



**TEKİRDAĞ İLİNDE BAZI KABAKGİL
VİRÜSLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE KARPUZ
MOZAİK VİRÜSÜ (*Watermelon mosaic virus*,
WMV)'NÜN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

Deniz KARABULUT

Doktora Tezi

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

2020

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

TEKİRDAĞ İLİNDE BAZI KABAKGİL VİRÜSLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE KARPUZ MOZAIK VİRÜSÜ (*Watermelon mosaic
virus, WMV*)'NÜN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Deniz KARABULUT

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

TEKİRDAĞ-2020

Her hakkı saklıdır.



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde eksiksiz biçimde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Deniz KARABULUT

İMZA

Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ danışmanlığında, Deniz KARABULUT tarafından hazırlanan “Tekirdağ ilinde bazı kabakgil virüslerinin araştırılması ve karpuz mozaik virüsü (*Watermelon mosaic virus, WMV*)'nün moleküler karakterizasyonu” başlıklı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından 27.05.2020 tarihinde Bitki KorumaAnabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

İmza:

Üye : Prof. Dr. Nuray ÖZER

İmza:

Üye : Prof. Dr. Gülşen SERTKAYA

İmza:

Üye : Doç. Dr. Muharrem Arap KAMBEROĞLU

İmza:

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Arzu COŞKUNTUNA

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç.Dr.Bahar UYMAZ
EnstitüMüdürü

ÖZET

Doktora Tezi

TEKİRDAĞ İLİNDE BAZI KABAKGİL VİRÜSLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE KARPUZ MOZAIK VİRÜSÜ (*Watermelon mosaic virus*, WMV)'NÜN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Deniz KARABULUT

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

Bu çalışmada, Tekirdağ ili genelindeki kabakgil üretim alanlarında *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Papaya ringspot virus*-Watermelon (PRSV-W) ve *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV)'nin belirlenerek, virüs izolatlarının genotipik yakınlık düzeylerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. 2017 ve 2019 yıllarında yapılan arazi survey çalışmalarında viral enfeksiyon belirtileri gözlenen kabakgil bitkilerine ait yaprak örnekleri toplanarak DAS-ELISA ile ZYMV, PRSV-W ve WMV varlığı açısından test edilmesi sonucunda 180 adet bitki örneğinin %4,44 oranında WMV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. Toplanan bitki örneklerinden ELISA testleri sonucunda pozitif çıkan veya tipik virüs belirtisi gösteren 30 adet bitki örneği seçilerek WMV *Nib-CP*, PRSV-W ve ZYMV *CP* gen bölgesine spesifik oligonükleotitler ile Real-Time PCR ve RT-PCR kullanılarak test edilmiştir. Reverse Transcriptase PCR çalışmaları sonucunda 12 adet bitki örneğinde WMV'ye ait yaklaşık 408 bp boyutundaki bant oluşumu gözlenmiş, dizileme sonucunda 12 WMV izolatının *Nib-CP* genine ait 342 ve 348 nükleotidin filogenetik analiz çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında elde edilen WMV izolatlarının Gen Bank'asına kayıtlı bazı WMV izolatları ile benzerlikleri açısından kıyaslamalar yapılmıştır. Bu çalışmada elde edilen 342 nükleotid uzunluğunda WMV *Nib-CP* geni kodlayan kısmın sekans analizleri sonucunda TR-Tn2 (MT448602), TR-Tn5 (MT448603), TR-Tn8 (MT448604), TR-Tn9 (MT448605), TR-Tn10 (MT448606), TR-Tn18 (MT448607), TR-Tu75 (MT448612) ve TR-Tu80 (MT448613) izolatları İtalya (EU660590), Fransa (NC_006262 ve JF273459), Türkiye (EU660579), Şili (EU660582), Pakistan (AB218280) izolatları ile %99.7-95 arasında benzerlik göstermiş ve Moleküler Grup 1'de yer almıştır. TR-Tf50 (MT448610), TR-Ta63 (MT448608), TR-Ta64 (MT448609) ve TR-Ts71 (MT448611) izolatlarının WMV *Nib-CP* kodlayan 348 nükleotid kısmının analizi sonucunda Güney Kore (AB369278), Çin (EF127832 ve DQ399708), Güney Kore (MN854651) ve Japonya (AB353119) izolatları ile %98,2-92.2 arasında değişen oranlarda benzerlik göstermişler ve WMV Moleküler Grup 3'te yer almışlardır.

Anahtar kelimeler: Real-Time PCR, RT-PCR, PRSV-W, WMV, ZYMV, Sekans analizi

2020, 127 sayfa

ABSTRACT

PhD Thesis

INVESTIGATION OF SOME CUCURBIT VIRUSES AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *WATERMELON MOSAIC VIRUS* (WMV) IN TEKİRDAĞ PROVINCE

Deniz KARABULUT

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ

In this study, determination of *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Papaya ringspot virus-Watermelon* (PRSV-W) and *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) were aimed in cucurbit growing areas in Tekirdağ province. Additionally, comparison of virus isolates in order to reveal genetic identities were also aimed. Leaf samples of cucurbits plants with viral infection symptoms were collected during surveys in 2017 and 2019, and tested by ELISA to determine ZYMV, WMV and PRSV-W, and of tested 180 plant samples only 4,44% were found infected by WMV 30 of collected 180 plant samples that found positive or with typical viral infection symptoms were tested using *CP* gene region for ZYMV and PRSV-W, and *Nib-CP* gene region for WMV specific primers by Real time PCR and RT PCR, respectively. 12 of 30 selected plant samples showed about 408 nucleotides bands in agarose gel of WMV using RT-PCR. Sequence analysis revealed 342 and 348 nucleotides of 12 isolates of WMV from Tekirdağ. Sequences were registered and deposited in GenBank and used for phylogenetic analysis and compared to WMV isolates available in GenBank. Sequence analysis of WMV *Nib-CP* gene coding 342 nucleotides obtained in this study, 8 of 12 isolates determined in this study namely TR-Tn2 (MT448602), TR-Tn5 (MT448603), TR-Tn8 (MT448604), TR-Tn9 (MT448605), TR-Tn10 (MT448606), TR-Tn18 (MT448607), TR-Tu75 (MT448612) and TR-Tu80 (MT448613) showed 99.7-95% identity with isolates from Italy (EU660590), France (NC_006262 and JF273459), Turkey (EU660579), Chile (EU660582) and Pakistan (AB218280) and grouped in WMV molecular Group 1. 4 of 12 isolates sequence analysis of WMV *Nib-CP* gene coding 348 nucleotides, determined in this study namely TR-Tf50 (MT448610), TR-Ta63 (MT448608), TR-Ta64 (MT448609) and TR-Ts71 (MT448611) showed 98,2-92.2% identity with isolates from South Korea (AB369278), China (EF127832 and DQ399708), South Korea (MN854651) and Japan (AB353119), and grouped in WMV Molecular Group 3.

Key words: Real-Time PCR, RT-PCR, PRSV-W, WMV, ZYMV, Sequence analysis

2020, 127 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGE DİZİNİ	v
ŞEKİL DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
2.1. Kabakgil Virüsleri ile İlgili Dünya Genelinde Yapılmış Çalışmalar.....	9
2.2. Kabakgil Virüsleri ile İlgili Türkiye'de Yapılan Çalışmalar.....	21
2.3. Kabakgil Virüslerinin Moleküler Tekniklerle Araştırılması	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1. Bitkilerin Temini	38
3.2. Survey Çalışmaları.....	40
3.3. İndikatör Bitkilerin Temini ve Yetiştirilmesi	43
3.4. Mekanik İnokulasyon Çalışmaları	43
3.5. Serolojik Çalışmalar	44
3.6. Moleküler Çalışmalar	45
3.6.1. Bitkilerden RNA İzolasyonu	45
3.6.2. RNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	47
3.6.3. RNA Örneklerinden Complementer DNA (cDNA) Sentezi	48
3.6.4. Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Primerler.....	48
3.6.5. Real Time PCR Analizleri	49
3.6.6. Reverse Transcriptase (RT) PCR Analizleri.....	50
3.6.7. Filogenetik Analizler	52
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	53
4.1. Survey Alanlarında Gözlenen Viral Enfeksiyon Belirtileri.....	53
4.2. Mekanik İnokulasyon Sonuçları	60
4.3. Serolojik Test Bulguları.....	64
4.4. Moleküler Çalışma Bulguları	64
4.4.1. Real Time PCR Sonuçları.....	64
4.4.2. Reverse Transcriptase PCR Bulguları	72

4.5. Moleküler Dizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları.....	77
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	86
KAYNAKLAR.....	92
EKLER	107



ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya genelinde en çok kabak üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020).....	2
Çizelge 1.2. Dünya genelinde en çok hıyar üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020).....	3
Çizelge 1.3. Dünya genelinde en çok karpuz üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020)	3
Çizelge 1.4. Dünya genelinde en çok kavun üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020)	3
Çizelge 3.1. Tekirdağ ilinden 2017-2019 yıllarında survey çalışmaları kapsamında toplanan kabakgil örnekleri	40
Çizelge 3.2. Moleküler çalışmalarda kullanılan oligonükleotitler	49
Çizelge 4.1. PCR çalışmalarında kullanılan kabakgil bitki örnekleri	65
Çizelge 4.2. Genomik kıyaslamada kullanılan izolatlar	80



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 3.1. Tekirdağ ilinde survey çalışması yapılan yerler (Anonim, 2020)	38
Şekil 3.2. Tekirdağ ilinde bir kabak üretim alanı	39
Şekil 3.3. Tekirdağ ilindeki serada yetiştirilen hıyar bitkilerinin görünümü	39
Şekil 3.4. İndikatör kabak (<i>Cucurbita pepo</i>) test bitkilerinin saksıda yetiştirilmesi	43
Şekil 4.1. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten toplanan balkabağı yapraklarında mozaik ve renk açılması belirtileri	53
Şekil 4.2. Süleymanpaşa ilçesi Naip'te bal kabağı meyvelerinde şekil bozukluğu ve kabarcık oluşumları	54
Şekil 4.3. Kabak bitkisi yapraklarında şiddetli mozaik ve kabarcıklaşma belirtileri	54
Şekil 4.4. Süleymanpaşa Naip'te kabak bitkilerinde mozaik ve yapraklarda kabarcıklaşma	55
Şekil 4.5. Süleymanpaşa Barbaros'ta kabak bitkilerinde sistemik mozaik belirtileri	55
Şekil 4.6. Virüs ile enfekteli kavun bitkisi yaprağında mozaik ve yaprak ayasında küçülme belirtileri	56
Şekil 4.7. Süleymanpaşa Naip'te kavun yapraklarında gözlenen mozaikleşme, yapraklarda kıvrıkcıklaşma ve yaprak şekil bozukluğu	57
Şekil 4.8. Süleymanpaşa, Ferhadanlı bölgesinde kavun ve karpuz ekim alanlarında virüs enfeksiyon belirtileri gösteren bitkilerin görünümü	57
Şekil 4.9. Süleymanpaşa ilçesine bağlı Ferhadanlı'da karpuz bitki yapraklarında mozaik ve kabarcıklaşma	58
Şekil 4.10. Süleymanpaşa Ferhadanlı'da karpuz bitkilerinde mozaik ve yapraklarda kıvrılma oluşumları.....	58
Şekil 4.11. Muratlı ilçesinde su kabağı bitkisinin meyvesinde mozaikgörünümü	59
Şekil 4.12. Mekanik yolla inokule edilmiş kabak bitkisi	60
Şekil 4.13. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten toplanan (2017/3 nolu tarla) balkabağı bitkisinden inokule edilen indikatör kabak bitkisi yapraklarında hafif mozaik belirtiler	61
Şekil 4.14. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten (2017/3 nolu tarla) balkabağı bitkisinden inokule edilen kabak bitkisinde renk açılması belirtileri	61
Şekil 4.15. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten (2017/3 nolu tarla) balkabağıbitkisinden inokule edilen indikatör kabak bitkisi yapraklarında ortaya çıkan hafif sararmalar	62
Şekil 4.16. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten (2017/3 nolu tarla) balkabağı bitkisinden inokule edilen indikatör kabak bitki yapraklarında ortaya çıkan sararma belirtileri	62
Şekil 4.17. Süleymanpaşa ilçesi Ferhadanlı'dan (2017/ 4 nolu tarla) kavun bitkilerindeki viral enfeksiyonların indikatör bitkiler üzerindeki yaprak kabarcıklaşma belirtileri	63
Şekil 4.18. Süleymanpaşa ilçesi Ferhadanlı'dan toplanan kavun bitkisinden (2017/4 nolu tarla) yapılan inokulasyon sonucu indikatör kabak bitkisinde oluşan şekil bozukluğu görünümü	63
Şekil 4.19. Kırmızı: WMV ile enfekteli 2019-2 nolu Naip balkabağı örneğine ait melting curve eğrisi, Yeşil: Negatif Kontrol	68
Şekil 4.20. Kırmızı:WMV ile enfekteli 2019-2, 5, 8, 9 ve 10 nolu Naip balkabağı örneğine ait melting curve eğrisi; Mavi: 2017 yılında toplanan 4 adet kabakgil örneğine ait melting curve eğrisi; Yeşil: Negatif Kontrol	69
Şekil 4.21. Real Time PCR Naip bal kabağı örneklerine ait amplifikasyon eğrileri; Kırmızı: 2019- 2, 5, 8, 9, 10 nolu örnekler, Yeşil: Negatif Kontrol	69
Şekil 4.22. Real Time PCR melting curve analiz eğrileri; Mavi: WMV pozitif cDNA örnekleri, Kırmızı: Negatif Kontrol	70
Şekil 4.23. Real Time PCR amplifikasyonları; Kırmızı: 30 adet kabakgil örneği, Yeşil: Negatif Kontrol	71

Şekil 4.24. ZYMV primer ile gerçekleştirilen Real Time PCR melting curve eğrileri	72
Şekil 4.25. <i>Watermelon mosaic virus</i> tespit edilen kabakgil bitki örneklerinin ilçe bazlı dağılım grafiği.....	73
Şekil 4.26. <i>Watermelon mosaic virus</i> tespit edilen kabakgil bitki örneklerinin ilçe düzeyindeki sayıları	74
Şekil 4.27. Virüs enfeksiyonlarının bitki türlerine göre dağılımı	75
Şekil 4.28. Çalışmada WMV'nin <i>Nib-CP</i> genomuna spesifik oligonükleotitler kullanılarak gerçekleştirilen RT PCR amplifikasyonlarının %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri (2, 5, 8, 9, 10, 50, 63 nolu örnekler, L: 100 bp'lık Ladder)	76
Şekil 4.29. Çalışmada WMV'nin <i>Nib-CP</i> genomuna spesifik oligonükleotitler kullanılarak gerçekleştirilen RT PCR amplifikasyonlarının %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri (64, 71, 72, 75, 80, 2017/18 nolu örnekler L: 100 bp'lık Ladder)	77
Şekil 4.30. Tekirdağ'dan alınan WMV izolatlarının Gen Bankasına kayıtlı 14 izolat ile kısmi olarak <i>Nib-CP</i> kodlayan bölgelerinin N-terminal kısımlarının 342-348 nükleotid dizilimi kıyaslanması sonucu oluşturulan Neighbour-joining ağaç (Tamura vd. 2013, Mega 6). Bootstrap değeri (1000 tekrarlı) 70 üzerinde olanlar gösterilmiştir. Koyu renkli olanlar bu çalışmada elde edilen izolatlardır	82
Şekil 4.31. Tekirdağ'dan alınan WMV izolatlarının Gen Bankasına kayıtlı 14 izolat ile kısmi olarak <i>Nib-CP</i> kodlayan bölgelerinin N-terminal kısımlarının ortaya çıkarılan 114-116 amino asit dizilimleri kıyaslanması sonucu oluşturulan Neighbour-joining ağaç (Tamura vd. 2013, Mega 6). Bootstrap değeri (1000 tekrarlı) 50 üzerinde olanlar gösterilmiştir. Koyu renkli olanlar bu çalışmada elde edilen izolatlardır	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

μM	: Mikromolar
μm	: Mikrometre
μl	: Mikrolitre
IU	: International unit
AMV	: <i>Alfalfa mosaic virus</i>
bp	: Base pair
BYMV	: <i>Bean yellow mosaic virus</i>
BPMV	: <i>Bean pod mottle virus</i>
BPYV	: <i>Beet pseudo yellows virus</i>
BtWYV	: <i>Beet western yellow virus</i>
CABYV	: <i>Cucurbit aphid borne yellows virus</i>
cDNA	: Complemeter deoksiribonükleik asit
CGMMV	: <i>Cucumber green mottle mosaic virus</i>
CI	: Silindirik inclusion protein
CLSV	: <i>Cucumber leaf spot virus</i>
CMV	: <i>Cucumber mosaic virus</i>
CP	: Coat protein
CuNV	: <i>Cucumber necrosis virus</i>
CVYV	: <i>Cucumber vein yellowing virus</i>
CYSDV	: <i>Cucurbit yellow stunting disorder virus</i>
DAS ELISA	: Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay
DIBA	: DOT-Immunobinding Assays
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoxynucleotide
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EM	: Elektron Mikroskop
IEM	: Immuno Electron Microscopy

IgG	: Immunoglobulin G
ISEM	: Immunosorbent Electron Microscopy
FAO	: Food and Agriculture Organisation of the United Nations
ha	: Hektar
HC-Pro	: Helper Component Protein
g	: Gram
kbp	: Kilo base pair
KCl	: Potasyum klorür
kDa	: Kilo Dalton
KH_2PO_4	: Monopotasyum fosfat
M	: Molar
MgCl_2	: Magnezyum klorür
MNSV	: <i>Melon necrotic spot virus</i>
MYaV	: <i>Melon yellowing-associated virus</i>
MWMV	: <i>Moroccan watermelon mosaic virus</i>
Na_2CO_3	: Sodyum karbonat
NaCl	: Sodyum klorür
NaHCO_3	: Sodyum bikarbonat
Na_2HPO_4	: Disodyum fosfat
NaN_3	: Sodyum azide
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
Nlb	: Nükleer inclusion protein b
nm	: Nanometre
OD	: Optical density
OuMV	: <i>Ourmia mosaic virus</i>
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDV	: <i>Prune dwarf virus</i>
pH	: Hidrojen İyon Konsantrasyonunun Negatif Logaritması
PNPP	: Para-nitrophenylphosphate
PRSV-W	: <i>Papaya ring spot virus-Watermelon</i>

PTA-ELISA	: Plate Trapped Antigen Enzyme Linked Immunosorbent Assay
PVY	: <i>Potatovirus Y</i>
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Revolutions per minute (Dakikadaki devir sayısı)
RT PCR	: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
SDS	: Sodium Dodesil Sulfat
SMV	: <i>Soybean mosaic virus</i>
SLCuV	: <i>Squash leaf curl virus</i>
SLCCNV	: <i>Squash leaf curl China virus</i>
ss	: Single stranded
SqMV	: <i>Squash mosaic virus</i>
SqVYV	: <i>Squashvein yellowing virus</i>
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TAS	: Triple Antibody Sandwich
TBE	: Tris borat EDTA
ToLCNDV	: <i>Tomato leaf curl New Delhi virus</i>
ToRSV	: <i>Tomato ringspot virus</i>
TRSV	: <i>Tobacco ringspot virus</i>
TSWV	: <i>Tomatospotted wilt virus</i>
TuMV	: <i>Turnip mosaic virus</i>
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
ZGMMV	: <i>Zucchini green mottle mosaic virus</i>
ZLCV	: <i>Zucchini lethal chlorosis virus</i>
ZYFV	: <i>Zucchini yellow fleck virus</i>
ZYMV	: <i>Zucchini yellow mosaic virus</i>
w/v	: Hacimde ağırlıkça yüzde
WmCSV	: <i>Watermelon chlorotic spot virus</i>
WMV-1	: <i>Watermelon mosaic virus-1</i>
WMV-2	: <i>Watermelon mosaic virus-2</i>
WSMoV	: <i>Watermelon silver mottle virus</i>

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın belirlenmesi, yürütülmesi ve yazılması aşamalarının her döneminde göstermiş olduğu destek ve yardımları içindanışman hocam Sayın Prof. Dr. Gassan KÖKLÜ'ye, özverili yardımları ile bu çalışmanın gerçekleştirilmesine büyük katkı sağlayan tez izleme komitesi üyeleri hocalarım Sayın Doç. Dr. Muharrem Arap KAMBEROĞLU (Çukurova Üniversitesi) ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Arzu ÇOŞKUNTUNA (Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi)'ya, moleküler çalışmalardaki yardım ve desteklerinden dolayı Sayın Zir. Yük. Müh. Lilifer BAYIRDAR (İstanbul Zirai Karantina Müdürlüğü), Sayın Zir.Yük.Müh. Sevcan DÖNMEZ (İstanbul Zirai Karantina Müdürlüğü) ve Sayın Zir.Yük.Müh. Arife GÜMÜŞ (İstanbul Zirai Karantina Müdürlüğü)'e survey çalışmalarındaki yardımları için Sayın Zir. Müh. Ercan YILMAZ'a (Süleymanpaşa İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü) ve Sayın Zir. Müh. Ethem ARSLAN (Şarköy İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü)'a içten ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her alanında olduğu gibi doktora çalışmalarımda da her daim yanımda olan en zor anlarımda dahi sıcak tebessümleri ile yüzümü güldüren ve maneviyatlarımı hiç eksik etmeyen sevgili aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Mayıs, 2020

Deniz KARABULUT
Ziraat Yüksek Mühendisi

1. GİRİŞ

Cucurbitales takımı, Cucurbitaceae familyası içerisinde bal kabağı (*Cucurbita moschata* L.), kestane kabağı (*Cucurbita maxima* L.), sakız kabağı (*Cucurbita pepo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.), kavun (*Cucumis melo* L.) ve karpuz (*Citrullus vulgaris* L.) insan beslenmesinde önemli kültür bitkisi türlerindedir (Günay, 1993).

Kabakgiller tropikal ve subtropikal iklim bitkilerinden olup su tutma potansiyeli yüksek, organik madde yönünden zengin içerikli, tınlı ve kumlu tınlı topraklarda yetiştirilmektedirler. Kazık kök yapısına sahip olan bitkilerin sulanabilir arazilerdeki yetiştiriciliğinde kök yapıları saçaklanma göstermektedir. Kabakgiller otsu yapıda sürünücü gövdeye sahip olup gövdeleri köşeli formda ve tüylüdür. Bu familya üyelerinin yaprakları genellikle geniş yüzey alanlı, üst yüzeyleri düz ve parlak alt yüzeyleri mat ve tüylüdür. Karpuz bitkilerinin yaprakları ise diğer türlere oranla dilimli şekildedir. Kabakgiller erkek ve dişi genotipte bitki üzerinde farklı alanlarda yer alan sarı renkli çiçeklere sahiptirler. Çiçekler yapışkan özellikte polenlere sahip olduklarından polenlerin dişi bireylere taşınmasında böcekler büyük rol oynamaktadırlar. Ancak karpuz bitkilerinde erkek genotipteki çiçeklerin oranı dişi bireylere göre daha yüksek olduğundan polenlerin dişi bireylere taşınmasında diğer faktörlerinde etkinlikleri yüksek orandadır. Meyveleri türlere göre farklı büyüklüklerde olabilmektedir ve bazı türlerde dikenli meyve yapıları mevcuttur. Meyveleri genellikle su ve besin içerikleri açısından zengindirler. 100g hıyar meyvesinde 96g su, 0,6g protein, 0,1g yağ, 2,2g karbonhidrat, A vitamini 45iu, B1 vitamini 0,03mg, B2 vitamini 0,02mg, C vitamini 12mg oranında olup niacin 0,3mg, kalsiyum 12mg, demir 0,3mg, magnezyum 15mg ve fosfor 24 mg düzeyindedir. 100g kabak meyvesinde ise protein 0,5g, karbonhidrat 3,1g, yağ 0,1g, A vitamini 390iu, B1 vitamini 0,05mg, B2 vitamini 0,08mg, fosfor 25 mg, kalsiyum 25mg, demir 0,4mg, sodyum 1mg ve potasyum ise 141mg'dır. Kavun meyveleri A ve B vitaminleri açısından zengin olup içeriklerinde brom ve iyot minarellerini barındırmaktadırlar. Karpuz meyveleri ise meyvelere karakteristik kırmızı rengini veren antioksidan nitelikteki yüksek likopen içeriğine sahiptir. Lif içeriği açısından zengin olan kabakgil bitkileri sebze olarak değerlendirilmelerinin yanı sıra kavun ve karpuz bitkilerinin meyveleri yaz aylarında yüksek su içerikleri nedeniyle büyük oranda tüketilmektedirler. Olgunlaşmamış kavun meyveleri ile hıyar meyveleri turşu sanayinde kullanılmaktadır (Anonim, 2007; Anonim,2008; Anonim, 2009; Anonim, 2011).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation of the United Nations- FAO) verilerine göre dünya genelinde 2017 yılı itibarıyla hıyar 2.271.260 ha alanda 83.753.861 ton, kabak 2.078.450 ha alanda 27.449.481 ton, kavun 1.220.996 ha alanda 31.948.349 ton, karpuz 3.477.285 ha alanda 118.413.465 ton üretilmiştir. Türkiye ise 37.695 ha alanda 1.827.782 ton'luk hıyar üretimiyle dünya'da 4. (Çizelge 1.2.), 179.051 ha alanda 580.624 ton'luk kabak üretimiyle dünyada 8. (Çizelge 1.1.), 81.720 ha alanda 1.813.422 ton'luk kavun üretimiyle dünya'da 2. (Çizelge 1.4.) ve 95.514 ha alanda 4.011.313 ton'luk karpuz üretiminde ise dünyada 3. sırada (Çizelge 1.3.) bulunmaktadır (Food and Agriculture Organisation of the United Nations [FAO], 2020). Türkiye İstatistik Kurumu - TÜİK verilerine göre ise Türkiye 2018 yılında 1.848.273 ton hıyar, 474.527 ton sakız kabağı, 87.207 ton balkabağı, 55.043 ton çerezlik kabak, 1.753.942 ton kavun ve 4.031.174 ton karpuz üretim miktarına sahiptir. Tekirdağ ili ise 2018 yılında 2.700 ton hıyar, 96 ton sakız kabağı, 881 tonbal kabağı, 10.800 ton kavun ve 46.789 ton karpuz üretim miktarına sahiptir (Türkiye İstatistik Kurumu[TÜİK], 2020).

Çizelge 1.1. Dünya genelinde ençok kabak üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020)

Ülke	Üretim Miktarı (Ton)
Çin	7.996.362
Hindistan	5.142.812
Rusya	1.165.834
Ukrayna	1.164.660
Amerika	1.091.121
Meksika	710.632
İtalya	590.541
Türkiye	580.624

Çizelge 1.2. Dünya genelinde en çok hıyar üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020)

Ülke	Üretim Miktarı (Ton)
Çin	64.824.643
İran	1.981.130
Rusya	1.940.010
Türkiye	1.827.782
Amerika	1.012.378

Çizelge 1.3. Dünya genelinde en çok karpuz üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020)

Ülke	Üretim Miktarı (Ton)
Çin	79.276.300
İran	4.059.786
Türkiye	4.011.313
Özbekistan	2.030.992
Amerika	1.842.360

Çizelge 1.4. Dünya genelinde en çok kavun üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2020)

Ülke	Üretim Miktarı (Ton)
Çin	17.082.608
Türkiye	1.813.422
İran	1.591.414
Mısır	1.102.599
Hindistan	1.033.849

Dünya'da ve Türkiye'de bu kadar yüksek üretim oranlarına sahip olan kabakgil bitki grubu üretiminde ürünlerin verim ve kalitesini sınırlayan birçok biyotik hastalık etmeni bulunmaktadır. Biyotik hastalık etmeni olan bakteriler, funguslar ve virüsler kabakgillerde önemli miktarda ürün kayıplarına neden olmaktadır.

Virüs hastalıkları, kabakgil üretiminde önemli problemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu etmenler bitkinin normal gelişme düzenini bozmakta, bitkilerde anormal meyve oluşumuna neden olup pazarlanabilir ürün miktarını düşürerek veya meyve oluşumunu tamamen engelleyerek ekonomik anlamda büyük kayıplar meydana getirmektedir (Keçe ve Kamberoğlu, 2016).

Kabakgillerin birçok virüsle enfekte olmasının yanında üretim alanlarında en yüksek verim kayıplarına 20 adet virüs etmeni sebep olmaktadır. Bunlar arasında *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Melon necrotic spot virus* (MNSV), *Papaya ring spot-W* (PRSV-W), *Squash mosaic virus* (SqMV) ve *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2) en fazla karşılaşılanlardır (Lovisol, 1980).

Potyviridae familyası bitki virüsleri içerisinde en fazla tür sayısına sahip virüs grubu olup, familya üyesi virüs türleri iplikli şekilli, monopartite yapıdaki virionları 11-15nm ile 650-900nm boyutlarındadırlar. Bipartite yapıda olanlar ise 11-15nm ile 250-300nm ve 500-600nm boyuta sahiptirler. Virionlar pozitif single stranded (ssRNA) yapısında olup monopartit yapıdakilerde genom büyüklüğü 9,3-10,8 kbp, bipartite olanlar ise 7,3-7,6 kbp ile 3,5-3,7 kbp boyutlarındadır. 680-900 nm uzunluğunda ve 11-13 nm genişliği ile helical simetri yapısında yaklaşık 3,4 nm boyutundadırlar. Virion ağırlığının yaklaşık %5'i genomik RNA'dan oluşmaktadır. Virionların içerdiği örtü proteini (Coat Protein-CP) gen bölgesi 30-47 kDa boyutlarındadır. Potyviridae familyasının birçok türüne ait virüs izolatlarının teşhisi CP gen bölgesindeki dizi benzerliğinin karşılaştırılması ile yapılmaktadır. Virionlar antijenik özelliklere sahip olduklarından familya üyelerinin birçoğunun tür teşhisinde serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Monoklonal antiserumlar afitlerle taşınan potyviruslerin çoğuna serolojik tepki göstermektedirler. Afitle taşınan virüsler arasındaki örtü proteini amino asit dizisinin tanımlanma oranı %40 ile %70 arasındadır. Bugrubun bazı üyeleri ise genotip anlamında Rymovirus ve Bymovirus ile ilişkilendirilmektedirler. Biyolojik anlamda birçok virüs dar bir konukçu yelpazesine sahipken potyvirusler yüksek oranda konukçu aralığına sahiptirler. Potyviridae familyası üyeleri afitlerle non persistent olarak taşınmaktadırlar. Bu familya üyesi virüslerin birçoğu yaprak bitleriyle taşınırken bazılarının taşınamamasının

nedeninin *CP* gen bölgelerinden kaynaklanan mutasyonlar sonucu oluştuğu düşünülmektedir. (King, Adams, Carstens, ve Lefkowitz, 2012).

Potyviriidae familyasının potyvirus cinsine dahil edilen *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) hastalık etmeni ilk kez 1973 yılında kuzey İtalya'daki kabak üretim alanlarında belirlenmiş virüs ssRNA yapısındadır. ZYMV, 750 nm uzunlukta ve 11 nm genişlikte ölçülere sahip olup iplikli şekildedir. Virüs virionu %4,5 ile %7 oranında nükleik asit ve %93 ile %95,5 oranında protein içeriğine sahiptir. Genom parçaları tek iplikli doğrusal RNA'dan oluşmuş ve toplam genom 9 kb büyüklüğünde olup tek parçalı bir yapıya sahip olduğu bildirilmiştir (Lisa, Boccardo, D'Agostino, Dellavalle ve D'Aquilio, 1981; Brunt vd., 1996).

ZYMV, dünya genelinde tropikal, subtropial ve düşük sıcaklıktaki hemen hemen tüm kabakgil üretim alanlarında görülebilmektedir. Virüs Avrupa, Asya, Afrika, Amerika ve Avustralya kıtalarındaki kabakgil tarla ve sera üretim alanlarında tespit edilmiş, modern ya da geleneksel ayırımı yapılmaksızın birçok kabakgil üretim alanında ekonomik zarar eşiğinin üzerinde zarara neden olmaktadır. Viral belirtiler konukçu bitkiye bağlı olarak değişiklik göstermekle beraber, konukçu kabakgil bitkilerinin meyvelerinde ciddi deformasyonlara ve renk değişimlerine sebebiyet vermektedir. Bu durum ürün miktarı ile ürünlerin kalite ve kantitesini yüksek oranda düşürmektedir (Desbiez ve Lecoq, 1997).

ZYMV yaprakbitlerinin enfekteli bitkiler üzerinde beslenmesi ile sağlıklı bitkilere non persistent olarak taşınmaktadır. Taşınmada en az %30 oranında *Myzus persicae* vektörünün etkili olduğu bildirilmektedir. Yapılan bir çalışmada ise ZYMV'nün enfekteli bitkilerde *Myzus persicae* ve *Aphis gossypii* yaprakbitlerinin bitki başına 3 virulent vektör olacak şekilde yapılan bulaştırma ile %70 ve %90 oranında başarı sağlandığı tespit edilmiştir (Lecoq, Pitrat ve Clement, 1981; Lisa vd., 1981).

Papaya ringspot virus (PRSV), dünya'da ilk olarak Greber tarafından 1978 yılında Avustralya'da *Watermelon mosaic virus-1* (WMV-1) adıyla rapor edilmiştir. *Papaya ringspot virus*, Potyviriidae familyasının potyvirus cinsinin bir üyesi olup virüs partikülleri iplikli formda ve 780x12 nm boyutlarındadır. Virüsün genomik materyali positive sense (ss) RNA yaklaşık olarak 40S boyutundadır (De La Rosa ve Lastra, 1983; Purcifull, Edwardson, Hiebert ve Gonsalves, 1984; Yeh ve Gonsalves, 1985; Greber, 1978).

Papaya ringspot virus dünya'da Papaya ve Watermelon ırkı olmak üzere 2 farklı formda bulunmaktadır. PRSV-Papaya, *Papaya carica*'nın doğal konukçusu olup papaya üretiminin yapıldığı alanlarda görülmektedir (Purcifull vd.,1984).

Avustralya'da izole edilen PRSV-P ve PRSV-W izolatlarındaki örtü proteini (Coat Protein - CP) kodlayan CP gen bölgelerindeki sekans benzerliğinin yüksek olması nedeniyle PRSV-P ırkının PRSV-W'nin mutasyona uğraması sonucunda evrimleştiği düşünülmektedir (Bateson, Henderson, Chaleprom, Gibbs ve Dale, 1994).

PRSV-W, *Myzus persicae* ve *Aphis* spp.'nin aralarında bulunduğu yaprak biti türleri aracılığıyla enfekteli bitkilerden sağlıklı bitkilere non persistent olarak taşınmaktadır (Bateson vd., 2002).

Potyviridae familyasından potyvirus cinsine ait bir diğer tür olan *Watermelon mosaic virus-2* (WMV-2) ipliksi yapıda virüs partiküllerine sahiptir. Virüs özellikle kabakgillerde ürün miktarı ve kalitesi üzerinde yüksek oranda kayıplara neden olmaktadır. Virus yayılımı sistemik olmayıp iklim şartlarına göre değişkenlik göstermektedir. WMV etmeni genellikle ılıman ve subtropik iklim bölgelerinde görülmektedir. *Myzus persicae* Sulzer ve *Aphis craccivora* Koch yaprak bitleri başta olmak üzere en az 29 yaprakbiti türüyle virüs non-persistent olarak taşınmaktadır (Edwardson ve Christie, 1986 aktaran Kamberoğlu, Desbiez ve Çalışkan, 2015).

