

**TRAKYA BÖLGESİ AYÇİÇEĞİ ÜRETİM
ALANLARINDAKİ VİRÜS
HASTALIKLARININ SAPTANMASI
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

**Harun Gökay ATAY
Yüksek Lisans Tezi
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Havva İLBAĞI**

2016

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TRAKYA BÖLGESİ AYÇİÇEĞİ ÜRETİM ALANLARINDAKİ VİRÜS
HASTALIKLARININ SAPTANMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

Harun Gökay ATAY

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Havva İLBAĞI

TEKİRDAĞ-2016

Her Hakkı Saklıdır

Prof. Dr. Havva İLBAĞI danışmanlığında Harun Gökay ATAY tarafından hazırlanan “Trakya Bölgesi Ayçiçeği Üretim Alanlarındaki Virüs Hastalıklarının Saptanması Üzerine Araştırmalar” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Havva İLBAĞI

İmza:

Üye: Prof. Dr. Nejla YARDIMCI

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Adnan KARA

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması NKÜBAP tarafından NKUBAP.00.24.YL.15.03 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRAKYA BÖLGESİ AYÇİÇEĞİ ÜRETİM ALANLARINDAKİ VİRÜS HASTALIKLARININ SAPTANMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Harun Gökay ATAY

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Havva İLBAĞI

Dünya’da olduğu gibi Türkiye’de de tohumları bitkisel yağ kaynağı olarak insan beslenmesinde ve gıda sanayinde ham madde olarak kullanılan ayçiçeği (*Heliantus annuus* L.) önemli bir yağ bitkisidir. Türkiye’deki ayçiçeği üretiminde Trakya Bölgesi’nin Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illeri önemli bir yere sahiptir. Trakya Bölgesi’nin ayçiçeği üretim alanlarında yağlık tohum verim ve kalitesini olumsuz yönde etkileyen virüs hastalıklarını saptamak amacıyla 2015 yılının iki farklı döneminde survey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sürveyler esnasında toplanan 244 adet simptomatik ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerindeki viral hastalıkların varlığı serolojik test yöntemleri ile araştırılmıştır. Enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerindeki viral hastalık etmenlerinden; *Potato virus Y* (PVY) Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) test yöntemi, *Tobacco streak virus* (TSV) Triple Antibody Sadwich-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (TAS-ELISA) test yöntemi ile Potyvirus’ler ise Plate Trapped Antibody-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (PTA-ELISA) test yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca virüsle enfekteli ve sağlıklı ayçiçeği bitkilerinden hasat edilen tohumlarda bin dane ağırlığı, hektolitre ağırlığı ve yağ içerik oranları da mukayese edilerek virüs hastalıklarının ayçiçeğindeki kalite kriterlerine olan etkileri araştırılmıştır. Serolojik testlerden, DAS-ELISA test sonuçlarına göre Trakya Bölgesi’ndeki ayçiçeği tarlalarında PVY’nin bulunmadığı saptanmıştır. TAS-ELISA test sonuçlarına göre ise 244 adet bitki örneğinin 11 adedinde % 4,51 oranında TSV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. PTA-ELISA test sonuçlarına göre de 244 adet bitki örneğinden 25 adedinde % 10,25 oranında Potyvirus’lerin bulunduğu saptanmıştır. Böylece toplam olarak 244 adet bitki yaprak örneğinin 36 adedinde % 14,75 oranında virüslerin ayçiçeği üretim alanlarında bulunduğu kanıtlanmıştır. Elde edilen bu bulgular, Türkiye’de ayçiçeğinde virüs hastalıklarının bulunuşunu gösteren ve kanıtlayan ilk rapor niteliğindedir. Virüs hastalıklarının etkisinin ayçiçeği yağlı tohumlarındaki verim unsurlarına etki eden kalite kriterlerine bakıldığında hastalığın bin dane ağırlığı ve hektolitre ağırlıklarını düşürdüğü yağ içeriğini ise nisbeten yükselttiği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ayçiçeği, *Heliantus annuus* L., ELISA, PVY, TSV, Potyvirus

2016, 53 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

INVESTIGATIONS AND THE DESCRIPTION OF VIRUS DISEASES IN SUNFLOWER GROWING AREAS IN THE TRAKYA REGION OF TURKEY

Harun Gökay ATAY

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Havva İLBAĞI

Being an important source of vegetable oil for human consumption and the source of raw material for food industry, sunflower (*Helianthus annuus* L.) production has been increased steadily in the World and as well as in Turkey. Edirne, Kırklareli and Tekirdağ provinces in the Trakya region have been important sunflower growing areas in Turkey. In order to determine virus diseases reducing oil seed yield and quality survey studies were conducted in two different periods during 2015 growing season. In order to determine viruses on symptomatic sunflowers and weed hosts, 244 leaf samples were collected. For the identification of *Potato virus Y* (PVY), Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) test, for *Tobacco streak virus* (TSV) Triple Antibody Sandwich-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (TAS-ELISA) and for the identification of Potyvirus'es Plate Trapped Antibody-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (PTA-ELISA) test methods were employed. For the determination of the effect of virus infections on sunflower seed yield criteria, seeds were harvested from both infected and healthy plants separately which compared for their 1000 seed weight, hectoliter seed weight and their oil content. According to DAS-ELISA test results PVY never present in the sunflower fields of Trakya Region. Depending on symptomatic observations and the results of TAS-ELISA tests 11 out of 244 plant samples had TSV with the rate of 4.51 %. As the results of PTA-ELISA tests and the symptomatic field observations 25 of 244 plants were found infected with Potyvirus'es with the rate of 10.25 %. Totally 36 out of 244 plant samples revealed the presence of viruses with the rate of 14.75 % in the sunflower growing areas. This is the first report of the presence of virus infections on sunflowers in Turkey. Virus infections cause reductions of 1000 seed and hectoliter seed weights of oil seeds as the oil content was found slightly high.

Key words: Sunflower, *Helianthus annuus* L., ELISA, PVY, TSV, *Potyvirus*

2016, 53 pages

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BSA	Bovine serum albumin
DAS-ELISA	Double Antibody Sandwich-ELISA
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EtOH	Ethanol
gr	Gram
HCl	Hidroklorik asit
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen Fosfat
KCl	Potasyum klorür
lt	Litre
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
nm	Nanometre
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
NaHCO ₃	Sodyum bikarbonat
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	Disodyum hidrojen fosfat
NaN ₃	Sodyum azid
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
PTA-ELISA	Plate Trapped Antibody-ELISA
PVP	Polyvinylpyrrolidone
PVY	<i>Potato virus Y</i>
RNA	Ribonükleik asit
TAS-ELISA	Triple Antibody Sandwich-ELISA
TSV	<i>Tobacco etrak virus</i>

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİL DİZİNİ	vi
ÇİZELGE DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM	15
3.1 Materyal.....	15
3.1.1 Sürvey Çalışmaları.....	15
3.1.2 Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması.....	15
3.1.3 Ayçiçeğinde Virüs Hastalıklarının Kalite Parametrelerine Olan Etkisinin Belirlenmesi İçin Ayçiçeği Tabla Örneklerinin Toplanması.....	17
3.2 Yöntem.....	18
3.2.1 Arazi Gözlemleri ve Enfekteli Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi.....	18
3.2.2 Serolojik Test Yöntemleri.....	18
3.2.2.1 Double Antybody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) Testi.....	18
3.2.2.2 Triple Antibody Sadwich-Enzime Linked Immuno Sorbent Assay (TAS-ELISA) Testi.....	19
3.2.2.3 Plate Trapped Antibody- Enzime Linked Immuno Sorbent Assay (PTA-ELISA) Testi.....	21
3.2.3 Ayçiçeğinde Virüs Hastalıklarının Kalite Parametrelerine Olan Etkisinin Belirlenmesi.....	22
3.2.3.1 Bin Dane Ağırlığı.....	23
3.2.3.2 Hektolitre Ağırlığı.....	23
3.2.3.3 Yağ Oranları.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	24
4.1 Arazi Çalışmalarına İlişkin Bulgular.....	24
4.2 Serolojik Test Bulguları.....	31

4.2.1 DAS-ELISA Test Bulguları.....	31
4.2.2 TAS-ELISA Test Bulguları.....	31
4.2.3 PTA-ELISA Test Bulguları.....	33
4.3 Ayçiçeğinde Virüs Hastalıklarının Kalite Parametrelerine Etkisinin Değerlendirilmesine İlişkin Bulgular.....	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	40
6. KAYNAKLAR.....	44
TEŞEKKÜR.....	50
EK 1.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	53

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1: Trakya Bölgesi'ndeki ayçiçeği üretim alanlarında sürvey çalışmalarının gerçekleştirildiği il ve ilçeler.....	16
Şekil 4.1: Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde saptanan virüsle enfekteli ayçiçeği bitkisinde karakteristik mozayik symptomunun görünümü.....	24
Şekil 4.2: Kırklareli ilinin Lüleburgaz ilçesindeki tarlada virüsle enfekteli mozayik belirtileri sergileyen iki ayçiçeği bitkisinin görünümü.....	25
Şekil 4.3: Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde virüs hastalıklarının yaygın olarak saptandığı ayçiçeği tarlasından bir görünüm.....	25
Şekil 4.4: Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde enfekteli ayçiçeği bitkilerinde mozayik belirtilerinin en son oluşan yapraklardaki görünümü.....	26
Şekil 4.5: Kırklareli ili Babaeski ilçesinde ayçiçeğinde yeni başlamış virüs hastalığının mozayik, sarılık, şekil bozukluğu belirtilerinin bir aradaki görünümü.....	27
Şekil 4.6: Edirne ili Merkez ilçedeki ayçiçeği bitkisinde cücelik, sarılık, beneklenme ve şekil bozukluğunun bir arada görünümü.....	27
Şekil 4.7: Edirne ili Süloğlu ilçesinde gecikmiş virüs enfeksiyonunda mozayik ve sarılık belirtilerinin görünümü.....	28
Şekil 4.8: Kırklareli ili Lüleburgaz ilçesinde ayçiçeği tarla kenarında virüs enfekteli Adi eşek marulu (<i>Sonchus oleraceus</i> L.) yabancı ot türündeki sarılık belirtilerinin görünümü.....	29
Şekil 4.9: Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde ayçiçeği tarla kenarında virüsle enfekteli böğürtlen (<i>Rubus fruticosus</i> L.)'de tipik mozayik symptomlarının görünümü.....	29
Şekil 4.10: Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde mozayik symptomları gösteren virüsle enfekteli pıtrak (<i>Xanthium strumarium</i> L.) ile ayçiçeği bitkisinin birlikte görünümü.....	30
Şekil 4.11: TSV ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü.....	32
Şekil 4.12: Potyvirus ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü.....	34

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1: Dünya’da bitkisel yağ kaynağı kültür bitkilerinin yağlı tohum ürün miktarlarının yıllara göre dağılımı.....	1
Çizelge 1.2: Türkiye’de bitkisel yağ kaynağı olan endüstri bitkilerinin verim ve üretim miktarlarının son 5 yıl içerisinde yıllara göre dağılımı.....	2
Çizelge 1.3: Türkiye’de yağlık ve çerezlik ayçiçeğinin ekim alanı, üretim miktarı ve verimin yıllara göre dağılımı.....	3
Çizelge 3.1: Trakya Bölgesi’nden toplanan enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerinin il ve ilçe bazında dağılımı.....	16
Çizelge 4.1: Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarında TSV ile enfekteli bitki örnekleri ve adedi.....	31
Çizelge 4.2: ELISA reader’da okunan TSV’ye ait absorbans değerleri.....	33
Çizelge 4.3: Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarında Potyvirus ile enfekteli bitki örnekleri ve adedi.....	33
Çizelge 4.4: ELISA reader’da okunan Potyvirus’lere ait absorbans değerleri.....	34
Çizelge 4.5: Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarından toplanan yaprak örneklerindeki serolojik test sonuçları.....	36
Çizelge 4.6: Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesindeki virüsle enfekteli tarladan alınan tanelerdeki kalite parametre değerleri.....	37
Çizelge 4.7: Tekirdağ ili Hayrabolu ilçesindeki virüsle enfekteli tarladan alınan tanelerdeki kalite parametre değerleri.....	38
Çizelge 4.8: Edirne ili Merkez ilçedeki virüsle enfekteli tarladan alınan tanelerdeki kalite parameter değerleri.....	38

1. GİRİŞ

Yeryüzünde insan nüfusu gittikçe artmakta ve 2015 yılı itibariyle toplam Dünya nüfusunun 7.150.000.000'ı geçmiş olduğu tahmin edilmektedir. Dünya'da hızla artan nüfusa paralel olarak gıda maddeleri tüketimi de hızla artmaktadır. Son yıllarda bitkisel yağlar, gıda sektörü dışında biyodizel üretiminde kullanılarak enerji sektörünün de hammaddesi haline gelmiştir. Bu nedenle bitkisel yağlar gıda, enerji ve kimyasal sektörlerde yoğun olarak kullanılan stratejik bir ürün halini almıştır. Dünya genelinde bitkisel yağlar temel olarak soya, palm, ayçiçeği ve kanola gibi yağlı tohumlu bitkilerden elde edilmektedir. İnsan beslenmesinde en çok kullanılan besin öğelerinden biri olan bitkisel yağların elde edildiği kültür bitkilerine bakıldığında yağlı tohumlu bitkilerin üretimi ön plana çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dengeli beslenme için bir insanın günlük enerji ihtiyacının 1/3'ünü yağlardan karşılaması gerektiğini bildirmektedir. Yıllık ortalama yağ tüketimi AB ülkelerinde 41 kg, ABD'de 46 kg, Kanada'da 35 kg Türkiye'de ise 16 kg iken Dünya ortalaması 15,7 kg'dır (Semerci ve Meral 2001). Türkiye, % 50 ayçiçeği üretimi ile bitkisel yağ üretiminde ayçiçeğinin en büyük payı aldığı ülkeler arasında yer almakta ve yağ bitkileri içerisinde ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.)'nin önemi gittikçe artmaktadır (Anonim 2012). Ayçiçeği bitkisi, 18. asra kadar daha ziyade süs bitkisi olarak ilgi görmüştür. Bugün kültürü yapılmakta olan ayçiçeği bitkisi, Dünya'da üretilmekte olan tek yıllık ve insanlar tarafından tüketilen soya, kolza, çiğit ve yerfıstığı ile beraber önemli yağlı tohumlar arasına girmektedir. Ayrıca ayçiçeği tohumlarının bir kısmı kabuklu veya kabuksuz çerezlik olarak da tüketilmektedir (Esendal 2009). Dünya'da en önemli yağ bitkilerinden biri olan ayçiçeği Çizelge 1.1.'de görüldüğü üzere yağ bitkileri sıralamasında daha önce 5. sırada iken 2013 yılından itibaren 4. sıraya yükselmiş bulunmaktadır.

Çizelge 1.1. Dünya'da bitkisel yağ kaynağı kültür bitkilerinin yağlı tohum ürün miktarlarının yıllara göre dağılımı (Anonim 2015a)

Bitki adı	Yıllar (Üretim/ton)				
	2009	2010	2011	2012	2013
Kanola	62.594.098	60.088.138	62.719.160	64.563.586	72.532.995
Palm yağı	43.860.002	45.768.605	49.346.542	53.269.743	55.800.940
Pamuk (Çiğit)	38.758.626	43.295.300	48.865.253	48.872.393	44.541.457
Ayçiçeği	32.879.899	31.532.685	40.863.112	37.534.705	44.753.264
Aspir	647.655	644.874	65.111	827.520	647.374
Soya	223.411.329	265.042.267	261.940.100	241.142.198	276.406.003

Türkiye’de bitkisel yağ kaynağı olarak ayçiçeği önemli bir yere sahiptir. Nitekim Çizelge 1.2.’de görüldüğü gibi bitkisel yağ kaynağı olarak 2013 yılında 1.380.000 ton yağlı tohum üretimi ile ayçiçeği 1. sırayı almaktadır.

