

**BAZI DOMATES YETİŞTİRME ALANLARINDA  
DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜŐÜ  
(TOMATO SPOTTED WILT VIRUS, TSWV)'NÜN  
BELİRLENMESİ**

**MELTEM MEMET**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi  
Danışman: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ  
2022**

T.C.  
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BAZI DOMATES YETİŞTİRME ALANLARINDA DOMATES LEKELİ  
SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TOMATO SPOTTED WILT VIRUS, TSWV)'NÜN  
BELİRLENMESİ

MELTEM MEMET

ORCID: 0000-0002-8964-5213

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

İkinci Danışman: Unvan Adı SOYADI

MART-2022

Her hakkı saklıdır.

## ÖZET

### BAZI DOMATES YETİŞTİRME ALANLARINDA DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜ (TOMATO SPOTTED WILT VIRUS, TSWV)'NÜN BELİRLENMESİ

Meltem MEMET

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) dünyada bazı farklı ürünlerin yetiştirildiği sebze alanlarında en önemli virüs hastalıklarından birisidir. Konukçu aralığı bitki virüsleri içerisinde en fazla olan virüstür. TSWV tarımsal bitkilerde ara sıra problem olan, bu hastalık etmeni domates üretimine de zarar vermektedir. Bu çalışma 2021 yılında Batı Trakya bölgesi domates üretim alanlarında Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)'nün domateslerde infeksiyonlarının saptanması ve yaygınlık durumunun belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Bölgeden TSWV ile infekteli olduğu düşünülen 125 örnek toplanmıştır. Toplanan bu örnekler DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Serolojik testin sonucunda 125 şüpheli bitkinin 47'sinde hastalık saptanmış ve toplanan örneklerde bulaşıklık oranı %37,6 olarak belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** TSWV, DAS-ELISA, Seroloji, Domates, Trakya

## **ABSTRACT**

### **DETERMINATION OF TOMATO SPOTTED WILT VIRUS (TSWV) IN SOME TOMATO GROWING AREAS**

Meltem MEMET

Department of Plant Protection

MSc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

*Tomato spotted wilt virus* (TSWV) is one of the most important virus disease of many different crops grown in vegetable growing regions in the world. The host range of TSWV is one of the widest known for plant viruses. TSWV causes sporadic problems in agronomic plants, this disease is also damaging in tomato production. In this study, it is aimed to determine the morphological and physiological and prevalence of Tomato spotted wilt virus in tomato production areas of Western Thrace region in 2021. 125 specimens thought to be infected with TSWV were collected from the area. These collected samples were tested by DAS-ELISA method. As a result of the serological test, the disease was detected in 47 of 125 suspected plants and the prevalence rate was calculated as 37.6%.

**Keywords:** TSWV, DAS-ELISA, Serology, Tomato, Thrace

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET .....</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER.....</b>	<b>v</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ.....</b>	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</b>	<b>vii</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>viii</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1 Literatür özeti.....	2
1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı.....	18
<b>2. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>19</b>
2.1. Materyaller.....	19
2.2 Metot.....	19
2.2.1 Bitki Örneklerinin Toplanması.....	19
2.2.2 Serolojik Testler.....	20
<b>3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>21</b>
<b>4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>27</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>29</b>
<b>EK-1 KAPLAMA TAMPONU.....</b>	<b>36</b>
<b>EK-2 FOSFAT TAMPONU.....</b>	<b>36</b>
<b>EK-3 YIKAMA TAMPONU .....</b>	<b>36</b>
<b>EK-4 ÖRNEK TAMPONU .....</b>	<b>36</b>
<b>EK-5 KONJUGAT TAMPONU.....</b>	<b>36</b>
<b>EK-6 SUBSTRAT TAMPONU .....</b>	<b>37</b>
<b>TEZDEN ÜRETİLMİŞ ESERLER .....</b>	<b>38</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## **ÇİZELGELER DİZİNİ**

Çizelge 2.1. Batı Trakya'da survey çalışması yapılan ve örnek alınan alanlar..... 19

Çizelge 3.1. TSWV'nin domates ekim alanlarında yaygınlık durumu. .... 24

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Sürgünlerde geriye doğru ölüm ve yaprakçıklarda nekroz. ....	21
Şekil 3.2. Yassıköy beldesine ait domates tarlasında görülen geriye doğru ölümler ve bodurlaşma .....	22
Şekil 3.3. Yapraklarda şekil bozukluğu, nekrotik ve klorotik lokal lekeler. ....	22
Şekil 3.4. Meyvede lekelenme, halkalı leke ve nekrotik halkalı leke oluşumu.....	23
Şekil 3.5. DAS ELISA yönteminde enfekteli örneklerin bulunduğu çukurlardaki sarı renk oluşumu. ....	24

## KISALTMALAR DİZİNİ

agRNA	Antijen RNA
DTBIA	Direct Tissue Blot Immunoassay
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
Gn-Gc	Glikoprotein N - Glikoprotein C
gRNA	guide RNA
kDa	Kilodalton
L	Large
M	Middle
MG	Midgut
mRNA	Messenger RNA
N	Nükleokapsid
NSm	Non Structural Protein
PSG	Primary Saliva Gland
RdRp	RNA Dependent RNA Polymerase
RNA	Ribonükleik asit
S	Small
TSG	Tubuler Saliva Gland
TSWV	<i>Tomato spotted wilt virus</i>



## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aőamasında benden yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ hocama ve beni her daim her koőulda destekleyip yardım eden canım aileme sonsuz teőekkürlerimi sunarım. ELISA testlerinin sonuçlarının ELISA okuyucusunda 405 nm'de okunarak değerlendirilmesinde yardımcı olan Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne teşekkür ederim.

Meltem MEMET

Ziraat Mühendisi.

## 1. GİRİŞ

Domates, dünya çapında insanlar tarafından tüketilen ve dünya çapında birçok mutfakta kullanılan oldukça popüler yenilebilir bir meyvedir. Domates bitki türü, Orta ve Güney Amerika'ya özgüdür. Şu anda, ılıman iklimlerde ve bitkinin yıl boyunca gelişmesine izin veren sera koşullarında farklı domates çeşitleri yetiştirilmektedir. Domates bitkisi menşei olduğu bölgede çok yıllık iken başka yerlerde tek yıllık olarak yetiştirilmektedir. 2017 yılı itibarıyla Çin, Hindistan, Türkiye ve Amerika Birleşik Devletleri dünyanın önde gelen dört domates üreticisi ülkelerdir (Oishimaya, 2020).

Domates yetiştiriciliğinde hastalık etmenleri ve zararlılar ciddi sorunlar oluşturmaktadır. Domateste hastalığa yol açan çok sayıda fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmenleri gözlemlenmektedir. Bunlardan en önemlisi de bir viral etmen olan Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)'dür. TSWV, Bunyaviridae familyasından olup *Orthospovirus* cinsine mensuptur. TSWV ilk olarak 1915'te Avustralya'da saptanmıştır (Brittlebank, 1919). İliman iklim bölgelerinde olduğu gibi daha sonra da birçok başka ülkede subtropikal bölgelerde de bulunmuştur. Virüs, önemli ölçüde ciddi salgınlara neden olmaktadır (de Avila, 1992). TSWV 1200'den fazla bitki türünü enfekte etmektedir (Cho, Mau, Gonsalves ve Mitchell, 1986). Tosporvirüsler, dünya çapında çok çeşitli tarla ve bahçe bitkilerinde önemli kayıplara neden olmaktadır (Rosello, Diez ve Nuez, 1996; Kılıç, Urgan, Yardımcı, 2017; Olaya vd., 2020).

TSWV, bitkiden bitkiye yalnızca thripsler yoluyla bulaşır. 6000'den fazla thrips türü olduğu tahmin edilmektedir. Ancak Ortospovirus taşıyıcısı sadece 15 tanesi bilinmektedir. Bunlardan en önemlisi *Frankliniella occidentalis*'tir. *Orthospovirus* vektörleri olan thripsler polyfagdır, bu da virüsü edinme ve bitkiye bulaştırma şansını arttırmaktadır. Erişkin thripslerin virüsü bulaştırabilmeleri için larva döneminde virüsün vektörün bünyesine alınması gerekmektedir. TSWV'nin thripsler yoluyla iletilebilmesi için 1'inci larva dönemi tarafından yutulduktan sonra virüs orta bağırsaktan dairesel ve uzunlamasına replikasyonun meydana geldiği orta bağırsağı (MG) çevreleyen kaslar, daha sonra tübüler tükürük bezleri (TSG) ve ana tükürük bezlerinin (PSG) tükürük rezervuarından giden eferent kanal aracılığıyla hareket eder (Brown, 2019).

TSWV'nin domatesteki belirtilerinin ilk olarak genç yapraklarda bronzlaşma ve ardından çok sayıda küçük koyu lekeler şeklinde olduğu bildirilmiştir. İkinci olarak

yapraklar bitkinin üzerine sarkar ve solgunluk benzeri bir görünüm oluşur. Büyüyen yaprak uçlarının geriye doğru dönmesi, bodurluk, beneklenme ve terminal gövdelerde koyu renk çizgiler oluşması şeklinde belirtiler gelişmektedir. Etkilenen bitkiler tek taraflı bir büyüme alışkanlığı geliştirmekte veya tamamen bodurlaşmaktadır. Büyüme mevsiminin başlarında etkilenen bitkiler genellikle herhangi bir meyve üretmezken, meyve tutumundan sonra enfekte olanlar klorotik halka şeklinde lekeler, kabarıklıklar, düzensiz olgunlaşma ve deformasyon gibi çarpıcı semptomlarla meyve oluşturmaktadır (Goldberg ve French, 2016).

TSWV genomu, büyük(L), orta(M) ve küçük(S) RNA segmentlerinden oluşan üçlü bir genom içeren küresel, zarflı 80-120 nm boyutlarında virüs partiküllerinden oluşur. L RNA segmenti negatif (-) duyarlıdır, viral replikasyonu ve mRNA transkripsiyonu için yeterli olan tek bir büyük RNA polimerazı (RdRp-3kDa) kodlamaktadır. Hem M hem de S RNA segmentleri ambisens olarak kodlanır. M segmentinin genomik RNA'sı (-) olarak gösterilmektedir. Yapısal olmayan bir proteini (Nsm) kodlamakta ve M segmentinin antigenomik RNA'sı (+) glikoproteinlere (Gn ve Gc) öncü kodlama yapmaktadır. Nsm, TSWV'nin hücreden hücreye ve uzun mesafeli hareketinde çok önemli roller oynamaktadır. Glikoproteinler partikül olgunlaşması için gereklidir ve virüs zarf zarfının yüzeyinde sivri uçlar olarak bulunmaktadır. Ayrıca trips vektör iletimi için belirleyiciler olarak önemli bir rol oynarlar. S segmentinin gRNA'sı yapısal olmayan bir proteini (NS'ler) kodlar ve S segmentinin agRNA'sı bir nükleokapsid proteini (N) kodlamaktadır (Mingfeng vd, 2020).

Hastalığa sebep olan etmenlerin doğru şekilde teşhis edilmesi oldukça önemlidir (Lin ve diğerleri, 1990). TSWV'nin saptanmasında en çok kullanılan serolojik yöntemlerden birisi de ELISA yöntemi, diğeri ise immunoblot yöntemidir. Ancak son yıllarda immunoblot yönteminin başka bir çeşidi olan direkt doku emdirme yöntemi de (Direct Tissue Blot Immunoassay=DTBIA) kullanılmaktadır (Hsu ve Lawson, 1991).

Bu çalışmada bazı domates yetiştirme alanlarında sorun olan virüslerden TSWV'nin belirlenmesi ve yaygınlığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

### **1.1. Literatür özeti**

Domates lekeli solgunluk hastalığının ilk tanımı 1915 yılında *Lycopersicon. esculentum* bitkisinde Avustralya'da gerçekleştirilmiştir (Brittlebank, 1919).

Domates lekeli solgunluk virüsü ile ilgili ilk raporu 1932 yılında *Chrysanthemum spp.* infeksiyonları nedeniyle yapılmıştır (Ainsworth, 1932).

Zimbabve'de, TSWV'nin ilk olarak 1940'ta tütün bitkilerini (*Nicotiana tabacum L.*) infekte ettiği bildirilmiştir (Hopkins, 1940).

TSWV, Kuzey Carolina'da ise ilk olarak 1988 yılında tütün ve domates tarlalarında tespit edilmiştir (Cho, Eckel, Walgenbach ve Kennedy, 1995).

Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) (Tospovirus cinsi, *Bunyaviridae* familyası ) Kore'de ilk olarak 2004 yılında rapor edilmiştir (Choi, Kim, Kim, ve Choi, 2004) ve virüs şu anda ülkede yaygın olup biber, domates, patates ve yabancı bitki türlerini infekte etmektedir (Choi, Cho, Choi ve Yoon, 2014).