Watermelon mosaic virus-2 ilk defa Webb ve Scot tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada enfekteli kabakgil bitkileri üzerinde tespit edilmiştir. WMV-2 ipliksi şeklindeki viriona sahip ve 780 nm uzunluğundadır. Hastalık etmeni virüs kabakgil bitki yapraklarında beneklenme ve mozaik belirtilerine neden olmaktadır. Ayrıca *Nicotiana benthamiana* bitkilerinin yapraklarında deformasyonlar ve yaprak damarlarında koyu yeşilimsi renklenmeler, bezelye bitkilerinde erken dönemli enfeksiyonlarda bitkilerde solgunluk ve bitki ölümleri ile *Chenopodium amaranticolor*'un yapraklarında sayısız klorotik lekelenmeler gibi belirtiler göstermektedir (Purcifull ve Hiebert, 1979).

Tarımsal üretimde viral hastalık etmenleri ile mücadelede virüslerle enfekteli hastalıklı bitkilerin tedavisinde hemen hemen ilaç bulunmamaktadır. Bu durum virüs hastalıkları ile mücadelede doğrudan bir yöntemin yanısıra dolaylı mücadele yöntemlerini ön plana çıkarmaktadır. Uygulanacak kültürel yöntemler ile bitkilerde görülen viral hastalık oranının düşük düzeylerde seyretmesi sağlanabilmektedir. Bu bağlamda özellikle sertifikalı virüsten ari

fide, tohum, fidan, yumru, soğan gibi bitkisel üretim materyalinin kullanılmasının yaygınlaştırılması gerekmektedir. Viral hastalık etmenlerinin kimi durumlarda enfekteli bitkiler üzerinde herhangi bir viral belirti gözlenmeksizin enfeksiyon oluşturma durumları nedeni ile viral patojenin inkübasyon süresi ve bitkisel üretim materyalleri üzerindeki belirtisiz enfeksiyonları karantina uygulamalarını zorlaştırmakta kimi durumlarda ise tamamen etkisizleştirmektedir. Bitki virüsleri ile mücadelede en önemli adımlardan biride viral patojenin teşhis ve tanınmasının yapılmasıdır. Viral patojenin tanınması ile patojenin hangi yollarla bitkilere bulaştığı, konukçuları, bitkiler arasındaki taşınma yolları, bitkisel ürünün hasat süreci sonunda viral etmenin arazide bulunma durumu gibi bilgilere sahip olunması mücadele stratejisi açısından önem arz etmektedir. Virüsler pasif canlılar olduklarından bitkiler arasında taşınabilmek için vektörlere ihtiyaç duymaktadırlar. Virüs hastalıklarında bitki zararlısı böcekler önemli bir vektör kaynağı oluşturmaktadırlar. Bu nedenle viral patojenin vektörü olan canlıların biyolojileri, beslendiği bitki profili, viral patojeni ne sürede ve ne düzeyde bulaştırma yeteneklerinde olduklarının araştırılması virüslerin tarım alanlarında yaygınlıklarının azaltılmasında son derece önemlidir. Viral hastalık mücadelesinde vektörlerle mücadele virüs yaygınlığını baskılayacağından dolayı feramon tuzakların, biyolojik mücadele ajanlarının yada pestisitlerin kullanımı ve vektör böceklerin üretim alanlarından elemine edilmesi ile bitki patojeni virüslerle mücadele yapılmaktadır. Ayrıca enfekteli bitkilerin üretim alanlarından toplanması ve hasat sonrası bitki artıklarının yakılarak imha edilmesi ile viral hastalıklarının yayılımları önlenebilmektedir. Tarımsal üretim alanlarında virüslerin konukçusunun olmadığı bitkilerle ekim nöbeti uygulamaları yapılarak olası viral epidemilerin önlenmesi sağlanabilmektedir. Yabancı otlar birçok virüs tarafından enfektelenmeleri nedeni ile üretim alanlarında ve yakınındaki alanlarda yabancı ot mücadelesi ile viral patojenlerin yayılmaları ve konukçularının sınırlandırılması sağlanarak mücadele yapılabilmektedir. Bazı konukçu-virüs kombinasyonlarında bitkiler virüsün zayıf veya orta derecede virulent bir ırkı ile inokule edildiklerinde aynı virüsün daha virulent ırkından çapraz koruma tekniği kullanılarak viral enfeksiyonlar engellenebilmektedir. Ayrıca virüs hastalıklarına karşı dayanıklı bitki geliştirme çalışmaları kullanılarak da virüs enfeksiyonunun bazı bitkilerde önlenmesi sağlanmaktadır (Yardımcı, 2013).

Türkiye'de Tekirdağ ili kabakgil bitki grubu içerisinde önemli bir üretim değerine sahiptir. Bu çalışma ile Tekirdağ ilindeki kabakgil üretim alanlarında verim ve kalite kaybı açısından önem arz eden viral hastalık etmeni virüsler spesifik primerler kullanılarak gerçek

zamanlı (Real Time)-Polymerase Chain Reaction (PCR) ve Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) ile tespit edilmek amacıyla çalışılmıştır.

Çalışma kapsamında tespit edilen *Watermelon mosaic virus* (WMV) izolatlarının *Nib-CP* genini oluşturan nükleotit dizilerinin belirlenmesiyle hem izolatlar arasındaki genotipik yakınlık değerleri hem de Gen Bankasına kayıtlı bazı WMV izolatlarıyla genetik analizler ve kıyaslamalar yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Kabakgil Virüsleri ile İlgili Dünya Genelinde Yapılmış Çalışmalar

Amerika Birleşik Devletleri'nin Massachusetts eyaletindeki kabakgil üretim alanlarında 1973 yılında yapılan çalışma ile *Watermelon mosaic virus-2*'nin varlığı ortaya çıkarılmıştır. Viral hastalık belirtileri gösteren bitki örneklerinin %53'ünde WMV-2 bulunan tek virüs olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda enfekteli olduğu düşünülen örneklerin %14'ünde *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), %17'sinde ise *Cucumber mosaic virus* (CMV) tespit edilmiştir. CMV ve WMV-2 ikili enfeksiyon olarak örneklerin %9'unda bulunurken *Squash mosaic virus* (SqMV) %6'sında ve *Watermelon mosaic virus-1* (WMV-1) örneklerin %1'inde bulunmuştur (Komm ve Agrios, 1978)

Lübnan ve Suriye'de kabakgil üretim alanlarından toplanan yaprak örnekleri *Zucchini yellow fleck virus* (ZYFV), ZYMV, PRSV-W, WMV-2 ve CMV'lerine karşı Double Antibody Sandwich - Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) ile test edilmiş ve enfekteli bitkilerin %66,4'ünün bir yada daha fazla virüs etmeniyle bulaşık olduğu belirlenmiştir (Katul ve Makkouk, 1987).

Tayvan'ın Taichung bölgesinden 1985 yılında balkabağı, hıyar, *Benincasa hispida*, *Lagenaria leucantha*, *Luffa spp.* ve *Momordia charantia* bitkilerinden 583 yaprak örneği, 1986 yılında ise 908 yaprak örneği toplanarak DAS-ELISA testleri yapılmıştır. ZYMV en yaygın virüs olarak belirlenmiş olup bunu sırasıyla WMV-1 ve CMV izlemiştir (Hsue vd., 1987).

Davis ve Muziki (1987) yaptıkları çalışmada 3 yıl boyunca gözledikleri üretim alanlarındaki hastalık şiddetinin yıllara göre değişiklik gösterdiğini saptamışlardır. 1983 yılındaki gözlemlerde CMV hastalık etmeninin kabak üretim alanlarında yüksek oranda bulunduğunu, ancak WMV-2'nin en yaygın virüs olarak bulunduğunu değerlendirmişlerdir. 1984 yılında ise PRSV-W'nin üretim alanlarında en yoğun hastalık etmeni olduğunu bildirmişlerdir. 1985 yılında ise New Jersey'de kabakgil alanlarında yapılan çalışmalarda ZYMV etmeni ilk kez tespit edilmiş ve üretim alanlarında yüksek ürün kayıpları meydana getirmiştir. Yapılan çalışmalar ile ZYMV'nin WMV-2 ve PRSV-W ile oluşturduğu karışık enfeksiyonlarda üstün bir rekabete sahip olduğunu belirtmişlerdir.

1986 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nin Florida eyaletinde kabakgil üretim alanlarında yapılan survey çalışmasında 549 bitki örneği toplanmış, Sodyum Dodesil Sulfat (SDS) immunodifüzyon testine tabi tutulan örneklerden 245'i PRSV-W, 204'ü WMV-2, 51'i ZYMV, 13'ü CMV antiserumları ile reaksiyona girmiştir. Ayrıca survey çalışmaları esnasında klorotik beneklenme gösteren *Trichosanthes dioica* bitkisi toplanmış ve *Cucurbita pepo* bitkilerine yapılan mekanik inokulasyon çalışmaları ile bu bitkilerde sistemik olarak yaprak damarlarında bantlaşma belirtisi ve hafif mozaik belirtileri tespit edilmiş ancak yapılan testlemeler sonucu viral anti serumlar ile reaksiyon gözlenmemiştir (Purcifull, Simone, Baker ve Hiebert, 1988).

İsrail'de yapılan bir çalışmada kabakgil üretim bölgelerindeki tarla ve sera alanlarından toplanan kabakgil, bezelye ve *Chenopodium* spp. bitki örnekleri Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ve Elektron Mikroskop (EM) kullanılarak belirlenmiştir. Viral etmenle bulaşık olduğu saptanan 4 örnekten 3'ü ZYMV ve 1'i WMV-2 olarak tanımlanmıştır (Antignus, Raccah, Gal-On ve Cohen, 1989).

Amerika Birleşik Devletleri'nin South Carolina eyaletinde 1981 ve 1982 yıllarında yazlık kabak (*Cucurbita pepo*) bitkilerinde yapılan ELISA testleri sonucunda CMV, PRSV-W, WMV-2, SqMV ve *Tobacco ringspot virus* (TRSV)'nin yaygınlıklarını belirlemişlerdir. Testlemeler sonucunda en yaygın virüsler sırasıyla WMV-2, CMV, PRSV-W ve TRSV olarak belirlenmiş SqMV ise üretim alanlarında tespit edilmemiştir (Sammons, Barnett, Davis ve Mizuki, 1989).

Meksika'da 1985 yılında toplanan kabakgil bitki örneklerinin ELISA yöntemi kullanılarak test edilmesi ile CMV, WMV, TRSV hastalık etmenleri, 1986 yılındaki çalışmalarda SqMV ve 1987'deki çalışmalarda ise PRSV-W ve ZYMV tespit edilmiştir. Bu çalışma ile CMV, WMV, PRSV-W ve ZYMV üretim alanlarında tekli ve çoklu enfeksiyonlarla en sık görülen viral patojenler olarak belirlenmiştir (Delgadillo, Garzon ve Pina, 1989).

Yunanistan'da 8 şehirde yapılan survey çalışmaları sonucunda kabakgil üretim alanlarında ZYMV'nin %83 oranında yaygın olduğu tespit edilmiş, testlenen örneklerin bir çoğunda CMV ve WMV-2 enfeksiyonları belirlenmiştir. Bu çalışma ile Yunanistan'da ilk kez ZYMV patojeni rapor edilmiştir (Kyriakopoulou ve Varveri, 1991).

Brezilya'nın Ceara eyaletindeki 25 bölgeden virüs belirtileri gösteren kabakgil yaprak örnekleri toplanmış CMV, PRSV-W, SqMV ve WMV-2 spesifik antiserumlarına karşı test edilmesi ile PRSV-W en yaygın virüs, SqMV ise en az oranda tespit edilen virüs olarak belirlenmiştir (Lima ve Vieira, 1992).

Kostarika'nın en büyük kavun yetiştirme bölgelerinden olan Guanacaste ve Puntarenas'ta viral belirti gözlenen kavun bitkilerinden ELISA testleri kullanılarak PRSV-W, WMV-2, CMV ve ZYMV'nin tekli veya çoklu virüs enfeksiyonları belirlenmiştir. 3 yetiştirme sezonunda gerçekleştirilen surveyler ile PRSV-W ve CMV'nin en yaygın virüsler oldukları, *Aphis gossypii*'nin ise yetiştirme alanlarında en yaygın vektör olduğu ortaya konulmuştur (Rivera, Villalobos, Sanchez, Zumbado ve Rodriguez, 1993).

Endonezya'nın Yogyakarta bölgesinde 1991 ve 1992 yıllarındaki kabakgil tarlalarından yapraklarında mozaik belirtileri gösteren kabakgil bitkilerinden 83 örnek toplanmış ve poliklonal antiserumlar kullanılarak Indirect Dot Immunobinding Assays yöntemi ile CMV, WMV-2, PRSV-W ve ZYMV enfeksiyonu açısından analiz edilmiştir. Hıyar, kabak, karpuz, lif kabağı ve *Momordica charantia* bitkilerine ait 31 örnekte CMV tespit edilmiştir. Ayrıca 29 adet kabak ve karpuz örneğinde WMV-2, 3 örnekte ise PRSV-W belirlenmiştir. Kabak ve lif kabağından alınan 10 örnek ise sadece ZYMV ile enfekteli bulunmuştur (Somowiyarjo, 1993).

Fletcher (1996)'in Yeni Zelanda'da yaptığı çalışmada ELISA, EM ve mekanik inokulasyon ile ZYMV ve WMV-2'nin birbirine yakın 3 kabak yetiştirme alanından 2'sinde yaklaşık %50 oranında enfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır.

Orta ve Kuzey İtalya'da 1993 ve 1994 yıllarında kavunda yetiştirme alanlarında yapılan surveylerde ELISA ve Altın İşaretli Antibody tespiti ile Immuno Electron Microscopy (IEM) kullanılarak toplam 111 bitki örneği analiz edilmiştir. 1993 yılında toplanan bitki örneklerinde CMV ve WMV-2'nin tekli veya çoklu enfeksiyonları %61 oranında, ZYMV ise %16 oranında belirlenmiştir. 1994 yılında toplanan bitki örneklerinde ise CMV %59, WMV-2 %51 ve ZYMV %29 oranında enfekteli bulunmuştur (Rubies-Autonell, Ballante ve Turina, 1996).

Kabak üretim alanlarındaki virüslerin varlığının ve yaygınlığının araştırılması amacı ile Çek Cumhuriyeti'nde 1991-1992 yıllarında 11 bölgeden *Cucurbita pepo* ve *Cucurbita maxima* türlerine ait 127 örnek toplanmıştır. Bitki örneklerinin Immunosorbent Electron Microscopy (ISEM) tekniği kullanılarak analiz edilmesi ile test edilen örneklerin %70'ten

fazlasında WMV-2, %15'inde CMV saptanmıştır. Ayrıca örneklerin %15 oranında CMV ve WMV-2 ile karışık enfeksiyonları tespit edilmiştir. Çalışmada ZYMV etmeni hiç bir örnekte bulunmamış olup 6 alandan toplanan örneklerde ise herhangi bir viral hastalık etmeni bulunamamıştır (Lebeda, Kozelska, Kristkova ve Novotny, 1996).

Nepal'de 68 bölgeden virüs ve virüs benzeri belirtiler gösteren hıyar, kabak, karpuz, *Benincasa hispida*, *Lagenaria siceraria*, *Trichosanthes cucumerina*, *Luffa acutangula*, *Momordica charantia*, *Sechium edule* ve papaya bitkileri toplanmıştır. Bitkisel materyal üzerinde hastalık belirtileri olarak papaya yapraklarında şiddetli mozaik, beneklenme, şekil bozuklukları, kabakgil bitkilerinde ise mozaik, kabarcıklar ve yaprakta şekil bozuklukları olarak belirlenmiştir. Papaya ve kabak bitkilerinden PRSV-W hastalık etmeni izole edilmiş olup survey alanlarındaki papaya, hıyar, kabak, su kabağı ve balkabağından toplanan yaprak ekstraktları CMV ve ZYMV antiserumları ile su kabağı, hıyar ve kabak yaprak ekstraktları *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV) ile reakte olmuştur. Yürütülen çalışmada WMV-2 veya SqMV herhangi bir bitkide tespit edilmemiştir (Dahal, Lecoq ve Albrechtsen, 1997).

Suudi Arabistan'ın Riyad, Gassim ve Hail bölgelerinde kabakgilleri enfekte eden virüsleri belirlemek amacıyla yapılan çalışmada 385 kabakgil bitki örneği toplanmış ve DAS ELISA, INDIRECT ELISA ve Double Diffusion yöntemleri kullanılarak ZYMV, SqMV, PRSV-W, WMV-2, *Prune dwarf virus* (PDV), *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Cucumber leaf spot virus* (CLSV) ve *Beet western yellow virus* (BtWYV)'nin varlığı araştırılmıştır. Hıyar, kavun, su kabağı, karpuz, balkabağı, kabak, *Cucumis melo* var. *flexuoses* ve *Lagenaria siceraria* bitki türlerinin tamamında ZYMV patojeni, BtWYV hastalık etmeni ise sadece su kabağında bulunmuştur. Üretim alanlarında ZYMV %60,5 enfeksiyon oranı ile en yaygın virüs olarak belirlenirken 385 bitki örneğinin %27,5'i teste tabi tutulan viral patojenlere karşı negatif sonuç oluşturmuştur (Al-Saleh ve Al-Shahwan, 1997).

Umman Sultanlığı'nda Batinah bölgesinde 1994 ile 1996 yıllarında kabakgil üretimi yapılan 320 tarladan virüs hastalık belirtileri gösteren toplam 716 kabak, karpuz, misk kavunu, hıyar, balkabağı ve sukabağı bitkilerinden yaprak örnekleri alınmıştır. Yapılan ELISA testleri ile bölgedeki tüm kabakgil türlerinde WMV-2, ZYMV, PRSV-W, CMV, SqMV, *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Tobacco ringspot virus* (TRSV) ve *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) belirlenmiştir. Hastalık görülme sıklığı balkabağı, kabak ve sukabağı

bitkilerinde diğ er türlere oranla daha yüksek bulunmuştur (Zouba, Khan, Lopez ve Al-Maqbaly, 1997).

Ürdün'de Mansour (1997) tarafından yapılan çalışmada ZYMV'nin kabaklarda büyük ürün kayıplarına neden olduğu belirtilmiştir. 910 bitki örneğinin %82,6'sında tekli veya karışık enfeksiyonlar şeklinde ZYMV tespit edilmiş, WMV-2 ise testlenen örneklerde %13,5 oranında bulunmuştur. CMV ve SqMV ise kabak üretim alanlarında belirlenememiştir.

Kuzey İtalya'da 1991 ile 1996 yılları arasında açık ve kapalı üretim alanlarında kabaklarda enfeksiyon oluşturan virüslerin tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda 215 bitki örneği toplanarak ELISA yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Toplanan örneklerin WMV-2 ile %56 oranında, PRSV-W ile %34 oranında, ZYMV ile %32 oranında ve CMV ile %48 oranında enfekteli olduğu belirlenmiştir. Enfeksiyonların görülme oranları ise yaz mevsiminde açık alanda bulunan üretim alanlarında daha fazla olurken baharda sera üretim alanlarında daha düşük düzeylerde olduğu rapor edilmiştir (Lisa vd., 1997).

Lübnan'da ticari anlamda yoğun kabakgil üretimi yapılan alanlardaki survey çalışmalarında üretim bölgelerinde ZYMV ve CABYV'nin en yüksek oranlarda görülen virüsler oldukları ve bunları WMV ve PRSV-W'nin izlediği CMV'nin ise çok daha düşük düzeyde görüldüğü bildirilmiştir (Abou-Jawdah, Sobh, El-Zammar, Fayyad ve Lecoq, 2000).

Brezilya'nın Sao Paolo eyaletinde 1997 ve 1999 yılları arasında 40 üretim bölgesinin kabakgil çeşitleri yetiştirilen 38 bölgesinden 621 bitki örneği CMV, PRSV-W, WMV-2, *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) ve ZYMV'lerini tespit etmek amacıyla Plate Trapped Antigen-Enzyme Linked Immunosorbent Assay (PTA-ELISA) yöntemiyle test edilmiştir. 605 örnekte PRSV-W %49,1 ve ZYMV %24,8 oranında bulunurken, test edilen örneklerde ZLCV %7,8, CMV %6 ve WMV-2 %4,5 oranlarında tespit edilmiştir (Yuki vd.,2000).

Macaristan'ın Budapeşte şehrinde zucchini kabak çeşidinin yetiştirildiği bir tarlada ZYMV'nin üretim alanındaki dağılım sıklığı ve yayılma hızının araştırılması amacıyla hastalık etmeni virüs tarlada yer alan kabakgil bitkilerine inokule edilmiştir. Arazide enfeksiyon ilk bulaştırmadan yaklaşık 4 hafta sonra belirlenmiş ve çalışma sonucunda kabak tarlasındaki enfeksiyon oranı %74'e ulaşmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda deneme alanında sarı yapışkan tuzakların kullanımı ile 43 yaprak biti türü yakalanmış, *Acyrtosiphon pisum* ve *Myzus persicae* türlerinin sayıları 4. haftada en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

Gözlemler sonucunda yaprak biti sayısı ile enfekteli bitki sayısı arasında belirgin bir korelasyonun varlığı tespit edilmiştir (Basky, Perring ve Tobias, 2001).

Brezilya'nın Maranhao bölgesinde 46 balkabağı, 13 hıyar, 30 karpuz, 6 kavun ve 23 *Cucumis anguira*'dan yaprak örnekleri toplanarak Double Immunodiffüzyon tekniği ile PRSV, WMV-2, CMV, SqMV ve ZYMV'nin varlığı araştırılmıştır. Analiz edilen bitkilerin %64,4'ünde PRSV, %15,2'sinde WMV-2, %6,8'inde CMV, %3,4'ünde SqMV ve %3,4'ünde ZYMV belirlenmiştir (Moura, Lima, Oliveira ve Gonçaves, 2001).

Gungoosingh-Bunwaree (2001) tarafından Mauritius'ta kabakgil üretilen alanlarda viral hastalıkları belirlemek amacıyla 1999 ve 2000 yılları arasındaki dönemde yapılan survey çalışmasında hıyar, kavun, karpuz, kabak, balkabağı, su kabağı, acı kabak, *Momordica charantia*, *Sechium edule*, *Luffa acutangula*, *Trichosanthes anguina*, *Trichosanthes cucumerina* bitkilerinden toplamda 160 yaprak örneği ELISA ile test edilmiştir. Test edilen örneklerde %58,8 ZYMV ve %41,9 WMV-2 oranlarıyla en sık görülen virüsler olarak belirlenmiş, bunları %30,6 oranıyla CMV, %26,3'le PRSV ve %8,8'le CABYV izlemiştir. SqMV ise toplanan örneklerde tespit edilememiştir. Test edilen örneklerin %40,7'sinde çoklu enfeksiyonlar tespit edilmiştir. Enfekteli bitkilerde genellikle yaprak ve meyvelerde şekil bozukluğu, meyvelerde renk kırılması, sararma ve bitkilerde bodurlaşma belirtileri görülmüştür.

Güney Afrika Cumhuriyeti'nde KwaZulu Natal bölgesinde ELISA kullanılarak 1997 ve 1998 yıllarında ZYMV, WMV-2, *Moroccan watermelon mosaic virus* (MWMV) ve CMV hastalık etmenlerinin varlığı araştırılmıştır. Testlenen örneklerde ZYMV %50,67'lik oranla en yaygın virüs olarak belirlenmiş olup MWMV %24, WMV-2 %22,67 ve CMV %6,67 oranındadır. Birden fazla viral patojenin neden olduğu enfeksiyon düzeyi %32 oranında bulunmuştur (Cradock, Graça ve Laing, 2001).

Tobias ve Tulipan (2002) tarafından Macaristan'ın Szarvas, Kecskemet ve Tordas şehirlerinde yürüttükleri survey çalışmasında karpuz, kavun, hıyar, zucchini kabağı, yazlık kabak ve çekirdeklik kabak yetiştirilen alanlarda gözledikleri viral hastalıkların üretim yerlerine göre %10 ile %100 arasında değişen sıklıkta belirlemişlerdir. Survey alanlarında klorotik beneklenme, mozaik, yapraklarda damar bantlaşması ve deformasyon belirtileri gösteren bitkilerden topladıkları 50 adet örneği ZYMV, WMV-2, CMV antiserumları

kullanarak DOT BLOT serolojik metodu ile teste tabi tutmuşlardır. Araştırmacılar 50 örnekten 32'sini CMV, 31'ini ZYMV ve 24'ünü WMV-2 ile enfekteli bulmuşlardır.

Kiss vd. (2002) 1998 ve 1999 yıllarında Macaristan'ın Gyodouble, Acute'r-Moson-Sopron bölgelerindeki hıyar yetiştiriciliği yapılan tarlalarda virüs enfeksiyonlarını değerlendirmek amacıyla survey çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Virüs enfeksiyonları DAS ELISA kullanılarak tespit edilmiştir. 1998 yılında ZYMV araştırma alanlarında dominant olarak bulunurken 1999 yılında ise CMV dominant olarak bulunmuştur. Araştırılan 15 virüsten hıyar bitkilerinde sadece ZYMV, CMV ve WMV-2 tespit edilmiş olup örneklerde çoklu viral enfeksiyonların oldukça yüksek oranda olduğu tespit edilmiştir.

Çin'in kuzeyindeki kabakgil üretim alanlarında yapılan çalışmalarda 1998 yılında 84 ve 1999 yılında 186 olmak üzere toplamda 270 kabakgil örneği toplanarak DAS ELISA ile ZYMV hastalık etmeninin varlığının belirlenmesi amacıyla test edilmiştir. Yapılan testler sonucunda 1998 yılında toplanan yaprak örneklerinin %79,8'i 1999 yılında toplanan örneklerin ise %57,5'i ZYMV patojeni ile pozitif bulunmuştur (Gu vd., 2002).

Amerika Birleşik Devletleri'nin Southern Illinois eyaletinde 1998,1999 ve 2000 yıllarında misk kavunu, hıyar, balkabağı, sakız kabağı, kabak ve karpuzda kabakgil virüslerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada; WMV'nin 3 yıl boyunca toplanan örneklerde yaklaşık %84 oranında en yaygın virüs olduğu, ayrıca CMV'nin %8, PRSV'nin %6, SqMV'nin %9 ve ZYMV'nin %1 oranlarında yaygın oldukları bildirilmiştir (Walters, Kindhart, Hobbs ve Eastburn, 2003).

İspanya'da açık alanda yetiştirilen kavun tarlalarında mozaik belirtileri gözlenen bitkilerde CMV, WMV-2, PRSV-W ve ZYMV virüslerinin bulunma sıklıklarının belirlenmesi amacıyla yapılan survey çalışmalarında 3 yıllık çalışma süresince çalışmanın yürütüldüğü 3 bölgede de bulunan virüslerin CMV ve WMV-2 olduğu ifade edilmiştir. Virüslerin enfekteli alanlarda bulunma sıklıkları ise yıldan yıla ve bölgeden bölgeye göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir (Alonso-Prados vd., 2003).

Bangladeş'in Khulna, Gopalganj, Faridpur ve Magura bölgelerinde 458 balkabağı (*Cucurbita moschata*) bitkisinde virüslerin bulunma sıklıklarını indirekt ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. Test edilen bitkilerin 293'ünde %64 oranında virüs belirtileri gözlenmiş, 51 örneğin 12'sinde CMV(yellow strain)-Y, 12'sinde PRSV-W, WMV-2 ve kalan 27 örnek ise hiç bir antiserum ile reakte olmamıştır. Bu sonuçlar Bangladeş'in güney bölgelerinde CMV-Y

ve PRSV-W'nin yüksek oranda bulunduğunu ortaya çıkarmıştır (Shaifullah, Kundu, Akanda ve Mian, 2003).

Hindistan'ın Maharashtra eyaletindeki Pune şehrinde ticari amaçla hıyar yetiştiriciliği yapılan tarlalarda bitkilerin yapraklarında klorotik benekler, yaprak damarlarında renk açılmaları, mozaik, kabarcık oluşum belirtileri ile meyvelerde bodurlaşma ve şekil bozukluklarına neden olan ZYMV enfeksiyonları belirlenmiştir. Virüs enfeksiyonlarının tarlalardaki bulunma sıklığı %25 ile %38 arasında değişiklik göstermiştir (Verma, Prakash ve Tomer, 2004).

İran'da başkent Tahran ve çevresindeki alanlardan CMV, ZYMV ve WMV'nin yaygınlıklarının belirlenmesi amacıyla 466 kabak bitki örneği toplanmıştır. Enfekteli bitkilerde mozaik, sararma, deformasyon, meyve deformasyonu ve verimde azalma belirlenmiştir. Yapılan DAS ELISA testleri sonucunda ZYMV %35,6, WMV %26,1 ve CMV %25,1 oranında enfeksiyon yaygınlığı bulunmuştur. Örneklerin %6,4'ünde ise CMV, ZYMV ve WMV'nin üçlü enfeksiyonları tespit edilmiştir. ZYMV test edilen virüsler içerisinde en sık görülen virüs olarak bulunmuş olup bu çalışma ile kabakta WMV İran'da ilk kez rapor edilmiştir (Farhangi, Mosahebi, Habibi ve Okhovvat, 2004).

Brezilya'nın Roraima eyaletinde 2003 ve 2004 yıllarında yapılan çalışmalarda 21 farklı tarladaki karpuz bitkilerinden yaprak örnekleri toplanmış ve CMV, PRSV-W, WMV ile ZYMV antiserumları kullanılarak indirekt ELISA ile test edilmiştir. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışmalarda PRSV-W'yi 2003 yılı Mayıs ayında topladıkları örneklerde %84,2, 2003 Aralık ayında topladıkları örneklerde %7,1 ve 2004 Mart ayında topladıkları örneklerde ise %55,6 oranlarında; ZYMV'yi ise 2003 Mayıs ayında topladıkları örneklerde %10,5, 2003 Aralık ayında %21,4 ve 2004 Mart ayında topladıkları örneklerde %29,6 oranlarında belirlemişlerdir (Halfeld-Vieira vd., 2004).

Kıbrıs'da kabakgil üretimi yapılan 5 büyük üretim alanından kabakgilleri etkileyen virüslerin varlığını ve yaygınlığını belirlemek amacıyla 2309 hıyar, zucchini kabağı, kavun ve karpuz örneği toplanmıştır. ZYMV, PRSV-W, WMV, CABYV, CMV ve SqMV'ün belirlenmesi amacıyla ELISA testleri yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda Kıbrıs'ta en fazla görülen virüs %45 enfeksiyon oranıyla ZYMV olmuştur. PRSV-W örneklerin %20,8, CABYV %20,8 ve WMV %7,8'inde bulunmuştur. RT PCR çalışmalarında ise CYSDV seralarda sararma belirtilere sahip hıyar bitkilerinin çoğunda %88,1 oranında tespit edilmiş

olup BPYV %2,4 ve CVYV %9,5 oranlarında belirlenmiştir. CMV ve SqMV ise test edilen örneklerde saptanmamıştır (Papayiannis vd., 2005).

Suriye'de Halep, İdlib, Hama, Humus, Lazkiye ve Tartus'ta 162 tarladan 1689 kabakgil bitki örneği toplanmış ve kabakgillerde görülen önemli bazı virüslerin enfeksiyonları açısından test edilmiştir. Serolojik testlerde 8 virüsün varlığı ortaya konulmuş olup ZYMV en yaygın virüs olarak saptanmış, bunu sırasıyla CMV, WMV-2, ZYFV, SqMV, CGMMV, MNSV takip etmiştir. Üretim alanlarında tek virüsün neden olduğu enfeksiyon oranı %16,8 olurken, iki virüsün neden olduğu karışık enfeksiyon oranı %30,8 ve üç viral etmenin sebep olduğu enfeksiyon oranı ise %34,5 olarak belirlenmiştir (Kassem, Halim, Rifai ve Warrak, 2005).

Suriye'de Dara, Humus, Hama ve İdlib'te 38 tarlada yapılan surveylerde 303 karpuz ve 68 kavun örneği toplanmıştır. ZYMV ve WMV'nin varlığını tespit etmek amacıyla yapılan DAS ELISA sonucunda ZYMV %18,33 ve WMV %15,1 oranında belirlenmiştir. ZYMV ve WMV'nin neden olduğu en yüksek enfeksiyon oranı İdlib'te %53,01 en düşük enfeksiyon oranı ise Dara'da %16,81 oranında belirlenmiştir (Al-Chaabi, Mando, Ismaeil ve Ghazaleh, 2006).

Amerika Birleşik Devletleri, New Jersey'de 2005 yılında kabakgil üretim alanlarında yapılan bir surveyde 22 kabak çeşidinde virüs enfeksiyonlarını belirlemek amacıyla toplamda 8 bölgedeki kabakgil ekim alanlarından 37 adet virüsle enfekteli olduğu düşünülen kabakgil bitki örneği CMV, WMV-2, PRSV-W ve ZYMV enfeksiyonların belirlenmesi için test edilmiştir. Analiz edilen bitki örneklerinin %85'i WMV-2, %33'ü ZYMV, %12'si CMV ve %5'i PRSV-W ile enfekteli bulunmuştur (Wyenandt vd., 2006).

İran'ın Horasan eyaletinde 2001 yılının bahar ve yaz mevsimi yetiştirme dönemlerinde farklı gelişme evrelerinde yapraklarda mozaik, şekil bozukluğu ve renk açılması ile meyvelerde kabarcıklanma ve şekil bozukluğu gibi belirtiler gösteren zucchini kabaklarından toplanan 500 bitki örneğinin DAS ELISA yöntemi ile testlenmesi sonucunda örneklerin 186'sı ZYMV ile enfekteli bulunmuştur (Taheri, Jafarpour ve Rastegar, 2006).

Meksika'nın Sinaloa eyaletinde El Fuerte bölgesinde ELISA ve Polymerase Chain Reaction (PCR) kullanılarak ZYMV, WMV, PRSV-W ve CMV tespit etmek amacıyla analizler gerçekleştirilmiştir. ZYMV %54,5 ile ZYMV ve PRSV-W karışık enfeksiyonu %36,4 enfeksiyon oranları Kasım ayında daha baskın durumda bulunurken, Aralık ayında

ise ZYMV %8,3, PRSV-W %75 ile ZYMV ve PRSV-W karışık enfeksiyonu ise %16,7 olarak belirlenmiştir. Ocak ayında ZYMV, PRSV-W, CMV ve WMV enfeksiyon oranları %3,8 ile %23,1 arasında değişiklik göstermiş bu virüslerin kombinasyon şeklinde enfeksiyon oranları %3,8 ile %30,8 arasında değişmiştir. Şubat ayında toplanan örneklerde ZYMV ile WMV %28,6 ve CMV %7,6 oranında bulunurken, Nisan ayında WMV %38,9 ve ZYMV %44,4 oranında belirlenmiştir. ZYMV ve PRSV-W'nin neden olduğu karışık enfeksiyon oranı %5,5 olarak saptanırken ZYMV ve WMV'nin neden olduğu enfeksiyon oranı %11,1 olarak tespit edilmiştir (Felix-Gastelum vd., 2007).

İran'da sera alanlarında yetiştirilen kabakgillerde CMV, SqMV, PRSV-W, WMV-2, ZYMV, *Cucumber necrosis virus* (CuNV) ve TSWV'nin bulunma sıklıklarını tespit etmek amacıyla 2002-2004 yılları arasında yapılan surveylerde 1304 rastgele ve 1085 hastalık belirtisi gözlenen bitkilerden toplanan yaprak ve meyve örnekleri DAS ELISA ile test edilmiştir. Yapılan çalışmalar ile CMV %21,2, ZYMV %18, WMV-2 %4,3 oranında bulunurken TSWV sadece %1,25 oranında bulunmuş, CuNV, SqMV ve PRSV-W ise test edilen örneklerde tespit edilmemiştir (Massumi, Samei, Pour, Shaabani ve Rahimian, 2007).

