

T.C
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE YÖRESİNDE YETİŞTİRİLEN DOMATESLERDE
DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE
BİYOLOJİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar TURHAN

ÇANAKKALE - 2005

T.C
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE YÖRESİNDE YETİŞTİRİLEN DOMATESLERDE
DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE
BİYOLOJİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan : Pınar TURHAN
Danışman : Doç. Dr. Savaş KORKMAZ

ÇANAKKALE – 2005

**Bu Çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığı
Tarafından Desteklenmiştir.**

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü' ne,

Bu araştırma, jürimiz tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi
olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

Kod No:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Mehmet Emin Özel

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa No |
|-----------------------------------------------------------------|----------|
| ÖZ..... | I |
| ABSTRACT..... | II |
| ÇİZELGELER..... | III |
| ŞEKİLLER..... | IV |
| | |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... | 4 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 15 |
| 3.1. Materyal..... | 15 |
| 3.1.1. Mekanik İnokulasyonda Kullanılan İndikatör Bitkiler..... | 15 |
| 3.1.2. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyal..... | 15 |
| 3.2. Yöntem..... | 15 |
| 3.2.1. Sörvey Çalışması..... | 15 |
| 3.2.2. Serolojik Yöntemler..... | 16 |
| 3.2.2.1. Direkt Doku Boyama Yöntemi..... | 16 |
| 3.2.2.1.1. ELISA Yöntemi..... | 18 |
| 3.2.2.1.1.1. Tampon Çözeltiler..... | 19 |
| 3.2.3. Mekanik İnokulasyon Çalışması..... | 20 |
| 3.2.4. Tohumla Taşıma Denemeleri..... | 21 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 22 |
| 4.1. Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular..... | 22 |
| 4.2. Serolojik Yöntemlere Ait Bulgular..... | 29 |
| 4.3. Mekanik İnokulasyon Çalışmasına Ait Bulgular..... | 33 |
| 4.4. Tohum İle Taşıma Denemelerine Ait Bulgular..... | 34 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR..... | 36 |
| ÖZET..... | 43 |
| SUMMARY..... | 45 |
| KAYNAKLAR..... | 46 |
| TEŞEKKÜR..... | 51 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 52 |
| İNDEKS..... | 53 |

ÖZ

Bu çalışma, Çanakkale yöresinde 2003 ve 2004 üretim sezonu içinde, domates tarlalarında TSWV'nin varlığının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Bu amaçla 2003 ve 2004 yıllarında Çanakkale yöresinde domates ekili alanlarda bir sörvey çalışması yapılarak TSWV'ye benzer simptom gösteren bitkilerden örnekler alınmış ve ELISA ve/veya DTBIA yöntemleriyle test edilmiştir. Yapılan testlerin sonucunda TSWV ile infekteli olan veya olduğu düşünülen örnekler mekanik inokulasyon yöntemiyle indikatör bitkilere taşınmıştır.

2003 yılında toplam 61 tarlada gözlem yapılmış, 24 tarlada TSWV tarafından oluşturulan simptomlara benzer simptom oluşturan bitkilerden toplam 127 örnek alınmıştır. Serolojik testler sonucunda TSWV ile infekteli bitki örneğine rastlanmamıştır. 2004 yılında ise toplam 29 tarlada örnekleme yapılmış, 9 tarlada TSWV simptomlarına benzer simptom gösteren bitkilerden 73 örnek alınmıştır. Serolojik testler sonucunda 9 örnek TSWV ile infekteli olarak bulunmuştur. TSWV ile infekteli olarak bulunan örnekler aynı zamanda mekanik inokulasyonla indikatör bitkilere taşınmış ve bu bitkilerde sistemik simptomlar oluşturmuştur.

Anahtar Kelimeler: Domates, sörvey, seroloji, mekanik inokulasyon, TSWV.

ABSTRACT

This study was carried out to determine presence of TSWV in tomatoes grown in open fields during growing seasons of 2003 and 2004 in Çanakkale Province. Therefore, a survey study was conducted in tomato fields of Çanakkale Province in 2003 and 2004, and samples taken from the plants showing TSWV-like symptoms were tested using ELISA and/or DTBIA methods. According to the results of tests, TSWV infected or thought to be infected samples were used for mechanical inoculation to transmit the virus into indicator plants.

In 2003, total 61 different fields were examined and 127 samples were taken from 24 fields in where the plants showed the similar symptoms with TSWV. According to the results of serological tests, there was not any infected plant sample. In 2004, sampling was carried out in 29 fields; the 73 samples were taken from 9 fields in where TSWV-like symptoms were observed. Serological tests showed that 9 of 73 samples were found to be TSWV-infected. In addition, these TSWV-infected samples were also used for transmission of the virus into the indicator plants and it caused systemic symptoms on these plants

Keywords: Tomatoes, survey, serology, mechanical inoculation, TSWV.

ÇİZELGELER

| Çizelge No | Şekil Adı | Sayfa No |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Çizelge 1. | 2003 yılı Çanakkale yöresinde örnekleme yapılan yerler ve alınan örnek sayıları..... | 26 |
| Çizelge 2. | 2004 yılı Çanakkale yöresinde örnekleme yapılan yerler ve alınan örnek sayıları..... | 27 |
| Çizelge 3. | Çanakkale yöresinde domates üretiminin fide dikim tarihlerine göre sınıflandırılması..... | 27 |
| Çizelge 4. | 2003 yılında ürün sınıflandırmasına göre örnek alınan tarla sayıları ve alınan örnek sayıları..... | 28 |
| Çizelge 5. | 2004 yılında ürün sınıflandırmasına göre örnek alınan tarla sayıları ve alınan örnek sayıları..... | 29 |
| Çizelge 6. | 2003 yılında serolojik yöntemlerle test edilen örnekler..... | 30 |
| Çizelge 7. | 2004 yılında serolojik yöntemlerle test edilen örnekler..... | 30 |
| Çizelge 8. | 2004 yılında serolojik testler sonucunda TSWV ile infekteli olarak belirlenen örneklerin fide dikim zamanına göre değerlendirilmesi..... | 32 |
| Çizelge 9. | Serolojik ve biyolojik testlerde infekteli bulunan örneklerin çeşit bazında dağılımı ve elde edildiği mevki..... | 33 |

ŞEKİLLER

| Şekil No | Şekil Adı | Sayfa No |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Şekil 1. | Çanakkale ilinde sörvey yapılan alanlar..... | 17 |
| Şekil 2. | Domates bitkisinde, genç yaprakların bronz renge dönüşmesi..... | 23 |
| Şekil 3. | Sürgün uçlarında kurumalar..... | 23 |
| Şekil 4. | Sürgün uçlarından itibaren geriye doğru ölümler..... | 24 |
| Şekil 5. | Solda sağlıklı bir bitki ve sağda TSWV ile infekteli bir bitki (hastalıklı bitkide cüceleşme ve geriye doğru ölümler)..... | 24 |
| Şekil 6. | Meyvede deformasyonlar (a, b)..... | 25 |
| Şekil 7. | Meyvelerde halkalı lekeler (ring spot) oluşumu..... | 25 |
| Şekil 8. | ELISA yönteminde, TSWV ile infekteli örneklerin bulunduğu plate çukurlarında oluşan sarı renk oluşumu..... | 31 |
| Şekil 9. | DTBIA yönteminde TSWV ile infekteli örneklerin iletim demetlerinde koyu renk oluşumu (1, 2, 3, 5, 6, 7) ve infekteli olmayan örnekler (4, 8)..... | 31 |
| Şekil 10. | Mekanik inokulasyon yapılan indikator bitkinin yaprak damarlarında sararmalar..... | 35 |
| Şekil 11. | Mekanik inokulasyon yapılan indikator bitkide solgunluk, kuruma ve daha sonra bitkinin ölümü..... | 35 |
| Şekil 12. | Sağlıklı bir bitki (solda) ve mekanik inokulasyon yapılan bir bitki.... | 35 |

GİRİŞ

Sebzeler, insanların dengeli beslenmesinde vitamin ve mineral kaynağı olarak önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye, birçok önemli sebze türünün gen merkezi olması nedeniyle, ülkemizde sebzeçilik sektörü tarımın önemli bir alt koludur. Ülkemizde sebze yetiştiriciliği açısından en önemli bitkilerden birisi de domatestir. Domates yetiştiriciliği, Türkiye'nin farklı iklim ve toprak yapısına sahip bütün tarımsal bölgelerine yayılmış durumdadır. Ülkemizde ekiliş, üretim ve ekonomik yönden domates, sebze yetiştiriciliği açısından ilk sıralarda yer almaktadır. 1996 yılında 7 800 000 ton olan Türkiye'deki domates üretimi 2004 yılında 8 000 000 tona ulaşmıştır (FAO, 2004).

Dünya domates üretiminde (116 milyon ton); Çin (30 milyon ton) birinci, ABD (12 milyon) ikinci, Türkiye (8 milyon ton) üçüncü, Endonezya (7.6 milyon ton) dördüncü, Mısır (6.780 milyon ton) beşinci sırada yer almaktadır. Bu durum domates üretiminde dünya çapında Türkiye'nin önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir (FAO, 2004).

2004 yılı verilerine göre; Çanakkale'de, Çanakkale Merkez 3200 ha, Ayvacık 300 ha, Bayramiç 1000 ha, Biga 2200 ha, Bozcada 0.8 ha, Çan 250 ha, Eceabat 400 ha, Ezine 580 ha, Gelibolu 700 ha, Gökçeada 30 ha, Lapseki 1 350 ha ve Yenice'de 750 ha olmak üzere toplam 10 761 ha domates üretim alanında domates yetiştiriciliği yapılmaktadır. Çanakkale'de toplam domates üretimi ise 492 970 bin ton'dur. Domates üretiminde Çanakkale merkez 131 000 ton ile birinci, Biga 121 000 ton ile ikinci ve Lapseki 54 000 ton domates üretimi ile üçüncü sırada yer almaktadır (Anonymus, 2004).

Türkiye'de 220 000 ha domates üretim alanı mevcuttur (FAO, 2004). 2004 yılı verilerine göre; Çanakkale Türkiye'deki toplam domates üretim alanı içerisinde %4.9'luk bir paya sahiptir. Türkiye'deki toplam domates üretiminin de %6.2'si Çanakkale'den karşılanmaktadır. Bu da domates yetiştiriciliğinde Çanakkale'nin önemli bir paya sahip olduğunu göstermektedir.

Çanakkale'de domates üretimi tarlada, sofralık ve sanayilik olarak yapılmaktadır. Diğer tarım ürünlerinde olduğu gibi açık alanlarda yetiştirilen domates bitkisi birçok hastalığın etkisi altındadır. Bölgemizde aynı alanda sürekli olarak domates bitkisinin yetiştirilmesi ve bilinçsiz ilaçlama programları hastalıkların artmasına neden

olmaktadır. Bu nedenle üründeki verim ve kaliteyi arttırmak amacıyla hastalıklarla mücadele etmek zorunlu hale gelmiştir. Açık alanlarda yetiştiriciliği yapılan domateslerde fungal hastalıklar ve virüs hastalıklarının önemi büyüktür. Fungal hastalıkların kimyasal mücadelesi mümkün olabilirken virüs hastalıklarının henüz kimyasal mücadelesi bulunmamaktadır. Bu nedenle virüs hastalıklarının belirlenmesi ve virüs hastalıkları ile mücadele yöntemlerinin araştırılması büyük önem kazanmaktadır.

Domates bitkisi de diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi birçok virüs hastalığının etkisi altındadır. Bugün domates tarımında 30'dan fazla virüs ve virüs benzeri hastalığın olduğu bilinmektedir. Bu virüs hastalıklarının en önemlilerinden birisi de domates lekeli solgunluk virüsü (Tomato spotted wilt virus=TSWV)'dür. TSWV, subtropik bölgelerde ve belirli sıcaklıklarda dünya çapında yayılmış bir hastalıktır (Mickowski, 1981). TSWV, arthropodların neden olduğu ve Bunyaviridae içindeki Tospovirus cinsine dahildir (Francki ve ark. 1991). Tospovirüsler, bitkileri en fazla hastalandıran 10 bitki virüsü arasındadır (Peters ve ark. 1991; German ve ark. 1992; Antignus ve ark. 1997). Geniş bir konukçu aralığına sahip olup 69 dikotiledon bitki familyası, 15 monokotiledon bitki familyası ve pteridophyte'lerin 1 familyasına ait toplam 1090 bitki türü TSWV'ye konukçuluk etmektedir (Parrella ve ark. 2003).

TSWV, thripslerle persistent olarak taşınmaktadır (German ve ark., 1992; Wijkamp ve ark., 1993; Antignus ve ark., 1997). En önemli TSWV vektörlerinden biri olan soğan thrips, *Thrips tabaci* olup Türkiye'de yaygındır ve tarla ve sera ürünlerinde hastalığın yayılmasına neden olmaktadır (Lodos, 1981; Azeri, 1994). Ayrıca TSWV'nin, domatesin tohum kabuğunda taşındığı da rapor edilmiştir (Anonim, 1970).

TSWV, domates bitkisinde; genç yaprakların bronz renge dönüşmesine, yapraklarda çok küçük ve bol miktarda siyah lekeler oluşmasına, bitkide solgunluk ve cüceliğe, bitki gövdesinde siyah çizgi şeklinde lekeler, meyvelerin üzerinde yumru ve klorotik halkalı lekelerin oluşmasına, meyvelerde deformasyon ve sürgün uçlarından itibaren geriye doğru ölümlerin oluşumuna neden olarak domates meyvelerinin kalite ve veriminde azalmalara yol açmaktadır. Bu şekildeki meyve, insan beslenmesinde kullanılamaz hale gelmekte, ekonomik değerini kaybetmekte ve pazarlanması imkansızlaşmaktadır. Bu nedenle ülkemiz ve Çanakkale yöresinin önemli bir bitkisi olan domates ve bu bitkide önemli bir virüs hastalığı olan TSWV hastalığının belirlenmesi, şu an ve ileride karşılaşılabilecek sorunların da önlenmesi açısından büyük bir önem arz etmektedir.

Hastalığa neden olan etmenlerin hızlı ve doğru bir şekilde teşhisi sağlıklı bitki sertifikasyonu için esastır (Lin ve ark., 1990). TSWV'nin saptanmasında genellikle serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Serolojik çalışmalarda enzimle işaretlenmiş antivadilerin kullanımı düşük maliyet, güvenilirlik, yüksek oranda duyarlılık gibi bir çok avantajlar sağlamaktadır (Clark ve Bar-Joseph, 1984). En çok kullanılan serolojik yöntemlerden birisi ELISA yöntemidir. ELISA dışında kullanılan bir diğer serolojik yöntem ise immunoblot yöntemidir. Bu yöntemde antijen, protein bağlanma özelliğine sahip olan nitroselüloz gibi bir membrana bağlanır ve işaretlenmiş bir örnek (probe) ile doğrudan veya dolaylı olarak muamele edilir (Lin ve ark., 1990). Son yıllarda immunoblot tekniğinin değişik bir varyasyonu olan direkt doku boyama yöntemi (Direct Tissue Blot Immunoassay=DTBIA) olarak adlandırılan bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntem, bir çok virüs hastalığı ve mikoplazma benzeri hastalıklara karşı başarı ile uygulanmıştır (Hsu ve Lawson, 1991).

Bitki virüslerinin serolojik olarak teşhis edilmesi için örnek olarak seçilen dokunun hazırlanması yada infekteli dokulardan elde edilen virüs antijenlerinin ekstraksiyonu gerekir. Bu örnek hazırlanmasının kısa zamanda yapılması, bitki-virüs epidemiyolojisi çalışmalarında ve çok sayıdaki örneğin rutin indekslenmesinde istenen bir olaydır. DTBIA yönteminde herhangi bir ekstraksiyon hazırlığına gerek duyulmaz ve aynı zamanda bu yöntem, patojenin bitki içinde dağılımı ve lokalize olduğu yer hakkında bilgi verir (Garnsey ve ark., 1980; Bransky ve ark., 1988). Bu nedenle hastalığa neden olan virüsün hızlı ve doğru bir şekilde bulunması için DTBIA yöntemi yada virüs hastalıklarının teşhisinde güvenilirliği yüksek ve en çok kullanılan serolojik yöntem olan ELISA yöntemi, TSWV hastalığının teşhisinde de başarıyla kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; Çanakkale yöresinde yetiştirilen domates tarlalarında bir sörvey çalışması yürütülerek TSWV benzeri semptom gösteren bitkilerden örnekler alınmış, bu örnekler serolojik yöntemlerden ELISA yada DTBIA yöntemleri ile test edilerek TSWV'nin varlığı belirlenmiştir. Ayrıca mekanik inokulasyon yöntemiyle de hastalık etmeni indikatör bitkilere taşınmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Brittlebank (1919), yaptığı çalışmada 1915 yılında Güney Avustralya'da yetiştirilen domateslerde TSWV hastalığının varlığını belirlemiştir. Bu çalışma, hastalığın varlığıyla ilgili olarak yapılan ilk çalışmadır.

