

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) DOMATES
BİTKİSİNE BULAŞMASI VE SERA ALET EKİPMANLARI ÜZERİNDE
AKTİF KALMA SÜRELERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR VE ERADİKASYON
İŞLEMLERİ**

Hande Nur VURGUN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

HAZİRAN 2022

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) DOMATES
BİTKİSİNE BULAŞMASI VE SERA ALET EKİPMANLARI ÜZERİNDE
AKTİF KALMA SÜRELERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR VE ERADİKASYON
İŞLEMLERİ**

Hande Nur VURGUN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

HAZİRAN 2022

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) DOMATES
BİTKİSİNE BULAŞMASI VE SERA ALET EKİPMANLARI ÜZERİNDE
AKTİF KALMA SÜRELERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR VE ERADİKASYON
İŞLEMLERİ**

Hande Nur VURGUN

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2021-5683 nolu proje ile desteklenmiştir.**

HAZİRAN 2022

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) DOMATES
BİTKİSİNE BULAŞMASI VE SERA ALET EKİPMANLARI ÜZERİNDE
AKTİF KALMA SÜRELERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR VE ERADİKASYON
İŞLEMLERİ

Hande Nur VURGUN

BİTKİ KORUMA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

Bu tez 21/06/2022 tarihinde jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hakan FİDAN (Danışman)

Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

Doç. Dr. Gökmen KOÇ

ÖZET

TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) DOMATES BİTKİSİNE BULAŞMASI VE SERA ALET EKİPMANLARI ÜZERİNDE AKTİF KALMA SÜRELERİ İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR VE ERADİKASYON İŞLEMLERİ

Hande Nur VURGUN

Yüksek Lisans

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hakan FİDAN

Haziran 2022; 62 sayfa

Ülkemizde domates bitkilerinde üretimi sınırlayan faktörler arasında son birkaç yıldır hızla yaygınlık gösteren ToBRFV, uzak mesafeler arasında tohumla taşınırken kısa mesafeler arasında temasla kolayca yayılabilmektedir. Mekanik temasla kolayca taşınan bir virüs olarak bilinen ToBRFV'nin tohumu enfekte edebilmesi ve tohumla taşınabilir olması ayrıca TMV ve ToMV'ye karşı bitkilerde dayanıklılık sağlayan Tm² geni ToBRFV'ye karşı dayanıklılık sağlamaması bu virüsün önemini daha da artırmıştır. Bu sebeple ToBRFV'nin domates üretim alanlarına bulaşmasını önlemek için yapılacak çalışmalar çok önemlidir. Bu tez çalışması kapsamında dezenfektanların etkinliğinin belirlenmesi amacıyla iklimlendirme odalarında kontrollü koşullarda ve serada çiftçi koşullarında dezenfektanların etkinliğinin belirlenmesi ile ilgili denemeler yapılmış, yetiştiricilikte sık temas edilen yüzeylerde (plastik, metal, cam vb.) virüsün aktif kalma süreleri belirlenmiştir. Kontrollü koşullarda dezenfektanların ToBRFV'ye karşı etkinliğinin değerlendirilmesi çalışmalarında BioconA, Bioxi ve Tsunami gibi dezenfektanlar etkili bulunmuştur. Çiftçi koşullarında dezenfektanların ToBRFV'ye karşı etkinliğinin değerlendirilmesinde ise üstten el pülverizatörleri ile uygulanan dezenfektanlar bulaşmayı geciktirir deneme sonunda serada bulunan tüm bitkiler %100 ToBRFV bulaşık bulunmuştur. Dezenfektanların sera alet ve ekipmanlarında aktif kalma sürelerinin belirlenmesinde metal yüzeyde aktif kalma süresi 128 saatten fazla aktif kalma yeteneğini korurken en düşük lateks eldiven ve bağlama ipinde 48 saat aktif kaldığı belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Dezenfektan, Domates, Virüs, Mekanik, ToBRFV

JÜRİ: Doç. Dr. Hakan FİDAN

Doç. Dr. Özer ÇALIŞ

Doç. Dr. Gökmen KOÇ

ABSTRACT

TOMATO BROWN RUGOSE FRUIT VIRUS (TOBRFV) INFECTION ON TOMATO PLANTS AND STUDIES ON ACTIVITY TIMES ON GREENHOUSE TOOL EQUIPMENT AND ERADICATION PROCESSES

Hande Nur VURGUN

MSc Thesis in Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hakan FİDAN

June 2022; 62 pages

Among the factors limiting the production of tomato plants in our country, ToBRFV, which has become widespread in the last few years, can easily spread by contact between short distances while it is carried by seed between long distances. The fact that ToBRFV, which is known as a virus easily transmitted by mechanical contact, can infect the seed and can be carried by seed, and that it does not provide resistance to the Tm22 gene ToBRFV, which provides resistance in plants against TMV and ToMV, has increased the importance of this virus. For this reason, studies to prevent ToBRFV from infecting tomato production areas are very important. In order to determine the effectiveness of disinfectants within the scope of this thesis, experiments were carried out to determine the effectiveness of disinfectants in controlled conditions in air-conditioning rooms and under farmer conditions in greenhouses, and the active duration of the virus was determined on frequently touched surfaces (plastic, metal, glass, etc.) in aquaculture. In the studies evaluating the effectiveness of disinfectants against ToBRFV under controlled conditions, disinfectants such as BioconA, Bioxi and Tsunami were found to be effective. In the evaluation of the effectiveness of disinfectants against ToBRFV in farmer conditions, all plants in the greenhouse were found to be 100% ToBRFV contaminated at the end of the experiment, although disinfectants applied with top hand sprayers delayed the contamination. In the determination of the active time of disinfectants in greenhouse tools and equipment, it was determined that the most active time on the metal surface was found to be active on the metal surface, while it remained active on the latex glove and binding thread the lowest.

KEYWORDS: Disinfectant, Mechanical, Tomato, Virus, ToBRFV

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Hakan FİDAN

Assoc. Prof. Dr. Özer ÇALIŞ

Assoc. Prof. Dr. Gökmen KOÇ

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde yol göstericiliği ve deneyimiyle bana her konuda destek olan değerli hocam Doç. Dr. Hakan FİDAN'a çok teşekkür ediyorum.

Değerli tavsiye ve yorumları ile tezime son şeklinin verilmesini sağlayan, tez savunma jürimde bulunan Doç. Dr. Özer ÇALIŞ ve Doç. Dr. Gökmen KOÇ'a ve istatistiksel analizlerde tecrübelerini benimle paylaştığı için Doç. Dr. Engin YOL'a teşekkür ediyorum.

Proje çalışmalarının yürütüldüğü seraların kullanımına izin veren Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne ve deneme sürecinde bitki yetiştiriciliğinde her zaman yardımcı olan fakülte personelimiz Sn. Hüseyin DUMAN'a teşekkür ediyorum.

Yüksek lisansa beraber başladığım ve yolda her zaman beraber olduğumuz değerli arkadaşlarım Damla ULUSOY ve Sefanur ÇELİK'e, tezime katkılarından ve düzenlemelerinden dolayı Pelin SARIKAYA ve Ailar GONBADI'ye, sera çalışmalarında oldukları destekten dolayı Nur CAYAK, Utku ŞİMŞİR ve Mümin İbrahim TEK'e teşekkür ediyorum.

Yüksek lisansımın en başından beri bana verdiği moral, destek ve sabrın yanında tezime verdiği değerli katkılarından dolayı eşim Murat ALBEZİRGAN'a ve beni yetiştiren her konuda arkamda olan kıymetli annem Şerife VURGUN'a ve beni bu mesleğe yönlendiren meslektaşım canım babam Ahmet Nejat VURGUN'a teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
AKADEMİK BEYAN	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Domateste Ekonomik Olarak Zararlı Virüs Hastalıkları	3
2.2. ToBRFV'nin Domates Bitkisindeki Simptomları	3
2.3. Yayılımı ve Enfeksiyon Kaynakları	5
2.4. Hastalığın Ortaya Çıkışı ve Dünyadaki Dağılımı.....	6
2.5. Dayanıklılık Geni Tm2 ²	8
2.6. ToBRFV'nin Genom Yapısı, Morfolojisi ve Evrimsel Geçmişi.....	9
2.7. ToBRFV'nin Tanılanması ve Teşhisi.....	11
2.7.1. Elektron mikroskop görüntüsü	11
2.7.2. Serolojik testlemeler	11
2.7.3. Moleküler testlemeler	11
2.8. Hastalığı Kontrol Altına Alma Stratejileri	12
2.9. Dezenfektan Çalışmaları	12
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Kullanılan malzemeler ve cihazlar	14
3.1.2. Test bitkilerinin belirlenmesi	15
3.1.3. Denemelerde kullanılan dezenfektanlar	15
3.2. Metot	16
3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi	16
3.2.2. Mekanik İnokulasyon çalışmaları.....	18
3.2.3. Deneme planının oluşturulması	18

3.2.3.1. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı kontrollü koşullarda etkinliğinin belirlenmesi.....	18
3.2.3.2. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı çiftçi koşullarında etkinliğinin belirlenmesi	20
3.2.3.3. Sera alet ve ekipmanlarında ToBRFV'nin aktif kalma sürelerinin belirlenmesi ve dezenfektan uygulamaları	23
3.2.4. Simptomatolojik gözlemler	24
3.2.5. RT-PCR çalışmaları.....	25
3.2.6. DAS-ELISA çalışmaları	27
3.2.7. İstatistiksel değerlendirmeler.....	28
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	29
4.2. Mekanik İnokülasyon Çalışmaları.....	29
4.3. Denemelerin Kurulması ve Dezenfektan Uygulamaları	29
4.3.1. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı etkinliğinin belirlenmesi	30
4.3.1.1. Simptomatolojik gözlemler.....	31
4.3.1.2. RT-PCR çalışmaları	34
4.3.1.3. DAS-ELISA çalışmaları	35
4.3.1.4. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi	37
4.3.2. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı çiftçi koşullarında etkinliğinin belirlenmesi.....	38
4.3.2.1. Simptomatolojik gözlemler.....	40
4.3.2.2 DAS-ELISA çalışmaları	46
4.3.2.3. RT-PCR çalışmaları	48
4.3.3. Sera alet ve ekipmanlarında ToBRFV'nin aktif kalma sürelerinin Belirlenmesi.....	50
4.3.3.1. Simptomatolojik gözlemler.....	51
4.3.3.2. RT-PCR çalışmaları	53
6. SONUÇLAR.....	54
7. KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) domates bitkisine bulaşması ve sera alet ekipmanları üzerinde aktif kalma süreleri ile ilgili çalışmalar ve eradikasyon işlemleri” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

21/06/2022

Hande Nur VURGUN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat Derece
%	: Yüzde
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre

Kısaltmalar

AÜ	: Akdeniz Üniversitesi
Bp	: Baz Çifti
CMV	: <i>Cucumber mosaic virus</i>
DAS-ELISA	: Double Antibody Sandwich-Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
ddH ₂ O	: Çift Distile Su
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoxyribonucleotide Triphosphate
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetikasit
EPPO	: Avrupa ve Akdeniz Bitki Sağlığını Koruma Örgütü
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
HCl	: Hidroklorik Asit
ORF	: Açık Okuma Bölgeleri
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
R	: Resistance
RT-PCR	: Reverse Transkripsiyon-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Rpm	: Revolutions er minute (Dakikada dönme sayısı)
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat

TAE	: Tris -Acetate-EDTA
TMV	: <i>Tobacco mosaic virus</i>
ToMV	: <i>Tomato mosaic virus</i>
ToBRFV	: <i>Tomato brown rugose fruit virus</i>
TSWV	: <i>Tomato spotted wilt virus</i>
TSP	: Trisodyum Fosfat
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TYLCV	: <i>Tomato yellow leaf curl virus</i>
UV	: Ultra Viole
V	: Volt
vd.	: ve diğçerleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Domates bitki yapraklarında ToBRFV simptomları (EPPO 2022).	4
Şekil 2. 2. Domates bitkilerinde yeşil meyvelerde ToBRFV simptomları (Anonymous 1)	4
Şekil 2. 3. Domates bitkilerinde daha olgun meyvelerde ToBRFV simptomları	5
Şekil 2. 4. ToBRFV'nin dünya üzerindeki dağılımını gösteren harita	8
Şekil 2. 5. Tobamovirüs ORF bölgelerini gösteren genom yapısı	10
Şekil 2. 6. MT107885 TBRFV-Ant-Tom NCBI kayıtlı Antalya domates ToBRFV izolatının Zeiss Leo 906 E TEM (Germany) Elektron mikroskobu.....	11
Şekil 2. 7. Luria ve diğerleri, 2017'den uyarlanmış viral dört öngörülen ORF'yi gösteren genom organizasyonunun şematik diyagramında ToBRFV'yi hedefleyen primer setlerinin gösterimi	11
Şekil 3. 1. Antalya bölgesi ToBRFV ile bulaşık üretim alanları.....	14
Şekil 3. 2. Denemelerde kullanılacak dezenfektanlar	16
Şekil 3. 3. İklimlendirme odalarında yetiştirilen domates bitkileri	16
Şekil 3. 4. İklimlendirme odalarında yetiştirilen tütün bitkileri	16
Şekil 3. 5. Fakültenin deneme seralarında kurulacak denemenin hazırlık işlemleri, dezenfektan uygulamaları	17
Şekil 3. 6. Domates fidelerinin seraya dikimi.....	17
Şekil 3. 7. Fitopatoloji serasında fide sehpaları üzerinde yetiştirilen domates bitkileri.....	17
Şekil 3. 8. Domates bitkilerine ToBRFV izolatının soft-sponge pad yöntemi ile bulaştırılması.....	18
Şekil 3. 9. Domates bitkilerinin iklimlendirme odasında yetiştirilmesi ve dezenfektan ile ToBRFV karışımlarının bitkilere mekanik olarak bulaştırılması.....	19
Şekil 3. 10. Çalışmada kullanılan 15 ml'lik falcon tüplerinde dezenfektan ve ToBRFV fosfat tampon çözeltinin karıştırılma oranları	19
Şekil 3. 11. Deneme planı ve bitki dikim aralıklarının gösterilmesi	21
Şekil 3. 12. Domates bitkilerinin arazide görünümü	21
Şekil 3. 13. Dezenfektanların el pülverizatörleri ile bitkilere uygulanması	21

Şekil 3. 14. Seraya polinasyon için bombus arılarının yerleştirilmesi.....	23
Şekil 3. 15. ToBRFV'nin aktif kalma sürelerinin belirleneceği çeşitli alet-ekipman ve yüzeyler	24
Şekil 3. 16. Tütün bitkilerinin yetiştirilmesi	24
Şekil 3. 17. Domates yapraklarının Tomato brown rugose meyve virüsü (ToBRFV) belirtileri	25
Şekil 3. 18. Moleküler testlemelerde kullanılan Verso 1-Step RT-PCR ReddyMix Kit	26
Şekil 3. 19. DAS-ELISA testlemelerinde kullanılan çözeltiler, plate ve ToBRFV'ye spesifik conjugate ile antibody	27
Şekil 4. 1. Çalışmalarımızda kullanılan dezenfektanların bazıları	30
Şekil 4. 2. Viyollerde domates bitkileri ile yapılan ilk mekanik inokulasyon denemesi.....	30
Şekil 4. 3. Dezenfektan uygulaması yapılacak bitkiler ve dezenfektanların hazırlanması	30
Şekil 4. 4. İklimlendirme odalarında yetiştirilen domates bitkileri	31
Şekil 4. 5. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV) enfektivitesine karşı simptomatolojik olarak değerlendirilmesinin grafik şeklinde gösterimi.....	32
Şekil 4. 6. Domates yapraklarının Tomato brown rugose meyve virüsü (ToBRFV) belirtileri: 0 belirtilme olmadığını ve 3 şiddetli belirtileri gösterir	33
Şekil 4. 7. İklimlendirmede bulunan deneme bitkilerinin simptomatolojik skalaya göre dağılımı	34
Şekil 4. 8. M; 100 bp DNA Ladder RT-PCR sonucu jel görüntüsü ToBRFV pozitif çıkan örnekler	34
Şekil 4. 9. a: DAS-ELISA sonuçlarını okuduğumuz spektrofotometre, b: sonuçların çıktısının alınması	35
Şekil 4. 10. DAS-ELISA sonuçlarının 405 nm absorban okuma değerleri	36
Şekil 4. 11. DAS-ELISA sonuçları.....	36
Şekil 4. 12. Varyans analizinin sonuçları.....	37
Şekil 4. 13. LSD testinin sonuçları	37

Şekil 4. 14. Dozlara göre etki oranlarının belirlenmesi	38
Şekil 4. 15. Domates bitkilerinin tomurcuk döneminde <i>Bombus terrestris</i> arıları ile polinasyonu.....	39
Şekil 4. 16. a) Dezenfekten uygulaması yapılan el pülverizatörü, b) seraya uygulama yapılması.....	40
Şekil 4. 17. ToBRFV enfekteli domates yapraklarının belirtileri.....	40
Şekil 4. 18. Mekanik inokulasyon sonucunda simptom gösteren domates bitkileri	41
Şekil 4. 19. HCl uygulaması sonucu bitki yapraklarında oluşan fitotoksite.....	44
Şekil 4. 20. Yapılan çalışmalar sonucu serada ToBRFV enfekteli bitkilerin genel simptomları	46
Şekil 4. 21. DAS-ELISA plate görüntüsü.....	46
Şekil 4. 22. DAS-ELISA sonuçlarının 405 nm absorbans okuma değerleri.....	47
Şekil 4. 23. DAS-ELISA sonuçlarının 405 nm absorbans okuma değerlerinin devamı.....	47
Şekil 4. 24. RT-PCR sonucu jel görüntüsü	48
Şekil 4. 25. Varyans analiz sonuçları.....	49
Şekil 4. 26. LSD testinin sonuçları	49
Şekil 4. 27. Dozlara göre etki oranlarının belirlenmesi	50
Şekil 4. 28. Tütün bitkilerinde ToBRFV simptomları	52
Şekil 4. 29. Domates bitkilerinde ToBRFV simptomları	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1. Tez kapsamında kullanılacak dezenfektanlar, uygulama oranları, aktif madde içerikleri ve üretici firma bilgileri	15
Çizelge 3. 2. Tesadüf blokları deneme desenine göre dezenfektan uygulamaları	22
Çizelge 3. 3. Dezenfektan uygulamaları iş planı	23
Çizelge 3. 4. Moleküler testlemelerde kullanılan primer çifti	26
Çizelge 3. 5. Verso One step RT-PCR protokolünde kullanılan kimyasallar ve hacimleri	26
Çizelge 3. 6. RT-PCR döngü protokolleri	27
Çizelge 4. 1. Güzlük domates yetiştiriciliğinin yapıldığı tarihlerinde Antalya ili meteorolojik iklim verileri	29
Çizelge 4. 2. Dezenfektanların domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV) enfektivitesine karşı simptomatolojik olarak değerlendirilmesi.....	33
Çizelge 4. 3. DAS-ELISA testinde kullanılan antiserumun sulandırma oranı	35
Çizelge 4. 4. İnokulum kaynağı olarak seçilen bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları	41
Çizelge 4. 5. Kontrol bitkilerinin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları	41
Çizelge 4. 6. Tsunami uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları	42
Çizelge 4. 7. Bioxi uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları	43
Çizelge 4. 8. Desyclean uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları	44
Çizelge 4. 9. HCl uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları	45
Çizelge 4. 10. Biocon A uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları	45
Çizelge 4. 11. Belirlenen saat aralıklarında bulaştırma yapıldıktan sonra ToBRFV simptomu oluşan	51

1. GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum L.*) 16 yy'a kadar bilinmezken 20. yy'da hem ticari üretimde hem de ev bahçelerinde ön plana çıkmış bir sebzedir. Domatesin zehirli bir bitki olduğu hakkındaki düşünceler dünya çapında yayılımının son yüzyıllara kadar az olmasına neden olmuştur. Günümüzde ise bu durum değişmiş domates hem Türkiye hem de dünya pazarında ticarete önemli bir konuma gelmiştir. Dünya domates üretimi yaklaşık 177 milyon ton olup; birinci sırada 61 milyon ton ile Çin önde gelen üretici olup onu Hindistan, Amerika Birleşik Devletleri ve Türkiye izlemektedir (FAO 2020).

Ülkemizin sahip olduğu farklı coğrafi ve ekolojik koşullar nedeniyle farklı iklim ve toprak isteği olan birçok ürünün üretilmesi mümkündür. Bu sayede domatesin anavatanı olmamasına rağmen yetiştiriciliğinde önemli ilerleme kaydedilmiş olup açık tarla üretimiyle beraber örtü altı üretiminde geleneksel ve yüksek teknolojiye sahip topraksız seralarda her mevsim üretim mümkündür.

Besin içeriği açısından oldukça zengin olan domatesin içeriğinde güçlü bir antioksidan olan 'likopen' bulunmaktadır. Karpuz ve greyfurt gibi farklı gıdalarda da likopen bulunmasına rağmen domatesin sofralarımızda neredeyse her gün yer alması ön plana çıkmasına sebep olmuştur. Yaş sebze tüketiminin yanı sıra işlenerek; salça, domates kurusu, domates suyu, konserve, ketçap ve sos gibi birçok ürüne dönüştürülerek piyasaya sunulmaktadır.

Ülkemiz aynı zamanda birçok tohum üreticisinin bulunduğu bir merkezdir. Özel kuruluşlarının domates tohum üretimine gösterdiği ilgi diğer sebze tohumlarına göre fark yaratmaktadır. Antalya'da hibrit sebze tohumunun %79,44'ü, standart sebze tohumunun ise %98,09'u özel kuruluşlar tarafından üretilmektedir. Sebze tohumu üreticisi firmaların üretim faaliyetlerine etki eden faktörlerin başında üretim maliyetleri gelmektedir. Domates üretimin başlangıç materyali tohumdur. Sağlıklı ve kaliteli bir tohum kullanmak üretime bir adım önde başlamak demektir. Fakat tohum sağlığını tehlikeye atan bazı patojenler mevcuttur. Dünyanın farklı bölgelerinden tohumla bulaştığı bildirilen yaklaşık 231 bitki virüsü ve viroid hastalığı bulunmaktadır. Özellikle *Tobamovirus* cinsi içerisinde yer alan Tobacco mosaic virus (TMV), Tomato mosaic virus (ToMV) ve son yıllarda dünya çapında hızlı bir yayılım gösteren Tomato Brown Rugosa Fruit Virus (ToBRFV) yani Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü tohum üretimini tehlikeye atmaktadır. 2019 yılında ortaya çıkan ve insanlığın tüm düzenini değiştirerek yeni bir yaşam biçimi oluşturan SARS-Cov2 virüsü gibi hızlı yayılımı ve bitkinin yeşil aksamında ve meyvesinde oluşturduğu tahripkâr semptomları nedeniyle halk arasında domatesin Koronavirüs'ü olarak anılmaktadır.

Domates bitkisinde tohumun yanı sıra vektör böceklerle de taşınan yaklaşık olarak 40 adet virüsün üretimde kayıplara yol açtığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda dünya çapında verim kayıplarından bitki virüslerinin neden olduğu kaybın yılda 30 milyar ABD Dolarından fazla olduğu tahmin edilmektedir (Sastry ve Zitter 2014). Bitkisel üretimde, özellikle ülkemiz için ihracatta stratejik sayılabilecek bir ürün olan domatesten, oluşabilecek her türlü kaybı önlemek için kontroller alınarak yeni çözümler aranmalıdır.

Genelde bitki hücresi öldüğünde, toprakta veya bitki artıklarında bulaşıklıklarını sürdürebilen bazı istisna çok stabil bitki virüsleri vardır. Bunlar genelde *Tobamovirüs* grubunun içerisinde yer almaktadır. 2014’de bu gruba Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü dahil oluşur. Bu virüsler temas yolu ile özellikle üretim sırasında yapılan kültürel işlemler esnasında taşınmaktadır. Virüsün hücre içerisine girmesi için yara açıklıkları gerekmektedir. Bu kültürel işlemler sırasında epidermal tüyler kırılır, bulaşık bitki özsuyu işlemi gerçekleştiren kişinin eline, kullandığı alet ve ekipmana ve hatta kıyafetlerine bulaşmaktadır. Bitkide meydana gelen mikro yaralar virüslerin bitki hücresine giriş yapmasına olanak sağlayarak yayılmaya neden olmaktadır. Tobamovirüslerin aynı zamanda tohumla taşınmaları ciddi problemlere yol açabilmektedir.