Gonsalves ve Trujillo (1986)'nun bildirdiğine göre 1962 yılında yapılan çalışmalarda Hawaii'ye bağlı Kauai adasında papaya bitkilerinde *Tomato spotted wilt virus* nedeniyle bir hastalık ortaya çıkmıştır. 2-3 aylık bitkilerde ortaya çıkan hastalık belirtileri üst yapraklarda beneklenme, kloroz ve nekroz olarak, petioller ve gövdede su ile ıslanmış lezyonlar ve gövde apex kısmında çatlamalar şeklindedir. Bu genç bitkiler genellikle ölmekte, bununla beraber bazıları canlı kalarak yeni sağlıklı uç sürgünler oluşturmaktadır. Meyve taşıyan infekteli bitkiler deforme olmuş meyveler oluşturmuş, olgunlaşma zamanında bu meyvelerde sarı zemin üzerinde yeşil halkalar şeklinde belirtiler gelişmiştir. Hastalık infekteli papaya bitkilerinden ve ayrıca infekteli marullardan mekanik inokulasyon yolu ile genç papaya fidelerine bulaştırılmıştır. Bu çalışmada, TSWV-marul izolatına karşı elde edilen antiserum kullanılarak hem SDS-Agar gel immunodiffuzyon testleri hem de direkt ve indirekt ELISA ile testler gerçekleştirilerek bitki dokularında antiserum ile TSWV tespit edilmiştir.

Cho, Mau, Hamasaki ve Gonsalves (1988) yaptıkları çalışmalarda, Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kullanarak TSWV'ünü tripslerde tespit etmişlerdir. Laboratuvarda larva döneminde TSWV'ünün vektör bünyesine alınması sağlanmış ve ergin döneme yetiştirilen *Frankliniella occidentalis*'in 391 bireyinden 210'unda ve *Frankliniella schultzei* 120 bireyinin 24'ünde kolaylıkla tespit edilmiştir. Taşıma denemelerinde 3 böcek taşıma, 1 böcek taşımayaya nazaran daha fazla oranda gerçekleşmiştir. 3 böcek taşıma çalışmalarında 7 ELISA (+) *Frankliniella occidentalis* grubundan 6'sında (%86) ve 8 ELISA (+) *Frankliniella schultzei* grubundan 7'sinde (%88) taşıma başarılı olmuş, halbuki tek böcek taşıma çalışmalarında 186 ELISA (+) *Frankliniella occidentalis* 14'ünde (%7) taşıma

gerçekleşmiş ve 2 ELISA (+) *Frankliniella schultzei*'de ise taşıma gerçekleşmemiştir. Sonrasında Hawaii'deki 3 çiftlikten örneklerle yapılan ELISA testlerinde TSWV ile infekteli marullardan alınan 275 erginden 32'sinde (%12) ve 527 larvalardan 233'ünde (%44) TSWV tespit edilmiştir.

Sherwood, Sanborni, Keyser ve Myers, (1989) TSWV'üne immunize fare hücreleri ve fare myeloma hücre hattı P3X63Ag8.653 füzyonunu kullanarak, TSWV'üne karşı monoklonal antibadi üreten stabil bir hibridoma hücre hattı (MAb) üretmişlerdir. Araştırmacılar, bu antibadiyi Protein-A sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Double-antibody sandwich ELISA ve dot-immunobinding assay testlerinde kullanmışlardır.

Domates lekeli solgunluk virüsünde (TSWV) yükseltilmiş bir monoklonal antikorlar panelinin immuno aktivitesi, enzime bağlı immunosorbent deneylerinde (ELISA) ve dot-immunobinding testlerinde (DIBA) prosedürlerinde incelendiğini belirtilmiştir. MAb 6.12.15 ve 2.9, TSWV'nin nükleokapsid proteinine özgü olup iki bağışıklık testinin duyarlılığı TSWV M RNA'ya riboprolar (RNA transkriptleri) kullanılarak dot-blot hibridizasyon tekniği ile karşılaştırılmıştır. Deproteinize edilmiş bitki örnekleri veya saflaştırılmış virüs preparatları kullanılarak 1 pg RNA kadar az tespit edilebilmiştir. MAb 6.12.15 kullanan bir ELISA, 3.22.6 kullanan bir DIBA prosedürü ve dot-blot hibridizasyonu farklı konukçu türlerinde birkaç TSWV izolatını eşit derecede iyi tespit etmesine rağmen, ELISA'nın sahadaki rutin teşhis için en kesin ve en uygun yöntem olduğunu açıklamışlardır (Huguenot vd., 1990).

Stobbs, Broadbent, Allen ve Myers (1992) büyüme kabinde yaptıkları çalışmada Ontario'nun güneyinde tohumdan yetiştirilen veya araziden toplanan yabancı ot türleri ve yerel bitkiler, TSWV'nin doğal olarak tarafından taşınması için batı çiçek thripsi *Frankliniella occidentalis*'e maruz bırakılmıştır. Bu bitkiler hem ELISA ile testlenmiş hem de uygun indikatörlerde biyolojik olarak indekslenmiştir. Ayrıca TSWV'ye duyarlı bitkiler üzerinde thrips üremesi gerçekleştirilmiştir. Test edilen 302 yerel bitkiden 35 familyaya ait 113 tür TSWV'ye duyarlı bulunmuş ve bunlardan 62'si bu virüsün konukçusu olarak ilk kez rapor edilmiştir. Araştırmacılar, bu bitkilerin %86'sını batı çiçek thripsi için yumurtlama konukçusu olarak bildirmişlerdir.

Nükleokapsid (N) proteini ve yapısal olmayan (Ns'ler) bir protein her ikisi de domates lekeli solgunluk virüsünün (TSWV) S RNA'sı tarafından kodlandığı bildirilmiş ve infekte olmuş bitkilerden virüs kısa süreli olarak alındıktan sonra gelişme sırasında larvalar ve

*Frankliniella occidentalis* erişkinlerinde takip edilmiştir. Her iki proteinin miktarları, ELISA ve Western blot analizleri ile sindirilen seviyelerin üzerinde 2 gün içinde arttığını ve böceklerde TSWV'ünün çoğaldığı gösterilmiştir. Bu proteinlerin ve virüs partiküllerinin birikmesi, tükürük bezlerinin ve yetişkin tripslerin diğer dokularının yerinde immuno-etiketlenmesi ile daha da doğrulandığını vurgulamışlardır. Tükürük keseciklerinde virüs partiküllerinin bulunmasının, golgi aygıtının virüs partiküllerinin olgunlaşmasında ve bunun tükürük kanallarına taşınmasında rol oynadığı belirlenmiştir (Wijkamp, van Lent, Kormelink, Goldbach ve Peters, 1993).

1991-1993 yıllarında seralarda yapılan gözlemlerinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), 41 bitki çeşidinin bulunduğu 25 çiftlikten 13'ünde tespit edilmiştir (Kaminska ve Korbin, 1993). TSWV'nin bitkilerde tespiti biyolojik ve ELISA testleri ile gerçekleştirilmiştir. Etkilenmiş bitkilerin sayısı yıldan yıla, ürüne ve çiftliğe göre %0'dan %100'e kadar değişmiştir. Etkilenmiş bitkilerin büyük bir kısmı 1991 yılında domates, biber ve saksıdaki çoğu süs bitkisinde bulunmuştur. Sonraki 2 yılda TSWV nedeniyle ortaya çıkan kayıplar daha az şiddette gerçekleşmiştir, çünkü üreticilere erken dönemde hastalık belirtilerini tanıma öğretilmiş ve bazı çiftliklerde tarlalar bozulmuştur. Çalışmada domatesten izole edilen TSWV'ye karşı antiserum elde edilmiş ve antiserumdan IgG, F(ab')<sub>2</sub> fragmentleri ve konjugat hazırlanmış ve testlerde kullanılmıştır. Virüsün tespit edilmesinde homologik antiserumlar kullanılarak yapılan F(ab')<sub>2</sub>-ELISA'nın daha yüksek sulandırmada DAS-ELISA'dan daha etkili olabileceği belirlenmiştir (Kaminska ve Korbin, 1993).

İtalya'nın güneyinde domates ve biber ürünlerinde TSWV'nin yeni salgın durumları ortaya çıkmıştır. İnfekteli domates ve biber bitkilerinin oranı %10 ile 50 arasında değişmiş, Metapontum bölgesinde bir serada ise %80'e ulaşmıştır. Virüsün varlığı partikül morfolojisi, bazı otsu konukçularda ortaya çıkan belirtiler, agaroz jelde immunodiffüzyon ve IEM ile teşhis edilmiştir (Camele, Rana, Stradis ve Palumbo, 1995).

Nagata vd. (1995) yaptıkları çalışmada Brezilya'nın 6 eyaletinden tipik tospovirüs belirtileri (yapraklarda bronzlaşma, mozaik, halkalı lekeler ve gövdede nekroz) gösteren 8 bitki türüne ait 150 örneği rastgele toplamışlardır. Toplanan örneklerde tospovirüs türleri olan *Tomato spotted wilt tospovirus* (TSWV), *Tomato chlorotic spot tospovirus* (TCSV), *Groundnut ringspot tospovirus* (GRSV) ve *Impatiens necrotic spot tospovirus* (INSV) DAS-ELISA testleri ile tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, 69 izolat TSWV (%46), 54 izolat TCSV (%36) ve GRSV (%12) olarak tanımlanmıştır. Onbeş izolat (%10) kullanılan

antisera'ya karşı ELISA testlerinde reaksiyon göstermemiştir. Test edilen 3 viral etmen eyaletlerin çoğunda saptanmış, TSWV bilhassa Federal Bölgede ve Parana Eyaletinde, TCSV esas olarak Sao Paolo'da belirlenmiştir.

Lavina, Aramburu ve Moriones (1996) yürüttükleri çalışmada İspanya'nın Kuzey Doğu bölgelerinde 1992 ve 1993'teki yetiştirme alanlarında Temmuz ve Eylül aylarında ana sebze üretim alanlarında örnekleme yaparak *Cucumber mosaic virus* ve *Tomato spotted wilt virus*'ün bulunma oranları çalışmışlardır. TSWV, kıyı bölgelerde tarla domates alanlarında ve etraftaki yabancı otlarda yaygın bulunurken, iç kesimlerde ise hemen hemen rastlanmamıştır. En yüksek infeksiyon oranları sonbaharda TSWV için domateste ve yabancı otlarda, CMV için ise domateste tespit edilmiştir. Yerel kaynaklar olarak CMV ve/veya TSWV ile çok sık infekte olmuş bulunan *Convolvulus arvensis*, *Malva sylvestris* ve *Sonchus tenerrimus* çok yıllık bitkiler olmalarından dolayı özel bir öneme sahip görünmektedir.

Tospovirüsler bitki virüsleri içerisinde muhtelif, kozmopolit ve ekonomik öneme sahip türdür. Son zamanlarda tospovirüslere, *Tomato spotted wilt virus* ve *Impatiens necrotic spot virus* de dahil yeni ortaya çıkan Tospovirüslere ilgi artmıştır. Bitki virolojisinde ortaya çıkan gelişmeler, özellikle moleküler biyolojinin kullanılması bu virüsleri daha iyi anlamamıza yardımcı olmuştur (Mumford, Barker ve Wood, 1996).

*Tomato spotted wilt virus* (TSWV) %100'e kadar varan verim kayıplarına neden olan domatesleri etkileyen en önemli hastalıklardan birisi olarak görünmektedir. Bu virüsün öneminden dolayı son yıllarda viral partikülleri, hastalık vektörleri, taşınma ve kontrol metodları üzerine araştırmalar yapılmıştır. Bu hastalığın mücadelesinde genetik dayanıklılık en önemli çözüm yolu görünmektedir. Taşınmayı engellemek amacıyla yapılan inokulum azaltılmasını hedefleyen diğer stratejiler hastalığı durdurmada etkisiz görünmelerinden dolayı tamamlayıcı olabileceği bildirilmiştir (Rosello, Diez ve Nuez, 1996).

Aramburu, Riudavets, Arno, Lavina ve Moriones (1996) tarafından yapılan çalışmada spesifik poliklonal antiserum kullanılarak *Frankliniella occidentalis* ergin tripslerde bireysel olarak TSWV tespiti amacıyla nitroselluloz membran üzerinde Squash blotting metodu kullanılmıştır. Bu metod çok sayıda tripsi test etmek için basit ve güvenilir işlem sunmaktadır ve diğer alternatif testlere göre daha az zaman almaktadır. 1993 yılında yapılan çalışmalarda büyüme mevsiminde farklı surveylerde toplanarak test edilen 1509 trips örneğinde virüs %0 ile 2 arasında tespit edilmiştir. Sonuçların TSWV tarafından oluşturulan hastalığın tahmin

edilmesinde diğ er epidemiyolojik verilerle birlikte bu metodun da kullanılabileceğ i ifade edilmiştir.

Latham ve Jones (1996) 1993'te yaptıkları çalışmada, bahç e bitkilerinin önemli zararlısı olan batı çiçek tripsi (*Frankliniella occidentalis*)'in Batı Avustralya'da tespit edildiğ ini bildirmişlerdir. Bu zamandan sonra bahç e bitkilerinde TSWV nedeniyle zarar verici virüs hastalık epidemilerinde artış gerç ekleşmiştir. TSWV için gerç ekleştirilen survey çalışmasında pek çok bahç e bitkisi infekte olmasına rağ men domates ve biber en yüksek infeksiyon seviyesine sahip bulunmuştur.