Çizelge 1.2. Türkiye’de bitkisel yağ kaynağı olan endüstri bitkilerinin verim ve üretim miktarlarının son 5 yıl içerisinde yıllara göre dağılımı (Anonim 2015b)

Yıl	Ürün adı	Ekilen alan (da)	Hasat edilen alan (da)	Üretim (ton)	Verim (kg/da)
2010	Soya	234.727	234.716	86.540	369
	Yerfıstığı	274.500	274.400	97.310	355
	Ayçiçeği (Yağlık)	5.514.000	5.513.890	1.170.000	212
	Aspir	135.000	134.978	26.000	193
	Kanola	312.496	312.322	106.450	341
	Pamuk Tohumu (Çiğit)	4.806.500	4.804.393	1.272.800	265
2011	Soya	264.209	264.209	102.260	387
	Yerfıstığı	254.711	254.711	90.416	355
	Ayçiçeği (Yağlık)	5.560.000	5.559.221	1.170.000	210
	Aspir	131.668	131.644	18.228	138
	Kanola	268.298	268.298	91.239	340
	Pamuk Tohumu (Çiğit)	5.420.000	5.419.523	1.527.360	282
2012	Soya	315.990	315.990	122.114	386
	Yerfıstığı	373.881	371.949	122.780	330
	Ayçiçeği (Yağlık)	5.046.160	5.046.160	1.200.000	238
	Aspir	155.918	155.898	19.945	128
	Kanola	295.421	295.421	110.000	372
	Pamuk Tohumu (Çiğit)	4.884.963	4.884.963	1.373.440	281
2013	Soya	432.600	432.600	180.000	416
	Yerfıstığı	359.428	359.426	128.265	357
	Ayçiçeği (Yağlık)	5.202.600	5.201.381	1.380.000	265
	Aspir	292.920	292.599	45.000	154
	Kanola	311.272	311.091	102.000	328
	Pamuk Tohumu (Çiğit)	4.508.900	4.508.900	1.287.000	285
2014	Soya	343.178	343.168	150.000	437
	Yerfıstığı	333.289	333.274	123.600	371
	Ayçiçeği (Yağlık)	5.524.651	5.496.827	1.480.000	269
	Aspir	443.050	439.350	62.000	141
	Kanola	321.330	321.330	110.000	342
	Pamuk Tohumu (Çiğit)	4.681.429	4.668.388	1.391.200	298

Türkiye’de yağlık ayçiçeği ekim alanı, verimi ve üretim miktarlarında sürekli bir artış gözlenmektedir. Ayçiçeğinin yağlık tohum verim ve üretim miktarlarının yıllara göre dağılımı Çizelge 1.3.’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.3. Türkiye’de yağlık ve çerezlik ayçiçeğinin ekim alanı, üretim miktarı ve verimin yıllara göre dağılımı (Anonim 2015c)

Yıl	Ürün	Ekilen Alan (da)	Hasat Edilen Alan (da)	Üretim (Ton)	Verim (kg/da)
2010	Yağlık	5.514.000	5.513.890	1.170.000	212
	Çerezlik	900.000	899.538	150.000	167
2011	Yağlık	5.560.000	5.559.221	1.170.000	210
	Çerezlik	997.000	996.942	165.000	166
2012	Yağlık	5.046.160	5.046.160	1.200.000	238
	Çerezlik	1.000.000	1.000.000	170.000	170
2013	Yağlık	5.202.600	5.201.381	1.380.000	265
	Çerezlik	895.239	895.239	143.000	160
2014	Yağlık	5.524.651	5.496.827	1.480.000	269
	Çerezlik	1.049.925	1.036.400	157.900	152

Türkiye’nin pek çok ilinde ayçiçeği üretimi yapılmasına karşılık yağlık ayçiçeği üretiminin % 75’i Trakya Bölgesi’nin üç ilinde gerçekleştirilmektedir. Nitekim Türkiye’de ayçiçeği üretimi için en uygun ekolojik koşullar Trakya Bölgesi’nde bulunmaktadır. Bundan dolayı ayçiçeği Trakya Bölgesi’nin ve özellikle de Tekirdağ ilinin simgesi konumuna gelmiştir. Trakya Bölgesi’nde ayçiçeği üretimi kuru tarım olarak yapılmaktadır. Bu amaçla üreticiler en ileri mekanizasyon olanakları ile en iyi sertifikalı tohum çeşitlerini kullanmaktadırlar. Ancak sulama olanakları bulunsa dahi üretimde yeteri kadar değerlendirilmemektedir. Bu nedenle Trakya Bölgesi’ndeki ayçiçeği üretiminde bazı yıllar kuraklık nedeniyle verim kayıpları yaşanmaktadır. Bundan dolayı yetiştirme periyodu kurak döneme rastlamayan kanola üretiminin, bilinçli üreticiler tarafından ayçiçeği yerine tercih edilmesi bölgedeki kuraklık olaylarının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır.

Endüstri bitkileri içerisinde bitkisel yağ kaynağı olan ayçiçeği bitkisinin botanik taksonomideki yeri aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Anonim 2015d);

Alem: Plantae

Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)

Takım: Asterales

Familya: Asteraceae (Papatyagiller)

Alt Familya: Asteroideae

Cins: *Helianthus*

Tür: *Helianthus annuus*

Dünya’da ve Türkiye’de ayçiçeğinin kullanım amacına uygun olarak çok sayıda çeşitleri bulunmaktadır. Bu çeşitlerin tohumları, çerezlik ve yağlık kullanım amacına göre birbirlerinden oldukça farklı şekil ve boyutlar göstermektedirler. Hall (1989)’un bildirdiği gibi ayçiçeğinde verimi olumsuz yönde etkileyen *Plasmopora halstedii* Farlow’nin neden olduğu ayçiçeği mildiyösü başta olmak üzere hastalıklara ve aynı zamanda tam parazit bitkiler olan *Orobancha spp.* türlerine karşı dayanıklı çeşitler ıslah edilmekte ve çeşit sayısı her geçen yıl artış göstermektedir.

Trakya Bölgesi’nde sistemik bitki hastalıklarından Ayçiçeği mildiyösü (*Plasmopara halstedii*)’ne ek olarak yedi farklı fungal patojenin neden olduğu lokal enfeksiyonların varlığı Yücer ve Karaca (1978) tarafından saptanmıştır. Ayçiçeğinde solgunluğa neden olan iki fungal patojen *Fusarium oxysporum* ve *Macrophomina phaseolina* (Kök çürüklüğü) türleri Özer ve Soran (1994) tarafından saptanmıştır. Ayçiçeği bitkisinde zarar meydana getiren diğer hastalık etmenleri ise Ayçiçeği pası (*Puccinia helianthi*), Tabla çürüklüğü hastalığı (*Sclerotinia sclerotiorum*), Verticillum solgunluğu (*Verticillium spp.*), Foma yanıklığı (*Phoma oleraceae var. helianthi tuberosi Sacc.*), Yaprak lekesi (*Alternaria helianthi*), Külleme (*Erysiphe cichoracearum*), Septoria yaprak lekesi (*Septoria helianthi*), Gri küf (*Botrytis cinerea*), Ayçiçeği bakteriyel yaprak lekesi (*Pseudomonas syringae*) olarak bilinmektedir. Trakya Bölgesi’ni temsilen Tekirdağ ilindeki ayçiçeği tarlalarında 25 familyaya mensup 55 yabancı ot türünün bu kültür bitkisi ile rekabet ettiği Arslan (1998) tarafından bildirilmiştir. Trakya Bölgesi çiftçilerinin verem otu veya canavar otu olarak isimlendirdiği klorofilsiz, tam parazit bir bitki olan Orobanşın (*Orobancha cernua* Loefl.) ayçiçeği üretim alanlarının en önemli parazit bitki sorunu olduğu vurgulanmıştır (Kuntay 1941). Ayrıca ayçiçeği bitkisinde zarar meydana getiren 17 zararlı böcek türü olduğu bildirilmiştir (Gürbüz ve ark. 2003). Bunların yanında ayçiçeğinde hastalığa neden olan viral etmenleri ise King ve ark. (2012) International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) adına hazırladıkları 9. raporda aşağıdaki şekilde bildirmişlerdir.

Sunflower chlorotic spot virus (SuCSV)

Sunflower mosaic virus (SuMV)

Sunflower crinkle virus (SuCV)

Sunflower chlorotic mottle virus (SuCMoV)

Sunflower yellow blotch virus (SuYBV)

Potyvirusler, Potyviridae familyasına mensup patojenlerdir. Potyvirusler ayçiçeği yapraklarında klorotik veya nekrotik lekeler, mozayik ve sarı renkli benekler şeklinde belirtiler oluşturmakta ve bitkide genel bir kloroza neden olarak yağlı tohum veriminde

kayıplara neden olmaktadır. Bu cinse mensup virüslerin virionları tek sarmal RNA içermekte olup virüs partikülleri esnek çubuk şeklindedir. Partiküller 11-17 nm çapında, 700-770 nm uzunluğundadır. Bu virüs türleri hastalıklı bitkiden sağlıklı bitkiye mekaniksel olarak ve vektör yaprak bitleri tarafından non-persistent bir davranışla taşınmaktadır (King ve ark. 2012).

Bunun yanında King ve ark. (2012)'nin hazırladıkları raporda yer almayan *Potato virus Y* (PVY)'de ayçiçeği bitkisinde enfeksiyon meydana getirebilen *Potyvirus* cinsi mensubu bir başka virüs türüdür. PVY'nin neden olduğu hastalık belirtileri, virüsün ırkına, çeşitlerin duyarlılığına, enfeksiyon zamanındaki bitkinin yaşına ve çevre koşullarına bağlı olarak değişmekle beraber, ilk belirtileri yapraklarda mozayik ve koyu nekrotik lekeler şeklindedir. İleri safhada ise tepe yapraklar kıvrırcıklaşır, diğer yapraklar kırçillaşır ve alt yapraklar kuruyarak dökülür. PVY, 11x730 nm boyutlarında, ipliksi helix yapısında partiküllere sahiptir. Virionları esnek çubuk şeklinde olan virüsün genom yapısı tek sarmal RNA şeklindedir. PVY mekaniksel inokulasyonla taşınmakta ise de tarla koşullarında bu taşınma söz konusu değildir. Bunu yanında yaprak bitleriyle non-persistent bir davranışla taşınır ve bilinen en az 30 yaprak biti vektörü bulunmaktadır (Anonim 2006).

Ayrıca *Tobacco streak virus* (TSV), ayçiçeği bitkisinde hastalık yapma yeteneğine sahip bir virüs türüdür. Jain ve ark. (2000)'na göre TSV'nün neden olduğu karakteristik belirtiler; çiçek, çiçek sapı, sap ve yapraklarda nekrozların oluşmasıdır. Bazı ayçiçeği çeşitlerinde yapraklarda mozayik ve çizgi şeklinde klorotik lekeler ortaya çıkmaktadır. Bitkinin hastalığa erken dönemde yakalanması halinde bodurluk, cücelik, tablada küçülme ve tohum bağlayamama sonucunda önemli ölçüde yağlı tohum veriminde kayıplara neden olmaktadır. TSV, *Bromoviridae* familyasının Ilarvirus cinsine bağlı olan bir virüs türüdür. Ayçiçeği nekroz virüs hastalığına neden olan *Tobacco streak virus* (TSV) tek sarmal RNA içeren bir virüs olup konukçu çevresi olarak 87 bitki türü saptanmıştır. Virüs partikülü 27x34 nm boyutlarında polyhedral şekilli bir yapıdadır. Virüsün bitki bünyesine taşıyıp hastalık oluşturması polen ve thripsler ile gerçekleşmektedir. Hastalığa duyarlı konukçu türleri ile mevsim boyunca varlığını devam ettirmektedir (Smith 1972, King ve ark. 2012).

Türkiye'de ayçiçeği üretiminde önemli bir paya sahip olan Trakya Bölgesi'nin Tekirdağ, Edirne ve Kırklareli illerindeki ayçiçeği üretim alanlarında verim ve kalite kayıplarına neden olan etmenlerden viral hastalıkların varlığına ilişkin şu zamana kadar yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında Trakya Bölgesi'nin Tekirdağ, Edirne ve Kırklareli illeri ayçiçeği üretim alanlarındaki *Tobacco streak virus* (TSV), *Potato virus Y* (PVY) ve genel Potyvirus'leri araştırmak amaçlanmıştır. Bunun

yanı sıra bölgedeki ayçiçeği üretim tarlalarında sorun oluşturan ve virüs hastalıklarının konukçusu olan yabancı ot türlerinde de söz konusu virüs hastalıklarını araştırmak bu tez çalışmasının bir başka amacını oluşturmuştur. Böylece virüs hastalıklarının, üretimi ne ölçüde etkilediği de bu tez çalışması ile saptanmış olacaktır. Ayrıca virüs enfeksiyonlarının ayçiçeğindeki verim kriterlerine olan etkileri de araştırılmış olacaktır. Her ne kadar hem Dünya’da hem de Türkiye’de ayçiçeği virüsleri ile ilgili yapılan çalışmalar sınırlı sayıda da olsa en azından bölgede durumun virüs hastalıkları açısından araştırılıp incelenmesi literatüre önemli katkılar sağlayacağı gibi bölge üreticilerini ve ilgili kuruluşları bilgilendirme ve mücadele için yönlendirme açısından büyük önem taşıyacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünya’da ayçiçeğinde görülen virüs hastalıkları hakkında yapılan çalışmalar kronolojik bir sıralama ile aşağıda verilmiştir.

A.B.D.’nin Teksas Eyaletinin Rio Grande Vadi’sinde yabancı ayçiçeği (*Helianthus spp.*) türleri üzerinde yaptığı gözlemler sonucu McLean (1962) ilk defa sistemik bir virüs hastalığına rastlamış ve bu hastalık etmeninin *Tobacco ringspot virus* (TRSV) olduğunu bildirmiştir.

Arnott ve Smith (1967) A.B.D.’nin Teksas Eyaleti’nin Austin yöresindeki yabancı ayçiçeği bitkilerinde yaptıkları gözlemlerde virüs hastalık belirtilerine rastlamışlardır. Buna neden olan etmenin özelliklerini belirleyerek, yeni bir virüs türü olarak *Sunflower mosaic virus* (SuMV)’ü tanılamışlardır.

Orellana ve Quacquarelli (1968) A.B.D.’nin Maryland Eyaleti’nin Beltsville Bölgesi’nde ayçiçeği deneme parsellerinde ilk defa *Cucumber mosaic virus* (CMV)’ün bulunduğunu ve ayçiçeğine doğal yollarla taşındığını saptamışlardır.

Dijkstra (1983) geniş bir konukçu çevresi olan *Tobacco streak virus* (TSV)’ün ayçiçeğinde de hastalığa neden olduğunu ve önemli verim kayıpları oluşturduğunu ilk defa bu çalışma ile saptamıştır.

Brunt ve ark. (1996) tüm Dünya’da *Cucumovirus*, *Ilarvirus*, *Tospovirus*, *Potyvirus* ve *Umbravirus* cinsine mensup 36 virüs türünün ayçiçeğinde hastalık yapma yeteneğine sahip olduklarını, verim ve kalitede düşüslere neden olduklarını bildirmişlerdir.

Chod ve ark. (1996) Çekoslovakya’da yaptıkları çalışmada ayçiçeği tarlalarında *Potato virus Y* (PVY)’nin varlığını tespit etmişlerdir.

Nagaraju ve ark. (1997) Hindistan’da yaptıkları çalışmada ayçiçeğinde tanımlanan bir başka virüsün hastalık meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Gulya ve ark. (1998) A.B.D.’nin Teksas Eyaleti’nde mozayik leke belirtileri gösteren yabancı ayçiçeği bitkilerinde daha öncede gözlemlenmiş olan sistemik hastalıklara neden olan etmenin bazı özellikleri bakımından Potyvirus enfeksiyonları olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Dujovnv ve ark. (1998) Arjantin’de ayçiçeği üretimi yapılan farklı lokasyonlarda klorotik beneklenme belirtilerine neden olan bir virüs hastalığını tespit etmişlerdir. Klorotik lekeler, yapraklarda sarı benekler ve bitkide cücelik belirtilerine neden olan virüsün taşınması mekanik inokulasyonla % 73-100 iken *Myzus persicae* ile % 31-49

oranında olduğu belirlenmiştir. Konukçu çevresinin ise *Amaranthaceae*, *Asteraceae*, *Chenopodiaceae* ve *Solanaceae* familyası üyelerini içerdiğini bildirmişlerdir. Enfekteli bitki örneklerinden elde edilen virüslerin Elektron mikroskopta 17 nm çapında 770 nm uzunluğunda esnek çubuk formunda partiküllere sahip olduğu, virüsün pürifiye edilen preparasyonlarının Poliakrilamid jel elektroforezinde kapsid proteinin 33 kDa olduğu tespit edilmiştir. Dot blot immunoassay testlerinde enfekteli ayçiçeği örnekleri poliklonal antiserumlar ile Potyviruslara reaksiyon vermiş ancak *Maize dwarf mosaic potyvirus* ve *Potato virus Y*'ne reaksiyon vermemiştir. Böylece enfekteli ayçiçeğinin kısmi karakterizasyonu sonucu Potyvirus olduğu rapor edilmiştir.

Sandbakken ve Lilleboe (1999) A.B.D.'nin Kaliforniya Eyaleti'nin kuzeyinde kalan yüksek ovalardaki ayçiçeği tohum üretim alanlarında *Sunflower mosaic virus* (SuMV)'e rastlanıldığını bildirmişlerdir.