İran'ın Guilan bölgesindeki 16 kabakgil yetiştirilen alanda kabakgillerde ZYMV, WMV, CABYV, CMV, SqMV, PRSV-W, *Watermelon chlorotic spot virus* (WmCSV), MNSV, ZYFV ve *Ourmia mosaic virus* (OuMV)'ün yaygınlığını tespit etmek amacıyla 2006 ve 2007 yıllarında kavun, hıyar, kabak ve karpuz bitkilerinden toplanan örnekler ELISA ve Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT PCR) yöntemleri ile test edilmiştir. Örneklerin %73,3'ünün en az bir virüs ile enfekte olduğu belirlenirken OuMV, ZYMV, WMV ve WmCSV en yaygın viral patojenler olarak bulunmuştur. İki ya da daha fazla viral etmenin neden olduğu enfeksiyonlar ise kavunda %63,3, hıyarda %48,6, kabakta %42,7 ve karpuzda ise %26,7 oranında tespit edilmiştir (Gholamalizadeh, Vahdat, Keshavarz, Elahinia ve Bananej, 2008).

Jossey ve Babadoost (2008) Amerika Birleşik Devletleri'nin İllinois eyaletinde 2004 ile 2006 yılları arasında kabakgil alanlarındaki araştırma çalışmalarında 2004 yılında 11 bölgeden 17 örnek, 2006 yılında ise 47 bölgeden 85 bitki örneği toplamışlardır. Araştırmacılar ELISA testi kullanarak balkabağı, kabak ve su kabağında CMV, PRSV, SqMV, *Tobacco ring spot virus* (TRSV), *Tomato ring spot virus* (ToRSV), WMV, ZYMV ve bilinmeyen potyvirusler tespit etmişlerdir. 2004-2006 yılları arasında test edilen tüm örneklerin %47,46

ile%52'sini WMV ile enfekteli bulmuşlardır. SqMV ise diğer virüslere kıyasla daha fazla bölgede %65 ile %88 oranlarında belirlenirken, ZYMV %18,4 ile %4 oranlarında bulunmuştur. TRSV hastalık etmeni ise test edilen örneklerde sadece 2005 yılında %3 oranında bulunmuştur.

Tunus'da kabakgil yetiştirilen alanlarda ZYMV, PRSV-W, WMV, *Moroccan watermelon mocaic virus* (MWMV), ZYFV, CMV, SqMV ve MNSV enfeksiyonlarının varlığını tespit etmek amacıyla toplanan bitki örnekleri DAS ELISA ile test edilmiştir. Çalışma sonucunda WMV, CMV, PRSV-W, ZYMV, ZYFV, SqMV ve MWMV survey yapılan tüm alanlarda tespit edilmiş olup yapılan çalışma sonunda ZYMV'nin %34 oranında en yaygın virüs olduğu belirlenmiştir (Mnari-Hattab, Jebari ve Zouba, 2008).

Bananej ve Vahdad (2008) İran'da 2005 ve 2006 yıllarında yaptıkları çalışmalarda kabakgillerde 1699 bitki örneğini ELISA ve RT PCR ile taramış ve test edilen örneklerin %71'inin en az 1 virüs ile enfekteli ve CABYV'ünün ise en yaygın virüs olduğunu bildirmişlerdir. CABYV hıyar bitkilerinde %49, kabakta %47, kavunda %40 ve karpuzda %33 oranlarında tespit edilirken, bu virüsü %28 oranıyla WMV, %26 oranıyla ZYMV ve %13 oranı ile ise CMV izlemiştir. Araştırmacılar enfekteli bitkilerde karışık enfeksiyonların ise %49 oranında bulunduğunu belirlemişlerdir.

İran'da hıyar, kavun, misk kavunu, kabak ve karpuz yetiştirilen bölgelerinde tarla ve sera alanlarında ZYMV, WMV-2, CMV, TSWV, SqMV ve PRSV-W'nin tespit edilmesi amacıyla tarla alanlarından 1230 sera alanlarından ise 2389 bitki örneği toplanarak Indirect ve DAS ELISA ile test edilmiştir. Charleston Gray karpuz çeşidinde ZYMV hariç tüm virüsler saptanmış, tüm kavun çeşitleri test edilen virüslerin en az 1'i ile enfekteli bulunmuştur. 16 hıyar çeşidi ise en az 1 virüs ile enfekteli bulunmuştur (Asghar, Hossein, Shaabani, Pour ve Heydarnezhad, 2008).

Macaristan'da 10 farklı bölgede kabakgil bitkilerindeki CMV, ZYMV, WMV-2 virüs hastalıklarını tespit etmek amacıyla bitki yapraklarında klorotik beneklenme, mozaikleşme, yapraklarda deformasyon ve halkalı lekelenmeler gözlenen viral belirtiler sahip 44 örnek ELISA ile test edilmiştir. Toplanan 44 örneğin 42'sinde viral patojen bulunmuş olup 26 örnekte CMV, 21 örnekte ZYMV ve 21 örnekte WMV-2 enfeksiyonu belirlenmiştir (Tobias, Almasi, Salanki ve Palkovics, 2009).

İran'da 542 domates ve 420 kabakgil olmak üzere toplamda 962 virüs belirtisi gözlenen bitki örnekleri toplanarak ELISA, DAS ELISA ve Triple Antibody Sandwich (TAS)ELISA ile test edilmiştir. Bu çalışma sonucunda İran'ın güney doğusunda kabakgil bitkilerinde ZYMV, WMV-2, CMV ve CGMMV enfeksiyonlarının varlığı ortaya çıkarılmıştır. ZYMV %19,7 ve CMV %9,2 oranıyla en sık görülen virüsler olarak bulunurken, WMV-2 %8,8 ve CGMMV %3 oranında bulunmuştur (Valizadeh, Valizadeh ve Jafari, 2011).

Svoboda (2011) tarafından Çek Cumhuriyeti'nde kabakgillerin en çok yetiştirildiği bölgeler olan Bohemia ve Güney Moravia'da yürütülen bir çalışmada hastalık oluşturan 9 virüsün varlığını tespit etmek amacıyla hıyar, yazlık kabak, kışlık kabak ve kavun bitkilerinden viral hastalık belirtileri gösteren 829 yaprak örneği toplanmıştır. Tüm örnekler *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV), CMV, CGMMV, MNSV, PRSV, SqMV, WMV-2, ZYMV ve ZYFV enfeksiyonlarının tespiti amacıyla DAS ELISA ile test edilmiştir. Enfeksiyon oranları; ZYMV'de %46, WMV-2'de %12, CMV'de %11 ve CABYV'de ise %2 oranında bulunmuştur.

Amerika'nın güneyinde 2010 ve 2011 yıllarında karpuz ve diğer kabakgilleri enfekte eden virüslerin dağılım ve sıklıklarını belirlemek amacıyla yapılan survey çalışmasında 10 eyaletten hastalık belirtisi gösteren 715 bitkiden yaprak örnekleri toplanarak *Alfalfa mosaic virus* (AMV), *Bean pod mottle virus* (BPMV), CABYV, *Cucurbit yellow stunting disorder virus* (CYSDV), CGMMV, CMV, MNSV, PRSV-W, *Squash leaf curl virus* (SLCuV), *Soybean mosaic virus* (SMV), SqMV, *Squash vein yellowing virus* (SqVYV), TRSV, WMV, *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV), ZYMV, *Zucchini green mottle mosaic virus* (ZGMMV) enfeksiyonlarının belirlenmesi amacıyla DOT-Immunobinding Assays (DIBA) ve RT PCR ile test edilmiştir. 17 virüsten 13'ü örneklerde tespit edilmiş olup enfeksiyon oranları en yüksek %30,6 ile WMV'de, %24,7 PRSV-W, %13,9 ZYMV, %5,7 TRSV, %3,5 SqMV ve %2,6 MNSV'de saptanmıştır. Diğer virüsler ise %2'ye varan oranlarda daha düşük düzeyde belirlenmişlerdir (Ali vd., 2012).

Plapung ve Smitamana (2014) tarafından Tayland'ın kuzeyinde yer alan Chiang Mai, Chiang Rai, Phitsanulok, Lampang, Lamphun ve Phayao eyaletlerinde 2007 ve 2008 yıllarında hıyar bitkilerini enfekte eden önemli virüsleri tespit etmek amacıyla survey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Enfekteli olduğu düşünülen 335 adet hıyar yaprağı toplanarak DAS ELISA kullanılarak testlenmiştir. Büyük alanlarda tekli veya karışık enfeksiyonlar halinde belirlenen virüsler bitkilerde mozaik, beneklenme, damarlar arası sararma, yaprak ve

meyvelerde deformasyona neden olmuştur. Bu çalışmada 2007 yılında CMV tüm yetiştirme alanlarında en yaygın virüs olarak tespit edilirken, 2008 yılında CMV, SqMV, ZYMV ve PRSV karışık enfeksiyonlar halinde %22,47 oranında belirlenmiştir.

2.2. Kabakgil Virüsleri ile İlgili Türkiye'de Yapılan Çalışmalar

Nogay ve Yorgancı (1985) tarafından Marmara bölgesindeki birkaç ilde yürütülen çalışmalarda balkabağı, hıyar ve kavun bitkilerinde yaptıkları incelemeler sonucunda CMV izolatlarının lokal ve sistemik enfeksiyonlara yol açtığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar 1 adet CMV izolatının karpuzda sistemik enfeksiyona neden olduğunu ve balkabağı, hıyar ile kavun örneklerinde ise WMV-2 izolatlarının sistemik olarak enfeksiyona neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Davis (1986) tarafından Türkiye'de bulunan ZYMV-TS2 izolatı, virüsespesifik poliklonal antiserumlar kullanılarak Mısır, İtalya ve Amerika'da bulunan izolatlarla karşılaştırarak karakterize edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, ZYMV Türkiye izolatı kabak bitkilerindeki belirtilerin zamanı ve şiddeti açısından Mısır ve Connecticut izolatları ile benzer bulunurken, Florida izolatı ile farklı olduğu ortaya konulmuştur. Araştırmacı ZYMV, PRSV-W ve WMV-2'ye karşı kullanılan farklı antiserumlarla yapılan kıyaslamalarda ZYMV ve WMV-2'nin bazı antiserumları ile şiddetli çapraz (cross)-reaksiyon oluşturduğu gözlenirken diğer WMV-2 ile PRSV-W ve ZYMV arasında çapraz reaksiyon gözlenmemiştir.

Erzurum, Erzincan ve Artvin illerinde bulunan kabak üretim alanlarındaki viral enfeksiyonların ortaya çıkarılması amacıyla 1999 ile 2001 yıllarında Erzurum'un Dumlulu ve Ilıca ilçelerinden 48, Erzincan'ın Üzümlü ilçesinden 24 ve Artvin'in Yusufeli ilçesinden 18 olmak üzere toplamda 90 adet bitki örneği toplanarak DAS ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Çalışmalar sonucunda tüm örneklerin ZYMV antiserumu ile pozitif, CMV antiserumu ile negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Bostan, Kaymak ve Haliloğlu, 2002).

Samsun ilindeki 18 köyde bulunan 45 adet kabakgil tarlasında 1999 ve 2000 yıllarında yapılan survey çalışmalarında 165 kabakgil bitki örneği toplanarak WMV, ZYMV ve CMV'nin varlığını belirlemek amacıyla ELISA ile test edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda WMV %53,9, ZYMV %38,8 ve CMV %20,6 oranında kabakgil üretim alanlarında belirlenmiş olup, ZYMV ve WMV ELISA testi yapılan tüm bitkilerde tespit edilirken, CMV ise karpuz ve balkabağı bitkilerinde bulunamamıştır (Şevik ve Arlı- Sökmen, 2003).

Yardımcı ve Korkmaz (2004) tarafından 1998 ve 1999 yıllarında Isparta ilinde yapılan bir çalışmada ZYMV hastalık etmeni ile enfeksiyon belirtileri gözlenen kabakgil tarlalarından yaprak ve meyve örnekleri toplanmıştır. Araştırmacılar, indikatör test bitkileri kullanarak mekanik inokulasyon yöntemiyle patojeni kabak bitkileri üzerinde çoğaltılmış ve sistemik enfeksiyon oluşumu gözlenen bitkilerden CF11 Selüloz Kromatografi yöntemini kullanarak viral RNA elde etmeyi başarmışlardır. Yapılan çalışmalarla ZYMV hastalık etmeninin test edilen bitkilerde %62,7 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir.

Trakya bölgesindeki kavun ve karpuz yetiştirilen alanlarda CMV, PRSV-W, SqMV, MNSV, CGMMV, ZYMV ve WMV-2'nin bulunma sıklıklarını belirlemek amacıyla yürütülen çalışmada; 2005 yılı Haziran ve Temmuz aylarında etkili olduğu düşünülen 502 kavun ve karpuz bitki örneği poliklonal antiserumlar kullanılarak ELISA yöntemiyle test edilmiştir (Köklü ve Yılmaz, 2006). Bu çalışmada, karpuz bitki örneklerinde ZYMV %45,5, WMV-2 %34,2, CMV %19,9, PRSV-W %2,1, SqMV %1,8 ve MNSV %0,4 oranlarında yoğunluk düzeyine sahip oldukları belirlenirken kavun bitkilerinde ZYMV %40,3, WMV-2 %31,2, CMV %7,2, PRSV-W %2,3, SqMV %0,5 ve MNSV %1,8 oranlarında bulunmuştur. WMV-2 ve ZYMV patojenlerinin bir arada neden olduğu karışık enfeksiyon oranı ise karpuz bitkilerinde %16,7 kavun bitkilerinde ise %11,4 olarak tespit edilmiştir (Köklü ve Yılmaz, 2006).

Gaziantep ilinde 2004 yılında yapraklarında deformasyon, mozaikleşme, solgunluk, kıvrılma, damar bantlaşması, cüceleşme, lokal nekrotik lezyonlar ve meyvelerinde deformasyon belirtileri gözlenen kabakgil bitkilerinden toplanan örnekler DAS ELISA ile test edilmiştir. Yapılan çalışmalar ile 56 bitki örneğinin 20 adetinde CMV, 22 adetinde ZYMV ve 3 adetinde ise *Potato virus Y* (PVY) enfeksiyonu tespit edilmiştir (Özaslan vd., 2006).

Çalışkan (2007) tarafından Adana ve İçel illerindeki 2006 ve 2007 yıllarında örtü altı ve açıkta kabakgil yetiştiriciliği yapılan alanlarda ZYMV'nin belirlenmesi amacıyla ELISA testleri yapılmıştır. Toplanan örneklerde hastalıklı bitki oranı %51,2 olarak bulunmuş olupbu alanlardan izole edilen ZYMV-FM izolatının tanılama çalışmalarının yapılması için etkili bitkilerden RNA izolasyonu yapılarak RT PCR yöntemi kullanılmış ve yapılan elektroforez çalışmaları ile istenen bant büyüklükleri gözlenmiştir.

Hatay ilinde 2003 yılında yapılan çalışmalarda yazlık ile kışlık kabak, hıyar ve kavun bitkilerinden ZYMV belirtileri gösteren meyve ve yaprak örnekleri toplanarak ELISA testleri

gerçekleştirilmiştir. Ayrıca toplanan meyvelerden elde edilen tohumlardan yetiştirilen her çeşitten 100 adet fide ELISA ile test edilmiştir. Çalışmalar sonucunda fidelerde her hangi bir ZYMV enfeksiyonu belirlenemezken toplanan kabak bitki örneklerinde ZYMV patojeni tespit edilmiştir (Sertkaya, Sertkaya, Yetişir ve Kaya, 2004).

İzmir, Aydın, Manisa ve Balıkesir illerinde 2003 ve 2004 yıllarında kabakgil bitkilerinin yetiştiriciliğinin yapıldığı 278 tarladan yapraklarda mozaik, beneklenme, kıvrılma ve bitki sürgünlerinde azalma gösteren hıyar, kavun, karpuz, kabak ve balkabağı bitkilerinden 618 örnek toplanarak DAS ELISA yöntemiyle testlenmiştir. Yapılan serolojik ve mekanik inokulasyon çalışmaları ile WMV-2 en yaygın virüs olarak %21,5 oranı ile kavun, kabak ve balkabağında tespit edilmiştir. CMV patojeni ise hıyarda %29,7 kabakta %5,2 ve kavunda %3,4 oranında belirlenmiştir. PRSV-W patojeni ise sadece karpuzda %24 oranında bulunmuştur. Ayrıca ZYMV balkabağında %4,4 ve kavunda %2,8 olarak bulunmuştur. SqMV ve CGMMV ise test edilen bitkilerde belirlenememiş, PRSV-W Ege bölgesinde ilk defa rapor edilmiştir (Kaya ve Erkan, 2011).

Antalya ve Ankara illerinden viral hastalık belirtilerine sahip kabakgil bitki örnekleri ZYMV, CMV, WMV-2, CGMMV, PRSV-W ve SqMV'ünü belirlemek amacıyla ELISA ile test edilmiştir. Yapılan testler sonucunda WMV-2 ve ZYMV hastalık etmenleri iki ilde de diğer virüslere oranla daha yüksek düzeylerde bulunmuştur (Topkaya ve Ertunç, 2012).

Konya ilinde 2009 ve 2010 yıllarında kabakgillerdeki virüs enfeksiyonlarını belirlemek amacıyla bitkilerde mozaik, kabarcıklanma, şekil bozukluğu, bodurlaşma ve sürgünlerde azalma gibi belirtileri gözlenen balkabağı, hıyar, kabak, kavun, karpuz, yılan kavunu bitkilerinden 423 adet bitki örneği toplanarak DAS ELISA testleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda örneklerin %86,5'inin ZYMV, WMV-2, CMV, PRSV-W ve SqMV etmenlerinden en az biri ile enfekteli olduğu tespit edilmiş; ZYMV %55,1 ile en yaygın viral patojen olarak belirlenmiştir. WMV-2 iseyılan kavununda %75, balkabağında %51,5, karpuzda %46,7, kabakta %45,4, kavunda %39,1 ve hıyar bitki örneklerinde %20 oranında bulunmuştur (Yeşil ve Ertunç, 2012).

Karaman ilinde 2009 ve 2010 yıllarında balkabağı, kabak, hıyar, kavun ve karpuz bitkilerinden viral enfeksiyon belirtisi gözlenen 135 adet bitki örneği toplanarak ELISA yöntemiyle test edilmişlerdir. Yapılan testler ile toplanan bitki örneklerinin %83'ü ZYMV, WMV-2, CMV, SqMV ve PRSV-W'den herhangi biri ile enfekteli oldukları belirlenmiştir.

ZYMV %53,4 oranında kabak, balkabağı, karpuz, kavun ve hıyar örneklerinde en yaygın viral etmen olarak belirlenmiş, WMV-2 ise kabakta %50, kavunda %43,1, hıyarda %12,1 ve karpuzda %5,2 oranında tespit edilmiştir (Yeşil ve Ertunç, 2013).

Yeşil (2014) tarafından yapılan çalışmada, Konya ilinde 2013 yılında çekirdeklik kabaklarda viral enfeksiyon belirtileri gözlenen 334 bitki örneği toplanarak DAS ELISA yönteminden yararlanarak viral patojenler belirlenmiştir. Test edilen örneklerin %80,53'ünün ZYMV, WMV-2, CMV, PRSV-W, SqMV etmenleri ile enfekteli olduğu saptanmış olup, ZYMV %60,18 ve WMV-2 %52,99 oranları ile üretim alanlarında en yaygın virüsler olarak belirlenmiştir.

Diyarbakır ilinde Bismil, Çınar, Dicle, Eğil, Ergani, Hani, Merkez ve Silvan ilçelerinde kabakgil üretiminin en yüksek oranda yapıldığı 24 köy belirlenerek virüs belirtisi gösteren 34 hıyar, 176 kabak, 142 karpuz ve 195 kavun bitkilerinden oluşmak üzere 547 adet bitki örneği CMV, WMV-2, SqMV, ZYMV, PRSV, CABYV ve MNSV'nin belirlenmesi amacıyla DAS ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Toplanan 547 bitki örneğinin 100'ü CMV, 261'i WMV, 101'i SqMV, 152'si ZYMV, 81'i PRSV, 17'si CABYV etmenleri ile enfekteli olarak bulunurken, oransal olarak CMV %18,28, WMV %47,71, SqMV %18,46, ZYMV %27,78, PRSV %14,8 ve CABYV %3,10 olarak tespit edilmiştir. Yürütülen çalışmalarda hiçbir örnekte MNSV patojeni belirlenememiştir (Budak, 2015).

Tokat ilinde yapılan bir çalışmada Merkez, Erbaa, Niksar, Pazar ve Turhal ilçelerinde 2014 yılında kabakgil yetiştirilen alanlardaki viral hastalıkların belirlenmesi amacıyla kavun, karpuz, kabak ve hıyar bitkilerinden yapraklarda iplikleşme, kabarcıklaşma, mozaik ile bitki genelinde rozetleşme, gelişme geriliği ve bodurlaşma, meyvelerde şekil bozukluğu belirtileri gözlenen 571 adet örnek toplanmıştır. Bu çalışmada test edilen bitki örnekleri ZYMV, CMV, WMV, PRSV, SqMV, ToMV, PVY, TMV'yi belirlemek amacıyla patojene spesifik antiserumlar ile ELISA testine tabi tutulmuştur. Yapılan çalışma ile 571 adet bitki örneğinin %37'si WMV, %12'si ZYMV, %11'i CMV, %3,4'ü PRSV ve %0,2'si SqMV ile enfekteli bulunmuştur. ToMV, TMV ve PVY için ise 287 adet bitki örneğinin %14'ü ToMV ile enfekteli bulunurken, TMV ve PVY hastalık etmenleri tespit edilememiştir. Sonuçlar bitki türü baz alınarak değerlendirildiğinde ise kabak %74, kavun %72,4, karpuz %47,7 ve hıyar bitkileri ise %31,7 oranında viral patojenlerle enfekteli bulunmuştur (Korkmaz, 2015).

Karpuz üretim alanlarındaki viral patojenleri belirlemek amacıyla 2014 yılında İstanbul ilinde yapılan survey çalışmalarında karpuz bitki yapraklarında sararma, nekroz, mozaik ve şekil bozukluğu gözlenen 344 adet yaprak örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerde CMV ve ZYMV patojenlerini tespit etmek amacıyla DAS ELISA testi gerçekleştirilmiş olup 13 örnekte CMV ve 20 örnekte ise ZYMV bulunduğu bildirilmiştir. 2 örnek ise CMV ile ZYMV enfekteli bulunması ile toplamda 35 bitki örneğinde tekli ve çoklu virüs enfeksiyonları belirlenmiştir. Test edilen bitkilerin genelinde CMV %4,3 oranında ve ZYMV %6,9 oranında bulunmuştur. Yapılan mekanik inokulasyon çalışmalarında ise CMV ve ZYMV ile enfekteli 5 viral örneğin indikatör bitkilere bulaştırılması sonucunda 15 ile 30 günlük süre zarfında indikatör bitkilerde viral belirtiler gözlenmiştir (Karakurt, 2015).

Diyarbakır ve Mardin'deki kavun, karpuz, kabak ve hıyar yetiştirilen alanlarda 2013 yılında yapılan survey çalışmasında 194 tarladan yapraklarında mozaik, kabarcık, sararma ve renk açılması ile meyvelerde şekil bozukluğu ve bitki genelinde rozetleşme, cücelik ile büyüme geriliği gösteren 160 adet bitki örneği toplanarak DAS ELISA ile testlenmiştir. Çalışmalar sonucunda 96 adet örnekte WMV, 63 örnekte ZYMV, 69 örnekte CMV, 26 örnekte CABYV ve 34 örnekte ise PRSV enfeksiyonları tespit edilmiştir (Kızmaz, Sağır ve Baloğlu, 2016).

Hatay ve Şanlıurfa illerinde 2010 ile 2013 yıllarında kabakgil üretim alanlarında görülen viral enfeksiyonların belirlenmesi amacı ile acur, bal kabağı, helvacı kabağı, sakız kabağı, sıyırma kabak, hıyar, karpuz ve kavun bitkilerinden elde edilen örneklerle yapılan ELISA testleri sonucunda Hatay ilinde ZYMV %54,7, CMV %17,8, PRSV %10,9, SqMV %15,5 ve WMV-2 %5,4 oranında belirlenirken, Şanlıurfa ilinde ZYMV %64, CMV %37,4, PRSV %2,9, SqMV %4,8 ve WMV-2 %1,4 oranında tespit edilmiştir (Sertkaya ve Yüksel, 2016).

Tekirdağ ilinde kabakgil üretim alanlarında görülen viral etmenlerin belirlenmesi amacıyla 2016 yılında yapılan survey çalışmasında 300 bitki örneği DAS ELISA ile test edilmiştir. Test edilen örneklerin %4,6'sı CMV, %9'u ZYMV, %4'ü SqMV, %10,6'sı PRSV ve %22'sinde ise WMV-2 enfeksiyonları tespit edilmiştir (Altınay, 2017).

Uşak ili ve ilçelerinde bal kabağı, yemeklik kabak, hıyar, karpuz ve kavun bitkilerinde 2017 ve 2018 yetiştiricilik dönemlerinde WMV'ünü tespit etmek amacıyla 313 bitki örneği toplanarak DAS ELISA ile test edilmiş ve biyolojik indeksleme çalışmaları yürütülmüştür.

Çalışma sonucunda 2017 yılında toplanan 134 bitki örneğinin 70'inde, 2018 yılında toplanan 179 örneğin ise 111'inde olmak üzere toplanan 313 adet örneğin 181'inde WMV tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Uşak ilinde WMV potojeni ilk kez rapor edilmiştir. Ayrıca survey çalışmaları esnasında virüs belirtileri gözlenen bazı yabancı ot türlerinden de bitki örnekleri toplanmıştır. Yabani hardal (*Sinapis arvensis* L.) ve yabani marul (*Lactucavivosa* L.) bitkilerinin WMV ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir (Dikici, 2019).

2.3. Kabakgil Virüslerinin Moleküler Tekniklerle Araştırılması

Avustralya'da *Cucurbita pepo* bitkilerinden izolasyonu gerçekleştirilen PRSV-W Avustralya izolatının sahip olduğu genomik yapının açığa çıkarılması amacıyla yürütülen çalışmada izolatın 3' terminal bölgesinin nükleotit dizisi belirlenmiştir. 864 bp açık okuma bölgesi ve örtü proteinini kodladığı tahmin edilen upstream 3' bilinmeyen bölge (206bp) ve poly(A) kuyruğu 23 amino asitlik bir dizi virionlardan saflaştırılması ile örtü proteinin N-terminal bölgesinden elde edilmiştir. PRSV-W Avustralya izolatının örtü proteinini kodlayan gen bölgesi ile Amerika'da elde edilen izolatların PRSV-Pile PRSV-W ırklarının gen bölgeleri arasında %96,8 ile %96,4 oranında benzerlik olduğu tespit edilmiştir (Bateson ve Dale, 1992).

Prieto, Bruna, Hinrichsen ve Munoz (2001) tarafından yapılan çalışmalarda ZYMV'nin Şili izolatının 740 nm boyutundaki viral partiküllere sahip olduğu belirlenmiştir. İzolatın sahip olduğu örtü proteinini kodlayan gen bölgesinin ise yaklaşık 36 kDa boyutunda bulunduğu tespit edilirken, örtü proteininin 3' geninin Connecticut ve Kaliforniya bölgesinden elde edilen ZYMV izolatları ile yüksek oranda benzerliğe sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Çin'in Tianjin bölgesinden CMV, WMV-2, TMV, CGMMV ve SqMV'ünü tespit etmek amacıyla 2002 ve 2003 yıllarında 98 adet hıyar bitki örneği toplanmıştır. RNA dizileme çalışmaları ile 5 çift primerin tasarlanması ile yapılan moleküler analizler neticesinde CMV %96,4, WMV-2 %77,55 ve TMV %38,67 oranında bulunmuş, CMV ile WMV-2'nin karışık enfeksiyonu %76,53 oranında CMV, WMV-2 ve TMV'nin neden olduğu üçlü enfeksiyon ise toplanan örneklerin %14,67'sinde tespit edilmiştir (Li,Wang, Huo ve Pang, 2004).

ZYMV patojeninin Slovakya'dan elde edilen izolatı olan ZYMV-Kuchyna etmeninin tüm genom dizisinin sekans analiz çalışması ile Poly A bölgesi hariç olmak üzere viral

genomun 9593 nükleotit boyutunda olduğu saptanmıştır. ZYMV-Kuchyna'nın tüm genom sekansı, 12 ZYMV izolatu ile nükleotit ve amino asit düzeyinde karşılaştırıldığında %90,4 ile %98,8 ve %78 ile %98,8 oranlarında genomik benzerlik tespit edilmiştir. 50 farklı alandan elde edilen ZYMV izolatlarına ait örtü proteini kodlayan gen bölgelerinin filogenetik analizleri yapılarak, Orta Avrupa'da ki izolatlar ile yüksek düzeyde yakınlıkları belirlenirken filogenetik olarak aynı gruba dahil edilmişlerdir (Glasa ve Pittnerova, 2006).

Slovakya ve Çekya'da 2001 ile 2006 yıllarında ZYMV izolatlarını belirlemek amacıyla hıyar ve kabak bitkilerinden moleküler çalışmalardan yararlanılarak 11 adet ZYMV izolatu elde edilmiştir. İzolatların örtü proteinini (*CP*) kodlayan gen bölgeleri ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda ZYMV izolatlarının yüksek oranda genetik benzerliğe sahip olduğu belirlenmiş olup Slovakya ve Çekya'dan elde edilen ZYMV izolatları ile Orta Avrupa'da bulunan ZYMV izolatlarının *CP* gen bölgeleri açısından değerlendirildiklerinde yakın akraba oldukları ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışma ile diğer coğrafi bölgelerde görülmekte olan izolatlar arasındaki farklılık Orta Avrupa izolatları içerisinde düşük genetik çeşitlilik düzeyinde bulunmuştur (Glasa, Svoboda ve Novakova, 2007).

Kuzey Kıbrıs'ta kabakgil üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan CMV ve ZYMV 2006 ve 2007 üretim dönemlerinde serolojik ve moleküler yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Virüs belirtisi gözlenen bitki örneklerinin ELISA ile test edilmesiyle CMV %8,07 ve ZYMV ise %34,5 oranlarında üretim alanlarında tespit edilmiştir. Ayrıca CMV ile ZYMV birlikte yol açtığı karışık enfeksiyonlar ise %7,4 oranında bulunmuştur. CMV ve ZYMV hastalık etmenleri mekanik inokulasyon yöntemiyle indikatör bitkiler üzerine bulaştırılarak 15 ile 30 gün süreyle hastalık gelişimi gözlenmiştir. Enfekteli indikatör bitkilerden yapılan RNA ekstraksiyonu sonucunda elde edilen toplam genomik RNA, RT PCR yöntemi ile amplifikasyona tabi tutulmuştur. PCR örneklerinin elektroforezi sonucunda CMV ile enfekteli örneklerde 250 bp, ZYMV ile enfekteli örneklerde ise sırayla 650bp büyüklüğünde bant gözlenmiştir (Karamanlı, 2007).

Suriye'de 2006 yılında sakız kabağı bitkilerinden elde edilen ZYMV izolatlarının moleküler karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. SYZY-1 adlı izolat kabakgil bitkilerinde aşırı virülent enfeksiyonlar ortaya çıkarırken, SYZY-3 adlı izolat hıyar ve kavun bitkilerinde enfeksiyon oluşturmamıştır. SYZY-3 izolatu sakız kabağı ve karpuzda ise düşük düzeyli enfeksiyonlar meydana getirmiştir. Her iki izolatu moleküler karakterizasyon çalışmalarında yakın akraba oldukları belirtilirken, örtü proteinini (*CP*) kodlayan nükleotit bölgeleri ve

amino asid dizilerinin %99,5 ile %100 oranında benzer oldukları bildirilmiştir. Ayrıca ZYMV patojeninin Suriye izolatlarının CP geninin nükleotid dizileri Almanya'dan elde edilen ZYMV izolatlarıyla yüksek oranda benzerlik göstermeleri nedeniyle ortak bir kökene sahip oldukları ifade edilmiştir (Chikh Ali, Maoka ve Natsuaki, 2009).

Sırbistanın Vojvodina bölgesindeki çekirdeklik kabak bitkilerinde bulunan virüs hastalıklarının belirlenmesi amacıyla 2007 ve 2008 yıllarında toplanan bitki örnekleri CMV, ZYMV, WMV, SqMV, PRSV ve TRSV antiserumları ile DAS ELISA testine tabi tutulmuşlardır. Testlenen bitki örneklerinde ZYMV, WMV ve CMV tespit edilmiştir. 2007 yılında toplanan örneklerde %94,2 oranı ile WMV en yaygın virüs olarak bulunurken, 2008 yılında ise %94,04 oranı ile ZYMV en yaygın görülen virüs hastalığı olarak bulunmuştur. ZYMV etmeni ile bulaşık bitki örneklerinden moleküler çalışmalar amacıyla ticari ekstraksiyon kitleri kullanılarak RNA elde edilmiştir. Virüsün örtü proteinini (CP) kodlayan CP gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak RT PCR testleri yapılmıştır. Elde edilen PCR ürünlerinden CP geni'ne ait 1100 bp büyüklüğünde bantlar elde edilmiştir (Vucurovic vd., 2009).

Suriye'nin Lazkiye, Humus, Halep, İdlip ve Dara bölgelerinde 2006 ve 2007 yıllarında yapılan araştırmalarda ZYMV, WMV ve CMV'ünün yol açtığı enfeksiyonların kabak, hıyar kavun, karpuz ve balkabağı bitkilerindeki varlığının saptanması amacıyla 387 adet bitki örneği toplanarak ELISA yöntemi ile test edilmiştir. Örneklerin 323 adedi serolojik çalışmalarda pozitif sonuç vermiş olup ZYMV'nin %67,9, WMV'nin %39,9 ve CMV'nin ise %10,8 oranında olduğu ayrıca örneklerin 112'sinde ise karışık enfeksiyonlar bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmada en yaygın virüs olan ZYMV patojeni örtü proteini gen bölgesine spesifik primerler ile RT PCR'a tabi tutularak oluşan RT PCR ürünlerinde 607 bp büyüklüğünde bant oluşumu gözlenmiş ve ZYMV izolatlarının N terminal bölgeleri tespit edilmiştir (Mando, Kasem, Al-Chaabi, Kumari ve Turina, 2011).

Zucchini yellow mosaic virus'ün İran'daki yaygınlığını belirlemek amacıyla 13 bölgeden viral hastalık belirtileri gösteren 1119 adet kabakgil ve 1 adet *Citrullus colocynthis* yabancı ot örneği toplanarak DAS ELISA ile test edilmiştir. Bu çalışma ile 430 adet örnekte ZYMV patojeninin varlığı saptanmıştır. Moleküler çalışmalar ile seçilen 21 adet ZYMV izolatu 3 alt grupta sınıflandırılmıştır (Massumi, Shaabani, Heydarnejad, Pour ve Rahimian, 2011).

Moradi (2011) tarafından İnan'da *Watermelon mosaic virus*'ün kabakgil üretim bölgelerindeki yaygınlığını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada hıyar seraları ve diğer kabakgil bitki üretim alanlarında surveyler yapılarak 620 adet bitki örneği toplanarak DAS ELISA ile test edilmiştir. 303 adet örnek WMV ile pozitif sonuç vermiş olup enfeksiyon oranı %48,8 olarak tespit edilmiştir. Araştırmacı tarafından WMV'ünespesifik primerler kullanılarak RT-PCR yapılmıştır. Amplifikasyon sonucunda örneklerde 825 bp uzunluğunda bantlar elde edilmiş olup, seçilen 15 izolatın *CP* genomu açısından Gen Bank verileri ile karşılaştırıldığında %95,8 ile %99,2 oranında benzerlik gösterdiğini, virüsün örtü proteininin ağırlığının 34.100 Da olduğu belirlenmiştir.