İsrail'de yapılan çalışmada ticari seralarda ve açık tarlalarda süs bitkileri ve sebzelerdeki *Tomato spotted wilt virus* benzeri belirtiler raporlanmıştır. Bu belirtilere sahip bitkiler Ocak 1992 ile Aralık 1996 tarihleri arasında toplanmıştır. ELISA ile TSWV için analiz edilen kültür bitkileri arasında 5 familyaya ait 19 tür enfekteli bulunmuş, ayrıca 6 yabani bitki türünde doğ al infeksiyon belirlenmiştir. Virüsün kimliğ i konukç u aralığ i, seroloji ve elektron mikroskopi ile karakterize edilmiştir. Farklı antisera ile yapılan testlerde TSWV'nin İsrail izolatlarının tospovirus serogrup 1, tip 1 (BR-01 ırkı) olduğ unu ortaya koymuştur. Klonlanmış nükleokapsid izolatından üretilen bir non-radioaktif moleküler probe infekteli bitki özsularında virüsün spesifik tespitini mümkün kılmıştır. İsrail'de TSWV'ünün tespitinin süs ve sebze endüstrisi için şiddetli bir potansiyel tehlike oluşturduğ u belirtilmiştir (Antignus vd., 1997).

Perth metropolitan bölgesinde bahç e alanları yakınlarında ve içlerinde yerel bitkilerin, yabancı otların, sebzelerin ve çiçekli süs bitkilerinde *Tomato spotted wilt tospovirus* (TSWV) sıklığ nı belirlemek amacıyla sürveyler yapılmıştır. Yaprak ve petal örnekleri ELISA ile TSWV için test edilmiştir. 24 noktadan yabancı otlar örneklenmiş ve 45 türe ait 5543 bitki örneğ i test edilmiştir. TSWV, 8 mevkiden alınan 16 farklı türe ait 59 örnekte tespit edilmiştir. En yüksek infeksiyon oranı *Arctotheca calendula*'da (%15) ve *Sonchus asper*'de (%32) bulunmuştur. 28 mevkide sebzeler örneklenmiş ve 9 türe ait 3864 örnek test edilmiştir. TSWV 22 mevkiden 309 örnekte belirlenmiştir. İnfekteli bulunan sebzeler bakla, biber, kereviz, şili biberi, patlıcan, enginar, marul, patates ve domatestir. Biber ve domates bazı lokasyonlarda %100 oranında infekteli bulunmuştur. Çiçekli süs bitkileri mevkiden örnekleme yapılmış ve 16 türe ait 2698 bitkiden örnekler test edilmiştir. TSWV 3 mevkiden 296 örnekte tespit edilmiştir. Pozitif bulunan türler *Alstroemeria* (Peru zambağ ı), *Calendula* (aynısafa), *Chineseaster* (Çin yıldız çiçeğ i), *Chrysanthemum* (krizantem), *Cosmos* (kozmos



çiçeği), Dahlia (yıldız çiçeği), Delphinium (hezaren), Gladiolus (glayöl=kılıç çiçeği), Snapdragon (aslanagzı), Statice (deniz lavantası) ve Zinnia (zinya=kirli hanım çiçeği)'dir. Yüksek infeksiyon sıklıkları Peru zambağı (32%), yıldızpatı (81%), aynısefa (65%), krizantem (30%), yıldızçiçeği (28%) ve deniz lavantası (57%)'de tespit edilmiştir. TSWV'nin yüksek oranlarda bulunması genelde *Frankliniella occidentalis* varlığı ile ilişkili olarak bildirilmiştir (Latham ve Jones, 1997).

İspanya'nın Kuzeydoğusu'ndan toplanan sekiz TSWV izolatının çeşitliliği üzerine yapılan bir çalışma 10 konukçu türle karşılaştırıldığında izolatlar arasında hafif bir biyolojik değişkenlik göstermiş ancak aralarında hiçbir fark bulunamadığı belirtilmiştir (Roca, Aramburu ve Moriones, 1997).

Mertelik ve Mokra (1998) Çek Cumhuriyeti'nde 1992-1997 yılları arasında bahçede yetiştirilen ürünlerde ve yabancı otlarda (TSWV)'nin yabancı otlarda bulunma oranları ile ilgili çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bu periyotta TSWV 91 bitki türünde belirlenmiştir. Virüsün kimliği konukçu aralığına, seroloji ve elektron mikroskopiye dayalı olarak tespit edilmiştir. Doğal TSWV infeksiyonu ana vektör *Frankliniella occidentalis*'in de bulunduğu seralarda tespit edilmiştir. En çok sıklıkta TSWV ile infekteli bulunan bitki türleri *Chrysanthemum morifolium* ve *Zantedeschia* sp.'dir. Sebze ürünleri içerisinde TSWV infeksiyonu çok sık olarak domates ve biberde belirlenmiştir. Tüm durumlarda bu bitkiler fide olarak veya serada çoğu TSWV infekteli diğer türlere ait süs bitkileriyle birlikte yetiştirilmiştir. Yabancı otlar içerisinde, TSWV infeksiyonu açısından çok sık olarak seralarda mevcut olan ve *F. occidentalis* için iyi birer konukçu olan *Stelleria media* ve *Galinsoga parviflora* ile infekteli bulunmuştur.

Chatzivassiliou vd. (2000) yaptıkları çalışmada, *Trips tabaci*, *Frankliniella occidentalis* veya her iki vektörün bulunduğu Yunanistan'ın farklı bölgelerinde *Tospovirus* benzeri belirtiler gösteren bitkilerden yaprak örnekleri toplamışlardır. Bu bitkileri infekte eden virüsler *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ve *Impatiens necrotic spot virus* (INSV)'ünün N proteinine karşı elde edilmiş poliklonal antiserumlar kullanılarak ELISA testi ile belirlenmiştir. Tüm örnekler TSWV ile pozitif fakat INSV ile negatif bulunmuştur. Konukçu aralığı çalışmaları *Leguminosae* ve *Cucurbitaceae*'ye ait türler arasında duyarlılıkta farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, ilk kez virüsün konukçusu olarak tanımlanmış, *Solanum melongena*, *Celosia cristata*, *Dianthus chinensis*, *Stephanotis*

*floribunda* ve *Catharanthus roseus* türleri Yunanistan'da TSWV'nin yeni konukçuları olarak tanımlanmıştır.

Mohammadi, Esmaeeli-far, Zad, Mossahebi, Okhovat (2000) yaptıkları çalışmada *Petunia hybrida*, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum* cv. Samsun NN, *N. clevelandii* ve *N. benthamiana* test bitkilerini ve serolojik testleri kullanarak Tahran eyaletinin Varamin bölgesinde domates yaprak ve meyve örneklerinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) tespit etmişlerdir. İnokulasyon 2-4 gün sonra *P. hybrida* yapraklarında küçük kahverengi lokal nekrotik lekeler gelişmiştir. İnokulasyondan 7-10 gün sonra ortaya çıkan sistemik belirtiler yapraklarda konsentrik halkalı lekeler, gövde nekrozu, solgunluk ve bitki dokularında çökme şeklindedir. Tahran eyaletinde Ghazvin, Hashtgerd, Karaj, Malard, Shahriar ve Varamin'den toplanan 145 örnek içerisinde ELISA, dot-blot immunobinding assay ve serolojik olarak spesifik elektron mikroskopi testlerinde yalnızca Varamin örnekleri infekteli bulunmuştur. TSWV'nin konukçu aralığı özellikleri ve simptom dışı vurumu *Capsicum annuum*, *Chenopodium amaranticolor*, *Citrullus vulgaris*, *Cucumis melo* var. *inodorus*, *Cucumis melo* var. *reticulatus*, *Cucumis sativus*, *Lycopersicon esculentum*, *Phaseolus vulgaris*, *Solanum melongena* ve *S. tuberosum* üzerinde test edilmiştir. Bu bitkiler üzerinde gelişen tipik hastalık belirtileri konsentrik halkalı lekeler, kloroz, damar açılması, doku nekrozu, bodurlaşma ve lokal lezyon oluşumu şeklindedir.

Williams, Lambertini, Shohara ve Biderbost (2001) Arjantin'de domates bitkilerini etkileyen Tospovirusler tarafından oluşturulan Peste negra ismi verilen bir hastalık üzerine çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar, Arjantin'de Tospoviruslerin domates ürünüde coğrafi dağılımı ile ilgili bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Tospovirus türlerinin belirlenmesi amacıyla *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Groundnut ringspot virus* (GRSV) ve *Tomato chlorotic spot virus* (TCSV) poliklonal antiserumları double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA) kullanılarak test gerçekleştirilmiştir. Herhangi bir antisera ile reaksiyona giren domates örneklerinden %63'ü GRSV, %28,2'si TCSV ve %8,8'i TSWV ile infekteli bulunmuştur. Farklı bir coğrafi dağılım belirlenmiştir. GRSV için pozitif olarak test edilen her bitki Orta ve Kuzey Batı Arjantin'den gelmiş, TCSV-pozitif her bitki ise Kuzey Doğu'dan gelmiştir. TSWV sadece ülkenin güneyinde yer alan Rio Negro Valley bölgesinde belirlenmiştir. GRSV'nin çok yaygın olması virüsü diğer vektörlere göre daha etkin taşıyan *Frankliniella shultzei*'nin yayılmış olmasına bağlanmıştır.

2000-2001 yıllarında Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinde yer alan Uzundere, Tortum, İspir, Olur, Ilıca (Erzurum) ve Yusufeli (Artvin) ilçelerinde seralarda bir survey çalışması gerçekleştirilmiştir. Virüs benzeri belirtiler (mozaik, bronzlaşma, kloroz, şekil bozukluğu, yapraklarda kıvrılma, çalimsı büyüme) gösteren domates ve hıyar bitkilerinden toplanan şüpheli yaprak örnekleri DAS-ELISA ile test edilmiştir. ELISA test sonuçları domates bitkilerinde *Tobacco mosaic virus*'ünün sıklığının Uzundere, Tortum, İspir, Olur, Ilıca ve Yusufeli'ndeki seralarda sırasıyla %1,73, %1,76, %1,41, %1,62, %2,48 ve 1,02%, oranlarında olduğunu göstermiştir. *Tomato mosaic virus* Yusufeli ve Ilıca'da sırasıyla %0,18 ve %1,45 oranlarında, *Tomato spotted wilt virus* yalnızca Ilıca'da örneklerinde %0,22 oranında domates örneklerinde belirlenmiştir. CMV yalnızca Ilıca'dan toplanan hıyar örneklerinde %4,3 oranında belirlenmiştir (Bostan, Demirci ve Şahin, 2002).

Birkaç bitki virüsünün bir RNA susturma baskılayıcı kodladığı belirlenmiştir. Yeşil floresan protein bazlı bir geçici bastırma testi kullanılarak, *Tomato spotted wilt virus*'ünün (TSWV) NSs proteininin RNA susturma bastırıcı aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Takeda vd., 2002).

Parella, Gognalons, Gebre-Selassie, Vovlas, ve Marchoux (2003) yaptıkları çalışmada bitki virüsleri içerisinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), en yaygın ve en geniş konukçu aralığına sahip kabul edilmektedir. Bu virüs, dünyanın farklı bölgelerinde esas olarak bahçecilik ve çiçekçilik ürünlerinde sık sık tahripkar ve ağır ekonomik kayıplara neden olan çok sayıda epidemiden sorumlu tutulmuştur. Doğada çok polifagdır, virüs taşınmasının etkinliği ve vektörün biyolojik aktivitesi, yeni varyantların çıkma hızı, vektörlerin kontrolünün zorluğu, TSWV'yi tarım ürünleri yetiştiricileri için en çok korkulan bitki virüslerinden birisi yapmıştır. Virüs kaynağı olarak hizmet eden yabancı ot konukçularının eradikasyonu, vektör yönetim stratejileri ile kombine edilen önleyici ve karma kültürel uygulamalar virüsün kontrolünde önemli rol oynamaktadır. TSWV konukçu sayıları ile ilgili güncel listede 15 monokotiledon bitki, 69 dikotiledon bitki ve bir pteridophyte familyasına ait 1090 bitki yer almaktadır.

2003 ve 2004 domates yetiştirme döneminde Türkiye'nin Çanakkale ilinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) varlığını belirlemek amacıyla açık alanlarda bir survey gerçekleştirilmiştir. Toplamda 99,2 hektar domates tarlası incelenmiş, TSWV-benzeri belirtiler gösteren bitkilerden 200 örnek toplanmış ve ELISA ile test edilmiştir. ELISA'da pozitif reaksiyon veren örnekler ayrıca DTBIA ile de test edilmiştir. TSWV infekteli örnekler

indikatör bitkilere virüsü taşımak için kullanılmıştır. ELISA test sonuçlarına göre 9 örnek TSWV ile infekteli bulunmuştur. ELISA'da TSWV ile infekteli bulunan örnekler DTBIA metodu ile de infeksiyonlar teyit edilmiştir (Turhan ve Korkmaz, 2006).