Uluslararası tohum ticareti sırasında farklı ülkelerden gelebilecek tohum kaynaklı virüs ve diğer hastalıkların önüne geçmek amacıyla yasal yollarla karantina tedbirleri alınmaktadır. Kahverengi meyve buruşukluk meyve virüsü 2021 yılına kadar EPPO’nun alarm listesinde yer alırken geçtiğimiz günlerde EPPO A2 Listesine alınmıştır. 2021 yılında ülkemizden Rusya Federasyonu’na ihraç edilen taze domates ve taze biberlerde *Pepino mosaic virus*, *Tomato brown rugose fruit virus* ve *Tomato spotted wilt virus* tespit edilmiştir. Büyük çoğunluğu Antalya bölgesinde üretilen bu sebzeler için ihracata gitmeden önce laboratuvar analizleri yapılmıştır.

Dünyada ve ülkemizde büyük yankı uyandıran ToBRFV’nin gelecekte domates üretim alanlarını hatta *Solanaceae* familyasındaki diğer bitkilerinde üretimini sınırlandırması söz konusu olabilir. Diğer *Tobamovirüslere* dayanımı olan domates çeşitlerinin bu virüs için etkisiz kaldığı görülmüştür. Şu an için dayanıklılık barındıran ticari bir domates çeşidinin dünyada olmaması mevcut mücadele yöntemlerini geliştirmeyi ve daha iyi anlaşılmasını gerektirmektedir.

Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV), ülkemizde 2019 yılında Antalya’nın Demre ilçesinde tespit edilmiştir. 2 yıl içerisinde bölgedeki üreticilerin çoğunluğu tarafından duyulmuştur. Virüsler ile kimyasal bir mücadele günümüz teknolojileri ile mümkün olmaması üreticiyi çaresiz bırakmaktadır. Virüs hastalıklarının varlığının erken teşhisi ve hastalıklı bitkilerin seradan uzaklaştırılması gibi işlemlerin yanı sıra sera içi rutin hijyen işlemleri de çok önemlidir.

Bu tez çalışmasında virüsün domates bitkisinin yeşil aksamına bulaşmasının gözlemlenmesi ve inokulum varlığında dezenfektan uygulanan bir serada virüsün yayılımı çalışılmıştır. Ayrıca piyasada mevcut ticari dezenfektanların etkinliği ölçülecek, virüsün sera içerisinde kullanılan alet ve ekipmanlarda aktif kalma süreleri belirlenerek alınması gereken tedbirler üzerinde bir sonuca varılacaktır. Çünkü günümüzde hala virüs-dezenfektan ilişkisi tartışılmakta olup net bir sonuç elde edilememesi bu çalışmanın temelini oluşturmaktadır. Bu çalışmayı 3 ana başlık altında gruplandırarak olursak ilk aşamada; serada ToBRFV ile enfekteli bitkilerden sağlıklı bitkilere kültürel işlemler sırasında bulaşması gözlemlenecek ve eradikasyon çalışmaları yapılacaktır. İkinci aşamada ticari dezenfektanların ToBRFV’ye karşı etkinlikleri belirlenecek. Üçüncü aşamada sera alet ve ekipmanlarının ToBRFV’nin aktif kalma süreleri ve eradikasyon çalışmaları yapılacaktır.

2.KAYNAK TARAMASI

2.1. Domateste Ekonomik Olarak Zararlı Virüs Hastalıkları

Domates (*Solanum lycopersicum L.*) ekonomik olarak dünya çapında ve en önemli yaş sebzelerdir. Türkiye’de yıl boyunca hem tarla hem de örtü altında taze ve işlenmiş olarak tüketilmek üzere yetiştirilmekte olup ihracatta önemli bir konuma sahiptir. Birçok bitki üretiminde karşılaşılan ve meyve verim ve kalitesini sınırlayan virüs hastalıkları bulunmaktadır. Yaklaşık olarak 40 adet virüs hastalığı domates bitkisinde üretim kayıplarına yol açmaktadır (Asu vd. 2009). Kimyasal bir mücadelesi olmadığından; kontrol stratejileri, genetik direnç veya hijyen önlemleri olarak kontrol altına almak ve yetiştiricilik yapılan alanda enfeksiyona yakalanan bitkilerin imhasına dayanır. Bitki materyallerinin uluslararası seyahatlerinin ve ticaretinin artması, yeni virüslerin üretim alanlarına girme riskini artırır Domatese bulaşan birçok virüs tanımlanırken, yeni viral hastalıklar ortaya çıkmaya devam etmektedir (Hanssen vd. 2010).

Domates üretimini etkileyen en önemli virüs hastalıkları arasında Domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus = TSWV), Domates Sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*=TYLCV), *Pepino mozaik virüs* (Pepino mosaic virus = PepMV), Domates kloroz virüsü (*Tomato chlorosis virus* =ToCV) olarak sıralanmaktadır. Son yıllarda dayanıklı çeşit kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edilen Tütün mozaik virüsü (*Tobacco mosaic virus* =TMV) döneminin en yıkıcı virüslerinden olup 1976’lı yıllarda dünya domates üretiminde %20’ye varan kayıplara neden olmuştur. Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus* = ToMV) yakın serolojik ilişkisi nedeniyle uzun süre TMV’nin bir türü olarak kabul edilmiş. Serolojik yöntemler geliştikçe protein yapılarının farklılıkları ayırt edilebilir olmuş ve ayrı bir virüs olarak değerlendirilerek epidemiyolojisi incelenmiş ve önemli domates hastalıkları arasına girmiştir. Fakat son yıllarda dünyada ve ülkemizde Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (*Tomato brown rugose fruit virus* =ToBRFV) olarak tanımlanan yeni bir virüs geniş yayılım alanlarında epidemi yapmıştır (Roselló vd. 1996; Pan vd.2012; Şevik ve Deligöz 2016; Çevik ve Erkiş 2008; Broadbent 1976; Brunt 1986; Fidan 2020).

2.2. ToBRFV’nin Domates Bitkisindeki Simptomları

ToBRFV’nin ilk olarak fark edildiği Ürdün’deki seralarda yetiştirilen domates (*Solanum lycopersicum*, cv. Candela) bitkilerinde, sezon sonuna doğru Nisan aylarında hafif yaprak belirtileri görülmüş, ilerleyen zamanda meyvelerde pazar değerini büyük ölçüde etkileyen güçlü kahverengi buruşuk belirtiler fark edilmiştir (Salem vd. 2016). Hastalığın tanımlanmasından hemen sonra yapılan çalışmalarda bitkide yaprakların ara sıra daralması, hafif ve şiddetli yaprak mozaikleri görülmüştür. Meyvede ise toplam meyve yüzeyinin %10 ila 15’ini oluşturan sarı benekler dikkat çekmektedir (Luria vd. 2017).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda ToBRFV’nin domatesteki belirtilerinin domatesin türüne göre farklılık gösterdiği dikkat çekmiş ve buna göre değerlendirilmiştir.



Şekil 2. 1. Domates bitki yapraklarında ToBRFV belirtileri (Anonymous 1)



Şekil 2. 2. Domates bitkilerinde yeşil meyvelerde ToBRFV belirtileri (Anonymous 1)

Bunlardan birincisi bazı çeşitlerin yapraklarında şiddetli mozaikler oluşurken bazı çeşitlerde meyve oluşuncaya kadar yaprak belirtisi görülmemiş ve virüsün varlığı ancak meyveler oluşup belirtiyi gösterdiğinde anlaşılmıştır. Domates yapraklarında klorotik mozaikler, buruşma ve deformasyonlar; Tm2² dayanımı olan çeşitlerde meyvede

düzensiz sarı halkalar meydana gelirken; dayanımı olmayan çeşitlerde kahverengi buruşuk (rugose) lekeler oluşmaktadır. (Şekil 1). Tm-2² dayanımı olan beef (iri domates) çeşitlerinde yapraklarda iplikleşme ve uzama şeklinde simptomları gösterirken bu simptomları etkileyen bir diğer durumun ise iklim koşulları olduğu gözlemlenmiştir (Fidan 2020).



Şekil 2. 3. Domates bitkilerinde daha olgun meyvelerde ToBRFV simptomları

Ayrıca biberde genç yapraklarda hafif mozaik ve renk değişikliği, genç yapraklarda damar açılması, ikincil dalların kesişiminde yer alan güçlü nekroz ile gövdede nekroz, meyvelerin bozulması gibi simptomlar göstermektedir (Panno vd. 2020). Bazı *Nicotiana* türleri ise deneysel konukçu olarak kullanılmakta olup bu bitkilerde simptom oluşmaktadır (EPPO 2022).

2.3. Yayılmı ve Enfeksiyon Kaynakları

Küresel tohum ticareti, dünya tarımının gelişmesine ve ilerlemesine katkıda bulunmasına rağmen bu tohum ticareti yeni büyüyen bölgeler, ülkeler ve kıtalardaki salgın hastalıklara olumsuz olarak yansımaktadır. Tohum ticaretinde salgınlara neden olan tohum kaynaklı hastalıklar dünya çapında üretim için bir tehlike olarak görülmektedir (Dombrovsky ve Smith 2017). TMV bitki hücrelerinin dışında ve ölü dokularda yaşama kabiliyeti açısından da en kalıcı virüstür (Caldwell 1959). Tobamovirus cinsindeki virüslerin birçoğunun tohum kaynaklı ve mekanik olarak taşınabilen stabil virüsler oldukları saptanmıştır. Enfeksiyöz partiküller öncelikli olarak tohum kabuğuna tutunmaktadırlar. Bulaşıcı partiküller öncelikle tohum kabuğuna bağlanır; kontamine olmuş tohum kabuğu, transplantasyon sırasında oluşan yaralı kökleri etkileyebilir (Broadbent 1965). Tarımsal üretimde çok sayıda tohum ve fide kullanılmaktadır. Bu nedenle, kontamine tohumların düşük yüzdesi bile çok sayıda enfeksiyona neden olabilir (Maule ve Wang 1996). Sonuç olarak, birincil bulaşıcı kaynak olan tohum ile mekanik temas sonucu; üretimde işçilerin yaptığı rutin işlerde, kullanılan

ekipmanda, sera yüzeyinde, bitki dolama iplerinde, tarlalarda traktör kullanımı gibi temaslı işlemler sırasında hızla yayılabilir (Broadbent 1963; Reingold vd. 2016; Reingold vd. 2013). Tobamovirüslerin bulaşıcılığı, bitki kalıntılarında ve kontamine toprakta aylarca hatta yıllarca korunur ayrıca drenajda ve sulama suyunda kalıcılığı yüksektir (Roberts 2014; Li vd. 2016).

ToBRFV bilim için nispeten yeni bir virüs olduğundan sınırlı sayıda yayınlanmış bilimsel veri mevcuttur. Verilerin yetersiz kaldığı durumlarda değerlendirme sırasında bilgi sağlamak amacıyla TMV, ToMV ve CGMMV (*Cucumber green mottle mosaic virus*) gibi bilimsel olarak iyi araştırılmış diğer Tobamovirüslerden faydalanılmaktadır. Diğer tobamovirüs türlerine benzer şekilde, ToBRFV mekanik temaslara etkili bir şekilde iletilmektedir (Lovelock vd. 2000).

Bombus terrestris, domates üretiminde yaygın olarak kullanılan faydalı bir tozlayıcıdır. Polinasyon sırasında bombus arısının vücuduna ToBRFV genomunun RNA partiküllerinin yapıştığı ve bu şekilde temas yoluyla yaydığı düşünülmekteydi. ToBRFV ile bombus arılarının ilişkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışma kapsamında; ToBRFV ile enfekte olmuş domates serasından toplanan yaban arısı kovanları, sağlıklı domates bitkilerinin bulunduğu seraya yerleştirilmiştir. Bir süre sonra sağlıklı bitkilerin ToBRFV ile enfekte olduğu gözlemlenmiştir. Seradaki inokulum kaynağı bombus arılarına diseksiyon yapılmış özellikle karın bölgesinde viral partiküller sonuçları doğrulamıştır (Levitzky vd. 2019).

2.4. Hastalığın Ortaya Çıkışı ve Dünyadaki Dağılımı

2014 Ekim ve Kasım aylarında Güney İsrail'deki Ohad köyünde domatese bulaşan yeni bir hastalık salgını meydana geldi. Hastalığın mekanik olarak hızla yayılması tobamovirüs enfeksiyonu olduğu düşüncesini akla getirmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın bir yıl içinde ülkenin Güneyinde, Güneydoğu ve Kuzey bölgelerinde olmak üzere domates yetiştiriciliği yapılan çeşitli alanlarda yayılmıştır (Salem vd. 2016; Luria vd. 2017). Domatesin ardından biber üretiminin ana bölgelerinden olan Ürdün Vadisi'nde biberlerinde ToBRFV ile bulaşık olduğu rapor edilmiştir (Salem vd. 2020). Rapor edilmesinin ardından dünyanın dört bir yanından ilk raporlar yayımlanmaya başlamıştır.

Amerika Kıtasında; *Tm-2* ve *Tm-2²* direnç genlerini taşıyan Ensenada, Baja California'dan korunan bir seradaki domates bitkilerinde şiddetli mozaik, kabarma ve yaprak bozulması görülmüştür. Yapılan testlemeler sonucu yeni izolat dizisi (ToBRFV-Mx, MK319944) sırasıyla Ürdün ve İsrail izolatları ile %99,8 ve %99,9 nükleotid benzerliği gösterdi. Ardından Meksika'da Yurécuaro, Tanhuato ve Michoacán bölgesinde bitkilerde benzer belirtiler görülmüş ve sonuçlar ToBRFV'ye %99 ila %100 benzerlik oranı vermiştir. Yine yakın tarihlerde Güney Kaliforniya'da bir serada domates bitkilerinde mozaik, beneklenme ve bitki bodurlaşması dahil olmak üzere ciddi bir hastalık salgını gözlemlenmiş testlemeler sonucu ToBRFV olduğu ortaya çıkmıştır (Camacho-Beltrán vd.2019; Cambrón-Crisantos vd. 2019; Ling vd. 2019).

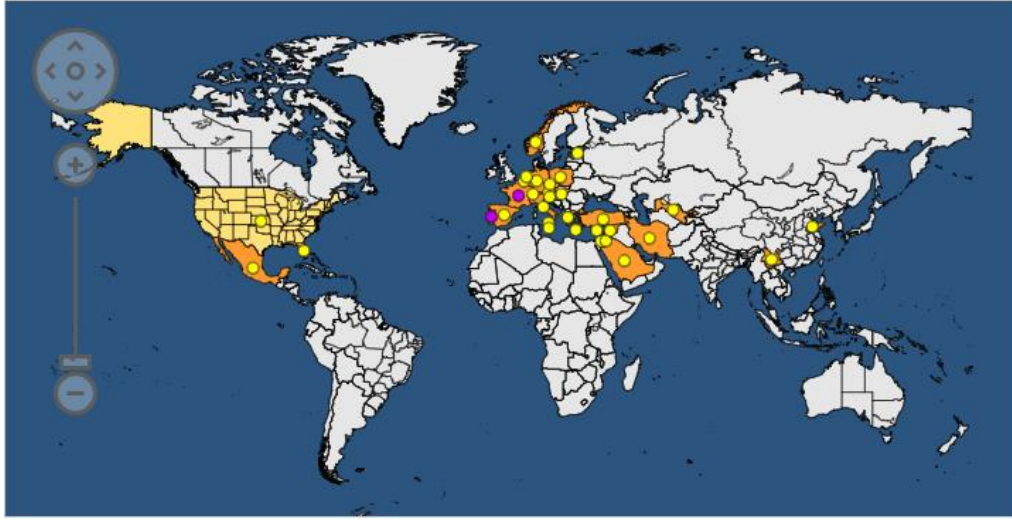
Afrika Kıtasında; Kuzey Filistin'de bazı ticari domates çeşitlerinde TMV'ye benzer belirtiler görülmüş ve testlemeler sonucu ToBRFV ile bulaşık olduğu anlaşılmıştır. Yine yakın ülkelerden biri olan Mısır'ın Fayoum ve Ismailia Valiliklerindeki dört bölgede domates bitkilerinden toplanan yaprak örneklerine ToBRFV'nin moleküler tespiti için

kullanılan primerler ile testler yapılmış ve ToBRFV açısından pozitif değerlendirilmiştir. Mısır'da domatese bulaşan ToBRFV'nin ilk rapor olup. Virüsün Afrika kıtasında da varlığı ortaya çıkmıştır (Alkowni, vd.2019; Amer vd. 2020)

Asya Kıtasında; Çin'de ilk olarak Nisan 2019'da Shandong'da domates üzerinde bulunmuştur. Daha sonraları Çin'den Kıbrıs, Çek Cumhuriyeti, Hollanda, Polonya'ya ithal edilen domates ve İngiltere'ye ithal edilen biber tohumunda tespit edildi. Yine Asya kıtasında yer alan Hindistan'da 2021 yılında İtalya'ya ithal edilen domates ve biber tohumlarında, Japonya'dan Hollanda'ya ithal edilen domates tohumlarında, Tayvan'dan Çek Cumhuriyeti'ne ithal edilen biber tohumlarında ve Yunanistan'a giden domates tohumlarında tespit edilmiş ve bu tohumların ithalatı durdurulmuştur (Yan vd. 2019).

Avrupa Kıtasında; Fransa Tarım ve Gıda Bakanlığı; Finistere'deki bir çiftlikte sera domateslerinin ToBRFV virüsü ile bulaşık olduğunu doğruladı. Bu alandaki bitkilerin imhası ve alanın dezenfeksiyonu gerçekleştirilmiştir. Girit adasında üretici tarafından gözlemlenen virüsün kimliği Eylül ayında doğrulanarak ToBRFV teşhisi konuldu (Beris vd. 2020). İngiltere'de domates üretim tesisinde ToBRFV olduğu düşünülen bitki semptomları ile karşılaşılmış bu kapsamda testlemeler yapılarak doğrulanmıştır (Skelton vd. 2019). Almanya'daki domates bitkilerinde de rapor edilen ToBRFV; Mayıs ve Haziran 2019'da, bu seralardan ToBRFV'nin olası varlığı açısından kapsamlı bir şekilde örnekler toplanarak testler yapılmıştır. Tüm sonuçların negatif çıkması, ToBRFV'nin Almanya'dan başarılı bir şekilde eradike edildiğini göstermektedir (Menzel vd. 2019). 2020 yılında Sicilya'da bulunan bir serada kırmızı tatlı biberde (*Capsicum annuum*) yaklaşık %85'i virüs benzeri semptomlar gözlemlenmiştir. Bir önceki sene aynı serada domates yetiştiriciliği yapıldığı ve kapsamlı bir ToBRFV enfeksiyonu meydana gelmesi sebebiyle domatesler sökülerek imha edilmiştir. Bu durum göz önüne alınarak yapılan testlemeler sonucu şüphelenilen hastalığın ToBRFV olduğunu ispatlanmıştır. (Panno vd. 2020, Fernandez vd. 2020). Rusya yeni meydana gelen virüs hastalıkları ile ilgili yapılacakların bulunduğu bir makale yayımlamıştır (Ignatov vd. 2020).

Ülkemizde Akdeniz bölgesi yaş sebze üretiminde önemli yere sahiptir. Ocak 2019'dan bu yana Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde Antalya yakınlarındaki Demre'de yetişen serada domates bitkilerinin klorotik mozaikli, benekli, buruşuk ve ara sıra daralan yapraklara sahip olduğu gözlemlenmiştir. Amplikon sekansının BLAST analizi, Almanya, İsrail ve Ürdün'den (KT383474, KT383474, KX619418 ve MK273189) Domates kahverengi buruşuk meyve virüsünün (ToBRFV) izolatlarına %98,0-98,9 sekans özdeşliği göstermektedir. Kışın yetiştirilen domates üretimi Türkiye ekonomisi için önemli olmakla beraber sezon dışı üretimin ana merkezi Antalya'dır. ToBRFV'nin Antalya'da büyük üretim sorunlarına neden olduğu kanıtlanırsa, kontrol önlemlerinin geliştirilerek kullanılması gerekmektedir (Fidan vd. 2019).



Şekil 2. 4. ToBRFV'nin dünya üzerindeki dağılımını gösteren harita (Anonymous 1)

2.5. Dayanıklılık Geni Tm²

Virüs istilası, bitki çeşitlerinde tekdüze olarak meydana gelmemektedir. Enfeksiyon virüs ırkları arasında ve bitki çeşitleri arasında farklılık göstermektedir (Johansen vd. 1994). İslah çalışmalarında melezleme çalışmaları yoluyla baskın direnç sağlamak, virüs enfeksiyonuna dirençli çeşitlerin üretiminde önemlidir. Bu şekilde sunulan R genleri (nükleotid bağlanma bölgesi lösün açısından zengin tekrar, NB-LRR) bitkiye direnç kazandırmaktadır. *Nicotiana glutinosa*'daki N geni, domateste Tm geni ve biber bitkilerindeki L geni Tobamovirüs enfeksiyonu için bilinen R genleridir. Bununla birlikte, bu direnç genlerinin üstesinden gelen virüs izolatları gelişmiştir. R genleri, aşılama alanına virüs hareketini sınırlayan Hipersensitive reaksiyon (HR) göstermektedir (de Ronde vd. 2014).

Virüs hastalıklarına karşı dayanıklı bitki seçimi çok uzun yıllardır bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve onları bunun üzerine çalışmalar yapmaya yöneltmiştir. Özellikle ilk keşfedilen virüs olmasının da büyük etkisiyle TMV üzerine 80 yılı aşkın süredir çalışılmaktadır. Geçmişten günümüze bu çalışmalar incelendiğinde; Dünyada ve Türkiye'de ekonomik açıdan önemli kayıplara neden olan bu virüs hastalıklarına karşı dayanıklılık çalışmaları güncel ıslah konuları arasında yer almaktadır.

Lycopersicon hirsutum bitkilerinin, dokularında virüs olmasına rağmen simptomsuz olduğu bulunmuş ve bu bildirildiğinden beri kalıtımı üzerine birçok çalışma ve onu kullanmak için sayısız girişimde bulunulmuştur (Porte vd. 1939, Pelham 1966). Yabani domates çeşitlerinden *L. peruvianum*, *L. pimpinellifolium*, *L. hirsutum* ve *L. chilense* içeren çaprazlar yapılmış TMV'ye karşı bazı hatlarda yüksek derecede tolerans bulunmuştur (Frazier 1946).

Kültüre alınmış domates türlerinde ToMV enfeksiyonları Tm-1, Tm-2 ve Tm-2² direnç (R) genleri tarafından kontrol edilmektedir (Pelham, 1966; Hall, 1980). Bu dirençler arasında Tm-2² direncinin oldukça uzun süreli olduğu ve bu nedenle

uygulamada öneminin devam ettiği görülmüştür (Lanfermeijer vd.2003) Tm-1 R geni, yabancı domates türü *Lycopersicon hirsutum*'dan melezleme tekrarları sonucu aktarılmış olup kromozom 5'de bulunmaktadır. Bu direncin üstesinden gelebilen ToMV izolatlarının genetik analizi sonucunda avirülenslik sağlayan RdRP geninin etkisi belirlenmiştir (Meshi ve diğerleri, 1988). Hem Tm-2 hem de Tm-2² dirençleri *L. peruvianum*'dan alınmıştır. Her ikisi de kromozom 9'un sentromerine yakın bir yerde bulunur ve alelik olarak kabul edilir (Khush vd, 1964; Pelham, 1966; Schroeder vd, 1967; Hall, 1980; Tanksley vd, 1992).

Tm-2² direnci, dayanıklılık yanıtı sırasında makroskopik lokal lezyonların olmaması ile karakterize edilmektedir. Bu dayanımın olmaması, Tm-2²'nin ToMV tarafından enfeksiyona hızlı bir şekilde yanıt verdiği şeklinde yorumlanır, bu nedenle virüs enfeksiyonu, hipersensitive reaksiyon ve lezyon oluşumu gibi yalnızca birkaç hücre ile sınırlıdır. Tm-2² direncinin üstesinden gelebilen virüs türlerinin nükleotid dizisinin analizi, ToMV'nin MP'sinin eşleşen Avr proteini olduğunu ortaya çıkarmıştır (Calder ve Palukaitis, 1992; Weber vd, 1993; Weber ve Pfitzner, 1998). Tm-2² lokusu, CC-NBS-LRR direnç protein sınıfına ait olan 861 amino asit polipeptidini kodlayan tek bir genden oluşmaktadır (Lanfermeijer vd. 2003).

Tm-2² direnç genini barındıran domates çeşitleri; ToMV, TMV ve diğer tobamovirüslere dirençlidir (Hall 1980; de Ronde vd. 2014). Bazı domates çeşitleri, en yaygın tobamovirüslere karşı genetik direnç gösterirken, hiçbir ticari domates çeşidi, biber ve patlıcanı da enfekte eden, yakın zamanda tanımlanan bir tobamovirüs olan Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsüne (ToBRFV) dirençli değildir (Salem vd. 2016; Luria vd. 2017; Batuman vd. 2020). Tm-2² direncinin üstesinden geldiği bulunan ToBRFV'nin direnç genleri ile etkileşimlerinde virüslerin genetik esnekliği gösterilmiştir. Bu, tek başına veya önceden belirlenmiş diğer dirençlerle kombinasyon halinde daha geniş bir virüs izolat grubuna dayanabilen yeni, daha verimli ve dayanıklı direnç genlerinin sürekli geliştirilmesine olan ihtiyacı göstermektedir (Zinger vd. 2021).