Best ve Palk, (1964), TSWV ile infekteli tütün yapraklarında (*Nicotiana glutinosa*) differansiyel yönteme ilave olarak sukrose density gradient santrifuj yöntemini kullanarak TSWV'nin incelenmesi sonucu etkili partikül çapının ortalama 50 nm olduğunu bulmuşlardır.

Robert ve Gustaaf, (1966), yaptıkları araştırmada TSWV yada TMV infekteli yaprakları, elektron mikroskobunda ve ince kesit alma yöntemi ile incelemiştir. Katı ortamda fiksasyon ve sıvı içinde bekletme olarak iki farklı yöntem deneyen araştırmacılar, osmium tetroxide'i takiben glutaraldehide'in cromo osmium'dan daha iyi doku fikse edici olduğunu bulmuşlardır. Her iki yöntemde de kesitteki her bir TSWV ve TMV partiküllerinin görünümünde çok farklılık olmadığını saptayan araştırmacılar, Epon ve Araldite sıvı içerisinde bekletme ortamı olarak hemen hemen benzer sonuçlar verdiğini vurgulamışlardır.

Francki ve Grivell, (1970), TSWV ile infekteli *Datura stramonium*'un yaprak hücrelerinin stoplazmasında 85 nm çapında küresel partiküller belirlemiştir, fakat sağlıklı bitkilerde bu belirlenmemiştir. Bu nedenle bu partiküllerin virüs partikülleri olduğu sonucuna varılmıştır. İki ilave sitoplazmik inclusion, TSWV enfeksiyonu ile; boyanan granüler materyal ve uzun filament yığını ile ilişkilendirilmiştir. Araştırmacılar, inclusionların tamamının enfeksiyon ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. TSWV partiküllerini, yaprak epidermisi hücrelerinde, stomalarda ve mezofilllerde, iletim demetlerinde ve yaprak damarlarının floem parankimasında gözlemlemiştir. TSWV partiküllerini sık sık yaprak hücrelerinin kromozomları arasında dağınık halde bulmuşlar ve hücrenin nükleer membranı mitoz bölünme sırasında bozulduğunu belirtmişlerdir.

Mohamed ve ark., (1973), TSWV'nin protein sentezinin analizi, geliştirilmiş bir metot ile saflaştırılması ve polyakrilamid jel elektroforezinin, 3 büyük yapısal proteinin (moleküler ağırlığı; 84000, 50000 ve 29000 Da) olduğunu gösterdiğini, bu 3 büyük yapısal proteinin, toplam viral proteinin yaklaşık %98'ini oluşturduğunu ve 3'ünün de glikoprotein olduğunu bildirmişlerdir. Bu büyük proteinlerden birisi (moleküler ağırlığı; 29000 Da) ve küçük protein non-iyonik deterjan Nonidet P-40 ile virüsten izole edilen subviral partiküller ile ilişkili olduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir.

Diğer iki proteinin yalnızca küçük bir kısmını subviral partiküllerde belirlemişlerdir. TSWV ile infekteli tütün yapraklarında virüslerin oluşturduğu proteinlerin sentezi infekteli ve sağlıklı dokuların sırasıyla [³H] ve [¹⁴C] valine ile işaretlemişlerdir. İşaretlenmiş dokular, ham subselular fraksiyonlara ayrıldıktan sonra, sağlıklı ve infekteli dokuların protein desenleri polyakrilamid jellerde elektroforez yöntemiyle karşılaştırmışlardır. Yalnızca bir virüse spesifik protein (moleküler ağırlığı; 49000 Da) virüsle zenginleştirilmiş fraksiyonlarda belirlemişlerdir. Bunun moleküler ağırlığı 50000 Da olan viral yapısal proteini işaret ettiğini belirtmişlerdir.

Paliwal, (1978), küresel virüs benzeri partikülleri (VLP), sağlıklı tütün thrips dokularında bulmuştur. Bu partiküller, Ontrio'daki thripslerin yoğun olduğu yerlerde görülmüş fakat aynı koşullara sahip Oklahoma'da thripslerin az olduğu yerlerde görülmemiştir. VLP, *F. fusca*'nın 7 bitki konukçusunun hiç birisi için taşıyıcı olduğu bulunmamıştır. Araştırmacı bunun bir böcek virüsü olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı TSWV'nin *F. fusca* ile taşındığının daha önceden bilindiğini ancak bunun VLP'nin varlığı yada yokluğunu etkilemediğini belirtmiştir. Araştırmacı, TSWV partiküllerini *F. fusca*'nın dokularında belirlemiş ve test bitkilerine taşımıştır. VLP thripsin hemocoel ve birkaç iç organında meydana geldiğini ve bağırsak dokularını homojen olarak hazırlayarak in vitroda izole etmiştir. Araştırmacı, VLP'nin, hücre sitoplazmasında yoğun viroplasmalarda meydana geldiğini ve 62±4 nm çapında olduğunu bildirmiştir.

Fazio ve Kudamatsu, (1983), yaptıkları bir çalışmada, distamycin-A hydrochloride, a synthetic antibiotic ve 2,3-bromo dihydroxy-6-bromo-pyrazino (2,3,-β) pyrazine türevleri tütün bitkisinde TSWV'ye karşı kullanmışlardır. Bu ilaçları yapraklara 200 ve 400 mg/l konsantrasyonlarında uygulamışlardır. Sonuç olarak her iki ilacın da virüsün bitki içerisindeki yayılımını ve sistemik simptom oluşumunu geciktirdiğini göstermiştir. Araştırmacılar, Pyrazino pyrazine türevlerinin, 200 ve 400 mg/l konsantrasyonlarında ve daha düşük miktarlarda, Dystamycin-A 400 mg'da TSWV replikasyonunu önemli derecede azalttığını belirtmişlerdir.

Lin ve ark., (1990), tissue blot tekniğinin, virüs epidemiyolojisi çalışmalarında çok sayıda örneğin rutin olarak test edilmesi için uygun bir yöntem olduğunu bu nedenle passionfruit woodiness, papaya ring spot, tatlı patates yumuşak tüylülük ve beneklilik, fasulye sarı mozaik (BYMV), bambu mozaik (BoMV), cymbidium mozaik, hıyar mozaik (CMV) ve TSWV hastalıklarında virüslerin teşhisinde başarıyla kullanıldığını belirtmişlerdir.

Cordoba ve ark. (1991), domates bitkisinde TSWV enfeksiyonu ve hastalığın sistemik hareketi üzerine su stresinin etkilerini incelemişlerdir. Su stresi uygulanan ve uygulanmayan şekilde iki grup oluşturmuşlardır ve hastalığı yaprak uçlarından üç yerden inokule etmişlerdir. TSWV inokulasyonunun her iki grupta da etkili olduğunu görmüşlerdir. Grupların tamamında inokulasyon, ilk olarak köklerde, daha sonra sürgün uçlarında ve bunun ardından ise yaprak uçlarında saptanmıştır. Stres uygulamalarının, TSWV semptomların hafiflemesine yardımcı olduğunu ve enfeksiyonda önemli bir şekilde azalma sağladığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak domates bitkisinde sistemik enfeksiyon ve virüs konsantrasyonunun kontrolünde su stresinin etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Culbreath ve ark. (1991). Gürcistan'da TSWV'yi 1986'da flue cured tipi (fırında kurutulan) tütünlerinde ilk kez teşhis etmişlerdir. 1988 yılında, tütün üreten 48 adet tütün tarlasının 28'inin, TSWV ile enfekteli olduğunu ve bu tarlalarda hastalığın ortaya çıkma oranının %1'den az olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar, 1989 yılında Gürcistan'da tütün yetiştirilen yörelerin tamamında TSWV'yi gözlemlemişlerdir. Hastalığın ortalama ortaya çıkma oranının %5-7 gibi düşük bir oranda olduğunu ancak bazı tarlalarda bu oranın %20'den fazla olduğunu belirtmişlerdir. İlk semptomların fideler tarlaya şaşırtıldıktan kısa bir süre sonra görüldüğünü ve semptom gösteren bitki sayısının hasat başlangıcına kadar olan dönemde arttığını belirtmişlerdir.

Hsu ve Lawson (1991), yaptıkları bir çalışmada, TSWV'nin teşhisi için DTBIA yöntemi ile ELISA yöntemini karşılaştırmışlardır. TSWV'yi, enfekteli *Nicotiana benthamiana* yapraklarından doku blotlaması ile kolaylıkla belirlemişlerdir. Yöntemde monoklonal antiserumları kullanmışlardır. DTBIA yöntemini, *Nicotiana benthamiana* yapraklarının ekstraktlarında TSWV'nin belirlenmesinde ELISA'dan sekiz kat daha duyarlı olarak bulmuşlardır. Virüs benzeri semptom gösteren lisianthus ve birkaç kına çiçeği bitkilerinden yaprak ve doku örnekleri alınarak ELISA ve DTBIA ile test etmişlerdir. Semptom göstermeyen bazı bitkilerden yaprak ve dokular, ELISA ile test ettiklerinde negatif olarak bulmuşlardır ve direkt doku boyama yönteminde ise blotlanan dokularda çıplak gözle negatif sonuçlar bulunurken 10X20 büyütme mikroskopta incelendiklerinde pozitif olarak bulmuşlardır.

Yeh ve ark. (1992), Tayvan'da karpuzlarda yaptıkları bir çalışmada, tospovirüslerde TSWV benzeri virüsleri; morfolojik olarak, konukçu reaksiyonlarıyla, serolojik olarak ve thrips ile taşıma deneyleriyle tanımlamışlardır. Konukçu

simptomlarında, yapraklarda buruşma, beneklilik, sarı lekeler, boğum aralarında kılma, genç dalların dik olarak gelişme göstermesi ve uç kısımlarda nekrozlar gözlemlenmiştir. Sistemik infeksiyonu belirlemek için kabakgillerden yararlanılmışlardır. Virüsün thripslerle taşınmasında *Thrips palmi* türü thripslerden yararlanılmışlardır ve hastalığın teşhis edilmesinde serolojik yöntemlerden ELISA ve western blot yöntemini kullanmışlardır. Serolojik yöntemler için monoklonal ve poliklonal antiserumları kullanmışlardır.

Garnsey ve ark. (1993), DTBIA yöntemini turunçgil trizteza virüsünün teşhisi için kullanmışlardır. Bu yöntemin kolay ve hızlı bir şekilde yapılabildiğini ve az miktarda örnek gerektirdiğini, oda sıcaklığında blotlanan örneklerin 30 gün sonra dahi test edilebildiğini, blotlanmış membranların başka bir yere kolaylıkla gönderilebildiğini ve bu testlerin ticari teşhis için de uygun olduğunu vurgulamışlardır.

Azeri (1994), yaptığı bir çalışmada TSWV'nin son yıllardaki epidemik durumunu, ELISA testleri ve indeksleme yolu ile tütün ve domates bitkilerinde tespit etmiştir. Çalışma sonucunda İzmir ve Manisa yöresinde etmenin tohumla taşındığını saptamış ve hastalıkla mücadelede virüsten arı tohum kullanılmasını, tohum yatağında ve tarlada erken thrips teşhisi ile popülasyonun belirli bir düzeyde tutulması gerektiğini belirtmiştir.

Güldür ve ark. (1995), Adana-Mersin karayolu üzerinde açık alanda ekili 13 domates tarlasından TSWV simptom gösteren örnekler toplamışlardır. Bu örneklerin, mekanik olarak otsu bitkilere inokulasyonu ve serolojik testler sonucunda, Çeşmeli ve Kazanlı'dan alınan örneklerin tümünün TSWV ile bulaşık olduğunu saptamışlardır.

Hill ve Moran (1996), süs bitkisi fidanlıklarındaki bitkilerde TSWV'nin görülme sıklığını bir sorvey çalışması ile belirlemişlerdir. Avustralya'daki 6 ülkede, 69000 bitki üzerinde 62 tür süs bitkisinde inceleme yapmışlardır. Bunlardan 355'ini ELISA, elektron mikroskopu ve indikatör bitkiler ile test etmişlerdir. Avustralya fidanlıklarında bu virüsün ortaya çıkma oranının çok düşük (%1'den az) olduğunu saptamışlardır.

Lavina ve ark. (1996), İspanya'nın kuzeydoğusunda ana sebze üretimi yapılan bölgelerde TSWV ve CMV'nin görülme sıklığını, 1992-1993 yılları arasında üretim sezonu içerisinde Temmuz ve Eylül ayları boyunca çalışmışlardır. Her iki virüs de domates üretilen ve yabancı otların çevrelediği yerlerde dağılmış olduğunu gözlemlenmiştir. Kıyı bölgelerin her iki virüs için de etkili olduğunu oysa iç

bölgelerde TSWV'nin hemen hemen hiç görülmediğini bildirmişlerdir. Domates ve yabancı otlarda TSWV'nin ve domates bitkisinde ise CMV'nin sonbaharda infeksiyon oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yabancı otlarda 19 familyanın 51 türünü toplamışlar ve bunların 35 türü CMV ile 15 türü ise TSWV ile infekteli olarak bulmuşlardır. Bunların arasında *Convolvulus arvensis*, *Malva sylvestris* ve *Sonchus tenerrimus* bitkileri, lokal kaynak olması açısından özellikle önemli olduğunu ve domates bitkisi ile yaygın olarak ilişkili olduğunu ve bu yabancı otların oldukça sık olarak CMV ve/veya TSWV ile infekteli olduğunu bulmuşlardır.

Al-Shahwan ve ark. (1997), Suudi Arabistan'ın kuzey bölgelerinde ard arda 4 sezon (1989 yaz, 1990 ilkbahar ve yaz, 1991 yaz) Tabuk ve Hail'den 242 patates örneği almışlar ve virüs teşhisi için ELISA yöntemini kullanmışlardır. Tabuk'da 11 ve Hail'de 12 farklı bitki virüsü belirlemişlerdir. Tabuk'da yonca mozaik virüsü (AMV), hıyar mozaik virüsü (CMV), tütün mozaik virüsü (TMV), patates leaf roll virüsü (PLRV), domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV), tütün halkalı leke virüsü (TRSV) ve patates A, M, S, X ve Y virüsleri belirlemişlerdir. Hail'de bunlara ilaveten bir de patates sarı cücelik virüsü (PYDV) belirlemişlerdir. Tabukda en çok AMV, en az ise CMV belirlemişlerdir. Hail'de en çok PVA ve en az PLRV belirlemişlerdir.

Antignus ve ark. (1997), İsrail'de tarlada ve sera koşullarında yetiştirilen sebzelerde ve süs bitkilerinde TSWV simptomlarına benzer özellik gösteren bitkileri ELISA ile test etmişler ve 5 familyaya bağlı 19 türde hastalığın varlığını belirlemişlerdir. Ayrıca 6 yabancı ot türünde de doğal infeksiyonun olduğunu bulmuşlardır. ELISA'nın dışında virüsün varlığını konukçu denemesi, seroloji ve elektron mikroskobu yöntemleriyle de saptamışlardır

Gaborjanyi ve ark. (1998), Macaristan'da biberlerde gelişme geriliği (decline) simptomlarına neden olan faktörleri araştırmışlardır. Araştırmacılar bu tip simptomların genel olarak biberde bodurlaşma, genel bir sararma, yapraklarda küçülme şeklinde ortaya çıktığını, bunun nedenlerinin fungal, bakteriyel, viral ve fitoplazmalar yada uygun olmayan çevre koşullarının olduğunu belirtmişlerdir. En çok karşılaşılan viral hastalıkların ise farklı tobamovirüsler, CMV, patates Y virüsü ve TSWV olduğunu zaman zaman da stolbura rastlandığını belirtmişlerdir.