Dujovnv ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada PolyA kuyruğu dışındaki kılıf protein gen bölgesi, 3'-NCR ve 3'-NIB protein kodlanan gen bölgesini içeren Sunflower potyvirus genomunun 3' ucundaki 1873 nükleotidlik kısmının sekans analizi yapılmıştır. *Sunflower virus* ve Potyvirus üyelerinin kılıf protein gen bölgesinin aminoasit benzerliklerinin SCMV (*Sugarcane mosaic virus*) ile % 49.5, PVY-NsNr (*Potato virus Y*) ile % 81.5 oranında olduğunu, TVMV (*Tobacco vein mottling virus*) için % 55, PepMoV (*Pepper mottle virus*) için ise % 87 oranında benzerlik gösterdiğini saptamışlardır. 3'-NCR nükleotid benzerliklerinin PeSMV (*Pepper severe mosaic virus*) için % 38.7, PepMoV-C için % 61 oranında olduğu tespit edilmiştir. Genomun 3' ucunun nükleotid dizilerinin filogenetik analizleri sonucunda Sunflower virüsünün PVY alt grubu içerisinde yer aldığı ve "*Sunflower chlorotic mottle virus*" (SuCMoV) olarak isimlendirilmesi önerilmiştir. Bu çalışma, ayçiçeği izolatlarında saptanan Potyvirusun kısmi nükleotid sekanslarının ilk raporu olarak bildirilmiştir.

Prasada Rao ve ark. (2000) geniş bir konukçu çevresi olan *Tobacco streak virus* (TSV)'ün ayçiçeğinde de hastalığa neden olduğunu ve bu kültür bitkisinde önemli verim kayıpları oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Gulya ve ark. (2000) biyolojik ve serolojik testler sonucu Amerika Kıtası'nda daha önce ayçiçeği üzerinde Potyvirus olarak tanımladıkları virüslerin başka bir cinse mensup olabileceklerini bildirmişlerdir.

Jain ve ark. (2000) Bangalore, Dharwad ve Hyderabad'da Tospoviruslerden nekroz hastalıkları ile enfektelenmiş ayçiçeği örneklerine immünolojik ve biyolojik teşhis temeline dayalı metotlar uygulamışlardır. Yaprak, petiol, gövde ve çiçeklerde nekroz içeren virüs,

börülce bitkisine mekanik inokulasyon yöntemiyle aktarılmıştır. Geçici olarak Sunflower tospovirus içerisinde gösterilen *Sunflower necrosis virus* (SNV)'ün, DAC-ELISA testinde *Groundnut bud necrosis virus* (GBNV) ve *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) ile serolojik olarak pozitif reaksiyon verdiğini bildirmişlerdir.

Çıtır ve ark. (2001) Trakya Bölgesi'nde bitki koruma konusunda yapılmış 37 ayrı çalışmadan sadece 3 çalışmanın ayçiçeği hastalıkları konusunda yapılmış olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmaları özetleyerek bölgede ayçiçeği virüs hastalıkları konusunda çalışma yapılmamış olmasının bir eksiklik olduğunu dile getirmişlerdir.

Lenardon ve ark. (2001) sistemik klorotik beneklenme belirtileriyle karakterize edilen *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV)'ü ayçiçeği üretim alanlarında tespit etmişlerdir. SuCMoV'nü ayçiçeği bitkisinde agronomik verim karakterlerini belirleyen bazı özellikleri yönünden araştırmışlardır. Bu amaçla 3 farklı ticari hibrit çeşidine ait ayçiçeği tohumları bölünmüş parsellere 4 tekerrürlü olacak şekilde ekilmiş ve dört yapraklı gelişme döneminde SuCMoV mekaniksel inokulasyon yöntemiyle inokule edilmiştir. Deneme parsellerinde semptom gösteren enfekteli bitkiler DAS-ELISA test yöntemiyle testlenmişlerdir. Virüs enfeksiyonlarının etkisiyle bitki ağırlığının % 16-39, gövde çapının % 21-51, tabla çapının % 27-57, tane veriminin % 58-87, tohum büyüklüğünün % 13-15, tohum uzunluğunun % 10-16 ve bin dane ağırlığının ise % 26-28 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

Ravi ve ark. (2001) tarafından Hindistan'da ayçiçeği tarlalarında görülen yağlı tohum verim ve kalitesinde önemli düşümlere neden olan, Ayçiçeği nekroz hastalığı (*Sunflower necrosis disease*) olarak adlandırılan bu hastalığın yapraklarda klorotik ve nekrotik lekelerle, deformasyonlara, petiol ve çiçeklerde bodurluk ve geriye doğru ölüm şeklinde belirtilere neden olduğunu ve erken gelişme döneminde görüldüğünü bildirmişlerdir. *Sunflower necrosis disease* (SND) ile enfekteli ayçiçeği bitkisinden hazırlanan bitki ekstraktları ayçiçeği ve *Chenopodium quinoa* L. bitkisine inokule edilmiş ve daha sonra Elektron mikroskopta incelenerek virüs benzeri partiküller gözlenmiştir. Tipik SND belirtileri gösteren indikatör bitkilerden elde edilen özsular tekrardan ayçiçeği bitkisine inokule edilerek benzer semptomların oluşumu gözlenmiştir. Serolojik testler sonucunda *Sunflower necrosis virus* (SNV) sadece *Tobacco streak virus* (TSV) ile serolojik olarak reaksiyon vermiş ve bu sonuç Western blot analizi ile de doğrulanmıştır. Ayrıca TSV'nün RNA3 ve kılıf protein gen bölgesine özgü primerler kullanılarak yapılan RT-PCR testinde, enfekteli SNV örneklerinin dsDNA fragmentleri çoğaltılmıştır. Klonlanan SNV'nün PCR fragmentlerinin sekans analizi sonucunda TSV RNA3 ile % 90 nükleotid benzerliği gösterirken kılıf protein aminoasit sekanslarının ise % 90'dan daha fazla benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışma

sonucunda elde edilen bulgular, Hindistan'ın ayçiçeği yetiştirilen farklı bölgelerindeki çok sayıda ayçiçeği çeşidinde *Sunflower necrosis disease* (SND) neden olan virüs hastalığının *Tobacco streak virus* (TSV)'ün bir ırkı olduğu bildirilmiştir.

Gulya ve ark. (2002) tarafından *Sunflower mosaic virus* (SuMV)'ün konukçu çevresi, fiziksel, biyolojik karakterleri, kısmi aminoasit ve nükleotid sekansları araştırılmıştır. SuMV ile enfekteli hücrelerde Potyvirus'lerin tipik sitoplazmik yapıları gözlenmiş ve 74 cins içerisinde *Asteraceae* familyasından *Helianthus*, *Sanvitalia* ve *Zinnia* türleri test edilmiştir. *Myzus persicae* ve *Capitphorus elaeagni* ile taşınan virüsün tohum kökenli olduğu bildirilmiştir. Indirekt ELISA test sonuçlarında pozitif reaksiyon elde edilmiştir. 31 Potyvirusa özgü farklı monoklonal antiserumlarla test edilmiş ve 4 epitop ile *Tobacco etch virus* (TEV)'e daha az mesafede olduğu bulunmuştur. Ancak *Tulip breaking virus* (TBV) ile benzer reaksiyonlara sahip olduğu tespit edilmiştir. SuMV genomunun 3' ucu klonlanmış ve sekanslanmıştır. Filogenetik analizler sonucunda SuMV'nün aminoasit sekanslarının Potyviridae familyası içerisinde farklı bir tür olduğu ve TEV ile yakın ilişkili olduğu saptanmıştır.

Bhat ve ark. (2002) tarafından Hindistan'da nekroz hastalıkları ile ilişkili Ilarvirusü tanımlamak için serolojik ve kılıf protein gen bölgesinin sekansları araştırılmıştır. Elektrot blot immunoassay yönteminde Sunflower Ilarvirusün, *Tobacco streak virus* (TSV) antiserumu ile güçlü bir reaksiyon verdiği tespit edilmiştir. Sunflower Ilarvirusün kılıf protein gen bölgesi klonlanmış ve sekanslanmıştır. Kılıf protein gen bölgesinin sekans analizi sonuçlarına göre Ilarvirusün altgrup I'in üyesi TSV'ne çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Hindistan'daki Sunflower Ilarvirusün serolojik ilişkileri ve sekans benzerliklerinin temelinde TSV-SF olarak belirlenen ve altgrup I içerisinde yer alan TSV'nün bir ırkı olduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmanın Hindistan'da ayçiçeğinde saptanan TSV'nün moleküler karakterizasyonunun ilk raporu olduğu bildirilmiştir.

Arias ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV)'ünün ayçiçeğinde simptomların belirginleşmeye başlamasıyla birlikte enfekteli yapraklarda fotosentez miktarının azalmasına karşın, çözünebilir şeker ve nişasta miktarının arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca ayçiçeği yapraklarında yüksek oranda H₂O₂ birikiminin klorofilin bozulmasına ve yağ peroksidasyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu durumun bitkinin erken yaşlanmasına sebebiyet verdiğini saptamışlardır.

Jain ve ark. (2003) daha önce Bhat ve ark. (2002) tarafından sadece Hindistan'ın Karnataka Eyaleti'nde bulunduğu bildirilen *Sunflower necrosis virus* (SNV)'ünün Hindistan'ın diğer eyaletlerine de yayılmış olduğunu rapor etmişlerdir.

Giolitti ve ark. (2009a) tarafından Arjantin'in Pampean Bölgesi'nde yaygın olarak yetiştirilen ayçiçeği tarlalarında yapraklarda mozayik semptomları gösteren bitkilerde *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV) biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılmıştır. Biyolojik testler sonucunda ayçiçeği ve *Nicotiana occidentalis* L. bitkilerinde tipik SuCMoV semptomları gözlenmiştir. DAS-ELISA testi ile testlenen semptomlu örnekler daha sonra RT-PCR testine tabi tutulmuştur. Virüsün kılıf protein gen bölgesinin 807 bp'lik kısmı RT-PCR ile çoğaltılmış, klonlanarak sekanslanmıştır. DNA dizi analiz sonuçlarına göre % 96 oranında aminoasit benzerliği saptanmıştır. Epidemiyolojik bulguları gösteren bu sonuçlar doğrultusunda fesçitarağı yada fesçidikenini olarak bilinen *Dipsacus fullonum* L. bitkisinin bu virüs için bir rezervuar bitkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Srinivasan ve ark. (2009) Hindistan'ın tüm eyaletlerine yayıldığını saptadıkları *Sunflower necrosis virus* (SNV)'ün ayçiçeği yağlı tohum verimini bölgelere göre % 10-90 oranında azalttığını belirlemişlerdir.

Giolitti ve ark. (2009b) tarafından Arjantin'in Buenos Aires Bölgesi'nin güney doğusunda 2005-2006 yıllarında ayçiçeğinde klorotik halka leke semptomları gözlenmiş ve enfekteli örnekler biyolojik, serolojik ve moleküler yöntemlerle *Sunflower chlorotic mottle potyvirus* (SuCMoV) yönünden testlenmiştir. Serolojik test sonuçları SuCMoV-C için pozitif reaksiyon vermiştir. 3' terminus bölgesinde yer alan 1304 nt'lik kısım, b protein genini içeren C terminus ucu (240 nt), tüm kılıf protein bölgesi (807 nt) ve PolyA kuyruğunu içeren 257 nt'lik 3 ucundaki kodlanmayan bölge sekanslanmıştır. Klorotik halka leke semptomuna neden olan Sunflower potyvirus'un kılıf protein bölgesi SuCMoV-C ile % 94.8 oranında, SuCMoV-Zi ile % 89.2 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. 3' ucundaki kodlanmayan bölge ise % 94.2 oranında SuCMoV-C ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Sarovar ve Saigopal (2010a) Hindistan'da yaptıkları bir çalışmada TSV ayçiçeği izolatlarının hızlı ve hassas teşhisi için dot-blot ve tissue print hibridizasyon tekniği kullanarak Dioksijenle etiketli DNA (DIG- labelled) problar geliştirmişlerdir. Bu çalışmada TSV ayçiçeği izolatlarının kılıf protein gen bölgesini içeren DIG etiketli DNA problemleri dizayn edilmiş ve tarla koşullarında TSV'nün tanısı için kullanılmıştır. Dot-blot hibridizasyon tekniğinde tek bir proba TSV izolatları doğrulanmıştır. Buna ek olarak tekniğin hassasiyetinin belirlenmesinde farklı ekstraksiyon metotları uygulanmıştır. Tissue blot hibridizasyon tekniği ile de basit ve uygulanabilir bir teknik olduğu doğrulanmıştır. Böylece her iki radyoaktif olmayan etiketli prob tekniğinin TSV'nün epidemisinde, örneklerin taranmasında ve karantina müdürlüklerinde uygulanmasında avantaj sağlayabileceği ileri sürülmüştür.

Sarovar ve ark. (2010b) ayçiçeği ile beraber tütün, balkabağı ve turşuluk hıyar türlerinde önemli enfeksiyonlara neden olan *Tobacco streak virus* (TSV)'ün bu kültür bitkilerinde varlığının saptanması için Immunocapture reverse transcription polymerase chain reaction (IC-RT-PCR) testini uygulamışlar ve TSV'nün adı geçen kültür bitkilerinde tanısının hızlı ve güvenilir bir şekilde yapılabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada enfekteli ayçiçeği bitkisinde TSV'nün RNA 3 genomunun, 3 UTR ve kılıf proteini kodlayan bölgeleri IC-RT-PCR ile çoğaltılmış, klonlanmış ve sekanslanmıştır. TSV'nün nükleotid sekansları için kılıf proteini kodlayan 717 bp ve 3 UTR bölgesinin 288 bp'lik kısmı klonlanarak sekanslanmıştır. Sekans analizi sonucunda nükleotid ve aminoasit düzeyinde % 97, % 98 ve % 88-98 oranında benzerlik saptanmıştır.

Rodriguez ve ark. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV) ile inokule edilmiş duyarlı ayçiçeği hatlarında inokulasyon sonrası erken ve geç symptom oluşumunu belirlemek üzere iki farklı zamanda ikinci yapraklarda symptom gelişimi gözlenmiştir. Symptom oluşumunun etkisi, ilk olarak şeker, nişasta artışı ve fotoinhibisyon şeklinde gözlenmiş ve sonrasında fotosentezin azaldığı tespit edilmiştir. Fotoinhibisyonla ilişkili olarak D1 protein seviyesinin de arttığı görülmüştür. Ayrıca enfeksiyon sürecinde reaktif oksijen türleri (ROS)'nin arttığı belirlenmiştir. Symptom oluşum aşamasında enfekteli yapraklarda antioksidant enzim aktivitesinin de arttığı gözlenmiştir.

Srinivasan ve Mathivanan (2011) tarafından yapılan çalışmada Hindistan'da bulunduğu saptanan *Sunflower necrosis virus* (SNV)'ünü kallus hücre ortamında izole etmişlerdir. Esnek çubuk formunda partiküller içeren virüsü, biyolojik, serolojik ve moleküler testlerle saptayarak, ayçiçeği bitkisinde görülen yeni bir virüs türü olduğunu kanıtlamışlardır.

Krishnamoorthy ve Narayanasamy (2011) tarafından yapılan çalışmada *Sunflower necrosis virus* (SNV) ile enfekteli ayçiçeği bitkisinden alınan farklı bitki dokuları 1 mg/l (-1) benziladenin ve 0.5 mg/l (-1) indolasetik asit içeren Murashige & Skoog medium besi ortamına tabi tutulmuştur. Virüs, sukroz gradient santrifigasyon yoluyla teşvik edilen kallusdan pürifiye edilmiş ve elde edilen virüs partikülleri Transmission elektron mikroskobu (TEM)'nda teyit edilmiştir. Enfekteli olmayan kallusta SNV enfeksiyonu için Soak prick metodu uygulanmış ve virüse ait bilgiler enfektivite testleri ile doğrulanmıştır. Ouchterlony double immunodiffusion testi, Enzyme-linked immunosorbent assay testi ve Western blot analizi gibi serolojik temele dayalı testler ile pürifiye edilen SNV'nün pozitif reaksiyon verdiği görülmüştür. Bu araştırmalar SNV'nün kallusda kültüre alınabileceğini ve uzun bir zaman periyodu için in vitroda sürdürülebileceğini göstermiştir.

Rodriguez ve ark. (2012) *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV)'ün ayçiçeği yapraklarında klorotik belirtilerin ortaya çıkmasından önce yapraktaki antioksidan enzim aktivitelerinde ve şeker miktarında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Pradeep ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada tütünde olduğu gibi ayçiçeğinde de sistemik virüs hastalığına neden olan *Tobacco streak virus* (TSV) ile mücadele için bu iki kültür bitkisinde virüsün sentezini engelleyecek şekilde gen transferleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen GDO'lu tütün ve ayçiçeği çeşitlerinde TSV'nün inokulasyonları sonucunda enfeksiyonlar yapamadığı ve böylece bu virüse karşı kalıtsal bir immünite sağlanarak söz konusu virüs enfeksiyonlarına karşı mücadele olanağı elde edilmiştir.