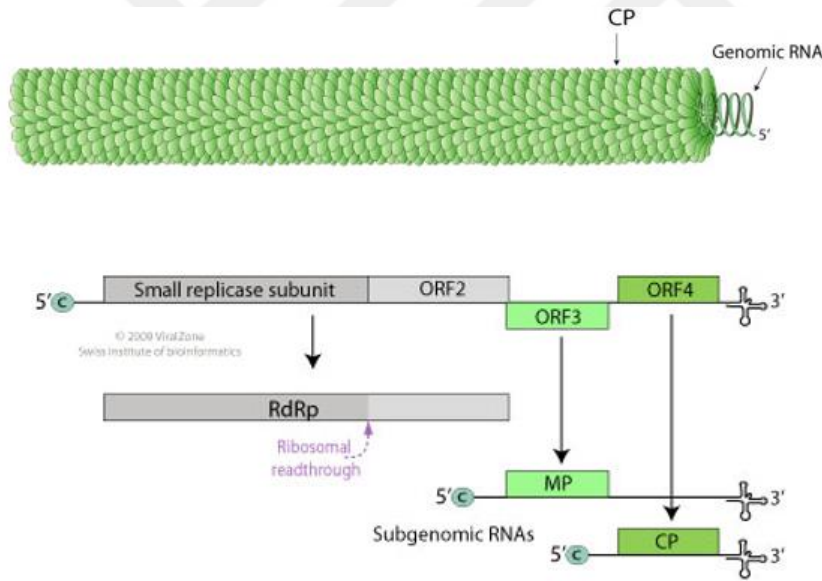
2.6. ToBRFV'nin Genom Yapısı, Morfolojisi ve Evrimsel Geçmişi

Dünya çapında domates üretimi yapılan bölgelerde büyük yankı uyandıran Domates Kahverengi Buruşukluk Meyve Virüsü; Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi'nin (International Committee on Taxonomy of Viruses-ICTV) 2015 raporlarına göre Virgaviridae familyasının Tobamovirus cinsi içerisinde yer almaktadır. Virgaviridae familyası yedi cinse göre sınıflandırılmış olup bunlar; *Goravirüs*, *Furovirüs*, *Hordeivirüs*, *Pecluvirüs*, *Pomovirüs*, *Tobravirüs* ve *Tobamovirüs*'dür. Bu virüsler, grupları farklı konukçu aralıkları, genom organizasyonları ve bulaşma açısından farklılıklar göstermektedir. Tobamovirüsler yaklaşık 35 farklı türü bulunur ve *Solanaceae* familyasına ait bitkilerden özellikle domatesi enfekte eden en yıkıcı virüsler bu cinsin içerisinde yer almaktadır (Adams vd. 2009; Adams vd. 2017).

Tobamovirüs genomu tek sarmallı pozitif yönlü RNA moleküllerine sahip olan ve yaklaşık 17 kDa'lık RNA ve kaplama proteini (CP) moleküllerinden oluşan çubuk şeklinde viryonlar oluşturan bir bitki virüsü grubunu oluşturur. Viryonlar 18 nm çapında uzunlukları 300-310 nm'dir. Genomun boyutu 6,3–6,6 kb'dir. Tek sarmallı pozitif sense RNA virüsleri içerisinde yer almaktadır. (Lewandowski ve Dawson 2000).

6,392 nükleotidden oluşan yeni İsrail izolatının tam genom sekansı GenBank'a gönderildi (erişim no. KX619418). Bu genom dizisi, viral genomun 5 've 3' uçlarında 1117, 474, 267 ve 160 amino asitlik varsayılan dört ORF'yi ve iki çevrilmemiş bölgeyi (UTR'ler) içerir. CP'nin tahmin edilen moleküler ağırlığı 17.497 kDa'dır. İsrail suşu ile TBRFV-Jo arasındaki nükleotit sekansındaki farklılıklar, 3026 pozisyonunda T'den C'ye sadece tek bir nükleotid ile, 986. pozisyonunda tirozin (Y) 'nin histidin (H)' ye değişmesine neden olan dört nükleotitten oluşmaktadır (Luria vd. 2017).

Ürdün'deki seralarda yetiştirilen domates bitkilerinden izole edilen tüm genom dizisini tamamlanmış ve 6393-nt tek sarmallı RNA (ssRNA) genomu, diğer tobamovirüslerde olduğu gibi dört proteini kodladığı ortaya çıkmıştır. ToBRFV için yapılan filogenetik analizler sonucu elde edilen sekanslama, **Solanaceae** familyasındaki bitkileri enfekte eden tobamovirüsler içinde TMV veya ToMV sınıflarıyla bile gruplanmadığı ortaya çıkmış, filogenetik ağaçta bağımsız ayrı bir dal oluşturmuştur. Tütün mozaik virüsü'nün Ohio V suşu ile en yüksek nükleotid sekans özdeşliğine (% 82,4) sahip olması nedeniyle yeni bir tür oluşturma kriterlerini sağlamıştır. Bu virüs ile yakından ilişkili domates enfeksiyonlu tobamovirüslerin temsili izolatları arasındaki olası rekombinasyon olaylarının analizi, en az bir bölgenin rekombinasyondan kaynaklandığını düşündüren bulgulara ulaşılmıştır. Bu yeni virüse Domates kahverengi buruşuk meyve virüsü (ToBRFV) adı önerilmiştir (Salem vd. 2016).



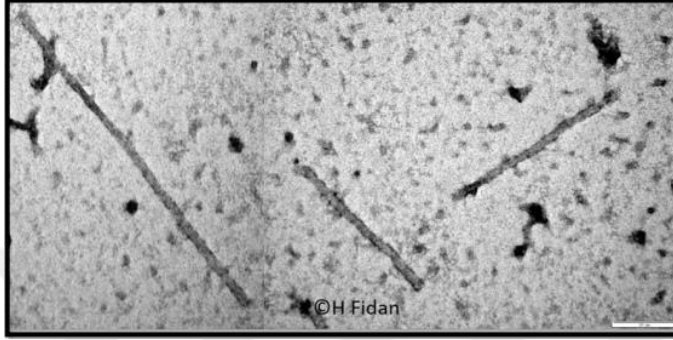
Şekil 2. 5. Tobamovirüs ORF bölgelerini gösteren genom yapısı

Her virüs grubunun muhtemelen kendine özgü evrimsel bir geçmişi vardır fakat virüslerin evrimsel geçmişini deşifre etmek zordur çünkü virüsler hiçbir fosil bırakmamıştır. ToBRFV'nin ABD izolatının da tüm genomu elde edilmiş ve bilinen izolatlar ile yüksek oranda nükleik asit benzerliği ortaya çıkmaktadır. Yapılan bu filogenetik analiz, tüm dünyada ToBRFV izolatları için sıkı bir küme ortaya çıkarmıştır. Bu sonuçlara göre virüsün evrimsel geçmişinin çok kısa olduğunu söylemek mümkündür (Lartey vd. 1996; Chanda vd. 2020).

2.7. ToBRFV'nin Tanılanması ve Teşhisi

2.7.1. Elektron mikroskop görüntüsü

Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda ToBRFV'nin görüntüsü kaydedilmiştir. ToBRFV, virüs parçacıklarının uzun, simetrik çubuklar olması bakımından diğer Tobamovirus'lere benzemektedir. Bu nedenle, elektron mikroskopisi ile gözlem yapılarak ayırt edilememektedir (Fidan 2020)



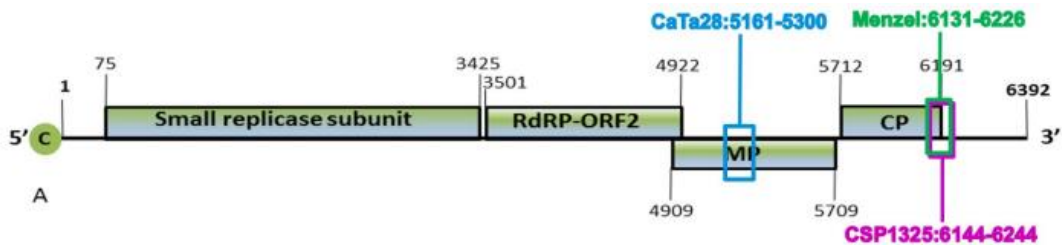
Şekil 2. 6. MT107885 TBRFV-Ant-Tom NCBI kayıtlı Antalya domates ToBRFV izololatının Zeiss Leo 906 E TEM (Germany) Elektron mikroskobu (Fidan 2020)

2.7.2. Serolojik testlemeler

Tobamovirus grubu içerisinde yer alan ToBRFV'nin DAS-ELISA ticari kitler ile yapılan testlemelerde, aynı grup içerisinde yer alan ToMV ile çapraz interaksiyona neden olması nedeniyle bu sonuçların moleküler sonuçlar ile doğrulanması gerekmektedir (Amer vd. 2020).

2.7.3. Moleküler testlemeler

Türkiye'de ToBRFV'nin ilk raporunun ardından ToBRFV'yi, diğer Tobamovirus'lerden ayırt ederek tanılama yapan RT-PCR ve Real-Time RT-PCR primer ve problrarı (Fidan 2019) geliştirilmiştir. Bu tanılama kitleri teşhis çalışmalarında başarıyla kullanılmaya devam etmektedir.



Şekil 2. 7. Viral dört öngörülen ORF'yi gösteren genom organizasyonunun şematik diyagramında ToBRFV'yi hedefleyen primer setlerinin gösterimi (Luria vd. 2017)

2.8. Hastalığı Kontrol Altına Alma Stratejileri

Dünyanın yaşadığı iklim değişiklikleri, ortaya yeni çıkan virüslerin hızlı bir şekilde yayılmasının yanı sıra hastalık için daha önce elverişsiz olan şartlar hastalık için uygun hale gelir ve hastalığın olmadığı temiz alanlara ulaşmasına neden olmaktadır (Oladokun vd. 2019). Bu durum, insan nüfusunun artan gıda ihtiyacı ve küresel ısınmadan kaynaklanan virüs hastalıklarının etkin bir şekilde yönetilmesindeki artan zorluklar nedeniyle giderek daha ciddi hale gelmektedir (Jones 2021). Ayrıca domates yetiştiriciliğinde, mevcut virüslerin yeni türlerinin keşfedilmesi veya yeni virüslerin ortaya çıkması göz önüne alındığında viral hastalıkların kontrol edilmesi her geçen gün zorlaşmaktadır. Tehdit altındaki endüstriler arasında ticari yetiştiriciler, tohum şirketleri, fide ve fidanlıklar, ticari meyve ve sebze üreticileri ve gıda perakendeciliği yer almaktadır. Başarılı kontrol stratejileri geliştirmek için virüs biyolojisi, çeşitliliği ve epidemiyolojisine odaklanan yoğun araştırma çabalarını teşvik eden doğru tespit ve tanımlama prosedürlerine duyulan ihtiyaç, epidemiyoloji çalışmalarını etkili hastalık yönetim stratejileri geliştirmenin temeli olarak kabul edilmesi ile sonuçlanmıştır (Pico vd. 1996; Jeger vd. 2004). Bitki virüsü epidemiyolojisi, virüs ile onun konukçu bitki arasındaki hastalığa neden olan karmaşık ilişkiye ve konukçu bitki popülasyonu içindeki yayılmayı etkileyen faktörlere odaklanmıştır (Wilson 2014).

Genetik dayanıklılık haricinde kesin bir mücadelesi olmayan diğer virüs hastalıklarında olduğu gibi dayanıklı çeşit kullanımı en güvenli yoldur. Ancak tobamovirüslere karşı dayanıklılık direnci sağlayan Tm2²'nin ToBRFV'ye karşı etkisiz kaldığını ve piyasada dayanıklı ticari bir domates çeşidinin bulunmadığını önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Bitki virüsleri ile mücadelede önemli bir diğer nokta ise hijyendir. Hijyen protokollerinin enfeksiyonun önlenmesinde önemli bir adımdır (Nolasco-García vd. 2020). Virüs üretim alanına bir kere girdikten sonra mücadele etmek zorken öncesinde alınabilecek önlemler büyük ekonomik kayıpların önüne geçilmesinde avantaj sağlayacaktır.

2.9. Dezenfektan Çalışmaları

Son yıllarda, bitki virüslerinin yayılmasını azaltmak amacıyla çeşitli dezenfektanlarla çalışmalar yapılmıştır ve süs bitkileri için viroidler, bazı kabakgiller ve sera domateslerinde etkili oldukları rapor edilmiştir. Yaygın olarak kullanılan birkaç dezenfektanın bazı virüslerin yayılmasını önlemede kullanıldığı görülmüştür. Uzun yıllardır çalışılmış olsa da dezenfektanların virüs ve viroidlere karşı etkinliği şu anda hala net değildir.

Sadece tarım alanında değil insan sağlığı alanında yapılan dezenfeksiyon işlemlerinde rol model olarak bitki virüsleri kullanılmaktadır. *Pepper mild mottle virus* (PMMoV) ve insan enterik virüslerinin inaktivasyon ölçüleri karşılaştırılabilir ise, PMMoV, insan enterik virüslerinin inaktivasyonu için dezenfeksiyon aşamalarının etkinliğini değerlendirmek için faydalı bir vekil olacağı düşünülerek dezenfeksiyon çalışmalarında kullanılacaktır (Shirasaki vd. 2020).

Tohumla taşınan bazı bakteri etmenlerine ve ToMV'ye karşı tohumlara çeşitli dezenfektanlar denenmiştir. Klorik asit, asetik asit, laktik asit ve pektolaz gibi dezenfektanlar kullanılmıştır. Yüksek kirlilik oranı gösteren tohumlar için hipoklorit

önerilmiştir (Siviero 1991). Yine aynı yıllarda yapılan bir çalışmada; TMV, Arabis mozaik nepovirüs (AMV) ve Karanfil benekli karmovirüs (CarMV) ile kontamine olmuş yüzeylere farklı süreler boyunca çeşitli ticari dezenfektanları uygulanmış. Virüsleri <5 dakika içinde etkisiz hale getirdiği iddia edilen 'hızlı dezenfektanlar' ile yapılan bir testte TMV ile kontamine olmuş yüzeylerde hiçbiri etkili bir sonuç vermediği bulunmuştur (Marcussen ve Meyer 1991). Sodyum hipoklorit etkili bir dezenfektan olmasına rağmen; yüzeyler ve aletler üzerindeki aşındırıcı etkisi ve etkinlik kaybı gibi toksik özellikleri alternatif dezenfeksiyon çözümleri arama eğilimine itilmektedir.

Ozon en güçlü oksidasyon ajanıdır ve tüm yaşayan organik madde ile reaksiyon verir. Ozon içme suyu endüstrisi ve belediye atık sularının dezenfeksiyonu amacı ile de kullanılmaktadır. Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) ozon uygulamasından 75 dakika sonra elimine edildiği bildirilmektedir (Runia, 1995). Ancak, ozon ile uygulama dezenfeksiyon sistemleri arasında en pahalı yöntem olduğundan yaygın kullanılmamaktadır.

Toplam 16 dezenfektan Pepino mozaik virüsü (PepMV), Patates iğ yumru viroid (PSTVd), Domates mozaik virüsü (ToMV) ve Tütün mozaik virüsüne (TMV) karşı değerlendirilmiştir. Patojenin bulaşıcılığını deaktive etmek için her bir dezenfektanın etkinliği, en az üç bağımsız deneyden tekrarlanan deneylerde değerlendirilmiş olup; domates bitkilerinde üç yaygın virüse ve bir viroide karşı geniş spektrumlu etkililik ile, %2 Virkon S, %10 Clorox normal çamaşır suyu ve %20 yağsız kuru süt dahil olmak üzere çeşitli dezenfektanlar, genel virüs ve viroid enfeksiyonu önlemek için sera tesislerine tavsiye edilmiştir (Li vd. 2015).

ToBRFV ve CGMMV'nin mekanik bulaşmasına karşı etkinlikleri açısından 16 kimyasal dezenfektan değerlendirilmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. İki farklı tobamovirüse karşı geniş spektrumlu aktivitelere sahip yaygın olarak kullanılan dört dezenfektanın etkili olduğu görülmüştür. Her iki tobamovirüse karşı %90-100 etkinliğe sahip bu etkili dezenfektanlar, %0,5 Laktoferrin, %2 Virocid ve %10 Clorox. Ek olarak sadece CGMMV'ye karşı %2 Virkon ve ToBRFV'ye karşı %3 Virkon etkili bulundu. Ek olarak, SP2700, CGMMV'ye karşı önemli bir etki yaratırken ToBRFV'ye karşı etkisi zayıf bulunmuştur (Chanda vd. 2021).

İdeal bir dezenfektan, geniş patojen yelpazesine karşı etkin aktiviteye sahip, ucuz ve yaygın olarak bulunabilen özelliklerinin yanında işçiler, tesisler, ekipman ve çevre için güvenli olmalıdır. Pratik olması için, aletler için bir dezenfektan da nispeten kısa bir temas süresi (1 dakika) ile etkili olmaktadır (Lewandowski 2009).

Bu tez kapsamında ToBRFV'ye karşı farklı dezenfektanların üreticiler ve uygulayıcılar tarafından önerilen dezenfektanların dozlarının bir alt ve bir üst dozu olmak üzere üç dozu denenmiştir. Bitkilere uygulama metodu olarak yapılan literatür çalışmaları ile paralel gidilmiş farklı olarak demonstrasyon denemeleri yapılarak; çiftçinin uygulayabileceği şekilde denenmiştir. Mekanik olarak kolayca bulaşan bu virüsün bulaştığı yüzeylerde ne kadar süre kaldığı bilinmemekte olup tez çalışmamız bu konuyu da ele almış ve bitkiler üzerinde değerlendirmeler yapılmıştır. Sonuçlar istatistiksel sonuçlar ile desteklenmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan malzemeler ve cihazlar

Domates kahverengi buruşuklu meyve virüsü (ToBRFV), Antalya bölgesinde Domates (*Solanum lycopersicum*) yetiştiriciliği yapılan ekim alanlarında ekonomik açıdan önemli problemlere sebep olmaktadır. Çalışmamız kapsamında mekanik inokulasyon çalışmalarında kullanılmak üzere daha önceden toplanan sekans analizleri önceki çalışmalarda yapılmış ve Viroloji laboratuvarımızın derin dondurucusunda (-20) muhafaza edilen 'ToBRFV-Ant-Tom: MT107885'' izolatu kullanılmıştır.



Şekil 3. 1. Antalya bölgesi ToBRFV ile bulaşık üretim alanları

DAS-ELISA çalışmalarında kullanılmak üzere LOEWE (Almanya), ticari antiserum kitleri, BIOREBA ekstraksiyon buffer, ELISA reader (Tecan Tradinding AG, Switzerland) kullanılmıştır.

RT-PCR çalışmalarında Thermo Fisher Scientific (Waltham, Massachusetts, ABD) firmasından temin edilen Total DNA izolasyon kiti, Thermo Verso 1-step RT-PCR kiti, 100bp DNA Ladder kullanılmıştır.

Moleküler çalışmalarda da kullanılan primer dizilimler, Sentebiolab firması tarafından sentezlenmiştir. Laboratuvar çalışmaları esnasında hassas terazi, vorteks cihazı, cam ve plastik sarf malzemeler kullanılmıştır.

RT-PCR döngülerinde Thermal Cycler BIO-RAD T100 cihazı kullanılmıştır. Elektroferez ve jel görüntülemelerinde yatay elektroferez tankı (Thermo Fisher Scientific), Agaroz (Sigma), Consort E 861 güç kaynağı, Etidium bromide ve UV ışık altında jel görüntüleme için ise BioDocAnalyze firmasının Biometra cihazı kullanılmıştır.

3.1.2. Test bitkilerinin belirlenmesi

Domates (*Solanum lycopersicum*) çeşitlerinden ticari olarak üretilen tane domates çeşidi HK-1314 ve Tütün (*Nicotiana benthamiana*) denemelerde kullanılan temel test bitkileridir. Domates ToBRFV'nin ana konukçusu olduğundan Tütün ise semptomatolojik gözlemler için seçilmiştir. Domates bitkileri ticari bir fidelektan temin edilmiştir. Tütünlerin ise tohum ekimi gerçekleştirilip iklimlendirme ve serada yetiştirilmiştir.

3.1.3. Denemelerde kullanılan dezenfektanlar

Çizelge 3. 1. Tez kapsamında kullanılacak dezenfektanlar, uygulama oranları, aktif madde içerikleri ve üretici firma bilgileri

Kullanılacak dezenfektan	Uygulama Oranı	Aktif İçerik	Üretici Firma
Tsunami100	1.Doz: %0.5 2.Doz: %0.75 3.Doz: %1	%30-60 Asetik asit %15,2 Peroksiasetik asit %11.2 Hidrojen peroksit	Ecolab
BioconA	1.Doz: %0.5 2.Doz: %1 3.Doz: %1.5	%50 Potasyum peroksimonpersülfanat, sinerjik etki oluşturan inorganik tampon sistemleri, organik asitler ve yüzey aktif maddeler içerir.	KMK Laboratuvarları
Sojall Desy clean	1.Doz: %2 2.Doz: %2.5 3.Doz: %3	Hidrojen persoksit bazlı olup, diğer içerikleri gıda katkı maddeleri kontexine uygun sorbik asit, perasetik asit ve sodyum benzoat gibi suda ve havada biyolojik olarak parçalanan asitlerden oluşmaktadır.	Sojall Organik Tarım Hayvancılık, Gıda ve Kozmetik San.Tic.A.Ş.
Bioxi	1.Doz: %2 2.Doz: %2.5 3.Doz: %3	Ozon (O3)	Biotem oksilite medical
HCl	1.Doz:%0.1 2.Doz: %0.5 3.Doz: %1	%18 (+-2) Hidroklorik asit (Cas no:7647-01-0) ve DeiyonizeSu	Epak
İncidin	1.Doz: %1 2.Doz: %1.5 3.Doz: %2	10.0 g 2-Fenoksietanol 8.0 g n- (3-Aminopropil), n-Dodecylpropan,1.3 diamin 7.5 g benzalkonyum klorür	Ecolab

Denemede hidrojen peroksit, perasetik asit, ozon, potasyum peroksimonpersülfanat ve hidroklorik asit gibi etken maddeli dezenfektanlar kullanılmıştır. Bu dezenfektanların çalışma sırasında üretici firma ve tavsiyeler üzerine belirlenen hedef dozları ve bu dozların bir üst ve bir alt dozu uygulamaya alınmıştır.

Uygulama dozları, aktif içerikleri ve üretici firmaları Çizelge 3.1’de detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 3. 2. Denemelerde kullanılacak dezenfektanlardan örnek görüntü

3.2 Metot

3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

Bitkiler iklimlendirme odasında 8 saat karanlık 16 saat aydınlık ortamda 25°C’de ışıklı raflar altında yetiştirildi. Bitkiler 8 cm çaplı saksılar içerisinde yetiştirilmiştir.



Şekil 3. 3. İklimlendirme odalarında yetiştirilen domates bitkileri



Şekil 3. 4. İklimlendirme odalarında yetiştirilen tütün bitkileri

Fakültenin Deneme Seralarında gerekli hazırlıklar yapılarak ortam hazırlandı. Dikim hazırlıklarını aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz;

- toprak işlenmesi yapıldı
- yabancı otlara karşı mekanik mücadele yapıldı
- dikim sıraları hazırlandı
- sulama sistemi kuruldu
- bitkilerin ipe alım işlemi için her sıra üstüne tel çekildi
- dikimden bir gün önce Tsunami100 ile toprak ve sera dezenfeksiyon işlemi yapılmıştır.



Şekil 3. 5. Fakültenin deneme seralarında kurulacak denemenin hazırlık işlemleri, dezenfektan uygulamaları



Şekil 3. 6. Domates fidelerinin seraya dikimi



Şekil 3. 7. Fitopatoloji serasında fide sehpaları üzerinde yetiştirilen domates bitkileri

Çalışmanın bu bölümü Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Seralarında fide sehpaları üzerinde 20 cm çaplı saksılarda torf-perlit-vermikülit karışımı içerisinde bitkiler yetiştirilmiştir.

3.2.2. Mekanik İnokulasyon Çalışmaları

Mekanik inokulasyon çalışmalarına başlamadan önce ToBRFV olduğu düşünülerek alınan örnekler; ToBRFV, TMV, ToMV ve PepMV gibi virüslere karşı RT-PCR metodu ile testlenmiştir. Yaprak örneğinden alınarak havan içerisine kondu ve üzerine 0,02 M Fosfat tampon (pH:7) çözeltisi + %0,1'lik 2-mercaptoethanol eklenerek ezilmiştir. Soft-sponge pad yöntemiyle her sıradan bir bitkiye bulaştırılmıştır.