Mertelik ve Mokra, (1998), Çekoslovakya'da 1992-1997 yılları arasında kültür bitkileri ve yabancı otlarda TSWV'nin yaygınlık durumunu belirlemek amacıyla indikatör bitkiler, serolojik yöntemler ve elektron mikroskobu yöntemlerini kullanarak

bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda TSWV, 91 bitki türünde tespit edilmiş ve vektör böcek *F. occidentalis*'in bulunduğu bölgelerdeki seralarda doğal yayılmanın daha fazla olduğu saptanmıştır. Özellikle sebze tarımının yapıldığı alanlarda TSWV'ye en fazla domates ve biberde rastlanılmıştır.

Korkmaz ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada, turunçgil tristeza virüsünün 10 izolatını monoklonal ve poliklonal antibadiler kullanarak DTBIA yöntemiyle test etmişlerdir. Bu çalışmada, tristeza izolatlarının tamamı poliklonal antibadilere pozitif reaksiyon gösterirken, monoklonal antibadilerden MCA-13 yalnızca Iğdır ve Kıbrıs izolatlarına karşı pozitif reaksiyon göstermiştir. DTBIA testinde pozitif reaksiyon gösteren tüm izolatların ELISA testinde de pozitif reaksiyon gösterdiği bulunmuştur.

Chatzivassiliou ve ark. (2000), Yunanistan'da TSWV ve ISNV (Impatiens spot necrotic virus) konukçuları olan süs bitkilerinin rapor edilmesi için bir sörvey çalışması yapmışlardır. Yapraklar üzerinde klorotik, nekrotik halkalı lekeler ve kusurlu oluşumlar ve çiçeklerde nekrosis oluşumu gibi tospovirüs infeksiyonu benzeri tipik belirtiler gösteren bitkilerden yaprak örnekleri alınmıştır. Bu örnekler DAS-ELISA ile poliklonal antibadiler kullanılarak TSWV'nin N proteinler ve INSV (NL-07) kullanılarak test edilmiştir. ELISA'daki pozitif örnekler mekanik olarak, *Petunia hybrida*, *Nicotiana rustica* ve *N. benthamiana* bitkilerine de inokule edilerek kanıtlanmıştır. Hiçbir örnek INSV ile infekteli olarak bulunmazken TSWV bulunan 42 botanik tür, 27 familyaya bağlı 40 cinsten rapor edilmiştir. Bunların içinde *Beloperone gutata*, *Coleus barbatus*, *Impatiens petersiana* ve *Lilium auratum* türleri ilk kez TSWV konukçusu olarak rapor edilmiştir. *Begonia sp.*, *Catharanthus roseus*, *Celosia cristata*, *Dianthus chinensis*, *Fuchsia hybrida* ve *Stephanotis floribunda* gibi benzeri bitkiler Yunanistan'da virüsün yeni konukçuları olarak bulunmuştur.

Mijatovic ve ark. (2000), Sırbistan'da serada, örtü altında ve açıkta yetiştirilen domateslerde yaptıkları bir sörvey çalışmasında virüs hastalıkları ile ilgili infeksiyon oranını belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmada domates mozaik (ToMV), tütün mozaik (TMV), domates lekeli solgunluk (TSWV), alfalfa mozaik (AMV), patates X (PVX), patates Y (PVY), domates ringspot (ToRSV), domates aspermy (ToAV) ve hıyar mozaik virüslerini (CMV) tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar seralarda ve örtü altında yetiştirilen domateslerin %92.94'ünün, açıkta yetiştirilen domateslerin ise % 89.82'sinin yukarıda belirtilen virüslerden en az biri ile bulaşık olduğunu bulmuşlardır.

Horvath ve ark., (2001), Macaristan'da patates bitkisinde yapraklarda sararma, kıvrıkcıklaşma, bodurlaşma ve nekrotik belirtiler gösteren ve şiddetli ürün kayıplarına yol açan TSWV'yi DAS-ELISA ve mekanik inokulasyon yöntemleriyle tespit etmişler ve enfeksiyonun büyük olasılıkla civarda bulunan tütün bitkilerinden *Thrips tabaci* tarafından patates bitkilerine taşındığını vurgulamışlardır.

Hristova ve ark. (2001), Bulgaristan'da üç vejetasyon döneminde tospovirüsler ile ilgili olarak tütün, domates, yabancı otlar ve süs bitkilerinde yaptıkları bir çalışmada toplam 258 farklı virüs izolatu elde etmişlerdir. Virüs izolatlarından TSWV için ELISA, diğerleri için ise indikatör bitkileri kullanmışlardır. Ayrıca çalışma sonucunda Bulgaristan TSWV izolatının yüksek oranda *F. occidentalis* tarafından taşındığını tespit etmişlerdir.

Bostan ve ark. (2002), yaptıkları bir çalışmada 2000-2001 yılı süresince, Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Uzundere, İspir, Olur, Ilıca (Erzurum) ve Yusufeli'ndeki (Artvin) seralarda bir sörvey çalışması yürütmüşlerdir. Domates ve hıyar bitkilerinde virüs benzeri belirtiler gösteren (mozaik, bronzlaşma, sararma kusurlu oluşumlar, yaprakların yuvarlaklaşması, çalılışma) şüpheli yaprak örneklerini toplayarak DAS-ELISA ile test etmişlerdir. ELISA sonuçlarına göre; Uzundere, Tortum, İspir, Olur, Ilıca ve Yusufeli'ndeki seralardan alınan örneklerde sırasıyla %1.73, %1.76, %1.41, %1.62, %2.48 ve %1.02 oranında TMV saptanmıştır. ToMV, Yusufeli ve Ilıca'dan alınan domates örneklerinde sırasıyla %0.18 ve %1.45 olarak belirlenmiştir ve TSWV, Ilıca'daki domateslerde %0.22 oranında gözlenmiştir.

Golnaraghi ve ark. (2002), 1999 ve 2000 yıllarında, İran'da yaz boyunca soya yetiştiriciliği yapılan 5 ana bölgede virüs sörveyi yürütmüşleridir (Golestan, Azendaran, Ardebil, Lorestan ve Khuzestan). Araştırmacılar, 80 soya tarlasından toplam 3110 yaprak örneği (tarla başına 30-50 örnek olacak şekilde) rastgele toplamışlardır. Bu örnekler, ACMV, BYMV, CMV, SMV, TMV, TRSV, ToRSV, BCMV, TSV, TSWV, PEMV, BICMV ve PeMoV için, son iki virüs immunodot ve ELISA yöntemleriyle ve diğer virüsleri ise DAS-ELISA yöntemiyle test etmişlerdir. Laboratuvar testleri sonucunda en yaygın görülen virüsün %13.3 ile SMV olduğunu, bunu TSWV (%5.4), TRSV (%4.2), TSV (%4.1), PEMV (%2.9), BYMV (%2.2), ToRSV (%2.1), TMV (%1.5), ACMV (%1.3), BCMV (%0.8), ve CMV (0.6) ile izlediğini bulmuşlardır.

Stavisky ve ark. (2002), Florida'da tarlada yetiştirilen domateslerde TSWV oluşumu ve *Frankliniella* spp. popülasyonu üzerine ultraviyole (UV) yansıtıcı malçlama

ve 2 farklı oranda nitrojenli toprak gübresi uygulamasının etkilerini araştırmışlardır. 2 farklı nitrojenli gübreleme uygulaması ile *Frankliniella occidentalis* (Pergande)'nin popülasyonunun önemli derecede arttığını ve yansıtıcı malçlama uygulandığında ise önemli derecede azaldığını saptamışlardır. UV yansıtıcı malçlama ile azalan thrips popülasyonu ile konukçu-beslenme davranışlarının bozulmasına neden olduğunu, yüksek oranda nitrojenli gübreleme uygulaması ile çiçeklerden besin almanın kolaylaşabildiğini belirtmişlerdir. Bu araştırmada kültürel önlemler ile vektör ve vektör olmayan türlerin %45 ve TSWV'nin %50 oranında azaldığını gözlemlemişlerdir.

Chaisuekul ve ark. (2003), domates bitkisinde TSWV'nin thrips ve mekanik olarak taşınmasında, inokulasyon zamanındaki bitki yaşı ile ilişkisini araştırmışlardır. 1999 yılında bitkileri tarladan izole etmişler, kafesler altında çimlendirdikten 7, 14, ve 28 gün sonra karşılaştırmışlardır. 2000 yılında, thrips ile taşınma çimlenmeden 7, 14, 21, 28, 35 ve 42 gün sonra ve mekanik inokulasyon ise çimlenmeden 14, 21, 28, 35, 42 ve 49 gün sonra değerlendirmişlerdir. 1999 yılında taşınmada kullanılan TSWV ile infekteli çiçeklerden thrips alt örnekleri, %59 *Frankliniella occidentalis* (Pergande), %34 *F. tritici* (Fitch) ve 2000 yılındaki taşınmada kullanılan soğandan toplanan thrips alt örnekleri %78 *F. occidentalis* (Pergande), %19 *F. fusca* (Hinds) içermiştir. Araştırmacılar taşıma denemelerinde TSWV'yi ayrıca ELISA testi ile belirlemiş ve bunun sonucunda domates bitkilerinde TSWV'nin erken infeksiyonlarında geç infeksiyonlara göre TSWV'den zarar görmüş meyvelerin daha yüksek oranda olduğunu ve verimin daha fazla azaldığını görmüşlerdir.

Culbreath ve ark. (2003), TSWV vektörü olan thripsler nedeniyle TSWV'nin yerfıstığı (*Arachis hypogaea* L.) üretiminde oldukça ciddi bir problem olduğunu belirtmişlerdir. TSWV ve virüs vektörü thripsler olan *Frankliniella fusca* ve *Frankliniella occidentalis*, hastalıkla mücadelede ve epidemiyolojide çalışılması zor ve komplike olduğunu bildirmişlerdir. Basit bir şekildeki tipik bir vektör kontrolünün, TSWV'de sonuç vermediğini ve tek başına yapılmayan değerlendirmelerin, şiddetli epidemiler TSWV'nin yeterli bir şekilde kontrolünü sağlayabildiğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte araştırmaların, bir dereceye kadar dayanıklı çeşitler, kimyasal ve kültürel yöntemler ve bunların her birinin birlikte kullanılmasıyla ortaya çıkan entegre mücadelenin geliştirilmesiyle sonuçlandığını belirtmişlerdir. Böyle sistemleri hastalığı minimize etmek için birçok bölgede yerleştirmişlerdir.

Mason ve ark. (2003), TSWV vektörü olan *Frankliniella occidentalis*'de TSWV'nin teşhisi için RT-PCR'ı kullanmışlar, bu metodu virüs epidemiyolojisi çalışmalarında kullanmak için geliştirmişler ve bu yöntemin bu amaç için hızlı ve güvenilir bir metot olduğunu belirtmişlerdir. Bu metodu, tarladan toplanan thripslerle ve laboratuarda taşıma denemelerini de içeren thripsler üzerinde test etmişlerdir. Thripslerin taşıma yeteneklerini daha önceden yaprak diskleriyle belirlemişlerdir. RT-PCR sonuçlarının yaprak diskleriyle elde edilen sonuçlar ile tutarlı olduğunu bulmuşlardır.

Parrella ve ark. (2003), TSWV'nin bitki virüsleri arasında dünyada en yaygın görülen, en geniş konukçu aralığına sahip olan dikkate değer bir virüs olduğunu ve bu virüsün genellikle bahçe bitkileri ve çiçekli bitkilerde dünyanın farklı yerlerinde çok sayıda epidemiden sorumlu olduklarını ve sık sık yıkıcı ve ağır ekonomik kayıplara neden olduklarını belirtmişlerdir. Hastalıkla mücadelenin zor olduğunu fakat hastalığın oluşmasını önleyici yöntemler, vektörlerle etkin mücadele ve virüse konukçuluk yapan yabancı otların yok edilmesi gibi yöntemlerin bir arada kullanılmasıyla ortaya çıkan entegre mücadele yönteminin ve bu yöntemi oluşturan diğer yöntemlerin virüsün kontrolünde önemli rol oynadıklarını bildirmişleridir. Bu nedenle TSWV'nin konukçu listesinin modernleştirilmesinin, araştırmacılar yada çiftçiler tarafından kullanılması için yararlı olacağını belirtmişlerdir. Bu güncel listeye göre; 69 dikotiledon bitki familyası, 15 monokotiledon bitki familyası ve pteridophyte'lerin 1 familyasına ait toplam 1090 bitki türünün TSWV'ye konukçuluk ettiğini bulmuşlardır.

Salomone ve ark. (2003), İtalya Liguria'da yaptıkları çalışmada, serada saksılarda yetiştirilen *Asclepias curassavica* ve *Euphorbia eritrea* bitkilerini INSV ve TSWV için test etmişlerdir. Test yöntemi olarak ise ELISA ve immunochromatographic lateral flow assay yöntemini kullanmışlardır. Test sonucunda test edilen bu iki bitki türünün TSWV ile bulaşık oldukları bulunmuştur. Ayrıca örnekler elektron mikroskopunda kontrol edilerek tospovirüslerin varlığı belirlenmiştir. TSWV ile bulaşık bitkiler ayrıca mekanik inokulasyon yapılarak otsu bitkilere taşınmıştır. Bu çalışma TSWV'nin *E. eritrea* ve *A. curassavica*'da infeksiyon oluşturması ile ilgili ilk rapordur.

Shahraeen ve ark. (2003), 1999-2001 yıllarında İran'da yağlık kolza bitkilerinde yaptıkları sörvey sonucunda 581 yağlık kolza örneği almışlar ve bunları DAS-ELISA ve elektron mikroskobu ile test etmişlerdir. Testlerin sonucunda örneklerin %14.45'ini BWYV, %12.9'nu CaMV, %9.3'nü TuMV, %4.6'sını CMV ve %0.51'ini

ise TSWV ile infekteli olarak bulmuşlardır. Özellikle BWYV, TuMV ve CaMV'nin yağlık kolza bitkisinde görülmesi, İran'daki yağlık kolza üretimi için önemli bir sonuç olduğunu ve infekteli bitkilerin hastalığa duyarlı diğer bitkiler için virüs kaynağı olarak hizmet ettiğini belirtmişlerdir.

Whitfield ve ark. (2003), *Ranunculus asiaticus* yumrularından ve diğer süs bitkilerinden TSWV'yi teşhis etmek için direct tissue blot tekniğini kullanmışlardır. Tekniğin doğruluğunu ve güvenilirliğini belirlemek için aynı zamanda DAS-ELISA yöntemini de birlikte uygulamışlardır. Yumruların farklı bölgelerinden ve farklı büyüklüklerde alınan parçalardan yapılan çalışmalar sonucunda en iyi sonuçların orta kısımlardan elde edilen örneklerden alındığını ve küçük örneklerin büyük örneklerden daha iyi sonuç verdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar direct tissue blot tekniğinin sertifikasyon işlemlerinde ve yumrulu bitkilerin indekslenmesi çalışmalarında TSWV'yi teşhis etmede başarıyla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Katoh ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada, *in-vitro* aşılama yöntemi ile apikal meristemlerden virüsten arı biber bitkileri elde etmek için bir yöntem geliştirmişlerdir. Sürgün uçlarını (0.4-0.8 mm) seradaki infekteli bitkilerden kesmişlerdir ve anaç olarak kullanılan fidelerin uçlarını keserek bunların üzerine aşılamışlardır. Sürgün uçları apikal meristem ile dört yaprak primordiasından oluşmuştur. Sürgün gelişimini, aşılanan sürgün uçlarının %2-83'ünde belirlemişlerdir. Bu yöntem ile virüsten arı bitkiler, tütün mozaik virüsü (CMV) ile domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV) yada her iki virüs ile birlikte infekteli anaç bitkilerinden üretmişlerdir.

