CMV 'nün 2 alt grubundan Trk 7 ırkının genomic RNA arasında infekteli cDNA genomunun varlığı tespit edilmiştir (Perry ve ark., 1998).

Hsu ve ark 2000, CMV izolatlar ından 1. ve 2. grubu immugen kar ışım yaparak kullanm ışlardır. 20 fare hibridoma hücresi dondurularak gizli monoklonal antibodiler üretmişlerdir. Bu metod CMV izolatlar ının alt gruplar ının etkili tespit ve doğrulanmada geli ştirilen bir yöntemdir. CMV'nün 2 tane iyi karakterize edilmi ş ırkıyla beraber di ğer cucumovirüsler ve alt gruplar ın spesifik epitoplar ının varl ığı ispatlanmıştır. Dünyanın çeşitli kısımlarından toplanan yeni CMV izolatlarının analiz edilen 109 tanesinin %70' i alt grup-1, %20 si ise alt grup-2 olarak tan ımlanmıştır. Alt grup-2 izolatlar ında antijenik çe şitliliğin alt grup-1 izolatlar ına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Owens ve Kaper (1977), yapt ıkları çal ışmalarda CARNA5 (cucumber mosaic virus-associated RNA–5)'in iki adet dü şük molekül a ğırlığına sahip polipeptid kodladığını ve bu polipeptidlerle domateslerde ortaya ç ıkan letal nekrotik hastal ığı ile alakal ı oldu ğunu rapor etmi şlerdir. Bu çal ışmaya ek olarak Collmer ve Kaper (1985), CMV'nün RNA-3 ve RNA-4'ün 3' uçlar ında satellit RNA olarak isimlendirdikler CARNA-5 saptamışlardır.

CMV satellite RNA'ler fizyolojik ve biyolojik aktiviteleri yönünden RNA–5 (CARNA 5) ile benzerlik göstermektedir (Moosop ve Francki, 1978; Kaper ve Tousignant, 1977). Buna ra ğmen satellit RNA'den farkl ı olarak CARNA–5 domateslerde şiddetli bir nekrotik hastal ığa neden olur. Satellit RNA ve CARNA-5, CMV ve TAV ile birlikte inokule edildi ği zaman domateslerde sadece simptom şiddetinin artt ırılmasına sebep olmay ıp, baz ı zamanlar iyile ştirici aktivitesi de bulunmaktadır. Bu iki RNA biyolojik aktivitelerindeki farkl ılığın RNA'lerin primer yapılarındaki bazı farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür. (Moosop ve Francki, 1979).

Takanami (1981), tütünde parlak sar ılık simptomu olu şturan CMV'ünde büyük molekül a ğırlığına sahip Satellit RNA bulmu ştur. Bu satellit RNA'ler izole edilmiş daha sonra satellit RNA bulundurmayan ve ye şil mozaik simptomuna sebep olan CMV ile kar ışık olarak tütün bitkilerine inokule edildi ğinde bütün bitkilerde parlak sarılık simptomu ortaya çıkmıştır. Burada parlak sarılık simptomunun satellit RNA tarafından oluşturulduğu sonucuna varmıştır.

Satellit RNA'lerin do ğada az oranda farkl ı baz dizilimine sahip çe şitlerinin bulunduğunu ve bu küçük farkl ılığın patojenite üzerinde olumsuz etkilerinin olabileceğini ve bu farkl ı satellit RNA'lerin kendi yard ımcı virüslerinin kontrolünde kullanılabileceği Moriones ve ark (1991), taraf ından bildirilmiştir. (Garcia-Arenal ve ark (1987), do ğada genetik olarak çok küçük farl ılıklarda satellit RNA'lerin bulunduğunu ve küçük genetik farkl ılıkların farkl ı konukçularda CMV-satRNA'ler üzerinde çok büyük etkilerinin olabileceğini rapor etmişlerdir.

Kaliforniya' da yap ılmış bir çal ışmada Daniels ve Campbell (1992), 30 tane Hıyar Mozay ık Virüsü izolat ını CMV-1 ve CMV-2 olmak üzere serolojik özelliklerine göre iki gurup alt ında toplam ışlardır. Ara ştırıcılar bu izolatlar ın konukçu dizisini, konukçu-virüs ili şkilerini, serolojik özelliklerini ve Polyacryamide gel electrophoresis yöntemi ile viral kılıf proteinlerinin molekül ağırlıklarını ayrı ayrı saptamışlardır. Aynı araştırıcılar, CMV-1' in dsRNA'lar ı göz önünde tutarak CMV-1a ve CMV-1b olmak üzere iki guruba ay ırmışlardır. Bunlar ında RNA-5, tahminen satellit RNA içerdiğini ortaya koymuşlardır.

CMV'nün baz ı ırkları RNA–5 olarak isimlendirilen be şinci bir RNA'a sahiptir. Bu gen RNA-1 ve RNA-2 gibi genomik RNA' lerin 3' ucunda düzensiz olarak 300 nükleotidden oluşan RNA-5 bulundurmaktadır (Galitelli, 2000).

Genomik ve subgenomik RNA'lere ek olarak CMV'nün baz ı ırkları çoğalması ve yay ılması için tamamen viral genoma ba ğımlı ve satellit RNA (sat-RNA) şeklinde isimlendirilen küçük RNA'lere sahiptirler. Satellit RNA'ler herhangi bir temel fonksiyonu ile yardımcı virüsü desteklemezler. Ancak bazı satellit RNA'ler CMV tarafından bitki içerisinde sistemik olarak ta şınırlar (Bernal ve Garcia-Arenal, 1994). Bilinen CMV satellit RNA'ler 335-405 nt' den olu şur ve fonksiyonel olarak görünüşte herhangi bir okunabilir bölge (ORF) içermezler. Bu RNA'ler do ğada çok

çeşitli varyantlara sahiptirler ve bazen yard ımcı virüsün neden oldu ğu hastal ığın şiddetini arttırabilir veya azaltabilirler (Galitelli, 2000).

CMV, genomik RNA'leri üzerindeki genetik yap ılarına ve baz dizilimi benzerliklerine göre alt grup I (WT) ve alt grup II (S) (Galitelli, 1998) diye iki alt grubda toplanm ıştır. Yap ılan surveyler sonucunda do ğada CMV izolatlar ının %70'inin alt grup I'e, %20'sinin de alt grup II' ye ait oldu ğu saptanm ıştır (Hsu ve ark., 2000).CMV partikülleri ve bütün genomik RNA'leri virüsün do ğada var olan farklı izolatlarının sınıflandırılmasında kullanılabilmektedir (Hsu ve ark., 2000).

Farklı RNA'ler üzerindeki 3 ORF' nin hepsinin CMV'nün alt gruplandırılmasını açıklamadığını ve hepsinin kullanılamayacağını, genlerin evrimsel gelişiminde 1a ve 3a proteinlerini kodlayan ORF' lerin çok daha yo ğun oldu ğu ve virisün filogenetik s ınıflandırılmasında 2a proteini ve k ılıf proteinin kodland ığı ORF'ler kadar rol alamadığını rapor edilmiştir (Rossinck, 2002)

Satellit RNA'ler; a)-Daha küçük molekül a ğırlığında (yakla şık 200-250 K) messenger olmayan ipliksi moleküller (Tombusvirüs ve Carmovirüs satellitleri), b)-Dahada küçük molekül a ğırlığında (yakla şık 150 K) ipliksi yada sarmal yap ıda messenger olmayan moleküller (Cucumovirüs, Nepovirüs ne Sobemovirüs satellitleri), c)-Yap ısal olmayan ve fonksiyonlar ı bilinmeyen proteinleri kodlayan büyük molekül a ğırlığına sahip (yakla şık 500K) ipliksi, tek parçal ı messenger moleküller (Nepovirüs satellitleri), olmak üzere do ğada üç tipte bulunmaktad ır (Martelli, 2003a).

Kabakgillerde yayg ın ve dünya genelinde önemli olan bir di ğer virüs de Zucchini YelIow Mosaic Virus (ZYMV)'tür. İlk olarak *Cucurbita pepo'da* İtalya'da Lisa ve ark (1981) tarafından rapor edilmiştir.

ZYMV, Türkiye'de ilk olarak 1984 y ılında Davis ve Y ılmaz taraf ından saptanmış ve daha sonra kabakgillerde ekonomik olarak önemli kay ıplara neden olan en yayg ın virüslerden biri oldu ğu bildirilmi ştir. Yap ılan survey çal ışmalarında ELISA testi ile testlenen 75 örne ğin 58 tanesinde ZYMV infeksiyonu saptanm ıştır (Yılmaz ve ark, 1992; Y ılmaz ve ark, 1994). Daha sonra, Fransa'da bu virüsün zay ıf bir izolat ı bulunmu ş (Lecoq ve ark., 1991) ve ülkemizde de ZYMV ile mücadele amacıyla cross -protection çalışmalarında kullanılmıştır (Yılmaz ve ark.,1994).

ZYMV, ipliksi yapıda olup 750 nm uzunlukta ve 11 nm genişlikte bir virüstür. Virionlar % 4.5- 7 oranında nükleik asit ve % 93- 95.5 oranında protein içermektedir. Genom parçaları tek iplikli doğrusal RNA' den meydana gelmektedir ve toplam genom büyüklüğü 9 kb'dır. Genom bölmesiz ve en büyük genom parçası 9 kb'dır (Brunt ve ark, 1996).

Stobbs ve Van Schagen (1990), Ontorio' da *Cucımıis sativus* bitkilerinin %80'inde meyve ve yapraklarda bozulma, sararma ve şiddetli mozaiklerin olduğunu, partikül morfolojisi, konukçu yoğunluğu, taşınma şekli ve serolojisi gözönünde bulundurulduğunda, virüsün ZYMV olduğunu ortaya koymuşlardır.

ZYMV bir potivirüs grup üyesi olup, mekanik inokulasyon ve non-persistent yolla yaprak bitleri ile taşınmaktadır. Bitki gelişiminde gerilemeye, sarı mozaiklere, yapraklarda bükülmeye, yaprak şeklinde bozunmaya ve meyvede şekil bozukluğuna neden olmaktadır.(Lisa et a., 1981; Yılmaz et al, 1994; Zitter et al,1996)

ZYMV, kabakgil ürünlerinde, bodurluk, klorosis, deformasyon ve çiçek azalışına neden olmuştur ve bu azalış verim kaybını doğurmuştur. Bir kavun çeşidi olan Cantoloupe 'de vejetasyon ve erken çiçeklenme aşamasında ZYMV ile inokule olduğu zaman %76-94 oranında meyve kaybına neden olmuştur (Blua ve Perring, 1989).

Meyve ve yapraklarda şiddetli deformasyon şeklinde simptomlara neden olan bu virüs hastalığından dolayı, bazı ülkelerde %80 ve daha fazla oranlarda ürün kayıpları meydana gelmiş ve kabakgil üretimi sınırlanmıştır (Al-Shahwan, 1990; Stobbs ve Van Schagen, 1990).

ZYMV, *Cucumis sativus* , *Cucumis. melo, Cucurbita pepo, Cucurbita. moschata* indikatör bitkileri üzerinde lokal lezyon ve latent infeksiyonlara neden olmaktadır. *Chenopodium amaranticolour* ve *Chenopodium quinoa* bitkilerinde lokal lezyonlara, *Sesamum indicum* 'da mekanik inokulasyon ile bulaştırılmış ZYMV, mozayik ve deformasyon simptomlarına neden olmaktadır (Brunt ve ark, 1996).

ZYMV, diğer potyvirüslerde olduğu gibi yaprak bitleri ile non-persistent olarak taşınmaktadır (Lisa ve ark., 1981; Lecoq ve ark., 1991). *Myzus persicae* ve *Aphis gossypii* ZYMV'nin en önemli vektörleri olarak bildirilmiştir (Lisa ve Lecoq, 1984; Purcifull ve ark.,1984; Castle ve ark., 1992). Bunlardan başka *Macrosiphum*

euphorbiae, *Aphis citricola* , *Aphis craccivora* , *Aphis spiraecola* ve *Acyrthosiphon pissum*' da ZYMV' nü değişik oranlarda taşımaktadır (Adlertz,1987).

ZYMV yedi familyadan onbe ş otsu bitkiye mekanik olarak aktar ılmış ve yazlık kabak, kantolop kavunu ve karpuzda şiddetli simptomlara neden olmu ştur. Virüsün non-persistent olarak *Myzus persicae* ile taşındığı tespit edilerek *Cucurbita pepo'dan* purifiye edilmi ştir. Virüsün molekül a ğırlığının $3x10^{-6}$ Dalton oldu ğu ve SDS-polyacrylamide *jell* içerisinde viral proteinin üst elektroforezinde proteinin tek bandı olarak elde edilen k ısmın molekül a ğırlığı $3.6x10^{-4}$ Dalton oldu ğu rapor edilmiştir (Lisa ve ark.,1981).

İki farklı yaprak bitinin *(Aphis gossypii* ve *A. craccivora)* ZYMV' ünü taşıma etkinliği Yuan ve Ullman (1996) tarafından laboratuar ko şullarında tek yaprakbitinin sıra ile hastal ıklı bitkiye, daha sonra da 4 sa ğlıklı kabak bitkisine b ırakılması ile ölçülmüştür. Bireysel olarak *A. craccivora* kabakta koloni olu şturmazken, koloni oluşturan *A. gossypii'* den daha yüksek oranda virüsün ta şınmasında etkili olmu ştur. Sonuçta *A. craccivora* yüksek bir ta şıma e ğilimi gösterirken (% 52.77), *A. gossypii* (% 11.73) daha dü şük bir ta şıma e ğilimi göstermi ştir. Yaprak bitlerinde kolonileşmenin olmamas ının potansiyel *önemi* yüksek ışık aramaları nedeniyle non-persistent virüslerin epidemiyolojisi içinde ta şıyıcı vektör türlerin virüsleri taşımasıdır. Buna neden olarak *A. craccicvora* ' n ın *A. gossypii'ye* göre daha fazla bitkide yayılım gösterdiği bildirilmiştir.

Castle ve ark (1992), yapt ıkları çal ışmada ZYMV'nün çe şitli yaprakbiti vektörlerle taşınma oranını belirlemek amac ıyla bir çalışma yapmışlardır. Laboratuar çalışmaları sonucunda *Myzus persicae* % 41, *Acyrthosiphon pis ım* % 40, *Aphis gossypii'nin* % 35 oranlar ında virüsü ta şıdığı, benzer bir çal ışmada *Acyrthosiphon kondoi, Lipaphis erysimi* ve *Aphis spiraecola'n ın* ZYMV'yi % 10'dan daha az bir oranda ta şıdığını, arazide yap ılan testlemelerin ise daha yüksek oranda virüsü taşıdığını rapor etmişlerdir.

ZYMV potyvirüsünün Aphis gossypii ve A.craccivora ile ta şınımında vektör etkinliğini belirlemek amac ıyla çal ışmalar yap ılmıştır. Bu çal ışmalar sonucunda A.craccivora'nın %52.77 oranıyla ZYMV' nün taşınımında A.gossypii'ye karşı daha etkili olduğu belirlenmiştir (Yuan ve Ullman, 1996).

ZYMV Macaristan'da son birkaç yılda kabakgillerde zararlı en önemli patojen olarak ortaya çıkmıştır. Macaristan izolatı yüksek oranda biyolojik çeşitlilik göstermekte,coat proteinin N-terminal bölgesinde spesifik nükleotid ve aminoasit dizilimine sahip olmakta ve filogenetik ağacının farklı bir bölümünü oluşturmaktadır. Virüs tarla koşullarında oldukça yaygın bir şekilde birçok yaprak biti türü ile non-persistent yolla taşınmaktadır. *Cucurbita pepo* (L) var *styriaca* kabak çeşidinde çok düşük bir miktarda da olsa ZYMV tohumla taşınmaktadır. Tohum taşınımında testlenerek analiz edilen 3 izolat seçilmiş ve onların coat-proteinlerindeki nükleotid dizilimi ZYMV' nün kullanılır coat-protein nükleotid dizilimi ile karşılaştırılmıştır. Bu nükleotid dizilim analizlerine göre Macaristan izolatı filogenetik a ğacın merkez Avrupa bölümü ile bağlantılıdır. ZYMV' nün Avusturya ve Slovenya izolatı ile birlikte sadece Macaristan izolatına karakteristik olan 16,17,27 ve 37 konumundaki spesifik aminoasitleri paylaşmaktadır (Tobias ve Palcovics, 2002).

Desbiez ve ark (1996), Martinique adasında farklı bölgelerden, farklı konukçular üzerinde 14 tane ZYMV izolatı toplamışlar ve bunlar arasında biyolojik ve serolojik olarak çok belirgin farklar oldu ğunu saptamışlardır. Araştırıcılar, 1992 yılına kadar adada ZYMV epidemisinin gözlenmedi ğini, en azından virüsün meydana getirdiği tipik simptomlara rastlanmadığını ve bu izolatların adaya tohum veya infekteli bitki materyalleriyle veya vektörler yoluyla girmiş olabilece ğini bildirmişlerdir

Cohen ve Nitzany (1963), Israil' de cross-protection, böcek vektörleri, fiziksel yapısı ve konukçu dizisi ile ilgili kabakgillerde zararlı virüslerle ilgili yaptıkları çalışmalarda Bottle-gourd Mosaic Virus, Cucumber Mosaic Virus, Melon Mosaic Virus, Squash Mosaic Virus, Squirting Cucumber Mosaic Virus olmak üzere 5 virüsün tanımını yapmışlardır.

Brunt ve ark. (1996), Tucson, Arizona yakınlarındaki germplazm üretim merkezlerinde yetiştirilen kabak çeşitlerinden alınan ve seralara konulan bitkilerden 5 ayrı virüs izole etmişlerdir. Daha sonra bu virüslerin tek ve karışık infeksiyonlarının konukçu bitkilerde oluşturduğu simptomları arazi koşullarında yetişen bitkilerdeki simptomlarla karşılaştırmışlardır. Araştırıcılar ayrıca mekanik yolla taşınması, vektörle taşınması, partikül yapıları, konukçu dizilimleri ve serolojik

özellikleri gözönünde tutarak bu virüslerin birbirilerinden farklı olduklarını saptamışlardır. Hıyar Mozayik Virüsü, Watermelon Mosaic Virüs-1, SqMV-2, Watermelon Curly Mottle Virüsleri mekanik olarak taşınmaktadır. Lactuce İnfectious Yellows Virus'u mekanik olarak taşınmamakta sadece beyaz sinekle taşınmaktadır. Bu virüsler kabakgilleri infekte ettiği gibi Buffalo gourd'u da doğal olarak infekte edebilmektedir.

Bostan ve ark (2000), Erzurum, Erzincan ve Artvin illerinde kabakgillerdeki viral etmenleri belirlemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada Erzurum'dan 48, Erzincan'dan 24 ve Artvin'den 18 olmak üzere Haziran ve Ağustos aylarında virüslere özgü simptom gösteren bitkilerden 90 adet yaprak örneği toplamışlardır. Alınan yaprak örneklerini Hıyar Mozaik Virüsü (CMV) ve Kabak Sarı Mozaik Virüs (ZYMV)'ne ait spesifik DAS-ELISA kitleri ile testlenmişlerdir. ELISA sonucunda örneklerin tamamının ZYMV ile infekteli olduğu belirtilirken CMV saptanamamıştır. Çalışmada hastalık seyrinin ekim alanından ekim alanına, yıldan yıla değişim gösterdiği ve yıl içerisinde hastalıklı bitki sayısında artışların olduğu gözlenmiştir.