Değirmenci ve Uzunoğulları (2007) Türkiye'nin Marmara bölgesinde (Bursa, Bilecik, Sakarya ve Tekirdağ) domatesin yaygın olarak yetiştirildiği alanlarda *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Potato virus X* (PVX) ve *Potato virus Y* (PVY) tespit etmek amacıyla 2003 ve 2004 yıllarında bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Örnekler serolojik olarak (DAS-ELISA) ve biyolojik olarak test edilmiştir. Test edilen örneklerde TSWV %5,5-78,6 CMV %9-68,7, ToMV %1,2-35,3 PVY %7,7-37,5 ve PVX %4,8-18,1 oranlarında tespit edilmiştir.

Chatzivassiliou, Peters ve Lolas (2007) yaptıkları çalışmada *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) Yunanistan'da ilk kez 1972 yılında bildirilmiş ve ülkenin orta ve kuzey kısımlarında çeşitli kültür ve yabancı bitki türlerinde yaygın olduğunu ifade etmişlerdir. Haziran 2006'da Yunanistan'ın Kuzeyinde Kilkis'te deneme tarlalarında *Stevia rebaudiana* (şeker otu) üzerinde ve Kozani'de tütüne yakın yetiştirilen patatesler üzerinde TSWV tarafından neden olunanlarla aynı virüs benzeri belirtiler gözlenmiştir. Hastalanmış *Stevia rebaudiana* bitkilerinde sistemik olarak infekteli yapraklarda klorotik ve nekrotik halkalar ve çizgi desenleri ve bazen bitkide genel bir sararma ve küçükleme ortaya çıkmıştır. *Stevia rebaudiana* bitkilerinin %7'si, patates bitkilerinin yalnızca %0,1'i belirti göstermiştir. TSWV belirti gösteren her iki tür bitkinin tamamında poliklonal antisera kullanılarak ELISA ile tespit edilmiş, fakat daha önce bu bölgede varlığı bildirilmiş *Potato Y virus* (PVY), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Alfalfa mosaic virus* (AMV) ve *Potato leafroll virus* (PLRV) testlerde negatif sonuç vermiştir. Simptomatik bitkilerin özsuyu kullanılarak *Petunia x hybrida* cv. Blue magic, *Nicotiana tabacum* cvs. Samsun NN ve Basmal, *N. benthamiana*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *Datura stramonium* ve *Physalis floridana*'ya mekanik inokulasyon yapılmıştır. Hem *Stevia rebaudiana* hem de patatesten bitki özsuyu test bitkilerinde TSWV belirtileri gelişmesine neden olmuş; tüm *Nicotiana* türleri ve çeşitlerinde, ayrıca *D. stramonium* ve *Physalis floridana*'da yapraklarda sistemik mozaik ve beneklenme ile takip edilen klorotik ve nekrotik lezyonlar şeklinde reaksiyon vermişlerdir. Hiçbir izolat *Petunia x hybrida* üzerinde sistemik infeksiyon oluşturmamıştır. Ergin tripsler *Thrips tabaci* olarak belirlenmiştir.

Özdemir, Erilmez ve Kaçan (2009) Türkiye'nin Denizli ilinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) varlığını belirlemek amacıyla 2005 ve 2006 yıllarında büyüme döneminde

seralarda yetiştirilen domateslerde ve bazı yabancı otlarda çalışma gerçekleştirilmiştir. TSWV benzeri belirtiler gösteren 71 yaprak ve 7 meyve örneği ELISA kullanılarak test edilmiştir. ELISA testlerinde pozitif sonuç veren yaprak örnekleri indikatör test bitkilerine de inokule edilmiştir. ELISA test sonuçları göre 71 yaprak örneğinden 43'ü ve 7 meyve örneğinden 7'si TSWV ile infekteli bulunmuştur. İnokule edilen *Nicotiana tabaccum* cvs. "Samsun", *N. rustica*, *N. glutinosa* ve *Datura stramonium* duyarlı otsu indikatör bitkilerinde, inokule edilen yapraklar üzerinde nekrotik lokal lezyon, klorotik ve nekrotik lekeler gözlenmiş, bitkilerde sistemik mozaik, nekrotik desenler, yaprak deformasyonu ve bodurlaşma gözlenmiştir. TSWV kaynağı olarak rol alan bazı yabancı ot türlerinin etkileri de bölgede araştırılmıştır. 9 familyaya ait 10 yabancı ot türü test edilmiş ve 7 yabancı ot türü TSWV ile infekteli bulunmuştur (Özdemir vd., 2009).

Yardımcı ve Kılıç (2009) tarafından 2006 ve 2007 yetiştirme döneminde Türkiye'nin Batı Akdeniz bölgesinde sebze yetiştirme alanlarında *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)'nin varlığını belirlemek amacıyla çalışma gerçekleştirmişlerdir. Survey çalışmaları sebze alanlarında gerçekleştirilmiş ve tipik TSWV belirtileri gösteren domates, biber, patates, marul, kabak ve hıyar yaprakları toplanarak yapılmıştır. Toplam olarak 12 lokasyondan 337 yaprak örneği toplanmış ve TSWV spesifik poliklonal antibadi kullanılarak DAS-ELISA ile test edilmiştir. ELISA test sonuçlarına göre 157 örnek TSWV ile infekteli bulunmuştur. Örneklerde TSWV sıklığı %46,58 olarak bulunmuştur. Örnekler arasında, TSWV infeksiyon oranları biber, marul, domates ve kabakta sırasıyla %67,16, %66,66, %46,94 ve %16,66 olarak belirlenmiştir. TSWV-pozitif bitkilerden bitki ekstraktları ile yapılan inokulasyon *Catharanthus roseus* üzerinde sistemik mozaik ve yaprak deformasyonu oluşturmuştur. Tripsler, *Frankliniella occidentalis* olarak belirlenmiştir. TSWV pozitif bitkilerden ekstraktlardan yapılan inokulasyonlar sonucunda *Pelargonium zonale* üzerinde sistemik mozaik ve yaprak deformasyonu, şiddetli bodurlaşma ve ölümler; *Nicotiana glutinosa* ve *Nicotiana tabacum* White Burley'de damar sararması, mozaik, nekrotik lokal lezyonlar ve yaprak deformasyonu oluşmuştur.

Hajiabadi, Jafarpour, Rastegar ve Mandoulakani (2009) tarafından 2002 ve 2007'de İran'ın Kuzey Doğusunda yer alan Khorasane-razavi (Mashhad, Chenaran, Quchan, Torbate-hedarieh ve Neishabour bölgeleri) ve North-khorasan (Bojnourd ve Shirvan bölgeleri)'den toplanan domates yaprak ve meyve örneklerinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) tespit edilmiştir. TSWV varlığı biyolojik testler ve DAS-ELISA ile test edilmiştir. Biyolojik testler,

*Petunia hybrida*, *Vigna unguiculata*, *Nicotiana glutinosa* ve *N. rustica* indikatör bitkiler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *P. hybrida* ve *V. unguiculata* üzerinde küçük kahverengi lokal nekrotik lezyonlar görülmüştür. *N. glutinosa* ve *N. rustica* üzerindeki sistemik belirtiler yapraklarda konsantrik lekeler, gövde nekrozu, solgunluk ve dokuda çökmeler şeklinde görülmüştür. İnokulasyondan sonra domates (*Lycopersicon esculentum*) üzerinde nekrotik kahverengi lekeler, gövde nekrozu ve kırmızımsı meyveler üzerinde sarı konsantrik lekeler ortaya çıkmıştır. 2002 yılında Khorasane-razavi ve North Khorasan eyaletlerinden toplanan 630 bitki örneği içerisinde 300 domates örneğinden sadece 12'si (Torbate-hedarieh, Neishabour ve Shirvan bölgeleri) TSWV ile infekteli olarak tespit edilmiştir. 2007 yılında Mashhad, Torbate-hedarieh, Neishabour, Bojnourd ve Shirvan bölgelerinden toplanan 700 bitki örneğinden 320 domates örneğinden 25 örnek ELISA testinde TSWV ile pozitif reaksiyon vermiş, diğer örnekler negatif bulunmuştur.

Massumi, Shaabaniyan, Pour, Heydarnejad ve Rahimian (2009) yaptıkları çalışmada İran'ın başlıca bahçecilik ürünlerinin yetiştirildiği Güney-Doğu ve Orta bölgelerinde domateste *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Beet curly top virus* (BCTV), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Tomato chlorotic spot virus* (TcSV), *Potato virus Y* (PVY), *Potato virus S* (PVS), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tomato ringspot virus* (TRSV), *Tomato aspermy virus* (TAV), *Arabis mosaic virus* (ArMV), *Tobacco streak virus* (TSV), *Tomato bushy stunt virus* (TBSV), *Tobacco mosaic virus* (TMV) ve *Tomato mosaic virus* (ToMV) sıklıklarını belirlemek amacıyla bir survey gerçekleştirilmiştir. Ocak 2003 ve Temmuz 2005 arasında, toplam olarak tarlalardan 1307 simptomatik bitki yaprağı örneği ve seralardan 603 örnek toplanmış ve spesifik antisera kullanılarak Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ile test edilmiştir. Toplanan örneklerde, sırasıyla %25,6 ve %23,4 oranlarıyla ArMV ve CMV en sık bulunan virüslerdir. BCTV, TSWV, TMV, PVY, ToMV ve TYLCV örneklerde sırasıyla %6,1, %5,8, %5,6, %5, %4,8 ve %1,6 oranlarında tespit edilmişlerdir. Test edilen örneklerde TBSV, TAV, TSV, PVS ve TRSV tespit edilmemiştir. Virüslerin farklı kombinasyonlarıyla ilgili ikili veya üçlü infeksiyonlar sırasıyla örneklerin %13,9 ve %1,7'inde bulunmuştur. Bu çalışmada PVY ve ArMV ile domates infeksiyonları teyit edilmiştir. Domates tarlalarının içinde veya yanında yetişen 20 bitki türünden 6'sı TSWV, TMV, PVY ve CMV ile infekteli bulunmuştur.

Sıcaklık ve yağış zamanlamasının, miktarının ve süresinin *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)'ünün yayılması ve birincil vektörü *Frankliniella fusca*'nın popülasyon büyümesi

yaygın civciv otu (*Stellaria media*) üzerindeki etkileri 2004, 2005 ve 2006 bahar aylarında incelenmiştir. *F. fusca* popülasyonlarının yaş yapısını ve yağışın etkisini değiştirmek amacıyla yüksek sıcaklık uygulamaları araştırılmış, günlük sıcaklıktaki ortalama 1°C'lik bir artışın ilkbahar sonlarına kadar popülasyon büyüklüğünü arttırmadığı gözlemlenmiştir. Olgunlaşmamış *F. fusca* popülasyonları, büyük miktarda yağıştan veya Nisan sonu ve Mayıs başında birbirini izleyen üç veya daha fazla gün boyunca dağılan yağışlardan hemen ve olumsuz bir şekilde etkilenmiştir. Bununla birlikte, yağış Mayıs ayı başlarında 1-3 gün boyunca dağıtıldığında, civciv otunun yaşlanmasını da geciktirmiş ve nihayetinde sezonun sonlarında daha büyük bir *F. fusca* popülasyonu ortaya çıkmıştır (Morsello ve Kennedy, 2009).

Soler vd. (2010) İspanya'nın Valencia bölgesinde domates üretimini ciddi biçimde sınırlayan viral hastalıklar üzerine çalışma yapmışlardır. Bu bölgede 3 eyalette açık alanda tarım yapılan parsellerde domates virüsleri ile ilgili bir survey yapılmıştır. Tohumların kaynağına bağlı olarak (çiftçi tohum parseli veya ticari tohum parseli) sınıflandırılan toplam olarak 228 parselde survey yapılmış, 1300 bitkiden örnekleme yapılmış ve *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Pepino mosaic virus* (PepMV), *Parietaria mottle virus* (PMoV), *Potato virus Y* (PVY), *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ve *Tomato yellow leaf curl disease* (TYLCD) infeksiyonlarının belirlenmesi için test edilmiştir. Örnekleme yapılan bitkilerin %58,9'unda ve parsellerin %86,0'sında virüs infeksiyonu belirlenmiştir. Bütün test edilen virüsler tespit edilmiş ve en yaygın olanlar ToMV ve PVY (infekteli bitkilerde sırasıyla %34,1 ve %27,1), fakat PMoV ve TYLCD daha az yaygınlıkta (infekteli bitkilerde sırasıyla %1,2 ve %1,3) belirlenmiştir. Çalışılan virüslerin çoğu için eyaletler ve tohum orijini arasında farklılıklar belirlenmiştir. Özellikle çiftçi parsellerinde hem ToMV hem de PVY infeksiyon oranları ticari tohum parsellerinden daha yüksek seviyede belirlenmiştir, birincide virüsle infekteli bitkilerin yüksek bir seviyesi %64,2 ikincisinde ise %49,1 olarak saptanmıştır. Tekli veya çoklu infeksiyonlar, sırasıyla örneklerin %42,38 ve %16,54'ünde bulunmuştur. En sık görülen çoklu infeksiyon ToMV, PVY veya her ikisi şeklindedir.