Matsuura ve ark. (2004), TSWV'ye duyarlı krizantem stok bitkilerinde TSWV'nin lokalizasyonu ve onların latent olarak infekteli stok bitkilerinden kesilerek thripslere maruz bırakıldığında etkililiklerini, DAS-ELISA, RT-PCR, kültivasyon ve dot-blot ile kombine ederek araştırmışlardır. Simptom göstermeyen bitkilerde lokalize olan TSWV'yi, bu bitkilerden keserek almışlar ve hastalığın bulunma sıklığının alt yapraklarda yüksek oranda fakat kesilen terminal tomurcuklarda düşük oranda bulunduğunu bildirmişlerdir. Seinoyakata çeşidinde, infekteli stok bitkilerde TSWV oranı, 2002 yılında %26.3-38.5 ve 2003 yılı %16.7-39.1 olarak ve Jimba çeşidinde 2003 yılı Ocak-Mayıs aylarında %37.5-47.1 olarak belirlemişlerdir. Stok bitkilerin köklerinde TSWV'nin bulunma oranını en çok %50 olarak gözlemlemişlerdir. Araştırmanın sonucu olarak infekteli krizantem bitkilerinin kesilerek taşınma etkinliğinin oldukça yüksek ve sera ve tarlalardaki üretimler için ikincil infeksiyon kaynağı olabileceğini

belirtmişlerdir. Araştırcılar ayrıca değişik alt yaprakların kesilerek stok bitkilerdeki infeksiyon oranlarının ortaya çıkarılmasında ELISA ile kombine edilebileceğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Mekanik İnokulasyonda Kullanılan İndikatör Bitkiler

Araştırmada, indikatör bitki olarak, TSWV hastalığına duyarlı tütün (*Nicotiana xanthi* ve *Nicotiana tabacum* L. (Samsun)), börülce (*Vigna sinensis* L.) ve fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) gibi tek yıllık bitkiler kullanılmıştır.

Tohumlar 1:1 oranında ticari torf ve tarla toprağı karışımı içeren plastik saksılar içerisine ekilmiş ve diğer hastalık ve zararlılardan korumak için kapalı bir ortamda yetiştiriciliğı yapılmıştır. Bitkiler yaklaşık olarak bir hafta içerisinde çimlenmiştir. Bitkiler iki yapraklı oldukları dönemde yine içerisinde 1:1 oranında ticari torf ve tarla toprağı karışımı olan 250 g'lık plastik saksılara şaşırtılmıştır. İndikatör bitkilerin periyodik olarak bakımı yapılmış ve bitkinin isteğine göre gerekli ihtiyaçları karşılanmıştır.

Mekanik inokulasyon işlemlerinin yapılabilmesi için bu bitkilerin tohumları belirli aralıklarla ekilmiş ve bitkilerin sürekli elde bulundurulması sağlanmıştır.

3.1.2. Serolojik Çalışmalarda Kullanılan Materyal

TSWV'nin serolojik olarak tanınmasında kullanılan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemlerinde LOEWE (Almanya) firmasından sağlanan 96 çukur içeren Microtiter plate'ler kullanılmıştır. ELISA testi için gerekli complete kit ve kimyasallar da yine aynı firmadan sağlanmıştır. DTBIA yöntemi için gerekli nitroselüloz membran BIO-RAD firmasından sağlanmıştır. Kullanılan nitroselüloz membran 15X15 cm boyutlarında ve 0.45 µm kalınlığına sahiptir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sörvey Çalışması

Sörvey çalışması, 2003 ve 2004 yıllarında domates üretim sezonu içinde, Çanakkale yöresinde domates ekili açık alanlarda yürütülmüştür. Bu amaçla Çanakkale'de, Umurbey, Kemiklialan, Özbek, Yapıldak, Kepez, Musaköy, Çıplak, Halileli, Kumkale, Tefikiye, Dümrek ve Yenimahalle olmak üzere toplam 12 farklı

yörede, domates ekim zamanına göre erkenci, orta geç ve geççi olarak üretilen domates tarlalarında sörvey çalışması yapılarak, TSWV'ye benzer simptom gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır.

Sörvey çalışması tesadüfi örnekleme desenine göre yapılmıştır. Sörvey çalışması rutin olmayan bir düzende haftada 2 kez olacak şekilde sörvey yapılmaya çalışılmıştır. Sörvey çalışmasında bitkiler görsel olarak incelenerek TSWV hastalığına benzer simptom gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır.

Tarlardan alınan örnekler bir plastik torba içine konularak buz kapları içinde muhafaza edilmiştir. Bu şekilde alınan örnekler laboratuara getirilerek test yapılabilmek kadar buzdolabında bekletilmiştir.

Sörvey çalışması süresince her tarladaki domates çeşitleri, ekim zamanı, üretim yapılan tarlanın büyüklüğü gibi bilgiler de üreticilerden öğrenilerek kaydedilmiştir. Çalışma genellikle meyvelerin olgunlaşma döneminde yapılmıştır. Yeni tarlaya şaşırtılan ve henüz büyüme aşamasında olan bitkilerde sörvey yapılmamıştır.

Sörvey sırasında domates bitkisinde genel olarak görülen TSWV benzeri simptomlar göz önüne alınarak bu tip simptom gösteren bitki kısımlarından alınan örnekler serolojik testlerde kullanılmıştır.

Çalışma 2003-2004 yıllarında, Çanakkale Merkez ve ilçelerine bağlı (Şekil 1) 90 tarlada ve toplam 992 dekarlık bir alanda yürütülmüş ve buralardan toplam 200 örnek alınmış ve bu örnekler daha sonra serolojik yöntemler olan ELISA ve/veya DTBIA yöntemine göre test edilmiştir.

3.2.2. Serolojik Yöntemler

3.2.2.1. Direkt Doku Boyama Yöntemi

DTBIA yöntemi Whitfield ve ark. (2003)'ün belirttiği yöntemine göre yapılmıştır. Direkt doku boyama yönteminin uygulanma aşamaları sırasıyla aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

1. Yöntemin uygulanmasına başlanmadan önce eller dezenfekte edilmiş, bütün işlemler bir kez kullanılıp atılan steril plastik eldivenlerle yapılmıştır ve kullanılan bütün alet ve ekipmanlar steril edilmiştir.



Şekil 1. Çanakkale ilinde sörvey yapılan alanlar

2. Direkt doku boyama yönteminin uygulanmasında ilk olarak teşhiste kullanılacak olan nitroselüloz membran, tükenmez kalem yardımıyla 1 cm²'lik alanlara bölünmüş ve bölünen her kare harflendirilmiştir.

3. Daha sonra arazide virüsle infekteli olduğu düşünülen bitkiler alınarak keskin ve temiz bir bistüri yardımıyla enine bir şekilde kesilmiş ve kesilen yüzey membran üzerindeki karelere ayrılan kısımlara hafifçe bastırılmıştır (blotlanmıştır). Bu şekilde bitkinin özsuyunun membrana geçmesi sağlanmıştır.

4. Burada blotlama işlemi için bitkinin sürgün ve meyve sapı gibi değişik kısımlarından yararlanılmıştır.

5. Daha sonra herhangi bir arta kalan protein bağlama bölgesini bloke etmek için %1'lik BSA'dan (Bovine Serum Albumin) 0.2 g alınarak 10 ml saf suda eritilmiş ve membran oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra yıkama tamponu ile (PBS-Tween) ile 5 dakika ara ile 3 kez yıkanmıştır.

6. İnkübasyon sona erdikten sonra membran 1-2 saat oda sıcaklığında antijene spesifik, biotin-conjugate antibadi (10 ml PBS + 20 µl IgG) ile inkübe edilmiştir ve membran sonra yine yıkama tamponu ile (PBS-Tween) 5'er dakika ara ile 3 defa yıkanmıştır. Bu süre içerisinde kimyasalların buharlaşmaması için membranın üzeri kapatılmıştır.

7. Membran 1 saat strept avidin-alkaline-phosphatase conjugate (10 ml PBS + 20 µl konjugat) ile 2 saat inkübe edilmiş ve membran sonra yine yıkama tamponu ile (PBS-Tween) 5'er dakika ara ile 3 defa yıkanmıştır.

8. Tablet halinde bulunan substrat 10 ml saf su içerisinde eritildikten sonra membran bu substrat içerisinde 5-20 dakika inkübe edilmiştir ve 0.001 M EDTA veya saf su ile yıkanarak reaksiyon durdurulmuştur.

9. Sonuçlar fotoğraflama yöntemi kullanılarak binokülerde 20 büyütmeyle gözle görülebilecek şekilde renk oluşumlarına göre değerlendirilmiştir. Renk oluşumu görülenler pozitif görülmeyenler negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.2. ELISA Yöntemi

ELISA testi Clark ve Adams (1977)'in belirttiği yonteme göre yapılmış, antiserum ve konjugat üretici firmanın önerileri doğrultusunda kullanılmıştır.

1) İlk olarak ELISA platelerinin her bir çukuruna 1/500 oranında kaplama tamponu ile seyreltilmiş olan IgG çözeltisinden 200 µl ilave edilerek 37 °C'de 4 saat inkübe edilmiştir.

2) Platelerin her bir çukuru yıkama tamponu ile 5 dakika ara ile 3 kez yıkanmıştır.

3) Daha önceden hastalıklı olduğu düşünülen araziden getirilen örneklerin simptom görülen kısımlarından 1'er gram tartılmış ve 9 g örnek/konjugat tamponu ilave edilerek örnekler temiz bir havan içerisinde ezilmiştir ve örneklerin özuları elde edilmiştir. Bu örneklerden ve iki adet pozitif (+) ve iki adet negatif (-) kontrollerden, her bir plate çukuruna 200 µl ilave edilerek 37°C'de tüm gece inkübe edilmiştir.

4) Platelerin her bir çukuru yıkama tamponu ile 5 dakika ara ile 5 kez yıkanmıştır.

5) Konjugat, 1/500 oranında örnek/konjugat tamponu ile seyreltikten sonra her bir plate çukuruna 200 µl ilave edilerek 37°C'de 4 saat inkübe edilmiştir.

6) Platelerin her bir çukuru yıkama tamponu ile 3 dakika ara ile 3 kez yıkanmıştır.

7) 20 ml substrat tamponunun pH'ı 9.8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra bir tablet substrat (1mg/ml) ezilerek üzerine ilave edilmiş ve eritilmiştir. Bu substrattan her bir çukura 200 µl olacak şekilde ilave edilmiştir ve oda sıcaklığında 2 saat bekledikten sonra reaksiyon 3 M NaOH'tan 50 µl ilave edilerek durdurulmuştur.

8) Sonuçlar, plate çukurlarında renk değişiminin olup olmaması durumuna göre çıplak gözle veya ELISA okuyucusunda 405 nm dalga boyunda okunarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.2.1. Tampon Çözeltiler

1) Kaplama Tamponu: 1.59 g Na₂CO₃, 2.93 g NaHCO₃, 1000 ml distile su, (pH 9.6)

2) Yıkama Tamponu (PBS-Tween): 8.0 g NaCl, 2.9 g Na₂HPO₄ x 12 H₂O, 0.2 g KH₂PO₄, 0.2 g KCl, 0.5 ml Tween 20.

3) Konjugat Tamponu: 20 g polyvinyl pyrrolidone (vizikositesi K10 – K40), 2 g bovin serum albumin, 0.1 g NaN₃, 1 lt için yıkama formülü. 1000ml distile su (pH 7.4).

- 4) Örnek Tamponu: Konjugat tamponu ile aynı içeriğe sahiptir.
- 5) Substrat Tamponu: 97 ml diethanolamine, 0.2 m MgCl₂ x 6 H₂O, 1000 ml distile su, (pH 9.8).
- 6) Substrat solüsyonu: 1 mg/ml 4-nitrophenyl phosphate, di-Na-tuz substrat tamponu içinde.

3.2.3. Mekanik İnokulasyon Çalışması

Mekanik inokulasyon çalışmaları 2003 ve 2004 yıllarında ELISA ve/veya DTBIA yöntemleri ile test edilen ve hastalıklı olabileceğinden şüphe edilen veya hastalıklı olduğu belirlenen örneklerden yapılmıştır.

İnokulasyon çalışmaları için her bir örnekten 0.5 g tartılmış ve tartılan bu örnekler, bir havan içerisinde 0.01 M'lık tris veya fosfat tampon çözeltisinden 4.5 ml ilave edildikten sonra iyice ezilerek bitki sıvısı elde edilmiştir. Bitki sıvısı bir tülbentten geçirilerek diğer bitki parçacıkları ortamdan uzaklaştırılmıştır.

İndikatör bitkiler 2-4 yapraklı dönemde iken mekanik inokulasyon yapılmıştır. İnokulasyon yapılacak olan otsu bitkilerin yapraklarında yara oluşumunu sağlamak için karborandum tozu serpiştirilmiştir ve elde edilen sıvı, bir pamuk yardımıyla bu yapraklara hafifçe ovularak bitkide yara oluşumu sağlanan yerlerden bitki özsuyu içerisindeki virüsün, sağlıklı olan indikatör bitkiye inokulasyonu sağlanmıştır.

İnokulasyonun sonunda otsu bitkiler, virüsle birlikte virüsü inhibe edebilecek maddelerin ortamdan uzaklaştırılması için musluk suyu ile yıkanmıştır. Bu işlemin hemen ardından mekanik inokulasyon yapılan otsu bitkiler, gölge bir yerde tutularak semptom oluşumu gözlenmeye çalışılmıştır.

İnokulasyon yapılan bitkiler 4-6 hafta süreyle periyodik olarak gözlenmiş ve bu gözlemler sonucunda oluşan semptomlar not edilmiştir. Ayrıca infekteli bitkiler ile sağlıklı bitkiler arasındaki farkları görsel olarak kıyaslamak amacıyla bu bitkiler fotoğraflandırılmıştır.

3.2.4. Tohumla Taşıma Denemeleri

Tohumla taşıma denemelerinde 2003 ve 2004 yıllarında serolojik testler sonucunda pozitif çıkan veya infekteli olabileceğinden şüphe edilen domates bitkilerinin meyvelerinden elde edilen tohumlar kullanılmıştır.

Tohumları elde etmek için ilk olarak domates meyveleri ikiye bölünmüş ve tohumlar yuvalarıyla birlikte kesilerek çıkartılmıştır. Daha sonra ince bir süzgeç içerisine konulmuş ve biraz su yardımı ile hafif bir şekilde ovularak yuvalarından ayrılmıştır. Elde edilen tohumlar iyi bir şekilde yıkandıktan sonra bir gün süresince oda sıcaklığında kurutulmuştur. Elde edilen tohumlar iyice temizlendikten sonra 1/2 torf ve 1/2 toprak karışımı içeren viyollere her bir örnekten 5'er adet olacak şekilde ekilmiştir. Hastalıklı tohumların dışında aynı viyollere 5 adet sağlıklı domates tohumu ekilmiştir.

Tohumların gelişimi için optimum gelişme koşulları sağlanmıştır. Tohumlar çimlenmeye başladıktan sonra sulama ve gübreleme düzenli bir şekilde yapılmış ve gelişen bitkiler periyodik olarak gözlenmiştir. Hastalıklı tohumların çimlenme oranı ve zamanı belirlenerek sağlıklı tohumların çimlenme ve canlılık oranlarıyla karşılaştırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Sörvey Çalışmasına Ait Bulgular

Sörvey çalışması, 2003 ve 2004 yıllarında domates üretim sezonu içinde Çanakkale ili ve ilçelerinde açık alanda domates tarımı yapılan tarlalarda yürütülmüştür. Çanakkale yöresinde 2003 yılında 628 da ve 2004 yılında 364 da olmak üzere toplam 992 da domates ekili alanda sörvey çalışması yapılmıştır. Sörvey çalışmasında gözlem yapılan tarlalarda domates bitkilerinde, genç yaprakların bronz renge dönüşmesi, yapraklarda çok küçük ve bol miktarda siyah lekeler oluşması, bitkide solgunluk ve cücelik, sürgün uçlarından itibaren geriye doğru ölümlerin oluşumu ve bitki meyvelerinin üzerinde yumru ve klorotik ring spotların (halkalı lekeler) oluşması gibi belirtilere bakılarak örnekleme yapılmıştır. Sörvey çalışması süresince tarla koşullarında gözlem yapılan bitkilerde görülen TSWV benzeri bazı semptomlar Şekil 2, 3, 4, 5, 6, 7'de gösterilmiştir.