Ioannou ve ark (2005), Kıbrıs' ta yapmış oldukları çalışmada kabakgil bitkileri üzerinde etkili olan virüslerin varlığını ve yaygınlığını saptamak amacıyla kabakgil yetiştiriciliği yapılan 5 ana bölgeden hıyar, kabak, kavun ve karpuz bitkisinden oluşan 2993 adet örnek toplamışlardır. Toplanan bu 2993 adet örneği ZYMV (*Zucchini yellow mosaic virus*), CMV (*Cucumber mosaic virüs*), SqMV (*Squash mosaic virüs*), WMV (*Watermelon mosaic virüs*), PRSW-V (*Papaya ringstop virüs type W*) ve CABYV (*Cucurbite aphid-borne yellows virüs* 'nü ELISA yöntemi ile testlenmiştir. CYSDV *(Cucurbite yellow stunting disorder virüs), BPYV (Beet pseuda-yellows virüs) ve CVYV (Cucumber vein yellowing virüs)* için ise RT-PCR yapmışlardır. Sonuç olarak testlenen tüm virüsler içinde %45'lik bir oranla ZYMV'nin en yaygın virüs olduğunu saptamışlardır. ZYMV'yi sırası ile % 20.8 ile PRSV-W, %20.8 ile CABYV ve %7.8 oranı ile WMV izlemiştir. CYSDV birçok serada sararma simptomu gösteren hıyar örneklerinde % 88.1 oranında, BPYV % 2.4 oranında ve CVYV ise %9.5 oranında tespit edilmiştir. Ancak CMV ve SqMV bu çalışma boyunca herhangi bir kabakgil bitkisinde tespit edilememiştir.

Türkiye'de 1999-2000 yıllarında Samsun ilinde Temmuz-Ekim aylarını

arasında 18 köyde,45 tarlada kabakgil virüslerini ortaya koymak ve oranlarını saptamak amacıyla survey çalışması yapılmıştır. Survey çıkışlarında toplanan 165 adet örnek ELISA ile testlenmiştir. Sonuç olarak ise ZYMV(*Zucchini yellow mosaic virus*), CMV (*Cucumber mosaic virüs*) ve WMV (*Watermelon mosaic virüs*)'nün varlığı saptanmıştır. %53.9 oranında WMV, %38.8 oranında ZYMV ve %20.6 oranında CMV tespit edilmiştir. ZYMV ve WMV testlenen tüm kabakgil türlerinde saptanırken, CMV karpuz ve balkabağında saptanamamıştır (Şevik ve Sökmen, 2003)

Hatay ilinin farklı yörelerinden,2003 yılında yazlık kabak *(Cıeıırbita pepo),* kışlık kabaklar *(Cucurbita maxima ve* C. *moschata),* kavun *(Cıucumis meto)* ve hıyar *(Cıcuımis sativ ıs)* bitkilerinden simptom gösteren yaprak ve meyve örnekleri toplanmıştır. Tarla koşullarında doğal enfekteli bitkilerde şiddetli mozaik lekeler, sararma, uç sürgünlerdeki yapraklarda ayakkabı tabanı görünümü, bodurlaşma ve meyvelerde şekil bozukluğu gibi belirtiler gözlenmiştir. Simptomlu bitkiler ELlSA ile testlenmiştir. Şiddetli simptom gösteren meyvelerden çıkarılan tohumlar çimlendirilerek her bir çeşitten 100'er fide ELlSA ile testlenmiş, 200'er bitkide simptom gözlemleri yapılmıştır. Tohumlardan %86-94 oranında bitki elde edilmiştir. Özellikle C. *pepo* ve C. *maxima* fidelerinde %2-3 oranında genel kloroz, bodurlaşma ve yaprak deformasyomı gözlenmiş, ELlSA sonucunda tohumlarından elde edilen fidelerin hiç birinde ZYMV belirlenmemiştir. Şiddetli simptom sergileyen C. *sativıus* örneklerinin hiç birinde ZYMV belirlenememiştir. Şiddetli simptoım gösteren C. *pepo* yapraklarından elde edilen özsu ile biyolojik testlerle çalışmaları yapılmıştır. Mekanik inokulasyondan iki hafta sonra değişik test bitkilerinde ZYMV'ye özgü simptomlar gözlenmiştir. ELISA sonucunda ZYMV ile enfekteli olduğu belirlenen C. *pepo* bitkileri üzerinde 7 gün süre ile beslenen *Myzus persicae* bireyleri l0'arlı gruplar halinde sağlıklı C. *pepo* fideleri üzerinde aktarılarak 3 gün süre ile tutulmuştur. Afitle taşıma çalışmalarında kullanılan test bitkilerinde üç hafta içerisinde yapraklarda klorotik ve mozaik lekelenmeler, şekil bozukluğu, bodurlaşma ve fide ölümleri gibi belirtiler ortaya çıkmıştır. Hatay ilinde ZYMV'nin farklı kabakgil türlerine doğal taşınma oranlarıile ilgili çalışmalar devam etmektedir (Sertkaya ve ark, 2004).

ZYMV Macaristan'da ilk kez 1996 yılında hıyar bitkisinden izole edilmiştir. Şimdi ise kabakgil bitkilerinde yaygın bir biçimde yok edici epidemilere neden olmaktadır. 1995- 1999 yılları arasında farklı kabakgil bitkilerinden seçilen 4 izolatın kılıf proteini üzerindeki N-terminal bölgesinin çeşitliliği üzerine çalışılmış ve çalışma sonunda Macaristan izolatlarının diğer coğrafi kökenli izolarlardan daha az moleküler çeşitlilik gösterdikleri ve ortak atlarında belirtilen izolatlar gibi sadece kendilerine özgü spesifik aminoasit dizilimine sahip olduklarını saptanmıştır (Tobias ve ark, 1998).

Sidek ve ark (1999), ZYMV' nin iki Malezya izolatını izole ettiklerini, bunların konukçu bitkiler üzerinde çok az farklılıklar gösterdiğini, kılıf proteini nükleotidlerini ve amino asit dizilimlerini mukayese ettiklerinde, kılıf proteininin 9. ve 32. amino asitlerinde fark olduğunu saptamışlardır.

Purcifull ve ark (1984), 39 bitki örneği ile çalışmışlar ve değişik virüslere karşı SDS- İmmunodiffision testleri ile testlemişlerdir. Sonuçlar virüsün İtalya'da bulunan ZYMV ile serolojik olarak çok yakın olduğunu ve ZYMV ile serolojik ve simptomatolojik olarak benzer olan virüs izolatlarının 1982'de Florida'nın kuzey ve güney kısımlarında 6 bölgede bulunduğunu bildirmişlerdir.

Fransa'da belirlenen ZYMV zayıf ırk (ZYMV-WK) Taiwan, Connecticut, Florida ve Fransa'da elde edilen 4 şiddetli ırka karşı kabakgil bitkilerinde sera koşulları altında karşılıklı koruma için kullanılmıştır. ZYMV-WK, diğer *şiddetli* ırklara nazaran Fransa ırkına karşı daha fazla koruma sağlamış ve pazarlanabilir ürün miktarının ılımlı koşullardan 2.2 kat, yüksek hastalık baskısı altında olanlardan ise 40 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. 1988-1989 yıllarında Fransa'daki arazi denemelerinde ZYMV-WK'in yoğun hastalık baskısı altındaki yazlık kabağı ZYMV' den koruma etkinliği ispat edilmiş, karşılıklı koruma uygulanan alanlardaki pazarlanahilir meyve miktarındaki artışın uygulamanın yapılmadığı alanlardan 14.7 kez daha fazla olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 1991 ; Lecoq ve ark., 1991).

Benzer bir *diğer* çalışmada ise Connecticut (CT), Florida (FL), Fransa (WK), ve Taiwan'dan (TW) ZYMV'nin 4 farklı ırkı karekterize edilmiştir. Bunların konukçu dizisi benzer bulunmuş, fakat bulaşma özelliklerinde farklılık görülmüştür. Ayrıca *Myzus persicae* ve *Aphis gossypii'* nin ZYMV-CT, ZYMV-FL ve ZYMV-TW'i

taşıdığı fakat ZYMV-WK ırkını taşımadığı rapor edilmiştir (Wang ve ark.,1992).

Fransa'daki ZYMV' nün dayanıklı ırklarından seçilen ZYMV-WK Taiwan'daki kabakgil ürünlerinin cross-protection testlerinde kullanılmıştır. Sera koşullarında ZYMV-WK ırkının Connecticut, Florida, Fransa ve Taiwan olmak üzere 4 dayanıklı ırka karşı hıyar, kavun ve kabakta koruma sağladığı tespit edilmiştir. Yüksek hastalık baskısı altında yapılan iki tarla denemesinde ise, ZYMV-WK'nin Taiwan ırkına karşı mükemmel bir cross-protection sağladığı belirlenmiştir (Prieto ve ark, 2001).

Prieto ve ark (2001), ZYMV'nün Şili izolatının 740 nm ipliksi partiküllere sahip olduğunu, kılıf proteininin yaklaşık 36 kDa ağırlığında olduğunu ve kılıf proteininin 3' geninin Connecticut ve Kaliforniya ırkları ile yüksek oranda benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Değirmencioğlu ve Güldür'ün 2000- 2001 yılları arasında yürütmüş oldukları çalışmada sera şartlarında kabak sarı mozayik virüsü (ZYMV)' nün şiddetli ırkının hıyar bitkisi üzerinde zararının zayıf ırk olan ZYMV-WK ile kontrolü 2003- 2004 yılları arasında denenmiştir. Çalışma sonucunda, karşılıklı korumanın uygulandığı parsellerde simptom şiddeti 0- 5 arasında yoğunlaşırken uygulamanın yapılmadığı parsellerde 4- 9 arasında yoğunlaşmıştır. ZYMV-WK ile bulaşık A uygulamasından ZYMV ile bulaşık C uygulamasının 7 katı pazarlanabilir ürün alınmıştır. Karşılıklı korumanın uygulandığı B uygulamasında ise, C uygulamasının 6 katı pazarlanabilir ürün alınmıştır. Bunun yanında ZYMV-WK toplam verimde ürün azalmasına sebep olmamıştır. Bu sonuçlar karşılıklı korumanın hıyar bitkilerinde başarılı olduğunu göstermektedir. Bu çalışma sonucunda şiddetli ZYMV infeksiyonu olan yerlerde ekonomik ürün alınabilmesi için karşılıklı korumanın uygulanması önerilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

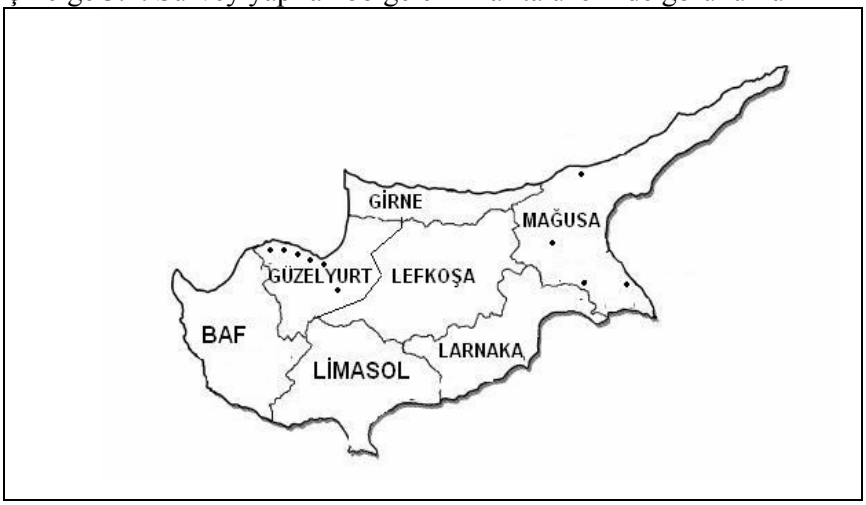
3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Alanı ve Çalışma Materyali Hakkında Bilgiler

Araştırma Kuzey K ıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde aç ıkta ve örtüalt ında yetiştiriciliği yap ılan kabakgil alanlar ında, h ıyar mozayik virüsü (Cucumber Mosaic Virus, CMV) ve kabak sar ı mozayik virüsünün (Zucchini Yellow Mosaic Virus, ZYMV) varl ığının biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle saptanmas ı ve yaygınlığının ortaya konulması amacıyla yürütülmüştür.

Çalışma materyalini, Ma ğosa bölgesinden Mara ş, 2,5 Mil ve Kuzucuk yörelerinden ve Mehmetçik köyünden, Güzelyurt bölgesinden Ayd ınköy, Güneşköy, Gaziveren, Do ğancı, Ye şilyurt ve Ye şilırmak köylerinden al ınan, ZYMV ve/ veya CMV ile infekteli oldu ğundan şüphelenilen kabak, kavun, h ıyar ve karpuz bitkileri ile bu bitkilerin yeti ştirildiği alanlar ın çevresinde bulunan yabanc ı otlardan al ınan bitki örnekleri oluşturmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Survey yapılan bölgelerin harita üzerinde görünümü



3.1.2. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyal

Yapılan arazi ç ıkışlarında, CMV ve ZYMV ile infekteli oldu ğundan şüphelenilen kabak, h ıyar, kavun, karpuz, akkazaya ğı ve ebegümeci bitkilerinden alınan bitki dokuları materyal olarak kullanılmıştır.

CMV ve/veya ZYMV ile bula şık oldu ğundan şüphelenilen kabakgil bitkilerinin simptom gösteren genç yapraklar ından al ınan örnekler DAS-ELISA ile testlenmiştir.

ELISA testlerinde kullan ılmak üzere, CMV ve ZYMV' ne spesifik ELISA kitleri Bioreba firmasından ticari olarak temin edilmiştir.

Ayrıca, ELISA testlerin çe şitli tampon çözeltiler, NUNC-Danimarka firmasından temin edilen düz tabanl ı, 96 kuyu içeren Maxi Sorp mikrotiter ELISA plateleri, Medispec ESR 200 marka ELISA okuyucusu (Medispec ESR 200 ELISA Reader), otomatik pipetler ve pipet uçları kullanılmıştır.

3.1.3. Mekanik İnokulasyon Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Mekanik inokulasyon çal ışmalarında, araziden toplanan ve yap ılan ELISA testleri sonucunda CMV ve/ veya ZYMV ile bula şık oldu ğu saptanan kabak, h ıyar, kavun ve karpuz bitkilerinden al ınan taze bitki dokular ı materyal olarak kullan ılmış ve Çizelge 3.2' de verilen test bitkileri üzerine aşılama yapılmıştır.

Mekanik inokulasyon çal ışmalarında, havan ve havan eli, fosfat tampon çözeltisi (($NaH_2PO_4.2H_2O$ MW 156.01 g/ mol (MERCK 6345), $Na_2HPO4. H_2O$ MW 177.99 g/ mol (MERCK 6576) ve %0.1 Mercaptoethanol), karborandum tozu ve çeşme suyu kullanılmıştır.

İndikatör bitki tohumlar ının ekilmesi ve fidelerin yeti ştirilmesi için kum, toprak ve hayvan gübresi (1: 1: 1), plastik saks ılar, plastik küvetler, plastik viyoller, mikro ve makro besin elementleri içeren gübreler ve zaman zaman herhangi bir zararlı ve hastalık etmenine karşı insektisit ve fungisitler kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan test bitkileri

Türkçe Adı	**Latince Adı**
Kabak **Hıyar** **Kavun** **Karpuz**	*Cucurbita pepo* *Cucumis sativus* *Cucumis melo* *Citrillus lanatus*
Tütün	*Nicotiana rustica* *Nicotiana glutinosa* L. *Nicotiana tabacum* L.''Xanthi' *Nicotiana tabacum* L.''Xanthi nc'' *Nicotiana tabacum* L. ''Samsun''
Hanım düğmesi	*Gompherena globosa*
Akkaz Ayağı	*Chenopodium quinoa* Wild.

Çalışmada kullan ılan indikatör bitkilerin tohumlar ı, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Viroloji Laboratuvar ı'ndan ve ticari tohum firmalarından temin edilmiştir.

Mekanik inokulasyon çal ışmaları, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuar ı, iklimlendirme odas ı ve bitki virüs hastalıkları araştırma serasında yürütülmüştür.

3.1.4. Total RNA Ekstraksiyonu Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Araziden toplanan ve ELISA testleri sonucunda CMV veya ZYMV' den biri ile infekteli oldu ğu saptanan bitki örneklerinin taze dokular ından elde edilen bitki özsuları total RNA ekstraksiyonu çalışmalarının materyalini oluşturmuştur.

Total RNA ekstraksiyonu i şleminde; steril havan ve havan eli, tampon çözeltiler, ependorf tüpleri, ayarlanabilir mikro pipetler ve pipet uçları, Universal 320 R marka masa tipi soğutmalı santrifüj kullanılmıştır.

Total RNA ekstraksiyonu çal ışmalarında kullan ılan tampon çözeltiler ve solüsyonlar, Ek 2'de verilmiştir.

3.1.5. RT-PCR Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Total RNA ekstraksiyonu çal ışmaları sonunda, CMV veya ZYMV ile infekteli bitkilerden elde edilen total RNA ekstraktlar ı, RT- PCR çal ışmalarında materyal olarak kullanılmıştır.

RT- PCR çal ışmaları, 200 µl'lik PCR eppendorf tüpleri, çe şitli t ampon çözeltiler, saf su, pipet, steril pipet uçlar ı, izolatlara ait RNA'lerin komplamenter DNA (cDNA)' ya dönü ştürülmesi için Reverse Transcriptase enzimi (M-MLV, 200u/µl), Reverse Transcriptase buffer (M-MLV buffer 5X), RNAse inhibitörü (40/µl), dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP (100mM)), RNA'in hedef bölgesine spesifik tek iplikli forward ve reverse primerler (İONTEK Firmas ından) ve ayr ıca cDNA'in çoğaltılması amac ıyla gerekli yüksek ısıya dayan ıklı (Termostabil) DNA polimeraz enzimi (Taq polimeraz, 5u/ µl), $MgCl_2$ (25mM), PCR buffer (10X) (PROMEGA) kullan ılarak yap ılmıştır. Nükleik asitlerin çoğaltım işlemleri, TECHN marka termocycle aleti kullan ılarak viroloji laboratuar ında gerçekle ştirilmiştir. Kullanılan primerlerin baz dizilimleri, CMV için, Çizelge 3.3.'de, ZYMV için ise, Çizelge 3.4.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. CMV için kullanılan primerler ve baz dizilimleri

Primerler	Baz Dizilimi
RW 8	5'-GGTTCGAA(AG)(AG)(AT)ATAACCGGG-3'
RV11	5'-GTTTATTTACAAG AGCGTACGG-3'

Çizelge 3.4. ZYMV için kullanılan primerler ve baz dizilimleri

Primerler	Baz Dizilimi
ZYMV-F1	5'-ACTGGCACGATACCTACAAGC-3'
ZYMV-R1	5'- CTTGGCAGCTACTACTGTTTTC-3'

3.1.6. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Materyal

Agaroz jel elektroforez çal ışmalarında, total RNA ekstraksiyonu i şlemi sonucunda elde edilen CMV veya ZYMV'ne ait total RNA'ler ile RT- PCR çalışmaları sonunda elde edilen PCR ürünleri materyal olarak kullanılmıştır.