Şekil 3. 8. Domates bitkilerine ToBRFV izolatının soft-sponge pad yöntemi ile bulaştırılması

3.2.3. Deneme Planının Oluşturulması

Denemeler üç farklı alanda domates ve tütün bitkilerinde gerçekleştirilmiştir. Bu denemeler uygulama yöntem bakımından farklılık gösterdiğinden dolayı ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İlk kısım dezenfektanların ToBRFV'ye karşı kontrollü koşullarda etkinliğinin belirlenmesi, ikinci kısım dezenfektanların etkinliğinin çiftçi koşullarında ToBRFV ye karşı etkinliğinin belirlenmesi ve son kısım sera alet ve ekipmanlarında ToBRFV'nin aktif kalma sürelerinin belirlenmesi şeklinde ayrılmıştır. Bu çalışmaların detayları 3 alt başlık altında toplanmıştır.

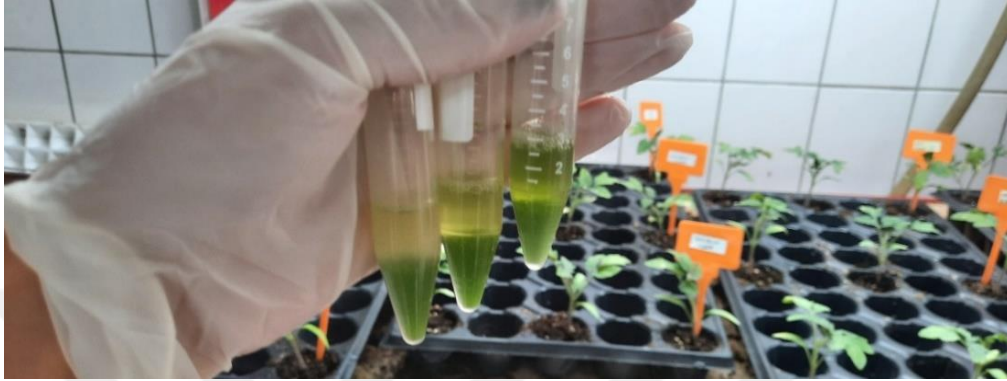
3.2.3.1. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı kontrollü koşullarda etkinliğinin belirlenmesi

Domatesler fide dönemindeyken mekanik inokulasyon solüsyonlarının içerisine belirlenen dozlarda dezenfektanlar eklenerek bitkiye bulaştırma yapılmıştır. Mekanik inokulasyonda kullanmak üzere 1/10 oranında ToBRFV enfekteli yaprak ve üzerine 0,02 M Fosfat tampon (pH:7) çözeltisi + %0,1'lik 2-mercaptoethanol çözeltisi hazırlanmıştır.

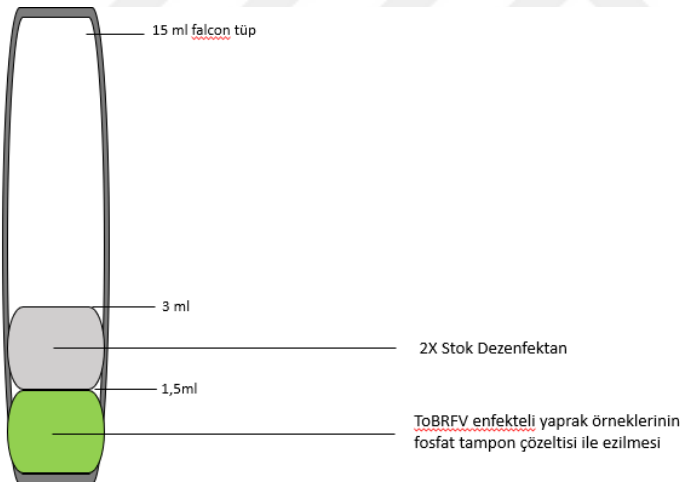
Mekanik inokulasyon çözeltisinin içerisine her bitkiye bulaştırmak üzere daha önce belirlenen 6 farklı kimyasalın tavsiye edilen dozları belirlenmiştir. Belirlenen dozların bir alt ve bir üst dozu olmak üzere 18 (6 dezenfektan x 3 farklı doz) farklı çözelti hazırlanmıştır. Denemede pozitif kontrol olarak ToBRFV enfekteli yaprak ile ezilmiş fosfat tampon çözelti kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise bitkiler saf su ile muamele

edilmiştir. Her dezenfektandan 2x stok çözelti alınarak 15 ml'lik tüplere 1,5 ml hacminde aktarılmıştır. Üzerlerine mekanik inokülasyon çözeltisi eklenmiştir.

İklimlendirme odalarında bu dezenfektanların uygulanması için domates fideleri yetiştirilmiştir. Hazırlanan çözeltiler soft sponge pad yöntemi ile mekanik olarak bulaştırılmıştır. İnokulasyondan sonra test bitkileri birkaç saat boyunca karanlık ortamda bekletilmiştir.



Şekil 3. 9. Domates bitkilerinin iklimlendirme odasında yetiştirilmesi ve dezenfektan ile ToBRFV karışımlarının bitkilere mekanik olarak bulaştırılması



Şekil 3. 10. Çalışmada kullanılan 15 ml'lik falcon tüplerinde dezenfektan ve ToBRFV fosfat tampon çözeltinin karıştırılma oranları

Her uygulama 3 tekerrürlü olup çalışma toplam 60 adet domates bitkisi ile yürütülmüştür. İlk inokulasyondan sonra 4. ve 8. günlerde olmak üzere işlem 3 kere tekrarlanmıştır. Sonrasında simptomatolojik olarak gözlemler yapılmıştır. Simptomatolojik olarak belirti göstermeyen bitkiler olduğu durumlarda RT-PCR ve DAS-ELISA metodları testlenecektir.

3.2.3.2. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı çiftçi koşullarında etkinliğinin belirlenmesi

Çalışmanın bu aşamasında serada güzlük domates çeşidinin (HK-1314) dikimi 30 Ekim tarihinde gerçekleştirilmiştir. Bitkilerin yetiştirilmesinde kültürel işlemler ile genel bitki besleme ve gübreleme programları yapılarak vegetatif ve generatif gelişmede optimum seviye sağlanmıştır.

Dezenfektan uygulamalarının üretici açısından ekonomik, kolay uygulanabilir ve en iyi sonuca en az uygulama tekrarı ile ulaşılması önemlidir. Çalışmamızda sera hazırlığı sırasında kullandığımız dezenfektanlardan Incidin damlamalardan uygulanmıştır. Diğer dezenfektanların belirlenen dozları ise 2 litrelik el pülverizatörleri ile bitkilere üstten uygulanmıştır. Üretici koşullarında serada inokulum kaynağı varlığında dezenfektanların etkisinin sürdürülebilirliğini görmek amaçlanmıştır.

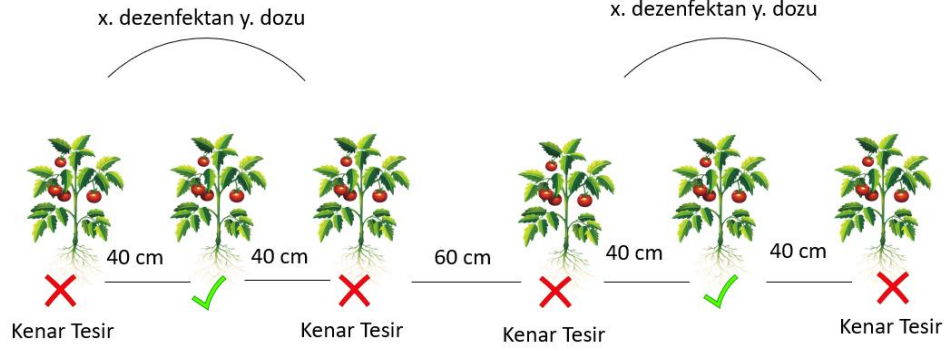
Deneme için serada 6 sıra belirlenerek bitkiler dikilmiştir. Her sırada 51 bitki olup, toplamda 6 sıranın olduğu 306 fidenin dikimi gerçekleştirilmiştir. Bu denemede 5 farklı dezenfektan uygulanmıştır. Incidin kalıntı sebebiyle bitkiye uygulanmamıştır. Deneme planında dezenfektan uygulamaları tesadüf blokları deneme desenine göre oluşturulmuştur. Çizelge 3.2'de deneme planı verilmiştir.

Sıralarda yan yana dikilen her üç bitki uygulama yapılan dezenfektanın bir dozunu temsil etmektedir. Yani her sırada üç tekerrür bulunmaktadır. Dikim sıklığı belirlenirken aynı tekerrürler arası 40 cm bırakılırken, diğer uygulamaya geçen diğer üç bitki ile arasında 60 cm mesafe bırakılmıştır. Dezenfektanlar üstten püskürtme yöntemi ile uygulandığı için yanlardaki bitkiler diğer uygulanan dozlara maruz kalma ihtimalinden dolayı kenar tesiri olarak kabul edilmiştir.

Her sırada seçilen 3 bitkiye su hariç hiçbir uygulama yapılmadı (Kontrol). İnokulum kaynağı olarak ise her sırada ToBRFV bulaştırmak için 1 bitki seçilmiştir. Sonuç olarak denemede yer alan 12 (5 dezenfektan x 3 dozu) dezenfektan + 1 su ile muamele + 1 ToBRFV pozitif kontrol olmak üzere 17 farklı karakter bulunmaktadır. Serada 6 sıra belirlenmiş ve her sırada bir karakter için 3 bitki bulunmaktadır.

5 farklı dezenfektan karışımını hazırlamak için 2 litre basınçlı püskürtücü (Veta 2B) temin edilmiştir. Her dezenfektan için farklı püskürtücü kullanılmıştır. Her dezenfektanın en alt dozundan başlanmak üzere 2 litre su içerisine dezenfektanlar belirlenen miktarlarda ilave edilmiştir. Her sırada numaralandırılmış ve etiket yapılandırılmış bitkilere dezenfektanlar uygulanmıştır. Her karakterdeki bitkilere giden püskürtülen dezenfektan ve su miktarının aynı olmasına dikkat edilmiştir.

Dikim gerçekleştikten sonra bitkinin toprağa bağlanması ve gelişim sürecine geçmesi ile seçilen bitkilere mekanik ToBRFV bulaştırması yapılmıştır. Ardından yukarıda bahsedildiği gibi dezenfektanlar uygulanmıştır. Bitkiler serada günlük olarak gözlemlenmiş ve oluşan semptomlar not alınmıştır.



Şekil 3. 11. Deneme planı ve bitki dikim aralıklarının gösterilmesi

Sonuç aşamasında her sırada her karakter için bulunan 3 bitkiden yalnızca ortada kalan bitkinin durumu değerlendirilecektir. Sağında ve solunda kalan bitkiler püskürtme sırasında diğer dezenfektanlar ile temas etme ihtimali göz önüne alınarak kenar tesiri olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3. 12. Domates bitkilerinin arazide görünümü



Şekil 3. 13. Dezenfektanların el pülverizatörleri ile bitkilere uygulanması

Çizelge 3. 2. Tesadüf blokları deneme desenine göre dezenfektan uygulamaları

1.Sıra	2.Sıra	3.Sıra	4.Sıra	5.Sıra	6.Sıra
Tsunami 1.Doz	Bioxi 1.Doz	Desyclean 1.Doz	BioconA 1.Doz	HCl 1.Doz	Kontrol 6
Tsunami 2.Doz	Bioxi 2.Doz	Desyclean 2.Doz	BioconA 2.Doz	HCl 2.Doz	ToBRFV 6
Tsunami 3.Doz	Bioxi 3.Doz	Desyclean 3.Doz	BioconA 3.Doz	HCl 3.Doz	Tsunami 1.Doz
Bioxi 1.Doz	Desyclean 1.Doz	BioconA 1.Doz	HCl 1.Doz	Kontrol 5	Tsunami 2.Doz
Bioxi 2.Doz	Desyclean 2.Doz	BioconA 2.Doz	HCl 2.Doz	ToBRFV 5	Tsunami 3.Doz
Bioxi 3.Doz	Desyclean 3.Doz	BioconA 3.Doz	HCl 3.Doz	Tsunami 1.Doz	Bioxi 1.Doz
Desyclean 1.Doz	BioconA 1.Doz	HCl 1.Doz	Kontrol 4	Tsunami 2.Doz	Bioxi 2.Doz
Desyclean 2.Doz	BioconA 2.Doz	HCl 2.Doz	ToBRFV 4	Tsunami 3.Doz	Bioxi 3.Doz
Desyclean 3.Doz	BioconA 3.Doz	HCl 3.Doz	Tsunami 1.Doz	Bioxi 1.Doz	Desyclean 1.Doz
BioconA 1.Doz	HCl 1.Doz	Kontrol 3	Tsunami 2.Doz	Bioxi 2.Doz	Desyclean 2.Doz
BioconA 2.Doz	HCl 2.Doz	ToBRFV 3	Tsunami 3.Doz	Bioxi 3.Doz	Desyclean 3.Doz
BioconA 3.Doz	HCl 3.Doz	Tsunami 1.Doz	Bioxi 1.Doz	Desyclean 1.Doz	BioconA 1.Doz
HCl 1.Doz	Kontrol 2	Tsunami 2.Doz	Bioxi 2.Doz	Desyclean 2.Doz	BioconA 2.Doz
HCl 2.Doz	ToBRFV 2	Tsunami 3.Doz	Bioxi 3.Doz	Desyclean 3.Doz	BioconA 3.Doz
HCl 3.Doz	Tsunami 1.Doz	Bioxi 1.Doz	Desyclean 1.Doz	BioconA 1.Doz	HCl 1.Doz
Kontrol 1	Tsunami 2.Doz	Bioxi 2.Doz	Desyclean 2.Doz	BioconA 2.Doz	HCl 2.Doz
ToBRFV 1	Tsunami 3.Doz	Bioxi 3.Doz	Desyclean 3.Doz	BioconA 3.Doz	HCl 3.Doz

Serada, yeni çıkan yabancı otların mekanik olarak temizliği, koltuk sürgünlerden çıkan filizlerin alınması, bitki büyüdükçe alt yaprakların budanması, hasat, ipe alma gibi kültürel işlemler yapılmıştır. Bu kültürel işlemlerden önce dezenfektan uygulaması yapılmıştır. Çizelge 3.3’de dezenfektan uygulamaları iş planı verilmiştir.

Deneme Ekim ayında başlayıp Nisan ayında meyvelerin olgunlaşmasına kadar devam etmiştir.

Çizelge 3. 3. Dezenfektan uygulamaları iş planı

Gün	İş Planı
1. gün	1. Dezenfektan uygulamaları
1. gün	ToBRFV'nin seçilen bitkilere mekanik olarak bulaştırılması
10. gün	2. Dezenfektan uygulamaları
10. gün	Kültürel işlemler
20. gün	3. Dezenfektan uygulamaları
20. gün	Kültürel işlemler
30. gün	4. Dezenfektan uygulamaları
30. gün	Kültürel işlemler

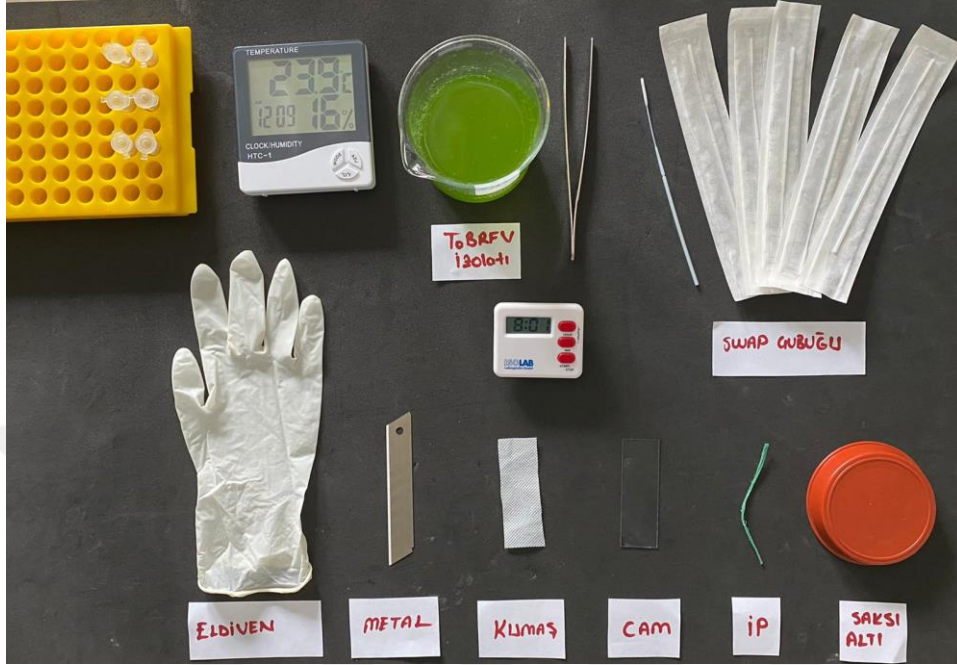
Bitkilerde çiçek oluşumu başladığında tozlaşmayı sağlamak için bombus arıları kullanılarak uniform meyve oluşması amaçlanmıştır. Mekanik bulaştırma ile beraber ilk dezenfektan uygulaması serada yapılmıştır. İkinci ve üçüncü uygulamalar 15'er gün arayla toplam 4 uygulama yapılmıştır. Çalışmanın bu bölümünde yer alan tüm işlemlerde bir çiftçinin serasında yapacağı tüm kültürel işlemler uygulanmıştır

**Şekil 3. 14. Seraya polinasyon için bombus arılarının yerleştirilmesi**

3.2.3.3. Sera alet ve ekipmanlarında ToBRFV'nin aktif kalma sürelerinin belirlenmesi

Çalışmanın bu kısmında serada sık kullanılan materyaller seçilerek bu materyallerin yüzeylerinde ToBRFV'nin aktif kalma süreleri araştırılacaktır. ToBRFV bulunduğu grup içerisinde yer alan diğer virüsler gibi stabil bir virüsdür ve bulaştığı yerde aktivitesini uzun süre kaybetmediği düşünülmektedir. Örtü altı üretiminde serada sıklıkla kullanılan alet ve ekipmanları; işçilerin kültürel işlemler sırasında kullandığı eldivenler, budama makası, ürün toplanılan kasa, bitkilerin tele bağlanmasını sağlayan ip, bitki yetiştirme saksıları, ilaçlama ve işçilik sırasında kullanılan kıyafet şeklinde sıralanabilmektedir. Günlük kültürel işlemler sırasında sürekli olarak kullanılan bu materyaller bitkiden bitkiye doğrudan hastalık taşınımında önemli rol oynar. Ancak bu materyaller üzerinde ToBRFV'nin ne kadar süre aktif kalma yeteneğini koruduğu ortaya koyulacaktır.

Öncelikle serada sık kullanılan alet ekipmanları temsil eden materyaller kullanılmıştır. Lateks eldiven, metal parçası, pamuklu kumaş, cam, ip, sert plastik (saksı altı) tercih edilmiştir.



Şekil 3. 15. ToBRFV'nin aktif kalma sürelerinin belirleneceği çeşitli alet-ekipman ve yüzeyler

Seçilen materyaller, hazırlanan ToBRFV'li fosfat tampon çözeltisine daldırılıp çıkarıldı. Ardından 1, 8, 24, 48 ve 72 saat aralıklar ile her bir materyalden swab çubuğu ile sürüntü alınarak her biri için ayrı numaralandırılmış domates ve tütün bitkilerine bulaştırıldı.



Şekil 3. 16. Tütün bitkilerinin yetiştirilmesi

3.2.4 Simptomatolojik Gözlemler

Dezenfektan uygulamaları sonrasında bitkilerde gözlemler alınmıştır. Uygulanan dezenfektanların yapraklardaki simptom seviyeleri Kabas vd. 2022'de yaptıkları bir çalışmada

0: simptom olmayan yapraklar

1: yapraklarda hafif mozaik ve kloroz

2: şiddetli mozaik ve yaprak yüzeyinde kabarma

3: yaprakta çok şiddetli kabarma ve yaprakta daralma, solgunluk ve tam bitkilerin ölümü şeklinde belirlenmiş ve çalışmada bu skalaya göre değerlendirilmiştir.



Şekil 3. 17. Domates yapraklarının Tomato brown rugose meyve virüsü (ToBRFV) sümptomları (Kabaş vd. 2022).

3.2.5. RT-PCR çalışmaları

PCR yöntemi ile çoğaltılacak olan virüs RNA'sını bitkiden izole edebilmek için protokoller modifiye edilerek uygulanmıştır. RNA izolasyonunda domates bitkisinin yaprak, meyve ve meyve kaliks kısımları kullanılmıştır (Dellaporta vd. 1983).

İzolasyon aşamaları;

-500 mg örnek, 1,2 ml ekstraksiyon buffer (100 mM Tris, 50 mM EDTA, 500 Mm NaCl, 10 mM 2-mercaptoethanol) çözeltisi içerisinde ezilmiştir. Ezilen örneklerden 600 ul alınarak 1.5 ml mikrotüplere aktarılmıştır.

-Üzerlerine 70 ul %10'luk SDS eklenerek 65°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Bu sırada tüpler ikişer kez alt üst edilmiştir. İnkübasyondan alınan örnekler 5 dakika soğumaya bırakılmıştır.

-Üzerlerine 200 ul 5M Potasyum asetat eklenerek buz içerisinde 10-30 dakika buz içerisinde bekletilmiştir. Bekleme sırasında tüpler ikişer defa alt üst edilmiştir. Buzdan alınan örnekler 10 dakika 10.000 rpm'de 10°C'de santrifüj edilmiştir.

-Santrifüjden çıkan tüplerin üst fazlarından 600 ul çekilerek yazılan yeni tüplere aktarılmıştır.

-Tüplerin üzerine 600 ul %96'lık soğuk etanol eklenerek alt üst edilmiştir. Bir gece boyu -20°C'de buzluktan alınan örnekler 10 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilerek nükleik asitin çökmesi sağlanmıştır.

-Çökelti üzerinde kalan sıvı ise tüpten dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Tüp içerisinde kalan pelletler 10-15 dakika kurutmaya bırakılmıştır

-Kuruyan örneklerin üzerine 200 ul saf su eklenerek 37°C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

Moleküler testlemelerde kullanılan primer çiftinin dizilimleri Çizelge 3.2'de Verso one step RT-PCR protokolünde kullanılan kimyasallar, hacimleri Çizelge 3.3'de ve RT-PCR protokolü Çizelge 3.4'de belirtilmiştir.



Şekil 3. 18. Moleküler testlemelerde kullanılan Verso 1-Step RT-PCR ReddyMix Kit

Çizelge 3. 4. Moleküler testlemelerde kullanılan primer çifti

ToBRFV1	ToBRFV1 F 5'-CTTCCAAACGTGTACGCACC-3'	475 bp
	ToBRFV1 R 5'-ATGCATCTTCCATTGCGCTG-3'	Fidan vd. 2021

Çizelge 3. 5. Verso One step RT-PCR protokolünde kullanılan kimyasallar ve hacimleri

İçerik	Miktar (µl)
ddH ₂ O	17,5
Verso 1-step RT-PCR Reddymix Master	25
RT-Enhancer	2,5
Forward	1
Reverse	1
Verso Enzim	1
RNA	2

Uygulanan her RT-PCR aşamasından sonra elde edilen PCR ürünleri %1,5'lük agarose jelde 70 V'da 40 dakika koşturularak ethidium bromide ile boyanıp UV ışık altında görüntülenmiştir.

Çizelge 3. 6. RT-PCR döngü protokolleri

Aşamalar	Sıcaklık	Zaman	Döngü
Ön denatürasyon	50°C	15 dakika	1
	95°C	3 dakika	1
Denatürasyon	95°C	45 saniye	38
Bağlanma (Anneling)	59°C	45 saniye	
Uzama (Extention)	72°C	45 saniye	
Son uzama	72°C	3 dakika	1
Final	12°C	∞	

3.2.6. DAS-ELISA çalışmaları

Testleme için deneme içerisindeki her bitkiden yaprak parçaları alınmıştır. Testleme sırasında 96 kuyucuklu ELISA plate'leri, ELISA okuyucu, mikropipetler ve pipet uçları, tampon solüsyonlar, inkübatör ve antibodyler kullanılmıştır. Çalışmamızda ToBRFV'nin tanısına yönelik üretilen ticari antiserum kitleri (LOEWE® Biochemia, Almanya) kullanılmıştır.