Mısır'da Balteem, Shabah, Kafrelsheikh ve Sheno bölgelerinde 2009 ve 2010 yıllarında kabak üretim alanlarında *Papaya ringspot virus*'ün belirlenmesi amacıyla yapılan surveylerde bitkilerde mozaik, deformasyon ve meyvelerde şekil bozuklukları gözlenen bitki örnekleri ELISA testleri sonucunda %40 oranında virüsle enfekteli bulunmuştur. Enfekteli örneklerin spesifik primerler ile yapılan RT-PCR çalışması sonucunda *CP* geninin kısmi olarak karakterize edilmesi ile 8 izolat belirlenmiştir. Moleküler dizi ve filogenetik analizler ile Mısır'da daha önce belirlenen izolatlar ile aynı gruba dahil edilerek ayrı bir grupta toplanmışlardır. PRSV mısır izolatlarının GenBankasına kayıtlı olan izolatlarla %87,5 ile %97,1 arasında benzer olduğu tespit edilmiştir. Ancak Mısır'da bulunan 2 adet PRSV-W izolatı Venezuela'da ortaya çıkarılan PRSV-P tip olan Sucre-Elmuco ve Mrida6 izolatları ile yakın bir genotipik yakınlık sergilemiştir. Ayrıca bu 2 izolat Meksika ve Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan izolatlar ile de kısmi oranda benzer bulunmuşlardır (Omar, Kevey, Sidaros ve Shimaa, 2011).

Amerika Birleşik Devletleri'nin Oklahoma eyaletindeki kabakgil yetiştirme alanlarında CMV, CGMMV, MNSV, PRSV-W, SqMV, WMV-2 ve ZYMV'ünün varlığını belirlemek amacıyla 2008-2010 yılları arasında Atoka, Blaine, Jefferson ve Tulsa bölgelerindeki 90 tarladan viral hastalık belirtileri gösteren 1049 bitki yaprak örneği toplanarak Dot Immunobinding Assay (DIBA) ile test edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda PRSV %51 oranı ile en yaygın virüs olarak bulunurken, WMV-2 %14 ve ZYMV %10 oranında bulunmuştur. SqMV, MNSV ve CMV ise 2'li karışık enfeksiyonlar olarak %5,18 ve 3'lü karışık enfeksiyonlar olarak ise %4,61 oranında tespit edilmiştir. Bulunan virüs izolatlarının RT PCR ve BLAST analizleri ile genomik yapıları ortaya çıkarılarak GenBankasına kaydedilmiştir (Ali, Mohammad ve Khattab, 2012).

İspanya'nın Valencia bölgesinde 2005 ve 2006 yıllarında tarla koşullarında yetiştirilen hıyar, kabak, balkabağı, kavun ve karpuz üretim alanlarında *Beet pseudo yellows virus* (BPYV), CABYV, CMV, CVYV, CYSDV, MNSV, PRSV, WMV ve ZYMV'ünün belirlenmesi amacıyla 122 tarladan toplanan 1767 bitki örneği moleküler hibridizasyon yöntemi ile test edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda testlenen bitki örneklerinde CABYV %35,8, WMV %27, PRSV %16,5 ve ZYMV %7,2 oranında tespit edilirken, örneklerdeki çoklu enfeksiyon oranı %36 düzeyinde bulunmuştur. Viral hastalık etmenleri ile enfeksiyon düzeyi %57'lik bir oranla en yüksek kabak bitkilerinde tespit edilirken, bu bitkilerde WMV ve PRSV'nin yol açtığı karışık enfeksiyonlar %12, WMV ve CABYV patojenlerinin yol açtığı karışık enfeksiyonlar ise %10 oranında bulunmuştur (Juarez vd., 2013).

Wen ve Nan (2013) tarafından Çin'in Gansu eyaletindeki Hexi bölgesinde kabakgilleri enfekte eden virüs hastalıklarının belirlenmesi amacıyla 37 bitki örneği ile ELISA testleri yapılmıştır. Testlenen bitkilerin 30'unda ZYMV, WMV, CMV, SqMV ve PRSV-W belirlenmiştir. Toplanan örneklerin %40,5'inde WMV, %32,4'ünde CMV, %21,6'sında ZYMV, %21,6'sında PRSV-W ve %8,1'inde ise SqMV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Araştırmacılar tarafından ELISA testleri pozitif olarak bulunan virüsler örtü proteini kodlayan gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak RT PCR ile amplifikasyona tabi tutulmuş ve gen dizilimleri ortaya çıkarılarak GenBankasına kaydedilmişlerdir.

Konya, Karaman ve Aksaray illerinde kabakgil üretim alanlarında ürün kayıplarına neden olan virüs hastalık etmenlerini belirlemek amacıyla 2009 ve 2010 yıllarında üretim alanlarında yapılan survey çalışmalarında viral enfeksiyon belirtisi gösteren 652 kabakgil, 92 tohum ve 85 yabancı ot bitki örneği toplanmıştır. Yapılan DAS ELISA ve RT PCR testleri ile toplanan bitki örneklerinin %83,4'ünde, yabancı ot örneklerinin %50,6'sında ve tohum örneklerinin ise %8,7'sinde viral enfeksiyon tespit edilmiştir. Test edilen kabakgil bitki örneklerinin %51,7'sinde ZYMV, %45,2'sinde WMV-2 ve %21,3'ünde CMV patojeni, tohum örneklerinin %4,3'ünde ZYMV, %3,3'ünde WMV-2 ve %1,1'inde CMV patojeni tespit edilmiştir. Yabancı ot örneklerinin ise %36,5'inde CMV, %22,3'ünde WMV-2 ve %15,3'ünde ZYMV hastalık etmeni tespit edilmiştir. Viral enfeksiyon tespit edilen bitki örneklerinin virüslerin CP gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak RT PCR ile amplifikasyonları sonucu 5 adet ZYMV, 3 adet WMV-2 ve 2 adet CMV izolatu elde edilmiştir. WMV-2 virüsüne ait KF021298, KF021299 ve KF021300 ile CMV patojenine ait KC989614 ve

KC989615 izolatları Mega 5 ve Blast dizi analiz programı kullanılarak belirlenmiş ve GenBankasına kaydedilmiştir (Yeşil, 2013).

Venezuela'da 2009 ile 2010 yıllarında kabakgil bitki yapraklarında mozaik, deformasyon, kloroz, kıvrılma ve sararma ile bitki genelinde bodurlaşma, meyvelerde deformasyon gibi viral enfeksiyon belirtileri gözlenen 284 kabakgil bitki örneği toplanarak *Melon chlorotic mosaic virus* (MeCMV), PRSV, ZYMV, WMV, CMV, SqMV ve CABYV'ünün belirlenmesi amacıyla RT-PCR çalışması gerçekleştirilmiştir. RT-PCR çalışması ile MeCMV %65,8, PRSV %34,2, ZYMV %32,4, WMV %1,1 ve CMV %6,7 oranında test edilen bitkilerde saptanmıştır. SqMV ve CABYV hastalık etmeni ise hiç bir örnekte tespit edilememiştir. Örneklerin %78'inde virüs enfeksiyonu tespit edilmiş olup, tekli enfeksiyonlar %56,4 oranında çoklu enfeksiyonlar ise %38,6 oranındadır. Bu çalışma ile tespit edilen ZYMV izolatlarının *NiB* gen bölgesinin kısmi ve *CP* gen bölgesinin ise tam sekans analizleri yapılmıştır. Venezuela'daki 34 ZYMV izolatı serolojik ve biyolojik metodlarla tespit edilmiş, izolatların büyük bir bölümünün birkaç bölgede yaygınlığı saptanırken Zulia bölgesindeki izolatlar 2 ayrı gruba dahil edilmişlerdir (Romay, Lecoq, Geraud-Pouey, Chirinos ve Desbiez, 2014).

İran'ın Batı kısmında yer alan Lorestan bölgesinde hıyar üretiminin yoğun olarak yapıldığı arazilerden toplanan 516 adet enfekteli olduğu düşünülen bitki örneği CMV, WMV-2 ve ZYMV'ünün varlığını belirlemek amacıyla ELISA ile testlenmiştir. 249 bitki örneğinde virüs enfeksiyonu belirlenirken WMV-2 %24,2, CMV %14,7 ve ZYMV ise %10 oranında bulunmuştur. Bu çalışma ile *Bryonia dioica* bitkisinin İran'da ZYMV'nin yeni bir konukçusu olduğu tespit edilirken, ZYMV-BD izolatının viral örtü proteininde yer alan N terminal bölgesinde farklılık bulunmuştur. İran izolatları Gen Bank'ta yer alan grup 1'e dahil edilirken ZYMV-BD izolatı grup 2'ye dahil edilmiştir (Vafaei ve Mahmoodi, 2015).

Küba'da *Cucurbita pepo* L. üretim alanlarında yapraklarda mozaik ve deformasyon belirtileri gösteren bitkiler toplanarak indikatör bitki, elektron mikroskopi sonucunda 780-800 nm x 12 nm boyutlarında PRSV-W partikülleri tespit edilmiştir. Moleküler çalışmalarda spesifik primerler kullanılarak virüsün *CP* ve *HC-Pro* gen bölgeleri karakterize edilmiş ve Mega5 programı kullanılarak PRSV-W patojeninin Gen Bank'ta yer alan Amerika kıtasında bulunan izolatlar ile %94 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmada PRSV-W Küba'da ilk kez rapor edilmiştir (Rodriguez-Martinez, Figueira, Duarte, Galvino-Costa ve Olmeda, 2015).

Türkiye'de Ankara, Antalya, Burdur illerindeki kabakgil alanlarında yüksek verim ve kalite kaybına neden olan viral hastalık etmenlerinin tespiti amacıyla bitki örnekleri *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Watermelon mosaic virus* (WMV), *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV), *Papaya ringspot virus-W* (PRSV-W) ve *Squash mosaic virus* (SqMV) antiserumları ile DAS ELISA testine tabi tutulmuşlardır. Serolojik testleri yapılan 233 kabakgil bitki örneğinin 86 adedinde ZYMV, 116'sında WMV, 36'sında CMV, 22'sinde PRSV, 6'sında SqMV ve 20 adedinde ise CGMMV patojeni tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ışığında Ankara ve Antalya illerindeki en yaygın patojenlerin WMV ve ZYMV olduğu ifade edilmiştir. Sakız kabağı ve balkabağı bitkilerinde CGMMV ilk kez bu çalışma ile rapor edilmiştir. Ankara, Antalya ve Burdur'daki kabakgil üretim alanlarından izole edilen ZYMV izolatları ile Konya, Karaman ve Aksaray illerindeki bazı ZYMV izolatları moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere seçilmişlerdir. Yapılan RT PCR çalışmaları ile ZYMV genomunda yer alan P1 protein, yardımcı bileşen protein (HC-Pro), P3 protein, silindirik inclusion protein (CI), Nüklear inclusion protein b (NIB) ve örtü proteini (CP) gen bölgeleri spesifik primerler kullanılarak belirlenmiştir. MEGA 6 filogenetik analiz programı ile 53 izolatin genomik sekansları NCBI veri bankasına yüklenmiştir. Bu çalışma ile 50 adet ZYMV izolatu Dünya'da ve Avrupa'da en yaygın olan A1 grubunda sınıflandırılırken 3 adet ZYMV izolatu ise A4 grubu içerisine dahil edilmiştir. Bu kapsamda Türkiye'de ZYMV patojeninin ilk kez genomik açıdan bu derece yüksek düzeyde araştırılması sağlanarak A4 grubuna ait izolatların Türkiye'deki varlıkları da ilk kez ortaya çıkarılmıştır (Topkaya, 2015).

Türkiye'de Adana ili ve ilçelerinde yapraklarında mozaik, beneklenme ve deformasyon belirtileri gözlenen kabakgil üretim alanlarında yapılan surveylerde enfekteli olduğundan şüphelenilen bitki örnekleri toplanarak DAS ELISA ve RT PCR tekniği kullanarak test edilmiştir. Çalışmalar sonucunda elde edilen WMV-Tr izolatının moleküler tanınması için genom dizilemesi yapılmıştır. WMV-Tr izolatu genomik sınıflandırmada dünya'da yeni tanımlanmaya başlanan ve Avrupa ile Asya'da bulunan izolatlarında yer aldığı Grup 3'e dahil edilmiştir. Türkiye'de ilk kez bu grupta sınıflandırılan izolat olan WMV-Tr izolatu dünya'nın farklı alanlarından elde edilen WMV izolatları ile benzer genomik yapıya sahip olduğu tespit edilmiştir (Kamberoğlu, Desbiez ve Çalışkan, 2015).

Keçe ve Kamberoğlu (2016) tarafından Türkiye'nin Adana, Mersin ve Osmaniye illerinde karpuz yetiştirilen alanlarda 2012 yılının bahar ve yaz aylarında WMV-2 hastalık etmeninin tanınması amacıyla enfeksiyon belirtisi gösteren 182 adet bitki örneği toplanarak

ELISA testleri gerçekleştirilmiştir. Toplanan bitki örneklerinde WMV-2 etmeninin enfeksiyon oranı %46,7 olarak tespit edilmiştir. WMV-2 izolatları mekanik inokulasyonlar ile *Chenopodium quinoa*, *Chenopodium amaranticolor* ve *Gomphrena globosa* bitkilerine bulaştırılmış ve indikatör bitkilerin yapraklarında klorotik lokal belirtiler gözlenmiştir. Ancak indikatör tütün bitkilerinin yapraklarında ise herhangi bir belirti belirlenememiştir. WMV-2 ile enfekteli örneklerden izole edilen RNA'lar RT-PCR ile amplifike edilerek, PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutularak 408 bp boyutunda bant oluşumu gözlenmiştir.

İran'ın Batı ve Kuzey batı bölgelerinde yer alan sebze ve meyve yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı alanlarda CMV, CGMMV, WMV ve ZYMV'ünü belirlemek amacıyla viral hastalık belirtisi gözlenen 100 bitki örneği toplanmıştır. Bitki örneklerinin viral patojenlere spesifik primerlerle yapılan RT PCR çalışmaları ile araştırılması sonucunda; CMV %46, ZYMV %35, WMV %26 ve CGMMV %8'e ulaşan düzeylerde enfeksiyon oluşturmuştur. Enfekteli bitkiler tür bazlı değerlendirildiğinde ise fasulye %63,3 oranında, hıyar %50 oranında, patlıcan %40 oranında, kabak %90 oranında, domates %75 oranında ve karpuz %80 oranında CMV, ZYMV ve WMV ile enfekteli bulunmuştur. CGMMV hastalık etmeni ise sadece Azerbaycan'ın Doğu bölgesinde bulunmuştur. Yapılan moleküler çalışmalar sonucunda CMV örnekleri 537 ile 335 bp büyüklüğünde bantlar oluşturmuş ve genomik sınıflandırmada Grup 1'de yer almıştır (Mohammadi, Hajizadeh, ve Koolivand, 2016).

Çin'in Sincan Özerk Bölgesi'de kavun üretiminde yoğun ürün kaybına neden olan ZYMV patojeninin enfekteli kabakgil bitkilerinden elde edilen izolatları arasındaki biyolojik ve genomik yakınlıkların belirlenmesi amacıyla moleküler çalışmalar yapılmıştır. İzolatlar CP gen bölgelerine spesifik primerler ile amplifikasyona tabi tutularak yaklaşık 1080 bp ile 1180 bp büyüklüğündeki CP gen dizilemeleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda 19 bölgeden toplanan ZYMV izolatlarının aynı genoma sahip oldukları bulunmuştur (Yang, Du, Sheng, Dan ve Maimaiti, 2016).

Hindistan'ın Güneyindeki Tamil Nadu eyaletinde 2012 ile 2014 yılları arasında kabakgillerde enfeksiyon oluşturan virüs hastalıklarının belirlenmesi amacıyla survey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Toplanan bitki örnekleri CMV, PRSV, ZYMV, CGMMV ve begomovirüse karşı DIBA (Dot Immuno Binding Assay), RT-PCR ve DNA genomuna sahip virüsler ise klasik PCR yöntemleri ile test edilmiştir. Çalışma sonucunda begomovirüs %98,6 oranında enfeksiyon oluştururken, PRSV-W %32,1, CGMMV %22,2, ZYMV %7,1 ve CMV

%5 oranında enfeksiyon oluşturmuşlardır. Örneklerin %50'den fazlasında ise karışık enfeksiyonlar tespit edilmiştir. Begomovirüslerin spesifik primerlerle araştırılmaları sonucunda ise *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) ve *Squash leaf curl China virus* (SLCCNV) ile benzer genomik sekanslara sahip oldukları bildirilmiştir (Nagendran vd., 2017).

Brezilya'da 2008 ile 2015 yılları arasında Goias, Bahia, Sao Paulo, Alagoas, Pernambuco, Ceara, Rio Grande do Norte ve Maranhao bölgelerinde hıyar, kabak, lif kabağı karpuz, kavun, *Schium edule* ve *Fevillea trilobata* bitkilerinden 1051 yaprak örneği toplanarak PRSV-W, WMV, ZYMV, CMV, *Zucchini lethal chlorosis virus* (ZLCV) ve *Melon yellowing-associated virus* (MYaV)'e ait poliklonal antikolar kullanılarak test edilmiştir. Serolojik çalışmalarda testlenen örneklerin %60'ında viral enfeksiyon bulunurken, PRSV-W %40,89, ZYMV %25,46, WMV %8,76, CMV %5,02 oranında bulunmuştur. MYaV sadece kavun bitkilerinde %22,46 oranında tespit edilmiş, ZLCV ise genellikle kabak ve karpuz bitki örneklerinde %18,11 düzeyinde bulunmuştur. Çoklu enfeksiyonlar ise %17,41 oranında bulunurken PRSV-W karışık enfeksiyonlarda en yoğun tespit edilen patojen olmuştur (Lima, Oliveira ve Amaro, 2017).

Çin'in Sincan bölgesinde 2013 ve 2014 yetiştiricilik dönemlerinde kavun üretim alanlarında WMV, ZYMV, CMV, CGMMV, ZYFV, PRSV, SqMV, *Tomato ringspot virus* (ToRSV), *Moroccan watermelon mosaic virus* (MWMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) ve *Watermelon silver mottle virus* (WSMoV) tespit etmek amacı ile 492 kavun bitki örneği RT-PCR ile test edilmiştir. Çalışma kapsamında incelenen örneklerde virüs enfeksiyon oranı %94,5'e varan oranlara ulaşmış üretim alanlarında en yaygın WMV patojeni %77, CMV %60 ve ZYMV %41,1 oranında bulunmuştur. Araştırılan diğer virüs hastalıkları ise hiçbir örnekte tespit edilmemiştir. Karışık enfeksiyonlar ise %57,2'ye varan düzeylerde belirlenirken WMV ile CMV'nin karışık enfeksiyon oranı %17,8 ve WMV ile ZYMV'nin neden olduğu karışık enfeksiyon oranı ise %14,4 oranında bulunmuştur. Yapılan genomik analizler sonucunda WMV izolatlarının tamamı A grubunda sınıflandırılmıştır (Wang, Li ve Du, 2017).

Çin'in Henan, Gansu eyaletleri ile Sincan Özerk Bölgesi'deki kavun ve karpuz üretim alanlarında CABYV, ZYMV, WMV, CMV ve MABYV'ünün yaygınlıklarının belirlenmesi amacıyla 2017 yılında viral enfeksiyon belirtisi gözlenen bitki örnekleri ile DAS ELISA ve RT PCR çalışması yürütülmüştür. 132 adet bitki örneğinde viral patojen tespit edilmiş olup örneklerin %57,1'inde CABYV, %45,6'sında ZYMV, %38,9'unda WMV, %20'sinde CMV ve

%17,5'inde MABYV enfeksiyonları belirlenmiştir. PRSV-W ve SqMV ise test edilen örneklerde belirlenememiştir. MABYV ise Henan ve Sincan Özerk Bölgesi'nde ilk kez bulunmuştur. Sonuçlar alan bazlı değerlendirildiğinde ise Henan eyaletinde ZYMV, WMV, CABYV, MABYV tespit edilirken, Gansu eyaletinde ZYMV, CMV, CABYV etmenleri Sincan Özerk Bölgesi'nde ise ZYMV, WMV, CMV, CABYV, MABYV patojenleri bulunmuştur. Bitki örneklerinde karışık enfeksiyon oranı ise %21,2 düzeyinde bulunurken genelde 2 virüs tarafından oluşturulmuşlardır (Yang, JunXiang, Bin ve QinSheng, 2017).

Çin'in Chongqing bölgesinde, 2013 yılındavirüslerle enfekteli olduğu saptanan 5 adet hıyar bitkisinde yer alan vrüslerin moleküler olarak tanılanması amacı ile bölgede yaygınlığı bilinen 11 adet virüsün spesifik primerler kullanılarak taranması sonucunda CMV, SqMV, *Turnipmosaicvirus* (TuMV), WMV ve ZYMV patojenleri bulunmuştur. PCR çalışmaları ileklonlama ve sekanslama teknikleri kullanılarak filogenetik analizler sonucu *CP* gen bölgeleri belirlenmiştir. WMV-H3 ve ZYMV-H3 izolatlarının *CP* gen bölgelerindeki nükleotit dizilerinin %92,3 ile %96,9 ve %93 ile %97,7 oranlarında benzerliğe sahip oldukları bulunmuştur. Ayrıca WMV izolatları arasında WMV-H3 izolatu ile WMV-T, WMV-2 ve WMV-9 izolatları arasında yüksek oranda nükleotit dizi benzerliği belirlenmiştir. ZYMV izolatları arasında ise ZYMV-H3 ile ZYMV-Hefei izolatu en yüksek nükleotit benzerliğine sahip bulunmuştur. Enfekteli bitki örneklerinde *CP* genleri kullanılarak yapılan filogenetik analizlerde tespit edilen 44 WMV izolatu 5 grupta belirlenirken WMV-H3 izolatu ayrı bir alt grupta sınıflandırılmıştır. 80 ZYMV izolatu ise 6 grupta belirlenirken, ZYMV-H3 izolatu farklı bir alt grupta sınıflandırılmıştır. Bu çalışma ile Chongqing bölgesinde hıyar bitkilerinde SqMV, WMV ve ZYMV ilk kez rapor edilmiştir (Yan vd., 2017).

Slovenya'da kabakgil üretim alanlarında 2016 yılında virüs hastalıklarını belirlemek amacı ile survey çalışmaları yapılmıştır. ELISA testleri kullanılarak ZYMV, WMV ve CMV klasik PCR çalışmaları ile ToLCNDV patojeninin üretim alanlarındaki mevcudiyeti belirlenmiştir. Yapılan analizler ile 15 adet kabak bitki örneğinde ZYMV tespit edilirken, 7 adet bitki örneğinde WMV tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin 2 adedi CMV ile enfekteli bulunmuştur. Yazlık kabak bitkilerinde ise ZYMV, CMV ve WMV patojenleri tespit edilmiştir. ToLCNDV patojeni ise hiç bir bitki örneğinde saptanamazken, 2 adet hıyar bitki örneğinde elektron mikroskopi çalışmaları ile Begomovirus benzeri oluşumlar gözlenmiştir (Mehle vd., 2017).

Wang ve Li (2017) tarafından Dünya genelinde yüksek zarar oluşturan ve birçok alanda gözlenen ZYMV patojenini tanımlamak amacıyla Çin'in Xinjiang kentinden 26 adet ZYMV izolatu ile moleküler çalışmalar yürütülmüştür. Virüs örtü proteini kodlayan *CP* gen bölgelerinin filogenetik analizleri yapılarak ZYMV izolatları A, B ve C grupları içerisinde A grubuna dahil edilirken bunlarda kendi içlerinde 1 ile 4 arasındaki alt gruplarda sınıflandırılmıştır. Sincan Özerk Bölgesi'nde tespit edilen ZYMV izolatları ise filogenetik analizler sonucu C grubu ile A1 ve A2 alt gruplarında yer almıştır.

Ukrayna'daki kabakgil üretim alanlarından toplanan enfekteli bitki örnekleri ZYMV antiserumları ile DAS-ELISA kullanılarak test edilmiştir. Vinnytsia, Zaporizhzhia, Kiev, Poltava ve Cherkasy şehirlerinden toplanan bitkilerde ZYMV enfeksiyonu %41 oranında tespit edilmiştir. ZYMV patojeninin moleküler tanımlanması amacıyla RT PCR, DNA sekans analizi ve filogenetik analiz çalışması yapılmıştır. Kabakgil bitkileri ZYMV antijenlerinin varlığı açısından DAS-ELISA ile testlenmiş ve bitkilerin %41'i ZYMV ile enfekteli bulunmuştur. Spesifik primerler kullanılarak yapılan RT-PCR çalışması ile ZYMV'nin *NIp/CP* genom bölgesinin amplifikasyonu sağlanarak 605bp'lik cDNA elde edilmiştir. Ukrayna'da belirlenen ZYMV izolatları filogenetik sınıflandırmada A grubuna dahil edilmiştir. İzolatlar arasındaki benzerlik %99,7 ile %100 arasında bulunmuş olup Avusturya'dan izole edilen AJ420014, Slovenya'dan izole edilen AJ420018, Sırbistan'dan izole edilen HMO72432 ve Macaristan'dan elde edilen izolatlar ile yüksek oranda benzerlik tespit edilmiştir (Tsvigun, Rudneva, Shevchenko, Budzanivska ve Polishhchuk, 2017).

2013-2015 yılları arasında Suudi Arabistan'da Riyad şehrinde hıyar yetiştirilen alanlarda ve Al-Ammariyah bölgesindeki karpuzda üretim alanlarında viral enfeksiyon belirtileri gözlenen bitki örnekleri toplanarak *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, *C. melo*, *C. melo* subsp. *melo* ve *Nicotiana benthamiana* bitkilerine mekanik inokulasyon çalışmaları yapılmıştır. Mekanik inokulasyon çalışmalarında *Chenopodium amaranticolor* bitkilerinde klorotik lokal lezyonlar gözlenirken diğer indikatör bitkilerde herhangi bir belirti gözlenmemiştir. Yapılan ELISA testleri sonucunda WMV, ZYMV, PRSV, CMV ve SqMV tespit edilmiştir. RT PCR çalışmaları sonucunda 825 bp uzunluğunda bant oluşumu tespit edilen WMV-SACP kısmi gen bölgesi ile GenBank'ta kayıtlı 18 farklı WMV izolatu ile yapılan karşılaştırmalar sonucunda %93.9-%97.5 arasında benzerlik göstermiştir. Kıyaslamalar sonucunda İspanya'dan 2 adet ve İran'da tespit edilen 2 adet WMV izolatıyla en

yüksek oranda yakınlık belirlenirken en az yakınlığın Polonya izolatu ile olduğu ortaya çıkarılmıştır (Santosa, Al-Shahwan, Abdalla, Al-Saleh ve Amer, 2018).

Türkiye'de Bingöl ilinde 2018 yılında üretim alanlarından yapraklarında mozaik, kabarcık şeklinde oluşumlar ve buruşukluk gibi viral belirtiler gözlenen kabakgil bitkilerine ait yaprak örnekleri toplanarak ZYMV patojeninin biyolojik ve moleküler tanılamasının yapılması amacıyla RT-PCR ile araştırılmıştır. ZYMV patojeninin CP gen bölgelerine spesifik primerler kullanılarak yapılan RT-PCR amplifikasyonları sonucunda enfekteli bitki örneklerinde 840 bp büyüklüğünde DNA ürünleri tespit edilmiştir. RT-PCR ile belirlenen ZYMV izolatına ait CP geni pGEM Easy olarak adlandırılan prokaryotik bir klonlama yöntemi kullanılarak 837 nükleotit ve 279 amino asit kodlayan yaklaşık olarak 31,2 kDa büyüklüğe sahip amino asit dizileri belirlenmiştir. Bu çalışma ile ZYMV-Bingöl izolatu tespit edilerek GenBankasına MK689858 no ile kaydedilmiştir. ZYMV-Bingöl izolatu filogenetik analizler sonucunda JF317296no'lu Türkiye'nin Adana ilinde tespit edilen ZYMV izolatu ile %100 oranında benzer bulunurken, Kore'de tespit edilen AF062518no'lu ZYMV izolatu ile %91,4 oranında en düşük düzeyli benzerliğe sahip olduğu bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda ZYMV-Bingöl izolatu Türkiye-Adana izolatu ve Pakistan'da saptanan AB127936 adlı ZYMV izolatu ile aynı grupta sınıflandırılmıştır (Güller ve Usta, 2019).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitkilerin Temini

Çalışmada hıyar (*Cucumis sativus* L.), bal kabağı (*Cucurbita moschata* Duch.), sakız kabağı (*Cucurbita pepo* L.), karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), kavun (*Cucumis melo* L.) ve su kabağı (*Lagenaria siceraria*) bitkilerinden 2017 - 2019 yılları arasındaki kabakgil üretim dönemi olan yaz aylarında Tekirdağ ilindeki kabakgil üretiminin yoğun olarak yapıldığı ilçelerdeki (Şekil 3.1.) üretim alanlarından (Şekil 3.2., Şekil 3.3.); yapraklarında kıvrıkcıklaşma, deformasyon, şekil bozukluğu ve mozaik görünümü, sürgünlerde kıvrılmalar ile meyvelerinde deformasyon vemozaik belirtileri gösteren bitkilerden genç yaprak örnekleri toplanmıştır. Virüs ile enfekteli olduğu düşünülen kabakgil bitki örnekleri DAS ELISA ve moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere A ve B olarak 2 tekerrür şeklinde alınarak şeffaf polietilen poşetler içerisinde buz kutularına yerleştirilmiş ve laboratuvara getirilerek testlemeler yapıncaya kadar -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Tekirdağ ilinde survey çalışması yapılan yerler (Anonim, 2020)



Şekil 3.2. Tekirdağ ilinde bir kabak üretim alanı



Şekil 3.3. Tekirdağ ilindeki serada yetiştirilen hıyar bitkilerinin görünümü

3.2. Survey Çalışmaları

Arazi gözlem çalışmaları kapsamında Tekirdağ ilinin Süleymanpaşa, Ergene, Muratlı, Saray, Malkara ve Şarköy ilçelerindeki kabakgil bitkilerinin yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlar gezilerek örnek toplama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan survey çalışmaları sonucunda 2017 ile 2019 yılları arasındaki dönemde viral hastalık belirtileri gözlenen balkabağı, hıyar, kabak, karpuz, kavun ve su kabağı bitkilerinden toplamda 180 adet 2'şer tekerrürlü olarak yaprak örneği (Çizelge 3.1.) toplanmış ve etiketlenerek +4 °C ve -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Tekirdağ ilinden 2017-2019 yıllarında survey çalışmaları kapsamında toplanan kabakgil örnekleri

Örnekleme Tarihi	Örnekleme Yeri		Bitki Türü	Tarla No	Örnek sayısı (Adet)
	İlçe	Mahalle			
2017	Süleymanpaşa	Dedecik	Kavun	1	9
		Kınıklar	Kavun	2	7
		Naip	Bal kabağı	3	9
		Ferhadanlı	Kavun	4	8
		Evciler	Sakız kabağı	5	7
2019	Süleymanpaşa	Barbaros	Sakız kabağı	6	1
		Naip-1	Bal kabağı	7	10
			Kavun	8	9
			Karpuz		1
		Naip-2	Hıyar	9 (sera)	10
		Naip-3	Bal kabağı	10	9
			Kavun	11	3

Çizelge 3.1. (Devam)

2019	Süleymanpaşa	Ferhadanlı-1	Sakız kabağı	12	2	
			Hıyar	13	1	
			Karpuz	14	3	
			Kavun	15	5	
		Ferhadanlı-2	Sakız kabağı	16	3	
			Kavun	17	2	
			Karpuz		1	
		Ferhadanlı-3	Bal kabağı	18	1	
		Tatarlı	Kavun	19	2	
			Karpuz		2	
			Bal kabağı		2	
			Sakız kabağı		4	
		Malkara	Sağlamtaş	Bal kabağı	20	1
			Çınarlıdere	Bal kabağı	21	1
	Şarköy	Ulaman 1	Kavun	22	4	
			Karpuz		2	
			Sakız kabağı		2	
		Ulaman-2	Hıyar	23	1	
			Karpuz		3	
			Kavun		7	
Bal Kabağı				1		
Yeniköy(sera)		Hıyar	24	7		
Malkara	Ahievran-1	Kavun	25	4		
	Ahievran-2	Kavun	26	6		

Çizelge 3.1. (Devam)

2019	Malkara	Ahievran	Karpuz	26	1
			Hıyar		2
	Ergene		Bal kabağı	27	2
	Saray		Kavun	28	11
			Karpuz		4
	Muratlı	Sırtköy	Su kabağı	29	2
			Kavun		5
			Karpuz		1
			Bal kabağı		1
			Sakız kabağı		1
Toplam Örnek Sayısı				180	

3.3. İndikatör Bitkilerin Temini ve Yetiştirilmesi

Kabakgil üretim alanlarından alınan yaprak örneklerindeki virüs hastalıklarını tespit etmek için; *Cucumis sativus*, *Cucumis melo* ve *Cucurbita pepo* bitkileri kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan test bitkileri tohumları 1:1:1 oranında steril torf, toprak ve perlit doldurulan saksılar içerisinde (Şekil 3.4.) 16 saat gündüz, 8 saat gece gün uzunluğunda bulunan 22-25 °C sıcaklıkta iklim odasında düzenli aralıklarla bakımları yapılarak yetiştirilmiştir.



Şekil 3.4. İndikatör kabak (*Cucurbita pepo*) test bitkilerinin saksıda yetiştirilmesi

3.4. Mekanik İnokulasyon Çalışmaları

Mekanik inokulasyon çalışmaları *Cucumis sativus*, *Cucumis melo* ve *Cucurbita pepo* indikatör bitkilerinin 2 yapraklı oldukları dönemde gerçekleştirilmiştir.

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesindeki Naipköy ve Ferhadanlı mahallelerinden virüs enfeksiyon belirtileri gözlenen 10 adet kabakgil bitki örneği; Yılmaz ve Davis (1984)

tarafından belirtilen yöntem kullanılarak %0,1'lik 2-mercaptoethanol içeren 0,01 M Fosfat tampon (pH:7,0)'nu ile 1:5 (w/v) oranında steril havan içerisinde ezilerek elde edilen ekstraktlar tortularından arındırılması amacıyla filtre edilmiş ve karborandum tozu serpilerek aşındırılan indikatör bitkilere taşınma işlemleri gerçekleştirilmiştir.

3.5. Serolojik Çalışmalar

Serolojik test çalışmaları Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) kullanılarak viral enfeksiyon belirtileri gözlenen kabakgil bitkilerinden toplanan yaprak örnekleri ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan testlerde *Zucchini yellow mosaic virus*, *Papaya ringspot virus-W* ve *Watermelon mosaic virus*'e spesifik antiserumlar kullanılmıştır. Yapılan DAS-ELISA testleri Clark ve Adams (1977) tarafından bildirilen metodun optimize edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Serolojik çalışmalarda Bioreba (İsviçre) firmasından temin edilen Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA) test kitleri kullanılmış olup üretici firma tarafından aşağıda yer alan uygulama protokolü takip edilmiştir.