Çizelge 1'de 2003 yılında Çanakkale yöresinde örnek alınan tarla sayısı ve örneklenen bitki sayısı verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi bir üretim sezonu süresince toplam 61 tarlada gözlem yapılmış ve bu gözlemler sonucunda TSWV'nin belirtilerine benzer belirti gösteren 24 tarladan 127 örnek alınmıştır. En fazla örnekleme domates tarımının en yoğun olduğu Umurbey beldesinde yapılmış burayı Halileli ve Kumkale izlemiştir. Umurbey'de toplam 15 tarladan 92 örnek alınırken, Halileli'nde 3 tarladan 8, Kumkale'de ise 2 tarladan 11 örnek alınmıştır. Çanakkale ilinde toplam 11 ayrı yörede domates tarlaları gözlemlenirken bunların 9'undan örnek alınmış iki yörede Tefikiye ve Musaköy'de TSWV semptomlarına benzer bitki yada meyvelere rastlanılmamış ve bu yörelerden örnek alınmamıştır.



Şekil 2. Domates bitkisinde, genç yaprakların bronz renge dönüşmesi



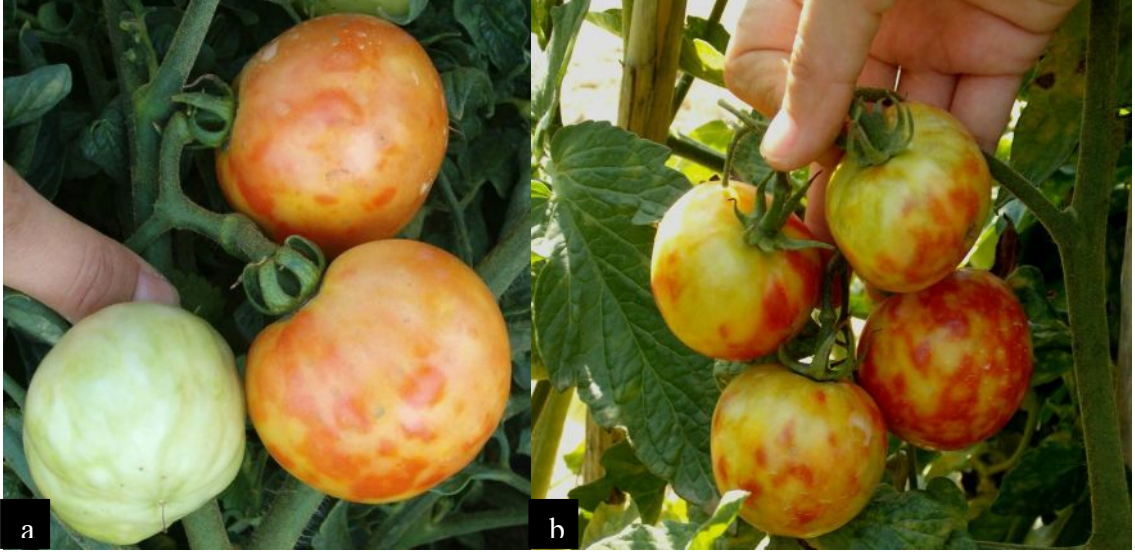
Şekil 3. Sürgün uçlarında kurumalar



Şekil 4. Sürgün uçlarından itibaren geriye doğru ölümler



Şekil 5. Solda sağlıklı bir bitki ve sağda TSWV ile infekteli bir bitki (hastalıklı bitkide cüceleşme ve geriye doğru ölümler)



Şekil 6. Meyvede deformasyonlar (a, b)



Şekil 7. Meyvelerde halkalı lekeler (ring spot) oluşumu

Çizelge 1. 2003 yılı Çanakkale yöresinde örnekleme yapılan yerler ve alınan örnek sayıları

| Mevki | Örnekleme Yapılan Tarla Sayısı | Alan (da) | Örnek Alınan Tarla Sayısı | Alınan Örnek Sayısı |
|---------------|--------------------------------|------------|---------------------------|---------------------|
| Umurbey | 26 | 240 | 15 | 92 |
| Halileli | 21 | 206 | 3 | 8 |
| Kumkale | 6 | 92 | 2 | 11 |
| Tevfikiye | 1 | 55 | - | - |
| Yapıldak | 1 | 8 | 1 | 9 |
| Kepez | 1 | 6 | 1 | 4 |
| Özbek | 2 | 12 | 1 | 2 |
| Yenimahalle | 1 | 5 | 1 | 1 |
| Musaköy | 2 | 4 | - | - |
| TOPLAM | 61 | 628 | 24 | 127 |

Çizelge 2’de 2004 yılında Çanakkale yöresinde örnek alınan tarla sayısı ve örneklenen bitki sayısı verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi ikinci yılda da toplam 29 tarlada gözlemler yapılmış ve toplam 9 tarladan örnek alınmıştır. Alınan örnek sayısı ise 73 olarak gerçekleşmiştir. En fazla örnekleme 2003 yılında olduğu gibi Umurbey beldesinde yapılmış ve bunu Kepez beldesi izlemiştir. Umurbey’den toplam 11 tarladan 68, Kemiklialan’dan 1 tarladan 2 örnek ve Kepez’den 1 tarladan 3 örnek alınmıştır. Çanakkale ilinde 2004 yılında 7 ayrı yörede domates tarlaları gözlemlenmiş ancak Umurbey, Kepez ve Kemiklialan dışındaki yörelerde (Dümrek, Kumkale, Halileli, Çıplak) TSWV benzeri simptom gösteren bitki yada meyvelere rastlanmamıştır.

Çizelge 2. 2004 yılı Çanakkale yöresinde örnekleme yapılan yerler ve alınan örnek sayıları

| Mevki | Örnekleme Yapılan Tarla Sayısı | Alan (da) | Örnek Alınan Tarla Sayısı | Alınan Örnek Sayısı |
|---------------|--------------------------------|------------|---------------------------|---------------------|
| Umurbey | 12 | 75 | 7 | 68 |
| Kemiklialan | 1 | 2 | 1 | 2 |
| Dümrek | 1 | 3 | - | - |
| Kumkale | 8 | 219 | - | - |
| Halileli | 3 | 30 | - | - |
| Çıplak | 3 | 30 | - | - |
| Kepez | 1 | 5 | 1 | 3 |
| TOPLAM | 29 | 364 | 9 | 73 |

Çanakkale il ve ilçelerinde domates tarımının açık alanlarda dikim şekline göre üç farklı zamanda yapılması göz önünde bulundurularak arazi çıkışları ve örnek alımı bu zaman dilimlerine bağlı olarak yapılmıştır. Çizelge 3'te görüldüğü gibi bitki dikim tarihleri üç farklı zamanda gerçekleşmekte ve üreticiler olgunlaşma zamanını erkenci, orta ve geççi olarak adlandırmaktadırlar.

Çizelge 3. Çanakkale yöresinde domates üretiminin fide dikim tarihlerine göre sınıflandırılması

| Dikim Zamanı | Hasat Zamanı | Ürün Sınıflandırması |
|----------------------|----------------|----------------------|
| 15 Mart-30 Nisan | Haziran-Temmuz | Erkenci |
| 1 Mayıs-15 Haziran | Temmuz-Ağustos | Orta |
| 15 Haziran-30 Temmuz | Eylül-Ekim | Geççi |

Çizelge 4.'de 2003 yılında ürün sınıflandırmasına göre örnek alınan tarla sayıları ve alınan örnek sayıları verilmiştir. Buna göre, 2003 yılında toplam 90 orta mevsim ve 37 adet geççi olarak yetiştirilen bitkilerden örnekler alınmıştır. Geççi bitki örneklerinin tamamı Umurbey yöresinden alınmıştır. Orta bitki örneklerinden 60'ı

Umurbey'den, 3'ü Halileli'nden, 11'i Kumkale'den, 9'u Yapıldak'tan, 4'ü Kepez'den, 2'si Özbek'den, ve 1'i Yenimahalle'den alınmıştır. 2003 yılında erkenci çeşitlerde TSWV benzeri simptom gösteren herhangi bir bitki örneğine rastlanılmamıştır.

Çizelge 4. 2003 yılında ürün sınıflandırmasına göre örnek alınan tarla sayıları ve alınan örnek sayıları

| Mevki | Örnek Alınan Tarla Sayısı/Gözlem Yapılan Tarla Sayısı | Alınan Örnek Sayısı | | |
|---------------|-------------------------------------------------------|---------------------|-----------|-----------|
| | | Erkenci | Orta | Geççi |
| Umurbey | 15/26 | - | 60 | 32 |
| Halileli | 3/21 | - | 3 | 5 |
| Kumkale | 2/6 | - | 11 | |
| Tevfikkiye | 0/1 | - | - | - |
| Yapıldak | 1/1 | - | 9 | - |
| Kepez | 1/1 | - | 4 | - |
| Özbek | 1/2 | - | 2 | - |
| Yenimahalle | 1/1 | - | 1 | - |
| Musaköy | 0/2 | - | - | - |
| TOPLAM | 24/61 | - | 90 | 37 |

Çizelge 5'de 2004 yılında ürün sınıflandırmasına göre örnek alınan tarla sayıları ve alınan örnek sayıları verilmiştir. Buna göre, 2004 yılında toplam 7 erkenci, 63 orta ve 3 geççi bitki örneği alınmıştır. Erkenci örneklerin 5'i Umurbey'den ve 2'si Kemiklialan yörelerinden alınmıştır. Orta örneklerin tamamı Umurbey yöresinden alınmıştır. Geççi örneklerin tamamı ise Kepez'den alınmıştır. Dümrek, Kumkale, Halileli ve Çıplak yörelerinde, TSWV benzeri simptom gösteren bitki örneğine rastlanılmamıştır.

Çizelge 5. 2004 yılında ürün sınıflandırmasına göre örnek alınan tarla sayıları ve alınan örnek sayıları

| Mevki | Örnek Alınan Tarla Sayısı/Gözlem Yapılan Tarla | Alınan Örnek Sayısı | | |
|---------------|------------------------------------------------|---------------------|-----------|----------|
| | | Erkenci | Orta | Geççi |
| Umurbey | 7/12 | 5 | 63 | - |
| Kemiklialan | 1/1 | 2 | - | - |
| Dümrek | 0/1 | - | - | - |
| Kumkale | 0/8 | - | - | - |
| Halileli | 0/3 | - | - | - |
| Çıplak | 0/3 | - | - | - |
| Kepez | 1/1 | - | - | 3 |
| TOPLAM | 9/29 | 7 | 63 | 3 |

4.2. Serolojik Yöntemlere Ait Bulgular

2003 yılında Çanakkale yöresinde yetiştirilen domates alanlarında 9 ayrı yörede yapılan sörveyler sonucunda TSWV simptomlarına benzer simptom gösteren toplam 127 adet örnek alınmış ve serolojik yöntemlerden ELISA ve/veya DTBIA ile test edilmiştir. Alınan örneklerden 37'si ELISA yöntemiyle, 47'si DTBIA yöntemiyle, 43'ü ise hem ELISA hem de DTBIA yöntemleriyle test edilmiştir. ELISA ile test edilen örneklerin hiçbiri ELISA plate'lerinde bir renk oluşumuna neden olmamış ve 405 nm dalga boyundaki bir spektrofotometerde yapılan okuma sonucunda hiçbir örnek sağlıklı bitki (negatif kontrol) ve tampon çözelti değerlerinin ortalamasının iki katı yada üzerinde bir değer oluşturmamıştır. Bununla birlikte DTBIA yöntemiyle test edilen 47 örnekten 13'ü iletim demetlerinde çok hafif bir renklenme meydana getirmiş ancak bu örneklerle yapılan mekanik inokulasyon çalışmalarında inokule edilen bitkilerde bir belirti gözlenmemiştir. Her iki yöntemle test edilen 43 örnekten hiçbiri ELISA testinde pozitif sonuç vermezken 12 örnek DTBIA yönteminde iletim demetlerinde çok belirgin olmayan renklenmelere rastlanmış ancak bu örneklerde daha sonra yapılan mekanik

inokulasyon çalışmalarında indikatör bitkilerde lokal yada sistemik belirti oluşturmaması nedeniyle negatif olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 6. 2003 yılında serolojik yöntemlerle test edilen örnekler

| Serolojik Yöntemler | İnfekteli Örnek/Test Edilen Örnek |
|---------------------|-----------------------------------|
| ELISA | 0/37 |
| DTBIA | 0/47 |
| DTBIA ve ELISA | 0/43 |
| TOPLAM | 0/127 |

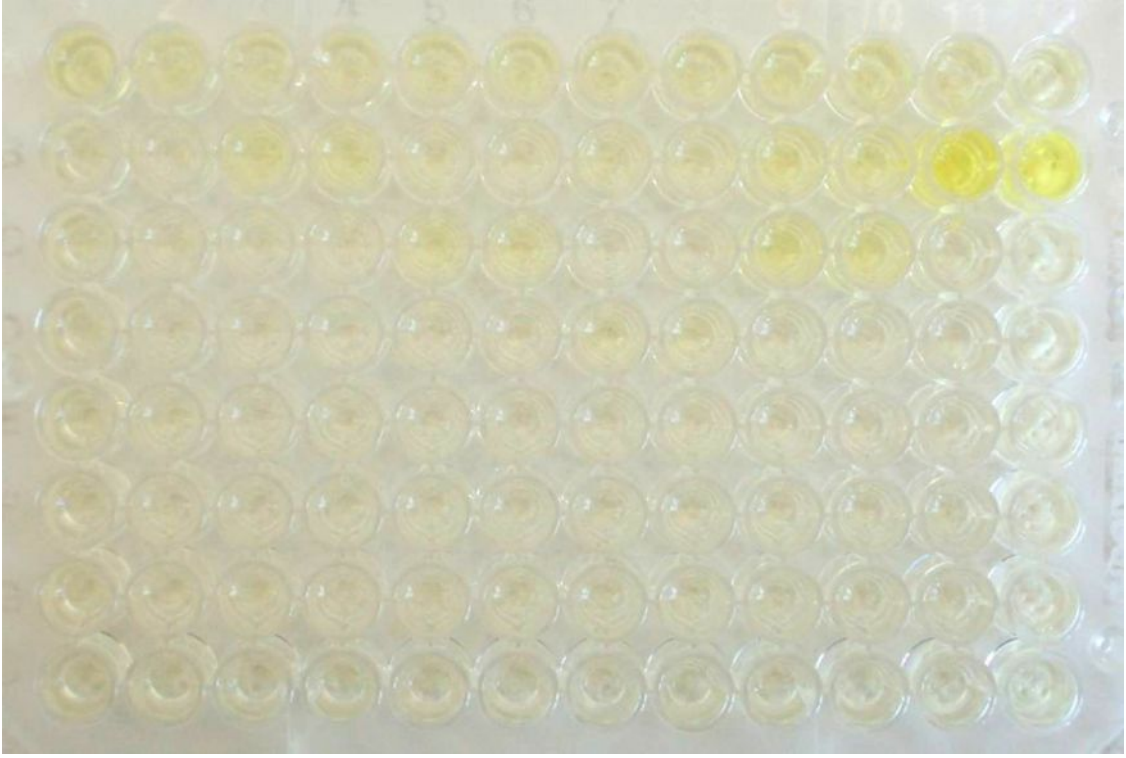
2004 yılında Çanakkale yöresinde yetiştirilen domates tarlalarında 7 ayrı yörede yapılan sürveyler sonucunda TSWV'ye benzer toplam 73 örnek ELISA ile test edilmiştir. Test sonucunda 73 örnekten 9'u TSWV ile infekteli olarak bulunmuştur (Çizelge 7). Pozitif olan örneklerde 405 nm dalga boyunda okuma değerleri sağlıklı bitki ve tampon çözelti ortalamasının iki katı ve üzerinde bir değer oluşturmuş ve çıplak gözle yapılan değerlendirmelerde ise plate'lerde çok belirgin sarı renk oluşumu gözlenmiştir (Şekil 8). Ayrıca 12 örnek okuma değeri ortalamamın biraz üzerinde çıkmış ve pozitif çıkan 9 örnekle birlikte bu örnekler DTBIA yöntemi ile test edilmiş ve test sonucunda ELISA testinde pozitif çıkan 9 örnek DTBIA yönteminde de pozitif sonuç vermiş iletim demetlerinde tipik renklenme oluşturmuş (Şekil 9) diğer örneklerde ise herhangi bir tipik renk oluşumuna rastlanmamış ve bu örnekler negatif olarak değerlendirilmiştir.