Ismaeil, Kasem ve Al-Chaabi (2010) Suriye'de yapılan bir survey çalışmasında Suriye'de 8 vilayette; Dar'a, Al-Qunaitara, Damascus, Homs, Hama, İdlib, Halep ve Tartus; 2007-2008 yıllarında ilkbahar ve sonbaharda yetiştirici tarlalarından ve bazı Tarımsal Araştırma İstasyonlarından seçilmiş 643 domates örneği (yaprak ve meyve) toplanmış ve sadece üretici alanlarından seçilmiş 250 biber örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerin DAS-

ELISA ile test edilmeleri sonucunda ortalama infeksiyonun domates örneklerinde %11,1 ve biberde %41,2 olduğunu göstermiştir. Domates ve biber tarlalarında gözlenen virüs sıklığı sırasıyla %0,7 ve 3,1'dir. En fazla yaygınlık Al-Qunaitara'dan toplanan domateslerde belirlenmiş (%41,0), bunu Dar'a, Damascus, Halep ve İdlib (%21,8, %12,0, %2,6, %1,8) izlemiştir, domateslerde yaygınlık oranları sırasıyla %6,1, %2,2, %1,2, %0,3 ve %0,1 oranlarındadır. Homs, Hama ve Tartus'ta virüs infeksiyonu belirlenmemiştir. En yüksek infeksiyon oranı Damascus'ta test edilen biberlerde ve tarladaki sıklıkta belirlenmiş (%100 ve %20), bunu Dar'a ve Hama izlemiştir (sırasıyla %64,7 ve %12,9, %15,4 ve %0,8). Al-Qunaitara, Homs, Hama, İdlib ve Tartus'tan alınan biber örneklerinde virüs belirlenmemiştir.

İran'ın Kuzeyinde Qazvin eyaletinde domateslerde *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), *Tomato chlorotic spot virus*(TCSV),*Tomato bushy stunt virus*(TBSV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tomato ring spot virus* (ToRSV), *Tomato aspermy virus* (TAV), *Potato virus Y* (PVY), *Beet curly top virus* (BCTV) ve *Cucumber mosaic virus* (CMV)'nin varlığını belirlemek amacıyla bir survey gerçekleştirilmiştir. 2007 yılının yaz mevsiminde Qazvin eyaletinde beş bölgede (Qazvin, Takestan, Boeen-Zahra, Alborz ve Abiyek) 742 simptomatik domates örneği toplanmış ve ELISA ile test edilmiştir. TSWV, Alborz (%4,4) ve Abiyek (%3,57) bölgelerinde tespit edilmiş, fakat TMV ve CMV beş bölgede de saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda TSWV yabancı otlarda belirlenmemiştir. Taşıma denemeleri *Thrips tabaci*'nin TSWV taşıyıcısı olduğunu ortaya koymuştur (Hajiabadi, Asaei, Mandoulakani ve Rastgou, 2012).

Akdeniz havzasında sebze ürünlerine en ciddi tehditler arasında Tospovirüsler yer almaktadır. Tospovirüslerin girişi, yayılması ve hastalıkların takip edilmesi epidemiyolojik bir olaydır. *Frankliniella occidentalis*'in Avrupa'ya girişinden itibaren domates, biber ve marul gibi bitkilerin yetiştirilmesini sınırlayan faktörlerden birisi *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) olmuştur. Biber ve domateste dayanıklılık genlerini yenen TSWV-dayanıklılığı kıran ırkların ortaya çıkmasının büyüyen bir problem olduğu bildirilmiştir (Turina, Tavella ve Ciuffo, 2012).

Afouda, Kotchofa, Sare, Zinsou ve Winter (2013) Benin'in Kuzeyinde Alibori bölümünde biber ve domateslerde hastalığa neden olan virüslerin tespit edilmesi amacıyla 2011 ve 2012 yıllarında survey gerçekleştirmiş ve 11 spesifik antibadi kullanılarak ELISA ile domates ve biberden 451 örnek test etmişlerdir. Survey yapılan alanlarda en yüksek infeksiyon sıklığı biberde Malanville'de (%56,1) bulunmuş, bunu Karimama (%39,3)



izlemiştir. Toplanan örneklerde en sık görülen virüsler sırasıyla *Pepper veinal mottle virus* (PVMV) (%22,3), *Cucumber mosaic virus* (CMV) (%21,7) ve *Potato virus Y-necrotic* (PVY-n) (%15,9)'dir. Bu çalışmada *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) %2,43 oranında belirlenmiş, *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Chilli veinal mottle virus* (ChiVMV), *Tomato mosaic virus* (ToMV) ve *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ise hiçbir örnekte belirlenmemiştir.

Arlı-Sökmen ve Şevik (2013) yaptıkları çalışmada 2004 yılında 5 Temmuz ile 6 Eylül tarihler arasında 10 hafta boyunca 4080 bitkiye sahip 2085 m<sup>2</sup> domates tarlasında *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)'nin zamansal ve mekansal dağılımlarını çalışmışlardır. İlk infekteli bitki, kaynak bitki tarlaya ekildikten 4 hafta sonra belirlenmiş ve 7. haftada sayı artmıştır. Simptom oluşumlarına bağlı olarak 147 bitki (%3,6) simptom belirtilerine ve serolojik testlere bağlı olarak denemenin sonunda infekteli olarak kaydedilmiştir. Aynı yıl trips gözlemleri 25 Mayıs'tan 25 Ekim'e kadar devam etmiştir deneme alanında 2 trips türü, *Frankliniella intonsa* (Tryborn) ve *Thrips tabaci* (Lindemann) tespit edilmiş, *Thrips tabaci* daha yaygın tür olarak (%84,9) belirlenmiştir. Tarlada trips türlerinin birey sayıları ile infekteli bitki sayısı arasında belirgin bir korelasyon ( $r = 0.988$ ,  $P < 0.01$ ) belirlenmiştir.

Atakan, Kamberoğlu ve Uygur (2013) 2004 ve 2006 yıllarında Türkiye'nin Doğu Akdeniz bölgesinde yabancı otlarda trips ve TSWV surveyi gerçekleştirmişlerdir. Tarla surveyleri esnasında bitki materyalleri toplanmış ve TSWV mekanik inokulasyonu için kullanılan bitkiler ELISA ile test edilmiştir. 11 bitki familyasına ait 17 bitki türünden 90 örnek, TSWV infeksiyonu açısından pozitif bulunmuştur. 26 familyaya ait 65 yabancı ot türünde TSWV belirlenmemiştir. TSWV ile infekteli bitki örneklerinde en fazla infekteli sayısı *Portulaca oleracea* (21 örnek) ve *Ranunculus muricatus*'ta (15 örnek) saptanmıştır. Tarla surveylerinde TSWV belirtileri yalnızca *R. muricatus*'ta belirlenmiştir. Yabancı otlarda TSWV infeksiyon oranları %5 ila %25 arasında bulunmuştur.

Macharia vd. (2015) yaptıkları çalışmada *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) tüm dünyada çoğu bahçe bitkileri ürünleri üretimini etkilemektedir. Kenya'da ilk kez 1999 yılında rapor edilmiştir. Bu istiladan 10 yıl sonra Kenya'da 4 domates üretim alanında TSWV'nin bulunuşu, dağılımı ve genetik çeşitliliği değerlendirilmiştir. Hastalıklı ve hastalıklı olmayan bitkilerden bitki yaprak ve meyve dahil örnekler toplanırken çiftçiler arasında TSWV ve vektörlerinin bilinirliği sorgulanmıştır. ELISA ve RT-PCR kullanılarak örnekler TSWV için analiz edilmiş, pozitif sonuç veren örnekler sekanslanmıştır. Hastalığın üzerinden bir on yıl

geçmesine rağmen virüs, virüsün vektörleri ve alternatif konukçularının çiftçiler arasında bilinirliği az bulunmuştur. Toplam 408 domates örneğinden 89'u TSWV için pozitif bulunmuştur. Pozitif örneklerin büyük bir kısmı virüsün ilk tespit edildiği Nakuru'dan gelmiş, Loitokitok'tan 1 pozitif örnek tespit edilmiş, Bungoma ve Kirinyaga'dan hiç pozitif tespit edilmemiştir. Kısmi nükleokapsid (N) kısmi dizilenmesi sonucunun Kenya izolatlarının Avrupa'da yaygın olan altgruptan olduğunu göstermiştir. Bu da tek bir girişin sınırlı bir çeşitlilik değişimine maruz kaldığını göstermiştir. Bu çalışma hastalığın ilk yayıldığı alanda devamlılık gösterdiğini fakat diğer alanlarda yayılımının çok sınırlı olduğunu göstermiştir.

Dünya çapında domates bitkisinde çok sayıda virüs ekonomik önemde hastalıklara neden olmaktadır. Türkiye'nin Güney Batısında seralarda yetiştirilen domateslerde virüsler ciddi zararlara neden olmaktadır. Toplamda 6 lokasyonda 186 bitki yaprak örneği toplanmış, yaprak örnekleri 3 virüse karşı (*Tomato spotted wilt virus*, *Tomato yellow leaf curl virus* ve *Pepino mosaic virus*) DAS-ELISA ile serolojik olarak test edilmiştir. Test edilen 118 örnekten %63,4'ü bir veya birden fazla virüs ile infekte edilmiştir. ELISA testleri 186 örnek içerisinde 53'ünün TSWV (%28,4), 43'ünün TYLCV (%23,1) ve 22'nin PepMV (%11,8) ile infekte olduğunu göstermiştir. Çeşitli örneklerde karışık enfeksiyonun farklı kombinasyonları belirlenmiştir. DAS-ELISA pozitif yaprak örnekleri ayrıca otsu indikatör bitkilere patojenin mekanik taşınması ile teyit edilmiştir (Kılıç vd., 2017).

Nikolic vd. (2018) Sırbistanda 18 bölgede 56 yörede domates ürününde yapmış oldukları çalışmalarda 3220 örnek toplamışlar ve virüs enfeksiyonları açısından analiz etmişlerdir. Test edilen 12 virüsten *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Potato virus Y* (PVY), *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tomato mosaic virus* (ToMV) ve *Tobacco mosaic virus* (TMV) test edilen örneklerde sırasıyla %42,1, %40, %11, %8,6, %2,3 ve %1,3 oranlarında tespit edilmiştir. Sonuçlar CMV'nin 2011 ve 2012'de oldukça yaygın olduğunu, PVY ve CMV'nin en yaygın virüsler olduklarını açığa çıkarmıştır. Genel olarak tekli enfeksiyonların fazla olduğu, karışık enfeksiyonların da ikili enfeksiyon şeklinde çok yaygın olduğu, CMV ve PVY kombinasyonunun en yaygın karışık enfeksiyon olduğu belirlenmiştir. 2011'de hastalık sıklığının daha fazla olduğu ve tüm enfeksiyon oranlarının 2012'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Zarzynska-Nowak, Hasiow-Jaroszewska, Korbecka-Glinka, Przybys ve Borodynko-Filas (2018)'ın bildirdiğine göre Orthospovirüsler sebze üretimi için ana tehdit kaynağı olmuşlardır. Polonya'da domates üretim bölgelerinde *Tomato spotted wilt virus* ve *Tomato*

*yellow ring virus*'un neden oldukları şiddetli salgınlar ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmada her iki virüsün eşzamanlı tespit edilmesi için bir multiple RT-PCR geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. TSWV ve TRYV'nin domates, tütün ve yabancı örneklerinde tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmada 21 örnekten 9'u sadece TSWV ve 8'i sadece TRYV ile infekteli tespit edilirken, 2 bitkinin her 2 virüs ile infekte olduğu saptanmıştır.

Batuman vd. (2020) 2005 yılından itibaren TSWV'nin Kaliforniya'nın Orta Vadisinde, primer vektör Batı çiçek tripsi (*F. occidentalis*)'in populasyon artışına bağlı olarak sanayi tipi domateslerde ekonomik önemde ortaya çıktığını ifade etmişlerdir. Bu bölgede TSWV'nin bölgedeki epidemiyolojisini anlayabilmek için Batı çiçek tripsi populasyonları ve TSWV sıklığı seralarda ve ilişkili açık alanlarda domateste 2007-2013 yılları arasında gözlemişlerdir. TSWV'nin sıklığının infeksiyon belirtileri tüm gözlenen tarlalarda belirlenmiştir. TSWV sıklığı %1'den 20'ye kadar değişkenlik göstermiştir. Primer inokulum kaynaklarının tek olmadığı, üretim bölgesine bağlı olarak trips TSWV inokulum kaynaklarının farklılık gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Ong, Taheri, Othman ve Teo (2020), küresel domates üretimi, domates viral hastalıklarının sıklıklarının artması ile güçleşmekte olduğunu bildirmişlerdir. Domates bitki virüslerinin yüksek genetik heterojenliği, yüksek mutasyon oranlarından dolayı kontrol stratejilerinin etkisiz kalmasına ve virüslerin hızlı yayılmasına neden olmaktadır. Araştırmacılar, gelecekte kontrol stratejileri, RNAi stratejileri ile virüsün biyolojik özelliklerinin kombinasyonlarına dayalı olabileceğini belirtmişlerdir.

## **1.2. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı**

Bu çalışmada Yunanistan'da Trakya bölgesinde domates yetiştirilen alanlarda TSWV'nin varlığının ve yaygınlık durumunun serolojik yöntemlerden DAS-ELISA testi ile saptanması amaçlanmıştır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Materyaller

Araştırmada bitkisel materyal olarak Çizelge.1’de de gösterildiği gibi Yunanistan’da Batı Trakya bölgesine mensup 7 farklı alandan, domates yetiştirilen 8 tarla ve 2 seradan olmak üzere 125 TSWV’ye benzer semptomlar; deformasyon, geriye doğru ölüm, cüceleşme, yapraklarda ve meyvelerde klorotik ve nekrotik lekeler, halka şeklinde lekeler gösteren yaprak ve meyve örnekleri alınmıştır.