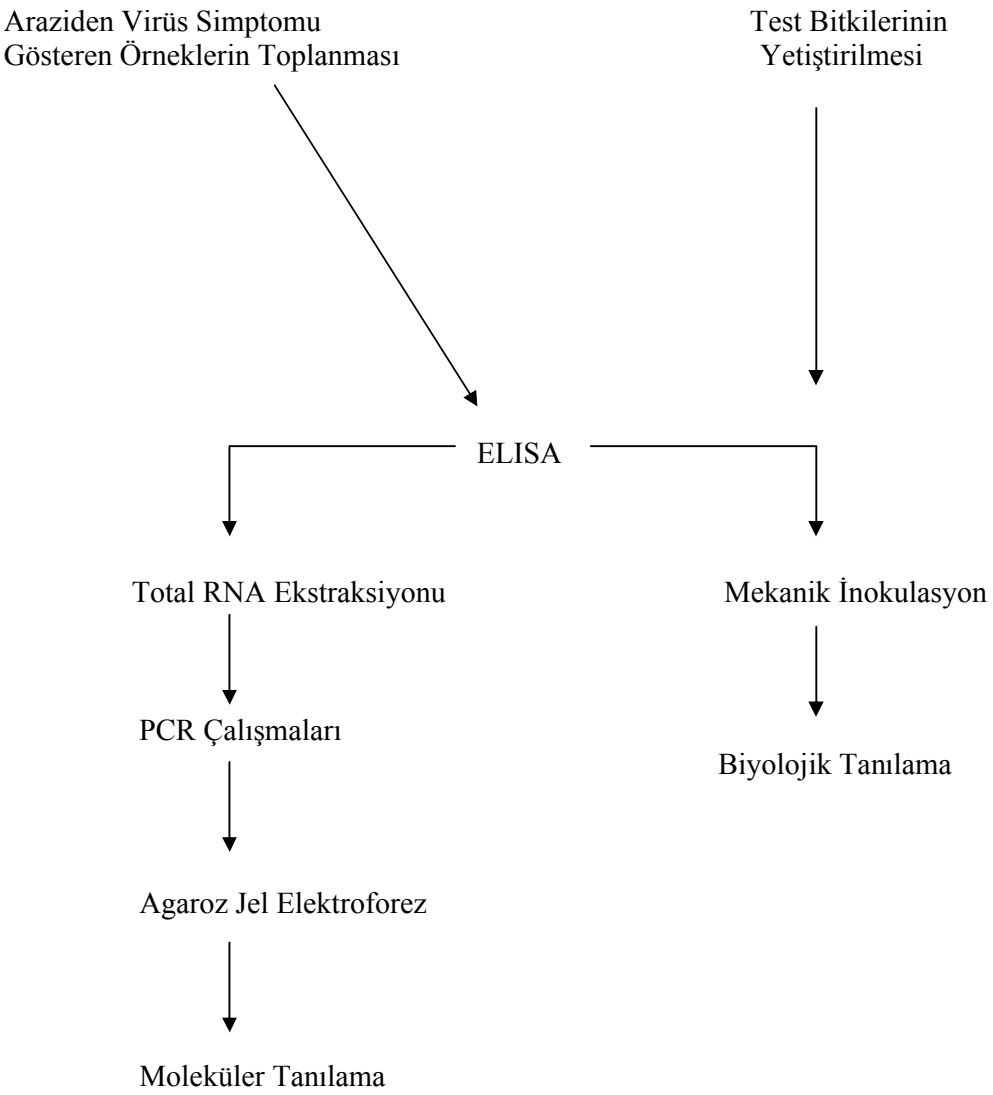
RT- PCR ürünlerinin molekül a ğırlıklarının kontrolü için kullan ılan 1 kb DNA marker PROMEGA firmasından temin edilmiştir.

Agaroz jel elektroforez işleminde, agaroz, tampon çözeltiler, BIORAD marka Mini Sub. DNA Cell elektroforez cihaz ı ve güç kayna ğı, UVP Ultraviolet Transilluminator marka UV ışık kaynağı, polaraid film ve Polaraid Gel Cam marka fotograf makinesinden yararlanılmıştır.

3.2. Metod

Bu çal ışmada arazi ç ıkışları s ırasında toplanan bitki örneklerinde H ıyar Mozayik Virüsü (CMV) veya Kabak Sar ı Mozayik Virüsü (ZYMV)'nün biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler ile saptanmas ı ve tan ılanması için izlenen yol Çizelge 3.5'te verildiği şekilde şematize edilmiştir.

Çizelge 3.5. CMV ve ZYMV'nün tanılanmasında izlenilen yol



3.2.1. Survey Çalışmaları, Bitki Örneklerinin Toplanması ve Muhafazası

CMV ve ZYMV'nün bulaşıklık oranlarının ortaya konulması ve bu virüslerin biyolojik, serolojik ve moleküler tanısında kullanılmak üzere bitki örneklerinin toplanması amacıyla yapılan arazi çıkışlarında, Mağosa bölgesinden Maraş, 2,5 Mil ve Kuzucuk yörelerinden ve Mehmetçik köyünden, Güzelyurt bölgesinden Aydınköy, Güneşköy, Gaziveren, Doğancı, Yeşilyurt ve Yeşilırmak köylerinden ZYMV ve CMV ile infekteli olduğundan şüphelenilen açıkta ve örtüaltında yetiştirilen kabak, kavun, hıyar ve karpuz bitkileri ile bu bitkilerin üretim alanlarının çevresindeki yabancı otlardan bitki dokuları alınmıştır.

Survey çalışmaları 2006- 2007 yılları arasında ilkbahar ve sonbahar aylarında yapılmıştır.

Bitkiler öncelikle simptomatolojik olarak incelenmiş ve yapraklarda mozayik, sararma, deformasyon, ayakkabı bağı oluşumu gibi simptomlar aranmıştır. Bu simptomların bir veya birkaçını gösteren bitkilerden bitki dokuları alınarak naylon torbalara konulmuştur. Örneğin alındığı yer, bitki çeşidi ve örnekleme tarihi yazılarak etiketlenen torbalar, buzluk içerisinde laboratuara getirilerek kullanılıncaya kadar buzdolabında muhafaza edilmişlerdir. Örnekler, kısa bir süre sonra kullanılacak ise, +4 ^{o}C' de, uzun süre saklanacak ise -20 ^{o}C' de saklanmalıdır..

Daha sonra, simptomatolojik olarak seçilen bu bitki örnekleri, ELISA ile testlenmiş ve infekteli çıkan örnekler mekanik inokulasyon ve RT- PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.2. İndikatör Bitkilerin Yetiştirilmesi

Mekanik inokulasyon çalışmalarında, Çizelge 3.2' de verilen indikatör bitkiler kullanılmış ve bu bitkilerin tohumları, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Viroloji Laboratuarı'ndan temin edilmiş ve Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bitki Virüs Araştırma Serası'nda ve kontrollu koşullara sahip klima odasında yetiştirilmiştir.

Mekanik inokulasyon çal ışmalarında kullan ılan kabak, kavun, karpuz ve hıyar bitkilerinin tohumlar ı 1: 1: 1 oran ında toprak, kum, yanm ış hayvan gübresi karışımı ile bulunan viyollere her çukura bir tohum gelecek şekilde ekilmiş ve çıkan fideler, 2-3 gerçek yaprak görüldükten sonra ayn ı toprak kar ışımının bulundu ğu saksılara (12 cm çapında ve 15 cm yüksekliğinde) aktarılmıştır.

Diğer indikatör bitki tohumlar ı ise, ayn ı kar ışımın bulundu ğu plastik küvetlere ekilmi ş ve çimlenen bitkiler 4-6 yapraklı dönemde iken, ayn ı kar ışımın bulunduğu plastik saksılara tek tek şaşırtılmıştır.

İndikatör bitkiler, çimlendirme ve yeti ştirme a şamalarında, +22-24 °C sıcaklık, % 70 nem, 16/8 saat (I şık/Karanlık) ve 5000 Lüx ayd ınlatma ko şullarına sahip kontrollü klima odalar ında, yeti ştirilmiş ve muhafaza edilmi ştir (Choueiri ve ark, 1993).

İndikatör bitkiler, hastal ık ve zararl ı yönünden ara ştırma boyunca periyodik olarak kontrol edilmi şlerdir. Bitkilerin sa ğlıklı büyümeleri için gerekli makro ve mikro besin elementleri sulama suyuna ilave edilerek bitkilere verilmi ş, hastal ık ve zararlılara karşı gerektiğinde pestisit uygulamaları yapılmıştır (Anonymous, 2002b).

3.2.3. Virüsün Mekanik İnokulasyon Yöntemiyle Taşınması

CMV veya ZYMV'nü biyolojik olarak tan ılamak amacıyla, indikatör bitkiler üzerine yapılan mekanik inokulasyon çal ışmaları, arazi ç ıkışlarında simptomatolojik olarak CMV veya ZYMV ile bula şık oldu ğundan şüphelenilen ve ELISA testleri sonucunda bu virüslerden biri ile bula şık oldu ğu saptanan bitkilerden al ınan dokular kullanılarak yapılmıştır.

Bu amaçla yapılan mekanik inokulasyon çalışmaları Yılmaz ve Davis (1984)' e göre aşağıdaki şekilde yürütülmüştür.

CMV veya ZYMV' den biri ile bula şık bitki dokular ı, % 0,1' lik 2-mercaptoethanol içeren 0,02 M Fosfat tampon (pH 7,0)' u varl ığında 1: 5 (w/v) oranında porselen havanda ezilmi ştir. Elde edilen bitki ekstrakt ı önceden karborandum tozu serpilerek haz ırlanan test bitkilerinin yapraklar ına bir spatül yardımıyla aşılanmıştır

İnokulasyondan sonra karborandum tozu ve bitki özsuyu art ıklarını uzaklaştırmak için, indikatör bitkilerin yapraklar ı piset kullan ılarak çe şme suyu ile yıkanmıştır. Bu bitkiler, mekanik inokulasyon yap ıldıktan sonra 24- 25 °C s ıcaklık ve % 70- 80 nem ko şullarında yakla şık 8.000 lux gün ışığı ko şullarında, 16/ 8 (aydınlık/ karanlık) periyodunda muhafaza edilmi ştir. Bitkiler 1 ay süre ile periyodik olarak kontrol edilmiştir.

3.2.4. Serolojik Çalışmalar

Arazi çıkışlarında, simptomatolojik olarak CMV ve/ veya ZYMV ile bula şık olduğundan şüphelenilen kabakgil bitkilerinden al ınan örnekler, CMV ve/ veya ZYMV'nün kesin tan ısının yap ılması amac ıyla, öncelikle DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) yöntemi ile testlenmiştir**.**

Yapılan ELISA testlerinde kullan ılan platelerin her birinde, örnek tampon çözeltisi ve sa ğlıklı bitkilerden al ınan veya firmalardan ticari olarak temin edilen dokular ile haz ırlanan ekstrakt olmak üzere iki farkl ı negatif kontrol ve CMV veya ZYMV bulaşık ticari olarak temin edilmi ş bir pozitif kontrol kar şılaştırma amac ıyla kullanılmıştır. ELISA testlerinde kullan ılan tampon çözeltiler ile bunlar ın hazırlanması Ek 1'de verilmiştir.

ELISA testleri sonucunda, sa ğlıklı kontrol için 405 nm'de elde edilen absorbans de ğerinin en az iki kat ı ve daha fazla absorbans de ğeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir (Barbara ve Riccioni, 1993).

3.2.4.1. DAS-ELISA Testi Çalışmaları

Araziden toplanan bitki örneklerinde çal ışma konusu olan virüslerin varlığının ortaya konulmas ı için yap ılan DAS-ELISA testi, Clark ve Adams (1977)' a göre aşağıdaki şekilde modifiye edilerek uygulanmıştır.

ELISA testinin uygulamasında izlenen basamaklar sırasıyla:

a. Kaplama tamponu ile firman ın önerdi ği optimum konsantrasyona göre sulandırılmış γ-globulinden ELISA platenin her bir çukuruna 100 µl konmuş ve plate üzeri kapatılarak 37 °C' de 4 saat inkübe edilmiştir.

b. İnkübasyondan sonra y ıkama tamponu ile tüm çukurlar üçer kez yıkanmıştır. Y ıkama i şleminde, y ıkama tamponu üç dakika süreyle çukurlarda bekletilmiş ve ters çevrilerek plate bo şaltıldıktan sonra kağıt havlu üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır.

c. Her örnek için birer çukura 100 µl örnek tamponu ile haz ırlanmış örneklerden konmu ş ve platenin üzeri kapat ılıp +4 °C' de gece boyunca inkübe edilmiştir.

d. İnkübasyondan sonra plateler yıkama tamponu ile yukarıdaki şekilde tekrar yıkanmıştır.

e. Konjugate tamponu ile firman ın önerdi ği optimum konsantrasyona göre sulandırılmış konjugate dan her bir çukura 100 µl konmuş ve plate 37 °C' de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır

f. İnkübasyondan sonra plateler yukar ıda belirtildi ği şekilde tekrar yıkanmıştır.

g. Substrat tamponunda taze olarak haz ırlanmış substrattan (1mg/ml p-nitrophenyl phosphate) her bir çukura 100 µl konmu ş ve 30 - 60 dk veya gerekli görüldüğünde daha uzun süre oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edilmiştir.

h. İnkübasyon süresi sonunda, gerekli oldu ğu durumlarda reaksiyonu durdurmak için her bir çukura 50 µl 3M NaOH ilave edilmiştir.

i. Absorbans ölçümleri Medispec ESR 200 marka ELISA okuyucusu ile 405 nm dalga boyunda yapılmıştır.

Pozitif sonuç veren örnekler test bitkilerine periyodik olarak a şılanmış ve bitkilerde simptomlar gözlenmi ştir. Testlerde sa ğlıklı bitki, negatif kontrol, pozitif kontrol ve tampon çözelti kontrol kullan ılmıştır. Sağlıklı kontrol için 405 nm de elde edilen absorbans de ğerinin en az iki kat ı ve daha fazla absorbans de ğeri veren örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir (Barbara ve Riccioni, 1993).

3.2.5. Total RNA Ekstraksiyonu

ELISA testlerinde CMV veya ZYMV'nden biri ile bula şık oldu ğu saptanan örneklerden al ınan genç yapraklar total RNA ekstraksiyonu çal ışmalarında kullanılmıştır.

Total RNA izolasyonlar ı, Astruc ve ark (1996)' n ın önerdi ği yönteme göre aşağıdaki şekilde yürütülmüştür.

Bu çalışmada izlenen basamaklar sırasıyla:

a. Örnekler ekstraksiyon tampon çözeltisi (100mM Tris-HCI pH.8.0, 50mM EDTA b-pH. 7.0, 500 NaCI, 10mM 2. mercapto-ethanol (1/1000)) (Ek.3) ile 1: 2 (w/v) oran ında suland ırılarak ekstrakte edilmi ş ve bitki özsuyu steril tülbentten süzülmüştür. Bitki özsuyundan 1 ml alınarak eppendorf tüpüne konulmuştur.

b. Örnekler 3 dakika 4.000 rpm' de santrifüj edildikten sonra, pellet üzerine 50 µl Sodium Dodecylsulfat (% 20) ilave edilerek vorteks te karıştırılmıştır.

c. Daha sonra tüpler 65 ^{o}C' de 30 dakika su banyosunda inkube edilmiştir.

d. Tüplere 250 µl potasium asetate (5M) ilave edilerek 20 dakika buz içerisinde bekletilmiş ve 15 dakika 13.000 rpm' de santrifüj edilmiştir.

e. Süpernatant iki k ısıma ayr ılmış ve 500 µl' si yeni haz ırlanmış eppendorf tüplerine konarak -70 ^{o}C' te saklanmıştır.

Geriye kalan 500 µl süpernatant yeni haz ırlanan eppendorf tüplerine konulmuş, üzerine % 100'lük Ethanolden 500 µl ilave edilerek 1ml ye tamamlanmış ve sonra vortekste karıştırılmıştır.

f. Sonra tüplere 50 µl sodium asetate (3M) ilave edilmi ş ve örnekler tekrar karıştırılarak -70 ^{o}C' de bir gece bekletilmiştir.

g. Örnekler 15 dakika 14.000 rpm'de santrifüj edilerek s ıvı k ısım ortamdan uzaklaştırılmıştır.

h. Eppendorf tüpleri ters çevrilerek filtre ka ğıdı üzerinde 5 dakika süre ile kurtulmuş ve pellet üzerine 1ml ethanol (% 70) ilave edilmiştir.

ı. Örnekler RNA'leri çöktürmek için 5 dakika 13.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve tüp içerisindeki ethanol at ılarak eppendorf tüpleri kurutma ka ğıtları ile dikkatlice kurulanmıştır.

i. Elde edilen total RNA'lar 50 µl RNAse free distile su ile sulandırılmıştır.

j. Örnekler 15 µl ve 35 µl olmak üzere ikiye bölünerek eppendorf tüpleri içerisinde -70 ^{o}C' de muhafaza edilmiştir.

Daha sonra Agaroz Jel Elektroforez yöntemiyle total RNA'lerin varl ığı kontrol edilmiştir.

3.2.6. RT- PCR Çalışmaları

RT- PCR çal ışmaları, örnekleme yap ılan bitkilerde CMV veya ZYMV infeksiyonunun moleküler bir yöntem kullan ılarak saptanmas ı ve tan ılanması amacıyla yapılmıştır.

Polimeraz Zincir Reaksiyonu 1980'li y ıllardan itibaren in-vitro ortamda spesifik bir DNA parças ının kopyalar ının k ısa zincirli oligonükleotid primerler yardımıyla yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanmaktadır.

Nükleik asit yap ısı RNA olan bir hedef ço ğaltılmak isteniyorsa, önce RNA' den Reverse Transcriptase (RT) enzimi yard ımı ile cDNA'ler elde edilir ve daha sonra bu DNA'ler PCR işlemiyle çoğaltılır.

Bu çalışmada RT-PCR işlemi; total RNA ekstraksiyonu ile elde edilen CMV ve ZYMV'nün nükleik asitleri üzerindeki belirli bölgelerin spesifik primerler kullanılarak uygun koşullar altında çoğaltılması amacıyla yapılmıştır.

3.2.6.1. RT- PCR İçin Materyalin Oluşturulması

3.2.6.1.(1). Hedef Nükleik Asitlerin Elde Edilmesi

CMV ve ZYMV izolatlar ı ile bula şık bitkilerden edilen total RNA'ler 1/ 20 (V/V) oran ında 1X TAE tampon çözeltisi ile suland ırılmış ve hedef nükleik asit

olarak kullanılmıştır. Bu işlemden sonra ZYMV izolatları çok yoğun olduğu için tekrar 1/100 (V/V) oranında sulandırılmıştır. Bu total RNA'ler RT- PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.6.1.(2). Primerlerin Oluşturulması

Çalışma konusu olan virüslerin genomları üzerindeki farklı bölgelere ait spesifik primerler, literatür taramaları sonucunda farklı araştırıcıların kullandığı ve spesifik olarak ortaya koyduklar primer baz dizilimleri referans alınarak dizayn edilmiştir.

CMV için (RW8) 5'- GGT TCG AA(AG) (AG)(AT)A TAA CCG GG -3' ve (RV11) 5'- GTT TAT TTA CAA GAG CGT ACG G -3' primer çifti, ZYMV için ise, (ZYMV- F1) 5'- ACT GGC ACG ATA CCT ACA AGC- 3' ve (ZYMV- R1) 5'- CTT GGC AGC TAC TAC TGT TTTC -3' primer çifti kullanılmıştır.

Primerler ticari olarak sentezlettirilmiş ve firmanın bildirdiği pmol değeri dikkate alınarak 10 µM çalışma konsantrasyonu olacak şekilde steril saf su ile sulandırılmıştır.