Şekil 3. 19. DAS-ELISA testlemelerinde kullanılan çözeltiler, plate ve ToBRFV'ye spesifik conjugate ile antibody

Sonuçlar 405nm'de ELISA okuyucuda alınan sayısal değerlere göre değerlendirilmiştir. DAS-ELISA protokolüne göre;

- Virüse spesifik Antibody (IgG), Coating (IgG Kaplama tamp.) tamponu ile kullanılacak optimum konsantrasyona (1/200) göre sulandırıldıktan sonra γ -globulinden ELISA plate'nin her bir çukuruna 100 μ l konulur ve plate üzeri kapatılarak 37°C de 4 saat inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra 4 kez tüm kuyucuklar yıkama tamponu ile yıkanmıştır. Bu işlem 3 kez tekrar edilmiştir.
- Domates bitkisinden alınan örnekler 1/5 oranında ekstraksiyon tamponu ile ezilerek hazırlanır ve her bir çukura 100d μ l yapılan sıralamaya göre eklenir ve plate'in üzeri kapatılıp 37 °C'de 4 saat boyunca inkübe edilmiştir.

- d. İnkübasyondan sonra platelerin yıkama işlemi (b) aşamasındaki gibi tekrar edilmiştir.
- e. Enzim Conjugate (enzimle işaretli Ig G), konjugate tamponu ile optimum kullanılacak konsantrasyona (1/200) göre sulandırılarak her bir çukura 100 µl eklenmiş ve plate 37°C de 4 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- f. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile platelerin yıkama işlemi (b) aşamasındaki gibi tekrarlanır ve kağıt havlu üzerine vurarak kuruması beklenmiştir.
- g. Substrat tamponunda taze olarak hazırlanmış substrattan (1mg/ml pnitrophenyl phosphate) her bir çukura 100 µl eklenmiştir ve 45 dakika oda sıcaklığında karanlıkta enzimatik reaksiyon için bekletilmiştir.
- h. Platen çukurlarındaki renk değişimine dayalı ölçümler ELISA Reader ile 405 nm dalgaboyunda değerlendirilmiştir

3.2.7. İstatistiksel değerlendirmeler

Her denemede ToBRFV'nin dezenfektansız direkt uygulamaları pozitif kontrol kabul edilmiştir. Mekanik bulaştırmanın başarılı olup olmadığı buna göre değerlendirilmiştir. 3 alt başlık altında incelediğimiz denemeler kendi içerisinde incelenmiştir. Simptomatolojik, moleküler ve serolojik olarak gözlemlenen ve testlenen bitkilerin sonuçları ANOVA VARYANS ANALİZİ kullanılarak dozlar ve denemeler arasındaki istatistiksel farklar belirlenmiştir. Varyans analizi sonrası kullanılan LSD testi ile dezenfektanlar arasındaki farklılık ortaya konmuştur. Dezenfektanların yüzde etkileri değerine edilerek "LSD" testi uygulanmıştır. Böylece uygulama yapılan dezenfektanların farklılıkları ortaya konmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

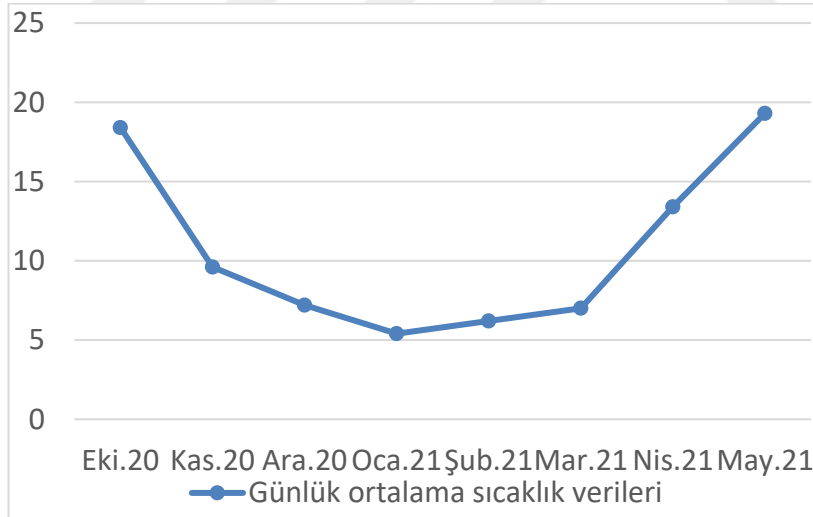
Antalya bölgesinde örtü altı domates üretim alanlarında son yıllarda başlıca sorun haline gelen Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV) üzerinde dezenfektanların etkinliğinin belirlenmesi ile ilgili bu çalışmada elde edilen bulgular aşağıdaki gibi tartışılmıştır. Elde edilen bulgular 2020-2022 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama Araştırma Seralarında ve Bitki Koruma Bölümü İklimlendirme Odalarında ve Patojenisite seralarında yetiştirilen domates ve tütün bitkileri üzerinde yapılan dezenfektan denemelerini kapsamaktadır. Çalışma kapsamındaki veriler; simptomatolojik gözlemler, serolojik ve moleküler çalışmalar sonucu istatistiksel analizler ile ortaya konulmuştur.

4.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Domates bitkileri ticari bir fidelikten alınarak denemenin kurulacağı alana getirilmiştir. Deneme seralarında toprağa dikilen fideler için üretim koşulları önemli olduğu için deneme tarihlerinde iklim verileri Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Dikim sonrası bitki köklerinin toprağa bağlanıp fidelerin gelişimi doğrultusunda su ihtiyacı gözlemlenerek bitki besleme ve gübreleme programı uygulanmıştır. Bitkiler istenilen parametreler doğrultusunda (sıcaklık, ışık, nem vb.) yetiştirilmiştir.

Çizelge 4. 1. Günlük domates yetiştiriciliğinin yapıldığı tarihlerinde Antalya ili meteorolojik iklim verileri



4.2. Mekanik İnokülasyon Çalışmaları

NCBI'da kayıtlı virülensliği ve tam genomu bilinen Antalya'ya ait domates "ToBRFV-Ant-Tom: MT107885" izolatu kullanılmıştır. 0,02 M Fosfat tampon (pH:7) çözeltisi + %0,1'lik 2-mercaptoethenol eklenerek ezilmiştir.

4.3. Denemelerin Kurulması ve Dezenfektan Uygulamaları

Bu tez kapsamında kurulan denemeler üç alt başlık altında incelenmiştir.



Şekil 4. 1. Çalışmalarımızda kullanılan dezenfektanların bazıları

4.3.1. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı etkinliğinin belirlenmesi

6 farklı kimyasalın tavsiye edilen dozları ve bu dozların bir alt ve bir üst dozu olmak üzere 18 farklı çözelti hazırlandı. Bu çözeltiler ToBRFV karışımı fosfat tampon çözelti ile bitkilere mekanik olarak bulaştırıldıktan sonra test bitkiler belirli periyotlar ile gözlemlenmiştir. 3. Hafta itibarı ile yapılan gözlemlerinde bitkiler istenilen fizyolojik gelişimi sağlayamadığı ve dolayısıyla test bitkilerinde belirtilerin istenilen düzeyde olmaması nedeniyle deneme parametrelerinde değişiklik yapılmıştır. Bitkiler viyollerde değil 7 cm çaplı saksılarda yetiştirilmiştir. 0.02 M Fosfat tampon (pH:7,0) çözeltisi + %0,1'lik 2-mercaptoethanol pH: 7,0'e göre hazırlanmıştır. İklimlendirme odası sıcaklığı 24°C'den 26°C'ye yükseltilmiştir. Bu aşamada amaç çevre şartlarının etkisini minimuma indirerek direkt dezenfektanın etkisini belirlemeye yöneliktir.



Şekil 4. 2. Viyollerde domates bitkileri ile yapılan ilk mekanik inokulasyon denemesi



Şekil 4. 3. Dezenfektan uygulaması yapılacak bitkiler ve dezenfektanların hazırlanması

Bulaştırmadan sonraki 3 haftalık gözlem sürecinde dezenfektan uygulanan bitkilerde ve kontrol bitkilerinde hiçbir semptom gözlemlenmemiştir. Dolayısıyla bulaştırma sırasında ya da farklı bir işlemde kaynaklı bir sorun olduğu düşünüldüğü için denemenin tekrarlanmasına karar verilmiştir. Bu değişiklikler ile mekanik inokulasyon sonrasında dezenfektan uygulanmayan kontrol bitkilerinde 2. hafta itibarıyla gözlemlenen semptomlarda, yapılan uygulamaların etkili olduğunu, sıcaklık, mekanik inokulasyonda uygulanan tampon çözeltinin pH'sı ve bitki gelişiminin saksıda olmasından kaynaklı farklılıklar saptanmıştır.

Domates bitkilerinde ToBRFV'nin oluşturduğu semptomlar, enfeksiyonun başlangıç zamanına, çevresel koşullara (sıcaklık, ışık ve nem), domates bitkisinin çeşidine ve bitkinin gelişim aşamasına bağlı olmaktadır. Yapraklarda en yaygın görülen semptomları koyu yeşil kabarmalar, hafif ve şiddetli mozaikler, damarlar arası yüzeylerde deformasyonlar, büzüşme ve daralma, bazı durumlarda yapraklarda solma şeklinde sıralayabiliriz.



Şekil 4. 4. İklimlendirme odalarında yetiştirilen domates bitkileri

Yapılan denemede dezenfektanlar mekanik olarak bulaştırıldıktan sonra ilk olarak gözlemler kontrol bitkilerinde yapılmıştır. Kontrol bitkilerine bulaştırma yapılırken dezenfektan uygulanmadığı için ilk ve en şiddetli tepkiyi bu bitkiler göstermiştir.

4.3.1.1 Simptomatolojik gözlemler

Her bir dezenfektanın dozu için üç farklı domates fidesine mekanik olarak bulaştırma yapılmıştır. ToBRFV'nin bulaştırıldığı pozitif kontrol bitkilerinde ilk semptom 13. günde gözlemlenmiştir. Bulaştırmadan 3 hafta sonra semptomlar her bitki için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Semptomlar değerlendirilirken pozitif kontrol bitkileri ve saf su ile muamele edilen negatif kontrol bitkileri göz önünde bulundurulmaktadır. Skala yapraklardaki mozaikleşme yoğunluğuna ve şiddetine göre 4 farklı numara ile derecelendirilmiştir. Uygulanan dezenfektanların yapraklardaki semptomlarına ait değerler Çizelge 4.2'de verildiği gibidir.

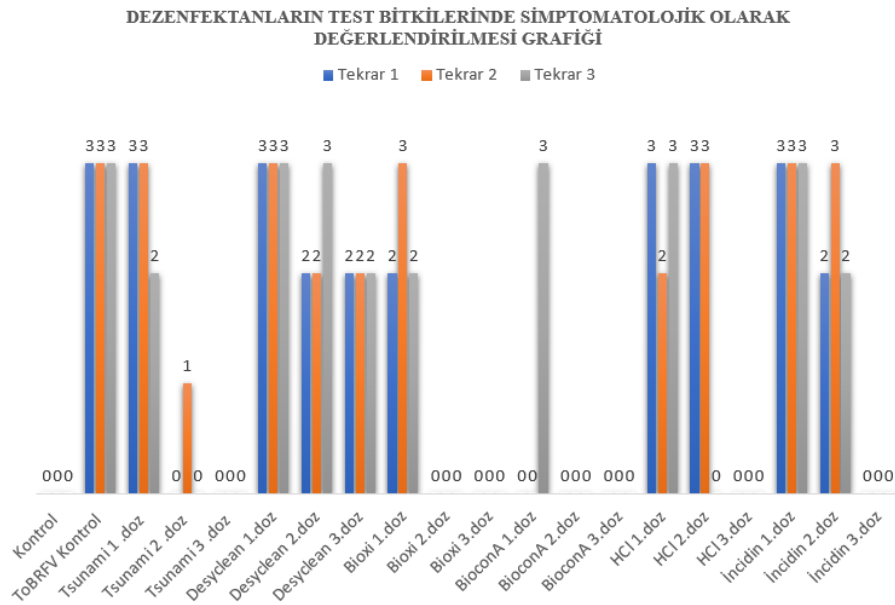
Yapılan derecelendirmeler değerlendirildiğinde; Virüs ve dezenfektan uygulanmayan bitkilerin sağlığının kontrolü için denemede yer alan saf su ile muamele edilmiş bitkilerde semptom gözlemlenmemiştir. Dezenfektan uygulamalarında ise;

Tsunami 2. doz, Bioxi 2. doz, BioconA 2. doz, BioconA 3. doz, HCl 3. doz, İncidin 2. doz ve İncidin 3. doz uygulaması yapılan yapraklarda simptom gözlemlenmemiştir.

Pozitif kontrol olarak virüsün direkt mekanik inokule edildiği test bitkilerinde şiddetli mozaik ve deformasyonlar gözlemlenirken, Tsunami 1. doz, Desyclean 1. doz, Desyclean 2. doz, Bioxi 1. doz, Biocon A 1. doz ve HCl 1. doz uygulamalarında da şiddetli mozaik ve deformasyonlar gözlemlenmiştir.

Desyclean 3. doz, Tsunami 3. doz, Bioxi 3. doz ve İncidin 1. Doz uygulamalarında yapraklarda hafif mozaik ve bazı yapraklarda şiddetli mozaik belirtiler gözlemlenmiştir.

Uygulaması yapılan dezenfektanların belirlenen 2. dozları hedef dozdur. Hedef dozların üzerinde uygulanan 3. dozlar bitki vegetatif aksamında fitotoksiteye neden olmuştur. 3. dozu fitotoksiteye neden olan dezenfektanlar; Tsunami, HCl ve İncidin'dir. Bu dezenfektanların güçlü etkisi virüs simptomunu göremeyecek kadar yaprağı deforme etmiştir.



Şekil 4. 5. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV) enfektivitesine karşı simptomatolojik olarak değerlendirilmesinin grafik şeklinde gösterimi

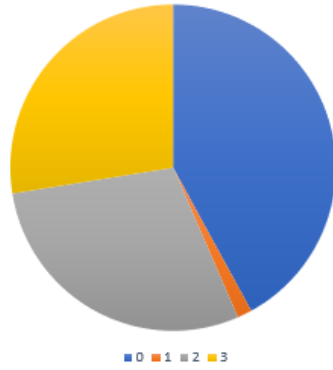
Simptomatolojik gözlem skalasına göre iklimlendirmede bulunan 60 domates bitkisinin 19 tanesi şiddetli mozaik belirtiler gözlemlenmiş, 11 tanesi orta şiddette simptom gözlemlenmiş, 1 tanesinde ise hafif belirtiler gözlemlenmiştir. Bu bitkilerden geri kalan 29 tanesinde ise simptom gözlemlenmemiştir. İklimlendirmede bulunan bitkilerin oransal dağılımı Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4. 6. Domates yapraklarının Tomato brown rugose meyve virüsü (ToBRFV) simptomları: 0 simptom olmadığını ve 3 şiddetli simptomları gösterir (Kabaş vd. 2022).

Çizelge 4. 2. Dezenfektanların domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV) enfektivitesine karşı simptomatolojik olarak değerlendirilmesi

Uygulama	1. Tekrar	2. Tekrar	3. Tekrar
Pozitif Kontrol	3	3	3
Kontrol	0	0	0
Tsunami 1. Doz	3	3	2
Tsunami 2. Doz	0	1	0
Tsunami 3. Doz	0	0	0
Desyclean 1. Doz	3	3	3
Desyclean 2. Doz	2	2	3
Desyclean 3. Doz	2	2	2
Bioxi 1. Doz	2	3	2
Bioxi 2. Doz	0	0	0
Bioxi 3. Doz	0	0	0
Biocon A 1. Doz	0	0	3
Biocon A 2. Doz	0	0	0
Biocon A 3. Doz	0	0	0
HCl 1. Doz	3	2	3
HCl 2. Doz	3	3	0
HCl 3. Doz	0	0	0
İncidin 1. Doz	3	3	3
İncidin 2. Doz	2	3	2
İncidin 3. Doz	0	0	0

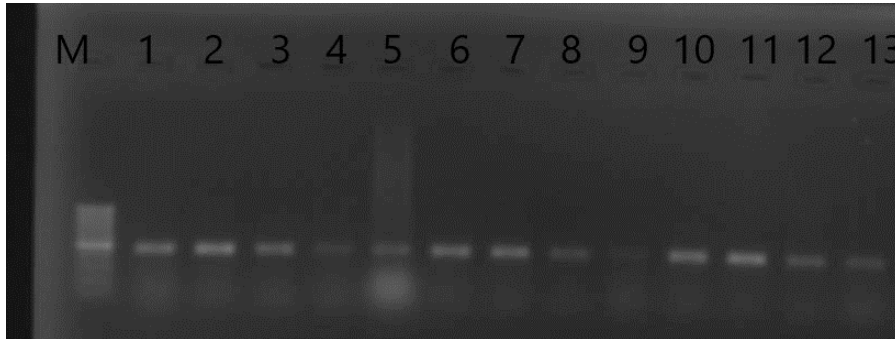
Simptomatolojik skalaya göre dağılımı

Şekil 4. 7. İklimlendirmede bulunan deneme bitkilerinin simptomatolojik skalaya göre dağılımı

4.3.1.2. RT-PCR çalışmaları

Tobamovirüsler uzun, simetrik çubuk şeklinde partiküllere sahiptirler. ToBRFV'nin içerisinde yer aldığı bu cinsin diğer tobamovirüslerden elektron mikroskobu ile ayırt etmek zordur. Aynı şekilde Tütün mozaik virüsü (TMV), Domates mozaik virüsü (ToMV) ile yakın akrabalık derecesi olan Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'nün ortak bölgelerinin fazla olması ve protein benzerlikleri ve ToBRFV'ye özgü antiserumların henüz üretilmemesi serolojik yöntemlerin hata payının yüksek olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple ToBRFV teşhislerinde RT-PCR ve qRT-PCR metodları ile testlemeler tavsiye edilmiştir. Çalışmamız kapsamında dezenfektanların etkinliklerinin belirlenmesinde sapma ve hata payını minimuma düşürmek amacıyla test bitkilerinin analizinde moleküler ve serolojik testlemeler bir arada kullanılmıştır.

ToBRFV kontrol bitkileri domatesteki önemli virüsler açısından (TMV, ToMV, TSWV, PepMV) test edilmiş ve sadece ToBRFV ile enfekteli olduğu doğrulanmıştır. Çizelge 4.2'de verilen simptomatolojik gözlem skalasına göre "0" değeri alan bitkiler test edilmiştir. Simptom göstermeden 29 adet bitkiden 12 tanesi pozitif çıkmıştır.



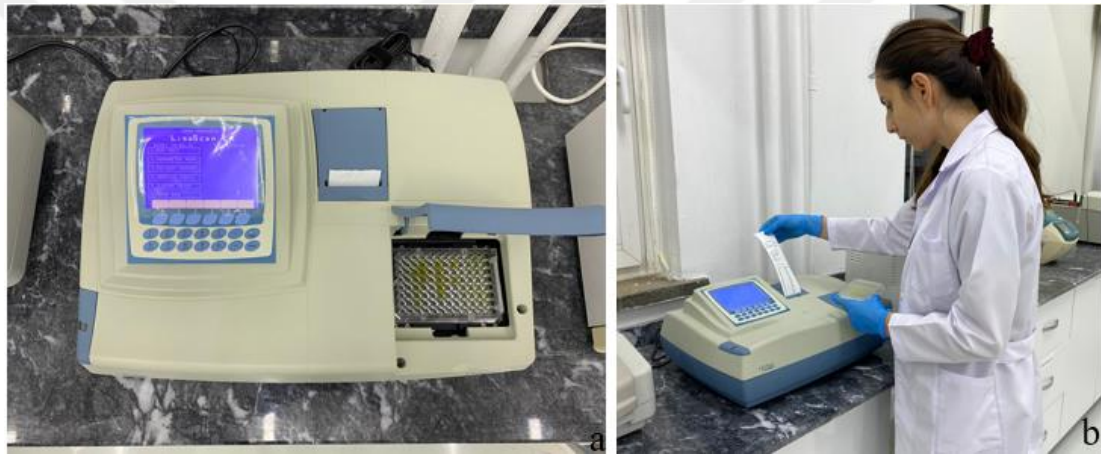
Şekil 4. 8. M; 100 bp DNA Ladder RT-PCR sonucu jel görüntüsü ToBRFV pozitif çıkan örnekler

4.3.1.3. DAS-ELISA çalışmaları

Tobamovirüs cinsi olan Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü'nün test bitkilerine mekanik olarak bulaştırılarak dezenfektanlar denenmiştir. Bitki içerisinde dezenfektan ile beraber inokule edilen virüsün gelişimini sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi amacıyla Clark ve Adams (1977)'in protokolüne göre 60 adet test bitkisinin tümüne DAS-ELISA testlemeleri uygulanmıştır. Yapraklarından örnek alınan domates bitkileri ToBRFV etmenine özgü antiserum (LOEWE) kullanılarak testlenmiştir. Antiserumlar, Çizelge 4.3'deki orana göre sulandırılmış, örnek sayısına göre hesaplanmıştır.

Çizelge 4. 3. DAS-ELISA testinde kullanılan antiserumun sulandırma oranı

Antiserum kitinin markası	Sulandırma Oranı
LOEWE	1/200



Şekil 4. 9. a) DAS-ELISA sonuçlarını okuduğumuz spektrofotometre b) sonuçların çıktısının alınması

Testlemelerde kullanılan plate üzerine hangi dezenfektana ait olduğu, negatif kontrol, pozitif kontrol ve buffer kontrollerinin yerleri belirlenmiştir. Negatif kontrol ve buffer değerlerinin 2 katı ve fazlası değerde olan örnekler Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü ile enfekteli olarak kabul edilmiş ve sarı renk ile işaretlenmiştir.

Simptomatolojik olarak bir belirti göstermeyen fakat DAS-ELISA sonuçları pozitif çıkan dezenfektan uygulamaları vardır. Biox, uygulaması yapılan bitkilerde 2. dozun tüm tekrürlerinde, BioconA uygulaması yapılan bitkilerde 1. dozun 1. ve 2. tekrürü 2. dozun ise 3. tekrüründe, Incidin uygulaması yapılan bitkilerde ise 3. dozun tüm tekrürlerinde simptom görülmezken DAS-ELISA sonuçları pozitif çıkmıştır.

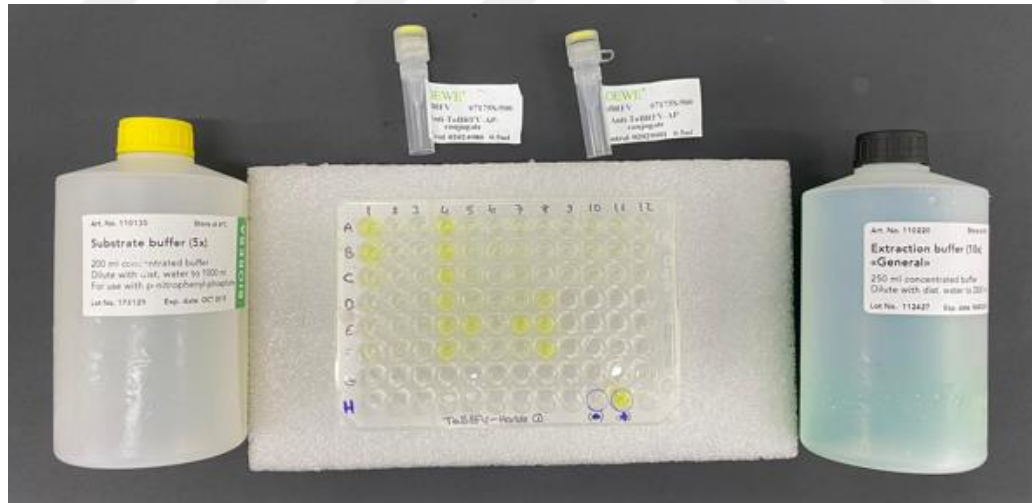
DAS-ELISA sonuçlarına göre; ToBRFV'nin dezenfektan ile karıştırılmadan direkt uygulama yapıldığı test bitkilerinde 405 nm de okuma değerleri (absorbans) için oldukça yüksek çıkmıştır. Dezenfektan uygulaması yapılan örneklerin absorbans değerleri incelendiğinde en düşük pozitif değer 0.2661 iken en yüksek pozitif değer 2.7989 değerine sahiptir. Bu durumda absorbans değeri 0.3956 ila 1.7109 bitkilerde hafif

şiddetli ve orta şiddetli mozaik semptomları gözlemlenirken, absorbanans değeri 1.3697-2.7989 bitkilerde şiddetli mozaikler ve yaprak deformasyon semptomlarının gözlemlenmesi iki pozitif arasındaki farkın sebebinin açıklanmaktadır.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Tsunami 1.1 2,4725	Tsunami 2.1 0,1978	Tsunami 3.1 0,2274	Desyclean 1.1 2,7989	Desyclean 2.1 1,6021	Desyclean 3.1 0,9296	Bioxi 1.1 1,1670	Bioxi 2.1 0,2868	Bioxi 3.1 0,2175	HCl 1.1 1,8963	HCl 2.1 1,4053	HCl 3.1 0,1265
B	Tsunami 1.2 2,3736	Tsunami 2.2 0,3956	Tsunami 3.2 0,1879	Desyclean 1.2 2,5696	Desyclean 2.2 1,7010	Desyclean 3.2 1,0087	Bioxi 1.2 1,9186	Bioxi 2.2 0,2808	Bioxi 3.2 0,1829	HCl 1.2 1,1175	HCl 2.2 1,3697	HCl 3.2 0,0253
C	Tsunami 1.3 1,186	Tsunami 2.3 0,2175	Tsunami 3.3 0,2373	Desyclean 1.3 2,7593	Desyclean 2.3 1,8988	Desyclean 3.3 0,9791	Bioxi 1.3 1,6318	Bioxi 2.3 0,2729	Bioxi 3.3 0,2073	HCl 1.3 1,7109	HCl 2.3 0,2489	HCl 3.3 0,0258
D	BioconA 1.1 0,2788	BioconA 2.1 0,2531	BioconA 3.1 0,1809	İncidin 1.1 2,6307	İncidin 2.1 1,6714	İncidin 3.1 0,2868	Kontrol 1 0,1083	ToBRFV 1 2,9895				
E	BioconA 1.2 0,2685	BioconA 2.2 0,2449	BioconA 3.2 0,1523	İncidin 1.2 2,2845	İncidin 2.2 2,1164	İncidin 3.2 0,3043	Kontrol 2 0,0953	ToBRFV 2 3,2022				
F	BioconA 1.3 1,5942	BioconA 2.3 0,2661	BioconA 3.3 0,1745	İncidin 1.3 2,5027	İncidin 2.3 1,7109	İncidin 3.3 0,2947	Kontrol 3 0,1258	ToBRFV 3 2,3049				
G												
H										Negatif 0,0881	Pozitif 3,2967	

Şekil 4. 10. DAS-ELISA sonuçlarının 405 nm absorbanans okuma değerleri

En düşük pozitif değer 0.2661 ile BioconA uygulanan 2. dozun 2. tekrerründen alınan örnektir. 2.7989 değeri ile Desyclean uygulanan 1. dozun 1. tekrerründen alınan örnektir. RT-PCR yönteminde sadece virüsün varlığı belirlenirken serolojik okuma değerleri ile ToBRFV'ye karşı kullanılan dezenfektanların gösterdiği semptomlar arasındaki bağlantılar değerlendirilmiştir. Moleküler ve biyolojik çalışmalar ile paralel doğrultuda yapılan serolojik testlemeler ToBRFV virüs etmeninin DAS-ELISA test yöntemi sonuçların uyduğu ortaya konmuştur.