ELISA test protokolü

1. Testlenen virüse spesifik IgG 1:1000 oranında kaplama tampon(coating buffer) çözeltisi (EK-1) ile seyreltilerek ELISA plateleri üzerinde yer alan her kuyucuğa 200µl eklenerek platelerin üzeri parafilm ile kapatılmış ve plateler inkübatörde 37 °C'de 2 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur.

2. İnkübasyon aşamasından sonra ELISA platelerindeki her kuyucuğa 200 µl yıkama tamponu (washing buffer) (EK-3) eklenerek 3 defa yıkama işlemi yapılmıştır.

3. Bitki yaprak örnekleri steril porselen havanlarda ekstraksiyon tamponu (EK-4) (pH:7,4) ile ezilmiş ve elde edilen bitki ekstraktlarından her kuyucuğa 200 µl eklenmiştir. ELISA platelerinin üzeri parafilm ile sarılarak +4 °C'de 12-14 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuşlardır.

4. İnkübasyon işleminden sonra her plate kuyucuğu 200 µl yıkama tamponu (washing buffer) (pH:7,4) ile 3 kez yıkama işlemine tabi tutulmuştur.

5. Alkalin fosfotaz ile etiketli olan IgG, konjugat tamponu (EK-5) içerisinde 1:1000 oranında seyreltilerek eklenmiş ve plate üzerindeki her kuyucuğa 200 µl hacimde eklenerek 37 °C'de 2 saat süre ile inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

6. İnkübasyon işleminden sonra her plate kuyucuğu 200 µl yıkama tamponu (washing buffer) (pH:7,4) ile 3 kez yıkama işlemine tabi tutulmuştur.

7. pNPP (para-nitrophenylphosphate) substrate buffer (EK-6) içerisinde 1 mg/ml olacak şekilde ayarlanmış ve her kuyucuğa 200 µl eklenerek ELISA plateleri oda sıcaklığında karanlık ortamda 1 saat süre ile inkübasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Yapılan DAS-ELISA test çalışmaları sonucunda Bio-Rad iMark Bench Microplate Reader ELISA plate okuyucuda 405 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri elde edilmiştir.

3.6. Moleküler Çalışmalar

Kabakgil bitkilerinde bulunan viral hastalık etmenleri patojenler moleküler çalışmalar ile tespit edilmiştir. Yapılan serolojik çalışmalar ile virüsenfeksiyonu tespit edilen ve viral enfeksiyon ihtimali yüksek görülen 30 bitki örneği seçilerek moleküler çalışmalarda kullanılmıştır.

3.6.1. Bitkilerden RNA İzolasyonu

Serolojik çalışmalarda pozitif sonuç veren bitkilerden alınan yaprak örneklerinden RNA izolasyonu için Norgen Bitki/Fungus Total RNA Saflaştırma Kiti (Norgen Biotek, Kanada) kullanılmıştır. Norgen Bitki/Fungus Toplam RNA Saflaştırma Kiti için üretici firmanın önerdiği aşağıdaki protokol uygulanmıştır.

RNA izolasyon protokolü

Kullanım Öncesi Notları:

- Tüm santrifüj aşamaları (farklı hız belirtilen aşamalar hariç) masaüstü mikrosantrifüjde 14.000 x g (~ 14.000 rpm)'de gerçekleştirilmiştir.
- Wash Solution A içerisine %96-100'lük ethanol'den 5,6 ml eklenerek şişedeki son hacim 8 ml olması sağlanmıştır.
- Kullanım öncesi her 1 ml'lik Lysis Buffer C içerisine 10 µl β-mercaptoethanol eklenmiştir.
- Örnekler sıvı nitrojende hızlı dondurma işlemi yapılarak hızlıca -70 °C'ye alınarak muhafaza edilmiştir. RNA içeriğinin bozulmaması için dondurulmuş örneğin eritilerek ezilmemesine dikkat edilmiştir.
- Bu prosedürde, kolonun tıkanmaması için 50 mg fungus, 50 mg bitki dokusu veya 5×10^6 bitki hücresi kullanılması tavsiye edilmiştir. Ancak RNA konsantrasyonuna bağlı olarak 100 mg bitki materyali veya 5×10^7 bitki hücresi kullanılmıştır.
- Bu kit 2 ayrı kolon temin etmiştir. Kolonlar aşağıdaki şekilde birbirinden ayırt edilebilmiştir.

Filter columns: Şeffaf beyaz plastik halkalı filtre

Spin columns: Gri plastik halkalı filtre

1. 50mg bitki dokusu sıvı azotta ve üzerine 500 µl RNA ekstraksiyon buffer eklenerek havan/örnek poşetinde homojenize edilmiştir.
2. Örnek sıvı azotta ezilerek toz haline getirilerek örneğin tamamı 2 ml'lik ependorf tüplere alınmıştır. Ekstraksiyon buffer ile homojenize edilen örnekten 250 µl'lik sıvı kısım pipetlenerek 2 ml'lik ependorf tüplere alınmıştır.
3. Örnek üzerine 600 µl Lysis Buffer C eklenmiş ve vortekslenmiştir.
4. Örnekler 55 °C'de 5 dakika ısı bloğu üzerinde inkübe edilmiştir.
5. İnkübasyonu tamamlanan örnekler, önceden toplama tüpüne yerleştirilmiş olan Filter Column (şeffaf beyaz halkalı) içerisine pipet yardımı ile aktarılmıştır. Örnekler 14.000 x g (~14.000 rpm)'de 2dakika santrifüj edilmiştir.
6. Filtre atılarak toplama tüpünde toplanan sıvı kısım (lysate) RNase free ependorf tüplere alınmıştır.
7. Örnek üzerine pipetlenerek yeni tüplere alınan sıvı kısmın hacmi kadar %96-100'lük ethanol eklenmiştir. Örnekler vortekslenerek iyice karıştırılmıştır.

8. Örneklerden 600 µl pipetlenerek daha önceden toplama tüpü içerisine yerleştirilmiş olan Spin Column (gri halkalı) üzerine alınır ve $3.500 \times g \leq (\sim 6.000 \text{ rpm})$ 'de (14.000 rpm) 1 dakika santrifüj edilmiştir.

9. Toplama tüpündeki sıvı dökülerek uzaklaştırılmış, filtre tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Sıvı filtreden tümüyle süzümüştür.

10. Gerek duyulursa 8. aşama tekrar edilmiştir.

11. Filtre üzerine 400 µl Wash Solution A eklenmiş ve $14.000 \times g$ (14.000 rpm'de) 1 dakika santrifüj edilmiştir. Sıvı filtreden tümüyle süzümüştür

12. Toplama tüpündeki sıvı dökülerek uzaklaştırılmış, filtre tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

13. 11. ve 12. aşamalar tekraredilmiştir.

14. Filtre üzerine 3. kez 400 µl Wash Solution A eklenmiş ve $14.000 \times g$ (14.000 rpm)'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

15. Toplama tüpündeki sıvı dökülerek uzaklaştırılmış, filtre tekrar toplama tüpüne yerleştirilmiştir.

16. Filtrenin kuruması için tüpler $14.000 \times g$ (14.000 rpm)'de 2dakika santrifüj edilmiştir.

17. Toplama tüpü atılarak filtre RNase free eppendorf tüp içerisine yerleştirilmiştir.

18. Filtre üzerine 50µl Elution Solution A eklenmiştir.

19. Tüpler $2.000 \times g$ ($\sim 2.000 \text{ rpm}$)'de 2dakika santrifüj edilmiş ve ardından $14.000 \times g$ ($\sim 14.000 \text{ rpm}$)'de 1 dakika daha santrifüj edilmiştir.

20. Saflaştırılan RNA kısa süreliğine $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilebilmiştir (Anonim, 2019a).

3.6.2. RNA Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

RNA izolasyonu çalışmalarından elde edilen RNA'ların yoğunlukları ThermoNanoDrop 2000/2000c Spectrophotometer cihazında OD_{260} dalga boyunda, izole edilen örnek RNA'sından 1 µl eklenerek belirlenmiş ve çalışma konsantrasyonu 600 ng olacak şekilde sulandırılmıştır.

3.6.3. RNA Örneklerinden Complementer DNA (cDNA) Sentezi

Konsantrasyonları eşitlenen RNA örneklerinden Real Time ve Reverse Transcriptase PCR çalışmaları için Reverse Transcriptase enzimi kullanılarak cDNA sentezi yapılmıştır. Xpert cDNA Synthesis Kit (Grisp Research, Portugal) ile gerçekleştirilen çalışmada üretici firma tarafından belirlenen aşağıda yer alan protokol takip edilmiştir.

- Her örnek için 0,5 ml'lik ependorf tüplerine;

dNTP mixture (10 mM each)	1 µl
Template RNA	1 µl
RNase free dsH ₂ O	14,5 µl
Oligo dT primer	1 µl ilave edilmiştir.
- Karışım eklenen ependorf tüpleri ısıtıcı blokta 65 °C'de 5 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur.
- Örnekler ısıtıcı bloktan alınarak 2 dakika buz içerisinde bekletilmiştir.
- Ardından ependorf tüplerine kit içerisinde yer alan;

5 X Reaction Buffer	4 µl
RNase İnhibitor (40 U/µl)	0,5 µl
Xpert RTase (200 U/µl)	1 µl eklenerek mikro pipet ile karıştırılmıştır.
- Ependorf içerisinde yer alan tüm karışım thermocycler cihazında 50 °C'de 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 85 °C'de 5 dakika bekletilerek cDNA hazırlanmıştır (Anonim, 2019b).

3.6.4. Moleküler Çalışmalarda Kullanılan Primerler

Serolojik çalışmalar sonucunda enfekteli olduğu saptanan kabakgil bitkilerinde *Watermelon mosaic virus Nib-CPg* gen, *Zucchini yellow mosaic virus* ve *Papaya ringspot virus-W'nün CP* gen bölgelerine spesifik oligonükleotitler Letgen Biyoteknoloji (İzmir) firmasından temin edilmiştir. Yapılan literatür taramalarıyla kabakgil virüslerinin varlığını ortaya çıkarmada kullanılan ve aşağıdaki Çizelge 3.2.'de belirtilen spesifik primer çiftleri tespit edilmiş olup bu primer çiftleri ile moleküler çalışmalar yürütülmüştür.

Çizelge 3.2. Moleküler çalışmalarda kullanılan oligonükleotitler

Primer	Nükleotit Dizilimi (5'-3')	Literatür
PRSV-W Forward	5'-TCTAAAAATGAAGCTGTGGA-3'	(Wang ve Yeh, 1998)
PRSV-W Reverse	5'-GTGCATGTCTCTGTTGACAT-3'	(Wang ve Yeh, 1998)
ZYMV Forward	5'-ACTGGCACGATACCTACAAGC-3'	(Yueh-Chwen, Tzu-Jung ve Ya-Chun, 2005)
ZYMV Reverse	5'-CTTGGCAGCTACTACTGTTTTC-3'	(Yueh-Chwen, vd., 2005)
WMV Forward	5'-GGCTTCTGAGCAAAGATG-3'	(Desbiez, Joannon, Wipf-scheibel, Chandeysson ve Lecoq, 2009)
WMV Reverse	5'-CCCAYCAACTGTYGGAAG-3'	(Desbiez, vd., 2009)

3.6.5. Real Time PCR Analizleri

Real Time PCR'da boyar madde olarak Roche (Almanya) marka Universal 480 SYBR Green I Mastermix kullanılmıştır. Çalışmada her bir örnek için aşağıda belirtilen Real Time PCR karışımı hazırlanmıştır (Anonim, 2019c).

- dsH₂O 4,2 µl
- Roche 480 SYBR Green I Mastermix 10 µl
- Primer Forward 10 µM 0,4 µl
- Primer Reverse 10 µM 0,4 µl
- cDNA 5 µl
- Toplam 20 µl

Çalışma Roche The LightCycler® 480 Real Time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Survey alanları ve serolojik çalışma sonuçlarının değerlendirilmesi sonucunda 30 adet bitki örneği seçilerek elde edilen cDNA'lar ile Real Time PCR çalışmaları yapılmıştır. Real Time PCR çalışmalarında serolojik testler ile hastalık etmeni viral patojenle enfekteli olduğu bilinen cDNA örnekleri pozitif kontrol olarak kullanılırken 15 µl PCR mixture karışımına 5 µl oranında nükleaz free water eklenerek negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan PCR mixture spin edilerek plate üzerindeki herbir kuyucuğa 15 µl ilave edilmiş ve 5 µl örnek

cDNA'sı ile 20 µl'lik hacime tamamlanmıştır. Hazırlanan plateler 2.000 rpm'de 1 dakika santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra Real Time PCR cihazına yerleştirilmiştir. PCR işleminde ise aşağıda belirtilen program kullanılmıştır (Anonim, 2019c).

- Başlangıç Denaturation 95 °C'de 10 dakika
- 40 Döngü (Cycles)
- Denaturation 95 °C'de 10 saniye
- Annealing 58 °C'de 10 saniye
- Extension 72 °C'de 15 saniye
- Final Extension 95 °C'de 10 saniye
- 60 °C'de 1 dakika
- Cooling 40 °C'de 30 saniye end (son).

3.6.6. Reverse Transcriptase (RT) PCR Analizleri

Kabakgil bitki örneklerinde tespit edilen viral patojenlerin filogenetik analizleri için ihtiyaç duyulan genomik materyalin üretilmesi amacıyla Reverse Transcriptase PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Seçilen 30 adet bitki örneğinden elde edilen cDNA'lar ile her bir cDNA örneği için *Zucchini yellow mosaic virus*, *Papaya ringspot virus-W CP* gen ve *Watermelon mosaic virus*'e ait *Nib-CP* gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak toplamda 90 adet olmak üzere her bir örnek için aşağıda belirtilen oranlarda PCR karışımları hazırlanmıştır. PCR karışımı Sambrook vd., (1989)'nin belirttiği protokolün modifikasyonu sonucu oluşturulmuş olup PCR şartları optimize edilmiştir. RT-PCR çalışmaları Letgen Biyoteknoloji (İzmir) firmasına hizmet alımı yöntemi ile yaptırılmıştır.

- | | |
|----------------------|--------|
| • dsH ₂ O | 5,7 µl |
| • MgCl ₂ | 2 µl |
| • 10X Taq Buffer | 5 µl |
| • dNTP Mixture | 2 µl |
| • Primer Forward | 2 µl |
| • Primer Reverse | 2 µl |
| • Taq Polimerase | 0,3 µl |
| • DNA | 1,0 µl |

- **Toplam** **20,0 µl**

Her örnek için toplamda 19 µl hazırlanan PCR karışımına 1 µl örneklerin cDNA'sı eklenerek 20 µl'lik örnekler 0,2 ml'lik tüplerde thermal cycler cihazına yerleştirilmiştir. PCR işleminde aşağıda yer alan program kullanılmıştır.

- Başlangıç Denaturation 95 °C'de 10 dakika
- 40 Döngü (Cycles)
- Denaturation 95 °C'de 10 saniye
- Annealing (primere göre değişken) 58 °C'de 10 saniye
- Extension 72 °C'de 15 saniye
- Final Extension 95 °C'de 10 saniye
- 60 °C'de 1 dakika
- Cooling 40 °C'de 30 saniye end (son).

3.6.6.1. Jel elektroforez çalışmaları

Reverse Transcriptase PCR amplifikasyonları sonucu Letgen Biyoteknoloji (İzmir) firmasından hizmet alımı ile üretilen örnekleri görüntülemek için beklenen ürün büyüklüğüne göre %1 veya %2'lik agaroz jeller hazırlanmıştır. Bunun için hazırlanan 30 ml'lik jel için:

Agarose	0,37 g
5XTBE (EK-7)	7,4 ml
dsH ₂ O	29,6 ml

Buffer (%1):

5XTBE (EK-7)	60,0 ml
dsH ₂ O	240,0 ml

Ethidium Bromide 4,0 µl kullanılmıştır (Sambrook, vd.1989).

Hazırlanan jel üzerindeki her bir kuyucuğa 5 µl PCR ürünü DNA, 3 µl loading dye (EK-8) ve 7 µl dsH₂O karışımından hazırlanan PCR ürünleri ile jeldeki ilk kuyucuklara 100 bp'lik ladder (molecular weight marker) yüklenmiştir. Daha sonra örnekler negatif (-) yükten pozitif (+) yüke doğru akım kaynağına bağlanarak jel tankının büyüklüğüne göre değişen 100 Volt/cm doğru akımda koşturulmuşlardır. Elektroforez işleminin tamamlanması ile jel görüntüleme sistemi kullanılarak görüntüleme işlemleri yapılmıştır.

3.6.7. Filogenetik Analizler

Serolojik testler ve Real time PCR çalışmaları ışığında seçilen virüs izolatlarının *CP* gen bölgelerinin kısmi nükleotid dizilerinin belirlenmesi amacıyla Letgen Biyoteknoloji (İzmir) firması tarafından hizmet alımı yöntemiyle İsviçre'de sekans analiz çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sekanslama çalışmalarında Sanger moleküler dizi belirleme yöntemi kullanılmış olup virüs izolatları çift yönlü sekanslama işlemine tabi tutulmuştur.

Virüs izolatlarının sekanlaması yapılan nükleotid kısmının, Gen Bankasına kayıtlı bazı WMV izolatlarıyla kıyaslanması amacıyla Mega 6 programı kullanılmıştır (Tamura, Stecher, Peterson, Filipski ve Kumar, 2013).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Survey Alanlarında Gözlenen Viral Enfeksiyon Belirtileri

2017 ile 2019 yıllarında yapılan survey çalışmalarında Tekirdağ ilindeki kabakgil bitkilerinin yetiştirildiği tarla ve sera üretim alanlarında kabak, hıyar, kavun ve karpuz bitkilerinde viral enfeksiyon belirtileri gözlenmiştir.

Bal kabağı ve diğer kabak çeşitlerinde bitki yapraklarında büyük oranda mozaik, yaprak renginde açılma, kloroz, yaprak dokularında deformasyon ve kabarcıklaşma oluşumları ile yapraklarda şekil bozuklukları (Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.) tespit edilmiştir. Kabak çeşitlerinde bitki genelinde bodurlaşma ile meyvelerinde şişkinlik, mozaik ve şekil bozukluğu (Şekil 4.3., Şekil 4.4., Şekil 4.5. ve Şekil 4.11.) belirtileri gözlenmiştir. Viral enfeksiyon belirtilerinin bir çok kabak bitkisinde sistemik enfeksiyon belirtilerine neden olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten toplanan bal kabağı yapraklarında mozaik ve renk açılması belirtileri



Şekil 4.2. Süleymanpaşa ilçesi Naip'te balkabağı meyvelerinde şekil bozukluğu ve kabarcık oluşumları



Şekil 4.3. Kabak bitkisi yapraklarında şiddetli mozaik ve kabarcıklaşma belirtileri



Şekil 4.4. Süleymanpaşa Naip'te kabak bitkilerinde mozaik ve yapraklarda kabarcıklaşma



Şekil 4.5. Süleymanpaşa Barbaros'ta kabak bitkilerinde sistemik mozaik belirtileri

Hıyar bitkilerinin yapraklarında mozaik belirtileri yüksek oranda bulunmuş olup meyvelerde şekil bozuklukları tespit edilmiştir. Genellikle sera alanlarında yetiştiricilik

yapıldığından viral enfeksiyon belirtileri diğer kabakgil türlerine oranla daha düşük düzeylerde tespit edilmiştir.

Kavun bitkilerinde yaprak ayasında sağlıklı bitkilere oranla küçülmeler ile yapraklarda kıvrıkcıklaşma, yapraklarda yüksek oranda mozaikleşme, sararma ve bitki boyunda bodurlaşma (Şekil 4.6., Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.) belirtileri gözlenmiştir. Viral enfeksiyon belirtilerinin kavun bitkilerinin genellikle genç yapraklarında yoğunlaştığı gözlenmiştir.



Şekil 4.6. Virüs ile enfekteli kavun bitkisi yaprağında mozaik ve yaprak ayasında küçülme belirtileri



Şekil 4.7. Süleymanpaşa Naip'te kavun yapraklarında gözlenen mozaikleşme, yapraklarda kıvrıkcıklaşma ve yaprak şekil bozukluğu



Şekil 4.8. Süleymanpaşa Ferhadanlı bölgesinde kavun ve karpuz ekim alanlarında virüs enfeksiyon belirtileri gösteren bitkilerin görünümü

Karpuz bitkilerinde yapraklarda kabarcık oluşumları ve lokal sararma belirtileri (Şekil 4.9. ve Şekil 4.10.) gözlenmiştir. Karpuz meyvelerinde herhangi bir virüs belirtisine rastlanmamıştır.



Şekil 4.9. Süleymanpaşa ilçesine bağlı Ferhadanlı'da karpuz bitki yapraklarında mozaik ve kabarcıklaşma



Şekil 4.10. Süleymanpaşa Ferhadanlı'da karpuz bitkilerinde mozaik ve yapraklarda kıvrılma oluşumları



Şekil 4.11. Muratlı ilçesinde su kabağı bitkisinin meyvesinde mozaik görünümü

4.2. Mekanik İnokulasyon Sonuçları

Tekirdağ ilindeki kabakgil üretim alanlarından toplanan viral enfeksiyon belirtilerine sahip bitki örneklerinden yapılan mekanik taşıma çalışmaları ile yetiştirilen bir çok indikatör bitkide (Şekil 4.12.) virüs belirtileri tespit edilmiştir.

Yapılan gözlemler sonucunda Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten toplanan balkabağı örneğinden (2017/3 nolu tarla) gerçekleştirilen taşınma sonucunda kabak bitkisinde mozaik belirtileri (Şekil 4.13.) ortaya çıkmıştır. Ayrıca Naip'ten toplanan(2017/3 nolu tarla)kabak örneğinden yapılan taşıma çalışmasında kabakta sararma belirtileri (Şekil 4.14., Şekil 4.15. ve Şekil 4.16.) gözlenmiştir. Ferhadanlı'dan toplanan (2017/4 nolu tarla)kavun örneklerinden mekanik inokulasyon sonucu indikatör bitkiler üzerinde şekil bozukluğu ve yapraklarında kabarcıklaşma (Şekil 4.17. ve Şekil 4.18.) şeklinde belirtiler gözlenmiştir.



Şekil 4.12.Mekanik yolla inokule edilmiş kabak bitkisi



Şekil 4.13. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten toplanan (2017/3 nolu tarla) balkabağı bitkisinden inokule edilen indikatör kabak bitkisi yapraklarında hafif mozaik belirtiler



Şekil 4.14. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten(2017/3 nolu tarla) balkabağı bitkisinden inokule edilen kabak bitkisinde renk açılması belirtileri



Şekil 4.15. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten (2017/3 nolu tarla) balkabağı bitkisinden inokule edilen indikatör kabak bitkisi yapraklarında ortaya çıkan hafif sararmalar



Şekil 4.16. Süleymanpaşa ilçesi Naip'ten (2017/3 nolu tarla) bal kabağı bitkisinden inokule edilen indikatör kabak bitki yapraklarında ortaya çıkansararma belirtileri



Şekil 4.17. Süleymanpaşa ilçesi Ferhadanlı'dan(2017/ 4 nolu tarla) kavun bitkilerindeki viral enfeksiyonların indikatör bitkiler üzerindeki yaprak kabarcıklaşma belirtileri



Şekil 4.18. Süleymanpaşa ilçesi Ferhadanlı'dan toplanan kavun bitkisinden (2017/4 nolu tarla) yapılan inokulasyon sonucu indikatör kabak bitkisinde oluşan şekil bozukluğu görünümü

4.3. Serolojik Test Bulguları

Tekirdağ ilinde yapılan survey çalışmalarında viral enfeksiyon belirtileri gözlenen bitki örnekleri kullanılarak *Zucchini yellow mosaic virus*, *Papaya ringspot virus-W* ve *Watermelon mosaic virus* patojenlerine karşı geliştirilen spesifik antiserumlar ile DAS-ELISA testleri gerçekleştirilmiştir.

Serolojik çalışmalar sonucunda 180 adet bitki örneğinin test edilmesi sonucunda örneklerin % 4,44 oranında *Watermelon mosaic virus* ile bulaşık oldukları saptanmıştır. Süleymanpaşa ilçesine bağlı Naip'ten toplanan örneklerin 8 adedinde *Watermelon mosaic virus* patojeni ile pozitif reaksiyonlar tespit edilmiştir. Kabakgil bitki grubu içerisinde değerlendirildiğinde ise *Watermelon mosaic virus* patojeni ile enfekteli bitki türlerinin balkabağı ve hıyar bitkileri olduğu belirlenmiştir.

4.4. Moleküler Çalışma Bulguları

Serolojik çalışmalar ile viral enfeksiyon tespit edilen ve yapılan mekanik inokulasyon çalışmaları kapsamında survey alanlarındaki gözlemlerin değerlendirilmeleri sonucunda seçilen 30 adet bitki örneği tanılama hassasiyet oranının yüksekliği nedeni ile moleküler tanılama yöntemleri kullanılarak test edilmiştir.

4.4.1. Real Time PCR Sonuçları

Potyvirus türlerinin teşhisinde önemli bir rol oynayan *Nib-CP* ve *CP* gen bölgelerine ait spesifik primerler kullanılarak serolojik bulgular ve survey gözlemleri dikkate alınarak seçilen 30 bitki örneğine (Çizelge 4.1.) ait cDNA örneklerinin kullanılması ile Real Time PCR çalışması gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.1. PCR çalışmalarında kullanılan kabakgil bitki örnekleri

Bitki Türü	Tarla No / Örnek No	Lokasyon	Toplanma Tarihi
Kavun	1 / 4	Süleymanpaşa, Dedeçik	2017
Balkabağı	3 / 18	Süleymanpaşa, Naip	2017
Balkabağı	3 / 20	Süleymanpaşa, Naip	2017
Balkabağı	3 / 23	Süleymanpaşa, Naip	2017
Balkabağı	3 / 25	Süleymanpaşa, Naip	2017
Sakız kabağı	6 / 1	Süleymanpaşa, Barbaros	2019
Bal kabağı	7 / 2	Süleymanpaşa, Naip	2019
Bal kabağı	7 / 5	Süleymanpaşa, Naip	2019
Bal kabağı	7 / 8	Süleymanpaşa, Naip	2019
Bal kabağı	7 / 9	Süleymanpaşa, Naip	2019
Bal kabağı	7 / 10	Süleymanpaşa, Naip	2019
Kavun	8 / 14	Süleymanpaşa, Naip	2019
Hıyar	9 / 24	Süleymanpaşa, Naip	2019

Çizelge 4.1. (Devam)

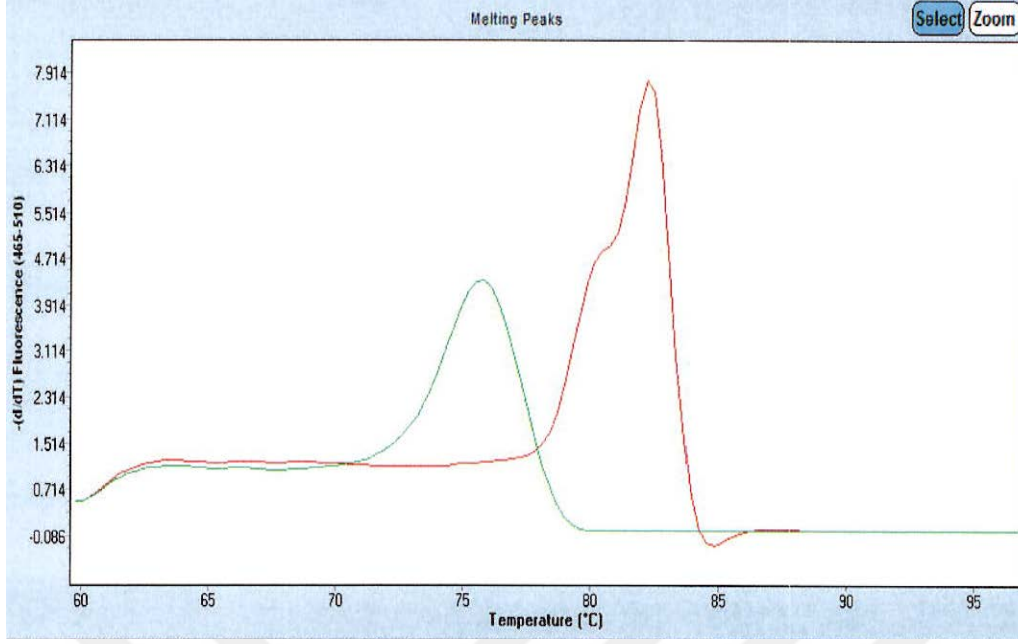
Hıyar	9 / 26	Süleymanpaşa, Naip	2019
Hıyar	9 / 28	Süleymanpaşa, Naip	2019
Hıyar	13 / 46	Süleymanpaşa, Ferhadanlı	2019
Kavun	15 / 50	Süleymanpaşa, Ferhadanlı	2019
Sakız kabağı	12 / 54	Süleymanpaşa, Ferhadanlı	2019
Kavun	19 / 63	Süleymanpaşa, Tatarlı	2019
Bal kabağı	19 / 64	Süleymanpaşa, Tatarlı	2019
Bal kabağı	20 / 71	Malkara, Sağlamtaş	2019
Bal kabağı	21 / 72	Malkara, Çınarlıdere	2019
Kavun	22 / 75	Şarköy, Ulaman	2019
Sakız kabağı	22 / 80	Şarköy, Ulaman	2019
Kavun	23 / 86	Şarköy, Ulaman	2019
Bal kabağı	23 / 91	Şarköy, Ulaman	2019

Çizelge 4.1. (Devam)

Hıyar	24 / 94	Şarköy, Yeniköy	2019
Kavun	25 / 103	Malkara, Ahievran	2019
Kavun	26 / 106	Malkara, Ahievran	2019
Hıyar	26 / 112	Malkara, Ahievran	2019

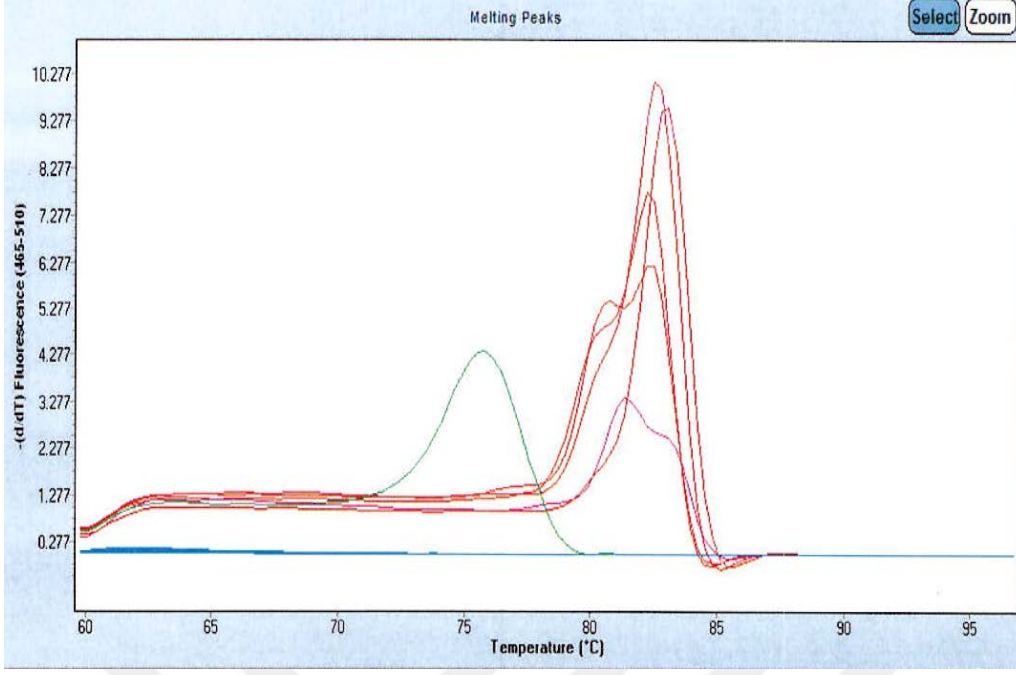
Yapılan değerlendirmeler kapsamında serolojik testlerde yüksek absorpsiyon değerleri belirlenen *Watermelon mosaic virus* izolatlarının pozitif kontrol olarak kullanılması ile 30 adet kabakgil cDNA örneği WMV'ye ait CP gen bölgelerine spesifik primerler ile ölçümlenmiştir. Real Time PCR teknolojisinde SYBR Green floresan çoğaltılmak istenen genom bölgesine bağlanması ile üretilen amplifikasyon ürün oranındaki yükselişle herbir döngüde 2 kat cDNA artışına bağlı olarak floresan miktarı artmaktadır.

Gerçekleştirilen Real Time PCR çalışmaları ile serolojik testlerde düşük absorpsiyon değerleri nedeni ile enfeksiyon tespit edilemeyen kabakgil bitki örneklerinde *Watermelon mosaic virus* enfeksiyonları kantitatif olarak belirlenmiştir. Yapılan Real Time PCR çalışmaları sonucunda test edilen kabakgil bitki örneklerine ait amplifikasyon ürünlerinin karşılaştırılmalarında melting curve (erime eğrileri) (Şekil 4.19.) ve amplifikasyon eğri grafikleri (Şekil 4.21 ve Şekil 4.23.) değerlendirilmiştir.