3.2.6.2. RT- PCR

RT- PCR çalışmaları 200 µl' lik ince duvarlı PCR tüplerinde yapılmıştır. RNA'nin komplementer DNA'sı (cDNA) dönüştürülmesi için yapılan Reverse Transcriptase (RT) aşamasında 25 µl son hacim, cDNA' in çoğaltılması için yapılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) aşamasında 50µl son hacim kullanılmıştır.

RT-PCR çalışmalarında kullanılan total RNA miktarları, nükleik asit izolasyonu sonucunda elde edilen konsantrasyon dikkate alınarak sulandırılmış ve farklı araştırıcıların daha önceki yaptıkları çalışmalar dikkate alınarak farklı (1 µl-3µl) miktarlarda kullanılmıştır (Grieco ve ark, 1997).

CMV ve ZYMV'ne spesifik primerlerden amplifikasyon sırasında her primer için pmol/µl konsantrasyonu ayarlanarak kullanılmıştır.

Viral RNA'nin cDNA'a dönüştürülmesi amacıyla çalışmanın Reverse Transcription aşamasında kullanılan Reverse Transcriptase (M-MLV, stok 200U/ µl) enzimi son hacminde 10- 20U, M-MLV Buffer (stok 5X) son hacminde 1X, RNase inhibitörü (stok 40U/ µl) son hacminde 15U olacak şekilde kullanılmıştır (Cillo ve ark., 2004).

Çalışmada kullanılan ve 100' er mM olarak temin edilen deoksinükleotid trifosfat (dTTP, dATP, dGTP, dCTP)' lardan 20' şer µl alınarak 25 mM olan 80 µl' lik dNTP karışımına 120 µl ddH_2O ilave edilmek suretiyle 200 µl ye tamamlanmıştır. Bu karşım sonucunda dNTP' ler 10 mM olarak elde edilmiş ve farklı araştırıcıların daha önceki çalışmalarına göre farklı miktarlarda kullanılmıştır (Monti ve ark, 1999). Reverse Transcriptase çalışması sonucunda elde edilen komplamenter DNA' nın (cDNA) çoğaltılması sırasında kullanılan 25 mM $MgCl_2$ stok solüsyonu çalışma hacminde 1,5 mM, Mg Free Buffer (10X) son hacimde 1X olacak konsantrasyonda, Taq DNA Polimeraz (5U/µl) enzimi çalışmalara göre farklı miktarlarda (2,5- 5U) ve son olarak ddH_2O son hacmi tamamlayacak miktarda kullanılmıştır.

3.2.6.3. RT- PCR Yönteminin Uygulanması

3.2.6.3.(1) CMV için RT- PCR

CMV'nün RT- PCR yöntemi ile tanılanması amacıyla yapılan bu çalışmada Finetti- Sialer ve ark (1999)'nın bildirdiği yöntem kullanılmış ve aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

Öncelikle 200 µl' lik PCR eppendorf tüpüne 3 µl total RNA, 2 µl primer (RW8) 5'- GGTTCGAA(AG)(AG)(AT)ATAACCGGG -3' (50 pmol/ µl) ve 10 µl ddH_2O konularak termocycle aletinde 95 ^oC' de 3 dakika bekletilerek nükleik asitlerin denatüre olması ve düz bir iplik haline gelmesi sağlanmıştır. Tüpler termocycle dan alınarak hemen buz içerisine konulmuştur. Bu sayede tüp içerisindeki reverse primerin RNA üzerindeki hedef bölgeye yapışması sağlanmıştır. Daha sonra tüp içerisine 10 µl reverse transcriptase karışımı (1µl ddNTP, 0.1 µl M-MLV enzimi,

5 µl RT buffer, 0.3 µl RNase inhibitörü, 3. 6 µl ddH_2O) ilave edilerek son hacim 25 µl' ye tamamlanm ıştır. Örnekler 42 °C' de 1 saat inkube edilerek cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

Bu kar ışımdan (cDNA) 10 µl alınarak 2 µl dNTP (ATP, GTP, CTP, TTP), 5 µl PCR buffer (10X), 3 µl $MgCl_2$ (25 mM), 0.5 µl Taq polimeraz enzimi (5U/ µl), 1 µl primer (RW8) 5'- GGTTCGAA(AG)(AG)(AT)ATAACCGGG -3' (25 pmol/ µl), 2 µl primer (RV11) 5'- GTTTATTTACAAGAGCGTACGG -3' (50 pmol/ µl) ve 26.5 µl ddH_2O ile kar ıştırılmış ve 50 µl' lik son hacimde PCR tüpüne konulmu ştur. PCR tüpleri daha önceden programlanm ış olan thermocycle aletine yerle ştirilmiştir. Örneklere uygulanan thermocycle programı;

94 ºC' de 4 dakika ..... 1 döngü

94 ºC' de 30 saniye .....
64 ºC' de 1 dakika ..... 35 döngü
72 ºC' de 2 dakika .....

72 ºC' de 10 dakika ..... 1 döngü

Çalışma sonunda ço ğaltılan nükleik asitler 1X TBE de haz ırlanan % 1'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir.

3.2.6.3.(2) ZYMV için RT- PCR

ZYMV'nün RT- PCR yöntemi ile tan ılanması amacıyla yapılan bu çal ışmada Finetti- Sialer ve ark (1999)' n ın bildirdi ği yöntem kullan ılmış ve a şağıdaki şekilde uygulanmıştır.

Öncelikle 200µl' lik PCR eppendorf tüpüne 3 µl total RNA, 2 µl primer (ZYMV- F1) 5'- ACT GGC ACG ATA CCT ACA AGC- 3' (50 pmol/ µl,) ve 10 µl ddH_2O konularak termocycle aletinde 95 ^{o}C' de 3 dakika bekletilerek nükleik

asitlerin denatüre olmas ı ve düz bir iplik haline gelmesi sa ğlanmıştır. Tüpler termocycle dan alınarak hemen buz içerisine konulmuştur. Bu sayede tüp içerisindeki reverse primerin RNA üzerindeki hedef bölgeye yap ışması sağlanmıştır. Daha sonra tüp içerisine 10 µl reverse transcriptase karışımı (1µl ddNTP, 0.1 µl M-MLV enzimi, 5 µl RT buffer, 0.3 µl RNase inhibitörü, 3.6 µl ddH_2O) ilave edilerek son hacim 25 µl' ye tamamlanm ış ve örnekler 42 °C' de 1 saat inkübe edilerek cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir.

Bu karışımdan (cDNA) 10 µl alınarak 2 µl dNTP (ATP, GTP, CTP, TTP), 5 µl PCR buffer (10X), 3µl $MgCl_2$ (25 mM), 0.5 µl Taq polimeraz enzimi (5U/µl), 1µl primer (ZYMV- F1) 5'- ACT GGC ACG ATA CCT ACA AGC- 3', 2 µl primer (ZYMV- R1) 5'- CTT GGC AGC TAC TAC TGT TTTC -3' (50 pmol/ µl) ve 26.5 µl ddH_2O ile kar ıştırılmış ve 50 µl' lik son hacimde PCR tüpüne konulmu ştur. PCR tüpleri daha önceden programlanm ış olan thermocycle aletine yerle ştirilmiştir. Örneklere uygulanan thermocycle programı;

94 ºC' de 4 dakika ..... 1 döngü

94 ºC' de 30 saniye .....
56 ºC' de 1 dakika ..... 35 döngü
72 ºC' de 2 dakika .....

72 ºC' de 10 dakika ..... 1 döngü

RT- PCR çal ışmalarının sonuçlar ı, 1X TBE de haz ırlanan % 1' lik agaroz jelde kontrol edilmiştir.

3.2.7. Agaroz Jel Elektroforez Çalışmaları

Agaroz jel elektroforez çal ışmaları, Galitelli ve Minafra (1994)'n ın önerdiği yöntem dikkate al ınarak yap ılmıştır. Çal ışmada kullan ılan tampon çözeltiler ve hazırlanması Ek.3'de verilmiştir.

İşlemler aşağıda belirtildiği sıraya göre yürütülmüştür.

a. Agaroz miktar ı çal ışmalara göre (% 1 için 250 mg; olacak şekilde) 25 ml 1X TBE içerisine konulmuştur.

b. Agaroz TBE kar ışımı kaynay ıncaya ve agaroz eriyinceye kadar mikrodalgalı bir fırın içerisinde ısıtılmış ve sonra hacim 25 ml' ye ayarlanmıştır.

c. Kar ışım tekrar 60 °C' ye kadar so ğumaya b ırakılmış ve tank içerisine boşaltılarak tarak geçirilmiştir.

d. Jel donduktan sonra tarak dikkatli bir şekilde ç ıkartılmıştır. Daha sonra jel'in üzerini 1- 2 mm kadar kaplayıncaya kadar tank içerisine TBE ilave edilmiştir.

e. 15 µl örnek üzerine 3 µl yükleme tamponu ilave edildikten sonra toplam 18 µl kar ışım jel deki çukurlara dikkatli bir şekilde yerle ştirilmiştir. İlk çukura araştırmalara göre de ğişik t icari markerlar (1 µl yükleme tamponu + 6 µl marker) konulmuştur. Yükleme tamponundaki turuncu rengin (orange G) jelin sonuna gelmesine bir veya iki parmak kalana kadar jel tank ına 40V elektrik ak ımı verilmiştir.

f. Running i şlemi tamamland ıktan sonra jel, oda s ıcaklığında 10 dakika 100 ml H_2O +30 µl (10mg/ml saf su) ethidium bromide kar ışımı içerisinde boyanm ıştır. Jeldeki fazla ethidium bromide uzakla ştırıncaya kadar 5 dakika saf su içerisinde tutulmuştur.

Sonuçlar transilluminatör de kontrol edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

KKTC' nde önemli üretim de ğerlerine sahip olan ve önemli gelir kayna ğı oluşturan tek ve çok y ıllık kültür bitkilerinde hastal ık ve zararl ılar taraf ından neden olunan ekonomik kayıplar yetiştiriciler için oldukça önemlidir.

Fungus, bakteri ve mikoplasma gibi hastal ık etmenlerinin mücadelesinde kültürel önlemlerin d ışında kimyasal kontrol yöntemleri kullan ılabilmektedir. Virüslerin kontrolünde ise bu mümkün de ğildir. Virüslerin kontrol alt ına al ınması veya zarar ın alt seviyeye indirilmesi ancak farkl ı kontrol yöntemlerinin birlikte kullanılması ile mümkün olabilmektedir.

Çalışmanın yürütüldü ğü kültür bitkilerinde CMV ve ZYMV'nün hastal ık oluşturması virüsün direk olarak kendisinden kaynaklanmaktadır.

Çalışma süresince CMV ve ZYMV izolatlar ının varl ığını saptamak ve tanılamak amac ıyla biyolojik (mekanik inokulasyon), serolojik (ELISA) ve moleküler (RT- PCR) tanılama yöntemleri kullanılmıştır.

Çal ışma sonucunda elde edilen bulgular aşağıda bildirilmiştir.

4.1. Survey Çal ışmaları

KKTC'nde kabakgil yeti ştiriciliği yap ılan alanlarda CMV ve ZYMV'nün saptanması ve bula şıklık oranlar ının ortaya konulmas ı çal ışmalarında kullan ılmak amacıyla örneklerin toplanmas ı için yap ılan arazi ç ıkışları, Ma ğosa bölgesine ba ğlı Maraş, 2,5 Mil ve Kuzucuk yörelerinde ve Mehmetçik köylerinde, Güzelyurt bölgesine ba ğlı Aydınköy, Güne şköy, Gaziveren, Do ğancı, Ye şilyurt ve Ye şılırmak köylerinde örtüalt ı ve aç ıkta kabak, kavun, h ıyar ve karpuz üretimi yap ılan toplam 340 da' l ık alanda 27 h ıyar serasında, 2 kavun seras ında, aç ıkta 35 kabak, 8 kavun, 19 karpuz olmak üzere toplam 91 alanda gerçekleştirilmiştir.

Arazi çıkışlarında CMV ve/ veya ZYMV ile bula şık olduğundan şüphelenilen 240 adet kabak, 79 adet hıyar, 69 adet kavun, 37 adet karpuz, 8 adet ebegümeci ve 13 adet *Chenopodium quinoa* olmak üzere toplam 446 bitkiden örnekleme yap ılmış ve öncelikle ELISA testi çalışmalarında kullanılmıştır (Çizelge 4.1 ve 4.2).

Çizelge 4.1. Örnekleme yapılan yerler ile toplanan bitki türleri ve sayısı

Bölge	**Yöre/Köy**	**Bitki türü Türkçe Adı**	**Bitki türü Latince Adı**	**Toplanan Bitki Sayısı**
Mağosa	Maraş	Kabak	*Cucurbita pepo*	73
		Hıyar	*Cucumis sativus*	34
	2,5 Mil	Kabak	*Cucurbita pepo*	27
		Hıyar	*Cucumis sativus*	5
		Kavun	*Cucumis melo*	18
		Karpuz	*Citrillus lanatus*	16
		Akkaz ayağı	*Chenopodium quinoa*	1
	Kuzucuk	Kabak	*Cucurbita pepo*	15
		Kavun	*Cucumis melo*	17
		Karpuz	*Citrillus lanatus*	11
	Mehmetçik	Kabak	*Cucurbita pepo*	1
Güzelyurt	Aydınköy	Kabak	*Cucurbita pepo*	73
		Hıyar	*Cucumis sativus*	30
		Kavun	*Cucumis melo*	32
		Karpuz	*Citrillus lanatus*	1
		Akkaz ayağı	*Chenopodium quinoa*	2
		Ebegümeci	*Malva silvestris*	5
	Güneşköy	Kabak	*Cucurbita pepo*	7
	Gaziveren	Kabak	*Cucurbita pepo*	19
	Doğancı	Hıyar	*Cucumis sativus*	2
		Karpuz	*Citrillus lanatus*	9
		Akkaz ayağı	*Chenopodium quinoa*	9
	Yeşilyurt	Kabak	*Cucurbita pepo*	25
		Hıyar	*Cucumis sativus*	8
		Kavun	*Cucumis melo*	1
		Akkaz ayağı	*Chenopodium quinoa*	1
		Ebegümeci	*Malva silvestris*	3
	Yeşilırmak	Kavun	*Cucumis melo*	1

Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan bitkisel materyallerin bölgelere göre dağılımı

Türkçe Adı	**Latince Adı**	**Güzelyurt**	**Mağosa**
Kabak	*Cucurbita pepo*	124	116
Hıyar	*Cucumis sativus*	40	39
Kavun	*Cucumis melo*	34	35
Karpuz	*Citrillus lanatus*	10	27
Akkaz ayağı	*Chenopodium quinoa*	12	1
Ebegümeci	*Malva silvestris*	8	0
TOPLAM		228	218

Buna göre,

Mağosa bölgesinde;

Maraş yöresine yapılan çıkışlarda, 14 hıyar serası ile açıkta 14 kabak, 1 kavun ve 4 karpuz alanından, 34 hıyar ve 73 kabak bitkisinden,

Kuzucuk'ta, açıkta 4 kabak, 2 kavun ve 3 karpuz alanından, 15 kabak, 17 kavun ve 11 karpuz bitkisinden,

Mehmetçik'te açıkta 1 kabak alanından, 1 kabak bitkisinden,

2,5 mil'de açıkta 1 karpuz, 1 kavun, 3 kabak alanı ve 2 hıyar serasından, 27 kabak, 5 hıyar, 16 karpuz, 18 kavun ve 1 akkazayağı bitkisinden örnekleme yapılmıştır.

Güzelyurt bölgesinde;

Gaziveren'de açıkta 2 kabak alanından, 19 kabak bitkisinden,

Güneşköy'de açıkta 2 kabak alanından, 7 kabak bitkisinden,

Yeşilyurt'ta açıkta 3 kabak ve 1 kavun alanı ile 2 hıyar serasından, 25 kabak, 8 hıyar, 1 kavun ve 1 akkaz ayağı bitkisinden,

Doğancı'da açıkta 10 karpuz alanı ve 1 hıyar serasından, 9 karpuz, 2 hıyar ve 9 akkaz ayağı bitkisinden,

Yeşilırmak'ta açıkta 1 kavun alanından, 1 kavun örneği,

Aydınköy'de 7 hıyar ve 2 kavun serası ile açıkta 6 kabak, 1 karpuz ve 1 kavun alanından, 73 kabak, 30 hıyar, 32 kavun, 1 karpuz ve 1 akkaz ayağı bitkisinden örnekleme yapılmıştır.

Örneklemelerin yapıldığı kabakgil bitkilerinde öncelikle genel bir gelişme geriliği, yapraklarında sararma, deformasyon, mozayik, beneklenme, kıvrılma ve kabarcıklık ile genç sürgünlerin yapraklarında ayakkabı bağı oluşumu gibi CMV ve/veya ZYMV tarafından meydana getirilen simptomların varlığı aranmıştır (Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4). Bunlardan başka üzerinde simptom gözlenmeyen kabakgillerden ve bunların yetiştirildiği alanların etrafında bulunan yabancı otlardan da örnekleme yapılmış ve çalışmada kullanılmıştır.



Şekil 4.1. Kabak bitkisinde kabarcıklık ve deformasyon



Şekil 4.2. Kabak yaprağında mozayik simptomu



Şekil 4.3. Kavun yaprağında kabarcıklık ve deformasyon



Şekil 4.4. Kabak yaprağında ayakkabı bağı simptomu

Kültürü yap ılan bitkilerde ZYMV genellikle şiddetli ve önemli verim kayıplarına neden olmaktad ır. Buna ek olarak olu şan meyvelerde şiddetli deformasyonlar ve renk de ğişikleri olu şmakta ve meyveler pazarlanamaz hale gelmektedir. Yeti ştiriciliğe ve bitki türlerine göre konukçularda farkl ı simptomlar meydana gelmektedir. ZYMV kabak bitkisinin yapraklar ında sar ı mozayikler, şiddetli beneklenmeler ve ayakkab ı ba ğcığı olu şumuna neden olmaktad ır (Lisa ve Lecoq, 1984). Kavun bitkisinde ise yapraklarda damar aç ılmaları, sarı mozayikler ve kabarcıklık simptomuna neden olmaktad ır. H ıyar yapraklar ında şiddetli mozayikler ve deformasyon, karpuz bitkisinin yapraklar ında beneklenme, mozayik, iplikle şme ve şiddetli deformasyonlar gözlenmektedir (Desbiez ve Lecoq, 1997). CMV kabak ve karpuz bitkisinde damar aç ılması ve mozayik simptomuna neden olmaktad ır (Kosaka ve Fukunishi, 1997). Kavun yapraklar ında kabarc ıklık ve yapraklarda

deformasyon, hıyar bitkisinde ise mozayik ve bodurluk simptomu meydana getirmektedir (Kaper ve Waterworth, 1981).

4.2. Serolojik Çalışmalar

4.2.1. DAS-ELISA Testi Çalışmaları

Arazi çıkışlarında simptomatolojik olarak CMV ve/ veya ZYMV ile infekteli olduğundan şüphelenilen 240 kabak, 79 hıyar, 69 kavun, 37 karpuz, 13 akkaz ayağı ve 8 ebegümecinden örneklemeler yapılmış ve toplam 446 bitki örneği ELISA yöntemi ile testlenmiştir.