İki yıllık bir çalışma sonucunda Çanakkale yöresinde toplam 200 örnek serolojik yöntemlerle test edilmiş bu örneklerden sadece 9'u domates TSWV ile infekteli olarak bulunmuştur.

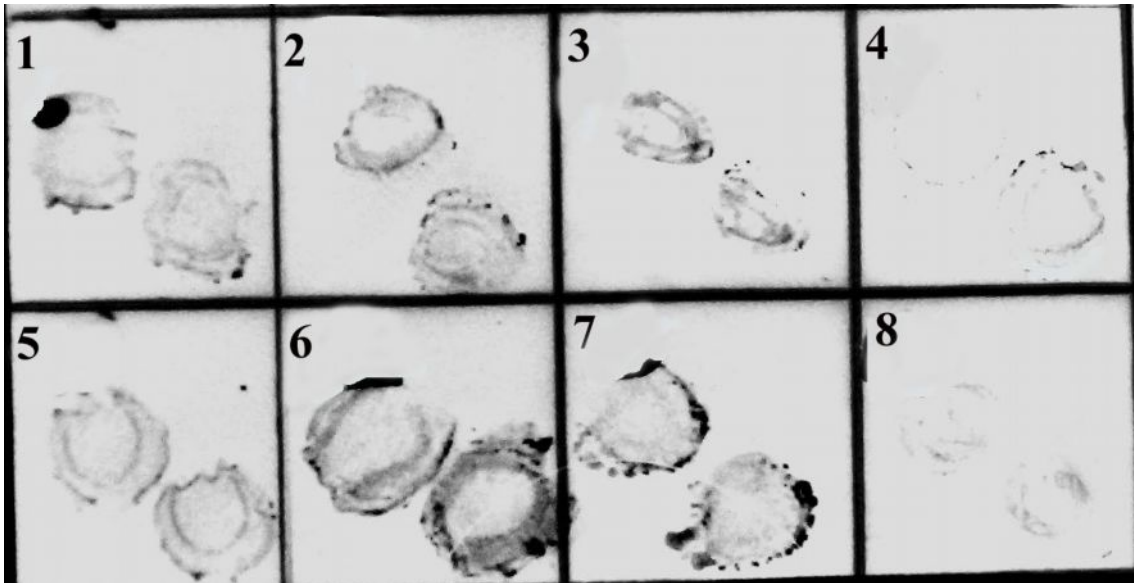
Çizelge 7. 2004 yılında serolojik yöntemlerle test edilen örnekler

| Serolojik Yöntemler | İnfekteli Örnek/Test Edilen Örnek |
|---------------------|-----------------------------------|
| ELISA | 9/73 |
| *DTBIA | 9/21 |
| TOPLAM | 9/73 |

*ELISA ile de test edilmiştir.



Şekil 8. ELISA yönteminde, TSWV ile infekteli örneklerin bulunduğu plate çukurlarında oluşan sarı renk oluşumu



Şekil 9. DTBIA yönteminde TSWV ile infekteli örneklerin iletim demetlerinde koyu renk oluşumu (1, 2, 3, 5, 6, 7) ve infekteli olmayan örnekler (4, 8)

Çizelge 8’de 2004 yılında serolojik testler sonucunda TSWV ile infekteli olarak belirlenen örnekler fide dikim zamanına göre değerlendirilmiştir. Buna göre, 2004 yılında domates ekili tarlalardan toplam 7 erkenci, 63 orta ve 3 geççi bitki örneği alınmış ve serolojik olarak test edilmiştir. Serolojik tesler sonucunda Umurbey’de ve Kemiklialan’da toplam 1 erkenci ve Umurbey’de 7 orta olmak üzere toplam 9 bitki örneği TSWV ile infekteli olarak bulunmuştur.

Dümrek, Kumkale, Halileli ve Çıplak’ta TSWV benzeri simptom gösteren bitki örneğine rastlanmamıştır.

Çizelge 8. 2004 yılında serolojik testler sonucunda TSWV ile infekteli olarak belirlenen örneklerin fide dikim zamanına göre değerlendirilmesi

| Mevki | Örnek Alınan Tarla Sayısı/Gözlem Yapılan Tarla Sayısı | TSWV İle İnfekteli Bitki Sayısı/Toplam Alınan Örnek Sayısı | | |
|---------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------|------------|
| | | Erkenci | Orta | Geççi |
| Umurbey | 7/12 | 1/5 | 7/63 | - |
| Kemiklialan | 1/1 | 1/2 | - | - |
| Dümrek | 0/1 | - | - | - |
| Kumkale | 0/8 | - | - | - |
| Halileli | 0/3 | - | - | - |
| Çıplak | 0/3 | - | - | - |
| Kepez | 1/1 | | | 0/3 |
| TOPLAM | 9/29 | 2/7 | 7/63 | 0/3 |

Çizelge 9’da, Serolojik ve biyolojik testlerde infekteli bulunan örneklerin çeşit bazında dağılımı ve elde edildiği mevkiler gösterilmektedir. ELISA testinde pozitif çıkan örnekler çoğunlukla Umurbey yöresinde bulunmuş, çeşit olarak da Beril (73124) ve RFT-4413 çeşitlerinde saptanmıştır. Bir infekteli örnek de yerli domates çeşidinde bulunmuştur.

Çizelge 9. Serolojik ve biyolojik testlerde infekteli bulunan örneklerin çeşit bazında dağılımı ve elde edildiği mevki.

| Örnek No | Çeşit | Mevki | ELISA | DTBIA | Mekanik İnokulasyon |
|----------|---------------------------------|-------------|-------|-------|---------------------|
| 1 | Beril (73124) | Umurbey | + | + | + |
| 2 | Yerli Domates (Köy Popülasyonu) | Kemiklialan | + | + | + |
| 3 | Beril (73124) | Umurbey | + | + | + |
| 4 | Beril (73124) | Umurbey | + | + | + |
| 5 | Beril (73124) | Umurbey | + | + | + |
| 6 | RFT-4413 | Umurbey | + | + | + |
| 7 | RFT-4413 | Umurbey | + | + | + |
| 8 | RFT-4413 | Umurbey | + | + | + |
| 9 | RFT-4413 | Umurbey | + | + | + |

4.3. Mekanik İnokulasyon Çalışmasına Ait Bulgular

Mekanik inokulasyon çalışmalarında 2003 yılında DTBIA yöntemi ile iletim demetlerinde hafif renk oluşumu gözlenen bitkilerden indikatör bitkilere yapılan özsu inokulasyonu sonucunda bitkilerde lokal yada sistemik bir semptom gözlenmemiştir. İnokule edilen bitkiler inokulasyondan sonra inokule edilen yapraklarda lokal semptom oluşumu için, yeni çıkan yapraklarda ise sistemik semptom oluşumu için 4-6 hafta süreyle gözlenmiştir. Bu süreler içerisinde hastalıklı olabileceğinden şüphe edilen bitkiler ile kontrol olarak inokule edilen sağlıklı bitkiler arasında büyüme ve gelişme yönünden bir fark gözlenmemiştir. Bitkilerde bir belirti oluşmamıştır.

İkinci yıl yapılan mekanik inokulasyon çalışmalarında ELISA ve DTBIA yönteminde pozitif sonuç veren 9 örnek ile ELISA testi çalışmalarında şüphelenilen 12 örnek tütün (*Nicotiana tabacum* L. (Samsun) ve *Nicotiana xanthi* L.) inokule edilmiştir. İnokule edilen toplam 21 örnekten ELISA ve DTBIA yönteminde pozitif sonuç veren 9 örnek inokule edilen bitkilerin yapraklarında inokulasyondan 3-4 hafta sonra semptom oluşturmaya başlamışlardır. İndikatör bitkilerde yaprak damarlarında sararma (Şekil 10), yapraklarda sararma ve sararmayı takiben solma ve kuruma belirtileri gibi sistemik semptomlar gözlenmiştir (Şekil 11). Kontrol bitkilerinde ise her hangi bir semptoma

rastlanmamıştır (Şekil 12). İnokule edilen diğer 12 örnek ise indikatör bitkiler üzerinde bir belirti oluşturmamıştır.

4.4. Tohum İle Taşıma Denemeleri

2003 yılında DTBIA yöntemiyle test edilen ve TSWV ile infekteli olabileceğinden şüphe edilen bitkilerin tohumları ile 2004 yılında TSWV ile infekteli olarak bulunan örneklerin tohumları, kontroller ile birlikte viyollere 5'er adet olacak şekilde ekilmiştir. 2003 yılı ve 2004 yılında ekilen tohumlar kontrol bitkileri ile karşılaştırılmıştır. 2003 yılına ait hastalıklı bitki tohumları ve kontrol bitkilerinin tohumları ekildikten 2 hafta sonra çimlenmiştir. 2004 yılına ait hastalıklı bitki tohumları ve kontrol bitkilerinin tohumları ekildikten 4 hafta sonra çimlenmiştir. Bitkilere düzenli olarak gerekli bakım ve sulama işlemleri yapılmıştır. Bunun sonucunda TSWV ile infekteli bitki tohumları ile kontrol bitkileri arasında çimlenme ve çıkış zamanı ve çimlenme gücü açısından herhangi bir fark bulunmamıştır. Bitkiler fide dönemine ulaştıklarında TSWV benzeri herhangi bir simptom oluşturmamışlardır. Bu nedenle bu bitkilere her hangi bir serolojik test uygulanmamıştır.



Şekil 10. Mekanik inokulasyon yapılan indikator bitkinin yaprak damarlarında sararmalar



Şekil 11. Mekanik inokulasyon yapılan indikator bitkide solgunluk, kuruma ve daha sonra bitkinin ölümü



Şekil 12. Sağlıklı bir bitki (solda) ve mekanik inokulasyon yapılan bir bitki

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmanın yapıldığı 2003 yılı içinde toplam 61 tarlada gözlem yapılmış, 24 tarlada TSWV tarafından oluşturulan simptomlara benzer simptom oluşturan bitkilerden toplam 127 örnek alınmıştır. Alınan örnekler hem ELISA hem de DTBIA yöntemi ile test edilmiş ayrıca DTBIA yönteminde şüpheli olabilecek bazı örneklerde mekanik inokulasyon ile de test edilmiştir.

Yapılan serolojik testler ve mekanik inokulasyon çalışmaları sonucunda 2003 yılında örnekleme yapılan Çanakkale yöresinde TSWV infekteli bitkiye rastlanmamıştır.

Ülkemizde domateslerde virüs hastalıkları ile ilgili olarak bir çok çalışma yapılmış, bu çalışmaların bazılarında TSWV'ye rastlanılmamış, bazılarında da bu çalışmanın ikinci yılında elde edilen bulgularda olduğu gibi yaygınlık durumu çok düşük olarak bulunmuştur.

Özgöz ve ark. (1995), Bursa ve yöresinde 1993 yılında yaptıkları bir çalışmada, virüs hastalıklarının tespiti amacıyla önemli düzeyde domates yetiştirilen 4 ilçe ve merkez köylerdeki virüs belirtisi gösteren domates bitkilerinden yaprak örnekleri toplamışlardır. Toplanan örnekleri test bitkilerine inokule etmişler ve sonuç da TMV (Tütün Mozaik Virüsü), CMV (Hıyar Mozaik Virüsü) belirtileri ve karışık infeksiyonlar saptamışlardır. Serolojik testlerde, izolatlardan bazıları TMV antiserumu ile, bazıları patates X virüsü antiserumu ile, pozitif sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir.

Yardımcı ve Çulal (2002), Isparta yöresinde 2000-2001 yılları arasında domates üretim alanlarından virüs benzeri simptomlar sergileyen yaprak örnekleri toplayarak biyolojik ve serolojik yöntemlerle test etmişlerdir. Serolojik testler sonucunda alınan yaprak örneklerinin %31.8'inin CMV, %22.71'inin TMV ile bulaşık olduğunu saptamışlardır.

Çalışma süresince test edilen bitkilerin TSWV simptomlarına benzer simptom göstermesine rağmen serolojik ve biyolojik testler sonucunda negatif sonuç vermesi, olasılıkla bitkilerin diğer virüs ve virüs benzeri hastalıklarla karışık infeksiyona sahip olmasından kaynaklandığını göstermektedir. Nitekim sörvey çalışması süresince tarlalarda domates bitkilerinde genç yaprakların bronz renge dönüşmesi, yapraklarda çok küçük ve bol miktarda siyah lekelerin oluşması, bitkilerde solgunluk ve meyveler üzerinde renk açılması ve halkalı leke oluşumu gözlenmiştir. Bu şekilde belirtilerin oluşumu daha çok virüs ve virüs benzeri hastalıklarla ilişkilidir. Tek bir hastalık etmeni

bu şekilde bir semptom oluşumuna neden olabileceği gibi birden fazla virüs hastalıklarında karışık enfeksiyonlar sonucu aynı belirtileri gösterebilmektedir.

Bu çalışmada örnekleme yapılan bitkilerde sadece TSWV'nin varlığının belirlenmesine çalışılmıştır. Bu alışma sırasında da hızlı, güvenilir ve pratik olan serolojik yöntemler kullanılmıştır. Hem ELISA hem de DTBIA yöntemi birçok ülkede TSWV'nin tanısında başarıyla kullanılmaktadır.

Mathews (1992), virüs hastalıklarının tanısında semptomolojik bulguların yeterli olmadığını, hatta biyolojik yöntemlerin bile zaman zaman çok güvenilir olmadığını, bu nedenle hastalığın tanısı için birden fazla yöntemin kullanılması gerektiğini belirtmiştir.

Çalışmanın ikinci yılında toplam 29 tarlada örnekleme yapılmış, 9 tarlada TSWV semptomlarına benzer semptom gösteren bitkilerden 73 örnek alınmıştır. Alınan rnekler 2003 yılında olduğu gibi ELISA ve DTBIA yöntemleriyle test edilmiştir. Testlemeler sonucunda 9 rnek TSWV ile infekteli olarak bulunmuştur.

Toplam 2 yıllık bu süreç sonunda Çanakkale yöresinde yapılan çalışmalarda TSWV'nin enfeksiyon oranı çok düşük (%1 den daha az) ıkmıştır. Ayrıca infekteli bitkilerin çoğunluğu (8 adet) Umurbey yöresinde saptanmıştır.

Umurbey yöresi tarla bitkileri ve bahçe bitkilerinin yetiştiriciliklerinin yoğun olarak yapıldığı, kültür bitkisi ve yabancı ot çeşitliliğinin çok fazla olduğu bir yöredir. Polikltr tarım yapılması ve tüm yıl süresince değişik ürün desenine rastlanılması özellikle polifag olan böcekler için uygun bir yaşam alanı oluşurmaktadır. Ayrıca bu yre denize açık olmayıp biraz daha iç kısımda kalmakta, yaz döneminde sıcaklık ve nem diğer yörelere göre biraz daha yüksek olmaktadır. Bütün bu faktörler TSWV'ye vektörlük yapan thripslerin yaşam döngüsünün tamamlanması için optimum koşulları sağlamaktadır. Ayrıca alışma öncesi üreticilerle yapılan görüşmelerde Umurbey yöresinde TSWV semptomlarına benzer belirtilerin bazı yıllar çok yoğun olarak görüldüğünü bazı yıllarda az olduğunu belirtmişlerdir.

Ülkemizde daha önce yapılan çalışmalarda TSWV ile enfeksiyon oranı genellikle düşük bulunmuştur. Bostan ve ark. (2002), 2000-2001 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada, Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesi'nde bulunan Uzundere, İspir, Olur, Ilıca (Erzurum) ve Yusufeli'deki (Artvin) seralarda bir sörvey çalışması yürütmüşlerdir. Virüs benzeri semptom gösteren (mozaik, bronzlaşma, sararma kusurlu oluşumlar, yaprakların yuvarlaklaşması, alılaşma) şüpheli yaprak örneklerini toplayarak DAS-ELISA ile test etmişlerdir. ELISA sonuçlarına göre; Uzundere,

Tortum, İspir, Olur, Ilıca ve Yusufeli'ndeki seralardan alınan örneklerde sırasıyla %1.73,%1.76, %1.41, %1.62, %2.48 ve %1.02 oranında TMV saptanmıştır. ToMV, Yusufeli ve Ilıca'dan alınan domates örneklerinde sırasıyla %0.18 ve %1.45 olarak belirlenmiştir ve TSWV, Ilıca'daki domateslerde %0.22 oranında gözlenmiştir.