Çizelge 2.1. Batı Trakya'da survey çalışması yapılan ve örnek alınan alanlar

İller	İlçeler
Gümülcine	Ircan
	Karacaoğlan
	Yassıköy
	Büyük Doğanca
	Vakıf
İskeçe	Yahyabeyli
	Gencerli

TSWV’nin tanımlanmasında kullanılan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemlerinde 96 çukurlu mikrotiter plateler, Bio-Rad iMarkBench Microplate Reader ELISA plate okuyucusu, otomatik pipetler, pipet uçları, ELISA kiti (Loewe), tampon çözeltileri ve saf su kullanılmıştır.

### 2.2. Metot

#### 2.2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması

Survey çalışması 2021 yılında Ağustos ayı içerisinde 1 hafta süreyle düzenli bir şekilde Yunanistan Batı Trakya bölgesinde Gümülcine ve İskeçe illerine mensup 7 köyden domates yetiştirilen kapalı ve açık alanlardan klorotik halka şeklinde lekeleri olan, deforme olmuş, açık koyu sarı lekeli meyve ve sarı halka şeklinde lekeleri olan, kıvrırcıklaşma görülen bitki yaprak örnekleri araziden toplanmıştır. Alınan örnekler önce plastik buzdolabı poşetlerine daha sonra da gruplar halinde ayrılarak tek bir poşete konulmuş ve etiketlenilip uygun koşullarda laboratuvara getirilmiştir. Bitki örnekleri testlerin gerçekleştirilmesi sürecine kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

### 2.2.2. Serolojik Testler

DAS-ELISA alışmaları Clark ve Adams (1977)'a göre yapılmıştır.

İlk olarak IgG1:1000 oranında kaplama tampon (Coating buffer) zeltisi (EK-1A) ile seyreltilerek ELISA plateleri üzerinde yer alan her kuyucuğa 200 µl eklenerek platelerin üzeri kapatılmış ve platerler inkübatörde 37 C'de 2 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon aşamasından sonra ELISA platelerindeki her kuyucuğa 200 µl yıkama tamponu (Washing buffer) (EK-2 ve EK-3) eklenerek 3 defa yıkama işlemi yapılmıştır. Bitki yaprak örneklere steril porselen havanlarda ezilerek ekstraksiyon tamponu (EK-4) (pH:7,4) ile muamele edilmiş ve elde edilen bitki ekstraktlarından her kuyucuğa 200 µl eklenmiştir. ELISA platelerinin üzeri kapatılarak 4 C'de 12-14 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuşlardır. İnkübasyon işleminden sonra her plate kuyucuğu 200 µl yıkama tamponu (Washing buffer) (pH:7,4) ile 3 kez yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Alkaline fosfat ile etiketli olan IgG, konjugat tamponu (EK-5) içerisinde 1:1000 oranında seyreltilerek viral antiserumlar eklenmiş ve plate üzerindeki her kuyucuğa 200 µl hacimde eklenerek 37 C'de 2 saat süre ile inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra her plate kuyucuğu 200 µl yıkama tamponu (pH:7,4) ile 3 kez yıkama işlemine tabi tutulmuştur. pNPP (para-nitrophenylphosphate) içeriğindeki 1 mg/ml substrate buffer (EK-6) her kuyucuğa 200 µl eklenerek ELISA plateleri oda sıcaklığında karanlık ortamda 1 saat süre ile inkübasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan DAS-ELISA sonucunda Bio-Rad iMarkBench Microplate Reader ELISA plate okuyucuda 405 nm dalga boyunda okuma yapılarak absorpsiyon değerleri elde edilmiştir. ELISA platelerinde testlerde hem pozitif (+) hem de negatif (-) kontroller kullanılmıştır. Negatif kontrolun 2 katı değer veren kuyulardaki örneklere pozitif olarak kabul edilmiştir.

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Sörvey çalışmalarında ait simptomatolojik gözlemler yapılmış ve bu gözlemler sonucu TSWV etmeninin neden olduğu semptomlara rastlanmıŐtır. Yaprak kısmında Şekil bozukluğu, klorotik ve nekrotik lokal lekeler, sararma, solgunluk, mordan kahverengiye dönen yapraklarda içe doğru kıvrılmalar, sürgünlerde geriye doğru ölümlere ve genel olarak bitkide bodurlaşma belirtisine de rastlanmıŐtır (Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3). Meyve kısmında ise Şekilde bozukluk, açık renkte ve nekrotik halkalı lekeler ve pürüzlü bir yapıya sahip meyve oluŐumları gözlemlenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.1. Sürgünlerde geriye doğru ölüm ve yaprakçıklarda nekroz.

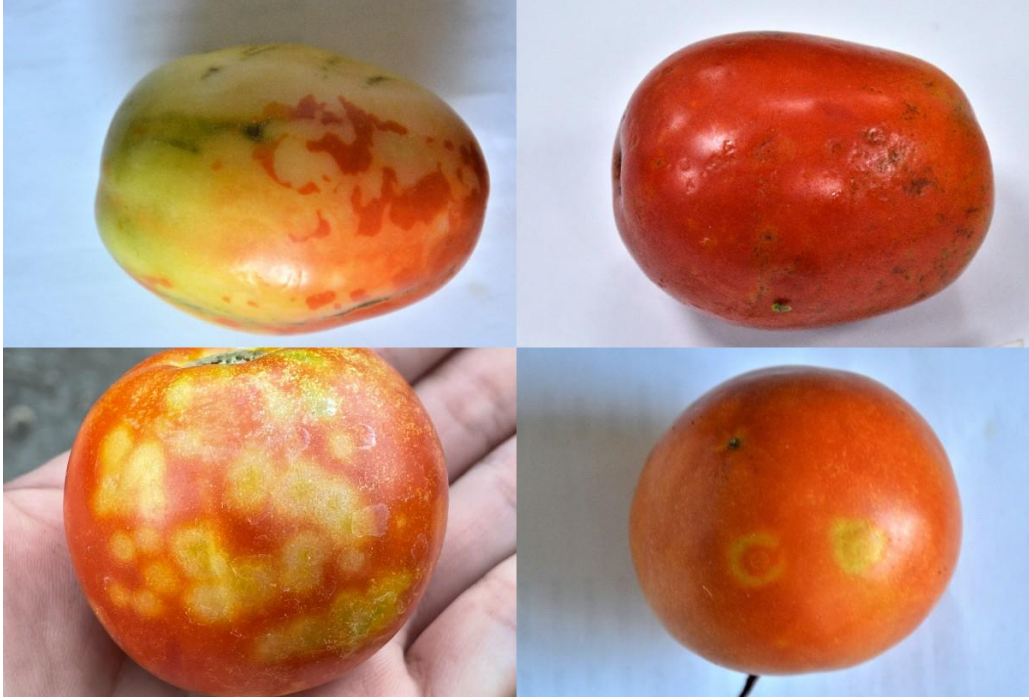


Şekil 3.2. Yassıköy beldesine ait domates tarlasında görülen geriye doğru ölümler ve bodurlaşma.



Şekil 3.3. Yapraklarda şekil bozukluğu, nekrotik ve klorotik lokal lekeler.

Bu çalışmada simptomatolojik olarak bitkinin meyve ve yaprak kısımlarında virüs enfeksiyonu belirtileri gösteren 125 domates örneği alınmış ve serolojik test yöntemlerinden birisi olan DAS-ELISA kullanılarak virüs enfeksiyonları tespit edilmiştir. Domates bitkileri üzerinde gözlenen belirtileri konsentrik halkalı lekeler, kloroz, damar açılması, doku nekrozu, bodurlaşma ve lokal lezyon oluşumu şeklindedir. Bu belirtiler Mohammadi vd. (2000) ve Nagata vd. (1995) tarafından belirtilen belirtiler ile benzerlik göstermiştir.

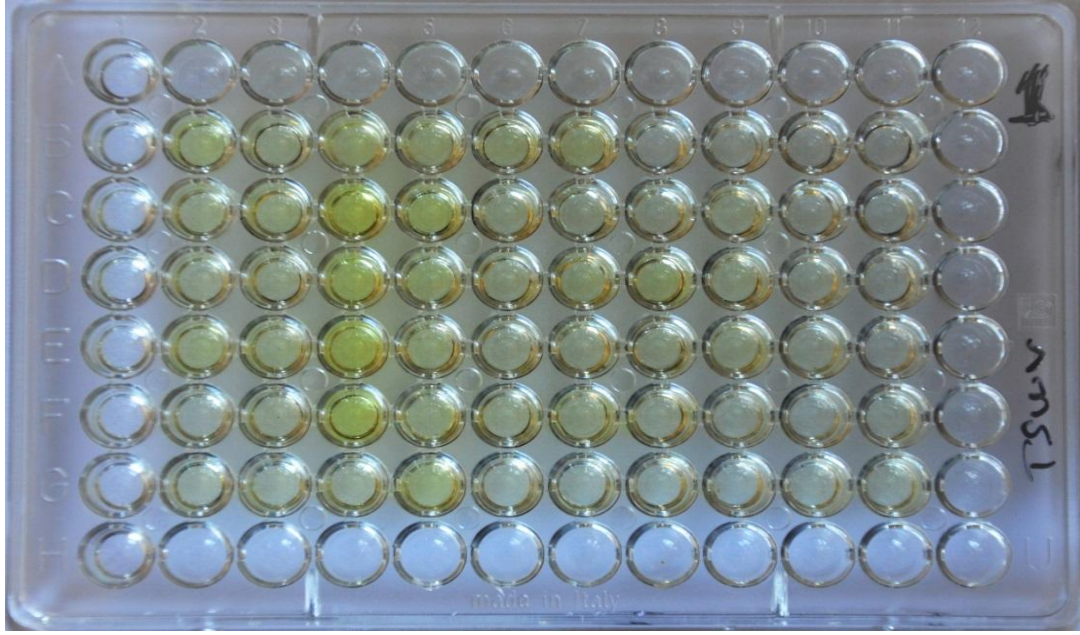


Şekil 3.4. Meyvede lekelenme, halkalı leke ve nekrotik halkalı leke oluşumu.

Gümülcine ve İskeçe bölgelerindeki domates üretim alanlarında TSWV'nin yaygınlığının belirlenmesi amacıyla 7 ilçeden alınan toplam 125 domates örneği DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Bunun sonucunda pozitif örneklerin sarı renge dönüştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 3.5). Çizelge 3.1'de de görüldüğü gibi il ve ilçelere göre alınan örnek sayısı, test edilen bitki sayısı ve yaygınlık oranları gösterilmektedir. TSWV'nin belirtilerine benzer toplam 8 tarla 2 seradan 125 örnek alınmıştır. Çizelge 4.1'e göre en fazla yaygınlık oranı %61,9 ile Karacaoğlan beldesi ve %50 ile Ircan ve Yassıköy'de gözlenirken bunları %45 ile Vakıf beldesi takip etmiştir.



TSWV tespitinde agaroz jelde immunodiffuzyon, IEM, Squash blotting, Protein-A sandwich ELISA, Double-antibody sandwich ELISA ve dot-immunobinding assay çeşitli yöntemler kullanılmakta olup bunlar içerisinde DAS-ELISA en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisi olarak değerlendirilmektedir (Sherwood vd., 1989; Huguenot vd., 1990; Camele vd. 1995; Aramburu vd. 1996; Chatzivassiliou vd. 2000; Arlı-Sökmen ve Şevik 2013).



Şekil 3.5. DAS ELISA yönteminde infekteli örneklerin bulunduğu çukurlardaki sarı renk oluşumu.

Çizelge 3.1. TSWV'nin domates ekim alanlarında yaygınlık durumu.

İller	İlçeler	Toplanan örnek sayısı	Pozitif örnek sayısı	İnfeksiyon oranı (%)
Gümüllüne	Ircan	12	6	50,0
	Karacaoğlan	21	13	61,9
	Vakıf	20	9	45,0
	Yahyabeyli	20	1	5,00
	Yassıköy	10	5	50,0
	Büyük Doğanca	22	7	31,8
İskeçe	Gencerli	20	6	30,0

Elde edilen sonuçlar diğer ülkelerde domates yetiştirilen alanlarda belirlenen infeksiyon oranlarıyla benzerlik göstermektedir. Türkiye'nin Marmara bölgesinde (Bursa, Bilecik, Sakarya ve Tekirdağ) domatesin yaygın olarak yetiştirildiği alanlarda 2003 ve 2004 yıllarında gerçekleştirilen çalışmada test edilen örneklerde TSWV %5,5-78,6 oranlarında tespit edilmiştir (Değirmenci ve Uzunoğulları, 2007). İtalya'nın Güneyinde domates ve biber ürünlerinde TSWV'nin yeni salgın durumları ortaya çıkmıştır. İnfekteli domates ve biber bitkilerinin oranı %10 ile 50 arasında değişmiş, Metapontum bölgesinde bir serada %80'e ulaşmıştır (Camele vd., 1995). Brezilya'nın 6 eyaletinden tipik tospovirüs belirtileri gösteren 8 bitki türüne ait 150 örneği rastgele toplamışlar ve bunlardan 69 izolat TSWV (%46) olarak tanımlanmıştır (Nagata vd. 1995). Polonya'da yapılan bir çalışmada toplanan 21 örnekten 9'u sadece TSWV ve 8'i sadece TRYV ile infekteli tespit edilirken, 2 bitkinin her 2 virüs ile infekte olduğu saptanmıştır (Zarzynska-Nowak vd., 2018). Batuman vd. (2020) yaptıkları çalışmalarda TSWV sıklığının %1'den 20'ye kadar değişkenlik göstermiş olduğunu bildirmişlerdir.