Hosseini ve ark. (2012) 2006-2008 yıllarında İran'ın Kerman, Golestan, Isfahan, Mazandaran, Qom, Azarbayejan-Gharbi, Markazi, Hamedan ve Tehran illerindeki ayçiçeği üretim alanlarından toplanan 1272 örnekte *Tobacco streak virus* (TSV)'ün varlığını DAS-ELISA testi ile araştırmışlardır. DAS-ELISA testi sonuçlarına göre ayçiçeği yaprak örneklerinin % 20.9 oranında enfekteli olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca mekanik inokulasyon sonucunda da inokule edilen bitkilerde lokal lezyonlar gözlenmiştir. Yapılan araştırma sonucunda 30.9 kDa moleküler ağırlığında ve 26-35 nm çapındaki izometrik partiküllere sahip olan 43R (Tahran) ve IR (Isfahan) olarak isimlendirilen iki izolata kılıf protein genini içeren 747 nt uzunluğundaki fragmentler PCR yöntemiyle çoğaltılmış, klonlanmış ve sekanslanmıştır. DNA dizi analizleri yapılan iki izolata ait nükleotid dizilerinin blast analizi sonucunda Sudan izolatu ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışma TSV'nün İran'da bulunuşunun ilk raporu olarak bildirilmiştir.

Papaiah ve ark. (2012) Hindistan'da ayçiçeği nekroz hastalığına neden olan *Sunflower necrosis virus* (SNV)'ün aslında *Tobacco streak virus* (TSV)'ün bir ırkı olduğunu kanıtlamışlardır.

King ve ark. (2012) ICTV adına hazırladıkları Virüslerin Sınıflandırılması ve İsimlendirilmesi konulu 9. Raporda ayçiçeğinde görülen *Sunflower chlorotic spot virus* (SuCSV), *Sunflower mosaic virus* (SuMV), *Sunflower crinkle virus* (SuCV), *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV) ve *Sunflower yellow blotch virus* (SuYBV) virüslerine yer vermişlerdir.

Bejerman ve ark. (2013)'ün yaptıkları bir çalışmada *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV)'nün C ırkına ait genomik RNA'nın cDNA klonları (p35SSuCMoV) oluşturulmuştur. SuCMoV-C'nin tüm genomunu kapsayan 3 cDNA fragmentleri *Cauliflower mosaic virus* 35S promotor ve nopalın sentez terminatör arasında klonlanmıştır.

p35SuCMoV'nin ayçiçeği ve tütün fidelerine mekanik inokulasyonu sonucu sistemik enfeksiyonlar gözlenmiştir. Mekanik inokulasyondan dört gün sonra p35SuCMoV ile uyarılan simptomların SuCMoV-C'nin yabancı türünde neden olan simptomlara benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Enfeksiyonlar, western blot, elektron mikroskop ve RT-PCR testi ile teyit edilmiştir. Bu çalışma SuCMoV-C ırkının RNA genomunun cDNA kopyalarının ve biyolojik aktivitelerinin oluşumu hakkındaki ilk rapor olduğunu bildirmişlerdir.

Rabiee ve ark. (2014) Ayçiçeğinin verim ve kalitesini düşüren viral hastalık etmenlerini araştırmak üzere 2009-2011 yılları arasında İran'ın Kerman ve Isfahan bölgesindeki üretim alanlarından 562 yaprak örneği toplamışlardır. Toplanan ayçiçeği yaprak örneklerini *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Potato virus Y* (PVY) ve Potyviruslerin genel antiserumunu kullanmak suretiyle DAS-ELISA testine tabi tutmuşlardır. Enfekteli bitkilerin yapraklarında mozayik, sarılık, deformasyon, nekroz, klorotik lekeler ile beneklenme simptomları ve cücelik gözlediklerini bildirmişlerdir. DAS-ELISA test sonuçlarına göre Isfahan'da Potyvirus, PVY, CMV ve TSWV'nün enfeksiyon oranlarını sırasıyla % 33, % 22, % 4.18 ve % 3.25 olarak tespit etmişlerdir. Kerman'dan alınan örneklerin enfeksiyon oranı ise sırasıyla % 15, % 5, % 0.8 ve % 0.4 olarak saptanmıştır. Bu sonuçlara göre Isfahan'daki virüs enfeksiyon oranlarının Kerman bölgesinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum her iki bölgede üç farklı üretim döneminde virüs enfeksiyonlarının yüzdelik oranlarında artış olduğunu göstermiştir. Bu çalışma Isfahan ve Kerman ayçiçeği üretim alanlarında CMV ve TSWV'nün, Isfahan'da ise PVY'nün bulunuşunun ilk raporu olarak bildirilmiştir.

Giolitti ve ark. (2014) tarafından Arjantin'in Paran şehrindeki ayçiçeği tarlalarında klorotik, çizgi ve halkalı lekeler sergileyen bitkilerden toplanan örnekler Transmission elektron mikroskop (TEM)'de incelenmiş ve 33 nm boyutunda küresel partiküller gözlenmiştir. Simptomlu ayçiçeği örnekleri bilinen 6 Bromoviridae familyasının üyesi için serolojik testlerde negatif sonuç vermiş ve ancak *Pelargonium zonate spot virus* (PZSV) pozitif sonuç vermiştir. 4 familyadan 16 bitki türünde mekanik taşınma gerçekleştirilmiştir. PZSV'nün tüm genom sekans analizi gerçekleştirilmiş ve İtalya'da tanımlanan RNA-1 nükleotid sekans değerleri ile % 90, % 93.9 ve % 94.7 oranında benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu sonucun Dünya'da ayçiçeğinde saptanan PZSV'nün Güney Amerika için ilk kayıt olduğu bildirilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

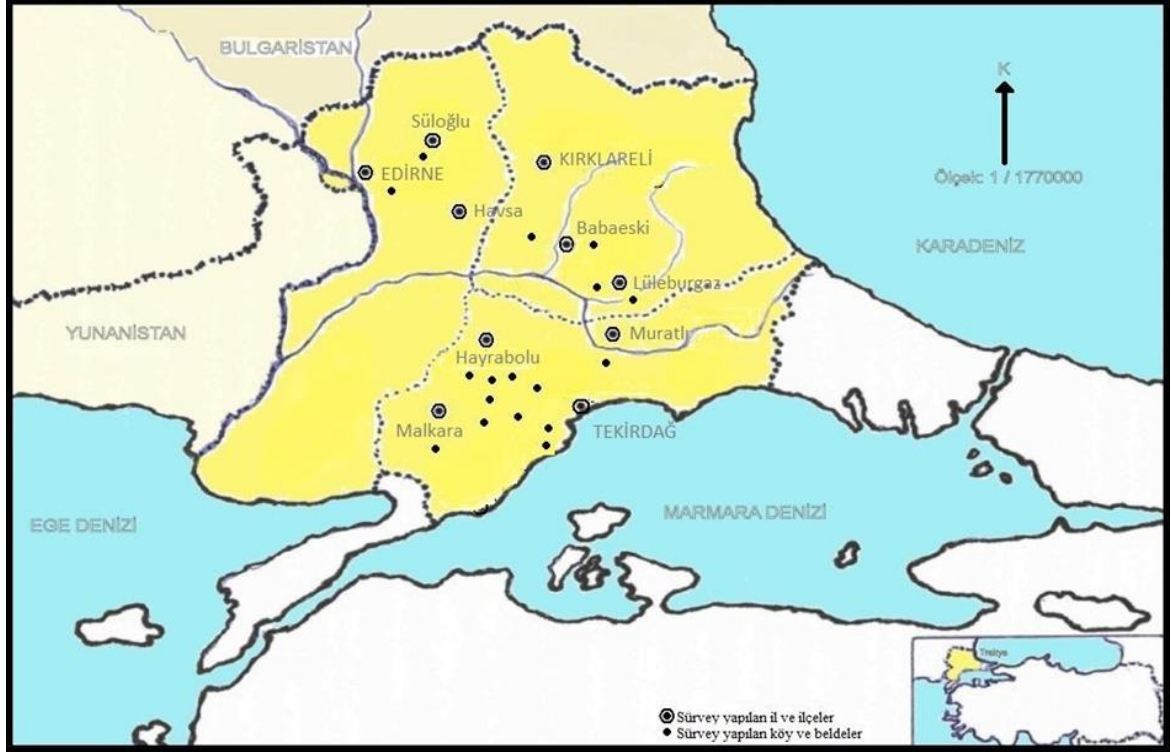
3.1. Materyal

3.1.1. Sürvey Çalışmaları

Trakya Bölgesi'nde Edirne ilinin Merkez, Süloğlu ve Havsa ilçeleri, Kırklareli ilinin Lüleburgaz, Babaeski ve Pehlivan köy ilçeleri ile Tekirdağ ilinin Süleymanpaşa, Muratlı, Hayrabolu ve Malkara ilçeleri ayçiçeği üretim alanlarında 09.06.2015-10.09.2015 tarihleri arasında iki farklı dönemde sürvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yaprak örneklerinin toplandığı ilk sürvey çalışmaları 09.06.2015-12.06.2015 tarihlerinde bölgede her üç ildeki üretim tarlalarında ayçiçeği bitkisinin 6-8 yapraklı dönemlerinde gerçekleştirilmiştir. 05.09.2015-10.09.2015 tarihlerinde ise birinci sürvey çalışmalarında belirlenen tarlalardan hasattan önceki dönemde ikinci sürvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması

Şekil 3.1.'de gösterilen lokasyonlarda yapılan sürvey çalışmalarında sistemik virüs hastalık belirtileri sergileyen ayçiçeği yaprak örnekleri ile yabancı ot yaprak örnekleri toplanmış ve hastalık belirtilerinin fotoğrafları çekilerek kayıt altına alınmıştır. Arazi gözlemlerinde her üç ildeki ayçiçeği üretim alanlarından mozayik, beneklenme, cücelik ve sistemik renk değişikliği belirtileri gösteren ayçiçeği yaprak örnekleri ile yabancı ot yaprak örnekleri toplanmıştır. Böylece sürvey alanını kapsayan Trakya Bölgesi'nin ayçiçeği üretiminin gerçekleştirildiği tarlalardan, Edirne ilinden 79 yaprak örneği, Kırklareli ilinden 60 yaprak örneği, Tekirdağ ilinden ise 105 yaprak örneği alınarak toplam olarak 244 adet yaprak örneği ile çalışma gerçekleştirilmiştir. Böylece çalışma materyalini oluşturan enfekteli 244 adet yaprak örneğinden 223 adet ayçiçeği yaprak örnekleri ile 21 adet yabancı ot yaprak örnekleri serolojik testlerde materyal olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.1.).



Şekil 3.1. Trakya Bölgesi'ndeki ayçiçeği üretim alanlarında sürvey çalışmalarının gerçekleştirildiği il ve ilçeler

Çizelge 3.1. Trakya Bölgesi'nden toplanan enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerinin il ve ilçe bazında dağılımı

İl adı	İlçe adı	Örnek adedi	İl toplamı	Genel toplam
Edirne	Merkez	37	79	244
	Havsa	29		
	Süloğlu	13		
Kırklareli	Lüleburgaz	33	60	
	Babaeski	11		
	Pehlivan köyü	16		
Tekirdağ	Süleymanpaşa	39	105	
	Muratlı	14		
	Malkara	34		
	Hayrabolu	18		

Ayçiçeği virüslerinin serolojik tanları için DAS-ELISA, TAS ELISA ve PTA-ELISA testlerinde kullanılan *Potato virus Y*, *Tobacco streak virus* ve genel Potyvirus'lere karşı hazırlanmış olan poliklonal antiserumlar ile serolojik test kitleri Sediag (Breteniere-FRANSA) firmasından temin edilmiştir.

3.1.3. Ayçiçeğinde Virüs Hastalıklarının Kalite Parametrelerine Olan Etkisinin Belirlenmesi İçin Ayçiçeği Tabla Örneklerinin Toplanması

Edirne ilinin Merkez ilçe ve Tekirdağ ilinin Süleymanpaşa ve Hayrabolu ilçelerinde ikinci sürvey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Birinci sürvey çalışmaları esnasında tipik karakteristik virüs belirtisi sergileyen tarlalar işaretlenmiş ve serolojik testler sonucunda virüsün varlığı saptanmış olan bu tarlalar ikinci sürveylerde tekrar ziyaret edilerek ayçiçeği tabla örnekleri alınmıştır. Böylece ikinci sürvey çalışmalarında her iki ili temsil edecek şekilde üç ilçede belirlenen tarlalardan 5'er adet sağlıklı ve 5'er adet enfekteli bitkilerden tabla örnekleri alınmıştır. Toplam 30 ayrı ayçiçeği tablaları ufalanarak tane haline getirilmiş ve ayçiçeğinde verim unsurlarını etkileyen kalite kriterlerini saptamak amacıyla materyal olarak değerlendirilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Arazi Gözlemleri ve Enfekteli Bitki Materyallerinin Elde Edilmesi

Trakya Bölgesi'nin Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerindeki ayçiçeği üretim alanlarında gerçekleştirilen sürey çalışmaları Bora ve Karaca (1970)'ya göre örnekleme çalışmaları yapılmıştır. Buna göre tarlalarda karakteristik virüs belirtileri sergileyen ayçiçeği bitkisinden 100 gr'dan az olmamak üzere yaprak materyalleri toplanmıştır. Ayrıca ayçiçeği tarlalarının kenarlarında bulunan mozayik, sarılık ve klorotik lekeler sergileyen yabancı ot yaprak örnekleri de çalışmanın materyali olarak toplanmıştır. Toplanan örnekler etiketlenmek suretiyle polietilen torbalara konularak, buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Toplanan örnekler serolojik testlerde kullanılmak üzere laboratuvardaki -20 °C'de çalışan derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Serolojik Test Yöntemleri

3.2.2.1. Double Antybody Sandwich-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) Testi

Enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerinde *Potato virus Y* (PVY)'nin serolojik yöntemlerle araştırılmasında Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) test yöntemi kullanılmıştır. DAS-ELISA testi, Clark ve Adams (1977)'in temel alındığı yönteme göre antiserumların temin edildiği Sediag firmasının önerdiği prosedür doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Buna göre;

- Kaplama tampon çözeltisi içerisinde 1/100 oranında seyreltilen antibadiler ELISA platelerinin her bir çukuruna 100 µl konulmuş ve nemli bir kutu içerisine yerleştirilen plateler 37 °C'de çalışan inkübatörde 2 saat süre ile inkübe edilmiştir. Inkübasyondan sonra plateler içerisindeki sıvı boşaltılmış ve yıkama tampon çözeltisi (1x PBST) ile 2 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Çalışma materyali olarak toplanan enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örnekleri steril porselen havan içerisinde 1/10 oranında ekstraksiyon tampon çözeltisi içerisinde

ezilerek bitki özsuvarı elde edilmiştir. Cam tüpler içerisine konulan ekstraktlar karıştırılmak suretiyle ELISA platelerinin her bir çukuruna 100 µl'lik miktarlarda ve iki tekerrürlü olacak şekilde konulmuştur. Her bir virüse ait pozitif ve negatif kontroller de 100 µl'lik miktarlarda ELISA platelerinin sol çukuruna iki tekerrürlü olacak şekilde yerleştirilmiş ve ELISA plateler nemli bir kutu içerisine konularak +4 °C'de bir gece inkübe edilmişlerdir. Inkübasyondan sonra bitki ekstraktları boşaltılmış ve 5 kez yıkama tampon çözeltisi (1x PBST) ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Kullanımdan 10 dakika önce hazırlanan Konjugate tampon çözeltisi içerisinde seyreltilen enzimle bağlantılı antiserum 1/100 oranında seyreltilmiş ve 100 µl'lik miktarlarda platelerin her bir çukuruna konulmuştur. Nemli kutu içerisine yerleştirilen plateler 37 °C'de çalışan inkübatörde 2 saat süre ile inkübe edilmişlerdir. Inkübasyon süresi sonunda plateler yıkama tampon çözeltisi (1x PBST) ile 3 kez yıkanmıştır.

- Substrat tamponu ile 1 mg/ml p-nitrophenyl phosphate 100 µl'lik miktarlarda platelerin çukurlarına konulmuş ve 37 °C'de çalışan inkübatörde inkübe edilmişlerdir.

- Sonuçlar 60-120 dakika sonunda ilk olarak görsel daha sonra da ELISA okuyucusu (Thermo-Multiskan FC)'nda 405 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okunarak değerlendirilmiştir.