Şekil 4. 11. DAS-ELISA sonuçları

Günümüzde testleme metodları sürekli kendini güncellemekte ve yeni teknolojiler ortaya çıkmaktadır. Bu teknolojilerin daha önce kullanılan metodlarla kıyaslanması özellikle virüslerin davranışlarını anlama ve yorumlama evresinde bizlere önemli ipuçları vermektedir.

4.3.1.4. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Bu tez kapsamında bitkilere dezenfektanlar uygulanmış ve daha sonra bu bitkilerden örnekler alınarak DAS-ELISA testi yapılmıştır. 405 nm okuma değerleri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Uygulanan farklı **dezenfektanlar** arasında varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur. **Dozlar** arasında bulunan farklılıklar da istatistiksel olarak önemlidir. **Dezenfektan ve doz** etkileşimi göz önüne alındığında sonuçlar arasındaki farklılık önemlidir. Fakat kurulan denemede tekrürler arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır. Bu sonuç deneme sonuçlarının tutarlılığını olumlu yönde ifade etmektedir.

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Dezenfektan	7	49.10926360	7.01560909	81.57	<.0001
Doz	2	18.15285845	9.07642923	105.53	<.0001
Dezenfektan*Doz	14	9.06357580	0.64739827	7.53	<.0001
Tekerrür	2	0.01145532	0.00572766	0.07	0.9357

Şekil 4. 12. Varyans analizinin sonuçları

Gruplandırma	Ortalama	Örnek Sayısı	Dezenfektan
A	2.8285	9	ToBRFV Kontrol
B	1.8052	9	Desyclean
B	1.5336	9	İncidin
C	0.8807	9	HCl
C	0.8329	9	Tsunami
C	0.6851	9	Bioxi
D	0.3793	9	BioconA
D	0.1098	9	Kontrol

Şekil 4. 13. LSD testinin sonuçları

LSD testine göre dezenfektanlar arasındaki fark değerlendirilmiştir; ToBRFV bulaştırılan pozitif kontrol en yüksek değere sahiptir. Daha sonra işlem uygulanmayan kontrol bitkileri ve Desyclean uygulanan bitkiler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. İstatistiksel olarak aralarında önemli fark olmayan ve birbirine yakın değerlere sahip dezenfektanlar etkisi en düşük değerden en yükseğe doğru sırasıyla; İncidin, HCl, Tsunami ve Bioxi bulunmuştur. BioconA ise en yüksek etki değerine sahip dezenfektandır.

Uygulama dozları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde en etkili bulunan dozlar 3. dozdur. Ancak bazı dezenfektanlarda önerilen dozun üzerine çıktığında daha önceki bölümlerde bitkilerde simptomatolojik gözlemler kısmında belirtildiği gibi fitotoksiteye sebep olmuştur. İstatistiksel olarak 3. doz en iyi çıkmasına rağmen tavsiye dozu genel olarak dezenfektanların 2. dozlarıdır. Buna göre; Tsunaminin 2. dozu %66,2 etkili, 3. dozu ise oldukça etkili ancak bitki vegetatif aksamında fitotoksiteye sebep olmuştur. Bioxi 3.dozda etkili olduğu gözlemlenmiştir. Fitotoksite gözlemlenmemiştir. Desyclean uygulamalarında başarı oranı çok düşük bulunmuştur. HCl yüksek oranda asit içermektedir. 2. dozundan itibaren bitkilerde fitotoksiteye sebep olmuştur. İncidin bitkilerde kalıntıya sebep olan bir dezenfektandır. Yüksek doz uygulamaları yine bitkilerde olumsuz etkilere sebep olmuştur. BioconA 2. dozdan itibaren etkili olmuş ve olumsuz etkisi görülmemiştir.

Gruplandırma	Ortalama	Örnek Sayısı	Doz
A	1.76836	24	1
B	1.08632	24	2
C	0.54096	24	3

Şekil 4. 14. Dozlara göre etki oranlarının belirlenmesi

2021 yılında Chanda vd. tarafından yapılan çalışmalarda CGMMV'ye karşı %2 ToBRFV'ye karşı ise %3 dozlarında Virkon kontrollü koşullarda etkili bulunmuştur. Bu çalışmada kullanılan Virkon ile içerik bakımından benzer olan BioconA'nın 2.doz uygulamalarında %66,6'lık, 3. doz uygulamalarında ise %100 ToBRFV bulaşını engellediği gözlemlenmiştir. Tsunami 2. doz uygulamalarında ise ToBRFV'ye karşı %33,3'lük bir etki gözlemlenirken 3. doz uygulamalarında etki %100 bulunmuştur. Bioxi 1. ve 2. doz uygulamalarında bir etki gözlemlenmemişken, 3. doz uygulamalarında etki %100 bulunmuştur. HCl uygulamalarında ise 2. dozda %33,3'lük, 3. doz uygulamalarında ise %100 ToBRFV'ye karşı etkili bulunmuştur. İstatistiksel olara çıkan sonuçlara göre uygulanan dezenfektanların etkinlik sıralaması; BioxonA, Bioxi ve Tsunami şeklinde bulunmuştur.

4.3.2. Dezenfektanların Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü (ToBRFV)'ye karşı çiftçi koşullarında etkinliğinin belirlenmesi

Bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıkları en aza indirmek ve ortadan tamamen kaldırmak amacıyla dezenfeksiyon yöntemleri son zamanlarda sık başvurulan yollardan biri olmuştur. Dezenfektanlar ile ilgili yapılan daha önceki çalışmalarda patojenlere karşı başarılı bulunan dezenfektanlar mevcuttur. Mevcut araştırmamızın bu kısmı fide döneminde serada başlayan ToBRFV yayılımının kontrolü için etkili dezenfektanları bulmaya yöneliktir.

Araştırmada güzlük domates bitkileri 2020-2021 yılları arasında sonbahar döneminde örtü altında toprakta yetiştirildi. Elde edilen araştırma bulguları ve istatistiksel analizleri değerlendirilerek aşağıda sunulmuştur.

Bitkiler 6 sraya ayrılmıştır. Her sırada her dezenfektanın farklı dozları için 3'er bitki dikilmiştir. Dezenfektan uygulamaları sonucu yan yana bitkilere farklı dezenfektanların etki etmesinden kaynaklı oluşabilecek hataları en aza indirmek amacıyla sadece ortadaki bitkinin değeri kabul edilecektir. Sağında ve solunda kalan bitkiler kenar tesiri olarak kabul edilmiştir.

ToBRFV kültürel işlemler sırasında temas yoluyla kolayca yayılabilen bir virüstür. Kültürel işlemlerden kaynaklanacak hataları en aza indirmek amacıyla dezenfektan uygulamaları tüm alana aynı anda kültürel işlemlerden hemen önce yapılmıştır. Dezenfektan uygulamaları sırasında her dezenfektan için farklı bir püskürtme pompası kullanılarak en düşük dozdan uygulama başlanmıştır.



Şekil 4. 15. Domates bitkilerinin tomurcuk döneminde *Bombus terrestris* arıları ile polinasyonu

Her 6 sırada ToBRFV bulaştırmak için bir bitki seçildi. Hazırlanan inokulum kaynağı mekanik olarak süngerleri yaprağa sürme yöntemi olarak bilinen soft sponge ped yöntemi ile bulaştırılmıştır. ToBRFV bulaştırılan bitkiye ve hemen iki yanındaki bitkilere dezenfektan uygulaması yapılmamıştır. Bulaştırma işleminden sonra ve dezenfektanlar ayrı ayrı uygulandıktan sonra haftalık gözlemler yapılmıştır. Dezenfektanların gözlemleri Çizelge 4.4 ila 4.10 arasında haftalık olarak sunulmuştur.

Deneme Ekim ayında başlayıp Nisan ayında sonlandırılmıştır. Deneme boyunca 15 gün aralıklar ile 4 kez dezenfektan uygulaması yapılmıştır. Filiz alma, budama, hasat ve ipe alma işlemlerinin her birinden önce dezenfektan uygulamaları yapılmıştır. Simptomatolojik sonuçlar, RT-PCR ve DAS-ELISA sonuçlarının birbirleri ile kıyaslanarak en son seradaki tüm bitkilerin enfekte olduğu tespit edildikten sonra dezenfektan uygulaması durdurulmuştur.



Şekil 4. 16. a) Dezenfektan uygulaması yapılan el pülverizatörü, b) seraya uygulama yapılması

4.3.2.1. Simptomatolojik gözlemler

Bu denemede simptomatolojik gözlem aşamasında değerlendirme yapılırken simptom var ya da simptom yok şeklinde sonuç yazılmıştır. Sera koşulları, bitki yoğunluğu, çevre şartları gibi faktörlerden dolayı simptomatolojik gözlem skalasına göre değerlendirme yapılmamıştır. Dezenfektan ve kontrol uygulamaları olmak üzere 7 farklı uygulama için farklı günlerde yapılan gözlem sonuçları Çizelge 4.4 ile Çizelge 4.10 arasındaki tablolarla ile detaylı olarak incelenmiştir.



Şekil 4. 17. ToBRFV enfekteli domates yapraklarının belirtileri

Serada inokulum kaynağı olarak seçilen 6 adet bitkiye ToBRFV mekanik olarak bulaştırılmıştır. Çizelge 4.1’de gösterildiği üzere “+” olarak işaretlenen haftalara denk gelenler simptomların ilk gözlemlendiği zamana aittir. 2020 bahar dönemi iklimsel verileri göz önünde bulundurulduğunda mevsim normallerinin üzerinde + 2 derece sıcak geçmiştir. Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsünün mekanik bulaştırılmasından sonra bitkilerde periyodik aralıklarla gözlem yapılmıştır. İlk 7 günde simptom gözlemlenmezken 10. günde 2. ve 3. sıradaki bitkilerde, 15. günde 1. 5. ve 6. sıradaki bitkilerde ve 18. gün itibariyle tüm sıralarda seçilen bitkilerde simptomlar gözlemlenmiştir.

Çizelge 4. 4. İnokulum kaynağı olarak seçilen bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları

Uygulama	7.gün	10.gün	15. gün	18.gün
ToBRFV 1	-	-	+	+
ToBRFV 2	-	+	+	+
ToBRFV 3	-	+	+	+
ToBRFV 4	-	-	-	+
ToBRFV 5	-	-	+	+
ToBRFV 6	-	-	+	+



Şekil 4. 18. Mekanik inokulasyon sonucunda simptom gösteren domates bitkileri

Tercih edilen 5 dezenfektanın her biri için serada bir sıra yani hat kurulmuş olup, her sırada 3 kontrol bitkisi bulunmaktadır. Dezenfektan uygulamalarının başladığı gün itibariyle ilk 18 günde tüm hatlarda ToBRFV simptomu gözlemlenmemiştir. Mekanik olarak ToBRFV bulaşmasından sonra uygulamadan sonra 23. günde 2. 4. ve 5. sıradaki kontrol bitkilerinde ToBRFV simptomları gözlemlenmiştir. 28. günde ise tüm hatlarda ToBRFV simptomları görülmüştür.

Çizelge 4. 5. Kontrol bitkilerinin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları

Uygulanan Dezenfektan	18. Gün	23. Gün	28. Gün
Kontrol 1	-	-	+
Kontrol 2	-	+	+
Kontrol 3	-	-	+
Kontrol 4	-	+	+
Kontrol 5	-	+	+
Kontrol 6	-	-	+

P3-tsunami 100, %15 perasetik asit içerikli bir dezenfektandır. Sebze-meyve yıkama suyu, işletme kullanım sularının dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Küf, maya, mantar, bakteri ve virüs gibi mikroorganizmalara karşı tarım alanlarında kullanılmaktadır. Ürünün firması tarafından tavsiye edilen kullanım dozu dikkate alınarak, bir alt ve bir üst doz olmak üzere 3 farklı dozu uygulamaya alınmıştır. Çizelge

4.3’de verilen ilk rakamlar dozları, ikinci rakamlar ise bitkinin sıra numarasını temsil etmektedir. Gözlemler 7. günden itibarı ile başladı. İlk belirtiler 18. günden sonra gözlemlenmiştir. **1. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde 18. gün 4 bitkide, 23. gün itibarıyla tamamında belirtiler gözlemlenmiştir. **2. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde 18. gün 2 bitkide, 23. gün itibarıyla tamamında belirtiler gözlemlenmiştir. **3. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde ise 18. günde belirtiler gözlemlenmezken ilk belirtiler 23. günde 2 bitkide, 28. gün itibarıyla tamamında belirtiler gözlemlenmiştir

Bu sonuçlara göre; Tsunami 2. ve 3. dozunun kontrollü koşullarda yapılan çalışmada ToBRFV üzerine etkisi gözlemlenirken üretici koşulları baz alındığında bu etkinin sürdürülemediği, virüsün bitkiyi enfekte ettikten sonra dezenfektan uygulamalarının ToBRFV’ye karşı etkisiz kaldığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4. 6. Tsunami uygulanan bitkilerin ToBRFV belirtilerinin haftalık gözlem sonuçları

Doz/Tekerrür	18. gün	23.gün	28.gün
1 / 1	+	+	+
1 / 2	+	+	+
1 / 3	+	+	+
1 / 4	-	+	+
1 / 5	-	+	+
1 / 6	+	+	+
2 / 1	-	+	+
2 / 2	-	+	+
2 / 3	+	+	+
2 / 4	-	+	+
2 / 5	+	+	+
2 / 6	-	+	+
3 / 1	-	+	+
3 / 2	-	-	+
3 / 3	-	-	+
3 / 4	-	+	+
3 / 5	-	-	+
3 / 6	-	-	+

Bioxinin içeriği ozondur. Ozon, oksidasyon gücü yüksek bir gaz olması nedeniyle, dezenfeksiyon amacıyla özellikle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Virüs hastalıklarının su ile yayılmasını engellemek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer alanlarda yapılan bu çalışmalara istinaden bu çalışmada Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü’ne karşı etkinlik denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ürünün firması tarafından tavsiye edilen kullanım dozu dikkate alınarak, bir alt ve bir üst doz olmak üzere 3 farklı dozu uygulamaya alınmıştır. Çizelge 4.4’de verilen ilk rakamlar dozları, ikinci rakamlar ise bitkinin sıra numarasını temsil etmektedir. Gözlemler 7. günden itibarı ile başlamıştır. İlk belirtiler 18. günden sonra gözlemlenmiştir. **1. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde 18. gün 4 bitkide, 28. gün itibarıyla tamamında

simptom gözlemlenmiştir. **2. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde 18. gün 1 bitkide, 23. gün 1 bitkide, 28. gün itibariyle tamamında simptom gözlemlenmiştir. **3. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde ise 18. günde simptom 1 bitkide ilk simptomlar gözlenirken 23. günde 3 bitkide, 28. gün itibariyle tamamında simptom gözlemlenmiştir.

Bu sonuçlara göre; Bioxi 3. dozunun kontrollü koşullarda virüs üzerine etkisi gözlemlenirken üretici koşulları baz alındığında bu etkinin sürdürülemediği, virüsün bitkiyi enfekte ettikten sonra dezenfektan uygulamalarının ToBRFV'ye karşı etkisiz kaldığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4. 7. Bioxi uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları

Doz/Tekerrür	8.gün	23.Gün	28. Gün
1 / 1	-	+	+
1 / 2	+	+	+
1 / 3	+	+	+
1 / 4	-	-	+
1 / 5	+	+	+
1 / 6	+	+	+
2 / 1	-	+	+
2 / 2	-	-	+
2 / 3	+	+	+
2 / 4	-	+	+
2 / 5	-	-	+
2 / 6	-	-	+
3 / 1	-	+	+
3 / 2	-	-	+
3 / 3	-	+	+
3 / 4	+	+	+
3 / 5	-	-	+
3 / 6	-	+	+

Desy Clean, hidrojen peroksit gibi oksijen verici maddeleri içeriğinde bulunduran bir dezenfektandır. Özellikle hayvancılıkta yaygın olarak kullanılmaktadır. Ürünün tarafından tavsiye edilen kullanım dozu dikkate alınarak, bir alt ve bir üst doz olmak üzere 3 farklı dozu uygulamaya alınmıştır. Çizelge 4.'de verilen ilk rakamlar dozları, ikinci rakamlar ise bitkinin sıra numarasını temsil etmektedir. Gözlemler 7. günden itibari ile başlamıştır. İlk simptomlar 15. günden sonra gözlemlenmiştir. **1. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde 18. gün 5 bitkide, 18. gün itibariyle tamamında simptom gözlemlenmiştir. **2. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde 15. gün 4 bitkide, 18. gün 1 bitkide, 23. gün itibariyle tamamında simptom gözlemlenmiştir. **3. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde ise 15. günde simptom 3 bitkide ilk simptomlar gözlenirken 18. günde 1 bitkide, 28. gün itibariyle tamamında simptom gözlemlenmiştir.

Çizelge 4. 8. Desyclean uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları

Doz/Tekerrür	15. gün	18. gün	23. gün
1 / 1	+	+	+
1 / 2	-	+	+
1 / 3	+	+	+
1 / 4	+	+	+
1 / 5	+	+	+
1 / 6	+	+	+
2 / 1	+	+	+
2 / 2	+	+	+
2 / 3	+	+	+
2 / 4	-	+	+
2 / 5	-	-	+
2 / 6	+	+	+
3 / 1	+	+	+
3 / 2	-	-	+
3 / 3	+	+	+
3 / 4	-	-	+
3 / 5	-	+	+
3 / 6	+	+	+

HCl gibi kuvvetli asitler, çözelti içerisinde kolayca çözünür ve hidrojen iyonlarını oluştururlar. Bakteri ve virüs gibi mikroorganizmalara karşı da etki gösterdikleri bilinmektedir. Çalışmamızda HCl seyreltilerek bir stok çözelti oluşturulmuştur. Stok çözeltiden belirlenen 3 farklı doz domates bitkilerine uygulanmıştır. **1. doz** uygulama yapılan sıralardaki bitkilerde 18. gün 3 bitkide, 23. gün itibariyle tamamında simptom gözlemlenmiştir.



Şekil 4. 19. HCl uygulaması sonucu bitki yapraklarında oluşan fitotoksite

2. ve 3. dozlar bitkide fitotoksiteye neden olmuştur. Dezenfektanın bitki fizyolojisine zarar vermesine rağmen bitkide daha sonra vejetatif olarak gelişen bitki sürgünlerinde ToBRFV simptomları gözlemlenmiştir. Bu yapraklardan daha sonra alınan örneklerin RT-PCR sonuçları ToBRFV pozitif bulunmuştur.

Çizelge 4. 9. HCl uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları

Doz/Tekerrür	18. gün	23.gün	28.gün
1 / 1	+	+	+
1 / 2	+	+	+
1 / 3	-	+	+
1 / 4	+	+	+
1 / 5	-	+	+
1 / 6	-	+	+
2 / 1	-	-	-
2 / 2	-	-	-
2 / 3	-	-	-
2 / 4	-	-	-
2 / 5	-	-	-
2 / 6	-	-	-
3 / 1	-	-	-
3 / 2	-	-	-
3 / 3	-	-	-
3 / 4	-	-	-
3 / 5	-	-	-
3 / 6	-	-	-

Çizelge 4. 10. Biocon A uygulanan bitkilerin ToBRFV simptomlarının haftalık gözlem sonuçları

Doz/Tekerrür	18. gün	23.gün	28.gün
1 / 1	-	+	+
1 / 2	+	+	+
1 / 3	+	+	+
1 / 4	-	+	+
1 / 5	-	+	+
1 / 6	+	+	+
2 / 1	-	-	+
2 / 2	+	+	+
2 / 3	-	+	+
2 / 4	-	-	-
2 / 5	-	-	-
2 / 6	-	+	+
3 / 1	-	-	-
3 / 2	-	-	-
3 / 3	-	-	-
3 / 4	-	-	+
3 / 5	-	-	-
3 / 6	-	-	-

Biocon-A, potasyum peroksimonosülfat etken maddeli virüs, bakteri ve funguslara karşı kullanılan bir dezenfektandır. Gıda üretim alanları ve kişisel üretim

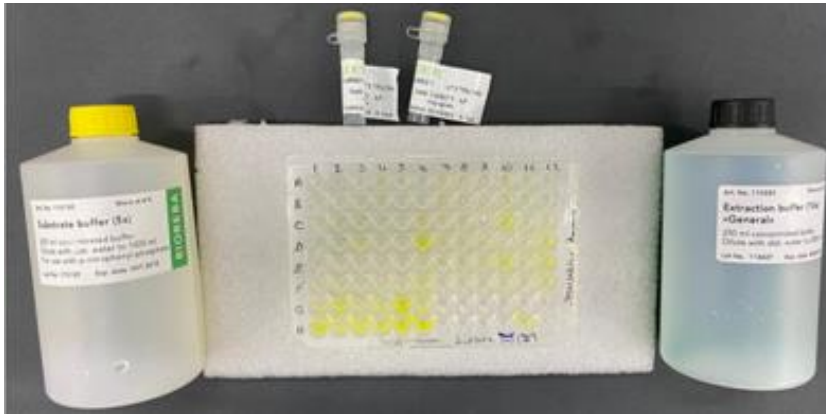
alanlarında dahil geniş kullanıma sahiptir. Tavsiye edilen kullanım dozlarında fitotoksiteye neden olmamıştır. Firma tarafından tavsiye edilen dozun alt ve üst dozu belirlenerek 3 doz kullanılmıştır. Dezenfektanın kullanımı itibariyle 1. dozda 18. günde 3 bitkide 23. gün itibariyle tamamında ToBRFV belirtileri gözlemlenmiştir. Uygulamanın ardından 2. dozda 18. günde 1 bitkide, 23. günde 3 bitkide yine 28. günde aynı bitkilerde belirtiler görülmüştür. 3. doz oldukça etkili olup 28. günde sadece 1 bitkide belirtiler gözlemlenmiştir.

Uygulama yapılan dezenfektanlar içerisinde bitkilerde belirtiler oluşturmayan dezenfektan BioconA olarak bulunmuştur. Fakat bazı durumlarda virüsler bitkide asimptomatik olarak varlığını sürdürebilme ihtimalinden dolayı simptomatolojik testlemeler moleküler ve serolojik testlemeler ile kontrol edilmiştir. Bu testlemelerin sonuçları ilerleyen başlıklarda değerlendirilmiştir. Ayrıca Biocon A 3. Doz uygulamasına maruz bırakılan 6 bitkiden 1 tanesinde ToBRFV belirtileri gözlemlenmiştir.