Williams vd. (2001)'i Arjantin'de domates bitkilerini etkileyen Tospovirüsler tarafından oluşturulan Peste negra ismi verilen bir hastalık üzerine çalışma yapmışlardır. Herhangi bir antisera ile reaksiyona giren domates örneklerinden %8,8'i TSWV ile infekteli bulunmuştur. Bu oran (%8,8) bizim yaptığımız çalışmada Yahyabeyli ilçesinden yüksek olmakla birlikte örnek alınan diğer ilçelerden daha yüksek tespit edilmiştir.

2003 ve 2004 domates yetiştirme döneminde Türkiye'nin Çanakkale ilinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)'ünün varlığını belirlemek amacıyla açık alanlarda bir survey çalışmasında TSWV-benzeri belirtiler gösteren bitkilerden 200 örnek toplanmış ve ELISA test sonuçlarına göre 9 örnek TSWV ile infekteli bulunmuştur (Turhan ve Korkmaz, 2006). Türkiye'nin Denizli ilinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) varlığını belirlemek amacıyla 2005 ve 2006 yıllarında büyüme döneminde seralarda yetiştirilen domateslerde ve bazı yabancı otlarda ELISA ile test edilen 71 yaprak örneğinden 43'ü ve 7 meyve örneğinden 7'si TSWV ile infekteli bulunmuştur (Özdemir vd., 2009). Bu çalışmalara ek olarak Türkiye'nin Güney Batısında seralarda yetiştirilen domateslerde virüsler ciddi zararlara neden olduğu bildirilmiş ve 6 lokasyonda 186 bitki yaprak örneği toplanan bir çalışmada, yaprak örnekleri DAS-ELISA ile serolojik olarak test edilmiştir. ELISA testleri 186 örnek içerisinde 53'ünün TSWV (%28,48) ile infekte olduğunu göstermiştir (Kılıç vd., 2017). TSWV'ünün bulunma oranı yaptığımız çalışmada ise daha yaygın olarak belirlenmiştir.

Yardımcı ve Kılıç (2009), 2006 ve 2007 yetiştirme döneminde Türkiye'nin Batı Akdeniz bölgesinde sebze yetiştirme alanlarında *Tomato spotted wilt virus* (TSWV)'nin varlığını belirlemek amacıyla gerçekleştirilen çalışmada TSWV enfeksiyon oranları domatesten %46,94 olarak belirlenmiştir.

Bununla birlikte bazı domates yetiştirme alanlarında yapılan çalışmalarda enfeksiyon oranları bu çalışmada tespit edilen oranlardan daha düşük olarak belirlenmiştir.

Hajiabadi vd., (2009) tarafından 2002 ve 2007'de İran'ın Kuzey Doğusunda toplanan domates yaprak ve meyve örneklerinde *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) tespit edilmiştir. TSWV varlığı biyolojik testler ve DAS-ELISA ile test edilmiştir. 2002 yılında 300 domates örneğinden sadece 12'si (Torbate-hedarieh, Neishabour ve Shirvan bölgeleri) TSWV ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. 2007 yılında Mashhad, Torbate-hedarieh, Neishabour, Bojnourd ve Shirvan bölgelerinden toplanan 700 bitki örneğinden 320 domates örneğinden 25 örnek ELISA testinde TSWV ile pozitif reaksiyon vermiş, diğer örnekler negatif bulunmuştur.

Suriye'de yapılan bir survey çalışmasında Suriye'de 8 vilayette toplanan örneklerin DAS-ELISA ile test edilmeleri sonucunda ortalama TSWV enfeksiyonunun domates örneklerinde %11,1 olduğunu ve domates tarlalarında gözlenen virüs sıklığının %0,7 olarak bildirilmiştir (Ismaeil vd., 2010). İran'ın başlıca bahçecilik ürünlerinin yetiştirildiği Güney-Doğu ve Orta bölgelerinde domatesten TSWV'nin %5,8 oranında yaygın olduğunu belirtmişlerdir (Massumi vd., 2009). Ayrıca İran'ın Kuzeyinde Qazvin eyaletinde domateslerde çeşitli virüsler ile ilgili yapılan çalışmalarda *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) 7 bölgeden sadece 2'sinde (Alborz (%4,4) ve Abiyek (%3,5)) bölgelerinde tespit edilmiştir (Hajiabadi vd., 2012). Benin'in Kuzeyinde Alibori bölümünde 2011 ve 2012 yıllarında gerçekleştirilen survey çalışmasında *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) toplanan ve test edilen hiçbir örnekte belirlenmemiştir (Afouda vd., 2013). 2000-2001 yıllarında Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinde yer alan Uzundere, Tortum, İspir, Olur, Ilıca (Erzurum) ve Yusufeli (Artvin) ilçelerinde seralarda bir survey çalışması gerçekleştirilmiştir. *Tomato spotted wilt virus* yalnızca Ilıca'dan alınan örneklerde %0,22 oranında domates örneklerinde belirlenmiştir (Bostan vd., 2002). Sırbistan'da 18 bölgede 56 yörede domates ürününde yapmış oldukları çalışmalarda 3220 örnek toplamışlar ve test edilen 12 virüsten *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) enfeksiyonunun %8,6 olduğunu tespit etmişlerdir (Nikolic vd., 2018). Bu oran, bizim yaptığımız çalışmaya göre genelde daha düşüktür.

#### 4. SONUÇ VE ÖNERİLER

*Tomato spotted wilt virus* (TSWV) dünya genelinde çok geniş konukçu dizisine sahip olup, %100 kadar verim kayıplarına neden olmakta ve çok sayıda vektör ile taşınabilmektedir (Brittlebank, 1919; Cho vd., 1995; Choi vd., 2014; Gonsalves ve Trujillo 1986; Kaminska ve Korbin, 1993; Camele vd., 1995; Rosello vd., 1996; Antignus vd., 1997; Latham ve Jones, 1997; Mertelik ve Mokra,1998; Bostan vd., 2002; Parella vd., 2003; Atakan vd. 2013). TSWV'ünün en önemli vektörlerinden olan *Frankliniella occidentalis* başta olmak üzere birçok thrips türü ile uzak alanlara kolaylıkla taşınabilen ve infeksiyon sayesinde de çok büyük ekonomik kayıplara sebep olan önemli bir bitki virüs hastalığıdır (Cho vd., 1988; Stobbs vd., 1992; Latham ve Jones, 1996; Parella vd., 2003; Atakan vd. 2013; Turina vd., 2012; Batuman vd., 2020).

Gümölcine ve İskeçe bölgelerindeki domates üretim alanlarında TSWV'nin yaygınlığının belirlenmesi amacıyla 7 ilçeden alınan toplam 125 domates örneği DAS-ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Bunun sonucunda pozitif örneklerin sarı renge dönüştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 3.5). Çizelge 3.1'de de görüldüğü gibi il ve ilçelere göre alınan örnek sayısı, test edilen bitki sayısı ve yaygınlık oranları gösterilmektedir. TSWV'nin belirtilerine benzer semptomlar gösteren toplam 8 tarla ve 2 serada 125 bitkiden örnek alınmıştır. Çizelge 4.1'e göre en fazla yaygınlık oranı %61,9 ile Karacaoğlan beldesi, %50 ile Ircan ve Yassıköy beldelerinde görülürken, bunları %45 ile Vakıf beldesi takip etmiştir.

Çalışmada testlerde kullanılan tüm örnekler, TSWV semptomları gösteren bitkilerden toplanmış olmasına rağmen serolojik test sonucu tüm bitkilerin pozitif çıkmamasının nedeninin bitki bünyesinde başka virüs infeksiyonlarının olduğu veya bitkide bir takım besin maddesi eksikliği olduğu sonucunu düşündürmüştür.

Sonuç olarak domateste TSWV'üne ve diğer virüslere karşı çeşitli yöntemler kullanılarak üretimin devamlılığının sağlanmasına çalışılmaktadır, fakat kesin bir mücadele yöntemi bulunmamaktadır (Ong vd., 2020). Dayanıklılığı kıran virüs ırklarının ortaya çıkması virüsün zararını daha da arttırmaktadır (Turina vd., 2012). Bu yüzden değişik mücadele yöntemleri uygulanmaktadır. TSWV izolatlarının hastalık oluşturma şiddeti, dayanıklılık kırma kabiliyeti ve infeksiyon sıklıklarının izlenmeye devam edilmesi gerekmektedir. Bu virüs ile mücadelede genetik dayanıklılık en önemli çözüm yolu olarak görünmektedir. Taşınmayı engellemek amacıyla yapılan inokulum azaltılmasını hedefleyen diğer stratejiler hastalığı durdurmada etkisiz görünmelerinden dolayı tamamlayıcı olabileceği bildirilmiştir

(Rosello vd., 1996). Ayrıca hastalıktan arı sertifikalı tohum kullanımı, virüs vektörleri ile biyolojik veya kimyasal yolla mücadele edilmesi, hasat sonrası bitki kalıntılarını temizlemek için toprağın iyice işlenmesi de mücadelede kullanılacak diğer yöntemler olarak önerilebilir.

## KAYNAKLAR

- Afouda, L. A. C., Kotchofa, R., Sare, R., Zinsou, V. ve Winter, S. (2013). Occurrence and distribution of viruses infecting tomato and pepper in Alibori in Northern Benin. *Phytoparasitica*, 41(3), 271-276.
- Ainsworth, G. D. (1932). Virus disease investigation. Cheshunt Experience Research Statistic, 18th Annual Report, 1939. p. 39.
- Antignus, Y., Lapidot, M., Ganaim, N., Cohen, J., Lachman, O., Pearlsman, M., Raccah, B. ve Gera, A. (1997). Biological and molecular characterization of tomato spotted wilt virus in Israel. *Phytoparasitica*, 25(4), 319-330.
- Aramburu, J., Riudavets, J., Arno, J., Laviña, A. ve Moriones, E. (1996). Rapid serological detection of Tomato spotted wilt virus in individual thrips by squash-blot assay for use in epidemiological studies. *Plant Pathology*, 45(2), 367-374.
- Arlı-Sokmen, M. ve Sevik, M. A. (2013). Spread of Tomato spotted wilt virus from an internal virus source by thrips species in Samsun, Turkey. *Phytoparasitica*, 41(2), 159-168.
- Atakan, E., Kamberoglu, M. A. ve Uygur, S. (2013). Role of weed hosts and the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in epidemiology of Tomato spotted wilt virus in the Çukurova region of Turkey. *Phytoparasitica*, 41(5), 577-590.
- Batuman, O., Turini, T. A., LeStrange, M., Stoddard, S., Miyao, G., Aegerter, B.J., Chen, L.F., McRoberts, N., Ullman, D. E. ve Gilbertson, R. L. (2020). Development of an IPM Strategy for Thrips and Tomato spotted wilt virus in Processing Tomatoes in the Central Valley of California. *Pathogens*, 9(8).
- Bostan, H., Demirci, E. ve Şahin, F. (2002). Determination of virus diseases on tomato and cucumber grown in greenhouses in Erzurum and Artvin provinces by ELISA. *Journal of Turkish Phytopathology*, 31(1), 23-29.
- Brittlebank, C. C. (1919). Tomato diseases. *Journal of Department of Agriculture of Victoria Australia*, 17, 231-235.

- Brown, J. A. (2019). *Genetic Changes in TSWV Associated with Virus Accumulation in and Transmission Efficiency of Thrips tabaci* (Doctoral thesis). North Carolina State University, Raleigh, North Carolina.
- Camele, I., Rana G.L., De Stradis A. ve Palumbo, M. (1995). Nuove epifizie del virus della bronzatura del pomodoro (TSWV) in Basilicata e Puglia. *Petria*, 5, 137-142.
- Chatzivassiliou, E. K., Weekes, R., Morris, J., Wood, K.R., Barker, I. ve Katis, N. I. (2000). *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) in Greece: its incidence following the expansion of *Frankliniella occidentalis*, and characterisation of isolates collected from various hosts. *Annals of Applied Biology*, 137(2), 127-134.
- Chatzivassiliou, E. K., Peters, D. ve Lolas, P. (2007). Occurrence of *Tomato spotted wilt virus* in *Stevia rebaudiana* and *Solanum tuberosum* in Northern Greece. *Plant Disease*, 91(9), 1205-1205.
- Cho, K., Eckel, C. S., Walgenbach, J. F. ve Kennedy, G. G. (1995). Overwintering of Thrips in North Carolina. *Population Ecology*, 24(1), 58-67.
- Cho, J.J., Mau, R. F. L., Gonsalves, D. ve Mitchell, W. C. (1986). Reservoir weed hosts of *Tomato spotted wilt virus*. *Plant Disease*, 70,1014-1017.
- Cho, J. J., Mau, R. F. L., Hamasaki, R. T. ve Gonsalves, D. (1988). Detection of *Tomato spotted wilt virus* in individual thrips by Enzyme linked immunosorbent assay. *Phytopathology*, 78(10), 1348-1352.
- Choi, G. S., Kim, J. H., Kim, J. S. ve Choi, J. K. (2004). Characterization of *Tomato spotted wilt virus* from Paprika in Korea. *The Plant Pathology Journal*, 20(4), 297-301.
- Choi, S. K., Cho, I. S., Choi, G. S. ve Yoon, J. Y. (2014). First Report of *Tomato spotted wilt virus* in *Brugmansia suaveolens* in Korea. *Plant Disease*, 98(9), 1283.
- Clark, M. F. ve Adam A. N. (1977). Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34(3), 475-483.
- De Avila, A. C. (1992). *Diversity of Tospoviruses* (Doctoral thesis). Wageningen Agricultural University, Wageningen, Nederland.