- Ancak enfekteli olduğundan şüphe edilen ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerindeki virüs konsantrasyonları düşük oranlarda olduğundan plateler buzdolabında + 4 °C'de 1 gece daha bekletilmiş (Epidemiologie und Pathogendiagnostik Institut-Aschersleben/Almanya'daki kullanılan yöntem uygulanmıştır) ve ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda tekrar okutularak absorbans değerleri kayıt altına alınmıştır. Negatif kontrol değerlerinin iki katından daha yüksek absorbans değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.2.2. Triple Antibody Sadwich-Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (TAS-ELISA)

Testi

Bölgeden toplanan enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerinde *Tobacco streak virus* (TSV)'ün serolojik yöntemlerle araştırılmasında Triple Antibody Sadwich-

Enzime Linked Immuno Sorbent Assay (TAS-ELISA) test yöntemi kullanılmıştır. TSV'nün antiserumları ile pozitif ve negatif kontroller Sediag firmasından temin edilmiştir. TAS-ELISA testleri antiserumların temin edildiği firmanın önerdiği prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre;

- 100 µl antibadi 10 ml kaplama tampon çözeltisi içerisinde seyreltilerek 100 µl'lik miktarlarda ELISA platelerinin her bir çukuruna konularak 2 saat süre ile 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda ELISA plateri boşaltılarak yıkama tampon çözeltisi (1xPBST) ile 2 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Çalışma materyali olarak toplanan enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örnekleri steril porselen havan içerisinde 1/10 oranında ekstraksiyon tampon çözeltisi içerisinde ezilerek bitki özuları elde edilmiştir. Cam tüpler içerisine konulan ekstraktlar karıştırılmak suretiyle ELISA platelerinin her bir çukuruna 100 µl'lik miktarlarda ve iki tekerrürlü olacak şekilde konulmuştur. Her bir virüse ait pozitif ve negatif kontroller de 100 µl'lik miktarlarda ELISA platelerinin sol çukuruna iki tekerrürlü olacak şekilde yerleştirilmiş ve ELISA platerler nemli bir kutu içerisine konularak +4 °C'de bir gece inkübe edilmişlerdir. Inkübasyondan sonra bitki ekstraktları boşaltılmış ve 5 kez yıkama tampon çözeltisi (1x PBST) ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Kullanımdan 10 dakika önce hazırlanan konjugat tampon çözeltisi içerisinde seyreltilen enzimle bağlantılı antiserum (probe antibody) 100 µl'lik miktarda ELISA platerlerin çukuruna konularak 2 saat süre ile 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda ELISA platerler boşaltılarak yıkama tampon çözeltisi (1xPBST) ile 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Kullanımdan 10 dakika önce hazırlanan Konjugate tampon çözeltisi içerisinde seyreltilen enzimle bağlantılı antiserum (anti-species conjugated antibody) 100 µl'lik miktarda ELISA platerlerin çukuruna konularak 2 saat süre ile +37 °C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra ELISA platerler boşaltılarak yıkama tampon çözeltisi (1xPBST) ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Substrat tampon çözeltisi içerisinde seyreltilen 1mg/ 10ml pNPP çözeltisinden 100 µl'lik miktarda platerlerin her bir çukuruna 100 µl'lik miktarda konularak, +37 °C'de inkübatörde inkübe edilmiştir.

- Sonuçlar 60-120 dakika sonunda ilk olarak görsel daha sonra da ELISA okuyucusu (Thermo-Multiskan FC)'nda 405 nm dalga boyundaki absorbands değerleri okunarak değerlendirilmiştir.

- Ancak enfekteli olduğundan şüphe edilen ayçiçeği ve yabancı ot yaprak rnelerindeki virüs konsantrasyonları düşük oranlarda olduğundan plateler buzdolabında + 4 C'de 1 gece daha bekletilmiş (Epidemiologie und Pathogendiagnostik Institut-Aschersleben/Almanya'daki kullanılan yöntem uygulanmıştır) ve ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda tekrar okutularak absorbands değerleri kayıt altına alınmıştır. Negatif kontrol değerlerinin iki katından daha yüksek absorbands değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.2.3. Plate Trapped Antibody- Enzime Linked Immuno Sorbent Assay (PTA-ELISA)

Testi

Enfekteli, ayçiçeği yaprak rnelerinde genel Potyvirus'lerin serolojik yöntemle araştırılması için Richter ve ark. (1995)'nın önerdiği Plate Trapped Antibody-Enzime Linked Immuno Sorbent Assay (PTA-ELISA) test yöntemi kullanılmıştır. Genel Potyvirus'lerin antiserumları ile pozitif ve negatif kontroller Sediag firmasından temin edilmiştir. PTA-ELISA testi firmanın önerdiği prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre;

- Enfekteli ayçiçeği yaprak rnelerinden 10 mg tartılarak 10 ml ekstraksiyon tampon zltisi eklenen steril porselen havanlarda homojenize edilmiştir. Elde edilen bitki özsuları 100 l'lik miktarda ELISA platelerinin çukuruna konulmuştur. Pozitif ve negatif kontroller ELISA platelerinin sol çukurlarına iki tekerrür olacak şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra plateler nemli havlu kağıtlara sarılarak + 4 C'de buzdolabında 1 gece bekletilmiştir. ELISA plateler boşaltılarak yıkama tampon zltisi (1xPBST) ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Kullanımdan 10 dakika önce hazırlanan Konjugate tampon zltisi içerisinde seyreltilen enzimle bağlantılı antiserum (probe antibody) 100 l'lik miktarda ELISA platelerin çukuruna konularak 2 saat süre ile +37 C'de inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda

ELISA plateler boşaltılarak yıkama tampon çözeltisi (1xPBST) ile 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Kullanımdan 10 dakika önce hazırlanan Konjugate tampon çözeltisi içerisinde seyreltilen enzimle bağlantılı antiserum (anti-species conjugated antibody) 100 µl'lik miktarda ELISA platelerin çukuruna konularak 2 saat süre ile +37 °C'de inkübe edilmiştir. Daha sonra ELISA plateler boşaltılarak yıkama tampon çözeltisi (1xPBST) ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Substrat tampon çözeltisi içerisinde seyreltilen 1mg/ 10ml pNPP çözeltisinden 100 µl'lik miktarda platelerin her bir çukuruna 100 µl'lik miktarda konularak, +37 °C'de inkübatörde inkübe edilmiştir.

- Sonuçlar 60-120 dakika sonunda ilk olarak görsel daha sonra da ELISA okuyucusu (Thermo-Multiskan FC)'nda 405 nm dalga boyundaki absorbans değerleri okunarak değerlendirilmiştir.

- Ancak enfekteli olduğundan şüphe edilen ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerindeki virüs konsantrasyonları düşük oranlarda olduğundan plateler buzdolabında + 4 °C'de 1 gece daha bekletilmiş (Epidemiologie und Pathogendiagnostik Institut-Aschersleben/Almanya'daki kullanılan yöntem uygulanmıştır) ve ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda tekrar okutularak absorbans değerleri kayıt altına alınmıştır. Negatif kontrol değerlerinin iki katından daha yüksek absorbans değerleri pozitif olarak kabul edilmiştir.

3.2.3. Ayçiçeğinde Virüs Hastalıklarının Kalite Parametrelerine Olan Etkisinin Belirlenmesi

Trakya Bölgesi'nin Edirne ve Tekirdağ illerindeki ayçiçeği üretim alanlarında gerçekleştirilen ikinci sürvey çalışmalarında, enfekteli yaprak örneklerinin toplandığı birinci sürvey çalışmaları esnasındaki gözlemler doğrultusunda ve ELISA testlerinde virüsle enfekteli olduğu belirlenmiş olan tarlalardan enfekteli ayçiçeği tabla örnekleri alınmıştır. Alınan tabla örnekleri etiketlenerek polietilen torbalara konulmuş ve laboratuara getirilmiştir. Söz konusu bu örnekler kalite analiz testlerinde kullanılmıştır.

3.2.3.1. Bin Dane Ağırlığı

Her bir tabladaki tane örneklerinden rastgele seçilen 4 grup halindeki 100'er adet tane ağırlıkları hassas terazide (Sartorius, Almanya) tartılmıştır. Daha sonra bu ağırlıklar toplanarak 4'e bölünmüş ve 10 ile çarpılarak bin dane ağırlığı hesaplanmıştır.

3.2.3.2. Hektolitre Ağırlığı

Her çeşitten 250 cm³ hacimli hektolitre ölçme kabı ile 4 tekerrürlü olarak alınan örnekler hassas terazide (0,01 gr duyarlı) tartılmıştır. Örnek ortalamaları 400 ile çarpılarak hektolitre ağırlığı (kg) olarak bulunmuştur. Testlerde hektolitre ağırlığı hesaplaması, Uluöz (1965)'ün önerdiği yöntemle yapılmıştır.

3.2.3.3. Yağ Oranları

Ayçiçeği numuneleri yabancı maddelerden temizlendikten sonra tüplere doldurulmuş ve numunenin ağırlığı belirlenmiştir. Örnekler tüplerle birlikte Oxford MQC-5 NMR spektrometre cihazına konularak, yaklaşık 18 sn sonra örneklerin % yağ oranları belirlenmiştir. Yağlı tohum örneklerinde yağ analizleri ISO 10565:1998 standartlarına göre gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Arazi Çalışmalarına İlişkin Bulgular

Trakya Bölgesi'nin Edirne ili Merkez, Süloğlu, Havsa ilçeleri, Kırklareli ili Lüleburgaz, Babaeski ve Pehlivanköy ilçeleri ile Tekirdağ ili Süleymanpaşa, Muratlı, Hayrabolu ve Malkara ilçelerindeki ayçiçeği üretimi yapılan tarlalarda, bitkilerin 6-8 yapraklı olduğu dönemde yapılan sürvey çalışmalarında sistemik hastalık belirtileri sergileyen bitkilere rastlanmıştır. Arazi çalışmalarında yapılan gözlemlerde ayçiçeği yapraklarında renk açılmasından kaynaklanan sarılık, mozayik, yapraklarda beneklenme görünümünün yanında bitkilerde cücelik ve şekil bozuklukları en karakteristik simptomlar olarak gözlenmiştir.



Şekil 4.1. Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde saptanan virüsle enfekteli ayçiçeği bitkisinde karakteristik mozayik simptonunun görünümü

Şekiller 4.1., Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.'de görüldüğü gibi dikkat çekici sistemik mozayik, kloroz ve beneklenme belirtilerinin en tipik simptomlar olarak sürvey alanını kapsayan tarlalarda buldukları saptanmıştır.



Şekil 4.2. Kırklareli ilinin Lüleburgaz ilçesindeki tarlada virüsle enfekteli mozayik belirtileri sergileyen iki ayçiçeği bitkisinin görünümü



Şekil 4.3. Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde virüs hastalıklarının yaygın olarak saptandığı ayçiçeği tarlasından bir görünüm



Şekil 4.4. Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde enfekteli ayçiçeği bitkilerinde mozayik belirtilerinin en son oluşan yapraklardaki görünümü

Şekil 4.4.'de görüldüğü gibi üzere virüs enfeksiyonlarının genç bitkilerde sonradan belirginleştiği ve karakteristik belirtilerin yeni çıkan yapraklarda bariz bir şekilde ortaya çıktığı görülmektedir. Bazı enfekteli ayçiçeği bitkilerinde ise virüs simptomlarından mozayik, cücelik, yapraklarda şekil bozukluklarının bir arada olduğu görülmektedir (Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.). Arazi çalışmaları esnasında yapılan gözlemlerde hasat döneminde böyle enfekteli bitkilerde tablanın oluşmadığı, bitkinin vejetatif formda kaldığı veya oluşan tohum adedinde noksanlık bulunduğu dikkati çekmiştir. Şekil 4.7.'de görüldüğü gibi bazı ayçiçeği bitkilerinde virüsün bulaşması ve enfeksiyon oluşması gecikmiş olabilmektedir. Virüs bulaşmadan önceki yaprakların sağlıklı, enfeksiyon başladıktan sonra oluşan yapraklarda ise karakteristik mozayik belirtilerin görülmesi tarla koşullarında sık rastlanan bir olaydır. Türkiye'nin önemli ayçiçeği üretim alanlarını oluşturan Trakya Bölgesi'nin üç ilinde de ayçiçeği tarlalarında karakteristik belirtiler sergileyen virüs enfeksiyonlarının görülmesi ayçiçeğinde hastalığa neden olan ve vektör böceklerle taşınan viral hastalık etmenlerinin potansiyelini artırabileceği kanaatini uyandırmaktadır. Ayrıca virüslere depo ve barınak görevi yapan yabancı ot türlerinin de bölgede inokulum kaynağı olarak görev yapması, virüsün yayılması ve epidemisi açısından ayrı bir önem taşımaktadır. Nitekim ayçiçeğinde görülen viral hastalık etmenlerinin

sayı olarak az olmasına karşın bu çalışma sonucunda araştırılan iki virüsün de bölgede saptanmış olması enfeksiyonun artabileceği kanaatini oluşturmaktadır.



Şekil 4.5. Kırklareli ili Babaeski ilçesinde ayçiçeğinde yeni başlamış virüs hastalığının mozayik, sarılık, şekil bozukluğu belirtilerinin bir aradaki görünümü



Şekil 4.6. Edirne ili Merkez ilçedeki ayçiçeği bitkisinde cücelik, sarılık, beneklenme ve şekil bozukluğunun bir arada görünümü



Şekil 4.7. Edirne ili Süloğlu ilçesinde gecikmiş virüs enfeksiyonunda mozayik ve sarılık belirtilerinin görünümü

Arazi çalışmalarında yapılan gözlemlerde, ayçiçeği tarlalarının içinde ve çevresinde bulunan, tek ve çok yıllık yabancı ot türleri ile bazı çalı türlerinin karakteristik virüs enfeksiyonlarını sergiledikleri gözlenmiştir. Yabancı ot türlerinde görülen en tipik viral hastalık belirtisi olarak sarılık, mozayik ve klorotik lokal lekelerin dikkati çektiği görülmüştür. Virüs hastalıklarının konukçusu olan ve virüslerin epidemisinde önemli rol oynayan yabancı ot türlerindeki karakteristik bu belirtilerin gözlenmiş olması ve virüslerin inokulum kaynağı olarak görev yapan enfekteli yabancı otların bölgedeki varlığı epidemiyolojik açıdan büyük önem taşımaktadır.

Kırklareli ilinin Lüleburgaz ilçesindeki ayçiçeği tarlasında Şekil 4.8.'de görüldüğü üzere Adi eşek marulu (*Sonchus oleraceus* L.) yabancı ot türündeki genç yapraklarda oluşan sarılık ve mozayik belirtileri dikkati çekmektedir. Şekil 4.9.'da ise tarla kenarında varlığını sürdüren böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.) yapraklarındaki virüs belirtileri çok yıllık çalı formunun da ayçiçeği tarlasında viral etmenler için inokulum kaynağı olabileceğini göstermektedir. Öte yandan Şekil 4.10.'da görüleceği üzere tarla içinde virüsle enfekteli pıtrak (*Xanthium strumarium* L.) otunun, yanbaşındaki ayçiçeği bitkisi için inokulum kaynağı oluşturduğu görülmektedir.



Şekil 4.8. Kırklareli ili Lüleburgaz ilçesinde ayçiçeği tarla kenarında virüs enfekteli Adi eşek marulu (*Sonchus oleraceus* L.) yabancı ot türündeki sarılık belirtilerinin görünümü



Şekil 4.9. Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde ayçiçeği tarla kenarında virüsle enfekteli böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.)’de tipik mozayik belirtilerinin görünümü



Şekil 4.10. Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinde mozayik semptomları gösteren virüsle enfekteli pıtrak (*Xanthium strumarium* L.) ile ayçiçeği bitkisinin birlikte görünümü

Arazi çalışmalarında yapılan gözlemler sonucu virüse benzer belirtiler sergileyen patojenik etmenlerle bazı fizyolojik etmenler de Trakya Bölgesi'nin ayçiçeği üretim alanlarında dikkati çeken bir başka fitopatolojik sorun olarak gözlenmiştir.