Yapılan ELISA testleri sonucunda testlenen örneklerde sadece CMV ile infekteli olduğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranları Çizelge 4.3' te verilmiştir. Buna göre, toplanan kabak örneklerinde CMV infeksiyon oranı % 4.1 (10/ 240), hıyar örneklerinde % 19 (15/ 79), kavun örneklerinde % 13 (9/ 69) ve akkaz ayağı örneklerinde % 15.4 (2/ 13) olarak bulunmuştur. Karpuz ve ebegümeci örneklerinde ise, CMV' nin tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Testlenen toplam 446 örnekten 36 tanesinde CMV'nün varlığı ortaya konmuş ve genel toplam içerisinde CMV infeksiyon oranı % 8.07 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. CMV ile infekteli bulunan bitki sayısı ve hastalık oranı

Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	CMV İnfekteli Bitki Sayısı	Hastalık Oranı(%)
Kabak	*Cucurbita pepo*	240	10	4.1
Hıyar	*Cucumis sativus*	79	15	19
Kavun	*Cucumis melo*	69	9	13
Karpuz	*Citrillus lanatus*	37	-	-
Akkaz ayağı	*Chenopodium quinoa*	13	2	15.4
Ebegümeci	*Malva silvestris*	8	-	-

Sadece ZYMV ile infekteli olduğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Buna göre, toplanan kabak

örneklerinde ZYMV infeksiyon oranı % 45.4 (109/ 240), hıyar örneklerinde % 11.4 (9/ 79), kavun örneklerinde % 29 (20/ 69), karpuz örneklerinde % 40.5 (15/ 37) ve akkaz ayağı örneklerinde % 7.7 (1/ 13) olarak bulunmuştur. Ebegümeci örneklerinde ise, ZYMV' nin tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Testlenen toplam 446 örnekten 154 tanesinde ZYMV'nün varlığı ortaya konmuş ve genel toplam içerisinde ZYMV infeksiyon oranı % 34.5 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.4. ZYMV ile infekteli bulunan bitki sayısı ve hastalık oranı

Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	ZYMV İnfekteli Bitki Sayısı	Hastalık Oranı(%)
Kabak	*Cucurbita pepo*	240	109	45.4
Hıyar	*Cucumis sativus*	79	9	11.4
Kavun	*Cucumis melo*	69	20	29
Karpuz	*Citrillus lanatus*	37	15	40.5
Akkaz ayağı	*Chenopodium quinoa*	13	1	7.7
Ebegümeci	*Malva silvestris*	8	-	-

ZYMV ve CMV' nün her ikinin bir arada karışık infeksiyonunun saptandığı örnekler ve infeksiyon oranı ise, Çizelge 4.5'te verilmiştir. Buna göre; toplanan kabak örneklerinde CMV ve ZYMV' nün karışık infeksiyon oranı % 7.5 (18/ 240), hıyar örneklerinde % 5.06 (4/ 79) ve kavun örneklerinde % 16 (11/ 69) olarak bulunmuştur. Karpuz, akkaz ayağı ve ebegümeci örneklerinde ise, CMV ve ZYMV'nün karışık infeksiyonu saptanmamıştır. Testlenen toplam 446 örnekten 33 tanesinde CMV ve ZYMV' nün varlığı ortaya konmuş ve genel toplam içerisinde ZYMV infeksiyon oranı % 7.4 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.5. CMV ve ZYMV' nün karışık infeksiyonu, saptanan bitki sayısı ve hastalık oranı

Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	ZYMV ve CMV İnfekteli Bitki Sayısı	Hastalık Oranı(%)
Kabak	*Cucurbita pepo*	240	18	7.5
Hıyar	*Cucumis sativus*	79	4	5.06
Kavun	*Cucumis melo*	69	11	16
Karpuz	*Citrillus lanatus*	37	-	-
Akkaz ayağı	*C. quinoa*	13	-	-
Ebegümeci	*Malva silvestris*	8	-	-

Arazi çıkışları yapılan bölgelere ve bu bölgelerdeki köyler ile yörelere göre CMV, ZYMV ve CMV + ZYMV infekteli bitki sayıları ve infeksiyon oranları aşağıdaki çizelgelerde verilmiştir.(Çizelge 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11)

Çizelge 4.6. Mağosa bölgesi köy ve yörelerine göre CMV infeksiyonu

Bölge	Yöre/Köy	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki Sayısı	CMV' li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
Mağosa	Maraş	Kabak	*C. pepo*	73	4	5.5
		Hıyar	*C. sativus*	34	4	11.8
	2,5 Mil	Kabak	*C. pepo*	27	-	-
		Hıyar	*C. sativus*	5	-	-
		Kavun	*C. melo*	18	-	-
		Karpuz	*C. lanatus*	16	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	1	1	100
	Kuzucuk	Kabak	*C. pepo*	15	-	-
		Kavun	*C. melo*	17	-	-
		Karpuz	*C lanatus*	11	-	-
	Mehmetçik	Kabak	*C. pepo*	1	-	-

Çizelge 4.6'dan görüleceği üzere, Mağosa'nın Maraş yöresinde CMV infeksiyonu kabak ve hıyar bitkileri üzerinde sırasıyla % 5.5 ve % 11.8 oranlarında

saptanmıştır. 2.5 mil yöresinde ise sadece akkaz aya ğı bitkisinden al ınan örnekte % 100 oranında bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Güzelyurt bölgesi köy ve yörelerine göre CMV infeksiyonu

Bölge	Yöre/Köy	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki Sayısı	CMV' li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
Güzelyurt	Aydınköy	Kabak	*C. pepo*	73	3	4.1
		Hıyar	*C. sativus*	30	8	26.6
		Kavun	*C. melo*	32	7	21.9
		Karpuz	*C. lanatus*	1	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	2	-	-
		Ebegümeci	*M.silvestris*	5	-	-
	Güneşköy	Kabak	*C. pepo*	7	-	-
	Gaziveren	Kabak	*C. pepo*	19	1	5.3
	Doğancı	Hıyar	*C. sativus*	2	2	100
		Karpuz	*C. lanatus*	9	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	9	1	11.1
	Yeşilyurt	Kabak	*C. pepo*	25	2	8
		Hıyar	*C. sativus*	8	1	12.5
		Kavun	*C. melo*	1	1	100
		Akkazayağı	*C. quinoa*	1	-	-
		Ebegümeci	*M.silvestris*	3	-	-
	Yeşilırmak	Kavun	*C. melo*	1	-	-

Çizelge 4.7'den görülece ği üzere, Güzelyurt'un Ayd ınköy ve Ye şilyurt köylerinde kabak, h ıyar ve kavun bitkileri üzerinde CMV saptan ırken Gaziveren köyünde kabak üzerinde, Do ğancı köyünde ise, h ıyar ve akkaz aya ğı bitkilerinde saptanmıştır. Güne şköy ve Ye şilırmak köylerinden al ınan örneklerde CMV infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.8. Mağosa bölgesi köy ve yörelerine göre ZYMV infeksiyonu

Bölge	Yöre/Köy	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	ZYMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
Mağosa	Maraş	Kabak	*C. pepo*	73	21	26.8
		Hıyar	*C. sativus*	34	-	
	2,5 Mil	Kabak	*C. pepo*	27	25	95.6
		Hıyar	*C. sativus*	5	1	20
		Kavun	*C. melo*	18	10	55.5
		Karpuz	*C. lanatus*	16	15	93.7
		Akkaz ayağı	*C. quinoa*	1	-	
	Kuzucuk	Kabak	*C. pepo*	15	-	-
		Kavun	*C. melo*	17	10	58.8
		Karpuz	*C. lanatus*	11	-	-
	Mehmetçik	Kabak	*C. pepo*	1	-	-

Çizelge 4.8'den görülece ği üzere, Ma ğosa'nın Mara ş ve 2,5 Mil yöresinde kabak bitkileri üzerinde ZYMV saptanm ıştır. Buna ek olarak 2,5 Mil yöresinde hıyar, kavun ve karpuz bitkisinde, Kuzucuk yöresinde ise kavun bitkisinde ZYMV tespit edilmi ştir. Ayr ıca 2,5 Mil yöresinden al ınan kabak ve karpuz bitkilerinde infeksiyon oran ı %95.6 -%93.7 aras ında bulunmu ş ve çal ışmadaki en yüksek infeksiyon oranı olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.9. Güzelyurt bölgesi köy ve yörelerine göre ZYMV infeksiyonu

Bölge	Yöre/Köy	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki Sayısı	ZYMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
Güzelyurt	Aydınköy	Kabak	*C. pepo*	73	39	53.4
		Hıyar	*C. sativus*	30	8	26.6
		Kavun	*C. melo*	32	-	-
		Karpuz	*C.lanatus*	1	-	-
		Akkaz ayağı	*C. quinoa*	2	-	-
		Ebegümeci	*M. silvestris*	5	-	-
	Güneşköy	Kabak	*C. pepo*	7	5	71.4
	Gaziveren	Kabak	*C. pepo*	19	16	84.2
	Doğancı	Hıyar	*C. sativus*	2	-	-
		Karpuz	*C. lanatus*	9	-	-
		Akkaz ayağı	*C. quinoa*	9	1	11.1
	Yeşilyurt	Kabak	*C. pepo*	25	3	12
		Hıyar	*C. sativus*	8	-	-
		Kavun	*C. melo*	1	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	1	-	-
		Ebegümeci	*M. silvestris*	3	-	-
	Yeşilırmak	Kavun	*C. melo*	1	-	-

Çizelge 4.9'dan görülece ği üzere, Güzelyurt' un Ayd ınköy, Güne şköy, Gaziveren ve Ye şilyurt köylerinde kabak bitkisi üzerinde ZYMV saptan ırken, Aydınköy'de h ıyar bitkisinde, Do ğancı köyünde ise, akkaz aya ğı bitkisinde saptanmıştır.Yeşilırmak köyünden al ınan örneklerde ZYMV infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.10. Ma ğosa bölgesi köy ve yörelerine göre CMV ve ZYMV kar ışık infeksiyonu

Bölge	Yöre/Köy	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	CMV ve ZYMV 'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
Mağosa	Maraş	Kabak	*C. pepo*	73	10	13.7
		Hıyar	*C. sativus*	34	-	-
	2,5 Mil	Kabak	*C. pepo*	27	2	7.4
		Hıyar	*C. sativus*	5	1	20
		Kavun	*C. melo*	18	8	44.4
		Karpuz	*C.lanatus*	16	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	1	-	-
	Kuzucuk	Kabak	*C.pepo*	15	-	-
		Kavun	*C. melo*	17	3	17.6
		Karpuz	*C. lanatus*	11	-	-
	Mehmetçik	Kabak	*C. pepo*	1	-	-

Çizelge 4.10'dan görülece ği üzere, Ma ğosa' n ın Mara ş, Mehmetçik ve 2,5 Mil yörelerinde kabak bitkileri üzerinde CMV ve ZYMV saptanm ıştır. Buna ek olarak 2,5 Mil ve Kuzucuk yöresinde kavun bitkisinde, 2,5 Mil yöresinde ise h ıyar bitkisinde CMV ve ZYMV tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Güzelyurt bölgesi köy ve yörelerine göre CMV ve ZYMV infeksiyonu

Bölge	Yöre/Köy	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	CMV ve ZYMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
Güzelyurt	Aydınköy	Kabak	*C. pepo*	73	5	6.8
		Hıyar	*C. sativus*	30	3	10
		Kavun	*C. melo*	32	-	-
		Karpuz	*C. lanatus*	1	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	2	-	-
		Ebegümeci	*M.silvestris*	5	-	-
	Güneşköy	Kabak	*C. pepo*	7	-	-
	Gaziveren	Kabak	*C. pepo*	19	-	-
	Doğancı	Hıyar	*C.sativus*	2	-	-
		Karpuz	*C. lanatus*	9	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	9	-	-
	Yeşilyurt	Kabak	*C. pepo*	25	1	-
		Hıyar	*C. sativus*	8	-	-
		Kavun	*C. melo*	1	-	-
		Akkazayağı	*C. quinoa*	1	-	-
		Ebegümeci	*M.silvestris*	3	-	-
	Yeşilırmak	Kavun	*C. melo*	1	-	-

Çizelge 4.11'dan görülece ği üzere, Güzelyurt'un Ayd ınköy, ve Ye şilyurt köylerinde kabak bitkisi üzerinde CMV ve ZYMV saptan ırken, Ayd ınköy'de h ıyar bitkisinden al ınan örneklerde CMV ve ZYMV infeksiyonu saptanm ıştır. Güne şköy, Gaziveren, Do ğancı ve Ye şilırmak köylerinde ise CMV ve ZYMV infeksiyonuna rastlanmamıştır.

Mağosa bölgesinde sadece CMV ile infekteli oldu ğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranlar ı Çizelge 4.12'de verilmi ştir. Buna göre, toplanan kabak örneklerinde CMV infeksiyon oran ı % 3.4 (4/ 116), h ıyar örneklerinde % 10.2 (4/ 39), ve akkaz aya ğı örneklerinde % 29 (20/ 69), karpuz örneklerinde % 40.5 (15/ 37) ve akkaz aya ğı örneklerinde % 100 (1/1) olarak bulunmu ştur. Ebegümeci örneklerinde ise, CMV'nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.12. Mağosa bölgesine göre CMV infeksiyonu

Bölge	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	CMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
MAĞOSA	Kabak	*C. pepo*	116	4	3.4
	Hıyar	*C. sativus*	39	4	10.2
	Kavun	*C. melo*	35	-	-
	Karpuz	*C. lanatus*	27	-	-
	Akkazayağı	*C. quinoa*	1	1	100
	Ebegümeci	*M. silvestris*	0	-	-

Mağosa bölgesinde sadece ZYMV ile infekteli oldu ğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranlar ı Çizelge 4.13'de verilmi ştir. Buna göre, toplanan kabak örneklerinde CMV infeksiyon oran ı % 39.6 (46/ 116), h ıyar örneklerinde % 2.6 (1/ 39), kavun örneklerinde %57.1 (20/35) ve karpuz örneklerinde % 55.5 (15/ 27) olarak bulunmuştur. Ebegümeci ve akkazayağı örneklerinde ise, ZYMV' nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.13. Mağosa bölgesine göre ZYMV infeksiyonu

Bölge	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	ZYMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
MAĞOSA	Kabak	*C. pepo*	116	46	39.6
	Hıyar	*C. sativus*	39	1	2.6
	Kavun	*C. melo*	35	20	57.1
	Karpuz	*C. lanatus*	27	15	55.5
	Akkaz ayağı	*C. quinoa*	1	-	
	Ebegümeci	*M. silvestris*	0	-	

Mağosa bölgesinde CMV ve ZYMV ile infekteli oldu ğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranlar ı Çizelge 4.14' de verilmi ştir. Buna göre, toplanan kabak örneklerinde CMV ve ZYMV infeksiyon oran ı % 10.3 (12/ 116), h ıyar

örneklerinde % 2.6 (1/ 39), kavun örneklerinde %31.4 (11/35) olarak bulunmu ştur. Karpuz, ebegümeci ve akkazaya ğı örneklerinde ise, CMV ve ZYMV'nün infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.14. Mağosa bölgesine göre CMV ve ZYMV karışık infeksiyonu

Bölge	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	CMVve ZYMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
MAĞOSA	Kabak	*C. pepo*	116	12	10.3
	Hıyar	*C. sativus*	39	1	2.6
	Kavun	*C. melo*	35	11	31.4
	Karpuz	*C. lanatus*	27	-	-
	Akkaz ayağı	*C. quinoa*	1	-	-
	Ebegümeci	*M.silvestris*	0	-	-

Güzelyurt bölgesinde sadece CMV ile infekteli oldu ğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranlar ı Çizelge 4.15'de verilmi ştir. Buna göre, toplanan kabak örneklerinde CMV infeksiyon oran ı % 4.8 (6/ 124), h ıyar örneklerinde % 27.5 (11/ 40), kavun örneklerinde % 26.4 (9/34) ve akkaz aya ğı örneklerinde % 29 (20/ 69), karpuz örneklerinde % 40.5 (15/ 37) ve akkaz aya ğı örneklerinde % 8.3 (1/12) olarak bulunmu ştur. Ebegümeci ve karpuz örneklerinde ise, CMV'nün tek ba şına infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.15. Güzelyurt bölgesine göre CMV infeksiyonu

Bölge	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	CMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
GÜZELYURT	Kabak	*C. pepo*	124	6	4.8
	Hıyar	*C. sativus*	40	11	27.5
	Kavun	*C. melo*	34	9	26.4
	Karpuz	*C. lanatus*	10	-	-
	Akkazayağı	*C. quinoa*	12	1	8.3
	Ebegümeci	*M.silvestris*	8	-	-

Güzelyurt bölgesinde sadece ZYMV ile infekteli oldu ğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranlar ı Çizelge 4.16'de verilmi ştir. Buna göre, toplanan kabak örneklerinde ZYMV infeksiyon oran ı % 50.8 (63/ 124), h ıyar örneklerinde % 20 (6/ 40) ve akkaz aya ğı örneklerinde % 8.3 (1/ 12) olarak bulunmu ştur. Kavun, karpuz ve ebegümec örneklerinde ise, ZYMV' nün tek ba şına infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.16. Güzelyurt bölgesine göre ZYMV infeksiyonu

Bölge	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	ZYMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
GÜZELYURT	Kabak	*C. pepo*	124	63	50.8
	Hıyar	*C. sativus*	40	8	20
	Kavun	*C. melo*	34	-	-
	Karpuz	*C. lanatus*	10	-	-
	Akkazayağı	*C. quinoa*	12	1	8.3
	Ebegümeci	*M. silvestris*	8	-	-

Güzelyurt bölgesinde CMV ve ZYMV ile infekteli oldu ğu saptanan örnekler ve bunlar üzerinde infeksiyon oranlar ı Çizelge 4.17'de verilmi ştir. Buna göre, toplanan kabak örneklerinde CMV ve ZYMV infeksiyon oran ı % 4.8 (124/6) ve

hıyar örneklerinde % 7.5 (3/40), olarak bulunmu ştur. Karpuz, kavun, ebegümeci ve akkazayağı örneklerinde ise, CMV ve ZYMV'nün infeksiyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.17. Güzelyurt bölgesine göre CMV ve ZYMV infeksiyonu

Bölge	Bitki türü Türkçe adı	Bitki türü Latince adı	Testlenen Bitki sayısı	CMV ve ZYMV'li Bitkiler	Hastalık Oranı(%)
GÜZELYURT	Kabak	*C. pepo*	124	6	4.8
	Hıyar	*C. sativus*	40	3	7.5
	Kavun	*C. melo*	34	-	-
	Karpuz	*C. lanatus*	10	-	-
	Akkazayağı	*C. quinoa*	12	-	-
	Ebegümeci	*M. silvestris*	8	-	-

ELISA testleri sonucunda, CMV ile infekteli oldu ğu saptanan Güzelyurt bölgesindeki kavun (16 nolu), akkaz aya ğı (17nolu) ve kabak (18 nolu) bitkilerinden alınan bitki dokular ı ile ZYMV ile infekteli oldu ğu saptanan Ma ğosa bölgesinden alınan kavun (7 nolu), kabak (8 nolu) ve karpuz (9 nolu) bitkileri ile Güzelyurt bölgesinden alınan kabak (10nolu), hıyar (11 nolu) bitkilerinden alınan bitki dokuları mekanik inokulasyon, total RNA ve RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

4.3. Mekanik İnokulasyon Çalışmaları

ELISA testleri sonucunda CMV ve ZYMV ile bula şık oldu ğu saptanan bitkilerden Çizelge 4.18'de verilen indikatör bitkiler üzerine mekanik inokulasyonlar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonunda,

CMV izolatlar ı ile yap ılan mekanik inokulasyon çal ışmalarında, kavun ve kabak indikatör bitkilerinin yapraklar ında mozayik ve sararma simptomlar ı ortaya çıkmıştır (Şekil 4.5).Ayrıca kavun bitkisinde geriye ölüm görülmü ştür (Şekil 4.6). *N. tabacum* "Xanthi" ve *N. tabacum* "Xanthi nc" bitkilerinde klorotik lekeler ve mozayik simptomlar ı gözlenmi ştir (Şekil 4.7, 4.8, 4.9). *N. tabacum "* Samsun*"*

bitkisinde ise bu simptomlara ilaveten sararma, deformasyon, iplikle şme ve yaprak kıvrılması belirtileri gözlenmiştir (Şekil 4.10). *N. rustica* bitkisinin yapraklarında ise mozayik, deformasyon ve yaprak kıvrılması belirtileri gözlenmiştir (Şekil 4.11).