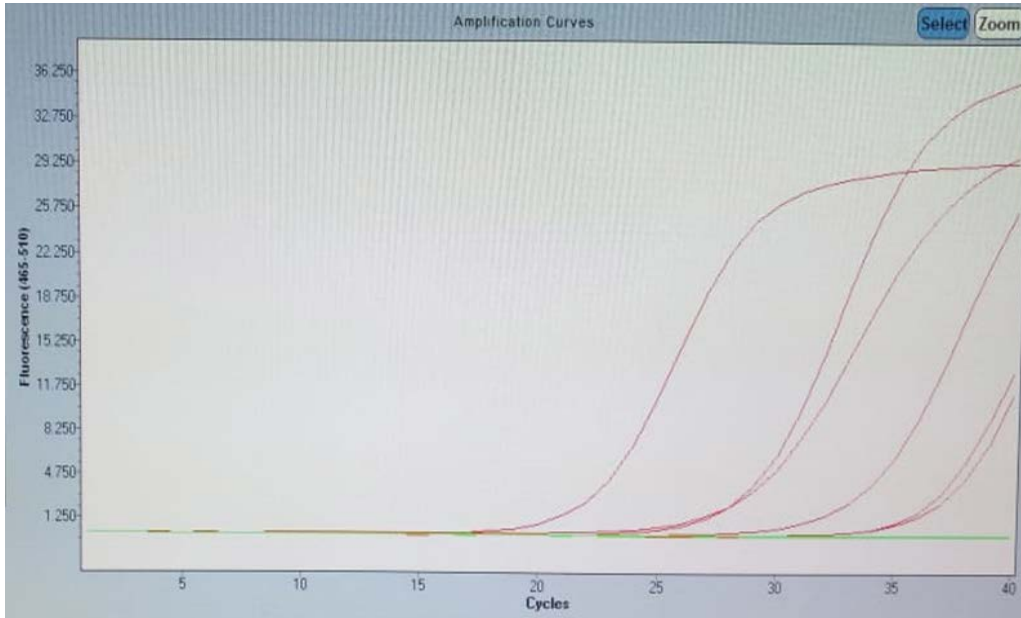


Şekil 4.19. Kırmızı: WMV ile enfekteli 2019-2 nolu Naip balkabağı örneğine ait melting curve eğrisi, Yeşil: Negatif Kontrol

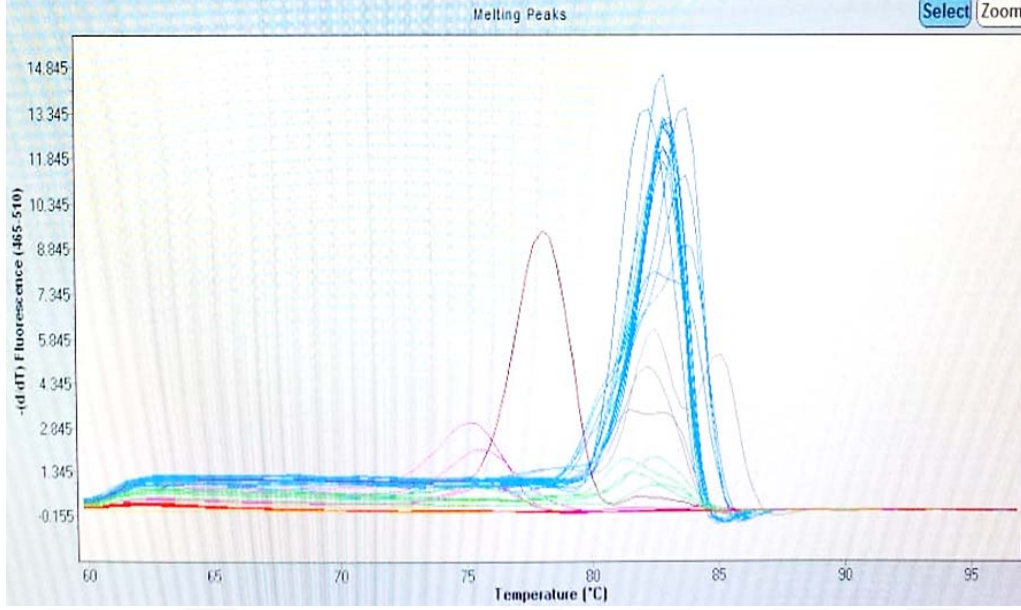
Real Time PCR sırasında hedef DNA'nın bulunmadığı ortamda primerlerin birbirleri ile bağlanmaları sonucunda çift zincirli DNA molekülü PCR ürünüde oluşabilmektedir. Primer dimer olarak adlandırılan bu işlem ile ortamda yanıltıcı olarak floresan ışımaya gözlenebilmektedir. Bu olumsuzlukların giderilmesi amacıyla PCR ile çoğaltılan DNA ürününün istenilen gen bölgesi olduğunu belirlemek için PCR ürünü DNA'ların melting curve olarak adlandırılan erime eğri analizlerinin incelenmesi gerekmektedir. DNA ürünlerinin büyüklükleri ve içerdikleri Guanin Sitozin / Adenin Timin baz oranına bağlı olarak erime sıcaklığı (melting temperature) değişkenlik göstermektedir. Dolayısı ile PCR cihazında meydana gelen sıcaklık artışı ile birlikte floresan boya serbest forma geçerek ürün üzerinde okunan floresan miktarı düşüş göstermektedir. Real Time PCR cihazında bu işlem ile DNA dizilerinin karşılaştırılmaları sağlanarak gruplandırma işlemleri yapılabilmektedir (Günel, 2007).



Şekil 4.20. Kırmızı: WMV ile enfekteli 2019- 2, 5, 8, 9 ve 10 nolu Naip balkabağı örneğine ait melting curve eğrisi; Mavi: 2017 yılında toplanan 4 adet kabakgil örneğine ait melting curve eğrisi; Yeşil: Negatif Kontrol

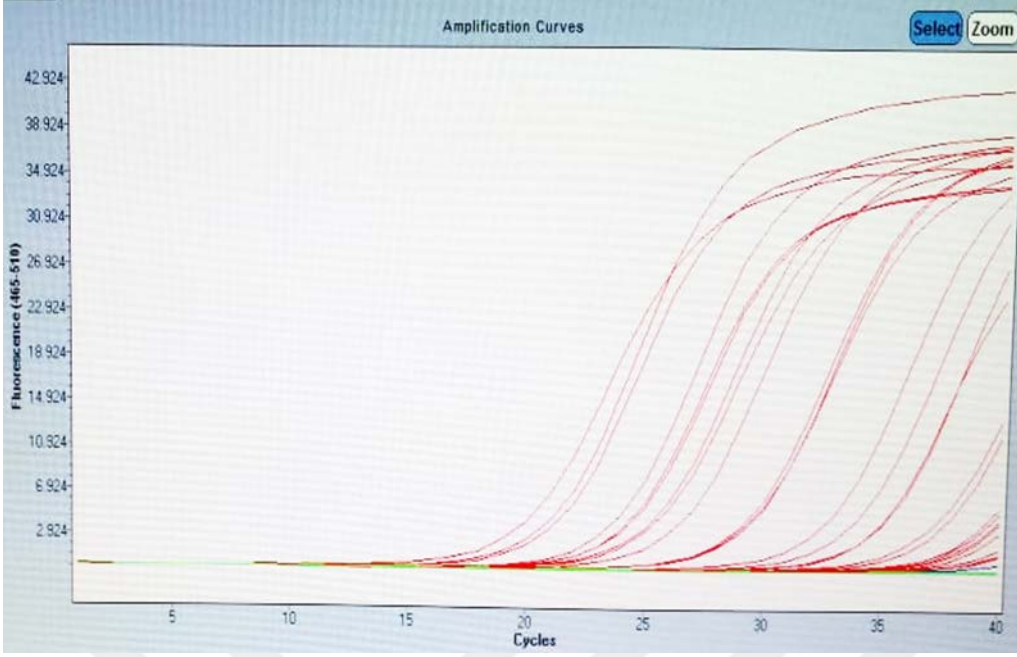


Şekil 4.21. Real Time PCR Naip bal kabağı örneklerine ait amplifikasyon eğrileri; Kırmızı: 2019- 2, 5, 8, 9, 10 nolu örnekler, Yeşil: Negatif Kontrol



Şekil 4.22. Real Time PCR melting curve analiz eğrileri; Mavi: WMV pozitif cDNA örnekleri, Kırmızı: Negatif Kontrol

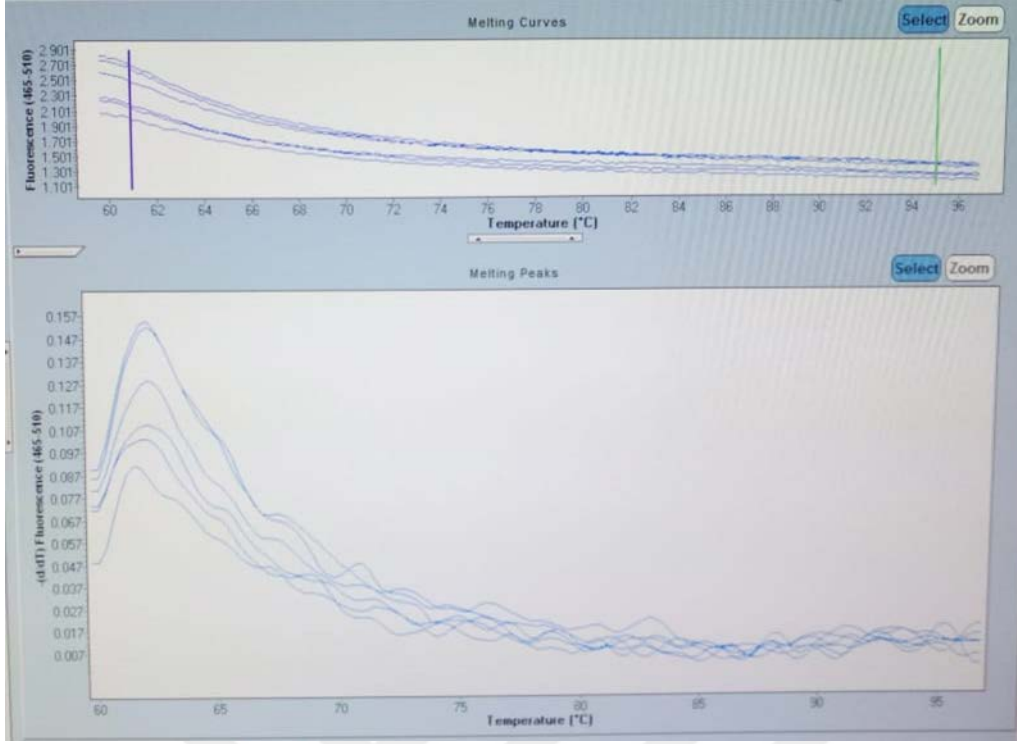
Melting curve eğrileri değerlendirildiğinde (Şekil 4.20. ve Şekil 4.22.) 2019 yılında toplanan 2, 5, 8, 9, 10 nolu Süleymanpaşa, Naip'ten toplanan balkabağı örnekleri ile Naip'teki sera alanlarından toplanan 24, 26, 28 nolu hıyar bitkilerine ve Ferhadanlı'dan alınan 50 nolu kavun örneğine ait Real Time PCR ürünleri WMV ile pozitif bulunmuştur (Şekil 4.21. ve 4.23.). Tatarlı'dan toplanan 63 nolu bal kabağı ve 64 nolu kavun örneklerinde WMV tespit edilmiştir. Malkara ilçesine bağlı Sağlamtaş'tan alınan 71 nolu bal kabağı ve Çınarlıdere'den toplanan 72 nolu bal kabağı örnekleri ile Şarköy ilçesine bağlı Ulaman'dan toplanan 75 nolu kavun, 80 nolu kabak ile 2017 yılında Süleymanpaşa, Naip'ten toplanan kabak örneğinde *Watermelon mosaic virus* tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. Real Time PCR amplifikasyonları; Kırmızı: 30 adet kabakgil örneği, Yeşil: Negatif Kontrol

Watermelon mosaic virus'ün *NIb-CP* gen bölgesine spesifik primerler ile kısmi amplifikasyonu sonucunda 16 adet kabakgil bitki örneğinde *Watermelon mosaic virus* tespit edilmiştir.

Enfekteli örnekler survey çalışmaları ile karşılaştırıldığında Süleymanpaşa, Şarköy ve Malkara ilçelerinden toplanan kabakgil bitkilerinde *Watermelon mosaic virus* enfeksiyonlarının yoğun olarak bulunduğu belirlenmiştir. Süleymanpaşa ilçesindeki Naip'ten yer alan bal kabağı ve hıyar, Ferhadanlı'dan toplanan kavun bitki örneklerinde WMV tespit edilirken, Tatarlı'dan alınan bal kabağı ve kavun bitki örnekleri, Malkara ilçesi Sağlamtaş ve Çınarlıdere'den toplanan bal kabağı bitkileri ile Şarköy ilçesi Ulaman'dan toplanan kavun ve kabak bitki örneklerinde virüs enfeksiyonu bulunmuştur. Ayrıca 2017 yılında Süleymanpaşa, Naip'ten toplanan kabak bitki örneği *Watermelon mosaic virus* ile enfekteli bulunmuştur.



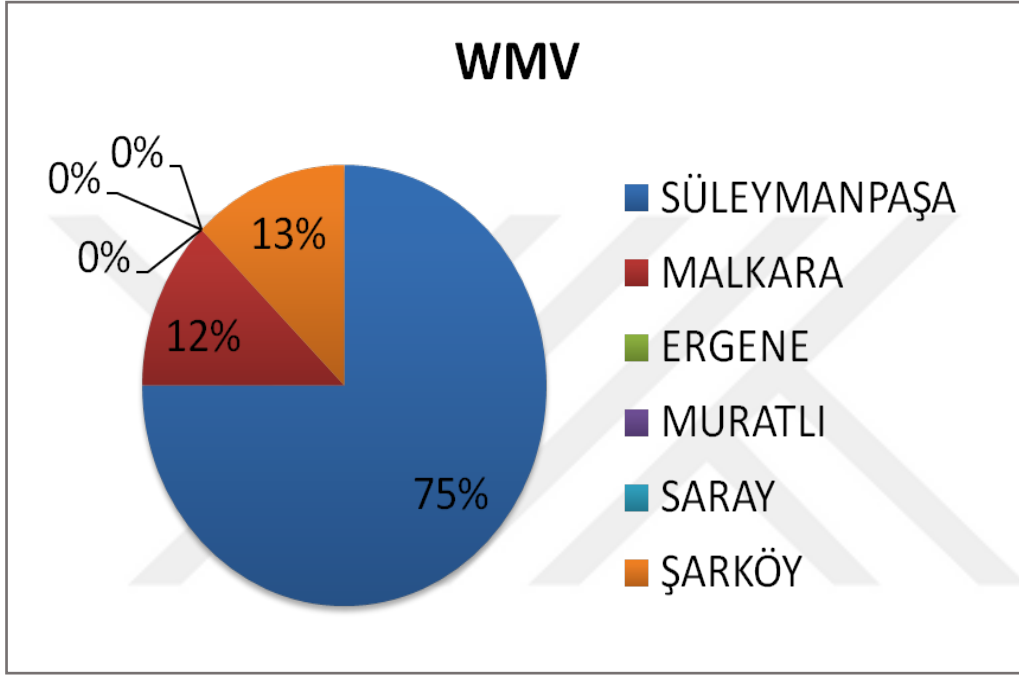
Şekil 4.24. ZYMV primer ile gerçekleştirilen Real Time PCR melting curve eğrileri

Zucchini yellow mosaic virus ve *Papaya ringspot virus-W* ile Real Time PCR çalışmaları pozitif kontrol elde edilemediğinden istenen düzeyde gerçekleştirilememiştir. ZYMV patojenine spesifik primerler ile yapılan çalışmalarda melting curve ve amplifikasyon eğrileri (Şekil 4.24.) saptanamamıştır.

4.4.2. Reverse Transcriptase PCR Bulguları

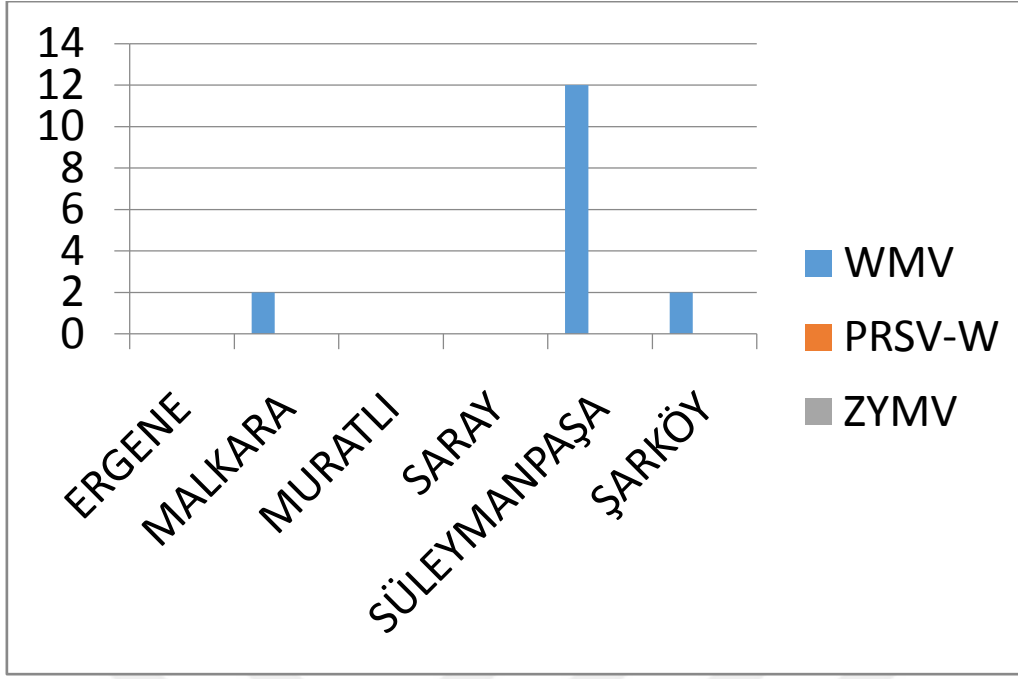
Serolojik testler ve Real Time PCR çalışmaları kapsamında viral enfeksiyon bulunma durumunun tespit edilmesi amacıyla 30 adet bitki örneğine ait cDNA'lar ile Reverse Transcriptase PCR çalışmaları Letgen Biyoteknoloji (İzmir) firması tarafından gerçekleştirilmiştir. Reverse Transcriptase PCR işlemlerinde 30 adet cDNA örneği Real Time PCR çalışmalarında da kullanılan gen bölgelerine spesifik aynı primerler ile (*Watermelon mosaic virus (Nib-CP)*, *Zucchini yellow mosaic virus* ve *Papaya ringspot virus-W (CP)*'üne ait) amplifikasyona tabi tutulmuşlardır. Reverse Transcriptase PCR çalışmalarında *Watermelon mosaic virus*, Süleymanpaşa ilçesindeki Naip bölgesinde yer alan bal kabağı ve

hıyar, Ferhadanlı bölgesinden toplanan kavun bitkileri ile Tatarlı bölgesindeki bal kabağı ve kavun bitki örnekleri, Malkara ilçesi Sağlantaş ve Çınarlıdere'den toplanan bal kabağı bitkileri ile Şarköy ilçesi Ulaman'dan toplanan kavun ve kabak bitki örneklerinde tespit edilmiştir. 2017 yılında Süleymanpaşa, Naip'ten toplanan kabak bitki örneğinde de WMV belirlenmiştir.



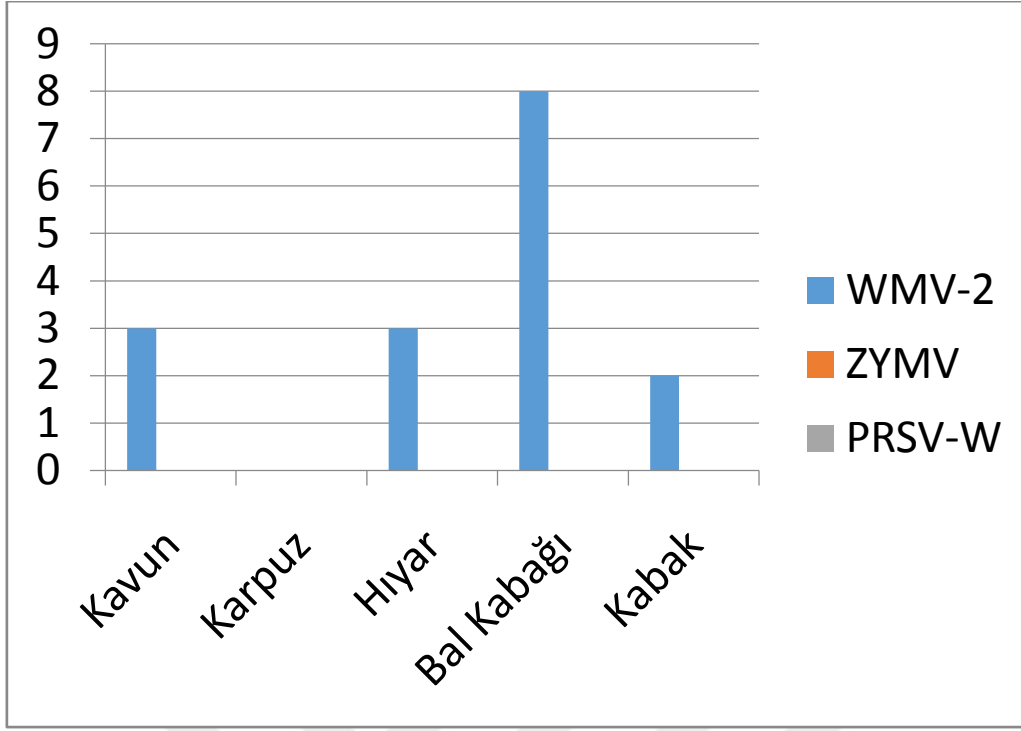
Şekil 4.25. *Watermelon mosaic virus* tespit edilen kabakgil bitki örneklerinin ilçe bazlı dağılım grafiği

Elde edilen bulgular lokasyon bazında değerlendirildiğinde (Şekil 4.25.) testlenen 30 adet bitki örneğinden *Watermelon mosaic virus* ile enfekteli olduğu belirlenen 16 adet bitki örneğinin %75'i Süleymanpaşa ilçesindeki üretim alanlarından izole edilirken, %12 oranı ile Malkara ilçesinden elde edilen örnekler ve %13 düzeyinde ise Şarköy ilçesindeki kabakgil üretim alanlarından toplanan bitki örneklerinden izole edilmiştir. Ergene, Muratlı ve Saray ilçelerinden toplanan bitki örneklerinde virüs enfeksiyon belirtileri gözlenmesine karşın çalışmada araştırılan virüsler tespit edilememiştir (Şekil 4.25.).



Şekil 4.26. *Watermelon mosaic virus* tespit edilen kabakgil bitki örneklerinin ilçe düzeyindeki sayıları

PCR çalışmaları sonucunda (Şekil 4.26.) Süleymanpaşa ilçesinden toplanan 12 bitki örneği, Malkara'dan toplanan 2 ve Şarköy ilçesinden ise 2 adet bitki örneğinde WMV enfeksiyonu belirlenmiştir (Şekil 4.26.).



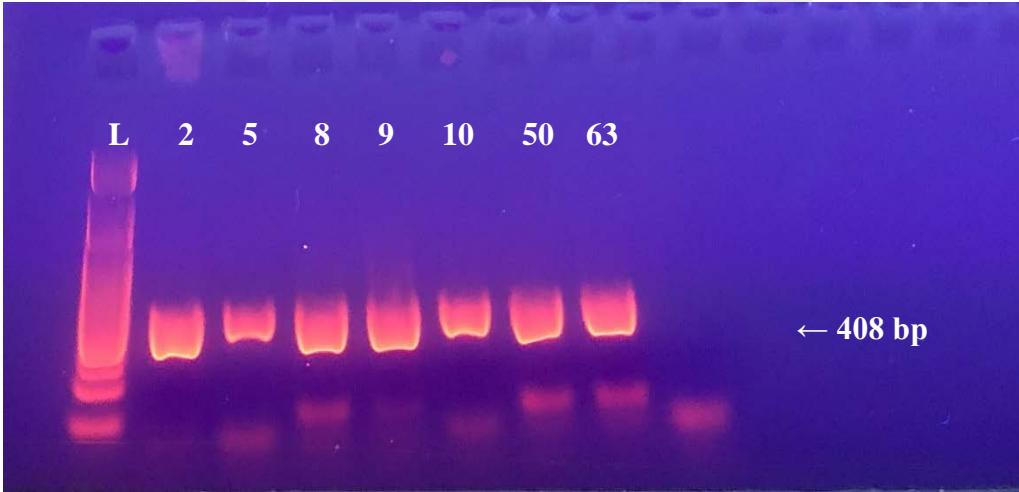
Şekil 4.27. Virüs enfeksiyonlarının bitki türlerine göre dağılımı

Yapılan serolojik ve moleküler çalışmalar kapsamında WMVenfeksiyonu tespit edilen 16 adet bitki örneği değerlendirildiğinde (Şekil 4.27.) 7 adet bal kabağı, 3 adet kavun, 3 adet hıyar ve 2 adet kabak bitkisinde enfeksiyon tespit edilirken, karpuz bitkilerinde ise testlenen 3 adet patojen ile ilgili herhangi bir enfeksiyon belirlenememiştir. Karpuz bitkilerinde herhangi bir viral patojenin belirlenememesi survey çalışmaları sırasında nispeten daha az sayıda örnekleme yapılması ile alınan örneklerde diğer bitki türlerine oranla viral enfeksiyon belirtilerinin çok daha düşük oranda bulunması ve görünür belirtilere sahip bitki örneklerinin farklı kabakgil virüsleri ile enfekteli olabilme durumuna bağlanmaktadır (Şekil 4.27.).

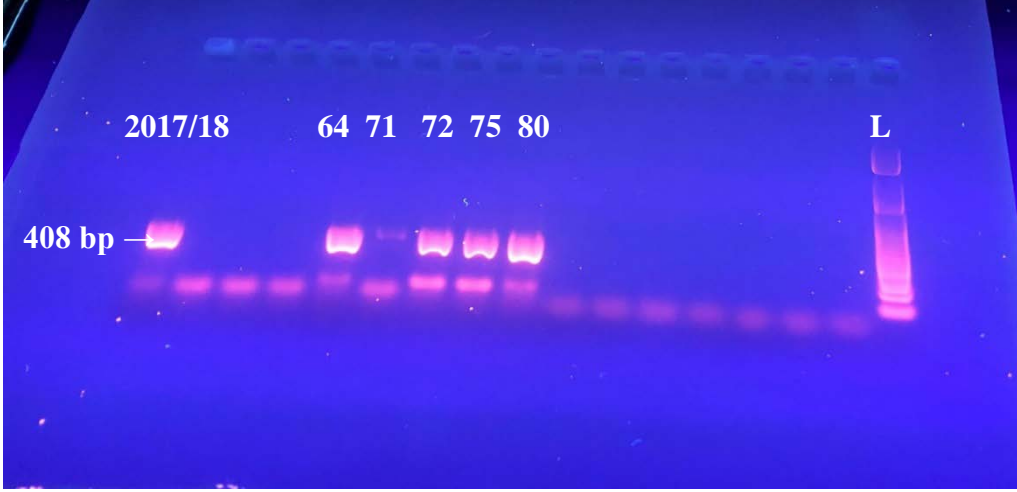
Pozitif olarak bulunan bitki örnekleri tarla bazlı değerlendirildiğinde ise 2017 yılında Süleymanpaşa Naip'teki 3 nolu tarladan toplanan 1 adet bal kabağı bitkisinde 2019 yılında toplanan örneklerde ise Süleymanpaşa Naip'te örnekleme yapılan 7 nolu tarladan toplanan 5 adet balkabağı bitkisi ile 9 nolu sera alanından toplanan 3 adet hıyar bitkisinde, Ferhadanlı bölgesinde 15 nolu tarladan toplanan 1 adet kavun örneğinde ve Tatarlı bölgesinde ise 19 nolu tarladan toplanan 1 adet bal kabağı ve 1 adet kavun örneğinde WMV tespit edilmiştir. Malkara ilçesinden toplanan örnekler değerlendirildiğinde ise Sağlamtaş'tan 20 nolu tarladan

toplanan 1 adet bal kabağı, Çınarlıdere'de 21 nolu tarladan toplanan balkabağı örneğinde WMV belirlenmiştir. Şarköy ilçesinden ise Ulaman'daki 22 nolu tarladan toplanan 1 adet kavun ve 1 adet kabak örneklerinde WMV tespit edilmiştir.

Yapılan Reverse Transcriptase PCR çalışmaları ile çoğaltılan DNA amplifikasyon ürünleri Real Time PCR sonuçları ile büyük oranda benzerlik göstermiştir. Reverse Transcriptase PCR çalışmaları kapsamında testlenen 30 adet kabakgil cDNA örneklerinde ise *Zucchini yellow mosaic virus* ile *Papaya ringspot virus-W* hastalık etmenlerine ait jel elektroforez çalışmalarında herhangi bir bant oluşumu gözlenmemiştir. Elde edilen amplifikasyon ürünlerinin hazırlanan elektroforez jelde doğru akımda yürütülmeleri ile *Watermelon mosaic virus*'ünün tespit edildiği agaroz jel görüntüleri aşağıda yer alan Şekil 4.28. ve Şekil 4.29.'da verilmiştir.



Şekil 4.28. Çalışmada WMV'nin *Nib-CP* genomuna spesifik oligonükleotitler kullanılarak gerçekleştirilen RT PCR amplifikasyonlarının %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri (2, 5, 8, 9, 10, 50, 63 nolu örnekler, L: 100 bp'lık Ladder)



Şekil 4.29. Çalışmada WMV'nin *Nib-CP* genomuna spesifik oligonükleotitler kullanılarak gerçekleştirilen RT PCR amplifikasyonlarının %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri (64, 71, 72, 75, 80, 2017/18 nolu örnekler L: 100 bp'lık Ladder)

Jel elektroforez çalışmaları gerçekleştirilen RT PCR ürünlerinde *Watermelon mosaic virus*'üne ait *Nib-CP* gen bölgesinin Forward 5'-GGCTTCTGAGCAAAGATG-3' ve Reverse 5'-CCCACTCAACTGTGGGAAG-3' (Desbiez, vd., 2009) oligonükleotitleri ile gerçekleştirilen amplifikasyonlar sonucunda yaklaşık 408 bp uzunluğunda genomik bantlar elde edilmiştir.

4.5. Moleküler Dizi ve Filogenetik Analiz Sonuçları

Real Time PCR ve Reverse Transcriptase PCR teknolojileri kullanılarak Tekirdağ ilinden izole edilen 13 adet WMV izolatlarının genom yapılarındaki *Nib-CP* gen bölgesine ait nükleotit dizileri sanger sekans analiz tekniği ile çift yönlü olarak bulunmuştur.

Elde edilen cDNA'ların PCR test sonuçlarında belirlenen DNA ürünlerinin sekans analizleri yapılarak WMV izolatlarının moleküler kıyaslamaları yapılmıştır.

Tekirdağ ilinde toplanıp sekans analizleri sonucunda WMV izolatları kıyaslaması sonucunda TR-Tn2 (GenBank accession no. MT448602), TR-Tn5 (GenBank accession no. MT448603), TR-Tn8 (GenBank accession no. MT448604), TR-Tn9 (GenBank accession no. MT448605), TR-Tn10 (GenBank accession no. MT448606), TR-Tn18 (GenBank accession no. MT448607), TR-Tu75 (GenBank accession no. MT448612) ve TR-Tu80 (GenBank accession no. MT448613) (% 100- 98,2 benzer) bir grup, TR-Tf50 (GenBank accession no. MT448610), TR-Ta63 (GenBank accession no. MT448608), TR-Ta64 (GenBank accession

no. MT448609) ve TR-Ts71 (GenBank accession no. MT448611) (%100-98,9 benzer) ayrı bir grup oluşturmuştur (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tn2 (MT448602) izolatu 342 nükleotid kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile % 99,7, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile % 98,5, Türkiye'den TURK91 (EU660579, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile % 98, Fransa'dan C05-464izolatu (JF273459, Desbiez, Joannon, Wipf-Scheibel, Chandeysson ve Lecoq, 2011) ile %97,7, Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %97,1 ve Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali, Natsuaki ve Okuda, 2006) izolatu ile %95 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tn5 (MT448603) izolatu 342 nt kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile % 99,4, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile % 98,2, Türkiye'den TURK91 (EU660579, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile % 97,7, Fransa'dan C05-464 izolatu (JF273459, Desbiez vd. 2011)) ile %97,4, Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %97,1 ve Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali vd. 2006) izolatu ile %94,7 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tn8 (MT448604) ve WMV TR-Tn9 (MT448605) izolatlarının342 nt kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %99,4, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %98,2, Türkiye'den TURK91 (EU660579, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %97,7, Fransa'dan C05-464 izolatu (JF273459, Desbiez vd. 2011) ile %97,4, Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %96,8 ve Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali vd. 2006) izolatu ile %94,7 oranında benzerlik göstermişlerdir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tn10 (MT448606) izolatu 342 nt kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %99,7, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %98,5, Türkiye'den TURK91 (EU660579) izolatu ile %98, Fransa'dan C05-464 izolatu (JF273459, Desbiez vd. 2011) ile %97,7, Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez

ve Lecoq, 2008) izolatu ile %97,1, Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali vd. 2006) izolatu ile %95,3 ve Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang, Beck, Gardner ve Pearson, 1993) ile %90,1 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tn18 (MT448607) nolu izolatu 342 nt kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %99,7, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %98,5, Türkiye'den TURK91 (EU660579, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %98, Fransa'dan C05-464 izolatu (JF273459, Desbiez vd. 2011) ile %97,7, Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %97,1, Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali vd. 2006) izolatu ile %95 ve Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang vd. 1993) ile %90,4 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Ferhadanlı mahallesinden alınan WMV TR-Tf50 (MT448610) izolatu 348 nt kıyaslamaları sonucunda Güney Kore'den Watermelon izolatu (AB369278, Choi, Sohn, Park, Kim, Lee, Ryu ve Choi, yayınlanmamış) ile %98, Çin'den Ch99/69 (EF127832, Gu, Peng, Liu ve Meng, yayınlanmamış) ve WMV-CHN (DQ399708, Wu, Zhang, Wang, Luo, Wang ve Yang, yayınlanmamış) izolatları ile %97,4, Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim, Kim, Kwak, Byun ve Choi, yayınlanmamış) ve Japonya'dan S96-6 (AB353119, Yamamoto ve Fuji, 2008) izolatları ile %92,2, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %91,2, Amerika'dan USA izolatu (D13913, Quemada, Sieu, Siemieniak, Gonsalves ve Slightom, 1990) ile %86,8 ve Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang vd. 1993) ile %86,3 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Tatarlı mahallesinden alınan WMV TR-Ta63 (MT448608)ve WMV TR-Ta64 (MT448609) izolatları 348 nt kıyaslamaları Güney Kore'den Watermelon izolatu (AB369278, Choi vd. yayınlanmamış) ile 98,2, WMV-CHN (DQ399708, Wu vd., yayınlanmamış) izolatları ile %97,7, Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim vd. yayınlanmamış) ile %93,1, Japonya'dan S96-6 (AB353119, Yamamoto ve Fuji, 2008) izolatu ile %92,5, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %90,9, Amerika'dan USA izolatu (D13913, Quemada vd. 1990) ile %87,1 ve Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang vd. 1993) ile %86,5 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Malkara ilçesi Sağlamtaş mahallesinden alınan WMV TR-Ts71 (MT448611)izolatu 348 nt kıyaslamaları Güney Kore'den Watermelon izolatu (AB369278,

Choi vd. yayınlanmamış) ile %98,5, WMV-CHN (DQ399708,Wu vd., yayınlanmamış) izolatları ile %98, Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim vd. yayınlanmamış) ile %93,4, Japonya'dan S96-6 (AB353119, Yamamoto ve Fuji, 2008) izolatu ile %92,8, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %91,2, Amerika'dan USA izolatu (D13913, Quemada vd. 1990) ile %87,4 ve Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang vd. 1993) ile %86,8 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

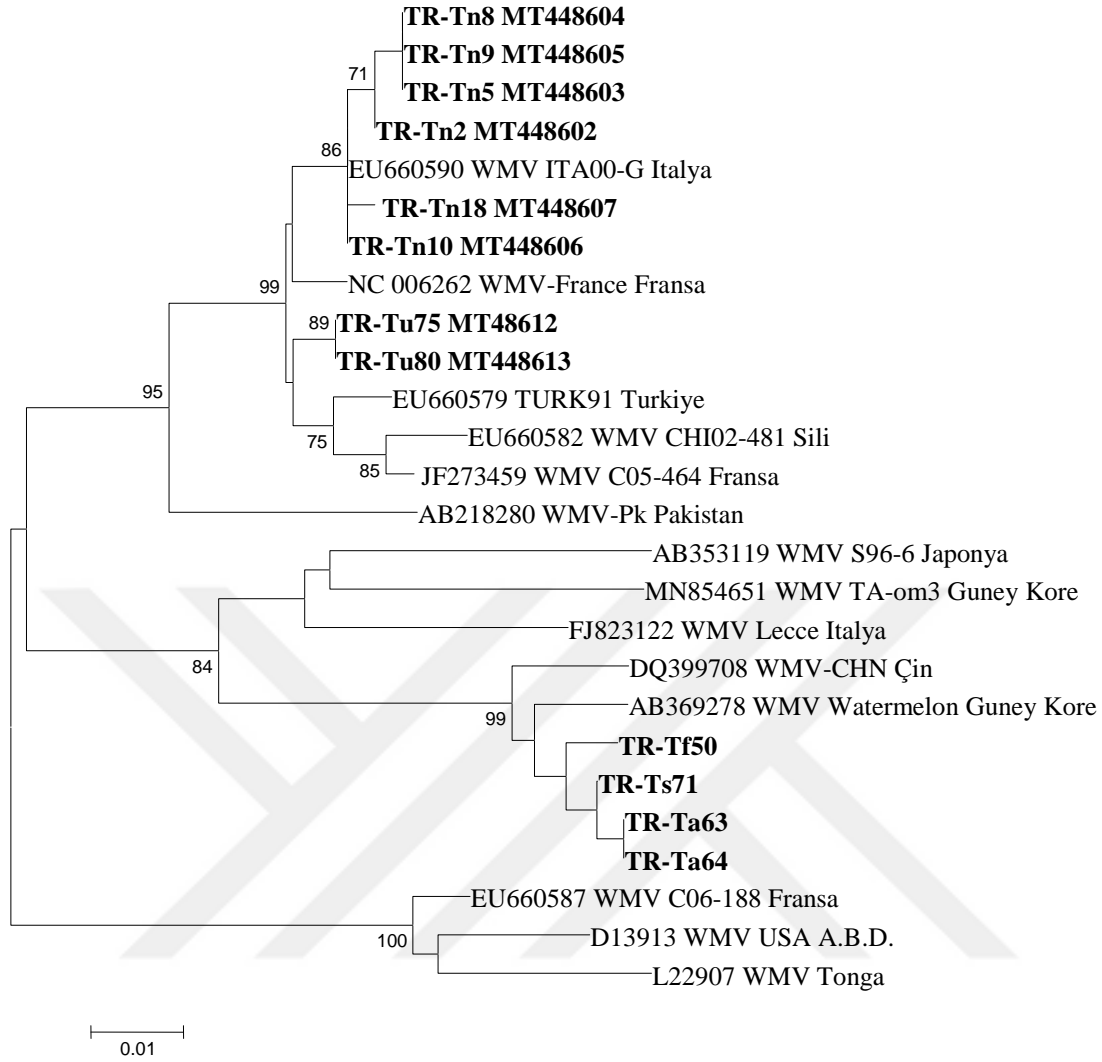
Çizelge 4.2. Genomik kıyaslamada kullanılan izolatlar

İzolat Adı	Gen Bank No	İzole Edildiği Bitki	Ülke
TR-Tn2	MT448602*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Tn5	MT448603*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Tn8	MT448604*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Tn9	MT448605*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Tn10	MT448606*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Tn18	MT448607*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Tu75	MT448612*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Tu80	MT448613*	<i>Cucurbita pepo</i>	Türkiye
TR-Tf50	MT448610*	<i>Cucumis melo</i>	Türkiye
TR-Ta63	MT448608*	<i>Cucumis melo</i>	Türkiye
TR-Ta64	MT448609*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
TR-Ts71	MT448611*	<i>Cucurbita moschata</i>	Türkiye
WMV ITA00-G	EU660590	<i>Cucurbita pepo</i>	İtalya
Lecce	823122	<i>Citrullus lanatus</i>	İtalya
France	NC_006262	<i>Citrullus lanatus</i>	Fransa
TURK91	EU660579	Bilinmiyor	Türkiye
C05-464	JF273459	<i>Cucurbita pepo</i>	Fransa
CHI02-481	EU660582	Bilinmiyor	Şili

Çizelge 4.2. (Devam)

WMV-Pk	AB218280	<i>Cucurbita melo</i> var. <i>flexuous</i>	Pakistan
Ch99/69	EF127832	<i>Cucurbita pepo</i>	Çin
Watermelon	AB369278	<i>Citrullus lanatus</i>	Güney Kore
WMV-CHN	DQ399708	<i>Citrullus lanatus</i>	Çin
WMV TA-om3	MN854651	<i>Cucumis melo</i>	Güney Kore
S96-6	AB353119	<i>Cucurbita moschata</i>	Japonya
USA	D13913	<i>Cucumis melo</i>	A.B.D.
Tonga	L22907	Vanilya	Tonga

*Bu çalışmada belirlenen izolatlar



Şekil 4.30. Tekirdağ'dan alınan WMV izolatlarının GenBankasına kayıtlı 14 izolat ile kısmi olarak *Nlb-CP* kodlayan bölgelerinin *N-terminal* kısımlarının 342-348 nükleotid dizilimi kıyaslanması sonucu oluşturulan Neighbour-joining ağaç (Tamura vd. 2013, Mega6). Bootstrap değeri (1000 tekrarlı) 70 üzerinde olanlar gösterilmiştir. Koyu renkli olanlar bu çalışmada elde edilen izolatlardır.