Nitekim Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarında virüs hastalıklarına benzer en tipik fungal hastalığın *Plasmopara halstedii* Farlow'nin neden olduğu ayçiçeği mildiyösüdür. Bazı yıllarda epidemik boyutlara ulaşan bu hastalıkla mücadele de başarı sağlansa da bazı yıllarda tekrar sorun olarak karşılaşıldığı bölgede bilinen bir gerçektir. Mozayığe benzer renk değişikliklerini içeren meşe yaprağı deseni belirtileri bu hastalığın en karakteristik özelliğidir. Ayrıca cücelik ve oluşan tablanın gökyüzüne odaklı olması ve steril tohum oluşumu da hastalığın çarpıcı semptomları olarak gözlenmiştir. Viral hastalık belirtisine benzer belirtiler oluşturan herbisit zararı ise Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarında görülen bir başka fizyolojik bozukluk olarak dikkati çekmiştir. Ayçiçeği bitkisinin büyüme konisinin zarara uğraması sonucu yapraklarda anormal şekil bozukluklarının yanı sıra alt yapraklar sağlıklı iken en son oluşan genç yaprakların zararlanmasının asıl nedeninin hormon terkipli herbisitlerin olumsuz etkisi sonucu meydana geldiği arazi çalışmaları esnasında gözlenmiştir. Virüs hastalıklarına benzer şekilde bazı ayçiçeği tarlalarında çok nadir bitkilerin sistemik ve

lokal şekilde çarpıcı belirtiler sergiledikleri görülmüştür. Böyle bir ayçiçeği bitkisinde virüs enfeksiyonundan ziyade genetik bir dejenerasyonun klorofil oluşumunu yer yer engelleyerek homojen sarılık belirtilerine neden olduğu görülmüştür.

4.2. Serolojik Test Bulguları

4.2.1. DAS-ELISA Test Bulguları

Trakya Bölgesi'nin Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerindeki ayçiçeği tarlalarından alınan enfekteli ayçiçeği ve yabancı ot yaprak örneklerine uygulanan Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) test sonuçlarına göre örneklerin hiçbirinde *Potato virus Y* (PVY)'nin varlığına rastlanmamıştır. Böylece Trakya Bölgesi ayçiçeği tarlalarında PVY virüsünün bulunmadığı bu çalışma sonucunda saptanmıştır.

4.2.2. TAS-ELISA Test Bulguları

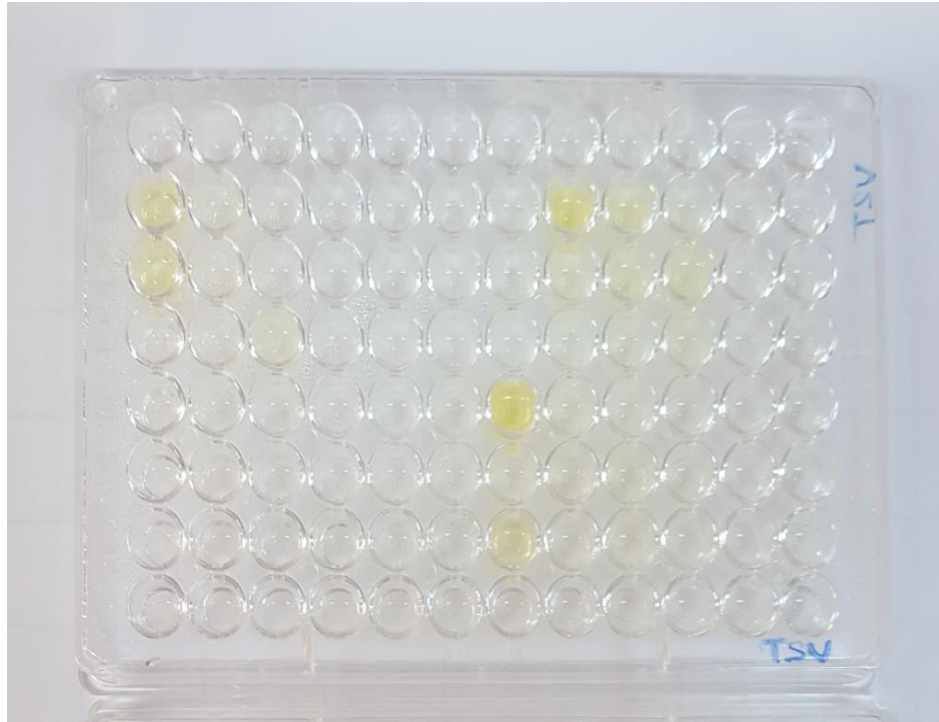
Trakya Bölgesi'nin üç ilindeki ayçiçeği üretim alanlarından toplanan enfekteli 21 adet yabancı ot ve 223 adet ayçiçeği bitkisinden alınan toplam 244 adet yaprak örneğine uygulanan TAS-ELISA testi sonucunda 11 adet yaprak örneğinin *Tobacco streak virus* (TSV) ile enfekteli oldukları saptanmıştır.

Çizelge 4.1. Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarında TSV ile enfekteli bitki örnekleri ve adedi

İl adı	İlçe adı	Bitki adı				
		Ayçiçeği	Böğürtlen	Çayır yulafı	Pıtrak	Adi eşek marulu
		<i>Helianthus annuus</i> L.	<i>Rubus fruticosus</i> L.	<i>Avena pratensis</i> L.	<i>Xanthium strumarium</i> L.	<i>Sonchus oleraceus</i> L.
Edirne	Merkez	1	-	1	-	-
	Havsa	-	-	-	-	-
	Süloğlu	-	-	-	-	-
Kırklareli	Lüleburgaz	2	-	-	-	-
	Babaeski	1	-	-	-	-
	Pehlivan köyü	-	-	-	-	-
Tekirdağ	Süleymanpaşa	3	1	-	1	-
	Muratlı	-	-	-	-	-
	Malkara	1	-	-	-	-
	Hayrabolu	-	-	-	-	-
TOPLAM	10	8	1	1	1	-

Çizelge 4.1.'de görüleceği üzere TAS-ELISA test sonuçlarına göre Edirne ili, Merkez ilçeden alınan 1 adet ayçiçeği ve 1 adet çayır yulafı (*Avena pratensis* L.) TSV ile enfekteli bulunurken, Kırklareli ili, Lüleburgaz ilçesinden alınan 2 adet örnekte, Babaeski ilçesinden alınan 1 adet ayçiçeği örneğinde enfeksiyon saptanmıştır. Tekirdağ ili, Süleymanpaşa ilçesinden alınan 3 adet ayçiçeği, 1 adet böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.) ve 1 adet pıtrak (*Xanthium strumarium* L.) örneği enfekteli bulunurken, Malkara ilçesinden alınan 1 adet ayçiçeği örneğinin TSV ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Böylece Trakya Bölgesi'nin Edirne ilinden alınan 2 adet örnek, Kırklareli ilinden alınan 3 adet örnek, Tekirdağ ilinden alınan 6 adet örnek olmak üzere toplam 11 adet bitki örneği TSV ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. Böylece Trakya Bölgesi'ndeki ayçiçeği ve yabancı ot örneklerinin 11 adedinde TSV saptanmış olup, enfeksiyon oranları da % 4,51 olarak belirlenmiştir.

TAS-ELISA testi sonucunda ELISA platelerinde virüsle enfekteli kuyucuklarda oluşan pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü Şekil 4.17.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. TSV ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü

TAS-ELISA testi sonucunda ELISA okuyucusunda okunan absorbans değerlerine ait değerler Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. ELISA reader’da okunan TSV’ne ait absorbans değerleri

Virüs adı	En yüksek pozitif absorbans değerleri	En yüksek negatif absorbans değerleri	Ticari pozitif absorbans değeri	Ticari negatif absorbans değeri
TSV	2.417-0.714	0.250-0.314	1.166-1.171	0.249-0.277

4.2.3. PTA-ELISA Test Bulguları

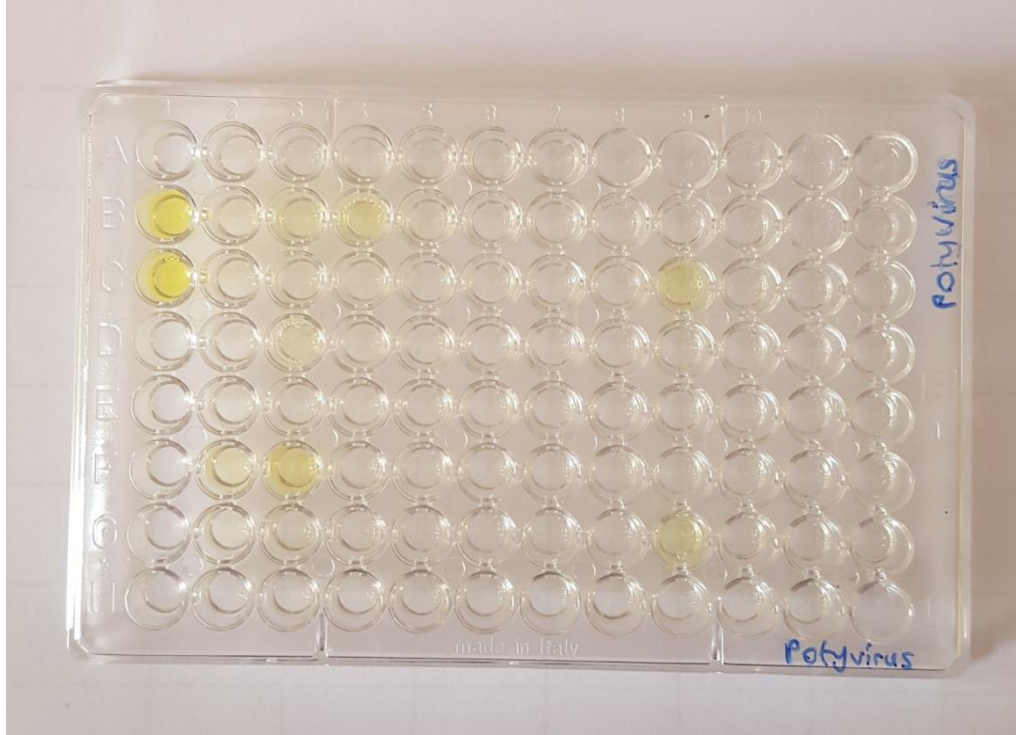
Trakya Bölgesi’nin üç ilindeki ayçiçeği üretim alanlarından toplanan enfekteli 21 adet yabancı ot ve 223 adet ayçiçeği bitkisinden alınan toplam 244 adet yaprak örneğine uygulanan TAS-ELISA testi sonucunda 25 adet yaprak örneğinin genel Potyvirus’ler ile enfekteli oldukları saptanmıştır.

Çizelge 4.3. Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarında Potyvirus ile enfekteli bitki örnekleri ve adedi

İl adı	İlçe adı	Bitki adı				
		Ayçiçeği (<i>Helianthus annuus</i> L.)	Böğürtlün (<i>Rubus fruticosus</i> L.)	Çayır yulafi (<i>Avena pratensis</i> L.)	Pıtrak (<i>Xanthium strumarium</i> L.)	Adi eşek marulu (<i>Sonchus oleraceus</i> L.)
Edirne	Merkez	11	-	-	-	
	Havsa	-	-	-	-	
	Süloğlu	5	-	-	-	
Kırklareli	Lüleburgaz	-	-	-	-	1
	Babaeski	-	-	-	-	
	Pehlivan köyü	-	-	-	-	
Tekirdağ	Süleymanpaşa	1	1	-	-	
	Muratlı	-	-	-	-	
	Malkara	4	-	-	-	
	Hayrabolu	2	-	-	-	
TOPLAM	10	23	1	-	-	1

Çizelge 4.3.’de görüleceği üzere Trakya Bölgesi’nin Edirne ili Merkez ilçeden alınan 11 adet ayçiçeği örneği ile Süloğlu ilçesinden alınan 5 adet ayçiçeği yaprak örneğinin Potyvirus’ler ile enfekteli oldukları saptanmıştır. Kırklareli ili Lüleburgaz ilçesinden alınan 1 adet Adi eşek marulu (*Sonchus oleraceus* L.) yaprak örneğinin Potyvirus’ler ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Tekirdağ ilinin Süleymanpaşa ilçesinden alınan 1 adet ayçiçeği ve 1

adet böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.) yaprak örneğinde, Malkara ilçesinden alınan 4 adet ayçiçeği ve Hayrabolu ilçesinden alınan 2 adet ayçiçeği yaprak örneklerinin Potyvirusler ile enfekteli oldukları PTA-ELISA testi sonucunda saptanmıştır. Böylece Trakya Bölgesi'nin Edirne ilinden alınan 16 adet örnek, Kırklareli ilinden alınan 1 adet örnek ve Tekirdağ ilinden alınan 8 adet örnek olmak üzere toplam 25 adet bitki örneği genel Potyvirus'ler ile enfekteli olarak tespit edilmiştir. Böylece Trakya Bölgesi'ndeki ayçiçeği ve yabancı ot örneklerinin 25 adedinde Potyvirus saptanmış olup, enfeksiyon oranları da % 10,25 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.12. Potyvirus ile enfekteli pozitif reaksiyon veren örneklerin görünümü

PTA-ELISA testi sonucunda ELISA okuyucusunda okunan absorbans değerlerine ait değerler Çizelge 4.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. ELISA reader'da okunan Potyvirus'lere ait absorbans değerleri

Virüs adı	En yüksek pozitif absorbans değerleri	En yüksek negatif absorbans değerleri	Ticari pozitif absorbans değeri	Ticari negatif absorbans değeri
Genel Potyvirusler	1.047-2.110	0.450-0.553	2.117-2.150	0.230-0.237

Sonuç olarak Trakya Bölgesi'nin Edirne, Kırklareli ve Tekirdağ illerinden alınan toplam olarak 244 adet ayçiçeği ve yabancı ot yaprak rneklarine uygulanan serolojik testler sonucunda 36 adet örneğin virüsle enfekteli olduğu saptanmıştır. Böylece bölgeden toplanan örneklere elde edilen bulgular doğrultusunda 11 adet rneğin *Tobacco streak virus* (TSV), 25 adet örneğin ise genel Potyvirus'ler ile enfekteli oldukları saptanmıştır. Ayrıca Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesinden alınan böğürtlen örneğinde hem TSV hem de Potyvirus bulunurken, Edirne ili Merkez ilçeden alınan bir ayçiçeği örneğinde her iki virüsün birlikte buldukları saptanmıştır. Söz konusu virüs enfeksiyon oranlarının ise % 14.75 oranında olduğu tespit edilmiştir (izelge 4.5.).

Çizelge 4.5. Trakya Bölgesi ayçiçeği üretim alanlarından toplanan yaprak örneklerindeki serolojik test sonuçları

İl adı	İlçe adı	Örnek adedi	TSV	Potyvirus	PVY	Enfekteli örnek adedi
Tekirdağ	Hayrabolu	18	0	2	0	2
	Malkara	34	1	4	0	5
	Muratlı	14	0	0	0	0
	Süleymanpaşa	39	5	2	0	7
Edirne	Havsa	29	0	0	0	0
	Merkez	37	2	11	0	13
	Süloğlu	13	0	5	0	5
Kırklareli	Babaeski	27	1	0	0	1
	Lüleburgaz	33	2	1	0	3
Genel Toplam						
3	9	244	11	25	0	36
Bulaşıklık Oranı						
			4,51%	10,25%	0,00%	14,75%

4.3. Ayçiçeğinde Virüs Hastalıklarının Kalite Parametrelerine Etkisinin Değerlendirilmesine İlişkin Bulgular

Edirne ve Tekirdağ illerindeki ayçiçeği üretim alanlarında, serolojik test sonuçlarına göre virüsle bulaşık oldukları saptanan tarlalardan alınan virüsle enfekteli ve sağlıklı ayçiçeği tabla örneklerinden ufalanarak elde edilen yağlı tohum örnekleri kalite analiz testleri için hazır hale getirilmiştir. Virüsle enfekteli tarlalardan alınan 5 adet virüsle enfekteli ve 5 adetde sağlıklı olmak üzere her iki ilden alınan toplam 30 adet tabla örnekleri ile kalite analiz testleri gerçekleştirilmiştir. Ayçiçeğinde virüs hastalıklarının verim unsurlarını etkileyen kalite parametrelerini saptamak üzere 1000 dane ağırlığı (gr), hektolitre ağırlığı (Kg/hl) ve yağ oranı içerikleri (%) incelenmiştir. Kalite analiz testlerinde sağlıklı tohumlardan elde edilen veriler de kontrol değeri olarak kullanılmıştır.

Trakya Bölgesi'nin Tekirdağ ili Süleymanpaşa ve Hayrabolu ilçeleri ile Edirne ili Merkez ilçedeki enfekteli ayçiçeği tarlalarından alınan tabla örneklerinde üç ayrı kalite parametresi için saptanan sonuçlar Çizelge 4.6., Çizelge 4.7. ve Çizelge 4.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesindeki virüsle enfekteli tarladan alınan tanelerdeki kalite parametre değerleri

Tekirdağ / Süleymanpaşa							
Tane örnek no	Bindane (gr)	Hektolitre (gr/lt)	Yağ oranı (%)	Tane örnek no	Bindane (gr)	Hektolitre (gr/lt)	Yağ oranı (%)
Sağlıklı-1	89,30	195,00	34,80	Hastalıklı-1	46,70	179,00	42,07
Sağlıklı-2	47,00	177,00	35,43	Hastalıklı-2	43,90	165,00	44,32
Sağlıklı-3	41,90	175,00	32,80	Hastalıklı-3	38,95	168,10	41,07
Sağlıklı-4	48,25	187,00	36,15	Hastalıklı-4	42,90	172,00	39,85
Sağlıklı-5	43,55	179,00	35,35	Hastalıklı-5	40,15	165,00	42,48

Çizelge 4.6.'da görüleceği üzere Tekirdağ ilinin Süleymanpaşa ilçesinden alınan örneklerden, virüs hastalıklarının etkisiyle oluşan küçük ve içi boş tane yapısına sahip örneklerin, sağlıklı kontrol numunelerindeki değerler ile kıyaslandığında bin dane ağırlıklarında önemli düşüşler olduğu tespit edilmiştir. Yine viral hastalık etmenlerinin etkisiyle oluşan küçük ve içi boş tane yapısına bağlı olarak düşük hektolitre değerleri elde edilmiştir. Ancak yağ oranı içerikleri açısından sağlıklı kontrol örneklerine oranla önemli artışlar saptanmıştır.