Güldür ve ark. (1995), yaptıkları bir çalışmada, Adana-Mersin karayolu üzerinde açık alanda ekili 13 domates tarlasından TSWV simptom belirtisi gösteren örnekler toplamışlardır. Bu örneklerin, mekanik olarak otsu bitkilere inokulasyonu ve serolojik testler sonucunda, Çeşmeli ve Kazanlı'dan alınan örneklerin TSWV ile bulaşık olduğunu saptamışlardır.

Dünyada domates üretimi yapılan birçok ülkede TSWV ile ilgili birçok çalışma yürütülmüştür. Hastalığın teşhisinde yaygın olarak ELISA yönteminin kullanıldığı birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir.

Golnaraghi ve ark. (2002), 1999 ve 2000 yıllarında, İran'da yaz boyunca yapılan virüs sürveyi, soya yetiştiriciliği yapılan 5 ana bölgede (Golestan, Azendaran, Ardebil, Lorestan ve Khuzestan) yürütülmüştür. Araştırmacılar, 80 soya tarlasından toplam 3110 yaprak örneği (tarla başına 30-50 örnek olacak şekilde) rast gele toplamışlardır. Bu örnekler, ACMV, BYMV, CMV, SMV, TMV, TRSV, ToRSV, BCMV, TSV, TSWV, PEMV, BICMV ve PeMoV için, son iki virüs immunodot ELISA ve diğer virüsler DAS ELISA ile test etmişlerdir. Laboratuvar testleri sonucunda en yaygın görülen virüs %13.3 ile SMV'dir bunu TSWV (%5.4), TRSV (%4.2), TSV (%4.1), PEMV (%2.9), BYMV (%2.2), ToRSV (%2.1), TMV (%1.5), ALMV (%1.3), BCMV (%0.8), ve CMV (0.6) ile takip etmiştir.

Parrella ve ark. (2003), TSWV'nin bitki virüsleri arasında dünyada en yaygın görülen, en geniş konukçu aralığına sahip olan dikkate değer bir virüs olduğunu ve bu virüsün genellikle bahçe bitkileri ve çiçekli bitkilerde dünyanın farklı yerlerinde çok sayıda epidemiden sorumlu olduklarını ve sık sık yıkıcı ve ağır ekonomik kayıplara neden olduklarını belirtmişlerdir. Hastalıkla mücadelenin zor olduğunu fakat hastalığın oluşmasını önleyici yöntemler, vektörlerle etkin mücadele ve virüse konukçuluk yapan yabancı otların yok edilmesi gibi yöntemlerin bir arada kullanılmasıyla ortaya çıkan entegre mücadele yönteminin ve bu yöntemi oluşturan diğer yöntemlerin virüsün kontrolünde önemli rol oynadıklarını bildirmişleridir. Bu nedenle TSWV'nin konukçu listesinin modernleştirilmesinin, araştırmacılar yada çiftçiler tarafından kullanılması için yararlı olacağını belirtmişlerdir. Bu güncel listeye göre; 69 dikotiledon bitki familyası,

15 monokotiledon bitki familyası ve pteridophyte'lerin 1 familyasına ait toplam 1090 bitki türü TSWV'ye konukçuluk ettiğini bildirmişlerdir..

Bu çalışmada TSWV'nin teşhisinde DTBIA yöntemi başarıyla kullanılmıştır. ELISA teşhisinde pozitif sonuç veren 9 örnek DTBIA testinde de pozitif sonuç vermiştir. Blotlanan membran üzerinde iletim demetlerinde tipik renklenme oluşmuştur. DTBIA yöntemi ilk olarak 1980'li (Lin ve ark. 1990) yılların sonlarında kullanılmaya başlanmıştır.

Whitfield ve ark. (2003), *Ranunculus asiaticus* yumrularından ve diğer süs bitkilerinden TSWV'yi teşhis etmek için direct tissue blot tekniğini kullanmışlardır. Tekniğin doğruluğunu ve güvenilirliğini belirlemek için aynı zamanda DAS-ELISA yöntemini de birlikte uygulamışlardır. Yumruların farklı bölgelerinden ve farklı büyüklüklerde alınan parçalardan yapılan çalışmalar sonucunda en iyi sonuçların orta kısımlardan elde edilen örneklerden alındığını ve küçük örneklerin büyük örneklerden daha iyi sonuç verdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar direct tissue blot tekniğinin sertifikasyon işlemlerinde ve yumrulu bitkilerin indekslenmesi çalışmalarında TSWV'yi teşhis etmede başarıyla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

DTBIA yöntemi, ülkemizde ilk olarak, Korkmaz ve ark. (1998) tarafından turunçgil tristeza virüsünün teşhisinde kullanılmış ve yöntemin bu virüsün teşhisinde ve sörvey çalışmalarında başarıyla kullanılabileceğini belirtmiştir.

Çeşit bazında pozitif çıkan örnekler bakıldığında çoğunlukla iki çeşitte (Beril ve RFT-4413) TSWV bulunmuştur. Ancak bu sonuçlar bu çeşitlerin hastalık etmenine daha duyarlı olduğuna ilişkin bir bulgu oluşturmamaktadır. Zira Umurbey yöresinde bu çeşitler daha çok kullanılmakta ve hastalığın bu çeşitlerde ortaya çıkma olasılığı da daha yüksek olmaktadır. Ayrıca bu zamana kadar yapılan çalışmalarda çeşit bazında duyarlılık yada dayanıklılık yönünden bir çalışma da yapılmamıştır. Diğer yandan Çanakkale yöresinde çeşit bazında bir seçicilik yoktur ve üreticiler her yıl aynı çeşitleri kullanmamaktadır.

2004 yılında ELISA ve DTBIA yöntemleriyle hastalıklı (pozitif) olarak bulunan 9 örnekle yapılan mekanik inokulasyon çalışmalarında inokule edilen bitkiler üzerinde hastalığa özgü tipik belirtiler gözlenmiştir.

Mekanik inokulasyonda amaç, bitki hücrelerinin ölümüne yol açmadan bitki üzerinde yara oluşturmak ve oluşan bu yaralardan hastalıklı bitkideki virüsün başarılı

bir şekilde sağlıklı bitki hücrelerine girişini sağlamak ve bitki üzerinde lokal veya sistemik simptom oluşumunu sağlamaktır.

Azeri (1994), yaptığı bir çalışmada TSWV'nin son yıllardaki epidemik durumunu, ELISA testleri ve indeksleme yolu ile tütün ve domates bitkilerinde tespit etmiştir. Çalışma sonucunda İzmir ve Manisa yöresinde etmenin tohumla taşındığını saptamış ve hastalıkla mücadelede virüsten ari tohum kullanılmasını, tohum yatağında ve tarlada erken thrips teşhisi ile popülasyonun belirli bir düzeyde tutulması gerektiğini belirtmiştir.

Hill ve Moran (1996), süs bitkisi fidanlıklarındaki bitkilerde TSWV'nin görülme sıklığını bir sorvey çalışması ile belirlemişlerdir. Avustralya'daki 6 ülkede, 69000 bitki üzerinde 62 tür süs bitkisinde inceleme yapmışlardır. Bunlardan 355'ini ELISA, elektron mikroskobu ve indikatör bitkiler ile test etmişlerdir. Bu virüsün fidanlık endüstrisinde her yerde düşük görülme sıklığının (%1'den az) olduğunu belirlemişlerdir.

Antignus ve ark. (1997), İsrail'de tarlada ve sera koşullarında yetiştirilen sebzelerde ve süs bitkilerinde TSWV simptomlarına benzer özellik gösteren bitkileri ELISA ile test etmişler ve 5 familyaya bağlı 19 türde hastalığın varlığını belirlemişlerdir. Ayrıca 6 yabancı ot türünde de doğal infeksiyonun olduğunu bulmuşlardır. ELISA'nın dışında virüsün varlığını konukçu denemesi, seroloji ve elektron mikroskobu yöntemleriyle de saptamışlardır.

Mertelik ve Mokra, (1998), Çekoslovakya'da 1992-1997 yılları arasında kültür bitkileri ve yabancı otlarda TSWV'nin yaygınlık durumunu belirlemek amacıyla indikatör bitkileri, serolojik yöntemleri ve elektron mikroskobu yöntemlerini kullanarak bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda TSWV 91 bitki türünde tespit etmişlerdir ve vektör böcek *F. occidentalis*'in bulunduğu bölgelerdeki seralarda doğal yayılmanın daha fazla olduğunu saptamışlardır. Özellikle sebze tarımının yapıldığı alanlarda TSWV'ye en fazla domates ve biberde rastlanılmıştır.

Chatzivassiliou ve ark. (2000), Yunanistan'da TSWV ve ISNV (Impatiens spot necrotic virus) konukçuları olan süs bitkilerinin rapor edilmesi için bir sorvey çalışması yapmışlardır. Yapraklar üzerinde klorotik, nekrotik halkalı lekeler ve kusurlu oluşumlar ve çiçeklerde nekrosis oluşumu gibi tospovirüs infeksiyonu benzeri tipik simptomlar gösteren bitkilerden yaprak örnekleri almışlardır. Bu örnekler DAS-ELISA ile poliklonal antibadileri ve TSWV'nin N proteinler ve INSV (NL-07) kullanarak test

emişlerdir. ELISA'da ki pozitif örnekleri mekanik olarak, *Petunia hybrida*, *Nicotiana rustica* ve *N. benthamiana* bitkilerine de inölule ederek kanıtlamışlardır. Hiçbir örnek INSV ile infekteli olarak bulunmazken TSWV bulunan 42 botanik tür, 27 familyaya bağılı 40 cinste rapor etmişlerdir. Bunların içinde *Beloperone gutata*, *Coleus barbatus*, *Impatiens petersiana* ve *Lilium auratum* türleri ilk kez TSWV konukçusu olarak rapor etmişlerdir. *Begonia sp.*, *Catharanthus roseus*, *Celosia eristata*, *Dianthus chinensis*, *Fuchsia hybrida* ve *Stephanotis floribunda* gibi benzeri bitkiler Yunanistan'da virüsün yeni konukçuları olarak bulunmuştur.

Horvath ve ark., (2001), Macaristan'da patates bitkisinde yapraklarda sararma, kıvrıkcıklaşma, bodurlaşma ve nekrotik belirtiler gösteren ve şiddetli ürün kayıplarına yol açan TSWV'yi DAS-ELISA ve mekanik inokulasyon yöntemleriyle tespit etmişler ve infeksiyonun büyük olasılıkla civarda bulunan tütün bitkilerinden *Thrips tabaci* tarafından patates bitkilerine taşındığını vurgulamışlardır.

TSWV benzeri belirtiler oluşturan bitkiler fide dikim tarihlerine göre sınıflandırıldıklarında en çok erkenci ve orta domates tarlalarında bu belirtilerin görüldüğü belirlenmiştir. Ancak thripslerin yaşam döngüsü ve bir yıl içinde verdikleri döl sayısı dikkate alındığında domates üretim sezonu boyunca hastalıkla karşılaşılabilceği öngörülmektedir. Ancak bu durum hem vektör böcek popülasyonu hem de ekolojik faktörlerle ilişkilidir.

Tohum yoluyla yapılan taşıma denemelerinde, başarılı olunamamıştır. Özellikle domates tarımında hibrit tohumların kullanılması ve her yıl ekilen tohumların değiştirilmesi tohum yoluyla taşınmayı önemsiz kılmaktadır. Anonim (1970), TSWV'nin tohum kabuğunda taşındığını belirtmiş ancak taşıma oranıyla ilgili herhangi bir bilgi verilmemiştir. Bu çalışma sonucunda TSWV'nin Çanakkale yöresinde varlığı belirlenmiş ancak infeksiyon oranının çok düşük olduğu saptanmıştır. Virüsün vektör böceklerle taşınması ve vektör böceklerinde yörede bulunması hastalığın her zaman potansiyel bir tehlike oluşturduğunu göstermektedir. Hastalıkla mücadelede başarılı olunabilmesi etkin bir strateji yönteminin geliştirilmesine bağılıdır.

ELISA ve DTBIA yöntemlerinin başarı ile kullanılarak TSWV'nin varlığının belirlendiği bu çalışma sonucunda, hastalıkla mücadelede aşağıdaki önerileri sıralayabiliriz:

- Tarlalarda hastalığın yayılmasını önlemek amacıyla kültürel önlemler alınmalı,

- Virüs ve virüs benzeri hastalıklara karşı dayanıklı sertifikalı tohumluk kullanılmalı,
- TSWV hastalığının vektörü olan böceklerle kimyasal mücadele yapılmalı,
- TSWV-vektör ilişkilerine yönelik araştırmalar yapılmalı
- Üreticilere virüs ve virüs benzeri hastalıklarla ilgili bir eğitim programı hazırlanmalı,
- TSWV ile ilgili çalışmalara devam edilmeli, diğer sebzelerde de hastalığın olup olmadığı belirlenmeli ve aralarındaki serolojik ve moleküler ilişkiler ortaya çıkarılmalıdır.

ÖZET

ÇANAKKALE YÖRESİNDE YETİŞTİRİLEN DOMATESLERDE DOMATES LEKELİ SOLGUNLUK VİRÜSÜNÜN SEROLOJİK VE BİYOLOJİK YÖNTEMLERLE SAPTANMASI

Bu çalışma, 2003-2004 yılları arasında Çanakkale yöresinde açık alanlarda yetiştirilen domates tarlalarında TSWV'nin varlığının belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. TSWV'nin teşhisinde serolojik yöntemler ve biyolojik yöntemler kullanılmıştır.

Çalışmanın yapıldığı 2003 yılı içinde toplam 61 tarlada gözlem yapılmış, 24 tarlada TSWV tarafından oluşturulan simptomlara benzer simptom oluşturan bitkilerden toplam 127 örnek alınmıştır. Alınan örnekler hem ELISA hem de DTBIA yöntemi ile test edilmiş ayrıca DTBIA yönteminde şüpheli olabilecek bazı örneklerde mekanik inokulasyon ile de test edilmiştir. Yapılan serolojik testler ve mekanik inokulasyon çalışmaları sonucunda 2003 yılında örnekleme yapılan Çanakkale yöresinde TSWV infekteli bitkiye rastlanmamıştır.

2004 yılında ise toplam 29 tarlada örnekleme yapılmış, 9 tarlada TSWV simptomlarına benzer simptom gösteren bitkilerden 73 örnek alınmıştır. Alınan örnekler ELISA ve DTBIA yöntemleriyle test edilmiştir. Bu serolojik testler sonucunda 9 örnek TSWV ile infekteli olarak bulunmuştur. TSWV ile infekteli (pozitif) olarak bulunan 9 örnekle yapılan mekanik inokulasyon çalışmalarında inokule edilen bitkiler üzerinde hastalığa özgü tipik belirtiler gözlenmiştir. Bu çalışmada TSWV'nin teşhisinde DTBIA yöntemi başarıyla kullanılmıştır.

2003-2004 yıllarında Çanakkale yöresinde yapılan bu çalışmada TSWV'nin enfeksiyon oranı çok düşük (%1'den daha az) çıkmıştır. Ayrıca infekteli bitkilerin çoğunluğu (7 adet) Umurbey yöresinde saptanmıştır.

TSWV benzeri simptom oluşturan bitkiler fide dikim tarihlerine göre sınıflandırıldıklarında en çok orta ve geççi domates tarlalarında bu simptomların görüldüğü belirlenmiştir.

Bu çalışma sonucunda TSWV'nin Çanakkale yöresinde varlığı belirlenmiş ancak enfeksiyon oranı çok düşük olarak bulunmuştur. Virüsün vektör böceklerle taşıyıyor olması ve vektör böceklerinde yörede bulunması hastalığın her zaman

potansiyel bir tehlike oluşturduğunu göstermektedir. Hastalıkla mücadelede başarılı olunabilmesi etkin bir strateji yönteminin geliştirilmesine bağlıdır.

SUMMARY

DETERMINATION OF TOMATO SPOTTED WILT VIRUS (TSWV) USING SEROLOGICAL AND BIOLOGICAL METHODS IN TOMATOES GROWN IN ÇANAKKALE REGION

This study was carried out to determine presence of TSWV in tomatoes grown in open fields during growing seasons of 2003 and 2004 in Çanakkale Province. For identification of TSWV, serological and biological methods were used.