Yap ılan benzer bir çalışmada CMV izolatları ile yapılan mekanik inokulasyon çalışmalarında hıyar bitkisinde mozayik ve bodurluk simptomları ortaya çıkmıştır. *N. rustica ve Chenopodium quinoa* bitkilerinin yapraklarında ise nekrotik lokal lezyon belirtileri gözlenmiştir (Kaper ve Waterworth, 1981).

ZYMV izolatları ile yap ılan mekanik inokulasyon çal ışmalarında ise, kavun ve kabak bitkilerinin yapraklar ında mozayik, sararma, kabarc ıklanma, iplikleşme ve beneklenme simptomları, bunlara ilaveten kavun bitkisinin yapraklar ında kıvrılmalar ortaya çıkmıştır (Şekil 4.12, 4.13, 4.14).H ıyar bitkisinin yapraklar ında ise, mozayik, sararma, deformasyon ve k ıvrılma simptomlar ı gözlenmi ştir (Şekil 4.15). Di ğer indikatör bitkilerde herhangi bir simptoma rastlanmamıştır.

Al-Musa (1989), Ürdün'de kabakgillerde ZYMV' nün neden oldu ğu şiddetli mozayiklerle ilgili çal ışmanın mekanik inokulasyonla ilgili bölümünde ZYMV'nün *Gompherana globosa'da* simptomuna rastlamam ıştır. Ancak *C. melo'* da yaprakta kabarcıklık, h ıyar bitkisinde ise sistemik mozayik ve yaprak şeklinde de ğişiklik olduğunu gözlemlemiştir.

Çizelge 4.18. CMV ve ZYMV'nün mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılan test bitkileri ve gözlenen simptomlar

TürkçeAdı	Latince Adı	CMV	ZYMV
Kavun	*Cucumis melo*	M, S, GÖ,	M, S, K, İ, B, YK
Kabak	*Cucurbita pepo*	M, S	M, S, K, İ, B,
Hıyar	*Cucumis sativus*	M	M, S, D, YK
Karpuz	*Citrillus lanatus*	-	-
Tütün	*N.glutinosa*	-	-
	N. tabacum "Xanthi nc"	KL, M	-
	N. tabacum "Xanthi"	KL, M	-
	N. tabacum "Samsun"	KL, M, S, D, İ, YK	-
	N. rustica	M, D, YK	-
Akkazayağı	*Chenopodium qinoa*	-	-
Hanımdüğmesi	*Gompherana globosa*	-	-

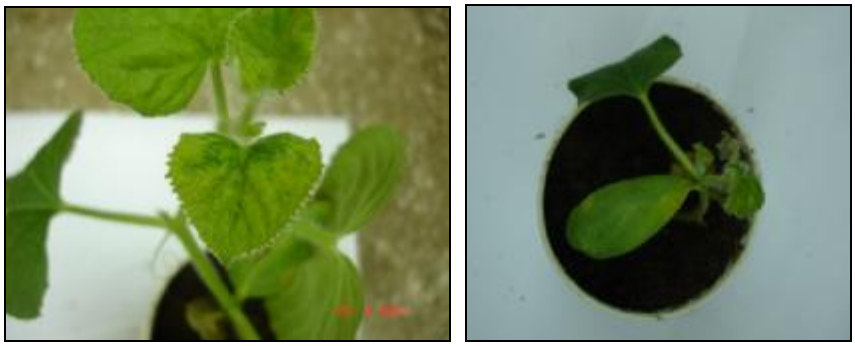
İ: Yapraklarda iplikleşme, M: Mozayik, S: Sararma, K: Kabarcıklık, B: Beneklenme, D: Yaprak deformasyonu, K: Kabarcıklık, YK: Yaprak kıvrılması, KL: Klorotik lekeler, GÖ: Geriye Ölüm - :Simptomsuz

Mekanik inokulasyonlar sonrası indikatör bitkilerin muhafaza edildiği sıcaklığın(22- 24 ^{o}C) simptom çıkış süresi üzerinde etkili olduğu gözlenmiş, buna karşılık simptom şekli ve şiddetinde farklılık saptanmamıştır.

İndikatör bitkiler üzerinde CMV ve ZYMV izolatlarının mekanik inokulasyon tarihinden 15- 30 gün sonra simptomlar ortaya çıkmıştır.



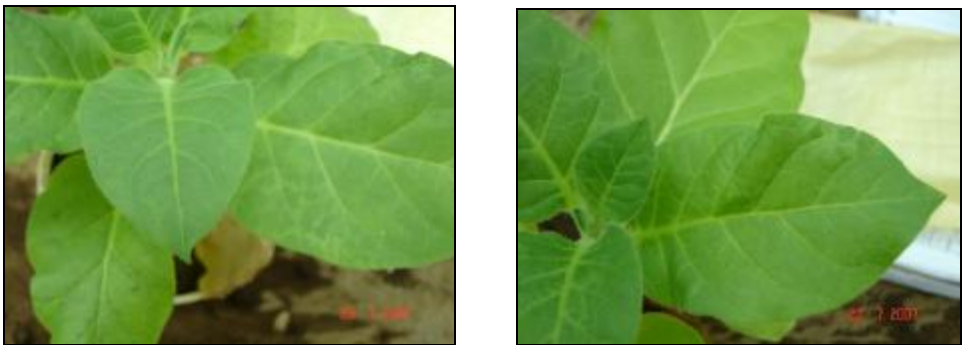
Şekil 4.5. CMV infekteli kabak bitkisinde mozayik ve sararmalar



Şekil 4.6. CMV infekteli kavun bitkisinde mozayik, sararma ve geriye ölüm



Şekil 4.7. CMV infekteli *N. tabacum* L.“Xanthi” test bitkisinde klorotik lekeler ve mozayik



Şekil 4.8. CMV infekteli *N. tabacum L*. “Xanthi” test bitkisinde klorotik lekeler ve mozayik



Şekil 4.9. CMV infekteli *N. tabacum* L."Xanthi nc" test bitkisinde klorotik lekeler ve mozayik




Şekil 4.10. CMV infekteli *N. tabacum* "Samsun" test bitkisinde klorotik lekeler, mozayik, sararma, deformasyon ve yaprak kıvrılması



Şekil 4.11. CMV infekteli *N. rustica* test bitkisinde mozayik, deformasyon ve yaprak kıvrılması



Şekil 4.12. ZYMV infekteli kavun bitkisinde mozayik, sararma, iplikle şme, yapraklarda kıvrılma ve beneklenme



Şekil 4.13. ZYMV infekteli kabak bitkisinde mozayik, sararma, iplikle şme ve beneklenme



Şekil 4.14. ZYMV infekteli kabak bitkisinde mozayik, sararma ve beneklenme

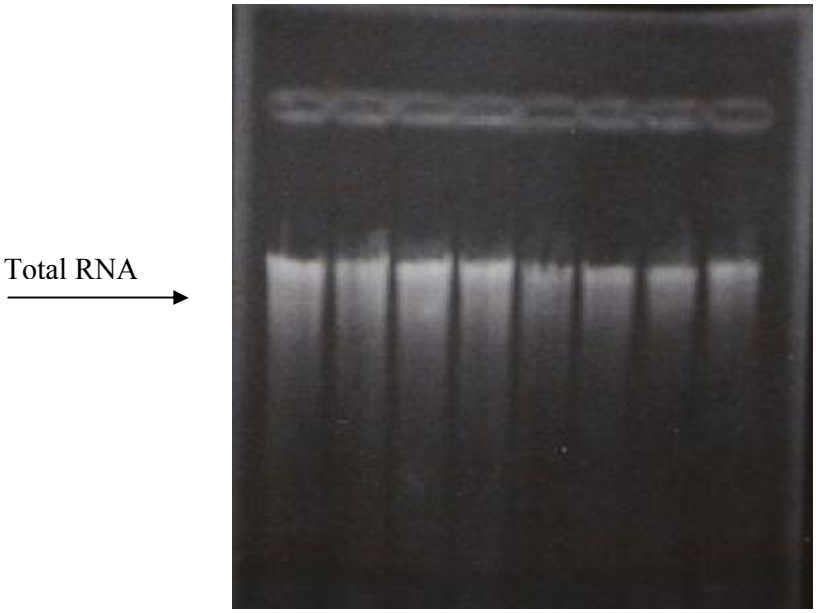


Şekil 4.15.ZYMV infekteli h ıyar bitkisinde mozayik, sararma, deformasyon ve yaprak kıvrılması

4.4. Total RNA Ekstraksiyon Çalışmaları

RT- PCR i şlemlerinde kullan ılacak olan total RNA'lar, ELISA testleri sonucunda CMV veya ZYMV ile bula şık oldu ğu saptanan kabakgil örneklerinden saflaştırılmış ve TBE tampon çözeltisinde hazırlanan % 1' lik agarose jel kullanılarak elektroforez yöntemi ile testlenmişlerdir.

Yapılan ko şum i şlemi sonucunda, ethidium bromid ile boyanan jel üzerinde hastalıklı bitkilerden elde edilen total RNA'lar gözlenmiştir (Şekil 4.16).



Şekil:4.16.CMV ve ZYMV izolatlarının Agaroz Jeldeki Total RNA bandları

4.5. RT-PCR Çalışmaları

Bitki virüs hastalıkları ile ilgili yapılan çalışmalarda yaygın olarak kullanılan moleküler yöntemlerden biri olan RT-PCR yöntemi, bu çalışmada CMV ve ZYMV'nün saptanması amacıyla optimize edilmiş ve başarı ile kullanılmıştır.

Bu amaçla ticari olarak sentezlettirilen,

1. CMV için kullanılan RW 8 ve RV11 kodlu primer çifti 650bp' lik
2. ZYMV için kullanılan ZYMV-R1 ve ZYMV-F1 kodlu primer çifti 250 bp'lik mesafeleri çoğaltmak amacıyla kullanılmış ve beklenen band büyüklükleri elde edilmiştir.

ELİSA testi sonucunda üzerinde sadece CMV veya ZYMV saptanan bitkilerden elde edilen total RNA'lar kullanılarak yapılan RT- PCR işleminin sonunda testlenen örneklerde, 1 ve 2 nolu primer çiftleri ile beklenen büyüklüğe sahip bandlar gözlenmiştir (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18).

CMV'nün moleküler tanısı için yapılan RT- PCR işleminde elde edilen bu sonuçlar, çalışmada kullanılan kavun, kabak ve akkaz ayağı bitkilerinden edilen 16, 17 ve 18 nolu izolatların CMV olduğunu ve aşılanan indikatör bitkilerin yapraklarında gözlenen mozayik, sararma, klorotik lekeler, deformasyon, iplikleşme, ve yaprak kıvrılması belirtileri simptomlarının CMV infeksiyonu sonucu meydana geldiğini göstermiştir.



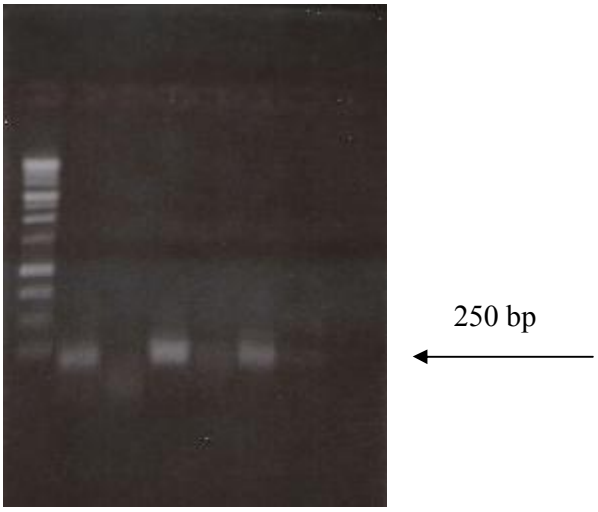
Şekil 4.17. RW 8 ve RV11 kodlu primer çifti ile yapılan RT- PCR

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Sialer ve ark (1999), tarafından bildirilen sonuçlar ile uyum içerisindedir. Aynı araştırıcılar, RW8- RV11 primer çiftini kullanarak CMV izolatlarının RNA-2 geni üzerindeki spesifik bir bölgeyi çoğaltmışlar ve 650 bp'lik bir band elde etmişlerdir.

ZYMV için yapılan RT- PCR çalışmalarının sonuçları, mekanik inokulasyon işlemlerinde elde edilen sonuçları desteklemektedir. ZYMV-R1 ve ZYMV-F1 kodlu primer çifti ile yapılan RT- PCR çalışmalarında beklenen büyüklükte band (250 bp) elde edilmiş ve mekanik inokulasyon çalışmalarında indikatör bitkiler üzerinde çeşitli simptomlara neden olan 7, 8, 9, 10 ve 11 nolu örneklerin ZYMV ile bulaşık olduğu ortaya konulmuştur.

Şekil 4.18'de sadece 8 ve 10 nolu örnekler ile yapılan RT- PCR sonuçları görülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Hsu ve ark (2005) tarafından bildirilen sonuçlar ile uyum içerisindedir. Aynı araştırıcılar, saflaştırılmış viral RNA'lar ile ZYMV-F1 ve ZYMV-R1 primer çiftlerini kullanarak yaptıkları RT-PCR işleminde ZYMV'nün varlığını saptamışlardır. Yaptıkları bu çalışma sonucunda, agaroz jel elektroforez yöntemi ile ZYMV için 250 bp'lik band gözlemişlerdir.



Şekil 4.18. ZYMV-R1ve ZYMV-F1 kodlu primer çifti ile yapılan RT-PCR

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çal ışmanın yap ıldığı Güzelyurt ve Ma ğosa bölgesi, sebze yeti ştiriciliği için uygun çevre ko şullarına ve ekonomik yap ıya sahiptir. Sebzeler yönünden çe şitli ürünlerin varl ığı ve özellikle Ma ğosa bölgesindeki örtü alt ı yeti ştiriciliğin yayg ın oluşu nedeni ile bu bölgede birçok hastal ık ve zararl ı etmenleri büyük kay ıplara yol açmaktadır. Bu hastal ık etmenleri içerisinde virüsler, kimyasal mücadelelerinin mümkün olmamas ı ve vektör böceklerle çok uzak ve geni ş alanlara yay ılmaları nedeniyle büyük öneme sahiptirler. Bunlara ek olarak, vektör böceklerin mücadelesinde kullan ılan kimyasal mücadelenin de virüslerin yay ılımını engellemede çok etkin olmay ışı, bu hastal ık etmenlerinin önemini daha da artırmaktadır.

Sebzelerde, özellikle kabakgil grubuna zarar veren 5 önemli virüs hastal ığı içerisinde CMV ve ZYMV daha yayg ın olarak bulunmalar ı nedeni ile daha da önemlidir. Bu virüs hastal ıklarının adada sebze yeti ştiriciliği aç ısından önemi son yıllarda hızla artmaktadır. Vektörleri olan yaprak bitleri arac ılığıyla etkili bir şekilde çok geni ş alanlara kolayca ta şınabilmeleri ve çok geni ş konukçu dizisine sahip olmaları bu hastalık etmenlerinin önemini daha da artırmaktadır.

CMV ve ZYMV virüs hastal ıklarının bulunu şu, yay ılışı ve zarar ı konukçu-virüs-vektör ili şkisi içerisinde y ıldan y ıla, hatta mevsimden mevsime de ğişiklik göstermektedir.

Bu nedenle bu virüs hastal ıklarının neden oldu ğu zarar ı en alt seviyeye indirebilmek ve kontrol stratejilerini geli ştirebilmek için öncelikle yeti ştiriciliği yapılan kabak, hıyar, kavun ve karpuz bitkilerinde bulunan virüslerin erken teşhisinin yapılması gerekmektedir.

Virüs teşhisinde gözleme dayanılarak yapılan simptomalojik tanıların mutlaka laboratuarda yap ılacak serolojik, biyolojik indeksleme ve moleküler testlemelerle doğrulanması gerekmektedir. Çünkü bir virüsün farkl ı ırkları aynı konukçuyu infekte edebildiği gibi, ayn ı konukçu üzerinde farkl ı simptomlar da olu şturabilmektedirler. Etmenin tan ısı yap ıldıktan sonra bu virüs hastal ığının yay ılmasını engellemek amacıyla önlemler alınmalıdır.

Bu amaca yönelik olarak 2006-2007 yıllarında KKTC' nde Güzelyurt ve Mağosa bölgesi ile çevresinde survey yapılan kabak, hıyar, kavun ve karpuz yetiştirilen alanlarda, CMV ve ZYMV'nün saptanması, yaygınlık oranlarının belirlenmesi, biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak tanılanması amacıyla bu çalışma yürütülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir;

1. Arazi çıkışlarında simptomatolojik olarak CMV ve/ veya ZYMV ile infekteli olduğundan şüphelenilen 240 kabak, 79 hıyar, 69 kavun, 37 karpuz, 13 akkaz ayağı ve 8 ebegümecinden örneklemeler yapılmış ve toplam 446 bitki örneği ELISA ile testlenmiştir.

ELISA testleri sonucunda testlenen örneklerde tek başına CMV infeksiyon oranı kabak örneklerinde % 4.1 (10/ 240), hıyar örneklerinde % 19 (15/ 79), kavun örneklerinde % 13 (9/ 69) ve akkaz ayağı örneklerinde % 15.4 (2/ 13) olarak bulunmuştur. Karpuz ve ebegümeci örneklerinde ise, CMV'nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Testlenen toplam 446 örnekten 36 tanesinde CMV' nin varlığı ortaya konulmuş ve genel toplam içerisinde CMV infeksiyon oranı % 8.07 olarak bulunmuştur.

Tek başına ZYMV infeksiyon oranı, kabak örneklerinde % 45.4 (109/ 240), hıyar örneklerinde % 11.4 (9/ 79), kavun örneklerinde % 29 (20/ 69), karpuz örneklerinde % 40.5 (15/ 37) ve akkaz ayağı örneklerinde % 7.7 (1/ 13) olarak bulunmuştur. Ebegümeci örneklerinde ise, ZYMV' nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Testlenen toplam 446 örnekten 154 tanesinde ZYMV' nün varlığı ortaya konulmuş ve genel toplam içerisinde ZYMV infeksiyon oranı % 34.5 olarak hesaplanmıştır.

ZYMV ve CMV' nün karışık infeksiyonunun oranı kabak örneklerinde % 7.5 (18/ 240), hıyar örneklerinde % 5.06 (4/ 79) ve kavun örneklerinde % 16 (11/ 69) olarak bulunmuştur. Karpuz, akkaz ayağı ve ebegümeci örneklerinde ise, CMV ve ZYMV'nün karışık infeksiyonu saptanmamıştır. Testlenen toplam 446 örnekten 33 tanesinde karışık infeksiyonun varlığı ortaya konulmuş ve genel toplam içerisinde infeksiyon oranı % 7.4 olarak hesaplanmıştır.