Çizelge 4.7. Tekirdağ ili Hayrabolu ilçesindeki virüsle enfekteli tarladan alınan tanelerdeki kalite parametre değerleri

Tekirdağ / Hayrabolu							
Tane örnek no	Bindane (gr)	Hektolitire (gr/lt)	Yağ oranı (%)	Tane örnek no	Bindane (gr)	Hektolitire (gr/lt)	Yağ oranı (%)
Sağlıklı-1	61,90	190,00	42,27	Hastalıklı-1	32,20	185,00	42,10
Sağlıklı-2	41,30	193,00	41,09	Hastalıklı-2	35,00	173,00	47,02
Sağlıklı-3	40,00	191,00	34,89	Hastalıklı-3	41,20	189,90	44,19
Sağlıklı-4	45,00	187,20	38,15	Hastalıklı-4	34,40	170,00	45,45
Sağlıklı-5	46,25	195,50	37,50	Hastalıklı-5	39,75	177,80	45,74

Yine Tekirdağ ili Hayrabolu ilçesindeki virüsle enfekteli tarladan alınan yağlı tohum örneklerindeki bin dane ağırlıklarında kontrol numunelere oranla önemli düşüşler saptanmıştır. Aynı şekilde hektolitire ağırlıklarında da düşük değerler elde edilmiştir. Yağ oranı içerikleri açısından ise önemli artışlara neden olduğu Çizelge 4.7.'de görülmektedir.

Çizelge 4.8. Edirne ili Merkez ilçedeki virüsle enfekteli tarladan alınan tanelerdeki kalite parametre değerleri

Edirne / Merkez							
Tane örnek no	Bindane (gr)	Hektolitire (gr/lt)	Yağ oranı (%)	Tane örnek no	Bindane (gr)	Hektolitire (gr/lt)	Yağ oranı (%)
Sağlıklı-1	87,120	-	38,87	Hastalıklı-1	46,480	-	47,25
Sağlıklı-2	43,120	-	44,50	Hastalıklı-2	44,400	-	48,38
Sağlıklı-3	53,680	-	45,03	Hastalıklı-3	35,360	-	41,87
Sağlıklı-4	49,000	-	38,25	Hastalıklı-4	42,480	-	45,65
Sağlıklı-5	51,500	-	40,02	Hastalıklı-5	45,000	-	46,48

* hektolitire ağırlıkları bu numuneler için gerçekleştirilememiştir.

Edirne ili, Merkez ilçedeki virüsle enfekteli tarladan alınan yağlı tohum örneklerindeki bin dane ağırlıklarında kontrol numunelerine oranla oldukça önemli düşüşler kaydedilmiştir. Özellikle 1 ve 3 numaralı örneklerde bin dane ağırlığının yarıya düştüğü görülmektedir. Aynı şekilde diğer numularda olduğu gibi yağ oranı içeriklerinin de arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.8.).

Bu sonuçlara göre Edirne ve Tekirdağ illerindeki ayçiçeği tarlalarından alınan enfekteli tohumlardaki bin dane ağırlıklarında önemli düşüşler gözlenmiştir. Tekirdağ ilindeki ayçiçeği tarlalarından alınan yağlı tohum örneklerinde hektolitire ağırlıklarında da önemli düşüşler elde edilmiştir. Ancak virüsle enfekteli tohum örneklerinde diğer iki parametrenin aksine yağ oranlarında artış saptanmıştır. Bu durum Aries ve ark. (2003) ve Rodriguez ve ark.

(2010)'nın bildirdikleri gibi virüs hastalıklarının etkisiyle yapraklardaki fotosentez miktarının azalması sonucunda yaprakta yüksek oranda H₂O₂ birikimi ile klorofilin bozulmasına, CO₂ fiksasyonunun azalması sonucu yaprakta şeker ve nişasta miktarının artmasına, yüksek antioksidant enzim aktivitesinin artmasına ve yağ peroksidasyonuna yani yağların yükseltgenmesi sonucu bozulmasının neden olduğu sonucuna bağlanabilir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hızla ve sürekli olarak artan nüfusa paralel olarak gıda maddeleri tüketimi de hızla artan Dünya’da bitkisel yağlar temel olarak soya, kanola, pamuk, çığıt, palm, ayçiçeği ve aspir gibi yağlı tohumlu bitkilerden elde edilmektedir (Anonim 2012). Türkiye, bitkisel yağlı tohum üretiminde Dünya’nın önde gelen ülkeleri arasında olup, yağ bitkileri üretiminde ilk sırayı alan ayçiçeğinin önemli bir oranı Marmara ve özellikle de Trakya Bölgesi’nde yetiştirilmektedir. Bu sayede Trakya Bölgesi’nde Türkiye’nin ihtiyacından fazla üretim yapacak yağ sanayi tesisleri kurulmuştur. Ayçiçeği tohumlarında bulunan % 45-50 oranındaki ham yağ hem sıvı yağ hem de margarin sanayinde kullanılmaktadır. Ayrıca çerez olarak tüketilen ayçiçeğinin, küspesinden de hayvan yemi olarak yararlanılmaktadır (Tan 2007). Geçmişte ayçiçeği bitkisinden süs, yağ ve şekerleme amacıyla Afrika, Asya, Avustralya, Avrupa, Kuzey Amerika ve Güney Amerika’da yararlanıldığı bilinmektedir. Ayçiçeği, yağ bitkileri arasında nitelik ve nicelik bakımından önemli ve ekonomik bir yeri olmasının yanında ekim nöbetinde de değerli bir çapa bitkisidir. Ayçiçeği kabuksuz % 50 civarında yağ içermesi, yağı çıkarıldıktan sonra geri kalanının küspe, sap ve tabla artıklarının yakacak maddesi olarak değerlendirilmesi gibi kullanım alanlarına sahip olduğu İncekara (1972) tarafından bildirilmiştir.

Türkiye’de üreticiler, gıda sanayicileri ve tüketiciler açısından önemi oldukça fazla olan ayçiçeği bitkisinde diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi verimi ve kaliteyi olumsuz yönde etkileyen birtakım hastalık ve zararlılar görülmektedir. Bunların başında Trakya Bölgesi’nde daha önce etmeni *Plasmopara helianthi* adı ile Yücer ve Karaca (1978) tarafından tanımlanmış olan ve Hall (1989) tarafından da adı *Plasmopara halstedii* Farlow olarak bildirilmiş bulunan ayçiçeği mildiyösü gelmektedir. Türkiye ve Trakya Bölgesi için önemli olan bu hastalıkla mücadele için Anonim (2008)’de Zirai Mücadele Teknik Talimatı yürürlüğe sokulmuştur. Sürvey esnasında elde edilen gözlemler ile önceki çalışmalarla teyit edildiği üzere bölgede ayçiçeği mildiyösünün yaygın olduğu görülmüş ve bu hastalığın en tipik belirtileri, epidemiyolojik özellikleri, virüs hastalıkları ile benzerlikleri ve farklılıkları gösterilmiştir. Trakya Bölgesi’nde ayçiçeği üreticileri, Esendal (2009) tarafından saptandığı gibi üreticilerin kuraklık riskine rağmen bu kültür bitkisini sulamadığı dikkati çekmiştir. Ayrıca virüs benzeri semptomlar sergileyerek ayçiçeğinde hatalı tarımsal uygulamalardan bir başka örneği oluşturan herbisit zararlarının yaygın olduğu görülmüştür. Ayçiçeğinde bitki besin elementlerinden N, P ve özellikle K noksanlığı en çok karşılaşılan bitki besin elementi

noksanlığı olduğu ve virüs hastalıklarına benzer hastalık belirtileri sergilediği Aktaş ve Ateş (1998) tarafından bildirilmiş olmasına rağmen arazi gözlemlerinde gübreleme hatalarına pek rastlanmamıştır. Ancak ayçiçeğinde genetik bozukluklar, bu çalışmada saptanan virüs benzeri bir başka hastalık olayı olarak gözlenmiştir.

Dünya’da sınırlı sayıda araştırılması yapılan ayçiçeği virüs hastalıkları hakkında bu güne kadar Türkiye’de herhangi bir araştırma yapılmamış olup bu tez çalışması bir ilk kayıt niteliği taşımaktadır. Ayçiçeğinde bulunduğu bildirilen virüsler King ve ark. (2012)’nin ICTV adına hazırladıkları Virüslerin Sınıflandırılması ve İsimlendirilmesi konulu 9. Raporda *Sunflower chlorotic spot virus* (SuCSV), *Sunflower mosaic virus* (SuMV), *Sunflower crinkle virus* (SuCV), *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV) ve *Sunflower yellow blotch virus* (SuYBV) şeklinde sıralanmışlardır. Bu virüslerin tamamı Potyvirus cinsi içerisinde yer almışlardır. Yine Potyvirus cinsinin tip virüs türü olarak gösterilen *Potato virus Y* (PVY)’nin ayçiçeğinde hastalık yapabildiğini ilk olarak Chod ve ark. (1996) Çekoslavakya’da daha sonra Rabiee ve ark. (2014) İran’da saptamışlardır. Ancak bu çalışmada Türkiye’deki Trakya Bölgesi ayçiçeği tarlalarında DAS-ELISA testleri ile araştırılan PVY Çizelge 4.5.’deki test sonuçlarına göre bölgede bulunmadığı saptanmış ve ayçiçeği tarlalarında PVY’nin herhangi bir enfeksiyonuna rastlanmadığı tespit edilmiştir. Bunun nedeni bölgede ayçiçeği ve kanola gibi yağ bitkileri üretimine öncelik verilmiş olması ve PVY’nin ana konukçusu olan patatesin Trakya Bölgesi’nde üretilmemesi olabilir.

Ayçiçeğindeki hastalıklara neden olan bir başka virüs *Tobacco streak virus* (TSV) ilk olarak Dijkstra (1983) tarafından tütünlerde tanılanmış ve konukçu çevresi içinde ayçiçeğinin de bulunduğunu bildirmiştir. Nagaraju ve ark. (1998) Hindistan’da ayçiçeği yapraklarında nekrozlara neden olan sistemik bir virüs hastalığını gözlemlediklerini bildirdikten sonra Ravi ve ark. (2001) bu hastalığa neden olan virüse *Sunflower necrosis virus* (SNV) adını vermişlerdir. Öte yandan Dujovnv ve ark. (2000) yaptıkları moleküler testler sonucunda Arjantin’de ayçiçeği üretimini tehdit eden, nekroz ve kloroza neden olan virüsü TRV olarak tanılamışlardır. Nihayet Papaiah ve ark. (2012)’da Hindistan’daki ayçiçeği nekroz virüsünün TSV olarak kesin tanısını yapmışlardır. Hosseini ve ark. (2012) ile Rabiee ve ark. (2014)’nin İran’da saptadıkları ayçiçeği hastalık etmenini TSV olarak tanıladıklarından benzer ayçiçeği virüs hastalığının Türkiye’de de araştırılması ile önemli bir noksanlığın giderileceği düşünülmüştür. Nitekim Trakya Bölgesi’nde yapılan bu çalışmada arazi gözlemlerinde ayçiçeği tarlalarındaki bitkilerde sistemik virüs hastalık belirtilerinden mozayik, beneklenme, cücelik ve sistemik renk değişiklikleri Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3., Şekil 4.6., Şekil 4.7., Şekil 4.8. ve Şekil 4.9.’da sergilenmişlerdir. TAS-ELISA testleri uygulanan 223 ayçiçeği ve

21 yabancı ot örneklerinde *Tobacco streak virus* (TSV)'ün bulunduğu Şekil 4.11.'de ve Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.5.'de bildirilmiştir. Böylece Trakya Bölgesi'nde ayçiçeği üretim alanlarındaki simptomatik bitkilerden 11 adedinin, % 4.51 oranında TSV içerdiği kanıtlanmıştır.

King ve ark. (2012)'nin ayçiçeği (Sunflower) adı ile listeledikleri beş virüsün tamamı Potyvirus'ler olarak ve PTA-ELISA testi uygulanarak bu çalışmada araştırılmıştır. Elde edilen bulgular Şekil 4.12.'de gösterildiği ve Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.5.'de gösterildiği gibi Trakya Bölgesi'ndeki 244 adet enfekteli bitki örneklerinin 25 adedinde ve % 10,25 oranında Potyvirus'lerin bulunduğu saptanmıştır. Böylece Dünya'nın değişik bölgelerinde ayçiçeğinde bulunduğu bildirilen bu virüslerin Türkiye'de bulunuşu da bu tez çalışması ile kanıtlanmıştır. Araştırma konusunu oluşturan viral hastalık etmenlerinden Potyvirus'lerin ayçiçeğinde hastalık yapabildiği ilk olarak Arnott ve Smith (1967)'in A.B.D.'nin Teksas, Sandbakken ve Lilleboe (1999)'nin Kaliforniya Eyaletleri'ndeki yabancı ayçiçeği bitkilerinde *Sunflower mosaic virus* (SuMV)'nü tespit etmeleriyle ortaya çıkmıştır. Dujovnv ve ark. (1998) ise Arjantin'deki ayçiçeği tarlalarında gözlemledikleri mozayik, beneklenme ve cücelik belirtilerine neden olan virüsü, biyolojik, serolojik ve elektron mikroskopik özelliklerine göre 17 x 770 nm boyutlarında esnek çubuk formundaki virionları ile bir Potyvirus türü olarak tanımlamışlardır. Benzer şekilde Gulya ve ark. (1998) ABD'nin Teksas eyaletinde ayçiçeğindeki sistemik mozayik hastalığına neden olan virüsü karakteristik hastalık belirtilerine uygun olarak *Sunflower mosaic virus* (SuMV) adı altında tanımlamışlardır. Daha sonra Arjantin'de yapılan seri araştırmalarda Dujovyn ve ark. (2000), Lenardon ve ark. (2001), Giolitti ve ark. (2009b) nihayet Rodriguez ve ark. (2012) Potyvirus'lerin ayçiçeğinde enfeksiyonlar meydana getirdiğini saptamışlardır. Böylece Potyvirus'lerin ayçiçeği bitkisinde hastalık yapabildikleri yine bu tez çalışmasıyla birlikte Türkiye'de de ilk defa kayıt altına alınmıştır.

Böylece Trakya Bölgesi ayçiçeği tarlalarından alınan toplam 244 adet enfekteli bitkinin 36 adedinde ve % 14,75 oranında virüsler içerdiği görülmüş ve bu konuda Dünya'daki diğer ülkelerde elde edilen sonuçlar teyit edilmiştir. Trakya Bölgesi'nde ulaşılan bu sonuçlara göre Türkiye'deki diğer ayçiçeği üretim alanlarında da TSV ve Potyvirus cinsine giren virüslerin ve virüs benzeri hastalık etmenlerinin de araştırılması gereği ortaya çıkmış bulunmaktadır.

Virüs hastalıklarının ayçiçeği verim kriterleri üzerine olan etkileri Lenardon ve ark. (2001) tarafından Arjantin'de araştırılmıştır. Yaptıkları çalışmada hastalıklı ayçiçeği tabla örneklerinden elde edilen tohumların bin dane ağırlığı ve hektolitre ağırlığında sağlıklı

ayçiçeği bitkilerinden alınan tabla örneklerine göre önemli düşüşler görüldüğü halde yağ oranları bakımından anlamlı bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir. Nitekim bu çalışmada da Çizelge 4.6., Çizelge 4.7. ve Çizelge 4.8.'de görüldüğü gibi virüsle enfekteli ayçiçeği tablalarından alınan örneklerden elde edilen yağlı tohumların sağlıklı tablalardan elde edilen tohumlara göre bin dane ve hektolitre ağırlıklarında düşüş saptanırken Lenardon ve ark. (2001)'nin bulgularının aksine yağ oranlarında kısmen bir artış saptanmıştır. Ancak bu tez çalışmasına paralel olacak şekilde Aries ve ark. (2003)'ları enfekteli yapraklarda çözünebilir şeker ve nişasta miktarlarının arttığını, yüksek oranda H₂O₂ birikiminin klorofilin bozulmasına ve yağ peroksidasyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Rodriguez ve ark. (2010) ise SuCMoV ile enfekteli bitkilerde şeker, nişasta artışının yanı sıra enfeksiyon sürecinde reaktif oksijen türleri (ROS)'nin ve yapraklarda yüksek antioksidant enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Sirinivasan ve ark. (2009) ise *Sunflower necrosis virus* (SNV)'ün ayçiçeği yağlı tohum verimini bölgelere göre % 10-90 oranında azalttığını bildirmişlerdir.