- Değirmenci, K. ve Uzunoğulları, N. (2007). Determination of problem viruses on the tomatoes cultivation areas in Marmara Region. **Foreign Title** : Marmara Bölgesinde domates yetiştiricilik alanlarında sorun olan virüslerin belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 47(1/4), 72-77.
- Goldberg, N. P. ve French, J. M. (2016). Tomato spotted wilt virus. *College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences, New Mexico State University, Guide H-242*. [https://aces.nmsu.edu/pubs/\\_h/H242.pdf](https://aces.nmsu.edu/pubs/_h/H242.pdf)
- Gonsalves, D. ve Trujillo, E. E. (1986). *Tomato spotted wilt virus* in papaya and detection of the virus by ELISA. *Plant Disease*, 70(6), 501-506.
- Hopkins, J. C. F. (1940). The tobacco 'kromnek' virus in Rhodesia. *Rhodesia Agricultural Journal*, 37(6), 326-329.
- Huguenot, C., van den Dobbsteven, G., de Haan, P., Wagemakers, C. A. M., Drost, G. A., Osterhaus, A. D. M. E. ve Peters, D. (1990). Detection of tomato spotted wilt virus using monoclonal antibodies and riboprobes. *Archives of Virology*, 110(1-2), 47-62.
- Hsu, H. T. ve Lawson, R. H. (1991). Direct tissue blotting for detection of *Tomato spotted wilt virus* in Impatiens. *Plant Disease*, 75(3), 292-295.
- Hajiabadi, A. M., Jafarpour, B., Rastegar, M. F. ve Mandoulakani, B. A. (2009). *Detection of Tomato spotted wilt virus in North-East of Iran*. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 7(2) , 471-474.
- Hajiabadi, A. M., Asaei, F., Mandoulakani, B. A. ve Rastgou, M. (2012). Natural incidence of tomato viruses in the North of Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(2), 390-396.
- Ismaeil, F., Kasem, A. A. H. ve Al-Chaabı, S. (2010). Current status of Tomato spotted wilt virus on tomato and pepper crops in Syria and serological characterization of some its isolates. *Arab Journal of Plant Protection*, 28(2), 120-126.
- Kaminska, M. ve Korbin, M. (1993). *Tomato spotted wilt virus - Occurrence and detection*. *Symposium on the Biotic Environment of Agriculture and Disease Threats to Plants*. Proceedings of the Symposium on the Biotic Environment of Agriculture and Disease Threats to Plants. pp.221-228.



- Kılıç, H. C., Urgan, G. ve Yardımcı, N. (2017). Greenhouse tomato crops affected by viruses in the West Mediterranean region of Turkey. *Bangladesh Journal of Botany*, 46(4), 1421-1424.
- Latham, L. ve Jones, R. (1996). Tomato spotted wilt virus and its management. *Journal of Agriculture, Western Australia*, 37(3), 86-91.
- Latham, L. J. ve Jones, R. A. C. (1997). Occurrence of Tomato spotted wilt tospovirus in native flora, weeds, and horticultural crops. *Australian Journal of Agricultural Research*, 48(3), 359-369.
- Lavina, A., Aramburu, J. ve Moriones, E. (1996). Occurrence of Tomato spotted wilt and Cucumber mosaic viruses in field-grown tomato crops and associated weeds in Northeastern Spain. *Plant Pathology*, 45(5), 837-842.
- Macharia, I., Backhouse, D., Ateka, E. M., Wu, S. B., Harvey, J., Njahira, M. ve Skilton, R. A. (2015). Distribution and genetic diversity of Tomato spotted wilt virus following an incursion into Kenya. *Annals of Applied Biology*, 166(3), 520-529.
- Massumi, H., Shaabani, M., Pour, A. H., Heydarnejad, J. ve Rahimian, H. (2009). Incidence of Viruses Infecting Tomato and Their Natural Hosts in the Southeast and Central Regions of Iran. *Plant Disease*, 93(1), 67-72.
- Mertelik, J. ve Mokra, V. (1998). Tomato spotted wilt virus in ornamental plants, vegetables and weeds in the Czech Republic. *Acta Virologica*, 42(5), 347-351.
- Mingfeng, F., Ruixiang C., Minglon, C., Rong, G., Luyao, Li., Zhike, F., Jianyan, W., Li, X., Jian, H., Zhongkai, Z., Kormelink, R. ve Xiaorong, T. (2020). Rescue of Tomato spotted wilt virus entirely from complementary DNA clones. *PNAS*, 117(2), 1181-1190.
- Mohammadi, M., Esmaeeli-far, A., Zad, J., Mossahebi, G. ve Okhovat, M. (2000). Serological detection and symptomatology of tomato spotted wilt virus in Tehran Province, Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2(2), 107-117.
- Morsello, S. C. ve Kennedy, G. G. (2009). Spring temperature and precipitation affect tobacco thrips, *Frankliniella fusca*, population growth and *Tomato spotted wilt virus*

- spread within patches of the winter annual weed *Stellaria media*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 130(2), 138-148.
- Mumford, R. A., Barker, I. ve Wood, K. R. (1996). The biology of the tospoviruses. *Annals of Applied Biology*, 128(1), 159-183.
- Nagata, T., Avila, A. C., Tavares, P. C. T., Barbosa, C., Juliatti, F. ve Kitajima, E. W. (1995). Occurrence of different tospoviruses in six states of Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 20(1), 90-95.
- Nikolic, D., Vucurovic, A., Stankovic, I., Radovic, N., Zecevic, K., Bulajic, A. ve Krstic, B. (2018). Viruses affecting tomato crops in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 152(1), 225-235.
- Oishimaya, S. N. (2020). *The World's Leading Tomato Producing Countries*. Erişim adresi: <https://www.worldatlas.com/articles/which-are-the-world-s-leading-tomato-producing-countries.html>
- Olaya, C., Fletcher, S. J., Zhai, Y., Peters, J., Margaria, P., Kis, S., Mitter, N. ve Pappu, H. R. (2020). The *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) Genome is Differentially Targeted in TSWV-Infected Tomato (*Solanum lycopersicum*) with or without Sw-5 Gene. *Viruses*, 12(4), 363.
- Ong, S. N., Taheri, S., Othman, R. F. ve Teo, C. H. (2020). Viral disease of tomato crops (*Solanum lycopersicum* L.): an overview. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127: 725-739.
- Özdemir, S., Erilmez, S. ve Kaçan, K. (2009). *Detection of Tomato spotted wilt virus (TSWV) on tomato crops and some weeds in Denizli Province of Turkey*. **Editors** : Saygılı, H., Şahin, F. ve Aysan, Y. (2007, October 8-12). **Conference paper**: Acta Horticulturae No.808:171-174. **Conference Title** : Proceedings of the Second International Symposium on Tomato Diseases, Kusadası, Turkey.
- Parella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Vovlas, C. ve Marchoux, G. (2003). An update of the host range of *Tomato spotted wilt virus*. *Journal of Plant Pathology*, 85(4), 227-264.

- Roca, E., Aramburu, J. ve Moriones, E. (1997). Comparative host reactions and *Frankliniella occidentalis* transmission of different isolates of *Tomato spotted wilt tospovirus* from Spain. *Plant Pathology*, 46,407-415.
- Rosello, S., Diez, M. J. ve Nuez, F. (1996). Viral diseases causing the greatest economic lossesto the tomato crop. The *Tomato spotted wilt virus*. *Scientia Horticulturae*, 67(3-4), 117-150.
- Sherwood, J. L., Sanborn, M. R., Keyser, G. C. ve Myers, L. D. (1989). Use of monoclonal-antibodies in detection of *Tomato spotted wilt virus*. *Phytopathology*, 79, 61-64.
- Soler, S., Prohens, J., Lopez, C., Aramburu, J., Galipienso, L. ve Nuez, F. (2010). Viruses Infecting Tomato in Valencia, Spain: Occurrence, Distribution and Effect of Seed Origin. *Journal of Phytopathology*, 158(11-12), 797-805.
- Stobbs, L. W., Broadbent, A. B., Allen, W. R. ve Stirling, A. L. (1992). Transmission of *Tomato spotted wilt virus* by the western flower thrips to weeds and native plants found in Southern Ontario. *Plant Disease*, 76(1), 23-29.
- Takeda, A., Sugiyama, K., Nagano, H., Mori, M., Kaido, M., Mise, K., Tsuda, S. ve Okuno, T. (2002). Identification of a novel RNA silencing suppressor, NSs protein of *Tomato spotted wilt virus*. *FEBS Letters*, 532(1-2), 75-79.
- Turhan, P. ve Korkmaz, S. (2006). Determination of Tomato spotted wilt virus using serological and biological methods in tomatoes grown in Çanakkale Province. **Foreign Title** : Çanakkale ilinde domates lekeli solgunluk virüsünün serolojik ve biyolojik yöntemlerle saptanması. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(2), 130-136.
- Turina, M., Tavella, L. ve Ciuffo, M. (2012). *Tospoviruses in the Mediterranean Area*. Viruses and Virus Diseases of Vegetables in the Mediterranean Basin, 84, 403-437.
- Wijkamp, I., van Lent, J., Kormelink, R., Goldbach, R. ve Peters, D. (1993). Multiplication of *Tomato spotted wilt virus* in its insect vector, *Frankliniella occidentalis*. *Journal of General Virology*, 74(3), 351-351.

- Williams, L. V., Lambertini, P. M. L., Shohara, K. ve Biderbost, E. B. (2001). Occurrence and geographical distribution of tospovirus species infecting tomato crops in Argentina. *Plant Disease*, 85(12), 1227-1229.
- Yardımcı, N. ve Kılıç, H. C. (2009). *Tomato spotted wilt virus* in vegetable growing areas in the West Mediterranean region of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(18), 4539-4541.
- Zarzynska-Nowak, A., Hasiow-Jaroszewska, B., Korbecka-Glinka, G., Przybys, M. ve Borodynko-Filas, N. (2018). A multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of *Tomato spotted wilt virus* and *Tomato yellow ring virus* in tomato plants. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40(4), 580-586.

#### **EK-1. KAPLAMA TAMPONU (Coating Buffer)**

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1,59 g

NaHCO<sub>3</sub> 2,93 g

NaN<sub>3</sub> 0,20 g oranındaki karışım 1 litre dsH<sub>2</sub>O içerisinde çözülerek pH:9,6'ya sabitlemiştir (Clark ve Adams, 1977).

#### **EK-2. FOSFAT TAMPONU (Phosphate Buffered Saline - PBS)**

NaCl 8,00 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,20 g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,90 g

KCl 0,20 g

NaN<sub>3</sub> 0,20 g oranındaki kimyasallar 1 litre dsH<sub>2</sub>O içerisinde çözülerek karışım pH:7,4 olarak belirlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).

#### **EK-3. YIKAMA TAMPONU (Washing Buffer)**

1 litre fosfat tampon çözeltisine 0,50 ml Tween-20 eklenerek hazırlanmıştır (Clark ve Adams, 1977).

#### **EK-4. ÖRNEK TAMPONU (Sample Extraction Buffer)**

TRIS 2,40 g

NaCl 8,00 g

PVP K25 20,00 g

Tween-20 0,50 ml

KCl 0,20 g

NaN<sub>3</sub> 0,20 g oranındaki kimyasallar 1 litre dsH<sub>2</sub>O içerisinde çözülerek karışım pH:7,4 olarak belirlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).

#### **EK-5. KONJUGAT TAMPONU (Enzyme Conjugate Buffer)**

NaCl 8,00 g

Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,90 g

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,20 g

KCl 0,20 g

NaN<sub>3</sub> 0,20 g

Bovine albumin 2 g eklenerek karışım pH:7,4 olarak sabitlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).

#### **EK-6. SUBSTRAT TAMPONU (Substrat Buffer)**

Diethanolamine 97 ml

NaN<sub>3</sub> 0,20 g maddeleri 800 ml dsH<sub>2</sub>O içerisinde çözüdürülerek karışım pH:9,8 değerine sabitlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).

## **TEZDEN ÜRETİLMİŞ ESERLER**