In 2003, total 61 different fields were examined and 127 samples were taken from 24 fields in where the plants showed the similar symptoms with TSWV. The samples were tested using both ELISA and DTBIA test methods. In addition, some suspicious samples from DTBIA were also tested by mechanical inoculation. According to serological and mechanical inoculation tests, there was not any TSWV-infected plant found in sampled area of Çanakkale in 2003.

In 2004, sampling was carried out in 29 fields; the 73 samples were taken from 9 fields in where TSWV-like symptoms were observed. The samples were tested using ELISA and DTBIA methods. Serological tests showed that 9 of 73 samples were found to be TSWV-infected. From mechanical inoculation studies carried out with these 9 TSWV-infected plants, typical TSWV symptoms were observed on the inoculated plants. In this study, DTBIA method was successfully used for identification of TSWV.

In this study conducted in Çanakkale Province during 2003 and 2004, TSWV infection rate (smaller than 1%) was very low. Moreover, most of the infected plants (seven plants) were found in Umurbey Region.

When the plants showing TSWV-like symptoms are classified in terms of their field transplant dates, the symptoms were mostly observed in medium and late tomato fields.

As a result of this study, presence of TSWV in Çanakkale Region was determined, but infection rate was found to be very low. Transmission of the virus by vector insects and presence of these vector insects in the region indicate that the disease always has a potential threat for the region. It is necessary to develop an effective strategy for combating with the disease.

KAYNAKLAR

- Al-Shahwan, I. M., Abdalla, O. A., and Al-Saleh, A. L., 1997. Viruses In the Northern Potato-Producing Regions of Suudi Arabia. *Plant Pathology*, 46: 91-94.
- Anonymus, 1970. Tomato Spotted Wilt Virus, C.M.I./A.A.B. Dsecriptions of Plant Viruses No: 39.
- Anonymous, 2004. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Çanakkale İl Müdürlüğü İstatistik Bölümü, Çanakkale.
- Antignus, Y., M. Lapidot, N. Ganaim, J. Cohen, O. Lachman, M. Perlsman, B.Raacah and A. Gera, 1997. Biological and Molecular Characterization of Tomato Spotted Wilt Virus in Israel. *Phytoparasitica* 25 (4): 319-330.
- Azeri, T., 1994. Detection of Tomato Spotted Wilt Virus in Tobacco and Tomato Cultivars by Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *J.Türk Phtopathology*, 23(1): 37-46.
- Best, J. R., and Palk, B. A., 1964. Electron Microscopy of Strain E of Tomato Spotted Wilt Virus and Comments on Its Probable Biosynthesis. *Virology*, 23 (4): 445-460.
- Brittlebank, C. C., 1919. Tomato Diseases. *J. Agric. Victoria Aust.* 17: 213-235.
- Brlansky, R. H., Lee, R. F., and Garnsey, S. M., 1988. *In situ* Immunofluorescence for The Detection of Citrus Tristeza Virus Inclusion Bodies. *Plant. Dis.* 72: 1039-1041.
- Bostan, H., Demirci, E., Şahin, F., 2002. Determination of Diseases on Tomato and Cucumber Grown in Geenhouses in Erzurum and Artvin Provinces by ELISA. *J. Turkish Phytopath.*, 31(1): 23-29.
- Chaisuekul, C., Riley, D. G., and Pappu, H. R., 2003. Transmission of Tomato Spotted Wilt Virus to Tomato Plants of Different Ages. *Journal of Entomological Science*, 38 (1): 127-136.
- Chatzivassiliou, E. K., Livieratos, L., Jenser, G., and Katis, N. L., 2000. Ornamental Plants and Thrips Populations Associated with Tomato Spotted Wilt Virus in Greece *Phytoparasitica* 28 (3): 1-8.
- Clark, M. F. and Adams, A. N., 1977. Characteristics of the Microplate Methods of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. I. *Gen. Virol.* 34: 475-438.

- Clark, M.F. and Bar-Joseph, M., 1984. Enzyme Immunosorbent Assays. In Plant Virology. P.51-85. *In*. K. Maromorosch and H. Koprowski (eds.). *Methods in Virology Vol.VIII*. Academic Pres. Inc., Orlando, FL. 332 pp.
- Cordoba A.R., Taleisnik, E., Brunotto M., and Raca, R., 1991. Mitigation of Tomato Spotted Wilt Virus-Infection and Symptom Expression By Water-Stress. *Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift*, 133 (3): 255-263.
- Culbreath, A. K., Csinos A. S, Bertrand P. F, and Demski J. W., 1991. Tomato Spotted Wilt Virus Epidemic in Flue-Cured Tobacco in Georgia. *Plant Disease*, 75 (5): 483-485
- Culbreath, A. K., Todd, J. W., and Brown, S. L., 2003. Epidemiology and Management of Tomato Spotted Wilt Virus in Peanut. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44: 53-75.
- FAO, 2004. Agricultural Primary Crops Production Databases. <http://apps.fao.org>.
- Fazio De G., Kudamatsu, M., 1983. Inhibitory Effect of Distamycin-A and a Pyrazino-Pyrazine Derivative on Tomato Spotted Wilt Virus. *Antiviral Research*, 3 (2): 109-113.
- Francki, R. I. B., Fauquet, C. M., Knudson, D.L., and Brown, F. 1991. Classification and Nomenclature of Viruses: Fifth Report of The International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol. Suppl.* 2.
- Francki, R. I. B., and Grivell, C. J., 1970. An Electron Microscope Study of the Distribution of Tomato Spotted Wilt Virus in Systemically Infected *Datura stramonium* Leaves. *Virology*, 42 (4): 969-978.
- Gaborjanyi, R., Hovarth, J., Kovacs, J., ve Kazinczi, G., 1998. Role of Virus and Phytoplasma Infections in Pepper Decline in Hungary. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 33 (3-4) : 261-268.
- Garnsey, S. M., Permar, T. A., Cambra, M., and Carmen, C. T., 1993. Direct Tissue Blot Immunoassay (DTBIA) for Detection of Citrus Tristeza Virus. p. 39-50. *In: proc. 12th. Conf. IOCV. Riverside.*
- Garnsey, S. M., Christie, R. G., Derrick, K. S., and Bar-Josephs, M., 1980. Detection of Citrus Tristeza Virus II: Light and Electron Microscopy of Inclusions and Viral Particles, p. 9-16. *In: Proc.8th.Conf. IOCV. Riverside.*

- German, T.L., Ullman, D.E., and Moyer, J.W., 1992. Tospoviruses: Diagnosis, Molecular Biology, Phylogeny and Vector Relationships. *Annu. Rev. Phytopatol.* 30: 315-348.
- Golnaraghi, A. R., Shahraeen, N., Pourrahim, R., Farzadfar, S., Ghasemi, A., 2002. First Report of the Natural Occurance of Eight Viruses Affecting Soybeans in Iran. *Plant Pathology*, 51,794.
- Güldür, M. E., Marchoux, G., Yürtmen M., ve Yılmaz M. A., 1995. Mersin ve Çevresinde Yetiştirilen Domateslerde Zararlı Yeni Bir Virüs: Tomato Spotted Wilt Virus. *Türkiye VII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, Adana. 303-305.
- Hill, M. F. and Moran, J. R., 1996. The Incidence of Tomato Spotted Wilt Tospovirus (TSWV) in Australian Nursery Plants. *Australasian Plant pathology*, 25 (2):114-119.
- Hristova D., Karadjova O., Yankulova M., Heinze C., Adam G., 2001. A Survey of Tospoviruses in Bulgaria, *J. Phytopath.*, 149 (11-12): 745-749.
- Horvath J., Gaborjanyi R., Kazinczi G., Takacs P., 2001. Natural Occurrence of Tomato Spotted Wilt Tospovirus (TSWV) on Potato in Hungary, *Novenytermeles*, 50(5): 545-548.
- Hsu, H.T., and Lawson, R. H., 1991. Direct Tissue Blotting for Detection of Tomato Spotted Wilt Virus in *Impatiens*. *Plant Dis.* 75: 292-295.
- Katoh N., Yui, M., Sato, S., Shirai, T., Yuasa, H., and Hagimori, M., 2004. Production of Virus-Free Plants From Virus-Infected Sweet Pepper By In Vitro Grafting. *Scientia Horticulture* 100 (1-4): 1-6.
- Korkmaz, S., Bozan, O., Çınar, A., 1998. Direct Tissue Blot Yöntemiyle Turunçgil Tristeza Virüsünün Tanısının Yapılması. *Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, Adana, 351-355.
- Lavina, A., Aramburu, J., Moriones, E., 1996. Occurrence of Tomato Spotted Wilt and Cucumber Mosaic Viruses in Field-Grown Tomato Crops and Associated Weeds in Northeastern Spain. *Plant Pathology*, 45 (5): 837-842
- Lin, N. S., Hsu, Y. H., and H. T., 1990. Immunological Detection of Plant Viruses and A Mycoplasma-like Organism by Direct Tissue Blotting on Nitrocellulose Membranes. *Phytopathology* 80: 824-828.

- Lodos, N., 1981. Türkiye Entomolojisi, Genel Uygulamalı ve Foenestic, Cilt II., Ege Ün. Ziraat Fak. Yayınları No: 429.
- Mason G., Roggero P., and Tavella L., 2003. Detection of Tomato Spotted Wilt Virus in Its Vector *Frankliniella occidentalis* by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. *Journal of Virological Methods*. 109: 69-73.
- Mathews, R. E. F., 1992. Fundamentals of Plant Virology. Academic Pres. Inc. N. Y. Department of Cellular and Molecular Biology University of Auckland, New Zealand, p. 374.
- Matsuura S., Ishikura, S., Shigemoto, N., Kajihara, S., and Hagiwara, K., 2004. Localization of Tomato Spotted Wilt Virus in Chrysanthemum Stock Plants and Efficiency of Viral Transmission from Infected Stock Plants to Cuttings. *J. Phytopathology*, 152: 219-223.
- Mertelik J, Mokra V., 1998. Tomato Spotted Wilt Virus in Ornamental Plants, Vegetables and Weeds in the Czech Republic, *Acta Virologica*, 42(5): 347-351.
- Mickowski J., 1981. Principales Maladies a Virus Sur Le Tabac. VIII. Intern Plant Protec. Conferance. Ohrid. Yugoslavia. Sept., 28-October. 2. 1981.
- Mijatovic, M., Zdravkovic J., Markovic Z., Obradovic A., 2000. Disease Intensity of Some Tomato Viroses in Serbia, *Acta Physiologiae Plantarum*, 22(3): 332-335.
- Mohamed, N. A., Randles J. W., and Francki, R. I. B., 1973. Protein Composition of Tomato Spotted Wilt Virus. *Virology*, 56(1): 12-21.
- Özgöz, A., Baykal N., ve Erkan, S., 1995. Bursa Yöresi Domateslerinde Virüs Hastalıklarının Tespiti ve Yayılışı Üzerinde Çalışmalar. Türkiye VII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, Adana, 256-260.
- Paliwal, Y. C., 1978. Occurrence and Localization of Spherical Viruslike Particles in Tissues of Apparently Healthy Tobacco Thrips, *Frankliniella fusca*, a Vector of Tomato Spotted Wilt Virus. *Journal Invertebrate of Pathology*, 33(3): 307-315.
- Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Vovlas, C., and Marchoux, G., 2003. Un Update of the Host Range of Tomato Spotted Wilt Virus. *Journal of Plant Pathology*, 85(4): 227-264.

- Peters, D., de Avila, A. C., Kitajima, Resende, R. De O., De Haan, P., and Goldbach, R., 1991. An Overview of Tomato Spotted Wilt Virus , *in: Hsu, H.T. and Lawson, R.H. [Eds.] Proc. UDSA Workshop Virus – Thrips Plant Interactions of Tomato Spotted Wilt Virus* (Beltsville, MD, USA), pp. 1-14.
- Robert, G. Milne and Gustaaf A. de Zoeten, 1966. A Comparison of Some Methods of Preparation of Thin Sections of Virus-Infected Leaves for Detection Microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*, 19 (3-4): 398-407.
- Salomone, A., Masenga, V., Minuto, G., Parodi, C., Roggero, P., 2003. First Report of Tomato Spotted Wilt Virus (Tospovirus, Bunyaviridae) Infecting *Euphorbia eritrea* and *Asclepias curassavica* in Liguria, Italy. *Plant Pathology* 52, 806.
- Shahraeen N., Farzadfar S. H., and Lesemann D. E., 2003. Incidence of Viruses Infecting Winter Oilseed Rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*) Iran. *J. Phytopathology* 151: 614-616.
- Stavisky, J., Fudenburg, J., Brodbeck, B. V., Olson, S. M., and Andersen, P. C., 2002. J. Econ. Entomol. Population Dynamics of *Frankliniella* spp. and Tomato Spotted Wilt Incidence as Influenced by Cultural Management Tactics in Tomato, 95(6): 1216-1221.
- Whitfield, A. E., Campbell, L. R., Sherwood, J. L., 2003. Tissue Blot Immunoassay for Detection of Tomato Spotted Wilt Virus in *Ranunculus asiaticus* and Other Ornamentals, *Plant Dis.* 87: 618-622.
- Wijkamp, I., Van Lent, J., Kormelink, R., Goldbach, R., and Peters, D., 1993. Multiplication of Tomato Spotted Wilt Virus in Its Insect Vector, *Frankliniella Occidentales*. *J.Gen.Virol.* 74: 341-349.
- Yardımcı ve Çulal, 2002. Isparta Yöresindeki Domateslerde Tütüm Mozaik Virüsü ve Hıyar Mozaik Virüsü'nün Saptanması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6(2): 51-56.
- Yeh, S. D., Lin, Y. C., Cheng, Y. H., Jih, C. L., Chen, M. J., and Chen, C. C., 1992. Identification of Tomato Spotted Wilt-Like Virus on Watermelon in Taiwan. *Plant Disease*, 76(8): 835-840.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasında ve yürütülmesinde bana yardımcı olan ve yol gösteren danışmanım sayın Doç. Dr. Savaş KORKMAZ'a, eserlerinden yararlandığım yazarlara, arazi ve diğer çalıőmalarımnda bana yardımcı olan arkadaşlarım Ziraat Yük. Müh. Fatma AFAT'a ve Arő. Gör. Serkan ÖNDER'e teşekkür ederim. Her konuda desteğini gördüğüm arkadaşım Arő. Gör. Zuhâl YÜCEL (ÖZDEMİR)'e, tez çalıőmam sırasında da bana destek ve yardımcı olduğu için teşekkür ederim. Bu alıőma için, laboratuvarının kapılarını bana sonuna kadar açan ve her konuda yardımcı olmaya çalıőan çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Murat ŐEKER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmada yoğun iç temposu içerisinde zaman ayırarak tezimin her aşamasında bana sevgi ve sabırla yardımcı olan eşim sayın Doç. Dr. Hakan TURHAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Pınar TURHAN

Doğum Yeri ve Yılı: Gelibolu 09.08.1978

Adres: Ç.O.M.Ü. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü

Eğitim Durumu:

1984-1989: Evreşe İlkokulu

1989-1993: Evreşe Ortaokulu

1993-1995: Evreşe Lisesi

1996-2001: Trakya Ün. Tekirdağ Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü

Staj ve Kurslar: 1999 yılında Tekirdağ Ziraat Fak. (Staj)

Mesleki Deneyim:

2001- Ç.O.M.Ü. Ziraat Fak. Bitki Koruma Bölümü Araştırma Görevlisi.

İNDEKS

Kısaltmalar:

FAO

ABD

TSWV

DTBIA

TMV

VLP

BYMV

BoMV

CMV

AMV

PLRV

TRSV

PVA

ISNV

ToMV

PVX

PVY

ToRSV

ToAV

Adı:

Gıda ve tarım örgütü

Amerika Birleşik Devleti

Domates lekeli solgunluk virüsü

Direkt doku boyama yöntemi

Tütün mozaik virüsü

Virüs benzeri partiküller

Fasulye sarı mozaik virüsü

Bambu mozaik virüsü

Hıyar mozaik virüsü

Yonca mozaik virüsü

Patates leaf roll virüsü

Tütün halkalı leke virüsü

Patates A virüsü

Impatiens nekrotik leke virüsü

Domates mozaik virüsü

Patates X virüsü

Patates Y virüsü

Domates halkalı leke virüsü

Domates aspermy virüsü