Türkiye ve Trakya Bölgesi'nde ilk defa saptanan söz konusu viral hastalık etmenlerine karşı mücadele prensipleri oluşturulmalı ve hem Trakya Bölgesi'nde hem de Türkiye'nin diğer bölgelerinde ayçiçeği üretimi yapan çiftçilere konu ile alakalı ayrıntılı bilgilendirme çalışmaları yapılması önerilir.

6. KAYNAKLAR

- Aktaş M, Ateş M (1998). Bitkilerde beslenme bozuklukları. Engin Yayınevi, 247s, Ankara.
- Anonim (2006). Potato virus Y. Association of Applied Biologists, <http://www.dpvweb.net/> (Erişim tarihi: 02.05.2015).
- Anonim (2008). Ziraî Mücadele Teknik Talimatları, Cilt:2. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı TAGEM, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Başak Matbaası, Ankara 260 s
- Anonim (2012). 2012 yılı Ayçiçeği raporu. T.C. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, Kooperatifçilik Genel Müdürlüğü. 24 s.
- Anonim (2015a). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/> (Erişim tarihi: 24.11.2015).
- Anonim (2015b). Türkiye İstatistik Kurumu. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim tarihi: 23.11.2015).
- Anonim (2015c). Türkiye İstaistik Kurumu. <http://rapory.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi: 23.11.2015).
- Anonim (2015d). Ayçiçeği. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Ayçiçeği> (Erişim tarihi: 23.11.2015).
- Arias MC, Lenardon S, Taleisnik E (2003). Carbon metabolism alterations in sunflower plants infected with the Sunflower chlorotic mottle virus. J. Phytopathology 151, 267-273.
- Arnott HJ, Smith KM (1967). Electron microscopy of virus infected sunflower leaves. J. Ultrastruct. Res. 19:173-195.
- Arslan İ (1998). Tekirdağ İli Ayçiçeği ekim alanlarında bulunan yabancı ot türlerinin ve yoğunluklarının belirlenmesi üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. T. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Tekirdağ. 30s.
- Bejerman N, Giolitti F, de Breuil S, Lenardon S (2013). Development of a full-length infectious clone of *Sunflower chlorotic mottle virus* (SuCMoV). Archives of Virology 158 (2): 485-490.

- Bhat A I, Jain R K, Kumar A, Ramaiah M, Varma A (2002). Serological and coat protein gene sequence studies suggest that necrosis disease on sunflower in India is caused by a strain of Tobacco streak ilarvirus. *Archives of Virology*, 147:651–658.
- Bora T, Karaca İ (1970). Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Ege Üniversitesi Yardımcı Ders Kitabı, Yayın No: 167, E.Ü. Mat., 8s. Bornova-İzmir.
- Brunt AA, Crabtree K, Dallwitz MJ, Gibbs A J, Watson L, Zurcher EJ (1996). *Viruses of plants. Descriptions and Lists from the VIDE Database*. Published by CAB International, Wallingford, UK.
- Chod J, Skaloud V, Jokes M (1996). Detection of Potato Y virus in the connection with sunflower mosaic symptoms. (In Czech) *Sb. UVITZ Ochrana Rostlin* 26:11-16.
- Clark MF, Adams AN (1977). Characteristics of the microplate method of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology* 34: 475-483.
- Çıtır A, İlbağı H, Köklü G (2001). Türkiye'nin Trakya Bölgesi'nde fitopatolojik araştırmalar ve bitki klinik hizmetleri. Türkiye 9. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri. 3-8 Eylül Tekirdağ. s:270-277.
- Dijkstra J (1983). Tobacco streak virus in sunflower (*Helianthus annuus*). *Neth. J. Plant Pathol.* 89:153-169.
- Dujovny G, Usugi T, Shohara K (1998). Characterization of a Potyvirus infecting sunflower in Argentina. *Plant Diseases* (82): 470-474.
- Dujovny G, Sasaya T, Koganesawa H, Usugi T, Shohara K, Lenardon SL (2000). Molecular characterization of a new potyvirus infecting sunflower. *Archives of Virology*, 145: 2249-2258.
- Esendal E (2009). Yağ bitkileri yetiştirme ve ıslahı. T.C. Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 317s.Tekirdağ.
- Giolitti FJ, Bejerman N, Lenardon S (2009a). *Dipsacus fullonum*: an Alternative host of *Sunflower chlorotic mottle virus* in Argentina. *J Phytopathol* 157:325-328.

- Giolitti FJ, Bejerman NE, Breuil de S, Lenardon S (2009b). Identification and characterization of a new strain of *Sunflower chlorotic mottle virus*, a Potyvirus infecting Asteraceae in Argentina. *Journal of Phytopathology* 158: 536-541.
- Giolitti FJ, Nome C, Visintin G, Breuil S, Bejerman N, Lenardon S (2014). A *Bromoviridae* member associated with chlorotic leaf symptoms on sunflowers. Instituto de Patología Vegetal. Argentina.
- Gulya TJ, Berger PH, Shiel PH, Freeman TP, Isakeit TS (1998). Mosaic-causing potyvirus on wild sunflower from Texas. *Phytopathology*, 88: 34.
- Gulya, TJ, Berger PH, Shiel PH, Freeman TP, Isakeit TS (2000). Characterization and host range of *Sunflower mosaic potyvirus*. In: *Actas 15th International Sunflower Conference, Toulouse, France. Vol. II, pp. 185-189.*
- Gulya TJ, Shiel PJ, Freeman T, Jordan R L, Isakeit T, Berger PH (2002). Host range and characterization of *Sunflower mosaic virus*. *Phytopathology* 92:694-702.
- Güneş E (2001). Türkiye’de bitkisel yağ sanayi ve yağ fiyatlarındaki değişimler analizi. *Türk Koop Ekin Dergisi Sayı:18, Ankara.*
- Gürbüz B, Kaya M D, Demirtola A (2003). *Ayçiçeği Tarımı. Hasad Yayınları, 99 s.*
- Hall G (1989). *Plasmophora Halstedii*. CMI Descriptions of Pathogenic fungi and Bacteria No: 979. Commonwealth Mycological Institute. Ferrylane Kew, Surrey U.K. p: 205-209.
- Hosseini S, Koochi Habibi M, Mosahebi G, Motamedi M, Winter S (2012). First report on the occurrence of *Tobacco streak virus* in sunflower in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 94 (3), 585-589.
- Jain RK, Bhat AI, Byadgi AS, Nagaraju HS, Halkeri AV, Anahosur KH, Varma A (2000). Association of a Tospovirus with Sunflower necrosis disease. *Current Science. Cilt: 79 1703-1705s.*
- Jain RK, Bhat AI, Varma A (2003). Sunflower necrosis disease - an emerging viral problem. *Tech Bulletin-1 (p.11). New Delhi, India: Indian Agricultural Research Institute.*

- İncekara F (1972). Endüstri Bitkileri ve Islahı. Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları No: 83, Cilt:2, 73-85.
- King AMR, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (2012). Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of viruses. Ninth Report of ICTV. Elsevier Academic Press. New York, USA. 1272 p.
- Kuntay S (1941). Canavar Otu (Orobanche) Ziraat Vekaleti Neşriyatı. Sayı 502, Ankara 4s.
- Krishnamoorthy S, Narayanasamy M (2011). Establishment, purification, maintenance and serological diagnosis of Sunflower necrosis virus in callus. *Phytoparasitica*, 39(5):509-515.
- Lenardon SL, Giolitti F, Leon A, Bazzalo ME, Grondona M (2001). Effect of *Sunflower chlorotic mottle virus* infection on sunflower yield parameters. *Helia*. Cilt:24,55-56s.
- McLean DM (1962). Common weed hosts of tobacco ringspot virus in the lower Rio Grande Valley of Texas. *Plant Dis. Rep.* 48:5-7.
- Nagaraju V, Muniyappa V, Singh S J and Virupahshappa K (1997). Occurrence of a mosaic virus disease on sunflower in Karnataka. *Indian Phytopathol.* 50:277-281.
- Orellana RG, Quacquarelli AA (1968). Sunflower mosaic caused by a strain of Cucumber mosaic virus. *Phytopathology* 58:1439-1440.
- Özer N, Soran H (1994). Determination of wilt diseases agents in sunflower and the reactions of sunflower varieties against them in Tekirdağ. 9th Congress of the Mediterranean Phtopathol. Union, September 18-14, Kuşadası, Aydın, s:539-543.
- Papaiah S, Sai Gopal DVR, Sastry KS, Narasimha G (2012). Symptomlogical and biochemical studies on Sunflower necrosis disease in sunflower plants in Rayalaseema region of Andhra Pradesh, India Prasada Rao R D V J, Reddy AS, Chander Rao A S, Varaprasad KS, Thirumala Devi K. *Annals of Biological Research*, 3 (1):170-178.
- Pradeep K, Satya VK, Selvapriya M, Vijayasamundeeswari A, Ladhakshmi D, Paranidharan V, Rabindran R, Samiyappan R, Balasubramanian P, Velazhahan R (2012).

- Engineering resistance against *Tobacco streak virus* (TSV) in sunflower and Tobacco using RNA interference. *Biologia Plantarum*. 56 (4): 735-741.
- Prasada Rao RDVJ, Reddy AS, Chander Rao S, Varaprasad KS, Thirumala Devi K, Nagaraju V, Muniyappa V, Reddy DVR (2000). Tobacco streak Ilarvirus as causal agent of Sunflower necrosis disease in India . *Journal of Oilseeds Research* 17:400-401.
- Rabiee S, Hosseini S, Hosseini A (2014). Occurrence and distribution of some Sunflower viruses from sunflower fields in Kerman and Isfahan provinces, Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 48(3):223-228.
- Ravi KS, Buttgereitt A, Kitkaru AS, Deshmuck S, Lesemann DV, Winter S (2001). Sunflower necrosis disease from India is caused by an Ilarvirus related to *Tobacco Streak virus*. *Plant Pathology* Vol: 50,800p.
- Richter J, Rabenstein F, Proll E, Vetten HJ (1995). Use of cross-reactive antibodies to detect members of the Potyviridae. *J. Phytopathology* 143:459-464.
- Rodriguez M, Taleisnik E, Lenardon S, Lascano R (2010). Are *Sunflower chlorotic mottle virus* infection symptoms modulated by early increases in leaf sugar concentration. *Journal of Plant Physiology*, 167(14): 1137-1144.
- Rodriguez M, Nacira M, Lenardon S, Lascano R (2012). The chlorotic symptom induced by Sunflower chlorotic mottle virus is associated with changes in redox-related gene expression and metabolites. *Plant Science* (196):107-116.
- Sandbakken J, Lilleboe D (1999). U.S. Sunflower Crop Quality Report. National Sunflower Association, Bismark, ND, USA.
- Sarovar B, Saigopal DVR (2010a). Development of a probe-based blotting technique for the detection of Tobacco streak virus. *Acta Virologica*. 54 (3): 221-224.
- Sarovar B, Prasad YS, Gopal DVRS (2010b). Detection of *Tobacco streak virus* by immunocapture-reverse transcriptase-polymerase chain reaction and molecular variability analysis of a part of RNA3 of sunflower, gherkin, and pumpkin from Andhra Pradesh, India. *Scienceasia* 36 (3): 194-198.

- Semerci A, Meral İ (2001). Türkiye' de ayçiçeği üretimi ve sorunları. Türk Koop. Ekin Dergisi, sayı:18, s: 54-61.
- Smith K M (1972) A Textbook of plant virus diseases. Academic Press New York. U.S.A. 684 s.
- Srinivasan K, Krishanraj M, Mathivanan N (2009). Plant growth promotion and the control of sunflower necrosis virus disease by the application of biocontrol agents in sunflower. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 42:160-172.
- Srinivasan K, Mathivanan N (2011). Establishment, purification, maintenance and serological diagnosis of Sunflower necrosis virus in callus. Phytoparasitica 39:509-515.
- Tan AŞ (2007). Ayçiçeği Tarımı. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü No:136.
- Uluöz M (1965). Buğday un ve ekmek analiz metotları. Ege Üni. Zir. Fak. Yayınları Yayın No: 57. İzmir.
- Yücer MM, Karaca İ (1978). Investigation on Sunflower diseases in Thrace their rate of existence, their fungal pathogens and their pathogenicities. J. Turkish Phytopathol. 7(1):39-50.

TEŞEKKÜR

“Trakya Bölgesi Ayçiçeği Üretim Alanlarındaki Virüs Hastalıklarının Saptanması Üzerine Araştırmalar” konulu yüksek lisans tez çalışmamın hazırlanması aşamalarında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tecrübeleriyle beni yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Havva İLBAĞI’na ve hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇITIR’a teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans tez çalışmamı proje olarak destekleyen Namık Kemal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (BAP) teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamın sürvey ve laboratuvar aşamalarında verdiği desteklerden dolayı Mehmet İbrahim YILMAZ, Veli PEKCAN, Dr. Göksel EVCİ ve Turhan KAHRAMAN başta olmak üzere tüm Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarına, çalışmalarındaki katkılarından dolayı değerli arkadaşım Serkan CANDAR’a, yalnızca varlıklarının bile destek için yeterli olduğu canım eşim Elişah ATAY ve canım oğlum Ali Hamza ATAY’a tüm kalbimle teşekkür ederim.

EK 1

ELISA Testlerinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

1. Fosfat tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline) (PBS) pH:7,4

Nacl.....	8,0 gr
KH ₂ PO ₄	0,2 gr
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O.....	2,9 gr
KCl.....	0,2 gr
NaN ₃	0,2 gr

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH 0.1 M NaOH veya 0.1 M HCl ile ayarlanmış ve +4 °C’de saklanmıştır.

2. Kaplama Tampon Çözeltisi (Coating Buffer) pH: 9,6

Na ₂ CO ₃	1,59 gr
NaHCO ₃	2,93 gr
NaN ₃	0,2 gr
Bromocresol purple.....	5 mg

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre suda eritilip pH ayarlanmış ve +4 °C’de saklanmıştır.

3. Yıkama Tampon Çözeltisi (Washing Buffer) (PBST) pH: 7,4

Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS).....	1 litre
Tween-20.....	0,5 ml

1 litre PBS tampon çözeltisi içerisine 0,5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanmıştır. Kullanım süresince +4 °C’de saklanmıştır.

4. Ekstraksiyon Tampon Çözeltisi (Sample Extration Buffer) pH:7,3

PVP (Mw 10-40).....	10 gr
Tween-20.....	0,5 ml

1 litre yıkama tampon çözeltisi içerisinde 10 gr Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) ve 0,5 ml Tween-20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

5. Konjugat Tampon Çözeltisi (Enzyme Conjugate Buffer) pH: 7,4

PBST.....	1 litre
BSA.....	2 gr
Congo Red.....	40 mg

1 litre PBST içerisinde 2 gr BSA ve 40 mg Congo Red ilave edilerek pH ayarlanıp +4 °C'de saklanmıştır.

6. Substrat Tampon Çözeltisi (Substrat Buffer) pH:9,8

Diethanolamine.....	97 ml
NaN ₃	0,2 gr

97 ml Diethanolamine 1 litre saf su içerisine ilave edildikten sonra 0,2 gr NaN₃ eklenmiş ve pH: 9.8'e ayarlanmıştır. Çözelti +4 °C'de saklanmış ve kullanılmadan önce pH kontrol edilmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

16.06.1983 yılında İstanbul Kadıköy’de doğdu. 1994 yılında İstanbul Üsküdar İcadiye İlköğretim Okulu’ndan mezun oldu. 1997 yılında İstanbul Üsküdar Sultantepe İlköğretim Okulu’ndan mezun oldu. 2001 yılında İstanbul Kadıköy Kenan Evren Anadolu Lisesi’nden mezun oldu. 2002 yılında Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim Programı’na kayıt oldu. 2006 yılında Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim Programı’ndan mezun oldu. 2007 yılında İstanbul Büyükşehir Belediyesi iştirak şirketi olan Sağlık A.Ş.’de çalışmaya başladı. 2008 yılında CDL Kimya Ltd. Şti.’nde çalışmaya başladı. 2011 yılında halen çalışmakta olduğu Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nda çalışmaya başladı. 2014 yılında Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü’ne kayıt yaptırarak Yüksek Lisans öğrenimine başladı.