Buna göre sadece CMV ile infekteli olduğu saptanan örnekler içerisinde % 19 oranla hıyar, ZYMV ile infekteli olduğu saptanan örnekler içerisinde % 45.4 oranı ile kabak ve ZYMV ve CMV' nün her ikinin bir arada karışık infeksiyonunun saptandığı örnekler içinde ise % 16 oranı ile kavun bitkisi birinci sırada yer almaktadır.

2. Çalışmanın yürütüldüğü bölgeler ve infeksiyon oranları ayrı ayrı incelendiği zaman;

Mağosa bölgesinde sadece CMV ile infekteli olduğu saptanan kabak örneklerinde infeksiyon oranı % 3.4 (4/ 116), hıyar örneklerinde % 10.2 (4/ 39), ve akkaz ayağı örneklerinde % 29 (20/ 69), karpuz örneklerinde % 40.5 (15/ 37) ve akkaz ayağı örneklerinde % 100 (1/1) olarak bulunmuştur. Ebegümeci örneklerinde ise, CMV'nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Sadece ZYMV ile infekteli olduğu saptanan kabak örneklerinde infeksiyon oranı % 39.6 (46/ 116), hıyar örneklerinde % 2.6 (1/ 39), kavun örneklerinde %57.1 (20/35) ve karpuz örneklerinde % 55.5 (15/ 27) olarak bulunmuştur. Ebegümeci ve akkazayağı örneklerinde ise, ZYMV' nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Karışık infeksiyon oranı ise, kabak örneklerinde % 10.3 (12/ 116), hıyar örneklerinde % 2.6 (1/ 39), kavun örneklerinde %31.4 (11/35) olarak bulunmuştur. Karpuz, ebegümeci ve akkazayağı örneklerinde ise, karışık infeksiyon saptanmamıştır.

Güzelyurt bölgesinde, sadece CMV ile infekteli olduğu saptanan kabak örneklerinde infeksiyon oranı % 4.8 (6/ 124), hıyar örneklerinde % 27.5 (11/ 40), kavun örneklerinde % 26.4 (9/34) ve akkaz ayağı örneklerinde % 29 (20/ 69), karpuz örneklerinde % 40.5 (15/ 37) ve akkaz ayağı örneklerinde % 8.3 (1/12) olarak bulunmuştur. Ebegümeci ve karpuz örneklerinde ise, CMV'nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Sadece ZYMV ile infekteli olduğu saptanan kabak örneklerinde infeksiyon oranı % 50.8 (63/ 124), hıyar örneklerinde % 20 (6/ 40) ve akkaz ayağı örneklerinde % 8.3 (1/ 12) olarak bulunmuştur. Kavun, karpuz ve ebegümec örneklerinde ise, ZYMV' nün tek başına infeksiyonu saptanmamıştır. Kabak örneklerinde CMV ve ZYMV karışık infeksiyonunun oranı % 4.8 (6/ 124) ve hıyar örneklerinde % 7.5 (3/ 40) olarak bulunmuştur. Karpuz, kavun, ebegümeci ve akkazayağı örneklerinde ise, karışık infeksiyon saptanmamıştır.

Mağosa Bölgesinde CMV ile infekteli bitki oranı (% 4.1), Güzelyurt bölgesindeki infekteli bitki oranına (% 11.4) göre daha azdır. ZYMV ile infekteli bitki oranı ise, Mağosa bölgesinde (% 37,6) ,Güzelyurt bölgesine (% 31.5)göre daha fazladır. Bu verilere göre, Güzelyurt bölgesinde CMV'nün, Mağosa bölgesinde ise ZYMV'nin daha yaygın bir virüs olduğu orataya koyulmuştur. Mağosa'nın 2,5 Mil yöresinden alınan kabak ve karpuz bitkilerinde ise ZYMV infeksiyon oranı % 95.6-%93.7 arasında bulunmuş ve çalışmadaki en yüksek infeksiyon oranı olarak belirlenmiştir.

Arazi çıkışlarında toplanan örnekler içerisinde genel olarak CMV infeksiyon oranı %8.07, ZYMV infeksiyonu ise %34,5' dür. Buna ilaveten CMV ve ZYMV'nün karışık infeksiyon oranı % 7.4'dür.

3. CMV izolatları ile yapılan mekanik inokulasyon çalışmaları sonucunda, kavun ve kabak indikatör bitkilerinin yapraklarında mozayik ve sararma simptomları ortaya çıkmıştır. Ayrıca kavun bitkisinde geriye ölüm görülmüştür. *N. tabacum* "Xanthi" ve *N. tabacum* "Xanthi nc" bitkilerinde klorotik lekeler ve mozayik simptomları gözlenmiştir. *N. tabacum* "Samsun" bitkisinde de bu simptomlara ilaveten sararma, deformasyon, iplikleşme ve yaprak kıvrılması belirtileri gözlenmiştir. *N. rustica* bitkisinin yapraklarında ise, mozayik, deformasyon ve yaprak kıvrılması belirtileri gözlenmiştir.

ZYMV izolatları ile yapılan mekanik inokulasyon çalışmalarında ise, kavun ve kabak bitkileri yapraklarında mozayik, sararma, kabarcıklanma, iplikleşme ve beneklenme simptomları, bunlara ilaveten kavun bitkisinin yapraklarında kıvrılmalar ortaya çıkmıştır. Hıyar bitkisinin yapraklarında ise, mozayik, sararma, deformasyon ve kıvrılma simptomları gözlenmiştir. Diğer indikatör bitkiler üzerinde herhangi bir simptoma rastlanmamıştır.

İndikatör bitkiler üzerinde CMV ve ZYMV izolatlarının mekanik inokulasyon tarihinden 15- 30 gün sonra simptomlar ortaya çıkmıştır.

4. ELISA testleri sonucunda, CMV ile infekteli olduğu saptanan Güzelyurt bölgesindeki kavun (16 nolu), akkaz ayağı (17nolu) ve kabak (18 nolu) bitkilerinden alınan bitki dokuları ile ZYMV ile infekteli olduğu saptanan Mağosa bölgesinden alınan kavun (7 nolu), kabak (8 nolu) ve karpuz (9 nolu) bitkileri ile Güzelyurt

bölgesinden al ınan kabak (10 nolu), h ıyar (11 nolu) bitkilerinden al ınan bitki dokuları mekanik inokulasyon, total RNA ve RT-PCR çalışmalarında kullanılmıştır.

5. RT- PCR i şlemlerinde kullan ılacak olan total RNA'lar, ELISA testleri sonucunda CMV veya ZYMV ile bula şık oldu ğu saptanan kabakgil örneklerinden saflaştırılmış ve TBE tampon çözeltisinde hazırlanan % 1.'lik agarose jel kullanılarak elektroforez yöntemi ile gözlenmişlerdir.

6. Total RNA preparasyonlar ı RT-PCR' da kullan ılmış ve CMV'nün RNA- 2 geni üzerinde spesifik bir bölgenin belirlenmesi için (RW8) ve (RV11) dejenere primer çiftini kullanarak yap ılan PCR çal ışması sonucunda beklenilen 650 bp'lik DNA band ı agaroz jelde gözlenmi ştir. ZYMV için ise, ZYMV-F1 ve ZYMV-R1 primer çifti kullan ılarak 250 bp' lik DNA band ı görülmüştür. Böylece bu çal ışma ile son y ıllarda yap ılan birçok çal ışmada rutin olarak kullan ılan moleküler bir yöntem olan PCR, KKTC' nde CMV ve ZYMV infeksiyonunu saptamak için ba şarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Sonuç olarak, bu çal ışmada, kabakgil yeti ştiriciliğini s ınırlayan ve etkin mücadele yöntemi bulunmayan CMV ve ZYMV'nün KKTC' nde saptanmas ı ve tanılanması amac ıyla biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemler ba şarı ile uygulanmıştır.

Bundan sonra KKTC' nde CMV ve ZYMV' nün karakterize edilmesi ve ırklarının ortaya konularak aralar ındaki farkl ılıkların saptanmas ı gerekmektedir. Böylelikle cross-protection çal ışmalarında kullan ılabilecek izolatlar ın elde edilmesi ve pratikte kullan ılma olas ılıkları ara ştırılacaktır. Ayr ıca bu virüslerin vektörü olan yaprak bitlerine kar şı pratikte kullan ılabilecek uygulamalar da ortaya konulmal ıdır. Böylece kimyasal mücadelesi yap ılamayan ve çok etkili bir vektör böce ğe sahip CMV ve ZYMV'nün baskı altına alınması söz konusu olacaktır.

4. KAYNAKLAR

ABOU-JAWDAH Y., SOBH H., EL-ZAMMAR S., FAYYAD A., and LECOQ H., 2000. Incidence and Management of Virus Diseases of Cucurbits in Lebanon. Crop Protection, 19 (4) : 217-224.

ADLERZ, W. C., 1987. Cucurbit Potyvirus Transmission by a Late Aphids Trapped Alive. J. Econ. Entomol, 80:87-92.

AGRIOS, G. N., 1997. Plant Diseases Caused by Viruses. In Plant Pathology. p. 479-556.

AL- MUSA, A. M., 1989. Severe Mosaic Caused by Zucchini Yelllow Mosaic Virüs in Cucurbits from Jordan. Plant Disease, 38:541-546.

ALONSO-PARADOS, J. L., ARANDA, M. A., MALPICA, J. M., GARCIA-ARENAL, F., and FRAILE, A., 1998. Satellite RNA of Cucumber Mosaic Cucumovirus Spread Epidemically ın Natural Populations of Its Helper Virus. Phtopathology, 88: 520-524.

AL-SHAHWAN, I.M., 1990. First Report of Zucchini Yellow Mosaic Virus in Cucurbits in the Central Region of Saudi Arabia. J. King Saud Univ., Agric. Sci, 2:251-260.

ANONYMOUS, 2002a. International Committee on Taxonomy of Viruses, Cucumovirus. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ictvdb/ ictvdb

ANONYMOUS, 2005. Tarımsal Yapı ve Üretim. KKTC Tarım ve Orman Bakanlığı-İstatistik ve Planlama Şubesi. Lefkoşa, s.45.

ANONYMUS, 2002b. Tar ım ve Köy İşleri Bakanl ığı İzmir İl Müdürlü ğü. Bitki Koruma El Kitabı.No:352 İzmir, s.536.

ASTRUC , N., MARCOS, J.F., MACQUARIE, G., CANDRESSE, G.T. and VICENT P., 1996. Studies on the Diagnosis of Hop Stunt Viroid in Fruit Trees: Identification of New Host and Application of a Nucleic Acid Extraction Procedure Based on Non-Organik Solvents . European Journal of Plant Pathology, 102: 837-846.

BARBARA, M, and RICCIONI, I., 1993. Improvement of Diagnostic Methods to Detect Plum Pox Virus in Apricot Plants. Agriculture, p.139-141.

BERNAL, J.J. and GARCIA –ARENAL, F., 1994. Complex Interactions Among Several Nucleotide Positions Determine Phenotypes Defective for Long-Distance Transport in the Satellite RNA of Cucumber Mosaic Virus. Virology, p. 148-153.

BLUA, M. J., and PERRING, T. M., 1989. Effect of Zucchini Yellow Mosaic Virus on Development and Yield of Cantaloupe (C *ucumis melo*). Plant Disease, 73:317-320.

BOSTAN, H., KAYMAK, H, Ç., and HALILOGLU K., 2002. Detection on CMV and ZYMV in Squash in Erzurum, Erzincan and Artvin Provinces by Serological and Biological Methods. The Journal of Turk ısh Phytopathology, No:1, 32: 9-14.

BRUNT, A. A., CRABTREE, K., DALLWITZ, M.J., GIBBS, A.J., WATSON, L., and ZURCHER. E., 1996. Plant Virus Online.Descriptions and Lists from the Vıde Database. http://biology.anu.edu.au/groups/mes/vide/

BRUNT, A., CRABTREE, K. and GIBBS, A., 1990. Viruses of Tropical Plants. 225-229p.

BRUNT, A., CRDOTREE, K., DALLWITZ, M, GIBBS, A., and WATSON, L., 1996. Virüs of Plants. Cab International Wallingfort. Oxon 0x10 8de Uk. Yayın No: 085198 794, 1484p.

BRUNT,A., CRABTREE, K., and GİBBS, A. 1990. Viruses of Tropical Plants, 225-229p.

CANTO, T., PRIOR, D.A.M., HELLWALD, K.H., OPARKA, K.J., and PALUKAITIS, P., 1997. In Movement Protein and Coat Protein are both Essential for Cell-to-Cell Movement of Cucumber Mosaic Virus. Virology ,237: 237-248.

CASTLE, S.J., PERRING, T.M., FARRAR, C.A., and KISHABA, A.N., 1992. Field and Laboratory Transmission of Watermelon Mosaic Virus 2 and Zucchini Mosaic Virus by Various Aphids Species. Phytopathology, 82:235-240.

CHOUEIRI, E., DIGIARO, M., MINAFRA, A., and SAVINO, V., 1993. A Survey of Peach Viruses in Apulia. Adv. Hort. Sci, 7:61-64.

CILLO, F., FINETTI-SIALER, M. M., PAPANICE, M. A., and GALLITELLI, D., 2004. Analysis of Mechanisms Involved in the Cucumber Mosaic Viruses Satellite RNA-Mediated Transgenic Resistance in Tomato Plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions* Vol. 17 (1), p. 98-108.

CLARK, M.F., and ADAMS, A.N., 1977.Charecteristic of Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses, J.Gen.Virology, 34: 475-483.

COHEN, S., and NITZANY, F. E. (1963): Identity of viruses affecting cucurbits in Israel. Phytopathology ,53: 193-196.

COLLMER, C.W., and KAPER, J.M., 1985. Double-Stranded RNAs of Cucumber Mosaic Virus and Its Satellite Contain an Unpaired Terminal Guanosine: Implications for Replication. Virology, 145: 249-259.

DANIELS, J., and CAMPBELL. R.N., 1992. Characterization of Cucumber Mosaic Virus Isolates from California. Plant Disease, 76: 1245-1250.

DAVIS, R.F., 1986. Partial Characterization of Zucchini Yellow Mosaic Virus İsolated from Squash in Turkey. Plant Disease, 70:735-738.

DEGIRMENCIOGLU, K. ve GULDUR, M. E., 2001. H ıyarlarda Zucchini Sar ı Mozayik Virüsü (Zucch ını Yellow Mosa ıc V ırus, Zymv)'nün Kar şılıklı Korunma Yöntemi ile Kontrolü. Yüksek Lisans Tezi. http://www.harran.edu.tr/gtarim/tez_ozetleri/btkoruma_sayfa_2.htm#5

DESBIEZ, C., and WIPF-SCHEIBEL, C., 1996. Biological and Molecular Variability of Zucchini Yellow Mosaic Virus on the Island of Martinique. Plant Disease, 80:203-207.

DESBIEZ, C., and LECOQ, H., 1997. Zucchini Yellow Mosaic Virus . Inra. Station De Pathologie Vegetale, 84143 Montfavet Cedex, France. Plant Pathology, 46: 809-829.

DEVI, P.H.S., and REDDY, H.R., 1995. Effect of Antibiyotics on Aphid Transmission of Pepper Vein Banding Virus and Cucumber Mosaic Virus in Chilli. (Bibliografic citation) Indian, Journel-of–Hill-Farming, 8:1, 42-46:6 ref.

DURSUNOGLU, S. ve ERTUNC, F., 2003. Ankara İlinde Yetiştirilen Kabakgillerde Görülen H ıyar Mozaik Virüsü İzolatlarının Serolojik Yöntemlerle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ankara, Abstract.

ERDILLER G. ve OZYANAR F.,1983. Salatal ık Mozayik Virüsü (*Cucumber Mosaic Virus* , CMV)'nün Konukçusu *Cucumis sativus* L.'un Fizyolojik ve Biyokimyasal Faaliyetlerine Etkileri Üzerinde Ara ştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, cilt 23, no: 2, 61p.

FINETTI-SIALER, M.M., CILLO, F., BARBAROSSA, L., and GALLITELLI, D., 1999. Differentiation of Cucumber Mosaic Virus Subgroups by RT-PCR RFLP. Journal of Plant Pathology, 81 (2):145-148.

FRANCKI, R.I.B., MOSSOP, D.W., and HATTA, T., 1979. CMI/AAB Description Viruses No. 213: 6p. http://image.fs.uidaho.edu/vide/descr909.htm

GALLITELLI, D., 2000. The Ecology of *Cucumber Mosaic Virus* and Sustainable Agriculture. Virus Research , 71:9-21.

GALLITELLI, D., and MINAFRA, A., 1994. Electroforesis. Course on Plant Virus Diagnosis, Adana-Turkey, 89-99p.

GAL-ON, A., CAPLAN, I., and PALUKAITIS, P., 1995. Differential Effects of Satellite RNA on the Accumulation of Cucumber Mosaic Virus RNAs and Their Encoded Proteins in Tobacco and Zucchini Squash with Two Strains of CMV Helper Virus. Virology, 208:58-66.

GARCIA-ARENAL, F., ZAITLIN, M., and PALIKAITIS, P., 1987. Nucleotide Sequence of Analysis of Six Satellite RNAs of Cucumber Mosaic Virus: Primary Sequence and Secondary Structure Alteration do not Correlate with Differences in Pathogenicity. Virology,158: 339-347.

GIBSS, A.J., and HARRISON, B.D., 1970. Cucumber Mosaic Virus. C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses.No.1. http://image.fs.uidaho.edu/vide/descr909.htm

GILLASPIE, A.G., JR., HAJIMORAD, H. R., and GHABRIAL, S. A., 1998. Characterization of Aseed-Borne Strain of Cucumber Mosaic Cucumovirus from Cowpea. Plant Disease, 82: 4219-422.

GOULD, A.R., and SYMONS, R.H., 1983. Satellite RNA of *Cucumber Mosaic Virus* forms a Secondary Structure with Partial 3'-Terminal Homology to Genomal RNAs.Nucleic Acids Res., 11: 947-960.

GRAFTON-CARDWELL, E. E., PERRING, T. M., SMITH, R. F., VALENCIA, J. and FARRAR, C. A., 1996. Occurrence of mosaic viruses in melons in the Central Valley of California. Plant Disease, 80:1092-1097.

GRIECO, F., LANAVE, C. and GALLITELLI, D., 1997. Evolutionary Dynamics of Cucumber Mosaic Satellite RNA during Natural Epidemics in Italy. Virology, 229: 166-174.

GRUBE, R. C., ZHANG, Y., MURPHY, J. F., LOAIZA-FIGUEROA, F., LACKNEY, V. K., PROVVIDENTI, R., and JAHN, M. K., 2000. New Source of Resistance to *Cucumber Mosaic Virus* in *Capsicum Frutescens* . Plant Disease, 84:885-891.

GULLU, M. ve CALI, S., 1994. Do ğu Akdeniz Bölgesi Örtüalt ı Sebze Alanlar ında Görülen Virüs Hastal ıklarının Belirlenmesi Üzerine Ara ştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, cilt 34, no: 3-4, p.79.

GUMUS, M., ERKAN, S. ve TOK, S., 2004. Baz ı Kabakgil Türlerinin Tohumlarındaki Viral Etmenlerin Saptanmas ı Üzerinde Ara ştırmalar. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 41 (1): 49-56 ISSN 1018-8851.

HABILI, N., and FRANCKI, R. I. B., 1974. Virology, 57: 392 Holland, p.258-332.