Şekil 4. 20. Yapılan çalışmalar sonucu serada ToBRFV enfekteli bitkilerin genel belirtileri

4.3.2.2. DAS-ELISA Çalışmaları



Şekil 4. 21. DAS-ELISA plate görüntüsü

Son dezenfektan uygulamasından sonra serada her sırada farklı uygulama yapılan 102 bitkiden DAS-ELISA testlemeleri için örnek alınmıştır. Alınan örneklerin 15 tanesi negatif değer 3 katının altında kaldığı için negatif kabul edilmiştir. Örneklerden 87 tanesinde ise ToBRFV tespit edilmiştir.

ToBRFV'nin direkt olarak bulaştırıldığı kontrol bitkilerinde 405 nm absorbans okuma değeri en yüksek 3.2022 olarak okunmuştur. Dezenfektan uygulamaları yapılan bitkiler arasında en yüksek pozitif değer 2.1893 ile HCl 1 dozlarında, en düşük pozitif değer ise 0.2991 ile BioconA 3. doz uygulamasında görülmüştür.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Tsunami 1.1 0.8025	Tsunami 1.2 0.2505	Tsunami 1.3 0.0568	Desyclean 1.1 1.5696	Desyclean 1.2 0.6920	Desyclean 1.3 0.9054	Bioxi 1.1 1.700	Bioxi 1.2 1.0286	Bioxi 1.3 0.2582	HCl 1.1 1.8963	HCl 1.2 0.2285	HCl 1.3 0.0258
B	Tsunami 2.1 0.4285	Tsunami 2.2 0.0369	Tsunami 2.3 0.8569	Desyclean 2.1 0.8697	Desyclean 2.2 0.9688	Desyclean 2.3 0.7597	Bioxi 2.1 0.9856	Bioxi 2.2 0.2651	Bioxi 2.3 0.4963	HCl 2.1 1.7834	HCl 2.2 0.7968	HCl 2.3 0.0258
C	Tsunami 3.1 0.9259	Tsunami 3.2 1.1289	Tsunami 3.3 0.5719	Desyclean 3.1 0.4569	Desyclean 3.2 0.0818	Desyclean 3.3 1.8254	Bioxi 3.1 0.2304	Bioxi 3.2 1.3258	Bioxi 3.3 0.3078	HCl 3.1 2.0579	HCl 3.2 1.0586	HCl 3.3 0.1789
D	Tsunami 4.1 0.3112	Tsunami 4.2 0.9674	Tsunami 4.3 1.4785	Desyclean 4.1 0.4688	Desyclean 4.2 0.7589	Desyclean 4.3 2.0217	Bioxi 4.1 0.5872	Bioxi 4.2 1.0114	Bioxi 4.3 1.823	HCl 4.1 1.6902	HCl 4.2 1.2696	HCl 4.3 0.3839
E	Tsunami 5.1 0.1589	Tsunami 5.2 0.3697	Tsunami 5.3 0.0397	Desyclean 5.1 0.1142	Desyclean 5.2 0.3600	Desyclean 5.3 1.5741	Bioxi 5.1 0.9658	Bioxi 5.2 1.8037	Bioxi 5.3 1.2030	HCl 5.1 2.1893	HCl 5.2 1.963	HCl 5.3 0.9876
F	Tsunami 6.1 0.7469	Tsunami 6.2 0.5896	Tsunami 6.3 0.9157	Desyclean 6.1 0.9321	Desyclean 6.2 0.8756	Desyclean 6.3 1.0980	Bioxi 6.1 0.4369	Bioxi 6.2 1.9675	Bioxi 6.3 0.9208	HCl 6.1 1.6976	HCl 6.2 0.8968	HCl 6.3 0.5896
G	Kontrol 1 1.5589	Kontrol 2 2.4895	Kontrol 3 1.8965	Kontrol 4 1.9003	Kontrol 5 2.8963	Kontrol 6 1.6987						
H	ToBRFV 1 2.9895	ToBRFV 2 3.2022	ToBRFV 3 2.3049	ToBRFV 4 3.0364	ToBRFV 5 2.2027	ToBRFV 6 2.2601				Negatif 0.0989	Pozitif 2.9645	

Şekil 4. 22. DAS-ELISA sonuçlarının 405 nm absorbans okuma değerleri

	1	2	3
A	BioconA 1.1 0.8995	BioconA 2.1 0.4154	BioconA 3.1 0.2571
B	BioconA 1.2 1.1175	BioconA 2.2 0.5241	BioconA 3.2 0.3174
C	BioconA 1.3 1.0117	BioconA 2.3 0.5835	BioconA 3.3 0.3605
D	BioconA 1.4 0.8228	BioconA 2.4 0.3323	BioconA 3.4 0.3575
E	BioconA 1.5 0.7892	BioconA 2.5 0.3352	BioconA 3.5 0.2991
F	BioconA 1.6 0.9761	BioconA 2.6 0.4525	BioconA 3.6 0.3312

Şekil 4. 23. DAS-ELISA sonuçlarının 405 nm absorbans okuma değerlerinin devamı

Simptomatolojik gözlemler ve DAS-ELISA sonuçlarının karşılaştırmalı değerlendirilmesi aşağıdaki gibi yapılmıştır.

Tsunami uygulamalarında 28. günden sonra tüm dozların tekerrürlerinde belirtili gözlemlenirken, DAS-ELISA sonuçlarına göre 1. doz uygulamasında 6 bitkiden biri, 2. ve 3. doz uygulamalarında 6 bitkiden ikisi negatif değer çıkmıştır.

Desyclean uygulamaları yapılan bitkilerin %83,33'ü 18. günde, tamamında ise 23. günden sonra belirti gözlemlenmiştir. DAS-ELISA sonuçlarına göre 1. doz ve 2. doz uygulaması yapılan bitkilerin bir tekerrürü negatif değer çıkmıştır.

Bioxi uygulamaları yapılan bitkilerin %66,67'si 23. günde, tamamında ise 28. günden sonra belirti gözlemlenmiştir. DAS-ELISA sonuçlarına göre her dozun birer tekrerründe negatif değer çıkmıştır.

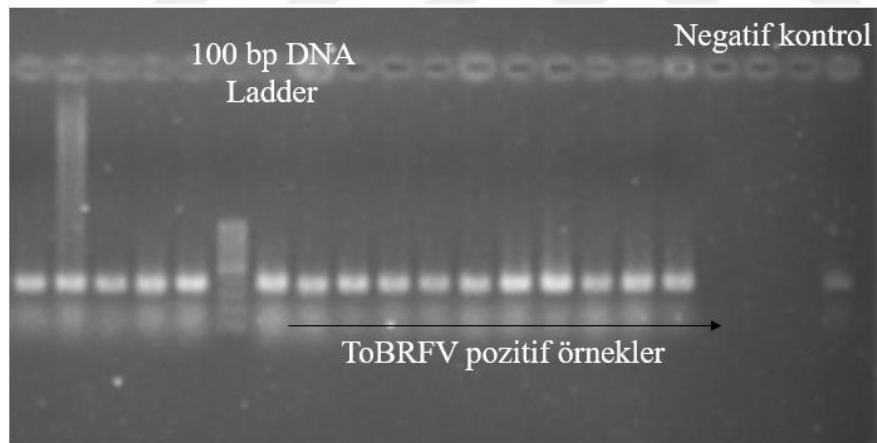
HCl 1. Doz uygulamalarında tüm bitkilerde simptom gözlemlenmiş ve doğru orantılı olarak DAS-ELISA sonuçları pozitif çıkmıştır. 2. ve 3. doz HCl uygulamalarında yüksek fitotoksite ve yaprak deformasyonları nedeniyle simptom gözlenmemiştir. DAS-ELISA değerlerine göre ise 2. doz uygulamalarından biri, 3. doz uygulamalarında ise üç bitki pozitif değer almıştır.

BioconA uygulamalarında 23. günde bitkilerin %50'si pozitif değer almıştır. 28. günde ise bu oran %61,11'e yükselmiştir. DAS-ELISA değerlerine göre ise 3. doz uygulaması yapılan tekrerrlerden biri negatif değer almıştır.

Bu testlemeler sonucu negatif değer çıkan örneklerden numune alınarak moleküler olarak testlenmiştir.

4.3.2.3. RT-PCR çalışmaları

DAS-ELISA testlemeleri sonucu negatif değer alan 15 örneğe RT-PCR testlemesi yapılmıştır. Buna göre alınan örnekler ile yapılan testlemelerde sonuçların tamamı pozitif çıkmıştır.



Şekil 4. 24. RT-PCR sonucu jel görüntüsü

Dezenfektanların ToBRFV'ye karşı çiftçi koşullarında etkinliğinin belirlenmesi başlıklı bu çalışmada simptomatolojik ve DAS-ELISA sonuçlarında bazı değerler negatif bulunmuştur. Ancak RT-PCR testlemesi sonucu bu örneklerin pozitif bulunması, dezenfektanların belirli bir süre koruyucu etki göstemesine rağmen üretim şartları altında ToBRFV'nin yayılmasını durdurmadığını ve bitkiden bitkiye virüsün bulaşmasına etkisiz kaldıkları yorumlanmıştır.

4.3.3.4. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Uygulanan farklı dezenfektanlar arasında varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur. Dozlar arasında ise istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Dezenfektan ve doz interaksiyonu değerlendirildiğinde sonuçlar arasındaki farklılık önemlidir. Kurulan denemede tekerrürler arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır. Bu sonuç deneme sonuçlarının tutarlılığını olumlu yönde ifade edilmiştir.

Varyans Kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	P Değeri
Dezenfektan	6	68.49494616	11.41582436	57.09	<.0001
Doz	2	0.90815984	0.45407992	2.27	0.1085
Dezenfektan*Doz	12	9.95316680	0.82943057	4.15	<.0001
Tekerrür	5	0.91235106	0.18247021	0.91	0.4762

Şekil 4. 25. Varyans analiz sonuçları

Gruplandırma	Ortalama	Örnek Sayısı	Dezenfektan
A	2.6660	18	ToBRFV Kontrol
B	2.0717	18	Kontrol
C	1.0955	18	HCl
C	0.9621	18	Bioxi
C	0.9074	18	Desyclean
D	0.5909	18	Tsunami
D	0.5657	18	BioconA

Şekil 4. 26. LSD testinin sonuçları

LSD testine göre dezenfektanlar arasındaki fark değerlendirilmiştir. Buna göre ToBRFV bulaştırılan pozitif kontrol en yüksek bulaşıklık değerine ve onun ardından kontrol bitkileri en yüksek bulaşık değere sahip bulunmuştur. Dezenfektan uygulamaları yapılan bitkilerdeki DAS-ELISA absormans okuma değerlerine bakıldığında sırasıyla; HCl, Bioxi ve Desyclean aynı grup içerisinde yer almıştır. Tsunami ve BioconA ise bulaşıklık değeri en düşük grup içerisinde yer almıştır.

Uygulama dozları değerlendirildiğinde hedef dozun, alt ve üst dozları ile arasında istatistiksel olarak bir farkın olmadığı yorumlanabilir. Fakat dezenfektanların üst dozları (3. Doz) en düşük DAS-ELISA değerini veren dozdur. HCl ve Tsunami dezenfektanlarının bulunan üst dozunun bitki fizyolojisini olumsuz etkilemiştir.

Gruplandırma	Ortalama	Örnek Sayısı	Doz
A	1.38211	42	1
A			
B A	1.23249	42	2
B			
B	1.18222	42	3

Şekil 4. 27. Dozlara göre etki oranlarının belirlenmesi

Dezenfektan denemelerinin kontrollü koşullarda direkt uygulanması kimyasalın virüsün yapısını bozması ve hastalık üçgenindeki virülensliği etkilemesi çevresel faktörlerden izole olmasıyla açıklanabilir. Çiftçi koşullarında dezenfektanların virüsü kontrol altında olmaması ve virüslerin doğal ortamında olması, hücre içi obligat parazit olmalarından dolayı yüzeye uygulamaların virüsü durdurmadığı tespit edilmiştir. Dezenfektanların temas ettiği yüzeylerde hijyen tedbirlerinin sağlanması epidemiyi geciktirmektedir. Dünyada yapılan çalışmalara bakıldığında çiftçi koşullarında çalışmanın hiç olmamasından dolayı kontrollü koşullarda yapılan çalışmalarda buradan elde edilen veriler birbirini doğrulamaktadır. Kontrollü koşullarda uygulanan dezenfektanlar ile yapılan diğer çalışmalarda kullanılan dezenfektanlar aynı etkili maddeye sahip olup Virkon ToBRFV'ye ve CGMMV'ye %100 etkili bulunurken, bu çalışmada aynı etkili maddeye sahip BioconA'da ToBRFV'ye karşı %100 etkili bulunmuştur.

4.3.3. Sera alet ve ekipmanlarında tobrfv'nin aktif kalma sürelerinin belirlenmesi

En kararlı virüslerden biri olan Tütün mozaik virüs'ünün hayatta kalma aralığı çok geniştir. Aynı ailenin üyesi olan Domates kahverengi buruşukluk meyve virüsü'de şimdiye kadar yapılan çalışmalarda kararlı ve stabil olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda domates üretim alanında ToBRFV ile enfekte olmuş bitkilere rastlanmış, bir sonraki üretim sezonunda aynı serada biber üretimine geçilmiştir. Bir süre sonra biber bitkilerinde de ToBRFV enfeksiyonu ile karşılaşmıştır. Bu durum üretim sezonu bitmesine rağmen bir sonraki üretim sezonunda o alanda inokulum kaldığını göstermektedir. Sağlıklı ürün, inokulum kaynakları açısından temizlenmiş üretim alanı ve o alanda kullanılacak alet ve ekipmanların temizliği bu açıdan önem taşımaktadır. Alet ekipman dezenfeksiyonu, sera dezenfeksiyonu gibi işlemler üretici açısından kolay uygulanabilir, az işçilik gerektiren, ekonomik ve uygulama süresi kısa ancak etki süresi uzun olması istenmektedir. Virüsün yüzeylerde aktif kalma süresinin bilinmesi, dezenfeksiyonun ne sıklıkla yapılması gerektiğine karar aşamasında önemli bir kriter olabilir.

ToBRFV bitkiden bitkiye doğrudan temas yoluyla ya da yetiştiricilik sırasında gerçekleşen kültürel işlemler ile mekanik olarak bulaşmaktadır. Üretim dönemi boyunca hijyenik koşulların iyi sağlanması ve sera içerisinde sıklıkla kullanılan alet ve ekipmanların dezenfekte edilmesi gerekmektedir. Çalışmamızın bu kısmında, önceki yetiştiricilik kısımların sık kullanılan alet ve ekipmanların yüzeylerinde ToBRFV'nin

aktif kalma süresinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu yüzeyleri temsilen kullanılan; metal, cam, pamuklu kumaş, bağlama ipi, saksı parçası ve işçilik sırasında en çok kullanılan tek kullanımlık lateks eldiven tercih edilmiş olup çalışmalar bu materyaller üzerinde yapılmıştır.

4.3.3.1. Simptomatolojik gözlemler

Seçilen yüzeylerde ToBRFV'nin aktif kalma süresinin belirlenmesi hedeflenenmiştir. Belirtilen saatlerde bu yüzeylerden swab çubukları ile sürüntü alınarak bitkilerin dokusunda fosfat tampon çözeltisine batırılan süngerler yardımıyla yaralar açılmış bu bölgelere swab çubukları sürtülmüştür. Bu işlemler gerçekleştikten sonra bitkiler gözleme alınmıştır. 1. hafta içerisinde yapılan gözlemlerde bitkilerde simptom görülmemiştir. 2. hafta içerisinde yapılan gözlemlerde ise 48 domates bitkisinin 22'sinde, 48 tütün bitkisinin ise 24'ünde simptom oluşmuştur. Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Örtü altı üretimin verim ve ürün kalitesinde büyük kayıplara neden olan ToBRFV'nin üretim alanında sezon boyunca gerek yetiştiricilikte gerek hasatta kullanılan alet-ekipmanların ToBRFV ile bulaşık olması durumunda, yine bu alet-ekipmanların yüzeylerinde ToBRFV'nin aktif kalma yeteneğinin belirtilen sürelerle göre tespiti yapılmıştır.

Çizelge 4. 11. Belirlenen saat aralıklarında bulaştırma yapıldıktan sonra ToBRFV simptonu oluşan

Test bitkisi	Tütün						Domates					
	1	8	24	48	72	120	1	8	24	48	72	120
Pamuklu kumaş	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
Metal parçası	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lateks eldiven	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Cam	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
Bağlama ipi	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Saksı altı	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-

Pamuklu kumaştan, 1, 8, 24 ve 48 saat sonra swab çubukları ile alınarak tütün bitkilerine bulaştırma yapılmıştır. Bu bitkilerde ilk simptom 13. günde görülmüştür. Devam eden 72 ve 120. saatlerde alınan örneklerin bitkilere bulaştırılması sonucu simptom oluşmamıştır. Domates bitkilerinde ise farklı olarak 48. saatte alınarak bulaştırılan bitkide simptom göstermemiştir. Diğer saat aralıklarında yapılan işlemlerde tütün ile paralel sonuçlara ulaşılmıştır. Domateste ise ilk simptomlar 17. gün görülmüştür.

Metal parçasından, 6 farklı saat dilimlerinde swab çubukları ile alınarak tütün ve domates bitkilerine bulaştırma yapılmıştır. Tütün bitkilerinde ilk simptomlar 11. günde, domates bitkilerinde 14. gün görülmüştür.

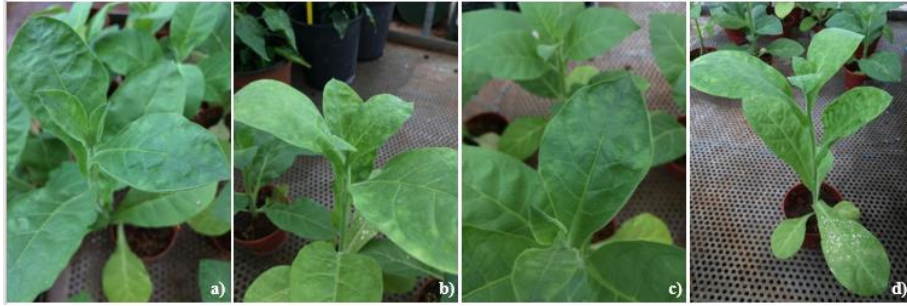
Lateks eldivenden, 1, 8 ve 24 saat sonra swab çubukları ile alınarak tütün bitkilerine bulaştırma yapılmıştır. Tütünde ilk simptomlar 12. günde görülmüştür. Devam eden 48,

72 ve 120. saat dilimlerinde alınan örneklerin bitkilere bulaştırılması sonucu simptom oluşmamıştır. Domateste ise 1. ve 8. saatlerde alınarak bulaştırılan bitkilerde 15. Günde simptom görülmüştür. Diğer saat dilimlerinde ise alınan örnekler bitkilerde simptom göstermemiştir.

Camdan, 1, 8, 24 ve 48 saat sonra swab çubukları ile alınarak tütün bitkilerine bulaştırma yapılmıştır. Bu bitkilerde ilk simptom 10. günde görülmüştür. Devam eden 72 ve 120. saatlerde alınan örneklerin bitkilere bulaştırılması sonucu simptom oluşmamıştır. Diğer saat aralıklarında yapılan işlemlerde tütün ile paralel sonuçlara ulaşılmıştır. Domateste ise ilk simptomlar 12. gün görülmüştür.

Bağlama ipinden, 1, 8 ve 24 saat sonra swab çubukları ile alınarak tütün bitkilerine bulaştırma yapılmıştır. Tütünde ilk simptomlar 14. günde görülmüştür. Devam eden 48, 72 ve 120. saat dilimlerinde alınan örneklerin bitkilere bulaştırılması sonucu simptom oluşmamıştır. Domateste ise 1. ve 8. saatlerde alınarak bulaştırılan bitkilerde 15. Günde simptom görülmüştür. Diğer saat dilimlerinde ise alınan örnekler bitkilerde simptom göstermemiştir.

Saksı altından, 1, 8, 24 ve 48 saat sonra swab çubukları ile alınarak tütün bitkilerine bulaştırma yapılmıştır. Bu bitkilerde ilk simptom 12. günde görülmüştür. Devam eden 72 ve 120. saatlerde alınan örneklerin bitkilere bulaştırılması sonucu simptom oluşmamıştır. Domates bitkilerinde ise farklı olarak 72. saatte alınarak bulaştırılan bitkide simptom gözlemlenmiştir. Diğer saat aralıklarında yapılan işlemlerde tütün ile paralel sonuçlara ulaşılmıştır. Domateste ise ilk simptomlar 14. gün görülmüştür.



Şekil 4. 28. Tütün bitkilerinde ToBRFV'nin renk açılması ve mozaik simptomları



Şekil 4. 29. Domates bitkilerinde ToBRFV'nin genel kabarma ve mozaik simptomları

4.3.3.2. RT-PCR çalışmaları

Bu çalışmada 6 farklı yüzey üzerinden swab çubukları ile örnek alınarak 6 farklı saat diliminde tütün ve domates bitkilerine bulaştırılmıştır. Çizelge 4.11’de simptomatolojik gözlem sonuçlarına göre 72 adet bitkiden 26 tanesinde simptom görülmemiştir. Simptom oluşturmeyen bitkilere RT-PCR testlemesi yapılmış ve bu örnekler ToBRFV açısından temiz bulunmuştur.

Virüslerin yüzeylerde aktif kalma süreleri ile ilgili çalışmaları hem bitki hem de hayvan virüsleri üzerinde yapılmıştır. Özellikle insan sağlığını tehdit eden COVID-19 virüsünün dünyada hızla yayılması farklı yüzeylerde hayatta kalma süreleri yapılan çalışmalarını hızlandırmıştır. Covid-19 plastik ve paslanmaz çelikte 72 saate kadar, bakırda 4 saate ve kartonda 24 saate kadar yaşayabileceğini bildirmiştir (Ong vd. 2020; WHO 2020). Yapılan önceki çalışmalarda Pepino mosaic virus (PepMV)’ünün cam yüzeylerde 15°C’de 3 hafta ve 25°C’de ise 72 saat enfeksiyon yeteneğini yitirmemektedir (Şevik ve Deligöz 2016). Yaptığımız çalışmada ise ToBRFV’nin cam yüzeylerden alınan sürüntü ile sera koşullarında 48 saat enfeksiyon yeteneğini korudukları belirlenmiştir. Farklı bitki virüslerinin birbirinden farklı yüzeylerde enfeksiyon yetenekleri değişkenlik gösterdiği sonucuna ulaşılabilir. Ayrıca enfeksiyon yeteneklerini koruma süresinde ortam sıcaklığı büyük etkenlerden biridir.

6. SONUÇLAR

Türkiye’de 2019 yılında rapor edilen ToBRFV, domates yetiştiriciliği yapılan alanlarda meyve verim ve kalitesine büyük oranda zarar vermektedir. Ticari olarak üretimi yapılan domates çeşitlerinin ToBRFV’ne karşı dayanıklılığı olmadığı için yetiştiricilik yapılan alanda üretim sezonu boyunca hijyen tedbirlerinin alınması önemlidir. Çalışma kapsamında dezenfektanların etkinliği araştırılmıştır. Tohumculuk, fidelik ve örtü altı üretim alanlarında yaygın olarak kullanılan dezenfektanlar tercih edilmiştir. Dezenfektanların ToBRFV’ne karşı kontrollü koşullarda ve çiftçi koşullarında etkinliğinin belirlenmesi ile ilgili denemeler yapılmıştır. Deneme, günlük domates yetiştiriciliği örnek alınarak tohumdan fidelik dönemine ve sonrasında seraya dikiminden hasat sonuna kadar devam etmiştir. Bu süreçte ToBRFV’nin kültürel işlemler sırasında kullanılan alet ve ekipmanların yüzeylerinde aktif kalma sürelerinin belirlenmesini de içeren bir çalışma yapılmıştır. Genel olarak bulunan sonuçlar aşağıda belirtilmiştir.

Dezenfektanların ToBRFV’ye karşı **kontrollü** koşullarda etkinliğinin belirlenmesi çalışmasında bulunan sonuçlar;

- ✓ BioconA’nın 2.doz uygulamalarında %66,6’lık, 3. doz uygulamalarında ise %100 ToBRFV bulaşını engellediği gözlemlenmiştir.
- ✓ Tsunami 2. doz uygulamalarında ise ToBRFV’ye karşı %33,3’lük bir etki gözlemlenirken 3. doz uygulamalarında etki %100 bulunmuştur.
- ✓ Bioxi 1. ve 2. doz uygulamalarında bir etki gözlemlenmemişken, 3. doz uygulamalarında etki %100 bulunmuştur.
- ✓ HCl uygulamalarında ise 2. dozda %33,3’lük, 3 doz uygulamalarında ise %100 ToBRFV’ye karşı etkili bulunmuştur.
- ✓ İstatistiksel olara çıkan sonuçlara göre uygulanan dezenfektanların etkinlik sıralaması; BioxonA, Bioxi ve Tsunami şeklinde bulunmuştur.
- ✓ DAS-ELISA absorbans sonuçları değerlendirildiğinde okumalarında pozitif en yüksek ve en düşük değer arasındaki farkın sebebinin bitkilerdeki simptom farklılıklarından ileri geldiği bulunmuştur.