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tu75 (MT448612) ve WMV TR-Tu80 (MT448613) izolatları 342 nt kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatı ile ve Fransa'dan Fransa izolatı (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %98,8, Türkiye'den TURK91 (EU660579, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatı ile %98,5, Fransa'dan C05-464 izolatı (JF273459, Desbiez vd. 2011) ile %98,2, Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatı ile %97,7, Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali vd. 2006) izolatı ile %95,3 ve

Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang, Beck, Gardner ve Pearson, 1993) ile %90,1 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ilinde toplanıp sekans analizleri sonucunda WMV izolatu tahmin edilen amino asit (aa) dizilimleri kıyaslaması sonucunda TR-Tn2 (MT448602),TR-Tn5 (MT448603), TR-Tn8 (MT448604), TR-Tn9 (MT448605), TR-Tn10 (MT448606), TR-Tn18 (MT448607), TR-Tu75 (MT448612) ve TR-Tu80 (MT448613)(% 100- 99,1 benzer) bir grup, TR-Tf50 (MT448610), TR-Ta63 (MT448608),TR-Ta64 (MT448609) ve TR-Ts71 (MT448611)(%100-99,1 benzer) ayrı bir grup oluşturmuştur (Şekil 4.31.).

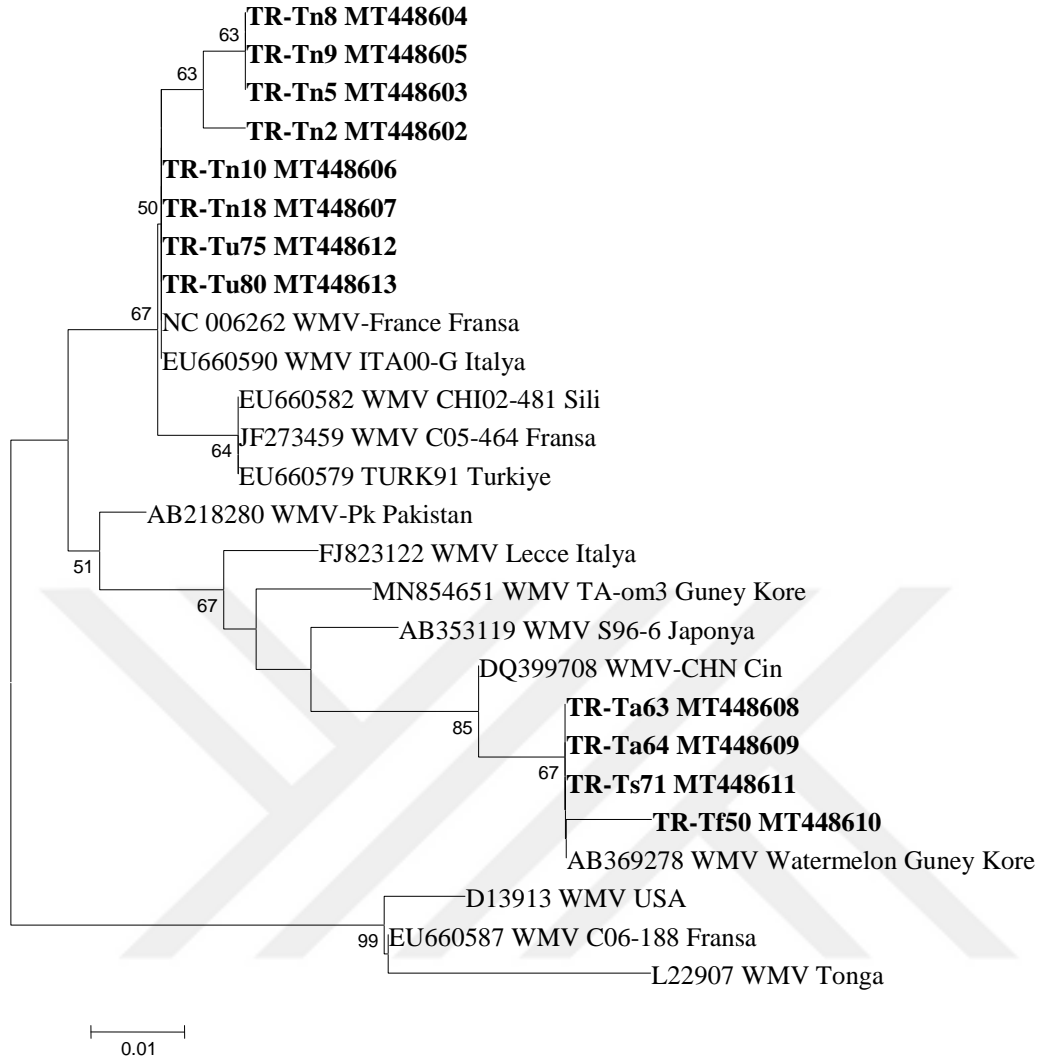
Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tn2 (MT448602), WMV TR-Tn5 (MT448603), WMV TR-Tn8 (MT448604)ve WMV TR-Tn9 (MT448605) izolatularının 114 aa kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ve Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile % 99,1, Türkiye'den TURK91 (EU660579, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu, Fransa'dan C05-464 izolatu (JF273459, Desbiez vd. 2011) ve Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %98,2, Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280) izolatu ile %97,4 benzerlik gösterirken Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim vd. yayınlanmamış) ve Japonya'danS96-6 (AB353119) izolatu ile %93,9 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 4.30.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Naip mahallesinden alınan WMV TR-Tn10 (MT448606)ve WMV TR-Tn18 (MT448607) izolatu, Şarköy ilçesi Ulaman mahallesinden alınan WMV TR-Tu75 (MT448612) ve WMV TR-Tu80 (MT448613) izolatu 114 aa kıyaslamaları sonucunda İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ve Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %100, Türkiye'den TURK91 (EU660579, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu, Fransa'dan C05-464 izolatu (JF273459, Desbiez vd. 2011) ve Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008) izolatu ile %99,1, Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali, Natsuaki ve Okuda, 2006) izolatu ile %98,2 benzerlik gösterirken Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim vd. yayınlanmamış) ile Japonya'danS96-6 (AB353119) izolatu %94,7 ve Tonga'dan Vanilya (L22907, Wang vd. 1993) izolatu %91,2 oranında benzerlik göstermiştir (Şekil 4.31.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Ferhadanlı mahallesinden alınan WMV TR-Tf50 (MT448610) izolatu 114 aa kıyaslamaları sonucunda Güney Kore'den Watermelon izolatu (AB369278, Choi vd. yayınlanmamış) ile %99,1, WMV-CHN (DQ399708, Wu vd., yayınlanmamış) izolatu ile %98,2, Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim vd. yayınlanmamış) ve Japonya'dan S96-6 (AB353119, Yamamoto ve Fuji, 2008) izolatu ile

%95,7, Fransa'dan Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %92,1, Amerika'dan USA izolatu (D13913, Quemada vd. 1990) ile %91,2 ve Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang vd. 1993) ile %88,6 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.31.).

Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesi Tatarlı mahallesinden alınan WMV TR-Ta63 (MT448608), WMV TR-Ta64 (MT448609)ve Malkara ilçesi Sağlamtaş mahallesinden alınan WMV TR-Ts71 (MT448611)izolatları 116 aa kıyaslamaları Güney Kore'den Watermelon izolatu (AB369278, Choi vd. yayınlanmamış) ile %100, WMV-CHN (DQ399708, Wu vd., yayınlanmamış) izolatları ile %99,1, Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim vd. yayınlanmamış) ile Japonya'dan S96-6 (AB353119, Yamamoto ve Fuji, 2008) izolatına %96,6, Fransa'dan WMV Fransa izolatu (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004) ile %93, Amerika'dan USA izolatu (D13913, Quemada vd. 1990) ile %91,2 ve Tonga'dan Vanilya izolatu (L22907, Wang vd. 1993) ile %89,5 benzerlik göstermiştir (Şekil 4.31.).



Şekil 4.31. Tekirdağ'dan alınan WMV izolatlarının Gen Bankasına kayıtlı 14 izolat ile kısmi olarak *Nlb-CP* kodlayan bölgelerinin *N-terminal* kısımlarının ortaya çıkarılan 114-116 amino asit dizilimleri kıyaslanması sonucu oluşturulan Neighbour-joining ağaç (Tamura vd. 2013, Mega 6). Bootstrap değeri (1000 tekrarlı) 50 üzerinde olanlar gösterilmiştir. Koyu renkli olanlar bu çalışmada elde edilen izolatlardır

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tekirdağ ilindeki kabakgil üretiminin yoğun olarak yapıldığı ilçelerden viral hastalık belirtileri gözlenen bitki örneklerinin toplanması ile gerçekleştirilen bu çalışmada enfekteli olduğu düşünülen bitki örnekleri mekanik inokulasyon, DAS-ELISA testleri, Real Time PCR ve Reverse Transcriptase PCR teknolojileri kullanılarak hem serolojik hem de moleküler yöntemler ile test edilmiştir. Tekirdağ il genelinde görülme sıklıkları yüksek olan *Watermelon mosaic virus*, *Zucchini yellow mosaic virus* ve *Papaya ringspot virus-W* ırkının kabakgil üretim alanlarındaki çeşitliliklerinin araştırılması amacıyla yürütülen çalışmalar ışığında *Watermelon mosaic virus* patojeni en fazla görülen virüs olarak belirlenmiştir. Yapılan moleküler karakterizasyon çalışmaları ile Tekirdağ ilinin farklı ilçelerinden izole edilen WMV patojenine ait 12 adet izolat *Nib-CP* gen bölgelerine spesifik primerler ile belirlenmiş olup sanger tekniği kullanılarak 12 izolatın gen dizileme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Genomik sekanslama çalışmaları ile 12 adet WMV izolatının dünya genelinde izole edilen diğer izolatlar ile genomik karşılaştırma analizleri gerçekleştirilerek filogenetik analizleri yapılmıştır.

Çalışma kapsamında toplanan 180 adet bitki örneğinin ELISA ile test edilmesi sonucunda enfeksiyon oranı %4,44 bulunmuş 30 tanesi seçilerek Real-Time PCR ve Reverse Transcriptase PCR çalışmalarının yapılması ile seçilen örneklerde WMV viral enfeksiyonu % 53,3 oranında belirlenmiştir. Yapılan survey çalışmaları ile serolojik ve moleküler test yöntemlerinin kullanılması sonucunda 12 adet WMV izolatının genomik analizlerinin yapılması ile çalışmanın temel hedefine ulaşılmıştır.

Serolojik ve moleküler çalışmalar sonucunda 16 adet bitki örneğinde WMV enfeksiyonu tespit edilmiştir. Enfeksiyon miktarı bitki türü düzeyinde değerlendirildiğinde bal kabağı bitkilerinde 8 adet, kavun bitkilerinde 3 adet, hıyar bitkilerinde 3 adet ve kabak bitkilerinde 2 adet olarak belirlenmiştir. WMV ile pozitif bulunan 16 adet bitki örneği oransal olarak incelendiğinde ise pozitif örnekler içerisinde bal kabağı bitkilerinin oranı % 50 düzeyinde, kavun % 19, hıyar %19 ve kabak bitkileri ise % 12 oranında bulunmuştur.

Bu çalışma kapsamında Altınay (2017) tarafından Tekirdağ ilindeki kabakgil üretim alanlarından toplanan bitki örnekleri ile gerçekleştirilen DAS-ELISA testleri ile belirlenen virüs hastalıkları içerisinde üretim alanlarında bulunma oranları en yüksek 3 virüs türü olan

WMV-2, ZYMV ve PRSV-W seçilerek çalışmalar bu virüslere yönelik olarak gerçekleştirilmiştir. Ancak yapılan çalışmalar ile bölge genelinde yıldan yıla virüs enfeksiyon oranlarında büyük değişimlerin olduğu ortaya çıkmıştır. Arazi survey çalışmalarında 2019 yılında yapılan gözlemlerde 2017 yılına oranla daha yüksek bir enfeksiyon oranı belirlenirken 2018 yılında kabakgil üretim alanlarında gözlenen viral enfeksiyon belirtileri oldukça düşük bir düzeyde meydana gelmiştir. Bunun nedenlerinden birisi de vektör böceklerin popülasyonlarının düşük olması olarak düşünülmektedir.

Köklü ve Yılmaz (2006) tarafından Trakya bölgesinde yapılan survey çalışmaları ile test edilen kavun ve karpuz bitki örneklerinde en yoğun olarak tespit edilen WMV-2 patojeni bu çalışma ile de bölgede görülen en belirgin viral enfeksiyon etmeni olarak tespit edilmiştir.

Marmara bölgesinde kabakgil üretim alanlarındaki virüs hastalıklarının belirlenmesi amacı ile Nogay ve Yorgancı (1984) tarafından yürütülen çalışmalarda kabakgil bitkilerindeki viral patojenler fiziksel, serolojik ve elektron mikroskobu kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar ile araştırmacılar tarafından Marmara bölgesinin Anadolu kesiminde *Cucumber mosaic virus* etmeninin diğer kabakgil virüslerine oranla daha yoğun oranda bulunduğunu belirlerken, Trakya bölümünde ise *Watermelon mosaic virus*'ünün diğer kabakgil virüsleri ile karşılaştırıldığında daha yoğun olarak gözlemlendiğini bildirmeleri ile bu çalışma da bulunan sonuçlarla büyük oranda benzerlik göstermektedir.

Konya, Karaman ve Aksaray illerinde 2009 ve 2010 yıllarında kabakgil üretim alanlarında survey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. DAS-ELISA ve RT PCR yöntemlerinin kullanılması ile test edilen 652 kabakgil örneğinde *Watermelon mosaic virus-2*'nin %45,2 oranı ile test edilen örneklerde en yaygın ikinci viral patojen olarak belirlenmiştir. Filogenetik analiz çalışmaları ile KF021298, KF021299 ve KF021300 olarak adlandırılan 3 adet *Watermelon mosaic virus* izolatının kısmi genomik dizilimleri yapılarak Gen Bank sistemine kaydedilmiştir (Yeşil, 2013).

Korkmaz (2015) tarafından Tokat ilindeki kavun, karpuz, kabak ve hıyar üretim alanları gezilerek survey çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Merkez, Erbaa, Niksar, Pazar ve Turhal ilçelerinde 2014 yılında toplanan örnekler DAS-ELISA ile test edilmesi ile bölgede *Watermelon mosaic virus* %37'lik bir oranla diğer kabakgil virüsleri içerisinde en yaygın olarak belirlenen viral hastalık etmeni olmuştur. Burada özellikle hastalık belirtisi gösteren bitkilerden alınan örnekler enfeksiyon oranının yüksek olmasına yol açmıştır.

Papaya ringspot virus (PRSV) patojeninin Hindistan'daki enfeksiyon oranının belirlenmesi amacı ile Lokhande, Moghe, Matte ve Hiwase(1992) tarafından yürütülen çalışmalarda survey alanlarında PRSV enfeksiyon oranının %75 ile %100 oranında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları gözlemlerle hastalık belirtilerinin yağmur sezonunda daha şiddetli olduğunu, yaz aylarında ise sıcaklığın 30 °C ile 41 °C ve kış döneminde 10 °C ile 24 °C olduğu zamanlarda viral enfeksiyon belirtilerinin daha az oranda görülerek enfeksiyon belirtilerinin maskelenme eğiliminde olduğunu ifade etmişlerdir. Tekirdağ ilinde gerçekleştirilen bu çalışmalar kapsamında arazi surveylerinin yapıldığı yaz aylarında ve özellikle de 2018 yaz mevsiminde üretim alanlarında görülen yüksek sıcaklıkların viral enfeksiyon belirtileri üzerinde benzer bir durum oluşturduğu düşünülmektedir.

İran'da 2004 ve 2005 yıllarında yapılan survey çalışmaları virüs enfeksiyon belirtisi gözlenen 757 adet kabakgil bitki örneği ve 31 adet yabancı ot örneği toplanarak DAS-ELISA yöntemi ile test edilmesi sonucunda 190 bitki örneği %24 oranında *Watermelon mosaic virus* ile pozitif bulunmuştur. *CP* gen bölgesine spesifik oligonükleotitler kullanılarak yapılan PCR çalışmaları ile 18 adet WMV izolatu belirlenerek GenBank'asına yüklenmiştir. Filogenetik analizler sonucunda 778 nükleotit uzunluğunda örtü proteini bölgelerini içeren izolatların Dünya genelindeki WMV izolatları ile benzerlikleri belirlenerek grup 1 ve grup 2'de sınıflandırılmıştır (Sharifi, Massumi, Heydarnejad, Hosseini Pour ve Rahimian, 2008). Yaptığımız çalışma'da bu çalışmaya benzer sonuçlar elde edilmiş ve izolatların 2 grup içerisine yerleşmiş olduğu belirlenmiştir.

Moradi (2011) tarafından İran'da kabakgil üretim alanlarında yürütülen survey çalışmaları ile toplanan 620 bitki örneğinin DAS ELISA ve RT PCR ile test edilmesi sonucunda kabakgil bitkilerinin %48,8 oranında *Watermelon mosaic virus* ile enfekteli olduğu bulunmuştur. Yapılan elektroforez çalışmaları ile 825 bp uzunluğunda *CP* gen bölgelerine ait bant oluşumları gözlenmiştir. Çalışmalar kapsamında 15 adet WMV izolatu belirlenerek Gen Bank sistemine kaydedilmiştir. Yapılan bu çalışma ile İran'ın Türkiye sınırına yakın kuzey batı ve kuzey bölgelerinde *Watermelon mosaic virus*'ünün oldukça yüksek bir düzeyde kabakgil üretim alanlarında enfeksiyonlara neden olduğu tespit edilmiştir.

Keçe ve Kamberoğlu (2016) tarafından Türkiye'nin Adana, Mersin ve Osmaniye illerinde karpuz yetiştirilen alanlarda 2012 yılının bahar ve yaz aylarında WMV-2 hastalık etmeninin tanınması amacıyla enfeksiyon belirtisi gösteren 182 adet bitki örneği toplanarak DAS ELISA ile test edilmiştir. WMV-2 ile enfekteli örneklerden izole edilen RNA'lar RT-PCR ile amplifike edilmesi sonucu oluşan PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde elektroforez işlemine tabi tutulmuş ve 408 bp boyutunda bant oluşumları tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında da *CP* gen bölgelerinin belirlenmesinde aynı primer çifti kullanılarak yapılan PCR çalışmaları sonucunda WMV tespit edilen örneklerin PCR ürün elektroforezlerinde yaklaşık 408 bp'lik bant oluşumları gözlenmiştir. Dolayısı ile araştırmacılar tarafından bulunan sonuçlar ile yürütülen bu araştırma sonuçları benzerlik göstermiştir.

Trakya bölgesi kabakgil üretimi açısından değerlendirildiğinde Türkiye genelinde özellikle karpuz ve kavun üretiminde yüksek üretim miktarına sahiptir. Ayrıca coğrafi konumu itibarıyla ve İstanbul gibi son derece büyük bir pazara yakın olması nedeniyle her geçen gün kavun, karpuz ve hıyar bitkilerinin üretiminde artan bir değere sahip bulunmaktadır. Ancak üretim alanlarında ciddi verim ve kalite kaybına sebebiyet veren viral hastalıklar nedeniyle üretim oranlarında yüksek kayıplar oluşmaktadır. Bu çalışmayla üretim değerlerinde yüksek kayıplara neden olan virüs hastalıklarının detaylı araştırılarak ortaya çıkarılması sağlanmıştır. Ayrıca Tekirdağ ilinden toplanan örneklerle bölgede en sık görülen kabakgil virüslerinden olan *Watermelon mosaic virus* izolatlarının ortaya çıkarılması sağlanmış ve bu izolatların Dünya'da bulunan kabakgil virüs izolatlarıyla genotipik karşılaştırılması yapılarak Türkiye'deki viral çeşitliliğin Dünya genelindeki izolatlar ile aralarındaki benzerlikler ortaya çıkarılmıştır.

Potyviruslerle ilgili genetik çeşitlilik belirleme çalışmalarında *CP* genleri sıklıkla kullanılmaktadırlar. Dünya çapında yapılan çalışmalarda *Watermelon mosaic virus*'ün belirlenmesinde Polyprotein *PI* geni ve Coat protein (*CP*) en sık kullanılan virüs genomik bölgeleri olarak tespit edilmiştir (Sidasos, vd., 2009; Al Saleh, Al-Shahwan, Abdalla ve Amer, 2010; Sanchez, Rodriguez-Mateos, Tourino, Fresno ve Gomez-Campo, 2007).

Kısmi *CP* gen analizleri sonucu filogenetik ağaç (Şekil 4.30. ve 4.31.) WMV izolatlarını göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen WMV izolatlarından TR-Tn5, TR-Tn8, TR-Tn9, TR-Tn10, TR-Tn18, TR-Tu75 ve TR-Tu80 (% 100- 98,2 benzer) WMV Grup 1'deymiş ve İtalya'dan WMV ITA00-G (EU660590, Desbiez ve Lecoq, 2008), Fransa'dan Fransa izolatı (NC_006262, Desbiez ve Lecoq 2004), Türkiye'den TURK91 (EU660579,

Desbiez ve Lecoq, 2008), Fransa'dan C05-464 izolatu (JF273459, Desbiez vd., 2011), Şili'den CHI02-481 (EU660582, Desbiez ve Lecoq, 2008), Pakistan'dan WMV-Pk (AB218280, Ali Natsuaki ve Okuda,2006) izolatu ile %99,7-95 arasında değişen oranlarda benzerlik göstermiştir.Tekirdağ'dan izole edilen TR-Tf50, TR-Ta63, TR-Ta64 ve TR-Ts71 ise WMVGrup 3'te yer almış ve Güney Kore'den Watermelon izolatu (AB369278, Choi vd.,yayınlanmamış), Çin'den Ch99/69 (EF127832, Gu vd., yayınlanmamış) ve WMV-CHN (DQ399708, Wu vd., yayınlanmamış) izolatları ile %97,4, Güney Kore'den WMV TA-om3 (MN854651, Kim vd., yayınlanmamış) ve Japonya'dan S96-6 (AB353119, Yamamoto ve Fuji, 2008) izolatları ile % 98,2-92,2 arasında değişen oranlarda benzerlik göstermişlerdir. Burada elde edilen izolatların elde edildikleri konukçudan çok izole edildikleri alanlara bağlı olarak farklılık göstermişlerdir.

Adana ilindeki karpuz üretim alanlarından yapraklarında deformasyon ve mozaik belirtileri gözlenen bitki örneklerinin toplanarak DAS-ELISA ve RT-PCR ile test edilmesi sonucunda karpuz bitkilerinde *Watermelon mosaic virus* hastalık etmeni izole edilmiştir. Yapılan çalışmalarda zucchini kabak çeşidinden izole edilen WMV-Tr izolatının örtü protein (CP) gen bölgelerinin kısmi dizilemesi yapıldığında Adana'da belirlenen WMV izolatu ile biyolojik anlamda benzerliği tespit edilmiştir. WMV-Tr izolatu filogenetik çalışmalar sonucunda moleküler olarak grup 3'te sınıflandırılmıştır. Bu araştırma ile WMV-Tr izolatu Asya'dan izole edilen *Watermelon mosaic virus* izolatları ile gruplandırılmış, Adana bölgesinden izole edilen WMV izolatları ile Asya'dan izole edilen grup 3'ün Türkiye'deki varlığı belirlenmiştir (Kamberoğlu, vd., 2015). Çalışmada elde edilen 4 izolat (Kamberoğlu vd. 2015)'in elde ettikleri izolatla aynı grupta yer almaktadır.

Yürütölen bu çalışma ile Trakya bölgesindeki kabakgil virüsleri moleküler yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca Trakya bölgesindeki *Watermelon mosaic virus*'eait izolatların moleküler düzeyde araştırılması ile CP gen dizilimleri belirlenen izolatların Dünya genelinde tespit edilen izolatlar ile karşılaştırmalarının yapılması sağlanarak bölgenin kabakgil virüsleri açısından gösterdiği biyoçeşitlilik ilk kez bu çalışma ile ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen sonuçlar ileride yapılacak moleküler çalışmalar için referans olmakla kalmayıp istenen amaca uygun, dayanıklı ticari kabakgil bitkilerinin yetiştirilmesi için vazgeçilmez öneme sahip olacaktır.

Bu çalışmada ZYMV ve PRSV-W ile ilgili olarak yapılan Real Time-PCR ile RT-PCR çalışmaları sonucunda herhangi bir pozitif sonuç elde edilmemiştir. Bu çalışmada toplanan

örneklerin içerisinde farklı genomik özellikte izolatlar olabileceği veya bu dönemde örnekleme yapılan bitkilerde PRSV-W ve ZYMV'nin dominant virüsler olmadığı veya bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca kullanılan bazı primerlerin bu virüslerin tespiti için yeterli olmadıklarından dolayı da yeni primerler tasarlanarak bu virüslerin belirlenmesine ve genom analizlerinin yapılmasına ihtiyaç ortaya çıkmıştır.



KAYNAKLAR

- Abou-Jawdah, Y., Sobh, H., El-Zammar, S., Fayyad, A. ve Lecoq, H. (2000). Incidence and management of virus diseases of cucurbits in Lebanon. *Crop Protection*, 19(4), 217-224.
- Al-Chaabbi, S., Mando, M. J., Ismaeil, F. ve Ghazaleh, W. (2006). Viruses on watermelon and melon crops in Syria: their spread, effect of grafting by using different rootstocks on viral infections and ZYMV transmission through seeds. *Arab Journal of Plant Protection*, 24(2), 75-83.
- Ali, A., Abdalla, O., Bruton, B., Fish, W., Sikora, E., Zhang, S. ve Taylor, M. (2012). Occurrence of viruses infecting watermelon, other cucurbits and weeds in the parts of southern United States. *Plant Health Progress*, 0824-01-RS. 01 Ocak 2020, <https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2012/viruses/>
- Ali, A., Mohammad, O. ve Khattab, A. (2012). Distribution of viruses infecting cucurbit crops and isolation of potential new virus-like sequences from weeds in Oklahoma. *Plant Disease* 96(2), 243-248.
- Ali, A., Natsuaki, T. ve Okuda, S. (2006). The complete nucleotide sequence of a Pakistani isolate of Watermelon mosaic virus provides further insights into the taxonomic status in the Bean common mosaic virus subgroup. *Virus Genes*, 32 (3), 307-311.
- Alonso-Prados, J. L., Luis-Arteaga, M., Alvarez, J. M., Moriones, E., Batlle, A., Lavina, A., Garcia-Arenal, F. ve Fraile, A. (2003). *Epidemics of aphid-transmitted viruses in melon crops in Spain. European Journal of Plant Pathology*, 109(2), 129-138.
- Al-Saleh, M. A. ve Al-Shahwan, I. M. (1997). Viruses infecting cucurbits in Riyadh, Gassim and Hail regions of Saudi Arabia. *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, 15(1), 223-254.
- Al-Saleh, M. A., Al-Shahwan, I. M., Abdalla, O. A. ve Amer, M. A. (2010). Identification and coat protein nucleotide sequence of Turnip Mosaic Potyvirus from *Eruca sativa* in Saudi Arabia. *Asian Journal Plant Pathology*, 4, 116-127.
- Altınay, N. (2017). *Tekirdağ ilinde bazı kabakgil türlerinde virüs enfeksiyonlarının belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Anonim. (2007). Bahçecilik Hıyar Yetiştiriciliği, Mesleki eğitim ve öğretim sisteminin güçlendirilmesi projesi, Ankara, Milli Eğitim Bakanlığı, Erişim

Adresi:http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/bahcecilik/moduller/hiyar_yetistiriciligi.pdf

Anonim. (2008). Bahçecilik Karpuz Yetiştiriciliği, Mesleki eğitim ve öğretim sisteminin güçlendirilmesi projesi, Ankara, Milli Eğitim Bakanlığı, Erişim Adresi: http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/bahcecilik/moduller/karpuz_yetistiriciligi.pdf

Anonim. (2009). Bahçecilik Kabak Yetiştiriciliği, Mesleki eğitim ve öğretim sisteminin güçlendirilmesi projesi, Ankara, Milli Eğitim Bakanlığı, Erişim Adresi: http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/bahcecilik/moduller/kabak_yetistiriciligi.pdf

Anonim. (2011). Bahçecilik Kavun Yetiştiriciliği, Mesleki eğitim ve öğretim sisteminin güçlendirilmesi projesi, Ankara, Milli Eğitim Bakanlığı, Erişim Adresi: http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Kavun%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi.pdf

Anonim, (2019a). RNA izolasyon kit protokolü. 28 Ağustos 2019, Erişim adresi <https://norgenbiotek.com/product/plantfungi-total-rna-purification-kit>

Anonim, (2019b). Complementer DNA sentez kit protokolü. 09 Eylül 2019, Erişim adresi <http://www.grisp.pt/docs/gk80-xpert-cdna-synthesis-kit.pdf>

Anonim, (2019c). Real Time PCR uygulama protokolü. 06 Eylül 2019, Erişim adresi https://lifescience.roche.com/en_tr/products/lightcycler14301-480-instrument-ii.html

Anonim, (2020). Tekirdağ il haritası. 05 Ocak 2020, Erişim adresi <https://www.turkey-visit.com/map/tekirdag-map>

Antignus, Y., Raccah, B., Gal-On, A. ve Cohen, S. (1989). Biological and serological characterization of Zucchini Yellow Mosaic and Watermelon Mosaic Virus-2 isolates in Israel. *Phytoparasitica*, 17(4), 289-298.

Asghar, S., Hossein, M., Shaabani, M., Pour, A. H. ve Heydarnezhad, J. (2008). Evaluation of some cucurbit cultivars grown in the fields and greenhouses to six important viruses. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 15(1), 86-96.

Bananej, K. ve Vahdat, A. (2008). Identification, distribution and incidence of viruses in field-grown cucurbit crops of Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 47(3), 247-257.

- Basky, Z., Perring, T. M. ve Tobias, I. (2001). Spread of Zucchini Yellow Mosaic potyvirus in squash in Hungary. *Journal of Applied Entomology*, 125, 5, 271-275.
- Bateson, M. F. ve Dale, J. (1992). The nucleotide sequence of the coat protein gene and 3' untranslated region of Papaya Ringspot Virus Type W (Aust). *Archives of Virology*, 123, 101-109.
- Bateson, M. F., Henderson, J., Chaleeprom, W., Gibbs, A. J. ve Dale, J. L. (1994). Papaya Ringspot Potyvirus: isolate variability and the origin of PRSV type P in Australia. *Journal of General Virology*, 75, 3547-3553.
- Bateson, M. F., Lines, R.E., Revill, P., Chaleeprom, W., Ha, C.V., Gibbs, A. J. ve Dale, J. L. (2002). On the evolution and molecular epidemiology of the Potyvirus Papaya Ringspot Virus. *Journal of General Virology*, 83, 2575-2585.
- Bostan, H., Kaymak, H. Ç. ve Haliloğlu, K. (2002). Detection of Cucumber Mosaic Virus (CMV) and Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) in squash Erzurum, Erzincan and Artvin provinces by serological and biological methods. *Journal of Turkish Phytopathology*, 31(1), 9-14.
- Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J., Watson, L. ve Zurcher, E. (1996). *Plant viruses online*. Descriptions and lists from the vide database. 17 Ocak 2020, Erişim adresi : <http://bio-mirror.im.ac.cn/mirrors/pvo/vide/refs.htm>
- Budak, E. (2015). *Diyarbakır ili ve ilçelerinde üretilen kabakgillerdeki viral etmenlerin tanınması ve yaygınlıklarının belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi), Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlı Urfa.
- Chikh Ali, M., Maoka, T. ve Natsuaki, K. T. (2009). Biological and molecular characterization of two Zucchini Yellow Mosaic Virus isolates from Syria. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 39, 99-104.
- Clark, M. F. ve Adams, A. N. (1977). Characteristics of the microplate method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34, 475-483.
- Cradock, K. R., Graça, J. V. ve Laing, M. D. (2001). Viruses infecting cucurbits in KwaZulu Natal, south Africa. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, 19(2), 251-252.