HSU, H.T., BARZUNA, L., HSU, Y. H., BLISS W., and PERRY, K.L., 2000. Identification and Subgrouping of Cucumber Mosaic Virus with Mouse Monoclonal Antibodies. Phytopathology, 90:615-620.

HSU,Y. C., YEH, T. Z., and CHANG, Y.C., 2005. A New Combination of RT-PCR and Reverse Dot Blot Hybridization Forrapid Detection and İdentification of Potyviruses. Journal of Virological Methods, 128:54–60.

IOANNOU, N., PAPAYIANNIS L. C., BOUBOURAKAS, I. N., DOVAS C. I., KATIS N. I., and FALK B. W., 2005. Ind ıcence of Viruses İnfecting Cucurbits in Cyprus. Plant Pathology, 153: 530-535

KAPER, J. M., and TOUSIGNANT, M. E., 1977. *Cucumber Mosaic Virus*-Associated RNA 5. Role of Host Plantand Helper Strain in Determining Amount of Associated RNA 5 with Virions. Virology, 80:186-195.

KAPER, J.M., and WATERWORTH, H.E., 1981. Cucumoviruses, In Handbook of Plant Virus Infectious and Comparative Diagnosis. Biomedical, North Holland, p.258-332.

KEARNEY, C. M., GONSALVES, D., and PROVVIDENTI, R., 1990. A Severe Strain of Cucumber Mosaic Virus from China and Associated Satellite RNA. Plant Disease, 74:819-823.

KOBORI, T., OSAKI, T., and OHKI, S. T., 2003. *Cucumber Mosic Virus* Establishes Systemic İnfection a İncreased Temperature Following Viral Entrance into the Phloem Pathway of Tetragonia Expansa. Phytopthology, 93:1445-1451.

KOSAKA, Y., and FUKUNISHI, T., 1997. Multiple İnoculation with Three Attenuated Viruses for the Control of Cucumber Virus Disease. Plant Disease, 81:733-738.

KUCHAREK, T.A., PURFICULL, D.E., and CHRISTIE, R.G., 1998. The Association of Severe Epidemics of Cucumber Mosaic in Commercial Fields Of Pepper and Tobacco in North Florida with Inoculum in *Commelina benghalensis* and *C. Communis*. Plant Disease, 82: 1172.

LECOQ, H., LEMAIRE, J.M., and WIPF-SCHEIBEL, C., 1991. Control Of Zuccihini Yellow Mosaic Virus in Squash by Cross Protection. Plant Disease, 75:208-211.

LISA, V., and LECOQ, H., 1984. Zucchini Yellow Mosaic Virus. No:282 In: Descriptions of Plant Viruses. Commonw. Mycol. Inst./Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England, 4p.

LISA, V., BOCCARDO, G., D'AGOSTINO, G., DELAVALLE, G., and D'AQUILIO, M., 1981. Characterization of a Potyvirus that Causes Zucchini Yellow Mosaic Virus. Phytopathology, 71:667-672.

LOT, H. and KAPER, J. M., 1976. Further Studies on the RNA Component Distributon Among the Nucleoproteins of Cucumber Mosaic Virus. Virology, 74: 223-226.

LOT, H., MARCHOUX, G., and MARROU, J., 1974.Evidence for three Functional RNA Species in Several Strains of Cucumber Mosaic Virus. J. Gen. Virology, 22: 81-93.

MARTELLI, G.P., 2003a. New Classification of Plant Viruses. Course on Integrated Pest Management of Mediterranean Fruit Crops in IAM-B (Chiam).p.1-36

MARTELLI, G.P. and QUAQCUARELLI, A., 1988. The Present Status of Tomato and Pepper Viruses. *ACTA Horticulture*, 127:39-64.

MONTI, M.M., VALANZUOLO, S., CASSANI, G. and COLOMBO, M., 1999. Transgenic Tomatoes Expressing A Cucumber Mosaic Virus Satellite RNA; Field Testing and Analysis of Satellite RNA Spread. Journal of Plant Pathology, 81(2): 113-122.

MOOSOP, D. W., and FRANCKI, R. I. B., 1978. Survival of a Satellite RNAs In Vivo and Its Dependence on Cucumber Mosaic Virus for Replication. Virology, 86: 562-566.

MOOSOP, D. W., and FRANCKI, R. I. B., 1979. Comperative Studies on Two Satellite RNAs of Cucumber Mosaic Virus. Virology , 95: 395-404.

MORIONES, E., DIAZ, I., RODRIQUEZ-CEREZO, E., FRAILE, A., and GARCIA-ARENAL, F., 1991. Differential Interactions among Strains of Tomato Aspermy Virus and Satellite RNAs of *Cucumber Mosaic Virus.* Virolgy ,186: 475-480.

NG, J., and PERRY, K.L **.**, 1999. Stability of The Aphid Transmission Phenotype in Cucumber Mosaic Virus. Plant Pathology, 48:388-394.

NOGANO, H., MISE,K., OKUNO, T., and FURUSAWA, I., 1999. The Cognet Coat Protein is Required for Cell-to-Cell Movement of a Chimeric Brome Mosaic Virus Mediated by the Cucumber Mosaic Virus Movement Protein. Virology, 265 :226-234.

OWENS, J., and KAPER, J.M., 1977. Cucumber Mosaic Virus-Associated RNA 5. In Vitro Translation in a Wheat Germ Protein-Synthesis System. Virology, 80: 196-203.

OZASLAN, M. ve SIGIRCI Z., 2002. Gaziantep ve Çevresinde Yetiştirilen Biberlere Zarar Veren Virüslerin DAS-ELISA Yöntemiyle Saptanması XVI Ul.Biyoloji Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı ,Malatya , 54s.

PADEN, K.W.C., and SYMONS, R.H., 1973.Cucumber Mosaic Virus Contains a Functionally Divided Genom. Virology, 53:487-492.

PALUKAITIS, P., ROSSINCK, M. J., DIETZGEN, R. G., and FRANCKI, R. I. B., 1992. Cucumber Mosaic Cucumovirus, In Advance in Virus Research Academic, San Dieogo, p.281-348.

PERRY, K.L., ZHANG, L., and PALUKAITIS, P., 1998. Amino Acid Changes in The Coat Protein of Cucumber Mosaic Virus Differentially Affect Transmission by the Aphididae *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* . Virology, 242: 204-210

PERRY, K.L., ZHANG, L., SHINTAKU, M.H. and PALUKAITIS, P., 1994. Mapping Determinants in Cucumber Mosaic Virus for Transmission by *Aphis gossypii*. Virology, 205: 591-595.

POLLARD, D.G., 1973. Plant Penetration by Feeding Aphids (Hemiptera: Aphididae): A Review. Bull. Entomol. Res, 62:631-714.

PRIETO, H., BRUNA, A., HINRICHSEN, P. and MUNOZ, C., 2001. Isolation and Molecular Characterization of a Chilean Isolate of Zucchini Yellow Mosaic Virus. Plant Disease, 85:644-648.

PURCIFULL, D.E., ADLERZ, W.C., SIMONE, G.W., HIEBERT, F., and CHRISTIE S.R., 1984. Serological Relationships and Partial Charecterization on Zucchini Yellow Mosaic İsolated from Squash in Florida. Plant Disease, 98:230-233.

RACCAH, B., GALON, A. and EASTOP, V.F., 1985. The role of Flying Aphid Vectors in the Transmission of Cucumber Mosaic Virus and Potato Virus Y to Peppers in Israel.Ann. Appl. Biol., 106: 451-460.

RICHARDSON, M.J., 1990. An Annotated List of Seed Borne Diseases. The International Seed Testing Assosiciation Zurich, Switzerland, Edition 4, 387p.

ROOSSINCK, M.J., 2002. Evolutionary History of *Cucumber Mosaic Virus* Deduced by Phylogenetic Analyses. Journal of Virology, 76 (7): 3382-3387.

ROSSINCK, M.J., 2001. Cucumber Mosaic Virus, A Model for RNA Virus Evolution. Molecular Plant Pathology, 2(2): 59-63.

SCHWINGHAMER, M.W. and SYMONS, R.H., 1975. Fractionation of *Cucumber Mosaic Virus* RNA and It's Translation in a Wheat Embriocell-Free System. Virology, 63: 252-262.

SERTKAYA, G., SERTKAYA, E., YETISIR, E. and KAYA, K., 2004. Investigations on Incidence and Transmission of ZYMV in Cucurbites in Hatay Province. Proceedings of the First Plant Protection Congress of Samsun in Turkey, s.217.

SEVIK, M. A., and ARLI-SOKMEN, M., 2003. Viruses İnfecting Cucurbites İn Samsun, Turkey. Plant Disease, 87:341-344.

SHIFRISS, C., PILOWSKI, M., COHEN, S., JOSEPH, R., and BEN, H.S., 1994. First Report of Bell-Shoped Peppers Tolerant to Cucumber Mosaic Virus. Plant Disease-Research, 13 (2):125-128.

SHUKLA, D.D., TEAKLE, D.S, and GOUGH, K.H., 1980. Periwinkle, A Latent Host for Broad Wilt and Cucumber Mosaic Viruses in Australia. Plant Disease, 64:802-803.

SIDEK, Z., TOKUMASU, T., and SAKO, N., 1999. Biological Properties and Coat Protein Sequence Comparison of Two İsolates of Zucchini Yellow Mosaic Potyvirus in Malaysia. Proceedings Marrs Fifth International Conference on Plant Protection in the Tropics, 415-418p.

STOBBS, L. W., and VAN SCHAGEN, J.G., 1990. First Report of Zucchini Yellow Mosaic Virus in Squash in Arkansan. Plant Disease, p.70-78.

SUZUKI, M., KAWATA, S., KATAOKA, J., MASUTA, C., NITTA, N., and TAKANAMI, Y., 1991. Functional Analysis of Deletion Mutants of

Cucumber Mosaic Virus RNA 3 Using an In Vitro Transcription System. Virology, 183: 106-113.

TAKANAMI, Y., 1981. A Striking Change in Symptoms on Cucumber Mosaic Virus-Infected Tobacco Plants Induced by a Satellite RNA. Virology, 109: 120-126

TANNE, E., and ZIMMERMAN-GRIES, S., 1980. Cucumber Mosaic Virus on Eggplant in Israel. Plant Disease, 64:371-372.

TIEN, P., ZHANG, X., QIU, B., QIN, B., and WU, G., 1987. Satellite RNA for the Control of Plant Diseases Caused by Cucumber Mosaic Virus. Ann. Apply. Biol., 111:143-152.

TÓBIÁS, I., PALKOVICS, L., BALÁZS, E., and TZEKOVA, L., 2005.Comparison of N-Terminal Region of Coat Protein in Zucchini Yellow Mosaic Potyvirus İsolates.Acta Phytopathologica et Entomologica HUNGARIA, 4:277-281.

TÓBIÁS, I., PALKOVICS, L., and BALÁZS, E., 1998. Characterization of Hungarian Strain of Zucchini Yellow Mosaic Potyvirus Causing Severe Damage on Cucurbit Plants. Növényvédelem, 34: 613-616.

TOROS, S., 1973. Bitki Patojen Virüslerin Aphidlerle Nakil Mekanizmas ı. Bitki Koruma Bülteni, Cilt 13, No: 2, 83s.

ULLMAN, D.E., CHO, J.J., and GERMAN, T.L., 1991. Occurence and Distribution of Cucurbit Viruses in the Hawaiian Islands. Plant Diseases, 75: 367-370.

UNLU, S. ve GULDUR, M. E., 2004. Şanlıurfa İlinde Biberlerde Zararlı Olan Hıyar Mozayik Virüsü (CMV)'nün ELISA Yöntemiyle Saptanmas ı. HUBAK I. Bilimsel Araştırmalar Sempozyumu, Şanlıurfa, 45s.

WANG, H.L., GONSALVES, D., PROVVIDENTI, R., and LECOQ, H.L., 1991. Effectiveness of Cross Protection by Mild Strain of Zucchini Yellow Mosaic Virus in Cucumber, Melon and Squash. Plant Disease, 75: 203-207.

WANG, H.L., GONSALVES, D., PROVVIDENTI, R., and ZITTER, T. A., 1992. Comparative Biological and Serological Properties of Four Strains of Zuccinia Yellow Mosaic Virus. Plant Disease, 76:530-535

WHITE, P. S., MORELAS, F. J., and ROOSSINCK, M. J., 1995. Interspecific Reassortment in the Evolution of a Cucumovirus. Virology, 207: 334-337

YILMAZ, M. A., 1976. Akdeniz Bölgesinde Muzlarda Muz Mozayik Virüsü ve Özçürüklüğü Yapan Fungal Etmenler Üzerine Ara ştırmalar. Çukurova Üniversitesi. Bitki Koruma Bölümü, Doçentlik Tezi, s.125.

YILMAZ, M. A., and DAVIS, R. F., 1984. Purification and Particle Morphology of TMV, CMV, and ZYMV Isolated from Various Cultivated Crops Grown Along the Mediterranean Coast of Turkey. J. Turkish Phytopathology, 13(1): 29-38.

YILMAZ, M. A., KASKA, N., GEZEREL, O. ve CINAR, A., 1979. Turfanda Domateslerde Ekim ve Dikim Zamanlar ının Virüs Hastal ıklarına Etkisi. Tübitak Proje No: 11.

YILMAZ, M.A., ABAK, K., LECOQ, H., BALOGLU, S., SARI, N., KESICI, S., OZASLAN, M. ve GULDUR, M., 1994. Control of Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) in Cucurbits by ZYMV-WK Strain. 9th Congress of Mediterranean Phytopathological Union-Kuşadası-Aydın-Türkiye, s.353-35.

YILMAZ, M.A., LECOQ, H., ABAK, K., BALOGLU, S. ve SARI, N., 1992. Türkiye'de Kabakgil Sebze Türlerinde Zarar Yapan Virüsler. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, İzmir, Cilt 2: 439-442.

YUAN, C., and ULLMAN, D.E., 1996. Comparison of Efficency and Propensity as Measures of Vector Importance in Zucchini Yellow Mosaic Potyvirus Transmission by *Aphis gossypii* and *A. craccivora.* Pytopathology, 86: 698-703.

ZITTER, T.A., HOPKINS, D.L., and THOMAS, C.E., 1996. Compendium of Cucurbit Diseases. The American Phytopathological Society Aps Press, St. Paulk, Minesota, 87p.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında KKTC'nin Güzelyurt ilçesine bağlı Yeşilyurt köyünde doğdum. İlk ve orta öğrenimimi KKTC'nin Güzelyurt ilçesinde, lise öğrenimimi ise Lefkoşa'da tamamladım. 2003 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden Ziraat Mühendisi olarak mezun oldum. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Bitki Koruma Anabilim Dalı'nın öğrencisi olarak kaydoldum. 2003 yılında başlayan yüksek lisans öğrenimimi, 2006- 2007 yılları arasında yapmış olduğum tez çalışmasının sona ermesi ile tamamlamış bulunmaktayım.

EKLER

EK 1

ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

1. Fosfat Tuz Tamponu (PBS, pH 7.4)

8.0 gr NaCl

0.2 gr KH_2PO_4

2.9 gr $Na_2HPO_4.12H_2O$ veya

2.3 gr $Na_2HPO_4.7H_2O$

1.44. gr $Na_2HPO_4.2H_2O$

1.15 gr Na_2HPO_4 (anhdrous)

0.2 gr KCl

0.2 gr NaN_3

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 0.1 N NaOH veya 0.1 N HCl ile ayarlanmış ve 4 ^{o}C' de saklanmıştır.

2. Kaplama Tamponu (pH 9.6)

1.59 gr Na_2CO_3

2.93 gr $NaHCO_3$

0.2 gr NaN_3

Yukarıda miktarı verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı ayarlanmış ve 4 ^{o}C de saklanmıştır.

3. Yıkama Tamponu

Bir litre PBS tamponu 0.5 ml Tween- 20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

4. Örnek Tamponu

Bir litre yıkama tamponu çözeltisi içine 20 gr Polyvinylpyrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanmıştır.

5. Konjugat Tamponu

Bir litre örnek tampon çözeltisine 2 gr ovalbumin (egg albumin) ilave edilerek hazırlanmıştır.

6. Substrat Tamponu (pH 9.8)

97 ml Diethanolamine 800 ml saf su içine ilave edildikten sonra 0.2 gr NaN_3 konmuş ve HCl ile pH 9.8'e ayarlanarak 1 litreye tamamlanmıştır.

EK 2

Total RNA Analizlerinde Kullanılan Çözeltiler

1. Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi

(0.1M glycine- NaOH, pH 9.0; 50mM NaCI; 10mM EDTA; % 2 sodium dodecyl sulfate [SDS]; % 0,.2 sodium diethyldithiocarbomate [D İECA-Na] ve % 1 sodium lauryl sarcosine)

0.750 gr glycine 80 ml saf su içerisinde eritilmiş ve NaOH kullanılarak pH'sı 9.0 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra bunun üzerine 0.292 gr NaCI ve 0.288 gr EDTA ilave edilerek eriyinceye kadar karıştırılmıştır. Karışım iyice eridikten sonra üzerine 2 gr SDS, 0.2 gr DİECA ve 1 gr sodium lauryl sarcosine ilave edilmiş bütün karışımlar eridikten sonra son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

2. Phenol/chloroform/isoamylalkol (25: 24: 1)

25 ml 1X TAE buffer ile sature edilmiş phenol, 24 ml chloroform ve 1 ml isoamylalkol karıştırılmıştır.

3. Sodyum asetate CH_3COONa (3M)

40.824 gr sodium asetate 60 ml su içerisinde çözülmüş ve volum 100 ml' ye tamamlanmıştır**.**

4. 1X TE Tampon Çözeltisi (10mM Tris-HCI, 1mM EDTA; pH 8,0)

0.157 gr Tris-HCI ve 0.037 gr EDTA 80 ml saf su içerisinde eritilmiştir. Çözeltinin pH'sı 8,0 olarak ayarlanıp sonra son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

EK 3

Agaroz Jel Elektroforez Çalışmalarında Kullanılan Çözeltiler

1. TBE Tampon Çözeltisi (89 mM Tris, 89 mM boric acide, 2 mM EDTA) pH 8,3

1X TBE buffer hazırlamak için 10.777 gr Tris-Base, 5.502 gr boric acide ve 0.744 gr EDTA 900 ml saf su içerisinde eritilmiştir. Çözeltinin pH'sı 8,3 olarak ayarlandıktan sonra son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

2. TAE Tampon Çözeltisi (10mM Tris, 5mM Sodium acetate, 0,5 mM EDT (pH: 8.3)

1X TAE buffer hazırlamak için 1.211 gr Tris-Base, 0.680 gr sodium acetate ve 0.186 gr EDTA 900 ml saf su içerisinde eritilmiştir. Çözeltinin pH'sı 8,3 olarak ayarlandıktan sonra son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

3. Farklı konsatrasyonlarda agaroz jel hazırlamak için;

% 1,2' lik agaroz jel için 360 mg agaroz 30 ml 1x TBE yada TAE içerisinde
% 2' lik agaroz jel için 600 mg agaroz 30 ml 1x TBE yada TAE içerisinde
% 1,5' lik agaroz jel için 450mg agaroz 30 ml 1x TBE yada TAE içerisinde
% 1' lik agaroz jel için 300mg agaroz 30 ml 1x TBE yada TAE içerisinde

4. Ethidium Bromide

10 mg ethidium bromide 1 ml saf su içerisinde ependorf tüpünde eritilmiştir. Daha sonra bu ana stoktan 30 µl alınarak 100 ml saf su içerisine ilave edilmiştir.