Dezenfektanların ToBRFV’ye karşı **çiftçi** koşullarında etkinliğinin belirlenmesi çalışmasında bulunan sonuçlar;

- ✓ Kontrollü koşullarda etkili bulunan dezenfektanların, çiftçi koşullarında yapılan uygulamalarda ToBRFV enfeksiyonunu engellemediğini yalnızca sera içerisindeki epidemiyi geciktirdiği gözlemlenmiştir.
- ✓ ToBRFV enfeksiyonlu bitkinin serada varlığı devam ettikçe bulaş oranının %100’e ulaştığı ve tüm bitkilere hızla yayıldığı simptomatolojik, serolojik ve moleküler testlemeler sonucunda ortaya konmuştur.

- ✓ Değerlendirmeye alınan 102 bitkiden 28. günde 18 tanesinde semptom gözlemlenmemiş, 15 tanesi ise DAS-ELISA okuma sonuçların negatif çıkmıştır. Fakat yapılan RT-PCR testi sonucu bu bitkilerin pozitif olduğu bulunmuştur. Bu durum moleküler olarak yapılan testlemlerin önemini göstermektedir

Sera alet ve ekipmanlarında ToBRFV'nin aktif kalma sürelerinin belirlenmesi ile ilgili yapılan çalışma sonuçları;

- ✓ Pamuklu kumaş üzerinde ToBRFV'nin en fazla 48 saat boyunca aktif kalmakta fakat 72. saatten sonra etkisini kaybetmektedir.
- ✓ Metal parçası üzerinde yapılan çalışmada ToBRFV'nin 120 saat yani 5 gün ile en yüksek süre aktif kaldığı belirlenmiştir.
- ✓ Lateks eldiven üzerinde ToBRFV 24 saat aktif kalma yeteneğini korurken 48. saatten sonra aktif kalma yeteneğini korumadığı belirlenmiştir.
- ✓ Cam yüzeylerde 48 saat aktif kalırken 72. saatten sonra alınan örneklerde aktif kalmadığı belirlenmiştir.
- ✓ Bağlama ipinde ise 24. saate kadar aktif kalırken 48. Saatten sonra ToBRFV'nin aktif kalma yeteneğini kaybettiği belirlenmiştir.
- ✓ Saksı altı yani plastikten alınan örneklerin bitkilere bulaştırılması ile 72 saat aktif kalırken 120. Saatten sonra bu etkisini kaybettiği belirlenmiştir.
- ✓ Dünya'da ve ülkemizde yapılan ToBRFV ile ilgili çalışma ve projeler yürüten araştırmacılar ile bu sonuçlar paylaşılarak yeni ToBRFV hakkında, sanitasyon önlemlerinin alınmasında, epidemiyolojisinin anlaşılmasında yapılacak yeni çalışmalara yön göstermelidir.

Dezenfektanların uygulaması üretim devam ederken damlamalardan toprağa veya ilaçlama pompaları ile üstten püskürtme yoluyla gerçekleşmektedir. Bu çalışmada üretici koşullarında kurulan dezenfektan denemesinde üretim alanında ToBRFV bir kere bulaşmış ise yapılan dezenfektan uygulamalarından başarılı sonuçlar elde edilemediği gözlemlenmiştir. Bitkilerin ToBRFV ile bulaşık olduğu düşünüldüğünde mutlaka konu ile ilgili uzmanlara bildirilmeli ve seradan numune alınarak testleme yapılmalıdır.

ToBRFV'nin serada erken teşhis edilmesi durumunda bitkilerin lokal olarak sınırlı bir alan içinde imhası ile durum iyileştirilebilir. Fakat geç fark edilen durumlarda; sağlıklı görünen bitkilerin bünyesine virüs girmiş fakat asimptomatik olarak ilerliyor olabilir; bazı domates çeşitlerine göre semptom oluşma süresi değişebilir, ayrıca yaprak semptomu veren çeşitler meyve semptomları oluşturmazken, yaprak semptomu vermeyen bazı çeşitler meyve oluşumunda belirtilerini göstermeye başlar. Bu durumlara karşı seradaki tüm hastalıklı bitkiler ile toprak içinde ve üstünde bulunan bitki artıklarının imha edilmesi gerekmektedir. Ayrıca bir sonraki sezon üretim için virüsün konukçusu olmayan bir bitki tercih edilerek o alanda münavebe uygulanmalıdır.

Hastalık belirtisi gösteren bitkiler ve bu bitkilerin yakın çevresinde bulunan sağlıklı bitkiler dahil olmak üzere plastik poşetlere konular ve ağız sıkıca bağlanarak üretim alanından uzaklaştırılmalıdır. Bu esnada diğer sağlıklı bitkilere temas kesinlikle olmamalıdır.

Sökülen bitkilerin yerlerine yedek bitki dikilmemeli o alanlar boş bırakılarak karantinaya alınmalıdır. Eğer bu alanda bir işçilik söz konusu olursa tüm seraya yapılan işlemlerden sonra işlem yapılmalı veya o alan için farklı alet ekipman kullanılmalıdır.

Tüm sera girişlerinde dezenfektan paspası ile ayakkabılar temizlendikten sonra üretim alanına giriş yapılmalıdır. Bu paspasların içindeki dezenfektanlar düzenli aralıklarla değiştirilmelidir. Çünkü dezenfektanlar etkinliğini belirli bir süre sonra kaybeder. Hastalığın mevcut olduğu alana elle temas ettikten sonra mutlaka eller sabunlu su ile yıkanmalı veya dezenfektan ile temizlenmelidir. Kültürel işlemler sırasında ellerin dezenfeksiyonu belli aralıklarla düzenli olarak gerçekleştirilmeli gerekirse sıra başlarına elleri daldırmak için dezenfektan içeren solüsyonlar hazırlanarak konulmalıdır. İşçi kıyafetleri düzenli olarak değiştirilmeli ve yıkanmalı. İşçi hastalık imhası gerçekleşmiş seradan başka bir seraya geçiş yapmamalıdır. Dışarıdan yabancı ziyaretçiler için tek kullanımlık kıyafet, eldiven ve galoş kullanılmalıdır. Sonraki sezon kullanılacak tohumlar virüsten arı olmalıdır. Fidelikte fidelerin sağlık durumu kontrol edilmeli, şüpheli görünen fideler araziye dikilmemelidir.

7. KAYNAKLAR

- Adams, M. J., Lefkowitz, E. J., King, A. M., Harrach, B., Harrison, R. L., Knowles, N. J., ... & Davison, A. J. (2017). Changes to taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2017). *Archives of virology*, 162(8), 2505-2538.
- Adams, MJ, Antoniw, JF ve Kreuze, J. (2009). Virgaviridae: çubuk şeklindeki bitki virüslerinin yeni bir ailesi. *Viroloji Arşivleri* , 154 (12), 1967-1972.
- Alfaro-Fernández, A., Castillo, P., Sanahuja, E., Rodríguez-Salido, MC, & Font, MI (2021). İspanya'da domateste *Domates kahverengi rugose meyve virüsünün* ilk raporu. *Bitki Hastalığı* , 105 (2), 515-515.
- Alkowni, R, Alabdallah, O, & Fadda, Z. (2019). Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine. *Journal of Plant Pathology*, 101(3), 719-723.
- Amer, M. A., & Mahmoud, S. Y. (2020). First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Egypt. *New Disease Reports*, 41(24).
- Anonymous 1: EPPO <https://gd.eppo.int/taxon/tobrfv> [Son erişim tarihi: 05.06.2022]
- Batuman, O., Yilmaz, S., Roberts, P. D., McAvoy, E., Hutton, S. F., Dey, K., & Adkins, S. (2020). Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV): A Potential Threat for Tomato Production in Florida: PP360, 12/2020. *EDIS*, 2020(6).
- Beris, D., Malandraki, I., Kektsidou, O., Theologidis, I., Vassilakos, N., & Varveri, C. (2020). First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Greece. *Plant Disease*, 104(7), 2035.
- Broadbent, L. (1965). The epidemiology of tomato mosaic: XI. Seed-transmission of TMV. *Annals of Applied Biology*, 56(2), 177-205.
- Broadbent, L. (1976). Domates mozaik virüsünün epidemiyolojisi ve kontrolü. *Fitopatolojinin yıllık incelemesi*, 14, 75-96.
- Broadbent, L., & Fletcher, J. T. (1963). The epidemiology of tomato mosaic: IV. Persistence of virus on clothing and glasshouse structures. *Annals of Applied Biology*, 52(2), 233-241.58.
- Brunt, A. A. (1986). Tomato mosaic virus. In *The plant viruses* (pp. 181-204). Springer, Boston, MA.
- Calder, V. L., & Palukaitis, P. (1992). Nucleotide sequence analysis of the movement genes of resistance breaking strains of tomato mosaic virus. *Journal of General Virology*, 73(1), 165-168.
- Caldwell, J. (1959). Kurutulmuş yaprak dokusunda domates aucuba mozaik virüsünün kalıcılığı. *Doğa* , 183 (4668), 1142-1142.
- Camacho-Beltrán, E., Pérez-Villarreal, A., Leyva-López, N. E., Rodríguez-Negrete, E. A., Ceniceros-Ojeda, E. A., & Méndez-Lozano, J. (2019). Occurrence of Tomato brown rugose fruit virus Infecting Tomato Crops in Mexico. *Plant Disease*, 103(6), 1440-1440.

- Cambrón-Crisantos, JM, Rodríguez-Mendoza, J., Valencia-Luna, JB, Alcasio Rangel, S., García-Ávila, CDJ, López-Buenfil, JA ve Ochoa-Martínez, DL (2019). Michoacán, México'da Tomato brown rugose meyve virüsü (ToBRFV) için astar raporu. *Revista mexicana de fitopatología* , 37 (1), 185-192.
- Chanda, B., Rivera, Y., Nunziata, SO, Galvez, ME, Gilliard, A., & Ling, KS (2020). Amerika Birleşik Devletleri'nde izole edilmiş bir domates kahverengi rugose meyve virüsünün tam genom dizisi. *Mikrobiyoloji Kaynak Duyuruları* , 9 (29), e00630-20.
- Chanda, B., Shamimuzzaman, M., Gilliard, A., & Ling, K. S. (2021). Effectiveness of disinfectants against the spread of tobamoviruses: Tomato brown rugose fruit virus and Cucumber green mottle mosaic virus. *Virology Journal*, 18(1), 1-12.
- Çevik, B., & Erkiş, G. (2008). First report of Tomato chlorosis virus in Turkey. *Plant Pathology*, 57(4).
- De Ronde, D., Butterbach, P. ve Kormelink, R. (2014). Bitki virüslerine karşı baskın direnç. *Bitki biliminde sınırlar*, 5, 307.
- Dellaporta, Stephen L., Jonathan Wood ve James B. Hicks. "Bir bitki DNA minipreparasyonu: versiyon II." *Bitki moleküler biyoloji muhabiri* 1.4 (1983): 19-21.
- Dombrovsky, A., & Smith, E. (2017). Seed transmission of Tobamoviruses: Aspects of global disease distribution. *Adv. Seed Biol*, 233-260.
- Dünya Sağlık Örgütü (WHO). COVID-19 ve gıda güvenliği: gıda işletmeleri için rehber Erişim adresi https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331705/WHO-2019-nCoV-Food_Safety-2020.1_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- FAO Food and Agricultural organization if the United Nations at <http://www.fao.org/static/en/> [Son erişim tarihi 07.01.2018].
- Fidan, H. (2020). Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV): Güncel durumu ve geleceği. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(1), 43-49.
- Fidan, H. Sarikaya, P.& Calis, O. (2019). First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Turkey. *New Disease Reports*, 39(18), 2044-0588
- Frazier, W. A., Kikuta, K., McFarlane, J. S., & Hendrix, J. W. (1946). Tomato improvement in Hawaii. *Proc. Am. Hort. Sci*, 42, 277-284.
- Hall, T. J. (1980). Resistance at the Tm-2 locus in the tomato to tomato mosaic virus. *Euphytica*, 29(1), 189-197.
- Hanssen, IM, Gutiérrez-Aguirre, I., Paeleman, A., Goen, K., Wittemans, L., Lievens, B., ... & Thomma, BPHJ (2010). Farklı Pepino mozaik virüsü izolatları ile birlikte enfekte olmuş sera domatesinde çapraz koruma veya gelişmiş semptom gösterimi. *Bitki Patolojisi* , 59 (1), 13-21.
- Ignatov, A.N., Gritsenko, V.V. ve Jalilov, F.S.W. (2020). Rusya Domatesin Yeni Viral Hastalıkları Federasyonu. Adilov MM—Tarım Bilimleri Doktoru. Sci., Tarımda Yenilikçi Gelişmeler ve Danışma Merkezi Direktörü, Taşkent Devlet Tarım Üniversitesi (Özbekistan) Sebze Yetiştiriciliği, Kavun Yetiştiriciliği ve Bağcılık

- Bölümü Profesörü Anisimov BV—Biyolojik Bilimler Adayı, Standartlar Departmanı Başkanı, 37.
- Jeger, M. J., Holt, J., Van Den Bosch, F., & Madden, L. V. (2004). Epidemiology of insect-transmitted plant viruses: modelling disease dynamics and control interventions. *Physiological Entomology*, 29(3), 291-304.
- Johansen, E., Edwards, MC ve Hampton, RO (1994). Virüslerin tohum aktarımı: güncel bakış açıları. *Fitopatolojinin yıllık incelemesi* , 32 , 363-386.
- Jones, R. A. (2021). Global plant virus disease pandemics and epidemics. *Plants*, 10(2), 233.
- Kabaş, A., Fidan, H., Küçükaydın, H., & Atan, HN (2022). Yabani domates türlerinin ve türler arası melezlerin Tomato brown rugose meyve virüsüne (ToBRFV) direnç/tolerans açısından taranması. *Şili tarımsal araştırma dergisi* , 82 (1), 189-196.
- Khush, G. S., Rick, C. M., & Robinson, R. W. (1964). Genetic activity in a heterochromatic chromosome segment of the tomato. *Science*, 145(3639), 1432-1434.
- Lanfermeijer, F. C., Warmink, J., & Hille, J. (2005). The products of the broken Tm-2 and the durable Tm-2 2 resistance genes from tomato differ in four amino acids. *Journal of experimental botany*, 56(421), 2925-2933.
- Lartey, RT, Voss, TC ve Melcher, U. (1996). Tobamovirüs evrimi: gen örtüşmeleri, rekombinasyon ve taksonomik çıkarımlar. *Moleküler biyoloji ve evrim* , 13 (10), 1327-1338.
- Levitzky, N., Smith, E., Lachman, O., Luria, N., Mizrahi, Y., Bakelman, H., ... & Dombrovsky, A. (2019). The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes. *PloS one*, 14(1), e0210871.
- Lewandowski, D. J., & Dawson, W. O. (2000). Functions of the 126-and 183-kDa proteins of tobacco mosaic virus. *Virology*, 271(1), 90-98.
- Lewandowski, D. J., Hayes, A., & Adkins, S. 2009 Greenhouse disinfectants—ensuring clean tools for propagation.
- Li, J. X., Liu, S. S., & Gu, Q. S. (2016). Transmission efficiency of Cucumber green mottle mosaic virus via seeds, soil, pruning and irrigation water. *Journal of Phytopathology*, 164(5), 300-309.
- Li, R., Baysal-Gurel, F., Abdo, Z., Miller, S. A., & Ling, K. S. (2015). Evaluation of disinfectants to prevent mechanical transmission of viruses and a viroid in greenhouse tomato production. *Virology journal*, 12(1), 1-11.
- Ling, KS, Tian, T., Gurung, S., Salati, R., & Gilliard, A. (2019). Amerika Birleşik Devletleri'nde sera domatesini enfekte eden domates kahverengi rugose meyve virüsünün ilk raporu. *Bitki Hastalığı* , 103 (6), 1439.
- Lovelock, D., Mintoff, S., Kurz, N., Neilsen, M., Patel, S., Constable, F., & Tran-Nguyen, L. (2022). Investigating the Longevity and Infectivity of Cucumber green mottle mosaic virus in Soils of the Northern Territory, Australia. *Plants*, 11(7), 883.

- Luria, N., Smith, E., Reingold, V., Bekelman, I., Lapidot, M., Levin, I., ... & Dombrovsky, A. (2017). Yeni bir İsrail Tobamovirüs izolatu, Tm-22 direnç genlerini barındıran domates bitkilerini enfekte ediyor. *PloS bir*, 12 (1), e0170429.
- Marcussen, K., & Meyer-Kahnsnitz, S. (1991). Effectiveness of disinfectants against plant viruses. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 43(8), 165-169.
- Maule, A. J., & Wang, D. (1996). Seed transmission of plant viruses: a lesson in biological complexity. *Trends in Microbiology*, 4(4), 153-158.
- Maule, A. J., & Wang, D. (1996). Seed transmission of plant viruses: a lesson in biological complexity. *Trends in Microbiology*, 4(4), 153-1
- Menzel, W., Knierim, D., Winter, S., Hamacher, J., & Heupel, M. (2019). First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Germany. *New Dis. Rep*, 39(1), 2044-0588.
- Meshi, T., Motoyoshi, F., Adachi, A., Watanabe, Y., Takamatsu, N., & Okada, Y. (1988). Tütün mozaik virüsünün varsayılan replikaz genlerindeki iki eş zamanlı baz ikamesi, bir domates direnç geni olan Tm-1'in etkilerinin üstesinden gelme yeteneği kazandırır. *EMBO Dergisi*, 7 (6), 1575-1581.
- Nolasco-García, L. I., Marín-León, J. L., Ruiz-Nieto, J. E., & Hernández-Ruiz, J. (2020). Métodos de identificación del virus de la fruta rugosa marrón del tomate (ToBRFV) en México. *Agronomía Mesoamericana*, 31(3), 820-829.
- Oğuz, A., Ellialtıoğlu, Ş., Çelik, N., Kabaş, A., & Zengin, S. (2009). Bazı domates hatlarının domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV= Tomato spotted wilt virus)'ne karşı reaksiyonlarının mekanik inokulasyon yöntemi ile belirlenmesi. *Derim*, 26(1), 40-50.
- Oladokun, JO, Halabi, MH, Barua, P., & Nath, PD (2019). Domates kahverengi buruşuk meyve hastalığı: Mevcut dağıtım, bilgi ve gelecekteki beklentiler. *Bitki Patolojisi*, 68 (9), 1579-1586.
- Ong SW, Tan YK, Chia PY, Lee TH, Ng OT, Wong MS, et al. (2020). Semptomatik bir hastadan şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2(SARS-CoV-2) ile hava, yüzey ortamı ve kişisel koruyucu ekipman kontaminasyonu. *JAMA*. 2020;323(16):1610-1612
- Pan, Y., Seymour, GB, Lu, C., Hu, Z., Chen, X., & Chen, G. (2012). Domateste kuraklığa ve tuz toleransına adaptasyonu destekleyen bir etilen tepki faktörü (ERF5). *Bitki hücreleri raporları*, 31 (2), 349-360.
- Panno, S., Caruso, A. G., Blanco, G., & Davino, S. (2020). First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting sweet pepper in Italy. *New Dis. Rep*, 41(20), 2044-0588.
- Pelham, J. (1966). Domateste tütün mozaik virüsüne karşı direnç. *Euphytica*, 15 (2), 258-267.
- Picó, B., Díez, MJ ve Nuez, F. (1996). Domates mahsulünde en büyük ekonomik kayıplara neden olan viral hastalıklar. II. Domates sarı yaprak kıvrılma virüsü— Bir inceleme. *Scientia Horticulturae*, 67 (3-4), 151-196.

- Porte, W. S., Doolittle, S. P., & Wellman, F. L. (1939). Hybridization of a mosaic-tolerant, wilt-resistant *Lycopersicon hirsutum* with *Lycopersicon esculentum*. *Phytopathology*, 29, 757-759.
- Reingold, V., Lachman, O., Belausov, E., Koren, A., Mor, N., & Dombrovsky, A. (2016). Epidemiological study of Cucumber green mottle mosaic virus in greenhouses enables reduction of disease damage in cucurbit production. *Annals of Applied Biology*, 168(1), 29-40.
- Reingold, V., Lachman, O., Koren, A., & Dombrovsky, A. (2013). First report of Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) symptoms in watermelon used for the discrimination of non-marketable fruits in Israeli commercial fields. *New Disease Reports*, 28, 11-11.
- Roberts, A. G. (2014). Plant Viruses: Soil-borne. *eLS*.
- Roselló, S., Díez, M. J., & Nuez, F. (1996). Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. I. The Tomato spotted wilt virus—a review. *Scientia Horticulturae*, 67(3-4), 117-150.
- Runia, W. T. (1993, September). A review of possibilities for disinfection of recirculation water from soilless cultures. In IV International Symposium on Soil and Substrate Infestation and Disinfestation 382 (pp. 221-229).
- Salem, N., Mansour, A., Ciuffo, M., Falk, B. W., & Turina, M. (2016). A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Archives of Virology*, 161(2), 503-506.
- Salem, NM, Cao, MJ, Odeh, S., Turina, M., & Tahzima, R. (2020). Ürdün'de *Capsicum annum*'u enfekte eden tütün hafif yeşil mozaik virüsü ve domates kahverengi rugose meyve virüsünün ilk raporu. *Bitki Hastalığı*, 104 (2), 601.
- Sastry, KS ve Zitter, TA (2014). *Tropiklerde bitki virüsü ve viroid hastalıkları: cilt 2: epidemiyoloji ve yönetim*. Springer Bilim ve İş Medyası.
- Schroeder, W. T., Provvidenti, R., & Robinson, R. W. (1967). Incubation temperature and virus strains important in evaluating tomato genotypes for tobacco mosaic virus reactions. *Tomato Genet Coop Rep*, 17, 47-48.
- Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., & Koriki, S. (2020). Suitability of pepper mild mottle virus as a human enteric virus surrogate for assessing the efficacy of thermal or free-chlorine disinfection processes by using infectivity assays and enhanced viability PCR. *Water Research*, 186, 116409.
- Siviero, P. (1991). Tomato seed disinfection from bacteria and TomMV. *Informatore Agrario*, 47(5), 61-74.
- Skelton, A., Buxton-Kirk, A., Ward, R., Harju, V., Frew, L., Fowkes, A., & Fox, A. (2019). First report of Tomato brown rugose fruit virus in tomato in the United Kingdom. *New Dis. Rep*, 40(12), 2044-0588.
- Şevik, M. A., & Deligöz, İ. (2016). Ülkemizde Domateslerde Görülen Yeni Bir Viral Etmen: Pepino mosaic virus (PepMV). *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(2), 300-307.

- Tanksley, SD, Ganal, MW, Prince, JP, De Vicente, MC, Bonierbale, MW, Broun, P., & Martin, G. (1992). Domates ve patates genomlarının yüksek yoğunluklu moleküler bağlantı haritaları. *Genetik*, 132 (4), 1141-1160.
- Weber, H., & Pfitzner, A. J. (1998). Tm-2² resistance in tomato requires recognition of the carboxy terminus of the movement protein of tomato mosaic virus. *Molecular plant-microbe interactions*, 11(6), 498-503.
- Weber, HANS, Schultze, SABINE ve Pfitzner, AJ (1993). Domates mozaik virüsü 30 kilodalton hareket proteinindeki iki amino asit ikamesi, domatesteki Tm-2 (2) direnç geninin üstesinden gelme yeteneği kazandırır. *Viroloji Dergisi*, 67 (11), 6432-6438.
- Wilson, C. R. (2014). Management of virus disease: host resistance. *Applied plant virology*, 151-170.
- Yan, Z. Y., Ma, H. Y., Han, S. L., Geng, C., Tian, Y. P., & Li, X. D. (2019). First report of tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in China. *Plant Disease*, 103(11), 2973-2973.
- Zinger, A., Lapidot, M., Harel, A., Doron-Faigenboim, A., Gelbart, D. ve Levin, I. (2021). Domates Kahverengi Rugose Meyve Virüsüne Karşı Tolerans ve Direnci Kontrol Eden Domates Genom Yerlerinin Tanımlanması ve Haritalanması. *Bitkiler*, 10 (1), 179.

ÖZGEÇMİŞ

HANDE NUR VURGUN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2019-2022	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı Antalya
Lisans 2015-2019	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ankara

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Proje Mühendisi 2021-Devam Ediyor	AG Tohum Antalya
--------------------------------------	---------------------