- Çalışkan, A. F. (2007). Kabak sarı mozayik virüsü (Zucchini Yellow Mosaic Virus, ZYMV)'nün tanısı ve bitki aktivatörleri kullanılarak mücadele olanaklarının araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Dahal, G., Lecoq, H. ve Albrechtsen, S. E. (1997). Occurrence of Papaya Ringspot Potyvirus and cucurbit viruses in Nepal. *Annals of Applied Biology*, 130(3), 491-502.
- Davis, R. F. (1986). Partial characterization of Zucchini yellow mosaic virus isolated from squash in Turkey. *Plant Disease*, 70(8), 735-738.
- Davis, R. F. ve Mizuki, M. K. (1987). Detection of cucurbit viruses in New Jersey. *Plant Disease*, 71(1), 40-44.
- De La Rosa, M. ve Lastra, R. (1983). Purification and partial characterization of Papaya Ringspot Virus. *Phytopathologische Zeitschrift*, 106, 329-336.
- Delgadillo, S. F., Garzon, T. J. A. ve Vega, P. A. (1989). Cucurbit viruses in Mexico: a survey. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, 7(2), 136-139.
- Desbiez, C. ve Lecoq, H. (1997). Zucchini Yellow Mosaic Virus. *Plant Pathology*, 46, 809-829.
- Desbiez, C. ve Lecoq, H. 2004. The nucleotide sequence of Watermelon mosaic virus (WMV, Potyvirus) reveals interspecific recombination between two related potyviruses in the 5' part of the genome. *Archives of Virology*, 149 (8), 1619-1632.
- Desbiez, C. ve Lecoq, H. (2008). Evidence for multiple intraspecific recombinants in natural populations of Watermelon mosaic virus (WMV, Potyvirus). *Archives of Virology*, 153 (9), 1749-1754.
- Desbiez, C., Joannon, B., Wipf-scheibel, C., Chandeysson, C. ve Lecoq, H. (2009). Emergence of new strains of Watermelon Mosaic Virus in Sout-Eastern France: evidence for limited spread but rapid local population shift. *Virus Research*, 141: 201-208.
- Desbiez, C., Joannon, B., Wipf-Scheibel, C., Chandeysson, C. ve Lecoq, H. (2011). Recombination in natural populations of watermelon mosaic virus: new agronomic threat or damp squib? *Journal of General Virology*, 92 (PT 8), 1939-1948.
- Dikici, S. (2019). Uşak ilinde bazı kabakgillerde Karpuz Mozaik Virüsü (WMV)'nüün serolojik yöntemle belirlenmesi ve biyolojik indeksleme çalışmaları (Yüksek Lisans Tezi), Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Uşak.

- Farhangi, S. H., Mosahebi, G., Habibi, M. K. ve Okhovvat, S. M. (2004). Occurrence, distribution and relative incidence of mosaic viruses infecting field-grown squash in Tehran Province, Iran. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 69(4), 507-512.
- Felix-Gastelum, R., Magallanes-Tapia, M. A., Mendez-Lozano, J., Huet, H., Trigueros-Salmeron, J. A. ve Longoria-Espinoza, R. M. (2007). Detection of Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) and its coinfection with other virus in cultivated Cucurbitaceae and wild plants in Fuerte Valley, Sinaloa, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, 25(2), 95-101.
- Fletcher, J. D. (1996). Zucchini Yellow Mosaic Virus in buttercup squash a new record in New Zealand. *Australasian Plant Pathology*, 25(2), 142.
- Food and Agriculture Organisation of the United Nations. (2020). Dünya kabakgil üretim verileri. Erişim Adresi: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Gholamalizadeh, R., Vahdat, A., Keshavarz, T., Elahinia, A. ve Bananej, K. (2008). Occurrence and distribution of ten viruses infecting cucurbit plants in Gulian province, Iran. *Acta Virologica*, 52(2), 113-118.
- Glasa, M. ve Pittnerova, S. (2006). Complete sequence of a Slovak isolate of Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) provides further evidence of a close molecular relationship among Central European ZYMV isolates. *Journal of Phytopathology*, 154, 436-440.
- Glasa, M., Svoboda, J. ve Novakova, S. (2007). Analysis of the molecular and biological variability of Zucchini Yellow Mosaic Virus isolates from Slovakia and Czech Republic. *Virus Genes*, 35, 415-421.
- Greber, R. S. (1978). Watermelon Mosaic Virus 1 and 2 in Queensland cucurbit crops. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 1235-1245.
- Gungoosingh-Bunwaree, A. (2001). Status of major viruses affecting cucurbitaceous crops in Mauritius. *Revue Agricole et Sucriere de le Maurice*, 80/81, 3-1/3, 98-103.
- Gu Q., Roggero, R., Lenzi, R., Fan Z., Li, H. ve Yu, Z. W. (2002). Detection of Zucchini Yellow Mosaic Virus in Northern China and resistance test in some watermelon cultivars. *Journal of Fruit Science*, 19(3), 184-187.

- Güller, A. ve Usta, M. (2019). Bingöl ilinde kabak bitkisini (*Cucurbita pepo* L.) enfekteleyen Zucchini Yellow Mosaic Potyvirus (ZYMV) virüs izolatının belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(4),798-807.
- Günay, A. (1993). *Özel Sebze Yetiştiriciliği*, (Cilt:5). Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Günel, T. (2007). Gen anlatımının kantitatif analizi “Real-Time PCR”. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 27, 763-767.
- Halfeld-Vieira, B. A., Ramos, N. F., Rabelo Filho, F. A. C., Gonçalves, M. F. B., Nechet, K. L., Pereira, P. R. S. V. ve Lima, J. A. A. (2004). Serological identification of virus species in watermelon in the state of Roraima. *Fitopatologia Brasileira*, 29(6), 687-689.
- Hseu, S. H., Huang, C. H., Chang, C. A., Yang, W. Z., Chang, Y. M. ve Hsiao, C. H. (1987). The occurrence of five viruses in six cucurbits in Taiwan. *Plant Protection Bulletin*, 29,3, 233-244.
- Jossey, S. ve Babadoost, M. (2008). Occurrence and distribution of pumpkin and squash viruses in Illinois. *Plant Disease*, 92(1), 61-68.
- Juarez, M., Legua, P., Mengual, C. M., Kassem, M. A., Sempere, R. N., Gomez, P., Truniger, V. ve Aranda, M. A. (2013). Relative incidence, spatial distribution and genetic diversity of cucurbit viruses in eastern Spain. *Annals of Applied Biology*, 162(3), 362-370.
- Kamberoglu, M. A., Desbiez, C. ve Caliskan, A. F. (2015). Characterization of an emerging isolate of Watermelon Mosaic Virus in Turkey. *International Journal of Agriculture & Biology*, 17(1), 211-215.
- Karakurt, M. Y. (2015). *İstanbul ilinde karpuz ekim alanlarında Cucumber Mosaic Virus (CMV) ve Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV)'nin yaygınlıklarının araştırılması* (Yüksek Lisans Tezi), Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Karamanlı, A. (2007). *Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (KKTC)'nde kabakgil yetiştirilen alanlarda Hıyar Mozaik Virüsü (Cucumber Mosaic Virus, CMV) ve Kabak Sarı Mozaik Virüsü (Zucchini Yellow Mosaic Virus, ZYMV)'nün surveyi* (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Katul, L. ve Makkouk, K. M. (1987). Occurrence and serological relatedness of five cucurbit Potyviruses in Lebanon and Syria. *Phytopathologia Mediterranea*, 26(1), 36-42.

- Kassem, A. A. H., Halim, K. A., Rifai, O. E. G. ve Warrak, W. (2005). The most important of viruses affecting cucurbits in Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 23(1), 1-6.
- Kaya, A. ve Erkan, S. (2011). Detection and incidence of viruses in cucurbits grown in İzmir, Aydın, Manisa and Balıkesir provinces. *Bitki Koruma Bülteni*, 51(4), 387-405.
- Keçe, M. A. ve Kamberoğlu, M. A. (2016). Doğu Akdeniz Bölgesi'nde karpuz yetiştirilen alanlarda Karpuz Mozayik Virüsü (WMV-2)'nin biyolojik, serolojik ve moleküler olarak belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(3), 156-164.
- Kızmaz, M. Z., Sağır, A. ve Baloğlu, S. (2016). Diyarbakır ve Mardin illeri kabakgil üretim alanlarında görülen viral hastalıkların yaygınlıklarının ve etmenlerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53(4), 397-406.
- King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B. ve Lefkowitz, E. J. (2012). *Virus taxonomy*(1th ed.). Oxford: Elsevier Academic Press.
- Kiss, E., Kazinczi, G., Horvath, J., Kobza, S., Baranyi, T., Varga, M., Havasreti, B. ve Feher, A. (2002). Virus disease problems on field cucumber in Hungary with some international aspects. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 37(4), 317,327.
- Komm, D. A. ve Agrios, G. N. (1978). Incidence and epidemiology of viruses affecting cucurbit crops in Massachusetts. *Plant Disease Reporter*, 62(8), 746-750.
- Korkmaz, F. (2015). *Tokat ilinde kabakgil üretim alanlarında enfeksiyon oluşturan virüslerin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tazi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Köklü, G. ve Yılmaz, Ö. (2006). Occurrence of cucurbit viruses on field-grown melon and watermelon in the Thrace region of Turkey. *Phytoprotection*, 87(3), 123-130.
- Kyriakopoulou, P. E. ve Varveri, C. (1991). Zucchini Yellow Mosaic Virus in Greece. *Annales de Institut Phytopathologique Benaki*, 16(2), 147-150.
- Lebeda, A., Kozelska, S., Kristkova, E. ve Novotny, R. (1996). The occurrence of viruses on *Cuburbita* spp. in the Czech Republic and resistance of squash cultivars to CMV and WMV-2. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 103(5), 455-463.
- Lecoq, H., Pitrat, M. ve Clement, M. (1981). Identification et caracterisation d'un Potyvirus provoquant la maladie du rabougrissement jaune du melon. *Agronomie I*, 34-827.

- Lima, J. A. A. ve Vieira, A. C. (1992). Distribution of Squash Mosaic Virus in Ceara counties and host range of the isolate. *Fitopatologia Brasileira*, 17(1), 112-114.
- Lima, M. F., Oliveira, V. R. ve Amaro, G. B. (2017). Cucurbit-infecting viruses in Brazil. *Acta Horticulturae*, 1151, 251-258.
- Lisa, V., Boccardo, G., D'Agostino, G., Dellavalle, G. ve D'Aquilio, M. (1981). Characterization of a Potyvirus that causes Zucchini Yellow Mosaic. *Phytopathology*, 71, 667-72.
- Lisa, V., Roggero, P., Ramasso, E., Conti, M., Minuto, A. ve Rapetti, S. (1997). Zucchini viruses in Liguria di Ponente. *Journal Colture Protette*, 26, 4, 67-70.
- Li, S., Wang, H., Huo, Z. ve Pang, J. (2004). Detection of main casual virus in cucumber by RT-PCR. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 19(3), 100-102.
- Lokhande, N. M., Moghe, P. G., Matte, A. D. ve Hiwase, B. J. (1992). Occurrence of Papaya ringspot virus (PRSV) in Vidarbha region of Maharashtra. *Journal of Soils and Crops*, 2(2), 36-39.
- Lovisololo, O. (1980). Viruss and viroid diseases of cucurbits. *Acta Horticulturae*, 88, 33-71.
- Mando, M. J., Kasem, A. A. H., Al-Chaabbi, S., Kumari, S. G. ve Turina, M. (2011). Survey of some mosaic viruses on cucurbits in Syria and molecular detection of Zucchini Yellow Mosaic Virus. *Arab Journal of Plant Protection*, 29(1), 14-20.
- Mansour, A. N. (1997). Cucurbit viruses of squash in Jordan. *Dirasat Agricultural Sciences*, 24(3), 346-350.
- Massumi, H., Samei, A., Pour, A. H., Shaabani, M. ve Rahimian, H. (2007). Occurrence, distribution and relative incidence of seven viruses infecting greenhouse grown cucurbits in Iran. *Plant Disease*, 91,2, 159-163.
- Massumi, H., Shaabani, M., Heydarnejad, J., Pour, A. H. ve Rahimian, H. (2011). Host range and phylogenetic analysis of Iranian isolates of Zucchini Yellow Mosaic Virus. *Journal of Plant Pathology*, 93(1), 187-193.
- Mehle, N., Gregur, L., Znidarsic, M. T., Pecman, A., Kutnjak, D., Marn, M. V. ve Ravnikar, M. (2017, Marc 7-8). *Viruses infecting cucurbits in Slovenia*, Presented at the 13th Slovenian Conference on Plant Protection with International Participation Rimske Toplice,

- Mnari-Hattab, M., Jebari, H. ve Zouba, A. (2008). Identification and distribution of viruses responsible for mosaic diseases affecting cucurbits in Tunisia. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 38(3), 497-506. 17 Ocak 2020, <https://www.cabi.org/ISC/abstract/20083316478>
- Mohammadi, K., Hajizadeh, M. ve Koolivand, D. (2016). Detection and identification of four vegetable fruit viruses in west and northwest of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 52(2), 279-288.
- Moradi, Z. (2011). Diagnosis and molecular variability of Watermelon Mosaic Virus isolates from north, east, north-east and north-west Regions of Iran. *Asian Journal of Plant Pathology*, 5(3), 115-125.
- Moura, M. C. C. L., Lima, J. A. A., Oliveira, V. B. ve Gonçalves, M. F. B. (2001). Serological identification of virus species infecting cucurbits in producing areas of the State of Maranhao, Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, 26(1),90-92.
- Nagendran, K., Mohankumar, S., Aravintharaj, R., Balaji, C. G., Manorenjitham, S. K., Singh, A. K., Rai, A. B., Singh, B. ve Karthikeyan, G. (2017). The occurrence and distribution of major viruses infecting cucurbits in Tamil Nadu State, India. *Crop Protection*, 99, 10-16.
- Nogay, A. ve Yorgancı, Ü. (1984). Investigations on the identification, seed transmission and host range of viruses infecting the culture plants in the Cucurbitaceae in Marmara region. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 13, 9 –28.
- Nogay, A. ve Yorgancı, Ü. (1985). Investigations on the identification, seed transmission and host range of viruses infecting the culture plants in the Cucurbitaceae in Marmara Region. 2- the seed transmissibilities and cucurbit hosts of CMV and WMV-2 isolated fro the culture plants in the Cucurbitaceae. *Journal of Turkish Phytopathology*, 14(1),9-16.
- Omar, A. F., EL-Kewey, S. A., Sidaros, S. A. ve Shimaa, A. K. (2011). Egyptian isolates of Papaya Ringspot Virus form a molecularly distinct clade. *Journal of Plant Pathology*, 93(3), 569-576.
- Özaslan, M., AYTEKİN, T., BAŐ, B., KILIŐ, I. H., AFACAN, I.D. ve DAĞ, D. S. (2006). Virus diseases of cucurbits in Gaziantep Turkey. *Plant Pathology Journal*, 5(1), 24-27.

- Papayiannis, L. C., Ioannou, N., Boubourakas, I. N., Dovas, C. I., Katis, N. I. ve Falk, B. W. (2005). Incidence of viruses infecting cucurbits in Cyprus. *Journal of Phytopathology*, 153(9), 530-535.
- Plapung, P. ve Smitamana, P. (2014). Incidence of cucumber viruses in Northern Thailand. *International Journal of Agricultural Technology*, 10(1), 167-176.
- Prieto, H., Bruna, A., Hinrichsen, P. ve Munoz, C. (2001). Isolation and molecular characterization of a Chilean Isolate of Zucchini Yellow Mosaic Virus. *Plant Disease*, 85(6), 644-648.
- Purcifull, D. E. ve Hiebert, E. (1979). Serological distinction of Watermelon Mosaic Virus isolates. *Phytopathology*, 69, 112-116.
- Purcifull, D. E., Edwardson, J.R., Hiebert, E. ve Gonsalves, D. (1984). Papaya Ringspot Virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, 292.6 Ekim 2019, Erişim adresi: <http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=292>
- Purcifull, D. E., Simone, G. W., Baker, C. A. ve Hiebert, E. (1988). Immunodiffusion tests for six viruses that infect cucurbits in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 101,400-403.
- Quemada, H., Sieu, L.C., Siemieniak, D.R., Gonsalves, D. ve Slightom, J.L. (1990). Watermelon mosaic virus II and Zucchini yellow mosaic virus: cloning of 3'-terminal regions, nucleotide sequences, and phylogenetic comparisons. *Journal of General Virology*, 71 (7), 1451-1460.
- Rivera, C., Villalobos, W., Sanchez, M. V., Zumbado, C. ve Rodriguez, C. M. (1993). Identification and distribution of melon infecting viruses and their vectors in two provinces of Costa Rica. *Turrialba*, 43(3), 210-215.
- Rodriguez-Martinez, D., Figueira, A. D. R., Duarte, P. D. S. G., Galvino-Costa, S. B. F. ve Olmeda, J. G. (2015). *Bioscience Journal Uberlandia*, 31,4,133-1142.
- Romay, G., Lecoq, H., Geraud-Pouey, F., Chirinos, D. T. ve Desbiez, C. (2014). Current status of cucurbit viruses in Venezuela and characterization of Venezuelan isolates of Zucchini Yellow Mosaic Virus. *Plant Pathology* 63(1), 14-20.
- Rubies- Autonell, C., Ballante, M. ve Turina, M. (1996). Viral infections in melon crops of central-northern Italy. *Informatore Fitopatologico*, 46,7/8, 6-10.

- Sambrook, J., Fritsch, E. F. & Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning a laboratory manual*. (2th ed), United States of America, ISBN: 0-87969-309-6.
- Sammons, B., Barnett, O. W., Davis, R. F. ve Mizuki, M. K. (1989). A survey of viruses infecting yellow summer squash in south Carolina. *Plant Disease*, 73(5), 401-404.
- Sanchez, F., Rodriguez-Mateos, M., Tourino, A., Fresno, J. ve Gomez-Campo, C. (2007). Identification of new isolates of Turnip Mosaic Virus that cluster with less common viral strains. *Archives of Virology*, 152, 1061-1068.
- Santosa, A. I., Al-Shahwan, I. M., Abdalla, O. A., Al-Saleh, M. A. ve Amer, M. A. (2018). Characterization of a *Watermelon mosaic virus* isolate inducing a severe disease in watermelon in Saudi Arabia. *Journal of Agricultural Science and Technology A8*, 220-229.
- Sertkaya, G., Sertkaya, E., Yetişir, E., Kaya, K., (2004, September 8-10). *Investigations on incidence and transmission of ZYMV in cucurbites in Hatay province*. Proceedings of the First Plant Protection Congress, Samsun.
- Sertkaya, G. ve Yüksel, S. D.,(2016, Eylül 5-8). *Hatay ve Şanlıurfa illerinde kabakgillerde görülen bazı virüs ve fitoplazma enfeksiyonlarının araştırılması*. Uluslararası Katılımlı Türkiye VI. Bitki Koruma Kongresi, Konya.
- Shaifullah, S. M. K., Kundu, A. K., Akanda, A. M. ve Mian, I. H. (2003). Occurrence of pumpkin viruses in four southern districts of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Plant Pathology*, 19, 1/2, 75-79.
- Sharifi, M., Massumi, H., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A. ve Rahimian, H. (2008). Analysis of the biological and molecular variability of *Watermelon mosaic virus* isolates from Iran. *Virus Genes*, 37, 304-313.
- Sidaros, S. A., El-Kewey, S. A., Amin, H. A., Khatab, E. A. H., Emeran, A. A., El-Khalik, S. A. ve El-Kady, M. A. S. (2009). Cloning and sequencing of a cDNA encoding the coat protein of an Egyptian isolate of Pepper mild mottle virus. *International Journal Virology*, 5, 109-118.
- Somowiyarjo, S. (1993). Detection and identification of cucurbit viruses in Yogyakarta. *Ilmu Pertanian*, 5(3), 657-663.
- Svoboda, J. (2011). Pathogenic viruses on Cucurbitaceous vegetables and their spread in the Czech Republic. *Acta Horticulturae*, 917, 309-315.

- Şevik, M. A. ve Arlı-Sökmen, M. (2003). Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey. *Plant Disease*, 87(4), 341-344.
- Taheri, P., Jafarpour, B. ve Rastegar, M. F. (2006). Investigation on Zucchini Yellow Mosaic Virus in Khorasan province. *Agricultural Sciences and Technology*, 20(2), 73-80.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipki, A. ve Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30, 2725-2729.
- Tobias, I. ve Tulipan, M. (2002). Results of virological assay on cucurbits in 2001. *Növennyvedelem*, 38(1), 23-27.
- Tobias, I., Almasi, A., Salanki, K. ve Palkovics, L. (2009). Results of virological investigation on cucurbits in 2008. *Növennyvedelem*, 45/5, 241-244.
- Topkaya, Ş. ve Ertunç, F. (2012, October 15-18). *Current status of virus infections in cucurbit plantations in Ankara, Antalya provinces*. Proceedings of the 10th EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya.
- Topkaya, Ş. (2015). *Kabak Sarı Mozaik Virüsü izolatlarının kodladığı genlerin diziliminin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu* (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Tsvigun, V. O., Rudneva, T. O., Shevchenko, T. P., Budzanivska, I. G. ve Polishhchuk, V. P. (2017). Strain attribution of Ukrainian Isolates of Zucchini Yellow Mosaic Virus and their occurrence in Ukraine. *Biopolymers and Cell*, 32(3), 235-241.
- Türkiye İstatistik Kurumu. (2020). Türkiye kabakgil üretim verileri. Erişim Adresi: <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>
- Vafaei, S. H. ve Mahmoodi, M. (2015). Distribution and partial properties of three viruses infecting cucumber in west Iran and their reservoir weed hosts. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48(6), 519-536.
- Valizadeh, M., Valizadeh, J. ve Jafari, M. (2011). Identification, distribution and incidence of important tomato and cucurbits viruses in the southeast of Iran. *American Journal of Plant Physiology*, 6(5), 242-251.
- Verma, R., Prakash, S. ve Tomer, S. P. S. (2004). First report of Zucchini Yellow Mosaic Virus in cucumber (*Cucumis sativus*) in India. *Plant Disease*, 88/8, 906.

- Vucurovic, A., Bulajic, A., Dekic, I., Ristic, D., Berenji, J. ve Krstic, B. (2009). Presence and distribution of oilseed pumpkin viruses and molecular detection of Zucchini Yellow Mosaic Virus. *Pesticidi i Fitomedicina*, 24(2), 85-94.
- Wang, Y.Y., Beck, D.L., Gardner, R.C. ve Pearson, M.N. (1993). Nucleotide sequence, serology and symptomatology suggest that vanilla necrosis potyvirus is a strain of watermelon mosaic virus II. *Archives of Virology*, 129(1-4), 93-103.
- Wang, J. J. ve Yeh, S. D. (1998). Characterization of the Papaya Ringspot Virus W Type isolates collected from different areas of Taiwan by host reactions, immunodiffusion tests and Rt-Pcr. *Plant Protection Bulletin*, 40: 383-395.
- Wang, D. ve Li, G. (2017). Biological and molecular characterization of *Zucchini yellow mosaic virus* isolates infecting melon in Xinjiang, China. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 39(1), 48-59.
- Wang, D., Li, G. ve Du, S.S. (2017). Occurrence of viruses infecting melon in Xinjiang of China and molecular characterization of *Watermelon mosaic virus* isolates. *European Journal of Plant Pathology* 147(4), 919–931.
- Walters, S. A., Kindhart, J. D., Hobbs, H. A. ve Eastburn, D. M. (2003). Viruses associated with cucurbit production in southern Illinois. *American Society for Horticultural Science*, 38(1), 65-66.
- Webb, R. E. ve Scott, H. A. (1965). Isolation and identification of Watermelon Mosaic Viruses 1 and 2. *Phytopathology*, 55, 895-900.
- Wen, Z. ve Nan, Z. (2013). Detection of cucurbit virus diseases in Hexi Region of Gansu Province. *Journal of Northwest A and F University Natural Science Edition*, 41(12), 131-137.
- Wyenandt, C. A., Infante-Casella, M., Henninger, M. R., Buckley, R., Tirpak, S., Holmstrom, K. E., Nitzsche, P. J., Tietjen, W. H., Samulis, R. J., Kline, W. L., Cowgill, W. ve Heckman, J. R. (2006, September 17-21). *Survey for cucurbit viruses in commercial fields and evaluation of virus-resistant summer squash breeding lines in New Jersey*. Cucurbitaceae 2006 Proceedings, Asheville, North Carolina, United States of America. pp 539-544.

- Yamamoto,H. ve Fuji,S. (2008). Rapid determination of the nucleotide sequences of potyviral coat protein genes using semi-nested RT-PCR with universal primers. *Journal of General of Plant Pathology*, 74, 97-100.
- Yan, X., Miao, S., HeBing, W., HuaFeng, X., XinZhong, C., HongCheng, Z. ve Ling, Q. (2017). Molecular identification and sequence analysis of the pathogen causing cucumber (*Cucumis sativus*) virus disease in Chongqing. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 25(4), 650-658.
- Yang, L. J., Du, Y., Sheng, H., Dan, H. ve Maimaiti, Y. (2016). Cloning and sequence analysis for coat protein gene of ZYMV infecting of melon (*Cucumis melo*) in Xinjiang. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 24(5), 718-728.
- Yang, W., JunXiang, Li., Bin, P. ve QinSheng, Gu. (2017). Detection of viruses infecting watermelon and melon in Henan, Gansu Provinces and Xinjiang Autonomous Region. *China Vegetables*, 8, 31-35.
- Yardımcı, N. ve Korkmaz, S. (2004). Studies on spread and identification of Zucchini Yellow Mosaic Virus disease in the north-west Mediterranean region of Turkey by biological indexing and double-stranded RNA analysis. *Plant Pathology Journal*, 3(1), 1-4.
- Yardımcı, N. (2013). *Bitki virolojisi* (1 Baskı). İstanbul: Hasad Yayıncılık ve Reklamcılık Tarım Sanayi Limited Şirketi.
- Yeh, S. D. ve Gonsalves, D. (1985). Translation of Papaya Ringspot Virus RNA in vitro: detection of a possible polyprotein that is processed for capsid protein, cylindrical-inclusion ptotein and amorphous-inclusion protein. *Virology*, 143, 260-271.
- Yeşil, S. ve Ertunç, F. (2012, October 15-18). *Virus diseases of cucurbits in Konya province*. Proceedings of the 10th Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Antalya.
- Yeşil, S. (2013). *Konya, Karaman ve Aksaray illeri kabakgil ekim alanlarında görülen virüs hastalıklarının serolojik ve moleküler yöntemlerle tespiti ve enfeksiyon kaynaklarının belirlenmesi* (Doktora Tezi), Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Yeşil, S. ve Ertunç, F. (2013). Virus diseases of cucurbits in Karaman province. *International Journal of Ecosystems and Ecology Science*, 3(2),235-240.

- Yeşil, S. (2014, October 23-26). *Virus diseases of edible seed squash (Cucurbita pepo L.) in Konya province*. Fifth International Scientific Agricultural Symposium, University of East Sarajevo, Jahorina.
- Yılmaz, M. A. ve Davis, R. F. (1984). Purification and particle morphology of TMV, CMV, and ZYMV isolated from various cultivated crops grown along the Mediterranean Coast Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology* 13(1), 29-38.
- Yueh-Chwen, H., Tzu-Jung, Y. ve Ya-Chun, C. (2005). A new combination of RT-PCR and Reverse Dot Blot Hybridization for rapid detection and identification of Potyviruses. *Journal of Virological Methods*, 128: 54–6
- Yuki, V. A., Rezende, J. A. M., Kitajima, E. W., Barroso, P. A. V., Kuniyuki, H., Groppo, G. A. ve Pavan, M. A. (2000). Occurrence, distribution, and relative incidence of five viruses infecting cucurbits in the state of Sao Paulo, Brazil. *Plant Disease*, 84, 5, 516-520.
- Zouba, A. A., Khan, A. J., Lopez, M. ve Al-Maqbaly, Y. M. (1997). Survey of virus diseases of cucurbits in the Batinah region of the Sultanate of Oman. *Arab Journal of Plant Protection*, 15(1), 43-46.

EKLER

EK-1

Kaplama Tamponu (Coating Buffer)

Na_2CO_3 1,59 g

NaHCO_3 2,93 g

NaN_3 0,2 g oranındaki karışım 1 litre dsH₂O içerisinde çözülerek pH: 9.6'ya sabitlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).

EK-2

Fosfat Tamponu (Phosphate Buffered Saline - PBS)

NaCl 8,0 g

KH₂PO₄ 0,2 g

Na₂HPO₄ 2,9 g

KCl 0,2 g

NaN₃ 0,2 g oranındaki kimyasallar 1 litre dsH₂O içerisinde
çözülerek karışım pH'ı 7,4 olarak belirlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).



EK-3

Yıkama Tamponu (Washing Buffer)

1 litre fosfat tampon çözeltisine 0,5 ml Tween-20 eklenerek hazırlanmıştır (Clark ve Adams, 1977).



EK-4

Örnek Tamponu (Extraction Buffer)

1 litre yıkama tamponu çözeltisi içine 20 g Polyvinylpyrolidone eklenerek karışım pH'ı 7,4'e sabitlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).



EK-5

Konjugat tamponu (Enzyme Conjugate Buffer)

NaCl 8 g

Na₂HPO₄ 2,9 g

KH₂PO₄ 0,2 g

KCl 0,2 g

NaN₃ 0,2 g

Egg albumin 2 g eklenecek karışım pH değeri 7,4 olarak sabitlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).

EK-6

Substrat tamponu (Substrat Buffer)

Diethanolamine 97 ml

NaN_3 0,2 g maddeleri 800 ml dsH_2O içerisinde çözüdürülerek karışım pH oranı 9,8 değerine sabitlenmiştir (Clark ve Adams, 1977).



EK-7

5 X TBE buffer

Moleküler çalışmalarda ve jel hazırlamada kullanılan Tris/Borate/EDTA (TBE) buffer hazırlamak için (Sambrook vd.,1989):

Tris-Base pH:8	54,0 gL ⁻¹
Boric asit	27,5 gL ⁻¹
0,5M EDTA pH:8	20 ml L ⁻¹



EK-8

6 X Loading dye

Jel elektroforezlerinde gerek DNA'nın koşarken kuyucuk içine çökmesinde gerekse örneğin ne kadar koşturulduğunu anlamak için kullanılan bir boyar maddedir. Aynı zamanda restriksiyon enzim reaksiyonlarının sonlandırılmasında kullanılan bu özel boyayı hazırlamak için (Sambrook, Fritsch ve Maniatis,1989):

Bromophenol blue	%0,25
------------------	-------

Xylene cyanol	%0,25
---------------	-------

Ficoll (Type 400 Pharmacia)	% 15
-----------------------------	------

ÖZGEÇMİŞ

16 Haziran 1989 yılında İstanbul'da doğan Deniz KARABULUT 2006 yılında Kadıköy Gözcübaba Lisesi'ni bitirmiştir. 2012 yılında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümü'nden mezun olmuştur. 2014 yılında Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimini tamamlayarak 2015 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi'nde Doktora eğitimine başlamıştır. 2018 yılında başladığı Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu'ndaki Uzmanlık görevini halen sürdürmektedir.İngilizce ve Almanca dillerini bilmektedir.

Yayımları

- Çalış, Ö., Yanar, Y., Kara, S., Kara, M., Karabulut, D. ve Belgüzar, S. (2013, 26-29 Ekim). *Kiraz ve Vişne ağaçlarında kurumalara neden olan hastalıkların belirlenmesi*. Ulusal Tarım Kongresi, Antalya.
- Çalış, Ö., Saygı, S., Çelik, D., Karabulut, D., Kara, M. ve Karakaş, H. (2013, 25-27 Eylül). *Bakteriyel kanser hastalığına genetik olarak farklı mutasyonlara sahip dayanıklı domatesler*. Türkiye 5. Organik Tarım Sempozyumu, Samsun, cilt:1, no:1, ss:220-224.
- Çalış, Ö., Yanar, Y., Kara, M., Kara, S. ve Karabulut, D. (2014, 3-5 Şubat). *Kiraz ve vişne gibi sert çekirdekli meyve ağaçlarında kurumalara neden olan hastalıkların belirlenmesi*. Türkiye 5. Bitki Koruma Kongresi, Antalya, cilt:1, no:1, ss:234-234.
- Çalış, Ö. Soylu, S., Çekiç, Ç. ve Karabulut, D. (2014, 3-5 Şubat). *Yabani ve kültür çileklerinde hastalık yapan külleme etmeninin (*Podosphaera aphanis* var. *aphanis*) Klasik ve moleküler yöntemlerle tanılanması*, Türkiye 5. Bitki Koruma Kongresi, Antalya, cilt:1, no:1, ss: 232-232.
- Çalış, Ö. ve Karabulut, D. (2014, 3-5 Şubat). *Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) dayanıklı domateslerde dayanıklılığın karakterizasyonu*, Türkiye 5. Bitki Koruma Kongresi, Antalya, cilt:1, no:1, ss:212-212.
- Çalış, Ö., Özdemir, F., Karakaş, H., Karabulut, D., Çelik Ertekin, D. ve Saygı, S. (2014, 20-23 Ekim). *Domates genetik kaynakları merkezi tohumlarının moleküler dayanıklılık ve*

biyoteknoloji çalışmalarında kullanılması. 5. Uluslararası Katılımlı Tohumculuk Kongresi, Diyarbakır, cilt:1, no:1, ss: 300-304.

Çalış, Ö., Karakaş, H., Özdemir, F. ve Karabulut, D. (2014, 2-4 Eylül). *Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına dayanıklı domates genotiplerinde haritalama çalışmaları*. 10. Sebze Tarımı Sempozyumu, Tekirdağ, cilt:1, no:1, ss: 20-22.

Çalış, Ö., Karabulut, D., Karakaş, H. ve Özdemir, F. (2015, 28-30 Nisan). *Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına dayanıklı domates genotiplerinde dayanıklılığın karakterizasyonu*, 2. İç Anadolu Bölgesi Tarım ve Gıda Kongresi, Nevşehir, cilt:1, no:1, ss:558-558.

Çalış, Ö., Karabulut, D., Karakaş, H. & Özdemir, F. (2016, 6-9 October). *Tomato mutants control resistance to bacterial canker and wilting disease*. VII International Scientific Agriculture Symposium, Jahorina- Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, vol:1, no:1, pp:12-12.

Çalış, Ö., Karakaş, H., Özdemir, F., Karabulut, D., Bayan, Y., Ertekin Çelik, D., Saygı, S. ve Çam, H. (2016, 5-8 Eylül). *Bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığına dayanıklı domates bitkilerinin karakterizasyonu ve dayanıklılık lokuslarının haritalanması*. Uluslararası Katılımlı Türkiye 6. Bitki Koruma Kongresi, Konya, cilt:1, no:1, ss: 548-548.

Karabulut, D. (2014). *Bakteriyel kanser ve solgunluk (Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis: cmm) hastalığına dayanıklı ümitvar domates mutantlarında dayanıklılığın moleküler karakterizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.